

蚯蚓活动对金发草修复土壤菲芘污染的强化作用*

潘声旺^{1,2} 魏世强^{2†} 袁馨² 曹生宪² 江韬²

(1 成都大学环境科学与工程研究所, 成都 610106)

(2 西南大学资源环境学院, 重庆市农业资源与环境研究重点实验室, 重庆 400716)

摘要 采用盆栽试验法,研究了蚯蚓 (*Pheretima* sp.) 对金发草 (*Pogonatherum paniceum* L.) 修复菲、芘污染土壤的强化作用。结果显示,在试验浓度范围 (20.1 ~ 322.1 mg kg⁻¹) 内,蚯蚓活动促进了菲、芘污染土壤中金发草的生长,其根冠比明显增大。添加蚯蚓 70d 后,种植金发草的土壤中金发草的平均去除率高达 77.0%、70.6%,平均去除率分别较无蚯蚓作用时 (68.7%、61.2%) 增长了 8.3%、9.5%;相同污染水平下,蚯蚓活动对芘的强化去除程度总是大于菲。各修复因子中,植物-微生物交互作用对菲、芘去除的平均贡献率 (46.6%、42.8%) 最为突出,分别较无蚯蚓活动时 (41.6%、36.6%) 增长了 5.0%、6.1%。说明蚯蚓活动可强化土壤-植物系统对土壤中菲、芘污染的去作用。

关键词 植物修复;多环芳烃;菲;芘;金发草;蚯蚓

中图分类号 X171.5 **文献标识码** A

多环芳烃 (Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是环境中普遍存在的一类持久性有机污染物,性质稳定、水溶性差,环境含量逐年上升^[1]。在我国,部分土壤 PAHs 含量已达到 10² ~ 10⁴ μg kg⁻¹,交通干线、厂矿和城郊附近甚至高达 10⁶ μg kg⁻¹^[2]。因多数 PAHs 均具有较强的“三致”效应^[3],严重威胁着土壤的生态安全、农产品质量和人类健康,修复土壤 PAHs 污染已成为环境领域的焦点问题。

与物理、化学或微生物修复相比,植物修复投资少、效益高、环境友好,发展潜力巨大^[4-5]。但该技术起步较晚,多数研究仅限于修复植物的筛选^[6-7]或植物-微生物联合作用的修复效应^[8-9],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)对根际修复的强化作用方面研究尚少。事实上,蚯蚓活动不仅能有效地改善土壤的理化性质^[10]、调节微生物数量及其生物活性^[11],同时也能促进修复植物的生长^[12]。因 PAHs 的生物降解主要是在好氧条件下进行的^[13-14],蚯蚓活动所

引起的土壤-植物系统理化性质、生态功能的改变,尤其是通气状态的改善,能否对植物修复 PAHs 污染土壤产生促进作用? 相关研究鲜见报道。本研究拟以环毛蚓 (*Pheretima* sp.)、岩生植物金发草 (*Pogonatherum paniceum* L.) 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,以期对 PAHs 污染土壤的生态修复提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 土壤 中性紫色土,采自西南大学试验农场 10 ~ 20 cm 土层,无污染史。土壤有机质含量 22.3 g kg⁻¹,CEC 27.4 cmol kg⁻¹,pH 7.19,速效氮、磷、钾分别为 115、24.7、94.8 mg kg⁻¹。

1.1.2 植物 以 2 周龄金发草幼苗为试验材料。种子经双氧水处理后,无菌条件下催芽、培养 2 周。选择大小相近的幼苗洗净后备用。

* 国家科技支撑计划项目 (2007BAD87B10-05)、国家 863 计划项目 (2006AA10Z427)、重庆市重大科技攻关项目 (CSTC-2006AC1018) 资助

† 通讯作者, E-mail: sqwei@swu.edu.cn

作者简介: 潘声旺 (1973—), 男, 河南商城人, 博士, 主要研究方向为污染生态学。 E-mail: panwang@swu.edu.cn

收稿日期: 2009-06-20; 收到修改稿日期: 2009-09-14

1.1.3 蚯蚓 选用的蚯蚓为人工培育的环毛蚓, 培育方法^[15]如下: 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样充分混合后, 分装于 10 个底部有滤孔的瓷盆中(每盆 20 kg)。种蚓经双氧水浸润 10 min 后, 均匀添加至培养盆中(每盆 200 余条), 在 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、40% 田间持水量下室内培育。30 d 后, 选择同等大小(鲜重: $0.5 \sim 0.6 \text{ g}$; 体长: $7 \sim 8 \text{ cm}$)、无环带个体待用。

1.1.4 化学品 以菲(phenanthrene, Phe)、芘(pyrene, Pyr)为 PAHs 代表物(购自德国 Fluka 公

司, 纯度 $> 97\%$), 其分子量分别为 178.2、202.3 g mol^{-1} , 辛醇-水分配系数 ($\log K_{ow}$) 分别为 4.46、4.88。

1.2 试验方法

盆栽试验在智能温室内进行, 试验周期 70 d。土样采集后, 风干、过 3 mm 筛。将一定量的菲、芘经丙酮溶解后, 均匀洒在土样表层, 待丙酮挥发后, 多次搅拌、混匀, 各制备 6 个污染水平 ($T_0 \sim T_5$)。40% 田间持水量下平衡 1 周后, 测得各土样中菲、芘的初始浓度如表 1。

