

苯并[a] 芘污染土壤的丛枝菌根真菌强化植物 修复作用研究*

刘世亮 骆永明[†] 竟强 李华 吴龙华 邢维芹 宋静 曹志洪

(中国科学院南京土壤研究所土壤与环境生物修复研究中心, 南京 210008)

陶澍

(北京大学环境学院, 北京 100871)

摘要 研究了种植紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.) 在接种和不接种菌根真菌(*Glomus californicum* L.) 情况下对土壤中苯并[a] 芘(B[a]P) 的降解动态。历经 90 天的温室盆栽试验表明, 较高浓度(100 mg kg⁻¹) B[a]P 能降低菌根真菌对植物根的侵染率。种植紫花苜蓿和接种菌根真菌能促进土壤中可提取态 B[a]P 的降解, 在接种情况下, 有植物时对三种浓度(1 mg kg⁻¹, 10 mg kg⁻¹, 100 mg kg⁻¹) B[a]P 的降解率分别达 86.2%、86.6%、57.0%; 而没有植物时 B[a]P 的降解率为 53.5%、53.0%、33.0%。不接种菌根真菌时的降解率比接种菌根真菌的低得多, 不接种菌根真菌时, 有植物的 B[a]P 降解率分别达 75.9%、77.7%、53.4%; 而不种植物的降解率分别为 54.9%、52.6%、34.1%。低、中浓度(1 mg kg⁻¹, 10 mg kg⁻¹) 两处理的降解率明显地高于高浓度处理($p < 0.05$)。B[a]P 添加对土壤中多酚氧化酶活性有较大的影响, 特别是高浓度 B[a]P 处理土壤的酶活性明显地低于其它三个处理, 接种菌根真菌能够提高土壤中的酶活性, 从而促进了土壤中 B[a]P 的降解。

关键词 菌根真菌; 紫花苜蓿; 苯并[a] 芘; 降解率; 多酚氧化酶

中图分类号 X753

文献标识码 A

苯并[a] 芘(B[a]P) 是世界公认的强致癌性多环芳烃污染物^[1]。它常存在于石油污染物中, 通过石油开采与运输过程的泄漏、石油污染水灌溉及大气飘尘的沉降等途径进入土壤, 造成土壤污染。20 世纪 80 年代初期, 谢重阁等^[2]报道我国石油污灌区土壤中 B[a]P 的含量高达 29~30 $\mu\text{g g}^{-1}$ 。刘期松等^[3]观察到清灌区土壤中的 B[a]P < 10 ng g^{-1} , 而污灌后土壤 B[a]P 则从 100~500 ng g^{-1} 提高至 2 444~7 000 ng g^{-1} , 污染土壤 B[a]P 的浓度可高出清洁土壤几十倍, 甚至几百倍。严重的 B[a]P 污染土壤, 将会给生态系统和人体健康带来危害。

近年来, 国内外对 B[a]P 污染土壤的微生物降解有较多的报道^[4-7]。利用植物直接或间接地吸收、同化或降解土壤 PAHs 污染的修复研究也有报道^[8]。Binet 等^[9]研究表明, 黑麦草根际对降解包括五环和六环的大部分 PAHs 有很大的潜力, 特别是

对加入的 PAHs 并进行老化处理的土壤中尤为明显。Reilley 等^[10]利用酥油草、苜蓿、苏丹草和三叶草等 4 种植物对石油污染土壤中 PAHs 的降解进行了研究, ¹⁴C 示踪发现在种植植物时蒽和芘的降解率都有显著提高; 他们认为, 这一方面是由于根际作用增加了微生物降解菌的数量, 另一方面是因为植物分泌有机物为微生物共代谢提供了基质底物。

丛枝菌根真菌在自然界中与大多数植物存在共生关系, 在植物吸收水分、磷和其它营养元素时起着重要的作用^[11], 当植物处于环境胁迫时如水分或盐分胁迫时, 丛枝菌根真菌将显得特别重要^[12]。丛枝菌根真菌在改善土壤颗粒, 提高土壤结构性方面也有作用^[15]。在重金属污染的土壤中, 丛枝菌根真菌能保护植物免受重金属的毒害^[13], 应用丛枝菌根真菌修复重金属污染土壤的可能性已有研究^[14]。菌根真菌对土壤中多环芳烃可能降解机制有三点:

* 国家自然科学基金重点项目(40031010)、国家重点基础研究发展规划项目(2002CB410809)和中国科学院南京土壤研究所土壤与环境联合开放研究实验室项目资助

