

蚯蚓活动对高羊茅修复土壤芘污染的强化作用^{*1}

潘声旺^{1,2}, 袁馨^{2,3}, 魏世强²

(1. 成都大学 环境科学与工程研究所, 四川 成都 610106; 2. 西南大学 资源环境学院, 重庆 400715;
3. 后勤工程学院 营房管理与环境工程系, 重庆 四川 400016)

摘要: 为了探讨土壤动物在植物修复多环芳烃类有机污染物过程中的作用, 采用盆栽试验法, 对比研究了蚯蚓 (*Pheretima* sp.) 活动对高羊茅 (*Festuca arundinacea*) 修复土壤芘污染的影响效应. 在 72 d 的试验期间, 蚯蚓活动促进了芘污染土壤 (20.24 ~ 321.42 mg · kg⁻¹) 中高羊茅的生长, 其根冠比明显增大. 试验结束时, 种植高羊茅的土壤中芘的去除率高达 55.89% ~ 82.01%, 其平均去除率 (69.91%) 比无蚯蚓活动的土壤-植物 (高羊茅) 系统 (60.06%) 提高 9.85%, 比无植物对照组 (18.24%) 提高 50.67%. 各种生物、非生物修复因子中, 植物-微生物交互作用 (plant-microbial interaction) 对芘去除的贡献率 (44.08%) 最为突出, 比无蚯蚓活动时 (37.54%) 提高 6.53%. 说明蚯蚓活动可强化土壤-植物系统对土壤芘污染的修复作用.

关键词: 植物修复; 芘; 高羊茅; 蚯蚓; 土壤

中图分类号: X 171.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-7971(2010)05-0587-07

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是环境中普遍存在的持久性有机污染物 (persistent organic pollutants, POPs), 性质稳定、水溶性差, 环境含量逐年上升. 在我国, 部分土壤 PAHs 已达到 10² ~ 10⁴ μg · kg⁻¹, 交通干线、厂矿和城郊附近甚至高达 10⁶ μg · kg⁻¹[1]. 因多数 PAHs 具有较强的“三致”效应, 严重威胁着人类健康和生态环境安全, 修复土壤 PAHs 污染已成为环境领域的焦点问题.

植物修复 (phytoremediation) 投资少、效益高、环境友好, 发展潜力巨大. 但该技术起步较晚, 多数研究仅限于修复植物的筛选^[2-3]或修复效应的比较^[4], 在环境因素对修复效果的影响方面, 尤其是土壤动物 (如蚯蚓、线虫等) 对根际作用的影响方面研究尚少. 事实上, 蚯蚓活动不仅能改善土壤的理化性质、活化微生物生理活性^[5], 还能促进修复植物的生长^[6]. 因生物降解 PAHs 主要是在好氧条件下进行的^[7-8], 蚯蚓活动引发的土壤理化性质、生态功能变化, 尤其是通气状态的改善, 能否对 PAHs 污染土壤的植物修复产生促进作用? 相关

研究鲜见报道. 本研究拟以环毛蚓 (*Pheretima* sp.)、高羊茅 (*Festuca arundinacea*) 为试验材料, 对比研究蚯蚓活动对土壤-植物系统中 PAHs 去除效果的影响, 以期为 PAHs 污染土壤的生态修复提供试验依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

(1) 土壤 紫色土, 采自旱地表层 0 ~ 20 cm 处, 无污染史. 理化性质: 有机质 22.3 g · kg⁻¹, CEC 27.43 cmol · kg⁻¹, pH 7.19, 速效 N, P, K 分别为 114.6, 24.7, 94.8 mg · kg⁻¹.

(2) 植物 以 2 周龄高羊茅为试验材料. 种子经双氧水处理后, 无菌条件下催芽、培养 2 周后备用.

(3) 蚯蚓 为人工培育的环毛蚓. 培育方法: 风干的牛粪经脱氨、灭菌 (虫) 后, 重新碾碎, 以 60 g · kg⁻¹ (干重比) 的比率与未污染的试验土壤混匀后, 分装于底部有滤孔的瓷盆中^[9]. 母蚓经双氧水浸润 10 min 后, 均匀引入培养盆中, (20 ± 2) °C、

* 收稿日期: 2010-03-30

基金项目: 国家科技支撑计划资助项目 (2007BAD87B10-05); 国家高技术研究发展计划“863”资助项目 (2006AA10Z427).

