

盐渍化土壤中土著菌的石油烃降解潜力研究

王震宇¹, 赵建¹, 李锋民¹, Baoshan Xing^{1,2}, 高冬梅¹

(1. 中国海洋大学环境科学与工程学院海洋生态与环境教育部重点实验室, 山东 青岛 266100; 2. Department of Plant, Soil and Insect Sciences, University of Massachusetts, Amherst MA01003, USA)

摘要: 自盐渍化地区(黄河三角洲)采集4种不同石油污染程度的土壤样品,从中筛选出高效降解石油烃的4个菌系和8个单菌株。分别以原油、柴油、烷烃和多环芳烃(PAHs)为底物进行培养,测定降解菌的生物量和降解率,研究其对不同底物的耐受浓度和降解潜力。结果表明,获得的石油烃降解菌为轻度嗜盐菌;不同菌株对不同底物的耐受浓度不同,混合菌系对不同底物的降解能力强于单菌株,对单一组分底物的降解优于复杂组分的底物;单菌株I-2、3、5、7能较好地降解PAHs并且对原油的降解能力高于柴油,单菌株I-1、4、6、8能够利用烷烃且对柴油的降解能力要比原油高;降解菌对柴油和原油的最高降解率分别可达78.4%和70.7%,对正十六烷和菲的生物降解率分别高达87.7%和88.1%,表现出较强的降解能力。研究结果表明黄河三角洲盐渍化土壤中土著菌对石油烃污染土壤具有较强的生物修复潜力。

关键词: 盐渍化;石油污染;生物修复;土著菌

中图分类号: X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2009)07-1416-06

Petroleum Hydrocarbons Degradation Potential of Autochthonous Bacteria from Saline Soil

WANG Zhen-yu¹, ZHAO Jian¹, LI Feng-min¹, Baoshan Xing^{1,2}, GAO Dong-mei¹

(1. Key Laboratory of Ocean Ecology & Environment, Ministry of Education, College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Department of Plant, Soil and Insect Sciences, University of Massachusetts, Amherst MA01003, USA)

Abstract: 4 microbial communities and 8 isolates were obtained from 4 petroleum contaminated saline soil samples in Yellow River Delta, an important base of petroleum production in China. Their abilities to transform diesel oil, crude oil, n-alkanes and PAHs as well as their counts were monitored. The results showed that the obtained strains were slightly halophilic bacteria and different strains had different endurance and degradation characteristic to substrates. Biodegradation potential of microbial communities was stronger than individual isolates. Hexadecane and phenanthrene were easier to be biodegraded than mixed compounds, such as crude oil and diesel oil. Isolates of I-2, 3, 5, 7 could utilize PAHs well and had better abilities to utilize crude oil than diesel oil. I-1, 4, 6, 8 could utilize diesel oil better. The highest biodegradation rates of crude oil, diesel oil, hexadecane and phenanthrene were 70.7%, 78.4%, 87.7% and 88.1%, respectively. These data indicated that indigenous bacteria had great potential to degrade crude oil and would be applied in bioremediation of oil-contaminated saline soil.

Keywords: salinization; petroleum contamination; bioremediation; autochthonous bacteria

我国北部沿海水资源缺乏,土壤盐渍化严重^[1]。黄河三角洲是黄河百余年来冲积而成的新陆地,盐渍化土地面积占全区土地面积的一半以上,土壤含盐量最高可达3.5%,0.8%以上的重盐碱地约占1/4^[1-3],生

态环境独特而脆弱。同时黄河三角洲地区拥有丰富的油气资源,是我国第二大石油基地。这里油井分布广泛的同时污染也十分严重,一般井场污染范围在1 000~2 000 m²之间^[4]。随着石油的大规模勘探、开发、冶炼、运输和使用,污染、遗漏、井喷、输油管道泄漏等事故频发,造成土壤污染和植被破坏,严重威胁着黄河三角洲地区生态系统的安全。因此,深入了解黄河三角洲地区盐渍化条件下石油污染的特点,对该地区进行污染修复,恢复其生态功能迫在眉睫。

