

赵 绚, 何兴东, 张京磊. 柴油污染土壤改良对黑麦草生长适应性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(1):79-85.

ZHAO Xuan, HE Xing-dong, ZHANG Jing-lei. Effects of soil improvements on growth adaptability of *Lolium perenne* in diesel-polluted soil [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(1):79-85.

柴油污染土壤改良对黑麦草生长适应性的影响

赵 绚, 何兴东*, 张京磊

(南开大学生命科学学院, 天津 300071)

摘 要:通过开展柴油单因素实验和锯末、硝酸铵、磷酸二氢钾 3 因素改良实验, 对黑麦草幼苗生长指标及氮磷含量进行测定分析, 以探讨黑麦草在柴油污染土壤中及土壤改良后生长情况的变化。结果表明, 柴油质量分数为 0.9% 时, 黑麦草幼苗株高、地上部和地下部生物量分别较对照显著下降了 58.87%、98.07%、91.23%, 叶片和根部全氮含量和氮/磷比也较对照显著降低。在质量分数为 0.9% 的柴油污染土壤中添加 3 种土壤改良剂后, 10% 体积分数的锯末可使黑麦草幼苗株高和地上部生物量分别显著增加 27.48% 和 24.70%, 同时 10% 体积分数的锯末具有显著增加叶片全氮含量和氮/磷比的作用。可见, 在柴油浓度为 0.9% 的污染土壤中施加体积分数为 10% 的锯末可显著增强黑麦草幼苗的生长适应性。

关键词:黑麦草; 柴油污染土壤; 氮/磷比; 土壤改良剂

中图分类号: X53 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2018)01-0079-07 doi:10.11654/jaes.2017-0803

Effects of soil improvements on growth adaptability of *Lolium perenne* in diesel-polluted soil

ZHAO Xuan, HE Xing-dong*, ZHANG Jing-lei

(College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: Crude oil contaminants can inhibit plant growth, which is largely due to the limitation of nitrogen (N) and phosphorus (P) absorption by plants to consequently affect the N/P ratio in the tissues. In general, a greater N/P ratio will result in lower plant biomass and height; however, the relationship between plant growth and the N/P ratio under a condition of crude oil contamination may not be in concordance with the normal condition. In the present study, the growth adaptability of *Lolium perenne* seedlings to diesel-polluted soil was explored in a single-factor pot experiment with diesel application. The effect of soil improvements on the growth of *L. perenne* seedlings under 0.9% diesel-polluted soil was investigated in a three-factor orthogonal experiment with sawdust, ammonium nitrate, and monopotassium phosphate. We investigated the growth status of the seedlings and determined the concentrations of N and P in the seedlings. The results showed that plant height, and the above- and below-ground biomass of *L. perenne* seedlings grown under the 0.9% diesel concentration were respectively 58.87%, 98.07%, and 91.23% lower than those observed in the no-diesel control. The N concentration and N/P ratios in the leaves and roots were also decreased significantly in the diesel condition. In the 0.9% diesel-polluted soil, the plant height and above-ground biomass of *L. perenne* seedlings were respectively 27.48% and 24.70% greater when grown with a 10% volume fraction of sawdust compared with the no-sawdust control. The N concentration and N/P ratios in the leaves also increased significantly with sawdust. Thus, the addition of a 10% volume fraction of sawdust could significantly increase the growth adaptability of *L. perenne* seedlings growing under a condition of 0.9% diesel-polluted soil. In addition, these results demonstrated that the changes of N/P ratios in plants growing in diesel-polluted soil was a major reason for the suppression of plant growth.

