

直流电场对根际土壤微生物群落的影响及其机理

沈根祥¹, 周海花², 罗启仕¹, 赵庆节¹, 梁丹涛¹, 刘芳¹

(1.上海市环境科学研究院, 上海 200233; 2.东华大学环境科学与工程学院, 上海 201620)

摘要: 电场作用下根际土壤微生物群落的变化与利用电场强化植物修复效率密切相关。利用改进的 PCR-DGGE 方法研究了不同电场条件下根际土壤微生物群落多样性和相似性的变化, 分析了直流电场对土壤微生物群落的影响机理。结果表明, 电场对根际土壤微生物群落的影响与电场条件有关, 合适的电场条件有助于增加土壤微生物群落的多样性, 但是电场形式、强度和施加方式不当则会使土壤微生物群落的多样性和结构受到明显影响。电场作用下土壤性质的变化、电场对土壤微生物的迁移作用和致死效应, 以及微生物对环境压力的生理响应等是电场影响土壤微生物群落的主要机制。为了避免电场对根际土壤微生物的不利影响, 利用电场强化植物修复时需要采用合适的电场条件。

关键词: 直流电场; 根际土壤微生物; PCR-DGGE 分析; 微生物群落多样性; 微生物群落相似性

中图分类号: S154.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)03-0920-06

Effects and Mechanisms of Direct Current Fields on Rhizospheric Soil Microbial Communities

SHEN Gen-xiang¹, ZHOU Hai-hua², LUO Qi-shi¹, ZHAO Qing-jie¹, LIANG Dan-tao¹, LIU Fang¹

(1. Shanghai Academy of Environmental Sciences, Shanghai 200233, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China)

Abstract: The change of rhizospheric soil microbial communities under electric fields influences the efficacy of using direct current fields to accelerate the process of phytoremediation. In this study, the diversity and similarity of rhizospheric soil microbial communities under different electric fields were investigated through an improved PCR-DGGE analysis and the mechanisms by which electric fields influence soil microbial communities were further analyzed. The results showed that the diversity and structure of rhizospheric soil microbial communities were greatly affected by the type and strength of electric fields and the application method; their diversity increased to a certain content under a proper electric field (in this study, that is, uniform electric field in a strength of $1.0 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ with a reversal time interval of 10 min), while their diversity was reduced obviously and their structure was changed greatly otherwise. The induced change in soil properties such as soil pH, the mobilization of soil bacterial cells by electric fields, the lethal effect of electric fields with over high strength, and the induced alteration of gene regulation patterns response physiologically to environmental stress and change might be the main mechanisms influencing the soil microbial communities in electric fields. In order to avoid the detrimental effects of electric fields applied on rhizospheric microbial communities, it is necessary to adopt an appropriate electric field when using electric fields to accelerate the process of phytoremediation.

Keywords: direct current field; rhizospheric soil microorganism; PCR-DGGE analysis; microbial community diversity; microbial community similarity

利用电场强化植物修复过程是一种新的植物修复强化方法^[1-2], 它是通过由电场产生的电动过程促进土壤中污染物的解吸和迁移, 加快土壤污染物与植物

根系及其共存的根际微生物之间的传质过程。根际微生物降解是植物修复的重要机理之一^[3], 因此根际微生物群落多样性的变化可能直接影响植物修复过程。在土壤中施加电场可能影响根际微生物的运动、活性和多样性, 甚至杀死微生物细胞^[4-5], 从而对根际微生物群落和植物修复过程产生不利影响。然而, 目前还没有直流电场对根际土壤微生物影响的相关报道。本文利用改进的 PCR-DGGE 技术, 研究不同电场条件

收稿日期: 2007-12-13

基金项目: 上海市自然科学基金项目(06ZR14146)

作者简介: 沈根祥(1965—), 男, 博士, 教授级高工, 主要从事污染物生态毒理学研究。E-mail: shengx@saes.sh.cn

通讯作者: 罗启仕 E-mail: qsluo99@yahoo.com.cn

下根际土壤微生物群的变化,揭示电场形式、电场强度和电场施加方式对根际微生物群落的影响特征,阐述了电场对土壤微生物的影响机理,为利用电场强化植物修复提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验土壤和植物

