根际促生菌及木质素对持久性有机污染 土壤修复的调控和酶活性的影响

郑学昊1，2 孙丽娜1，2\* 刘克斌2 孙家君3 王晓旭1，2 郑佳玉1，2 马欣雨1，2 张鸿龄1，2 王 辉1，2

( 1区域污染环境生态修复教育部重点实验室( 沈阳大学) ，沈阳 110044; 2沈阳大学环境学院，沈阳 110044; 3 中国科学院 过程工程研究所，北京 100190)

摘 要 近年来，持久性有机污染物对农田污染状况加剧，对人类食品安全和身体健康造 成严重威胁。本实验以温室蔬菜基地中老化的有机污染土壤为目标,选取了 DDTs和PAHs 两种典型持久性有机污染物为去除对象，运用原位实验，研究了不同调控措施对有机污染 土壤的修复效果及土壤酶活性的变化情况,并对污染物去除率与酶活性变化进行了相关性 分析。 结果表明,根际促生菌和木质素共同调控下的鼠李糖脂强化植物-微生物联合修复 方法对有机污染物的去除效果最好,DDTs去除率为27.48%, PAHs去除率为53.26%；修复 结束后，土壤多酚氧化酶、过氧化氢酶均被激活，激活程度表现为过氧化氢酶〉多酚氧化酶， 磷酸酶活性被抑制,使用 Pearson 双变量法对土壤酶活性与污染物去除率进行统计学分析 发现，多酚氧化酶、磷酸酶与 DDTs 和 PAHs 去除率存在较好相关性，因此可以将这两种酶 活性定义为修复过程中的一项微生态指标。

关键词 DDTs; PAHs; 去除率; 土壤酶活性; 相关性分析; 微生态指标

**Regulation of plant growth promoting rhizobacteria and lignin on remediation of POPs contaminated soil and their impacts on soil enzyme activity．** ZHENG Xue-hao1，2 ，SUN Li- na1，2\* ，LIU Ke-bin2 ，SUN Jia-jun3 ，WANG Xiao-xu1，2 ，ZHENG Jia-yu1，2 ，MA Xin-yu1，2 ， ZHANG Hong-ling12, WANG Hui12 (1 Key Laboratory of Regional Environment and Eco—emedi— ation ( Shenyang University) ， Shenyang 110044， China; 2 School of Environment， Shenyang University ， Shenyang 110044， China; 3 Institute of Process Engineering， Chinese Academy of Sciences， Beijing 100190， China) ．

**Abstract**: Farmlands have increasingly been exacerbated by the persistent organic pollutants ( POPs) ， with serious consequences on food security and human hea lth . In this study， we assessed the remediation efficiency of different control measurements on the vegetable soil con­taminated by two typical POPs ( DDTs and PAHs) in the greenhouse. The degradation rates of DDTs and PAHs and the activities of three kinds of soil enzymes were measured. The results showed that the treatment of rhamnolipid strengthened plant-microbial remediation under the co­regulation of plant growth promoting rhizobacteria and lignin had the best effect， with the degra­dation rates of DDTs and PAHs being 27.48% and 53.26%， respectively. At the end of experi- ment， polyphenol oxidase and hydrogen peroxidase were activated， with the degree of activation being higher for polyphenol oxidase than hydrogen peroxide， whereas the phosphatase activity was inhibited. Results from Pearson bivariate correlation showed that polyphenol oxidase and phospha­tase activities were significantly correlated with the degradation rates of DDTs and PAHs， indica- 国家重点基础研究发展计划项目( 973 计划) ( 2014CB441106) 、辽宁省青年学者成长计划资助项目( LJQ2014134) 、沈阳市科技计划项目( F14- 133-9-00)和我国1： 5万土壤图籍编撰及高精度数字土壤构建(二期工程)项目(2012FY112100)资助。

收稿日期: 2017-09-12 接受日期: 2018-03-01

\* 通讯作者 E-mail: sln629@ 163.com ting that they can be considered as micro-ecological indicators during the remediation of POPs- contaminated soil．

**Key words**: DDTs; PAHs; degradation rate ; soil enzyme activity ; correlation analysis; micro- ecological indicator．

土壤是生命赖以生存的物质基础，人类的一切 生命活动都离不开土壤（ 孙丽娜等，2016） 。有学者 指出（ 朱利中，2012） ，近年来由于土地污染造成的 粮食减产达2.5X109 kg • a'1,经济损失在1000 亿元• a'1以上，随着经济社会的持续高速发展，我 国环境污染从局部蔓延到区域，从城市、城郊延伸到 乡村，从单一污染扩展到复合污染，呈现出点源与面 源污染共存，工业污染源、生活污染源和农业污染源 叠加排放，一次污染物与二次污染物复合/交互作用 的态势。土地质量不断下降，由此衍生出的食品安 全、用地安全等问题已经严重影响农业经济的健康 发展。持久性有机污染物（ persistent organic pollu- tants， POPs） 具有高毒性、持久性、长距离传输性和 生物积累性的特点，其引起的环境问题一直受到学 界、政府和公众的关注（ 劳齐斌等， 2017） ，而滴滴涕 和多环芳烃是2 种典型的持久性有机污染物。

