

全灭菌环境下蚯蚓和堆肥对土壤五氯酚老化过程的影响

朱小平¹, 李晓敏¹, 李永涛^{1*}, 蔺 中¹, 蔡燕飞¹, 董 军^{1,2}

(1.华南农业大学资源环境学院, 广州 510642; 2.电子科技大学中山学院, 广东 中山 528403)

摘要:通过全灭菌环境下的土壤五氯酚(PCP)污染模拟实验,分别测定水提取态、乙醇提取态、腐殖质固定态以及蚯蚓生物累积态PCP的变化,研究添加两种不同蚯蚓品种(赤子爱胜蚓和壮尾环毛蚓)和堆肥对土壤PCP老化过程的影响。结果显示,在42 d的培养期内,水提取态PCP在全灭菌土壤对照和添加灭菌堆肥的处理中随时间推移逐渐下降,存在明显的老化效应。在蚯蚓处理中,水提取态PCP呈现先下降后上升的趋势,说明蚯蚓促进土壤PCP的解吸附,这主要与蚯蚓的生物扰动作用以及调节土壤pH趋向中性的作用直接相关。培养结束时,蚯蚓能够有效促进土壤PCP向腐殖质固定态转化,并进一步促进PCP的去除,这与蚯蚓提高土壤腐殖质的含量,促进PCP的化学还原转化作用以及蚯蚓自身对PCP的消解作用有关。壮尾环毛蚓比赤子爱胜蚓更能有效促进PCP的转化与去除,这与两者的生活习性不同有关。灭菌堆肥对全灭菌土壤PCP向其他形态转化的影响不显著。

关键词:五氯酚;老化;蚯蚓;堆肥;形态转化

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672–2043(2011)11–2218–07

Effects of Earthworms and Compost on Aging Process of Pentachlorophenol in Sterile Soil

ZHU Xiao-ping¹, LI Xiao-min¹, LI Yong-tao^{1*}, LIN Zhong¹, CAI Yan-fei¹, DONG Jun^{1,2}

(1. College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. University of Electronic Science and Technology of China, Zhongshan Institute, Zhongshan 528403, China)

Abstract: Effects of two ecological earthworm species (*Eisenia foetida* and *Amyntas robustus*) and sterile compost on the aging process of pentachlorophenol (PCP) in sterile soil were investigated in the present study. Concentrations of water-extractable PCP, ethanol-extractable PCP, humus-fixed PCP and earthworm-accumulated PCP were monitored during 42 days of incubation. The results showed that concentrations of water-extractable PCP decreased over time in control and sterile compost treatment during the aging process. The water-extractable PCP concentrations in the presence of earthworms decreased from day 0 to day 14, and then increased from day 14 to day 42, suggesting that the activity of earthworm could enhance soil PCP desorption, which might be related to their increasing effect on soil pH. After 42 days of incubation, transformation to humus-fixed PCP and removed PCP were significantly enhanced in two earthworm treatments, probably because the earthworm could increase the content of humus, strengthen the chemical reduction of PCP by organic acids excretion, and intestinal digestion in the gut of earthworm. In addition, significant higher concentrations of humus-fixed PCP and removed PCP were obtained in treatment with *Amyntas robustus* than that with *Eisenia foetida*, indicating that *Amyntas robustus* could improve soil PCP transformation and removal more effectively than *Eisenia foetida*. No significant influence on the PCP transformation in sterile soil was observed by the addition of sterile compost.

Keywords: pentachlorophenol; aging; earthworm; compost; transformation

五氯酚(pentachlorophenol, PCP)作为氯代持久性有机污染物,在许多地区的水体沉积物、土壤、农产品及人体内均有不同程度的检出^[1-2],其污染涉及农产品

收稿日期:2011-07-04

基金项目:国家自然科学基金(40871152);广东省自然科学基金(9152840301000015)

作者简介:朱小平(1984—),男,山西朔州人,硕士研究生,主要从事土壤有机污染与修复研究。E-mail:zhuxiaoping823@163.com

* 通讯作者:李永涛 E-mail:yongtao@scau.edu.cn

安全与人类健康风险等范畴^[3-4]。PCP在土壤生态系统中的迁移转化等环境行为已经成为国际土壤化学、环境化学的研究热点。当有机污染物进入土壤后,由于其自身的性质、土壤理化性质和土壤生物的作用等因素的影响,可以通过挥发、淋溶、固定老化、化学和生物降解等多种途径同时进行迁移、转化和降解过程。目前,有关土壤有机污染物的化学吸附^[5-6]和生物降解^[7-8]的研究较多,但对有机污染物在土壤环境中其

