

文章编号: 1674-1730(2017)01-0067-06

陇东黄土高原地区石油污染土壤对 不同生物修复方式的响应

王金成^{1 2}, 井明博^{1 2}, 石国玺³, 王国锋⁴, 李东波^{1 2},
毛宁^{1 2}, 贾海燕^{1 2}, 卜婷^{1 2}

(1. 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. 陇东学院 生命科学
与技术学院, 甘肃 庆阳 745000; 3. 中国科学院 西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008;
4. 陕西师范大学 生命科学学院, 陕西 西安 710062)

摘要: 目的: 为了分析比较不同生物修复方式对陇东黄土高原地区石油污染土壤的修复效果。方法: 分别采用土著微生物降解功能菌群修复(MR)、陇东适生植物“金盏菊”修复(PR)及两者的联合修复(M-PR) 3种修复方式开展为期121天的原位修复实验, 测定了土壤总石油烃含量(TPHs)、土壤脱氢酶活性及其土壤细菌群落遗传多样性等环境指标。结果: 经121天原位修复实验 M-PR组TPHs降解率(67.29 ± 3.67%)及脱氢酶活性(40.33 ± 1.24 μg·g⁻¹·24h⁻¹)均为最高。PCR-DGGE分析结果显示: M-PR组多样性和丰富度指数均高于其他处理。NMDS排序结果显示, 土壤TPHs含量高低是决定样地分异最大的环境因子, 其次为修复方式、土壤脱氢酶活性和丰富度指数。结论: 上述结果说明如何有效降低土壤TPHs含量以及有效增加联合修复土壤根际微生物数量及多样性这是陇东黄土高原地区开展石油污染土壤修复的决定性环境因素。

关键词: 石油污染土壤; 生物修复方式; 石油降解率; 脱氢酶; 微生物多样性
中图分类号: X53 **文献标识码:** A

Responses of Different Bioremediation Patterns on Crude-oil Contaminated Soil in Eastern Gansu Province

WANG Jin-cheng^{1 2}, JING Ming-bo^{1 2}, SHI Guo-xi³, WANG Guo-feng⁴,
LI Dong-bo^{1 2}, MAO ning^{1 2}, JIA Hai-yan^{1 2}, BU Ting^{1 2}

(1. University Provincial Key Laboratory for Protection and Utilization of Longdong Bio-resources in Gansu Province, Qingyang, 745000, Gansu; 2. College of Life Science and Technology, Longdong University, Qingyang, 745000, Gansu; 3. Chinese Academy of Sciences, Northwest Institute of Plateau Biology, Xining, 810008, Qinghai; 4. College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an, 710062, Shaanxi)

Abstract: Objective: To contrast the remediation effect of different bioremediation patterns on crude-oil polluted soil in eastern Gansu Province. Methods: Different bioremediation patterns including local microbial functional agents (MR), phytoremediation (PR) and combined remediation (M-PR) have been selected in situ bioremediation of on crude-oil contaminated soil for 4 months. Total petroleum hydrocarbons (TPHs) and soil dehydrogenase activity are investigated using conventional methods, and the genetic diversity of bacterial community is analyzed based on PCR-DGGE. Results: We found that a higher TPHs degradation rate (μM-P R = 67.29 ± 3.67%) and increased soil dehydrogenase activity (40.33 ± 1.24 μg·g⁻¹·24h⁻¹) are detected in M-P R group. As for the genetic diversity of bacterial community, Patrick index and Shannon-Wiener index of M-PR group are significantly higher than that of other

收稿日期: 2016-10-03

基金项目: 甘肃省科技支撑计划项目《陇东黄土高原地区石油污染土壤原位修复技术与示范》(1204FKCM173); 甘肃省教育厅科技计划项目《陇东黄土高原石油污染土壤微生物群落动态分析及石油降解菌的筛选》(2014B-091); 甘肃省庆阳市科技支撑计划项目《陇东黄土高原地区石油污染土壤原位修复研究》(GC2011-16)

作者简介: 王金成(1985—), 男, 甘肃两当人, 讲师, 硕士, 主要从事环境微生物学及分子微生物生态学领域研究。

groups, and the increased Pielou index is only detected in group of PR and M-PR compared with the CK respectively. Moreover, Nonmetric multidimensional scaling (NMDS) showed that crude-oil contaminated soil in Gansu province of the Loess Plateau are strongly affected by soil TPHs concentration ($r^2 = 0.9218$), bioremediation pattern ($r^2 = 0.8607$), and following-affected by Patrick index of soil bacterial communities ($r^2 = 0.7064$). Conclusion: All of the results mentioned above are conducive to further understand the response of soil environmental factors on crude oil pollution, and offer background information for the remediation of crude oil-contaminated soil in eastern Gansu Province.

