

紫花苜蓿-菌根真菌-根瘤菌对多氯联苯污染土壤的修复作用

崔力拓¹, 李志伟²

(1. 中国环境管理干部学院, 河北 秦皇岛 066004, 2. 河北农业大学海洋学院, 河北 秦皇岛 066003)

摘要:以紫花苜蓿为材料,运用盆栽试验,通过接种根瘤菌、菌根真菌对多氯联苯污染土壤的修复效应进行了研究。结果表明,紫花苜蓿对土壤中多氯联苯浓度降低具有重要作用,重污染土壤中平均降低了 24.48%,轻污染土壤平均降低了 19.14%;根瘤菌和菌根真菌双接种强化了紫花苜蓿对多氯联苯的修复作用,污染土壤的修复效果与土壤原污染程度有关;紫花苜蓿-菌根真菌-根瘤菌协同修复效果在重污染土壤中强于轻污染土壤;同时紫花苜蓿对土壤中 PCBs 表现出较强的耐性,因而可以作为 PCBs 污染土壤的植物修复材料。

关键词:多氯联苯;农田土壤;生物修复

中图分类号: X53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)01-0226-04

Bioremediation of Polychlorinated Biphenyls Contaminated Soil by *Medicago sativa* L. Inoculated with *Glomus caledonium* L. and *Sinorhizobium meliloti*

CUI Li-tuo¹, LI Zhi-wei²

(1. Environmental Management College of China, Qinhuangdao 066004, China; 2. Ocean College, Agricultural university of Hebei, Qinhuangdao 066003, Chian)

Abstract: Inoculated *Glomus caledonium* L. and *Sinorhizobium meliloti*, *Medicago sativa* L. was used to study the bioremediation of polychlorinated biphenyls (PCBs) in soil by cultivating it in a pot. The results showed that *Medicago sativa* L. played an important role in reducing the content of PCBs in soil, and the content of PCBs in heavily contaminated soil and weakly contaminated soil were reduced by 24.48% and 19.14% respectively. The bioremediation effect of *Medicago sativa* L. was intensified when inoculated with *Glomus caledonium* L. and *Sinorhizobium meliloti*. The bioremediation of PCBs in soil was related with the original content of PCBs in soil. The co-bioremediation of *Medicago sativa* L.-*Glomus caledonium* L.-*Sinorhizobium meliloti* in heavily contaminated soil was better than that in light contaminated soil, and PCBs contents were reduced by 26.27% and 23.81% respectively. *Medicago sativa* L. showed a higher endurance to PCBs in soil, so it could be used in the bioremediation of contaminated soil with PCBs.

Keywords: PCBs; farmland soil; bioremediation

多氯联苯(PCBs)是一种典型的持久性有机污染物,能通过食物链富集、放大,对动物和人体造成危害^[1-3],因此 PCBs 污染的土壤修复已经越来越受到重视。在 PCBs 污染土壤的修复方面,多采用微生物降解和植物修复技术^[4-7]。近年来随着土壤有机污染修复

方面研究的不断深入,利用植物-微生物对土壤有机污染进行联合修复已成为土壤生物修复技术的一个重要发展方向^[8],但利用植物-微生物联合修复受 PCBs 污染的土壤方面鲜有报道。因此本研究拟采用受 PCBs 长期污染的农田土壤,利用紫花苜蓿-菌根真菌-根瘤菌对其进行生物修复研究,以为受 PCBs 污染土壤的植物-微生物协同修复技术的推广提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

收稿日期:2007-03-05

基金项目:河北省教育厅自然科学基金项目(Z2005112);河北农业大学科研基金项目(2-1)

作者简介:崔力拓(1975—),男,内蒙赤峰人,硕士,讲师,主要从事水土环境方面的教学与研究工作。

E-mail:cuilituo@yahoo.com.cn

供试土壤:采自河北省秦皇岛市某地受 PCBs 污染程度不同的农田表层土壤(0~20 cm),土壤类型为褐土。该地区自上世纪 90 年代开始,居民私自回收和拆卸含有 PCBs 的废旧电子产品,废弃物品在田间、路边随处可见,有些居民还采用野外焚烧的方法获取其中的金属,使得该地区成为典型的 PCBs 污染区。将土壤风干后,过 2 mm 筛备用。