作者简介: 潘声旺 (1973-), 男, 副教授, 博士, 主要从事生态修复方面的研究, E-mail: panwang@swu.edu.cn.

40%田间持水量(water holding capacity, WHC)下室内培育30 d后,选择同等大小(鲜重:0.5~0.6 g;体长:7~8 cm)个体待用。

(4) 化学品 以芘(Pyr, pyrene)为PAHs代表物(德国Fluka公司提供,纯度>98%)。

1.2 试验方法 盆栽试验在温室内进行,试验周期72 d。土壤采集后,风干、过3 mm筛。将一定量的芘经丙酮溶解后,均匀洒在土壤表层,待丙酮挥发后,充分搅拌、混匀,并用未污染土不断稀释,多次搅拌和过3 mm筛,制备6个污染水平($T_0 \sim T_5$)。40% WHC下平衡1周后,测得土壤中芘的初始质量比分别为:0(T_0), 20.24(T_1), 39.58(T_2), 79.86(T_3), 160.64(T_4), 321.42(T_5) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。试验分为A, B 2组。

A组包括4个处理、重复5次。处理1(CK_1): 土壤中加入0.1% NaN_3 (抑制微生物活性)^[10], 无植物;处理2(CK_2): 无植物、无 NaN_3 ;处理3(TR_3): 种植物、加0.1% NaN_3 ;处理4(TR_4): 种植物、无 NaN_3 。土壤装盆后(每盆2 kg, 共计120盆), 除 CK_1, CK_2 外, 每盆移栽并保留高羊茅幼苗12株。试验期间, 白天室温维持在25℃, 350 $\mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$ 光照强度下持续光照16 h, 夜间室温控制在12℃左右; WHC维持在40%。

B组中, 除每盆添加8条蚯蚓外, 试验设计、试验条件与A组相同, 没有额外投加食物(试验期间, 对照土样(CK_2)中蚯蚓体重较初始引入时平均减轻15.03%, 各污染水平($T_1 \sim T_5$)下体重生长率与无污染的 T_0 组(-13.38%)间差异不显著($p > 0.05$), 其它处理(CK_1, TR_3, TR_4)时的生长状况与 CK_2 类似, 说明试验条件适合蚯蚓生长^[11])。

1.3 样品测定与质量控制 土壤、植物组织中芘的提取、净化方法参照文献[12]。蚯蚓组织中芘的提取、净化参照Johnson^[9]方法, 略有改进: 洗净后活体蚯蚓在去离子水中培养12 h后, 转移到活化硅胶中埋置48 h, 待充分排净体内杂质后, 洗净、用滤纸吸干、称重。液氮真空干燥后, 充分碾碎。与3倍重量的无水硫酸钠混合, 用正己烷索氏提取12 h; 将提取液浓缩至1 mL后, 用凝胶渗透色谱法(gel permeation chromatography, GPC)去除油脂残余。滤液经旋转蒸发器蒸干、甲醇定容, 过0.22 μm 孔径滤膜后待测。

经上述前处理后, HPLC(Waters600)测定, DAD检测器($\lambda = 246 \text{ nm}$)、流动相为甲醇加水(83

: 17)。在此条件下, 检出限为54.2 $\text{pg} \cdot \text{L}^{-1}$, 土壤中芘的加标(外标法、下同)回收率为94.36% ($n = 7$, $\text{RSD} < 6.58\%$)、植物组织为93.07% ($n = 7$, $\text{RSD} < 5.61\%$)、蚯蚓组织为89.24% ($n = 7$, $\text{RSD} < 6.71\%$)。

1.4 数据处理 用SPSS13.0进行Duncan's多重比较(Duncan's multiple range test, DMRT)。土壤中芘的去除率(R)计算式为: $R = (C_0 - C_i) \times 100\% / C_0$, C_0 为初始浓度, C_i 为取样时残留浓度。去除因子*i*对芘去除的贡献率(T_i , 即因子*i*对芘的实际去除量与初始添加量百分比)计算式为: $T_i = R_i \times 100\% / (m \cdot C_0)$, 其中, R_i 为因子*i*对芘的实际去除量, m 为土壤质量。理论上, 所有生物、非生物因子的贡献率之和应等于去除率 R 。

