

臭氧对玉簪叶片近轴侧和远轴侧伤害的比较

刘东焕¹, 赵世伟^{1,*}, 康伟健², 王赛玉², 吴冰洁²

¹北京市植物园, 北京市花卉园艺工程技术研究中心/城乡生态环境北京实验室, 北京100093; ²中国科学院植物研究所, 北京100093

摘要: 为探讨臭氧(O₃)是否伤害叶片远轴侧以及对与近轴侧和远轴侧伤害的异同, 以玉簪为材料通过显微观察、叶绿素荧光诱导动力学和气体交换等技术研究了该问题。叶片形态和显微观察表明, 200 μg·kg⁻¹ O₃处理10 d后玉簪叶片近轴侧表面和叶肉组织呈现明显伤害症状, 而远轴侧在300 μg·kg⁻¹ O₃条件下也发生明显伤害。O₃处理显著改变了叶片近轴侧和远轴侧荧光诱导动力学曲线的形状; 尽管两侧荧光诱导动力学曲线的K、J和I点相对荧光产量均增加, 但仅近轴侧K点的相对荧光上升幅度更加明显。此外, O₃处理下玉簪叶片的光合速率和叶绿素含量均下降, 相对电导率和膜脂过氧化程度大幅增加。鉴于显微观察和荧光诱导动力学的测定结果, 我们认为O₃能够同时伤害玉簪叶片近轴侧和远轴侧叶肉组织, 并就臭氧对玉簪叶片两侧的伤害机制进行了比较和讨论。

关键词: 光合速率; 叶片结构; 叶绿素荧光; 臭氧; 玉簪

Comparison of Injury on Leaf Adaxial and Abaxial Sides in *Hosta plantaginea* Induced by Ozone

LIU Dong-Huan¹, ZHAO Shi-Wei^{1,*}, KANG Wei-Jian², WANG Sai-Yu², WU Bing-Jie²

¹Beijing Floriculture Engineering Technology Research Centre, Beijing Laboratory of Urban and Rural Ecological Environment, Beijing Botanical Garden, Beijing 100093, China; ²Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

Abstract: In order to explore the comparison of injury on leaf adaxial and abaxial sides in *Hosta plantaginea* induced by ozone, micro-observation, chlorophyll fluorescent, gas exchange characteristics and chlorophyll content were studied in *H. plantaginea* seedlings under various ozone levels. Our micro-observation showed that injury symptoms on leaf adaxial side were induced by 10 days ozone treatment (200 μg·kg⁻¹), however, the injury on leaf abaxial side was observed only when ozone concentration reached 300 μg·kg⁻¹. In the presence of ozone, the shapes of polyphasic rise of fluorescence transient both in the two sides were greatly changed. Further analysis revealed that ozone induced pronounced K, J and I steps both on adaxial and abaxial sides of *H. plantaginea* leaves. Moreover, the enhancement of K step on adaxial side was more significant than that on abaxial side. Additionally, we also noticed that ozone induced the decrease in photosynthetic rate and chlorophyll content, while REC and MDA increase under various ozone treatments. According to micro-observation and the polyphasic rise of fluorescence transient, we thought that ozone can injure the both side of *H. plantaginea* leaves. The potential mechanisms were also discussed in this study.

Key words: photosynthetic rate; leaf structure; chlorophyll *a* fluorescent; ozone; *Hosta plantaginea*

臭氧(O₃)主要存在于距离地球表面10~50 km处, 构成地球臭氧层。众所周知, 臭氧层能够有效吸收紫外线。如果臭氧层遭受破坏, 到达地球表面的紫外光会增强, 导致地球上的生物遭受紫外光伤害。此外, 距地面1~2 km的近地层也存在臭氧层。这里的臭氧主要是大量人为源的氮氧化物(NO_x)和挥发性有机物(VOCs)在太阳光照射下经一系列光化学反应生成的二次污染物。监测结果表明, 全球近1/4的国家和地区生长季近地层臭氧浓度高于60 μg·kg⁻¹, 而且臭氧目前仍以每年

0.5%~2.0%的速率持续升高(Sitch等2007; Zeng和Pyle 2008)。近年来, 随着我国城市化的加快, 各种化石燃料、有机涂料等的大量使用致使近地层臭

收稿 2015-09-15 修订 2015-11-04

资助 北京市科技计划(Z141100006014036)和北京市共建项目专项。

致谢 中国科学院植物研究所植物分子生理学重点实验室董凤琴老师在切片制作过程中给予大力帮助。

* 通讯作者(E-mail: zhaoshiwei@beijingbg.com; Tel: 010-62593209)。

氧浓度迅速升高。有些大城市,如北京臭氧浓度可以超过 $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,严重时甚至能够达到 $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (殷永泉等2006;漏嗣佳等2010)。因此,近地层臭氧对环境的影响及其治理研究已经迫在眉睫。

