

多环芳烃污染土壤的微生物效应研究现状与展望

葛高飞¹, 郇红建², 郑彬², 陆翠珍^{1*}

(1. 安徽农业大学生物技术中心, 合肥 230036; 2. 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥, 230036)

摘要: 多环芳烃 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) 是土壤中典型的持久性有机污染物之一, 具有强烈的致癌、致畸和致突变效应。土壤微生物既可以降解有机污染物, 修复受污染的土壤, 又可以敏感地反映土壤环境质量的变化, 在土壤污染修复和生物指示方面应用广泛。该文从土壤环境质量表征的微生物学指标和微生物对土壤污染物的降解与修复两个主要方面, 综述了 PAHs 污染土壤的微生物研究现状, 包括微生物活性和多样性作为 PAHs 污染土壤的生物指示, PAHs 高效降解菌株筛选, 微生物降解 PAHs 的途径和修复方法等。针对目前研究中存在的问题, 提出了研究展望, 旨在为研究土壤微生物对 PAHs 污染土壤的生物响应机制和修复机理提供参考。

关键词: 多环芳烃; 微生物活性; 微生物多样性; 降解菌; 微生物修复

中图分类号: X172

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2012)06-0973-06

Current research situation and prospect of microorganism response to polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil

GE Gao-fei¹, GAO Hong-jian², Zheng Bin², LU Cui-zhen¹

(1. Biotechnology Center, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are the most persistent organic pollutants with strong carcinogenic, teratogenic and mutagenic effect in soil. Soil microbe can not only degrade organic pollutants and restore contaminated soil, but also sensitively reflect the changes of soil environment quality, thus widely applied in bioremediation and bio-indicator of soil pollution. Microbial degradation and restoration of organic pollutants contaminated soil, and the microbial indicators of soil environment quality were summarized in this paper. Present research situations including soil microbial activity and diversity as the indicators of PAHs polluted soil; screening of highly efficient degradation bacteria and microbial degradation pathway, as well as the remediation technology and methods of PAHs contaminated soil were discussed. According to the problems existing in the present studies, the future research prospect was advocated to provide critical facts for exploring response and remediation mechanism of soil micro-organism to PAHs contaminated soil.

Key words: PAHs; microbial activity; microbial diversity; degradation bacteria; microbial remediation

多环芳烃 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) 是指分子中含有两个或两个以上苯环的一类有机化合物的总称。环境中的 PAHs 绝大部分由人为活动产生, 包括煤、石油、木材和高分子有机化合物的不完全燃烧以及石油和石油产品的开采、运输、使用和排放^[1-2]。土壤中 PAHs 污染的主要途径是通过干、湿沉降 (气态和颗粒结合态) 到达土壤表面并逐步累积, 而污泥农用和污水灌溉也对土壤

中 PAHs 的积聚也有一定贡献^[3]。PAHs 具有较强的生理和遗传毒性, 且自然降解率低, 一旦进入环境, 将对生态环境和人类健康构成持久威胁。并且 PAHs 分子中苯环数量越多, 其疏水性越强, 越易被土壤吸附, 越难被微生物降解^[4-5]。这些难降解的 PAHs 长期滞留在土壤中, 对土壤微生物、植物和动物造成持续毒害, 进而损害土壤功能^[6], 并可通过食物链最终富集到人体中, 成为潜在的致癌物质^[7]。目

收稿日期: 2012-05-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41071158) 资助。

作者简介: 葛高飞, 女, 博士, 助研。E-mail: gegaoifei@ahau.edu.cn

* 通讯作者: 陆翠珍, 女, 高级实验师。E-mail: gg432@163.com

前 PAHs 是土壤的主要有机污染物之一,它具有强烈的三致效应(即致癌、致畸和致突变),已被联合国环境规划署列为持久性有机污染物(persistent organic pollutants, POPs),被美国环保局列为环境优先污染物,也是我国优先控制的68种污染物之一^[8]。

