

生物表面活性剂-微生物强化紫花苜蓿修复多环芳烃污染土壤

刘魏魏^{1,2,3}, 尹睿^{1,2*}, 林先贵^{1,2}, 张晶^{1,2}, 陈效民³, 李烜桢^{1,2}, 杨婷^{1,2}

(1. 中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室,南京 210008; 2. 中国科学院南京土壤研究所-香港浸会大学土壤与环境联合开放实验室,南京 210008; 3. 南京农业大学资源与环境科学学院,南京 210095)

摘要:在温室盆栽条件下,通过单独或联合添加生物表面活性剂鼠李糖脂(RH)和接种多环芳烃专性降解菌(DB),研究了利用生物表面活性剂-微生物强化紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)修复多环芳烃(PAHs)长期污染土壤的效果。结果表明,添加鼠李糖脂和接种 PAHs 专性降解菌能促进紫花苜蓿的生长和土壤中 PAHs 的降解。培养 90 d 后,RH、DB 处理的 PAHs 的降解率分别为 30.0% 和 49.6%,均高于对照处理(CK)(21.7%)。RH + DB 处理 PAHs 的降解率最高达 53.9%,说明鼠李糖脂和 PAHs 专性降解菌协同作用显著。另外,随着 PAHs 苯环数的增加,其平均降解率逐渐降低,但是接种 PAHs 专性降解菌能够提高 4 环和 5 环 PAHs 的降解率。同时也发现土壤中脱氢酶活性和 PAHs 降解菌数量越高的处理,土壤 PAHs 的降解率也越高。所以添加鼠李糖脂和接种 PAHs 专性降解菌能够有效促进土壤多环芳烃降解。

关键词:多环芳烃;污染土壤;紫花苜蓿;生物表面活性剂;多环芳烃专性降解菌

中图分类号:X53 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)04-1079-06

Interaction of Biosurfactant-Microorganism to Enhance Phytoremediation of Aged Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Contaminated Soils with Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

LIU Wei-wei^{1,2,3}, YIN Rui^{1,2}, LIN Xian-gui^{1,2}, ZHANG Jing^{1,2}, CHEN Xiao-min³, LI Xuan-zhen^{1,2}, YANG Ting^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. Joint Laboratory on Soil and Environment, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences-Hong Kong Baptist University (ISSAS-HKBU), Nanjing 210008, China; 3. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: A pot experiment in greenhouse was carried out to investigate the interactive effect of rhamnolipids (RH) addition and PAHs-specific degrading bacteria (DB) inoculation on the phytoremediation efficiency for removal polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from agricultural soils. Results indicated that RH addition and DB inoculation promoted alfalfa (*Medicago sativa* L.) growth and PAHs degradation in the soil. After 90 days, residual PAHs concentration in soil reduced 30.0% and 49.6% for the treatment of RH and DB, respectively, but only 21.7% for control. For the treatment of RH + DB, residual PAHs concentration in soil reduced 53.9%, showing synergy effect of RH addition and DB inoculation. In addition, the average PAHs degradation gradually reduced with the increase of the PAHs rings, but DB inoculation promoted the degradation of four-ring PAHs and five-ring PAHs. The number of PAHs degrading bacteria and dehydrogenase activity increased with the removal ratio of PAHs. Therefore RH addition and PAHs-specific degrading bacteria inoculation were effective in enhancing the phytoremediation efficiency of the long-term PAHs contaminated soils.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); soil contamination; alfalfa (*Medicago sativa* L.); biosurfactant; PAHs-specific degrading bacteria

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是 2 个或 2 个以上的芳香环稠和在一起的一类惰性较强、性质稳定的持久性有机污染物。低环的 PAHs (< 4 环)有剧烈的毒性,高环的 PAHs (≥ 4 环)具有强致畸性、致突变性^[1-4]。土壤中的多环芳烃,随着苯环数的增大,其降解速率越来越低。低环的 PAHs (萘、菲、蒽、芴)在土壤中能较快地被降解,存在的时间较短;而高环的 PAHs 则难以降解,在土

