

## 酸雨对大豆萌发种子能量代谢的影响

陶彦<sup>1</sup>, 彭祺<sup>1</sup>, 周青<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>江南大学环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122; <sup>2</sup>江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

**摘要:**为了探索酸雨对大豆种子萌发时能量代谢的影响, 采用 pH 值分别为 2.5, 4.0 的模拟酸雨及室内培养方法, 测定不同酸雨胁迫强度对种子的 ATP 含量、能荷、过氧化氢酶活性、线粒体活性及呼吸速率的影响。结果表明: 随着酸雨胁迫时间的延长, 种子萌发 ATP 含量、能荷含量及过氧化氢酶活性呈先升后降的趋势, 线粒体活性呈先升后降再平稳的趋势, 呼吸速率呈现降-升-降-升的变化趋势。随着酸雨胁迫强度逐渐减弱, 种子的 ATP 含量、能荷含量、过氧化氢酶活性及线粒体活性均逐渐升高。酸雨伤害增强, 大豆种子呼吸作用与能量代谢减弱, 酸雨胁迫强度与大豆萌发种子各呼吸指标间呈现剂量-效应关系。

**关键词:**酸雨; 种子萌发; 能量代谢

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2009)02-0243-04

## Reponses of Energy Metabolism in Soybean Seed Germination to Acid Rain Stress

TAO Yan<sup>1</sup>, PENG Qi<sup>1</sup>, ZHOU Qing<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu; <sup>2</sup>The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

**Abstract:** In order to explore the effect of acid rain on energy metabolism of soybean seed germination, simulated acid rain of pH value 2.5, 4.0 and greenhouses culture method were adopted, and energy metabolism indexes of ATP content, energy charge, CAT activity, mitochondrial activity and respiration rate were determined. ATP content, and CAT activity showed increase and then decrease trend. Mitochondrial activity showed an increase till the 3<sup>rd</sup> day, a decrease, and then remain stable. Respiration rate appeared down-up-down-up trend with the prolonged acid rain stress. ATP content, energy charge, CAT activity and mitochondria activity were increased with the aggravation of acid rain stress. With the harm of acid rain increased, the respiration and energy metabolism in soybean seed decreased, and acid rain stress intensity and respiratory index of germinating soybean seed showed a dose-response relationship.

**Key words:** Acid rain; Seed germination; Energy metabolism

随着全球环境的恶化, 大气污染日益严重。近 10 年来, 中国酸雨 (acid rain, AR) 区面积扩大了  $10.0 \times 10^6 \text{ km}^2$ , 降水中氢离子浓度升高 2 ~ 8 倍<sup>[1-2]</sup>。目前国内外关于酸雨影响植物的研究, 主要集中于对个体、种群、群落自然生态系统的影响方面。大量研究表明, AR 胁迫使萌发种子的细胞透性改变, 离子平衡失调, 呼吸代谢、物质代谢紊乱, 破坏了种子内部正常生理效应, 致使种子萌发受阻。呼吸作用是一系列复杂的酶促反应, 是物质代谢和能量代谢的中心, 它的中间产物又是合成多种重要有机物的原料, 起到物质代谢的枢纽作用。种子萌发是植物生命进程的起点, 也是一个复杂的生理生

化过程, 其在萌发过程中会出现多种代谢变化<sup>[3-6]</sup>, 各种代谢变化都需要消耗大量的能量, 所以能量代谢尤为重要。以大豆种子为对象, 在前期研究的基础上<sup>[7]</sup>, 选择 pH2.5 和 pH4.0 的模拟酸雨处理大豆种子, 研究不同酸雨胁迫下对种子萌发的动态影响, 初步为农作物生长环境及酸雨对种子萌发影响的原因提供依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 模拟酸雨配制

模拟酸雨配制参考文献<sup>[8]</sup>, 先配制好 pH 为 1.0 模拟酸雨母液, 硫酸和硝酸的体积比为 4.7:1, 将母

收稿日期: 2008-09-30

基金项目: 江南大学质量工程建设资助项目 (20081218) 与江苏省教育厅“高等学校大学生实践创新训练” (20070730) 资助项目。

作者简介: 陶彦 (1985-), 男, 环境工程学士, 研究方向为酸雨对种子萌发的影响。

通讯作者: 周青, 教授, 博士生导师。E-mail: zhouqeco@yahoo.com.cn。

液分别调配成 pH 为 2.5、4.0 的模拟酸雨溶液 (AR 组), 并经 PHS-29A 酸度计 (上海精密科学仪器有限公司) 校准。对照 (CK) 为与母液离子成分相同的中性溶液。

