

黑麦草-耳葡萄球菌对水体中 Cu 的联合修复效应研究

彭元^{1,2}, 尹华^{1,2}, 叶锦韶^{1,2}, 彭辉^{1,2}, 秦华明^{1,2}, 龙焰^{1,2}, 何宝燕^{1,2}, 张娜^{1,2}

(1.暨南大学环境工程系, 广州 510632; 2.广东省高校毒性污染防治与生物修复重点实验室, 广州 510632)

摘要:采用水培实验方法模拟不同程度的 Cu 污染状况,研究了黑麦草与耳葡萄球菌联合修复作用对 Cu 的去除效果。结果表明,联合修复作用对 Cu 的去除效果明显优于单一的黑麦草修复,Cu 初始浓度在 5~30 mg·L⁻¹ 时,联合修复对 Cu 的去除率均达 85% 以上。耳葡萄球菌对 Cu 表现出较强的耐受性和吸附性,Cu 浓度为 100 mg·L⁻¹ 时其干重积累量达到 40.6 mg·g⁻¹。耳葡萄球菌的存在降低了黑麦草根系及茎叶中 Cu 的积累量,联合修复组的黑麦草的生物量和叶绿素含量明显高于单一黑麦草修复组。该菌在一定程度上减轻了黑麦草所受 Cu 的毒性,提高了水中 Cu 的联合修复效果。

关键词: Cu; 黑麦草; 耳葡萄球菌; 联合修复

中图分类号: X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2010)11-2208-06

The Combined Remediation Effects of *Lolium perenne* L.-*Staphylococcus auricularis* on Cu Contaminated Water

PENG Yuan^{1,2}, YIN Hua^{1,2}, YE Jin-shao^{1,2}, PENG Hui^{1,2}, QIN Hua-ming^{1,2}, LONG Yan^{1,2}, HE Bao-yan^{1,2}, ZHANG Na^{1,2}

(1.Department of Environmental Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2.Key Laboratory of Water/Soil Toxic Pollutants Control and Bioremediation Department of Education of Guangdong Province, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The removal of Cu by combined *Lolium perenne* L. and *Staphylococcus auricularis* was studied using hydroponic culture experiments to simulate different levels of Cu contamination. The experimental results indicated that *S. auricularis* played an important role in plant-microorganism combined bioremediation. The overall removal effect of Cu by jointed *Lolium perenne* L. and *S. auricularis* was over 85% when the initial Cu concentrations in the water body were between 5~30 mg·L⁻¹, which was more efficient than the single remediation by *Lolium perenne* L.. *Staphylococcus auricularis*'s better resistance and adsorption toward Cu were revealed and up to 40.6 mg·g⁻¹ of Cu(DM) was observed in the shoots of *Lolium perenne* L. when treated with 100 mg·L⁻¹ Cu. The Cu-biosorption capacity of *S. auricularis* consequently resulted not only in the increase of chlorophyll content in the leaves and plant biomass but also in the decreases of Cu concentrations both in the roots and shoots of *Lolium perenne* L.. The investigation demonstrated that *S. auricularis* could protect *Lolium perenne* L. against heavy metal toxicity and enhance the combined bioremediation efficiencies of metal in the contaminated water.

Keywords: copper; *Lolium perenne* L.; *Staphylococcus auricularis*; combined bioremediation

Cu 是电镀、冶炼、采矿行业中常见的重金属元素,极易随废水的排放进入到水体,对水环境造成严重的污染^[1-2]。排入水环境的 Cu 不能被生物降解,而是在生物体内富集,对水生动物、植物造成危害,并通过食物链作用最终危害到人类自身的生命健康^[3-4]。近年

来,研究微生物法和植物法修复水体重金属的报道很多。由于植物修复成本低,可进行原位实施,对周围环境破坏性小等优点而被称为真正意义上的“绿色修复技术”。但高浓度的重金属会影响植物体光合作用、呼吸作用、酶活性,破坏其 DNA 和细胞质膜透性,影响其叶绿素的合成,导致植物生长受阻,因而影响植物修复的效率^[5-6]。根际微生物能减轻植物的受害程度,从而有利于植物对重金属的修复。因此,植物-微生物联合修复水体重金属具有良好的应用前景。目前有关该联合修复技术的研究主要集中在土壤污染方面,关于水体中重金属修复的报道还比较少。为此,本研究利用黑麦草(*Lolium perenne* L.)为供试植物,耳葡萄