壤中较稳定,严重危害农产品安全和人类健康^[4,5]。很多国家已把 PAHs 列入优先控制有毒有机物黑名单。修复 PAHs 污染土壤尤其是高环 PAHs 污染土壤

收稿日期:2009-05-22;修订日期:2009-07-15
基金项目:国家自然科学基金项目(40801091);国家高新技术研究发展计划(863)重点项目(2007AA061101)
作者简介:刘魏魏(1984~),女,硕士研究生,主要研究方向为污染土壤的植物-微生物-表面活性剂修复,E-mail:blww1221@163.com
* 通讯联系人,E-mail:ryin@issas.ac.cn

已成为目前国内外土壤与环境学界共同关注的热点之一^[6,7]。

植物修复技术因其具有成本低、无二次污染和适用于大面积场地修复等特点而受到广泛关注,其去除有机污染物的机制主要是通过根系分泌物刺激根际特定微生物功能群落数量的增加以及共代谢作用达到降解的目的^[7-9]。然而由于土壤中 PAHs 类污染物的生物利用性较低,植物修复的修复效率相对较低,大约在 9.1% ~ 23.9% 左右^[10]。同时,在 PAHs 长期污染条件下,土壤微生物群落受到其影响,相应微生物功能菌群的数量较少。针对 PAHs 极易被土壤固相吸附生物利用性低的问题,人们常用表面活性剂增溶修复 (surfactant-enhanced remediation, SER) 技术把 PAHs 从土壤颗粒上解吸附下来^[11-13],增加 PAHs 生物可利用性,从而有利于微生物的降解。目前,利用化学表面活性剂提高 PAHs 修复效率研究较多^[14,15],但是化学表面活性剂成本高、容易对环境造成二次污染,绿色、可降解的生物表面活性剂相对较少。另外,针对 PAHs 长期污染土壤中微生物的数量较少的问题,可在利用植物进行污染土壤修复的同时,向土壤中接种具有高效降解能力的专性降解菌,可以明显提高植物修复有机污染物效果^[12,16]。因此,本研究利用生物表面活性剂和微生物的作用联合强化植物修复 PAHs 污染土壤。此外,生物表面活性剂-微生物强化植物修复 PAHs 污染土壤,可能会进一步促进污染土壤中高环的 PAHs 的降解,有关这方面的研究还鲜见报道。

目前,关于修复 PAHs 污染土壤大多是将 PAHs 污染物添加到土壤中进行模拟研究^[8,9,17],因为新添加污染物与土壤残留污染物的活性往往存在差异,故直接针对 PAHs 长期污染农田土壤进行修复可能更具有研究价值。鉴于此,本试验以 PAHs 长期污染农田污染土壤为研究材料,重点分析了生物表面活性剂-PAHs 专性降解菌强化紫花苜蓿对 PAHs 的降解及其与酶活性、PAHs 降解菌数量的关系,以期为农田土壤中 PAHs 降解的原位修复技术提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤

采自江苏无锡某由于多年化工废水 PAHs 污染的农田,多点采集表层土壤(0 ~ 20 cm),捡出植物

根系、石砾等残留物,过 2 mm 不锈钢筛,充分混匀,供盆栽试验用。同时测定土壤基本理化性质,供试土壤的 pH(H₂O) 6.4,有机质 19.2 g/kg,全 N 1.3 g/kg,全 P 0.5 g/kg,全 K 14.2 g/kg,速效 P 3.6 mg/kg,速效 K 86.0 mg/kg。供试土壤的 PAHs 本底值为 13.5 mg/kg。

1.1.2 供试植物

紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)种子购自江苏省农业科学院牧草研究所。

1.1.3 供试生物表面活性剂

鼠李糖脂(Rhamnolipids),浓度为 4 g/L,系由鼠李糖脂产生菌液体发酵所得。由南京农业大学环境工程实验室提供。

1.1.4 供试 PAHs 专性降解菌

以 4 环的芘和 5 环的苯并芘为污染物,采用液体培养基进行分离筛选,从污染土壤中分离出来的具有高效 PAHs 降解能力的土著细菌芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)和黄杆菌(*Flavobacterium* sp.),由中国科学院沈阳应用生态研究所提供。