2 结果与分析

2.1 蚯蚓活动对植物生长的影响 图1为 TR_4 中高羊茅的生长状况。试验浓度范围内, 高羊茅在芘污染土壤中能够正常生长。无蚯蚓(A组)时, 其单株生物量、根冠比与 T_0 污染水平(2.98 g, 0.067)间差异不显著($p > 0.05$); 有蚯蚓(B组)时, 单株生物量较同污染水平A组间增加7.56%~19.77%(平均值13.86%), 其中, $T_1 \sim T_4$ 水平的单株生物量与A组间差异显著($p < 0.05$)。根冠比增加16.89%~20.78%(平均值18.49%), 与同污染水平A组间差异显著($p < 0.05$)。说明蚯蚓活动能促进芘污染环境中的植物生长。

2.2 蚯蚓活动对植物修复芘的影响 表1显示芘的实际去除量与初始添加量, 添加蚯蚓的土壤-植物系统(TR_4)中芘的残留量明显低于同一污染水平A组:B组(TR_4)残留量与A组(TR_4)间差异显著($p < 0.05$); 与无植物生长的A组(CK_2)间差异极显著($p < 0.01$)。说明蚯蚓活动促进了芘的去除。

根据土壤中芘的初始浓度、残留浓度, 可进一步推算其去除情况。结果显示, 种植高羊茅的土壤中芘去除率普遍高于同一污染水平的其它处理: $T_1 \sim T_5$ 范围内, B组土壤(TR_4)中芘的平均去除率高达69.91%(55.89%~82.01%); 无蚯蚓作用的A组(TR_4)土壤中, 平均去除率为60.06%(47.28%~75.43%), 而无植物对照组(CK_2)仅为18.24%(12.28%~24.23%)。

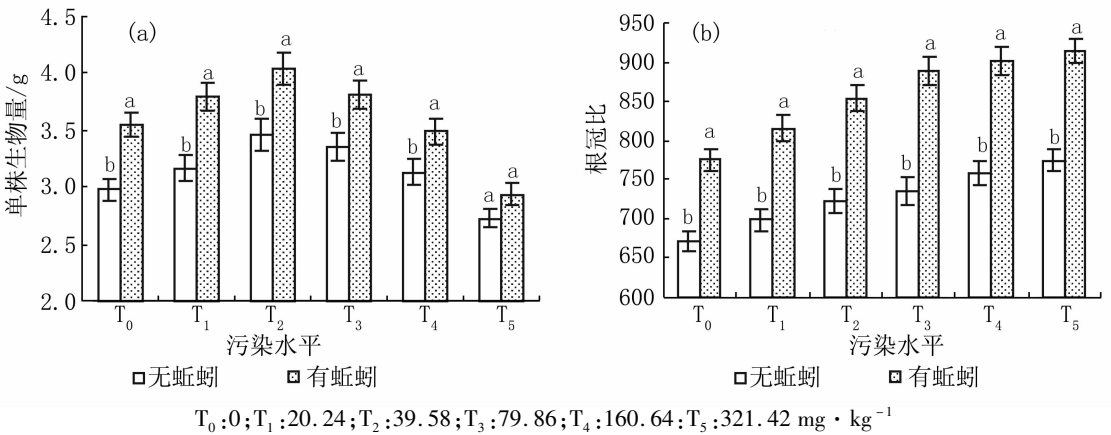


图1 不同污染水平下高羊茅的生长状况

Fig. 1 Growth difference of *Festuca arundinacea* in soils without NaN_3 under different Pyr pollution levels

表1 不同处理条件下土壤中芘的残留量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Tab. 1 Residual Pyr in soils under different treatment conditions ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

处理	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
A组处理2 (CK ₂)	15.34 ± 0.48 ^{Aa}	31.19 ± 0.89 ^{Aa}	65.65 ± 1.76 ^{Aa}	135.42 ± 2.66 ^{Aa}	281.95 ± 3.24 ^{Aa}
A组处理4 (TR ₄)	4.97 ± 0.22 ^{Bb}	13.52 ± 0.43 ^{Bb}	33.01 ± 0.94 ^{Bb}	75.42 ± 1.77 ^{Bb}	169.45 ± 3.28 ^{Bb}
B组处理4 (TR ₄)	3.64 ± 0.21 ^{Bc}	9.37 ± 0.53 ^{Bc}	22.95 ± 1.41 ^{Bc}	57.73 ± 3.27 ^{Bc}	141.77 ± 5.89 ^{Bc}

同列中大、小写字母表示在1%、5%水平上差异显著

相同处理条件下,同一污染水平 A, B 组土壤中芘的去除率差异反映了蚯蚓活动对土壤芘污染修复效果的影响程度(如图2). 可以看出,不同污染水平下,蚯蚓活动对芘去除的强化程度也不一样:中度污染(T₃)时强化程度最高(12.60%),重污染(T₅)时次之(8.62%),轻污染(T₁)时仅为6.59%.

