

# 陇东黄土高原地区石油污染土壤微生物群落 及其与环境因子的关系

王金成<sup>1,2</sup>, 井明博<sup>1,2</sup>, 肖朝霞<sup>1</sup>, 刘灵霞<sup>1</sup>, 王凤琴<sup>1</sup>, 张希彪<sup>1,3</sup>, 周天林<sup>1</sup>

(1. 陇东学院 生命科学与技术学院 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; 2. 陕西师范大学 生命科学学院, 陕西 西安 710062;

3. 中国科学院 水土保持研究所 黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:** 为了认识和评价石油开采对陇东地区土壤环境的影响, 采用平板培养和多元分析法研究了不同石油污染程度下的土壤微生物群落特征及其与土壤环境因子的关系。结果显示: (1) 微生物 3 大类群的数量以距污染源 30 m 的样地  $S_{1-3}$  最高, 200 m 的  $S_{7-9}$  次之, 100 m 的  $S_{4-6}$  最低; 放线菌数量变化对 Shannon—Wiener 指数影响较大。(2) 土壤有机质、含油量、含盐量、速效磷均为  $S_{1-3}$  最高,  $S_{4-6}$  次之,  $S_{7-9}$  最低; 土壤 pH 值、碱解氮及速效钾含量均以  $S_{7-9}$  最高,  $S_{4-6}$  次之,  $S_{1-3}$  最低。(3) PCA 结果显示 TPHs 含量在 8 种环境因子中作用最大, 其含量的上升导致了土壤含盐率、有机质和速效磷的增加, 进而影响到了土壤含水量、pH 值、土壤细菌、放线菌、微生物总数及其他环境因子。研究表明, 陇东黄土高原地区开展生物修复石油污染时, 应充分开发利用土壤细菌及放线菌资源, 并外源投加 N、K 等营养元素, 从而刺激土著石油降解菌的生长, 进而提高石油烃的降解效率。

**关键词:** 陇东黄土高原; 石油污染土壤; 环境因子; 土壤微生物

文献标识码: A

文章编号: 1000-288X(2012)05-0145-07

中图分类号: Q938.1<sup>+</sup>3

## Relationship Between Microbial-composition of Petroleum-contaminated Soil and Its Environmental Factors in Longdong Region of Loess Plateau

WANG Jin-cheng<sup>1,2</sup>, JING Ming-bo<sup>1,2</sup>, XIAO Zhao-xia<sup>1</sup>,

LIU Ling-xia<sup>1</sup>, WANG Feng-qin<sup>1</sup>, ZHANG Xi-biao<sup>1,3</sup>, ZHOU Tian-lin<sup>1</sup>

(1. University Provincial Key Laboratory for Protection and Utilization of Longdong

Bio-resources in Gansu Province, College of Life Science and Technology, Longdong University,

Qingyang, Gansu, 745000, China; 2. College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an,

Shaanxi 710062, China; 3. State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau,

Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** To further understand and assess the effect of oil exploitation on soil environment in the Longdong region of the Loess Plateau, China, soil microbial-community characteristic and its relation with soil environmental factors under different oil pollution degrees were investigated by using plate culture and multivariate analysis. Results show that: (1) as for the total number of soil microorganism, the site plots( $S_{1-3}$ ) surrounding oil pollution sources(30 m) demonstrated the top, and followed by the site plots( $S_{7-9}$ ), 200 m away from the pollution sources, as well as the site plots( $S_{4-6}$ ), 100 m away from the pollution sources, demonstrated the bottom. Besides, the group of actinomycetes with a smaller number played a more important role in the change of Shannon—Wiener index. (2) The environmental factors including soil organic matter, TPHs, salt rate and available P in the site plots( $S_{1-3}$ ) demonstrated the top but the bottom in the site plots( $S_{7-9}$ ); and however, soil pH, available N and available K in the site plots( $S_{7-9}$ ) demonstrated the top but the bottom in

收稿日期: 2012-01-10

修回日期: 2012-04-09

资助项目: 甘肃省庆阳市科技支撑计划项目“黄土高原陇东产油区污染土壤与水体原位修复研究”(GC2011-16); 中国科学院战略性先导科技专项“荒漠草地生态系统碳通量与固碳潜力研究”(XDA05050403)

作者简介: 王金成(1985—), 男(汉族), 甘肃省陇南市人, 硕士, 讲师, 主要从事于环境微生物学及分子微生物生态学领域的研究工作。E-mail: wensent20002002@163.com.

通信作者: 周天林(1961—), 男(汉族), 甘肃省庆阳市人, 教授, 主要从事生态学领域的研究工作。E-mail: ldxywjc@163.com.

the site plots(S<sub>1-3</sub>). (3) Principal component analysis(PCA) indicated that soil TPHs exerted the greatest influence among the 8 environmental factors, and its increase directly developed the content of soil salt, organic matter and available P, which further affected other environmental factors including soil moisture, pH value, bacteria, fungi, actinomycetes and even total microbial amount. The results above revealed that rational development of soil bacteria and actinomycetes resources and exogenous supply of nutrition concerning N and K could stimulate the growth of native oil degradation bacterium and then raise the petroleum hydrocarbon degradation efficiency during the process of bio-remediation on petroleum-contaminated soil in the Longdong region of the Loess Plateau, China.

