

大气臭氧浓度增加对湿地松幼苗的影响

张巍巍¹, 牛俊峰¹, 王效科^{1*}, 田媛², 姚芳芳³, 冯兆忠^{1*}

(1. 中国科学院生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085; 2. 北京工商大学化学与环境工程学院, 北京 100048; 3. 华东师范大学资源与环境科学学院, 上海 200062)

摘要:采用开顶式气室(open top chambers, OTCs)装置, 研究 O₃ 浓度增加(E-O₃, 约 150 nL·L⁻¹)对湿地松幼苗的影响, 包括伤害症状、植株生长、针叶光合色素含量、气体交换速率与叶绿素荧光、丙二醛(MDA)以及主要抗氧化剂含量变化. 经过 E-O₃ 处理一个生长季后(AOT40 值为 38.24 μL·L⁻¹·h), 湿地松幼苗当年生新叶与老叶呈现出伤害症状, 而株高与基径生长、生物量累积与分配未出现显著变化; 与对照相比, O₃ 暴露对当年生针叶光合作用具有一定的抑制作用: 净光合速率(P_n)、气孔导度(g_s)与蒸腾速率(T_r)分别显著降低 42.5%、48.2%与 46.3%, 而胞间 CO₂ 浓度(c_i)与水分利用效率(WUE)、叶绿素荧光指标无显著变化; 叶绿素 a、叶绿素 b 与总叶绿素含量分别降低 16.7%、21.1%与 17.5%, 叶片 MDA 含量、总还原能力、抗坏血酸与总酚含量均无显著变化. 可见, 光合色素含量的降低是 E-O₃ 引起湿地松幼苗针叶光合速率下降的主要原因.

关键词:臭氧; 湿地松; 生长; 光合作用; 抗性系统

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)06-1710-07

Effects of Elevated Ozone Concentration on Slash Pine (*Pinus elliottii*) Seedlings

ZHANG Wei-wei¹, NIU Jun-feng¹, WANG Xiao-ke¹, TIAN Yuan², YAO Fang-fang³, FENG Zhao-zhong¹

(1. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. School of Chemical and Environmental Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; 3. School of Resources and Environment Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: One-year-old slash pine (*Pinus elliottii*) seedlings were exposed to charcoal-filtered air (CF) and elevated ozone (E-O₃, mean concentration of 150 nL·L⁻¹) for 84 days in six open-top chambers. Growth parameters, pigments content, gas exchange, chlorophyll a fluorescence and antioxidant system were measured after one growing season (AOT40 value of 38.24 μL·L⁻¹·h). At the end of experiment, both current and old needles showed visible symptoms, and the seedlings were harvested for growth parameters measurement. Elevated O₃ did not significantly change height growth, diameter increment, total biomass and biomass partition. E-O₃ had negative effects on the photosynthetic parameters, e. g. significant decreases in net photosynthetic rate, stomatal conductance, transpiration rate and pigments content. However, chlorophyll a/b ratio, intercellular CO₂ concentration, water use efficiency, and chlorophyll a fluorescence parameters were not affected significantly by E-O₃ in comparison with CF. Furthermore, E-O₃ induced slight increase in MDA content, total ascorbate and total phenolic compound contents, and reduction in total antioxidant capacity. The results suggested that O₃-induced significant reduction in pigments content contributed to lower photosynthetic rate in slash pine exposed to E-O₃.

Key words: ozone; slash pine; growth; photosynthesis; antioxidant system

对流层 O₃ 不仅是引起气候变化的温室气体之一^[1], 还是一种可以引起植物伤害的二次污染物^[2,3]. 目前, 全球近 1/4 的国家和地区在夏季面临对流层 O₃ 浓度 60 nL·L⁻¹ 以上的威胁^[1]. 当前近地层 O₃ 浓度已经比工业革命前增加了 36%^[1], 且正以每年 0.5% ~ 2.0% 的速度增加^[4]. 据估计, O₃ 直接导致欧洲^[5] 与北美^[6] 森林生产力降低 1% ~ 10%, 预计到 2100 年 50% 的北半球森林将受到 O₃ 胁迫^[7]. 在我国, 近地层 O₃ 浓度近年来增加明显, 尤其在人口密集的城市和地区, O₃ 浓度已达到相当高的水平, 如北京、上海等大城市的小时平均 O₃ 浓度极值多次达到 300 nL·L⁻¹ 以上(远远超过我国空气质量三级标准 120 nL·L⁻¹)^[8].

