

不同浓度臭氧处理对‘赤霞珠’葡萄叶片光系统II功能的影响

孙永江, 王金欢, 耿庆伟, 邢浩, 翟衡, 杜远鹏*

山东农业大学园艺科学与工程学院/作物生物学国家重点实验室, 山东泰安271018

摘要: 探讨O₃处理对‘赤霞珠’葡萄叶片光系统II (PSII)的伤害机制及O₃胁迫发生阈值。以一年生‘赤霞珠’为试材, 设置不同O₃浓度(25、40、55、80和105 nL·L⁻¹), 测定叶片叶绿素含量、气体交换和叶绿素荧光参数, 分析不同O₃浓度处理对葡萄叶片PSII活性的影响。结果表明, 随着O₃浓度升高, 叶片净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、PSII的实际光化学效率(Φ_{PSII})、光下最大光化学效率(F_v'/F_m')、捕获光能用于Q_A以后的电子传递的概率(Ψ_{Eo})、单位面积有活性反应中心的数量(RC/CS_m)均呈下降趋势; PSII激发压($1-qP$)、K点的相对可变荧光(W_k)、慢相荧光淬灭(qI)呈现上升趋势; 在低O₃浓度条件下(25~55 nL·L⁻¹), P_n 的下降主要是由于气孔限制引起的, O₃浓度达到并超过80 nL·L⁻¹时, 叶绿素含量显著降低, 非气孔限制占主导因素, PSII功能开始受到抑制; 浓度达到105 nL·L⁻¹时叶片出现较明显的表现伤害症状, 电子供体侧伤害程度大于受体侧。实验结果说明, 葡萄叶片可以在短时间内(8 h)忍受一定浓度(不超过55 nL·L⁻¹)的O₃胁迫, O₃浓度达到或超过80 nL·L⁻¹时, PSII功能受到较严重的抑制。

关键词: 葡萄; O₃; 气体交换和叶绿素荧光参数; 光系统II

Effects of Different Concentrations of Ozone Stress on Photosynthetic System II in *Vitis vinifera* cv. ‘Cabernet Sauvignon’

SUN Yong-Jiang, WANG Jin-Huan, GENG Qing-Wei, XING Hao, ZHAI Heng, DU Yuan-Peng*

College of Horticultural Science and Engineering, Shandong Agricultural University/State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an, Shandong 271018, China

Abstract: The effects of O₃ treatments on the operation of photosynthetic apparatus were investigated to reveal the mechanism of inhibition of photosynthetic system II (PSII). One-year-old ‘Cabernet Sauvignon’ grapevines were treated with different O₃ concentrations (25, 40, 55, 80 and 105 nL·L⁻¹). Chlorophyll concentration, gas exchange and chlorophyll a fluorescence parameters were simultaneously analyzed to investigate the effects of different O₃ concentrations on the PSII function. The results showed net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), actual PSII efficiency (Φ_{PSII}), electron transport rate (ETR), density of RCs (RC/CS_m) and the probability that a trapped exciton moves an electron into the electron transport chain beyond Q_A (Ψ_{Eo}) continually decreased with the increase of PSII excitation pressure ($1-qP$), slowly-relaxing quenching (qI) and relative variable fluorescence intensity at K-step (W_k). Under the low O₃ concentrations (25–55 nL·L⁻¹), the decrease of P_n was due mainly to stomatal limitation. When the O₃ concentration reached 80 nL·L⁻¹, chlorophyll concentration decreased significantly, the non-stomatal limitation played dominant role in decline of photosynthesis and PSII function began being inhibited, the treated leaves even showed obvious injury symptoms and the damage degree of the donor side was more severe than that of the acceptor side under treatment of 105 nL·L⁻¹. The experiments showed that grape leaves could cope with certain O₃ concentration (less than 55 nL·L⁻¹) within 8 h, however, over the concentration of 80 nL·L⁻¹ resulted in serious photoinhibition of PSII.

Key words: *Vitis vinifera*; O₃; gas exchange and chlorophyll a fluorescence parameters; PSII

臭氧(O₃)是构成地球大气圈的一种微量气体。平流层的O₃具有吸收紫外线的作用, 而对流层的O₃是对生物有极大伤害的污染物。近几十年来O₃污染已经超过PM2.5, 成为首要污染物, 是湛蓝天空下看不见的杀手, 全球近1/4的国家地区面临O₃浓度60 nL·L⁻¹以上的威胁(冯兆忠等2008)。而

且, 对流层O₃浓度每年大约以0.5%~2%的速率继

收稿 2015-07-21 修定 2015-10-03

资助 国家葡萄产业技术体系(CARS-30)、国家自然科学基金(31572084)和长江学者和创新团队发展计划项目(IRT1155)。

* 通讯作者(E-mail: duyuanpeng001@163.com; Tel: 0538-8241335)。

续增长(Fowler等1999), 预计2100年将在现在浓度的基础上再增加1倍(Ashmore 2005)。长江三角洲地区O₃浓度日平均值已达60 nL·L⁻¹, 极值可达160 nL·L⁻¹ (刘建栋等2003), 太原5~6月O₃超标天数达42 d, 已经成为我国环保局重点监测指标。

