



· 水土污染防治与修复 ·

油橄榄果渣土壤改良剂的制备及其在 重金属污染土壤修复中的应用

朱坤垚^{1,2,3}, 李明钰^{2,3}, 李富松^{2,3}, 汪生旭², 李罗宇², 曹瑜卓², 王军强^{2,3}

1. 西北大学 榆林碳中和学院, 陕西 西安 710069; 2. 西北大学 城市与环境学院, 陕西 西安 710127;
3. 陕西省地表系统与环境承载力重点实验室, 陕西 西安 710127

摘要 油橄榄果渣是橄榄油榨取过程中产生的固体副产物。由于油橄榄果渣富含丰富的纤维素、半纤维素及木质素等难降解物质, 从而限制了其资源化利用。微生物堆肥是我国农业废弃物处理的主要方式。然而, 目前针对油橄榄果渣木质素和纤维素降解的微生物研究较少, 使得油橄榄果渣的高效利用成为一大难题。基于此, 本研究通过降解实验获取了2株油橄榄果渣纤维素和木质素的高效降解功能菌 X4-1 (肠杆菌属 *Enterobacter* sp) 和 M7-2 (热带假丝酵母菌 *Candida tropicalis*)。将上述2种菌株用于油橄榄果渣发酵过程, 制备得到了满足农业土壤肥料施用标准的有机肥。同时考察了接种重金属固定化菌剂后的有机改良剂对土壤重金属修复、作物生长及重金属富集效果的影响。研究结果表明, 油橄榄果渣有机改良剂促进了青菜生长, 提高了生物量。向 Pb、Cu 和 Cd 污染土壤中施加有机改良剂后, 青菜株高、鲜重和干重分别增加了 4.80% ~ 15.78%、10.02% ~ 129.85% 和 7.70% ~ 120.41%。此外, 有机改良剂的施用有效降低了土壤重金属的生态风险, 抑制了青菜对重金属的富集作用。相比于未施肥处理, 施用有机改良剂后生长于重金属污染土壤的青菜地下部 Cu 和 Cd 含量分别降低了 85.47% 和 34.10%, 地上部含量分别降低了 42.56% 和 54.68%。研究结果可为油橄榄果渣的资源化利用及重金属污染农田土壤绿色修复提供参考。

关键词 油橄榄果渣; 降解菌; 土壤改良剂; 重金属修复

中图分类号: X712 **DOI:** 10.16152/j.cnki.xdxzbzr.2026-01-003

Preparation of olive pomace soil amendment and its application in heavy metal contaminated soil remediation

ZHU Kunyao^{1,2,3}, LI Mingyu^{2,3}, LI Fusong^{2,3}, WANG Shengxu²,
LI Luoyu², CAO Yuzhuo², WANG Junqiang^{2,3}

1. Carbon Neutrality College (Yulin), Northwest University, Xi'an 710069, China;

2. College of Urban and Environmental Sciences, Northwest University, Xi'an 710127, China;

3. Shaanxi Key Laboratory of Earth Surface System and Environmental Carrying Capacity, Xi'an 710127, China

收稿日期: 2025-11-02 修回日期: 2025-12-09

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2020ZDLNY06-06, 2020ZDLNY07-10); 陕西省农业科技创新驱动项目 (NYKJ-2022-XA-02)。

第一作者: 朱坤垚, 男, 硕士研究生, 从事重金属污染土壤修复研究, 1281582967@qq.com。

通信作者: 王军强, 男, 博士, 讲师, 从事生态环境研究, wangjunqiang@nwu.edu.cn。

Abstract Olive pomace is a solid by-product of the olive oil extraction process. It is rich in difficult-to-biodegrade substances such as cellulose, hemicellulose, and lignin, thus limiting the resource utilization of olive pomace. Microbial composting is the main way of agricultural waste treatment in China. However, there are few studies on the microbial degradation of lignin and cellulose in olive pomace, which makes the efficient utilization of olive pomace a major problem. Based on this, in this study, two strains of high-efficiency degrading functional bacteria X4-1 (*Enterobacter* sp) and M7-2 (*Candida tropicalis*) of olive pomace cellulose and lignin were obtained through degradation experiments. The above two strains were used in the fermentation process of olive pomace to prepare organic fertilizers that met the application standards of agricultural soil fertilizers. Meanwhile, the effects of organic soil amendment inoculated with heavy metal immobilized bacteria on soil heavy metal remediation, crop growth, and heavy metal enrichment were investigated. The results showed that olive pomace organic amendment promoted the growth of *Brassica chinensis* and increased biomass. After applying organic amendment to Pb, Cu, and Cd contaminated soil, the plant height, fresh weight and dry weight of *Brassica chinensis* increased by 4.80% ~ 15.78%, 10.02% ~ 129.85%, and 7.70% ~ 120.41%, respectively. In addition, the application of organic amendment effectively reduced the ecological risk of heavy metals in the soil and inhibited the enrichment of heavy metals by *Brassica chinensis*. Compared with no fertilization treatment, organic amendment reduced the contents of Cu and Cd in the underground part of *Brassica chinensis* grown in heavy metal contaminated soil by 85.47% and 34.10%, respectively; and the contents of aboveground part decreased by 42.56% and 54.68%, respectively. The results of the study can provide a reference for the resource utilization of olive pomace and the green remediation of heavy metal contaminated agricultural soils.

Keywords olive pomace; degrading bacteria; soil amendment; heavy metal remediation

油橄榄作为一种名贵的木本油料作物受到广泛关注^[1-2],于 20 世纪 60 年代陆续引入我国,甘肃省陇南市作为我国油橄榄最大的种植基地,约占全国总种植面积的 50%^[3-4]。橄榄榨油过程中,会产生约占橄榄总量 35% ~ 40% 的果渣^[5],我国油橄榄果渣的年产量已超过 2 万吨^[6]。目前油橄榄果渣除少量用于肥料和饲料的生产外,大部分通过填埋和焚烧等方式进行处理,综合利用水平较低,资源浪费严重^[5-8]。