Key words: crude-oil contaminated soil; bioremediation pattern; TPHs degradation rate; soil dehydrogenase activity; the genetic diversity of bacterial community

石油污染土壤的微生物修复技术已成为当今环保领域一种经济有效的污染治理技术,具有环境影响小,无二次污染,最大限度降低污染物浓度等优点^{[1]280};通过提供营养元素或改善微生物生长环境条件来刺激土著微生物的生长从而加速石油烃的降解^[2]。而植物修复则利用植物富集持久性有机污染物,进而通过植物代谢对其转化和矿化,同时植物根际与土壤微生物的共代谢可加速土壤中有机污染物降解速率^[3]。

虽然生物修复相比物理化学修复具有成本低、不破坏土壤结构、无二次污染,可原位修复等优点^[4],但微生物、植物发挥活性的条件相对苛刻^[5,6],易受土壤理化性质等环境因子的影响^[7,8]。陇东黄土高原地区属生态脆弱区,气候干旱少雨,寒暑温差大,土壤瘠薄,植被分布独特^{[3]2971}。因此选择修复植物应坚持“适生”的原则,即利用乡土物种应用于退化生态系统的修复,并辅以当地土著石油降解功能菌群来削弱土壤生态毒性。

为此,本研究以甘肃省庆阳市马岭镇陇东油区污泥处理站油污土壤为研究对象,分别采用土著微

生物降解功能菌群修复(MR)、当地适生植物“金盏菊”修复(PR)及两者的联合修复(M-PR),进行为期121天的原位修复实验,监测了3种修复方式下土壤总石油烃含量(TPHs)、土壤脱氢酶活性及3种土壤细菌群落遗传多样性等环境指标;基于Bray-Curtis相异指数将所测定的5项土壤环境因子及3种不同处理方式拟合到12个油污样地的非度量多维尺度(NMDS)排序图上,旨在揭示陇东黄土高原地区石油污染土壤对不同生物修复方式的响应,对石油污染土壤的综合治理提供基础数据和背景资料,亦为陇东黄土高原特定区域下开展石油污染土壤生物修复提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试土壤为甘肃省庆阳市马岭镇陇东油区污泥处理站油污土壤,经实验测得供试石油污染土壤的初始含油量为3.19%(即 $31947.86 \pm 383.37 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),远高于国家农业标准临界值 $500 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,风干后过10目筛,土壤理化性质背景值见表1。

表1 供试土壤理化性质背景值

速效钾/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	速效磷/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	碱解氮/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	pH值	有机质/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	土壤容重/($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)
26.41 ± 1.62	41.18 ± 2.27	37.19 ± 2.19	8.48 ± 1.21	326.24 ± 27.54	1.768 ± 0.27

供试植物为金盏菊,品种为德国邦邦,源自陇东学院生农科技园。供试菌剂源自甘肃省高校陇东生物资源保护与利用省级重点实验室通过选择性培养基和富集培养基^{[1]282}自主筛选的石油降解菌。初步鉴定为:假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽胞杆菌属(*Bacillus*)、微球菌属(*Micrococcus*)、线菌属(*Actinomyces*)、红球菌属(*Rhodococcus*)和盐单胞菌属(*Na-*

tronococcus)。

1.2 实验场地设置及生物修复实验

原位修复实验位于甘肃省庆阳市庆城县马岭镇陇东油区污泥处理场内,实验场地分1组空白区和3组试验区,每区成正方形($1 \text{m} \times 1 \text{m}$),空白区未做任何处理,实验区为3种不同生物修复方式实验区(见表2)。