1.1.5 化学品

菲(Phenanthrene)、苯并[a]芘(Benzo[a]pyrene)、蒽(Anthracene)、芴(Fluorene)、二苯并噻吩(Dibenzothiophene)、二氯甲烷、正己烷、环己烷、乙腈均为 HPLC 级;其他试剂为分析纯。

1.2 试验设计与实施

试验处理:①只种植紫花苜蓿(CK);②种植紫花苜蓿,添加鼠李糖脂(RH);③种植紫花苜蓿,接种 PAHs 专性降解菌(DB);④种植紫花苜蓿,添加鼠李糖脂和接种 PAHs 专性降解菌(RH + DB)。试验共设 4 个处理,每个处理重复 5 次。试验采用底部有孔的盆钵,PAHs 专性降解菌按 3%(质量分数)用量与土壤混合均匀,鼠李糖脂按 10 mL/kg 与土壤混合均匀装盆,每盆装土 3 kg。每盆播种 20 粒紫花苜蓿种子,出苗 10 d 后间苗,每盆留 10 株。盆栽试验在温室中进行。在培养过程中的第 30、60、90 d 时分别取样。每盆用小型不锈钢土钻随机采取 3 点,组成混合土样。将所采集的土壤样品分成 2 份,一份土样于 4℃ 保存,以供脱氢酶活性和 PAHs 降解菌数量的测定用分析用,另一份土样风干,过 20 目筛,供 PAHs 含量分析用。

1.3 分析方法

1.3.1 植物生物量测定

参考文献[18]植物生物量采用常压恒温干燥法测定。

1.3.2 PAHs 的提取与测定

土壤中 PAHs 提取参照文献[19]的提取方法, HPLC 测定. 测试条件如下:色谱柱为 4.6 mm × 250 mm 烷基 C₁₈ PAHs 专用柱;流动相为色谱纯乙腈/水;流速为 1 mL · min⁻¹;柱温为 30℃;进样量为 10 μL.

1.3.3 土壤中脱氢酶活性的测定

参照文献[20]三苯基四氮唑氯化物(TTC)法测定.

1.3.4 PAHs 降解菌数量的测定

参照文献[21]PAHs 降解菌计数板法(MPN 法)测定.

1.4 数据处理

采用 Excel 2003 制图,采用 SPSS 16.0 进行显著性分析(*F* 检验 $p < 0.05$).

2 结果与分析

2.1 不同处理紫花苜蓿的生物量

经过 90 d 培养,紫花苜蓿的茎叶和根的生物量如图 1 所示.4 个处理紫花苜蓿的生物量顺序为:CK < RH < DB < RH + DB.对于紫花苜蓿茎叶生物量,RH 与 CK 处理没有显著差异($p < 0.05$);DB、RH + DB 处理显著大于 CK($p < 0.05$).对于紫花苜蓿根生物量,各处理均没达到显著差异($p < 0.05$).在不做任何处理情况下植物长势良好,说明紫花苜蓿对土壤中的 PAHs 有一定的耐受性,但接种添加鼠李糖脂,微生物能增加紫花苜蓿的生物量,比对照处理分别高 9.4% 和 20.1%. PAHs 专性降解菌对紫花苜蓿的促进作用强于鼠李糖脂.鼠李糖脂与 PAHs 专性降解菌联合作用对紫花苜蓿生长的促进效应(比对照高 23.8%)强于鼠李糖脂和 PAHs 专性降解菌单独处理,这说明鼠李糖脂和 PAHs 专性降解菌在促进紫花苜蓿生长方面存在交互作用.接种 PAHs 专性降解菌增加了土壤中微生物数量,添加鼠李糖脂活化土壤中的 PAHs,增大了土著微生物对 PAHs 的生物利用率,两者促进了土壤中的 PAHs 降解,减少其对紫花苜蓿的毒害,从而促进了紫花苜蓿生长,其中对紫花苜蓿地上部分的生长影响大于地下部分.