表 1 土样中菲、芘初始浓度

Table 1 Initial concentrations of Phe and Pyr in treated soil samples (mg kg^{-1})

PAHs	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5
菲 Phe	ND	20.1 ± 0.91	40.9 ± 1.47	81.1 ± 2.14	161.4 ± 2.89	322.1 ± 4.61
芘 Pyr	ND	20.2 ± 0.94	39.6 ± 1.51	79.9 ± 2.37	160.6 ± 3.05	321.4 ± 4.93

注: 平均值 \pm 标准差。 T_0 代表对照土样、未加 NaN_3 ; ND 代表没有检测出 PAHs ($n=3$) Note: Means \pm SD. T_0 represents pollution-free control, without NaN_3 added; ND means PAHs not detected ($n=3$)

试验分为 A、B 两组。A 组包括 4 个处理、重复 5 次。处理 1 (CK_1): 土样中加入 0.1% NaN_3 (抑制微生物活性)^[16], 无植物; 处理 2 (CK_2): 无植物, 不加 NaN_3 ; 处理 3 (TR_3): 种植物, 加 0.1% NaN_3 ; 处理 4 (TR_4): 种植物但不加 NaN_3 。土样装盆后(每盆 2 kg, 共计 220 盆), 除 CK_1 、 CK_2 外, 每盆移栽并保留金发草幼苗 5 株。试验期间, 白天室温维持在 25°C , $350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 光照强度下持续光照 16 h, 夜间室温控制在 12°C 左右; 田间持水量维持在 40% (称重补水法)。

B 组中, 除每盆添加 8 条同等大小的蚯蚓外, 试验设计、试验条件与 A 组相同, 也没有额外增加食物。试验浓度范围 ($T_1 \sim T_5$) 内, 70 d 后, 菲、芘污染的对照土样 (CK_2) 中蚯蚓体重较初始引入时平均减少了 15.14%、16.73%, 各污染水平下体重再生率与无污染的 T_0 组 (-13.42%) 间差异不显著 ($n=40, p>0.05$), 其他处理 (CK_1 、 TR_3 、 TR_4) 中生长状况与 CK_2 类似, 说明试验条件、土样适合蚯蚓生长。

1.3 样品测定与质量控制

70 d 后采样, 参照文献^[17]的方法, 对土壤、植株中 PAHs 进行提取、净化。蚯蚓组织中 PAHs 的提取、净化参照 Johnson^[18]的方法, 略有改进: 将洗净后活体蚯蚓于去离子水中培养 12 h 后, 转移至活化硅胶中埋置 48 h, 充分排净体内杂质。洗净后用滤纸吸

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 (GPC) 进一步去除少量的油脂残余。滤液经旋转蒸发器蒸干后甲醇定容 2 ml, 过 $0.22 \mu\text{m}$ 孔径滤膜后 HPLC 分析。

经上述前处理后, HPLC (Waters600) 测定, DAD 检测器; 检出限: 菲为 42.6 pg L^{-1} , 芘为 54.2 pg L^{-1} 。流动相为甲醇加水 (83:17), 检测波长菲 246 nm, 芘 235 nm。土样中菲、芘的加标(外标法, 下同)回收率分别为 95.9% ($n=7, \text{RSD} < 5.5\%$)、94.4% ($n=7, \text{RSD} < 6.6\%$); 植物样中分别为 94.7% ($n=7, \text{RSD} < 4.7\%$)、93.4% ($n=7, \text{RSD} < 5.5\%$); 蚯蚓样中分别为 91.9% ($n=7, \text{RSD} < 5.5\%$)、89.2% ($n=7, \text{RSD} < 6.7\%$)。

1.4 数据处理

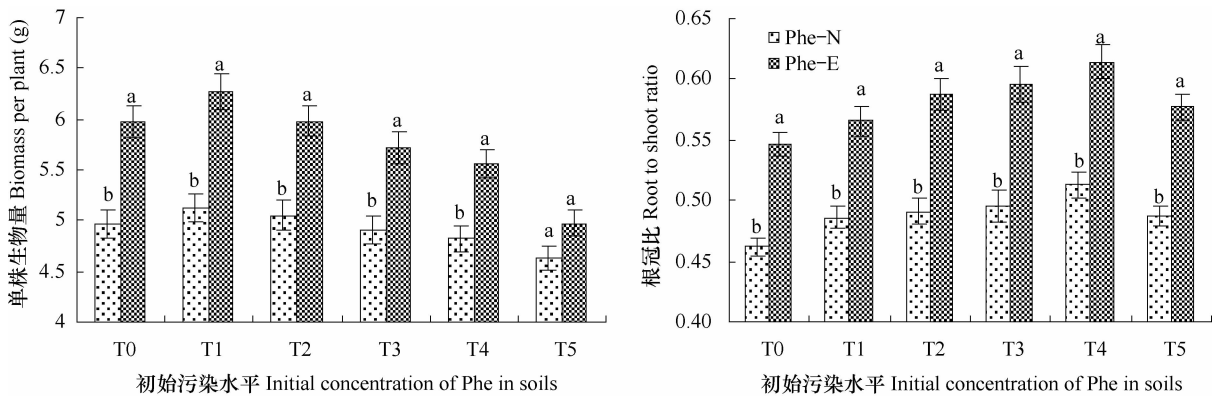
经 Excel 2003 基础处理后, 在 SPSS12.0 中用新复极差法 (Duncan's multiple range test, DMRT) 检验。PAHs 去除率 (R) 计算式为: $R = (C_0 - C_t) \times 100\% / C_0$, 式中, C_0 为土样中 PAHs 初始浓度, C_t 为取样时 PAHs 残留浓度。去除因子 i 对 PAHs 去除的贡献率 (T_i , 即因子 i 对 PAHs 的实际去除量与初始添加量的百分比) 计算式为: $T_i = R_i \times 100\% / W \cdot C_0$, 式中, R_i 为因子 i 对 PAHs 的实际去除量, W 为土样质量。很明显, 所有生物、非生物因子的贡献率之和理论上应等于 PAHs 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 显示, 试验 PAHs 浓度范围 ($20.1 \sim 322.1 \text{ mg kg}^{-1}$) 内, 添加蚯蚓能不同程度地促进 PAHs 污染土壤中金发草的生长。70 d 后, 非污染土壤中的单株生物量(地上、地下部分总和)较同一污染水平、无蚯蚓活动的 A 组增加了 $7.4\% \sim 22.5\%$ (平均 16.0%), 其中, $T_1 \sim T_4$ 污染水平下的单株生物量与同一污染水平的 A 组间差异显著 ($n = 25$,