滴滴涕 （ dichloro diphenyl trichloroethane， DDT） 是一种高效且价格低廉的有机氯农药，是首批被 《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》禁用 的有机污染物。20 世纪 DDT 作为农药在世界范围 内广泛应用，我国 DDT 农药用量巨大，累计使用了 大约40万t,共有930万hm2的土地受到DDTs的污 染（ Qiu et al．， 2005） ，虽然 DDT 农药已经禁用接近 30年，但至今DDTs在我国北京等地区的农田土壤 中依然有较高的检出率（ 陈苏等, 2016） ,而目前一 种名为三氯杀螨醇的有机氯农药中含有DDT杂质， 这使得土壤中 DDTs 有了新的摄入源。有研究表 明， DDTs 对人类细胞形态和蛋白表达都会产生重大 影响（ 董宁宁等， 2017） 。多环芳烃（ polycyclic aro­matic hydrocarbons， PAHs） 是毒性较强、性质 稳定的 持久性有机污染物，具有三致效应（ 致畸、致癌、致 突变） ，其主要产生于化石燃料的不完全燃烧，随后 通过大气沉降效应在土壤中聚集（ 李 嘉康 等， 2017） 。随着现阶段化石燃料使用量的不断增加， 土壤中 PAHs 含量势必成累积趋势，对土壤的生态 功能，食品质量安全和人类健康造成巨大威胁（ 许 超等，2007） 。

目前对于有机污染土壤的修复方法包括物理方 法、化学方法和生物方法 （ Kuppusamy et al． 2016） ， 物理方法和化学方法虽可以在较短时间内大幅降低 土壤中有机污染物，但其需要投入大量的人力物力 且易造成二次污染，生物方法是利用植物、微生物的 自身特性对土壤中污染物进行富集或降解，操作简 单，低耗高效，具有广泛的应用前景（ 郑学昊等， 2017） ，近年来国内外大量文献（ Be zza et al．， 2017; Xie et al．，2017） 报道了以生物修复技术为基础，通 过添加表面活性剂、有机酸、螯合剂等化学试剂活化 有机污染物，利用微生物与植物根系效应形成的耦 合作用，综合多种调控措施对有机污染土壤进行修 复，此类研究已成为有机污染土壤修复的热点。

有研究者认为，土壤酶很大程度上起源于土壤 微生物（ 王理德等，2016） ，土壤酶活性可以映射土 壤中各种生化反应强度（ Zakaria et al．，2002） 同时也 可以判定修复技术对土壤的扰动状况，往往是土壤 污染程度和土壤中微生物对污染物降解效果的重要 指示之一（ 刘世亮等， 2007） 。目前在国内外的报道 中，对于有机污染土壤修复方法及去除过程中酶学 机理的研究主要集中在实验室的盆栽实验，由于土 壤存在异质性，在农田土壤中进行工程性原位修复 时，酶活性变化情况可能有所不同，同时酶活性与有 机复合污染去除率之间的相关性研究鲜有报道。有 研究提出，木质素和植物根际促生菌对植物-微生物 联合修复有机污染土壤有一定强化效果（ 吴宇澄 等，2013;李思雯等，2016） 。本研究在课题组前人的 研究成果上（ 陈苏等， 2016; 王晓旭等， 2016） ，通过 添加调控措施得到更为高效的有机污染农田土壤修 复技术并对其酶活性变化进行探讨，目的在于筛选 新型实用技术，为工程性修复有机复合污染土壤过 程中的微观生态指标变化提供数据支持。

**1** 实验材料与方法

**1. 1** 实验材料

为了更符合原位修复有机污染土壤时的真实情 况，实验场地选址在沈阳市沈北新区某温室蔬菜基 地中，该温室基地有长年施用DDT类农药的历史， 另由于农户冬季取暖等原因造成土壤中 PAHs 的积

累。设定土壤表层（0~20cm）为研究层，研究层土 壤基本理化性质如下:pH值7.18,有机质含量50.62 g • kg'1，土壤容重1.22 g • cm'3，土壤类型为粉砂质 黏土。

使用的高效降解菌型菌，属于营养型甲基芽孢 杆菌菌属 （ Bacillus methylotrophicus ） ，经前 人 实 验 该 菌具备良好的DDTs-PAHs降解性能，根际促生菌G 菌，属于葡萄球菌菌属（ Staphylococcus pasteuri ） ，这 两株菌皆为沈阳大学区域污染环境生态修复教育部 重点实验室自行筛选得出，现保藏于中国普通微生 物菌种保藏管理中心，保藏编号分别为 12461 和 13423，木质素购自山东高唐多元木质素有限公司， 为棕色粉末状固体，鼠李糖脂购自湖北紫金生物公 司，为膏状体，纯度 99.99%，油菜品种为北方小油菜 （ Brassica campestris ） 购于沈阳市沈北新区某种子 公司。