微生物降解是修复石油污染土壤的一种有效、经

收稿日期:2008-10-23

基金项目:国家科技支撑项目(2006BAC01A13);国家海洋局海洋溢油鉴别与损害评估技术重点实验室开放基金(200701);国家自然科学基金(50809065)

作者简介:王震宇(1969—),男,博士,教授,主要研究方向为污染环境的生物修复。E-mail: wang0628@ouc.edu.cn

通讯作者:高冬梅 E-mail: gaodongmei2002@yahoo.com.cn

济、环保的方法^[5-6],是石油烃类有机污染物去除的主要机制^[7-8]。土著微生物对受污染环境具有较强的适应能力,在石油去除中起关键作用,因此研究土著菌的降解潜力对成功地开展生物修复具有重要意义。利用土著微生物修复陆地和海洋生态系统的石油污染已有一些成功的实例^[9-11],如 Kishore Das 在石油污染土壤中得到高效降解石油的土著菌 *Bacillus subtilis* DM-04 和 *Pseudomonas aeruginosa* M,并成功应用于印度东北部石油污染的修复^[6]。但是在盐渍化或其他极端环境中传统的修复方法可能难以发挥作用^[12]。盐渍化土壤中土著微生物具有独特的耐盐机制,能够适应高盐环境,可能对修复盐渍化土壤的石油污染具有较高潜力^[13]。本研究从黄河三角洲地区土壤中分离耐盐的石油烃降解菌,研究这些土著降解菌对原油、柴油、烷烃和多环芳烃(PAHs)的降解潜力,为最终实现盐渍化土壤的生物修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

土壤样品采自黄河三角洲长期受石油污染的盐渍化地区。采样点 1 号和 2 号位于油井附近,3 号距离油井 200 m 外,4 号样品采自远离油井的农田。土壤样品的理化指标见表 1。

表 1 黄河三角洲土壤样品的理化性质

Table 1 Basic physical and chemical property of soils in Yellow River Delta

采样点	盐度/ g·kg ⁻¹	石油烃/ g·kg ⁻¹	碱解氮/ mg·kg ⁻¹	有效磷/ mg·kg ⁻¹	有机质/ %	pH
1	19.6	65	9.3	2.4	0.673	7.80
2	19.5	65	9.0	3.7	0.323	7.71
3	13.4	23	11.9	5.1	0.409	7.65
4	10.4	4.8	53.6	13.8	2.19	7.20

1.2 培养基

驯化培养基为高矿物盐基础培养基(MSM): K₂HPO₄ 1 g, KH₂PO₄ 1 g, (NH₄)₂SO₄ 1 g, NaCl 15 g, MgSO₄ 0.2 g, CaCl₂ 0.02 g, FeCl₃ 微量, 蒸馏水 1 000 mL, 121 ℃高压灭菌 20 min。

1.3 降解菌的驯化、富集、分离及其降解特性

将采集的 4 个土壤样品各取 5 g, 分别加入到 150 mL 已灭菌的液体 MSM 培养基中, 30 ℃振荡培养 5 d。取上清液以 10% 的接种量转接至 MSM 培养基中, 并加入 1 g 原油作为碳源进行振荡培养。每 10 d

转接 1 次, 每次适当增加原油的添加量, 共转接 8 次, 最终得到 4 个石油烃降解混合菌系。利用平板划线技术分离石油烃降解单菌株, 然后分别以烷烃(C16、C20、C24、C26)和 PAHs(萘、菲、蒽)为底物, 研究混合菌系和单菌株的降解特性。

1.4 降解菌对不同底物的降解作用

分别以柴油、原油、正十六烷和菲为底物, 比较各个菌系和单菌株对底物的降解能力。降解菌按照 1% 的接种量在无菌条件下接入到含有不同底物的 MSM 培养基中, 同时设置不加菌对照组, 30 ℃、120 r·min⁻¹ 振荡培养, 分别于 7 d 和 14 d 时取样, 测定底物含量和降解菌的生物量。

