

DOI: 10.5846/stxb202007191886

张晓曦,周雯星,王丽洁,李江文,胡嘉伟,胡漫.灌草凋落物混合添加对原油污染土壤修复效果的影响.生态学报,2021,41(19):7700-7712.

Zhang X X, Zhou W X, Wang L J, Li J W, Hu J W, Hu M. Effects of mixed addition of shrub and grass litters on the remediation of crude oil contaminated soil. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(19): 7700-7712.

灌草凋落物混合添加对原油污染土壤修复效果的影响

张晓曦^{1,2,*}, 周雯星¹, 王丽洁¹, 李江文¹, 胡嘉伟¹, 胡 漫¹

¹ 延安大学生命科学学院, 延安 716100

² 陕西省区域生物资源保育与利用工程技术研究中心, 延安 716100

摘要:以陕北地区常见的 10 种灌草植物凋落物组成 9 种混合物, 分别将单种或混合凋落物以 2% 的比例(质量分数)混入 15 g/kg 原油污染土壤, 在室温(20—25℃)恒湿条件下进行 150 d 的室内模拟修复试验, 分析凋落物混合添加对其修复油污土壤能力的影响。结果表明:(1)较之自然衰减, 单种凋落物处理普遍显著提高了污染物降解率(原油降解率提高 35%—85%)以及土壤硝态氮、有效磷和速效钾含量(提高 0.36—56 倍), 且多数处理显著提高了污染土壤中蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶和脱氢酶的活性(提高 0.4—6.8 倍)。(2)白羊草+杠柳+狼牙刺、胡枝子+铁杆蒿、胡枝子+狗娃花+黄蒿或铁杆蒿+杠柳凋落物混合在促进原油及其组分降解时呈协同作用, 使其降解率较单种处理再提高 5%—28%, 或较基于单种处理结果的预测值提高 5%—17%, 但其同时拮抗削弱凋落物对土壤速效氮(特别是硝态氮)的补充作用(较预测值降低 6%—78%)及(或)酶活性(特别是蔗糖酶和脱氢酶)的刺激作用(较预测值降低 14%—67%)。在实际使用中可通过上述混合强化凋落物对污染物的降解能力, 但需配合其他修复手段改善污染土壤生化性质。白羊草+狼牙刺、铁杆蒿+狼牙刺、杠柳+狼牙刺凋落物混合使各种污染物降解率较单种处理或预测值显著降低, 在使用时应针对不同凋落物进行分离, 以避免削弱其修复效果。(3)总体而言, 添加多酚、黄酮、有机酸和磷含量高, 碳含量和碳磷比低且化学多样性更高的混合凋落物更有利于降解原油污染物, 但同时其含有的上述次生代谢物可能不利于土壤养分状况和酶活性的恢复。

关键词:残体修复; 混合凋落物; 非加和效应; 原油组分; 土壤生化性质

Effects of mixed addition of shrub and grass litters on the remediation of crude oil contaminated soil

ZHANG Xiaoxi^{1,2,*}, ZHOU Wenxing¹, WANG Lijie¹, LI Jiangwen¹, HU Jiawei¹, HU Man¹

¹ College of Life Sciences, Yan'an University, Yan'an 716100, China

² Shaanxi Engineering and Technological Research Center for Conservation and Utilization of Regional Biological Resources, Yan'an University, Yan'an 716100, China

Abstract: To investigate the effects of the mixed addition of shrub and grass litters on the remediation of crude oil contaminated soil, a total of 9 types of mixture litters that mixed from 10 common shrub and grass species in northern Shaanxi were selected. The single-specific litter or litter mixtures were added into 15 g/kg crude oil contaminated soil at a proportion of 2% (litter: soil, w/w), and then a 150-day simulated necrophytoremediation experiment was conducted at the room temperature (20—25℃) with constant humidity. The results indicated that single-litter treatments significantly increased the degradation rate of the contaminants (the degradation rate of crude oil increased by 35%—58%) and the contents of nitrate nitrogen, available P and available K (36%—5600%), and most of the treatments significantly

基金项目:国家自然科学基金项目(31800370); 陕西省自然科学基金项目(2018JQ4047); 延安大学科研计划资助项目(YDY2020-34); 国家大学生创新创业训练计划项目(S202010719013)

收稿日期:2020-07-19; **网络出版日期:**2021-06-30

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhangxiaoxi712100@gmail.com

increased the activities of sucrase, urease, alkaline phosphatase and dehydrogenase by 40%—680% in the contaminated soil. In addition, the mixture of litters of *Bothriochloa ischaemum* with *Periploca sepium* and *Sophora davidii*, *Lespedeza davurica* with *Artemisia gmelinii*, *L. davurica* with *Heteropappus altaicus* and *Artemisia annua* or *A. gmelinii* with *P. sepium* could promote the degradation of crude oil and its components as well as the significant synergistic effects. As compared with the single-litter treatments, the degradation rates and the predicted values in these mixture treatments increased by 5%—28% and 5%—17%, respectively. At the same time, the antagonistic effects in these mixture treatments could weaken the supplement ability of soil available N (especially the nitrate N) and the stimulation effect of soil enzymatic activity (especially the activities of sucrase and dehydrogenase), which decreased by 6%—78% and 14%—67% as compared with the predicted values, respectively. In practice, the above mentioned mixture treatments could enhance degradation capacity of litter to contaminants, which still need to combine with other remediation methods to improve the biochemical properties of the contaminated soil. However, compared with the single-litter treatments, the mixing of litters of *B. ischaemum* with *S. davidii*, *A. gmelinii* with *S. davidii* or *P. sepium* with *S. davidii* significantly decreased the degradation rate of contaminants. Thus, to avoid their antagonistic effects in the remediation of crude oil contaminated soil, different litters should be separated. In general, adding mixed litters with high polyphenols, flavonoids, organic acids and P contents, low C content and C/P ratio, and high chemical diversity were more favorable to remove the petroleum contaminants in soil. However, the mentioned secondary metabolites from litters might be adverse to recovery of the nutritional conditions and enzymatic activities of the contaminated soil.

Key Words: necrophytoremediation; mixed litters; non-additive effects; crude oil components; soil chemical and biological properties

陆地采油过程中,井喷事故、输油管线破损以及废水废渣倾倒填埋已经导致采、运、炼制相关区域土壤被严重污染^[1-2]。原油污染物对土壤理化环境的干扰,其毒性作用对植物和土壤生物生长的抑制以及对其群落结构和功能的改变往往使污染区土壤生态功能退化或丧失,导致生态系统稳定性降低或崩溃^[3-5]。此外,污染物中的多环芳烃等组分对人体也具有明显的致癌、致畸和致突变效应^[2]。鉴于原油污染的上述生态风险,如何去除原油污染物并恢复土壤受损生态功能历来是环境科学和土壤科学研究的热点问题之一。

生物修复是最有前景的油污土壤修复技术之一,其中,生物刺激技术通过改善土壤微生物的通气、水分和养分环境促进土著微生物生长,以利用其降解潜力去除污染物,具有投资低、二次污染少以及几乎不受污染程度限制等优势^[6-7]。大量研究表明,无机肥料和动植物有机废物等均可作为刺激物大幅加速土壤污染物的降解^[7-11]。其中,植物残体是近年来受到广泛关注的生物刺激物之一^[12-14]。疏松残体的输入可改善土壤孔隙状况,使微生物更易获取氧气,满足其生长和好气降解的需要^[6-7]。同时,鉴于油污土壤往往处在氮磷限制状态,植物残体提供的养分可以显著促进降解微生物的生长^[7, 15]。此外,植物残体释放和转化成的多种表面活性剂(如有机酸和腐殖酸)和共代谢底物(如可溶性糖、有机酸、酚类和黄酮)^[16-18]则可协助微生物吸收和降解吸附性、疏水性较强或毒性较大的大分子量芳烃和非烃类物质。

植物残体的修复效果已经得到了大量研究的证实,且已有研究表明在相同使用条件下,对某些植物残体进行炭化处理或配合肥料使用可以显著强化其修复能力^[8, 19]。然而,上述途径需要额外的能源(获取高温)和材料(如肥料)成本,如何使用更为简单的方式进一步提高其修复效果是残体修复技术应用中需要考虑的问题。现有研究表明,不同植物残体混合分解时往往产生显著的非加和效应,且多数情况下将提高混合物总体的分解和养分释放速率^[20]。相应地,混合分解同样将对土壤性质产生非加和影响,使植物残体对土壤微生物和酶活性、养分状况以及 pH 的影响显著高于或低于基于单种植物残体处理的预期(即协同效应或拮抗效应)^[21-22]。鉴于上述性质均与原油污染物的降解密切相关,采用简单的混合处理即有可能利用残体混合分解对土壤性质的非加和影响进一步强化植物残体的修复效果。

