

酸雨胁迫对花生种子萌发的影响及其生理机制

王艾平,徐芬芬  
(上饶师范学院 生命科学院,江西 上饶 334001)

**摘要:**为探明酸雨胁迫影响花生种子萌发的生理机制,采用模拟酸雨胁迫萌发期花生种子的方法,研究了不同 pH 值酸雨对花生种子萌发过程中磷脂含量和水解酶活性的影响。结果表明,不同 pH 值酸雨胁迫对花生种子萌发均有一定的抑制作用,且随着 pH 值的降低,抑制作用加强;花生种子磷脂含量随 pH 值的减小呈降低趋势,pH 值 $\leq 4.0$  时磷脂含量极显著低于 CK(pH 值 6.5);随酸雨 pH 值的减小,花生种子淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶等水解酶活性均呈下降趋势,pH 值 4.0~5.0 为酸雨极显著抑制花生水解酶活性的 pH 阈值;种子呼吸速率与酸雨 pH 值呈显著正相关。可见,酸雨主要通过降低种子呼吸强度,抑制水解酶活性,进而抑制种子萌发。  
**关键词:**花生;酸雨胁迫;pH 值;磷脂含量;水解酶活性;呼吸速率  
**中图分类号:**S565.2;Q945.78 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-3268(2016)06-0030-04

Effects of Acid Rain Stress on Germination of Peanut Seeds and Related Physiological Mechanism

WANG Aiping,XU Fenfen  
(Life Science Department,Shangrao Normal College,Shangrao 334001,China)

**Abstract:** The physiological mechanism of acid rain affecting peanut seed germination was studied by using simulated acid rain to treat peanut seeds in germination stage. The effect of acid rain with different pH value on phospholipid content and hydrolase activities in the process of peanut seed germination was analyzed. The result showed that acid rain of different pH value inhibited the germination of peanut seeds, and the inhibition effect increased with the decrease of pH value. The phospholipid content of peanut decreased with the decrease of pH value, and under the pH $\leq 4.0$  it was very significantly lower than that of CK(pH=6.5). Along with the decrease of the pH value of acid rain, the activities of amylase, lipase and protease were all reduced. The hydrolase activities of peanut were significantly inhibited under the pH value of 4.0—5.0. Seed respiration rate and pH value of acid rain were significantly positively related. Thus it was inferred that acid rain inhibited the seed germination by reducing seed respiration intensity and inhibiting hydrolase activity.  
**Key words:** peanut; acid rain stress; pH value; phospholipid content; hydrolase activity; respiration rate

酸雨是指 pH 值 < 5.6 的降雨。近年来,随着人口剧增和工业化进程的加快,酸雨污染在我国各地呈蔓延发展趋势,酸雨污染范围不断扩大,酸性不断增强,已成为重要的生态环境问题之一<sup>[1]</sup>。酸雨是排入大气的 SO<sub>x</sub>、NO<sub>x</sub> 等物质混入雨水中引起的一种次级污染物,主要是水与硫酸和硝酸(或盐酸)

的混合物。当酸雨的酸度达到一定阈值时,将破坏植物的超微结构,降低叶绿素含量和光合效率,阻碍其生长发育,最终导致作物减产<sup>[2]</sup>。有关研究表明,酸雨对玉米、小麦、蚕豆、油菜及蔬菜等农作物的生长均有抑制作用<sup>[3-9]</sup>。  
花生(*Arachis hypogaea*)是我国重要的经济作物

和油料作物。但南方绝大多数花生种植在酸雨影响区,花生产量普遍不高。目前关于酸雨胁迫对花生种子萌发影响的研究较少。聂呈荣等<sup>[10]</sup>研究了不同 pH 值酸雨对花生种子萌发的影响,结果表明,花生种子发芽率、胚根长度、胚根直径和活力指数等均随模拟酸雨 pH 值的降低而减少;pH 值低于 4.5 的模拟酸雨处理花生种子的发芽率、胚根长度和活力指数等均极显著降低。陈学政<sup>[11]</sup>研究了不同酸度梯度(pH 值 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0)模拟酸雨对花生生长的影响,结果显示,强酸度的酸雨胁迫下花生叶绿素色素合成和细胞膜系统组织受到严重损害,SOD、CAT、POD 等抗氧化酶活性显著降低,正常的生理生态功能受到了抑制;但 pH 值 5.0 的轻度酸雨胁迫可以促进花生的生长。目前尚未见有关酸雨抑制花生种子萌发的生理机制方面的报道。种子发芽是一个需要大量能量的过程,种子萌发依靠分解贮存的脂肪、蛋白质和淀粉为幼胚的生长提供能量和物质,故脂肪酶、蛋白酶和淀粉酶的活力直接影响种子萌发和幼苗生长速度。鉴于此,研究了酸雨对种子萌发过程中水解酶活性的影响,为探明酸雨抑制种子萌发的机制提供参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试花生品种:中花四号,种子购于市场。

