全缘冬青幼苗(*Ilex integra* Thunb.) 对大气 O₃ 浓度 升高的响应

张巍巍¹,牛俊峰¹,冯兆忠^{1*},王效科^{1*},田媛²,姚芳芳³

(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 浓度升高(E-O₃ 约 150 μL•L⁻¹) 对常绿阔叶树种全缘冬青幼 苗的影响,主要包括伤害症状、植株生长、光合色素含量、气体交换速率与叶绿素荧光、丙二醛含量以及主要抗氧化剂含量变 化.经过高浓度 O₃ 处理一个生长季后,当年生全展叶片表面分布着大量的黑褐色斑点与斑块,呈腐蚀状凹陷于叶片表面.O₃ 引起茎百分比显著降低 7%,但对株高与基径生长、生物量累积与比叶重无显著性影响;与 CF 处理相比,O₃ 处理下全缘冬青 幼苗当年生全展叶片净光合速率、叶绿素 a/b 值与总酚含量分别显著降低 19%、9% 与 36%. 气孔导度、胞间 CO₂ 浓度、叶绿素 荧光参数、光合色素含量、叶片丙二醛含量、总还原能力以及抗坏血酸含量的变化均不显著. 结果表明,O₃ 对全缘冬青幼苗的 光合作用具有一定的抑制作用,叶绿素含量组成发生变化是引起净光合速率下降的主要原因;O₃ 对植株总的抗氧化能力未 产生明显影响,尚未引起膜脂过氧化程度加剧;虽然全缘冬青幼苗叶片呈现伤害症状,但植株生长指标未受到 O₃ 的显著 影响.

关键词: 臭氧; 全缘冬青; 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) 08-2414-08

Responses of Ilex integra Thunb. Seedlings to Elevated Air Ozone Concentration

ZHANG Wei-wei¹, NIU Jun-feng¹, FENG Zhao-zhong¹, WANG Xiao-ke¹, TIAN Yan², YAO Fang-fang³

(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 *llex integra* seedlings were exposed to charcoal-filtered (CF) and elevated ozone ($E-O_3$, ~150 μ L·L⁻¹) for 84 days in six open-top chambers. Visible injury, growth parameters, pigments content, gas exchange, chlorophyll a fluorescence and antioxidant system were investigated during the growing season. At the end of experiment, foliage showed remarkable visible symptoms with dark-brown necrotic spots and patches which were concaved on the upper surface of the current-year leaves. Although relative height and diameter increment, total biomass and specific leaf weight (SLW) remained unaffected, E-O₃ significantly decreased the percentage of stem biomass in total biomass. E-O₃ induced significant decrease in net photosynthetic rate, chlorophyll a/b ratio and total phenolic compound content by 19%, 9% and 36%, respectively. However, stomatal conductance, intercellular CO₂ concentration, chlorophyll *a* fluorescence parameters, pigment contents, MDA contents, total antioxidant capacity and total ascorbate content remained unaffected by E-O₃. The results suggested that E-O₃-induced change in components of chlorophyll contributed to the reduction of photosynthesis in *llex integra* seedlings. In addition, although visible symptom was found during the experiment, antioxidant system, most of the physiological parameters and growth were not significantly affected by E-O₃. **Key words**: ozone; *llex integra*; growth; photosynthesis; antioxidant system

近地层臭氧(O_3)既是重要的温室气体之一,也 是对植物产生伤害最为严重的氧化剂之一^[1,2].目 前,北半球 O_3 浓度较工业革命时期之前增加2~ 4.5倍,并且正以每年0.5%~2.0%的速度增加^[3]. 在我国,化石燃料的大量燃烧与城市化进程的加快 已经导致城市近地层 O_3 浓度大幅度升高^[4],同时 实际监测数据显示郊区 O_3 浓度经常高于城市,因此 城市周边的森林将会受到不同程度的 O_3 伤害^[5]. 根据模型据预测: 2100 年近 50% 的世界森林将受到 O_3 的影响^[6].