然而,现有研究多数集中于单种残体的修复效果,少数关于混合残体修复效应的研究也往往将其视为一个整体^[23],极少关注不同残体间在修复过程中的相互作用。鉴于污染区周边易于获取的野生植物往往以群落形式共存,以往研究是否忽视了不同植物残体修复油污土壤时,彼此间的协同效应对修复效果的强化作用?抑或不同植物残体间对土壤性质的影响是否存在拮抗效应,从而削弱了实际修复效果^[24]?上述问题需要进一步研究。此外,植物残体混合分解往往对不同土壤性质产生相异影响,使用混合残体处理会否在强化污染物降解的同时劣化土壤生化性质,因而削弱整体的修复效果?上述问题也尚需加以研究验证。因此,本文以我国陕北石油产区易于获取的 10 种植物凋落物及其混合物为对象,通过室内模拟修复试验评价其修复效果,以及不同凋落物混合处理油污土壤时其修复效应的相互影响。以期探索通过简单混合处理强化凋落物修复油污土壤的可能性,并避免凋落物混合处理土壤时产生拮抗效应,削弱整体的修复效果。研究结果可为合理利用野生植物资源修复油污土壤提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究采样区位于陕西省延安市延长县(东经 109°33′—110°30′,北纬 36°14′—36°46′,海拔高度 997—1731 m)严家湾。当地属暖温带干旱大陆性季风气候,年平均气温 10.4℃,年平均降水量 505.3 mm,集中于 7—9 月。年平均日照时数 2397.3 h,≥10℃积温 3532.2℃,无霜期 143—162 d。当地土壤为黄绵土,植被以灌草地为主。经在采油区所处范围内网格多点多点采样实测,污染土壤中原油浓度介于 11.44—44.72 g/kg 之间。因土壤污染时间难以确定,老化效应、长期自然衰减、植物生长或凋落物输入导致的污染物组成和结合形态的改变均显著影响试验结果,因此本文采用人工污染方式处理土样,以排除上述因素产生的误差。原油购自当地油井,其凝点为 19.6℃,20℃时密度为 0.881 g/cm³,含有 51.22%的饱和烃、27.91%的芳香烃,其余为 12.97%的胶质和 7.24%的沥青质以及其他物质。

于 2018 年 10 月末采集供试土样和植物凋落物。土壤采集自油井附近坡地上部。采用重量法检测确定土壤不含污染物后,在坡地上部荒地内不同位置随机设置 1 m×1 m 样方若干,采集其 0—20 cm 层土壤,充分混匀后过 5 mm 筛去除杂物,并采用四分法获取足量土样。部分土样用于测定未污染土壤生化性质本底值、饱和持水量和实际含水量。其余经人工原油污染后部分用于检测污染对土壤性质的具体影响,部分用于模拟修复试验。同时,在未污染区采集表 1 所示 10 种植物的凋落物(草本植物为全部枯体、灌木植物为凋落叶),在背阴处自然风干 1 个月后粉碎,过 1 mm 筛后备用,并采用常规方法测定其初始元素组成特征和与原油降解相关的代谢产物含量^[25-26]。

表 1 凋落物初始元素组成特征

Table 1 The initial elementary characteristics of litters

凋落物 Litter	碳 C /(mg/g)	氮 N /(mg/g)	磷 P /(mg/g)	钾 K /(mg/g)	C/N 比 Ratio of C/N	C/P 比 Ratio of C/P	N/P 比 Ratio of N/P
白羊草	389.32(13.79)b	9.39(0.13)e	0.43(0.00)g	11.96(0.57)e	41.44(1.07)a	896.77(32.38)a	21.63(0.32)a
达乌里胡枝子	218.01(5.37)d	18.12(0.42)c	2.81(0.48)b	7.48(0.29)f	12.03(0.11)ef	81.69(12.41)e	6.79(1.05)bc
铁杆蒿	450.65(1.46)a	16.62(0.08)c	0.75(0.12)fg	19.48(0.28)c	27.12(0.17)b	637.54(105.52)b	23.47(3.78)a
阿尔泰狗娃花	223.39(2.30)d	17.26(0.27)c	1.58(0.06)de	22.48(0.27)b	12.95(0.33)de	142.33(6.66)d	10.98(0.24)bc
沙棘	201.55(9.20)d	28.28(0.20)a	2.25(0.03)c	19.49(0.29)c	7.13(0.37)g	89.52(3.12)e	12.58(0.25)b
杠柳	341.05(13.13)c	12.42(0.09)d	1.11(0.09)ef	14.49(0.86)d	27.47(0.95)b	310.50(22.02)c	11.33(0.84)bc
狼牙刺	403.78(5.39)b	29.02(0.05)a	1.11(0.09)ef	12.50(0.29)e	13.91(0.17)d	369.44(35.01)c	26.51(2.21)a
黄蒿	398.69(17.84)b	25.12(0.29)b	2.97(0.03)ab	24.90(0.01)a	15.87(0.65)c	134.53(6.73)d	8.47(0.18)bc
冰草	221.45(4.76)d	17.16(0.54)c	3.44(0.07)ab	24.44(0.32)a	12.94(0.59)de	64.52(2.20)e	4.99(0.06)c
无芒雀麦	196.23(10.38)d	17.95(0.80)c	1.83(0.21)cd	23.92(0.01)a	10.93(0.20)f	108.83(7.04)d	9.97(0.72)bc

白羊草 *Bothriochloa ischaemum*; 达乌里胡枝子 *Lespedeza davurica*; 铁杆蒿 *Artemisia gmelinii*; 阿尔泰狗娃花 *Heteropappus altaicus*; 沙棘 *Hippophae rhamnoides*; 杠柳 *Periploca sepium*; 狼牙刺 *Sophora davidii*; 黄蒿 *Artemisia annua*; 冰草 *Agropyron cristatum*; 无芒雀麦 *Bromus inermis*; 同列不同字母表示凋落物间差异显著, $P < 0.05$

表 2 凋落物代谢产物初始含量
Table 2 Initial contents of metabolites in litters

凋落物 Litter	多酚 Polyphenols/ (mg/g)	可溶性糖 Soluble saccharides/ (mg/g)	萜类 Terpenoids/ (mg/g)	氨基酸 Amino acids/ (μg/g)	黄酮 Flavonoids/ (mg/g)	有机酸 Organic acids/ (mg/g)
白羊草	5.35(0.20)gh	0.41(0.05)f	3.99(0.11)d	9.29(0.60)c	10.11(0.70)f	10.50(0.00)c
达乌里胡枝子	14.13(0.67)f	1.90(0.01)d	11.24(4.12)c	10.04(0.09)bc	15.21(1.11)f	9.90(0.10)c
铁杆蒿	16.43(0.17)e	0.74(0.04)ef	21.93(2.77)b	3.15(0.38)d	42.37(1.70)d	7.90(0.30)e
阿尔泰狗娃花	19.38(0.28)d	1.09(0.09)e	20.00(3.80)b	12.06(0.08)bc	69.73(3.67)c	7.90(0.30)e
沙棘	40.47(1.74)a	2.21(0.13)d	14.63(2.13)bc	15.28(5.21)b	29.29(7.88)e	12.50(0.30)b
杠柳	35.47(0.21)b	3.32(0.18)c	48.13(3.89)a	10.12(2.05)bc	87.21(6.97)b	18.20(1.60)a
狼牙刺	7.41(1.02)g	6.29(0.31)a	4.88(0.82)c	26.60(0.15)a	9.81(1.80)f	1.20(0.10)g
黄蒿	23.61(0.98)c	1.14(0.11)e	17.43(2.3)bc	23.61(0.31)a	130.75(3.39)a	8.70(0.30)de
冰草	4.74(0.07)h	0.56(0.01)f	16.39(2.41)bc	24.58(0.66)a	6.32(2.10)f	6.10(0.10)f
无芒雀麦	4.24(0.50)h	4.02(0.24)b	12.3(3.47)bc	9.22(0.36)c	6.72(1.04)f	2.80(0.80)g

1.2 土壤污染及均质化处理

依据当地土壤原油污染的较低浓度 11.44 g/kg(高浓度多集中于油井附近有限范围,面积较小),本研究设置污染浓度为 15 g/kg(干土),将原油与供试土壤依据上述浓度混合。处理时,将所有原油与部分土样通过搅拌揉搓充分混匀后,将污染土壤与剩余土壤再次充分混合。为保证污染物在土壤中达到自然均质化,并能显著影响土壤生化性质以衡量植物残体的修复效果,污染土样在背阴处进行 15 d 的自然均质化处理,以模拟近期发生污染的表层土壤。均质化 15 d 后,土壤中饱和烃、芳香烃和非烃类物质含量分别为(7.40±0.04) g/kg、(4.18±0.09) g/kg 和(2.94±0.02) g/kg(原油总残留率约 96.8%)。

