

DOI: 10.5846/stxb201906141264

董馨岚, 白哲, 李铭红, 朱剑飞. 铜铅胁迫下水分、温度和施肥对黑麦草富集能力的影响. 生态学报, 2020, 40(21): 7721-7732.

Dong X L, Bai Z, Li M H, Zhu J F. Effects of water, temperature and fertilization on accumulation ability of ryegrass under Cu and Pb stress. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(21): 7721-7732.

铜铅胁迫下水分、温度和施肥对黑麦草富集能力的影响

董馨岚^{1,2}, 白哲^{1,2}, 李铭红^{1,*}, 朱剑飞²

1 浙江师范大学行知学院, 金华 321000

2 浙江师范大学生态研究所, 金华 321000

摘要: 黑麦草 (*Lolium perenne* L.), 是我国南方主要种植牧草之一, 对土壤重金属 (As、Zn、Cu、Pb、Cd 等) 具有一定富集效果。通过室内盆栽、正交试验的方法, 研究不同水分、温度和施肥条件及其互作对黑麦草在 Cu、Pb 单一及复合胁迫下耐受性及富集能力的影响。结果表明: (1) 在 Cu、Pb 胁迫下, 黑麦草在 90% WHC、保证 N 肥施用取得最大生物量, 其茎叶及根分别在 30 及 25℃ 时生长积累最大; Cu-Pb 复合胁迫使黑麦草地上部分的生长受到抑制。 (2) 综合分析金属含量及富集系数, 90% WHC 有利于黑麦草对 Cu、Pb 的富集, 而温度、肥料随黑麦草富集部位及单一、复合金属污染的不同具有最适差异性。 (3) 黑麦草仅在 90% WHC 水分、30℃ 及施 NPK 肥时, 对重金属 Pb 具有大于 1 的转运系数, 其余各环境因子组合只能在不同程度上小幅改变植物转运系数, 即黑麦草对 Cu、Pb 重金属的转运能力较差。 (4) 方差分析结果显示, 水分和温度可作为对黑麦草 Cu、Pb 富集能力具有显著影响的单因子, 在 Cu、Pb 单一污染胁迫下, 还受到其二因素交互的显著影响; 在单一及复合污染中, 富集能力均受到与肥料间三因素交互作用的显著影响。综上, 运用黑麦草作为修复植物改善土壤 Cu、Pb 污染状况时, 可主要调节水分至 90% WHC, 并辅以改善温度和施肥条件来优化富集效果。

关键词: 水分; 温度; 施肥; 互作; 黑麦草; Cu; Pb

Effects of water, temperature and fertilization on accumulation ability of ryegrass under Cu and Pb stress

DONG Xinlan^{1,2}, BAI Zhe^{1,2}, LI Minghong^{1,*}, ZHU Jianfei²

1 Xingzhi College, Zhejiang Normal University, Jinhua 321000, China

2 Institute of Ecology, Zhejiang Normal University, Jinhua 321000, China

Abstract: Ryegrass (*Lolium perenne* L.) is one of the main forages in South China. It has certain accumulation abilities on heavy metals (As, Zn, Cu, Pb, Cd, etc.) in soil. The effects of water, temperature, fertilization and their interaction on the phytoremediation of ryegrass under single and compound pollution of Cu and Pb were studied with orthogonal design methods by indoor pot experiments. The results showed that: (1) under the stress of Cu and Pb, the shoots and roots obtained the maximum biomass at 30 and 25 °C respectively with 90% water holding capacity (WHC) and enough N fertilizer application. Under Cu-Pb compound stress, the growth of the upper part of ryegrass was inhibited. (2) Based on the heavy metal concentrations and bioconcentration factor (BCF), 90% WHC was beneficial to the accumulation abilities of Cu and Pb in ryegrass. In addition, temperature and fertilization had the different optimal values both in different part of RYEGRASS and various kinds of pollution. (3) The transport coefficient (TF) exceeded 1 only at 90% WHC, 30 °C and

基金项目: 浙江省重中之重学科开放基金项目 (ZC323016018)

收稿日期: 2019-06-14; 网络出版日期: 2020-09-02

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sky82@zjnu.cn

NPK fertilizer application for Pb, while the other combinations of environmental factors could only slightly change the TF in varying degrees, which is to say, ryegrass had a poor transport capacity for Cu and Pb. 4) The results of variance analysis showed that water and temperature had a significant effect on the enrichment of Cu and Pb in ryegrass. Under the single stress of Cu and Pb, the accumulation abilities of Cu and Pb in ryegrass were also significantly affected by the interaction of the two factors. Beyond that, the accumulation abilities were also substantially influenced by the interaction of three factors including fertilization under single and compound stress of Cu and Pb. In summary, when ryegrass is used as a remediation plant to remedy soils with Cu and Pb stress, the water content can be adjusted to 90% WHC, and the enrichment effect can be optimized by improving temperature and fertilization application at the same time.

Key Words: water; temperature; fertilization; interaction; ryegrass; Cu; Pb

随着工农业生产、城镇化的迅猛发展,工业废物排放和农业化学品的使用正使大量的重金属进入土壤环境,造成土壤污染日趋严重^[1]。铅是具有高度毒害性的重金属,与镉、铬、汞、砷合称为“五毒”^[2]。矿山开采、金属冶炼、汽车废气是环境中铅的主要来源,而含铅废水的灌溉则是造成农田铅污染的首要原因。铜是植物生长发育过程中的必需元素,近年来逐渐增多的铜矿开采、含铜杀菌剂的频繁使用以及含铜垃圾的不合理排放等成为土壤中铜的主要来源^[3]。当土壤含铜量超过一定阈值时,不仅会导致土壤环境质量下降,还会对土壤中的动、植物产生严重胁迫^[4-5]。据 2014 年全国土壤污染状况调查公报显示,在调查范围内,铜(Cu)、铅(Pb)重金属的超标率分别达到 2.1%、1.5%,是耕地、工业废弃地和工业园区等地的主要污染物。倪中应等^[6]以杭州市域范围内 27 个重金属污染农田土壤为样本,测得土壤中 Cu、Pb 含量分别在 7.65—113.65 mg/kg 和 5.69—54.25 mg/kg 范围间,其中有机质结合态和氧化物结合态总比例较高,具有中等程度的生态污染风险。杨清伟等^[7]对利用铅锌矿废水灌溉约 50 年的农田进行调查,结果表明,土壤中 Cu、Pb 的含量远超背景值,高达 1486、680 mg/kg,污染严重。

目前,国内外土壤重金属污染修复技术主要包括:工程技术措施、物理修复、化学修复、生物修复以及农业生态修复^[8]。其中,植物修复由于其低成本、无二次污染等优势成为土壤生物修复研究中的热点,而黑麦草(*Lolium perenne* L.)作为我国南方普遍种植的一种优良牧草,近年来因其生长快,生物量高等特点得到关注。已有研究表明,黑麦草对重金属 Cu、Pb 具有一定富集能力。张永兰和王友保^[9]在黑麦草对铜尾矿的修复研究中发现多年生黑麦草的生长和吸收作用可促进土壤中铜的活化,从而降低土壤铜含量,有效推动铜尾矿基质的修复进程。宣斌等^[10]对黑麦草等 12 种植物的 Pb 累积特性进行了比较分析,认为黑麦草具有良好的铅修复潜力,可作为铅锌矿区耐性栽培植物。而针对植物富集过程中生物量下降、生长速率低下等诸多限制因素^[11],农业生态修复技术所涵盖的农艺修复和生态修复两方面措施可在一定程度上提高植物修复效率。相关研究表明,土壤水分影响作物的生长,并间接影响重金属在土壤中的迁移和分配^[12]。温度除了对植物的蒸腾作用、光合作用等各项新陈代谢活动产生一定的影响作用外^[13-14],还会影响植物对重金属离子的吸附,如 Chao^[15]等发现高温预热能在一定程度上降低 Cd 的毒性。同样,化肥的施用也是改善土壤理化性质,影响株高、茎粗、叶绿素等生理指标,使植物对重金属的吸收富集能力产生变化的关键因素。