收稿日期:2010-05-07

基金项目: 国家自然科学基金委-广东省政府联合基金项目(U0933002); 国家自然科学基金项目(50978122); 国家水体污染控制与治理重大科技专项(2008ZX07211-003); 广东省自然科学基金项目(9151027501000055)

作者简介: 彭元(1985—),男,硕士研究生,主要从事环境生物工程与技术研究。E-mail: py71520@163.com

通讯作者: 尹华 E-mail: ohjgc@jnu.edu.cn

球菌(*Staphylococcus auricularis*)为供试微生物,以 Cu 作为重金属代表物,通过水培黑麦草、投加 Cu 的吸附菌模拟根际环境对 Cu 进行联合修复,以期为水体重金属的植物-微生物联合修复技术的应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

黑麦草种子购自广州农科院,品种为邦德。菌种是本课题组从矿山废水筛选出的 1 株高效重金属吸附菌,经鉴定该菌种为耳葡萄球菌(*Staphylococcus auricularis*)^[7]。

1.2 实验方法

1.2.1 黑麦草的培养

黑麦草种子通过蒸馏水浮选法筛选,选取籽粒饱满、均匀的种子,然后浸泡于 2% 的 NaClO 溶液中,消毒 10 min。用蒸馏水洗净后放在浸润的纱布上,保持种粒与水的接触,放在恒温培养箱 25 ℃ 培养。待 2 d 种子出芽后,将其转移到控温控光装置下,采用 Hoagland 半强度营养液培养 10 d,待黑麦草苗长至 15 cm 左右,选取生长一致的苗,用 1% 的 KMnO₄ 溶液消毒 10 min,备用。

1.2.2 菌种的培养

确定耳葡萄球菌的培养基为牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉浸膏 5 g,蛋白胨 10 g,NaCl 5 g,蒸馏水 1 000 mL,pH7.0 左右。接种的培养液经 35 ℃ 摇床培养 48 h 后,于 6 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,收集菌体。

1.2.3 实验设计

选取生长一致的黑麦草洗净后放入盛有 200 mL Hoagland 半强度营养液的 500 mL 烧杯中,用定植杯和棉花固定,保持根部充分浸入水中。每个烧杯投放的黑麦草鲜重保持一致,约 4.00~4.05 g。实验的各个处理以投加耳葡萄球菌与否,分为黑麦草-耳葡萄球菌联合修复和单一的黑麦草修复 2 组,联合修复组在投放黑麦草的同时投加 4 g·L⁻¹ 耳葡萄球菌。Cu 浓度设置为 0、5、10、20、30、50、100 mg·L⁻¹,每个处理重复 3 次。该实验在控温控光的装置下进行,实验过程中及时补充蒸馏水,以维持液面高度;定期改变各个烧杯的位置,以排除环境位置引起的误差,培养 7 d 后取样分析。

1.3 样品分析

1.3.1 水样的分析

将培养瓶中水样经 6 000 r·min⁻¹ 离心后,取 1

mL 上清液,用 1% 稀 HNO₃ 定容后原子吸收分光光度法测定 Cu 含量。

1.3.2 植物样品的分析

生物量的测定:收获的黑麦草用蒸馏水洗净后,用滤纸浸干表面的水分,分地上、地下部分称重。

叶绿素含量的测定:称取一定鲜重量的叶片,用丙酮研磨、混匀,经 95% 乙醇定容后在 649、665 nm 波长下测定其吸光度。

植株重金属含量的测定:植物经 105 ℃ 杀青 30 min、80 ℃ 烘干至恒重后,分别称取一定干重量的黑麦草根和茎叶,采用 HNO₃-HClO₄ 法消解,利用原子吸收分光光度法测定 Cu 含量。