[†] 通讯作者: ymluo@issas.ac.cn

作者简介: 刘世亮(1970~), 男, 中国科学院南京土壤研究所博士生, 主要从事污染土壤的生物修复研究

收稿日期: 2003-04-21; 收到修改稿日期: 2003-10-31

(1) 直接分解, 菌根真菌和其它微生物一样都是异养性微生物, 可以把多环芳烃作为碳源或能源加以利用; (2) 共代谢降解, 多环芳烃是大分子有机污染物, 菌根真菌可以利用寄主植物分泌的小分子有机物作为共代谢底物对多环芳烃进行共代谢降解; (3) 菌根根际对污染物的降解, 2000 年 Jussi 等^[16]提出了如下的菌根际假说: 在自然界木质素富集的森林腐殖土或石油碳氢化合物污染的土壤中, 容易利用的富碳基质分泌到根际, 特别是分泌到广泛存在的根-真菌形成的菌根根际, 使细菌群利用碳源的能力加强, 驱动了石油污染土壤的矿物油浓度的降低。

但是, 对于有机污染物如 PAHs 与丛枝菌根真菌侵染之间的关系, 以及丛枝菌根真菌在根际中降解 PAHs 的作用等方面的研究还相当缺乏^[17], 据此, 我们选择具有强致癌性、在环境中难降解的多环芳烃苯并[a]芘, 通过盆栽试验研究了丛枝菌根对多环芳烃污染土壤的植物修复作用, 并从酶活性变化的角度探讨了其根际降解修复的机理, 旨在为有机污染土壤的植物-微生物协同修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试土壤 供试土壤为采自中国科学院南京土壤研究所常熟农业生态试验站的潜水水耕人为土, 俗名为乌栅土, 其理化性质如下: 有机质 36.3 g kg^{-1} , 全 N 2.25 g kg^{-1} , 全 P 0.75 g kg^{-1} , 全 K 17.4 g kg^{-1} , 游离 Fe_2O_3 16.3 g kg^{-1} , 阳离子交换量 $21.6 \text{ cmol kg}^{-1}$, pH(H₂O) 7.8, 并含含量的 CaCO_3 。土壤风干后过 2 mm 尼龙筛, 备用。

1.1.2 供试植物 紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)。

1.1.3 供试丛枝菌根真菌 苏格兰球囊霉(*Glomus caledonium* L.), 由中国科学院南京土壤研究所微生物研究室提供, 是从河南封丘黄潮土中分离所得, 菌剂为以绿豆(*Phaseolus radiatus* L.) 为宿主植物扩大培养的孢子-菌丝-根系-土壤混合物。

1.1.4 化学品 苯并[a]芘(Benzo[a] Pyrene, 纯度 $\geq 98\%$), 为美国 Sigma 公司产品。

1.2 研究与分析方法

1.2.1 盆栽试验 先将土壤在 121°C 的高温下灭菌 40 min, 以杀死土壤中的真菌菌丝和真菌孢子。试验设计 4 个 B[a]P 浓度处理, 其浓度分别为 0、1、10、100 mg kg^{-1} (分别表示对照、低、中、高 3 种处理浓度)。先用丙酮溶解所需的 B[a]P 量, 加入到少

部分试验土壤中, 待丙酮完全挥发后(1~2 d), 逐级扩大地将其拌入全部试验土壤中, 充分搅匀, 放置 1 周后装盆。每盆装土 150 g, 先向盆中装 90 g 供试土壤, 在土壤表面均匀洒入 5% 的 AM 菌根菌剂, 然后再在上面装 60 g 土壤。对于菌剂对照处理按相同的方法接入相同剂量的灭菌菌剂。装盆后称重加水使土壤含水量为田间持水量的 70%, 过夜后在总盆数一半的盆中播种经 30% H_2O_2 表面消毒的紫花苜蓿种子 15 粒, 出苗后在三叶期定苗为 10 株, 盆栽试验在控温生长室中进行, 土壤水分维持在田间持水量的 70%, 生长室内日间温度为 25°C , 夜间温度 20°C , 光照强度为 4 500~7 300 lx。生长过程中在 30、40、50、60、90 d 时分别取样, 同一浓度处理每次取 12 盆, 其中 6 盆为接种丛枝菌根真菌(3 盆种植苜蓿, 3 盆不种植物), 6 盆为不接种丛枝菌根真菌(3 盆种植苜蓿, 3 盆不种植物)。土壤风干后去除植物根并过 20 目筛后待分析。

