

文章编号: 100F 1498(2002) 02 0219 06

# 酸雨对树木叶细胞伤害的模拟研究

黄继山, 温文保, 蔺万煌, 朱卫平, 孔振兰

(湖南农业大学, 湖南 长沙 410128)

摘要: 模拟酸雨对树木叶细胞伤害的研究表明, 酸雨对树木造成直接(可见)伤害前已对叶细胞产生伤害。主要表现为叶肉细胞结构被破坏, 叶绿素含量减少, 细胞质膜透性增大。

关键词: 酸雨; 树木叶细胞; 伤害; 阈值

中图分类号: X517 文献标识码: A

酸雨污染对森林植物的伤害, 已引起国内外广泛关注。早有人指出<sup>[1]</sup>, 酸雨对树木直接伤害前可能已产生了叶细胞伤害。即树木叶细胞受酸雨的伤害比直接伤害更敏感。但是, 关于酸雨对树木叶细胞伤害方面的研究报道所见不多。为此, 于1998年10月作了模拟酸雨对树木叶细胞伤害的试验研究, 现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选用樟树(*Cinnamomum camphora* (L.) Presl)、柑桔(*Citrus reticulata* Blanco)、泡桐(*Paulownia fortunei* (Seem.) Hemsl.) 和马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.) 的离体叶片作试验材料。供试叶片为成熟叶, 叶色鲜绿, 无病虫害伤害。试验前对采样予以保鲜处理。

### 1.2 模拟酸雨的配制

用自然降水作模拟酸雨配制的母液, 其pH值平均为5.8, 主要化学成分如表1所示。用适当浓度的硫酸( $H_2SO_4$ )调制出6种pH值为2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5酸度的模拟酸雨。用自然降水(pH5.8)为对照。

表1 自然降水(母液)的主要化学成分

化学成分	$SO_4^{2-}$	$Cl^-$	$NO_3^-$	$NH_4^+$	$K^+$	$Ca^{2+}$
离子含量/ ( $mg\ L^{-1}$ )	7.01	0.71	1.24	1.65	0.20	2.32

### 1.3 试验方法与观察项目

1.3.1 对叶片的酸雨处理 将供试的鲜叶浸入不同pH值的模拟酸雨中。每一树种有6个处理和1个对照。待浸泡叶片开始褪绿(记录叶片褪绿所需时间)将其取出, 然后加以固定制成石蜡切片(厚8 $\mu$ m), 用海化苏木精染色。

用Olympus BH-2型显微镜观察叶肉细胞受酸雨伤害的症状, 并拍摄成照片。观察不同pH值的模拟酸雨对叶肉细胞外型、细胞膜、液泡、细胞质、细胞核、叶绿体等的影响。

收稿日期: 2001-04-13

基金项目: 湖南省林业厅资助项目

作者简介: 黄继山(1956), 男, 湖南宜章人, 副教授。

1.3.2 叶绿素含量的测定 用分光光度计测定不同 pH 值的模拟酸雨对叶绿素含量的影响。

1.3.3 叶肉细胞质膜外渗能力测定 用 DDS-11A(上海产)电导仪测定在不同 pH 值的模拟酸雨影响下叶肉细胞的外渗电导率,了解细胞膜透性变化。用 WFX-1D(南京产)原子吸收分光光度计测定在不同 pH 值的模拟酸雨影响下叶肉细胞外渗液中  $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$  含量,了解酸雨对叶细胞外渗能力的影响。

## 2 结果与分析

### 2.1 酸雨对叶肉细胞的伤害

实验结果表明,供试的4种树叶,樟树叶表现为对酸雨极不敏感,在6种处理中经72h以上均未失绿褪色,完好如初,表明樟树一般不受酸雨危害。此结果与酸雨对树木直接伤害的试验结果一致<sup>[2]</sup>。而其它3种树叶在pH4.5的模拟酸雨中处理48h,甚至72h以上,它们也未失绿褪色,叶肉细胞未受酸雨的影响。

