

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.03.020

吴洪生, 周晓冬, 张富存, 等. 磷石膏浸提液对豌豆种子生理及幼苗生长的影响[J]. 广西植物, 2013, 33(3):401—405

Wu HS, Zhou XD, Zhang FC, *et al.* Effects of phosphogypsum extracts on seed physiology and seedlings growth of pea[J]. Guihaia, 2013, 33(3):401—405

磷石膏浸提液对豌豆种子生理及幼苗生长的影响

吴洪生^{1*}, 周晓冬¹, 张富存¹, 吴红兵², 满 军², 苏交通¹

(1. 南京信息工程大学 农业资源与环境系, 南京 210044; 2. 中石化集团南京化工公司磷肥厂, 南京 210055)

摘 要: 利用不同浓度的磷石膏浸提液处理豌豆种子, 测定豌豆种子淀粉酶活性、可溶性糖、种子生命力、吲哚乙酸含量、吲哚乙酸氧化酶活性和发芽率、苗高、植株鲜重。结果表明: 磷石膏浸提液处理后, 豌豆种子可溶性糖含量和吲哚乙酸含量分别比对照增加 6.7%~43.3% 和 9.4%~40.8%。豌豆幼芽中 α -淀粉酶活性和吲哚乙酸氧化酶活性分别比对照高出 8%~64% 和 15.2%~30.9%; 发芽率、苗高和植株鲜重分别比对照提高 10% 以上。表明磷石膏能促进豌豆萌发和生长。

关键词: 磷石膏; 豌豆; 淀粉酶活性; 可溶性糖; 吲哚乙酸; 吲哚乙酸氧化酶

中图分类号: Q945.79 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2013)03-0401-05

Effects of phosphogypsum extracts on seed physiology and seedlings growth of pea

WU Hong-Sheng^{1*}, ZHOU Xiao-Dong¹, ZHANG Fu-Cun¹,WU Hong-Bing², MAN Jun², SU Jiao-Tong¹

(1. Department of Agricultural Resource and Environment, Nanjing University of Information Science and Technology, Nanjing 210044, China; 2. Phosphous Fertilizer Manufacturer, Nanjing Chemical Co., Ltd, China Petro-Chemical Group Co., Ltd., Nanjing 210055, China)

Abstract: The activities of amylase and indole acetic acid oxidase, soluble sugar, seed vitality, indole acetic acid in pea seed and germination rate, seedlings height and fresh weight were examined after the treatment of pea seed using different concentrations of aqueous phosphogypsum extracts. The results showed that the contents of soluble sugar and indole acid in the pea seed were increased by 6.7%—43.3% and 9.4%—40.8% respectively compared to the control. The activities of α -amylase and IAA oxidase were 8%—64% and 15.2%—30.9% higher than CK. Germination rate, seedlings height and fresh weight of the pea were 10% more than CK. This indicated that phosphogypsum could promote the pea seed vitality and germination.

Key words: phosphogypsum; pea; amylase activity; soluble sugar; indole acetic acid; indoleacetic acid oxidase

磷石膏是湿法制取磷酸过程的工业副产品, 主要成分是 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 Na_2SiF_6 (Kacimi *et al.*, 2006)。同时还含有磷、钙、硅和多种微量元素, 呈酸性, pH 1~4.5 (秦俊芳, 2010)。制取 1 t 磷酸 (以 100% P_2O_5 计) 约产生 5 t 磷石膏。据中国磷肥

工业协会统计, 目前全国磷石膏堆存量已超 1 亿吨, 每年新增磷石膏约 2000 万吨 (纪罗军, 2006), 已超过对天然石膏需求量的 60%。国内对磷肥需求量也在逐年增长, 到 2015 年将达到 1 300 万吨 (马雷等, 2004)。目前全世界年副产磷石膏 100~280 亿

