

王俊力, 陈桂发, 刘福兴, 等. 臭氧氧化猪场处理尾水对苦草(*Vallisneria spiralis*)抗氧化系统的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(12): 2299-2305.

WANG Jun-li, CHEN Gui-fa, LIU Fu-xing, et al. Effects of ozonation of piggery tail water on the antioxidant system in *Vallisneria spiralis*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(12): 2299-2305.

臭氧氧化猪场处理尾水对苦草(*Vallisneria spiralis*) 抗氧化系统的影响

王俊力, 陈桂发, 刘福兴*, 宋祥甫, 邹国燕

(上海市农业科学院, 上海 201403)

摘要:为了探索臭氧氧化技术应用于畜禽养殖废水排放前的预处理对环境可持续发展的影响,用不同浓度臭氧氧化处理经生化工艺处理后的猪场尾水,以苦草为试验材料,从活性氧代谢和抗氧化系统的角度,探讨了沉水植物在臭氧氧化猪场处理尾水中的适应性以及臭氧氧化技术的应用对水生植物的影响。结果表明:与未经臭氧氧化处理相比,臭氧氧化后(AO1 10 mg·L⁻¹、AO2 30 mg·L⁻¹、AO3 50 mg·L⁻¹)猪场处理尾水中苦草的过氧化氢(H₂O₂)含量有升高趋势;AO2处理中苦草的抗坏血酸(AsA)-谷胱甘肽(GSH)循环对H₂O₂调节起重要作用,苦草的抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性、AsA和GSH含量增加,从而使生物量增加;AO3处理中苦草AsA含量降低,H₂O₂与抗氧化物质之间没有达到平衡,从而使生物量降低。结果显示,试验条件下,30 mg·L⁻¹的臭氧氧化应用于猪场处理尾水,能增强沉水植物的抗氧化系统,促进生长,从而对水生生态系统有调节作用。

关键词:臭氧氧化;猪场尾水;沉水植物;苦草;抗氧化系统

中图分类号:X713 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2016)12-2299-07 doi:10.11654/jaes.2016-0743

Effects of ozonation of piggery tail water on the antioxidant system in *Vallisneria spiralis*

WANG Jun-li, CHEN Gui-fa, LIU Fu-xing*, SONG Xiang-fu, ZOU Guo-yan

(Shanghai Academy of Agricultural Science, Shanghai 201403, China)

Abstract: Ozonation is becoming more prevalent as a pretreatment in the dispose of livestock wastewater, there are growing concerns on the effects of ozonation technology on sustainable development of environment. In this research, after the piggery tail water from biological pond system was further treated by ozonation, the effects of ozonized piggery tail water on the health of aquatic ecosystems were investigated in the terms of reactive oxygen species and antioxidant system of *Vallisneria spiralis*. The results showed that compared with the un-ozonized tail water, ozonation(AO1 10 mg·L⁻¹, AO2 30 mg·L⁻¹, AO3 50 mg·L⁻¹) increased hydrogen peroxide(H₂O₂) content in *Vallisneria spiralis*. AO2 treatment increased ascorbate peroxidase(APX) activity, ascorbic acid(AsA) and glutathione(GSH) content and the biomass, indicating the important role of AsA-GSH cycle in regulating H₂O₂ levels. However, AO3 treatment decreased AsA content, broke the balance between H₂O₂ and antioxidants and resulted in the decreased biomass of *Vallisneria spiralis*. Our results suggested that, 30 mg·L⁻¹ is the optimum ozone concentration to treat piggery tail water, by which it could promote the antioxidant system and growth of submerged macrophytes, and very helpful for the maintenance of healthy aquatic ecosystem.

Keywords: ozonation; piggery tail water; submerged macrophytes; *Vallisneria spiralis*; antioxidant system

收稿日期:2016-05-31

基金项目:国家水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07101-004)

作者简介:王俊力(1985—),女,辽宁丹东人,博士,从事植物生理生态研究。E-mail:jlwang2014@yeah.net

*通信作者:刘福兴 E-mail:liufuxing@126.com

我国是世界上畜牧业资源丰富和历史悠久的国家之一^[1]。近年来,我国规模化畜禽养殖业迅速发展,随之产生的废物量快速增加^[2-3]。猪场废水排放量大,传统的生化方法虽然能使猪场废水达到我国现行畜禽养殖业的排放标准,但已远远达不到环境可持续发展的要求,这使人们越来越关注畜禽养殖废水的深度处理方法。

臭氧氧化可以用于地表水、地下水以及生活和工业废水的处理和净化^[4-6],臭氧氧化技术在畜禽养殖废水方面的应用近几年也逐渐被重视^[3,7-9]。研究表明,臭氧氧化能去除猪场废水的不良气味、颜色 and 无机营养盐,提高透光率和藻类生物量等^[8-9],还能降低抗生素耐药菌的生物活性^[10]并使残留细菌引起的微藻小球藻生长量下降^[7]。然而,目前国内外对臭氧氧化水处理技术的研究多注重水质的改善,但水处理技术应用的最终目的应该是恢复水体的生态功能^[11],提高水体的自净能力,因而水处理技术应用后水体的排放对水生生态系统中生物组分的影响研究尤为重要。