试验土壤为壤土,取自上海某化工公司铅污染场地。土壤经风干磨细过 2 mm 筛后储存备用,其主要性质见表 1。受试植物为东南景天 (*Sedum alfredii* Hance),采自浙江衢州一古老铅锌矿山。采集生长良好、粗细基本一致的有代表性的植物,截取含顶芽的 5 cm 长带叶枝条,在植物培养箱中进行扦插培养备用。植物培养箱可为植物生长提供稳定的温度、湿度和光照条件。

表 1 受试土壤主要性质

Table 1 Main characteristics of experimental soil

参数	数值	参数	数值
粒径/%		饱和含水量/%	38.4
<2 μm	10.09	风干密度/g·cm ⁻³	1.85
2~10 μm	13.21	氧化还原电位/mV	297.0
10~50 μm	22.00	等电点/无量纲	1.75
50~250 μm	44.31	电导率/μS·cm ⁻¹	221.0
>250 μm	10.39	pH值/无量纲	8.02
碳酸盐/%	0.086	水溶铅/mg·kg ⁻¹	8.60
有机质/g·kg ⁻¹	7.93	有效铅/mg·kg ⁻¹	108.82
CEC/cmol·kg ⁻¹	12.75	铅/mg·kg ⁻¹	1 072.13

1.2 植物和根际微生物培养

取 4 kg 试验土壤转入方盆 (25 cm×18 cm×10 cm) 中,用洒水器均匀喷洒去离子水慢慢润湿土壤,调节土壤水分饱和度至 65%左右。将培养后长出细根的东南景天苗移栽到方盆中,每盆移栽 6 颗苗,彼此间隔 5 cm,每盆的苗重共约为 12.0 g。在植物培养箱中进行培养,培养条件见表 2。

1.3 电场对根际土壤微生物影响试验

植物生长培养 15 d 后,在土壤中插入电极,通过稳压直流电源施加电场。电极材料为石墨,其纯度为

表 2 植物培养条件

Table 2 Conditions of plant growth

温度/℃	湿度/%	光照/%	时间/h
25	75	60	10
20	65	40	8
15	55	0	6

99.99%、密度为 1.75~1.80 g·cm⁻³、硬度为 45;在均匀场试验中采用柱状电极,其直径×长度为 0.5 cm×10 cm;在非均匀场试验中采用板状电极,其长×宽×厚为 12 cm×10 cm×0.5 cm。两电极之间的距离为 20 cm。研究了电场形式、电场强度和电场施加方式对试验的影响,不同试验的运行条件见表 3。为了保持土壤湿度和植物生长养分需求,每 3 d 向土壤中均匀喷洒去离子水 100 mL,每 6 d 喷洒植物营养液 100 mL。营养液中含 Ca (NO₃)·2.4H₂O 1 000 μmol·L⁻¹,K₂PO₄·3H₂O 500 μmol·L⁻¹,MgSO₄·7H₂O 500 μmol·L⁻¹,KCl 100 μmol·L⁻¹,MES 1 000 μmol·L⁻¹,KOH 500 μmol·L⁻¹,H₃BO₃ 10 μmol·L⁻¹,Na₂MoO₄·2H₂O 0.2 μmol·L⁻¹,MnSO₄·4H₂O 1.8 μmol·L⁻¹,CuSO₄·5H₂O 0.31 μmol·L⁻¹,NiSO₄·6H₂O 0.5 μmol·L⁻¹,Fe-EDDHA 100 μmol·L⁻¹,ZnSO₄·7H₂O 5 μmol·L⁻¹。喷洒去离子水和营养液时切断电源。试验运行 51 d 后,在植物根系取适量土样,测定其微生物遗传多样性的变化。

表 3 试验运行条件

Table 3 Experimental operational conditions

编号	电场形式	电场强度	电场施加方式	备注
A	均匀场	1.0 V·cm ⁻¹	每隔 5 h 切换极性	
B	非均匀场	1.0 V·cm ⁻¹	每隔 5 h 切换极性	边线区
C	非均匀场	1.0 V·cm ⁻¹	每隔 5 h 切换极性	中间区
D	—	—	—	对照试验
E	均匀场	2.0 V·cm ⁻¹	每隔 5 h 切换极性	
F	均匀场	1.0 V·cm ⁻¹	每隔 10 min 切换极性	
G	均匀场	1.0 V·cm ⁻¹	每隔 24 h 切换极性	

