

## 模拟酸雨对乌药幼苗生理生态特性的影响

王 强<sup>1,2</sup>, 金则新<sup>2\*</sup>, 彭礼琼<sup>2,3</sup>

(1. 上海师范大学 生命与环境科学学院, 上海 200030; 2. 台州学院 生态研究所, 浙江 临海 317000;  
3. 北京林业大学 自然保护区学院, 北京 100083)

**摘 要:**通过盆栽模拟酸雨喷淋实验,比较了不同酸雨酸度(pH 值分别为 2.5、3.5、4.5 和 5.6(CK))下,乌药(*Lindera aggregata*) 幼苗光合作用、叶绿素荧光、膜脂过氧化以及抗氧化酶活性的差异,探讨酸雨胁迫对乌药幼苗生理生态特性的影响.结果表明:夏季,不同酸雨酸度处理下,净光合速率日变化均呈单峰曲线,日均净光合速率随着酸雨酸度的升高而降低.随酸雨酸度的升高,乌药幼苗的最大净光合速率、相对叶绿素含量均显著降低,且 pH 2.5 处理的影响更为显著.酸雨处理降低了乌药的光饱和点(LSP),而 pH 2.5、pH 3.5 处理的暗呼吸速率( $R_d$ )、光补偿点(LCP)显著高于对照. $F_v/F_m$  随着酸雨酸度的增加而减小,过氧化物酶活性(POD)、丙二醛(MDA)含量和质膜透性随酸度的增加均显著升高.超氧化物歧化酶(SOD)活性在 pH 4.5 处理时显著升高,pH 2.5 时显著降低,而 pH 3.5 时与对照差异不大.总之,酸雨降低了乌药的光合能力,对其他生理指标均产生了显著的影响.

**关 键 词:**模拟酸雨; 乌药; 光合生理; 膜脂过氧化; 抗氧化酶活性

中图分类号:Q 948.1

文献标志码:A

文章编号:1008-9497(2013)04-447-09

WANG Qiang<sup>1,2</sup>, JIN Ze-xin<sup>2</sup>, PENG Li-qiong<sup>2,3</sup> (1. School of Life and Environment Science, Shanghai Normal University, Shanghai 200030, China; 2. Institute of Ecology, Taizhou University, Linhai 317000, Zhejiang Province, China; 3. School of Nature Reserve, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

**Effects of simulated acid rain on the ecophysiological characteristics of *Lindera aggregata*.** Journal of Zhejiang University(Science Edition), 2013,40(4):447-455

**Abstract:** Acid deposition in East Asia is more serious since the accelerated rate of economic development in this area. Acid rain can cause damage to plants and inhibit the growth and productivity of plants. *Lindera aggregata* (Lauraceae) is a famous traditional Chinese medicine and widely distributed in the South-eastern Asia. In order to evaluate the effect of simulated acid rain on the growth of *L. aggregata*, we conducted a pot experiment with acid rain simulated by the spraying of a mixture of concentrated  $H_2SO_4$  and  $HNO_3$  ( $V:V=8:1$ ). Membrane lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity of *L. aggregata* with the application of simulated acid rain with pH 2.5, pH 3.5, pH 4.5 and pH 5.6 (CK) were determined and analyzed. The results are shown in the following. In all of the treatments, the day variation of net photosynthetic rate of *L. aggregata* is a curve with one peak. The mean daily net photosynthetic rate reduces with the increasing of the acidity. The maximum net photosynthetic rate and the relative chlorophyll content significantly decreased with the increasing of the acidity. Simulated acid rain significantly reduces the light saturation point of *L. aggregata*. In the treatments with pH 2.5 and 3.5, the dark respiration rate and the light compensation point are significantly higher than the other treatments.  $F_v/F_m$  reduces with the increasing of the acidity. the activity of peroxidase, The content of malonydialdehyde and the membrane permeability were significantly increase with the increasing of the acidity. The activity of superoxide dismutase significantly increases in the treatment with pH 4.5 and significantly decreases in the treatment and pH 2.5, with no significant change in the treatment with pH 3.5. The results suggeste that simulated acid rain could reduce the photosynthetic capacity and has significant effects on the physiological traits of of *L. aggregata*.

收稿日期:2011-12-13.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30870392);浙江省自然科学基金资助项目(Y3080460).

作者简介:王 强(1987-),男,硕士研究生,主要从事植物生理生态学研究.

\* 通信作者,E-mail:jzx@tzc.edu.cn.

**Key Words:** simulated acid rain; *Lindera aggregata*; photosynthetic physiology; membrane lipid peroxidation; antioxidant enzyme activity

酸雨是指 pH 值小于 5.6 的雨水,也包括雪、雾、雹等其他形式的酸性降水。酸雨是通常的叫法,科学上称作酸沉降,包括湿沉降如酸雨、酸雪、酸雾、酸雹和干沉降如二氧化硫、氮氧化物、氯氧化物等气态酸性物<sup>[1]</sup>。近年来随着经济的发展,受酸雨影响的面积逐年扩大,危害越来越严重。酸雨会干扰植物正常的代谢过程,导致植物体内一系列生理生化过程失调,对高大的林木也不例外。酸雨能引起种子透性的变化,使其离子平衡失调,破坏内部正常的生理效应,致使种子萌发受阻<sup>[2]</sup>。酸雨对树木繁殖也产生明显的影响<sup>[3]</sup>。酸度较大的酸雨(pH 2)会使叶片的表皮细胞干枯,导致保卫细胞收缩甚至坏死,造成气孔的持久开放<sup>[4]</sup>。许多学者从植物生理生态等方面研究了酸雨对植物的危害,研究酸雨胁迫对植物内抗性酶活性及植物的抗逆性机理表明<sup>[5,6]</sup>,酸雨会干扰植物正常的代谢过程,导致植物体内一系列生化过程失调;酸雨胁迫降低了植物体防御活性氧伤害有关的酶系统和非酶系统的抗性能力,提高了体内活性氧含量,加剧了膜脂的过氧化。酸雨胁迫对植物形态、光合、水分、生理生态的影响的研究表明,酸雨降低了广玉兰(*Magnolia grandiflora*)、桂花(*Osmanthus fragrans*)和樟树(*Cinnamomum camphora*)<sup>[7]</sup>的单叶质量,增加了樟树的根冠比;降低了油菜(*Brassica napus*)<sup>[8]</sup>的株高,抑制了其叶面积的生长;降低了木芙蓉(*Hibiscus mitabilis*)<sup>[9]</sup>、春小麦(*Triticum aestivum*)<sup>[10]</sup>幼苗的净光合速率;小麦(*Triticum aestivum*)、玉米(*Zea mays*)<sup>[11]</sup>等农作物的叶绿素含量随着酸雨 pH 值的下降而减少。以往的模拟酸雨研究多以农作物、经济作物和部分森林树种为研究对象,对药用植物研究得较少。

