

# 蚯蚓对土壤-植物系统中菲、芘降解的强化效应研究

袁馨<sup>1</sup>, 潘声旺<sup>2</sup>, 陈勇<sup>1</sup>, 何秋霖<sup>3</sup>

(1.解放军后勤工程学院营房管理与环境工程系, 重庆 401131; 2.成都大学环境科学与工程研究所, 成都 610106; 3.解放军后勤工程学院军事建筑工程系, 重庆 401131)

**摘要:**采用盆栽试验方法,研究了蚯蚓(*Pheretima sp.*)对土壤-植物系统中菲、芘的去除效果的强化作用及对土壤酶活性的影响。结果表明,在试验浓度范围(0~322 mg·kg<sup>-1</sup>)内,蚯蚓对供试植物苏丹草(*Sorghum vulgare* L.)生长促进作用显著。接种蚯蚓的土壤中,苏丹草在菲、芘各浓度下总生物量较未接种蚯蚓土壤分别提高 14.41%~25.91%、14.39%~23.9%;蚯蚓活动可促进土壤-植物系统中菲、芘的降解,接种蚯蚓处理中菲、芘各浓度下降解率较未接种蚯蚓处理分别高 4.20%~9.76%、3.69%~9.38%。土壤酶活性测定结果也显示蚯蚓活动可增加土壤酶的活性。

**关键词:**蚯蚓;苏丹草;菲;芘;土壤酶

**中图分类号:**X174 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)05-0904-08

## Enhancing Effects of Earthworms on the Degradation of Phenanthrene and Pyrene in Soil-plant System

YUAN Xin<sup>1</sup>, PAN Sheng-wang<sup>2</sup>, CHEN Yong<sup>1</sup>, HE Qiu-lin<sup>3</sup>

(1.Department of Barracks Management & Environment Engineering, LEU, Chongqing 401131, China; 2.Environment Science and Engineering Institute of Chengdu University, Chengdu 610106, China; 3.Department of Architecture and Civil Engineering, LEU, Chongqing 401131, China)

**Abstract:** The enhancing effects of earthworms (*Pheretima sp.*) on the degradation of phenanthrene (Phe) and pyrene (Pyr) in a soil-plant system and their influences on soil enzyme activity were studied by pot experiments in a greenhouse. The results showed that incubation of earthworms in the soils significantly promoted the growth of Sudan Grass (*Sorghum vulgare* L.) at the concentrations range (0~322 mg·kg<sup>-1</sup>). The biomass of tested grass increased by 14.41%~25.91% for Phe and by 14.39%~23.9% for Pye when earthworms were inoculated in the soils compared to those without earthworm incubation. The activities of earthworms could also facilitate the degradation of Phe and Pyr in soil-plant system. The degradation rates of Phe and Pyr in soils increased by 4.20%~9.76% and 3.69%~9.38% compared to those of the controls within the tested PAHs concentrations, respectively. Meanwhile, earthworms also showed a positive effect in enhancing soil enzyme activity. The activity of the urease and polyphenol oxidase in the contaminated soil system with earthworms incubation increased compared to those contaminated soil system without earthworms incubation. The earthworms were found to enhance the activity of the urease by 3.88%~11.59% in the treatment of phenanthrene contaminated soil and 2.15%~6.90% in the treatment of pyrene contaminated soil; The activity of polyphenol oxidase were increased by 1.91%~7.61% and 2.29%~3.41% in the treatment of phenanthrene and pyrene contaminated soils, respectively. The fitting equation could be established of the activity of the urease and polyphenol oxidase with the concentrations of Phe and Pyr.

**Keywords:** earthworm (*Pheretima sp.*); *Sorghum vulgare* L.; phenanthrene; pyrene; soil enzyme

多环芳烃类化合物(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是环境中普遍存在的一类持久性有机污

染物,对人体和其他生物具有较强的致畸、致癌、致突变效应<sup>[1]</sup>。在PAHs污染土壤的修复方法中,植物-土著微生物联合修复,操作简便,投资成本低、效果好,对环境友好,是目前最具潜力的修复技术。鉴于PAHs的生物降解主要是好氧条件下进行的,土壤溶液中溶解氧含量是决定现场处理效果的关键因素<sup>[2]</sup>,如果能借助土壤动物(如蚯蚓)的生命活动对土壤结构、理化

收稿日期:2010-09-19

基金项目:中国人民解放军后勤工程学院青年科研基金项目(YQ09-43302)

作者简介:袁馨(1983—),女,重庆人,硕士,主要从事污染生态学研究。E-mail:cinthia@vip.qq.com

性质的改良作用以及由此产生的对土壤中 PAHs 化学行为的直接或间接影响,有望开发出一条比传统的强化方法更为经济、安全的生态修复技术。为此,本试验选用苏丹草为修复植物,以菲、芘为PAHs代表物,探讨蚯蚓对土壤菲、芘污染土壤植物修复是否具有强化效应以及影响因素。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试土壤为中性紫色土,其基本理化性质为:有机质  $22.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 阳离子交换量  $27.43 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ , pH7.19,速效 N、P、K 分别为 114.6、24.7、94.8  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

供试蚯蚓为环毛蚓(*Pheretima sp.*),被选用的蚯蚓为经人工培育后同等大小的个体,长度 7~8 cm,平均鲜重约 0.4 g,无环带个体,采自无污染的未扰动荒地。蚯蚓用去离子水洗净,于无菌塑料培养皿(每个 8 条)中放置 24 h,用时再用无菌水洗 1 次,以尽量去除蚯蚓体表与肠道内的菌根孢子。

