

不同时期喷施 APK-9 对大豆受酸雨胁迫的缓解效应

张国正¹, 邢兴华², 王 幸², 何小红¹, 江海东¹, 喻德跃¹

(1. 南京农业大学 大豆研究所/国家大豆改良中心/作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095; 2. 江苏徐淮地区徐州农业科学研究所, 江苏 徐州 221131)

摘 要:为探讨叶面喷施新型酸雨缓解剂 APK-9 对酸雨胁迫大豆毒害效应的缓解效果,以徐豆 18 为供试材料,研究了不同生育时期喷施 APK-9 处理对 pH3.5 酸雨胁迫下大豆生长的影响。结果表明:pH3.5 酸雨自开花期开始显著抑制了大豆植株的生长,进而降低了产量。开花期和结荚期喷施 APK-9 可明显缓解大豆的酸雨胁迫,氮积累量、磷积累量、叶片色素含量、抗氧化酶活性等显著高于酸雨胁迫的大豆,丙二醛(MDA)含量显著低于酸雨处理大豆。然而,苗期和鼓粒期喷施 APK-9,缓解效应下降,叶绿素含量、生物量、产量等下降,而 MDA 含量上升。可见在适宜时期喷施 APK-9 对酸雨胁迫下的大豆植株具有一定的缓解效应,而过早或过晚喷施效果较小,在试验中以开花期喷施的效果最佳。

关键词:酸雨缓解剂 APK-9;大豆;缓解;胁迫

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2017.02.0280

Alleviative Effects of Spraying Plant Growth Regulator APK-9 on Acid Rain Stressed Soybean Plants at Different Growth Stages

ZHANG Guo-zheng¹, XING Xing-hua², WANG Xing², HE Xiao-hong¹, JIANG Hai-dong¹, YU De-yue¹

(1. Soybean Research Institute/National Center for Soybean Improvement/State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;2. Xuzhou Institute of Agricultural Sciences of the Xuhuai District of Jiangsu Province, Xuzhou 221121, China)

Abstract: Acid rain is considered to be the top ten environment concerns in the world. In a field experiment, soybean (*Glycine max* L.) cultivar Xuzhou 18 was subjected to simulated acid rain (AR, pH3.5), followed by foliar application of APK-9 consisting of ascorbic acid (AsA) and polyaspartic acid. The alleviative effect of APK-9 on AR stress in soybean plants was then investigated. The results showed that AR obviously depressed growth after flowering stage and finally reduced soybean yield. Chlorophyll content, nitrogen accumulation, phosphorus accumulation, AsA content, and antioxidative enzyme activities in AR stressed seedlings were enhanced, while malonyldialdehyde (MDA) content was repressed by application of APK-9 in flowering stage and podding stage. However, chlorophyll content in leaf, biomass and yield reduced while MDA content increased when APK-9 was sprayed in seedlings stage and seed-filling stage. Thus, AR stress on soybean plants was effectively alleviated by foliar application of APK-9 in flowering stage and podding stage and the alleviation effect could be depressed by earlier or later application of APK-9. Here, spraying APK-9 in flowering stage had the greatest effect on AR stressed plants.

Keywords: Simulated acid rain; Soybean; APK-9; Alleviate; Stress

近年来随着经济的发展,受酸雨影响的面积逐年扩大,危害越来越严重。根据前体物排放量预测,2020 年前我国酸雨量仍将继续增加^[1]。大豆生长期(6 月中上旬~9 月下旬)恰逢雨季,遭受酸雨危害的风险较高。大豆是我国重要的经济作物,但是现在用于生产的大豆品种或多或少受到这种恶劣的环境条件的影响^[2]。酸雨对植物伤害的生理机制之一在于产生氧化胁迫,如刘丽欣等^[3]研究显示在酸雨胁迫下,大豆活性氧(ROS)产生与清除的代谢系统平衡被破坏,丙二醛含量增加,膜脂过氧

化加剧,最终导致产量显著下降。酸雨也可使营养元素从叶片组织中大量流失,导致植物生长发育不良、增加病虫害,进而降低植物干物质的积累水平。抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)是植物体内一种重要的小分子抗氧化物,可以直接清除 O²⁻、HO· 和 H₂O₂ 等 ROS,也可通过抗坏血酸-谷胱甘肽循环间接清除 H₂O₂,从而减轻 ROS 导致的氧化胁迫伤害,提高植物的抗性^[4]。聚天门冬氨酸(polyaspartic acid, PASP)是一种氨基酸的聚合物和水溶性多肽,具有无公害和可完全生物降解的特性,对植物具有

收稿日期:2016-12-14
基金项目:国家自然科学基金(31271749);江苏省科技支撑计划(BE2012747)。
第一作者简介:张国正(1963-),男,博士,主要从事大豆耐酸雨抗性机理及优异基因挖掘研究。E-mail:zgzh@njau.edu.cn。
通讯作者:喻德跃(1965-),男,教授,博导,主要从事作物耐逆境及遗传育种研究。E-mail:dyyu@njau.edu.cn。