乌药(*Lindera aggregata*)属樟科(Lauraceae)山胡椒属(*Lindera*)。乌药的部分根变态为纺锤状,是一种名贵中药材,被誉为“长生不老药”,具有顺气止痛、温肾散寒的功效,是常用中药。对药用植物来说,次生代谢产物是其重要的药用原料,模拟酸雨对杜仲叶药用成分含量影响的研究表明,绿原酸、桃叶珊瑚甙和总黄酮等含量均随酸雨 pH 值的下降而降低<sup>[12]</sup>;模拟酸雨对药用植物半夏的研究也表明,酸雨胁迫明显降低了半夏块茎中总生物碱、鸟苷和腺苷的含量,胁迫程度越大含量越低,对半夏的生长也产生了明显的抑制作用<sup>[13]</sup>。目前国内外对乌药的研究主要集中在乌药块根、根、茎、叶的化学成分和含

量分析以及药理作用、药用部位等<sup>[14-16]</sup>上,酸雨胁迫对乌药的生理、生长以及次生代谢产物的影响的研究尚未见报道。

乌药通过叶片进行光合作用制造有机物,经过体内的运输和转化,产生各级次生代谢产物,进而形成根中的药用成分。本文以乌药为材料,研究其在酸雨胁迫下的光合特性、叶绿素荧光、保护酶(SOD、POD)活性以及膜脂质过氧化等参数的变化,试图了解酸雨胁迫对名贵中药材乌药幼苗生理的影响,阐明乌药幼苗对酸雨胁迫的生理生态响应,为名贵中药材乌药的栽培与推广提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

试验在台州学院智能玻璃温室内进行。2010年6月上旬将乌药幼苗移入上口口径 21.18 cm,下口径 14.3 cm,高 16.8 cm 的花盆内,每盆栽栽 1 株。每盆干土重 3.3 kg,土壤含水量为 41.3%。移植后充足浇水,待其成活后,于 2010 年 6 月 15 日选取生长一致的盆栽幼苗进行喷淋酸雨模拟实验。根据浙江省酸性降水中的平均离子组成及通常模拟酸雨实验中所采用的配比<sup>[17,18]</sup>,按  $V(\text{H}_2\text{SO}_4) : V(\text{HNO}_3) = 8 : 1$  的比例配制母液,再用水稀释成 pH 值分别为 2.5、3.5、4.5、5.6(CK)的酸雨溶液,每个处理组 15 株共 4 组。根据临海市多年平均降水量(1 700 mm),每天每盆植物喷淋约 27.5 mL 酸雨(与当地总的降水量基本持平),期间适当补水,到 2011 年 7 月上旬测定实验结果。

### 1.2 测定方法

#### 1.2.1 光合参数测定

采用 Li-6400 XT 便携式光合作用仪(LI-COR, 美国)对智能玻璃温室中的乌药叶片进行光合参数的测定,测定前对光合仪进行系统校正,以保证测量值的合理性。从每个酸雨梯度中随机选取 3 株幼苗,用植株顶层向阳叶片测定光合参数,选取晴朗的天气从 6:00 到 18:00,每 2 h 测定 1 次,连续测定 3 d。每片叶片重复记录 3 组数据取平均值。测定时保持叶片自然着生角度和方向不变。采用开放气路,以空气中  $\text{CO}_2$  浓度为气源,浓度为  $376 \sim 425 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,温度为  $29 \sim 39 \text{ }^\circ\text{C}$ ,相对湿度为  $37\% \sim 58\%$ ,光合有效幅射为  $80 \sim 1\,087 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。测定参数包

括:叶片净光合速率( $P_n$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )、气孔导度( $G_s$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )、胞间  $\text{CO}_2$  浓度( $C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2}$ )等。

### 1.2.2 乌药幼苗光响应测定

采用 Li-6400 XT 便携式光合作用仪(LI-COR, 美国)从上午 9:00 到 11:00 设置不同的光强梯度, 2 000、1 500、1 200、1 000、800、600、400、200、150、100、50、20、0  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。光强由高到低测定乌药幼苗光合速率,测定前用 2 000  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的光强对所测叶片进行 20 min 诱导,测定时采用仪器自带的红蓝光源,设置叶室温度为 25  $^{\circ}\text{C}$ ,流速控制在 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,相对湿度为 60%,每个处理做 3 次重复<sup>[19,20]</sup>。

### 1.2.3 叶绿素含量的测定

随机选取 3 盆植株,每个植株上选取植株顶层 3 片向阳叶子,采用 CCM-200 手持式叶绿素测定仪(OPTI-SCIENCES, 美国)测定相对叶绿素含量,取平均值。

### 1.2.4 荧光参数的测定

在测定光合日进程的同一天上午 10:00 测定叶绿素荧光参数,选取与测定光合作用相同叶片,测定前对幼苗进行 30 min 的暗适应,采用 OS-30P 便携式叶绿素荧光测定仪(OPTI-SCIENCES, 美国),测

定上述各叶片的叶绿素荧光参数,在叶片自然生长角度不变的情况下测定叶绿素荧光基本参数:初始荧光  $F_0$ 、最大荧光  $F_m$  和光系统 II 最大荧光量子产量  $F_v/F_m$ 。

### 1.2.5 生理指标的测定

过氧化物酶(peroxidase, POD)活性按愈创木酚比色法进行测定<sup>[21]</sup>,以每 min  $A_{470}$  变化值表示酶活性的大小,单位为  $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ ;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)法进行测定<sup>[22]</sup>,以抑制 NBT 光化还原 50%的酶量为 1 个酶活性单位。丙二醛(malonyldialdehyde, MDA)含量按文献<sup>[23]</sup>的方法进行测定,质膜透性的测定按照文献<sup>[24]</sup>的方法进行测定。

