

3 类抗性种子萌发过程中糖代谢对酸雨胁迫的响应

王丽红^{1,2}, 周青^{1,2*}, 曾庆玲³

(1. 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 无锡 214122; 2. 江南大学环境与土木工程学院, 无锡 214122; 3. 同济大学环境科学与工程学院, 上海 200092)

摘要:为揭示酸雨影响种子萌发机理, 以 pH 2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 的模拟酸雨处理水稻 (*O. sativa*)、小麦 (*T. aestivum*)、油菜 (*B. chinensis* var. *oleifera*) 3 种不同抗性种子, 研究种子萌发糖代谢对酸雨胁迫的响应. 结果表明, 水稻、小麦和油菜 α -淀粉酶活性、可溶性糖和还原糖含量随胁迫强度增加 (pH 5.0 ~ 2.0) 而降低, 均低于对照. 3 个指标响应酸雨胁迫强度的规律 (伤害阈值/变幅) 是: 水稻 (pH 3.5 ~ 4.0/53.88% ~ 77.7%) < 小麦 (pH 3.5 ~ 4.5/58.60% ~ 89.41%) < 油菜 (pH 4.0 ~ 5.0/60.14% ~ 100%). 胁迫强度一定时, 水稻 α -淀粉酶活性、可溶性糖和还原糖含量随时间延长而上升, 小麦和油菜 3 个指标先升后降. 胁迫时间一定时 (3 ~ 7 d), 3 种种子处理组的 α -淀粉酶活性、可溶性糖和还原糖含量均低于对照, 且随胁迫强度增加而降低. 3 个指标达到最大伤害的胁迫时间为水稻 (7 d, 7 d, 7 d) > 小麦 (7 d, 6 d, 5 d) > 油菜 (3 d, 7 d, 5 d). 3 个指标对酸雨胁迫强度与胁迫时间的响应规律显示, 水稻糖代谢抗酸雨能力 > 小麦 > 油菜, 这是酸雨胁迫下 3 类种子萌发指标趋异的又一内在原因.

关键词: 酸雨; 水稻; 小麦; 油菜; 萌发; 糖代谢

中图分类号: X173 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)03-0799-05

Reponses of Sugar Metabolism in Seed Germination of Three Various Acid-Fast Plants to Acid Rain

WANG Li-hong^{1,2}, ZHOU Qing^{1,2}, ZENG Qing-ling³

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: Responses of sugar metabolism during germination of rice (*O. sativa*), wheat (*T. aestivum*) and rape (*B. chinensis* var. *oleifera*) seeds to simulated acid rain (pH 2.0, pH 2.5, pH 3.0, pH 3.5, pH 4.0, pH 4.5, pH 5.0) were investigated. The purpose was to clarify the mechanism of acid rain affecting seed germination. The results show that the α -amylase activity, contents of soluble sugar and reducing sugar of the rice, wheat and rape seeds decrease with increased stress level (pH 5.0 ~ 2.0), and are lower than CK. The response order of three indexes to stress level of acid rain is that rice (pH 3.5 ~ 4.0/53.88% ~ 77.7%) is smaller than wheat (pH 3.5 ~ 4.5/58.60% ~ 89.41%), and rape (pH 4.0 ~ 5.0/60.14% ~ 100%) is the smallest. α -amylase activity, contents of soluble sugar and reducing sugar of rice increase with prolonged stress time, but the three indexes of wheat and rape increase at first, and then decrease. In the same stress time (3 ~ 7 d), the three indexes of the three species for all treatment groups are lower than CK, and decrease with increased stress level. The stress time when the maximum damage of α -amylase activity, contents of soluble sugar and reducing sugar appeared is that rice (7 d, 7 d, 7 d) > wheat (7 d, 6 d, 5 d) > rape (3 d, 7 d, 5 d). Responses of three indexes to stress level and stress time of acid rain show that the ability of sugar metabolism resisting acid rain is that rice is stronger than wheat and rape is the worst, and the difference in sugar metabolism of 3 species is one of the internal reasons why the germination indexes behave differently.