因此,本研究以常见牧草黑麦草为供试植物,探究其在不同水分、温度及施肥条件的交互作用下对 Cu、Pb 单一及复合污染的响应情况,从而筛选出利于黑麦草吸收 Cu、Pb 的环境因子组合,进一步拓宽黑麦草对重金属 Cu、Pb 的修复潜力。

1 材料与方法

1.1 供试材料

黑麦草种子购于浙江金华。采用校园周边农田土壤,取地表至 20 cm 深度土,去杂后置于阴凉通风处自然风干,研磨并过筛(孔径:4 mm)备用。测得原始土壤中重金属 Cu、Pb 的背景值分别为 35.94、78.22 mg/kg,

土壤 pH 值为 6.8,有机质 5.13 g/kg,全氮 0.72 g/kg,速效磷 18.6 mg/kg,速效钾 203.1 mg/kg。试验以分析纯 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 提供所需重金属浓度,根据国家环境土壤质量标准($\text{pH}>6.5$,三级标准),设置单一 Cu、Pb 污染浓度为 400 mg/kg、500 mg/kg,并组成复合 Cu-Pb 污染浓度。

1.2 试验设计

在已有单一环境因子对黑麦草富集 Cu、Pb 能力影响的试验中,曾分别设置不同持水量梯度(40%、50%、60%、70%、80%、90%、100% WHC)、不同温度梯度(5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃)、不同肥料梯度(N、P、K、NP、NK、PK、NPK)进行单一环境因子影响探究。根据试验结果及实际生产可行性选取变量梯度进行交互作用参数设置,如表 1 所示,所得处理组合列于表 2。

挑选籽粒饱满、大小基本一致的优质牧草种子,70%的酒精消毒 3 min 后用去离子水洗净吸干备用。用高 15 cm,直径 20 cm 的花盆装取 1.5 kg 土壤,每盆播种种子 30 颗,每处理重复 3 次,盆栽数量总计 81 盆。试验所设置的水分变量指水分占土壤重量的百分比,通过称重法^[16]进行控制,定时(5 d)割取各处理植株用以校正幼苗生长对土壤水分变量所造成的误差;通过光照培养箱恒温培养得到各温度变量;通过尿素(46% N)、过磷酸钙(12% P_2O_5)、氯化钾(60% K_2O)来提供所需 N、P、K 肥,参照占雨平等^[17]研究进行配施。控制其他无关变量保持一致,开始 60 d 后收获植物和根际周围土样。

表 1 试验设计

Table 1 The experimental design

因素 Factors	水平 Level		
水分 Water	70% WHC	80% WHC	90% WHC
温度 Temperature/℃	20	25	30
肥料 Fertilizer	N	NP	NPK

WHC:持水量 Water holding capacity; N:氮肥 Nitrogen fertilizer;
NP:氮磷肥 Nitrogen and phosphorus fertilizer; NPK:氮磷钾肥
Nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer

表 2 试验因素设计

Table 2 Factor levels arranged for the experiments

处理 Treatment	因素 Factors			处理 Treatment	因素 Factors		
	温度 Temperature/℃	水分 Water	肥料 Fertilizer		温度 Temperature/℃	水分 Water	肥料 Fertilizer
T1	20	70% WHC	N	T15	25	90% WHC	NP
T2	20	80% WHC	N	T16	25	70% WHC	NPK
T3	20	90% WHC	N	T17	25	80% WHC	NPK
T4	20	70% WHC	NP	T18	25	90% WHC	NPK
T5	20	80% WHC	NP	T19	30	70% WHC	N
T6	20	90% WHC	NP	T20	30	80% WHC	N
T7	20	70% WHC	NPK	T21	30	90% WHC	N
T8	20	80% WHC	NPK	T22	30	70% WHC	NP
T9	20	90% WHC	NPK	T23	30	80% WHC	NP
T10	25	70% WHC	N	T24	30	90% WHC	NP
T11	25	80% WHC	N	T25	30	70% WHC	NPK
T12	25	90% WHC	N	T26	30	80% WHC	NPK
T13	25	70% WHC	NP	T27	30	90% WHC	NPK
T14	25	80% WHC	NP				

1.3 样品分析

取植物样,先用自来水充分淋洗,0.1 mol/L 稀盐酸洗净后再用去离子水淋洗 2—3 次,洗净后用滤纸吸干,称量植株鲜重。将植株地上部与根部分开,105℃下杀青 30 分钟,90℃烘干至恒重后称量干重,研磨并过 60 目筛。取植物根部土壤,90℃下烘至恒重,研磨至粉末状后过 100 目筛。植物样品采用 HNO_3 - HClO_4 法进行消解,土壤样品采用 HCl - HNO_3 - HClO_4 法进行消解。最后,采用电子耦合等离子发射光谱法(Inductively

Coupled plasma-Atomic Emission Spectrometry, ICP-AES)测定样品中 Cu、Pb 含量。

1.4 数据处理

(1)生物富集系数(bioconcentration factor, BCF):植物地上部重金属含量/土壤中重金属含量

(2)转运系数(transfer coefficient, TF):植物地上部重金属含量/植物根部重金属含量

试验所得数据采用 Excel 2010、SPSS 20.0 等软件进行统计分析处理及绘图。通过 SPSS 单因素方差分析 ANOVA 统计分析后, Duncan 多重比较法检验各处理间均值差异显著性, 一般线性模型 (GLM) 比较水分、温度与施肥处理之间的二因素、三因素交互作用。

