

分类号_____

密级_____

UDC _____

编号 200618010515079

中国科学院研究生院
博士学位论文

几种园林植物对臭氧污染的生理生态响应

张 璐

指导教师 蒋高明 研究员 博士 中国科学院植物研究所

李永庚 副研究员 博士 中国科学院植物研究所

申请学位级别 博士 学科专业名称 生态学

论文提交日期 2010 年 4 月 论文答辩日期 2010 年 5 月

培养单位 中国科学院植物研究所

学位授予单位 中国科学院研究生院

答辩委员会主席 王堃 教授

二零一零 年 五 月

Ecophysiological responses of several landscape plants to ozone pollution

Dissertation Submitted to

Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences

in partial fulfillment of the requirements

for the degree of

Doctor of Philosophy

By: Lu ZHANG

(Ecology)

Dissertation Supervisor: Prof. Gaoming JIANG

Assoc. Prof. Yonggeng LI

May 2010, Beijing

关于学位论文使用授权的说明

本人完全了解中国科学院植物研究所有关保留、使用学位论文的规定，即：植物研究所有权保留送交论文的复印件，允许论文被查阅和借阅；学校可以提供目录检索以及公布论文的全部或部分内容，可以采用影印、缩印或其他复制手段保存论文。

(保密的论文在解密后遵守此规定)

学位论文作者签名：

年 月 日

-----经指导教师同意，本学位论文属于保密，在 年解密后适用本授权书。

| | | | |
|----------|-------|-----------|--|
| 指导教师签名： | | 学位论文作者签名： | |
| 解 密 时 间： | 年 月 日 | | |

各密级的最长保密年限及书写格式规定如下：

| | |
|-----|------------------------|
| 内部 | 5 年（最长 5 年，可少于 5 年） |
| 秘密★ | 10 年（最长 10 年，可少于 10 年） |
| 机密★ | 20 年（最长 20 年，可少于 20 年） |

学位论文原创性说明

本人种种声明：所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，进行研究工作所取得的成果，除文中已经注明的引用内容外，本学位论文的研究内容不包括任何他人的创作、已经发表或者没有公开发表的作品内容。多本论文所涉及的研究工作所做出贡献的其他个人和集体，均已经在文中以明确的方式注明。本学位论文的原创性声明的法律责任由本人承担。

学位论文作者签名：

年 月

几种园林植物对臭氧污染的生理生态学响应

摘要

近地层空气中臭氧 (O_3) 浓度升高对农业、森林以及人类的健康可产生严重危害。园林绿地植物作为城市植被的重要组成部分, 在固碳释氧、净化空气、吸附和清除空气中的悬浮颗粒、降温增湿等方面都发挥着十分重要的作用。研究园林绿地植物对臭氧污染的响应可为筛选适应高浓度臭氧环境的物种和品种提供理论依据。以我国常见的园林乔木 (海棠)、灌木 (红瑞木等)、草本植物 (早熟禾等)、藤本植物 (忍冬) 作为试材, 利用上部开口式同化箱 (OTC), 通过模拟臭氧浓度升高 (70 ng g^{-1}), 研究了园林植物对臭氧污染的响应。主要研究结果如下:

(1) 通过比较园林乔木——海棠两个不同叶色 (*Malus spp.*) 品种的幼树, ‘王族’ (红色叶) 和‘火焰’ (绿色叶), 对臭氧熏蒸 (臭氧浓度为 70 ng g^{-1} , 每天处理 7 小时, 共处理 31 天) 的响应, 发现, 高浓度臭氧显著降低了‘王族’的净光合速率 (P_N) (-27.2%)、光系统 II 光化学量子产额 (Φ_{PSII}) (-22.1%) 和非环式电子传递速率 (ETR) (-21.8%) ($P<0.01$), 而‘火焰’却没有变化。‘王族’海棠的日间呼吸 (Resp)、羧化效率 (CE)、Rubisco 酶活体最大反应速率 (V_{cmax}) 和最大电子传递速率 (J_{max}) 在臭氧处理下也显著降低 ($P<0.01$), 降低程度分别为 55.3% , 74.8% , 34.4% 和 46.1% ; 而‘火焰’海棠的这些参数受臭氧的影响不明显。以上结果表明, 红色叶品种的光合作用比绿色叶的对臭氧有更高的敏感性。

(2) 高浓度臭氧 (臭氧浓度为 70 ng g^{-1} , 每天处理 7 小时, 共处理 65 天) 显著降低了园林灌木 [丝棉木 (*Euonymus bungeanus*), 红叶石楠 (*Photinia × fraseri* ‘Red Robin’), 流苏 (*Chionanthus retusus*) 和红瑞木 (*Cornus alba*)] 幼树的净同化速率, 然而胞间/胞外 CO_2 比值 (C_i/C_a) 在所有的品种中都保持稳定或者增大, 说明在臭氧熏蒸下净光合同化的降低很可能是因为叶肉细胞受到损伤所导致而不是气孔限制造成的。另外, 通过参数的相关性分析发现, 净光合同化速率的降

低程度与 Φ_{PSII} 和ETR的降低程度呈显著正相关关系,这也表明了净光合同化的降低主要受光反应过程的影响。然而不同物种对臭氧的反应存在很大差异。其中丝棉木的净同化速率降低程度最大(-49.6%),而流苏的降低程度最小(-36.5%)。臭氧显著的降低了丝棉木的 Φ_{PSII} 和ETR而增加了流苏的 Φ_{PSII} 和ETR。丝棉木的光反应受到严重的伤害,但是流苏通过增加电子传递速率减轻了净光合同化受到的伤害。由此可见,丝棉木对臭氧的敏感性可能是最高的,而流苏是最耐受的物种。红叶石楠和红端木对臭氧的敏感性介于两者之间,而且红端木和红叶石楠的敏感性差异不显著。流苏比较适合在臭氧污染地区应用,而丝棉木则不合适。

(3) 通过比较三种不同功能型草本植物:早熟禾(*Poa annua*)、高丹草(*Sorghum bicolor* × *S. Sudanense*)、苜蓿(*Medicago Sativa*)对臭氧熏蒸处理(臭氧浓度为 70 ng g^{-1} ,每天处理7小时,共处理31天)的响应,发现,C4植物高丹草和豆科植物苜蓿 P_N 显著降低,而且后者降低的程度大于前者,而C3植物早熟禾的 P_N 对高浓度臭氧并不敏感。臭氧导致豆科植物苜蓿发生了光抑制(暗适应下最大光化学效率— F_v/F_m 降低),而且导致ETR和 Φ_{PSII} 显著降低;臭氧也导致高丹草发生了轻微光抑制,但是ETR和 Φ_{PSII} 并没有受到显著影响;而臭氧对C3植物早熟禾没有引起光抑制效应,而且ETR和 Φ_{PSII} 也没有受到显著的影响。臭氧处理降低了高丹草地上部分生物量(-36.4%)、地下部分生物量(-51.1%)和总生物量(-41.8%)。高浓度臭氧处理对苜蓿的生物量的影响程度更大。与对照相比,其地上部分生物量(-43.8%)、地下部分生物量(-81.6%)和总生物量均显著降低(-55.2%)。C3植物早熟禾与前两种植物不同,高浓度的臭氧熏蒸并没有降低其生物量的积累。综合三种植物在臭氧处理下气体交换参数、叶绿素荧光参数以及生物量积累和分配的变化规律,可以得出,豆科植物苜蓿对臭氧的敏感性最高,C3植物早熟禾最低,而C4植物高丹草介于两者之间。早熟禾适宜在臭氧污染地区中用做绿化植物。

(4) 通过比较藤本植物——忍冬(*Lonicera japonica* Thunb.)二倍体品种及其同源四倍体对高浓度臭氧污染的生理生态响应(臭氧浓度为 70 ng g^{-1} ,每天处理7小时,共处理31天),发现,两个品种的 P_N 都由于臭氧熏蒸而显著降低($P<0.01$),尽管每个处理下的每个品种的 P_N 和气孔导度(g_s)均呈显著的正相关,但是由于 C_i/C_a 的比值很稳定或者增大,说明臭氧熏蒸导致 g_s 降低很可能是 P_N 降低后的结果而不是导致其降低的原因。臭氧显著降低饱和 CO_2 浓度下的 P_N (P_{Nsat})和

羧化效率,表明卡尔文循环过程受到了伤害。臭氧污染降低了叶绿素荧光参数如 F_v/F_m , Φ_{PSII} , ETR, 光化学猝灭(q_p), 非光化学猝灭(NPQ), V_{cmax} 和 J_{max} 的值,这表明光捕获和电子传递过程受到破坏也是导致忍冬在高浓度臭氧处理下 P_N 的降低一个重要原因。与二倍体相比,四倍体的蒸腾速率(E), g_s , P_{Nsat} , V_{cmax} 和 J_{max} 受臭氧污染的影响较大,而且臭氧处理和品种对 P_N 有近似显著的交互作用 ($P=0.086$),表明四倍体忍冬的光合过程比二倍体对臭氧更为敏感。

以上结果表明,不同园林植物对臭氧污染的敏感性不同。乔木类植物海棠红色叶品种对臭氧敏感性高于绿色叶品种;灌木类植物中丝绵木对臭氧的敏感性最高,而流苏的抗性最好;草本植物中 C3 植物早熟禾的敏感性最低,而豆科植物苜蓿的敏感性最大, C4 植物高丹草介于两者中间;藤本植物忍冬的二倍体品种对臭氧抗性好于其同源四倍体,染色体加倍反而增加了忍冬的敏感性。因此,在筛选/选育园林绿化植物种/品种时必须考虑其对臭氧污染的敏感性。

关键词: 臭氧; 气体交换; 叶绿素荧光; 生物量; 花色素苷; 园林灌木; 功能型; 染色体加倍

Ecophysiological responses of several landscape plants to ozone pollution

Lu Zhang (Ecology)

Directed by Prof. Gaoming Jiang and Assoc. Prof. Yonggeng Li

Abstract

Elevated O₃ concentration in the air in surface layer can cause serious damage on agriculture, forest and human health. As an important part of urban vegetation, landscape plants play vital roles in carbon fixation and oxygen release, air purification, absorbing and cleaning suspended particles, cooling and humidification and so on. Studies of responses of landscape plants to O₃ pollution can provide some theoretical basis for selecting tolerant species or cultivars. Landscape arboreal (*Malus* spp.), shrubs (*Euonymus bungeanus*; *Photinia* × *fraseri* ‘Red Robin’; *Chionanthus retusus* and *Cornus alba*), herbs (*Poa annua*; *Sorghum bicolor* × *S. Sudanense*; *Medicago Sativa*) and liana (*Lonicera japonica*) were selected as materials. The open top chamber (OTC) was used to simulate the high O₃ concentration (70 ng g⁻¹). The main results were as follows:

1 The responses of two crabapple (*Malus* spp.) cultivars with green leaves (‘Flame’) and red leaves (‘Royalty’) to chronic O₃ (70 ng g⁻¹, 7h d⁻¹ for 30 d) were investigated. Compared with control, net photosynthetic rate (P_N) (-27.2 %), actual quantum yield of PSII (Φ_{PSII}) (-22.1 %) and electron transport rate (ETR) (-21.8 %) of Royalty decreased significantly (P<0.01) while those of Flame did not change under O₃ fumigation. In Royalty, O₃ significantly reduced respiration in the light (Resp) (-55.3 %), carboxylation efficiency (CE) (-74.8 %), maximum in vivo rate of Rubisco carboxylation (V_{cmx}) (-34.4 %) and maximal photosynthetic electron

transport rate (J_{\max}) (-46.1 %). However, those parameters were not significantly affected in Flame. These results indicated that the cultivar with red leaves probably had the higher photosynthetic sensitivity to O_3 than the cultivar with green leaves.

2 Elevated O_3 (70 ng g^{-1} , 7 h d^{-1} for 65 d) considerably reduced net CO_2 assimilation (A) of saplings of four shrub species [*Euonymus bungeanus* (EB), *Photinia × fraseri* 'Red Robin'(PF), *Chionanthus retusus* (CR) and *Cornus alba* (CA)]. The ratio of intercellular to ambient CO_2 concentration (C_i/C_a) were maintained or increased in all species which suggested that the depressions of A under O_3 fumigation were probably due to mesophyll processes rather than stomatal limitation. Furthermore, the relative losses in A positively correlated with the relative decreases in Φ_{PSII} and ETR, which indicated that the impairments of A were mainly affected by the light reaction process. However, the responses of the plants to elevated ozone were significantly different. Highest relative loss of A was observed in EB (-49.6 %), while the lowest relative loss (-36.5 %) was in CR. Ozone drastically decreased Φ_{PSII} and ETR in EB while increased them in CR. The light reaction of EB was impaired more seriously but the CR alleviated the impairment on A by increasing ETR. All results indicated that the sensitivity of EB to O_3 was probably the highest while the CR was the most tolerant species. The sensitivities of PF and CA were found between those two. There were no significant differences in the sensitivities to ozone between PF and CA. It is suggested that the EB was not suitable for garden greening in the ozone polluted area while the CR could be ideal choices.

3 The ecophysiological responses of three herb species, [*Poa annua* (PA), *Sorghum bicolor* × *S. Sudanense* (SS), *Medicago Sativa* (MS)] , to elevated O_3 (70 ng g^{-1} , 7 h d^{-1} for 31 d) were investigated. These species stands for different functional types (C3, C4 and Legume). P_N of both SS and MS decreased significantly under ozone fumigation while that of PA did not change. The relative loss of P_N in MS was much higher than that in SS. Photoinhibition was observed in MS under ozone fumigation indicating by the decrease of the maximum efficiency of PS II photochemistry (F_v/F_m). Meanwhile the Φ_{PSII} and ETR of MS were also inhibited by the ozone treatment. Photoinhibition also happened in SS, however, the Φ_{PSII} and

ETR in SS were not significantly affected. Changes of chlorophyll fluorescence parameters were not observed in the PA. Ozone decreased the aboveground biomass (-36.4 %), belowground biomass (-51.1 %) and total biomass(-41.8 %) of SS. The relative losses of aboveground biomass, belowground biomass and total biomass in MS were even higher. They were -43.8 %, -81.6 % and -55.2 %, respectively. Biomass and its partitioning in PA were not significantly affected. In conclusion, MS had the highest sensitivity to ozone while PA was the most tolerant species to ozone pollution. The sensitivity of SS was found between those two. PA is a proper species which can be used for garden greening in the ozone-polluted area.

4 The ecophysiological responses of diploid cultivar and autotetraploid cultivar of a liana species (*Lonicera japonica* Thunb.) to elevated ozone (O_3) exposure (70 ng g^{-1} , 7 h d^{-1} for 31 d) were compared. P_N of both cultivars were drastically ($P < 0.01$) impaired by O_3 . Although there were significantly positive correlation between P_N and stomatal conductance (g_s) in both cultivars under each treatment, the decreased g_s in O_3 might be the result rather than the cause of decreased P_N as indicated by stable or increasing C_i/C_a . P_N under saturating CO_2 (P_{Nsat}) and CE significantly decreased under O_3 fumigation, which indicated the Calvin cycle was impaired. O_3 also inhibited F_v/F_m , Φ_{PSII} , ETR, photochemical quenching coefficient (q_p), the non-photochemical quenching (NPQ), V_{cmax} and J_{max} which demonstrated that the decrease in P_N of the honeysuckle exposed to elevated O_3 was probably not only due to impairment of Calvin cycle but also with respect to the light-harvesting and electron transport processes. Compared to the diploid, the tetraploid had higher relative losses in transpiration rate (E), g_s , P_{Nsat} , V_{cmax} and J_{max} . This result indicated that the Calvin cycle and electron transport in tetraploid were damaged more seriously than in diploid. A barely non-significant ($P = 0.086$) interaction between O_3 and cultivar on P_N suggested a higher photosynthetic sensitivity of the tetraploid cultivar.

All these results demonstrated that the sensitivities of landscape plants to O_3 pollution were different. The crabapple cultivar with red leaves is more sensitive to ozone than green leaf cultivar; In shrub species, the sensitivity of EB to O_3 was probably the highest while the CR was the most tolerant species. In herb species, C3

plant (PA) was the most tolerant species, while legume plant (MS) was the most sensitive species, and sensitivity of C4 plant (SS) stayed between them; the tolerance of diploid honeysuckle was better than its autotetraploid cultivar, which indicated that chromosome doubling increased the sensitivity of the plants. Thus, the sensitivities of plants should be taken into account when selecting or breeding landscape plants which can be used in the ozone-polluted area.

Key Words: ozone; gas exchange; chlorophyll fluorescence; biomass; anthocyanin; shrubs; functional type; chromosome doubling

目录

| | |
|-------------------------------------|----|
| 摘要..... | I |
| Abstract..... | IV |
| 目录..... | IX |
| 第一章 前言..... | 1 |
| 1.1 臭氧污染的发生、发展趋势及危害..... | 1 |
| 1.1.1 臭氧污染的产生..... | 2 |
| 1.1.2 臭氧污染的发展趋势..... | 2 |
| 1.1.3 臭氧污染的危害..... | 3 |
| 1.2 植物对臭氧的吸收..... | 3 |
| 1.3 臭氧污染对植物生长发育的影响..... | 4 |
| 1.3.1 臭氧对植物叶片的影响..... | 4 |
| 1.3.2 臭氧污染对植物生长的影响..... | 5 |
| 1.3.3 臭氧污染对植物发育的影响..... | 7 |
| 1.4 植物对臭氧的敏感性..... | 8 |
| 1.4.1 植物对臭氧的敏感性与基因型有关..... | 8 |
| 1.4.2 植物对臭氧的敏感性与植物的形态解剖结构有关..... | 9 |
| 1.4.3 植物对臭氧敏感性与相对生长速率以及适应策略的关系..... | 10 |
| 1.4.4 植物对臭氧的敏感性在不同时期不同部位不同..... | 10 |
| 1.4.5 植物对臭氧的敏感性受到环境条件的影响..... | 11 |
| 1.5 臭氧对植物影响的研究发展趋势..... | 12 |
| 1.6 臭氧污染对园林植物的影响..... | 12 |
| 1.7 本论文关注的科学问题..... | 13 |
| 1.8 本论文的主要研究内容..... | 14 |
| 第二章 实验材料与方法..... | 15 |
| 2.1 实验装置..... | 15 |
| 2.2 实验材料与处理方法..... | 15 |
| 2.2.1 实验材料..... | 15 |
| 2.2.2 实验处理..... | 16 |
| 2.3 测定内容及方法..... | 16 |
| 2.3.1 叶片气体交换测定..... | 16 |
| 2.3.2 叶绿素 a 荧光参数测定..... | 17 |
| 2.3.3 生物量积累和分配..... | 17 |
| 2.4 统计分析和作图..... | 18 |

| | |
|--------------------------------------|----|
| 第三章 园林乔木对臭氧污染的响应..... | 19 |
| 3.1 引言..... | 19 |
| 3.2 材料与方法..... | 20 |
| 3.2.1 实验材料..... | 20 |
| 3.2.2 实验处理..... | 20 |
| 3.2.3 气体交换和叶绿素荧光参数测定..... | 20 |
| 3.2.4 统计分析..... | 21 |
| 3.3 结果与分析..... | 21 |
| 3.4 小结..... | 24 |
| 第四章 园林灌木对臭氧污染的响应..... | 25 |
| 4.1 引言..... | 25 |
| 4.2 材料与方法..... | 27 |
| 4.2.1 植物材料..... | 27 |
| 4.2.2 实验设计..... | 27 |
| 4.2.3 气体交换测定..... | 27 |
| 4.2.4 叶绿素荧光参数测定..... | 27 |
| 4.2.5 生物量积累和分配..... | 27 |
| 4.2.6 数据分析..... | 28 |
| 4.3 实验结果..... | 28 |
| 4.3.1 气体交换..... | 28 |
| 4.3.2 叶绿素荧光参数..... | 28 |
| 4.3.3 生物量积累和分配..... | 29 |
| 4.3.4 气体交换参数、叶绿素荧光参数以及生物量的相关性分析..... | 29 |
| 4.4 讨论..... | 34 |
| 4.4.1 气体交换..... | 34 |
| 4.4.2 叶绿素荧光参数..... | 34 |
| 4.4.3 生物量积累和分配..... | 34 |
| 4.5 小结..... | 37 |
| 第五章 草本植物对臭氧污染的响应..... | 39 |
| 5.1 引言..... | 39 |
| 5.2 材料与方法..... | 40 |
| 5.2.1 实验材料..... | 40 |
| 5.2.2 实验设计..... | 40 |
| 5.2.3 叶片气体交换测定..... | 41 |
| 5.2.4 叶片叶绿素荧光参数测定..... | 41 |
| 5.2.5 生物量积累和分配..... | 41 |
| 5.2.6 数据分析..... | 41 |

| | |
|-----------------------|----|
| 5.3 实验结果..... | 41 |
| 5.3.1 气体交换 | 41 |
| 5.3.2 叶绿素荧光参数 | 42 |
| 5.3.3 生物量积累和分配 | 42 |
| 5.4 讨论..... | 46 |
| 5.5 小结..... | 47 |
| 第六章 藤本植物对臭氧污染的响应..... | 49 |
| 6.1 引言 | 49 |
| 6.2 实验材料与方法..... | 50 |
| 6.2.1 植物材料 | 50 |
| 6.2.2 实验设计 | 50 |
| 6.2.3 气体交换测定 | 51 |
| 6.2.4 叶绿素荧光参数测定..... | 51 |
| 6.2.5 数据分析 | 51 |
| 6.3 实验结果..... | 52 |
| 6.3.1 气体交换 | 52 |
| 6.3.2 叶绿素荧光参数 | 55 |
| 6.4 讨论..... | 59 |
| 6.5 小结..... | 60 |
| 第七章 结论与展望..... | 61 |
| 7.1 主要结论 | 61 |
| 7.2 研究创新点 | 62 |
| 7.3 展望 | 63 |
| 参考文献..... | 65 |
| 致谢..... | 81 |
| 个人简历和论文发表情况..... | 82 |

第一章 前言

二十世纪中叶以来,世界上一些地区发生了光化学烟雾事件,给人们的生活、身体健康产生了不利的影响。光化学烟雾不仅威胁着人类的生存和发展,对植物、动物、微生物都有严重的伤害。现已得知,光化学烟雾的主要成分是一种强氧化物质——臭氧(O_3)。

臭氧属于二次污染物,机动车、工厂等排放的氮氧化物(NO_x)和挥发性有机物(VOCs)等一次污染物是臭氧形成的主要前体物。随着我国汽车保有量的增多、工业废气排放量的增大,我国很多城市及其周边地区发生臭氧污染几率正在逐渐增大。例如,1989年至1998年的10年间,北京市中关村地区空气中臭氧的平均浓度增加了近一倍(马一琳和张远航,2000)。园林植物是城市的‘绿肺’,在固碳放氧、清洁空气、美化环境上发挥着重要的作用。研究园林植物对臭氧污染的响应可为今后筛选适宜在高浓度臭氧环境下生长的植物种/品种提供理论依据。

1.1 臭氧污染的发生、发展趋势及危害

臭氧是大气中一种具有特殊臭味的微量无色气体,是一种不稳定的强氧化物质。其在空间分布的不同,对人类的作用是截然相反的。绝大部分臭氧存在于离地面25 km左右处的大气平流层中,即通常所说的臭氧层。臭氧层厚度往往随纬度、季节和天气等因素的变化而不同。在平流层中,臭氧可以作为吸收太阳紫外辐射(200~400 nm)的重要物质,保护生物圈里的各种植物、动物、微生物和人类。而在对流层中(距地面15 km以内)的臭氧则是一种空气污染物,是光化学烟雾最主要的成分,约占总光化学氧化剂的90%以上,对人类的健康以及其他生物的生存构成了极大威胁。 O_3 在近地空气中的半衰期为几天,而在对流层中的半衰期长达数月。除此之外,处于大气对流层的臭氧也可以吸收从地表反射回来的太阳辐射,被认为是排在 CO_2 和 CH_4 之后第三重要的温室气体(IPCC, 2001),其浓度升高会进一步加剧全球气候变暖的趋势(Forster *et al.*, 2007)。

1.1.1 臭氧污染的产生

近地空气中的臭氧主要来自两个方面：其一是机动车、工厂等排放的氮氧化物（ NO_x ）和挥发性有机物（VOCs）等一次污染物在大气中经过光化学反应而形成臭氧（Ryerson, 2001）。其主要反应可表示为： $\text{VOCs} + \text{NO}_x + h\nu \rightarrow \text{O}_3 + \text{其他氧化剂}$ 。这是最近几十年来臭氧浓度升高的主要原因。城市中的臭氧污染主要是由于汽车尾气和工业废气排放造成的。其二是同温层的 O_3 经平流层向对流层沉降，成为近地空气中 O_3 的另一个主要来源（Granier, 1999）。另外，地球上的生物活动也是不可忽视的 O_3 来源之一。

位于 $60^\circ \text{N} \sim 60^\circ \text{S}$ 之间的一些大城市，在空气湿度低、气温比较高的春、夏、秋季晴天的中午或午后都可能发生臭氧污染。1989 年至 1998 年的 10 年间，北京市中关村地区空气中 O_3 的平均浓度增加了近一倍（马一琳和张远航, 2000）；常熟市农田生态系统中的最高臭氧浓度也已经达到了 160 ng g^{-1} （刘建栋等, 2003），早已超过国际上 40 ng g^{-1} 的临界浓度。

1.1.2 臭氧污染的发展趋势

随着工业化进程的加快，大量化石燃料和生物体燃烧所造成的地面臭氧浓度升高的趋势将不可避免（Collins *et al.*, 2000a; Ashmore, 2005）。由于某个地区的臭氧浓度受复杂的物理和化学过程以及天气和气象过程的影响，臭氧可以在大陆间迁移，使人们不得不从本地区乃至全球尺度来考虑臭氧污染问题（Heath, 1994; Johnson *et al.*, 2001）。因此，臭氧污染越来越受到世界各国的广泛重视。

在我国，氮氧化合物的排放量预计到 2020 年将是 1990 年的 3 倍， O_3 浓度将继续升高（Streets and Waldhoff, 2000），根据相关研究和观测结果，我国中东部地区的 O_3 污染将进一步加剧。2000 年建立的全球 O_3 STOCHEM 数学模型（Collins *et al.*, 2000b）已经得到了广泛的认可和使用。SEI-Y（斯德哥尔摩环境研究所）和 ECE（欧洲经济委员会）利用 STOCHEM 模型预测，在最近 20 年内 O_3 浓度将持续升高，许多地区的平均浓度将超过 70 ng g^{-1} ，全球范围内受 O_3 污染的区域将增加一倍以上。

1.1.3 臭氧污染的危害

近 50 年来, 近地层空气中臭氧浓度升高对农田、森林产生了极大危害。例如, 1943 年美国洛杉矶首次发生的光化学烟雾事件导致大片松树林死亡; 美国每年因臭氧污染造成的农业损失在 30 亿美元左右 (Adams *et al.*, 1989); 欧洲的臭氧污染每年对农作物造成高达 60 亿欧元的损失 (Nameless, 2002); 据估计, 我国长三角地区因臭氧浓度过高造成的农业损失为 14.75 亿元人民币 (Feng *et al.*, 2003)。

臭氧严重威胁着人体的健康, 含量过高会刺激呼吸系统的黏膜, 导致胸闷咳嗽、咽喉肿痛、呼吸困难, 削弱肺功能, 引发支气管炎和肺气肿, 对室外锻炼的人尤其有害 (Weschler, 2006)。臭氧还引起一些其他症状, 如头疼, 眼睛、鼻子、喉咙刺痒等。

另外, 有研究表明, 近地表臭氧浓度与心血管疾病也存在某种程度的关联。还有关于其他疾病与高臭氧浓度相关的报道, 例如阑尾炎 (Kaplan *et al.*, 2009)。

1.2 植物对臭氧的吸收

臭氧污染已引起人们的广泛关注, 如何避免或减轻臭氧对人的伤害是摆在科学家面前的一个现实问题。

臭氧主要是通过叶片上的气孔进入到植物体内, 叶片吸收空气中的臭氧后, 可对植物本身产生伤害。正是由于其对臭氧的吸收作用 (Pleijel *et al.*, 2000; Welter, 1982), 有利于降低空气中的臭氧浓度。例如, 我国台湾省的“中华农学会”1999 年报道的资料, 水稻田可以使空气中的臭氧浓度降低 11 % 左右。

研究发现, 植物叶片对臭氧的吸收主要是通过气孔 (Kollist *et al.*, 2000)。因此, 气孔导度 (g_s) 是影响植物对臭氧吸收能力的主要因素, 臭氧通量受气孔调节 (Kollist *et al.*, 2000)。植物叶片的臭氧通量 (O_3 flux) 或臭氧吸收速率 (O_3 uptake rate) 通常由下面的公式 (公式 1) 估算:

$$F_{\text{Ozone}} = C_{\text{Ozone}} \times g_s \times 2.6667 \quad (\text{公式 1})$$

