

DOI: 10.5846/stxb201408261692

孙其松, 黄洁, 吴晓静, 江海东, 周琴. 不同酸度酸雨对小麦花后氮硫代谢和籽粒蛋白组分的影响. 生态学报, 2016, 36(1): - .
Sun Q S, Huang J, Wu X J, Jiang H D, Zhou Q. Effect of different acidities of acid rain on nitrogen and sulfur metabolism and grain protein levels in wheat after anthesis. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(1): - .

不同酸度酸雨对小麦花后氮硫代谢和籽粒蛋白组分的影响

孙其松, 黄洁, 吴晓静, 江海东, 周琴*

南京农业大学农业部南方作物生理生态重点开放实验室/江苏省信息农业高技术研究重点实验室, 南京 210095

摘要: 酸雨是中国重要的环境问题, 为研究酸雨对小麦籽粒品质的可能影响, 本研究以小麦品种扬麦 15 和汶农 17 为材料开展盆栽试验, 研究了不同酸度 (pH2.5、pH4.0 和 pH5.6) 酸雨对小麦花后氮硫代谢关键酶活性和籽粒蛋白质含量及组分的影响。结果显示: 酸雨处理抑制叶片硝酸还原酶 (NR) 活性, 提高了扬麦 15 整个灌浆期及汶农 17 灌浆中后期叶片谷氨酰胺合成酶 (GS) 活性, 促进了叶片蛋白的降解, 降低了叶片可溶性蛋白含量。不同酸度酸雨提高了成熟期籽粒中蛋白质含量, 酸度越强, 增加幅度越大, 籽粒中各蛋白组分含量和大部分氨基酸含量也有明显提高。酸雨提高了扬麦 15 叶片丝氨酸乙酰转移酶 (SAT) 和 O-乙酰丝氨酸硫裂解酶 (OAS-TL) 活性, 但对汶农 17 硫代谢关键酶活性影响较小, 酸雨处理还提高了籽粒中二硫键和含硫氨基酸含量。可见酸雨对小麦氮硫代谢有不同程度影响, 进而影响了小麦籽粒蛋白质含量和组成, 酸度越强影响越大, 但不同品种对酸雨响应有一定差异。

关键词: 酸雨; 花后; 小麦; 氮硫代谢; 蛋白质组分

Effect of different acidities of acid rain on nitrogen and sulfur metabolism and grain protein levels in wheat after anthesis

SUN Qisong, HUANG Jie, WU Xiaojing, JIANG Haidong, ZHOU Qin*

Ministry of Agriculture Key Laboratory of Crop Physiology and Ecology in Southern China/Jiangsu Province Hi-Tech Key Laboratory of Information Agriculture, Nanjing 210095, China

Abstract: Recently, acid rain has become a serious environmental problem in China. Acid precipitation has occurred in about 40% of the entire area, especially in the rapidly developing industrial regions, such as the many areas around the Yangtze River. Acid rain is formed when sulfur dioxide (SO_2) and nitrogen oxides (NO_x) react with water in the atmosphere to produce H_2SO_4 and HNO_3 and deposit as acid precipitation. Most studies have focused on the effect of acid rain on seed germination, plant morphology, plant carbon metabolism, and grain yield. However, the impacts of acid rain on plant nitrogen and sulfur metabolisms and grain quality have rarely been investigated, although SO_4^{2-} and NO_3^- are known to be the main components of acid rain. Wheat (*Triticum aestivum* L.) is a staple food and plays an important role in food security. It is sensitive to biotic and abiotic stresses from flowering to maturity. In this study, a pot experiment was performed to determine the effects of spraying of acid rain with varying acidities (pH, 2.5, 4.0, and 5.6) after anthesis on the activities of key enzymes related to nitrogen and sulfur metabolisms and amino acid and protein contents in wheat grains. Two winter wheat cultivars (Yangmai 15 and Wengong 17) were used in this study. The results showed that acid rain inhibited nitrate reductase activity and decreased the soluble protein content of leaves. At 10 days after anthesis, the soluble

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31170475, 31471445, 30700483)

收稿日期: 2014-08-26; 修订日期: 2015-05-22

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: qinzhou@njau.edu.cn

protein content in Wennong 17 and Yangmai 15 subjected to acid rain (pH 2.5) decreased by 26.58% ($P < 0.05$) and 21.31% ($P < 0.05$), respectively, compared with that in the control. Glutamine synthetase activity in the leaves was increased in Yangmai 15 during the entire grain filling stage and in Wennong 17 only during the late grain filling stage. Acid rain gradually decreased the free amino acid content from the beginning of grain filling stage up to the later stages. The contents of protein and most essential amino acids in mature gains were increased by acid rain and were the highest after treatment with acid rain of higher pH. Acid rain increased the activities of serine acetyltransferase and O-acetylserine(thiol)lyase in Yangmai 15, but had little effect on the activity of key enzymes related to sulfur metabolism in Wennong 17. Acid rain treatment also increased the contents of disulfide bonds and amino acids containing sulfur in the wheat grains of both the cultivars. Thus, acid rain had different influences on wheat sulfur and nitrogen metabolisms, thereby affecting the protein content and composition of wheat grains, and thus its nutritional quality.

Key Words: acid rain; days after anthesis; wheat; nitrogen and sulfur metabolism; protein composition

