

黄土高原地区土壤石油污染状况及生物修复技术研究进展

王国锋^{1,2}, 王金成^{2,3*}, 井明博^{2,3} (1. 陕西师范大学生命科学院, 陕西西安 710062; 2. 甘肃省高校陇东生物资源保护与利用省级重点实验室, 甘肃庆阳 745000; 3. 陇东学院生命科学与技术学院, 甘肃庆阳 745000)

摘要 概述了黄土高原地区土壤石油污染状况及近年来该区油污土壤生物修复的研究进展, 分别对微生物、植物及微生物-植物联合修复方法进行综述, 强调生物强化技术在生物修复中的突出地位及植物-微生物联合修复方法的应用潜能。由于石油污染物的复杂性, 现存技术在实际修复中效果并不明显, 提出运用分子生物学技术研究酶功能基因、将代谢组研究融入油污土壤的修复、深入探究植物根际分泌物与微生物作用及菌根真菌生物降解机制的建议, 旨在对黄土高原地区石油污染土壤修复探究工作奠定理论基础, 对促进黄土高原地区土壤的保护及可持续利用具有重大意义。

关键词 黄土高原; 石油污染; 生物修复; 生物强化; 植物-微生物联合修复

中图分类号 X53 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)32-0065-06

Research Progress on Petroleum Contaminated Soil and Bioremediation Technology in the Loess Plateau

WANG Guo-feng^{1,2}, WANG Jin-cheng^{2,3*}, JING Ming-bo^{2,3} (1. College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062; 2. University Provincial Key Laboratory for Protection and Utilization of Longdong Bio-resources in Gansu Province, Qingyang, Gansu 745000; 3. College of Life Science and Technology, Longdong University, Qingyang, Gansu 745000)

Abstract This paper summarized the research progress of petroleum contaminated soil and ecological restoration in the Loess Plateau in recent years, and reviewed microbial remediation, phytoremediation as well as microbial-plant combined remediation, and emphasized the significance of bioaugmentation and huge potential of microbial-plant combined remediation in this region. There were lots of practical application problems in current technology due to the complexity of oil pollutants. This review put forward the proposal of enhancing the application of molecular biology, metabolomics research, the interaction of plant rhizosphere exudates and microorganisms as well as the biodegradation mechanism of mycorrhizal fungi into the remediation of oil contaminated soil in this region. It would offer the theoretical foundation for the further development of the soil restoration, which would be significant for promoting the conservation and sustainable utilization of the crude-oil contaminated soil in the Loess Plateau.

Key words Loess Plateau; Petroleum pollution; Bioremediation; Bioaugmentation; Microbial-plant combined remediation

作为人类赖以生存且无法再生的宝贵资源, 土壤是农业最重要的生产资料, 占据主导和关键地位, 其与农业生态乃至人类文明的发展密切相关^[1]。但石油工业蓬勃发展所导致的土壤污染问题愈演愈烈, 尤其是以农业生产为主的黄土高原地区, 由于石油勘探、运输、排放的不当致使当地土壤环境造成大面积污染^[2]。而位于某些重度污染区的农田, 油污浓度已高达 35 600 mg/kg, 超出临界值 (200 mg/kg) 178 倍^[3], 忽略了石油工业生产过程中乡村生态环境的保护问题, 对当地居民的健康造成巨大威胁^[4]。为此, 国务院办公厅就曾就陇东黄土区在石油开发利用过程中所导致的严重土壤污染问题发文强调, 同时呼吁采取措施对该区的生态环境进行修复和保护^[3]。

目前, 修复油污土壤的方法主要包括物理、化学及生物方法^[5]。其中, 生物修复法因具高效、廉价、无二次污染等诸多优点而被美国国家环保局 (USEPA) 推荐为油污土壤治理的首选技术^[6-7]。该研究重点综述了近年来黄土高原地区土壤石油污染状况及生物修复技术在该区的研究进展, 提出生物修复技术在实践过程中存在的弊端, 并对该技术在油污土壤处理方面的研究重点进行了展望, 为进一步开展黄土高

原地区石油污染土壤修复工作奠定理论基础, 对促进黄土高原地区土壤的保护及可持续利用具有重大意义。

1 土壤石油污染概况

1.1 石油概况 被称为“工业的血液”的石油是一种由多种不同的碳氢化合物组成的复杂混合物, 组成元素有 C (83% ~ 87%)、H (11% ~ 14%)、S (0.06% ~ 0.8%)、N (0.02% ~ 1.7%)、O (0.08% ~ 1.82%) 及微量元素元素 (Ni、V、Fe、Sb 等)^[8]。按其结构可分为烷烃、环烷烃、芳香烃, 碳原子数 1~40 不等, 以 6~8 个碳原子数的烷烃在石油中含量较高。芳香烃基本为具有苯环结构和具有芳香族化合物性质的环烃, 具有难溶于水、易在环境中积累的特点, 很容易吸附于土壤或累积在生物体^[9], 具有致癌、致畸、致突变的巨大毒害作用, 因而去除污染环境中多环芳烃也成为治理修复领域较为棘手的问题。

1.2 石油污染物的来源 由于受石油开采过程中施工情况、工作程序、管理状况和环境条件等诸多复杂因素的影响, 开采石油的每一个环节均有可能造成环境的污染, 主要包括钻井期、采油期、原油储运及事故污染^[10]。整个过程中产生的钻井废水、含油泥浆、采油废水及落地原油无一不对土壤、水体造成严重污染, 尤其是落地原油的污染已危及土壤包气带和地下水的质量安全, 造成了严重的生态失衡、环境退化等环境问题。而由不可预测的交通事故、客观的环境条件等因素所引起事故污染往往危害也较为严重。