$p < 0.05$); 根冠比增加了 $16.3\% \sim 20.4\%$ (平均 19.0%), 与同一污染水平 A 组间差异显著 ($n = 25$, $p < 0.05$)。菲污染土壤中的生长状况与非污染时大致相同: 单株生物量增加了 $6.5\% \sim 19.2\%$ (平均 17.6%), $T_1 \sim T_4$ 污染水平下单株生物量与同一污染水平的 A 组间差异显著 ($n = 25$, $p < 0.05$); 根冠比增加了 $15.9\% \sim 19.4\%$ (平均 17.6%), 相同污染水平的 A、B 组间差异显著 ($n = 25$, $p < 0.05$)。说明蚯蚓活动对菲、芘污染土壤中植物的生长具有一定的促进作用。



注: Phe-E、Phe-N 分别代表添加、未添加蚯蚓的非污染土样
 Note: Phe-E and Phe-N denotes Phe-spiked soils with or without earthworms introduced in, respectively

图 1 不同处理水平下金发草的生长状况

Fig. 1 Growth of *Pogonatherum paniceum* in different treatments

2.2 蚯蚓活动对土壤中 PAHs 去除的影响

表 2 显示, 添加蚯蚓的土壤-植物系统 (TR_4) 中 PAHs 残留量明显低于同一污染水平的 A 组: 试验结束时, B 组土样中 PAHs 残留量与种植金发草的 A 组 (TR_4) 间差异显著 ($n = 5$, $p < 0.05$); 与无金发草生长的 CK_2 间差异极显著 ($n = 5$, $p < 0.01$)。说明蚯蚓活动促进了土壤中 PAHs 的去除。

依照去除率 (R) 计算式 $R = (C_0 - C_t) \times 100\% / C_0$, 可推算不同处理条件下土壤中 PAHs 的去除情况(如表 2)。结果显示, 添加蚯蚓 70 d 后, 种植金发草的土壤中 PAHs 的去除率普遍高于同一污染水平的其他处理: $T_1 \sim T_5$ 污染水平范围内, 种植金发草的土壤 (TR_4) 中菲、芘的平均去除率分别为 77.0% ($58.0\% \sim 91.8\%$)、 70.6% ($54.7\% \sim 83.0\%$); 无蚯蚓作用(A 组)时, TR_4 中菲、芘平均

去除率分别为 68.7% ($51.0\% \sim 86.8\%$)、 61.2% ($46.5\% \sim 76.7\%$), 而无植物对照组 (CK_2) 中, 菲、芘平均去除率仅为 22.6% ($14.7\% \sim 30.1\%$)、 18.2% ($12.3\% \sim 24.2\%$)。

由相同处理条件、同一污染水平下 A、B 组土样中 PAHs 的去除程度差异, 进一步求得蚯蚓活动对 PAHs 污染土壤修复效果的影响(如图 2)。可以看出, 不同污染水平下, 蚯蚓活动对 PAHs 强化去除程度也不一样。中度污染水平 (T_3) 下, 种植金发草的土壤 (TR_4) 中菲、芘的强化去除程度最高, 分别为 11.0% 、 12.2% ; 高污染水平 (T_5) 下次之, 分别为 6.8% 、 8.0% ; 低污染水平 (T_1) 下最低, 仅为 5.3% 、 6.3% 。总体上, 蚯蚓活动对芘的平均强化去除率 (9.5%) 略大于菲 (8.3%)。

表 2 不同处理条件下土壤中 PAHs 的残留量及去除率

Table 2 Residual PAHs concentrations(RC) and PAHs removal rates (R) in different treatments