由于经济的快速发展,酸雨污染已成为中国重要的环境问题^[1]。2012年《中国环境状况公报》显示,全国各酸雨监测点中,出现酸雨的市(县)占46.1%,酸雨频率在75%以上的地区占12.0%^[2],可见中国的酸雨污染程度比较严重,尤其是在经济快速发展地区如长江流域^[3]。前人研究表明酸雨会伤害植物叶片,降低叶绿素含量,抑制作物的光合作用及物质合成^[4-6]。但同时也有研究显示酸雨对植物生长或某些代谢过程有一定促进作用,梁晓琴^[7]研究显示,pH2.5酸雨处理的蒙古栎幼苗的生物量、株高、叶片数较对照显著增加。郑有飞^[8]研究结果显示中低强度酸雨处理下,油菜的株高、叶面积和籽粒产量增加,其原因是因为酸雨的硫素供给对植株叶片面积有促进作用,从而增加了光合作用面积,促进了油菜籽生产。酸雨是由大气中SO₂和NO_x水解后行形成^[9],来自于化石燃料燃烧和汽车尾气产生的SO₂和NO_x,会通过复杂的光化学反应进一步形成H₂SO₄和HNO₃^[4,9]。酸雨中含有一定的SO₄²⁻和NO₃⁻,会产生一定的肥效。和对照相比,pH3.2的酸雨处理后糖枫叶片中氮和硫的浓度明显比对照高^[10]。小麦是江苏省第二大农作物,开花期至成熟期是小麦对环境逆境敏感时期,而此期也是江苏地区酸雨发生的概率和强度较大的时期^[11]。酸雨胁迫对作物氮素营养的影响有一定报道,但研究结果不尽一致,而酸雨对硫素营养影响研究则较少。深入研究酸雨对植物氮硫代谢和主要营养成分的影响,对于科学评价酸雨对小麦品质的影响以及制定相应对策具有重要意义。本研究以两个品种小麦为试验材料,在不同酸度酸雨水平下研究了花后喷施酸雨对小麦氮硫代谢和籽粒营养品质的影响,以期小麦抗酸雨栽培和品种的选育提供参考依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试小麦品种为汶农17和扬麦15。汶农17,强筋、偏冬性、中晚熟品种,由泰安市汶农种业有限责任公司培育;扬麦15,弱筋、春性、中熟小麦品种,由江苏里下河地区农科所培育。

1.2 试验设计

盆栽试验于2012年11月至2013年6月在南京农业大学牌楼试验站进行,供试土壤为黄棕壤。土壤自然风干后装入高20cm,直径25cm的塑料花盆中,每盆装土8kg。每盆土施用尿素2.6g, KH₂PO₄ 1.4g, K₂SO₄ 3.5g,播种前肥料和土壤充分混匀,氮肥基追比为6:4,追肥于拔节期施用。每盆播种10粒,三叶期定苗,每盆留苗6株。酸雨参照卞雅娇的方法配制^[12],以SO₄²⁻与NO₃⁻摩尔比5:1配成母液,加入CaCl₂、NH₄Cl等药品,使各自浓度为CaCl₂ 3.1g/L, NH₄Cl 2.8g/L, NaCl 0.91g/L和KCl 0.75g/L,稀释母液1000倍并调节pH值。试验共设三个酸雨处理:对照(pH5.6)、pH4.0酸雨和pH2.5酸雨。开花期进行酸雨处理,每五天喷施一次直至成熟,每次酸雨的喷施量相当于5mm降雨量。试验为随机区组设计,3次重复,管理措施同大田高产

栽培。

开花期选择同一天开花且生长一致麦穗挂牌标记。分别于开花后 0、5、10、15、25 和 30 d 取旗叶,花后 10、15、20、25、30 和 35 d 取麦穗,用液氮固定后 -40°C 保存,旗叶去除基部和叶尖,留中间部分,穗子剥取从基部数起第 5—12 个小穗的第 1、2 位籽粒,用于各项生理指标的测定。同时取干样,分器官后于 105°C 杀青 30 分钟后, 70°C 烘至恒重,干燥贮藏备用。

1.3 测定项目与方法

游离氨基酸含量测定采用茚三酮比色法^[13],可溶性蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 法^[13]。硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)活性测定参照现代植物生理学实验指南^[14]。小麦籽粒中各氨基酸组分含量用氨基酸自动分析仪(GB 7649-87)测定,蛋白质含量测定采用半微量凯氏定氮法^[14],以全氮量乘以 5.7 即为籽粒蛋白质含量,蛋白质组分采用连续提取法^[15]。

丝氨酸乙酰转移酶和 O-乙酰丝氨酸硫裂解酶活性测定参照 Hartmann 方法测定^[16],具体步骤如下:称取旗叶叶片鲜重 1.0g 左右置于预先冷冻过的研钵中,加入少量预冷的经酸洗过的石英砂和 3mL 提取液(30mmol/L Tris-HCl,内含 10 mmol/L 的 DTT),冰浴下研磨至匀浆,倒入离心管, 4°C 下 14000g 离心 20 分钟。

O-乙酰丝氨酸硫裂解酶活性测定:取上清液 0.1 mL,加入 0.1 mL 反应液(50 mmol/L 的 $\text{K}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$ (pH7.5),5 mmol/L DTT,10 mmol/L O-乙酰丝氨酸,2 mmol/L Na_2S)。25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 10 分钟,50 μL 20% (w/v) TCA (三氯乙酸)终止反应, 4°C 下 14000gx 离心 20 分钟,蛋白质被沉淀出来。上清液转移到试管中,加入 100 μL 浓缩的醋酸和 200 μL 水合茚三酮试剂(250mg 水合茚三酮溶解在 10 mL 的浓缩醋酸与浓盐酸(体积比 6:4)中。试管放在煮沸水中煮沸 10 分钟,加入 550 μL 95% (体积比)乙醇,然后迅速冷却。以半胱氨酸做标准曲线,560nm 下测吸光度,然后计算 O-乙酰丝氨酸硫裂解酶的活性。

丝氨酸乙酰转移酶活性测定:取上清液 0.1mL,加入 0.1mL 反应液(4 mmol/L 丝氨酸,2 mmol/L 乙酰辅酶 A,50 mmol/L 的 $\text{K}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$ (PH7.5),0.5 mmol/L DTT 和 1 mmol/L Na_2S)。25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 30 分钟,50 μL 20% (w/v) TCA (三氯乙酸)终止反应, 4°C 下 14000gx 离心 20 分钟,蛋白质被沉淀出来。上清液转移到试管中,加入 100 μL 浓缩的醋酸和 200 μL 水合茚三酮试剂(250mg 水合茚三酮溶解 10 mL 的浓缩醋酸与浓盐酸(体积比 6:4)中。试管放在煮沸水中煮沸 10 分钟,加入 550 μL 95%乙醇,然后迅速冷却。以半胱氨酸做标准曲线,560nm 下测吸光度,然后计算丝氨酸乙酰转移酶的活性。

