

污染土壤生物修复中存在问题的探讨

宋玉芳^{1,2}, 宋雪英¹, 张薇¹, 周启星^{1,2}, 孙铁珩^{1,2}

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; 2. 沈阳大学环境工程重点实验室, 沈阳 110044)

摘要: 污染物生物修复过程中存在着若干问题, 其中包括引入外源微生物的条件与原则, 生物修复过程中微生物的适应性机制与影响因素研究; 污染物的浓度与生物修复之间的关系; 有机污染物降解过程中的次生污染物问题; 生物修复的现场放大技术; 污染物的淋溶过程; 对生物修复技术的生态毒理诊断与评价等. 本文旨在提高对生物修复过程中存在的重要科学问题的认识, 使生物修复技术的有效利用成为可能.

关键词: 生物修复; 土壤污染; 生态毒理; 污染物

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2004)02-0129-05

Issues Concerned with the Bioremediation of Contaminated Soils

SONG Yufang, SONG Xueying, ZHANG Wei, ZHOU Qixing, SUN Tieheng

(1. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; 2. Key Laboratory of Environmental Engineering, Shenyang University, Shenyang 110044)

Abstract: Several issues faced in the process of bioremediation were discussed in this paper, which are included as below: The principal and condition for the introducing of foreigner microbial; Mechanisms of suitability for microorganisms in the bioremediation process and the factors that influenced the degradation of pollutants; The correlations between the concentration of pollutants and their bioremediation; The secondary pollutants in the process of degradation of organic chemicals; The technology amplification of bioremediation technique on situ or / and in situ; The leaching process of contaminants; The Ecotoxicological diagnosis and evaluation for bioremediation technology and so on in order to enhance the realization for problems existed in the process of bioremediation and make it possible for more effective application of the bioremediation technology.

Key words: bioremediation; soil contamination; ecotoxicity; pollutants

社会经济迅猛发展的同时,造成了土壤和地下水污染的加剧,污染处理的问题日益突出^[1,2]. 对于土壤污染处理而言,传统物理及化学修复技术的最大弊端是污染物去除不彻底,导致二次污染的发生,从而带来一定程度的环境健康风险危害^[3,4]. 而生物修复技术主要是利用生物有机体,尤其是微生物的降解作用将污染物分解并最终去除,具有快速、安全、费用低廉的优点. 因此,被称为环境友好替代技术^[5,6]. 生物修复的成功运作并非简单易事,其中涉及到一系列科学问题. 虽然实验室研究得出很多令人鼓舞的结果,但是,在将实验室结果放大应用于土壤污染现场时,往往达不到预期的效果,有时甚至与实验室结果相驳^[4]. 研究证明,对污染土壤而言,恢复土壤原有的生态功能和状态是一个长期复杂的系统生态工程,其中包括一系列生态学问题. 如土著微生物对污染物降解需要一个适应过程,某些污染物对微生物具有毒害作用,土壤微生物对污染物的浓度和性质也有一定选择. 有机污染物的生物修复过程中还存在不同程度的次生代谢产物,其中有些代谢产物的毒性比其母体污染物的毒性更大,往往会

导致所处理土壤的生态毒性增强^[5-9]. 由此引发的另一个问题是如何对污染土壤的生物修复进行评价^[11-14]. 针对上述问题,本文拟从 7 个方面进行讨论,其中包括:引入外源微生物的条件与原则,微生物的适应性机制与影响因素研究;生物修复过程中污染物的浓度;有机污染物的次生代谢过程;生物修复的现场放大技术;污染物的淋溶过程;生物修复过程的生态毒理诊断. 旨在充分认识生物修复技术中的重要科学问题,加强对这些问题的深入研究,为生物修复研究成果最终转化为实用生物技术提出借鉴.

