丛枝菌根真菌-植物对石油污染土壤修复实验研究

王丽萍，郭光霞，华素兰，张玮玮

(中国矿业大学环境与测绘学院，江苏徐州221116)

摘要：为了寻求石油污染土壤的菌根生物修复方法，模拟两种石油污染土壤浓度，以玉米为接种 植物，采用Glomus mosseae(G.m)和Glomus versifome(G. v)单接种和双接种，进行菌根真菌- 植物对土壤石油桂降解实验研究•结果表明：在石油污染浓度(石油的质量分数)0.2%和2%条 件下,石油桂降解率与菌根侵染率、玉米根干重和植株干重均呈现相关性,两组相关系数分别为 0. 829 6 ~Q 878 5,0. 962 0〜0. 974 5•接种丛枝菌根真菌处理的菌根侵染率、玉米生长量和石油 桂降解率均远高于对照处理，丛枝菌根真菌能有效促进石油桂降解;G.v真菌比G.ni对高石油 污染浓度具有更强的适应性，更适合作为处理高浓度石油污染土壤的接种菌•双接种处理的菌根 侵染率和石油桂降解率等均高于单接种处理，两种菌种的协同作用，可有效促进植物生长和石油 桂降解.

关键词：摩西球囊霉菌；地表球囊霉菌；双接种；侵染率；石油污染；土壤修复 中图分类号：X53 文献标识码：A 文章编号:1000-1964(2009)01-0091-05

Bioremediation of Petroleum-Contaminated Soil with  
Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Plant

WANG Li-ping, GUO Guang-xia, HUA Su-lan, ZHANG Wei-wei

(School of Environment Science and Spatial Informatics, China University of Mining & Technology,  
Xuzhou, Jiangsu 221116, China)

**Abstract：** In order to quest an optimal method of mycorrhizal bioremediation on petroleum-con­taminated soil, the effect of mycorrhizal fungi-plants on petroleum hydrocarbons degradation in soil was investigated under the condition of two simulated petroleum-contaminated soil concen­trations with Glomus mosseae (G.m) and Glomus versifome (G. v) inoculated to corns bv dual and single inoculation. The results show that the degradation rate of petroleum hydrocarbon is significantly correlated with the mycorrhizal colonization rate, corn root dry weight and plant dry weight, the correlation coefficient is in the range of 0. 829 6\_0. 878 5, 0. 962 0\_0. 974 5 with petroleum concentrations 0.2% and 2%，respectively・ Mycorrhizal colonization rate, corn growth and degradation rate of petroleum hydrocarbons of samples inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi are much higher than that of the control group without inoculation, which in­dicates that the arbuscular mycorrhizal fungi can enhance petroleum hydrocarbons degradation efficiently・ G.v fungi is more adaptive and more suitable for high petroleum-contaminated soil remediation than G. m・ The mycorrhizal colonization rate, degradation rate of petroleum hy­drocarbons of the double inoculation treatments are higher than those of single inoculation ones, and the synergy effect between G.m and G・ v can enhance plant growth and petroleum hy-

收稿日期：2008-02-23

基金项目：教育部重点实验室开放基金项目(CPZUKF06-04)；江苏省环境科技发展基金项目(2007024)

作者简介：王丽萍(1963-),女，浙江省诸暨市人，教授，博士生导师，工学博士，从事大气污染控制理论与技术等方面的研究.

E mail： [wlpcumt@126.com](mailto:wlpcumt@126.com) Tel： 0516-83591304

drocarbon degradation effectively ・

**Key words：** glomus mosseae； glomus versifbme； dual inoculation； colonization rate； petroleum contamination； bioremediation

随着我国石油资源开发量的增大，石油类污染 物积累也愈严重，给区域人群健康带来很大的潜在 威胁，农田土壤的生态恢复迫在眉睫⑴•对于污染 面积大、污染年限长、难降解石油污染物积累严重 的土壤，采用以微生物和植物为主的生物原位修复 方法将是一条较好的恢复途径.