供试植物苏丹草(*Sorghum vulgare* L.)的种子经双氧水处理后,无菌条件催芽、培养。1 周龄后,选择大小相近的幼苗移栽于盆钵中。

化学品:菲、芘购自德国 Fluka 公司,纯度>97%;二氯甲烷、丙酮、正己烷、甲苯、无水硫酸钠、乙醚、层析用硅胶(200~300 目)为分析纯;甲醇为色谱醇;1%邻苯三酚溶液;2%尿素溶液;1  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶液;1  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氯化钾溶液;2%硼酸指示剂溶液;pH 7 缓冲溶液;重铬酸钾标准溶液;pH 4.5 柠檬酸-磷酸缓冲溶液。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 试验设计

盆栽试验于智能温室内进行,土样采集后,室内风干,去除砾石、根系等杂质后,过 3 mm 筛备用。将定量的菲、芘(由设定污染水平、用土量估算)经丙酮单独溶解后,均匀洒在土样表层,待丙酮挥发后,多次搅拌、充分混匀,制得 6 个污染水平(表 1)。分别称取

表 1 处理土样的初始菲、芘浓度( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )

Table 1 Initial concentrations of phenanthrene and pyrene in treated soils( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )

| PAHs           | T0 | T1    | T2    | T3    | T4     | T5     |
|----------------|----|-------|-------|-------|--------|--------|
| 菲 phenanthrene | ND | 20.02 | 40.88 | 81.05 | 161.44 | 322.06 |
| 芘 pyrene       | ND | 20.24 | 39.58 | 79.86 | 160.64 | 321.42 |

T0: 对照土样, Pollution-free control soils; ND: 没有检出, Not detected;  $n=3$ 。

上述不同污染水平土样 2 kg 于盆钵中,50%田间持水量下室内平衡 5 d 后待用。试验期间,田间持水量维持在 50%(称重补水法)。试验分为两个阶段。

第一阶段探讨蚯蚓在菲、芘污染土壤中的适应性,试验周期为 35 d,根据研究内容采用盆钵培养试验的方法,在各污染水平下设置接种和不接种蚯蚓 2 个处理,每个处理重复 3 次。在接种蚯蚓的处理中,每盆接种 8 条蚯蚓。培养过程中保持土壤水分在田间持水量的 60%~70%。每 2 d 随机交换盆钵在温室中的位置,种植植物区域的日光透过率保持在 50.0%左右( $355 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )。不施加无机肥和有机质,观察蚯蚓在土壤原初状态下对菲、芘污染的适应性。

第二阶段探讨蚯蚓对菲、芘污染土壤植物修复的强化效应,试验周期为 70 d,根据研究内容采用盆栽试验,将菲、芘各污染水平下盆栽设置不接种蚯蚓处理和接种蚯蚓处理,每个处理重复 3 次,每盆种植苏丹草,在接种蚯蚓处理的盆栽中每盆接种 8 条蚯蚓。每 2 周每盆施 2 g 无机肥 ( $\text{N}:\text{P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O}=1:0.35:0.8$ ) 1 次<sup>[3]</sup>;日光透过率保持在 50.0%左右( $355 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),处理后的盆栽随机并排放置在温室中,且每 2 d 交换他们的位置,播种 5 d 后,对盆中的苏丹草进行减苗,每盆 8 株。温室温度控制在白天 20~25  $^{\circ}\text{C}$ ,晚上 12~15  $^{\circ}\text{C}$ 。植物生长 70 d 后,取植株、土壤样品进行分析。

#### 1.2.2 样品的采集与制备

植物根、茎叶采集后,用蒸馏水充分淋洗,用滤纸蘸干表面水分,经冷冻干燥后,研磨过 1.0 mm 筛,于-20  $^{\circ}\text{C}$ 下低温保存待分析;四分法采集土样,风干、过 20 目筛,于-20  $^{\circ}\text{C}$ 下低温保存待分析。

#### 1.2.3 菲、芘的提取与净化

样品中菲、芘的提取与净化参照文献[4],略做改进。

#### 1.2.4 菲、芘测定方法与质量控制

菲芘含量采用高效液相色谱仪(Waters600 型)测定,DAD 检测器,检测极限菲为 42.6 pg,芘为 54.2 pg。流动相为甲醇加水(83:17),检测波长菲 246 nm,芘 235 nm。土壤样品的回收率分别是菲 95.87%( $n=7$ ,  $\text{RSD}<5.54\%$ )、芘 94.36%( $n=7$ ,  $\text{RSD}<6.58\%$ )。植物样品的回收率分别是菲 94.12%( $n=7$ ,  $\text{RSD}<4.66\%$ )、芘 92.88%( $n=7$ ,  $\text{RSD}<5.47\%$ )。

#### 1.2.5 脲酶、多酚氧化酶的测定

脲酶、多酚氧化酶分别采用尿素残留法和邻苯三酚比色法进行测定。

#### 1.2.6 数据处理

经 Excel2003 基础处理后,在 SPSS13.0 中用新复

极差法 (Duncan's multiple range test, DMRT) 检验。PAHs 的去除率( $R$ )为: $R=(C_0-C_t) \times 100/C_0$ , ( $C_0$  为土壤中 PAHs 初始浓度,  $C_t$  为取样时土壤中残留浓度)。

## 2 结果与分析

### 2.1 菲、芘污染土壤对蚯蚓生长率的影响

在未加外源性营养物质的菲、芘污染土壤中培养 35 d 后, 蚯蚓活动频繁, 土壤表面蚓粪堆积明显。实验结束时, 蚯蚓存活率为 100%, 接种蚯蚓的各处理中有明显的蚯蚓活动迹象, 土壤疏松、空隙度高、有明显的土壤团粒结构。说明所选用的环毛蚓 (*Pheretima sp.*) 对菲、芘污染有一定的耐受力。

由蚯蚓的鲜重统计结果 (图 1) 可知, 培养 35 d 后, 所有处理中蚓鲜重均降低。在添加菲、芘的各处理土壤中, 与未施用菲、芘的相应对照处理相比较, 蚓鲜重在施用浓度范围内分别降低 7.09%~25.19%、6.79%~27.83%。蚯蚓生长率随着污染物浓度的增加而有降低趋势, 蚓鲜重与土壤中菲、芘施用浓度呈显著负相关关系。特别是菲、芘的高浓度处理中, 蚯蚓生长率降低幅度达为 25.19% 和 27.83%。可见, 菲、芘对环毛蚓生长有一定的抑制作用, 菲、芘污染严重的土壤中环

