

石油污染土壤的生态风险评价和生物修复

石油污染土壤的植物—微生物联合修复*

刘五星 骆永明[†] 滕 应 李振高 吴龙华

(中国科学院南京土壤研究所土壤环境与污染修复重点实验室,土壤与农业可持续发展国家重点实验室,南京 210008)

摘 要 在对石油污染土壤理化性质和微生物数量研究的基础上,通过接种含石油降解菌的菌剂、添加营养、定期翻动以及栽种植物等方式对其进行了修复。试验表明,添加氮磷等营养后,土壤中的烃降解菌明显增加,石油降解速率显著加快,但接种菌剂以及定期翻动对降解率没有显著影响。在修复试验进行到 120 d 后,对部分处理进行了植物修复。试验表明栽种狼尾草后,土壤中石油降解速率显著加快,生物毒性明显降低。另外,试验结束后对土壤中的总 DNA 进行了提取和基于 16S rDNA V3 区的 PCR-DGGE 研究。结果表明,经过修复处理改变了土壤中优势细菌的群落结构,使土壤细菌多样性增强。

关键词 石油;土壤污染;生物修复;微生物群落
中图分类号 X506 **文献标识码** A

目前,对于石油污染土壤的生物修复主要采用生物强化技术(Bioaugmentation)和生物刺激技术(Biostimulation)这两种方法。生物强化技术即通过投加具有石油降解能力的微生物到污染土壤中,从而加快土壤中污染物的降解。而生物刺激技术则是向石油污染的土壤中添加石油降解菌生长所需的氮磷等营养元素以及 H₂O₂、O₂ 等电子受体,刺激土著微生物的生长来达到增加土壤中微生物生物量和活性,从而加速石油降解的目的^[1]。因此,增加石油污染土壤中的微生物数量和生物活性,特别是石油降解菌的含量和活性是生物修复能否取得成功的关键。有研究表明植物根际的微生物在数量和种类上均与根外不同,R/S 值(根际与非根际微生物数值比值)高达几十,个别甚至上千(平板计数)。植物根系对土壤微生物的促进作用,一方面是因为植物根系为微生物提供了生存场所,并可转移氧气使根区的好氧作用正常进行;另一方面是根系分泌物可以为微生物提供大量营养,从而刺激根际各种菌群的生长繁殖^[2]。目前,利用植物根际效应修复有机污染物特别是多环芳烃(PAHs)类物质,已有广泛研究^[3~5]。然而,很少有人研究植物对高

含量石油污染土壤的生物修复。可能是由于土壤受石油污染后会使得孔隙度减少,透气性减弱,尤其是在石油类物质含量较高的地区,石油还能黏在植物根部形成一层黏膜,阻碍根部的呼吸和养分的吸收,使植物不能生长。

本文首先采用了不同的生物强化和生物刺激手段对石油污染土壤进行修复,以降低石油对植物的毒性,然后在此基础上栽种不同植物进一步研究植物对土壤中石油降解的影响。在进行生物修复试验的同时,还通过微生物计数、变性梯度凝胶电泳(DGGE)以及生物毒性试验等方法研究了生物修复过程中土壤微生物群落及生物毒性的变化。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试土样 取自南京近郊某炼油厂附近的耕层土壤(0~20 cm),土壤类型为潮土。经室温下阴凉处风干,过 2 mm 尼龙筛备用。采用常规方法分析土壤 pH、持水量(WHC)、水解氮、速效磷等基本理化性质^[6]。

* 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2002CB4108-9)资助

[†] 通讯作者, E-mail: ymluo@issas.ac.cn

作者简介:刘五星(1975~),男,湖北监利人,博士,主要从事环境微生物与生物修复方面的研究。E-mail: liuwuxin@issas.ac.cn

收稿日期:2007-02-13;收到修改稿日期:2007-04-25

1.1.2 含石油降解菌群的菌剂 石油降解菌群为本实验室富集,包含 *Pseudomonas* spp.、*Acinetobacter* spp. 等。选用以 1%的糖蜜为唯一碳源的 BH 培养基^[7],在 150 ml三角瓶中装入 30 ml培养基,接种 5%种子液,30、180 r min^{-1} 振荡培养 36 h。然后将培养液与灭菌后的玉米芯粉按照一定的比例混合制成菌剂。该菌剂含菌量为 $4.2 \times 10^9 \text{ cfu g}^{-1}$ 。