菌根是土壤真菌与高等植物根系形成的互惠 共生体，不仅能减轻污染物质对植物的危害，提高 植物对不良环境的抗御能力，促进植物生长，而且 在一定程度上能直接或间接促进污染物的降解.近 20 a来相关研究也证实菌根真菌具有降解复杂有 机污染物的能力，菌根与植物共生可明显提高植物 的修复效率⑵•不同菌种对石油的耐受性不同，有 些菌种适应低浓度的石油环境，而有些则适宜高浓 度石油环境⑶•鉴于玉米具有根系发达，根表面积 大，生物量大等优势，对石油污染土壤具有较高耐 受性的特点皿,本论文研究以玉米为接种植物，采 用两种丛枝菌根真菌接种，设计典型两种浓度模拟 石油污染土壤条件，进行菌根真菌-植物对土壤石 油桂的降解试验，考察不同菌种和接种方式在不同 石油污染浓度下对石油桂降解效果的影响及其对 植物的生长效应，筛选出不同污染水平下的高效菌 根真菌，为石油污染土壤的菌根生物修复提供技术 支持.

1材料与方法

1. 1供试材料

供试植物为玉米德农958,购自山东省德州市 德农种子有限公司•供试菌种为摩西球囊霉菌 Glomus mosseae (G. m)El 和地表球囊霉菌 Glo­mus versifome (G. v)E2,属泡囊丛枝菌根真菌(菌 种由青岛农业大学菌根生物技术实验室提供)，菌 种经三级扩大培养后作为供试菌剂・供试土壤为中 国矿业大学南湖校区绿化用土与原油混合模拟而 成的石油污染土壤，原油取自山东胜利油田，由江 苏徐州华东管道设计研究院提供•土壤的理化性质 见表1・

表1供试土壤理化性质

Table 1 Physicochemical properties of experimental soil

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | wb/IOT | |  | w (速效磷)/ | 土壤密度/ |
| PH全氮 | 全磷 | 全钾 | 有机质 | 10~6 | (g ° cm-3 ) |
| 8. 14 1. 29 | 0. 85 | 0. 15 | 15. 33 | 23. 64 | 1. 49 |

1. 2 实验方法

土壤取回后清除草根等杂物，过4 mm筛，除 去粒度较大的石块，在阴凉通风处晾一周•根据实 验设计的要求，向土壤中均匀喷洒定量的原油将其 配置成浓度(质量分数)为A (0.2%)和B(2%)两 种石油污染土壤，然后将模拟的石油污染土壤置于 阴凉处，通风半个月使其干燥作为试验基质.原油 使用前预先在90 ~ 100 °C水浴中加热3 h以减少 易挥发成分对实验带来的影响•并用60〜90 °C沸 程的石油醞为溶剂将原油溶解，而后用定量滤纸滤 去不溶物质备用.

每盆称取土壤2 kg,菌剂用量为60 g/盆(孑包 子密度为5〜8个/g),菌种采用单接种、双接种两 种接种方式，共6种处理(AE1，AE2, AE1E2, BEhBE2, BE1E2X每种处理做3个重复样，同时 在两种污染浓度下设一个无接种处理对照CK-A 和CK-B•玉米种子经表面消毒后，播于已接种丛 植菌根真菌的基质中，播种量为5粒玉米/盆，待其 出芽至三叶期时进行间苗,每盆留2株，培养时间 117 d.菌种接种组合方式见表2.