O₃具有强氧化性, 对植物造成极大的伤害(Chen等2009; Leisner和Ainsworth 2012; Feng等2015)。调查分析结果显示, O₃伤害在我国小麦上造成的减产损失目前已达到了6.4%~14.9%, 未来将会达到14.8%~23.0% (Feng等2015)。到2013年底, 全国葡萄栽培面积已超过700千公顷, 本实验室前期田间调查发现, 葡萄是对O₃比较敏感的果树, O₃对一些葡萄品种的叶片造成了明显的表观伤害症状, 砧木品种5BB、河岸葡萄系酿酒葡萄福客‘Frontenac’等种间杂种的叶片上, 随着夏季的到来经常出现 O₃伤害的褐斑(王金欢等2015)。其对叶片光合系统造成的伤害是毋庸置疑的。因此研究O₃对葡萄叶片光合机构的伤害机制具有重要的理论意义和实践意义。

植物光合作用是地球上最基本的能量转化过程, 是作物产量和品质的基础, 但同时也对环境条件非常敏感(许大全2002)。植物光合作用对环境胁迫敏感, 在其它胁迫特征出现之前, 光合作用的抑制就可能发生。O₃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, 并经反应形成过氧化氢(H₂O₂)、超氧自由基等活性氧自由基(ROS) (Wohlgemuth等2002), O₃通过气孔进入叶片后, 首先抑制靠近气孔部位的细胞的光合作用(Leipner等2001)。Chen等(2009)发现O₃胁迫会导致大豆叶片的光下最大光化学效率(Φ_{psII})和PSII开放程度(qP)的抑制。O₃胁迫降低了鹅掌楸叶片的羧化效率(Pellegrini等2011), 也有研究表明不同叶龄叶片对O₃胁迫抵御能力不同, 番茄幼叶更容易受到伤害(Thwe等2014), 张巍巍等(2007)研究发现O₃胁迫对银杏叶片光合功能损伤具有一定的累积效应。目前关于O₃胁迫对葡萄光合作用中电子传递的研究还较少。探讨葡萄叶片的光系统对不同O₃浓度短期胁迫的响应机制, 探讨伤害机理, 明确伤害阈值, 为葡萄栽培管理提供可靠依据。

材料与方法

试验于2014年生长季节在山东农业大学园艺

试验站葡萄园内进行。试材为一年生‘赤霞珠’ (*Vitis vinifera* L. cv. ‘Cabernet Sauvignon’), 种植于直径25 cm、高35 cm的花盆中, 土:沙:基质=2:1:1。待长至10~12片完全展开叶时进行试验处理。试验设计了4个处理: (40±5)、(55±5)、(80±5)、(105±10) nL·L⁻¹, 对照[(25±5) nL·L⁻¹]为自然背景大气。各处理于O₃熏蒸系统中进行, 每个处理5盆植株。选择气象条件相对一致的晴朗天气进行试验, 每个浓度处理时间为8 h, 处理区间为7:30~15:30, 处理结束后, 马上测定气体交换和叶绿素荧光参数。

试验用的O₃熏蒸系统由开顶式气室(open top chambers, OTCs, 图1)、供气系统、O₃发生与浓度控制系统、O₃浓度监测系统等四部分组成。OTC的框架由直径3 cm的镀锌钢管构成, 四周用温室专用的聚乙烯塑料膜包被, 顶部与大气相通。从形状上说, 可以把OTC分成两部分。下部是边长为1.1 m, 高为2.2 m的正八棱柱; 上部为正八棱台, 棱台的上底面积是下底面积的1/3, 侧面与垂直方向的夹角是45°。OTC内距离试验材料顶部50 cm有米字型的布气管, 布气管离地面的高度可以调节。布气管上有一排斜向下与水平呈45°的出气孔, 出气孔之间的间距从OTC的中心向四周逐渐减小, 以保证OTC内气体浓度的稳定。O₃发生器(WJ-HY5型)产生的O₃在管道中与空气混合, 在轴流风机(SF2-2型)的作用下被通入OTC内。OTC内的O₃浓度监测仪(DR70C-臭氧型)可以实时监测OTC内的O₃浓度, 并把数据传输到电脑上用于观察、保存。通过转子流量计调节O₃发生器的进氧量, 从而控制OTC内的O₃浓度。

叶片叶绿素(Chl)含量用乙醇浸提法测定(赵世杰等2002)。

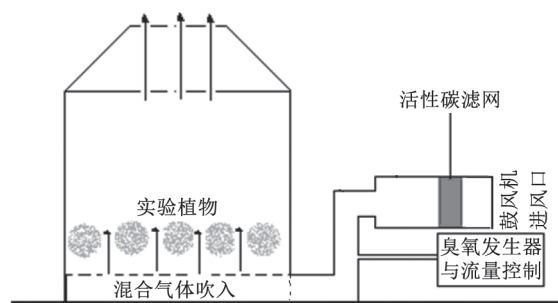


图1 开顶式气室结构示意图

Fig.1 The schematic drawing of OTCs

气体交换参数采用CIRAS-2便携式光合系统(PPSystems, 英国)测定。测定时控制光强为处理条件下光照强度, CO_2 浓度为 $(360 \pm 20) \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, 温度为 25°C 左右。

利用连续激发式荧光仪(Handy PEA, Hansatech, 英国)测定快速叶绿素荧光诱导曲线。从OJIP曲线上可直接获得如下参数(Strasser 1997): F_0 为最小荧光($20 \mu\text{s}$); F_k 为K点($300 \mu\text{s}$)的荧光; F_j 为J点(2ms)的荧光; F_i 为I点(30ms)的荧光; F_m 为在 $0.3 \sim 2 \text{s}$ 之间的最大荧光。通过JIP-test分析得到的OJIP曲线, 可得到如下参数: PSII最大光化学效率: $\phi_{p_0} = TR_0/ABS = F_v/F_m$; J点相对荧光: $V_j = (F_j - F_0)/(F_m - F_0)$; 捕获的激子将电子传递到电子传递链中超过 Q_A 的其它电子受体的概率: $\Psi_{E_0} = ET/TR_0 = 1 - V_j$; 单位面积有活性反应中心数目: $RC/CS_m = F_m \times \phi_{p_0} \times (V_j/M_0)$; K点相对可变荧光: $W_k = (F_k - F_0)/(F_j - F_0)$ 。用 $(F_m - F_0)$ 进行标准化后相对可变荧光的变化(W_i)= $(F_i - F_0)/(F_m - F_0)$ 。

