

DOI: 10.11766/trxb201511300474

多环芳烃污染土壤生物联合强化修复研究进展*

倪妮^{1,2} 宋洋¹ 王芳¹ 卞永荣¹ 蒋新^{1†}

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

(2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要 多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是广泛存在于环境中的一类有毒有机污染物。在PAHs污染土壤修复领域中,运用一些生物化学的方式来强化生物联合修复技术可以有效缩短生物修复的时间,大大提高修复效率,最具发展前景和应用价值。本文主要以植物-微生物、植物-微生物-土壤动物两种生物联合修复方式为对象,结合各自的特点、机理和实例,推断了其修复机制的内在原因,总结了影响土壤中PAHs降解效率的主要因素(包括:PAHs的浓度水平、根系分泌物的种类、外源添加降解菌和土壤动物的数量和种类、菌属或土壤动物之间的种间竞争和部分环境因素等);同时通过综述近年来国内外强化生物联合修复PAHs污染土壤的技术原理、应用成果和存在的一些问题,指出了不同情况下制约PAHs强化降解进程的潜在限制因子(包括:表面活性剂和固定化微生物的添加量、不同表面活性剂的适度混合、载体材料的性质、固定化方式的选取、土壤养分和水分含量等);并强调在进行强化修复的过程中,要注重现场应用和安全性评价,为多环芳烃污染土壤的生物联合强化修复研究提供了理论依据和技术参考。

关键词 土壤;多环芳烃;生物联合修复;强化技术;表面活性剂;固定化微生物

中图分类号 X53 **文献标识码** A

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是由两个或两个以上的苯环,以稠环排列的方式组成,广泛存在于环境中的一类惰性较强、性质稳定的化合物,具有致癌、致畸、致突变的特点。它主要来自于污水灌溉、农作物秸秆的焚烧、石油开采、石油加工以及工业活动中化工燃料的不完全燃烧和高温热解^[1-2]。PAHs作为一种疏水性有机污染物,会优先分配到非水相体系,因此,土壤成为其最主要的环境介质之一^[3]。多环芳烃在土壤中的吸附、解吸、转化、降解等环境行为深刻影响着其在土壤中的残留浓度与形态,进而决定其通过食物链传递对人体健康造成危害的严重性^[4-6]。自然界中广泛存在的PAHs污染已成为人类亟需解决的重要环境问题之一。

相较于物理修复和化学修复两种方式,生物修复技术因其具有经济环保、可用于大面积污染治理、二次污染小等优点,越来越受到研究者的重视。植物、动物、微生物修复技术是生物修复PAHs污染土壤的主要形式^[7]。但是,由于土壤中的PAHs生物有效性低、缺乏PAHs降解菌、部分外源添加的高效降解菌或土壤动物难以适应存活等因素的限制,单纯的某一种方式很难一步到位彻底修复PAHs污染土壤^[8-9]。目前,生物联合修复成为研究多环芳烃污染土壤生物修复领域中的热点。利用植物的自身特性,植物与根际微生物、专性降解菌以及土壤动物等的协同作用对PAHs污染土壤进行修复,并加以一些生物化学强化措施,可以有效缩短生物修复PAHs污染土壤的时间,大大提高

* 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目(2014CB441105)、国家自然科学基金项目(21277148, 41301240)共同资助 Supported by the National Basic Research Program of China (“973” Program) (No. 2014CB441105) and the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21277148, 41301240)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: jiangxin@issas.ac.cn

作者简介:倪妮(1991—),女,博士研究生,主要研究方向为环境化学与污染控制。E-mail: nni@issas.ac.cn

收稿日期:2015-11-30;收到修改稿日期:2016-01-10

修复效率^[10]。

为此,本文综述了植物-微生物、植物-微生物-土壤动物等生物联合修复PAHs污染土壤的修复机理和影响因素,并对近年来国内外强化生物联合修复PAHs污染土壤的技术应用、研究成果和存在的一些问题进行了讨论。

1 多环芳烃污染土壤的生物联合修复

植物间作、套作等不同种植方式相比单作,对促进根际土壤中有机污染物的消减较为有力^[11]。在一定条件下,同一环境中的几种微生物或是土壤动物联合代谢有机污染物相比单一微生物或是土壤动物的作用,效果也更为显著^[12]。同时,植物、微生物、土壤动物之间存在着诸多交互作用,三者优势的有机结合能够保障植物修复技术、微生物修复技术以及土壤动物修复技术充分发挥各自优点,从而达到修复PAHs污染土壤的最佳组合效果。

1.1 植物-微生物联合修复机理及影响因素

在PAHs污染土壤中种植植物,依靠植物自身对有机污染物的直接吸收分解与蒸腾作用很小,贡献仅为0.24%^[8, 13-15]。与单独使用PAHs修复植物或其专性降解菌相比,将二者联合起来能够展现出高效的协同修复效果。有研究表明,同时加入紫茉莉和降解菌ZQ₅使得土壤中的芘降解81.1%,是单独加入紫茉莉修复效果的1.98倍,是单独加入微生物ZQ₅修复效果的1.39倍^[16]。在灭菌后的土壤中种植苏丹草,菲的去除率仅有5.7%,而苏丹草-土著微生物联合去除率高达68.9%^[17]。植物-微生物联合修复多环芳烃污染土壤,主要是依靠植物的根系、根系分泌物共同促进根际微生物的生长和繁殖^[18]。植物发达的根系部分在提供微生物生长表面积的同时,还有利于营造良好的降解环境。大量的根系分泌物和脱落的根冠细胞可以加速土壤的生化反应,植物根系分泌的特殊化学物质,如有机酸等,可以改变土壤的pH等^[12]。分泌的营养物质,如糖类、醇、蛋白质等,可增加根际、专性降解菌等功能微生物的群落数量,提高其活性,改变其种群结构以及促进共代谢作用^[19]。采用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)方法发现,紫花苜蓿-菌根真菌-两种降解菌(芽孢杆菌和黄杆菌)处理时,土壤中细菌群落多样性的上升趋势最为明显。这说明植物-微生物联合修

方式改变了土壤微生物群落的结构和丰度,从而可以有效提高PAHs的降解效率^[20]。此外,植物根际分泌物能够将土壤中锁定的PAHs从土壤表面分离开来,进而便于微生物和植物对老化的PAHs进行有效的降解^[21]。反之,根际微生物的存在和活动也对植物的生长具有一定的促进作用。研究表明,部分根际微生物虽然不能专性降解PAHs,但在加强高羊茅对污染环境的抗逆性中仍扮演重要角色^[22]。不同的人为因素与环境因子均会改变植物和微生物的生长和活性,从而影响到植物-微生物联合修复多环芳烃污染土壤的过程和效率^[23]。