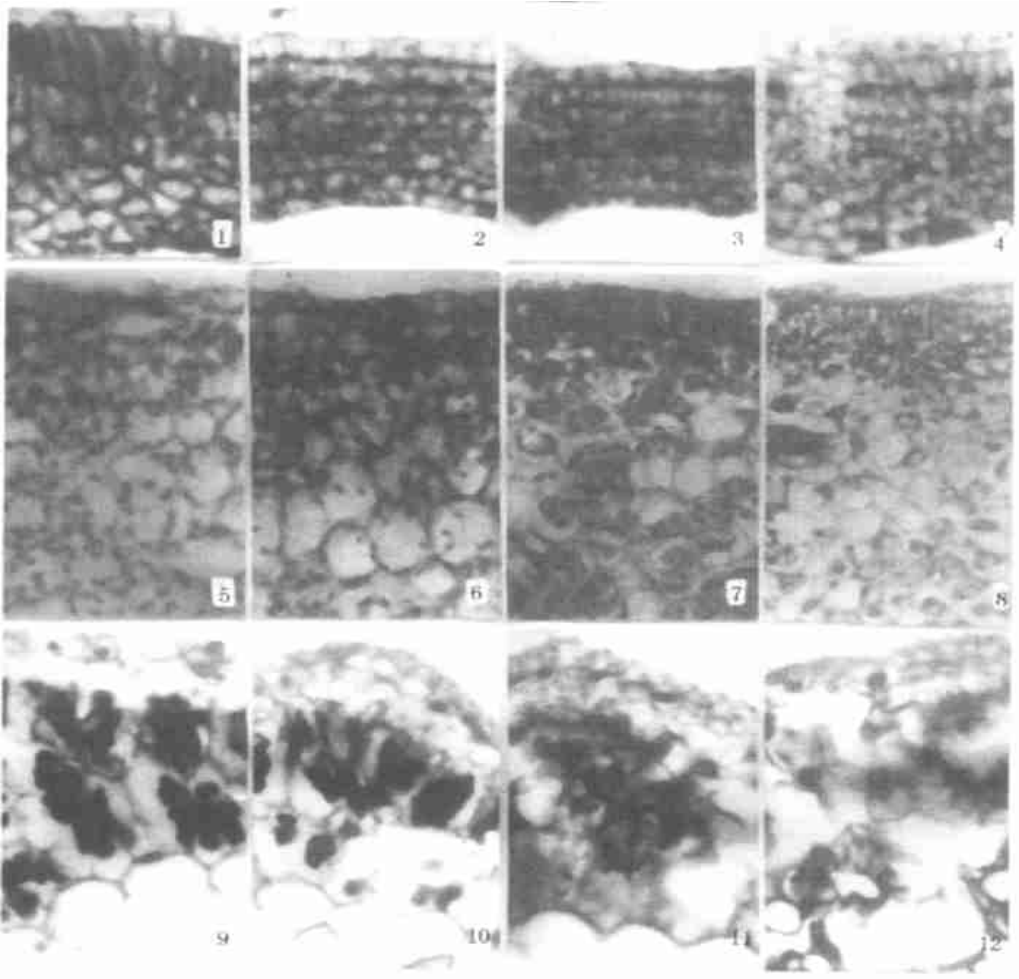
在pH4.0的模拟酸雨处理中,柑桔叶经6h,泡桐叶经9h,马尾松叶经24h后变黄。随着pH值的变小,叶片转黄历时缩短,在pH2.0的模拟酸雨处理中,柑桔叶和泡桐叶仅2h后,马尾松叶10h后转黄。

在显微镜下观测到,受酸雨伤害后,开始是少量叶肉细胞受害,表现为细胞质凝集成团,液泡失水而体积缩小,产生质壁分离现象,然后叶绿体被逐渐解体,液泡膜被破坏等。随着酸度的增大和历时的增加,伤害逐渐加重,严重时仅存细胞空腔,甚至有的连细胞壁也遭破坏,仅留细胞壁碎片(见图1)。

综上所述,除像樟树那样对酸雨反应不敏感的树种外,一定pH值的酸雨对树木叶片的叶肉细胞会造成伤害。参考他人<sup>[1-3]</sup>的研究和本试验结果认为,pH>4.0的酸雨对某些树木叶细胞可能造成伤害,但伤害轻微,在树木生长过程中不断产生的新细胞,可以弥补受伤害的组织;pH<4.0的酸雨对树木叶细胞的伤害加重,叶肉细胞的结构被破坏,在树木生长过程中难以恢复;pH2.0以下的酸雨使叶肉细胞结构完全被破坏,不能恢复,甚至死亡。除酸雨的pH值外,酸雨对叶肉细胞结构的破坏症状,还因树种、叶面结构、接触酸雨时间长短而异。