植物可以吸收空气中的臭氧从而减轻大气中的臭氧浓度。但是,臭氧被植物吸收后也会对其产生伤害,这种伤害主要表现为叶片光合速率下降、失绿,发生早衰以及叶片脱落等,进而影响生长发育(Gravano等2003;许宏等2007;Mastyssek等2010;张巍巍2011)。大量研究表明,臭氧对叶片的伤害程度与气孔导度的大小有关(Gravano等2003;Mastyssek等2010;张巍巍2011)。气孔导度较高时,臭氧对植物叶片的伤害也较严重;相反,降低气孔导度时叶片受到的伤害也会相应减轻(Gravano等2003;Mastyssek等2010;张巍巍2011)。众所周知,气孔导度是指气孔对二氧化碳、水等气体的通透性,主要由叶片气孔特性决定。臭氧伤害程度与气孔导度之间较好的相关性表明臭氧可能通过气孔进入叶片后才会对叶肉组织造成伤害。实际上,对大多数植物而言,气孔主要位于叶片远轴侧。这说明臭氧主要是由叶片远轴侧气孔进入叶片,并进而导致叶肉的氧化伤害。但是,有研究表明臭氧诱导的叶片伤害症状却主要位于叶片近轴侧(Gravano等2003;Mastyssek等2010;张巍巍2011)。也就是说,臭氧通过远轴侧气孔进入叶片后主要伤害了近轴侧的栅栏组织。不过,很难想象,臭氧由远轴侧气孔进入叶片后却对远轴侧叶肉组织没有任何影响。

在解释这一问题时,有研究认为臭氧进入叶片后对叶肉的伤害有选择性,即臭氧优先伤害栅栏组织(Gravano等2003)。所以,在很多情况下叶片的近轴侧会出现明显的伤害症状,而远轴侧则不明显。分析以往文献,可以看出臭氧选择性伤害栅栏组织的结论主要证据来自于显微观察(Gravano等2003;Mastyssek等2010;张巍巍2011)。因为,迄今为止,还没有其他方法能够有效地检测和比较臭氧处理条件下近轴侧栅栏组织和远轴侧海绵组织的伤害及伤害程度。是否臭氧也同时伤害了叶片远轴侧的海绵组织?臭氧对叶片远轴侧的伤害与其对近轴侧的伤害有何异同?迄今为止这些问题均尚未澄清。我们注意到,叶绿素荧光作

为检测叶片光系统II活性的有效方法在逆境生理中广泛应用,更重要的是荧光信号主要来自于叶片浅层细胞(Hsu和Leu 2003)。因此,荧光很可能是检测和比较臭氧对叶片远轴侧伤害的一种有效方法。

玉簪是我国北方城市绿化中的重要植物资源,目前作为地被植物被广泛应用(Liu和Zhao 2013)。因此,为阐述臭氧对植物叶片近轴侧和远轴侧的伤害作用和相关机制,我们以玉簪为材料通过叶片形态和显微观察、气体交换以及叶绿素荧光诱导动力学等方法就臭氧对玉簪叶片近轴侧和远轴侧的伤害作用进行了研究。一方面有助于进一步理解臭氧对植物叶片的伤害作用和机制,另一方面也为使用植物材料治理臭氧污染提供必要的实验支持。

材料与方法

1 材料培养

实验于2014年在北京市植物园基地开顶式同化箱(open-top chamber)中进行(使用美国生产的2B型Model 202臭氧监测仪对臭氧浓度进行监测;用臭氧发生器产生臭氧,通过调节流量仪来控制臭氧的浓度)。2014年5月选取长势均一的玉簪[*Hostia plantaginea* (Lam.) Aschers.]植入花盆。花盆直径30 cm,高27 cm,基质为草炭和园土(3:1)。臭氧处理于6月30日开始,臭氧设3个浓度处理:对照(过滤大气使得臭氧 $<20 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、 $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;每天臭氧处理8 h(上午8:00开始处理,下午16:00结束)。于7月20日进行各种测定。实验过程中正常水肥管理,且每天将同化箱内的花盆随机移动,确保消除同化箱内因小气候可能导致的差异。

2 叶片形态观察和结构测定

在臭氧处理完成后,选择成熟和有代表性的叶片拍照和形态观察。使用解剖刀在靠近叶片的中部取材($2 \text{ mm}\times 2 \text{ mm}$),用标准固定液(FAA)前固定,后用乙醇系列脱水,中性树脂包埋、切片(横切片厚度为 $1 \mu\text{m}$),再用甲苯胺蓝染色,并利用光学显微镜(Nikon-800,日本)进行观察照相。