### 1.2 材料处理

选取大豆 (台湾 292) 种子用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  溶液消毒 15 min, 去离子水冲洗 4 次。常温下, 将大豆于蒸馏水 (pH7.0) 中浸泡 24 h, 均匀排列在直径 12 cm、垫有 2 层滤纸的培养皿中, 每皿 100 粒。以上述配置酸雨进行动态胁迫处理, 对照 (CK) 是与母液离子成分相同的中性溶液 (pH7.0), 置于 20℃ 下培养, 每处理 3 皿, 每天更换溶液, 统计萌发与生理指标 (7 d)。酸雨胁迫第 1 天起, 每天取样测定 ATP 含量、能荷、过氧化氢酶活性、线粒体活性和呼吸速率。对数据进行统计处理。

### 1.3 指标测定

呼吸速率和 CAT 活性的测定参考文献 [9], 线

粒体的提取参考文献 [10]; ATP 含量的测定参考文献 [11]; 能荷 (EC) =  $([\text{ATP}] + 1/2 [\text{ADP}]) / ([\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}])$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 酸雨对大豆萌发种子 ATP 含量与 EC 的影响

图 1a 显示, 随萌发进程延续, CK 组的 ATP 含量呈先升后降趋势。AR 组 ATP 含量变化趋势与 CK 相近, 不同之处在于, ATP 含量始终小于 CK; 高强度 AR (pH2.5) 峰值后移 (第 5 天)。表明 AR 胁迫抑制种子萌发时 ATP 合成, 对 AR 的应激反应使 ATP 合成代谢延迟。能荷 (EC) 是细胞中 ATP、ADP、AMP 系统中可为代谢反应供能的高能磷酸键的量子度, 可反映细胞代谢状况及能量水平。EC 动态变化与 ATP 变化相似 (图 1b), CK 组 ATP 随萌动延长先升后降, AR 组也是先升后降, 但全程小于 CK。表明酸雨胁迫下种子 ATP 合成受阻, EC 降低。

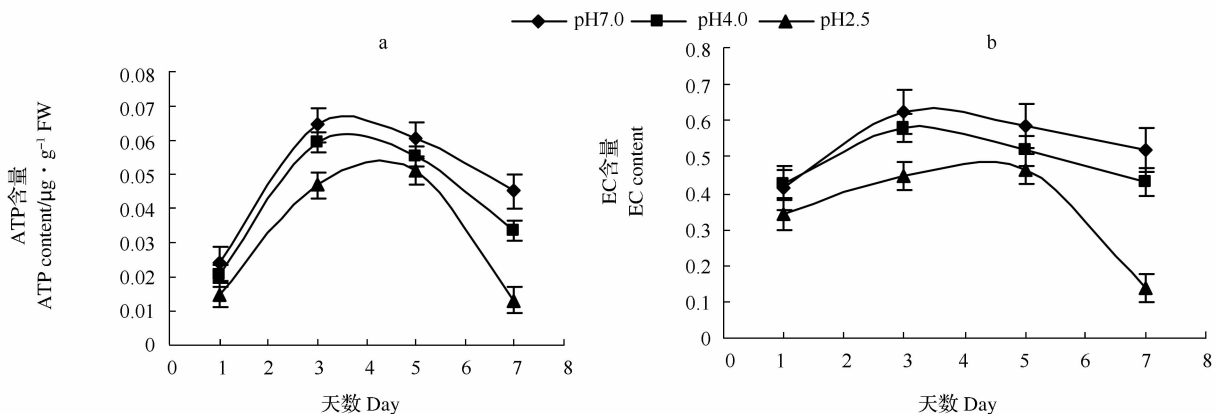


图 1 酸雨对大豆萌发种子 ATP 含量与 EC 的影响

Fig 1 Effect of simulated acid rain on ATP content and energy charge of germinating soybean seed

### 2.2 酸雨胁迫对大豆萌发种子 CAT、线粒体活性及呼吸速率的影响

图 2a 显示, 随着胁迫时间延长, CK 组的 CAT 活性呈现先升后降趋势。AR 组 CAT 活性变化趋势与 CK 相近, 但 CAT 活性始终小于 CK; 整个胁迫期内, CAT 活性均随酸雨胁迫强度的增强而降低。表明 AR 胁迫降低种子萌发时 CAT 活性, 且该效应随着胁迫时间的延长而加剧。未吸水的种子, 线粒体发育不全, 往往缺嵴, 而在贮藏物降解时, 线粒体则具有较完整的结构, 嵴数较多, 故从胁迫第 3 天起开始测定种子内线粒体蛋白的含量。由图 2b 显示, 随着胁迫时间延长, CK 组的线粒体活性呈先升后降再平稳趋势。AR 组的线粒体活性变化趋势与 CK