**Keywords:** Longdong region of Loess Plateau; petroleum-contaminated soil; environmental factor; soil microorganism

土壤微生物是构成土壤生态系统的重要组成部分。分析土壤微生物群落结构的目的在于了解不同地区土壤微生物生态系的特点及土壤内部生态环境的变化对土壤微生物的生长活动规律的影响<sup>[1]</sup>。土壤的石油污染是重要的环境问题之一,它主要包括钻井和采油过程中产生的落地原油和废弃泥浆。由于石油类物质微溶于水,土壤对其有较强的持留作用,因而改变土壤性质,影响透水能力,使农作物及地表植被难以生长<sup>[2]</sup>,进而影响了土壤微生物的生长繁殖,引起土壤微生物群落的变化<sup>[3]</sup>。

自 20 世纪 70 年代以来,陇东黄土高原地区已成为长庆油田公司的主产区,但在石油开采过程中造成的石油污染面积已达 500~1 000 hm<sup>2</sup>,而在重污染区,土壤原油含量高达 3 510 mg/kg,高出临界值(500 mg/kg)7 倍<sup>[4]</sup>。

由于陇东黄土高原石油污染区生态修复研究尚处于起步阶段,定性地提及土壤微生物群落分布的生境特点,但关于污染区土壤微生物类群与环境因子间的定量关系却鲜有报道。为此,本文以陇东黄土高原石油污染区土壤为研究对象,以土壤微生物群落组成及其环境因子间关系为切入点,利用“稀释平板法”研究了污染区土壤微生物 3 大类群组成,并测定了土壤有机质、pH 值、含油量(TPHs),碱解氮、速效钾和速效磷含量;通过主成分分析(PCA),研究了土壤微生物群落特征与土壤环境因子的关系,结果将有助于认识不同类型的污染土壤微生物群落组成及其影响因子间关系,并为土壤石油烃污染的综合治理提供基础依据和数据参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

研究区位于陇东黄土高原庆阳市董志乡长庆油田第二采油厂,地理坐标为东经 106°38′—108°40′,北纬 35°69′—35°71′,海拔 1 380~1 400 m。该区属黄土高原沟壑地貌,土壤类型为黄绵土,质地为轻壤。

侵蚀面积为 25 050.5 km<sup>2</sup>,占全区总面积的 92.4%,侵蚀模数为 6 383~9 000 t/hm<sup>2</sup>,是典型水土流失区之一。属暖温带半干旱季风气候区,光、热等气候资源丰富,作物种植制度为一年两熟。由于季风的强烈影响,冬季寒冷干燥,春季多风且干旱少雨,夏季温暖多雨,水热同期,年降水量 400~600 mm,雨量分布不均,且主要集中在 7—9 月,多年平均蒸发量 1 000 mm 以上,地面蒸发量为 350~560 mm,地下水位深。属于雨养农业区,在黄绵土类区农业发展的主要限制因素是干旱,土壤瘠薄<sup>[5]</sup>。

### 1.2 土壤样品采集

石油污染土壤采自甘肃省庆阳市长庆油田第二采油厂,以选定采油钻井为中心,在直径分别为 30、100 和 200 m 的同心圆样地采集土壤(表 1)。利用取土钻,按对角线五点取样法,在每一样地中采集 0—30 cm 深度的土壤,将 5 个点采集的土壤混匀成 1 个土样,每个样地 3 个重复。所采土样放在冷藏箱中,及时带回实验室,挑除草根,过 2 mm 土壤筛后进行分析处理。测定土壤养分所需的样品采用“四分法”取样。全部通过 1 mm 孔径筛,再从过 1 mm 孔径筛的土样中均匀取出 1/4,通过 0.149 mm 孔径筛<sup>[6]</sup>。

表 1 土样采集地点概况

| 样地编号           | 与采油机距离/m | 土地利用方式 | 地形信息                           |
|----------------|----------|--------|--------------------------------|
| S <sub>1</sub> | 28       | 采油     | 海拔 1 320~1 352 m,阴坡,坡度 15°~23° |
| S <sub>2</sub> | 33       | 采油     |                                |
| S <sub>3</sub> | 29       | 采油     |                                |
| S <sub>4</sub> | 96       | 撂荒地    | 海拔 1 340~1 363 m,阴坡,坡度 20°~28° |
| S <sub>5</sub> | 105      | 撂荒地    |                                |
| S <sub>6</sub> | 98       | 撂荒地    |                                |
| S <sub>7</sub> | 195      | 玉米地    | 海拔 1 330~1 381 m,阴坡,坡度 17°~26° |
| S <sub>8</sub> | 199      | 小麦地    |                                |
| S <sub>9</sub> | 204      | 小麦地    |                                |