采用英国Hansatech公司的FMS-2型便携式脉冲调制式荧光仪测定。测定程序如下: 对经过一晚上暗适应后的叶片打饱和脉冲光($12\ 000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), 测定这个处理对应的暗适应下的最大荧光 F_m , 对处理结束后光适应下的叶片先打 60s 作用光($800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), 打极弱的($<0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)测量光测得叶片最小荧光(F_0), 再打饱和脉冲光($12\ 000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), 测定光适应下的最大荧光值 F_m' , 打开作用光测定光下稳态荧光 F_s 。

各荧光参数意义及计算公式如下: PSII实际光

化学效率(Φ_{psii})= $(F_m' - F_s)/F_m'$; 光下实际光化学效率(F_v'/F_m')= $(F_m' - F_0')/F_m'$; PSII激发压($1 - qP$)= $1 - (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0)$; 慢相荧光淬灭(qI)反映PSII光抑制程度, 按照Johnson等(1993)的方法计算。

采用Excel与DPS软件用LSD法对数据进行方差分析和差异显著性检验。

实验结果

1 不同浓度 O_3 处理对叶片表观伤害的影响

经过 O_3 处理 8h 以后, 40 、 55 和 $80 \text{nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 的处理均未对赤霞珠葡萄叶片造成表观伤害, 而 $105 \text{nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的 O_3 胁迫使赤霞珠出现了表观伤害症状(图2)。 O_3 首先导致叶脉间出现黄褐色斑点, 继而斑点扩大, 并有失水干枯症状, 表明较高浓度的 O_3 处理短时间内即可造成赤霞珠葡萄叶片发生表观伤害。

2 不同浓度 O_3 处理对叶绿素含量的影响

叶绿素在光能的吸收、传递和转换中起着重要的作用, 包括叶绿素a和b两种。较低浓度的 O_3 胁迫对赤霞珠葡萄叶片的叶绿素(a+b)值几乎没有影响, 但是当胁迫的 O_3 浓度超过 $55 \text{nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 随 O_3 浓度的升高, 叶绿素(a+b)值逐渐减小, 与对照相比, 80 和 $105 \text{nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理分别减少了 10.7% 和 32.2% (图3-A)。当 O_3 浓度大于 $80 \text{nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 叶绿素a/叶绿素b值出现显著降低, $105 \text{nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 比对照降低了 54.4% (图3-B)。表明一定浓度的 O_3 胁迫造成了葡萄叶片叶绿素降解, 叶片光合能力受到损伤。

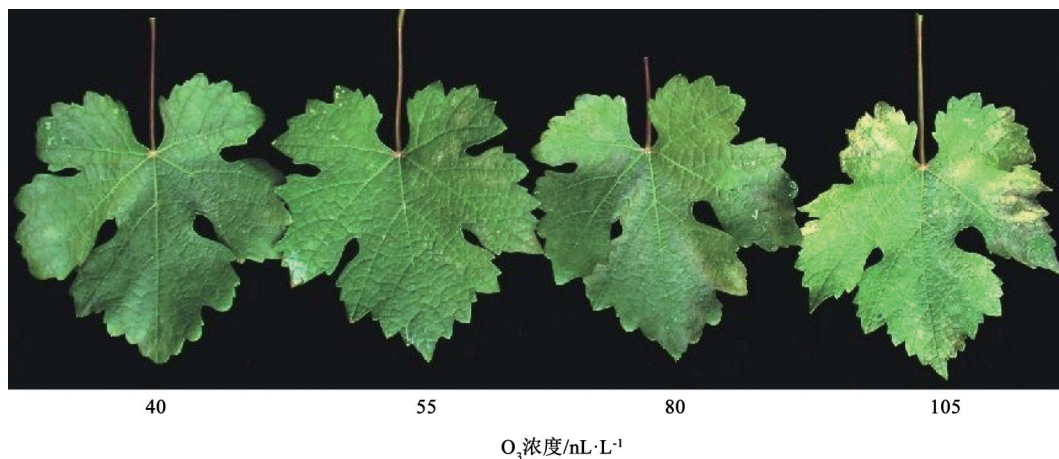


图2 不同浓度 O_3 处理对叶片的表观影响

Fig.2 Visible effects of different concentrations of O_3 treatments on grape leaves

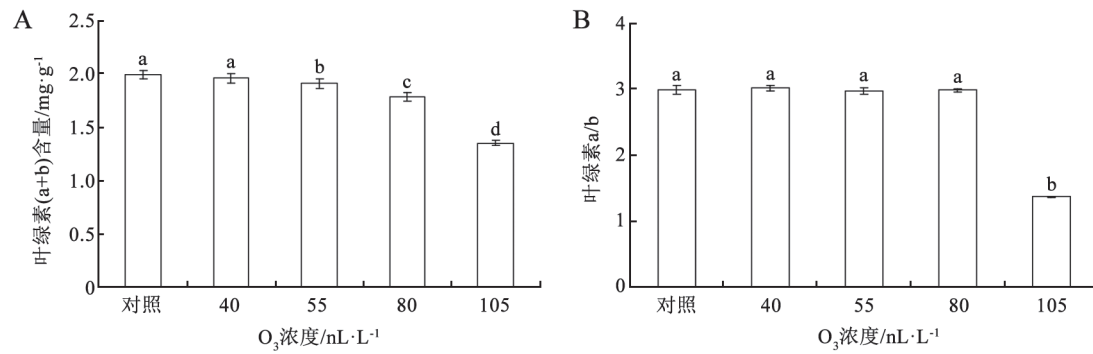


图3 不同浓度O₃处理对叶片叶绿素(a+b)含量和叶绿素a/b的影响

Fig.3 Effect of different concentrations of O₃ treatments on chlorophyll (a+b) and chlorophyll (a/b) in grape leaves

