

多氯联苯污染土壤菌根真菌-紫花苜蓿-根瘤菌联合修复效应

滕应^{1,2}, 骆永明^{1,2*}, 高军^{1,2}, 李振高^{1,2}

(1. 中国科学院南京土壤研究所土壤环境与污染修复重点实验室, 南京 210008; 2. 中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 南京 210008)

摘要: 选用紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 作为宿主植物, 盆栽试验研究了丛枝菌根真菌 (*Glomus caledonium*) 和苜蓿根瘤菌 (*Rhizobium meliloti*) 单接种及双接种对 PCBs 复合污染土壤的联合修复效应。结果表明, 在紫花苜蓿-菌根真菌-根瘤菌共生体系中, 紫花苜蓿对土壤中 PCBs 的降低起到明显作用, 使轻度污染和重度污染土壤中 PCBs 浓度分别下降了 15.8%、23.5%, 紫花苜蓿单接种菌根真菌和苜蓿根瘤菌后轻度污染和重度污染土壤中 PCBs 浓度分别下降了 14.8%、24.1% 和 20.6%、25.5%, 双接种后土壤 PCBs 分别降低了 23.2%、26.9%, 而且也改变了紫花苜蓿根际土壤微生物群落的碳源利用程度, 改善了微生物群落功能多样性。可见, 紫花苜蓿豆科植物-菌根真菌-根瘤菌特殊共生体对 PCBs 污染土壤显示了较好的修复潜力。

关键词: 多氯联苯; 紫花苜蓿; 菌根真菌; 苜蓿根瘤菌; 联合修复

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)10-2925-06

Combined Remediation Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi-Legumes-Rhizobium Symbiosis on PCBs Contaminated Soils

TENG Ying^{1,2}, LUO Yong-ming^{1,2}, GAO Jun^{1,2}, LI Zhen-gao^{1,2}

(1. Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: The combined remediation effects of dual inoculation with an arbuscular mycorrhizal fungus (AM) and rhizobium (*Rhizobium meliloti*) with a host plant (alfalfa) on PCBs contaminated soils was studied using pot experiments. The results showed that alfalfa had a clear role in PCBs removal in soils compared with treatments without alfalfa and inoculated microorganisms. PCBs concentration in lightly and heavily polluted soils decreased 15.8% and 23.5%, respectively. After planting alfalfa with single incubation of *Glomus caledonium*, PCBs concentration decreased 14.8% and 24.1% from lightly and heavily polluted soils, decreased 20.6% and 25.5% for single incubation of *Rhizobium meliloti*, respectively. After dual incubation with *Glomus caledonium* and *Rhizobium meliloti*, PCBs concentration in lightly and heavily polluted soils decreased 23.2% and 26.9%. We also observed that soil microbial communities in alfalfa rhizosphere soils had a higher carbon utilization rate, improving the functional diversity of the soil microbial community. The results suggest that dual incubation of *Glomus caledonium* and *Rhizobium meliloti* has great potential in remediation of PCBs contaminated soils.

Key words: polychlorinated biphenyls; alfalfa; arbuscular mycorrhizal fungus (AM); *Rhizobium meliloti*; combined remediation

多氯联苯 (polychlorinated biphenyls, PCBs) 是一类典型的持久性有机污染物 (persistent organic pollutants, POPs), 广泛分布于各类环境介质中。由于此类 POPs 的低挥发性和高辛醇/水分配系数, 在不同介质中的分布有很大差别, 其中土壤被认为是 PCBs 最大的库和汇^[1]。Ockenden 等^[2] 分析了全球近 200 个表层土样 (0 ~ 5 cm) PCBs 含量, 结果表明 PCBs 浓度相差 4 个数量级 (26 ~ 97 000 pg·g⁻¹, 以干重计), 并保守估计全球表层土壤中现存 PCBs 可达 21 000 t, 其中 80% 汇聚于北半球 30° ~ 60°N 的表层土壤。我国在 1965 ~ 1974 年间生产多氯联苯累计量达 10 000 t, 主要为三氯联苯和五氯联苯, 其中 1 000 t

作为油漆添加剂, 大约 9 000 t 用于电力变压器和电容器的生产中。目前这些电力设备相继被淘汰和报废, 但由于管理不善, 设备中多氯联苯直接进入环境, 尤其是土壤和沉积物中^[3-5]。此外许多含氯有机化合物 (如聚氯乙烯塑料、旧轮胎及含氯的碳氢化合