2.2 土壤中 PAHs 含量的动态变化和降解率

紫花苜蓿生长过程中,不同处理土壤中 PAHs 含量的动态变化如图 2.图 2 说明随着培养时间的延长土壤中 PAHs 含量逐渐降低.各处理都是在 30 d 内降低迅速,随后降低速率变慢.同一时间内,各

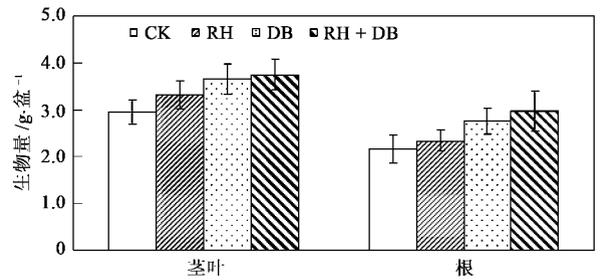


图 1 不同处理土壤中紫花苜蓿的生物量

Fig. 1 Biomass of alfalfa growing in different treatments

个处理土壤 PAHs 含量顺序为:CK > RH > DB > RH + DB.添加鼠李糖脂、接种 PAHs 专性降解菌能促进土壤 PAHs 含量的降低. RH 处理土壤 PAHs 含量低于 CK 处理,但没达到显著差异($p < 0.05$);DB、RH + DB 处理土壤 PAHs 含量显著低于 CK 处理($p < 0.05$).

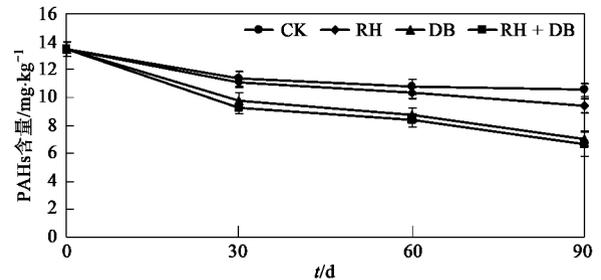


图 2 土壤中 PAHs 含量动态变化

Fig. 2 Dynamics of PAHs contents in soil

培养结束后,不同处理土壤 PAHs 降解率如图 3 所示.与本底值相比(13.5 mg/kg),只种紫花苜蓿的对照处理也能使土壤中 PAHs 的量下降,其降解率为 21.7%,这主要是土著微生物在根系分泌物刺激下降解 PAHs 的结果.外源添加鼠李糖脂、接种 PAHs 专性降解菌能提高其降解速度. RH、DB 处理的 PAHs 降解率分别是 30.0%、49.6%,其中 PAHs 专性降解菌对 PAHs 的降解率强于鼠李糖脂. RH +

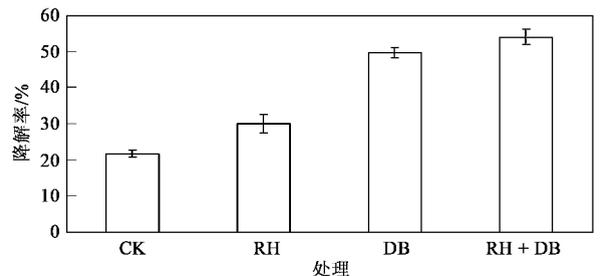


图 3 不同处理土壤中 PAHs 的降解率

Fig. 3 Degradation rate of PAHs in different treatments

DB处理的降解效率最高达53.9%,强于鼠李糖脂和PAHs专性降解菌单独处理,这说明鼠李糖脂和PAHs专性降解菌在促进PAHs降解方面存在交互作用。

2.3 土壤中PAHs分环含量和降解率

土壤中本底值PAHs的分环含量顺序为4环>5环>6环>3环>2环,占本底值PAHs总量分别是54.9%、30.0%、9.7%、5.2%、0%。种植紫花苜蓿90d后,不同处理土壤中PAHs的分环含量如图4所示,同一环数不同处理土壤PAHs含量为CK>RH>DB>RH+DB。添加鼠李糖脂、接种PAHs专性降解菌能加快土壤不同PAHs含量的降低。RH处理土壤各环PAHs含量低于CK处理,但没达到显著差异($p < 0.05$)。DB、RH+DB处理土壤4环和5环PAHs含量显著低于CK处理($p < 0.05$),3环和6环PAHs含量无显著差异($p < 0.05$)。

