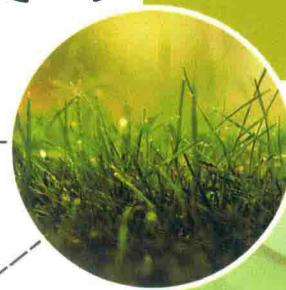


HUANGHE SANJIAOZHOU SHIYOU WURAN
YANJIAN TURANG SHENGWU XIUFU DE
LILUN YUSHIJIAN

黄河三角洲石油污染 盐碱土壤生物修复的 理论与实践

王君著



中国矿业大学出版社

China University of Mining and Technology Press

黄河三角洲石油污染盐碱土壤 生物修复的理论与实践

王君著



中国矿业大学出版社

内 容 提 要

本书介绍了黄河三角洲地区土壤石油污染现状及污染来源,阐明了农田、草场、荒地、油井等不同土地利用方式下石油污染的特征,客观评价了不同土地利用方式下石油污染的等级,重点介绍黄河三角洲土壤生态系统石油污染的生物修复技术研究,以及在黄河三角洲土壤污染较为典型地区开展的现场试验,为土壤污染修复技术的研究提供了理论指导。

图书在版编目(CIP)数据

黄河三角洲石油污染盐碱土壤生物修复的理论与实践 / 王君著. —徐州：中国矿业大学出版社，2018.6

ISBN 978 - 7 - 5646 - 3955 - 6

I. ①黄… II. ①王… III. ①黄河—三角洲—石油污染—污染土壤—生态恢复—研究 IV. ①X530.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第086866号

书 名 黄河三角洲石油污染盐碱土壤生物修复的理论与实践

著 者 王 君

责任编辑 夏 然 章 穆

出版发行 中国矿业大学出版社有限责任公司

(江苏省徐州市解放南路 邮编 221008)

营销热线 (0516)83885307 83884995

出版服务 (0516)83885767 83884920

网 址 <http://www.cumtp.com> E-mail:cumtpvip@cumtp.com

印 刷 江苏凤凰数码印务有限公司

开 本 787×960 1/16 印张 7.5 字数 142千字

版次印次 2018年6月第1版 2018年6月第1次印刷

定 价 26.00 元

(图书出现印装质量问题,本社负责调换)

前　　言

盐碱地(土)是盐化土、碱化土和盐碱土的总称,是世界性的低产土壤,有些甚至是不毛之地。土壤盐碱化是全世界关注的问题,据估计,全球的盐碱土以每年 100 万~150 万 hm^2 的速度增长。中国地域广大,气候多样,土壤盐碱化程度尤为严重,盐碱土的分布几乎遍及全国。黄河三角洲位于渤海西岸、渤海湾和莱州湾湾口,是我国三大河口三角洲之一。由于黄河携带大量泥沙入海,被海水浸渍成为盐渍淤土,不断沉积,日积月累海退成陆,经蒸发作用使盐分聚集地表。同时,潮水入侵补给地下水,参与土壤成盐过程,形成了典型的滨海盐碱地。其中,盐渍化土地面积 44.29 hm^2 ,占全区总面积的一半以上,而重度盐渍化土壤和盐碱光板地面积为 23.63 hm^2 ,约占区内土地面积的 28.4%。盐碱地土壤含有大量盐类、氯化物、硫酸盐以及其他可溶性的盐类,营养物质较少,且严重碱化,部分地区土壤 pH 值可达 10 以上,不利于植物生长,被视为“生命的禁区”。我国第二大油田——胜利油田位于该地区,在石油开采、储运、加工等过程中,大量石油进入土壤,形成了盐渍化石油污染土壤。同时,大量含盐钻井废液进入土壤,也造成了井场周围石油污染土壤盐渍化。

石油污染物在土壤中,破坏土壤结构,影响土壤的通透性,改变土壤有机质的组成和结构,引起土壤微生物群落数量和结构的变化。石油污染物中的极性基团还能与土壤中腐殖质等有机物质及氮、磷等营养元素相结合,限制硝化、反硝化和磷酸化作用,从而使土壤中可供微生物和植物利用的有机质、氮和磷含量降低,严重影响土壤的肥力。此外,石油中的大多数组分对土壤中的动植物有很大的毒害作用。石油中的一些烃类物质对人类具有致癌、致畸、致突变作用,由于难以自然降解,容易在土壤中累积,并通过食物链放大,严重危害人类健康。因此,土壤的石油污染治理是目前迫切需要解决的重要问题。石油污染土壤的治理方法主要有物理、化学和生物修复方法。物理方法修复费用高,化学方法容易破坏土壤结构,造成土壤的二次污染。生物修复由于不破坏植物生长所需的土壤环境,具有处理费用低、环境友好、无二次污染等优点,被视为最有应用前景的污染土壤修复技术。生物修复虽有诸多优点,但在实际石油污染