收稿日期: 2007-11-12; 修订日期: 2008-01-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (40432005, 40701080); 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2002CB410809); 中国科学院知识创新工程项目 (KZCX2-YW-404); 江苏省自然科学基金项目 (BK2005166)

作者简介: 滕应 (1975 ~), 男, 博士, 副研究员, 主要研究方向为污染土壤微生物生态及其微生物修复, E-mail: yteng@issas.ac.cn

* 通讯联系人, E-mail: ymluo@issas.ac.cn

物)的任意焚烧及部分有机氯化工生产过程中形成的副产品(PCBs)也借助多种暴露途径释放到土壤环境.近年来,本课题组对长江三角洲某 POPs 高风险区农田土壤 18 种 PCBs 定量检测表明,农田土壤中 18 种 PCBs 总量高达 $581\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,低者也有 $12.8\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,其中毒性最强组分 PCB77 和 PCB126 的检出率均达 50% 以上.因此,PCBs 复合污染土壤的修复已经成为不可避免的重要现实环境问题.

有关 PCBs 污染土壤的修复方法,主要包括化学修复、物理修复、生物修复等,其中生物修复技术由于具有成本低、环境友好、无二次污染等优点而受到环境工作者的青睐.但到目前为止,有关 PCBs 污染土壤生物修复多采用 PCBs 模拟污染土壤,较少使用现场污染土壤,且多集中在单一微生物降解方面^[6,7].近年来一些研究表明,植物在修复 PCBs 污染土壤方面也起到直接或间接作用^[8~13],却很少涉及微生物与植物联合修复.根瘤菌和菌根真菌是自然界与植物共生的 2 种典型土壤微生物,不仅能够提供植物需要的营养元素,促进植物生长,而且也发现它们与植物联合能够降解不能被细菌单独转化的有机物,包括 PCBs^[14~21].本研究拟以长江三角洲某典型污染区 PCBs 复合污染农田土壤为对象,分析丛枝菌根真菌和苜蓿根瘤菌单接种及双接种对 PCBs 复合污染土壤的联合修复效应,以期为研发 PCBs 污染土壤的生物修复技术体系提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤:采自长江三角洲某持久性有机污染物高风险区(历时 15 a 以上)农田表层土壤(0~20 cm),捡出植物根系、石砾等残留物,自然风干,过 2 mm 筛,调节其土壤含水量为田间持水量的 55% 左右,以供盆栽试验用.供试土样基本理化性质和 PCBs 含量见表 1.

供试植物:宿主植物紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.),为豆科多年生草本植物,是世界上最重要的栽培牧草,被称为“牧草之王”.购自江苏省农业科学院牧草研究所.

供试菌种及菌剂制备:丛枝菌根真菌为苏格兰球囊霉(*Glomus caledonium*),由本所土壤生物与生物化学研究室提供.以苏丹草为宿主,用过 20 目筛的红砂土和细砂为基质对该菌根真菌进行扩大培养,待苏丹草生长 60 d 后收获,将苏丹草根系剪碎,与培养基质混匀作为菌根菌剂,该菌剂中孢子密度为 30 个/g 干菌剂.根瘤菌为苜蓿根瘤菌(*Rhizobium meliloti*),将根瘤菌悬液(6×10^6 个/mL)加至泥炭(按 2:1 比例)中,使根瘤菌吸附于泥炭载体上,形成根瘤菌菌剂.

主要化学品:多氯联苯标准物质 PCB5, 18, 28, 52, 44, 66, 70, 74, 87, 99, 101, 118, 138, 141, 153, 154, 180(IUPAC No.)购置于美国 Supelco 公司,纯度 $\geq 97.5\%$.正己烷、丙酮、二氯甲烷等有机溶剂均为分析纯并经全玻璃系统二次蒸馏.硫酸、无水硫酸钠等均为分析纯.硅胶(100/200 目),130℃ 下活化 16 h.无水硫酸钠于 400℃ 下烘烤 4 h,待冷至室温后置于全玻璃容器中密封贮存,待用.