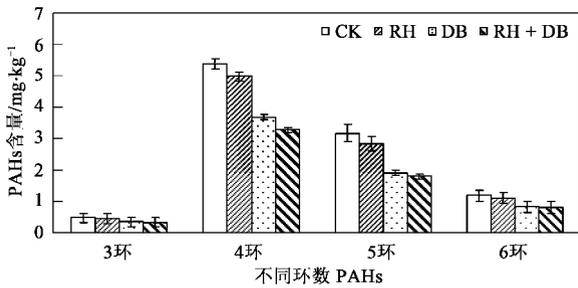


图4 土壤中不同环数PAHs含量

Fig. 4 Content of different rings PAHs in soil

从图5中可以看出,不同环数土壤PAHs降解率不同。3环PAHs降解率为32.6%~53.5%,平均值为43.0%;4环PAHs降解率为27.1%~55.7%,平均值为41.3%;5环PAHs降解率为21.5%~55.7%,平均值为39.9%;6环PAHs降解率为10.3%~39.0%,平均值为25.5%。总体上,随着苯环数的增加,PAHs的平均降解率越低。但接种PAHs专性降解菌能够使4环和5环PAHs的降解率高于3环PAHs。DB和RH+DB处理土壤中4环和5环PAHs的降解率比3环PAHs的降解率分别高1.6%、2.6%和2.1%、2.2%。接种PAHs专性降解菌能够提高4环和5环PAHs的降解率。

2.4 土壤脱氢酶活性动态变化

在紫花苜蓿90d生长过程中,土壤脱氢酶活性变化情况如图6所示,各处理条件下的土壤脱氢酶活性随培养时间的增加而逐渐升高。同一时间内,各个处理土壤脱氢酶活性顺序为:CK < RH < DB < RH

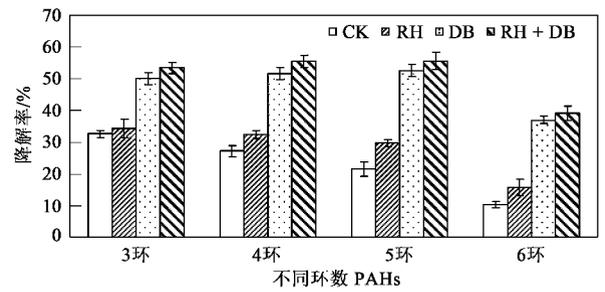


图5 土壤中不同环数PAHs的降解率

Fig. 5 Degradation rate of different rings PAHs in soil

+DB。紫花苜蓿根际为土著微生物提供生存场所和营养,促进其生长,提高了脱氢酶活性。添加鼠李糖脂能提高土壤脱氢酶活性,但与CK处理相比没有显著差异($p < 0.05$)。接种PAHs专性降解菌增加了微生物数量,极显著提高了土壤脱氢酶活性($p < 0.01$)。添加鼠李糖脂接种PAHs专性降解菌极显著提高了土壤脱氢酶活性($p < 0.01$)。

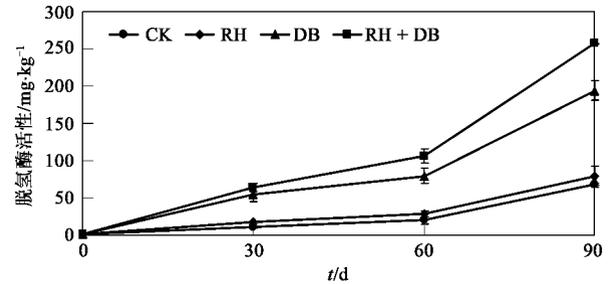


图6 土壤脱氢酶活性动态变化

Fig. 6 Dynamics of soil dehydrogenase activity

2.5 土壤PAHs降解菌数量动态变化

土壤PAHs降解菌是指土壤中能降解PAHs的微生物,包括细菌、真菌等。土壤PAHs降解菌数量动态变化情况如图7,可以看出土壤中原来存在一定数量的土著降解菌,不过数量很小。RH与CK处理土壤PAHs降解菌数量没有显著差异($p <$

