

富营养化废水胁迫对多年生黑麦草的影响

谢可军, 赵素芬, 苗香雯, 崔绍荣

(浙江大学农业生物环境工程研究所, 浙江 杭州 310029)

摘要: 通过单层无纺布盘培的方式, 研究了 2 种富营养化程度养鳖废水对多年生黑麦草生长和生理反应。结果表明, 与营养液培相比, 低浓度养鳖废水处理在多年生黑麦草的生长高度、地上部分及地下部分鲜重与干重差异显著, 而高浓度处理差异不显著; 在生理上, 高浓度废水处理多年生黑麦草叶绿素含量无显著变化; 2 种处理均使游离脯氨酸、MDA 有一定的积累; 处理期间, POD、SOD、CAT 酶的活性均有提高, 其中高浓度废水处理的多年生黑麦草 SOD 活性处理期间相对要高于营养液培养, 而低浓度处理 SOD 酶活性变化正相反; POD 和 CAT 酶活性的变化规律相似; 研究结果为利用陆生植物治理富营养化废水提供了理论依据。

关键词: 多年生黑麦草; 富营养化废水; 胁迫; 生理活性

中图分类号: X503.233 文献标识码: A 文章编号: 1672-2043(2004)03-0437-04

Effects of Stress from Eutrophicated Wastewater on *Lolium perenne* L

XIE Ke-jun, ZHAO Su-fen, MIAO Xiang-wen, CUI Shao-rong

(Institute of Agricultural Bio-Environmental Engineering, Zhejiang University, Hanzhou 310029, China)

Abstract: Effects of different concentrations of eutrophicated water stress on growth and physiology of *Lolium perenne* L using a single non-woven pot cultivations were studied. In terms of plant height, the fresh weight and dry weight in above-ground and under-ground, the treatment with low concentration eutrophicated water showed a significant difference, yet the treatment with high concentration of the eutrophicated water showed no difference with nutrient culture. Under eutrophicated water application, the chlorophyll a had no significant variation. In the treatment of high concentrations of eutrophicated water, and the content of free proline and MDA were both accumulated. During the period of treatment, SOD, POD and CAT activity were increased. The SOD activity of plant leaf with the high eutrophicated water treatment were higher than that of in nutrient culture, while the low one was lower than that of in nutrient culture. The variation of POD and CAT showed identical. The results provided a theory foundation of using terraneous plants to purify eutrophicated water.

Keywords: *Lolium perenne* L; eutrophicated wastewater; stress; physiology activity

设施水产养殖废水中富含大量的 N, P 元素, 不经处理排放会引发或加重河流、湖泊的富营养化; 养殖水体中残饵、排泄物等有机物经微生物分解后产生大量的氨氮、硝氮、硫化氢以及亚硝酸盐等物质, 对养殖生物的抗病力、产量等都有很大的影响。

国外对设施养殖废水的处理大量采用生化净手段(如:生物转盘、生物接触池、生物滤池等)来去除养殖水体的溶解性污染物, 但其能耗、水耗、投资和管理方面存在的问题不容忽视。近年来, 利用藻类、微生物、人工湿地以及植物-土壤处理系统等均有较多的研究^[1-3], 但利用陆生植物来净化养殖废水的研究较

少^[4]。

植物的逆境胁迫是当今研究的热点之一, 但过去的研究工作多局限于水分胁迫、渗透胁迫、温度胁迫、病害胁迫、盐胁迫、大气污染胁迫等逆境条件对植物生长的影响^[5, 6], N, P 分别对植物的影响以及模拟 N、P 污水对植物生理和酶学的影响已有报道^[7, 8], 然而, 国内外研究原废水对植物影响特别是对生理学和酶学影响的报道极少。本研究设计采用不同富营养化程度养鳖排放原废水来处理多年生黑麦草, 探讨多年生黑麦草保护酶系统的变化情况, 为陆生植物净化利用有机富营养化废水提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验设施

试验设施设置在玻璃温室内, 为多槽道栽培槽,

收稿日期: 2003-10-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(50175101)