不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下图同此。

3 不同浓度O₃处理对叶片光合参数的影响

如图4所示, 随O₃浓度升高, ‘赤霞珠’叶片的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)呈下降趋势; 55 nL·L⁻¹的O₃处理的 P_n 和 G_s 开始降低显著, 与对照相比分别下降了17.9%和42.4%; 随着处理浓度的升高, 降低幅度进一步加剧, 至105 nL·L⁻¹浓度处理后, 分别降低了87.5%和82.0% (图4-A和B)。胞间CO₂浓度(C_i)在O₃浓度从对照升至55 nL·L⁻¹时显著下降, 在O₃浓

度达到80 nL·L⁻¹后明显升高(图4-C)。说明低于55 nL·L⁻¹的O₃处理对 P_n 造成的影响主要是由气孔限制引起的, 而达到80 nL·L⁻¹的O₃处理后出现非气孔限制因素引起 P_n 的降低。

4 不同浓度O₃处理对葡萄叶片快速叶绿素荧光动力学曲线(OJIP)的影响

叶绿素荧光蕴含着丰富的与光合原初反应有关的信息, 叶绿素荧光多项上升动力学曲线(OJIP)

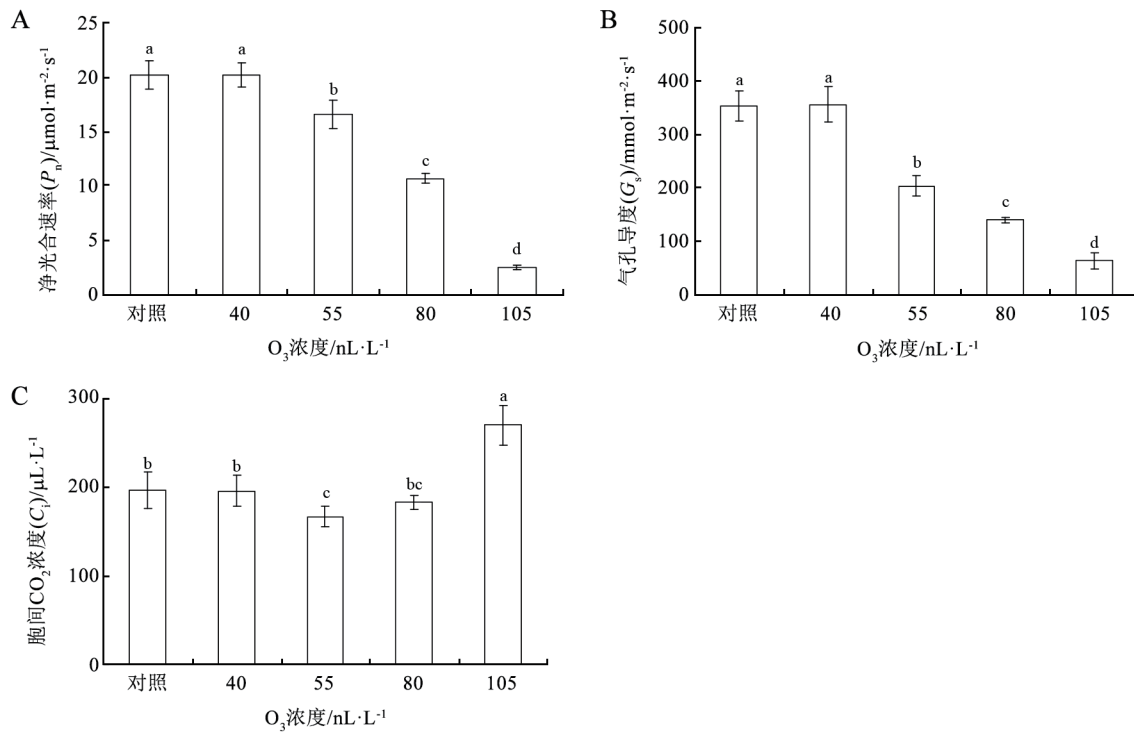


图4 不同浓度O₃处理对叶片净光合速率、气孔导度和胞间CO₂浓度的影响

Fig.4 Effect of different concentrations of ozone O₃ treatments on net photosynthetic rate, stomatal conductance and intercellular CO₂ concentration in grape leaves

已经被广泛用于检测PSII活性(Mehta等2010)。

不同浓度 O_3 处理8 h后葡萄叶片O-J-I-P曲线发生不同变化。图5-A显示的是葡萄叶片O-J-I-P原始曲线的变化, 可以观察到有关不同浓度 O_3 胁迫下葡萄叶片O-J-I-P曲线的影响。随着 O_3 浓度的升高, 各处理叶片的 F_m 值发生降低, 以 $105 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下降幅度最大, 荧光曲线变化最明显, 说明 O_3 胁迫导致