收稿日期: 2012-09-28 修回日期: 2012-12-18

基金项目: 江苏省六大人才高峰培养计划项目 (2009241); 江苏省农业科技自主创新项目 (cx(10)205); 国家科技支撑计划项目 (2009BAD6B03)

作者简介: 吴洪生 (1964-), 男, 博士, 副教授/副研究员, 主要研究领域为环境微生物、环境有机污染生物修复、环境化学和毒理学等, (E-mail) wuh-sluck@163.com。

* 通讯作者

吨,约有 30%被再生利用(Yang *et al.*, 2009)。由于磷石膏含有钙、磷、硅和多种微量元素(张丽辉等, 2001),可以考虑将其应用到农业土壤改良和肥料中,Mulins & Mitchell(1989)采用磷石膏为硫肥种植小麦,在阿拉巴马州沿海平原的沙质土壤上施用含硫 15.3%的磷石膏,进行了为期 3 a 的试验。结果表明,磷石膏用量 $59 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时可以显著提高小麦的品质和产量。所以,磷肥和磷酸工业的固体废弃物磷石膏在农业上有着巨大的潜在应用价值(王晓岑等, 2010)。我国内蒙古河套地区中低产田施用磷石膏能明显改良土壤,作物大幅增产,春小麦增产 67%~104%,油菜增产 4~5 倍(樊润威等, 1996)。

豌豆是食用豆类作物,具有很高的营养价值,是世界十大蔬菜之一,同时又是家畜优良饲料。豌豆中的蛋白质含量丰富,豌豆荚和豆苗嫩叶中含有维生素 C 和能分解体内亚硝胺的酶,具有抗癌、防癌作用,有一定药用价值。随着人们膳食结构的调整,豌豆的价值逐步被人们所认识(郭鹏燕等, 2009)。在我国长江流域、西南、华南等地区种植的主要是菜用豌豆,以食嫩豆荚、嫩豆粒、嫩叶梢为主。豌豆的嫩豆粒可加工速冻,周年供应,也是重要的出口蔬菜(须海丽等, 2006)。目前,有关磷石膏对豌豆生长影响的研究较少。本实验结合对化工废弃物磷石膏污染治理和资源化利用及豌豆的生产,研究磷石膏对豌豆种子影响,为磷石膏污染治理和资源化再生利用以及在豌豆种植生产中应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 磷石膏浸提液的制备

称取磷石膏 1、1.25、2.5、5、10 g,依次放入 5 个烧杯中,每个处理重复 3 次,用量筒分别量取 1 L 蒸馏水,加入烧杯中,用玻璃棒充分搅拌混合液,每隔 10 min 搅拌 1 次,搅拌 5~6 次后静置 0.5 h,开始过滤上清液,得到的滤液即为浓度分别为 0.1%、0.125%、0.25%、0.5%、1% 的磷石膏浸提液,加上对照纯水共计 6 个处理。

1.2 材料处理与培养

将豌豆种子放到 6 个底部铺有两层滤纸的培养皿中(6 个处理),分别用浓度为 0.1%、0.125%、0.25%、0.5%、1% 的磷石膏浸提液和清水(CK)浸泡 2 h,将浸提液倒掉,并且将种子上残留的浸提液用

清水冲洗干净,一部分种子就可以在可溶性糖的测定、种子生命力的测定、吡啶乙酸含量的测定中使用,剩余一部分种子继续保留在培养皿中进行发芽处理,这部分种子上面要再放一层浸湿的滤纸,盖好,每皿放 30 粒种子,重复 3 次,将盛放种子的培养皿放在 30 ℃、人工光照每天 10 h、湿度 75%左右的培养箱里培养。每培养 1 d,要对种子及滤纸进行补水处理,直至豌豆种子萌发,记录发芽率、苗高、植株鲜重以及取其下胚轴作 α -淀粉酶活性的测定和吡啶乙酸氧化酶活性的测定。

