

DOI:10.13409/j.cnki.jdpme.2020110912

## 微生物修复柴油污染土试验研究\*

曹小方<sup>1</sup>, 方祥位<sup>1,2</sup>, 刘汉龙<sup>1,2</sup>, 丁选明<sup>1,2</sup>, 张楠<sup>3</sup>

(1. 重庆大学土木工程学院, 重庆 400030; 2. 重庆大学山地城镇建设与新技术教育部重点实验室, 重庆 400030;  
3. 重庆工商大学通识学院, 重庆 400020)

**摘要:** 为比较提取的5种降解菌及混合菌修复柴油污染土的能力, 利用超声萃取—紫外分光光度法对修复后柴油污染土剩余油浓度进行测定, 研究温度、pH、含水率及接种量等对柴油污染土降解效果的影响。结果表明, 降解菌的降解率随温度升高先增大后减小, 且温度为32℃时, 六种组合柴油污染土的降解率均达到最大值; 随pH增大, 苍白杆菌属的降解率逐渐减小, 铜绿假单胞菌的降解率逐渐增加, 假单胞菌属、戈登氏菌属和混合菌的降解率先减小后增大, 博德特氏菌的降解率先增大后减小; 随含水率增大, 苍白杆菌属和混合菌的降解率先增大后减小, 假单胞菌属、戈登氏菌属、铜绿假单胞菌和博德特氏菌属的降解率呈上升趋势; 随接种量增大, 苍白杆菌属和混合菌的降解率先增大后减小, 假单胞菌属、戈登氏菌属、铜绿假单胞菌和博德特氏菌属的降解率先减小后增大。通过对比试验建议使用混合菌修复柴油污染土, 并给出了降解优化条件。

**关键词:** 柴油污染土; 降解菌; 混合菌; 生物修复

**中图分类号:** X53; X172   **文献标识码:** A   **文章编号:** 1672-2132(2021)03-0477-08

## Experimental Study on Microbial Remediation of Diesel Contaminated Soil

CAO Xiaofang<sup>1</sup>, FANG Xiangwei<sup>1,2</sup>, LIU Hanlong<sup>1,2</sup>, DING Xuanming<sup>1,2</sup>, ZHANG Nan<sup>3</sup>

(1. School of Civil Engineering, Chongqing 400030, China; 2. Key Laboratory of New Technology for Construction of Cities in Mountain Area, Ministry of Education, Chongqing 400030, China; 3. School of General Education, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400020, China)

**Abstract:** In order to compare the ability of self-extracted petroleum hydrocarbon degrading bacteria to repair diesel contaminated soil, the concentration of residual oil in the repaired diesel contaminated soil was measured by ultrasonic extraction ultraviolet spectrophotometry, and temperature, pH, water content and inoculation amount of degrading bacteria on the degradation of diesel contaminated soil were studied. The results showed that the degradation rate of degradation bacteria increased first and then decreased with the increase of temperature, when the temperature was 32℃, the degradation rate of six combinations reached the maximum; With the increase of pH, the degradation rate of *Phytophthora* decreased gradually, the degradation rate of *Pseudomonas aeruginosa* increased gradually, the

\* 收稿日期: 2020-04-27; 修回日期: 2020-11-09

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(51978103, 41831282)、重庆社会事业与民生保障科技创新专项(cstc2017shms-zdy-fX0073)资助

**作者简介:** 曹小方(1991—), 女, 硕士研究生。主要从事环境岩土工程微生物修复技术研究。

E-mail: cxfl20368881@163.com

**通讯作者:** 方祥位(1975—), 男, 教授, 博导, 博士。主要从事非饱和土与特殊土力学及岩土微生物技术研究。

E-mail: fangxiangwei1975@163.com

degradation rate of *Pseudomonas*, *Gordonia* and mixed bacteria decreased firstly and then increased, and the degradation rate of *Bordetella* increased firstly and then decreased; with the increase of water content, the degradation rate of *Phytophthora* and mixed bacteria increased firstly and then decreased, the degradation rate of *Pseudomonas*, *Gordonia*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bordetella* showed an increasing trend; with the increase of inoculation amount of degradation bacteria, the degradation rate of *Phytophthora* and mixed bacteria increased first and then decreased, and the degradation rate of *Pseudomonas*, *Gordonia*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bordetella* decreased first and then increased. It was suggested that mixed bacteria should be used to repair diesel contaminated soil and the optimal degradation conditions are given.