了叶片单位面积吸收的光能明显降低。为增加不同处理之间的可比性, 对原始O-J-I-P荧光曲线进行标准化后得到相对荧光变化曲线(图5-B), O_3 导致葡萄叶片O-J-I-P曲线出现较明显的K点(300 μs)与J点(2 ms), 处理浓度越高, K点与J点越明显。荧光曲线的变化表明 O_3 胁迫导致了葡萄荧光曲线变化, 随着 O_3 胁迫浓度的升高, 葡萄叶片PSII伤害程度增加。

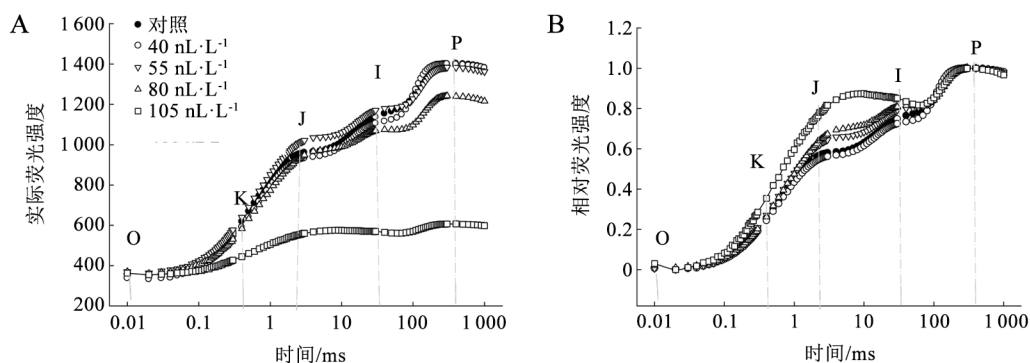


图5 不同浓度 O_3 胁迫对葡萄叶片荧光强度的影响

Fig.5 Effect of different concentrations of O_3 treatments on the chlorophyll fluorescence transients plotted on a logarithmic time scale in grape leaves

5 不同浓度 O_3 处理对叶片快速叶绿素荧光动力学曲线参数的影响

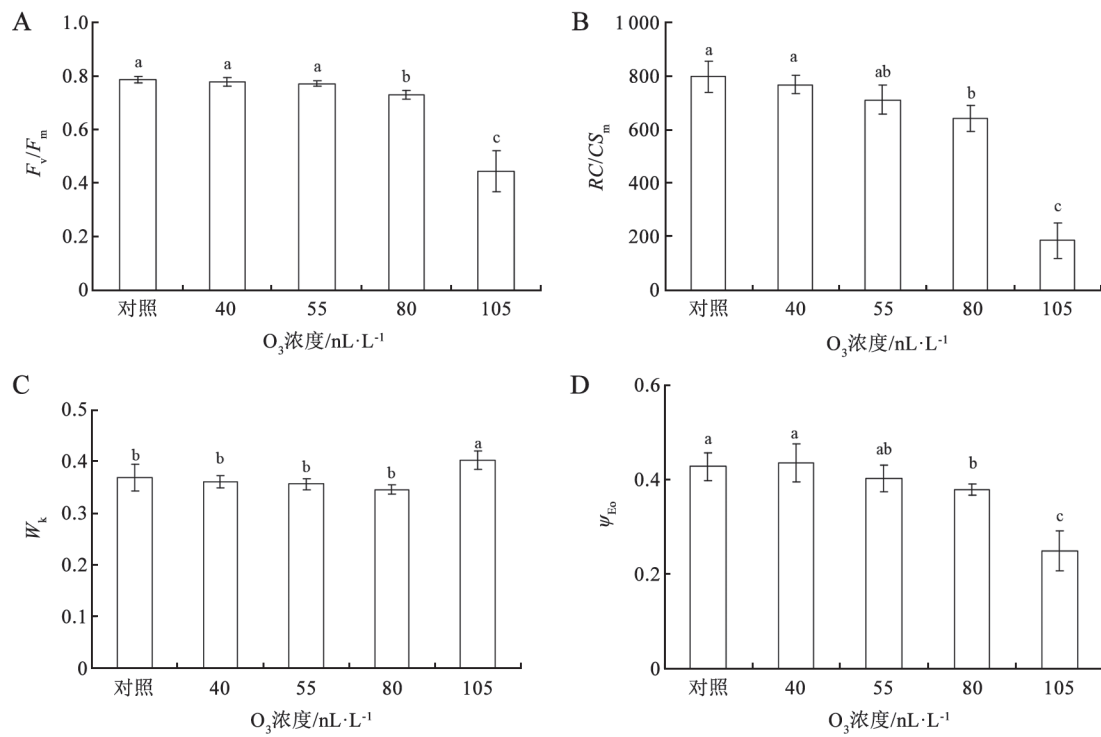
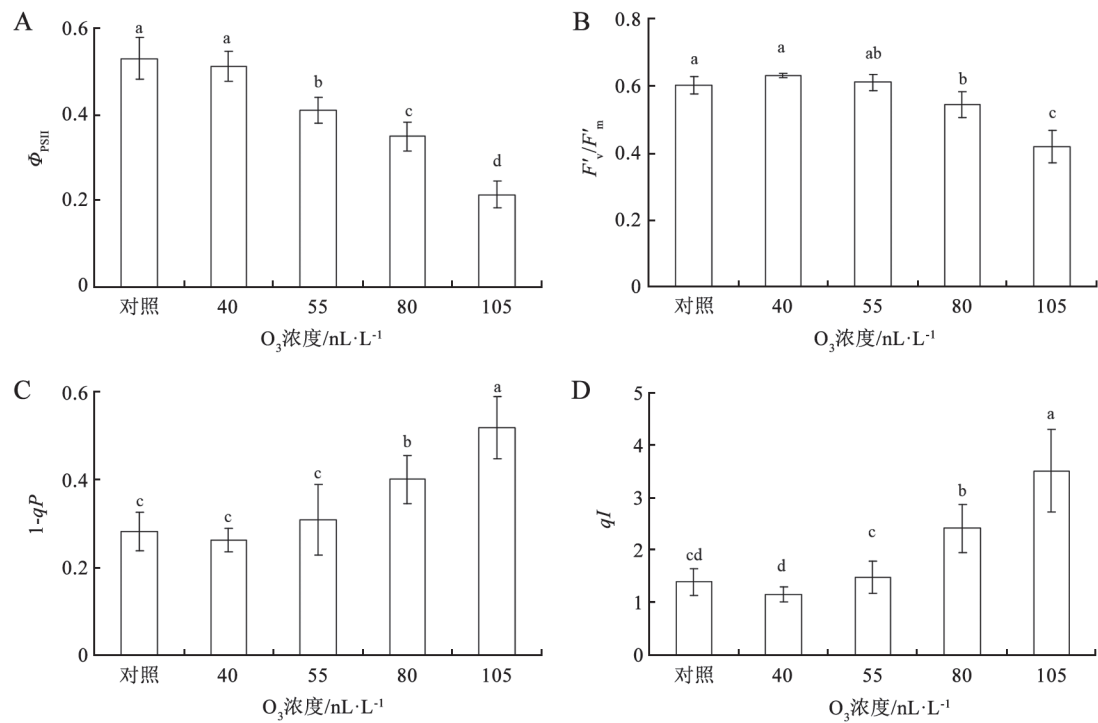
植物快速叶绿素荧光诱导曲线中包含许多关于PSII反应中心原初光化学反应的信息。 F_v/F_m 反映了原初光化学反应的最大量子产额, 即叶片的最大光化学效率。如图6-A所示, 处理8 h后, 随着 O_3 浓度的升高, F_v/F_m 逐渐降低, O_3 浓度低于 $80 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时未造成显著影响; 浓度达到 $80 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, F_v/F_m 显著降低; $105 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理比对照降低了44.9%。表明一定浓度的 O_3 胁迫降低了叶片的最大光化学效率, 且随着 O_3 浓度的升高, 胁迫程度加剧。