1.3 土壤石油污染状况 黄土高原地区的矿产资源丰富, 石油储藏量大, 遍布陕甘宁等多个省份, 已有 90 余年的石油

基金项目 甘肃省科技支撑计划项目 (1204FKCM173); 科技部国家国际合作专项 (2014DFA30330); 陇东学院青年科技创新项目 (XYZK1605)。

作者简介 王国锋 (1990—), 男, 甘肃庆阳人, 硕士研究生, 研究方向: 环境微生物生态学。* 通讯作者, 副教授, 硕士, 从事环境微生物学及分子微生物生态学领域研究。

收稿日期 2017-05-20

开采史,是我国石油工业的发源地^[11-13]。素有“西部大庆”之称的长庆油田位于甘肃省东部的陇东黄土高原地区,自1978年创办以来不断发展壮大,目前已成为全国第一大油田^[7]。勘探总面积约37万km²,先后挖掘油气田22个,其中油田19个,累计探明油气地质储量达54 188.8万t,目前已成为我国主要的天然气产区,并成为北京天然气的主要输送基地,截至2015年长庆油田油气当量已达5 000万t。但由于石油开采规模的日益扩大,近年来黄土高原地区的环境污染问题不断加剧,土壤生态环境遭到严峻考验。据调查,陕北地区油污土壤面积超过708.16万hm²,土壤中总石油烃(TPHs)含量为5 000~60 000 mg/kg。地处陕北黄土高原的延安市作为陕西省重要的能源基地^[14-15],于2000年落地原油、油泥年产量就已高达2万t,钻井、采油废水年排放量超过80万t^[16]。此外,张妍^[17]对安塞县一处油井附近土壤石油污染物含量测定发现:地表以下12~16 cm处的TPHs浓度仍高达21 426 mg/kg,地方油井的油泥样品中TPHs含量均超过60 000 mg/kg。位于某些重度污染区的农田,油污浓度已高达35 600 mg/kg,超出临界值(200 mg/kg) 178倍^[7]。其中陇东黄土高原腹地的董志塬石油开采钻孔现已达1 000余眼,且大多分布于农田当中,直接影响土壤质量及农作物产量和品质,不仅对生态环境造成破坏性影响,还阻碍了该

区农业发展^[18]。

2 生物修复技术

生物修复是以修复系统中的生物为主体,将污染物通过降解、吸收或转化为CO₂和H₂O等无害形式,使其趋于稳定的清洁治理技术^[19]。依据所用生物类型不同,将生物修复分为3类:微生物修复、植物修复和植物-微生物联合修复,与传统的理化方法相比,生物修复因具有经济性、高效性、稳定性等特点而备受关注,应用前景极为广阔^[20-21]。

2.1 微生物修复 微生物修复指在人为优化环境因子的同时,利用土著降解菌或投加功能菌的代谢活动将土壤中污染物快速降解或转化为其他形式,达到污染物在土壤生态系统中毒性降低的目的^[22]。作为土壤环境中不可或缺的生命体,微生物不仅是油污土壤生态系统稳定性的衡量指标,还能将石油等有机污染物作为唯一碳源利用,并通过共代谢参与其降解^[23]。据统计,用于降解石油烃的微生物已多达200余种,包括各种细菌、放线菌、酵母菌、霉菌及藻类。

2.1.1 单一菌株的降解。2008年以来,研究者不断从黄土高原地区油污土壤环境中筛选到多种高效石油降解菌,并取得了较为显著的降解效果^[24-28]。表1为近年来黄土高原地区筛选的部分石油降解菌。

表1 近年来黄土高原地区筛选的部分石油降解菌

Table 1 Part of the oil degradation bacteria in the loess plateau region recently

序号 No.	修复微生物 Microbial remediation	降解条件 Degradation condition	降解效果 Degradation effect	参考文献 Reference
1	2株细菌菌株	原油初始浓度为20 mg/mL	降解率分别达61%和63%	[24]
2	不动细菌属(<i>Acinetobacter</i>)、奈瑟氏球菌属(<i>Neisseria</i>)、邻单胞菌属(<i>Plesimonas</i>)、黄单胞菌属(<i>Xanthomonas</i>)、动胶菌属(<i>Zoogloeaitzigsohn</i>)、黄杆菌属(<i>Flavobacterium</i>)、假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)	pH为7.0、污染强度为1 000~1 500 mg/L、氮源为硝酸铵,修复7 d	降解率可维持在43.8%~58.9%	[25]
3	假单胞菌(<i>Pseudomonas</i>)	温度为室温(25~30℃),土壤含水率保持在20%左右,处理时间为60 d	TPHs降解率高达86.5%,石油烃中C ₂₄ -C ₂₈ 及>C ₂₈ 等成分极易被微生物降解利用	
4	6株降解菌	6 d的摇瓶试验	降解率可达72.25%左右	[26]
5	1株红球菌(<i>Rhodococcus</i> sp.)	苯酚浓度100 mg/L,温度35℃,接种量5%	超过99%的苯酚被降解	[27]
6	根瘤菌(<i>Rhizobium</i>)、地衣芽孢杆菌(<i>Bacillus licheniformis</i>)和芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)	37℃摇床振荡培养14 d	可降解34.0%~55.3%	[28]