1.3.3 菌体的分析及数据处理

吸附后菌体经水样在 6 000 r·min⁻¹ 离心后获得,80 ℃ 烘干至恒重后测其干重,采用 HNO₃-HClO₄ 法消解,利用原子吸收分光光度法测定其 Cu 含量。

数据分析采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 13.0 分析软件进行处理。

2 结果与分析

2.1 投菌对黑麦草去除 Cu 的影响

不同的处理条件下 Cu 的去除率如图 1 所示。

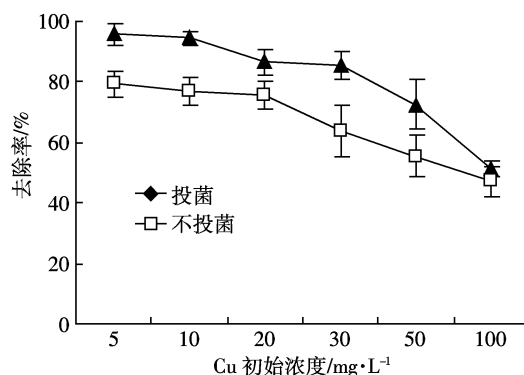


图 1 不同 Cu 浓度下投菌对黑麦草去除 Cu 的影响

Figure 1 Effect of *S. auricularis* addition on removal efficiencies of Cu at different Cu concentrations

水中 Cu 的初始浓度对黑麦草的修复效果影响较明显,无论投菌或不投菌,Cu 的去除率随着 Cu 浓度的升高而下降,二者的变化趋势一致。在 Cu 浓度 (5~30 mg·L⁻¹) 较低时,联合修复对 Cu 的去除率达 85% 以上 (5 mg·L⁻¹ 时接近 100%);单一的黑麦草修复在 63% 以上,相同浓度下,前者比后者高出 20% 以上。说明耳葡萄球菌的存在提高了整体的修复效果,即黑麦草-耳葡萄球菌的联合修复优于单一的黑麦草

修复。在Cu浓度(50~100 mg·L⁻¹)较高情况下,Cu的去除率明显下降。当Cu浓度为100 mg·L⁻¹时,联合修复与单一黑麦草修复的去除率相当,分别为51%和47%。

原因可能是,在其他条件相同的情况下,水体中投加的耳葡萄球菌吸附了Cu,增加了Cu的去除总量;另一方面,耳葡萄球菌的存在有利于黑麦草的生长,其生物量测定结果表明,10 mg·L⁻¹ Cu处理下投菌组的黑麦草地上部分和根系鲜重分别是不投菌组的1.31倍和1.38倍(图2、图3);并且菌体覆盖在黑麦草根表面^[8],能一定程度上减轻Cu对黑麦草的毒害作用,这些因素都有利于Cu的去除。但是当Cu浓度大于50 mg·L⁻¹时,无论黑麦草还是耳葡萄球菌都会受到较大的毒害作用,甚至致死,从而严重影响Cu的修复效果。

2.2 投菌对黑麦草生物量的影响

观察黑麦草及菌体生长情况,不同Cu浓度处理下经7 d培养后,投菌和不投菌处理的黑麦草植株地上、地下部分外部形态均受到不同程度的影响。尤其在50~100 mg·L⁻¹ Cu浓度实验中,黑麦草失水萎蔫植株矮小,叶片变黄、失绿,并且菌体出现变色、沉淀现象,显示二者均明显受到高浓度Cu的毒害。Cu在0~100 mg·L⁻¹浓度范围内对黑麦草地上部分和根系鲜重的影响如图2、图3所示。

无论联合修复或单一黑麦草修复,随着Cu浓度的升高,黑麦草地上部分和根系的鲜重都明显下降,尤其是Cu浓度为30~100 mg·L⁻¹时,相对于0~20 mg·L⁻¹的处理显著减少($P<0.05$);对比投菌与不投菌的情况,投菌组的黑麦草地上、根系部分鲜重都有明显的提高。且地上部分鲜重在5、10 mg·L⁻¹的Cu浓