Key words: acid rain; rice; wheat; rape; germination; sugar metabolism

酸雨是全球重大环境问题之一, 继西欧和北美之后我国已成为世界第 3 大酸雨区^[1]. 研究作物对酸雨胁迫的反应, 可为酸沉降地区农业区划调整与生态恢复研究提供依据. 冯宗炜^[2]以产量为指标对不同作物抗酸雨能力进行划分, 确定水稻、小麦和油菜隶属抗性、中等和敏感性物种. 种子萌发是作物生活史的起点及生物量形成之关键, 对此进行研究, 有助于获得作物响应酸雨胁迫的完整信息. 研究者^[3~9]探讨了酸雨对草本与木本植物种子萌发的影

响, 确定了剂量-效应阈值, 明确了水稻、小麦和油菜种子抗酸雨能力分异的原因是发芽(率)势、发芽(活力)指数, 尤其是抗氧化酶活性存在差异^[8,9]. 种子萌发是极复杂的生命过程, 系统深入考察萌发过程中各种代谢对酸雨胁迫响应是阐释其机制的有效路

收稿日期: 2007-02-12; 修订日期: 2007-07-31

基金项目: 国家发展改革委员会基金项目 (IFZ20051210)

作者简介: 王丽红 (1977 ~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为环境科学, E-mail: wlh456@sohu.com

* 通讯联系人, E-mail: zhouqeco@yahoo.com.cn

径. 鉴于种子萌发时, 胚细胞分裂增殖旺盛及新组织与器官形成需要消耗大量物质和能量, 研究糖代谢这一萌发过程中物质转化合成与能量代谢的基础过程很有必要. 本实验以水稻 (*Oryza sativa*)、小麦 (*Triticum aestivum*) 和油菜 (*Brassica chinensis* var. *oleifera*) 为对象, 研究 3 类种子萌发时糖代谢对酸雨胁迫的响应, 为微观上揭示酸雨伤害植物机理及不同抗性植物抗酸雨能力分异原因提供参考.

1 材料与方法

1.1 模拟酸雨配制

模拟酸雨(含离子构成, 以下简称酸雨) 配制参照文献[10], 先配制 pH 1.0 酸雨母液, 其中硫酸根和硝酸根体积比为 4.7:1. 以蒸馏水将母液调制成 pH 2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、5.0 酸雨, 并经 pH S-29A 酸度计(上海精密科学仪器有限公司)校准.

1.2 材料处理方法

静态实验旨在探讨酸雨胁迫强度对糖代谢影响. 将水稻(新品 5356)、小麦(扬麦 58)、油菜(淮杂油 1 号)种子用 0.1% HgCl₂ 消毒 8 min, 去离子水冲洗 5 次, 取 50 粒种子均匀排列在直径 12 cm、垫有 2 层滤纸的培养皿中. 以上述 pH 2.0 ~ 5.0 酸雨进行

胁迫处理, 对照(CK)是与母液离子成分相同的中性溶液(pH 6.5), 置恒温培养箱中(25℃ ± 0.5℃)萌发 1 周. 每处理 3 皿, 每天更换溶液. 可溶性糖和还原糖含量于酸雨胁迫第 7 d 测定, α-淀粉酶活性于第 4d 测定. 动态实验旨在分析酸雨胁迫时间对糖代谢影响. 在静态实验基础上, 选择 pH 3.0、3.5、4.0 酸雨进行胁迫处理, CK 溶液与种子处理方式同静态实验, 1 周结束萌发实验. 酸雨胁迫 3 d 起, 每天取样测定 α-淀粉酶活性、可溶性糖和还原糖含量, 至萌发实验结束.

1.3 指标测定

α-淀粉酶活性、可溶性糖和还原糖测定参照文献[11]方法进行.

