

NO 和水孔蛋白在小麦种子萌发中的互作效应

田又升, 余丽娟, 张成双, 徐齐雯, 慕自新

(西北农林科技大学生命科学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 为探究一氧化氮(NO)和水孔蛋白(AQP)在种子萌发过程中是否存在互作效应,以小麦品种陕合 6 号(耐旱型)和郑引 1 号(干旱敏感型)为材料,研究 H₂O、HgCl₂(500 μM)、PEG(PEG-8000, -0.35 MPa)、SNP(0.5 mM)、SNP+PEG、SNP+HgCl₂ 溶液浸种对种子萌发的影响。结果表明:SNP(NO 供体)促进了抗旱品种种子的萌发,而抑制了干旱敏感品种种子的萌发;AQP 在干旱敏感品种种子萌发中的作用大于抗旱品种;NO 能够解除干旱和水孔蛋白抑制剂 HgCl₂ 对种子萌发的抑制作用;处理对吸胀种子萌发的抑制效应小于直接在处理液中萌发的抑制效应;NO 对 AQP 的活性具有调节作用且 NO 和 AQP 的作用主要存在于种子最初吸水萌动的 12 h 内。

关键词: NO;水孔蛋白;种子萌发;小麦

中图分类号: S330.2;S512.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7601(2013)04-0099-05

Interactions between nitric oxide and aquaporin in seed germination of wheat

TIAN You-sheng, YU Li-juan, ZHANG Cheng-shuang, Xu Qi-wen, MU Zi-xin

(College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: In order to explore the interactions between nitric oxide (NO) and aquaporin (AQP) in seed germination, two wheat varieties including Shaanhe No.6 (SH6, drought-resistant) and Zhengying No.1 (ZY1, drought-susceptible) were adopted to study the effects of H₂O, HgCl₂(500 μM), PEG (PEG-8000, -0.35 MPa), SNP (0.5 mM), SNP+PEG and SNP+HgCl₂ solution soaking on seed germination. The results showed that SNP (NO donor) promoted seed germination of the drought-resistant variety, while inhibited that of the drought-susceptible variety. AQP played a more important role in the drought-susceptible variety than in the drought-tolerance variety. NO could relieve the inhibition of seed germination caused by drought or aquaporin inhibitor (HgCl₂). The inhibition degree of stress to germination of the seeds being imbibed was smaller than that of the seeds being germinated directly. NO could regulate the activity of AQP, and both NO and AQP exerted their role mainly in the initial 12 h of germination.

Keywords: nitric oxide (NO); aquaporin (AQP); seed germination; wheat

种子是植物生命得以传播和延存的关键器官,因此精确地调控种子的发芽时间为应对不利的环境条件提供了巨大的优越性^[1-4]。水孔蛋白(Aquaporin, AQP),介导了大部分的植物细胞-细胞以及胞内水分运输。一些 AQP 同系物的基因在种子萌发过程中表达, AQP 在冰叶日中花(*Mesembryanthemum crystallinum*)种子中的表达与胚的生长相关联,而且在休眠种子中被抑制^[6],液泡膜 AQP 如 α -TIP 和 β -TIP,或 TIP3S 在种子萌发中特异表达^[7]。基于表达和调节特性, Maurel 等推测 AQP 在种子发育后期和萌发的早期阶段的细胞渗透调节和液泡的成熟中起着重要的作用^[8]。Gao 等证实了

AQP 调节的水分跨膜运输在种子吸涨和早期胚的生长中起作用,发现萌发效率与这些 AQP 的起初表达水平相关^[9]。Willigen 等从转录水平和蛋白水平系统地研究了拟南芥种子萌发过程中 AQP 的表达和抑制,发现 AQP 作用于胚生长的早期阶段,而与种子的吸涨无关^[10]。

近年来发现,化学信号分子在种子萌发中起着重要调节作用^[11-12],如发现遍在性的信号分子一氧化氮(Nitric oxide, NO)在解除植物休眠和种子萌发中起着中心作用,因为发现促进种子萌发的其它含 N 化合物如 NO₃⁻、NO₂⁻ 和 CN⁻ 等均是 NO 而起作用的^[13-18]。但关于 NO 介导种子萌发的生