1 外源微生物引入的条件与原则

在生物系统中,污染物的降解在很大程度上受控于天然土著微生物的生物降解能力. 对于特殊污染点中特殊污染物的生物降解,外源微生物具有重

收稿日期:2003-04-24;修订日期:2003-06-20

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20077029,20277041,20225722);中国科学院沈阳应用生态所知识创新项目;沈阳生态站基金项目

作者简介:宋玉芳(1954~),博士,副研究员,主要研究方向为污染生态学.

要作用^[5]. 对此研究者进行了许多相关研究,旨在通过利用外源微生物来强化生物修复^[8]. 然而,对于外源微生物的接种须慎重. 在以下情况中可考虑引入外源接种: 现存的土著微生物不能降解土壤中的污染物,如有机污染物降解过程中的中间产物不能为土著微生物降解; 土壤中污染物浓度过高,对土著微生物有毒害作用而不能有效降解污染物; 土壤被污染后需要立即处理.

此外,在引入外源微生物时必须同时考虑以下几点: 外源微生物是否能够降解大部分目标污染物; 外源微生物的遗传稳定性如何; 外源微生物在环境中是否能快速生长并具有较高的酶活性; 外源微生物是否具有较强的与土著微生物生存生长竞争能力; 接种微生物是否无致病性且不产生有毒代谢产物等^[9].

对生物修复工程或技术而言,要使污染物的降解达到理想目标,掌握上述原则十分重要.

2 微生物的适应性机制与影响因素

预先暴露于污染环境中的微生物决定生物降解的速率. 这些微生物对有机污染物的氧化能力较强,这种现象被称为适应性^[15,16]. 微生物的适应性对分解环境中的污染物十分重要. 适应性的可能机制有3种: 特定酶的诱导和抑制; 基因突变产生新的代谢群体; 有机体的选择性富集.

许多研究证明,当微生物暴露于一种有机物中时,它不仅可以获得对该种有机物的适应性,同时对其它具有相似结构的有机物也具有适应性^[23]. 在预先暴露于某一污染环境后,降解该环境中特有污染物的微生物数量及它们占总异养微生物群体的比例将大大增加, Bauer 等曾将这种现象称为“交叉驯化”^[14]. Bauer 等认为这可能是该微生物种群对其它化合物的代谢具有广泛的活性或存在共代谢途径. 适应性不仅存在于单一的微生物群落中,也存在不同微生物群落之中. 一个群落可以降解部分污染物(或仅为第二个群落提供降解污染物的条件),第二个群落可以将第群落未完成的降解过程延续下来,最终实现完全降解的反应过程^[14,17]. 生物基因突变有多种可能性,微生物的适应性的机理也相当复杂,目前对微生物的适应性机理还不十分清楚. 对生物修复而言,微生物的适应性机制研究对污染物无害化生物降解具有重要指导作用.

土壤中有机污染物降解的难易度与降解速率受污染物结构特征、化学组成、浓度及环境条件等多种

因素影响^[18]. 对这些因素的了解与研究有利于对污染物降解行为的系统调控. 目前关于诸多因素与有机污染物降解之间的关系仍存在以下问题尚待研究^[19,20]. 例如,目前尚未完全了解有机污染物化学结构与微生物降解途径之间的关系; 不大清楚有机污染物的微生物降解过程及中间产物的关系,不大明了这些中间产物对生态系统可能产生哪些影响. 从机理上阐明上述问题可为生物修复技术的成功运作扫除障碍,并促进生物修复研究技术的全面开发,需要深入的科学试验研究与探讨.

3 生物修复过程中污染物的浓度

生物修复过程中,土壤中污染物的浓度对微生物降解能力有一定制约. 当污染物浓度过高时,生物降解的速率会受到影响,甚至对微生物产生毒性作用,阻止和减缓代谢反应的速度,以至使降解无法进行^[17]. 污染物的毒性及毒性作用机理因有毒物质的性质、浓度,以及对微生物的暴露方式不同而异. 在微生物降解过程中,如果有一个基本环节受阻,微生物细胞将停止正常的功能,这种堵塞可能来自细胞结构的损伤或来自代谢毒性物质的单一酶的竞争键合. 目前解决高浓度污染对生物降解影响的方式通常是进行稀释来降低污染物浓度,从而满足微生物降解的浓度要求. 当污染物浓度过低(但尚未达到环境质量安全标准)时,生物修复也难于顺利进行. 有2种说法对此做出解释: 微生物细胞内完成反应的调节机制不适合低浓度污染物的分解; 降解污染物的微生物种群在不合适的物质供应条件下丧失了基本的生存能力.