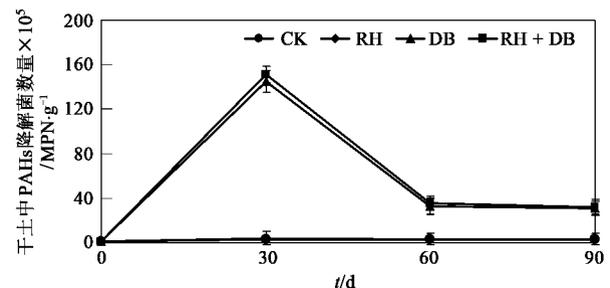


图7 土壤中PAHs降解菌数量动态变化

Fig. 7 Dynamics of soil PAHs degrading bacteria

0.05)。外源接种微生物后,前30 d土壤PAHs降解菌数量迅速增加,DB、RH+DB处理增长2个数量级,显著高于CK、RH处理($p < 0.05$)。这可能是接种微生物后的30 d内,微生物适应了环境,数量迅速增加。30~60 d时各处理PAHs降解菌数量有所下降,培养至第90 d,各处理的PAHs降解菌数量又有一定程度的降低,可能与微生物生长周期有关。这与平立凤^[22]研究的添加碳源刺激土壤PAHs降解的微生物数量动态变化趋势相似。

3 讨论

研究表明,紫花苜蓿通过根际效应可以有效刺激土壤根际土著微生物活性和数量的增加,从而有效促进土壤PAHs降解^[23,24]。在90 d试验中,种植紫花苜蓿可以实现21.7%的PAHs降解,不过这种修复过程还是相对缓慢的。添加鼠李糖脂能够增加了疏水性污染物的溶解能力和传质速率,促进土壤中PAHs的降解。Garcia等^[25]指出,添加鼠李糖脂可以使细菌更容易附在菲上,因此有助于提高菲的生物可利用率和污染物降解速率。Zhu等^[13]报道了生物表面活性剂鼠李糖脂可加快土壤中菲和芘的降解。本研究表明生物表面活性剂鼠李糖脂能促进长期PAHs污染土壤中PAHs的去除。在90 d试验中,添加鼠李糖脂对PAHs降解率是30.0%,高于单独种植紫花苜蓿。其原因是生物表面活性剂能促进PAHs在土壤中的解吸和溶解,有效提高疏水性PAHs的生物可利用性,强化土著生物降解过程。

PAHs专性降解菌表现出强化修复PAHs污染土壤的作用。有研究表明,降解菌能明显地提高多环芳烃的降解率^[26,27]。本试验也表明PAHs专性降解菌能明显促进紫花苜蓿对土壤中PAHs的降解,在90 d试验中,接种PAHs专性降解菌对PAHs降解率达到49.6%,主要原因一是微生物在生长过程中以PAHs为碳源和能源或把PAHs与其它有机质共代谢而降解PAHs;二是PAHs专性降解菌和紫花苜蓿根际的互利作用。另外,PAHs专性降解菌与鼠李糖脂联合作用可显著提高PAHs降解率达53.9%,两者的协同修复作用明显,不过有关其协同修复的机制还需进一步研究。

许多细菌都具有降解多环芳烃的能力。一般来说,随多环芳烃苯环数量的增加,其降解速率降低。低分子量的2环和3环PAHs比较容易被生物降解,而高分子量的4环、5环和6环PAHs却很难被生物降解。然而也有报道提出不一致的观点。孙铁珩

等^[28]报道了接种细菌明显提高部分3环和5环PAHs的降解率。本试验中,随着PAHs苯环数的增加,其平均降解率逐渐降低,但是接种PAHs专性降解菌能够提高4环和5环PAHs的降解率,这可能与PAHs专性降解菌是以4环的芘和5环苯并芘为污染物从土壤中筛选的土著细菌有关。