尽管树木对 O₃ 胁迫的响应方式受到 O₃ 暴露浓度、胁迫时间、树龄、叶龄以及环境因子的影响, 但大量试验表明, 树木暴露在高浓度臭氧条件下, 会出现叶片褪绿、变黄, 早衰与提前落叶, 光合速率降低, 气孔导度下降, 电子传递效率下降等反应^[2,9~11]. 此外, 长期 O₃ 胁迫会抑制树木生长, 使生物量降低, 生物量分配发生变化^[12]. O₃ 对植物的影响结果包括 3 个阶段: 暴露、吸收和生物反应^[13], 其中气孔因素被认为是影响树木对臭氧的生理响应差异的关键因子. 气孔关闭可以直接减少臭氧进入叶片内的剂量,

收稿日期: 2010-06-12; 修订日期: 2010-08-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30700086)

作者简介: 张巍巍(1982~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为污染生态学与植物生理生态学, E-mail: zwwno_1@163.com

* 通讯联系人, E-mail: wangxk@rcees.ac.cn; fzz@rcees.ac.cn

减轻由臭氧引起的活性氧增加带来的伤害^[14]。此外,植物体内抗氧化系统的解毒能力也是关键因子,如抗坏血酸和酚类化合物。它们是重要的抗氧化物质,能调控主要细胞的功能并且在抗氧化防御系统中起关键性的作用,被证明可以保护植物免受 O₃ 胁迫的伤害^[15,16]。裸子植物有相对较强的抗性,O₃ 浓度达到 92 nL·L⁻¹ 时裸子植物总生物量仅降低 7%,主要是由根生物量的显著降低引起,茎生物量与叶生物量降低均不显著^[11]。松属植物是现存裸子植物最大类群,也是北半球针叶林的主要建群种,具有巨大的生态、经济与科学研究价值。目前关于臭氧对松属植物的影响多集中在地中海区域与北美地区,试验结果表明:广泛分布于地中海盆地的地中海白松与美国黄松对臭氧比较敏感,在其分布的多个地区均出现了臭氧伤害症状^[17,18],而加拿利松(*Pinus canariensis*)的抗性较强^[19]。湿地松为松科松属植物,原产于北美东南部,由于其生长迅速,抗旱、耐涝、耐瘠,适应性和抗逆力强等特点在我国山东以南地区被广泛种植。迄今为止关于对于 O₃ 胁迫下湿地松个体生长、光合作用、抗性方面的研究相对缺乏。

本研究以湿地松幼苗为试验对象,采用开顶式气室法(OTCs),分析了近地层 O₃ 浓度升高对湿地松幼苗个体生长、气体交换速率、光合色素含量、叶绿素荧光参数以及抗氧化系统的影响,旨在全面探讨与揭示湿地松对 O₃ 胁迫的生理生化响应机制,为选育臭氧抗性强的树种提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验区位于浙江省宁波市天童国家森林公园(29°48'N,121°47'E)华东师范大学天童森林生态系统国家野外监测站,气候温暖湿润,为典型的亚热带季风气候。年均温度为 16.2℃,年平均降雨量为 1 374.7 mm,多集中在夏季 6~8 月梅雨和台风季节。土壤主要为山地红黄壤,土质偏酸,pH 在 4.75~4.85 之间。

试验通过自制的 OTC-1 型开顶式气室进行臭氧熏气试验^[20]。开顶式气室主体高为 2.0 m,横截面为正八边形(边长为 1.0 m),为减少外部气体对室内气体的影响,正八面柱体顶端增加 45°收缩口,收缩口高为 1.0 m,整个气室的体积约为 18 m³。气室框架由塑钢构成,室壁材质为透明 PE 聚酯薄膜(透光率≥98%)。气室包括过滤系统、通风及布气系统。O₃ 由山东省济南市三康电器有限公司生产的

臭氧发生器产生,环境大气经过活性炭过滤后,添加 O₃ 后通过功率为 750 W 的轴流风机通入气室内,通过调节流量计使气室内 O₃ 浓度保持在一定的浓度范围内,并用美国 Themofisher 公司生产的 i49 型臭氧分析仪对 OTC 内 O₃ 浓度进行即时监测与记录。通风与布气系统可以满足气室内气体每 min 交换 1 次以上,使得气室内温度、湿度与 CO₂ 浓度等环境因素与外界基本保持一致。

试验材料为一年生湿地松(*Pinus elliottii*)实生幼苗,由浙江省宁波市特种苗木繁育中心购得。选取长势较为一致的幼苗,于 2008 年 2 月 21 日统一植入直径 20 cm,高 20 cm 圆形花盆中,当地山地红黄壤与树皮腐殖质按体积比 1:1 混匀后装盆作为栽培基质。经过冬季育苗,2008 年 4 月初将长势相同的幼苗(株高约 64 cm,基径约 13 mm)全部移入开顶式气室内缓苗。试验设 2 个处理:过滤大气(CF, <20 nL·L⁻¹)与 O₃ 浓度增加(E-O₃ 约为 150 nL·L⁻¹),每个处理有 3 个气室,每个气室内 4 个植株。熏气时间从 2008 年 7 月 6 日开始至 2008 年 9 月 28 日结束,每日熏气最长时间为 8 h(北京时间 09:00~17:00),阴雨天气停止熏气。在整个试验期内未对植株进行施肥,保证各植株充足且等量的水分供应,光强、温度和病虫害等不成为限制因子。

