

海水养殖废水浇灌下不同盐生经济植物生理特征及其比较

刘伟成¹, 范翠枝², 甘淳丹², 郑春芳¹, 陈琛¹, 陈继浓¹, 郑青松²

(1. 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室, 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325005;

2. 南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏省海洋生物学重点实验室, 南京 210095)

摘要: 采用大田试验, 研究了无施肥条件下海水浇灌(对照)、1:1 海水养殖废水(1:1 养殖废水处理)、全海水养殖废水(全养殖废水处理)处理以及施肥条件下海水浇灌(施肥处理)对海蓬子和碱蓬植株生长与生理特性的影响。结果表明:1:1 养殖废水处理的植株地上部干重(DW)显著高于对照, 但全养殖废水处理植株地上部 DW 低于对照;施肥处理植株地上部 DW 明显高于所有对照和其他处理, 随着生育期的延长, 上述效应愈加明显, 尤其体现在碱蓬植株上。与施肥处理相比, 两配比养殖废水灌溉抑制了2种植物生长, 降低了植株地上部氮磷(NP)含量、叶绿素含量(CHL)含量和可溶性蛋白(SP)含量, 并随养殖废水配比上升而降低越显著;相反, 2种植物细胞相对电导率(REC)、丙二醛(MDA)含量却随着养殖废水配比的上升而升高, 碱蓬的上升比海蓬子更为明显。与对照相比, 1:1 养殖废水不同程度提高了2种植物 DW、CHL 含量、植株地上部 NP 含量、内肽酶、羧肽酶、超氧化物歧化酶(SOD)及过氧化物酶(POD)活性以及 SP 和游离氨基酸(FAA)含量;并且, 随着养殖废水配比的上升, 2种植物以上各指标却不同程度地下降。综上所述, 1:1 养殖废水处理可有效促进2种植物叶绿素合成, 提高 SOD、POD 活性, 降低 MDA 积累量, 减少细胞膜受损, 进而加快植株生长, 增加 NP 吸收。2种植物相比, 碱蓬对海水养殖废水浓度的生理响应较海蓬子敏感。1:1 养殖废水处理可很大程度上替代肥料的施用, 从而降低环境污染。

关键词: 海水养殖废水灌溉; 海蓬子; 碱蓬; 氮代谢; 抗氧化酶; 蛋白水解酶

中图分类号: S19

文献标识码: A

文章编号: 1009-2242(2019)01-0253-10

DOI:10.13870/j.cnki.stbcbx.2019.01.040

Physiological Characteristics and Comparison of Different Halophytic Economic Plant Under Mariculture Wastewater Irrigation

LIU Weicheng¹, FAN Cuizhi², GAN Chundan², ZHENG Chunfang¹,

CHEN Chen¹, CHEN Jinong¹, ZHENG Qingsong²

(1. Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-resource, Zhejiang

Mariculture Research Institute, Wenzhou, Zhejiang 325005; 2. College of Natural Resources and

Environmental Science, Key Laboratory of Marine Biology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: In the field experiment, *Salicornia bigelovii* Torr. and *Suaeda salsa* Linn. were irrigated with sea-water irrigation (control), 1:1 mariculture wastewater (1:1 mariculture wastewater treatment), whole mariculture wastewater (whole mariculture wastewater treatment) and normal fertilizer application with sea-water (fertilizer treatment), and the plant growth and physiological characteristics were studied. The results showed that (1) Compared with the control, 1:1 mariculture wastewater irrigation increased aboveground dry weights (DW) of two plants, however whole mariculture wastewater irrigation decreased the aboveground dry weights. DW of plants in fertilizer treatment was obviously more than those in the other treatments and control. The above growth effects became more obvious with the extension of plant growth period, especially in *S. salsa* plants. (2) Compared with fertilizer treatment, mariculture wastewater irrigation decreased growth of the two plants and reduced contents of nitrogen and phosphorus (NP), chlorophyll (CHL) and soluble protein (SP) in the plant aboveground parts, and decreased more obviously with the in-

收稿日期: 2018-08-07

资助项目: 浙江省科技计划项目(2018C35077); 温州市科技计划项目(N20170002, S20160004)

第一作者: 刘伟成(1980—), 男, 高级工程师, 主要从事资源环境保护研究。E-mail: lwch80@126.com

通信作者: 郑春芳(1979—), 女, 研究员, 博士, 主要从事水资源保护研究。E-mail: zcfa66@126.com

郑青松(1974—), 男, 副教授, 博士, 主要从事耐盐植物研究。E-mail: qszheng@njau.edu.cn

creasing of the ratio of mariculture wastewater. However, the relative electrical conductivity (REC) and malondialdehyde (MDA) content increased with the increasing of the proportion of mariculture wastewater, and the increase of *S. salsa* was more obviously. (3) Treatment of 1 : 1 mariculture wastewater irrigation increased plant DW and CHL content, NP content of aboveground plant, and increased the activities of antioxidase, endopeptidase, carboxypeptidase, superoxide dismutase (SOD) as well as peroxidase (POD) and contents of SP and free amino acid (FAA) in different degrees. Moreover, with the increasing of the proportion of mariculture wastewater, the above indicators of the two plants decreased in various degrees. To sum up, 1 : 1 mariculture wastewater treatment could effectively promote chlorophyll synthesis in two plants, increase activities of SOD and POD, reduce MDA accumulation, reduce cell membrane damage, accelerate plant growth and increase NP uptake. The physiological response of *S. salsa* to the concentration of mariculture wastewater was more sensitive than that of *S. bigelovii*. The application of 1 : 1 aquaculture wastewater could largely replace the application of fertilizers, thereby reducing environmental pollution.

Keywords: mariculture wastewater irrigation; *Salicornia bigelovii* Torr.; *Suaeda salsa* Linn.; nitrogen metabolism; antioxidase; protease

沿海养殖业产生的大量养殖废水已成为海洋污染的主要来源。海水养殖废水富含大量的氮磷(NP)化合物和悬浮物,如直接向近海排放,会导致海域严重富营养化,可诱发赤潮发生,严重破坏沿海的养殖业等产业^[1-2]。因此,海水养殖废水处理和利用已成为国内外学者关注的热点问题。尽管海水养殖废水处理方法较多,但生物处理海水养殖废水已被认为是养殖污染控制的有效方法^[3-4]。其中,利用耐盐植物净化海水养殖废水也得到了关注^[5]。Lymbery 等^[6]利用盐草(*Distichlis spicata*)湿地净化不同营养成分和盐度的废水时发现,高营养成分和低盐水平下湿地可有效去除水体中 60%~90%的总氮(TN)和 85%以上的氨、硝酸盐、总磷(TP)。Zhao 等^[7]也尝试用不同比例的海水养殖废水灌溉洋姜(*Helianthus tuberosus*),发现适宜海水养殖废水浇灌下生长洋姜的土壤不仅能有效去除废水中 NP,而且适宜浓度的养殖废水促进了洋姜的生长。总体来说,目前海水养殖废水生物修复方面的文献报告不多。

海蓬子(*Salicornia bigelovii* Torr.)和碱蓬(*Suaeda salsa* Linn.)是盐生植物,可以被海水养殖废水直接浇灌。Brown 等^[8]用海水养殖废水浇灌碱蓬和海蓬子发现,耐盐植物—土壤—水处理系统最高可以分别去除养殖废水中 TN 和 TP 达 98%和 99%。之后,又出现了利用海蓬子建造的盐生植物滤床,并已验证其在去除海水养殖废水中氮和磷的过程中发挥着重要作用^[9]。最近,研究^[10]证明海蓬子在多营养层次综合水产养殖(IMTA)中能有效去除水体中的 N,同时又可以利用吸收 N 来促进自身的生长。然而,当淡水养殖废水配比增加时,水体中过高的 N 和 P 及其形态(如铵态氮)对青萍(*Lemna minor*)也可产生毒害,抑制其生长^[11]。目前,海蓬子和