1.2.2 土壤中可提取态 B[a]P 浓度的测定 采用超声提取, HPLC 荧光检测器进行测定^[18]。

1.2.3 B[a]P 测定方法回收率试验步骤 称取 5.0 g 土壤置于 25 ml 玻璃离心管中, 加入配制好的 B[a]P 丙酮溶液, 同时进行本底空白试验, 重复 4 次。将上述样品于暗处放置, 待有机溶剂挥发至干后进行样品的提取, B[a]P 的回收率按 1.2.2 中的方法测定。

1.2.4 土壤多酚氧化酶活性的测定 参照关松荫编著的《土壤酶及其研究法》中测定方法进行测定^[19]。

1.2.5 菌根侵染率测定 采用曲利本兰染色法进行测定^[20]。用自来水把新鲜植物根上的土壤冲洗干净后, 用 10% KOH 溶液浸没根样, 隔水煮沸 1 h, 倒去 KOH 溶液, 用水慢慢冲洗后用 1% HCl 浸 3~4 min 以中和 KOH, 然后加入曲利本兰染色液隔水煮沸染色 15 min, 倒去染色液后用自来水冲洗后于显微镜进行观察, 并对侵染率进行计算。

1.2.6 方法回收率试验步骤 称取 5.0 g 土壤置于 25 ml 玻璃离心管中, 加入配制好的 B[a]P 丙酮溶液, 同时进行本底空白试验, 重复 4 次。将上述样品于暗处放置, 待有机溶剂挥发至干后进行样品的提取, B[a]P 的回收率按 1.2.2 中的提取步骤进行, 并用同种方法测定。

1.3 数据处理

本文结果为 3 次重复的平均值, 数据经方差分析, 用新复极差法作多重比较。

2 结果与讨论

2.1 方法回收率结果

为了评价方法的准确度, 选用了试验用土壤, 按上述方法测定土壤本底以及加入 B[a]P 丙酮溶液后土壤中 B[a]P 的含量。方法回收率实验结果表明, 土壤样品 B[a]P 的回收率为 $86.90\% \pm 2.92\%$, 所以此方法适合 B[a]P 测定的要求。

2.2 不同浓度 B[a]P 对丛枝菌根真菌侵染率的影响

由于不接种菌根的土壤与接种菌根的土壤都进行了高温灭菌处理, 不接种处理土壤中加入的菌根菌剂也经过高温灭菌, 所以不接种处理的菌根侵染率为 $0^{[12]}$ 。不同浓度的 B[a]P 处理中, 菌根真菌对紫花苜蓿根的侵染率不同。

由图 1 可见, 在 90 d 的动态取样中, 总体上低浓度 B[a]P (1 mg kg^{-1}) 处理下, 菌根真菌对紫花苜蓿根系的侵染率与 CK 没有显著差别, 中浓度 B[a]P (10 mg kg^{-1}) 处理的侵染率在苜蓿生长的前期 (50 d 以前) 明显地低于 CK, 高浓度 (100 mg kg^{-1}) B[a]P 处理与其它三个处理的菌根侵染率之间存在显著差

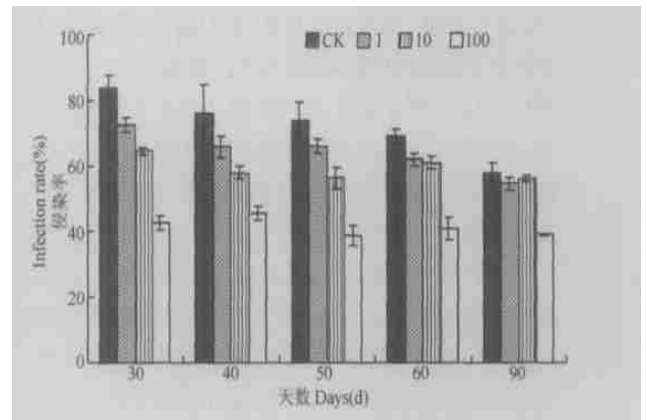


图 1 不同 B[a]P 浓度对菌根侵染率的影响

Fig. 1 The frequency (%) of AM fungi inoculation for alfalfa roots at B[a]P concentration of 0 (CK), 1 mg kg^{-1} (1), 10 mg kg^{-1} (10), and 100 mg kg^{-1} (100)

异 ($p < 0.05$), 说明高浓度的 B[a]P 对菌根侵染率的影响很大, 即对菌根真菌产生了毒害作用, 从而可能影响菌根真菌对 B[a]P 的降解作用。