### 1.3 土壤微生物类群及理化性质测定

1.3.1 微生物数量测定 采用稀释平板法,细菌用

牛肉膏蛋白胨培养基,放线菌用高氏 I 号培养基,真菌用孟加拉红培养基(成品,北京银桥生物有限公司)<sup>[6-7]</sup>。

1.3.2 土壤理化性质测定 土壤有机质和碱解氮分别采用重铬酸钾容量法—外加热法、碱解扩散法<sup>[8]</sup>;土壤速效磷、速效钾分别采用 0.5 mol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 浸提—钼锑抗比色法、火焰光度计法<sup>[9]</sup>;用电位法(pHS-3 酸度计)测定土样 pH 值;含水量采用烘干法<sup>[7]</sup>;含盐率采用质量法<sup>[10]</sup>;采用超声—索氏萃取—重量法测定土壤中总石油烃含量(TPHs)<sup>[11]</sup>。

#### 1.4 数据处理

利用 SPSS 16.0 和 CANOCO for Windows 4.5 对数据进行处理分析,用利用 Origin 6.1 软件和 CANODRAW Version 4.0 制图。9 个样地的微生物总数、细菌数、放线菌数和真菌数设为 PCA 分析中的物种数据,并进行中心化处理。环境数据包括 8 个环境因子,即土壤 TPHs 含量、有机质、含水量、含盐率、pH 值、碱解氮、速效钾、速效磷。经标准化处理<sup>[12]</sup>,用主成分分析(PCA)进行排序。

以 Shannon—Wiener 指数<sup>[13]</sup>作为土壤可培养微生物的综合性指标,公式如下:

$$H' = -\sum P_i \ln P_i$$

式中:  $H'$ ——Shannon—Wiener 指数;  $P_i$ ——样品中第  $i$  种类群个体所占比例。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同石油污染样地间土壤微生物组成的变化

表 2 为不同石油污染样地间土壤微生物 3 大类群组成。土壤微生物总数在不同样地间差异极显著( $F_{总} = 296.708 > F_{0.01}$ ,  $p < 0.01$ );多重比较(Duncan,  $\alpha = 0.05$ )结果显示,距离采油机 30 m 和 200 m 处的 6 个样地土壤微生物总数相对最高,表现为:  $S_3$

$> S_2 > S_1 > S_9 > S_8 > S_7 > S_5 > S_6 > S_4$ 。土壤细菌数量在不同样地间差异极显著( $F_{细} = 239.539 > F_{0.01}$ ,  $p < 0.01$ ),且表现出与土壤微生物总数相同的变化趋势。就土壤真菌、放线菌而言,各样地间土壤真菌数量差异极显著( $F_{真} = 36.984 > F_{0.01}$ ,  $F_{放} = 83.714 > F_{0.01}$ ,  $p < 0.01$ );多重比较(Duncan,  $\alpha = 0.05$ )结果显示,距离污染源最近的 3 处样地(30 m)土壤真菌数量最高,100 m 处样地最低,真菌数量表现为:  $S_3 > S_2 > S_1 > S_7 > S_9 > S_8 > S_6 > S_5 > S_4$ ,放线菌数量变化表现为  $S_1 > S_3 > S_2 > S_9 > S_8 > S_7 > S_6 > S_5 > S_4$ 。

李洪梅等<sup>[14]</sup>通过盆栽试验,研究了不同浓度石油污染物对土壤微生物区系的影响,结果表明,石油污染在某种程度上增加刺激土壤微生物的生长。岳冰冰等<sup>[15]</sup>应用 Biolog 微平板技术,研究了大庆油田开采 36 a 的石油污染土壤不同土层土壤微生物群落对碳源的利用特性,结果表明,石油污染明显提高了土壤微生物群落的代谢活性。李慧等<sup>[16]</sup>研究认为,石油污染可显著提高土壤微生物(细菌、放线菌、真菌)数量。

本研究结果中,随着土壤 TPHs 含量的增加(表 3),土壤 3 大类群数量也随之增加。其原因可能是:(1)石油烃刺激了土壤微生物活动,表现为数量增加,以降解外来污染物保持原有的平衡,因而距离污染源最近的  $S_{1-3}$  土壤微生物 3 大类群数量均为最高;(2)石油烃在一定范围内可作为 C 源物质对土壤微生物群落有刺激生长繁殖作用,其中细菌及真菌中许多种类都是发酵性类群,因而外源有机物质常对它们的群落产生明显影响;(3)TPHs 含量相对较低的污染区农田( $S_9$ )土壤微生物数量较高的原因,除了石油烃带来的丰富的碳源,提高了土壤微生物数量外,还可能是由于施用了化肥等外源 N, P 等营养物质,刺激了该处样地土壤微生物的大量生长。