污染土壤中PAHs的浓度水平越高,毒性越大,土著微生物活性越小^[24],加入的专性降解菌、菌根真菌等微生物的活性也会受到抑制,导致植物-微生物协同修复的方式对低浓度污染土壤修复的能力要高于高浓度污染土壤^[16]。此外,随着苯环数量的增加和由线性排列向非线性排列的转变,PAHs的疏水性、亲脂性及其稳定性越来越强,危害性也就越大。袁馨等^[24]研究发现,种植苏丹草60 d后,土壤中菲、芘的平均去除率分别较对照1(无植物,不加0.1%NaN₃)高55.58%、50.71%,较对照2(无植物,加0.1%NaN₃)高72.71%、66.57%。其中,芘的降解率始终低于菲的降解率。接种AM真菌的黑麦草种植实验结果显示,距离根表越近,低环PAHs含量越低,存在一定的梯度差异^[19]。

同样,外源添加降解菌的数量也会影响PAHs的降解率。实验初始阶段,较高的接菌量能得到较高的降解率,相对于低接菌量有明显优势,但随修复时间的变化,接菌量的多少对降解率的影响逐渐变小,甚至无影响^[16]。微生物菌属之间可能存在的种间竞争直接影响降解菌对PAHs的降解效果,是保证植物-微生物协同修复效率的关键因素。紫花苜蓿-菌根真菌-两种降解菌(芽孢杆菌和黄杆菌)处理实验中,在DGGE谱图上,仅检测到芽孢杆菌属微生物,并未检测到黄杆菌,这可能是由于黄杆菌在土著微生物群落中本来就不是优势菌群,受到来自土壤土著微生物的竞争,无法在土壤中有效定殖存活^[20]。

根系分泌物的种类不同,对PAHs降解效果的影响也不同。Rentz等^[25]通过模拟土壤根际环境,在LB培养基中添加杂交杨树、杂交柳树、燕麦、桑橙、白桑、红桑、近心形破布木等八种植物

的根系提取物和分泌物。发现其中添加桑橙、杂交柳树、近心形破布木、白桑的处理中，根系分泌物可以作为苯并[a]芘的共代谢底物，促进其降解，去除率达到15%~20%，近似琥珀酸盐培养基质的降解效果。

土壤中有有机质含量、营养成分以及共代谢底物等外界环境因子的作用在进行实验结果分析时不容忽视。不同的学者在各自添加菌根真菌的实验中得出了不同的结论。张晶认为菌根真菌通过影响根段长度、植物水分含量、根内氧化还原酶活性、根系分泌物组成和含量等途径改变了紫花苜蓿对PAHs的吸收与混合菌剂对PAHs的降解，同时促进根际微生物数量和活性增加，进一步提高了PAHs的生物降解速率^[21]。而Joner等^[26]却观察到相反的现象与结论，认为菌根真菌*Suillus bovinus*（本身具有分解多环芳烃的能力）的共生会与土壤中降解多环芳烃的部分土著细菌竞争环境中的碳、氮、磷等养分，从而降低PAHs的降解效果。在营养耗竭的情况下，可以利用施肥等农艺措施向土壤中外加所需养分，以保证协同作用的顺利进行。Huang等^[22]在PAHs污染农田土壤上开展了土地翻耕-接种PAHs专性降解菌-撒播高羊茅（*Festuca arundinacea*）种子（前处理为浸泡于三种混合根际微生物悬浮液）的多程序连续修复工程，历时4个月。在前两步中，缺乏共代谢底物和营养物质耗竭成为主要的限制因子。但在第90天至120天，也就是植物生长明显、根系分泌物大量出现的时段内，土壤中部分高环PAHs的去除率得到了显著提高。

由于PAHs类污染物组成复杂，土壤种类亦多种多样，所以现有的植物-微生物联合修复技术还有待完善，仍需进一步去筛选和优化抗逆性植物。此外，从PAHs高污染土壤或底泥中分离出高效降解微生物，采用16S rRNA和PCR-DGGE等分子生物技术对降解菌和微生物功能种群开展分子生态学研究，也将促进植物-微生物联合修复技术水平的提升。探讨引进微生物同土著微生物之间的竞争机制和引进微生物功能退化的原因，可以规避植物-微生物联合修复PAHs污染土壤可能存在的风险。

1.2 植物-微生物-土壤动物联合修复机理及影响因素

土壤动物是土壤生态系统中的一个重要组成部分。这些大型土生动物和小型动物种群可以通过吞食大量土壤、有机质和植物残落物，参与有机物的分解、营养物质的矿化与释放、土壤团聚体

构建与维持，提高土壤养分的有效性和周转率，改善根际环境，刺激根际微生物的生长。研究表明，土壤动物群对土壤环境中的氮素总矿化率贡献约为30%^[27]。胡锋等^[28]还发现，在40d培养期内不添加任何基质，原小杆线虫（*Protorhabditis*）对土壤及小麦根际细菌种群均有明显的增殖作用。尽管土壤动物组织积累的非、芘相当有限（0.06%、0.08%），但它们产生的物理干扰可以改善土壤通气性，使得土壤中的养分更加均匀地分布，有利于好氧降解PAHs条件的形成^[29-30]。Schaefer等^[31]将三种品种的蚯蚓*Allobophora chlorotica*、*Eisenia fetida*和*Lumbricus terrestris*接种在实际石油烃污染土壤中。28天后，发现后两种蚯蚓活动均大幅度提高了土壤呼吸、土著微生物数量和活性，且分泌出可以被生物利用的C成分。同时有利于改善土壤通气状况，从而促进污染物的生物降解，石油烃含量分别减少了30%~42%、31%~37%。蚯蚓的生理活动可以帮助传播真菌的繁殖体，显著提高真菌侵染率、土壤中降解PAHs的细菌数量以及相关酶的活性^[32]。Lu等^[33]发现，培养120天后，高羊茅-丛枝菌根真菌（*Glomus caledonium* L.）-蚯蚓（*Eisenia foetida*）组合处理中，植物、真菌、蚯蚓、土著微生物之间共同的交互作用刺激了微生物生长，提高了土壤中多酚氧化酶的活性，使得PAHs的去除率高达93.4%。由三者构成的复合体系会成为修复老化PAHs污染土壤的有效方式。实验结果显示，PAHs的含量由最初的620 mg kg⁻¹减至41 mg kg⁻¹，达到了我国住宅用地土地的PAHs含量标准。纤毛虫、线虫的生理活动能够增大污染物与降解菌的接触表面积^[34]，分泌微生物所需的生长因子^[35]。此外，食细菌线虫等土壤动物利用特殊的生态位，通过捕食作用，能够促进土壤环境中有限养分的循环、衰老细胞的去除以及微域环境的异质性形成^[36]，从而有利于提高PAHs降解微生物的数量和活性^[37-39]。研究发现，土壤纤毛虫能够选择性捕食海底沉积物中抢占萘降解菌（*Euplotes* sp.）生态位的细菌，缓解了微生物种群对资源和空间的竞争，从而使萘的矿化率提高了四倍^[40]。基于上述等机理，创造适合的环境条件和影响因素，必将大大促进修复植物的生长和土壤中PAHs的降解。