1.3 修复试验

称取前述污染土样 60 份,每份 500 g。其中 3 份作为自然衰减对照,其余 57 份污染土样分别添加单种凋落物(10 种)或混合凋落物粉末(9 种),并充分混合。凋落物添加比例依据前期研究设置为 2%(干质量比),其中混合凋落物处理中各植物种凋落物所占质量均分。混合凋落物组成如下:白羊草+杠柳+狼牙刺(白杠狼 M1)、白羊草+狼牙刺(白狼 M2)、达乌里胡枝子+铁杆蒿(胡铁 M3)、达乌里胡枝子+阿尔泰狗娃花+黄蒿(胡狗黄 M4)、铁杆蒿+杠柳(铁杠 M5)、铁杆蒿+狼牙刺(铁狼 M6)、沙棘+狼牙刺(沙狼 M7)、杠柳+狼牙刺(杠狼 M8)和铁杆蒿+冰草+无芒雀麦+黄蒿(铁冰无黄 M9),均依据当地植物实际形成的群落组成设置。每个处理均制备 3 份土样作为重复。

随后,将每份处理样品分别置入规格为:22 cm × 16.3 cm × 9 cm 的 PC 材质培养钵中,根据土样饱和持水量的 50%与其实际含水量的差值(换算为质量差),拨开土壤逐层补充灭菌蒸馏水,随后使用带孔保鲜膜封口,以控制水分过快蒸发并为微生物提供空气。处理后,将培养钵随机单层摆放,置于温度为 20—25℃ 的环境中培养 150 d 终止(保证凋落物完全分解^[11])。培养期内,每周称量培养钵质量并依据失水量补充灭菌蒸馏水,维持湿度恒定。自然衰减土样与凋落物处理土样做相同处理。为模拟野外实际修复情况,培养过程中不再扰动土壤。

1.4 指标测定

培养完成后,预留部分鲜土测定氧化还原酶活性,其余土样风干后过 1 mm 筛,用于测定其他指标。其中,土壤原油(Coil)残留量采用二氯甲烷提取-重量法测定^[27]。提取出的原油再次溶解后转入活化硅胶氧化铝层析柱,分别使用正己烷、二氯甲烷/正己烷混合物(v/v=2:1)和甲醇洗脱分离其饱和烃(SHs)、芳香烃(AHs)和非烃类(NonHs)组分,采用重量法测定其残留量^[27]。土壤硝铵态氮(NO₃-N 和 NH₄-N)、有效磷(AP)和速效钾(AK)含量分别采用氯化钾浸提-靛酚蓝比色法/紫外分光光度法、碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法以及乙酸铵浸提-火焰光度法测定^[26]。土壤 pH 使用玻璃电极法测定(水土比为 2.5:1)。脲酶(Ure)、蔗糖

酶(Suc)、碱性磷酸酶(APase)、多酚氧化酶(PPO)和脱氢酶(Deh)活性分别采用3,5-二硝基水杨酸比色法、靛酚蓝比色法、磷酸苯二钠比色法、邻苯三酚比色法和三苯基四唑氯化物比色法测定,结果以单位时间(d)单位质量土样(g)催化产生的水解或氧化产物(氨氮、葡萄糖、酚、红紫脲精和甲胍)的质量(mg或 μg)数表示。过氧化氢酶(CAT)活性采用高锰酸钾滴定法测定,结果以单位质量干土(g)在单位时间(h)内催化后残留的过氧化氢消耗0.01 mol/L高锰酸钾溶液的mL数表示^[28]。

1.5 混合处理效应判别依据

参照前人判断混合凋落物处理非污染土壤时是否产生非加和影响理论依据^[22],假定不同凋落物对彼此的修复效果不存在相互影响,则可使用下述公式基于单种凋落物处理下测得的石油烃(组分)降解率和土壤指标值计算其在混合处理下的理论预测值 PM :

$$PM = \sum r_{i,j,\dots} \times O_{i,j,\dots}$$

式中 $r_{i,j,\dots}$ 为每种凋落物在混合物中所占比例, $O_{i,j,\dots}$ 为各种凋落物单独处理时上述指标的测值。

将 PM 与混合凋落物处理后上述指标的实测值 M 对比时,如果在统计学意义上 $M > PM > O_{i,j,\dots}$,或 $O_i > M > PM > O_j$,则均认为凋落物在混合处理土壤时可显著强化彼此对特定土壤性质的修复效果(含对原油及其组分的降解能力)。其中前种情况的强化效果最佳,后种情况下,尽管混合物的修复效果较某一单种凋落物的修复效果较差,但其仍表现出一定的强化效应,在某些具有较强修复效果的凋落物可获取量较小的情况下、或实际应用中能获取的凋落物均为混合状态时,可在一定程度上减少对凋落物的消耗,减少残体修复技术对污染区周边环境的破坏。当在统计学意义上 $M < PM < O_{i,j,\dots}$,或 $O_i < M < PM < O_j$ 时,表明凋落物混合后对彼此的修复能力将产生拮抗抑制,在实际使用中应尽量使用修复效果较好的单种凋落物处理污染土壤。

1.6 统计分析

对于每个凋落物组合下不同处理(其中自然衰减和混合物处理的理论预测值也视为处理)间特定原油(组分)降解或土壤性质指标,在SPSS 23.0中作单因素方差分析(one-way ANOVA),多种比较采用Duncan's新复极差法,显著性检验水平为 $\alpha = 0.05$ 。使用FDiversity软件计算混合凋落物的化学多样性指标(FAD2、FRic和FDis指数)。使用SIMCA 14.1软件对混合凋落物的化学特性(含养分含量、化学计量比、代谢产物含量以及化学多样性指标)与修复效果指标(原油及其组分降解率以及土壤生化指标数值)做偏最小二乘回归分析(PLS regression)。每个修复指标对应的变量投影重要值VIP大于1的凋落物指标视为影响该指标修复效果的主要因素。绘图使用SigmaPlot 14.5完成。

2 结果与分析

2.1 原油污染及自然衰减对土壤化学和生物学性质的影响

研究结果表明(表3),原油污染显著降低土壤硝铵态氮和有效磷含量并抑制土壤蔗糖酶和脲酶活性,但同时显著提高碱性磷酸酶和多酚氧化酶活性($P < 0.05$)。自然衰减未显著改善污染土壤速效养分含量,反而导致铵态氮和有效磷含量进一步显著降低($P < 0.05$),且同时显著降低了污染土壤的pH($P < 0.05$)。除显著提高污染土壤过氧化氢酶活性外($P < 0.05$),自然衰减对其他酶活性、特别是污染后受到显著抑制的蔗糖酶和脲酶活性无显著影响($P > 0.05$)。

2.2 混合处理对凋落物去除原油污染物效果的影响

150 d的自然衰减可在一定程度上降解原油(降解率为32.44%)及其组分,其中饱和烃的降解率(41.26%)显著高于芳香烃和非烃物质(29.90%和14.20%,图1)。单种凋落物处理均可显著提高原油及其组分的降解率($P < 0.05$),混合添加时多数凋落物间产生非加和效应,使其促进污染物降解的效果显著强于或弱于基于单种凋落物修复效果的预测值。其中,铁杠或胡狗黄凋落物混合处理产生显著协同效应($P < 0.05$),强化了对原油整体的降解效果。铁杠、白杠狼、胡铁或铁冰无黄凋落物混合显著强化了对饱和烃的降解效果($P < 0.05$);白杠狼或胡狗黄凋落物混合显著强化了对芳香烃的降解效果($P < 0.05$);白杠狼、胡铁或胡狗黄凋

落物混合显著强化了对非烃物质的降解效果($P<0.05$)。而白狼、铁狼或杠狼凋落物混合对原油及其各组分的降解则均产生显著拮抗效应($P<0.05$),削弱了对污染物的降解效果。

表 3 石油污染及自然衰减对土壤生化性质的影响
Table 3 Effects of oil contamination and natural attenuation on soil chemical and biological properties