**Keywords:** diesel contaminated soil; Petroleum hydrocarbon degrading bacteria; mixed bacteria; bio-degradation

## 引言

柴油是一种由烷烃、烯烃、环烷烃、芳香烃、多环芳香烃与少量硫、氮及添加剂组成的轻质石油产品。柴油需求量随着社会发展而逐年增加。由于人类的不合理利用和处置,大量柴油进入土壤,不仅破坏土壤结构,引起土壤理化性质的变化,从而影响农作物和植物的正常生长与发育,还对地下水系统造成严重危害,威胁人们正常的生存和生活。因此,柴油污染土壤的修复与治理已成为目前人们最关注的问题之一。

土壤中柴油污染主要来源于以下几个方面:(1)柴油在加工、运输、使用、贮存及处置过程中发生的突发性泄露;(2)利用含油污水灌溉农田,随时间延长柴油逐渐在土壤中积累而造成土壤污染;(3)大量成分复杂的工业固体废物及生活垃圾在堆放过程中,其中含有的柴油也会进入土壤;(4)含油固体废物(含油泥浆、含油岩屑等)在堆放过程中,由于雨水冲刷作用而使柴油进入周围土壤产生污染。柴油具有较强的粘着力和较低的乳化力,可将土壤颗粒聚合成较为致密的片层状或团状结构体,导致土壤孔隙度降低,渗透阻力增加,透水性和透气性减弱<sup>[1-2]</sup>。同时柴油富含的元素与无机氮、磷结合并限制硝化作用和脱磷酸作用,从而使土壤有效氮和有效磷含量减少<sup>[3]</sup>。柴油污染物通过降低土壤水分和养分供应致使幼苗生理脱水和养分失衡,阻碍植物正常生长<sup>[4]</sup>。通常用于石油污染土的修复技术包括物理修复法、化学修复法、植物修复法,微生物修复法,植物和微生物联合修复法等<sup>[5-9]</sup>。微生物修复法即利用微生物的生长代谢活动来降解污染

物,以减少或最终消除污染物的过程<sup>[10-11]</sup>。与物理、化学方法相比,生物修复对人类和环境造成的影响小,是一种高效、经济和环境友好的修复技术<sup>[12]</sup>。

周宏飞等<sup>[13]</sup>通过设计不同柴油浓度下柴油降解试验及土壤柴油降解试验,分析革兰氏阳性菌(EGY)降解柴油的性能。结果表明EGY可作为高效的柴油降解菌修复柴油污染土壤。李玉瑛等<sup>[14]</sup>分析了土壤中柴油降解菌数量和3种土壤酶活性等生物活性指标与土壤中柴油去除率的相关性。结果表明,土壤受到柴油污染后过氧化氢酶、脱氢酶和脂酶的活性有所改变。韩寒冰<sup>[15]</sup>从茂名炼油厂附近长期被柴油污染的土壤中分离出1株能够以柴油为唯一碳源的柴油降解菌株。胡春辉等<sup>[16]</sup>在辽河口湿地油田石油污染土壤中分离出一株耐盐柴油高效降解菌株L7,与其他菌株相比较,菌株L7在柴油中生长更加迅速。刘沙沙<sup>[17]</sup>从柴油污染土壤中富集、分离、筛选出一株以柴油为唯一碳源的降解菌株DB,通过单因素试验对影响DB降解柴油效率的因素进行研究,结果表明菌种DB是一株可以用于柴油污染土壤生物修复的高效降解菌。

以上研究表明,土著微生物对柴油污染土有降解能力。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。采用微生物修复技术对土壤进行治理,能在去除污染物的同时,恢复土壤菌群的多样性,有利于土壤营养循环和区域生态系统的运转,而筛选出的特有菌种也可以作为生物制剂继续开发利用<sup>[18]</sup>。

课题组在前期工作中已成功从石油污染土中提取了5种石油烃降解菌,并以降油培养基为基质对分离得到的菌株进行了汽油降解率的试验研究,

结果表明,筛选出的5种高效石油烃降解菌分别为:假单胞菌属(*Pseudomonas*)、戈登氏菌属(*Gordonia*)、苍白杆菌属(*Phytophthora*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和博德特氏菌属(*Bordetella*),五种菌的汽油降解率均超过60%<sup>[19]</sup>。但是未对5种石油烃降解菌对柴油污染土的降解效果进行相关研究,本文以人为拌制的柴油污染土为研究对象,通过后加入提取的五种降解菌及其混合菌,研究温度、pH、含水率及接种量对柴油污染土降解能力的影响,为柴油污染土的微生物修复技术提供科学依据。