但上述高效石油降解菌在实际应用过程中降解效果鲜见报道。而微生物降解菌的筛选作为生物修复油污土壤的关键性步骤,在筛选过程中以驯化出对石油污染物具有较强适应能力的降解菌为主要研究方向,以利于重度污染土壤中污染物的降解。

2.1.2 混合菌群的降解。通常单一菌株只对原油特定成分具较强降解性能,石油作为一种成分复杂的多烃混合物,单一降解菌远不能将其彻底降解,因此原油的高效降解往往还依赖于多种降解菌组成的混合菌群,发挥协同作用才能够完成^[29-30]。混合菌群可通过共代谢和协同作用同时发挥功效,对石油烃各组分进行针对性降解,不但能避免单一菌株

仅可利用有限碳源的缺陷,也加速了复杂石油烃类污染物的降解^[31]。

张胜等^[32]将假单胞菌属(*Pseudomonas*)、微球菌属(*Micrococcus*)、放线菌属(*Actinomyces*)、真菌类(*fungi*)制备成复合菌剂,利用优化的微生物菌群辅以理化修复技术,对污染样地土壤进行为期32 d的修复,结果表明在原油初始浓度为2 754 mg/kg时,土壤中TPHs的含量可减少40.92%~80.37%。吕睿^[33]分离出2株较强非降解能力的菌株,经鉴定分别为不动杆菌属(*Acinetobacter*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*),在2株菌的共同作用下非降解速率大大加强,究其原因可能是菌群共代谢过程中非降解酶及相关蛋白的促进

作用发挥功效。管芫茜^[34]将原油作为唯一碳源,筛选到 1 株芽孢杆菌属(*Bacillus*)、2 株不动杆菌属(*Acinetobacter*)和 1 株威廉士氏菌属(*Williamsia*),并组合为高效降解菌群,研究发现该菌群降解了 78.5% 的 TPHs。陈丽华等^[35]以甘肃长庆油田油污土壤为研究对象,筛选到 5 种菌属的石油降解菌并制备成不同浓度的混合菌剂用于石油烃降解,48 d 原位修复后降解率分别达到 68.01%、80.42% 和 78.47%。菌群中具有协同作用的菌株在油污土壤修复过程中发挥着巨大作用,但在修复期间各个单菌是如何相互影响以产生协同作用,进而对油污进行降解的具体机制还尚不清楚,有待进一步研究

探讨。

2.1.3 生物强化作用的应用研究。在进行土壤石油污染物治理过程中,为提高生物修复效率,改善修复效果,除高效石油降解菌株的筛选工作外,许多研究者还针对土壤理化性质、污染状况及环境条件等土壤环境因子,通过使用生物强化的方法改善生物修复效果^[36]。生物强化是将土著石油降解菌、表面活性剂、肥料或其他添加剂投入油污土壤,通过加速微生物代谢活动的方式以达到对油污土壤进行良好修复效果的目的^[37]。表 2 列举了部分黄土高原地区生物强化应用于油污土壤修复的研究情况。

表 2 生物强化应用于油污土壤修复的研究

Table 2 Bioaugmentation applied to oil pollution of soil restoration research

序号 No.	强化处理方式 Intensive treatment	修复时长 Length of repair//d	修复结果 Repair result	参考文献 Reference
1	添加 N、P 元素	27	TPHs 浓度平均降低 78.13%	[38]
2	添加 N、P 营养元素、施加电场、搅拌、投加生物表面活性剂	30	降解率分别可达 31.35%、34.98%、65.2%、79.01%	[39]
3	邻单胞菌属(<i>Plesimonas</i>) 菌株,加菌翻耕、不加菌翻耕、加菌不翻耕、不加菌不翻耕	55	24.0%、47.2%、69.0% 和 84.8% 的石油污染物被降解	[40]
4	添加膨松剂和翻耕双重处理	48	最高可达 76%	[25]
5	投加高产表面活性剂的假单胞菌(<i>Pseudomonas</i>)	60	降解率为 82.6%,特别是对石油烃中 C ₁₆ ~C ₂₄ 、C ₂₄ ~C ₂₈ 和 >C ₂₈ 组分有较显著的降解效果	[41]
6	绿脓假单胞菌(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	—	鼠李糖脂浓度高于 CMC 时产生的鼠李糖脂浓度与多环芳烃(PAHs)的溶解度呈现正相关	[42]

由此可见,向油污土壤中投加土著石油降解菌、N/P 复合肥以及各种膨松剂,不仅能极大地刺激土壤微生物活性提升油污土壤的综合肥力,还可为土著微生物提供优越的生长空间^[7]。无论是何种生物强化方法在油污土壤修复方面均具有一定的可行性,强化方法运用于油污沉积物降解具有一定可行性,最终达到较为理想的修复效果。但由于油污土壤的复杂性,在修复过程中土壤中石油烃降解受诸多环境因子的制约,而土壤环境因子与石油烃降解机制的研究鲜有报道,因而对土壤环境因子进行优化,以加强生物强化作用在黄土高原地区油污土壤修复中的应用,为降解效果的提高及降解机制的研究奠定基础。

2.1.4 微生物降解石油的机制。石油是由链烷烃、环烷烃及芳香烃等复杂化合物组成的混合物,微生物降解是微生物将石油烃作为唯一碳源和能源,经系列氧化还原及分解合成反应,使各类石油污染物转化为 CO₂ 和 H₂O 的过程^[43]。而在这一过程中,微生物的部分关键酶在生物降解反应中扮演