Keywords: *Lolium perenne*; diesel polluted soil; N/P ratio; soil improvements

收稿日期: 2017-06-06 录用日期: 2017-09-19

作者简介: 赵 绚 (1991—), 女, 河北沧州人, 硕士研究生, 从事恢复生态学研究。E-mail: zx1296684278@sina.com

* 通信作者: 何兴东 E-mail: xingd@nankai.edu.cn

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 项目 (2013AA06A205)

Project supported: The National High Technology Research and Development Program (863 Program) of China (2013AA06A205)

柴油是由石油烃和芳烃组成的混合物,是石油的重要组成部分,具有较强的粘着力和较低的乳化力^[1-2],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^[3-4]。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^[5]。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^[6]。

原油/柴油污染土壤对植物生长适应性的研究多集中于叶绿素含量^[7]、抗氧化酶活性^[8]等,而氮/磷比也是反映植物是否遭受环境胁迫的关键因素之一^[9-10]。张京磊等^[11]实验结果表明,盐渍化胁迫下,随土壤中原油浓度的增大,油葵幼苗根部氮/磷比显著减小,株高和地上生物量的相对增长率也显著减小。土壤改良剂可有效缓解原油/柴油污染物对土壤水分和养分的制约,有效调节土壤理化性质^[12]、对土壤氮、磷有明显的保蓄作用^[13],进而促进植物生长。张京磊等^[11]研究指出,在盐渍化原油污染土壤中,随着锯末体积分数的加大,油葵株高和地上生物量相对增长率均显著增加。韩涛等^[14]研究发现,施氮磷钾肥可显著促进苏丹草株高、根长、干重的增大,使其耐受性得到了提高。但目前对于土壤改良剂增强植物生长的作用原理却少有研究。

为了进一步探讨柴油对植物生长的胁迫效应,并对土壤改良剂改善植物生长的作用机制进行研究,以黑麦草(*Lolium perenne* L.)为实验对象,分析了土壤柴油污染下黑麦草幼苗的生长情况以及叶片和根部氮/磷比变化,考察了施加锯末、氮磷肥后黑麦草幼苗生长情况的变化及氮/磷比的调节,以期为增强土壤柴油污染下植物的生长适应性提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料与设计

以黑麦草为供试植物,开展柴油单因素盆栽实验和锯末-硝酸铵(氮肥)-磷酸二氢钾(磷肥)3因素4水平正交改良实验,每个实验处理设置3个重复。基于前期研究的11种植物对原油的耐受力为1%和天津大港原油污染样地的现状,单因素实验中柴油质量分数的4个水平依次设定为0%、0.3%、0.6%和0.9%,正交实验的实验因素水平设计如表1所示,正交实验采用 $L_{16}(4^5)$ 正交(表2)。

实验用多年生黑麦草种子购于天津田园花卉种子分公司,0号柴油购自加油站,锯末(原木种类为松木,粒度为3 mm)取自木材厂,硝酸铵(分析纯)和磷

表 1 正交实验因素水平设计

Table 1 The factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素		
	A 锯末体积 分数/%	B 硝酸铵(氮素) 添加量/g·kg ⁻¹	C 磷酸二氢钾(磷素) 添加量/g·kg ⁻¹
1	0	0(0)	0(0)
2	5	0.29(0.1)	0.22(0.05)
3	10	0.57(0.2)	0.44(0.10)
4	15	0.86(0.3)	0.66(0.15)

注:括号内的数据表示的是硝酸铵、磷酸二氢钾不同添加量时所含的氮素、磷素的含量。

表 2 $L_{16}(4^5)$ 3 因素 4 水平正交

Table 2 The orthogonal table of three factors and four levels

试验号	因素		
	A 锯末体积 分数/%	B 硝酸铵(氮素) 添加量/g·kg ⁻¹ 土	C 磷酸二氢钾(磷素) 添加量/g·kg ⁻¹ 土
1	0	0(0)	0(0)
2	0	0.29(0.1)	0.22(0.05)
3	0	0.57(0.2)	0.44(0.10)
4	0	0.86(0.3)	0.66(0.15)
5	5	0(0)	0.44(0.10)
6	5	0.29(0.1)	0.66(0.15)
7	5	0.57(0.2)	0(0)
8	5	0.86(0.3)	0.22(0.05)
9	10	0(0)	0.66(0.15)
10	10	0.29(0.1)	0.44(0.10)
11	10	0.57(0.2)	0.22(0.05)
12	10	0.86(0.3)	0(0)
13	15	0(0)	0.22(0.05)
14	15	0.29(0.1)	0(0)
15	15	0.57(0.2)	0.66(0.15)
16	15	0.86(0.3)	0.44(0.10)

