# SO。暴露方式与油松生长的关系

唐鸿寿<sup>1</sup>, AOKI Masatoshi<sup>2</sup>, TOTSUKA Tsumugu<sup>2</sup>

(1. 中国科学院生态环境研究中心 ,北京 100085; 2. Tokyo University of Agriculture and Technology , Tokyo , Japan)

摘要:苗龄为 87d 的油松(  $Pinus\ tabulae\ for\ mis\ Carr.$  )于 2002-07-01~08-29 在 3 个处理组进行  $SO_2$  暴露实验 60 昼夜 ,处理 1 和处理 2 在 24h 中  $SO_2$  浓度分别为  $0.1\ mg^{\bullet}\ m^{-3}$  和  $0.2\ mg^{\bullet}\ m^{-3}$  ,处理 3 每日 6h  $SO_2$  浓度为  $0.5\ mg^{\bullet}\ m^{-3}$  ,18h  $SO_2$  浓度为  $0.1\ mg^{\bullet}\ m^{-3}$  .经  $SO_2$  暴露后,处理 1 油松针叶气孔保卫细胞、针叶颜色未见异常;叶绿素含量、类胡萝卜素含量、光合速率、蒸腾速率、单株干重、相对生长速率与对照组无显著差异;但针叶含硫量比对照增加 17%,从针叶渗出的钾离子量比对照增加 22%。处理 2 油松气孔保卫细胞、针叶颜色未见异常;叶绿素含量、光合速率、蒸腾速率与对照组无显著差异;类胡萝卜素含量下降 5%,针叶含硫量增加 92%,从针叶渗出的钾离子量比对照增加 67%,单株干重下降 4.5%,相对生长速率下降 0.6  $mg^{\bullet}(g^{\bullet}\ d)^{-1}$  .处理 3 油松气孔保卫细胞、针叶颜色发现异常;叶绿素含量与对照组相似,但类胡萝卜素含量下降 7.6%,相对生长速率下降 1.3  $mg^{\bullet}(g^{\bullet}\ d)^{-1}$  .

关键词:油松;SO<sub>2</sub>;类胡萝卜素;钾离子

中图分类号: XI 73 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2005)01-0038-04

# Relationship Between SO<sub>2</sub> Exposure Mode and Chinese Pine Growth

TANG Hong-shou<sup>1</sup>, AOKI Masatoshi<sup>2</sup>, TOTSUKA Tsumugu<sup>2</sup>

(1. Research Center for Eco Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo, Japan)

Abstract: Chinese pine seedling, which age is 87 days, are exposed to  $SO_2$  in three treatments for 60 days from July 1, 2002 to August 29, 2002. In treatment 1 and treatment 2, the concentration of  $SO_2$  were 0.1  $mg^{\bullet}m^{-3}$  and 0.2  $mg^{\bullet}m^{-3}$ , respectively. In treatment 3, the concentration of  $SO_2$  were 0.5  $mg^{\bullet}m^{-3}$  for 6 hours and 0.1  $mg^{\bullet}m^{-3}$  for 18 hours per day. In treatment 1, the abnormity of stomata guard cell and leaf colour are not observed. There are no significant difference of chlorophyll content, carotenoid content of leaf, photosynthetic rate, transpiration rate, relative growth rate, and dry weight per plant compare with control, but the sulfur content of leaf increased 17% compare with control, the amount of potassium ion leaching from leaf increased 22% compare with control. In treatment 2, the abnormity of stomata guard cell and leaf colour are not observed. There are no significant difference of chlorophyll content, photosynthetic rate and transpiration rate compare with control. But compare with control, the carotenoid content of leaf decreased 5%, and the sulfur content of leaf increased 92%, the amount of potassium ion leaching from leaf increased 67%, dry weight decreased 4.5% per plant, the relative growth rate decreased 0.6  $mg^{\bullet}(g^{\bullet}d)^{-1}$ . In treatment 3, the abnormity of stomata guard cell and leaf colour are observed. The chlorophyll content were similar with control, but compare with control, the carotenoid content of leaf decreased 21%, and the sulfur content of leaf increased 104%, the amount of potassium ion leaching from leaf increased 89%, photosynthetic rate decreased 5%, transpiration rate increased 8%, the dry weight decreased 7.6% per plant, the relative growth rate decreased 1.3  $mg^{\bullet}(g^{\bullet}d)^{-1}$ .