表 2 不同石油污染样地间土壤微生物 3 大类群组成

10<sup>4</sup> cfu/g

| 样地编号           | 细菌                 | 真菌            | 放线菌             | 总数               |
|----------------|--------------------|---------------|-----------------|------------------|
| S <sub>1</sub> | 2001.69 ± 26.36* a | 29.78 ± 1.15a | 179.66 ± 9.64a  | 2209.11 ± 72.56a |
| S <sub>2</sub> | 1930.53 ± 24.91a   | 40.35 ± 4.58b | 176.63 ± 11.05a | 2146.65 ± 40.28a |
| S <sub>3</sub> | 1968.65 ± 11.76a   | 43.98 ± 1.45b | 178.95 ± 4.81a  | 2189.66 ± 16.68a |
| S <sub>4</sub> | 215.75 ± 13.76b    | 6.56 ± 1.89c  | 35.05 ± 6.89b   | 257.13 ± 30.04b  |
| S <sub>5</sub> | 226.35 ± 6.35b     | 8.39 ± 2.96c  | 43.22 ± 4.91bc  | 278.95 ± 62.10b  |
| S <sub>6</sub> | 200.45 ± 4.84b     | 8.71 ± 3.61c  | 58.64 ± 3.18c   | 266.04 ± 52.59b  |
| S <sub>7</sub> | 1040.53 ± 17.23c   | 19.95 ± 1.65d | 136.71 ± 3.28d  | 1195.19 ± 70.62c |
| S <sub>8</sub> | 1316.67 ± 20.81d   | 16.75 ± 1.99d | 139.76 ± 9.69d  | 1472.15 ± 54.33d |
| S <sub>9</sub> | 1593.53 ± 28.41e   | 18.61 ± 2.96d | 148.31 ± 13.64d | 1760.36 ± 83.71e |

注: \* 表示数据为平均值 ± 标准误; 每组同列的不同字母表示差异显著性水平; 小写字母为 5% 显著水平。下同。

表 3 不同石油污染样地间土壤理化性质

| 样地编号           | 总石油烃含量/<br>( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | 含水量/<br>%   | 含盐率/<br>%  | pH 值       | 碱解氮/<br>( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | 速效钾/<br>( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | 速效磷/<br>( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | 有机质          |
|----------------|---|-------------|------------|------------|---|---|---|--------------|
| S <sub>1</sub> | 2382.08±96.25 <sup>a</sup>                      | 4.94±0.07a  | 0.62±0.03a | 8.07±0.01a | 0.44±0.04a                                  | 0.31±0.03a                                  | 0.93±0.06a                                  | 162.83±4.09a |
| S <sub>2</sub> | 2312.12±96.85a                                  | 5.05±0.05a  | 0.63±0.05a | 8.07±0.02a | 0.53±0.07a                                  | 0.32±0.04a                                  | 0.91±0.06a                                  | 173.23±2.02a |
| S <sub>3</sub> | 2407.79±63.55a                                  | 5.34±0.11ab | 0.47±0.02a | 8.07±0.02a | 0.67±0.02b                                  | 0.38±0.02a                                  | 0.95±0.05a                                  | 158.15±3.78b |
| S <sub>4</sub> | 942.03±50.96b                                   | 5.87±0.05bc | 0.38±0.01b | 8.13±0.01b | 0.68±0.03b                                  | 0.31±0.02a                                  | 0.71±0.03b                                  | 110.55±5.17b |
| S <sub>5</sub> | 929.96±39.92b                                   | 6.37±0.31cd | 0.34±0.01b | 8.17±0.02b | 0.69±0.03b                                  | 0.61±0.04b                                  | 0.71±0.03b                                  | 97.55±4.91c  |
| S <sub>6</sub> | 990.18±37.84b                                   | 6.84±0.11bd | 0.35±0.03b | 8.15±0.03b | 0.82±0.06c                                  | 0.63±0.04b                                  | 0.82±0.04c                                  | 104.63±2.50c |
| S <sub>7</sub> | 491.99±24.11c                                   | 10.96±0.14e | 0.24±0.02d | 8.27±0.02c | 0.84±0.08c                                  | 0.72±0.05c                                  | 0.58±0.05c                                  | 94.82±4.41c  |
| S <sub>8</sub> | 585.69±66.22c                                   | 10.72±0.64e | 0.21±0.05d | 8.26±0.04c | 0.87±0.07c                                  | 0.76±0.04c                                  | 0.62±0.02c                                  | 98.19±3.10c  |
| S <sub>9</sub> | 550.71±26.82c                                   | 10.34±0.24e | 0.19±0.03d | 8.31±0.05c | 0.87±0.08c                                  | 0.81±0.04c                                  | 0.71±0.02c                                  | 92.49±3.54c  |

由表 2 可见,以 3 大类群中数量来看,细菌>放线菌>真菌,对不同样地的土壤 3 大类群数量及其与石油烃(TPHs)含量进行相关性分析,结果表明,土壤微生物 3 大类群间均呈现出极显著正相关( $r_{\text{细-真}}=0.868$ , $r_{\text{细-放}}=0.958$ , $r_{\text{真-放}}=0.853$ , $p<0.01$ );土壤 TPHs 含量与细菌、真菌数量均呈极显著正相关( $r_{\text{TPHs-细}}=0.613$ , $r_{\text{TPHs-真}}=0.781$ , $p<0.01$ ),与放线菌数量为显著正相关( $r_{\text{TPHs-放}}=0.540$ , $p<0.05$ )。上述结果说明在陇东黄土高原地区,随着污染物的自然代谢和降解,选择性地刺激了放线菌和细菌的生长,而石油烃污染物的存在和微生物之间的竞争关系抑制了真菌的生长,这可能是由于各种类型微生物在该土壤生境中发生了竞争和促进作用。细菌和放线菌之间的正相关性( $r=0.958$ )表明,土壤细菌和放线菌之间存在相互促进作用。