1.5 底物含量的测定和降解率计算

柴油的测定采用分光光度法^[14], 烷烃和 PAHs 采用气相色谱测定^[15], 原油以重量法测定^[16], 用对照组的降解率表示底物的自然降解(光解、挥发等)。降解菌对底物的生物降解率以试验组的降解率减去对照组的降解率表示。

样品重复 3 次, 数据统计分析采用软件 SPSS12.0。用 ANOVA(Student-Newman-Keuls 检验法)分析不同降解菌对底物的降解率。

1.6 总生物量的测定

在培养过程中每 7 d 取样测定微生物总量。样品离心、洗涤后以甲醛固定, 加入 1 mL 0.1% 的 DAPI 进行染色, 然后过 0.2 μm 聚碳酸脂微孔滤膜, 在荧光显微镜下观察, 细菌染色后会产生蓝色荧光, 随机选择 10 个视野计数, 进行总生物量的计算^[17]。

2 结果与讨论

2.1 石油烃降解菌的分离和降解特性

在高盐 MSM 培养基中经 80 d 的驯化富集, 得到 4 个石油烃降解混合菌系(编号为: C-1、C-2、C-3、C-4), 并从中分离出 8 株生长情况好的优势菌株(编号为: I-1、I-2、I-3、I-4、I-5、I-6、I-7、I-8)。对所有降解菌系和单菌株的降解特性进行分析, 结果表明 4 个混合菌系均能降解烷烃和 PAHs, 单菌株 I-1、4、6、8 只能利用烷烃, I-2、3、5、7 只能降解 PAHs(表 2)。由此可见, 混合菌系能够广泛降解石油烃的多种组分, 而单菌株只能降解几种同种类型的组分, 这可能和菌株单一性的酶系或基因类型有关^[8]。筛得的降解菌进行耐盐实验, 其生物量在 NaCl 浓度为 15~20 g·L⁻¹ 时最高, 根据嗜盐菌的分类标准^[17], 筛得的降解菌为轻度嗜盐菌。

表 2 4 个混合菌系和 8 个单菌株对不同石油组分的降解

Table 2 Different hydrocarbons carbon sources for 4 mixed bacterial communities and 8 individual isolates

降解菌	降解的石油组分
C-1	烷烃(C16、C20、C24、C26)、PAHs(萘、菲、蒽)
C-2	烷烃(C16、C20、C24、C26)、PAHs(萘、菲、蒽)
C-3	烷烃(C16、C20、C24、C26)、PAHs(萘、菲、蒽)
C-4	烷烃(C16、C20、C24、C26)、PAHs(萘、菲、蒽)
I-1	烷烃(C16、C20、C24、C26)
I-2	PAHs(萘、菲、蒽)
I-3	PAHs(萘、菲、蒽)
I-4	烷烃(C16、C20、C24、C26)
I-5	PAHs(萘、菲、蒽)
I-6	烷烃(C16、C20、C24、C26)
I-7	PAHs(萘、菲、蒽)
I-8	烷烃(C16、C20、C24、C26)

2.2 降解菌对柴油、原油、烷烃和 PAHs 的降解作用

表 3 显示,底物(柴油、原油、正十六烷和菲)初始浓度越高,C-1 对底物的降解率越低,但是生物量的变化与降解率并不一致。C-1 在柴油为底物的系统中培养 7 d,柴油浓度为 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时生物量最低($1.5 \times 10^7 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$),而在第 14 d 具有最高的生物量($1.2 \times 10^9 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$)。这说明降解菌对高浓度的柴油有一定的适应期,适应期过后,降解菌能较快地利用柴油作为生长必需的碳源和能源合成生命所需要的物质,因而具有较高的生物量。在原油为底物的系统中,在第 14 d 生物量仍然很低,这是因为原油成分复杂,高浓度的原油对微生物细胞有一定的毒性作用^[18],从而抑制了微生物的生长繁殖及其对原油的降解。与复杂成分的柴油和原油相比,C-1 在正十六烷和菲的系统对不同底物浓度都有高的生物降解率,生物量也有快速的生长。这说明 C-1 对这两种单一底物均具有很强的降解能力,且降解能力高于原油等复杂底物。