以往的大量试验以北美与欧洲的温性针叶树 (云杉^[7]、地中海白松^[8]、美国白松^[9],火炬松^[10]) 和落叶阔叶树种(如,欧洲山毛榉^[11]与杂白杨^[12]) 为研究对象;对亚洲森林树种的研究仅仅涉及北方

收稿日期:2010-09-14;修订日期:2010-11-10

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: fzz@ rcees. ac. cn; wangxk@ rcees. ac. cn

落叶树种与针叶树: 鹅掌楸^[13]、水青冈^[14]、银杏^[15] 与油松^[16].研究内容主要以伤害症状、个体生长、光 合作用及抗性等方面为主^[17].尽管 O₃ 暴露时间、浓 度与其他环境因素的影响各个试验结果不尽相同, 但 O₃ 对这些树种均在一定程度上产生负作用: O₃ 浓度达到 92 μL•L⁻¹时植物净光合作用下降 18%, 总生物量降低 17%,叶绿素 a 与 b 含量下降引起总 叶绿素含量降低,叶绿素 a/b 值不变^[18].以常绿阔 叶树种为试验对象的研究报道较少,已知的研究以 地中海硬叶阔叶树种与常绿灌木为主,研究结果表 明由于硬叶阔叶树种特有的叶片结构,通常对 O₃ 具 有相对较强的忍耐力^[19],以亚热带常绿阔叶树种为 对象开展的研究几近空白.

全缘冬青(*Ilex integra* Thunb.)为冬青科冬青属 常绿乔木,阳性树种,由于抗风力强,耐干旱瘠薄,适 应性广等特点被广泛用于行道树、庭院树、风景林与 防护林,已被列为浙江省珍稀濒危植物.本研究以北 亚热带常绿阔叶树种全缘冬青幼苗为试验对象,采 用开顶式气室法(OTCs),研究近地层O₃浓度升高 对全缘冬青幼苗个体生长、气体交换速率与叶绿素 荧光参数、光合色素含量以及抗氧化系统的影响,通 过评价冬青对O₃响应敏感性,较全面探讨与揭示全 缘冬青幼苗对O₃胁迫的生理生化响应机制,以期为 选育较强抵抗O₃胁迫的树种提供重要参考.

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验区位于华东师范大学天童森林生态系统国 家野外监测站(29°48′N,121°47′E),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1374.7 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 约在4.75~4.85 之间.

试验材料为一年生全缘冬青(*llex integra* Thunb.)实生幼苗,由浙江省宁波市特种苗繁育中心购得.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月初将长势一致的幼苗(株高约为80 cm ,基径约为8.0 mm)全部移入自制OTC-1型开顶式气室内(边长为1 m 的正八边形,高2.4 m)缓苗.有关OTC 的结构与通风系统见文献[20].

试验设2个处理:活性炭过滤的大气(CF,<20

nL•L⁻¹) 与 O₃ 浓度升高(E-O₃,~150 nL•L⁻¹),每 个处理有 3 个气室,每个气室内 4 株植株.OTC 内 O₃ 浓度由 *i*49 型臭氧分析仪(Themofisher 公司)进 行即时监测与记录. 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 8 h(09:00 ~ 17:00),阴雨天气停止. 试验期间遇到 3 次较大台风 (8 月 21 ~ 26 日 8 月 31 日 ~ 9 月 7 日 9 月 9 ~ 17 日),实际 O₃ 熏蒸天数为 47 d. 试验期间小时 O₃ 浓 度高于 40 nL•L⁻¹的累积总和(AOT40) 为 38.24 μ L•L⁻¹•h,每日 8 h O₃ 浓度(M8)的平均值为 68.7 nL•L⁻¹. E-O₃ 处理下,熏气 44 d(8 月 18 日)、66 d (9 月 8 日)、84 d(9 月 28 日)时的 AOT40 值分别 为 30.2、34.5、38.2 nL•L⁻¹•h. 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,同时将试验植株分割为 根、茎枝与叶三部分 80℃烘至恒重后称重.

1.2.2 比叶重测定

试验收获时选取当年生成熟叶片,用蒸馏水洗 净、擦干、采用直径为1 cm圆形打孔器避开叶脉打 孔.每个处理12株幼苗,每株幼苗3~5 片叶子,每 片叶子8~10个圆孔(0.36 cm²).取样后于80℃烘 至恒重后称重.

1.2.3 气体交换与叶绿素荧光参数

于熏气后 44、66 与 84 d 上午 09:00 ~ 11:00, 选取每气室 3 ~ 4 株幼苗作为待测植株,每株选取中 上部当年生成熟叶片 3 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 60% ±5%.

1.2.4 光合色素含量

采用相同面积(0.36 cm²) 打孔器打孔后,用体 积分数为95%的乙醇浸泡提取,于664 nm 648 nm、 470nm 处测定吸光度,根据 Yamaguchi 等^[14]的修正 公式计算叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量和类胡萝 卜素含量.