1.2 试验方法

1.2.1 盆钵试验设计 试验设置 5 个处理,3 个重复,每个处理装入供试土壤 1.5 kg。即:(1)对照 (CK);(2)翻动 (T),每 2 周定期翻动盆钵中的土壤,下面所有处理均包含该措施;(3)添加营养 (TN),按照质量比 C N P = 100 10 1 的比例添加尿素和 KH_2PO_4 ;(4)添加营养 + 接种 (TNI),除按照上述比例添加营养外,另按 10^8 cfu kg^{-1} 的量添加菌剂;(5)添加营养 + 接种 + 柠檬酸钠 (TNIC),营养与接种同处理 TNI,另加 0.1%的柠檬酸钠。以上所有处理均定期浇水保持土壤湿润。

其中修复试验进行至 120 d 时,在处理 TNI、TNIC 中,分别播种狼尾草和紫花苜蓿,继续进行植物修复。

1.2.2 土壤中含油量的测定 采用重量法^[8]测定土壤中的含油量。具体方法是:将 10 g 风干过筛的土壤与等体积的无水 Na_2SO_4 混匀,用称重的 K-D 瓶装入适量二氯甲烷 (DCM) 经索氏提取 24 h。然后将抽提液在减压旋转蒸发仪上减压蒸干,重新称量 K-D 瓶并计算土壤中含油量。

1.2.3 微生物数量测定 土壤经过梯度稀释后,采用稀释平板法^[9]测定其中细菌的数量;采用 MPN 法^[10]测定土壤中总烃降解菌和芳烃降解菌的数量。

1.2.4 土壤中总 DNA 提取及 PCR-DGGE 采用 FasDNA[®] SPN Kit for Soil 试剂盒提取土壤中总 DNA。具体方法参照文献 [11] 进行。细菌 16S rDNA 基因的 V3 区片段扩增以及随后的

DGGE,参照文献 [12] 描述的方法。电泳结束后使用 SYBR Green 染色,染色结果用凝胶成像系统成像,并利用 Quantity One 4.4 软件 (Bio-Rad) 进行图像分析。

1.2.5 土壤生物毒性分析 (1)土壤二氯甲烷 (DCM) 浸提液。称 5.0 g 过 2 mm 筛的风干土样,用适量 DCM 索氏提取 24 h,减压旋转浓缩至 5 ml,加入 5 ml 二甲基亚砜 (DMSO),然后将该混合物继续浓缩至 5 ml 备用。(2)生物毒性测定与计算。利用明亮发光细菌 T3 (*Photobacterium phosphoreum* T3) 测定,具体方法参照 Jacob 等^[13]。毒性计算:将样品的发光输出 (mV) 除以对照样的发光输出为相对发光强度 T3 (以 % 表示),然后求出样品毫克数与相对发光度之间的方程,用样品的 EC_{50} (抑制发光细菌 50% 发光强度的风干土壤毫克数) 表征样品的毒性。

1.3 数据处理

采用 DPS 3.01 专业版软件进行统计分析,其中多重比较采用 Turkey 法。

2 结果与讨论

2.1 土壤含油量与基本理化性质

由表 1 可知,试验所采用的潮土中含油量高达 15.4 g kg^{-1} ,明显高于临界值 500 mg kg^{-1} 。Graham 等^[14]的研究表明,降解石油的细菌细胞化学组成可以用 $\text{C}_{106} \text{H}_{180} \text{O}_{45} \text{N}_{16} \text{P}_1$ 表示,因此石油污染土壤生物修复的最佳可生物利用的 C N P = 100 15 1 (摩尔比)。由于供试土壤含油量较高,因此土壤中碳含量相应很高,对比微生物降解所需最佳 C、N、P 比例,土壤中生物可利用的 N、P 元素严重不足,因此在进行石油污染土壤修复时需要添加相应营养元素来满足土壤中微生物的营养需求,增强土壤微生物活性,从而加快石油的分解。

