

# 中国科学院研究生院

## 博士学位论文

臭氧浓度升高与氮沉降对香樟幼苗生长及生理特性的影响

作者姓名: 牛俊峰

指导教师: 王效科 研究员 中国科学院生态环境研究中心

冯兆忠 副研究员 中国科学院生态环境研究中心

学位类别: 理学博士

学科专业: 生态学

培养单位: 中国科学院生态环境研究中心

二零一二年五月



**Effects of elevated ozone and nitrogen deposition on the growth and  
physiology of *Cinnamomum camphora* seedlings**

**By  
Junfeng Niu**

**A Dissertation Submitted to  
Graduate University of Chinese Academy of Sciences  
In partial fulfillment of the requirement  
For the degree of  
Doctor of Natural Science**

**Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of  
Sciences**

**May, 2012**



## 独创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：\_\_\_\_\_

日期：\_\_\_\_\_

## 关于论文使用授权的说明

本人完全了解中国科学院生态环境研究中心有关保留、使用学位论文的规定，即：中国科学院生态环境研究中心有权保留送交论文及复印件，允许论文被查阅和借阅；可以公布论文的全部或部分内容，可以采用复制或其他手段保存论文。

**（保密的论文在解密后应遵守此规定）**

签名：\_\_\_\_\_ 导师签名：\_\_\_\_\_ 日期：\_\_\_\_\_



本文得到国家自然科学基金青年科学基金项目（30700086）“大气臭氧浓度升高对我国亚热带城市绿化树种水杉和香樟碳代谢的影响机制”、浙江天童森林生态系统国家野外科学观测研究站开放课题（XT200707）“中国亚热带树种对近地层臭氧的敏感性响应机制”、国家自然科学基金面上项目（31170424）“干旱胁迫下的城市林木生长和水分利用对臭氧污染的响应机制研究”等项目资助。





## 致 谢

五年的研究生生活即将结束，一路走来，有艰辛，有喜悦，有迷惘，有充实，回首昨日点点滴滴，更多的是感恩与留恋，生态中心这些年的学习经历将成为我人生中最珍贵的回忆，感谢师长们的谆谆教诲，感谢朋友们的无私帮助，感谢家人的大力支持，谢谢你们！

衷心感谢三位导师在学业上的悉心指导与言传身教。冯宗炜院士精深渊博、高山仰止的学问修养是我不断前行的精神标杆；王效科研究员低调严谨、孜孜不倦的科学作风为我树立了学者典范；冯兆忠副研究员务实进取、不懈拼搏的优良品质将使我受用终生。从论文选题、实验设计，到内容确定、方法探索，再到数据分析、论文写作，每一步都凝聚了三位老师大量的汗水与心血；从高屋建瓴的思路点拨，到一丝不苟的操作规范，再到精益求精的论文修改，无不体现着三位老师的睿智与真知；冯先生的淡定从容、王老师的和蔼豁达、冯老师的热心坦诚都将是毕生用之不竭的精神财富。感谢三位老师，感谢这些年给予我学习、生活上无微不至的关怀与照顾，感谢你们潜移默化的人格教化与精神塑造！

衷心感谢城市与区域生态国家重点实验室欧阳志云研究员、苗鸿研究员、郑华副研究员、徐卫华副研究员、肖焱副研究员、任玉芬助理研究员、逯非助理研究员、王天然老师在学习上给予的无私帮助！感谢北京城市生态站宋文质老师在实验平台搭建、维护等方面的鼎力相助，感谢张红星老师在树干液流设备连接过程中的帮忙和生活上给予我的关照！感谢实验室王巧环老师、付慧敏老师在实验操作过程中的耐心指导！感谢教务处曹青老师、杜向荣老师、冯娟老师在生活上的细心关照！

衷心感谢华东师范大学王希华老师、姚芳芳老师、郑泽梅老师、杨海波老师在实验地提供及气象数据共享方面给予的协调与帮助！感谢天童林场王良衍场长在树苗购置、栽培管理、地方劳务协调等方面的大力帮助！感谢天童森林生态系统野外观测研究站工作人员王波、王阿昌在生活上的照顾！

特别感谢城市与区域生态国家重点实验室一起奋斗的兄弟姐妹们，感谢张巍巍师姐、郑飞翔师兄、佟磊师兄给予的帮助和支持！感谢王芸、周小平、赵娟娟、张晋东、王淑芳、侯培强、罗云建、陈法霖、万五星、李小马、张千千、李丽、江波、修晨、张凯、张路、孙滨峰、赵红、杨乐、王丹寅、刘涛、郑鹏、仇江啸、肖洋、王娇、杨绍顺、吴燕、高虹、陈帅、李屹峰、饶恩明、方瑜、刘倩楠、戚洁、刘纲、成程、栾雪菲、贺成武等同学的关

心和帮助！感谢华东师范大学王达力、丁慧明、陈静静、赵蕾等同学的帮忙，感谢一起走过的美好时光！

最后感谢我的家人，感谢你们的默默付出与支持，谢谢！

作者：牛俊峰

2012年05月

## 摘要

近地层臭氧 ( $O_3$ ) 浓度的不断升高与大气氮 (N) 沉降水平的迅速加剧严重威胁着全球森林生态系统的稳定性和健康发展。过去几十年来, 分别针对  $O_3$  浓度升高、大气 N 沉降的树木胁迫效应开展了大量的研究。然而, 对于两种污染的复合效应目前很少展开探讨。另一方面, 就考察对象而言, 之前关于树木  $O_3$  胁迫效应的研究通常以暖温带落叶阔叶、针叶树种, 以及地中海常绿硬叶树种为主要对象, 很少涉及亚热带典型常绿树种。N 氧化物 ( $NO_2$ ) 既是近地层  $O_3$  浓度升高的主要前体化合物, 也是大气 N 沉降的重要来源,  $O_3$  浓度升高与 N 沉降两种污染通常具有并发性。本研究采用自制开顶气室, 人工模拟大气 N 沉降条件, 以一年生幼苗为实验对象, 考察了 2009、2010 年两个生长季我国亚热带典型常绿树种香樟的  $O_3$  胁迫效应, 从叶片表观症状、叶形态、叶片光合色素、抗性生理、叶元素含量、光合碳同化、荧光、暗呼吸、树干液流、整树生长、生物量积累分配等多个方面阐述了香樟幼苗的污染胁迫响应特征。旨在: 1) 阐明我国亚热带地区典型常绿树种香樟的  $O_3$  胁迫敏感性; 2) 探讨 N 沉降对香樟  $O_3$  胁迫响应特征的影响; 3) 为全球变化背景下, 我国亚热带地区典型常绿阔叶树种的有效保护提供基础数据和科学参考。研究表明:

$O_3$  胁迫下, 香樟幼苗叶片出现褪绿、萎黄、色斑等症状; 叶片显著变小且趋于变薄; 叶片光合色素含量、N 元素含量显著降低; 膜脂过氧化程度显著加剧, 还原型抗坏血酸含量及总抗氧化能力显著升高; 叶片光合速率、气孔导度显著下降; 荧光参数受到显著抑制、呼吸增强、树干液流趋于增大; 植株生长受到显著抑制; 生物量积累显著减少, 且地上部分生物量分配比例显著高于地下部分, 幼苗根冠比值显著减小。

N 施加条件下症状叶片占总叶片数的比例趋于下降; 叶片显著变小, 比叶面积变小; 叶片光合色素含量、N 元素含量显著升高; 叶片丙二醛含量未发生显著改变, N 素施加不能有效阻止  $O_3$  胁迫导致的叶片膜脂过氧化; 叶片抗坏血酸含量、总抗氧化能力未受 N 素施加影响; 光合速率、气孔导度及荧光参数在施 N 条件下显著增大; 2009 年 N 施加导致香樟叶片光合最大羧化速率、最大电子传递速率显著增大, 而 2010 年两者均不受 N 素施加影响; N 素施加对香樟幼苗株高、基径生长具有显著促进作用; 植株生物量积累显著增加, 根冠比显著降低。

本研究中,  $O_3$  与 N 处理的交互效应主要体现在对香樟叶片还原型抗坏血酸含量及特定观测阶段叶片色素含量、光合、荧光参数影响等方面。一方面 N 施加为  $O_3$  胁迫下香樟叶

片还原型抗坏血酸的合成提供了必要营养支持；另一方面 N 施加条件下，O<sub>3</sub> 胁迫导致的香樟叶片光合色素含量下降幅度较对照 N 水平大；而对光合、荧光参数的影响方面，O<sub>3</sub> 与 N 的交互作用不存在固定模式。然而，综合考虑实验期内多次测量，特别是从植物生长、生物量积累、分配等方面来看，N 施加并未显著改变香樟幼苗的 O<sub>3</sub> 胁迫效应。

关键词：臭氧；氮沉降；香樟；氧化抗性；光合碳同化；暗呼吸；生物量

## Abstract

Elevated tropospheric ozone ( $O_3$ ) and enhanced atmospheric nitrogen (N) deposition exert great pressure on the stability and health of global forest ecosystems. Respective effects of elevated  $O_3$  and enhanced N have been studied thoroughly during the past couple of decades. However, little information is available concerning their combined effects on the growth and physiology of forest trees. Besides, most previous studies have focused on the temperate deciduous broadleaved trees, needle trees and the Mediterranean sclerophyllous trees, yet few studies have involved the subtropical evergreen trees. Considering the fact that nitrogen oxides ( $NO_x$ ) are both the forming precursors of  $O_3$  and the important source for N deposition, and these two pollutants usually co-occur, it is necessary to explore their effects simultaneously. In the present study,  $O_3$  effects on *Cinnamomum camphora*, a native evergreen tree species widely distributed in subtropical region, were investigated under elevated N loads in open top chambers (OTCs). The experiment lasted for two years and one-year-old seedlings were adopted. Visible foliar symptom and leaf morphology were examined; leaf chlorophyll concentration, antioxidant capacity and element contents including N, C and S were assayed;  $CO_2$  exchange, fluorescence parameters and dark respiration rate were analyzed; sap flow, growth, biomass accumulation and partitioning between shoot and root were measured. The aims of this study were: 1) to clarify the  $O_3$  sensitivity of *C. camphora* 2) to study the impact of enhanced N on the responses of *C. camphora* to  $O_3$  3) to provide basic data and scientific reference for the effective protection of the typical evergreen trees in subtropical china under the global change backgrounds, and the main results were detailed as follows.

$O_3$  induced visible foliar symptoms such as chlorotic bleaching and brown stipples in the upper surface of *C. camphora* leaves, which became significantly smaller and tended to be thinner under  $O_3$  stress. Chlorophyll concentrations and element contents were also significantly reduced by  $O_3$ ; membrane lipid peroxidation was more prominent and the ascorbic acid concentration as well as the antioxidant capacity was significantly boosted in the cytoplasm under elevated  $O_3$ . Net photosynthetic rates, stomatal conductance and chlorophyll a fluorescence were significantly decreased, but dark respiration rate was significantly increased, yet sap flow tended to be higher under  $O_3$  stress. Seedling growth was significantly inhibited, biomass accumulation was notably depressed and the root/shoot ratios were also significantly reduced by  $O_3$ .

Enhanced N tended to protect *C. camphora* leaves from developing O<sub>3</sub>-induced symptoms. Leaves were significantly smaller, but thicker due to N fertilization; foliar chlorophyll and N concentration were also increased by enhanced N. However, N enrichment did not alleviate the membrane lipid peroxidation process and the cytoplasm antioxidant capacity remained constant. Net photosynthetic rates, stomatal conductance and chlorophyll a fluorescence were significantly increased by N, and so were the maximum rates of carboxylation and electron transport in the 2009 growing season. Seedling growth was significantly promoted, and biomass accumulation was also increased, yet root/shoot ratios were significantly decreased by the N enhancement.

Significant interactions between O<sub>3</sub> and N were detected on the reduced ascorbic acid content. There also exist treatment interactions on the chlorophyll concentration, photosynthetic and fluorescence parameters, yet only in particular measurements. On the one hand, N supply is necessary for the biosynthesis of ascorbic acid in the cytoplasm; on the other hand, O<sub>3</sub> reduced leaf chlorophyll concentration more sharply under enhanced N; yet, no specific pattern can be drawn concerning the N impact on the O<sub>3</sub> effects on photosynthetic and fluorescence parameters. However, considering the multiple measurements all in all, and especially from the perspective of seedling growth and biomass accumulation, N fertilization can hardly be stated as have modified the responses of *C. camphora* to elevated O<sub>3</sub>.

**Keywords:** ozone; nitrogen deposition; *Cinnamomum camphora*; the antioxidant capacity; photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation; dark respiration; biomass

目 录

致 谢.....	I
摘 要.....	III
Abstract .....	V
目 录.....	I
表 目 录.....	V
图 目 录.....	VII
引 言.....	1
第一章 研究概况.....	3
1.1 O <sub>3</sub> 污染现状.....	3
1.1.1 平流层 O <sub>3</sub> 的形成.....	3
1.1.2 近地层 O <sub>3</sub> 污染形成.....	3
1.1.3 近地层 O <sub>3</sub> 染分布及变化趋势.....	4
1.1.4 近地层 O <sub>3</sub> 染危害.....	6
1.2 O <sub>3</sub> 胁迫主要研究方法.....	9
1.2.1 研究手段.....	9
1.2.1.1 野外观测.....	9
1.2.1.2 密闭气箱.....	9
1.2.1.3 开顶气室.....	10
1.2.1.4 开放大气浓度增高系统.....	11
1.2.2 胁迫指标.....	11
1.2.2.1 O <sub>3</sub> 平均浓度与瞬时极值.....	11
1.2.2.2 O <sub>3</sub> 暴露强度.....	12
1.2.2.3 O <sub>3</sub> 吸收剂量.....	13
1.2.3 污染控制标准.....	15
1.3 O <sub>3</sub> 浓度升高对树木的影响.....	15
1.3.1 叶片症状及叶形态.....	15
1.3.2 生理生化.....	16
1.3.3 光合呼吸.....	18
1.3.4 生长及生物量分配.....	19

1.4 N 沉降现状.....	20
1.4.1 N 沉降概念.....	20
1.4.2 N 沉降现状及趋势.....	21
1.4.3 N 沉降的生态学效应.....	22
1.5 N 沉降条件下 O <sub>3</sub> 浓度升高对树木影响的研究.....	23
1.6 研究展望.....	23
第二章 材料与amp;方法.....	25
2.1 实验地点.....	25
2.2 实验设计.....	26
2.2.1 开顶气室.....	26
2.2.2 实验材料.....	28
2.2.3 实验处理.....	29
2.3 实验内容及方法.....	30
2.3.1 O <sub>3</sub> 浓度及气象数据监测.....	30
2.3.2 叶片伤害症状及叶形态.....	30
2.3.3 叶绿素与叶片抗性生理.....	31
2.3.4 叶片元素含量分析.....	32
2.3.5 光合与荧光参数.....	33
2.3.6 树干液流.....	33
2.3.7 整株呼吸.....	34
2.3.8 生长参数.....	35
2.3.9 生物量累积与分配.....	35
2.4 数据分析.....	35
第三章 叶片症状与植株生长.....	37
3.1 叶片伤害症状.....	37
3.2 比叶面积.....	38
3.3 叶片大小.....	40
3.4 植株生长.....	40
3.5 生物量积累与分配.....	44
3.6 小结与amp;讨论.....	49



第四章 生理生化指标.....	53
4.1 光合色素.....	53
4.2 膜脂过氧化.....	54
4.3 抗坏血酸.....	54
4.4 总抗氧化能力.....	58
4.5 元素含量.....	58
4.6 小结与讨论.....	60
第五章 气体交换与荧光参数.....	63
5.1 2009 年瞬时光合.....	63
5.2 2010 年瞬时光合.....	64
5.3 不同叶位叶片瞬时光合.....	70
5.4 A-C <sub>i</sub> 曲线.....	70
5.5 光照条件下荧光参数.....	73
5.6 潜在光化学效率.....	73
5.7 小结与讨论.....	76
第六章 植株呼吸与树干液流.....	83
6.1 植株呼吸.....	83
6.2 树干液流.....	83
6.3 小结与讨论.....	85
第七章 主要结论.....	87
参考文献.....	91
作者简介及在学期间发表的学术论文与研究成果.....	115



## 表 目 录

表 2-1 实验期间 O <sub>3</sub> 暴露强度.....	30
表 3-1 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗生长参数影响多元统计显著性.....	41
表 3-2 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗生长参数影响显著性.....	43
表 3-3 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗生长参数影响多重比较分析.....	46
表 3-4 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗生物量影响显著性.....	47
表 3-5 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗生物量影响多重比较分析.....	48
表 5-1 2009 年 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光合参数影响显著性.....	66
表 5-2 2010 年 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光合参数影响显著性.....	67
表 5-3 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗不同叶位叶片光合参数影响显著性.....	71
表 5-4 2009 年 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光照荧光参数影响显著性.....	75
表 5-5 2010 年 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光照荧光参数影响显著性.....	75



## 图 目 录

图 1-1 植物体内抗坏血酸-谷胱甘肽循环示意图 .....	18
图 2-1 2010 年实验期间日降水量与太阳辐射强度.....	26
图 2-2 2010 年实验期间土壤含水量与空气温湿度.....	28
图 3-1 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗症状叶片比例的影响.....	37
图 3-2 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗比叶面积的影响.....	39
图 3-3 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗叶片大小的影响.....	40
图 3-4 不同 O <sub>3</sub> 处理下香樟幼苗生长参数动态变异特征.....	42
图 3-5 不同 N 处理下香樟幼苗生长参数动态变异特征.....	44
图 4-1 O <sub>3</sub> 处理对香樟幼苗叶片光合色素含量影响.....	55
图 4-2 N 处理对香樟幼苗叶片光合色素含量影响.....	56
图 4-3 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗叶片膜脂过氧化的影响.....	57
图 4-4 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗叶片抗坏血酸含量影响.....	57
图 4-5 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗叶片总抗氧化能力影响.....	58
图 4-6 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗叶元素含量影响.....	59
图 5-1 2009 年 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光合与气孔导度影响多重比较分析.....	64
图 5-2 2009 年 O <sub>3</sub> 与 N 处理对胞间 CO <sub>2</sub> 浓度及水分利用效率影响多重比较分析 .....	65
图 5-3 2010 年生长季中期 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光合参数影响多重比较分析.....	68
图 5-4 2010 年生长季末期 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光合参数影响多重比较分析.....	69
图 5-5 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗不同叶位叶片光合参数影响多重比较分析.....	72
图 5-6 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗最大羧化速率与最大电子传递速率的影响.....	74
图 5-7 2009 年 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光照荧光参数影响多重比较分析.....	76
图 5-8 2010 年 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光照荧光参数影响多重比较分析.....	77
图 5-9 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗潜在光化学效率的影响.....	78
图 5-10 光合参数因子分析主成份载荷示意图.....	79
图 5-11 光合速率对气孔因子与非气孔因子的线性回归.....	80
图 6-1 O <sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗植株呼吸速率的影响.....	83
图 6-2 不同 O <sub>3</sub> 处理下香樟树幼苗干液流动态变化特征.....	84

图 6-3 不同 O<sub>3</sub> 处理下香樟幼苗树干液动态变化与环境因子的关系..... 85

## 引言

大气平流层中的微量臭氧 ( $O_3$ ) 可以有效吸收太阳辐射中对地表生物具有潜在危害的紫外 B 波 (285-315 nm), 在保护地球生命过程中扮演着重要角色。然而, 高浓度的近地表  $O_3$  却是大气光化学污染物的主要成分, 伴随着近现代工业技术的兴起, 化石燃料的过度燃烧、汽车尾气、建筑印刷等行业的高速发展将越来越多的 N 氧化物 ( $NO_x$ )、挥发性有机化合物 (VOC) 排放到大气环境中, 这些化合物在强光照射、高温等条件下发生反应形成  $O_3$  (Ryerson *et al.*, 2001)。工业革命以来的 100 多年中, 近地层  $O_3$  浓度平均上升了 36% (IPCC, 2007), 并仍在以每年 0.5-2.0% 的速率增加 (Vingarzan, 2004)。目前, 全球近 1/4 的国家和地区面临着夏季对流层 60 ppb 以上的  $O_3$  威胁 (Solomon, 2007)。报道显示: 虽然近十年来北美、欧洲等地区地表  $O_3$  浓度趋于持平甚至有所下降 (Fowler *et al.*, 2008), 但以东南亚、非洲为代表的后起工业化地区  $O_3$  浓度将持续上升, 对该区及全球生态安全构成严重威胁。与此同时, 全球氮 (N) 沉降水平在 0-40  $kg\ ha^{-1}\ year^{-1}$  之间, 东南亚地区平均 N 沉降水平为 22  $kg\ ha^{-1}\ year^{-1}$ , 最大沉降值超过 50  $kg\ ha^{-1}\ year^{-1}$  (Kohno *et al.*, 2005), 高于 10-20  $kg\ ha^{-1}\ year^{-1}$  的森林生态系统 N 承载阈值 (Fisher *et al.*, 2007)。

$O_3$  主要通过气孔进入植物体内 (Long and Naidu, 2002), 并与叶片内氧化还原系统发生反应生成超氧阴离子自由基 ( $O_2^{\cdot-}$ )、羟自由基 ( $OH^{\cdot}$ )、过氧化物自由基 ( $ROO^{\cdot}$ ) 以及过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 等一系列活性分子 (Fiscus *et al.*, 2005)。这些活性分子进一步启动或介导下游氧化裂解 (Oxidative burst) (Wilkinson *et al.*, 2011), 引起细胞膜质过氧化 (金明红等, 2000)、叶绿素降解 (张巍巍等, 2011)、叶片褪绿、衰老及提前脱落 (Gerosa *et al.*, 2008), 并导致植物气孔调节机制钝化 (Paoletti and Grulke, 2010)、光合速率降低 (Reich and Amundson, 1985)、生物量积累下降且在根冠之间分配比例失衡 (Thomas *et al.*, 2006) 等。另一方面, 适宜水平的 N 素补给可以为植物生长提供必要营养, 促进植物生长; 然而, 过度 N 输入可能导致地表土壤酸化 (Liu *et al.*, 2011)、植物营养失衡 (Wang *et al.*, 2011)、植物抵抗病虫害胁迫耐性降低 (Handley and Grulke, 2008)、生态系统生物多样性丧失 (Maskell *et al.*, 2010) 等。

现有文献中关于树木的  $O_3$  胁迫效应研究主要集中于暖温带落叶树种如黑杨 (*Populus nigra*)、欧洲山毛榉 (*Fagus sylvatica*)、美洲白橡 (*Quercus alba*), 针叶树种如火炬松 (*Pinus taeda*) 以及地中海常绿硬叶树种如冬青栎 (*Quercus ilex*) 等树种中 (Bortier *et al.*, 2000;