表 1 供试土壤的基本理化性质和 PCBs 含量

Table 1 Physical and chemical properties and PCBs contents of soil samples								
土样编号	pH (H ₂ O)	有机碳 /g·kg ⁻¹	碱解氮 /mg·kg ⁻¹	速效磷 /mg·kg ⁻¹	速效钾 /mg·kg ⁻¹	阳离子交换量 /cmol·kg ⁻¹	PCBs /ng·g ⁻¹	PCBs 污染 程度 ¹⁾
S1	5.4	82.3	308.1	18.8	99.0	20.0	245.1	重度污染
S2	5.4	53.5	177.8	6.0	106.2	17.3	54.2	轻度污染

1)参照前苏联卫生部规定的农田土壤污染允许水平($60\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$)

1.2 试验方案及实施

试验方案:本研究设计 5 个处理:①不种植物,仅加灭活的菌根菌剂和根瘤菌剂作为对照(以 CK 表示);②种植物,加灭活的菌根菌剂和灭活的根瘤菌菌剂(以 P 表示);③种植物,加菌根菌剂和灭活的根瘤菌菌剂(以 PAM 表示);④种植物,加灭活的菌根菌剂和活的根瘤菌菌剂(以 PR 表示);⑤种植物,加活的菌根菌剂和活的根瘤菌菌剂(以 PAMR 表

示).每个处理 3 次重复,随机区组排列.

试验实施:按土壤 PCBs 污染轻重分为 2 组实施.每盆装土 1.0 kg,同时加入 5% 的菌根菌剂以及根瘤菌培养液 10.0 mL,并加水以达到田间持水量的 60%,拌匀,同时将苜蓿种子用 5% 乙醇消毒,并待其萌发后播入盆中,待苜蓿出苗至 3 叶期定苗,每盆选取长势一致的苗保留 10 株.盆栽实验在控温生长室中进行,生长室内日间温度为 25℃,夜间温度

为 20℃,每天补加蒸馏水,水分大约维持在田间持水量的 60%,光照强度为 4 500 ~ 7 300 lx,整个试验持续 75 d.

1.3 土壤 PCBs 组分及含量分析

样品的提取和净化:称取 10.0 g 土壤,加入 40 mL 正己烷和丙酮混合液(1:1,体积比),浸泡过夜,20℃超声提取 1 h,离心,取出提取液,再分别用 20 mL 提取液提取 2 次,每次 30 min,合并提取液.旋转蒸发至 5.0 mL,转入分液漏斗,加入 2.0 mL 优级纯浓硫酸充分摇晃,酸化后静置分层,弃去硫酸层.重复酸洗至硫酸层无色,然后加入 2% 的硫酸钠水溶液重复水洗,保留有机相.

硅胶层析柱(长 250 mm,内径 10 mm)用正己烷湿法装填 3 g 硅胶,加 1 g 烘干的无水硫酸钠和 0.5 g 用正己烷处理过的铜粉,用 20 mL 正己烷淋洗该柱,弃去淋洗液.然后加入处理过的提取液,用 40 mL 正己烷洗脱,将洗脱液旋转蒸发浓缩,用正己烷定容至 1.0 mL,待上机分析.

色谱条件:色谱柱为 CP-sil 24CB(30 m × 0.25 mm × 0.25 mm),进样口 260℃,检测器 300℃,柱温为程序升温 120℃(0.5 min),10℃·min⁻¹至 180℃(1.00 min),15℃·min⁻¹至 250℃(26 min),无分流进样 1 μL,载气为高纯氮,流速为 1.0 mL·min⁻¹,线速度为 13.5 cm·s⁻¹.

质量控制:在样品分析过程中进行方法空白、基质加标和平行样的测定,以及加标回收测定.17 种 PCBs 在土壤中 5 ng·g⁻¹时的平均回收率是 83.4%,标准偏差是 6.84%,在植物样品中的平均回收率是 67.9%,标准偏差是 5.31%.检测限为 0.1 ng·g⁻¹,信噪比为 3.采用 17 种 PCBs 标样 6 次平行的平均保留时间对照各色谱峰保留时间进行供试样品中 PCBs 各同系物的定性分析.以上述 PCBs 标样作校正工作曲线,以外标法定量.