表 1 供试土样的基本理化性质与其中的菌含量

Table 1 Bacterial biomass and physico-chemical properties of the soils

含油量 Oil content (g kg^{-1})	pH (H_2O)	持水量 Water holding capacity (%)	水解氮 Hydrolysable N (mg kg^{-1})	速效磷 Available P (mg kg^{-1})	细菌 Bacteria (cfu g^{-1})	总烃降解菌 TPH degraders (MPN g^{-1})	芳香烃降解菌 PAHs degrader (MPN g^{-1})
15.4	7.55	40.21	84.20	3.78	7.9×10^7	4.5×10^6	3.0×10^5

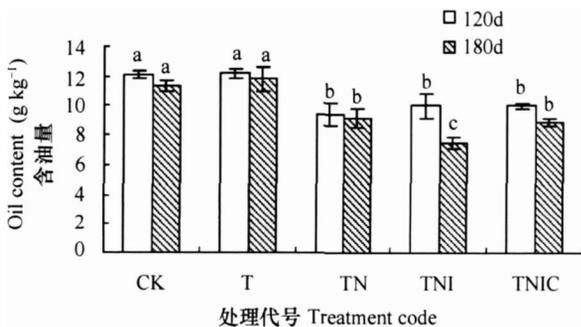
2.2 修复过程中土壤的含油量变化

经过 120 d 的生物修复,各处理土壤中的含油量见图 1。结合处理方式和土壤中的含油量可以看出,仅添加营养对该土壤中石油降解具有明显促进

作用 ($p < 0.05$),其余的处理均对其降解没有显著影响。可能原因是,该土壤长期受石油污染导致其中石油烃降解菌较多 (表 1),但由于土壤中营养元素相对缺乏,导致细菌代谢能力较弱。经过添加营

养处理后,土著微生物活性被激发,从而在生物修复过程中起到主要作用。而在土壤中存在大量土著石油降解菌情况下,外加的菌剂可能不适宜该土壤环境,因此不能明显促进石油降解。虽然氧气是决定石油降解速率的重要因子,但是可能由于试验所采用的盆钵较小(1.5 kg盆⁻¹),氧气还未成为限速因子,因此翻动盆钵中的土壤并没有显著促进其中油的降解。另外,尽管有研究表明在摇瓶培养时柠檬酸钠能促进石油降解菌分泌表面活性剂,从而加快对石油的降解^[7],但由于摇瓶环境与土壤环境相差巨大,在本研究中柠檬酸钠的效果不显著,原因还有待进一步研究。

由于本试验所用的石油污染土壤中最初的含油量高达 15.4 g kg⁻¹,植物在其中不能生长。随着修复试验的进行,土壤的生物毒性逐渐降低。另外,由于经过前期的修复,处理 TN 和 TNIC 中的油含量几乎相等。因此,待试验进行至 120 d 后,在处理 TN 和 TNIC 中分别播种狼尾草和紫花苜蓿,以研究植物对土壤中的微生物群落及石油降解的影响。60 d 后测定各处理中的含油量的变化并进行显著性分析。从直观上看,紫花苜蓿的生长受到了较强的抑制,但狼尾草生长较好。结果显示(图 1)栽种狼尾草和紫花苜蓿的处理中的含油量分别在 120 d 的基础上下降了 25% 和 10.71%,使土壤中的最终含油量达到 7.5 g kg⁻¹ 和 8.9 g kg⁻¹。而未种植物的处理 CK、T 和 TN 中含油量经过 60 d 仅分别降低 6.36%、3.28%、2.00%。统计分析表明,狼尾草显著促进了石油污染土壤中油的降解($p < 0.05$),但紫花苜蓿的影响不显著。可能与两种植物对石油的耐受性不同有关。对于植物促进土壤中有有机物污染物分解的机理, Schnoor 等^[15]认为植



小写字母不同时,在 0.05 水平下显著 Different low case letters on top of the pairs of columns stand for significant difference at 0.05

图 1 生物修复不同时期各处理中的含油量

Fig. 1 Oil contents in the soil at 120 d and 180 d

物根系的有些分泌物可以作为微生物天然的共代谢底物,促进污染物的降解。此外,根系可以生长到不同层次的土壤中,故无需混合土壤即可使降解菌分散在土壤中^[16]也是原因之一。

