

# 植物与微生物对石油污染土壤修复的影响

刘继朝<sup>1</sup>, 崔岩山<sup>2</sup>, 张燕平<sup>3</sup>, 邹树增<sup>4</sup> (1. 中国地质科学院, 北京 100037; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 河南省地质调查院, 河南 郑州 450001; 4. 桂林工学院, 广西 桂林 541004)

**摘要:** 为了研究生物对石油污染土壤的修复效果, 在从石油污染土壤中筛选石油降解微生物的基础上, 采用盆栽试验, 进一步研究了 4 种植物和筛选到的微生物对石油污染土壤修复的影响。选择中原油田地区的原油和潮土, 采取人工污染方法, 设计石油污染水平为  $15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。试验设置 3 类处理, 即单独添加微生物、单独种植植物 (分别为向日葵、狗牙根、棉花、高丹草)、微生物分别与 4 种植物 (向日葵、狗牙根、棉花、高丹草) 组合。结果表明: 在石油污染土壤中单独添加石油降解微生物, 120 d 时, 石油降解率达到 67.0%; 向日葵、狗牙根、棉花、高丹草对土壤中石油降解也具有一定效果, 120 d 时, 石油降解率分别达到 38.23%、36.57%、40.67%、38.67%; 添加微生物和种植植物联合对石油降解能力大小顺序为棉花 + 微生物 > 向日葵 + 微生物 > 狗牙根 + 微生物 > 高丹草 + 微生物。其中, 棉花与微生物联合修复 120 d 可以使污染土壤石油降解率达到 85.67%, 在各种处理中对污染土壤中石油的降解效果最好。

**关键词:** 石油污染; 土壤; 植物; 微生物; 生物修复

**中图分类号:** X17; X53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673 - 4831(2009)02 - 0080 - 04

**Effect of Plants and Microorganisms on Remediation of Petroleum Contaminated Soil** LIU Ji-chao<sup>1</sup>, CUI Yan-shan<sup>2</sup>, ZHANG Yan-ping<sup>3</sup>, ZOU Shu-zeng<sup>4</sup> (1. Chinese Academy of Geological Sciences, Beijing 100037, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Henan Institute of Geological Survey, Zhengzhou 450001, China; 4. Guilin University of Technology, Guilin 541004, China)

**Abstract:** In order to study bioremediation of petroleum contaminated soil, petroleum contaminated soils were collected from the Zhongyuan Oil Field and microorganisms that degrade petroleum were screened from the soil. Then, samples of contamination-free Fluvo-aquic soil were collected from the same area and mixed with  $15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  petroleum for pot experiment to study effects of the microorganisms and plants on remediation of the petroleum contaminated soil. The experiment was designed to have three treatments, (1) adding microorganisms, (2) growing plants, and (3) growing plants plus adding microorganisms. Results show that in Treatment 1, the degradation rate of petroleum was 67.0% after 120 days; in Treatment 2, it was 38.23%, 36.57%, 40.67% and 38.67%, respectively, with sunflower, cotton, bermuda grass, and sudan grass; and in Treatment 3 (cotton + microorganisms) it reached as high as 85.67%.

**Key words:** petroleum contaminated; soil; plant; microorganism; bioremediation

20 世纪 80 年代以来, 土壤的石油类污染成为世界各国普遍关注的环境问题。目前, 通过生物修复技术改良石油污染土壤, 被认为是最有生命力、最具代表性的技术<sup>[1-2]</sup>。孙东平等<sup>[3]</sup>的研究结果显示, 从油污土壤中筛选的高效石油降解菌, 对石油污染物的降解效果显著; 欧阳威等<sup>[4]</sup>的研究结果显示, 高羊茅 (*Festuca arundinacea*) 对于提高微生物菌剂强化分解石油有一定的促进作用; 李方敏等<sup>[5]</sup>研究表明玉米草适合在石油污染土壤上种植; 蔺昕等<sup>[6]</sup>研究认为植物的吸收和代谢对多环芳烃 (PAHs) 的降解起很大作用。本研究以从石油污染