土样 Soil samples	硝态氮含量 NiN /(mg/kg)	铵态氮含量 AmN /(mg/kg)	有效磷含量 AP /(mg/kg)	速效钾含量 AK /(mg/kg)	pH	蔗糖酶活性 Suc/ (mg h ⁻¹ g ⁻¹)	脲酶活性 Ure/ (mg h ⁻¹ g ⁻¹)	碱性磷酸 酶活性 APase/ (mg h ⁻¹ g ⁻¹)	过氧化氢 酶活性 CAT/ (mL h ⁻¹ g ⁻¹)	脱氢酶活性 Deh/ (μg h ⁻¹ g ⁻¹)	多酚氧化 酶活性 PPO/ (mg h ⁻¹ g ⁻¹)
本底值 Unc	11.66(0.11) a	11.34(0.08) a	2.42(0.21) a	70.50(0.29) a	8.17(0.01) a	6.46(0.77) a	0.08(0.00) a	0.02(0.00) b	5.64(0.25) b	0.15(0.00) a	1.08(0.01) b
污染值 CC	2.68(0.03) b	6.81(0.18) b	1.55(0.35) b	65.00(1.15) a	8.11(0.01) a	3.80(0.49) b	0.05(0.01) b	0.07(0.01) a	5.22(0.37) b	0.22(0.01) a	1.33(0.07) a
自然衰减 NA	3.40(0.12) b	2.36(0.03) c	0.86(0.00) c	62.50(1.65) a	7.98(0.05) b	3.99(0.27) b	0.02(0.00) b	0.05(0.01) a	6.66(0.45) a	0.17(0.01) a	1.20(0.08) ab

NiN: 硝态氮 nitrate N; AmN: 铵态氮 ammonium N; AP: 有效磷 available P; AK: 速效钾 available K; Suc: 蔗糖酶 sucrose activity; Ure: 脲酶 urease activity; APase: 碱性磷酸酶 alkaline phosphatase activity; CAT: 过氧化氢酶 catalase; Deh: 脱氢酶 dehydrogenase activity; PPO: 多酚氧化酶 polyphenol oxidase activity. Unc: 未污染本底值 uncontaminated; CC: 污染值 crude oil contaminated; NA: 自然衰减处理 natural attenuation, 同列不同字母表示未污染本底值、污染值与自然衰减处理间存在显著差异, $P<0.05$

2.3 混合处理对凋落物修复受损土壤性质效果的影响

单种凋落物处理普遍显著提高了土壤速效养分含量(图 2),而不同凋落物混合添加时对土壤速效养分含量也存在非加和影响。其中,铁冰无黄、铁狼或沙狼凋落物混合显著强化了对硝态氮的补充效果,而胡铁、铁杠、白杠狼、白狼、胡狗黄或杠狼凋落物混合则产生显著拮抗效应($P<0.05$),削弱补充效果;铁狼凋落物混合显著强化了对铵态氮的补充效果,而杠狼、铁杠或沙狼凋落物混合则显著削弱了对铵态氮的补充效果($P<0.05$);白狼或沙狼凋落物混合显著强化了对有效磷的补充效果,而杠狼凋落物混合则显著削弱了对有效磷的补充效果($P<0.05$);白狼、胡狗黄、铁杠、沙狼、杠狼、铁狼或铁冰无黄凋落物混合显著强化了对速效钾的补充效果($P<0.05$)。

较之自然衰减,多数单种凋落物处理均进一步显著降低土壤 pH(图 3, $P<0.05$)。凋落物混合后在多数情况下(胡狗黄、胡狼、铁杠、铁狼或杠狼凋落物混合)对彼此降低土壤 pH 的效果产生拮抗效应,使混合处理后土壤 pH 显著高于单种凋落物或基于单种凋落物处理的预测值($P<0.05$)。

较之自然衰减,多数单种凋落物处理显著提高了污染土壤除多酚氧化酶外的酶活性($P<0.05$,图 4)。白杠狼、白狼、铁狼、沙狼、杠狼或铁冰无黄凋落物混合显著强化了对蔗糖酶活性的刺激效果,而胡铁或铁杠凋落物混合显著削弱了对它的刺激效果($P<0.05$);铁黄或铁狼凋落物混合显著强化了对脲酶活性的刺激效果,而胡铁凋落物混合显著削弱了对它的刺激效果($P<0.05$);白杠狼、白狼、沙狼或杠狼凋落物混合显著强化了对磷酸酶活性的刺激效果,而铁狗黄凋落物混合显著削弱了对它的刺激效果($P<0.05$);铁狼、铁冰无黄、或铁杠凋落物混合显著强化了对过氧化氢酶活性的刺激效果($P<0.05$);白狼、铁狼、杠狼或铁冰无黄凋落物混合显著强化了对脱氢酶活性的刺激效果,而胡铁、胡狗黄或铁杠凋落物混合显著削弱了对它的刺激效果($P<0.05$);沙狼或铁冰无黄凋落物混合显著强化了对多酚氧化酶活性的刺激效果,而胡铁凋落物混合显著削弱了对它的刺激效果($P<0.05$)。

2.4 混合凋落物的修复效果与其化学组成特征的关系

根据偏最小二乘回归分析结果(图 5),将混合凋落物视为一个整体时,其对污染物中烃类成分的去除效果与其磷、有机酸、总酚和黄酮含量及其化学多样性存在正相关关系,而与其碳含量、碳磷比和氮磷比存在负相关关系;对非烃类污染物的修复效果则与其磷钾含量显著正相关,而与其氨基酸、萜类以及可溶性糖含量负相关。总体而言,混合凋落物对土壤速效氮磷钾的补充与其对应养分含量正相关,而与萜类、有机酸、黄酮和酚类含量负相关;对酶活性的刺激作用与其氮、氨基酸和可溶性糖含量正相关,而与萜类、有机酸、黄酮和酚类含量以及碳氮比负相关;对 pH 的影响则与其化学多样性和分异性正相关,而与氨基酸和可溶性糖等指标负相关。

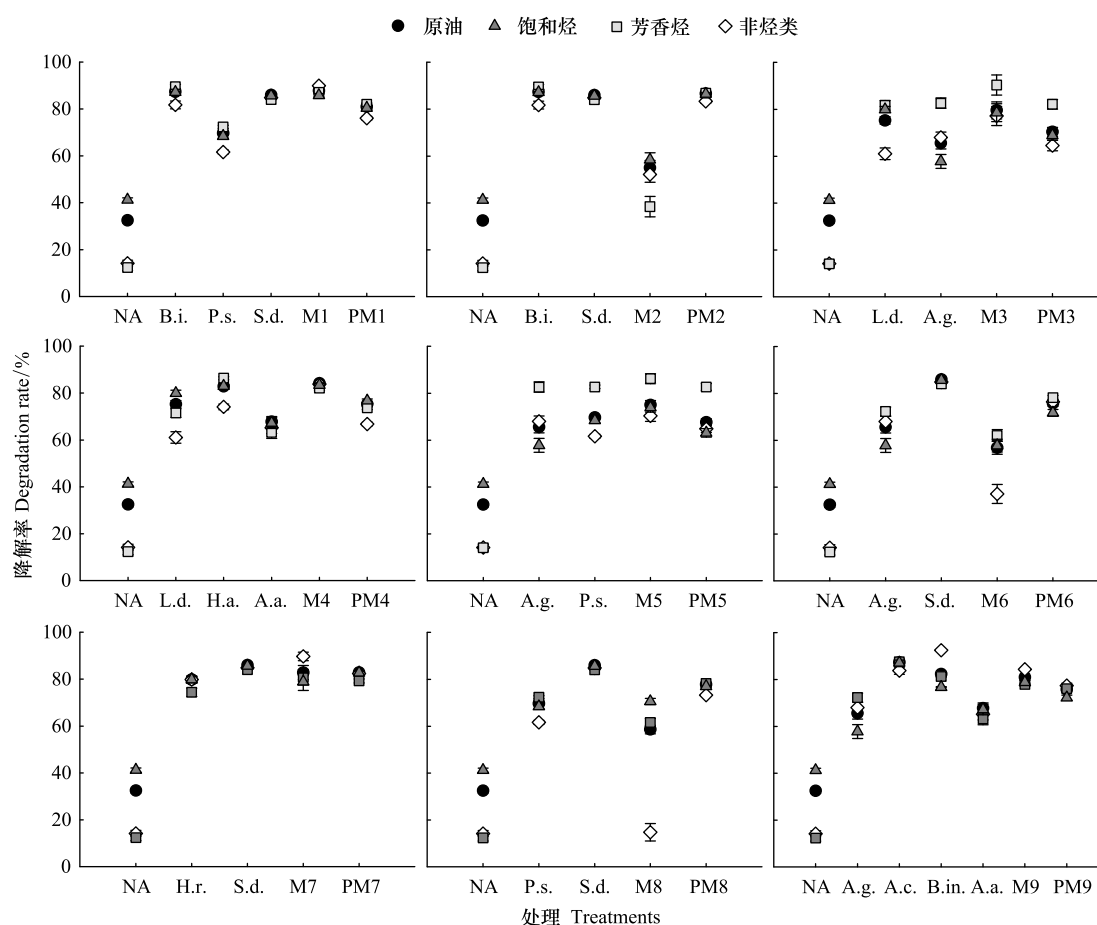


图1 凋落物处理后的原油及其组分降解率

Fig.1 Degradation rates of crude oil and its components after litter treatments

图中数据为平均值 $\pm$ 标准误,混合预测值视为处理之一进行统计分析;B.i.: 白羊草 *Bothriochloa ischaemum*; L.d.: 达乌里胡枝子 *Lespedeza davurica*; A.g.: 铁杆蒿 *Artemisia gmelinii*; H.a.: 阿尔泰狗娃花 *Heteropappus altaicus*; H.r.: 沙棘 *Hippophae rhamnoides*; P.s.: 杠柳 *Periploca sepium*; S.d.: 狼牙刺 *Sophora davidii*; A.s.: 黄蒿 *Artemisia annua*; A.c.: 冰草 *Agropyron cristatum*; B.in.: 无芒雀麦 *Bromus inermis*; NA:自然衰减 natural attenuation 处理;M1—M9 分别为混合物(对应各子图中所有单种凋落物的混合物)处理的降解率实测值,PM1—PM9 为混合物处理的预测值