其中: F_{Ozone} 为臭氧通量或臭氧吸收速率, C_{Ozone} 为空气中臭氧浓度 (小时均值), g_s 为气孔对水的导度, 2.6667 为臭氧分子与水分子的分子量之比, 属于常

数项。

SEI-Y (斯德哥尔摩环境研究所) 建议利用下面的公式 (公式 2) 计算臭氧

$$\text{臭氧通量: } F_{O_3} = \frac{[O_3]}{R_a + R_b + R_s} \quad (\text{公式 2})$$

其中: F_{O_3} 为臭氧通量或臭氧吸收速率, $[O_3]$ 为空气中臭氧浓度, R_a 、 R_b 和 R_s 分别为大气、界面和气孔臭氧扩散的对阻力(Simpson, 1995)。

由于公式 2 中的 R_a 和 R_b 的数值较小且准确测定的难度较大, R_s 实际是 g_s 的倒数, 所以在实际应用时仍常用简化的公式 (公式 1)。在相同的臭氧环境中, 气孔导度 (g_s) 是影响臭氧通量的决定性因子。

借鉴上述计算方法, 假定空气中的臭氧浓度为 70 ng g^{-1} , 植物叶片的平均气孔导度保持 $300 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 的水平 (每天 10 小时), 每平方米叶片每天可以吸收大约 100 mg 臭氧。实际上, 叶片平均气孔导度因植物种类和栽培管理措施等方面的原因要远远低于 $300 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 综合分析相关的植物叶片气体交换方面的资料, 植物的平均气孔导度可能不足 $100 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 。因此, 在治理空气中的臭氧污染时需要通过调节气孔导度, 充分发挥绿色植物的作用。

1.3 臭氧污染对植物生长发育的影响

关于臭氧污染对植物生长发育的影响已有大量的研究报道, 研究表明, 臭氧降低了农作物的产量、减少了林业产品的产量和质量, 同时也影响到自然生态系统健康和稳定 (Krupa *et al.*, 2001; Fuhrer and Booker, 2003; Ashmore, 2005; Wahid *et al.*, 1995; Finnan *et al.*, 1996; Rudorff *et al.*, 1996b; Mulholland *et al.*, 1998)。

1.3.1 臭氧对植物叶片的影响

臭氧主要是通过叶片上的气孔进入到植物体内, 接着溶解于质外体里的结合水中, 发生反应并生成活性氧自由基 (ROS) (Wohlgemuth *et al.*, 2002), 然后 ROS 与植物细胞发生氧化反应的, 并影响叶肉细胞功能, 甚至引起可见伤害症状, 如色斑、退绿、失水、干枯、老化、叶脉畸形等。

不同植物在臭氧污染下的受害症状有所差别。已有的研究表明, 臭氧污染可以使小麦叶片退绿、出现褐斑、造成局部坏死(白月明等, 2001), 还能够使水稻出现水锈斑症状(白月明等, 2001)。黄玉源(2006)对三种南方植物的研究表明, 不同的树种受臭氧伤害之后表现出的症状不太一样, 无论是伤斑的大小、形状、颜色等均有所不同。

对同一植物叶片来说, 各类组织的反应也是有差异的(Gravano *et al.*, 2003)。一般来说, 叶肉组织对 O_3 反应比较敏感, 表皮次之, 叶脉抗性较好。在叶肉组织中, 栅栏组织对 O_3 最为敏感, 其次为海绵组织。臭氧对叶片的伤害首先是氧化栅栏组织, 使细胞质壁分离, 细胞内含物受到破坏且分散。若继续暴露在臭氧中, 叶片上表皮的坏死斑点变大, 互相融合, 最后伤害到海绵组织, 形成两面坏死斑(白月明等, 2002)。

1.3.2 臭氧污染对植物生长的影响

臭氧主要通过降低植物的碳同化能力、影响植物的呼吸作用, 并最终影响同化物的积累与分配等几个方面来影响植物的生长。

1.3.2.1 臭氧污染对植物碳同化的影响

碳同化是指植物将空气中 CO_2 通过光合作用合成可以为自身所利用的高能量的碳水化合物, 并且释放氧气的过程。大量的实验结果证明, 植物在臭氧污染下碳同化能力降低。在高浓度臭氧环境下, 植物光合速率显著下降(Mulholland *et al.*, 1997; Reiling *et al.*, 1995; Noormets *et al.*, 2001; Farage and Long, 1992; Ewert and Porter, 2000)。总结已有的文献, 臭氧主要通过以下几种方式来降低植物的碳同化能力:

(1) 通过降低叶片气孔导度来降低净光合速率

气孔是植物叶片上的重要器官。它的开闭, 关系着植物与外界的气体交换, 因而与蒸腾、光合、呼吸等重要生理过程密切相关。 O_3 主要是通过气孔扩散进入植物叶片细胞间空隙, 溶解于与细胞壁结合的水中, 并经反应形成一系列的活性氧自由基(ROS), ROS 攻击细胞膜, 导致细胞膜部分破裂, 同时细胞膜通过产生乙烯及茉莉酸等信号物质引起细胞内发生一系列的改变(Long and Naidu, 2002)。作为一种应急机制, 植物可能通过降低气孔导度来避免过多的 O_3 进入植物体内。但是与此同时, 进入植物体的 CO_2 浓度也会随之降低, 进而导致净光

合速率降低。

(2) 通过降低 Rubisco 酶的活性/含量来降低净光合同化

臭氧可以抑制己糖磷酸还原过程,使 Rubisco 酶蛋白含量及活性都降低,降低 RuBP 羧化效率 (Vanhovel and Bossen, 1994)。这种作用存在着短期和长期的效应。当臭氧低于某一临界值时,植物体的抗氧化系统发挥作用,清除有害物质而不会抑制光合作用速率,而高于该临界值时由 Rubisco 限制引起的光合速率降低将与臭氧吸收量呈线性关系 (Pell *et al.*, 1997; Reid and Fiscus, 1998; Long and Naidu, 2002; Fiscus *et al.*, 2005)。

(3) 通过降解叶绿体引起叶片早衰来降低净光合速率

臭氧环境下可导致叶绿素含量降低、叶肉组织收缩、叶片衰老加快 (Gelang *et al.*, 2000), 叶绿体数目减少、叶绿体显微结构发生变化 (Kivimaenpaa *et al.*, 2005), 基质暗色化, 类囊体膜膨胀, 直至被破坏, 破坏光系统 II 中 D1 蛋白, 使光系统 II 电子传递效率降低。长期臭氧胁迫可诱导乙烯的产生, 产生衰老信号, 导致叶片早衰 (Pell *et al.*, 1997); 研究表明乙烯生产量的多少直接关系到臭氧伤害症状包括光合作用下降程度的大小 (Sinn *et al.*, 2004)。

1.3.2.2 臭氧对植物呼吸作用的影响

臭氧能够影响到植物的呼吸作用,但在已有的报道中,学者对臭氧如何影响呼吸的认识存在较大的分歧。Hofstra *et al.* (1981) 发现,植物根系代谢活动对臭氧的敏感性比叶片强,叶片可见症状出现前,根系就已经受到伤害,而且受伤程度高于叶片。Kellomaki and Wang (1998)则报道, O_3 在开始阶段对植物呼吸作用的影响不大,到24h后才受到很大刺激。王勋陵 (1990) 的研究表明在较低浓度 O_3 作用下,叶片未出现伤害症状前,呼吸受到刺激,较长时间内保持这一趋势;在高浓度 O_3 作用下植物呼吸受到抑制,取消臭氧抑制后一段时间内可以恢复。有两种影响机制来解释 O_3 抑制植物呼吸作用:一种是 O_3 伤害细胞时,首先危害细胞膜,改变膜的透性,使细胞失去呼吸能力。另一种是 O_3 伤害线粒体,使其肿胀,能量代谢中心受到损害,会降低呼吸作用的功能 (王勋陵, 1990)。

1.3.2.3 臭氧对生物量积累和分配的影响

从前面可以知道, O_3 是一种强氧化剂,进入叶片后破坏其正常的结构和功能,导致叶片衰老加快、光合速率降低,有效叶面积的持续时间缩短 (Ewert and

Porter, 2000), 导致植株生长缓慢 (Grantz *et al.*, 2006), 植株的生物量减少 (McCrary and Anderson, 2000), 农作物产量降低 (Heagle *et al.*, 2000; 白月明等, 2003)。

臭氧浓度的升高能改变植物光合产物的分配 (McCrary and Anderson, 2000)。臭氧显著降低植株同化物向地下部分——根系的分配 (Andersen, 2003)。原因主要有: 1) 植物叶片光合作用能力降低, 光合产物输出受阻 (Meyer *et al.*, 2000); 2) O_3 导致膜脂过氧化以及叶肉细胞等组织伤害和抗氧化系统的增强, 增加了叶片对同化物的需求。臭氧胁迫降低叶片厚度, 增大栅栏组织和海绵组织的比率, 提高过氧化物酶体和线粒体的数量 (Oksanen *et al.*, 2004; Oksanen *et al.*, 2005)。臭氧胁迫诱导叶片细胞产生了如绿原酸、黄酮类物质等与抗氧化胁迫相关的次生代谢物质 (Peltonen *et al.*, 2005; Sallas *et al.*, 2001)。因而长期生长在 O_3 环境下的植物根冠比降低 (McCrary and Anderson, 2000)。3) 研究表明 O_3 可能直接的作用于韧皮部组织, 降低同化物向外运输的能力 (Grantz and Farrar, 1999), 进而导致同化物在叶片中的累积, 对光合作用产生负反馈。另外, O_3 还会破坏植物叶片的养分平衡, 降低或增加叶片氮素和磷素含量, 增大 N/P 比例 (Yamaji *et al.*, 2003)。植物在臭氧污染下, 还会将老叶中的营养物质转移到新叶中 (Temple and Riechers, 1995), 有利于维持植株的生长。

同化物向地下部分分配的减少具有非常重要的生态学意义。如 Heggestad *et al.* (1988) 研究发现, O_3 胁迫下, 干旱对植物生长的影响更为严重, 表现在根系对土壤营养吸收量降低, 从而间接降低了叶片的光合速率。

1.3.3 臭氧污染对植物发育的影响

臭氧污染对植物营养生长的影响势必会影响到繁殖器官的发育, 同时, 研究发现臭氧可也会直接对繁殖结构造成伤害 (Feder and Shrier, 1990; Stewart *et al.*, 1996; Stewart, 1998)。但是, 大部分臭氧对农作物和本地物种的影响研究都涉及生长和繁殖器官, 所以很难区分其是对繁殖器官的直接影响还是通过降低同化能力等方式而产生的间接影响 (Black *et al.*, 2000)。

臭氧污染对一些植物的花粉萌发和花粉管伸长会产生一些不利的影响 (Feder, 1968; Feder and Sullivan, 1969a; Masaru *et al.*, 1976; Feder and Shrier, 1990; Hormaza *et al.*, 1996)。但是一些植物的花粉已经被证明甚至在高浓度的臭氧熏蒸

条件下仍然保持活力(Masaru *et al.*, 1976; Bosac *et al.*, 1993)。另外, 臭氧污染会导致许多植物的花期推迟, 例如大豆(Amundson *et al.*, 1986)等, 甚至还能够影响到花芽的发育(Fernandez-Bayon, 1993), 这将可能直接影响到植物的授粉、受精, 进而影响到结实率。

大量的研究表明, 植物的种子和果实产量在臭氧浓度升高的环境下都会降低(Shannon and Mulchi, 1974; Reich and Amundson, 1985; Cooley and Manning, 1987; Mulchi *et al.*, 1988; Takemoto *et al.*, 1988; Reiling and Davison, 1992b; Kobayashi *et al.*, 1995; Vandermeiren *et al.*, 1995; Pearson *et al.*, 1996; Mulholland *et al.*, 1998; Bergweiler and Manning, 1999; Ollerenshaw and Lyons, 1999; Ollerenshaw *et al.*, 1999)。种子和果实质量以及种子萌发力和幼苗生活力也受到臭氧污染的影响(Houston and Dochinger, 1977)。臭氧熏蒸还可以改变种皮颜色(Black *et al.*, 2000)。研究表明目前外界臭氧的浓度会影响谷类作物和果树作物种子(Mulchi *et al.*, 1986; Scotti *et al.*, 1994; Ollerenshaw *et al.*, 1999)和果实(Crisosto *et al.*, 1993; Gimeno *et al.*, 1999)的品质特性。大豆(Kress and Miller, 1983; Mulchi *et al.*, 1988)和小麦(Kress and Miller, 1983; Mulchi *et al.*, 1986; Pleijel *et al.*, 1989; Fuhrer *et al.*, 1990; Finnan *et al.*, 1996; Rudorff *et al.*, 1996a; Pleijel *et al.*, 1997) 种子蛋白质含量随着臭氧浓度增长而增长。而Grunwald and Endress (1988)的研究认为大豆种子的蛋白质含量不受臭氧影响。

1.4 植物对臭氧的敏感性

植物对臭氧的敏感性关系到植物间的相互竞争, 进而影响到群落的结构以及生态系统的稳定性, 是非常重要的一个研究课题。目前有关植物臭氧敏感性研究多集中在作物上, 包括大麦、小麦、棉花、马铃薯、玉米、莴苣、花生、菜豆、大豆、芜菁、高粱、烟草等。目前的研究趋势是从单一因子研究向复合因子研究发展, 从大田试验研究向数值模拟研究方向发展。

1.4.1 植物对臭氧的敏感性与基因型有关

基因型决定了植物对臭氧的敏感性差异。不同种植物对臭氧的敏感性不同。作物对 O₃ 的敏感性与作物种类有关, 各类作物对 O₃ 的敏感性一般为: 蔬菜 >

油料>粮食作物。Heck 等(1984)研究表明, 蔬菜对 O₃ 的反应比油料和粮食作物敏感, 油料作物对 O₃ 的响应比粮食作物敏感。以蔬菜为例, 当 O₃ 浓度高达 200 ng g⁻¹ 时, 菠菜和青菜对臭氧的敏感性明显不同, 二者地上部生物量分别不足对照的 1/9 和 1/3, 地下部生物量分别下降 79.38%和 69.30% (白月明等, 2004)。王春乙等研究发现在相同 O₃ 浓度的条件下, 水稻受害较小麦晚, 发展慢, 减产幅度比小麦低, 说明水稻对 O₃ 的敏感性比小麦低。相同浓度的 O₃ 对大豆的影响大于冬小麦和玉米, 说明大豆对 O₃ 的敏感性比冬小麦和玉米高(1995)。同种植物的不同品种对臭氧胁迫的敏感性也表现出较大差异。Kent *et al.*, (2005) 研究了不同大豆品种对臭氧的敏感性差异, 结果表明, 当 O₃ 浓度从 25 ng g⁻¹ 升高到 30 ng g⁻¹、50 ng g⁻¹ 时, 敏感型大豆 (S156) 单株干重降低高达 40%~60%; 中度敏感型大豆(Oregon-91)单株干重降低了 20%~30%; 而耐受性大豆 (R123) 单株干重降低仅为 10%或更低。不同小麦品种对臭氧的敏感性差异也很大 (Barnes *et al.*, 1990; Heagle *et al.*, 2000; Biswas *et al.*, 2008)。同种作物的不同年代的品种对 O₃ 的敏感性有差异。Biswas 等(2008)等通过研究中国近 60 年主推的 20 个小麦品种发现, 在相同条件下, 新品种比老品种更易受到损伤, 生物量降低也更严重。Pleijel 等(2006)通过研究发现, 瑞典小麦新品种比老品种对 O₃ 胁迫更敏感; 希腊新老春小麦品种也具有相同的趋势。相同品种的植物不同居群对 O₃ 的敏感性也不相同, 甚至同一居群的不同个体对 O₃ 的敏感性也有差异(Yang *et al.*, 1982)。

1.4.2 植物对臭氧的敏感性与植物的形态解剖结构有关

植物对O₃的敏感性与其叶片解剖结构关系密切。较大的细胞间隙往往是一种抗污染特性。Ferdinand *et al.* (2000)比较了两种臭氧敏感性不同的黑莓 (*Prunus serotina*)品种发现, 对O₃敏感的黑莓品种的叶片气孔密度较大, 海绵组织层较厚而栅栏组织较薄, 叶面积较大且叶片相对较重, 总的叶片厚度, 保卫细胞长度以及比叶重都相对较大。针叶树种由于气孔比较特别, 对O₃的敏感性较弱, 阔叶一般比针叶树敏感 (Reich, 1987)。通过比较对臭氧敏感的植物与不敏感植物的解剖结构发现, 三种敏感植物 *Sassafras albidum*, *Rudbeckia laciniata* 和 *Rubus Canadensis* 均具有较大的气孔密度以及栅栏细胞间隙。臭氧敏感性与海绵细胞的横切面积、栅栏组织细胞层数以及表皮和叶肉组织的厚度都没有显著的相关

性。臭氧敏感性与关系臭氧进入叶片（高的气孔密度）以及在细胞中的扩散速度（栅栏组织细胞间隙）的叶片特征密切相关（Evans *et al.*, 1996）。

1.4.3 植物对臭氧敏感性与相对生长速率以及适应策略的关系

很多研究表明，在臭氧胁迫下，生长速率较快的植物种类比生长缓慢的植物更加敏感（Reiling and Davison, 1992a; Pell *et al.*, 1994; Sellde'n and Pleijel, 1995; Whitfield *et al.*, 1997）。还有学者研究发现*P. pretense*不同基因型对O₃的敏感性差别不仅与其地理起源有关而且随着生长速率的变化而变化（Danielsson *et al.*, 1999）。特定的臭氧抗性与植物适应策略有密切的关系，就像C-S-R系统（Grime, 1977; Grime *et al.*, 1996）。C-S-R 适应策略最早是指植物具有三种不同的适应策略来应对三种灭绝的威胁：竞争性的排他、慢性胁迫、重复性的严重干扰。植物在受到排他性竞争的威胁时选择竞争者策略；在严重干扰时植物选择杂草丛生的策略；在严重胁迫发生的生境下，植物选择胁迫忍耐策略。按照竞争、胁迫、干扰等程度的不同，植物可能选择一些中间策略（C-R, C-S-R, S-R 等）。这一理论预测选择胁迫忍受策略的植物会比选择其他两种策略的植物具有较慢的内在相对生长速率。清洁空气中生长速度较快的植物种类比生长缓慢的种类对臭氧的敏感性高。具有竞争策略和扩张策略的种类比胁迫忍耐策略的种类敏感性高（Bungener *et al.*, 1999）。不同物种对臭氧敏感性的差异还取决于其生殖策略（无限生殖和有限生殖），由于生殖策略限制了植物对臭氧伤害的补偿能力，因此具有有限生殖策略的物种对臭氧相对比较敏感（Black *et al.*, 2000）。

1.4.4 植物对臭氧的敏感性在不同时期不同部位不同

黄韵珠等(1991)等研究O₃对辣椒不同发育时期光合作用的影响，结果表明，O₃能抑制辣椒的光合作用，各个时期的抑制作用为花期>苗期>蕾期>果期，但是植物对O₃的影响也有一定的调节能力。Heagle *et al.* (1991)等报道在生长后半期进行O₃熏蒸处理对大豆减产的影响最显著。Smith *et al.* (1990)采用大豆品种Culer71, 从大豆的V5至R6时期用120 ng g⁻¹的O₃剂量处理12h, 在4h内可见真叶、中龄叶和老龄叶受到伤害, 而幼嫩叶则无伤害症状。同一植株的老叶首先表现出伤害症状，这是由于老叶的抗氧化能力差于新叶，体现在抗坏血酸和谷胱甘肽含量及抗坏血酸氧化物酶和谷胱甘肽还原酶活性低于新叶(Bender *et al.*, 1994)。

1.4.5 植物对臭氧的敏感性受到环境条件的影响

植物对O₃敏感性还与环境因素(光、温、水、气、肥等)有关,如生长在较多NO₃⁻环境中的大豆植株对O₃的敏感性要大于有赖于固氮的植株(张惠君, 2001)。能影响到气孔导度的环境因子对于植物的敏感性都很重要,因为O₃主要是通过气孔进入植物(Runeckles, 1992; Long and Naidu, 2002)。控制气孔导度的主要环境因子包括,叶片温度、叶片与外界空气的水蒸汽压差、光量子通量密度、土壤可利用水分以及空气CO₂浓度(Jarvis, 1976)。大气中高浓度的CO₂可以显著降低臭氧污染对植物的伤害,很大程度上是由于降低了进入植物叶片的O₃通量(McKee *et al.*, 1995; Fiscus *et al.*, 1997; Reid and Fiscus, 1998; Reid *et al.*, 1998; Heagle *et al.*, 1999; Reid *et al.*, 1999; Olszyk *et al.*, 2000; Morgan *et al.*, 2003)。另外,高浓度的CO₂也可以提高Rubisco酶的活性,进而使光合能力提高;同时,CO₂可以改变叶片细胞壁的化学组成,增加半纤维素的含量,进而提高对臭氧的抵抗能力(Oksanen *et al.*, 2005)。

模型研究表明,土壤水分亏缺可降低植物的气孔导度,减少O₃吸收量,从而在很大程度上降低O₃对植物的伤害(King, 1988)。臭氧污染下,受到水分胁迫的大豆 [*Glycine max* (L) Merr.]比未受水分胁迫的大豆伤害症状小,这叶是由于水分胁迫降低了大豆的气孔导度所致(Tingey and Hogsett, 1985; Vozzo *et al.*, 1995)。而在自然环境下,干旱却加剧了高浓度O₃对植物的伤害,表现为气孔导度增大,意味着干旱与O₃胁迫同时存在时,可能会导致气孔控制水分的功能失调而起不到保护O₃胁迫的作用。Khan and Soja (2003)的研究表明:水分充足条件下,小麦对O₃的吸收量增加,而产量下降的幅度减小;小麦受到干旱胁迫后,对O₃的吸收量减少,但产量降低的幅度依然增加;只有当植株处于严重干旱环境下,产量才将不再因O₃胁迫而降低。

氮素的供应量也影响植物对O₃污染的反应。Bielenberg (2002)研究发现黑杨在缺氮情况下由臭氧诱发的落叶加重。然而, Maurer *et al.* (1997)研究发现,高营养并不能保证垂枝桦在O₃胁迫下维持较高的光合活性,也不能延迟O₃对叶片衰老的诱导。其可能原因是植物对O₃的一种适应。

1.5 臭氧对植物影响的研究发展趋势

随着研究的不断深入,研究手段也不断更新,臭氧处理的装置从最初的室内熏蒸到开顶式同化箱(OTC)再到最近研究上常用的 open air field exposure (Karnosky, 2006)。人们希望能够尽可能模拟自然环境变化减少其他因素的干扰,更加准确地了解臭氧浓度升高对于植物生长的影响。另一显著的发展趋势是通过数学模型的建立,进行不同尺度上的推绎,得出植物幼苗和成年植株对臭氧污染的相互关系 (Samuelson and Kelly, 2001), 还可以通过测定臭氧对森林树种的影响, 来了解植物群落或生态系统对臭氧浓度升高的响应 (Karnosky, 2005)。还有越来越多的学者研究不同胁迫因子与臭氧浓度升高的交互作用, 而且时间尺度上也从短期实验向长期可控实验发展。

1.6 臭氧污染对园林植物的影响

园林植物对于生态系统的发展及城市环境的改善起着重要作用。因此筛选抗性强耐污染的园林植物是城市绿化和生态系统建设的重要研究课题之一。有学者通过模型预测城市园林树种吸收臭氧的潜力很大,可以起到保护城市居民的作用(Nowak *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2008)。研究臭氧对园林植物生长及伤害的影响,评价园林植物对臭氧反应的敏感性,可以为今后园林绿化的树种选择和抗臭氧栽培管理技术的研究提供依据。

目前关于臭氧胁迫与园林绿地植物的研究多数侧重于污染胁迫下植物叶片可见受害症状的描述上(Ashmore and Tickle, 1987; Guidi *et al.*, 2000; Bussotti *et al.*, 2003)。然而,叶片可见伤害并不总是与植物的生长以及生物量或产量的降低成相关关系(Bergmann *et al.*, 1995; Pleijel and Danielsson, 1997; Booker *et al.*, 2009)。

臭氧对园林植物的伤害还表现为生物量或者产量的损失,花和种类适合度的降低或者果实质量的变化。例如矮牵牛(*Petunia × hybrida*)、醉鱼草(*Buddleia davidii* Franch.)、黑莓(*Rubus cuneifolius* Pursh) 和一些园林灌木都会受到周围高浓度 O₃ 的伤害(Cathey and Heggstad, 1982; Findley *et al.*, 1997a, 1997b; Chappelka, 2002)。

1.7 本论文关注的科学问题

尽管臭氧对园林植物的影响已有报道，但是比较系统地研究园林中常用的乔木、灌木、草本以及藤本植物对臭氧的响应还很少见。我们主要关注以下几个科学问题：

(1) 园林绿化苗木中有许多红色植物，这主要是由花色素苷的存在引起的。花色素苷存在于一些叶片的表皮中，是使植物叶色呈现红色的水溶性色素。花色素苷在细胞质中由类黄酮化合物经过莽草酸途径合成后转移入液泡内，花色素苷可作为抗氧化剂清除稳定性有机自由基 DPPH 和活性氧。有研究表明，在楼梯草属植物红色叶片的甲醇提取物中，花色素苷对其总抗氧化剂库的贡献约占 70%，高于其他的抗氧化组分。叶片中花色素苷的产生可受多种胁迫条件的诱导，说明其有助于植物应对环境条件的改变。彭长连等（2007）比较了富含花色素苷的紫叶稻和普通绿叶稻的抗光氧化作用，发现花色素苷在阳生性的紫叶稻叶片中可能作为一种有效的初级抗氧化剂参与抵御不良环境诱导的胞内氧化胁迫。在臭氧浓度增大的情况下，植物叶片将受到氧化胁迫，那么同种植物不同叶色品种对臭氧污染的敏感性是否存在显著的差异？如果有这种差异存在，那么花色素苷所起的保护作用是否是导致抗性差异的关键因素呢？

(2) 目前，同种植物不同基因型对臭氧污染的响应研究较多，但是同一基因型不同染色体倍性的栽培种对臭氧污染响应研究尚未见报道。关于水分胁迫、高温胁迫下不同染色体倍性的栽培种的响应差异及其内在机理已有研究报道。研究人员指出，染色体倍性的提高可使植物的抗逆性有不同程度提高（李卫东，2007）。染色体的加倍会导致植物形态解剖结构和生理生化特征发生变化，其中气孔变化与染色体加倍的相关性有很多报道，染色体加倍会使气孔变大、气孔密度减少，而臭氧主要通过气孔进入植物叶片，那么多倍体是否比二倍体吸收更多的臭氧呢？由于染色体的加倍，导致基因拷贝数增加，基因转录产物量发生变化，性状和代谢物质的数量和质量也必然发生改变。在受到臭氧污染的情况下，多倍体植物是否比二倍体具有更高的抗性？这些问题都值得去深入研究。研究不同倍性植物对臭氧污染的响应，对植物的定向培育、了解植物进化过程中的自我适应机制有重要的意义。

(3) 植物功能型是指一组具有相似形态和/或生理特征，在生态系统中扮演着相似角色并且对环境条件表现出相似的响应的植物组群(Walker, 1992; Chapin,

1993; Noble and Gitay, 1996)。关于臭氧污染对不同植物种/品种影响的研究较多, 但是目前有关不同功能型植物之间对臭氧的敏感性差异研究较少。在园林绿化过程中, 大量应用 C3 植物、C4 植物和豆科植物, 它们的气孔形态、叶面积指数、内在生理机制等都存在很大的不同, 在抗污染能力方面可能会有很大的差别。因此有必要比较这些不同功能型植物对臭氧污染的响应差异, 为选择适宜的绿化植物提供理论依据。

1.8 本论文的主要研究内容

(1) 园林乔木对臭氧污染的响应

以红色叶海棠和绿色叶海棠为研究材料, 研究高浓度臭氧条件下, 不同叶色海棠气体交换、叶绿素荧光参数等光合生理指标的变化, 了解不同叶色海棠对臭氧污染的敏感性差异, 揭示叶片花色素苷对植物敏感性的影响。

(2) 园林灌木对臭氧污染的响应

选择我国常见的四种园林灌木(红瑞木、红叶石楠、流苏、丝棉木), 通过研究其在高浓度臭氧下的叶片气体交换、叶绿素荧光动力学参数以及生物量等生理生态指标的变化, 比较其对臭氧污染的敏感性差异及其机理, 以期筛选出抗性强的树种, 为园林绿化提供指导。

(3) 草本植物对臭氧污染的响应

选择三种不同功能型的草本植物(豆科植物苜蓿, C3 植物早熟禾, C4 植物高丹草), 通过研究其在臭氧处理下的叶片气体交换、叶绿素荧光动力学参数以及生物量等生理生态响应差异, 比较其对臭氧污染的敏感性, 研究臭氧敏感性与功能型的关系, 为判断植物的敏感性提供借鉴, 同时筛选出适合臭氧环境的草本绿地植物。

