

多氯联苯污染土壤的紫云英-根瘤菌联合修复效应^①

李秀芬^{1,2}, 滕 应^{1,2*}, 骆永明^{1,2,3}, 李振高¹, 潘 澄^{1,2}, 张满云¹, 宋 静^{1,2}

(1 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室(南京土壤研究所), 南京 210008;

2 中国科学院大学, 北京 100049; 3 中国科学院烟台海岸带研究所, 山东烟台 264003)

摘 要: 选用紫云英(*Astragalus sinicus* L.)作为宿主植物, 通过盆栽试验研究了接种紫云英根瘤菌(*Rhizobium huakuii*)对多氯联苯污染土壤的修复效应。结果表明, 经过 100 天的修复作用后, 单接种根瘤菌、种植紫云英以及紫云英接种根瘤菌处理土壤中多氯联苯的去除率分别为 20.5%、23.0%、53.1%, 均显著高于对照处理($P<0.01$)。而且发现接种根瘤菌显著增加了紫云英根际土壤的微生物生物量碳、氮, 明显增强了土壤微生物群落的碳源利用能力, 从而改善了微生物群落功能多样性。可见, 紫云英-根瘤菌共生体对多氯联苯污染土壤表现出较好的修复潜力。

关键词: 多氯联苯; 紫云英; 根瘤菌; 植物-微生物联合修复

中图分类号: S154.36

多氯联苯(polychlorinated biphenyls, PCBs)作为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, 土壤被认为是 PCBs 最大的库和汇^[1]。近年来一些研究表明, 植物在 PCBs 污染土壤修复方面起到直接或间接作用^[2-7], 植物修复已经成为一种十分具有潜力的有机污染土壤治理技术^[8-11]。通常情况下, 植物修复效率依赖于植物种类、土壤条件、有机污染物性质、根际微生物和植物本身之间的相互作用等因素, 其中根际微生物协同作用对土壤有机污染物的降解有促进效果^[12-14]。因此, 植物-微生物联合修复已成为多氯联苯污染土壤原位生物修复技术的发展趋势^[15-18]。近年来, 豆科植物(如紫花苜蓿)在有机污染土壤修复应用中受到了广泛关注^[19-22], 尤其是紫花苜蓿-根瘤菌的共生体系^[23-26]。根瘤菌由于能和豆科植物形成互利共生体系固定空气中的 N_2 , 为植物提供氮素营养, 促进植物生长^[27], 而备受植物修复工作者的青睐^[28-30]。而且也有研究发现某些根瘤菌属能够利用多氯联苯 PCBs、多环芳烃或杂环芳香族化合物^[31-34]。紫云英作为一种绿肥植物, 在轮作中占有重要地位, 具有增加土壤养分、提高土壤保水保肥性能、增加作物产量的功能, 那么紫云英-根瘤菌共生体是否也对 PCBs 污染土壤具有良好的修复效果, 目前国内外还未见报道。鉴于此, 本研究以长江三角洲某典型 PCBs

复合污染农田土壤为研究对象, 选择紫云英为修复植物, 通过室内模拟试验研究紫云英-根瘤菌共生体对 PCBs 复合污染农田土壤的联合修复效应, 以期为进一步研发 PCBs 污染土壤的根瘤菌修复及其与植物联合修复技术提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤 采自长江三角洲某典型 PCBs 污染农田的表层土壤(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。

1.1.2 供试植物 紫云英(*Astragalus sinicus* L.), 豆科黄芪属, 冬季绿肥植物, 种子购于上海春茵草坪技术有限公司。

1.1.3 供试菌株及菌剂制备 根瘤菌(*Rhizobium huakuii*), 由本课题组从长江三角洲某典型 PCBs 污染农田的紫云英植株根瘤中经驯化富集后分离筛选得到。先将该菌接种于 YMA 固体平板培养基^[35]上 28℃ 活化, 然后接入以 PCB77(3,3',4,4'-四氯联苯, 10 mg/L)为唯一碳源的基础盐液体培养基^[35]中扩大培养, 之后与灭菌泥炭(过 20 目尼龙筛)混合, 制成固体菌剂(2×10^9 cfu/g 菌剂)。

基金项目: 国家高新技术研究发展计划(863 计划)项目(2009AA063104)和中国科学院知识创新工程项目(KSCX2-YM-G071)资助。

* 通讯作者(yteng@issas.ac.cn)