全面营养,能激发生物酶活性,强化氮、磷、钾及微量元素吸收^[5-6],促进根系生长,增强农作物抗逆性。南京农业大学以 AsA、PASP 为有效成分成功研制一种大豆酸雨缓解剂(专利申请号:201610009410.1,申请公布号:CN 105638269 A),本文用名为 APK-9,主要成分 AsA 和 PASP 比例为 5:4)。本文以徐豆 18 为供试材料,在大田条件下研究了植物生长调节剂 APK-9 在不同时期施用对 pH3.5 酸雨胁迫下大豆生长、产量以及生理特征的影响,探明 APK-9 最佳施用时期,同时探索 APK-9 缓解酸雨伤害的可能机理,为其在大豆生产中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验地点位于黄淮海夏大豆南部主要产区,地处 E117°17',N34°17',海拔 30 m,属于北温带半湿润季风气候,四季分明,雨量集中,光热充裕,雨热同季。供试品种为徐豆 18(江苏徐淮地区徐州农业科学研究所)。试验田土壤为黄壤土,pH 为 8.5,有机质含量为 18.7 g·kg⁻¹,速效 N 含量为 123.1 mg·kg⁻¹,速效 P 含量为 27.6 mg·kg⁻¹,速效 K 含量为 113.2 mg·kg⁻¹。大豆种肥为复合肥 225 kg·hm⁻²,N:P₂O₅:K₂O 为 15:15:15。田间施肥和病虫害防治同当地大田管理。

1.2 试验设计

试验于 2016 年在江苏徐淮地区徐州农业科学研究所试验基地进行。6 月 17 日播种,于 9 月 30 日收获。参照文献^[7]模拟江苏省酸雨,pH 分别为 3.5 和 5.6,以 pH5.6 为对照(CK),其中,pH3.5 为近年来江苏省酸雨最低 pH。根据江苏省实测降水测定值确定 SO₄²⁻与 NO₃⁻的摩尔浓度之比为 4.7:1^[8],酸雨配置参考文献^[9]。在第三片复叶展平后(7 月 18 日),用小型喷雾器仿照自然降水,每隔 8 d 左右喷淋酸雨,以叶片滴液为限(相当于 8 mm 降雨量),共 8 次酸雨处理,大豆苗期、开花期、结荚期和鼓粒期各 2 次。pH3.5 未喷施 APK-9 设为 T0。pH3.5 的酸雨处理喷施 APK-9,时间分别为苗期、开花期、结荚期和鼓粒期第 1 次酸雨处理后的第 2 天,分别设为 T1、T2、T3 和 T4。小区面积 3 m×6 m,行距为 40 cm,株距为 9 cm。试验采用随机区组设计,3 次重复。为避免降雨干扰,采用简易塑料薄膜移动大棚遮挡处理小区。

1.3 测定项目与方法

分别于大豆苗期、开花期、结荚期和鼓粒期第二次酸雨处理后 24 h 取样测定地上部生物量和下述生理指标。大豆地上部生物量测定:地上部分自子叶痕处取下,取样 10 株,105℃杀青 30 min,65℃烘干至恒重后称干重。叶绿素含量测定参照张宪政^[10]的方法。丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸法^[11];超氧阴离子(O₂⁻)的产生速率采用羟胺法测定^[4];H₂O₂含量采用 Moloi 和 Westhuizen^[12]的方法测定;超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶(GR)活性测定参照 Jiang 等^[13]方法;过氧化氢酶(CAT)活性测定采用 KMnSO₄-H₂O₂滴定法^[14]。

成熟期地上部按叶、叶柄、茎、荚皮、籽粒分解,根系挖出后先用自来水冲洗干净,再用蒸馏水冲洗 3 次,而后用滤纸吸干。在大豆叶片出现枯黄时,用 1.5 m 高的透明纱网圈围 1.0 m 长双行植株,收集残叶,将残叶与收获的叶子均匀混合。籽粒样品 105℃杀青后 65℃烘干,粉碎测定 N、P、K 含量。以 CuSO₄和 K₂SO₄为催化剂,浓 H₂SO₄消化后,采用 HR-500 全自动凯氏定氮仪测定氮素含量,采用钼锑抗比色法测定磷素含量;以 H₂O₂为催化剂,浓 H₂SO₄消化后,采用 FP640 火焰光度计测定钾素含量。氮素积累量=干物质量×氮素含量(%);磷素积累量=干物质量×磷素含量(%);钾素积累量=干物质量×钾素含量(%)。

