

红树植物秋茄对菲污染沉积物的根际修复研究

方 宇, 严重玲*, 杜静娜, 于俊义

(厦门大学生命科学学院污染生态学实验室, 福建 厦门 361005)

摘 要:利用盆栽试验方法,研究了红树植物秋茄(*Kandelia candel*(L.)Druce)对多环芳烃菲污染沉积物的修复作用。结果表明,在5、10、20、40 mg·kg⁻¹菲处理浓度下,菲对秋茄的生长具有抑制作用,沉积物中菲初始浓度越高抑制作用越明显。4个月的修复试验结果表明,与无植物对照相比,种植秋茄能够明显促进沉积物中菲的降解。根际沉积物中菲的去除率为69%~82%,而非根际沉积物中菲的去除率为59%~66.9%。相同污染水平处理下根际沉积物中菲残留浓度低于非根际沉积物,而非降解菌数量、多酚氧化酶和脱氢酶活性高于非根际沉积物,从而提高了沉积物中菲的降解率。

关键词:秋茄;菲;根际修复;菲降解菌;多酚氧化酶;脱氢酶

中图分类号:X173 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)06-1160-06

Rhizosphere Remediation of Phenanthrene-contaminated Sediment by *Kandelia candel*(L.) Druce

FANG Yu, YAN Chong-ling*, DU Jing-na, YU Jun-yi

(Laboratory of Pollution Ecology, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Rhizosphere-remediation of phenanthrene (PHE)-contaminated sediment with *Kandelia candel*(L.) Druce was investigated in soil-culture medium. The results showed that the growth of *Kandelia candel* was inhibited by PHE in a dose-dependent way at 5, 10, 20 or 40 mg·kg⁻¹ of the studied PHE concentrations. On the other hand, *Kandelia candel* significantly promoted the degradation of PHE in sediment. After 4 months, 69%~82% and 59%~66.9% of the spiked PHE disappeared from the rhizospheric and the non-rhizospheric sediments, respectively. The residual concentration of PHE in the rhizosphere was lower than that in the non-rhizosphere at the same treatment concentration. Planting *Kandelia candel* enhanced the number of PHE-degrading bacteria and the activities of polyphenol oxidase and dehydrogenase, thus it improved the degradation rate of PHE. Taken together, our results suggested that planting *Kandelia candel* could strengthen the remediation of PHE-contaminated sediment.

Keywords: *Kandelia candel*; phenanthrene (PHE); rhizosphere-remediation; PHE-degrading bacteria; polyphenol oxidase; dehydrogenase

多环芳烃(PAHs)是指由两个以上苯环以稠环形式相连的化合物,是一类广泛存在于环境中的具有致癌、致畸、致突变性的持久性有机污染物(POPs)^[1]。由于PAHs具有强吸附性,使得它们在土壤环境中长期残留,并呈现出不断积累的趋势^[2]。污染物储存在沉积物中,通过生物富集作用迁移进入红树植物体内,并逐渐在以红树植物为食源的鱼虾和软体动物体内累积,从而通过食物链向人类传递,因而对海洋生物体、

红树林生态系统和人体健康造成极大危害。如何去除沉积物中的多环芳烃以达到修复污染沉积物的目的,成为环境研究领域里的一个重要课题。

植物修复(Phytoremediation)即利用植物修复和消除由有机毒物和无机废物造成的土壤环境污染^[3]。植物修复包括植物提取(包括根吸收和体内降解)、根际降解两大方面。而实际上植物修复大多是利用土壤-植物-微生物组成的复合体系(根际区)来降解污染物的^[4]。近年来,国内外开展了许多根际修复多环芳烃污染土壤的研究^[5-10],然而研究多集中于草本植物,针对红树植物的研究甚少。红树林生长在热带、亚热带陆海交汇的海湾河口区潮间带,在海岸河口生态系统中占有重要地位^[11]。红树植物作为海岸湿地生态系统唯

收稿日期:2010-12-21

基金项目:国家自然科学基金项目(30710206)