1.2 指标测定

1.2.1 生长指标测定

处理前测定各株幼苗株高与基径,试验收获时再次测定植株株高与基径。将试验植株分割为根、茎枝与叶三部分,80℃烘至恒重后称重。

1.2.2 气体交换与叶绿素 a 荧光参数:

晴天上午 09:00~11:00 选取每气室 3~4 棵树木苗作为待测植株,每株选取中上部当年生成健康针叶 6 片,共 9~12 个重复,用 Li-6400 便携式光合测定仪荧光叶室(Li-Cor, Inc, 美国)进行测定。光强为 1 000 μmol·(m²·s)⁻¹,CO₂ 浓度为 380 mmol·mol⁻¹,空气流速为 0.5 L·s⁻¹,气温控制在 33℃±1℃,相对湿度 55%±5%。

1.2.3 光合色素含量

新鲜叶片用体积分数为 95% 的乙醇提取,于 664 nm、648 nm 与 470 nm 处测定吸光度,根据 Lichtenthaler 等^[21]的修正公式计算叶绿素 a(Chl a)、叶绿素 b(Chl b)、叶绿素总量(Chl a+b)和类胡萝卜素(Car)含量。

1.2.4 丙二醛含量测定

参照文献[22]的方法。

1.2.5 总还原能力(TAC)测定

采用 FRAP 法^[23,24]稍加改进. 实际加样量为 10 μL 样品、90 μL 水及 900 μL 预热至 37℃ 的 FRAP 反应液 (10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ TPTZ、20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ FeCl_3 、0.3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸钠缓冲液以 1:1:10 的比例混合), 摇匀后放置 40 min 后 593 nm 测定吸光值; 另以 10 ~ 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ 的标准溶液代替样品作标准曲线. 样品的总抗氧化能力以毫摩尔 Fe^{2+} 每克提取物表示, 单位为 $\mu\text{mol}/\text{g}$.

1.2.6 抗坏血酸含量测定

参照 Okamura^[25] 还原 Fe^{3+} 方法.

1.2.7 总酚含量测定

采用 Folin Ciocalteu's 酚试剂显色法^[26]. 30 μL 样品, 加入 60 μL 10% Folin Ciocalteu's 试剂和 240 μL 700 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Na_2CO_3 溶液, 于空白酶标板中振荡, 置于暗处室温反应 30 min 后测 $A_{765\text{ nm}}$. 以没食子酸 (gallic acid) 作标准品代替样品作标准曲线, 样品中的总酚以没食子酸的含量表示, 单位为 mg/g .

1.3 数据分析

所有试验数据以 OTC 为重复单元, 即 3 个重复. 采用 SPSS 11.5 统计软件对组间数据进行差异显著性检验 (Student's t -test). 文中数据均为平均值 $\pm$ 标准差.

2 结果与分析

2.1 AOT40 值

试验期间遇到 3 次较大台风, 引起较长时间阴雨天气, 分别为 8 月 21 日 ~ 8 月 26 日, 8 月 31 日 ~ 9 月 7 日, 9 月 9 日 ~ 9 月 17 日, 因此实际 O_3 处理天数为 47 d. 采用 Fuhrer 等^[27] 的计算公式 $\text{AOT40} = \sum ([\text{O}_3]_i - 40) \Delta t$ 计算出整个处理期间 E-O_3 AOT40 值 (即每小时 O_3 浓度高于 40 $\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 的累积总和) 为 38.24 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$, 平均每日 AOT40 值 (Daily AOT40 value) 为 0.45 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, 每小时 O_3 浓度 (M8) 为 74.5 $\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$. 整个处理期间每日 AOT40 值 (Daily AOT40) 见图 1. E-O_3 处理下的 AOT40 值于 7 月底时累计达到 17.97 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$, 至 9 月初已累积 35.47 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$, 日 AOT40 值 (Daily AOT40 value) 最高值出现在 8 月 3 日, 为 1.42 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$.

2.2 O_3 浓度增加对湿地松幼苗伤害症状的影响

试验中 E-O_3 暴露 48 d 时 (8 月 23 日) 观察到: 少数湿地松幼苗当年生新叶中部出现黄色斑点, 导致部分新生叶出现折断、脱落的现象; 但顶部嫩叶