各种形态转化和分布的报道较少。PCP在土壤环境中的形态转化和分布直接影响着其生物有效性和生物毒性^[8-10],并影响PCP在土壤生态系统中的环境行为与环境效应,具有重要的研究意义。

蚯蚓作为土壤中广泛分布的无脊椎动物(占土壤总生物量的60%~80%),能够通过不同途径,比如生物积累^[8]、排放氮素^[9]等影响土壤中有机污染物的迁移转化过程。然而,大部分研究主要关注有机污染物对蚯蚓的毒性^[10-11],或关注老化作用对有机污染物在蚯蚓体内生物积累的影响^[12-13],而研究蚯蚓对有机污染物的老化过程及其形态转化影响的报道较少。研究蚯蚓对PCP在土壤中的老化过程及其形态转化影响对PCP污染土壤的生物修复具有重要的理论意义和指导作用。本文将供试土壤进行辐照灭菌,以排除PCP受微生物降解的干扰,并在添加灭菌堆肥作为有机碳源的基础上,主要研究不同品种蚯蚓对土壤PCP老化过程中其形态转化的影响,为进一步研究PCP污染土壤的生物修复技术提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究材料

供试土壤采自华南农业大学教学农场(23°09.190 N, 113°21.244 E),按多点采样的方式采取深度0~20 cm的土壤。供试堆肥由牛粪和稻壳经高温发酵沤制而成^[14]。土壤和腐熟后的堆肥在室内自然风干,充分混匀后粉碎,过2 mm筛备用,具体理化性质见表1。蚯蚓选用两种不同生态型品种,一种为壮尾环毛蚓(*Amynthas robustus*),属于内层种蚯蚓,采自英德市英红镇,成熟蚓平均体重为0.70~1.00 g。另一种为赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*),购自江门市新会区,属于表层种蚯蚓,成熟蚓平均体重为0.15~0.40 g。

表1 供试土壤和堆肥的基本理化性质

Table 1 Characteristics of the soil and compost

样品	pH	全氮/g·kg ⁻¹	全磷/g·kg ⁻¹	全钾/g·kg ⁻¹	有机质/g·kg ⁻¹
土壤	4.71	1.13	1.91	9.72	22.50
堆肥	7.54	8.97	13.25	17.68	198.35

1.2 研究方法

1.2.1 实验设计

实验设计见表2,其中灭菌堆肥添加量参考30 t·hm⁻²的大田施肥量计算^[15],堆肥与土壤的比例约为2:100。为了考察堆肥对PCP老化过程的影响,同时考虑到为蚯蚓提供充足的食料,本研究选用灭菌堆肥的

表2 实验设计

Table 2 Experimental design

处理	灭菌 土壤/kg	PCP 浓度/ mg·kg ⁻¹	灭菌 堆肥/%	蚯蚓/条		重复/ 次
				<i>Amynthas robustus</i>	<i>Eisenia foetida</i>	
CK	1	40	—	—	—	3
T11	1	40	4.5	—	—	3
T12	1	40	4.5	15	—	3
T13	1	40	4.5	—	30	3

添加量为4.5%。

PCP的添加量除了考虑土壤PCP的污染水平外^[1-2],还考虑了蚯蚓对PCP的耐受性,本研究做了PCP对蚯蚓的毒性预备试验。参考Lanno等^[16]的计算方法得到PCP对*Eisenia foetida*和*Amynthas robustus*的初致死浓度(ILDs)分别为73 mg·kg⁻¹和150 mg·kg⁻¹,为了保证两种蚯蚓的活性,PCP的起始浓度不能高于这两个浓度。此外,*Eisenia foetida*和*Amynthas robustus*的半致死浓度(LC₅₀)在第21 d时最为相近,分别为48 mg·kg⁻¹和40 mg·kg⁻¹,没有显著性差异($P>0.05$),PCP对两种蚯蚓的毒害作用没有显著差异。因此,本研究选用PCP添加的量为40 mg·kg⁻¹。

根据PCP对蚯蚓的毒性预备试验条件和结果,在保证蚯蚓有充足合适的生存、生长与活动空间的基础上,主要考虑两种蚯蚓的生物量一致。*Amynthas robustus*的成熟蚓体重是*Eisenia foetida*的两倍,因此本文选用蚯蚓的添加比例为15条·kg⁻¹土(*Amynthas robustus*)和30条·kg⁻¹土(*Eisenia foetida*)。