## 1 试验概况

### 1.1 试验材料

试验土样取自重庆大学B区操场地下车库基坑土,去除碎石、树枝树叶等杂质,碾碎,105℃烘干,依次通过30目标准筛,人工加入0号柴油制成5%的柴油污染土,阴凉通风处自然风干,将土壤样品封装放入干燥器保存待用。

试验所用降解菌为实验室提取的细菌<sup>[20]</sup>。试验采用10%菌悬液,湿重法配制<sup>[19]</sup>。具体方法:取保存的纯菌种复活于LB平板,挑取单菌落培养于LB液体培养基,32℃、200 r/min振荡培养20 h,4 000 r/min离心30 min,去上清液,称菌体湿重,用质量浓度为0.85%的无菌生理盐水配制质量分数为10%的菌悬液。混合菌悬液配制:5种降解菌的菌悬液组成混合菌悬液,每种降解菌均占混合菌悬液体积的1/5。5种石油烃降解菌和混合菌均采用人工注射并搅拌的方式加入污染土。

### 1.2 试验方案

参考5种降解菌混合菌降解汽油污染土的试验结论:多因素正交试验中,5种降解菌(与文中相同)混合菌降解95号汽油污染土的最佳降解条件:温度32℃,pH7,接种量1 mL和含水率25%<sup>[20]</sup>。改变温度(30、32、35℃)、pH(6.5、7、8)、含水率(20%、25%、30%)及接种量(0.3、1、2 mL)4个影响因素,以5种降解菌及其混合菌为基础分别设置六种试验组合(表1),恒温恒湿培养箱中生物修复11 d后利用紫外分光光度法进行柴油污染土降解率测定,为排除柴油和水分蒸发对试验结果的影响,试验设置对照组。

表1 六种组合成分汇总

Table 1 Summary of six combinations

组合编号	降解菌种类	污染物
A	假单胞菌属	
B	戈登氏菌属	
C	苍白杆菌属	50 g 5%的柴油
D	铜绿假单胞菌	污染土
E	博德特氏菌属	
F	混合菌	

### 1.3 测试方法

采用紫外分光光度法测定柴油污染土降解率<sup>[21-22]</sup>。

污染土壤中剩余油含量测定:向降解后污染土中加入石油醚,100 W超声萃取30 min,萃取后4 000 r/min离心30 min,用1 mol/L盐酸进行酸化,稀释上清液,注入比色皿中,最大吸收波长229 nm处测定其吸光度值。通过测定17、34、51、68、85 mg/L柴油浓度的紫外吸收值,绘制标准曲线,根据标准曲线拟合得到方程,继而求得柴油降解率。柴油降解率的计算公式为:

$$\eta = \frac{(C_0 - C_1)}{C_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中, $C_0$ 为对照组柴油浓度; $C_1$ 为试验组柴油浓度。

## 2 结果与分析

### 2.1 温度

温度不仅影响石油烃的物理状态,还对微生物的活性以及柴油污染土的挥发性有着直接影响。适宜的温度是降解菌降解土壤中柴油的重要条件。以pH 7、含水率20%、接种量1 mL为基础,通过改变温度得到不同温度条件下柴油污染土的降解规律,温度对柴油污染土降解率的影响如图1所示。

由图1可知,苍白杆菌属(组合C)降解柴油污染土的效果最为明显,为25.7%。在所研究温度范围(30~35℃)内,随温度升高,6条曲线的变化趋势大致相同,降解率均先增大后减小;温度为32℃时,六种组合降解率均达到最大值。

为进一步研究温度以外因素对柴油污染土降解率的影响规律,选取表2所示7个具有代表性的降解条件进行试验。温度为32℃时,六种组合下7个系列的柴油污染土的降解率如图2所示。由图2