Walker and McLaughlin, 2001; Calatayud *et al.*, 2010) 等。大量试验研究表明：不同树种抵抗O<sub>3</sub>胁迫的能力存在差异，被子植物较裸子植物更为敏感 (Wittig *et al.*, 2009)；地中海常绿树种较落叶、针叶树种耐性更强 (Nali *et al.*, 2004)。我国学者先后利用开顶气室 (Open top chambers, OTC) 研究了O<sub>3</sub>胁迫下银杏 (*Ginkgo biloba*)、油松 (*Pinus tabulaeformis*)、蒙古栎 (*Quercus mongolica*) 等树种的光合生长、抗性生理等特征 (He *et al.*, 2007; 阮亚男等, 2009; Yan *et al.*, 2010)。然而，关于N沉降对树木O<sub>3</sub>胁迫敏感性的影响，目前研究相对较少，且不同研究得出的结论之间存在较大差异。Handley和Grulke发现N施加降低了加利福尼亚黑橡木 (*Quercus kelloggii*) 的O<sub>3</sub>敏感性 (Handley T and Grulke N E, 2008)；Yamaguchi等研究表明：N沉降条件下圆齿水青冈 (*Fagus crenata*) 对O<sub>3</sub>胁迫更为敏感 (Yamaguchi *et al.*, 2007)；Watanabe等对短柄枹栎 (*Quercus serrata*) 的研究显示：其O<sub>3</sub>胁迫敏感性与N素施加不存在必然联系 (Watanabe *et al.*, 2007)。N沉降对树木O<sub>3</sub>胁迫抗性的作用模式可能因树种而异、并受树木生长发育不同阶段独特生理机制及水分、温度等环境因子调控影响。

长江三角洲地处中亚热带，是我国人口密度最大、工业发展最快、环境污染最严重的地区之一。高水平的N沉降与急剧上升的地表O<sub>3</sub>浓度，对该区地带性常绿阔叶林构成严重威胁 (Ren *et al.*, 2011)。2008-2010年，在国家自然科学基金项目 (30700086) “大气O<sub>3</sub>浓度升高对我国亚热带城市绿化树种水杉和香樟碳代谢的影响机制”、浙江天童森林生态系统国家野外科学观测研究站开放课题 (XT200707) “中国亚热带树种对近地层O<sub>3</sub>的敏感性响应机制”及面上项目 (31170424) “干旱胁迫下的城市林木生长和水分利用对O<sub>3</sub>污染的响应机制研究”等项目的共同资助下，人工模拟N沉降，利用开顶气室研究了O<sub>3</sub>浓度升高对我国亚热带典型常绿树种香樟的影响。实验从叶片伤害症状、叶形态、生理抗性、光合荧光、暗呼吸、树干液流、生长及生物量积累分配等方面系统阐述了N沉降条件下香樟的O<sub>3</sub>胁迫效应，为全球变化背景下科学界定该树种的O<sub>3</sub>胁迫敏感性提供了基础数据，并为相关保护工作的有效开展提供了可用参考。



## 第一章 研究概况

近地层臭氧 ( $O_3$ ) 浓度升高严重威胁着地表植被系统的生态安全, 20 世纪 60 年代开始, 各国学者针对植物的  $O_3$  胁迫效应展开研究。几十年来, 研究内容不断深入, 从早期的叶片伤害症状定性描述, 到氧化抗性、光合荧光等生理指标的定量分析, 再到信号传导与基因调控等微观机理的精细探究; 研究手段不断改进, 从最初的室内密闭气箱, 到后来广泛使用的开顶气室, 再到开放大气浓度增高系统, 对自然生境的模拟渐趋逼真。同时, 结合大气二氧化碳 ( $CO_2$ ) 浓度升高、氮 (N) 沉降加剧等的复合污染胁迫研究已成为当前研究的热点。

### 1.1 $O_3$ 污染现状

#### 1.1.1 平流层 $O_3$ 的形成

自然界中的  $O_3$  主要 (90%) 分布在距地表 20-50 km 的平流层中。大气中的氧气 ( $O_2$ ) 分子 (21%) 在太阳高能紫外辐射作用下, 分解成氧原子 (O), O 极不稳定, 结合另一个  $O_2$  分子形成  $O_3$ 。 $O_3$  形成后, 由于其比重大, 会逐渐向大气层底部下沉, 沉降过程中随着温度的升高, 再度裂解还原为  $O_2$  分子, 如此循环, 维持着  $O_2$  与  $O_3$  之间的动态平衡。平流层中的  $O_3$  能够吸收太阳辐射波段中全部的紫外线 C (100-280 nm) 以及 90% 的紫外线 B (280-315 nm), 在保护地球生命系统中具有重要作用。

#### 1.1.2 近地层 $O_3$ 污染形成

工业革命以前的几百年中全球对流层  $O_3$  一直维持着  $10 \text{ nL L}^{-1}$  左右的低浓度水平 (Volz and Kley, 1988), 来自大气平流层  $O_3$  的扩散性分布构成这一时期近地层  $O_3$  的主要来源 (Junge, 1962)。最近几十年的研究表明, 全球范围内地表  $O_3$  浓度的迅速上升主要与强光、高温等环境条件下对流层内 N 氧化物 ( $NO_x = NO_1 + NO_2$ )、一氧化碳 (CO) 及挥发性有机化合物 (Volatile organic compounds, VOCs) 等  $O_3$  前体物之间发生的光化学反应 (Photochemical reaction) 有关 (Li *et al.*, 2002)。Sudo 和 Akimoto 基于 CHASER (Chemical atmospheric general circulation model for study of atmospheric environment and radiative forcing) 模型的示踪标记模拟研究表明: 全球对流层  $O_3$  载荷年平均值为 344 Tg, 其中 48% 来源于区域内光化学反应, 29% 来源于跨区域传输, 23% 来源于平流层的垂直输入。

O<sub>3</sub> 前体物如 NO<sub>x</sub>、CO 等的过度排放主要由煤、石油、天然气等化石燃料、地表生物量的大量燃烧和不合理开发利用导致；此外，大气对流层内的雷电作用、土壤微生物活动等也是大气 NO<sub>x</sub> 的重要来源 (Mauzerall and Wang, 2001)。VOCs 包括甲烷 (CH<sub>4</sub>) 及非甲烷类化合物 (Nonmethane hydrocarbon, HMHCs) 如异戊二烯 (Isoprene)、多环芳烃 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs)、萜类 (Terpene) 等，其大部分来源于化工生产染污排放、工业有机溶剂的不稳定挥发等；同时与自然植被、农田生态系统及地表水体的释放行为有关 (Bai *et al.*, 2001; Cofala *et al.*, 2007; Zheng *et al.*, 2011)。基于化学动力学的经验模型 (Empirical kinetic modeling approach, EKMA) 分析显示：O<sub>3</sub> 产生与近地层 NO<sub>x</sub>、VOCs 浓度之间存在非线性关系，城市中心区、工业区等 NO<sub>x</sub> 排放量较高的地方，O<sub>3</sub> 形成主要受低浓度的 VOCs 制约；反之，自然植被覆盖面广、农田等 VOCs 释放量较大的地区，低浓度 NO<sub>x</sub> 成为控制 O<sub>3</sub> 产生的主导因素 (Klnoslan, 1982)。O<sub>3</sub> 形成以后可以随大气环流进行跨区域、长距离传输，与 CO、VOC 的氧化产物如 OH、HO<sub>2</sub> 等发生反应、再度还原为 O<sub>2</sub>，或直接向地面沉降并最终分解，O<sub>3</sub> 的光化学形成、跨区传输、还原、沉降分解等过程共同决定着某一地区的 O<sub>3</sub> 污染情况。

### 1.1.3 近地层 O<sub>3</sub> 染分布及变化趋势

地表 O<sub>3</sub> 浓度监测最早可以追溯到 19 世纪末、20 世纪初期 (Lisac and Grubisic, 1991; Meagher *et al.*, 1987)。对比当时的记录资料可以发现，过去 100 年中，北半球中纬度地区近地层年均 O<sub>3</sub> 浓度背景值 (远离人类活动中心区，不受人类活动导致的大规模 O<sub>3</sub> 前体物排放直接影响的地区近地层 O<sub>3</sub> 浓度水平) 从 10 ppb 左右升高到了 20-45 ppb，上升幅度达 2 倍之多，且仍以每年 0.5-2% 的速率增加，1990 年代地表 O<sub>3</sub> 浓度升高较 1970、1980 年代有所减缓，这可能与该时期北美、欧洲等地区 NO<sub>x</sub> 排放量下降有关 (Vingarzan, 2004)。目前，全球近四分之一的国家和地区面临着夏季对流层 60 ppb 以上的 O<sub>3</sub> 威胁，在一些人口密集的大城市如洛杉矶、东京、北京等，地表 O<sub>3</sub> 浓度极值甚至达到背景浓度 10 倍以上，最大可达 400 ppb (Seinfeld, 1989)，远高于现行空气质量标准。

高浓度 O<sub>3</sub> 污染主要分布于北半球人口密集的中、低纬度地区，包括美国东北沿海、加利福尼亚州，欧洲中南部，中国北部平原、东部沿海，朝鲜半岛、日本、印度等 (Fiore *et al.*, 1998; Hayes, 2007; Wang and Mauzerall 2004; Yamaji *et al.*, 2007; Chand and Lal, 2004)。Cynthia Lin 等基于美国环保署 (Environmental Protection Agency, EPA) 空气信息提取系统 (Aerometric Information Retrieval System, AIRS) 监测网络提供的数据资料，分析了美国本

土近地层 O<sub>3</sub> 污染情况, 结果表明: 1980-1998 年间, 美国东北部、田纳西州等地区夏季 8 小时日均 O<sub>3</sub> 浓度超过 80 ppb 的天数为 8-24 天/年, 加州南部为 12-73 天/年 (Cynthia Lin *et al.*, 2001)。在欧洲, 2006 年 7 月 17-22 日、25-28 日, 英国、比利时、荷兰、法国、德国、瑞士、意大利等国近地层小时 O<sub>3</sub> 浓度值超过 90 ppb, 最大浓度达到 180 ppb (EEA, 2007)。Shan 等对中国东部城市济南 2004 年近地层逐时 O<sub>3</sub> 浓度的监测结果显示: 5-10 月份, 地表 O<sub>3</sub> 浓度超过 100 ppb 小时数达 65 小时, 分布于监测期内 23 个监测日; O<sub>3</sub> 浓度超过 120 ppb 的小时数为 15 小时, 分布于 5-7 月份 7 个监测日 (Shan *et al.*, 2008)。此外, 我国长江三角洲地区 O<sub>3</sub> 浓度超过 60 ppb 的小时数占总监测时间的 6.1-10.4%, 上海附近小时 O<sub>3</sub> 浓度最大值达到 196 ppb (Zhou, 2004)。NASA 最新资料显示我国京津唐、长三角、珠三角地区 O<sub>3</sub> 月平均浓度甚至高达 90 ppb 以上 ([http://acdb-ext.gsfc.nasa.gov/Data\\_services](http://acdb-ext.gsfc.nasa.gov/Data_services)), 对人体健康、区域生态安全构成了严重威胁。

对应于 NO<sub>x</sub>、VOCs 等 O<sub>3</sub> 前体物排放模式, 同时受地理条件、经纬度、光照、温度、气流等环境因素影响, 近地层 O<sub>3</sub> 分布呈现出明显的时空变异特征。从季节动态角度来看, 北半球中、低纬度地区地表 O<sub>3</sub> 浓度一般在春、夏季节较高, 冬季较低, 极大值多出现于 5、6 月份 (Tang *et al.*, 2011); 昼夜动态方面, 大陆近地层 O<sub>3</sub> 浓度最大值一般出现在午后, 最小值多发生在清晨; 海洋上空对流层 O<sub>3</sub> 浓度最大值一般出现在日出前, 最小值多发生在午后 (Oltmans, 1994)。从空间变异方面来看, 近地层高浓度 O<sub>3</sub> 多分布于主要工业城市及其下风区方向 (Chand and Lal, 2004; Spicer, 1979), 北纬 10°-60° 范围内地表 O<sub>3</sub> 浓度随纬度升高而逐渐升高, 北纬 60° 以北地区 O<sub>3</sub> 浓度极值出现时间较低纬度地区有所推迟 (Winkle, 1998)。美国本土近地层 O<sub>3</sub> 浓度呈现自西向东逐渐升高的趋势 (Logan, 1989); 欧洲大陆自西北向东南, 地表 O<sub>3</sub> 浓度逐渐升高, 极值出现时间也相应推迟 (Scheel *et al.*, 1997); 我国近地层 O<sub>3</sub> 浓度年均水平自西北 (55 ppb) 向东南 (20 ppb) 逐渐递减, 长江以北地区 O<sub>3</sub> 浓度最大值主要出现在 6 月份, 长江以南地区 O<sub>3</sub> 浓度最大值多出现于 10 月份, 东部地区夏季近地层 O<sub>3</sub> 浓度较春季有明显下降。地形特征以及季风主导的污染物跨区传输等因素在决定我国近地层 O<sub>3</sub> 污染时空变异格局中起重要作用 (Wang *et al.*, 2011)。

20世纪90年代以来, 随着传统工业技术的不断改良优化, 现代清洁能源的大量推广以及发达国家污染控制法规的加强完善, 美国、欧洲、日本等地区近地层 O<sub>3</sub> 浓度极值渐趋持平、甚至有所回落, 然而, 地表 O<sub>3</sub> 浓度平均水平目前仍保持上升趋势 (Oltmans *et al.*, 2006)。此外, 随着发展中国家工业化、城市化进程的快速推进, 中国、印度、墨西哥、南美洲中

北部、非洲北部等地区将成为未来高浓度O<sub>3</sub>污染的热点区域 (Avnery *et al.*, 2011)。考虑到O<sub>3</sub>本身及其前体物如NO<sub>x</sub>、CO、VOCs等的跨区传输特点,上述地区地表O<sub>3</sub>浓度的升高必将导致全球O<sub>3</sub>污染情况进一步恶化。Wang等基于IPCC提供的区域NO<sub>x</sub>、CO、VOCs排放清单,运用O<sub>3</sub>及相关化学物示踪模型 (Model of ozone and related chemical tracers, MOZART) 模拟研究显示:包括中国、日本、韩国在内的东亚地区2020年近地层O<sub>3</sub>浓度将比1990年有大幅度增高,中国中部地区2020年7月份地表平均O<sub>3</sub>浓度将超过65 ppb,比1990年7月份平均水平高15 ppb,日本、韩国同期增幅与中国相比较小,大约为5 ppb左右 (Wang *et al.*, 2004)。基于经济环境、人口增长模式、新型能源可行性等因素的5种不同组合预期 (A1F1, A2, A2p, B2p, IS92a), IPCC预测了未来一个世纪全球近地层O<sub>3</sub>污染情况,结果显示:2040、2060、2080、2100年全球地表背景O<sub>3</sub>浓度分别将达到35-48、38-71、41-87、42-84 ppb (IPCC, 2001; Nakicenovic, 2000)。

Yoshitomi等基于全球化学物传输模型 (Global chemistry transport model, CTM) 的模拟研究结果表明:中国大陆地区O<sub>3</sub>及其前体物的季节性输入导致日本近地层O<sub>3</sub>浓度平均升高了4.0±2.8 ppb,且主要受季风驱动;来自北美和欧洲地区的O<sub>3</sub>及其前体物的长距离传输则分别使日本近地层O<sub>3</sub>浓度平均升高了3.5±1.1、2.8±0.5 ppb (Yoshitomi *et al.*, 2011)。Jacob等运用全球对流层化学三维分析模型 (Harvard-GISS global three dimensional model of tropospheric chemistry) 模拟研究亚洲地区O<sub>3</sub>及其前体物排放对美国本土近地层O<sub>3</sub>浓度的影响,结果显示:1985-2010年间,亚洲地区O<sub>3</sub>前体物排放分别导致美国东、西部地区4-6月份近地层月平均O<sub>3</sub>浓度升高了1-3、2-6 ppb (Jacob *et al.*, 1999)。O<sub>3</sub>及其前体物的跨区传输特点在未来全球O<sub>3</sub>污染格局形成过程中起着重要作用。

### 1.1.4 近地层 O<sub>3</sub> 染危害

近地层 O<sub>3</sub> 是大气光化学烟雾的主要成分之一,高浓度 O<sub>3</sub> 强烈刺激人体呼吸道黏膜组织,诱发哮喘、炎症、肺气肿、支气管炎、肺功能衰竭等多种呼吸系统疾病;长时间 O<sub>3</sub> 暴露会引起人体眼部角膜受损、视力下降,造成神经中毒、记忆力衰退;O<sub>3</sub> 会破坏人体皮肤组织中的维生素 E,导致皮肤出现色斑,甚至衰老、病变等。20 世纪 40 年代以来,随着全球工业和汽车业的迅猛发展,世界各地如美国洛杉矶、日本东京、大阪、英国伦敦、澳大利亚悉尼、德国慕尼黑、意大利热内亚、印度孟买及中国北京、南宁、兰州等均出现过不同强度的光化学烟雾,其中以 1943 年洛杉矶光化学烟雾事件和 1952 年伦敦烟雾事件影响最大,后者在短短 3 个月时间之内导致 12000 多人丧生。

近地层 O<sub>3</sub> 浓度升高是全球变化的重要方面，作为最重要的温室气体之一，O<sub>3</sub> 的温室效应仅次于 CO<sub>2</sub> 和 CH<sub>4</sub> (IPCC, 2007)。气象学上，通常用辐射强迫来衡量地球-大气系统的能量平衡状况，其度量标准一般为：地面和对流层温度保持不变的情况下，平流层温度重新调整到辐射平衡后对流层顶部净辐射通量的变化，当其取正值时，使系统增温，取负值时，使系统冷却。工业革命以来（1750 年），大气对流层 O<sub>3</sub> 浓度升高导致全球范围内平均水平为 0.3-0.5 瓦/平方米 ( $\text{w m}^{-2}$ ) 的辐射强迫 (Radiative forcing) 效应 (Gauss *et al.*, 2006)。此外，对流层 O<sub>3</sub> 浓度升高可能抑制地表植被对 CO<sub>2</sub> 的同化吸收，将更多的 CO<sub>2</sub> 截留在大气环境中，这些截留的 CO<sub>2</sub> 将形成新的辐射强迫，进一步加剧全球变暖。Stich 等基于全球碳循环模型 (Global land cycle model) 模拟研究 1901-2100 年近地层 O<sub>3</sub> 浓度升高对植被 CO<sub>2</sub> 利用格局的影响，结果显示：O<sub>3</sub> 浓度升高的大气 CO<sub>2</sub> 截留效应约为 143-263 Pg，假设截留碳量的 50% 被海洋吸收，O<sub>3</sub> 浓度升高的间接辐射强迫效应将达 0.62-1.09  $\text{w m}^{-2}$  (Stich *et al.*, 2007)，而同期 O<sub>3</sub> 浓度升高导致的直接辐射强迫水平约为 0.89  $\text{w m}^{-2}$  (Gauss *et al.*, 2003; Berntsen *et al.*, 2000)。近地层 O<sub>3</sub> 浓度升高自身导致的直接辐射强迫以及其通过影响全球碳平衡过程导致的间接辐射强迫将成为未来全球气候变暖的重要推动力。

近地层 O<sub>3</sub> 浓度升高对植物生长具有很强的抑制作用，改变地表植被生态系统的结构与功能，导致全球范围内粮食减产，森林、草地等大规模退化 (Ashmore, 2005; Schmieden and Wild, 1995; Wedlich *et al.*, 2011)。美国由于大气污染导致的粮食减产 90% 以上与近地层 O<sub>3</sub> 浓度升高及其与其他化合物如 SO<sub>2</sub>、NO<sub>x</sub> 的相互作用有关 (Adams *et al.*, 1986)；全球尺度上，地表 O<sub>3</sub> 浓度升高对世界主要粮食作物产量的抑制效应甚至大于气候变化的影响 (Dingenen *et al.*, 2009)。高浓度 O<sub>3</sub> 对作物产量抑制效应因物种不同而存在差异，且受到包括太阳辐射、大气温湿度、土壤含水量等气象因子影响 (Mauzerall and Wang, 2001)。Mills 等通过对发表于 1976-2001 年间的 700 多篇相关文献及会议论文数据进行 O<sub>3</sub> 暴露剂量 (AOT40) -作物产量损失关系分析，区分比较了 19 种欧洲常见农业及园艺类作物的 O<sub>3</sub> 胁迫敏感性，结果显示：O<sub>3</sub> 敏感型物种主要包括：小麦、西瓜、扁豆、棉花、甘蓝、番茄、洋葱、大豆、莴苣；O<sub>3</sub> 中度敏感物种包括：甜菜、马铃薯、芸苔、烟草、水稻、玉米、葡萄、西兰花；O<sub>3</sub> 抗性物种包括：大麦、草莓等 (Mills *et al.*, 2007)。O<sub>3</sub> 及相关化学物示踪模型 (MOZART) 估算结果显示：2000 年高浓度地表 O<sub>3</sub> 导致全球范围内三种主要粮食作物大豆、小麦、玉米分别减产 8.5-14%、3.9-15%、2.2-5.5%，总产量损失为  $7.9 \times 10^8$ - $1.21 \times 10^9$  吨，相应经济损失高达  $1.1 \times 10^{11}$ - $1.8 \times 10^{11}$  美元 (Avnery *et al.*, 2011a)；仅仅在欧洲，同期高浓度地表 O<sub>3</sub> 对 23 种主要作物产量的抑制就导致约  $6.7 \times 10^{10}$  欧元经济损失 (Holland *et al.*,

2006)。基于未来不同的 O<sub>3</sub> 前体物排放前景 (A2、B1) (IPCC, 2001), 预计到 2030 年地表 O<sub>3</sub> 浓度升高将导致全球大豆、小麦、玉米产量损失分别达 9.5-19%、4.0-26%、2.5-8.7%, 总损失约  $1.2 \times 10^{11}$ - $2.1 \times 10^{11}$  美元 (Avnery *et al.*, 2011b)。Feng 等针对涉及马铃薯、大麦、小麦、水稻、扁豆、大豆等作物的 406 项实验研究进行 Meta 分析, 结果表明, 相比于背景 O<sub>3</sub> 浓度 (<26 ppb), 目前地表 O<sub>3</sub> 浓度 (31-50 ppb) 导致马铃薯、大麦、小麦、水稻、扁豆、大豆产量分别减少了 5.3%、8.9%、9.7%、17.5%、19.0%、7.7%; 未来条件下, 高浓度地表 O<sub>3</sub> (51-75 ppb) 将导致大豆、小麦、水稻减产幅度进一步增加 10%, 豆类作物减产幅度增加 20% (Feng and Kobayashi, 2009)。东南亚地区主要粮食作物在 O<sub>3</sub> 敏感性方面与欧美作物之间不存在显著差异, 甚至较后者更为敏感。Emberson 等的研究表明, 近地层 O<sub>3</sub> (生长季内日均 4-8 小时 35-75 ppb O<sub>3</sub> 暴露) 导致亚洲地区主要粮食作物小麦、水稻、豆类分别减产了 5-48%、3-47%、10-65% (Emberson *et al.*, 2009)。另一方面, 高浓度 O<sub>3</sub> 暴露可能引起粮食作物中蛋白质、脂类及元素含量等发生变化, 导致其营养价值降低。急剧升高的地表 O<sub>3</sub> 浓度严重威胁着世界粮食安全, 特别是在中国、印度等人口众多, 工业化进程快速推进的发展中国家 (Frei *et al.*, 2012; Wang and Frei, 2011)。