1.2 模拟酸雨方法

模拟酸雨采用分析纯浓硫酸和浓硝酸按照摩尔比 4:1 配制成母液,然后用蒸馏水稀释成 pH 值为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 等 5 个酸雨处理,对照(CK)为与酸液离子成分相同的中性溶液(pH 值 6.5),并经 pH 值 S-29A 酸度计(上海精密科学仪器有限公司)校准。

2.2 模拟酸雨对萌发期花生种子磷脂含量的影响

磷脂是构成植物细胞中细胞膜、核膜及各种细胞器膜的基本成分,是生物细胞的构成物质,生命的基础物质之一。种子萌发时所进行的物质代谢与能

1.3 试验方法

挑选饱满的花生种子,依次经消毒、浸种、催芽后,挑选发芽整齐一致的种子播于培养皿(直径为 9 cm)的湿滤纸上,每个培养皿中 50 粒,每处理重复 5 皿。以 pH 值 6.5 为 CK,共设 6 个 pH 值处理,2 d 更换 1 次处理液。于光照培养箱中培养,培养温度为 25 ℃,光周期为昼 12 h/夜 12 h。试验期间,每天用相应浓度的处理液冲洗培养皿,以保持 pH 值恒定。

1.4 测定项目及方法

培养第 2 天,开始观察出芽情况,以后每 24 h 观察 1 次种子萌发率,萌发率 = 已发芽的种子数/种子总数 × 100%;磷脂含量测定采用钼蓝比色法<sup>[12]</sup>,发芽后每天测定 1 次;脂肪酶活性测定采用碱液滴定法,淀粉酶活性测定采用 3,5-二硝基水杨酸还原法,蛋白酶活性测定采用 Folin-酚法,上述 3 种水解酶活性均于培养第 2 天起测定,每天测定 1 次;种子呼吸速率采用电导仪测定<sup>[13]</sup>,于种子萌发第 2 天用 DDS-307 型电导率仪测定,单位为 mg/(g · h)。

1.5 数据处理

用 Excel 进行数据统计整理,DPS 6.55 版软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 模拟酸雨对花生种子萌发的影响

由表 1 可以看出,不同 pH 值酸雨胁迫对花生种子萌发均有一定的抑制作用,且随着 pH 值的降低,抑制作用加强。至萌发第 8 天,不同 pH 值处理间差异较大,除 pH 值 6.0 外,其他 pH 值处理花生种子萌发率均极显著低于 CK( $P < 0.01$ ),且 pH 值越小抑制作用效果越明显,pH 值低于 3.0 处理的花生种子均出现不同程度的霉烂,pH 值 2.0 处理的花生种子全部霉烂。

表 1 不同 pH 值酸雨对花生种子萌发率的影响 %

pH	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天	第 8 天
6.5 (CK)	6.0	13.4	44.6	58.0	70.6	85.4	95.4aA
6.0	4.0	10.0	30.6	56.0	67.6	81.4	93.4aA
5.0	2.0	7.4	22.6	32.0	50.6	65.4	85.4bB
4.0	2.0	6.0	19.4	24.0	43.6	59.4	61.4cC
3.0	0.0	2.0	11.4	7.4	22.6	25.4	35.4dD
2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0eE

注:同列不同大、小写字母分别表示差异达极显著( $P < 0.01$ )、显著( $P < 0.05$ )水平,下同。

量传递都与含磷的有机物有直接关系。由表 2 可知,花生种子磷脂含量随 pH 值的降低呈减小趋势;当 pH 值一定时,萌发前 5 d,磷脂含量随萌发时间的延长而增加,可能是由于胚的生长合成了新的细

胞结构,磷脂增加,到第 6 天又降低,可能与胁迫时间过长有关。pH 值 6.0 处理花生种子的磷脂含量与 CK 差异不显著,pH 值 $\leq 5.0$ 时显著低于 CK,pH 值 $\leq 4.0$ 时极显著低于 CK。说明 pH 值低于 5.0 的酸雨胁迫严重影响了种子质膜透性,抑制种子萌发。

表 2 不同 pH 值酸雨对花生种子磷脂含量的影响

mg/g					
pH	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天
6.5 (CK)	1.52	1.65	1.76	1.86	1.57aA
6.0	1.23	1.53	1.65	1.76	1.52abA
5.0	1.14	1.45	1.53	1.64	1.45bA
4.0	0.84	0.97	1.23	1.43	1.21cB
3.0	0.75	0.79	0.85	0.96	0.74dC
2.0	0.64	0.77	0.83	0.89	0.67dC

