

施用生物菌剂对油水淹地污染土壤的修复研究

王铁媛¹, 窦森^{1*}, 胡永哲¹, 王呈玉¹, 刘录军², 林琛茗¹

(1. 吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130118; 2. 吉林油田公司扶余采油厂, 吉林 松原 138000)

摘要:从油水淹地污染土壤中获得石油降解菌, 筛选出产表面活性剂降解菌 1 株(H-6)和优势菌 6 株(H-1、H-17、H-18、H-19、H-20、H-23), 以 H-6 为中心, 再任选 3 株优势菌株构建菌群, 最终得到高效石油降解菌群 C5(H-1、H-6、H-18、H-19), 以秸秆为载体将 C5 菌群制备成固体生物菌剂(MA), 通过室内培养试验和田间试验测定油水淹地污染土壤的石油含量、盐碱性指标及微生物性质, 探究 MA 菌剂对油水淹地污染土壤的修复情况。室内培养试验和田间试验结果表明, 污染土壤中石油的降解效果都很显著, MA 菌剂中的细菌具有嗜盐菌的特征, 使污染土壤的 pH、电导率、全盐量、钠吸附比(SAR)和总碱度(TA)显著低于未添加菌剂处理, 添加菌剂后污染土壤的微生物数量、微生物量碳、可溶性盐离子组成也都优于未添加菌剂处理。因此, MA 菌剂对油水淹地这种油盐复合污染土壤具有较好的生物修复效果, 为油水淹地污染土壤的大规模修复提供了技术支持。

关键词:油水淹地; 固体生物菌剂; 生物修复效果

中图分类号: X53 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2015)02-0288-09 doi:10.11654/jaes.2015.02.012

Remediation of Oil-containing Wastewater Contaminated Soil Using Microbial Agent

WANG Tie-yuan¹, DOU Sen^{1*}, HU Yong-zhe¹, WANG Cheng-yu¹, LIU Lu-jun², LIN Chen-ming¹

(1. School of Resource and Environment Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. Jilin Oilfield Company Fuyu Production Plant, Songyuan 138000, China)

Abstract: Soil contamination by oil-containing wastewater becomes an environmental issue in oilfields, which profoundly affects crop growth. In this study, one bacterium strain(H6) producing surfactants and 6 dominant bacterium strains(H-1, H-17, H-18, H-19, H-20, H-23) were screened from oil-degrading bacteria strains. Then the bacterial combinations of H-6 with any three dominant strains were assessed for their oil-degrading efficiency. A high efficient oil-degrading bacterium group C5(H-1, H-6, H-18, H-19) was obtained. A solid microbial agent(MA) was produced by inoculating the bacterium group C5 on straw. Bioremediation of oil contaminated soil by MA was examined in both indoor simulation experiment and field trial by determining oil content, salt index and microbiological properties. In both experiments, applying MA significantly enhanced oil degradation, compared to the control. The bacteria in MA showed halophilic characteristics. Significantly lower pH, electrical conductivity, salt content, sodium adsorption ratio(SAR) and total alkalinity(TA) were observed in soils with MA than in the control. Applying MA microbial agent also improved microbial population, microbial biomass carbon and soluble salt ion composition. These results show that the solid MA may be applied to remediate oil-contaminated soils on large scale.

Keywords: oil-containing wastewater contaminated soil; solid microbial agent; bioremediation

油水淹地土壤多年不能正常生长作物, 急需对土壤进行修复。生物修复方法因具有费用低、原位降解污染物、无二次污染等优点受到广泛关注^[1-2], 其原

理是在土壤微生物的代谢作用中将石油烃作为反应物, 把有机污染物降解为无害无机物(H₂O 和 CO₂)^[3], 石油污染土壤的生物修复已成为环境研究的热点。在国外, Gogoi 等^[4]在印度的 Borhola 油田进行了石油污染土壤生物修复的实验室和场地试验, Gomez 等^[5]在加拿大进行了寒冷条件下石油污染土壤的异位生物修复试验, Suja 等^[6]在马来西亚通过实验室和场地试验探究了提高石油污染土壤修复性能的因素, 这些研

收稿日期: 2014-09-18

基金项目: 吉林省科技厅项目(20120405)

作者简介: 王铁媛(1988—), 女, 硕士研究生, 从事土壤微生物及环境化学研究。E-mail: wangtieyuan1314@163.com

* 通信作者: 窦森 E-mail: dousen@tom.com

究都取得了较好的效果;在国内,赵硕伟等^[7]在实验室条件下研究了复合菌群对石油的降解效果,黄廷林等^[8]研究了实验室条件下生物菌剂的投加量、投加方式及环境温度对石油污染土壤的修复作用,韩慧龙等^[9]研究了真菌-细菌微生物菌剂对中原油田不同类型石油污染土壤的小试和中试原位修复,发现其对不同石油类物质均有较好的降解能力,胥九兵等^[10]进行了胜利油田周围污染土壤的修复试验,经过 2 个月土壤中石油的降解率达到 67.7%。多数石油污染土壤的修复都关注于单独的石油污染的修复,关于油水淹地这种油盐复合污染土壤的修复还未见研究报道,而且石油污染的修复研究大多停留在实验室阶段,田间试验由于面临较为恶劣的环境条件其研究相对较少。

微生物分泌的表面活性物质是降解石油污染物的主要机制之一,它可以促进微生物对土壤中烃类化合物的可利用性^[11]。本研究将从油水淹地污染土壤中筛选出的产表面活性剂降解菌和高效石油降解菌构建成石油高效降解菌群,接种到载体秸秆上,制备成固体生物菌剂,进行不同石油含量油水淹地污染土壤的室内培养试验和田间试验,探究该生物菌剂的修复情况,为大规模的油水淹地污染土壤的修复提供理论依据并奠定基础。

1 材料与方法

1.1 生物菌剂的制备

1.1.1 菌种筛选及高效降解菌群的构建

从油水淹地污染土壤中筛选出石油降解菌 26 株,包括细菌 22 株,放线菌 1 株,真菌 3 株,编号为 H-1 到 H-26,其中 H-6 为产表面活性剂石油降解菌,H-1、H-6、H-17、H-18、H-19、H-20、H-23 对石油具有较强降解能力,以 H-6 为中心,另从 H-1、H-17、H-18、H-19、H-20、H-23 中任选 3 个菌株构建 20 个石油降解菌群,最终得到石油降解率最高的石油降解菌群 C5(H-1、H-6、H-18、H-19),H-1、H-6、H-18、H-19 均为细菌,具有协同降解石油的作用^[12]。