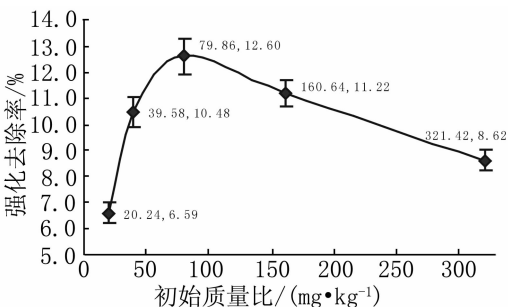


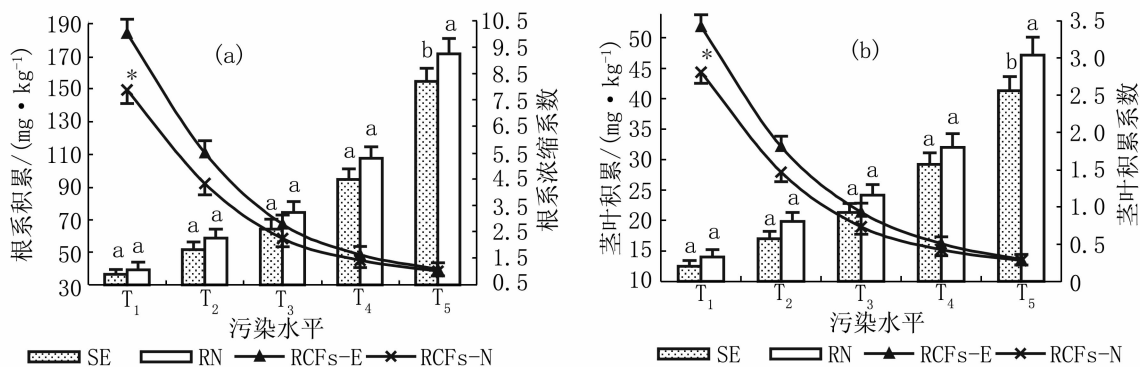
图2 不同污染水平下芘的强化去除差异

Fig. 2 Enhanced Pyr dissipation rates of soils with different pollution levels

2.3 蚯蚓活动对植物富集芘的影响 基于土壤中残留浓度、植物组织中积累浓度,推算芘在植物组织中根系浓缩系数、茎叶浓缩系数(RCFs or SCFs,

root or shoot concentration factors) (如图3). 总体上,随着初始添加浓度的递增,积累浓度逐渐增大,而RCFs,SCFs则逐渐减小;相同污染水平下,有蚯蚓活动时植物组织中芘积累浓度低于无蚯蚓时,RCFs,SCFs却高于无蚯蚓时. 如T₁~T₅水平下,无蚯蚓时RCFs,SCFs为90.30(39.12~171.79),27.42(13.97~47.15) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,有蚯蚓时分别为80.31(36.49~154.73),24.25(12.46~41.32) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;无蚯蚓时RCFs,SCFs为3.38(1.01~7.87)、1.14(0.27~2.81) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,有蚯蚓时分别上升至4.21(1.09~10.02),1.39(0.29~3.42) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

2.4 蚯蚓活动对芘去除的强化途径 土壤中芘的去除主要源于各种生物、非生物因素的共同作用^[12]. 如果用T_a,T_d,T_c,T_m,T_{pm}代表非生物损失(abiotic loss)、植物代谢(plant degradation)、富集(plant accumulation)、微生物降解(microbial degradation)、植物-微生物交互作用(plant-microbial interaction)在芘去除过程中的贡献率,用R₁,R₂,R₃,R₄代表未添加蚯蚓时CK₁,CK₂,TR₃,TR₄中芘的去除率,在不考虑因子间交互作用的情况下,则有:



RE, SE 和 RN, SN 分别代表添加、未添加蚯蚓时苳在根系、茎叶部积累浓度,同一污染水平上不同字母表示差异显著($p < 0.05$); RCFs - E, SCFs - E 和 RCFs - N, SCFs - N 为添加、未添加蚯蚓时根系、茎叶部浓缩系数, * 表示同一污染水平上差异显著($p < 0.05$)

图3 植物组织对苳的富集作用

Fig. 3 Pyr in plant as a function of Pyr concentrations in soils

$$R_1 = T_a,$$

$$R_2 = T_a + T_m,$$

$$R_3 = T_a + T_c + T_d,$$

$$R_4 = T_a + T_c + T_d + T_m + T_{pm}.$$

B 组中,因蚯蚓组织对苳的直接吸收作用以及蚯蚓活动对各种生物、非生物因子可能产生的强化去除作用,B 组 CK₁, CK₂, TR₃, TR₄ 中苳的去除率变化可分别表述为:

$$\Delta R_1 = T_a^e + T_e,$$

$$\Delta R_2 = T_a^e + T_m^e + T_e,$$

$$\Delta R_3 = T_a^e + T_c^e + T_d^e + T_e,$$

$$\Delta R_4 = T_a^e + T_c^e + T_d^e + T_m^e + T_{pm}^e + T_e,$$

式中, $\Delta R_1, \Delta R_2, \Delta R_3, \Delta R_4$ 分别为添加蚯蚓后 CK₁, CK₂, TR₃, TR₄ 中苳去除率与相同处理条件下 A 组土样中苳去除率的变化值; $T_a^e, T_c^e, T_d^e, T_m^e, T_{pm}^e$ 代表蚯蚓活动所引起的 $T_a, T_c, T_d, T_m, T_{pm}$ 变化量, T_e 代表蚯蚓组织直接吸收作用对苳去除的贡献率. 由土壤、蚯蚓组织、植物组织中苳含量,可以推算各种修复因子在苳去除过程中的贡献率(表 2).

表2 生物、非生物因子在修复苳污染土壤过程中的贡献率(%)

Tab. 2 Contributions of biotic & abiotic factors to remediation of Pyr in soils(%)

修复因子	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
非生物损失	32.07 ± 13.2 ^{Ad} (1.17)	29.28 ± 1.14 ^{Ad} (1.93)	25.64 ± 0.89 ^{Ad} (2.28)	22.61 ± 0.83 ^{ABc} (1.51)	18.16 ± 1.04 ^{Bc} (1.16)
微生物去除	210.23 ± 4.87 ^{Ab} (14.46)	182.62 ± 4.58 ^{ABb} (27.53)	152.25 ± 3.62 ^{Bb} (37.61) [*]	134.34 ± 3.33 ^{BCb} (34.15) [*]	104.62 ± 2.81 ^{Cb} (18.47)
植物富集	15.61 ± 2.09 ^{Ad} (-0.04)	11.74 ± 1.78 ^{ABd} (-0.07)	7.69 ± 1.17 ^{Bd} (-0.11)	5.51 ± 0.83 ^{BCd} (-0.06)	3.29 ± 0.74 ^{Cd} (-0.03)
植物代谢	71.09 ± 2.29 ^{Ac} (6.94)	42.52 ± 3.17 ^{ABc} (5.71)	31.19 ± 2.89 ^{Bc} (4.06)	13.92 ± 1.57 ^{Cd} (3.18)	11.23 ± 1.31 ^{Dd} (2.22)
蚯蚓富集	1.31	0.98	0.73	0.51	0.37
植物 - 微生物交互作用	425.31 ± 17.41 ^{Aa} (41.98)	392.44 ± 16.57 ^{ABa} (68.61) [*]	369.87 ± 15.89 ^{Ba} (81.31) [*]	354.08 ± 14.78 ^{BCa} (70.82) [*]	335.48 ± 14.41 ^{Ca} (63.93) [*]

同列数据后大写字母或同行数据后小写字母表示在 5% 水平上差异显著; 括号中数据代表添加蚯蚓后该因子对苳的去除强化率, * 代表强化程度显著($p < 0.05$)

与A组相比,蚯蚓活动使土壤-植物系统(TR_4)中芘的平均去除率提高9.85%,但被蚯蚓组织积累部分仅占总添加量的0.08%,说明蚯蚓的吸收作用并不是芘被强化去除的主要途径. 试验过程中,非生物损失、植物代谢对芘去除的平均强化率仅为0.16%,0.43%,二者也不是强化去除的主要途径. 相比之下,微生物降解、植物-微生物交互作用对芘去除的贡献率变化幅度较大,前者较A组(15.68%)提高2.64%,后者较A组(37.54%)提高6.53%,分别占强化去除部分的27.98%,69.12%.