臭氧氧化后的猪场废水中依然存在一些残留微生物^[7],而且使水体中的溶解氧(DO)^[12]、有机物和无机物含量发生变化^[9],造成水体环境的改变。由于环境变化会刺激植物体内产生各种类型的活性氧(ROS),如果抗氧化系统抵御不了ROS的积累,就会使植物受到伤害,那么了解植物的抗氧化代谢特征可能有助于对水处理技术后续影响的研究^[13]。水生植物尤其沉水植物在生态系统中具有不可替代的地位和作用,是水质评估和后续风险评价的指示生物^[14]。从沉水植物生理水平上探求水环境对植物的影响更能准确地反映植物体的代谢水平和对环境的响应。对沉水植物生理影响的研究,目前多见水体富营养化或重金属胁迫的报道^[15-16],而臭氧氧化技术的后续影响研究还未见报道,所以用沉水植物抗氧化系统的响应来研究畜禽养殖废水经臭氧氧化处理后对水生植物的影响具有重要意义。

苦草是一种多年生沉水克隆植物,广泛分布于我国的各种淡水栖息地^[17],具有良好的实验特性^[18]。本研究以苦草为材料,从其活性氧代谢和抗氧化系统的角度出发,研究经臭氧氧化深度处理后的猪场尾水对苦草生长的影响,探讨苦草在猪场处理尾水中的适应性和臭氧氧化技术应用于畜禽养殖废水对水生生态系统的影响,为臭氧氧化技术在环境可持续发展方面的应用研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验地点与材料

本试验在上海市农业科学院庄行综合试验基地(121°23'E、30°53'N)进行。水样采集于上海市农业科学院畜牧试验场猪场的排放水池。该场以养殖生猪为主,占地面积 3.33 hm²,年出栏数 3000 余头。猪场废水主要包括尿、粪和猪舍冲洗水。日产废水量约 5 t,排放间隔时间为 7 d。猪场废水经生化处理后到达排放水池。本试验于 2015 年 9—10 月进行,每隔 7 d 在排放水池中采水 1 次,共采集 4 次,采样后尽快进行臭氧氧化处理。

臭氧氧化装置由臭氧发生器(WG-S10,上海威固)、臭氧浓度检测仪(IDEAL-2000,美国)、不锈钢增压泵(JETB-0.37)、文丘里射流器(A25152)和气液反应器(不锈钢材质,D 50 cm,H 90 cm)组成。通过臭氧发生器制备臭氧,调节臭氧流量为 2.5 L·min⁻¹,由臭氧检测仪在线检测臭氧浓度,每次处理的水量固定,设置 3 个臭氧投加浓度,分别约为 10、30、50 mg·L⁻¹,反应时间为 30 min,处理时的猪场尾水温度约为 20 ℃。处理后的水在通风环境中放置 24 h,保证无剩余臭氧,然后用于苦草试验。

苦草(*Vallisneria spiralis*,常绿品种,购自上海海洋大学)的培育过程在普通池塘中完成,采集长势和生长量相对一致的幼苗(长度 40±5 cm)在圆锥形塑料桶(上口直径 40 cm,下口直径 32 cm,高 56 cm)中进行前培育,桶中底泥(采自附近河道)高约 15 cm,每个塑料桶中种植苦草 7 簇,每簇 2 株,并放入池塘水至淹没叶片止,每个塑料桶下方 20 cm 处装有排水口。待植物苗进入正常的生长阶段并有外扩能力后,分别加入未处理和不同臭氧浓度处理的水样,之后每 7 d 换一次水,在换水之前采集水样和植物样(苦草叶片),进行生理生化指标测定,共采集 4 次。

本试验设 4 个处理,包括 3 个不同浓度臭氧氧化处理和 1 个对照,即:BO(Before O₃,对照,未经处理的猪场处理尾水)、A01(After O₃,臭氧投加浓度为 10 mg·L⁻¹)、A02(After O₃,臭氧投加浓度为 30 mg·L⁻¹)、A03(After O₃,臭氧投加浓度为 50 mg·L⁻¹),分别用于苦草培养,每个处理设 3 个重复。

加入苦草中的处理水和试验后水质情况见表 1。

1.2 测定指标与方法

超氧阴离子(O₂^{·-})产生速率采用羟胺法测定^[19];过氧化氢(H₂O₂)含量采用分光光度计法测定^[20];丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸比色法,消

表 1 加入苦草中和苦草试验后水质情况
Table 1 Water quality before and after *Vallisneria spiralis* test