表2 生物修复实验不同处理方式

处理1(CK)	处理2(MR)	处理3(PR)	处理4(M-PR)
自然降解	微生物菌剂修复	植物修复(金盏菊)	微生物-植物联合修复

根据王金成等(2015)的方法^{[1]283},通过计算将扩大培养的菌液按3%(3%的计算方法: $2 \text{个实验区} \times 100 \text{cm} \times 100 \text{cm} \times 15 \text{cm} \times 1.768 \text{g} \cdot \text{cm}^{-3} = 530400 \text{g} = 530.4 \text{kg}$, $530.4 \text{kg} \times 3\% = 15.91 \text{kg}$),约16L菌液(每组设3个平行实验,共计48L菌液)分为6份喷撒接

入已翻耕均匀的2号及4号试验处理区。3号试验区为金盏菊单独修复组,束沿内种植金盏菊幼苗100株,自然降雨提供水分。实验开始于2014年5月14日,结束于2014年9月11日,实验周期为121天,原位修复实验结束后用四分法取样,除利用鲜土提取

土壤微生物细菌基因组总 DNA 外,其余土样在室温背阴处风干,过 2mm 筛备用。

1.3 土壤脱氢酶活性及石油烃降解率测定

脱氢酶采用唐景春的分析方法^[9];石油烃降解率的测定采用重量法,其中土壤石油烃含量采用超声-索氏萃取-重量法测定^[10]

表3 细菌 16S rDNA 及其 V3 区扩增的引物

名称	巢式 PCR 扩增轮次	结合位点 ¹	序列 5'-3'
Bs-for	Run1	41-78	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG
Bs-rev		1541-1522	AAG GAG GTG ATC CAG CCG CA
338F-GC ²	Run2	338-358	GC-clamp-ACT CCT ACG GGA GGC AGC AG
518R		518-535	ATT ACC GCG GCT GCT GG

注:1. 结合位点是相对于大肠杆菌;2. 在 DGGE 分析中,引物 5' 端加入一个富含 GC 序列的 GC 夹子:CGC CCG CCG CGC GCG CCG GCG GCG GCG GCG GCG GCA CCG GCG G

采用巢式 PCR 扩增目的片段。第一轮扩增反应条件:94℃ 预变性 4min,94℃ 变性 45s,61℃ 退火 45s,72℃ 延伸 1min,30 个循环;72℃ 终延伸 10min。反应体系为 20μL:2μL 10 × PCR Buffer;1μL MgCl₂ (25mmol·L⁻¹);0.8μL dNTP (2.5mmol·L⁻¹);0.4μL Primer I (BS-for,10μmol·L⁻¹);0.4μL Primer II (BS-rev,10μmol·L⁻¹);1μL Taq 酶 (5u·μL⁻¹);1μL 模板;补足灭菌双蒸水至 20μL。第二轮扩增以第一轮 PCR 扩增产物 16SrDNA 为模板,采用 Touchdown PCR 策略扩增 16S rDNA V3 区,反应条件为:94℃ 预变性 4min,94℃ 变性 45s,62℃ 退火 45s,72℃ 延伸 1min,之后每一循环降 0.5℃,20 个循环;94℃ 45s,56℃ 45s,72℃ 1min,10 个循环;72℃ 终延伸 10min。反应体系与第一轮 PCR 相同。

采用 DcodeTM 基因突变检测系统 (Bio-Rad) 对 16S rDNA V3 区扩增产物进行 DGGE 分析。电泳所用聚丙烯酰胺凝胶浓度为 10%,变性梯度为 40%~60%。电泳条件为 60℃ 恒温下,70V 电泳 15h,银染

1.4 土壤样品总 DNA 提取、PCR 扩增和变性凝胶电泳 (DGGE) 分析

采用土壤细菌基因组试剂盒 (E. Z. N. A. TM Soil DNA kit, OMEGA Company),提取土样细菌基因组总 DNA,于 -20℃ 保存。将提取的土样基因组总 DNA 作为 PCR 的模板,PCR 扩增过程中所用的引物见表 3。