## 1.3 数据统计分析

采用 Excel 和 Origin7.5 数据处理软件对所测数据进行整理分析和绘图,用光合小助手软件 Photosyn Assistant 1.1.2 得到如下参数:最大净光合速率(The maximum net photosynthetic rate,  $P_{n\text{max}}$ )、光饱和点(Light saturation point, LSP)、光补偿点(Light compensation point, LCP)、表观量子效率(Apparent quantum yield, AQY 或  $\varphi$ )和暗呼吸速率(Dark respiration rate,  $R_d$ )。此软件中采用的曲线拟合方程为

$$P_n = \frac{\varphi \cdot \text{PAR} + P_{n\text{max}} - \sqrt{(\varphi \cdot \text{PAR} + P_{n\text{max}})^2 - 4 \cdot \varphi \cdot \text{PAR} \cdot K \cdot P_{n\text{max}}}}{2K} - R_d,$$

式中, $P_n$  为净光合速率; $P_{n\text{max}}$  为最大净光合速率;PAR 为光合有效辐射; $\varphi$  为表观量子效率; $R_d$  为暗呼吸速率; $K$  为光合曲线的曲率,大小介于(0,1)之间。

采用 One-way ANOVA (SPSS13.0 Inc., Chicago)分析酸雨胁迫对乌药光合生理参数的影响。如果差异显著,则对该指标的均值进行 LSD 多重比较。在数据分析前,对所有数据进行正态性与齐性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同酸雨处理乌药幼苗叶片光合作用日进程

光合试验在智能玻璃温室内进行,温度比室外环境要低。从图 1 可看出,不同强度酸雨处理乌药净光合速率日变化均呈“单峰”曲线,上午随着光强的增加,净光合速率升高,没有光合“午休”现象,最大值出现在中午 12:00,其中 pH 2.5、3.5 和 4.5 处理分别比对照降低了 72.6%、56.79%和 50.57%,它们与对照间均差异显著( $P < 0.05$ ),下午随着光照

强度减弱,净光合速率降低。随着酸雨 pH 值的增大,乌药幼苗叶片的净光合速率明显降低,说明酸雨处理降低了乌药的光合能力。不同强度酸雨处理乌药胞间  $\text{CO}_2$  浓度日变化均以早上 6:00 最高, pH 2.5 处理时最大,达 373.71  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,其次为 pH 3.5 处理,第 3 为 pH 4.5 处理,以后逐渐下降,到中午 12:00 降至最低点,下午则缓慢上升。总体上,乌药叶片胞间  $\text{CO}_2$  浓度随 pH 值下降呈上升趋势。气孔导度日变化与光合日变化趋势基本一致,呈先升后降的单峰型曲线,中午 12:00 达到最高值, pH 2.5、3.5 和 4.5 处理气孔导度最大值分别比对照降低了 78.65%、63.29%和 68.91%,不同强度酸雨处理与对照间均差异显著( $P < 0.05$ ),模拟酸雨处理叶片气孔导度与对照相比总体呈下降趋势。

### 2.2 不同酸雨处理乌药幼苗光响应

不同酸雨处理幼苗净光合速率随着光合有效辐射的增加而升高,当 PAR 达到一定程度后, $P_n$  不再增加,并保持相对稳定(见图 2)。从表 1 可看出,随着酸雨强度的增强,最大净光合速率( $P_{n\text{max}}$ )逐渐下

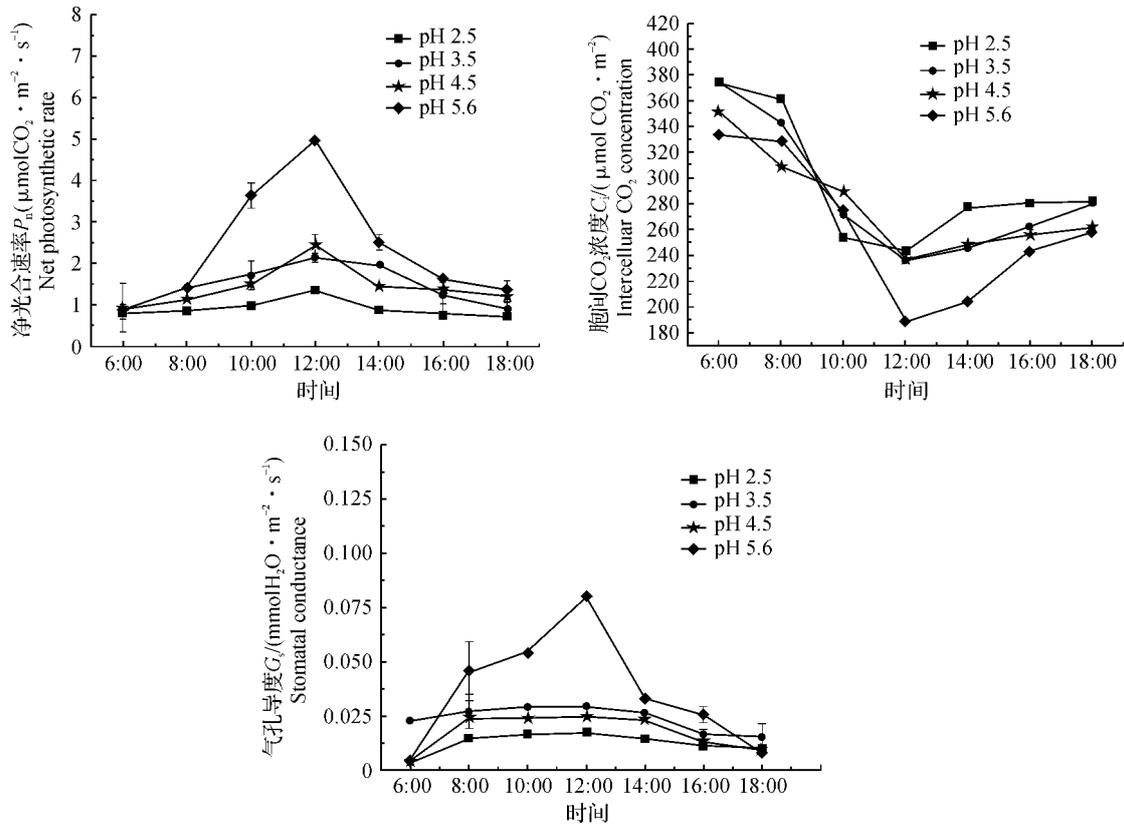


图 1 不同强度酸雨对乌药气体交换参数日进程的影响

Fig. 1 Effects of simulated acid rain on the photosynthetic daily process of *Lindera aggregata*