3 讨论

研究证实^[4,13-14],在植物修复土壤中持久性有机污染物的过程中,植物-微生物交互作用是土壤-植物系统去除土壤污染的主要途径. 因根系分泌物的种类、性质、生理活性等方面在不同植物间存在一定的种间差异,所产生的根际降解效应可能也不一样^[15-16]. 对污染物的忍耐性、污染环境中根系活动状态是筛选修复植物的重要参数. 本研究中,高羊茅能够在芘污染土壤中正常生长,其单株生物量、根冠比与对照组间无明显差异,说明高羊茅适合用作芘污染土壤的修复植物^[10].

72 d的试验期间,蚯蚓活动使土壤-植物系统中芘的平均去除率由60.06%上升至69.91%,强化去除率高达9.85%. 其中,27.98%的强化部分源于微生物降解;69.12%的强化部分源于植物-微生物交互作用. 说明蚯蚓在植物修复土壤芘污染过程中所表现出的强化效应主要是通过植物-微生物交互作用实现的. Schaefer等^[17]认为,蚯蚓活动不仅能提高土壤养分的有效性和周转率,蚓粪中N、P成分及其它营养盐对促进土壤微生物种群增长、提高其代谢活性也具有重要作用. 肠道中假单胞菌(*Pseudomonas*)、乳杆菌(*Acidobacterium*)以及青霉菌(*Penicillium*)、毛霉菌(*Mucor*)、曲霉菌(*Aspergillus*)对降解PAHs则具有明显的促进作用^[18-19]. 本研究也显示:中度污染(79.86 mg·kg⁻¹)时蚯蚓活动对芘去除的强化效果最好(12.60%). 这可能与低污染环境中污染物的生物可利用性较低^[16]、重污染时毒害作用过强、微生物活性受抑制^[11]有关.

尽管蚯蚓组织积累的芘相当有限(0.08%),但蚯蚓活动能改善土壤的理化性质、生态功能^[5],

尤其是土壤中通气状况的改善^[20]对促进土壤-植物系统中芘的生物降解至关重要. Mallakin^[21]认为,对于具有较稳定 π 键结构的PAHs分子而言,充足的氧气供给不仅能促进PAHs的起始氧化过程,也能间接地促进土壤中好氧微生物的生长、强化其降解活性. 此外,蚯蚓活动对高羊茅生长的促进,尤其是对其根系生长的促进作用,对进一步扩大根际效应范围、强化植物-微生物交互作用也具有十分重要的作用.

值得注意的是,与相同污染水平下土壤-植物系统相比,蚯蚓活动的环境中,被植物组织积累的芘浓度均不同程度地有所降低,重污染(321.42 mg·kg⁻¹)时的积累量明显低于A组($p < 0.05$);植物积累对芘去除的贡献率也略小于A组,这可能与蚯蚓活动促进了土壤-植物系统对芘的去除、残留浓度较低、可供根系吸收利用的芘资源相对较少有关. 该现象也说明,蚯蚓活动能在一定程度上减少植物组织对污染土壤中芘的积累、降低其生态风险.

4 结论

在20.24~321.42 mg·kg⁻¹芘污染土壤中,蚯蚓活动促进了修复植物高羊茅的生长,提高污染土壤的修复效果:72 d后,土壤-植物系统中芘的平均去除率(69.91%)比无蚯蚓活动时(60.06%)提高9.85%,中度污染(79.86 mg·kg⁻¹)时强化效应最显著(12.60%);但被修复植物所积累的芘较相似污染水平无蚯蚓活动时却减少. 所有修复因子中,植物-微生物交互作用最为显著:对芘去除的贡献率(44.08%)较无蚯蚓时提高6.53%,占总强化部分的69.12%. 说明蚯蚓活动对植物修复的强化作用主要是通过植物-微生物交互作用实现的.