碱蓬生长的促进或抑制是否也与海水养殖废水配比有关,缺少文献资料。因此,本研究以全海水灌溉为对照,辅以正常施肥为对比,通过探讨不同的养殖废水灌溉配比对海蓬子和碱蓬植株生物量、NP 含量、抗氧化系统、可溶性蛋白含量、游离氨基酸含量以及蛋白水解酶活性的影响,揭示不同配比的海水养殖废水灌溉影响海蓬子和碱蓬生长和矿质元素吸收分配代谢的生理机制,也探讨了不同配比的海水养殖废水与正常施肥之间的差异及养殖废水灌溉的可行性,为充分发挥海水养殖废水在海蓬子和碱蓬栽培中的利用,推动海水农业提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验地概况与试验材料

试验地点位于浙江省东南部的温州市龙湾区永兴围垦南片(120°50' E, 27°51' N)。该地区属中亚热带季风气候,年平均降水量约 1 800 mm,年平均蒸发量约为 1 310 mm。供试材料海蓬子(*Salicornia bigelovii* Torr.)和碱蓬(*Suaeda salsa* Linn.)的种子由浙江省海洋水产养殖研究所永兴基地提供。供试土壤为青紫坭黏土,母质为近代浅海与滩涂沉积物,质地轻黏,土壤 pH 7.3,有机质 4.3 g/kg,碱解氮 145.2 mg/kg,速效磷 45.1 mg/kg,速效钾 710.0 mg/kg,可溶性盐总量 1.15 g/kg。

1.2 试验设计

试验时间为 2016—2017 年。试验设 4 个处理,即无施肥条件下海水灌溉(对照)、海水与南美白对虾养殖废水分别按体积比 1 : 1(1 : 1 养殖废水)、全海水养殖废水(全养殖废水)以及正常施肥条件下海水灌溉(施肥),各处理设 3 次重复,按随机区组排列设

计。每个小区 5 m²,在小区四周铺设 1 m 深 HDPE 防渗膜(埋深 0.8 m,地上部 0.2 m),且小区间隔 0.4 m,以防止灌溉水在各个小区间互相渗透。2017 年 4 月 18 日播种,播种前正常施肥处理参照文献[12],施用腐熟农家肥 2.5 kg/m²,复合肥 37 g/m²。无施肥处理组直接在整理好的小区内播种。所有小区海蓬子均播种量为 2.5 g/m²,每 667 m² 种植约 6 000 株;碱蓬播种量 1.3 g/m²,每 667 m² 种植约 5 400 株。播种后正常施肥处理辅以海水浇灌,而另外 3 个无施肥处理分别用海水、1:1 养殖废水和全养殖废水浇灌,水渗后覆盖地膜增温。当幼苗长至 9~13 cm 时,

株间距约 6 cm×7 cm。随后肥料处理组追施过磷酸钙 30.5 g/m²,尿素 11.2 g/m²。在整个试验期间,所有处理区内的海蓬子和碱蓬根据其生长的需要,分别浇灌等量的海水和不同浓度的对虾养殖废水。在 2017 年 6 月 20 日、6 月 30 日、7 月 10 日以及 7 月 20 日进行采样,此时期是海蓬子和碱蓬生长的旺盛期。每个小区选取 5 个有代表性的点,每点采集 3 株,进行测定。浙江省海洋水产养殖研究所永兴基地拥有较为完善的高效循环养殖系统,本研究中的养殖废水均来自此系统,且养殖废水中的各指标均保持较为稳定的变化,其全海水养殖废水基本性质参见表 1。

表 1 灌溉水质基本化学特征

水样	pH	盐度/ ‰	亚硝酸盐/ (mg·L ⁻¹)	硝酸盐/ (mg·L ⁻¹)	铵盐/ (mg·L ⁻¹)	活性磷/ (mg·L ⁻¹)
海水	7.5~8.4	17.3~19.3	0.06~0.18	0.05~0.15	0.04~0.19	0.07~0.10
养殖废水	7.2~8.6	17.0~18.9	6.70~8.29	3.00~4.50	6.00~9.80	1.10~1.81

1.3 指标测定与计算方法

取植株地上部,置于烘箱度在 120 ℃杀青 15 min,再用 70 ℃烘干至恒重,称得干重(DW)。NP 含量通过 H₂SO₄—H₂O₂ 消解后,分别用 ICP 光谱仪和流动分析仪测定。

称取 0.1 g 海蓬子的茎或碱蓬的叶,剪成数段放入 25 mL 提取液(1:1 的无水乙醇和丙酮)中,在 25 ℃黑暗条件下提取 24 h,测定提取液在 663,645,470 nm 处的吸光值,参照李合生^[13]的方法计算叶绿素(CHL)含量。

取 0.5 g 海蓬子茎或碱蓬的叶,加 5 mL 50 mmol/L pH 7.0 磷酸提取液冰浴研磨,4 ℃(10 000×g)离心 30 min,上清液为待测提取液。参照 Tan 等^[14]的方法测定超氧化歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性;参照 Wang 等^[15]的方法测定丙二醛(MDA)含量;参照李合生^[13]的方法测定细胞相对电导率(REC)。

分别采用茚三酮比色法和考马斯亮蓝 G-250 染色法^[13]测定海蓬子茎和碱蓬叶游离氨基酸(FAAS)和可溶性蛋白(SP)含量。

酶液提取和测定采用王东等^[16]的方法。0.3 g 海蓬子茎和碱蓬叶,加 Tris—HCl 缓冲液 5 mL(pH 7.5,内含 4 mmol/L DTT,1 mmol/L EDTA,1% PVP)冰浴研磨,4 ℃下(15 000×g)离心 30 min,上清液用于茚三酮反应,在 570 nm 下测内肽酶和羧肽酶活性。

1.4 数据处理与分析

采用 SPSS 21 软件对试验数据进行单因素方差分析,多重比较采用 LSD 显著性检验,并使用 SigmaPlot 10.0 绘图软件作图,图表中数据为平均值±标准差。2016—2017 年试验结果趋势基本一致,因

此本文主要列举出 2017 年度数据。

2 结果与分析

2.1 海水养殖废水浇灌对海蓬子和碱蓬地上部干重的影响

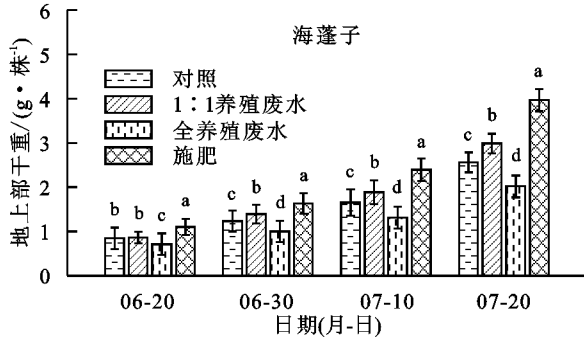
由图 1 可知,对照 2 种植物地上部 DW 显著高于全养殖废水处理的,低于 1:1 养殖废水和正常施肥处理的,其中以正常施肥处理的植物地上部 DW 最高,随着处理时间的延长,上述效应愈加明显,尤其体现在碱蓬植株上。与对照相比,随着海水养殖废水处理配比增加,2 种植物地上部 DW 先增后降,且伴随着处理时间的延长其差异幅度加大。与各自的对照相比,在 7 月 10 日和 7 月 20 日时,1:1 海水养殖废水处理下海蓬子地上部 DW 分别增加 13.9%和 16.7%,而全养殖废水处理下海蓬子地上部 DW 分别降低 18.9%和 21.1%;1:1 海水养殖废水处理下碱蓬地上部 DW 分别增加 20.9%和 23.5%,而全养殖废水处理下碱蓬地上部 DW 分别降低 20.6%和 26.0%。与正常施肥相比,在 7 月 10 日和 20 日时,1:1 养殖废水处理海蓬子地上部 DW 要分别降低 30.8%和 35.5%,碱蓬地上部 DW 分别降低 39.3%和 49.1%。