2.3 土壤中可提取态 B[a]P 浓度的动态变化

为了更清晰地看出不接种与接种 AM 真菌土壤中可提取态 B[a]P 浓度的动态变化, 现分别从图 2 和图 3 表示和讨论。

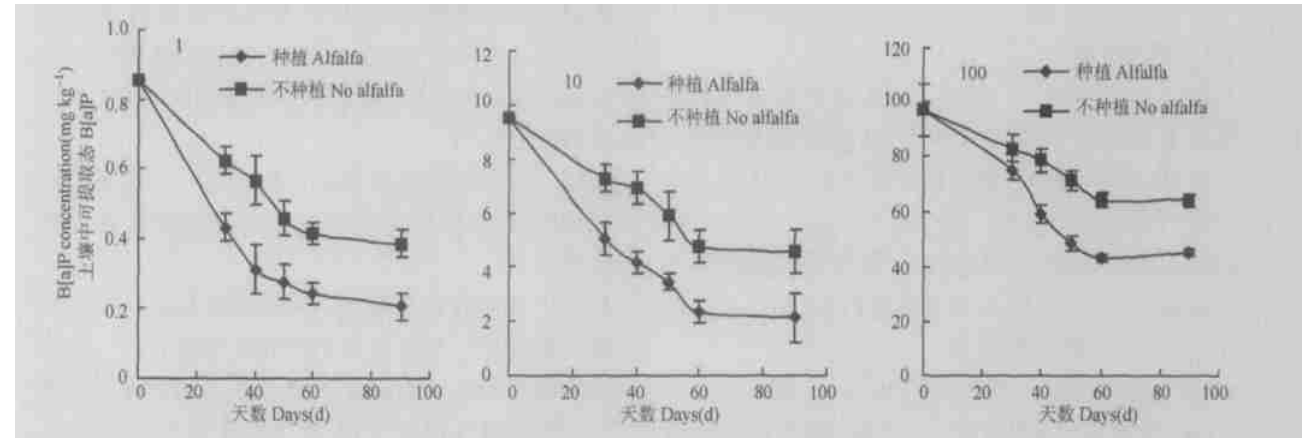


图 2 不接种菌根真菌土壤中 B[a]P 的动态变化

Fig. 2 The dynamics of extractable B[a]P in soils without AM fungi inoculation for plots of alfalfa and no alfalfa at B[a]P concentration of 1 mg kg^{-1} (1), 10 mg kg^{-1} (10), and 100 mg kg^{-1} (100)

2.3.1 不接种菌根真菌土壤中可提取态 B[a]P 浓度的动态变化 如图 2 所示, 随着时间延长土壤中 B[a]P 的可提取态浓度逐渐降低, 3 个浓度处理都是在 30 d 内降低迅速, 随后降低速率变慢, 趋于平缓。种植紫花苜蓿促进了土壤中 B[a]P 可提取态浓度的下降。在 3 个浓度处理水平下, 有植物处理时 B[a]P 可提取态浓度的降低明显高于无植物的 ($p < 0.05$)。总体上, 在低、中、高 3 种浓度 B[a]P 处

理下, 90 d 盆栽试验内, 有植物时 B[a]P 可提取态浓度降低率分别达 75.9%、77.7%、53.4%; 而不种植物时降低率分别为 54.9%、52.6%、34.1%。

2.3.2 接种 AM 菌根真菌土壤中可提取态 B[a]P 浓度的动态变化 如图 3 所示, 接种菌根真菌的情况下, B[a]P 可提取态浓度下降的动态变化趋势与不接种菌根真菌处理的趋大致相同, 但是总体来说, 在 3 个浓度 B[a]P 处理水平下, 有植物处理时

B[a]P可提取态浓度的降低率明显高于无植物的 ($p < 0.05$)。总体上, 在低、中、高 3 种浓度处理下的 90 d 盆栽试验期内, 种植植物处理时 B[a]P 可提取