2 结果与分析

2.1 3 类种子萌发过程中糖代谢对酸雨胁迫强度的响应

表 1 数据说明, 酸雨胁迫下, 3 类种子糖代谢指标(α-淀粉酶活性、可溶性糖和还原糖含量)小于 CK, 且随胁迫强度增加而降低(与 pH 显著正相关, $\alpha = 0.05$, $r_{\text{水稻}}$ 为 0.895 3、0.990 4、0.962 7; $r_{\text{小麦}}$ 为 0.869 6、0.956 0、0.948 8; $r_{\text{油菜}}$ 为 0.888 6、0.982 8、0.975 1). 与

表 1 酸雨胁迫对 3 类种子萌发 α-淀粉酶活性、可溶性糖和还原糖含量的影响¹⁾

Table 1 Effects of acid rain on α-amylase activity, the contents of soluble sugar and reducing sugar in seed germination

植物	处理	α-淀粉酶 × 12 /mg·(g·min) ⁻¹	相对值 /%	可溶性糖 /mg·g ⁻¹	相对值 /%	还原糖 /mg·g ⁻¹	相对值 /%
水稻	CK	3.41a	100.00	11.75a	100.00	13.24a	100.00
	2.0	1.57c	46.12	2.62b	22.30	5.09b	38.45
	2.5	2.74c	80.50	5.59c	47.58	5.32b	40.19
	3.0	3.02b	88.56	7.86d	66.86	7.27c	54.89
	3.5	3.14b	92.08	11.08a	94.27	11.53d	87.08
	4.0	3.36a	98.53	11.30a	96.14	12.64ad	95.48
	4.5	3.61a	105.86	11.47a	97.61	12.80a	96.68
	5.0	3.62a	106.16	11.68a	99.40	13.20a	99.68
小麦	CK	67.75a	100.00	21.60a	100.00	21.05a	100.00
	2.0	28.04b	41.40	2.64b	12.22	2.23b	10.59
	2.5	53.82c	79.45	5.42c	25.08	3.67c	17.45
	3.0	58.81d	86.80	12.09d	55.97	17.95d	85.28
	3.5	62.69d	92.53	19.04de	88.14	18.95e	90.02
	4.0	66.27a	97.81	20.39ae	94.37	19.82f	94.14
	4.5	67.77a	100.33	21.05ae	97.44	20.58af	97.78
	5.0	70.80a	100.05	21.50af	99.51	20.99a	99.70
油菜	CK	2.47a	100.00	10.91a	100.00	10.98a	100.00
	2.0	0.98b	39.68	0.00b	0.00	0.00b	0.00
	2.5	1.67c	67.72	0.00b	0.00	0.00b	0.00
	3.0	2.02d	81.81	4.31cd	39.48	4.00c	36.43
	3.5	2.30e	93.12	4.77cd	43.73	7.51d	68.39
	4.0	2.36ef	95.54	7.53ad	69.02	7.75e	70.56
	4.5	2.40f	97.04	9.32a	85.46	8.75f	79.78
	5.0	2.43g	98.54	10.49a	96.10	10.90a	99.24

1)表中数据均为平均值, 同列中不同字母表示不同处理间差异显著性统计($p < 0.05$)

CK相比,同一胁迫强度下3个指标降幅为水稻<小麦<油菜.3个指标与CK达到差异显著时的胁迫强度是水稻(pH 3.5, pH 3.5, pH 4.0)<小麦(pH 3.5, pH 4.0, pH 4.5)<油菜(pH 5.0, pH 4.0, pH 5.0).表明糖代谢响应酸雨胁迫的变化幅度为水稻<小麦<油菜,即抗酸雨能力为水稻>小麦>油菜.

