

赵 绚, 何兴东, 张京磊. 改良剂对柴油污染土壤中黑麦草生理代谢的调节[J]. 农业资源与环境学报, 2017, 34(4): 384-389.

ZHAO Xuan, HE Xing-dong, ZHANG Jing-lei. Effects of Modifiers on Physiological Metabolism of *Lolium perenne* Seedlings in Diesel-Polluted Soils[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2017, 34(4):384-389.

改良剂对柴油污染土壤中黑麦草生理代谢的调节

赵 绚, 何兴东*, 张京磊

(南开大学生命科学学院, 天津 300071)

摘要:开展了土壤柴油污染的单因素盆栽实验和柴油污染盐渍化土壤中添加锯末-硝酸铵-磷酸二氢钾的三因素正交盆栽实验, 对黑麦草幼苗抗氧化酶活性和叶绿素含量进行了分析, 探究了柴油污染土壤中黑麦草幼苗的生理变化与调节。结果表明, 土壤柴油污染显著减小了黑麦草幼苗生物量, 与对照相比, 叶 SOD 活性在柴油浓度 0.3% 和 0.9% 时显著降低, POD 和 CAT 活性在 0.6% 和 0.9% 柴油浓度下显著降低; 根 SOD 活性在 0.9% 柴油浓度下显著增大, POD 活性在 0.6% 和 0.9% 柴油浓度下显著下降。受柴油污染的盐渍化土壤, 施加锯末体积分数为 10% 时, 黑麦草幼苗叶 POD 和 CAT 活性显著增强, 叶绿素 a 和叶绿素 b 含量显著增加; 施氮量为 $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土时, 黑麦草幼苗叶绿素 a 和叶绿素 b 含量显著增加。可见, 土壤受柴油污染时, 添加锯末和硝酸铵可有效调节黑麦草幼苗的生理代谢。

关键词:黑麦草; 柴油污染土壤; 抗氧化酶; 叶绿素; 植物修复

中图分类号: X53

文献标志码: A

文章编号: 2095-6819(2017)04-0384-06

doi: 10.13254/j.jare.2016.0306

Effects of Modifiers on Physiological Metabolism of *Lolium perenne* Seedlings in Diesel-Polluted Soils

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

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

Abstract: The pot experiment for single-factor with diesel oil polluted soil and the pot experiment for three-factor orthogonal with sawdust-ammonium nitrate-monopotassium phosphate under diesel oil polluted soil with salt stress, were performed to analyze the activity of antioxidant enzymes and chlorophyll content in *Lolium perenne* seedlings, and to explore the physiological response of *L. perenne* seedlings under diesel oil polluted soil and its regulations. The results showed that, soil diesel pollution significantly decreased the biomass. Compared with control, activity of superoxide dismutases (SOD) in leaf decreased significantly at 0.3% and 0.9% soil diesel pollution, peroxidases (POD) and catalase (CAT) in leaf decreased significantly at 0.6% and 0.9% soil diesel pollution, the root SOD activity increased significantly at 0.9% diesel concentration while the root POD activity decreased significantly at 0.6% and 0.9% soil diesel pollution. As for the salinity soil polluted by diesel oil, the activity of POD and CAT in leaf increased significantly at 10% volume fraction of sawdust, and the content of chlorophyll a and chlorophyll b increased significantly as well. Meanwhile, chlorophyll a and chlorophyll b content increased significantly at $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ amount of ammonium nitrate. Thereby, sawdust and ammonium nitrate addition could effectively improve physiological metabolic of *L. perenne* seedlings.