即使环境条件达到最佳状态,微生物在生理上对降解低浓度污染物也是无能为力,微生物的降解作用因此而停止^[17,21,22]. 因此,无法将污染物浓度减少到满足健康要求的水平. 低浓度污染物的生物降解是生物修复过程中面临的一个难题. 有研究者认为,当污染物浓度很低时,污染物将与微生物隔离^[23~25]. 这种现象可能在以下2种条件下出现: 当污染物溶解在非水相中时,非水相溶液会通过水流作用与水相完全隔离. 这时就可能出现有机污染物与微生物分离的情况. 当污染物强烈吸附在土壤颗粒表面或进入到土壤孔隙中时,也可能出现与微生物的隔离. 在上述情况下,几乎所有污染物都与固相或非水相相连或滞留在土壤孔隙中. 这时溶解在水相中的污染物浓度极低,导致降解率下降或产生零降解. 污染物的生物降解之所以停止或减缓,是

由于微生物不能利用极低浓度污染物,如果污染物的最终浓度不能满足清洁目标的要求,就需要采用其他辅助方法将污染物浓度减少到可接受的水平。研究表明,向生物修复介质中加入一些化学试剂可提高低浓度污染物的生物可利用性。增加表面活性剂可部分实现这一目的^[26,27]。当大量表面活性剂加入到处理水体时,表面活性剂分子就会聚集形成胶束。由于表面活性剂的增溶和乳化作用,将使有机污染物溶解到胶束中,并与进入胶束中的水一起迁移。然而,生物修复通常不会因污染物进入表面活性剂胶束而得到增强。原因是污染物在真正水相中的浓度并没有增加。此外,投加化学试剂不但会影响污染土壤的物理性质也会影响微生物的活性。生物表面活性剂也可以提高污染物的生物可利用性^[26]。在某些情况下,细菌自身可产生表面活性剂和配位基,通过控制细胞遗传能力,以及内部调节功能的改变等来增加污染物的移动性,使处理清洁更容易。

显然不论是化学表面活性剂还是生物表面活性剂,其目前的研究与开发水平还不能从根本上解决低浓度污染物的生物降解速率的问题,因此,需进一步的多方位研究,以求在理论和技术两方面的突破,使问题得到更好的解决。

4 有机污染物的次生代谢过程

目前有关污染物的微生物降解基本原理已十分清楚。但是,有关污染物的微生物代谢作用机理尚未搞清楚^[15,19,20]。生物修复过程中,由于诸多干扰因素的存在,微生物修复的成功运用十分复杂。很多情况下污染物并不能很快的被微生物完全降解,其结果是母体污染物浓度减少,中间代谢产物浓度增加。修复介质的整体污染状况没有得到根本的治理^[13,21]。研究表明很多情况下某些代谢中间产物的毒性大于母体化合物毒性^[11]。中间代谢产物的产生主要有 2 个原因。其一,是产生所谓空端产物。即污染物的附加代谢过程中产生的一种使细菌酶无法进行转化的产物。例如,在卤代苯酚的共代谢中,有时会生成有毒的空端产物,如(chlorocatechols)等化合物。其二,即使污染物被完全降解也伴随中间产物的生成,而以细菌为媒介的应对这类中间产物的降解速度缓慢。例如,在三氯乙烯的生物降解过程中,伴生一种致癌剂乙丙基氯化物。细菌能将三氯乙烯迅速地转化为乙丙基氯化物,但细菌对乙丙基氯化物的降解速度相当缓慢。同时乙丙基氯化物的毒害性质,很可能使微生物尚失降解功能。研究表明污染