3 光合速率和气孔导度测定

选择晴朗的上午8:00~11:00进行气体交换参

数的测定, 用CIRAS-2型便携式光合作用测定系统(PP-Systems, 英国)分别测定玉簪各个处理叶片净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)等参数。测定光强(饱和光强)为 $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 叶室温度控制在 $28\sim 33 \text{ }^\circ\text{C}$ 之间, 湿度控制在 $70\%\sim 80\%$ 之间, 大气 CO_2 浓度控制在 $380\sim 400 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 之间。每个处理测定6个重复。

4 叶绿素荧光参数测定

选择晴朗的天气, 分别于早晨使用Handy-PEA非调制式荧光仪(Hansatech, 英国)进行快速叶绿素荧光诱导动力学的测定。测定及计算参照张守仁(1999)、李鹏民等(2005)文献。测定前植株暗适应15 min, 在弱调制光下诱导产生初始荧光(F_0), 此时PSII反应中心全部处于开放状态。在 F_0 之后使用脉冲光(100 和 $3\ 000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 红光)激发, 使原初电子受体 Q_A 处于还原状态, 测得最大荧光值(F_p)。每个处理测定12个重复。其中, 各特征点荧光参数为 F_0 (20 μs 时荧光, O相)、 F_k (300 μs 时荧光, K点)、 F_j (2 ms时荧光, J点)、 F_i (30 ms时荧光, I点)、 F_p (最大荧光, P相)。参照Strasser等(2004)的方法, 将快速叶绿素荧光诱导动力学曲线标准化: $V_t=(F_t-F_0)/(F_p-F_0)$ 。本研究中 V_k 、 V_j 和 V_i 分别代表K、J和I点的相对荧光产量。

5 叶绿素含量测定

选取对照组刚刚成熟的叶片(自中心开始第3个叶位), 分别用直径6 mm的打孔器打取叶圆片, 混匀后随机称取0.1 g叶圆片以80%丙酮15 mL于暗处浸提48 h, 至叶片完全呈白色, 25 mL容量瓶定容。为使色素均匀分布, 期间大约隔2 h取出一次, 振荡片刻。用紫外可见分光光度计(UV-2802S, 美国)分别在663、646及470 nm测定OD值, 按照Arnon (1949)的方法计算出叶绿素a (Chl a)、叶绿素b (Chl b)及总叶绿素含量。

6 相对电导率和丙二醛含量测定

相对电导率(relative electrical conductivity)参考Campos和Pham Thi (1997)的方法进行测定。丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定(Health和Packer 1986)。

7 数据处理与方法

所有数据分析采用Sigmaplot 10.0软件分析作图。

实验结果

1 臭氧对叶片形态和结构的影响

如图1所示, 臭氧处理影响叶片形态和结构。玉簪叶片在 $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 臭氧处理下近轴侧发生明显的失绿, 并出现伤害斑; 臭氧处理浓度继续增加至 $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 叶片近轴侧失绿和伤害现象加剧。与近轴侧相比, 远轴侧叶色较浅, 其在臭氧处理下的失绿现象也较近轴侧轻。从图1还可以看出, $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 臭氧处理未能诱导玉簪叶片远轴侧发生明显的伤害斑, 但 $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 臭氧处理下叶片远轴侧能观察到严重的伤害斑。与远轴侧相比, 2种臭氧浓度均对叶片近轴侧的伤害较重。

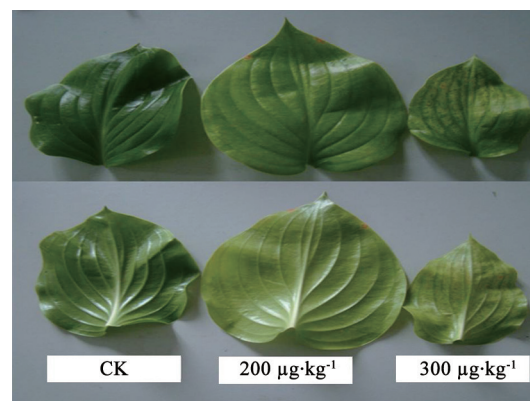


图1 臭氧处理对玉簪叶片形态的影响

Fig.1 Effects of ozone on leaf morphology of *H. plantaginea* seedlings

图中标注为 O_3 浓度, 其中对照为 $\text{O}_3 < 20 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

臭氧不仅影响叶片形态, 还影响叶片结构。如图2所示, 对照叶片有清晰的栅栏组织和海绵组织之分; 其栅栏组织由2层细胞构成, 排列整齐; 海绵组织由多层不规则细胞组成, 且排列较疏松。 $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 臭氧处理不仅导致栅栏组织细胞的破坏, 与海绵组织邻近的栅栏组织细胞受到的伤害尤其明显; 同时, 气孔附近海绵组织细胞也受到一定程度的伤害。 $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 臭氧条件下, 玉簪叶片只有一层栅栏组织细胞尚清晰可见, 而海绵组织细胞则明显破损。上述结果证明, 臭氧处理会同时诱导玉簪叶片发生栅栏组织和海绵组织的伤害。