作者简介:方 宇(1979—),女,博士研究生,主要研究方向为环境污染修复和环境监测。E-mail:fangyu1106@163.com

* 通讯作者:严重玲 E-mail:ycl@xmu.edu.cn

一的木本植物,对抵御海潮、风浪等自然灾害,维护和改善海湾、河口地区生态环境具有不可替代的作用。同时,红树林为海洋生物提供了理想的发育、生长、栖息、避敌场所。由于生长在海陆交汇的河口海湾地带,红树林面临着来自江河流域和海岸城市经济发展所带来的各种污染物的冲击,更由于红树林具有的特殊生态与环境特性,如高生产力、富含有机质碎屑、湿地沉积物颗粒细和缺氧环境等使之可能成为多环芳烃吸收和累积的场所。秋茄 *Kandelia candel* (L.)Druce 是常见的红树植物之一,如果能利用这种植物修复菲等有机污染物污染的沉积物,将对河口地区生态环境产生重大意义。但是,当前对于秋茄能否忍耐和修复 PAHs 污染沉积物的问题无很好的答案。

鉴于此问题,我们选择了菲为目标物,重点研究秋茄对污染沉积物中菲的降解率、菲降解菌数量以及多酚氧化酶和脱氢酶活性的影响,探讨了秋茄根际对 PAHs 降解修复的机理,以期为 PAHs 污染沉积物的植物修复技术发展及其安全性评价提供科学依据和技术原理。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 沉积物

供试沉积物样品于 2008 年 4 月采自福建省九龙江口龙海市浮宫镇红树林区亚表层土(5~20 cm),采集后的沉积物置于大塑料桶中室温下保存,于 1 周内进行试验。其理化性质如下:pH6.52,阳离子交换量(CEC)为 16.23 me·100 g⁻¹,有机碳含量为 24.4 g·kg⁻¹,水分含量为 43.68%。沉积物中未检出菲。

1.1.2 植物

秋茄胚轴于 2008 年 4 月采自福建省九龙江口龙海市浮宫镇红树林区,选取大小一致、生活力强的胚轴。

1.1.3 试剂与仪器

菲(Phenanthrene)纯度>97%,美国 Sigma 公司产品,菲含有 3 个苯环,分子量为 178.23 g·mol⁻¹,辛醇-水分配系数(lg K_{ow})为 4.46。二氯甲烷、正己烷、丙酮和甲醇均为色谱纯,购于德国。Agilent-1200 高效液相色谱仪,HC[®] C18(5 μm, 4.6×250 mm, Agilent, US-A)反相色谱柱。

1.2 试验设计

试验共设定 5 个处理,每个处理 3 个重复,所设

定的菲浓度梯度为 0、5、10、20、40 mg·kg⁻¹。先用丙酮溶解所需的菲,加入到少部分供试沉积物中,待丙酮完全挥发后(1 d),将其伴入全部供试沉积物中,充分混匀,放置 1 周后装入塑料小桶中,每桶装 5 kg 沉积物,向每个小桶中加入自来水,使水面高过沉积物 2 cm。将 5 株秋茄胚轴移入小桶中,同时设置有相同菲处理浓度但不种植物的对照试验。在盆栽期间,每周加 2 次自来水,以补充蒸发散失的水分。温室中培养 4 个月后采样分析。未种植秋茄的沉积物样品在沉积物表层 3 cm 以下每盆 3 点随机取样,视为非根际沉积物,种植秋茄的沉积物样品在植物根区附近 3 点随机取样,视为根际沉积物^[2],混匀后分为 3 部分。一部分沉积物样品置于-20℃冰箱中冻干保存用于菲含量的测定,分析前用研磨机研磨,过 60 目筛。一部分沉积物置于 4℃冰箱中用于菲降解菌数量的测定。一部分沉积物先风干,然后置于 4℃冰箱中用于沉积物酶活性的测定。植物根、茎和叶采集后,用蒸馏水充分淋洗,再用滤纸吸干表面水分,-20℃冰箱保存,第 2 d 用于测定植物生物量。