指标 Parameters	B0		A01		A02		A03	
	加入苦草前 Before	苦草生长后 After	加入苦草前 Before	苦草生长后 After	加入苦草前 Before	苦草生长后 After	加入苦草前 Before	苦草生长后 After
pH	8.34±0.19	8.31±0.21	8.56±0.19	8.29±0.24	8.49±0.25	8.47±0.22	8.29±0.24	8.13±0.24
EC/μS·cm ⁻¹	774±178	936±302	772±174	947±318	770±178	943±313	770±181	969±333
DO/mg·L ⁻¹	3.0±0.9	2.4±0.2	10.9±0.5	2.4±0.3	7.0±0.3	2.5±0.3	12.4±1.6	2.5±0.4
TN/mg·L ⁻¹	10.80±1.97	8.25±1.99	10.94±1.96	7.06±1.67	10.55±2.05	7.35±1.97	10.88±2.22	7.01±1.99
TP/mg·L ⁻¹	1.267±0.277	0.412±0.226	1.302±0.268	0.285±0.210	1.432±0.236	0.292±0.229	1.168±0.186	0.273±0.199
DOC/mg·L ⁻¹	31.3±4.4	32.4±3.7	30.0±3.7	29.6±3.8	29.9±4.3	26.8±4.1	30.4±3.9	27.9±3.7

注:表中数值为 4 次采样的平均值。

光系数为 0.155 μmol·L⁻¹·cm⁻¹[21]。

超氧化物歧化酶(SOD, EC 1.15.1.1)活性采用四唑氮蓝(NBT)光氧化还原法测定,以每分钟每克植物组织(鲜重)的反应体系对 NBT 光化还原抑制 50% 为一个 SOD 活性单位(U)。过氧化氢酶(CAT, EC 1.11.1.6)活性采用紫外吸收法测定,以 1 min 内 A₂₄₀ 减少 0.1 的酶量为一个酶活单位(U)。过氧化物酶(POD, EC 1.11.1.7)活性采用愈创木酚法测定,将每分钟 1 个单位的吸光度变化定义为一个 POD 活性单位(U)[20]。抗坏血酸过氧化物酶(APX, EC 1.11.1.11)活性采用紫外分光光度计测定,消光系数为 2.8 mmol·L⁻¹·cm⁻¹[22]。酶活性(比活)以可溶性蛋白为基础来表示。可溶性蛋白含量根据 Bradford[23]的方法检测,以牛血清白蛋白(BSA)为标准。抗坏血酸(AsA)含量参照邹琦[24]的方法测定。谷胱甘肽(GSH)含量参照 Griffith[25]的方法测定。

1.3 数据统计与分析

采用 SPSS 13.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)软件进行统计分析, Sigmaplot 12.0 软件完成制图工作。

2 结果与分析

2.1 臭氧氧化猪场处理尾水对苦草生物量的影响

第 4 次采样时,以每个处理 3 簇统计了苦草叶片干重,4 个处理生物量分别为 B0 1.63 gDW、A01 1.83 gDW、A02 2.44 gDW、A03 1.15 gDW。从图 1 可以看出,A01、A02 与 B0 相比,苦草长势良好,生物量分别增加了 12.3%和 49.7%,A03 的苦草长势最弱,生物量与 B0 相比降低了 29.4%。

2.2 臭氧氧化猪场处理尾水对苦草活性氧含量的影响

臭氧氧化猪场处理尾水对苦草 O₂·和 H₂O₂ 的影响如图 2 所示。与 B0 相比,A02 处理的苦草 O₂·含



图 1 苦草形态照片(每处理 3 簇)
Figure 1 The morphology of *Vallisneriaspiralis*

量有降低趋势,但并未达到显著水平(P>0.05);在第 1 次采样时,A01 处理的苦草 O₂·含量有升高趋势,并与 A02 处理之间达差异显著水平(P<0.05,图 2A)。与 B0 相比,臭氧氧化处理有增加苦草 H₂O₂ 含量的趋势,并在第 1 次采样中,A03 处理与 B0 处理之间达差异显著水平(P<0.05,图 2B)。臭氧氧化猪场尾水处理对苦草 O₂·(P=0.010)和 H₂O₂(P=0.017)含量都有显著影响(表 2)。

2.3 臭氧氧化猪场处理尾水对苦草抗氧化酶防御系统的影响

如图 3A 所示,第 1 次采样中,与 B0 相比,A01 和 A02 处理中的苦草 SOD 活性有升高趋势,但未达到显著水平(P>0.05);在之后的采样中,臭氧氧化处理有降低苦草 SOD 活性的趋势,A02 处理中的苦草 SOD 活性在第 2 次采样中明显降低,与 B0 之间达到差异显著水平(P<0.05)。与 B0 相比,臭氧氧化处理中的苦草 CAT 活性在第 1 次采样中有降低趋势,并且 A03 与 B0 之间达差异显著水平(图 3B);而在之后的采样中,臭氧氧化处理的苦草 CAT 活性与 B0 相比有增加趋势,并且 A03 处理与 B0 之间都达到显著差异水平(P<0.05)。