2.3 模拟酸雨对萌发期花生种子脂肪酶活性的影响

脂肪是花生种子的主要贮藏物质,脂肪的水解速度与种子的萌发速度密切相关。由表 3 可知,随萌发时间的推进,CK 花生种子的脂肪酶活性逐渐增加,而其他 pH 值处理花生种子的脂肪酶活性均表现出先升高后降低的趋势。正常情况下,种子内贮藏物质在水解酶的作用下,不断水解供胚生长需要,因而水解酶活性逐渐增强,直到子叶长出能进行光合作用。而模拟酸雨各处理,在胁迫初期由于酸雨软化种皮,吸水加快,脂肪酶活性提高,但随胁迫时间的延长,伤害作用积累,酶活性降低。不同胁迫强度间比较,随着胁迫强度的增加,萌发第 2~3 天,各 pH 值处理脂肪酶活性均高于 CK,可能与酸雨促使种皮软化,有助于种子吸水有关,到萌发第 5 天,脂肪酶活性随胁迫强度的增加而降低,此时,胁迫伤害积累,活性氧量增加,质膜流动性和稳定性受到破坏,导致脂肪酶部分失活,对萌发伤害加强。

表 3 不同 pH 值酸雨对花生种子脂肪酶活性的影响

U/g					
pH	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天
6.5 (CK)	11.4	13.1	15.6	16.9	17.5aA
6.0	14.2	16.6	17.3	16.5	16.4bAB
5.0	15.3	16.7	16.1	15.6	15.5bB
4.0	13.4	15.3	14.8	14.1	13.8cC
3.0	12.7	14.7	13.4	12.3	12.1dD
2.0	11.8	13.5	12.3	11.3	10.8eE

2.4 模拟酸雨对萌发期花生种子淀粉酶和蛋白酶活性的影响

从表 4、表 5 可以看出,随萌发时间的推进,CK 花生种子的淀粉酶活性和蛋白酶活性逐渐增加,而其他 pH 值处理花生种子的淀粉酶活性和蛋白酶活

性整体上表现出先升高后降低的趋势,变化趋势与脂肪酶活性相似。至萌发第 6 天,pH 值 6.0 处理花生种子的淀粉酶活性与 CK 差异不显著,pH 值 5.0 及以下处理显著低于 CK( $P<0.05$ ),pH 值 4.0 及以下处理的淀粉酶活性极显著低于 CK( $P<0.01$ );pH 值 6.0 处理花生种子的蛋白酶活性与 CK 差异不显著,pH 值 5.0 及以下蛋白酶活性极显著低于 CK( $P<0.01$ )。可见,酸雨显著抑制花生脂肪酶和蛋白酶活性的 pH 值为 5.0,pH 值 4.0~5.0 为酸雨显著抑制花生水解酶活性的 pH 值阈值。

表 4 不同 pH 值酸雨对花生种子淀粉酶活性的影响

U/g					
pH	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天
6.5 (CK)	312.5	314.3	326.6	334.6	337.8aA
6.0	334.5	337.4	330.6	325.7	324.5abA
5.0	336.7	338.2	321.8	316.8	315.7bA
4.0	324.6	324.2	287.8	267.5	258.4cB
3.0	317.8	317.8	256.8	234.8	218.9dC
2.0	305.7	287.5	245.2	154.7	145.8eD

表 5 不同 pH 值酸雨对花生种子蛋白酶活性的影响

U/g					
pH	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天
6.5 (CK)	8.6	9.1	10.7	12.2	12.6aA
6.0	9.2	10.6	10.8	11.5	11.8abAB
5.0	10.3	11.7	12.3	11.7	11.2bB
4.0	10.4	11.3	11.2	10.3	9.8cC
3.0	9.7	10.7	10.3	9.1	8.9dcCD
2.0	9.2	9.6	9.1	8.6	8.4dD

2.5 模拟酸雨对萌发期花生种子呼吸速率的影响

呼吸速率是种子萌发过程中能量代谢状态或组织损伤程度的间接反映<sup>[14]</sup>。由图 1 可知,随着发芽进程,花生种子呼吸速率逐渐增大;随着 pH 值的降低,花生种子呼吸速率逐渐减小。到发芽第 6 天,种子呼吸速率与酸雨的 pH 值呈显著正相关,呼吸速率与 pH 值的相关性方程为: $y=0.048\ 3x+0.027$ ( $r=0.996\ 4$ )。酸雨抑制种子呼吸与水解酶活性钝化有关。

