# 菌剂-菌根联合修复石油污染土壤的实验研究

### 何 翊 魏 薇 吴 海

(吉林化工学院环境科学与工程系 吉林 132022)

摘要植物根际是一个能降解土壤中污染物的生物活跃区。本文应用菌根修复技术对某污灌区石油烃污染土壤进行了处理。在污染土壤中种植玉米和黄豆,通过施加不同的菌剂,采取菌剂和菌根强化修复措施,在运行一个生长季节后,土壤中石油类污染物降解率可达 53%~78%。本研究为该地区石油污染土壤的治理提供了有力的技术保证。

关键词 菌剂;菌根;石油污染土壤;生物修复;微生物降解中图分类号 X53

随着石油工业的发展,在采油、炼油、运输与利用的过程中,很难避免石油及其废弃物对土壤的污染,石油污染土壤的清洁势在必行<sup>[1]</sup>。

根际是植物根系直接影响的土壤范围。在植物 的生长过程中, 死亡的根系和根的脱落物(根毛、表 皮细胞和根冠等)是微生物的营养来源, 同时根系旺 盛的代谢作用也可以释放一些物质进入到土壤中, 包括土壤酶、糖类、醇类和酸类物质。Moser 等[2] 研究表明, 植物每年释放的这类物质可达植物总光 合作用的10%~20%,它们与脱落的根冠细胞等一起 为根区的微生物提供重要的营养物质, 促进了根区 微生物的生长和繁殖。由于根系的穿插, 使根际的 通气条件、水分状况和温度均比根际外的土壤更有 利于微生物的生长;另一方面,植物又可将大气中 的氧气经叶、茎传输到根中,扩散到根际周围缺氧 的底质中, 形成氧化的微环境, 刺激好氧微生物的 生长和活性[3]。研究表明,植物根区微生物数量和种 类明显比非根区土壤中的多,假单孢菌属、黄杆菌 属、产碱菌属和土壤杆菌属的根际效应非常明显[4]。 这些增加的微生物可以增加环境中农药等有机物的 降解, Henner 等研究表明, 根际环境可以加速多种 农药以及三氯乙烯的降解[5]。阿特拉津的矿化与土 壤中有机C的含量有直接关系。

植物根际是一个能降解土壤中污染物的生物活

跃区<sup>[6]</sup>。植物根上有菌根菌的生长,菌根菌与植物形成共生作用,具有独特的降解途径,可以代谢某些不能被自生细菌降解的有机物。 研究者针对植物宿主的正确选择、必要的植根方式和有关的微生物群落,进行了综合研究<sup>[7]</sup>。 植物根际-微生物系统的相互促进作用将是提高污染土壤植物修复能力的一个活跃领域。

某污灌区由于长期采用富含石油烃的污水进行农田灌溉,使得土壤中石油烃的积累已经远远超过了土壤的自净能力,严重威胁到该区域的生态环境和人体健康。本文研究了高效菌根修复技术,旨在为该地区石油污染土壤的治理提供有力的技术保证。

## 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 污染土壤 试验田 $(10 \text{ m} \times 10 \text{ m})$ 位于该污灌区上游,试验田土壤理化性质如表 1 所示。

1.1.2 培养基 PDMA 和 CPDA 培养基。

1.1.3 供试油品 辽河油田曙光采油厂提供的 20#柴油。

1.1.4 供试植物 玉米、黄豆。

1.2 研究方法

1.2.1 高效降解真菌孢子的培养 称取一定量的辽河油田原油 加入到 PDMA 和 CPDA 培养基中,

表 1 试验田土壤理化性质

Table 1 Soil properties

深度 (cm)	pН	K-N (g/kg)	$P_2O_5$ (g/kg)	$K_2O$ (g/kg)	有机质 (g/kg)	总烃量 TPH (g/kg)
30	5.73	1.37	0.92	18.76	24.9	65.3