土壤微生物指土壤中形体微小、结构简单的生物,主要包括细菌、真菌、放线菌、藻类和原生动物等,是土壤生命活体的主要组成部分,也是土壤生态系统的重要组份之一。数量庞大、种类繁多的土壤微生物是丰富的生物资源库,也是土壤中最活跃的部分,参与土壤中生物化学反应,在土壤物质转换、能量流动和生物地球化学循环中具有极其重要的作用。与土壤其他理化性质相比,土壤微生物对外界环境的变化反应更为敏感,因此土壤微生物性质常常被用作指示土壤健康的灵敏性指标^[9-11]。

目前,对 PAHs 污染条件下土壤微生物的研究主要集中在微生物作为毒理学指标的研究和微生物修复污染土壤的研究上。本文将从这两个主要方面入手阐述 PAHs 污染条件下土壤微生物的研究现状并对今后的研究提出展望。

1 土壤 PAHs 污染的微生物学指标

土壤生物学指标包括土壤里生长的植物、动物、微生物等,其中应用最多的是土壤微生物学指标^[12-13]。土壤微生物是表征土壤质量最有潜力的敏感性指标^[12]。土壤质量的微生物学指标包括土壤微生物的群落组成、多样性和土壤微生物活性^[13]。土壤微生物生物量、酶活性、基础呼吸强度、呼吸熵、菌落数量、微生物群落结构、功能和遗传的多样性等对 PAHs 污染具有较高的敏感度,因而常用于 PAHs 污染土壤生物毒性的评价指标^[14-18]。不仅如此,微生物在评价修复效果方面也得到应用,如 Bhatt 等提取不同真菌修复后的 PAHs 污染土壤的提取液,采用发光细菌 *Vibrio fischerii* 的荧光强度作为 PAHs 的毒性评价指标并比较了不同真菌的修复效果^[19]。

1.1 土壤微生物活性

土壤中微生物的活性通常用土壤酶活性、微生物生物量、基础呼吸强度、呼吸熵、菌落数量等指标来表征。土壤酶是土壤新陈代谢的重要标志之一,也是表征土壤环境质量的重要指标。土壤微生物生物量是土壤速效养分的来源,参与调控土壤中能量循环和养分循环及有机物转化的微生物的数量,土壤微生物生物量可以敏感地反映出不同土壤生态系统间的差异。微生物呼吸强度可以看作是衡量

土壤微生物总活性的指标,它反映了整个微生物群落的活性。微生物数量却能够反映土壤环境质量,评价土壤受污染的程度。Yeates 和 Bongers 曾指出细菌、真菌、放线菌总数、纤维素分解细菌和真菌、菌根真菌、微生物生物量 C 和 N 矿化量、CO₂ 呼吸量、纤维素分解量、土壤酶活性等土壤微生物学特性可作为土壤健康的生物指标^[20],通过对污染土壤中微生物特性的监测,反映土壤受污染的状况。我国目前的微生物监测主要应用于监测农药和重金属对土壤环境的影响^[21],应用于 PAHs 污染的监测还相对较少。

2003 年 Maliszewska-Kordybach 等研究了土壤脱氢酶、脲酶、土壤呼吸和微生物生物量对 PAHs 污染的响应,发现这些指标均能反映土壤受污染的状况,而脱氢酶灵敏度最高^[22]。这可能是因为脱氢酶属胞内酶,其活性与微生物活性紧密相关,而脲酶等胞外酶能够被微生物或者植物根系分泌到土壤中,并且在适合条件下短期内维持一定的活性^[23]。因此即便微生物受毒害活性降低,土壤也能表现出较高的酶活性。微生物学指标在评价 PAHs 污染方面也存在一些不足,例如在 PAHs 长期污染土壤中会形成抗性群体,当土壤被 PAHs 再次污染时,微生物可能不会被污染物抑制,相反有可能把 PAHs 当作碳源而利用,因而显示出 PAHs 的刺激效应^[24]。此外,向土壤一次性添加一定量的 PAHs 之后,会导致微生物群落和活性的变化随时间而变化,如宫璇等分别向土壤中添加不同浓度的菲(100~2 400 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和芘(50~1 200 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),结果显示添加菲抑制了土壤脲酶和脱氢酶活性,添加芘则对两种酶的活性有先抑制,后激活的作用;菲和芘均对磷酸酶活性有激活作用,而对过氧化氢酶的影响不显著,作者因此提出脲酶、脱氢酶和磷酸酶可作为 PAHs 污染土壤的生态毒理指标^[25-26]。从作用的时间来看,在菲添加 1 d 后抑制或刺激的程度最为显著,并且和土壤中添加菲的浓度成正比,而添加芘之后酶活性随时间变化较为复杂,因而进行污染评价时还需要选择合适的时间点来反映污染物的真实毒性状况。