1.1.2 菌剂制备及菌剂特性

菌剂载体:粉碎的玉米秸秆,颗粒度 0.5~2 mm。

制备过程及命名:以石油高效降解菌群 C5 的最佳接种量[H-1(15%)、H-6(15%)、H-18(20%)、H-19(10%)]接种各菌株于培养液中,30 ℃、160 r·min⁻¹振荡,培养 24 h 得到种子培养液。将种子培养液按 1:1:1:1 的体积比混合,混合后的液体菌剂接种到载体秸秆上,完成固体菌剂的制备。将该菌剂命名为 MA 菌剂。

菌剂特性:含水率为 40%,存在特殊难闻气味,经过多次反复测得固体生物菌剂中细菌的数量范围为 10⁹~10¹¹ cfu·g⁻¹;以菌剂中细菌数量小于 10⁸ cfu·g⁻¹ 作为菌剂失效的标准,室温 25 ℃有效期为 35 d,常温 20 ℃有效期为 42 d。

1.2 MA 菌剂对油水淹地污染土壤的修复效果试验

包括 MA 菌剂对不同石油含量污染土壤的室内培养修复试验和田间修复试验。

1.2.1 供试土壤

培养试验:采自吉林省松原市宁江区新城乡联合村、长虹村和八家子村(吉林油田)3 个采样点油水淹地污染土壤表层,除杂、自然风干、磨细过 20 目筛后混匀备用。

田间试验:位于吉林省松原市宁江区新城乡联合村,选取两个油水淹地场地(场地 1 和场地 2),场地 1 和场地 2 相距 10 m,均在 2009 年 6 月被油田废水淹灌 10 个月,临近井场现已废弃,井场周围受污染严重,无农作物生长。场地 1 和场地 2 面积分别为 300 m² 和 1800 m²。所有供试土壤类型都为淡黑钙土,质地为壤土,理化性质见表 1。

1.2.2 供试原油样品性质和土壤中原油加入方法

原油样品取自吉林油田分公司扶余采油厂,密度 0.92 g·cm⁻³,原油样品中饱和烃、芳香烃、沥青胶质及其他非烃化合物质量分数分别为 58.8%、21.5%、5.1% 和 14.6%。

土壤中原油的加入采用逐级混匀法,按所需石油

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 Primary physic-chemical properties of tested soils

供试土壤 Tested soil	石油含量 Oil content/ mg·kg ⁻¹	pH	电导率 Electrical conductivity/ mS·cm ⁻¹	有机质 Organic matter/g·kg ⁻¹	K ⁺ / cmol·kg ⁻¹	Na ⁺ / cmol·kg ⁻¹	Ca ²⁺ / cmol·kg ⁻¹	Mg ²⁺ / cmol·kg ⁻¹	CO ₃ ²⁻ / cmol·kg ⁻¹	HCO ₃ ⁻ / cmol·kg ⁻¹	Cl ⁻ / cmol·kg ⁻¹	SO ₄ ²⁻ / cmol·kg ⁻¹	全盐量 Salt content/ cmol·kg ⁻¹
培养试验	869.45	8.44	0.626	16.25	0.22	6.43	0.25	0.21	5.03	4.00	2.64	3.07	21.87
场地 1	1 440.45	8.67	0.661	18.22	0.14	6.57	0.69	0.29	5.57	4.54	1.95	2.55	22.30
场地 2	4 083.30	9.43	0.822	23.24	0.07	7.81	0.48	0.12	6.54	5.49	2.81	3.19	26.51

含量计算土壤和石油的用量,把土壤分成若干份,取一份加入所计算的全部原油,混匀后再逐级加入其他份土壤并混匀。

1.2.3 试验设计

培养试验:不同石油含量污染土壤的室内培养修复试验,设6个添加菌剂的修复处理(按照石油含量由小到大依次编号为A、B、C、D、E、F),6个相应不添加菌剂的对照处理(编号为A-CK、B-CK、C-CK、D-CK、E-CK、F-CK),每个处理3次重复。供试土壤中加入原油,使石油含量为1、5、10、15、20、30 g·kg⁻¹,按照编号在塑料杯(直径为8 cm,高度为10 cm)中加入200 g污染土壤,修复处理加入MA菌剂1.5 g,不加入菌剂的为对照处理CK。浇水使土壤含水率为20%,搅拌均匀,称重以便后期补水,根据失水量每3 d补水并搅拌一次。将装有污染土壤的塑料杯在25℃人工气候箱内培养60 d取出,进行细菌数量、微生物量碳、石油含量、pH、电导率和盐分组成测定。

田间试验:试验开始于2013年4月20日,场地1和场地2均设置CK、添加改碱剂(AA)、添加菌剂(MA)、添加改碱剂和菌剂(AA+MA)4个处理,每个处理3次重复,将磷酸氢二胺和撒可富复合肥均匀撒于场地1和场地2地表,翻耕后将AA改碱剂和MA菌剂撒于地表,然后在表层土壤(0~20 cm)处用铁锹混匀,MA、AA+MA处理菌剂的施用量为0.75 kg·m⁻²,AA、AA+MA处理改碱剂的施用量为0.2 kg·m⁻²。于1年后的2014年4月28日在场地1和场地2土壤表层取样,进行土壤性质的测定。

1.3 测试与计算方法

土壤中石油含量采用超声-紫外法^[13]测定;采用PHS-3C pH计测定土壤的pH值,DDS-307电导率仪测定土壤的电导率。重铬酸钾容量法测定土壤有机质;双指示剂中和法测定CO₃²⁻和HCO₃⁻;AgNO₃滴定法测定Cl⁻;EDTA间接滴定法测定SO₄²⁻;EDTA络合滴定法测定Ca²⁺和Mg²⁺;火焰光度法测定K⁺和Na⁺^[14]。全盐量采用离子加和法,钠吸附比(SAR)和总碱度(TA)分别采用公式 $Na^+/\sqrt{Ca^{2+}+Mg^{2+}}$ 和 $HCO_3^-+CO_3^{2-}$ 进行计算。土壤中细菌、真菌及放线菌数量和菌剂中细菌数目的测定采用稀释平板法^[15];微生物量碳的测定采用氯仿熏蒸浸提法。