使油浓度达到 10000 mg/kg,调匀后分装试管中,高压蒸汽灭菌 20 min,取出摆斜面。将保藏的供试菌种接种到适宜的斜面培养基上,放入恒温培养箱培养。经过观察比较,挑选出长势较好的菌落,真菌用点植培养法和栽片培养法进行鉴定,细菌用革兰氏染色法进行鉴定。最后鉴定出 4 株外生菌根真菌,即  $E_1$ —毛边花锈伞、 $E_2$ —劣味乳菇、 $E_3$ —松塔牛杆菌和  $E_4$ —丝膜菌,1 株内生菌根真菌(VA 孢子土)以及 1 株细菌(芽孢杆菌 M)。

1.2.2 土壤样品处理及分析方法 按照 GB 15618-1995 《土壤环境质量标准》中所规定的分析方法进行。

1.2.3 菌根修复的田间实验 育苗:将供试植物经过催芽后植入槽中培育幼苗,土壤为试验田土壤,待幼苗长出 2~3 个子叶时移栽。 菌剂用量: 因为玉米和黄豆均为内生菌根植物,故没有进行外生菌种与植物组合实验。供试菌剂:外生菌菌剂(E<sub>1</sub>、E<sub>2</sub>、E<sub>3</sub>、E<sub>4</sub>的混合菌 E),内生菌菌剂(VA 孢子土),细菌菌剂(M)和共生固氮菌菌剂(N),其中 N 是从当地 1 年生黄豆土壤中筛选出来的。菌剂用量如表 2 所示,固氮菌菌剂用量为每株 2ml,以不加菌剂的植株为对照。 菌剂施入方法:外生菌菌剂、细菌菌剂、VA 菌剂均采用根部穴施,共生固氮菌菌剂在根附近均匀挖孔施入。

表 2 实验处理及菌剂用量(g/株)

Table 2 Treatment and dosage of bacteria preparation

			菌剂				
E	M	VA	E+M				
30	30	30	15+15				
20	20	30	10+10				
	30	30 30	30 30 30				

# 2 结果与讨论

#### 2.1 田间实验生物量调查

不同的处理组,玉米和黄豆的田间实验生物量调查如表3所示。

表 3 玉米和黄豆的田间实验生物量调查表

Table 3 Population of the microorganisms in different treatments

# 20	平均株高	(cm)	平均地	平均地径(cm)		
菌剂	玉米	黄豆	玉米	黄豆		
Е	176.3	118.4	0.95	0.84		
M	214.4	117.5	1.31	0.73		
E+M	208.5	120.8	1.41	0.88		
VA	210.9	103.8	1.04	0.68		
CK (対照)	173.5	83.0	0.93	0.67		

2.1.1 玉米生物量调查 各处理组对玉米株高生长的影响由大到小依次为:M,VA,E+M,E;株高生长分别较对照增加23.6%,21.6%,20.2%,1.6%。对地径的影响由大到小依次为:E+M,M,VA,E;分别比对照增加51.6%,41.1%,11.5%,2.3%。对玉米地上部重、穗重和干粒重影响较大的为:E,E+M,VA,而其余处理增加不明显或略低于对照。上述3个处理地上部重依次增加120.9%,99.5%,27.9%;穗重依次增加76.2%,62.9%,27.3%;干粒重依次增加38.8%,18.1%,20.5%。

2.1.2 黄豆生物量调查 各处理的株高和地径均高于对照。株高顺序为 E+M, E, M, VA, 分别比对照增加 45.6%, 42.7%, 41.6%, 25.0%。地径顺序为 E+M, E, M, VA, 分别比对照增加 31.1%, 24.8%, 8.8%, 1.8%。E, M, E+M 3 个处理的地上部重和结荚量均明显高于对照, 地上部重依次增加 45.8%, 47.2%, 25.9%;结荚量依次增加 27.5%, 9.6%, 19.9%。各处理的千粒重及 VA 处理的地上部重、结荚量与对照差异不明显或略低于对照。