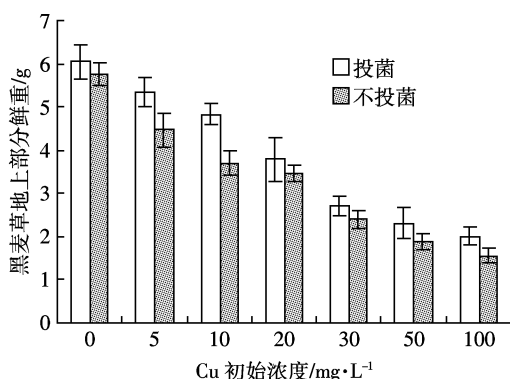


图2 不同Cu浓度下投菌对黑麦草地上部分鲜重的影响

Figure 2 Effect of *S. auricularis* addition on fresh weight of the shoots of *Lolium perenne* L. under different Cu levels

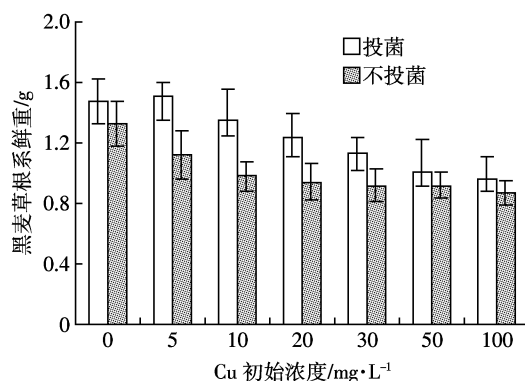


图3 不同Cu浓度下投菌对黑麦草根系鲜重的影响

Figure 3 Effect of *S. auricularis* addition on fresh weight of the roots of *Lolium perenne* L. under different Cu levels

度时有显著差异($P<0.05$),而地下部分鲜重在0~30 mg·L⁻¹的Cu浓度时均有显著差异($P<0.05$)。

以上说明,耳葡萄球菌的投加提高了黑麦草的生物量。相比黑麦草地上部分,投菌对黑麦草根系生物量的促进更明显。分析原因,可能是添加了重金属吸附菌,减轻了Cu对黑麦草的毒害,从而有利于黑麦草的生长;另外,可能是耳葡萄球菌具备根际促生菌的特性,能够为植物提供更多的养分,促进黑麦草形成更为发达的根系。

2.3 投菌对黑麦草叶绿素含量的影响

植物对重金属的耐受性有一定的阈值,当超过这个限度时,植物就会表现出受害症状,其叶绿素含量会下降。叶绿素是植物重要的光合色素之一,其含量的高低在很大程度上反映了植物生长情况、光合能力及其抗逆性的强弱^[9]。

由图4看出,在含有Cu的处理中,黑麦草叶绿素含量明显低于不含Cu的对照组($P<0.05$),并且随着Cu离子浓度的升高而降低。在投加耳葡萄球菌的情况下,黑麦草叶绿素含量在各Cu浓度下均高于未投菌组,并且叶绿素含量的下降幅度明显小于后者。在未投菌组中,Cu的浓度达到20 mg·L⁻¹时,黑麦草叶绿素含量明显下降,而投菌组在50 mg·L⁻¹才有较大的降幅。在Cu浓度达到100 mg·L⁻¹时,二者分别降低到0.32 mg·g⁻¹和0.28 mg·g⁻¹。以上实验结果显示,水中Cu的浓度大于5 mg·L⁻¹时,就会抑制黑麦草合成叶绿素。原因可能是Cu进入到黑麦草体内,破坏了叶绿素配位化合物的形成,导致叶绿素不能正常合成,或者是高浓度Cu使叶绿素酶活性升高,叶绿素降解,从而引起其含量下降^[10]。投加4 g·L⁻¹的耳葡萄球菌在一定程度上降低了Cu对黑麦草叶绿素含量的影