毛蚓生长受到了更为明显的抑制。这意味着可利用蚯蚓作为土壤 PAHs 污染的生物指示物。

在未添加菲、芘的对照土壤处理中, 蚯蚓的生长率仍略有降低, 为 -5.04%。其原因有二: 一是试验培养蚯蚓密度较田间实际密度大, 活动空间小; 二是供试土壤贫瘠, 有机质含量较少, 蚯蚓没有选择实物的余地, 设想土壤中有充足的有机质等食物时, 蚯蚓活动可能更加活跃<sup>[9]</sup>。

### 2.2 蚯蚓对苏丹草生长的影响

70 d 后, 蚯蚓对不同菲、芘污染水平下土壤中苏丹草的生长状况的影响, 包括未接种蚯蚓处理中单株 (干重) 总生物量 (g)、根冠比、茎叶重 (g), 接种蚯蚓处理中单株 (干重) 总生物量 (g)、根冠比、茎叶重 (g), 如图 2 所示。

结果表明, 在未接种蚯蚓的土壤处理中, 菲污染浓度范围在  $20.02 \sim 161.44 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 菲对苏丹草生长有促进作用, 菲污染处理土壤中苏丹草单株总生物量较未添加菲的对照处理高 1.54%~21.96%。在菲浓度为  $81.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 苏丹草生物量达最大值; 当菲污染浓度大于  $161.44 \sim 322.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 苏丹草总生物量低于未添加菲的土壤处理中对照植株总生物量, 苏丹草总生物量与添加污染物浓度呈负相关关系。当菲浓度为  $322.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 苏丹草单株总生物量下降达到最大值, 比无污染对照处理低 13.0%。在接种蚯蚓的菲污染土壤处理中, 苏丹草生物量变化趋势与未接种蚯蚓处理基本相同。接种蚯蚓处理中苏丹草在菲各浓度下总生物量均显著高于未接种蚯蚓处理 ( $n=15, P<0.05$ ), 其生物量较未接种蚯蚓的处理提高 14.41%~25.91%, 平均提高 20.8%。当菲浓度为  $20.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 蚯蚓对苏丹草的促进作用最大, 接种蚯蚓的处理中苏丹草总生物量较未接种蚯蚓对照高 25.91%。

在有、无接种蚯蚓的芘污染土壤处理中, 苏丹草生长规律、根冠比变化趋势与菲污染土壤处理基本一致。当芘浓度为  $20.24 \sim 79.86 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 芘对苏丹草生长有一定的促进作用, 苏丹草总生物量增长率为 4.69%~16.5%; 当芘浓度为  $160.64 \sim 321.42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 芘对苏丹草生长有抑制作用, 苏丹草总生物量与未添加菲和芘的对照处理相比, 降低 3.36%~18.04%。当芘浓度为  $321.42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 生物量下降达到最大值, 较无污染对照处理低 18.04%。在接种蚯蚓的芘污染土壤处理中, 苏丹草生长变化趋势与未接种蚯蚓处理基本相同。接种蚯蚓处理中苏丹草在芘各浓度水平

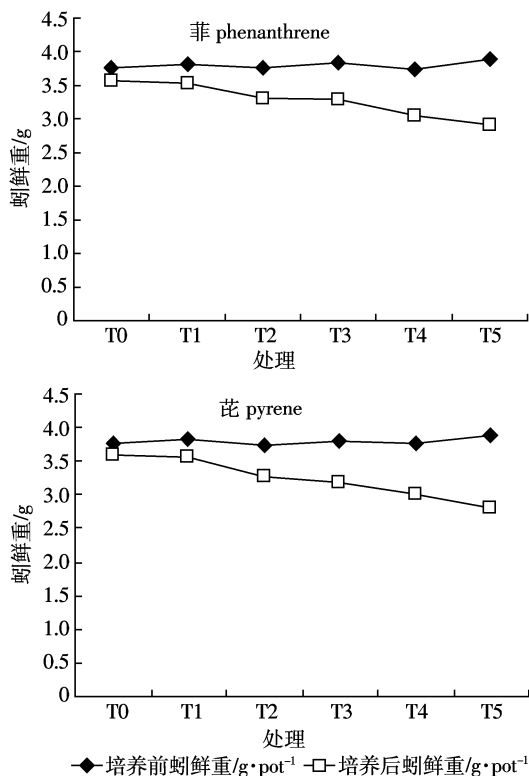


图 1 菲、芘污染水平对蚓鲜重的影响

Figure 1 Effect of soil phenanthrene or pyrene concentrations on earthworm growth