表2菌种的接种方式

Table 2 Inoculation, ways of experimental soil

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 石油污染浓度/ |  | 菌种组合 | |
| % | G.m(El) | G.v(E2) | G.m+G.v (E1E2) |
| 0.2 | AE1 | AE2 | AE1E2 |
| 2 | BE1 | BE2 | BE1E2 |

13分析方法

玉米根段用曲利苯蓝按Phillips和Hayman 染色方法进行染色，然后测定其菌根侵染率，侵染 率二受侵染的根段数/观察的根总段数X 100%；玉 米收获后按常规方法进行生长量测定;石油桂的测 定方法为:称取风干土壤样品5 g于离心管中，加 入15 mL三氯甲烷，水浴(水温22 °C)提取24 min,重复提取1次，合并提取液，用旋转蒸发仪浓 缩至干，残余物用石油醍溶解，溶液移至2 mL比 色管中定容,用紫外分光光度计于254 nm测定.

实验仪器:显微镜(XSZ-HST),紫外分光光度 计(U-2800),旋转蒸发仪(RE-52 )等・

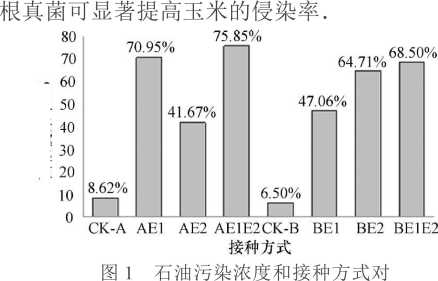
2 结果与讨论

21不同接种方式对玉米菌根侵染率的影响

丛枝菌根真菌接种后，通过选择、创造自身生存繁育条件，与宿主植物形成互惠共生的菌根体. 丛枝菌根真菌一方面能改变宿主植物根系状态及 生理生化性状，改善根际微生态环境，从而使宿主 植物得以存活和生长;另一方面，使宿主植物忍耐 不良环境的调控能力得到进化和提高，反过来也促 进菌根真菌本身

对环境的适应性,体现出菌根真菌与植物体系 之间的相互依赖、互惠互利的生存关系.菌根侵染 率反映菌根真菌在不同基质中与植物形成共生体 的难易程度.

测试0.2%和2%两种石油污染浓度条件下， 不同接种方式玉米的菌根侵染率，结果如图1所 示.由图1可知，不同处理试样菌根侵染率的大小 顺序为：AE1E2> AE1> BE1E2> BE2> BE1> AE2>CK.在0.2%石油污染浓度条件下，接种丛 枝菌根真菌试样AE1E2, AE1和AE2的侵染率分 别高出对照67. 23, 61. 97和33. 05个百分点；在 2 %石油污染浓度条件下，接种丛枝菌根真菌试样 EE1E2,BE2和BE1的菌根侵染率分别高出对照 62 00, 58. 21和40. 56个百分点•无论是单接种还 是双接种丛枝菌根试样的菌根侵染率均高出对照 样33个百分点以上，该试验结果表明接种丛枝菌



菌根侵染率的影响

Fig. 1 Infulence of petroleum concentrations and inoculation, ways on mycorrhizal colonization rate

%矍墨w

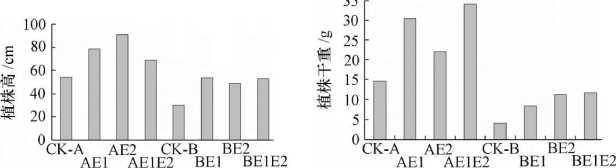
石油污染浓度为0.2%时,AE1, AE2的侵染 率分别为70. 59%和41・67%, G.m侵染率高出 G.v侵染率28. 92个百分点；而石油污染浓度为 2%时,G.v的侵染率高出G・m侵染率7. 65个百 分点；随着石油污染浓度的增大，G・m真菌的侵 染率由0.2%石油污染浓度时的70. 59%降低至 2%的47. 06%,而G.v真菌的侵染率却显著提高 (由0. 2%石油污染浓度的41. 67%提高至 64. 71%),这说明G.v真菌对高石油污染浓度具 有更强的适应性，G. v与G. m相比更适合作为处 理高浓度石油污染的接种菌.

另外，在0.2%, 2%石油污染浓度条件下，双 接种AE1E2, BE1E2的菌根侵染率分别为 75. 85%, 6& 50%,均高于同浓度条件下单接种的 菌根侵染率，而低石油污染浓度时双接种与单接种 相比对菌根侵染率的提高效应更强，这与文献[3] 的研究结果相一致.