1.3 样品分析

1.3.1 植物生物量的测定

植物的根、茎和叶在 65℃恒温箱中烘干,得出其干重。天平检测限为 0.000 1 g。

1.3.2 沉积物中菲降解菌数量的测定

沉积物菲降解菌数量采用 Tian 等^[13]的涂平板法。无机盐培养基组成(mg·L⁻¹):(NH₄)₂SO₄(1 000), K₂HPO₄(800), KH₂PO₄(200), MgSO₄(1000), CaCl₂·H₂O(100), FeCl₃·6H₂O(5), (NH₄)₆Mo₇O₂·4H₂O(1)以及 15 g 琼脂。称取 10 g 沉积物样品,加至 90 mL 无菌水中,在 105 r·min⁻¹的摇床中 25℃下振荡 2 h,静置 30 min 后,取 1 mL 上清液按 10 倍稀释法稀释成所需梯度。向平板上涂布 0.5 mL 含有菲的丙酮溶液,5 个处理下,无机培养基表面所加菲的浓度为 0、5、10、20 mg·kg⁻¹ 和 40 mg·kg⁻¹。待丙酮挥发后,取 0.1 mL 稀释的沉积物样品涂布于加有菲的无机培养基表面,然后将平板置于 25℃培养箱中,黑暗培养 3 周,观察培养皿上菌落生长情况,计数。每克干土中菌数=菌落平均数×稀释倍数/干土重。

1.3.3 沉积物酶活测定

沉积物多酚氧化酶活性采用《土壤酶及其研究法》方法进行测定^[14]。称取 10 g 风干沉积物样品于 100 mL 锥形瓶中,加 1%邻苯三酚溶液 10 mL, 150 r·min⁻¹ 振荡 1 min, 在 30℃培养箱中暗处培养 2 h,取

出后加 4 mL pH4.5 的柠檬酸-磷酸缓冲液, 再加 35 mL 乙醚振荡 2 min, 萃取 30 min 后于波长 430 nm 处进行比色测定。

脱氢酶活性亦采用《土壤酶及其研究法》方法进行测定。将 20 g 风干土样(<2 mm)与 0.2 g CaCO_3 充分混匀, 各取 6 g 这种混合物于 3 个试管中。每一个试管加入 1 mL 3% 的 TTC 溶液和 2.5 mL 的去离子水。保证加入的液体足量且有一部分液体能覆盖于混合土壤的表面。用玻璃棒充分搅匀每一个试管, 盖紧瓶塞, 在 37 °C 培养箱中培养 24 h 之后, 加入 10 mL 甲醇, 盖紧, 振荡 1 min, 打开瓶塞, 用塞有脱脂棉的玻璃漏斗过滤于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇冲洗试管, 将管中土壤全部转移至漏斗中, 再加入甲醇直至棉塞上的红色消失为止, 滤液用甲醇稀释, 定容至 100 mL。用甲醇做空白对照, 485 nm 处进行比色测定。

1.3.4 沉积物中菲含量的测定

采用超声提取, 高效液相色谱仪(HPLC)紫外检测器测定。

称取 10 g 冻干的沉积物样品置于 100 mL 锥形瓶中, 加入 50 mL 丙酮-正己烷(1:1, V/V)混合萃取溶剂, 在超声波清洗器中萃取 1 h。将锥形瓶中的萃取液经过填有 10 g 无水 Na_2SO_4 的漏斗过滤到 250 mL 平底烧瓶中, 瓶中固体物再以相同条件重复萃取 1 次, 将过滤后的萃取液合并, 瓶中固体物以萃取剂洗涤两次, 清洗液经过滤后与萃取液合并, 在 60 °C 水浴中用旋转蒸发仪浓缩至约 5 mL^[15]。将萃取液转移至硅胶-氧化铝层析柱, 以二氯甲烷-正己烷(1:1, V/V)混合液洗脱。将洗脱液浓缩近干, 用正己烷定容至 1 mL, 进行 HPLC 测定。HPLC 各参数如下: 流动相甲醇-水(87:13, V/V), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 254 nm, 进样量 20 μL 。HPLC 使用 HC[®] C18 (5 μm , 4.6×250 mm, Agilent, USA)反相色谱柱。