将N 菌, G 菌平板活化后，接种至500 mL LB培 养基,30 T下恒温振荡培养，定期计数，当菌液浓度 达到1.0X108 CFU • mL'1时制得菌液，菌液用量为 500 mL • m'2，鼠李糖脂用量为5 mg • kg'1 土,木质 素用量为5 g • kg'1 土。

**1. 2** 实验设计

本实验始于 2016年 5 月，为历时2个月的农田 原位土壤修复实验。 场地分割为 1 mX1 m 的方形 地块，相邻方形地块之间设置 20 cm 高、20 cm 宽的 隔离沟，以避免交叉污染，将研究层土壤弃去石子杂 物，前期使用梅花采样法采集了若干地块研究层土 壤进行DDTs和PAHs污染背景值测定，由于自然条 件下，不同地块之间污染物质量分数差距较大，最终 选定土壤中目标污染物质量分数接近的 5 个地块作 为本次实验使用的样地。 调控设计为 5 个处理，实 验进行3 次重复，具体如下:（ 1） X（ 种植油菜，添加 鼠李糖脂溶液，接种 N 菌）;（ 2） X+G（ 种植油菜，添 加鼠李糖脂溶液，接种 N 菌，接种 G 菌）; （ 3） X+L （ 种植油菜，添加鼠李糖脂溶液，接种 N 菌，添加木 质素）；（4） X+G +L（种植油菜,添加鼠李糖脂溶液, 接种N菌，接种G菌,添加木质素）;（5） CK（不添加 任何处理）（ 表1）。

根据土壤容重计算研究层土壤重量，继而计算 出鼠李糖脂和木质素施加量，木质素为粉末状可直 接加入土壤混匀，鼠李糖脂为膏状则需溶于水制成 溶液后再行添加，膏状鼠李糖脂难溶于水，制备溶液 过程中可加入少量 NaOH 以便溶解，待鼠李糖脂全 溶于水后加盐酸将pH调为7制得鼠李糖脂溶液。

将菌液、鼠李糖脂溶液、木质素按照不同样地处 理方法加入样地中，反复翻耕土壤，使添加物质与土 壤充分混匀，播撒油菜种子，定期浇水，保证油菜可 以正常生长。 2 个月后，使用梅花采样法，采集土壤 研究层样品，测定酶活性、污染物质量分数。 实验处 理及地块污染背景值如下，根据现行国标（ GB 15618—1995）规定的菜地中 DDTs 质量分数控制水 平及欧洲对土壤中 PAHs 的评价标准（ Maliszewska， 1996），样地土壤属于中高浓度污染。

**1. 3** 实验方法

**1. 3. 1** 有机污染物提取、净化及测定 样品土壤风 干后研磨过60目筛，准确称取5.00 g研磨样，加入 适量硅藻土，混匀后一起置入萃取池中进行萃取，

V正己烷：V丙酮=1 : 1混合液作为萃取溶剂，萃取条件 为：预热平衡时间5 min,静态萃取温度100 T,压力 10342.5 kPa,静态萃取时间5 min,淋洗体积为60% 萃取池体积，载气（高纯氮气）吹拖时间100 s,收集 萃取液至鸡心瓶旋转蒸干，精确使用2 mL正己烷充 分溶解鸡心瓶壁物质，1 mL 用于 DDTs 净化测定，1 mL用于PAHs净化测定,DDTs净化使用磺化法，使 用 CP-3800 气相色谱仪， PAHs 净化使用固相硅胶 柱法，使用 Angillent 1100 高效液相色谱仪进行测 定,DDTs回收率为89.2%~107.1%,PAHs回收率为 80.3%~96.5%，仪器分析条件见参考文献（ 王晓旭 等，2017）。

**1.3.2** 酶活性测定 多酚氧化酶测定使用邻苯三 酚比色法，多酚氧化酶活性以 3 h 后单位土壤中紫 色没食子素的毫克数表示（mg紫色没食子素• 10 g**'**1 • 3 h**'**1）；磷酸酶活性测定使用磷酸苯二钠比 色法测定,磷酸酶活性以3 h后单位土壤中P**2**O**5**的毫

| 样地编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 处理 | X | X+G | X+L | X+G+L | CK |
| DDTs 背景值 | 96.1±6.2 | 100.4±8.3 | 95.2±7.4 | 107.2±4.8 | 101.5±5.2 |
| PAHs 背景值 | 811.7±19.2 | 724.8±22.4 | 674.8±22.4 | 883.4±18.2 | 530.4±8.3 |