1.3 测定项目与方法

α -淀粉酶活性采用 DNS 法测定(李合生, 2004),可溶性糖含量的测定采用蒽酮法(王学奎, 2006),种子活力的测定用 TTC 法(何之常等, 1996),吡啶乙酸含量的测定参照王宏等(1997)的方法,吡啶乙酸氧化酶活性的测定参照张志良(2000)的方法。7 d 后测定发芽率并取两个豌豆芽的下胚轴测定淀粉酶活性,15 d 后测量豌豆株高和植株鲜重,每次测定重复 3 次。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2003 软件处理实验数据,采用 SPSS11.0 统计分析软件进行显著性检验, LSD 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 磷石膏浸提液对豌豆种子活力、发芽、苗高和鲜重的影响

与对照相比,5 个不同浓度的磷石膏浸提液对豌豆种子的生命力都有促进作用,特别是 0.1% 和 0.125% 两个低浓度的磷石膏浸提液的促进作用更加明显,对照中被染色的种子有 11 个,而经这两个浓度处理后被染色的种子增加到了 18 个。但是随着磷石膏浸提液浓度的增加,促进作用逐渐减弱(图 1),说明适当浓度的磷石膏浸提液能提高豌豆种子的活力。

低浓度(0.1%~0.25%)磷石膏浸提液都能促进豌豆种子的萌发,提高发芽率,增加豌豆苗高和植株鲜重,平均分别增加 10%~15%,差异显著(表 1)。

2.2 磷石膏浸提液对豌豆种子 α -淀粉酶活性的影响

从图 2 可知,磷石膏浸提液对豌豆种子萌发时 α -淀粉酶活性都有不同程度的促进作用。高浓度的磷石膏浸提液(0.5% 和 1%)对 α -淀粉酶的活力促进作用十分明显,对应的 α -淀粉酶活性的值均为

表 1 磷石膏浸提液对豌豆发芽率、苗高及鲜重的影响

磷石膏浓度 Concentration of phosphogypsum (%)	CK	0.1	0.125	0.25	0.5	1
7 d 发芽率 Germinating rate (%)	95.4±8.3c	98.7±11.2d	98.2±9.3d	95.2±9.1c	90.6±10.7b	83.8±8.4a
15 d 苗高 Seedlings height (cm)	11.2±1.7ab	13.9±1.6b	13.2±1.7b	12.2±1.1b	10.8±1.3a	10.1±1.1a
15 d 植株鲜重 Plant fresh weight (mg)	114±12.8a	127±14.7bc	130±13.9c	121±15.8b	115±17.5a	110±11.7a

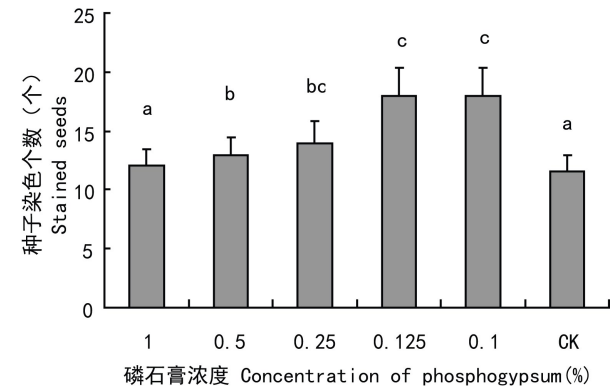


图 1 磷石膏浸提液对豌豆种子活力的影响
图中不同字母代表 95%置信水平下处理间差异显著。下同。
Fig. 1 Effect of phosphogypsum extract on pea seed vitality Different letters indicate significant difference between treatments at confidential level of 95%. The same below.