后凝胶成像分析结果。

1.5 数据处理与计算

利用 SPSS 16.0 和 R2.15.2 (<http://www.r-project.org/>) 对数据进行处理分析,用 Origin8.1 和 R2.15.2 作图。为了阐述石油污染样地与土壤环境因子间的关系,基于 Bray-Curtis 相异指数,使用 R 语言“vegan”程序包中“envfit”程序,将所测定的 5 项土壤环境因子及 3 种不同处理方式拟合到 12 个油污样地的非度量多维尺度 (NMDS) 排序图上,为防止样点在各象限的分布上发生移位,在拟合时对 NMDS 的排序轴进行了旋转,以确保 NMDS 第一轴能够最大程度地代表群落相异性的变异。12 个石油污染样地矩阵及各影响因子数据集分别用 Bray-Curtis 与 Euclidean 距离表示^[11]。

2 结果与分析

2.1 原位修复过程中不同处理方式油污土样石油烃降解率变化

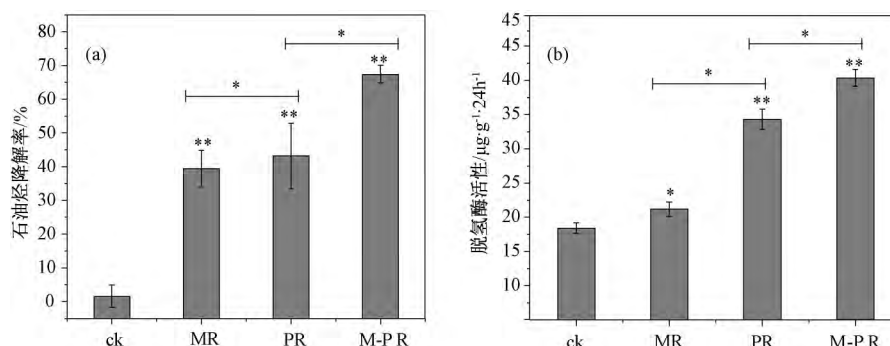


图1 原位修复过程中不同处理方式油污土样石油烃降解率 (a) 及脱氢酶活性 (b) 变化

(* 代表各处理间显著水平 (Duncan $\alpha = 0.05$), ** 表示 $P < 0.01$, * 表示 $P < 0.05$,下同)

图 1(a) 为原位修复过程中不同生物修复处理方式下油污土样石油烃降解率变化情况。各处理组油污土样石油烃降解率差异达极显著水平 ($F = 184.081 > F_{0.01}$, $P < 0.01$)。在 121 天修复周期中 3 种处理组累计降解率分别达 $39.37 \pm 2.37\%$ 、 43.16

$\pm 2.94\%$ 和 $67.29 \pm 3.67\%$; 多重比较结果显示 (Duncan $\alpha = 0.05$) 相较于对照组 3 种处理方式均明显提高了石油烃降解率 ($P < 0.05$), M-P R 处理组石油烃降解率明显高于其他各组 ($P < 0.05$), 且 MR 和 PR 处理组间差异亦达显著水平 ($P < 0.05$)。

实验结果如图 1(b) 所示,修复前油污土样中脱氢酶活性仅为 $17.38 \pm 0.61 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$, 远低于修复后土样。自然降解情况下,土壤中脱氢酶活性为 $18.41 \pm 0.76 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$, 而采用微生物菌剂修复组(MR)的土壤中酶活性明显提高,达 $26.19 \pm 1.06 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$, 金盏菊植物修复组(PR)的土壤中酶活性达 $34.31 \pm 1.47 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 。F 检验结果显示,各处理组油污土样脱氢酶活性差异达极显著水平($F = 419.295 > F_{0.01}$, $P < 0.01$)。多重比较结果显示(Duncan $\alpha = 0.05$) 经 121 天原位修复联合修复组(M-P R)土壤中酶活性达 $40.33 \pm 1.24 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$, 明显高于其他各组($P < 0.05$), 且 MR 和 PR 处理组间差异亦达显著水平($P < 0.05$)。土壤脱氢酶为石油烃降解过程中重要的参与酶,它能使被氧化有机物的氢原子活化并传递其特定的受氢体,促使石油污染物彻底氧化^{[3]2974}。前人研究表明微生物总数与土壤脱氢酶活性成正相关关系,土壤脱氢酶的活性可以反映处理体系内活性微生物量及其对有机物的降解效果和营养物质的转化速率^[12]。本研究中 2 号及 4 号实验区由于降解菌剂的投加使得区域微环境微生物总数有所增加,有效改变了土壤微生物群落结构及组成。而 3 号试验区种植金盏菊可