### 2.2 酸雨对叶绿素含量的影响

酸雨对树木叶片直接(可见)伤害的典型症状是叶色褪绿变淡,叶面有黄褐色伤斑;伤害严重的会造成叶片枯萎而提前脱落。本试验测定了不同pH值的模拟酸雨对马尾松针叶叶绿素含量的影响(表2)。可以看出,在pH3.5~4.0间的酸雨影响下,无论是叶绿素a、叶绿素b的含量,还是叶绿素总量均比对照减少10%以上;随着酸雨的pH值变小,叶绿素含量降低得更多。从叶绿素组成看,叶绿素a、叶绿素b含量的变化特征与叶绿素总量的变化趋势大体一致。除个别例外,叶绿素a、叶绿素b的比值在各个处理中的变化不大。这说明,酸雨对叶绿素a或叶绿素b含量的影响没有显著差异。



1~ 4 为泡桐 (1. 对照,  $\times 330$ ; 2. pH4. 0,  $\times 165$ ; 3. pH3. 0,  $\times 165$ ; 4. pH2. 0,  $\times 165$ )  
 5~ 8 为柑桔 (5. 对照,  $\times 300$ ; 6. pH4. 0,  $\times 300$ ; 7. pH3. 0,  $\times 240$ ; 8. pH2. 0,  $\times 200$ )  
 9~ 12 为马尾松 (9. 对照,  $\times 330$ ; 10. pH4. 0,  $\times 330$ ; 11. pH3. 0,  $\times 330$ ; 12. pH2. 0,  $\times 330$ )

图 1 模拟酸雨对树木叶肉细胞的伤害

表 2 模拟酸雨对马尾松叶绿素含量的影响

pH 值	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	(对照)
叶绿素 a/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	1.134	1.241	1.487	1.732	1.941	1.982	1.994
比对照少/%	43.1	37.8	25.4	13.2	2.7	0.6	0.0
叶绿素 b/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	0.429	0.469	0.545	0.647	0.718	0.743	0.753
比对照少/%	43.0	37.7	27.6	14.1	4.6	1.3	0.0
叶绿素总量/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	1.840	2.134	2.471	2.631	2.967	3.114	3.224
比对照少/%	42.9	33.8	23.4	18.3	8.0	3.40	0.0
叶绿素 a/b	2.64	2.64	2.72	2.67	2.67	2.66	2.65

关于酸雨对叶绿素含量影响的机制, 目前认识还不一致。Admas 报道<sup>[4]</sup>, 酸雨损伤叶面, 通过气孔而影响叶绿体片层结构。Morrison 指出<sup>[5]</sup>, 酸雨淋洗叶片中  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{K}^{+}$  等阳离

子,而  $Mg^{2+}$  是叶绿素形成所不可缺乏的物质,这可能是酸雨使得叶绿素含量减少的主要原因。本试验表明,用不同 pH 值的酸雨处理后,柑桔、泡桐、马尾松叶片的叶绿体被部分解体。这应为叶绿素含量降低的重要原因。

### 2.3 酸雨对细胞质膜透性的影响

鉴于细胞质膜透性对外界胁迫因子的敏感性,本试验测定了模拟酸雨对柑桔、泡桐叶片的外渗率和电解质外渗液中  $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$  含量的影响。结果如表 3 所示。

从表中看出,柑桔、泡桐叶的外渗电导率,外渗液中  $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$  等含量受酸雨的影响,随着 pH 值变小都呈增大趋势。这可能是在酸雨的刺激下,细胞质膜透性增强。pH 值愈小的酸雨对细胞质膜的刺激愈大,其透性增强愈多。如柑桔叶在 pH4.0 的模拟酸雨影响下,电导率和  $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$  等离子含量比对照(pH5.8 的雨水)增加 10% 以上,随着 pH 值变小,它们增加更多更快。电解质大量外渗而造成细胞质的离子平衡失调,严重时导致细胞的解体或死亡。