图 1 为不同石油污染样地间土壤可培养微生物 Shannon—Wiener 指数。不同样地间土壤微生物 Shannon—Wiener 指数差异极为显著( $F=32.508>F_{0.01}$ , $p<0.01$ )。多重比较(Duncan, $\alpha=0.05$ )结果显示,距离污染源较近的 3 处样地(S<sub>1-3</sub>)土壤微生物 Shannon—Wiener 指数最高,表现为:S<sub>3</sub>(0.494 67)>S<sub>2</sub>(0.476 1)>S<sub>1</sub>(0.437 33)>S<sub>5</sub>(0.344 67)>S<sub>4</sub>(0.326 33)>S<sub>6</sub>(0.320 67)>S<sub>9</sub>(0.268 33)>S<sub>8</sub>(0.251 33)>S<sub>7</sub>(0.242 67)。在 3 大类群微生物数量对 Shannon—Wiener 指数建立的最优回归方程中,只有细菌和放线菌参与到该方程的构建中,表明真菌对 Shannon—Wiener 指数的变化影响较小。细菌和放线菌的偏回归系数均达到极显著水平,放线菌数量的偏回归系数为-0.826,细菌数量的偏回归系数为-0.547,说明伴随着 TPHs 含量的增加,细菌与放线菌数量总体上的减少导致石油污染土壤的可培养微生物 Shannon—Wiener 指数增高。从偏回归系数绝对值大小来看,前者是后者的 1.51 倍,说明放线菌数

量的变化要比细菌数量的变化对多样性变化的影响大。

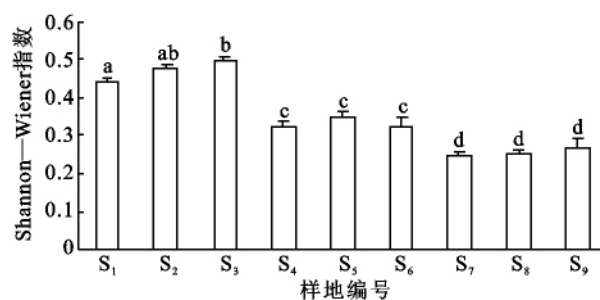


图 1 不同石油污染样地间土壤可培养微生物的 Shannon—Wiener 指数

## 2.2 不同石油污染样地间土壤理化性质的变化情况

表 3 为不同石油污染样地间土壤理化性质的变化情况。不同石油污染样地间土壤 TPHs 含量、含水量、含盐率、pH 值、碱解氮、速效钾、有机质、速效磷均差异极显著( $F_{\text{TPHs}}=165.861>F_{0.01}$ , $F_{\text{含水量}}=95.524>F_{0.01}$ , $F_{\text{含盐率}}=34.295>F_{0.01}$ , $F_{\text{pH}}=23.040>F_{0.01}$ , $F_{\text{碱解氮}}=22.388>F_{0.01}$ , $F_{\text{速效钾}}=22.688>F_{0.01}$ , $F_{\text{有机质}}=58.854>F_{0.01}$ , $F_{\text{速效磷}}=26.348>F_{0.01}$ , $P<0.01$ );多重比较(Duncan, $\alpha=0.05$ )结果显示,距离采油机 30 m 的样地(S<sub>1-3</sub>)土壤 TPHs 含量、有机质、含盐率及速效磷最高。土壤 pH 值、含水量、碱解氮及速效钾含量以 200 m 处样地(S<sub>7-9</sub>)最高,且随污染源间的距离增加而降低。对不同污染土样的土壤理化指标与石油烃含量进行相关性分析,结果表明:除与土壤有机质含量、含盐率、速效磷呈极显著正相关( $r_{\text{TPHs-有机质}}=0.807$ , $r_{\text{TPHs-含盐率}}=0.868$ , $r_{\text{TPHs-速效磷}}=0.794$ , $p<0.01$ )外,土壤 TPHs 与 pH 值、碱解氮、速效钾和速效磷均呈极显著负相关( $r_{\text{TPHs-pH}}=-0.855$ , $r_{\text{TPHs-碱解氮}}=-0.806$ , $r_{\text{TPHs-速效钾}}=-0.785$ , $p<0.01$ )。