(4) 藤本植物对臭氧污染的响应

以木质藤本植物忍冬的二倍体品种及其同源四倍体品种为材料, 通过研究臭氧污染条件下, 不同倍性忍冬的净光合速率、气孔导度以及叶绿素荧光参数变化的差异, 揭示染色体加倍对植物抵抗臭氧能力的影响, 为园林植物定向培育提供指导。

第二章 实验材料与方法

2.1 实验装置

实验处理是在中国科学院植物研究所 (39°92' N, 116°46' E) 实验温室中的上部开顶式同化箱 open-top chambers (OTC, 高为 2.4m, 直径为 1.8m) 中进行的。图 2-1 为可进行臭氧熏蒸的 OTC 系统的剖面结构示意图。由于温室中的 CO₂ 浓度偏高, 实验中引入了外界环境中的空气。箱内气体每分钟更新一次。箱内有效光辐射强度为 650 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 相对湿度为 60 %左右。

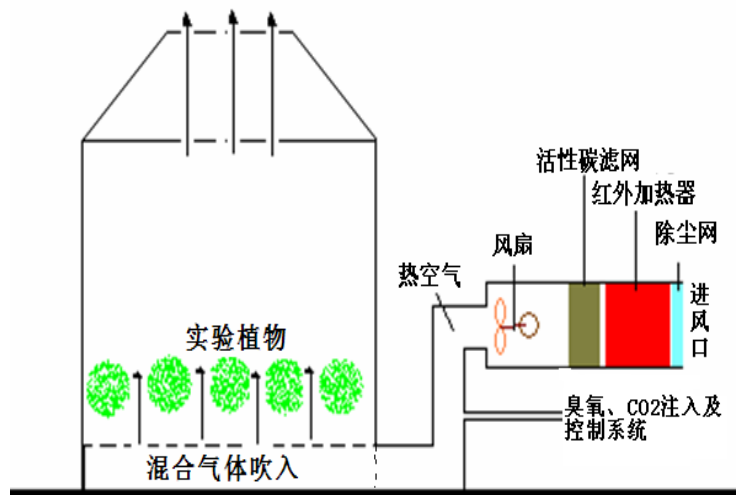


图 2-1 臭氧处理系统的剖面结构示意图(许宏, 2008)

Fig. 2-1 Structure of the air control system (Xu Hong, 2008)

2.2 实验材料与处理方法

2.2.1 实验材料

选用几种常见的园林植物作为研究材料: 海棠 (*Malus spp.*) 的红叶品种 ‘王族’ (‘Royalty’) 和 绿叶品种 ‘火焰’ (‘Flame’); 四种常见灌木, 丝棉木 (*Euonymus*

bungeanus), 红叶石楠 (*Photinia* × *fraseri* 'Red Robin'), 流苏 (*Chionanthus retusus*) 和 红瑞木 (*Cornus alba*); 三种草本植物, 早熟禾 (*Poa annua*)、高丹草 (*Sorghum bicolor* × *S. Sudanense*)、苜蓿 (*Medicago Sativa*); 忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.) 二倍体品种‘大毛花’($2n = 2x = 18$) 和四倍体品种 ‘九丰一号’($2n = 4x = 36$)。

2.2.2 实验处理

在正式处理前一周, 将盆栽植物随机移入温室 OTC 中。目的是使植物适应温室及 OTC 的环境, 在此期间进入所有 OTC 的气流均经过活性炭过滤, 使 OTC 内的臭氧浓度不高于 5 ng g^{-1} 。适应期结束后往两个 OTC 中注入臭氧, 通过调节臭氧流量阀来控制生长箱内臭氧浓度, 使之达到预期浓度。臭氧是利用 CF-KG1 型臭氧发生器(北京山美水美科技有限公司) 通过高压放电的原理作用于空气中的氧气形成的。从臭氧发生器出来的气流首先需要经过蒸馏水去除掉其它有害气体, 然后再进入到生长箱的充气管中。通过位于植物冠层的臭氧分析仪 Model 205, 2B Technologies Inc., Boulder, Colorado, USA) 来进行不间断监测生长箱中的臭氧浓度。为减少生长箱的差异, 降低系统误差, 四个箱子的植株每天互换一次, 生长箱内的臭氧浓度也随之调整。生长箱内的最高/最低温度和相对湿度分别为 $32/17^\circ\text{C}$ 和 $76/57\%$, 最高有效光辐射(PPFD)为 $1000\sim 1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 。

2.3 测定内容及方法

2.3.1 叶片气体交换测定

2.3.1.1 瞬时气体交换

利用 GFS3000 气体交换和荧光测定系统 (Heinz Walz, Effeltrich, Germany) 测定不同处理下新近的完全展开叶片的瞬时气体交换。叶室中光照强度设定为 $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 相对湿度和温度分别设为 $60\pm 5\%$ and $25\pm 0.5^\circ\text{C}$ 。由于温室中 CO_2 浓度较高, 测定时利用外界空气中 CO_2 ($380\pm 10 \mu\text{mol mol}^{-1}$)。净光合速率 (P_N)、气孔导度 (g_s)、蒸腾速率 (E)、细胞间 CO_2 浓度 (C_i) 等参数按照 von Caemmerer and Farquhar (1981) 的模型由测定仪器自动计算生成。

2.3.1.2 气体交换日变化

在晴朗的天气，利用气体交换和荧光测定系统（GFS3000, Heinz Walz, Effeltrich, Germany），选择新近完全展开叶片进行气体交换日变化测定。叶室中的光照强度、空气温度、空气相对湿度以及 CO_2 浓度均利用外界环境实际值来进行设定。测定从早上 6:00 进行到 18:00，每一小时测定一次，获得气体交换参数的小时值，然后进行分析。

2.3.1.3 光合- CO_2 响应曲线测定

利用气体交换和荧光测定系统（GFS3000, Heinz Walz, Effeltrich, Germany），选择新近完全展开叶片进行光合- CO_2 响应曲线测定。叶室中相对湿度设为 $60 \pm 5\%$ ，空气温度设定为 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ，光照强度设定为 $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，测定不同 CO_2 浓度下（400, 300, 200, 100, 50, 0, 400, 600, 800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ）的净光合速率。每一浓度下持续 4 分钟待数值稳定后进行记录。

2.3.2 叶绿素 a 荧光参数测定

利用气体交换和荧光测定系统（GFS3000, Heinz Walz, Effeltrich, Germany）测定新近完全展开叶片的叶绿素 a 荧光参数。在暗适应 40 min 后，通过调制辐射 ($<0.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 和 0.8 s 的饱和脉冲后获得最小荧光 (F_o) 和最大荧光 (F_m)。可变荧光(F_v) 由 $F_v = F_m - F_o$ 计算得来。又暗适应两分钟后，打开光化光($400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)。5 min 之内获得稳态荧光 (F_s)，然后施加 1 s 的饱和脉冲获得光下最大荧光 (F_m')。关闭光化光，打开远红外光后获得光下最小荧光 (F_o')。暗适应下光系统 II 最大光化学效率 (F_v/F_m)，非光化学猝灭 (NPQ) 分别由以下公式计算： $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ 和 $\text{NPQ} = F_m/F_m' - 1$ (Bilger and Björkman 1990, Schreiber 2004)。光系统 II 光化学实际量子产额 (Φ_{PSII})，光化学猝灭系数 (q_p)，光合电子传递速率 (ETR) 分别由以下公式计算： $\Phi_{\text{PSII}} = (F_m' - F_s)/F_m'$ ， $q_p = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')$ 和 $\text{ETR} = \Phi_{\text{PSII}} \times \text{PAR} \times 0.5 \times 0.84$ 。

2.3.3 生物量积累和分配

在臭氧处理完成后，进行破坏性收获。将植物的叶片、茎、根分开，并在 80°C 的烘箱下烘干 72 小时至恒重。然后在万分之一电子天平 (BP221S, Sartorius,

Göttingen, Germany)上测定茎干重、叶片干重和根干重。生物量是根、茎、叶干重之和。根冠比的计算方法为根干重/(叶干重+茎干重)×100%。

2.4 统计分析和作图

所有数据分析均采用 SAS 软件 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA) 中的一般线性模型 (General Linear Models) 来处理。处理间差异用一元方差分析 (ANOVA) 进行, 当 $P < 0.05$ 视为差异显著。处理和植物间交互效应通过一般线性模型中的二元方差分析判断。对光响应曲线参数来说, 通过二元方差分析来判断处理和品种之间的交互效应, 同一品种不同处理之间差异通过 95%置信水平下的最小显著差异 ($LSD_{0.05}$) 来判断。进行线性回归分析和相关性分析, 并用 Sigmaplot 8.0 软件 (Aspire Software Intl., Ashburn, VA, USA) 进行以上分析结果的作图。具体统计分析方法详见各章节。

第三章 园林乔木对臭氧污染的反应

3.1 引言

对流层臭氧是由氮氧化物和挥发性有机物在光下发生反应生成的 (Seinfeld, 1989; Ashmore, 2005)。目前, 全世界许多地区的臭氧浓度在逐年升高 (Stevenson *et al.*, 2000; IPCC, 2001), 经常高于可对植物产生毒害的水平。臭氧严重影响了植物的生长发育 (Lippmann, 1989; U.S.EPA, 1996), 导致农作物粮食减产, 生态系统功能受损 (Adams *et al.*, 1989; Fuhrer *et al.*, 1997; Ashmore, 2005; Hayes *et al.*, 2007)。

臭氧通过气孔进入植物体内 (Runeckles, 1992), 溶解在质外体中, 产生了一系列的自由基和活性氧分子 (ROS), 这些物质都具有较强的氧化活性 (Heath, 1980, 1987)。它们可以攻击质膜上的脂类物质和蛋白成分, 破坏膜的结构, 造成细胞渗漏和其他危害。一般地, 植物可以通过内源抗氧化物质和抗氧化酶的保护来降低氧化伤害 (Foyer *et al.*, 1994)。常见的抗氧化物质包括维生素类物质、酚酸类物质、黄酮类物质以及类胡萝卜素, 这些物质都能够清除活性氧分子 (Severino *et al.*, 2007)。已经有学者发现, 一些外源抗氧化物质例如 ethylenediurea (EDU) 和抗坏血酸类物质都能够减轻臭氧对植物的伤害 (Tiwari *et al.*, 2005; Hassan *et al.*, 2006; Manning *et al.*, 2006; Paoletti *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2006)。离体的花色素苷是一种抗氧化物质比抗坏血酸和维生素 E 等类似物有更高的清除活性氧分子的能力 (Yamasaki *et al.*, 1996; Tsuda *et al.*, 1996 a,b; Ghiselli *et al.*, 1998; Kerry *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 1997)。因此, 我们估计活体中的花色素苷也许能起到保护细胞膜免受氧化胁迫的能力。我们假设同种植物中, 红叶品种因具有较高的花色素苷含量会比花色素苷含量低的绿叶品种对臭氧污染的抗性好。

海棠是一类重要的园林乔木, 在我国和其他一些国家被广泛的应用到园林绿化中。它具有很多栽培品种, 其中一些品种叶片呈红色, 另外一些品种叶片呈绿色。红叶品种往往具有较高的花色素苷含量和较低的叶绿素含量。然而, 不同叶色海棠品种对臭氧污染的反应研究还未见报道。

CO₂ 同化提供了植物修复和解毒的碳骨架和还原力, 并且能改变气孔功能 (Dizengremel *et al.*, 2008)。因此, 气体交换的测定可以用来判断植物对臭氧污染的敏感性以及对臭氧的吸收潜力。叶绿素荧光测定为我们提供了另外一种有效的无损伤的活体测定方法。它可以用来寻找臭氧造成光合作用损害的原初作用位点 (Seppo and Wang, 1997)。基于以上研究手段, 我们可以清楚的了解光合作用光反应、碳固定以及其他一些生理过程 (Calatayud *et al.*, 2006)。

因此本研究的主要目的是: (1) 比较两种叶色海棠在臭氧污染下的光合荧光反应; (2) 揭示导致两种叶色海棠对臭氧敏感性不同的内在生理机制。

3.2 材料与方法

3.2.1 实验材料

从山东光合园林科技有限公司购买两个海棠品种‘王族’ (‘Royalty’) 和火焰 (‘Flame’) 的幼树。苗高约 50~60 cm, 大体生长一致, 有独立主干。将两个品种的幼树栽种于 20 cm 直径的 PVC 管中, 基质由蛭石、泥炭和园土按体积 1: 3: 6 来进行混合。在生长过程中水分和养分供应充足, 避免发生水分养分亏缺。

3.2.2 实验处理

2007 年 7 月 7 日, 将植物材料放入 OTC 中适应一周, 在此期间所有植物材料生长在活性炭过滤后的空气中 (CF air, $< 5 \text{ ng g}^{-1} \text{ O}_3$)。2007 年 7 月 14 日开始处理, 处理下的 OTC 保持臭氧浓度在 $70 \pm 5 \text{ ng g}^{-1}$, 处理 30 天, 每天从 09:00 开始处理, 16:00 结束。而对照的 OTC 仍然充入活性炭过滤后的空气中 (CF air, $< 5 \text{ ng g}^{-1} \text{ O}_3$)。臭氧的制备方法参照 2.2.2。

3.2.3 气体交换和叶绿素荧光参数测定

2007 年 7 月 30 日 (处理后 16 天) 测定植物的瞬时气体交换。测定方法参照 2.3.1.1。

测定完瞬时气体交换后, 对叶片照射饱和脉冲 ($> 8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), 获得光适应状态下的最大荧光 (F_m'), 在五分钟内获得稳态的荧光 (F_s)。光系统 II 实

际光量子产额和电子传递速率均由以下公式计算而来： $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$ ； $ETR = \Phi_{PSII} \times PAR \times 0.5 \times 0.84$, respectively (Genty *et al.*, 1989)。

臭氧处理24天后（2007年8月8日），测定光合- CO_2 响应曲线。测定与分析方法参照 2.3.1.3。

3.2.4 统计分析

本实验共有两个处理，每个处理两个小区，每个小区中每个品种 6 株植物。数据通过 SAS 软件中的一般线性模型来进行分析 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)。处理平均值的差异通过一般线形模型中的二元方差分析来区分。

3.3 结果与分析

净光合速率受到处理和品种交互效应的影响 (表 3-1)。与对照相比，王族海棠在臭氧处理下净光合速率显著降低，但是细胞间 CO_2 浓度却显著升高 (表 3-1)。这表明，臭氧处理下，净光合速率的降低主要是受叶肉限制的而不是由气孔关闭所致 (McKee *et al.*, 1995; Mulholland *et al.*, 1997; Farage and Long, 1999; Biswas *et al.*, 2008)。已经有大量的研究表明，气孔关闭不是臭氧伤害的直接结果，而是对细胞间 CO_2 浓度升高的反应 (Reich 1987; Weber *et al.*, 1993)。火焰海棠的气体交换参数在处理和对照之间并没有显著差异 (表 3-1)。处理 16 天后，王族海棠的光系统 II 实际光量子产额和电子传递速率显著降低，而火焰海棠并没有显著变化。这说明，红叶海棠光系统 II 到光系统 I 的电子传递以及光系统 II 开放的反应中心光化学效率在高臭氧浓度下明显受到影响，而绿叶海棠并没有受到太大影响。

光合- CO_2 响应曲线参数受到品种和处理的交互影响 (表 3-2)。王族海棠的白天呼吸 (Resp)、羧化效率 (CE)、Rubisco 酶羧化反应最大活体速率 (V_{cmax})、最大光合电子传递速率 (J_{max}) 在臭氧处理下均显著降低。但是，火焰海棠在臭氧下 CO_2 响应曲线参数并没有受到太大影响 (表 3-2)。通过分析响应曲线参数，发现，羧化效率降低是导致净光合速率降低的主要原因。而羧化效率 (CE) 和 Rubisco 酶羧化反应最大活体速率 (V_{cmax}) 的降低可能主要是由卡尔文循环中的 Rubisco 酶活性和含量的降低所导致。

表 3-1. 2007 年 7 月 30 日测定臭氧对红色叶海棠品种‘王族’和绿色叶海棠品种‘火焰’的气体交换参数的影响 (P_N , 净光合速率; E , 蒸腾速率, g_s , 气孔导度; C_i , 细胞间 CO_2 浓度; Φ_{PSII} , 光系统 II 的量子产额; ETR, 电子传递速率)。

Table 3-1. Effects of O_3 on net photosynthetic rate (P_N), transpiration rate (E), stomatal conductance (g_s), intercellular CO_2 concentration (C_i), quantum yield of photosystem II (Φ_{PSII}) and electron transport rate (ETR) of Crapapple cultivars ‘Royalty’ (Red leaf cultivar) and ‘Flame’ (Green leaf cultivar) on 30th July, 2007. % (+/-) indicated percent changes in O_3 -exposed (O_3) relative to control (CF) plants, (O_3 -CF)/CF. Data presented are means of 4 plants. $LSD_{0.05}$, least significant difference at $\alpha=0.05$. Asterisks denote significant difference between O_3 -treated and control plant * <0.05, ** <0.01, *** <0.001.

| Cultivar | Treatment | P_N ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) | E ($\mu\text{mol mmol}^{-1}$) | g_s ($\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) | C_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$) | Φ_{PSII} | ETR |
|-----------------------------|--------------|--|--------------------------------------|--|---------------------------------------|---------------|---------|
| Royalty | CF | 12.7 | 4.30 | 275 | 322 | 0.113 | 71.0 |
| | O_3 | 9.25 | 2.56 | 151 | 329 | 0.088 | 55.5 |
| | %(+/-) | -27.2*** | -40.5 | -45.1 | 2.17* | -22.1** | -21.8** |
| | $LSD_{0.05}$ | 0.27 | 0.74 | 84.6 | 24.4 | 0.018 | 11.4 |
| Flame | CF | 9.70 | 4.02 | 267 | 348 | 0.080 | 50.7 |
| | O_3 | 8.88 | 2.33 | 136 | 330 | 0.078 | 49.4 |
| | %(+/-) | -8.45 | -42.0 | -49.1 | -5.17 | -2.50 | -2.56 |
| | $LSD_{0.05}$ | 1.33 | 0.70 | 66.2 | 50.8 | 0.025 | 15.8 |
| Treatment | | 0.0001 | 0.1936 | 0.5724 | 0.2297 | 0.0054 | 0.0055 |
| Cultivar | | <.0001 | <.0001 | 0.0002 | 0.6311 | 0.0441 | 0.0442 |
| Treatment \times Cultivar | | 0.0007 | 0.8904 | 0.8702 | 0.2594 | 0.0781 | 0.0782 |

第三章 园林乔木对臭氧污染的反应

表 3-2 2007 年 8 月 7 日测定臭氧对红色叶海棠品种‘王族’和绿色叶海棠品种‘火焰’的光合-CO₂ 响应曲线参数的影响（日间呼吸, Resp; 羧化效率, CE; Rubisco 活体最大羧化速率, V_{cmax}; 最大光合电子传递速率, J_{max}）。

Table 3-2. Effects of O₃ on A-C_i curve parameters (respiration in the light, Resp; carboxylation efficiency, CE; the maximum in vivo rate of Rubisco carboxylation, V_{cmax} and maximal photosynthetic electron transport rate, J_{max}) of Crapapple cultivars ‘Royalty’ (Red leaf cultivar) and ‘Flame’ (Green leaf cultivar) on 7th August 2007. % (+/-) indicated percent changes in O₃-exposed (O₃) relative to control (CF) plants, (O₃-CF)/CF. Data presented are means of 4 plants. LSD_{0.05}, least significant difference at $\alpha=0.05$. Asterisks denote significant difference between O₃-treated and control plant * <0.05, ** <0.01, *** <0.001.

| Cultivar | Treatment | Resp ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) | CE ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) | V _{cmax} ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) | J _{max} ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) |
|----------------------|---------------------|---|--|--|---|
| Royalty | CF | 6.42 | 0.119 | 29.1 | 144 |
| | O ₃ | 2.87 | 0.030 | 19.1 | 77.6 |
| | %(+/-) | -55.3** | -74.8*** | -34.4** | -46.1*** |
| | LSD _{0.05} | 1.28 | 0.028 | 4.90 | 13.5 |
| Flame | CF | 4.44 | 0.071 | 27.6 | 136 |
| | O ₃ | 4.00 | 0.054 | 24.4 | 122 |
| | %(+/-) | -9.91 | -23.94* | -11.6 | -10.3 |
| | LSD _{0.05} | 0.92 | 0.015 | 5.19 | 28.8 |
| Treatment | | 0.0001 | <.0001 | 0.0009 | 0.0001 |
| Cultivar | | 0.1729 | 0.0690 | 0.1711 | 0.0131 |
| Treatment × Cultivar | | 0.0006 | 0.0002 | 0.0295 | 0.0018 |

3.4 小结

从以上结果看,不同叶色的海棠对臭氧污染的敏感性不同。红叶品种由于净光合速率、光系统II量子产额、非环式电子传递速率、Rubisco 酶羧化反应最大活体速率和最大光合电子传递速率的降低程度较大,因而具有较高的臭氧敏感性。这一结论与我们之前的假设相反。由于其光反应和卡尔文循环过程对臭氧更加敏感导致红叶海棠比绿叶海棠的敏感性要高。但是内在的机理需要进一步的通过生化指标测定和组织形态学的观察才能判断。我们估计可能有以下原因:花色素苷一般分布在上表皮、下表皮、栅栏组织、海绵组织以及表皮毛中的一个或者多个细胞类型中 (Lee and Collins, 2001)。然而,臭氧伤害的原初作用位点一般是在叶肉细胞。这样就可能有花色素苷分布位置和臭氧作用位点不一致的情况出现。即便花色素苷分布在叶肉细胞中,也有可能无法与臭氧产生的活性氧分子发生作用。原因可能如下:臭氧原初作用位点一般是在细胞壁和细胞膜上,而花色素苷是在细胞质中合成,然后迅速穿过液泡膜运输到液泡中并累积起来 (Marrs *et al.*, 1995)。因而活性氧分子与花色素苷之间产生了距离,在物理上隔离起来。有学者研究发现,将抗氧化物质定位在截击和解毒过程发生的质外体空间对保护细胞免受臭氧伤害很关键 (Burkey *et al.*, 2003; Conklin and Barth, 2004)。

由于城市臭氧浓度的升高,臭氧敏感性或者抗性成为园林绿化植物筛选过程中的重要选择依据。从本研究的结果看,红色叶的园林乔木在臭氧污染下更容易受到伤害。因此,未来城市臭氧浓度进一步升高可能会导致园林绿化中应用的红叶乔木受害甚至死亡。这对一些以红叶著称的景观例如香山红叶可能产生一定的威胁。

第四章 园林灌木对臭氧污染的反应

4.1 引言

地表层臭氧是一种重要的空气污染物，也是温室气体的一种。它是由氮氧化物和挥发性有机物在光照的作用下发生反应所生成 (Seinfeld, 1989)。随着工业化的发展和车辆排放的增加，氮氧化物和挥发性有机物的浓度不断升高，从而导致工业国家的地表臭氧浓度由工业革命前的 10 ng g^{-1} 升高到目前的 60 ng g^{-1} ，据预测按此发展速度到 2050 年臭氧浓度会在现在的基础上增加 20% (IPCC, 2007)。1998 年 8 月，中关村地区空气中 O_3 浓度最大小时平均值和平均浓度分别为 $431.2 \mu\text{g m}^{-3}$ 和 $122.1 \mu\text{g m}^{-3}$ (马一琳和张远航, 2000)，分别相当于 215 ng g^{-1} 和 61 ng g^{-1} 。臭氧能够诱发或者加重许多人类疾病例如咳嗽、胸部疼痛、支气管炎以及哮喘等等。农业、林业以及自然生态系统也会受到臭氧污染的破坏 (Lippmann, 1989; U.S.EPA, 1996)。

臭氧通过植物叶片中的气孔进入植物体内，溶解在质外体的水中，迅速分解产生许多种过氧化分子 (Heath, 1980, 1987)。这些过氧化分子会攻击质膜上的脂类和蛋白质成分，导致细胞渗漏。过氧化分子也会导致细胞的程序化死亡 (Overmyer *et al.*, 2003)。臭氧可以通过减小气孔导度或者降低 Rubisco 酶的含量或活性来抑制光合作用 (Pell *et al.*, 1997; Bassin and Fuhrer, 2006)。与此同时，臭氧能够增加植物的呼吸速率 (Dilip *et al.*, 2008)。因此，在长期来看，植物的生长和生物量积累也都受到抑制 (Grandjean and Fuhrer, 1992; U.S.EPA, 1996)。由于作物产量以及林木生产对人类生活的极端重要性，先前植物对臭氧响应的研究主要集中在作物和林木上，而园林植物对臭氧植物的响应研究较少 (Lumis and Ormrod, 1978; Paoletti *et al.*, 2009; Szantoi *et al.*, 2009)。园林灌木在城市中应用面积很大，可以起到减少灰尘，吸收空气污染物例如 SO_2 , NO_2 以及一些悬浮颗粒 (Jim *et al.*, 2008) 的作用。另外，有学者通过模型预测城市园林灌木吸收臭氧的潜力很大，可以起到保护城市居民的作用 (Nowak *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2008)，因而，开展园林灌木对臭氧污染的反应的实验研究非常必要。

植物可见伤害经常作为表观臭氧浓度和植物敏感性的指标 (Ashmore and Tickle, 1987; Guidi *et al.*, 2000; Bussotti *et al.*, 2003)。然而，植物伤害并不总是与

植物的生长以及生物量或产量的降低呈相关关系(Bergmann *et al.*, 1995; Pleijel and Danielsson, 1997; Booker *et al.*, 2009)。气体交换和叶绿素荧光参数是进行非伤害性逆境监测的非常有用的研究手段(Owens, 1994)。它们已经广泛的应用到臭氧胁迫对植物伤害的研究, 并且用于揭示导致伤害的内在机理(Seppo and Wang, 1997; Calatayud *et al.*, 2006; Biswas *et al.*, 2008)。为了筛选适合在臭氧污染严重地区进行绿化的园林植物, 需要考虑与植物生长和发育密切相关的光合过程。从长期来看, 生物量的积累和分配对判断臭氧敏感性也非常重要。它们的变化关系到植物的生存。尽管已经有许多关于不同植物对臭氧的生理生态响应的报道(Barnes *et al.*, 1990; Burkey *et al.*, 2000; Calvo *et al.*, 2007; Biswas *et al.*, 2008; Feng *et al.*, 2008; Ainsworth *et al.*, 2008), 然而很少是关注园林灌木对臭氧污染的生理生态响应(Rämö *et al.*, 2006), 特别是在中国, 这方面研究非常缺乏(He *et al.*, 2007; Feng *et al.*, 2008)。

丝棉木(*Euonymus bungeanus*) 是具有很高观赏价值的多年生灌木。前人有关它的研究多集中在其种子油脂提取物的结构和生物学活性等方面(Tu *et al.*, 1992; Spivey *et al.*, 2001), 关于其对胁迫抗性的研究并未见报道。红叶石楠(*Photinia × fraseri* ‘Red Robin’)是一种新叶呈亮红色的灌木, 最近几年才被引种到我国。胁迫研究只涉及过其对水分胁迫的抗性(曹晶等, 2007)。流苏(*Chionanthus retusus*)是分布于东亚的一种濒危树种, 仅有部分关于其遗传变异以及种子贮藏的报道(Soejima *et al.*, 1998; Chien *et al.*, 2004), 而对环境胁迫的响应未见报道。红瑞木(*Cornus alba*)是一种常见落叶灌木, 广泛应用于我国的园林绿化中。有关该植物体内花色素苷作用的研究报道较多(Gitelson *et al.*, 2001; Merzlyak *et al.*, 2008; Gitelson *et al.*, 2009), 而它对空气污染的抗性并不清楚。以上四种植物具有不同的叶片特征和生长特性, 因而其对臭氧的敏感性可能有差异。目前, 有关这四种灌木对高浓度臭氧污染的生理生态响应还未见报道。

因此, 本研究的目的是: (1) 了解臭氧污染对四种灌木的影响, (2) 比较四种灌木对臭氧的敏感性, (3) 揭示导致敏感性差异的潜在机制, (4) 为园林绿化筛选合适的植物。

4.2 材料与方法

4.2.1 植物材料

四种园林灌木（丝棉木、红叶石楠、流苏、红瑞木）均从山东光合园林科技有限公司购得。所有灌木均选 50~60cm 高的植株，将其种入直径 20cm 的 PVC 盆中，基质是用蛭石、泥炭、园土以 1: 3: 6 的比例进行混合。在实验进行过程中养分和水分供应充足，避免养分亏缺和水分胁迫。