作者简介: 谢可军(1973—), 男, 湖南娄底人, 博士研究生, 主要从事植物环境与能源工程方面的研究。

基底是水泥结构, 每槽长×宽×高为 750 cm×60 cm×30 cm, 槽坡度为 1.5%, 每槽可利用种植面积 4.5 m², 废水调节池长×宽×高为 230 cm×160 cm×150 cm, 可贮存水量 5.5 m³, 以水泵循环抽水, 自动调时控制, 试验设施如图 1 所示。

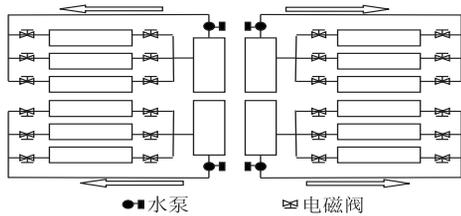


图 1 牧草生物净化系统装置

Figure 1 The equipment of grass biofiltration system

1.2 试验方法

采用单层无纺布盘培的形式, 育苗盘规格为 52 cm×26 cm, 供试草种为多年生黑麦草, 播种密度为 30 g·m⁻², 系统处理实际有效草地面积为 9.33 m², 试验周期为 30 d, 播种后清水浇灌, 3 周后进入处理试验处理阶段。系统分为 3 个处理, CK1: 高浓度富营养化废水; CK2: 低浓度富营养化废水; CK3: 营养液培养。系统采取间歇供水方式, 每小时进水一次, 每次历时 10 min, 每次进水量 0.085 m³, 在处理槽中平均水力停留时间每次为 15 min。废水调节槽有效容积为 2 m³, 平均水力停留时间为 23.5 h, 及时补充调节槽中因植物吸收和蒸发损耗的水分。试验 3 次重复, 废水源为浙江大学农业生物环境工程研究所的工厂化养鳖池排放的原废水。

1.3 测试方法

1.3.1 生物量测定

取长×宽为 10 cm×10 cm 的样块, 齐根部剪下, 将根洗净, 晾干, 测量地上、地下生物量的鲜重; 再将它们分别置于小铝盒中, 在 105 °C 下烘干至恒重, 测定干重。

1.3.2 游离脯氨酸含量的测定^[9]

酸性茚三酮法, 用 722 型分光光度计测定。

表 1 处理废水特性

Table 1 Characteristic of treatment wastewater

指标	CK1	CK2	CK3
COD _C /mg·L ⁻¹	205.33	23.45	147.32
TN/mg·L ⁻¹	137.26	38.21	132.34
TP/mg·L ⁻¹	6.69	2.23	41.52
NH ₄ ⁺ -N/mg·L ⁻¹	92.72	24.35	10.98
NO ₃ ⁻ -N/mg·L ⁻¹	24.79	10.57	116.94
K ⁺ /mg·L ⁻¹	3.84	1.42	9.42
Ca ²⁺ /mg·L ⁻¹	43.25	19.63	31.05

1.3.3 叶绿素含量测定^[10]

采用分光光度法, 用 80% 丙酮研磨提取后, 于 663, 645 和 440 nm 处测定光密度(mg·g⁻¹FW)。

1.3.4 SOD 酶液活性测定^[11]

利用其对氮蓝四唑 (NBT) 的光抑制作用, 取样 0.5 g, 酶液在 12 000 r·min⁻¹ 冷冻离心 20 min, 于 560 nm 处测定光密度(ΔD560·g⁻¹FW·h⁻¹)。

1.3.5 POD 酶液活性测定^[12]

以愈创木酚为过氧化物酶底物, 采用分光光度法, 于 470 nm 处测定吸光度在每分钟的变化, 以 ΔD470·mg⁻¹FW·min⁻¹ 为单位表示酶的活性。

1.3.6 CAT 酶液活性测定^[13]

采用过氧化氢分解量法(units·g⁻¹FW·min⁻¹)。

1.3.7 MDA 含量测定^[10]

采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法测定 (μmol·g⁻¹FW)。

2 结果与分析

2.1 富营养化废水胁迫对多年生黑麦草生长的影响

2 种富营养化废水处理 and 营养液培对多年生黑麦草的生长高度、地上部分及地下部分鲜重与干重的影响, 均表现出一致的规律: CK1> CK3> CK2, 见表 2。*t* 检验表明, 低浓度废水处理与营养液培处理差异极显著(除牧草生长高度显著外); 高浓度处理与营养液培相比, 差异不显著, 说明多年生黑麦草对高浓度富营养化废水有很好的适应性。从外观观测看, 从第 4 d 起, 高浓度废水处理时牧草生长明显加快, 根系的分蘖数要比低浓度处理的数目增多, 废水处理期间只发现极少量的病斑出现。