2.2 3类种子萌发过程中糖代谢对酸雨胁迫时间的响应

2.2.1 酸雨胁迫时间对3类种子α-淀粉酶活性的影响

图1显示,随酸雨胁迫时间延长,水稻α-淀粉酶活性呈上升趋势(酶活性与胁迫时间显著相关,α =

0.05, $r_{\text{水稻}}$ 为 0.988 0、0.991 3、0.996 0、0.996 9,下同),小麦和油菜分别呈“降-升”($r^2_{\text{小麦}}$ 为 0.901 0、0.866 9、0.890 9、0.918 9)和“升-降”($r^2_{\text{油菜}}$ 为 0.889 0、0.802 0、0.802 0、0.899 0)变化.胁迫时间一定,3类种子α-淀粉酶活性低于CK,并随胁迫强度增加而降低.与CK相比,3~7 d α-淀粉酶活性的最大降幅为水稻(85.96%、21.84%、35.72%、34.25%、35.58%)<小麦(-60.32%、-8.99%、66.78%、81.91%、83.67%).3 d时,油菜(19.88%、22.69%、53.87%)>小麦(11.50%、17.65%、18.48%).表明α-淀粉酶抗酸雨胁迫能力为水稻>小麦>油菜,即淀粉水解对酸雨耐受程度为水稻>小麦>油菜.

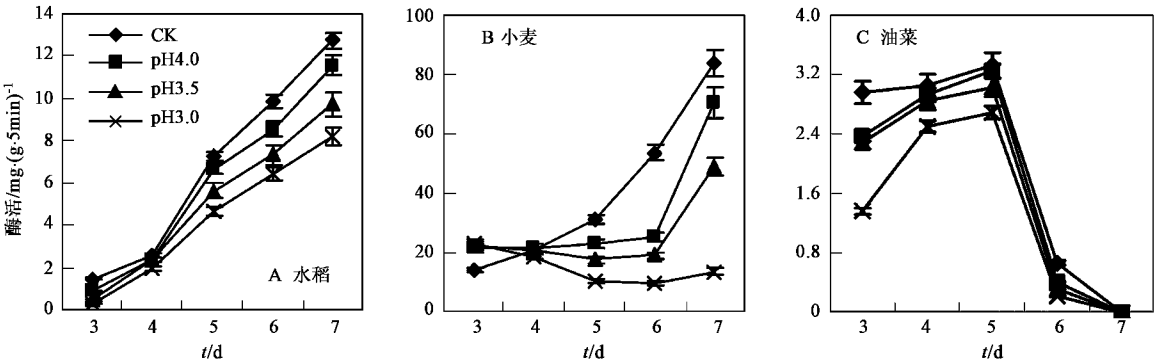


图1 酸雨胁迫对α-淀粉酶活性的影响
Fig.1 Effects of acid rain stress on α-amylase activity

2.2.2 酸雨胁迫时间对3类种子可溶性糖含量的影响

图2显示,随酸雨胁迫时间延长,水稻可溶性糖含量呈递增趋势(与胁迫时间显著正相关, $r_{\text{水稻}}$ 为 0.995 0、0.958 8、0.973 4、0.992 5),小麦和油菜为“升-降”变化($r^2_{\text{小麦}}$ 为 0.991 5、0.992 5、0.983 9、0.902 2; $r^2_{\text{油菜}}$ 为 0.970 6、0.962 8、0.918 2、

0.895 5),3类种子可溶性糖含量均低于CK,并随胁迫强度增加而降低.与CK相比,3~7 d可溶性糖含量的最大降幅为水稻(16.65%、2.70%、17.51%、5.21%、16.23%)<小麦(50.82%、49.75%、28.02%、38.14%、13.06%).7 d时,小麦可溶性糖含量接近CK,而油菜可溶性糖含量偏离CK.表明可溶性糖含量响应酸雨胁迫幅度为油菜>小麦>水稻.