土壤中筛选与富集的土著微生物和前期筛选出的适应石油污染土壤环境的向日葵 (*Helianthus annuus*)、棉花 (*Gossypium hirsutum*)、高丹草 (*Sorghum sudanense*)、狗牙根 (*Cynodon dactylon*) 为对象, 通过盆栽试验研究微生物、植物、植物与微生物组合对石油污染土壤的修复效果, 为开展石油污染土壤的生物修复工作提供技术支持。

基金项目: 河南省人民政府与中国地质调查局合作项目 (200414200006); 河南省国土资源厅基金

收稿日期: 2008 - 12 - 03

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试土壤取自中原油田周围的农田,属潮土类,有机质  $22.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,碱解氮  $263.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,有效磷  $36.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,有效钾  $59.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,pH 7.8。用于筛选与富集石油降解菌的石油污染土壤取自中原油田废弃采油井场。石油降解菌筛选培养基组分为:原油  $10\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$   $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{MgSO}_4$   $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{FeCl}_3$   $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。无菌土壤浸出液 1 L。供试植物向日葵、棉花、高丹草、狗牙根购自市场。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 石油降解菌的筛选与富集

石油降解菌的筛选与富集参照文献 [7-9] 介绍的方法进行。将 5 g 石油污染土壤加入装有 100 mL 石油降解菌筛选培养基的 250 mL 锥形瓶中,放入恒温振荡培养箱,在  $30^\circ\text{C}$ 、 $160 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  条件下培养 10 d。培养液明显浑浊,取培养液 25 mL 加入装有 75 mL 培养基的 250 mL 锥形瓶中,加入 4 g 石油作为微生物生长的碳源,同上述培养条件连续转接富集培养 6 次获得石油降解微生物后,扩大培养备用。试验筛选出的微生物主要为细菌和真菌。

#### 1.2.2 石油污染土壤的修复

试验设计石油污染水平为  $15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。先将过 2 mm 孔径筛的土壤与石油充分混匀后,在规格为深 20 cm × 直径 26 cm 容器内每盆装入 4 kg (以干土计),土壤与原油混匀时不使用任何有机溶剂。静置 3 d,使油、土充分混合达到稳定状态后进行修复试验。试验中,微生物修复指将 1 000 mL 微生物培养液完全混合在同一个容器的土壤中;植物修复指在容器中分别播种棉花种子 50 粒、向日葵种子 50 粒、高丹草种子 50 粒、狗牙根种子 100 粒;植物与微生物联合修复指在完全混合了 1 000 mL 微生物培养液的容器中分别播种棉花种子 50 粒、向日葵种子 50 粒、高丹草种子 50 粒、狗牙根种子 100 粒。试验中棉花、向日葵、高丹草出苗 7 d 后,每盆保留 8 株,出苗 14 d 后,每盆定苗 4 株;对狗牙根不做剔苗处理。设置空白试验组作为对照。试验在 4—10 月进行,自然条件下生长,保持土壤含水量在 25% 左右,定期测定各盆土壤中石油含量。每个处理重复 3 次。

### 1.3 分析方法

石油含量的测定采用重量法<sup>[10]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 微生物对石油污染土壤的修复效果

微生物对石油污染物代谢的生理过程一般通过接触并吸附石油、分泌胞外酶、石油污染物的吸收及胞内代谢完成。它降解石油的关键是氧化酶对石油的氧化<sup>[11]</sup>。真菌和细菌主要通过胞外酶和胞内酶(如单/双加氧酶等)的作用完成对石油污染物的氧化代谢。微生物对石油污染土壤的修复效果见图 1。