2 结果分析

2.1 Cu、Pb 胁迫下环境因子交互对黑麦草生物量的影响

由图 1 可知,在不同的水分、温度及养分供给条件下,受 Cu 单一胁迫时,黑麦草在 90% WHC、30℃ 及施

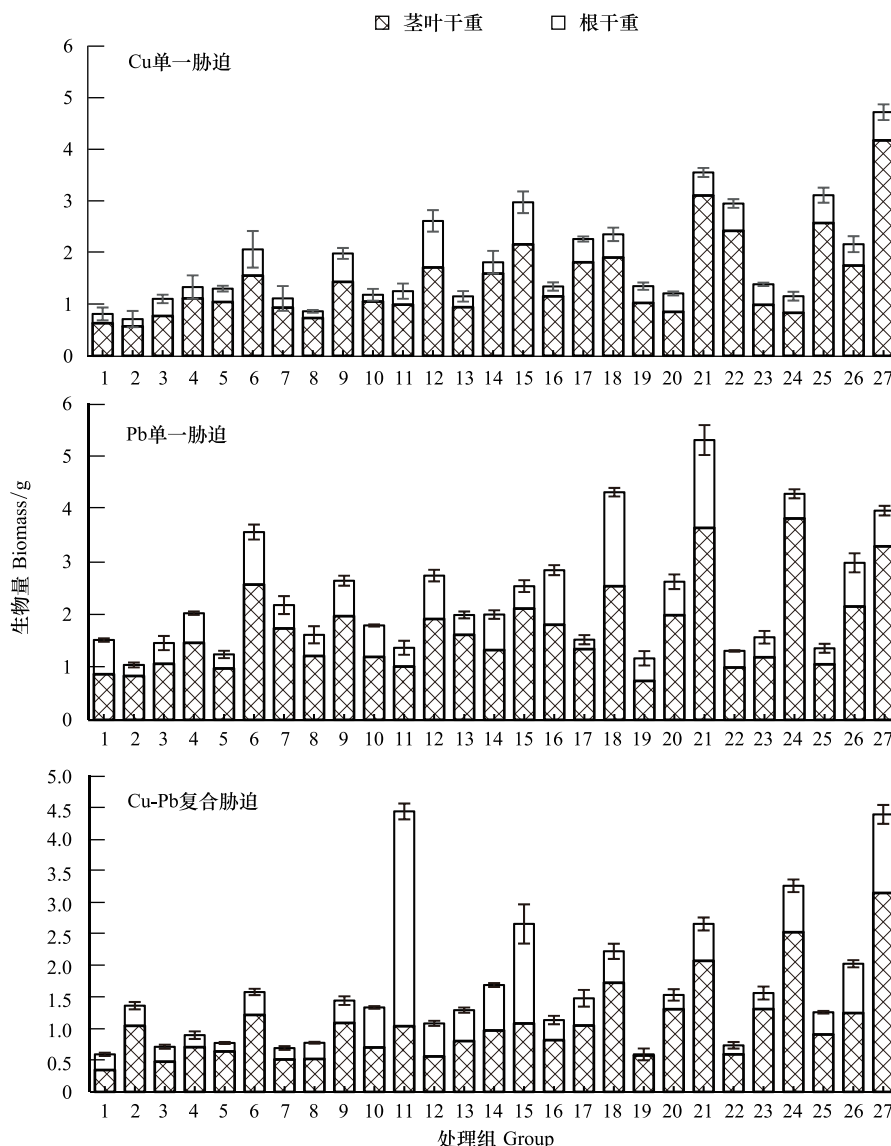


图 1 Cu、Pb 单一及复合胁迫下不同环境因子对黑麦草生物量的影响

Fig.1 The biomass of *Lolium perenne* L. at (three levels of water, temperature, fertilizer) (different environmental factors) under single and compound stresses of Cu and Pb

NPK(27)时,可获得最大茎叶干重及总生物量($P<0.05$),而在 90%WHC、25℃、施 N(12)时植物根的生长最佳。受 Pb 单一胁迫时,黑麦草在 90%WHC、30℃、施 NP(24)时获得最大的茎叶干重,且施 N 或 NPK 也能达到较好的生长效果;在 90%WHC、25℃、施 NPK(18)时获得最大的根干重,在 90%WHC、30℃、施 N(21)时整体长势最佳($P<0.05$),显著优于其他处理组。

当受到 Cu-Pb 复合胁迫时,黑麦草地上部分的生长与 Cu、Pb 单一胁迫时相比存在明显的抑制作用,但仍在 90%WHC、30℃及施 NPK(27)时取得茎叶干重最大值,根干重在 80%WHC、25℃及施 N(11)处理时显著高于其他处理组($P<0.05$),且取得总生物量最大值。

2.2 Cu、Pb 胁迫下环境因子交互对黑麦草 Cu、Pb 富集量的影响

由图 2 可以看出,在不同环境因子组合下,黑麦草不同部位对 Cu 的吸收量有较大差异,大体上体现为根部富集量大于地上部。在 80%WHC、25℃及施 N(11)时,黑麦草地上部在 Cu 单一胁迫下具有最大富集量 444.49 mg/kg,而在 Cu-Pb 复合胁迫时,黑麦草在 70%WHC、25℃及施 NPK(16)时对土壤中 Cu 的富集量显著提高,具有所有处理中的最大地上富集量 465.18 mg/kg。黑麦草根部分在 Cu 单一胁迫下,在 90%WHC、25℃及施 NPK(18)时具有最大富集量 1343.1 mg/kg,而在 Cu-Pb 复合胁迫下,在 80%WHC、30℃及施 NP(23)时才取得最大富集量 1274.78 mg/kg。

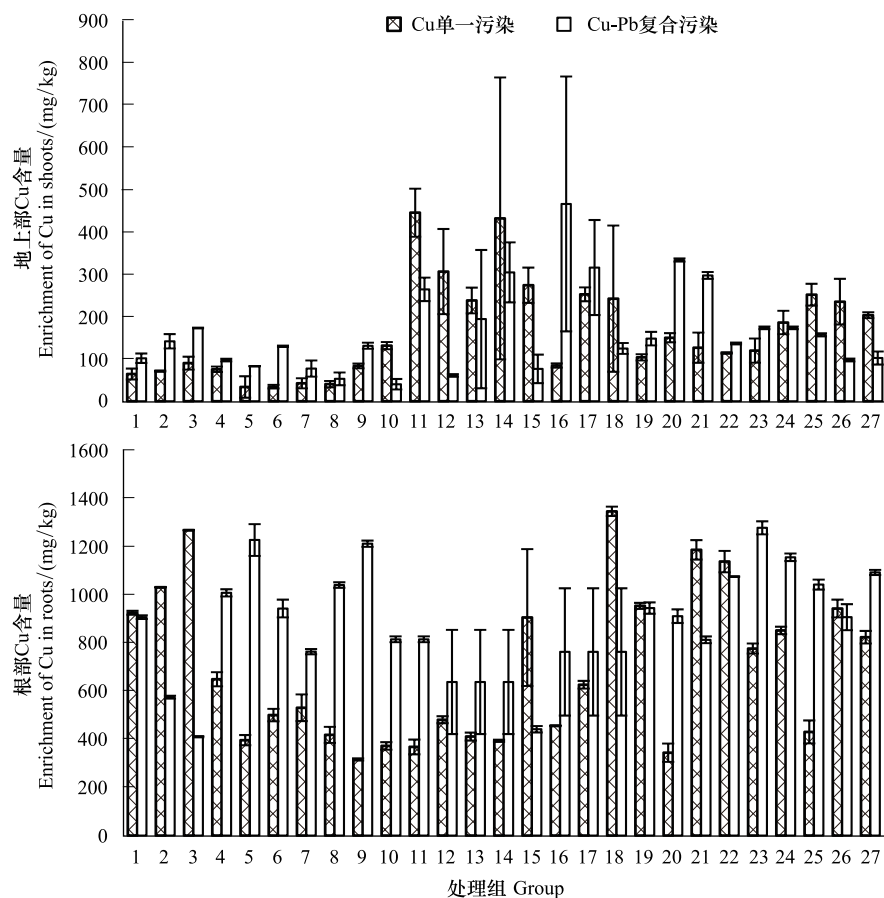


图 2 Cu、Pb 单一及复合胁迫下不同环境因子对黑麦草 Cu 富集量的影响

Fig.2 The Cu enrichment in shoots and roots of *Lolium perenne* L. at (three levels of water, temperature, fertilizer) (different environmental factors) under single and compound stresses of Cu and Pb

由图 3 可以看出,在不同环境因子组合下,黑麦草不同部位对 Pb 的吸收量有较大差异,但与 Cu 富集规律类似,也体现为根部富集量大于地上部。在 80%WHC、30℃及施 NPK(17)时,黑麦草地上部在 Pb 单一胁迫

迫下具有最大富集量 557.46 mg/kg,而在 Cu-Pb 复合胁迫下,黑麦草在 80% WHC、30℃ 及施 N(20)时对土壤中 Pb 的富集量显著提高,具有所有处理中的最大地上富集量 597.66 mg/kg。黑麦草根部分在 Pb 单一胁迫下,在 90% WHC、25℃ 及施 NP(15)时具有最大富集量 1154.62 mg/kg,而在 Cu-Pb 复合胁迫下,在 80% WHC、30℃ 及施 NP(12)时才取得最大富集量 1496.83 mg/kg。