着重要角色,主要包括单加氧酶、双加氧酶,这些酶可参与降解过程的第一步加羟基或后续开环反应。目前,好氧降解涉及的烷烃降解基因主要有能编码降解长度为 C₅~C₁₂ 的烷烃单加氧酶基因 *alkB* 和细菌细胞色素 P450 基因;对芳烃的降解基因有 *tmoA* -、C₁₂O、C₂₃O,编码降解萘和菲的酶的 *nahAc* 和 *phnAc* 基因^[44-45]。表 3 总结了几种在石油污染物中的重要加氧酶及其基因。

对于不同石油烃类,微生物对其降解的作用、途径及机制均存在差异,如链烃主要通过末端氧化降解,某些短链烷烃则需通过共代谢途径才能被降解,带有长烷基侧链的脂环烃由于沸点高、不易蒸发等特点而较难被微生物利用,而多环芳烃及其衍生物的降解则更为复杂和困难,其与多环芳烃的溶解度、环的数目及取代基等诸多因素有关^[46]。因而可以对石油降解菌的重要酶基因进行深入探讨与研究,以探究出在生物修复过程中与石油降解相关的酶基因的变化,进而认识降解石油的机制。

表 3 部分石油降解菌的加氧酶及其基因

Table 3 Key oxygenase and gene in part of oil biodegradation

序号 No.	酶名称 Enzyme name	酶特点 Enzyme characteristics	主要降解基因 Major degradation genes	参考文献 Reference
1	甲苯 2,3 - 双加氧酶	与 FAD、硫铁氧化酶、铁氧化还原蛋白成系统	<i>todC2</i>	[47]
2	萘 1,2 - 双加氧酶	同上(需 Fe ²⁺)	<i>phnAc</i> 、 <i>doxB</i>	[48]
3	水杨酸 - 1 - 单加氧酶	FAD,将水杨酸变为儿茶酚	<i>pobA</i>	[49]
4	苯酚 - 2 - 单加氧酶	FAD,产生儿茶酚,且作用于间苯二酚、邻甲酚	<i>pheA</i> 、 <i>ro02380</i>	[50]
5	烷烃 - 1 - 单加氧酶	有些是 P450,也在脂肪酸的 ω 位加羟基	<i>Alk B</i>	[51]
6	儿茶酚 2,3 - 双加氧酶	芳香烃开环途径之一,需 Fe ²⁺	<i>catA</i> 、 <i>mcpl</i>	[52]

2.2 植物修复 植物修复是借助植物和污染土壤环境间的相互作用关系,使植物通过吸收、转移、降解和挥发等途径使土壤主体中油污浓度下降,最终使土壤环境得到净化的一种环保修复技术^[53]。植物修复能够应用于石油等有机污染物的治理研究,主要由于植物根系在刺激土壤微生物生长的同时,也可通过共代谢作用强化微生物对石油的降解;植物根系分泌物中不仅含有可供植物、微生物利用的丰富营养物质,而且具有参与石油烃降解的酶;植物根系还可通过改变土壤理化性质进而增强石油污染的修复效果^[54]。图1为植物修复油污土壤的机理示意。

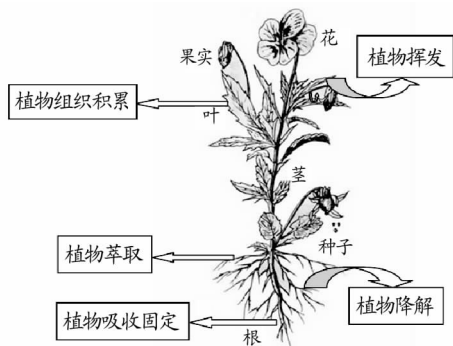


图1 植物修复油污土壤的机理

Fig. 1 The mechanism of phytoremediation for oil contaminated soil

目前,黄土高原地区用于油污土壤修复的植物大都集中于草本植物和农作物,还有少量关于木本植物的报道^[55-58],而花卉植物用于黄土高原地区石油污染物土壤修复的研究鲜有报道。紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)是黄土区一种根系发达、再生能力强、抗旱、耐瘠薄的豆科植物,其根系在发挥固氮作用的同时还能够有效汲取深层的土壤水分,对石油等有机污染物表现出极强的吸收作用^[59]。时腾飞等^[55]研究认为,胡枝子(*Lespedeza bicolor* T.)、紫穗槐(*Amorpha fruticosa* L.)、紫花苜蓿和沙打旺(*Astragalus adsurgens* P.)等灌草在去除土壤油污方面可发挥较大优势,因此筛选出兼具较强耐油污能力和生长旺盛的灌草植物也是植物修复油污土壤研究领域亟待解决的问题。由于植物修复用于陕北地区油污土壤的研究水平相对滞后,涉及的植物极为有限,主要以部分草本植物及农作物为主,如紫花苜蓿、小冠花(*Coronilla varia* L.)、玉米(*Zea mays* L.)、大豆(*Glycine max* L.)、向日葵(*Helianthus annuus*)^[55,60-61]。崔碧霄等^[62]则采用具较大须根系和生物量的灌木作为供试植物,其根系较易穿透污染土层,因此灌木在油污土壤中石油烃的降解方面也具较大的潜能,进而寻找适宜的灌木用于西北黄土区油污土壤的修复是目前首要的工作。张麟君等^[58]将草木本植物体内油污含量、转移及吸收能力等作为研究指标,以期筛选出较强耐油污能力的植物,结果表明,刺槐(*Robinia pseudoacacia* L.)、侧柏(*Platycladus orientalis*)、小叶杨(*Populus simonii* L.)、紫穗槐(*Amorpha fruticosa* L.)、狼牙刺(*Sophora viciifolia*)、沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)、冰草(*Agropyron cristatum* L.)和铁杆蒿(*Artemisia sacrorum* L.)均可作为该区油污土壤修复