作者简介: 李秀芬(1987—), 女, 安徽芜湖人, 硕士研究生, 主要从事土壤环境生物修复方面研究。E-mail: xfli@issas.ac.cn

表 1 供试土壤的基本理化性质和 PCBs 含量
Table 1 Physicochemical properties and PCBs contents of soil samples

土壤类型	pH (H ₂ O)	有机碳 (g/kg)	碱解氮 (mg/kg)	速效磷 (mg/kg)	速效钾 (mg/kg)	PCBs (μg/kg)	PCBs 污染程度
铁聚水耕人为土	5.43	32.8	353.06	18.8	106.2	237.88 ± 4.07	重度污染

注：参照前苏联卫生部规定的农田土壤污染允许水平(60 μg/kg)。

1.1.4 主要化学品 PCB77 和 PCBs 混合标准样品(包括 PCB8, PCB18, PCB28, PCB44, PCB52, PCB66, PCB77, PCB101, PCB105, PCB118, PCB126, PCB128, PCB138, PCB153, PCB170, PCB180, PCB187, PCB195, PCB200, PCB206, PCB209 共 21 种单体)购自北京百灵威化学技术有限公司。丙酮、正己烷等有机溶剂均为分析纯,重蒸后使用。硫酸为优级纯,无水硫酸钠(分析纯)、硅胶(100 ~ 200 目,分析纯)、中性氧化铝(分析纯)400℃活化 6 h,冷却后置于全玻璃容器中密封贮存,待用。另备色谱纯正己烷、酸性硅胶(硅胶:浓硫酸=2:1,质量比)。

1.2 试验方案及实施

本研究设计 4 个处理:①不种植物,仅加灭活的根瘤菌菌剂作为对照(以 CK 表示);②种植物,加灭活的根瘤菌菌剂(P);③不种植物,仅加活的根瘤菌菌剂(R);④种植物,加活的根瘤菌菌剂(PR),每个处理 4 次重复,随机区组排列。将紫云英种子浸入 95%(体积比)的乙醇 5 min,再以 5%(体积比)次氯酸钠表面消毒 10 min,无菌水洗涤 8 次。置于铺有湿润滤纸的培养皿中在室温下催芽 2 天。每盆装土 500 g (以干重计),调节土壤含水量至田间持水量的 60%,充分拌匀,然后将萌发后的紫云英种子穴播于土壤中,待紫云英出苗至 3 叶期定苗,每盆选取长势一致的苗保留 10 株。盆栽试验在控温生长室中进行,日间温度为 25℃,夜间温度为 20℃,每天补加蒸馏水,维持土壤水分在田间持水量的 60%,光照强度为 4 500 ~ 7 300 lx,整个试验持续 100 天。试验进行 100 天后,采集植物并按四分法采集土壤样品。土壤样品经冷冻干燥后过 100 目筛,以供土壤基本理化性质以及污染物含量分析。植物样品采集后,用蒸馏水洗净,分地下部、地上部样品,用吸水纸吸干,于 50℃ 条件烘干称重,粉碎待测。

1.3 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[36]。

1.4 土壤中 PCBs 的提取与测定

称取冷冻干燥样品(土壤样品 10.0 g,植物样品 2.0 g)放入离心管,加入 1:1 的丙酮和正己烷混合溶

剂 30 ml,蜗旋混合仪振荡数秒,静置 12 h 浸提。在水温 25℃,频率为 100%条件下超声提取 15 min,离心(1 500 r/min, 5 min),上清液过滤,滤液收集至茄形瓶中。重复超声提取 2 次。将 3 次离心液 70 ml 旋转蒸发(45 kPa, 60 r/min, 水浴锅 42℃)近干(800 μl),加入 5 ml 正己烷替换 1 次,浓缩至 2 ml 后转入复合硅胶柱进行纯化。复合硅胶柱(长 250 mm, 内径 10 mm)内依次装填硅胶、中性氧化铝、酸性硅胶和无水硫酸钠(w:w=2:2:1:1)。用 10 ml 正己烷淋洗该柱,弃去淋洗液,然后加入处理后的样品提取液,用 25 ml 正己烷洗脱,洗脱液旋转蒸发浓缩,用正己烷定容至 5 ml,待上机分析。