二硫键、硫氢键含量测定采用 Ellman'S 试剂比色法测定^[17]。具体步骤如下:称取 100 mg 面粉,用 1 mL Tris-Gly 缓冲液溶解混匀后加入 4.7 g 盐酸胍,并用此缓冲液定容至 10mL。

—SH 含量:取该溶液 1 mL,加 4 mL 脲-盐酸胍溶液和 0.05 mL Ellman'S 试剂,于 412 nm 处比色(以不含蛋白的 Tris-Gly 缓冲液作对照)。

—S—S—的测定:取该溶液 1 mL,加 0.05 mL 巯基乙醇和 4 mL 脲-盐酸胍溶液,25 $^{\circ}\text{C}$ 保温 1 小时,加 10mL 12% TCA,继续 25 $^{\circ}\text{C}$ 保温 1 小时,4000 $\times\text{g}$ 离心 10 分钟,用 5 mL 12% TCA 清洗沉淀物两次,将沉淀物溶于 10 mL 10 mol/L 脲溶液中,加 0.05 mL Ellman'S 试剂,412 nm 处比色测总—SH 含量。

—SH 含量计算公式:—SH ($\mu\text{mol/g}$) = $73.53 \times A_{412} \times D / C$

—S—S—含量的计算方法为:—S—S— ($\mu\text{mol/g}$) = $1/2(N_2 - N_1)$,其中: A_{412} 为 412 nm 处的吸光值; D 为稀释因子; C 为样品浓度。 N_1 为原有—SH 含量; N_2 为还原后的总—SH 含量。

1.4 数据处理

采用 Excel 2007 软件处理试验数据,并用 SPSS18.0 软件对试验数据进行两因素的方差分析,处理间均值的多重比较用 Duncan 新复极差法,试验结果是 3 次重复的平均值。

2 结果与分析

2.1 酸雨对小麦氮代谢过程的影响

2.1.1 酸雨对小麦叶片游离氨基酸含量的影响

两个品种小麦叶片游离氨基酸含量总体均呈现先上升再下降的趋势,在花后 10 天达到最大值,随后均迅

速降低(图1)。灌浆初期酸雨显著提高了汶农17叶片中游离氨基酸含量,随后低于对照,花后30天后,下降幅度小于对照。扬麦15在整个灌浆期酸雨处理游离氨基酸含量高于对照,酸度越高游离氨基酸含量越高。

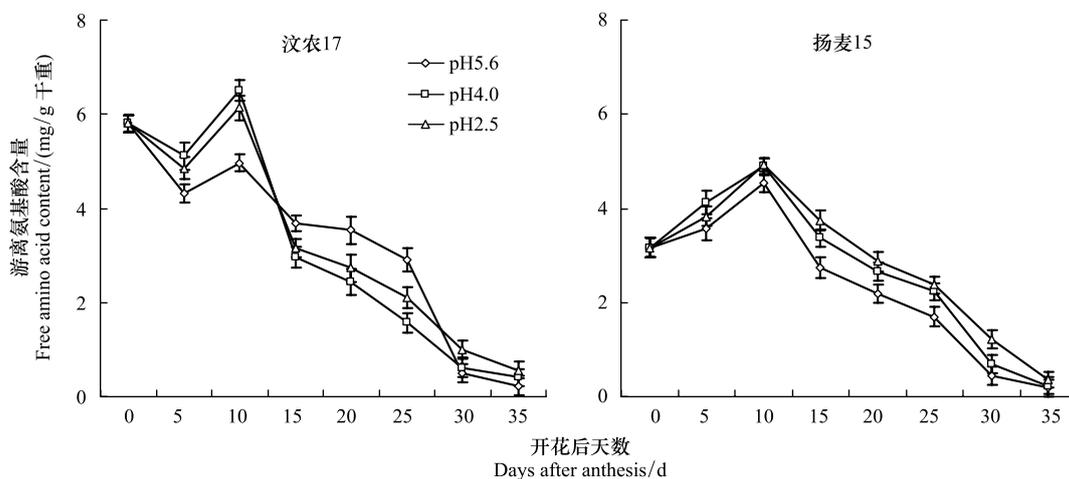


图1 不同酸度酸雨对小麦叶片游离氨基酸含量的影响

Fig.1 Effect of different acidity acid rain on free amino acid content in leaf of wheat

图中数值为平均值±标准差($n=3$)

2.1.2 酸雨对小麦叶片可溶性蛋白含量的影响

两个品种小麦叶片可溶性蛋白含量随着灌浆进程的推进不断下降,酸雨降低了可溶性蛋白质含量,随酸雨酸度增强可溶性蛋白质含量下降幅度增大(图2)。pH2.5酸雨处理后,汶农17中可溶性蛋白含量自花后10天起分别较对照降低了26.58%、28.37%、42.08%、55.94%和63.59%,均与对照差异显著;扬麦15中可溶性蛋白含量自花后10天起分别较对照下降了21.31%、11.14%、22.94%、39.64%和30.99% ($P<0.05$)。

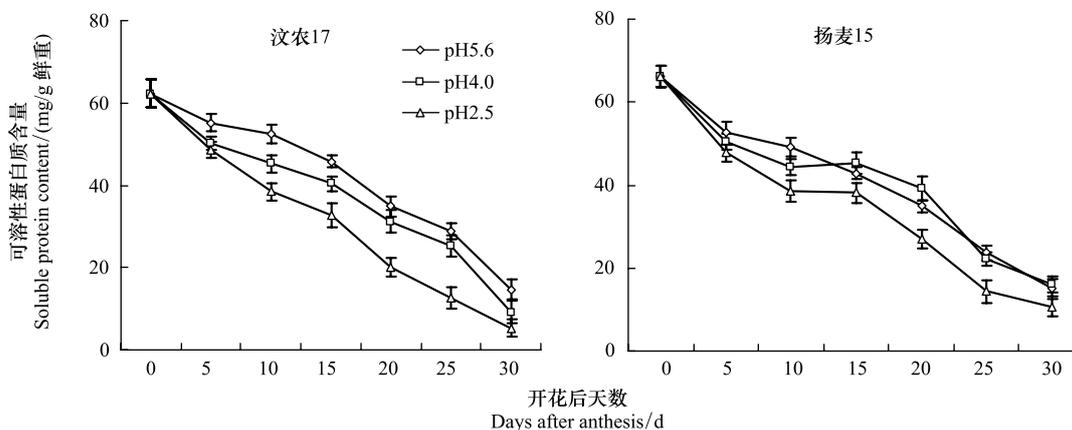


图2 不同酸度酸雨对小麦叶片可溶性蛋白质含量的影响

Fig.2 Effect of different acidity acid rain on soluble protein content in leaf of wheat