有效改善土著石油降解菌与植物根系分泌物的共代谢^{[3]2974} 扩大了土壤微环境中营养物质转化速率,进而引起了土壤脱氢酶活性增加。上述结果说明在陇东地区将乡土物种应用于退化生态系统修复,即选择当地适生植物及土著石油降解功能菌群来削弱石油烃污染土壤为可行之举。

2.2 原位修复过程中不同处理方式油污土样细菌群落遗传的多样性变化

本研究采用变性凝胶梯度电泳(PCR-DGGE)技术分析土壤细菌群落遗传的多样性,利用 3 种多样性指标进行土壤细菌群落遗传多样性分析,即 Patrick 丰富度指数(S): $S = \text{物种数}$, 即条带数; Shannon-Wiener 多样性指数(H): $H = -\sum P_i \ln P_i$, P_i 代表土壤样品中第 i 个条带的吸光度占有所有条带吸光度总和的比例; Pielou 均匀度指数(J): $J = H/H_{\max}$, H_{\max} 代表最大多样性值($H_{\max} = \ln S$)。图 2 为原位修复过程中不同生物修复处理方式油污土样细菌群落遗传多样性 PCR-DGGE 指纹图谱及其图谱聚类结果。图谱上条带信息反映了土壤细菌群落多样性变化情况,其中电泳条带的多少反映出土壤中细菌群落多样性;条带的粗细则反映了种群密度的差异^{[3]2975}。

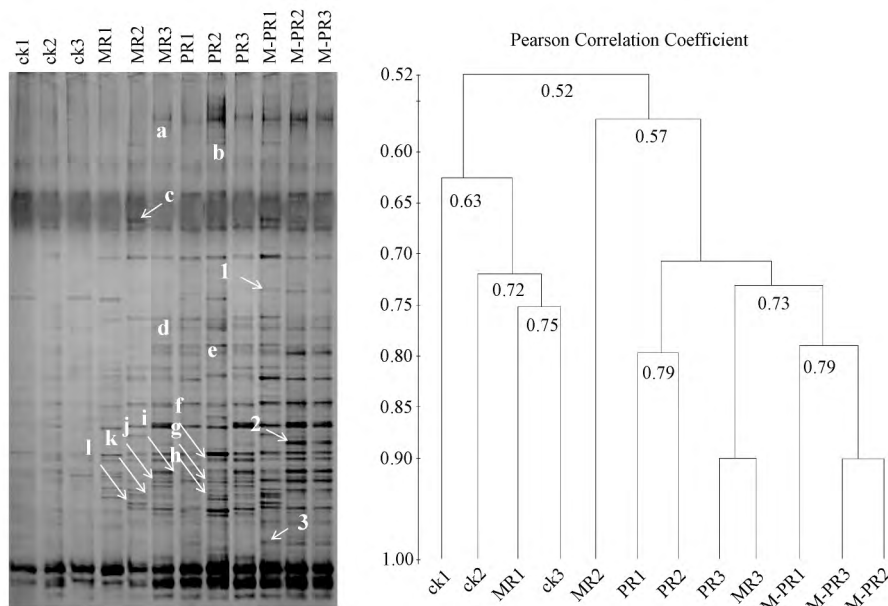


图 2 不同处理方式油污土壤微生物群落遗传多样性 PCR-DGGE 指纹图谱及其图谱聚类

由图 2 可见随着原位修复的进行,两组处理与 CK 相比, DGGE 图谱在条带数目与亮度上均存在差异。图 2 中 CK1 ~ 3 为陇东地区油污土壤中固有的微生物类群,而这些微生物类群可能就是一种该区土著石油烃降解菌。随着各处理修复时间延长,土壤样品出现了一些起初没有的条带,如条带 a ~ l, 可能为菌剂的加入和金盏菊根际富集效应对固有土壤微生物群落结构和组成的影响所致。其中修复后期