2 2不同石油污染浓度下接种丛枝菌根真菌对 玉米生长的效应

通过测定玉米植株高、植株干重和根干重3个 生长量指标，考察接种丛枝菌根真菌对玉米生长的 影响效应⑸•如图2所示，不同接种处理对玉米生 长影响不同，所有接种处理的玉米植株高、植株干 重和根干重均高于对照处理，说明丛枝菌根真菌接 种可提高玉米抗石油污染的能力，促进玉米植株生 长.

2 2 1接种丛枝菌根真菌对玉米植株高的影响

如图2a所示，玉米植株高顺序为:AE2> AE1 >AE1 E2> CK-A, BE1>BE1 E2> BE2> CK B ・低 石油污染浓度0.2%下3种接种处理AE2, AE1和 AE1E2的玉米株高分别超过对照67.59%， 44. 38 %和26. 52%；高石油污染浓度2 %下3种接 种处理BE1, BE1E2和BE2的玉米株高分别超过 对照79 26%, 63. 88%和77. 59%.实验结果表明, 低浓度下接种G.v的处理和高浓度下接种G.m 的处理植株高度值偏大，而双接种处理的株高偏 低.

接种方式 接种方式

(a)对玉米植株高的影响

(b)对玉米植株干重的影响

尸 ouwH-宦

20

i AE2 CK-B BE2

AE1 AE1E2 BE1 BE1E2 接种方式

(c)对玉米根干重的影响

图2不同石油污染浓度下丛枝菌根真菌对玉米生长效应的影响

Fig. 2 Infulence of arbuscular mycorrhizal fungi on corn growth with different petroleum concentrations

2 2.2接种丛枝菌根真菌对玉米植株干重和根 干重的影响

试验中发现，部分玉米植株虽高，但叶片和根 茎瘦弱，因此，仅用植株高来评价植物的生长效应 显得比较片面•故本试验又对玉米植株干重和根干 重进行了测定和分析.

由图2b可知，低石油污染浓度下，玉米植株干 重顺序为:AE1 E2> AE 1> AE2> CK A,分别超过 对照131. 59%, 106 56%和49. 93%；高石油污染 浓度下，玉米植株干重顺序为:BE1E2>BE2>BE1 > CK-B,分别超过对照187. 50%, 177. 45%和 106 13%.结果表明，石油污染浓度0.2%和2% 条件下双接种处理的植株干重分别达34. 09, 11. 73 g,显著高于对照样(14.09，3. 73 g),其中 2%条件下接种G・v的植株干重超过对照 177. 45 %与双接种处理水平接近.

由图2c可知，低石油污染浓度下，玉米根干重 顺序为:AE1E2> AE1〉AE2>CK-A，根干重分别 超过对照20. 25%, 12 88 %和4 29%；高石油污染 浓度下，玉米根干重顺序为:BE1E2>BE2>BE1> CK-B根干重分别超过对照60. 78%, 47. 63%和 37. 25%.结果表明，石油污染浓度0.2%和2%条 件下双接种处理的根干重呈现最高值，分别达 1. 731, 0. 724 g・

研究结果表明，两种石油污染浓度条件下接种 处理的植株干重、根干重与菌根侵染率大体呈现出 正相关性(对照图1),这说明随着菌根侵染率的升 高，在一定程度上促进了植物的生长，同时说明接 种丛枝菌根真菌可促进其根系发育•双接种处理的 玉米生长效果更为显著，双接种为G.m真菌和G. v真菌的混合菌剂接种，而本试验的结果表明混合 菌剂集中了两种菌根真菌相互作用的综合优势，表 现出协同复合的效应•此外，所有接种丛枝菌根真 菌处理的玉米植株高、植株干重和根干重均高于对 照处理，但与0.2%时的接种处理相比,2%时接种 丛枝菌根真菌的增强幅度更大，这说明接种丛枝菌 根真菌在高石油污染浓度条件下对玉米生长的增 强效应更大，由此可以推断丛枝菌根真菌一植物对 高石油污染土壤修复更具优势.