Key words: Chinese pine; sulfur dioxide; carotenoid; potassium ion

高浓度  $SO_2$  气体暴露致使植物出现急性可见伤害甚至造成死亡 $[^{1,2}]$ .因条件所限,长周期连续低浓度  $SO_2$  暴露对树木影响的研究在国内鲜见报道.据 1990 年至 2002 年中国环境年鉴,我国多数酸沉降严重地区大气  $SO_2$  年均浓度极少超过 0.20 mg· m  $^{-3}$  ,甚至年均浓度低于 0.15 mg· m  $^{-3}$  .因此有必要研究实际环境中的低浓度  $SO_2$  对树木是否有影响,影响程度如何 .另外,在污染地区的实地监测发现 $[^{31}$ ,人口稠密区大气  $SO_2$  浓度变化规律是夜间低白天高,中午和晚上各出现一个高峰时段,在某些

地区高峰时段  $SO_2$  浓度可达到  $0.50\,mg^{\bullet}\,m^{-3}$ 左右,甚至更高 .因此 ,也有必要按照  $SO_2$  每日内变化规律研究  $SO_2$  与树木生长的关系 .

#### 1 材料与方法

(1) 材料为油松(Pinus tabulae formis Carr.),

收稿日期:2004-03-23;修订日期:2004-07-13

基金项目:国家自然科学基金项目(30170188);国家重点基础研究 发展规划项目(2002CB410803)

作者简介:唐鸿寿(1949~),男,学士,副研究员,主要研究方向为植物生理生态学,自1986年以来一直从事酸沉降与植物生长关系的研究. E- mail:tanghs @ mail- reces. ac. cn

将苗龄为 87d 的油松从苗圃移至容量为 500 mL 的花盆内,每盆 1 株,每个处理 50 盆.实验在 4 个室外开顶式暴露室(OTC)内进行,OTC 外形为六边形立柱体,底座对角线长度 1.2 m,高 2 m,OTC 内换气量为 5 次/min.

- (2) 处理 对照(CK),每日  $24hSO_2$  浓度为  $0.00\,mg^{\bullet}\,m^{-3}$ ;处理 1(T1),每日  $24hSO_2$  浓度保持为  $0.10\,mg^{\bullet}\,m^{-3}$ ;处理 2(T2),每日  $24hSO_2$  浓度保持为  $0.20\,mg^{\bullet}\,m^{-3}$ ;处理 2(T2),每日  $24hSO_2$  浓度保持为  $0.20\,mg^{\bullet}\,m^{-3}$ ;处理 3(T3),每日  $10:00\sim13:00$  和  $17:00\sim20:00$ ,  $SO_2$  浓度为  $0.50\,mg^{\bullet}\,m^{-3}$ ,其余时间为  $0.1\,mg^{\bullet}\,m^{-3}$ . T2 和 T3 每日内小时平均浓度一致 ,小时平均值是  $0.20\,mg^{\bullet}\,m^{-3}$ .不同处是暴露方式不同 , T2 的  $SO_2$  浓度 24h 内为  $0.2\,mg^{\bullet}\,m^{-3}$ 持续稳定不变 , T3 是模拟人口稠密区  $SO_2$  浓度每日内变化规律 . OTC 内  $SO_2$  浓度用日本  $SO_2$  源为钢瓶气体 .
- (3) 光合速率测定采用全封闭法,用美国LICOR公司LI-6200型CO₂分析仪测定[4];蒸腾速率[g•(g•h)-1]测定采用重量差法[4],为防止土壤水分蒸发干扰结果,将花盆置于一塑料袋内,只露出松苗,塑料袋口与松苗茎结合部用胶带粘牢,连同花盆一起称重;叶绿素和类胡萝卜素测定为乙醇丙酮法(乙醇 50%+丙酮 50%),测定 663nm和 645nm处的光密度值[4],样品全部采自同龄针叶,用日本HITACHI公司100-30型分光光度计测定.光密度值测定后针叶样品80℃烘干48h,称样品干重.
- (4)针叶含硫量测定方法 剪取同龄油松针叶, 80℃烘干 48h,称样品干重,用日本 HORIBA 公司 EMIA-120 型燃烧式硫磺含量分析仪测定硫含量.
- (5)针叶钾离子渗出量测定方法 取同龄针叶 10根,无离子水冲洗浮尘.样品置于广口锥瓶内,加入 100 mL 无离子水,瓶口加盖,静置 24h,取上清液,用美国 PE公司 Optima 2000 DV型等离子体发射光谱仪(ICP)测定钾离子浓度.针叶 80℃烘干 48h,称重.
- (6) 叶绿素含量、类胡萝卜素含量、光合速率,蒸腾速率、针叶含硫量、叶钾离子渗出量等项目的测定,每个处理重复测定3次,取平均值.
- (7)油松干重、相对生长速率分析的样本数量为每个处理 10 个样本.数据进行方差分析和显著性分析.相对生长速率(RGR)计算公式如下:

$$RGR = \int \frac{1}{W} \cdot \frac{dW}{dt} dt = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1}$$

W:整株植物干重变化函数:t:时间:Wi:i时刻整

株植株干重.

本实验于 2002 年 3 月至 2002 年 12 月在中国科学院生态环境研究中心实验地完成.

## 2 结果

#### 2.1 针叶颜色

SO<sub>2</sub> 暴露 60 d 后,裸眼观察发现,T1 和 T2 油松成熟叶(指针叶长度已发育完成)的颜色与 CK 油松针叶颜色一致,均为暗紫红色.而 T3 油松苗针叶颜色为绿色,表现出明显的叶色差异.幼叶在 3 个处理组与 CK 均为绿色.

## 2.2 气孔保卫细胞形态

处理 60d 后,在 150 倍显微镜下观察发现, T3 油松苗成熟叶的气孔保卫细胞内侧边缘不整齐.而 T1、T2 的油松针叶气孔保卫细胞内侧边缘整齐,与 CK 一致.这一差异仅出现在成熟叶,在幼叶中(指针叶长度未达到成熟叶长度)未见差异.表明 SO2 对气孔保卫细胞的伤害,不仅需要一定的浓度,也需要一定的暴露周期.

## 2.3 针叶含硫量

通过实验发现(图 1),浓度为 0.1 mg·m<sup>-3</sup>的 SO<sub>2</sub> 暴露对针叶硫含量的影响很小,暴露 20d 和 40d 后针叶硫含量几乎无变化,暴露 60d 后,硫含量比 CK增加 17%. T2 经 SO<sub>2</sub> 暴露 20d、40d 和 60d 后,针叶硫含量分别比 CK增加 13%,52%和 92%. T3 经 SO<sub>2</sub> 暴露 20d、40d 和 60d 后,针叶硫含量分别比 CK增加 17%,58%和 104%.上述结果表明,油松针叶硫含量与 SO<sub>2</sub> 浓度和 SO<sub>2</sub> 暴露时间均呈正相关.SO<sub>2</sub> 浓度与 SO<sub>2</sub> 暴露时间相比,SO<sub>2</sub> 浓度与针叶含硫量的相关性更高.实验中发现,CK组油松针叶含硫量不是恒定不变的,在本实验阶段,针叶含硫量随油松地上部生物量的增加而下降.