3 讨论

与前人研究结果一致^[29],自然衰减处理下土壤中的土著降解菌可直接利用原油组分作为碳源^[14, 30]使其含量出现明显降低(图1)。然而,微生物在降解原油时将消耗大量土壤氮磷,最终导致自身生长受限和自然衰减的停滞^[31]。同时,部分芳香烃和非烃物质有限的生物可利用性也使污染物降解进一步受到限制^[32]。较之自然衰减,多数凋落物处理显著提高了原油、特别是其中芳香烃和非烃物质等的降解率,这与多项研究结果相似^[10-12]。其原因是凋落物源氮磷养分促进了降解菌的生长^[12],且其释放的有机酸促进了多环芳烃的解吸和溶解、提高其生物可利用性^[12, 33],黄酮、酚类和萜类则可诱导氧化酶的分泌,辅助微生物通过共代谢途径降解其无法直接利用的原油组分^[16-18, 33]。

与预期一致,部分混合形式显著强化了凋落物对原油组分的去除能力(图1)。偏最小二乘回归分析表明,不同混合凋落物的 FAD2 指数与其降解原油及其饱和烃和芳香烃组分的能力具有明显的正相关(图5),而具体至某一个凋落物组合时,考虑到混合添加无法改变凋落物化学成分的绝对含量,出现协同强化效应主要应归因于混合提高了凋落物总体的化学多样性(根据 FAD2 指数的计算方法,混合物的化学多样性必然高

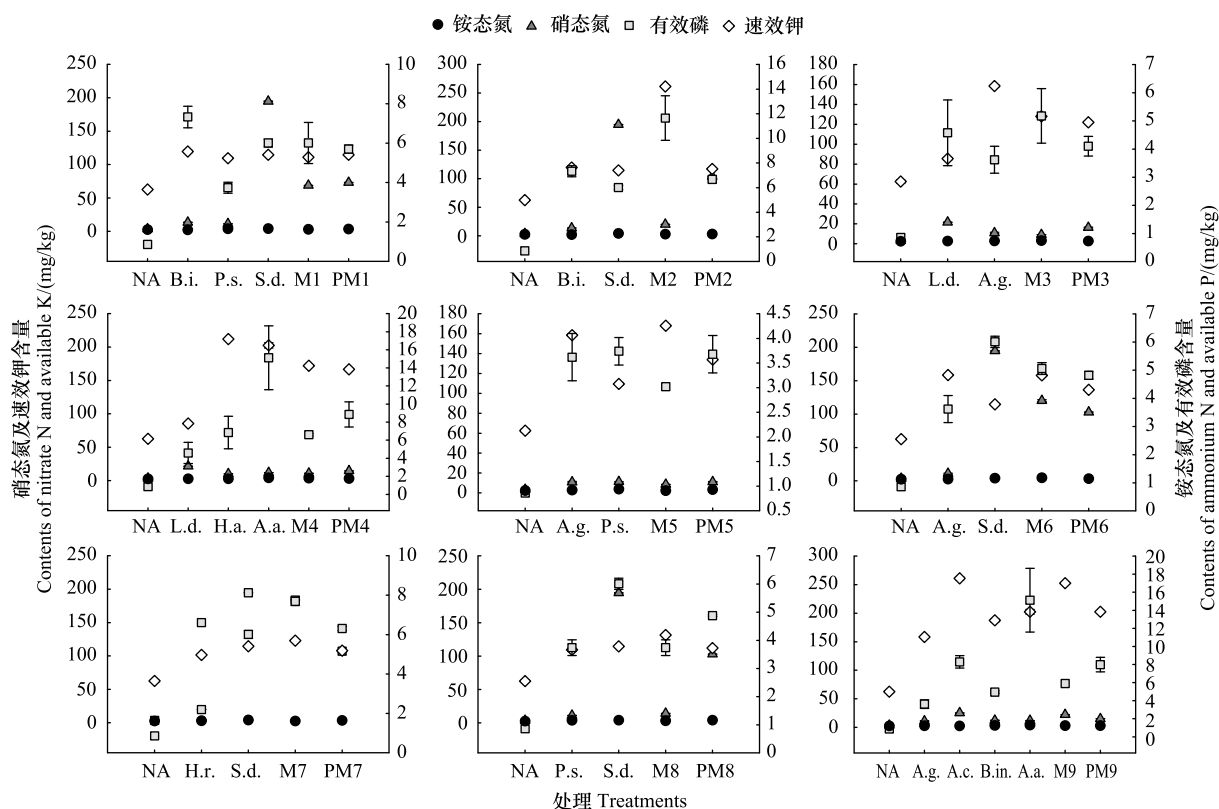


图2 凋落物处理后的土壤速效养分含量

Fig.2 The content of soil available nutrients after litter treatments

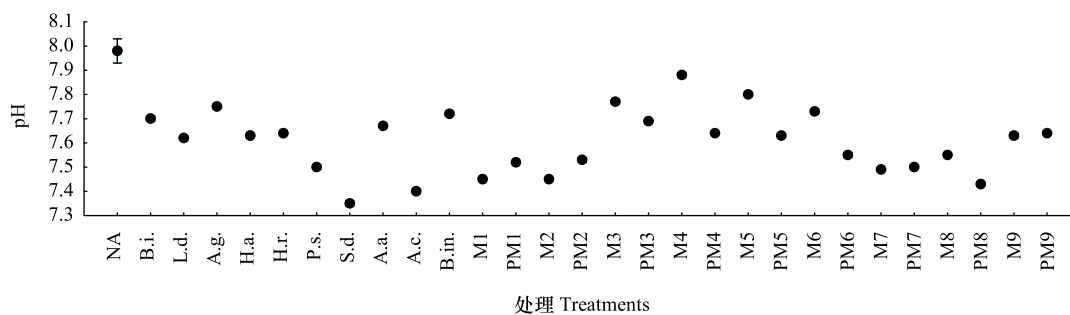


图3 凋落物处理后的土壤 pH

Fig.3 Soil pH after litter treatments

于单种凋落物)。这在一方面提供了多样化的养分并调节了凋落物的碳氮磷比例,使其更有利于多种微生物生长及其对凋落物的快速分解,从而使大量养分和降解辅助物质在更短时间内得以释放^[34-35],在污染物老化前促进微生物对其的降解^[12],进而提高原油及其组分的降解率。另一方面,混合添加凋落物也可以同时为原油降解菌提供多种有机无机养分和降解辅助物,从而解除降解菌生长、污染物生物可利用性和溶解或某些共代谢底物缺乏的限制,更有效地降解原油的各个组分。例如,达乌里胡枝子+阿尔泰狗娃花+黄蒿混合时,黄蒿凋落物含有更多的氮磷养分但 C/N 和 C/P 较高,而其余两种凋落物的 C/N 和 C/P 较低(表 1),其存在能够调节混合物的分解和养分释放速率,更有利于在短时间内为微生物降解污染物提供养分。同时,达乌里胡枝子可提供更多可溶性糖和有机酸、阿尔泰狗娃花可以提供更多萜类物质,而黄蒿凋落物则可提供更多酚类、