降,它们之间的差异均极显著( $P < 0.01$ ), pH 2.5、3.5 和 4.5 与对照相比  $P_{n \max}$  分别降低了 57.6%、42.6% 和 25.7%。pH 2.5 和 3.5 处理的光补偿点(LCP)高于对照,差异极显著( $P < 0.01$ );且 pH 2.5 处理的 LCP 高于 pH 3.5,差异也极显著( $P < 0.01$ );但 pH 4.5 处理的 LCP 与对照差异不显著。pH 2.5、3.5 和 4.5 处理的光饱和点(LSP)均比对照低,差异极显著( $P < 0.01$ );并且 pH 2.5 处理的 LSP 低于 pH 3.5 和 4.5,差异极显著( $P < 0.01$ )。pH 2.5 和 3.5 处理的暗呼吸速率( $R_d$ )高于对照,差异极显著( $P < 0.01$ );而 pH 4.5 处理的  $R_d$  低于对照,差异显著( $P < 0.05$ )。不同酸雨强度处理的表现量子效率(AQY)差异不显著。

表 1 不同强度酸雨对乌药光合指标的影响

Table 1 Effects of simulated acid rain on the photosynthetic indices of *Lindera aggregata*

处理 Treatment	最大净光合速 $P_{n \max}$ / ( $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	光补偿点 LCP / ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	光饱和点 LSP / ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	暗呼吸速率 $R_d$ / ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	表观量子效率 AQY / ( $\text{CO}_2 \cdot \text{photon}^{-1}$ )
pH 2.5	2.06 ± 0.08Aa	12 ± 0.49Aa	112 ± 4.49Aa	0.53 ± 0.021Aa	0.047 ± 0.0016Aa
pH 3.5	2.79 ± 0.11Bb	8 ± 0.16Bb	284 ± 11.59Bb	0.32 ± 0.013Bb	0.043 ± 0.0025Aa
pH 4.5	3.61 ± 0.15Cc	4 ± 0.15Cc	304 ± 12.41Bb	0.22 ± 0.009Cc	0.043 ± 0.0015Aa
pH 5.6	4.86 ± 0.20Dd	4 ± 0.16Cc	388 ± 15.84Cc	0.27 ± 0.011Cd	0.048 ± 0.0025Aa

注 不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ );不同大写字母表示差异极显著 ( $P < 0.01$ )

Note Different letters indicate that the values are significantly different, at the 0.05 level ( $P < 0.05$ ) with small letters and at 0.01 level with capital letters ( $P < 0.01$ )

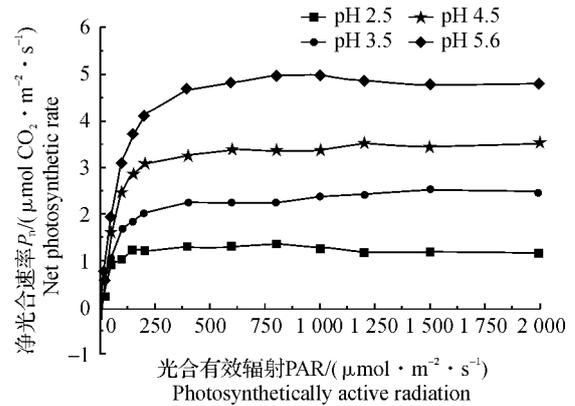


图 2 乌药在不同酸雨处理下的光响应曲线

Fig. 2 Effects of simulated acid rain on the light response curve of *Lindera aggregata*

### 2.3 不同酸雨处理乌药叶片相对叶绿素含量和叶绿素荧光参数

叶绿素是光合作用的重要色素,在光合作用过程中起到接受和转换能量的作用,直接影响植物有机物质的积累,SPAD 值是一个相对叶绿素含量的读数,与叶片叶绿素含量呈正相关.随着酸雨强度的增大,叶片相对叶绿素含量(SPAD)逐渐下降,它们之间的差异均极显著( $P < 0.01$ ),pH 2.5、3.5 和

4.5 处理 SPAD 分别比对照降低了 49.1%、29.2% 和 5.9%(见表 2). $F_v/F_m$  是 PS II 最大光化学效率,反映的是 PS II 原初光能转化效率<sup>[25]</sup>, $F_v/F_o$  代表 PS II 的潜在活性<sup>[26]</sup>,叶绿素荧光参数可反映光合机构内部一系列重要的调节过程<sup>[27]</sup>.从表 2 可以看出 pH 2.5 处理的  $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_o$  比对照低,差异极显著( $P < 0.01$ );pH 3.5 处理的  $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_o$  显著低于对照( $P < 0.05$ ).

表 2 不同强度酸雨对乌药相对叶绿素含量和叶绿素荧光参数的影响

Table 2 Effects of simulated acid rain on the chlorophyll fluorescence and relative chlorophyll content of *Lindera aggregata*

处理 Treatment	相对叶绿素含量 Reative chlorophyll content	PS II 最大光化学效率 $F_v/F_m$	PS II 潜在活性 $F_v/F_o$
pH 2.5	8.37±0.26Aa	0.675±0.015Aa	2.18±0.13Aa
pH 3.5	11.65±0.35Bb	0.716±0.013Bb	2.54±0.16Bb
pH 4.5	15.48±0.38Cc	0.731±0.003Bbc	2.70±0.03Bbc
pH 5.6	16.45±0.39Dd	0.741±0.015Bc	2.88 ± 0.23Bc

注 不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ );不同大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ )

Note Different letters indicate that the values are significantly different, at the 0.05 level( $P < 0.05$ ) with small letters and at 0.01 level with capital letters( $P < 0.01$ )