Keywords: *Lolium perenne*; diesel-polluted soil; antioxidant enzymes; chlorophyll; phytoremediation

土壤中的石油污染物通过降低土壤水分和土壤养分供应导致植物幼苗生理脱水和养分失衡^[1], 使植物表现出叶片枯黄、萎蔫^[2], 株高降低^[3], 生物量下降^[4]等生长毒性效应。石油污染物对植物的表现胁迫本质上是通过影响植物体正常生理代谢而实现的, 石油污

染物会破坏植物细胞内自由基的代谢平衡, 产生大量活性氧物质, 引发或加剧膜脂过氧化, 造成细胞膜系统的损伤^[5]; 另一方面, 石油污染物会抑制叶绿素酶的合成, 减少植物体内叶绿素含量, 削弱植物光合作用^[6], 抑制植物生长。

收稿日期: 2016-12-18

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

作者简介: 赵 绚(1991—), 女, 河北沧州人, 硕士研究生, 主要从事生态恢复和植物修复研究。E-mail: zx1296684278@sina.com

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

为抵御石油污染物的胁迫,植物体会发出响应,如植物体内抗氧化酶系统和光合色素的改变。在抗氧化酶系统中,超氧化物歧化酶(SOD)是一种以氧自由基为底物的酶,在活性氧代谢中处于重要地位,能把超氧阴离子歧化成 O_2 和 H_2O_2 ;过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)是植物体内 H_2O_2 清除酶,能把 H_2O_2 转化成 H_2O ,三者协同作用能防御活性氧或其他过氧化物自由基对细胞膜系统的伤害,抵御逆境胁迫^[7]。同时,抗氧化酶系统中所需蛋白质要在光合作用下合成,光合作用在一定程度上也会影响抗氧化酶活性。光合作用作为植物最基本的生理过程,叶绿素a和叶绿素b分别是主要色素和辅助色素,在环境胁迫下叶绿素含量会发生一定变化,常被用作植物抗性的指标,以评价环境污染物对植物的影响^[8]。

多年生黑麦草(*Lolium perenne* L.)是禾本科黑麦属多年生疏丛型草本植物,生长快、分蘖多,耐寒、耐湿性强,亦较耐盐碱,具有强大的须根系统^[9]。目前国内外已有关于黑麦草修复石油污染土壤的研究^[10-13],但如何有效调节土壤石油污染时植物的生理代谢有待深入研究。为此,本文以黑麦草为研究对象,以石油的代表种类——柴油为材料,以锯末、硝酸铵、磷酸二氢钾为改良物质,通过分析黑麦草幼苗抗氧化酶活性和叶绿素含量的变化,探讨黑麦草在柴油污染土壤中的生理响应以及盐渍化柴油污染土壤中施加不同改良物质对黑麦草幼苗生理代谢的影响,以促进石油污染土壤的植物修复。

1 材料与方 法

1.1 实验设计与材料

以黑麦草为供试植物,开展两个室内盆栽实验,分别为柴油单因素实验和锯末-硝酸铵-磷酸二氢钾3因素4水平正交实验,每个实验每个处理设置3个重复。单因素实验中柴油质量分数的4个水平分别为0%、0.3%、0.6%和0.9%。正交实验采用 $L_{16}(4^5)$ 正交表,锯末体积分数的4个水平分别为0%、5%、10%和15%;硝酸铵施加量的4个水平分别为0、0.29、0.57 $g \cdot kg^{-1}$ 土和0.86 $g \cdot kg^{-1}$ 土,对应施氮水平分别为0、0.1、0.2 $g \cdot kg^{-1}$ 土和0.3 $g \cdot kg^{-1}$ 土;磷酸二氢钾施加量的4个水平分别为0、0.22、0.44 $g \cdot kg^{-1}$ 土和0.66 $g \cdot kg^{-1}$ 土,对应施磷水平分别为0、0.05、0.1 $g \cdot kg^{-1}$ 土和0.15 $g \cdot kg^{-1}$ 土。实验用多年生黑麦草种子购于种子公司,柴油购自加油站0号柴油,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)和磷酸二氢