酸二氢钾(分析纯)购于天津化学试剂有限公司,实验用 PVC 塑料盆为口大底端小的倒圆台形状。土壤取自南开大学生命科学学院网室 0~20 cm 表层清洁壤土,土壤有机质含量为 38 g·kg⁻¹,全氮含量为 1.3 g·kg⁻¹,全磷含量为 0.90 g·kg⁻¹。分别称取 4 份(4 个处理)质量为 7.5 kg(分为 3 个重复)的清洁壤土(土壤容重为 1.45 g·cm⁻³),依次倒入体积为 0、30、60、90 mL 的柴油(柴油容重为 0.75 kg·L⁻¹),充分混匀自然风干 7 d 后进行黑麦草幼苗移栽;正交实验土壤(所有处理土壤柴油质量分数为 0.9%、氯化钠质量分数为 0.3%)由质量为 120 kg 的清洁壤土、添加体积为 1440 mL 的柴油和 360 g 的氯化钠充分混匀配制而成,充分混匀自然风干 7 d 后进行黑麦草幼苗移栽。

1.2 实验方法

在南开大学生命科学学院网室内用穴盘育苗,育苗基质为蛭石,在每穴孔表面播撒事先用蒸馏水浸泡过的饱满的黑麦草种子3~5粒,然后盖上一层纸膜,浇水至渗透,待种子萌发后揭掉纸膜,保持穴盘湿润。单因素育苗25 d后进行移栽,每盆从穴盘中选取大小一致的幼苗3株,每处理3个重复,共12盆。移苗后每盆浇蒸馏水300 mL以缓苗,实验期间每3 d浇蒸馏水300 mL。

在进行柴油单因素实验的同时,育苗以备正交实验。穴盘育苗30 d后,由于黑麦草幼苗根系生长较发达且紧密,故将其转入装有蛭石的PVC塑料盆中以供生长。幼苗生长45 d后进行移栽,每盆从PVC塑料盆中选取大小一致的幼苗3株,每处理3个重复,共48盆。移苗后每盆浇蒸馏水300 mL以缓苗,实验期间每3 d浇蒸馏水300 mL。

单因素实验和正交实验分别进行60 d和40 d。收获黑麦草幼苗,用蒸馏水充分淋洗并吸干水分后用直尺测量每株幼苗的株高和根长,用分析天平称量幼苗地上部和地下部鲜重,然后将样品装入封口袋内,于-80℃冰箱中保存以测定指标。植物全氮含量测定采用浓 H_2SO_4 - H_2O_2 消煮-凯氏定氮法^[15],植物全磷含量测定采用浓 H_2SO_4 - H_2O_2 消煮-钼锑抗比色法^[15]。

1.3 数据处理

实验数据经Excel 2013处理,计算平均值和标准偏差,同时计算正交实验中各指标的小组与与小组极差,并作图,之后利用SPSS 19.0统计软件,结合单因素方差分析中的LSD多重比较检验不同处理数据间的差异显著性($\alpha=0.05$)。

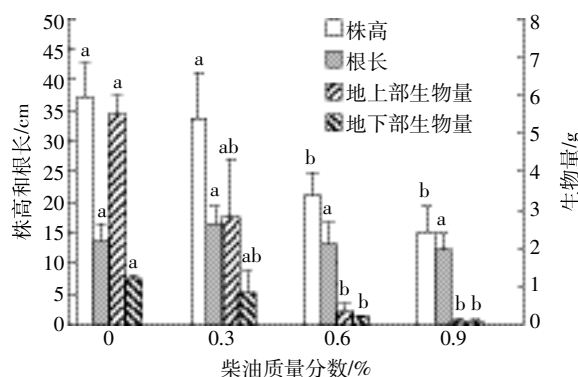
2 结果与分析

2.1 柴油污染土壤对黑麦草幼苗生长与体内氮/磷比的影响

柴油单因素实验结果(图1)表明,柴油质量分数为0.3%时,黑麦草幼苗株高、地上部和地下部生物量与对照处理无显著差异;柴油质量分数为0.6%时,黑麦草幼苗株高、地上部和地下部生物量比对照处理分别下降了43.01%、93.80%、84.21%,且达到显著下降水平;随柴油浓度进一步增大为0.9%时,黑麦草幼苗株高、地上部和地下部生物量继续下降,分别较对照显著降低了58.87%、98.07%、91.23%;柴油污染对黑麦草幼苗的根长无显著影响。实验过程中通过观察黑麦草幼苗的生长情况,发现柴油质量分数为0.6%和