# 2.2 田间实验土壤分析结果

不同处理组,玉米和黄豆对种植植物的污染土壤的修复结果分别如表4及图1所示。

表 4 菌根对种植植物的污染土壤修复的实验结果

Table 4 Effect of mycorrhiza on bioremediation of polluted soil

	氯仿提纯物		非皂化物		矿物油降解率	
菌剂	( mg/kg )		( mg/kg)		(%)	
	玉米	黄豆	玉米	黄豆	玉米	黄豆
E	156	256	128	136	60.6	70.7
M	265	250	145	180	55.4	61.3
E+M	225	250	150	116	53.8	75.0
VA	215	230	124	175	61.8	62.4
CK (対照)	300	280	230	210	29.2	54.8

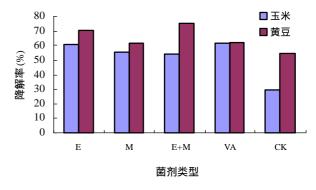


图 1 不同菌剂降解率对比图

Fig. 1 Degradation rates of different bacteria preparation

由表 4 和图 1 可知:各处理组降解效果均好于对照。玉米以接种 VA、E 菌降解效果较好,黄豆以 E+M、E 处理效果较好。细菌菌剂促进作物生长的效果较好,而外生菌菌剂降解石油污染的效果较好,二者结合不但可以促进植物生长,而且可以提高降解效果,这在黄豆中表现尤为突出。黄豆的整体效果好于玉米,可能是由于植株较密集,根量较大的缘故。

# 4 结论

- (1)菌根降解对于提高石油类污染物的降解速率作用明显。田间实验结果表明,采取菌剂、菌根强化修复措施后,土壤中石油类污染物降解速率可达 53 % ~ 78 %。
- (2)通过实验确定了植物与真菌形成菌根,进一步加快石油污染物的降解速度。结合农业种植结构的改变,得出了最有利于土壤改良的种植品种及种植方式。
- (3)细菌菌剂能够促进植物生长,外生菌菌剂能够加速石油污染物降解,二者结合不但可以促进植物生长,而且可以提高降解效果,这在黄豆中表现尤为突出。

# 参考文献

- 1 丁克强, 骆永明, 孙铁珩, 李培军. 通气对石油污染土壤生物修复的影响. 土壤, 2001, 33 (4): 185 ~ 188
- 2 Moser M, Haselwandter K. Ecophysiology of mycorrhizal symbiosis, physiological plant ecology : Responses to the chemical and plant environment. Germany: Springer-verlag KG, Berlin, 1983
- 3 程树培. 环境生物技术. 南京: 南京大学出版社, 1994
- 4 Anderson TA. Bioremediation in the rhizosphere. Environ. Sci. Technot., 1993, 27 (13): 2630 ~ 2635
- 5 Henner P, Schiavon M, Morel JL, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) occurrence and remediation methods. Analysis, 1997, 25 (9-10): 56 ~ 59
- 6 刘惠君, 刘维屏. 农药污染土壤的生物修复技术. 环境 污染治理技术与设备, 2001, 2 (2): 74~80
- 7 Anderson TA, Walton BT. Comparative plant uptake and microbial degradation of trichlorethylene in the rhizosphere of five plants specimmplications for bioremediation of contaminated surface soils. Environmental Science Division, Pub., ORNL/TM-12017. 1992, 3809

## MICROBE AND MYCORRHIZAL BIOREMEDIATION OF OIL-CONTAMINATED SOIL

HE Yi WEI Wei WU Hai

( Dept. of Environmental Science and Engineering, Jilin Institute of Chemical Technology, Jilin 132022 )

**Abstract** After investigation of pollution of a certain irrigation area, and analysis of various methods for treating polluted soil, a technique was put forward using microbial preparation and mycorrhiza to remedy polluted soil. Experiment results showed that microbial preparation made in lab has a rewarding effect on decreasing oil pollution of the soil. With soybean and corn, fungi can grow with plant root into micorrhiza, which as a bioremediation method is effective and economically in treating soils contaminated by petroleum hydrocarbons. Using this technique we can remedy sewage irrigated areas by 53~78%, which indicated that a technological basis will be available for bioremediation of soils contaminated by petroleum hydrocarbons.

Key words Microbe, Mycorrhizal, Petroleum-contaminated soil, Bioremediation, Microbe degradation