相近, 但线粒体活性始终小于 CK; 第 4 天线粒体活性出现明显差异, 其中 CK 组线粒体活性最大, 第 5 天下降, 之后维持在一个平稳状态; 整个胁迫期内, 线粒体活性均随酸雨胁迫强度的增强而降低。表明 AR 胁迫降低种子萌发的线粒体活性。图 2c 显示, 随着胁迫时间的延长, 大豆种子呼吸速率呈现降-升-降-升的变化趋势, 这可能与糖的合成与消耗有关。对照 CK 前 5 d 的呼吸速率均是最高值, 且与其它两条曲线相距较远。第 6 天 pH 值为 4.0 的呼吸速率超过了 CK 组, 但是第 7 天 CK 组的呼吸速率又超过了 AR 组。pH 2.5 的呼吸速率在第 2 天大于 pH 4.0, 第 3 天之后始终小于 CK 和 pH 4.0。CK 和 pH 4.0 的变化趋势比较一致, pH 2.5 酸雨胁迫在第

2 天没有下降。总体上表明 AR 胁迫降低种子萌发的呼吸速率。

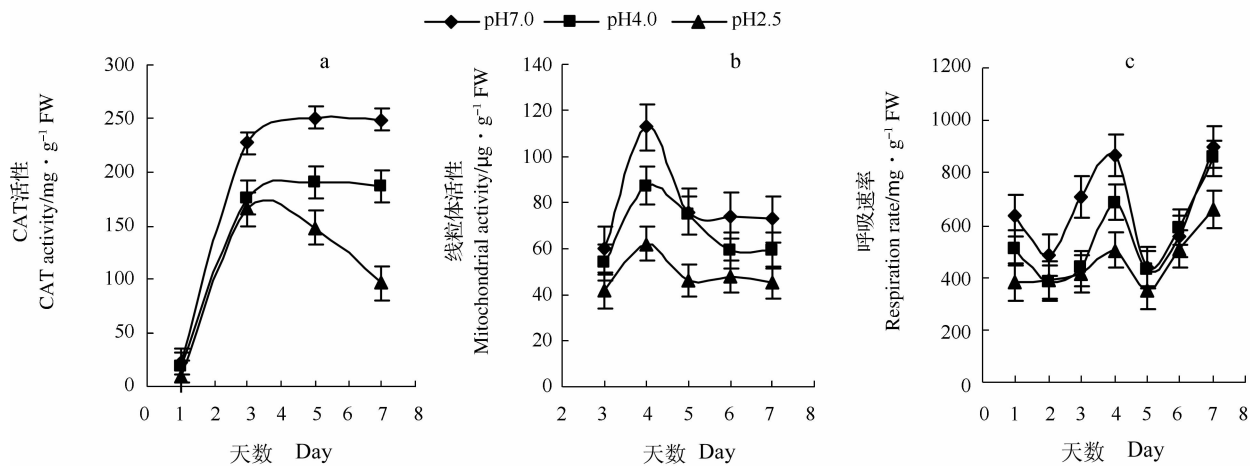


图2 不同酸雨强度下大豆种子的 CAT 活性、线粒体活性与呼吸速率的动态影响

Fig. 2 Effect of simulated acid rain on dynamic of CAT activity, mitochondrial activity and respiration rate

### 3 讨论

种子萌发既是植物生命进程的起点,也是植物最早接受酸雨胁迫的阶段。研究 AR 胁迫下大豆种子萌发过程中能量代谢的变化,对深入理解 AR 影响种子萌发的环境植物学效应具有重要意义。结果表明,大豆种子的 ATP 含量、能荷(EC)含量、过氧化氢酶(CAT)活性、线粒体活性及呼吸速率都经历了先上升后稳定或缓慢下降的过程,并且在萌发的初期都处在较低水平,到萌发的第3、4天达到最高值,推测 AR 伤害的可能机理是:AR 直接破坏线粒体,造成线粒体结构缺损,呼吸功能受抑,ATP 与 EC 合成、转换受阻,呼吸作用下降;或是 AR 抑制细胞 CAT 活性,导致种子胚细胞中自由基<sup>[12]</sup>累积增加,过量自由基攻击线粒体的膜结构,触发膜脂过氧化反应,使线粒体结构完整性受损,从而间接损伤其呼吸产能(ATP 与 EC)功能<sup>[13]</sup>。同时种子在萌发初期含水量较高,各种水解酶受到活化,种子内的储存物质被分解,各项指标增长较快以适应种子的快速萌发,当种子吸水处于停滞阶段时,呼吸停滞(此时胚根尚未突破种皮,呼吸需氧受限;有些酶尚未大量合成),之后种子再次大量吸水,呼吸作用又迅速增强,种子萌发时各种物质转化与积累取决于酶的性质和状态,到种子萌发后期,由于水分大量减少,使酶活性减少而钝化,从而使大豆种子的 ATP 含量、能荷(EC)含量、过氧化氢酶(CAT)活性及线粒体活性呈现稳定或缓慢下降的趋势。