根据不同环境因子将 27 组试验进行分类统计,结果如下:在 Cu 单一污染时,黑麦草地上部分别在温度 25℃ (266.76 mg/kg)、持水量 80% (167.44 mg/kg)、施 NP (166.99 mg/kg) 时,根部分别在 30℃ (825.43 mg/kg)、持水量 80% (854.78 mg/kg)、施 N (768.00 mg/kg) 时具有最大富集量。在 Pb 单一污染时,黑麦草地上部分别在温度 30℃ (316.19 mg/kg)、持水量 90% (261.18 mg/kg)、施 NPK (331.58 mg/kg) 时,根部分别在 25℃ (806.27 mg/kg)、持水量 90% (697.24 mg/kg)、施 NPK (878.84 mg/kg) 时富集效果最佳。在 Cu-Pb 复合污染时,黑麦草地上部分别在温度 25℃ (204.68 mg/kg)、持水量 70% (208.09 mg/kg)、施 NP (188.20 mg/kg) 时对 Cu 的富集量最大,在温度 25℃ (410.79 mg/kg)、持水量 80% (349.17 mg/kg)、施 NP (388.81 mg/kg) 时对 Pb 的富集量最大;根部分别在 30℃ (1021.82 mg/kg)、持水量 70% (903.57 mg/kg)、施 N (918.27 mg/kg) 时对 Cu 的富集效果最佳,在 30℃ (1161.63 mg/kg)、持水量 80% (1307.28 mg/kg)、施 N (1182.54 mg/kg) 时对 Pb 的富集效果最佳。数据表明,在应对不同的重金属胁迫时,黑麦草对温度、水分及肥料的最适范围表现出差异性,当三者共同作用时,还会产生交互影响,形成最适处理组合。

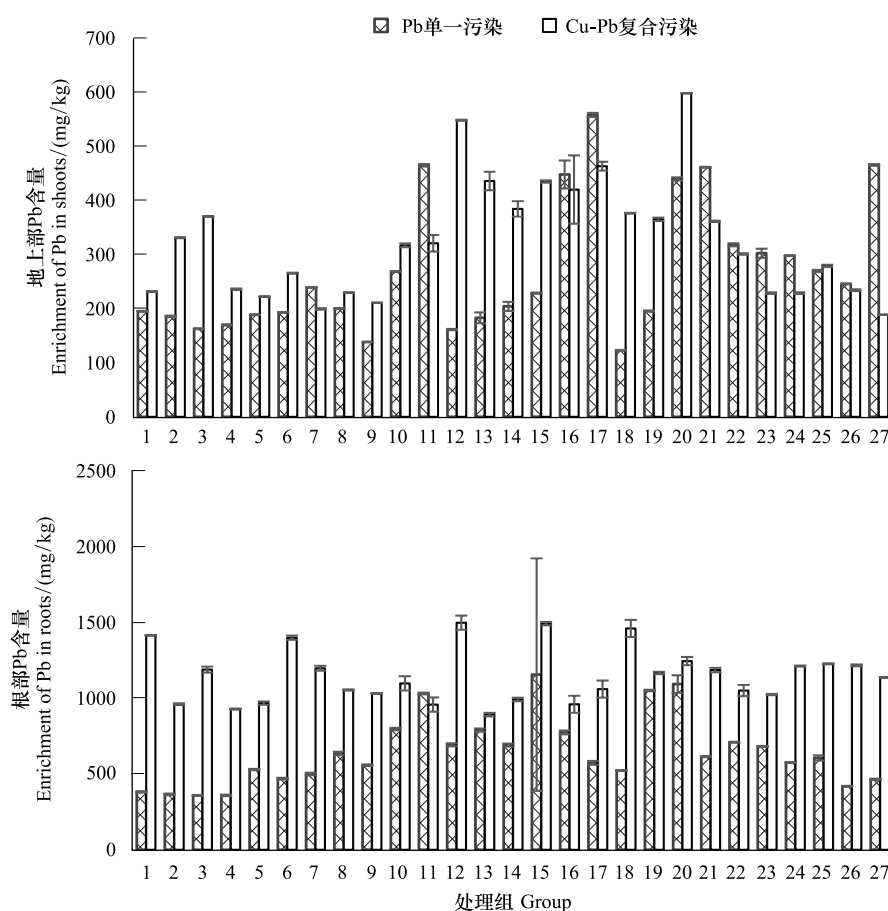


图3 Cu、Pb 单一及复合胁迫下不同环境因子对黑麦草 Pb 富集量的影响

Fig.3 The Pb enrichment in shoots and roots of *Lolium perenne* L. at (three levels of water, temperature, fertilizer) (different environmental factors) under single and compound stresses of Cu and Pb

表 3—4 为不同环境因子处理对植物富集 Cu、Pb 含量的影响所进行的方差分析,结果显示:在 Cu、Pb 单

一胁迫条件下,黑麦草的根部 Cu 富集量及地上部 Pb 富集量受到水分、温度、肥料以及其二因素、三因素交互作用的极显著影响($P<0.01$);而黑麦草地上部对 Cu 的富集量仅表现出受水分、温度的极显著影响,同时,水分和温度以及温度和肥料之间也表现出极显著的交互作用;黑麦草根对 Pb 的富集则受水分和温度交互以及三因素交互的显著影响($P<0.05$),其他因素影响极显著。在 Cu、Pb 复合胁迫条件下,除肥料对地上部 Cu 富集量、水分和温度的交互作用对根部 Cu 富集量无显著影响外,其他各因素及其交互作用均表现出对黑麦草富集 Cu、Pb 含量的极显著影响。

表 3 单一胁迫下不同环境因子处理及其组合对黑麦草富集 Cu、Pb 含量影响的方差分析

Table 3 Variance analysis of the effects of different environmental factor treatments and their combinations on ryegrass enrichment under single stresses of Cu and Pb

因素 Factors	地上部 Cu 富集 Enrichment of Cu in shoots		根部 Cu 富集 Enrichment of Cu in roots		地上部 Pb 富集 Enrichment of Pb in shoots		根部 Pb 富集 Enrichment of Pb in roots	
	SS	P	SS	P	SS	P	SS	P
W	78072.406	<0.001	1027066.554	<0.001	62980.710	<0.001	179160.182	0.003
T	581659.679	<0.001	755257.018	<0.001	311883.772	<0.001	1198773.999	<0.001
F	927.874	0.859	212347.850	<0.001	65314.315	<0.001	282201.266	<0.001
W×T	153799.409	<0.001	681634.790	<0.001	296301.596	<0.001	189423.381	0.016
W×F	17735.453	0.229	546285.030	<0.001	80544.547	<0.001	213025.380	0.009
T×F	135674.761	<0.001	2918350.203	<0.001	83447.055	<0.001	885559.500	<0.001
W×T×F	39982.590	0.135	1731429.673	<0.001	248677.415	<0.001	281890.104	0.022

W:水分 Water;T:温度 Temperature;F:肥料 Fertilizer;W×T:水分与温度的交互作用 Interaction of water and temperature;W×F:水分与肥料的交互作用 Interaction of water and fertilizer;T×F:温度与肥料的交互作用 Interaction of temperature and fertilizer;W×T×F:水分、温度与肥料三者的交互作用 Interaction of water,temperature and fertilizer;SS:III 型平方和 Type III sum of squares

表 4 复合胁迫下不同环境因子处理及其组合对黑麦草富集 Cu、Pb 含量影响的方差分析

Table 4 Variance analysis of the effects of different environmental factor treatments and their combinations on ryegrass enrichment under compound stresses of Cu and Pb