2.3 生物修复过程中土壤中总烃降解菌和芳烃降解菌的变化

供试土壤中总烃降解菌为 4.5×10^6 MPN g⁻¹,说明经过长期污染,促进了土壤中总烃降解菌的生长繁殖,菌量较高。从图 2 和图 3 可以看出,不同处理的盆钵中总烃降解菌随时间变化较大。总体看来,处理 CK 和 T 的变化规律较为相似,处理 TN、TNI 和 TNIC 较为相似。从总烃降解菌菌量变化曲线上可见,在修复前期(0~30 d)土壤中的降解菌菌量明显上升,尤其是在添加了营养的处理 TN、TNI 和 TNIC 中总烃降解菌量增加了 2 个数量级,随后总烃降解菌数量不断降低。至 120 d 后,由于处理 TNI、TNIC 中分别播种了狼尾草和紫花苜蓿,这两个处理中总烃降解菌和芳烃降解菌数量迅速增加。可能由于狼尾草耐油性较强、生长较好的缘故,其土壤中总烃降解菌菌量较紫花苜蓿处理中的高。而其余 3 个处理中的菌量基本上没有变化。由于芳烃降解菌和总烃降解菌的变化规律基本一致(图 1 和图 2),因此本文不作详细讨论。结合不同处理中芳烃降解菌和总烃降解菌的变化规律和其中的含油量可以看出,由于根际效应的影响,处理 TNI 和 TNIC 中的总烃降解菌和芳烃降解菌大量增加,因而也加快了土壤中油的降解。

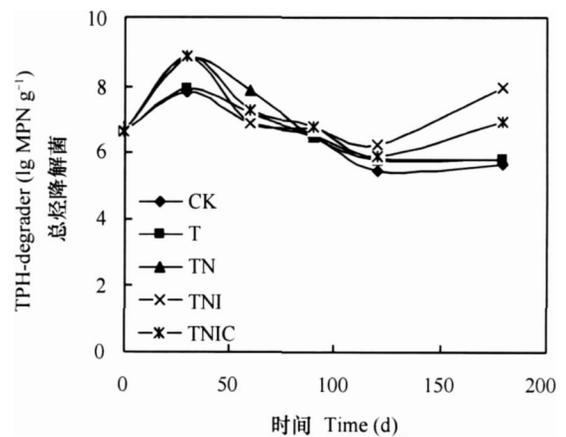


图 2 土壤中总烃降解菌在修复过程中的变化

Fig. 2 Changes in TPH-degrader in the soil during bioremediation

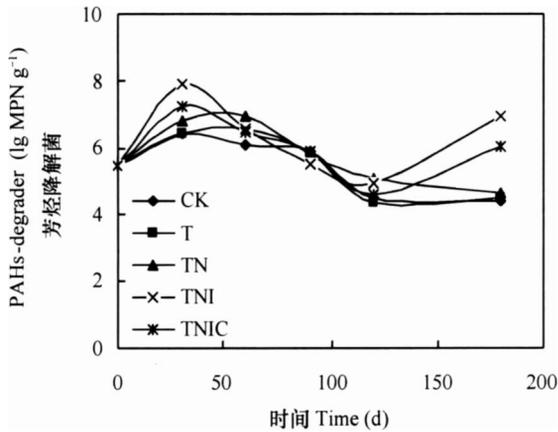


图 3 土壤中芳烃降解菌在修复过程中的变化

Fig. 3 Changes in PAHs-degrader in the soil during bioremediation

2.4 土壤微生物群落 PCR-DGGE分析

鉴于不同处理中油降解率差异,使用 PCR-DGGE技术对经过 180 d 修复后,处理 CK、TN、TN I 和 TN IC 土样中的细菌多样性进行了分析。从电泳图(略)可以看出 4 个处理的共 12 个样品扩增的 DNA 片段均在 230 bp 左右,正是 16S rDNA V3 区的 DNA。在得到 16S rDNA V3 区的 PCR 扩增产物后,对之进行了 DGGE 试验。DGGE 指纹图谱见图 4 (图中泳道 1、2、3 代表处理 CK 的 3 个平行,4~9 泳道依次代表处理 TN、TN I 和 TN IC 的 3 个平行)。通过对不同处理 DGGE 的 DNA 条带进行分析,发现处理 TN、TN I 和 TN IC 中的 DNA 条带明显多于 CK。特别是处