2.2 对叶绿素含量的影响

叶绿素作为植物的光合色素, 其含量高低决定其光合作用的水平^[14]。叶片色素含量降低, 导致光合作用减弱, 进而使植物长势减弱, 植株生长量减少。从表 3 可以看出, 高浓度富营养化养鳖废水处理的多生黑麦草叶片叶绿素 a、b 含量要高于营养液培的情况, 而低浓度富营养化养鳖废水处理的情况正相反, 这与牧草生物量的变化情况基本一致。研究表明, 叶绿素 a/b 值可作为叶片衰老测试的指标^[15], 从表 3 看, 高浓度富营养化废水含有大量的 N、P 物质, 有效地促进了牧草的营养生长, 对延缓其叶片的衰老有一定的积极意义。

2.3 对 SOD, POD, CAT 酶活性的影响

大量研究表明, 逆境会影响植物的酶促系统, 其

表 2 富营养化废水胁迫对多年生黑麦草生长的影响

Table 2 Effects of eutrophicated wastewater stress on the growth of *Lolium perenal L*

项目	CK1	CK2	CK3
地上部分鲜重/mg·m ⁻²	3 542.28 ± 8.23* *	3 219.67 ± 6.97* *	3 527.82 ± 7.44
地上部分干重/mg·m ⁻²	1 009.72 ± 5.72	954.56 ± 7.58* *	1 015.14 ± 6.27
根鲜重/mg·m ⁻²	3 024.63 ± 9.46	2 987.85 ± 7.74* *	3 019.85 ± 7.72
根干重/mg·m ⁻²	935.47 ± 6.58	894.44 ± 4.85* *	934.73 ± 6.53
地上部分高/cm	16.45 ± 0.53	15.72 ± 0.47*	16.39 ± 0.52

注: * P < 0.05, ** P < 0.01

表 3 富营养化废水胁迫对多年生黑麦草叶绿素含量的影响 (mg·g⁻¹鲜重)

Table 3 Effects of eutrophicated wastewater stress on the chlorophyll content of *Lolium perenal L*(unit: mg·g⁻¹FW)

项目	CK1	CK2	CK3
叶绿素 a	1.76 ± 0.27	1.49 ± 0.32*	1.64 ± 0.14
叶绿素 b	1.01 ± 0.29	0.91 ± 0.17	0.97 ± 0.23
叶绿素 a/b	1.74	1.66	1.69

中 POD, SOD, CAT 酶共同组成植物体内一个有效的活性氧清除系统,三者协调一致的共同作用,能有效地清除植物体内的自由基和过氧化物。在一定范围内, SOD, CAT 共同作用能把 O₂⁻ 和 H₂O₂ 转化成 H₂O 和 O₂, 并能起到减少具毒性和高活性的 ·OH 的形成; POD 和 CAT 则可催化 H₂O₂ 形成 H₂O, 从而有效阻止 O₂⁻ 和 H₂O₂ 的积累, 限制这些自由基对膜脂过氧化的启动^[16,17]。

富营养化废水胁迫对多年生黑麦草 SOD, POD, CAT 酶活性的影响见图 2, 3, 4。从图中可以看出, 处理后, POD, SOD, CAT 酶活性均有提高, 说明陆生牧草对间歇供水方式培养表现出一定的适应性, 能够较快地提高植物体内保护酶系统的活性, 防止 O₂⁻, H₂O₂