因素 Factors	地上部 Cu 富集 Enrichment of Cu in shoots		根部 Cu 富集 Enrichment of Cu in roots		地上部 Pb 富集 Enrichment of Pb in shoots		根部 Pb 富集 Enrichment of Pb in roots	
	SS	P	SS	P	SS	P	SS	P
W	43374.914	0.001	96565.795	0.002	10027.145	<0.001	820023.161	<0.001
T	131832.414	<0.001	1526893.686	<0.001	340288.367	<0.001	17489.827	<0.001
F	6973.275	0.265	517471.459	<0.001	136249.252	<0.001	78594.123	<0.001
W×T	191944.858	<0.001	41457.825	0.205	70163.980	<0.001	844026.523	<0.001
W×F	136392.894	<0.001	547940.855	<0.001	96158.897	<0.001	405472.384	<0.001
T×F	247706.461	<0.001	992231.479	<0.001	149653.644	<0.001	40050.127	<0.001
W×T×F	60980.761	0.008	406560.734	<0.001	113460.614	<0.001	260839.849	<0.001

2.3 Cu、Pb 胁迫下环境因子交互对黑麦草 Cu、Pb 富集及转运系数的影响

由表 5 可以看出,在不同环境因子组合下,黑麦草的地上部和根部对 Cu 的富集系数有较大差异,基本体现为地上部 $BCF(Cu)<1$,根部 $BCF(Cu)>1$ 。分析 Cu 富集系数可知,在 25℃、施 NP 时,黑麦草地上部在 Cu 单一污染下富集能力较强,而在 Cu-Pb 复合污染时,地上部在相同温度施 NPK 时 $BCF(Cu)$ 最高;在 20℃ 及 30℃ 施 N、NP 条件下,复合污染处理在不同程度上提升了地上部 $BCF(Cu)$ 。在 90%WHC、25℃ 及施 NPK 时,黑麦草根在 Cu 单一污染下取得 $BCF(Cu)_{max}$,而在 Cu-Pb 复合污染时,根部在 20℃ 的相同水分和养分条件下富集系数最高;在不同温度和水分,施 NP、NPK 肥条件下,复合污染处理在不同程度上提升了根部 $BCF(Cu)$ 。

表5 Cu、Pb 单一及复合胁迫下不同环境因子组合时黑麦草对 Cu、Pb 的富集系数

Table 5 The BCF of *Lolium perenne* L. at (three levels of water, temperature, fertilizer) (different environmental factors) under single and compound stresses of Cu and Pb

处理 Treatment	Cu 单一污染 Single pollution of Cu		Cu-Pb 复合污染 Compound pollution of Cu and Pb		Pb 单一污染 Single pollution of Pb		Cu-Pb 复合污染 Compound pollution of Cu and Pb	
	地上部 Cu 富集系数	根部 Cu 富集系数	地上部 Cu 富集系数	根部 Cu 富集系数	地上部 Cu 富集系数	根部 Cu 富集系数	地上部 Cu 富集系数	根部 Cu 富集系数
T1	0.134±0.030	1.928±0.025	0.287±0.025	2.704±0.048	0.406±0.008	0.795±0.023	0.499±0.009	3.054±0.053
T2	0.151±0.004	2.193±0.017	0.451±0.043	1.721±0.013	0.381±0.005	0.750±0.004	0.754±0.003	2.173±0.011
T3	0.196±0.035	2.769±0.028	0.489±0.005	1.125±0.012	0.349±0.004	0.770±0.009	0.875±0.004	2.778±0.060
T4	0.172±0.017	1.483±0.053	0.309±0.012	3.226±0.024	0.377±0.003	0.797±0.008	0.507±0.030	2.010±0.098
T5	0.080±0.062	0.950±0.044	0.239±0.012	3.197±0.364	0.420±0.011	1.178±0.031	0.455±0.003	1.992±0.029
T6	0.084±0.010	1.218±0.059	0.412±0.004	2.906±0.103	0.432±0.011	1.050±0.024	0.579±0.016	3.039±0.065
T7	0.099±0.026	1.239±0.149	0.069±0.059	2.293±0.040	0.575±0.028	1.200±0.049	0.434±0.020	2.594±0.138
T8	0.085±0.015	0.887±0.090	0.211±0.048	3.450±0.099	0.500±0.003	1.586±0.023	0.569±0.001	2.626±0.017
T9	0.206±0.015	0.784±0.015	0.636±0.011	4.623±0.101	0.349±0.020	1.405±0.074	0.532±0.001	2.595±0.018
T10	0.289±0.019	0.819±0.033	0.106±0.037	2.887±0.088	0.593±0.010	1.757±0.029	0.719±0.001	2.320±0.080
T11	0.612±0.132	0.505±0.068	0.781±0.091	2.407±0.060	1.032±0.024	2.289±0.060	0.959±0.117	2.636±0.092
T12	0.751±0.026	1.179±0.056	0.195±0.025	2.587±0.597	0.400±0.008	1.720±0.034	1.581±0.071	4.075±0.049
T13	0.549±0.068	0.948±0.032	0.333±0.670	3.094±0.799	0.439±0.016	1.896±0.017	0.960±0.033	1.983±0.015
T14	1.022±0.737	0.931±0.009	1.085±0.196	2.453±0.625	0.489±0.018	1.656±0.019	0.894±0.029	2.238±0.037
T15	0.656±0.089	2.168±0.716	0.232±0.149	2.011±0.066	0.586±0.021	2.965±1.577	1.256±0.083	4.271±0.233
T16	0.198±0.016	1.073±0.027	2.126±0.994	1.961±0.781	1.103±0.041	1.906±0.066	0.910±0.176	2.421±0.092
T17	0.572±0.020	1.417±0.007	0.786±0.360	1.951±0.846	1.389±0.024	1.427±0.038	1.323±0.009	3.096±0.128
T18	0.650±0.433	3.609±0.013	0.704±0.066	3.071±1.435	0.358±0.007	1.523±0.032	1.283±0.011	5.104±0.144
T19	0.220±0.031	2.031±0.105	0.342±0.063	3.566±0.070	0.416±0.025	2.238±0.133	1.215±0.089	3.879±0.280
T20	0.327±0.024	0.749±0.083	0.908±0.001	2.523±0.111	1.073±0.016	2.666±0.118	1.730±0.053	3.657±0.188
T21	0.325±0.031	3.055±0.570	0.845±0.038	2.547±0.078	1.292±0.039	1.719±0.056	1.041±0.049	3.455±0.105
T22	0.277±0.006	2.771±0.092	0.376±0.033	3.433±0.208	0.792±0.029	1.767±0.052	0.840±0.002	2.868±0.082
T23	0.271±0.077	1.761±0.040	0.479±0.023	3.726±0.183	1.176±0.068	2.651±0.191	0.607±0.007	2.740±0.061
T24	0.449±0.068	2.055±0.048	0.575±0.005	4.089±0.159	0.698±0.004	2.346±0.007	0.456±0.018	2.432±0.071
T25	0.667±0.063	1.140±0.117	0.570±0.004	3.721±0.137	0.663±0.006	1.422±0.022	0.776±0.034	3.388±0.118
T26	0.593±0.127	2.378±0.127	0.324±0.010	3.010±0.188	0.756±0.065	1.288±0.110	0.638±0.008	3.323±0.036
T27	0.500±0.004	2.027±0.021	0.444±0.057	4.470±0.018	1.347±0.046	1.345±0.051	0.607±0.009	3.672±0.036
P(W)	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
P(T)	<0.001	<0.001	0.137	0.007	<0.001	0.008	<0.001	<0.001
P(F)	0.574	0.024	0.112	<0.001	<0.001	0.036	<0.001	<0.001
P(W×T)	<0.001	<0.001	<0.001	0.190	<0.001	0.008	<0.001	<0.001
P(W×F)	0.377	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.071	<0.001	<0.001
P(T×F)	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
P(W×T×F)	0.135	<0.001	0.031	<0.001	<0.001	0.004	<0.001	<0.001