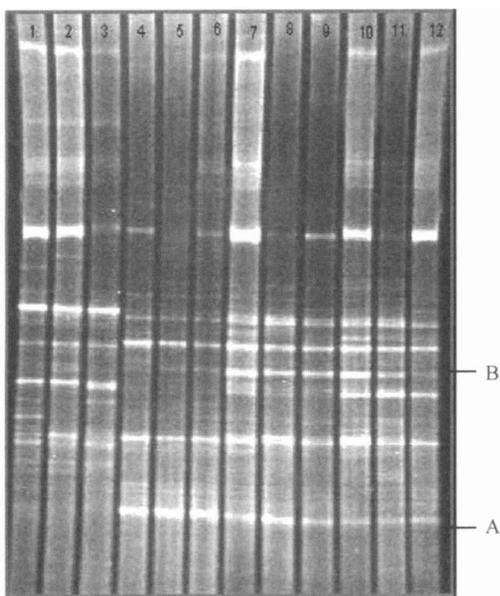


图 4 不同处理土样 DGGE 分离图谱

Fig. 4 DGGE analysis of soil samples different in treatment

理 TN I、TN IC 的 DNA 条带在 20 条左右,而作为对照的处理只有 15 条左右。另外,相对于对照,在采取了相应修复措施的另外 3 个处理(4~12 泳道)中明显多出了条带 A。由于处理 TN I 中并未加入菌剂,因此可以认为添加营养元素促进了土壤中该特定细菌的大量增殖。从前文所述的各处理的油降解率可以推断,该菌可能具有较强的石油降解性。但对于该条带所对应细菌的具体分类地位及作用还需通过测序等工作加以证实。此外,相对于只添加营养的处理 TN,在 DGGE 图上处理 TN I、TN IC 中出现了一个明显条带 B,可推断是由于植物根际效应引起。

在对 DGGE 条带直观分析的基础上,进一步利用 URMAG 算法对 DGGE 的 12 个泳道进行了族群划分,得到树形图(图 5)。从图 5 可以看出,该试验 4 个处理的 12 个样本可分为 2 个族群,对照处理的样品(1~3 泳道)为一个族群,另外 3 个处理的 9 个样品(4~12 泳道)为另一族群。两族群间相似性为 0.49。两个族群在处理上的差别在于一个群中添加了营养而另一个群没有,这表明营养物的添加对土壤细菌群落组成具有明显的影响。第二个族群可以进一步划分为两个亚群,处理 TN 的 4~6 泳道和处理 TN I、TN IC 的 7~12 泳道分属于两个亚群。这说明植物对土壤微生物多样性也具有较大的影响。根据 DGGE 的原理,不同细菌的 16S rDNA 片段由于其碱基组成的差异导致电泳时泳动速率的不同,从而在凝胶上得

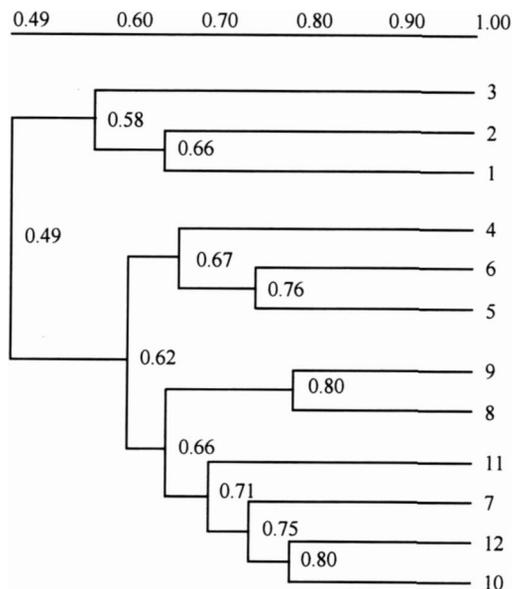


图 5 不同处理土样 DGGE 树形图

Fig. 5 Dendrograms of hierarchical cluster analysis of soil samples different in treatment

以分开。因此,基于 16 S rDNA V3区的 PCR-DGGE 图谱,反映了土壤中包含可培养与不可培养的占优势的细菌群落结构。但是,需要指出的是由于各种因素影响,实际可能存在偏差^[17,18]。