土壤修复中也有其局限性。由于石油产地、油层不同,原油组成成分不同,在某一地区石油污染土壤生物修复的成功经验不一定适合另一地区。高浓度的石油污染物对微生物有毒,能造成土壤微生物的数量下降,另外,石油中的多环芳香烃、沥青质和胶质等高分子量物质很难降解,降解速度也非常缓慢,生物修复需要的时间较长。生物修复受环境因素影响较大,修复效率不稳定。因此,寻找高效、稳定的适合本地区修复石油污染土壤的生物是目前石油污染环境修复领域的一个突出热点。关于盐渍化石油污染土壤的生物修复国内外研究成果较少,有必要深入开展相关方面的理论和实践研究工作,为建立经济、高效的盐渍化石油污染土壤修复实用技术提供理论依据。

滨州学院是滨州唯一一所本科院校,科研工作者多年来致力于盐碱地改良、土壤污染治理的研究,近几年承担了与该研究相关的国家自然科学基金、山东省自然科学基金、山东省科技发展计划项目等,开展了盐碱地石油污染土壤治理的工作,并进行了现场试验。本书编写组在以上项目基础上,补充查阅了大量文献资料,形成了书稿。

本书介绍了黄河三角洲地区土壤石油污染现状及污染来源,阐明了农田、草场、荒地、油井等不同土地利用方式下石油污染特征,客观评价了不同土地利用方式下石油污染等级,重点介绍黄河三角洲土壤生态系统石油污染的生物修复技术研究,以及在黄河三角洲土壤污染较为典型地区开展的现场试验,为土壤污染修复技术的研究提供了理论指导。

受水平所限,书中难免存在不足或错误之处,敬请广大读者批评指正。

王君

2017年11月

目 录

第一章 黄河三角洲概况	1
第一节 黄河三角洲自然地理概况	1
第二节 黄河三角洲土壤概况	6
第二章 石油污染盐碱土壤生物修复技术概况	9
第一节 石油污染盐碱土壤概况	9
第二节 石油污染盐碱土壤修复技术概况	10
第三章 黄河三角洲土壤石油污染现状与评价	16
第一节 黄河三角洲土壤石油污染源	16
第二节 黄河三角洲土壤石油污染现状与评价	24
第四章 石油污染土壤中微生物多样性的研究	33
第一节 石油污染土壤总基因组的提取	35
第二节 变性梯度凝胶电泳	37
第五章 PCR-DGGE 技术在石油污染土壤微生物修复过程中的监控作用研究	43
第一节 微生物菌剂的制备	44
第二节 石油污染土壤处理的室内模拟	46
第三节 石油污染土壤中石油降解率的测定	50
第六章 高效固定化石油烃降解菌的构建及其降解特性研究	56
第一节 菌种分离及鉴定	56
第二节 高效固定化菌的构建	59

第七章 生物乳化剂产生菌的分离和特性分析	65
第一节 生物乳化剂产生菌的分离	66
第二节 菌株产生乳化剂的乳化条件分析	69
第三节 乳化剂的分离提取及纯化	71
第八章 耐盐解烃菌 alkB 基因片段的分离和鉴定	75
第一节 耐盐解烃菌 alkB 基因的扩增	76
第二节 alkB 基因序列分析	82
第九章 黄河三角洲土壤石油污染的微生物修复试验	85
第一节 黄河三角洲石油污染土壤微生物筛选	85
第二节 黄河三角洲土壤微生物对石油的降解性质	95
第三节 黄河三角洲土壤微生物对石油污染土壤的修复作用	99
第十章 黄河三角洲土壤污染生态修复示范	103
参考文献	106