C-1 是从油井附近采集的土壤样品中筛选出来的混合菌系,其他混合菌系和单菌株在这些底物中的降解率和生物量也进行了测定。结果表明,混合菌系较单菌株对底物有更高的降解能力,对组分简单的底物的降解能力高于复杂底物。对于不同底物系统来说,菌株的生物量(总菌数)的变化与底物的降解率基本一致。当底物浓度较高时,底物对菌体会产生毒性作用,从而影响其生长繁殖及其对底物的降解。

2.3 降解菌对底物的耐受浓度

根据降解菌的降解能力和生物量的变化趋势可以推算出混合菌系和单菌株能够适应和降解的最大

表 3 C-1^a 对不同底物的降解率和降解过程的生物量Table 3 Metabolic capability to different substrates and increasing of cell counts of the microbial community C-1^a

底物	浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	生物降解率/%		生物量/ $\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$	
		7 d	14 d	7 d	14 d
柴油	1	68.9	77.6	2.7×10^7	6.9×10^8
	2	60.2	75.1	3.1×10^7	8.2×10^8
	3	35.8	72.4	1.5×10^7	1.2×10^9
原油	1	60.1	74.6	1.9×10^7	4.2×10^8
	2	53.9	70.7	2.5×10^7	7.0×10^8
	3	29.5	60.4	1.2×10^7	1.1×10^8
正十六烷 ^b	1	72.2	89.3	2.4×10^7	6.1×10^8
	2	68.4	85.7	2.9×10^7	7.7×10^8
	3	52.1	85.3	2.6×10^7	1.0×10^9
菲 ^c	0.5	68.2	89.0	2.8×10^7	7.4×10^8
	1	52.4	87.1	3.3×10^7	8.0×10^8
	2	40.9	80.6	2.1×10^7	1.2×10^9

注:^a表示对其他混合菌株和单菌株的降解能力和生物量也同样进行了测定。^b和^c分别表示降解菌以正十六烷(烷烃的代表物)和菲(芳香烃的代表物)为底物的降解率和生物量,其他的烷烃和芳香烃表中没有列出。

底物浓度。当底物浓度高于该浓度时,将对菌体产生抑制作用。

如表 4 所示,混合菌系 C-1~C-4 对各底物的耐受浓度均高于单菌株,对正十六烷和柴油的耐受浓度高于菲和原油。混合菌系表现出较强的耐受烷烃的能力,最大超过 3%,而柴油的主要成分是烷烃,这可能对柴油也具有较高耐受浓度的原因。单菌株 I-1、4、6、8 只能在烷烃中生存,I-2、3、5、7 只能在菲中生存,均表现出底物降解的专一性。I-1、4、6、8 对烷烃的耐受浓度也不同,I-4 的耐受浓度最高,大于 3%。同时,在 I-4 的培养过程中观察到底物乳化现象,产生表面活性剂类物质,增加了石油烃与菌体接触水平,提高石油烃的生物利用率^[19]。这可能是 I-4 等菌株对底物降解率和耐受浓度较高的原因之一。

许多研究表明,一种菌只能降解原油中有限几种成分,或者参与某种烃类降解的一个或几个步骤,大规模石油污染的消除需依靠不同微生物种群的协同代谢来完成^[9,20-21]。混合菌系中各种菌之间具有一定的协同作用,能够利用成分复杂的底物,表现出更强的适应性,这可能是混合菌系对组分众多的原油具有更强耐受浓度的原因。因此,大规模的石油污染修复需要微生物不同群落的协同作用来实现。另外,一些石油污染土壤中原油的局部浓度较高,可能超出微生物的耐受极限,还需要对降解菌进行进一步驯化并改善

表 4 各菌株适宜生长和降解的最大底物浓度(%)

Table 4 Maximal concentrations of substrates for bacteria adaptation and biodegradation(%)