2 3 不同接种处理对石油桂降解率的影响

丛枝菌根真菌不同接种方式处理对土壤石油 桂的降解率顺序为:AE1E2〉AE2〉AE1, BE1E2 >BE2>BE1,由表3可以看出，不同菌种的组合对 石油桂降解率有明显影响，双接种组合在两种浓度 下的降解率均为最高，其次是G.m真菌接种，G・v 真菌接种降解率最低・接种丛枝菌根真菌处理其石 油桂降解率均高于不接种处理的对照样，其内在原 因在于筛选出的丛枝菌根真菌对石油桂具有一定 的降解能力，可将石油桂作为惟一的碳源加以利 用⑷，从而提高了石油的降解效率•而此处石油桂 降解效果与菌根侵染率的测定结果呈现一致性(〃 =0. 8785, rB = 0. 9745)，说明丛枝菌根真菌在促进 石油降解率方面发挥了很大作用.此外，根为植物 吸收营养的主要器官，也是转化降解污染物的主要 器官，有研究表明，具有发达根系的植物能够促进 根际菌群对除草剂、杀虫剂、表面活性剂和石油产 品等有机污染物的吸附、降解［“ •研究结果也表 明，石油桂降解率与玉米的根干重呈显著相关性 (rA = 0. 8296, rB = 0. 9866)，与植株干重也呈现一 定的正相关(rA = 0. 8719, rB = 0. 9620),而与植株 高的相关性不大•从上述分析可知，在石油污染浓 度为0. 2%和2%条件下，双接种AE1E2和 BE1E2处理的根干重分别比对照样增加了 20. 25%和60. 78%,以上数据说明接种丛枝菌根 真菌可促进玉米地上及地下部分的生长，玉米根生 物量的增加的同时促进土壤中石油桂降解.

表**3**丛枝菌根真菌不同接种方式对  
土壤石油桂降解率的影响

Table 3 Infulence of different Inoculation ways of arbuscular mycorrhizal fungi on degradation rate of petroleum hydrocarbons in soil %

接种方式 CK-A AE1 AE2 AE1E2 CK B BE1 BE2 BE1E2

51. 51 69. 01 72 05 80. 53 46. 90 66. 28 6& 94 77. 40

从表3可知,0.2%和2%石油浓度下,双接种 处理下石油桂的降解率分别为80. 53%, 77. 40%, 与对照样51. 51%, 46. 90%相比提高了 56. 34% 和65. 03%,高石油污染浓度时双接种对石油降解 率的增幅略高于低石油污染浓度;G.v接种处理的 石油降解效率次之,G. v接种处理试样对石油的降 解率分别为72. 05%, 68. 94%,与相应对照样 51.51%, 46. 90%相比，分别提高39.88%和 46. 99%•这与前述0.2%, 2%石油污染浓度条件 下,双接种AE1E2, BE1E2的菌根侵染率均高于同 浓度条件下单接种的菌根侵染率”实验结果相一 致.说明不同丛枝菌根真菌与植物,不同真菌组合 与植物之间存在复杂的相互作用关系，研究结果可 推断出G.ni与G. v双接种组合，更有利于石油桂 的降解，菌根真菌的接种，可使根生物量增加、根系 分化程度提高，而更主要的原因是，双接种时两个 菌种之间可能存在协同作用，因而其对植物生长的 贡献较大，石油桂的降解率也相对较高.

3 结论

丛枝菌根真菌自身具有一定的降解石油桂有 机物的能力同，本研究表明，丛枝菌根真菌接种后 促进了植物的生长和根系发育，也是其降解率提高 的重要因素，玉米根生物量的增加对促进土壤中石 油桂降解的增强效应是十分显著的•丛枝菌根真 菌-植物对石油污染土壤修复是非常有效的方法.