### 参考文献

- [1] 张晓勇,王振红. 当前酸雨形势和治理对策[J]. 环境科学与管理,2007,32(8):85-88. (Zhang X Y, Wang Z H. Our country's acid rain actuality and countermeasure[J]. Environmental Science and Management, 2007, 32(8): 85-88.)
- [2] 李清芳,辛天蓉,马成仓,等. pH 值对小麦种子萌发和幼苗生长代谢的影响[J]. 安徽农业科学,2003,31(2):185-187. (Li Q F, Xin T R, Ma C C, et al. Effect of pH value on wheat seed germination and seedlings growth and metabolism[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2003, 31(2): 185-187.)
- [3] 王丽红,周青,曾庆玲. 3 类抗性种子萌发过程中糖代谢对酸雨胁迫的响应[J]. 环境科学,2008,29(3):799-803. (Wang L H, Zhou Q, Zeng Q L. Responses of sugar metabolism in seed germination of three various acid-fast plants to acid rain[J]. Environmental Science, 2008, 29(3): 799-803.)
- [4] Kanazawa S, Sano S, Koshihara T, et al. Changes in antioxidative in cucumber cotyledons during natural senescence: comparison with those during dark induced senescence; comparison with those during dark induced senescence[J]. Physiologia Plantarum, 2000, 109: 211-216.
- [5] 许泽宏,罗英,王煜,等. 模拟酸雨对蚕豆植物生长的影响[J]. 中国微生态学杂志,2001,13(1):26-29. (Xu Z H, Luo Y, Wang Y, et al. Effects of simulated acid rain on bean plant growth[J]. Chinese Journal of Microecology, 2001, 13(1): 26-29.)
- [6] 郑光华,史忠礼,赵同芳,等. 实用种子生理学[M]. 北京:农业出版社,1990:223-228. (Zheng G H, Shi Z L, Zhao T F, et al. Practical seed physiology [M]. Beijing: Agricultural Publishing House, 1990: 223-228.)
- [7] 徐凌翔,丁爽,周青. 大豆种子萌发过程中呼吸作用对酸雨胁迫的响应[J]. 大豆科学,2008,27(2):255-258,266. (Xu L X, Ding S, Zhou Q. Responses of respiration in seed germination of soybean to acid rain stress[J]. Soybean Science, 2008, 27(2): 255-258, 266.)
- [8] 张耀民,吴丽英,王晓霞,等. 酸雨对农作物的叶片伤害及生理特性的影响[J]. 农业环境保护,1996,15(5):197-208. (Zhang Y M, Wu L Y, Wang X X, et al. Effects of acid rain on leaf injury

- and physiological characteristics of crops[J]. Agro- environmental Protection, 1996, 15(5): 197-208. )
- [9] 方能虎, 洪法水, 赵贵文. 稀土元素对水稻种子萌发初期的酶活性和内源激素含量的动态影响[J]. 稀土, 2001, 22(1): 31-33. (Fang N H, Hong F S, Zhao G W. Effect of rare earth on dynamic change of enzyme activity and hormone contents of rice during its early germination[J]. Rare Earth, 2001, 22(1): 31-33. )
- [10] 郝建军, 康宗利, 于洋, 等. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006. (Hao J J, Kang Z L, Yu Y, et al. Plant physiology experimental technology[M]. Beijing: Chemical Industry Publishing House, 2006. )
- [11] 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): 248-254.
- [12] 郭志利, 古世禄. 覆膜栽培方式对谷子(粟)产量及效益的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2000, 18(2): 33-39. (Guo Z L, Gu S L. Effect of film-mulching cultivation methods on yield and economic efficiency of millet[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2000, 18(2): 33-39. )
- [13] 王金胜, 冀满祥, 赵如意, 等. 盐胁迫时铈保护小麦线粒体功能的研究[J]. 中国稀土学报, 1999, 17(2): 187-189. (Wang J S, Ji M X, Zhao R Y, et al. Protective effect of cerium on mitochondria wheat under salinity stress[J]. Journal of the Chinese Rare Earth Society, 1999, 17(2): 187-189. )