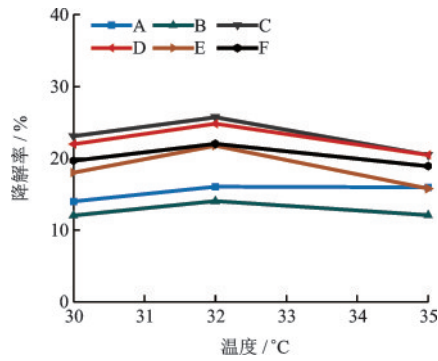


图1 温度对柴油污染土降解率的影响

Fig.1 Effect of temperature on degradation rate of diesel contaminated soil

表2 温度为32℃时六种组合下7个系列降解条件

Table 2 Seven degradation conditions of six combinations at 32℃

系列编号	因素		
	接种量/mL	pH值	含水率/%
一	1	6.5	20
二	0.3	7	20
三	1	7	20
四	2	7	20
五	1	7	25
六	1	7	30
七	1	8	20

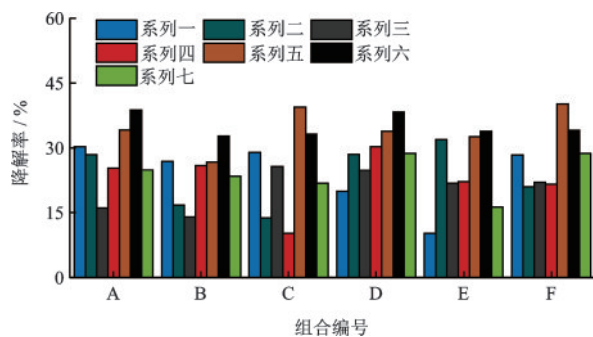


图2 温度为32℃时六种组合下7个系列柴油污染土降解率  
Fig.2 Degradation rate of 7 series of diesel contaminated soil under six combinations at 32℃

可知,与5种降解菌降解汽油污染土得到的结论一致<sup>[20]</sup>;六种组合里系列五和六的降解效果相对明显,且由系列三、五和六的降解率比较可知,同一温度下,含水率对降解菌降解柴油污染土的能力有较大影响。

## 2.2 pH

pH对微生物代谢过程影响显著。降解菌与大

多数微生物一样,一般情况下,适宜生长的pH范围为6~8。极端pH环境中不利于微生物生长,并且容易影响生物修复效果。以温度32℃、含水率20%、接种量1 mL为基础,通过改变pH得到不同pH下柴油污染土的降解率的影响规律,pH对柴油污染土降解率的影响如图3所示。

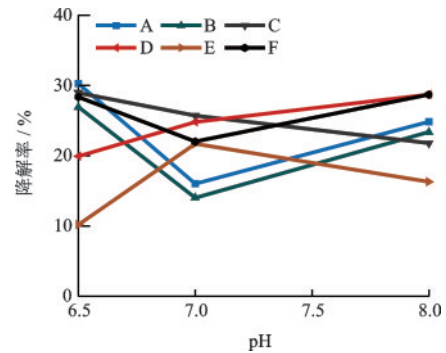


图3 pH对柴油污染土降解率的影响

Fig.3 Effect of pH on degradation rate of diesel contaminated soil

由图3可知,上述降解条件下,pH为6.5时,假单胞菌属(组合A)降解柴油污染土的效果相对明显,为30.25%;pH为7时,苍白杆菌属(组合C)降解柴油污染土的效果相对明显,为25.7%;博得特氏菌属(组合E)达到最大值;假单胞菌属、戈登氏菌属(组合B)和混合菌(组合F)降至最小值;pH为8时,铜绿假单胞菌(组合D)降解柴油污染土的效果相对明显,为28.75%。在所研究pH范围(6.5~8)内,随着pH不断增大,组合C降解柴油污染土的降解率逐渐减小;组合D的降解率逐渐增大。这是因为试验所用五种降解菌的最适pH存在差异,从而随着pH升高,六种组合的降解率呈现不同规律。

为进一步研究同一pH降解条件下其他因素对降解菌降解柴油污染土的影响规律,选取表3所示7个具有代表性的降解条件进行试验。pH为7时,六种组合下7个系列的柴油污染土的降解率如图4所示,由图4可知,六种组合里系列f和g的降解效果相对明显且由系列c、f和g比较可知,同一pH下,含水率对降解菌降解效果的影响更加显著。可能原因是pH为7时铜绿假单胞菌降解柴油污染土的能力优于其他四种降解菌。