1.3.5 方法回收率试验步骤

称取 10 g 冻干沉积物样品置于 100 mL 锥形瓶中, 加入配制好的菲-丙酮溶液(5、10、20、40 mg·kg⁻¹), 同时进行本底空白试验。将上述样品置于暗处, 待有机溶剂挥发后进行样品的提取, 菲的回收率按宋玉芳等^[16]的方法测定。结果表明, 沉积物样品中菲的回收率为(81.10±2.46)%(n=4)。

1.4 数据处理与分析

用 SPSS17.0 软件对数据进行处理, 采用 LSD 对数据进行差异显著性分析。根际与非根际沉积物之间的差异用 T-检验。

2 结果与讨论

2.1 不同浓度菲处理条件下秋茄植物生物量

菲胁迫对秋茄植物根、茎和叶的生物量(干重)产生显著影响(表 1), 随着菲处理浓度的增加, 秋茄植物生物量显著减少($P<0.05$)。5 mg·kg⁻¹ 处理中, 秋茄植物生物量与无污染沉积物无显著差异, 根、茎和叶的生物量分别为无污染沉积物的 95.1%、94.2% 和 88.9%; 当菲的浓度达到 40 mg·kg⁻¹ 时, 秋茄根、茎和叶的生物量最小, 仅为无污染沉积物的 24.4%、44.3% 和 11.1%。从以上数据分析可知, 菲胁迫抑制了秋茄的生长, 并且抑制作用随着菲初始浓度的增加而增强。菲胁迫降低了秋茄植物生物量, 原因可能是 PAHs 降低了污染土壤提供植物水分和养分的能力, 从而导致植物生物量减少^[17]。

表 1 不同浓度菲处理对秋茄生物量的影响(干重·株⁻¹)

Table 1 Effect of PHE on biomass of *Kandelia candel*
(dry weight·plant⁻¹)

菲浓度/mg·kg ⁻¹	根/g	茎/g	叶/g
0	0.41±0.01a	30.27±0.75a	0.18±0.02a
5	0.39±0.01a	28.52±0.91a	0.16±0.02a
10	0.29±0.02b	24.67±0.80b	0.10±0.01b
20	0.17±0.01c	17.53±0.87c	0.05±0.01c
40	0.10±0.02d	13.40±0.60d	0.02±0.01d

注: 同列不同字母表示不同污染水平间差异显著($P<0.05$)。

2.2 种植秋茄对沉积物中菲的修复作用

种植秋茄 4 个月后, 不同处理浓度沉积物中根际和非根际菲的残留浓度如图 1 所示。根际和非根际沉积物中菲的残留浓度变化趋势基本一致, 随着菲初始浓度的增加, 沉积物中菲的残留浓度也增大。4 种菲处理浓度下, 非根际沉积物中菲残留浓度均显著地高

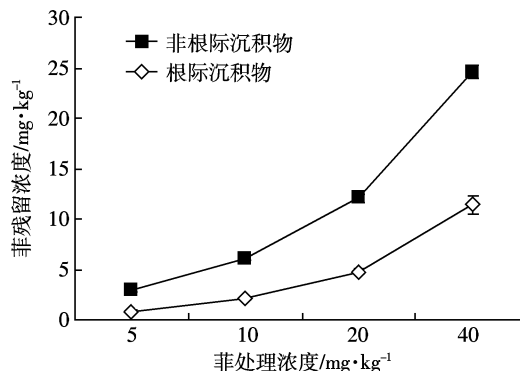


图 1 不同处理沉积物中菲的残留浓度

Figure 1 Residual concentration of phenanthrene
in different treatments

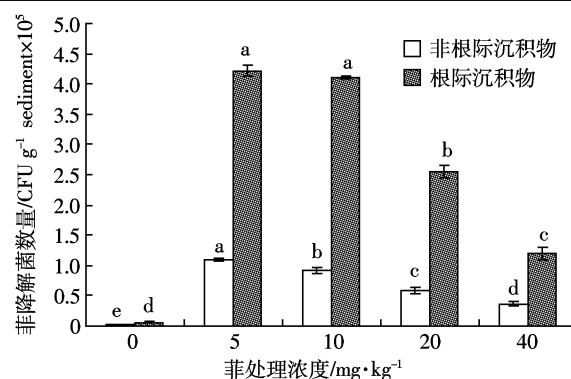
于根际沉积物($P<0.05$)。非根际沉积物中可提取态菲的浓度与根际沉积物中可提取态菲的浓度的差值反映了植物根际对菲的诱导强化降解作用。随着菲处理浓度的增加,植物根际对菲的诱导强化降解作用逐渐增大,这一现象与范淑秀等^[18]的研究相符,只不过他们的研究对象是苜蓿。