第一章 黄河三角洲概况

第一节 黄河三角洲自然地理概况

黄河三角洲(Yellow River Delta)简称黄三角,位于渤海湾南岸和莱州湾西岸,主要位于山东省东营市和滨州市,是由古代、近代和现代三个三角洲组成的联合体。滔滔黄河,奔腾东流,挟带着黄土高原的大量泥沙,在山东省垦利县注入渤海。在入海的地方,由于海水顶托,流速缓慢,大量泥沙在此落淤,填海造陆,形成黄河三角洲。

国务院2009年11月13日,以国函〔2009〕138号批复印发了《黄河三角洲高效生态经济区发展规划》。规划明确界定了黄河三角洲的地理坐标为东经 $116^{\circ}59' \sim 120^{\circ}18'$,北纬 $36^{\circ}25' \sim 38^{\circ}16'$,包括山东东营、滨州两市的全部以及与其毗邻的自然环境条件相似的德州(乐陵、庆云)、淄博(高青)、潍坊(寿光、寒亭、昌邑)、烟台(莱州)的部分地区,共涉及6个市的19个县(市、区),辖292个乡镇,总面积2.65万km²,占山东省总面积的1/6,相当于10个天津滨海新区面积的总和(见图1-1)。

黄河三角洲地处我国暖温带地区,气候温和,雨量适中,特别是夏季多雨,水热同期,对植物的繁衍十分有利,也宜于多种动物和微生物的生长。黄河三角洲是华北大平原的组成部分,与周围没有天然屏障阻隔,有利于其他地区生物的侵入定居。加以气候上是处于温带和亚热带之间的过渡带,所以许多南北方的生物多在这里交汇。由于这些原因,增加了本地区生物区系组成上的复杂性。

黄河三角洲属山东省北部的鲁北平原地带,主要由古代黄河三角洲、近代黄河三角洲、现代黄河三角洲、潍北沿海平原及莱州东部和滨州南部的部分山前洪积平原与低山丘陵组成。

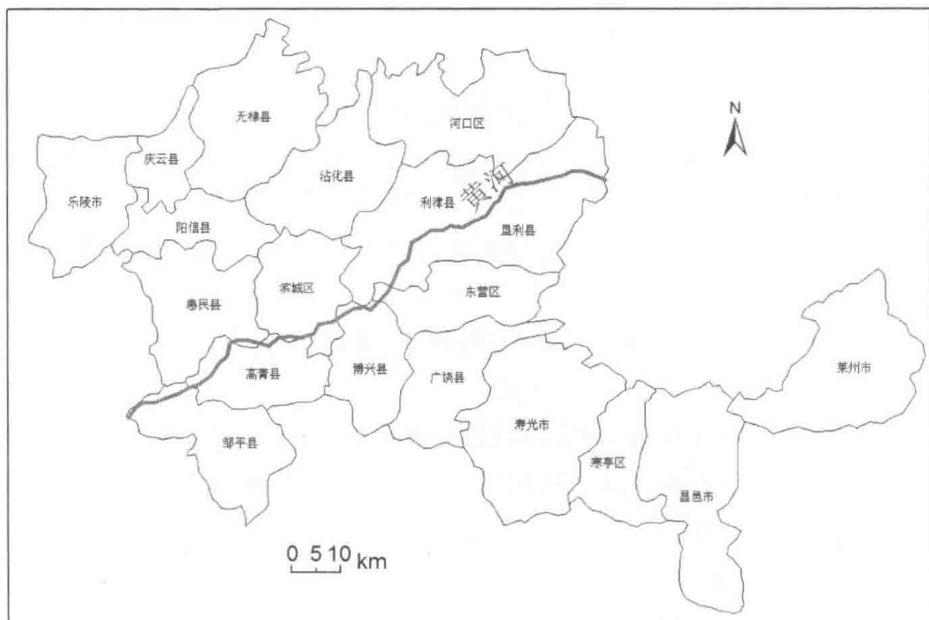


图 1-1 黄河三角洲行政区划示意图

一、地形地貌

黄河三角洲属华北平原，两面濒海，黄河穿境而过。总的地势为西南高、东北低，地形以黄河为轴线，近河高，远河低，总体呈扇状由西南向东北微倾，地势低平，地面坡降在 $1/2\,000\sim1/8\,000$ 间。由于黄河具有少水、高沙、善淤、善徙等特点，其带来的大量泥沙是塑造黄河三角洲的物源。