RC/CS_m 反映了叶片单位面积内有活性反应中心的数量。如图6-B所示, O_3 浓度高于 $80 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, RC/CS_m 显著降低, 80 和 $105 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理分别降低了16%和75.5%。 W_k 是K点相对可变荧光的大小, 可用来表示放氧复合体的伤害程度。从图6-C可以看出随着臭氧浓度的增加, W_k 呈先降低后增加的趋势, 与对照相比, $105 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 O_3 处理的 W_k 值显著升高。 Ψ_{E_0} 表示捕获的激子将电子传递到 Q_A 以后的其它电子受体的概率。随 O_3 浓度的升高, Ψ_{E_0} 呈降低的趋势, 80 和 $105 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 O_3 处理后分别下降了

12.9%和70.9% (图6-D)。表明一定浓度的 O_3 胁迫使PSII电子传递链中的电子从 Q_A^- 向下的传递受到了抑制。

6 不同浓度 O_3 处理对葡萄叶片荧光淬灭参数的影响

Φ_{PSII} 反映叶片在照光条件下PSII反应中心部分关闭情况下的实际光化学效率, 即光下植物叶片用于电子传递的能量占所捕获光能的比例。随着 O_3 浓度的升高, Φ_{PSII} 呈下降趋势(图7-A), 55 、 80 和 $105 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理分别比对照降低了21.4%、42.8%和164.2%。 F_v'/F_m' 可以用来表示开放的PSII反应中心的激发能捕获效率。从图7-B可以看出, O_3 浓度超过 $55 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, F_v'/F_m' 受到显著抑制, 表明 O_3 胁迫抑制了光下开放的PSII反应中心的激发能捕获效率。 $1-qP$ 反映了反应中心的关闭程度, 并作为电子传递链内部氧化还原状态的指标, $1-qP$ 越大, 对PSII激发压越大。图7-C表明, O_3 浓度低于 $55 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对葡萄叶片 $1-qP$ 没有造成显著影响, 80 和 $105 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理后的叶片PSII激发压显著增加, 与对照相比分别增加了41.6%和83.6%, 表明 O_3 胁迫会增加反应中心关闭程度, 导致受体侧接受电子的能力减弱, PSII的激发压力增强。荧光淬灭慢组

图6 浓度 O_3 处理对葡萄叶片 F_v/F_m 、 RC/CS_m 、 W_k 和 Ψ_{E_o} 的影响Fig.6 Effect of different concentrations of O_3 treatments on F_v/F_m , RC/CS_m , W_k and Ψ_{E_o} in grape leaves图7 不同浓度 O_3 处理对葡萄叶片 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 、 $1-qP$ 和 qI 的影响Fig.7 Effects of different concentrations of O_3 on Φ_{PSII} , F_v'/F_m' , $1-qP$ and qI in grape leaves

分(qI)是非光化学淬灭(NPQ)组成部分, 可以反映叶片光抑制程度。由图7-D可以看出, 随着处理浓度的升高, qI 呈增大趋势, 与对照相比, 当 O_3 浓度达到 $80 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 增加幅度差异显著, 表明此时叶片出现较严重光抑制, 随着 O_3 浓度的升高, 光抑制程度增加。