大豆完熟后每小区取 2 个 3 m²植株脱粒计产,并随机取 20 株进行产量构成因素调查。

1.4 数据分析

采用 Excel 2003 软件整理数据,采用 SPSS 17.0 对不同处理间的数据进行 One-Way ANOVA 分析。

2 结果与分析

2.1 APK-9 对酸雨胁迫下大豆植株生长的影响

由图 1 可以看出, pH3.5 酸雨促进开花期大豆植株生长,地上部干重较 pH5.6 处理增加 20.1%;而结荚期和鼓粒期大豆植株生长受到明显伤害,地上部干重分别下降了 22.2% 和 24.2% ($P < 0.05$)。与 pH3.5 酸雨处理相比,苗期喷施 APK-9 增加了开花期地上部干重 ($P < 0.05$),而对其它生育时期地上部干重影响不显著;开花期喷施 APK-9 后结荚期和鼓粒期地上部干重上升了 17.1% 和 24.4%,其余与 pH3.5 酸雨处理无显著差异;结荚期和鼓粒期喷

施 APK-9 后鼓粒期地上部干重分别上升了 17.5% ($P < 0.05$) 和 8.7% ($P > 0.05$)。

2.2 APK-9 对酸雨胁迫下大豆叶绿素含量的影响

pH3.5 酸雨使大豆叶绿素含量较 pH5.6 处理先上升后下降(图 2), 苗期叶绿素含量增加了 15.9%, 鼓粒期叶绿素含量下降了 29.0% ($P < 0.05$)。苗期喷施 APK-9 后, 生育后期叶绿素含量较 pH3.5 酸雨处理差异不显著; 开花期喷施 APK-9 处理结荚期和鼓粒期叶绿素含量增加了 23.6% 和 25.9% ($P < 0.05$); 结荚期和鼓粒期喷施 APK-9 增加了鼓粒期叶绿素含量, 但差异不显著。

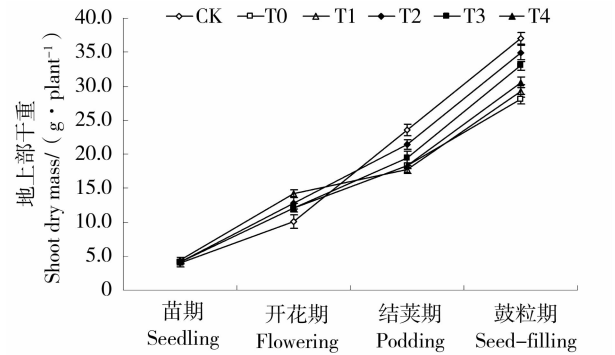


图1 pH3.5 酸雨胁迫下不同生育时期喷施 APK-9 对大豆地上部生物量的影响

Fig. 1 Effects of spraying APK-9 at different growth stages on shoot dry mass of soybean under pH3.5 acid rain stress

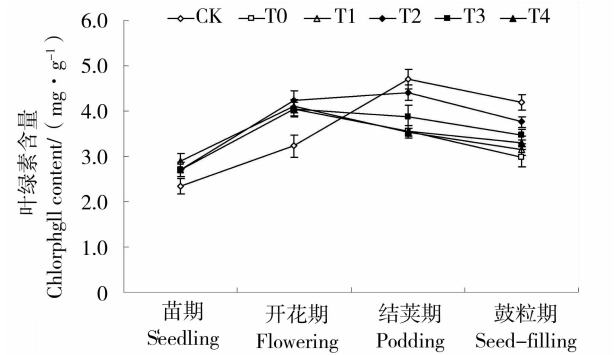


图2 pH3.5 酸雨胁迫下不同生育时期喷施 APK-9 对大豆叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effects of spraying APK-9 in different growth stages on chlorophyll content of soybean under pH3.5 acid rain stress

2.3 APK-9 对酸雨胁迫下大豆 N、P、K 积累量的影响

如表 1 所示, pH3.5 酸雨使大豆 N、P、K 积累量明显下降, 下降幅度分别为 20.2%、27.8% 和

13.1% ($P < 0.05$)。酸雨胁迫下, 苗期和鼓粒期喷施 APK-9 处理的 N、P 积累量与未喷施处理间差异不显著; 开花期喷施 APK-9 处理的 N、P 积累量分别增加 17.9% 和 24.1%; 结荚期喷施 APK-9 处理的 N、P 积累量则分别增加 9.1% 和 16.1%。与 N、P 积累量不同, 不同生育时期喷施 APK-9 处理的 K 积累量与未喷施处理间差异均不显著。

表1 pH3.5 酸雨胁迫下不同生育时期喷施 APK-9 对大豆 N、P、K 积累量的影响

Table 1 Effects of spraying APK-9 at different growth stages on the accumulation of N, P and K of soybean under pH3.5 acid rain stress (mg · plant ⁻¹)			
处理 Treatment	氮积累量 Nitrogen accumulation	磷积累量 Phosphorus accumulation	钾积累量 Potassium accumulation
CK	755.9 a	162.5 a	601.1 a
T0	612.2 de	117.2 e	522.3 b
T1	596.5 d	122.3 de	527.8 b
T2	711.1 b	145.4 b	523.0 b
T3	658.2 c	136.1 bc	512.8 b
T4	640.1 cd	130.2 cd	532.1 b

不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Values followed by different lowercase indicate significantly different at $P < 0.05$. The same below.