底物	C-				I-							
	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	8
柴油	3	3	3	2~3 ^b	2	1~2	1~2	3	1~2	2	1	2
原油	2~3 ^a	2	2	2	2	1~2	1~2	2	1~2	2	1~2	2
烷烃	>3 ^b	>3	>3	3	3	- ^c	-	>3	-	3	-	2~3
菲	2	1~2	1~2	1	-	1	1~2	-	1~2	-	1	-

注:^a表示降解菌所能适应和降解的底物最大浓度在 2%~3%之间。^b表示降解菌所能适应和降解的底物最大浓度高于 3%。^c表示降解菌不能适应和降解该底物。

其降解条件。

2.4 不同菌株对底物的降解潜力

各混合菌系和单菌株在各自适宜的底物浓度下均能够很好地生长,发挥其降解潜力。分别在 2%的柴油、原油、正十六烷以及 1%的菲的底物系统中进行降解实验,于 14 d 时分别测定各底物浓度,计算各降解菌系和单菌株对底物的降解能力的差异(图 1)。图

1A 表明,混合菌系 C-1 对原油的降解能力最强,可达 70.7%,远远超过原油的自然损失(20%,包括光解、挥发、萃取损失等),但是 4 种混合菌系对原油的降解能力无明显差异。单菌株 I-1、4、6、8 对原油的降解能力比混合菌系稍弱,最高为 52.7%。I-2、3、5、7 最低并且没有明显差异,接近 30%。降解菌对柴油的降解特性与原油相似(图 1B),混合菌系的降解能力最强,达 78.4%,单菌株 I-1 比 I-4、6、8 稍强,I-2、3、5、7 最低,不到 20%。除 I-2、3、5、7 等不能降解正十六烷的菌株之外,各降解菌对正十六烷的降解率均较高(图 1C),最高达 86.7%。I-6 与 I-8 降解正十六烷的能力稍低,其余降解菌的降解能力无明显差异。同样,除 I-1、4、6、8,其余降解菌均对菲有较强的降解能力(图 1D),I-5 的降解率接近混合菌系,I-2 与 I-7 最低,但也达到 70%左右。

由此可见,混合菌系对各底物的降解能力均强于单菌株,在原油和柴油等复杂底物中差别尤为明显。这主要因为混合菌系较单菌株具有更快的适应能力和更高的耐受浓度。此外混合菌系中各菌株可以通过协同作用将复杂底物的不同成分降解的更充