土壤中酶活性的变化可以反映土壤中微生物降解有机污染物的能力。脱氢酶是土壤中重要的氧化还原酶,在环状有机化合物的分解转化过程中起到重要的作用,主要参与PAHs加氧化后形成中间产物转-二聚氢脱氢生成儿茶酚的过程^[29],其活性的大小反映土壤对有机化合物降解能力的强弱。有研究报道,土壤中脱氢酶活性、PAHs降解菌数量与PAHs的降解率显著正相关^[8,30]。本研究得到相似的结果,土壤中脱氢酶活性和PAHs降解菌数量越高,PAHs的降解率越高。RH、DB和RH+DB处理土壤中脱氢酶活性和PAHs降解菌数量高于CK处理,这也是RH、DB和RH+DB处理能够促进PAHs降解的一个重要原因。所以添加鼠李糖脂接种PAHs专性降解菌强化紫花苜蓿修复PAHs污染土壤,与根际脱氢酶活性和PAHs降解菌数量有关。添加鼠李糖脂提高了PAHs的生物可利用性,接种PAHs专性降解菌增加根际微生物活性。两者都促进了根际PAHs降解,减少其对紫花苜蓿的毒害,促进紫花苜蓿生长,提高根际脱氢酶活性和PAHs降解菌数量,增强污染土壤多环芳烃的修复能力。

4 结论

(1)添加鼠李糖脂和接种PAHs专性降解菌可以减少PAHs对紫花苜蓿的毒害,促进紫花苜蓿生长,增加紫花苜蓿生物量,其中对紫花苜蓿地上部分的生长影响大于地下部分。

(2)添加鼠李糖脂,提高了PAHs的生物可利用性,接种PAHs专性降解菌,增加了土壤微生物数量,两者都促进了土壤PAHs的降解,降解率分别为30.0%和49.6%。两者协同修复能明显促进土壤PAHs降解,降解效率最高达53.9%。

(3)随着PAHs苯环数的增加,其平均降解率逐渐降低。接种PAHs专性降解菌能够提高4环和5环PAHs的降解率。

(4)添加鼠李糖、接种PAHs专性降解菌,提高了PAHs污染土壤中脱氢酶活性和PAHs降解菌数量,促进了PAHs的降解。土壤脱氢酶活性和PAHs降解菌数量越高,土壤PAHs的降解率也越高。

致谢 :感谢中国科学院沈阳应用生态所的台培东老师提供 PAHs 专性降解菌菌株 ;感谢南京农业大学的周立祥老师、占新华老师提供鼠李糖脂 ;感谢中国科学院土壤研究所的安琼老师、赵玲老师在 PAHs 测定方面提供的指导和帮助。

参考文献 :