大量研究表明地表高浓度 O<sub>3</sub> 是导致美国、欧洲、日本等地森林退化、树木死亡的主要原因 (Chappelka and Samuelson, 1998; Bytnerowicz *et al.*, 2004; Izuta and Nakaji, 2003)。综合针对不同树种 O<sub>3</sub> 暴露实验的研究结果认为, 近地层 O<sub>3</sub> 污染导致的欧洲森林生态系统生产力下降幅度约为 10% 左右 (Broadmeadow, 1998)。基于 1987-1992 年间纽约、新英格兰地区 64 个观测点的 O<sub>3</sub> 浓度数据, Ollinger 等运用 PnET-II (Photosynthesis and evapotranspiration) 模型估算得出: 地表 O<sub>3</sub> 导致美国东部地区森林生态系统初级生产力年损失约 2-17% (Ollinger, 1996)。在中国, 1961-2005 年间, 地表 O<sub>3</sub> 浓度升高导致全国森林生态系统固碳总量下降约 7.7% (Ren *et al.*, 2011)。Wittig 等针对发表于 1970-2006 年间, 内容涉及 O<sub>3</sub> 浓度升高对树木生长、生物量、生理生化指标等影响的 263 篇文献进行 Meta 分析, 结果显示: 与过滤大气环境相比, 当前地表 O<sub>3</sub> 浓度 (40 ppb) 导致北半球寒温带地区森林生态系统总生物量下降约 7%, 97 ppb 高浓度 O<sub>3</sub> 暴露引起的生物量损失约为 17%; 相比于自然大气 O<sub>3</sub> 暴露环境, 64 ppb 的高浓度 O<sub>3</sub> 胁迫导致该区森林生态系统生物量损失约 11% (Wittig *et al.*, 2009)。除了对生物量的影响之外, 高浓度 O<sub>3</sub> 可能改变树木碳同化物的分配格局, 导致根冠比下降, 植物根部矿质营养元素吸收受到限制 (Grantz *et al.*, 2006)。

关于地表 O<sub>3</sub> 浓度升高对非作物类草本植物的胁迫效应, 文献中也多有研究, 高浓度 O<sub>3</sub> 显著改变了草地生态系统物种组成、演变动态及生物量积累等过程 (Andersen *et al.*, 2001;

Thwaites *et al.*, 2006; Ren *et al.*, 2007)。综合考虑不同植被类型, Ren等认为1961-2000年中, 由于近地层O<sub>3</sub>浓度升高导致的我国陆地生态系统初级净生产力 (Net primary production, NPP) 损失量平均为4.5%, 地表碳存储量损失比例为0.9%, 针对美国陆地植被系统的类似研究也有开展 (Felzer *et al.*, 2004)。

## 1.2 O<sub>3</sub> 胁迫主要研究方法

### 1.2.1 研究手段

#### 1.2.1.1 野外观测

O<sub>3</sub>植物毒性效应的发现最早可以追溯到20世纪50年代对美国加州南部葡萄树叶片表面伤害斑点 (stipple) 的记录研究 (Richards *et al.*, 1959), 1960年代初, 近地层O<sub>3</sub>的胁迫效应陆续在南加州地区的美国黄松 (*Pinus Ponderosa*)、东部地区的美国五针松 (*Pinus strobes*) 等针叶树种中得到论证 (Miller *et al.*, 1963; Linzon, 1960)。之后几十年中, 基于自然生境的原位观测一直是近地层O<sub>3</sub>污染胁迫研究的重要手段 (Ribas and Peñuelas, 2003; Saitanis, 2003; Bytnerowicz *et al.*, 2008), 该方法一般借助于区域尺度上的某种O<sub>3</sub>梯度格局, 通过对不同O<sub>3</sub>浓度条件下地表植物叶片形态, 胁迫症状, 表观生长特性, 群落结构功能等方面差异的比较研究, 评估区域O<sub>3</sub>污染现状, 确定敏感性指示物种并建立区域O<sub>3</sub>污染预警系统, 其结果通常真实有效, 无需校正。然而对于某些偏远地区的自然生境, 由于监测设备、研究人员的不可到达, 原位观测方法在可行性方面存在一定限制; 此外, 自然生境条件下, 植被O<sub>3</sub>胁迫效应的精确量化本身比较困难, 模型拟合结果可能存在较大误差。

#### 1.2.1.2 密闭气箱

将密闭气箱布置于内部环境相对均一的生长室、实验室及温室内, 人为控制气箱内部O<sub>3</sub>浓度, 通过比较不同O<sub>3</sub>暴露强度下植物的生长状况, 研究植物O<sub>3</sub>胁迫效应 (Davis and Wood, 1973; Houston, 1974), 其特点是实验设备小、操作方便、结果较为准确。由于内部O<sub>3</sub>浓度的可控性特征, 密闭气箱在论证低浓度O<sub>3</sub>的植物胁迫效应方面具有重要意义 (Dochinger *et al.*, 1970; Karnosky, 1976)。1978年, Heck在对早期密闭气箱的改进基础上, 设计了连续搅拌箱式反应器 (Continuously stirred tank reactor), 解决了气箱内均匀布气问题 (Heck *et al.*, 1978), 该类气箱在随后开展的O<sub>3</sub>胁迫条件下植物叶片伤害评价及生理、生化响应机制等研究中被广泛采用 (Davis and Skelly, 1992; Lee *et al.*, 2002), 其设计理念为后来开顶气室的发明提供了重要借鉴。

### 1.2.1.3 开顶气室

开顶气室最初由 Heagle 等人设计,主要用于农作物的 O<sub>3</sub> 胁迫研究(Heagle *et al.*, 1973, 1979)。20 世纪 80 年代,因修订大气 O<sub>3</sub> 污控指标所需,美国环保署(EPA)发起了名为“国家作物损失评估网络(National crop loss assessment network, NCLAN)”的项目,在全球范围内率先使用开顶气室,针对美国主要粮食作物的 O<sub>3</sub> 胁迫效应展开了大规模、系统化的研究。紧随其后,1986-1991 年间,针对小麦、大麦、扁豆、牧草等欧洲地区主要作物类型的“欧洲开顶气室研究项目(European open top chamber program, EOTC)”也迅速开展。90 年代起,亚洲国家如日本、印度、中国、巴基斯坦也先后开展了开顶气室模拟条件下的作物 O<sub>3</sub> 胁迫效应研究(Kobayashi *et al.*, 1995; Rai *et al.*, 2007; Feng *et al.*, 2003; Wahid *et al.*, 1995)。同一时期,开顶气室条件下树木的 O<sub>3</sub> 胁迫研究也在全球范围内大规模展开,研究树种包括黑樱桃(*Prunus serotina*)、北美鹅掌楸(*Liriodendron tulipifera*)、红橡树(*Quercus rubra*)、红糖槭(*Acer rubrum*)、黑杨(*Populus nigra*)、欧洲山毛榉(*Fagus sylvatica*)、欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)、挪威云杉(*Picea abies*)、银杏(*Ginkgo biloba*)、蒙古栎(*Quercus mongolica*) (Simini *et al.*, 1992; Bortier *et al.*, 2000; Suorsa *et al.*, 2002; Wallin *et al.*, 1992; He *et al.*, 2007; Yan *et al.*, 2010) 等。

早期开顶气室通常呈直筒状圆柱形,气室分上、下两部分,下半部分室壁由内外两层膜组成,气路通道均匀分布于内膜上,该类布气方法的主要缺点在于气室内 O<sub>3</sub> 分布不均匀,靠近气路的膜壁部位容易形成高浓度 O<sub>3</sub> 区,而在气室中间区域 O<sub>3</sub> 浓度较低(Heagle *et al.*, 1973)。随着后期实验的开展,气室结构本身及布气方案都经历了不断的改造和完善,气室形状从最初的圆柱体变成正八面体,顶部形成收缩口;气室框架采用更为轻便、耐用的合金、塑钢等材料;气室膜光照透性不断优化;布气方案从最初的底部管道布气(Mandl *et al.*, 1973),到后来的顶部风扇布气(Musselman *et al.*, 1986),再到旋转顶吹布气(Zheng *et al.*, 2011) 等不断改进,气室内 O<sub>3</sub> 分布更加均匀。

几十年来,开顶气室一直是植物 O<sub>3</sub> 胁迫研究的主要手段,基于开顶气室的实验结果在定性阐明植物 O<sub>3</sub> 胁迫机理过程中具有重要作用(Iglesias *et al.*, 2006),同时也构成现有文献中定量评价、预测近地层 O<sub>3</sub> 浓度升高导致地表植被生长、生物量损失等的基础(Mills *et al.*, 2007)。然而,开顶气室本身的气室效应(Chamber effect)在一定程度上制约着其实验结果向自然生境的外推,气室内光照强度、气室的增温效应及内部气流变化模式等皆与自然生境存在较大差异(Olszyk *et al.*, 1980)。另一方面,利用开顶气室开展树种的 O<sub>3</sub> 胁迫研究通常以树木幼苗作为研究对象,其生长、生理机制等特征有异于成年树种;此外,气



室内树种相对单一，不存在激烈的种间及种内竞争，上述因素共同决定了基于开顶气室的研究结果可能与自然条件下的实际情况之间存在偏差 (Kolb and Matyssek, 2001)。

#### 1.2.1.4 开放大气浓度增高系统

人工培育室 (Phytotron) 的出现在一定程度上解决了开顶气室内气象条件的调控问题，通过对某一地区气象资料、大气  $O_3$  浓度等历史数据作记录分析，拟合预测其当前动态并进行人工模拟 (Matyssek *et al.*, 2010)。然而，该方法仅适用于对幼苗阶段的树种展开研究，随着设备规模的扩大，模拟难度越来越高，模拟精度越来越低。开放大气浓度增高系统 (Free air concentration enrichment, FACE) 的主要特点在于其直接利用实验地的光照、温度、水分、气流动态等环境条件，仅对  $CO_2$ 、 $O_3$  等目标气体浓度进行调节控制，实现了自然环境下对不同类型植被生态系统如农田、森林、草地、沼泽等的定量观测研究，实验结果可靠性高，得到各国学者的一致认同，但由于 FACE 系统仪器设备、运行维护等技术密集程度高，费用昂贵，普适性相对较差。目前，全球已经或正在开展的 FACE 研究项目大约有 30 多项，绝大部分分布在北美、欧洲、日本地发达国家和地区，且以对经济作物的研究为主，其中涉及森林树种  $O_3$  胁迫效应研究的主要包括位于美国 Wisconsin 州的美洲山杨 (*Populus tremuloides*) FACE 项目 (Karnosky *et al.*, 2007)，位于德国 Bavaria 州的欧洲云杉 (*Picea abies*) - 欧洲山毛榉 (*Fagus sylvatica*) FACE 项目，以及位于芬兰 Kuopio 地区的欧洲白桦 (*Betula pendula*) FACE 项目 (Oksanen *et al.*, 2007)。2001 年 6 月 14 日，由中国科学院南京土壤研究所与日本国家农业环境科学研究所合作共建的水稻-小麦轮作 FACE 研究平台在我国江苏省无锡市投入运行，2004 年该项目整体搬迁至江都市小纪镇马凌村，多年的研究取得了一系列意义重大的研究成果 (Feng *et al.*, 2011; Cheng *et al.*, 2010; Zhu *et al.*, 2009)。

### 1.2.2 胁迫指标

#### 1.2.2.1 $O_3$ 平均浓度与瞬时极值

基于小时  $O_3$  浓度的平均值在一定程度上可以反映某一地区的  $O_3$  胁迫情况，该指标由于操作简单，直观易懂且便于施行，在各国  $O_3$  控制指标体系中多有采纳，同时也是定量核算粮食作物、树木生物量损失等过程中常用的  $O_3$  胁迫程度量化工具。文献中常用的  $O_3$  浓度均值包括 24 小时均值 (00: 00-24: 00)、15 小时均值 (05: 00-20: 00)、12 小时均值 (06: 00-18: 00)、8 小时均值 (08: 00/09: 00-16: 00/17: 00)、7 小时均值 (09: 00-16: 00) 等 (Yamaguchi *et al.*, 2007; Lefohn *et al.*, 1987)。美国环保署 1997 年修订的国家大气

质量标准 (National ambient air quality standards, NAAQS) 中, 关于近地层 O<sub>3</sub> 污染控制的指标体系综合了考虑浓度极值与平均值两方面的信息 (EPA, 1997)。此外, 日内 1 小时极值在整个生长季内的平均水平常常用来衡量 O<sub>3</sub> 胁迫强度 (Watanabe *et al.*, 2007), 通过对之前控制实验数据的分析, Tingey 等人认为, 在定量分析 O<sub>3</sub> 胁迫导致植物损伤过程中, 最大小时 O<sub>3</sub> 浓度累积值较生长季内平均 O<sub>3</sub> 浓度值具有更好的模型拟合效果 (Tingey *et al.*, 1989)。

### 1.2.2.2 O<sub>3</sub> 暴露强度

植物的 O<sub>3</sub> 暴露强度包含两方面的信息: 瞬时 O<sub>3</sub> 浓度以及暴露持续时间。同时, 考虑到不同浓度 O<sub>3</sub> 的植物胁迫效应存在差异, 在进行 O<sub>3</sub> 暴露强度的定量刻画过程中, 有必要对不同浓度 O<sub>3</sub> 水平值赋予不同权重, 使对植物生长具有强烈胁迫效应的高浓度 O<sub>3</sub> 值得到更多体现; 而对于低浓度 O<sub>3</sub> 值, 则认为其胁迫效应相对较小。事实上, 低于某一阈值的 O<sub>3</sub> 浓度可能根本不会对植物生长产生任何胁迫, 在 O<sub>3</sub> 暴露强度计算过程中可以忽略不计。综合考虑上述情况, 近地层 O<sub>3</sub> 暴露强度可用如下公式进行描述:

$$Index = \sum_{i=1}^n w_i \times f(C_{O_3})_i \quad (1-1)$$

Index 代表不同的 O<sub>3</sub> 暴露强度指数, C<sub>O<sub>3</sub></sub> 为小时 O<sub>3</sub> 浓度值, f(C<sub>O<sub>3</sub></sub>) 是对 C<sub>O<sub>3</sub></sub> 的某种函数变化, w 表示权重因子, n 表示 O<sub>3</sub> 暴露小时数, 下标 i 对应于每个小时。

美国学者通常使用 SUM06 来度量地表植被的 O<sub>3</sub> 暴露强度, 而欧洲学者更倾向于 AOT40 的测度体系, 前者针对大于 60 ppb 的小时 O<sub>3</sub> 浓度进行累加求和; 后者先计算大于 40 ppb 的小时 O<sub>3</sub> 浓度与 40 ppb 之间的差分, 然后对其逐时累加求和, 前者较后者具有较高的核算阈值, 但是一旦超过该阈值其累加速度远高于后者, 两者均基于某一特定的生长季时段进行核算, 一般作物为 3 个月, 森林树种为 6 个月, 其数学形式分别如下所示:

$$SUM06 = \sum_{i=1}^n (C_{O_3})_i \quad \text{for } C_{O_3} \geq 60 \text{ ppb} \quad (1-2)$$

$$AOT40 = \sum_{i=1}^n (C_{O_3} - 40)_i \quad \text{for } C_{O_3} \geq 40 \text{ ppb} \quad (1-3)$$

C<sub>O<sub>3</sub></sub> 代表小时 O<sub>3</sub> 浓度值, n 表示 O<sub>3</sub> 暴露小时数, 下标 i 对应于每个小时。

不同于 SUM06、AOT40 中基于某个 O<sub>3</sub> 浓度阈值 (60、40 ppb) 的截断处理方式 (权

重系数为  $O_3$  浓度的分段函数，取值为 0 或者 1），W126 对每一个不同的  $O_3$  浓度赋予不同权重系数，而权重系数本身又是以  $O_3$  浓度为自变量的连续分布函数。W126 的数学表达形式如下：

$$W126 = \sum_{i=1}^n (C_{O_3})_i \times w_i \quad (1-4)$$

$$w_i = 1 / \{1 + 4403 \times \exp[-0.126 \times (C_{O_3})_i]\} \quad (1-5)$$

其中  $C_{O_3}$  代表小时  $O_3$  浓度值， $n$  表示  $O_3$  暴露小时数，下标  $i$  对应于每个小时。通常在基于威布尔（Weibull）函数或指数函数的  $O_3$  暴露强度-作物产量关系研究中，W126 的模型拟合效果要优于 SUM06 以及 AOT40，威布尔函数的一般形式为：

$$y = \alpha \times \exp[-(C_{O_3} / w)^\lambda] \quad (1-6)$$

$C_{O_3}$  代表  $O_3$  浓度， $\alpha$  表示  $O_3$  浓度为 0 时的理论产量， $w$  为  $O_3$  浓度校正因子， $\lambda$  的取值决定拟合函数形状），W126 的缺点在于其算法相对复杂，在  $O_3$  污控指标的制定中可操作性较差。

另一些研究结果显示，居于某一特定范围的中等水平小时  $O_3$  浓度发生频率在解释作物产量损失过程中具有更好模型拟合效果，Legge 等通过对 NCLAN 项目以及 EOTC 项目中大量开顶气室实验数据的分析研究表明，50-87 ppb  $O_3$  浓度发生频率在解释美国本土作物响应模式上效果最优，而 35-60 ppb  $O_3$  浓度发生频率可以更好地预测欧洲地区作物产量  $O_3$  胁迫响应模式，主要是因为中等水平  $O_3$  浓度多出现在白天日照、气温等条件适宜，植物气孔开度最大的时候 (Legge *et al.*, 1995)。上述结果一方面论证了美国和欧洲分别以 SUM06 和 AOT40 作为制定保护地表植被标准参考指标的合理性；另一方面说明，在地表植被  $O_3$  胁迫效应的研究中，仅仅基于暴露强度的  $O_3$  胁迫指标存在很大不足，需要综合考虑植物气孔响应模式等诸多因素，以建立基于吸收通量模型的植物  $O_3$  胁迫评价体系。

### 1.2.2.3 $O_3$ 吸收剂量

基于暴露强度的胁迫指标仅仅是对植物  $O_3$  危害效应的一种静态刻画，而未能充分考虑温湿度、土壤水分条件等诸多气候因子对其影响，同时不同的植物生长发育阶段、叶片形态、气孔特征等也是决定植物  $O_3$  胁迫程度的重要因素。植物的  $O_3$  暴露强度与其  $O_3$  吸收量之间不存在必然相关关系，Kurpius 等人的报道指出高浓度  $O_3$  可能与高水平的植物  $O_3$  吸收速率

存在某种程度的解偶联 (Kurpius *et al.*, 2002), 暴露强度在反映实际胁迫强度方面存在一定局限性。基于植物气孔 $O_3$ 吸收通量的胁迫指标具有动态化、过程性等特征, 在 $O_3$ 胁迫-植物效应关系的定量分析中表现出更好的相关性 (Cieslik, 2004)。然而直接进行通量测量在技术上以及可行性方面存在很大困难, 通过模型拟合的方法对植物 $O_3$ 吸收通量进行分析已成为当前 $O_3$ 胁迫研究的主流手段, 该方法核心在于如何实现对植物叶片气孔导度 ( $g_{st}$ ) 的精确模拟。根据Jarvis等人的理论 (Jarvis, 1976), 结合环境气象因子数据, 利用边界层分析方法 (Emberson *et al.*, 1998), 可对植物冠层气孔导度作如下表述:

$$g_{st} = g_{\max} \times f_{phen} \times f_{light} \times \max \{f_{\min}, (f_T \times f_{VPD} \times f_{SWP})\} \quad (1-7)$$

式中  $g_{st}$  表示植物冠层气孔导度,  $g_{\max}$  代表最大气孔导度,  $f_{phen}$ ,  $f_{light}$ ,  $f_{\min}$ ,  $f_T$ ,  $f_{VPD}$  及  $f_{SWP}$  分别为物候期、光照强度、冠层温度、最小气孔导度、水汽压亏缺及土壤含水量对气孔导度的限制函数, 其取值范围界于 0-1 之间, 无量纲。植物冠层的气孔通量瞬时值可由下列公式求得:

$$F_{st} = c(h) \frac{1}{r_b + r_c} \frac{g_{st}}{g_{st} + g_{ct}} \quad (1-8)$$

式中  $F_{st}$  表示气孔通量瞬时值 ( $\text{nmol } (O_3) \text{ m}^{-2} \text{ (PLA) s}^{-1}$ ),  $c(h)$  表示冠层顶部  $h$  (m) 处  $O_3$  浓度,  $g_{st}$  表示气孔导度 (Stomatal conductance),  $g_{ct}$  表示皮层导度 (Cuticular conductance), 一般取值为  $g_{ct} = 1/2500$ 。  $r_b$  表示准形成层阻力 (Quasi-laminar resistance),  $r_c$  表示叶表面阻力 (Leaf surface resistance), 两者分别根据如下公式确定:

$$r_b = 1.3 \times 150 \sqrt{\frac{L_d}{V(h)}} \quad (1-9)$$

$$r_c = 1 / (g_{st} + g_{ct}) \quad (1-10)$$

$L_d$  代表叶长,  $V(h)$  代表  $h$  (m) 处风速。进一步计算瞬时通量的积分, 便可得到特定时间内植物气孔  $O_3$  吸收剂量:

$$AF_{st} = \int_t (F_{st} - x) \quad (1-11)$$

式中  $x$  表示某一通量阈值。

植物的 $O_3$ 胁迫效应一方面决定于 $O_3$ 吸收剂量, 另一方面与植物自身的氧化清除能力有关, 有研究表明: 植物 $O_3$ 胁迫敏感性与其叶片气孔开度之间仅存在很弱的相关性, 后者在

解释前者变异过程中存在很大困难 (Karenlampi *et al.* 1998; Pasqualini *et al.* 2002)。建立新的模型体系需要综合考虑O<sub>3</sub>吸收剂量与植物内源抗氧化系统作用两方面的信息,才能科学、全面地阐述植物体实际O<sub>3</sub>胁迫情况 (Fuhrer and Booker, 2003; Matyssek *et al.*, 2004)。然而,由于植物自身的O<sub>3</sub>胁迫抗性在量化过程中存在很大困难,目前的模型体系很少能够对其进行整合研究 (Tausz *et al.*, 2007)。