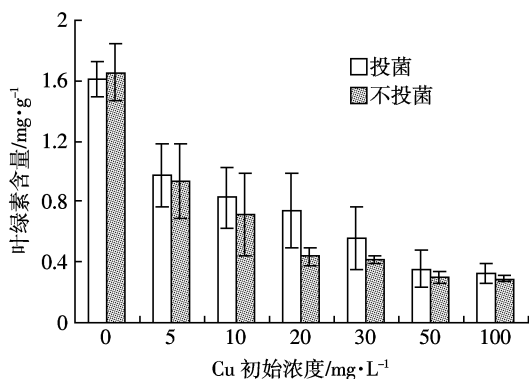


图 4 不同 Cu 浓度下投菌对黑麦草叶片叶绿素含量的影响
Figure 4 Effect of *S. auricularis* addition on chl content(mg·g⁻¹ fresh weight) in the leaves of *Lolium perenne* L. under different Cu levels

响,提高了 Cu 胁迫下黑麦草的光合作用能力。但过高的 Cu 对菌体本身会产生毒害作用,限制了其生命活动,因此随着 Cu 浓度的升高,菌体的促进作用受到一定限制^[11]。

2.4 Cu 在黑麦草、耳葡萄球菌体内的积累

黑麦草茎叶及根系部分对 Cu 的积累量(Cu 含量测定均为干重,下同)如图 5、图 6 所示。

结果显示,随着初始 Cu 浓度的升高,黑麦草地上部和根系的 Cu 积累量显著增加($P<0.05$)。无论在黑麦草茎叶还是根部,投菌组的 Cu 积累量都低于未投菌组。其中,投菌与否对黑麦草地上部分 Cu 的积累量影响不显著,而对根系的影响比较明显,黑麦草根系在投菌组中 Cu 的积累量显著低于未投菌组($P<0.05$)。

这与 Madhaiyan 在 Ni 和 Cd 污染条件下接种甲基营养菌,同时降低西红柿地上部和根系中重金属含量的试验结果相似^[12]。Ricken 和 Hofner^[13]认为,微

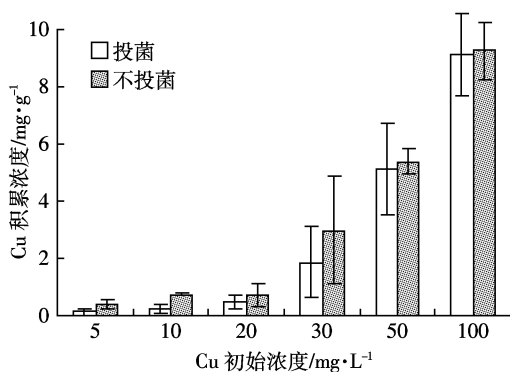


图 5 不同 Cu 浓度下投菌对黑麦草地上部分积累 Cu 的影响
Figure 5 Effect of *S. auricularis* addition on accumulation of Cu in the shoots of *Lolium perenne* L. under different Cu levels

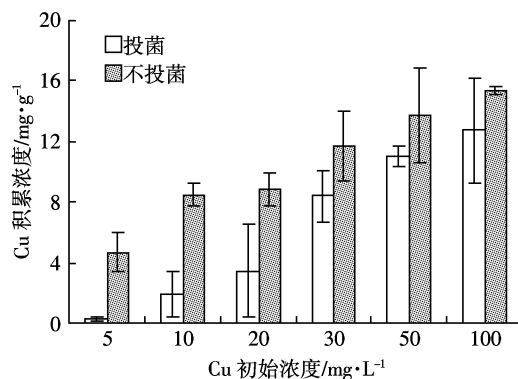


图 6 不同 Cu 浓度下投菌对黑麦草根部分积累 Cu 的影响
Figure 6 Effect of *S. auricularis* addition on accumulation of Cu in the roots of *Lolium perenne* L. under different Cu levels

生物的作用使植物的根系生物量、根长等发生变化,从而影响重金属的吸收和转移,由于植物根长的增加,使根细胞壁表面积也随之增大,从而对重金属的结合能力也增强,这样就减少了重金属由根系向地上部的转移。