的优良树草种。申圆圆等^[63]选择了4种对石油具有较强抗逆性的植物[红三叶草(*Trifolium repens* L.)、扁穗冰草(*Agropyron cristatum* L.)、黑麦草(*Lolium perenne* L.)和狗牙根(*Cynodon dactylon* L.)]进行室内模拟,筛选出红三叶草为高效修复植物,并采用其对油污(3 000 mg/kg)土壤进行为期455 d的修复,结果表明,TPHs降解率高达94.52%。此外,潘峰等^[12]认为油污土壤中石油等有机污染物在油菜(*Brassica campestris* L.)、苹果(*Malus pumila* M.)、小麦(*Triticum aestivum*)等农作物的作用下含量发生巨大变化,这是由于土壤中石油污染物可转移至植物各器官,最终富集于末端组织,由此说明石油烃中的致癌物可由植物引入食物链而传播^[64-65],因此修复植物的选择应尤为慎重。与物理化学修复相比,植物修复具有周期长,易受土壤质量、气候、酸碱度等诸多因素影响,因此利用耐油植物作为修复主体时坚持“适生”原则尤为重要。此外,在植物修复过程中,不应该将降解率高作为筛选供试植物的唯一条件,还应参照土壤条件和修复目的来选择。

2.3 植物-微生物联合修复 植物-微生物联合修复是以植物与微生物间互惠互利关系来强化植物根际,使油污降解率显著提高的方法^[66]。根际(rhizosphere)作为土壤、植物及微生物相互作用的纽带,同时也是土壤、根系分泌物、H₂O及O₂发生作用的微生态系统,植物根系分泌的各类活性物质不仅可以降解石油烃等污染物,还可以增强根际微生物的数量和生长活性^[67-68]。在无微生物的条件下,植物根际分泌物的含量会显著下降,进而不能提供足够的有机质供给微生物的生长。紫花苜蓿等豆科植物因固氮菌的存在而引起微生物数量和根际分泌物的显著增加,这可能是固氮菌增加了土壤中氮元素的可利用性,从而加速石油烃的降解速率^[69]。此外,植物根区的菌根真菌和植物形成的共生作用且有独特的酶途径,可以降解不能被细菌单独转化的污染物^[70]。目前,植物-微生物联合修复被视为当今一项较有应用前景的绿色油污土壤治理技术^[71]。

王金成等^[7]将金盏菊(*Calendula officinalis*)与实验室自主筛选的微生物菌株进行联合,对陇东黄土区油污土壤进行为期147 d的修复,采用PCR-DGGE法对修复过程的土壤微生物群落结构进行解析,发现金盏菊与微生物的联合体可显著提高土壤微生物群落结构多样性,可能是由于金盏菊具较强抗逆性的同时,其根系分泌物对土著微生物生长有极大刺激作用。王晨霞等^[72]在油污浓度为0、5 000、10 000、15 000和20 000 mg/kg的土壤中种植油松(*Pinus tabulaeformis*)、沙棘、刺槐、紫穗槐4种植物,均能提高根区土壤微生物多样性,且刺槐对根区土壤微生物多样性的保护效应最强,因此刺槐将会是植物-微生物联合治理油污土壤中的首选供试植物。申圆圆等^[63]从红三叶草根际中分离到4株以原油为唯一碳源的石油降解菌,其混合菌群对土壤中TPHs的降解率达到90.50%。邓振山等^[73]分别以根瘤菌、石油烃降解菌、21根际促生菌与扁豆(*Dolichos lablab* L.)进行组合联合修复,经56 d扁豆与根际菌的协同作用最强,促使

83.05% 石油烃降解。由此说明植物的种植对土壤石油污染修复有显著效果,同时合理添加微生物组成优势组合,能有效提高石油烃的降解能力。雒晓芳等^[74]在实验室对冰草、紫花苜蓿、冬小麦 (*Triticum aestivum* L.) 等 3 种植物进行为期 63 d 的土壤修复模拟试验,分析了 3 组联合修复方式下不同土壤石油烃污染浓度的修复效果,在 TPHs 含量为 3% 时,植物-微生物的联合作用可使 84%~87% TPHs 得到降解。刘继朝等^[75]采用盆栽试验,使用 4 种植物和筛选的微生物对油污土壤进行修复,在油污浓度为 15 000 mg/kg 的条件下,120 d 修复后棉花与微生物联合修复使污染土壤中石油降解率高达 85.67%。雒晓芳等^[76]在油污浓度为 4.0%~8.0%,菌剂浓度为 3.0% 时,植物-微生物联合条件下降解率最高可达 72.4%~75.4%。林立宁^[77]利用陕北油污土壤中优良的混合菌群,辅以该区适生植物紫花苜蓿和小冠花对污染土壤进行修复,结果表明,紫花苜蓿与复合菌剂、小冠花与复合菌剂的优势组合均对石油烃有较好降解效果,30 d 内石油烃降解率分别高达 43.4% 和 43.8%。