PAHs	处理 Treatment	A 组处理 2	CK ₂ of group A	A 组处理 4	TR ₄ of group A	B 组处理 4	TR ₄ of group B	
		残留量 RC (mg kg ⁻¹)	去除率 R (%)	残留量 RC (mg kg ⁻¹)	去除率 R (%)	残留量 RC (mg kg ⁻¹)	去除率 R (%)	
菲	T ₁	14.0 ± 0.5 Aa	30.1	2.7 ± 0.1 Bb	86.8	1.6 ± 0.1 Bc	91.8	
	Phe	T ₂	30.2 ± 0.8 Aa	26.1	9.3 ± 0.4 Bb	77.4	5.6 ± 0.3 Bc	86.2
		T ₃	62.4 ± 1.6 Aa	23.0	25.8 ± 0.9 Bb	68.1	16.9 ± 0.8 Bc	79.1
		T ₄	130.9 ± 2.9 Aa	18.9	64.5 ± 1.4 Bb	60.0	49.0 ± 1.2 Bc	69.6
		T ₅	274.6 ± 3.9 Aa	14.7	157.9 ± 2.8 Bb	51.0	135.5 ± 2.1 Bc	58.0
芘	T ₁	15.3 ± 0.5 Aa	24.2	4.7 ± 0.2 Bb	76.7	3.5 ± 0.2 Bc	83.0	
	Pyr	T ₂	31.2 ± 0.9 Aa	21.2	12.8 ± 0.4 Bb	68.2	8.7 ± 0.4 Bc	78.1
		T ₃	65.7 ± 1.8 Aa	17.8	31.3 ± 1.1 Bb	60.9	21.5 ± 1.0 Bc	73.0
		T ₄	135.4 ± 2.7 Aa	15.7	74.6 ± 1.6 Bb	53.5	57.5 ± 1.4 Bc	64.2
		T ₅	282.0 ± 3.2 Aa	12.3	172.1 ± 2.6 Bc	46.5	145.8 ± 2.4 Bc	54.7

注:表中数值为平均值 ± 标准差,同列数据后不同的大、小写字母标记表示差异极显著 ($p < 0.01$) 或显著 ($p < 0.05$) Note: Values in the table are means ± SD). The data in the same column followed by different capital or lowercase letters are statistically different from each other at 1% or 5% probability level by DMRT

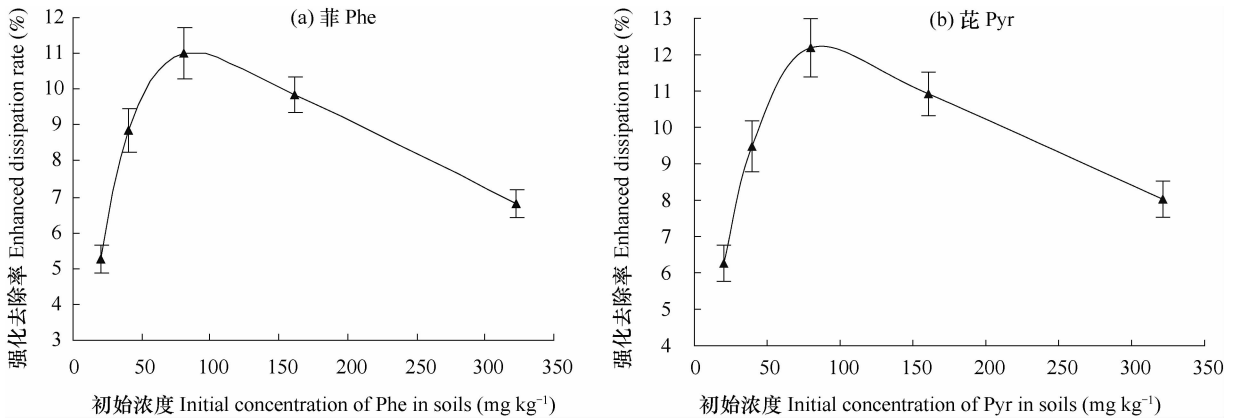


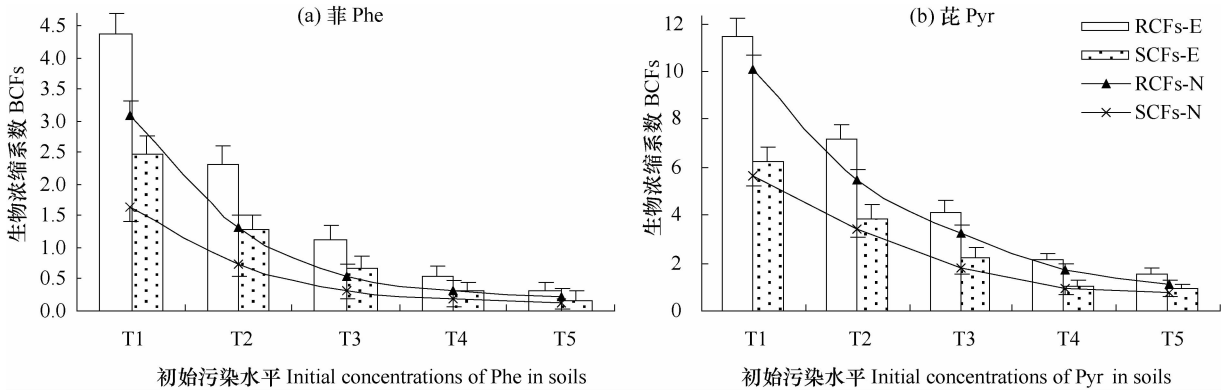
图 2 不同污染水平下菲、芘的强化去除差异

Fig. 2 Variation of PAHs removal rate with the treatments different in pollution level