黄河自1855年铜瓦厢决口改道北流以来，一直在渤海沿岸摆动，间阁河段始终处于淤积延伸—摆动改道的周期性变化之中，且以惊人的速度向海推进，仅130多年就造陆 $2\,000$ 多 km^2 ，同时废弃入海口处的陆地又发生着快速的蚀退作用，并形成以海洋作用影响为主的海积平原。

该区地貌的成因影响着生态地质环境，而地貌形态的不同又使得不同区段显示出不同的特点。因此，区内基本可分为三种地貌景观：山前冲洪积平原、古黄河三角洲平原和现代黄河三角洲平原。

山前冲洪积平原分布于小清河以南的广饶县境内，由淄河携带大量物质堆积形成，是以冲洪积为主形成的微倾斜平原，倾向北北东，受淄河主流带展布制约，地面微有起伏。区内地表岩性以粉质黏土为主，排水通畅，地下水埋深较

大,已形成人工开采漏斗。

古黄河三角洲平原分布于三角洲的中西部,微向北东倾斜,主要地貌形态类型为决口扇、缓平坡地、扇间洼地等。地表岩性以粉土为主,其次在决口扇顶部及黄河泛流主流带有粉砂分布,洼地内以黏性土为主。

现代黄河三角洲平原分布于三角区的北部和东北部,是黄河自 1855 年改道以来,与海洋动力共同作用形成的,以垦利县宁海为顶点,呈扇状向北、向东展布,微向北东倾斜,地面坡降 1/10 000 左右。

该区内黄河泛流主流带与河间洼地相间分布,另外尚有黄河古河道、废弃河槽洼地、缓平坡地等微地貌形态,在近海地带则以低平地和滨海低地为主,地表岩性受此处的微地貌单元控制,岩性从粉砂-黏土均有分布,但以粉土分布最广。

人类活动(黄河改道、修建黄河大堤、垦殖、城建、修建高速公路和海堤、石油开采等)在剧烈地改变着该区的微地貌形态,但其基本框架仍清晰可辨(图 1-2)。

二、气象水文

黄河三角洲地处中纬度,位于暖温带,背陆面海,受欧亚大陆和太平洋的共同影响,属于暖温带季风型大陆性气候。基本气候特征是冬寒夏热,四季分明。春季干旱多风,早春冷暖无常,常有倒春寒出现,晚春回暖迅速,常发生春旱;夏季炎热多雨,温高湿大,有时受台风侵袭;秋季气温下降,雨水骤减,天高气爽;冬季空气干冷,寒风频吹,雨雪稀少,多刮北风、西北风。

因地处平原,境内气候南北差异不很明显。全年平均气温 11.7~12.6 °C,极端最高气温 41.9 °C,年平均日照时数为 2 590~2 830 h;无霜期 211 d;年均降水量 530~630 mm,70% 分布在夏季;平均蒸散量为 750~2 400 mm。降水年际变化大,年内降水分布不均,常有春旱、夏涝、晚秋又旱的特点,区内易发生干热风、雹灾、旱灾和风暴潮等灾害。区内历年平均地表水径流量为 4.48 亿 m³,多集中在夏季,水量大部分排入渤海,利用率很低。