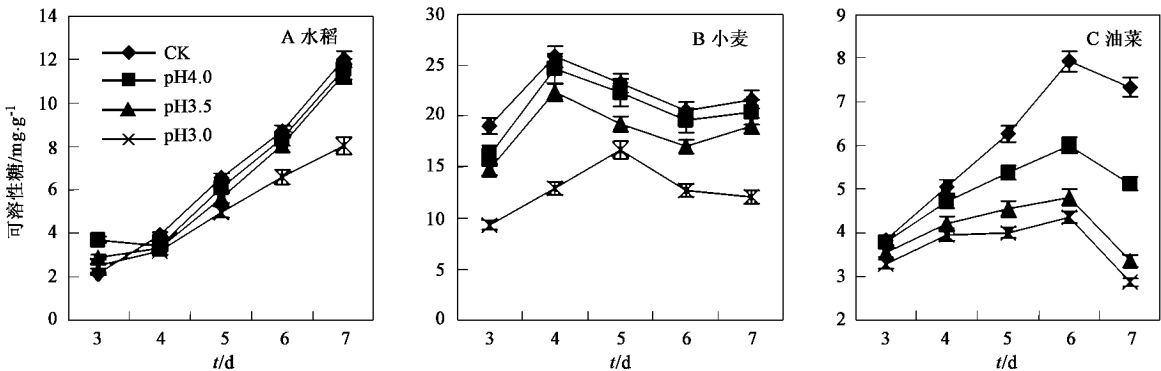


图2 酸雨胁迫对可溶性糖含量的影响
Fig.2 Effects of acid rain stress on the content of soluble sugar

2.2.3 酸雨胁迫时间对 3 类种子萌发还原糖含量的影响

图 3 显示,随酸雨胁迫时间延长,水稻还原糖含量升高,小麦和油菜呈“升-降”变化(与胁迫时间呈显著相关 $r_{\text{水稻}}$ 为 0.975 6、0.962 2、0.959 1、0.963 3; $r_{\text{小麦}}$ 为 0.980 9、0.913 0、0.962 8、0.986 0; $r_{\text{油菜}}$ 为 0.742 0、0.897 0、0.837 8、0.847 5)。胁迫时间一定,随胁迫强度增加,3 类种子还原糖含量均呈降低趋

势,且低于 CK。其中水稻种子还原糖降低幅度(11.74%、7.06%、3.32%、17.4%、19.6%)<小麦(27.81%、35.3%、64.0%、38.05%、73.50%)、油菜还原糖含量变化(40.55%、20.86%、18.62%、23.83%、43.50%)<小麦,但结合油菜贮藏物质消耗率始终大于 CK^[7,8],可知还原糖消耗的变幅为油菜>小麦,表明还原糖响应酸雨胁迫幅度为油菜>小麦>水稻。