物的次生代谢是一种普遍现象,污染物的不完全降解和次生污染问题是一种客观存在,是生物修复过程中较为复杂和棘手的问题,对此曾有很多报道。如 Ronald. F. Lewis 等人以生物泥浆反应器研究多环芳烃降解时发现次生代谢现象。当降解进行至一周后,有 2 个反应器中 4~6 环多环芳烃的降解率分别为 -79.11% 和 -10.75%^[28]。孙铁珩等人在研究石油和多环芳烃混合污染土壤生物降解过程中也发现萤葱的降解率在某一时间内为负值^[29]。宋玉芳等人在研究表面活性剂对多环芳烃降解影响时发现降解进行至 4 周后,检测土壤中萤葱的降解率为负值^[26]。Knock 等人也注意到由于不完全降解和降解过程中有毒物质的生成,使被修复土壤的毒性作用增强^[30]。Wilke 等人在以生态毒理方法评价土壤毒性时发现,一些经修复后被认为清洁的土壤,其生态毒性有时甚至比未经处理的污染土壤还强^[13]。一项成功的生物修复项目应确保代谢产物对人类健康的安全,在此过程不能产生有害的生态影响,修复后土壤的毒性大大减少。因此,次生污染问题应当成为生物修复研究的重要课题之一。

5 生物修复的现场放大技术

将实验室的研究成果推广到试验现场,存在技术放大问题。如微生物的降解效率问题,干扰因素的影响评估问题等^[13,14]。一般说来,实验室进行的微生物降解研究,大多是在很好的人为调控条件以单组分纯种微生物进行,反应过程通常在理想状态下发生,被干扰因素极少。因此很容易对结果做出解释^[26]。现场条件下污染物主要以混合物形式存在,污染物的降解是包括土著微生物在内的多种微生物联合作用的结果。而且现场条件下,干扰或促进生物降解的因素很多,实验室得出的所谓最佳条件在现场条件下很可能无法实施,或即使实施也得不到同样的结果^[23]。此外,对生物修复技术的现场放大除了微生物技术外,还涉及如环境工程、水利学、环境化学及土壤学等多种学科知识的支持与融合。对很多因果关系的解释同样复杂而无的放矢。生物修复技术的应用是一项复杂的系统工程。但是,一旦生物修复与各种技术的成果相结合,将产生巨大的效益,并具有乐观的应用前景。目前生物修复在国外西方发达国家普遍受到重视,并展示了乐观的应用前景。商业运作迅速增长,并成为近年来有害废物处理市场中增长速度最快的部分^[14]。例如,2000 年美国的生物修复市场占有额度为 5 亿美元/a^[18]。在欧洲,生

物修复技术也很受重视和欢迎. 大约有 30% 的污染采用生物修复技术处理^[31]. 目前有关污染的生物修复在我国尚处于蓬勃发展的研究时期, 生物修复技术受到了日益密切的关注, 但还没有进入工程实施阶段, 实际运作上还缺少实例. 由于生物修复技术的特殊性 & 场地异质性等, 生物修复技术在我国的应用与开发需要更为详细的基础工作铺垫.

6 污染物的淋溶过程

污染物对环境的影响与其运输转移及生物吸收与污染物的“生物有效性”有关^[20, 32]. 因此, 环境风险评价应以这些污染物由固态转化为溶解状态的滤出物为依据. 无机污染物与有机污染物的性质不同, 因此评价方法也不同. 有机污染物淋溶比无机污染物复杂得多. 在有机污染物的淋溶实验过程中, 污染释放机制与淋溶控制因素, 如溶解有机碳 (DOC) 与胶体的相互作用等尚未得到充分的研究^[20].