1.4 微生物多样性分析

采用改进的 PCR-DGGE 方法分析根际微生物的遗传多样性。

1.4.1 基因组 DNA 的提取

采用玻璃珠破碎与化学裂解相结合的方法直接从土壤样品中提取基因组 DNA^[6]。取 0.6 g 土壤样品,加入 1 mL 灭菌的 PBS (0.1 mol·L⁻¹ 磷酸钠缓冲液 pH 8.0),混匀,5 000 g 转离心 2 min。加入玻璃珠和 1 mL 裂解液(1%SDS 1 g,2.5%CTAB 2.5 g),振荡 2 min,10 000 g 转离心 1 min。取上清,加入等体积的 NH₄AC,-4 ℃放置 20 min,离心(10 000 g,5 min)。取上清液,加入等体积的异丙醇,-20 ℃放置 20 min,离心(10 000 g,5 min)。弃去上清液,加入 200 μL 的 70% 乙醇,洗涤 2 次,加入 200 μLTE。

1.4.2 基因组 DNA 的纯化

腐殖质是 PCR 扩增反应的抑制剂。由于土壤中

含有一定量的腐殖质杂质,在 PCR 反应之前必须对土壤样品的基因组 DNA 粗提液进行纯化。本试验采用葡聚糖凝胶过滤柱纯化基因组 DNA^[7],纯化后的基因组 DNA 样品中的腐殖质等 PCR 反应抑制剂的含量大大降低,为后续的 PCR 反应提供了纯度较高的基因组 DNA 样品模板。

1.4.3 基因组 DNA 的 PCR 扩增:

利用纯化后的基因组 DNA 作为聚合酶链式反应(PCR)的模板,以对大多数细菌和古细菌的 16S rRNA 基因 V3 区具有特异性的 DNA 片段 F341 GC 和 R518 为引物,在 100 μL 体系中进行 PCR 扩增^[7,8],它们的序列分别为 5'-CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCC GTC CCG CCG CCC CCG CCC GCC TAC GGG AGG CAG CAG-3' 和 5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3'。PCR 扩增体系^[9]为:81 μL 的无菌水、引物各 2 μL 、模板各 2 μL 、dNTP 2 μL 、10 $\times$ PCR 缓冲溶液(不含镁离子)10 μL 、TaqDNA 聚合酶 1 μL 、石蜡油 15 μL ,总体积为 100 μL 。PCR 扩增程序为:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;变性共 40 个循环,前 10 个循环条件为 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min,65 $^{\circ}\text{C}$ 复性 1 min,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,每个循环后复性温度下降 1 $^{\circ}\text{C}$,后 30 个循环条件为 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min,55 $^{\circ}\text{C}$ 复性 1 min,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min;最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。PCR 反应的产物用 1.7%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4.4 PCR 反应产物的变性梯度凝胶电泳(DGGE)

预先配制浓度为 10%、变性剂浓度为 0% 和 100% 的两种变性聚丙烯酰胺梯度凝胶。分别取 3 mL 0% 变性梯度凝胶和 7 mL 100% 变性梯度凝胶配制 70% 变性梯度胶,6 mL 0% 变性梯度凝胶和 4 mL 100% 变性梯度凝胶配制 40% 的变性梯度胶。灌胶前加入 100 μL 10% 过硫酸铵和 1 μL 的 TEMED,摇匀,迅速吸取凝胶装配到梯度混合装置上,平稳缓慢的灌入胶板中,变性剂浓度从胶的上方向下方依次递增,迅速安插梳子,待胶凝固 2 h 后,拔掉梳子。将其置于电泳槽中,然后在每个加样孔加入 5 μL 加样缓冲液和 20~25 μL 的 PCR 样品的混合液。电泳完毕后,将凝胶在 EB 中染色 20~30 min。用凝胶影像分析系统分析每个样品的电泳条带。