参考文献:

- [1] LI X H, MA L L, LIU S F, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon in urban soil from Beijing, China[J]. J Environ Sci - China, 2006, 18(5): 944-950.
- [2] MANOLI E, SAMARA C. Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis [J]. Trends Anal Chem, 1999, 18(6): 417-428.
- [3] OLESZCZUK P, BARAN S. Polyaromatic hydrocarbons in rhizosphere soil of different plants: Effect of soil properties, plant species, and intensity of anthropogenic pressure [J]. Commun Soil Sci Plan Anal, 2007, 38:

- 171-188.
- [4] CHILD R, MILLER C D, LIANG Y, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon – degrading Mycobacterium isolates; their association with plant roots [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2007, 75 (3): 655-663.
- [5] CONTRERAS – RAMOS S M, ÁLVAREZ – BERNAL D, Dendooven L. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil amended with biosolid or vermicompost in the presence of earthworms (*Eisenia fetida*) [J]. Soil Biol Biochem, 2008, 40: 1 954-1 959.
- [6] ERIKSEN – HAMEL N S, Whalen J K. Earthworms, soil mineral nitrogen and forage production in grass – based hayfields [J]. Soil Biol Biochem, 2008, 40: 1 004-1 010.
- [7] MALLAKIN A, DIXON D G, GREENBERG B M. Pathway of anthracene modification under simulated solar radiation [J]. Chemosphere, 2000, 40: 1 411-1 435.
- [8] BRAUNER J S, WIDDOWSON M A, NOVAK J T, et al. Biodegradation of a PAH mixture by native subsurface microbiota [J]. Bioremediation, 2002, 6 (1): 9-24.
- [9] JOHNSON D L, JONES K C, LANGDON C J, et al. Temporal changes in earthworm availability and extractability of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil [J]. Soil Biol Biochem, 2002, 34: 1 363-1 370.
- [10] GAO Y Z, ZHU L Z. Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils [J]. Chemosphere, 2004, 55: 1 169-1 178.
- [11] BONNARD M, EOM I C, MOREL J L, et al. Genotoxic and reproductive effects of an industrially contaminated soil on the earthworm *Eisenia fetida* [J]. Environ Mol Mutagen, 2009, 50(1): 60-67.
- [12] PAN S W, WEI S Q, YUAN X, et al. The removal and remediation of phenanthrene and pyrene in soil by mixed cropping of alfalfa and rape [J]. Agricultural Sciences in China, 2008, 7 (11): 1 355-1 364.
- [13] CHEN Y C, BANKS M K, SCHWAB A P. Pyrene degradation in the rhizosphere of tall fescue (*Festuca arundinacea*) and switchgrass (*Panicum virgatum* L.) [J]. Environ Sci Technol, 2003, 37: 5 778-5 782.
- [14] LISTE H H, ALEXANDER M. Plant – promoted pyrene degradation in soil [J]. Chemosphere, 2000, 40: 7-10.
- [15] YI H, CROWLEY D E. Biostimulation of PAH degradation with plants containing high concentrations of linoleic acid [J]. Environ Sci Technol, 2007, 41(12): 4 382-4 388.
- [16] SICILIANO S D, GERMIDA J J, BANKS K, et al. Changes in microbial community composition and function during a polyaromatic hydrocarbon phytoremediation field trial [J]. Appl Environ Micro, 2003, 69: 483-489.
- [17] SCHAEFER M, PETERSEN S O, FILSER J. Effects of *Lumbricus terrestris*, *Allolobophora cholortica* and *Eisenia fetida* on microbial community dynamics in oil – contaminated soil [J]. Soil Biol Biochem, 2005, 37: 2 065-2 076.
- [18] PIZL V, NOVÁKOVÁ A. Interactions between microfungi and *Eisenia andrei* (Oligochaeta) during cattle manure vermicomposting [J]. Pedobiologia, 2003, 7: 895-899.
- [19] SINGLETON D R, HENDRIX B F, COLEMAN D C, et al. Identification of uncultured bacteria tightly associated with the intestine of the earthworm *Lumbricus rubellus* (Lumbricidae, Oligochaeta) [J]. Soil Biol Biochem, 2003, 35: 1 547-1 555.
- [20] EIJSACKERS H, BRUGGEMAN J, HARMSSEN J, et al. Colonization of PAH – contaminated dredged sediment by earthworms [J]. Appl Soil Ecol, 2009, 43(3): 216-225.
- [21] MALLAKIN A, DIXON D G, GREENBERG B M. Pathway of anthracene modification under simulated solar radiation [J]. Chemosphere, 2000, 40: 1 411-1 435.