2 臭氧对玉簪叶片近轴侧和远轴侧荧光诱导动力学的影响

叶绿素荧光诱导动力学是一种快速无损伤测

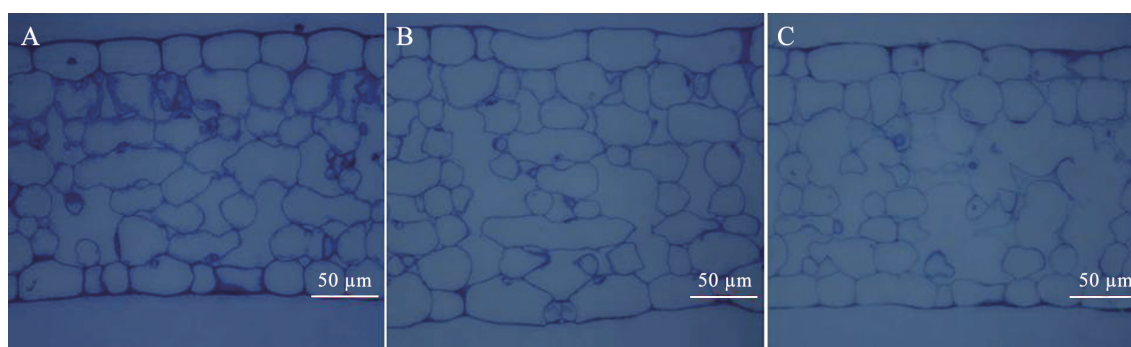


图2 臭氧处理对玉簪叶片结构的影响

Fig.2 Effects of ozone on leaf anatomy of *H. plantaginea* seedlingsA: $O_3 < 20 \mu g \cdot kg^{-1}$ (对照); B: $O_3 200 \mu g \cdot kg^{-1}$; C: $O_3 300 \mu g \cdot kg^{-1}$ 。

定技术, 被广泛应用于检测叶片的光合活性(张守仁1999; 李鹏民等2005; Jiang 等2006; 李志真等2014)。为研究臭氧对叶片近轴侧和远轴侧伤害的差异, 分别测定了玉簪叶片两侧的荧光诱导动力学。结果表明, 臭氧处理导致叶片荧光诱导动力学曲线发生明显改变; 无论是近轴侧还是远轴侧, 随着臭氧处理浓度的增加荧光诱导动力学曲线的K点(300 μs)、J点(2 ms)和I点(30 ms)相对荧光产量均增加(图3、表1)。与近轴侧相比, 远轴侧的K点相对荧光产量增加幅度较小; 而近轴侧和远轴侧J和I点相对荧光产量的增加幅度相似(表1)。这些特征点的变化证明臭氧很可能能够同时影响叶片近轴侧和远轴侧的光合活性。

为更准确的分析臭氧对玉簪叶片近轴侧和远轴侧浅层细胞的伤害, 我们测定了弱脉冲光条件

下的荧光诱导动力学曲线。伴随臭氧浓度增加, K、J和I点的相对荧光产量也随之提高(图4、表2)。计算各特征点的增加幅度, 我们观察到远轴侧K点增幅明显小于近轴侧, 而J和I点的增幅叶片两侧相差较小(表2)。上述结果证明, 臭氧处理确实导致叶片近轴侧和远轴侧同时发生伤害, 光合活性下降。

3 臭氧对气体交换和膜脂伤害的影响

如图5所示, 伴随臭氧浓度增加, 光合速率、气孔导度和叶绿素含量均大幅下降。玉簪在200 $\mu g \cdot kg^{-1}$ 臭氧处理条件下光合速率和气孔导度下降30%~40%, 而300 $\mu g \cdot kg^{-1}$ 臭氧处理则导致光合速率和气孔导度分别降低50%以上(图5-A、B)。同时, 我们也注意到对照条件下玉簪叶绿素含量较高, 随着臭氧处理浓度增加叶绿素含量下降, 300