土壤中PAHs的污染程度与外源添加土壤动物的数量会影响植物-微生物-土壤动物协同修复的

效率。潘声旺等^[41-44]通过大量的实验证明,环毛蚓和蚯蚓的活动均能强化高羊茅/金发草/黑麦草-土著微生物之间的交互作用。且在土壤处于PAHs中等污染水平下,强化效果最为明显。这可能与该实验中使用的低污染土壤菲的生物可利用性较低,重污染时微生物又受到PAHs的毒害,生理活性被抑制有关。在一定的添加量范围内,环毛蚓和蚯蚓活动对高羊茅生长的促进,尤其是对根系生长的促进作用,对扩大根际效应范围具有十分重要的影响。

不同生态型蚯蚓的习性和生理特性会对污染土壤中PAHs的降解效率产生一定的影响。研究表明,并不是所有的蚯蚓品种均可以明显加速PAHs的去除,A. *chlorotica*由于本身难以适应新环境,活性被抑制,加强作用则不是很明显(17%~18%)^[31]。白建峰等^[45]认为蚯蚓不同的习性和生理特性还会影响AM真菌的有效性。部分蚯蚓品种对真菌菌丝可能存在潜在破坏。

土壤中溶解氧含量、营养成分以及土壤动物所需养分及生活基质等均是需要进行人为调控的重要环境因子。土壤中溶解氧含量是决定现场处理效果的关键因素,蚯蚓在土壤中通过运动翻动土壤能带来通气量的增加^[45]。充足的氧气供给不仅有利于PAHs的起始氧化过程,也能促进土壤中好氧微生物的生长,强化其降解活性^[42-44]。Louatia等^[46]外源添加了三种土壤动物,包括多毛纲动物、挠足虫以及线虫。在不添加营养成分只接种降解菌属*B. megaterium*的情况下,线虫的加入可以使得菲的降解率从16%±7%上升至22%±2%。添加了矿物盐成分之后,降解菌对荧蒽、菲、芘三种PAHs的去除率急剧上升,最高达到97%。类似研究还显示,高羊茅-丛枝菌根真菌(*Glomus caledonium* L.)-蚯蚓(*Eisenia foetida*)组合处理中,培养70天时,人为添加废水污泥给蚯蚓补充养分,有助于提高蚯蚓的存活率^[35]。

目前,由于相关技术和方法上有所欠缺,有关土壤原生动物的改变微生物群落结构,影响土壤中有有机质碳、植物根系生长等的具体过程还有待探索。

2 强化多环芳烃污染土壤生物联合修复的方法

在室内试验中,生物联合修复方式对污染土壤中PAHs的去除效果明显。但由于复杂的土壤条件

和自然环境,本来就存在或是引进到实际污染土壤中的植物、菌体与微型动物在缺少辅助支持的情况下,降解微生物和土壤动物的作用往往受到抑制,甚至“全军覆没”。污染土壤中微生物的活性和PAHs的生物可利用性均较低,导致对PAHs污染场地的修复难以达到预期设想。因此,环境友好型的强化措施成为发展与应用PAHs污染土壤生物联合修复技术的重要部分。主要措施有添加表面活性剂和投放固定化功能微生物菌剂^[47]。

2.1 表面活性剂强化机理及影响因素

表面活性剂由于其两亲性分子结构特征,可以促进土壤中PAHs的解吸和溶解,同时能改变降解微生物细胞的表面性质,减小微生物吸附位置和生物摄取位置之间的扩散路径,有助于微生物吸附到被污染物占据的土壤颗粒上,如鼠李糖脂可以使细菌更容易附在菲上^[48],从而增加PAHs与降解微生物接触的机会进而提高生物修复效率^[49]。此外,表面活性剂可以作为额外添加的碳源,刺激土壤微生物数量的增长,提高土壤相关酶活性,营造出更加有利于植物吸收积累PAHs的根际环境和土壤条件。研究表明,在鼠李糖脂和芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)、黄杆菌(*Flavobacterium* sp.)的联合处理下,土壤中脱氢酶活性、多酚氧化酶活性、PAHs降解菌的数量以及PAHs总量和各组分PAHs的降解量均得到了显著的提高^[50]。表面活性剂的种类(化学结构、胶束大小、临界胶束浓度等)、添加量以及混合比例大小等因素对利用生物化学表面活性剂强化生物修复PAHs污染土壤的实践均产生关键影响。

由于许多合成表面活性剂本身就是一种环境污染物,它们的大量使用会带来新的环境问题。因此,由微生物产生的代谢产物,即生物表面活性剂(如脂肪肽、糖酯、中性酯脂和脂肪酸等)或是可以被生物降解的化学表面活性剂更具环境友好性,且不会对植物生长产生不利的影响^[51]。Liao等^[52]发现,与对照相比,玉米的生物量在添加合成表面活性剂Triton X-100时下降了12%,而施用生物表面活性剂鼠李糖脂时却提高了38%。表面活性剂的毒性主要与其本身性质和植物种类相关。类似的研究表明,在单独使用Tween 80和混合使用两种表面活性剂处理中,黑麦草的生物量均要略高于单独使用烷基苯磺酸钠(SDBS)处理,这是由于Tween 80结构中有可以被生物利