A study on the contribution of earthworm inoculation to the remediation of the pyrene – polluted soil by *Festuca arundinacea*

PAN Sheng-wang^{1,2}, YUAN Xin^{2,3}, WEI Shi-qiang²

(1. Environment Science and Engineering Institute, Chengdu University, Chengdu 610106, China;

2. College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China;

3. Department of Barracks Management & Environment Engineering, Logistical Engineering University, Chongqing 400016, China)

Abstract: To investigate the contribution of the soil macrofauna on the dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rhizosphere soil, pot experiments were carried out to study the effect of earthworms (*Pheretima* sp.) working on pyrene-polluted soil being remedied by *Festuca arundinacea*. The results showed that earthworms' activities promoted the roots growth of *Festuca arundinacea* in soils (with Pyr concentrations ranging from 20.24 to 321.42 mg · kg⁻¹), and the root/shoot ratio was apparently increased. Seventy-two days after earthworms were introduced, the Pyr in the soils with the plants was 69.91% removed, which was 9.85% greater than that was without earthworms, and 50.67% greater than in non-vegetated soils without earthworms. Among all possible pathways, the plant-microbial interaction was proved to be most efficient in Pyr degradation, and it accounted for 44.08% of the total removal with earthworms' activities, which was 6.53% higher than the soils without earthworms. Besides the accumulation of Pyr in grass was found to be reduced by incubation of earthworm in soils, thus the ecological risks of Pyr could be relieved. It was suggested that introducing earthworms into the soil-plant system could be a feasible way for establishing high efficient phytoremediation of soil polluted by PAHs.

Key words: phytoremediation; pyrene; *Festuca arundinacea*; earthworms; soil

* * * * *

(上接第 586 页)

- [9] WILLIAMS J R, CHAI D P, BLOXTON J D, et al. Synthesis of the aglycone of 26-O-deacetyl pavoninin-5[J]. Tetrahedron, 2003, 59:3 183-3 188.
- [10] IZABELLA J, KATRYNSKI K S, MORZYCKI J W. Further study on oxidation of pseudo-sapogenins[J]. Arkivoc, 2002 (IX):46-54.
- [11] KAUFMANN S T, ROSENKRANZ G. Steroidal sapogenins. I. Transformation of kryptogenin into diosgenin and pseudodiosgenin[J]. J Am Chem Soc, 1948, 70:3 502-3 505.
- [12] NUSSBAUM A L, SANDOVAL A, ROSENKRANZ G, et al. Steroidal sapogenins. X VIII. 1 Experiments in the 5,6-dihydrokryptogenin series[J]. J Org Chem, 1952, 17(3):426-430.

Study on the selective ring-opening reaction of (Iso)spirostanol saponins

CHENG Shui-lian^{1,2}, LEI Ze^{1,3}, HU Da-wei¹, JIANG Ming-zhong¹,
ZHU Zheng-hui¹, WEN Xiao-Jiang³, MU Xiao-yun³, ZHU Hong-you^{1,3}

- (1. Key Laboratory of Medicinal Chemistry for Natural Resource (Yunnan University) Ministry of Education, Kunming 650091, China;
2. National Quality Supervision and Inspection Center, Yiyang 413000, China;
3. Kunming Yunnan University Medical Development Co., Ltd, Kunming 650222, China)

Abstract: The highly selective conversion of the side chain in diosgenin and tigogenin into 26-chloro-16 β -acetoxy-22-one-framework was achieved in good yields using the new E/F ring-opening system, namely acetyl chloride and CH₂Cl₂ in the presence of catalytic amount of anhydrous AlCl₃. The corresponding ring-opened products have been prepared and characterized. Mechanism has been proposed for this new reaction. These ring-opened products were particularly suitable as new starting material for synthesizing bioactive steroids with side chain, because of having the intact skeleton of cholesterol alkanes and several functional groups at the positions of C16, C22 and C26.

Key words: diosgenin; tigogenin; 26-chloro-16 β -acetoxy-22-one-framework; E/F ring-opened reaction