## 2.3 含水率

土壤含水率是影响微生物降解石油烃的主要环境因素之一。微生物的新陈代谢均需要水分来

表3 pH为7时六种组合下7个系列降解条件

Table.3 Seven series of degradation conditions under six combinations at pH 7

系列编号	因素		
	接种量/mL	温度/°C	含水率/%
a	0.3	32	20
b	1	30	20
c	1	32	20
d	1	35	20
e	2	32	20
f	1	32	25
g	1	32	30

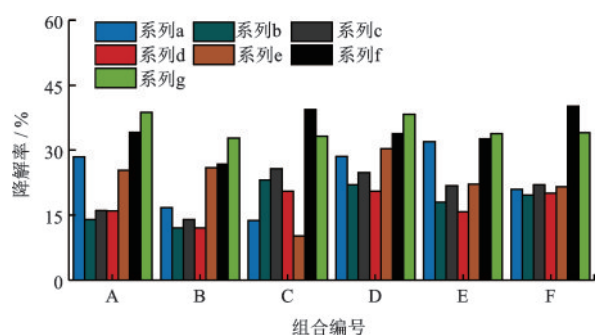


图4 pH为7时六种组合下7种系列柴油污染土降解率

Fig.4 Degradation rate of 7 series of diesel contaminated soil under six combinations at pH 7

维持,但是含水率过高又会导致土壤空隙变小,通透性和氧气的供给不足。此外,土壤中的水分会在土壤颗粒表面形成水膜,降低污染物在土壤颗粒上的吸附,增加了微生物与污染物的接触几率,提高降解效率。以温度32 °C、pH7、接种量1 mL为基础,通过改变含水率得到不同含水率下柴油污染土降解率的影响规律,含水率对柴油污染土降解率的影响如图5所示。

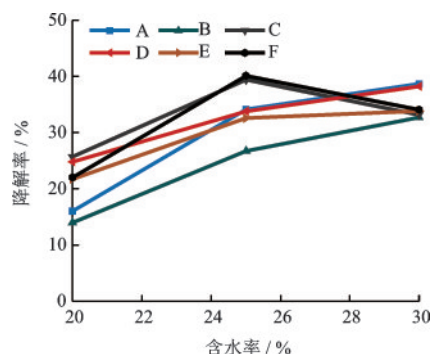


图5 含水率对柴油污染土降解率的影响

Fig.5 Effect of water content on degradation rate of diesel contaminated soil

由图5可知,上述降解条件下,含水率为20%时,苍白杆菌属(组合C)降解柴油污染土的降解效果相对明显,为25.7%;含水率为25%时,混合菌(组合F)降解效果相对明显,为40.14%;含水率为30%时,六种组合的降解率均在30%以上,说明相对于另外两种含水率,含水率为30%更有利于降解菌降解。六种组合里假单胞菌属(组合A)降解效果相对显著,为38.68%。在所研究含水率范围(20%~30%)内,随着含水率逐渐增大,假单胞菌属、戈登氏菌属(组合B)、铜绿假单胞菌(组合D)和博德特氏菌属(组合E)降解柴油污染土的降解率逐渐增大;组合C和F的降解率先增大后减小,当含水率为25%时,降解率达到最大值。分析原因可能是含水率超过土壤液限,含水率过高导致土壤空隙变小,通透性和氧气供给不足,从而影响降解菌的降解能力。

为进一步研究含水率以外影响因素对柴油污染土降解率的影响规律,选取表4所示7个具有代表性的降解条件进行试验。含水率为20%时,六种组合下7个系列柴油污染土的降解率如图6所示。由图6可知,组合E中系列②的降解效果最为显著,为31.93%;比较①、④和⑦3个系列可知,同一含水率水平下,pH对降解菌降解柴油污染土的能力影响最大,这可能与五种降解菌最适降解条件有关,由前期试验发现本文所用五种降解菌的最适降解条件的pH为7<sup>[20]</sup>。

表4 含水率为20%时六种组合下7个系列降解条件

Table 4 Seven degradation conditions of six combinations with water content of 20%

系列编号	因素		
	接种量/mL	温度/°C	pH值
①	1	32	6.5
②	0.3	32	7
③	1	30	7
④	1	32	7
⑤	1	35	7
⑥	2	32	7
⑦	1	32	8