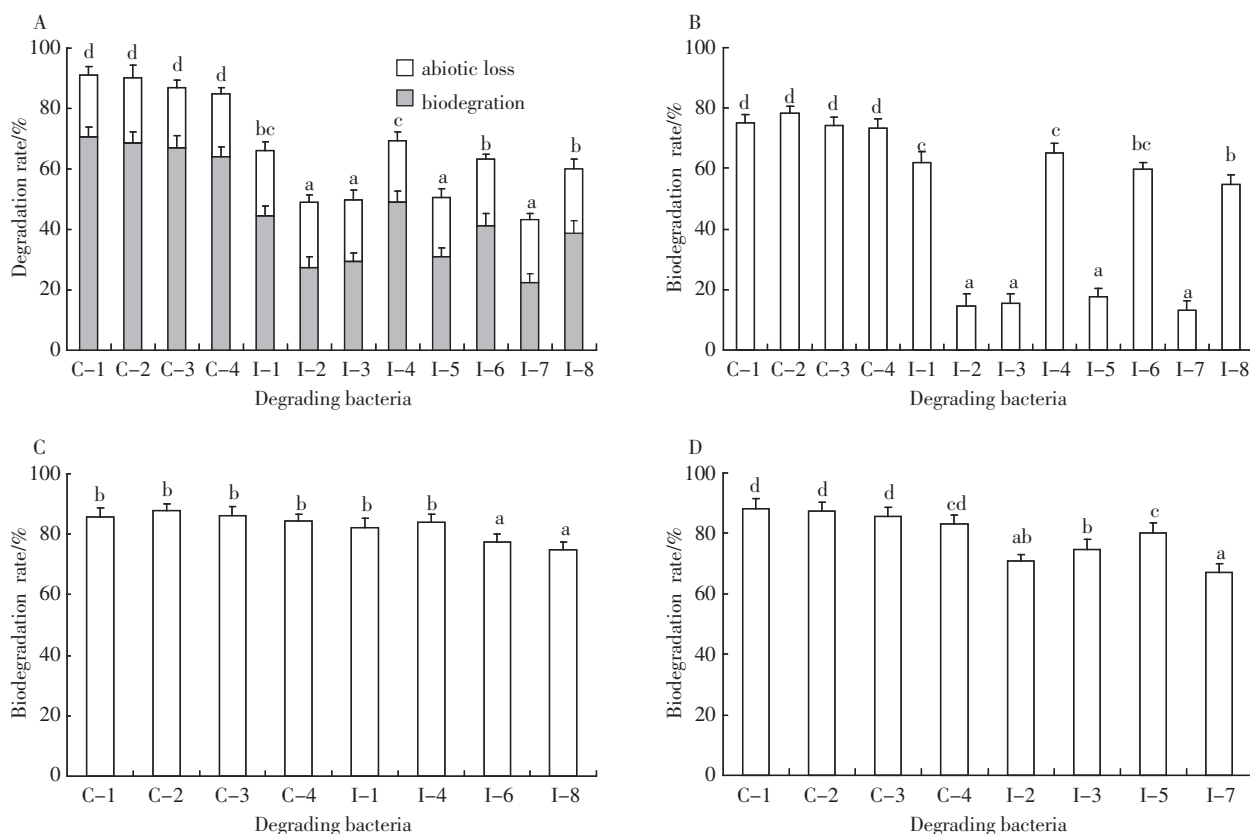


图 1 混合菌株和单菌株对 A 原油(2%)、B 柴油(2%)、C 正十六烷(2%)和 D 菲(1%)的降解

Figure 1 Biodegradation rates of crude oil A(2%), diesel oil B(2%), hexadecane C(2%) and phenanthrene D(1%) by bacterial communities and individual isolates

分^[22]。Rahman 等研究也表明混合菌系对原油的降解达到 78%,而单菌株最高只能达到 66%,最低只有 41%^[23]。因此混合菌系在石油烃类污染修复中具有重要意义。I-2、3、5、7 等菌株对 PAHs 的降解能力较强,对原油的矿化和降解速率也要高于柴油,这是因为原油中芳香族化合物的比率要远高于柴油。同样,I-1、4、6、8 更易于利用烷烃类物质(图 1C),所以对柴油的降解能力要比原油高。相对于原油和柴油等组分复杂的物质,混合菌系和单菌株对单一的化合物的代谢能力更强。

此外,4 种混合菌系对原油等底物的降解能力并无明显差异。这表明土壤污染程度只能影响降解菌的耐受浓度,对降解能力的影响不大。污染较重的土壤中降解菌的耐受浓度更高,数量更多,但是降解菌自身的酶系没有发生变化,因此降解能力并没有显著发生变化^[24]。

土壤环境影响微生物活性和酶活性,并对微生物群落产生影响^[17,25]。大多数的石油烃降解菌从陆地常规环境中得到,在高盐环境中的应用潜力很有限^[26]。本研究中降解菌来自长期石油污染的盐渍化土壤,这些土著菌对所处土壤环境有高度的适应性。同时,研究表明土著菌对原油的生物降解可达 70.7%,具有较高的降解潜力,对柴油的降解能力也比其他一些研究得到的菌株高^[27-28]。只有充分了解三角洲地区土著菌的降解潜力,才能更好得进行生物修复。此外,黄河三角洲盐渍化地区土壤中有有机质和 N、P 等营养元素缺乏(表 1),只有改善土壤营养水平才能使得土著菌的潜力得到最大发挥。以上这些研究结果可以作为盐渍化土壤石油污染生物修复的基础性研究,为最终实现黄河三角洲盐渍化土壤石油污染的生物修复提供理论依据。