1.2.5 丙二醛含量测定

参照文献[21]的方法.

1.2.6 总还原能力(TAC)测定

采用 FRAP 法^[22,23] 稍加改进. 实际加样量为 10

μL 样品 + 90 μL 水 + 900 μL 预热至37℃的 FRAP 反应液(10 mmol·L⁻¹ TPTZ、20 mmol·L⁻¹ FeCl₃、 0.3 mmol·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 10~1000 μmol·L⁻¹(NH₄) Fe(SO₄)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 Fe²⁺每克提取物表示,单位为mmol·g⁻¹.

1.2.7 抗坏血酸含量测定

参照文献 [24]的还原 Fe^{3+} 方法.

1.2.8 总酚含量测定

Folin Ciocaiteu's 酚试剂显色法^[25].30 μ L 样品, 加入 60 μ L 10% Folin Ciocaiteu's 试剂和 240 μ L 700 mmol/L 的 Na₂CO₃ 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} .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.

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 SPSS16.0 统计软件对处理间数据进行差异 显著性检验(Student's t-test),同时采用一般线性模 型(General Linear Model) 进行双因素方差分析 ,P ≤ 0.05 表示显著差异(叶绿素 a/b 值不满足方差齐 性 ,未进行相应分析).文中数据均为平均值 ±标 准差.

2 结果与分析

2.1 O₃ 浓度升高对全缘冬青幼苗伤害症状的影响

试验中发现, E-O₃ 下暴露 22 d时(7月27日), 当年生全展叶片上表面中部沿叶脉分布方向小面积 变黄褪绿,少部分叶片伴随出现红褐色与黑褐色斑 点,下表面未出现明显症状.暴露 50 d时(8月23 日),观察到2种主要伤害症状:部分叶片变黄褪绿 面积变大,叶片褐色斑点变大相连,呈现坏死干枯小 斑块;部分叶片上表面出现腐蚀状凹陷,较为均匀 分布于叶片各个部分;下表面出现少量黄色斑点. 试验过程中嫩叶在展开过程中也出现以上症状,但 仍可不断成长,主茎与分枝生长仍能继续进行.试验 结束时,大部分当年生的全展叶片表面大面积分布 着黑褐色斑点与斑块,呈腐蚀状凹陷于叶片表面; 少量叶片下表面分布灰褐色斑点(图1).



(a) CF

(b) E-O₃

图 1 O₃ 浓度升高下全缘冬青幼苗伤害症状 Fig. 1 Visible ozone injury of *Ilex integra* seedlings

2.2 0,浓度升高对全缘冬青幼苗生长的影响

熏气前,CF与 E-O₃下全缘冬青幼苗株高分别 为(76.7±6.2) cm 与(80.7±2.0) cm; 基径分别 为(7.93±0.15) mm 与(8.25±0.50) mm,处理间 差异均不显著.试验收获后,与 CF 相比,E-O₃处理 下全缘冬青幼苗株高相对增加量、基径相对增加量 与总生物量分别下降41%、3% 与7%.叶生物量与 茎生物量分别降低7%与13%,根冠比增加11%, 比叶重保持不变.*T*-检验结果表明,E-O₃使茎生物 量占总生物量百分比显著降低7%,而对幼苗株高 相对增加量、基径相对增加量、生物量的累积与分配 没有显著影响(表1).

2.3 03 浓度升高对全缘冬青幼苗叶片光合特性的影响

E-O₃ 对全缘冬青幼苗光合作用产生一定的抑制作用.与 CF 相比, E-O₃ 下净光合速率在熏蒸 84 d 时显著降低 19%, 蒸腾速率在处理 42 d 时显著下降 13%. E-O₃ 对叶片的气孔导度、胞间 CO₂ 浓度, 气孔 限制值及水分利用效率没有显著影响.同时, E-O₃ 对气体交换参数的影响不随熏气时间的延长发生变 化(图 2).