4.2.2 实验设计

本实验在中国科学院植物研究所植物园温室的 4 个 OTC（直径 1.8m、高 2.4m）中进行。2007 年 8 月 1 日，每个 OTC 中随机摆放每种 6 盆植株，适应一个星期。在适应期间，所有 OTC 中均充入活性炭过滤后的对照气体(CF, $< 5 \text{ ng g}^{-1} \text{ O}_3$)。适应后，两个臭氧处理 OTC 中充入 $70 \pm 5 \text{ ng g}^{-1}$ ，每天从 09:00 开始处理至 16:00 结束，共处理 65 天。具体臭氧制取方法见 2.2.2。

4.2.3 气体交换测定

利用德国 Walz 公司生产的 GFS3000 光合荧光测定系统，在处理 60 天后测定最新完全展开叶片的气体交换。每种植物在对照和处理中分别选取 6 株来进行测定。具体测定方法见 2.3.1.1。

4.2.4 叶绿素荧光参数测定

利用德国 Walz 公司生产的 GFS3000 光合荧光测定系统，在处理 61 天后测定最新完全展开叶片的叶绿素荧光参数。每种植物在对照和处理中分别选取 6 株来进行测定。具体测定方法见 2.3.2。

4.2.5 生物量积累和分配

在臭氧处理 65 天后对植物进行破坏性收获，处理和对照中每个种各选取 6 株植物进行测定。具体测定方法参照 2.3.3。

4.2.6 数据分析

本实验共有 2 个处理，每个处理 2 个小区，每个小区中每种植物 6 株。数据通过 SAS 软件中的一般线性模型来进行分析 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)。不同处理之间平均值的差异通过 Student-T 检验来进行区分。通过二元方差分析来判断处理和植物之间的交互效应。对四种灌木的气体交换、叶绿素荧光参数以及生物量参数臭氧处理与对照的相对变化率进行 Pearson 式相关性分析。

4.3 实验结果

4.3.1 气体交换

对于主要的气体交换参数来说，处理和树种有显著的交互效应（净光合速率， $P=0.0013$ ；蒸腾速率， $P=0.003$ ；气孔导度， $P=0.0019$ ；细胞间 CO_2 浓度与外界 CO_2 浓度比值， $P=0.0077$ ）(表 4-1)。与对照相比，臭氧处理下丝棉木、红叶石楠以及红瑞木的净光合速率、蒸腾速率以及气孔导度均显著降低 (图 4-1)。流苏在臭氧处理下净光合速率也比对照下低，但其蒸腾速率和气孔导度在处理和对照间差异不显著。丝棉木和红叶石楠的细胞间 CO_2 与外界 CO_2 比值并没有受到臭氧污染的影响。然而，流苏和红瑞木在臭氧处理下细胞间 CO_2 与外界 CO_2 的比值较对照升高。四种灌木中，丝棉木的净光合速率和气孔导度在臭氧处理下降低程度最大，而流苏的净光合速率降低最小(图 4-1)。

4.3.2 叶绿素荧光参数

对许多叶绿素荧光参数来说，四种灌木对臭氧处理的反应有显著差异，包括 F_o ($P=0.0256$)， F_m ($P=0.0152$)， Φ_{PSII} ($P=0.0007$)，ETR ($P=0.0007$) 和 NPQ ($P=0.0001$) (表 4-1)。在臭氧处理下，红瑞木的 F_o 值显著降低，而其他三种树种的 F_o 值并没有受到显著影响 (图 4-2)。丝棉木和红瑞木在臭氧处理下 F_m 值降低，而红叶石楠和流苏在处理间并没有显著差异。丝棉木的 Φ_{PSII} 和 ETR 经过 61 天臭氧熏蒸显著降低，而流苏的这些参数反而升高了，其他两个树种的参数没

有受到臭氧的影响。61 天的臭氧熏蒸使流苏和红瑞木的 NPQ 显著降低,而使丝棉木的 NPQ 升高。臭氧处理显著降低了四种植物的 F_v/F_m , 尽管对每种植物的影响都相对很小(表 4-1, 图 4-2)。

4.3.3 生物量积累和分配

在生物量指标中, 仅有根冠比受到处理和树种交互效应的影响(表 4-1)。臭氧处理显著降低了红瑞木的根冠比, 其他三种植物并没有受到显著影响。臭氧显著降低了四种灌木的根干重($P=0.0383$) (表 4-1)。但是四种灌木的生物量在处理和对照之间均没有显著差异。茎干重、叶片干重、根干重以及生物量在树种之间有显著差异。流苏的茎干重、根干重和生物量最高, 而丝棉木的叶片干重和生物量最低。

4.3.4 气体交换参数、叶绿素荧光参数以及生物量的相关性分析

从臭氧处理相比对照的变化率来看, 净光合速率损失与 Φ_{PSII} , ETR 以及生物量的损失呈显著正相关, 而与 NPQ 的降低呈负相关 (表 4-2)。蒸腾速率和叶片干重的相对变化与气孔导度呈显著正相关。 Φ_{PSII} 和 ETR 的相对变化率与 NPQ 呈显著负相关, 而与叶片干重呈显著正相关。另外, NPQ 与叶片干重也呈显著负相关。生物量降低程度除了与净光合速率降低程度呈正相关以外, 还与 NPQ 的相对变化呈负相关(表 4-2)。

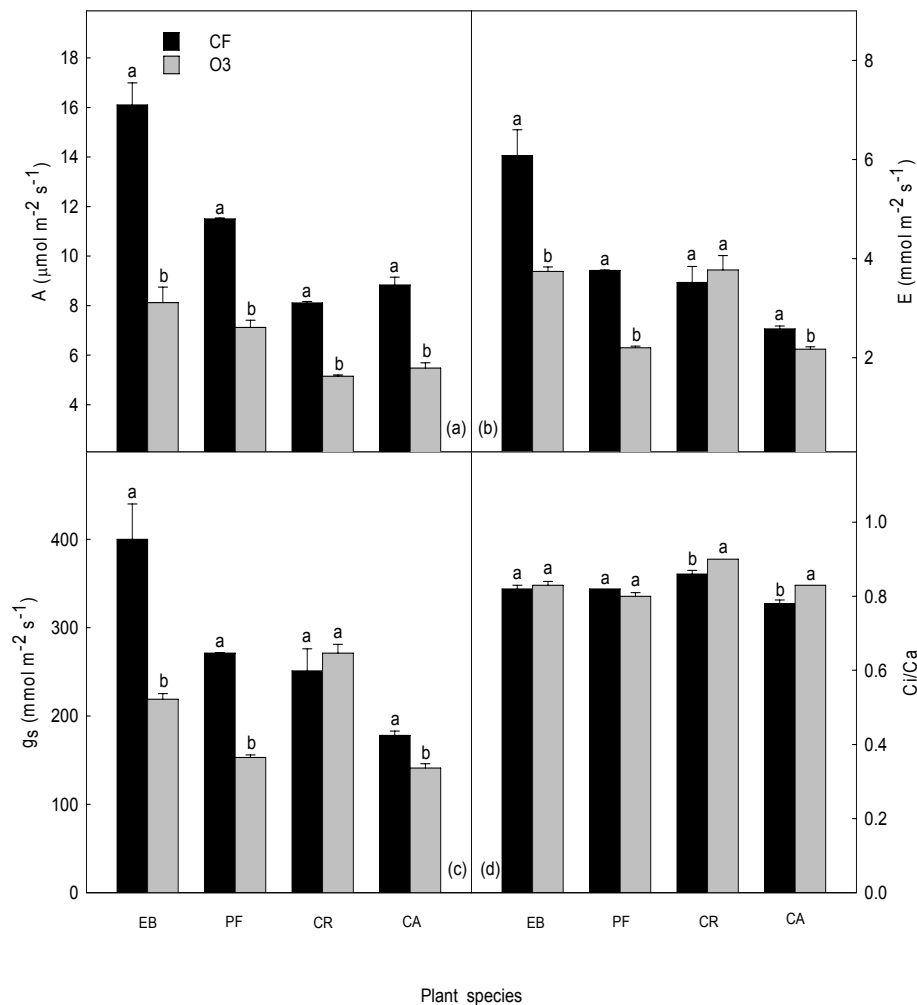


图 4-1. 臭氧处理 60 天后, 四种园林灌木(EB, 丝棉木; PF, 红叶石楠; CR, 流苏; CA, 红瑞木)的气体交换参数变化[净 CO₂ 同化速率(A), (a); 气孔导度(g_s), (b); 蒸腾速率(E), (c); 胞间 CO₂ 浓度和周围 CO₂ 浓度比值(C_i/C_a), (d)]. CF 为对照, O₃ 为处理。运用 T 检验比较每个物种处理间平均值。

Fig. 4-1. Instantaneous net CO₂ assimilation (A), (a), stomatal conductance (g_s), (b), transpiration rate (E), (c) and ratio of intercellular CO₂ to ambient CO₂ concentration (C_i/C_a), (d) of four shrub species (*Euonymus bungeanus*, EB; *Photinia × fraseri*, PF; *Chionanthus retusus*, CR; *Cornus alba*, CA) under charcoal-filtered air (CF) and O₃ fumigation (O₃) on the 60th d after treatments. Error bars show SE, n = 6. Means of each parameters were analysed using the Student's t-test to compare values between treatments in each species. Letters are comparable within treatments in each species. Values with different letters are significantly different ($P < 0.05$). Letters are comparable within treatments in each species. Values with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

第四章 园林灌木对臭氧污染响应

表 4-1. 处理 60 天后, 臭氧、植物种类以及两者交互对气体交换参数、叶绿素荧光参数以及生物量参数的影响 (A, 净 CO₂ 同化速率; E, 蒸腾速率; g_s, 气孔导度; C_i/C_a, 胞间 CO₂ 浓度和外界 CO₂ 浓度比; F_o, 最小荧光; F_m, 最大荧光; F_v/F_m, 光系统 II 在暗适应下最大效率; Φ_{PSII}, 光系统 II 实际量子产量; ETR, 电子传递速率; NPQ, 非光化学猝灭; SDW, 茎干重; LDW, 叶干重; RDW, 根干重; Root/Shoot, 根冠比和 Biomass, 生物量)。

Table 4-1. Effects of treatment, species and their interactions on gas exchange parameters (A, net CO₂ assimilation; E, transpiration rate; g_s, stomatal conductance; C_i/C_a, the ratio of intercellular CO₂ to ambient CO₂ concentration), chlorophyll fluorescence parameters (F_o, the minimum fluorescence; F_m, the maximum fluorescence; F_v/F_m, the maximum efficiency of PS II photochemistry in the dark-adapted state; Φ_{PSII}, the actual quantum yield of PS II photochemistry; ETR, electron transport rate; NPQ, the non-photochemical quenching) and biomass parameters (SDW, stem dry weight; LDW, leaf dry weight; RDW, root dry weight; Root/Shoot and Biomass) after more than 60 d fumigation. The values in the table are the *P* values of the two way ANOVA test.

| | A | E | g _s | C _i /C _a | F _o | F _m | F _v /F _m | Φ _{PSII} | ETR | NPQ | SDW | LDW | RDW | Root/Shoot | Biomass |
|-----------------------|--------|--------|----------------|--------------------------------|----------------|----------------|--------------------------------|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|------------|---------|
| Treatment | <.0001 | 0.0004 | 0.0002 | 0.0082 | 0.0481 | 0.0015 | 0.0165 | 0.4996 | 0.4925 | 0.5869 | 0.1527 | 0.8435 | 0.0383 | 0.0032 | 0.2607 |
| Species | <.0001 | <.0001 | 0.0001 | <.0001 | 0.0318 | 0.0096 | 0.0208 | 0.0011 | 0.0011 | 0.0004 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| Treatment× Species | 0.0013 | 0.0030 | 0.0019 | 0.0077 | 0.0256 | 0.0152 | 0.4906 | 0.0007 | 0.0007 | 0.0001 | 0.2612 | 0.0645 | 0.7182 | 0.0262 | 0.6182 |

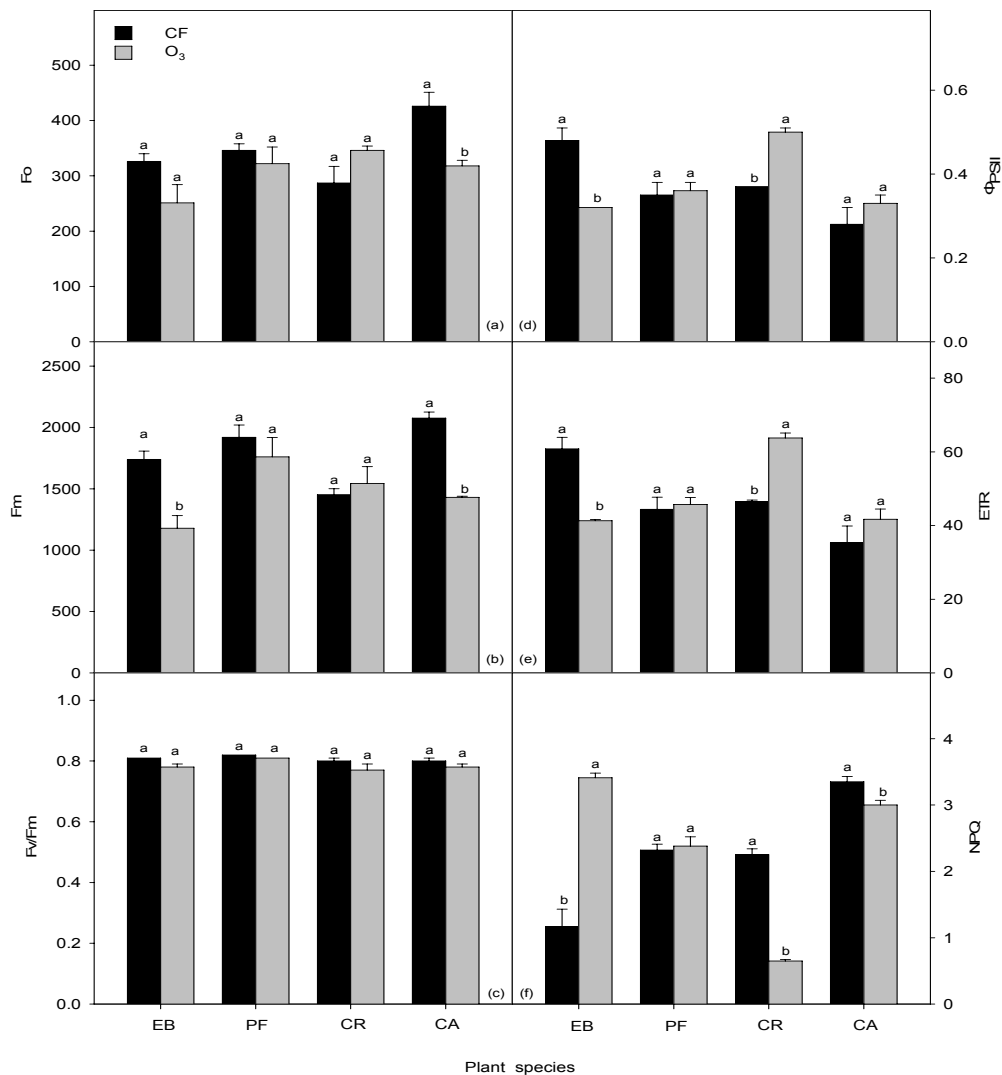


图 4-2 臭氧处理 61 天后，四种园林灌木(EB, 丝棉木; PF, 红叶石楠; CR, 流苏; CA, 红瑞木)的叶绿素荧光参数变化 [最小荧光值(F_0), (a); 最大荧光值(F_m), (b); 最大光化学效率(F_v/F_m), (c); 光系统 II 的量子产额(Φ_{PSII}), (d); 电子传递速率(ETR), (e); 非光化学猝灭(NPQ), (f)]。每个品种不同处理间的平均值是通过 T 检验进行比较。

Fig. 4-2. Effects of O_3 on minimum fluorescence (F_0), (a), maximum fluorescence (F_m), (b), maximum photochemical efficiency (F_v/F_m), (c), quantum yield of photosystem II (Φ_{PSII}), (d), electron transport rate (ETR), (e) and non-photochemical quenching (NPQ), (f) of four shrub species (*Euonymus bungeanus*, EB; *Photinia × fraseri*, PF; *Chionanthus retusus*, CR; *Cornus alba*, CA) on the 61st d after treatments. Error bars show s.e., $n = 6$. Means of each parameters were analysed using the Student's t-test to compare values between treatments in each species. Letters are comparable within treatments in each species. Values with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

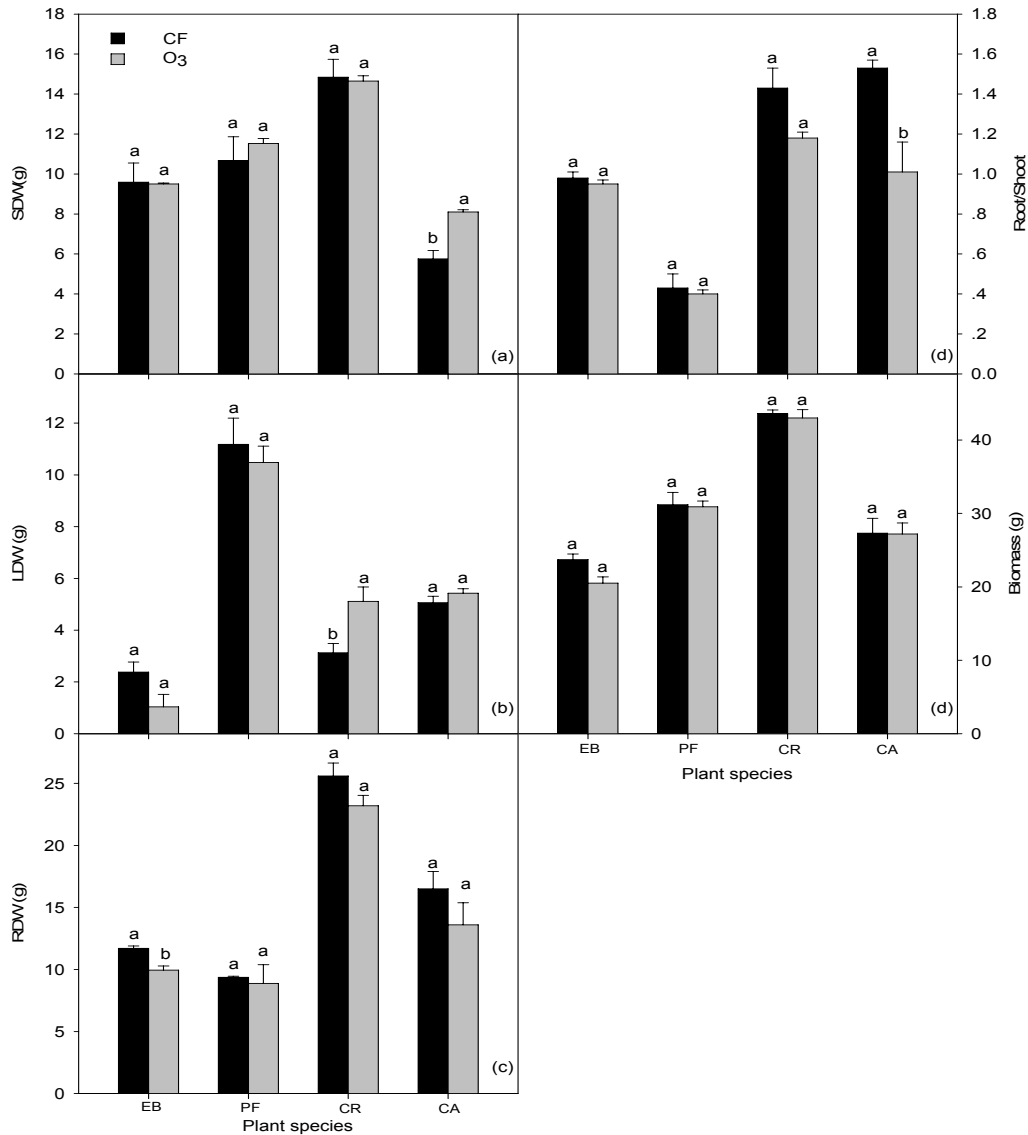


图 4-3 臭氧处理 65 天后, 四种园林灌木(EB, 丝棉木; PF, 红叶石楠; CR, 流苏; CA, 红瑞木)的生物量积累和分配 [(a), 茎干重; (b), 叶干重; (c), 根干重; (d), 根冠比; (e), 生物量] 的变化。每个品种不同处理间的平均值是通过 T 检验进行比较。

Fig. 4-3. Effects of O_3 on stem dry weight (SDW) (a), leaf dry weight (LDW) (b), root dry weight (RDW) (c), Root/Shoot (d) and Biomass (e) of four shrub species (*Euonymus bungeanus*, EB; *Photinia × fraseri*, PF; *Chionanthus retusus*, CR; *Cornus alba*, CA) on the 65th d after treatments. Error bars show s.e., n = 6. Means of each parameters were analysed using the Student's t-test to compare values between treatments in each species. Letters are comparable within treatments in each species. Values with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

4.4 讨论

4.4.1 气体交换

臭氧显著降低了四种灌木的净光合速率,但是维持或者增加了 C_i/C_a (表 4-1, 图 4-1)。这一结果与许多研究的结果一致(Mulholland *et al.*, 1997; Biswas *et al.*, 2008)。这表明, 臭氧处理下净光合速率的降低主要是由叶肉细胞受到伤害导致的, 而不是由于气孔限制(Reich 1987; Weber *et al.*, 1993)。除了 C_i/C_a , 其他主要的气体交换参数在丝棉木中降低程度最大, 而在流苏中降低程度最小。这表明, 臭氧处理下丝棉木的光合作用敏感性最高, 而流苏相对最低。

4.4.2 叶绿素荧光参数

通过测定叶绿素荧光参数, 我们发现光合作用的光反应过程也受到了臭氧的影响(表 4-1, 图 4-2)。 F_v/F_m 经常作为判断是否发生光抑制的指标。臭氧下, 四种灌木的 F_v/F_m 显著降低 ($P=0.0165$), 表明臭氧处理导致四种灌木发生了光抑制(表 4-1)。与对照相比, 每种灌木的 F_v/F_m 在臭氧处理下均出现一致的下降趋势, 但是差异并不显著(图 4-2)。对于 Φ_{PSII} 和 ETR 来说, 处理和树种存在交互效应(表 4-1)。臭氧对丝棉木 Φ_{PSII} 和 ETR 的影响与其对流苏的影响相反, 丝棉木在臭氧处理下 Φ_{PSII} 和 ETR 显著降低, 而流苏在臭氧处理下却显著增加(图 4-2)。这表明, 在丝棉木中, 光系统 II 反应中心的光化学效率以及由光系统 II 到光系统 I 的非线性电子传递受到了臭氧的伤害。臭氧处理下具有较高的 NPQ 值, 表明, 非辐射能量耗散增加(图 4-2)。然而, 臭氧导致流苏的 Φ_{PSII} 和 ETR 增加。这说明, 线性电子传递在臭氧处理下得到了促进。另外, 流苏在臭氧处理下 NPQ 降低, 表明流苏叶片吸收的能量可能更多的用于光化学猝灭而不是热耗散(Calatayud and Barreno, 2004)。相关性分析结果表明, 净光合速率的降低程度与 Φ_{PSII} 和 ETR 的降低程度成正相关。这再次表明, 净光合速率的降低主要是由非气孔过程导致, 例如光反应过程。

4.4.3 生物量积累和分配

既然生物量积累代表了碳同化和维持生命呼吸的净效应, 生物量积累的损

害程度常常被认为是臭氧伤害的最重要的指标(Skärby *et al.*, 1998)。研究结果表明, 生物量降低程度与净光合速率的降低程度呈显著正相关, 这是由于净光合速率是生物量的唯一来源(图 4-2)。生物量和生物量分配指标存在显著的种间差异($P < 0.0001$)。但是四种灌木生物量对臭氧处理的反应相似(表 4-1, 图 4-3)。根冠比对臭氧的反应在树种间有显著差异(表 4-1), 红瑞木在臭氧处理下根冠比显著降低, 而其他树种并没有显著变化(图 4-3)。红瑞木在臭氧处理下根干重并没有显著改变, 但是茎干重却显著增大(图 4-3)。因而根冠比显著降低, 这与其他学者的研究结果相似(Cooley and Manning, 1987)。这一结果表明, 该树种可以通过调节生物量分配来适应臭氧污染的状况。尽管流苏处理间根冠比未发生显著变化, 但是更多的生物量分配到叶片中, 这可能从一定程度上补偿了净光合速率降低对生物量的损失。除了光合作用之外, 这也可能是流苏成为四种灌木中抗性最强树种的另外一个原因。

表 4-2. 臭氧处理下气体交换参数、叶绿素荧光参数、生物量参数相比对照变化率的相关性分析

Table 4-2. Correlation among relative changes in gas exchange parameters (P_N , net photosynthetic rate; E , transpiration rate; g_s , stomatal conductance; C_i/C_a , the ratio of intercellular CO_2 to ambient CO_2 concentration), chlorophyll fluorescence parameters (F_o , the minimum fluorescence; F_m , the maximum fluorescence; F_v/F_m , the maximum efficiency of PS II photochemistry in the dark-adapted state; Φ_{PSII} , the actual quantum yield of PS II photochemistry; ETR, electron transport rate; NPQ, the non-photochemical quenching) and biomass parameters (SDW, stem dry weight; LDW, leaf dry weight; RDW, root dry weight; root/shoot and biomass) in four shrub species (*Euonymus bungeanus*, EB; *Photinia serrulata*, PF; *Chionanthus retusus*, CR; *Cornus alba*, CA) exposed to elevated O_3 . Changes are expressed as percent differences between O_3 -exposed (O_3) plants and CF plants, $(O_3-CF)/CF$, before Pearson's correlation test. Asterisks denote significant differences, * <0.05, ** <0.01.

| | E | g_s | P_N | C_i/C_a | F_o | F_m | F_v/F_m | Φ_{PSII} | ETR | NPQ | SDW | LDW | RDW | Root/Shoot |
|---------------|---------|--------|---------|-----------|--------|--------|-----------|---------------|---------|---------|--------|--------|-------|------------|
| g_s | 0.994** | | | | | | | | | | | | | |
| P_N | 0.564 | 0.614 | | | | | | | | | | | | |
| C_i/C_a | 0.849 | 0.787 | 0.228 | | | | | | | | | | | |
| F_o | 0.661 | 0.732 | 0.540 | 0.187 | | | | | | | | | | |
| F_m | 0.531 | 0.617 | 0.637 | 0.004 | 0.970* | | | | | | | | | |
| F_v/F_m | -0.619 | -0.566 | 0.300 | -0.757 | -0.261 | -0.018 | | | | | | | | |
| Φ_{PSII} | 0.837 | 0.869 | 0.924* | 0.539 | 0.674 | 0.677 | -0.089 | | | | | | | |
| ETR | 0.839 | 0.871 | 0.922* | 0.540 | 0.678 | 0.680 | -0.093 | 1.000** | | | | | | |
| NPQ | -0.692 | -0.739 | -0.984* | -0.344 | -0.645 | -0.704 | -0.136 | -0.974* | -0.973* | | | | | |
| SDW | 0.074 | 0.021 | 0.360 | 0.346 | -0.537 | -0.486 | 0.269 | 0.261 | 0.256 | -0.276 | | | | |
| LDW | 0.880 | 0.920* | 0.854 | 0.532 | 0.809 | 0.787 | -0.208 | 0.976* | 0.978* | -0.932* | 0.055 | | | |
| RDW | -0.108 | -0.001 | 0.404 | -0.617 | 0.635 | 0.782 | 0.497 | 0.229 | 0.229 | -0.378 | -0.545 | 0.307 | | |
| Root/Shoot | -0.580 | -0.532 | -0.581 | -0.726 | 0.099 | 0.127 | 0.106 | -0.644 | -0.641 | 0.579 | -0.856 | -0.498 | 0.507 | |
| Biomass | 0.465 | 0.510 | 0.987** | 0.179 | 0.402 | 0.520 | 0.402 | 0.868 | 0.865 | -0.947* | 0.479 | 0.767 | 0.349 | -0.627 |

4.5 小结

不同园林灌木对臭氧污染的敏感性不同。丝棉木由于净光合速率、 Φ_{PSII} 和 ETR 的降低程度最大，是四种灌木中最敏感的树种；流苏由于净光合速率降低程度最低，且 Φ_{PSII} 和 ETR 较对照升高，是四种灌木中抗性最强的树种。流苏是一种濒危植物，但是臭氧浓度升高不会增加其灭绝的危险。红叶石楠和红瑞木的臭氧敏感性差异不明显。

不同灌木对臭氧污染有不同的响应方式。例如流苏将更多的生物量分配到叶片中来补偿单位面积净光合速率的降低。基于以上结果，我们认为在园林绿化实践过程中，应该首先了解不同灌木的臭氧敏感性，选择抗性强的灌木进行大面积的应用。从本研究来看，丝棉木并不适合在臭氧污染较严重的地区种植，而流苏是一个比较合适的选择。