### 2.4 不同酸雨处理对乌药叶片保护酶活性的影响

植物可以通过提高超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等抗氧化酶的活性来提高对活性氧的清除能力,缓解体内的氧化胁迫.由图 3 可以看出,酸雨处理影响了乌药叶片中 SOD 的活性,随着酸雨酸度的增加,SOD 活性呈现出先升高后降低的趋势,pH 4.5 处理 SOD 活性最高,与 pH 2.5、3.5 及对照均差异极显著( $P < 0.01$ );pH 2.5 处理 SOD

活性比对照低,差异极显著( $P < 0.01$ ).POD 活性随模拟酸雨酸度增加呈现上升趋势(见图 3),pH 2.5 处理 POD 活性最高,与 pH 3.5、4.5 及对照均差异极显著( $P < 0.01$ );pH 3.5、4.5 处理也高于对照,pH 3.5 与对照差异极显著( $P < 0.01$ ),pH 4.5 与对照差异显著( $P < 0.05$ );pH 3.5 处理显著高于 pH 4.5( $P < 0.05$ ).

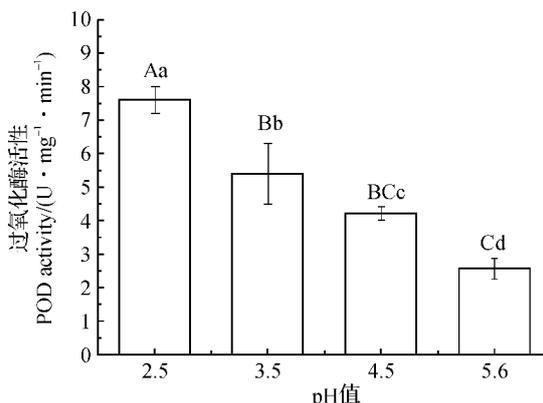
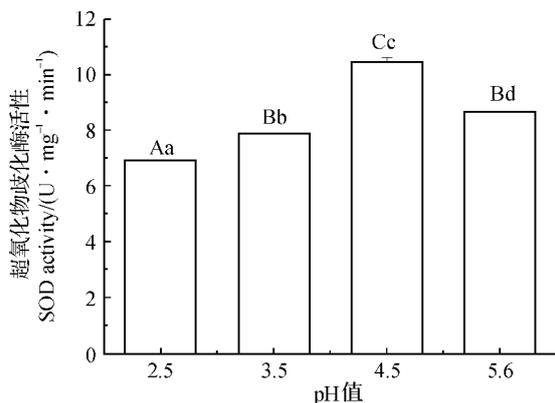


图 3 不同酸雨处理对乌药叶片 SOD 和 POD 活性的影响

Fig. 3 Effects of simulated acid rain on the activity of SOD and POD of *Lindera aggregata*

注 不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ );不同大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ )

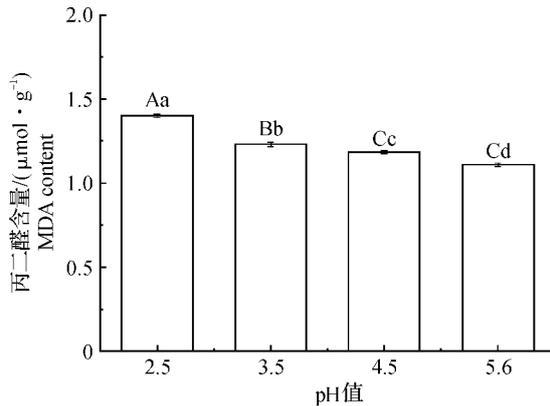
Note Different uppercase letters indicate significantly different at the 0.05 level ( $P < 0.05$ ) and different lowercase letters indicate extremely significantly at 0.01 level ( $P < 0.01$ )

### 2.5 不同酸雨处理对乌药叶片丙二醛(MDA)含量和质膜透性的影响

MDA 是细胞膜系统与自由基反应生成的过氧化产物,图 4 显示,随酸雨酸度增加,MDA 含量均呈上升趋势,不同酸雨处理 MDA 含量均比对照高,

差异极显著( $P < 0.01$ );pH 2.5 处理的 MDA 含量高于 pH 3.5 和 4.5,差异极显著( $P < 0.01$ );pH 3.5 处理显著高于 pH 4.5( $P < 0.05$ ).表明酸雨会对细胞膜系统产生损害,并且酸度越高损害越大.模拟酸雨处理后乌药叶片的细胞膜透性均比对照

高,差异极显著( $P < 0.01$ );pH 2.5 处理的细胞膜透性均高于 pH 3.5 和 4.5,差异极显著( $P < 0.01$ );pH 3.5 处理显著高于 pH 4.5( $P < 0.05$ ).反映出乌



药细胞膜系统在酸雨胁迫下发生过氧化反应,导致叶片累积的 MDA 显著增加,从而对生物膜和细胞造成一定损伤.

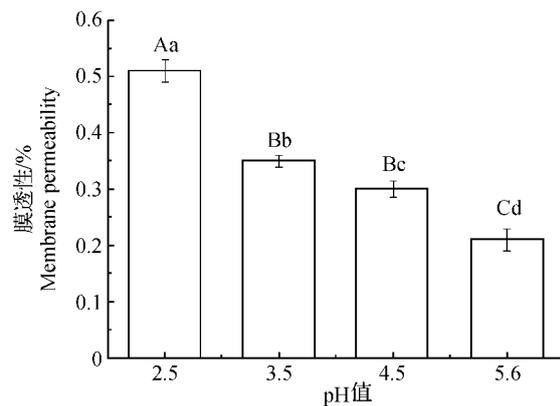


图 4 不同酸雨处理对乌药叶片丙二醛(MDA)含量和质膜透性的影响

Fig. 4 Effects of simulated acid rain on the content of MDA and the membrane permeability of *Lindera aggregata*

注 不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ );不同大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ )

Note Different uppercase letters indicate significantly different at the 0.05 level ( $P < 0.05$ ) and different lowercase letters indicate extremely significantly at 0.01 level ( $P < 0.01$ )