钾(分析纯)购于试剂公司,PVC塑料盆高 \times 口径为17 cm \times 20 cm。土壤为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38.362 $g \cdot kg^{-1}$,全氮含量为1.314 $g \cdot kg^{-1}$,全磷含量为0.894 $g \cdot kg^{-1}$ 。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 $g \cdot cm^{-3}$),依次倒入体积为0、30、60、90 mL的柴油(柴油容重为0.75 $kg \cdot L^{-1}$),充分混匀自然风干后待单因素实验备用;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1 440 mL的柴油和360 g的氯化钠充分混匀配制而成。

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,以蛭石为育苗基质,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,育苗以供正交实验。穴盘育苗30 d后,由于黑麦草的根系生长相当发达,且比较紧密,将其转入装有蛭石的PVC塑料盆中以促进生长。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分析天平称量鲜重,将样品放入封口袋内,于-80 $^{\circ}C$ 冰箱中保存以测定指标。

过氧化物酶(POD)活性测定,采用愈创木酚法^[14],470 nm下测定吸光值单位为 $U \cdot mg^{-1} FW$,以每分钟吸光度变化值表示酶活力的大小。超氧化物歧化酶(SOD)活性测定,采用氮蓝四唑法^[15],以560 nm下的吸光值计算酶活性,单位为 $U \cdot mg^{-1} FW$ 。过氧化氢酶(CAT)活性测定采用紫外吸收法^[15],以240 nm处吸光度变化速度计算活性,单位为 $U \cdot mg^{-1} FW$,以1 min内A 240减少0.1的酶量为一个酶活单位。叶绿素a和叶绿素b含量的测定采用95%乙醇提取法^[16]。

1.3 数据处理

实验数据经Excel处理,计算平均值和标准误,同时计算正交实验中抗氧化酶和叶绿素的小组极差,

并作图,之后利用 SPSS19.0 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

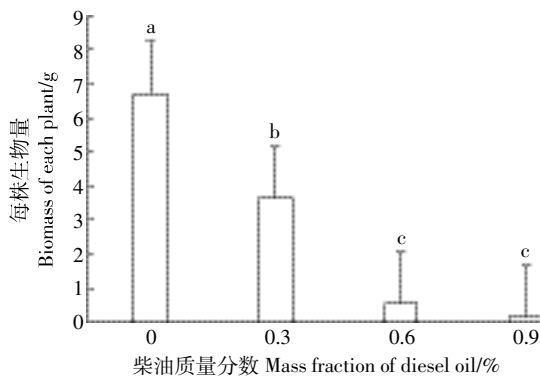
2.1 柴油污染土壤中黑麦草生物量和抗氧化酶活性的变化

柴油单因素实验结果表明,随土壤柴油浓度增大,黑麦草平均每株植株的总生物量逐渐降低,且在柴油浓度为 0.3% 和 0.6% 时显著降低,柴油浓度进一步增大为 0.9% 时,生物量变化不显著(图 1);与对照相比,黑麦草幼苗叶 SOD 活性在柴油浓度为 0.3% 和 0.9% 时显著降低,POD、CAT 活性在柴油浓度为 0.6% 和 0.9% 时显著降低;黑麦草幼苗根 SOD 活性在柴油浓度为 0.9% 时显著上升,POD 活性在柴油浓度为 0.6% 和 0.9% 时显著下降,CAT 活性变化不显著(图 2)。

2.2 盐渍化柴油污染土壤改良对黑麦草叶抗氧化酶活性与叶绿素含量的影响

锯末-硝酸铵-磷酸二氢钾三因素正交实验表明(图 3),受柴油污染的盐渍化土壤,对于黑麦草幼苗保护酶而言,施加锯末对黑麦草叶 POD 和 CAT 活性有较大的影响,即锯末体积分数为 10% 时两者活性显著增大(表 1),施加硝酸铵较施加锯末和磷酸二氢钾对 SOD 活性有更大的影响。对于黑麦草幼苗叶绿素 a 和叶绿素 b 而言,施加锯末的效果优于施加硝酸铵和磷酸二氢钾。