油橄榄果渣中富含纤维素、半纤维素、木质素及矿物质等营养成分和黄酮等功能性化合物^[8-10],其中,纤维素含量约占油橄榄果渣的 62%^[11],木质素、纤维素具有分子量大、聚合程度高、结构复杂和不易降解等特性,被认为是制约油橄榄果渣资源化利用的主要屏障^[12-13]。堆肥处理可以促进有机物的生物降解,而微生物被证明是堆肥过程中有机物质转化的主要驱动力^[14-15]。大量研究已证实,利用微生物可以将木质素、纤维素分解成生物可利用的小分子有机物质^[16-17]。Wang 等发现真菌 *Phanerochaete sordida* YK-624 通过影响与三羧酸循环、脂质、碳代谢和糖酵解等途径相关的基因,增强了腐殖质合成的生物途

径^[18]。*Bacillus subtilis* WF-8 等菌株已被证明可作为生物活化剂,促进纤维素前体物质的转化,形成分子量较小的有机质^[19]。然而,目前针对油橄榄果渣木质素和纤维素降解的微生物研究较少,无法为油橄榄果渣的资源化利用提供有效指导。因此,筛选并优化木质素和纤维素降解菌已成为实现油橄榄果渣科学消纳的主要途径。

重金属污染是限制农业可持续发展,降低粮食作物安全性的重要因素^[20]。通过生物堆肥回收农业废弃物并将其用于重金属污染的贫瘠土壤改良,已被证实是提升土壤质量的重要环境策略。大量研究表明,农林废弃物堆肥能够钝化土壤重金属,降低其生物有效性及生态风险。同时堆肥在提高污染土壤肥力和改善土壤物理、化学和生物特性等方面扮演着重要角色,其被认为是替代化肥及修复重金属污染土壤最重要的方式之一^[21-22]。因此,若能将油橄榄果渣通过堆肥处理转化为土壤改良剂,实现土壤污染修复和质量提升,则能提高油橄榄果渣的综合利用价值。然而,目前关于油橄榄果渣堆肥用于土壤重金属修复的研究却鲜见报道,且其对重金属的修复潜力也尚不清楚。因此,本研究通过筛选、驯化获得油橄榄

果渣纤维素和木质素的高效降解功能菌株,并考察功能菌株对纤维素和木质素的降解能力。而后,将其用于油橄榄果渣发酵制备土壤有机改良剂,评价其对土壤重金属修复和作物品质提升的效果。以期为开发利用油橄榄果渣作为重金属污染土壤修复有机肥提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

本实验所用新鲜油橄榄果渣购自陇南田园油橄榄科技开发有限公司,基本性质如表 1 所示。供试土壤采自陕西省西北大学城市与环境学院附近表层土壤(0~30 cm),湿土风干、研磨过筛后,保存备用,土壤 pH 值为 8.12,速效磷、速效钾含量分别为 2.66 mg/kg、254.32 mg/kg。供试植物为四月慢青菜,购自铭皓种业。

表 1 油橄榄果渣成分
Tab. 1 Properties of olive pomace

检测指标	水分	灰分	总酸	粗纤维	粗脂肪	多酚	其它
含量/%	39.77	1.27	0.15	33.16	6.79	0.20	18.66

油橄榄果渣发酵过程及解有机磷菌使用的各类培养基配比如下。

马铃薯固体基础(PDA)培养基。将 200 g 马铃薯蒸煮 20 min 后用纱布过筛,冷却后分别加入 20 g 葡萄糖和 20 g 琼脂,用去离子水定容 1 000 mL。

木质素初筛固体培养基。将 2 g 碱木质素、1 g (NH₄)₂SO₄、0.5 g MgSO₄·7H₂O、1g KH₂PO₄、0.2 g Na₂HPO₄、和 20 g 琼脂溶于去离子水中,并调节 pH 为 7.0,而后定容 1 000 mL。

苯胺蓝显色培养基。混合 5 g 酵母浸粉、10 g NaCl、10 g 蛋白胨、20 g 琼脂和 0.25 g 苯胺蓝于 1 000 mL 去离子水中,并调节 pH 为 7.0。

刚果红纤维素培养基。在 1 000 mL 去离子水中溶解 0.2 g 刚果红、1.88 g 微晶纤维素、0.25 g MgSO₄·7H₂O、0.5 g K₂HPO₄ 和 20 g 琼脂。

羧甲基纤维素(CMC-Na)固体培养基。混合 1 g (NH₄)₂SO₄、0.02 g Ca₂Cl₂、0.2 g MgSO₄·7H₂O、10 g CMC-Na、0.05 g FeCl₃·6H₂O、1 g K₂HPO₄、和 20 g 琼脂于 1 000 mL 去离子水中^[23]。

解有机磷培养基:蛋白胨。10 g、牛肉膏 3 g、氯化钠 5 g、菜籽粕 50 g(粗蛋白 38%、粗脂肪

5%、灰分 7.2%、磷含量 1.02%、钙含量 0.7%),蒸馏水 1 000 mL,pH 7.0~7.2,121 ℃ 灭菌 20 min^[24]。

所有液体培养基成分及配置方法与固体培养基相同,但不添加琼脂。

1.2 油橄榄果渣有机肥制备

1.2.1 降解菌株的筛选与鉴定

将少量无菌水加入到 10 g 灭菌的油橄榄果渣样品中,发酵 7 d 后转入 100 mL 的 PDA 培养基中,并在 28 ℃、120 r/min 条件下持续培养。待培养基中长出大量菌体后,分别将一部分菌体转入纤维素初筛液体培养基和木质素初筛液体培养基中,用于木质素和纤维素降解菌的初步筛选。在液体初筛培养基中培养 2 d 后,将菌液进行 10 倍梯度的稀释,得到稀释度为 10⁻¹~10⁻⁶ 的培养液。随后,取不同浓度的菌液各 100 μL,通过平板涂布法接种到对应固体培养基进行复筛,并在 28 ℃、120 r/min 条件下培养 3~5 d。挑选长势较好的菌体转移至显色培养基,培养一段时间后观察培养基变化情况。当培养基中出现透明圈时,即认为该菌株具备降解能力。挑选出长势良好且透明圈较大的菌株接种至 LB 培养基中,1 d 后用甘油保存法冻存,并通过降解实验获取性能最优菌种。

使用革兰氏染色法对筛选得到的菌株和细胞形态进行观察。菌株鉴定工作由上海凌恩生物科技有限公司开展。具体步骤如下:以提取的菌株总 DNA 为模板进行 ITS、16s rDNA 基因 PCR 扩增、测序,所得结果与 Genbank 数据库进行 Blast 比对,并基于 MEGA 软件构建系统发育树^[25]。