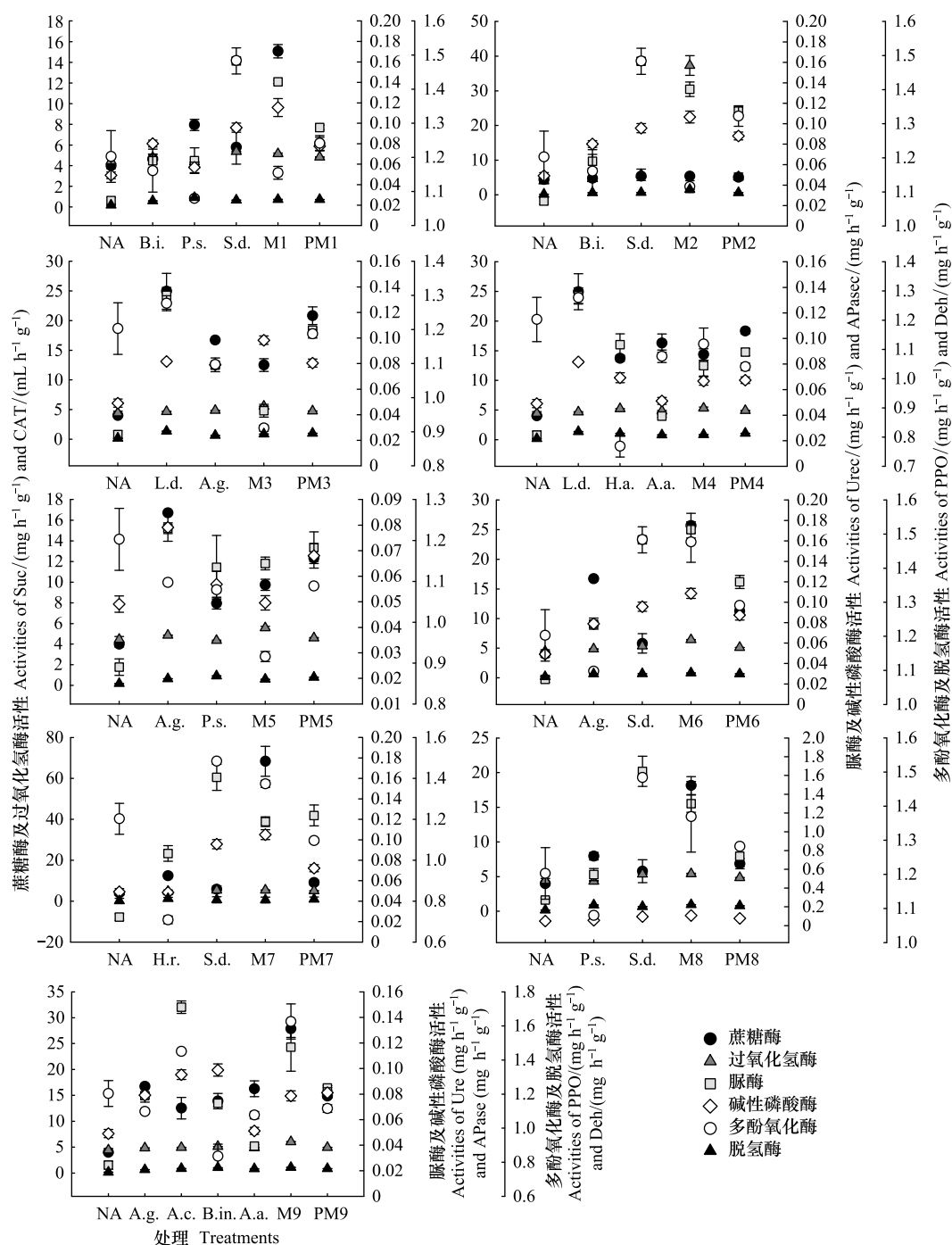


图4 凋落物处理下土壤酶活性

Fig.4 The soil enzymatic activities after litter treatments

黄酮和氨基酸类物质(表2),上述凋落物混合也有利于为微生物同时提供多种生物表面活性剂和共代谢底物,使混合物可通过多个途径的相互配合加速污染物降解。因此即使混合后凋落物养分和代谢产物含量不变,其对芳香烃和非烃类物质的降解能力仍显著高于预期值,甚至超过任一单种凋落物处理。此外,不同凋落物处理将诱导不同土壤微生物丰度的增加^[36]。鉴于各种微生物产生的降解酶的种类有所不同,这种差异可能产生互补效应,使降解微生物可以同时降解不同原油组分^[17],并相互配合催化污染物降解的各环节,因此避免高毒性或酸性中间产物积累导致的降解过程停滞或降解的不彻底。相反地,部分凋落物混合则产生显著

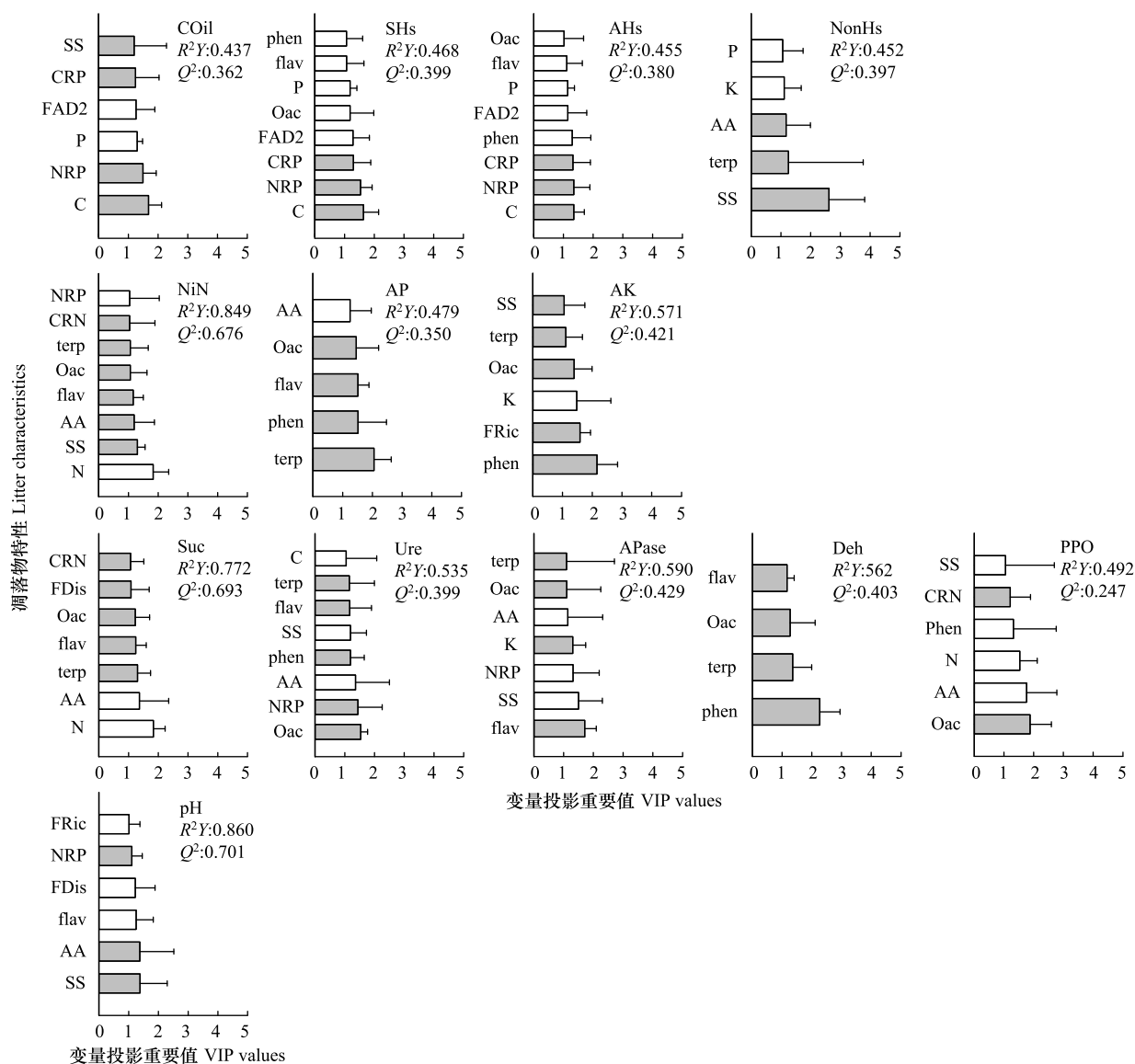


图5 影响混合凋落物修复效果的主要凋落物性质

Fig.5 The dominant characteristics affecting the remediating effects of mixed litters

以偏最小二乘回归分析获得的 VIP 值 (VIP: Variable Importance in Projection 变量投影重要性指标) 表示; 仅列出 VIP 值大于 1 的指标, 空白柱代表正相关, 灰色柱代表负相关。C: 碳含量 Content of C; N: 氮含量 Content of N; P: 磷含量 Content of P; K: 钾含量 Content of K; CRN: 碳氮比 The ratio of C to N; CRP: 碳磷比 The ratio of C to P; NRP: 氮磷比 The ratio of N to P; phen: 多酚含量 Content of polyphenols; SS: 可溶性糖含量 Content of soluble saccharide; terp: 萜类含量 Content of terpenoids; AA: 氨基酸含量 Content of amino acids; flav: 黄酮含量 Content of flavonoids; Oac: 有机酸含量 Content of organic acids; FAD2: 功能性状距离; FRic: 功能体积指数; FDis: 功能分散指数; 未检测出对过氧化氢酶有明显影响的凋落物性质指标