讨 论

已有大量研究表明 O_3 胁迫对植物光合系统造成抑制, 但在 O_3 影响光合作用内在机制的认识上存在较大差异, 研究发现 O_3 胁迫后植物气孔导度受到显著抑制(Maggio等2007), 也有研究表明Ru-bisco酶活性的降低比气孔限制对 O_3 造成的光抑制贡献更大(Pell等1992)。Chen等(2009)的研究表明由于叶片电子传递链受抑制程度不同, 造成短期和长期 O_3 胁迫伤害的差异。郑有飞等(2011)研究发现不同 O_3 浓度对光合速率影响不同, 较低浓度下气孔限制是主要因素。对不同的植物和不同的胁迫程度, 可能作用方式会不一样。但是目前对葡萄的光合作用对 O_3 胁迫响应的研究不够深入, 特别是 O_3 胁迫导致葡萄叶片的光合速率下降与气孔因素、叶绿体类囊体膜上的电子传递的关系知之甚少。本研究结果表明不同浓度 O_3 处理8 h后, 葡萄叶片光合速率降低因素不同。当 O_3 浓度不高于 $55 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, G_s 降低的同时, C_i 也呈降低趋势, 根据Farquhar的观点(Farquhar和Sharkey 1982), 此时气孔限制因素是导致 P_n 的主要因素, 叶片PSII的光化学活性、叶绿素含量与对照相比没有明显变化也表明, $55 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的 O_3 胁迫后葡萄叶片净光合速率降低很大程度上是由气孔导度降低引起的; 当 O_3 浓度达到或超过 $80 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, C_i 随着 G_s 的降低呈增加趋势, 表明此时出现非气孔限制因素, 并且叶绿素(a+b)开始显著降低, 进一步表明 O_3 胁迫伤害了叶片光能吸收和利用能力(Lin等2009)。

光合作用起始于光系统中心色素分子的电荷分离, 电子经过光合电子传递链最后产生同化力(ATP和NADPH), 为 CO_2 的同化及其它过程提供还原力。随着 O_3 浓度的增加, Φ_{PSII} 也持续降低, 说明伴随 P_n 的降低, 叶片捕获光能中用于碳同化的比例也降低, 揭示 O_3 胁迫下叶片用于光化学反应的激发能少, 导致暗反应所需要的还原力减少, 造成

PSII的激发压增加, 这时植物会通过诱导 Φ_{PSII} 下调来减少光合电子传递, 使产生的ATP和NADPH适应降低的光合暗反应的需要(Lu和Zhang 1998)。

O_3 通过张开的气孔进入植物体, 大气 O_3 浓度以及气孔导度共同决定了叶片吸收 O_3 的多少(Farage等1991)。 O_3 作为一种强氧化剂进入植物体后, 会造成过高的活性氧(ROS)的积累(金明红和冯宗炜2000), ROS影响D1蛋白的合成或转移过程从而抑制PSII修复(Takahashi和Murata 2005), 造成光抑制。通过JIP-test可以分析植物光抑制的程度(李鹏民等2005)。本研究发现随着 O_3 处理浓度的升高, 当浓度达到或超过 $80 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 单位面积有活性反应中心数目(RC/CS_m)以及捕获光能用于向 Q_A 以后的电子传递的能量比例(Ψ_{E_0})显著减少, 说明 O_3 胁迫加剧了PSII反应中心及受体侧伤害程度。植物叶片快速叶绿素荧光诱导曲线中的K相的升高可以反映逆境下放氧复合体(OEC)的失活(Srivastava等1997; 张葳等2013), 而金立桥等(2015)最新研究表明 W_k 值的大小是受到PSII供体侧和受体侧伤害程度的综合影响, 其值的大小反映的是PSII供体侧相对于受体侧的抑制程度。本研究发现低于 $80 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的臭氧处理后的葡萄叶片的 W_k 值并未明显变化, 只有当臭氧浓度达到 $105 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 后, W_k 值显著增加, 表明随着浓度臭氧增加, 叶片PSII电子受体侧抑制程度先大于供体侧, 表现为 Ψ_{E_0} 降低而 W_k 值未显著变化, 随着臭氧浓度的增加, 供体侧抑制程度大于受体侧, 表现为 Ψ_{E_0} 继续降低而 W_k 值显著增加。通过对 qI 的分析表明, O_3 胁迫处理导致 qI 发生显著的降低, 进一步证明了较高浓度 O_3 胁迫对PSII电子传递链造成了抑制。

生产上随着葡萄栽培面积的增加, 葡萄生长过程中往往会遇到两种或两种以上的环境胁迫, 已有研究表明, 适当干旱条件会缓解 O_3 的伤害(Iyer等2013), 这或许与诱导气孔轻微关闭有关, 而提高环境 CO_2 浓度缓解了 O_3 的伤害(McKee等1997), 本实验通过短期不同浓度的 O_3 处理证明了葡萄叶片对 O_3 胁迫的生理响应, 而自然界长期、持续低浓度的 O_3 对葡萄叶片造成的累积伤害尚有待于进一步研究。