1.2 土壤微生物多样性

土壤微生物多样性包括微生物群落功能多样性、结构多样性及分子遗传多样性。研究土壤微生物多样性的方法大致可分为两类:一类是基于培养和分离手段来揭示土壤微生物群落变化;另一类是基于生物指示分子(如 DNA、RNA 及磷脂脂肪酸)变异模式的土壤微生物多样性。研究方法主要包括:

经典的分离培养方法(研究土壤微生物区系组成、数量及主要生理类群结构状况),碳素利用法(又称 BIOLOG 系统,借助于各种 BIOLOG 板实现对土壤环境微生物的代谢功能多样性研究),磷脂脂肪酸法(根据脂肪酸的种类及组成比例可鉴别土壤微生物群落结构多样性变化)和核酸分析法(从分子水平层面上揭示土壤微生物种类和遗传多样性)。这些微生物多样性研究方法从不同生态层面上揭示了土壤微生物群落结构及多样性变化,因微生物对土壤污染的敏感性,多样性指标已被广泛应用于污染状态下土壤微生物的研究。而深入开展 PAHs 污染土壤中微生物的群落结构研究是 PAHs 污染土壤生物修复的基础,具有重要科学意义和现实意义^[27]。

目前微生物多样性用于土壤 PAHs 污染的研究取得了一定的进展。彭静静等利用末端限制性片段多态性(T-RFLP)分析研究了炼油厂附近 PAHs 污染土壤中得微生物遗传多样性,结果表明 PAHs 浓度高的土壤微生物群落多样性明显低于 PAHs 浓度较低的土壤。高浓度 PAHs 刺激了某些土壤微生物生长。不同污染程度的土壤存在一定数量相同的优势菌群,但相对丰度具有明显差异^[27]。这与 Nakatsu 的研究一致,也验证了 PAHs 污染后微生物群落多样性将减少的观点^[28]。而 Sverdrup 等通过室内培养试验表明 1~3 000 mg·kg⁻¹ 芘处理几乎对细菌群落没有显著影响^[29]。Sverdrup 等比较了微生物遗传多样性、硝化速率和原生动动物数量在评价 PAHs 污染土壤毒性方面的敏感性,其中多样性采用变性梯度凝胶电泳法(DGGE)检测,结果显示指标敏感性顺序为硝化速率>原生动动物数量>微生物遗传多样性,其中多样性指标在不同浓度 PAHs 中无显著变化^[30]。许多研究认为污染物减少生物多样性,也有一些研究发现,有的污染物能够增加微生物或者植物多样性^[31],还有的研究发现微生物多样性能够在污染条件下完全恢复^[32]。这些现象大体可以归结为污染土壤中抗性或耐性群落的形成、以有机污染物为碳源的微生物群落的形成以及优势微生物被污染物抑制等,另外,土壤的培养方式以及实验设计对微生物多样性的测定也有一定的影响。对于 PAHs 污染的土壤,这几种情况可能都存在,例如一些土壤微生物可将菲作为重要碳源加以利用^[33],这些因素可能导致了多样性指标敏感度的降低。因此,为了真实全面地了解 PAHs 污染土壤微生物多样性的变化,还需要各种分析测试手段的综合运用,各种实验条件的优化,使之互为补充。

2 土壤 PAHs 污染的微生物降解与修复

微生物是自然环境中影响 PAHs 环境化学行为的关键因素之一,将决定 PAHs 的最终归宿^[34]。通常,PAHs 污染土壤中存在大量可降解 PAHs 的微生物,微生物降解已成为 PAHs 污染土壤生物修复的重要技术手段^[35],此外,降解菌的联合作用也将大大提高微生物修复 PAHs 污染土壤的效果。