3 结论

(1)获得 4 个混合菌系和 8 个单菌株,混合菌系对不同底物的耐受浓度和降解能力高于单菌株。各菌株属于轻度嗜盐菌。

(2)4 种混合菌系对原油的降解能力无显著差异。土壤污染程度主要影响降解菌的耐受浓度,对降解潜力影响不大。

(3)混合菌系对石油烃类物质都能高效降解,单菌株 I-2、3、5、7 可以高效降解 PAHs,对原油的降解能力高于柴油,I-1、4、6、8 能充分利用烷烃,对柴油的降解能力要比原油高。降解菌对柴油和原油的最高

生物降解率分别可达 78.4%和 70.7%,对正十六烷和菲的生物降解率分别高达 87.7%和 88.1%,表现了盐渍化环境下较强的生物修复潜力。

参考文献:

- [1] 郭焕晓, 马牧源, 孙红文. 中国北部沿海高盐度地区人工湿地植物研究[J]. 铁道工程学报, 2006(9):6-9.
GUO Huan-xiao, MA Mu-yuan, SUN Hong-wen. Research on plants of constructed wetland in salty seashore area at the north of China[J]. *Journal of Railway Engineering Society*, 2006(9):6-9.
- [2] 张建锋, 邢尚军, 孙启祥, 等. 黄河三角洲重盐碱地白刺造林技术的研究[J]. 水土保持学报, 2004, 18:144-147.
ZHANG Jian-feng, XING Shang-jun, SUN Qi-xiang, et al. Study on planting techniques of *nitraria sibirica* in Yellow River Delta region with worst salt-affected soils[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2004, 18:144-147.
- [3] 王红, 宫鹏, 刘高焕. 黄河三角洲多尺度土壤盐分的空间分异[J]. 地理研究, 2006, 25:649-657.
WANG Hong, GONG Peng, LIU Gao-huan. Multi-scale spatial variations in soil salt in the Yellow River Delta[J]. *Geographical Research*, 2006, 25:649-657.
- [4] 李凯峰, 温青, 夏淑梅. 石油污染土壤的生物处理技术[J]. 应用科技, 2002, 29(10):62-64.
LI Kai-feng, WEN Qing, XIA Shu-mei. Biological treatment of oil polluted soil[J]. *Applied Science and Technology*, 2002, 29(10):62-64.
- [5] Margesin R, Schinner F. Bioremediation (natural attenuation and biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(7):3127-3133.
- [6] Das K, Mukherjee A K. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98:1339-1345.
- [7] Kleinstaub S, Riis V, Fetzner I, et al. Population dynamics within a microbial consortium during growth on diesel fuel in saline environments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(5):3531-3542.
- [8] Churchill S A, Harper J P, Churchill P F. Isolation and characterization of a *mycobacterium* species capable of degrading three- and four-ring aromatic and aliphatic hydrocarbons[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(2):549-552.
- [9] Norman R S, Moeller P, McDonald T J, et al. Effect of pyocyanin on a crude-oil-degrading microbial community[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(7):4004-4011.
- [10] Vacca D J, Bleam W F, Hickey W J. Isolation of soil bacteria adapted to degrade humic acid-sorbed phenanthrene[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(7):3797-3805.
- [11] Leahy J G, Colwell R R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment[J]. *Microbiological Reviews*, 1990, 54(3):305-315.
- [12] Li H, Liu Y H, Luo N, et al. Biodegradation of benzene and its deriva-