第五章 草本植物对臭氧污染的反应

5.1 引言

由于人类活动消耗了大量的化石能源，工业废气和交通尾气的排放量不断增加，城市空气污染严重。以 O_3 为特征污染物的城市光化学烟雾污染日趋严重，威胁着人类的健康和城市的生态安全。据估计到 2100 年全世界平均臭氧浓度超过 60ng g^{-1} (Fowler *et al.*, 1999)。臭氧能够抑制植物的生长、降低作物的产量，也会影响到植物的竞争能力。

植物功能型是指一组具有相似特征（形态和生理特征），在生态系统中扮演着相似角色并且对环境条件表现出相似的响应的植物组群(Walker, 1992; Chapin, 1993; Noble and Gitay, 1996)。根据植物能否固定空气中的氮气来为自身提供养分可以分成固氮植物和非固氮植物。根据植物的光合途径，又可以将植物分为 C3 植物和 C4 植物。不同功能型的植物由于其形态或生理特性的不同，导致其对臭氧的敏感性可能会有明显的差异。尽管臭氧敏感性与植物功能型是否相关还没有定论，但是豆科植物具有较高的臭氧敏感性已经得到了很多实验的证明 (Fuhrer *et al.*, 2005)。目前对决定植物类群臭氧敏感性的特征还没有一致的认识，但是较高的气孔导度、较大的相对生长速率以及较快的发育速度是与此相关的重要因素 (Bassin *et al.*, 2004; Bungener *et al.*, 1999a,b; Franzaring *et al.*, 2000; Nebel and Fuhrer, 1994)。已经有大量实验表明，具有较高的气孔导度的植物种类有较大的臭氧吸收潜力，其生长受抑制的程度比气孔导度较小的植物种类高 (Reich and Amundson, 1985; Reich, 1987)。C3 和 C4 植物起源于不同的气候条件，因此从结构和功能以及适应性上都不相同 (Ward *et al.*, 1999; Nayyar, 2003)。与 C3 植物相比，C4 植物一般具有较小的气孔导度，因此在臭氧浓度升高时，C4 植物可能比 C3 植物的抗性大。有研究表明玉米、高粱等 C4 植物的产量受到臭氧的影响都比许多 C3 植物如大豆、小麦、棉花低 (Rudorff *et al.*, 1996)。

园林绿地植物作为城市植被的重要组成部分，在固碳释氧、净化空气、吸附和清除空气中的悬浮颗粒、降温增湿等方面都发挥着十分重要的作用。草本植物在绿地中所占的比例很高，面积很大，是一类重要的观赏绿化植物。为了更好的应对高浓度的臭氧环境，需要选择对臭氧抗性强的草本植物来应用于园

林绿化中。草本植物种类繁多，形态各异。因此我们希望能够找到与臭氧敏感性相关的功能型划分方式，为判断草本植物臭氧敏感性提供依据。本研究选取常见的三种不同功能型的草本植物为材料：豆科植物（苜蓿，*Medicago Sativa*）、C4 植物（高丹草，*Sorghum bicolor* × *S. Sudanense*）、C3 植物（早熟禾，*Poa annua*）。苜蓿是一种优良的牧草，可以应用到园林绿化中；高丹草是高粱（*Sorghum bicolor*）与苏丹草（*Sorghum sudanense*）杂交的一种新型一年生禾本科 C4 植物，具有较高的生物量（高聚林等，2007）；而早熟禾是一种常见的草坪草。根据前人的研究结果，我们预测豆科植物苜蓿的敏感性高于 C3 植物早熟禾和 C4 植物高丹草，而 C4 植物高丹草对臭氧的抗性高于 C3 植物早熟禾。

本实验的目的是：1) 了解三种不同功能型草本植物对高浓度臭氧的敏感性差异；2) 揭示造成敏感性差异的生理生态学机制及敏感性与功能型划分原则的关系；3) 筛选适应高浓度臭氧的草本植物，为园林绿化提供理论指导。

5.2 材料与方法

5.2.1 实验材料

从北京市农科院草业研究中心购得早熟禾（*Poa annua*）、高丹草（*Sorghum bicolor* × *S. Sudanense*）、苜蓿（*Medicago Sativa*）的种子。然后将其播种在直径 10cm 的 PVC 管中，基质是用蛭石、泥炭、园土以 1: 3: 6 的比例进行混合。待种子萌发后，每种植物选择个体差异较小的 10 盆作为实验材料。在实验进行过程中养分和水分供应充足，避免养分亏缺和水分胁迫。

5.2.2 实验设计

本实验在中国科学院植物研究所植物园的 4 个 OTC（直径 1.8m、高 2.4m）中进行。2007 年 7 月 10 日，每个 OTC 中随机摆放每种植物 6 盆，适应一个星期。在适应期间，所有 OTC 中均充入活性炭过滤后的对照气体(CF, $< 5 \text{ ng g}^{-1} \text{ O}_3$)。适应期结束后（2007 年 7 月 17 日），两个臭氧处理 OTC 中充入 $70 \pm 5 \text{ ng g}^{-1}$ ，每天从 09:00 开始处理至 16:00 结束，共处理 31 天，同时两个对照 OTC 中仍然充入活性炭过滤后的气体($< 5 \text{ ng g}^{-1} \text{ O}_3$)。具体臭氧制取方法见 2.2.2。

5.2.3 叶片气体交换测定

利用德国 Walz 公司生产的 GFS3000 光合荧光测定系统，在处理 23 天后（2007 年 8 月 9 日）测定最新完全展开叶片的气体交换。每种植物在对照和处理中分别选取 6 株来进行测定。具体测定方法见 2.3.1.1。

5.2.4 叶片叶绿素荧光参数测定

利用德国 Walz 公司生产的 GFS3000 光合荧光测定系统，在处理 23 天后（2007 年 8 月 9 日）测定最新完全展开叶片的叶绿素荧光参数。每种植物在对照和处理中分别选取 6 株来进行测定。具体测定方法见 2.3.2。

5.2.5 生物量积累和分配

在处理 31 天后（2007 年 8 月 17 日）进行植物的破坏性收获，处理和对照中每个种各选取 6 株植物进行测定。测定生物量和生物量在各个器官的分配。具体方法参见 2.3.3。

5.2.6 数据分析

本实验包含 2 个处理，每个处理 2 个小区，每个小区每种植物有 6 株。数据分析采用 SAS 软件 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)中的一般线性模型 (General Linear Models)。处理和种间交互效应通过一般线性模型中的二元方差分析判断，同种植物不同处理之间差异通过 95%置信水平下的最小显著差异 ($LSD_{0.05}$) 来判断。

5.3 实验结果

5.3.1 气体交换

所有的气体交换参数均极显著地受到处理与种的交互效应的影响 ($P<0.0001$) (表 5-1)。臭氧处理下，高丹草和苜蓿的净光合速率极显著降低，

降低程度分别为 49.7 %和 65.0 %，而早熟禾的光合速率在处理 and 对照下并没有显著差异（表 5-1）。不同植物的气孔导度在臭氧处理下反应也不相同：苜蓿的气孔导度降低程度最大（-74.7 %），高丹草也有极显著的降低（-63.7 %），然而早熟禾在臭氧处理下气孔导度反而有显著的增大（22.5 %）（表 5-1）。蒸腾速率的变化与气孔导度类似：高丹草的蒸腾速率降低程度最大（-60.9 %），苜蓿次之（-43.4 %），早熟禾的蒸腾速率没有减少反而增大（21.8 %）（表 5-1）。从细胞间 CO_2 浓度来看，苜蓿和早熟禾的 C_i 在臭氧处理下显著升高而高丹草显著降低（-24.5 %）（表 5-1）。

5.3.2 叶绿素荧光参数

臭氧处理和植物种在 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 ETR 上存在显著交互效应（表 5-2）。臭氧处理下，苜蓿的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 ETR 均显著降低，降低程度分别为 28.8 %、48.0 %、48.0 %（表 5-2）。高丹草的 F_v/F_m 值在臭氧处理下显著降低，但是 Φ_{PSII} 和 ETR 在处理之间并没有显著差异（表 5-2）。早熟禾在不同处理下 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 ETR 都没有显著变化（表 5-2）。臭氧处理显著降低了三种草本植物的 q_P ($P=0.0002$)，同时显著增加了 q_N ($P=0.0174$) 和 NPQ ($P=0.0139$) 的值。

5.3.3 生物量积累和分配

地上部分生物量、地下部分生物量和总生物量均显著受到处理和种间交互效应的影响（表 5-3）。臭氧处理下，高丹草和苜蓿的地上生物量显著降低，降低程度分别为 43.8 % 和 36.4 %，早熟禾在不同处理下地上生物量变化不显著（表 5-3）。地下生物量变化趋势与地上部分相似：高丹草和苜蓿地下生物量显著降低，苜蓿的降低程度（-81.7 %）高于高丹草的降低程度（-51.1 %），早熟禾的变化不明显（表 5-3）。高丹草和苜蓿的总生物量在臭氧处理下显著降低，而早熟禾没有显著变化。苜蓿生物量损失程度（-51.2 %）高于高丹草（-41.8 %）。臭氧处理显著降低了三种植物的根冠比 ($P=0.0247$)。

第五章 草本植物对臭氧污染响应

表 5-1 臭氧处理对三种草本植物（高丹草、苜蓿、早熟禾）气体交换（ P_N , 净光合速率; E , 蒸腾速率; g_s , 气孔导度; C_i , 胞间 CO_2 浓度; C_a , 外界 CO_2 浓度的影响。

Table 5-1. Effects of O_3 on net photosynthetic rate (P_N), transpiration rate (E), stomatal conductance (g_s), intercellular CO_2 concentration (C_i), ambient CO_2 concentration (C_a) of *Sorghum bicolor* \times *S. Sudanense*, *Medicago Sativa*, and *Poa annua* after 23 days exposure. % (+/-) indicated percent changes in O_3 -exposed (O_3) relative to control (CF) plants, (O_3 -CF)/CF. Data presented are means of 4 plants. $LSD_{0.05}$, least significant difference at $\alpha=0.05$. Asterisks denote significant difference between O_3 -treated and control plant * <0.05, ** <0.01, *** <0.001.

| Species | Treatment | P_N ($\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$) | E ($\mu mol\ mmol^{-1}$) | g_s ($mmol\ m^{-2}s^{-1}$) | C_i ($\mu mol\ mol^{-1}$) | C_a ($\mu mol\ mol^{-1}$) |
|---|--------------|--------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| <i>Sorghum bicolor</i> \times <i>S. Sudanense</i> | CK | 15.22 | 1.95 | 143.04 | 232.41 | 405.28 |
| | O_3 | 7.65 | 0.76 | 51.94 | 175.45 | 411.88 |
| | %(+/-) | -49.74*** | -60.87*** | -63.69*** | -24.51*** | 1.63*** |
| | $LSD_{0.05}$ | 0.14 | 0.05 | 3.83 | 4.91 | 0.09 |
| <i>Medicago Sativa</i> | CK | 13.97 | 4.73 | 840.81 | 346.46 | 375.55 |
| | O_3 | 4.89 | 2.68 | 213.17 | 370.77 | 414.85 |
| | %(+/-) | -65.01*** | -43.39*** | -74.65*** | 7.02*** | 10.46*** |
| | $LSD_{0.05}$ | 0.42 | 0.23 | 18.66 | 6.60 | 0.33 |
| <i>Poa annua</i> | CK | 10.20 | 5.68 | 434.35 | 372.72 | 417.45 |
| | O_3 | 10.10 | 6.92 | 531.91 | 397.08 | 435.19 |
| | %(+/-) | -0.90 | 21.80*** | 22.46*** | 6.54*** | 4.25*** |
| | $LSD_{0.05}$ | 0.20 | 0.25 | 20.46 | 1.80 | 0.32 |
| Species | | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| Treatment | | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | 0.0361 | <0.0001 |
| Species*Treatment | | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |

表 5-2. 臭氧处理对三种草本植物（高丹草、苜蓿、早熟禾）叶绿素荧光参数 (F_v/F_m , 光系统 II 的最大光化效率; Φ_{PSII} , 光系统 II 的实际量子产额; ETR, 电子传递速率; q_P , 光化学猝灭系数; q_N , 非光化学猝灭系数; NPQ, 非光化学猝灭) 的影响。

Table 5-2. Effects of O_3 on chlorophyll fluorescence parameters (F_v/F_m , Φ_{PSII} , ETR, q_P , q_N , and NPQ) of *Sorghum bicolor* \times *S. Sudanense*, *Poa annua*, and *Medicago Sativa* after 23 days exposure. % (+/-) indicated percent changes in O_3 -exposed (O_3) relative to control (CF) plants, (O_3 -CF)/CF. Data presented are means of 4 plants. $LSD_{0.05}$, least significant difference at $\alpha=0.05$. Asterisks denote significant difference between O_3 -treated and control plant * <0.05, ** <0.01, *** <0.001.

| Species | Treatment | F_v/F_m | Φ_{PSII} | ETR | q_P | q_N | NPQ |
|---|----------------|-----------|---------------|------------|--------|--------|--------|
| <i>Sorghum bicolor</i> \times <i>S. Sudanense</i> | CK | 0.760 | 0.264 | 33.228 | 0.508 | 0.763 | 1.675 |
| | O ₃ | 0.738 | 0.249 | 31.362 | 0.543 | 0.782 | 1.647 |
| | %(+/-) | -2.956* | -5.549 | -5.616 | 6.974 | 2.515 | -1.632 |
| | $LSD_{0.05}$ | 0.017 | 0.038 | 4.799 | 0.053 | 0.047 | 0.378 |
| <i>Medicago Sativa</i> | CK | 0.798 | 0.565 | 71.250 | 0.778 | 0.389 | 0.470 |
| | O ₃ | 0.568 | 0.294 | 37.027 | 0.739 | 0.677 | 0.852 |
| | %(+/-) | -28.823* | -48.032*** | -48.032*** | -5.083 | 74.075 | 81.328 |
| | $LSD_{0.05}$ | 0.178 | 0.032 | 3.935 | 0.095 | 0.293 | 0.788 |
| <i>Poa annua</i> | CK | 0.749 | 0.468 | 59.018 | 0.768 | 0.584 | 0.934 |
| | O ₃ | 0.750 | 0.389 | 49.034 | 0.716 | 0.738 | 1.608 |
| | %(+/-) | 0.115 | -16.891 | -16.918 | -6.682 | 26.183 | 72.274 |
| | $LSD_{0.05}$ | 0.046 | 0.230 | 28.982 | 0.267 | 0.533 | 2.276 |
| Species | | 0.0139 | 0.0003 | 0.0003 | 0.0002 | 0.0174 | 0.0139 |
| Treatment | | 0.0011 | 0.0005 | 0.0005 | 0.4401 | 0.0176 | 0.1190 |
| Species*Treatment | | 0.0011 | 0.0029 | 0.0030 | 0.3011 | 0.1462 | 0.3744 |

第五章 草本植物对臭氧污染响应

表 5-3. 臭氧处理对三种草本植物（高丹草、苜蓿、早熟禾）生物量积累和分配(Shoot dry weight, 茎干重; Root dry weight, 根干重; Biomass, 生物量; Root/Shoot, 根冠比) 的影响。

Table 5-3. Effects of O₃ on Shoot dry weight, Root dry weight, Biomass, Root/Shoot of *Poa annua*, *Sorghum bicolor* × *S. Sudanense*, and *Medicago Sativa* after 23 days exposure. % (+/-) indicated percent changes in O₃-exposed (O₃) relative to control (CF) plants, (O₃-CF)/CF. Data presented are means of 4 plants. LSD_{0.05}, least significant difference at α=0.05. Asterisks denote significant difference between O₃-treated and control plant * <0.05, ** <0.01, *** <0.001.

| Species | Treatment | Shoot dry weight | Root dry weight | Biomass | Root/Shoot |
|--|---------------------|------------------|-----------------|-----------|------------|
| <i>Sorghum bicolor</i> × <i>S. Sudanense</i> | CK | 0.755 | 0.440 | 1.195 | 0.584 |
| | O ₃ | 0.480 | 0.215 | 0.695 | 0.448 |
| | %(+/-) | -36.424** | -51.136* | -41.841** | -23.352 |
| | LSD _{0.05} | 0.078 | 0.177 | 0.138 | 0.282 |
| <i>Medicago Sativa</i> | CK | 0.215 | 0.092 | 0.307 | 0.428 |
| | O ₃ | 0.121 | 0.017 | 0.138 | 0.138 |
| | %(+/-) | -43.838** | -81.675* | -55.156** | -67.801 |
| | LSD _{0.05} | 0.035 | 0.067 | 0.067 | 0.350 |
| <i>Poa annua</i> | CK | 0.116 | 0.049 | 0.165 | 0.418 |
| | O ₃ | 0.121 | 0.034 | 0.155 | 0.281 |
| | %(+/-) | 4.650 | -30.656 | -5.876 | -32.924 |
| | LSD _{0.05} | 0.034 | 0.070 | 0.104 | 0.486 |
| Species | | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0.0247 |
| Treatment | | <.0001 | 0.0005 | <.0001 | 0.0105 |
| Species*Treatment | | <.0001 | 0.0040 | <.0001 | 0.4239 |

5.4 讨论

三种草本植物的气体交换对臭氧的响应方式不同。C4 植物高丹草和豆科植物苜蓿在臭氧处理下净光合速率显著降低。从变化程度来看,高丹草受到臭氧的影响小于苜蓿。而 C3 植物早熟禾对高浓度臭氧并不敏感(表 5-1)。臭氧污染下净光合速率降低,人们往往将其归因于气孔导度的降低,卡尔文循环酶活性/含量的降低以及电子传递过程。(Calatayud and Barreno, 2001; Dann and Pell, 1989; Farage and Long, 1995; Hill and Littlefield, 1969; Grantz and Vu, 2009)。高丹草和苜蓿的气孔导度和蒸腾速率变化规律与净光合速率一致。尽管净光合速率降低同时气孔导度也降低,但是苜蓿的细胞间 CO_2 浓度却升高。这说明,臭氧对苜蓿光合作用的抑制并不是气孔限制所导致的,而是叶肉细胞过程发生了改变,有可能是光合作用酶 Rubisco 的活性受到了伤害。C4 植物高丹草则不同,在臭氧降低了其光合作用和气孔导度后,其细胞间的 CO_2 浓度却显著降低,说明其光合速率的降低很有可能是气孔关闭所导致。

三种草本植物的光捕获和光合电子传递在臭氧处理下有不同的反应。臭氧导致豆科植物苜蓿发生了光抑制,而且导致光合电子传递和光系统 II 光化学效率显著降低(表 5-2)。这说明苜蓿在高浓度臭氧下光合电子传递受到影响进而降低了净光合速率。高丹草受臭氧影响的程度比苜蓿小,在臭氧下,高丹草发生了光抑制,但是光化学效率和光合电子传递并没有受到显著影响。高浓度臭氧污染下,C3 植物早熟禾没有受到显著的影响。从整体上看,臭氧处理增加了非光化学猝灭,说明三种植物在臭氧下热耗散的能力增强而光化学猝灭降低。

在对照处理下,经历相同的生长时期后,三种植物的生物量积累差异明显(表 5-3)。高丹草的生物量最高,苜蓿次之,而早熟禾的生物量最低。地上部分生物量和地下部分生物量都与生物量的规律一致。这说明,高丹草的相对生长速率最高,早熟禾最低,苜蓿介于两者之间。臭氧处理下,高丹草生物量积累受到了显著影响,其中地上部分生物量降低 36.4%,地下部分生物量降低 51.1%,而总生物量比对照减少 41.8%。这是由于生物量积累的唯一来源是光合碳同化,净光合速率的降低最终导致生物量积累的减少。高浓度臭氧处理也影响了苜蓿的生物量。与对照相比,其地上部分生物量、地下部分生物量和总生物量均显著降低,降低程度分别为 43.8%, 81.6% 和 55.2%。C3 植物早熟禾与前两

种植物不同,高浓度的臭氧熏蒸并没有降低其生物量的积累。整体上看,臭氧处理显著降低了三种植物的根冠比 ($P=0.0247$),说明三种植物的同化物都在受到臭氧胁迫时减少了向地下部分的分配,尽可能的分配给叶片来补偿光合的损失,这是许多植物在臭氧下的适应策略。

综合三种植物在臭氧处理下气体交换参数、叶绿素荧光参数以及生物量积累和分配的变化规律,认为,豆科植物苜蓿对臭氧的敏感性最高,C3 植物早熟禾最低,而 C4 植物高丹草介于两者之间。豆科植物对臭氧具有较高的敏感性,这与我们的预测是一致的,也与其他一些学者研究结果是相符的 (Fuhrer *et al.*, 2005)。C4 植物高丹草的敏感性高于 C3 植物早熟禾,这与我们之前的假设相反,也与其他一些学者对 C4 植物的研究结果不一致 (Winner *et al.*, 1989; Volin *et al.*, 1998)。但是也有一些研究表明,C4 植物对臭氧敏感,如甘蔗和 yellow nutsedge (Grantz and Shrestha, 2006; Shrestha and Grantz, 2005; Grantz and Vu, 2009)。植物对臭氧的敏感性不仅与气孔导度有关,还与植物的抗氧化能力、相对生长速率以及其他环境条件有关 (Bassin *et al.*, 2007)。C4 植物高丹草的生长速率远远高于 C3 植物早熟禾,加上受到臭氧污染的叶片面积比早熟禾大,导致净光合速率和生物量积累的降低程度均显著高于早熟禾,因而比早熟禾更为敏感。

5.5 小结

三种草本植物对臭氧污染的敏感性差异明显。苜蓿由于净光合速率、叶绿素荧光参数和生物量在高浓度臭氧下降低程度最大,是三种草本植物中最敏感的;臭氧污染下,早熟禾净光合速率没有降低,且光反应没有受到显著的影响,最终生物量较对照没有显著的变化,是三种草本植物中抗性最强的;高丹草尽管气孔导度较低,单位叶面积进入植物体内的臭氧较少,但是由于其具有较大的相对生长速率以及较大的叶面积,导致其净光合速率、光反应以及生物量均受到了较大程度的伤害。

臭氧敏感性是由许多因素制约的,而功能型的划分仅仅是通过一种或一类相似的性状来进行,因而不能仅仅凭其功能型属性来判断其对臭氧是否敏感,而应该综合考虑其功能型差别,生长速率以及其他影响因子。在其他条件相对的一致的时候通过功能型来判断敏感性可能是一种比较有效的经验。因此在园林绿化实践过程中,我们应该综合考虑各种影响臭氧吸收和分解的因素,才能

更加准确的判断不同植物的臭氧敏感性，选择抗性强的植物。从本研究来看，早熟禾是一种适合在臭氧污染较严重的地区种植，而苜蓿并不是一个合适的选择。

第六章 藤本植物对臭氧污染的反应

6.1 引言

对流层臭氧是一种重要的气体污染物。它是由人为或生物排放的氮氧化物 (NO_x) 和挥发性有机物 (VOCs) 在光照下发生反应所生成 (Fowler *et al.*, 1998, Placet *et al.*, 2000)。根据 IPCC 的报告, 全世界对流层臭氧浓度在逐年增加 (IPCC, 2001)。臭氧污染不仅严重危害着人类的身体健康, 同时也对植物的生长发育构成了严重的威胁 (Lippmann, 1989, Fagnano *et al.*, 2009)。已经有大量证据表明, 臭氧浓度升高已经并仍将会对农作物产量、森林健康以及自然生态系统产生严重危害 (Adams *et al.*, 1989; Fuhrer *et al.*, 1997; Ashmore, 2005)。

作为气态污染物, 臭氧主要是通过叶片气孔吸收进入植物体内 (Runeckles, 1992)。由于臭氧污染导致植物气孔导度降低 (Reich and Lassoie, 1984), Rubisco 酶含量和 (或) 活性的降低 (Pell *et al.*, 1997; Reichenauer and Goodman, 2001), 进而抑制了植物的光合同化。同时, 由于促进了植物自身的解毒和修复过程, 臭氧增加了呼吸速率 (Amthor, 1988, Biswas *et al.*, 2008b)。长期的结果是臭氧抑制了植物的生长, 降低了作物产量 (Grimm and Fuhrer, 1989)。尽管有许多关于不同植物种类对臭氧的响应的报道 (e.g. Burkey *et al.*, 2000; Calvo *et al.*, 2007; He *et al.*, 2007; Feng *et al.*, 2007; Feng *et al.*, 2008; Imai *et al.*, 2008), 但是多倍体对臭氧污染响应研究较少 (Biswas *et al.*, 2008a)。

不同植物种类和同一植物不同品种对臭氧的敏感性不同 (Paoletti *et al.*, 2009), 更重要的是, 这种敏感性是可以遗传的。前人研究发现, 对臭氧敏感性较强的种类或品种往往具有较高的气孔导度、较低的呼吸速率以及抗氧化能力降低 (Biswas *et al.*, 2008b)。染色体数量是重要的遗传特性, 它影响着植物的表观性状, 例如气孔的大小, 数量以及抗氧化能力等生理过程。这些表观形状和生理特性又会影响植物对臭氧的敏感性。与二倍体相比, 染色体加倍往往导致叶肉细胞增多, 叶片厚度和面积增大, 光合酶含量增加, 光合同化能力增加 (Warner *et al.*, 1987; Aranda *et al.*, 1997; Xiong *et al.*, 2006)。这些形态和生理变化会导致对环境适应能力的改变, 比如对于干旱胁迫 (Pustovoitova *et al.*, 1996; Al Hakimi *et al.*, 1998; Xiong *et al.*, 2006) 和热胁迫的抗性增加 (Chinnusamy and

Khanna-Chopra, 2003)。到目前为止, 关于染色体加倍影响植物对臭氧敏感性的报道非常少。我们假设染色体加倍增加了植物体对臭氧污染的抗性。理由如下: 染色体加倍会增加光合酶和 CO_2 净同化能力, 净同化能力的提高也会增加解毒和修复的还原力以及细胞骨架 (Dizengremel *et al.*, 2008)。

藤本植物是园林绿化中的一个重要组成部分, 发挥着重要的生态功能。忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.) 是一种木质藤本植物, 它的干燥花蕾俗称金银花, 作为传统中药成分已经有一千多年的历史 (Li *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2005)。由于其药用价值以及观赏价值, 忍冬在东亚被广泛的栽培, 特别是在中国, 栽培面积很大 (Leatherman, 1955; Chai *et al.*, 2005)。为了满足药用和园艺市场的要求, 有学者利用秋水仙碱通过二倍体忍冬 (‘大毛花’) 诱导出四倍体品种 (‘九丰一号’) (Tan *et al.*, 2005)。除了增加了花的产量, 四倍体对环境胁迫例如干旱胁迫和热胁迫的抗性也增加了 (Li, 2007; Li *et al.*, 2009)。那么, 染色体加倍导致的形态和生理改变是否也同样增加忍冬对臭氧污染的抗性呢?