## 2.4 接种量

由于试验设计的降解环境为一个总营养物质定量的土壤环境,总的降解效果与接种量有很大关系,当初始接种少量的微生物时,初始的降解效果

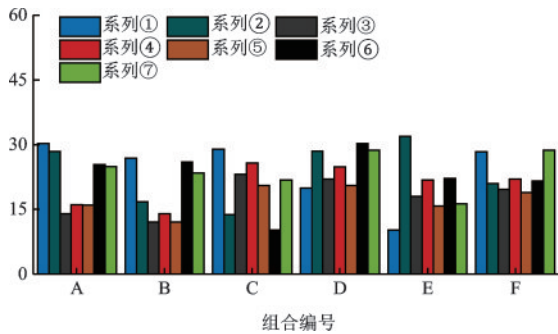


图6 含水率为20%时六种组合下7个系列柴油污染土降解率

Fig.6 Degradation rate of 7 series of diesel contaminated soil under six combinations with water content of 20%

可能不太明显,但随着后期微生物的生长繁殖,微生物的降解效果逐渐明显;当初接种大量的微生物时,则初始降解效果会很明显,但随着后期菌体的过度繁殖,菌体对土壤中营养物质的相互竞争将导致营养物质短缺,致使微生物的新陈代谢和生长速率减缓,影响了菌悬液对石油烃的吸收降解,可能导致总的降解效果不是很理想。以温度32℃、含水率20%、pH7为基础,通过改变接种量得到不同接种量下柴油污染土的降解规律,接种量对柴油污染土降解率的影响如图7所示。

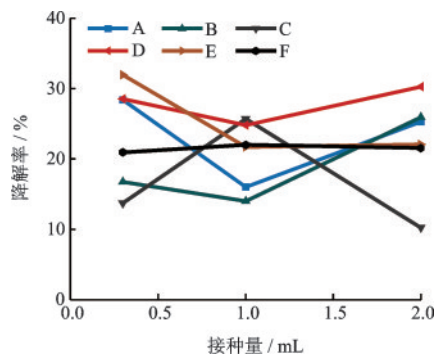


图7 接种量对柴油污染土降解率的影响

Fig.7 Effect of inoculation amount of degradation bacteria on degradation rate of diesel contaminated soil

由图7可知,上述降解条件下,接种量为0.3 mL时,博得特氏菌属(组合E)的降解效果相对明显;接种量为1 mL时,苍白杆菌属(组合C)的降解效果相对明显;接种量为2 mL,铜绿假单胞菌(组合D)的降解效果相对明显。在所研究接种量范围(0.3~1 mL)内,随着接种量逐渐增大,假单胞菌属(组合A)、戈登氏菌属(组合B)、组合D和E降解柴油污染土的降解率先减小后增大;苍白杆菌属和混合菌

(组合F)的降解率先增大后减小。分析原因可能与五种降解菌自身生长繁殖速度以及降解柴油污染土速度有关。

为进一步研究接种量以外的影响因素对柴油污染土降解率的影响规律,选取表5所示7个具有代表性的降解条件进行试验。接种量为1 mL时,六种组合下7个系列柴油污染土的降解率如图8所示。由图8可知,六种组合里系列6和7的降解效果相对显著,且由系列3、6和7三者降解条件的比较可知,同一接种量条件下,含水率对降解菌降解柴油污染土的效果影响更为显著。

表5 接种量为1 mL时六种组合下7个系列降解条件

Table 5 Seven series degradation conditions of six combinations with 1 ml inoculum

系列编号	因素		
	含水率/%	温度/℃	pH值
1	20	32	6.5
2	20	30	7
3	20	32	7
4	20	35	7
5	20	32	8
6	25	32	7
7	30	32	7

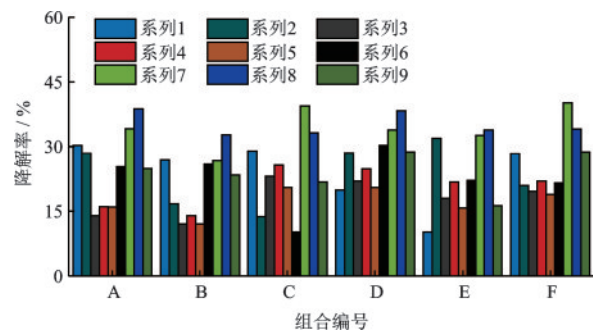


图8 接种量为1 mL时六种组合下7个系列柴油污染土降解率

Fig.8 Degradation rates of seven series of diesel contaminated soils under six combinations with 1 ml inoculum