用的碳，而SDBS的结构中有不易被生物利用的苯环^[53]。Bautista等^[54]研究了三种非离子型表面活性剂Tween 80、Triton X-100和Tergitol NP-10对不同菌种*Enterobacter* sp.、*Pseudomonas* sp.和*Stenotrophomonas* sp.降解PAHs污染物降解效果的影响，结果表明三种表面活性剂均对处理效果有不同程度的改善。毒性测试发现，Tween-80处理中，由于Tween 80可以作为碳源，被降解菌所降解利用，24h内体系毒性持续下降至较低水平。相反，添加Triton X-100和Tergitol NP-10的处理中，由于这两种表面活性剂本身不能被降解，体系毒性仍保持较高水平。

表面活性剂的添加量过高或者过低均不利于生物降解的效果。实验结果显示，2、0.5和0.2 g kg⁻¹添加量的Tween 80、羟丙基-β-环糊精（HPCD）以及鼠李糖脂强化*P. chrysosporium*生物降解PAHs污染农田土壤效果最好，降解率可分别达到69.0%、70.4%和71.5%。且只有在最佳添加比例条件下，土壤过氧化氢酶和转化酶的活性发生了显著提高，也从另一个角度反映了微生物此时降解PAHs的能力达到最高^[55]。值得关注的是，生物表面活性剂的最佳添加量要远小于化学表面活性剂，对土壤环境的扰动较小。

表面活性剂在一定浓度范围内的适度混合，如阴离子型表面活性剂和非离子型表面活性剂混合使用，由于减少了沉淀和吸附损失，会使得土壤溶液中表面活性剂的有效浓度上升，从而优于单独使用其中任何一种表面活性剂的效果^[56-57]。Zhou和Zhu^[56]对比研究了单独使用和混合使用表面活性剂SDBS-Triton X-100对污染土壤中菲的解吸效率的区别和影响。结果发现SDBS不仅可以减少Triton X-100在土壤颗粒上的吸附，还能加强其对菲的溶解性，混合使用两种表面活性剂更能促进菲的解吸效率。且解吸效率随着SDBS所占比例提高而增大。Ni^[53]进行了类似的研究，发现60~150 mg kg⁻¹浓度的表面活性剂SDBS-Tween 80组合使用相较于单独使用Tween 80，使得黑麦草的地下和地上两部分对菲、芘的积累量均提高了2倍~3倍，有效加强了植物-土著微生物联合方式对PAHs污染土壤的修复效果。

利用生物表面活性剂强化PAHs污染土壤生物联合修复的技术尚处在实验研究阶段。其在实际应用中，存在如种类过于单一、成本偏高、获取技术

不成熟等限制^[57]，对根际环境、土壤生物乃至整个生态系统的影响也还缺乏充分的研究。因此，需进一步研究不同类型生物表面活性剂在不同实际污染土壤上的应用情况，以便选择合适的活性剂，实现经济与效果的双重最佳化，从而为生物联合修复PAHs污染土壤提供有力辅助手段。

2.2 固定化微生物技术强化机理及影响因素

外源高效降解菌经过固定化技术，以不溶性固体支持处理后，定位于限定的空间区域以内，可以提高降解菌的单位细胞密度，有利于屏蔽土著菌、噬菌体和毒性物质的恶性竞争、吞噬和毒害，使降解菌得以长期保持活性，在复杂环境中也可稳定地发挥高效能^[58-59]。研究发现，在土壤pH为4或9，温度为15℃或40℃以及重金属Cd或Pb存在下，混合固定*Aspergillus niger*/*Fusarium* sp.两种降解菌降解芘和苯并[a]芘受到的影响最小，且降解率达到81%和43%。而游离菌对芘和苯并[a]芘的降解率则显著降低，表明固定化对胁迫环境具有屏蔽作用^[60]。用于固定化技术的微生物包括土著菌、外源高效菌和基因工程菌。固定化载体和高效降解菌相互固定的方式有吸附法、包埋法、交联法、共价结合法、微生物自身固定化以及组合固定化技术等^[61]。固定化微生物技术在土壤修复中的研究才刚刚起步，许多影响因子亟需得到进一步地挖掘与探讨。

土壤中PAHs的起始浓度和固定化微生物的添加量同样是最基本的影响因素。Su等^[62]研究发现，土壤中苯并[a]芘的起始浓度高于400 mg kg⁻¹时，游离菌群处理组对苯并[a]芘的降解速率大大下降，即便是固定化混合降解菌群处理组，降解速率没有显著变化的基础上，也需要较长的反应启动时间。固定化混合微生物的最佳添加量为2%。添加量低于2%时，PAHs去除效果显著下降，而高于2%时，效果并未显著变化。

载体材料的性质是影响固定化微生物活性、稳定性及污染物去除效果的重要因素。现阶段应用于生物修复PAHs污染土壤中的固定化材料大多以聚乙烯醇、海藻酸钠和活性炭为主^[63-64]。由于土壤原位或异位修复相关理论认为，固定化微生物载体施加进入土壤后即成为土壤的一部分，一般不考虑载体材料的回收。因此，载体材料除了作为微生物的附着剂，还应对环境友好，具有一定的可生物降解性^[65]。近年来，植物残体作为一种潜在的固

定化材料, 可实现较高的酶产量和污染物去除能力^[66-67]。其生物可降解性取决于本身的物理化学性质(如孔隙度、纤维素)。Bisht等^[68]结合固定降解菌的生存数量和活性, 从有机质含量、持水能力、通气性、材料来源的广泛性等方面考察了磷酸石、可可泥炭、小麦麸皮、甘蔗渣、锯屑、美洲黑杨的树叶等6种不同的木质纤维素载体材料用以固定PAHs专性降解菌*Micrococcus varians* SBA8的适用性, 初始接种浓度为 10^8 CFU g⁻¹, 磷酸石、可可泥炭和小麦麸皮在6个月的培养期后, 固定的微生物数量保持在 10^5 CFU g⁻¹左右。此外, 高吸附性能固定材料可促进PAHs由土壤有机质向固定化载体迁移, 使载体同时富集降解菌和土壤中的PAHs, 增加PAHs与微生物的接触面积。富集有高浓度PAHs的微生物固定化材料还可成为土著微生物驯化的重要场所, 联合外源微生物进一步修复PAHs污染土壤^[69]。Chen等^[70]比较了包括木屑、橘皮、竹叶、松针以及将松针高温热解分别烧制成100、300、400、700度的生物碳等多种固定材料对农田污染土壤中PAHs的富集-降解一体化效果。固定微生物为两种PAHs专性降解菌:*Pseudomonas putida* (B1)和一种未被鉴定菌种的土著降解菌(B2)。结果发现, 90天培养期后, 对于生物有效性极低的6环PAHs, 只有在100、300以及400度生物碳固定处理组中, 才发生显著减少的现象。与对照相比, 400度松针生物碳固定B2对去除3~6环PAHs的加强作用最为明显。这可能是由于400度生物碳所吸附的PAHs生物可汲取性相对较高, 其特殊的结构特征(如总孔隙度、疏水性表面)既有利于降解菌属的固定, 吸附周边污染物, 也能够为驯化土著微生物联合外源微生物进一步降解PAHs提供重要场所, 实现污染物的富集-降解一体化, 从而显著提高了PAHs的降解效率。