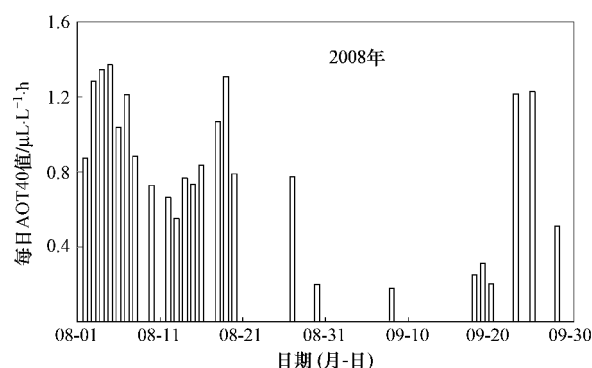


图 1 试验期间臭氧处理下每日 AOT40 值

Fig. 1 Daily AOT40 of the elevated ozone treatment

与底部老叶受害症状不明显. 试验过程中嫩叶生长未受到明显影响, 不断成长为当年生新叶, 主茎与分枝生长仍能继续进行; 大多数新叶逐渐变绿、变长; 部分老叶出现淡黄色的斑点, 并且随着暴露时间延长逐渐增多, 主要集中于叶片中部. 试验结束时, 发现当年生新叶略微变黄, 少数叶片中部出现黄色斑点, 触碰针叶, 表面仍然平滑完整, 无凹陷、凸起等.

2.3 O_3 浓度增加对湿地松幼苗株高、基径、生物量分配的影响

熏气前, CF 与 E-O_3 下湿地松幼苗株高分别为 63.6 cm 与 63.8 cm; 基径分别为 12.7 mm 与 12.5 mm, 处理间差异均不显著, 说明在处理前不存在本底值的差异. 试验收获时, 与 CF 相比, E-O_3 下湿地松幼苗株高与基径的增加量, 总生物量均呈下降趋势, 分别降低 22.5%、1.8% 与 0.7% (表 1). 根生物量与茎生物量同样呈现下降趋势, 分别降低 2.5% 与 0.6%, 叶生物量略微增加 0.8%, 根冠比值不变. t -检验结果表明, E-O_3 对湿地松幼苗株高与基径的增加量、生物量的累积与分配没有显著影响 (表 1).

2.4 O_3 浓度增加对湿地松幼苗针叶气体交换与叶绿素荧光参数的影响

由表 2 可知, E-O_3 对湿地松幼苗光合作用有一定的抑制作用. 与 CF 相比, E-O_3 引起湿地松幼苗净光合速率 (P_n) 显著降低 42.5%. 同时, 气孔导度 (g_s) 与蒸腾速率 (T_r) 分别显著降低 48.2% 与 46.3%. 而胞间 CO_2 浓度 (c_i) 与水分利用率 (WUE) 并未受到显著影响. 与 CF 相比, E-O_3 处理下的湿地松幼苗针叶开放的光系统 II 反应中心的激发能捕获效率 (F'_v/F'_m), 作用光下光系统 II 的实际量子效率 (Φ_{PSII}) 与光化学猝灭系数 (q_p) 分别降低 4.3%、10.9% 与 7.6%, 均未达到显著水平.

表 1 O₃ 浓度增加对湿地松幼苗株高、基径、生物量累积与分配的影响¹⁾

Table 1 Effect of elevated ozone concentration on height growth, diameter increment and biomass partition in slash pine (*Pinus elliottii*) seedlings

项目	处理		Student's <i>t</i> -test(<i>p</i> 值)
	CF	E-O ₃	
株高增加量/cm	10.4 ± 1.8	8.0 ± 0.3	0.095
基径增加量/mm	1.37 ± 0.29	1.34 ± 0.29	0.927
总生物量/g	79.5 ± 1.6	78.9 ± 2.2	0.740
叶生物量/g	34.3 ± 0.5	34.6 ± 0.8	0.639
根生物量/g	15.2 ± 0.5	15.1 ± 1.8	0.936
茎生物量/g	30.0 ± 0.9	29.2 ± 0.4	0.241
根冠比	0.24 ± 0.01	0.24 ± 0.02	0.994

1) CF 表示过滤大气; E-O₃ 表示 O₃ 浓度增加,下同

表 2 O₃ 浓度增加对湿地松幼苗针叶气体交换与叶绿素荧光参数的影响

Table 2 Effect of elevated ozone concentration on gas exchange and chlorophyll *a* fluorescence parameters in slash pine (*Pinus elliottii*) seedlings

项目	处理		Student's <i>t</i> -test(<i>p</i> 值)
	CF	E-O ₃	
<i>P</i> _n /μmol·(m ² ·s) ⁻¹	8.9 ± 0.7	5.1 ± 0.4	0.001
<i>g</i> _s /mol·(m ² ·s) ⁻¹	0.10 ± 0.03	0.05 ± 0.01	0.040
<i>c</i> _i /μmol·mol ⁻¹	217 ± 30	212 ± 14	0.820
<i>T</i> _r /mmol·(m ² ·s) ⁻¹	2.4 ± 0.5	1.3 ± 0.2	0.019
WUE(CO ₂ /H ₂ O) /μmol·mol ⁻¹	3.9 ± 0.6	4.1 ± 0.4	0.613
<i>F</i> ' _v / <i>F</i> ' _m	0.42 ± 0.05	0.40 ± 0.02	0.480
Φ _{PSII}	0.20 ± 0.03	0.18 ± 0.01	0.303
<i>q</i> _P	0.48 ± 0.05	0.45 ± 0.03	0.427

2.5 O₃浓度增加对湿地松幼苗针叶光合色素含量的影响

E-O₃ 处理引起湿地松幼苗针叶 Chl a、Chl b、Chl a + b 含量降低,其中 Chl a 含量显著降低 16.7%,Chl b 与 Chl a + b 含量分别降低 21.1%与 17.5%,但未达到显著水平(表 3).作为主要的捕光色素与内源抗氧化剂,Car 含量未受到 E-O₃ 的显著影响.与 CF 相比,E-O₃ 引起针叶 Chla/b 比值增大 5.5%,Chl/Car 比值降低 15.3%,但未达到显著水平.