### 3 结论

(1)在所研究温度范围(30~35℃)内,随着温度升高,降解菌降解柴油污染土的降解率先增大后减小;温度为32℃时,5种降解菌及其混合菌的降解率均达到最大值且铜绿假单胞菌和混合菌降解柴油污染土的降解效果相对显著;同一温度条件下,

含水率对降解菌的降解能力有较大影响。

(2)在所研究 pH 范围(6.5~8)内,随着 pH 增大,苍白杆菌属降解柴油污染土的降解率不断减小,铜绿假单胞菌降解柴油污染土的降解率不断增大;pH 为 7 时,博德特氏菌属的降解率达到最大值;假单胞菌属、戈登氏菌属和混合菌的降解率降至最小值;同一 pH 下,含水率对降解菌的降解效果影响更加显著。

(3)在所研究含水率范围(20%~30%)内,随着含水率逐渐增大,苍白杆菌属和混合菌的降解率先增大后减小;假单胞菌属、戈登氏菌属、铜绿假单胞菌和博德特氏菌属降解柴油污染土的降解率逐渐增大;同一含水率水平下,pH 对降解菌的降解能力影响最大。

(4)在所研究接种量范围(0.3~1 mL)内,随着接种量增大,苍白杆菌属和混合菌的降解率先增大后减小;假单胞菌属、戈登氏菌属、铜绿假单胞菌和博德特氏菌属降解柴油污染土的降解率先减小后增大;同一接种量条件下,含水率对降解菌的降解效果影响更为显著。

由前期气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)的结果分析可知,经过微生物修复,柴油组分中分子量较大的烃化物含量逐渐降低;小分子烃类含量增大。另外,随着降解时间的延长,土壤中的柴油组分逐渐降低且未检测到新的、国际上规定优先去除的污染物质生成。由此可知,经过混合菌的生物降解,土壤的污染程度有所改善。

## 参考文献:

- [1] 王铁媛, 窦森, 刘录军, 等. 油水淹地土壤的性质和污染机理研究[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(1): 58-64.  
Wang T Y, Dou S, Liu L J, et al. Study on the properties and pollution mechanism of oil-water flooded soil [J]. Journal of Agricultural Environmental Science, 2015, 34(1): 58-64. (in Chinese)
- [2] Khamechiyan M, Charkhabi A H, Tajik M. Effects of crude oil contamination on geotechnical properties of clayey and sandy soils[J]. Engineering Geology, 2007, 89(3/4): 220-229.
- [3] Marinescu M, Toti M, Tanase V, et al. The effects of crude oil pollution on physical and chemical characteristics of soil [J]. Research Journal of Agricultural Science, 2011, 43(3): 125-129.
- [4] Odjegba V J, Sadiq A O. Effects of spent engine oil on the growth parameters, chlorophyll and protein levels of *Amaranthus hybridus* L [J]. The Environmentalist, 2002, 22(1): 23-28.
- [5] Li Y T, Li D, Lai L J, et al. Remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil by using activated persulfate with ultrasound and ultrasound/Fe [J]. Chemosphere, 2020, 238(Jan.): 124657.1-124657.8.
- [6] Maja R, Mirosław W, Agnieszka B, et al. The applicability of compost, zeolite and calcium oxide in assisted remediation of acidic soil contaminated with Cr(III) and Cr(VI) [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26(21): 21351-21362.
- [7] Al-Mailem D M, Sorkhoh N A, Marafie M, et al. Oil phytoremediation potential of hypersaline coasts of the Arabian Gulf using rhizosphere technology [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(15): 5786-5792.
- [8] 徐丽萍. 石油污染土壤的微生物修复技术研究进展 [J]. 生物学教学, 2016, 41(6): 6-9.  
Xu L P. Research progress in bioremediation of petroleum contaminated soil [J]. Biology Teaching, 2016, 41(6): 6-9. (in Chinese)
- [9] Mohsenzade F, Nasser S, Mesdaghinia A, et al. Phytoremediation of petroleum-contaminated soils: Pre-screening for suitable plants and rhizospheral fungi [J]. Toxicological & Environmental Chemistry Reviews, 2009, 91(7/8): 1443-1453.
- [10] Pham V, Chaudhary D K, Jeong S W, et al. Oil-degrading properties of a psychrotolerant bacterial strain, *Rhodococcus* sp. Y2-2, in liquid and soil media [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2018, 34(2): 33.
- [11] 赵海乐, 温钢. 柴油降解菌的筛选鉴定和降解特性研究 [J]. 吉林化工学院学报, 2016, 33(7): 70-77.  
Zhao H L, Wen G. Screening of diesel oil degradable microorganisms and characterization of the diesel oil degradation [J]. Journal of Jilin Institute of Chemical Technology, 2016, 33(7): 70-77. (in Chinese)
- [12] Hicks B N, Caplan J A. Bioremediation: A natural solution. [Decontamination of soils and groundwater]. Pollution Engineering, 1993, 25(2): 30-33.
- [13] 周宏飞, 陈玮, 杨鑫星, 等. 2 株柴油降解菌的分离筛选及生长特性分析 [J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2019, 42(1): 81-87.  
Zhou H F, Chen W, Yang X X, et al. Isolation, screening and growth characteristics analysis of two diesel degradation bacteria [J]. Journal of Zhejiang Normal University (Natural Science Edition), 2019, 42(1): 81-87. (in Chinese)