表 1 O₃ 浓度升高对全缘冬青幼苗株高、基径、 生物量累积与分配、比叶重的影响

Table 1 Effects of elevated ozone concentration on height growth , diameter increment , biomass partition and specific

leaf weight of <i>Ilex integra</i> seedlings				
测定指标			T-检验	
	CF	E-03	(P值)	
株高相对增加量/%	26.1 ±11.7	15.4 ± 1.5	0. 226	
基茎相对增加量/%	22.5 ± 6.1	20.8 \pm 8.0	0.864	
总生物量/g	68.4 ± 3.4	63.3 ± 10.7	0.497	
叶生物量/g	20.0 ± 0.8	18.5 ± 3.8	0.574	
根生物量/g	20.7 ± 1.2	21.1 ± 4.2	0.890	
茎生物量/g	27.8 ± 2.1	24.0 ± 3.5	0.187	
茎百分比/%	40.5 ± 1.1	37.7 ± 1.2	0.044	
根百分比/%	30.1 ± 1.1	33. 2 ± 3. 6	0.231	
叶百分比/%	29.4 ± 0.7	29.1 ± 2.6	0.847	
根冠比	0.43 ± 0.03	0.50 ± 0.08	0.278	
比叶重/g•m ⁻²	141.8 ± 1.8	143. 2 ± 14. 3	0.882	





与 CF 相比 ,E-O₃ 处理下叶片开放的光系统 II 光化学有效量子产量(F_v , $(/F_m)$) 呈现升高-降低-升 高的趋势 ,但均未达到显著水平. E-O₃ 降低了各个 取样时期光化学猝灭系数(q_p) 和光系统 II 的实际 光量子效率(Φ_{psII}) ,但均未达到显著水平. 与气体 交换参数相似 ,叶绿素荧光参数未受到 O₃ 与熏气天 数交互作用的影响(图 3).

A O₃ 浓度升高对全缘冬青幼苗叶片光合色素含量的影响

从平均效果来看, E-O₃ 显著降低了叶绿素 a、叶 绿素 b、总叶绿素含量,但这些指标未受到 O₃ 与熏 气天数交互作用的影响(图 4).类胡萝卜素含量与 类胡萝卜素/叶绿素比值未受到 O₃、O₃ 与熏气天数 交互作用的影响.与 CF 相比, E-O₃处理 84 d 引起 叶绿素 a/b 比值显著降低 8%,表明 O₃ 已经影响叶 片中叶绿素组成比例.

2.5 O₃ 浓度升高对全缘冬青幼苗叶片丙二醛含量 与抗氧化剂的影响

与 CF 相比, E-O₃ 下全缘冬青幼苗叶片丙二醛 含量未发生变化,总还原能力降低15%,总抗坏血 酸含量与还原型抗坏血酸比例分别降低7%与2%, 均未达到显著水平.但 E-O₃ 引起总酚含量显著降低 36%(表2).上述结果表明, E-O₃ 处理84 d 后并未 加剧全缘冬青幼苗叶片膜质过氧化程度,而对抗氧 化剂总酚的影响较大.

3 讨论

本研究中,AOT40 值达到 16.9 μL•L⁻¹•h时全 缘冬青幼苗出现受害症状,并且随着暴露时间的延 长受害程度加重,受害面积增大.处理84 d 后 (AOT40 值达到 38.2 μL·L⁻¹·h) 大多数当年生全展 叶片的上表面呈现出腐蚀状凹陷,说明试验设定的 0,浓度已经对全缘冬青幼苗造成了严重伤害.这与 以欧洲山毛榉为试验对象的研究结果相似:150~ 190 nL•L⁻¹ O₃处理下山毛榉叶片上表面出现典型 伤害症状,并且随着处理时间延长损害逐步加 剧^[26].同样,对地中海常绿阔叶林树种进行的研究 也表明,110 nL•L⁻¹ O, 处理 3 个月后(AOT40 值达 到 31.5 μ L•L⁻¹•h),月桂(Laurus nobilis L.)、木犀 (Phillyrea latifolia L.) 与杨梅(Arbutus unedo L.) 叶 片均出现伤害症状[27].通常情况下,在可见伤害症 状出现之前 碳同化与以此为基础的新陈代谢过程 会降低,分解代谢会加剧,用以供给足够的用于解毒 作用过程必须的还原力^[28].但本研究中,全缘冬青



图 3 O3 浓度升高对全缘冬青幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

Fig. 3 Effect of elevated ozone concentration on chlorophyll a fluorescence parameters in *Ilex integra* seedlings

表 2 O ₃ 浓度开局对全球冬青幼田叶斤内一酫宫重与抗氧化剂的影
--

Table 2 Effect of elevated ozone concentration on contents of MDA and antioxidants in Ilex integra seedlings