1.4 数据处理与分析

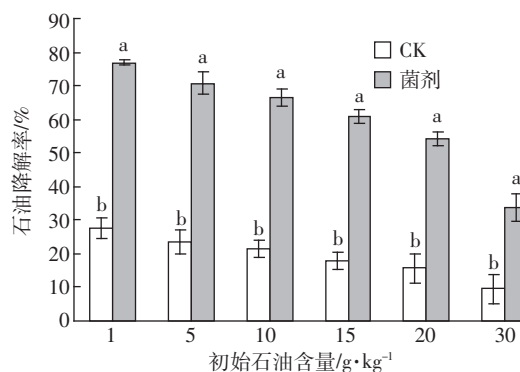
运用Microsoft Excel 2003处理数据。用DPS V7.05系统软件分析数据,用LSD(Least significant difference test)进行样本平均数的差异显著性比较。

2 结果与分析

2.1 施用MA菌剂对土壤中石油含量的影响

培养试验:试验结束时石油含量为1、5、10、15、20、30 g·kg⁻¹的污染土壤,石油含量分别下降到0.23、1.46、3.35、5.86、9.17、19.88 g·kg⁻¹,石油降解率分别为76.84%、70.78%、66.53%、60.97%、54.15%、33.13%(图1),初始石油含量越高石油降解率越低;同一初始石油含量的添加菌剂与相应未添加菌剂的CK土壤相比,石油降解率差异显著,石油含量越高,这种差异越明显。

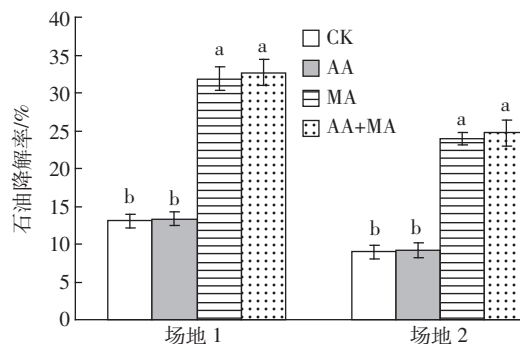
田间试验:由图2可知,添加菌剂的AA+MA和MA处理与未添加菌剂的AA和CK处理的土壤中石油降解率存在显著差异。在场地1中,AA+MA和MA处理的土壤中石油降解率为31.81%和32.63%,而AA和CK处理的土壤中石油降解率仅为13.07%和13.07%,而AA和CK处理的土壤中石油降解率仅为13.07%和



同一浓度处理土壤的不同小写字母表示在5%水平上差异显著。下同
Different letters in same treatments indicate significant difference at 5% level. The same below

图1 培养试验结束时土壤中石油的降解率

Figure 1 Oil degradation rates in soil at the end of incubation experiment



AA:改碱剂处理;MA:菌剂处理;AA+MA:改碱剂+菌剂处理。下同
AA: Improved alkali agent; MA: Microbial agent; CK: Control.

The same below

图2 田间试验不同处理土壤中石油的降解率

Figure 2 Oil degradation rates of soil in field experiment

13.35%; 在场地 2 中, AA+MA 和 MA 处理的土壤中石油降解率为 23.93% 和 24.70%, 而 AA 和 CK 处理的土壤中石油降解率仅为 8.95% 和 9.24%。

2.2 施用 MA 菌剂对土壤有机质含量的影响

培养试验: 由于土壤有机质测定方法的局限性, 加入石油后土壤中有机质含量也随着石油含量的增加而有所升高, 如图 3 所示。添加菌剂后有机质含量降低, 初始石油含量为 20、30 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的污染土壤的有机质含量显著低于 CK 处理; 初始石油含量为 1、5、10、15 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的污染土壤的有机质含量与 CK 相比差异不显著, 但均略低于相应 CK 处理。

田间试验: 图 4 为田间试验土壤中有机质含量的变化。不同处理间有机质含量的差异并不显著, 但 AA+MA 和 MA 处理的土壤有机质含量均略低于 AA 和 CK 处理, 场地 1 中 CK、AA、MA、AA+MA 的有机质含量降幅分别为 0.21、0.23、0.36、0.38 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 场地 2 中 CK、AA、MA、AA+MA 的有机质含量降幅分别为 0.38、0.40、0.87、0.83 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.3 施用 MA 菌剂对土壤 pH、电导率和全盐量的影响

培养试验: 初始石油含量为 1、5、10、15、20、30 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$

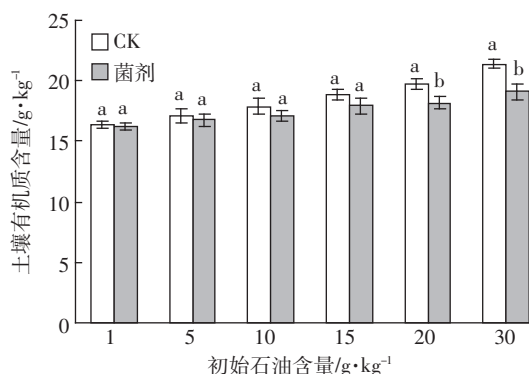


图 3 培养试验结束时土壤中有机质含量的变化

Figure 3 Changes of soil organic matter content at the end of incubation experiment

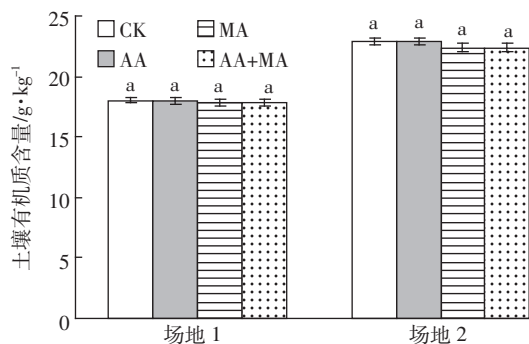


图 4 田间试验不同处理土壤中有有机质含量的变化

Figure 4 Changes of soil organic matter content in field experiment

kg^{-1} 各处理, 添加菌剂后 pH (图 5A) 由最初供试土壤的 8.44 分别降低为 7.88、7.95、8.01、8.08、8.13、8.17, 与相应 CK 处理差异显著; 电导率 (图 5B) 由最初的 0.626 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ 分别降低为 0.473、0.485、0.499、0.506、0.511、0.528 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$, 与相应 CK 处理差异显著; 全盐量 (图 5C) 由最初的 21.87 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 分别降低为 19.49、19.55、19.65、19.79、19.92、20.05 $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, 与相应 CK 处理差异显著。