2.3 蚯蚓活动对植物富集 PAHs 的影响

基于土壤中 PAHs 残留浓度以及其在植物组织中的积累浓度,分别求出各污染水平下 PAHs 在金发草根系、茎叶部的根部浓缩系数或茎叶浓缩系数 (RCFs 或 SCFs, Root or shoot concentration factors) (如图 3)。总体上,PAHs 在植物组织中生物浓缩系数 (BCFs, Bioconcentration factors) 随初始污染程度

的增加而减小;相同污染水平下,添加蚯蚓时 PAHs 在植物组织中 BCFs 普遍大于无蚯蚓时、根部大于茎叶部。如在 T₁ ~ T₅ 污染水平下,无蚯蚓作用时菲在金发草根系、茎叶部的 RCFs、SCFs 分别为 0.21 ~ 3.08、0.12 ~ 1.62;添加蚯蚓时,RCFs、SCFs 分别上升至 0.31 ~ 4.37、0.17 ~ 2.47。植物组织对芘的积累(图 3b)与菲类似(图 3a),但相近污染水平下,对芘的 BCFs 远大于菲。



注:RCFs-E, RCFs-N 和 SCFs-E, SCFs-N 分别代表添加、未添加蚯蚓时植物根系、茎叶部对 PAHs 浓缩系数;T₁ ~ T₅ 同表 1 Note: RCFs-E and RCFs-N denotes PAHs concentration factors of roots in treatments with and without earthworms introduced in, respectively; and SCFs-E and SCFs-N denotes PAHs concentration factors of shoots in treatments T₁ ~ T₅ were the same as in Table 1

图 3 植物组织对 PAHs 的富集作用

Fig. 3 PAHs enrichment by different plant tissues

2.4 蚯蚓对 PAHs 去除的强化途径

污染土壤中 PAHs 的去除主要源于各种非生物因素,如渗滤、吸附、光解、挥发等,和生物因素,如植物代谢、富集、微生物降解、植物-微生物交互作用等的共同作用。如果用 T_a 、 T_d 、 T_c 、 T_m 、 T_{pm} 代表非生物损失、植物代谢、富集、微生物降解、植物-微生物交互作用在 PAHs 去除过程中的贡献率,用 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 代表未添加蚯蚓时 CK₁、CK₂、TR₃、TR₄ 处理中 PAHs 的表观去除率,在不考虑因子间交互作用的情况下, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 可分别表述为^[19]:

$$R_1 = T_a$$

$$R_2 = T_a + T_m$$

$$R_3 = T_a + T_c + T_d$$

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

添加蚯蚓的土样(B组)中,因蚯蚓组织对 PAHs 的直接吸收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 PAHs 表观去除率的变化值可分别表述为:

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

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

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

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

式中, ΔR_1 、 ΔR_2 、 ΔR_3 、 ΔR_4 分别代表添加蚯蚓后 CK₁、CK₂、TR₃、TR₄ 中 PAHs 去除率与同一处理条件下 A 组土样中 PAHs 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 代表被蚯蚓组织直接吸收的 PAHs 量对 PAHs 修复的贡献率。由不同处理条件下土样、蚯蚓组织、植物组织中 PAHs 含量,得出各修复因子在 PAHs 去除过程中的贡献率(表 3)。

与 A 组土样相比,蚯蚓活动使 TR₄ 处理中菲、芘的平均去除率分别提高了 8.3%、9.5%,但被蚯蚓组织富集的非、芘量仅占其添加总量的 0.6%、0.8%,说明蚯蚓富集并不是 PAHs 被强化修复的主要途径。试验过程中,非生物性损失、植物代谢对菲芘的平均强化去除率仅为 0.2% 和 0.4%,二者也不是 PAHs 被强化修复的主要途径。相比之下,微生物降解、植物-微生物交互作用对 PAHs 去除的贡献率变化较大:前者对菲、芘去除的贡献率较 A 组(17.5%、15.7%)分别增加 2.7%、2.6%,分别占总强化去除率的 32.1%、28.0%;后者较 A 组(41.6%、36.6%)增加 5.0%、6.1%,分别占总强化去除率的 60.6%、65.0%。说明添加蚯蚓后土壤-植物系统对 PAHs 污染土壤所表现出的强化修复效应主要是通过进一步强化植物-微生物交互作用实现的。

表 3 生物、非生物因子在修复 PAHs 污染土壤过程中的贡献率

Table 3 Contributions of biotic and abiotic factors to remediation of PAHs polluted soils (%)