前人研究认为,石油污染对土壤理化性质的影响表现在,污染使土壤有机质显著增加,且明确指出石油是一种含碳的有机化合物,因此石油污染后土壤中的有机质含量明显增加<sup>[17]</sup>。Leahy 等<sup>[18]</sup>研究认为土壤微生物在降解石油烃时会产生羧酸类中间产物,可能会使 pH 值在一段时间内降低。本研究中,虽然研究样地地处黄土高原,但随着与污染源距离的增加,土壤 pH 值仍呈现出极显著降低趋势,原因可能是由于污染源附近新鲜石油不断污染周边土地,在造成土壤通气性下降的同时又为土壤微生物提供丰富的碳源,致使土壤中厌氧菌对石油烃的自然降解过程中得到了强化,特别是土壤中的硫酸盐还原菌等在厌氧降解的过程容易产生酸性物质<sup>[19]</sup>,导致了土壤 pH 值在污染源附近(30 m)的 3 处样地( $S_1, S_2, S_3$ )最低。本研究中土壤碱解氮、速效钾及速效磷含量在不同样地间均呈现出 200 m 处均最高,100 m 处次之,污染源 30 m 处最低的趋势。原因可能是:第一,土壤中生物可利用的 C:N:P 在 120:10:1 时有利于土壤中微生物对石油污染物的降解,石油烃污染导致土壤中的碳含量大幅度增加,进而造成 N 素不足<sup>[17]</sup>;此外,污染源附近土壤中 TPHs 含量最高,为土壤微生物提供了丰富的碳源,有助于污染土壤自然降解过程中土著石油降解菌的大量生长,而这些土著石油降解菌在生长的同时大量消耗了土壤中原有的 N、K 等营养物质,因此出现了上述变化情况;第三,距离污染源 200 m 处的土地已用作农田,外源施加化肥等营养物质在一定程度上增加了土壤 N 和 K 等营养物质的含量。由此说明,在黄土高原进行石油污染生物修复过程中,投加 N、K 等营养元素可能会提高石油烃的降解效率。

### 2.3 不同石油污染样地环境因子与土壤微生物群落关系

PCA 各排序轴的特征值显示(表 4),第 1、2 轴的特征值之和(0.998)占有所有排序轴总特征值之和

(1.000)的 99.8%,可解释的物种及其分布信息量的 99.8%。由物种—环境关系累计解释量可知,第 1、2 轴分别可解释物种—环境关系 79.8%和 99.8%的信息。且第 1、2 排序轴的相关性较小,为 0.197 3(表 5)。其中,环境因子用带有箭头的线段表示,连线的长短表示物种的分布与该环境因子关系的大小,箭头连线与排序轴的夹角表示该环境因子与排序轴相关性的大小,箭头所指的方向表示该环境因子的变化趋势<sup>[20]</sup>。表 4 为 PCA 排序的特征值及积累解释量。

从 8 个环境因子与排序轴之间的相关系数可看出(表 5),8 个环境因子对不同石油污染样地间各微生物类群的数量均具有显著的影响。土壤 TPHs 含量、含盐量及速效磷与第 1 排序呈正相关关系,土壤含水量、pH 值、速效钾与第 1 排序呈负相关关系,说明在陇东黄土高原地区,随着土壤 TPHs 含量、含盐量及速效磷的含量增加,土壤含水量、pH 值、速效钾含量随之降低。石油污染土壤含油率和含水率间受石油残留饱和度的影响,存在此消彼长、相互制约的关系。当土壤 TPHs 含量增加,即土壤孔隙中石油占主导,其饱和度较大时,土壤孔隙中水分含量较低,反之亦然,因而石油的强疏水性导致高含油率土壤的疏水性,使土壤含水率降低,土壤储水能力下降,并造成土壤盐分的积累<sup>[21]</sup>;而上述物质含量的增加,引起了土壤细菌及放线菌数量的上升,进而引起的厌氧降解的过程产生的酸性物质使得土壤含水量及 pH 值下降<sup>[16]</sup>,而土壤 pH 值降低时,有助于  $H_2PO_4^-$  含量增加,磷酸盐溶解平衡移动,造成土壤速效磷含量增加<sup>[21]</sup>。

表 4 PCA 排序的特征值、梯度的长度及积累解释量

| 排序轴   | 特征值   | 物种—环境关系累积解释量/% |
|-------|-------|----------------|
| 第 1 轴 | 0.798 | 79.800         |
| 第 2 轴 | 0.200 | 99.800         |
| 第 3 轴 | 0.002 | 100.000        |
| 第 4 轴 | 0.000 | 0.000          |

表 5 环境因子与排序轴之间的相关性分析

| 项目    | 第 1 轴   | 总石油烃含量    | 含水量        | 含盐率       | pH 值       | 碱解氮       | 速效钾        | 速效磷       | 有机质       |
|-------|---------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|
| 第 1 轴 | 1.000 0 | 0.647 1*  | -0.892 4** | 0.813 7** | -0.717 6** | 0.386 4   | -0.966 1** | 0.883 2** | 0.412 7   |
| 第 2 轴 | 0.197 3 | -0.539 4* | 0.471 5    | -0.429 6  | -0.513 5   | 0.984 3** | -0.315 1   | 0.447 3   | -0.725 9* |

注:\*表示相关性达显著水平  $p < 0.05$ ; \*\*表示相关性达极显著水平  $p < 0.01$ 。

与第 2 排序轴关系最大的为碱解氮含量(0.984 3),且与土壤 TPHs 含量(-0.539 4)、有机质(-0.725 9)呈负相关关系,第 2 排序轴结果说明陇东地区石油污