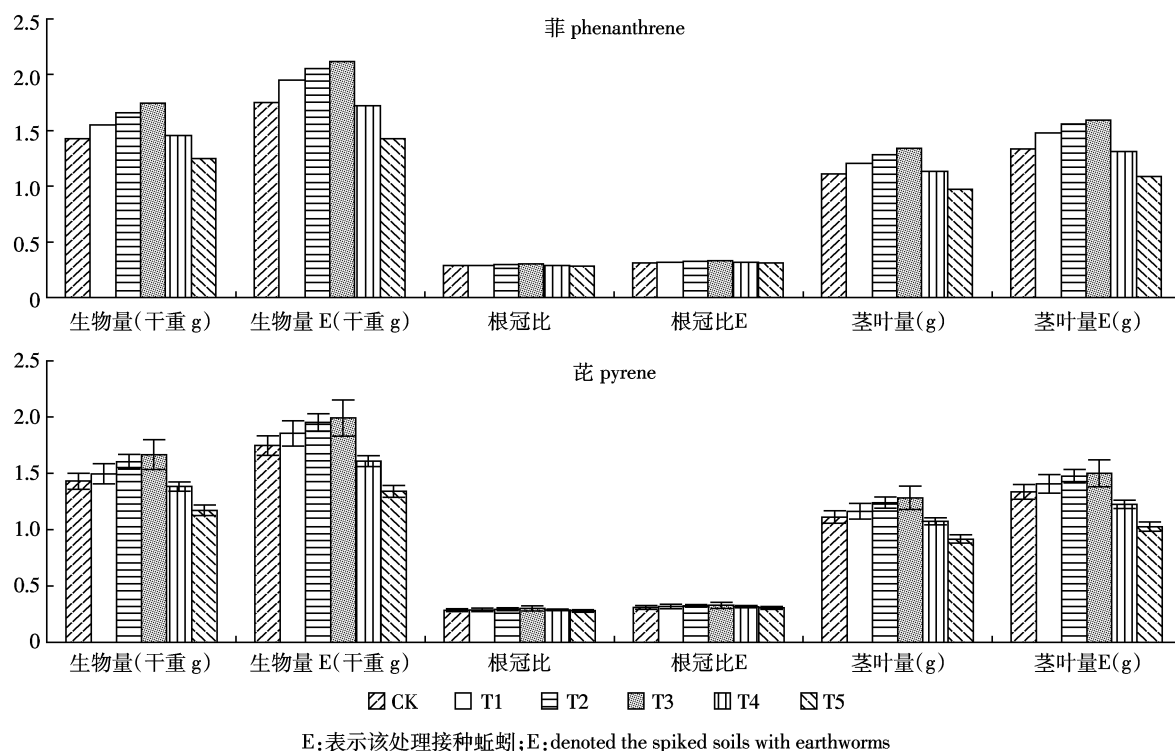


图2 蚯蚓对菲、芘污染土壤中苏丹草生长的影响

Figure 2 Effects of earthworm incubation on the growth of *Sorghum vulgare* L. under different concentrations of phenanthrene or pyrene

下总生物量均显著高于未接种蚯蚓处理 ( $n=15, P<0.05$ ), 其生物量较未接种蚯蚓处理增长了 14.39%~23.9%, 平均提高 19.2%。当芘浓度为  $20.24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 蚯蚓对苏丹草的生长促进作用最大, 苏丹草生物量较无蚯蚓处理高 23.9%。

试验结果表明, 蚯蚓在菲、芘试验浓度范围内存活率为 100%。当菲、芘在一定浓度范围内 ( $0 \sim 160 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 时, 蚯蚓对苏丹草的生长有促进作用。随着菲污染浓度的增加, 蚯蚓对苏丹草生长的促进作用随之减小。当菲、芘为  $320 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  污染水平时, 蚯蚓的促进作用最小, 接种蚯蚓处理的苏丹草总生物量较未接种蚯蚓处理分别高 14.41% 和 14.39%。

### 2.3 蚯蚓对土壤-苏丹草系统中菲、芘的去除作用

70 d 后, 在土壤-苏丹草系统中, 未接种蚯蚓和接种蚯蚓处理菲和芘的残留浓度与初始浓度 ( $20 \sim 320 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 的关系如图 3。由图可见, 土壤中的菲、芘的残留浓度随其初始浓度的增加而增加。在同一污染水平下, 菲、芘残留浓度: 未接种蚯蚓处理 > 接种蚯蚓处理。在未接种蚯蚓处理中, 菲的降解率为 42.92%~69.48%, 平均降解率为 56.11%; 在接种蚯蚓处理中, 菲的降解率为 47.12%~75.37%, 平均降解率为 62.46%。综上, 菲的降解率与菲初始浓度呈负相关。

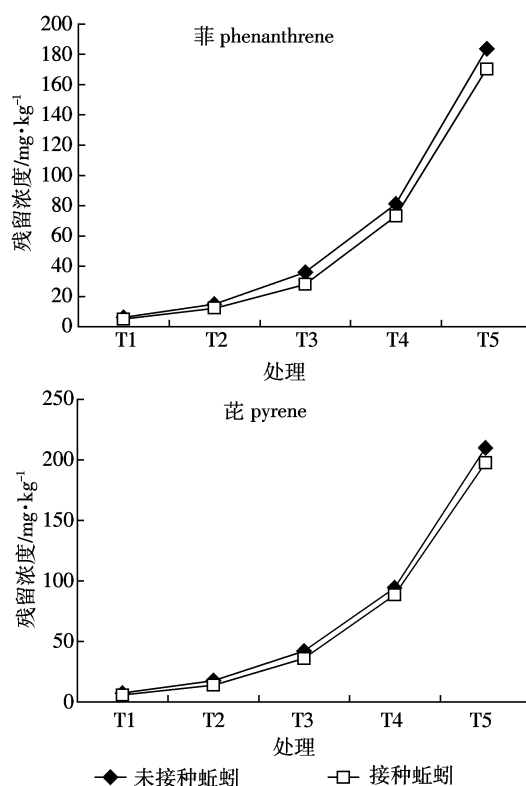


图3 接种和未接种蚯蚓土壤-植物系统中菲、芘的残留量  
Figure 3 Residual concentrations of phenanthrene or pyrene in soils with or without earthworm incubation

芘的降解情况与菲类似。未接种蚯蚓处理中,芘的降解率为 34.60%~63.24%,平均降解率为 48.30%。接种蚯蚓处理中,芘的降解率为 38.45%~70.97%,平均降解率为 54.95%。芘的降解率与芘初始浓度也呈负相关关系。