在不同环境因子组合下,黑麦草的地上部和根部对 Pb 的富集系数高于 Cu,且在相对适宜的环境条件下,存在地上部 $BCF(Pb) > 1$ 。分析 Pb 富集系数可知,在 90% WHC、30℃ 及施 NPK 时,黑麦草地上部在 Pb 单一污染下富集系数最大,而在 Cu-Pb 复合污染时,地上部则在相同温度、80% WHC 及施 N 时具有最大值且高于单一污染时系数;在 20℃ 及 25℃ 施 N、NP 条件下,复合污染处理在不同程度上提升了地上部对 $BCF(Pb)$ 。在 90% WHC、25℃ 及施 NP 时,黑麦草根部分在 Pb 单一污染下取得 $BCF(Pb)_{max}$,而在 Cu-Pb 复合污染时,根部相同温度和水分,施 NPK 条件下富集系数最高;此外,复合污染处理均在不同程度上提升了根部 $BCF(Pb)$ 。

对水分、温度和肥料在铜铅胁迫下对黑麦草富集系数的影响进行单因素及多因素方差分析,结果显示:在 Cu 单一胁迫条件下,黑麦草的地上部 $BCF(Cu)$ 受到水分、温度、肥料以及水分与温度组合、温度与肥料组合交互作用的极显著影响 ($P < 0.01$),而根部 $BCF(Cu)$ 均受到 3 种环境因子及其二因素、三因素交互作用的显著 ($P < 0.05$) 或极显著影响;当受到 Cu-Pb 复合胁迫时,各因子及其多因素交互作用除温度、肥料因子对地上部

BCF(Cu),水分与温度组合对根部 BCF(Cu)无显著影响外,均对黑麦草地上部及根部 BCF(Cu)有显著或极显著影响。而黑麦草 BCF(Pb)除在单一胁迫时受水分与肥料互作不显著外,均受到各因子及其多因素交互作用的显著或极显著影响。

表 6 为黑麦草在不同环境条件及单一、复合污染处理下对 Cu、Pb 的转运系数。结果表明,仅在 90% WHC、30℃ 及施 NPK 时,黑麦草 TF(Pb)最大为 1.002>1,其余各环境因子组合下 TF(Pb)<1。在 20℃、施 N 肥各水分处理,施 NP 肥 90%WHC 水分处理,施 NPK 肥 70%WHC 水分处理及 25℃、施 NPK 肥 70、80%WHC 水分处理;30℃、施 N 肥 70、90%WHC 水分处理,施 NP 肥 70%WHC 水分处理共 10 组处理组合中,复合污染处理在不同程度上提高了黑麦草的 TF(Cu)。此外,复合胁迫也在 25℃、施 N 肥 90%WHC 水分处理,施 NP 肥各水分处理,施 NPK 肥 90%WHC 水分处理及 30℃、施 N 肥 70、80%WHC 水分处理共 7 组处理组合中提高了 TF(Pb),其余均表现为降低作用。

表 6 Cu、Pb 单一及复合胁迫下不同环境因子组合时黑麦草对 Cu、Pb 的转运系数

Table 6 The TF of *Lolium perenne* L. at (three levels of water, temperature, fertilizer) (different environmental factors) under single and compound stresses of Cu and Pb

处理 Treatment	Cu 转运系数 TF of Cu		Pb 转运系数 TF of Cu	
	Cu 单一污染	Cu-Pb 复合污染	Pb 单一污染	Cu-Pb 复合污染
T1	0.069±0.015	0.104±0.011	0.511±0.005	0.163±0.001
T2	0.068±0.001	0.265±0.027	0.508±0.004	0.347±0.003
T3	0.071±0.012	0.422±0.001	0.454±0.005	0.315±0.005
T4	0.116±0.015	0.093±0.005	0.474±0.003	0.252±0.002
T5	0.084±0.069	0.070±0.004	0.356±0.002	0.228±0.002
T6	0.068±0.005	0.135±0.004	0.412±0.005	0.191±0.001
T7	0.080±0.031	0.084±0.024	0.479±0.005	0.167±0.001
T8	0.096±0.026	0.061±0.015	0.315±0.005	0.217±0.001
T9	0.263±0.014	0.111±0.005	0.248±0.002	0.205±0.001
T10	0.353±0.038	0.039±0.014	0.337±0.002	0.310±0.010
T11	1.211±0.256	0.304±0.029	0.451±0.004	0.364±0.033
T12	0.637±0.190	0.074±0.040	0.233±0.001	0.388±0.013
T13	0.579±0.051	0.099±0.382	0.232±0.007	0.484±0.013
T14	1.098±0.835	0.449±0.054	0.296±0.012	0.400±0.019
T15	0.303±0.149	0.116±0.081	0.198±1.062	0.294±0.004
T16	0.185±0.010	1.180±0.646	0.579±0.030	0.376±0.092
T17	0.403±0.016	0.411±0.004	0.973±0.011	0.427±0.016
T18	0.180±0.126	0.232±0.078	0.235±0.001	0.251±0.010
T19	0.109±0.009	0.142±0.021	0.186±0.001	0.313±0.001
T20	0.436±0.080	0.358±0.014	0.402±0.019	0.473±0.011
T21	0.107±0.034	0.363±0.004	0.751±0.003	0.301±0.005
T22	0.100±0.005	0.128±0.002	0.448±0.004	0.293±0.009
T23	0.154±0.041	0.136±0.001	0.444±0.007	0.222±0.002
T24	0.218±0.029	0.147±0.005	0.518±0.002	0.187±0.002
T25	0.585±0.004	0.155±0.007	0.445±0.006	0.229±0.002
T26	0.249±0.067	0.108±0.009	0.587±0.003	0.192±0.001
T27	0.247±0.001	0.103±0.013	1.002±0.008	0.162±0.001
P(W)	<0.001	<0.001	0.121	<0.001
P(T)	<0.001	0.186	0.153	<0.001
P(F)	0.048	0.283	0.098	<0.001
P(W×T)	<0.001	<0.001	0.002	<0.001
P(W×F)	<0.001	<0.001	0.169	<0.001
P(T×F)	<0.001	<0.001	0.034	<0.001
P(W×T×F)	0.001	0.362	0.001	<0.001

通过三种环境因子单因素及多因素方差分析结果可知:在单一 Cu 胁迫下,黑麦草 TF(Cu)受到肥料的显著影响($P<0.05$),水分、温度以及各二因素、三因素交互作用的极显著影响($P<0.01$),而在复合胁迫下,TF(Cu)仅表现出受水分及三因素两两组合间交互作用的极显著影响。在单一 Pb 胁迫下,水分、温度及肥料对黑麦草 TF(Pb)无显著作用,而水分与温度组合、温度与肥料组合及三因素交互作用对其 TF(Pb)的变化起到显著或极显著的作用;在复合 Cu-Pb 胁迫条件下,黑麦草 TF(Pb)受到各环境因子及其交互作用的极显著影响。