田间试验: 同一场地不同处理土壤的 pH 和电导率都有所降低, 但存在着较大的差异, AA+MA 处理的

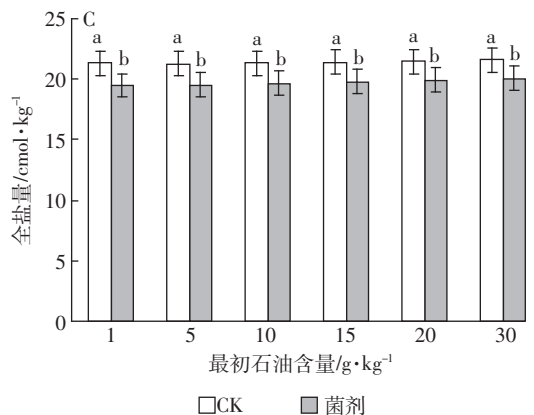
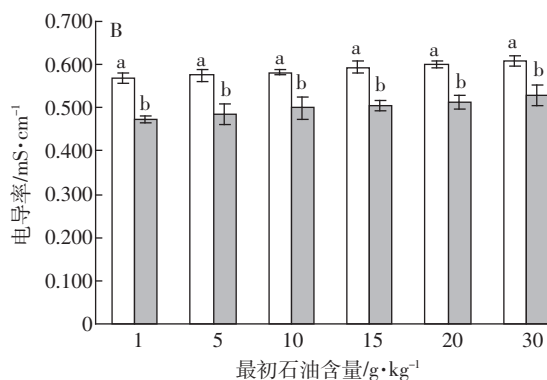
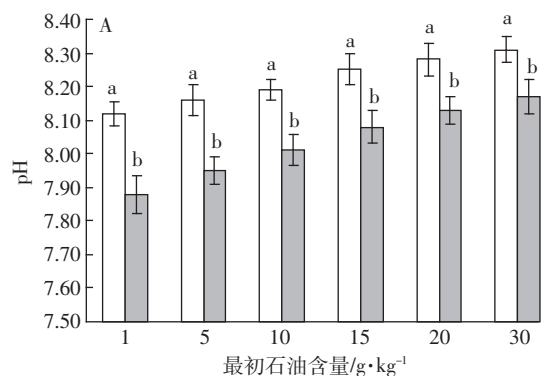


图 5 培养试验结束时土壤 pH、电导率和全盐量的变化

Figure 5 Soil pH, electrical conductivity and salt contents at the end of incubation experiment

pH 和电导率降低的最为明显,AA+MA 处理土壤的 pH 由最初的 8.67 和 9.43 降低为 8.00 和 8.66(图 6A),电导率由最初的 0.661 和 0.822 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ 降低为 0.439 和 0.550 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ (图 6B)。所有处理土壤中的全盐量都降低(图 6C),场地 1 中 CK、AA、MA 和 AA+MA 处理的土壤全盐量分别降低为 21.85、20.09、21.34、19.32 $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$,场地 2 中 CK、AA、MA 和 AA+MA 处理的土壤全盐量分别降低为 25.97、24.27、25.38、23.21 $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$,场地 1 和场地 2 不同处理土壤中全盐量降低幅度存在 AA+MA>AA>MA>CK 的规律,AA+MA 处理的全盐量降低得最为显著。

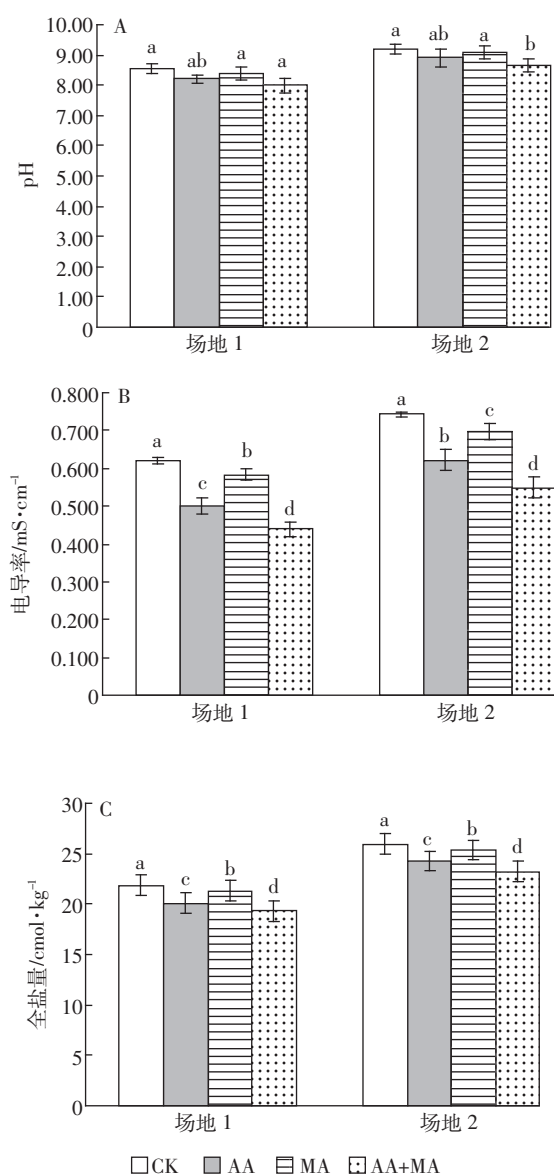


图 6 田间试验不同处理土壤 pH、电导率和全盐量的变化
Figure 6 Soil pH, electrical conductivity and salt contents in field experiment

2.4 施用 MA 菌剂对土壤可溶性盐离子组成、钠吸附比和总碱度的影响

培养试验:土壤可溶性盐离子含量和全盐量的变化见表 2。对于阳离子,所有处理土壤中 Na^+ 含量均降低,添加菌剂处理土壤中 Na^+ 降低值显著高于相应 CK 处理,土壤中初始石油含量越高, Na^+ 降幅越小;不同石油含量的污染土壤中,虽然 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量因石油含量的差异呈现不同的变化趋势,但添加菌剂处理土壤中的 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量都高于相应 CK 处理。对于阴离子,不同石油含量的污染土壤中所有处理的 CO_3^{2-} 、 HCO_3^- 、 Cl^- 和 SO_4^{2-} 含量均降低,且添加菌剂处理的降幅显著高于相应 CK 处理,土壤中初始石油含量越高, CO_3^{2-} 、 HCO_3^- 、 Cl^- 和 SO_4^{2-} 的降幅越小。由图 7 可知,不同石油含量污染土壤中,添加菌剂处理的 SAR 和 TA 的值都显著低于相应 CK 处理。