8.0 mg · g⁻¹ · min⁻¹,低浓度的促进作用不太明显。磷石膏浸提液对 α-淀粉酶的活力促进的最适浓度在 0.5%~1% 的浓度范围内。

2.3 磷石膏浸提液对豌豆种子可溶性糖的影响

磷石膏浸提液可促进豌豆种子中可溶性糖的生成,低浓度促进作用更明显,从低浓度向高浓度过度,这种促进作用逐渐减小,其中 1%浓度的可溶性糖含量为 0.0 178 mg · g⁻¹ · min⁻¹,几乎接近对照的 0.0 166 mg · g⁻¹,按这个趋势,如果磷石膏浸提液浓度进一步提高,豌豆种子中可溶性糖含量可能会低于对照的可溶性糖含量,从而产生抑制作用(图 3)。

2.4 磷石膏浸提液对豌豆种子吡哆乙酸含量和吡哆乙酸氧化酶活性的影响

从图 4 可知,不同浓度磷石膏浸提液处理过豌豆种子后,种子中的吡哆乙酸含量都高于对照的 69.6 μg · g⁻¹。说明磷石膏浸提液对豌豆种子中的吡哆乙酸的生成具有促进作用,而且随着磷石膏浸提液浓度的增加而增加,其中 1%浓度处理吡哆乙酸含量最高,达91.2 μg · g⁻¹。

不同浓度磷石膏浸提液处理豌豆种子后,萌发的豌豆幼芽中吡哆乙酸氧化酶活性都高于对照 (619.2 μg · g⁻¹ · h⁻¹),说明磷石膏浸提液对豌豆种

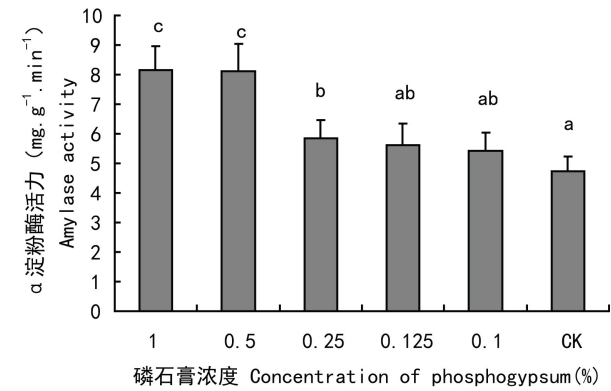


图 2 磷石膏浸提液对豌豆种子萌发时 α-淀粉酶活性的影响
Fig.2 Effects of phosphogypsum extract on amylase activity in germinated pea seeds

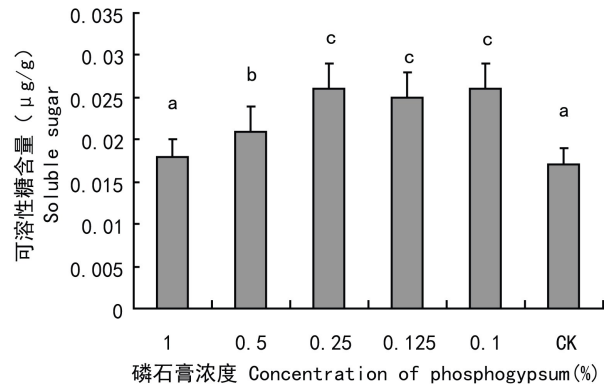


图 3 磷石膏浸提液对豌豆种子可溶性糖含量的影响
Fig.3 Effects of phosphogypsum extract on soluble sugar content in pea seeds

子幼芽中的吡哆乙酸氧化酶的活性具有促进作用,而且随着磷石膏浸提液浓度的增加,吡哆乙酸氧化酶的活力增强,当磷石膏浓度为 1%时,吡哆乙酸氧化酶活性达最高 908.5 μg · g⁻¹ · h⁻¹(图 5)。