测定指标	处		
	CF	E-O3	1→1应5应(1211且)
丙二醛含量/nmolg ⁻¹	43.0 ± 10.3	43. 2 ± 10. 2	0. 983
总还原能力 / μmol•g ⁻¹	15.2 ± 3.1	13.0 ± 1.2	0.305
总抗坏血酸含量 / μmol•g ⁻¹	5.21 ± 1.27	4.85 ± 1.60	0.772
还原型抗坏血酸含量 / µmol•g ⁻¹	3.46 ± 1.27	3.38 ± 0.85	0.932
总酚含量/mg•g ⁻¹	7.0 ± 0.8	4.5 ± 1.1	0.031

幼苗叶片伤害症状出现较早,净光合速率的显著降低发生相对较迟.这可能是由于全缘冬青幼苗叶片自身的特点造成——表皮革质化、较厚,比叶重较大,并且气孔小而密.Paoletti等^[19]认为地中海常绿硬叶植物具有较强O₃ 抗性的主要原因是由于其自身较厚的细胞壁和较大的比叶重.硬叶植物具有革质化叶片,包含2~3 层栅栏层,几乎没有细胞间隙,厚厚的表皮和细胞壁,高气孔密度、叶表叶脉发育发达,气孔较小等特点,被认为是对O₃ 抗性较强的主要原因之一^[29].尽管气孔是O₃ 进去植物叶片最有

效的入口,但 O₃ 也可以直接侵袭植物表面(更多时 候是表皮和树脂)^[30],同时叶片表皮细胞、气孔细胞 与叶脉组织可以忍受 O₃ 的伤害直至整个叶片出现 坏死^[31].其次,细胞壁上的突起包括胶质、多酚或者 蛋白材料很可能与质外体的氧化应激(oxidative stress)反应^[19],尤其是酚类化合物会在细胞壁处沉 积^[26].这些可能有助于理解本试验中所出现的现 象:尽管全缘冬青幼苗叶片出现了伤害症状、总酚含 量显著降低,但净光合速率降低出现较晚,丙二醛含 量、总的抗氧化能力以及部分生理指标并未受到



图 4 O₃ 浓度升高对全缘冬青幼苗叶片光合色素含量的影响



影响.

0、会导致净光合速率降低,气孔导度下降、叶 绿素含量降低、光合电子传递链受阻^[17,32].100 和 200 $nL \cdot L^{-1}$ O₃ 处理下,两年生水杉幼苗叶片长度、 冠幅宽度、叶绿素 a/b 值,净光合速率,气孔导度与 蒸腾速率均显著降低^[33]. 气孔限制被认为是树木对 臭氧的生理响应差异的关键因子,大多数试验中 0, 浓度升高对诱导植物气孔关闭,减少进入叶肉内的 O₃ 剂量,但同时也阻碍了 CO₂ 进入细胞,并由此导 致净光合速率的降低.本研究中,E-O,下全缘冬青 幼苗叶片气孔导度与胞间 CO, 浓度未发生显著变 化、叶绿素 a 荧光参数也未受到明显影响 净光合速 率的降低主要是叶绿素比例发生变化引起. Chl a/b 比值降低说明O。可以影响湿地松幼苗针叶叶绿素 组成,对偏向吸收短波光的 Chl b 比偏向吸收长波 光的 Chl a 影响更大些. 另外,叶片呈现黑褐色斑点 与斑块、出现腐蚀状凹陷表明光和器官受损、进行光 合作用的有效叶面积降低.

本试验中 ,AOT40 值累积为 38.2 μL•L⁻¹•h ,远 远大于 10 μ L·L⁻¹·h的理论值^[34],但从收获时全缘 冬青幼苗株高与基径生长、生物量累积等指标来看, 高浓度 0、暴露均未引起显著性差异,但改变了植株 生物量的分配,使茎百分比显著下降.通常认为,0, 增加了植物在解毒修复过程中碳的需求、阻断植物 叶片同化物向其余部分的转移,因此树木非绿色器 官的碳固定就会降低^[35];同时,地上部分的碳分配 受到影响:可能出现利用即将衰落的老叶和储藏物 质以补偿性的方式供新叶生长,而抑制了茎的横向 和纵向生长、侧枝生长、单个叶片质量与大小^[35].0。 处理未能对全缘冬青幼苗产生明显的抑制作用,这 说明全缘冬青幼苗对 O,暴露具有一定的抗性;另 外,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 O₃ 的作用^[36],植物可能需要更长的时间才会出 现生物量的变化,正如大部分报道0,显著抑制树的 生长都是经过较长期处理[37,38].