0.9%时,黑麦草幼苗呈现植株矮小、叶片枯黄甚至萎蔫的表征,说明在质量分数为0.6%和0.9%的柴油胁迫下黑麦草幼苗生长遭受了胁迫或毒害效应。

对黑麦草幼苗叶片和根部全氮、全磷含量进行测定的结果(图2)表明,在叶片部,与对照处理相比,全氮含量随土壤中柴油浓度增大而显著减小($P<0.05$),



同一指标下,不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同

图1 土壤柴油污染对黑麦草幼苗生长的影响

Figure 1 Effects of soil diesel pollution on the growth of *L. perenne* seedlings

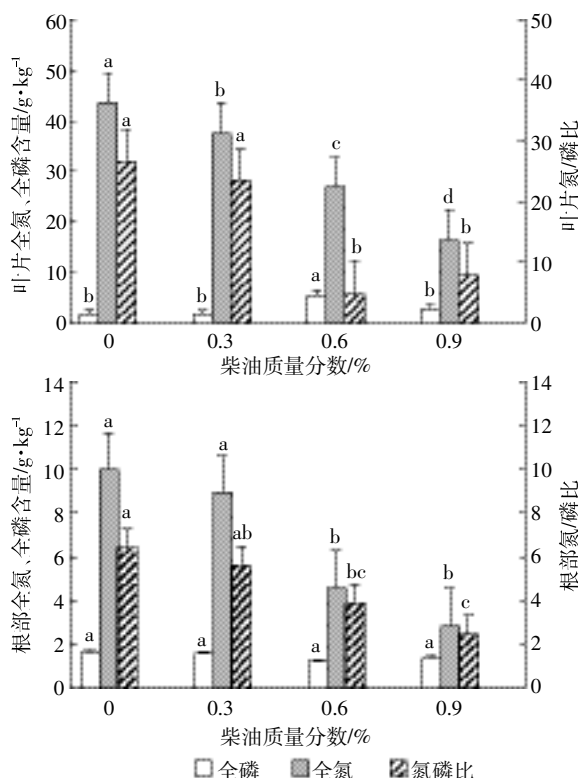


图2 土壤柴油污染对黑麦草幼苗叶片和根部全氮、全磷含量和氮/磷比的影响

Figure 2 Effects of soil diesel oil pollution on the N and P concentrations and N/P ratio in the leaves and roots of *L. perenne* seedlings

全磷含量在柴油质量分数为 0.6% 时显著增大, 氮/磷比在柴油质量分数为 0.6% 和 0.9% 时显著降低 ($P < 0.05$)。在根部, 与对照处理相比, 全氮含量和氮/磷比在柴油质量分数为 0.6% 和 0.9% 时显著降低 ($P < 0.05$), 全磷含量无明显变化 ($P > 0.05$)。

进一步对黑麦草幼苗株高、地上部生物量与叶片氮/磷比, 以及根长、地下部生物量与根部氮/磷比进行回归分析, 结果(表 3)表明, 黑麦草幼苗株高、地上部生物量与叶片氮/磷比显著正相关, 地下部生物量与根部氮/磷比显著正相关, 但根长与根部氮/磷比间回归关系不显著。

2.2 柴油污染土壤改良下黑麦草生长适应性与氮/磷比调节

盐渍化柴油污染土壤改良的小组极差值分析结果(表 4)表明, 在锯末、硝酸铵、磷酸二氢钾 3 种改良剂中, 施加锯末对黑麦草幼苗株高、地上生物量、叶片全氮含量、叶片氮/磷比有较大的影响, 施加氮肥对黑