3 结论与讨论

磷石膏浸提液处理豌豆种子后,豌豆种子幼芽 α-淀粉酶的活力、种植吡哆乙酸含量和幼芽吡哆乙酸氧化酶活性都随着浓度的增加而增多或增强;种

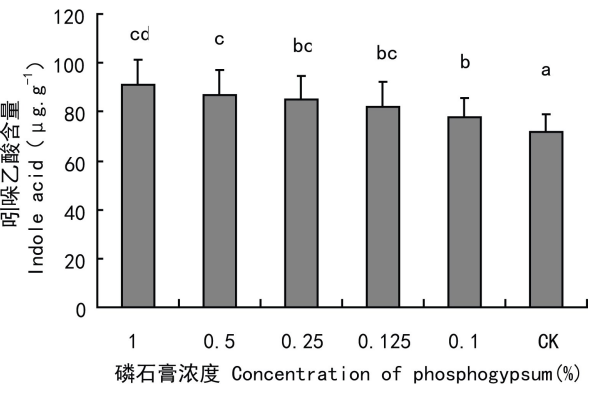


图 4 磷石膏浸提液对豌豆种子吲哚乙酸含量的影响
Fig.4 Effects of phosphogypsum extract on indole acid content in pea seeds

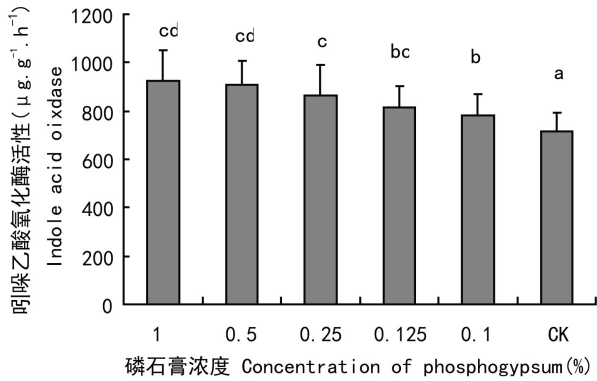


图 5 磷石膏浸提液对豌豆种子萌发时吲哚乙酸氧化酶活性的影响
Fig.5 Effects of phosphogypsum extract on indole acid oxidase activity in germinated pea seeds

子的发芽率、苗高和鲜重也比对照增加;种子可溶性糖含量和种子生命活力却有相反的变化规律,即随着浓度的增加而减少或降低,但总体上都比对照有不同程度的增加。

当豌豆种子萌发时,α-淀粉酶随机水解种子中储存淀粉的α-1,4-糖苷键,作为淀粉分解的起始酶而起主要作用,其水解产物为麦芽糖、麦芽三糖、糊精等还原糖,这些经α-淀粉酶分解得到的小分子糖类,可以供幼苗生长。实验结果表明磷石膏浸提液可以提高豌豆种子萌发时幼芽中α-淀粉酶的活力,高浓度的(0.5%和1%)磷石膏浸提液对幼芽α-淀粉酶活力促进作用尤为明显。郝玉兰等(1995)发现pH在5.0时α-淀粉酶活力最强,本试验中,这五组磷石膏的pH介于2.5~4.0之间,推测降低pH值,磷石膏浸提液酸性α-淀粉酶活力将会更强。

可溶性糖能以类似植物激素的方式作为一种信号分子存在,在植物生长、发育、成熟和衰老等过程中发挥调控作用(Karen *et al.*,2000)。在种子萌发和种苗发育早期,糖可抑制营养转移、下胚轴伸长、子叶变绿和子叶伸展(Francisco *et al.*,2000)。郭爱花等(2009)研究发现,不同供磷水平对韭菜的可溶性糖含量有显著的影响,随着供磷水平的升高,可溶性糖含量均呈先上升后下降趋势。说明适度的供磷水平能促进韭菜体内可溶性糖的合成,磷浓度过小或过大对可溶性糖合成不利。本实验中所有浓度的磷石膏浸提液都可以促进豌豆种子中淀粉向可溶性糖的转化,除了与磷石膏的酸性水解有关外,也说明与磷石膏中含有的一定量的可溶性磷有关。