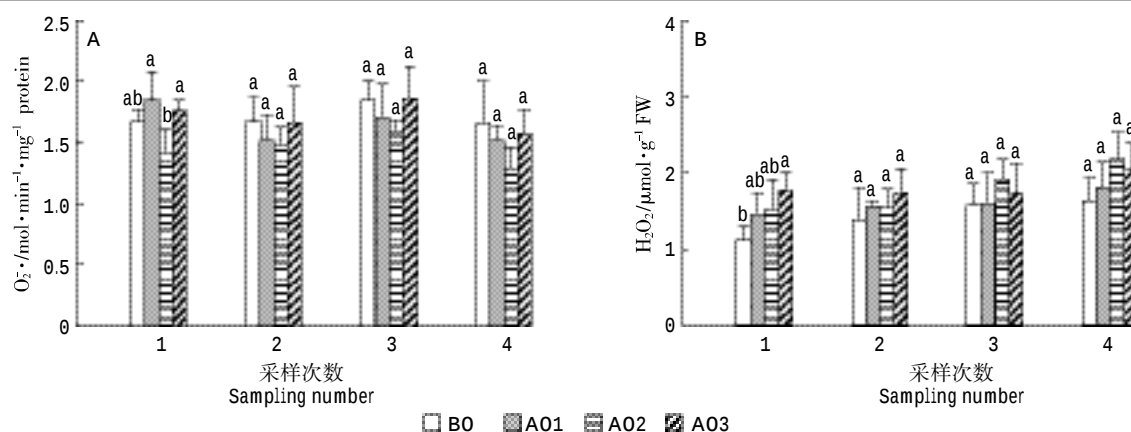


图2 臭氧氧化猪场处理尾水对苦草活性氧含量的影响

Figure 2 Superoxide ($O_2\cdot^-$, A) production and hydrogen peroxide (H_2O_2 , B) content in *Vallisneria spiralis* under piggery tail water of ozonation in four sampling numbers

表2 采样批次、臭氧氧化处理以及交互作用对苦草生理指标影响的显著性分析

Table 2 P-values for the effects of sampling number, ozonation treatment and their interaction on physiological parameters in *Vallisneria spiralis*

指标 Parameters	P 值 P-values		
	批次 Number	处理 Treatment	批次×处理 Number×Treatment
$O_2\cdot^-$	0.035	0.010	ns
H_2O_2	0.008	0.017	ns
SOD	0.050	ns	ns
CAT	0.004	0.007	0.001
POD	<0.001	0.022	ns
APX	ns	0.003	ns
AsA	ns	0.001	0.007
GSH	0.013	0.017	ns

注: $P>0.05$ 以 ns 表示。

Note: Values of $P>0.05$ are marked non-significant (ns).

结合4次采样来看(图3C),与BO相比,臭氧氧化处理有降低苦草POD活性的趋势,且在第2次采样中,A02处理的苦草POD活性与BO之间差异显著($P<0.05$);第3次采样中,A03处理与A01处理相比POD活性降低明显($P<0.05$)。臭氧氧化处理有增加苦草APX活性的趋势(图3D),且A02处理增加相对明显,与BO之间在第3次采样中达差异显著水平($P<0.05$)。臭氧氧化猪场尾水处理对苦草CAT($P=0.007$)、POD($P=0.022$)和APX($P=0.003$)活性有显著影响(表2)。

2.4 臭氧氧化猪场处理尾水对苦草抗氧化物质的影响
处理之间苦草AsA的变化趋势在4次采样中不

尽相同(图4A),与BO相比,臭氧氧化处理在第1和第2次采样中有增加苦草AsA含量的趋势,且在第1次采样中,A03处理增加相对明显($P<0.05$),第2次采样中,A02处理增加相对明显($P<0.05$);在第3和第4次采样中,A02处理中苦草AsA含量有增加趋势,而A01和A03处理中苦草AsA含量降低,A02处理(升高)与A03处理(降低)之间差异显著($P<0.05$)。

除第4次采样外,与BO相比,臭氧氧化处理有增加苦草GSH含量的趋势。在第1次采样中,A01和A02处理与BO之间达差异显著水平($P<0.05$);在第3次采样中,A02和A03处理与BO相比增加明显($P<0.05$)。从4次采样样品平均值来看,A02处理的苦草AsA和GSH含量与BO处理相比增加明显,平均分别增加33.3%和14.9%。臭氧氧化猪场尾水处理对苦草AsA($P=0.001$)和GSH($P=0.017$)含量都有显著影响(表2)。