表1处理条件及供试土壤中POPs质量分数（pg • kg-1）

Table 1 Treatment and the concentrations of POPs in previous soils

样本数 n = 3。

克数表示（mg P**2**O**5** • 10 g**-**1）；过氧化氢酶测定使用

| 仪器/药品 | 生产厂商 | 纯度/型号 |
| --- | --- | --- |
| 加速溶剂萃取仪 | 戴安中国有限公司 | ASE300 |
| 旋转蒸发仪 | 上海亚荣生化仪器厂 | RE-52AA |
| 高效液相色谱仪 | 美国安捷伦科技公司 | Agillent 1100 |
| 气相色谱 | 美国瓦里安公司 | CP-3800 型 |
| 酶标仪 | 美国莫赛飞科技有限公司 | 5119200 型 |
| 固相硅胶柱 | 天津博纳艾杰尔科技有限公司 | 10 mL |
| 正己烷、乙腈 | 山东禹王实业有限公司化工分公司 | 色谱纯 |
| 正己烷、丙酮、二氯甲烷 | 天津市富宇精细化工有限公司 | 分析纯 |
| 甲苯、乙醚、浓硫酸 | 山东禹王实业有限公司化工分公司 试剂纯,98% | |
| DDTs、PAHs 标样 | 德国百灵威科技有限公司 | 1 g • kg-1 |
| 高锰酸钾,HCl | 天津科密欧化学试剂有限公司 | 试剂纯 |
| 柠檬酸,铁氰化钾 | 天津博迪化工股份有限公司 | 试剂纯 |
| 四硼酸钠,过氧化氢, | 天津恒兴化学试剂制造有限公司 | 试剂纯 |
| 4-氨基安替吡啉, 磷酸苯二钠 | 国药集团化学试剂有限公司 | 试剂纯 |
| 重铬酸钾 | 沈阳力诚试剂厂 | 试剂纯 |

表 2 实验器材及药品

Table 2 Laboratory drugs and instruments

高锰酸钾滴定法，过氧化氢酶活性以20 min 后单位

土重的0.1 mol • L-1高锰酸钾的毫升数表示（0.1 N

KMnO。• g-1），方法参照参考文献（关松荫,1986；许 光辉等，1986； Wang *et al.* ,2014）*。*

**1. 4** 实验器材及药品 测定过程中所用到的仪器、化学药品和有机溶

剂如表 2 所示。

**1. 5** 数据处理

数据分析使用到的软件包括:Excel 2016, Origin

8.5， SPSS 11.0。

酶活性抑制率计算公式为（ 张志远等，2012） : 酶活性抑制率=（1-A/A。） X100%

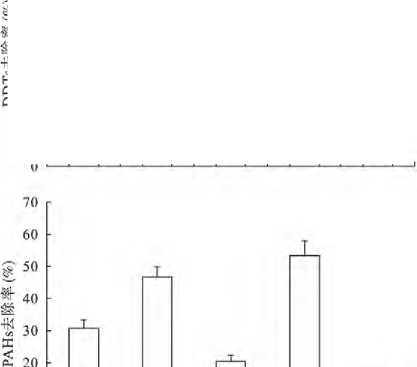
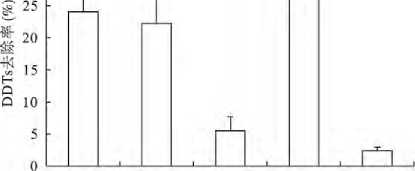
*A*表示酶活性，**0**表示对照组酶活性，酶活性为 负表示促进，酶活性为正表示抑制。

污染物与酶活性相关性分析为 SPSS 11.0 软件 中的 Pearson 双变量法分析。

**2** 结果与分析

**2. 1** 有机污染物去除率

经过 2 个月的原位修复，各调控组合对 DDTs 和 PAHs 去除率如图 1 所示。 两种有机污染物的自 然去除率较低，与 Wang（ 2017） 的研究结果相似， 4 种调控组合都可以不同程度地加速土壤中DDTs和 PAHs去除。值得注意的是,G菌的存在可以提高X 对污染物的去除率， X+L 组合的去除率最低表现 为木质素对X具有毒害作用，而X + G + L的处理使

2 种污染物去除率达到峰值分别为 27. 48% 和 53.26%，这种结果说明经 G 菌调控后， X 组合的稳 定性有所提升，因此G菌是强化X修复效果的有效 调控条件。