1.2.2 实验方法

先分别称取风干土样和堆肥装入广口塑料瓶中,密封后用 γ 射线辐照灭菌(⁶⁰Co源,辐照剂量分别为30 kGy和60 kGy^[17])。

污染土壤的制备:在超净工作台进行,称取300 g灭菌土壤与240 mL PCP丙酮储备液充分混匀,然后逐步加入剩余的灭菌土壤并混匀。

添加灭菌堆肥土壤的制备:称取135 g灭菌堆肥和灭菌土壤充分混匀,然后根据前述方法进行制备。

样品在超净工作台上放置过夜,待丙酮充分挥发后加入无菌水,调节土壤湿度至最大持水量的60%,分装于培养瓶中,密封,在黑暗条件下平衡48 h后接种蚯蚓。蚯蚓先放置于未灭菌染毒的土样中预培养半个月;然后挑选成熟活泼的湿重分别为(0.7±0.1)g和(0.3±0.05)g的壮尾环毛蚓和赤子爱胜蚓于培养箱中放置24 h,使其排出体内粪便;用无菌水洗3次后,

添加于含有染毒土壤的培养瓶中,密封并于室温、黑暗条件下培养,每隔24 h在超净工作台上通气2 h。分别于第0、7、14、28、42 d取土样测定不同形态PCP含量和土壤pH。第42 d时测定蚯蚓体内累积的PCP。

1.2.3 PCP的测定

根据Edoardo^[15]和Scelza^[18]的方法,一定时间内蒸馏水提取的PCP表征其在土壤中可被微生物利用的部分,也称为微生物有效态。水提取态PCP按1:4的土水比振荡提取12 h,然后离心1 h($5\ 000\ r\cdot min^{-1}$),上清液经0.45 μm的滤膜过滤后上高效液相色谱仪测定。PCP的1:1水和无水乙醇振荡提取法被认为是一种总可提取态的测定方法^[19],乙醇提取态PCP采用体积比为1:1的水和无水乙醇振荡提取1 h,然后离心15 min($3\ 000\ r\cdot min^{-1}$),所得上清液处理与水提取态PCP一致。

伴随着老化过程的进行,有机污染物可通过强的共价键或氢键与土壤腐殖质结合,被固定在土壤内部而难以被乙醇提取^[20],称为腐殖质固定态。经1:1水和无水乙醇振荡提取后所得沉淀先后加入0.5 mol·L⁻¹NaOH溶液和浓盐酸将土壤残渣分成胡敏酸、富里酸和胡敏素-矿物3部分,最后用丙酮和正己烷提取各部分腐殖质中固定的PCP^[18,21],并最终三者混合定容,上高效液相色谱仪测定。

蚯蚓生物积累态PCP的测试参考Haimi等的方法^[8]。PCP测试采用高效液相色谱仪(Waters 1525)。色谱分析条件:Pinnacle II C18反相色谱柱(250×4.6 mm,5 μm),流动相为80%的甲醇(色谱纯)与20%的0.1%乙酸(色谱纯),流速为1 mL·min⁻¹,泵压13.79

MPa(2 000 psi),温度40 °C,紫外检测器(Waters 2487)检测波长220 nm。方法回收率为96.91%(n=5)。

1.3 数据处理

数据均采用Excel 2007作图,SPSS 11.5统计分析,做Duncan检验。

2 结果与分析

2.1 蚯蚓和堆肥处理下的土壤水提取态PCP

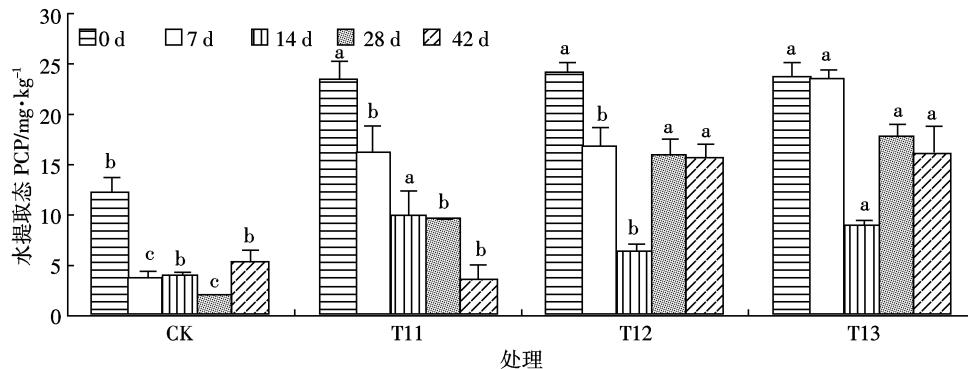
土壤全灭菌培养期间,添加两种蚯蚓处理(壮尾环毛蚓T12和赤子爱胜蚓T13)和灭菌堆肥(T11)处理中水提取态PCP的浓度变化见图1。随着时间的推移,T12和T13处理的水提取态PCP均呈先下降后上升的趋势,在28 d后基本保持稳定;而CK和T11处理一直呈下降趋势;CK处理在第42 d时略有回升。在整个培养期内,3个处理的水提取态PCP都显著高于对照(CK);在培养28 d及以后,T12和T13处理均显著高于T11,但T12和T13处理间的差异不显著。