从图1还可以得出,不同浓度处理沉积物中菲的去除率(沉积物中菲的初始可提取态浓度减去末期沉积物中可提取态浓度再除以沉积物中菲的初始浓度的百分数)随着菲初始浓度增加而降低。根际沉积物中菲的去除率高于非根际沉积物,4种菲浓度在秋茄根际沉积物中的去除率分别为82%、79%、76%、69%,而非根际沉积物中菲的去除率分别为66.9%、63.6%、60.2%、59%。以上分析表明,秋茄根系的存在能够明显促进菲的降解。

许多研究已经证明植物的存在能够促进土壤中多环芳烃的降解:Liste等选用9种植物进行根际修复芘的研究,结果表明8个星期后,根际土壤中74%的芘被降解,而非根际降解率不到40%^[19];丁克强等报道,黑麦草能促进根际土壤中菲的降解^[20];孙铁珩等利用苜蓿进行了多环芳烃降解的盆栽实验,结果表明种植植物的土壤中,多环芳烃的降解率明显高于没有种植植物(对照)的土壤^[21]。本研究表明种植秋茄也可以显著地促进沉积物中菲的降解,说明红树植物秋茄修复菲污染的沉积物是有效的。这可能是因为根际圈通过植物根及其分泌物和微生物、土壤动物的新陈代谢活动对污染物产生吸收、吸附、降解等一系列活动,因而在污染土壤植物修复中起着重要作用。

2.3 菲污染沉积物中菲降解菌数量

不同菲处理浓度对根际和非根际沉积物中菲降解菌数量的影响一致(图2)。经T-检验分析,每种浓度处理下,根际沉积物中菲降解菌数量明显高于非根际沉积物($P<0.05$),Corgié曾经指出靠根际最近的区域菲降解菌数量最多^[22]。本试验结果说明种植秋茄有利于菲降解菌的生长与繁殖,究其原因可能是植物根系释放出的酚类物质能够刺激多环芳烃降解菌的生长^[23]。另外,从图2可知,菲胁迫处理显著提高了沉积物中菲降解菌的数量,但是随着菲处理浓度的增加,沉积物中菲降解菌的数量逐渐减少。5 mg·kg⁻¹和40 mg·kg⁻¹处理下根际沉积物中菲降解菌数量分别为无污染土样的69倍和20倍,而5 mg·kg⁻¹和40 mg·kg⁻¹处理下非根际沉积物中菲降解菌数量仅为无污染土样的32倍和11倍。以上数据说明5 mg·kg⁻¹菲能大



不同字母表示同一处理在不同污染水平之间差异显著($P<0.05$)。下同。

图2 不同菲浓度处理根际与非根际沉积物中菲降解菌数量的差异比较

Figure 2 Comparison of number of PHE-degrading bacteria between rhizospheric and nonrhizospheric sediment

量刺激菲降解菌的数量,而40 mg·kg⁻¹菲只能少量刺激菲降解菌的数量,究其原因可能是菲降解菌可以以低浓度菲为碳源,因而刺激了其生长;当菲达到较高浓度时,会对菲降解菌产生毒害作用,因而抑制了菌群数量。