由此可见,植物-微生物联合修复可加速石油烃降解,但由于植物、微生物个体存在差异,不同组合降解效率不一,因此在联合修复中,应选择出适生植物,筛选出高效降解菌以及深入探究污染物与植物、微生物的关系,从而筛选出合适的降解组合。微生物-植物联合修复效果远远好于其他修复方法,在油污土壤修复方面具有较大的潜能与发展前景,但截至目前该修复技术用于治理油污土壤的研究只停留在初步阶段,而微生物与植物的共代谢、植物根际分泌物与石油污染物降解关系的研究对于油污土壤修复具有重大意义,有待进一步研究。

3 存在的问题及展望

目前,各类修复技术大部分仍停留在实验室研究阶段,在室外进行大规模、工程化的应用相对较少,因此,在实际原位修复的过程中所面临的诸多问题亟待解决。

(1) 由于筛选出的微生物菌株受环境影响大,成活率低,稳定性差,活性提高困难,致使修复时间延长,成为微生物修复技术的明显弊端,应该进一步优化培养基条件,以便筛选出稳定性较强、活性高的微生物菌株。

(2) 植物修复虽作为一项绿色环保的治理技术,但有修复周期长的缺点,当土壤油污浓度超过高会抑制植物根部呼吸致使植物死亡,大多数植物修复只在污染浓度较低的情况下适用。此外,部分花卉在具有耐干旱、较强抗逆性等优势的同时,还能够美化环境,因此在黄土高原地区寻找对石油具有高吸收分解作用的适生花卉植物将是今后石油污染土壤修复研究中的一项重大任务。

(3) 近年来,采用微生物-植物联合修复技术对石油污染土壤进行修复的研究较多,应结合修复过程中植物根际微生物和外源添加的降解菌的关系,将代谢组学引入微生物-植物联合修复的研究中,在修复期间分别对石油降解功能菌以及植物根系分泌物的代谢过程进行监控、研究,以期在降解机制方面有所突破。

(4) 丛枝菌根 (AM) 具有降解复杂有机污染物的能力,不仅可有效改善植物根际环境,也能促进土壤微生物活性的提高。因此,加强探索 AM 真菌对西北黄土高原地区强化修复石油污染土壤具有重要意义。

(5) 加强分子生物学技术在植物-微生物修复过程中的应用,对修复前后微生物的遗传多样性、微生物区系的变化进行有效解析,也可以通过对修复过程中植物、微生物代谢的某些降解基因进行研究并调控,或制备高效的基因工程菌株来实现石油污染物有效降解。

参考文献

- [1] 周际海,袁颖红,朱志保,等. 土壤有机污染物生物修复技术研究进展[J]. 生态环境学报,2015,24(2):343-351.
- [2] ISLAM M N,JOY T,PARK J H,et al. Subcritical water remediation of petroleum and aromatic hydrocarbon-contaminated soil: A semi-pilot scale study[J]. Water Air Soil Pollut,2014,225(7):1-8.
- [3] 王金成,周天林,井明博,等. 陇东黄土高原地区石油污泥原位修复过程中土壤主要肥力指标动态变化分析[J]. 环境科学学报,2015,35(1):280-287.
- [4] 黄娟. 陇东地区油田开发环境影响及环境管理体系构建[D]. 兰州:兰州大学,2013.
- [5] KRISHNA R. Technical challenges to in-situ remediation of polluted sites[J]. Geotech Geol Eng,2010,28(3):211-221.
- [6] 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.
- [7] 王金成,井明博,段春燕,等. 陇东黄土高原石油污染土壤环境因子对金盏菊 (*Calendula officinalis*) - 微生物联合修复的响应[J]. 环境科学学报,2015,35(9):2971-2981.
- [8] 肖寒,欧阳志云,赵景柱,等. 海南岛生态系统土壤保持空间分布特征及生态经济价值评估[J]. 生态学报,2000,20(4):552-558.
- [9] 赵渝. 芳香烃生物降解途径蛋白质组学研究[D]. 上海:华东师范大学,2007.
- [10] 马彦超. 黄土地区石油污染的微生物修复研究[D]. 石家庄:石家庄经济学院,2009.
- [11] 甄丽莎,谷洁,胡婷,黄土高原石油污染土壤微生物群落结构及其代谢特征[J]. 生态学报,2015,35(170):5703-5710.
- [12] 潘峰,梁俊宇,陈丽华,等. 陇东黄土塬区农作物中石油有机质分布规律[J]. 兰州大学学报(自然科学版),2011,47(4):13-17.
- [13] MA J Z,PAN F,HE J H,et al. Petroleum pollution and evolution of water quality in the Malian River Basin of the Longdong Loess Plateau, Northwestern China[J]. Environ Earth Sci,2012,66(7):1769-1782.
- [14] 刘培,梁继东,高伟,等. 延安石油开采对周边黄土污染的调查分析[J]. 西安交通大学学报,2011,45(7):123-128.
- [15] 任磊,黄廷林. 黄土高原的石油类物质坡面径流污染研究[J]. 中国给水排水,2000,16(11):1-5.
- [16] 史红星,黄廷林. 黄土地区土壤对石油类污染物吸附特性的实验研究[J]. 环境科学与技术,2002,25(3):10-12.
- [17] 张妍. 黄土区石油污染土壤的现状及其修复[J]. 高洛学院学报,2008,22(2):56-58.
- [18] 曹同民,杨芬惠. 陇东黄土高原石油开发污染特征分析[J]. 环境研究与监测,2007,20(1):53-56.
- [19] POPP N,SCHLOMANN M,MAU M. Bacterial diversity in the active stage of a bioremediation system for mineral oil hydrocarbon-contaminated soils[J]. Microbiology,2006,152(11):3291-3304.
- [20] ATLAS R M,HAZEN T C. Oil biodegradation and bioremediation: A tale of the two worst spills in U. S. history[J]. Environ Sci Technol,2011,45(16):6709-6715.
- [21] MOHAN S V,KISA T,OHKOMA T,et al. Bioremediation technologies for treatment of PAH-contaminated soil and strategies to enhance process efficiency[J]. Rev Environ Sci Biotechnol,2006,5(4):347-374.
- [22] GLIC B R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation[J]. Biotechnol Adv,2010,28:367-374.
- [23] CHEN M,XU P,ZENG G M,et al. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research need[J]. Biotechnology advances,2015,33:745-755.
- [24] 高小鹏,路鹏鹏,徐盈,等. 陕北地区石油降解菌的筛选及降解条件