目前,臭氧模拟控制实验设备主要包括开顶式 气室(OTC)与 FACE 系统(free-air concentration enrichment). FACE 由于其内部气候条件与自然环 境更为接近被认为是最理想的方法,然而由于其成 本高、易受到风的影响,且易造成污染等原因,本研 究仍采用目前最为常用的开顶式气室进行模拟研 究.改进后的气室内空间更大、控制精度更好,光照、 温度等更接近自然状态,但无法控制湿度和风速的 影响.尽管试验中选取的测定指标涵盖生长指标、气 体交换速率、光和色素含量与抗性生理指标,在一定 程度上可以较全面地反映 O₂ 浓度增加对全缘冬青 幼苗的影响,但是由于植物对 0,暴露的响应取决于 暴露浓度、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还需加强 多方面更深入的研究以期能全面评价树种的敏感 性,在此基础上开展如何减缓 0.对植物影响.根据 已有的研究成果 应加强臭氧与其他环境因子交互 作用的研究,寻找外源臭氧防护剂及确定植物在臭 氧浓度升高后的最佳生长环境是最为重要的.另外, 还需根据现有的研究结果积极开展抗性基因筛选和 抗性品种选育工作,尽可能地减轻植物因 0,体积分 数持续升高带来的负面影响.

4 结论

(1) AOT40 值达到 16.9 μL•L⁻¹•h 时,全缘冬 青幼苗叶片出现伤害症状,并且随着暴露时间的延 长受害程度加重、受害面积增大.

(2) 0₃ 对全缘冬青幼苗的光合作用具有一定的 抑制作用. 叶绿素含量组成发生变化是引起净光合 速率下降的主要原因. 从抗性系统的变化趋势来看, 植株体内主要抗氧化剂总酚含量显著降低,总还原 能力并未发生显著变化,尚未引起膜脂过氧化程度 加剧.

 (3) 一个生长季的 O₃ 熏气处理(AOT40 值达到 38.2 μL•L⁻¹•h),全缘冬青幼苗茎生物量占总生物 量百分比显著降低 7%,但株高与基径生长、总生物 量下降不显著,根冠比不变.总的来看,全缘冬青幼 苗对 O₃ 的耐受水平较高.

参考文献:

[1] UNECE convention on long range transboundary air pollution (LRTAP). 2004. Manual on Methodologies and Criteria for Modeling and Mapping Critical Loads and Levels and Air Pollution Effects, Risks and Trends [EB/OL]. http://icpmapping.org/ cms/zeigeBereich/11/manual-english.htmlchapter 3 >.

- [2] EPA. Review of the National Ambient Air Quality Standards for Ozone: Policy Assessment of Scientific and Technical Information [R]. OAQPS Staff Paper. Publication No. EPA-452/R-7-03. US Environmental Protection Agency, Office of Air Quality Planning and Standards, Research Triangle Park, NC; 2007. 603.
- [3] Vingarzan R. A review of surface O₃ background levels and trends [J]. Atmospheric Environment, 2004, 38 (21): 3431– 3442.
- [4] 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.
- [5] Gregg J W , Jones C G , Dawson T E. Urbanization effects on tree growth in the vicinity of New York City [J]. Nature , 2003 , 42 (4):183-187.
- [6] Fowler D , Cape J N , Coyle M , et al. The global exposure of forest ecosystems to air pollutants [J]. Water Air and Soil Pollution , 1999 , 116(1):5-32.
- [7] Karlssona P E, Medinb E L, Ottossonb S, et al. A cumulative ozone uptake-response relationship for the growth of Norway spruce saplings [J]. Environmental Pollution, 2004, 128 (3): 405-417.
- [8] 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(3): 419-432.
- [9] 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.
- [10] 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(2): 392-395.
- [11] Herbingera K, Then C H, Löw C, et al. Tree age dependence and within-canopy variation of leaf gas exchange and antioxidative defence in *Fagus sylvatica* under experimental free-air ozone exposure [J]. Environmental Pollution, 2005, 137 (3): 476-482.
- [12] Orendovici-Best T, Skelly J M, Davis D D, et al. Ozone uptake (flux) as it relates to ozone-induced foliar symptoms of Prunus serotina and Populus maximowizii × trichocarpa [J]. Environmental Pollution, 2008, 151(1): 79-92.
- [13] Ryang S Z , Woo S Y , Kwon S Y , et al. Changes of net photosynthesis , antioxidant enzyme activities , and antioxidant contents of Liriodendron tulipifera under elevated ozone [J]. Photosynthetica , 2009 , 47(1): 19–25.
- [14] Lichtenthaler H K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes [J]. Methods in Enzymology, 1987, 148: 350-382.
- [15] 李德文,史奕,何兴元. O3 浓度升高对银杏及油松 BVOCs 排