1.4.5 变性梯度凝胶电泳分离后的 PCR 产物电泳条带分析

观察各个土壤样品的 PCR 产物经变性梯度凝胶电泳分离后的电泳图谱,通过 BandScan5.0 软件分析样品电泳条带影像,比较各个土壤样品的微生物多样

性的一些基本指标。

2 结果与讨论

2.1 不同电场条件下根际土壤微生物群落多样性变化

图 1 为植物根际土壤样品的 16S rDNA 的 DGGE 谱图。可以看出,不同电场条件下的土壤样品具有许多共同的条带,表明这些样品存在这几种条带所代表的基本微生物类型。然而,与对照样品 D 相比,样品 G 的条带比其他几种土壤样品条带少,而样品 A 及 F 又具有独特的条带,说明样品 G 中微生物类型最少,样品 A 和 F 有自己独特的微生物类型。利用 Band-Scan5.0 软件对 DGGE 图谱进行分析,计算土壤样品的微生物多样性的 Shannon 指数和 Simpson 指数。结果(见表 4)表明,与对照样品 D(不施加电场)相比,样品 F(施加均匀电场 1.0 $\text{V}\cdot\text{cm}^{-1}$,并每隔 10 min 切换电场极性)的根际土壤微生物多样性指数有所增加,而其他样品的微生物多样性指数显著下降,尤其是样品 G(施加均匀电场 1.0 $\text{V}\cdot\text{cm}^{-1}$,并每隔 24 h 切换电场极性)的根际微生物多样性指数最低,其 Shannon 指数和 Simpson 指数分别比对照样品 D 降低了 39% 和 59%。这些结果表明,合适的电场条件有助于增加根际微生物多样性,但是电场形式、强度和施加方式选择不当则可能降低根际土壤微生物的多样性。

从不同电场条件下微生物多样性指数(见表 4)的变化可以看出,电场强度越大,外加电场对根际微生物多样性影响越大;在相同电场条件下,非均匀场对微生物多样性的影响比均匀场的影响更明显;电场极性切换间隔越大,电场对根际微生物多样性影响越大,而电场极性切换间隔越小,根际微生物多样性则有所增加。

2.2 不同电场条件下根际土壤微生物群落相似性分析

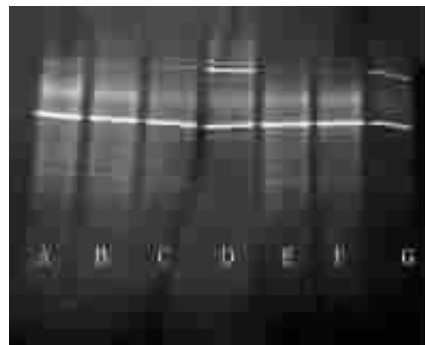


图 1 不同电场条件下根际土壤微生物 16S rDNA 的 DGGE 谱图
Figure 1 DGGE profile of 16S rDNA of rhizospheric microorganism under different electric fields

表 4 不同电场条件下根际微生物群落多样性 Shannon 指数和 Simpson 指数

Table 4 Shannon index and Simpson index of rhizospheric microbial communities under different electric fields

编号	Shannon指数	Simpson指数	电场形式及强度	电场施加方式	备注
A	2.176	8.603	均匀场 1.0 V·cm ⁻¹	每隔 5 h 切换极性	
B	2.071	7.858	非均匀场 1.0 V·cm ⁻¹	每隔 5 h 切换极性	边线区
C	2.061	7.719	非均匀场 1.0 V·cm ⁻¹	每隔 5 h 切换极性	中线区
D	2.286	9.673	—	—	对照
E	2.167	8.47	均匀场 2.0 V·cm ⁻¹	每隔 5 h 切换极性	
F	2.294	9.819	均匀场 1.0 V·cm ⁻¹	每隔 10 min 切换极性	
G	1.385	3.99	均匀场 1.0 V·cm ⁻¹	每隔 24 h 切换极性	

采用 BandScan5.0 软件对 DGGE 电泳图谱进行分析,并绘制菌群相似性树状图,结果见图 2。可以看出,不同电场条件下根际土壤微生物菌相结构的差异较大。与样品 D 相比,样品 B 多样性指数较低,但是群落相似性比较接近,表明施加非均匀场 1.0 V·cm⁻¹,同时每隔 5 h 切换电场极性时,尽管反应器边线区根际土壤微生物种类有所降低,但其菌相结构仍与不施加电场时相似,二者的主要微生物群落仍属于同一族群。样品 B 和 C 多样性指数相近,但是其菌相结构差异很大,表明在非均匀电场作用下,反应器边线区和中线区土壤微生物种类基本相同,但是其群落结构相差较大,二者的主要微生物群落并不完全相同。这些结果表明,外加电场不仅影响根际土壤微生物的多样性,也会影响根际微生物群落的菌相结构,使根际土壤微生物主要类型发生改变。