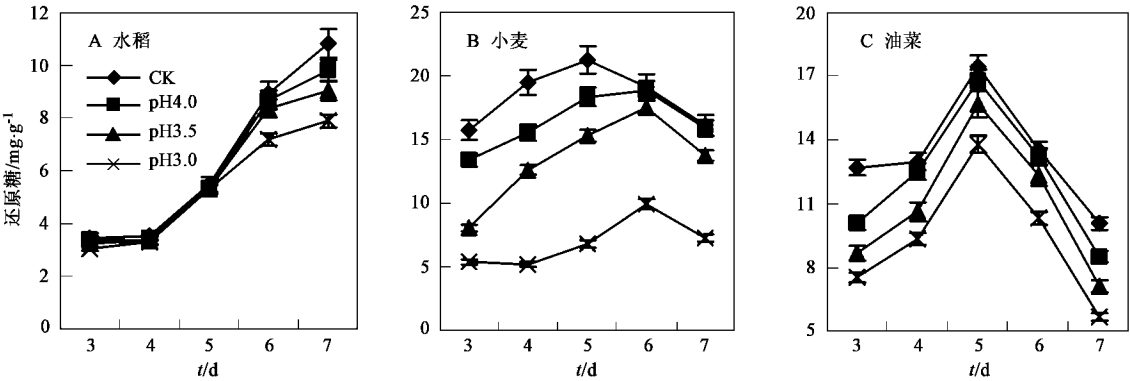


图 3 酸雨胁迫对还原糖含量的影响

Fig.3 Effects of acid rain stress on the content of reducing sugar

3 讨论

研究显示^[7,8],酸雨抑制种子萌发的机理是制约贮藏物质分解、运输及细胞增殖和新器官构建,其抑制强度差异是造成水稻、小麦和油菜抗性分异的原因之一。种子萌发时,胚乳中贮存多糖、淀粉降解,为细胞增殖与器官构建提供物质和能量^[12-14]。水稻和小麦种子含有较多淀粉,油菜种子贮藏淀粉少,萌发初期最先分解利用淀粉。 α -淀粉酶为淀粉降解起始(主要)酶,其活性决定淀粉水解强度,继而影响种子萌发所需物质与能量供给。酸雨胁迫下,3 类种子糖代谢 3 指标响应酸雨胁迫强度(表 1)的规律(伤害阈值/变幅)是:水稻(pH 3.5 ~ 4.0/53.88% ~ 77.7%)<小麦(pH 3.5 ~ 4.5/ 58.60% ~ 89.41%)<油菜(pH 4.0 ~ 5.0/60.14% ~ 100%),与 3 类种子萌发指标响应酸雨胁迫强度变化的规律吻合^[7,8]。酸雨抑制 α -淀粉酶机理复杂,推测与酸雨促进细胞内自由基积累^[21]或 Ca 流失,引发 α -淀粉酶分子氨基酸侧链交连,酶合成、分泌及酶结构稳定^[18,19],诱导酶合成的 GA 与 ABA 含量^[15-17]乃至调控该酶基因表达^[20]等直接或间接作用有关。

随胁迫时间延长,3 类种子糖代谢指标响应酸雨胁迫时间的规律是:水稻处理组与 CK 组走势近

同且变幅小;小麦 α -淀粉酶处理组与 CK 组走势存在差异,第 7d 高胁迫强度(pH 3.0)下背离 CK,其它胁迫强度趋向 CK,但变幅大于水稻;糖含量与 α -淀粉酶活性变化相符。油菜处理组 3 指标与 CK 走势近同, α -淀粉酶活性(第 3 d)、可溶性糖含量(第 7 d)变幅>小麦,油菜还原糖含量变幅<小麦,结合油菜贮藏物质消耗率始终大于 CK 的事实^[7,8],可知油菜还原糖消耗变幅>小麦。3 类种子 3 个指标达最大伤害的胁迫时间为:水稻(7 d, 7 d, 7 d)>小麦(7 d, 6 d, 5 d)>油菜(3 d, 7 d, 5 d),表明水稻糖代谢抗酸雨能力>小麦>油菜。至于小麦处理组各指标与 CK 走势上差异,可能与酸雨制约该种子萌发代谢动员^[7,8],推迟或抑制 α -淀粉酶合成与活性相关。油菜 6 d 前,可溶性糖源于淀粉水解,此部分糖消耗殆尽时,脂肪代谢启动,故出现第 7 d 时 α -淀粉酶活性为 0,可溶性糖含量依旧较高现象。由此可见,酸雨胁迫下 3 类种子萌发糖代谢变化规律与萌发指标变化规律^[7,8]吻合;糖代谢对酸雨胁迫的差异响应是 3 类种子抗性趋异的又一内在原因。

4 结论

(1) 水稻、小麦与油菜种子萌发过程中糖代谢响应酸雨胁迫强度的规律是,糖代谢消长变化幅度

与酸雨强度呈正相关,水稻抗酸雨胁迫能力 > 小麦 > 油菜.

(2) 水稻、小麦与油菜种子萌发过程中糖代谢响应酸雨胁迫时间的变化形式不同,从糖代谢变化幅度推断水稻抗酸雨胁迫能力 > 小麦 > 油菜.

(3) 3 类种子萌发过程中糖代谢对酸雨胁迫的差异响应是 3 类种子抗酸雨能力趋异的又一重要内在原因.

参考文献:

[1] Li W, Gao J X. Acid deposition and integrated zoning control in China [J]. Environmental Management, 2002, **30**(2): 169-182.