收稿日期:2012-05-20

基金项目:西北农林科技大学基本科研业务费专项(QN2012021)

作者简介:田又升(1987—),女,重庆人,硕士,主要研究方向为植物逆境与分子生物学。E-mail:tianyoushengzi@163.com。

通讯作者:慕自新, E-mail:muzx810@126.com。

理及分子机制还不是很清楚。有研究发现在种子吸胀的最初几小时内, NO 快速地产生于胚乳层, 接着诱导了 ABA 分解酶 ABA 8'-羟化酶基因 *CYP707A2* 及蛋白的表达, 引起 ABA 的快速降解, 即认为 NO 打破种子休眠, 促进种子萌发是由于它导致 ABA 降解所致^[19]。在水稻种子吸胀萌动过程中, Liu 等发现外源 NO 通过诱导质膜水孔蛋白 OsPIP1; 1, OsPIP1; 2, OsPIP1; 3 和 OsPIP2; 8 转录水平显著增加而促进种子的萌发, 说明在植物种子萌发中 NO 对 AQP 具有调节作用^[20]。为了进一步揭示 NO 和 AQP 在种子萌发中的互作性, 本研究以小麦种子为材料, 用经典的 AQP 的抑制剂 HgCl₂ 来间接反映 AQP 的活性, 用 NO 供体 SNP 模拟 NO 的作用, 从品种的遗传特性和种子吸水时间进程上来探讨 SNP 和 NO 在种子萌发中的相互作用, 为种子萌发调控的分子机制提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

耐旱型小麦品种陕合 6 号 (Shanhe No. 6, SH6) 和干旱敏感型小麦品种郑引 1 号 (Zhengyin No. 1, ZY1)。

1.2 确定 HgCl₂ 和 SNP 适宜浓度

SH6 种子用 0.2% HgCl₂ 溶液表面消毒 10 min, 无离子水 (dH₂O) 清洗干净。播种于加有 100 μM、500 μM、1 mM、5 mM HgCl₂ 处理液和 0、0.1、0.5、1.0、5.0、10 mM SNP 处理液的培养皿内 (培养皿底部铺有滤纸, 处理液加在滤纸中) 萌发, 每个皿 50 粒种子, 加处理液 15 ml, 设置 3 个重复。观察种子萌发率随处理液浓度变化的规律。萌发率 = 发芽个数 / 播种总数。

1.3 不同处理液对种子萌发的影响

(1) 消毒后的种子在无离子水中吸胀 12 h 后播种于加有 H₂O、HgCl₂ (500 μM)、PEG (PEG - 8000,

- 0.35 MPa)、SNP (0.5 mM)、SNP + PEG、SNP + HgCl₂ 处理液的培养皿内, 计算种子在处理液中 12 h 和 24 h 的萌发率; (2) 消毒后的种子直接播种于 H₂O、HgCl₂ (500 μM)、PEG (PEG - 8000, - 0.35 MPa)、SNP (0.5 mM)、SNP + PEG、SNP + HgCl₂ 处理液的培养皿内, 在 12 h、24 h、36 h 和 48 h 时间点下观察小麦种子的萌发情况。每个培养皿中 50 粒种子, 加处理液 15 ml, 设置 3 个重复。

2 结果与分析

2.1 HgCl₂ 和 SNP 适宜浓度的确定

用 SH6 小麦种子直接播种于处理液中的萌发实验, 来确定 HgCl₂ 影响种子萌发的适宜浓度, 即抑制解除后抑制效应能够恢复或随着时间推移, 种子能够自身修复伤害的浓度。图 1A 表明, 小麦种子的萌发率随 HgCl₂ 浓度的增加而降低, HgCl₂ 对小麦种子萌发的抑制作用在 12 h 时已经表现出来, 在 24 h 时更加明显。小麦种子吸胀 24 h 后, 100 μM HgCl₂ 处理的种子萌发率为 90%, 500 μM 的 HgCl₂ 处理的种子萌发率为 80%, 而 1 mM 的 HgCl₂ 处理的种子萌发率不到 30%, 10 mM HgCl₂ 处理的种子不萌发 (图 1A)。所以用 500 μM HgCl₂ 作为后续试验抑制种子萌发的参考浓度。