PAHs	项目 Factors	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
菲	T _a	6.7 ± 0.29Ac	6.0 ± 0.24ABc	5.2 ± 0.26Be	4.3 ± 0.2BCc	3.3 ± 0.17Cc
	(T _a ^e)	(0.1 ± 0.02)	(0.2 ± 0.05)	(0.2 ± 0.03)	(0.1 ± 0.02)	(0.1 ± 0.02)
	T _m	23.4 ± 0.52Ab	20.1 ± 0.46ABb	17.8 ± 0.44Bb	14.6 ± 0.39BCb	11.4 ± 0.34Cb
	(T _m ^e)	(1.2 ± 0.04)	(3.0 ± 0.09)	(3.7 ± 0.13) *	(3.4 ± 0.11) *	(1.9 ± 0.07)
	T _c	0.6 ± 0.06Ad	0.4 ± 0.04ABd	0.3 ± 0.04Be	0.2 ± 0.03BCe	0.1 ± 0.02Ce
	(T _c ^e)	(0.0 ± 0.01)	(0.0 ± 0.01)	(0.0 ± 0.01)	(0.0 ± 0.01)	(0.0 ± 0.01)
	T _d	8.4 ± 0.37Ac	6.0 ± 0.29Ac	3.7 ± 0.22Bd	1.9 ± 0.09Cd	1.1 ± 0.08Dd
	(T _d ^e)	(0.7 ± 0.05)	(0.5 ± 0.07)	(0.4 ± 0.05)	(0.3 ± 0.04)	(0.2 ± 0.03)
	T _e	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.02	0.0 ± 0.02	0.0 ± 0.01
	T _{pm}	47.7 ± 1.92Aa	44.9 ± 1.84ABa	41.2 ± 1.69Ba	39.0 ± 1.71BCa	35.0 ± 1.57Ca
(T _{pm} ^e)	(2.9 ± 0.16)	(5.1 ± 0.31) *	(6.6 ± 0.33) *	(5.7 ± 0.35) *	(4.8 ± 0.26) *	
芘	T _a	3.2 ± 0.13Ad	2.9 ± 0.11Ad	2.6 ± 0.09ABd	2.3 ± 0.08ABc	1.8 ± 0.10Bc
	(T _a ^e)	(0.1 ± 0.02)	(0.2 ± 0.03)	(0.2 ± 0.04)	(0.2 ± 0.04)	(0.1 ± 0.01)
	T _m	21.0 ± 0.49Ab	18.3 ± 0.46ABb	15.2 ± 0.36Bb	13.4 ± 0.33BCb	10.5 ± 0.28Cb
	(T _m ^e)	(1.4 ± 0.05)	(2.8 ± 0.08)	(3.8 ± 0.14) *	(3.4 ± 0.12) *	(1.8 ± 0.09)
	T _c	3.4 ± 0.21Ad	2.6 ± 0.18ABd	1.7 ± 0.12Bd	1.3 ± 0.08BCd	1.1 ± 0.07Cd
	(T _c ^e)	(0.0 ± 0.01)	(0.0 ± 0.01)	(0.0 ± 0.02)	(0.0 ± 0.01)	(0.0 ± 0.01)
	T _d	8.1 ± 0.39Ac	5.7 ± 0.31ABc	4.4 ± 0.29Bc	1.9 ± 0.15Cd	1.2 ± 0.11Dd
	(T _d ^e)	(0.7 ± 0.06)	(0.6 ± 0.06)	(0.4 ± 0.05)	(0.3 ± 0.04)	(0.2 ± 0.03)
	T _e	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.03	0.0 ± 0.02
	T _{pm}	41.0 ± 1.71Aa	38.8 ± 1.66ABa	36.9 ± 1.59Ba	34.6 ± 1.48BCa	31.9 ± 1.44Ca
(T _{pm} ^e)	(3.9 ± 0.21)	(6.3 ± 0.24) *	(7.7 ± 0.29) *	(6.8 ± 0.31) *	(6.0 ± 0.25) *	

注:1) 同一土壤同列中不同小写字母或同行中不同大写字母表示差异达到显著水平($p < 0.05$) Different lowercase or capital letters affixed to data of the same soils in the same column mean significant difference at $p < 0.05$; 2) 括号中的数据代表添加蚯蚓后该因子对 PAHs 去除贡献率差异, * 代表差异程度显著($p < 0.05$), T₁ ~ T₅ 同表 1 Data in brackets denote variation of the contribution of a given factor (*i*) to PAHs removal rate after introduction of earthworms; * means significant difference from each other at $p < 0.05$, and T₁ ~ T₅ stand for the same as in Table 1

3 讨论

伴随着植物修复技术的兴起,对其修复机制的认识也越来越深入^[6,20-21]。其中,植物-微生物交互作用被认为是植物促进 PAHs 降解的主要途径^[8,20,22]。因不同植物所产生的根系分泌物的种类、性质存在一定的种间差异,其根际降解效应可能也不一样^[23-24]。因此,修复植物的选择至关重要。早期研究^[19]显示,金发草在菲、芘污染土壤中生长潜力大、适应性强,修复效果明显,适合用作

PAHs 污染的修复植物。

试验浓度范围内,添加蚯蚓 70 d 后,种植金发草的土样 (TR₄) 中菲、芘的平均去除率分别由 68.7%、61.2% 至 77.0%、70.6%,其平均强化去除程度分别高达 8.3%、9.5%。其中,32.1% 的菲、28.0% 的芘的强化去除部分来源于微生物降解; 60.6% 的菲、65.0% 的芘的强化去除来源于植物-微生物交互作用。可见,蚯蚓活动不仅能改善土壤微生物对污染环境的适应程度、提高其种群数量及其生物活性^[25-26],而且也能通过改善土层内部通气状况、促进微生物对一些营养物质利用程度^[27]等途径进一步促进 PAHs 去除。本研究也证实:无论有无