色谱条件 采用带有电子俘获检测器和自动进样器的 Varian 3800 型气相色谱仪分析。色谱柱:CP-sil24CB(30 m×0.25 mm×0.25 μm),进样温度为 260℃,检测器温度为 300℃。程序升温:初始温度为 180℃,保留 0.5 min,30℃/min 梯度升温至 260℃,持续 18 min,然后 15℃/min 梯度升温至 270℃,持续 2 min。无分流进样 1 μl,载气为高纯氮,流速为 1.0 ml/min。

质量控制 采用七点校正进行标准物质的校正曲线和外标法进行,借助 Starwork Station 6.0 进行数据采集和处理。21 种 PCB 混标(10 μg/kg)的基质加标平均回收率是 72.0%~109.8%,相对标准偏差是 3.1%~57.3%,仪器检测限为 1.43~5.10 μg/kg,方法检出限为 1.33~3.45 μg/kg。该方法满足痕量有机物定量分析要求。

1.5 土壤微生物生物量及群落功能多样性测定

试验前,将供试土壤置于 25℃ 条件下的生化培养箱中活化 3 天。土壤微生物生物量的测定参见文献[35],土壤微生物群落功能多样性采用 Biolog 测试方法^[37-39],每个样品重复 3 次。操作简述如下:将 Biolog ECO 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 ECO 系统要求浓度的土壤提取液(10⁻³)加到 Biolog ECO 微平板孔中,每孔加 150 μl,25℃ 培养 7 天,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 ECO 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: $\{AWCD \text{ 值} = [C - R] / 31\}$, 其中 C 是所测得 31 个反应孔的吸光值, R 是对照孔的吸光值。

1.6 土壤中多氯联苯的去除率及植物提取修复效率的计算

土壤中多氯联苯的去除率计算公式如下:

$$\text{土壤中 PCBs 的去除率} = \frac{(c_1 - c_2)}{c_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中, c_1 为修复前土壤中 PCBs 浓度($\mu\text{g/kg}$); c_2 为修复后土壤中 PCBs 浓度($\mu\text{g/kg}$)。

植物的提取修复效率计算公式如下:

$$\text{植物提取修复效率} = \frac{\sum(m_R \times c_R + m_S \times c_S)}{m_0 \times c_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中, m_R 为植物根生物量(kg); c_R 为植物根中 PCBs 浓度($\mu\text{g/kg}$); m_S 为植物茎叶生物量(kg); c_S 为植物茎叶中 PCBs 浓度($\mu\text{g/kg}$); m_0 为修复前土壤质量(kg); c_0 为修复前土壤 PCBs 浓度($\mu\text{g/kg}$)。

1.7 数据统计分析

试验所得数据, 采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS16.0 进行统计分析和显著性分析。

2 结果与分析

2.1 紫云英-根瘤菌联合作用对土壤中 PCBs 含量的影响

从图 1 可以看出, 种植紫云英和添加根瘤菌菌剂的 3 个处理土壤 PCBs 总量均明显降低, 对照处理(CK)、种植紫云英(P)、接种根瘤菌(R)和紫云英+根瘤菌(PR)处理土壤中 PCBs 浓度分别为 237.88、183.13、189.12 和 111.47 $\mu\text{g/kg}$, 处理之间差异达显著性水平($P < 0.05$)。与对照(CK)相比, 3 个处理的土壤 PCBs 去除率分别为 23.0%、20.5%、53.1%, 且达到极显著性水平($P < 0.01$)。接种根瘤菌明显强化了紫云英对 PCBs 污染土壤的修复效果, 紫云英+根瘤菌(PR)处理土壤 PCBs 下降程度比单一种植紫云英(P)处理高出 30.1%, 其差异达到极显著性水平($P < 0.01$)。从图 2 还可以看出, 接种根瘤菌促进了紫云英的生长, PR 处理与 P 处理相比生物量显著增加($P < 0.05$)。可见, 这一修复效果可能是由于根瘤菌为化能异养菌, 与豆科植物紫云英共生形成具有特定固氮能力的根瘤组织, 为宿主提供氮素营养, 促进紫云英生长有关, 进而增加了污染物与根的接触面积, 并提高体内代谢和根系分泌能力, 释放更多的分泌物到根际微环境中, 增加土壤有机质含量, 为根际微生物提