微生物是根际微域中最活跃的生物相,其在有机物根际污染生态系统中的作用尤为重要。污染胁迫根际效应研究内容中,涉及最多的便是根际微生物的动态响应效应。本试验结果表明,种植秋茄能够增加菲降解菌数量,并且菲降解菌数量越多,沉积物中菲的去除率越高。植物的作用主要体现在根际分泌的有机物对微生物和酶的作用,如增加微生物数量和根际特殊微生物区系的选择性,改善土壤的理化性质,提高污染物的腐殖化和吸附性能,从而增加污染物的生物有效性^[17]。Yoshitomi等通过模拟根际环境,分离研究根系分泌物对根际微生物降解¹⁴C标记芘的影响,结果表明,玉米根系分泌物通过促进根际微生物群落的生长而促进了芘的矿化,甚至向未种植植物的土壤中添加根际环境特有的有机酸,也促进了相关微生物的生长,大大提高了芘的矿化速率^[24]。本试验中根际沉积物中菲的去除率高于非根际,同时根际沉积物中菲降解菌数量也高于非根际,可能是植物与微生物联合作用的结果。

2.4 菲污染沉积物多酚氧化酶活性与根际修复

酶作为土壤的组成部分,其活性的大小可较敏感地反映土壤中生化反应的方向和强度,是探讨污染生态效应的有效途径之一^[25]。土壤中酶活性的变化可以反映土壤中微生物和植物根系降解有机污染物的能力。

不同浓度菲处理条件下根际与非根际沉积物多酚氧化酶活性如图 3 所示, 5、10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理条件下, 根际与非根际沉积物多酚氧化酶活性高于无污染沉积物, 而 20、40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理条件下, 根际与非根际沉积物多酚氧化酶活性低于无污染沉积物。以上结果表明, 5、10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 菲对沉积物多酚氧化酶活性有一定的激活作用, 但是当菲浓度高于 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 菲对沉积物中的多酚氧化酶会产生毒害作用, 使得酶活性降低, 因而抑制了菲的降解, 并且菲浓度越高抑制作用越明显。从整体来看, 根际沉积物多酚氧化酶活性始终高于非根际沉积物, 这可能是由于根系分泌物的存在增加了根际微生物(例如菲降解菌)的数量(图 2), 使得根际沉积物中分泌的多酚氧化酶活性也高于非根际, 从而促进了根际沉积物中菲的降解。

多酚氧化酶是土壤中重要的氧化还原酶, 其能够参与芳香族化合物的分解转化过程^[26]。5、10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度处理的根际沉积物多酚氧化酶活性高, 而 20、40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度处理的根际沉积物多酚氧化酶活性低, 这可能是导致 5、10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度处理的根际沉积物中菲去除率高于 20、40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度处理的部分原因。

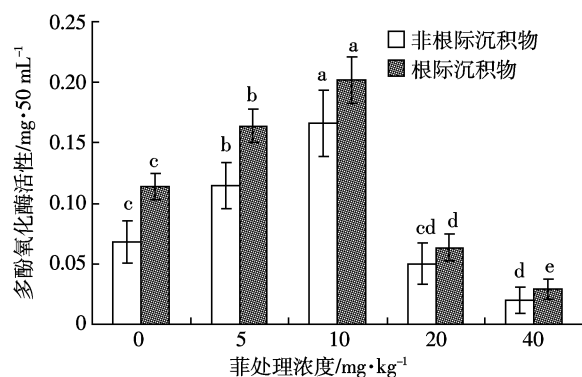


图 3 不同菲浓度处理根际与非根际沉积物中多酚氧化酶活性的差异比较

Figure 3 Comparison of polyphenol oxidase activities between rhizospheric and nonrhizospheric sediment

2.5 菲污染沉积物脱氢酶活性与根际修复

脱氢酶同样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, 其主要参与 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, 其活性大小同样反映土壤对有机化合物的降解能力。Margesin 等曾经指出烃类的消减与脱氢酶活性存在显著相关性^[27]。由图 4 可见, 根际沉积物脱氢酶活性高于非根际沉积物, 由 T 检验可知, 两者差异显著 ($P < 0.05$), 说明种植秋茄能够明显