### 3 讨 论

不同强度的酸雨处理对乌药的光合特性和生理特性均产生了一定程度的影响.不同强度酸雨处理乌药净光合速率日变化均呈“单峰”曲线,随着酸雨强度的增加,其日均净光合速率、最大净光合速率明显降低,酸雨处理降低了乌药的光合能力,这和前人对柚木(*Tectona grandis*)<sup>[28]</sup>的研究结果一致.植物的光合作用经常受到外界环境条件的影响,光是光合作用的重要来源,植物对光能利用能力的高低是植物光合速率存在差异的重要原因,植物的光补偿点越低,越能在弱光条件下顺利进行光合作用;而植物的饱和点越低则表明植物叶片的光合速率随光合有效辐射的增加很快达到最大值,然后表现出一定的光抑制.文献[18]对杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)的研究表明 pH 3.5~2.5 的模拟酸雨使杜仲的 LCP、LSP 显著下降.本研究中 pH 2.5、pH 3.5 处理的光补偿点(LCP)高于对照、光饱和点(LSP)低于对照,差异均极显著.表明强酸雨胁迫降低了乌药利用强光和弱光的能力,是导致酸雨胁迫下乌药光合速率降低的一个重要原因.

叶绿素可以将捕获的光能转化为化学能,在植物光合作用的过程中起着非常重要的作用.已有研究表明,模拟酸雨可以使树木幼苗叶绿素含量降低<sup>[29]</sup>.本研究中,模拟酸雨显著降低了乌药叶片相对叶绿素含量,叶绿素含量减少,捕获光能的能力减

弱,这也是酸雨胁迫下乌药光合速率降低的原因之一.

胞间  $CO_2$  浓度的变化可以表征植物对  $CO_2$  利用率的高低<sup>[30]</sup>,模拟酸雨处理乌药叶片胞间  $CO_2$  浓度均比对照高,说明酸雨胁迫降低了乌药对  $CO_2$  的利用能力.田大伦等<sup>[31]</sup>认为,酸雨能破坏或解体叶片细胞中的线粒体,氧化磷酸化解偶联,引起暗呼吸速率增大.呼吸作用增大使植物消耗增多,可能是酸雨抑制生长的一个重要原因<sup>[32]</sup>.从本研究可看出,pH 2.5、pH 3.5 模拟酸雨处理使得乌药幼苗暗呼吸速率( $R_d$ )高于对照,乌药的有机物合成减少而消耗增加,会影响植物的生长.

光合机构受损也会使叶片光合速率下降,叶绿素荧光参数  $F_v/F_m$  和  $F_v/F_o$  是研究植物光合生理状态的重要参数.乌药叶片  $F_v/F_m$  和  $F_v/F_o$  随着酸雨酸度的增加而减小,pH 2.5 处理与对照差异极显著,这和对假俭草(*Eremochloa ophiuroides*)<sup>[33]</sup>进行模拟酸雨实验中, $F_v/F_m$  和  $F_v/F_o$  随着酸雨酸度的增加而减小的结果一致.表明 PS II 的电子传递效率降低,光合磷酸化解偶联,同化力形成减少,降低了乌药对光能的转换效率,从而降低了叶片的光合作用.

植物细胞具有氧化还原系统,能维持生理条件下细胞的氧化还原平衡.酶促氧化还原反应主要依赖 SOD、POD 等抗逆性酶.只有在各种酶的协同作用下,才能有效清除细胞内的活性氧,使细胞免于氧化损伤<sup>[34]</sup>.研究表明,环境引起自由基的累积与膜

伤害有密切的关系,自由基伤害植物的机理之一,就在于它能够启动膜脂过氧化或膜脂脱脂作用,从而破坏膜结构<sup>[35]</sup>。酸雨胁迫使植物细胞产生了大量的活性氧自由基,导致了细胞的氧化损伤。乌药叶片SOD活性升高以清除胁迫时植物体内产生的活性氧自由基 $O_2^-$ ,但是随着酸度的进一步增强, $O_2^-$ 进一步积累和 $H_2O_2$ 产生毒性更强的 $\cdot OH$ ,直接导致了SOD活性的降低,所以在实验中呈现出了SOD活性在pH 4.5处理时比对照升高,而后随着酸度增强,SOD活性有比对照降低的趋势。POD对多种胁迫具有响应,能降解 $H_2O_2$ 。研究中乌药叶片POD活性比对照极显著增加( $P < 0.01$ ),增强了对 $H_2O_2$ 的清除能力。酸雨胁迫还引起乌药叶片细胞膜的膜脂过氧化,MDA含量增加,细胞质膜透性增大,这与模拟酸雨胁迫对橡胶榕(*Ficus elastica* cv)<sup>[36]</sup>的影响中,MDA质量摩尔浓度随着pH值的降低均逐渐增高的结论一致。反映出模拟酸雨已经对乌药叶片细胞膜产生伤害;酸度越高,细胞膜受到的伤害越明显。

通过模拟酸雨对乌药生理生态特性的影响可以看出,在酸雨胁迫下,乌药对光能的利用能力下降;进行光合作用所依赖的叶绿素含量减少;叶肉细胞的光合活性减弱;叶片细胞膜脂过氧化加剧,细胞结构受到损伤;导致叶片日均净光合速率、最大净光合速率下降,降低了乌药的光合能力,进而影响乌药的生长和发育。目前越来越严重的酸雨对乌药的栽培和生长将产生严重影响。