## 北方春大豆高油新品种北豆 27

闫晓东, 孙鲜凤, 王玉阳, 惠秀芬, 杨立华

(宝泉岭农业科学研究所, 黑龙江 萝北 154211)

东北是我国理想的高油大豆产区, 培育高油品种是东北种植区的重要任务。为适应我国大豆生产的现状, 黑龙江省农垦总局宝泉岭农业科学研究所按照熟期适宜、高产、高油、抗病虫、抗倒伏、适宜机械化栽培、适应性广的育种目标, 培育出北方春大豆高油新品种“北豆 27”。

### 1 选育经过

黑龙江省农垦总局宝泉岭农业科学研究所于 2000 年以宝航 96-68 为母本, 以宝丰 9 为父本, 经有性杂交, 采用系谱法选育而成, 2001~2004 年为  $F_1 \sim F_4$  代, 2004 年秋, 田间决选, 代号为宝交 04-4025, 2005 年进行所内鉴定试验, 2006 年进行异地鉴定试验, 2007 年参加黑龙江省垦区松乌黑三角洲区区域试验, 对照品种九丰 7 号; 2008 年参加黑龙江省垦区五区区域试验和生产试验, 对照品种北豆 5 号, 两年区域试验, 一年生产试验, 共 15 点次, 13 个点次均表现增产。2009 年 1 月经黑龙江省垦区农作物品种审定委员会审定, 命名为北豆 27。

### 2 主要特征特性

北豆 27 为亚有限结荚习性, 秆强, 抗倒伏, 以主茎结荚为主, 有分枝, 三、四粒荚多, 株高 80 cm 左右, 紫花, 尖叶, 籽粒圆形, 种皮黄色, 有光泽, 脐黄色, 百粒重 19 g 左右, 蛋白质含量 38.46%, 脂肪含量 21.84%。生育期 105 d 左右, 需  $\geq 10^\circ\text{C}$  活动积温 2 195.8 $^\circ\text{C}$  左右。经黑龙江省佳木斯分院病理室鉴定, 中抗灰斑病, 较喜肥。

### 3 增产效果

2005 年所内鉴定试验, 产量为 2 678.3  $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ , 较对照品种九丰 7 号增产 14.8%, 2006 年异地鉴定试验, 平均产量 2 538  $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ , 较对照品种九丰 7 号增产 12.5%, 2007 年参加黑龙江省农垦总局联合区域试验平均产量 2 415.2  $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ , 较对照品种九丰 7 号增产 13.5%。2008 年参加黑龙江省农垦总局区域试验, 平均产量 2 590.1  $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ , 较对照品种北豆 5 号增产 10.22%, 2008 年参加黑龙江省农垦总局生产试验, 平均产量 2 556.5  $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ , 较对照品种北豆 5 号增产 8.3%。

### 4 适应区域

北豆 27 适宜黑龙江省第三、四积温带东北部地区种植。由于北豆 27 熟期早, 适口性好, 还可作为南方毛豆种植。

### 5 主要栽培技术要点

5.1 选地与整地: 适于中等肥力或肥沃地, 平坦地或山坡地种植, 避免重迎茬。整地要求进行伏翻或秋翻、秋起垄。达到良好的播种状态。

5.2 种子处理: 播种前要对种子进行包衣处理。

5.3 施肥: 施种肥磷酸二铵 150~200  $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ , 尿素 40~60  $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ , 氯化钾 40~60  $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 。生育期间根据长势情况喷施叶面肥二次, 第一次在大豆开花期进行 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.5~3.0  $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$  + 尿素 5~8  $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ); 第二次在鼓粒期进行, 喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.5~3.0  $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$  + 高氯 500  $\text{mL} \cdot \text{hm}^{-2}$  + 多菌灵 500  $\text{mL} \cdot \text{hm}^{-2}$ , 用以预防食心虫和大豆灰斑病。

5.4 合理密植: 适宜密度为保苗 30~32 万株  $\cdot \text{hm}^{-2}$ , 播种要精量点播。

5.5 适时播种: 黑龙江省第三积温带 5 月中、下旬播种, 第四积温带 5 月上、中旬播种。

5.6 田间管理: 封闭除草, 生育期间要求三铲三趟。