2.1 PAHs 高效降解菌株的筛选

微生物可以直接将 PAHs 转化简单的小分子化合物 CO₂ 和 H₂O,或者转化成容易降解的其它较为复杂的化合物,使 PAHs 对环境中其它生物的影响降到最低限度。微生物对污染物的降解能力常取决于微生物在污染物中暴露的时间,常常从受污染环境分离能高效降解 PAHs 的优势微生物菌株,然后再把它们用于污染环境的生物治理。而不同的菌属对不同的 PAHs 的降解能力存在着很大的差别,降解产物和途径也大不相同。伴随着多环芳烃的污染的日益加重,国内外学者对于多环芳烃降解菌的研究越来越多。Kiyohara 等分离得到菲的降解菌^[36],后来又相继报道了很多 PAHs 的高效降解菌。Fidlej 等分离出 8 株白腐真菌,它们都能够降解多环芳烃,其中 Bjerkandera sp. 菌株 BOS55 对蒽及苯并[a]芘有很好的降解效果,蒽在 28d 后的去除率达 99.2%,苯并[a]芘的去除率达 83%^[37]。罗雪梅等用枯草芽孢杆菌研究微生物对沉积物和湿地土壤吸附 PAHs 菲、苯并[a]芘过程的影响,结果显示枯草芽孢杆菌能够吸附或生物降解菲与苯并[a]芘,并且菲的去除率为 98%,苯并[a]芘的去除率为 85%^[38]。

目前,对 PAHs 的常见代表性污染物菲,芘和苯并芘的降解菌研究较多且深入,并发现了一些专一性和广谱性的微生物降解菌群^[39]。例如:假单胞菌属(*Pseudomonas*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*)、黄孢原毛平革菌属(*Phanerochaete chrysosporium*)作为广谱性微生物菌群对菲,芘和苯并芘都具有较好的降解作用;而单胞菌属(*Aeromonas*)、产碱杆菌属(*Alcaligenes*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)、弧菌属(*Vibrio*)、微球菌属(*Micrococcus*)等只对菲具有良好的降解作用;戈登菌属(*Gordonia*)只能够专一高效地降解土壤中的芘化合物;微紫青霉菌属(*Penicillium janthinellum*)和雅致小克银汉霉菌属(*Cunninghamella elegans*)只对土壤苯并芘具有高效的降解作用。

2.2 微生物对 PAHs 的降解作用

2.2.1 微生物降解 PAHs 的途径 微生物对 PAHs 的降解一般通过 2 种方式：一是以 PAHs 作为惟一的碳源和能源生活而将其降解（主要是二、三环的多环芳烃）；二是把 PAHs 与其它有机质共代谢（或共氧化，四环和四环以上的多环芳烃）而降解。微生物可以直接降解萘、菲等小分子 PAHs，而对于苯并[a]芘等大分子 PAHs 的生物降解一般均以共代谢方式进行。共代谢是指微生物利用一种容易降解的有机物质作为支持其自身生长繁殖的营养物质，同时降解另一种物质，但微生物不能从后一种物质的降解和转化中获得能量、碳源或其它的任何营养物质。微生物以共代谢方式降解有机物可能有以下几个原因：一是因为缺少进一步降解的酶系；二是由于中间产物的抑制作用；三是需要另外的基质诱导代谢酶或提供细胞反应中不能充分供应的物质。共代谢作用可以提高微生物降解 PAHs 的效率，改变微生物碳源与能源的底物结构，增大微生物对碳源和能源的选择范围，从而达到难降解 PAHs 最终被微生物利用并降解的目的^[35]。

2.2.2 微生物降解 PAHs 的关键酶 PAHs 的降解过程实际上是一系列酶促反应的过程，微生物对 PAHs 的降解依赖于酶的活性。真菌通过产生单加氧酶降解 PAHs，细菌则产生双加氧酶降解 PAHs。在目前已知的代谢途径中，芳香环通过羟基化后经过环的开裂再进一步代谢，已成为最为显著的共性。在细菌对 PAHs 的代谢过程中有两个关键酶，即第一步反应的起始双加氧酶，在它的作用下完成氧对芳香环的进攻；另一个是芳香环开环裂解关键酶即邻苯二酚双加氧酶，在它的作用下使 PAHs 彻底开环裂解，生成三羧酸循环中间物。PAHs 代谢过程中的这两种酶及其相关基因，一直是科学研究领域中热点之一。目前已知的能催化氧化芳香烃类化合物的双加氧酶大约有 40 余种，国外的相关研究已经深入到反应机理的研究、双加氧酶结构与功能的分子生物学改造以及相关基因结构与起源研究等领域^[40]，国内在此方面的研究也取得了一定进展^[41-42]。