2.2 海水养殖废水浇灌对海蓬子和碱蓬叶绿素含量的影响

由图 2 可知,与各处理下植株地上部分 DW 变化一致,CHL 含量最高值也是正常施肥处理,而最低值是全养殖废水处理,随着处理时间的延长,增幅或降幅均愈加明显,尤其体现在碱蓬植株上。与对照相比,随着养殖废水配比的增加,海蓬子和碱蓬叶绿素(CHL)含量先增后降,1:1 养殖废水处理下海蓬子 CHL 含量高于对照,且在处理时间为 6 月 30 日时达到显著水平(P<0.05),整个处理期间全养殖废水处

理下 2 种植物 CHL 含量均显著降低 ($P < 0.05$), 且随着处理时间延长降低幅度越大。与施肥处理相比, 除 6 月 20 日和 6 月 30 日外对照和 1:1 养殖废水处理下海蓬子 CHL 含量均无显著差异, 而在 7 月 10 和 7 月 20 日时, 2 处理下海蓬子 CHL 含量均显著下降 ($P < 0.05$); 在整个处理期间, 全养殖废水处理下海

蓬子 CHL 含量均显著降低 ($P < 0.05$); 对照、1:1 养殖废水以及全养殖废水处理下碱蓬 CHL 含量均显著降低 ($P < 0.05$)。与正常施肥相比, 在 7 月 10 日和 7 月 20 日时, 1:1 养殖废水处理海蓬子 CHL 含量分别降低 12.2% 和 33.1%, 碱蓬 CHL 分别降低 34.0% 和 44.3%。



注: 同期各柱形上不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

图 1 海水养殖废水浇灌对海蓬子和碱蓬地上部干重的影响

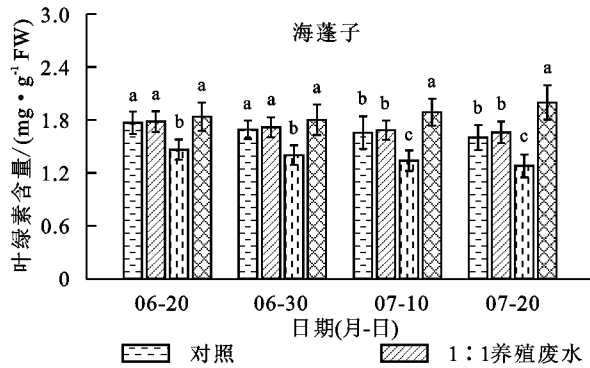


图 2 海水养殖废水浇灌对海蓬子和碱蓬叶绿素含量的影响

2.3 海水养殖废水浇灌对海蓬子和碱蓬地上部 NP 含量的影响

由图 3 可知, 与对照相比, 随着养殖废水配比增加, 2 种植物 NP 含量均呈先增后降, 且在 1:1 养殖废水处理下 2 种植物 NP 含量均达到最高; 与正常施肥处理相比, 各处理下 NP 含量均降低, 且碱蓬较海蓬子敏感。在 7 月 10 日后 1:1 养殖废水处理下海蓬子地上部含 N 含量显著高于对照 ($P < 0.05$), 而在 6 月 20 日至 7 月 20 日期间 1:1 养殖废水处理下碱蓬 N 含量均显著低于对照 ($P < 0.05$)。在 6 月 20 日至 7 月 20 日, 1:1 养殖废水处理下海蓬子 P 含量与对照之间无显著差异, 而全养殖废水处理下海蓬子地上部 P 含量均显著低于对照 ($P < 0.05$)。与海蓬子地上部分含 P 量变化不完全相同, 从 6 月 20 日后 1:1 养殖废水处理下碱蓬 P 含量显著高于对照, 而全养殖废水处理下碱蓬 P 含量显著低于对照 ($P < 0.05$)。2 种植物相比, 碱蓬 NP 受海水养殖废水浓度影响较海蓬子敏感。如 7 月 20 日, 1:1 养殖废水和全养殖废水处理下海蓬子 N 含量分别比施肥处理降低 28.4% 和 37.9%, 而碱蓬 N 含量分别比施肥

处理降低 34.5% 和 55.2%; 1:1 养殖废水和全养殖废水处理下海蓬子 P 含量分别比施肥处理降低 11.7% 和 21.09%, 而碱蓬 P 含量分别比施肥处理降低 35.8% 和 44.7%。与正常施肥相比, 在 7 月 10 日和 20 日时, 1:1 养殖废水处理海蓬子地上部 N 含量分别降低 23.6% 和 28.4%, P 量分别降低 7.5% 和 11.7%; 碱蓬地上部 N 分别降低 32.1% 和 34.6%, P 量分别降低 39.1% 和 35.7%。

2.4 海水养殖废水浇灌对海蓬子和碱蓬相对电导率、MDA 含量、SOD 和 POD 活性的影响

由图 4 可知, 对照 2 种植物地上部相对电导率 (REC) 高于 1:1 养殖废水处理 and 正常施肥处理的, 低于全养殖废水处理的, 其中以全养殖废水处理的植物 REC 最高。与正常施肥处理相比, 不同养殖废水浓度配比处理下海蓬子和碱蓬 REC 均增加, 但碱蓬 REC 增幅高于海蓬子。1:1 养殖废水和全养殖废水处理下海蓬子和碱蓬 REC 在 7 月 20 日均达到最大, 其中 1:1 养殖废水和全养殖废水处理下海蓬子 REC 分别为施肥处理的 2.0, 2.0 倍, 碱蓬 REC 为各自施肥处理的 2.5, 2.2 倍。