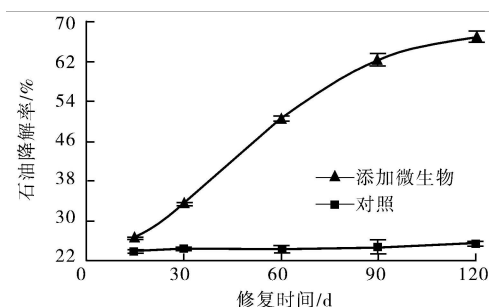


图 1 微生物对石油污染土壤的修复效果

Fig. 1 Effect of microbes remedying petroleum-contaminated soils

由图 1 可以看出,前 15 d 污染土壤石油含量迅速减少,对照与添加微生物处理的石油降解率相差不大,此后对照石油降解率增加很少,而添加微生物处理石油降解率增加显著,90 d 后石油降解率增加变缓,120 d 时降解率达到 67.0%,而对照仅为 25.4%,前者约为后者的 2.6 倍。分析认为,对照污染土壤石油降解率主要由自然条件下低分子量石油烃的挥发及土壤的物理吸附作用导致的检出率损失等形成<sup>[3]</sup>;90 d 后添加微生物处理污染土壤石油降解率增加变缓主要是由于石油中易被微生物所利用的组分逐渐消耗所致。由此可见,添加的微生物对石油具有降解作用。

### 2.2 植物对石油污染土壤的修复效果

根际 (rhizosphere) 或根圈指植物根系及其影响所及的范围<sup>[6]</sup>,它作为土壤圈中一个重要微生态系统,愈来愈受到重视<sup>[12]</sup>,植物根际有着特殊的物理和化学性质,与无根系的土壤有很大区别。试验过

程中分别采集 4 种供试植物不同生长阶段的根际土,其石油降解率测定结果见表 1。

表 1 4 种植物对石油污染土壤的修复效果

Table 1 Phytoremediation effects of the four plants

| 修复时间 /<br>d | 石油降解率 / %    |              |              |              |
|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|             | 向日葵          | 狗牙根          | 棉花           | 高丹草          |
| 15          | 23.93 ± 0.21 | 23.50 ± 0.46 | 24.00 ± 0.10 | 23.90 ± 0.26 |
| 30          | 25.10 ± 0.26 | 24.47 ± 0.59 | 25.67 ± 0.42 | 24.93 ± 0.31 |
| 60          | 28.23 ± 0.35 | 27.07 ± 0.25 | 29.10 ± 0.35 | 27.90 ± 0.70 |
| 90          | 31.87 ± 0.51 | 31.20 ± 0.53 | 33.03 ± 0.57 | 32.03 ± 0.45 |
| 120         | 38.23 ± 0.40 | 36.57 ± 0.25 | 40.67 ± 1.10 | 38.67 ± 0.32 |

由表 1 可知,在供试植物作用下,污染土壤石油降解率随修复时间的增加而缓慢提高。种植向日葵、狗牙根、棉花、高丹草 120 d 时,石油降解率分别达到 38.23%、36.57%、40.67%、38.67%,对比图 1 中对照污染土壤的石油降解率可知,供试植物对石油污染土壤有一定的修复效果。分析认为,污染土壤石油降解较慢与石油水溶性较差,植物可直接利用程度低及植被覆盖影响石油快速挥发有关。

120 d 后,4 种供试植物的根系均布满整个容器,污染土壤石油降解率也比较接近,但 4 种植物地上部分生物量相差较大,棉花、向日葵、高丹草和狗牙根地上部分鲜重分别为 624.8、665.2、192.4 和 93.2 g。分析认为,植物对石油的降解主要受根系作用控制,生物量的大小与土壤石油污染物降解率相关性不强,也就是说生物量小的植物对土壤石油污染物的去除作用不一定小。

植物修复功能主要体现在植物根系的吸收、转化作用及分解有机污染物的作用<sup>[13]</sup>,而且植物修复的效率受多种环境因素的影响<sup>[14]</sup>。一般来说,修复石油污染土壤的植物具有强大的根系,生长旺盛,能够穿透较深的土层,给微生物活动提供较大的根表面积<sup>[15]</sup>,则修复效果较好。试验中容器相对较小,4 种供试植物的根系在试验时间段内都能密布整个容器形成根系网,在一定程度上掩盖了不同植物之间对土壤石油污染物去除能力的差异性。

### 2.3 植物与微生物联合对石油污染土壤的修复效果

4 种植物分别与微生物联合对石油污染土壤的修复效果见表 2。由表 2 可知,4 种组合对土壤中石油污染物都有明显的降解作用,受不同组合生物生长及分泌物差异的影响,120 d 时其对石油降解能