2.2 蚯蚓和堆肥处理下的土壤乙醇提取态PCP

如图2所示,从总体趋势来看,所有处理中乙醇提取态PCP的浓度随时间的推移均呈下降趋势。培养结束时(42 d),T11和CK处理间乙醇提取态PCP差异不显著,T12和T13处理显著低于CK和T11,T12处理又显著低于T13处理。

2.3 蚯蚓和堆肥处理下的土壤腐殖质固定态PCP

在培养前28 d内所有处理均未检测到腐殖质固定态PCP。如图3所示,培养42 d时,CK和T11处理之间腐殖质固定态PCP差异不显著,而T12和T13显著高于CK和T11,T12又显著高于T13。由表3可知,培养结束时T12和T13处理中土壤富里酸和胡敏



不同小写字母表示同一培养时间不同处理间差异显著(Duncan法,P<0.05)。下同。

Different lower case letters refer to significant differences (Duncan's test, $P<0.05$) among treatments at same incubation time. The same below.

图1 全灭菌条件下各处理土壤中水提取态PCP的浓度变化和差异

Figure 1 Water-extractable PCP in sterile soil with different treatments

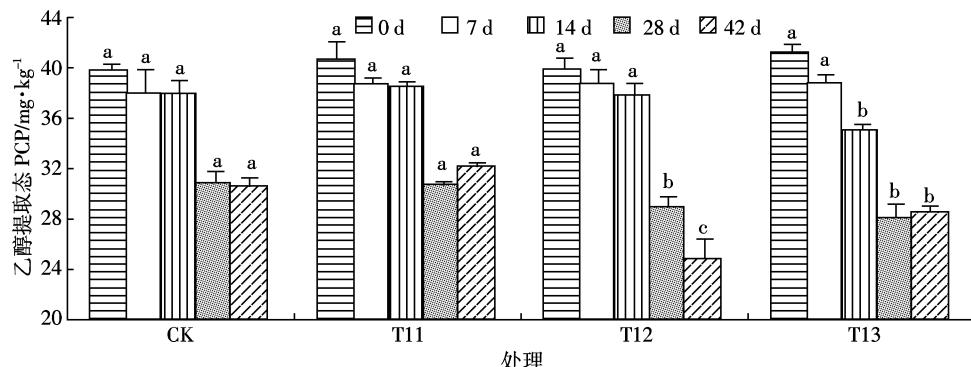
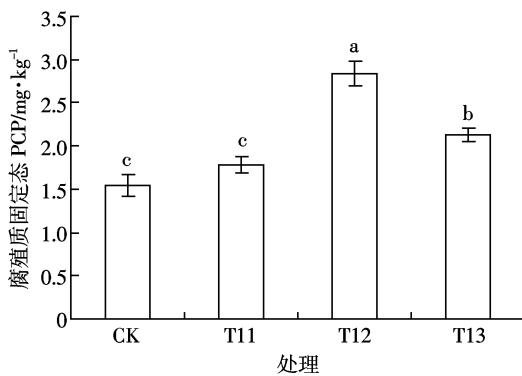


图2 不同处理中乙醇提取态PCP的浓度变化和差异

Figure 2 Ethanol-extractable PCP in sterile soil with different treatments

图3 培养42 d时不同处理中腐殖质固定态PCP的浓度和差异
Figure 3 Humus-fixed PCP in sterile soil with different treatments at the 42nd day of incubation表3 培养42 d时不同处理中胡敏酸、富里酸、胡敏素的含量
Table 3 Concentrations of humic acid, fulvic acid and humin in different treatments at the 42nd day

项目	胡敏酸/g·kg⁻¹	富里酸/g·kg⁻¹	胡敏素/g·kg⁻¹
CK	0.92±0.13b	2.86±0.04d	5.06±0.03d
T11	2.34±0.07a	3.41±0.04c	5.66±0.15c
T12	2.38±0.07a	4.44±0.12a	6.17±0.14b
T13	2.32±0.06a	3.77±0.03b	6.91±0.08a