2.4 APK-9 对酸雨胁迫下大豆叶片活性氧水平的影响

如图 3 所示, 正常条件下, 大豆 O_2^- 和 H_2O_2 水平先下降后上升, 可能与开花期土壤墒情较好而结荚期和鼓粒期时降水较少有关。pH3.5 酸雨胁迫下, O_2^- 产生速率较 CK 先下降后上升(图 3A)。其中, 苗期 O_2^- 产生速率下降了 11.8%, 而鼓粒期则增加了 25.7% ($P < 0.05$)。与 pH3.5 酸雨处理相较, 苗期喷施 APK-9 对大豆 O_2^- 产生速率影响较小; 开花期喷施 APK-9 可导致结荚期和鼓粒期大豆 O_2^- 产生速率分别降低 11.9% 和 15.6% ($P < 0.05$); 结荚期和鼓粒期喷施 APK-9 使得鼓粒期 O_2^- 产生速率显著降低。

pH3.5 酸雨使 H_2O_2 含量自结荚期开始较 CK 显著增加(图 3B)。苗期和鼓粒期喷施 APK-9 未能抑制 pH3.5 酸雨诱导的 H_2O_2 含量增加, 而开花期喷施 APK-9 能够显著降低结荚期和鼓粒期大豆 H_2O_2 含量, 结荚期喷施 APK-9 可显著降低鼓粒期大豆 H_2O_2 含量。

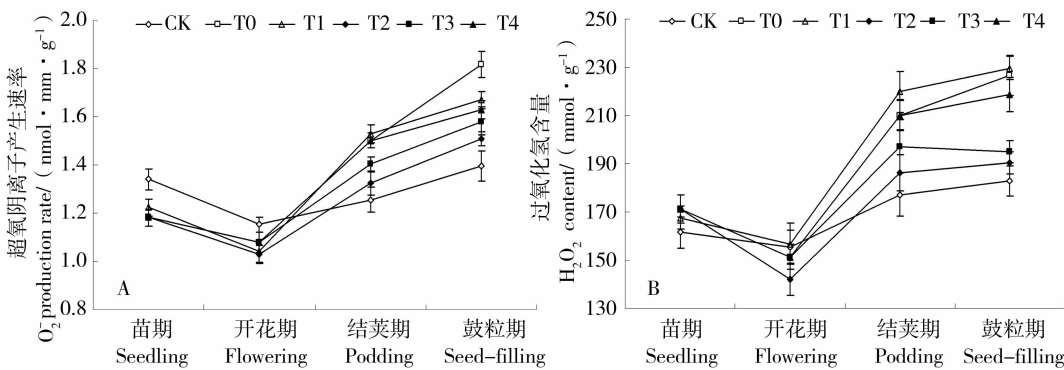


图3 pH3.5 酸雨胁迫下不同生育时期喷施 APK-9 对大豆 O_2^- 产生速率 (A) 和 H_2O_2 含量 (B) 的影响

Fig. 3 Effects of spraying APK-9 at different growth stages on O_2^- production rate and H_2O_2 content of soybean under pH3.5 acid rain stress

2.5 APK-9 处理对酸雨胁迫下大豆叶片抗氧化酶活性的影响

pH3.5 酸雨使大豆 SOD 活性上升,与 CK 相比,苗期和开花期 SOD 活性上升幅度分别为 10.3% 和 11.1%,达显著差异水平(图 4A)。与 SOD 不同,酸雨处理对生育前期 CAT 和 APX 活性无影响,但可导致生育后期酶活性显著下降(图 4B, C)。酸雨胁迫下,苗期和鼓粒期喷施 APK-9 对 3 种酶活性没有

显著影响;开花期喷施 APK-9 使得结荚期和鼓粒期大豆 SOD 活性增加约 14.8%,CAT 活性增加 16.8% 和 14.4%,APX 活性增加 18.2% 和 26.9%,达差异显著水平;结荚期喷施 APK-9 导致结荚期大豆 SOD 和 CAT 活性分别增加 9.0% 和 10.5%,结荚期和鼓粒期 APX 活性分别增加 11.4% 和 16.6% ($P < 0.05$)。