2.6 O₃浓度增加对湿地松幼苗针叶丙二醛含量与抗氧化剂的影响

由表 4 可见,E-O₃ 引起湿地松幼苗针叶丙二醛含量增加 27.1%,总还原能力降低 6.9%.与过滤大气处理相比,总抗坏血酸含量、还原型抗坏血酸与总

表 3 O₃浓度增加对湿地松幼苗针叶光合色素含量的影响

Table 3 Effect of elevated ozone concentration on contents of photosynthetic pigments in slash pine (*Pinus elliottii*) seedlings

项目	处理		Student's <i>t</i> -test(<i>p</i> 值)
	CF	E-O ₃	
Chl a/mg·g ⁻¹	0.58 ± 0.05	0.48 ± 0.03	0.048
Chl b/mg·g ⁻¹	0.15 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.244
Chl a + b/mg·g ⁻¹	0.73 ± 0.08	0.60 ± 0.04	0.079
Car/mg·g ⁻¹	0.12 ± 0.00	0.12 ± 0.01	0.382
Chl a/b	4.09 ± 0.57	4.31 ± 0.69	0.689
Chl/Car	5.94 ± 0.77	5.03 ± 0.23	0.121

表 4 O₃ 浓度增加对湿地松幼苗针叶丙二醛含量与抗氧化剂的影响

Table 4 Effect of elevated ozone concentration on contents of MDA and antioxidants in slash pine (*Pinus elliottii*) seedlings

项目	处理		Student's <i>t</i> -test (<i>p</i> 值)
	CF	E-O ₃	
丙二醛含量/nmol·g ⁻¹	80.2 ± 21.2	110.0 ± 17.2	0.221
总还原能力/μmol·g ⁻¹	15.9 ± 1.0	14.8 ± 1.9	0.646
总抗坏血酸含量/μmol·g ⁻¹	8.76 ± 2.22	10.6 ± 1.22	0.266
还原型抗坏血酸含量/μmol·g ⁻¹	7.04 ± 1.48	8.18 ± 1.18	0.431
总酚含量/mg·g ⁻¹	8.20 ± 1.41	9.90 ± 0.26	0.303

酚含量分别增加 21.5%、16.2%与 20.7%,所有指标均未达到显著水平.

3 讨论

O₃ 对植物的伤害主要由累积效应引起的^[11],理论上 AOT40 值 > 10 μL·L⁻¹·h 将会对树木产生伤害^[28].O₃ 引起的伤害症状包括:针叶变短、坏死,株高与基径生长受阻^[29,30].Byres 等^[31]的研究表明,O₃ 浓度增加可以显著诱导湿地松针叶凋落、引起叶面积降低,并通过叶片损失的方式抑制湿地松的生长.本研究从 O₃ 暴露开始到试验结束历时 84 d,AOT40 值累积为 38.24 μL·L⁻¹·h.从收获时湿地松幼苗株高与基径生长、生物量累积与分配等指标来看,E-O₃ 均未引起显著性差异,这与 Adams 等^[32]的研究结果相似:环境大气添加 60 nL·L⁻¹ O₃ 条件下经过 3 个生长季后,火炬松(*Pinus taeda* L.)幼苗的基径、株高和总生物量均无显著变化. Meta-分析的结果也表明裸子植物有相对较强的抗性,O₃ 浓度达到 92 nL·L⁻¹时裸子植物总生物量仅降低 7%^[11],O₃ 剂量(AOT40)为 20 μL·L⁻¹·h时针叶树生长仅降低3%^[33].本研究中 E-O₃ 虽然未显著抑制湿地松幼苗的生长,但 O₃ 处理过的植物部分生长指标已经

显示出下降的趋势,这说明 O_3 对湿地松幼苗已经产生负效应. 裸子植物具有更长的寿命,针叶需要更多的时间达到正的净碳平衡,因此可以进化出较强的保持膜完整能力与更全面的叶片功能来抵制环境胁迫的影响^[34]. 同时,由于试验期间受到台风影响,实际熏气天数减少为 47 d,阴雨天气停止熏气可能会在一定程度上缓解 O_3 的负作用,已有研究表明停止处理后的植物叶片气体交换速率与叶绿素荧光参数均可恢复到处理前水平^[35]. 另外,本试验熏气时间仅仅一个生长季,而植物生长指标的变化是一个累积过程,这种生长上的变化可能需要更长的时间才会出现,正如大部分文献报道 O_3 对生长产生显著抑制都是出现在长期试验中^[36,37]. 从株高与基径生长的变化来看,株高生长比基径生长更易于受到 O_3 暴露的影响,这与 Matyssek 等^[38]的研究结果相似.