用 SH6 小麦种子直接播种于处理液中的萌发实验, 来确定 NO 供体 SNP 影响种子萌发的适宜浓度。图 1B 表明, 低浓度的 SNP 能够促进种子萌发, 高浓度 SNP 抑制种子萌发。在处理 12 h 时小麦种子在 0.1 mM 和 0.5 mM SNP 溶液中的萌发率与对照相比显著增加; 而在 1 mM、5 mM、10 mM SNP 溶液中发芽率逐渐降低。在种子吸胀 24 h 时, 0.1 mM 和 0.5 mM SNP 溶液中的萌发率与对照的萌发率一致, 达到最大值; 而在 1 mM、5 mM 和 10 mM SNP 溶液中的萌发率逐渐降低。说明 SNP 促进种子萌发的最佳浓度应低于 0.5 mM。

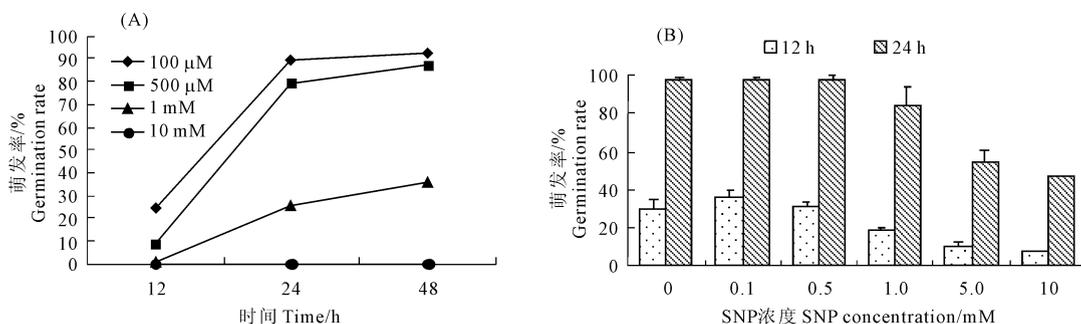


图 1 HgCl₂ (A) 和 SNP (B) 调控陕合 6 号小麦种子萌发的浓度依赖性

Fig. 1 Dose-dependence of seed germination of wheat (SH6) to HgCl₂ (A) or SNP (B)

2.2 SNP、HgCl₂ 对吸胀种子萌发的影响

为了揭示信号分子在种子吸水萌动进程中作用的时段性,本实验采用两种处理:(1)种子先在 dH₂O 中吸胀 12 h 后,再放入试验处理液中进行萌发,以研究 NO 和水孔蛋白在种子萌发后期的作用。(2)种子直接放进处理液中进行吸胀萌发,以研究 NO 和水孔蛋白在种子吸胀前期的作用。图 2 为第一种情况,与对照相比,SH6 小麦种子在 dH₂O 中吸胀 12 h 后,各处理对其 12 h 和 24 h 的萌发率几乎无影响,处理和对照的萌发率之间不存在显著差异($P < 0.05$)。而与对照相比,HgCl₂ (500 μM) 和 PEG (PEG-8000, -0.35 MPa) 在一定程度上抑制了 ZY1

在处理 12 h 的萌发率,处理 24 h 后抑制得到一定程度解除。说明在吸胀进程的后期,抑制 AQP 的活性或渗透胁迫处理均抑制了干旱敏感小麦种子的萌发率,相反抗旱品种种子萌发率无影响。SNP (0.5 mM) 轻微地刺激了 SH6 种子的萌发,相反一定程度地抑制了 ZY1 种子的萌发。可见,AQP 和 PEG 均相对作用于种子吸胀萌动的后期,此外种子萌发的调控与种子的遗传特性关系密切。从各处理对 SH6 和 ZY1 种子萌发率的影响看出,SH6 的抗胁迫性比 ZY1 抗胁迫性强,从种子萌发方面证实了 SH6 属于抗旱性品种。