田间试验:表 3 所示为田间试验不同处理土壤中水溶性盐离子组成的变化。对于阳离子,AA、MA 和 AA+MA 处理土壤中, Na^+ 含量降幅显著高于 CK 处理,存在着 AA+MA>MA>AA>CK 的规律,AA+MA 处理土壤中 Na^+ 含量的降幅差异最为显著; K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的含量均有所升高,与 CK 处理差异显著,且 AA+MA 处理差异最为显著。对于阴离子,不同处理土壤中的 CO_3^{2-} 、 HCO_3^- 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 含量均降低,降幅也都存在 AA+MA>AA>MA>CK 的变化规律,差异性显著。由图 8 可知,2 个场地的 AA、MA、AA+MA 处理的 SAR 和 TA 都显著低于 CK 处理,AA+MA 处理的差异最为显著,虽然 AA 处理和 MA 处理的 SAR 值在同一差异水平,但 MA 处理的 SAR 要略低于 AA 处理。

2.5 施用 MA 菌剂对土壤中微生物的影响

培养试验:如图 9 所示,初始石油含量为 1、5、10、15、20、30 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的污染土壤添加菌剂后,细菌数量分别为 1.06×10^9 、 1.12×10^9 、 1.13×10^9 、 1.09×10^9 、 9.32×10^8 、 8.46×10^8 $\text{cfu}\cdot\text{g}^{-1}$,微生物量碳的含量分别为 151.1、148.1、146.8、144.9、139.4、135.2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,不同石油含量的污染土壤添加菌剂后细菌数量和微生物量碳含量都显著高于相应 CK 处理。

田间试验:不同处理土壤中微生物数量和微生物量碳的含量见表 4。施用菌剂后细菌、真菌、放线菌的数量和微生物量碳的含量都有所增加,MA 和 AA+MA 处理的细菌均显著高于无菌剂添加的 CK 和 AA 处理。对于放线菌和真菌,虽然不同处理间的差异并非一概十分显著,却都存在着 AA+MA>MA>AA>CK 的规律。就微生物量碳而言,与微生物数量的变化基

表 2 培养试验添加菌剂对不同石油含量污染土壤中可溶性盐离子组成的影响
Table 2 Contents of soluble salt ions in oil-contaminated soil in incubation experiment

处理 Treatments	石油含量 Oil content/g·kg ⁻¹	K ⁺ / cmol·kg ⁻¹	Na ⁺ / cmol·kg ⁻¹	Ca ²⁺ / cmol·kg ⁻¹	Mg ²⁺ / cmol·kg ⁻¹	CO ₃ ²⁻ / cmol·kg ⁻¹	HCO ₃ ⁻ / cmol·kg ⁻¹	Cl ⁻ / cmol·kg ⁻¹	SO ₄ ²⁻ / cmol·kg ⁻¹
A	1	0.31±0.04a	5.67±0.10b	0.36±0.02a	0.30±0.04a	4.45±0.11b	3.10±0.06b	2.41±0.05b	2.88±0.13a
A-CK	1	0.26±0.03a	6.32±0.04a	0.28±0.02b	0.23±0.02b	4.88±0.09a	3.77±0.08a	2.60±0.03a	2.98±0.06a
B	5	0.29±0.03a	5.71±0.06b	0.34±0.03a	0.28±0.04a	4.48±0.04b	3.12±0.07b	2.44±0.04b	2.90±0.14a
B-CK	5	0.25±0.02a	6.33±0.07a	0.27±0.02b	0.20±0.02b	4.90±0.10a	3.78±0.07a	2.59±0.03a	2.98±0.05a
C	10	0.28±0.02a	5.72±0.06b	0.32±0.04a	0.27±0.02a	4.51±0.04b	3.18±0.13b	2.44±0.07b	2.93±0.08a
C-CK	10	0.24±0.02a	6.35±0.06a	0.24±0.03b	0.18±0.02b	4.93±0.09a	3.80±0.05a	2.61±0.03a	3.00±0.03a
D	15	0.26±0.02a	5.76±0.08b	0.31±0.03a	0.27±0.02a	4.54±0.06b	3.23±0.07b	2.46±0.06b	2.95±0.09a
D-CK	15	0.21±0.02b	6.35±0.03a	0.22±0.02b	0.17±0.01b	5.01±0.03a	3.85±0.04a	2.61±0.03a	3.02±0.04a
E	20	0.24±0.02a	5.80±0.11b	0.29±0.03a	0.26±0.01a	4.57±0.05b	3.26±0.13b	2.50±0.03b	3.00±0.05a
E-CK	20	0.18±0.02b	6.38±0.05a	0.20±0.02b	0.16±0.01b	5.05±0.07a	3.87±0.06a	2.62±0.01a	3.02±0.03a
F	30	0.20±0.02a	5.82±0.05b	0.28±0.02b	0.23±0.01a	4.61±0.06b	3.36±0.08b	2.53±0.06b	3.02±0.04a
F-CK	30	0.18±0.02a	6.41±0.02a	0.18±0.02a	0.15±0.01b	5.07±0.09a	3.92±0.04a	2.63±0.01a	3.04±0.01a

注: 同列不同小写字母表示处理间在 5% 水平上差异显著。
Note: Different letters within a column indicate significant difference at 5% level. The same below.

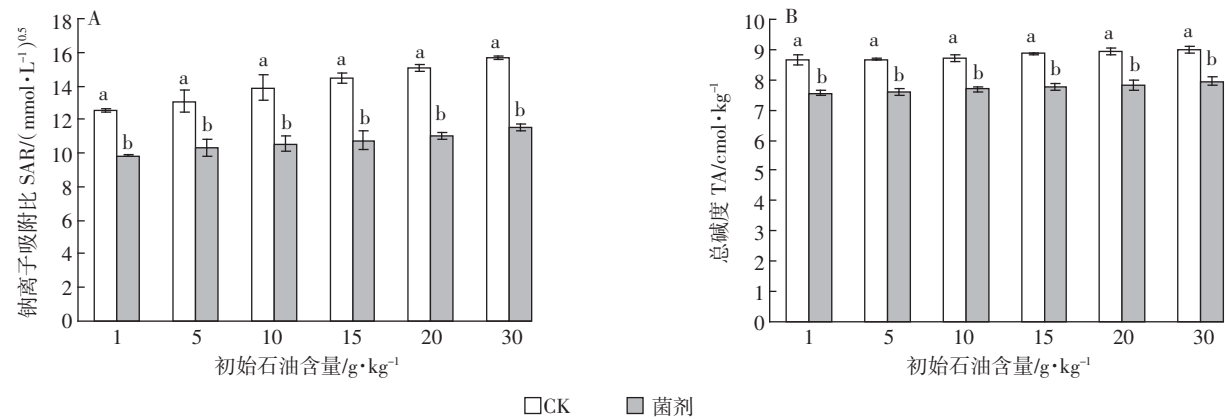


图 7 培养试验结束时土壤 SAR 和 TA 的变化
Figure 7 Soil SAR and TA at the end of incubation experiment