固定化方式是协调固定化载体和高效降解菌的关键媒介, 极大地影响微生物的生长和代谢, 进而影响PAHs污染土壤的修复效果。同时对三种热带假丝酵母菌(*Candida tropicalis*) 219、220、YM进行吸附-包埋联合固定化技术、单一物理包埋法和单一化学包埋法固定。固定材料为聚乙烯醇、海藻酸钠以及活性炭的混合物。结果发现, 物理包埋法优于化学包埋法, 而组合固定化技术不仅可以实现高浓度的微生物固定和较高的固定化强度, 同时由于吸附过程中载体材料提供的微环境和营养物

质, 很好地解决了单一包埋过程中微生物失活的问题, 更适合对酵母菌进行固定。其中219和220混合固定使用对苯并[a]芘的降解率最高, 达到了40.65%, 半衰期为5.66 d^[71]。值得注意的一点是, 并非混合的菌株越多, 降解效果就越好。需要根据实验结果来确定选择的菌株。除了固定化方式对固定化微生物性能有影响之外, 载体用量、固定时间等也是重要的参数。研究发现, 3%海藻酸钠添加浓度下得到的固定化细菌(*Sphingomonas*)颗粒在固定化颗粒韧性、微生物活性、微生物与载体结合强度等方面均有较好的表现^[72]。

在一定范围内提高土壤水分含量可以显著促进游离降解菌群处理组中苯并[a]芘的降解。相比之下, 对固定化混合菌群处理组影响不大。这说明, 固定化混合降解菌可以在一个较为宽泛的水分条件内稳定地发挥效用^[62]。土壤养分常常是植物种植时的另一大限制因子, 研究表明, 可可泥炭、小麦麸皮、甘蔗渣等植物残体固定材料含有丰富的C、N等营养元素, 对微生物和酶具有亲和力的同时, 作用期间会发生适度分解, 所释放的各种溶解性有机质, 还可作为降解高环PAHs的共代谢底物^[68]。磷酸石也被认为可以替代部分化学肥料, 进一步促进了PAHs的降解。

要实现固定化微生物技术的规模化应用, 还有许多问题亟需解决。选择炭质材料和农业废弃物等潜在载体, 尝试吸附-包埋联合等更为合适的组合固定化方式, 利用吸附态PAHs作为碳源筛选获得能直接降解PAHs的高效降解菌, 这些均将给研究者的工作带来挑战。固定化微生物技术与其他强化手段联合使用, 往往可达到进一步强化生物联合修复PAHs污染土壤的目的。如先利用根系分泌物和生物表面活性剂促进PAHs从土壤有机质中解吸出来, 提高PAHs的生物可利用性, 然后投加固定化微生物菌剂, 进行富集-降解一体化。此外, 固定化微生物施入土壤后的激活以及调控机制也需要更多的探索。

3 结论与展望

植物-微生物、植物-微生物-动物等联合修复作为生物修复多环芳烃污染土壤的有力手段日益受到学者的重视。一方面, 操作较为简便, 能够使得PAHs修复效率大幅度提高。另一方面, 在修复过

程中, 可以将众多生物化学强化措施加以应用, 这也是PAHs污染土壤原位生物修复的重要发展部分。

尽管各种生物联合修复PAHs污染土壤及其强化技术在实验室研究中取得了较好的成果, 但还有很多方面需要进一步深入探索。例如: 1) 进一步筛选具有高吸收、高累积PAHs的植物和高降解PAHs能力的微生物; 2) 运用同位素标记技术对PAHs在植物根部吸收累积的转运机制和PAHs在降解菌作用下的好氧与厌氧降解机制加以相应的研究; 3) 鉴于食微线虫的生态功能及其与微生物之间强烈的相互作用, 可进一步深入研究土壤线虫在土壤PAHs污染修复过程中的作用; 4) 分析生物联合修复及其强化措施降解PAHs的最适环境因素和工艺过程参数, 进行中试试验评估技术可行性, 优化修复技术体系, 以便将其应用到实际工程项目, 提高修复效率。

同时, 土壤健康评估、食品安全标准等一系列问题需要在修复过程中同步加以控制, 建立起一套适合PAHs污染土壤生物联合修复的安全性评价体系, 对保证土壤修复效果与环境生态安全也极为重要。