#### 参考文献 (References):

- [1] 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): 5-12.  
FENG Zong-wei. The effect and protect methods on acid rain to land ecosystems[J]. *China Engineering Science*, 2000, 9(2): 5-12.
- [2] 庄捷, 陈奋飞, 陈岩松, 等. 酸雨对林木伤害的研究[J]. 西部林业科学, 2006, 35(1): 129-133.  
ZHUANG Jie, CHEN Fen-fei, CHEN Yan-song, et al. The injure of the acid rain to forest[J]. *Western Forestry Science*, 2006, 35(1): 129-133.
- [3] PRACTOR J T A. Effects of stimulate sulfuric acid rain on apple tree *foliar*, nutrient content, yeild and fruit quality[J]. *Environ Exprimnt Botany*, 1983, 23(2): 167-174.
- [4] 潘瑞炽, 董愚得. 植物生理学(上下册)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1979: 17-21(上), 142-143(下).
- PAN Rui-chi, DONG Yu-de. *Plant Physiology* [M]. Beijing: High Education Press, 1979: 17-21, 142-143.
- [5] 李志国, 姜卫兵, 翁忙玲, 等. 模拟酸雨对木兰科树种叶片膜脂过氧化和抗氧化系统的影响[J]. 生态环境, 2007, 16(3): 779-784.  
LI Zhi-guo, JIANG Wei-bing, WENG Mang-ling, et al. Effects of simulated acid rain on membrane lipid peroxidation and antioxidant system of Magnoliaceae tree species [J]. *Ecology and Environment*, 2007, 16(3): 779-784.
- [6] 徐苏凌, 方勇, 邢承华. 酸雨和Cd胁迫对紫花苜蓿生长和抗氧化酶系统的影响[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2008, 34(4): 467-472.  
XU Su-ling, FANG Yong, XING Cheng-hua. Complex effects of acid rain and cadmium on growth and antioxidant system of alfalfa [J]. *Journal of Zhejiang University: Agriculture & Life Sciences*, 2008, 34(4): 467-472.
- [7] 付晓萍, 田大伦, 黄智勇. 模拟酸雨对植物形态学效应的影响[J]. 浙江林学院学报, 2006, 23(5): 521-526.  
FU Xiao-ping, TIAN Da-lun, HUANG Zhi-yong. Effects of simulated acid rain on phytomorphology [J]. *Journal of Zhejiang Forestry College*, 2006, 23(5): 521-526.
- [8] 梁骏, 麦博儒, 郑有飞, 等. 模拟酸雨对油菜生长产量及品质的影响[J]. 生态学报, 2008, 28(1): 274-283.  
LIANG Jun, MAI Bo-ru, ZHENG You-fei, et al. Effects of simulated acid rain on the growth yield and quality of rape [J]. *Acta Ecology Sinica*, 2008, 28(1): 274-283.
- [9] 王应军, 邓仕槐, 姜静, 等. 酸雨对木芙蓉幼苗光合作用及抗氧化酶活性的影响[J]. 核农学报, 2011, 25(3): 0588-0593.  
WANG Ying-jun, DENG Shi-huai, JIANG Jing, et al. Effects of acid rain on photosynthesis and antioxidant eneyme activity of *H. mitabilis* L. seedlings [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2011, 25(3): 0588-0593.
- [10] 王润元, 姚桃峰, 王鹤龄, 等. 孕穗期模拟酸雨对春小麦叶片光合气体交换特性及产量的影响[J]. 草业学报, 2011, 20(1): 237-241.  
WANG Run-yuan, YAO Tao-feng, WANG He-ling, et al. Effects of simulated acid rain on photosynthetic characteristics of gas exchange and yield of field-grown spring wheat at the booting stage [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2011, 20(1): 237-241.
- [11] 彭彩霞, 彭长连, 林桂珠, 等. 模拟酸雨对农作物种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2003, 11(4): 400-404.

- PENG Cai-xia, PENG Chang-lian, LIN Gui-zhu, et al. Effects of simulated acid rain on seed germination and seedling growth of three crops[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2003, 11(4): 400-404.
- [12] 齐泽民, 钟章成, 杨万勤. 模拟酸雨对杜仲抗性生理及药用有效成分含量的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2006, 12(2): 190-194.
- QI Ze-min, ZHONG Zhang-cheng, YANG Wan-qin. Effects of simulated acid rain on resistance physiology and medicinal components of *Eucommia ulmoides*[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2006, 12(2): 190-194.
- [13] 张敏. 模拟不同环境条件下药用植物半夏的形态与生理反应研究[D]. 重庆: 西南大学, 2011.
- ZHANG Min. *Studies on Morphological and Physiological Responses of Medicinal Plant Pinellia Ternate Breit under Different Simulated Environmental Conditions*[D]. Chongqing: Southwest University, 2011.
- [14] 李庆林, 俞桂新, 窦昌贵, 等. 乌药提取物的镇痛抗炎作用研究[J]. *中药材*, 1997, 20(12): 629-637.
- LI Qing-lin, HAO Gui-xin, DOU Chang-gui, et al. Studies on the analgesic and antiinflammatory action of *Lindera aggregata* extract [J]. *Chinese Herbal Medicine*, 1997, 20(12): 629-637.
- [15] 蔡立红, 俞桂新, 王峥涛, 等. 高效液相色谱法测定乌药中乌药醚内酯的含量[J]. *中国中药杂志*, 2004, 29(7): 657-658.
- CAI Li-hong, HAO Gui-xin, WANG Zheng-tao, et al. Studies on quality standards of radix angelicae dahuricae[J]. *China Journal of Chinses Materia Medica*, 2004, 29(7): 657-658.
- [16] 周仰青, 陈庆辉, 洪可俊. 乌药药用部位考证[J]. *李时珍国医国药*, 1999, 10(4): 320-324.
- ZHOU Yang-qing, CHEN Qing-hui, HONG Ke-jun. Medicinal parts of *Lindera aggregata* [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 1999, 10(4): 320-324.
- [17] 徐德才. 酸雨污染与防治: 浙江区域酸雨趋势与防治对策[J]. *能源环境保护*, 1995, 9(4): 25-28.
- XU De-cai. Contamination and prevention of acid rain; the current of acid rain and prevention countermeasure in Zhejiang Province [J]. *Energy Environmental Protection*, 1995, 9(4): 25-28.
- [18] 齐泽民, 钟章成. 模拟酸雨对杜仲光合生理及生长的影响[J]. *西南师范大学学报: 自然科学版*, 2006, 31(2): 151-156.
- QI Ze-min, ZHONG Zhang-cheng. Effects of simulated acid rain on photosynthesis and growth of *Eucommia ulmoides* Oliv [J]. *Journal of Southwest China Normal University: Natural Science Edition*, 2006, 31(2): 151-156.
- [19] 殷秀敏, 余树全, 江洪, 等. 模拟酸雨对两种针叶植物气体交换和叶绿素荧光特性的影响[J]. *浙江林业科技*, 2009, 29(5): 13-18.
- YIN Xiu-min, YU Shu-quan, JIANG Hong, et al. Effect of simulated acid rain on leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence of two conifer trees [J]. *Journal of Zhejiang Forestry Science*, 2009, 29(5): 13-18.
- [20] 鲁美娟, 江洪, 李巍, 等. 模拟酸雨对刨花楠幼苗生长和光合生理的影响[J]. *生态学报*, 2009, 29(11): 5986-5992.
- LU Mei-juan, JIANG Hong, LI Wei, et al. Effects of simulated acid rain on growth and photosynthetic physiology of *Machilus pauhoi* [J]. *Acta Ecology Sinica*, 2009, 29(11): 5986-5992.
- [21] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 1990: 154-155.
- ZHANG Zhi-liang. *Guidance of Plant Physiology Experiments* [M]. 2nd ed. Beijing: High Education Press, 1990: 154-155.
- [22] CHO U H, PARK J O. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings [J]. *Plant Science*, 2000, 156: 1-9.
- [23] 赵世杰, 许长城, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. *植物生理学通讯*, 1991, 30(3): 207-210.
- ZHAO Shi-jie, XU Chang-cheng, ZOU Qi, et al. Improvements of method for measurement of Malondialdehyde in plant tissues [J]. *Plant Physiology Communications*, 1991, 30(3): 207-210.
- [24] 王正秋, 江行玉, 王长海. 铅、镉和锌污染对芦苇幼苗氧化胁迫和抗氧化能力的影响[J]. *过程工程学报*, 2002, 2(6): 558-563.
- WANG Zheng-qiu, JIANG Xing-yu, WANG Chang-hai. Lead cadmium and zinc pollution on oxidative stress and antioxidant capacity of *Phragmites jeholensis* [J]. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 2002, 2(6): 558-563.
- [25] MAXWELL K, JOHNSON G N. Chlorophyll fluorescence a practical guide [J]. *Experiment Botany*, 2000, 51(345): 659-668.
- [26] 邱栋梁, 刘星辉, 郭素枝. 模拟酸雨对龙眼叶片气体交换和叶绿素 a 荧光参数的影响[J]. *植物生态学报*, 2002, 26(4): 441-446.
- QIU Dong-liang, LIU Xing-hui, GUO Su-zhi. Effects of simulated acid rain on gas exchange and