增加沉积物中脱氢酶的活性。菲污染对根际与非根际沉积物脱氢酶活性的影响与多酚氧化酶基本一致, 即在 5、10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度处理条件下, 沉积物脱氢酶活性高于无污染沉积物, 而 20、40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度处理条件下, 沉积物脱氢酶活性低于无污染沉积物, 这可能是由于 20、40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的菲对沉积物中微生物和植物根系产生了毒害作用, 从而抑制了沉积物脱氢酶活性。这可以证明 20、40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 菲在沉积物中去除率低的原因可能与脱氢酶参与沉积物中菲降解转化过程有关。

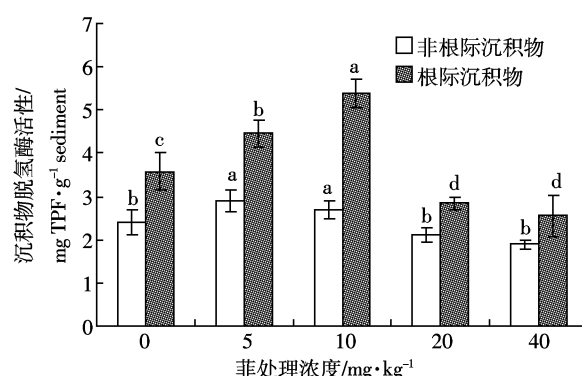


图 4 不同菲浓度处理根际与非根际沉积物中脱氢酶活性的差异比较

Figure 4 Comparison of dehydrogenase activities between rhizospheric and nonrhizospheric sediment

3 结论

(1) 多环芳烃菲对秋茄的生长具有抑制作用, 5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度菲对秋茄生物量的影响较小, 10、20、40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度菲严重抑制秋茄生物量的积累。

(2) 种植秋茄能够明显促进沉积物中菲的降解, 但随着菲初始浓度的增加, 菲在沉积物中的去除率有所下降。秋茄根际沉积物中菲的去除率显著高于非根际沉积物, 说明秋茄对多环芳烃污染的沉积物有一定的修复作用, 这对保护湿地生态环境有重要意义。

(3) 种植秋茄增加了沉积物中菲降解菌数量、多酚氧化酶和脱氢酶活性, 从而间接提高了菲在根际沉积物中的去除率。

参考文献:

- [1] Wilcke W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil: A review[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2000, 163: 229–248.
- [2] Jones K C, de Voigt P. Persistent organic pollutants (POPs): State of the science[J]. *Environmental Pollution*, 1999, 100: 209–221.
- [3] 刘世亮, 骆永明, 曹志洪, 等. 多环芳烃污染土壤的植物与微生物联