2.3 微生物对土壤 PAHs 污染的修复

2.3.1 微生物修复技术 微生物是自然界中的分解者，是生物修复中降解有机污染物的主力军。近年来利用微生物修复土壤的技术迅猛发展，在一定程度上给受污染土壤的修复带来了技术革命，并推动了生态化学修复的发展。与其他修复技术相比，微生物修复污染土壤技术的优点是：不破坏植物生长所需的土壤环境，不会形成二次污染或导致污染物

的转移，遗留问题少，可最大限度地降低污染物浓度，并且污染物可在原地被降解清除，费用低，操作简便，修复时间短，对周围环境干扰少等；其缺点是：微生物不能降解所有进入土壤的污染物，有些污染物在降解的过程中会转化成有毒的代谢产物，物理因子（如低温）导致反应速率低，一些有毒物质对微生物降解有抑制作用等^[43]。

微生物修复技术主要分为原位微生物修复 (on-situ bioremediation) 和异位微生物修复 (ex-situ bioremediation) 两类。原位微生物修复不需将土挖走，主要是向污染区投放 N、P 营养物质或供氧，促进土壤中依靠有机物作为碳源的微生物生长繁殖，或接种经驯化培养的高效微生物等，利用其代谢作用达到消耗污染物目的。原位修复主要包括投菌法 (bioaugmentation)、生物培养法 (bioculture)、生物通气法 (bioventilation) 和农耕法 (land farming)。异位微生物修复技术则与之相反，要求把污染的土壤挖出后集中起来进行生物降解。可以设计和安装各种过程控制器或生物反应器来产生生物降解的理想条件。主要包括预制床法 (prepared bed)、土壤耕作法 (land farming)、土地填埋法 (land filling) 和生物泥浆反应器法 (biolurry)。原位生物修复技术一般适合遭受大面积污染的土壤，成本较低，实施容易。应用广泛。由于异位生物修复技术费用昂贵，只有土壤被严重污染时才会采用。

2.3.2 微生物修复 PAHs 污染的方法 PAHs 的微生物修复在环境中受着各种因素的制约，影响着微生物的降解效率，为此采取相应的强化措施十分重要。目前，利用微生物治理 PAHs 污染土壤的方法主要集中在以下 3 个方面：

(1) 接种微生物，增加降解菌的生物量。对于不同的污染物，接种相应的高效降解菌，从而达到提高 PAHs 的生物降解率的目的^[44]。

(2) 为微生物的生长和作用提供更合适环境。

① 微生物营养盐的添加：微生物在生长、繁殖、代谢活动中需要充足均衡的营养物质，为了加快净化速度、提高降解效率，需要向环境中添加缺少的营养物。维持污染土壤环境中 C:N:P 正常比例，可促进 PAHs 的稳定降解。② 提供电子受体：在好氧环境和厌氧环境中，微生物都能降解 PAHs，只是降解途径和降解效率有所不同。在好氧环境中，氧气能直接作为电子受体，在厌氧环境中，以硝酸盐、硫酸盐等含氧酸根作为电子受体。③ 提供共代谢底物：通过降解其他有机物提供能量；与其他微生物协同作用，并且这些菌单独存在时则不起作用；其

他共代谢作用提高高分子量 PAHs 生物降解效率。

(3) 通过添加有机化合物促进 PAHs 的降解来提高生物可利用性。PAHs 是疏水性的污染物, 易吸附在土壤中, 微生物能利用降解的部分也相对较少。适量的加入表面活性剂可以提高 PAHs 在水中的溶解度, 促进其生物利用。Zhu 等报道了生物表面活性剂可加快土壤中菲和芘的降解, 促进土壤中 PAHs 的去除^[45]。由于天然合成的生物表面活性剂与合成的表面活性剂相比毒性低, 能够快速地被微生物吸收, 已引起各界科学家的重视。