2.3 直流电场对根际土壤微生物群落多样性影响机理分析

2.3.1 通过改变土壤环境条件间接影响土壤微生物群落

外加电场能改变土壤 pH 值、水分含量、溶解氧、温度等环境条件^[9-11],影响根际微生物的生长和分布,从而改变土壤微生物的群落特征。土壤 pH 值被认为是影响土壤微生物群落活性和分布的关键因素^[12]。

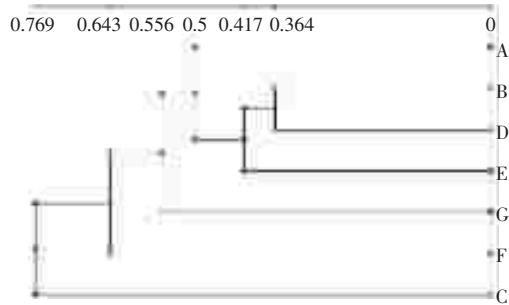


图 2 不同电场条件下根际土壤微生物的遗传相似性
Figure 2 Genetic similarity of rhizospheric microbial communities under different electric fields

Baath 等^[13]报道,酸化土壤中细菌对有机基质的代谢能力增加,认为这是由于 pH 直接影响或因为 pH 改变了基质的生物有效性,从而在土壤中形成了更为主动的微生物群落。在土壤中施加能电场产生 pH 值梯度,如果不采取任何控制措施,阳极区土壤 pH 值可降低为 2,而阴极区的 pH 值则可升高至 12^[4,11]。Lear 等^[14]研究表明,在电场施加方向恒定的条件下,土壤微生物群落结构和活性的变化主要是由土壤 pH 值的变化引起的。本研究的预备试验表明^[9],电场极性切换间隔不大于 5 h 时,外加电场不会使土壤的 pH 值、水分含量和导电性发生明显改变,而极性切换间隔大于 5 h 时,土壤 pH 值随运行时间增加而逐渐降低。因此,在本研究中每隔 10 min 和 5 h 切换电场极性时,根际土壤微生物群落的变化由土壤性质改变引起的可能性较低;对于每隔 24 h 切换电场极性的试验,土壤的酸化则可能是土壤微生物多样性降低的重要原因。

2.3.2 影响细菌的迁移和附着,使土壤微生物重新分布,从而改变微生物群落结构

大多数微生物细胞相当于带负电荷的胶体粒子。由于界面效应的影响,微生物在土壤中通常附着在土壤颗粒表面,形成一层连续的或不连续的生物膜^[15]。但是,在电场作用下,土壤中的微生物能以电泳方式向阳极运动。DeFlaun 等^[16]利用土柱试验证实土壤微生物细胞在电场作用下发生电泳迁移,其迁移速率受土壤的孔度、孔隙大小分布和曲度的影响。在非均匀电场作用下,微生物细胞被极化并发生介电迁移^[17]。罗启仕等^[18]采用含有绿色荧光蛋白标记的 Rm1021-GFP 细菌进行研究,发现在非均匀电场下土壤中的微生物细胞会向电场强度较大的电极区发生介电迁移,介电迁移方向与外加电场方向无关。细胞表面性质是影响微生物在土壤中迁移和附着的重要因素^[19]。不同类型的土壤微生物的细胞表面性质是不同的,因此在相同电场条件下在土壤中迁移和附着能力也不同,这

可能是在电场作用下根际土壤的微生物多样性和群落结构发生改变的内在原因。本研究采用了切换电场极性的方式,根际土壤中的微生物以电泳方式在其初始位置附近往复运动,这可能是均匀电场条件下根际微生物变化的部分原因。在非均匀电场作用下,土壤微生物向两电极区发生介电迁移,从而使微生物在土壤介质中重新分布,这可能是非均匀电场试验中根际土壤微生物群落多样性降低的主要原因。