供试植物:紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)。

供试微生物:从枝菌根真菌为苏格兰球囊菌(*Glomus caledonium* L.),根瘤菌(*Sinorhizobium meliloti*)数量为 6×10^6 cfu·mL⁻¹,从枝菌根真菌菌剂为以苏丹草为宿主扩大培养的孢子-菌丝-根系-土壤混合物,对宿主根的侵染率为 30%。

主要化学物质:PCBs 标准物质有 PCB28、52、70、74、76、77、87、99、101、110、118、126、153(IUPAC NO.),购于美国 Chemservice 公司,纯度≥97.5%。

1.2 试验方法

盆栽试验:试验根据土壤污染的轻重分为 2 组,重污染组土壤中 PCBs 含量为 237.5 ng·g⁻¹,轻污染组土壤中 PCBs 含量为 52.5 ng·g⁻¹,每组 5 个处理:(1)灭活的真菌菌剂+灭活的根瘤菌(对照,P0);(2)植物+灭活真菌菌剂+灭活根瘤菌(P1);(3)植物+真菌菌剂+灭活根瘤菌(P2);(4)植物+灭活真菌菌剂+活根瘤菌(P3);(5)植物+活真菌菌剂+活根瘤菌(P4),每个处理设 3 个重复。

每盆装土 1.0 kg,同时加入 5%真菌菌剂和根瘤菌培养液 10.0 mL,加水达到田间持水量的 60%,拌匀,将苜蓿种子用 5%乙醇消毒萌发后播入盆中,出苗至三叶期定苗,每盆取长势一致的苗保留 10 株。盆栽试验在控温生长室中进行,光强 4 500~7 300 lx,温度白天 25℃,夜间 20℃,每天补加蒸馏水,水分维持在田间持水量的 60%左右,整个试验持续 75 d。

PCBs 测定:用 Agilent 6890N 气相色谱仪测定。

2 结果与讨论

2.1 土壤中 PCBs 总量的变化

如表 1、表 2 所示,紫花苜蓿生长 75 d 后,在污染程度不同的两种土壤中,种紫花苜蓿的 4 种处理与对照相比,PCBs 总量均有所下降。在重污染土壤中,PCBs 含量下降了 22.69%~26.27%,平均为 24.48%,轻污染土壤中,PCBs 含量下降了 15.05%~23.81%,平均为 19.14%。经多重比较(LSD 法)分析表明,在污染程度不同的两种土壤中,4 种处理与对照组相比,均

达到极显著水平($P < 0.01$),这说明紫花苜蓿对土壤中 PCBs 浓度的降低有重要作用。这个结果与其他研究一致^[5,11,12]。

在本试验中还发现(表 1、表 2),在两种污染程度不同的土壤中,4 种处理间的差异显著性不同。在重污染土壤中,P1、P2、P3、P4 这 4 种处理间的差异未达到显著性水平($P > 0.05$),但在轻污染土壤中 4 种处理间的差异达到极显著性水平($P < 0.01$),其中 P3 处理与 P1 处理相比,土壤中 PCBs 的含量降低了 6.1%,说明根瘤菌促进了土壤中 PCBs 的降解,P2 处理与 P1 处理相比,土壤中 PCBs 的含量降低了 1.53%,P4 处理与 P1 处理相比,土壤中 PCBs 的含量降低了 8.9%,说明根瘤菌、菌根真菌双接种对 PCBs 的降解作用大于单接种时的降解作用,这主要是由于菌根真菌、根瘤菌与苜蓿存在共生关系,在根际微环境中能相互得益,共同促进土壤中 PCBs 的降解。至于在两种土壤中,4 种处理间差异显著性不同,可能与重污染土壤对微生物的毒害作用有关。

同时从表 1、表 2 还可看出,无论是重污染土壤还是轻污染土壤,在 4 种处理中,P4 处理中 PCBs 含

表 1 不同处理条件下重污染土壤中 PCBs 含量的多重比较(LSD 法)

Table 1 The multi-comparison (LSD) of PCBs contents in heavily contaminated soil under different treatments

处理方式	土壤中 PCBs 含量平均值 /ng·g ⁻¹	LSD0.05 /ng·g ⁻¹	LSD0.01 /ng·g ⁻¹	显著性	
				0.05	0.01
P0	237.5	8.55	11.85	a	A
P1	183.6			b	B
P2	181.3			b	B
P3	176.6			b	B
P4	175.1			b	B

注:相同字母为差异不显著,不同字母为差异显著。

表 2 不同处理条件下轻污染土壤中 PCBs 含量的多重比较(LSD 法)