- tives by a psychrotolerant and moderately haloalkaliphilic *Planococcus* sp. strain ZD22[J]. *Research in Microbiology*, 2006, 157:629-636.
- [13] 杨玉楠, 韩冬. 嗜盐菌强化石油污染土壤生物修复的可行性研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(增刊): 121-126.
- YANG Yu-nan, HAN Dong. Feasibility of bioremediation for contaminated soil by halophilic bacteria[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(Supplement): 121-126.
- [14] 田贞乐, 朱丽华, 吴映辉, 等. 气相色谱与紫外分光光度法评价石油烃类污染物的微生物降解过程[J]. 分析化学, 2006, 34(3): 343-346.
- TIAN Zhen-le, ZHU Li-hua, WU Ying-hui, et al. Evaluation of biodegradation of petroleum hydrocarbons pollutants by gas chromatography and spectrophotometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2006, 34(3): 343-346.
- [15] Antizar-Ladislao B, Lopez-Real J, Beck A J. Laboratory studies of the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soil by in-vessel composting[J]. *Waste Management*, 2005, 25: 281-289.
- [16] Sugiura K, Ishihara M, Shimauchi T, et al. Physicochemical properties and biodegradability of crude oil[J]. *Environmental Science Technology*, 1997, 31: 45-51.
- [17] Peyton B M, Wilson T, Yonge D R. Kinetics of phenol biodegradation in high salt solutions[J]. *Water Research*, 2002, 36: 4811-4820.
- [18] 宋玉芳, 宋雪英, 张薇, 等. 污染土壤生物修复中存在问题的探讨[J]. 环境科学, 2004, 25(2): 129-133.
- SONG Yu-fang, SONG Xue-ying, ZHANG Wei, et al. Issues concerned with the bioremediation of contaminated soils[J]. *Environmental Science*, 2004, 25(2): 129-133.
- [19] Das K, Mukherjee A K. Characterization of biochemical properties and biological activities of biosurfactants produced by *Pseudomonas aeruginosa* mucoid and non-mucoid strains isolated from hydrocarbon-contaminated soil samples[J]. *Applied Microbial and Cell Physiology*, 2005, 69: 192-199.
- [20] Frontera-Suau R, Bost F D, McDonald T J, et al. Aerobic biodegradation of hopanes and other biomarkers by crude oil degrading enrichment cultures[J]. *Environmental Science Technology*, 2002, 36: 4585-4592.
- [21] Lindstrom J E, Barry R P, Braddock J F. Long-term effects on microbial communities after a subarctic oil spill[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31: 1677-1689.
- [22] 管亚军, 梁凤来, 张心平, 等. 混合菌群对原油的降解作用[J]. 南开大学学报(自然科学), 2001, 34(4): 82-85.
- GUAN Ya-jun, LIANG Feng-lai, ZHANG Xin-ping, et al. Degradation of a mixed culture on oil[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis*, 2001, 34(4): 82-85.
- [23] Rahman K S M, Banat I M, Thahira J, et al. Bioremediation of gasoline contaminated soil by a bacterial consortium amended with poultry litter, coir pith and rhamnolipid biosurfactant[J]. *Bioresource Technology*, 2002, 81: 25-32.
- [24] Chaineau C H, Morel J, Dupont J, et al. Comparison of the fuel oil biodegradation potential of hydrocarbon-assimilating microorganisms isolated from a temperate agricultural soil[J]. *The Science of the Total Environment*, 1999, 227: 237-247.
- [25] 戴冬娟, 李广贺, 张旭, 等. 酸性土壤环境石油烃生物降解效应[J]. 环境科学, 2005, 26(3): 146-151.
- DAI Dong-juan, LI Guang-he, ZHANG Xu, et al. Effects of acid soils on the biodegradation of hydrocarbons[J]. *Environmental Science*, 2005, 26(3): 146-151.
- [26] Kapley A, Purohit H J, Chhatre S, et al. Osmotolerance and hydrocarbon degradation by a genetically engineered microbial consortium[J]. *Bioresource Technology*, 1999, 67: 241-245.
- [27] 徐金兰, 黄廷林, 唐智新, 等. 高效石油降解菌的筛选及石油污染土壤生物修复特性的研究[J]. 环境科学学报, 2007, 27(4): 622-628.
- XU Jin-lan, HUANG Ting-lin, TANG Zhi-xin, et al. Isolation of petroleum degradation bacteria and its application to bioremediation of petroleum-contaminated soil[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, 27(4): 622-628.
- [28] 赵瑞雪, 刘淑梅, 郑笑秋. 石油烃类的微生物降解[J]. 长春理工大学学报, 2006, 29(4): 100-102.
- ZHAO Rui-xue, LIU Shu-mei, ZHENG Xiao-qiu. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon[J]. *Journal of Changchun University of Science and Technology*, 2006, 29(4): 100-102.