- [14] 李玉瑛, 李冰. 柴油污染土壤生物修复对土壤酶活性的影响[J]. 生态环境学报, 2009, 18(5): 1753-1756.  
Li Y Y, Li B. Effects of bioremediation of diesel contaminated soil on soil enzyme activity[J]. Journal of ecological environment, 2009, 18(5): 1753-1756. (in Chinese)
- [15] 韩寒冰. 一株柴油降解菌的分离及降解条件寻优[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(7): 1613-1615.  
Han H B. Isolation of a diesel degradation bacterium and optimization of degradation conditions [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2009, 48(7): 1613-1615. (in Chinese)
- [16] 胡春辉, 于浩, 赵阳国, 等. 高效耐盐柴油降解菌的筛选、鉴定及降解基因[J]. 中国环境科学, 2017, 37(11): 4251-4258.  
Hu Ch H, Yu H, Zhao Y G, et al. Screening, identification and degradation genes of high efficiency salt tolerant diesel degradation bacteria [J]. Environmental Science in China, 2017, 37(11): 4251-4258. (in Chinese)
- [17] 刘沙沙. 柴油污染土壤生物通风修复效果及柴油降解菌的降解能力研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013.  
Liu Sh Sh. Study on the effect of bioremediation of diesel contaminated soil and the degradation ability of diesel degrading bacteria [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2013. (in Chinese)
- [18] Kennedy A C, Smith K L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils[J]. Plant & Soil, 1995, 170(1): 75-86.
- [19] 张娟, 方祥位, 刘汉龙, 等. 石油污染土中微生物的分离鉴定及降解特性[J]. 土木与环境工程学报(中英文), 2020, 42(1): 144-152.  
Zhang J, Fang X W, Liu H L, et al. Isolation, identification and degradation characteristics of microorganisms in petroleum contaminated soil [J]. Journal of Civil and Environmental Engineering, 2020, 42(1): 144-152. (in Chinese)
- [20] 曹小方, 方祥位, 刘汉龙, 等. 石油烃混合降解菌对汽油污染土的降解条件优化试验研究[J]. 土木与环境工程学报(中英文), 2020, 42(2): 195-202.  
Cao X F, Fang X W, Liu H L, et al. Experimental study on degradation conditions of gasoline contaminated soil by petroleum hydrocarbon mixed degradation bacteria [J]. Journal of Civil and Environmental Engineering, 2020, 42(2): 195-202. (in Chinese)
- [21] 曹冠楠. 油污土中降解柴油细菌的分离鉴定及降解能力的研究[D]. 北京: 中国地质大学, 2010.  
Cao G N. Isolation, identification and degradation ability of diesel oil degrading bacteria in oily soil [D]. Beijing: China University of Geosciences, 2010. (in Chinese)
- [22] 吕璠璠, 陈泉源. 表面活性剂在柴油污染土壤洗涤中的应用[J]. 矿冶工程, 2015, 35(2): 94-98.  
Lyu F F, Chen Q Y. Application of surfactant in diesel contaminated soil washing [J]. Mining and Metallurgy Engineering, 2015, 35(2): 94-98. (in Chinese)

(本文责编: 池营营)