2.1.3 酸雨对小麦叶片硝酸还原酶(NR)活性的影响

开花后两个品种小麦叶片NR活性不断下降,酸雨降低了NR活性(图3)。pH2.5酸雨处理后,两个品种小麦NR活性下降明显,汶农17酶活性下降的幅度远大于扬麦15,花后10天汶农17和扬麦15NR活性分别比对照低30.28%和23.69%。灌浆末期两个品种小麦NR活性受酸雨影响相对较小。

2.1.4 酸雨对小麦叶片谷氨酰胺合成酶(GS)活性的影响

两个品种小麦叶片GS活性呈先缓慢上升后快速上升趋势,峰值出现在花后25天,随后酶活性迅速下降(图4)。酸雨对GS活性影响因品种而异,花后0—15天时酸雨提高了扬麦15GS活性,pH2.5酸雨处理降低

了汶农 17 GS 活性。花后 20 天后,酸雨处理提高了两品种 GS 活性,均与对照差异显著,花后 25 天时 pH4.0 和 pH2.5 酸雨处理使汶农 17 GS 活性分别提高了 7.32% 和 14.48%,扬麦 15 GS 活性分别提高了 8.44% 和 20.05%。

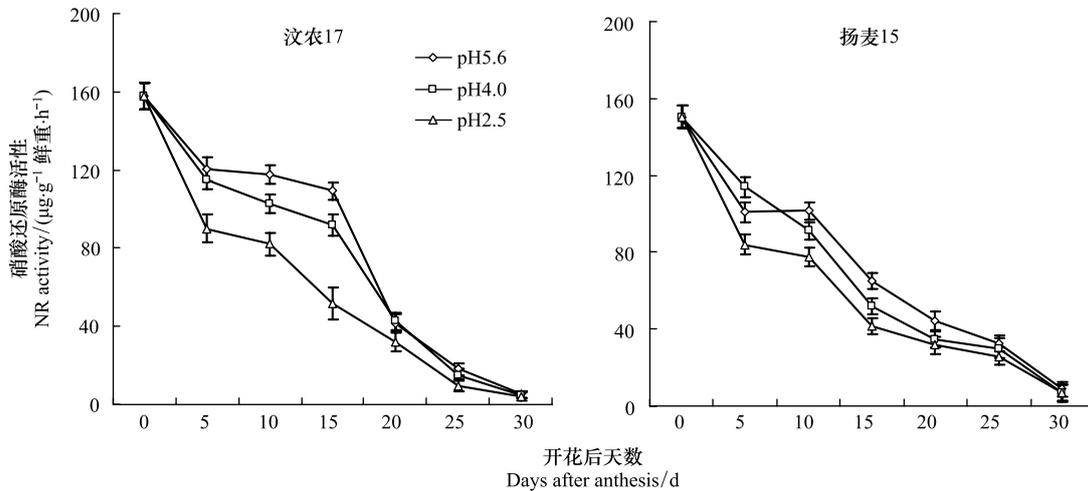


图 3 不同酸度酸雨对小麦叶片硝酸还原酶活性的影响

Fig.3 Effect of different acidity acid rain on NR activity in leaf of wheat

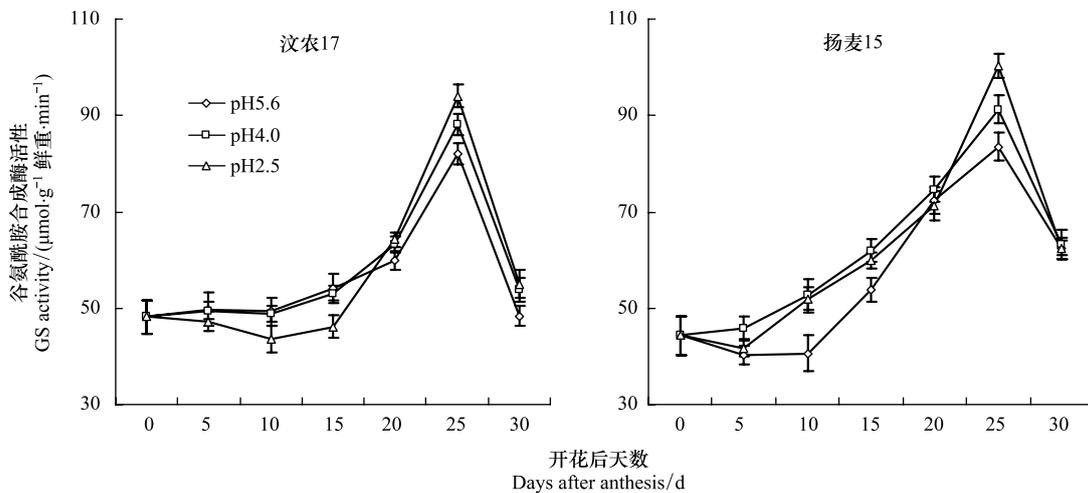


图 4 不同酸度酸雨对小麦叶片谷氨酰胺合成酶活性的影响

Fig.4 Effect of different acidity acid rain on GS activity in leaf of wheat

2.2 酸雨对小麦硫素代谢的影响

2.2.1 酸雨对小麦叶片丝氨酸乙酰转移酶(SAT)活性的影响

两个品种小麦叶片 SAT 活性均随着灌浆进程的推进,呈先上升后降低趋势,花后 25 天酶活性达到峰值(图 5)。酸雨对 SAT 活性的影响因品种而异,整个灌浆期,酸雨对汶农 17 SAT 活性影响较小。花后 15 天后,酸雨显著提高了扬麦 15 SAT 活性。花后 15、20、25、30 天时 pH4.0 酸雨处理与对照相比 SAT 活性分别提高 43.94%、31.69%、22.34%、17.44%,pH2.5 酸雨处理与对照相比 SAT 活性分别提高 83.96%、58.47%、26.23%、19.06%,表明随着酸雨酸度提高,扬麦 15 SAT 活性升高。