对黑麦草幼苗抗氧化酶活性分析表明(表 1),施加锯末体积分数为 10%,POD 和 CAT 活性显著增大。



图中不同字母表示同一指标不同处理间差异显著($P<0.05$)。下同
Different letters indicate significant differences among treatments in the same index at 0.05 level. The same below

图 1 柴油污染对黑麦草生物量的影响

Figure 1 Effects of diesel oil pollution on biomass in *L. perenne* seedlings

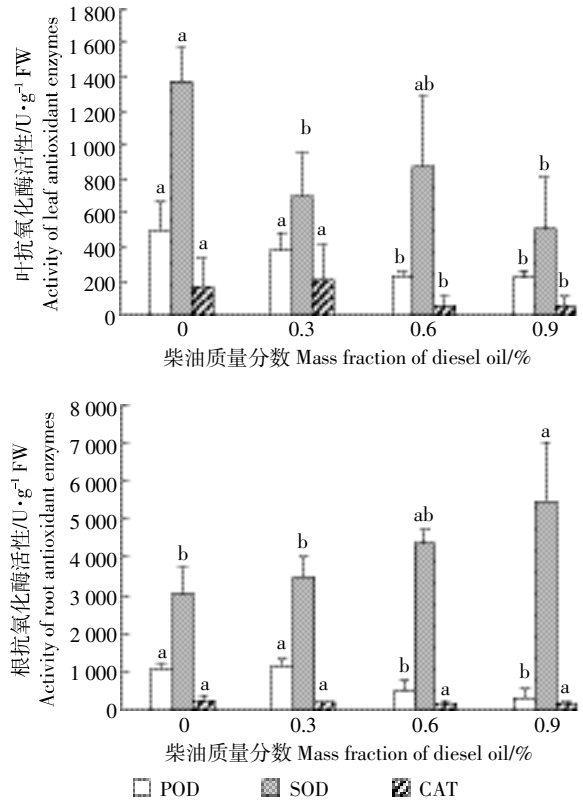


图 2 柴油污染对黑麦草叶和根抗氧化酶活性的影响

Figure 2 Effects of diesel oil pollution on the activity of leaf and root antioxidant enzymes in *L. perenne* seedlings

随土壤中硝酸铵施加量的加大,硝酸铵对 POD、SOD、CAT 活性均无显著影响;随土壤中磷酸二氢钾施加量的加大,POD、SOD、CAT 活性有所降低,CAT 活性在施磷水平为 0.15 g·kg⁻¹ 土时显著降低。

黑麦草幼苗叶绿素含量分析结果显示(表 2),随土壤中施加锯末体积分数的加大,叶绿素 a 和叶绿素 b 含量均逐渐增加,且二者均在锯末体积分数为 10% 时显著增加达到最大值;随土壤中硝酸铵施加量的加大,叶绿素 a 和叶绿素 b 含量总体上表现出增多的趋势,且二者均在施氮水平为 0.3 g·kg⁻¹ 土时显著增加;随土壤中磷酸二氢钾施加量的加大,叶绿素 a 和叶绿素 b 含量均有所减少,但二者含量变化并不明显。

3 讨论

土壤柴油污染对植物生长是一种胁迫因子。本研究结果表明,与对照相比,添加柴油的处理中黑麦草幼苗叶 POD 活性显著降低,SOD、CAT 活性在柴油浓度为 0.6% 和 0.9% 时显著降低,这与宋雪英等^[17]的研究结果类似,崔碧宵等^[18]研究也发现在石油污染初期柠条各处理 CAT 活性表现出降低趋势,至中后期完

全显现出来,这可能是因为石油污染影响到植物体内 POD 和 CAT 的合成路径或对 POD 和 CAT 酶结构产生了损伤,使其酶活性普遍降低,进而对细胞膜造成损伤。令人感兴趣的是,本研究结果表明,随土壤柴油浓度的增大,黑麦草幼苗根中 SOD 活性显著增大而