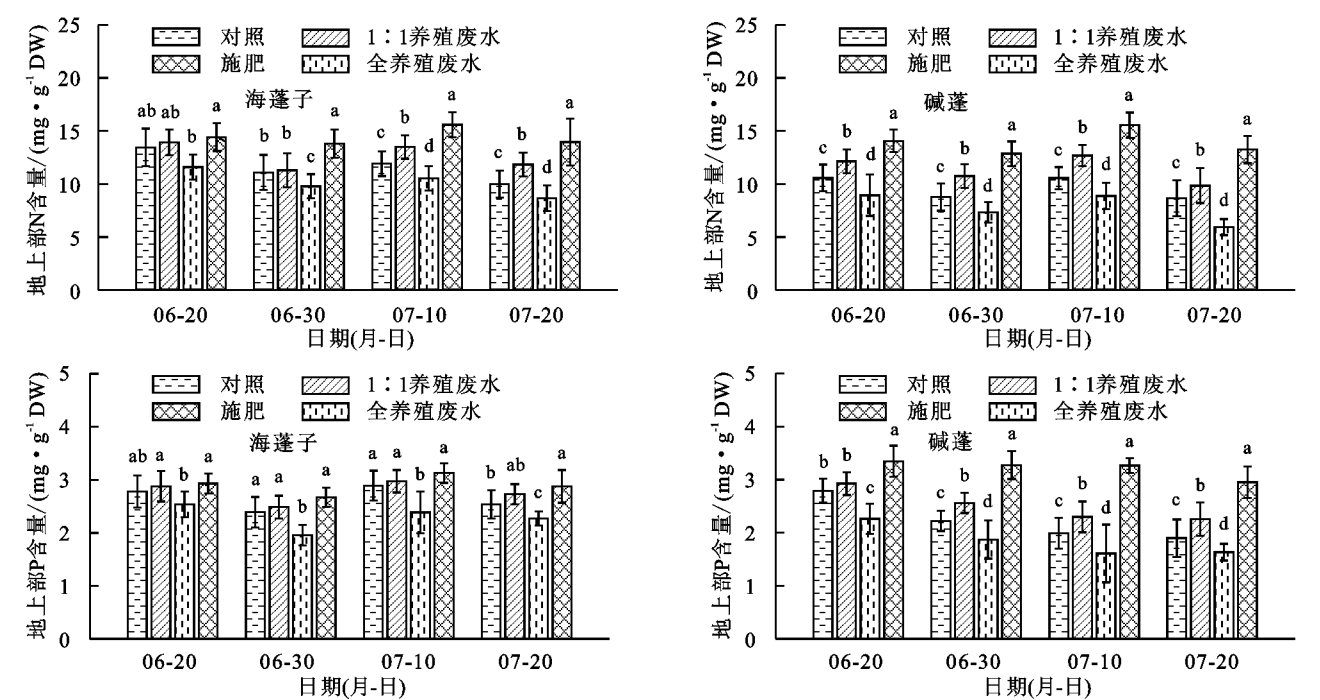


图 3 海水养殖废水浇灌对海蓬子和碱蓬地上部 N 和 P 含量的影响

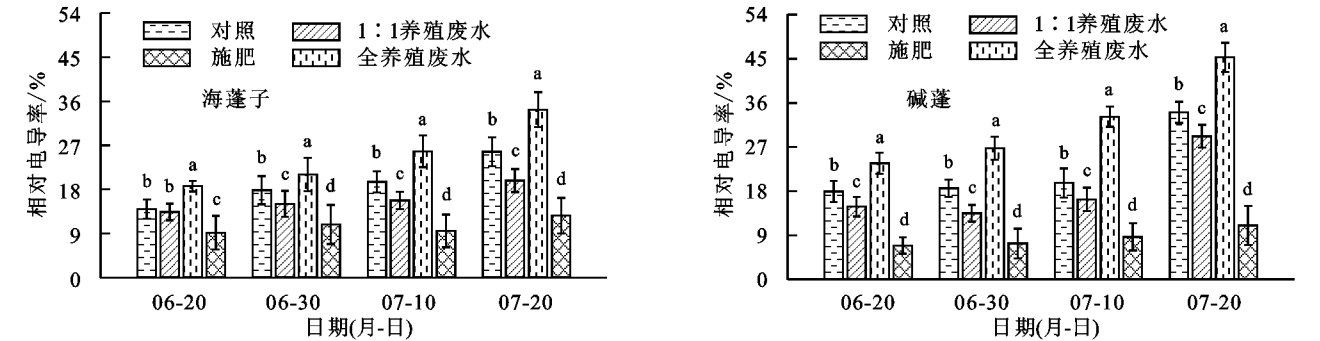


图 4 海水养殖废水浇灌对海蓬子和碱蓬细胞膜透性的影响

由图 5 可知,与 REC 变化趋势一致,在 6 月 20 日至 7 月 20 日期间,1:1 养殖废水处理下海蓬子和碱蓬 MDA 含量显著低于对照,而全养殖废水处理下 2 种植物 MDA 含量均显著高于对照($P<0.05$)。正常施肥处理的植株 MDA 含量均显著低于对照和其他处理($P<0.05$),1:1 养殖废水处理下海蓬子 MDA 含量较碱蓬接近于对照。如在 7 月 10 日和 7 月 20 日,1:1 养殖废水处理下海蓬子 MDA 含量分别比施肥处理增加 18.1% 和 21.4%,而碱蓬 MDA 含量分别比施肥处理增加 40.7% 和 39.6%。

与对照相比,两配比的养殖废水处理下海蓬子和碱蓬 SOD 活性均显著增加($P<0.05$),而碱蓬 SOD 活性增幅比海蓬子的更大,尤其是后期(图 5)。如在 7 月 10 日和 7 月 20 日,1:1 养殖废水处理下海蓬子地上部 SOD 活性分别比对照增加 12.1% 和 19.4%,碱蓬 SOD 活性分别比对照增加 21.9% 和 27.6%。与施肥处理相比,除 7 月 20 日无施肥海水灌溉(对照)处理下海蓬子 SOD 活性无显著差异外,所有不同浓度的养殖废水配比处理下 2 种植物 SOD 活性均显

著增加($P<0.05$)。

正常施肥条件下,随着海蓬子和碱蓬生育进程延长,2 种植物 POD 活性均呈逐渐降低的趋势(图 5)。与对照相比,1:1 养殖废水均促进海蓬子和碱蓬 POD 活性增加,尤其碱蓬 POD 活性增加更为明显,其与对照之间均存在显著差异($P<0.05$);全养殖废水处理下海蓬子和碱蓬 POD 活性均显著降低($P<0.05$),碱蓬 POD 活性的降低幅度较海蓬子更大。在 6 月 10 日至 7 月 20 日期间,所有不同浓度养殖废水配比处理下 2 种植物 POD 活性均显著高于施肥处理($P<0.05$)。

2.5 海水养殖废水浇灌对海蓬子和碱蓬可溶性蛋白和游离氨基酸含量的影响

由图 6 可知,正常施肥条件下海蓬子和碱蓬可溶性蛋白(SP)含量均随着生育进程呈先升后降,最高均出现在 7 月 10 日。与对照相比,除 6 月 20 日外 1:1 养殖废水处理下海蓬子 SP 含量均显著增加($P<0.05$),而在整个生育期内全养殖废水处理下海蓬子 SP 含量均显著降低($P<0.05$)。不同处理下海蓬子 SP 含量变化不同,与对照相比,1:1 养殖废水处理

下碱蓬 SP 含量仅在 7 月 10 日和 7 月 20 日显著增加,而全养殖废水也在此时期显著减少($P<0.05$)。此外,正常施肥处理下在 6 月 20 日后海蓬子 SP 含量