1.2.2 油橄榄果渣的发酵

将油橄榄果渣烘干、粉碎后过 100 目(150 μm)筛,加入无菌去离子水使含水率达到 50%,并于 121 ℃ 下灭菌 20 min。冷却后,按照 30% 的比例加入筛选得到的菌种活化液,置于 25 ℃、120 r/min 条件下好氧发酵 28 d。在发酵第 7 d 时测定发酵后有机肥中的纤维素及木质素含量和降解率,以考察降解实验所得菌株对油橄榄果渣中纤维素及木质素的实际降解能力。

1.2.3 有机肥腐熟度测定

分别称取发酵 7 d、14 d 和 28 d 的油橄榄果渣鲜样 10 g,按照固液比(m/V)1:10 的比例加入无菌去离子水,并在 25 ℃、120 r/min 条件下密封震荡 1 h。之后,使用所得浸提液对青菜种子进行发芽实验。将 50 粒无虫蚀、大小均匀的青菜种子

置于滤膜中,加入上述 10 mL 发酵产物浸提液,于培养箱中在 25 ℃、避光条件下培养 48 h,统计发芽种子的粒数,并用游标卡尺逐一测量主根长,以种子在去离子水中的发芽情况作为对照。通过公式(1)计算种子发芽指数(GI)^[26]。

$$GI = \frac{X_1 X_2}{Y_1 Y_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中: X_1 为油橄榄果渣有机肥料浸提液培养条件下的种子发芽率(%); X_2 为油橄榄果渣机肥料浸提液培养条件下的种子根长(mm); Y_1 为去离子水中的种子发芽率(%); Y_2 为去离子水中的种子根长(mm)。一般认为当发芽指数大于 50% 时,有机肥基本腐熟,发芽指数大于 85% 时,有机肥完全腐熟^[26]。

1.2.4 有机肥技术指标测定

将油橄榄果渣有机肥风干样过 60 目(250 μm)筛后与去离子水(煮沸 10 min 去除 CO₂ 按照固液比(m/V)1:10 的比例搅拌 3 min 后静置 30 min,用 pH 计测定产物 pH 值^[27]。

将发酵 28 d 后的油橄榄果渣样品烘干、粉碎并过 1 mm 筛,保存备用。使用重铬酸钾在硫酸溶液的作用下使样品有机质中的碳发生氧化,并以硫酸亚铁滴定过量的重铬酸钾来测定土壤有机质^[28]。用硫酸过氧化氢消煮法获取有机肥母液,分别采用标准酸滴定法、分光光度法及火焰光度法测定有机肥总氮、总磷和总钾含量^[29],计算土壤总养分含量(NY/T 525—2021)。

1.3 油橄榄果渣有机改良剂对土壤重金属的修复

1.3.1 盆栽实验

经检测供试土壤为干净土壤,未受到重金属污染。人为添加三水合硝酸铜、硝酸铅和氯化镉,使土壤中铜、铅和镉的总量分别达到 50 mg/kg、200 mg/kg 和 1 mg/kg。将该土壤老化 30 d 处理,期间保持田间持水量为 60%,30 d 后将土壤风干研磨,过 10 目筛保存,作为模拟污染土壤备用。对上述重金属污染土壤分别设置 2 个处理组:对照组(CK),不施加有机肥;有机改良剂处理组(G),按照土壤质量 2% 的比例施入有机肥。

选取无虫蚀、大小均匀的青菜种子,用 H₂O₂ 消毒 30 min,然后用蒸馏水漂洗数次,播种于培养基质中。定期补充去离子水使土壤的含水率保持为田间持水量的 60%,待幼苗生长 30 d 后,选取长势接近的青菜苗移栽于不同重金属污染的 2 个处理盆栽土壤中,设置 3 组平行实验。

1.3.2 青菜生长指标及重金属含量测定

将已栽培 50 d 的青菜连根拔出,自来水冲去表面土壤,用镊子剔除青菜根系上的种皮,再用超纯水清洗 2~3 遍,用吸水纸吸干表面水分,利用游标卡尺测量植物株高。将青菜分为地下部和地上部,分析天平测量鲜重。然后置于 105 ℃ 烘箱中杀青 30 min,80 ℃ 恒温 6 h,测量干重。将已烘干的青菜组织研磨、过筛,精确称取 0.300 g,放入用酸浸泡且烘干好的消解管中,加入适量 HNO₃-HClO₄,采用微波消解仪消解,赶酸,去离子水定容,用 ICP-OES 测定青菜组织的重金属含量。

2 结果与分析

2.1 菌株筛选

微生物对纤维素的降解效果可以根据其在富含纤维素的培养基上产生透明圈的大小进行初步判断^[30]。图 1 展示了筛选的菌株在各培养基中的生长情况。其中,图 1(a)显示了经羧甲基纤维素(CMC-Na)培养基初筛的菌株在刚果红培养基上呈现出明显的透明圈,且长势较好,表明筛选的菌株具备纤维素分解能力。同理,在木质素初筛培养基中得到的菌株使苯胺蓝培养基不同区域出现了不同程度的褪色[见图 1(b)],表明所得菌株具备一定的木质素降解能力。

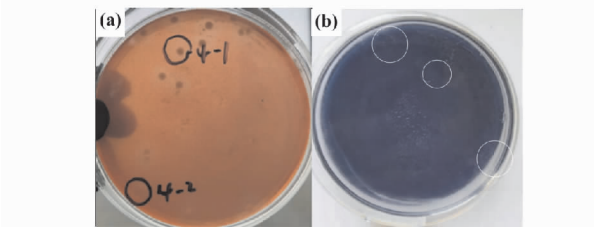


图 1 菌株在显色培养基上的生长情况

Fig. 1 The growth of the strain on the chromogenic medium

同一个平板经过多次分离和纯化操作后,共计得到 5 株纤维素降解菌和 17 株木质素降解菌。杜海萍等研究表明,苯胺蓝培养基的褪色情况仅能作为定性判断菌种是否产生过氧化氢酶的判断依据^[31],而无法比较不同菌株的实际木质素降解能力。因此,分别测定了筛选菌株在第 7 d 和 14 d 时对碱性纯木质素的降解率,结果如图 2 所示。可以看出,菌株对碱性木质素的降解率随发酵时间的增加而提高,且筛选的 22 株菌株中,M7-2 对碱性木质素的降解效果最好,在第 7 d 和第 14 d 对木质素的降解率分别达到了 4.59% 和 5.73%。