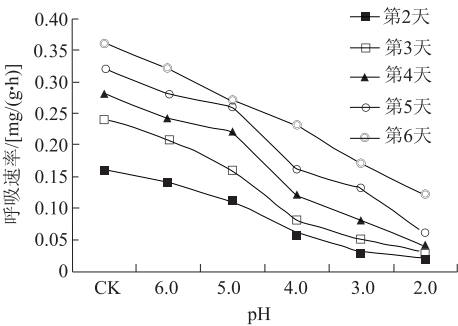


图 1 不同 pH 值胁迫下花生种子的呼吸速率

### 3 结论与讨论

本试验结果表明,不同 pH 值酸雨胁迫对花生种子萌发均有一定的抑制作用,且随着 pH 值的降低,抑制作用加强。磷脂是构成细胞膜的成分,植物受到酸雨危害的表现之一是细胞膜透性的改变,酸雨胁迫强度越高,种子萌发受伤害也越严重,细胞膜透性增大,磷脂含量降低。

种子萌发依靠分解贮存的脂肪、蛋白质和淀粉为幼胚的生长提供能量和物质,故脂肪酶、蛋白酶和淀粉酶的活性直接影响种子萌发和胚的生长速度。本试验结果表明,酸雨胁迫初期,花生种子萌发过程中脂肪酶、蛋白酶和淀粉酶活性均高于 CK,但随胁迫时间和胁迫强度的增加,酶活性受到抑制。可能因为胁迫初期酸雨软化种皮,使其吸水加快,脂肪酶活性提高,但随胁迫时间的延长,伤害作用积累,酶活性降低,导致种子内贮存物质分解速度降低,故种子萌发受到抑制。

萌发第6天,pH 值4.0及以下各处理磷脂含量和脂肪酶、蛋白酶和淀粉酶3种水解酶的活性均极显著低于CK( $P < 0.01$ ),这可能是因为酶最适 pH 值一般都在4.5~6.5<sup>[15]</sup>,酸度增大可能不同程度地降低水解酶活性,从而导致贮藏物质水解速度变慢,能量减少,新细胞发育受到影响<sup>[16]</sup>,种子中毒失去生命力,仅维持在依赖衬质势吸水膨胀的物理阶段,故种子萌发受到抑制。

花生种子的呼吸速率与酸雨的 pH 值呈显著正相关,说明酸雨主要是通过降低种子呼吸强度,抑制水解酶活性,进而抑制种子萌发的。

#### 参考文献:

- [1] 潘根兴,冉炜. 中国大气酸沉降与土壤酸化问题[J]. 热带亚热带土壤科学,1994,3(4):243-252.
- [2] 李德成,徐彬彬,石晓日,等. 模拟酸雨对水稻叶片荧

光光谱特性的影响[J]. 中国环境科学,1998,18(6):498-500.

- [3] 陈永,陈穗云,张晋海,等. 模拟酸雨对小麦和玉米种子萌发及幼苗发育的影响[J]. 山东环境,1997(4):13-15.
- [4] 袁志忠,曾硕,周耀渝. 模拟酸雨对玉米种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 山西农业科学,2011,39(11):1161-1164.
- [5] 李晓科. 模拟酸雨对大麦幼苗部分生理特性的影响[J]. 山西农业科学,2012,40(4):329-331.
- [6] 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.
- [7] 王力军,青长乐,牟树森. 模拟酸雨对土壤化学及蔬菜生长的影响[J]. 农业环境科学学报,1993,12(1):17-20.
- [8] 唐鸿寿. 模拟酸雨对油菜生长的影响[J]. 农业环境保护,1996,15(6):261-263.
- [9] 林添财. 模拟酸雨对阳桃的胁迫效应[J]. 现代农业科技,2007(9):15-16.
- [10] 聂呈荣,陈思果,温玉辉,等. 模拟酸雨对花生种子萌芽及幼苗生长的影响[J]. 中国油料作物学报,2003,25(1):34-36.
- [11] 陈学政. 模拟酸雨对花生的危害及其调控研究[D]. 南宁:广西大学,2007.
- [12] 王立新,吴启南,吴德康,等. 钼蓝比色法测定不同产地合子草中总磷脂的含量[J]. 中国野生植物资源,2001,20(3):50-51.
- [13] 颜启传. 种子检验原理和技术[M]. 杭州:浙江大学出版社,2001.
- [14] 贺润喜,王玉国,张石城. 用电导仪测定植物组织呼吸速率[J]. 山西农业大学学报,1997,17(2):165-167.
- [15] 聂剑初,吴国利,张翼伸,等. 生物化学简明教程[M]. 北京:高等教育出版社,1981.
- [16] 刘燕云,曹洪法. 酸雨和SO<sub>2</sub>作用下SOD酶活性与菠菜叶片损伤相关性的研究[J]. 应用生态学报,1993,11(2):223-225.