因此, 本实验的目的是: (1) 探明染色体加倍如何改变忍冬对臭氧的生理反应; (2) 揭示导致不同倍性忍冬臭氧敏感性差异的内在机理。

6.2 实验材料与方法

6.2.1 植物材料

从山东平邑九间棚农业科技有限公司获得两个忍冬品种, ‘大毛花’ (二倍体) 和 ‘九丰一号’ (四倍体)。为了获得生长整齐的幼苗, 通过茎段扦插进行繁殖。在萌发并生长一年以后, 每个品种选取 40 盆健康, 生长一致的幼苗种植于直径 35 cm 的盆中, 基质是由蛭石、泥碳、园土按体积 1: 3: 6 来进行混合。在整个实验过程中, 水分和养分供应充足, 避免养分缺失和干旱胁迫的发生。

6.2.2 实验设计

实验在中国科学院植物研究所温室的四个开顶式同化箱 (Open top chamber, OTC) 中进行。OTC 规格见 2.1。2007 年 4 月 1 日, 将两个品种忍冬随机摆放在 OTC 中, 每个 OTC 放置每个品种四盆。然后, 让植物在 OTC 中适应一周。

适应期间,所有植物均暴露在活性炭过滤后的空气中($CF, < 5 \text{ ng g}^{-1} \text{ O}_3$)。适应后,两个 OTC 中充入 O_3 , 并保持浓度在 $70 \pm 5 \text{ ng g}^{-1}$, 另外两个 OTC 中仍然充入活性炭过滤后的空气作为对照(CF)。整个处理过程为 31 天, 每天从 09:00 开始到 16:00 结束。臭氧是利用活性炭过滤后的外界空气, 通过 CF-KG1 型臭氧发生器电离生成, 然后通过蒸馏水瓶进入处理的 OTC 中。位于植物冠层的臭氧浓度通过臭氧分析仪 (Model 205, 2B Technologies Inc., Boulder, Colorado, USA) 来进行监测。

6.2.3 气体交换测定

分别在处理后第 15 天和第 24 天, 利用气体交换和荧光测定系统 (GFS3000, Heinz Walz, Effeltrich, Germany) 测定新近完全展开叶片的瞬时气体交换。处理和对照中每个品种随机选取三株植物作为测试材料。测定方法见 2.3.1.1。

在处理后第 20 天, 测定气体交换日变化。测定方法见 2.3.1.2。处理和对照中每个品种随机选取三株植物作为测试材料, 获得瞬时的净光合速率(P_N)和气孔导度(g_s)。

处理后第 27 天测定光合- CO_2 响应曲线。测定方法参照 2.3.1.3。每个叶片的数据利用响应曲线拟合软件 Photosynthesis Assistant (Dundee Scientific, Dundee, UK) 获得相关的参数。

6.2.4 叶绿素荧光参数测定

分别在处理后第 15 天和第 24 天, 利用气体交换和荧光测定系统 (GFS3000, Heinz Walz, Effeltrich, Germany) 测定新的完全展开叶片的叶绿素荧光参数。具体测定方法参照 2.3.2。

6.2.5 数据分析

本实验包含 2 个处理, 每个处理 2 个小区, 每个小区每个品种 4 株植物。数据分析采用 SAS 软件 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA) 中的一般线性模型 (General Linear Models)。同一品种不同处理间气体交换和叶绿素荧光参数差异用一元方差分析 (ANOVA) 进行, 当 $P < 0.05$ 视为差异显著。处理和品种间交互

效应通过一般线性模型中的二元方差分析判断。对光响应曲线参数来说, 通过二元方差分析来判断处理和品种之间的交互效应, 同一品种不同处理之间差异通过 95%置信水平下的最小显著差异来判断。对净光合速率 (P_N) 与气孔导度 (g_s) 进行线性回归分析, 并用 Sigmaplot 8.0 (Aspire Software Intl., Ashburn, VA, USA) 进行以上分析的作图。

6.3 实验结果

6.3.1 气体交换

臭氧处理 14 天 (AOT40, 2940 $\text{ng g}^{-1} \text{h}$) 后, 净光合速率 (P_N)、蒸腾速率 (E) 和气孔导度 (g_s) 均显著降低 (图 6-1, 表 6-1)。然而细胞间 CO_2 浓度与外界环境 CO_2 浓度的比值在臭氧处理与对照之间并没有显著差异 (表 6-1)。净光合速率 (P_N), 细胞间 CO_2 浓度与外界环境 CO_2 浓度的比值在品种之间没有显著差异 (表 3-1), 然而, 不同品种的蒸腾速率和气孔导度差异均十分显著, 四倍体忍冬比二倍体忍冬具有较高的气孔导度和蒸腾速率 (表 6-1)。

臭氧处理 23 天 (AOT40, 4830 $\text{ng g}^{-1} \text{h}$) 后, 蒸腾速率和气孔导度均受到处理与品种交互效应的影响 (图 6-1, 表 6-1)。四倍体忍冬在臭氧处理下, 蒸腾速率 ($P=0.002$) 和气孔导度 ($P=0.002$) 显著降低, 但是二倍体的气孔导度和蒸腾并没有受到臭氧的影响。臭氧处理显著降低了净光合速率, 却增加了细胞间 CO_2 浓度与外界环境 CO_2 浓度的比值 (表 6-1)。尽管气体交换在品种间差异不显著, 但是不同品种对臭氧污染的反应却不相同。从趋势上看净光合速率受到处理和品种交互效应的影响 ($P=0.086$) (表 6-1)。四倍体忍冬的净光合速率降低程度 (-62%) 比二倍体 (-49%) 大, 同时四倍体的蒸腾速率 (-41%) 和气孔导度 (-46%) 的降低程度也高于二倍体 (图 6-1)。

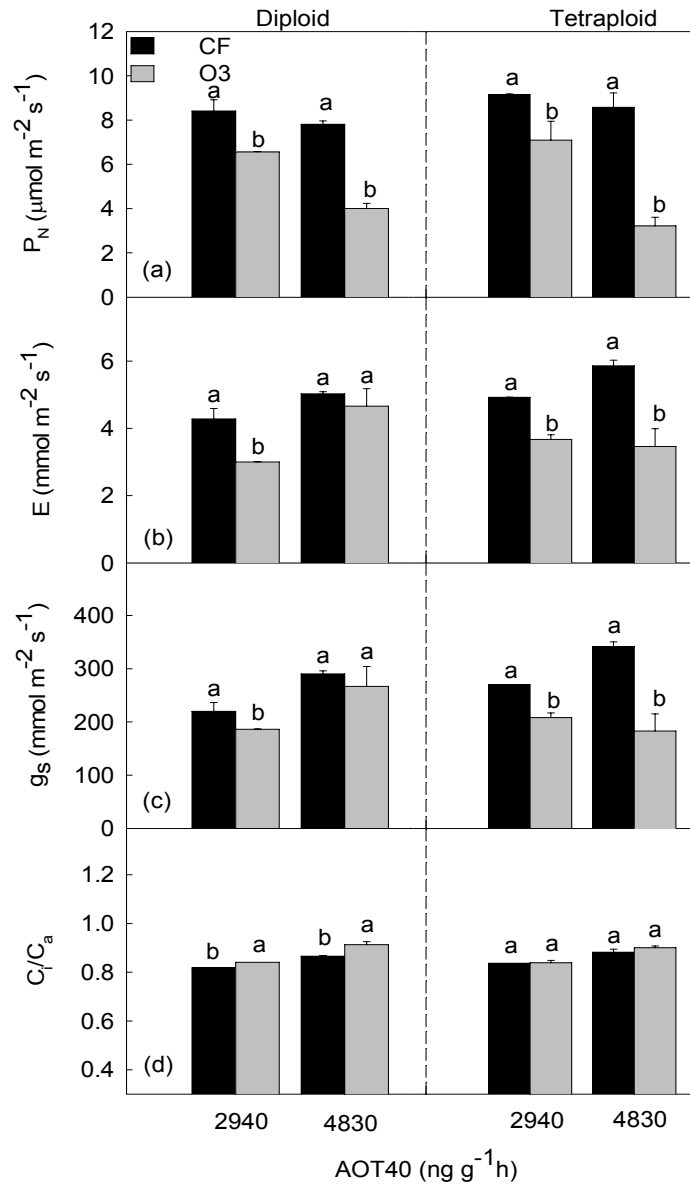


图 6-1. 二倍体和四倍体忍冬在臭氧处理 14 天 (AOT₄₀, 2940 ng g⁻¹ h) 和 23 天 (AOT₄₀, 4830 ng g⁻¹ h) 后, 对瞬时净光合速率 (P_N), (a), 蒸腾速率 (E), (b), 气孔导度 (g_s), (c), 胞间 CO₂ 和外界 CO₂ 浓度比 (C_i/C_a), (d) 的变化。

Fig.6-1. Effects of O₃ on instantaneous net photosynthetic rate (P_N), (a), transpiration rate (E), (b), stomatal conductance (g_s), (c) and ratio of intercellular CO₂ to ambient CO₂ concentration (C_i/C_a), (d) of diploid and tetraploid honeysuckle after 14 d (AOT₄₀, 2940 ng g⁻¹ h) and 23 d treatment (AOT₄₀, 4830 ng g⁻¹ h), respectively. Error bars show SE, n = 3. Letters are comparable within treatments in each cultivar. Values with different letters are significantly different (P < 0.05)

表 6-1. 14 天 (AOT_{40} , $2940 \text{ ng g}^{-1} \text{ h}$) 和 23 天 (AOT_{40} , $4830 \text{ ng g}^{-1} \text{ h}$) 的臭氧处理后, 臭氧处理、品种及其交互效应对气体交换参数 (P_N , 净光合速率; E , 蒸腾速率; g_s , 气孔导度; C_i/C_a , 胞间 CO_2 浓度和周围 CO_2 浓度比值) 和叶绿素荧光参数 (F_o , 最小荧光; F_m , 最大荧光; F_v/F_m , 暗适应下光系统 II 最大光化学效率; Φ_{PSII} , 光系统 II 光化学实际量子产额; ETR , 光合电子传递速率; q_p , 光化学猝灭系数; NPQ , 非光化学猝灭系数) 的影响。

Table 6-1. Effects of treatment, cultivar and their interactions on gas exchange parameters (P_N , net photosynthetic rate; E , transpiration rate; g_s , stomatal conductance; C_i/C_a , the ratio of intercellular CO_2 to ambient CO_2 concentration) and chlorophyll fluorescence parameters (F_o , the minimum fluorescence; F_m , the maximum fluorescence; F_v/F_m , the maximum efficiency of PS II photochemistry in the dark-adapted state; Φ_{PSII} , the actual quantum yield of PS II photochemistry; ETR , electron transport rate; q_p , photochemical quenching coefficient; NPQ , the non-photochemical quenching) after 14 d (AOT_{40} , $2940 \text{ ng g}^{-1} \text{ h}$) and 23 d treatment (AOT_{40} , $4830 \text{ ng g}^{-1} \text{ h}$), respectively. The values in the table are the P values of the two-way ANOVA test.

| | | P_N | E | g_s | C_i/C_a | F_o | F_m | F_v/F_m | Φ_{PSII} | ETR | q_p | NPQ |
|-----------------------------|-----------------------------|--------|--------|-------|-----------|--------|-------|-----------|----------------------|--------------|-------|--------------|
| AOT_{40} (2940) | Treatment | 0.005 | <.0001 | 0.001 | 0.267 | 0.020 | 0.011 | 0.577 | 0.341 | 0.340 | 0.144 | 0.031 |
| | Cultivar | 0.240 | 0.005 | 0.005 | 0.381 | 0.494 | 0.472 | 0.830 | 0.894 | 0.893 | 0.874 | 0.521 |
| | Treatment \times Cultivar | 0.847 | 0.933 | 0.180 | 0.822 | 0.863 | 0.736 | 0.992 | 0.217 | 0.218 | 0.346 | 0.078 |
| AOT_{40} (4830) | Treatment | <0.001 | 0.007 | 0.007 | 0.009 | <0.001 | 0.069 | <0.001 | 0.005 | 0.005 | 0.030 | 0.015 |
| | Cultivar | 0.978 | 0.640 | 0.534 | 0.805 | 0.304 | 0.281 | 0.023 | 0.814 | 0.809 | 0.599 | 0.538 |
| | Treatment \times Cultivar | 0.086 | 0.029 | 0.028 | 0.184 | 0.979 | 0.265 | 0.104 | 0.107 | 0.106 | 0.430 | 0.107 |

光合- CO_2 响应曲线参数受到处理与品种交互效应的影响 (表 6-2)。四倍体的 CO_2 饱和时的最大净光合速率 (P_{Nsat} , -83 %)，Rubisco 酶羧化反应的最大活体速率 (V_{cmax} , -77 %) 和最大光合电子传递 (J_{max} , -78 %) 在臭氧处理下均显著降低，然而，二倍体的这些参数并没有受到臭氧浓度升高的影响。臭氧显著降低了羧化效率 (CE) ($P=0.041$)，但是不同品种间的羧化效率并没有显著差别 (表 6-2)。

6.3.2 叶绿素荧光参数

臭氧处理 14 天 (AOT_{40} , $2940 \text{ ng g}^{-1} \text{ h}$) 后， F_o 和 F_m 显著升高，而 NPQ 却显著降低 (图 6-2, 表 6-1)。同时， F_v/F_m , Φ_{PSII} , ETR, q_p 等参数并没有显著变化。

臭氧处理 23 天 (AOT_{40} , $4830 \text{ ng g}^{-1} \text{ h}$) 后， F_o , F_v/F_m , Φ_{PSII} , ETR, q_p 以及 NPQ 均受到显著影响 (表 6-1)。臭氧显著增加了 F_o ，却降低了 F_v/F_m , Φ_{PSII} , ETR, q_p 和 NPQ 等参数的值 (图 6-2, 表 6-1)。与二倍体的变化(-12 %)相比，四倍体 Φ_{PSII} 降低程度较大(-30 %)，另外，ETR 和 q_p 降低程度较大，分别为：30 % 和 25 %。与二倍体 NPQ 的变化 (-4 %) 相比，四倍体 NPQ 降低程度较大(-25 %)，另外， F_v/F_m 和 F_m 分别降低了 9 % 和 10 % (图 6-2)。

表 6-2. 臭氧处理 26 d (AOT_{40} , $5460 \text{ ng g}^{-1} \text{ h}$) 后对二倍体 (大毛花) 和四倍体 (九丰一号) 光合- CO_2 响应曲线参数的影响 (P_{Nsat} , 饱和 CO_2 浓度下净同化速率; V_{cmax} , 活体下 Rubisco 最大羧化速率; J_{max} , 最大光合电子传输速率; CE, 羧化效率)。

Table 6-2. Effects of O_3 on $P_{\text{N}}\text{-C}_i$ curve parameters (P_{Nsat} , the steady-state rate of net assimilation under saturating CO_2 ; V_{cmax} , the maximum in vivo rate of Rubisco carboxylation; J_{max} , the maximal photosynthetic electron transport rate; CE, carboxylation efficiency) of diploid (Daomaohua) and tetraploid (Jiufengyihao) honeysuckle after 26 d (AOT_{40} , $5460 \text{ ng g}^{-1} \text{ h}$) treatment. % (+/-) indicated percent changes in O_3 -exposed (O_3) relative to control (CF) plants, $(\text{O}_3\text{-CF})/\text{CF}$. Data presented are means of 4 plants. $\text{LSD}_{0.05}$, least significant difference at $\alpha=0.05$. Asterisks denote significant difference between O_3 -treated and control plant * <0.05 , ** <0.01 , *** <0.001 .

| Cultivar | Treatment | P_{Nsat} ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) | V_{cmax} ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) | J_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) | CE ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) |
|-----------------------------|---------------------|--|--|---|--|
| Diploid | CF | 21.17 | 13.35 | 56.65 | 0.029 |
| | O_3 | 17.95 | 10.60 | 41.05 | 0.020 |
| | %(+/-) | -15.21 | -20.60 | -27.54 | -30.81 |
| | $\text{LSD}_{0.05}$ | 3.58 | 4.44 | 18.84 | 0.015 |
| Tetraploid | CF | 34.30 | 17.50 | 68.95 | 0.035 |
| | O_3 | 5.76 | 3.96 | 15.40 | 0.009 |
| | %(+/-) | -83.22*** | -77.37* | -77.67* | -73.10 |
| | $\text{LSD}_{0.05}$ | 2.17 | 13.42 | 48.41 | 0.048 |
| Treatment | | 0.031 | 0.008 | 0.005 | 0.041 |
| Cultivar | | 0.655 | 0.491 | 0.331 | 0.717 |
| Treatment \times Cultivar | | 0.017 | 0.030 | 0.035 | 0.222 |

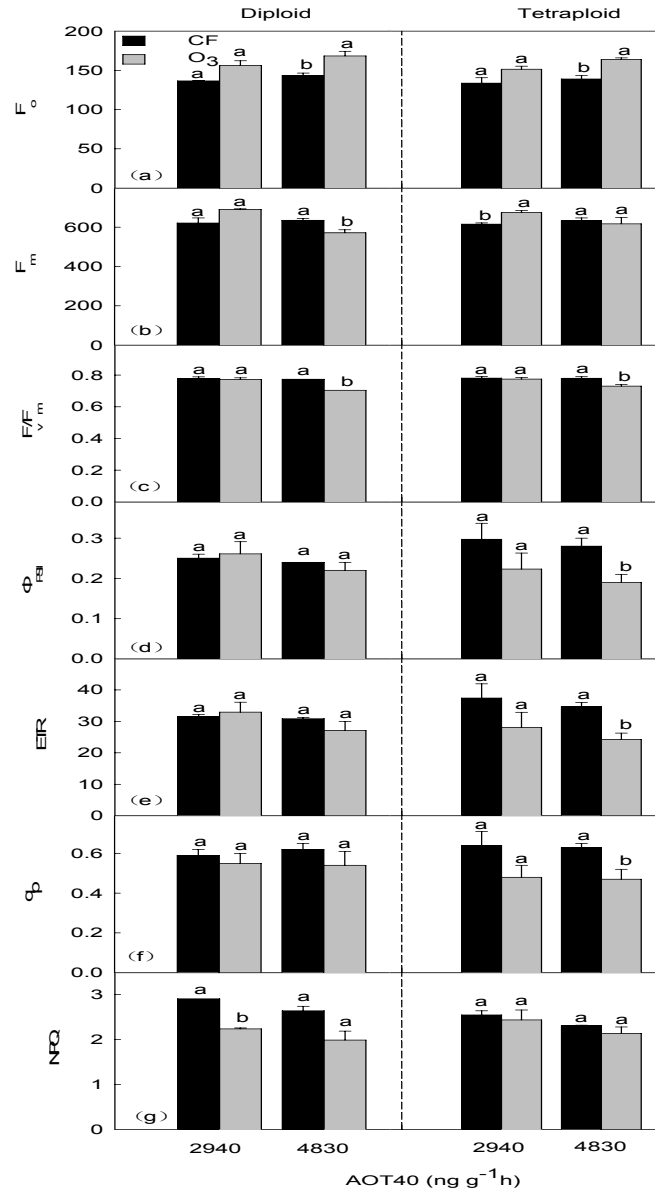


图 6-2. 臭氧处理 14 天 (AOT₄₀, 2940 ng g⁻¹ h) 和 23 天 (AOT₄₀, 4830 ng g⁻¹ h) 后, 二倍体和四倍体忍冬的叶绿素荧光参数 [F₀, (a); F_m, (b); F_v/F_m, (c); Φ_{PSII}, (d); ETR, (e); q_p, (f) and NPQ, (g)] 变化。

Fig. 6-2. Effects of O₃ on F₀, (a); F_m, (b); F_v/F_m, (c); Φ_{PSII}, (d); ETR, (e); q_p, (f) and NPQ, (g) of diploid (Daomaohua) and tetraploid (Jiufengyihao) honeysuckle after 14 d (AOT₄₀, 2940 ng g⁻¹ h) and 23 d treatment (AOT₄₀, 4830 ng g⁻¹ h), respectively. Error bars show SE, n = 3. One-way analysis of variance (ANOVA) was used to identify differences between treatments in each cultivar. Letters are comparable within treatments in each cultivar. Values with different letters are significantly different (P < 0.05)

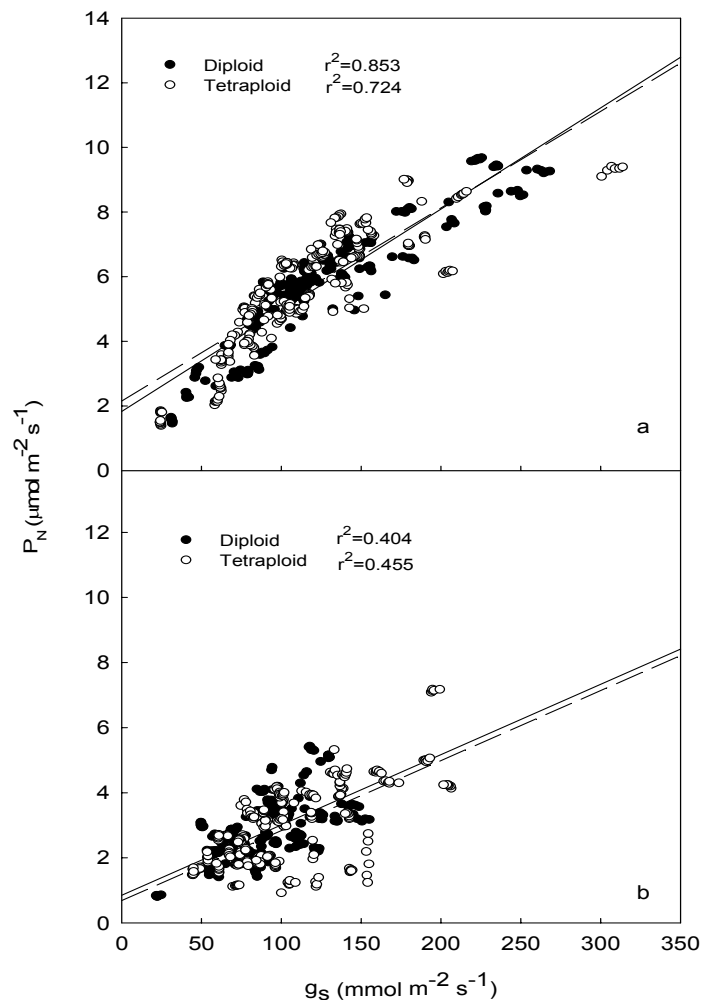


图 6-3. 臭氧处理 20 天后 (AOT_{40} , $4200 \text{ ng g}^{-1} \text{ h}$), 二倍体忍冬和四倍体忍冬净光合速率 (P_N) 和气孔导度 (g_s) 线性回归。对照为 (a), 臭氧处理为 (b)。实线表示二倍体忍冬线性回归, 虚线表示四倍体忍冬的线性回归。二倍体在对照和臭氧处理中的回归方程分别为 $y=1.831+0.0313x$ 和 $y=0.854+0.0216x$, 四倍体中分别为 $y=2.149+0.0298x$ 和 $y=0.685+0.0215x$ 。

Fig. 6-3. The linear regression between net photosynthetic rate (P_N) and stomatal conductance (g_s) of diploid and tetraploid honeysuckle in CF (a) and in O_3 (b) after 20 d (AOT_{40} , $4200 \text{ ng g}^{-1} \text{ h}$) treatment. The solid line means the linear regression of diploid and the long dash line means the linear regression of tetraploid honeysuckle. The regression equations of diploid in CF and in O_3 were $y=1.831+0.0313x$ and $y=0.854+0.0216x$, respectively, while the regression equations of tetraploid in CF and in O_3 were $y=2.149+0.0298x$ and $y=0.685+0.0215x$, respectively.

6.4 讨论

臭氧熏蒸处理 23 天后, 忍冬的光合表现受到了显著影响。首先, 臭氧显著降低了 P_N , E 和 g_s , 但是增加了 C_i/C_a 的值 (图 6-1, 表 6-1)。光合- CO_2 响应曲线参数变化表明 (表 6-2), 羧化效率的降低是造成光合作用能力减弱的主要因素。而臭氧下 Rubisco 酶羧化反应的最大活体速率和羧化效率的降低可能主要是由于 Rubisco 酶活性和 (或) 含量降低所导致的。以上结果表明, 臭氧对忍冬的伤害主要是先损害到叶肉过程而非气孔限制所导致。尽管 g_s 与 P_N 表现出显著的正相关关系 (图 6-3), 气孔导度的降低可能是对 C_i/C_a 值增加的被动反应, 而 C_i/C_a 值升高则是由光合作用降低所导致 (Fiscus *et al.*, 1997, Farage and Long, 1999)。

净光合速率显著受到处理和对照交互效应的影响 ($P=0.086$)。这表明, 不同品种的光合作用对臭氧处理的反应不同。在臭氧处理下, 四倍体净光合速率和气孔导度的降低程度均高于二倍体 (图 6-1), 这可能表明, 四倍体对臭氧比二倍体更加敏感 (Crous *et al.*, 2006, Guidi *et al.*, 2000)。我们的结果并不支持我们之前假说。之前的假说认为染色体加倍会增加植物对臭氧的抗性, 而结果恰恰相反。臭氧处理下, 四倍体的 Rubisco 酶羧化反应的最大活体速率 (V_{cmax}) 降低程度比二倍体大 (表 6-2)。这表明, 四倍体的卡尔文循环能力受到的伤害比二倍体的更大。

熏蒸处理 23 天后, 臭氧显著增加了 F_0 的值, 但是 F_v/F_m 的值却显著降低 (图 6-2, 表 6-1)。 F_0 的值升高意味着光系统 II 反应中心发生了光破坏或者是可逆失活。 F_v/F_m 比值的降低可能是由于保护性非辐射能量耗散造成, 也可能是由于光系统 II 反应中心的光破坏造成, 或者两者兼而有之 (Osmond, 1994)。NPQ 可以作为表示非辐射能量耗散的指数。臭氧处理下 NPQ 降低表明 F_v/F_m 降低不是因为非辐射能量耗散增加所导致, 而是由于光系统 II 光破坏所致。这一发现与其他结果类似, 例如植物对 SO_2 污染的反应 (Deltoro *et al.*, 1999)。臭氧处理下, 两个品种的 Φ_{PSII} , q_P 和 ETR 均受到抑制 (图 6-2, 表 6-1)。这表明, 开放的光系统 II 反应中心在臭氧处理下光化学效率降低。 q_P 值降低表明, 还原电子传递原初受体 QA 的能力受到臭氧抑制 (Calatayud *et al.*, 1999; Calatayud and Barreno, 2001)。以上结果表明, 忍冬在臭氧污染下光合作用的降低并不仅仅是由卡尔文循环能力降低所导致, 还与光捕获和电子传递过程有关 (Nie *et al.*, 1993; Farage and Long, 1999)。四倍体在臭氧污染下 Φ_{PSII} , ETR 和 q_P 降低程度均比二倍体大。

(图 6-2)。这也说明,不同品种的光捕获和电子传递对臭氧的反应是有差别的。以上结果也说明臭氧污染下,四倍体的光反应过程受到伤害比二倍体要深。

6.5 小结

藤本植物忍冬的不同染色体倍性的品种对臭氧的敏感性有显著差异。与二倍体相比,四倍体忍冬对臭氧更为敏感,这可能是由于四倍体的卡尔文循环和光反应过程在臭氧下受到了较大伤害。

尽管目前对流层臭氧已经被公认为主要的空气污染物之一,但是臭氧抗性还没有被当作植物育种、选育的目标性状 (Barnes *et al.*, 1999)。随着全球臭氧浓度的升高,将臭氧抗性整合到植物育种目标中去已经显得越来越有必要 (Booker *et al.*, 2009)。尽管染色体加倍增加了忍冬对许多恶劣环境的抗性例如抗旱性、抗热性和抗冻能力 (Li *et al.*, 2007),但是其对臭氧污染的抗性却减弱了。因而,对于一些观赏植物来说,染色体加倍可能并不是一个理想的防止臭氧污染或吸收臭氧的育种方式。

第七章 结论与展望

7.1 主要结论

1) 园林乔木——海棠不同叶色的品种对臭氧污染的敏感性不同。红色叶品种的净光合速率、光系统 II 光化学反应量子产额、非环式电子传递速率、Rubisco 酶羧化反应最大活体速率和最大光合电子传递速率的降低程度均比绿色叶品种大，因而具有较高的臭氧敏感性。这一结论与我们之前的假设相反。但是内在的机理需要进一步通过生化指标测定和组织形态学的观察才能揭示。未来城市臭氧浓度的进一步升高可能会导致红色叶的园林乔木受害，甚至死亡。在以红叶植物闻名的景区，需要加强研究和监测，避免红叶植物的大面积死亡。

2) 园林灌木对臭氧污染的敏感性不同。臭氧下，丝棉木的 CO_2 净同化速率、 Φ_{PSII} 和 ETR 的降低程度最大，是四种灌木中最敏感的树种；流苏由于净同化速率降低程度最低，且 Φ_{PSII} 和 ETR 较对照升高，是四种灌木中抗性最强的树种。流苏是一种濒危植物，但是臭氧浓度升高不会增加其灭绝的危险。红叶石楠和红瑞木的臭氧敏感性介于两者之间。不同树种对臭氧污染有不同的响应方式。例如流苏将更多的生物量分配到叶片中来补偿单位面积净光合速率的降低。在园林绿化实践过程中，我们应该了解不同植物对臭氧的敏感性差异，选择抗性强的灌木。从本研究结果来看，丝棉木并不适合在臭氧污染较严重的地区种植，而流苏是一个比较合适的选择。

3) 三种草本植物对臭氧污染的敏感性差异明显。苜蓿由于净光合速率、暗适应下光系统 II 最大光化学效率、 Φ_{PSII} 、ETR 和生物量在高浓度臭氧下降低程度最大，是三种草本植物中最敏感的；臭氧污染下，早熟禾净光合速率没有降低，且光反应没有受到显著的影响，最终生物量较对照没有显著的变化，是三种草本植物中抗性最强的；高丹草尽管气孔导度较低，单位叶面积进入植物体内的臭氧较少，但是由于其具有较大的相对生长速率以及较大的叶面积，导致其净光合速率以及生物量均受到了较大程度的伤害。臭氧敏感性是由许多因素制约的，而功能型的划分仅仅是通过一种或一类相似的性状来进行，因而不能

仅仅凭其功能型属性来判断其对臭氧是否敏感，而应该综合考虑其功能型差别，生长速率以及其他影响因子。在其他条件相对的一致的时候通过功能型来判断敏感性可能是一种比较有效的经验。因此在园林绿化实践过程中，我们应该综合考虑各种影响臭氧吸收和分解的因素，才能更加准确的判断不同植物的臭氧敏感性，选择抗性强的植物。从本研究来看，早熟禾是一种适合在臭氧污染较严重的地区种植，而苜蓿并不是一个合适的选择。