1.4 土壤微生物群落功能多样性测定

在试验之前,将供试土壤置于 25℃条件下的生化培养箱中活化 3 d.土壤微生物群落功能多样性采用 BIOLOG 测试方法^[22-24].每个样品重复 3 次.操作简述如下:将 BIOLOG GN 微平板从冰箱内取出,25℃条件下预热.用 200 μL 自动多头移液器取合乎 BIOLOG GN 系统要求浓度的土壤提取液(10⁻³)加到 BIOLOG GN 微平板孔中,每孔加 150 μL,25℃培养 7 d,每隔 12 h 用 BIOLOG 自动读数装置在 590 nm 下测定其吸光值.土壤微生物群落 BIOLOG 代谢剖面的表达: BIOLOG GN 微平板中多底物酶联(ELISA)反

应采用每孔的平均吸光值(AWCD)来描述,计算表达式为: {AWCD 值 = [$\sum (C - R)$]/95},其中 C 是所测得 95 个反应孔的吸光值, R 是对照孔的吸光值.

1.5 土壤基本理化性质分析

土壤基本理化性质按常规方法测定,具体参见文献[25].

1.6 数据统计分析

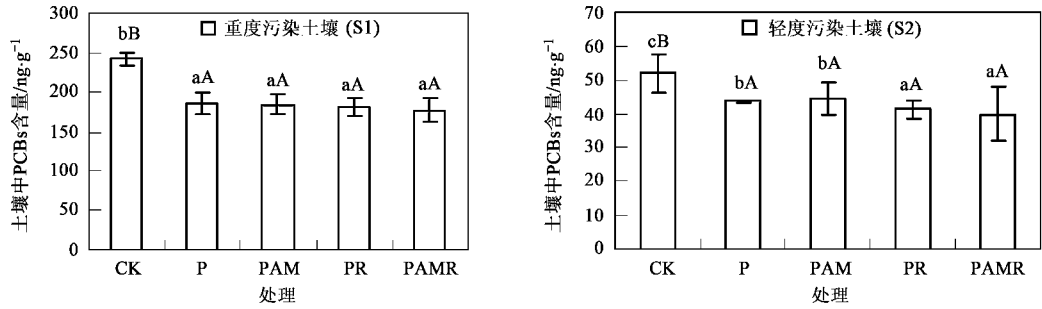
所有实验数据用 Microsoft® Excel 2000、SPSS10.0 及国产数据处理 DPS 统计平台实现^[26].

2 结果与分析

2.1 植物-微生物联合作用对供试土壤中 PCBs 含量的影响

从图 1 可以看出,在污染程度不同的两供试土壤中,与对照(CK)相比,种植紫花苜蓿的 4 个处理土壤中 17 种 PCBs 总量均明显降低.在重度污染土壤(S1)中,种植紫花苜蓿(P)、紫花苜蓿 + 菌根真菌(PAM)、紫花苜蓿 + 根瘤菌(PR)、紫花苜蓿 + 菌根真菌 + 根瘤菌(PAMR)的 PCBs 下降程度分别为 23.5%、24.1%、25.5%、26.9%,而且种植紫花苜蓿的 4 个处理与对照(CK)间均达到极显著性水平($p < 0.01$),但 4 个处理之间未达到显著性水平($p > 0.05$).在轻度污染土壤(S2)中,种植紫花苜蓿 4 个处理的 PCBs 下降程度分别为 15.8%、14.8%、20.6%、23.2%,其中 PAMR 和 PR 处理与对照(CK)之间达到了极显著性水平($p < 0.01$),而 P 和 PAM 处理与对照(CK)间则达显著性水平($p < 0.05$).接种根瘤菌明显强化了紫花苜蓿对 PCBs 污染土壤的修复效果,尤其在轻度污染土壤中紫花苜蓿 + 根瘤菌(PR)处理 PCBs 下降程度比单一种植紫花苜蓿(P)处理高出近 5%.一方面可能与根瘤菌为化能异养菌,与豆科植物紫花苜蓿共生形成特定固氮能力的根瘤组织,为宿主提供氮素营养,促进紫花苜蓿生长并提高体内代谢和根系分泌能力,增强土著微生物对 PCBs 的降解作用有直接关系. Johnson 等^[27]也发现根瘤菌能促进苜蓿根的伸长,增加污染物与根的接触面积,同时也能促进苜蓿根释放更多的分泌物到根际微环境中,调节根际微生物的生存环境,从而加强土壤中有机污染物的生物降解.但是在重度污染土壤中,接种根瘤菌对土壤中 PCBs 的降解效果未达显著水平差异($p > 0.05$),这可能与高浓度的 PCBs 对根瘤菌会产生致毒作用有关.