1） 在石油污染浓度0.2%和2%条件下，石油 桂降解率与菌根侵染率、玉米根干重和植株干重均 呈现相关性，两组相关系数分别为0. 829 6〜 0. 878 5,0. 962 0 ~0 974 5•接种丛枝菌根真菌处 理的菌根侵染率、玉米生长量和石油桂降解率均远 高于对照处理，丛枝菌根真菌能有效促进石油桂降 解；

2） 接种G.v真菌处理的菌根侵染率、玉米生 长量和石油桂降解率均呈现高石油污染浓度条件 下高于低石油污染浓度条件，接种G.ni真菌处理 样则相反;这表明G.v真菌比G.m对高石油污染 浓度具有更强的适应性，更适合作为处理高浓度石 油污染土壤的接种菌；

3） 石油污染浓度0.2%和2%条件下双接种 处理的菌根侵染率、植株干重、玉米根干重、石油炷 降解率呈现最高值，均高于单接种处理，这表明G. v和G.m两种菌种间存在协同作用，可有效促进 植物生长和石油桂降解，对于其协同作用的机制尚 有待进一步研究.

参考文献：

1. 陈晓东，常文越，冯晓斌，等.沈抚灌区土壤生态恢 复途径初步研究[J].环境保护科学，2002,28（110）： 33-35.

CHENG Xiao-dong, CHANG Wen-yie, FEN Xiao- bin, et al. Primary study on the approach of farmland ecological resume in Shen-fu irrigation area[ J] . Envi­ronmental Protection Science, 2002, 28（110）： 33-35.

1. GASKIN J L, FLETCHER J. The metabolism of ex­ogenously provided atrazine by the ectomycorrhizal fungus hebeloma crustuliniforme and the host plant pinus ponderosa[ C] // Phy to Remediation of Soil and Vater Contamination. Washington： American Chemi­cal Society, 1997： 152-161.
2. 程国玲，李培军.小叶白蜡接种外生菌根真菌对土 壤石油桂的降解效果[J].生态学杂志，2007,26(3)： 389 -392.

CHENG Guo-ling, LI Pei-jun. Degradation effect of ectom ycorrhizal fungi-inoculated fraxinus sogdiana on petroleum hydrocarbon in soil[ J] . Chinese Journal of Ecology, 2007, 26 (3 )： 389-392.

1. 蔺 昕，李培军，台培东，等.石油污染土壤植物-微 生物修复研究进展[J].生态学杂志，2006, 25 (1 )： 93-100.

LIN Xin, LI Pei-jun, TAI Pei-dong, et al. Pesearch progress in phyto-microbial remediation of petroleum- contaminated soil [ J] . Chinese Journal of Ecology, 2006, 25(1):93-100.

1. 陈洁敏，姜德锋，刘树堂，等.丛枝菌根真菌对玉米 生长生态效应的影响[J].生态农业研究，2000, 8 (3)：25-27.

CHEN Jie-min, JIANG De-feng, LIU Shu-tang, et al. Ecological effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of maize [ J] . Chinese Jouranl of Eco­Agriculture, 2000, 8 (3 )： 25-27.

1. GRAMASS G, VOIGT KD, KIRSCHE B. Degrada­tion of polycyclic aromatic hydrocarbons with three to seven aromaticrings by higher fungi in sterile and un- sterile soils[ J] . Biodegradation, 1999 (10)： 51-62.
2. ANDERSON T A. Bioremediation in the rhizosphere [J] . Environmental Science and Technology, 1993, 7 (2)： 2630-2635.
3. 沈德中.污染土壤的植物修复[J].生态学杂志， 1998, 17(2):59-64.

SHEN De-zhong. Phytoremediation of contaminated soil[ J] . Chinese Journal of Ecology, 1998, 17 (2)： 59- 64.

（责任编辑邓群）