2.2.2 酸雨对小麦叶片 O-乙酰丝氨酸硫裂解酶(OAS-TL)活性的影响

汶农 17 OAS-TL 活性变化趋势与 SAT 活性变化类似,不同酸雨处理间差异不显著(图 6),表明酸雨对汶农 17 叶片 OAS-TL 的影响较小。酸雨提高了扬麦 15 叶片 OAS-TL 活性,且随着酸度的增加酶活性升高,pH4.

0 酸雨处理酶活性与对照相比差异基本不显著。花后 15—20 天, pH2.5 酸雨处理酶活性显著高于其它两个处理。

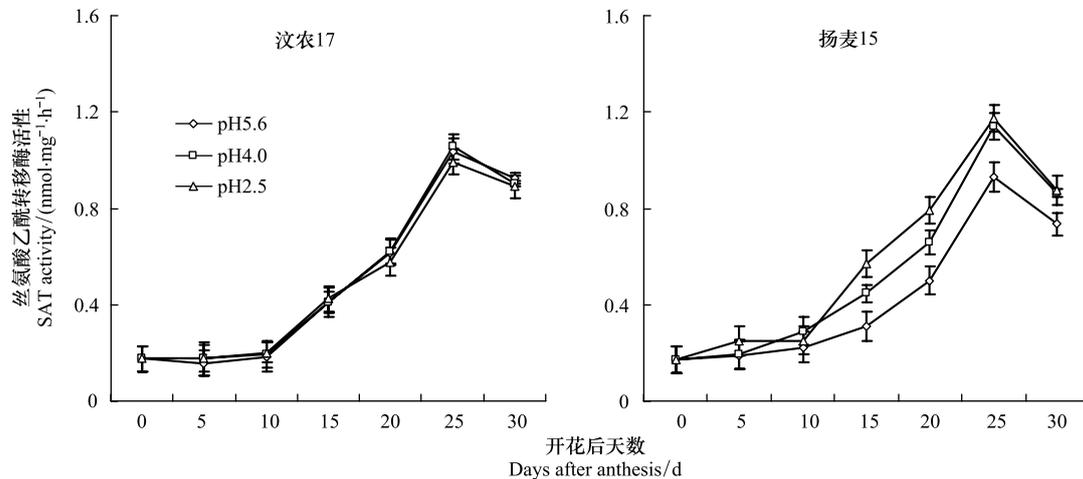


图5 不同酸度酸雨对小麦叶片丝氨酸乙酰转移酶活性的影响

Fig.5 Effect of different acidity acid rain on SAT activity in leaf of wheat

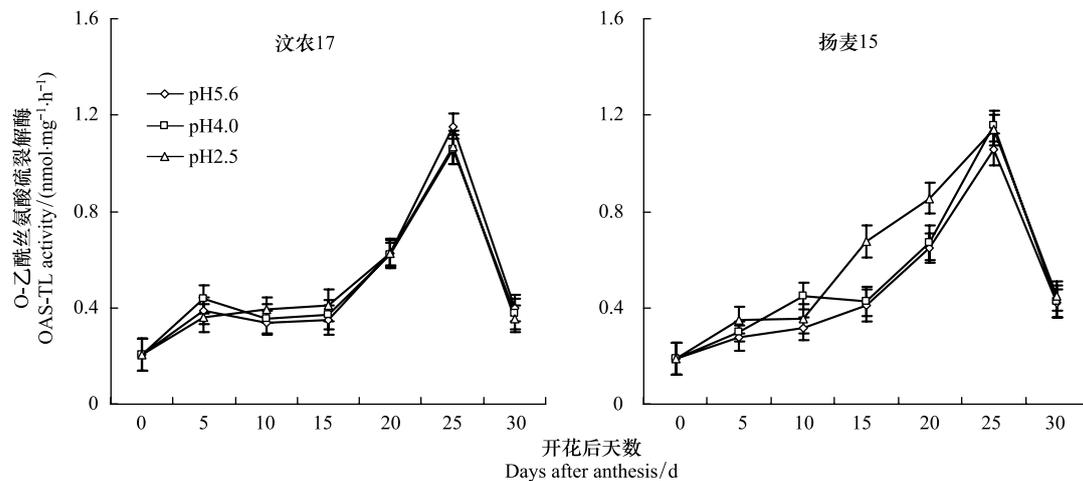


图6 不同酸度酸雨对小麦叶片O-乙酰丝氨酸硫裂解酶活性的影响

Fig.6 Effect of different acidity acid rain on OAS-TL activity in leaf of wheat

2.3 酸雨对小麦籽粒蛋白质及氨基酸含量的影响

2.3.1 酸雨对小麦籽粒总游离氨基酸含量的影响

小麦籽粒游离氨基酸含量随着灌浆进程推进不断下降(图7)。灌浆前期 pH2.5 酸雨处理降低了籽粒氨基酸含量,花后 10 天时,汶农 17 和扬麦 15 pH2.5 酸雨处理游离氨基酸含量分别比对照低 24.92% 和 17.44% ($P < 0.05$)。灌浆中后期对照游离氨基酸含量下降速度高于酸雨处理。花后 35 天,汶农 17 pH4.0 和 pH2.5 酸雨处理游离氨基酸含量与对照相比分别高 66.61% 和 134.28%,扬麦 15 pH4.0 和 pH2.5 酸雨处理游离氨基酸含量与对照相比分别高 25.4% 和 47.01%。