放的影响[J].环境科学,2008 29(2):300-304.

- [16] 张巍巍,赵天宏,王美玉,等.03 浓度升高对油松光合作用的 影响[J].农业环境科学学报,2007 26(3):1024-1028.
- [17] 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(9): 1150-1162.
- [18] 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(2): 396-424.
- [19] Paoletti E , Nali C , Lorenzini G. Gas exchange and ozone visible injury in Mediterranean evergreen broadleaved seedlings [A]. In: Kinnunen H , Huttunen S , (Eds). Proceedings of the Meeting Forest under Changing Climate , Enhanced UV and Air Pollution [M]. Dept Biology , Thule Institute , Univ. Oulu , Oulu , Finland , 2004. 85–101.
- [20] 张巍巍,牛俊峰,王效科,等.大气臭氧浓度增加对湿地松幼 苗的影响[J].环境科学,2010 32(6):1710-1716.
- [21] Heath R L , Parker L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1968, 125(1): 189-198.
- [22] 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(1): 70-76.
- [23] Sean P G , Ranjeet B. Measuring antioxidant potential in corals using the FRAP assay [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology , 2004 , 302(2): 201-211.
- [24] 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.
- [25] 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 (10): 3954-3962.
- [26] Gunter A B , Elke G , Susanne S ,et al. Ozone affects shikimate pathway genes and secondary metabolites in saplings of European beech (*Fagus sylvatica* L.) grown under greenhouse conditions [J]. Trees , 2009 , 23(3):539-553.
- [27] Nali C , Paoletti E , Marabottini R , et al. Ecophysiological and biochemical strategies of response to ozone in Mediterranean

evergreen broadleaf species [J]. Atmospheric Environment, 2004 , **38** (15): 2247-2257.

- [28] Dizengremel P, Petrini M. Effects of air pollutants on the pathways of carbohydrate breakdown [A]. In: Alscher R G, Wellburn A R, (Eds.). Plant Response to the Gaseous Environment [C]. Molecular, Metabolic and Physiological Aspects, Chapman and Hall, London, 1994. 255-278.
- [29] De Lillis M. An ecomorphological study of the evergreen leaf[J]. Braun-Blanquetia, 1991, 7: 1–127.
- [30] Maòkovská B, Percy K E, Kernosky D F. Impacts of greenhouse gases on epicuticular waxes of *Populus tremuloides* Michx.: Results from an open-air exposure and a natural O₃ gradient[J]. Environmental Pollution, 2005, 137(3): 580-586.
- [31] Günthardt-Goerg M S, Vollenweider P. Linking stress with macroscopic and microscopic leaf response in trees: new diagnostic perspectives[J]. Environmental Pollution, 2007, 147 (3): 467-488.
- [32] Riikonen J, Mäenpää M, Alavillamo M, et al. Interactive effect of elevated temperature and O₃ on antioxidant capacity and gas exchange in *Betula pendula* saplings [J]. Planta, 2009, 230 (2):419-427.
- [33] Feng Z Z, Zeng H Q, Wang X K, et al. Sensitivity of Metasequoia glyptostroboides to ozone stress[J]. Photosynthetica, 2008, 46 (3): 463-465.
- [34] 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]. Finland: University of Kuopio, 1996. 7-8.
- [35] Matyssek R, Sandermann J H. Impact of ozone on trees: an ecophysiological perspective [A]. In: Esser K, Luttge U, Beyschlag W, et al. Progress in Botany [C]. Heidelberg: Springer Verlag, 2003. 349-404.
- [36] Reich P B. Quantifying plant response to ozone: a unifying theory [J]. Tree Physiology, 1987, 3: 63-91.
- [37] 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(11):1527-1537.
- [38] 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(8): 965– 981.