供营养, 调节根际微生物的生存环境, 增强了土著微生物的活性以及对 PCBs 的降解作用^[2,40-41]。

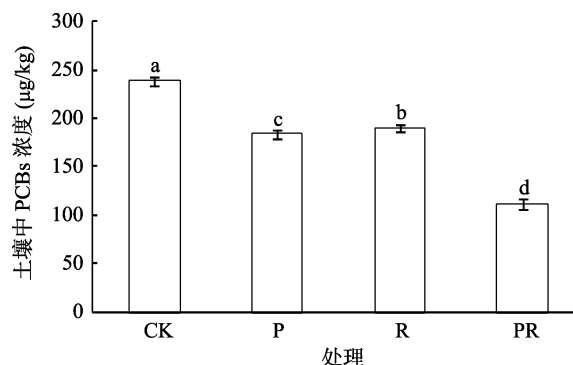


图 1 紫云英-根瘤菌联合作用对供试土壤中 PCBs 总量的影响

Fig. 1 Effect of *Astragalus sinicus* L. inoculated with *Rhizobium huakuii* on PCBs total concentration in soils tested

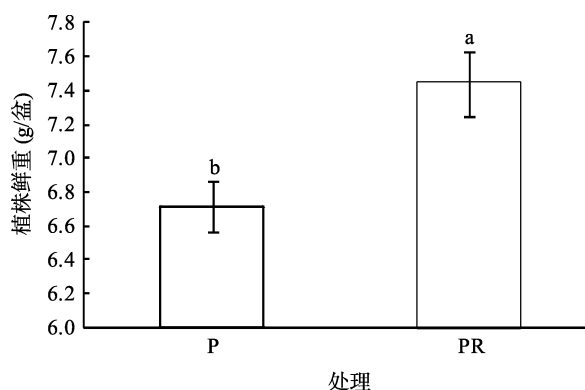


图 2 不同处理中植物生物量(g/盆, 以鲜重计)

Fig. 2 Biomass of plants under different treatments

2.2 紫云英-根瘤菌联合作用对紫云英植株体内 PCBs 含量的影响

图 3 显示了紫云英-根瘤菌联合作用对紫云英植株体内 PCBs 含量的影响。从图 3 可知, 种植紫云英(P)、紫云英+根瘤菌(PR)处理的植物中 PCBs 总量分别为 54.56、99.48 $\mu\text{g/kg}$, 二者差异达极显著水平($P < 0.01$)。有研究表明, 植物能直接吸收 PCBs^[42], 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^[43]。紫云英属于须根系豆科绿肥植物, 根系发达, 其表面积较大, PCBs 容易吸附到紫云英根表面, 从而对土壤中 PCBs 有一定的去除效果。进一步分析发现, 种植紫云英后植株体内 PCBs 提取效率仅为 0.31%, 而接种根瘤菌后植株的提取效率显著增加, 达到 0.62%($P < 0.01$)。这可能与微生物的活动改善了植物的生长状态, 从而促进了植物对土壤中 PCBs 的吸收和降解有关^[40, 44]。

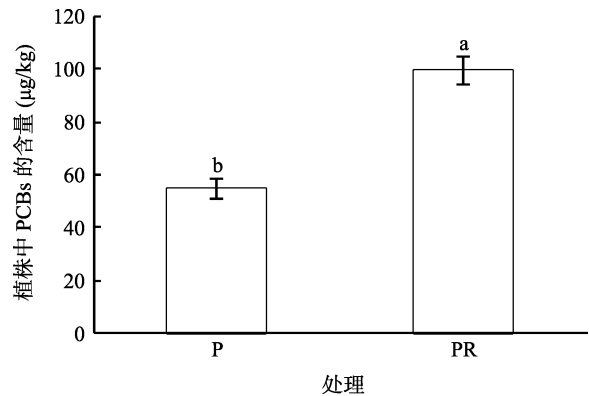


图 3 紫云英-根瘤菌联合作用对紫云英植株中 PCBs 含量的影响

Fig. 3 Effect of *Astragalus sinicus* L. inoculated with *Rhizobium huakui* on PCBs contents of plants