2.3.2 酸雨对小麦籽粒蛋白质含量及其组分的影响

从表 1 中可以看出,酸雨能显著降低两个品种小麦籽粒产量,pH4.0、pH2.5 酸雨处理使汶农 17 籽粒产量较对照依次下降了 3.48%、13.73%,扬麦 15 籽粒产量依次下降了 2.17%、8.16%。说明两个品种小麦籽粒产量随酸度升高而降低,酸雨对汶农 17 籽粒产量影响更大。酸雨显著提高了两个品种小麦籽粒蛋白质含量,但对蛋白质产量影响因品种而异,酸雨显著升高了扬麦 15 蛋白质产量,pH2.5 酸雨处理降低汶农 17 蛋白质产量。

酸雨提高了清蛋白、球蛋白含量、醇溶蛋白、谷蛋白含量,且随着 pH 值的降低,4 种蛋白组分升高的幅度增大。

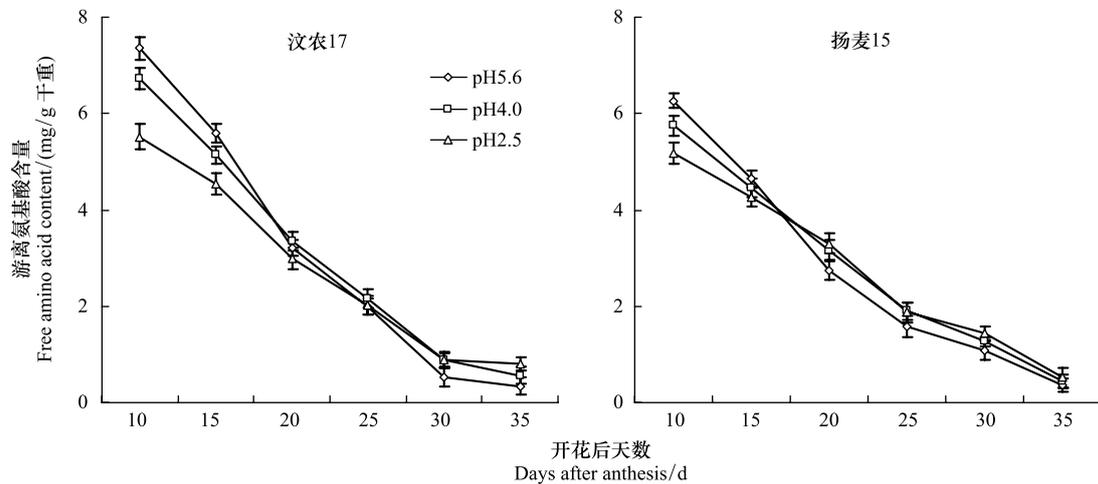


图 7 不同酸度酸雨对小麦籽粒游离氨基酸含量的影响

Fig.7 Effect of different acidity acid rain on free amino acid content in grains of wheat

表 1 不同酸度酸雨对小麦籽粒产量、蛋白质含量及其组分的影响

Table 1 Effects of different acidity acid rain on yield, crude protein content and component in wheat grain

品种 Cultivar	处理 Treatment	产量 Yield/ (g/stem)	蛋白质产量 Protein yield/ (g/stem)	总蛋白质 Protein/%	清蛋白 Albumin/%	球蛋白 Globulin/%	醇溶蛋白 Gliadin/%	谷蛋白 Glutenin/%
汶农 17	pH5.6	2.26c	0.30c	13.26c	2.38b	1.02c	4.68c	3.03c
	pH4.0	2.18d	0.31c	13.91b	2.53b	1.34a	4.85b	3.44b
	pH2.5	1.95e	0.28d	14.48a	2.85a	1.37a	5.02a	3.74a
扬麦 15	pH5.6	3.05a	0.35b	12.50d	1.92c	0.88d	3.52e	2.83d
	pH4.0	2.99a	0.40a	13.32c	2.23b	1.05c	3.67e	3.05c
	pH2.5	2.80b	0.39a	13.98b	2.44b	1.22b	3.90d	3.66a

注:表中数值为平均值($n=3$),相同字母表示差异不显著,小写字母表示 $P < 0.05$

2.3.3 酸雨对小麦籽粒蛋白质含硫氨基酸和二硫键含量的影响

小麦籽粒含硫氨基酸主要是半胱氨酸和甲硫氨酸,从表 2 中可以看出,酸雨显著提高了扬麦 15 含硫氨基酸含量,酸度越高含硫氨基酸含量越高,汶农 17 不同处理间含硫氨基酸含量差异不显著。两个品种小麦籽粒中的硫氢键和二硫键含量随着酸雨酸度升高而上升,pH4.0 和 pH2.5 酸雨处理使汶农 17 硫氢键含量与对照相比增加了 5.97%和 7.93%,扬麦 15 增加了 4.84%和 7.63%。pH4.0 和 pH2.5 酸雨处理使汶农 17 二硫键含量比对照增加了 3.47%和 6.16%,扬麦 15 增加了 2.93%和 4.61%。表明和扬麦 15 相比,酸雨更能提高汶农 17 硫氢键和二硫键含量。

表 2 不同酸度酸雨对小麦含硫氨基酸和二硫键含量的影响

Table 2 Effects of different acidity acid rain on sulfur amino acid content and —S—S in wheat grain

品种 Cultivar	处理 Treatment	半胱氨酸含量 Cys/%	甲硫氨酸 Met/%	硫氢键 —SH/($\mu\text{mol/g}$)	二硫键 —S—S—/($\mu\text{mol/g}$)
汶农 17	pH5.6	0.254a	0.203ab	3.532d	7.367d
	pH4.0	0.253a	0.213a	3.743c	7.623c
	pH2.5	0.258a	0.203ab	3.812c	7.821b
扬麦 15	pH5.6	0.221c	0.165d	3.969b	7.878b
	pH4.0	0.239b	0.176c	4.161ab	8.109a
	pH2.5	0.265a	0.193b	4.272a	8.241a