素的含量均显著高于T11和CK。

2.4 培养42 d时蚯蚓生物累积态PCP

如图4所示,培养结束时,壮尾环毛蚓(A)和赤子爱胜蚓(E)体内积累的PCP浓度分别为 $4.66 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $3.31 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 蚯蚓鲜重,其各自对应的PCP累积率(即蚯蚓积累PCP总量占土壤初始PCP总量的百分比)分别为0.12%和0.07%,两者之间差异不显著。

2.5 蚯蚓和堆肥处理下土壤pH的变化

不同处理中土壤pH的变化如图5所示。T11、

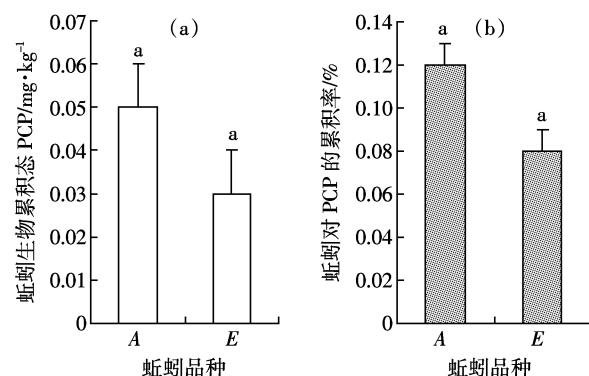


图4 培养42 d时壮尾环毛蚓(A)和赤子爱胜蚓(E)体内生物累积态PCP的浓度(a)和累积率(b)

Figure 4 Concentrations(a)and ratio(b)earthworm-accumulated PCP in *Amyntas robustus*(A) and *Eisenia foetida*(E) at the 42nd day of incubation

T12、T13处理的初始pH均显著高于CK处理;随着时间的推移,所有处理的土壤pH均呈不同程度的升高,尤其是T12和T13的pH增幅最大,分别由起始的5.25和5.24升高为第42 d时的6.94和7.01,分别升高了1.69和1.77个pH单位。对比不同处理之间的差异可知,T11、T12和T13的pH均显著高于CK。培养7 d后,T12和T13的pH又显著高于T11、T12和T13间差异不显著。

3 讨论

3.1 蚯蚓和堆肥对土壤生物有效态PCP的影响

由图1结果可知,CK和T11的水提取态PCP随时间推移而逐渐降低,表明PCP在全灭菌土壤和添加灭菌堆肥的条件下存在明显的老化效应,即PCP被土壤吸附进而向结合态转化,其生物有效性随着时间的推移逐步降低。T12和T13的水提态PCP呈先降

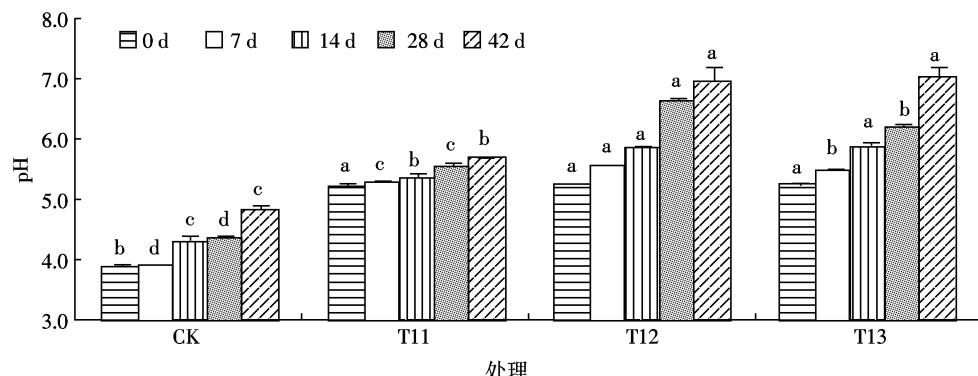


图 5 不同处理中土壤 pH 的动态变化

Figure 5 Changes of pH in sterile soil with different treatments

后升的趋势,表明在蚯蚓的作用下土壤有效态 PCP 存在吸附/解吸的动态变化。培养结束时,T12 和 T13 的水提取态 PCP 显著高于 T11 和 CK,表明蚯蚓能够提高 PCP 的生物有效性,延缓 PCP 的老化。

有机污染物的生物有效性取决于污染物本身的性质、土壤理化性质、土壤生物种类等多方面的因素^[22]。一方面,蚯蚓能够促进土壤水稳定性团聚体的形成,增大土壤介质的比表面积,从而提高有机污染物被其表面携带的功能团所吸附固定的可能性^[23]。另一方面,堆肥的加入能够提高土壤有机质(尤其是腐殖质)的含量,从而提高有机污染物在土壤中的吸附量,加速其生物有效性的降低^[24]。