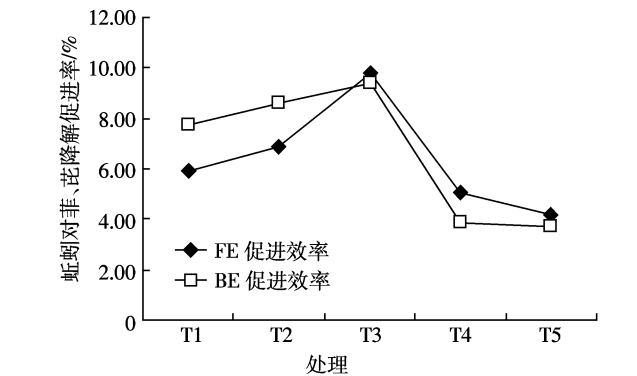
2.4 菲、芘在有、无蚯蚓的土壤-植物系统中降解率的比较

在土壤-苏丹草系统中接种蚯蚓 70 d 后,未接种蚯蚓的菲、芘污染土壤处理和接种蚯蚓的菲、芘污染土壤处理中,菲、芘的降解率如表 2 所示。接种蚯蚓处理各污染水平下菲、芘降解率均高于未接种蚯蚓处理,说明接种蚯蚓对土壤中菲、芘的降解有促进作用。在菲、芘污染土壤处理中,接种蚯蚓处理污染物降解率比不接种蚯蚓处理降解率分别高 4.20%~9.76%和 3.69%~9.38%。在菲、芘浓度为 80 mg·kg<sup>-1</sup> 水平时,蚯蚓对土壤菲、芘降解的促进作用达显著水平 (*n*=15, *P*<0.05)。

2.5 蚯蚓在各污染水平下对菲、芘降解的促进作用

试验结果说明,蚯蚓活动能促进土壤-植物系统中菲和芘的降解。在不同污染水平下,蚯蚓强化降解的效果不同,其变化趋势如图 4 所示。由图可见,在污染物浓度范围在 0~80 mg·kg<sup>-1</sup> 时,接种蚯蚓处理中菲、芘降解率高于未接种蚯蚓处理,且这种促进作用随污染浓度而呈增加趋势。在菲、芘浓度为 80 mg·kg<sup>-1</sup> 时,蚯蚓活动使菲的降解率从 55.6%提高到 65.37%,接种蚯蚓使菲的降解率提高了 9.76%;使芘的降解率从 47.33%提高到 56.71%,提高了 9.38%。在菲、芘浓度范围为 80~320 mg·kg<sup>-1</sup> 时,蚯蚓活动对菲、芘降解的促进作用逐渐降低。在菲、芘浓度为 320 mg·kg<sup>-1</sup> 时,接种蚯蚓处理中菲、芘的降解率仅比未接种蚯蚓处理高 4.20%和 3.69%。

结合图 1 分析可见,蚯蚓对菲、芘降解的促进作用和植物生长情况密切相关,其变化趋势与植物在相同土壤处理中的生物量的增长率情况相吻合。在污染



FE: 表示接种蚯蚓的菲污染处理;FE:phenanthrene in soils with earthworm addition  
BE: 表示接种蚯蚓的芘污染处理;BE:pyrene in soils with earthworm addition

图 4 蚯蚓对土壤-苏丹草系统中各污染水平下菲、芘降解的促进作用

Figure 4 Enhancing effects of earthworm inoculation on the degradation of phenanthrene or pyrene in soils at different treatments

物浓度为 80 mg·kg<sup>-1</sup> 时,植物生物量最大,生长最旺盛,蚯蚓对菲、芘降解的促进作用最强。在污染物浓度为 320 mg·kg<sup>-1</sup> 时,污染物浓度最大,对植物生长抑制作用最强,蚯蚓对菲、芘降解的促进作用最弱。

2.6 蚯蚓对土壤-植物系统中土壤酶活性的影响

接种蚯蚓 70 d 后,在土壤-苏丹草系统中,菲、芘各污染浓度下脲酶和多酚氧化酶活性变化如图 5。随着污染物浓度的增加,各处理中脲酶和多酚氧化酶的活性明显降低。说明菲、芘对土壤酶有较强的抑制作用,这些酶的活性也可以作为土壤受 PAHs 污染的生物指标之一。土壤-植物系统中菲、芘各处理下接种蚯蚓处理的脲酶和多酚氧化酶活性高于未接种蚯蚓处理,说明蚯蚓对土壤酶活性有一定促进作用。

菲、芘对土壤酶有强抑制作用,随着污染物浓度的升高,抑制作用增强。在菲、芘各污染水平下,接种蚯蚓处理中脲酶和多酚氧化酶活性均高于未接种蚯

表 2 菲、芘在有、无蚯蚓的土壤-植物系统中的降解率

Table 2 The removal rates of phenanthrene or pyrene form soils with or without earthworms

| PAHs           | 蚯蚓 earthworms | T1     | T2     | T3     | T4     | T5     |
|----------------|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 菲 phenanthrene | ○             | 69.48% | 62.98% | 55.61% | 49.55% | 42.92% |
|                | +             | 75.37% | 69.86% | 65.37% | 54.57% | 47.12% |
| 芘 pyrene       | ○             | 63.24% | 55.21% | 47.33% | 41.12% | 34.60% |
|                | +             | 70.97% | 63.79% | 56.71% | 44.81% | 38.45% |

○:不加蚯蚓处理;+:加蚯蚓处理。  
○: Treatment without earthworm addition;+: Treatment with earthworm addition.