菌体对 Cu 的积累量如图 7 所示,结果表明,随着水体初始 Cu 浓度的升高,耳葡萄球菌对 Cu 的吸附和积累量显著增加($P<0.05$)。在相同 Cu 浓度下,菌体中 Cu 含量高于黑麦草根或地上部,说明耳葡萄球菌对 Cu 具有良好的吸附性能。实验结果还显示,在高浓度 Cu 的胁迫下菌体内吸附量也较高,Cu 浓度为 100 mg·L⁻¹ 时其积累量达到 40.6 mg·g⁻¹。此外,耳葡萄球菌对 Cu 的生物吸附和生物积累作用可使黑麦草根或地上部从过量的重金属中得到保护,降低了黑麦草根或地上部对 Cu 的吸收,从而减轻了重金属对黑麦草的毒害,这也解释了投菌组的黑麦草生物量和叶绿素含量都高于未投菌组的原因。

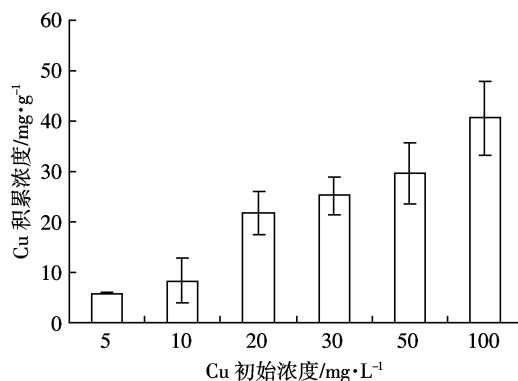


图 7 不同 Cu 浓度对 *S. auricularis* 积累 Cu 的影响
Figure 7 Accumulation of Cu in *S. auricularis* under different Cu levels

3 讨论

黑麦草具有根系发达、生长迅速、生物量大、再生能力强、易于种植等特点^[14],已被证实具有吸收和积累重金属的能力。但重金属过多积累在植物组织内会影响植物正常的新陈代谢和生长,从而制约植物对重金属的进一步吸收和去除^[15-16]。江凤娟等^[17]研究表明,黑麦草对水体中 Cu 具有一定的去除作用,但高于 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,植物的正常生长受到了一定的影响。廖敏等^[18]研究发现,Cd 迁移到黑麦草体内,引发植物细胞内活性氧自由基的过度积累,并阻碍养分吸收,影响光合作用。而根际微生物与植物之间的相互作用能促进植物的生长以及减轻植物受重金属的毒害性^[19-21]。根际微生物可能通过合成植物激素前体、维生素、酶、铁载体及抑制乙烯合成等方式促进植物生长,还可能调节根系环境的 pH 值以及溶解无机磷、矿化有机磷、提高植物对重金属耐受性^[22-23]。关于这些微生物对植物的促进作用机制还需进一步的研究。本实验所用的耳葡萄球菌筛选自重金属污染十分严重的矿山废水,其吸附重金属的实验结果表明,投加 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 湿重的菌体, 30°C 、 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡吸附 1 h, 对 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu 的去除率为 77.1%,显示该菌对 Cu 具有较强的富集性^[24]。本研究首次利用该菌与黑麦草联合修复重金属 Cu,显示出良好的效果。

不少研究表明根际微生物能提高重金属在植物体内的积累量^[25-28],其中土壤微生物起了很大作用,其分泌物能活化土壤中重金属,使土壤结合的金属离子进入土壤溶液,成为植物可吸收的状态,因而促进植物对重金属的吸收。但本研究以及其他部分研究结果与之相反,Tripathi 等^[29]报道接种 Pb 和 Cd 的耐受菌 *P. putida* KNP9 后降低了菜豆(*Phaseolus vulgaris*)体内 Pb 和 Cd 的积累量。同样地,Kuffner 等^[30]的研究中接种假单胞杆菌(*Pseudomonas* sp.)、粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)、链霉菌(*Streptomyces* sp.)这 3 株菌对山羊柳(*Salix caprea*)积累 Zn 和 Cd 起到了抑制作用。本研究采用水培实验方式,Cu 溶解在水中易被黑麦草根吸收而进入到植物体内,而菌体在吸附 Cu 时与黑麦草形成竞争关系,反而减少黑麦草的吸收量,这可能是耳葡萄球菌的存在降低黑麦草体内积累 Cu 的主要原因。