- 合修复研究进展[J]. 土壤, 2002, 34(5):257-265.
- LIU Shi-liang, LUO Yong-ming, CAO Zhi-hong, et al. Progress in study on bioremediation of PAHs-contaminated soil using soil microorganisms combined with plant[J]. *Soils*, 2002, 34(5):257-265.
- [4] 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.
- CHENG Guo-ling, LI Pei-jun, WANG Feng-you, et al. The progress of phytoremediation and microbial remediation on PAHs-contaminated soil[J]. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control*, 2003, 4(6):30-36.
- [5] Liste H H, Felgentreu D. Crop growth, culturable bacteria, and degradation of petrol hydrocarbons (PHCs) in a long-term contaminated field soil[J]. *Applied Soil Ecology*, 2006, 31:43-52.
- [6] Krutz L J, Beyrouy C A, Gentry T J, et al. Selective enrichment of a pyrene degrader population and enhanced pyrene degradation in Bermuda grass rhizosphere[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2005, 41:359-364.
- [7] 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.
- LIU Shi-liang, LUO Yong-ming, DING Ke-qiang, et al. Rhizosphere remediation and its mechanism of benzo[a]pyrene-contaminated soil by growing ryegrass[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(2):526-532.
- [8] Muratova A, Hubner T, Tischer S, et al. Plant-rhizosphere-microflora association during phytoremediation of PAH-contaminated soil[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2003, 5:137-151.
- [9] Xu S Y, Chen Y X, Lin Q, et al. Uptake and accumulation of phenanthrene and pyrene in spiked soil by ryegrass (*Lolium perenne* L.)[J]. *Journal of Environmental Science*, 2005, 17(5):817-822.
- [10] 高彦征, 凌婉婷, 朱利中, 等. 黑麦草对多环芳烃污染土壤的修复作用及机制研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(3):498-502.
- GAO Yan-zheng, LING Wan-ting, ZHU Li-zhong, et al. Ryegrass-accelerating degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(3):498-502.
- [11] 林 鹏. 中国红树林生态系[M]. 北京: 科学出版社, 1997:297-316.
- LIN Peng. Chinese mangrove ecosystem[M]. Beijing: Science Press, 1997:297-316.
- [12] Escalante-Espinosa E, Gallegos-Martínez M E, Favela-Torres E, et al. Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by *Cyperus laxus* Lam. inoculated with a microbial consortium in a model system[J]. *Chemosphere*, 2005, 59:405-413.
- [13] Tian Y, Liu H J, Zheng T L, et al. PAHs contamination and bacterial communities in mangrove surface sediments of the Jiulong River estuary, China[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2008, 57:707-715.
- [14] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- GUAN Song-yin. Soil enzymes and analytical methods[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986.
- [15] 张 军. 典型红树林湿地中多环芳烃的含量、来源和迁移研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2006.
- ZHANG Jun. Study on concentration, source and transportation of PAHs in typical coastal mangrove swamps[D]. Xiamen: Xiamen University, 2006.
- [16] 宋玉芳, 区自清, 孙铁珩. 土壤、植物样品中多环芳烃(PAHs)分析方法研究[J]. 应用生态学报, 1995, 6(1):92-96.
- SONG Yu-fang, OU Zi-qing, SUN Tie-heng. Analysis methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in plant and soil samples[J]. *Journal of Applied Ecology*, 1995, 6(1):92-96.
- [17] Reilley K A, Banks A P, Schwab A P. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1996, 25:212-219.
- [18] 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[J]. 环境科学, 2007, 28(9):2080-2084.
- FAN Shu-xiu, LI Pei-jun, GONG Zong-qiang, et al. Study on phytoremediation of phenanthrene-contaminated soil with Alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. *Environmental Science*, 2007, 28(9):2080-2084.
- [19] Liste H H, Alexander M. Plant-promoted pyrene degradation in soil[J]. *Chemosphere*, 2000, 40:7-10.
- [20] 丁克强, 骆永明, 刘世亮, 等. 黑麦草对非污染土壤修复的初步研究[J]. 土壤, 2002, 34(4):233-236.
- DING Ke-qiang, LUO Yong-ming, LIU Shi-liang, et al. Remediation of phenanthrene-polluted soil by growing *Lolium multiflorum* Lam[J]. *Soils*, 2002, 34(4):233-236.
- [21] 孙铁珩, 宋玉芳. 植物修复 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.
- SUN Tie-heng, SONG Yu-fang. Regulation of phytoremediation for PAHs and mineral oil-contaminated soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1999, 10(2):225-229.
- [22] Corgié S C, Joner E J, Leyval C. Rhizospheric degradation of phenanthrene is a function of proximity to roots[J]. *Plant and Soil*, 2003, 257:143-150.
- [23] Bekkara F, Jay M, Viricel M R, et al. Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba* cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudation[J]. *Plant and Soil*, 1998, 203:27-36.
- [24] Yoshitomi K J, Shann J R. Corn (*Zea mays* L.) root exudates and their impact on 14C-pyrene mineralization[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33:1769-1776.
- [25] 周礼恺. 土壤酶学[J]. 北京: 科学出版社, 1987.
- ZHOU Li-kai. Soil enzymes[J]. Beijing: Science Press, 1987.
- [26] 刘世亮, 骆永明, 吴龙华, 等. 菲在黑麦草种植土壤中的降解及其对土壤酶的影响[J]. 土壤学报, 2009, 46(3):419-425.
- LIU Shi-liang, LUO Yong-ming, WU Long-hua, et al. Degradation of phenanthrene in soil planted with ryegrass and the effect of phenanthrene on soil enzymes[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2009, 46(3):419-425.
- [27] Margesin R, Zimmerbauer A, Schinner F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities[J]. *Chemosphere*, 2000, 40:339-346.