2.3.3 电场的致死效应直接影响根际土壤微生物多样性
电场会影响土壤微生物的活性和生长,甚至直接杀死微生物细胞。电场能影响细胞膜磷脂的定位,电场过高时能造成细胞膜不可逆穿透,甚至直接氧化细胞组分^[20]。Alshawabkeh 等^[21]报道,电场大于 $1.5 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ 时土壤悬液中厌氧细菌出现“休克”现象,停止施加电场后这些细菌又能恢复活性;对于好氧细菌,电场小于 $0.28 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ 时,细菌没有受到明显影响,而电场为 $1.14 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ 时,在最初 24 h 能够刺激好氧细菌,24 h 后继续施加电场则阻碍好氧细菌生长。Ulmer 等^[22]向细菌溶液中施加 $30 \text{ kV} \cdot \text{cm}^{-1}$ 时发现细菌细胞快速死亡。电场的致死效应可能是在本研究中 $2.0 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ 试验中根际土壤微生物多样性降低的部分原因。为了避免电场对根际土壤微生物的不利影响,需要采用合适的电场强度。

2.3.4 对环境压力的生理响应可能改变微生物细胞基因调控模式和遗传多样性

在土壤中施加电场时对土壤微生物细胞产生环境压力。作为对环境压力的生理响应,细胞可能改变细胞壁或细胞膜的组成,甚至形成孢子^[14]。Luo 等^[23]研究发现,通过苯酚降解细菌溶液的电流高于 40 mA 时,细胞的表面电荷、疏水性和细胞形状均发生了明显变化。细胞对环境压力的生理响应反过来可能改变细胞的基因调控模式,促进土壤微生物细胞的基因组和遗传多样性发生变化^[24]。这可能是本研究中样品 F(均匀场 $1.0 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ 并每隔 10 min 切换极性)的微生物多样性增加的部分原因。施加均匀场 $1.0 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ 并每隔 10 min 切换极性时,土壤性质的变化、微生物的迁移效应和电场的致死作用对土壤微生物的影响都较小,因此这可能是本研究中合适的电场条件。

此外,电场对土壤微生物群落的影响还可能与土壤中其他共存离子或毒性物质有关。Lear 等^[25]研究表明,土壤中 PCP(五氯酚)对电场方向恒定条件下土壤微生物群落的变化有一定的协同作用。本研究中,受试土壤 Pb(铅)含量较高^[6],同时植物根系也会产生分

泌物,因此在电场作用下根际土壤微生物多样性的变化也可能受土壤中 Pb 和根际分泌物的影响,其影响程度和规律有待进一步研究。

3 结论

(1) 直流电场对根际土壤微生物群落多样性和结构有重要影响。在相同试验条件下,电场强度越大,微生物群落变化越大,非均匀场对微生物群落的影响与均匀场相比更明显,电场极性切换间隔越大对微生物群落影响越显著,而极性切换间隔越小则使根际微生物多样性有所增加。

(2) 电场作用下根际土壤性质的变化、电场对土壤微生物的迁移作用和致死效应、以及微生物细胞对环境压力的生理响应等可能是根际土壤微生物群落变化的主要机制。

(3) 为了避免电场对根际土壤微生物的不利影响,利用电场强化植物修复时需要采用合适的电场条件。施加均匀场 $1.0 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$,同时每隔 10 min 切换极性是本试验中比较合适的电场条件。

参考文献:

- [1] Lim J M, Salido A L, Butcher D J. Phytoremediation of lead using Indian mustard (*Brassica juncea*) with EDTA and electrodes[J]. *Microchemical Journal*, 2004, 76 (1-2): 3-9.
- [2] Sidoli o'connor C, Lepp N W, Edwards R, et al. The combined use of electrokinetic remediation and phytoremediation to decontaminatemetal-polluted soils: a laboratory-scale feasibility study[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2003, 84: 141-158.
- [3] Singh O V, Labana S, Pandey G, et al. Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2003, 61: 405-412.
- [4] 罗启仕. 土壤原位电动生物修复技术及其机理研究[D]. 北京:清华大学, 2005.
- LUO Qi-shi. In situ bio-electrokinetic remediation of soils and its mechanism[D]. Beijing: Tsinghua University, January 2005.
- [5] Wick L Y, Shi L, Harms H. Electro-bioremediation of hydrophobic organic soil contaminants: A review of fundamental interactions[J]. *Electrochimica Acta*, 2007, 52: 3441-3448
- [6] Cullen D W, Hirsch P R. Simple and rapid method for direct extraction of microbial DNA from soil for PCR [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(8/9): 983-993.
- [7] Nalin R, Normand P, Simonet P, et al. Polymerase chain reaction and hybridization on DNA extracted from soil as a tool for *Frankia* spp. population distribution studies in soil [J]. *Canada Journal of Botany*, 1999, 77: 1239-1247.
- [8] Tebbe C C, Vahjen W. Interference of humic acids and DNA extracted directly from soil in detection and transformation of recombinant DNA