2.3 紫云英-根瘤菌联合作用对土壤微生物生物量和群落功能多样性的影响

土壤微生物种群结构是表征土壤生态系统群落结构和稳定性的重要参数之一^[45]。由图 4 可知,种植紫云英及接种根瘤菌处理后,PCBs 污染土壤的微生物群落代谢剖面发生了明显变化。在 96 h 时,根际土壤微生物群落碳源利用代谢剖面发生明显改变,各处理与对照(CK)间均达显著水平($P < 0.01$),表现为紫云英+根瘤菌处理(PR) > 根瘤菌处理(R) > 紫云英处理(P) > 对照处理(CK)。从表 2 可知,种植紫云英(P)、接种根瘤菌(R)和紫云英+根瘤菌(PR)处理根际土壤微生物生物量碳氮比分别为 29.28、31.16 和 11.51,与对照组相比均有显著降低($P < 0.05$)。这一结果表明种植紫云英及接种根瘤菌后改变了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,这与前人的相关研究报道相一致^[42, 46]。

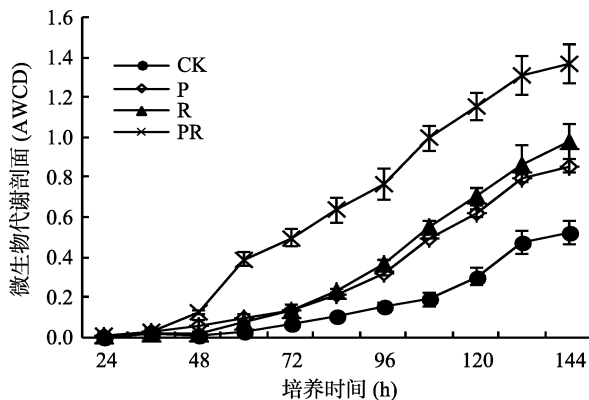


图 4 紫云英-根瘤菌联合作用对土壤微生物群落代谢剖面的影响

Fig. 4 Effect of *Astragalus sinicus* L. inoculated with *Rhizobium huakui* on soil microbial metabolic profiles

表 2 紫云英-根瘤菌联合作用对土壤微生物生物量碳氮的影响

Table 2 Effect of *Astragalus sinicus* L. inoculated with *Rhizobium huakui* on soil microbial biomass C and N

处理	微生物生物量碳 (mg/kg)	微生物生物量氮 (mg/kg)	微生物生物量 碳氮比
CK	268.16 ± 5.11 d	8.20 ± 0.30 c	32.70 ± 0.30 a
P	332.57 ± 4.24 b	11.36 ± 1.04 ab	29.28 ± 0.20 c
R	318.75 ± 3.26 c	10.23 ± 0.18 bc	31.16 ± 0.10 b
PR	404.29 ± 9.27 a	35.13 ± 2.00 a	11.51 ± 0.81 d

3 结论

(1) 紫云英作为绿肥植物,对 PCBs 表现出较强的耐受性,并且对污染土壤中 PCBs 的去除起到明显作用,具有较好的修复潜力。

(2) 根瘤菌对紫云英修复 PCBs 污染土壤具有明显的强化作用,而且改善了紫云英根际土壤微生物群落结构和功能多样性。可见,紫云英-根瘤菌共生体系对修复 PCBs 污染土壤具有良好的应用前景。今后有待进一步从分子水平上探讨这一共生体系对土壤中 PCBs 降解的机制,并验证其田间修复效果,为研发 PCBs 污染土壤共生修复技术提供科学依据。

参考文献:

[1] Valle MD, Jurado E, Dachs J, Sweetman AJ, Jones KC. The maximum reservoir capacity of soils for persistent organic pollutants: implications for global cycling[J]. Environmental Pollution, 2005, 134: 153-164

[2] Chekol T, Vough LR, Chaney RL. Phytoremediation of polychlorinated biphenyl- contaminated soils: The rhizosphere effect[J]. Environment International, 2004, 30: 799-804

[3] Boldt TS, Sørensen J, Karlson U, Molin S, Ramos C. 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

[4] Schnoor JL, Licht LA, McCutcheon SC, Wolfe NL, Carreira LH. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants[J]. Environmental Science and Technology, 1995, 29: 318-323

[5] Singer AC, Crowley DE, Thompson IP. Secondary plant metabolites in phytoremediation and biotransformation[J]. Trends in Biotechnology, 2003, 21: 123-130

[6] Whitfield Åslund ML, Zeeb BA, Rutter A, Reimer KJ. In situ phytoextraction of polychlorinated biphenyl- (PCB) contaminated soil[J]. Science of the Total Environment, 2007, 374: 1-12