拮抗效应(如白羊草+狼牙刺和铁杆蒿+狼牙刺等)。其可能原因是混合添加对凋落物化学多样性的提高十分有限(胡狗黄混合凋落物的 FAD2 值为 12.28, 而白狼和铁狼混合凋落物仅为 1.81 和 3.49), 促进分解的作用较弱。而由于上述混合物中狼牙刺的基质质量远高于其他两种凋落物(氮含量高、碳氮比低), 较大的养分梯度意味着前者将在真菌作用下转移大量氮素至白羊草和铁杆蒿凋落物协助其分解, 而后两者在分解时更倾向于固定养分, 导致混合物整体分解和养分释放速率降低^[27], 削弱其促进降解微生物生长的效果。这与偏最小二乘回归分析(图 5)发现混合物的修复效果与其多个基质质量指标具有显著相关的结论类似, 说明化学多样性增加并非影响凋落物修复效果的唯一因素。此外, 大量研究表明酚类、萜类、黄酮和有机酸等辅助降解物质

往往同时具有抑制土壤酶活性的效果^[37]。某些凋落物混合后,上述物质可能对分解酶产生协同抑制,导致凋落物养分释放速率降低^[37-38],部分掩盖了其促进污染物去除的效果。

对于土壤生化性质而言,自然衰减不利于污染土壤速效养分含量的恢复,Sanni 等^[31]的研究指出污染物降解过程将大量消耗土壤中积蓄的养分,这也支持了本文结论。凋落物处理一方面直接补充了土壤速效氮磷钾,其对污染物降解的促进也使土壤中转化养分的微生物类群部分恢复,因此使土壤速效养分含量显著提高^[8, 39]。与前人关于凋落物混合处理对土壤养分产生非加和影响的结论一致^[22],混合添加同样使凋落物补充污染土壤速效养分的效果出现协同增强或拮抗削弱。由于本研究条件下凋落物能够完全分解^[11],但凋落物混合后能释放的养分总量不变,因此其对土壤养分的非加和影响应归因于混合处理影响了污染物的降解。某些凋落物混合处理后污染物的加速降解有利于提高土壤中参与养分转化的微生物和相关基因(如 *nifH*、*narG* 和 *amoA*) 的丰度^[39],从而使土壤中其他形态的氮磷养分向速效态转化,导致混合凋落物处理后的速效养分显著含量高于预测值或单种处理。但污染物加速降解同时意味着大量的养分损耗,其改善土壤养分状况的具体结果取决于上述因素的综合效应。此外,某些凋落物混合后妨碍污染物的降解,不利于养分转化微生物的恢复,或其混合添加将导致土壤微生物的功能特性改变。例如本文相关结果表明白羊草+狼牙刺混合物处理后,重度污染土壤(45 g/kg)中参与反硝化过程的细菌丰度显著提高,这也可能是导致混合添加削弱凋落物硝态氮补充能力的重要因素之一。自然衰减显著降低了污染土壤的 pH,而多数凋落物处理则导致其进一步降低,这与 Alotaibi 等^[10]的研究结果一致。其原因是凋落物输入加速了污染物降解,导致其酸性中间降解产物增多^[4],且凋落物自身释放的酸性产物也导致了土壤 pH 降低^[10]。混合添加多数导致凋落物对土壤 pH 的影响呈拮抗结果,即使 pH 降低幅度较预测减小,但不同混合凋落物导致上述现象的途径可能有所差异。例如对于铁杆蒿+狼牙刺凋落物而言,混合产生的拮抗效应弱化了刺激污染物降解的效果(图 1),因此导致酸性中间产物减少。而对于达乌里胡枝子+阿尔泰狗娃花+黄蒿等混合而言,可能是其混合在加速污染物降解的同时增加了微生物的多样性,促进了酸性中间产物的彻底降解,其具体原因尚需进一步研究加以分析。对土壤酶活性而言,自然衰减仅能提高过氧化氢酶活性,而多数凋落物处理对多种土壤酶活性均有刺激效果。这与前人研究结果一致^[8, 11, 40],其原因首先是凋落物处理促进了微生物生长,且为其分泌酶提供了必要元素或前体物质(N、P 和氨基酸等),因此使胞内酶和胞外酶的活性显著提高^[18]。同时,凋落物提供的糖类、蛋白质和多酚等底物也诱导微生物分泌特定的酶,因此提高测得的酶活性(例如萜类物质诱导双加氧酶的产生^[32])。与前人研究结果一致^[22],混合处理导致凋落物对土壤酶活性的影响与预测结果通常也存在差异。出现协同效应可能是混合处理加速了污染物的降解,使其对微生物的抑制进一步解除,同时污染物的降解减少了其与酶活性位点的结合或其对底物的包裹,因此提高了酶活性^[41]。此外,前述混合处理对土壤酸碱性的改善也有利于部分酶活性的提高。而拮抗抑制可能是由于加速了抑制酶活性物质的释放^[37],使微生物活性受到限制所致。

需要指出的是,前述关于混合添加对凋落物修复效果产生非加和影响的机理分析是基于单个凋落物组合而言的。对于不同混合物而言,其修复效果不仅仅取决于不同凋落物间修复效果的相互影响,且在相当程度上仍然受到凋落物总体基质质量的控制(图 5)。事实上,除较高的化学多样性外,较高的凋落物磷、有机酸、总酚和黄酮含量和较高的可分解性(低碳含量和碳磷比)也是有利于原油及其组分的降解的重要因素,但高次生代谢物含量同时可能不利于土壤养分状况和酶活性的恢复(图 5)。其机理已在前文讨论^[8, 12, 16-18, 33, 37],此处不再赘述。仅需额外说明的是,混合物对非烃类物质的降解能力仅受其磷钾含量(正相关)和可溶性糖、氨基酸等易利用碳源(负相关)控制,其原因应与其极难被微生物利用^[42],因此有机酸、总酚和黄酮等对其分解的促进有限有关;而在易利用碳源含量较高时,生长基质比例的增加反而导致竞争性抑制^[43],不利于最难分解的非烃类组分的降解。

本文仅着重讨论了在污染区周边可获取的凋落物的修复能力有限时,是否可以通过选择适宜的凋落物组合强化修复效果、减少对凋落物的消耗以避免过度干扰污染区周边生态系统。抑或在可获取的凋落物均具有

较强的修复能力时,是否有必要在采集凋落物时通过一定手段分离不同种类凋落物,以避免其修复效应相互拮抗而降低修复效果。在具体实践中,尚需结合凋落物形成具体混合形式时的总体基质质量(化学组成特征)对其修复效果进行预判,以期在合理范围内达到凋落物用量最小、修复效果最大化的目的,并避免在强化凋落物降解原油污染物效果的同时削弱其恢复土壤生化性质的能力。

4 结论

单种凋落物处理普遍显著提高了污染物降解率和土壤速效养分含量,且多数处理显著提高了污染土壤中蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶和脱氢酶的活性。混合添加对凋落物的修复效果产生显著非加和影响。其中白羊草+杠柳+狼牙刺、胡枝子+铁杆蒿、胡枝子+狗娃花+黄蒿或铁杆蒿+杠柳凋落物混合对原油及其组分的降解呈显著协同作用,使其降解率显著高于任一单种处理或基于单种处理的预测值,但其同时拮抗削弱凋落物对土壤速效氮(特别是硝态氮)的补充作用及(或)酶活性(特别是蔗糖酶和脱氢酶)的刺激作用。在实际使用中,可通过上述混合形式强化凋落物对污染物的降解能力,但需配合其他修复手段改善污染土壤生化性质。白羊草+狼牙刺、铁杆蒿+狼牙刺、杠柳+狼牙刺凋落物混合产生相反效果,在使用上述群落的凋落物作为生物刺激剂时,应注意对不同凋落物进行分离以避免削弱其修复效果。总体而言,添加多酚、黄酮、有机酸和磷含量高,碳含量和碳磷比低且化学多样性更高的混合凋落物更有利于降解原油污染物,但同时可能不利于土壤养分状况和酶活性的恢复。

参考文献(References):