然而,由于 PCP 具有酚基结构,可同时以分子态及离子态形式存在。PCP 的 pK_a 为 4.75,当环境 pH 小于 4.75 时,PCP 主要以分子态存在,土壤环境中 PCP 的吸附量随着其分子态所占比例的增大而增加,而 pH 大于 4.75 时,PCP 主要以离子态存在,PCP 的总吸附量减少^[24]。培养结束时,CK 处理的水提态 PCP 有所上升,可能跟其土壤 pH 提升到大于 4.75 有关,促进了 PCP 的解吸附。本实验所添加的堆肥呈碱性(见表 1),使得 T11、T12、T13 的起始 pH 显著高于 CK,因此减少了土壤 PCP 的吸附量。其次,蚯蚓活动可调节土壤 pH 趋向中性^[25](见图 5),进一步降低了土壤对 PCP 的吸附作用。此外,蚯蚓能够以蚯蚓分泌物、蚓粪等形式将大量有效氮混入土壤^[9],提高土壤有效氮的含量^[26]。有效氮中的 NH_4^+ 是一种弱水合性的阳离子,其极化能力弱,离子的水合半径小,这种特性可能增大了其与 PCP 极性功能团通过阳离子桥结合的能力而形成离子对,使得 PCP 分子的疏水性减小而极性增强,从而减弱其在土壤中的吸附^[24]。

Fall 等^[27]发现,每降低 0.2 个 pH 单位对 PCP 吸

附的影响与有机质增大 1% 对其的影响程度相当。可见,pH 的升高和有机质的增加对 PCP 的生物有效性影响呈相反作用。T11 的初始 pH 为 5.21,比 CK 上升了 1.35 个 pH 单位;同时灭菌堆肥是以 4.5% 的比例添加,因此其有机质的含量比 CK 中的提高了 0.9%。由此可见,蚯蚓和堆肥对土壤生物有效态 PCP 的影响是多方面的。在本研究中,与有机质的作用相比,pH 的作用占主导地位。

3.2 蚯蚓和堆肥对土壤结合态和腐殖质固定态 PCP 的影响

本研究把乙醇提取态 PCP 与水提取态 PCP 的差值称为结合态 PCP。根据有机污染物在土壤中的老化效应^[23],结合态 PCP 可用于表征通过吸附、扩散和分配作用与土壤固相表面或者土壤团聚体结合的部分。在土壤全灭菌环境下,除去水提取态、结合态、腐殖质固定态和蚯蚓生物积累态 PCP 以外,剩余的被称为 PCP 的消除量,其主要包括蚯蚓消解和通过挥发、淋溶、光化学降解、有机物的化学还原降解等途径进行非生物转化^[12]的部分。图 6 显示的是培养结束时不同处理中各种形态 PCP 占初始量的质量百分比情况。

由图 6 可看出,T12 和 T13 的结合态 PCP 要显著低于 T11 和 CK($P<0.05$),而腐殖质结合态和消除量 PCP 则显著高于 T11 和 CK($P<0.05$)。这表明,蚯蚓的加入减弱了土壤 PCP 向结合态转化的作用,但能有效促进其向腐殖质固定态的转化和加速 PCP 的去除。培养结束时,接种蚯蚓的处理中富里酸和胡敏素的含量均显著高于 T11 和 CK,这与腐殖质固定态 PCP 的结果相吻合。研究表明,由于蚯蚓能够在其活动和吞食土壤的过程中通过排放蚓粪,为土壤提供颗粒尺寸更小的、富含腐殖质的土壤颗粒,这有利于提高土壤的比表面积,进而促进有机污染物向腐殖质固

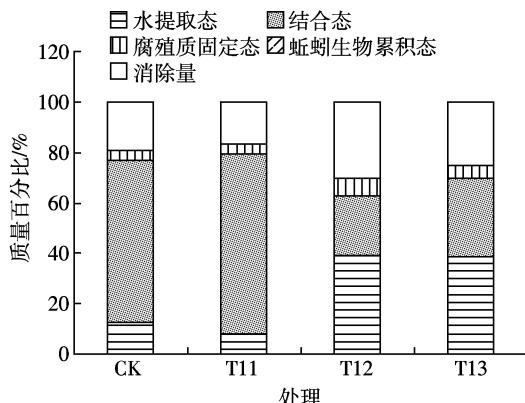


图6 培养42 d时不同处理中各种形态PCP占初始量的质量百分比情况

Figure 6 Mass percentages of different fractions of PCP in different treatments after 42 days of incubation