麦草幼苗株高、叶片全氮含量、叶片氮/磷比的影响次之; 施加磷肥对黑麦草叶片全磷含量有较大的影响。

通过 SPSS19.0 单变量分析计算得到正交实验中每种土壤改良剂不同水平下黑麦草幼苗株高和地上生物量的平均值和标准偏差, 并进一步分析不同改良剂对黑麦草幼苗生长的影响, 结果(图 3)表明, 与对照处理相比, 施加锯末体积分数为 10% 和 15% 时黑麦草幼苗的株高分别显著增加了 27.48% 和 19.33% ($P < 0.05$), 施加氮肥量为 $0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时黑麦草幼苗的株高分别显著增加了 12.84% 和 16.35% ($P < 0.05$); 与对照处理相比, 施加锯末体积分数为 10% 时黑麦草幼苗的地上生物量显著增加了 24.70%, 施氮和施磷处理对地上生物量无显著影响。

土壤改良剂对黑麦草叶片全氮、全磷含量的影响结果(图 4)表明, 与对照处理相比, 施加锯末体积分数为 10% 和 15% 时, 黑麦草叶片全氮含量显著增高, 施加锯末体积分数为 10% 时叶片氮/磷比显著增大;

表 3 土壤柴油污染下黑麦草幼苗氮/磷比与生长指标的相关性

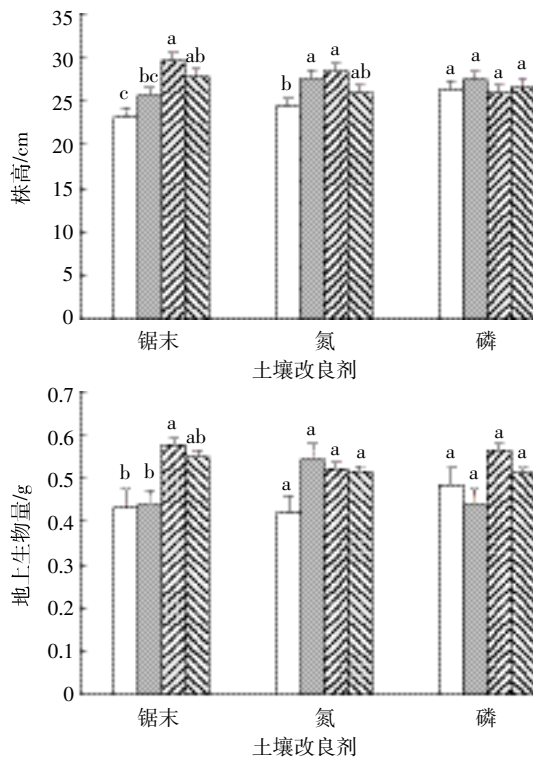
Table 3 Relevance of N/P ratio and growth indices in *L. perenne* seedlings under diesel polluted soil

自变量 x	因变量 y	回归方程	R^2	P
叶片氮/磷比	株高	$y = 11.861 \ln x + 0.211$	0.883 4	< 0.001
叶片氮/磷比	地上部生物量	$y = 0.007 3x^{2.085 5}$	0.918 8	< 0.001
根部氮/磷比	根长	$y = 6.76x^3 - 1.269x^2 + 0.077$	0.126 1	0.800
根部氮/磷比	地下部生物量	$y = 0.016 5x^{2.088 1}$	0.564 5	0.008

表 4 柴油污染下土壤改良剂对黑麦草幼苗生长及全氮、全磷含量的组极差值比较

Table 4 Comparisons of group range value of growth and nitrogen and phosphorus concentrations in *L. perenne* seedlings with soil improvements under diesel polluted soil