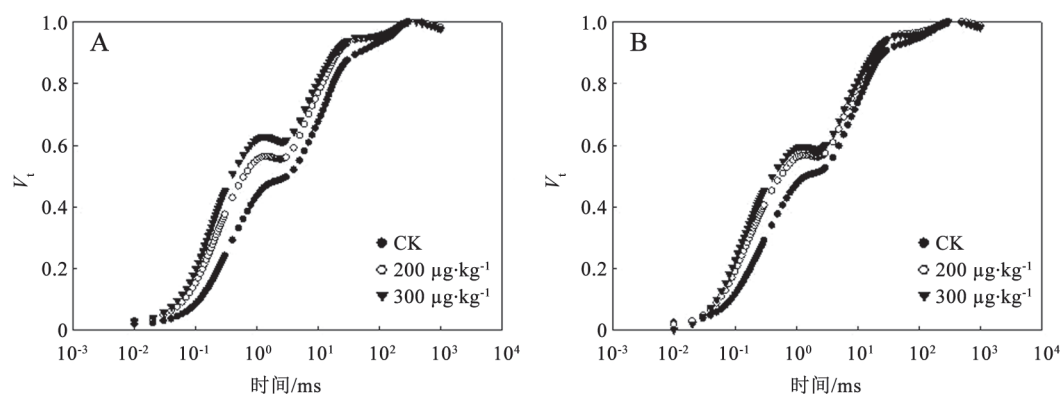


图3 臭氧处理对玉簪叶片近轴侧(A)和远轴侧(B)荧光诱导动力学的影响

Fig.3 Effects of ozone on the polyphasic rise of fluorescence transient in leaf adaxial side (A) and abaxial side (B) of *H. plantaginea* seedlings在3 000 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 脉冲红光条件下测定。

表1 臭氧处理对玉簪叶片荧光诱导动力学曲线各特征参数的影响

Table 1 Effects of ozone on the paramters of fluorecence transient in leaves of *H. plantaginea* seedlings

O ₃ 浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	V_k		V_j		V_i	
	近轴侧	远轴侧	近轴侧	远轴侧	近轴侧	远轴侧
<20 (对照)	0.241±0.011	0.291±0.013	0.482±0.025	0.509±0.023	0.875±0.039	0.907±0.037
200	0.375±0.024	0.405±0.023	0.556±0.031	0.562±0.028	0.931±0.042	0.941±0.041
300	0.452±0.029	0.454±0.031	0.617±0.034	0.589±0.033	0.939±0.047	0.942±0.045

在3 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 脉冲红光条件下测定。

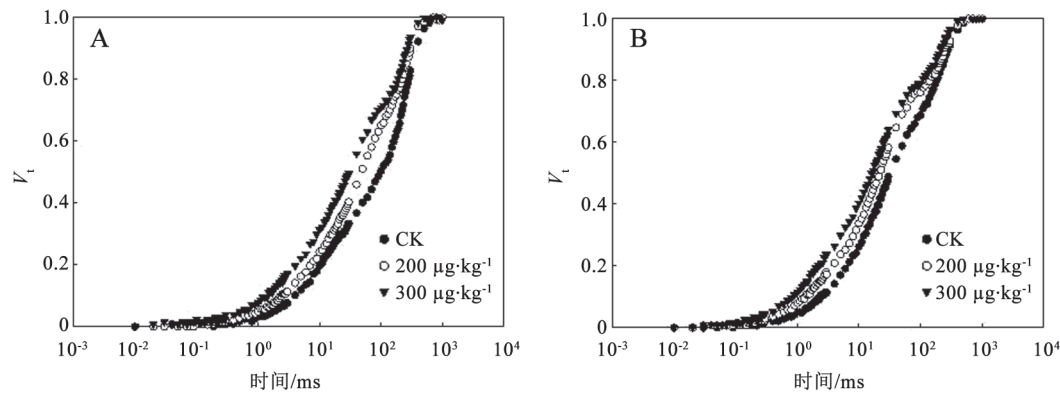


图4 臭氧处理对玉簪叶片近轴侧(A)和远轴侧(B)荧光诱导动力学曲线的影响

Fig.4 Effects of ozone on the polyphasic rise of fluorescence transient in leaf adaxial side (A) and abaxial side (B) of

H. plantaginea seedlings

在100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 脉冲红光条件下测定。

表2 臭氧处理对玉簪叶片荧光诱导动力学曲线各特征参数的影响

Table 2 Effects of ozone on the paramters of fluorecence transient in leaves of *H. plantaginea* seedlings

O ₃ 浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	V_k		V_j		V_i	
	近轴侧	远轴侧	近轴侧	远轴侧	近轴侧	远轴侧
<20 (对照)	0.0085±0.0005	0.0213±0.0003	0.0598±0.0035	0.0851±0.0032	0.333±0.013	0.489±0.017
200	0.0213±0.0009	0.0288±0.0007	0.0851±0.0044	0.1370±0.0043	0.404±0.018	0.583±0.022
300	0.0394±0.0012	0.0439±0.0011	0.1340±0.0049	0.1930±0.0047	0.496±0.024	0.640±0.035