3 问题与展望

土壤 PAHs 自然降解率低, 毒性强, 长期滞留在土壤中会对土壤微生物、植物和动物造成持续毒害, 并可通过食物链最终富集到人体中, 成为潜在的致癌物质。目前对土壤中 PAHs 的毒害作用以及这种毒害作用的消减的研究已渐深入, 然而无论在研究方法还是在研究内容上都还存在着局限和不足, 主要表现在以下几个方面:

(1) 随着我国经济的进一步高速发展, 对矿物燃料等能源的需求量逐步增加, 污泥/堆肥农用范围的扩大, 土壤中 PAHs 的污染有逐年加剧的趋势。由于 PAHs 污染物是以低剂量叠加的方式在土壤中逐步累积, 势必造成对土壤环境质量和生态安全的威胁日益加剧。前人研究多数采用土壤一次污染的方法(即把一定浓度的多环芳烃与土壤一次混合后形成污染土壤)进行模拟研究。这与 PAHs 污染物在土壤中以低剂量叠加方式逐步累积的过程有较大差别, 很难如实反映土壤中 PAHs 污染的生物有效性, 也不能准确评价其对土壤生物的真实毒性。因此, 对于 PAHs 逐步累积污染对土壤微生物影响的研究具有更为重要的现实意义。

(2) 目前, 大家对 PAHs 的研究主要是侧重于一两个微生物学指标的检测, 而没有对反映微生物学的多个指标进行全面研究, 并且对 PAHs 的微生物毒理效应往往只是简单地对毒理指标的阐述, 没有把指标与污染物浓度和有效性结合起来。因此, 在以后的研究中应把土壤微生物学的多个指标与污染物的有效性等结合起来, 系统全面地阐明 PAHs 对土壤微生物的影响, 以增加微生物指标反映污染物毒性的客观性和真实性。

(3) 分离培养、BIOLOG 系统、PLFA 及基于 PCR 扩增的核酸定量分析等方法从不同生态层面上揭示了土壤微生物群落结构及多样性变化。它们发挥了各自的优点, 同时在分析过程中也暴露其

不足。然而, 土壤中蕴藏着十分丰富的微生物资源和多样性, 这些微生物类群与毒害污染物之间的内在关系还远未认识清楚。今后, 我们要继续加强和完善土壤微生物生态学的方法研究, 在内容上重点开展典型 PAHs 污染土壤的微生物功能基因研究、构建基因文库及宏基因组学研究, 探讨土壤 PAHs 染过程的微生物生态适应机制, 建立基于微生物多样性的土壤修复和生态恢复理论, 以便尽早揭开土壤生命生态系统的神秘微观世界。

(4) 微生物修复污染土壤技术有诸多优点, 然而它也存在一些不足, 例如微生物不能降解所有进入土壤的污染物, 有些污染物在降解的过程中会转化成有毒的代谢产物等。因此, 在以后有关 PAHs 的研究中, 为了更高效更健康的修复污染土壤, 需着重培养筛选一些专一或广谱性的微生物种群(类)以及构建工程菌, 使之能够高效地修复土壤中 PAHs (尤其是高分子量的 PAHs) 的污染, 并且在分解 PAHs 类污染物过程中不会产生毒性代谢物, 或产生的毒性中间体易分解转化而被短时间内去除。

(5) 我国目前的微生物监测主要应用于监测农药和重金属对土壤环境的影响, 有关 PAHs 对土壤环境影响的微生物检测还相对较少。随着社会经济的发展, PAHs 对土壤环境质量和生态安全造成的威胁日益加剧, 面对这种严峻形势, 全面开展 PAHs 对土壤环境影响的微生物检测势在必行, 另外建立 PAHs 污染的微生物修复效果的监测与评价体系同样具有重要意义。

参考文献:

- [1] Thiele-Bruhn S, Brümmer G W. Kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degradation in long-term polluted soils during bioremediation[J]. *Plant and Soil*, 2005, 275(1/2): 31-42.
- [2] Atagana H I. Biodegradation of polyacyclic aromatic hydrocarbons in contaminated soil by biostimulation and bioaugmentation in the presence of copper (II) ions[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2006, 22(11): 1145-1153.
- [3] Tao S, Cui Y H, Xu F L, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soil and vegetables from Tianjin[J]. *Science of the Total Environment*, 2004, 320(1): 11-24.
- [4] Hamdi H, Benzarti S, Manusadžianas L, et al. Solid-phase bioassays and soil microbial activities to evaluate PAH-spiked soil ecotoxicity after a long-term bioremediation process simulating landfarming[J]. *Chemosphere*, 2007, 70(1): 135-143.
- [5] Zhao X, Zhang Y, Hu X, et al. Enhanced bio-mineralization by riboflavin photosensitization and its significance to detoxification of benzo[a]pyrene[J]. *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology*, 2007, 79(3): 319-322.
- [6] Maliszewska-Kordybach B, Klimkowicz-Pawlas A, Smreczak B, et al. Ecotoxic effect of phenanthrene on ni-

- trifying bacteria in soils of different properties[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2007, 36(6): 1635-1645.
- [7] Johnsen A R, Wick L Y, Harms H. Principles of microbial PAH-degradation in soil[J]. *Environmental Pollution*, 2005, 133(1): 71-84.
- [8] Qiao M, Chen Y, Wang C X, et al. DNA damage and repair process in earthworm after in-vivo and in vitro exposure to soil irrigated by wastewaters[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 148(1): 141-147.
- [9] Sharma S K, Ramesh A, Sharma M P, et al. Microbial community structure and diversity as indicators for evaluating soil quality[J]. *Biodiversity, Biofuels, Agroforestry and Agriculture*, 2011, 5:317-358.
- [10] Romaniuk R, Giuffr  L, Costantini A, et al. Assessment of soil microbial diversity measurements as indicators of soil functioning in organic and conventional horticulture systems [J]. *Ecological Indicators*, 2011, 11(5): 1345-1353.
- [11] Gonzalez-quino nes V, Stockdale E A, Banning N C, et al. Soil microbial biomass-Interpretation and consideration for soil monitoring [J]. *Soil Research*, 2011, 49(4): 287- 304.
- [12] 刘占锋, 傅伯杰, 刘国华, 等. 土壤质量与土壤质量指标及其评价[J]. *生态学报*, 2006, 26(3): 901-910.
- [13] 唐玉姝, 魏朝富, 颜廷梅, 等. 土壤质量生物学指标研究进展[J]. *土壤*, 2007, 39(2): 157-163.
- [14] Hund K, Schenk B. The microbial respiration quotient as indicator for bioremediation processes[J]. *Chemosphere*, 1994, 28(3): 477-490.
- [15] Margesin R, Zimmerbauer A, Schinner F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities[J]. *Chemosphere*, 2000, 40(4): 339-346.
- [16] Riffaldi R, Levi -Minzi R, Cardelli R, et al. Soil biological activities in monitoring the bioremediation of diesel oil-contaminated soil[J]. *Water, Air and Soil Pollution*, 2006, 170(1-4): 3-15.
- [17] Hirmann D, Loibner A P, Braun R, et al. Applicability of the bioluminescence inhibition test in the 96-well microplate format for PAH -solutions and elutriates of PAH-contaminated soils[J]. *Chemosphere*, 2007, 67(6): 1236-1242.
- [18] Girotti S, Ferri E N, Fumo M G, et al. Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 608(1): 2-29.
- [19] Bhatt M, Cajthaml T,  a ek V. Mycoremediation of PAH contaminated soil[J]. *Folia Microbiologica*, 2002, 47(3): 255-258.
- [20] Yeates G W, Bongers T. Nematode diversity in agroecosystems[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1999, 74(1/3): 113-135.