O_3 对针叶树种光合作用的影响备受关注,研究也相对较多. 2.25 倍与 3.0 倍于环境大气 O_3 浓度下,火炬松光合作用降低 80%~90%,12 h 累积 O_3 暴露达到 $100 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$ 水平时即会对火炬松光合作用产生显著的抑制作用^[39]. 同样,对 4 种半同胞家系的湿地松试验结果也表明,高浓度 O_3 普遍降低了植物的光合速率,特别是在夏季月份会出现季节性的光合速率降低^[31]. 气孔被认为是影响树木对 O_3 生理响应差异的关键因子,气孔关闭可以直接减少 O_3 进入叶片内的剂量,减轻由 O_3 引起的活性氧增加带来的伤害^[14]. Farquhar 等^[40]认为,如果 g_s 下降,而 c_i 维持不变甚至上升,则光合速率的下降应是由叶肉细胞同化能力降低等非气孔因素所致;只有 c_i 和 g_s 同时下降的情况下,才能证明光合速率的下降主要是由气孔因素引起的. 由此判断, $E-O_3$ 引起的气孔导度下降是湿地松幼苗光合速率降低的结果,而非主要原因. 从本研究测定的光合生理指标变化来看,叶绿素 a 含量显著降低是 $E-O_3$ 引起光合速率下降的最主要原因. 因为无论急性还是慢性 O_3 暴露都会引起叶肉细胞超微结构的伤害:急性伤害导致细胞萎塌和死亡,而慢性伤害则包括减小叶绿素大小与增加基质密度^[41],同时叶绿素含量和组成发生变化,直接导致光合速率降低^[42]. 另外,与 CF 相比, $E-O_3$ 下针叶 Chl a/b 比值增大,说明 O_3 可以影响湿地松幼苗针叶叶绿素组成,对偏向吸收长波光的 Chl-a 影响比偏向吸收短波光的 Chl-b 更大些,并因此导致植物的光合作用下降. 同时,由于蒸腾速率的降低,湿地松幼苗水分利用效率并未出现显著变化,这与对地中海白松 (Aleppo pine) 的研究结果^[43]

相反.

除气孔控制外,植物的防御体系也可以有效抑制 O_3 吸收引起的伤害. O_3 通过气孔进入细胞后,与质外体内的液体成分反应产生活性氧 (ROS, 主要是 H_2O_2),进而氧化细胞壁产生一系列的反应,最终将导致细胞死亡,因此植物的防御体系在抵御 O_3 伤害的过程中起到重要的作用. 其中抗坏血酸被认为是抵御 O_3 伤害的最重要的物质^[15],它可以在抗坏血酸过氧化物酶的催化作用下或本身直接与 H_2O_2 反应,在被氧化成脱氢抗坏血酸的同时,将 H_2O_2 还原为 H_2O ,从而减轻氧化胁迫伤害. 酚类化合物也是一种重要的抗氧化剂,可以保护植物免受 O_3 胁迫的伤害^[16]. 本研究中湿地松幼苗针叶中抗坏血酸与总酚含量均未出现显著变化,与 Manninen 等^[44]对欧洲赤松针的研究结果相似. 由于抗氧化剂的再生能力与还原力 (NADPH) 的适当转变有关、依赖碳的代谢过程,其含量的升高必然增加叶片对同化物的需求,所以这种响应可能是植物对 O_3 胁迫的一种适应机制. 同时,丙二醛含量的增加与总还原力的降低也表明了湿地松幼苗在一定程度上受到了伤害. 湿地松幼苗对 O_3 胁迫的光合生理响应与较为敏感的地中海白松 (Aleppo pine)^[45]相似:针叶叶绿素含量、气孔导度和净光合速率下降,同时个体生长水平上的变化与抗性较强的火炬松和加拿利松 (*Pinus canariensis*) 相似:基径、株高和总生物量、抗氧化物质含量均无显著变化^[19,31].

本研究测定的指标包括生长指标、气体交换速率、光和色素含量与抗性生理指标,一定程度上全面反映了 O_3 浓度增加对湿地松幼苗的影响. 但是由于植物对 O_3 暴露的响应取决于暴露时间、叶龄、基因型植物的营养状态以及环境因子等的影响,因此在今后的试验中应该加强不同暴露时间、不同基因型、不同叶龄的取样、同时研究不同环境条件下植物对 O_3 暴露的响应机制,以期能全面评价树种的敏感性,指导预防和减轻植物因 O_3 胁迫带来的负面影响.