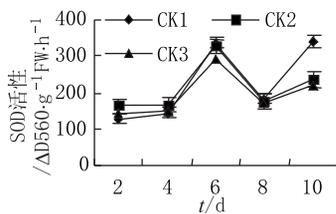


图 2 多年生黑麦草 SOD 酶活性变化

Figure 2 Dynamic changes of SOD activity in *Lolium perenne L*

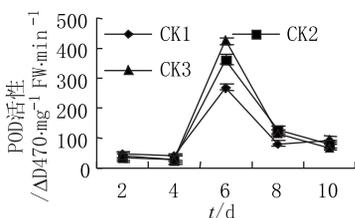


图 3 多年生黑麦草 POD 酶活性变化

Figure 3 Dynamic changes of POD activity in *Lolium perenne L*

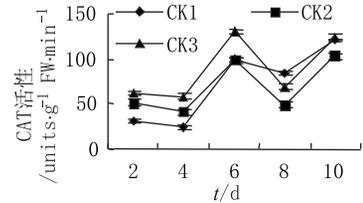


图 4 多年生黑麦草 CAT 酶活性变化

Figure 4 Dynamic changes of CAT activity in *Lolium perenne L*

等自由基在作物体内累积, 提高植株对废水的适应性。

在处理期间, 高浓度废水处理对多年生黑麦草 SOD 活性相对要高于营养液培处理, 而低浓度处理 SOD 酶活性要低于营养液培处理。一些研究表明, SOD 酶活性的提高能够显著提高植物的抗逆性, 且其活性和净光合作用速率成正相关^[18, 19], 从本研究看, SOD 活性的变化表明牧草对高浓度的养鳖废水较低浓度废水有较好的适应性。

POD 和 CAT 酶活性的变化规律相似, 处理期间, POD 和 CAT 酶活性大致变化规律是: CK3> CK2> CK1。表明两者在 N, P 污水处理过程中所起的作用具有一定的相关性, 这与崔克辉等^[20]的研究一致。说明 N, P 的胁迫诱导了酶活性的提高, 以适应胁迫的影响, 构成植物体内酶促系统的平衡, 但随着废水净化过程中水质情况和植株体内积累物质的变化, 形成一种新的胁迫, 再次诱导 POD 和 CAT 酶活性的改变。

2.4 游离脯氨酸含量、MDA 水平的变化

植物体内脯氨酸含量的增加, 是植物对逆境胁迫的一种生理反应, 其一是细胞结构和功能遭受伤害的反应, 其二是植物在逆境下的适应表现, 可作为鉴定植物相对抗性的指标^[21]。从图 5 可以看出, 相对营养液培, 富营养化废水处理的多年生黑麦草体内均有较多的游离脯氨酸积累。此外, 由于游离脯氨酸的积累对氨的解毒作用, 高浓度富营养化废水中氨氮的浓度比较高, 植物吸收较多的氨氮可能也是其中的原因之一。

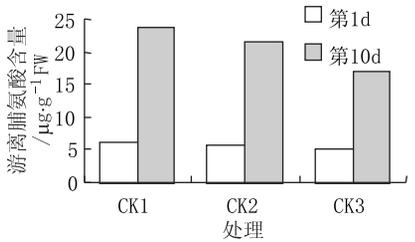


图5 富营养化胁迫对多年生黑麦草游离脯氨酸含量的影响

Figure 5 Effect of eutrophicated wastewater stress on free proline content in *Lolium perenne* L

MDA 是膜脂过氧化的重要产物,可与蛋白质、核酸、氨基酸等活性物质交联,形成不溶性的化合物(脂褐素)沉积,干扰细胞的正常生命活动^[22]。富营养化废水胁迫对多年生黑麦草 MDA 含量的变化见图 6,其中 MDA 含量水平处理 1 和处理 2 都要高于营养液培养,说明养蟹废水对牧草的损害表现为 MDA 的高度累积,虽然高浓度的富营养化废水促进牧草的生长,但相对营养液而言其水质并没有达到植物水培的离子平衡浓度。

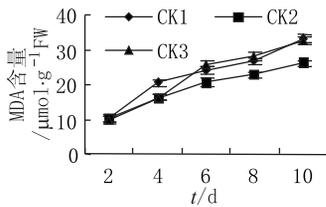


图6 多年生黑麦草 MDA 含量水平的变化

Figure 6 Dynamic changes of MDA content in *Lolium perenne* L

3 结论

相对营养液培养而言,低浓度富营养化养蟹废水处理在多年生黑麦草的生长高度、地上部分及地下部分鲜重与干重方面差异显著;而高浓度处理差异不显著。在生理上,高浓度富营养化养蟹废水处理多年生黑麦草叶绿素含量无显著变化,但 2 种处理均使游离脯氨酸、MDA 有一定的积累;处理期间,POD, SOD, CAT 酶的活性均有提高,其中高浓度养蟹废水对多年生黑麦草 SOD 活性处理期间相对要高于营养液培养,而低浓度处理 SOD 酶活性要低于营养液培养;POD 和 CAT 酶活性的变化规律相似,表现出两者在 N, P 污水处理过程中所起的作用具有一定的相关性。

参考文献:

[1] Gao G. Experimental studies on the effect of purification of fishculture

waste water by *Elodea naltalii* and *Hydrilla verticillata*[J]. *Journal of Lake Sciences*, 1996, 8(2): 184 – 188.