参 考 文 献

- [1] Haritash A K, Kaushik C P. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 169 (1/3): 1—15
- [2] 张晶, 林先贵, 曾军, 等. 植物混种原位修复多环芳烃污染农田土壤. *环境工程学报*, 2012, 6 (1): 341—346
Zhang J, Lin X G, Zeng J, et al. In Situ remediation of mixed plants in polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated farmland soil (In Chinese). *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2012, 6 (1): 341—346
- [3] Zhang Y, Guan Y D, Shi Q. Simulating the dynamics of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) in contaminated soil through composting by COP-Compost model. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22 (4): 3004—3012
- [4] Shao X L, Xu Y P, Zhang W, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) pollution in agricultural soil in Tianjin, China. *Soil and Sediment Contamination*, 2015, 24 (3): 343—351
- [5] 范淑秀, 李培军, 何娜, 等. 多环芳烃污染土壤的植物修复研究进展. *农业环境科学学报*, 2007, 26 (6): 2007—2013
Fan S X, Li P J, He N, et al. Research progress of phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil (In Chinese). *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26 (6): 2007—2013
- [6] Cai Q Y, Mo C H, Wu Q T, et al. The status of soil contamination by semivolatle organic chemicals (SVOCs) in China: A review. *Science of the Total Environment*, 2008, 389 (2/3): 209—224
- [7] 刘志培, 刘双江. 我国污染土壤生物修复技术的发展及现状. *生物工程学报*, 2015, 31 (6): 901—916
Liu Z P, Liu S J. The development and present situation of biological remediation technology of contaminated soil in China (In Chinese). *Chinese Journal of Biotechnology*, 2015, 31 (6): 901—916
- [8] 刘魏魏, 尹睿, 林先贵, 等. 多环芳烃污染土壤的植物-微生物联合修复初探. *土壤*, 2010, 42 (5): 800—806.
Liu W W, Yin R, Lin X G, et al. Combined remediation of plant-microorganism in soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbon (In Chinese). *Soils*, 2010, 42 (5): 800—806
- [9] 姚伦芳, 滕应, 刘方, 等. 多环芳烃污染土壤的微生物-紫花苜蓿联合修复效应. *生态环境学报*, 2014, 23 (5): 890—896
Yao L F, Teng Y, Liu F, et al. Combined remediation effect of microbial and alfalfa in soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (In Chinese). *Ecology and Environmental Sciences*, 2014, 23 (5): 890—896
- [10] Teng Y, Shen Y Y, Luo Y M, et al. Influence of rhizobium meliloti phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons by alfalfa in an aged contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 186 (2/3): 1271—1276
- [11] 刘龙元, 贺鸿志, 申时立, 等. 植物间种强化根际修复PCB NO.14污染土壤的研究. *中国农学通报*, 2012, 28 (36): 128—134
Liu L Y, He H Z, Shen S L, et al. Effects of intercropping rhizo-remediation on soils contaminated with PCB NO.14 (In Chinese). *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28 (36): 128—134
- [12] 周际海, 袁颖红, 朱志保, 等. 土壤有机污染物生物修复技术研究进展. *生态环境学报* 2015, 24 (2): 343—351
Zhou J H, Yuan Y H, Zhu Z B, et al. A review on bioremediation technologies of organic pollutants contaminated soils (In Chinese). *Ecology and Environmental Sciences*, 2015, 24 (2): 343—351
- [13] 范淑秀, 李培军, 巩宗强, 等. 苜蓿对多环芳烃非污染土壤的修复作用研究. *环境科学*, 2007, 28 (9): 2080—

- 2084
Fan S X, Li P J, Gong Z Q, et al. Study on the effect of alfalfa on soil remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil (In Chinese). *Environmental Science*, 2007, 28 (9): 2080—2084
- [14] Lee J. An overview of phytoremediation as a potentially promising technology for environmental pollution control. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2013, 18 (1/3): 431—439
- [15] Su Y H, Zhu Y G. Uptake of selected PAHs from contaminated soils by rice seedlings (*Oryza sativa*) and influence of rhizosphere on PAH distribution. *Environmental Pollution*, 2008, 155 (2): 359—365
- [16] 赵媛媛, 张万坤, 马慧, 等. 降解菌ZQ₅与紫茉莉对砒污染土壤的联合修复. *环境工程学报*, 2013, 7 (7): 2752—2756
Zhao Y Y, Zhang W K, Ma H, et al. Combined effect of the degrading bacteria ZQ₅ and umbrellawort on the remediation of pyrene contaminated soil (In Chinese). *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2013, 7 (7): 2752—2756
- [17] 梁涛, 黄建国, 王永敏, 等. 苏丹草对土壤中菲和芘修复作用的研究. *中国农学通报*, 2010, 26 (4): 295—299
Liang T, Huang J G, Wang Y M, et al. Study on the effect of Sultan grass on the remediation of phenanthrene and pyrene in soil (In Chinese). *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26 (4): 295—299
- [18] Gutiérrez-Ginés M J, Hernández A J, Pérez-Leblic M I, et al. Phytoremediation of soils co-contaminated by organic compounds and heavy metals: Bioassays with *Lupinus luteus* L. and associated endophytic bacteria. *Journal of Environmental Management*, 2014, 143: 197—207
- [19] Toner E J, Leyval C. Rhizosphere gradients of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) dissipation in two industrial soils and the impact of arbuscular mycorrhiza. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37 (11): 2371—2375
- [20] 张晶, 林先贵, 刘魏魏, 等. 土壤微生物群落对多环芳烃污染土壤生物修复过程的响应. *环境科学*, 2012, 33 (8): 2825—2831
Zhang J, Lin X G, Liu W W, et al. Response of soil microbial community to bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil (In Chinese). *Environmental Science*, 2012, 33 (8): 2825—2831
- [21] Khan S, Afzal M, Iqbal S, et al. Plant-bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils. *Chemosphere*, 2013, 90 (4): 1317—1332
- [22] Huang X D, El-Alawi Y, Penrose D M, et al. A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. *Environmental Pollution*, 2004, 130 (3): 465—476
- [23] Afzal M, Yousaf S, Reichenauer T G, et al. The inoculation method affects colonization and performance of bacterial inoculant strains in the phytoremediation of soil contaminated with diesel oil. *International Journal of Phytoremediation*, 2012, 14 (1): 35—47
- [24] 袁馨, 魏世强, 潘声旺. 苏丹草对土壤中菲芘的修复作用. *农业环境科学学报*, 2009, 28 (7): 1410—1415
Yuan X, Wei S Q, Pan S W. The remediation effect of the Sultan grass on phenanthrene and pyrene in soil (In Chinese). *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28 (7): 1410—1415
- [25] Rentz J A, Alvarez P J J, Schnoor J L. Benzo [a] pyrene co-metabolism in the presence of plant root extracts and exudates: Implications for phytoremediation. *Environmental Pollution*, 2005, 136 (3): 477—484
- [26] Joner E J, Leyval C, Colpaert J V. Ectomycorrhizas impede phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) both within and beyond the rhizosphere. *Environmental Pollution*, 2006, 142 (1): 34—38
- [27] Griffiths B S. Microbial-feeding nematodes and protozoa in soil: Their effects on microbial activity and nitrogen mineralization in decomposition hotspots and the rhizosphere. *Plant and Soil*, 1994, 164: 25—33
- [28] 胡锋, 李辉信, 谢涟琪, 等. 土壤食细菌线虫与细菌的相互作用及其对 N、P 矿化-生物固定的影响及机理. *生态学报*, 1996, 19 (6): 914—920
Hu F, Li H X, Xie L Q, et al. Interactions of bacterivorous nematode and bacteria and their effects on mineralization immobilization of nitrogen and phosphorus (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 1996, 19 (6): 914—920
- [29] Chen X Y, Liu M Q, Hu F, et al. Contributions of soil micro-fauna (protozoa and nematodes) to rhizosphere ecological functions. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27 (8): 3132—3143
- [30] Eijsackers H, Bruggeman J, Hamsen J, et al. Colonization of PAH-contaminated dredged sediment by earthworms. *Applied Soil Ecology*, 2009, 43 (3): 216—225
- [31] Schaefer M, Petersen S O, Filser J. Effects of *Lumbricus*