### 1.2.3 污染控制标准

基于不同的胁迫指标,各国制定了相应的环境 O<sub>3</sub> 污染控制标准,美国在 1997 年以前使用小时极值不超过 120 ppb 的空气 O<sub>3</sub> 污染控制标准,1997 年,美国环保署对其进行了修订,新的标准基于 8 小时 O<sub>3</sub> 浓度日均值,规定年内第四高日均值在连续 3 年的平均水平不应超过 80 ppb,2008 年这一标准下调为 75 ppb。欧洲 O<sub>3</sub> 污染控制标准规定:8 小时最大日均值达到或超过 120  $\mu\text{g m}^{-3}$  (56 ppb) 的天数在连续 3 年中平均不应该多于 25 天。我国根据不同的保护对象,将空气 O<sub>3</sub> 污染控制标准分为 III 级:I 级标准为小时 O<sub>3</sub> 浓度不超过 120  $\mu\text{g m}^{-3}$  (56 ppb),主要适用于自然保护区、风景名胜区和其它需要特殊保护的地区,II 级标准为小时 O<sub>3</sub> 浓度不超过 160  $\mu\text{g m}^{-3}$  (75 ppb),主要适用于城镇规划中确定的居住区、商业交通居民混合区、文化区、一般工业区和农村地区,III 级标准为小时 O<sub>3</sub> 浓度不超过 200  $\mu\text{g m}^{-3}$  (93 ppb),主要适用于特定工业区。

## 1.3 O<sub>3</sub> 浓度升高对树木的影响

### 1.3.1 叶片症状及叶形态

高浓度 O<sub>3</sub> 胁迫导致树木叶片出现明显的伤害症状,如红棕色、黄色、黑色斑点、斑块 (Stipple / mottle / freckle)、褪绿漂白 (Bleaching)、叶尖烧灼 (Tipburn),萎黄坏死 (Chlorosis and necrosis)、这些症状的持续扩散、融合最终导致植物叶片衰老、提前脱落 (Premature Leaf Senescence) 等 (Skelly, 2000; Hildebrand *et al.*, 1996; Linzon *et al.*, 1986; Novak *et al.*, 2007)。通常认为,叶片褪绿与叶肉细胞内叶绿素的降解过程相关;红棕色斑点的出现主要是因为叶片抗氧化物质如花青素 (Anthocyanin)、单宁 (Tannin) 等的大量积累所致;黄化、衰老、脱落等过程可能受细胞程序性凋亡 (Programmed cell death) 机制调控,其中涉及对某些信号分子的激活、抑制甚至阻断,并伴随着叶片脱落酸 (Abscisic Acid)、乙烯 (Ethylene) 等植物激素 (Phytohormone) 含量的迅速升高以及营养物质的大规模转移输出;叶片的组织坏死斑块则意味着细胞内细胞器等细胞组分的瓦解缺失,细胞正常功能的

中断和崩溃 (Cano *et al.*, 2007; Rezende and Furlan, 2009; Bussotti F and Ferretti, 2009)。结合显微技术的研究表明:  $O_3$  胁迫下, 植物叶片栅栏组织 (Palisade parenchyma) 细胞形态异常, 细胞体积变小, 胞间空隙变大, 细胞壁变厚, 质壁分离, 细胞骨架 (Cytoskeleton) 支撑功能受损, 细胞萎塌 (Cell collapse), 胞内叶绿体 (Chloroplast) 数量及大小显著下降, 液泡 (Vacuole) 膜透性改变, 液泡瓦解导致内含物质释放, 细胞器 (Organelle) 形态异化、分解等 (Giacomo *et al.*, 2010; Vollenweider *et al.*, 2003; Bussotti *et al.*, 2005)。高浓度  $O_3$  胁迫下, 树木叶片表观形态方面的变化主要体现为叶片变薄、叶面积变小等 (McGrath *et al.*, 2010; Pääkkönen *et al.*, 1995; Günthardt-Goerg *et al.*, 1993)。

### 1.3.2 生理生化

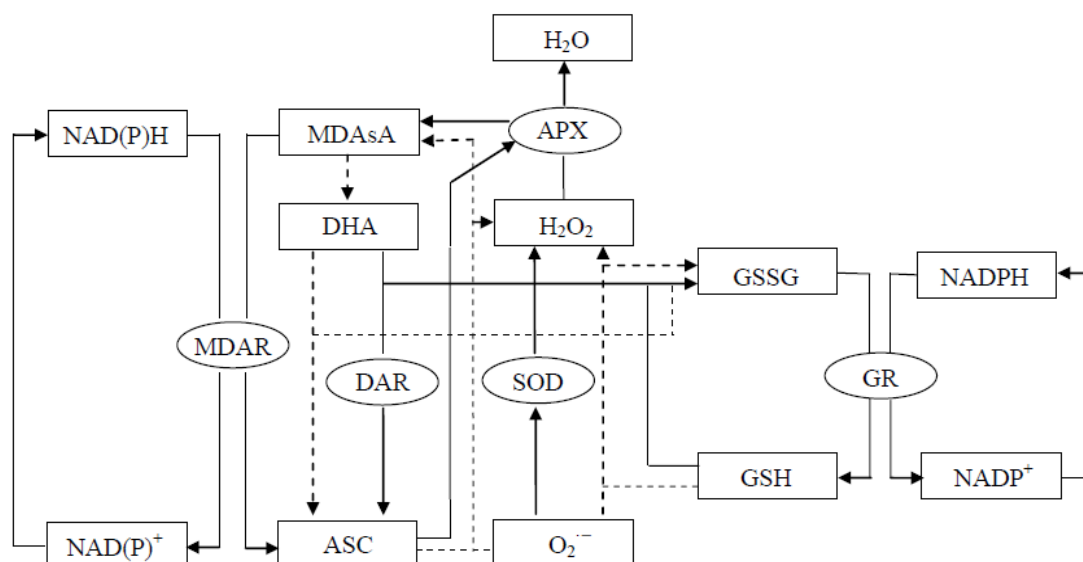
大气中  $O_3$  主要以气体分子形式经叶片气孔扩散到达植物体内部并溶解于细胞间隙液相体系, 溶解态  $O_3$  一方面可与植物细胞细胞壁发生反应, 改变其化学成分及物质透性 (Vollenweider *et al.*, 2003), 另一方面经进一步扩散到达细胞原生质体, 并与细胞内氧化还原系统发生反应生成超氧阴离子自由基 ( $O_2^-$ )、羟自由基 ( $OH$ )、过氧化物自由基 ( $ROO\cdot$ ) 以及过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 等一系列活性分子 (Reactive oxygen species), 这些活性分子进一步启动或者介导下游氧化裂解 (Oxidative burst) (Wilkinson *et al.*, 2011), 并引起膜质过氧化 (Membrane lipid peroxidation, LP)、叶绿素降解 (Chlorophyll degradation)、植物体内抗氧化物质如抗坏血酸 (Ascorbic acid)、谷胱甘肽 (L-glutathione, GSH)、维生素 E (Vitamin E, VE) 以及抗氧化酶如过氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (Ascorbate peroxidase, APX)、过氧化氢酶 (Catalase)、过氧化物酶 (Peroxidase)、谷胱甘肽还原酶 (Glutathione reductase, GR) 等含量及活性发生改变 (Broadmeadow and Jackson, 2000 Brunschön-Harti *et al.*, 1995; Calatayud *et al.*, 2010)。

膜质过氧化被认为是  $O_3$  胁迫下植物氧化伤害的重要表征, 该过程伴随着多种醇醛小分子化合物及活性自由基的产生, 丙二醛 (Malonaldehyde, MDA) 作为膜质过氧化的主要产物之一, 广泛用于膜脂过氧化和组织伤害程度的诊断 (Shulaev and Oliver, 2006)。 $O_3$  导致的树木叶片膜质过氧化已经在自然生境下的欧洲山毛榉 (*Fagus sylvatica*) 和欧洲云杉 (*Picea abies* [L.] Karst) 中得到验证 (Šrámek *et al.*, 2007; Hůnová *et al.*, 2010)。He 等基于开顶气室的研究表明: 与大气  $O_3$  浓度 (45 ppb) 条件相比, 连续 90 天 80 ppb 的  $O_3$  暴露导致银杏 (*Ginkgo biloba*) 幼苗叶片丙二醛含量升高了 50% (He *et al.*, 2006)。膜质过氧化的加剧可能导致植物细胞膜通透性改变, 离子跨膜运输调节机制失灵、胞内基质外渗等。

植物体叶绿素含量降低是 O<sub>3</sub> 胁迫最普遍的效应之一 (Broadmeadow and Jackson, 2000; Manninen *et al.*, 1999), 叶绿素的降解与叶绿体膜的脂质过氧化有关 (Dhindsa *et al.*, 1981), 并与核酮糖 1, 5-二磷酸羧化酶 (RuBisco) 的降解过程相偶联 (Feller *et al.*, 2008)。膜脂过氧化导致膜通透性改变, O<sub>3</sub> 活性氧分子通过膜通道或以渗透方式进入叶绿体内, 直接作用于叶绿素分子, 或通过进攻 RuBisco 活性位点间接介导叶绿素的降解。目前, 高浓度 O<sub>3</sub> 胁迫导致的植物叶片叶绿素含量下降在各类树种如巨杉 (*Sequoiadendron Giganteum*) (Grulke *et al.*, 1996)、欧洲山毛榉 (*Fagus sylvatica*) (Gielen *et al.*, 2007)、白桦 (*Betula pendula*) (Shavnin *et al.*, 1999)、黑杨 (*Populus nigra*) (Bortier *et al.*, 2000)、湿地松 (*Pinus elliottii*) (Zhang *et al.*, 2011) 等中均有报道。

内源抗氧化系统是植物氧化抗性的基础, 能够有效清除 O<sub>3</sub> 胁迫产生的活性分子及膜脂过氧化生成的有毒产物, 有利于植物的逆境生存 (Didyk and Blum, 2011)。植物体内的抗氧化物质主要分为两类: 抗坏血酸、还原型谷胱甘肽等小分子类抗氧化物以及催化这些还原物质参与反应、再生循环等过程的蛋白酶类如抗坏血酸过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶等 (Smirnoff *et al.*, 2001; De Kok and Tausz, 2001), 图 1-1 描述了植物体内抗坏血酸、谷胱甘肽参与的氧化还原反应及相关酶类。大量实验研究表明: 高浓度 O<sub>3</sub> 胁迫诱导植物体内抗氧化物含量升高, 抗氧化酶活性及其相关编码基因的表达增强等 (Herbinger *et al.*, 2005; Gupta *et al.*, 2005); 植物 O<sub>3</sub> 敏感性很大程度上取决于其抗氧化物含量, 特别是抗坏血酸含量水平 (Chen and Gallie, 2005)。抗坏血酸最初是在植物细胞内部合成, 主要存在于细胞基质溶液中, 可经细胞膜蛋白类载体运输到胞间溶液并与 O<sub>3</sub> 及其诱导产生的活性分子发生反应, 进而降低其氧化胁迫, 阻止细胞膜脂过氧化, 保护植物免受 O<sub>3</sub> 伤害等 (Horemans *et al.*, 2000; Plöchl *et al.*, 2000)。植物体内抗坏血酸清除 O<sub>3</sub> 及其活性分子的过程严格依赖于抗坏血酸自身的氧化还原状态, 只有还原型抗坏血酸才具有抵抗氧化胁迫的能力, 还原型抗坏血酸的再生需要还原型谷胱甘肽不断还原氧化型的脱水抗坏血酸盐来维持, 这一过程中还原型谷胱甘肽自身被氧化, 还原型谷胱甘肽作为一种 O<sub>3</sub> 清除剂又通过谷胱甘肽还原酶不断氧化辅酶 NADPH 来维持其还原状态。此外, 细胞基质中的抗坏血酸本身可作为重要的信号分子, 直接参与植物 O<sub>3</sub> 胁迫信号转导、响应调控等过程 (Conklin and Barth, 2004)。Calatayud 等比较研究了地中海地区 4 种不同类型树木 *Pistacia terebinthus*, *P. lentiscus*, *Viburnum lantana*, *V. tinus* 的 O<sub>3</sub> 胁迫效应, 结果表明: O<sub>3</sub> 胁迫导致 4 种树木叶片提取液中超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性均有增强, 常绿树种酶活性增强幅度较落叶树种更明显, 具有更高的 O<sub>3</sub> 胁迫抗性 (Calatayud *et al.*, 2010)。

酚类化合物是植物体内另一类重要的抗氧化物，新绿原酸（Neochlorogenic acid）、绿原酸衍生物（Chlorogenic acid derivatives）、槲皮苷（Quercetin-glycoside）金圣草黄素衍生物（Chrysoeriol derivatives）、芹菜素衍生物（Apigenin derivatives）、黄酮苷（Flavonoid-aglycones）类化合物等具有清除植物体内活性氧自由基、羟基自由基的作用（Larson, 1988; Grace *et al.*, 1998）。Yamaji等的研究发现：持续两个生长季1.5-1.7倍大气浓度O<sub>3</sub>熏蒸导致垂枝桦（*Betula pendula* Roth）幼苗叶片酚酸类（Phenolic acids）、酚苷类（Phenolic acid-glycosides）、黄酮类（Flavonoid）及黄酮苷类化合物含量显著上升（Yamaji *et al.*, 2003）。此外，Jüttner的研究显示：O<sub>3</sub>胁迫导致欧洲云杉（*Picea Abies*）叶片萜类化合物含量升高（Jüttner, 1988）；Carlsson等基于同一树种的研究表明：O<sub>3</sub>胁迫下植物叶片脂肪酸不饱和程度降低（Carlsson *et al.*, 1990），类似的结果在其他研究中也有报道（Saleem *et al.*, 2001）。



MDAsA: 单脱氢抗坏血酸; DHA: 脱氢抗坏血酸; ASC: 抗坏血酸盐; GSH: 还原型谷胱甘肽; GSSG: 氧化型谷胱甘肽; O<sub>2</sub><sup>-</sup>: 超氧阴离子; NADH: 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸; NADPH: 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸; MDAR: 单脱氢抗坏血酸还原酶; DAR: 脱氢抗坏血酸还原酶; SOD: 超氧化物歧化酶; APX: 抗坏血酸过氧化物酶; GR: 谷胱甘肽还原酶

图 1-1 植物体内抗坏血酸-谷胱甘肽循环示意图

Figure 1-1 The ascorbate-glutathione cycle in plants

### 1.3.3 光合呼吸

高浓度O<sub>3</sub>对树木叶片光合碳同化速率具有明显的抑制作用（Bortier *et al.* 2000; Paoletti, 2006）。Bussotti等利用开顶气室进行的研究显示：与过滤大气组相比，环境浓度O<sub>3</sub>处理显



著降低了意大利北部地区2种常见树木夏栎 (*Quercus robur*) 和黑杨 (*Populus nigra*) 的净光合速率 (Bussotti *et al.*, 2007); 一个生长季环境浓度O<sub>3</sub>处理导致温州蜜柑 (*Cirtus unshiu*) 净光合速率下降了11.4% (Calatayud *et al.*, 2006); 80 ppb O<sub>3</sub>连续处理90天导致蒙古栎 (*Quercus mongolica*) 光合速率下降了50%以上 (Yan *et al.*, 2010); 基于之前100多项研究的Meta分析显示: 工业革命以来, 近地层O<sub>3</sub>浓度升高导致全球森林树种光合速率平均下降了11%, 对应的气孔导度下降幅度平均为9% (Wittig *et al.* 2007)。另一方面, 高浓度O<sub>3</sub>胁迫对树木呼吸速率的影响表现为促进作用, 相关结果在美国东部白松 (*Pinus strobus*) 以及欧洲云杉 (*Picea abies*) 中均有报道 (Yang *et al.*, 1983; Wallin *et al.*, 1990)。

目前, 关于 O<sub>3</sub> 胁迫导致树木光合速率下降的原因在不同学者间存在一定争议, 针对不同树种得出的结论也不尽相同 (Degl'Innocenti *et al.*, 2003)。大部分研究认为高浓度 O<sub>3</sub> 首先作用于植物叶片气孔, 导致气孔开度下降, 光合作用底物二氧化碳 (CO<sub>2</sub>) 供应受到限制, 光合速率因此降低 (He *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2009); 另一些研究认为 O<sub>3</sub> 胁迫下植物光合速率的下降主要是因为细胞内核酮糖 1, 5-二磷酸羧化酶 (Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, RuBisco) 活性及含量降低导致, 并与电子传递过程等受到抑制紧密关联 (Darbah *et al.*, 2010, Feng *et al.*, 2011)。基于叶绿素荧光分析显示: O<sub>3</sub> 胁迫下植物光合速率的下降伴随着一系列荧光参数, 如光化学淬灭系数 (Photochemical quenching, qP)、光系统 II (Photosystem II, PSII) 潜在光化学量子效率 (Fv / Fm)、PSII 实际光化学量子效率 (ΦPSII) 等的改变 (Calatayud *et al.*, 2006, Bussotti *et al.*, 2011)。事实上, 由于现代荧光技术具有高灵敏度、实时测量、对植物组织无损伤性等特征, 已发展成为植物生境胁迫响应研究中最重要研究手段之一, 结合荧光参数变异特征可对 O<sub>3</sub> 胁迫作用位点进行精细标定, 进而对植物 O<sub>3</sub> 胁迫下光合速率下降的原因进行深入分析 (Wang and Kellomaki, 1997)。基于这一技术的研究结果表明: O<sub>3</sub> 胁迫下植物叶片气孔开度降低本身是对光合速率下降引起的胞间 CO<sub>2</sub> 浓度升高效应的一种反应, 而非支配光合速率下降的原因。

### 1.3.4 生长及生物量分配

高浓度 O<sub>3</sub> 胁迫抑制树木生长, 导致树木生物量下降且在地上部分与地下部分之间的分配比例发生改变 (Wang *et al.*, 1986; Ottosson *et al.*, 2003; Wittig *et al.*, 2009)。FACE 条件下, 持续 2 个生长季 1.5 倍大气浓度 O<sub>3</sub> 处理导致一年生杂交杨 (*Populus tremula* × *P. tremuloides*) 幼苗株高、基径生长分别降低了 20%、17%, 茎秆干重下降了 5%, 根系干重下降了 20% (Häkiö *et al.*, 2007); 1.4-1.7 倍大气浓度 O<sub>3</sub> 连续 6 个生长季 (1996 年 5 月-2001

年 10 月) 处理导致欧洲白桦 (*Betula pendula*) 幼苗叶面积生长量下降了 36%, 株高、基径生长量分别下降了 15%、20% (Oksanen, 2003); 针对 3 年生欧洲赤松 (*Pinus sylvestris*) 幼苗的研究也表明: 1.5-1.6 倍大气浓度  $O_3$  连续处理 3 个生长季, 导致其基径生长下降了 9%, 茎秆干重积累量下降了 17%, 根系干重积累量下降了 19% (Utriainen and Holopainen, 2001)。Landolt 等基于开顶气室的比较研究发现: AOT40 每增加 10 ppm·h, 欧洲山毛榉 (*Fagus sylvatica*)、白蜡 (*Fraxinus excelsior*)、欧洲赤松 (*Pinus sylvestris*)、挪威云杉 (*Picea abies*) 幼苗生物量积累分别下降 17.4%、25.5%、5.6%、9.9%, 同时, 欧洲山毛榉、白蜡地上部分与地下部分生物量比值随 AOT40 的增加而显著增加 (Landolt *et al.*, 2000)。Meta 分析结果显示: 当前近地层  $O_3$  (40 ppb) 导致北半球中高纬度地区森林树种地下部分生物量与地上部分生物量比值下降大约 3% (Wittig *et al.*, 2009)。 $O_3$  胁迫下植物根部生物量降低大于地上部分原因可能包括: (1) 抗氧化物的合成将更多光合同化产物截留在叶片部位 (Gerant *et al.*, 1996); (2) 韧皮部物质输送功能损伤导致光合产物向根际分配受阻 (Grantz, 2003); (3)  $O_3$  胁迫刺激乙烯等气体激素分子的合成释放, 抑制植物根系生长 (Wilkinson and Davies, 2010) 等。

目前, 地表高浓度  $O_3$  对树木胁迫的研究主要集中于暖温带落叶、针叶树种以及地中海常绿硬叶树种等 (Feng *et al.*, 2011)。以往大量试验研究表明: 不同树种抵抗  $O_3$  胁迫的能力存在差异, 被子植物较裸子植物更为敏感 (Wittig *et al.*, 2009), 地中海常绿树种较落叶、针叶树种耐性更强 (Nali *et al.*, 2004)。然而, 对于亚热带地区广布常绿树种的  $O_3$  敏感性研究甚少, 考虑到该地区高水平的 N 沉降以及独特的水热等气候条件, 认为该区树种在  $O_3$  胁迫响应机制上具有独特性, 相关方面研究的开展亟待加强。

## 1.4 N 沉降现状

### 1.4.1 N 沉降概念

N 沉降是指大气中的 N 元素以  $NH_x$  (包括  $NH_3$ 、 $RNH_2$  和  $NH_4^+$ ) 和  $NO_x$  的形式, 降落到陆地和水体的过程。人类活动产生的活性 N 进入大气层后经大气转化与大气环流输送等过程, 其中约 60-80% 又以沉降方式重新返回到陆地与海洋生态系统 (Moffat, 1989)。根据沉降方式不同, 大气 N 沉降可分为干沉降和湿沉降两类。湿沉降即通过降水 (雨、雪、霜、雾) 的方式发生沉降, 沉降物主要包括  $NH_4^+$  和  $NO_3^-$  以及可溶性有机 N; 干沉降即通过降尘的方式发生沉降, 沉降物主要包括有机 N, 颗粒态 (气溶胶态)  $NH_4^+$  和  $NO_3^-$ , 气态  $NH_3$ 、 $HNO_3$ 、 $NO_x$  等, 干沉降量约占大气 N 沉降总量的 20-80%, 因地理位置和气候条件

差异而不同 (Sparks *et al.*, 2008)。

### 1.4.2 N 沉降现状及趋势

自然状态下,大气圈中的无机 N 固定速率(闪电固 N:  $10 \text{ Tg N year}^{-1}$ 、生物固 N:  $90\text{-}130 \text{ Tg N year}^{-1}$ )与活性 N (具有生物、光化学、辐射活性的 N 化合物)反硝化形成氮气 ( $\text{N}_2$ )重返大气圈速率之间基本保持平衡 (Galloway *et al.*, 1995)。人类活动极大地推动了 N 素从大气 N 库进入生物圈的过程,过去几十年中,化石燃料燃烧、农业化肥生产以及畜牧业集约化经营等导致大规模的 N 化合物排放,环境大气中活性 N 不断累积并向陆地和水域生态系统发生沉降,且呈现出全球化趋势 (Matson *et al.*, 1999)。据估计,人类活动产生的活性 N 已由 1860 年的  $15 \text{ Tg year}^{-1}$  增加到 20 世纪 90 年代中期的  $165 \text{ Tg year}^{-1}$ ,增幅高达 11 倍,远远超过全球 N 素临界负荷  $100 \text{ Tg N year}^{-1}$  的水平 (Galloway and Cowling, 2002),预计到 2050 年,全球活性 N 沉降总量将达到  $195 \text{ Tg year}^{-1}$  (Galloway, 2005)。在欧洲畜牧业和工业发达地区, N 沉降超过  $25 \text{ kg hm}^{-2} \text{ year}^{-1}$  (Binkley *et al.*, 2000),荷兰地区森林穿透雨水中的活性 N 普遍超过  $50 \text{ kg hm}^{-2} \text{ year}^{-1}$ ,有些甚至超过  $100 \text{ kg hm}^{-2} \text{ year}^{-1}$  (Van Breemen and Van Dijk, 1988)。在人口密集、工业发达的德国中部地区,基于  $\text{N}^{15}$  同位素稀释法连续 7 年 (1994-2000) 的观测研究表明大气 N 沉降水平为  $(64 \pm 11) \text{ kg hm}^{-2} \text{ year}^{-1}$ 。在美国东北部地区,当前 N 沉降总量较本底水平增加了 10~20 倍 (Magill *et al.*, 1997)。我国广州市 1990 年降水中 N 沉降量为  $73 \text{ kg hm}^{-2} \text{ year}^{-1}$  (任仁、白乃彬, 2000); 1998-2003 年上海地区降水 N 沉降平均水平为  $58.1 \text{ kg hm}^{-2} \text{ year}^{-1}$  (张修峰, 2006); 2003-2004 年北京降水中 N 沉降量为  $32 \text{ kg hm}^{-2} \text{ year}^{-1}$  (张颖等, 2006); 1989~1990 以及 1998~1999 年度鼎湖山自然保护区年降水 N 沉降量分别为  $35.57$  和  $38.4 \text{ kg hm}^{-2} \text{ year}^{-1}$  (周国逸、闫俊华, 2001)。亚洲地区 2000 年大气 N 沉降总量为  $22.5 \text{ Tg year}^{-1}$ ,随着该区工业化进程的快速推进,大气 N 沉降将持续升高,预计 2030 年将达到  $37.8 \text{ Tg year}^{-1}$  (Zheng *et al.*, 2002)。