定态转化^[5]。其次,蚯蚓在其吞食、消化土壤有机质的过程中能够分泌大量小分子的有机酸,这些有机酸可以作为还原剂与PCP反应,促进PCP的化学还原转化^[28]。再者,蚯蚓还可通过表皮接触和吞食土壤等活动吸收PCP,并通过肠道内的微生物和消化酶进一步分解进入体内的PCP^[29]。

CK处理在实验结束时消除态PCP占总PCP量的19.2%。这部分主要来源于挥发、淋溶、光化学降解、有机物的化学还原降解等途径。T11和CK中的PCP主要转化为结合态,两者之间水提取态、结合态、腐殖质固定态和消除量PCP均没有显著差异($P>0.05$),说明在本实验培养期内,灭菌堆肥对全灭菌环境下土壤PCP向其他形态转化的影响较小,堆肥中腐殖质对PCP的化学还原降解作用不显著,也不能促进土壤PCP向腐殖质固定态转化,Scelza等^[18]也得出相似的结果。

对比两种蚯蚓的处理,T12中腐殖质固定态PCP以及PCP的消除量均显著高于T13,说明在土壤PCP的老化过程中,壮尾环毛蚓比赤子爱胜蚓更能有效地促进PCP的转化与去除,这可能与不同蚯蚓品种的生活习性相关^[30]。赤子爱胜蚓个体比较小,主要以土壤有机质为食,生活在土壤表层,很少钻进深层土壤活动。而壮尾环毛蚓个体比较大,主要生活在内层土壤,并具有很强的活动与挖穴能力,这可使蚯蚓分泌物在土壤中得到更广泛的分布,有利于促进PCP的化学还原转化。壮尾环毛蚓除了以土壤有机质为食以外,还吞食土壤本身,因此能够在其吞食土壤的过程中,通过体内的肠道微生物和消化酶,有效降解吸附于土壤表面的PCP。

4 结论

(1)经42 d的培养后,在全灭菌土壤的对照处理和添加灭菌堆肥的处理中,水提取态PCP随时间推移逐渐下降,存在明显的老化效应;在蚯蚓的作用下,水提取态PCP呈现先下降后上升的趋势,说明蚯蚓促进土壤PCP的解吸附,这主要与蚯蚓的生物扰动作用以及调节土壤pH趋向中性的作用直接相关。

(2)蚯蚓的加入能够促进土壤PCP向腐殖质固定态转化,并进一步促进PCP的去除,这与蚯蚓提高土壤腐殖质的含量,促进PCP的化学还原转化作用以及蚯蚓自身对PCP的消解作用有关;在本实验条件下,壮尾环毛蚓比赤子爱胜蚓更能有效促进土壤PCP的转化与消除,这与两者的生活习性不同有关;灭菌堆肥对全灭菌土壤PCP向其他形态转化的影响不显著,堆肥中的腐殖质促进PCP的化学还原降解作用不明显。

参考文献:

- [1] Hong H C, Zhou H Y, Luan T G, et al. Residue of pentachlorophenol in freshwater sediments and human breast milk collected from the Pearl River Delta[J]. *Environment International*, 2005, 31(5):643-649.
- [2] Zheng X Q, Feng Y P, Jiang X F, et al. Environmental pollution, human exposure and its health of sodium pentachlorophenate in schistosomiasis prevalent area[J]. *Journal of Hygiene Research*, 1997, 26(1):24-29.
- [3] Shiu W Y, Ma K C, Varhanickova D, et al. Chlorophenols and alkylphenols: a review and correlation of environmentally relevant properties and fate in an evaluative environment[J]. *Chemosphere*, 1994, 29(6):1155-1224.
- [4] 王诗生, 杨兴伦, 王芳, 等. 长期不同施肥土壤中残留五氯酚在水稻中的富集特征[J]. 中国环境科学, 2008, 28(11):1020-1025.
WANG Shi-sheng, YANG Xing-lun, WANG Fang, et al. Accumulation characteristics of pentachlorophenol residues by rice plant in the long-term fertilization paddy soil[J]. *China Environmental Science*, 2008, 28(11):1020-1025.
- [5] Shan J, Xu J, Zhou W Q, et al. Enhancement of chlorophenol sorption on soil by geophagous earthworms (*Metaphire guillelmi*)[J]. *Chemosphere*, 2011, 82:156-162.
- [6] He Y, Xu J M, Wang H Z, et al. Detailed sorption isotherms of pentachlorophenol on soils and its correlation with soil properties[J]. *Environmental Research*, 2006, 101(3):362-372.
- [7] Boyle D. Effects of pH and cyclodextrins on pentachlorophenol degradation (mineralization) by white-rot fungi[J]. *Journal of Environmental Management*, 2006, 80:380-386.
- [8] Haimi J, Salminen J, Huhta V, et al. Bioaccumulation of organochlorine compounds in earthworms[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1992, 24(12):1699-1703.
- [9] Enami Y, Okano S, Yada H, et al. Influence of earthworm activity and