参考文献

冯兆忠, 小林和彦, 王效科, 冯宗炜(2008). 小麦产量形成对大气臭

- 氧浓度升高响应的整合分析. 科学通报, 53: 3080~3085
- 金明红, 冯宗炜(2000). 臭氧对冬小麦叶片膜保护系统的影响. 生态学报, 20: 444~447
- 金立桥, 车兴凯, 张子山, 高辉远(2015). 高温、强光下黄瓜叶片PSII供体侧和受体侧的伤害程度与快速荧光参数 W_k 变化的关系. 植物生理学报, 51: 969~976
- 李鹏民, 高辉远, Strasser RJ (2005). 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用. 植物生理与分子生物学报, 31: 559~566
- 刘建栋, 周秀骥, 于强, 颜鹏, 郭建平, 丁国安(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
- 王金欢, 耿庆伟, 孙永江, 王杨, 翟衡, 杜远鹏(2015). 臭氧胁迫对3个葡萄品种叶片原初光化学反应的影响. 中外葡萄与葡萄酒, 2: 16~20
- 许大全(2002). 光合作用效率. 上海: 上海科学技术出版社, 39~45
- 赵世杰, 史国安, 董新纯(2002). 植物生理学实验指导. 中国农业科学技术出版社, 51~52
- 张葳, 陈昌盛, 李鹏民, 马锋旺(2013). 利用快速荧光, 延迟荧光和820 nm光反射同步测量技术探讨干旱对平邑甜茶叶片光合机构的伤害机制. 植物生理学报, 49: 551~560
- 张巍巍, 赵天宏, 王美玉, 何兴元, 付士磊(2007). 臭氧浓度升高对银杏光合作用的影响. 生态学杂志, 26 (5): 645~649
- 郑有飞, 刘瑞娜, 吴荣军, 赵泽, 胡程达(2011). 臭氧胁迫对冬小麦灌浆期光合日变化的影响. 生态学杂志, 30: 1075~1082
- Ashmore MR (2005). Assessing the future global impact of ozone on vegetation. *Plant Cell Environ*, 28: 949~964
- Chen CP, Frank TD, Long SP (2009). Is a short, sharp shock equivalent to long-term punishment? Contrasting the spatial pattern of acute and chronic ozone damage to soybean leaves via chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Cell Environ*, 32: 327~335
- Farage PK, Long SP, Lechner EG, Lechner EG, Baker NR (1991). The sequence of change within the photosynthetic apparatus of wheat following short-term exposure to ozone. *Plant Physiol*, 95 (2): 529~535
- Farquhar GD, Sharkey TD (1982). Stomatal conductance and photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol*, 33: 317~345
- Feng Z, Hu E, Wang X, Jiang L, Liu X (2015). Ground level O₃ pollution and its impacts on food crops in China: a review. *Environ Pollut*, 199: 42~48
- Fowler D, Cape JN, Coyle M, Smitha RI, Hjellbrekke AG, Simpson D, Derwent RG., Johnson CE (1999). Modelling photochemical oxidant formation, transport, deposition and exposure of terrestrial ecosystems. *Environ Pollut*, 100: 43~55
- Iyer NJ, Tang Y, Mahalingam R (2013). Physiological, biochemical and molecular responses to a combination of drought and ozone in *Medicago truncatula*. *Plant Cell Environ*, 36: 706~720
- Johnson G, Young A, Scholes J, Horton P (1993). The dissipation of excess excitation energy in British plant species. *Plant Cell Environ*, 16: 673~679
- Leipner J, Oxborough K, Baker NR (2001). Primary sites of ozone-induced perturbations of photosynthesis in leaves: identification and characterization in *Phaseolus vulgaris* using high resolution chlorophyll fluorescence imaging. *J Exp Bot*, 52: 1689~1696
- Leisner CP, Ainsworth EA (2012). Quantifying the effects of ozone on plant reproductive growth and development. *Glob Change Biol*, 18: 606~616
- Lin ZH, Chen LS, Chen RB, Zhang FZ, Jiang HX, Tang N (2009). CO₂ assimilation, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport probed by the JIP-test, of tea leaves in response to phosphorus supply. *BMC Plant Biol*, 9: 43
- Lu C, Zhang J (1998). Changes in photosystem II function during senescence of wheat leaves. *Physiol Plant*, 104: 239~247
- Maggio A, De Pascale S, Fagnano M, Barbieri G (2007). Can salt stress-induced physiological responses protect tomato crops from ozone damages in Mediterranean environments? *Eur J Agron*, 26: 454~461
- McKee I, Eiblmeier M, Polle A (1997). Enhanced ozone-tolerance in wheat grown at an elevated CO₂ concentration: ozone exclusion and detoxification. *New Phytol*, 137: 275~284
- Mehta P, Allakhverdiev SI, Jajoo A (2010). Characterization of photosystem II heterogeneity in response to high salt stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *Photosynth Res*, 105: 249~255
- Pell E, Eckardt N, Enyedi AJ (1992). Timing of ozone stress and resulting status of ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase and associated net photosynthesis. *New Phytol*, 120: 397~405
- Pellegrini E, Francini A, Lorenzini G, Nali C (2011). PSII photochemistry and carboxylation efficiency in *Liriodendron tulipifera* under ozone exposure. *Environ Exp Bot*, 70: 217~226
- Srivastava A, Guissé B, Greppin H, Strasser RJ (1997). Regulation of antenna structure and electron transport in PSII of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient: OKJIP. *Biochim Biophys Acta*, 1320: 95~106
- Strasser BJ (1997). Donor side capacity of photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transients. *Photosynth Res*, 52: 147~155
- Takahashi S, Murata N (2005). Interruption of the Calvin cycle inhibits the repair of photosystem II from photodamage. *BBA-Bioenergetics*, 1708: 352~361
- Thwe A, Vercambre G, Gautier H, Gay F, Phattaralerphong J, Kasemsap P (2014). Response of photosynthesis and chlorophyll fluorescence to acute ozone stress in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Photosynthetica*, 52: 105~116
- Wohlgemuth H, Mittelstrass K, Kschieschan S, Bender J, Weigel HJ, Overmyer K, Kangasjärvi J, Sandermann H, Langebartels C (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