态浓度的降低率分别达 86.2%、86.6%、57.0%; 而没有植物时为 53.5%、53.0%、33.0%。

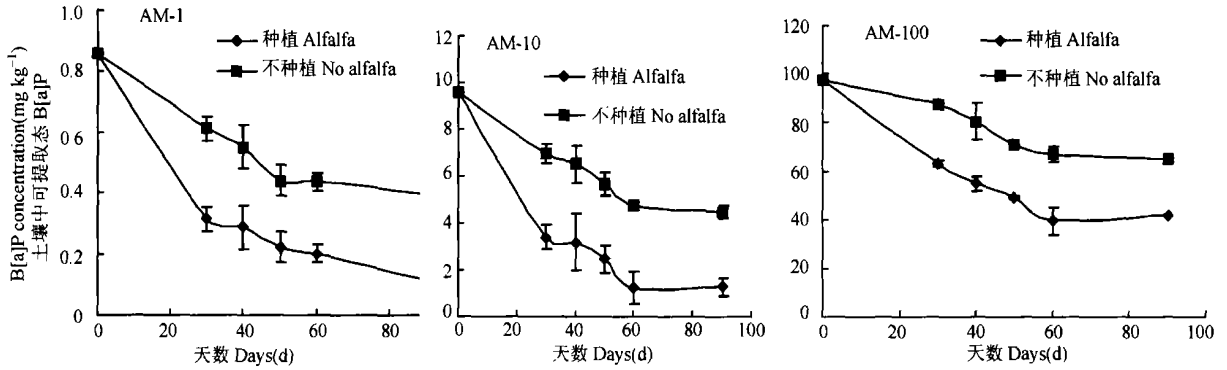


图 3 接种菌根真菌土壤中 B[a]P 浓度的动态变化

Fig. 3 The dynamics of extractable B[a]P in soils inoculated with AM fungi for plots of alfalfa and no alfalfa at B[a]P concentration of 1 mg kg^{-1} (AM- 1), 10 mg kg^{-1} (AM- 10), and 100 mg kg^{-1} (AM- 100)

比较图 2 和图 3 可见, 对不种植物的处理, 接种与不接种时降低率在相同 B[a]P 浓度处理下没有区别, 说明在没有寄主植物影响下, 接入菌根真菌是不起作用的, 这说明了菌根菌只能在有寄主的情况下才能起作用。从图 2、图 3 还可以看出, 无论是接种还是不接种菌根真菌, 有植物还是没有种植植物, 低、中两处理土壤中 B[a]P 可提取态的降低率明显地高于高浓度处理 ($p < 0.05$)。这可能是由于高浓度 B[a]P 对土壤中菌根真菌产生的毒害作用 (图 1), 从而影响了 B[a]P 在土壤中的降解之故。

2.3.3 植物及菌根真菌对土壤中 B[a]P 的降解作

用 无植物的土壤中可提取 B[a]P 的浓度减去有植物的土壤中 B[a]P 的可提取态浓度的差值 (表 1) 反映了植物本身对根际 B[a]P 降解的强化作用。由表 1 可见, 这种强化作用的强度随着土壤中所添加的 B[a]P 浓度的升高而增加。同时可以看出, 同一浓度下在接种 AM 菌根真菌时这一差值明显地高于不接种 AM 菌根真菌的情况, 说明在接种 AM 菌根真菌的情况下, 菌根化的植物所起的作用比非菌根化的植物的作用要强的多 (见表 2)。这些结果可以得出接种菌根真菌对根际土壤中 B[a]P 的降解又进一步得到了强化。

表 1 B[a]P 处理下接种与不接种的无植物与有植物土壤之间 B[a]P 浓度差值

Table 1 Differences in extractable B[a]P in soils between alfalfa and no alfalfa plots with and without AM fungi inoculation

B[a]P 加入量 Amount of B[a]P added to soils (mg kg^{-1})	菌根真菌 AM fungi	B[a]P 浓度差值 Differences in extractable B[a]P (mg kg^{-1})					
		0 d ³⁾	30 d ³⁾	40 d ³⁾	50 d ³⁾	60 d ³⁾	90 d ³⁾
1	不接种 ¹⁾	0	0.19	0.26	0.18	0.17	0.18
	接种 ²⁾	0	0.30	0.26	0.22	0.24	0.28
10	不接种 ¹⁾	0	2.24	2.71	2.45	2.43	2.40
	接种 ²⁾	0	3.53	3.32	3.20	3.47	3.20
100	不接种 ¹⁾	0	8.11	19.47	22.96	21.13	18.73
	接种 ²⁾	0	24.63	25.33	26.60	27.42	23.33

1) 土壤中不接种 AM 菌根真菌 no AM fungi inoculation; 2) 土壤中接种 AM 菌根真菌 with AM fungi inoculation; 3) 取样时间 Sample time

表2 接种根与不接种根种植苜蓿土壤中 B[a]P 的差值

Table 2 Differences in extractable B[a]P in soils for alfalfa plots with and without AM fungi inoculation

B[a]P 加入量 Amount of B[a]P added to soils (mg kg ⁻¹)	B[a]P 浓度差值 Differences in extractable B[a]P (mg kg ⁻¹)					
	0 d ¹⁾	30 d ¹⁾	40 d ¹⁾	50 d ¹⁾	60 d ¹⁾	90 d ¹⁾
1	0	0.11	0.01	0.04	0.06	0.10
10	0	1.29	0.61	0.75	1.05	0.81
100	0	16.52	5.87	3.64	6.28	4.60