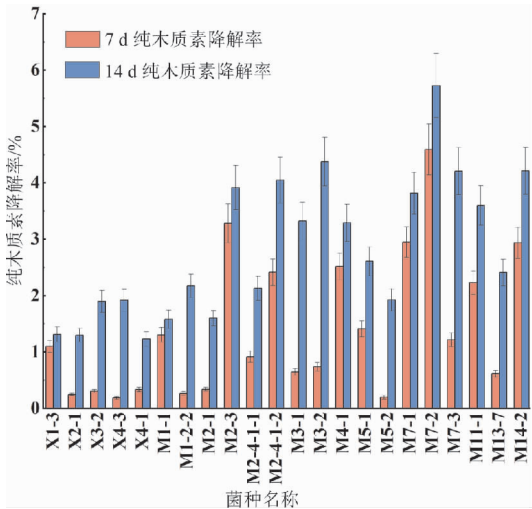


图 2 菌株对纯木质素在 7 d 和 14 d 的降解率
Fig. 2 The degradation rate of pure lignin by the strain at the 7th day and 14th day

2.2 菌株降解性能测定

为进一步验证筛选得到的菌株在实际的油橄榄果渣中的发酵情况,分别将 22 种菌株接种到油橄榄果渣中发酵 7 d,测定木质素和纤维素的降解率变化情况,结果如图 3 所示。其中菌株 M7-2 仍然保持了最高的木质素降解效果,在发酵 7 d 后对木质素的降解能力达到了 18.23%。而菌株 X4-1 对油橄榄果渣中纤维素的降解率最高,达到了 10.00%。因此,综合考虑菌株在纯木质素和油橄榄果渣中的降解结果,选取 X4-1 和 M7-2 为目标菌株进行后续研究。

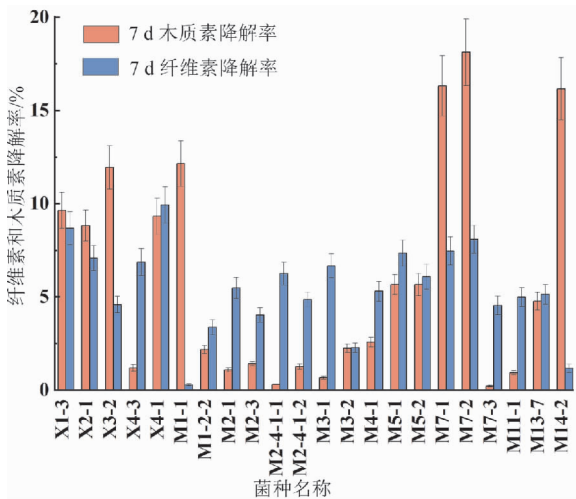


图 3 菌株对油橄榄果中渣纤维素和木质素的降解率
Fig. 3 Degradation rate of cellulose and lignin in olive pomace by strain

2.3 菌株鉴定

图 4(a)、(c)和图 4(b)、(d)分别展示了目标菌株 X4-1 和 M7-2 的菌落形态和显微形态。其

中菌株 X1-1 的菌落呈乳白色,表面光滑湿润,边缘整齐,凸起呈圆形,镜检图表明其呈短杆状,革兰氏染色为红色,革兰氏阴性菌。M7-2 为真菌,菌体呈细长状,无隔中空且无分枝,孢子是由菌丝逐渐断裂形成的节孢子,孢子呈椭圆形。

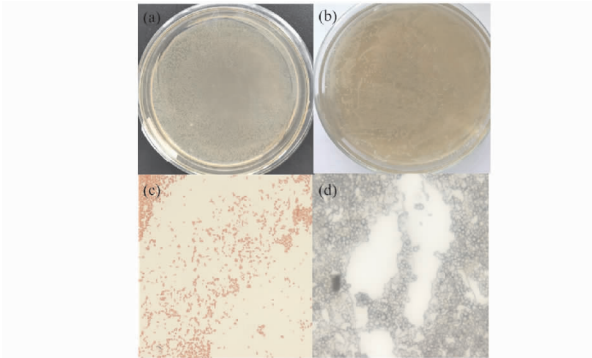


图 4 纯化后菌株的菌落形态及显微形态镜检图
Fig. 4 The colony morphology and microscopic morphology of the purified strains

将 X4-1、M7-2 的 16s rDNA 和 ITS 测序结果在 NCBI 中进行 BLAST 比对,构建系统发育树(见图 5)。结果表明,X4-1 和 M7-2 分别与 *Enterobacter sp* 和 *Candida tropicalis* 位于同一个系统发育分支中,与模式菌株 KY818295.1 *Enterobacter sp* 和 KP131813.1 *Candida tropicalis* 菌株的序列相似性分别达 98.32% 和 100%,结合形态学特征、生理生化特性和系统发育分析结果,将 X4-1 菌株鉴定为肠杆菌属(*Enterobacter sp*),M7-2 菌株鉴定为热带假丝酵母菌(*Candida tropicalis*)。

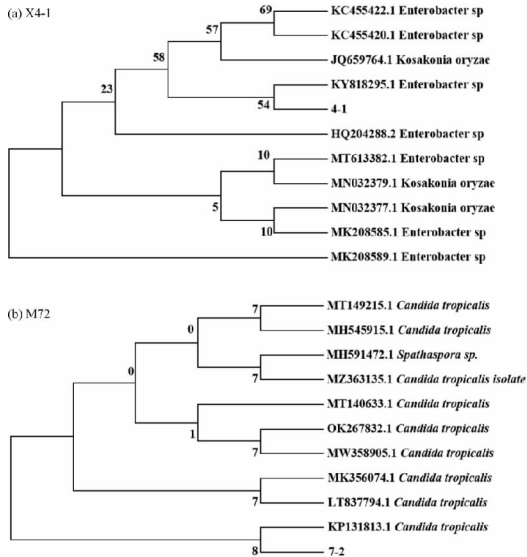


图 5 X4-1、M72 基于 16S rDNA 和 ITS 序列构建的系统发育树
Fig. 5 Phylogenetic tree of X4-1, M7-2 based on 16S rDNA and ITS sequence