4 结论

(1) 经过一个生长季的 O_3 处理,湿地松幼苗当年新叶与老叶均呈现一定的伤害症状,但湿地松幼苗株高与基径生长、总生物量下降不显著,根冠比不变.

(2) O_3 浓度增加对湿地松幼苗的光合作用具有一定的抑制作用. 净光合速率与气孔导度均显著下

降. 叶绿素总量是引起光合速率下降的主要原因. 从抗性系统的变化趋势来看, 植株体内抗氧化物质的增加未能有效地阻止因臭氧引起的膜脂过氧化程度. 总的来看, 湿地松幼苗对 O_3 的耐受水平较高.

参考文献:

- [1] IPCC, 2007: Climate Change 2007-The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [R]. Cambridge University Press, Cambridge, 2007.
- [2] Karnosky D F, Skelly J M, Percy K E, *et al.* Perspectives regarding 50 years of research on effects of tropospheric ozone air pollution on US forests [J]. Environmental Pollution, 2007, **147**: 489-506.
- [3] Paoletti E, Manning W J. Toward a biologically significant and usable standard for ozone that will also protect plants [J]. Environmental Pollution, 2007, **150**: 85-95.
- [4] Vingarzan R. A review of surface ozone background levels and trends [J]. Atmospheric Environment, 2004, **38**: 3431-3442.
- [5] Broadmeadow M S J, Beckett P, Jackson S B, *et al.* Trees and pollution abatement [A]. In: Report on Forest Research 1998 [M]. Edinburgh: Forestry Commission, 1998.
- [6] Chappelka A, Samuelson L. Ambient ozone effects on forest trees of the eastern United States: a review [J]. New Phytologist, 1998, **139**: 91-108.
- [7] Fowler D, Cape J N, Coyle M, *et al.* The global exposure of forests to air pollutants [J]. Water Air Soil Pollution, 1999, **116**: 5-32.
- [8] 殷永泉, 单文坡, 纪霞, 等. 济南市区近地面臭氧浓度变化特征 [J]. 环境科学与技术, 2006, **29** (10): 49-51.
- [9] Matyssek R, Sandermann J H. Impact of ozone on trees: an ecophysiological perspective [A]. In: Progress in Botany [M]. Vol. 64. Springer Verlag, Heidelberg, 2003. 349-404.
- [10] Wittig V E, Ainsworth E A, Long S P. To what extent do current and projected increases in surface ozone affect photosynthesis and stomatal conductance of trees? A meta-analytic review of the last 30 decades of experiments [J]. Plant Cell and Environment, 2007, **30**: 1150-1162.
- [11] Witing V E, Ainsworth E A, Naidu S N, *et al.* Quantifying the impact of current and future tropospheric ozone on tree biomass, growth, physiology and biochemistry: a quantitative meta-analysis [J]. Global Change Biology, 2009, **15**: 396-424.
- [12] Paoletti E. Ozone and Mediterranean ecology: plants, people, problems [J]. Environmental Pollution, 2009, **157**: 1397-1398.
- [13] Tausz M, Grulke N E, Wieser G. Defense and avoidance of ozone under global change [J]. Environmental Pollution, 2006, **147** (3): 525-531.
- [14] Paoletti E, Grulke N E. Does living in elevated CO_2 ameliorate tree response to ozone? A review on stomatal responses [J]. Environmental Pollution, 2005, **137**: 483-493.
- [15] Dizengremel P, Le T D, Bagard M, *et al.* Ozone risk assessment for plants: central role of metabolism-dependent changes in reducing power [J]. Environmental Pollution, 2008, **156**: 11-15.
- [16] Yamaji K, Julkunen-Tiitto R, Rousi M, *et al.* Ozone exposure over two growing seasons alters root-to-shoot ratio and chemical composition of birch (*Betula pendula* Roth) [J]. Global Change Biology, 2003, **9** (10): 1363-1377.
- [17] Naveh Z, Steinberger E H, Chaim S, *et al.* Photochemical oxidants-a threat to Mediterranean forest and upland ecosystems [J]. Environment Conservation, 1980, **7**: 301-309.
- [18] Miller P R. Extent of ozone injury to trees in the Western United States [A]. In: Miller P R, Stolte K W, Duriscoe D M, *et al.* Evaluating ozone air pollution effects on pines in the Western United States [M]. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-155 [Albany, CA]: U. S. Department of Agriculture, Forest Service, [Pacific Northwest Research Station], 1996. 1-6.
- [19] Then C H, Herbinger K, Luis V C, *et al.* Photosynthesis, chloroplast pigments, and antioxidants in *Pinus canariensis* under free-air ozone fumigation [J]. Environmental Pollution, 2009, **157**: 392-395.
- [20] 郑启伟, 王效科, 冯兆忠, 等. 臭氧对原位条件下冬小麦叶片光合色素、脂质过氧化的影响 [J]. 西北植物学报, 2005, **25** (11): 2240-2244.
- [21] Lichtenthaler H K. Chlorophylls and carotenoids [J]. Methods in Enzymology, 1987, **148**: 350-382.
- [22] Heath R L, Parker L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1968, **125**: 189-198.
- [23] Benzie I F F, Strain J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay [J]. Analytical Biochemistry, 1996, **239**: 70-76.
- [24] Sean P G, Ranjeet B. Measuring antioxidant potential in corals using the FRAP assay [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2004, **302**: 201-211.
- [25] Okamura M. An improved method for determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in blood plasma [J]. Clinica Chimica Acta, 1980, **103** (3): 259-268.
- [26] Kähkönen M P, Hopia A I, Vuorela H J, *et al.* Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, **47**: 3954-3962.
- [27] Fuhrer J, Skärby L, Ashmore M R. Critical levels for ozone effects on vegetation in Europe [J]. Environmental Pollution, 1997, **97**: 91-106.
- [28] Bull K. Workshop summary [A]. In: Karenlampi L, Skarby L, (eds.). Critical Level for Ozone in Europe: Testing and Finalizing the Concepts (UN-ECE Workshop Report) [C]. University of Kuopio, Finland, 1996. 7-8.
- [29] Irving P M. Acidic Deposition: State of Science and Technology [R]. Summary report of the U. S. National Acid Precipitation Assessment Program, Washington, DC, 1991.
- [30] Reich P B, Schoettle A W, Stroh H F, *et al.* Effects of ozone and acid rain on white pine (*Pinus strobus*) seedlings grown in five soils. I. Net photosynthesis and growth [J]. Canadian Journal of