力大小顺序为棉花 + 微生物 > 向日葵 + 微生物 > 狗牙根 + 微生物 > 高丹草 + 微生物。对比分析修复 120 d 时植物与微生物联合修复与分别单独修复的土壤中石油降解率(图 1、表 1)可知,4 种组合处理污染土壤石油降解率均大于微生物或植物单独处理的石油降解率,棉花 + 微生物是修复石油污染土壤的最佳组合。

表 2 植物与微生物联合对石油污染土壤的修复效果

Table 2 Remediation effects of microbes in symbiosis separately with four plants

| 修复时间 /<br>d | 不同组合对石油的降解率 / % |              |              |              |
|-------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|
|             | 向日葵 +<br>微生物    | 狗牙根 +<br>微生物 | 棉花 +<br>微生物  | 高丹草 +<br>微生物 |
| 15          | 26.43 ± 0.40    | 27.00 ± 0.26 | 27.40 ± 0.46 | 26.57 ± 0.21 |
| 30          | 35.50 ± 0.10    | 34.87 ± 0.35 | 38.33 ± 0.15 | 37.07 ± 0.38 |
| 60          | 53.77 ± 0.38    | 51.60 ± 0.44 | 58.43 ± 0.75 | 54.63 ± 0.23 |
| 90          | 67.17 ± 1.15    | 65.50 ± 1.41 | 74.33 ± 1.26 | 65.33 ± 1.15 |
| 120         | 78.23 ± 0.93    | 74.57 ± 0.87 | 85.67 ± 0.78 | 72.67 ± 1.64 |

根际植物与微生物的相互作用是复杂的,在某些情况下是互惠的,这种相互作用是促进根际污染物降解的重要原因<sup>[16]</sup>。对比单独处理与联合处理的试验结果(图 1、表 1)可知,联合修复前期污染土壤石油降解率与微生物单独修复效果大致相同,随着植物的生长,联合修复污染土壤石油降解率逐渐高于单一修复的石油降解率,说明供试植物可以与所添加的微生物共生,通过植物根系分泌物、微生物胞外酶及它们生长发育过程中的其他产物共同为石油污染物的降解提供适宜的微环境。

### 3 结论

(1)对照与添加微生物处理污染土壤石油降解率分别为 25.4%和 67.0%,表明微生物修复石油污染土壤的作用明显,同时也说明中原油田土壤石油污染环境中存在能够降解石油的微生物群,并可以通过人工驯化对石油污染土壤进行修复。

(2)种植向日葵、狗牙根、棉花、高丹草对石油污染土壤有一定的修复效果。由于试验所用容器较小,供试植物根系布满容器,造成污染土壤石油降解率随修复时间的增加而缓慢提高,且 4 种植物对石油的降解率较为接近,说明环境因素影响了不同植物对石油污染物去除能力差异的反映。下一步研究应设计不同植物对石油污染土壤修复效果的田间试验以进一步查明其修复能力。

(3)植物与微生物联合修复污染土壤的石油降解率均大于微生物或植物单独修复污染土壤的石油降解率,试验中构建的 4 种植物与微生物联合修复能力大小顺序为棉花 + 微生物 > 向日葵 + 微生物 > 狗牙根 + 微生物 > 高丹草 + 微生物,因此棉花 + 微生物组合是最具有进一步研究价值的植物 - 微生物联合修复组合。