均显著高于其他不同浓度的养殖废水配比处理($P<0.05$),而碱蓬 SP 含量在整个生育期均显著高于其他处理($P<0.05$)。

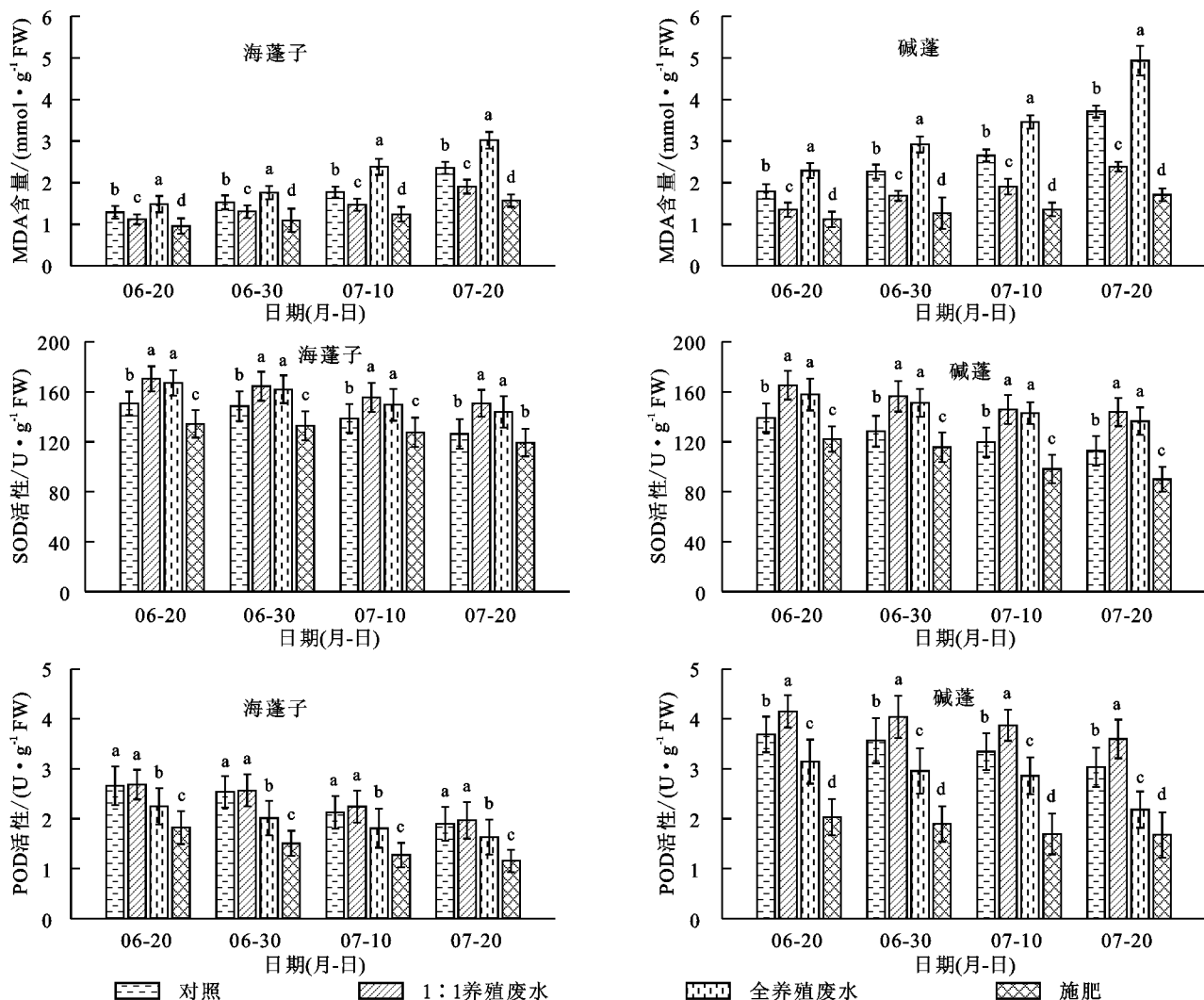


图 5 海水养殖废水浇灌对海蓬子和碱蓬 MDA 含量以及 SOD 和 POD 活性的影响

正常施肥条件下海蓬子游离氨基酸(FAAS)含量随生育期进程先增后降,而碱蓬 FAAS 含量却逐渐升高(图 6)。与对照相比,1:1 养殖废水处理下海蓬子 FAAS 含量均显著增加,而全养殖废水处理下海蓬子 FAAS 含量显著降低($P<0.05$)。2 种植物相比,1:1 养殖废水处理时间越长,碱蓬增加幅度比海蓬子越大,如 7 月 10 日和 7 月 20 日,1:1 养殖废水处理下海蓬子 FAAS 含量比对照分别增加 18.4% 和 23.21%,同浓度处理下碱蓬 FAAS 含量分别增加 53.83% 和 64.74%。与正常施肥处理相比,1:1 养殖废水处理下海蓬子和碱蓬 FAAS 含量显著增加($P<0.05$),而全养殖废水处理下仅在 7 月 10 日和 7 月 20 日显著降低($P<0.05$)。

2.6 海水养殖废水浇灌对海蓬子和碱蓬内肽酶和羧肽酶活性的影响

正常施肥处理下随着生育进程,海蓬子内肽酶活性逐渐减少,而碱蓬内肽酶活性先增后降(图 7)。与对

照相比,1:1 养殖废水处理下海蓬子和碱蓬内肽酶活性显著增加($P<0.05$),且在 7 月 20 日时分别增加 14.2% 和 27.1%;同期,全养殖废水处理下海蓬子和碱蓬体内内肽酶活性却显著低于对照($P<0.05$),分别比对照降低 23.3% 和 40.8%。与施肥处理比较,1:1 养殖废水处理下海蓬子和碱蓬内肽酶活性均显著增加($P<0.05$),全养殖废水处理下海蓬子和碱蓬羧肽酶活性均显著降低($P<0.05$)。与内肽酶相似,但 1:1 养殖废水处理下海蓬子和碱蓬羧肽酶活性更接近于施肥处理,且在 6 月 20 日后与对照间无显著差异(图 7)。与对照相比,在 7 月 10 日和 7 月 20 日时,1:1 养殖废水处理下海蓬子羧肽酶活性均显著增加($P<0.05$),分别增加 14.7% 和 14.1%;在 6 月 10 日至 7 月 20 日,全养殖废水处理下海蓬子羧肽酶活性均显著降低($P<0.05$),21.9.8%,17.2%,16.2%,18.8%。与对照相比,在 6 月 30 日至 7 月 20 日,1:1 养殖废水处理下碱蓬羧肽酶活性显著增加($P<0.05$),分别增加