2.4 有机肥腐熟度检验

图 6 显示了经菌株 X4-1 和 M7-2 处理油橄榄果渣后,得到的发酵产物对种子发芽情况的影响。由图 6 可知,种子发芽指数随着发酵时间的延长而增加,其中,经 X4-1 发酵 7 d、14 d 和 28 d 后,产物对种子的发芽指数分别为 28.49%、39.19% 和 70.66%;而经 M7-2 发酵 7 d、14 d 和 28 d 后,产物对种子的发芽指数则分别为 34.55%、42.08% 和 70.23%。根据农业行业标准《有机肥料》(NY/T 525—2021)的要求,农用有机肥作用下的种子发芽指数需达到 70% 及以上。2 种菌株在对油橄榄果渣发酵 28 d 以后,种子发芽指数均符合标准,因此可以作为有机肥用于农业领域的应用。

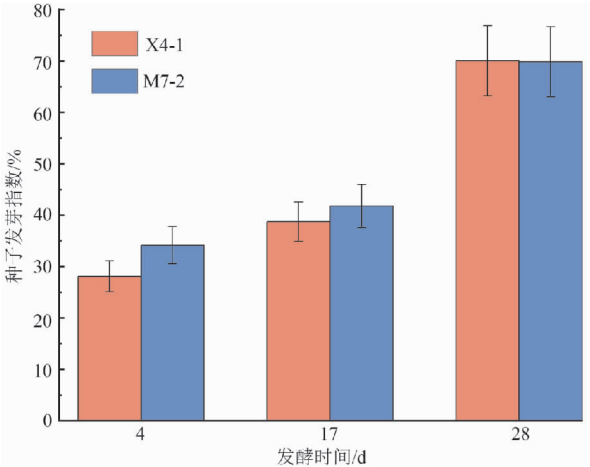


图 6 各菌株发酵不同天数的种子发芽指数
Fig.6 Seed germination index for different days of fermentation for each strain

2.5 有机肥技术指标测定

按照农业行业标准《有机肥料》(NY/T 525—2021),有机肥的 pH 值需要在 5.5~8.5。测定发现,经过 X4-1 和 M7-2 发酵后的油茶籽粕 pH 分别为 4.89 和 4.80,这可能是因为微生物在发酵过程中产生了有机酸类物质,降低了产物的 pH 值^[32]。为了调节发酵产物 pH 以适应有机肥的标准,按照 1:1 的质量比向发酵后的产物中添加生物炭,调节后的产物 pH 分别为 7.03 和 6.85。且成品有机肥中的有机质含量分别为 92.35% 和 90.43%,总养分含量(N + P₂O₅ + K₂O)分别为 7.31% 和 8.38%(见表 2),显著高于农用有机肥标准要求的含量(有机质 > 30%,总养分 > 4.0%)。

表 2 有机肥 pH、有机质及总养分含量
Tab.2 The pH, organic matter, and total nutrient content of organic fertilizer

检测内容	X4-1	M7-2
pH	7.03 ± 0.70	6.85 ± 0.63
有机质/%	92.35 ± 9.01	90.43 ± 8.13
总养分/%	7.31 ± 0.61	8.38 ± 0.65

2.6 有机肥对重金属污染土壤修复效果

相关研究表明,木质素降解菌对重金属具有较高的耐受性和钝化效果^[33-34]。因此,本研究以木质素降解菌 M7-2 为研究对象,考察 M7-2 油橄榄果渣有机肥对重金属污染土壤的修复效果。此外,团队前期从重金属污染土壤中筛选诱变得到了一株解有机磷菌(OPDB3-6-1),该菌株已被证实可通过生物吸附和生物沉淀作用固定重金属^[35]。为进一步提升重金属修复效率,将 OPDB3-6-1 接种于 M7-2 菌株发酵制备的有机肥中,共同发酵 7 d 后制备得到土壤有机改良剂。按照土壤质量的 2% 施入重金属污染土壤中。培养 50 d 后,测定青菜株高、生物量及不同组织重金属含量,探究有机改良剂对土壤重金属的修复效果。

2.6.1 有机肥对重金属污染土壤中青菜生长的影响

通过测定四月慢青菜株高、鲜重及干重以识别有机改良剂对不同重金属污染土壤中植物生长情况的影响,结果如图 7 所示。有机改良剂处理促进了青菜生长及生物量累积,相比于未施肥的 CK 组,Pb-G、Cu-G 及 Cd-G 处理组中青菜株高分别提高了 7.65%、15.57% 及 15.78%,鲜重分别提高了 26.86%、129.85% 及 74.81%,干重分别提高了 25.12%、120.41% 及 87.83%。Aranda 等认为油橄榄果渣堆肥的应用改善了土壤质量和肥力^[36],特别是增加了有机质和长期生物可利用的氮、磷和钾的含量。陆肖宇等研究表明,含有油橄榄果渣组分的有机肥对土壤品质具有较好的改良效果,有机肥施入显著提升了土壤有机碳、碱解氮、速效磷、速效钾含量,同时有机肥优化了土壤微环境,增加了土壤脲酶、蔗糖酶、过氧化氢酶活性和微生物数量^[37-38]。此外,OPDB3-6-1 在作物生长促进方面也起着关键作用,解有机磷细菌能通过矿化有机磷化合物,提高了土壤中磷的生物利用性,缓解了植物缺磷的现象^[39]。综上,有机改良剂对土壤肥力的提升以及土壤特性的改良是