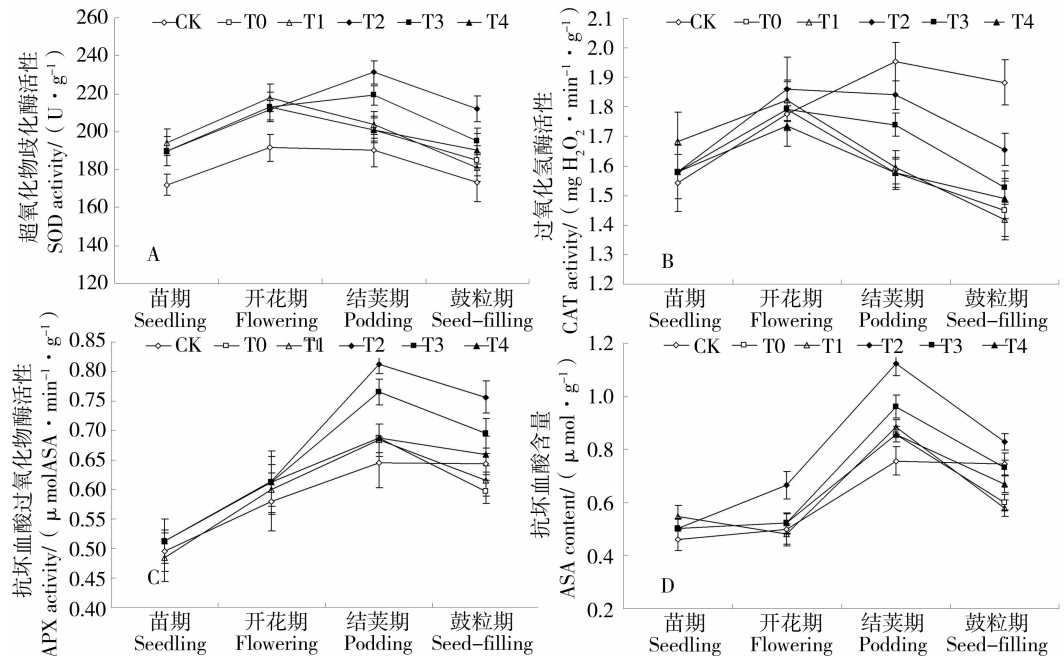


图4 pH3.5 酸雨胁迫下不同生育时期喷施 APK-9 对大豆 SOD (A)、CAT (B)、APX (C) 活性和 AsA 含量 (D) 的影响

Fig. 4 Effects of spraying APK-9 at different growth stages on the activities of SOD (A), CAT (B), ATX (C) and the content of AsA (D) of soybean under pH3.5 acid rain stress

2.6 APK-9 对酸雨胁迫下大豆叶片 AsA 含量的影响

pH3.5 酸雨使大豆 AsA 含量较 CK 先上升后下降,结荚期 AsA 含量增加了 13.3%,鼓粒期下降了

22.2% ($P < 0.05$) (图 4D)。酸雨下,苗期喷施 APK-9 处理的 AsA 含量较未喷施的变化不显著;开花期喷施 APK-9 显著增加开花期、结荚期和鼓粒期

大豆 AsA 含量,增加幅度分别为 27.4%、30.8% 和 38.0%;结荚期喷施 APK-9 使得结荚期和鼓粒期大豆 AsA 含量分别增加 12.1% 和 21.7%;鼓粒期喷施 APK-9 可使大豆 AsA 含量增加 11.7%。

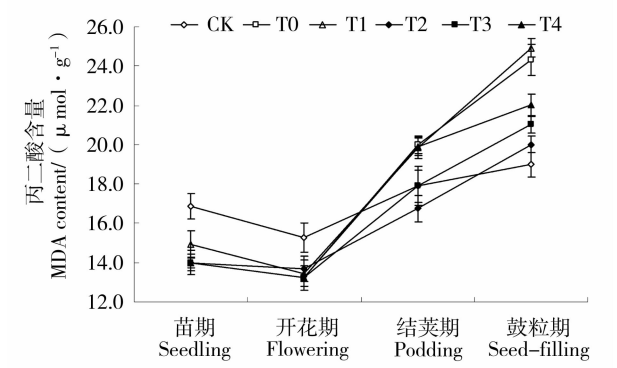


图 5 pH3.5 酸雨胁迫下不同生育时期喷施 APK-9 对大豆 MDA 含量的影响

Fig. 5 Effects of spraying APK-9 at different growth stages on MDA content of soybean under pH3.5 acid rain stress

表 2 pH3.5 酸雨胁迫下不同生育时期喷施 APK-9 对大豆产量构成性状的影响

Table 2 Effects of spraying APK-9 at different growth stages on yield components of soybean under pH3.5 acid rain stress

处理	单株荚数	单株粒数	百粒重	单株粒重	实测产量
Treatment	Pod number per plant	Seed number per plant	100-seed weight /g	Seed weight per plant/g	Harvested yield /(kg·hm ²)
CK	26.0 a	2.3 a	24.7 a	14.8 a	3919.5 a
T0	22.2 c	2.2 a	22.3 b	11.2 d	2905.5 de
T1	21.5 c	2.3 a	21.8 b	11.0 d	2787.0 e
T2	25.1 a	2.4 a	23.0 b	13.8 b	3739.5 b
T3	24.2 b	2.2 a	22.8 b	12.7 c	3408.0 c
T4	23.3 b	2.2 a	22.1 b	12.3 c	3144.0 d