- Botany, 1987, **65**: 977-987.
- [31] Byres D P, Dean T J, Johnson J D. Long-term effects of ozone and simulated acid rain on the foliage dynamics of slash pine (*Pinus elliottii* var. *elliottii* Engelm) [J]. New Phytologist, 1992, **120**: 61-67.
- [32] Adams M B, Kelly J M, Taylor G E, *et al.* Growth of five families of *Pinus taeda* L. during three years of ozone exposure [J]. New Phytologist, 1990, **116**: 689-694.
- [33] Felzer B S, Cronin T, Reilly J M, *et al.* Impacts of ozone on trees and crops [J]. Comptes Rendus Geoscience, 2007, **339**: 784-798.
- [34] Guidi L, Nali C, Giompi S, *et al.* The use of chlorophyll fluorescence and leaf gas exchange as methods for studying the different responses to ozone of two bean cultivars [J]. Journal of Experimental Botany, 1997, **48**: 173-179.
- [35] Reich P B. Quantifying plant response to ozone; a unifying theory [J]. Tree Physiology, 1987, **3**: 63-91.
- [36] Rebbeck J, Scherzer A J. Growth responses of yellow-poplar (*Liriodendron tulipifera* L.) exposed to 5 years of O₃ alone or combined with elevated CO₂ [J]. Plant, Cell and Environment, 2002, **25**: 1527-1537.
- [37] Karnosky D F, Pregitzer K S, Zak D R, *et al.* Scaling ozone responses of forest trees to the ecosystem level in a changing climate [J]. Plant, Cell and Environment, 2005, **28**: 965-981.
- [38] Matyssek R, Güntheardt-Goerg M S, Saurer M, *et al.* Seasonal growth, $\delta^{13}\text{C}$ in leaves and stem, and phloem structure of birch (*Betula pendula*) under low ozone concentrations [J]. Trees, 1992, **6**: 69-76.
- [39] Richardson C J, Sasek T W, Fendick E A. Implications of physiological responses to chronic air pollution for forest decline in the southeastern United States [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1992, **11**: 1105-1114.
- [40] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis [J]. Annual Review of Plant Physiology, 1982, **33**: 317-345.
- [41] Anttonen S, Sutinen M L, Heagle A S. Ultrastructure and some plasma membrane characteristics of ozone-exposed loblolly pine needles [J]. Physiologia Plantarum, 1996, **98**: 309-319.
- [42] Silfver T, Haikio E, Rousi M, *et al.* Interactive effects of elevated ozone and springtime frost on growth and physiology of birch (*Betula pendula*) in field conditions [J]. Trees, 2008, **22**: 291-201.
- [43] Alonso R, Elvira S, Castillo F J, *et al.* Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis* [J]. Plant, Cell and Environment, 2001, **24**: 905-916.
- [44] Manninen A M, Holopainen T, Saarenmaa P L, *et al.* The role of low-level ozone exposure and mycorrhizas in chemical quality and insect herbivore performance on Scots pine seedlings [J]. Global Change Biology, 2000, **6**: 111-121.
- [45] Elvira S, Alonso R, Castillo F J, *et al.* On the response of pigments and antioxidants of *Pinus halepensis* seedlings to Mediterranean climatic factors and long-term ozone exposure [J]. New Phytologist, 1998, **138**: 419-432.