植物,在中等污染水平时(T_3)蚯蚓活动对菲、芘强化去除效果最好。这可能与低污染水平环境中污染物的生物可利用性较低^[18]、高污染水平时微生物活性相对不足有关。

尽管被蚯蚓组织所富集的非、芘量相当有限(0.6%、0.8%),但蚯蚓活动改善了土壤-植物系统的理化性质、生态功能,尤其是土壤通气状态的改善对促进土壤-植物系统中PAHs的生物降解至关重要。Mallakin等^[28]认为,对于具有较稳定 π 键结构的PAHs分子而言,充足的氧气供给能有效地促进PAHs的起始氧化过程;同时,通气条件的改善在一定程度上也间接地促进土壤中好氧微生物的生长,增强了降解活性。此外,蚯蚓活动对金发草生长的促进^[19]、尤其是对其根系生长的促进作用,对扩大其根际效应范围、强化植物-微生物交互作用也具有十分重要的作用。

早期研究^[19]显示,相同处理条件下,菲的去除效果总是好于相似污染水平下芘的去除效果,污染物的分子结构越复杂,去除效果就越差^[29]。本研究却表明,添加蚯蚓后,对芘的强化去除效果(9.5%)却普遍略高于菲(8.3%),说明在土壤-植物系统中添加蚯蚓更有利于高分子难降解污染物的去除。

值得注意的是,与相同污染水平下种植金发草的 TR_4 处理相比,添加蚯蚓后植物积累对土壤-植物系统中PAHs去除的贡献率均有不同程度的降低,植物组织所积累的PAHs浓度略低于相似污染水平下无蚯蚓活动时的积累浓度。可能与蚯蚓活动促进了土壤-植物系统对PAHs的去除、土壤中PAHs残留浓度较低、可供根系吸附的污染源相对较少有关。可见,蚯蚓活动也能在一定程度上减少植物组织对PAHs的积累、降低生态风险。

4 结 论

1) 试验PAHs浓度范围(20.1~322.1 mg kg^{-1})内,蚯蚓活动促进了金发草的生长。与生长在同污染水平下的植株相比,菲、芘污染土壤中的单株生物量增加了7.2%~20.5%(平均13.0%)、6.5%~19.2%(平均9.6%),且根冠比显著增大。

2) 蚯蚓活动促进了金发草对PAHs污染土壤的修复效果。70 d后,土壤-植物系统中菲、芘的平均去除率高达77.0%、70.6%,分别较无蚯蚓活动

时(68.7%、61.2%)增长了8.3%、9.5%。

3) 蚯蚓活动对芘的强化去除效应(9.5%)总是强于菲(8.3%),中度污染水平(T_3)时强化效果最明显(12.2%、11.0%);相同污染水平下,被植物组织所富集的PAHs量总是略低于无蚯蚓活动时。

4) 蚯蚓活动对土壤-植物系统中菲、芘污染的强化去除效应主要是通过进一步强化植物-微生物交互作用实现的,其对菲、芘的强化去除率(5.0%、6.1%)分别占总强化去除率的60.6%、65.0%。

致 谢 感谢西南大学王明霞老师以及王永敏、张幸福、咸宇等同学在试验过程中给予的热情帮助!

参 考 文 献

- [1] 段永红,陶澍,王学军,等. 天津表土中多环芳烃含量的空间分布特征与来源. 土壤学报, 2005, 42(6): 942—947. Duan Y H, Tao S, Wang X J, et al. Spatial distribution and sources of PAHs in Tianjin's topsoil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2005, 42(6): 942—947
- [2] Li X H, Ma L L, Liu S F, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon in urban soil from Beijing, China. J Environ Sci-China, 2006, 18(5): 944—950
- [3] Manoli E, Samara C. Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: Sources, occurrence and analysis. Trends Anal Chem, 1999, 18(6): 417—428
- [4] Parrish Z D, Banks M K, Schwab A P. Assessment of contaminant lability during phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons impacted soil. Environ Pollut, 2005, 137: 187—197
- [5] Xu S Y, Chen Y X, Wu W X, et al. Enhanced dissipation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by combined plants cultivation. Sci Total Environ, 2006, 363: 206—215
- [6] Lee S H, Lee W S, Lee C H, et al. Degradation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere of grasses and legumes. J Hazard Mater, 2008, 153: 892—898
- [7] Oleszczuk P, Baran S. Polyaromatic hydrocarbons in rhizosphere soil of different plants: Effect of soil properties, plant species, and intensity of anthropogenic pressure. Commun Soil Sci Plan Anal, 2007, 38: 171—188
- [8] Child R, Miller C D, Liang Y, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading *Mycobacterium* isolates: Their association with plant roots. Appl Microbiol Biotechnol, 2007, 75 (3): 655—663
- [9] Chaudhry Q, Blom-Zandstra M, Gupta S, et al. Utilizing the synergy between plants and rhizosphere microorganisms to enhance breakdown of organic pollutants in the environment. Environ Sci Pollut R, 2005, 12(1): 34—48
- [10] Edwards C A. The use of earthworms in the breakdown and management of organic wastes. Boca Raton: CRC Press, 1998: 327—354