4 结论

(1)黑麦草-耳葡萄球菌联合修复 Cu 具有良好

的去除效果,Cu 的初始浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,去除率高达 95.8%。在相同 Cu 浓度下,联合修复对 Cu 的去除率明显高于单一的黑麦草修复。耳葡萄球菌的投加明显提高了 Cu 的修复效果。

(2)无论联合修复或单一黑麦草修复,随 Cu 初始浓度的升高,黑麦草根系、茎叶和菌体中 Cu 的含量明显增加,黑麦草的生物量和叶绿素含量随之减少。

(3)在联合修复中,耳葡萄球菌通过对水体中 Cu 的吸附,分担了黑麦草根系对 Cu 的吸收量,减少黑麦草地上部分对 Cu 的吸收和运输,从而使黑麦草的生物量和叶绿素含量明显高于未投菌组。

参考文献:

- [1] Chander K, Dyckmans J, Joergen R G, et al. Different sources of heavy metals and their long-term effects on soil microbial properties[J]. *Biol Fertil Soils*, 2001, 34(4):62-65.
- [2] 沈德中. 污染环境的生物修复[M]. 北京:化学工业出版社, 2002:11-15.
SHEN De-zhong. Bioremediation of contaminated environment[M]. Beijing:Chemical Industry Press, 2002:11-15.
- [3] Ouzounidou G, Eleftheriou E P, Karataglis S. Ecophysiological and ultrastructural effects of copper in *Thlaspi ochroleucum* (Cruciferae)[J]. *Can J Bot*, 1992, 70:947-957.
- [4] Adebawale K O, Agunbiade F O, Olu-Owolabi B I. Fuzzy comprehensive assessment of metal contamination of water and sediments in Ondo Estuary[J]. *Chemistry and Ecology*, 2008, 24(4):269-283.
- [5] Alaoui-Sossé B, Genet P, Vinit-Dunand F. Effect of copper on growth in cucumber plants(*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents[J]. *Plant Science*, 2004, 166:1213-1218.
- [6] Wisniewski L, Dickinson N M. Toxicity of copper to *Quercus robur* (English Oak) seedlings from a copper-rich soil[J]. *Environ Exp Bot*, 2003, 50:99-107.
- [7] 李中华, 尹华, 叶锦韶, 等. 固定化菌体吸附矿山废水中重金属的研究[J]. 环境科学学报, 2007, 27(8):1245-1250.
LI Zhong-hua, YIN Hua, YE Jin-shao, et al. Biosorption of heavy metals from mine waste water by immobilized bacteria [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, 27(8):1245-1250.
- [8] Rajkumar M, Ae N, Prasad M N, et al. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction[J]. *Trends Biotechnol*, 2009, 28(3):142-149.
- [9] Zhou W B, Qiu B S. Effects of cadmium hyperaccumulation on physiological Characteristics of *Sedum alfredii* H. (Crassulaceae)[J]. *Plant Science*, 2005, 169:737-745.
- [10] Abe K. Comparison of useful terrestrial and aquatic plant species for removal of nitrogen and phosphorus from domestic wastewater[J]. *Soil Sci Plant Nutr*, 1998, 44(4):599-607.
- [11] Wang Y P, Shi J Y, Wang H, et al. The influence of soil heavy metals pollution on soil microbial biomass, enzyme activity and community