3 讨论

黑麦草作为新型修复型牧草,对重金属镉、铜、铅、锌均有一定的富集能力。黑麦草对 Cu、Pb 的富集性能也已经开展了多方面的研究。如刘大林等^[18]、陈鸣晖等^[19]探究了黑麦草的不同品种及植株的不同部位对 Cu 耐受能力的影响。刘明美等^[20]研究发现,不同的 Pb²⁺处理浓度对黑麦草种子萌发和幼苗生长的作用不同,表现为低浓度促进,高浓度抑制(以 800 mg/kg 为界),且对根的抑制作用强于芽。胡伟等^[21]研究表明,黑麦草在 Pb 胁迫土壤中的生长促进了残渣态铅向可氧化态及可还原态铅的转化,使铅由沉淀状态不断转变为可溶态。可以发现,黑麦草对 Cu、Pb 的富集能力将受到植物品种、生育期、吸收部位以及重金属化合物形态等多种因素的影响,具有一定的波动范围;同时,本试验结果表明,复合重金属胁迫条件也能对黑麦草对单一 Cu、Pb 的富集与转移产生影响,这可能与 Cu、Pb 两者之间所具有的交互作用有关。除此之外,还可通过控制适宜的环境要素使植物在给定条件下将其富集性能发挥至最大限度。而多种环境因子进行交互作用正是植物生长过程中所存在的实际现象。因此,在充分研究单因子作用的基础上再进一步探究各个因子之间的作用具有意义。

水分不仅是植物新陈代谢的溶剂,运输营养物质的载体,还能通过影响土壤 pH、Eh、有机质和碳酸钙含量等土壤化学特性^[22],间接引起重金属在土壤中分配及迁移的改变,并进一步影响植物生物量及重金属含量^[23-25]。Angle 等^[25]研究得到,遏蓝菜等超富集植物叶片中的重金属含量在土壤 80%或 100%WHC 下会得到提高。而对于伴矿景天来说,茎叶 Cd 富集量随土壤水分的增大先升高后降低,并在 70%WHC 时取得最大值^[23]。本试验中,黑麦草在 80%或 90%WHC 下易取得较大 Cu、Pb 富集量,同时主要在 90%WHC 时具有较高生物量。这表明不同的植物具有不同的最适水分含量,对其进行针对性探究有利于在实际应用中合理提供水分供给。

肥料作为植物营养元素补充的主要来源,在植物生长与生物量积累过程中起到重要作用,但与此同时也将不可避免地引入一些毒害成分,对土壤和植物中的重金属富集造成影响^[26-27]。常见的化肥包括氮、磷、钾肥。黑麦草一年可刈割多次,养分管理粗放,通常施用氮肥。相关研究表明,磷肥、钾肥同样能促进黑麦草对养分的吸收,增加生物量积累^[28],且增产效果为 $N>P>K$ ^[17],这可能从植物生长角度影响植物的修复效率。而王美和李书田^[29]对施肥影响重金属累积研究进展进行了大量相关文献的系统分析后,总结配施氮、磷、钾肥后土壤各金属含量在一定范围内波动,无明显升降规律,这与本试验中对养分的研究结果相类似,认为肥料中的养分不是影响黑麦草富集能力的主要单因子,如肥料对黑麦草地上部的 Cu 富集量无显著影响。但也要意识到,植物对不同形态重金属的吸收利用不同,其中可交换态的利用程度最大^[30]。一些研究认为,氮、钾肥对土壤重金属累积的影响不大,而磷肥可与重金属形成多种形态的难溶性磷酸盐,降低土壤的污染程度^[31];但也有研究表明,磷肥是造成研究所开展的试验区内土壤 Cd、Pb 等重金属富集的主要原因^[32]。因此,有关各种肥料及施肥方式与土壤重金属含量之间的关系还有待进一步研究。

此外,温度对植物生长和重金属转运的影响也不可忽视,不仅能通过植物酶促反应、蒸腾作用等各项生理活动直接影响植物生长发育过程^[13],也将引起土壤重金属存在形态的改变。研究发现,高温下黑麦草的生长速率减慢,但植物体内游离脯氨酸等渗透调节物质显著增加,表现出一定的抵抗逆境能力;低温下相应指标则得到一定积累^[33]。本试验反映出黑麦草在几个相近普适温度下的富集能力差异,未进行极端高温和低温的

温度设置。但可以发现,黑麦草在 25℃ 或 30℃ 下对 Cu、Pb 的总体修复性能较强,20℃ 不利于黑麦草的生长与金属富集。

综合分析黑麦草不同部位的生长与富集情况,认为在 Cu 单一污染下,选择 90% WHC、施 NPK,30℃ 及 25℃ 因子组合;在 Pb 单一污染下,选择 90% WHC、施 N 或 NPK,30℃ 因子组合;受 Cu-Pb 复合污染时,黑麦草的生长受到抑制作用,在 90% WHC、30℃ 及施 NPK 时对 Cu、Pb 的综合修复作用较佳。黑麦草对 Cu、Pb 的富集及转运系数表明,黑麦草对 Cu、Pb 具有一定的富集能力,并会随着水分、温度、肥料等环境因子的改变而发生变化,但对 Cu、Pb 的转运能力较弱。方差分析结果显示,在水分、温度、肥料三者中,水分和温度对黑麦草 Cu、Pb 富集能力具有显著影响,且三因子之间存在二因素及三因素的交互作用。其中在 Cu、Pb 单一污染胁迫下,受到其二因素交互的显著影响;在单一及复合污染中,均在不同程度上受到三因素交互作用的显著影响。

水分、温度和肥料是植物生长过程中的重要环境因子,在重金属污染土壤条件下,它们自身以及组合所引起的变化均会直接影响黑麦草的生长发育。相关研究表明,水分肥料互作能显著影响植物对水分的利用率及产量^[34],其机理主要是通过促进植物的根系发育^[35]。温度与土壤温度、湿度分别呈正相关、负相关关系,根系的土壤温度影响植株对水分的吸收。肖自添等^[36]研究表明,植株根系的吸收养分和水分能力将在低温环境下随温度的降低而下降,此时增加施肥量会对植株造成盐胁迫。对于黑麦草富集能力的影响,通过总结前人研究成果及本试验结果,认为可能通过:(1)对黑麦草生长发育过程的影响间接影响富集能力。修复植物的生物量是衡量其富集性能的重要指标。各环境因子间存在相互影响制约的关系,温度影响水分,水分通过影响植株体内物质的转运及根系的生长,而影响整体生长情况^[37]。根系吸收水分和养分,通过光合作用产生物质积累,促进植株各器官转化^[38]。因此适宜的水肥及温度组合将促进植株的生长,促进生物量累积;而过高或过低的水肥及温度组合反而会导致相应指标的下降,不利于植株的正常生长。(2)对黑麦草富集能力的直接影响。在本试验研究条件下,几种环境因子之间存在的二因素及三因素交互作用,对土壤 pH、粘结性等具有一定影响,从而使 Cu、Pb 在土壤中的存在形态发生变化,这可能引起了黑麦草 Cu、Pb 富集性能的变化;此外,黑麦草体内脯氨酸、可溶性糖蛋白以及丙二醛等抗性物质的含量对于水分、温度及肥料交互作用的响应,也将反映于黑麦草对 Cu、Pb 富集性能的改变中。目前环境因子及其交互对于黑麦草生长的影响已进行了较多研究,但关于其对黑麦草在污染土地中的生长与富集的影响的文献论述仍较少,对于黑麦草在其他不同重金属及浓度土壤中,三因子交互对其生长与富集能力的作用还需进一步研究总结。

参考文献 (References):