指标	实验因素	小组和				极值
		K1	K2	K3	K4	
株高/cm	锯末	92.45	101.70	118.45	110.92	26.00
	氮	98.69	111.22	110.00	103.61	12.52
	磷	104.48	107.64	105.12	106.28	3.16
地上生物量/g	锯末	1.72	1.74	2.29	2.23	0.57
	氮	1.72	2.12	2.09	2.05	0.40
	磷	1.84	1.78	2.28	2.09	0.50
全氮/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	锯末	120.37	124.36	164.73	164.72	44.36
	氮	128.88	133.66	156.23	155.41	27.35
	磷	136.46	142.57	150.12	145.03	13.65
全磷/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	锯末	24.84	19.36	19.47	21.11	5.48
	氮	24.90	21.41	21.32	17.14	7.76
	磷	16.86	19.70	25.55	22.67	8.69
氮/磷比	锯末	20.68	27.66	48.53	33.08	27.85
	氮	21.72	26.24	40.33	41.66	19.94
	磷	36.94	38.41	26.82	27.78	11.59



每个图中锯末对应的四个柱子依次为锯末体积分数 0%、5%、10%、15%,氮对应的四个柱子依次为氮素添加量 0、0.1、0.2、0.3 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,磷对应的四个柱子依次为磷素添加量 0、0.05、0.1、0.15 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。同一改良剂不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同

图 3 柴油污染土壤改良对黑麦草幼苗生长状况的影响

Figure 3 Effects of soil improvements on growth indices in *L. perenne* seedlings under diesel pollution

与对照处理相比,氮肥施加量为 0.2 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 0.3 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,黑麦草叶片全氮含量和氮/磷比均显著增高,氮肥施加量为 0.3 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时叶片全磷含量显著降低;与对照处理相比,磷肥施加量为 0.1 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 0.15 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时叶片全磷含量显著增高,施加磷肥对黑麦草叶片全氮含量和氮/磷比无显著影响。

3 讨论

原油/柴油污染土壤生物修复过程中毒性的植物指示多体现于植物的生长发育指标(株高、地上部生物量、根鲜重)和叶片生理指标(叶绿素含量、MDA 含量)^[16],对于体现植物生态化学计量学规律,反映植株生长状况的植物叶片氮/磷比^[17]却少有涉及,叶片氮/磷比是植物生长养分限制的敏感性指数^[18-19]。生长率假说^[20-21]表明,生长速率高的生物体需要相对更多的富磷 RNA 来满足体内蛋白质的快速合成,由于对磷素的大量消耗,快速生长的植物体氮/磷比往往较低,这时植物氮/磷比的变化主要是由磷的供给所决定

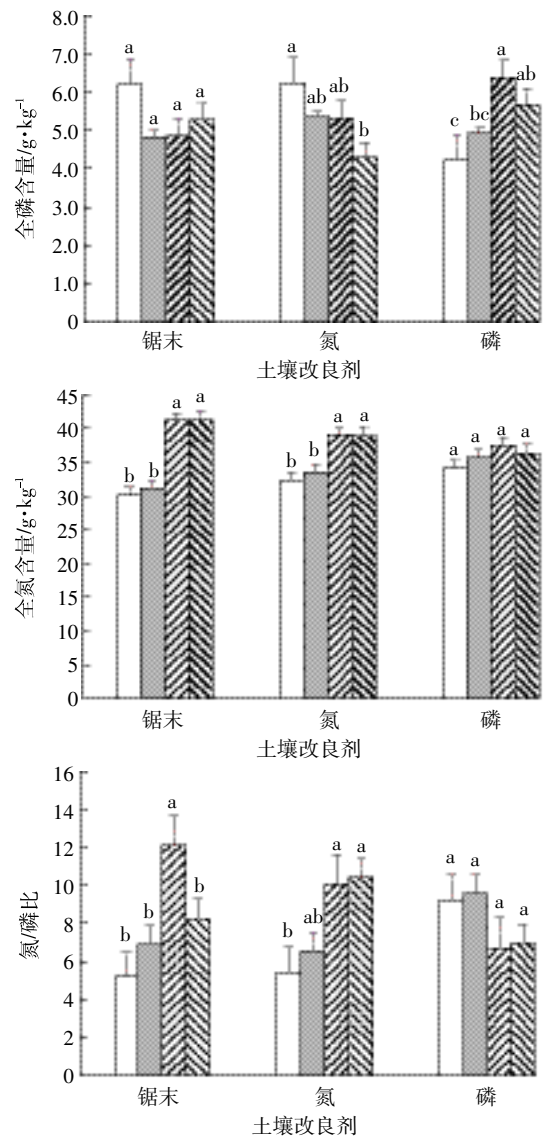


图 4 柴油污染下土壤改良剂对黑麦草叶片全氮、全磷含量的影响

Figure 4 Effects of soil improvements on nitrogen and phosphorus concentrations in leaves of *L. perenne* seedlings under diesel pollution