35

30

10 I­

0 ~——\_1~——~1~——~1~——\_1~——~1

X X+G X+L X+G+L CK

涮控组合

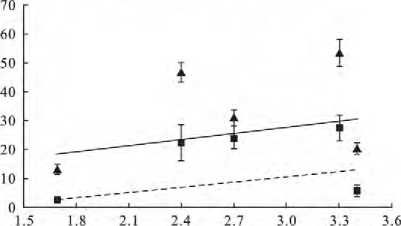
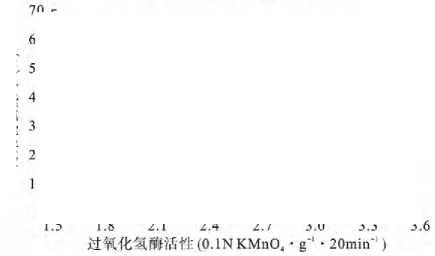
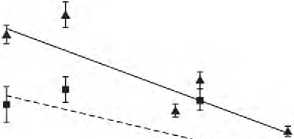
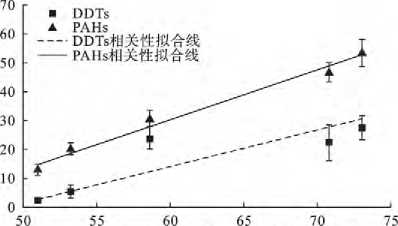
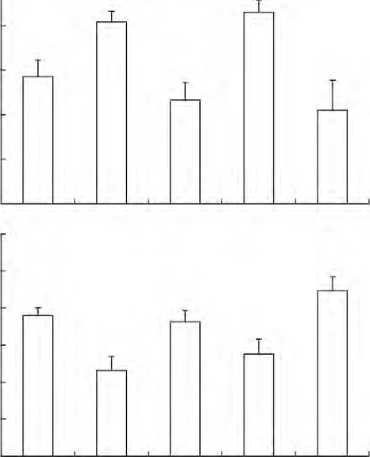
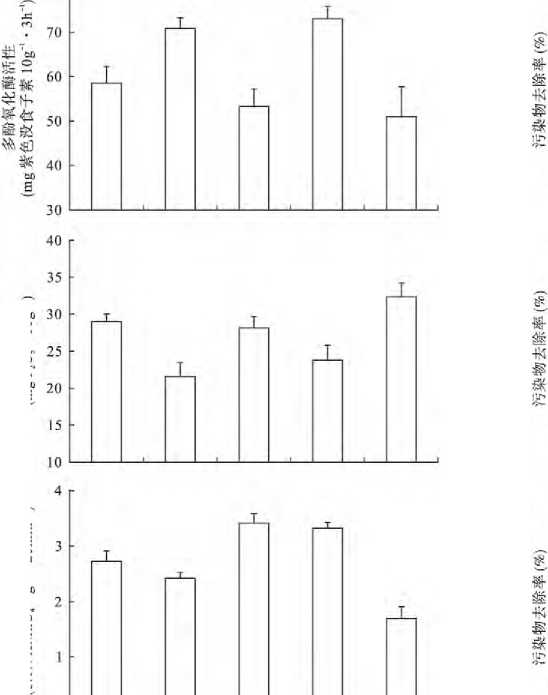
图 1 不同调控措施下有机污染物的降解率

Fig． 1 Degradation rate of different regulations on total organic pollutants

**2. 2** 各调控措施对土壤酶活性影响 经过修复后，土壤中多酚氧化酶、磷酸酶、过氧 化氢酶活性如图2 所示，酶活性抑制率如表2 所示 经过酶活性抑制率分析，各调控措施对多酚氧化酶 过氧化氢酶表现为激活作用，激活程度表现为过氧 化氢酶〉多酚氧化酶,对磷酸酶为抑制作用*。*X与对 照组进行比较发现鼠李糖脂强化植物-微生物联合 修复技术对 3 种酶活性的影响较小，土壤酶活性可 以表征土壤生化反应程度，因此推断其对土壤的扰 动较小，这也是植物-微生物联合修复技术的优势之 一，同时发现 G 菌的存在可以促进多酚氧化酶活性 且抑制磷酸酶活性，木质素则对过氧化氢酶有较大 的激活作用。

**2. 3** 不同土壤酶之间与有机污染物去除率相关性 分析

不同种酶与 DDTs 和 PAHs 之间相关性如图3 所示，污染物与酶活性之间相关性系数如表 3 所示 DDTs 去除率与 PAHs 去除率存在显著相关性，多酚 氧化酶与PAHs去除率的相关系数为0.983,呈极显

图 **2** 不同调控措施下酶活性变化

80

0 \_———1———―1 1―———1——―1

X X+G X+L X+G+L CK

调控组合

r启 EOOJ• -d •dusHNUO) 塑定谧屈mwJT

-sol soZdE旦

多酚氧化酶活性**（mg**紫色没食子素**10g"・3hJ**

*24 26 28 30 32* 34

磷酸酚活性(mgP7OS - 10g\*)

**Fig．2 Effect of different regulations on 3 kinds of soil en­zyme activity**

表 3 酶活性抑制率

Table 3 Inhibition rate of enzyme activity

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 处理 | 多酚氧化酶 | 磷酸酶 | 过氧化氢酶 |
| X | '14.89 | 10.32 | '58.82 |
| X+G | '38.74 | 33.18 | '41.18 |
| X+L | '4.41 | 13.25 | '100.00 |
| X+L+G | '43.15 | 26.20 | '94.12 |

表 4 各调控措施下 DDTs 和 PAHs 去除率与酶活性相关性 分析

Table 4 Relationship between the degradation rate of organic pollutants and soil enzyme activities

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | DDTs 去除率 | PAHs 去除率 | 多酚 氧化酶 | 磷酸酶 | 过氧化 氢酶 |
| DDTs 去除率 | ' |  |  |  |  |
| PAHs 去除率 | 0.905\* | ' |  |  |  |
| 多酚氧化酶 | 0.856 | 0.983＊＊ | ' |  |  |
| 磷酸酶 | '0.7 | '0.911\* | '0.914\* | ' |  |
| 过氧化氢酶 | 0.351 | 0.453 | '0.404 | '0.41 | ' |