1) 取样时间 Sample time

2.4 土壤多酚氧化酶活性的动态变化

2.4.1 不接种菌根真菌土壤中多酚氧化酶活性的变化 土壤中酶活性的变化可以反映土壤中微生物和植物根系的生物活性。多酚氧化酶是土壤中重要的氧化还原酶,它参与芳香族化合物的分解转化过程。图4表明不接种 AM 菌根真菌时土壤中多酚氧化酶活性的动态变化。经预备试验证明,由于盆栽土壤在种植前都经过高温灭菌,在试验开始时土壤中多酚氧化酶的酶活性为0。但是随着土壤中植物的生长及土壤微生物数量的增加,土壤中多酚氧化酶活性逐渐增加,但由于土壤中所添加的污染物 B[a]P 的浓度不同,其对植物及土壤微生物的影响程度不同,所以土壤中多酚氧化酶活性的变化也存在明显地差别。可以看出,在试验进行到30天至40天这10天时间内,CK和1 mg kg⁻¹ B[a]P 浓度处理土壤中的多酚氧化酶活性明显地高于10 mg kg⁻¹和100 mg kg⁻¹ B[a]P 浓度处理土壤中的多酚氧化酶活性,这说明植物生长前期高浓度 B[a]P 对植物和微生物产生较强的毒害作用,土壤中多酚氧化酶活性低。在植物生长的40天到60天内,这种规律不明显,但总体来说,100 mg kg⁻¹ B[a]P 处理土壤中多酚氧化酶活性要低于其它三个浓度处理。在第90天取样时这种现象更加明显,即100 mg kg⁻¹ B[a]P 浓度处理土壤中多酚氧化酶活性明显地低于其它三种处理。说明高浓度 B[a]P 处理抑制了土壤中多酚氧化酶的活性,从而减弱了根际土壤中 B[a]P 的降解作用(图2、图3)。

2.4.2 接种菌根真菌土壤中多酚氧化酶活性的变化 由图5可见,接种菌根真菌后,土壤中多酚氧化酶活性的动态变化与不接种 AM 菌根菌的变化趋势呈相似之处,但各处理间酶活性的变化有较大的差别。特别是在第30天取样时,100 mg kg⁻¹ B[a]P 浓度处理的多酚氧化酶活性最高,但是随着时间的延长,其活性的降低比较明显,虽然低浓度 B[a]P

(1 mg kg⁻¹) 处理土壤中多酚氧化酶活性在开始时较低,但后来与对照相似快速增加,特别是在第90天取样时低浓度 B[a]P 处理土壤中多酚氧化酶活性都明显地高于高浓度(100 mg kg⁻¹) B[a]P 处理土壤中的多酚氧化酶活性,不接种情况下的结果是一致的。

但从图4与图5比较看出,接种 AM 菌根真菌

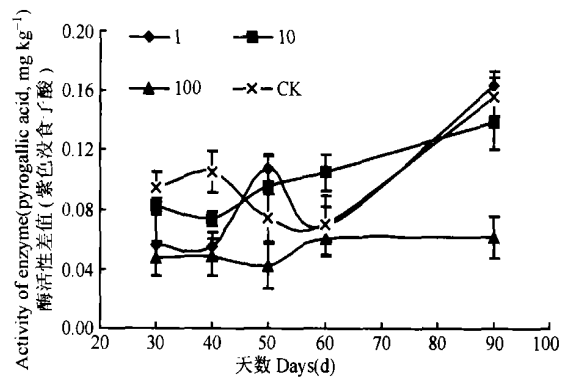


图4 不接种菌根真菌土壤中多酚氧化酶差值的动态变化
Fig 4 The dynamics of differences in polyphenol oxidase in soils without AM fungi inoculation for alfalfa and no alfalfa plots at B[a]P concentration of 0 (CK), 1 mg kg⁻¹ (1), 10 mg kg⁻¹ (10), and 100 mg kg⁻¹ (100)