染土壤中土壤 TPHs 含量的增加将直接导致土壤碱解氮含量的降低。前人研究认为石油污染会导致土壤中氮素不足,但王传远等<sup>[22]</sup>研究认为,土壤 TPHs

含量与碱解氮含量间无相关性。上述结果与本研究成果不尽相同,原因可能是由于王传远等研究黄河三角洲生态区内部分油田生产区石油污染土壤特性及其与理化性质时忽略了土壤微生物的作用。本研究认为土壤碱解氮含量降低的原因可能是由于土壤 TPHs 含量增加为土壤微生物提供了丰富的碳源,有助于污染土壤自然降解过程中土著石油降解菌的大量生长,而这些土著石油降解菌在生长的同时大量消耗了土壤中原有的氮素所致。

和环境因子夹角较小的物种变量,可以认为两者具有较好相关性<sup>[20]</sup>,从图 2 可以看出,土壤细菌及微生物总数与土壤 pH 值、速效钾及含水量间相关性较大;土壤真菌数量与碱解氮间以及放线菌与土壤 TPHs 含量、含盐量及有机质间相关性较大。

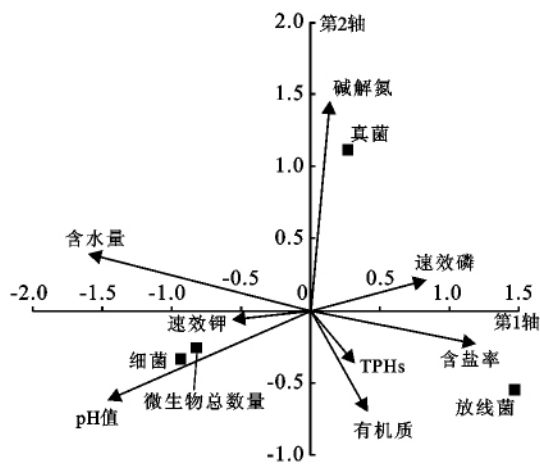


图 2 土壤微生物 3 大类群与 8 个环境因子的 PCA 排序

上述结果说明,陇东黄土高原石油污染土壤中,TPHs 含量的增加导致了土壤含盐率、有机质的增加,并刺激了土壤放线菌数量的生长,因此在该地区进行石油污染生态修复过程中可以在土壤放线菌中筛选石油降解菌。此外,TPHs 含量的增加在导致土壤含盐率、有机质的增加的同时,石油等有机物的疏水性及土壤通气性下降引起的厌氧降解的过程产生的酸性物质使得土壤含水量及 pH 值下降,而上述环境因子含量的降低有助于土壤细菌数量及微生物总数的增加。土壤真菌方面,从图 2 看出,土壤真菌数量与土壤碱解氮含量间相关性较大,这可能与真菌能分解蛋白质类化合物,参与有机质分解与腐殖质合成有关<sup>[23]</sup>。

综上所述,TPHs 含量在陇东黄土高原石油污染土壤的众多环境因子中作用相对较大,其含量的上升导致了土壤含盐率、有机质的增加,进而影响到了土壤含水量、pH 值、土壤细菌、放线菌、微生物总数及其

他营养物质,环境因子的这种关系实际也反映出 3 种微生物类群分布的环境特点。

### 3 结论

(1) 土壤 TPHs 含量的增加,刺激了土壤微生物活动,表现为土壤微生物 3 大类群数量的增加,以降解外来污染物保持原有的平衡,因而距离污染源最近的  $S_1$ ,  $S_2$  和  $S_3$  土壤微生物 3 大类群数量均为最高;TPHs 含量相对较低的农田污染区( $S_7$ ,  $S_8$ ,  $S_9$ )土壤微生物数量较高的原因除了石油烃带来的丰富的 C 源外,还可能是由于施用了化肥等外源 N, P, K 等营养物质,刺激了该处样地土壤微生物的大量生长。依 3 大类群微生物数量对 Shannon—Wiener 指数建立的最优回归方程中,只有细菌和放线菌参与到该方程的构建中,表明真菌对 Shannon—Wiener 指数的变化影响较小。细菌和放线菌的偏回归系数均达到极显著水平( $p < 0.01$ ),且偏回归系数皆为负值,说明伴随着 TPHs 含量的增加,细菌与放线菌数量总体上的减少导致石油污染土壤的可培养微生物 Shannon—Wiener 指数增高。

(2) 距离采油机 30 m 的 3 个样地土壤 TPHs 和速效磷含量相对最高,200 m 处的污染土壤 TPHs 含量最低。土壤 pH 值、碱解氮及速效钾含量在不同样地间均呈现出 200 m 处均最高,污染源 30 m 处最低。土壤有机质含量在不同污染样地间表现为: $S_2 > S_1 > S_4 > S_3 > S_6 > S_7 > S_8 > S_5 > S_9$ 。上述结果说明,污染源附近土壤中 TPHs 含量最高,有助于污染土壤自然降解过程中土著石油降解菌的大量生长,而这些土著石油降解菌在生长的同时大量消耗了土壤中原有的 N, P, K 等营养物质,致使其土壤含量降低;但距离污染源 200 m 处的土地已用作农田,外源施加化肥等营养物质在一定程度上增加了土壤 N, P, K 等营养物质的含量,因而也解释了土壤微生物 3 大类群数量也随着增加的原因。