3 讨论

活性氧(ROS)是植物体内正常代谢的产物。在适宜的浓度下,ROS被认为是信号转导级联反应中的第二信使,调节细胞内的几种植物响应,包括气孔关闭、程序性细胞死亡及对生物或非生物胁迫的耐性等^[26]。高浓度的ROS会对植物产生伤害,使植物过早衰老,而ROS信号的强度、寿命和大小取决于氧化剂的产生和被抗氧化剂清除之间的平衡^[3]。 $O_2\cdot^-$ 是最重要的氧自由基,也是其他ROS的前体物。本试验结果表明,臭氧氧化猪场尾水处理并没有使苦草产生 $O_2\cdot^-$ 积累(图2A),且A02处理中苦草 $O_2\cdot^-$ 含量在4个处理中最低,说明苦草较为适应A02的环境。相对于 H_2O_2

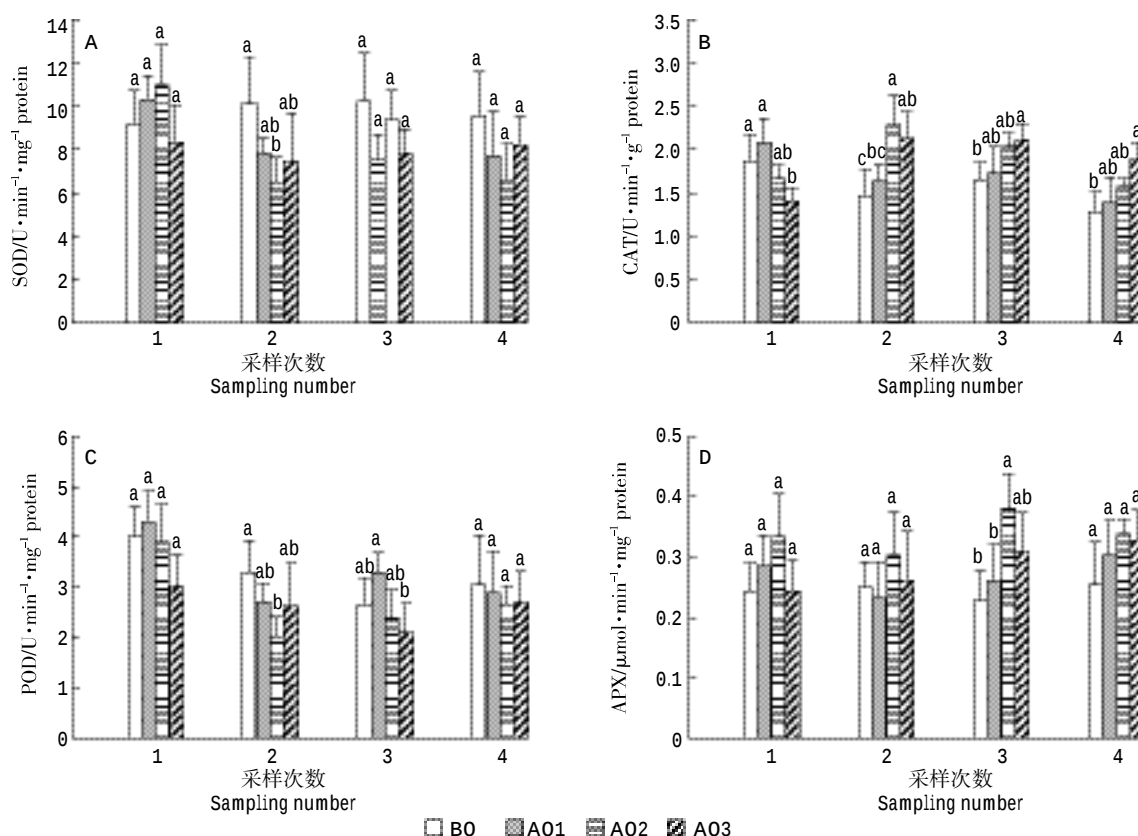


图 3 臭氧氧化猪场处理尾水对苦草抗氧化防御酶活性的影响

Figure 3 Superoxide dismutase (SOD, A), catalase (CAT, B), peroxidase (POD, C) and ascorbate peroxidase (APX, D) activities in *Vallisneria spiralis* under piggery tail water of ozonation in four sampling numbers