Table 2 The multi-comparison (LSD) of PCBs contents in light contaminated soil under different treatments

处理 方式	土壤中 PCBs 含量平 均值/ng·g ⁻¹	LSD0.05 /ng·g ⁻¹	LSD0.01 /ng·g ⁻¹	显著性	
				0.05	0.01
P0	52.5	0.53	0.76	a	A
P1	44.6			b	B
P2	43.8			c	C
P3	41.4			d	D
P4	40.0			e	E

注:相同字母为差异不显著,不同字母为差异显著。

量低于其他处理,在相同处理下,重污染土壤中 PCBs 浓度下降比例大于轻污染土壤的下降比例。为了进一步说明土壤原污染程度对生物修复效果的影响,对两种土壤中 PCBs 浓度下降程度进行统计分析,结果表明土壤原污染程度对生物修复效果会产生显著的影响($P<0.05$)。

2.2 紫花苜蓿根中 PCBs 的含量

土壤中污染物的水平往往能影响植物体内污染物的含量,研究发现植物根中污染物的浓度更能反映土壤的污染水平^[9,10]。由于 PCBs 在紫花苜蓿地上部分含量很低,所以本文主要比较了根中 PCBs 的含量。从图 1 看出,PCBs 在根中的含量有很大的差别,从轻污染土壤中 $2.0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 到重污染土壤中 $50 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,同时在两种土壤的 P3 处理中,植物根中的含量均高于其他处理组,在重污染土壤的 P2 处理中,根中的含量明显低于其他三组,统计分析表明达到极显著水平($P<0.01$),这与土壤中 PCBs 含量变化情况不尽相同,但在轻污染土壤中 P2 和 P1 处理中的含量几乎没有差异(分别为 $2.1, 2.0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$)。从两种土壤比较看,无论哪种处理,根系中 PCBs 含量均是重污染土壤组高于轻污染土壤组。

为了进一步比较土壤污染程度和不同处理对根系中 PCBs 含量的影响,对根系内 PCBs 的含量与土壤中 PCBs 的含量进行统计分析(表 3),表明重污染土壤各处理组中,植物根内 PCBs 含量与土壤中含量均呈极显著相关($P<0.01$),轻污染土壤各处理组中,

只有 P3 处理中两者达到显著相关。显然在 4 种处理中,重污染土壤中两者的相关性强于轻污染土壤中的相应处理,同时重污染土壤中 P3 和 P4 两种处理的相关性也高于 P1 和 P2 处理,说明土壤中 PCBs 的含量与其在植物体内的含量有一定的相关性,并且外加根瘤菌能增强两者的相关性,说明根瘤菌能促进土壤中 PCBs 的降解。

2.3 土壤污染程度和微生物对紫花苜蓿生物量的影响

土壤中有机污染物的浓度和土壤中的微生物往往会对植物的生长产生影响,因此本文从植物的生物量角度对污染程度不同的两种土壤,在不同的试验处理条件下对紫花苜蓿的影响进行分析。结果表明(图 2),在整个生长过程中,生长在两种土壤上的不同试验处理间的紫花苜蓿在生物量上未发现明显差异($P>0.05$),包括进入开花期的时间都基本相同,即在污染程度不同的土壤中,紫花苜蓿无论从其生长形态还是生物量都无明显的区别,说明一定污染范围内紫花苜蓿对 PCBs 具有一定的耐受性,这为应用紫花苜蓿修复 PCBs 污染土壤提供了科学依据。