2.2 各处理下紫花苜蓿根中 PCBs 含量变化



不同大写字母表示不同处理之间差异达极显著水平($p < 0.01$),不同小写字母表示不同处理之间差异达显著水平($p < 0.05$),下同

图 1 植物-微生物联合作用对供试土壤中 PCBs 总量的影响

Fig.1 Effect of plant combined with microorganisms on PCBs total concentration in soils tested

分析结果发现,PCBs 在紫花苜蓿地上部分中含量很低(茎叶组织中 17 种 PCBs 均低于 $1.0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 干物质),而紫花苜蓿中 PCBs 主要积累在其根部.图 2 显示了各处理下紫花苜蓿根中 PCBs 的含量变化.从中可以看出,供试植物紫花苜蓿根中 PCBs 的含量不仅与接种微生物种类有关,而且还与供试土壤的 PCBs 污染程度直接相关.在重度污染土壤(S1)条件下,种植紫花苜蓿(P)、紫花苜蓿+菌根真菌(PAM)、紫花苜蓿+根瘤菌(PR)、紫花苜蓿+菌根真菌+根瘤菌(PAMR)处理的根中 PCBs 总量分别为 37.5、15.5、46.3、40.0 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$,各处理间差异达极显著水平($p < 0.01$).在轻度污染土壤(S2)条件下,上述处理的根中 PCBs 总量分别为 2.1、2.3、8.7、5.1 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$,其中紫花苜蓿+根瘤菌(PR)、紫花苜蓿+菌根真菌+根瘤菌(PAMR)处理明显高于种植紫花苜蓿(P)、紫花苜蓿+菌根真菌(PAM)($p < 0.01$).就 2 种供试土壤比较而言,重度污染土壤各处理紫花苜蓿根中 PCBs 含量显著高于轻度污染土壤,重度污染土壤根中 PCBs 平均含量($34.8 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$)是轻度污染土壤($4.5 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$)7.7 倍,而且重度污染土壤中各处

理 PCBs 含量的差异表现甚为明显.有研究表明,植物能直接吸收 PCBs^[28],同时植物体内不同的羟化酶、过氧化酶以及糖基化酶等转化降解 PCBs^[29].也有人曾利用植物细胞和组织证明了植物能降解和转化 PCBs,尤其是在轻度污染土壤中,低氯代同系物因其与高氯代同系物相比,具有较高的 K_{ow} ,容易进入植物体内^[30].而且紫花苜蓿属须根系豆科牧草植物,根系发达,其表面积较大,PCBs 容易吸附到苜蓿根表面,从而对土壤中 PCBs 有一定的去除效果.

2.3 各处理下供试土壤的微生物群落功能多样性变化

由图 3 可知,种植紫花苜蓿及接种菌根真菌和根瘤菌后,PCBs 不同污染程度供试土壤的微生物群落代谢剖面发生了明显变化.轻度污染土壤(S2)中微生物群落在 72 h 发生变化,而重度污染土壤(S1)则延迟至 96 h 时,其代谢剖面才发生明显改变.结果表明,PCBs 不同污染水平下紫花苜蓿-微生物处理的土壤微生物群落碳源利用模式存在差异,即轻度污染根际土壤微生物群落的 AWCD 值 > 重度污染土壤,说明 PCBs 重度污染抑制了供试土壤微生物群落的生理代谢活性,降低了 BIOLOG GN 板中碳源利用程度.从图 3 还可看出,相同污染水平下不同处理根际土壤的微生物群落碳源利用代谢剖面也存在差异.重度污染和轻度污染土壤中微生物群落代谢剖面变化均表现为紫花苜蓿+菌根真菌+根瘤菌(PAMR) > 紫花苜蓿+根瘤菌(PR) > 紫花苜蓿+菌根真菌(PAM) > 种植紫花苜蓿(P)处理 > 对照(CK),各处理与对照(CK)间均达显著水平($p < 0.01$).这一结果表明种植紫花苜蓿及接种菌根真菌和根瘤菌后改变了各处理根际土壤的微生物活性,提高了根际土壤微生物群落的功能多样性,有利于强化 PCBs 污染土壤的生物修复过程.Chekol 等^[8]研