吲哚乙酸是一种植物生长素,参与植物发育的诸多过程,调控多种生理反应,如根和茎的发育和生长、细胞分裂、分化和扩大,器官的衰老、维管束组织的形成和分化发育、植物果实中同化物的调节分配、以及植物的向地和向光反应等(原牡丹等,2008)。本试验中,不同浓度磷石膏浸提液处理豌豆种子后,种子中的吲哚乙酸含量都高于对照,随着磷石膏浸提液浓度的增加,促进作用也有明显增加,说明适当的磷石膏浸提液能够诱导豌豆种子内吲哚乙酸的形成,从而将会促进种子的萌发和生长。虽然吲哚乙酸在植物体内含量甚微,但参与了许多生理生化过程的调节与控制,具有十分广泛的生理作用。从细胞水平看,吲哚乙酸一方面活化质膜上的ATP酶,促使细胞壁环境酸化,增加可塑性,从而增强细胞壁渗透吸水的能力,液泡不断增大,细胞体积也增大;另一方面,生长素促进RNA和蛋白质的合成为原生质和细胞壁的合成提供原料,保持持久性生长,但这种作用受生长素浓度影响,生长素在低浓度时可促进生长,较高浓度时则会抑制生长,高浓度时甚至会导致植物受伤死亡。这就决定了生长素既有促进作用又有抑制作用(苑博华等,2005)。

植物体内吲哚乙酸氧化酶活力的大小,对调节体内吲哚乙酸的水平起着重要的作用,所以吲哚乙酸氧化酶活性的高低直接影响吲哚乙酸的含量(曹明兰等,2005)。吲哚乙酸氧化酶是含铁的血蛋白,它需要两个辅助因子,即Mn²⁺和酚(郭爱花等,2009),而磷石膏中含有一定量的Mn(杨瑞等,2008),所以本实验中,可能是磷石膏浸提液中的Mn²⁺提高了吲哚乙酸氧化酶活力。在豌豆种子萌发后,不同浓度磷石膏浸提液处理后的幼芽中的吲

啉乙酸氧化酶的活性,都高于对照,并且随着浓度的升高活性增加。

低浓度(0.1%~0.125%)的磷石膏浸提液能提高豌豆种子的活力、可溶性糖含量及发芽率,促进种子萌发和生长,表明适量浓度的磷石膏浸提液对豌豆种子的发芽和早期生长是有益的。磷石膏作为土壤改良剂除了能改良盐碱土的理化性状之外,还能直接促进豌豆等作物生长,因此在种植豌豆的盐碱地上施用磷石膏能够促进豌豆生长,是磷石膏改良盐碱地和对豌豆直接促进作用的双重效应。但在具体使用时还应考虑当地土壤的具体种类、气候、作物种类,同时应考虑磷石膏中同时还存在的微量的重金属元素对土壤的环境影响及可能在作物籽粒中的积累和残留。

参考文献:

- 王学奎. 2006. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社
- 李合生. 2004. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社
- 张志良. 2000. 植物生理实验指导手册[M]. 北京: 高等教育出版社
- 何之常, 朱英国. 1996. 粳、梗两系杂交稻幼根中吡啉乙酸氧化酶和阳离子过氧化物酶的初步研究[J]. 江苏农业学报, **12**(1): 52—55
- 陈其军. 1999. 高等植物性别表达的单激素调控模型[J]. 生命科学, (6): 17—20
- 郭鹏燕, 左联忠, 王彩萍, 等. 2009. 豌豆的经济价值及高产栽培技术[J]. 安徽农学通报, **15**(08): 86—87
- 郝玉兰, 杜晓林. 1995. 影响小麦淀粉酶活性测定主要因素的研究[J]. 北京农学院学报, **2**(10): 9—12
- 樊润威, 崔志祥, 张三粉, 等. 1996. 内蒙古河套灌区中低产田的现状和改良[J]. 土壤通报, **27**(1): 23—25
- Arenas-Huetero F, Arroyo A, Zhou L, *et al.* 2000. Analysis of Arabidopsis glucose insensitive mutants, gin5 and gin6, reveals a central role of the plant hormone ABA in the regulation of plant vegetative development by sugar[J]. *Gen Dev*, (14): 2 085—2 096
- Cao ML(曹明兰), Wang Y(王永), Yun XF(云兴福). 2005. The activity metamorphism of the IAAO in the Cucumber(黄瓜体内吡啉乙酸氧化酶(IAAO)活性变化)[J]. *Acta Agric Boreal-Sin*(华北农学报), **20**(S1): 33—35
- Guo AH(郭爱花), Chen Y(陈钰). 2009. Effects of different phos-