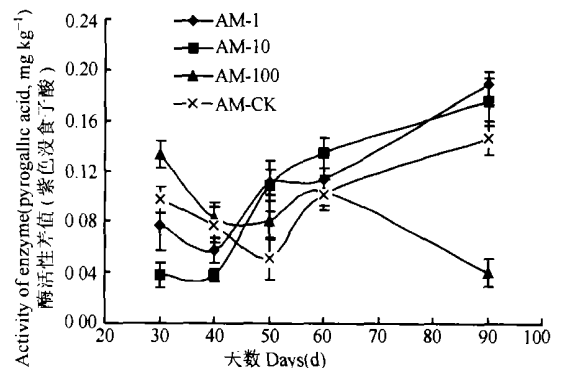


图5 接种菌根真菌土壤中多酚氧化酶差值的动态变化
Fig 5 The dynamics of differences in polyphenol oxidase in soils with AM fungi inoculation for alfalfa and no alfalfa treatments at B[a]P concentration of 0 (AM-CK), 1 mg kg⁻¹ (AM-1), 10 mg kg⁻¹ (AM-10), and 100 mg kg⁻¹ (AM-100)

后,在每次取样时土壤中多酚氧化酶活性都比不接种 AM 菌根真菌土壤中多酚氧化酶活性要高,说明接种 AM 菌根真菌能提高土壤中多酚氧化酶的活性,从而对土壤中 B[a]P 的降解起到强化作用(表 2)。

3 结 论

B[a]P 的添加对菌根侵染率有较明显地影响,特别是高浓度(100 mg kg^{-1}) B[a]P 处理的菌根侵染率明显地低于其它处理,说明高浓度 B[a]P 对土壤中菌根真菌起到毒害作用。

高浓度(100 mg kg^{-1}) B[a]P 处理显著降低苜蓿根际土壤的多酚氧化酶活性,说明 B[a]P 污染对土壤中能降解多环芳烃的酶有毒害作用。种植紫花苜蓿和接种菌根真菌能够提高土壤中的多酚氧化酶活性,从而加强了苜蓿根际土壤中 B[a]P 的降解修复作用。

紫花苜蓿和接种菌根真菌能促进土壤中可提取态 B[a]P 的减少。有植物处理中可提取态的 B[a]P 降解率在试验中明显高于无植物的($p < 0.05$)。不接菌根真菌的降解率要比接菌根真菌的要低的多。低、中两处理的降解率明显地高于高浓度处理($p < 0.05$)。

参 考 文 献

[1] Albert L J, Naidu R. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: A review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2000, 45: 57~ 88

[2] 谢重阁. 土壤-植物系统污染生态研究. 北京: 中国科学技术出版社, 1986. 413~ 426. Xie C G. Study on Pollution Ecology in Soil-plant System (In Chinese). Beijing: China Science and Technology Press, 1986. 413~ 426

[3] 刘期松, 张春桂, 杨桂芬, 等. 真菌产黄青霉对致癌物质苯并[a]芘的氧化. *环境科学学报*, 1983, 3(1): 36~ 43. Liu Q S, Zhang C G, Yang G F, *et al.* Oxidation of benzo[a]pyrene as a potent carcinogen by *Penicillium chrysogenum* (In Chinese). *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1983, 3(1): 36~ 43

[4] Field J A, Jong E D, Costa G F, *et al.* Biodegradation of PAH by new isolates of white rot fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58(7): 2 219~ 2 226

[5] Charlotte K, Gejlsbjerg B, Ekelund F, *et al.* Effects of sludge amendment on mineralization of pyrene and microorganisms in sludge and soil. *Chemosphere*, 2001, 45: 625~ 634

[6] 巩宗强, 李培军, 王新, 等. 真菌对土壤中苯并[a]芘的共代谢降解. *环境科学研究*, 2001, 14(6): 36~ 39. Gong Z Q, Li P

J, Wang X, *et al.* Cometabolic degradation of benzo[a]pyrene in the soil by the introduced fungi (In Chinese). *Research of Environmental Science*, 2001, 14(6): 36~ 39

[7] 李培军, 许华夏, 张春桂, 等. 污染土壤中苯并[a]芘的微生物降解. *环境污染治理技术与设备*, 2001, 2(5): 37~ 40. Li P J, Xu H X, Zhang C G, *et al.* The degradation of B[a]P by microorganism in contaminated soil (In Chinese). *Thechniques and Equipment for Environmental Pollution Control*, 2001, 2(5): 37~ 40

[8] Paquin D, Ogoshi R, Campbell S, *et al.* Bench-scale phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated marine sediment with tropical plants. *International Journal of Phytoremediation*, 2002, 4(4): 297~ 313

[9] Binet P, Portal J M, Leyval C. Dissipation of 3~ 6-ring Polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 2 011~ 2 017

[10] Reilley K A, Banks M K, Schwab A P. Dissipation of PAHs in the rhizosphere. *Journal of Environmental Quality*, 1996, 25: 212~ 219