黄河三角洲水文示意图如图 1-3 所示。

三、生物资源

我国北方的植物起源于北极第三纪植物区系,更确切地说是可能起源于安哥拉古陆的南缘。由于在冰川期没有受到大规模冰川的直接侵蚀,同时受中亚

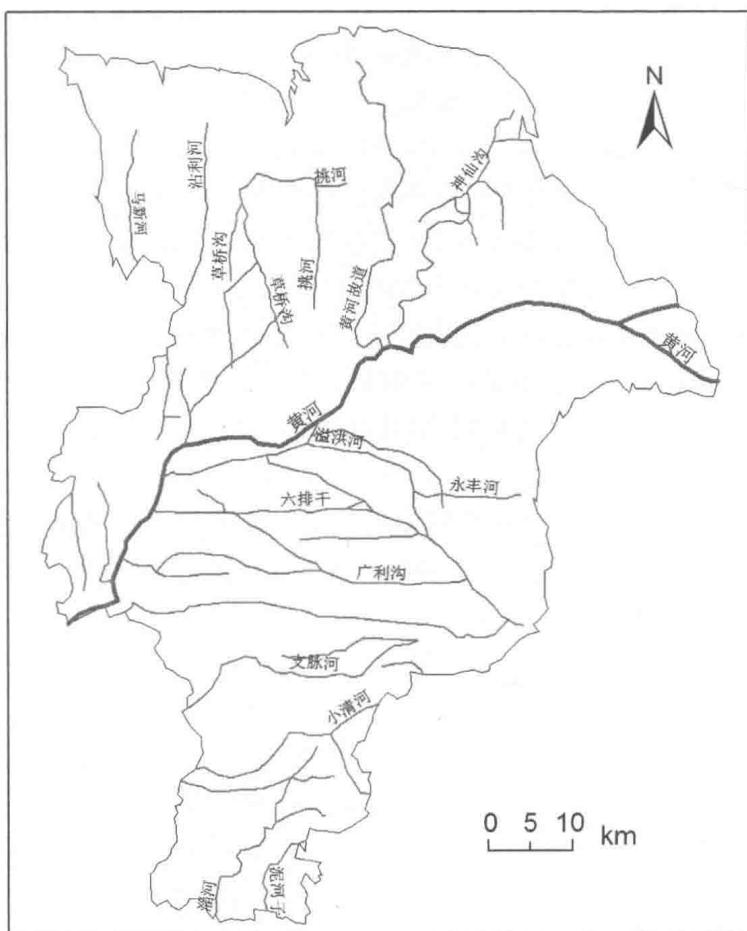


图 1-2 黄河三角洲地形地貌示意图

干燥化的影响也不太深,所以现存植物是第三纪植物区系的直接后代。这样,黄河三角洲的植物具有古老的特征,而且也丰富了它们的种类组成。植物作为生态系统中的生产者既然如此丰富多彩,那么依赖于植物而生活的消费者动物,以及作为分解者的微生物,也必然是多种多样的。

本区属温带季风气候,植被为原生性滨海湿地演替系列,生态系统类型独特,湿地生物资源丰富,区内有各种生物 1 917 种,其中,属国家重点保护的野生动植物 50 种,列入《濒危野生动植物种国际贸易公约》的种类有 47 种。

黄河三角洲属暖温带落叶阔叶林区。受气候、土壤含盐量、潜水水位与矿化度、地貌类型的制约以及人类活动影响,区域内木本植物很少,以草甸景观为

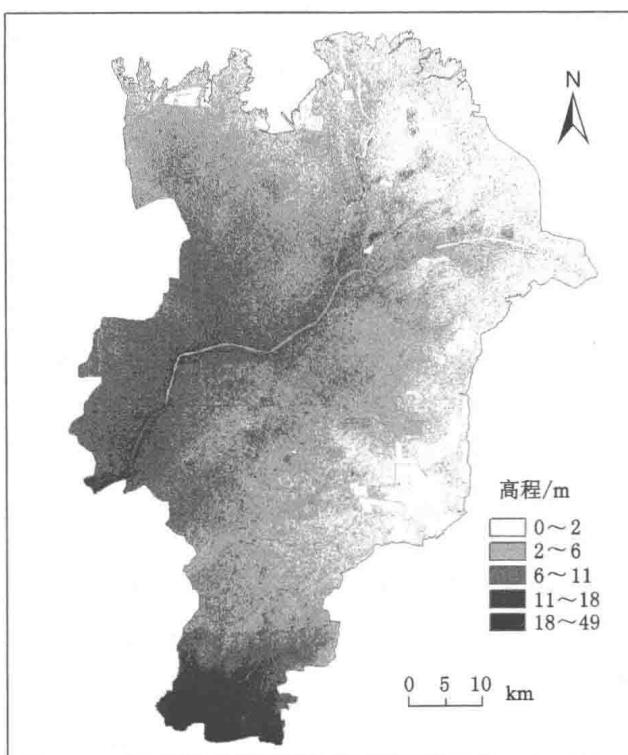


图 1-3 黄河三角洲水文示意图

主体。区内无地带性植被类型，且类型少、结构简单、组成单纯。在天然植被中，以滨海盐生植被为主，占天然植被的 56.5%，沼生和水生植被占天然植被的 21%，灌木柽柳等占天然植被的 21%，阔叶林仅占天然植被的 1.5% 左右。人工植被中以农田植被为主，其中木本栽培植被仅占人工植被的 4.3% 左右，农田植被占人工植被的 95.7%。植被中有植物种类 40 多个科、110 多个属、160 多个种。以禾本科、菊科草本植物最多。在草本植物中，以多年生根茎禾草为主，尤以各种盐生植物占显著地位。