13.2%,15.5%,14.7%,6月20日增加不显著;在6月10日至7月20日期间,全养殖废水处理下碱蓬羧肽酶活性

均显著降低($P<0.05$),分别降低 15.1%,121.2%,20.3%,21.8%。

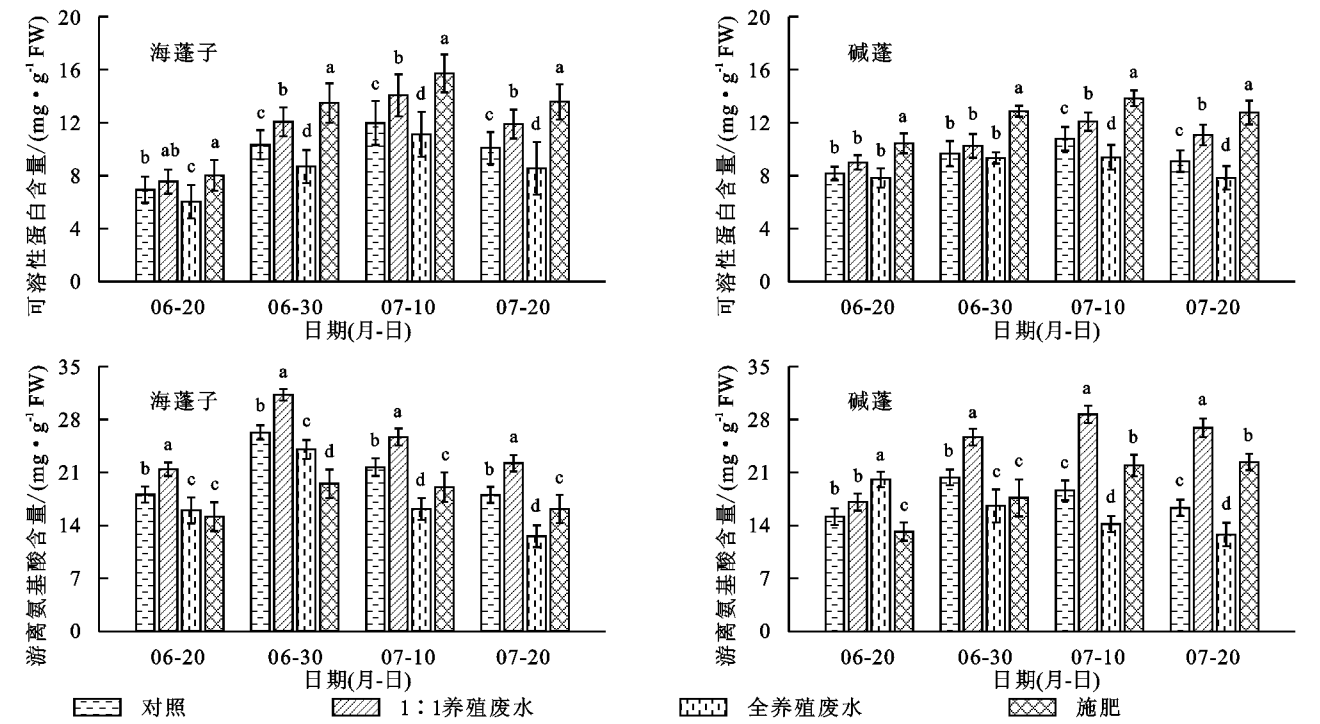


图 6 海水养殖废水浇灌对海蓬子、碱蓬可溶性蛋白和游离氨基酸含量的影响

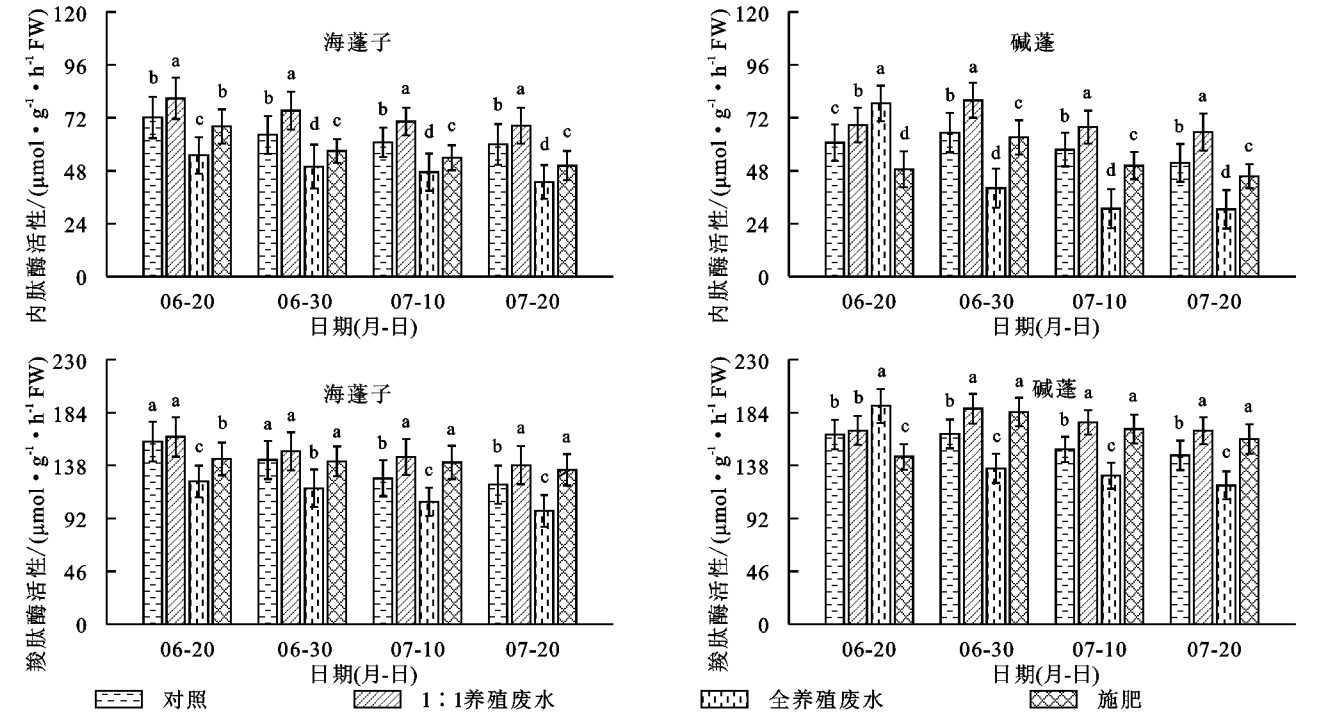


图 7 海水养殖废水浇灌对海蓬子、碱蓬内肽酶和羧肽酶活性活性的影响

3 讨论

Li 等^[17]研究表明,N 含量与菠菜生长存在一定的关系,当浓度为 30 keV 3.12×10¹⁶ N⁺ ions/cm² 时,其干重、生长速率均会受到抑制。此外,也有研究^[18]指出,1:5 配制的低浓度养殖废水促进了萱草生长,而 1:3 配制的高浓度养殖废水抑制了萱草生物量的积累,这主要是因为高浓度养殖废水胁迫下萱草叶绿素合成受到抑

制,植株产生了明显的过氧化胁迫和膜伤害。本研究中,全海水养殖废水灌溉下,在 7 月 20 日时海蓬子和碱蓬地上部干重分别比海水灌溉(对照)处理下降低 21.1%和 26.0%,1:1 海水养殖废水浇灌下,同期其地上部干重分别下降 16.7%和 23.5%。可见即使是海水养殖废水,配比过高,同样会抑制盐生植物海蓬子和碱蓬的生长,而 1:1 养殖废水却促进了 2 种耐

盐植物生长。其中,海蓬子生长被抑制程度低于碱蓬的,很可能主要由于海水养殖废水的盐度更适宜海蓬子生长需要,而对于碱蓬来说,其盐度已经偏高^[19]。当钠吸附比值为 $7.4 \text{ (mmol/L)}^{1/2}$ 时,海参和大鳞鲂养殖废水浇灌下菊芋可取得较高的块茎产量,且与淡水处理间无明显差异,而高盐度的虾养殖废水降低了菊芋的块茎产量^[20]。

此外,尽管 1:1 养殖废水处理下海蓬子和碱蓬生长比全海水处理好,即在 6 月 20 日、6 月 30 日、7 月 10 日、7 月 20 日,1:1 养殖废水处理下,海蓬子地上部生物量分别为对照的 1.9%,12.8%,13.9%,16.7%,碱蓬地上部生物量分别为对照的 12.1%,15.9%,20.9%,23.5%;但依然低于正常施肥运筹处理的,即在 6 月 20 日、6 月 30 日、7 月 10 日、7 月 20 日,1:1 养殖废水处理下,海蓬子地上部生物量分别为正常施肥处理的 23.3%,24.3%,30.8%,35.6%,碱蓬地上部生物量分别为正常施肥的 33.9%,40.0%,39.3%,49.1%;表明利用一定配比的海水养殖废水灌溉可以利用养殖废水,替代部分化肥,减少养殖废水排放。

本研究发现,正常施肥处理和 1:1 海水养殖废水灌溉均促进了海蓬子和碱蓬叶绿素合成,从而加快其生长,提高其生物量,而全养殖废水处理却产生了抑制效应。另一方面,研究也表明,与甜土植物相似,很可能高浓度养殖废水中铵态氮等氮素形态供应对盐生植物海蓬子和碱蓬生长产生了毒害作用。海蓬子对海水养殖废水中氮的吸收能力与 NH_4^+ 、 NO_3^- 存在形式有关,Quintā 等^[10]研究认为海蓬子在 NH_4NO_3 条件下,植株干重略高于 NO_3^- 条件下植株的,但差异并不显著 ($P>0.05$); NH_4NO_3 或 NO_3^- 条件下植株干重显著高于 NH_4^+ 条件下植株的。本研究中,海水养殖废水氮素主要为 NH_4^+ ,因此其生长受到抑制的现象和 Quintā 等^[10]研究结果相一致。