评价有机污染物的环境影响时, 淋溶是个关键性问题, 特别是对那些持久性有机污染物, 如高环多环芳烃 (PAHs) 和多氯联苯 (PCBs) 来说, 多数情况下它们的环境影响值与溶解有机碳和/或土壤胶体含量相关^[33]. 因此, 需要将研究重点放在土壤中溶解性有机碳 (DOC) 组分的行为, 与 DOC 相关的亚组分和性质 (如芳香度), 以及污染物与胶体的相互作用等方面^[18]. 就多环芳烃污染土壤的生物降解而言, 研究认为开始微生物最初降解低环多环芳烃组成, 然后降解高环多环芳烃, 在此过程中溶解性有机碳的降低与淋溶态的多环芳烃的水平相关. 最终, 可淋溶性组分的减少很可能大于污染物总成分的减少, 这一结果充分反映了污染物生物降解开始于简单污染物然后到复杂污染物的作用过程. 在净化和处理土壤和沉积物中有机污染物时, 使用淋溶实验来评价处理效果值得推广, 但目前有关的研究仍处于起步阶段, 很多细节尚不清楚.

7 生物修复过程的生态毒理诊断

污染土壤生物修复过程中, 目标污染物的减少并不总是意味土壤清洁度的提高, 不完全降解产生的中间污染物与难降解产物的滞留往往会给系统带来更大的安全隐患^[34~36]. 因此, 在土壤清洁技术研究与应用过程中, 需要将化学分析法与生态毒理方法结合进行土壤清洁终点的科学诊断^[12~14]. 在这一过程中, 土壤生态毒理诊断方法是必不可少的手段. 为此, 许多发达国家在土壤清洁技术项目建议书

中, 明确地将生态毒理诊断作为重要研究内容列入其中^[37]. 土壤污染的生态毒理诊断以生态系统中生物个体、种群和群落中有代表性的敏感种为诊断指标, 反映不同层次、不同食物链中的生物对污染的反应. 土壤污染需要不同营养级和不同食物链结构中多个生物有机体的敏感代表者联合判定, 从而完成土壤污染的生态毒理诊断.

目前, 土壤生态毒理诊断指标大体分为以下类别: 植物毒性试验, 如根伸长抑制试验、种子发芽试验和植物幼苗早期生长试验; 大型土壤动物试验, 如蚯蚓急性、亚急性和再生毒性试验; 小型土壤动物试验, 如陆生无脊椎动物试验; 微型土壤动物试验, 如土壤原生动物毒性试验; 土壤微生物试验, 如转基因工程微生物试验、发光菌试验和遗传工程菌实验等; 土壤栖息功能试验, 如土壤提取液试验; 特殊毒性试验, 如紫露草微核试验和蚕豆根尖微核试验等^[38, 39, 18, 22, 39~41].

这些指标分别代表了土壤生态系统中不同种群和群落各营养级水平生物对污染物的毒性响应与可能产生的生态毒性效应, 是方法建立的基本参数.

实现对不同程度、不同类型污染修复诊断的简单、快速和准确, 有效判别生物修复是否完全彻底, 是否安全无害, 任务十分艰巨. 仅仅通过已有的诊断方法远远不能满足对生物修复安全评价的诊断需求, 为此应更加注重以下方面研究: 诊断生物种的敏感性研究; 生态毒理诊断的生理、生化指标的筛选; 生态毒理诊断机理研究; 建立生物修复技术评价的生态毒理标准体系; (5) 建立生物修复技术相应的法律和法规, 保证诊断的法律效力和广泛的公众认可与实施.

8 结论

生物修复技术因其本身具有快速、高效、费用低廉的优点, 被称为是一种环境友好替代技术. 近年来该技术在国外显现出良好的开发前景, 在国内受到日益广泛的重视. 然而, 从科学的角度客观看问题, 生物修复技术本身是一项复杂的系统工程. 生物修复技术成功运用的前提是尽可能解决其中涉及的科学问题. 本文通过上述问题的分析, 提出了一些见解, 目的是增强对生物修复过程复杂性, 对污染物降解过程和降解机制的复杂性的认识, 以及对评价生物修复技术评价重要性的认识. 以便增强对开展相关重要科学问题研究的重视, 尽早实现生物修复研究的技术转化.