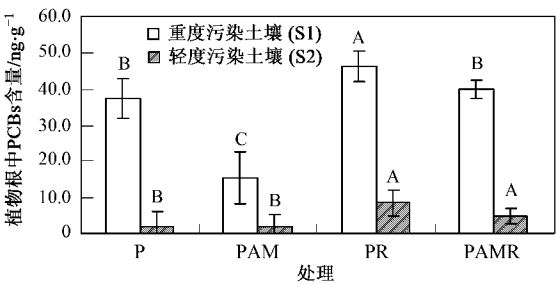


图 2 植物-微生物联合作用对紫花苜蓿根中 PCBs 含量的影响

Fig.2 Effect of plant combined with microorganisms on PCBs concentration in the root of alfalfa

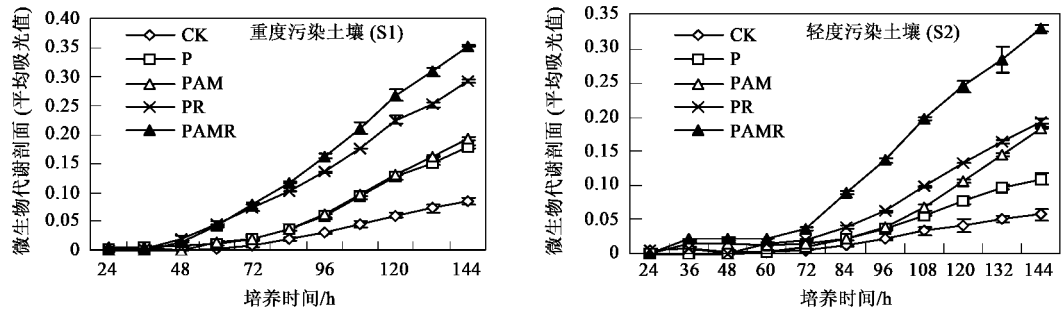


图 3 植物-微生物联合作用对供试土壤微生物群落代谢剖面的影响

Fig.3 Effect of plant combined with microorganisms on soil microbial metabolic profiles

究报道种植苜蓿可以显著增加土壤微生物数量,提高土壤脱氢酶活性,而细菌数量与土壤脱氢酶活性与土壤中 PCBs 的降解呈现显著性相关. Kirk 等^[31]也发现苜蓿能改善土著微生物的种群丰度和群落结构.

3 结论

(1)在紫花苜蓿-菌根真菌-根瘤菌联合修复体系中,紫花苜蓿对土壤中 PCBs 的降低起到明显作用,同时紫花苜蓿也表现出对 PCBs 有较强的耐受性,对 PCBs 污染土壤具有较好的修复潜力.

(2)根瘤菌对紫花苜蓿修复 PCB 污染土壤的强化作用大于菌根真菌,菌根真菌和根瘤菌双接种对紫花苜蓿的强化修复效果明显大于单接种的效果,而且也改变了苜蓿根际土壤微生物群体水平的生理轮廓,改善了微生物群落结构和功能多样性.可见,菌根真菌-根瘤菌可以强化紫花苜蓿对 PCBs 污染土壤的修复作用.

参考文献:

[1] Valle M D, Jurado E, Dachs J, *et al.* The maximum reservoir capacity of soils for persistent organic pollutants: implications for global cycling [J]. *Environmental Pollution*, 2005, **134**: 153-164.

[2] Ockenden W A, Breivik K, Meijer S N, *et al.* The global recycling of persistent organic pollutants is strongly retarded by soils [J]. *Environmental Pollution*, 2003, **121**: 75-80.

[3] 孟庆昱, 储少岗, 徐晓白. 多氯联苯的环境吸附行为研究进展 [J]. *科学通报*, 2000, **45**(15): 1572-1583.

[4] 储少岗, 徐晓白, 童逸平. 多氯联苯在典型污染地区环境中的分布及其环境行为 [J]. *环境科学学报*, 1995, **15**(4): 423-431.

[5] 张祖麟, 洪华生, 余刚. 闽江口持久性有机污染物——多氯联苯的研究 [J]. *环境科学学报*, 2002, **22**(6): 788-791.

[6] Brunner W, Sutherland F H, Focht D D. Enhanced biodegradation of polychlorinated biphenyls in soil by analog enrichment and bacterial inoculation [J]. *Journal of Environmental Quality*, 1985, **14**(3): 324-

328.

[7] Komancova M, Jurcova I, Kochankova L, *et al.* Metabolic pathways of polychlorinated biphenyls degradation by *Pseudomonas* sp. 2 [J]. *Chemosphere*, 2003, **50**: 537-543.