样本数 n=3。\* 在5%水平上显著相关，＊＊在1%水平上显著相关。

图 **3** 去除率与酶活性相关性分析

**Fig．3 Relationship between the degradation rate and soil enzyme activities**

著相关（P<0.01）,与DDTs的相关系数虽不显著但 其系数达到 0.856。 磷酸酶与 PAHs 去除率和多酚 氧化酶活性皆存在相关关系，过氧化氢酶与其他指 标的相关性较差，除此之外，不同种酶之间也存在相 关性，例如多酚氧化酶与磷酸酶之间存在显著负相 关关系（ P<0.05） 。

**3**讨论

DDTs 和 PAHs 一直以来是学界重点研究的典 型有机污染物之一，其通过大气沉降和地表水径流 等方式在自然界内交互污染，对人类健康和食品安 全造成较大影响，本文以鼠李糖脂强化植物-微生物 联合修复技术为基础，通过根际促生菌和木质素的 调控，对比了联合技术的去除率与酶活性变化，并对 二者进行了 Pearson 相关性分析。

结果发现， X+L 组合的污染物去除率显著低于

X。 有报道指出,添加木质素会使土壤中微生物碳 含量降低,减少土壤微生物数量( 张杰等,2015) ,但 同时也有使用菇渣类木质素刺激白腐真菌向土壤分 泌过氧化物酶以去除 PAHs 的报道( 吴宇澄等, 2013) 。 在本次实验中,微生物是去除污染物的主 要参与者,且芽孢杆菌去除污染物的机理更趋向于 胞内分解,所以 X+L 组合相对 X 表现为抑制降解。 但 X+L 对于污染物自然降解率( CK) 仍有一定程度 的提高,其中原因可能是木质素加强了某些土著菌 对污染物的响应。 而添加 G 菌可以使木质素的毒 害作用减弱,甚至可以将木质素的毒害作用转化为 有利于降解有机污染物的条件( X+G+L) 。 有研究 表明,植物根围细菌可以通过分泌胞外酶、有机酸等 诸多方式来促进植物生长改善根系构型( 陈伟立 等,2016) ,同时这些胞外酶也对污染物降解起到了 一定作用,根系发达有利于为土壤微生物提供附着 位点,丰富植物根际菌群,形成的植物-微生物共生 体更有利于抵抗有害物质的胁迫,因此 G 菌对加强 X 的修复效果是有效的调控条件。

众多研究人员研究了有机污染土壤修复过程中 酶活性变化,发现土壤酶活性可以指示土壤中芳香 类有机化合物代谢过程,例如: 朱凡等( 2014) 认为, 磷酸酶和过氧化氢酶可以指示土壤中 PAHs 残余质 量分数；王辉等( 2017) 使用转化酶和过氧化氢酶表 征去除 DDTs 污染物过程中微生物活性的变化。 多 酚氧化酶是参与土壤修复研究过程中的重要酶类 ( Sinsabaugh,2010) ,其可以将土壤中的酚类物质氧 化生成醌继而继续氧化降解( Gianfreda *et al*. , 2005) ,而存在 G 菌的调控组合中多酚氧化酶活性 均较高,可能是添加 G 菌与表面活性剂等其他影响 因子形成了协同作用以激活了土壤多酚氧化酶。 过 氧化氢酶经常作为生物标志物以表征 PAHs 引起的 氧化胁迫,过氧化氢酶活性升高有利于防止过氧化 氢对生物的毒害作用( Lionetto *et al.*, 2003) ,试验结 果添加木质素的组合土壤中,含有木质素的组合对 过氧化氢酶的激活作用明显,抑制率为 100%和 94.12%,其中原因可能是木质素可以通过某种途径 刺激土壤中过氧化氢类物质产生,土壤生物加速分 泌过氧化氢酶来抵抗氧化胁迫的结果。

本实验中,多酚氧化酶与 DDTs 去除率和 PAHs 去除率都存在一定的相关性,与王洪等( 2011) 提出 的多酚氧化酶与 PAHs 去除过程中存在显著相关性 的结论相同。 在 PAHs 的有氧氧化过程中,最为重 要一步就是加氧开环的过程,而反应所得到产物并 不稳定,将继续反映生成酚类衍生物( 侯梅芳等, 2014) ,酚类物质进一步被氧化最终代谢为二氧化 碳和水,多酚氧化酶作为酚类氧化过程中的直接作 用酶,其活性高低直接影响有机物降解的效率。 磷 酸酶在土壤磷素循环中发挥了重要作用( 刘娜等, 2009) ,有许多研究发现,磷酸酶活性对污染物浓度 的变化较为敏感,相关性较好,可以用来评价土壤污 染状况( Baran *et al.*, 2004； 朱凡等, 2008) 。 在本次 实验中,磷酸酶与有机污染物的去除效率呈显著负 相关,但在梁小翠等( 2011) 的研究中,磷酸酶与 PAHs 去除率虽呈负相关关系但相关性系数不高, 与本实验结果有所出入,这可能是在本实验中,调控 措施丰富微生物种群后导致污染物去除过程层级增 多,磷酸酶可能参与了某一个关键性的污染物去除 过程。 土壤过氧化氢酶可以加速土壤中过氧化氢等 代谢废物的分解,减轻过氧化物对生物体的毒害,实 验结果中过氧化氢酶与有机污染物去除率的相关性 较差,其中原因可能是木质素胁迫造成的影响。