- [1] Marques A P G C, Rangel A O S S, Castro P M L. Remediation of heavy metal contaminated soils: an overview of site remediation techniques. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2011, 41(10): 879-914.
- [2] 任安芝, 高玉葆. 铅、镉、铬单一和复合污染对青菜种子萌发的生物学效应. *生态学杂志*, 2000, 19(1): 19-22.
- [3] Brun L A, Maillet J, Hinsinger P, Pépin M. Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environmental Pollution*, 2001, 111(2): 293-302.
- [4] Shahid M, Dumat C, Khalid S, Niazi N K, Antunes P M C. Cadmium bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system// Gunther F A, de Voogt P, eds. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 241*. Cham: Springer, 2016: 73-137.
- [5] Muyumba D K, Liénard A, Mahy G, Luhembwe M N, Colinet G. Characterization of soil-plant systems in the hills of the copper belt in Katanga. A review. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 2015, 19(2): 204-214.
- [6] 倪中应, 石一珺, 谢国雄, 章明奎. 杭州市典型农田土壤镉铜铅汞的化学形态及其污染风险评价. *浙江农业科学*, 2017, 58(10): 1785-1788.
- [7] 杨清伟, 束文圣, 林周, 林里, 邹慧玲, 蓝崇钰. 铅锌矿废水重金属对土壤-水稻的复合污染及生态影响评价. *农业环境科学学报*, 2003, 22(4): 385-390.
- [8] 马铁铮, 马友华, 徐露露, 付欢欢, 聂静茹. 农田土壤重金属污染的农业生态修复技术. *农业资源与环境学报*, 2013, 30(5): 39-43.
- [9] 张永兰, 王友保. 多年生黑麦草对覆土作用下铜尾矿的修复. *草业科学*, 2019, 36(1): 3-10.
- [10] 宣斌, 张凌云, 王济, 蔡雄飞, 李珊珊. 土壤 Pb 污染修复植物的耐性及累积特性比较. *福建农业学报*, 2018, 33(7): 732-738.

- [11] Sas-Nowosielska A, Kucharski R, Malkowski E. Feasibility studies for phytoremediation of metal-contaminated soil//Margesin R, Schinner F, eds. Monitoring and Assessing Soil Bioremediation. Berlin, Heidelberg: Springer, 2005: 161-177.
- [12] 唐明灯, 艾绍英, 王艳红, 杜瑞英, 李盟军, 杨少海, 余丹妮, 罗英健. 土壤持水量对生菜生长和镉浓度的影响. 土壤学报, 2012, 49(6): 1158-1163.
- [13] Michaletz S T, Cheng D L, Kerkhoff A J, Enquist B J. Convergence of terrestrial plant production across global climate gradients. Nature, 2014, 512(7512): 39-43.
- [14] Mahan J R, McMichael B L, Wanjura D F. Methods for reducing the adverse effects of temperature stress on plants: a review. Environmental and Experimental Botany, 1995, 35(3): 251-258.
- [15] Chao Y Y, Hsu Y T, Kao C H. Involvement of glutathione in heat shock- and hydrogen peroxide- induced cadmium tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. Plant and Soil, 2009, 318(1/2): 37-45.
- [16] 刘锦春, 钟章成, 何跃军. 干旱胁迫及复水对喀斯特地区柏木幼苗活性氧清除系统的影响. 应用生态学报, 2011, 22(11): 2836-2840.
- [17] 占丽平, 鲁剑巍, 杨娟, 李文西, 李小坤, 刘晓伟. 施肥对黑麦草生长和产量的影响. 草业科学, 2011, 28(2): 260-265.
- [18] 刘大林, 曹喜春, 张华, 胡楷崎, 马晶晶. 土壤 Cu^{2+} 胁迫对多花黑麦草部分生理指标的影响. 草地学报, 2014, 22(2): 319-325.
- [19] 陈鸣晖, 刘大林, 张卫红, 马晶晶, 赵国琦. 铜污染土壤中不同多年生黑麦草品种富集效应的评价. 草原与草坪, 2017, 37(6): 78-83.
- [20] 刘明美, 李建农, 沈益新. Pb^{2+} 污染对多花黑麦草种子萌发及幼苗生长的影响. 草业科学, 2007, 24(1): 52-54.
- [21] 胡伟, 秦端端, 李玉和, 房瑜静, 王小治, 封克. 添加保水剂和栽种黑麦草对土壤不同形态铅转化的影响. 农业环境科学学报, 2017, 36(9): 1771-1777.
- [22] Vanden Berg G A, Loch J P G. Decalcification of soils subject to periodic waterlogging. European Journal of Soil Science, 2000, 51(1): 27-33.
- [23] 崔立强, 吴龙华, 李娜, 李思亮, 李恋卿, 潘根兴, 骆永明. 水分特征对伴矿景天生长和重金属吸收性的影响. 土壤, 2009, 41(4): 572-576.
- [24] 张丽娜, 宗良纲, 付世景, 沈振国. 水分管理方式对水稻在 Cd 污染土壤上生长及其吸收 Cd 的影响. 安全与环境学报, 2006, 6(5): 49-52.
- [25] Angle J S, Baker A J M, Whiting S N, Chaney R L. Soil moisture effects on uptake of metals by *Thlaspi*, *Alyssum*, and *Berkheya*. Plant and Soil, 2003, 256(2): 325-332.
- [26] Jiao W T, Chen W P, Chang A C, Page A L. Environmental risks of trace elements associated with long-term phosphate fertilizers applications: a review. Environmental Pollution, 2012, 168: 44-53.
- [27] Upreti D, Hejerman M, Száková J, Kunzová E, Tlustoš P. Concentration of trace elements in arable soil after long-term application of organic and inorganic fertilizers. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2009, 85(3): 241-252.
- [28] 杨曾平, 聂军, 廖育林, 周兴, 谢坚, 鲁艳红, 纪雄辉, 吴家梅, 谢运河. 不同施肥量对稻田一年生黑麦草产量及氮磷钾吸收的影响. 中国农学通报, 2015, 31(30): 173-180.
- [29] 王美, 李书田. 肥料重金属含量状况及施肥对土壤和作物重金属富集的影响. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(2): 466-480.
- [30] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M X. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. Analytical Chemistry, 1979, 51(7): 844-851.
- [31] 岳平. 添加化学改良剂对海南岛砖红壤中铅的化学形态与转化的影响. 农业环境科学学报, 2008, 27(5): 1791-1795.
- [32] 陈芳, 董元华, 安琼, 钦绳武. 长期肥料定位试验条件下土壤中重金属的含量变化. 土壤, 2005, 37(3): 308-311.
- [33] 马博英. 多年生黑麦草的逆境生理研究进展. 生物学杂志, 2010, 27(2): 58-61.
- [34] 李邵, 薛绪掌, 郭文善, 张伟娟, 陈菲. 水肥耦合对温室盆栽黄瓜产量与水分利用效率的影响. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(2): 376-381.
- [35] 李生秀, 李世清, 高亚军, 王喜庆, 贺海香, 杜建军. 施用氮肥对提高旱地作物利用土壤水分的作用机理和效果. 干旱地区农业研究, 1994, 12(1): 38-46.
- [36] 肖自添, 蒋卫杰, 余宏军. 作物水肥耦合效应研究进展. 作物杂志, 2007, (6): 18-22.
- [37] 王凤仙, 李韵珠. 土壤水分利用效率与氮素水平的关系//石元春, 刘昌明, 龚元石. 节水农业应用基础研究进展. 北京: 中国农业出版社, 1995: 124-130.
- [38] 吴立峰, 张富仓, 范军亮, 周罕冕, 梁飞, 高志建. 水肥耦合对棉花产量、收益及水分利用效率的效应. 农业机械学报, 2015, 46(12): 164-172.