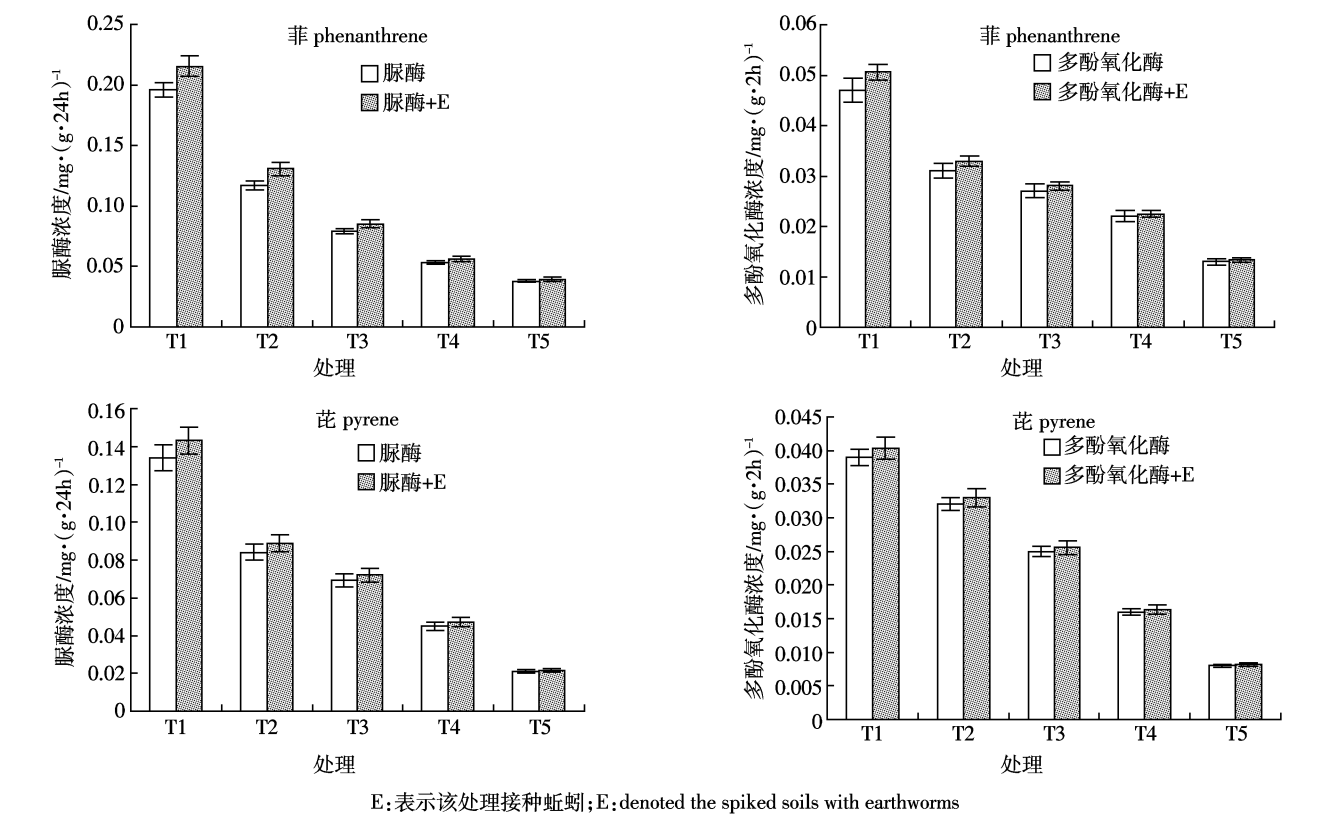


图 5 蚯蚓对菲、芘污染土壤中脲酶、多酚氧化酶活性的影响

Figure 5 Effects of earthworms inoculation on the activities of soil urease and polyphenol oxidase

表 3 土壤中脲酶、多酚氧化酶在菲、芘各污染水平下活性抑制率

Table 3 The inhibition ratios of urease and polyphenol oxidase activities at different concentrations of PAHs

| PAHs                                                                      | 菲 phenanthrene |        |        |        |        | 芘 pyrene |        |        |        |        |
|---------------------------------------------------------------------------|----------------|--------|--------|--------|--------|----------|--------|--------|--------|--------|
|                                                                           | T1             | T2     | T3     | T4     | T5     | T1       | T2     | T3     | T4     | T5     |
| 脲酶 urease / $\text{mg}\cdot(\text{g}\cdot24\text{h})^{-1}$                | 60.56%         | 71.49% | 78.21% | 84.99% | 91.16% | 69.59%   | 77.49% | 84.21% | 89.99% | 93.16% |
| 脲酶+E urease / $\text{mg}\cdot(\text{g}\cdot24\text{h})^{-1}$              | 50.69%         | 59.90% | 70.19% | 78.53% | 87.28% | 62.69%   | 71.90% | 79.82% | 85.53% | 91.01% |
| 多酚氧化酶 polyphenol oxidase/ $\text{mg}\cdot(\text{g}\cdot2\text{h})^{-1}$   | 82.12%         | 86.81% | 89.07% | 91.59% | 94.21% | 86.12%   | 89.81% | 91.38% | 93.59% | 96.78% |
| 多酚氧化酶+E polyphenol oxidase/ $\text{mg}\cdot(\text{g}\cdot2\text{h})^{-1}$ | 74.51%         | 80.67% | 85.32% | 89.68% | 91.73% | 82.71%   | 86.67% | 88.98% | 91.28% | 94.49% |

蚓处理(表 3)。接种蚯蚓使菲污染处理中脲酶活性在无蚯蚓对照处理中提高了 3.88%~11.59%，多酚氧化酶活性的提高了 1.91%~7.61%;接种蚯蚓使芘污染处理中脲酶活性比无蚯蚓对照处理中提高了 2.15%~6.90%，多酚氧化酶活性的提高了 2.29%~3.41%。菲、芘污染浓度较低时，蚯蚓对土壤酶活性的促进作用较高，菲、芘污染浓度较高时，蚯蚓对土壤酶活性的促进作用较低。

在本试验中，未接种蚯蚓和接种蚯蚓处理中脲酶和多酚氧化酶活性随着菲、芘污染浓度增加均有不同程度的降低。为此，采用幂函数  $Y=ax^{-b}$  对苏丹草各处理下酶活性与菲、芘污染初始浓度进行拟合。 $Y$  分别表示脲酶和多酚氧化酶活性，相应的单位为  $\text{mg}\cdot(\text{g}\cdot$

$24\text{h})^{-1}$  和  $\text{mg}\cdot(\text{g}\cdot2\text{h})^{-1}$ ;  $x$  分别表示添加的菲、芘的初始浓度;  $a$ 、 $b$  是回归方程的常数。拟合结果见表4。