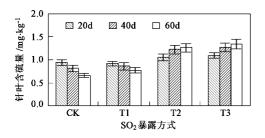
#### 2.4 钾离子渗出量

从图 2 可以看出,暴露于  $SO_2$  30d 后,  $T1 \times T2 \times T3$  油松针叶钾离子渗出量分别比 CK 增加  $15\% \times 50\%$  %和 64%;暴露 60d 后,针叶钾离子渗出量分别比 CK 增加 22% 67% 和 89%.由此可见,针叶钾离子渗出量对  $SO_2$  暴露十分敏感,与环境  $SO_2$  浓度呈正相关.

#### 2.5 叶绿素和类胡萝卜素含量

通过实验发现,油松针叶的叶绿素含量在各处理组和 CK 间变化很小,基本在同一水平(图 3).但裸眼观察发现 T3 针叶颜色异常(见 2.1 针叶颜色).因此增加了补充实验,对叶中另一类主要色素

——类胡萝卜素进行了测定,类胡萝卜素主要由叶黄素和胡萝卜素组成,其含量变化可以改变针叶颜色.对样品分析发现(图 4),T1 的类胡萝卜素含量与 CK 无差异.T2 在 SO2 暴露 30d 后,类胡萝卜素含量与 CK 无显著差异,SO2 暴露 60d 后比 CK 组下降 5%.T3 的油松经 SO2 暴露 30d 和 60d 后,类胡萝卜素含量分别比 CK 组下降 9%和 21%.在实验中还发现,正常生长的油松针叶中的类胡萝卜素含量不是恒定不变的,在不同的发育阶段有其自身的变化规律.在本实验阶段中,针叶中类胡萝卜素含量表现出随苗龄的增加而增加.



#### 图 1 不同 SO2 暴露方式和暴露周期针叶含硫量

Fig. 1 Sulfur content of needle with different SO<sub>2</sub> exposure mode and different SO<sub>2</sub> exposure period

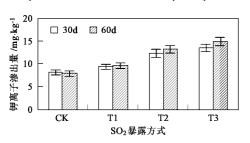


图 2 SO, 暴露后针叶钾离子渗出量

Fig. 2 Amount of potassium ion leaching from needle after exposed to  $SO_2$ 

#### 2.6 光合作用和蒸腾作用

经 SO<sub>2</sub> 暴露 60d 后发现, T1 和 T2 油松的光合作用速率与 CK 均无显著差异,仅 T3 比 CK 下降 5%.测定油松的蒸腾作用发现, T1 与 CK 无差异, T2 和 T3 分别比 CK 增加 2 %和 8 %.

## 2.7 植株干重和相对生长速率(RGR)

从图 6 知,浓度为  $0.1~mg \cdot m^{-3}$  SO<sub>2</sub> 暴露 60d 后,油松单株干重与 CK 组比较无显著差异.经 SO<sub>2</sub> 浓度为  $0.2~mg \cdot m^{-3}$  暴露 60d 后,与 CK 比,单株油松地上部干重下降 5~%,地下部干重无差异,单株油松干重下降 4.5~%.T3 的单株油松地上部干重下降 9~%,地下部干重下降 4.5~%,总重下降 7.6~%,经方差分析,差异性显著,p<0.05.从上述结果可以看出,SO<sub>2</sub> 暴露对油松地上部干重的影响大于对地下

部干重的影响 .经过  $60 ext{d SO}_2$  暴露后(表 1) ,T1 油松 RGR 与 CK 无差异. T2 油松 RGR 比 CK 下降  $0.6 ext{ mg} \cdot ( ext{g} \cdot ext{d})^{-1}$  ,T3 油松 RGR 比 CK 下降  $1.3 ext{ mg} \cdot ( ext{g} \cdot ext{d})^{-1}$  .