[2] 冯宗炜. 中国酸雨对陆地生态系统的影响和防治对策[J]. 中国工程科学, 2000, **2**(9): 5-11, 28.

[3] Fan H B, Wang Y H. Effects of simulated acid rain on germination, foliar damage, chlorophyll contents and seedling growth of five hardwood species growing in China [J]. Forest Ecology Manage, 2000, **126**: 321-329.

[4] 黎华寿, 聂呈荣, 胡永刚. 模拟酸雨对杂交稻常规稻野生稻影响的研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, **23**(2): 284-287.

[5] Park J B, Lee S. Growth responses of Arabidopsis thaliana exposed to simulated acid rain [J]. Journal of the Korean Society for Horticultural Science, 1999, **40**(1): 146-151.

[6] Horner J M, Bell J N B. Effects of fluoride and acidity on early plant growth [J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1995, **52**: 205-211.

[7] 周青, 曾庆玲, 黄晓华, 等. 三类抗性种子萌发对酸雨胁迫响应[J]. 生态学报, 2004, **24**(9): 2029-2036.

[8] 曾庆玲, 黄晓华, 周青. 酸雨对水稻、小麦和油菜种子萌发的影响[J]. 环境科学, 2005, **26**(1): 181-184.

[9] 王丽红, 黄晓华, 周青. 水稻、小麦和油菜种子萌发 POD 与 CAT 对酸雨胁迫的响应[J]. 环境科学, 2005, **26**(6): 123-125.

[10] 张耀民, 吴丽英, 王晓霞. 酸雨对农作物叶片伤害及生理特

性影响[J]. 农业环境保护, 1996, **15**(5): 197-208, 227.

[11] 邹琪. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995. 3-59.

[12] Lu C A, Lim E K, Yu S M. Sugar response sequence in the promoter of a rice amylase gene serves as a transcriptional enhancer [J]. Journal of Biological Chemistry, 1998, **273**(17): 10120-10131.

[13] 傅家瑞. 种子生理学[M]. 北京: 科学出版社, 1985. 28-29.

[14] Murata T, Kono Y, Akazawa T. Enzymic Mechanism of Starch Breakdown in Germinating Rice Seeds II . Scutellum as the Site of Sucrose Synthesis [J]. Plant Physiology, 1969, **44**: 765-769.

[15] Wyrwicka A, Skłodowska M. Influence of repeated acid rain treatment on antioxidative enzyme activities and on lipid peroxidation in cucumber leaves [J]. Environmental and Experimental Botany, 2006, **56**: 198-204.

[16] Kashem M A, Hori H, Itoh K, *et al.* Effects of (+)-8', 8', 8'-trifluoroabscisic acid on α -amylase expression and sugar accumulation in rice cells [J]. Planta, 1998, **205**: 319-326.

[17] Salas E, Cardemil L. The multiple forms of α -amylase enzyme of the *Araucaria* species of South America: *A. araucana* (Mol.) Koch and *A. angustifolia* (Bert.) O. Kutz [J], Plant Physiology, 1986, **81**: 1062-1068.

[18] Tanaka Y, Ito T, Akazawa T. Enzymic Mechanism of Starch Breakdown in Germinating Rice Seeds III . α -amylase Isozymes [J]. Plant Physiology, 1970, **46**: 650-654.

[19] Kaur S, Gupta A K, Kaur N. Gibberellin A3 reverses the effect of salt stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings by enhancing amylase activity and mobilization of starch in cotyledons [J]. Plant Growth Regulation, 1998, **26**: 85-90.

[20] Kolli V S, Rupali D, Rameshwar S. Amylases synthesis in scutellum and aleurone layer of maize seeds [J]. Phytochemistry, 1998, **49**(3): 657-666.

[21] Yu S M, Lee Y C, Fang S C, *et al.* Sugars act as signal molecules and osmotica to regulate the expression of α -amylase genes and metabolic activities in germinating cereal grains [J]. Plant Molecular Biology, 1996, **30**: 1277-1289.