4) 藤本植物忍冬不同染色体倍性的品种对臭氧的敏感性不同。在臭氧处理下，四倍体净光合速率和气孔导度的降低程度均高于二倍体。另外，四倍体在臭氧污染下羧化反应最大活体速率和最大光合电子传递速率降低程度均比二倍体大。这说明四倍体的卡尔文循环和光反应过程在臭氧下受到了较大伤害。因此，相比二倍体，四倍体忍冬对臭氧更为敏感。尽管染色体加倍增加了忍冬对许多恶劣环境的抗性例如抗旱性、抗热性和抗冻能力 (Li *et al.* 2007)，但是其对臭氧污染的抗性却减弱了。因而，对于一些园林植物来说，染色体加倍可能并不是一个理想的防止臭氧污染或吸收臭氧的育种方式。

7.2 研究创新点

1) 通过比较海棠的不同叶色品种对臭氧的抗性差别，推测出叶片中活体花色素苷可能没有提高植物抗臭氧的能力，并从光合生理角度分析了可能的原因。为园林绿化中红叶植物的应用提供指导。这是本研究的一个创新之处。

2) 本论文选用三种不同功能型（豆科、C3、C4）的草本植物，开展其对臭氧污染的响应研究，发现豆科植物的敏感性最高，C4 植物次之，而 C3 植物对臭氧的抗性相对较高。

3) 通过比较藤本植物忍冬二倍体品种及其同源四倍体品种对臭氧的响应，了解染色体加倍对植物臭氧敏感性的影响，为植物品种定向培育提供理论依据。这是本研究的第三个创新之处。

7.3 展望

园林植物是城市的‘绿肺’，在固碳放氧、清洁空气、美化环境上发挥着重要的作用。由于臭氧污染的复杂性，研究园林植物在臭氧下的生长发育，筛选能在高浓度臭氧生长的种类，进而利用园林植物来吸收臭氧，降低其对人类健康的威胁，是一项长期的艰巨的任务。当前需要解决以下几个方面的问题：

- 1) 臭氧污染对城市园林中的古树名木有何影响，应该采取怎样的保护措施来保护这些植物
- 2) 臭氧对城市园林植物的固碳能力会产生何种影响
- 3) 如何通过化学调控手段提高园林植物抗臭氧污染的能力
- 4) 环境条件例如灌溉状况、高温以及高浓度 CO_2 浓度如何与臭氧一起对园林植物产生影响

参考文献

- Adams RM, Glyer JD, Johnson SL, McCarl BA. 1989. A reassessment of the economic effects of ozone on U.S. agriculture. *J. Air Pollut. Contr. Assoc.* 39: 960–968.
- Adams RM, Hamilton SA, McCarl BA. 1985. An assessment of the economic effects of ozone on U.S. agriculture. *J. Air Pollut. Control Assoc.* 35: 938–943.
- Ainsworth EA, Rogers A, Leakey ADB. 2008. Targets for crop biotechnology in a future high-CO₂ and high-O₃ world. *Plant Physiol.* 147: 13–19.
- Ainsworth EA. 2008. Rice production in a changing climate: a meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Global Change Biol.* 14: 1642–1650.
- Al Hakimi A, Monneveux P, Nachit MM. 1998. Direct and indirect selection for drought tolerance in alien tetraploid wheat × durum wheat crosses. *Euphytica* 100: 287–294.
- Amthor JS. 1988. Growth and maintenance respiration in leaves of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) exposed to ozone in open-top chambers in the field. *New Phytol.* 110: 319–325.
- Andersen CP. 2003. Source-sink balance and carbon allocation below ground in plants exposed to ozone. *New Phytol.* 157: 213–228.
- Ashmore MR, Dalpra C, Tickle AK. 1987. Effects of ozone and calcium nutrition on native plant species. In: Mathy, P. (ed.), *Air pollution and ecosystems*. Reidel, Dordrecht, The Netherlands. pp. 647–652.
- Ashmore MR. 2005. Assessing the future global impacts of ozone on vegetation. *Plant Cell Environ.* 28: 949–964.
- Barnes J, Bender J, Lyons T, Borland A. 1999. Natural and man-made selection for air pollution resistance. *J. Exp. Bot.* 50: 1423–1435.
- Barnes, JD, Velissariou D, Davison AW, Holevas CD. 1990. Comparative ozone sensitivity of old and modern Greek cultivars of spring wheat. *New Phytol.* 116: 707–714.
- Bassin S, Kölliker R, Creton C, Bertossa M, Widmer F, Bungener, P, Fuhrer J. 2004. Intra-specific variability of ozone sensitivity in *Centaurea jacea* L., a potential bioindicator for elevated ozone concentrations. *Environ. Pollut.* 131: 1–12.
- Bassin S, Volk M, Fuhrer J. 2007. Factors affecting the ozone sensitivity of temperate European grasslands: an overview. *Environ. Pollut.* 146: 678–691.
- Bender J, Muntifering RB, Lin JC, Weigel HJ. 2006. Growth and nutritive quality of *Poa pratensis* as influenced by ozone and competition. *Environ. Pollut.* 142: 109–115.
- Bender J, Weigel HJ, Wegner U, Jager HJ. 1994. Response of cellular antioxidants to ozone in wheat flag leaves at different stages of plant development. *Environ. Pollut.* 84:15–21.
- Bergmann E, Bender J, Weigel HJ. 1995. Growth responses and foliar sensitivities of native herbaceous species to ozone exposures. *Water Air Soil Pollut.* 85: 1437–1442.

- Bergweiler CJ, Manning WJ. 1999. Inhibition of flowering and reproductive success in spreading dogbane (*Apocynum androsaemifolium*) by exposure to ambient ozone. *Environ. Pollut.* 105: 333–339.
- Bielenberg DG, Lynch JP, Pell EJ. 2001. A decline in nitrogen availability affects plant responses to ozone. *New Phytol.* 151: 413–425.
- Bilger W, Björkman O. 1990. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbancy changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynth. Res.* 25: 173–185.
- Biswas DK, Xu H, Li YG, Liu MZ, Chen YH, Sun JZ, Jiang GM. 2008a. Assessing the genetic relatedness of higher ozone sensitivity of modern wheat to its wild and cultivated progenitors/relatives. *J. Exp. Bot.* 59: 951–963.
- Biswas DK, Xu H, Li YG, Sun JZ, Wang XZ, Han XG, Jiang GM. 2008b. Genotypic differences in leaf biochemical, physiological and growth responses to ozone in 20 winter wheat cultivars released over the past 60 years. *Global Change Biol.* 14: 46–59.
- Black VJ, Black CR, Roberts JR, Stewart CA. 2000. Impact of ozone on the reproductive development of plants. *New Phytol.* 147: 421–447.
- Booker F, Muntifering R, McGrath M, Burkey K, Decoteau D, Fiscus E, Manning W, Krupa S, Chappelka A, Grantz D. 2009. The ozone component of global Change: potential effects on agricultural and horticultural plant yield, product quality and interactions with invasive species. *J. Integr. Plant Biol.* 51: 337–351.
- Bosac C, Black VJ, Black CR, Roberts JA, Lockwood F. 1993. Impact of O₃ and SO₂ on reproductive development in oilseed rape (*Brassica napus* L.). I: Pollen germination and pollen-tube growth. *New Phytol.* 124: 439–446.
- Bungener P, Balls GR, Nussbaum S, Geissmann M, Grub A, Fuhrer J. 1999a. Leaf injury characteristics of grassland species exposed to ozone in relation to soil moisture condition and vapour pressure deficit. *New Phytol.* 142: 271–282.
- Bungener P, Nussbaum S, Grub A, Fuhrer J. 1999. Growth response of grassland species to ozone in relation to soil moisture condition and plant strategy. *New Phytol.* 142: 283–293.
- Burkey KO, Eason G, Fiscus EL. 2003. Factors that affect leaf extracellular ascorbic acid content and redox status. *Physiol. Plant.* 117: 51–57.
- Burkey KO, Wei CM, Eason G, Ghosh P, Fenner GP. 2000. Antioxidant metabolite levels in ozone-sensitive and tolerant genotypes of snap bean. *Physiol. Plant.* 110: 195–200.
- Bussotti F, Schaub M, Cozzi A, Kräuchi N, Ferretti M, Novak K, Skelly J. 2003. Assessment of ozone visible symptoms in the field: perspectives of quality control. *Environ. Pollut.* 125: 81–89.
- Calatayud A, Barreno E. 2001. Chlorophyll *a* fluorescence, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in tomato in response to ozone and benomyl. *Environ. Pollut.* 115: 283–289.
- Calatayud A, Barreno E. 2004. Response to ozone in two lettuce varieties on chlorophyll *a* fluorescence, photosynthetic pigments and lipid peroxidation. *Plant Physiol. Biochem.* 42:

- 549–555.
- Calatayud A, Deltoro VI, Abadia A, Abadia J, Barreno E. 1999. Effects of ascorbate feedings on chlorophyll fluorescence and xanthophyll cycle components in lichen *Parmelia quercina* (Wild.) Vainio exposed to atmospheric pollutants. *Physiol. Plant.* 105: 679–684.
- Calatayud A, Iglesias DJ, Talón M, Barreno E. 2006. Effects of long-term ozone exposure on citrus: Chlorophyll *a* fluorescence and gas exchange. *Photosynthetica* 44: 548–554.
- Calvo E, Martin C, Sanz M. 2007. Ozone sensitivity differences in five tomato cultivars: visible injury and effects on biomass and fruits. *Water Air Soil Pollut.* 186: 167–181.
- Cathey HM, Heggstad HE. 1982. Ozone sensitivity of woody plants: modification by ethylenediurea. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 107: 1042–1045.
- Chai XY, Li SL, Li P. 2005. Quality evaluation of *Flos Lonicerae* through a simultaneous determination of seven saponins by HPLC with ELSD. *J. Chromatogr. A* 1070: 43–48.
- Chapin FS. 1993. Functional role of growth forms in ecosystems and global process. In: Ehleringer, J R, Field C B. eds. *Scaling physiological processes*. San Diego, California, USA: Academic Press, pp. 388.
- Chappelka AH. 2002. Reproductive development of blackberry (*Rubus cuneifolius*), as influenced by ozone. *New Phytol.* 155: 249–255.
- Chen J, Li SL, Li P, Song Y, Chai XY, Ma DY. 2005. Qualitative and quantitative analysis of active flavonoids in *Flos Lonicerae* by capillary zone electrophoresis coupled with solid-phase extraction. *J. Separ. Sci.* 28: 365–372.
- Chien CT, Kuo-Huang LL, Shen YC, Zhang RC, Chen SY, Yang JC, Pharis RP. 2004. Storage behavior of *Chionanthus retusus* seed and asynchronous development of the radicle and shoot apex during germination in relation to germination inhibitors, including abscisic acid and four phenolic glucosides. *Plant Cell Environ.* 45: 1158–1167.
- Chinnusamy V, Khanna-Chopra R. 2003. Effect of heat stress on grain starch content in diploid, tetraploid and hexaploid wheat species. *J. Agron. Crop Sci.* 189: 242–249.
- Collins WJ, Derwent RG, Johnson CE, Stevenson DS. 2000a. The impact of human activities on the photochemical production and destruction of tropospheric ozone. *Q. J. R. Meteorol. Soc.* 126: 1925–1952.
- Collins WJ, Stevenson DS, Johnson CE, et al. 2000b. The European regional ozone distribution and its links with the global scale for the years 1992 and 2015. *Atmos. Environ.* 34: 255–267.
- Cooley DR, Manning WJ. 1987. The impact of ozone on assimilate partitioning in plants: a review. *Environ. Pollut.* 47: 95–113.
- Conklin P.K., Barth C. 2004. Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogens, and the onset of senescence. *Plant Cell Environ.* 27: 959–970.
- Crisosto CH, Retzlaff WA, Williams LE, De Jong TM, Zoffoli JP. 1993. Postharvest performance evaluation of plum (*Prunus salicina* L., ‘Casselman’) fruit grown under three ozone concentrations. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118: 497–502.
- Crous KY, Vandermeiren K, Ceulemans R. 2006. Physiological responses to cumulative ozone

- uptake in two white clover (*Trifolium repens* L. cv. Regal) clones with different ozone sensitivity. *Environ. Exp. Bot.* 58: 169–179.
- Danielsson H, Gelang J, Pleijel H. 1999. Ozone sensitivity, growth and flower development in *Phleum* genotypes of different geographic origin in the Nordic countries. *Environ. Exp. Bot.* 42: 41–49.
- Dann MS, Pell EJ. 1989. Decline of activity and quantity of ribulose biphosphate carboxylase oxygenase and net photosynthesis in ozone-treated potato foliage. *Plant Physiol.* 91: 427–432.
- Deltoro VI, Gimeno C, Calatayud A, Barreno E. 1999. Effects of SO₂ fumigations on photosynthetic CO₂ gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence emission and antioxidant enzymes in the lichens *Evernia prunastri* and *Ramalina farinacea*. *Physiol. Plant.* 105: 648–654.
- Dizengremel P, Le Thiec D, Bagard M, Jolivet Y. 2008. Ozone risk assessment for plants: central role of metabolism-dependent changes in reducing power. *Environ. Pollut.* 156: 11–15.
- Evans LS, Albury K, Jennings N. 1996. Relationships between anatomical characteristics and ozone sensitivity of leaves of several herbaceous dicotyledonous plant species at Great Smoky Mountains National Park. *Environ. Exp. Bot.* 36: 413–420.
- Ewert F, Porter JR. 2000. Ozone effects on wheat in relation to CO₂: modelling short-term and long-term responses of leaf photosynthesis and leaf duration. *Global Change Biol.* 6: 735–750.
- Fagnano M, Maggio A, Fumagalli I. 2009. Crops' responses to ozone in Mediterranean environments. *Environ. Pollut.* 157: 1438–1444.
- Farage, PK, Long, SP. 1995. The effects of acute ozone exposure on photosynthesis in contrasting species: An in vivo analysis. *Photosynth. Res.* 43: 11–18.
- Farage PK, Long SP. 1992. Ozone inhibition of photosynthesis—a mechanistic analysis following short-term and long-term exposure in 3 contrasting species. *Photosynth. Res.* 34: 244–254.
- Farage PK, Long SP. 1999. The effects of O₃ fumigation during leaf development on photosynthesis of wheat and pea: An in vivo analysis. *Photosynth. Res.* 59: 1–7.
- Feder WA, Shrier R. 1990. Combination of UV-B and ozone reduces pollen tube growth more than either stress alone. *Environ. Exp. Bot.* 30: 451–454.
- Feder WA, Sullivan F. 1969. Differential susceptibility of pollen grains to ozone injury. *Phytopathology* 59: 399.
- Feder WA. 1968. Reduction in tobacco pollen germination and tube elongation induced by low levels of ozone. *Science* 160: 1122.
- Feng ZW, Jin MH, Zhang FZ. 2003. Effects of ground-level ozone (O₃) pollution on the yields of rice and winter wheat in the Yangtze River Delta. *J. Environ. Sci.* 15: 360–362.
- Feng ZZ, Kobayashi K, Ainsworth EA. 2008. Impact of elevated ozone concentration on growth, physiology, and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.): a meta-analysis. *Global Change Biol.* 14: 2696–2708.
- Feng ZZ, Yao FF, Chen Z, Wang XK, Zheng QW, Feng ZW. 2007. Response of gas exchange and yield components of field-grown *Triticum aestivum* L. to elevated ozone in China. *Photosynthetica* 45: 441–446.

- Feng ZZ, Zheng HQ, Wang XK, Zheng QW, Feng ZW. 2008. Sensitivity of *Metasequoia glyptostroboides* to ozone stress. *Photosynthetica* 46: 463–465.
- Ferdinand JA, Fredericksen TS, Kouterick KB, Skelly JM. 2000. Leaf morphology and ozone sensitivity of two open pollinated genotypes of black cherry (*Prunus serotina*) seedlings. *Environ Pollut.* 108: 297–302.
- Fernandez-Bayon JM, Barnes JD, Ollerenshaw JH, Davison AW. 1993. Physiological effects of ozone on cultivars of watermelon (*Citrullus lanatus*) and muskmelon (*Cucumis melo*) widely grown in Spain. *Environ. Pollut.* 81: 199–206.
- Findley, DA, Keever, GJ, Chappelka, AH, Gilliam CH, Eakes, DJ. 1997a. Ozone sensitivity of selected southeastern landscape plants. *J. Environ. Hort.* 15: 51–55.
- Findley, DA, Keever, GJ, Chappelka, AH, Eakes, DJ, Gilliam CH. 1997b. Differential response of buddleia (*Buddleia davidii* Franch.) to ozone. *Environ. Pollut.* 98: 105–111.
- Finnan JM, Jones MB, Burke JI. 1996. A time–concentration study on the effects of ozone on spring wheat (*Triticum aestivum* L.). 1. Effects on yield. *Agri., Ecosys. Environ.* 57: 159–167.
- Fiscus EL, Booker FL, Burkey KO. 2005. Crop responses to ozone: uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning. *Plant Cell Environ.* 28: 997–1011.
- Fiscus EL, Reid CD, Miller JE, Heagle AS. 1997. Elevated CO₂ reduces O₃ flux and O₃-induced yield losses in soybeans: Possible implications for elevated CO₂ studies. *J. Exp. Bot.* 48: 307–313.
- Forster P, Ramaswamy V, Artaxo P, Bernsten T, Betts R, Fahey DW et al. 2007. Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing. In: Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M, Miller HL, eds, *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 129–234.
- Fowler D, Flechard C, Skiba U, Coyle M, Cape JN. 1998. The atmospheric budget of oxidized nitrogen and its role in ozone formation and deposition. *New Phytol.* 139: 11–23.
- Fowler D, Cape JN, Coyle M, Flechard C, Kuylensstierna J, Hicks K, Derwent D, Johnson C, Stevenson D. 1999. The global exposure of forest ecosystems to air pollutants. *Water, Air Soil Pollut.* 116: 5–32.
- Foyer CH, Lelandais M, Kunert KJ. 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiol. Plant.* 92: 696–717.
- Franzaring J, Tonneijck AEG, Kooijman AWN, Dueck TA. 2000. Growth responses to ozone in plant species from wetlands. *Environ. Exp. Bot.* 44: 39–48
- Fuhrer J, Bassin S, Volk M, Mills G, Jones MLM., Hayes F, Ashmore M. 2005. Impacts of ozone on communities of (semi-) natural vegetation. Background paper for workshop on “Critical levels of ozone: further applying and developing the flux-based concept”, 15-19 November Obergurgl, Tyrol, Austria. Keynote presentations, pp. 21–26.
- Fuhrer J, Booker FL. 2003. Ecological issues related to ozone: agricultural issues. *Environ.*

- Internat. 29: 141–154.
- Fuhrer J, Lehnher B, Moeri PB, Tschannen W, Shariat Madari H. 1990. Effects of ozone on the grain composition of spring wheat grown in open top field chambers. Environ. Pollut. 65: 181–192.
- Fuhrer J, Skärby L, Ashmore MR. 1997. Critical levels for ozone effects on vegetation in Europe. Environ. Pollut. 97: 91–106.
- Gelang J, Pleijel H, Sild E, et al. 2000. Rate and duration of grain filling in relation to flag leaf senescence and grain yield in spring wheat (*Triticum aestivum*) exposed to different concentrations of ozone. Physiol. Plant. 110:366–375.
- Genty B, Briantais JM, Baker NR. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochem. Biophys. Acta 990: 87–92.
- Ghiselli A, Nardini M, Baldi A, Scaccini C. 1998. Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. J. Agri. Food Chem. 46: 361–367.
- Gimeno BS, Bermejo V, Reinert RA, Zheng Y, Barnes JD. 1999. Adverse effects of ambient ozone on watermelon yield and physiology at a rural site in Eastern Spain. New Phytol. 144: 245–260.
- Gitelson AA, Chivkunova OB, Merzlyak MN. 2009. Nondestructive estimation of anthocyanins and chlorophylls in anthocyanic leaves. Am. J. Bot. 96: 1861–1868.
- Gitelson AA, Merzlyak MN, Chivkunova OB. 2001. Optical properties and nondestructive estimation of anthocyanin content in plant leaves. Photochem. Photobiol. 74: 38–45.
- Grandjean A, Fuhrer J. 1989. Growth and leaf senescence in spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Albis) grown at different ozone concentrations in open-top field chambers. Physiol. Plant. 77: 389–394.
- Granier C, Brasseur GP. 2003. The impact of road traffic on global tropospheric ozone. Geophys. Res. Lett. 30: 1086.
- Grantz D, Farrar J. 1999. Acute exposure to ozone inhibits rapid carbon translocation from source leaves of Pima cotton. J. Exp. Bot. 50: 1253–1262.
- Grantz DA, Gunn S, Vu HB. 2006. O₃ impacts on plant development: a meta-analysis of root/shoot allocation and growth. Plant Cell Environ. 29: 1193–1209.
- Grantz DA, Shrestha A. 2006. Tropospheric ozone and interspecific competition between yellow nutsedge and Pima cotton. Crop Sci. 46:1879–1889.
- Grantz DA, Vu H.B. 2009. O₃ sensitivity in a potential C4 bioenergy crop: Sugarcane in California. Crop Sci. 49: 643–650.
- Gravano E, Giulietti V, Desotgiu R, et al. 2003. Foliar response of an *Ailanthus altissima* clone in two sites with different levels of ozone-pollution. Environ. Pollut. 121: 137–146.
- Grime JP, Hodgson JG, Hunt R. 1996. Comparative plant ecology. A functional approach to common British species. London, UK: Chapman & Hall.
- Grime JP. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. Amer. Natur. 111: 1169–1194.

- Grunwald C, Endress AG. 1988. Oil, fatty acid and protein content of seeds harvested from soybeans exposed to O₃ and/or SO₂. *Botanical Gazette* 149: 283–288.
- Guidi L, Di Cagno R, Soldatini GF. 2000. Screening of bean cultivars for their response to ozone as evaluated by visible symptoms and leaf chlorophyll fluorescence. *Environ. Pollut.* 107: 349–355.
- Hayes F, Jones MLM, Mills G, Ashmore M. 2007. Meta-analysis of the relative sensitivity of semi-natural vegetation species to ozone. *Environ. Pollut.* 146: 754–762
- He XY, Fu SL, Chen W, Zhao TH, Xu S, Tuba Z. 2007. Changes in effects of ozone exposure on growth, photosynthesis, and respiration of *Ginkgo biloba* in Shenyang urban area. *Photosynthetica* 45: 555–561.
- Heagle AS, Miller JE, Booker FL, et al. 1999. Ozone stress, carbon dioxide enrichment, and nitrogen fertility interactions in cotton. *Crop Sci.* 39: 731–741.
- Heagle AS, Miller JE, Pursley WA. 2000. Growth and yield responses of winter wheat to mixtures of ozone and carbon dioxide. *Crop Sci.* 40:1656–1664.
- Heagle AS, Miller JE, Rawlings JO, et al. 1991. Effect of growth stage on soybean response to chronic ozone exposure. *J. Environ. Qual.* 20: 562–570.
- Heath RL. 1980. Initial events in injury to plants by air pollutants. *Annual Review Plant Physiol.* 31: 395–431.
- Heath RL. 1987. The biochemistry of ozone attack on plasma membrane of plant cells. *Recent Advance in Phytochemistry* 21: 29–54.
- Heath RL. 1994. Possible mechanisms for the inhibition of photosynthesis by ozone. *Photosynthesis Research* 39: 439–451.
- Heck WW, Cure WW, Rawlings JO. 1984. Assessing impacts of ozone on agricultural crops. *Air Pollut. Control Assessing* 34: 810.
- Heggestad HE, Anderson EL, Gish TJ, Lee EH. 1988. Effects of ozone and soil water deficit on roots and shoots of field-grown soybeans. *Environ. Pollut.* 50: 259.
- Hill AC, Littlefield N. 1969. Ozone: Effect on apparent photosynthesis, rate of transpiration and stomatal closure in plants. *Environ. Sci. Technol.* 3: 52–56.
- Hofstra G, Ali A, Wukasz T R, Fletcher R A. 1981. The rapid inhibition of root respiration after exposure of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to ozone. *Atmos. Environ.* 14: 483–487.
- Hormaza JI, Pinney K, Polito VS. 1996. Correlation in the tolerance to ozone between sporophytes and male gametophytes of several fruit and tree nut species (Rosaceae). *Sexual Plant Reproduction.* 9: 44–48.
- Houston DB, Dochinger LS. 1977. Effects of ambient air pollution on cone, seed and pollen characteristics in eastern white and red pines. *Environ. Pollut.* 12: 1–5.
- Imai K, Kobori K. 2008. Effects of the interaction between ozone and carbon dioxide on gas exchange, ascorbic acid content, and visible leaf symptoms in rice leaves. *Photosynthetica* 46: 387–394.
- IPCC. 2001. Climate change 2001: the scientific basis. In: Houghton JT, Ding Y, Griggs DJ,

- Nouger M, van der Linden PJ, Dai X, Maskell K, Johnson CA. eds, Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 881.
- IPCC. 2007. Climate change 2007: the physical science basis. In Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K.B., Tignor, M., Miller, H.L. (eds.), Contribution of Working Group I to the Fourth Annual Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp. 996.
- Jarvis, 1976. Interpretation of variations in leaf water potential and stomatal conductance found in canopies in field. Philosophical transactions of the royal society of london series B-biological sciences 273: 593–610.
- Jim CY, Chen WY. 2008. Assessing the ecosystem service of air pollutant removal by urban trees in Guangzhou (China). –J. Environ. Manage. 88: 665–676.
- Johnson CE, Stevenson DS, Collins WJ, et al. 2001. Role of climate feedback on methane and ozone studied with a coupled ocean-atmosphere-chemistry model. Geophys. Res. Lett. 28: 1723–1726.
- Kaplan GG, Dixon E, Panaccione R et al. 2009. Effect of ambient air pollution on the incidence of appendicitis. Can. Med. Assoc. J. 181: 591–597.
- Karnosky DF, Pregitzer KS, Zak DR, Kubiske ME, Hendrey GR, Weinstein D, Nosal M, Percy KE. 2005. Scaling ozone responses of forest trees to the ecosystem level in a changing climate. Plant Cell Environ. 28: 965–981.
- Karnosky DF, Skelly JM, Percy KE, Chappelka AH. 2006. Perspectives regarding 50 years of research on effects of tropospheric ozone air pollution on US forests. Environ. Pollut. 147: 489–501.
- Kellomaki S, Wang YK. 1998. Growth, respiration and nitrogen content in needles of Scots pine exposed to elevated ozone and carbon dioxide in the field. Environ. Pollut. 101: 263–274.
- Kent OB, Joseph EM, Edwin LF. 2005. Assessment of ambient Ozone effects on vegetation using snap bean as a bio-indicator species. J. Environ. Qual. 34: 1081–1086.
- Kerry NL, Abbey M. 1997. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation in vitro. Atherosclerosis 135: 93–102.
- Khan S, Soja G. 2003. Yield responses of wheat to ozone exposure as modified by drought-induced differences in ozone uptake. Water Air Soil Pollut. 147: 299–315.
- Kim KJ, Kim YJ, Ma YI, Kim JC, Sunwoo Y. 2008. A modeling study of the impact of natural and urban forest on ambient ozone. Korean J. Chem. Eng. 25: 483–492.
- King DA. 1988. Modeling the impact of ozone × drought interactions on regional crop yields. Environ. Pollut. 53: 351–364.
- Kivimaenpaa M, Sellden G, Sutinen S. 2005. Ozone-induced changes in the chloroplast structure of conifer needles, and their use in ozone diagnostics. Environ. Pollut. 137: 466–475.
- Kobayashi K, Okada M, Nouchi I. 1995. Effects of ozone on dry matter partitioning and yield of Japanese cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). Agri. Ecosys. Environ. 53: 109–122.