- [1] Abbasian F, Palanisami T, Megharaj M, Naidu R, Lockington R, Ramadass K. Microbial diversity and hydrocarbon degrading gene capacity of a crude oil field soil as determined by metagenomics analysis. *Biotechnology Progress*, 2016, 32(3): 638-648.
- [2] Liu B Q, Liu J P, Ju M T, Li X J, Wang P. Bacteria-white-rot fungi joint remediation of petroleum-contaminated soil based on sustained-release of laccase. *RSC Advances*, 2017, 7(62): 39075-39081.
- [3] O'Brien P L, DeSutter T M, Casey F X M, Wick A F, Khan E. Evaluation of soil function following remediation of petroleum hydrocarbons—a review of current remediation techniques. *Current Pollution Reports*, 2017, 3(3): 192-205.
- [4] Chen F, Li X X, Zhu Q L, Ma J, Hou H P, Zhang S L. Bioremediation of petroleum-contaminated soil enhanced by aged refuse. *Chemosphere*, 2019, 222: 98-105.
- [5] 朱林海, 丁金枝, 王健健, 王永吉, 来利明, 赵学春, 鲁洪斌, 赵春强, 郑元润. 石油污染对土壤-植物系统的生态效应. *应用与环境生物学报*, 2012, 18(2): 320-330.
- [6] Adams F V, Niyomugabo A, Sylvester O P. Bioremediation of crude oil contaminated soil using agricultural wastes. *Procedia Manufacturing*, 2016, 7: 459-464.
- [7] 王艳杰, 李法云, 荣湘民, 陈佳勃, 石丽芳. 生物质材料与营养物配施对石油污染土壤的修复. *农业环境科学学报*, 2018, 37(2): 232-238.
- [8] 张晓曦, 张玲珍, 雷航宇, 王思妤, 董玉, 米皓皓, 刘增文. 草本凋落物与尿素联合修复对油污土壤生物化学性质的影响. *生态学报*, 2020, 40(8): 2715-2725.
- [9] Huang Y J, Pan H, Wang Q L, Ge Y Y, Liu W X, Christie P. Enrichment of the soil microbial community in the bioremediation of a petroleum-contaminated soil amended with rice straw or sawdust. *Chemosphere*, 2019, 224: 265-271.
- [10] Alotaibi H S, Usman A R, Abduljabbar A S, Ok Y S, Al-Faraj A I, Sallam A S, Al-Wabel M I. Carbon mineralization and biochemical effects of short-term wheat straw in crude oil contaminated sandy soil. *Applied Geochemistry*, 2018, 88: 276-287.
- [11] Zhang X X, Wang L J, Zhou W X, Feng L L, Hu M, Hu J W, Liu Z W. Mixing of plant litters strengthens their remediation effects on crude oil-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28: 12753-12765.
- [12] Koshlaf E, Shahsavari E, Haleyr N, Osborn A M, Ball A S. Effect of biostimulation on the distribution and composition of the microbial community of a polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated landfill soil during bioremediation. *Geoderma*, 2019, 338: 216-225.
- [13] Shahsavari E, Adetutu E M, Anderson P A, Ball A S. Necrophytoremediation of phenanthrene and pyrene in contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 2013, 122: 105-112.
- [14] Tao K Y, Zhang X Y, Chen X P, Liu X Y, Hu X X, Yuan X Y. Response of soil bacterial community to bioaugmentation with a plant residue-immobilized bacterial consortium for crude oil removal. *Chemosphere*, 2019, 222: 831-838.
- [15] Wang Y P, Liang J D, Wang J X, Gao S. Combining stable carbon isotope analysis and petroleum-fingerprinting to evaluate petroleum contamination in the Yanchang oilfield located on loess plateau in China. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(3): 2830-2841.

- [16] 姜岩, 杨颖, 张贤明. 典型多环芳烃生物降解及转化机制的研究进展. 石油学报(石油加工), 2014, 30(6): 1137-1150.
- [17] Chen B L, Yuan M X. Enhanced dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the presence of fresh plant residues and their extracts. Environmental Pollution, 2012, 161: 199-205.
- [18] 王亚男, 程立娟, 周启星. 植物修复石油烃污染土壤的机制. 生态学杂志, 2016, 35(4): 1080-1088.
- [19] Wang Y J, Li F Y, Rong X M, Song H X, Chen J B. Remediation of petroleum-contaminated soil using bulrush straw powder, biochar and nutrients. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2017, 98(5): 690-697.
- [20] Zeng L X, He W, Teng M J, Luo X, Yan Z G, Huang Z L, Zhou Z X, Wang P C, Xiao W F. Effects of mixed leaf litter from predominant afforestation tree species on decomposition rates in the Three Gorges Reservoir, China. Science of the Total Environment, 2018, 639: 679-686.
- [21] 宋蒙亚, 李忠佩, 刘明, 刘满强, 江春玉. 不同林地凋落物组合对土壤速效养分和微生物群落功能多样性的影响. 生态学杂志, 2014, 33(9): 2454-2461.
- [22] Li Q, Zhao G Y, Cao G M, Zhang X X, Liu Z W. Non-additive effects of leaf litter mixtures from *Robinia pseudoacacia* and ten tree species on soil properties. Journal of Sustainable Forestry, 2020, 39(8): 771-784.
- [23] Agbor R B, Ekpo I A, Osuagwu A N, Udofia U U, Okpako E C, Antai S P. Biostimulation of microbial degradation of crude oil polluted soil using cocoa pod husk and plantain peels. Journal of Microbiology and Biotechnology Research, 2012, 2(3): 464-469.
- [24] Chen Y C, Ma S Q, Liu J, Cheng G W, Lu X Y. Soil C and N dynamics and their non-additive responses to litter mixture under different moisture conditions from an alpine steppe soil, Northern Tibet. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 125: 231-238.
- [25] 孙中武. 植物化学. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2001.
- [26] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [27] 石丽芳, 李法云, 王艳杰, 陈佳勃. 不同生物质炭对辽河油田石油污染土壤总烃及各组分修复效果研究. 生态环境学报, 2019, 28(1): 199-206.
- [28] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986.
- [29] M'rassi A G, Bensalah F, Gury J, Duran R. Isolation and characterization of different bacterial strains for bioremediation of *n*-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(20): 15332-15346.
- [30] Mohsenzadeh F, Rad A C, Akbari M. Evaluation of oil removal efficiency and enzymatic activity in some fungal strains for bioremediation of petroleum-polluted soils. Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering, 2012, 9(1): 26.
- [31] Sanni G O, Coulon F, Mcgenity T J. Dynamics and distribution of bacterial and archaeal communities in oil-contaminated temperate coastal mudflat mesocosms. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(20): 15230-15247.
- [32] Wang S J, Wang X, Zhang C, Li F S, Guo G L. Bioremediation of oil sludge contaminated soil by landfarming with added cotton stalks. International Biodeterioration & Biodegradation, 2016, 106: 150-156.
- [33] 王姣龙, 谌小勇, 闫文德. 低分子有机酸对土壤中非降解及细菌群落结构的影响. 生态学报, 2019, 39(19): 7179-7188.
- [34] Otsing E, Barantal S, Anslan S, Koricheva J, Tedersoo L. Litter species richness and composition effects on fungal richness and community structure in decomposing foliar and root litter. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 125: 328-339.
- [35] Osono T, Takeda H. Decomposition of organic chemical components in relation to nitrogen dynamics in leaf litter of 14 tree species in a cool temperate forest. Ecological Research, 2005, 20(1): 41-49.
- [36] Al-Saleh E, Hassan A. Enhanced crude oil biodegradation in soil via biostimulation. International Journal of Phytoremediation, 2016, 18(8): 822-831.
- [37] Chomel M, Guittonny-Larchevêque M, Fernandez C, Gallet C, DesRochers A, Paré D, Jackson B G, Baldy V. Plant secondary metabolites: a key driver of litter decomposition and soil nutrient cycling. Journal of Ecology, 2016, 104(6): 1527-1541.
- [38] 李宜浓, 周晓梅, 张乃莉, 马克平. 陆地生态系统混合凋落物分解研究进展. 生态学报, 2016, 36(16): 4977-4987.
- [39] 吴彬彬, 卢滇楠, 刘铮. 石油污染土壤生物修复过程中氮循环功能基因的动态检测. 环境科学, 2012, 33(6): 2068-2074.
- [40] Wu Z J, Dong H J, Zou L D, Lu D N, Liu Z. Enriched microbial community in bioaugmentation of petroleum-contaminated soil in the presence of wheat straw. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2011, 164(7): 1071-1082.
- [41] Labud V, Garcia C, Hernandez T. Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. Chemosphere, 2007, 66(10): 1863-1871.
- [42] Dindar E, Şagban F O T, Başkaya H S. Bioremediation of petroleum-contaminated soil. Journal of Biological & Environmental Sciences, 2013, 7(19): 39-47.
- [43] 梅林玲, 于静洁, 张燕, 孙力平. 难降解有机污染物的共代谢研究进展. 天津城建大学学报, 2018, 24(6): 423-429.