地形、气候特征等因素导致的经济不均衡发展在很大程度上决定着全球大气 N 沉降的分布格局。总体而言,目前高水平 N 沉降主要发生在北半球中低纬度的温带、亚热带地区,形成美国、欧洲、东南亚三大 N 沉降集中区域。20 世纪 80 年代,美国、欧洲先后建立了系统的跨区域大气 N 沉降监测研究网络,如美国的国家大气沉降计划 (National acid deposition program, DADP) 和清洁空气现状与趋势网络 (Clean air status and trends network, CASTET) 进行着全国 200 个站点干沉降和 60 个站点湿沉降的监测工作 (Zhang *et al.*, 2012)。欧洲 N 饱和实验 (Nitrogen saturation experiments, NITREX) 在挪威、瑞典、丹

麦、英国、瑞士、德国、荷兰 7 个国家设立 8 个监测位点，EXAMN 项目 (Experimental manipulation of forest ecosystems in Europe) 覆盖挪威、瑞典、丹麦、荷兰 4 个国家的 6 个监测站点 (Wright and Rasmussen, 1998)。EMEP 监测结果显示：1998-2003 年间欧洲许多地区的  $\text{NO}_x$  排放量有所减少 (20-50%)，这主要是因为 20 世纪 90 年代以来发达国家实施了严格的污染控制法规以及新型能源技术的不断涌现所致。但从全球尺度来看，大气中的活性 N 含量将持续升高，N 沉降依然是全球变化的重要方面。

### 1.4.3 N 沉降的生态学效应

人为干扰下的大气 N 素沉降已成为全球 N 素生物化学循环的一个重要组成部分。作为营养源和酸源，大气 N 沉降加剧将严重影响陆地及水生生态系统的生产力和稳定性，对土壤和水体环境、农业和森林生态系统以及生物多样性等方面都会造成重要影响。大气 N 沉降的生态学效应概括起来包括以下方面：

(1) 过度 N 沉降污染地表水源，导致水体富营养化。我国太湖流域每年由于大气 N 素湿沉降导致的 N 输入占太湖年 N 输入总量的 13.6%，是导致该区蓝藻大规模爆发、水体富营养化的重要原因 (宋玉芝等, 2005)。

(2) 大气 N 沉降中的  $\text{NO}_3^-$  以及  $\text{NH}_4^+$  是导致地表土壤酸化的重要原因， $\text{NH}_4^+$  的土壤酸化效应主要是由于其硝化过程中不断释放  $\text{H}^+$ ，从而引起土壤 pH 值降低 (Galloway, 1995)。欧洲中部、斯堪的纳维亚半岛、美国和加拿大等地区 and 国家的酸雨严重区域，地表土壤已呈现明显的酸化特征，酸化导致土壤物理、化学性质发生改变，盐基离子淋溶损失加剧，土壤养分保持能力下降，土壤贫瘠化等。

(3) 高水平 N 沉降造成植物体营养失衡，导致植物体内 N 素的过量积累，影响植物的逆境胁迫抗性；N 沉降会引起土壤中铝离子的溶出增加，铝离子的存在会抑制植物对其他阳离子及磷的吸收 (Macklon and Sin, 1992)。

(4) 在一定的阈值范围内，N 输入有利于植物叶片内部核酮糖 1, 5-二磷酸羧化酶的合成，促进植物光合作用，增加生产力和生态系统的碳蓄积能力；然而超过植物承载阈值的 N 沉降将对植物的光合同化产生不利影响，导致生产力下降等。Nakaji 等发现生长在高 N 处理下的日本赤松幼苗针叶 RuBisco 浓度和活性显著降低，叶绿素含量也呈下降趋势，N/P、Mn/Mg 比值显著升高 (Nakaji *et al.*, 2002)。Minocha 等发现尽管 N 沉降会导致植物叶片中的 N 水平显著升高，植物并不将多余的 N 用来合成更多的 RuBisco 以提高光合能力，

而是以腐胺（一种胁迫指示剂）或其前体精氨酸的形式在体内累积（Minocha *et al.*, 2001）。生态系统的 N 饱和阈值一般与植被类型、本底 N 素供给情况、土壤特征等因素相关，通常将  $25\text{kg hm}^{-2}\text{ year}^{-1}$  输入量作为森林生态系统的 N 饱和阈值（Aber *et al.*, 1998）。

（5）N 沉降抑制植物根系生长，降低植物根冠生物量比值（van Dijk *et al.*, 1990），导致植被生态系统物种丰富度丧失，改变生态系统的物种组成及结构功能，同时使土壤微生物物种多样性降低等。欧洲和北美的 N 施肥实验表明，有效 N 的增加会提高草原生态系统速生种和养分含量高的物种的生长速率和优势度，同时减少本地种的物种丰富度（Huenneke *et al.*, 1990）。Lilleskov 等在阿拉斯加的一个工业区所做的研究发现，随着 N 沉降速率的增加，外生菌根的数量由 30 减少到 9，菌根变化可能通过反馈作用降低本地优势灌木种的丰富度，使其被大量外来草种替代（Lilleskov *et al.*, 2002）。

### 1.5 N 沉降条件下 O<sub>3</sub> 浓度升高对树木影响的研究

关于大气 N 沉降对树木 O<sub>3</sub> 胁迫敏感性的影响，当前学术界尚未形成统一的观点，不同研究结论之间存在很大差异。Lippert 等针对不同 N 施加条件下，5 年生欧洲云杉（*Picea abies*）的研究结果显示：高浓度的土壤 N 素输入导致植物叶片光合参数 O<sub>3</sub> 敏感性增强；P ääkk önen 和 Holopainen（1995）、Landolt 等（1997）分别研究了不同 N 沉降水平下欧洲白桦（*Betula pendula*）幼苗生长参数、叶片形态等方面的 O<sub>3</sub> 响应特征，认为 N 素施加能够在一定程度上缓解 O<sub>3</sub> 胁迫（P ääkk önen and Holopainen, 1995; Landolt *et al.*, 1997）；Pell 等通过对生长在不同 N 素梯度下的美洲山杨（*Populus tremuloides*）幼苗进行 2 个月开顶气室 O<sub>3</sub> 熏蒸处理，结果发现：只有在最适 N 施加条件下，O<sub>3</sub> 胁迫导致研究幼苗生物量显著下降，而根冠生物量比值在各种 N 处理中均有下降。Watanable 等在对短柄枹栎（*Quercus serrata*）幼苗光合和生长参数的研究中发现，O<sub>3</sub> 与 N 处理之间不存在明显交互作用。N 沉降条件下植物 O<sub>3</sub> 胁迫响应模式可能存在树种特异性，且受树木生长阶段及其他环境因子的影响（Watanable *et al.*, 2007）。

### 1.6 研究展望

近地层 O<sub>3</sub> 浓度升高是导致全球范围内粮食减产、植被退化的重要原因之一，过去几十年中，世界各国的科学家针对地表植物特别是北美、欧洲地区主要粮食作物的 O<sub>3</sub> 胁迫效应开展了大量的研究工作，建立了基于暴露强度（SUM06、AOT40）、吸收剂量（AF<sub>st</sub>）等 O<sub>3</sub> 胁迫指标的作物产量损失定量评估模型，这些研究构成上述地区现行 O<sub>3</sub> 污染控制标准

的主要理论依据 (Musselmana *et al.*, 2006)。然而, 在东南亚等发展中国家集中的地区, 主要粮食作物的 O<sub>3</sub> 胁迫效应研究仍有待加强, 一方面系统化的跨区域大气 O<sub>3</sub> 监测网络亟待建立, 另一方面区域作物 O<sub>3</sub> 敏感性评价研究需要大规模开展。此外, 目前的 O<sub>3</sub> 胁迫模型未能考虑植物自身的抗氧化能力, 整合环境 O<sub>3</sub> 暴露强度、植物气孔 O<sub>3</sub> 吸收过程、抗氧化系统 O<sub>3</sub> 清除能力等多方面信息, 建立基于过程的 O<sub>3</sub> 胁迫模型, 将是未来精细量化 O<sub>3</sub> 胁迫效应的基础。

围绕森林树种的 O<sub>3</sub> 胁迫效应, 之前的研究主要涉及叶片伤害症状、形态解剖、生理抗性、光合呼吸、幼苗个体生长、生物量积累与分配等方面; 研究手段多采用人造气箱、开顶气室、FACE 平台等; 研究对象主要针对暖温带针叶、落叶树种以及地中海常绿硬叶树种等。幼树的研究结果在推广到自然生境过程中存在一系列问题, 且针对某些孤立树种的研究不能反映复杂生态系统的 O<sub>3</sub> 胁迫响应模式。因此, 开展自然生境下不同类型森林生态系统 O<sub>3</sub> 胁迫效应长期定位监测研究具有重要意义; 此外, 借助现代分子生物学手段, 深入阐明植物 O<sub>3</sub> 胁迫信号传导过程中的分子调控机制以及植物 O<sub>3</sub> 抗性的基因基础等, 将是未来改良、选育 O<sub>3</sub> 抗性树种的基础。

大气 N 沉降是与近地层 O<sub>3</sub> 浓度升高同时存在的另一个全球性环境污染问题, 关于 N 沉降的生态效应, 过去几十年进行了大量的研究, 对其认识也较为丰富。然而, 针对大气 N 沉降条件下地表植物的 O<sub>3</sub> 胁迫响应模式特征, 目前开展的研究相对较少, 且主要以人工模拟 N 沉降条件下的控制实验研究为主, 人工模拟 N 沉降通常只是以某种简化的含 N 溶液或缓冲液体系经土壤表层浇灌的方式进行施 N, 这与自然条件下复杂的 N 沉降过程存在很大差异。因此, 优化 N 沉降模拟方案, 或者借助开放系统的自然沉降情形开展实验研究, 将有利于对 O<sub>3</sub> 浓度升高与大气 N 沉降复合污染条件下植物胁迫响应特征的客观阐明。此外, 综合考虑大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高、干旱等情形的植物 O<sub>3</sub> 胁迫响应特征研究也是未来全球变化研究的重要方面。

## 第二章 材料与方法

### 2.1 实验地点

实验地点位于浙江省宁波市天童森林生态系统国家野外科学观测研究站（29°48' N, 121°47'E），属典型亚热带季风气候，四季分明，冬季寒冷干燥，夏季温暖湿润。年平均气温 16 °C，最暖月 7 月平均气温 28.1 °C，最冷月 1 月份平均气温 4.2°C， $\geq 10^\circ\text{C}$  的年活动积温为 5166.2°C，全年无霜期 238 天。日均太阳辐射 13.8 MJ m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>，年平均降水为 1375 mm，且主要集中在 6-8 月。土壤类型为山地红黄壤，土质偏酸，pH 值大约在 4.4-5.1 之间，母质基底为中生代沉积物及入侵性的石英岩和花岗岩。区域地带性植被以亚热带次生常绿阔叶林为主，并发育有以马尾松为优势种的常绿针叶林及针叶阔叶、落叶阔叶混交林等多种林分类型（Wang *et al.*, 2007）。

实验期间降水量、太阳辐射强度变化情况如图 2-2 所示，日降水量为每日逐时降水量的总和，太阳辐射强度以每平方米地表每日逐时太阳辐射总量表示。2010 年 5 月 1 日-2010 年 10 月 31 日期间，实验地总降水量为 898.90 mm，最大日降水量为 50 mm，出现在 2010 年 7 月 26 日（暴雨）；日降水量在 25-49.9 mm 范围内，达气象学上大雨标准的天数共 12 天，分布在 5 月份（2 天）、6 月份（2 天）、7 月份（4 天）及 10 月份（4 天）；以暴雨、大雨形式形成的降水量共计 445.20 mm，占监测期降水总量的 49.53%。2010 年 6 月 14 日-7 月 14 日为我国长江三角洲地区梅雨季节，雨水充沛，降水量达 306.60 mm，占监测期降水总量的 34.10%；而在梅雨过后的整个 8 月份，月降水量仅为 12.60 mm，占监测期降水总量的 1.4%，为实验地干旱期。

2010 年 5 月 1 日-2010 年 10 月 31 日期间实验地太阳辐射强度总量为 40766.29 kw m<sup>-2</sup>，最强日辐射出现在 2010 年 8 月 8 日，辐射强度达 468.68 kw m<sup>-2</sup>，最弱辐射日出现在 2010 年 10 月 25 日，辐射强度仅为 24.36 kw m<sup>-2</sup>。日辐射强度超过 400 kw m<sup>-2</sup> 的实验天数为 13 天，对应辐射量占辐射总量的 12.64%；日辐射强度超过 300 kw m<sup>-2</sup> 的实验天数为 56 天，对应辐射量占辐射总量的 51.20%。从图 2-1 可以看出，较低太阳辐射强度通常对应于较高降水，梅雨季节较梅雨前、后期太阳辐射显著偏弱，而从 9 月份开始太阳辐射强度的波动下降主要与生长季末期太阳高度角逐渐变小有关。

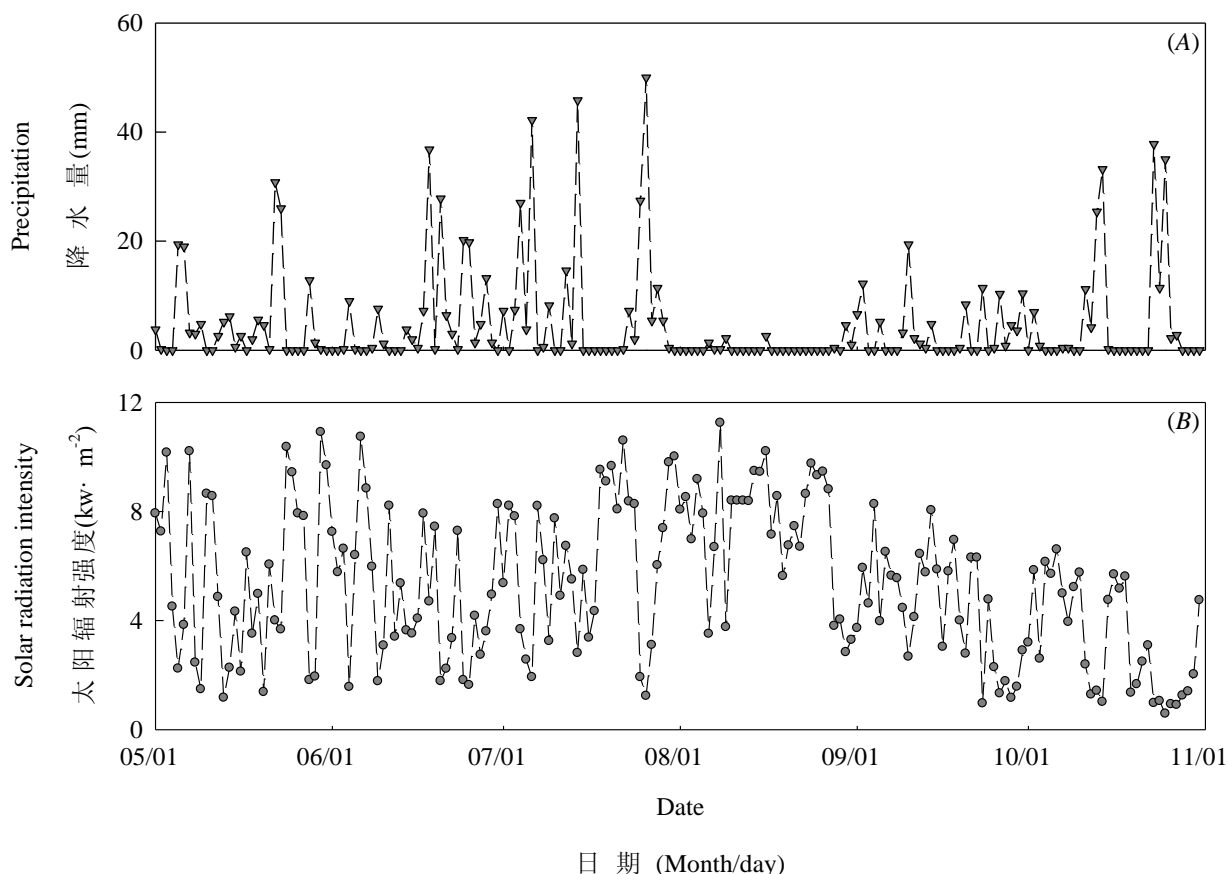


图 2-1 2010 年实验期间日降水量与太阳辐射强度

Figure 2-1 Daily precipitation (A) and solar radiation intensity (B) in the experimental site during May 1 to October 31, 2010

## 2.2 实验设计

### 2.2.1 开顶气室

本研究采用自制的改进型开顶气室进行  $\text{O}_3$  暴露模拟，开顶气室搭建于 2008 年年初，主体部分采用塑钢构架，壁膜为聚乙烯高透性膜（透光率 98.3%）。气室底面为正八边形，边长 1 m，高 2.4 m，上部呈 45° 倾斜，逐步收缩形成直径 1m 的圆形顶端开口，气室总体积约为  $11.5 \text{ m}^3$ 。 $\text{O}_3$  的制备以纯度为 99.6% 的工业用压缩氧气 ( $\text{O}_2$ ) 为源，经高压放电（济南三康环保科技有限公司）产生。用功率为 750 w 的离心风机（气流量为  $14 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}$ ）进行鼓气， $\text{O}_3$  以大气混合气的形式通入开顶气室中，气流控制采用铂子流量计调节，进入气室内的  $\text{O}_3$  经气室布气系统均匀分布于气室内，开顶气室内气流交换速率保证每分钟 2 次以上。

布气系统由水平方向上两根等长且直径为 5 cm 的透明有机玻璃管、垂直方向上一根



直径 11 cm 的 PVC 导气管组成，两部分经轴承连接。每根有机玻璃管长 80 cm，一端封闭，其上等距离分布圆形小孔，小孔与水平方向成 45° 夹角，小孔数量和直径决定于垂直导气管横断面积，一般满足（小孔数量×小孔面积）≥垂直导气管横断面积的关系。水平布气管高于气室内植物冠层顶部 50 cm 以上，其转动动力来源于离心风机气流的推动作用。上述通气、布气管道均采用惰性材料，避免与 O<sub>3</sub> 发生反应。

监测期内日均空气温度高于 25 °C 的天数共 80 天，主要分布在 7、8、9 月份，日均气温高于 30 °C 的天数共 8 天，且全部分布在 8 月份。日均气温最高值出现在 8 月 10 日，达 31.29 °C；日均气温最低值出现在 10 月 27 日，为 11.63 °C。2010 年 5 月 1 日-10 月 31 日期间开顶气室内日均温度平均水平为 23.77 °C，较同期外界空气平均温度 23.13 °C 高 0.64 °C。Mann-Whitney 秩和检验（Mann-whitney rank sum test）结果显示：气室内、外空气温度平均值之间不存在显著差异（ $P=0.178$ ）；监测期内开顶气室内温度时间变异模式与气室外类似，二者之间存在显著相关，相关系数为 0.970（ $P<0.01$ ）。就空气相对湿度平均值而言，气室外为 81.60%，气室内为 82.65%，较前者高 1.05%，两者之间不存在显著差异（ $P=0.178$ ）；开顶气室内、外空气相对湿度时间变异模式特征类似，二者之间的相关系数为 0.875（ $P<0.01$ ）。开气室内、外温湿度的一致性及其变异模式的相似性从一个侧面论证了本实验中采用开顶气室模拟外界大气环境的合理性。

由于本实验是在开顶气室内进行，盆栽幼苗水分供应充足，土壤含水量相对较高，7-8 月份梅雨季节期间，空气湿度大，实验幼苗水分蒸腾量小，故其土壤含水量多控制在 20% 以下，最小土壤含水量出现在 7 月 10 日，为 12.95%；而在 8 月份高温、高辐射、高蒸腾季节，有必要保持植物充足的水分供应，土壤含水量达到 30% 以上，最大含水量达 49.44%，出现在 8 月 19 日；此外，8 月 20 日、8 月 21 日土壤含水量日均值分别为 44.35%、41.99%，超过 40%（图 2-2）。