[7] Luo WS, Angelo EMD, Coyne MS. 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
- [8] Macek T, Mackova M, Kas J. Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation[J]. *Biotechnol. Adv.*, 2000, 18: 23–24
- [9] Cunningham SD, Anderson TA, Schwab AP, Hsu FC. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants[J]. *Adv. Agron.*, 1996, 56: 55–114
- [10] Newman LA, Reynolds CM. Phytodegradation of organic compounds[J]. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2004, 15: 225–230
- [11] Aslund MLW, Zeeb BA, Rutter A, Reimer KJ. In situ phytoextraction of polychlorinated biphenyl-(PCB) contaminated soil[J]. *Sci. Total Environ.*, 2007, 374: 1–12
- [12] Yateem A, Al-Sharrah T, Bin-Haji A. Investigation of microbes in the rhizosphere of selected grasses for rhizoremediation of hydrocarbon-contaminated soil[J]. *Soil Sed. Contam.*, 2007, 16: 269–280
- [13] 滕应, 骆永明, 李振高, 邹德勋. 多氯联苯复合污染土壤的土著微生物修复强化措施研究[J]. *土壤*, 2006, 38(5): 645–651
- [14] 邹德勋, 骆永明, 滕应, 平立凤, 刘五星, 李振高. 多环芳烃长期污染土壤的微生物强化修复初步研究[J]. *土壤*, 2006, 38(5): 652–656
- [15] Kuiper I, Lagendijk EL, Bloemberg GV, Lugtenberg BJJ. Rhizoremediation: A beneficial plant-microbe interaction[J]. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 2004, 17: 6–15
- [16] Chaudhry Q, Blom-Zandstra M, Gupta S, Joner EJ. Utilising the synergy between plants and rhizosphere microorganisms to enhance breakdown of organic pollutants in the environment[J]. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2005, 12: 34–48
- [17] Barac T, Taghavi S, Borremans B, Provoost A, Oeyen L, Colpaert JV, Vangronsveld J, van der Lelie D. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants[J]. *Nat. Biotechnol.*, 2004, 22: 583–588
- [18] Greenberg BM. Development and field tests of a multi-process phytoremediation system for decontamination of soils[J]. *Can. Reclam.*, 2006, Spring/Summer(1): 27–29
- [19] Muratova A, Hubner T, Tischer S, Turkovskaya O, Moder M, Kusch P. Plant-rhizosphere-microflora association during phytoremediation of PAH-contaminated soil[J]. *Int. J. Phytorem.*, 2003, 5: 137–151
- [20] Schwab PA, Banks MK, Kyle WA. Heritability of phytoremediation potential for the alfalfa cultivar Riley in petroleum contaminated soil[J]. *Water Air Soil Pollut.*, 2006, 177: 239–249
- [21] Chekol T, Vough LR. A study of the use of alfalfa (*Medicago sativa* L.) for phytoremediation of organic contaminants in soil[J]. *Biorem. J.*, 2001, 11: 89–101
- [22] Reichman SM. The potential use of the legume-rhizobium symbiosis for the remediation of arsenic contaminated sites[J]. *Soil Biol. Biochem.*, 2007, 39: 2 587–2 593
- [23] Teng Y, Luo YM, Sun XH, Tu C, Xu L, Liu WX, Li ZG, Christie P. Influence of arbuscular mycorrhiza and rhizobium on phytoremediation by alfalfa of an agricultural soil contaminated with weathered PCBs: A field study[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2010, 12: 516–533
- [24] Teng Y, Shen YY, Luo YM, Sun XH, Sun MM, Fu DQ, Li ZG, Christie P. Influence of Rhizobium meliloti on phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons by alfalfa in an aged contaminated soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 186: 1 271–1 276
- [25] 滕应, 骆永明, 高军, 李振高. 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[J]. *环境科学*, 2008, 10: 2 925–2 930
- [26] Mehmannaavaz R, Prasher SO, Markarian N, Ahmad D. Biofiltration of residual fertilizer nitrate and atrazine in saturated and unsaturated sterile soil columns[J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2001, 35(8): 1 610–1 615
- [27] Marx J. The roots of plant-microbe collaborations[J]. *Science*, 2004, 304: 234–236
- [28] Suominen L, Jussila MM, Mäkeläinen K, Romantschuk M, Lindstrom K. Evaluation of the Galega-Rhizobium galegae system for the bioremediation of oil-contaminated soil[J]. *Environ. Pollut.*, 2000, 107: 239–244
- [29] Johnson DL, Maguire KL, Anderson DR, McGrath SP. Enhanced dissipation of chrysene in planted soil: The impact of a rhizobial inoculum[J]. *Soil Biol. Biochem.*, 2004, 36: 33–38
- [30] Xu L, Teng Y, Li ZG, Norton JM, Luo YM. Enhanced removal of polychlorinated biphenyls from alfalfa rhizosphere soil in a field study: The impact of a rhizobial inoculum[J]. *Sci. Total Environ.*, 2010, 408: 1 007–1 013
- [31] Damaj M, Ahmad D. Biodegradation of polychlorinated biphenyls by rhizobia: A novel finding[J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996, 218(3): 908–915
- [32] Frassinetti S, Setti L, Corti A, Farrinelli P, Montevecchi P, Vallini G. Biodegradation of dibenzothiophene by a modulating isolate of Rhizobium meliloti[J]. *Can. J. Microbiol.*, 1998, 44: 289–297
- [33] Keum YS, Seo JS, Hu YT, Li QX. Degradation pathways of phenanthrene by Sinorhizobium sp. C4[J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, 71: 935–941
- [34] Yang CF, Lee CM. Enrichment, isolation, and characterization of 4-chlorophenol-degradin bacterium Rhizobium sp. 4-CP-20[J]. *Biodegradation*, 2008, 19: 329–336
- [35] 李振高, 骆永明, 滕应. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 2008
- [36] 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