POD 和 CAT 活性显著下降,而这种现象正体现了 SOD、POD 和 CAT 之间的作用机制,这是由于作为适应反应的起点,根系最先受到伤害,根中的抗氧化酶活性比较敏感,当黑麦草幼苗处于柴油污染的土壤中时,土壤柴油污染浓度越大,黑麦草幼苗体内产生的超氧阴离子越多,为了消除超氧阴离子的危害,黑麦草幼苗则随柴油污染浓度增大产生越来越多的 SOD,则表现为根中 SOD 活性随柴油污染浓度增大而增强,同时,由于 SOD 的作用,产生越来越多的 H₂O₂,而 POD 和 CAT 是负责将 H₂O₂ 转化为 H₂O 的,即相应地耗去更多的 POD 和 CAT,因此,随土壤柴油污染浓度增大,黑麦草幼苗根中 SOD 活性显著增大而 POD 和

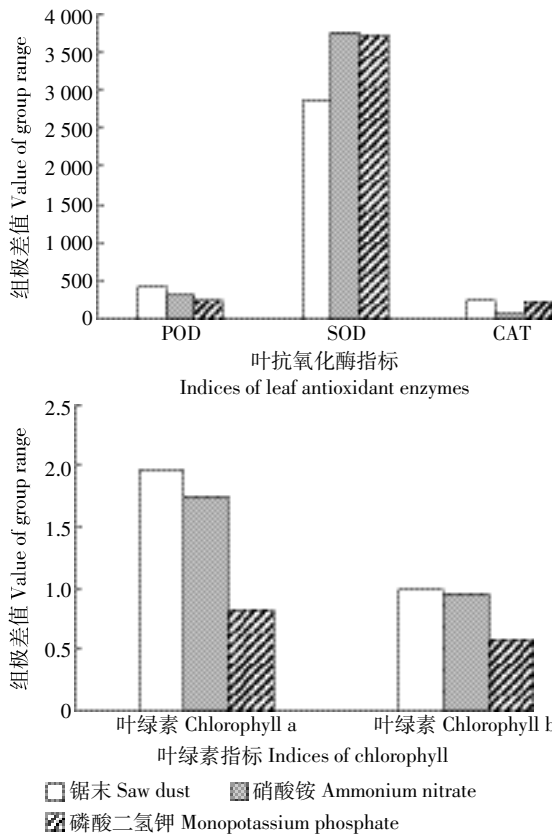


图3 添加物质对黑麦草叶抗氧化酶活性和叶绿素含量的影响
Figure 3 Influences of adding matters in orthogonal experiment on the activity of leaf antioxidant enzymes and chlorophyll content of *L. perenne* seedlings

表2 柴油污染土壤中实验三因素对黑麦草叶绿素含量的影响
Table 2 Effects of experimental three factors on the concentration of chlorophyll in *L. perenne* seedlings in orthogonal test under diesel oil-polluted soil

因素 Factor	水平 Level	叶绿素 a Chlorophyll a/mg·g ⁻¹	叶绿素 b Chlorophyll b/mg·g ⁻¹
施锯末 Adding sawdust/%	0	0.850±0.039c	0.462±0.030c
	5	1.010±0.161bc	0.527±0.060bc
	10	1.343±0.485a	0.709±0.299a
	15	1.148±0.201ab	0.594±0.116ab
施氮 Adding ammonium nitrate/g·kg ⁻¹ 土	0	1.005±0.162b	0.538±0.068b
	0.1	0.927±0.145b	0.489±0.050b
	0.2	1.054±0.250ab	0.536±0.107b
	0.3	1.365±0.470a	0.730±0.296a
	0.15	0.949±0.136a	0.494±0.055a
施磷 Adding monopotassium phosphate/g·kg ⁻¹ 土	0	1.156±0.566a	0.641±0.334a
	0.05	1.133±0.234a	0.586±0.086a
	0.1	1.113±0.222a	0.570±0.124a
	0.15	0.949±0.136a	0.494±0.055a