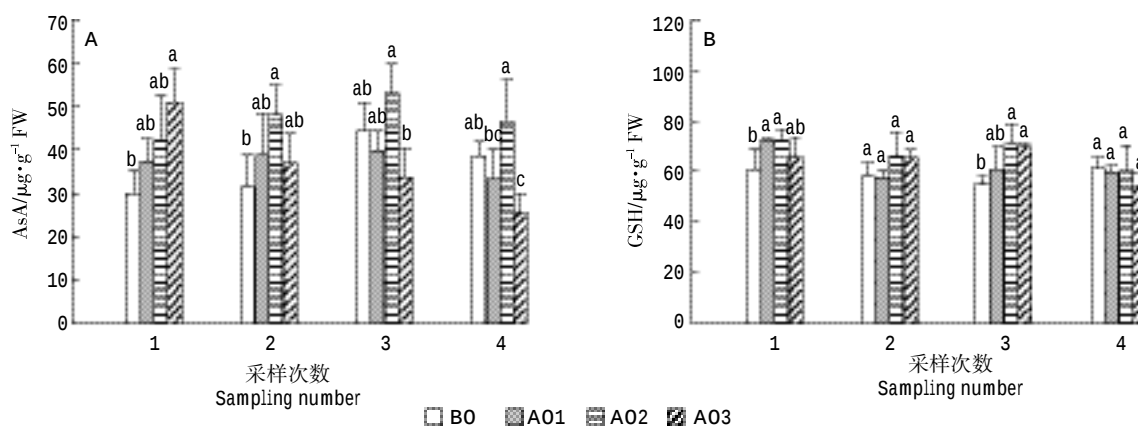


图 4 臭氧氧化猪场处理尾水对苦草抗氧化物质含量的影响

Figure 4 Ascorbic acid (AsA, A) and glutathione (GSH, B) content in *Vallisneria spiralis* under piggery tail water of ozonation in four sampling numbers

来说, $\text{O}_2 \cdot$ 是一个非常不稳定的 ROS, 可迅速通过歧化作用转化为 H_2O_2 ^[27]。可以看出(图 2B), 臭氧氧化处理中苦草 H_2O_2 含量与 BO 相比有升高趋势, 结合苦草的生物量和长势(图 1)可以说明, A01 和 A02 处理中苦草 H_2O_2 含量增加可能起到信号转导作用, 激发体内抗氧化系统发生反应^[28], 使其在生长过程中产

生独特的代谢和保护机制^[29], 从而维持苦草生长; A03 处理中苦草 H_2O_2 含量增加可能使其体内产生了 ROS 积累, 从而影响了苦草生长。

植物的酶系统是植物细胞中 $\text{O}_2 \cdot$ 和 H_2O_2 的主要来源^[30]。SOD 在所有需氧生物防御氧化胁迫中起着重要的作用, 它存在于大多数产生 ROS 的亚细胞中, 而

SOD 产生的 H_2O_2 主要是由多种 POD 清除的。因此, SOD 和 POD 经常相耦合而起作用^[34]。在植物生长过程中, POD 活性的变化可以反映植物体内代谢的变化,也可以作为植物特性研究的工具。CAT 的周转率很快,但与 APX 相比对 H_2O_2 有较低的亲和性^[35]。APX 在植物细胞中被认为是分布最广的抗氧化酶,在胁迫条件下对 H_2O_2 的清除更有效^[32]。在植物正常的生理条件下,抗氧化防御酶系统可以提供足够的抗 ROS 损伤的保护作用,从而避免由 ROS 引起的生理失调。但由于酶的活性有一个阈值,酶系统对植物的保护作用是有其一定限度的。

在本试验中,与 B0 相比,除第 1 次采样外,臭氧氧化处理有降低苦草 SOD 活性的趋势(图 3A),且 A02 处理降低明显,这与 A02 处理中的 $\text{O}_2\cdot$ 含量低有关(图 2A);而苦草 SOD 活性的降低可能是因为 SOD 发挥了歧化作用,从而使自身活性降低。与 B0 相比,臭氧氧化处理使苦草 CAT 活性在第 1 次采样中有降低趋势(图 3B),在之后的采样中又逐渐升高,说明在试验初始,苦草对环境产生了不适反应,而在不适条件下苦草会调节自身的内源保护机制,以促进抗氧化酶活性的表达^[36]。综合 4 次采样来看,与 B0 相比,臭氧氧化处理有降低苦草 POD 活性的趋势(图 3C),说明臭氧氧化猪场处理尾水环境下,苦草 H_2O_2 含量的增加并没有激发 POD 活性,POD 对苦草的调节没有起到主要作用,苦草是通过另外的抗氧化途径来进行 ROS 调节的。APX 是 AsA-GSH 循环中的关键酶^[32],臭氧氧化处理有增加苦草 APX 活性的趋势(图 3D),且 A02 处理中增加相对明显,而 A02 处理中苦草的生物量也最大,说明与 POD 相比,可能 AsA-GSH 循环在本试验条件下对苦草的 ROS 调节更有效。