出现了条带 1、2 和 3, 为之前其他处理均未出现的微生物类型。如图 2 所示,随着原位修复时间的增长, DGGE 条带数相应增加,条带亮度有不同程度的提高,说明 3 种处理均不同程度改善了土壤微生物的群落结构和组成,土壤中微生物多样性变得更加丰富,分布愈加均匀。

图 3 反映了原位修复过程中不同生物修复处理方式下油污土样细菌群落遗传多样性指数变化情况。F

检验结果显示, 3 种多样性指数在各处理间差异均达极显著水平 ($F_H = 23.968 > F_{0.01}$, $F_J = 13.811 > F_{0.01}$, $F_S = 29.632 > F_{0.01}$, $P < 0.01$), 上述结果体现了不同生物修复处理方式对油污土壤细菌群落多样性的影响。多重比较 (Duncan $\alpha = 0.05$) 结果显示, 相较于对照组, 不同生物修复处理方式均明显提高了油污土样 Shannon-Wiener 多样性指数、Pielou 均匀度指数和 Patrick 丰富度指数 (S) ($P < 0.05$), 且 M-P R 处理组 Shannon-Wiener 多样性指数 (H) 明显高于其他各组 ($H_{M-PR} = 3.61 \pm 0.07$) ($P < 0.05$), 且 MR ($H_{MR} = 3.23 \pm 0.72$) 和 PR ($H_{PR} = 3.41 \pm 0.49$) 处理组间差异亦达

显著水平 ($P < 0.05$)。就 Pielou 均匀度指数 (J) 而言, 除 MR ($J_{MR} = 0.98 \pm 0.02$) 处理组外 ($P < 0.05$), 其余处理组 ($J_{PR} = 0.99 \pm 0.02$, $J_{M-PR} = 0.99 \pm 0.01$, $P < 0.01$) 均极显著提升 Pielou 均匀度指数。Patrick 丰富度指数 (S) 方面呈现出与 Shannon-Wiener 多样性指数相似的变化规律。上述结果说明 3 种生物修复方式可明显增加油污土壤区域微环境的土壤细菌数量和多样性, 随原位修复时间的延长, 各处理土壤细菌分布愈加均匀, 而微生物植物联合修复优势明显, 因此在陇东黄土高原地区开展石油污染土壤的生态修复应采用联合修复方式。

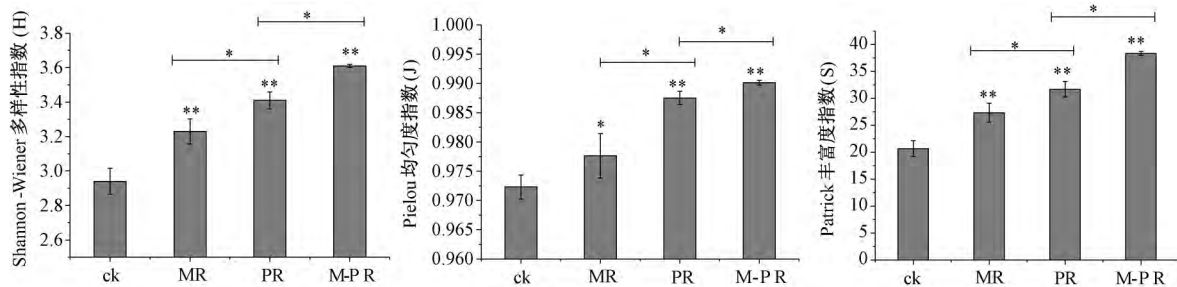


图 3 原位修复过程中不同处理方式油污土样微生物群落遗传多样性指数变化

2.3 原位修复过程中不同处理方式及环境因子的非度量多维尺度 (NMDS) 排序

为了阐述不同处理方式下油污样地与土壤环境因子间的关系, 以及环境因子在驱动不同样地分异过程中的相对重要性, 基于 Bray-Curtis 相异指数, 将

所测定的 5 项土壤环境因子及 3 种不同处理方式拟合到 12 个油污样地的非度量多维尺度 (NMDS) 排序图上, 胁迫系数 $Stress = 0.1154$, 说明该二维 NMDS 分析具有一定的拟合效果, 可解释样地环境因子信息的 88.46%。