- [J]. 江苏农业科学, 2009(3): 401-402.
- [25] 徐金兰, 黄廷林, 黄志超, 等. 添加膨松剂和翻耕对石油污染土壤生物修复的影响试验研究[J]. 西安建筑科技大学学报(自然科学版), 2010, 42(1): 65-70.
- [26] 陆昕, 陈立, 李娟, 等. 假单胞菌 *Nwu1 - mu* 对陕北石油污染土壤的生物修复作用研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(5): 910-917.
- [27] 王金成, 井明博, 段春艳, 等. 黄土高原长庆油田高效石油降解菌筛选及其降解率的测定[J]. 陇东学院学报, 2013, 14(5): 66-69.
- [28] 胡婷, 谷洁, 甄丽莎, 等. 石油污染土壤中苯酚降解菌的鉴定及降解特性[J]. 生态学报, 2014, 34(5): 1140-1148.
- [29] 张俊会, 王平, 薛泉宏, 等. 延长油田增油细菌的筛选及其降解特性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2012, 40(10): 118-128.
- [30] SHANKAR S, KANSRAJH C, DINESH M G, et al. Application of indigenous microbial consortia in bioremediation of oil-contaminated soils[J]. Int J Environ Sci Technol, 2014, 11(2): 367-376.
- [31] 汪志荣, 马传鑫, 李燕妮, 等. 植物和微生物修复石油污染土壤的研究进展[J]. 土壤, 2014, 46(2): 193-203.
- [32] 张胜, 陈立, 崔晓梅, 等. 西北黄土区石油污染土壤原位微生物生态修复试验研究[J]. 微生物学通报, 2008, 35(5): 765-771.
- [33] 吕睿. 非降解菌株的分离、鉴定与固定化条件摸索及菌株降解性能研究[D]. 西安: 西北大学, 2013.
- [34] 管莞萌. 长庆油田石油污染土壤的原位修复微生物的筛选和鉴定[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- [35] 陈丽华, 马金珠, 雒晓芳, 等. 添加混合菌剂对石油污染土壤的降解[J]. 中南大学学报(自然科学版), 2012, 43(11): 4581-4589.
- [36] KAIMI E, MUKAIDANI T, TAMAKI M. Screening of twelve plant species for phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil[J]. Plant Prod Sci, 2007, 10(2): 211-218.
- [37] COUTO M N P F S, MONTEIRO E, VASCONCELOS M T S D, et al. Mesocosm trials of bioremediation of contaminated soil of a petroleum refinery: Comparison of natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation[J]. Environ Sci Pollut Res, 2010, 17(7): 1339-1346.
- [38] 唐智新. 西北黄土地区石油污染土壤生物修复研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2007.
- [39] 郭娟. 强化微生物修复石油污染沉积物实验研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2008.
- [40] 黄廷林, 唐智新, 徐金兰, 等. 黄土地区石油污染土壤生物修复室内模拟试验研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(6): 2206-2210.
- [41] 陆昕. 产表面活性剂石油降解菌的选育及对陕北石油污染土壤生物修复的试验研究[D]. 西安: 西北大学, 2010.
- [42] 李琦, 黄廷林, 宋进喜. 产生物表面活性剂石油降解菌筛选及特性研究[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2012, 42(1): 145-150.
- [43] HAO R X, LU A H, WANG G Y. Crude-oil-degrading thermophilic bacterium isolated from an oil field[J]. Microbiol, 2004, 50(3): 175-182.
- [44] ROJO F. Degradation of alkanes by bacteria[J]. Environ Microbiol, 2009, 11(10): 2477-2490.
- [45] SEOJ S, KEUM Y S, LI Q X. Bacterial degradation of aromatic compounds[J]. Int J Environ Res Publ Health, 2009, 6(1): 278-309.
- [46] 张学佳, 康志军, 孙大勇. 土壤中石油类污染物的自然降解[J]. 石化技术与应用, 2008, 26(3): 273-278.
- [47] ZYLSTRA G J, GIBSON D T. Toluene degradation by *Pseudomonas putida* F1. Nucleotide sequence of the *tdcC12BADE* genes and their expression in *Escherichia coli*[J]. Journal of biological chemistry, 1989, 264(25): 14940-14946.
- [48] WILSON M S, HERRICK J B, JEON C O, et al. Horizontal transfer of *phnAc* dioxygenase genes within one of two phenotypically and genotypically distinctive naphthalene-degrading guilds from adjacent soil environments[J]. Applied and environmental microbiology, 2003, 69(4): 2172-2181.
- [49] PINYAKONG O, HABE H, YOSHIDA T, et al. Identification of three novel salicylate 1-hydroxylases involved in the phenanthrene degradation of *Sphingobium* sp. strain P2[J]. Biochemical and biophysical research communications, 2003, 301(2): 350-357.