2.5 经过不同处理后土壤的生物毒性

由于试验所用的土壤中主要污染物为不溶于水的石油类物质,因此利用通常用来提取有机物的溶剂 DCM 进行抽提。又由于 DCM 对发光细菌具有强毒性,因此在用 DCM 提取后,再在提取物中加入对发光细菌低毒的 DMSO,然后通过旋转蒸发去除 DCM,以获得 DCM 提取物的 DMSO 溶液。以 DMSO 为对照,以不同浓度的 DMSO 溶液进行毒性试验,计算出修复前后不同处理土壤的 EC₅₀ (抑制发光细菌 50% 发光强度的风干土壤毫克数)。由图 6 可知,经过 180 d 的处理,5 个处理的土壤对发光细菌的 EC₅₀ 值相对于修复前土壤 (BR) 显著增加 ($p < 0.01$)。结合前文的结果可以看出,各处理土壤的生物毒性大小与其中的含油量高低呈负相关,其中处理 TN 土壤中土壤对 *P. phosphoreum* T3 的生物毒性最低。

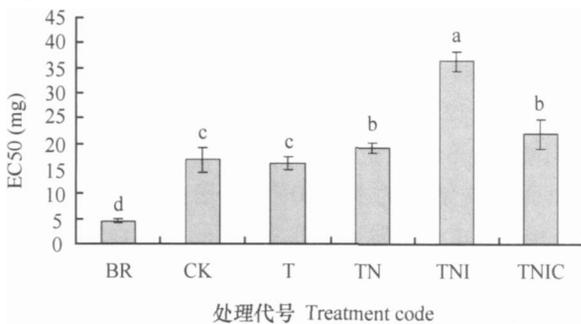


图 6 经不同处理后的石油污染土壤生物毒性

Fig. 6 Bio-toxicity of petroleum-contaminated soils different in treatment

3 结 语

本文首先研究了在石油污染土壤中接种含石油降解菌的菌剂、添加营养物以及定期翻动等方式对其中石油降解效率的影响。结果表明,石油污染土壤中 N、P 等营养元素严重缺乏,添加 N、P 营养元素后土壤中的总烃降解菌明显增加,石油降解速率显著加快,但其他处理对石油降解没有明显影响。经过一段时间的修复,土壤的生物毒性有所降低,此时通过栽种狼尾草、紫花苜蓿对其进行植物修复。试验表明栽种狼尾草后,土壤中的微生物种类

和烃降解菌数量显著增长,石油降解速率明显加快。最终,该处理土壤中含油量由 15.4 g kg^{-1} 降低至 7.5 g kg^{-1} ,且生物毒性也有极显著降低。此外,应用 PCR-DGGE 技术对不同修复处理土壤中的微生物多样性及群落结构进行了分析。发现在石油污染的土壤中添加 N、P 营养、栽种植物后,其中的微生物群落结构发生了显著变化,多样性也有所增加。

参 考 文 献

- [1] 刘五星, 骆永明, 滕应, 等. 石油污染土壤的生物修复研究进展. 土壤, 2006, 38 (5): 634 ~ 639. Liu W X, Luo Y M, Teng Y, et al Advances and prospects in bioremediation of petroleum contaminated soil (In Chinese). Soils, 2006, 38 (5): 634 ~ 639
- [2] 张福锁, 曹一平. 根际动态过程与植物营养. 土壤学报, 1992, 29 (3): 239 ~ 250. Zhang F S, Cao Y P. Rhizosphere dynamics and plant nutrition (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 1992, 29 (3): 239 ~ 250
- [3] 丁克强, 骆永明, 刘世亮, 等. 黑麦草对土壤中苯并[a]芘动态变化的影响. 土壤学报, 2004, 41 (3): 348 ~ 353. Ding K Q, Luo Y M, Liu S L, et al Dynamics in benzo[a]pyrene concentrations in soil as influenced by ryegrass plants (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2004, 41 (3): 348 ~ 353
- [4] Erickson D C, Loehr R C, Neuhauser E F. PAH loss during bioremediation of manufactured gas plant site soils. Water Res, 1993, 27 (5): 911 ~ 919
- [5] Zhang X X, Cheng S P, Zhu C J, et al Microbial PAH-degradation in soil: Degradation pathways and contributing factors. Pedosphere, 2006, 12 (2): 151 ~ 156
- [6] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999. 107 ~ 240. Lu R K Analytical Methods of Soil and Agr-Chemistry (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999. 107 ~ 240
- [7] 刘五星, 骆永明, 滕应, 等. 石油污染土壤的生态风险评价和生物修复——一株具有乳化能力的石油降解菌分离与鉴定. 土壤学报, 2006, 43 (3): 461 ~ 466. Liu W X, Luo Y M, Teng Y, et al Eco-risk & bioremediation of petroleum contaminated soil. Isolation and identification of petroleum-emulsifying bacteria (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2006, 43 (3): 461 ~ 466
- [8] Sugiura K, Ishihara M, Harayama S T. Physicochemical properties and biodegradability of crude oil. Environ Sci Technol, 1997, 31: 45 ~ 51
- [9] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验. 北京: 高等教育出版社, 1989. 69 ~ 74. Shen P, Fan X R, Li G W. Experiment of Microbiology (In Chinese). Beijing: Higher Education Press, 1989. 69 ~ 74
- [10] Wrenn B A, Venosa A D. Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by a most-probable-number procedure. Canadian Journal of Microbiology, 1996, 42: 252 ~ 258
- [11] 滕应, 骆永明, 赵祥伟, 等. 重金属复合污染农田土壤 DNA 的