促进青菜生长及生物量的累积主要原因。

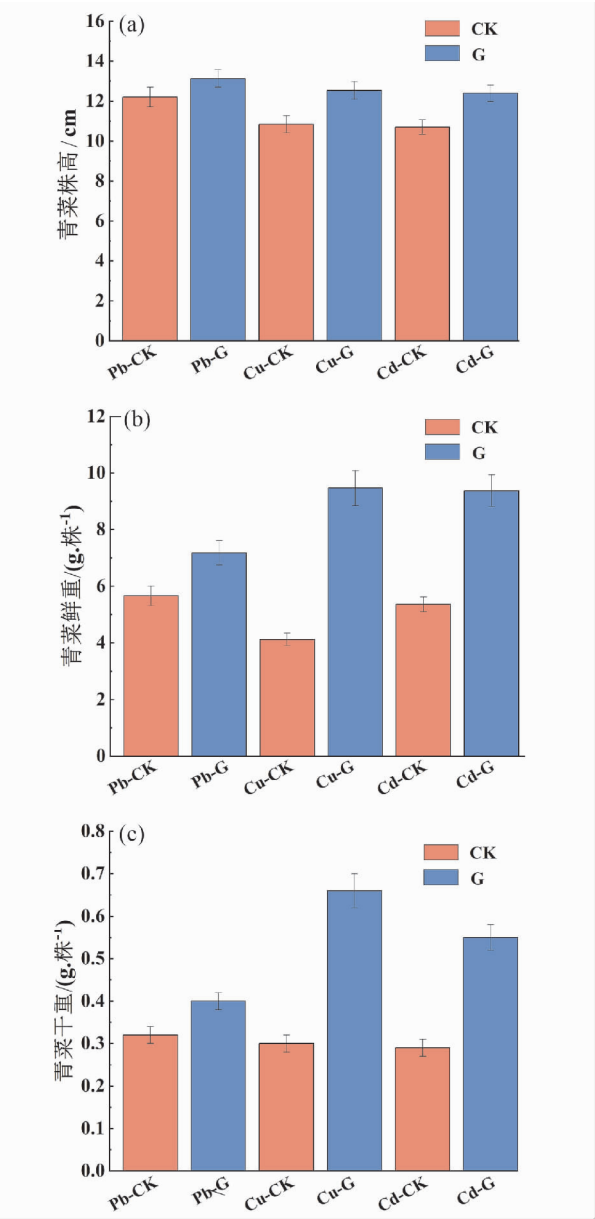


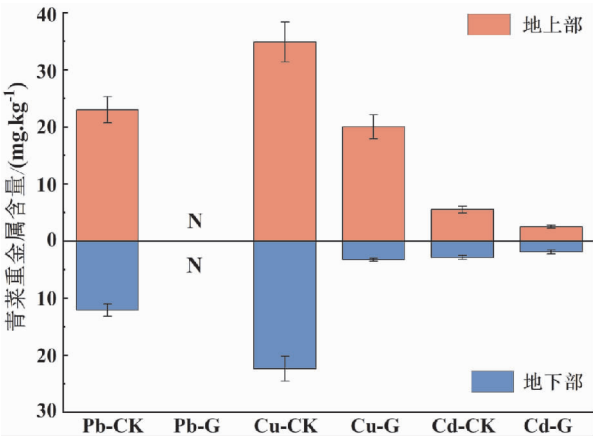
图 7 有机改良剂对青菜株高、鲜重、及干重的影响

Fig.7 Effect of organic soil amendment on plant height, fresh weight and dry weight of *Brassica chinensis*

2. 6. 2 有机肥对青菜富集重金属的影响

当植物体内的重金属含量达到临界值后,植物细胞呼吸代谢过程无法正常进行,生长发育受到抑制,甚至会产生枯萎现象^[40]。因此,植物组织重金属含量是衡量污染土壤修复效果最直接的评判指标。基于此,本研究考察了有机改良剂施加对青菜富集重金属的影响。研究表明,有机肥处理降低了青菜对重金属的富集,相比于 Cu-CK 和 Cd-CK 组,Cu-G 和 Cd-G 处理组分别使青菜地下部 Cu、Cd 含量下降了 85.47% 和

34.10%,地上部含量下降了 42.56% 和 54.68%。其中,Pb-G 组中青菜组织中的 Pb^{2+} 浓度低于仪器的检出限值,明显低于对照 Pb-CK 组(见图 8)。这些结果充分表明添加有机肥有效抑制了青菜对重金属的富集,降低了青菜体内重金属含量及生态风险。分析此现象的主要原因为:一方面,油橄榄果渣由纤维素、木质素、糖醛酸及多酚等化合物组成,基质中含有大量固定的多价官能团(如-COOH、-OH 和 CH_3O-)和阴、阳离子官能团,这种特殊的组成及结构使油橄榄果渣能够通过络合、螯合、物理吸附、离子交换和静电相互作用等机制与重金属离子发生反应^[41-42];另一方面,OPDB3-6-1 通过胞外吸附和沉淀等作用途径使 Cu、Cd 和 Pb 转化为 $Cu_4(OH)_6Cl_2$ 、 $(CdCO_3)$ 和 $(Pb_5(PO_4)_3Cl)$,从而降低了重金属在土壤中的生物有效性及迁移风险^[35]。



注:N 表示该种重金属在青菜组织中的含量低于检出限
图 8 有机改良剂对青菜重金属富集能力的影响

Fig.8 Effect of organic soil amendment on heavy metal enrichment capacity of *Brassica chinensis*

3 结论

针对油橄榄行业中的废弃物资源化利用难题,本研究通过筛选获取了 2 株木质素和纤维素高效降解菌 X4-1 和 M7-2,通过发酵处理将油橄榄果渣转化为了农用有机肥。并将有机肥应用于重金属污染土壤,取得了显著的修复效果。本研究拓展了油橄榄果渣的资源化利用途径,主要结论有 3 点。

1) 从油橄榄果渣堆肥中优化筛选得到了 2 株木质素和纤维素降解菌 X4-1 和 M7-2,经鉴定,X4-1 为肠杆菌属 (*Enterobacter sp*),M7-2 为热带

假丝酵母菌(*Candida tropicalis*)。在发酵 7 d 后, X4-1 对油橄榄果渣中纤维素的降解率为 10.00%, M7-2 对木质素的降解率达到 18.23%。

2) 油橄榄果渣经过 X4-1 和 M7-2 发酵 28 d 后, 产物提取液的种子发芽指数分别为 70.66% 和 70.23%, 符合有机肥标准对腐熟度的要求。经生物炭调节后的 pH 分别为 7.03 和 6.85, 有机质含量分别为 92.35% 和 90.43%, 总养分含量为 7.31% 和 8.38%, 达到了农用有机肥的应用条件。

3) 油橄榄果渣有机改良剂显著促进了青菜生长及生物量累积。对 Pb、Cu 和 Cd 污染土壤中施加有机改良剂后, 青菜株高、鲜重及干重分别增加了 4.80% ~ 15.78%、10.02% ~ 129.85% 和 7.70% ~ 120.41%。且有机改良剂的应用成功抑制了重金属向青菜中的富集, 显著降低了青菜组织中重金属的含量。