由表 4 可见，A、B 组脲酶和多酚氧化酶活性与 PAHs 初始浓度的关系都能用幂函数方程很好地拟合。通过拟合方程可看出，脲酶和多酚氧化酶活性变化在一定程度上可以反映 PAHs 的污染状况及蚯蚓对土壤酶活性的影响。土壤酶活性随 PAHs 污染浓度增减而增减。在同一污染水平下，接种蚯蚓处理中土壤酶活高于未接种蚯蚓处理，说明蚯蚓活动对土壤酶活性具有促进作用。

由表 4 可见，菲、芘对土壤酶有强抑制作用，随着菲、芘浓度升高，抑制作用增强，二者之间存在很好的幂函数关系。结合图 4、图 5 分析可知，在菲、芘低浓

表 4 有、无接种蚯蚓条件下菲、芘浓度与脲酶、多酚氧化酶活性关系拟合式

Table 4 Regression equation between the activities of urease or polyphenol oxidase and concentration of PAHs with or without earthworms

| PAHs           | 酶       | 拟合方程                        | R <sup>2</sup> | n  | P         |
|----------------|---------|-----------------------------|----------------|----|-----------|
| 菲 phenanthrene | 脲酶      | $Y=1.081\ 7x^{-0.588}$      | 0.754\ 8       | 30 | $P<0.001$ |
|                | 脲酶+E    | $Y=1.291x^{-0.610\ 9}$      | 0.767\ 1       | 30 | $P<0.001$ |
|                | 多酚氧化酶   | $Y=0.163\ 2x^{-0.420\ 6}$   | 0.713\ 9       | 30 | $P<0.001$ |
|                | 多酚氧化酶+E | $Y=0.185\ 932x^{-0.440\ 6}$ | 0.695\ 2       | 30 | $P<0.001$ |
| 芘 pyrene       | 脲酶      | $Y=0.157\ 4x^{-1.019\ 1}$   | 0.755\ 7       | 30 | $P<0.001$ |
|                | 脲酶+E    | $Y=0.168\ 7x^{-1.043\ 6}$   | 0.728\ 4       | 30 | $P<0.001$ |
|                | 多酚氧化酶   | $Y=0.048\ 7x^{-0.882\ 2}$   | 0.676\ 9       | 30 | $P<0.001$ |
|                | 多酚氧化酶+E | $Y=0.050\ 3x^{-0.889\ 9}$   | 0.714\ 4       | 30 | $P<0.001$ |

度时,微生物活性相对较高,污染物降解率较高,蚯蚓促进效果较好;在污染物高浓度时,微生物活性相对较低,污染物降解率较低,植物修复效果较次。

3  讨论

1881 年达尔文出版的 *The formation of vegetable mold through the action of worm* 首次论证了蚯蚓对植物生长的促进作用。此后,大量文献表明,蚯蚓在土壤中的活动有利于根系生长、植株发育和作物高产,并已有许多关于蚯蚓活动促进小麦、大麦和牧草增产以及蚯蚓影响树苗生长的报道<sup>[6]</sup>。

李辉信等的研究也证明,长期定位试验条件下蚯蚓对水稻和小麦的影响,证明蚯蚓对作物产量有一定的增产作用<sup>[7]</sup>。本试验结果也表明,蚯蚓活动可以使菲和芘污染土壤中苏丹草生长更为旺盛,从而提高菲、芘胁迫下苏丹草的生物量。但随着菲、芘浓度的增加,菲、芘对蚯蚓生长的毒害作用增强,使蚯蚓活性减弱,蚯蚓对苏丹草生长的促进作用也随之减弱。蚯蚓活动不仅可以提高植物地上生物量,也能促进植物根系的生长,在有无接种蚯蚓处理中,苏丹草的根冠比差异不显著( $n=15,P>0.05$ )。说明蚯蚓活动对植物各部分生长的促进作用平均分配于植物各部分。这与 Schmidt 和 Curry 曾报道在小麦-苜蓿间作系统中,蚯蚓能通过改变植物种内和种间的氮分配而影响小麦和苜蓿间生物量的平衡有所不同<sup>[8]</sup>。这可能是因为蚯蚓与单一植物种植及其与联合植物种植之间的生长促进机制有所不同。

众所周知,植物通过向根际分泌氨基酸等低分子有机物而刺激微生物的大量繁殖,可能间接促进了有机污染物的根际微生物降解。植物根系生物量增加,可使植物根际分泌物增加,根际环境扩大,从而提高土壤对 PAHs 的自净能力。本试验结果也说明,蚯蚓

活动促进了植物根系生长,扩大了植物根际环境,理论上有利于土壤-植物系统对菲、芘的降解。在各污染水平土壤处理中,芘的降解率低于菲的降解率,可能是因为随着苯环数量的增加以及由线性排列向非线性排列的转变,芘的疏水性、亲脂性及其稳定性越来越强,同时其危害性也越来越大。

此外,接种蚯蚓到土壤-苏丹草系统中,蚯蚓活动对土壤-植物系统中菲、芘降解的影响与该系统植物生长旺盛度密切相关。当蚯蚓接种到无作物土壤系统中时,蚯蚓活动对菲、芘降解的影响并不明显,但当土壤系统引入植物时,蚯蚓活动便能显著提高菲、芘降解率。说明蚯蚓通过强化植物修复作用来提高污染物的降解率。蚯蚓可通过增加微生物的食源(其排泄物或体表分泌物及有机物分解物)来刺激其生长,影响微生物的数量和活性,同时蚯蚓对微生物的取食活动也会影响土壤微生物的区系组成。由于蚯蚓的新陈代谢使土壤的速效养分增高,促进了微生物的生长,微生物的激增又加速了土壤养分 N 和 P<sup>[9]</sup>的矿化率,就土壤养分而言,蚓粪和蚯蚓通道为微生物、微型土壤动物的生长及植物根的伸长、生长都提供了非常适宜的微生态环境<sup>[9-10]</sup>。Brown 和 Tiunor 等都发现蚓粪中的微生物的数量和活性较原状土高<sup>[11-12]</sup>。土壤微生物活性的强弱可以通过土壤酶活性高低来表示。本试验结果证明蚯蚓可以有效提高土壤酶活性,从而提高微生物对菲、芘的降解效率。Chen 等也认为微生物数量与 PAHs 降解之间有非常好的线性关系,PAHs 降解菌的分布同 PAHs 的分布一致<sup>[13]</sup>。