黄河三角洲自然保护区是东北亚内陆和环西太平洋鸟类迁徙重要的“中转站”、越冬地和繁殖地。鸟类资源丰富，珍稀濒危鸟类众多。自然保护区内分布着各种野生动物达 1 524 种，其中，海洋性水生动物 418 种，属国家重点保护的有江豚、宽吻海豚、斑海豹、小须鲸、伪虎鲸 5 种；淡水鱼类 108 种，属国家重点保护的有达氏鲟、白鲟、松江鲈 3 种；鸟类 290 余种，属国家一级保护的有丹顶鹤、白头鹤、白鹤、金雕、大鸨、中华秋沙鸭、白尾海雕等 7 种；属国家二级保护的

有灰鹤、大天鹅、鸳鸯等 33 种。世界上存量极少的稀有鸟类黑嘴鸥，在自然保护区有较多分布，并做巢、产卵，繁衍生息于此。

第二节 黄河三角洲土壤概况

黄河三角洲土地总面积近 1.8 万 km²，是我国东部亟待开发的年轻土地。其主要土壤质地示意图见图 1-4、土壤类型示意图见图 1-5。

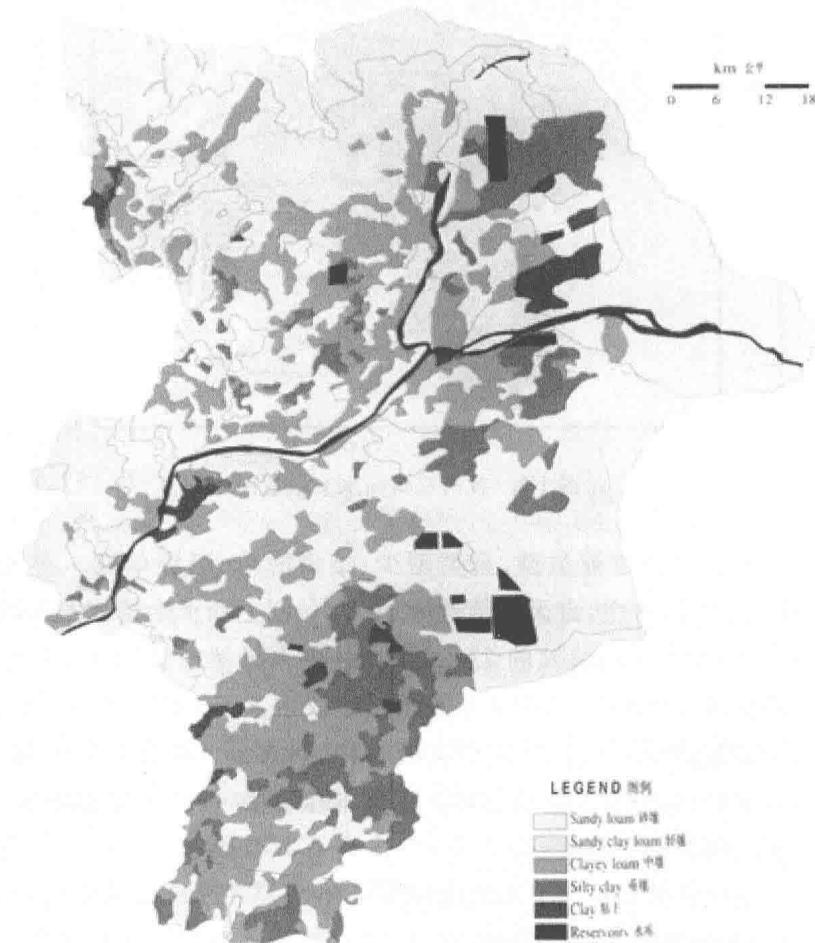


图 1-4 黄河三角洲主要土壤质地示意图

本区土壤质地主要为砂壤、轻壤，其次为中壤，而重壤与黏土类型土质较少，尤其是黏土质地土壤，只零星分布于各县区。砂壤主要分布于沿渤海地带