AsA-GSH 循环负责清除 H_2O_2 , AsA 和 GSH 是 AsA-GSH 循环中两个重要的抗氧化物质,它们往往通过相互耦合而起作用。叶片 AsA 水平被认为是衡量植物耐受性的一个指标^[34]。如图 4A 所示,在第 1 次采样中, A03 处理中苦草 AsA 含量显著增加,在之后的采样中又显著降低,说明短期处于逆境中时,植物会激发体内的抗氧化物质来抵御不适条件,而之后苦草不能将体内的 AsA 含量维持在正常水平,可能是在此环境下时间过长对 AsA 再生系统产生了不利影响^[35],植物体抗氧化胁迫的能力减弱^[36]。A02 中苦草的 AsA 含量较高,说明 AsA 在调节苦草的适应性和体内的生理平衡上发挥重要作用。GSH 是再生 AsA

的重要物质,是植物代谢过程中生理变化的潜在标记物。臭氧氧化处理有增加苦草 GSH 含量的趋势(图 4B),对 AsA 的再生起到重要作用。在 A02 处理中,苦草的 APX 活性、AsA 含量和 GSH 含量都有增加趋势,说明 AsA-GSH 循环在该环境中对苦草的 ROS 调节和维持生物量具有重要作用。

4 结论

(1)除 SOD 活性以外,臭氧氧化处理对苦草的活性氧和抗氧化指标均有显著影响($P<0.05$)。

(2)A01 和 A02 处理与 B0 处理相比,苦草的生理指标调节功能相对较好, A02 处理中苦草的生物量最高, AsA-GSH 循环对 ROS 的调节起重要作用,其中的 APX 活性、AsA 和 GSH 含量增加明显。

(3)A03 处理中,苦草的 H_2O_2 含量增加, AsA 含量降低,活性氧和抗氧化指标之间没有达到平衡,限制了苦草的生长,使苦草生物量降低。

(4)在合适的臭氧氧化浓度条件下,臭氧氧化技术应用于畜禽养殖废水处理对沉水植物的生长具有促进作用,从而对水生生态系统的调节具有重要意义。

参考文献:

- [1] 翁伯琦, 雷锦桂, 江枝和, 等. 集约化畜牧业污染现状分析及资源化循环利用对策思考[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(增刊): 294-299.
- [2] WENG Bo-qi, LEI Jin-gui, JIANG Zhi-he, et al. Present situation analysis of intensive livestock pollution and countermeasures consideration of resource recycling[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, 29(Suppl): 294-299.
- [3] Macauley J J, Qiang Z, Adams C D, et al. Disinfection of swine wastewater using chlorine, ultraviolet light and ozone[J]. Water Research, 2006, 40(10): 2017-2026.
- [4] 曾鑫, 呼世斌, 屈广周, 等. 臭氧氧化处理养猪场厌氧沼液[J]. 环境工程学报, 2015, 9(7): 3332-3338.
- [5] ZENG Xin, HU Shi-bin, QU Guang-zhou, et al. Treatment of swine farm anaerobic biogas slurry by ozone oxidation[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015, 9(7): 3332-3338.
- [6] Tay K S, Madehi N. Ozonation of ofloxacin in water: By-products, degradation pathway and ecotoxicity assessment[J]. Science of the Total Environment, 2015, 520: 23-31.
- [7] Jennifer G A, Marc W B, Douglas R C, et al. Effects of oxygenation on ammonia oxidation potential and microbial diversity in sediment from surfaceflow wetland mesocosms[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(4): 1389-1392.
- [8] Tripathi S, Pathak V, Tripathi D M, et al. Application of ozone based treatments of secondary effluents in the tropical cities[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(3): 2481-2486.
- [9] Gan K, Mou X, Xu Y, et al. Application of ozonated piggery wastewater for cultivation of oil-rich *Chlorella pyrenoidosa*[J]. Bioresource Technology, 2014, 171: 285-290.