参考文献:

- [1] Jorgensen KS, Puustinen J, Suortti AM. Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting in biopiles [J]. *Environmental Pollution*, 2000, **107** (2): 245 ~ 254.
- [2] Pezeshki S R, Hester M W, Lin Q, Nyman J A. The effects of oil spill and clean-up on dominant US Gulf coast marsh macrophytes: a review[J]. *Environmental Pollution*, 2000, **108** (2): 129 ~ 139.
- [3] Pezeshki S R, DeLaune R D, Jugsujinda A. The effects of crude oil and the effectiveness of cleaner application following oiling on US Gulf of Mexico coastal marsh plants[J]. *Environmental Pollution*, 2001, **112** (3): 483 ~ 489.
- [4] Herkovits J, Perez-Coll C, Herkovits F D. Ecotoxicological studies of environmental samples from Buenos Aires area using a standardized amphibian embryo toxicity test (AMPHITOX) [J]. *Environmental Pollution*, 2002, **116** (1): 177 ~ 183.
- [5] Brian J R, Fermor T R, Semple K T. Induction of PAH-catabolism in mushroom compost and its use in the biodegradation of soil-associated phenanthrene [J]. *Environmental Pollution*, 2002, **118** (1): 65 ~ 73.
- [6] Haimi J. Decomposer animals and bioremediation of soils [J]. *Environmental Pollution*, 2000, **107** (2): 233 ~ 238.
- [7] Saponaro S. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Slurry Phase Bioremediation of a Manufacturing Gas Plant (MGP) Site Aged Soil [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2002, **135** (1 ~ 4): 219 ~ 236.
- [8] Wong J W C, Lai K M, Wan C K, Ma K K. Isolation and Optimization of PAH-Degradative Bacteria from Contaminated Soil for PAHs Bioremediation [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2002, **139** (1 ~ 4): 1 ~ 13.
- [9] Jackson W A, Pardue J H. Potential for Enhancement of Biodegradation of Crude Oil in Louisiana Salt Marshes using Nutrient Amendments [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 1999, **109** (1 ~ 4): 343 ~ 355.
- [10] M áquez-Rocha F J, Ma. V H R, Lamela T. Biodegradation of Diesel Oil in Soil by a Microbial Consortium [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2001, **128** (3 ~ 4): 313 ~ 320.
- [11] Carbonell G, Pabls M V. Rapid and cost-effective multi-parameter toxicity tests for soil microorganisms [J]. *The Science of total Environment*, 2000, **247** (2 ~ 3): 143 ~ 164.
- [12] Chang L W. Application of plant and earthworm bioassays to evaluate remediation of a lead-contaminated soil [J]. *Arch Environ Toxicol.*, 1997, **32**: 166 ~ 171
- [13] Wilke. BM. Project Organization Waster Management and Contaminated Site Reclamation [M]. Germany: Federal Ministry for Education, Science Research and Technology, 1997. 353 ~ 354.
- [14] Depledge M H. New approaches in ecotoxicology: Can inter-individual physiological variability be used as a tool to investigate pollution effects [J]? *Ambio*, 1990, **19**: 251 ~ 252.
- [15] Heitkamp M A, Cerniglia C E. Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbon by a bacterium isolated from sediment below an oil field [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, **54**: 1612 ~ 1614.
- [16] Spain J C. Effects of adaptation on biodegradation rates in sediment/ water cores from estuarine and freshwater environments [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1980, **40**: 726 ~ 734.
- [17] Fredrickson J K. In situ and on situ bioremediation [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 1993, **27** (9): 1711 ~ 1716.