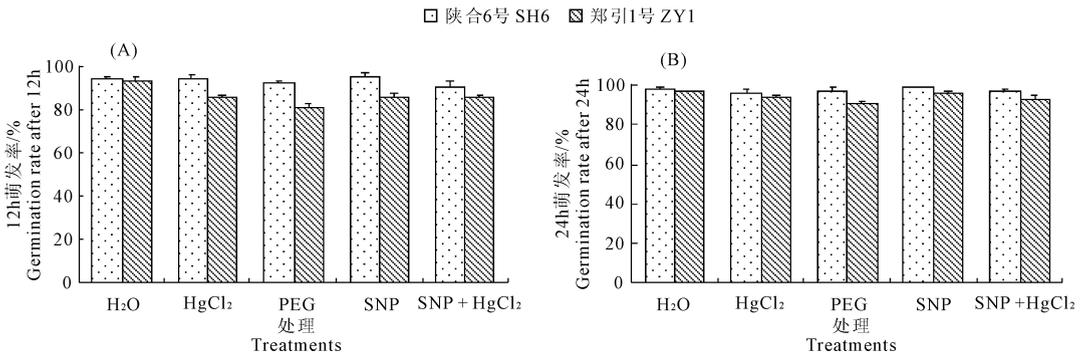


图 2 两种小麦种子在不同处理液中培养 12 h(A) 和 24h(B) 的萌发率比较

Fig.2 Seed germination rate of two wheat cultivars after being cultured in different treatment solutions for 12 h (A) and 24 h (B)

2.3 SNP、HgCl₂ 对种子萌发的影响

SH6 和 ZY1 小麦种子不在 dH₂O 中进行吸胀,直接播种于不同处理液中,分别培养 12 h、24 h、36 h 和 48 h,然后计算萌发率。图 3 显示,处理 24 h 时,SNP 显著促进 SH6 小麦种子萌发,而抑制了 ZY1 小麦种子的萌发。PEG 显著抑制了两种小麦种子的萌发,但对 ZY1 种子萌发的抑制程度大于 SH6。HgCl₂ 显著抑制了 ZY1 种子的萌发,而对 SH6 种子萌发抑制不显著。对于 SH6 而言,PEG + SNP 和 HgCl₂ + SNP 处理的小麦种子与对照的萌发率基本相同,说

明 NO 既能够解除 PEG,也能解除 HgCl₂ 对抗旱性种子萌发的胁迫作用。对于 ZY1 而言,SNP 能够缓解 PEG 对种子萌发的抑制作用,而 SNP 和 HgCl₂ 共同处理后,显著刺激了 ZY1 种子的萌发。在处理 36 h 后,所有处理液中的种子萌发率与对照的相一致。说明 PEG 和 HgCl₂ 在短时间内能够延缓小麦种子的萌发,但两种小麦种子都具有顺应和缓解低浓度 PEG 和 HgCl₂ 胁迫的能力。从直接在处理液中吸胀 24 h 的萌发率可以看出,HgCl₂ 和 PEG 对 ZY1 种子萌发的抑制效应均大于对 SH6 的抑制。

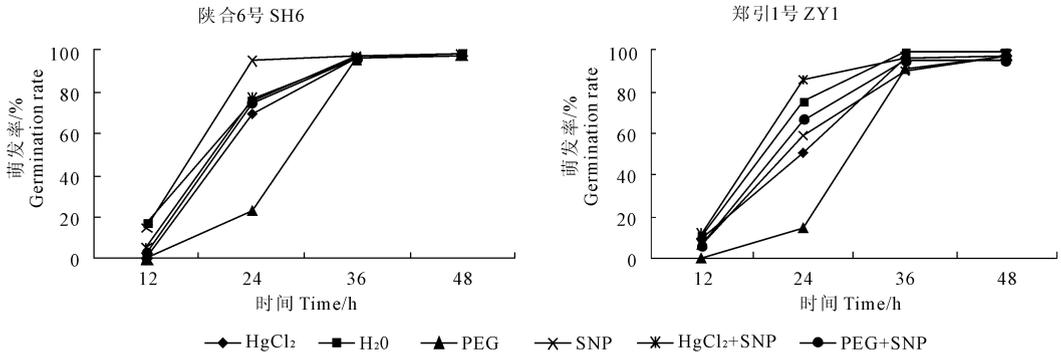


图 3 两种小麦种子在不同处理液中萌发的时间依赖性

Fig.3 Time-dependence of seed germination of two wheat cultivars cultured in different treatment solutions