表 3 田间试验不同处理土壤中水溶性盐离子组成
Table 3 Contents of soil soluble salt ions in field experiment

场地 Sites	处理 Treatments	K ⁺ / cmol·kg ⁻¹	Na ⁺ / cmol·kg ⁻¹	Ca ²⁺ / cmol·kg ⁻¹	Mg ²⁺ / cmol·kg ⁻¹	CO ₃ ²⁻ / cmol·kg ⁻¹	HCO ₃ ⁻ / cmol·kg ⁻¹	Cl ⁻ / cmol·kg ⁻¹	SO ₄ ²⁻ / cmol·kg ⁻¹
1	CK	0.12±0.02c	6.53±0.02a	0.63±0.03b	0.25±0.03c	5.53±0.02a	4.37±0.04a	1.93±0.03a	2.50±0.02a
	AA	0.16±0.02b	6.14±0.03b	0.77±0.05a	0.33±0.02b	4.94±0.10b	3.65±0.12b	1.72±0.04c	2.39±0.03b
	MA	0.16±0.02ab	6.06±0.04c	0.80±0.04a	0.35±0.03b	5.43±0.02a	4.28±0.05a	1.82±0.05b	2.44±0.03ab
	AA+MA	0.19±0.02a	5.81±0.06d	0.84±0.07a	0.40±0.02a	4.55±0.07c	3.45±0.13c	1.67±0.06c	2.41±0.06b
2	CK	0.06±0.01d	7.75±0.03a	0.45±0.02c	0.11±0.01c	6.38±0.03a	5.31±0.05a	2.75±0.04a	3.16±0.01a
	AA	0.12±0.01b	7.48±0.07b	0.57±0.05b	0.18±0.03b	5.63±0.17c	4.73±0.09c	2.61±0.07b	2.95±0.08c
	MA	0.09±0.01c	7.44±0.05bc	0.59±0.06ab	0.16±0.01b	6.19±0.04b	5.15±0.07b	2.70±0.03ab	3.05±0.03b
	AA+MA	0.15±0.01a	7.33±0.09c	0.65±0.03a	0.23±0.02c	5.46±0.09c	4.22±0.06d	2.44±0.08c	2.72±0.04d

注: AA: 改碱剂处理; MA: 菌剂处理; AA+MA: 改碱剂+菌剂处理。下同。
Note: AA: Improved alkali agent; MA: Microbial agent; CK: Control. The same below.

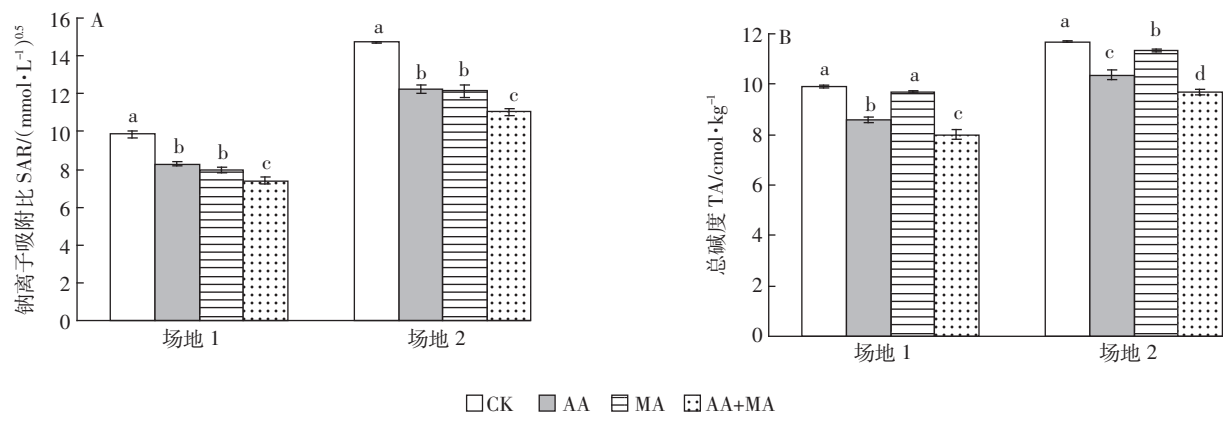


图 8 田间试验不同处理土壤 SAR 和 TA 的变化
Figure 8 Changes of soil SAR and TA in field experiment

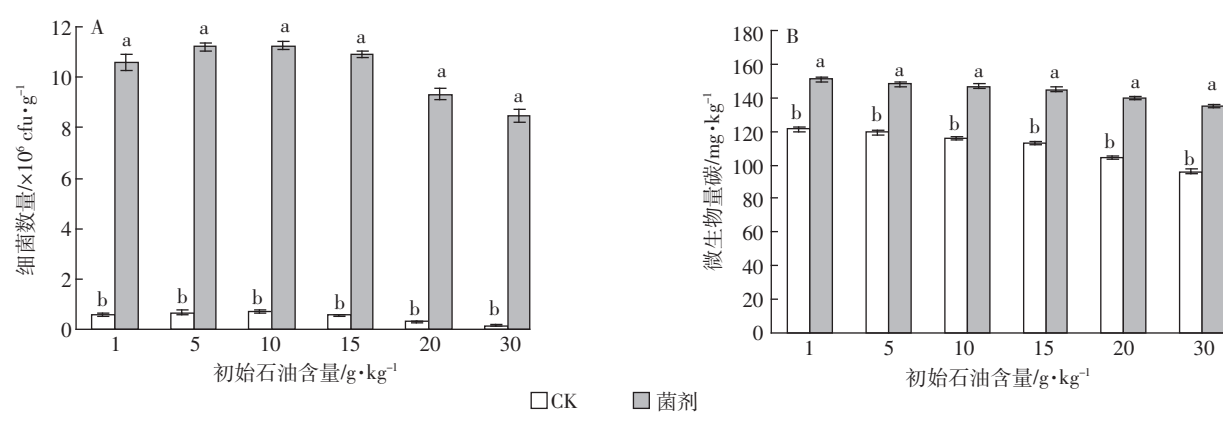


图 9 培养试验结束时土壤中细菌数量和微生物量碳含量
Figure 9 Bacterial population and microbial biomass carbon of soil at the end of incubation experiment

表 4 田间试验不同处理对土壤中微生物的影响
Table 4 Microbial population and microbial biomass carbon of soil in field experiment