- [50] MCLEOD M P, WARREN R L, HSLAO W W L, et al. The complete genome of *Rhodococcus* sp. RHA1 provides insights into a catabolic powerhouse[J]. Proceedings of the national academy of sciences, 2006, 103(42): 15582-15587.
- [51] VAN BEILEN J B, FUNHOFF E G, VAN LOON A, et al. Cytochrome P450 alkane hydroxylases of the CYP153 family are common in alkane-degrading eubacteria lacking integral membrane alkane hydroxylases[J]. Applied and environmental microbiology, 2006, 72(1): 59-65.
- [52] KULAKOV L A, DELCROIX V A, LARKIN M J, et al. Cloning of new *Rhodococcus* extradiol dioxygenase genes and study of their distribution in different *Rhodococcus* strains[J]. Microbiology, 1998, 144(4): 955-963.
- [53] KIRK J L, KLIRONOMOS J N, LEE H, et al. The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum-contaminated soil[J]. Environmental pollution, 2005, 133(3): 455-465.
- [54] XIE M J, YAN C L, YE J, et al. Impact of phenanthrene on organic acids secretion and accumulation by *Perennial ryegrass*, *Lolium perenne* L., root[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2009, 83(1): 75-80.
- [55] 时腾飞, 刘增文, 田楠, 等. 黄土区石油污染对土壤及豆科灌草植物的潜在影响[J]. 草地学报, 2013, 21(2): 295-301.
- [56] 李欣玲. 黄土丘陵沟壑区石油污染草地土壤抗蚀性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
- [57] 申圆圆. 土壤中石油污染物行为特征及植物根际修复研究[D]. 西安: 长安大学, 2012.
- [58] 张麟君, 李凯荣, 张晓阳. 陕北黄土高原不同植物对有机污染物的吸收和积累[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013, 41(8): 110-116.
- [59] 邹亚丽, 王廷璞, 林燕飞, 等. 黄土高原主要土壤污染物对紫花苜蓿的影响[J]. 饲料工业, 2010, 31(18): 61-68.
- [60] 岳冰冰, 李鑫, 任芳菲, 等. 石油污染对紫花苜蓿部分生理指标的影响[J]. 草业科学, 2011, 28(2): 236-240.
- [61] 李春荣, 王文科, 曹玉清, 等. 石油污染土壤的生态效应及修复技术[J]. 地球科学与技术, 2007(9): 4-6.
- [62] 崔碧霄, 韩刚, 李凯荣, 等. 土壤石油污染下柠条生长反应与抗氧化保护响应[J]. 草业科学, 2014, 31(4): 632-640.
- [63] 申圆圆, 王文科, 李春荣. 红三叶草根际区石油降解菌的筛选及降解性能[J]. 环境工程学报, 2012, 6(12): 4676-4680.
- [64] 李凯荣, 闫宝环, 时亚坤. 黄土高原南缘煤矸石废弃地不同植物对重金属污染的耐受性研究[J]. 草地学报, 2013, 21(6): 1093-1100.
- [65] 彭胜巍, 周启星, 张浩, 等. 8种花卉植物种子萌发对石油烃污染土壤的响应[J]. 环境科学学报, 2009, 29(4): 786-790.
- [66] 焦海华, 黄占斌, 白志辉, 等. 石油污染土壤修复技术研究进展[J]. 环境整治, 2012, 29(2): 48-56.
- [67] CALIMAN F A, ROBU B M, SMARANDA C, et al. Soil and groundwater clean up: Benefits and limits of emerging technologies[J]. Clean Techn Environ Policy, 2011, 13(2): 241-268.
- [68] GLICK B. Phytoremediation: Synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment[J]. Biotechnology advances, 2003, 21(5): 383-393.
- [69] KAMATH R, SCHNOOR J L, ALVAREZ P J J. Effect of root-derived substrates on the expression of *nah-lux* genes in *Pseudomonas fluorescens* HK44: Implications for PAH biodegradation in the rhizosphere[J]. Environmental science & technology, 2004, 38(6): 1740-1745.
- [70] 唐景春. 石油污染土壤生态修复技术与原理[M]. 北京: 科学出版社, 2014.
- [71] 王京秀, 张志勇, 万云洋, 等. 植物-微生物联合修复石油污染土壤的实验研究[J]. 环境工程学报, 2014, 8(8): 3454-3460.
- [72] 王晨霞, 来航线, 韩刚, 等. 石油污染胁迫下植株根区土壤微生物多样性分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2014, 42(10): 166-176.
- [73] 邓振山, 王阿芝, 孙志宏, 等. 利用植物-根际菌协同作用修复石油污染土壤[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2014, 44(2): 241-247.
- [74] 雒晓芳, 陈丽华, 杨成波, 等. 植物-微生物联合修复石油污染土壤的实验室模拟[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2015, 51(3): 85-89.
- [75] 刘继朝, 崔岩山, 张燕平, 等. 植物与微生物对石油污染土壤修复的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2009, 25(2): 80-83.
- [76] 雒晓芳, 樊国庆, 王瑾, 等. 植物-微生物联合修复石油污染土壤的实验室模拟研究[J]. 中国酿造, 2014, 33(8): 85-89.
- [77] 林立宁. 陕北石油污染土壤微生物-植物联合修复技术研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2009.