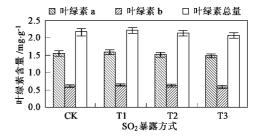


图 3 SO, 暴露后针叶叶绿素含量

Fig. 3 Chlorophyll content of needle after exposed to SO2

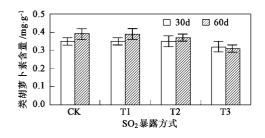


图 4 SO2 暴露后针叶类胡萝卜素含量

Fig. 4 Carotinoid content of needle after exposed to SO2

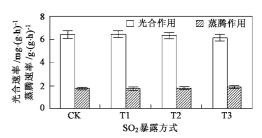


图 5 SO<sub>2</sub> 暴露后油松光合速率和蒸腾速率

Fig. 5 Photosynthetic rate and transpiration rate  $\mbox{ of Chinese pine after exposed to $SO_2$ }$ 

#### 表 1 SO<sub>2</sub> 暴露 60d 后油松的相对生长速率(RGR)<sup>1)</sup>

Table 1 Relative growth rate of Chinese pine exposure to SO<sub>2</sub> for 60 days

处理 Treat ment	CK	T1	T2	Т3
相对生长速率(g•d)-1	20.3	20.6	19.7	19.0

1) SO<sub>2</sub> 暴露前油松单株干重为 0.121 g(Initial sampling is 0.121 g)

## 3 讨论

SO<sub>2</sub> 暴露 60 d 后,油松苗龄为147 d,当时正值强日照的夏季,T3与CK组油松苗成熟针叶颜色存在显著差异.从前述结果中得知,叶色差异不是叶绿素含量差异所致.从干物质测定得知,CK组单株油松干物质重量大于T3的油松,说明T3生长不良.实

验中发现,影响油松针叶颜色的色素之一的类胡萝卜素含量在 T3 中明显减少.此现象仅发生在成熟叶,未成熟叶在 T3 与 CK 之间无差异.表明针叶中类胡萝卜素的破坏不仅需要每日有 6h SO<sub>2</sub> 浓度达到 0.5 mg· m<sup>-3</sup>,同时需要有一定的暴露周期.SO<sub>2</sub>剂量和暴露周期都是必要条件.

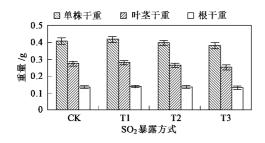


图 6 SO<sub>2</sub> 暴露 60d 后油松干重

Fig. 6 Dry weight of Chinese pine after exposed to SO<sub>2</sub> for 60 days 类胡萝卜素的减少使叶绿素失去保护,导致叶绿素的颜色直接暴露在阳光下,因而叶色表现为绿色. Foyer 等<sup>[5]</sup>发现,叶中的类胡萝卜素具有保护叶绿素分子的作用,可与活性氧作用,使叶绿素分子在强日光下不致被光氧化而破坏,以保证光合作用效率. Demmig 等<sup>[6]</sup>提出,类胡萝卜素中的叶黄素可耗散多余的光能,以保护叶绿素分子的完整并维持正常的光合作用.本实验 T3 油松苗光合速率出现轻度下降,不排除针叶中类胡萝卜素含量明显下降是主要原因之一.当然,对于 T3 针叶颜色出现异常的原因还需要进行更深入细致的研究.

Biscœ 等[7]发现,植物长期暴露在低浓度 SO2 中时,会伤害气孔细胞.从实验结果可知,T3 油松苗蒸腾速率高于 CK,表明气孔保卫细胞功能不全.气孔是植物体与外界进行气体交换的必经之路,最易受到气态污染物的损害.尽管本实验 SO2 浓度较低,但气孔保卫细胞受到伤害后无修复时间.实验中观察到油松苗气孔保卫细胞内侧边缘受损,正是 SO2 长期连续暴露的结果.由于气孔保卫细胞受到破坏后气孔关闭不严[8],造成蒸腾速率增加,导致油松苗体内水分失衡.卞泳梅等发现[9],植物经高浓度 SO2 暴露后,不仅出现肉眼可见伤害,细胞膜透性也发生改变.本实验中,在 SO2 0.10 mg·m³和0.20 mg·m³处理条件下,油松外观、形态与 CK 组无异,但针叶钾离子渗出量已高于 CK 组,表明细胞膜透性已发生了改变且对 SO2 十分敏感.