在 NO_3^- 或 NH_4NO_3 条件下,海蓬子 N 含量显著高于 NH_4^+ 条件下植株的^[10]。已有研究^[21]还发现过高或过低盐度都会影响碱蓬对水体中 N、P 的吸收,进而抑制 N、P 在植株内的积累。早期有研究^[22]发现,随着海水养殖废水浇灌时间的延长,碱蓬对 Na^+ 的吸收显著增加,而对 K^+ 吸收显著降低;但海蓬子 Na^+ 和 K^+ 吸收均未显著变化,这是海蓬子较碱蓬适合海水养殖废水浇灌的主要原因之一。结合 NH_4^+ 、 NO_3^- 以及 $\text{PO}_4^{3-}\text{C}_i$ 吸收规律^[23],分析认为耐盐植物对 N、P 吸收可能与 Na^+ 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 $\text{PO}_4^{3-}\text{C}_i$ 以及 NO_3^- 之间的浓度有关。本研究中,随着海水养殖废水配比的增加,海蓬子和碱蓬 NP 含量减少,表

明高配比海水养殖废水改变了 2 种盐生植物对水体中 Na^+ 和 K^+ 吸收的平衡,抑制了耐盐植物对 N、P 和 NO_3^- 等吸收,但植株内的 Na^+ 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 $\text{PO}_4^{3-}\text{C}_i$ 和 NO_3^- 如何吸收、运输和分配机制仍需要下一步深入探讨。在甜土植物方面,赵耕毛等^[24]研究发现,海水养殖废水浓度越高而菊芋对 NP 吸收越低,这主要与盐度有关,同时研究还指出海水养殖废水灌溉菊芋对 N 的净吸收量(海水养殖废水处理与对照之间的差)为负,表现为负激发效应,而对磷的净吸收量为正值,表现为正激发效应。本研究中,与海水处理相比,1:1 养殖废水处理下海蓬子和碱蓬 NP 含量均增加,因而 NP 净吸收量(海水养殖废水处理与海水处理之间的差)均为正值,所以 1:1 养殖废水处理下海蓬子和碱蓬对 NP 吸收均表现为正激发效应,而全养殖废水处理下海蓬子和碱蓬 NP 含量均减少,其表现为负激发效应。另外,碱蓬对海水养殖废水 NP 吸收较海蓬子敏感。

MDA 含量和细胞透性(即相对电导率)均反映植物膜系统受损状况的重要指标^[25-27]。本研究中,海蓬子和碱蓬干重、NP 含量均伴随着海水养殖废水浓度的先增加后减少,而其植株体内的 MDA 含量和 CMP 却随着海水养殖废水浓度先减少后增加。表明 1:1 养殖废水处理促进了 2 种植物生长和 NP 吸收,主要因子是适宜浓度的海水养殖废水灌溉减轻了细胞膜脂过氧化伤害,从而抑制了细胞膜受损,而高浓度养殖废水处理却加剧了对 2 种植物细胞膜的伤害,导致植株生长和 NP 吸收受到抑制。逆境条件下参与活性氧清除的 SOD、POD 等抗氧化酶在海蓬子和碱蓬体内协同作用,可增强植株清除活性氧能力^[28-29]。本研究中,1:1 养殖废水灌溉海蓬子体内的 SOD 活性高于对照与全养殖废水处理,但增加幅度随着灌溉时间延迟而减少,尤其是海蓬子,表明在一定胁迫时间内,海蓬子和碱蓬均会通过增加体内的 SOD 酶活性来提高自身适应养殖废水的胁迫能力。但当海水养殖废水灌溉浓度和时间超出其耐受范围时,酶活性则会降低,从而导致 SOD 酶清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 能力减弱。植物体内的 POD 一方面可以通过催化 NADH 或 NADPH 参与产生活性氧(ROS),另一方面还可以把体内的 H_2O_2 分解转变成 H_2O 和 O_2 ,表现保护植物的作用^[30]。本研究中,海水养殖废水灌溉条件下海蓬子和碱蓬 POD 活性也随着胁迫时间延迟而逐渐降低,其中 1:1 养殖废水处理下海蓬子和碱蓬体内 POD 活性均高于全养殖废水处理,且同期 2 种耐盐植物的 MDA 含量和 CMP 均低于全养殖废水处理,表明 POD 活性在 2 种植物中均表现保护

作用。另一方面,与对照相比,养殖废水处理下2种耐盐植物体内 POD 活性增加幅度高于 SOD 活性,且海蓬子体内 POD 和 SOD 活性均增加幅度小于碱蓬,表明碱蓬抗氧化系统对海水养殖废水较海蓬子敏感。在正常施肥条件下,海蓬子和碱蓬 SOD、POD 活性均、MDA 含量以及 CMP 均呈平缓趋势,表明2种植物抗氧化系统并未受到影响,植株正常生长。

光合作用是影响植物生长的重要因素,而植物光合衰退又与可溶性蛋白质(SP)、叶绿素(CHL)含量存在显著相关^[31]。一般来说,植物体内的各种蛋白质处于动态更新过程,蛋白质的更新包括蛋白质的分解代谢和蛋白质的合成代谢。当某些蛋白质分解代谢大于合成代谢时,植物体内游离氨基酸(FAAS)含量升高^[32]。本研究发现,正常施肥条件下,随着海蓬子生育进程延长,2种植物蛋白水解过程较为缓和,这与体内稳定的内肽酶和羧肽酶活性有关。在整个处理期间,1:1 养殖废水处理下2种耐盐植物体内的 SP 含量均增加,而全养殖废水处理下2种植物 SP 含量却减少,且随着处理时间的延长植株 SP 含量降幅加大。与 SP 变化不同,1:1 处理下海蓬子和碱蓬 FAAS 含量均增加,但全养殖废水处理下在7月10日后其含量均开始低于对照。研究表明,在1:1 处理下海蓬子和碱蓬蛋白质的降解大于合成,而较长时间的全养殖废水胁迫抑制了2种植物蛋白合成或降解,即整体氮代谢下调,导致 SP 和 FAAS 含量均下降。在植物蛋白降解过程中,内肽酶水解蛋白质中间部分的肽键,外肽酶(羧肽酶和氨肽酶)则把肽键水解为氨基酸^[33]。本研究中,1:1 养殖废水处理下海蓬子和碱蓬内肽酶活性和羧肽酶活性均高于对照,而 FAAS 与其酶活性变化一致,表明在较低浓度养殖废水处理下海蓬子和碱蓬可以通过提高体内内肽酶活性加速蛋白水解为小肽,小肽则被羧肽酶进一步水解为 FAAS。然而,全养殖废水处理下海蓬子和碱蓬 SP 的合成和分解过程较为复杂,但肯定的是,全养殖废水处理下内肽酶和羧肽酶活性的降低是导致 FAAS 下降的主要原因。2种盐生植物相比,蛋白质水解过程对碱蓬海水养殖废水浓度的响应较海蓬子敏感,且内肽酶在2种耐盐植物体内的蛋白水解过程中起重要作用。

4 结论

与正常栽培相比,无施肥条件下随着海水养殖废水配比的增加海蓬子和碱蓬干重、NP 含量均降低。这主要通过降低叶绿素合成,影响海蓬子和碱蓬内肽酶和羧肽酶活性,抑制 NP 吸收、破坏植株氧化还原