表中数值为平均值($n=3$),相同字母表示差异不显著,小写字母表示 $P < 0.05$

2.3.4 酸雨对小麦籽粒组成蛋白质氨基酸组分含量的影响

从表 3 中可以看出,酸雨对小麦籽粒中组成蛋白质其余氨基酸含量有较大影响。在 pH4.0 和 pH2.5 酸雨处理下,汶农 17 籽粒组成蛋白质其余氨基酸含量较对照依次增加了 4.83% 和 8.57%,扬麦 15 较对照依次增加了 14.52% 和 22.14%,说明酸雨使扬麦 15 组成蛋白质其余氨基酸含量增加的幅度大于汶农 17,且籽粒中组成蛋白质其余氨基酸含量随着酸度升高而升高。

苏氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸是必需氨基酸,酸雨提高两个品种小麦必需氨基酸含量,说明酸雨一定程度上可以提高小麦的营养品质。

表 3 不同酸度酸雨对品种小麦籽粒其余氨基酸含量的影响

Table 3 Effects of different acidity acid rain on the rest amino acid content in wheat grains

氨基酸组分 Amino acid composition	汶农 17			扬麦 15		
	pH5.6	pH4.0	pH2.5	pH5.6	pH4.0	pH2.5
天冬氨酸 Asp	0.650	0.676	0.706	0.565	0.618	0.640
丝氨酸 Ser	0.637	0.672	0.696	0.585	0.667	0.701
谷氨酸 Glu	4.281	4.555	4.728	3.824	4.540	4.829
甘氨酸 Gly	0.558	0.572	0.597	0.507	0.569	0.605
组氨酸 His	0.326	0.335	0.351	0.269	0.305	0.328
精氨酸 Arg	0.614	0.628	0.644	0.525	0.570	0.624
脯氨酸 Pro	1.295	1.356	1.420	1.099	1.304	1.427
酪氨酸 Tyr	0.371	0.391	0.349	0.343	0.345	0.388
丙氨酸 Ala	0.496	0.511	0.544	0.425	0.465	0.483
苏氨酸 Thr	0.397	0.415	0.427	0.357	0.398	0.415
缬氨酸 Val	0.596	0.617	0.640	0.517	0.576	0.607
异亮氨酸 Ile	0.441	0.461	0.480	0.386	0.439	0.471
亮氨酸 Leu	0.936	0.972	1.006	0.797	0.905	0.964
苯丙氨酸 Phe	0.629	0.657	0.680	0.550	0.633	0.683
赖氨酸 Lys	0.389	0.407	0.429	0.351	0.378	0.392
总计/%	12.616	13.225	13.697	11.1	12.712	13.557

3 讨论

酸雨改变了植物生长的环境,打破了其内部的酸碱平衡,造成植物形态和生理机能的损伤^[8],引起植株生物量或产量的下降。本研究结果显示在酸雨胁迫下,小麦产量呈下降趋势,尤其是 pH2.5 酸雨处理产量显著下降,与前人研究结论一致^[5,12]。不同品种对酸雨响应程度不同,本研究中酸雨对汶农 17 产量影响大于扬麦 15。

酸雨对植物除了具有酸度胁迫效应,也具有氮、硫元素的营养效应,在一定程度上影响植物的氮硫代谢。酸雨对植物氮代谢影响比较复杂,有研究显示,酸雨处理抑制了杜仲硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)等氮代谢关键酶活性^[18-19],降低了小麦叶片氨基酸、可溶性蛋白含量^[5]和叶片的含氮量^[6,19]。但也有研究显示酸雨对氮的累积没有影响^[18]或能提高了小麦根系和地上部的含 N 量^[20]及小麦籽粒蛋白质含量^[12]。本研究结果显示强酸雨(pH2.5)处理降低了小麦叶片 NR 活性和可溶性蛋白含量,表明酸雨可能抑制了叶片蛋白的合成,与前人研究结果基本一致^[21]。叶片可溶性蛋白含量的下降也有可能由于酸胁迫下蛋白质的水解加剧所致。本研究结果显示酸雨处理提高了扬麦 15 整个灌浆期和汶农 17 灌浆中后期旗叶 GS 活性。GS 是一种多功能酶,它与氮高效利用、作物耐逆特性密切相关^[22]。GS 活性提高可促进叶片蛋白降解形成谷氨酰胺,进而运输到籽粒为蛋白质合成提供底物,这也可能是酸雨处理后叶片游离氨基酸含量不同程度升高及籽粒蛋白质含量升高的原因。

我国酸雨以硫酸型为主, SO_4^{2-} 是酸雨中最主要的阴离子, 喷施酸雨在一定程度上增强了对植株的硫营养供应。本研究结果显示酸雨处理提高了两个品种小麦籽粒中含硫氨基酸和二硫键的含量。植物吸收的 SO_4^{2-} 经过植物一系列还原与同化反应后进入有机骨架, 生成半胱氨酸(Cys), 植物以 Cys 为前体, 再合成众多具有重要生物学功能的代谢产物, 其中 SAT 和 OAS-TL 是 Cys 合成的关键酶^[23]。本研究结果显示酸雨处理明显提高了扬麦 15 硫代谢关键酶活性, 但对汶农 17 硫代谢关键酶活性影响很小, 表明酸雨提高了扬麦 15 硫素同化能力, 这也可能是扬麦 15 对酸雨抗性较汶农 17 强及籽粒含硫氨基酸含量变化大于汶农 17 的原因。

蛋白质是小麦籽粒的重要成分, 清蛋白、球蛋白及必需氨基酸的含量影响营养品质, 而谷蛋白和醇溶蛋白决定面团的黏弹性, 对面粉加工品质产生重要影响^[24]。本研究结果显示随着酸雨酸度增大, 籽粒中总蛋白及各蛋白组分含量逐渐升高。这可能是由于酸度越强, 酸雨中的 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 越多, 起到了增施氮、硫肥的效果^[25]。氮和硫均是蛋白质分子不可缺少的组成部分, 充足的硫含量提高了含硫氨基酸含量, 有利于富含 Cys 和 Met 的蛋白质的合成^[26], 含硫蛋白 Cys 中的二硫键(—S—S—)有助于提高面筋的弹力, 进而影响小麦的加工品质。可见酸雨提高了两品种籽粒氨基酸组分及蛋白组分含量, 可能有助于强筋小麦汶农 17 加工品质的改善, 但不利于弱筋小麦扬麦 15 加工品质的改善。小麦籽粒蛋白质和氨基酸组分含量的提高也可能和籽粒产量下降形成的浓缩效应有关。