土壤酶活性受到众多因素的影响,是一个复杂 的生态过程,植物根系分泌物与根际细菌相互作用, 共同组成了土壤酶来源( 肖敏等, 2009； 王理德等, 2016) 。 土壤酶活性的变化原因很难从某一个角度 进行阐述,同时国内外众多研究表明,由于土壤类型 或污染物种类不同所导致的酶活性变化存在显著差 异( 王艳, 2014) 。 本次实验中,所添加的调控都可 能影响酶活性,例如,有研究指出( 刘魏魏等,2010； 李峰,2014) ,鼠李糖脂等表面活性剂可以活化有机 污染物,减弱环状有机化合物疏水性并对细菌细胞 膜流动性产生积极影响等。 值得注意的是,多酚氧 化酶、磷酸酶与污染物去除效率存在相关性预示着 这两种酶可能参与到污染物去除过程中,可以将其 定义成指示去除有机污染物的微生态指标。

**4**结论

经过 2 个月的修复, X+G+L 的调控组合对 DDTs 和 PAHs 的去除效率达到最高,因此 G 菌对加 强 X 的修复效果是有效的调控条件,该方法对土壤 扰动小,无二次污染,在未来具有较好的应用价值。

各调控措施下,多酚氧化酶和过氧化氢酶活性 被激活,磷酸酶活性表现为抑制。 同时多酚氧化酶、 磷酸酶与有机污染物去除率之间存在较好相关性, 可以将其酶活性定义为去除有机污染物过程中的一 项微生态指标,除此之外,不同种酶之间也存在一定 相关性。

参考文献

陈 苏,单 岳,晁 雷,等. 2016. 表面活性剂-微生物联 合修复滴滴涕污染土壤的研究. 生态环境学报,**25**( 9) : 1522-1527.

陈伟立,李 娟,朱红惠,等. 2016. 根际微生物调控植物根 系构型研究进展. 生态学报,**36**( 17) : 5285-5297.

董宁宁,宋 莉,李 卓玉,等. 2017. 滴滴涕对人大肠癌 DLD1 细胞上皮间充质转化的影响. 中国药理学与毒理 学杂志,**31**( 2) : 172-178.

关松荫. 1986. 土壤酶及其研究方法. 北京: 中国农业出版 社.

侯梅芳,潘栋宇,黄赛花,等. 2014. 微生物修复土壤多环芳 烃污染的研究进展. 生态环境学报,**23**( 7) : 1233­1238.

劳齐斌,矫立萍,陈法锦,等. 2017. 北极区域传统和新型 POPs 研究进展. 地球科学进展,**32**( 2) : 128-138.

李 峰. 2014. 表面活性剂对柠檬酸杆菌 SA01 和 节杆菌 SA02降解菲微界面行为的影响(博士学位论文).杭 州: 浙江大学.

李嘉康,宋雪英,魏建兵,等. 2017. 沈北新区土壤中多环芳 烃污染特征及源解析EB/OL] . 2017-11-9] . http：// kns. cnki. net / kcms / detail / 11. 1895. X. 20170921. 1007. 030. html

李思雯,李 鹏,孙丽娜,等. 2016. 紫花苜蓿对 DDT 污染 土壤的修复. 沈阳大学学报: 自然科学版,**28**( 2) : 105 -110.

梁小翠,朱 凡,闫文德,等. 2011. 马褂木盆栽土壤酶活性 对PAHs胁迫的响应.中南林业科技大学学报，**31(**5)： 92-95.

刘 娜,唐保宏,张美香,等. 2009. 土壤中脲酶和磷酸酶对 百草枯的响应. 安徽农业科学,**37**( 22) : 10615-10616.

刘世亮，骆永明，丁克强，等.2007.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. 农业环境科学 学报， **26**( 2) : 526-532.

刘魏魏，尹 睿，林先贵，等. 2010. 生物表面活性剂-微生 物强化紫花苜蓿修复多环芳烃污染土壤. 环境科学， **31** ( 4) : 1079-1084.

孙丽娜，吕良禾，张鸿龄. 2016. 滴滴涕污染土壤的生物修 复技术. 沈阳大学学报: 自然科学版， **28**( 6) : 446-451.

王 洪，李海波，孙铁珩，等.2011.生物修复PAHs污染土 壤对酶活性的影响. 生态环境学报， **20**( 4) : 691-695.

王 辉，王晓旭，孙丽娜，等. 2017. 血粉刺激修复 DDTs 污 染农田土壤的现场实验. 中国环境科学， **37**( 2) : 654­660.

王理德，王方琳，郭春秀，等. 2016. 土壤酶学研究进展. 土 壤， **48**( 1) : 12-21.

王晓旭，孙丽娜，吴 昊，等. 2016. 表面活性剂强化球形节 杆菌修复 DDTs 污染农田土壤的现场实验. 环境工程学 报， **10**(11) : 6768-6774.