表 3 模拟酸雨对叶细胞膜外渗率和外渗液中离子含量的影响

树种	项 目	pH 值						
		对照	4.5	4.0	3.5	3.0	2.5	2.0
柑桔	外渗率/%	4.95	4.96	5.41	5.60	6.39	6.35	6.51
	比对照增加/%	0.00	0.20	9.30	13.10	29.1	28.3	31.5
	$K^+$ 含量/( $mg \cdot g^{-1}$ )	9.81	9.84	10.86	11.90	12.65	13.56	14.50
	比对照增加/%	0.00	0.30	10.70	21.30	29.0	38.2	47.8
	$Na^+$ 含量/( $mg \cdot g^{-1}$ )	0.24	0.26	0.29	0.34	0.33	0.36	0.40
	比对照增加/%	0.00	8.30	20.80	41.70	37.5	50.0	66.7
	$Mg^{2+}$ 含量/( $mg \cdot g^{-1}$ )	1.23	1.25	13.80	1.42	1.65	1.84	2.34
	比对照增加/%	0.00	1.60	12.30	15.40	34.1	49.6	90.2
泡桐	外渗率/%	8.96	9.01	9.81	10.41	11.60	12.30	12.61
	比对照增加/%	0.00	0.50	9.40	16.2	29.5	37.3	40.7
	$K^+$ 含量/( $mg \cdot g^{-1}$ )	7.62	7.72	9.42	9.37	10.1	10.93	11.97
	比对照增加/%	0.00	1.30	23.6	22.9	33.1	43.4	57.1
	$Na^+$ 含量/( $mg \cdot g^{-1}$ )	0.22	0.24	0.29	0.31	0.36	0.32	0.39
	比对照增加/%	0.00	9.10	22.7	40.9	63.6	45.5	77.3
	$Mg^{2+}$ 含量/( $mg \cdot g^{-1}$ )	2.46	2.49	2.87	3.04	3.41	4.02	4.66
	比对照增加/%	0.00	1.20	16.7	23.6	38.6	63.4	89.4

试验表明,酸雨对叶细胞质膜透性的影响比对叶片可见伤害要敏感。如 pH3.5 的酸雨对柑桔、泡桐的叶片还不会造成直接伤害,但对叶细胞外渗能力已有明显影响。从表 3 可看出,叶片的外渗率和外渗液中  $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$  含量比对照要增加 13% 以上。可见,酸雨对树木叶片造成可见伤害前,叶细胞的营养物质因酸雨影响而析出,造成树木叶细胞的伤害,树木的生长发育受阻。如上所述,酸雨淋洗出叶片中的  $Mg^{2+}$ ,可能是酸雨造成叶绿素含量减小的主要原因,这与他人<sup>[7]</sup>的研究结果一致。

### 2.4 对树木叶细胞伤害的酸雨阈值

诸多研究都指出<sup>[1~3]</sup>,酸雨对树木伤害受许多因素的影响,但酸雨 pH 值(酸度)的影响是最主要因素。

关于对树木叶细胞产生伤害的酸雨阈值讨论如下:

(1) 基于酸雨对树木叶细胞产生伤害比直接伤害要敏感的认识, 可以推断叶细胞伤害的阈值(pH 值) 要比直接伤害的阈值高些。如柑桔、水杉(*Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng) 等对酸雨反应较敏感的树种, 它们受酸雨直接伤害的阈值为 pH3.0 左右, 而叶细胞伤害的阈值, 根据试验可定为 pH4.0 左右(见表 4)。

表 4 对树木叶细胞造成伤害的酸雨阈值

对酸雨的敏感性	代表树种	叶细胞伤害的阈值(pH)	直接伤害的阈值 <sup>①</sup> (pH)
较敏感	柑桔、水杉、泡桐	4.0	3.0
中 等	马尾松、杉木( <i>Cunninghamia lanceolata</i> (Lamb.) Hook.), 银杏( <i>Ginkgo biloba</i> L.)	3.0	2.5
一 般	广玉兰( <i>Magnolia grandiflora</i> L.), 桂花树( <i>Osmanthus fragrans</i> Lour.)	3.0	2.0
不敏感	樟树、棕榈( <i>Trachycarpus fortunei</i> (W. J. Hooker) Wendl.)	< 2.0	< 2.0

①结果引自参考文献[2]。

(2) 用可测定或对酸雨反应较敏感的一些指标(如叶绿素含量、叶细胞膜外渗液电导率等), 在树木叶片接触酸雨后, 受到影响而使之增减 10% 以上, 可作为对树木叶细胞造成伤害酸雨阈值的判别标准。如马尾松针叶在接触 pH3.5 的酸雨后(见表 2), 其叶绿素 a、b 含量比对照都减少 10% 以上, 可认为 pH3.5 是对马尾松针叶细胞产生伤害的酸雨阈值。