- [8] Kim H C, Choi W J, Maeng S K, et al. Ozonation of piggery wastewater for enhanced removal of contaminants by *S. quadricauda* and the impact on organic characteristics[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 159:128-135.
- [9] Silva G H R, Daniel L A, Bruning H, et al. Anaerobic effluent disinfection using ozone: Byproducts formation[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(18):6981-6986.
- [10] Carbajo J B, Petre A L, Rosal R, et al. Continuous ozonation treatment of ofloxacin: Transformation products, water matrix effect and aquatic toxicity[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 292:34-43.
- [11] 刘娅琴, 刘福兴, 宋祥甫, 等. 农村污染河道生态修复中浮游植物的群落特征[J]. *农业环境科学学报*, 2015, 34(1):162-169.
- LIU Ya-qin, LIU Fu-xing, SONG Xiang-fu, et al. Characteristics of phytoplankton community in country contaminated ditches during ecological restoration[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(1):162-169.
- [12] 于衍真, 谭 娟, 冯 岩. 臭氧组合工艺在水处理中的应用[J]. *工业用水与废水*, 2008, 39(3):8-16.
- YU Yan-zhen, TAN Juan, FENG Yan. Application of ozone-combined process in water treatment[J]. *Industrial Water and Wastewater*, 2008, 39(3):8-16.
- [13] Sharma P, Jha A B, Dubey R S, et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions[J]. *Journal of Botany*, 2012, Article ID 217037, 1-26.doi:10.1155/2012/217037
- [14] Zhang L, Wang S, Jiao L, et al. Physiological response of a submerged plant (*Myriophyllum spicatum*) to different NH_4Cl concentrations in sediments[J]. *Ecological Engineering*, 2013, 58:91-98.
- [15] 刘 燕, 王圣瑞, 金相灿, 等. 水体营养水平对 3 种沉水植物生长及抗氧化酶活性的影响[J]. *生态环境学报*, 2009, 18(1):57-63.
- LIU Yan, WANG Sheng-rui, JIN Xiang-can, et al. Effects of different nutritional condition on the growth and antioxidant enzyme activity of three submerged macrophytes[J]. *Ecology and Environment*, 2009, 18(1):57-63.
- [16] Delmail D, Labrousse P, Hourdin P, et al. Physiological, anatomical and phenotypical effects of a cadmium stress in different-aged chlorophyllian organs of *Myriophyllum alterniflorum* DC (Haloragaceae)[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2011, 72(2):174-181.
- [17] Wang C, Zhang S H, Wang P F, et al. Metabolic adaptations to ammonia-induced oxidative stress in leaves of the submerged macrophyte *Vallisneria spiralis* (Lour.) Hara[J]. *Aquatic Toxicology*, 2008, 87(2):88-98.
- [18] Jiang J, Gu X, Song R, et al. Microcystin-LR induced oxidative stress and ultrastructural alterations in mesophyll cells of submerged macrophyte *Vallisneria spiralis* (Lour.) Hara[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 190(1):188-196.
- [19] 王爱国, 罗广华. 植物超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. *植物生理学通讯*, 1990, 26(6):55-57.
- WANG Ai-guo, LUO Guang-hua. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants[J]. *Plant Physiology Communications*, 1990, 26(6):55-57.
- [20] 李 玲. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 84-100.
- LI Ling. Experimental instruction of plant physiology module[M]. Beijing: The Science Publishing Company, 2009:84-100.
- [21] 李合生, 孙 群, 赵世杰, 等. 植物生理生化原理和实验技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004:260-261.
- LI He-sheng, SUN Qun, ZHAO Shi-jie, et al. Principles and experimental techniques of plant physiology and biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 2004:260-261.
- [22] Nakano Y, Asada K. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts: Its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical[J]. *Plant Cell Physiology*, 1987, 28(1):131-140.
- [23] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1/2):248-254.
- [24] 邹 琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000, 159-170.
- [25] Griffith O W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine[J]. *Analytical Biochemistry*, 1980, 106(1):207-212.
- [26] Miller G, Shulaev V, Mittler R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress[J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 133(3):481-489.
- [27] Sgherri C, Quartacci M F, Navari-Izzo F. Early production of activated oxygen species in root apoplast of wheat following copper excess[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(9):1152-1160.
- [28] Rai R, Agrawal M. Evaluation of physiological and biochemical responses of two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars to ambient air pollution using open top chambers at a rural site in India[J]. *Science of the Total Environment*, 2008, 407(1):679-691.
- [29] Liu Y G, Wang X, Zeng G M, et al. Cadmium-induced oxidative stress and response of the ascorbate-glutathione cycle in *Beckmannia eriodactylon* (L.) Gaud[J]. *Chemosphere*, 2007, 69(1):99-107.
- [30] Tasgin E, Atici O, Nalbantoglu B, et al. Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves[J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(1):710-715.
- [31] Barcelo A R, Pomar F, Lopez-Serrano M, et al. Peroxidase: A multifunctional enzyme in grapevines[J]. *Functional Plant Biology*, 2003, 30(6):577-591.
- [32] Wang J, Zhang H, Allen R D. Overexpression of an Arabidopsis peroxisomal ascorbate peroxidase gene in tobacco increases protection against oxidative stress[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1999, 40(7):725-732.
- [33] Bowler C, Montagu M V, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1992, 43(1):83-116.
- [34] Frei M, Wissuwa M, Pariasca-Tanaka J, et al. Leaf ascorbic acid level: Is it really important for ozone tolerance in rice?[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, 59:63-70.
- [35] Mahalingam R, Jambunathan N, Gunjan S K, et al. Analysis of oxidative signaling induced by ozone in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2006, 29(7):1357-1371.
- [36] 宋玉芝, 孔繁瑞, 王 敏, 等. 光照强度及附植藻类对狐尾藻生理指标的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2015, 34(2):233-239.
- SONG Yu-zhi, KONG Fan-fan, WANG Min, et al. Effects of light intensity and epiphytic algae on physiological parameters of *Myriophyllum spicatum*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(2):233-239.