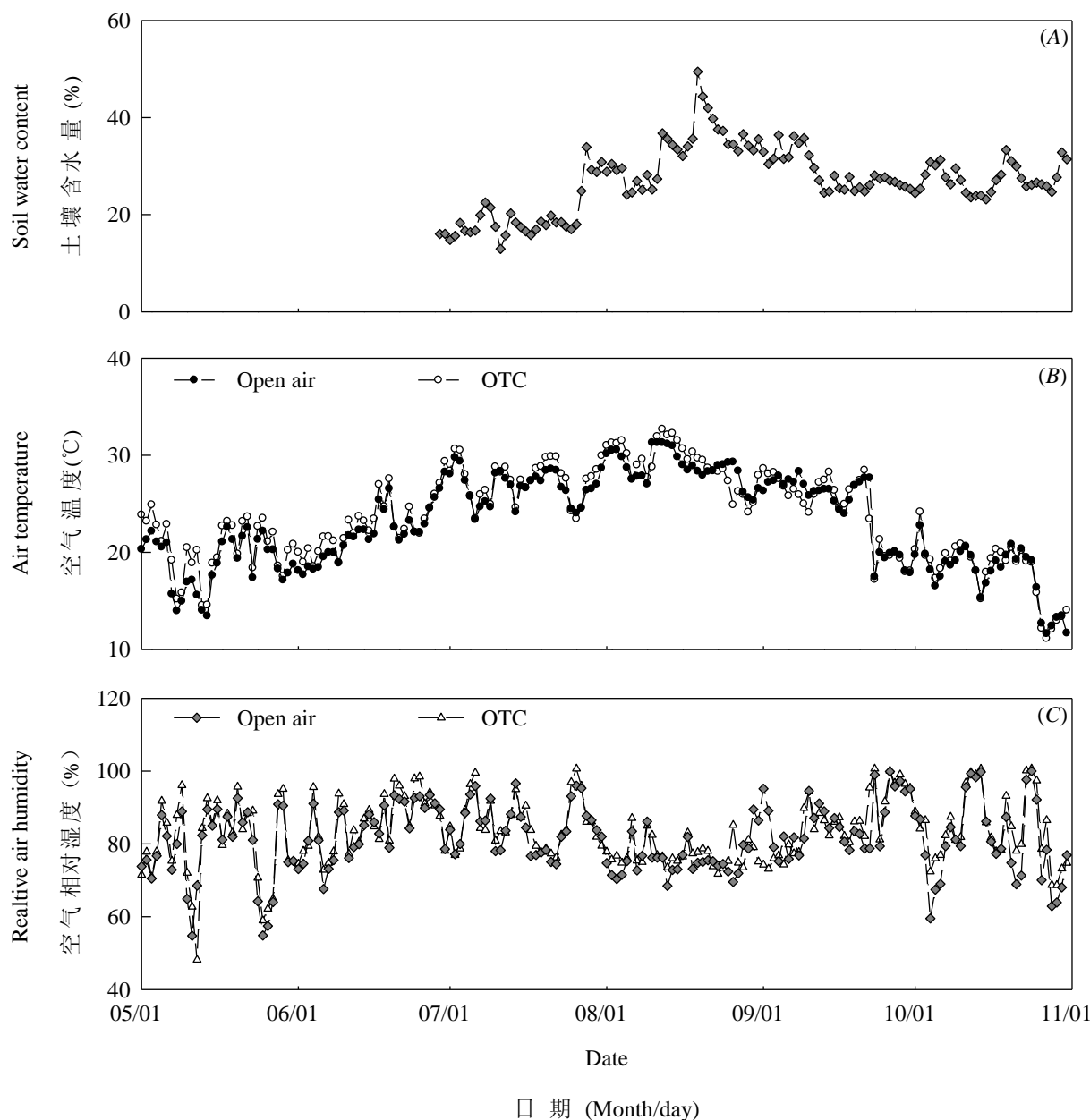


图 2-2 2010 年实验期间土壤含水量与空气温湿度

Figure 2-2 Dynamic patterns of soil water content (A) and comparisons of air temperature (B) and relative air humidity (C) inside and outside open top chambers

### 2.2.2 实验材料

试验材料为香樟 (*Cinnamomum camphora*) 一年生实生幼苗，由浙江省嘉兴市桐乡特种苗木繁育中心购得，于 2009 年 1 月植入容量为 5 L (高 15 cm × 直径 28 cm) 的塑料花盆中，栽培基质为当地红黄壤与树皮腐殖质的混合物 (体积比 1: 1)，土壤有机碳、总氮、总磷、总钾含量分别为 0.98%、1.36 g kg<sup>-1</sup>、0.27 g kg<sup>-1</sup>、1.41%。盆栽幼苗培育于控温温室内，并于 2009 年 4 月中旬移到外界大气环境中缓苗生长。2009 年 5 月 10 日，选取长势一

致的幼苗 90 株 (15×6) 移植于开顶气室中进行 O<sub>3</sub> 熏蒸实验, O<sub>3</sub> 处理时间为 2009 年 5 月 15 日-9 月 10 日, 2010 年 5 月 1 日-10 月 7 日, 阴雨天停止熏气, 试验期间, 水分浇灌充足, 不存在干旱胁迫, 2009 年 10 月-2010 年 3 月越冬期实验幼苗培育于天童实验站温室内, 幼苗成活率 100%。

### 2.2.3 实验处理

O<sub>3</sub> 处理设大气 O<sub>3</sub> 浓度 (AA), 大气 O<sub>3</sub> 浓度+60 ppb (AA+60), 大气 O<sub>3</sub> 浓度+120 ppb (AA+120) 三个水平, 每个 O<sub>3</sub> 水平设两个 OTC 重复, 每个 OTC 中 15 株幼苗随机分为三组, 每组 5 株, 分别设空白对照 (N0)、施 N 30 kg ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup> (N30)、施 N 60 kg ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup> (N60)。N 素施加在 2009、2010 两个生长季内分 12 次进行, 分别为 2009 年 5 月 28 日、6 月 23 日、7 月 7 日、7 月 23 日、8 月 11 日、8 月 27 日, 2010 年 5 月 1 日、5 月 24 日、6 月 11 日、7 月 2 日、7 月 27 日、8 月 20 日, 每次以 250 ml 4.4 mM 或 8.8 mM 硝酸铵(NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) 溶液浇灌于盆内土壤表层, 空白对照浇以等量自来水。

2009、2010 两个生长季 O<sub>3</sub> 处理期间, 实验地环境 O<sub>3</sub> 浓度 8 小时日均值 (M8) 分别为 32.0 ppb、27.2 ppb, 后者低于前者, 这一方面可能是因为 2010 年实验时间长, 包含了更多低浓度 O<sub>3</sub> 天数, 特别是 9 月下旬 10 月初生长季结束的时候, 随着太阳辐射、温度的降低, 地表 O<sub>3</sub> 生成受到制约, 环境 O<sub>3</sub> 浓度一般偏低, 而且此实验中 2010 年 5 月 1 日-5 月 25 日期间包含 15 个阴雨天气日, 阴雨条件下环境 O<sub>3</sub> 浓度通常会降到 15 ppb 以下; 另一方面 2010 年环境 O<sub>3</sub> 浓度日均值的下降可能意味着该区 O<sub>3</sub> 污染状况较 2009 年出现一定程度改善, 这可能是因为区域性 O<sub>3</sub> 污染控制措施的加强和实施导致, 也可能与 2010 年区域气候特征如高降水 (2009 年全年降水量为 1641 mm, 2010 年全年降水量为 1733.4 mm) 等有关。基于同样的原因, 尽管 2010 年 O<sub>3</sub> 暴露时间长于 2009 年, 累积 O<sub>3</sub> 暴露强度指标如 AOT40 与 SUM06 在两个生长季之间差异较小。此外, 从表 2-1 可以看出, AOT40 衡量的 O<sub>3</sub> 累积暴露强度较 SUM06 指标小, 特别是在 AA+60、AA+120 等高浓度 O<sub>3</sub> 处理水平下, 这反映了两种测度指标在不同浓度 O<sub>3</sub> 权重赋予过程中的差异: 高浓度 O<sub>3</sub> 处理 (≥60 ppb) 下, SUM06 通常具有比 AOT40 更快的累积速率。时间变异方面, 实验地环境 O<sub>3</sub> 浓度一般在 6 月上旬及 8 月下旬的晴朗日较高, 梅雨期较低。

气室内盆栽幼苗位置随机分配, 每隔 5 天随机交换; 每隔 10-15 天, 对气室 O<sub>3</sub> 浓度进行随机重置, 对应处理幼苗也随之变化气室, 如此处理可以避免气室间、气室内由于光照、

空气湿度微差异等导致的位置效应，减小系统误差，保证每一株观测植物随机性和独立性。

表 2-1 实验期间 O<sub>3</sub> 暴露强度

Table 2-1 Mean of 8-hour average O<sub>3</sub> concentrations (M8, ppb), AOT40 (ppm h) and SUM06 (ppm h) in different fumigation regimes during the two growing seasons of *Cinnamomum camphora* seedlings

臭氧处理	2009 (05/25-09/10)			2010 (05/01-10/07)		
	M8	AOT40	SUM06	M8	AOT40	SUM06
AA	32.0	5.8	8.4	27.2	6.7	8.6
AA+60	60.3	27.2	46.4	57.7	26.1	45.6
AA+120	88.7	56.0	75.2	88.1	56.3	74.9

## 2.3 实验内容及方法

### 2.3.1 O<sub>3</sub> 浓度及气象数据监测

实验期间，利用紫外吸收 O<sub>3</sub> 分析仪 (Model 49i-Thermo, USA) 对开顶气室内幼苗冠层顶部 10 cm 处 O<sub>3</sub> 浓度进行连续监测，监测时间间隔为 5 分钟，每 30 分钟对其求平均值并作记录存储。开顶气室透光率采用 LI-6400 外置光量子传感器进行测定 (Li-Cor Inc., Lincoln NE, USA)，气室内空气温度、相对空气湿度采用 DSR-TH 温湿度仪 (杭州佐格微系统有限公司，杭州，中国) 进行测量，测量间隔为 30 分钟；气室外空气温度、相对空气湿度来源于天童森林生态系统国家野外科学观测研究站气象站逐时监测数据。空气水汽压亏缺 ( $D$ , kPa) 由气温和湿度根据如下公式求得 (Campbell, 1998)。

$$D = a \times \exp\left(\frac{bT_a}{T_a + c}\right) \times (1 - RH) \quad (2-1)$$

$T_a$ ，空气温度 (°C)； $RH$ ，空气相对湿度；常数  $a$ 、 $b$  和  $c$  分别取值为 0.611 (kPa)、17.502 和 240.97 (°C)。采用 ECH<sub>2</sub>O 土壤湿度测量系统 (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, USA) 测定土壤含水量，测量时间间隔为 10 分钟。

### 2.3.2 叶片伤害症状及叶形态

每隔三天针对全部研究幼苗，检测 O<sub>3</sub> 胁迫导致的叶片伤害症状，包括色斑、叶漂白、叶组织坏死斑块等，并记录每个生长季伤害症状首次出现日期。2010 年 7 月 5 日、8 月 6

日、9月3日、10月1日，对每株幼苗伤害症状叶片（叶损伤面积 $\geq 5\%$ ）数及总叶片数进行统计，并计算受损叶片数占总叶片数的比例。

叶片大小(Leaf size)根据每株幼苗叶片总面积与叶片总数比值确定，比叶面积(Specific leaf area)的确定于2010年6月2日、7月10日、8月20日、10月10日针对不同叶龄叶片取样分别进行，叶面积经LI-3000便携式叶面积仪(Li-Cor Inc., Lincoln NE, USA)扫描计算得出，叶片干重经高温烘干称量确定，比叶面积根据如下公式计算得出：

$$\text{比叶面积} = \text{叶面积} / \text{叶片干重} \quad (2-2)$$

### 2.3.3 叶绿素与叶片抗性生理

实验幼苗叶片叶绿素含量主要采用分光光度法进行测定，并结合叶绿素仪 SPAD502 (Minolta Corporation Ltd., Osaka, Japan) 的使用，两种方法主要区别在于前者可以得出叶片中不同成分叶绿素含量的准确浓度，后者只是给出叶绿素总量水平的相对值 (SPAD 值)，无量纲，但是后者操作简便，可实现对植物的原位无损测量。分光光度法测定叶绿素含量基于  $0.9 \text{ cm}^2$  的叶圆片进行，在  $4^\circ\text{C}$  暗环境下用 4 ml 95% 的乙醇溶液浸泡提取 48 小时，然后测定提取液在 664、648、470 nm 波长的吸光度，根据 Lambert-Beer 定律：

$$A = Kbc \quad (2-3)$$

其中  $A$  为吸光度； $K$  为吸光系数； $b$  为溶液的厚度； $c$  为溶液浓度。结合运用 Lichtenthaler (1987) 的修正公式可计算叶绿素 a、叶绿素 b 以及类胡萝卜素含量。采用 SPAD502 叶绿素仪测量叶绿素含量原理如下：叶绿素吸收峰主要分布在蓝光和红光区域，在绿光区域形成吸收低谷，在近红外区域几乎没有吸收。发光二极管同时发射出峰值波长为 650 nm 的红光和峰值波长为 940 nm 的近红外光，到达植物叶片后，经叶片叶绿素吸收、叶表反射，剩余部分透过叶片被接收器转换为相应的电信号，近红外光发射和接收主要是为了消除叶片厚度等方面对测量结果的影响，红光电信号经 A/D 转换器转换为数字信号，微处理器利用这些数字信号计算叶绿素的相对含量，表示为 SPAD 值：

$$SPAD = K \lg \left( \frac{IR_t / IR_0}{R_t / R_0} \right) \quad (2-4)$$

$K$  为常数； $IR_t$  为经过叶片后的近红外光强度； $IR_0$  为二极管发射的初始近红外光强度； $R_t$  为经过叶片后的红光强度； $R_0$  为初始红光强度。

选取幼苗中上部没有明显 O<sub>3</sub> 胁迫症状的成熟叶片,在远离叶脉部位打孔制备直径 1 cm 的叶圆片,冷冻保存于-80℃以待生理抗性分析。丙二醛 (Malondialdehyd, MDA) 含量采用硫代巴比妥酸法测定:称取 40-50 mg 冷冻样品,液 N 环境下研磨,与 2 ml 6% 的三氯乙酸 (Trichloroacetic acid, TCA) 溶液混合以制备匀浆液,并将其转移到 5ml 离心管中,4℃ 条件下 13000×g 离心 15 分钟,离心上清液与 5% 的硫代巴比妥酸 (Thiobarbituate acid, TBA) 溶液混合,在 95 °C 水浴锅中反应 15 分钟,反应体系为 20% 的 TCA 缓冲液,反应产物 8000 ×g 离心 5 分钟,转移其上清液并于 450、532、600 nm 波长下测定吸光度,MDA 含量可由下列方程计算得出 (Heath and Packer, 1968):

$$C_{MDA} = 6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56A_{450} \quad (2-5)$$

其中  $C_{MDA}$ , MDA 含量,单位为  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $A_{532}$ 、 $A_{600}$ 、 $A_{450}$  分别为 532、600、450 nm 波长溶液吸光度。

酸性环境下,还原型抗坏血酸 (Ascorbic acid, AsA) 能将  $\text{Fe}^{3+}$  还原为  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  可进一步与联吡啶 ( $\alpha, \alpha'$ -bipyridyl) 反应生成有色络合物,该络合物能够吸收 525 nm 波长段光波,根据吸光度可以反推得出叶片还原型抗坏血酸含量;二硫苏糖醇 (Dithiothreitol, DTT) 存在条件下,脱氢抗坏血酸 (Dehydroascorbate, DHA) 被还原为还原型抗坏血酸,然后根据还原型抗坏血酸的定量方法可以求出总抗血酸含量,反应体系中多余的二硫苏糖醇可用 N-乙基马来酰亚胺 (N-Ethylmaleimide, NEM) 清除 (Okamura, 1980)。

总抗氧化能力的测定采用 FRAP 法 (Griffin and Bhagooli, 2004) 测定,以能够还原  $\text{Fe}^{3+}$  得到的  $\text{Fe}^{2+}$  量为其测度。2, 4, 6-三吡啶基三嗪 (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine, TPTZ) 存在条件下,植物抗氧化剂能将  $\text{Fe}^{3+}$  还原为  $\text{Fe}^{2+}$ , 并形成在 593 nm 波段具有最大光吸收的  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ 复合物,其吸光度与反应体系中抗氧化物含量存在线性关系。20-30 mg 冷冻样品在液 N 环境下研磨并溶解于 2 ml 体积分数为 70% 的冰乙醇溶液中,4 °C 条件下 3000 rpm 离心 20 分钟,吸取 10  $\mu\text{l}$  离心上清液,并用 90  $\mu\text{l}$  去离子水稀释,然后与新鲜制备的 900  $\mu\text{l}$  FRAP 体系常温反应 40 分钟并测定反应产物吸光度。FRAP 反应体系的制备过称如下:300 mM 醋酸盐缓冲液 (Acetate buffer, pH=3.6), 10 mM 2, 4, 6-三吡啶基三嗪溶液和 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  溶液按 10: 1: 1 比例混合并加热至 37 °C。

### 2.3.4 叶片元素含量分析

叶片元素含量包括总碳、总氮及硫含量的测定基于元素分析仪平台 (Vario ELIII,

Germany) 进行, 叶片经 85℃ 烘箱烘干至恒重, 粉碎研磨过 100 目筛, 取大约 12 mg 装入锡舟, 以茶叶为标样, 进样分析。

### 2.3.5 光合与荧光参数

利用配置有荧光叶室 (6400-40) 的红外气体分析系统 LI-6400 (Li-Cor Inc., Lincoln NE, USA) 测量光照条件下植物叶片气体交换速率、荧光特征等参数, 包括净光合速率 ( $P_N$ )、气孔导度 ( $G_s$ )、胞间  $CO_2$  浓度 ( $C_i$ )、蒸腾速率 ( $T_{mmol}$ )、饱和光强下光系统 II (PSII) 光化学效率 ( $F_v' / F_m'$ )、光化学淬灭系数 ( $qP$ )、光系统 II 有效光化学量子产率 ( $\Phi_{PSII}$ ) 等, 水分利用效率 (Water use efficiency, WUE) 表示为  $P_N$  与  $C_i$  的比值。所有测量均在晴朗日上午 09:00-12:00 进行, 光量子通量密度控制在  $1200 \mu mol \cdot m^{-2} s^{-1}$  的饱和水平,  $CO_2$  通过 5 ml 高压钢瓶提供, 通量密度固定为  $380 \mu mol \cdot m^{-2} s^{-1}$ , 测量期间叶室温、湿度分别设置为  $30 \pm 0.5$  °C、 $60 \pm 5\%$ 。所有测量数据均在变异系数  $\leq 3$  的稳定状态下记录, 所有测量针对无明显  $O_3$  伤害症状的叶片进行。

借助于便携式荧光测量系统 (FMS 2, Hansatech Instruments Ltd., Norfolk, UK), 对暗适应条件下叶片最大光化学量子效率 ( $F_v/F_m$ ) 进行测量。叶片首先在避光环境下适应 30 分钟, 打开调制光 (0.6 kHz), 测量  $F_o$ , 然后使用一束持续时间 1 s, 强度为  $8000 \mu mol \cdot m^{-2} s^{-1}$  的饱和光脉冲诱导光系统 II 反应中心关闭、以产生最大荧光  $F_m$ ,  $F_v / F_m$  根据如下公式计算得出:

$$F_v / F_m = \frac{(F_m - F_o)}{F_m} \quad (2-6)$$

光合速率- $CO_2$  浓度响应曲线 (A- $C_i$  response curves) 通过顺序测量 380、200、150、100、50、400、600、900、1200、1500  $\mu mol \cdot mol^{-1}$   $CO_2$  浓度对应的光合速率进行拟合, 开始测量前, 叶片暴露于  $1200 \mu mol \cdot m^{-2} s^{-1}$  饱和光强下进行 15-30 分钟光诱导, 以使光系统 II 充分开放, 测量期间叶室光强、温湿度与瞬时值测定过程中保持一致。根据 Long 和 Bernacchi 的方法拟合确定最大羧化速率 ( $V_{cmax}$ )、最大电子传递速率 ( $J_{max}$ ), 并调整到 25 °C 水平, 以方便测量之间比较 (Long and Bernacchi, 2003)。

### 2.3.6 树干液流

根据热平衡原理, 采用 Dynagage 液流传感器 SGA9-ws (Dynamax Inc., Houston, Texas,

USA) 监测水杉幼苗树干液流动态。选取 6 株长势一致的幼苗 (胸径 9.7-10.3 mm), 在距盆内土表 15 cm 的部位测量树干直径, 用砂纸将树干实验部位打磨平整, 并用吸水海绵清理吸附尘埃, 待干燥后喷施芥花油 (Canola oil), 待其挥发, 残留层可以防止树干表皮与传感器之间发生黏粘。将传感器安装在处理好的树干部位, 传感器在安装前内侧涂一层 G4 绝缘硅胶, 以阻止水汽渗透对传感器热电元件的腐蚀。为防止与外加发生热交换, 安装好的液流传感器外围包裹隔热泡沫铝箔 (Aluminum bubble foil)。数据记录到 CR1000 数据采集器中, 每 10 分钟一次观测, 测量时间从 2010 年 7 月 1 日持续到 9 月 27 日。实时液流值根据热平衡方程及热量-流速转化方程得出:

$$Q_f = P_{in} - Q_r - Q_v \quad (2-7)$$

$$F = Q_f / (C_p \, dT) \quad (2-8)$$

$Q_f$ ,  $P_{in}$ ,  $Q_r$ ,  $Q_v$  分别表示单位时间树干液流携带热量 ( $J \, h^{-1}$ )、加热器输入热量 ( $J \, h^{-1}$ )、树干径向传导热量 ( $J \, h^{-1}$ )、纵向传导热量 ( $J \, h^{-1}$ );  $F$  为液流速率 ( $g \, h^{-1}$ );  $C_p$ , 水的比热, 等于  $4.186 \, J \, g^{-1} \, ^\circ C^{-1}$ ;  $dT$ , 电耦差分信号转换成的温度差。

### 2.3.7 整株呼吸

利用 LI-840  $CO_2/H_2O$  分析仪 (Li-Cor Inc., Lincoln NE, USA) 进行植物整株呼吸速率的测定, 测定系统还包括  $44 \, cm \times 44 \, cm \times 120 \, cm$  铝合金构架密闭箱、遮光罩、气泵、干燥剂、过滤器等。密闭箱内距底面 40 cm、80 cm 处各有一台功率 100 w 的风扇固定在两个对立壁侧, 风扇的作用主要是为了充分混匀箱内气体, 防止出现局部高浓度  $CO_2$  区域。测定过程中, 将植物放置于密闭箱内, 遮光罩完全遮光, 箱内气体经气泵抽取、干燥去湿、过滤除尘后进入  $CO_2$  分析仪进行浓度检测, 经过浓度检测的气体经仪器另一端开口排出并由塑料软管闭合循环回到密闭箱内。分析过程中  $CO_2$  浓度记录起始点为  $420 \, \mu mol \cdot mol^{-1}$ , 每 10 s 作一次记录, 记录时间为 15 分钟。植物整株呼吸速率根据下列公式计算:

$$R = (c_0 - c_m) \times \frac{V}{V_M} \times \frac{1}{T} \quad (2-9)$$

其中  $R$  表示呼吸速率;  $c_0$  为记录起始点  $CO_2$  浓度, 取值为  $420 \, \mu mol \, mol^{-1}$ ;  $c_m$  为记录终点  $CO_2$  浓度;  $V$  表示气室体积, 单位为 L, 取值为 232.32 L;  $V_M$  表示气体摩尔体积, 本研究中近似取标准状况值  $22.4 \, L \, mol^{-1}$ ;  $T$  为记录时间, 单位为 s, 本研究中取值为 900 s。



### 2.3.8 生长参数

实验期内，生长参数测量基于月尺度进行，测量参数包括幼苗株高、基径、叶片数等。株高以主茎高度为准，采用 100 cm 量程钢尺测定；基径大小取土表 10 cm 处幼苗主茎两个垂直方向上游标卡尺读数均值；叶片数的统计结合使用人工计数、新叶标定等多种方法。用不同时期株高、基径测度的差值表示实验幼苗在一定时期内的绝对生长量；绝对生长量与前期生长参数的比值为相对生长量。