#### 参考文献:

- [1] CARRAWAY J W, DOYLE J R. Innovative Remedial Action at a Wood-Treating Superfund Site[J]. Tappi Journal, 1991, 74 (7): 113 - 118.
- [2] 孙清,陆秀君,梁成华. 土壤的石油污染研究进展[J]. 沈阳农业大学学报, 2002, 33 (5): 390 - 393.
- [3] 孙东平,胡凌燕,周伶俐,等. 高效石油降解微生物堆制法处理油污土壤[J]. 环境科学与技术, 2007, 30 (6): 86 - 89.
- [4] 欧阳威,刘红,于勇勇,等. 高羊茅对微生物强化修复石油污染土壤影响的研究[J]. 环境污染治理技术与设备, 2006, 7 (1): 94 - 97.
- [5] 李方敏,姚金龙,王琼山. 修复石油污染土壤的植物筛选[J]. 中国农学通报, 2006, 22 (9): 429 - 431.
- [6] 蔺昕,李培军,台培东. 石油污染土壤植物 - 微生物修复研究进展[J]. 生态学杂志, 2006, 25 (1): 93 - 100.
- [7] 刘鹏,李大平,王晓梅,等. 石油污染土壤的生物修复技术研究[J]. 化工环保, 2006, 26 (2): 91 - 94.
- [8] 张海荣,李培军,孙铁珩,等. 四种石油污染土壤生物修复技术研究[J]. 农业环境保护, 2001, 20 (2): 78 - 80.
- [9] 何翊,吴海,魏薇. 石油污染土壤菌剂修复技术研究[J]. 土壤, 2005, 37 (3): 338 - 340.
- [10] 谢重阁. 环境中石油污染物的分析技术[M]. 北京:中国环境科学出版社, 1987: 82 - 83.
- [11] 刘国良,苏幼明,顾书敏,等. 石油污染土壤生物修复研究新进展[J]. 化学与生物工程, 2008, 25 (8): 84 - 88.
- [12] WEI S H, ZHOU Q X, ZHANG K S, *et al.* Roles of Rhizosphere in Remediation of Contaminated Soils and Its Mechanisms[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14 (1): 143 - 147.
- [13] 李云辉,文荣联,莫测辉. 土壤有机污染的植物修复研究进展[J]. 广东农业科学, 2007 (12): 96 - 98.
- [14] 范淑秀,李培军,何娜,等. 多环芳烃污染土壤的植物修复研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26 (6): 2007 - 2013.
- [15] GUNTHER T, DORNBERGER U, FRITSCH W. Effects of Ryegrass on Biodegradation of Hydrocarbons in Soil[J]. Chemosphere, 1996, 33 (2): 203 - 215.
- [16] MACEK T, MACKOVÁ M, KÁŠŤ. Exploitation of Plants for the Removal of Organics in Environmental Remediation[J]. Biotechnology Advances, 2000, 18 (1): 23 - 34.

作者简介:刘继朝(1972—),男,河南封丘人,博士生,主要研究方向为生态地质环境治理。E-mail: zgddljc@126.com

## 环境保护部“土壤污染治理和生态修复项目申报工作研讨会 在南京召开

为做好土壤污染防治与生态修复项目申报工作,环境保护部生态司于 2009 年 3 月 6—7 日在江苏省南京市举办了土壤污染治理和生态修复项目申报工作研讨会。来自山西、内蒙古、辽宁、江苏、浙江等 17 个省、自治区、直辖市环保局(厅)的负责同志和技术骨干出席了会议。环境保护部南京环境科学研究所污染场地评估与修复中心承办本次会议。会议会场设在环境保护部南京环境科学研究所内报告厅,环境保护部南京环境科学研究所高振宁所长应邀出席会议并致辞。

会议邀请环境保护部南京环境科学研究所林玉锁研究员作了“土壤污染防治项目申报技术要点”的报告,介绍了农田土壤污染防治项目申报要点和污染场地综合整治示范项目进展情况。中国科学院南京土壤研究所骆永明研究员作了“污染土壤修复技术研究现状与趋势”的报告,中国科学院沈阳应用生态研究所郭书海研究员作了“低浓度石油污染土壤植物 - 微生物联合修复”的报告,中国科学院地理科学与资源研究所陈同斌研究员介绍了“土壤污染治理和生态修复工程案例”,环境保护部规划财务司房志处长作了“中央环保资金的来源使用和申报渠道”的报告,中国环境科学研究院周友亚副研究员介绍了“污染土壤修复技术筛选及修复案例”。环境保护部生态司张山岭处长组织参会代表进行了研讨并作总结讲话。参会代表现场考察了环境保护部南京环境科学研究所污染土壤治理和生态修复示范工程。

会议为各地在项目筛选立项和申报材料的规范编写等方面提供了技术指导。会议组织和安排得到了参会代表的一致好评。

(王国庆)