表1 柴油污染土壤中实验三因素对黑麦草叶抗氧化酶活性的影响

Table 1 Effects of experimental three factors on the activity of leaf antioxidant enzymes in *L. perenne* seedlings in orthogonal test under diesel oil-polluted soil

因素 Factor	水平 Level	POD 活性 Activity/U·g ⁻¹ FW	SOD 活性 Activity/U·g ⁻¹ FW	CAT 活性 Activity/U·g ⁻¹ FW
施锯末 Adding sawdust/%	0	277.325±22.807b	3 540.863±463.877a	72.819±30.068b
	5	298.936±35.585ab	4 082.498±539.993a	75.291±20.143b
	10	372.795±114.065a	4 163.913±1 346.907a	132.755±69.057a
	15	305.363±42.998ab	3 834.599±294.904a	72.491±17.571b
施氮 Adding ammonium nitrate/g·kg ⁻¹ 土	0	305.847±30.226a	3 858.480±768.016a	85.869±19.726a
	0.1	307.105±29.142a	3 814.629±157.132a	80.942±24.372a
	0.2	287.086±42.930a	3 549.790±613.206a	88.834±37.425a
	0.3	354.381±130.520a	4 398.975±1 080.480a	97.711±85.549a
	0.15	285.099±33.734a	3 962.484±215.136a	62.596±13.106b
施磷 Adding monopotassium phosphate/g·kg ⁻¹ 土	0	334.687±140.565a	4 224.560±1 265.848a	118.844±73.905a
	0.05	301.553±30.309a	3 387.932±391.236a	83.314±38.721ab
	0.1	333.080±16.065a	4 046.896±618.296a	88.597±24.694ab
	0.15	285.099±33.734a	3 962.484±215.136a	62.596±13.106b

CAT 活性显著下降这种现象,正是植物抵抗柴油污染胁迫的一种应激反应机制。

本研究结果表明,在正交实验中,随 POD 和 CAT 活性在施加锯末体积分数为 10% 时显著增长,这是由于锯末本身疏松多孔,保水性较好,透气性也较好,锯末对柴油也具有一定的吸附性^[19],本身可能作为吸附剂来吸附土壤中的柴油和盐分,大大缓解了柴油对黑麦草幼苗的氧化损伤^[20]。前期在油葵对土壤原油污染适应性与改良措施研究^[21]中发现,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 SOD 活性逐渐降低,正是由于这种原因,本研究选择锯末作为抗氧化酶的调节物质,并取得了较好的效果。之所以本实验和张京磊的实验^[21]中锯末的施加对不同抗氧化酶有不同的影响,这可能与植物本身以及酶的反应机制的差异有关。另外,土壤柴油污染时,施加锯末能够提高修复植物的抗性与能够增加叶绿素含量有关。随土壤中施加锯末体积分数的加大,叶绿素 a 和叶绿素 b 含量均逐渐增加,且二者均在锯末体积分数为 10% 显著增加,达到最大值;Etukudo 等^[22]研究也发现在柴油污染土壤中添加锯末能够有效提高柴油污染物的去除率,增加植物株高,提高植物体内叶绿素含量。叶绿素含量的增多使植物光合作用得以改善,活性氧自由基得以积累,在引发膜脂过氧化同时激活抗氧化酶系统。抗氧化酶活性的提高可清除光合作用中积累的氧自由基,抑制膜脂过氧化,维持细胞氧自由基代谢平衡和维护光合系统正常运行^[23];此外,光合作用的改善使得合成抗氧化酶所需的蛋白质的生成量增多,酶活性增强^[24]。可见,土壤柴油污染时,添加锯末可调节黑麦草的保护酶活性和叶绿素含量,进而有助于修复植物的生长。值得指出的是,原油(含柴油)限制植物生长的根本原因是限制 N 的吸收^[7],本研究结果表明,硝酸铵的施加增加了黑麦草幼苗叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量,这与 Akujobi 等^[25]和韩涛等^[26]的研究结果类似,这是因为土壤作为植物生长的主要基质,植物从中获得 N、P 等一些必需元素,这些元素供应(含量和形式)的变化会直接影响植物体内各种生理生化反应,而 N 素作为叶绿素 a、叶绿素 b 的组成成分,N 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^[27],此外,N 素还是植物细胞分裂素的组分,而细胞分裂素可以促进蛋白质合成,防止叶绿素分解^[28],因此,添加 N 素也是柴油污染时改善植物生长的调