3 结论与讨论

酸雨能够加剧植株体内细胞膜脂过氧化,使质膜透性增加,降低植物叶绿素含量,抑制植物的光合作用。同时,酸雨中的 H⁺ 可与叶片角质层中阳离子交换,导致叶片运输液中离子外渗量增加,叶片和茎中矿质营养元素严重流失^[15-16],最终引起植株生物量和产量下降。酸雨胁迫时间对植物的影响不同,胁迫时间较短时,植物可通过自身调节来解除酸雨伤害^[3,17]。本研究结果也显示 pH3.5 酸雨下,苗期和开花期大豆叶片细胞 SOD、CAT 活性和 AsA 含量增加,ROS 水平和膜质过氧化程度均保持比较稳定的状态,表现出较强的适应能力。N 含量、叶绿素含量、生物量增加且达差异显著水平,说明在胁迫时间较短时 pH3.5 酸雨会表现出一定的营养效应^[18]。随着酸雨胁迫时间的延长,自结荚期

2.7 APK-9 对酸雨胁迫下大豆叶片膜质过氧化程度的影响

如图 5 所示,pH3.5 酸雨使大豆 MDA 含量较 CK 先下降后上升。其中,苗期 MDA 含量下降了 16.9%,鼓粒期 MDA 含量增加了 26.4% ($P < 0.05$)。pH3.5 酸雨下,苗期喷施 APK-9 未抑制酸雨诱导的 MDA 含量增加,开花期、结荚期和鼓粒期喷施 APK-9 则显著降低 MDA 含量,其中,开花期喷施对 MDA 含量增加的抑制程度最大。

2.8 APK-9 处理对酸雨胁迫下大豆产量的影响

如表 2 所示,pH3.5 酸雨使大豆单株荚数、百粒重、单株粒重和产量明显下降,下降量分别为 14.6%、9.8%、24.5% 和 25.8% ($P < 0.05$)。酸雨胁迫下,苗期和鼓粒期喷施 APK-9 处理的产量及其构成因素与未喷施处理间差异不显著;开花期和结荚期喷施 APK-9 处理的单株荚数、单株粒重和产量均明显高于未喷施处理,增加幅度分别为 14.2%、25.3%、28.7% 和 9.5%、13.4%、17.3%。

开始,大豆叶片受胁迫严重,AsA 被大量消耗含量降低,ROS 大量积累,造成了酶蛋白的氧化损伤,抗氧化能力下降,膜质过氧化程度增加,N、P、K 等营养元素流失,叶绿素受氧化攻击而降解。同时,酸雨导致叶汁酸化,使得从叶绿素中脱去而形成脱镁叶绿素,进一步加速了叶绿体结构和功能的破坏作用^[19]。N、P、K 含量和生物量的下降,最终引起产量的下降。

APK-9 是利用调节剂间的复合效应,由 AsA(抗坏血酸)和 PASP(聚天门冬氨酸)复配而成的大豆酸雨缓解剂。AsA 可补充非酶抗氧化剂,有效缓解酸雨对植株的胁迫,从而改善其生长发育状况^[20]。PASP 是采用仿生合成技术开发研制的新型植物营养吸收促进剂,KosKan 等^[21]通过植物根部或叶面施加聚天门冬氨酸,可促进植物通过根、茎、叶更好地吸收和利用肥料中的 N、P、K 养分。另外,PASP

是由多个氨基酸残基组成的,因具有生物降解性、降解产物的生物可利用性,使其降解产物易被叶片吸收利用,为植株提供了一定的氮素营养,促进了作物的生长发育^[5]。本试验研究结果表明,喷施 APK-9 可以提高大豆抗氧化能力,减少 ROS 积累,降低细胞膜质过氧化水平,增加叶绿素、N、P、K 含量,提高地上部生物量和最终产量。然而,不同生育时期喷施 APK-9 对酸雨胁迫大豆的缓解效果不同,随喷施时间的推迟,APK-9 缓解效果先增加后下降,最佳时期为开花期,表现出一定的时效性。

pH3.5 酸雨下,苗期喷施 APK-9 仅能提高大豆苗期叶绿素和 N 含量,至开花期对大豆各项指标影响不显著,说明此时 APK-9 对大豆的作用已经消失。结荚期大豆叶片受胁迫严重时,APK-9 处理与酸雨对照相较,生理生长指标及产量均无显著变化,表明 APK-9 喷施过早,至酸雨胁迫明显时未发挥作用。开花期喷施 APK-9 可及时补充内源 AsA 的不足,AsA 能有效清除 ROS,解除了其对酶蛋白的破坏,因而 SOD、CAT、APX 和 GR 活性增强,且 AsA 含量的增加也有利于维持 APX 活性^[22]。喷施 APK-9 对细胞膜的保护,可降低 N、P、K 养分因细胞膜透性增加而造成的流失^[16],为植株生长提供营养基础。另一面,喷施 APK-9 也可能通过促进植株根部吸收和利用土壤中的 N、P、K 养分^[21]或 PASP 自身降解提高 N、P、K 含量^[5]。与开花期喷施 APK-9 相较,结荚期和鼓粒期喷施效果依次降低,这与结荚期和鼓粒期时,大豆叶片受胁迫严重,AsA 被大量消耗含量降低,喷施 APK-9 无法及时补充内源 AsA 的不足有关。膜质过氧化程度较高造成的生理系统紊乱导致大量营养元素流失严重,对营养元素吸收能力也下降过大^[16]。同时,植株受伤害严重、根系受损也会影响 PASP 对大豆植株养分的聚合能力。