在100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 脉冲红光条件下测定。

$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 臭氧处理时玉簪叶片的叶绿素含量降低幅度最大(图5-C)。但是, 计算光合速率与叶绿素含量之比(P_n/Chl), 我们发现臭氧处理浓度未明显影响该比值(图5-D)。

此外, 我们还注意到在200和300 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 臭氧浓度处理条件下相对电导率迅速提高, 分别较对照高约1.3倍和2倍; 而丙二醛含量也大幅提高, 分别是对照的2倍和4倍左右(图6)。表明高浓度臭氧处理下, 叶片组织和细胞受到伤害, 膜脂过氧化程度也提高。

讨 论

1 臭氧对叶片近轴侧和远轴侧伤害的比较

臭氧是一种强氧化剂, 能够与活体细胞的很多组分发生氧化反应, 从而伤害植物叶片(Gravano等2003; 许宏等2007; Mastyssek等2010; 张巍巍2011)。本研究中, 随臭氧浓度增加玉簪叶片相对电导率和膜脂过氧化程度均大幅增加(图5、6), 证明臭氧确实导致叶片发生了氧化伤害。从形态上看, 叶片近轴侧和远轴侧均出现棕色的伤害斑(图

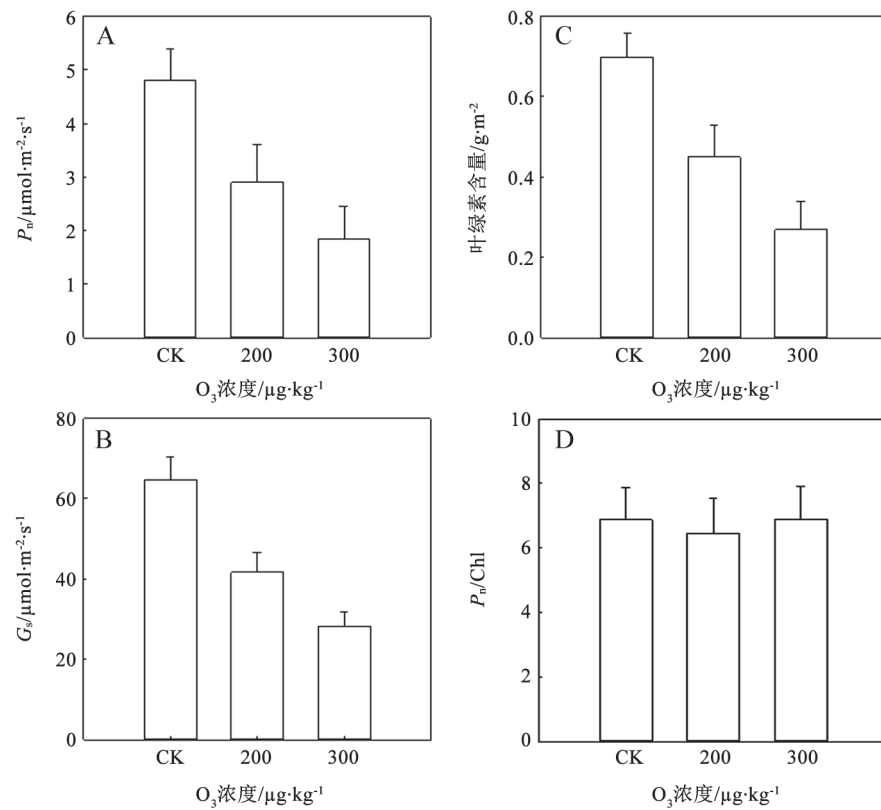


图5 臭氧处理对玉簪叶片光合速率(A)、气孔导度(B)、叶绿素含量(C)以及光合速率与叶绿素含量之比(D)的影响
Fig.5 Effects of ozone on photosynthetic rate (P_n) (A), stomatal conductance (G_s) (B), chlorophyll content (C) and ratio of photosynthetic rate to chlorophyll content (P_n/Chl) (D) in leaves of *H. plantaginea* seedlings

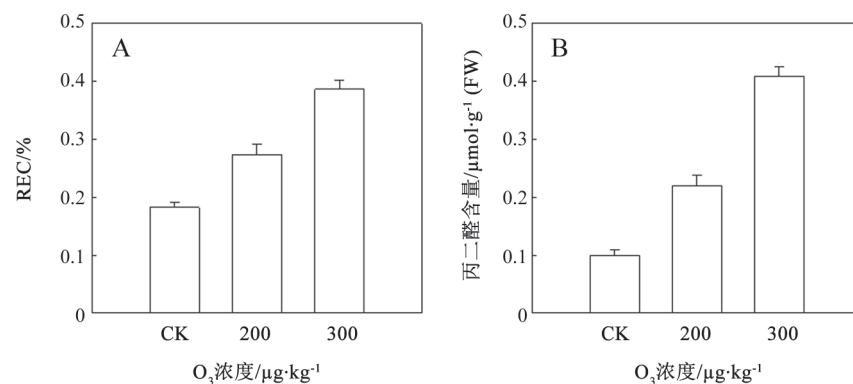


图6 臭氧对玉簪叶片相对电导率(A)和丙二醛含量(B)的影响
Fig.6 Effects of ozone on relative electric conductivity (REC) (A) and content of malonaldehyde (MDA) (B) in leaves of *H. plantaginea* seedlings