的。本实验结果表明,与对照处理相比,柴油质量分数为 0.6% 和 0.9% 时,黑麦草幼苗株高、地上部和地下部生物量均显著下降,黑麦草幼苗遭受了柴油污染物的毒性胁迫,正常生长受到限制。进一步分析黑麦草幼苗叶片和根部元素含量变化发现,与对照处理相比,柴油质量分数为 0.6% 和 0.9% 时,黑麦草幼苗叶片和根部全氮含量和氮/磷比均显著减小。这与张京磊等^[11]对油葵的研究结果类似,即土壤原油污染下油葵的生长状况与根部氮/磷比均同步显著减小。这可能是由于植物遭受土壤原油/柴油污染胁迫时,原油/柴油污染物阻碍植物对氮的吸收,造成供氮不足,植

物体内氮/磷比减小,进而导致植物正常生长受到制约。

土壤改良剂是增加植物株高和生物量的措施之一。正交改良实验结果表明,在质量分数为0.9%的柴油污染盐渍化土壤中,施加体积分数为10%的锯末可显著增大黑麦草幼苗的株高和地上生物量,施加体积分数为15%的锯末可显著增大黑麦草幼苗的株高,而这主要是由于锯末的施加可使黑麦草叶片全氮含量和氮/磷比显著增大。张京磊等^[9]在前期油葵对土壤原油污染的适应性与改良措施研究中指出,煤渣、沸石、脱硫石膏和锯末4种改良剂中,锯末在改良盐渍化原油污染土壤方面效果最为显著,随着锯末体积分数的加大,油葵株高和地上部生物量相对增长率均显著增加,超氧化物歧化酶(SOD)活性逐渐降低,这是由于锯末本身疏松多孔,保水性较好,透气性也较好,锯末对原油也具有一定的吸附性,本身可能作为吸附剂来吸附土壤中的原油和盐分,大大缓解了对油葵的胁迫。本研究中锯末对黑麦草幼苗生长的促进作用推测可能是由于锯末作为土壤保水剂,可减少土壤水分、养分的流失,增强土壤的保水性,同时对土壤氮、磷具有明显的保蓄作用,可显著提高石油污染土壤中氮、磷的含量^[13],促进植物的养分吸收,进而改善植物生长状况。同时施加氮磷肥的处理结果表明氮肥施加量为 $0.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时黑麦草幼苗株高、叶片全氮含量和氮/磷比显著增高,这是由于氮素的施加为植物的生长发育提供了必要的营养肥料,氮素作为叶绿素的组成成分,氮素的增多可使光合作用有关酶的表达增强,加速蛋白质合成,促进植物代谢活动和生长发育^[22]。本研究中磷肥的施加并无显著效果,推测可能是因为磷肥的施加并不能直接有效地缓解柴油污染物对黑麦草幼苗氮素吸收的限制。

4 结论

与对照处理相比,当土壤中柴油浓度为0.9%时,黑麦草叶片和根部全氮含量及氮/磷比均显著降低,黑麦草生长受到抑制;而当向该油污土壤中施加体积分数为10%的锯末时,会显著提高黑麦草叶片全氮含量和氮/磷比,增大生物量和株高,增强黑麦草幼苗的生长适应性。

参考文献:

[1] 高学晟,姜霞,区自清.多环芳烃在土壤中的行为[J].应用生态学报,2002,13(4):501-504.

GAO Xue-Sheng, JIANG Xia, OU Zi-qing. Behaviors of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(4):501-504.

[2] Wang Y, Feng J, Lin Q X, et al. Effects of crude oil contamination on soil physical and chemical properties in Momoge wetland of China[J]. *Chinese Geographical Science*, 2013, 23(6):708-715.