- composition near a copper smelter[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 67(1):75–81.
- [12] Madhaiyan M, Poonguzhali S, Sa T. Metal tolerating methylotrophic bacteria reduces nickel and cadmium toxicity and promotes plant growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.)[J]. *Chemosphere*, 2007, 69:220–228.
- [13] Ricken B, Hofner W. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on heavy metal tolerance of alfalfa (*Medicago sativa* L.) and oat (*Avena sativa* L.) on a sewage sludge treated soil[J]. *Zpflanzenernahr Bodenk*, 1996, 159:189–194.
- [14] 徐卫红, 熊治庭, 王宏信, 等. 锌胁迫对重金属富集植物黑麦草养分吸收和锌积累的影响[J]. 水土保持学报, 2005, 19(4):32–43.
XU Wei-hong, XIONG Zhi-ting, WANG Hong-xin, et al. Effects of Zn stress on nutrient uptake and Zn accumulation in four varieties of ryegrass[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2005, 19(4):32–43.
- [15] Xiong Ji-bing, He Zhen-li, Liu Dan, et al. The role of bacteria in the heavy metals removal and growth of *Sedum alfredii* Hance in an aqueous medium[J]. *Chemosphere*, 2008, 70:489–494.
- [16] Chaney R L, Angle J S, Broadhurst C L, et al. Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies[J]. *Environ Qual*, 2007, 36:1429–1443.
- [17] 江凤娟, 孙庆业, 李 森, 等. Cu^{2+} 胁迫对黑麦草 (*Lolium perenne* L.) 去除富营养化水体中氮、磷效果的影响[J]. 环境科学学报, 2008, 29(6):1626–1637.
JIANG Feng-juan, SUN Qing-ye, LI Miao, et al. Effects of Cu^{2+} on Nitrogen and phosphorus removal by ryegrass cultivated in eutrophic water body[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 29(6):1626–1637.
- [18] 廖 敏, 黄昌勇. 黑麦草生长过程中有机酸对镉毒性的影响 [J]. 应用生态学报, 2002, 13(1):109–112.
LIAO Min, HUANG Chang-yong. Effects of organic acids on the toxicity of cadmium during ryegrass growth[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(1):109–112.
- [19] Rajkumar M, Vara Prasad M N, Freitas H, et al. Biotechnological applications of serpentine soil bacteria for phytoremediation of tracemetals[J]. *Crit Rev Biotechno*, 2009, 29:120–130.
- [20] Rajkumar M, Freitas H. Effects of inoculation of plant-growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard[J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99:3491–3498.
- [21] Sun L N, Zhang Y F, He L Y, et al. Genetic diversity and characterization of heavy metal-resistant-endophytic bacteria from two copper-tolerant plant species on copper mine wasteland [J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101:501–509.
- [22] Madhaiyan M, Poonguzhali S, Ryu J, et al. Regulation of ethylene levels in canola (*Brassica campestris*) by 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase -containing *Methylobacterium fujisawaense* [J]. *Planta*, 2006, 224:268–278.
- [23] Poonguzhali S, Madhaiyan M, Sa T M. Quorum-sensing signals produced by plant-growth promoting Burkholderia strains under in vitro and in planta conditions[J]. *Res Microbiol*, 2007, 158:287–294.
- [24] 李中华. 固定化菌吸附矿山废水重金属的研究[D]. 广州:暨南大学, 2006.
LI Zhong-hua. The biosorption study of heavy metals in mine waste water by immobilized bacteria[D]. Guangzhou:Jinan University, 2006.
- [25] Braud A, Jézéquel K, Bazot S, et al. Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr- and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore-producing bacteria[J]. *Chemosphere*, 2009, 74:280–286.
- [26] Sheng X F, Jiang C Y, He L Y, et al. Characterization of plant growth-promoting *Bacillus edaphicus* NBT and its effect on lead uptake by Indian mustard in a lead-amended soil[J]. *Can J Microbio*, 2008, 54:417–422.
- [27] Dimkpa C O, Merten D, Svatos A, et al. Siderophores mediate reduced and increased uptake of cadmium by *Streptomyces tendae* F4 and sunflower (*Helianthus annuus*), respectively[J]. *J Appl Microbiol*, 2009, 107:1687–1696.
- [28] Dimkpa C O, Merten D, Svatos A, et al. Metal-induced oxidative stress impacting plant growth in contaminated soil is alleviated by microbial siderophores[J]. *Soil Biol Biochem*, 2009, 41:154–162.
- [29] Tripathi M, Munot H P, Shouche Y, et al. Isolation and functional characterization of siderophore-producing lead- and cadmium-resistant *Pseudomonas putida* KNP9[J]. *Curr Microbio*, 2005, 50:233–23.
- [30] Kuffner M, Puschenreiter M, Wieshammer G, et al. Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows [J]. *Plant Soil*, 2008, 304:35–44.