- from bacteria and a yeast [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(8): 2657–2665.
- [9] Acar Y B, Alshawabkeh A N. Principles of electrokinetic remediation[J]. *Environmental Science and Technology*, 1993, 27 (13): 2638–2647.
- [10] 罗启仕, 张锡辉, 王 慧, 等. 非均匀电动力学修复技术对土壤性质的影响[J]. 环境污染治理技术与设备, 2004, 5(4): 40–45.
- LUO Qi-shi, ZHANG Xi-hui, WANG Hui, et al. Influence of non-uniform electrokinetic remediation technology on soil properties [J]. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control*, 2004, 5(4): 40–45.
- [11] Acar Y B, Alshawabkeh A N. Electrokinetic remediation. 1. Pilot-scale tests with Pd-spiked kaolinite[J]. *Journal of Geotechnical Engineering*, 1996, 122(3): 173–185.
- [12] Blagodatskaya E V, Anderson T H. Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal-to-bacterial ratio and QCO_2 of microbial communities in forest soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30: 1269–1274.
- [13] Baath E, Frostegard A, Pennanen T, et al. Microbial community structure and pH response in relation to soil organic matter quality in wood ash fertilized, clear-cut or burned coniferous soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27: 229–240.
- [14] Lear G, Harbottle M J, van der Gast C J, et al. The effect of electrokinetics on soil microbial communities[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36: 1751–1760.
- [15] MacDonald T R, Kitanidis P K, McCarty P L, et al. Mass-transfer limitations for macroscale bioremediation modeling and implications on aquifer clogging[J]. *Ground Water*, 1999, 37(4): 523–531.
- [16] DeFlaun M F, Condee C W. Electrokinetic transport of bacteria[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 1997, 55: 263–277.
- [17] 赵孔双. 微小生物细胞的介电研究方法[J]. 生物物理学报, 2000, 16 (1): 176–182.
- ZHAO Kong-shuang. Some methods of dielectric study on small biological cells[J]. *Acta Biophysica Sinica*, 2000, 16(1): 176–182.
- [18] 罗启仕, 张锡辉, 王 慧, 等. 非均匀电场对土壤中基因工程菌的迁移与机理[J]. 中国环境科学, 2004, 24(3): 284–289.
- LUO Qi-shi, ZHANG Xi-hui, WANG Hui, et al. The movement and its mechanism of genetic engineering bacteria in soils by non-uniform electric field[J]. *China Environmental Science*, 2004, 24(3): 284–289.
- [19] Gannon J T, Manilal V B, Alexander M. Relationship between cell surface properties and transport of bacteria through soil[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1991, 57(1): 190–193.
- [20] Drees K P, Abbaszadegan M, Maiera R M. Comparative electrochemical inactivation of bacteria and bacteriophage[J]. *Water Research*, 2003, 37: 2291–2300.
- [21] Alshawabkeh A N, Maillacheruvu K. Electrochemical and biogeochemical interactions under dc electric fields[C]//Physicochemical Ground-water Remediation. Kluwer Academic/ Plenum Publishers, 2001. 73–90.
- [22] Ulmer H M, Heinz V, Ganzle M G, et al. Effects of pulsed electric fields on inactivation and metabolic activity of *Lactobacillus plantarum* in model beer[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2002, 93: 326–335.
- [23] Luo Q S, Wang H, Zhang X H, et al. Effect of direct electric current on the cell surface properties of phenol-degrading bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(1): 423–427.
- [24] Lundstrom A M, Bolin I. A 26 kDa protein of *Helicobacter pylori* shows alkyl hydroperoxide reductase (AhpC) activity and the monocistronic transcription of the gene is affected by pH [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2000, 29: 257–266.
- [25] Lear G, Harbottle M J, Sills G, et al. Impact of electrokinetic remediation on microbial communities within PCP contaminated soil [J]. *Environmental Pollution*, 2007, 146: 139–146.

致谢:感谢中科院南京土壤研究所吴龙华博士提供东南景天植物苗。