本研究中接种蚯蚓 70 d 后,对土壤-植物系统中 PAHs 不同污染水平下脲酶和多酚氧化酶活性进行测定。结果表明,在土壤-植物系统中,污染物降解率与微生物活性具有密切联系;在菲、芘不同污染水平土样中,土壤酶活性大小顺序与污染物降解率高低顺序

一致;且同一污染水平下,接种蚯蚓处理的降解率>未接种蚯蚓处理降解率,接种蚯蚓处理的土壤酶活性>未接种蚯蚓处理的土壤酶活性。这说明土壤酶活性的高低是决定多环芳烃污染修复效果的关键。蚯蚓活动能够提高土壤酶的活性,即提高土壤-植物系统中微生物对菲、芘的降解能力,从而加强土壤对污染物的净化能力。

## 4 结论

(1)在试验浓度范围内,接种蚯蚓处理中,苏丹草在菲、芘各浓度下总生物量均显著高于未接种蚯蚓处理( $n=15, P<0.05$ ),其生物量较未接种蚯蚓的处理分别提高 14.41%~25.91%和 14.39%~23.9%, 平均提高 20.8%和 19.2%。

(2)蚯蚓活动可促进土壤-植物系统中菲、芘的降解。接种蚯蚓处理中菲、芘降解率较未接种蚯蚓处理分别高 4.20%~9.76%和 3.69%~9.38%。菲、芘的降解率与菲、芘初始浓度也成负相关关系。蚯蚓活动对菲、芘降解的促进作用与苏丹草生长的旺盛程度正相关。

(3)蚯蚓活动可增加土壤酶的活性。菲、芘对土壤酶有强抑制作用,随着污染物浓度的升高,抑制作用增强。在菲、芘各污染水平处理下,接种蚯蚓处理中脲酶和多酚氧化酶活性均高于未接种蚯蚓处理。接种蚯蚓后菲、芘污染处理中脲酶活性较未接种蚯蚓处理分别高 3.88%~11.59%和 2.15%~6.90%, 多酚氧化酶活性分别高 1.91%~7.61%和 2.29%~3.41%;在接种蚯蚓的污染土壤处理和未接种蚯蚓的污染土壤处理中,脲酶和多酚氧化酶活性随着菲、芘污染浓度增加有不同程度的降低,可采用幂函数  $Y=ax^{-b}$  对苏丹草各处理下酶活性与菲、芘污染浓度进行拟合,酶活性随菲、芘初始浓度增加呈幂函数降低。

## 参考文献:

- [1] Menzie C A, Potoki B B, et al. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment[J]. *Environ Sci Technol*, 1992, 26(7):1278-1284.
- [2] Heikamp M A, Cerniglia C E. Polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by a mycobacterium sp. in microcosms containing sediment and water from pristine ecosystem[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1989, 55: 1968-1973.
- [3] Kipoponlou A M, Manoli E, Samara C. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area[J]. *Environmental Pollution*, 1999, 106:369-380.
- [4] 高彦征,朱利中,凌婉婷,等. 土壤和植物样品的多环芳烃分析方法研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(5):1003-1006.  
GAO Y Z, ZHU L Z, LING W T, et al. Analysis method for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in plant and soil samples[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(5):1003-1006.
- [5] Edwards C A, Bohlen P J. Biology and ecology of earthworms[M]. London: Chapman & Hall, 1996:151-168.
- [6] Baker G H, Williams P M L, Carter P J, et al. Influence of lumbricid earthworms on yield and quality of wheat and clover in grassland trials[J]. *Soil Biol, Biochem*, 1997, 29:559-602.
- [7] 李辉信,胡 锋,沈其荣,等. 接种蚯蚓对秸秆还田土壤碳、氮动态和作物产量的影响[J]. 应用生态学报, 2002, 13(12):1637-1641.  
LI H X, HU F, SHEN Q R, et al. Effect of earthworm inoculation on soil carbon and nitrogen dynamics and on crop yield with application of corn residues[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(12):1637-1641.
- [8] Schmidt O, Curry J P. Effects of earthworms on biomass production, nitrogen allocation and nitrogen transfer in wheat-clover intercropping model systems[J]. *Plant and Soil*, 1999, 214:187-198.
- [9] Lavelle P, Spain A V. Soil ecology[M]. London: Chapman & Hall, 2002:131-564.
- [10] Jégou D, Schrader S, Diestel H, et al. Morphological, physical and biochemical characteristics of burrow walls formed by earthworms[J]. *Appl Soil Ecol*, 2001, 17:165-174.
- [11] Brown G G. How do earthworms affect microfloral and faunal community diversity[J]. *Plant Soil*, 1995, 170:209-231.
- [12] Tiunov A V, Scheu S. Microbial respiration, biomass, biovolume and nutrient status in burrow walls of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae)[J]. *Soil Biol Biochem*, 1999, 31:2039-2048.
- [13] Chen Y C, Katherinebanks M, Paulschwab A. Pyrene degradation in the rhizosphere of Tall Fescue (*Festuca arundinacea*) and Switchgrass (*Panicum virgatum* L.)[J]. *Environ Sci Technol*, 2003, 37:5778-5782.

[1] Menzie C A, Potoki B B, et al. Exposure to carcinogenic PAHs in the en-