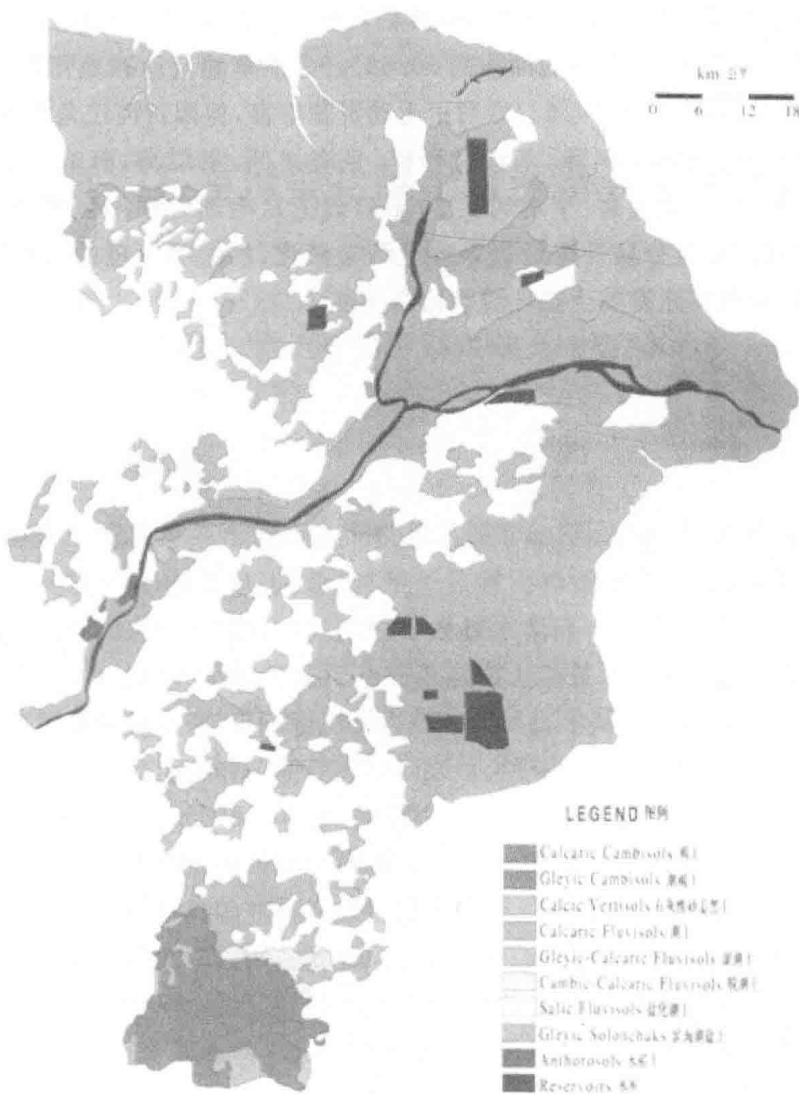


图 1-5 黄河三角洲主要土壤类型示意图

及黄河沿岸地区，轻壤分布也较广，中壤与重壤散布于区内各地。

从图 1-4 可以看出，黄河三角洲地区土壤类型较为多样化，且在空间分布上具有较高的异质性。总体来讲，该区土壤类型以滨海潮盐土和盐化潮土为主，总面积占到该区的 60% 以上；其次为潮土和石灰性砂浆黑土，主要分布在沿黄一带；褐土、潮褐土等占一定面积，集中分布于本区南部。水稻土、脱潮土、湿潮土等所占比例很小，零散分布于有关县区。

该区是我国东部沿海人均土地最多的地区,总面积 174.68 万 hm²,其中耕地面积为 67.46 万 hm²,占总面积的 38.62%;天然草地及盐碱地面积为 30.65 万 hm²,占总面积的 17.54%。可利用土地资源丰富,但因黄河三角洲系由黄河泥沙新塑而成,成土时间晚,草甸过程短,且海拔低、淤层薄,蒸降比大(1 000 mm/600 mm),矿化度高(平均约在 20 g/L 以上),毛细管作用强烈,海相盐土母质所含的大量盐分易升至地表导致土壤盐渍化,加上不合理的垦殖,因此相当脆弱,极易破坏原有的生态环境结构与功能。