- chlorophyll fluorescence parameters of *Dimocarpus longiana* Lour[J]. **Plant Ecology**, 2002, 26(4): 441-446.
- [27] 吴根良,何勇,王永传,等. 不同光照强度下卡特兰和蝴蝶兰光合作用和叶绿素荧光参数日变化[J]. 浙江农林大学学报, 2008, 25(6): 733-738.  
WU Gen-liang, HE Yong, WANG Yong-chuan, et al. Diurnal changes of photosynthesis and chlorophyll fluorescence in *Cattleya hybrida* and *Phalaenopsis amabilis* with different light intensities[J]. **Journal of Zhejiang Forestry College**, 2008, 25(6): 733-738.
- [28] 郑飞翔,温达志,旷远文. 模拟酸雨对柚木幼苗生长、光合与水分利用的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2006, 14(2): 93-99.  
ZHENG Fei-xiang, WEN Da-zhi, KUANG Yuan-wen. Effects of simulated acid rain on growth photosynthesis and water use efficiency in *Tectona grandis* [J]. **Journal of Tropical and Subtropical Botany**, 2006, 14(2): 93-99.
- [29] YU C Z, WEN D Z, PENG C L. Sensitivity and resistance of three woody species to acid rain pollution [J]. **Ecology and Environment**, 2005, 14(1): 86-90.
- [30] 刘庆忠,董合敏,刘鹏,等. 板栗的光合特性研究[J]. 果树学报, 2005, 22(4): 335-338.  
LIU Qing-zhong, DONG He-min, LIU Peng, et al. Studies on the photosynthetic characteristics of chestnut trees[J]. **Journal of Fruit Science**, 2005, 22(4): 335-338.
- [31] 田大伦,付晓萍,方晰,等. 模拟酸雨对樟树幼苗光合特性的影响[J]. 林业科学, 2007, 43(8): 29-35.  
TIAN Da-lun, FU Xiao-ping, FANG Xi, et al. Effects of simulated acid rain on photosynthetic characteristics in *Cinnamomum camphora* seedlings [J]. **Scientia Silvae Sinicae**, 2007, 43(8): 29-35.
- [32] 邱栋梁,刘星辉. 酸雨对园艺植物危害机理的研究进展[J]. 福建农业大学学报:自然科学版, 1999, 28(1): 28-32.  
QIU Dong-liang, LIU Xing-hui. Research on acid rain damage to the garden plants[J]. **Journal of Fujian Agricultural University: Natural Science Edition**, 1999, 28(1): 28-32.
- [33] 马博英,徐礼根,蒋德安. 模拟酸雨对假俭草叶绿素荧光特性的影响[J]. 林业科学, 2006, 42(11): 8-11.  
MA Bo-ying, XU Li-gen, JIANG De-an. Effects of simulated acid rain on chlorophyll fluorescence of *Eriochloa ophiuroides* [J]. **Forestry Science**, 2006, 42(11): 8-11.
- [34] POLESSKAYA O G, KASHIRIAN E I, ALEKHI-NA N D. Changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat leaves and roots as a function of nitrogen source and supply[J]. **Russian Journal of Plant Physiology**, 2004, 51(5): 615-620.
- [35] 王江,张崇邦,柯世省,等. 模拟酸雨和铜复合污染对白花泡桐生理特性的影响及其解毒机制[J]. 应用生态学报, 2010, 21(3): 577-582.  
WANG Jiang, ZHANG Chong-bang, KE Shi-xing, et al. Complex effects of simulated acid rain and Cu on the physiological characteristics of *Paulownia fortunei* and its detoxification mechanism [J]. **Chinese Journal of Applied Ecology**, 2010, 21(3): 577-582.
- [36] 吴中军,李君可. 模拟酸雨胁迫对橡胶榕生理生化特征的影响[J]. 东北林业大学学报, 2011, 39(3): 26-27.  
WU Zhong-jun, LI Jun-ke. Effects of simulated acid rain on physiological and bio-chemical characteristics of *Ficus elastica* cv [J]. **Journal of Northeast Forestry University**, 2011, 39(3): 26-27.