(3) 应用 PCA 排序分析了不同污染样地间土壤微生物群落与环境之间的关系,结果显示,影响污染样地间土壤微生物群落的环境因子呈现出:随着土壤 TPHs 含量、含盐量及速效磷的含量增加,土壤含水量、pH 值、速效钾、碱解氮含量随之降低;此外,TPHs 含量、土壤含盐率及有机质的增加,引起了土壤细菌、放线菌及微生物总数的上升。由此说明,在陇东黄土高原地区开展生物修复石油污染时,充分开发利用土壤细菌及放线菌资源,并外源投加 N, K 等营养元素,从而刺激土著石油降解菌的生长,进而提高石油烃的降解效率。

## [ 参 考 文 献 ]

- [1] 王梅,江丽华,刘兆辉,等.石油污染物对山东省三种类型土壤微生物种群及土壤酶活性的影响[J].土壤学报,2010,47(2):341-346.
- [2] 邵涛,金凤.石油固体废弃物对土壤环境的生态效应研究[J].中国环境监测,2009,25(3):99-106.
- [3] 李慧,陈冠雄,杨涛,等.沈抚灌区含油污水灌溉对稻田土壤微生物种群及土壤酶活性的影响[J].应用生态学报,2005,16(7):1355-1359.
- [4] 秦岩.陇东油区土壤石油污染现状及修复技术初探[J].陇东学院学报,2010,2(21):64-66.
- [5] 庆阳地区土壤普查办公室.甘肃庆阳土壤[M].兰州:甘肃科学技术出版社,1989:1-30.
- [6] 姚槐应,黄昌勇,吕镇梅,等.土壤微生物生态学及其实验技术[M].北京:科学出版社,2006:160-163.
- [7] 许光辉,郑洪元.土壤微生物分析方法手册[M].北京:农业出版社,1986:176-179.
- [8] 鲍士旦.土壤农化分析[M].3版.北京:中国农业出版社,1999:245-353.
- [9] 宋歌,孙波,教剑英.测定土壤硝态氮的紫外分光光度法与其他方法的比较[J].土壤学报,2007,44(2):288-291.
- [10] 押辉远,易力,周胜利,等.南阳油污土壤微环境分析及石油降解菌筛选[J].湖北农业科学,2011,56(6):1132-1136.
- [11] 王如刚,王敏,牛晓伟,等.超声-索氏萃取-重量法测定土壤中总石油烃含量[J].分析化学,2010,38(3):417-420.
- [12] 沈泽昊,张新时,金义兴.三峡大老岭森林物种多样性的空间格局分析及其地形解释[J].植物学报,2000,42(6):620-627.
- [13] 孙儒泳.动物生态学原理[M].3版.北京:北京师范大学出版社,2001:398-399.
- [14] 李洪梅,郜玉环,江丽华,等.不同浓度石油烃对油菜产量、土壤中石油烃残留量及土壤微生物的影响[J].中国农学通报,2010,26(17):382-385.
- [15] 岳冰冰,李鑫,任芳菲,等.石油污染地土壤微生物群落的碳源利用特性[J].应用生态学报,2011,22(12):3259-3264.
- [16] 李慧,陈冠雄,杨涛,等.沈抚灌区含油污水灌溉对稻田土壤微生物种群及土壤酶活性的影响[J].应用生态学报,2005,16(7):1355-1359.
- [17] 刘五星,骆永明,滕应,等.石油污染土壤的生态风险评估和生物修复Ⅱ:石油污染土壤的理化性质和微生物生态变化研究[J].土壤学报,2007,44(9):848-853.
- [18] Leahy J G, Colwell R R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment[J]. Microbial Review, 1999,54(3):305-315.
- [19] Antonio D A, Francesca B, Massimo G, et al. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in anoxic marine sediments: Consequences on the speciation of heavy metals [J]. Marine Pollution Bulletin, 2009, 58(12): 1808-1814.
- [20] Rowe E C, Hairaih K, Giller K E, et al. Testing the safety-netrole of hedgerow tree roots by 15N placement as different soil depths [J]. Agroforestry System, 1999,43:81-93.
- [21] 贾建丽,刘莹,李广贺,等.油田区土壤石油污染特性及理化性质关系[J].化工学报,2009,6(2):726-732.
- [22] 王传远,杨翠云,孙志高,等.黄河三角洲生态区土壤石油污染及其与理化性质的关系[J].水土保持学报,2011,24(2):214-217.
- [23] 陆爽,张霞,谭勇,等.新疆栽培红花(*Carthamus tinctorius* L.)土壤微生物数量及其影响因子分析[J].土壤通报,2011,10(42):1093-1098.