- 快速提取及其 PCR-DGGE 分析. 土壤学报, 2004, 41 (3): 343 ~ 347. Teng Y, Luo Y M, Zhao X W, *et al* Rapid extraction and purification of DNA in farmland soils contaminated with mixed heavy metals for PCR-DGGE analysis (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2004, 41 (3): 343 ~ 347
- [12] Muyzer G, Waal E C, Uitrindlen A G Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. Appl Environ Microbiol, 1993, 59 (3): 695 ~ 700
- [13] Jacob G B, Graeme I P, Colin D C, *et al* Combined microbial community level and single species biosensor responses to monitor recovery of oil polluted soil Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36: 1 149 ~ 1 159
- [14] Graham D W, Smith V H, Law K P. Effects of Nitrogen and Phosphorous Supply on Hexadecane Biodegradation in Soil Systems, Water Air and Soil Pollution Washington: Kluwer Academic Publishers, 1999. 1 ~ 18
- [15] Schnoor J L, Licht L A, McCutcheon S C, *et al* Phytoremediation of organic and nutrient contaminants Environ Sci Technol, 1995, 29 (7): 318 ~ 323
- [16] Romantschuk M, Sarand I, Petanen T, *et al* Means to improve the effect of in-situ bioremediation of contaminated soil: An overview of novel approaches Environmental Pollution, 2000, 107 (3): 179 ~ 185
- [17] Sekiguchi H, Tomikita N, Nakahara T, *et al* A single band does not always represent single bacterial strains in denaturing gradient gel electrophoresis analysis Biotechnology Letters, 2001, 23 (21): 1 205 ~ 1 208
- [18] Jackson C R, Roden E E, Churchill P F. Denaturing gradient gel electrophoresis can fail to separate 16S rDNA fragments with multiple base differences Mol Biol Today, 2000, 1 (2): 49 ~ 51

ECO-RISK ASSESSMENT AND BIOREMEDIATION OF PETROLEUM CONTAMINATED SOIL . PHYTO-MICROBIAL REMEDIATION OF PETROLEUM CONTAMINATED SOIL

Liu Wuxing Luo Yongming[†] Teng Ying Li Zhengao Wu Longhua

(Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture,
Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract A microcosmic experiment was carried out to evaluate effects of nutrients, citrate, tillage and special inocula on bioremediation of petroleum contaminated soils Results show that indigenous microbial population, especially hydrocarbon-degrader, and petroleum removing rate increased significantly with addition of nutrients But inoculation, addition of citrate and tillage did not show much effect on degrading rate After 120 days of remediation, pennisetum and alfalfa were planted to study their effects on petroleum degradation, and results show that pennisetum significantly increased petroleum removal rate In addition, denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) was used to study biodiversity of the bacteria in the soil after bioremediation The profiles of PCR-DGGE revealed differences in microbial community structure between treatments and a higher level of bacterial diversity in treated soils than in the control as was estimated by counting the total number of bands visualized

Key words Petroleum; Soil contamination; Bioremediation; Microbial community