- [1] Prajapati S K , Tripathi B D. Biomonitoring seasonal variation of urban air polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using *Ficus benghalensis* leaves [J]. Environ Pollut , 2008 , **151** (3) : 543-548.
- [2] 张迪瀚 , 马永亮 , 贺克斌 , 等. 北京市大气颗粒中多环芳烃 (PAHs) 污染特征 [J]. 环境科学 , 2006 , **27** (7) : 1269-1275.
- [3] Hong Y W , Yuan D X , Lin Q M , et al. Accumulation and biodegradation of phenanthrene and fluoranthene by the algae enriched from a mangrove aquatic ecosystem [J]. Mar Pollut Bull , 2008 , **56** (8) : 1400-1405.
- [4] Boonchan S , Britz M L , Stanley G A. Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures [J]. Appl Environ Microbiol , 2000 , **66** (3) : 1007-1019.
- [5] Watanabe M , Noma Y. Influence of combustion temperature on formation of nitro-PAHs and decomposition and removal behaviors in Pilot-scale waste incinerator [J]. Environ Sci Technol , 2009 , **43** (7) : 2512-2518.
- [6] Dong T T T , Lee B K. Characteristics , toxicity , and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in road dust of Ulsan , Korea [J]. Chemosphere , 2009 , **74** (9) : 1245-1253.
- [7] 尹春芹 , 蒋新 , 杨兴伦 , 等. 施肥对花红苋菜吸收和积累土壤中 PAHs 的影响 [J]. 中国环境科学 , 2008 , **28** (8) : 742-747.
- [8] 范淑秀 , 李培军 , 巩宗强 , 等. 苜蓿对多环芳烃菲污染土壤的修复作用研究 [J]. 环境科学 , 2007 , **28** (9) : 2080-2084.
- [9] 潘声旺 , 魏世强 , 袁馨 , 等. 金发草对土壤中菲、芘的修复机制 [J]. 环境科学 , 2009 , **30** (5) : 1273-1279.
- [10] Parrish Z D , Banks M K , Schwab A P. Effectiveness of phytoremediation as a secondary treatment for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in composted soil [J]. Int J Phytoremediat , 2004 , **6** (2) : 119-137.
- [11] 高彦征 , 朱利中 , 胡晨剑 , 等. Tween80 对植物吸收菲和芘的影响 [J]. 环境科学学报 , 2004 , **24** (4) : 713-718.
- [12] 程国玲 , 李培军 , 王凤友 , 等. 多环芳烃污染土壤的植物与微生物修复研究进展 [J]. 环境污染治理技术与设备 , 2003 , **4** (6) : 30-36.
- [13] Zhu L Z , Zhang M. Effect of rhamnolipids on the uptake of PAHs by ryegrass [J]. Environ Pollut , 2008 , **156** (1) : 46-52.
- [14] 姜霞 , 井欣 , 高学晟 , 等. 表面活性剂对土壤中多环芳烃生物有效性影响的研究进展 [J]. 应用生态学报 , 2002 , **13** (9) : 1179-1186.
- [15] Zheng Z M , Obbard J P. Polycyclic aromatic hydrocarbon removal from soil by surfactant solubilization and *Phanerochaete chrysosporium* oxidation [J]. J Environ Qual , 2002 , **31** (6) : 1842-1847.
- [16] 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 [J]. Environ Pollut , 2004 , **130** (3) : 465-476.
- [17] 刘世亮 , 骆永明 , 丁克强 , 等. 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 [J]. 土壤学报 , 2004 , **41** (3) : 337-342.
- [18] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京 : 中国农业科技出版社 , 2000. 302-304.
- [19] 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 [J]. 应用生态学报 , 1995 , **6** (1) : 92-96.
- [20] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京 : 农业出版社 , 1986.
- [21] Wrenn B A , Venosa A D. Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by a most-probable number procedure [J]. Can J Microbiol , 1996 , **42** (3) : 252-258.
- [22] 平立凤. 长江三角洲地区典型土壤环境中多环芳烃污染、化学行为和生物修复研究 [D]. 南京 : 中国科学院南京土壤研究所 , 2005.
- [23] Liste H H , Alexander M. Plant-promoted pyrene degradation in soil [J]. Chemosphere , 2000 , **40** (1) : 7-10.
- [24] Korade D L , Fulekar M H. Remediation of anthracene in mycorrhizospheric soil using ryegrass [J]. Afr J Environ Sci Technol , 2008 , **2** (9) : 249-256.
- [25] Garcia-Junco M , Olmedo E D , Ortega-Calvo J J. Bioavailability of solid and non-aqueous phase liquid (NAPL) -dissolved phenanthrene to the biosurfactant-producing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* 19SJ [J]. Environ Microbiol , 2001 , **3** (9) : 561-569.
- [26] 苏丹 , 李培军 , 王鑫 , 等. 3 株细菌对土壤中芘和苯并芘的降解及其动力学 [J]. 环境科学 , 2007 , **28** (4) : 913-917.
- [27] 丁克强 , 尹睿 , 刘世亮 , 等. 石油污染土壤堆制微生物降解研究 [J]. 应用生态学报 , 2002 , **13** (9) : 1137-1140.
- [28] 孙铁珩 , 宋玉芳 , 许华夏 , 等. 植物法生物修复 PAHs 和矿物油污染土壤的调控研究 [J]. 应用生态学报 , 1999 , **10** (2) : 225-229.
- [29] 刘世亮 , 骆永明 , 丁克强 , 等. 黑麦草对苯并 [a] 芘污染土壤的根际修复及其酶学机理研究 [J]. 农业环境科学学报 , 2007 , **26** (2) : 526-532.
- [30] 邹德勋 , 骆永明 , 滕应 , 等. 多环芳烃长期污染土壤的微生物强化修复初步研究 [J]. 土壤 , 2006 , **38** (5) : 652-656.