- rice straw application on the soil microbial community structure analyzed by PLEA pattern[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2001, 37: 269–272.
- [10] McGrath R, Singleton I. Pentachlorophenol transformation in soil a toxicological assessment[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 1311–1314.
- [11] Vernile P, Formelli F, Bari G, et al. Bioavailability and toxicity of pentachlorophenol in contaminated soil evaluated on coelomocytes of *Eisenia andrei* (Annelida Lumbricidae) [J]. *Toxicology in Vitro*, 2007, 21: 302–307.
- [12] Wong F, Bidleman T F. Aging of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in muck soil: Volatilization, bioaccessibility, and degradation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(3): 958–963.
- [13] Ling W T, Zeng Y C, Gao Y Z, et al. Availability of polycyclic aromatic hydrocarbons in aging soils[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2010, 10: 799–807.
- [14] 单德臣, 单德鑫, 许景钢, 等. 牛粪好氧生物处理条件分析[J]. 东北农业大学学报, 2007, 38(4): 554–558.
- SHAN De-chen, SHAN De-xin, XU Jing-gang, et al. Conditions on aerobic bio-treatment of cowmanure[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2007, 38(4): 554–558.
- [15] Edoardo P, Pasqua V, Giuseppe B, et al. Bioaccessibility, bioavailability and ecotoxicity of pentachlorophenol in compost amended soils[J]. *Chemosphere*, 2009, 77: 80–86.
- [16] Lanno R P, Stephenson G L, Wren C D. Applications of toxicity curves in assessing the toxicity of diazinon and pentachlorophenol to *Lumbricus terrestris* in natural soils [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1997, 29 (3–4): 689–692.
- [17] McNamara N P, Black H I J, Beresford, et al. Effects of acute gamma irradiation on chemical, physical and biological properties of soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2003, 24: 117–132.
- [18] Scelza R, Rao M A, Gianfreda L. Response of an agricultural soil to pentachlorophenol (PCP) contamination and the addition of compost or dissolved organic matter[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40: 2162–2169.
- [19] Khodadoust A P, Suidan M T, Acheson C M, et al. Solvent extraction of pentachlorophenol from contaminated soils using water–ethanol mixtures[J]. *Chemosphere*, 1999, 38: 2681–2693.
- [20] Gevao B, Semple K T, Jones K C. Bound pesticide residues in soils: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2000, 8(10): 3–14.
- [21] Nieman J K C, Sims R C, Sorensen D L, et al. Humic acid toxicity in biologically treated soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons and pentachlorophenol[J]. *Environmental Contamination and Toxicology*, 2005, 49: 283–289.
- [22] White J C, Alexander M, Pignatello J J. Factors affecting sequestration and bioavailability of phenanthrene in soil[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1999, 18: 182–185.
- [23] Kelsey J W, Kottler B D, Alexander M. Selective chemical extractants to predict bioavailability of soil-aged organic chemicals[J]. *Environmental Science & Technology*, 1996, 31(1): 214–217.
- [24] Lee L S, Rao P S C, Nkedi-kizza P, et al. Influence of solvent and sorbent characteristics on distribution of pentachlorophenol in octanol–water system[J]. *Environmental Science & Technology*, 1990, 24(5): 654–661.
- [25] Edwards C A, Lofty J R. *Biology of earthworms*[M]. Second edition. London: ChaPman and Hall, 1977.
- [26] Haimi J, Huhta V. Effect of earthworms on decomposition process in raw humus forest soil: A microcosm study [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1990, 10: 178–183.
- [27] Fall C, Chavarie C, Chaouki J. Generalized model of pentachlorophenol distribution in amended soil–water systems[J]. *Water Environment Research*, 2001, 73(1): 110–117.
- [28] Li F B, Wang X G, Li Y T, et al. Enhancement of the reductive transformation of pentachlorophenol by polycarboxylic acids at the iron oxide–water interface[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2008, 321: 332–341.
- [29] 孙振钧. 蚯蚓反应器与废弃物肥料化技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 70–76.
- SUN Zhen-jun. Earthworm reactor and waste fertilizer technology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 70–76.
- [30] Bouche' A. Earthworm species and ecotoxicological studies//Greig-Smith P W, Becker H, Edwards P J, et al (Eds.), *Ecotoxicology of Earthworms*[M]. Intercept, Andover, UK. 1992.