[3] 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 Tie-yuan, DOU Sen, LIU Lu-jun, et al. Properties and contamination mechanism of soil flooded with oil-containing wastewater[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2015, 34(1):58-64.

[4] 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.

[5] 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.

[6] 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.

[7] Baruah P, Saikia R R, Baruah P P, et al. Effect of crude oil contamination on the chlorophyll content and morphoanatomy of *Cyperus brevifolius* (Rottb.) Hassk[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, 21(21):12530-12538.

[8] Gad N S. Oxidative stress and antioxidant enzymes in *Oreochromis niloticus* as biomarkers of exposure to crude oil pollution[J]. *International Journal of Environmental Science and Engineering*, 2011, 1:49-58.

[9] 张京磊, 慈华聪, 何兴东, 等. 狼尾草对土壤柴油污染和盐分胁迫的适应性[J]. 生态环境学报, 2015, 24(11):1904-1909.

ZHANG Jing-lei, CI Hua-cong, HE Xing-dong, et al. Adaptability of *Pennisetum alopecuroides* to diesel oil-contaminated soil and salt stress[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2015, 24(11):1904-1909.

[10] He J S, Wang L, Flynn D F, et al. Leaf nitrogen:Phosphorus stoichiometry across Chinese grassland biomes[J]. *Oecologia*, 2008, 155(2):301-310.

[11] 张京磊, 慈华聪, 何兴东, 等. 盐渍化胁迫下油葵对土壤原油污染的适应性及其改良措施[J]. 应用生态学报, 2015, 26(11):3503-3508.

ZHANG Jing-lei, CI Hua-cong, HE Xing-dong, et al. Adaptability of *Helianthus annuus* seedlings to crude oil pollution in soil and its improvement measures under salinization stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(11):3503-3508.

[12] Cui Q, Lü X T, Wang Q B, et al. Nitrogen fertilization and fire act independently on foliar stoichiometry in a temperate steppe[J]. *Plant and Soil*, 2010, 334(1):209-219.

[13] Etukudo M M, Nwaukwu I A, Habila S. The effects of sawdust and goat dung supplements on growth and yield of Okro (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) in diesel oil contaminated soil[J]. *Journal of Research in Forestry, Wildlife and Environment*, 2011, 3(2):92-98.

[14] 韩涛, 赵志鹏, 王莹莹. 施肥对苏丹草修复石油污染土壤的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(1):86-92.

- HAN Tao, ZHAO Zhi-peng, WANG Ying-ying. Effect of fertilization on remediation of petroleum contaminated soil by *Sudangrass*[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2016, 35(1):86-92.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国科学出版社, 2007.
- BAO Shi-dan. Soil agro-chemical analysis [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2007.
- [16] 沈伟航, 朱能武, 王华金, 等. 石油污染土壤生物修复过程中毒性的植物指示[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(1):22-28.
- SHEN Wei-hang, ZHU Neng-wu, WANG Hua-jin, et al. Plant bio-indicators of eco-toxicity of oil-contaminated soil during bioremediation [J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2015, 34(1):22-28.
- [17] Reich P B, Oleksyn J. Global patterns of plant leaf N and P in relation to temperature and latitude[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(30):11001-11006.
- [18] Tessier J T, Raynal D J. Use of nitrogen to phosphorus ratios in plant tissue as an indicator of nutrient limitation and nitrogen saturation[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2003, 40(2):523-534.
- [19] Marcos M, Karlsson P S. Nutrient stoichiometry in *Pinguicula vulgaris*: Nutrient availability, plant size, and reproductive status[J]. *Ecology*, 2005, 86(4):982-991.
- [20] Elser J J, Sterner R W, Gorokhova E, et al. Biological stoichiometry from genes to ecosystems[J]. *Ecology Letters*, 2000, 3(6):540-550.
- [21] Sterner R W, Elser J J. Ecological stoichiometry: The biology of elements from molecules to the biosphere[M]. Princeton: Princeton University Press, 2002.
- [22] Pettersson R, McDonald A J S. Effects of nitrogen supply on the acclimation of photosynthesis to elevated CO₂[J]. *Photosynthesis Research*, 1994, 39(3):389-400.