- terrestris, *Allolobophora chlorotica* and *Eisenia fetida* on microbial community dynamics in oil-contaminated soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37 (11): 2065–2076
- [32] 高岩, 骆永明. 蚯蚓对土壤污染的指示作用及其强化修复的潜力. *土壤学报*, 2005, 42 (1): 140–148
Gao Y, Luo Y M. The effect of earthworms on soil pollution and the potential of enhanced remediation (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2005, 42 (1): 140–148
- [33] Lu Y F, Lu M. Remediation of PAH-contaminated soil by the combination of tall fescue, arbuscular mycorrhizal fungus and epigeic earthworms. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 285: 535–541
- [34] Rogerson A, Berger J. Enhancement of the microbial degradation of crude oil by the ciliate *Colpidium colpada*. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 1983, 29 (1): 41–50
- [35] Huang T C, Chang M D, Alexander M. Effect of protozoa on bacterial degradation of an aromatic compound. *Applied and Environmental Microbiology*, 1981, 41 (1): 229–232
- [36] Ritz K. Underview: Origins and consequences of below ground biodiversity//Bardgett R D, Hopkins D W, Usher M B. *Biological diversity and function in soils*. Cambridge: Cambridge University Press, 2005: 381–401
- [37] Barsdate R S, Prentki R T, Fenchel T. Phosphorus cycle of model ecosystems: significance for decomposer food chains and effect of bacterial grazers. *Oikos*, 1974, 25 (3): 239–251
- [38] Kinner N E, Harvey R W, Shay D M, et al. Field evidence for a protistan role in an organically contaminated aquifer. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36 (20): 4312–4318
- [39] Mattison R G, Taki H, Harayama S. The predatory soil flagellate *Heteromita globosa* stimulates toluene biodegradation by a *Pseudomonas* sp. *FEMS Microbiology Letters*, 2005, 194 (1): 39–45
- [40] Tso S F, Taghon G L. Protozoan grazing increases mineralization of naphthalene in marine sediment. *Microbial Ecology*, 2006, 51 (4): 460–469
- [41] 潘声旺, 魏世强, 袁馨, 等. 环毛蚓在高羊茅修复土壤菲污染过程中的作用. *生态环境学报*, 2010, 19 (3): 594–598
Pan S W, Wei S Q, Yuan X, et al. The role of pheretima in remediation of phenanthrene contaminated soil by tall fescue (In Chinese). *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19 (3): 594–598
- [42] 潘声旺, 袁馨, 魏世强. 蚯蚓活动对高羊茅修复土壤菲污染的强化作用. *云南大学学报 (自然科学版)*, 2010, 32 (5): 587–593
Pan S W, Yuan X, Wei S Q. The strengthening effect of earthworm activity on pyrene contaminated soil by tall fescue (In Chinese). *Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition)*, 2010, 32 (5): 587–593
- [43] 潘声旺, 魏世强, 袁馨, 等. 蚯蚓活动对金发草修复土壤菲污染的强化作用. *土壤学报*, 2011, 48 (1): 62–70
Pan S W, Wei S Q, Yuan X, et al. The strengthening effect of earthworm activity on pyrene contaminated soil by *pogonatherum paniceum* (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2011, 48 (1): 62–70
- [44] 潘声旺, 魏世强, 袁馨, 等. 蚯蚓在植物修复菲污染土壤中的作用. *生态学报*, 2011, 31 (5): 1349–1355
Pan S W, Wei S Q, Yuan X, et al. The role of earthworm in phyremediation of pyrene contaminated soil (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31 (5): 1349–1355
- [45] 白建峰, 秦华, 张承龙, 等. 蚯蚓和丛枝菌根真菌对南瓜修复多环芳烃污染土壤的影响. *土壤通报*, 2013, 44 (1): 202–206
Bai J F, Qin H, Zhang C L, et al. Effects of earthworm and mycorrhizal fungi on the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil by pumpkin (In Chinese). *Chinese Journal of Soil Science*, 2013, 44 (1): 202–206
- [46] Louatia H, Said O B, Soltani A, et al. The roles of biological interactions and pollutant contamination in shaping microbial benthic community structure. *Chemosphere*, 2013, 93 (10): 2535–2546
- [47] 王洪, 李海波, 孙铁珩, 等. PAHs污染土壤生物修复强化技术研究进展. *安全与环境学报*, 2011, 11 (1): 83–88
Wang H, Li H B, Sun T H, et al. Research progress of bioremediation of PAHs contaminated soil (In Chinese). *Journal of Safety and Environment*, 2011, 11 (1): 83–88
- [48] González N, Simarro R, Molina M C, et al. Effect of surfactants on PAH biodegradation by a bacterial consortium and on the dynamics of the bacterial community during the process. *Bioresource Technology*, 2011, 102 (20): 9438–9446
- [49] Shin K H, Kim K W, Ahn Y. Use of biosurfactant to remediate phenanthrene contaminated soil by the combined solubilization