3 结论与讨论

3.1 NO 促进了抗旱品种种子的萌发,而抑制了干旱敏感品种种子的萌发

很久以来,就发现无机的亚硝酸盐(NO_2^-)、硝酸盐(NO_3^-)和其他含 N 化合物能够破除休眠,刺激许多植物的种子萌发。 NO_2^- 、叠 N 化合物和羟胺促进种子萌发的机制牵涉到对过氧化氢酶(CAT)活性的抑制和 NO 的形成^[12,16]。 NO_2^- 的刺激作用依赖于低 pH 值,不需要植物组织与 NO_2^- 溶液直接接触,这可通过气态氮氧化物来模拟。甚至在中性 pH 值环境下,有还原剂存在时, NO_2^- 也能有效地刺激种子萌发^[12,16]。有机 N 如硝化甘油已报道也能刺激光依赖的受光敏色素调控的毛白杨(*Pauwlonia tomentosa*)和长毛苜蓿草(*Stellaria media*)种子的萌发,其机制也是这些化合物在体内转变成了 NO ^[17-18]。总之,NO 直接处理或凡是在体内能够转变成 NO 的化合物均能刺激种子萌发。如火焰中的活性成分也能促进休眠种子的萌发,其实质也是包含氮氧化物的缘故^[11,13]。药理学试验证明 NO 刺激种子萌发的机制可能是 NO 诱导了 H_2O_2 的形成,后者进一步诱导乙烯(Eth)的形成^[12]。也有证据表明 NO 能够促进萌发抑制激素 ABA 的降解,而刺激萌发促进激素 GA 生成增加^[22]。可见,活性化学信号分子 NO 和 H_2O_2 等与植物激素信号互作来调控种子的休眠和萌发^[12,22]。

本研究发现,NO 也能够促进 C3 植物小麦种子的萌发,但这种刺激效应与种子的遗传特性密切相关。无论是在吸涨初期进行处理,还是后期处理,NO 均促进了小麦抗旱品种种子的萌发,而抑制了干旱敏感品种种子的萌发。

3.2 NO 能够促进干旱逆境条件下种子的萌发

大量研究表明 NO 除了能够刺激生理条件下种子的萌发之外,还能促进非生物逆境条件下种子的萌发。已知一些种子组织在萌发过程中具有高的代谢活性,伴随着线粒体呼吸对 O_2 浓度的高速消耗,导致种子体内的无氧环境。NO 在感知和平衡植物种子体内 O_2 浓度方面发挥着中心作用。缺 O_2 条件下 NO_2^- 依赖的 NO 的形成增加,通过抑制细胞色素 C 氧化酶活性,诱导交替氧化酶活性,将代谢从细胞色素 C 途径转变到交替途径,降低了线粒体呼吸耗氧。NO 促进重金属、高盐和渗透胁迫条件下种子萌发的例子越来越多。其实质是这些胁迫引起伴随的氧化迸发,而 NO 正是通过清除 ROS 来发挥作用。

NO 的抗氧化作用在动、植物中是高度保守的,包括直接清除超氧化物或脂类过氧化产物和诱导抗氧化防御系统两种机制。

本研究发现 NO 能够解除 PEG 模拟的干旱胁迫对小麦种子萌发的抑制。对于抗旱品种,NO 能够完全恢复 PEG 的抑制作用,而对于干旱敏感品种,NO 能够部分恢复 PEG 的抑制作用。这可能与抗旱品种本身拥有较强的超氧化物清除能力有关,而对于干旱敏感品种来说,NO 提高了植株对超氧化物的清除能力。