1); 显微结构的数据表明叶片近轴侧的栅栏组织和远轴侧的海绵组织也受到破坏(图2)。因此, 臭氧对叶片的伤害不仅仅发生在近轴侧, 也同样发生在远轴侧。

尽管形态结构能够一定程度上证明臭氧处理

条件下玉簪叶片两侧均会受到伤害, 但缺少生理学的证据。众所周知, 叶片叶绿素主要吸收红光和蓝光。当使用红光作为激发光测定荧光诱导动力学曲线时, 红光主要被浅层细胞的叶绿素所吸收, 因此这些细胞释放的荧光能够较好的反映叶

片浅层细胞的光合电子传递活性。长期以来,这一理念被广泛应用在荧光测定中。使用强脉冲红光测定叶片两侧的荧光诱导动力学曲线时,臭氧导致荧光诱导动力学曲线发生明显改变(图3),证明臭氧同时伤害了叶片近轴侧和远轴侧细胞的光合机构。但是,也有研究证明强脉冲红光也可能激发较深层次的叶肉组织释放荧光,所以强脉冲红光条件下荧光反映的并不完全是浅层细胞或组织的光合电子传递活性(Hsu等2003)。为排除这一因素,我们使用弱脉冲红光测定荧光诱导动力学曲线,从而尽可能仅激发叶片浅层细胞释放荧光。弱脉冲光下,臭氧处理导致的荧光诱导动力学曲线变化与饱和脉冲光下的测定结果有相似的规律,叶片两侧K、J和I点的相对荧光产量提高(图3、4,表1、2),再次证明臭氧同时伤害了叶片近轴侧和远轴侧的叶肉组织或细胞。与远轴侧相比,在两种荧光测定条件下臭氧诱导的近轴侧K点相对荧光产量增加幅度更大。因为K点荧光产量的增加表明放氧复合物(OEC)的失活(李鹏民等2005;李志真等2014),所以推测尽管臭氧能够导致叶片两侧叶肉组织的OEC失活,但近轴侧PSII供体侧可能失活更加严重。J和I点荧光产量的增加说明PSII受体侧及后面的电子传递受阻(李鹏民等2005;李志真等2014),所以臭氧不仅仅导致供体侧的伤害,而且还阻断了受体侧电子传递。只是在两种测定条件下叶片近轴侧和远轴侧荧光诱导动力学曲线的J和I点荧光增加的幅度相似,所以两者受体侧的伤害程度的差异可能较小。因此,荧光的数据也证明玉簪叶片近轴侧和远轴侧均会受臭氧伤害。

不过,对于很多植物而言,最初的叶片伤害症状确实发生在近轴侧。我们的数据也表明,玉簪在 $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 臭氧处理下伤害的表观症状也主要在近轴侧,远轴侧相对较少;不过,在臭氧浓度增加至 $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时伤害的表观症状在叶片两侧均清晰可见(图1)。众所周知,光合作用主要在栅栏组织中进行,叶绿素也主要位于栅栏组织。实际上,伴随臭氧处理叶片叶绿素含量迅速下降,而栅栏组织细胞的叶绿素含量要远远高于海绵组织,所以叶片近轴侧表观伤害症状明显可能与其该侧栅栏组织的叶绿素含量下降程度较大有关。

本研究中,玉簪叶片的气孔仅分布于远轴侧,

而近轴侧没有气孔分布(图2)。所以,臭氧首先需要通过远轴侧的气孔进入叶片,此后才能够对叶肉细胞进行氧化伤害。因为海绵组织位于远轴侧,距离气孔近;而栅栏组织位于叶片近轴侧,距离气孔较远,所以从结构上看臭氧处理条件下叶片远轴侧海绵组织不可避免的会受到伤害。对于其他一些植物而言,叶片(包括异面叶)两侧均有气孔分布。一般情况下,远轴侧气孔数量较多、密度大,在叶片光合作用的气体交换中起到非常重要的作用(Soars等2009;吴冰洁等2015)。所以,臭氧处理条件下伤害叶片组织和细胞的臭氧可能主要来自远轴侧气孔。然而,对于叶片两侧均有气孔的植物来说,臭氧也可以由近轴侧气孔进入叶片内,而栅栏组织主要位于近轴侧,所以这可能是前人研究中臭氧导致近轴侧栅栏组织受到伤害较重的一个原因。很可能,臭氧对叶肉细胞的伤害并没有严格的选择性,而是与叶片的气孔分布有关。