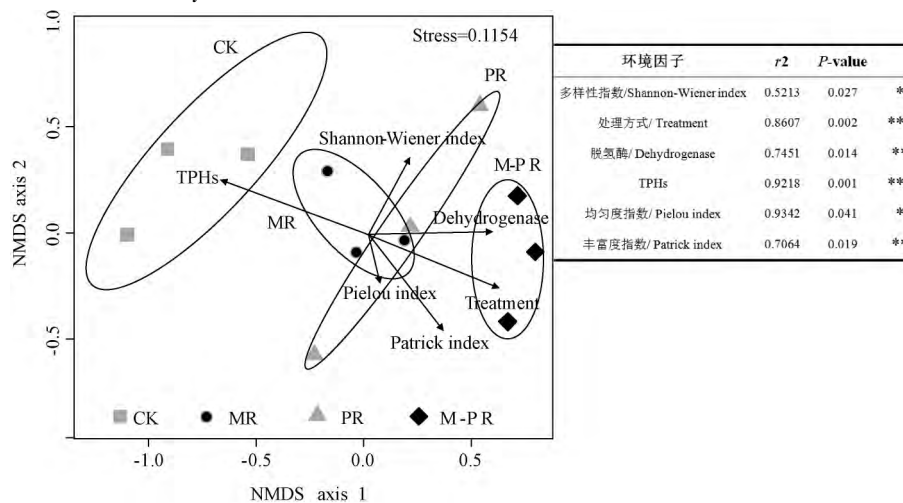


图 4 不同污染样地的非度量多维尺度 (NMDS) 排序及其环境因子与各处理方式间关系 (排序图上显示了与各样地分异有关的土壤环境因子, 椭圆代表平行样品间的标准差; * 代表与各样地分异相关的土壤环境因子显著水平: *** 表示 $P < 0.001$, ** 表示 $P < 0.01$)

如图 4 可见, 12 个油污样地的 NMDS 分析结果显示, 由于土壤 TPHs 含量的显著变化 ($r_{TPHs}^2 = 0.9218$, $P = 0.001$) 而导致了 3 种生物修复处理方式明显不同与 CK 组, 表现为 CK 组在 NMDS 排序图上与其他 3 组较为分散。而 M-P R 组和 MP 与 PR 处理组之间的分异主要与处理方式 ($r^2 = 0.8607$, $P =$

0.002) 和土壤脱氢酶活性有关 ($r^2 = 0.7451$, $P = 0.012$)。此外, MP 与 PR 处理组之间出现交互主要与处理方式、土壤脱氢酶活性和土壤细菌群落变化 ($r_s^2 = 0.7064$, $P = 0.017$; $r_H^2 = 0.5213$, $P = 0.026$; $r_J^2 = 0.3924$, $P = 0.041$) 有关, 其中土壤细菌 Patrick 丰富度指数最为相关, 这表明增加油污土壤区域微环境

中土壤微生物数量对于加速石油污染物的有效转化至关重要。上述结果说明各处理方式对陇东地区油污土壤均有明显的效果,如何有效降低土壤 TPHs 含量是区域微环境中微生物和植物根际共代谢的决定性因素,但微生物与植物联合修复方式相较其他单独修复方式效果更佳。

3 结论

(1) F 检验结果显示,相较于对照组 CK,经 121 天原位修复 3 种处理方式均明显提高了石油烃降解率,分别达 $39.37 \pm 2.37\%$ 、 $43.16 \pm 2.94\%$ 和 $67.29 \pm 3.67\%$; M-P R 处理组石油烃降解率明显高于其他各组 ($P < 0.05$),且 MR 和 PR 处理组间的差异亦达显著水平 ($P < 0.05$)。自然降解情况下土壤中脱氢酶活性为 $18.41 \pm 0.76 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$,而 MR 和 PR 修复组的土壤中酶活性分别为 26.19 ± 1.06 和 $34.31 \pm 1.47 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$,M-PR 修复组土壤中酶活性达 $40.33 \pm 1.24 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 。上述结果说明在陇东地区利用乡土物种应用于退化生态系统修复,即选择当地适生植物及土著石油降解功能菌群进行原位生物修复可明显降低土壤 TPHs 含量,增加土壤脱氢酶活性。