- [21] 徐静圆, 戈振扬, 贺勇. 微生物—土壤污染生态学研究综述[J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(31): 10033-10034; 10039.
- [22] Maliszewska-Kordybach B, Smreczak B. Habitat function of agricultural soils as affected by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons contamination[J]. *Environment International*, 2003, 28(8): 719-728
- [23] Li X Z, Sarah P. Arylsulfatase activity of soil microbial biomass along a Mediterranean -arid transect[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, 35(7): 925-934
- [24] Shen G Q, Lu Y T, Zhou Q X, et al. Interaction of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals on soil enzyme[J]. *Chemosphere*, 2005, 61(8): 1175-1182.
- [25] 宫璇, 李培军, 张海荣, 等. 菲对土壤酶活性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2004, 23(5): 981-984.
- [26] 宫璇, 李培军, 张海荣, 等. 土壤的芘污染与土壤酶活性[J]. *农村生态环境*, 2004, 20(3): 53-55; 59.
- [27] 彭静静, 张又弛, 侯艳伟, 等. 炼油厂周边 PAHs 污染土壤中微生物群落结构多样性研究[J]. *生态环境学报*, 2011, 20(5): 962-965.
- [28] Nakatsu C H. Soil microbial community analysis using denaturing gradient gel electrophoresis[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2007, 71(2): 562-571.
- [29] Sverdrup L E, Ekelund F, Krogh P H, et al. Soil microbial toxicity of eight polycyclic aromatic compounds: Effects on nitrification, the genetic diversity of bacteria, and the total number of protozoans[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, 21(8):1644-1650.
- [30] Sverdrup L E, Krogh P H, Nielsen T, et al. Relative sensitivity of three terrestrial invertebrate tests to polycyclic aromatic compounds[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, 21(9): 1927-1933.
- [31] Prus-Glowacki W, Wojnicka-Poltorak A, Oleksyn J, et al. Industrial pollutants tend to increase genetic diversity: Evidence from field -grown European scots pine populations[J]. *Water, Air and Soil Pollution*, 1999, 116(1/2): 395-402.
- [32] Westergaard K, M ller A K, Christensen S, et al. Effects of tylosin as a disturbance on the soil microbial community[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33(15): 2061- 2071.
- [33] Cao L K, Shen G Q, Lu Y T. Combined effects of heavy metal and polycyclic aromatic hydrocarbon on soil micro-organism communities[J]. *Environmental Geology*, 2008, 54(7): 1531-1536.
- [34] 李秋玲, 凌婉婷, 高彦征, 等. 丛枝菌根对有机污染土壤的修复作用与机理. *应用生态学报*, 2006, 17(11): 2217-2221.
- [35] 郑乐, 刘宛, 李培军. 多环芳烃微生物降解基因的研究进展[J]. *生态学杂志*, 2007, 26(3): 449-454.
- [36] Kiyohara H. Degradation of phenanthrene through O-phthalate by an *Aeromonas* sp.[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1976, 40: 1075-1082.
- [37] Fidlej A, Dejong E, Costa G F. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by new isolates of white rot fungi[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58(7): 2219-2226.
- [38] 罗雪梅, 何孟常, 刘昌明. 微生物对土壤与沉积物吸附多环芳烃的影响[J]. *环境科学*, 2007, 28(2): 261-266.
- [39] 杨峰, 钟鸣, 白鹏, 等. 土壤中微生物对多环芳烃的降解及其生物修复的研究进展[J]. *辽宁农业科学*, 2011(4): 53-57.
- [40] 章俭, 夏春谷. 芳香烃双加氧酶的结构与功能研究[J]. *化学进展*, 2004, 16(1): 116-122.
- [41] 钟文辉, 何国庆, 孙明, 等. 假单胞菌的氯儿茶酚 1, 2-双加氧酶基因的克隆和表达[J]. *中国环境科学*, 2004, 24(2): 175- 179.
- [42] 周德平, 闵航, 夏颖, 等. 少动鞘氨醇单胞菌 ZX4 儿茶酚 2, 3-双加氧酶基因的克隆与序列分析[J]. *农业生物技术学报*, 2004, 12(2):192-196.
- [43] 曹启民, 王华, 郑良永, 等. 污染土壤的微生物修复机理及研究进展[J]. *华南热带农业大学学报*, 2006, 12(1) : 2933.
- [44] Dean R D, Moody J, Cerniglia C E. Utilization of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria isolated from contaminated sediment[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, 41(1): 1-7.
- [45] Zhu L Z, Zhang M. Effect of rhamnolipids on the uptake of PAHs by ryegrass[J]. *Environment Pollution*, 2008, 156(1): 46-52.