节物质。而添加 P 素效果不显著,有待于进一步研究。

总之,土壤原油/柴油污染的植物修复是一个仍待深入探索的问题,其中如何使土壤原油/柴油污染的修复植物成活是一个关键问题,而植物成活的本质是其内在生理机制的改善。研究表明,柴油和轻质原油污染对 11 种植物的成活和生长构成严重限制,因此,如何调节植物体生理代谢保证修复植物成活和健康生长是重中之重。

4 结论

(1)柴油污染显著降低了黑麦草幼苗生物量和叶 SOD 活性,POD、CAT 活性在柴油浓度 0.6% 和 0.9% 时显著降低;根 SOD 活性在柴油浓度 0.9% 时显著上升,POD 活性在柴油浓度 0.6% 和 0.9% 时显著下降,抗氧化酶具有较好的抵御柴油胁迫的能力。

(2)受柴油污染的盐渍化土壤,施加锯末体积分数为 10% 时,POD、CAT 活性,叶绿素含量显著增大;施氮量 $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土时叶绿素含量显著增加。锯末和硝酸铵可有效改善柴油污染植物的生长状况。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 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-Environment Science*, 2015, 34(1):22-28. (in Chinese)
- [3] 岳冰冰, 李鑫, 任芳菲, 等. 石油污染对紫花苜蓿部分生理指标的影响[J]. 草业科学, 2011, 28(2):236-240.
YUE Bing-bing, LI Xin, REN Fang-fei, et al. Effects of petroleum contamination on some of physiological indexes of alfalfa [J]. *Pratacultural Science*, 2011, 28(2):236-240. (in Chinese)
- [4] 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. (in Chinese)
- [5] 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.
- [6] 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.