3 结论

在紫花苜蓿-菌根真菌-根瘤菌协同修复体系中,紫花苜蓿对土壤中 PCBs 污染的修复具有重要的作用,同时紫花苜蓿对土壤中 PCBs 表现出有较强的

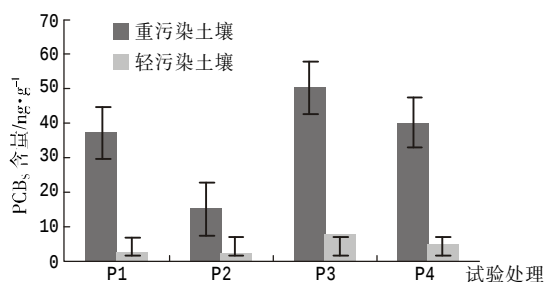


图 1 PCBs 在紫花苜蓿根中的含量

Figure 1 Contents of PCBs in the roots

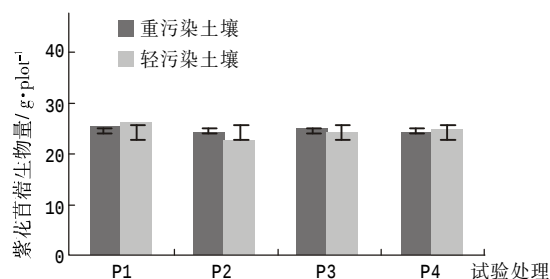


图 2 不同污染程度土壤上紫花苜蓿生物量

Figure 2 Biomass of plant grown in soils polluted differently with PCBs

表 3 根系内 PCBs 和土壤中 PCBs 之间的相关性(n=16)

Table 3 Relationships between the concentration of PCBs in the roots and those in the soils

重污染土壤			轻污染土壤		
处理	相关方程		处理	相关方程	
P1	$Y=0.19X-0.46$	$R^2=0.75$	P1	$Y=0.03X+0.06$	$R^2=0.05$
P2	$Y=0.11X-0.45$	$R^2=0.72$	P2	$Y=0.002X+0.06$	$R^2=0.01$
P3	$Y=0.30X-0.79$	$R^2=0.91$	P3	$Y=0.12X+0.28$	$R^2=0.13$
P4	$Y=0.25X-1.02$	$R^2=0.84$	P4	$Y=0.06X+0.22$	$R^2=0.03$

耐受性,因而可以作为 PCBs 污染土壤的植物修复材料。

根瘤菌对紫花苜蓿修复 PCBs 污染土壤的促进作用大于菌根真菌的促进作用,菌根真菌和根瘤菌双接种对植物修复的促进作用大于单接种的促进作用。

土壤污染程度影响紫花苜蓿-菌根真菌-根瘤菌的协同修复效果,轻污染土壤中微生物的强化修复效果好于重污染土壤,但紫花苜蓿-菌根真菌-根瘤菌协同修复效果在重污染土壤中好于轻污染土壤。

参考文献:

- [1] Maczka C, Pang S, Policansky D, et al. Evaluating impacts of hormonally active agents in the environment[J]. *Environmental Science and Technology*, 2000, 34: 136-141.
- [2] 张祖麟,洪华生,余 刚. 闽江持久性有机污染物——多氯联苯的研究[J]. *环境科学学报*, 2002, 22(6): 788-791.
- [3] 储少岗,徐晓白,童逸丰. 多氯联苯在典型污染地区环境中的分布及其环境行为[J]. *环境科学学报*, 1995, 15(4): 423-431.
- [4] Komancova M, Jurcova I, Kochankova I, et al. Metabolic pathways of polychlorinated biphenyls degradation by *Pseudomonas* sp. 2[J]. *Chemosphere*, 2003, 50: 537-541.
- [5] Chekol T, Vough L R, Chaney R L. Phytoremediation of polychlorinated biphenyl-contaminated soils: the rhizosphere effect[J]. *Environment international*, 2004, 30: 799-804.
- [6] Boldt T S, Sarensen J, Karlson U, et al. Combined use of different Gfp reporters for monitoring single-cell activities of genetically modified PCB degrader in the rhizosphere of alfalfa[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 48: 139-148.
- [7] Campenella B F, Bock C, Schroder P. Phytoremediation to increase the degradation of PCBs and PCDD/Fs. Potencial and Limitations[J]. *Environmental Science & Pollution Research international*, 2003, 9 (1): 73-85.
- [8] 刘士亮,骆永明,丁克强,等. 苯并(a)芘污染土壤的从枝菌根真菌强化植物修复作用的研究[J]. *土壤学报*, 2004, 41(3): 336-342.
- [9] Chiou C T, Sheng G, Manes M. A partition-limited model for the plant uptake of organic contaminants from soil and water[J]. *Environmental Science & Technology*, 2001, 35: 1437-1444.
- [10] Zhu L Z, Gao Y Z. Prediction of phenanthrene uptake by plants with a partition-limited model[J]. *Environmental Pollution*, 2004, 13: 505-508.
- [11] Asai K, Takagi K, Shimokawa M, et al. Phytoaccumulation of coplanar PCBs by *Arabidopsis thaliana* [J]. *Environmental Pollution*, 2002, 120: 509-511.
- [12] Johnson A, Gustafsson O, Axellman J, et al. Global accounting of PCBs in the continental shelf sediments[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37: 245-255.