参考文献

- [1] 赵德刚, 吕立堂, 赵懿琛, 等. 油橄榄研究进展及其在贵州的发展建议[J]. 贵州农业科学, 2018, 46(3): 146-152.
ZHAO D G, LYU L T, ZHAO Y C, et al. Olea europaea developing situation and suggestions for industry development in Guizhou Province[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2018, 46(3): 146-152.
- [2] 杜晋城, 李欣欣, 王泽亮, 等. 聚乙二醇胁迫下 3 个油橄榄品种生理指标响应[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2024, 48(2): 137-143.
DU J C, LI X X, WANG Z L, et al. Response of physiological indexes of three olive cultivars to PEG stress[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition) 2024, 48(2): 137-143
- [3] 姜成英, 赵梦炯, 吴文俊, 等. 油橄榄叶片营养诊断样品适宜采集期研究[J]. 甘肃林业科技, 2017, 42(3): 10-15.
JIANG C Y, ZHAO M J, WU W J, et al. Appropriate sampling periods for leaf nutrient diagnosis in olea europaea[J]. Journal of Gansu Forestry Science and Technology, 2017, 42(3): 10-15.
- [4] 张正武, 周鹏飞, 海光辉, 等. 甘肃陇南油橄榄产业发展现状及对策[J]. 中国果树, 2023(6): 131-136.
ZHANG Z W, ZHOU P F, HAI G H, et al. Current Situation and countermeasures of olive industry development in Longnan, Gansu[J]. China Fruits, 2023 (6): 131-136.
- [5] 全江龙, 朱雨蓓, 吴正云, 等. 微生物发酵油橄榄果渣制醋及酱油前处理初步探究[J]. 中国调味品, 2019, 44(9): 72-76.
QUAN J L, ZHU Y B, WU Z Y, et al. Preliminary study on pretreatment of vinegar and soy sauce prepared by microbial fermentation of olive pomace[J]. China Condiment, 2019, 44(9): 72-76.
- [6] 周巧, 王元清, 李莎, 等. 油橄榄果渣综合利用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(4): 345-352.
ZHOU Q, WANG Y Q, LI S, et al. Research progress on comprehensive utilization of olive pomace[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(4): 345-352.
- [7] 丁莎莎, 黄立新, 张彩虹, 等. 油橄榄果渣水不溶性膳食纤维结构表征及体外吸附性能研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(3): 108-112.
DING S S, HUANG L X, ZHANG C H, et al. Structural characterization and in-vitro adsorption capacity of olive pomace insoluble dietary fiber[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(3): 108-112.
- [8] FERNÁNDEZ-LOBATO L, AGUADO R, ESCÁMEZ A, et al. Gate-to-gate life cycle and techno-economic assessment of olive pomace gasification for renewable electricity and biochar production in Morocco[J]. Industrial Crops and Products, 2025, 234: 121548.
- [9] DACRORY S, ABOU-YOUSEF H, ABOUZEID R E, et al. Antimicrobial cellulosic hydrogel from olive oil industrial residue[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 117: 179-188.
- [10] 郭艳, 王悦, 张依, 等. 不同方法提取的橄榄果渣纤维素的性质表征[J]. 中国食品学报, 2022, 22(1): 306-313.
GUO Y, WANG Y, ZHANG Y, et al. Characterization of cellulose from olive pomace extracted by different methods[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(1): 306-313.
- [11] RIBEIRO T B, OLIVEIRA A, COELHO M, et al. Are olive pomace powders a safe source of bioactives and nutrients? [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(5): 1963-1978.
- [12] KATHIRGAMANATHAN K, GRIGSBY W, EDMONDS N R, et al. Molecular weight fractionation of high polydispersity native celluloses[J]. Cellulose, 2017, 24(11): 5261-5265.
- [13] YOO C G, MENG X Z, PU Y Q, et al. The critical role of lignin in lignocellulosic biomass conversion and

- recent pretreatment strategies: A comprehensive review [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 301: 122784.
- [14] RUEDA M P, COMINO F, ARANDA V, et al. Analytical pyrolysis (Py-GC-MS) for the assessment of olive mill pomace composting efficiency and the effects of compost thermal treatment [J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2022, 168: 105711.
- [15] DUAN Y M, AWASTHI M K, WU H H, et al. Biochar regulates bacterial-fungal diversity and associated enzymatic activity during sheep manure composting [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 346: 126647.
- [16] WU D, WEI Z M, MOHAMED T A, et al. Lignocellulose biomass bioconversion during composting: Mechanism of action of lignocellulase, pretreatment methods and future perspectives [J]. *Chemosphere*, 2022, 286(1): 131635.
- [17] OZSEFIL I C, MIRALOGLU I H, OZBAYRAM E G, et al. Is a floodplain forest a valuable source for lignin-degrading anaerobic microbial communities: A metagenomic approach [J]. *Chemosphere*, 2023, 339: 139675.
- [18] WANG J Q, SUZUKI T, MORI T, et al. Transcriptomics analysis reveals the high biodegradation efficiency of white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624 on native lignin [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2021, 132(3): 253-257.
- [19] WANG X G, TIAN L, LI Y X, et al. Effects of exogenous cellulose-degrading bacteria on humus formation and bacterial community stability during composting [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 359: 127458.
- [20] LIU Y R, HUANG L K, WEN Z Y, et al. Effects of intercropping on safe agricultural production and phytoremediation of heavy metal-contaminated soils [J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 875: 162700.
- [21] 宗大鹏, 田稳, 李韦钰, 等. 农林废弃物生物炭钝化典型土壤重金属的机制研究进展 [J]. *生态毒理学报*, 2023, 18(1): 232-245.
- ZONG D P, TIAN W, LI W Y, et al. Mechanisms of heavy metals passivation in soils by biochar derived from agricultural and forestry wastes: A review [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2023, 18(1): 232-245.
- [22] 嵇梦圆, 胡逸文, 梁程, 等. 农林废弃物基生物炭对重金属铅和镉的吸附特性 [J]. *生态与农村环境学报*, 2020, 36(1): 106-114.
- JI M Y, HU Y W, LIANG C, et al. Adsorption of lead and cadmium on biochars produced from agroforestry wastes [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2020, 36(1): 106-114.
- [23] 陈晶晶, 陶少强, 夏强, 等. 一株高活性纤维素降解细菌的筛选鉴定及酶学特性 [J]. *土壤*, 2014, 46(2): 302-307.
- CHEN J J, TAO S Q, XIA Q, et al. Isolation and enzymatic characteristics of a cellulose-decomposing bacteria strain with high cellulase activity [J]. *Soils*, 2014, 46(2): 302-307.
- [24] 朱晓丽, 林姝欢, 张星, 等. 生物炭固定化解有机磷菌对 Pb^{2+} 的吸附行为研究 [J]. *环境科学学报*, 2023, 43(3): 116-126.
- ZHU X L, LIN S H, ZHANG X, et al. Adsorption of Pb^{2+} by biochar immobilized organic phosphorus-degrading bacteria [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2023, 43(3): 116-126.
- [25] 马晓梅, 赵辉. 淀粉酶产生菌 MSP13 筛选及其产酶条件初步优化 [J]. *食品科学*, 2015, 36(11): 177-181.
- MA X M, ZHAO H. Screening of amylase-producing strain MSP13 and optimization of fermentation conditions [J]. *Food Science*, 2015, 36(11): 177-181.
- [26] 周欣, 熊传教, 李子东, 等. 厨余生化机产物的种子发芽指数及影响因素研究 [J]. *华南农业大学学报*, 2023, 44(2): 239-244.
- ZHOU X, XIONG C J, LI Z D, et al. Seed germination index of the product of kitchen waste biochemical equipment and its influencing factors [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2023, 44(2): 239-244.
- [27] 陈莹, 刘松柏, 何良兴, 等. 油茶籽粕和茶皂素中皂苷的定量检测方法研究 [J]. *中国粮油学报*, 2012, 27(2): 105-111.
- CHEN Y, LIU S B, HE L X, et al. Quantitative analysis of saponins in camellia seed cake and tea saponins [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2012, 27(2): 105-111.
- [28] ZHOU W X, LI C J, WANG S, et al. Effects of grazing and enclosure management on soil physical and chemical properties vary with aridity in China's drylands [J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 877: 162946.
- [29] 李亚麒, 陈林, 唐军荣, 等. 施肥对云南松苗木土壤氮、磷、钾化学计量比的影响 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2024, 52(3): 40-50.
- LI Y Q, CHEN L, TANG J R, et al. Effect of fertilization on stoichiometric ratio of nitrogen, phosphorus and potassium in *Pinus Yunnanensis* seedling and soil