- biodegradation process. *Journal of Hazardous Materials*, 2006, 137 (3): 1831—1837
- [50] 刘魏魏, 尹睿, 林先贵, 等. 生物表面活性剂强化微生物修复多环芳烃污染土壤的初探. *土壤学报*, 2010, 47 (6): 1118—1125
Liu W W, Yin R, Lin X G, et al. Preliminary study on bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil by biological surfactant (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 47 (6): 1118—1125
- [51] Zhu L Z, Zhang M. Effect of rhamnolipids on the uptake of PAHs by ryegrass. *Environment Pollution*, 2008, 156 (1): 46—52
- [52] Liao C, Liang X G, Lu G N, et al. Effect of surfactant amendment to PAHs-contaminated soil for phytoremediation by maize (*Zea mays* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 112: 1—6
- [53] Ni H W, Zhou W J, Zhu L Z. Enhancing plant-microbe associated bioremediation of phenanthrene and pyrene contaminated soil by SDBS-Tween80 mixed surfactants. *Journal of Environmental Sciences*, 2014, 26 (5): 1071—1079
- [54] Bautista L F, Sanz R, Molina M C, et al. Effect of different non-ionic surfactants on the biodegradation of PAHs by diverse aerobic bacteria. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2009, 63 (7): 913—922
- [55] Wang C P, Li J, Jiang Y, et al. Enhanced bioremediation of field agricultural soils contaminated with PAHs and OCPs. *International Journal of Environmental Research*, 2014, 8 (4): 1271—1278
- [56] Zhou W J, Zhu L Z. Enhanced desorption of phenanthrene from contaminated soil using anionic-nonionic mixed surfactant. *Environment Pollution*, 2007, 147 (2): 350—357
- [57] 陈敏婷. 表面活性剂强化PAHs污染土壤微生物修复的研究进展. *广东化工*, 2013, 40 (8): 77—78
Chen M T. Research progress of surface active agent in PAHs contaminated soil microbial remediation (In Chinese). *Guangdong Chemical Industry*, 2013, 40 (8): 77—78
- [58] 胡广军, 梁成华, 李培军, 等. 固定化微生物对多环芳烃污染土壤的降解. *生态学杂志*, 2008, 27 (5): 745—750
Hu G J, Liang C H, Li P J, et al. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil by immobilized microorganism (In Chinese). *Chinese Journal of Ecology*, 2008, 27 (5): 745—750
- [59] Stelting S, Burns R G, Sunna A, et al. Immobilization of *Pseudomonas* sp. Strain ADP: A stable inoculant for the bioremediation of atrazine. *Applied Clay Science*, 2012, 64: 90—93
- [60] Wang X, Gong Z Q, Li P J, et al. Degradation of pyrene and benzo [a] pyrene in contaminated soil by immobilized fungi. *Environmental Engineering Science*, 2008, 25 (5): 677—685
- [61] 钱林波, 元妙新, 陈宝梁. 固定化微生物技术修复PAHs污染土壤的研究进展. *环境科学*, 2012, 33 (5): 1767—1776
Qian L B, Yuan M X, Chen B L. Research progress about bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil with immobilized microorganism technique (In Chinese). *Environmental Science*, 2012, 33 (5): 1767—1776
- [62] Su D, Li P J, Wang X, et al. Biodegradation of benzo [a] pyrene in soil by immobilized fungus. *Environmental Engineering Science*, 2008, 25 (8): 1181—1188
- [63] 王新, 李培军, 宋守志, 等. 固定化微生物对土壤中多环芳烃的降解. *东北大学学报 (自然科学版)*, 2006, 27 (10): 1154—1156
Wang X, Li P J, Song S Z, et al. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by immobilized microorganisms (In Chinese). *Journal of Northeastern University (Natural Science)*, 2006, 27 (10): 1154—1156
- [64] Wang X, Gong Z Q, Li P J, et al. Degradation of pyrene in soils by free and immobilized yeasts, *Candida tropicalis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2007, 78 (6): 522—526
- [65] Tao X Q, Liu J P, Lu G N, et al. Biodegradation of phenanthrene in artificial seawater by using free and immobilized strain of *Sphingomonas* sp. GY2B. *African Journal of Biotechnology*, 2010, 9 (18): 2654—2660
- [66] Couto S R, Dom í nguez A, Sanromán A. Utilisation of ignocellulosic wastes for lignin peroxidase production by semisolid-state cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *Biodegradation*, 2001, 12 (5): 283—289
- [67] Verma P, Madamwar D. Production of ligninolytic enzymes for dye decolorization by cocultivation of white-rot fungi *Pleurotus ostreatus* and *Phanerochaete chrysosporium* under solid-state fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2002, 102/103 (1/6): 109—118
- [68] Bisht S, Kumar V, Kumar M. Inoculant technology in *Populus deltoides* rhizosphere for effective bioremediation of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) in contaminated soil, Northern India. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2014, 26 (9):

- 786—799
- [69] 司友斌, 彭军. 固定化微生物技术及其在污染土壤修复中的应用. 土壤, 2007, 39 (5): 673—676
- Si Y B, Peng J. The application of immobilized microorganism technology in contaminated soil remediation (In Chinese). Soils, 2007, 39 (5): 673—676
- [70] Chen B L, Yuan M X, Qian L B. Enhanced bioremediation of PAH-contaminated soil by immobilized bacteria with plant residue and biochar as carriers. Journal of Soils and Sediments, 2012, 12 (9): 1350—1359
- [71] 王新, 李培军, 巩宗强, 等. 混合固定化酵母菌对苯并 [a] 芘污染土壤的修复. 环境污染与防治, 2008, 30 (1): 1—8
- Wang X, Li P J, Gong Z Q, et al. Reremediation on benzene [a] pyrene contaminated soil by mixed immobilized yeast (In Chinese). Environmental Pollution and Control, 2008, 30 (1): 1—8
- [72] Tao X Q, Lu G N, Liu J P, et al. Rapid degradation of phenanthrene by using *Sphingomonas* sp. GY2B immobilized in calcium alginate gel beads. International Journal of Environment Research and Public Health, 2009, 6 (9): 2470—2480

A Review of Researches on Intensified Bio-Remediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Contaminated Soils

NI Ni^{1, 2} SONG Yang¹ WANG Fang¹ BIAN Yongrong¹ JIANG Xin^{1†}

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a group of toxic organic pollutants, found widely in the environment. In soil, as they are strongly adsorbed on soil particles, it is hard to remedy the contaminated soil efficiently. To remedy such soils, the technique of using intensified biological methods in combination to intensify the effect may effectively shorten the time the soil needs to get remedied and improve remediation efficiency, so it is considered to be the most promising one with bright future and high application value. Based on field experiments using two kinds of intensified bioremediation methods (plants-microbes and plants-microbes-soil animals), this paper introduces systematically features, mechanisms and effects of the two methods separately, infers immanent factors of the mechanisms and summarizes major factors (such as PAHs concentration, type of root exudates, amount and type of degrading bacteria and soil animals amended into the soil, interspecific competition and some environmental factors). In the meantime, an overall review is presented of the recent studies at home and abroad on intensified bioremediation of PAHs-contaminated soil including addition of surfactants or immobilized microorganisms, and their techniques, principles, applications and problems, and potential factors that may limit the intensified degradation process of PAHs in various conditions are addressed, including amount of surfactant or PAHs immobilizing microorganism added, ratio of different surfactants in mixing, properties of carries, choice of immobilizing pattern, soil water and nutrient contents and so on. In the end, the paper emphasizes that it is essential to pay attention to field application and safety evaluation in practicing the methods, so as to provide some theoretical bases and technical references for future researches on bioremediation of PAH-contaminated soils.

Key words Soil; Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH); Combined bioremediation; Enhanced technology; Surfactant; Immobilizing microorganism

(责任编辑: 陈德明)