- [18] Cone P. Increased retention of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils induced by soil treatment with humic substances [J]. *Environmental Pollution*, 2001, **112**: 27 ~ 31.
- [19] Kottler B D, Alexander M. Relationship of polycyclic aromatic hydrocarbons to sequestration in soil [J]. *Environmental Pollution*, 2001, **113**: 293 ~ 298.
- [20] Jason CW, Jason WK, Paul BH. Factors affecting sequestration and bioavailability of phenanthrene in soils [J]. *Environ. Toxicol. Chem.*, **16** (10): 2040 ~ 2045.
- [21] Rasul C G. Biological degradation and bioremediation of toxic chemicals [M]. Oregon: Dioscorides press Portland, 1994. 7 ~ 10.
- [22] Mueller J G, Lin J E R, Lantz S E. Recent developments in cleanup technologies [J]. *Remediation*, 1993, **4** (3): 369 ~ 381.
- [23] Macdonald A. Performance standards for in situ bioremediation [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 1993, **27** (10): 1974 ~ 1979.
- [24] Committee on in situ bioremediation. Water Science and Technology Board and Commission on Engineering and Technical Systems National Research Council. In situ bioremediation [M]. Washington DC: National Academy Press, 1993. 13 ~ 36.
- [25] Morgan P, Watkinson R J. Assessment of the potential for in situ biotreatment of hydrocarbon-contaminated soils [J]. *Waste Science and Technology*, 1990, **22**: 63 ~ 68.
- [26] 宋玉芳, 许华夏, 任丽萍. 表面活性剂 TW-80 对土壤中 PAHs 生物降解影响 [J]. *应用生态学报*, 1999, **10** (2): 230 ~ 232.
- [27] Perry J J. Microbial cooxidation involving hydrocarbons [J]. *Microbiol Rev.*, 1979, **43** (1): 59 ~ 72.
- [28] Ronald F Lewis. Site demonstration of slurry-phase biodegradation of PAH contaminated soil [J]. *Air & Waste*, 1993, **43**: 503 ~ 508.
- [29] 孙铁琦, 宋玉芳. PAHs 和矿物油植物修复调控研究 [J]. *应用生态学报*, 1999, **10** (2): 225 ~ 229.
- [30] Knoke K. A comparison of five bioassays to monitor toxicity during bioremediation of soil [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 1999, **110**: 157 ~ 169.
- [31] Overcash M. European soil remediation research: 1992 ~ 1994 [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 1996, **26**: 337 ~ 368.
- [32] Edwards DA, Luthy R G, et al. Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in micellar nonionic surfactants solutions [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 1991, **25**: 127 ~ 133.
- [33] Arulgnanendran VRJ, Nirmalakhandan N. Microbial toxicity in soil medium [J]. *Ecotoxicol Environ Saf.*, 1998, **39**: 48 ~ 56.
- [34] 宋玉芳等. 土壤重金属对小麦种子发芽与根伸长抑制生态毒性 [J]. *应用生态学报*, 2001, **12** (3): 350 ~ 355.
- [35] 宋玉芳等. 土壤重金属对萝卜种子发芽与根伸长抑制生态毒性 [J]. *生态学杂志*, 2001, **20** (3): 50 ~ 55.
- [36] Taub F B. Demonstration of pollution effects in aquatic microcosms [J]. *Intern. J. Environ Studies*, 1976, **10**: 23 ~ 33.
- [37] Rossel D. An ecological concept for assessment of side-effect of agrochemicals on soil microorganisms [J]. *Residue Rew.*, 1983, **86**: 65 ~ 105.
- [28] 青山勋. 生态系统中有毒物质的评价模式 [J]. *国外环境科学技术*, 1988, **1**: 10 ~ 14.
- [39] 段昌群, 王焕校. 重金属对蚕豆的细胞遗传学毒理作用和对蚕豆根尖微核技术的探讨 [J]. *植物学报*, 1995, **37** (1): 14 ~ 21.
- [40] Foetide E. Toxicological study of two novel pesticides on earthworm [J]. *Chemosphere*, 1999, **39** (13): 301 ~ 308.
- [41] Foulkes M. Toxicity of Copper in plants germination test with contaminated soils [J]. *Chemosphere*, 1997, **35** (7): 1567 ~ 1597.