第二章 石油污染盐碱土壤生物修复技术概况

第一节 石油污染盐碱土壤概况

一、土壤污染概况

土壤中的石油污染已成为一个世界范围普遍存在的环境问题,同时,在我国大部分采油区,石油污染土壤同时呈现盐碱化和板结化,导致石油污染物可生化降解性差和去除难度增大。生物修复技术具有成本低、高效、无二次污染等优点,而成为治理大面积土壤污染的最有潜力的技术之一;但由于石油污染盐碱土壤环境的复杂性,单一利用任何一种修复技术都很难在消除石油污染物的同时改良和修复土壤的盐碱环境。

石油类物质进入土壤导致土壤高度板结,氧气及营养物质传递困难,加之石油成分的毒性使得植物及微生物难以生存,严重影响农林业生产。微生物修复是利用微生物将有毒的有机物分解或降解成为低毒或无毒的物质,是修复石油污染的有效技术之一。微生物修复石油污染的方法目前已经得到较为广泛的应用,但是国内外针对石油污染土壤的生物修复研究大都忽略了油田土壤盐碱化的问题,已有研究表明,石油污染会对油田开采区土壤性质产生影响。由于油田区特殊的地理、气候和水环境条件,土壤 pH 值随开采年限的增加而逐年上升。同时由于钻井液的就地回灌,油田区土壤盐分逐年积累,表现为土壤逐年盐碱化,而微生物对环境的要求比较严格,高含量的盐碱会导致微生物活性降低,因而针对盐碱土壤的微生物修复研究还很少。

黄河断流影响了黄河三角洲湿地生态系统淡水水源的补给,破坏了湿地土壤中水盐平衡,使土壤含盐量上升,土壤盐碱化程度日益严重。另外,随着该地区石油的大规模勘探、开采、运输和石油加工,污染、井喷、输油管道泄漏等事故频发,造成土壤污染和植被破坏,严重威胁着黄河三角洲生态系统的安全。在土壤生态系统中,微生物作为物质循环和能量流动的主要参与者,起着不可忽

视的作用。对黄河三角洲盐碱地区石油污染土壤中微生物多样性进行研究,无论对生态系统组成的完整理解,还是对解烃耐盐微生物资源的开发都具有特殊重要的意义。

二、石油污染盐碱化土壤的特性

石油进入土壤后,会引起土壤理化性质的改变,对土壤生态环境造成严重威胁,进一步威胁人类和生物的安全。例如,石油易使土壤颗粒粘连,影响土壤的通透性,降低有效氮、磷含量,减弱土壤肥力;植物根系被石油污染后,呼吸作用会受到影响,从而影响作物对水分和营养盐的吸收,最终导致植物死亡;原油中的多环芳烃等有害物质可通过生物蓄积作用在植物中富集,通过食物链影响人体健康;没有被土壤吸附的石油(NAPL,非水相液体)可渗入地下并污染地下水,增加污染范围,从而对人类生存环境的多个层面产生广泛影响。石油污染盐碱化土壤受到油盐混合污染,使其修复和治理成为当前研究的热点和难点。一方面,石油烃类污染物使土壤颗粒疏水,增加了水浸洗盐的难度,也抑制了土壤中水溶性营养物质的传递,对植物和微生物的生长不利;另一方面,当土壤盐度大于3%时,非耐盐微生物的代谢会受到抑制,降低甚至丧失其修复能力。因此,为了能够更经济、有效地修复石油污染土壤,需要联合多种技术,发挥各自优点,达到最佳的修复效果。

第二节 石油污染盐碱土壤修复技术概况

一、微生物修复

微生物修复技术是利用土壤中的土著菌或向污染土壤中接种选育的高效降解菌,在优化的环境条件下,加速石油污染物的降解,包括生物刺激(Biostimulation)和生物强化(Bioaugmentation)两种方法,土壤中最常见的石油降解细菌菌属有黄杆菌属(*Flavobacterium*)、无色杆菌属(*Achromobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*)、棒球杆菌属(*Corynebacterium*)、奈瑟氏球菌属等。在石油污染的盐碱地上进行生物修复,需要筛选抗盐碱性能强的微生物种类。许多科研工作者进行了耐盐菌株的筛选工作,并对污染土壤进行了现场修复试验。宁雯等人从黄河三角洲东营地区的油污土壤中获得了288株石油降解菌株,分析了单菌株和混合菌株对石油的降解情况,发现