(2) 基于 PCR-DGGE 技术分析结果显示,相较于对照组不同生物修复处理方式均明显提高了油污土样 Shannon-Wiener 多样性指数、Pielou 均匀度指数和 Patrick 丰富度指数 (S) ($P < 0.05$),且 Patrick 丰富度指数 (S) 方面呈现出与 Shannon-Wiener 多样性指数相似的变化规律,即 M-PR 处理组 Shannon-Wiener 多样性指数 (H) 明显高于其他各组 ($H_{M-PR} = 3.61 \pm 0.07$, $H_{M-PR} = 38.34 \pm 1.04$) ($P < 0.05$)。就 Pielou 均匀度指数 (J) 而言,除 MR ($J_{MR} = 0.98 \pm 0.02$) 处理组外,其余处理组 ($J_{PR} = 0.99 \pm 0.02$, $J_{M-PR} = 0.99 \pm 0.01$, $P < 0.01$) 均极显著提升了 Pielou 均匀度指数。上述结果说明 3 种生物修复方式可明显增加油污土壤区域微环境的土壤细菌数量和多样性,随原位修复时间的延长各处理土壤细菌分布愈加均匀,而微生物植物联合修复优势明显。

(3) 基于 Bray-Curtis 相异指数,使用 R 语言“vegan”程序包中“envfit”程序,将所测定的 5 项土壤环境因子及 3 种不同处理方式拟合到 12 个油污样地的非度量多维尺度 (NMDS) 排序图上,结果显示 3 种处理样地在 NMDS 排序图上较为分散,说明各处理间呈不同的响应模式;由于土壤 TPHs 含量的显著变化 ($r_{TPHs}^2 = 0.9218$, $P = 0.001$),导致 3 种生物修复处理方式明显不同于 CK 组,表现为 CK 组在 NMDS 排序图上与其他 3 组较为分散。而 M-P R 组和 MP 与 PR 处理组之间的分异主要与处理方式 ($r^2 = 0.8607$, $P = 0.002$) 和土壤脱氢酶活性有关 ($r^2 = 0.7451$, $P =$

0.012)。此外,MP 与 PR 处理组之间出现交互亦与处理方式、土壤脱氢酶活性和土壤细菌群落变化 ($r_s^2 = 0.7064$, $P = 0.017$; $r_H^2 = 0.5213$, $P = 0.026$; $r_J^2 = 0.3924$, $P = 0.041$) 有关,其中土壤细菌 Patrick 丰富度指数最为相关,这表明增加油污土壤区域微环境中土壤微生物数量对于加速石油污染物的有效转化至关重要。

参考文献:

- [1] 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).
- [2] Gray D B, Mary K T, Julie E J. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 34: 1073 - 1082.
- [3] 王金成,井明博,段春艳,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).
- [4] 唐景春,刘文杰,徐婷婷,等. 不同处理条件对石油污染土壤植物修复的影响[J]. 环境工程学报, 2013, 7(8): 3231 - 3236.
- [5] Janmejy P, Archana C, Rakesh K J. Integrative approaches for assessing the ecological sustainability of in situ bioremediation [J]. Microbiology Review, 2013, 33: 324 - 375.
- [6] Zhang ZN, Zhou QX, Peng SW, et al. Remediation of petroleum contaminated soils by joint action of *Pharbitisnil L.* and its microbial community [J]. Science of the Total Environment, 2010, 408: 5600 - 5605.
- [7] 王金成,井明博,肖朝霞,等. 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[J]. 水土保持通报, 2012, 32(5): 145 - 151.
- [8] 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, 2010, 24(2): 214 - 217.
- [9] 唐景春,王斐,褚洪蕊,等. 玉米草 (*Zea Mexicana*) 与海藻寡糖联合修复石油烃污染土壤的研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(11): 2107 - 2113.
- [10] 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.
- [11] Guoxi Shi, Yongjun Liu, Johnson, NC et al. Interactive influence of light intensity and soil fertility on root-associated arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Plant and Soil, 2014, 378(1-2): 173 - 188.
- [12] 朱凡,洪湘琦,闫文德,等. PAHs 污染土壤植物修复对酶活性的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(3): 581 - 588.

【责任编辑 赵建萍】