### 2.3.9 生物量累积与分配

2010 年 10 月中旬，对所有实验幼苗进行收获，摘除并统计每株幼苗叶片个数，以土表为基准将实验幼苗分为地上、地下部分，对根际吸附的土壤颗粒进行小心清洗。植株各部分于 80 °C 烘箱烘干至恒重，称量并计算植株生物量及地上部分与地下部分生物量比值。

## 2.4 数据分析

基于SAS平台进行数据分析（SAS 9.1.3, SAS Institute, Cary NC., USA），采用双因素方差模型检验O<sub>3</sub>与N处理的主效应及交互效应显著性；重复测量分析模型用来检验时间尺度上观测变量的变异显著性。验后多重比较采用Tukey法，当O<sub>3</sub>处理与N处理之间存在显著交互作用时，多重比较分别在不同N处理水平下3个O<sub>3</sub>浓度之间进行；当两种处理之间交互作用不显著时，首先将处理组合归总到单因素处理3水平下，然后针对每种处理不同水平分别进行多重比较。统计分析前首先进行数据方差齐性与分布正态性检验，并对不满足上述条件的数据进行对数转换。 $P \leq 0.05$ 时，认为差异达到显著水平。



### 第三章 叶片症状与植株生长

#### 3.1 叶片伤害症状

香樟叶片 O<sub>3</sub> 伤害症状主要表现为叶片上表面出现黄色至棕色斑点、镀铜色斑块、叶片萎黄、叶肉组织损伤坏死等。2009 年、2010 年首例 O<sub>3</sub> 伤害症状均出现于最大浓度 O<sub>3</sub> 暴露水平 (AA+120)、最小浓度 N 素施加条件 (N0) 下；首例症状出现对应的 AOT40 分别为 32.68 ppm·h、30.81 ppm·h。

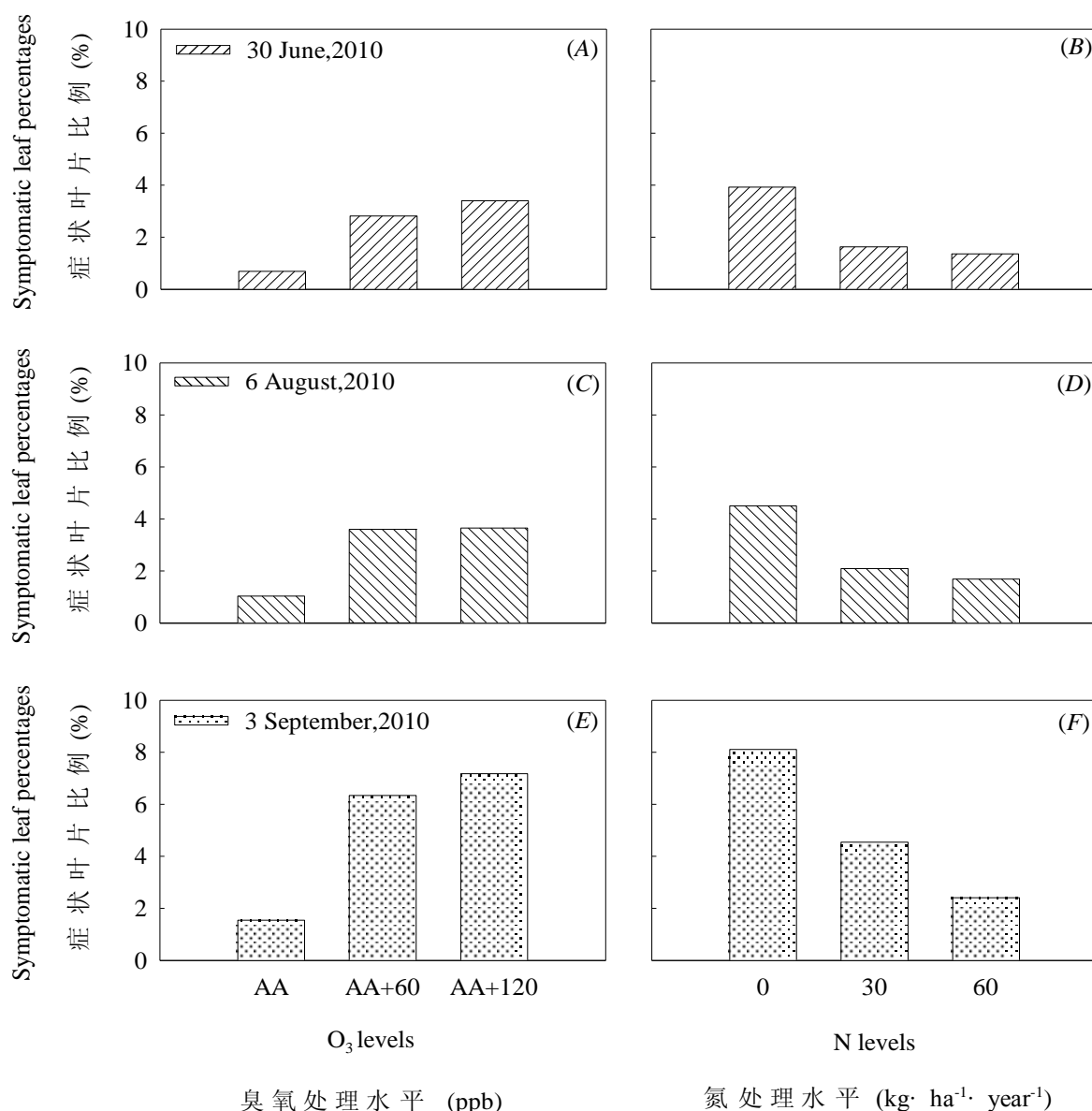


图 3-1 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗症状叶片比例的影响

Figure 3-1 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the symptomatic leaf percentages of *Cinnamomum camphora* seedlings

图 3-1 显示了 2010 年 6 月 30 日、8 月 6 日、9 月 3 日不同  $O_3$  与 N 处理下，香樟幼苗症状叶片（症状面积  $\geq 5\%$  叶片面积）占单株幼苗叶片总数的百分比。随着  $O_3$  暴露时间的延长，香樟幼苗症状叶片比例逐渐上升。大气  $O_3$  浓度加 60 ppb 条件下，症状叶片数在 6 月 30 日平均占单株幼苗叶片总数的 2.82%，8 月 6 日、9 月 3 日这一比例分别为 3.61%、6.34%；高浓度  $O_3$  熏蒸导致香樟幼苗症状叶片比例上升，2010 年 9 月 3 日，AA、AA+60、AA+120 浓度  $O_3$  处理分别对应的症状叶片比例为 1.55%、6.34%、7.17%。N 素施加有利于减轻香樟幼苗的  $O_3$  胁迫伤害症状，8 月 6 日，与 N0 水平相比，N30、N60 水平下症状叶片比例分别降低了 53.44%、62.45%；9 月 3 日，相应比例分别为 43.99%、47.03%。然而，N 施加并未缓解  $O_3$  处理的胁迫症状加剧效应，二者之间不存在显著交互作用，重复测量方差分析显示两种处理交互项对应  $P$  值为 0.53。

### 3.2 比叶面积

基于重复测量的双因素方差分析表明： $O_3$  处理导致 2009 年生叶片比叶面积显著增加 ( $P \leq 0.01$ )，而对于 2010 年生叶片的影响未达到统计显著水平 ( $P = 0.06$ )；N 处理导致两种叶龄叶片比叶面积均显著减小 ( $P \leq 0.01$ )，而  $O_3$  与 N 的交互作用对于两种叶龄叶片比叶面积未产生显著影响 ( $P > 0.05$ )。就每一次单独测量来讲，未检测到  $O_3$  处理对比叶面积的显著效应；N 处理的显著效应在 2009 年生叶片中主要发生在后两次实验观测中（2010 年 8 月 6 日及 9 月 3 日， $P$  值分别小于 0.01 及 0.05），而在 2010 年生叶片中主要发生在第一次（2010 年 6 月 2 日， $P \leq 0.01$ ）及第三次（2010 年 8 月 6 日， $P < 0.01$ ）观测中； $O_3$  及 N 处理的交互效应在任何一次观测中均未达到显著水平。验后多重比较分析发现类似的结论： $O_3$  处理未对香樟叶片比叶面积产生显著影响；而 N60 水平 N 处理导致后两次观测（2010 年 8 月 6 日及 9 月 3 日）中 2009 年生叶片比叶面积较 N0 水平显著降低，N30 水平 N 处理也导致 2009 年生叶片比叶面积降低，但效应未达到显著水平，虽然 N30 与 N60 两种处理水平之间差异不显著；对于 2010 年生叶片，第一次观测（2010 年 6 月 2 日）中 N30 及 N60 水平 N 处理均导致其比叶面积显著降低，而在第三次观测中（2010 年 8 月 6 日）只有 N60 水平 N 处理导致其比叶面积显著降低，N30 水平 N 处理同样倾向于导致 2010 年生叶片比叶面积下降，但其效应未达到显著水平（图 3-2）。

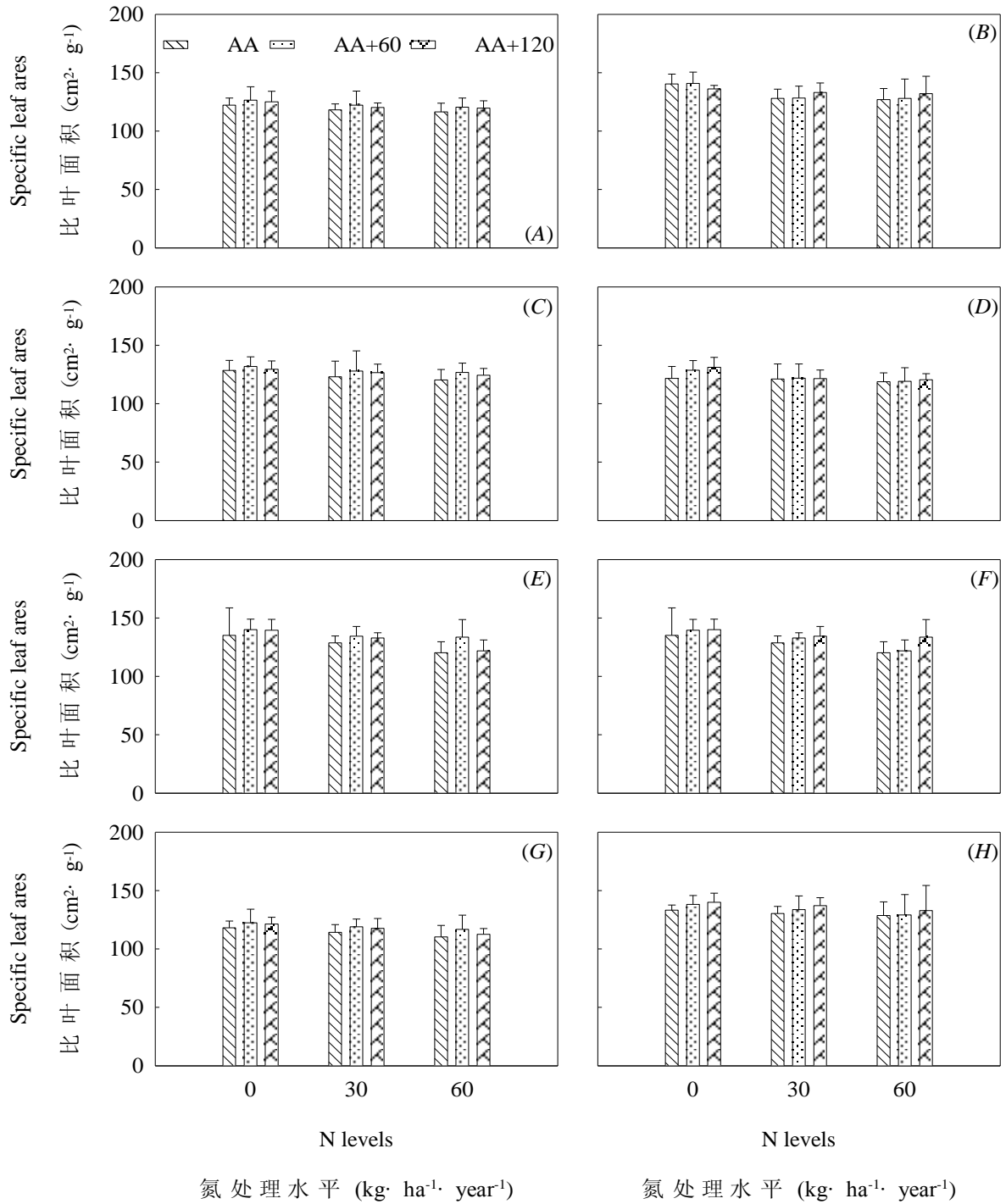


图 3-2 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗比叶面积的影响

Figure 3-2 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on specific leaf area of *Cinnamomum camphora* seedlings (From top down were observations made on June 2, July 10, August 20 and October 10, 2010; left and right columns represent 2009- and 2010-emerged leaves, respectively)

### 3.3 叶片大小

AA+120 水平 O<sub>3</sub> 处理导致香樟幼苗叶片显著变小，而 AA+60 水平 O<sub>3</sub> 处理未显著影响叶片大小；N30 及 N60 水平 N 处理均导致 2010 年生叶片显著变小，而只有 N60 水平 N 处理对 2009 年生叶片大小产生显著影响。此外，本实验中，O<sub>3</sub> 与 N 两种处理在影响叶片大小方面不存在交互作用，分别针对 2009、2010 年生叶片双因素方差分析结果显示：两种处理交互效应对应的概率 P 值分别为 0.38 和 0.27（图 3-3）。

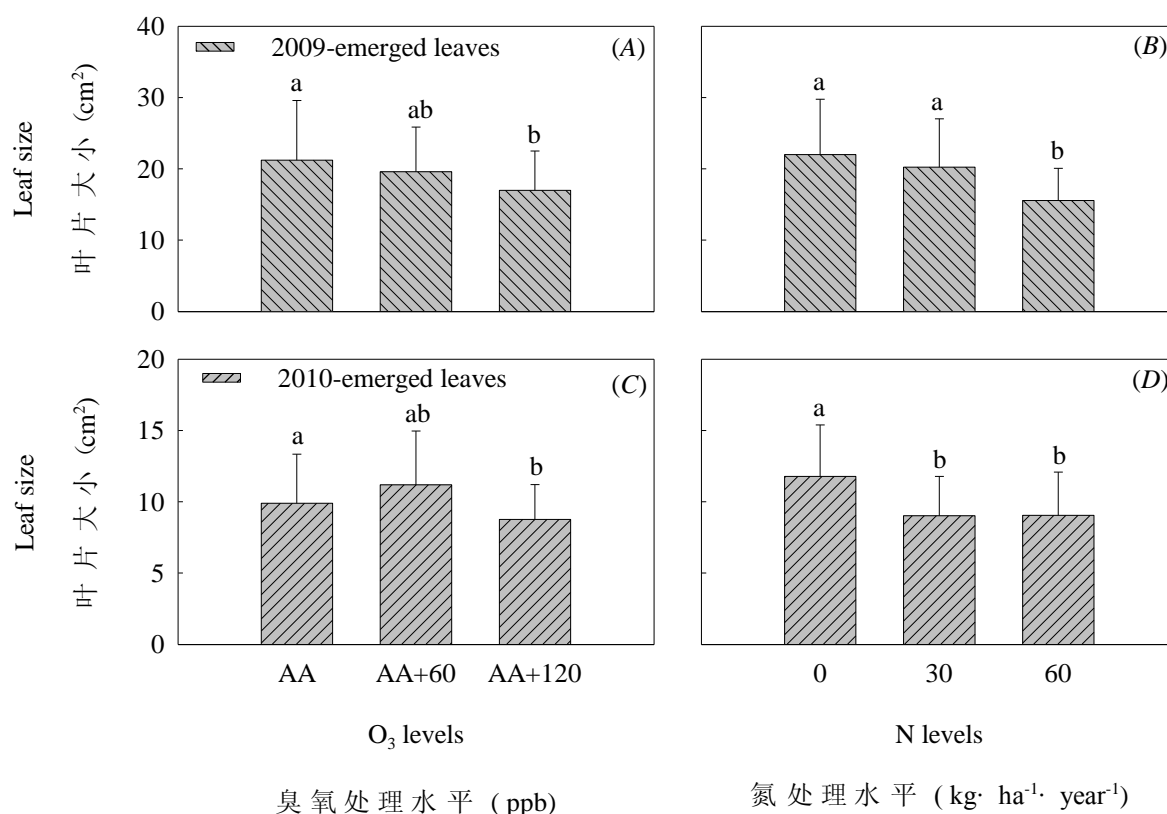


图 3-3 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗叶片大小的影响

Figure 3-3 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the leaf size of *Cinnamomum camphora* seedlings

### 3.4 植株生长

实验期间，针对香樟幼苗生长参数包括株高、基径、叶片数共进行了 10 次测量，测量日期分别为 2009 年 5 月 23 日、6 月 26 日、7 月 28 日、9 月 11 日、2010 年 4 月 27 日、5 月 27 日、6 月 30 日、8 月 6 日、9 月 3 日及 10 月 1 日。考虑到 3 种生长参数之间的联系，将其作为整体，采用多元方差分析方法 (MANOVA)，对 O<sub>3</sub> 处理、N 处理及两者交互效应进行分析，计算多元统计量 Wilks'λ 及其显著性概率 P 值。结果如表 3-1 所示：除 2009

年 5 月 23 日以外, O<sub>3</sub> 处理对香樟幼苗生长的影响均达到统计显著; N 处理效应在 2009 年生长季中后期、2010 年生长季均达到显著; 2010 年 8 月 6 日的测量中发现 O<sub>3</sub> 与 N 交互项 P 值小于 0.05, 单变量的方差分析显示: 2010 年 8 月 6 日 O<sub>3</sub> 与 N 处理在影响植物幼苗叶片数上交互项 P 值为 0.05 (表 3-2)。基于上述事实, 我们认为: O<sub>3</sub> 与 N 处理在影响香樟幼苗生长方面不存在交互作用, 多重比较分别在 O<sub>3</sub> 处理 3 个水平、N 处理 3 个水平下进行。

表 3-1 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗生长参数影响多元统计显著性

Table 3-1 Multivariate statistic significance of the effects of elevated ozone, enhanced nitrogen and their interaction on the growth of *Cinnamomum camphora* (L.) Presl seedlings

实验因素	2009				2010					
	05/23	06/26	07/28	09/11	04/27	05/27	06/30	08/06	09/03	10/01
O <sub>3</sub>	0.95 <sup>n.s.</sup>	0.71 <sup>**</sup>	0.76 <sup>**</sup>	0.82 <sup>*</sup>	0.76 <sup>**</sup>	0.83 <sup>*</sup>	0.85 <sup>*</sup>	0.73 <sup>**</sup>	0.67 <sup>**</sup>	0.64 <sup>**</sup>
N	0.98 <sup>n.s.</sup>	0.87 <sup>n.s.</sup>	0.56 <sup>**</sup>	0.29 <sup>**</sup>	0.33 <sup>**</sup>	0.28 <sup>**</sup>	0.23 <sup>**</sup>	0.18 <sup>**</sup>	0.15 <sup>**</sup>	0.13 <sup>**</sup>
O <sub>3</sub> ×N	0.88 <sup>n.s.</sup>	0.89 <sup>n.s.</sup>	0.84 <sup>n.s.</sup>	0.80 <sup>n.s.</sup>	0.83 <sup>n.s.</sup>	0.88 <sup>n.s.</sup>	0.86 <sup>n.s.</sup>	0.77 <sup>*</sup>	0.83 <sup>n.s.</sup>	0.84 <sup>n.s.</sup>

MANOVA, Wilks'λ, \*P<0.05, \*\*P<0.01, n.s. not significant

基于单变量的双因素方差分析结果如表 3-2 所示: O<sub>3</sub> 处理对香樟幼苗株高的影响在 2009 年未达到统计显著, 而 2010 年生长季 8 月份以后 O<sub>3</sub> 处理显著抑制了株高生长, AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 下香樟幼苗株高显著低于 AA、AA+60 水平 O<sub>3</sub> 处理 (图 3-4 A); O<sub>3</sub> 处理下基径生长表现出与株高类似特性, 2010 年生长季后期 AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 组香樟幼苗基径显著小于 AA、AA+60 处理组 (图 3-4 B)。N 处理对株高、基径的影响均从 2009 年 6 月 26 日测量开始表现为显著, 且幼苗株高仅在 N60 水平下显著高于对照组, 而基径在 N30、N60 处理组下均高于对照组 (图 3-5 A、B)。AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 组香樟幼苗叶片数显著多于对照 O<sub>3</sub> 组 (3-4 C), 2009 年生长季末期及整个 2010 年生长季, N30、N60 处理组幼苗叶片数显著多于 N0 对照组, 且两个 N 处理组之间幼苗叶片数差异达到统计显著 (3-5 C)。

表 3-3 对 2009、2010 两个生长季香樟幼苗株高、基径绝对生长量、相对生长量进行了比较分析, 绝对生长量指生长季末期与生长季初期生长指标的绝对差值, 相对生长量为绝对生长量与初始生长指标的比值。从表 3-3 可以看出: AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理导致香樟幼苗 2010 年株高绝对生长量显著降低, 2010 年基径生长量在 AA+60、AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理下均显著降低; 两个生长季总体来看, AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 对株高、基径绝对生长量的抑制均达

到统计显著。AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理导致香樟幼苗 2009、2010 及两个生长季总体株高、基径绝对生长量显著降低；而 N 处理无论在 N30 还是 N60 水平均显著增加了香樟幼苗株高、基径的绝对生长量（表 3-3）。