- [11] Scheu S. Effects of earthworms on plant growth: Patterns and perspectives. *Pedobiologia*, 2003, 47: 846—856
- [12] Eriksen-Hamel N S, Whalen J K. Earthworms, soil mineral nitrogen and forage production in grass-based hayfields. *Soil Biol Biochem*, 2008, 40: 1 004—1 010
- [13] Mallakin A, Dixon D G, Greenberg B M. Pathway of anthracene modification under simulated solar radiation. *Chemosphere*, 2000, 40: 1 411—1 435
- [14] Brauner J S, Widdowson M A, Novak J T, et al. Biodegradation of a PAH mixture by native subsurface microbiota. *Bioremediation*, 2002, 6(1): 9—24
- [15] Butt K R. Reproduction and growth of three deep-burrowing earthworms (*Lumbricidae*) in laboratory culture in order to assess production for soil restoration. *Biol Fertil Soils*, 1993, 16: 135—138
- [16] Gao Y Z, Zhu L Z. Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils. *Chemosphere*, 2004, 55: 1 169—1 178
- [17] 潘声旺, 魏世强, 袁馨, 等. 沿阶草 (*Ophiopogon japonicus*) 对土壤中菲芘的修复作用及机制. *生态学报*, 2008, 28(8): 3 654—3 661. Pan S W, Wei S Q, Yuan X, et al. Mechanisms of the removal and remediation of phenanthrene and pyrene in soil by dwarf lilyturf (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(8): 3 654—3 661
- [18] Johnson D L, Jones K C, Langdon C J, et al. Temporal changes in earthworm availability and extractability of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Soil Biol Biochem*, 2002, 34: 1 363—1 370
- [19] 潘声旺, 魏世强, 袁馨, 等. 金发草对土壤中菲芘的修复机制. *环境科学*, 2009, 30(5): 1 273—1 279. Pan S W, Wei S Q, Yuan X, et al. Mechanisms of the removal and remediation of phenanthrene and pyrene in soil by *Pogonatherum paniceum* (In Chinese). *Environmental Science*, 2009, 30(5): 1 273—1 279
- [20] Chen Y C, Banks M K, Schwab A P. Pyrene degradation in the rhizosphere of tall fescue (*Festuca arundinacea*) and switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *Environ Sci Technol*, 2003, 37: 5 778—5 782
- [21] Kim Y B, Park K Y, Chung Y, et al. Phytoremediation of anthracene contaminated soils by different plant species. *J Plant Biol*, 2004, 47: 174—178
- [22] Liste H H, Alexander M. Plant-promoted pyrene degradation in soil. *Chemosphere*, 2000, 40: 7—10
- [23] Yi H, Crowley D E. Biostimulation of PAH degradation with plants containing high concentrations of linoleic acid. *Environ Sci Technol*, 2007, 41(12): 4 382—4 388
- [24] Siciliano S D, Germida J J, Banks K, et al. Changes in microbial community composition and function during a polyaromatic hydrocarbon phytoremediation field trial. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69: 483—489
- [25] Eijsackers H, van Gestel C A M, De Jonge S, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons-polluted dredged peat sediments and earthworms: A mutual interference. *Ecotoxicology*, 2001, 10: 35—50
- [26] 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*). *Soil Biol Biochem*, 2008, 40: 1 954—1 959
- [27] 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 Biol Biochem*, 2005, 37: 2 065—2 076
- [28] Mallakin A, Dixon D G, Greenberg B M. Pathway of anthracene modification under simulated solar radiation. *Chemosphere*, 2000, 40: 1 411—1 435
- [29] Tabak H H, Lazorchak J M, Lei L, et al. Studies on bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated sediments: Bioavailability, biodegradability, and toxicity issues. *Environ Toxicol Chem*, 2003, 22: 473—482

EFFECT OF EARTHWORM REINFORCING *POGONATHERUM PANICEUM* REMEDIATION OF PHENANTHRENE/PYRENE POLLUTED SOIL

Pan Shengwang^{1,2} Wei Shiqiang^{2†} Yuan Xin² Cao Shengxian² Jiang Tao²

(1 Environment Science and Engineering Institute of Chengdu University, Chengdu 610106, China)

(2 Key Laboratory of Agricultural Resources and Environment in Chongqing, College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract A pot experiment was carried out to study effect of earthworm (*Pheretima* sp.) on *Pogonatherum paniceum* remedying soils polluted by phenanthrene (Phe) and pyrene (Pyr) in. Results show that earthworm activity promoted growth of *Pogonatherum paniceum* in soils with initial concentrations of Phe and Pyr ranging from 20.1 to 322.1 mg kg⁻¹, and apparently increased its root/shoot ratio. Seventy days after earthworm was introduced in, the average Phe and Pyr removal rate reached 77.0% and 70.6%, respectively, 8.3% and 9.5% higher than that in the treatment without earthworm introduced in, respectively. Apparently, the effect of earthworm activity on removal of Phe was greater than of

Pyr. Among all the remedying factors, the plant-microbial interaction contributed the most, about 46.6% and 42.8% to the total removal of Phe and Pyr, respectively 5.0% and 6.1% higher in the treatment with earthworm introduced in than in the treatment without earthworm (i. e. 41.6% of Phe and 36.6% of Pyr). The findings suggested that introduction of earthworm may enhance phytoremediation of soil polluted with PAHs by removing Phe and Pyr from the soil-plant system.

Key words Phytoremediation; PAHs; Phenanthrene; Pyrene; *Pogonatherum panicum*; Earthworm