3.3 AQP 在干旱敏感品种种子萌发中的作用大于抗旱品种

愈来愈多的证据表明 AQP 在植物种子萌发中扮演着重要作用,AQP 可能主要作用于胚胎生长的早期阶段,即吸水的第 III 阶段,或渗透性吸水阶段,而与种子的吸涨(第 I 阶段)无关^[6-10]。本研究发现用 HgCl_2 处理对 ZY1 种子萌发的抑制程度大于对 SH6 种子萌发的抑制,这可能与 AQP 在不同抗性植物组织中的差异表达有关,如我们发现正常水分条件下,AQP 基因在干旱敏感品种(ZY1)根系中的表达量高于抗旱品种(SH6),相反干旱胁迫下,AQP 基因在抗旱品种中的表达量高于干旱敏感品种(余丽娟等,待发表)。干旱胁迫下,可能由于 SH6 种子中 AQP 的表达量高,所以能够一定程度地维持种子萌发对水分的吸收,所以萌发率高于 ZY1 种子。

3.4 NO 能够解除 HgCl_2 对种子萌发的抑制

尽管在植物界发现了一些 HgCl_2 不敏感性 AQP,但大多数 AQP 对 HgCl_2 是敏感的。低浓度 HgCl_2 抑制 AQP 活性的机制是可逆的氧化 AQP 分子中靠近水孔部位的半胱氨酸(Cys)残基上的巯基(SH-),而还原剂如二巯速苏糖醇(DTT)处理可以逆转这种修饰^[21]。 HgCl_2 由于抑制了 AQP 的活性,进而抑制了种子的吸水,所以降低了种子的萌发速率^[10]。本研究发现外源 NO 处理也可以解除 HgCl_2 对小麦种子萌发的抑制,类似于 DTT 的作用结果,但作用机制可能不同。现已知蛋白质 Cys 残基上的 SH- 也是 NO 的直接靶标,作用的结果是对蛋白质产生 S-亚硝基化(S-nitrosylation)修饰。蛋白质 S-亚硝基化是一种普遍的 NO 调节的可逆的蛋白质翻译后氧化还原修饰,介导了植物体内大量的 NO 依赖的生理学进程^[23]。有研究表明,NO 预处理增加了盐胁迫下蛋白质的 S-亚硝基化,而避免了蛋白质的氧化伤害(如羰基化)^[24]。可见,NO 处理可能也使种子中 AQP 分子 Cys 残基上的 SH- 发生 S-亚硝基化修饰,从而避免了 HgCl_2 对它的氧化修

饰,这有待从分子水平去进一步证明。此外,NO也可能通过影响AQP基因转录水平和蛋白丰度而发生作用^[20]。可见,NO可能从活性和含量两方面调节AQP的状态,进而调节种子的萌发。

参考文献:

- [1] Koornneef M, Bentsink L, Hilhorst H. Seed dormancy and germination [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002, 5(1):33-36.
- [2] Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G. Seed dormancy and the control of germination[J]. *New Phytologist*, 2006, 171:501-523.
- [3] Holdsworth MJ, Finch - Savage WE, Grappin P, et al. Post-genomics dissection of seed dormancy and germination[J]. *Trends in Plant Science*, 2008, 13(1):7-13.
- [4] Angelovici R, Galili G, Fernie AR, et al. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination [J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(4):211-218.
- [5] Manz B, Müller K, Kucera B, et al. Water uptake and distribution in germinating tobacco seeds investigated in vivo by nuclear magnetic resonance imaging[J]. *Plant Physiol*, 2005, 138:1538-1551.
- [6] Fukuhara T, Kirch HH, Bohnert HJ. Expression of Vp1 and water channel proteins during seed germination [J]. *Plant Cell Environ*, 1999, 22:417-424.
- [7] Johnson KD, Hofte H, Chrispeels MJ. An intrinsic tonoplast protein of protein storage vacuoles in seeds is structurally related to a bacterial solute transporter (GlpF)[J]. *Plant Cell*, 1990, 2:525-532.
- [8] Maurel C, Chrispeels MJ, Lurin C, et al. Function and regulation of seed aquaporins[J]. *J Exp Bot*, 1997, 48:421-430.
- [9] Gao YP, Young L, Bonham - Smith P, et al. Characterization and expression of plasma and tonoplast membrane aquaporins in primed seed of *Brassica napus* during germination under stress conditions[J]. *Plant Mol Biol*, 1999, 40(4):635-544.
- [10] Willigen CV, Postaire O, Tournaire-Roux C, et al. Expression and inhibition of aquaporins in germinating *Arabidopsis* seeds[J]. *Plant cell physiology*, 2006, 47(9):1241-1250.
- [11] Nelson DC, Flematti GR, Ghisalberti EL, et al. Regulation of seed germination and seedling growth by chemical signals from burning veg-