场地 Sites	处理 Treatments	细菌 Bacteria/ $\times 10^6 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$	放线菌 Actinomycetes/ $\times 10^4 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$	真菌 Fungi/ $\times 10^3 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$	微生物量碳 Microbial biomass carbon/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
1	CK	1.74±0.01b	6.59±0.03c	4.65±0.02b	140.2±1.78c
	AA	1.77±0.01b	6.68±0.04bc	4.69±0.03b	143.7±3.06bc
	MA	2.03±0.04a	6.71±0.04b	4.72±0.03b	147.7±2.15ab
	AA+MA	2.04±0.04a	6.83±0.09a	4.82±0.06a	151.8±3.16a
2	CK	1.29±0.07b	3.70±0.02c	2.79±0.03c	122.4±4.38c
	AA	1.35±0.09b	3.79±0.03b	2.82±0.03ab	126.2±3.62bc
	MA	1.66±0.21a	3.82±0.03b	2.84±0.04a	130.2±3.25ab
	AA+MA	1.67±0.16a	3.92±0.06a	2.95±0.06a	134.6±3.61a

本一致，不同处理间差异较为显著，也遵循着 AA+MA>MA>AA>CK 的变化规律。

3 讨论

3.1 MA 菌剂对油水淹地污染土壤中石油和有机质含量的影响

石油会破坏土壤结构、降低渗透性，其高分子化

合物会在植物根系形成粘膜，致使根系腐烂^[16]而阻碍植物生长。微生物降解是修复石油污染土壤有效、经济、环保的方法，是去除石油烃类有机污染物的主要机制^[17-18]，石油降解率是菌剂对石油污染土壤修复效果最直接的检验，培养试验中添加菌剂后，不同石油含量污染土壤的石油降解率存在显著差异，石油含量越高石油的降解率越低，这种规律也存在于 CK 处理

中;同一初始石油含量的污染土壤,添加菌剂后的石油降解率与CK处理有显著差异,石油含量越高,添加菌剂和未添加菌剂处理石油降解率的差异越显著;对于田间试验,添加菌剂的AA+MA和MA处理的石油降解率显著高于未添加菌剂的AA和CK处理。这表明,MA菌剂可降低油水淹地污染土壤中的石油含量。

石油污染使土壤有机质含量升高,但这部分有机质不能被生物正常吸收利用^[19]。培养试验中,添加菌剂后初始石油含量为1、5、10、15 g·kg⁻¹的污染土壤中有机质含量与CK处理差异并不显著,初始石油含量20、30 g·kg⁻¹的污染土壤中有机质含量与CK处理差异显著。这可能是因为较低石油含量的污染土壤中石油降解使有机质含量降低的同时,秸秆的加入增加了有机质的含量,而较高初始石油含量的污染土壤中石油的减少使有机质含量降低的值高于秸秆使有机质含量升高的值。田间试验中,2个场地不同处理间有机质含量差异不显著,在微生物的作用下,土壤中石油烃的降解使部分有机质含量降低的同时,秸秆使有机质含量增加,微生物菌剂也通过自身的生命活动产生多种酶从而使有机质含量增加。这与李北齐等^[20]的研究结果一致,宋海燕等^[21]也认为微生物产生的过氧化氢酶、过氧化物酶、脲酶等均能促进土壤有机质的合成。

3.2 MA菌剂对油水淹地污染土壤中盐碱性质的影响

培养试验和田间试验添加菌剂处理土壤的pH降幅显著低于相应CK处理,可能的原因:一是菌剂中的细菌降解石油的过程中产生了有机酸^[22],二是菌剂中细菌的代谢过程对碱性盐有所消耗。添加菌剂后,土壤中的K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺含量都高于相应CK处理,CO₃²⁻、HCO₃⁻、Cl⁻和SO₄²⁻含量都低于相应CK处理;土壤中石油含量越高,CO₃²⁻、HCO₃⁻、Cl⁻和SO₄²⁻的降幅越小,可能是因为石油含量增加会使土壤中菌剂的活性受阻。培养试验和田间试验添加菌剂后SAR和TA的值都低于相应CK处理,田间试验中AA+MA处理SAR和TA的值显著低于其他处理,由AA处理和MA处理的SAR值可知,MA菌剂的加入对SAR值的降低有较大贡献。

培养试验和田间试验添加菌剂后土壤全盐量均明显下降,与相应CK处理差异显著,田间试验中AA+MA处理的全盐量降低得最为明显,菌剂在盐碱土中能通过自身生命活动产生多种酶,这些酶会对盐碱土中的盐离子含量产生影响。盐碱土中常见的嗜盐菌为盐球菌属和盐细菌属^[23],由于油水淹地土壤具有

盐碱性,从中筛选出来的石油降解微生物也具有一定的嗜盐性质,由加入菌剂后土壤中全盐量的下降可知,MA菌剂中的细菌属于嗜盐菌属。

3.3 MA菌剂对油水淹地污染土壤中微生物的影响

土壤微生物对土壤肥力及植物养分转化等多个方面都具有重要作用^[24-25],微生物的活动在石油污染物的降解过程中起着主要作用^[10],土壤微生物量碳只占土壤总碳量的1%~4%^[15],却是评价微生物量的参数指标,是土壤有机库的活性部分。培养试验中,添加菌剂使不同石油含量污染土壤中的细菌数量和微生物量碳增多,且显著高于CK处理,田间试验中,2个场地有菌剂加入的MA和AA+MA处理中的细菌数量都显著高于相应的CK处理,菌剂的加入不但没有使真菌和放线菌的数量降低,反而刺激了真菌和放线菌的生长。这可能是由于菌剂的加入降低了土壤中有害盐分的组成,减轻了对真菌和放线菌的抑制。

4 结论

(1)由培养试验可知,MA菌剂对不同石油含量(1、5、10、15、20、30 g·kg⁻¹)的油水淹地污染土壤中的石油都具有较好的降解效果,在试验范围内石油含量越高,添加MA菌剂处理与未添加菌剂处理土壤的石油降解率差异越显著,降解效果越明显。

(2)MA菌剂对石油具有较好的降解效果,菌剂中的细菌显现了嗜盐菌的特征,有效降低了土壤的pH、电导率、全盐量、SAR和TA等盐碱性指标值。

(3)MA菌剂的加入对土壤中微生物的活动具有积极的作用,使土壤中的细菌数量和微生物量碳增加的同时,放线菌和真菌的数量也有所提高。

参考文献:

- [1] Kosaric N. Biosurfactants for soil bioremediation[J]. *Food Technol and Biotechnol*, 2001, 39(4):295-304.
- [2] Semple K T, Reid B J, Fermor T R. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants[J]. *Environmental Pollution*, 2001, 112(2):269-283.
- [3] de Bont J A M. Solvent-tolerant bacteria in biocatalysis[J]. *Trends Biotechnol*, 1998, 16(12):493-499.
- [4] Gogoi B K, Dutta N N, Goswami P, et al. A case study of bioremediation of petroleum-hydrocarbon contaminated soil at a crude oil spill site[J]. *Advances in Environmental Research*, 2003, 7(4):767-782.
- [5] Gomez F, Sartaj M. Field scale ex-situ bioremediation of petroleum contaminated soil under cold climate conditions[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, 85:375-382.
- [6] Suja F, Rahim F, Taha M R, et al. Effects of local microbial bioaugmentation

- tation and biostimulation on the bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in crude oil contaminated soil based on laboratory and field observations[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, 90: 115–122.
- [7] 赵硕伟, 沈嘉澍, 沈 标. 复合菌群的构建及其对石油污染土壤修复的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(8): 1567–1572.
- ZHAO Shuo-wei, SHEN Jia-shu, SHEN Biao. Construction of multiple bacterial consortium and its application in bioremediation of petroleum-contaminated soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(8): 1567–1572.
- [8] 黄廷林, 徐金兰, 唐智新, 等. 生物菌剂对石油污染土壤生物修复作用的研究[J]. *环境科学*, 2009, 30(6): 1838–1843.
- HUANG Ting-lin, XU Jin-lan, TANG Zhi-xin, et al. Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil by bioaugmentation products [J]. *Environmental Science*, 2009, 30(6): 1838–1843.
- [9] 韩慧龙, 陈 镇, 杨健民, 等. 真菌-细菌协同修复石油污染土壤的场地实验[J]. *环境科学*, 2008, 29(2): 454–461.
- HAN Hui-long, CHEN Zhen, YANG Jian-min, et al. Field scale demonstration of fungi-bacteria augmented remediation of petroleum-contaminated soil[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(2): 454–461.
- [10] 胥九兵, 迟建国, 邱维忠, 等. 微生物菌剂对石油污染土壤的修复研究[J]. *环境工程学报*, 2011, 5(6): 1414–1418.
- XU Jiu-bing, CHI Jian-guo, QIU Wei-zhong, et al. Remediation of petroleum contaminated soil by bacterium microbial agent[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2011, 5(6): 1414–1418.
- [11] Thapa B, Kumar A, Ghimire A. A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil[J]. *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology*, 2012, 8(1): 164–170.
- [12] 胡永哲. 油水淹地污染土壤生物修复技术的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011: 25–31.
- HU Yong-zhe. Research on bioremediation for contaminated soils by oil field wastewater[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2011: 25–31.
- [13] 李纪云, 李 丽, 冯成武. 超声-紫外法测定土壤中石油类物质含量[J]. *石油大学学报*, 1999, 23(6): 82–83.
- LI Ji-yun, LI Li, FENG Cheng-wu. Determination of oil content in soil by ultrasonic and ultraviolet spectrophotometry[J]. *Journal of the University of Petroleum*, 1999, 23(6): 82–83.
- [14] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- BAO Shi-dan. Soil agro-chemical analysis[M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000.
- [15] 沈 萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 三版. 北京: 高等教育出版社, 1999, 92.
- SHEN Ping, FAN Xiu-rong, LI Guang-wu. Microbiology experiment [M]. Third edition. Beijing: Higher Education Press, 1999, 92.
- [16] 任 磊, 黄廷林. 土壤的石油污染[J]. *农业环境保护*, 2000, 19(6): 360–363.
- REN Lei, HUANG Ting-lin. Contamination of soils by petroleum[J]. *Agro-Environmental Protection*, 2000, 19(6): 360–363.
- [17] Margesin R, Schinner F. Bioremediation (natural attenuation and biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2001, 67(7): 3127–3133.
- [18] Kleinstaub S, Riis V, Fetzler I, et al. Population dynamics within a microbial consortium during growth on diesel fuel in saline environments[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2006, 72(5): 3531–3542.
- [19] 张晓阳, 李凯荣, 张麟君. 陕北石油污染对土壤理化性质的影响[J]. *水土保持研究*, 2013, 20(3): 32–38.
- ZHANG Xiao-yang, LI Kai-rong, ZHANG Lin-jun. Effect of petroleum contamination on physical and chemical properties of soils in oilfield of Northern Shaanxi [J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 2013, 20(3): 32–38.
- [20] 李北齐, 邵红涛, 孟 瑶, 等. 生物有机肥对盐碱土壤养分、玉米根际微生物数量及产量影响[J]. *安徽农学通报*, 2011, 17(23): 99–102.
- LI Bei-qi, SHAO Hong-tao, MENG Yao, et al. The effect of bio-organic fertilizer on the nutrient of saline soils, number of microorganisms in rhizosphere and production of maize[J]. *Anhui Agri Sci Bull*, 2011, 17(23): 99–102.
- [21] 宋海燕, 李传荣, 许景伟, 等. 滨海盐碱地枣园土壤酶活性与土壤养分、微生物的关系[J]. *林业科学*, 2007, 43(增刊1): 28–32.
- SONG Hai-yan, LI Chuan-rong, XU Jing-wei, et al. Correlations of soil enzyme activity and microbes, nutrients in soil of Jujube orchard in coastal saline land[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2007, 43(Suppl1): 28–32.
- [22] Leahy J G, Golwell R R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment[J]. *Microbial Rev*, 1990, 54(3): 305–315.
- [23] 宁 卓, 张 波. 嗜盐菌的研究进展及应用[J]. *苏盐科技*, 2007(1): 31–32.
- NING Zhuo, ZHANG Bo. The research progress and application of halophilic bacteria[J]. *Jiangsu Salt Science & Technology*, 2007(1): 31–32.
- [24] 邢世和, 熊德中, 周碧青, 等. 不同土壤改良剂对土壤生化性质与烤烟产量的影响[J]. *土壤通报*, 2004, 36(3): 72–75.
- XING Shi-he, XIONG De-zhong, ZHOU Bi-qing, et al. Effects of various modifiers on soil biochemical properties and tobacco yields[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2004, 36(3): 72–75.
- [25] 刘 健, 李 俊, 葛 诚. 微生物肥料作用机理的研究新进展[J]. *微生物学杂志*, 2001, 21(1): 33–36, 46.
- LIU Jian, LI Jun, GE Cheng. Advance in role mechanism of microbial fertilizer[J]. *Journal of Microbiology*, 2001, 21(1): 33–36, 46.