本实验中发现,在 SO<sub>2</sub> 浓度低、暴露周期短的情况下,油松针叶含硫量与 CK 差异很小.仅在 SO<sub>2</sub> 浓度高、暴露周期长的情况下,油松针叶含硫量才有

明显增加.从叶钾离子渗出量测定结果得知,与针叶含硫量相比,针叶钾离子渗出量对 SO<sub>2</sub> 反应更敏感.即使 SO<sub>2</sub> 浓度较低、暴露周期较短,针叶钾离子渗出量与 SO<sub>2</sub> 浓度仍然有良好的正相关性.刘荣坤等[10]曾提出以植物叶钾离子渗出量为指标评价地区大气污染情况.如以油松作为 SO<sub>2</sub> 环境污染的指示植物,测定油松针叶钾离子渗出量比测定油松针叶含硫量灵敏度更高.本实验中低浓度 SO<sub>2</sub> 暴露对油松的影响是通过多种途径导致油松的微小生理变化实现的.例如针叶细胞膜透性的改变导致主要营养物质钾离子的渗出量增加;针叶中类胡萝卜素含量的减少使叶绿体失去保护;硫含量的大量增加导致水分失衡等.油松对上述微小变化的生理调节,都会额外消耗能量,因此导致了干物质的减少.

尽管本实验 T2 和 T3 中每日内小时 SO<sub>2</sub> 平均浓度相同,但 T3 浓度时高时低的 SO<sub>2</sub> 暴露比 T2 浓度平稳的 SO<sub>2</sub> 暴露对油松的影响更大.从本实验结果可以初步解释为什么某些地区 SO<sub>2</sub> 年均浓度接近国家二级环境质量标准,但仍然发生了 SO<sub>2</sub> 对树木的伤害.其原因就是环境中 SO<sub>2</sub> 浓度不是稳恒不变的,而是时高时低.低浓度范围内脉冲式的高浓度 SO<sub>2</sub> 可以对树木造成伤害.因此,对大气环境中 SO<sub>2</sub> 的控制,不仅应该控制 SO<sub>2</sub> 总量的排放和年均 SO<sub>2</sub> 浓度,更应该控制脉冲式的高浓度 SO<sub>2</sub> 出现.参考文献:

- [1] 陈树元,徐和宝,谢明云.酸雨和  $SO_2$  暴露对不同抗性幼树的影响[J].生态学杂志,1998,17(2):20~25.
- [2] 刘燕云,曹洪法,舒俭民.酸雨和 $SO_2$ 对蔬菜生长和产量的影响[J].环境科学学报,1991,11(3):327~335.
- [ 3 ] Feng Zongwei. Research progress on the effects of acid deposition on terrestrial ecosystems in southwest China. Study of modern hotspot ecological question [ M]. Beijing: China science and technology press, 1996. 530 ~ 540.
- [4] 张治安,张美善,蔚荣海.植物生理学实验指导[M].北京: 中国农业科学技术出版社,2004.43~55.
- [5] Foyer C H, Lelandais M, Kuner K J. Photooxidative stress in plants [J]. Physiol plant., 1994, 92: 696 ~ 717.
- [ 6 ] Demmig B, Winter K, Kruger A. Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves: a possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy [ J]. Physiol plan.,  $1987, 84:218 \sim 224.$
- [7] Biscoe P V, Unsworth M H, Pinckney H R. The effects of low concentrations of sulphur dioxide on stomatal behaviour in Vicia faba [J]. New Phytol., 1973, 72:1299~1306.
- [ 8 ] Ondrej Majernik , T A Mansfield . Direct effect of  $SO_2$  pollution on the degree of opening of stomato [ J ] . Nature , 1970 , 227 :  $377 \sim 378$  .
- [9] 卞咏梅,陈树元.SO2对植物细胞膜透性的影响[J]. 植物生理学通讯,1982,(1):41~45.
- [10] 刘荣坤,李珍珍.植物叶钾离子渗出量在大气质量评价中的应用[J].环境科学学报,1991,11(3):336~342.