- etation[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2012, 63:107-130.
- [12] Sarath G, Hou G, Baird LM, et al. Reactive oxygen species, ABA and nitric oxide interactions on the germination of warm-season C4-grasses[J]. *Planta*, 2007, 226:697-708.
- [13] Keeley JE, Fotheringham CJ. Trace gas emissions and smoke-induced seed germination[J]. *Science*, 1997, 276:1248-1250.
- [14] Beligni MV, Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants[J]. *Planta*, 2000, 210(2):215-21.
- [15] 孙永刚,张帆,聂理,等.外源一氧化氮供体对渗透胁迫下小麦种子萌发和水解酶活性的影响[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31(3):241-246.
- [16] Sarath G, Bethke PC, Jones R, et al. Nitric oxide accelerates seed germination in warm - season grasses [J]. *Planta*, 2006, 223(6):1154-1164.
- [17] Bethke PC, Libourel IG, Vitecek J, et al. Nitric oxide methods in seed biology[J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 773:385-400.
- [18] Sirova J, Sedlarova M, Piterkova J, et al. The role of nitric oxide in the germination of plant seeds and pollen[J]. *Plant Sci*, 2011, 181(5):560-572.
- [19] Liu Y, Shi L, Ye N, et al. Nitric oxide-induced rapid decrease of abscisic acid concentration is required in breaking seed dormancy in *Arabidopsis*[J]. *New Phytol*, 2009, 183:1030-1042.
- [20] Liu HY, Yu X, Cui DY, et al. The role of water channel proteins and nitric oxide signaling in rice seed germination [J]. *Cell Res*, 2007, 17(7):638-649.
- [21] Maurel C, Verdoucq L, Luu DT, et al. Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59:595-624.
- [22] Liu Y, Ye N, Liu R, et al. H₂O₂ mediates the regulation of ABA catabolism and GA biosynthesis in *Arabidopsis* seed dormancy and germination[J]. *J Exp Bot*, 2010, 61:2979-2990.
- [23] Astier J, Rasul S, Koen E, et al. S-nitrosylation: an emerging post-translational protein modification in plants[J]. *Plant Sci*, 2011, 181(5):527-533.
- [24] Tanou G, Job C, Rajjou L, et al. Proteomics reveals the overlapping roles of hydrogen peroxide and nitric oxide in the acclimation of citrus plants to salinity[J]. *Plant Journal*, 2009, 60(5):795-804.

(上接第56页)

参考文献:

- [1] 孙建,李宇.圆形和U形断面明渠临界水深直接计算公式[J]. *陕西水力发电*, 1996, 12(3):39-42.
- [2] 王正中,陈涛,万斌,等.圆形断面临界水深的新近似计算公式[J]. *长江科学院院报*, 2004, 21(2):15-17.
- [3] 吕宏兴,把多铎,宋松柏.无压流圆形断面水力计算的迭代法[J]. *长江科学院院报*, 2003, 20(5):15-17.
- [4] 吴持恭.水力学[M].北京:高等教育出版社,1979.

- [5] 赵延风,宋松柏,李宇.圆形断面明渠临界水深的近似计算公式[J]. *水利水电科技进展*, 2008, 28(2):62-64.
- [6] 张文卓.圆形断面临界水深计算[J]. *四川水力发电*, 2002, 21(1):15-17.
- [7] 邹武停,辛全才,张宽地.基于牛顿迭代法的圆形断面临界水深直接算法[J]. *水电能源科学*, 2012, 30(3):100-102.
- [8] 武汉水利电力学院.水力计算手册[M].北京:水利电力出版社,1983.