综上所述, 花后不同酸度酸雨降低了小麦籽粒产量, 对小麦氮硫代谢也产生了一定影响。酸雨处理抑制了叶片 NR 活性, 在灌浆中后期提高了叶片 GS 活性, 促进氮素的分解转移, 为籽粒蛋白质合成提供底物, 总体提高了籽粒氨基酸组分、籽粒蛋白质含量及组分的含量、含硫氨基酸和二硫键的含量, 有利于两品种小麦的营养品质提高, 但对两品种小麦加工品质有不同影响。

参考文献 (References):

- [1] Wang Y P, Wang Y, Kai W B, Zhao B, Chen P, Sun L, Ji K, Li Q, Dai S J, Sun Y F, Wang Y D, Pei Y L, Leng P. Transcriptional regulation of abscisic acid signal core components during cucumber seed germination and under Cu^{2+} , Zn^{2+} , NaCl and simulated acid rain stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 76: 67-76.
- [2] Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. 2012 Report on the State of the Environment in China. 2013.
- [3] Lv Y N, Wang C Y, Jia Y Y, Wang W W, Ma X, Du J J, Pu G Z, Tian X J. Effects of sulfuric, nitric, and mixed acid rain on litter decomposition, soil microbial biomass, and enzyme activities in subtropical forests of China. *Applied Soil Ecology*, 2014, 79: 1-9.
- [4] Chen J, Wang W H, Liu T W, Wu F H, Zheng H L. Photosynthetic and antioxidant responses of *Liquidambar formosana* and *schima superba* seedlings to sulfuric-rich and nitric-rich simulated acid rain. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 64: 41-51.
- [5] 麦博儒, 郑有飞, 梁骏, 刘霞, 李璐, 钟燕川. 模拟酸雨对小麦叶片同化物、生长和产量的影响. *应用生态学报*, 2008, 19(10): 2227-2233.
- [6] 童贯和, 梁惠玲. 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗体内可溶性糖和含氮量的影响. *应用生态学报*, 2005, 16(8): 1487-1492.
- [7] 梁晓琴, 刘建, 丁文娟, 常瑞英, 王仁卿. 模拟酸雨对蒙古栎幼苗生长和根系伤流量的影响. *生态学报*, 2013, 33(15): 4583-4590.
- [8] 郑有飞, 李璐, 梁骏, 李红双, 麦博儒. 模拟酸雨及其 SO_4^{2-} 离子对油菜生长及品质的影响. *中国油料作物学报*, 2008, 30(2): 185-190.
- [9] Chen S T, Shen X S, Hu Z H, Chen H S, Shi Y S, Liu Y. Effects of simulated acid rain on soil CO_2 emission in a secondary forest in subtropical China. *Geoderma*, 2012, 189-190: 65-71.
- [10] Dixon M J, Kuja A L. Effects of simulated acidrain on the growth, nutrition, foliar pigments and photosynthetic rates of sugar maple and white spruce seedlings. *Water, Air, and Soil Pollution*, 1995, 83(3/4): 219-236.
- [11] 刘梅, 濮梅娟, 尹东屏, 张备. 江苏省酸雨时空分布特征及酸雨潜势预报因子. *气象科技*, 2008, 36(4): 462-467.
- [12] 卞雅姣, 黄洁, 孙其松, 姜东, 江海东, 周琴. 模拟酸雨对小麦产量及籽粒蛋白质和淀粉含量及组分的影响. *生态学报*, 2013, 33(15): 4623-4630.
- [13] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [14] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999.
- [15] 何照范. 粮油籽粒品质及其分析技术. 北京: 中国农业出版社, 1985: 57-59.
- [16] Hartmann T, Mult S, Suter M, Rennenberg H, Herschbach C. Leaf age-dependent differences in sulphur assimilation and allocation in poplar (*Populus tremula* x *P. alba*) leaves. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(347): 1077-1088.

- [17] 罗明江, 罗春霞, 吴赣香. Ellman's 试剂比色法测定食品中蛋白质的巯基和二硫键. 郑州粮食学院学报, 1986, (1): 92-95.
- [18] Smith C R, Vasilas B L, Banwart W L, Walker W M. Physiological response of two soybean cultivars to simulated acid rain. *New Phytologist*, 1991, 119(1): 53-60.
- [19] 齐泽民, 钟章成, 邓君, 刘素君. 模拟酸雨对杜仲叶膜脂过氧化及氮代谢的影响. 西南师范大学学报:自然科学版, 2001, 26(1): 38-44.
- [20] 梁永超, 沈其荣, 张爱国, 沈振国. 钙、硅对酸雨胁迫下小麦生长和养分吸收的影响. 应用生态学报, 1999, 10(5): 589-592.
- [21] 齐泽民, 钟章成, 邓君. 模拟酸雨对杜仲叶氮代谢的影响. 植物生态学报, 2001, 25(5): 544-548.
- [22] 黄冰艳, 高伟, 苗利娟, 严玫, 张新友, 董保红. 谷氨酰胺合成酶基因研究进展及其在植物氮代谢调控中的应用. 中国农学通报, 2010, 26(23): 53-57.
- [23] 吴宇, 高蕾, 曹民杰, 向成斌. 植物硫营养代谢、调控与生物学功能. 植物学通报, 2007, 24(6): 735-761.
- [24] 李文阳, 闫素辉, 王振林. 强筋与弱筋小麦籽粒蛋白质组分与加工品质对灌浆期弱光的响应. 生态学报, 2012, 32(1): 265-273.
- [25] 郑有飞, 麦博儒, 梁骏, 李璐, 吴荣军. 不同类型模拟酸雨对油菜营养品质的影响. 环境科学学报, 2008, 28(10): 2133-2140.
- [26] Tabe L M, Droux M. Limits to sulfur accumulation in transgenic lupin seeds expressing a foreign sulfur-rich protein. *Plant Physiologists*, 2002, 128(3): 1137-1148.