2 光合速率降低的原因分析

叶片形态结构和荧光诱导动力学曲线的数据证明玉簪叶片两侧均发生了明显的伤害,且叶肉细胞膜脂过氧化程度加剧,电解质外渗,所以臭氧条件下叶片光合能力下降。但是,光合速率与叶绿素含量的比值没有发生明显变化,因此,推测玉簪叶片碳同化能力的下降与叶绿素含量降低及其导致的光能捕获减少无关,叶绿素含量降低只是一个伴随过程。很可能,叶片结构伤害和光合电子传递活性下降等才是光合速率降低的重要原因。

综上,我们认为臭氧同时伤害玉簪叶片近轴侧和远轴侧叶肉组织,且这种伤害涉及光系统II放氧复合物和受体侧电子传递。

参考文献

- 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学报, 31 (6): 559-566
- 李志真,刘东焕,赵世伟,姜闯道,石雷(2014). 环境强光诱导玉簪光抑制的机制. 植物生态学报, 38 (7): 720-728
- 漏漏佳,朱彬,廖宏(2010). 中国地区臭氧前体物对地面臭氧的影响. 大气科学学报, 33: 451-459
- 吴冰洁,刘玉军,姜闯道,石雷(2015). 叶片生长进程中气孔发育对叶温调节的影响. 植物生理学报, 51 (1): 119-126
- 许宏,杨景成,陈圣宾,蒋高明,李永庚(2007). 植物的臭氧污染胁迫效应研究进展. 植物生态学报, 31: 1205-1213

- 殷永泉, 单文坡, 纪霞, 由丽娜, 苏元成(2006). 济南市近地面臭氧浓度变化特征. 环境科学与技术, 29: 49~51
- 张守仁(1999). 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论. 植物学通报, 16 (4): 444~448
- 张巍巍(2011). 近地层O₃浓度升高对我国亚热带典型树种的影响 [博士论文]. 北京: 中国科学院生态环境研究中心
- Arnon DI (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol, 24 (1): 1~15
- Campos PS, Pham Thi TA (1997). Effect of abscisic acid pretreatment on membrane leakage and lipid composition of *Vigna unguiculata* leaf discs subjected to osmotic stress. Plant Sci, 130: 11~18
- Gravano E, Giulietti V, Desotgiu R, Bussotti F, Grossoni P, Gerosa G, Tani C (2003). Foliar response of an *Alianthus altissima* clone in two sites with different levels of ozone-pollution. Environ Pollut, 121: 137~145
- Health RL, Packer L (1986). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem Biophys, 125: 189~198
- Hsu BD, Leu KL (2003). A possible origin of the middle phase of polyphasic chlorophyll fluorescence transient. Funct Plant Biol, 30: 571~576
- Jiang CD, Jiang GM, Wang X, Li LH, Biswas DK, Li YG (2006). Increased photosynthetic activities and thermostability of photosystem II with leaf development of elm seedlings (*Ulmus pumila*) probed by the fast fluorescence rise OJIP. Environ Exp Bot, 58: 261~268
- Liu DH, Zhao SW (2013). The impacts of light levels on growth and ornamental characteristics of *Hosta*. Acta Hort, 977: 183~188
- Matyssek R, Wieser G, Ceulemans R, Rennenberg H, Pretzsch H, Haberer K, Löw M, Nunn AJ, Werner H, Wipfler P et al (2010). Enhanced ozone strongly reduces carbon sink strength of adult beech (*Fagus sylvatica*) – Resume from the free-air fumigation study at Kranzberg Forest. Environ Pollut, 158: 2527~2532
- Sitch S, Cox PM, Collins WJ, Huntingford C (2007). Indirect radiative forcing of climate change through ozone effects on the land-carbon sink. Nature, 448: 791~794
- Soares AS, Driscoll SP, Pellny TK, Olmos E, Arrabaca MC, Foyer CH (2009). Variations in the dorsoventral organization of leaf structure and Kranz anatomy coordinate the control of photosynthesis and associated signaling at the whole leaf level in monocotyledonous species. Plant Cell Environ, 32: 1833~1844
- Strasser RJ, Tsimill-Michael M, Srivastava A (2004). Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou G, Govindjee (eds). Advances in Photosynthesis and Respiration. Netherlands: KAP Press, 12: 1~47
- Zeng G, Pyle JA (2008). Influence of El Niño Southern Oscillation on stratosphere/troposphere exchange and the global tropospheric ozone budget. Geophysical Res Lett, 32: 1814