- phorus rates on content of soluble protein and soluble sugar in Leek(不同供磷水平对韭菜可溶性蛋白与可溶性糖含量的影响)[J]. *Shandong Agric Sci*(山东农业科学), **4**: 78—79, 89
- Ji LJ(纪罗军), Chen Q(陈强). 2006. Overview of current status and development prospect of phosphogypsum resource utilization in China(我国磷石膏资源化利用现状及发展前景综述)[J]. *Sulph Phosph & Bulk Mat Handl Related Eng*(硫磷设计与粉体程), (5): 5—20
- Kacimi L, Simon-Masseron A, Ghomari A, *et al.* 2006. Reduction of clinkerization temperature by using phosphogypsum[J]. *J Hazard Mat*, **137**(1): 129—137
- Karen EK, Zeng Y, Yong W, *et al.* 2000. Avigne. Multiple paths of sugar sensing and a sugar/oxygen overlap for genes of sucrose and ethanol metabolism[J]. *J Exp Bot*, (51): 417—427
- Mullins GL, Mitchell CC. 1989. Use of Phosphogypsum to Increase Yield and Quality of Annual Forages[M]. Bartow: Florida Institute of Phosphate Research; 1—49
- Ma L(马雷), Liu L(刘力), Yang L(杨林), *et al.* 2004. Comprehensive utilization of phosphogypsum(磷石膏资源化利用)[J]. *Guizhou Chem Ind*(贵州化工), **29**(2): 14—17
- Perez-Lopez R, Alvalero AM, Nieto JM. 2007. Changes in mobility of toxic elements during the production of phosphoric acid in the fertilizer industry of Huelva(SW Spain) and environmental impact of phosphogypsum wastes[J]. *J Hazard Mat*, **148**: 745—750
- Wang H(王宏), Xiang SK(项时康), Chen JH(陈建华), *et al.* 1997. The biological and biochemical changes in cotton seedlings and exogenous ga 3 regulation during seed germination II the activities of enzymes and the changes of hormonal contents in cotton seed cotyledon(棉花种子发芽过程中生理生化变化及赤霉素(GA3)的调节II棉花子叶中酶活性及内源激素的变化)[J]. *Cotton Sci*(棉花学报), **9**(3): 126—131
- Wang XC(王晓岑), Li SQ(李淑芹), Xu JG(许景钢). 2010. Prospects for applications of phosphogypsum in agriculture(农业应用磷石膏前景展望)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), **26**(4): 287—294
- Xu HL(须海丽), Yang Y(杨勇). 2006. Experiment of germination characteristic of seed for *Pisum sativum*(豌豆种子的萌发特性试验)[J]. *Guizhou Agric Sci*(贵州农业科学), **34**(4): 102
- Yang J, Liu W, Zhang L, *et al.* 2009. Preparation of load-bearing building materials from autoclaved phosphogypsum[J]. *Constr Build Mat*, **23**: 687—693
- Yuan MD(原牡丹), Hou ZX(侯智霞), Zhai MP(翟明普), *et al.* 2008. The research advances on Indole-3-acetic acid(IAA) Catabolism Related Enzymes; IAA oxidase(IAAO), Peroxidase(POD)(IAA 分解代谢相关酶(IAAO、POD)的研究进展)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), **24**(8): 88—92