- [7] 周启星,孔繁翔,朱琳.生态毒理学[M].北京:科学出版社,2004.
ZHOU Qi-xing, KONG Fan-xiang, ZHU Lin. Ecotoxicology[M]. Beijing: Science Press, 2004. (in Chinese)
- [8] Mawrood C A, Solomon K R, Greenberg B W. Chlorophyll fluorescence as a bioindicator of effects on growth in aquatic macrophytes from mixtures of PAHs[J]. *Environment Toxicology and Chemistry*, 2001, 20(20): 890-898.
- [9] 马博英. 多年生黑麦草的逆境生理研究进展[J]. 生物学杂志, 2010, 27(2):58-61.
MA Bo-ying. Research advances in stress physiological adaptation of perennial ryegrass[J]. *Journal of Biology*, 2010, 27(2):58-61. (in Chinese)
- [10] 高彦征, 凌婉婷, 朱利中, 等. 黑麦草对多环芳烃污染土壤的修复作用及机制[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(3):498-502.
GAO Yan-zheng, LING Wan-ting, ZHU Li-zhong, et al. Ryegrass-accelerating degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(3):498-502. (in Chinese)
- [11] 刘世亮, 骆永明, 丁克强, 等. 黑麦草对苯并[a]芘污染土壤的根际修复及其酶学机理研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(2):526-532.
LIU Shi-liang, LUO Yong-ming, DING Ke-qiang, et al. Rhizosphere remediation and its mechanism of benzo[a]pyrene-contaminated soil by growing ryegrass[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(2):526-532. (in Chinese)
- [12] Kechavarzi C, Pettersson K, Leeds-Harrison P, et al. Root establishment of perennial ryegrass (*L. perenne*) in diesel contaminated subsurface soil layers[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 145(1):68-74.
- [13] Buyan C, Shah S H, Jaeseong R. Bioaugmented phytoremediation: A strategy for reclamation of diesel oil-contaminated soils[J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2014, 16(3):624-628.
- [14] 孙群, 胡景江. 植物生理学研究技术[M]. 杨凌:西北农林科技大学出版社, 2006:118-119.
SUN Qun, HU Jing-jiang. Research technology of plant physiology[M]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University Press, 2006: 118-119. (in Chinese)
- [15] 张蜀秋, 李云, 武维华, 等. 植物生理学实验技术教程 [M]. 北京:科学出版社, 2011:123-124.
ZHANG Shu-qiu, LI Yun, WU Wei-hua, et al. Plant physiology experiments technology tutorial[M]. Beijing: Science Press, 2011: 123-124. (in Chinese)
- [16] 高玉葆, 石福臣, 等. 植物生物学与生态学实验[M]. 北京:科学出版社, 2008:94-95.
GAO Yu-bao, SHI Fu-chen, et al. Plant biological and ecological experiments[M]. Beijing: Science Press, 2008:94-95. (in Chinese)
- [17] 宋雪英, 宋玉芳, 孙铁珩, 等. 柴油污染土壤对小麦种子萌发及幼苗生长的生态毒性效应 [J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(3):554-559.
SONG Xue-ying, SONG Yu-fang, SUN Tie-heng, et al. Soil-based ecotoxicity of diesel oil contamination to seed germination and seedling growth of wheat[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(3):554-559. (in Chinese)
- [18] 崔碧霄, 韩刚, 李凯荣, 等. 土壤石油污染下柠条生长反应与抗氧化保护响应[J]. 草业科学, 2014, 31(4):632-640.
CUI Bi-xiao, HAN Gang, LI Kai-rong, et al. Response of growth and antioxidant protection system of *Caragana korshinskii* to oil-contaminated soil[J]. *Pratacultural Science*, 2014, 31(4):632-640. (in Chinese)
- [19] 朱文英, 唐景春. 小麦秸秆生物炭对石油烃污染土壤的修复作用 [J]. 农业资源与环境学报, 2014, 31(3):259-264.
ZHU Wen-ying, TANG Jing-chun. Remediation of wheat-straw-biochar on petroleum-polluted soil[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2014, 31(3):259-264. (in Chinese)
- [20] Akinpelumi B E, Olatunji O A. Effects of sawdust soil amendment on the soil, growth and yield of *Solanum esculentum* Linn. in waste engine oil-polluted soil[J]. *Sciences in Cold and Arid Regions*, 2014, 7(2):128-136.
- [21] 张京磊, 慈华聪, 何兴东, 等. 盐渍化胁迫下油菜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. (in Chinese)
- [22] 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.
- [23] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(9):405-410.
- [24] 李璇, 岳红, 王升, 等. 影响植物抗氧化酶活性的因素及其研究热点和现状[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(7):973-977.
LI Xuan, YUE Hong, WANG Sheng, et al. Research of different effects on activity of plant antioxidant enzymes[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2013, 38(7):973-977. (in Chinese)
- [25] Akujobi C O, Onyeagba R A, Nwaugo V O, et al. Protein and chlorophyll contents of *Solanum melongena* on diesel oil polluted soil amended with nutrient supplements[J]. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 2011, 3(5):516-520.
- [26] 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-Environment Science*, 2016, 35(1):86-92. (in Chinese)
- [27] 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.
- [28] 郑强, 王志敏, 蔡永旺, 等. 夏玉米叶片叶绿素含量的时空动态及其与植株含氮率关系的研究[J]. 玉米科学, 2008, 16(6):75-78.
ZHENG Qiang, WANG Zhi-min, CAI Yong-wang, et al. Study on spatial-temporal distribution of chlorophyll content and its correlation to plant N content in summer maize[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2008, 16(6):75-78. (in Chinese)