- [37] Zak JC, Willing MR, Moorhead DL, Wildman HG. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26: 1101–1108
- [38] Garland JL, Mills AL. 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
- [39] 滕应, 黄昌勇, 姚槐应, 龙健. 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
- [40] 高军, 骆永明. 多氯联苯(PCBs)污染土壤生物修复的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2005, 11: 7–8
- [41] Leigh MB, Flether JS, Fu X, Schmitz FJ. Root turnover: An important source of microbial substrates in rhizosphere remediation of recalcitrant contaminants[J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36: 1579–1583
- [42] Asai K, Takagi K, Shimokawa M, Sue T, Hibi A, Hiruta T, Fujihiro S, Nagasaka H, Hisamatsu S, Sonoki S. Phytoaccumulation of coplanar PCBs by *Arabidopsis thaliana*[J]. *Environmental Pollution*, 2002, 120: 509–511
- [43] Mackova M, Macek T, Ocenaskova J, Burkhard J, Demnerova K, Pazlarova J. Biodegradation of polychlorinated biphenyls by plant cells[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1997, 39: 317–325
- [44] Mehmannavaz R, Prasher SO, 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
- [45] 滕应, 黄昌勇. 重金属污染土壤的微生物生态效应及其修复研究进展[J]. *土壤与环境*, 2002, 11(1): 85–89
- [46] Kirk JL, Klironomos JN, Lee H, Trevors JT. The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil[J]. *Environmental Pollution*, 2005, 133: 455–465

Combined Remediation Effects of *Astragalus sinicus* L. Inoculated with *Rhizobium huakuii* on PCBs Contaminated Soils

LI Xiu-fen^{1,2}, TENG Ying^{1,2*}, LUO Yong-ming^{1,2,3}, LI Zhen-gao¹, PAN Cheng^{1,2},
ZHANG Man-yun¹, SONG Jing^{1,2}

(1 Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China;

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3 Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai, Shandong 264004, China)

Abstract: The combined remediation effects of host plant (*Astragalus sinicus* L.) inoculated with rhizobium *Rhizobium huakuii* on PCBs contaminated soils was studied using pot experiments. The results showed that soil PCBs concentrations of single incubation of *Rhizobium huakuii* (R) and single planting *Astragalus sinicus* L. (P) decreased by 20.5% and 23.0%, respectively. *Astragalus sinicus* L. with incubation of *Rhizobium huakuii* had a clear role in PCBs removal in soils, PCBs concentration in polluted soils decreased by 53.1%, all of which were significantly higher than the untreated soils ($P < 0.01$). We also observed that soil microbial communities in *Astragalus sinicus* L. rhizosphere soils had a higher microbial biomass C and N and carbon utilization rate, improving the functional diversity of the soil microbial community. The results suggested the great potential of planting *Astragalus sinicus* L. with incubation of *Rhizobium huakuii* in remediation of PCBs contaminated soils.

Key words: Polychlorinated biphenyls, *Astragalus sinicus* L., *Rhizobium huakuii*, Combined remediation