平衡,最终导致植株生长缓慢。与无施肥海水灌溉相比,1:1 养殖废水处理可有效促进2种植物叶绿素合成,提高 SOD、POD 活性,降低 MDA 积累量,减少细胞膜受损,进而加快植株生长,增加 NP 吸收。2种植物相比,碱蓬对海水养殖废水浓度的生理响应较海蓬子敏感。在下一步的研究中,拟依托本研究结果,探讨海水养殖废水不同稀释配比对盐生经济植物海蓬子和碱蓬的生长、发育、产量和品质的效应,并进一步探讨其生长调控效应和 NP 代谢的关系。

参考文献:

- [1] Burford M A, Costanzo S D, Dennison W C, et al. A synthesis of dominant ecological processes in intensive shrimp ponds and adjacent coastal environments in NE Australia [J]. Marine Pollution Bulletin, 2003, 46 (11): 1456-1469.
- [2] 沙宏杰,张东,施顺杰,等. 基于耦合模型和遥感技术的江苏中部海岸带生态系统健康评价研究[J]. 生态学报, 2018,38(19):7102-7112.
- [3] Webb J M, Quintā R, Papadimitriou S, et al. The effect of halophyte planting density on the efficiency of constructed wetlands for the treatment of wastewater from marine aquaculture [J]. Ecological Engineering, 2013, 61(8): 145-153.
- [4] 赵耕毛,刘兆谱,陈铭达,等. 海水养殖废水灌溉条件下山东滨海盐土溶质迁移及其平衡研究[J]. 水土保持学报,2005,19(3):80-82,109.
- [5] Fountoulakis M, Daskalakis G, Papadaki A, et al. Use of halophytes in pilot-scale horizontal flow constructed wetland treating domestic wastewater [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24 (20): 16682-16689.
- [6] Lymbery A J, Kay G D, Doupé R G, et al. The potential of a salt-tolerant plant (*Distichlis spicata* cv. NyPa Forage) to treat effluent from inland saline aquaculture and provide livestock feed on salt-affected farmland [J]. Science of the Total Environment, 2013, 445/446: 192-201.
- [7] Zhao G, Mehta S K, Liu Z. Use of saline aquaculture wastewater to irrigate salt-tolerant Jerusalem artichoke and sunflower in semiarid coastal zones of China [J]. Agricultural Water Management, 2010, 97(12): 1987-1993.
- [8] Brown J J, Glenn E P, Fitzsimmons K M, et al. Halophytes for the treatment of saline aquaculture effluent [J]. Aquaculture, 1999, 175(3/4): 255-268.
- [9] Webb J M, Quintā R, Papadimitriou S, et al. Halophyte filter beds for treatment of saline wastewater from aquaculture [J]. Water Research, 2012, 46(16): 5102-5114.
- [10] Quintā R, Santos R, Thomas D N, et al. Growth and

- nitrogen uptake by *Salicornia europaea* and *Aster tripolium* in nutrient conditions typical of aquaculture wastewater [J]. *Chemosphere*, 2015, 120(11): 414-421.
- [11] 顾新娇, 杨闯, 王文国, 等. 不同浓度养殖废水对青萍生长能力的影响[J]. *环境工程学报*, 2015, 9(3): 1103-1108.
- [12] 徐坚, 史建磊, 王燕, 等. 不同追肥水平对北美海蓬子生长和产量形成的影响[J]. *南方农业学报*, 2014, 45(3): 415-419.
- [13] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [14] Tan W, Liu J, Dai T, et al. Alterations in photosynthesis and antioxidant enzyme activity in winter wheat subjected to post-anthesis water-logging [J]. *Photosynthetica*, 2008, 46(1): 21-27.
- [15] Wang X, Cai J, Jiang D, et al. Pre-anthesis high-temperature acclimation alleviates damage to the flag leaf caused by post-anthesis heat stress in wheat [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(6): 585-593.
- [16] 王东, 于振文, 王旭东. 硫素对冬小麦籽粒蛋白质积累的影响[J]. *作物学报*, 2003, 29(6): 878-883.
- [17] Li M, Wu Y, Yu Z, et al. Nitrogen removal from eutrophic water by floating-bed-grown water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk.) with ion implantation [J]. *Water Research*, 2007, 41(14): 3152-3158.
- [18] 陈娟, 湛素娟, 李明银, 等. 萱草对农村养殖废水净化能力的研究[J]. *北方园艺*, 2014(6): 66-69.
- [19] Meng X Q, Zhou J, Sui N. Mechanisms of salt tolerance in halophytes: Current understanding and recent advances [J]. *Open Life Sciences*, 2018, 13(1): 149-154.
- [20] 赵耕毛, 刘兆普, 汪辉, 等. 滨海盐渍区利用异源海水养殖废水灌溉耐盐能源植物(菊芋)研究[J]. *干旱地区农业研究*, 2009, 27(3): 107-111.
- [21] 张亚, 常雅军, 刘晓静, 等. 碱蓬对不同盐度富营养化模拟海水的净化效应及其生长特性[J]. *植物资源与环境学报*, 2016, 25(4): 34-41.
- [22] 郑春芳, 陈琛, 彭益全, 等. 海水养殖废水灌溉对碱蓬和海蓬子生长和品质的影响[J]. *浙江农业学报*, 2012, 24(4): 663-669.
- [23] Kioussis D R, Wheaton F W, Kofinas P. Reactive nitrogen and phosphorus removal from aquaculture wastewater effluents using polymer hydrogels [J]. *Aquacultural Engineering*, 2000, 23(4): 315-332.
- [24] 赵耕毛, 刘兆普, 张博, 等. 北方半湿润滨海地区海水养殖废水灌溉菊芋研究[J]. *灌溉排水学报*, 2009, 28(2): 9-12.
- [25] Aghaleh M, Niknam V, Ebrahimzadeh H, et al. Antioxidative enzymes in two in vitro cultured *Salicornia* species in response to increasing salinity [J]. *Biologia Plantarum*, 2014, 58(2): 391-394.
- [26] Hameed A, Hussain T, Gulzar S, et al. Salt tolerance of a cash crop halophyte *Suaeda fruticosa*: Biochemical responses to salt and exogenous chemical treatments [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2012, 34(6): 2331-2340.
- [27] Dai H, Wei S, Twardowska I, et al. Hyperaccumulating potential of *Bidens pilosa* L. for Cd and elucidation of its translocation behavior based on cell membrane permeability [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(29): 23161-23167.
- [28] Aghaleh M, Niknam V, Ebrahimzadeh H, et al. Effect of salt stress on physiological and antioxidative responses in two species of *Salicornia* (*S. persica* and *S. europaea*) [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2011, 33(4): 1261-1270.
- [29] Sui N. Photoinhibition of *Suaeda salsa* to chilling stress is related to energy dissipation and water-water cycle [J]. *Photosynthetica*, 2015, 53(2): 207-212.
- [30] 田国忠, 李怀方, 裴维蕃. 植物过氧化物酶研究进展[J]. *武汉植物学研究*, 2001, 19(4): 332-344.
- [31] 李俊, 张春雷, 赵懿, 等. 油菜短柄叶光合衰退及其对产量的影响[J]. *中国油料作物学报*, 2011, 33(5): 464-469.
- [32] 栗淑媛, 马华山, 王俊琴, 等. 低温对螺旋藻可溶性蛋白和游离氨基酸外渗的影响[J]. *西北植物学报*, 2005, 25(6): 1195-1198.
- [33] 王旭东, 于振文, 王东. 钾对小麦旗叶蛋白水解酶活性和籽粒品质的影响[J]. *作物学报*, 2003, 29(2): 285-289.