(3) 综合本试验和调查, 可以认为 pH > 4.0 的酸雨不会对树木叶细胞造成伤害, 即使对酸雨反应敏感的树种可能受到伤害, 但也是轻微的, 在树木生长过程中很快得到恢复。对于多数树种而言, 它们的叶细胞受伤害的酸雨阈值为 pH3.0~4.0。这个 pH 值范围内, 对多数树种还不会造成直接伤害<sup>[6]</sup>, 但细胞伤害(包括生理功能)则已产生。对酸雨反应不敏感的一些树种, 如樟树、棕榈等的叶片有较厚腊质层, 即使 pH2.0 的酸雨也不能损伤叶表面组织, 难以产生叶细胞伤害。它们叶细胞受伤害的酸雨阈值在 pH2.0 以下。目前 pH < 2.0 的酸雨(或酸雾)污染还罕见, 即实际的酸雨污染还不会对这类树木产生叶细胞伤害。

### 3 小结与讨论

(1) 一定 pH 值的酸雨对树木叶细胞产生伤害, 主要表现为叶肉细胞的结构被破坏, 叶绿素含量受影响, 细胞质膜外渗能力增大。试验表明, 酸雨对树木叶片造成直接伤害前已对叶细胞产生伤害, 即细胞伤害比直接伤害要敏感。细胞伤害为肉眼难见的隐性伤害, 受长期酸雨影响, 叶细胞伤害对树木的危害更为严重。这可能是酸雨造成大片森林衰亡的重要原因。

(2) 酸雨对树木叶细胞产生伤害受诸多因素的影响。但是, 酸雨的 pH 值仍是产生细胞伤害的最主要因素。当降水的 pH 值低于细胞伤害的酸雨阈值, 在树木叶细胞接触酸雨后就会产生伤害。而降水的 pH 值较高(高于阈值), 叶片即使接触酸雨多次或较长时间也不会产生细胞伤害。在自然状况下, pH 值小于 4.0 的酸雨对较敏感的树种的叶细胞就可能产生伤害。

(3) 对叶细胞伤害的酸雨阈值确定有重要的意义, 目前还缺乏系统的研究, 也没有像研究直接伤害那样, 用受害叶面积达 5% 作为确定酸雨阈值的通用标准。本试验提出的叶片接触

酸雨后,选择某些可测定或反应较敏感的指标增减 10% 以上作为确定阈值的标准,但是在实际运用中操作起来会有困难。如受仪器设备和技术的限制,一些指标测定困难。还有指标选择的问题,选择多项指标进行综合评估应更为合理些,这有待深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 张耀民,吴丽英,王晓霞,等. 酸雨对农作物叶片伤害及生理特征的影响[J]. 农业环境保护, 1996, 15(5): 197~ 208
- [2] 高绪平,曹洪法,舒俭民. 105 种植物对模拟酸雨的反应[J]. 中国环境科学, 1987, 7(2): 16~ 20
- [3] 周忠泽,鲁润龙,葛磊. 模拟酸雨处理与四种植物叶、花关系的初步研究[J]. 生物学杂志, 1998, 15(2): 27~ 31
- [4] Adams C M, Dengler N G, Hutchinson T C. Acid rain effects on foliar history of *Artemisia tilesii* [J]. Canadian Journal of Botany, 1984, 62: 463~ 474
- [5] Morrison I K. Acid rain, forests and forestry[A]. In: Stone E L. Forest Soils and Treatment Impacts[C]. Proc Sixth N Amer For Soils Conf, 1983. The University of Tennessee, Knoxville TN, 1984. 209~ 219
- [6] 王玮. 模拟酸雨处理的青菜显微和亚显微结构观察及部分生理指标测定[J]. 环境科学, 1989, 9(3): 12~ 17
- [7] 高吉喜,曹洪法,舒俭民. 酸雨对植物新陈代谢的影响[J]. 环境科学研究, 1996, 9(4): 41~ 45

## Damage of Simulated Acid Rain to Tree's Mesophyll Cells

*HUANG Ji-shan, WEN Wen-bao, LIN Wan-huang, ZHU Wei-ping, KONG Zhen-lan*

(Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China)

**Abstract:** The damage of simulated acid rain to mesophyll cell was studied. The results showed that the damage to mesophyll cells occurred before visible damage to tree. These damage includes mesophyll cell being destroyed, contents of chlorophyll decreasing and permeability of plasma membrane increasing.

**Key words:** acid rain; tree's mesophyll cell; damage; threshold value