[11] Mosse C. Advances in the study of vesicular arbuscular mycorrhiza. *Phytopathology*, 1973, 11: 171~ 196

[12] Liao J P, Lin X G, Cao Z H, *et al.* Interactions between arbuscular mycorrhizae and heavy metals under sand culture experiment. *Chemosphere*, 2003, 50: 847~ 853

[13] Leyval C, Turnau K, Haselwandter K. Interactions between heavy metals and mycorrhizal fungi in polluted soils: Physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhizae*, 1997, 7: 139~ 153

[14] Chen B D, Li X L, Tao H Q, *et al.* The role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc. *Chemosphere*, 2003, 50: 839~ 846

[15] Miller R M, Jastrow J D. The role of mycorrhizal fungi in soil conservation. In: Bethlenfalvay G J, Lindeman R G. eds. *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. ASA Spec. Publ. 54. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. 1992. 29~ 44

[16] Jussi H, Kirsten S J, Kielo H, *et al.* Effect of *Pinus sylvestris* root growth and mycorrhizosphere development on bacterial carbon source utilization and hydrocarbon oxidation in forest and petroleum-contaminated soil. *Canada Journal of Microbiology*, 2000, 46: 451~ 464

[17] Leyval C, Binet P. Effect of polyaromatic hydrocarbons in soil on arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Environmental Quality*, 1998, 27: 402~ 407

[18] 宋玉芳, 区自清, 孙铁珩. 土壤、植物样品中的多环芳烃(PAHs)分析方法研究. *应用生态学报*, 1995, 6(1): 92~ 96. Song Y F, Ou Z Q, Sun T H. Analytical method of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil and plant samples (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1995, 6(1): 92~ 96

[19] 关松荫编著. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986. Guan S Y. *Soil Enzyme and Its Study Method* (In Chinese). Beijing: Agricultural Press, 1986

[20] 刘润进, 李晓林编著. 丛枝菌根及其应用. 北京: 科学出版社, 2000. Liu Y J, Li X L. *Arbuscular Mycorrhizal and Application* (In Chinese). Beijing: Science Press, 2000

ENHANCED PHYTOREMEDIATION OF BENZO [a] PYRENE CONTAMINATED SOIL WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI

Liu Shiliang Luo Yongming[†] Ding Keqiang Li Hua Wu Longhua Xing Weiqin

Song Jing Cao Zhihong

(Soil and Environment Bioremediation Research Centre, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Tao Shu

(College of Environmental Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract This paper studied degradation of benzo[a] pyrene (B[a]P) in soils with and without alfalfa (*Medicago sativa* L.) and with and without the inoculation of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi (*Glomus caledonium* L.). After a 90 day incubation period this pot experiment showed that: a higher concentration (100 mg kg⁻¹) of B[a]P decreased the frequency (%) of arbuscular mycorrhizal roots on alfalfa. It also revealed that alfalfa and AM fungi enhanced degradation of B[a]P in the soils.

With AM fungi and alfalfa, B[a]P having initial concentrations of 1 mg kg⁻¹, 10 mg kg⁻¹, and 100 mg kg⁻¹ experienced degradation rates of 86.2%, 86.6%, and 57.0%, respectively. However, with AM fungi and no alfalfa, the degradation rates of B[a]P having the same initial concentrations were 53.5%, 53.0%, and 33.0%, respectively. The results also showed that the degradation rate of B[a]P in soils without inoculated fungi was lower than that of soils with the inoculation of AM fungi. Without AM fungi inoculation on alfalfa B[a]P having initial concentrations of 1 mg kg⁻¹, 10 mg kg⁻¹, and 100 mg kg⁻¹ had degradation rates of 75.9%, 77.7%, and 53.4%, respectively. Meanwhile, without AM fungi inoculation and without alfalfa, the degradation rates for B[a]P having the same initial concentrations were 54.9%, 52.6%, and 34.1%, respectively. In addition, the degradation rates for the low and middle concentration B[a]P treatments (1 mg kg⁻¹ and 10 mg kg⁻¹) were significantly higher than that of the high concentration B[a]P treatment (100 mg kg⁻¹) ($p < 0.05$).

B[a]P added to the soil also significantly affected the activities of polyphenol oxidase. The enzyme activities in soils with higher concentrations of B[a]P were significantly lower than those of the other three treatments. Thus, the inoculated AM fungi could enhance the soil enzyme activities, thereby enhancing degradation of B[a]P in soils.

Key words Arbuscular mycorrhizal fungi; Alfalfa; Benzo[a]pyrene; Degradation rate; Polyphenol oxidase