可见,APK-9 的功能综合了增强抗氧化能力和提高养分吸收等特点,解决了单一调节剂不能达到的复合效果。APK-9 最佳喷施时期为开花期,可显著提高大豆抗氧化能力,降低细胞膜受伤害程度,增加 N、P、K 含量,提高叶绿素含量、地上部生物量和最终产量。由于试验所选择的品种仅为徐豆 18 且试验区域仅限于徐州、试验年限仅为 1 年,代表性具有一定的局限。因此,APK-9 的进一步研究需加大品种和地域多样化以及试验年限。

参考文献

[1] 冯颖竹,陈惠阳,余土元,等. 中国酸雨及其对农业生产影响的研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28 (11): 306-311.

(Feng Y Z, Chen H Y, Yu T Y. Research progress on acid deposition over China and effect of acid rain on agricultural production [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28 (11): 306-311.)

[2] 孙金月,赵玉田,刘方,等. 中国栽培大豆资源的耐酸雨性鉴定[J]. 大豆科学, 2001, 20 (4): 245-248. (Sun J Y, Zhao Y T, Liu F, et al. Identification of cultivated soybean germplasm resources from China for acid rain tolerance [J]. Soybean Science, 2001, 20 (4): 245-248.)

[3] 刘丽欣,田一丹,吴园园,等. 模拟酸雨对不同基因型大豆抗氧化系统的影响[J]. 大豆科学, 2014, 33 (1): 41-46. (Liu L X, Tian Y D, Wu Y Y, et al. Effect of simulated acid rain on antioxidative characteristics in different genotypes soybean [J]. Soybean Science, 2014, 33 (1): 41-46.)

[4] Xing X H, Fang C W, Li L, et al. Improved drought tolerance by α -naphthaleneacetic acid-induced ROS accumulation in two soybean cultivars [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2016, 15 (8): 1770 - 1784.

[5] 杜中军,杨浩,王永造,等. 聚天门冬氨酸同源多肽的水稻产量效应和磷素营养吸收效应研究[J]. 现代农业科技, 2012 (18): 12-14. (Du Z J, Yang H, Wang Y Z, et al. Effects on yield and phosphorus nutrition absorbing for rice using homologous polypeptides of polyaspartic acids [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2012 (18): 12-14.)

[6] 张小燕,马晖玲,马政生. 喷施聚天门冬氨酸对不同品种紫花苜蓿产量及品质的影响[J]. 草原与草坪, 2010, 30 (6): 40-46. (Zhang X Y, Ma H L, Ma Z S. Effect of PASP on yield and quality of alfalfa [J]. Grassland and Turf, 2010, 30 (6): 40-46.)

[7] 张国正,吴洪颜,何小红,等. 酸雨对江苏淮北地区大豆产量影响的研究[J]. 大豆科学, 2016, 35 (2): 251-256. (Zhang G Z, Wu H Y, He X H, et al. Effect of acid rain on soybean yield in HuaiBei district of Jiangsu [J]. Soybean Science, 2016, 35 (2): 251-256.)

[8] 梁婵娟,潘丹云,徐秋荣,等. 酸雨与镧对大豆幼苗生长的复合伤害效应研究[J]. 环境科学, 2010, 31 (7): 1652-1656. (Liang C J, Pan D Y, Xu Q R, et al. Combined injured effects of acid rain and lanthanum on growth of soybean seedling [J]. Environmental Science, 2010, 31 (7): 1652-1656.

[9] 周琴,张佩,曹春信,等. 外源抗坏血酸对酸雨胁迫油菜幼苗的缓解效应[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29 (8): 1437-1442. (Zhou Q, Zhang P, Cao C X, et al. Alleviative effects of exogenous ASA on acid rain stressed oilrape seedlings [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, 29(8):1437-1442.)

[10] 张宪政. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1989. (Zhang X Z. Techniques of plant physiological experiment [M]. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 1989.)

[11] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1968, 125: 189-198.

[12] Moloi M J, Westhuizen A J. The reactive oxygen species are involved in resistance responses of wheat to the Russian wheat aphid [J]. Journal of Plant Physiology, 2006, 163: 1118-1125.

[13] Jiang M, Zhang J. Water stress-induced abscisic acid accumulation

triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves [J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53: 2401-2410.

[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: 21-27.

[15] Makarov M I, Kiseleva V V. Acidification and nutrient in forest soils subjected to nitrogen deposition [J]. Water, Air & Soil Pollution, 1995, 85(3): 1137-1142.