- Kollist, H., H. Moldau, L. Mortensen, S. Rasmussen, and J. LB. 2000. Ozone flux to plasmalemma in barley and wheat is controlled by stomata rather than by direct reaction of ozone with cell wall ascorbate. *J. Plant Physiol.* 56: 645–651.
- Kress LW, Miller JE. 1983. Impact of ozone on soybean yield. *J. Environ. Quali.* 12: 276–281.
- Krupa S, McGrath MT, Andersen C, Booker FL, Burkey K, Chappelka A, et al. 2001. Ambient ozone and plant health. *Plant Dis.* 85: 4–17.
- Leatherman AD. 1955. Ecological life-history of *Lonicera japonica* Thunb. Ph.D. Dissertation, Univ. Tennessee, Knoxville.
- Lee DW, Collins TM. 2001. Phylogenetic and ontogenetic influences on the distribution of anthocyanins and betacyanins in leaves of tropical plants. *Inter. J. Plant Sci.* 162: 1141–1153.
- Li HJ, Li P, Ye WC. 2003. Determination of five major iridoid glucosides in *Flos Lonicerae* by high-performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detection. *J. Chromatogr. A* 1008: 167–172.
- Li WD, Biswas DK, Xu H, Xu CQ, Wang XZ, Liu JK, Jiang GM. 2009. Photosynthetic responses to chromosome doubling in relation to leaf anatomy in *Lonicera japonica* subjected to water stress. *Funct. Plant Biol.* 36: 783–792.
- Lippmann M. 1989. Health effects of ozone: A critical review. *J. Air Pollut. Contr. Assoc.* 39: 672–695.
- Long SP, Naidu SL. 2002. Effects of oxidants at the biochemical, cell and physiological levels, with particular reference to ozone. In: Bell JNB, Treshow M, eds. *Air Pollution and Plant Life*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester. pp. 69–88.
- Lumis GP, Ormrod DP. 1978. Effects of ozone on growth of four woody ornamental plants. *Can. J. Plant Sci.* 58: 769–773.
- Ma YL, Zhang YH. 2000. The study on pollution of atmospheric photochemical oxidants in Beijing. *Res. Environ. Sci.* 13: 14–17.
- Manning WJ, Flagler RB, Frenkel MA. 2006. Assessing plant response to ambient ozone: growth of ozone-sensitive loblolly pine seedlings treated with ethylenediurea or sodium erythorbate. *Environ. Pollut.* 126: 73–81.
- Marrs KA, Alfenito RR, Lloyd AM, Walbot V. 1995. A glutathione S-transferase involved in vacuolar transfer encoded by the maize gene *Bronze-2*. *Nature* 375: 397–400.
- Masaru N, Syozo F, Saburo K. 1976. Effects of exposure to various injurious gases on germination of lily pollen. *Environ. Pollut.* 11: 181–187.
- Maurer S, Matyssek R, Günthardt-Goerg M, Landolt W, Einig W. 1997. Nutrition and the ozone sensitivity of birch (*Betula pendula*). I. Responses at the leaf level. *Trees Structure and Function*, 12: 1–10.
- McCrary JK, Andersen CP. 2000. The effect of ozone on below-ground carbon allocation in wheat. *Environ. Pollut.* 107: 465–472.
- McKee IF, Farage PK, Long SP. 1995. The interactive effects of elevated CO₂ and O₃ concentration on photosynthesis in spring wheat. *Photosynth. Res.* 45: 111–119.

- Merzlyak MN, Chivkunova OB, Solovchenko AE, Razi Naqvi K. 2008. Light absorption by anthocyanins in juvenile, stressed, and senescing leaves. *J. Exp. Bot.* 59: 3903–3911.
- Meyer U, Kollner B, Willenbrink J, and Krause GHM. 2000. Effects of different ozone exposure regimes on photosynthesis, assimilates and thousand grain weight in spring wheat. *Agri. Ecosys. Environ.* 78: 49–55.
- Morgan PB, Ainsworth EA, Long SP. 2003. How does elevated ozone impact soybean? A meta-analysis of photosynthesis, growth and yield. *Plant Cell Environ.* 26: 1317–1328.
- Mulchi CL, Lee E, Tuthill K, Olinick EV. 1988. Influence of ozone stress on growth processes, yields and grain quality characteristics among soybean cultivars. *Environ. Pollut.* 53: 151–169.
- Mulchi CL, Sammons DJ, Baenziger PS. 1986. Yield and grain quality responses of soft red winter wheat exposed to ozone during anthesis. *Agron. J.* 78: 593–600.
- Mulholland BJ, Craigan J, Black CR, Colls JJ, Atherton J, Landon G. 1998. Growth, light interception and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to elevated CO₂ and O₃ in open-top chambers. *Global Change Biol.* 4:121–130.
- Mulholland BJ, Craigan J, Black CR, Colls JJ, Atherton J, Landon G. 1997. Impact of elevated atmospheric CO₂ and O₃ on gas exchange and chlorophyll content in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Exp. Bot.* 48: 1853–1863.
- Nameless. 2002. Smog crop damage costs billions. *New Scientist*, June 2.
- Nayyar H. 2003. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. *Environ. Exp. Bot.* 50: 253–264.
- Nebel B, Fuhrer J. 1994. Inter- and intraspecific differences in ozone sensitivity in semi-natural plant communities. *Angewandte Botanik* 68: 116–121.
- Nie GY, Tomasevic M, Baker NR. 1993. Effects of ozone on the photosynthetic apparatus and leaf proteins during leaf development in wheat. *Plant Cell Environ.* 16: 643–651.
- Noble IR, Gitay H. 1996. A functional classification for predicting the dynamics of landscapes. *J. of Veget. Sci.* 7: 329–336.
- Noormets A, Sober A, Pell EJ, et al. 2001. Stomatal and non-stomatal limitation to photosynthesis in two trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) clones exposed to elevated CO₂ and/or O₃. *Plant Cell Environ.* 24: 327–336.
- Nowak DJ, Civerolo JC, Rao ST, Sistla G, Luley CJ, Crane DE. 2000. A modeling study of the impact of urban trees on ozone. *Atmos. Environ.* 34: 1601–1613.
- Okano K, Ito O, Takeba G, Shimizu A, Totsuka T. 1984. Alterations of ¹³C-assimilate partitioning in plants of *Phaseolus vulgaris* exposed to ozone. *New Phytol.* 97: 155–163.
- Oksanen E, Haikio E, Sober J, Karnosky D.F. 2004. Ozone-induced H₂O₂ accumulation in field-grown aspen and birch is linked to foliar ultrastructure and peroxisomal activity. *New Phytol.* 161: 791–799.
- Oksanen E, Riikonen J, Kaakinen S, Holopainen T, Vapaavuori E. 2005. Structural characteristics and chemical composition of birch (*Betula pendula*) leaves are modified by increasing CO₂ and

- ozone. *Global Change Biol.* 11: 732–748.
- Ollerenshaw JH, Lyons T. 1999. Impacts of ozone on the growth and yield of field-grown winter wheat. *Environ. Pollut.* 106: 67–72.
- Ollerenshaw JH, Lyons T, Barnes JD. 1999. Impacts of ozone on the growth and yield of field-grown winter oilseed rape. *Environ. Pollut.* 104: 53–59.
- Olszyk DM, Tingey DT, Watrud L, et al. 2000. Interactive effects of O₃ and CO₂: Implications for terrestrial ecosystems. *Trace gas emissions and plants* pp: 97–136.
- Osmond CB. 1994. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: Baker, N.R., Bowyer, J.R. (ed.): *Photoinhibition of Photosynthesis: from Molecular Mechanisms to the Field*. BIOS Scientific Publ., Oxford. Pp. 1–24.
- Overmyer K, Broshe M, Kangasjärvi J. 2003. Reactive oxygen species and hormonal control of cell death. *Trends Plant Sci.* 8: 335–342.
- Owens TG. 1994. In vivo chlorophyll fluorescence as a probe of photosynthetic physiology. In: Alscher, R.G., Wellburn, A.R. (eds.), *Plant Responses to the Gaseous Environment*. Chapman and Hall, London. pp. 195–217.
- Paoletti E, Ferrara AM, Calatayud V, Cervero J, Giannetti F, Sanz MJ, Manning WJ. 2009. Deciduous shrubs for ozone bioindication: *Hibiscus syriacus* as an example. *Environ. Pollut.* 157: 865–870.
- Pearson S, Davison AW, Reiling K, Ashenden T, Ollerenshaw JH. 1996. The effects of different ozone exposures on three contrasting populations of *Plantago major*. *New Phytol.* 132: 493–502.
- Pell E, Schlagnhauser CD, Arteca RN. 1997. Ozone-induced oxidative stress: mechanisms of action and reaction. *Physiol. Plant.* 100: 264–273.
- Pell EJ, Temple PJ, Friend AL, Mooney HA, Winner WE. 1994. Compensation as a plant response to ozone and associated stresses: an analysis of ROPIS experiments. *J. Environ. Qual.* 23: 429–436.
- Peltonen PA, Vapaavuori E, Julkunen-tiitto R. 2005. Accumulation of phenolic compounds in birch leaves is changed by elevated carbon dioxide and ozone. *Global Change Biol.* 11: 1305–1324.
- Placet M, Mann CO, Gilbert RO, Niefer MJ. 2000. Emissions of ozone precursors from stationary sources: a critical review. *Atmos. Environ.* 34: 2183–2204.
- Pleijel H, Danielsson H, Karlsson GP, Gelang J, Karlsson PE, Selldén G. 2000. An ozone flux-relationship for wheat. *Environ. Pollut.* 109: 453–462.
- Pleijel H, Danielsson H. 1997. Growth of 27 herbs and grasses in relation to ozone exposure and plant strategy. *New Phytol.* 135: 361–367.
- Pleijel H, Eriksen AB, Danielsson H, et al. 2006. Differential ozone sensitivity in an old and a modern Swedish wheat cultivar - grain yield and quality, leaf chlorophyll and stomatal conductance. *Environ. Exp. Bot.* 56: 63–71.
- Pleijel H, Ojanperä K, Mortensen L. 1997. Effects of tropospheric ozone on the yield and grain

- protein content of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) in the Nordic countries. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B, Soil and Plant Science* 47: 20–25.
- Pleijel H, Skärby L, Wallin G, Sellden G. 1989. Yield and grain quality of spring wheat exposed to ozone in open-top chambers. In: Bonte J, Mathy P, eds. The European Community research project on open-top chambers –results on agricultural crops 1987–1988. CEC Air Pollution Research Report 19. Brussels, Belgium: CEC, 138–146.
- Pustovoitova TN, Eremin GV, Rassvetaeva EG, Zhdanova NE, Zholkevich VN. 1996. Drought resistance, recovery capacity, and phytohormone content in polyploid plum leaves. *Russ. J. Plant Physiol.* 43: 232–235.
- Rämö K, Slotte H, Kanerva T, Ojanperä K, Manninen S. 2006. Growth and visible injuries of four *Centaurea jacea* L. ecotypes exposed to elevated ozone and carbon dioxide. *Environ. Exp. Bot.* 58: 287–298.
- Reich PB, Amundson RC. 1985. Ambient levels of ozone reduce net photosynthesis in tree and crop species. *Science* 230: 566–570.
- Reich PB, Lassoie JP. 1984. Effects of low level O₃ exposure on leaf diffusive conductance and water-use efficiency in hybrid poplar. *Plant Cell Environ.* 7: 661–668.
- Reich PB. 1987. Quantifying plant response to ozone: a unifying theory. *Tree Physiol.* 3: 63–91.
- Reichenauer T, Goodman L. 2001. Stable free radicals in ozone damaged wheat leaves. *Free Radical Res.* 35: 93–101.
- Reid CD, Fiscus EL, Burkey KO. 1999. Effects of chronic ozone and elevated atmospheric CO₂ concentrations on ribulose-1,5-bisphosphate in soybean (*Glycine max*). *Physi. Plant.* 106: 378–385.
- Reid CD, Fiscus EL, Burkey KO. 1998. Combined effects of chronic ozone and elevated CO₂ on Rubisco activity and leaf components in soybean (*Glycine max*). *J. Exp. Bot.* 49: 1999–2011.
- Reid CD, Fiscus EL. 1998. Effects of elevated [CO₂] and/or ozone on limitations to CO₂ assimilation in soybean (*Glycine max*). *J. Exp. Bot.* 49: 885–895.
- Reiling K, Davison AW. 1992a. The response of native, herbaceous species to ozone: growth and fluorescence screening. *New Phytol.* 120: 29–37.
- Reiling K, Davison AW. 1992b. Effects of a short ozone exposure given at different stages in the development of *Plantago major* L. *New Phytol.* 121: 643–647.
- Reiling K, Davison AW. 1995. Effects of ozone on stomatal conductance and photosynthesis in populations of *Plantago major* L. *New Phytol.* 129: 587–594.
- Romero-Aranda R, Bondada BR, Syvertsen JP, Grosser JW. 1997. Leaf characteristics and net gas exchange of diploid and autotetraploid citrus. *Ann. Bot.* 79: 153–160.
- Rudorff BFT, Mulchi CL, Fenny P, Lee EH, Rowland R. 1996a. Wheat-grain quality under enhanced tropospheric CO₂ and O₃ concentrations. *J. Environ. Quali.* 25: 1384–1388.
- Rudorff BFT, Mulchi CL, Lee EH, Rowland R, Pausch R. 1996b. Effects of enhanced O₃ and CO₂ enrichment on plant characteristics in wheat and corn. *Environ. Pollut.* 94: 53–60.
- Runeckles VC. 1992. Uptake of ozone by vegetation. – In: Lefohn, A.S. (ed.): *Surface Level*

- Ozone Exposures and Their Effects on Vegetation. Lewis, Chelsea. pp. 157–188.
- Ryerson TB, Trainer M, Holloway JS, Parrish DD, Huey L et al. 2001. Observations of ozone formation in power plant plumes and implications for ozone control strategies. *Science* 292: 719–723.
- Sallas L, Kainulainen P, Utriainen J, Holopainen T, Holopainen JK. 2001. The influence of elevated O₃ and CO₂ concentrations on secondary metabolites of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings. *Global Change Biol.* 7: 303–311.
- Samuelson L, Kelly JM. 2001. Scaling ozone effects from seedlings to forest trees. *New Phytol.* 149: 21–41.
- Schreiber U. 2004. Pulse-amplitude-modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: an overview. – In: Papageorgiu GC, Govindjee, eds. *Chlorophyll a Fluorescence. A Signature of Photosynthesis*. Springer, Dordrecht. pp. 279–319.
- Scotti IA, Silva S, Botteschi G. 1994. Effects of ozone on grain quality of wheat grown in open-top chambers: three years of experimentation. *Environ. Pollut.* 86: 31–35.
- Seinfeld JH. 1989. Urban air pollution: State of the science. *Science*. 243: 745–752.
- Sellde'n G, Pleijel H. 1995. Photochemical oxidant effect on vegetation-response in relation to plant strategy. *Water Air Soil Pollut.* 85: 111–122.
- Seppo K, Wang KY. 1997. Effects of elevated O₃ and CO₂ on chlorophyll fluorescence and gas exchange in Scots pine during the third growing season. *Environ. Pollut.* 97: 17–27.
- Shannon JG, Mulchi CL. 1974. Ozone damage to wheat varieties at anthesis. *Crop Sci.* 14: 335–337.
- Shrestha A, Grantz DA. 2005. Ozone impacts on com-petition between tomato and yellow nutsedge: Above- and below-ground. *Crop Sci.* 45:1587–1595.
- Simpson D. 1995. Biogenic emissions in Europe 2: Implications for ozone control strategies. *J. Geophys. Res.* 100: 22891–22906.
- Sinn JP, Schlagnhauer CD, Artega RN, Pell EJ. 2004. Ozone-induced ethylene and foliar injury responses are altered in 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase antisense potato plants. *New Phytol.* 164: 267–277.
- Skärby L, Ro-Poulsen H, Wellburn FAM, Sheppard LJ. 1998. Impacts of ozone on forests: a European perspective. *New Phytol.* 139: 109–122.
- Smith G C, Brennan E. 1990. The relationship between foliar injury nitrogen metabolism and growth parameters in ozonated soybeans. *Environ.Pollut.* 63: 79–93.
- Soejima A, Maki M, Ueda K. 1998. Genetic variation in relic and isolated populations of *Chionanthus retusus* (Oleaceae) of Tsushima Island and the Tono region, Japan. *Genes Genet. Syst.* 73: 29–37.
- Spivey AC, Weston M, Woodhead S. 2002. Celastraceae sesquiterpenoids: biological activity and synthesis. *Chem. Soc. Rev.* 31: 43–59.
- Stevenson DS, Johnson CE, Collins WJ, Derwent RG, Edwards JM. 2000. Future estimates of tropospheric ozone radiative forcing and methane turnover – the impact of climate change.

- Geophys. Res. Lett. 27: 2073–2076.
- Stewart CA. 1998. Impact of ozone on the reproductive biology of *Brassica campestris* L. and *Plantago major* L. PhD thesis, University of Loughborough, UK.
- Stewart CA, Black VJ, Black CR, Roberts JA. 1996. Direct effects of ozone on the reproductive development of Brassica species. J. Plant Physiol. 148: 172–178.
- Streets DG, Waldhoff S. 2000. Present and future emission of air pollutants in China: SO₂, NO_x, and CO₂. Atmos. Environ. 34: 363–374.
- Szantoi Z, Chappelka AH, Muntifer RB, Somers GL. 2009. Cutleaf coneflower (*Rudbeckia laciniata* L.) response to ozone and ethylenediurea (EDU). Environ. Pollut. 157: 840–846.
- Takemoto BK, Bytnerowicz A, Olszyk DM. 1988. Depression of photosynthesis, growth and yield in field-grown green pepper (*Capsicum annuum* L.) exposed to acidic fog and ambient ozone. Plant Physiol. 88: 477–482.
- Tan Z, Shen H, Xu CQ, Liu JK. 2005. Cultivation techniques for growing a high-yielding tetraploid variety of honeysuckle, Jiufengyihao. J. Anhui Agr. Sci. 33: 441.
- Temple PJ, Riechers GH. 1995. Nitrogen allocation in ponderosa pine seedlings exposed to interacting ozone and drought stresses. New Phytol. 130: 97–104.
- Tingey DT, Hogsett WE. 1985. Water-stress reduces ozone injury via a stomatal mechanism. Plant Physiol. 77: 944–947.
- Tu YG, Wu DG, Zhou J, Chen YZ. 1992. Sesquiterpenoids from two species of celastraceae. Phytochemistry 31: 1281–1283.
- Tsuda T, Ohshima K, Kawakishi S, Osawa T. 1996. Oxidation products of cyanidin 3-O-β-glucoside with a free radical initiator. Lipids 31: 1259–1263.
- Tsuda T, Shiga K, Ohshima K, Kawakishi K, Osawa T. 1996. Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. Biochemical Pharmacology 52: 1033–1039.
- U.S.EPA (U.S.Environmental Protection Agency): Air quality criteria for ozone and other photochemical oxidants, Vol. III. Report no. EPA/600/P-93/004bF 1996.
- Vandermeiren K, De Temmerman L, Hookham N. 1995. Ozone sensitivity of *Phaseolus vulgaris* in cultivar differences, growth stage and growing conditions. Water Air Soil Pollut. 85: 1455–1460.
- Vanhovel WA, Bossen ME. 1994. Physiological effects of five months exposure to low concentrations of O₃ and NH₃ on Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*). Physiol. Plant. 92: 140–148.
- Volin JC, Reich PB, Givnish TJ. 1998. Elevated carbon dioxide ameliorates the effects of ozone on photosynthesis and growth: species respond similarly regardless of photosynthetic pathway or plant functional group. New Phytol. 138: 315–325.
- von Caemmerer S, Farquhar G. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. Planta 153: 376–387.
- Vozzo SF, Miller JE, Pursley WA, et al. 1995. Atmospheric pollutants and trace gases effects of

- ozone and water deficit on field grown soybean l leaf gas exchange. J. Environ. Qual. 24: 663-670.
- Wahid A, Maggs R, Shamsi SRA, Bell JNB, Ashmore MR. 1995. Air pollution and its impacts on wheat yields in the Pakistan Punjab. Environ. Pollut. 88: 147-154.
- Walker B. 1992. Biodiversity and ecological redundancy. Conserv. Biol. 6: 18-23.
- Wang H, Cao G, Prior RL. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. J. Agr. Food Chem. 45: 304-309.
- Wang HX, Kianga CS, Tang XY, Zhou XJ, Chameides WL. 2005. Surface ozone: A likely threat to crops in Yangtze delta of China. Atmos. Environ. 39: 3843-3850.
- Ward JK, Tissue DT, Thomas RB, Strain BR. 1999. Comparative responses of model C₃ and C₄ plants to drought in low and elevated CO₂. Global Change Biol. 5: 857-867.
- Warner DA, Ku MSB, Edwards GE. 1987. Photosynthesis, leaf anatomy, and cellular-constituents in the polyploid C₄ grass *Panicum virgatum*. Plant Physiol. 84: 461-466.
- Weber JA, Clark CS, Hogsett WE. 1993. Analysis of the relationships among O₃ uptake, conductance, and photosynthesis in needles of *Pinus ponderosa*. Tree Physiol. 13: 157-172.
- Welter, W. 1982. Assessment of crop loss ozone. J. Air Pollut. Control Associ. 32: 353-361.
- Weschler, CJ. 2006. Ozone's impact on public health: Contributions from indoor exposures to ozone and products of ozone-initiated chemistry. Environmental health Perspectives 114: 1489-1496.
- Whitfield CP, Davison AW, Ashenden TW. 1997. Artificial selection and heritability of ozone resistance in two populations of *Plantago major* L. New Phytol. 137: 645-655.
- Winner WE, Coleman JS, Gillespie C, Mooney HA, Pell EJ. 1989. Consequences of evolving resistance to air pollutants.. In G.E. Taylor, Jr., L.F. Pitelka, and M.T. Clegg (ed.) Ecological genetics and air pollution. Springer Verlag, New York. pp. 177-202.
- Wohlgemuth H, Mittelstrass K, Kschieschan S, et al. 2002. Activation of an oxidative burst is a general feature of sensitive plants exposed to the air pollutant ozone. Plant Cell Environ. 25: 717-726.
- Xiong YC, Li FM, Zhang T. 2006. Performance of wheat crops with different chromosome ploidy: root-sourced signals, drought tolerance, and yield performance. Planta 224: 710-718.
- Yamaji K, Julkunen-Tiitto R, Rousi M, Freiwald V, and Oksanen E. 2003. Ozone exposure over two growing seasons alters root-to-shoot ratio and chemical composition of birch (*Betula pendula* Roth). Global Change Biol. 9: 1363-1377.
- Yamasaki H, Uefuji H, Sakihama Y. 1996. Bleaching of the red anthocyanin induced by superoxide radical. Archives Biochemistry Biophysics 332: 183-186.
- Yang, YS, Skelly JM, Chevone BI. 1982. Clonal responses of eastern white pine to low dose of ozone, sulphur dioxide and nitrogen dioxide, singly and in combination. Can. J. For. Res. 12: 803-806.
- Zheng QW, Wang XK, Xie JQ, et al. 2006. Effects of exogenous ascorbate acid on membrane protective system of in situ rice leaves under O₃ stress. Acta Ecol. Sin. 26: 1131-1137.

- 白月明, 郭建平, 刘玲, 等. 2001. 臭氧对水稻叶片伤害、光合作用及产量的影响. 气象 27: 17-22.
- 白月明, 郭建平, 王春乙, 等. 2002. 水稻与冬小麦对臭氧的反应及其敏感性试验研究. 中国农业生态学报 10: 13-16.
- 白月明, 霍治国, 王春乙, 等. 2001. 臭氧浓度增加对冬小麦叶片影响的试验研究. 中国农业气象 22: 22-27.
- 白月明, 王春乙, 温民, 等. 2004. 臭氧浓度和熏蒸时间对菠菜生长和产量的影响. 中国农业科学 37: 1971-1975.
- 白月明, 王春乙, 刘玲, 等. 2003. O_3 对“五月蔓”白菜生长和产量的影响. 园艺学报 30: 167-170.
- 曹晶, 姜卫兵, 翁忙玲, 等. 2007. 夏秋季旱涝胁迫对红叶石楠光合特性的影响. 园艺学报 34: 163-172.
- 高聚林, 赵涛, 王志刚, 等. 2007. 高丹草水分利用效率与叶片生理特性的关系. 作物学报 33: 455-460.
- 黄玉源, 黄益宗, 李秋霞, 等. 2006. 臭氧对南方3种木本植物的急性伤害症状及其生理指标变化. 生态环境 15: 674-681.
- 黄韵珠, 王勋陵. 1991. O_3 对辣椒不同发育时期光合作用的影响. 农业环境保护 10: 60-63.
- 李卫东. 2007. 染色体加倍对忍冬生物学性状及其生态适应性的影响: [博士后出站报告]. 北京: 中国科学院植物研究所.
- 刘建栋, 周秀骥, 于强. 2003. 近地层大气臭氧对水稻光合作用影响的数值模拟. 环境科学学报 23: 289-294.
- 马一琳, 张远航. 2000. 北京市大气光化学氧化剂污染研究. 环境科学研究 13: 14-17.
- 彭长连, 林植芳, 林桂珠, 等. 2006. 富含花色素苷的紫色稻叶片的抗光氧化作用. 中国科学. 36: 209-216.
- 王春乙, 关福来. 1995. O_3 浓度变化对我国主要作物产量的可能影响, 应用气象学报 6: 69-74.
- 王勋陵, 郭清霞. 1990. 臭氧对倒挂金钟和蚕豆呼吸作用的影响. 环境科学 11: 31-33.
- 许宏. 2008. 冬小麦对二氧化碳、臭氧和温度的生理生态响应. [博士学位论文]. 北京: 中国科学院植物研究所.
- 许宏, 杨景成, 陈圣宾, 等. 2007. 植物的臭氧污染胁迫效应研究进展. 植物生态学报 31: 1205-121.
- 张惠君. 2001. 大豆的大气污染逆境生理研究进展. 杂粮作物 21: 37-39.

致 谢

本文是在导师蒋高明研究员和李永庚副研究员的悉心指导下完成的。两位导师渊博的学识、高瞻远瞩的学术思想、严谨求实的治学理念、踏实积极的工作态度、高度的社会责任感都是我今后学习和工作的榜样。感谢两位恩师对我学术上的谆谆教诲和生活上的悉心关怀。

感谢生态中心老师韩兴国研究员、李凌浩研究员、白永飞研究员、万师强研究员、张文浩研究员、黄建辉研究员等在论文开题、中期考核中提出的宝贵意见。

感谢张秀杰老师在生活上的关心、照顾以及实验上的帮助；感谢于顺利老师、刘美珍老师对实验研究以及论文写作方面上的指导和关心；感谢在实验中给予建议和帮助的师姐许宏，师兄陈圣宾、李卫东、郑延海、王晶苑、张传领、蓝振江，同学苏华，师弟苏本营、李霄、韦继光、李勇，师妹刘慧、王冰雪、李静、李彩虹、乌云塔娜；感谢王雷、乔建江、徐柱文、李衍素、吕晓涛、孔德良、汲玉河、陈彬、金冬梅、陈亮、张潮、姜丽丽、付旭东等诸多同窗以及舍友阳伏林对我的关心和帮助。

感谢我的硕士导师郝日明教授和王广东副教授一直以来对我的关心。感谢在北京工作的好友刘永光、汪海水、程振家对我的关心和帮助。

感谢研究生处张文娟、吴海燕、赵剑峰等老师在学习工作上给予的热情帮助。

感谢我的父亲、母亲一直以来对我的关心、支持和鼓励！

张璐

2010年5月

个人简历和论文发表情况

个人简历

1982年6月 出生于山东省泰安市 民族：汉 政治面貌：中共党员

2006年-至今 在读博士 中国科学院植物研究所生态学专业 攻读博士学位

(2007年12月-2008年12月 公派赴加拿大农业部温室与加工作物研究中心进行合作研究)

2003-2006年 南京农业大学园艺学院园林植物与观赏园艺专业 获硕士学位

1999-2003年 山东农业大学园艺学院园艺专业 获学士学位

攻读博士期间论文发表情况

1. **Lu Zhang**, Hong Xu, Jingcheng Yang, Weidong Li, Yonggeng Li, Gaoming Jiang. Photosynthetic characteristics of diploid honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) and its autotetraploid cultivar subjected to elevated ozone exposure. **Photosynthetica** 48: 87-95, 2010.
2. H.XU, D.K.BISWAS, W.D.LI, S.B.CHEN, **L.ZHANG**, G.M. JIANG, and Y.G. LI. Photosynthesis and yield responses of ozone-polluted winter wheat to drought. **Photosynthetica** 45: 582-588, 2007.
3. Xiuming Hao, **Lu Zhang**, Md. Saidul Borhan, Shalin Khosla. Effect of temperature integration with low pre-morning temperature on microclimate, fruit yield and energy use efficiency in greenhouse tomato production. **Acta Horticulturae** (Accepted).
4. **Lu Zhang**, Benying Su, Jingcheng Yang, Hong Xu, Shengbin Chen, Yonggeng Li. Effects of elevated O₃ on gas exchange of two *Malus* cultivars with different leaf colors. *Photosynthetica* (in review)
5. **Lu Zhang**, Xiuming Hao, Jingming Zheng, Yonggeng Li, Gaoming Jiang. Response of greenhouse tomatoes to temperature integration with low pre-night temperature. *Hortscience* (in review).
6. **Lu Zhang**, Benying Su, Jingcheng Yang, Hong Xu, Shengbin Chen, Yonggeng Li. Responses of four landscape shrubs to elevated ozone fumigation. *Tree Physiology* (in preparing)
7. 乌云塔娜, 李玉灵, 蒋高明, 李彩虹, 李勇, 吴光磊, **张璐**. “禽粮互作”有机农业与“粮粮轮作”现代农业生产力之比较: 以弘毅生态农场为例. 河北农业大学学报 (接受)