- [J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2024, 52(3): 40-50.
- [30] 骆婷, 夏虹, 冯定胜, 等. 森林土壤中多功能降解菌的分离筛选及鉴定[J]. 西南农业学报, 2018, 31(5): 1032-1040.
- LUO T, XIA H, FENG D S, et al. Isolation and identification of multi-function degradation bacteria from forest soil[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2018, 31(5): 1032-1040.
- [31] 杜海萍, 宋瑞清, 王钰祺. 几种真菌产木质素降解酶的比较研究[J]. 林业科技, 2006, 31(4): 20-24.
- DU H P, SONG R Q, WANG Y Q. Comparative study on the lignocellulolytic enzymes produced by fungi [J]. Forestry Science & Technology, 2006, 31(4): 20-24.
- [32] ZHOU S H, DING N N, HAN R H, et al. Metabolic engineering and fermentation optimization strategies for producing organic acids of the tricarboxylic acid cycle by microbial cell factories[J]. Bioresource Technology, 2023, 379: 128986.
- [33] JANICKI T, DŹUGOŹSKI J, KRUPIŹSKI M. Detoxification and simultaneous removal of phenolic xenobiotics and heavy metals with endocrine-disrupting activity by the non-ligninolytic fungus *Umbelopsis isabellina* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 360: 661-669.
- [34] 袁海华, 张保, 张颖, 等. 高产木质素降解酶菌株的筛选及其生物学特性研究[J]. 福建农业学报, 2019, 34(7): 829-836.
- YUAN H H, ZHANG B, ZHANG Y, et al. A study on ligninolytic enzyme producing fungi [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2019, 34(7): 829-836.
- [35] ZHU X L, LV B X, SHANG X Q, et al. The immobilization effects on Pb, Cd and Cu by the inoculation of organic phosphorus-degrading bacteria (OPDB) with rapeseed dregs in acidic soil[J]. Geoderma, 2019, 350: 1-10.
- [36] ARANDA V, CALERO J, PLAZA I, et al. Long-term effects of olive mill pomace co-compost on wettability and soil quality in olive groves[J]. Geoderma, 2016, 267: 185-195.
- [37] 陆肖宇, 唐明凤, 熊燕红, 等. 油橄榄果渣部分替代锯末糠壳对猪粪污异位发酵的影响[J]. 南方农业学报, 2023, 54(3): 877-886.
- LU X Y, TANG M F, XIONG Y H, et al. Effects of partial replacement of sawdust and bran by olive pomace on ectopic fermentation of swine manure[J]. Journal of Southern Agriculture, 2023, 54(3): 877-886.
- [38] 陆肖宇. 猪粪污异位发酵特性研究及其产物环境风险评估[D]. 重庆: 重庆三峡学院, 2023: 27.
- [39] 李卓蔚, 骆亮仲, 郎佳琪, 等. 接种解有机磷细菌对滇重楼光合和生理生化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(16): 165-171.
- LI Z W, LUO L Z, LANG J G, et al. Effect of organophosphate-solubilizing bacteria on photosynthesis, physiology, and biochemistry of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2022, 28(16): 165-171.
- [40] 段德超, 于明革, 施积炎. 植物对铅的吸收、转运、累积和解毒机制研究进展[J]. 应用生态学报, 2014, 25(1): 287-296.
- DUAN D C, YU M G, SHI J Y, et al. Research advances in uptake, translocation, accumulation and detoxification of Pb in plants[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25(1): 287-296.
- [41] PAGNANELLI F, MAINELLI S, DE ANGELIS S, et al. Biosorption of protons and heavy metals onto olive pomace: Modelling of competition effects[J]. Water Research, 2005, 39(8): 1639-1651.
- [42] GHARAIBEH S H, ABU-EL-SHA'R W Y, AL-KOFAHI M M. Removal of selected heavy metals from aqueous solutions using processed solid residue of olive mill products [J]. Water Research, 1998, 32(2): 498-502.

(编辑 李波)