[16] 孔繁翔, 刘营, 王连生, 等. 酸沉降对马尾松菌根共生蛋白及营养关系影响[J]. 环境科学, 1999, 20(6): 1-6. (Kong F X, Liu Y, Wang L S, et al. Effects of artificial acid rain and different Ca /Al ratios on the symbiosis and nutrient relationship in mycorrhizae of pinus massoniana [J]. Environmental Science, 1999, 20(6): 1-6.)

[17] 齐泽民, 钟章成, 邓君, 等. 模拟酸雨对杜仲叶膜脂过氧化及氮代谢的影响[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2001, 26(1): 38-44. (Qi Z M, Zhong Z C, Deng J, et al. Effects of simulated acid rain on lipid peroxidation of membrane and nitrogen metabolism of eucommia ulmoides leaves [J]. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science), 2001, 26(1): 38-44.)

[18] 郑有飞, 李璐, 梁骏, 等. 模拟酸雨及其 SO_4^{2-} 离子对油菜生长及品质的影响[J]. 中国油料作物学报, 2008, 30(2): 185-190. (Zheng Y F, Li L, Liang J, et al. Effect of SO_4^{2-} in simulated acid rain on growth and quality of rapeseed [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2008, 30(2): 185-190.)

[19] Watson A, Nedwell D B. Methane production and emission from peat—the influence of anions (sulfate, nitrate) from acid-rain [J]. Atmospheric Environment, 1998, 32(19): 3239-3245.

[20] 张佩, 周琴, 张国正, 等. 模拟酸雨对油菜幼苗生物量及其生理指标的影响[J]. 中国油料作物学报, 2010, 32(2): 229-234. (Zhang P, Zhou Q, Zhang G Z, et al. Effect of simulated acid rain on biomass and physiological index of rape (*Brassica napus* L.) seedling [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2010, 32(2): 229-234.)

[21] Koskan L P, Meah A R Y, Sanders J L, et al. Method and composition for enhanced plant productivity comprising fertilizer and cross-linked polyamino acid; US 5861356[P]. 1999-01-19.

[22] Hancock R, Viola R. Biosynthesis and catabolism of L-ascorbic acid in plants [J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2005, 24: 167-188.

遗传发育所揭示大豆中油脂积累调控新机制

大豆作为重要的油料作物,是植物油的主要来源。种子中的油脂含量在驯化中受到人工选择而不断提高,成为大豆的重要农艺性状。目前大豆油脂代谢的生化途径已比较清楚,但其调控机理尚不明确。

中国科学院遗传与发育生物学研究所张劲松研究组和陈受宜研究组通过分析大豆种子发育不同阶段和根、茎、叶等转录组数据中的表达差异基因,以及栽培大豆特异的调控籽粒油分的基因共表达网络,鉴定出油脂快速合成时期的种子偏好表达转录因子基因 *GmZF351*。通过比较在栽培大豆和野生大豆中的表达量和群体遗传分析,发现 *GmZF351* 在驯化中受到人工选择。

进一步功能分析表明,*GmZF351* 编码串联 CCCH 锌指蛋白,蛋白定位于细胞核并具有转录激活活性。过表达 *GmZF351* 显著提高了转基因拟南芥种子油脂含量。ChIP-Seq 和 ChIP-qPCR、qRT-PCR 和烟草瞬时转化分析发现,*GmZF351* 可直接激活油脂合成和贮存基因 *BCCP2*、*KASIII*、*TAG1* 和 *OLEO2*。*GmZF351* 还结合 *WRI1* 的启动子正调控其表达,并通过 *WRI1* 下游基因 *Pkpα* 和 *Pkpβ1* 进一步提高转基因拟南芥的质体丙酮酸激酶活性,为脂肪酸合成提供更多乙酰-CoA,从而促进油脂在种子中的积累。在大豆中过表达 *GmZF351* 同样增强了转基因大豆种子中的油脂积累,qRT-PCR 和烟草瞬时转化分析发现,*GmZF351* 能够诱导 *WRI1* 同源基因 *Glyma15g34770* 和 *Glyma08g24420*、*BCCP2* 同源基因 *Glyma19g03530*、*KASIII* 同源基因 *Glyma15g00550*、*TAG1* 同源基因 *Glyma13g16560* 和 *Glyma17g06120* 以及 *OLEO2* 同源基因 *Glyma19g13060* 和 *Glyma16g07800* 的表达。对 *ZF351* 进行单倍体型和进化树分析发现,*GmZF351* 单倍体型来自于野生大豆 *III* 型,并与高基因表达量、启动子活性和油脂含量相关联。

此项研究揭示了大豆中新的油脂积累调控机制,并为驯化过程中油脂含量的增加提供了理论支持。*GmZF351* 具备很大的应用潜力,可用于现有大豆品种油脂性状的改良,对提高大豆品质和价值具有重要意义。

相关研究成果于2月9日在 *Plant Physiology* 杂志在线发表(DOI:10.1104/pp.16.01610),博士李擎天为该论文的第一作者。该研究得到了中科院先导专项等的资助。

转自中国科学院遗传与发育研究所网站