王晓旭，孙丽娜，郑学昊，等. 2017. 表面活性剂强化微生物 修复 DDTs-PAHs 复合污染农田土壤影响研究. 生态环 境学报， **26**(3) : 486-492.

王 艳. 2014. 不同有机物料对有机磷农药污染土壤酶活性 及土壤微生物量的影响. 生态环境学报， **23**( 7) : 1205­1209.

吴宇澄，林先贵. 2013. 多环芳烃污染土壤真菌修复进展. 土 壤学报， **50**(6) : 1191-1199.

肖 敏，凌婉婷，高彦征，等. 2009. 丛枝菌根对菲芘污染土 壤中几种酶活性的影响. 农业环境科学学报， **28**( 5) : 919-924.

许 超，夏北成. 2007. 土壤多环芳烃污染根际修复研究进 展. 生态环境学报， **16**(1) : 216-222.

许光辉，郑洪元. 1986. 土壤微生物分析方法手册. 北京: 农 业出版社.

张 杰，黄金生，刘 佳，等. 2015. 秸秆、木质素及其生物 炭对潮土 CO2 释放及有机碳含量的影响. 农业环境科 学学报， **34**( 2) : 401-408.

张志远，王翠苹，刘海滨，等. 2012. 可可毛色二孢菌对焦化 厂土壤多环芳烃污染修复. 环境科学， **33**( 8) : 2832­2839.

郑学昊，孙丽娜，王晓旭，等. 2017. 植物-微生物联合修复 PAHs 污染土壤的调控措施对比研究. 生态环境学报， **26**( 2) : 323-327.

朱 凡，洪湘琦，闫文德，等. 2014. PAHs 污染土壤植物修 复对酶活性的影响. 生态学报， **34**(3) : 581-588.

朱 凡，田大伦，闫文德，等. 2008. 四种绿化树种土壤酶活 性对不同浓度多环芳烃的响应. 生态学报， **28**( 9) : 4195-4202.

朱利中. 2012. 有机污染物界面行为调控技术及其应用. 环 境科学学报， **32**(11) : 2641-2649.

Baran S， Bielinska JE， Oleszcuzuk P. 2004. Enzymatic activity in an airfield soil polluted with polycyclic aromatic hydro­carbons. *Geoderma*， **118**: 221 -232.

Bezza FA， Chirwa EMN. 2017. The role of lipopeptide biosur­factant on microbial remediation of aged polycyclic aromatic hydrocarbon ( PAHs ) -contaminated soil. *Chemical Engi­neering Journal*， **309**: 563- 576.

Gianfreda L, Antonietta MR, Piotrowska A, *et al.* 2005. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: Intensive agricultural practices and organic pollution. *Sci­ence of the Total Environment*， **341**: 265-279.

Kuppusamy S， Thavamani P， Venkateswarlu K， *et al*. 2016. Remediation approaches for polycyclic aromatic hydrocar­bons ( PAHs ) contaminated soils: Technological con- straints， emerging trends and future directions. *Chemo- phere*， **168**: 944-969.

Lionetto MG， Caricato R， Giordano ME， *et al*. 2003. Integrated use of Biomarkers ( acetyl cholinesterase and antioxidant enzymes activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian coastal marine area. *Marine Pollute Bulletin*， **46**: 324-330.

Maliszewska KB. 1996. Polycyclic aromatic hydrocarbons in ag­ricultural soil in Poland: Preliminary proposals for criteria to evaluate the level of soil contamination. *Applied Geochem-*

istry，**11**: 121'127

Qiu XH，Zhu T，Yao B，et al. 2005. Contribution of dicofol to the current DDT pollution in China. Environmental Science ＆ Technology，**39**: 4385' 4390.

Robertl S. 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. Soil Biology ＆ Biochemistry，**42**: 391 ' 404.

USEPA Report. 1997. Best management practices ( BMP ) for soils treatment technologies. EPA530-R-97-007.

Wang CP，Yu L，Zhang ZY，et al. 2014. Tourmaline combined with Phanerochaete chrysosporium to remediate agricultural soil contaminated with PAHs and OCPs. Journal of Hazar­dous Materials，**264**: 439'448.

Wang X，Sun L，Wang H，et al． 2017. Surfactant-enhanced bioremediation of DDTs and PAHs in contaminated farm­land soil. Environmental Technology，**101**: 1 '21.

Xie Y，Gu Z，Hmsk H，et al. 2017. Evaluation of bacterial bio­degradation and accumulation of phenanthrene in the pres­ence of humic acid. Chemosphere，**184**: 482'488.

Zakaria MP，Takada H，Tsutsumi S，et al. 2002. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons ( PAHs ) in rivers and estuaries in Malaysia: A widespread input of petrogenic PAHs. Environmental Science and Technology，**36**: 1907 ' 1918.

作者简介 郑学昊，男，1992年生，硕士研究生，研究方向为

有机污染土壤修复。E-mail： [953906106@qq.com](mailto:953906106@qq.com)

责任编辑 张 敏