[8] Chekol T, Vough L R, Chaney R L. Phytoremediation of polychlorinated biphenyl-contaminated soils: the rhizosphere effect [J]. *Environment International*, 2004, **30**: 799-804.

[9] Boldt T S, Sørensen J, Karlson U, *et al.* Combined use of different Gfp reporters for monitoring single-cell activities of a genetically modified PCB degrader in the rhizosphere of alfalfa [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **48**: 139-148.

[10] Schnoor J L, Licht L A, McCutcheon S C, *et al.* Phytoremediation of organic and nutrient contaminants [J]. *Environmental Science and Technology*, 1995, **29**: 318-323.

[11] Singer A C, Crowley D E, Thompson I P, *et al.* Secondary plant metabolites in phytoremediation and biotransformation [J]. *Trends in Biotechnology*, 2003, **21**: 123-130.

[12] Whitfield-Åslund M L, Zeeb B A, Rutter A, *et al.* *In situ* phytoextraction of polychlorinated biphenyl-(PCB) contaminated soil [J]. *Science of the Total Environment*, 2007, **374**: 1-12.

[13] Luo W S, Angelo E M D, Coyne M S. Plant secondary metabolites, biphenyl, and hydroxypropyl- β -cyclodextrin effects on aerobic polychlorinated biphenyl removal and microbial community structure in soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, **39**: 735-743.

[14] 王发园, 林先贵, 周健民. 丛枝菌根与土壤修复 [J]. *土壤*, 2004, **36**(3): 251-257.

[15] 刘世亮, 骆永明, 丁克强, 等. 苯并[a]芘污染土壤的丛枝菌根真菌强化植物修复作用研究 [J]. *土壤学报*, 2004, **41**(3): 336-342.

[16] 刘世亮, 骆永明, 丁克强, 等. 土壤中有机污染物的植物修复研究进展 [J]. *土壤*, 2003, **35**(3): 187-192, 210.

[17] Mehmannaavaz R, Prasher S O, Ahmad D. Rhizospheric effects of alfalfa on biotransformation of polychlorinated biphenyls in a contaminated soil augmented with *Sinorhizobium meliloti* [J]. *Process Biochemistry*, 2002, **37**: 955-963.

[18] Ahmad D, Mehmannaavaz R, Damaj M. Isolation and characterization of symbiotic N_2 -fixing *Rhizobium meliloti* from soils contaminated with aromatic and chloroaromatic hydrocarbons: PAHs and PCBs [J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 1997, **39**: 33-43.

- [19] Damaj M, Ahmad D. Biodegradation of polychlorinated biphenyls by rhizobia: a novel finding[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1996, **218**: 908-915.
- [20] Leigh M B, Prouzová P, Macková M, *et al.* Polychlorinated biphenyl (PCB)-degrading bacteria associated with trees in a PCB-contaminated site[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, **72**: 2331-2342.
- [21] Macková M, Vrchotová B, Francová K, *et al.* Biotransformation of PCBs by plants and bacteria-consequences of plant-microbe interactions[J]. European Journal of Soil Biology, 2007, **43**: 233-241.
- [22] Zak J C, Willing M R, Moorhead D L, *et al.* Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1994, **26**: 1101-1108.
- [23] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, **57**: 2351-2359.
- [24] 滕应, 黄昌勇, 龙健, 等. 不同相伴阴离子对镉污染红壤微生物区系及群落功能多样性的影响[J]. 环境科学学报, 2003, **23** (3): 370-375.
- [25] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999. 107-240.
- [26] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2002. 33-80.
- [27] Johnson D L, Maguire K L, Anderson D R, *et al.* Enhanced dissipation of chrysene in planted soil: the impact of a rhizobial inoculum[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, **36**: 33-38.
- [28] Asai K, Takagi K, Shimokawa M, *et al.* Phytoaccumulation of coplanar PCBs by *Arabidopsis thaliana* [J]. Environmental Pollution, 2002, **120**: 509-511.
- [29] Mackova M, Macek T, Ocenaskova J, *et al.* Biodegradation of polychlorinated biphenyls by plant cells [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 1997, **39**: 317-325.
- [30] Estime L, Rier J P. Disappearance of polychlorinated biphenyls (PCBs) when incubated with tissue cultures of different plant species [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2001, **66**: 671-677.
- [31] Kirk J L, Klironomos J N, Lee H, *et al.* The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil[J]. Environmental Pollution, 2005, **133**: 455-465.