- [2] Cech J S, Hartman P. Glucose induced break down of enhanced biological phosphate removal[J]. *Environ Technol*, 1990, 11: 651 – 656.
- [3] Hammer D A. Designing constructed wetlands systems to control agricultural nonpoint source pollution[J]. *Ecol Engin*, 1992, 1: 49.
- [4] Suhas R Ghat, Gary J Burtle, George Vellidis, G Larry Newton. Effectiveness of grass strips to filter catfish (*Ictalurus punctatus*) pond effluent[J]. *Aquacultural Engineering*, 1997, (6): 149 – 159.
- [5] Lee D H, Lee C B. Chilling stress – induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: In gel enzyme activity assays[J]. *Plant Science(Shannon)*, 2000, 159(1): 75 – 85.
- [6] Kurilenko I N, Palladina T A. NaCl effect on lipid peroxidation and antioxidant systems in corn seedlings[J]. *Plant Physiology & Biochemistry (Paris)*, 2000, 38 (Supplement): 178.
- [7] Garcia – Sanchez M J, Fernandez J A, Niell F X. Biochemical and physiological responses of *Gracilaria tenuistipitata* under two different nitrogen treatment[J]. *Physiologia Plantarum*, 1993, 88: 631 – 637.
- [8] Dendine M A, Rolland T, Tremolieres, et al. Effect of ammonium ions on the net photosynthesis of three species of *Elodea*[J]. *Aquatic Botany*, 1993, 46: 301 – 315.
- [9] Lichtenthaler HK, Wellbum AR. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents[J]. *Trans Biochem Soc*, 1983, 11 : 591 – 592.
- [10] Zhu G – L, Hong H – W, hang A – Q. *Plant Physiology Experimentation*[M]. Beijing: Peking University Press, 1990. 51 – 53, 126 – 130.
- [11] Liu Z – Q, hang S – C. *Plant Stress resistant Physiology*[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1994. 371 – 372.
- [12] 张志良. *植物生理学试验指导(第二版)*[M]. 北京:高等教育出版社, 1990. 154 – 155.
- [13] Shandong Agricultural Collegeeds. *Plant Physiology Experimentation* [M]. Jinan: Shandong Science and Technology Press, 1980. 109 – 112.
- [14] Qin TC. Effects of cadmium, lead single and combination pollution on the contents of ascorbic acid in *Brassica chinensis* L[J]. *Chin J Ecol*, 1997, 16(3): 31 – 34.
- [15] Woolhouse H W. Longevity and senescence in plant [J]. *Sci Prog Oxford*, 1974, 61: 23.
- [16] Ma C – C. Hg harm on cell membrane of rape leaf and cell endogenous protection effect[J]. *Chin J A Ecol*, 1998, 9(3): 323 – 326.
- [17] Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutase[J]. *Plant Physiol*, 1993, 101(1): 7 – 12.
- [18] Chen Y – Z. Effects of low temperature on the SOD, CAT activity and H₂O₂ content in plant leaves[J]. *Acta Phytophysiol Sin*, 1988, 14(4): 323 – 328.
- [19] Gupta A S. Response of photosynthesis and cellular antioxidants to ozone in populus leaves[J]. *Plant Physiol*, 1991, 96(2): 650 – 655.
- [20] 崔克辉,何之常,张甲耀,等. 模拟污水中 N, P 对水稻幼苗过氧化氢酶和乙醇酸氧化酶的影响[J]. *武汉大学学报(自然科学版)*, 1995, 41(2): 245 – 250.
- [21] 汤章诚. 逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能的意义[J]. *植物生理学通讯*, 1984, (1): 15 – 21.
- [22] 徐勤松,施国新,杜开和. 镉胁迫对水车前叶片抗氧化酶系统和亚显微结构的影响[J]. *农村生态环境*, 2001, 17(2): 30 – 34.