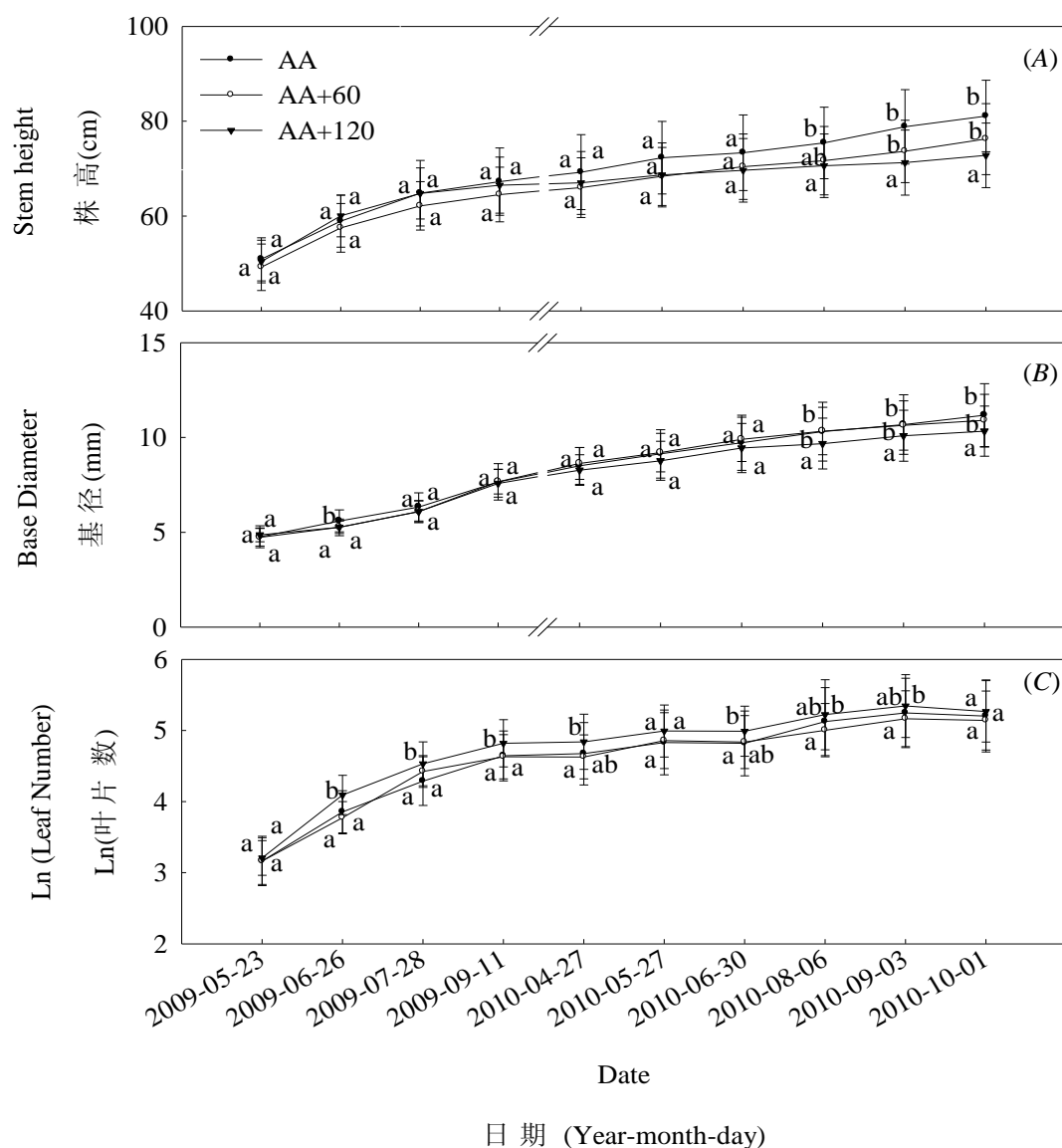


图 3-4 不同 O<sub>3</sub> 处理下香樟幼苗生长参数动态变异特征

Figure 3-4 Dynamic characteristics of the stem height, base diameter and leaf numbers of *Cinnamomum camphora* seedlings under different ozone concentrations



表 3-2 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗生长参数影响显著性

Table 3-2 Significance of the effects of elevated ozone, enhanced nitrogen and their interaction on the stem height, basa diameter and leaf number of *Cinnamomum camphora* (L.) Presl seedling

生长指标	实验因素	2009				2010					
		05/23	06/26	07/28	09/11	04/27	05/27	06/30	08/06	09/03	10/01
株高(cm)	O <sub>3</sub>	0.39	0.12	0.11	0.19	0.14	0.05	0.10	0.02	<0.01	<0.01
	N	0.91	0.41	<0.01	<0.01	<0.01	0.04	0.03	0.02	<0.01	<0.01
	O <sub>3</sub> ×N	0.97	<0.79	0.14	0.14	0.21	0.29	0.23	0.15	0.19	0.66
基径(mm)	O <sub>3</sub>	0.55	<0.01	0.17	0.83	0.10	0.08	0.10	<0.01	<0.01	<0.01
	N	0.68	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	O <sub>3</sub> ×N	0.08	0.22	0.26	0.08	0.23	0.43	0.65	0.36	0.49	0.19
叶片数	O <sub>3</sub>	0.83	<0.01	<0.01	<0.01	0.02	0.07	0.03	<0.01	0.03	0.15
	N	0.87	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.01
	O <sub>3</sub> ×N	0.58	0.45	0.83	0.84	0.73	0.85	0.74	<b>0.05</b>	0.23	0.20

注：叶片数进行对数转换以满足数据分布正态性

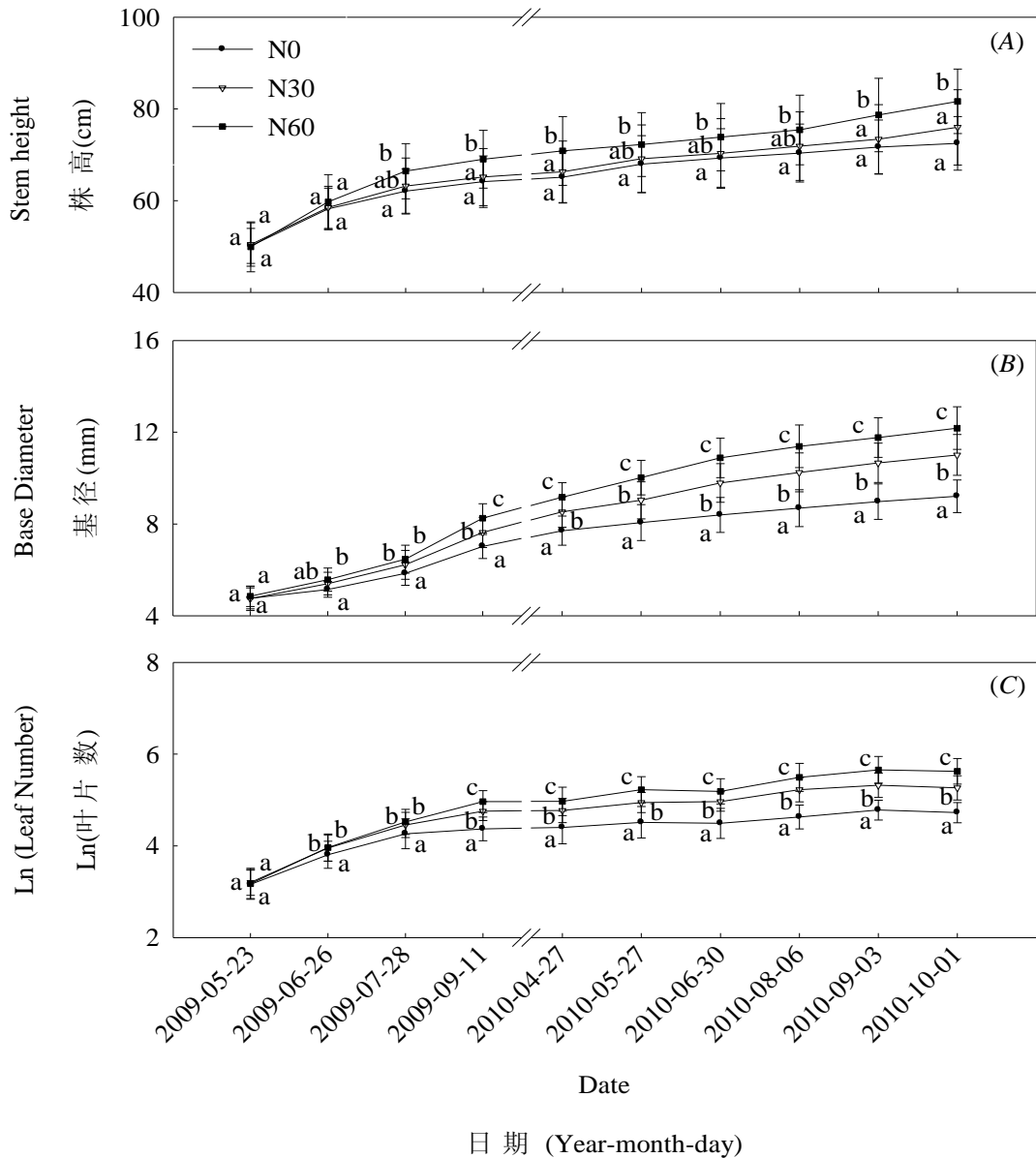


图 3-5 不同 N 处理下香樟幼苗生长参数动态变异特征

Figure 3-5 Dynamic characteristics of the stem height, base diameter and leaf numbers of *Cinnamomum camphora* seedlings under different nitrogen loads

### 3.5 生物量积累与分配

根据叶龄将幼苗叶片分为 2009、2010 年生叶片， $O_3$  处理未对香樟幼苗整株叶面积、叶干重产生显著影响（表 3-4）。N 施加无论是 N30 水平，还是 N60 水平均导致 2009、2010 年生叶片叶面积、叶干重显著增大；N60 水平 N 处理导致 2010 年生叶片总叶面积、叶干重显著高于 N30 水平组；而对于 2009 年生叶片叶面积与叶干重，N60 与 N30 水平 N 处理组之间不存在显著差异（表 3-5）。经过两个生长季熏蒸处理，AA+60、AA+120 浓度  $O_3$  处理均导致香樟幼苗地下部分生物量显著降低，而只有 AA+120 浓度  $O_3$  显著抑制了植物

茎枝部分生物量的积累；总生物量在 AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理下显著降低，而在 AA+60 浓度 O<sub>3</sub> 处理下效应未达到统计显著。N30、N60 水平 N 处理显著促进了香樟幼苗地下部分、地上部分及总生物量的积累，且 N30 与 N60 两个处理组之间差异显著。此外，本实验中 AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理导致香樟幼苗地上部分与地下部分生物量比值显著升高，同时 N60 水平 N 处理也导致这一比例的显著上升，而在 AA+60 浓度 O<sub>3</sub>、N30 水平 N 处理下，香樟幼苗地上部分与地下部分比值均有所增大，但未达到统计显著（表 3-5）。O<sub>3</sub> 与 N 处理在影响香樟幼苗生物量积累及在分配方面不存在显著交互效应（表 3-4）

表 3-3 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗生长参数影响多重比较分析

Table 3-3 Post Hoc multiple comparisons for the absolute and relative change in stem height and basal diameter among different O<sub>3</sub> or N treatments. Numbers are Mean±SD (N=30). Distinct lower case letters and upper case letters indicate significant differences between O<sub>3</sub> treatments and between N loads, respectively

实验处理	株高绝对生长量(cm)			基径绝对生长量(mm)		
	2009	2010	总体	2009	2010	总体
AA	16.4±5.8(32.5%)a	11.8±4.6(17.6%)a	30.2±7.0(60.0%)a	2.9±0.7(61.7%)a	2.7±0.8(31.0%)a	6.4±1.5(136.1%)a
AA+60	15.3±5.9(31.9%)a	10.2±6.1(15.9%)a	27.0±7.6(55.9%)a	2.9±0.7(63.1%)a	2.3±0.8(26.2%)b	6.2±1.4(132.0%)a
AA+120	16.1±7.0(33.0%)a	5.8±1.9(8.8%)b	22.4±8.3(45.8%)b	2.7±0.7(56.4%)a	2.1±0.7(24.7%)b	5.5±1.3(113.5%)b
N0	14.0±4.2(28.1%)A	7.4±3.9(11.6%)A	22.3±5.0(44.9%)A	2.3±0.5(34.1%)A	1.5±0.5(57.4%)A	4.5±0.7(93.0%)A
N30	14.7±5.5(29.6%)A	9.7±5.3(14.9%)AB	25.6±7.3(51.2%)A	2.9±0.5(45.4%)B	2.5±0.5(81.5%)B	6.3±0.8(130.8%)B
N60	19.1±7.3(39.7%)B	10.8±5.7(15.8%)B	31.7±9.1(65.6%)B	3.4±0.6(52.0%)C	3.0±0.6(92.9%)C	7.3±0.9(149.6%)C

注：绝对生长量，生长季末株高（基径）－生长季初株高（基径）；相对生长量，生长季末株高（基径）－生长季初株高（基径） / 生长季末株高（基径）

表 3-4 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗生物量影响显著性

Table 3-4 Significance of the effects of elevated ozone, enhanced nitrogen and their interaction on the whole seedling leaf area, leaf weight, stem weight, root weight, total biomass and shoot/root ratio of *Cinnamomum camphora* (L.) Presl seedlings

实验因素	2009 叶面积	2010 叶面积	2009 叶干重	2010 叶干重	茎枝干重	地上部分生物量	根干重	总生物量	地上/地下比值
O <sub>3</sub>	0.63	0.98	0.19	0.50	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	0.02
N	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
O <sub>3</sub> ×N	0.89	0.99	0.94	0.99	0.86	0.93	0.39	0.65	0.79

表 3-5 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗生物量影响多重比较分析

Table 3-5 Post Hoc multiple comparisons for leaves area (cm<sup>2</sup>), leaf dry weight (g), stem dry weight (g), root dry weight (g), total biomass (g) and shoot/root among different O<sub>3</sub> or N treatments. Numbers are Mean±SD (N=30). Distinct lower case letters and upper case letters indicate significant differences between O<sub>3</sub> treatments and between N loads, respectively

实验处理	2009 叶面积	2010 叶面积	2009 叶干重	2010 叶干重	茎枝干重	根干重	总生物量	地上/地下比值
AA	1189.8±248.7a	1245.4±413.1a	10.5±2.4a	9.6±3.3a	28.5±8.6a	34.9±7.5a	83.5±19.7a	1.38±0.17a
AA+60	1189.2±238.8a	1244.4±391.0a	10.2±2.3a	9.4±3.2a	27.4±11.0ab	31.7±8.5b	78.7±22.9a	1.48±0.24ab
AA+120	1144.2±351.2a	1234.6±400.3a	9.6±3.0a	9.1±3.1a	24.6±8.6b	28.3±7.6c	71.6±20.7b	1.52±0.18b
N0	903.2±203.9A	866.2±189.7A	7.5±1.7A	6.3±1.4A	17.3±4.2A	23.0±4.7A	54.1±9.3A	1.37±0.20A
N30	1283.1±198.1B	1165.2±217.1B	11.0±1.7B	8.7±1.7B	26.7±3.8B	32.3±3.8B	78.6±7.7B	1.45±0.14AB
N60	1337.0±217.2B	1692.9±195.3C	11.8±1.9B	13.0±1.5C	36.5±7.4C	39.7±5.2C	101.0±11.3C	1.56±0.24B

### 3.6 小结与讨论

O<sub>3</sub>处理导致香樟幼苗叶片表现出明显的胁迫损伤症状：叶片褪绿、萎黄、暗色斑点、斑块等。类似症状在杂交杨 (*Populus deltoids* × *Populus trichocarpa*) (Ryan *et al.*, 2009)、白蜡 (*Fraxinus excelsior*) (Gerosa *et al.*, 2003)、黑樱桃 (*Prunus serotina*) (Lee *et al.*, 1999)、欧洲云杉 (*Picea abies*) (Brown and Roberts *et al.*, 1998)、栎树 *Quercus faginea*, *Q. pyrenaica* and *Q. robur*等树种的研究中也有报道 (Calatayud *et al.*, 2011)。本实验中, 2009、2010年香樟叶片首例可见伤害症状出现对应的AOT40分别为32.68、30.81 ppm·h, Gerosa等基于OTC的实验研究显示: 2003、2004两个生长季欧洲山毛榉 (*Fagus sylvatica*) 幼树叶片首例可见症状出现对应的AOT40与植物水分胁迫状况有关, 水分供给充足情况下分别为23.34、18.79 ppm·h, 干旱条件下分别为27.55、24.45 ppm·h (Gerosa *et al.*, 2008)。Calatayud等对比研究了地中海地区常绿栎 *Quercus ilex*、落叶栎 *Q. faginea*, *Q. pyrenaica*, *Q. robur*的O<sub>3</sub>胁迫症状, 结果表明: 2006、2007年两个实验季落叶栎首例叶片伤害症状对应的AOT40值范围在23.66-28.83 ppm·h之间, 而常绿栎在两年实验中未出现O<sub>3</sub>伤害症状 (Calatayud *et al.*, 2011), 针对地中海常绿树种的研究显示: 橄榄树 (*Olea europaea*) 幼苗在两个生长季NF+ (Non-filtered air plus 40 ppb O<sub>3</sub>) 处理过程中同样未表现出明显的叶片伤害症状 (Ribas *et al.*, 2005)。香樟作为我国亚热带地区广布常绿阔叶树种, 其O<sub>3</sub>胁迫抗性较暖温带落叶树种更强, 却比地中海常绿硬叶树种弱。Orendovici通过对北美、西欧40种本土树种的O<sub>3</sub>胁迫症状进行研究, 认为AOT40与叶片伤害症状面积存在显著线性关系 (Orendovici *et al.*, 2003), 本实验中, 随着O<sub>3</sub>浓度的增高及暴露时间的延长, 症状叶片百分比明显上升 (图3-1 A、C、E); N处理导致香樟幼苗症状叶片比例明显降低 (图3-1 B、D、F), 这与Thomas等针对欧洲山毛榉 (*F. sylvatica*) 和欧洲云杉 (*P. abies*) 幼苗的研究结果相左 (Thomas *et al.*, 2006, 2005), O<sub>3</sub>与N处理在影响香樟幼苗叶片伤害症状方面不存在显著交互作用。

本实验中, O<sub>3</sub>处理未对香樟幼苗叶片比叶面积产生显著影响, 针对地中海常绿树种冬青栎 (*Quercus ilex*) 和橄榄 (*Olea europaea*) 的研究也未发现O<sub>3</sub>对植物叶片比叶面积的显著影响 (Ribas *et al.*, 2005)。N处理导致香樟幼苗比叶面积显著减小, 叶片厚度显著增加, 叶片较厚通常意味着较强的O<sub>3</sub>胁迫抗性, 这主要是因为一方面叶肉组织的变厚会导致O<sub>3</sub>扩散进入植物叶片的路径变长、阻力增大; 另一方面较厚的叶片组织意味着较强的光合碳同化能力, 同化物的高效积累有利于叶片氧化胁迫解毒能力的增强 (Bytnerowicz *et al.*, 2004; Matyssek *et al.*, 2007; Bussotti, 2008)。

AA+120浓度O<sub>3</sub>处理下, 香樟幼苗2009、2010年生叶片均显著变小(图3-3 A、C), 这与Günthardt-Goerg等在垂枝桦(*Betula pendula*) O<sub>3</sub>胁迫效应研究中得出的结论一致(Günthardt-Goerg *et al.*, 1993)。较小的叶片有利于O<sub>3</sub>胁迫下植物受损叶片的高效隔离、脱落等, 从而有利于植物最小化O<sub>3</sub>胁迫的潜在危害。N处理同样导致香樟幼苗叶片显著变小(图3-3 B、D), 然而, 本实验中O<sub>3</sub>处理与N处理在影响香樟叶片大小方面不存在显著交互作用。

两个生长季 AA+120 水平 O<sub>3</sub> 处理显著抑制了香樟幼苗株高、基径绝对生长量, 深入分析显示: 上述抑制效应主要出现在 2010 年。2009 年 O<sub>3</sub> 处理未对香樟幼苗生长产生显著影响, 该事实一方面论证了香樟作为常绿树种, 由于其较低的气孔导度及气体交换速率而具有相对较强的 O<sub>3</sub> 抗性 (Calatayud *et al.*, 2011; Paoletti, 2006); 另一方面说明, O<sub>3</sub> 对植物生长影响具有时间累积效应 (Ollinger *et al.*, 1997)。此外, 从株高、基径的 O<sub>3</sub> 胁迫响应差异方面来看, AA+60、AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 均导致 2010 年香樟幼苗基径生长量显著降低, 而 O<sub>3</sub> 对株高的抑制效应只有在 AA+120 浓度水平下达到显著, 植物径向生长较纵向生长具有更高的 O<sub>3</sub> 敏感性。

N 处理导致 2009、2010 两个生长季香樟幼苗株高、基径绝对生长量显著增大, 株高绝对生长量仅在 N60 水平 N 处理水平下达到显著, 而基径绝对生长量在 N30、N60 水平 N 处理下均显著增大, 意味着香樟幼苗径向生长较纵向生长对 N 素的响应更敏感。与之类似, 连续两个生长季 1.5×最优水平 N 处理导致苏格兰松 (*Pinus sylvestris*) 幼苗基径生长量显著增加, 而对株高的影响不显著 (Utriainen and Holopainen, 2001)。N 施加对植物生长的促进效应在其他树种如栲树 *Castanopsis sieboldii* (Watanabe *et al.*, 2008)、栎树 *Fagus crenata* (Yamaguchi *et al.*, 2007)、欧洲云杉 (*Picea abies*) (Thomas *et al.*, 2005)、杂交杨 (*Populus balsamifera*×*P. trichocarpa*) (Ibrahim *et al.*, 1997) 中也有大量报道。

O<sub>3</sub> 胁迫导致树木生物量积累显著降低 (Wittig *et al.*, 2009)。本研究中, 持续两个生长季 AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理导致香樟幼苗生物积累量显著下降 (14.3%)。AA+60 浓度 O<sub>3</sub> 下, 香樟幼苗生物量积累下降幅度未达到统计显著, 针对落叶阔叶树种如短柄枹栎 (*Quercus serrata*)、圆齿水青冈 (*Fagus crenata*) 幼苗等的研究发现: 持续两个生长季 62-85 ppb 浓度 (与本实验中 AA+60 浓度相当) O<sub>3</sub> 处理导致植株生物量积累显著降低 (12-29%) (Yamaguchi *et al.*, 2007; Watanabe *et al.*, 2007)。在地中海常绿树种冬青栎 (*Quercus ilex*)、月桂 (*Laurus nobilis*) 的研究中未发现高浓度 O<sub>3</sub> 对生物量积累的显著抑制效应 (Calatayud



*et al.*, 2011; Nali *et al.*, 2004)。常绿树种较落叶树种具有较强的 O<sub>3</sub> 胁迫抗性。此外, 本实验中, N 处理 (N30/N60) 导致香樟幼苗生物量积累显著增加, N 素施肥效应与 O<sub>3</sub> 胁迫效应之间呈现加性关系, 而无交互效应, 类似结果在也见于对圆齿水青冈 (*Fagus crenata*) 幼苗的控制实验研究中 (Yamaguchi *et al.*, 2007)。Watanabe 等研究了不同 N 施加条件下两年生栲树 *Castanopsis sieboldii* 的 O<sub>3</sub> 胁迫效应, 结果显示: O<sub>3</sub> 与 N 处理在对幼苗地上部分生物量及总生物量的影响方面不存在显著交互效应, 在对幼苗根际生物量的影响上存在显著交互作用 (Watanabe *et al.*, 2008)。

本实验中, O<sub>3</sub> 处理对香樟幼苗地下部分生物量的抑制效应大于地上部分。AA+60 浓度 O<sub>3</sub> 处理导致香樟幼苗地下部分、地上部分生物量积累分别下降了 9.2%、3.0%, AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理对应的香樟幼苗地下、地上部分生物量积累下降幅度分别为 18.9%、10.7%, 地上部分/地下部分生物量比值在 AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理下显著增大。植物体内抗氧化物合成对光合同化产物的叶部截留效应, 以及 O<sub>3</sub> 介导的氧化损伤对树木韧皮部同化产物输送功能的阻断可能是 O<sub>3</sub> 胁迫条件下植物地下部分/地上部分生物量比值降低的主要原因 (Friend and Tomlinson, 1992; Grantz, 2003)。Yamaji 等基于开放大气 O<sub>3</sub> 浓度增高平台研究了 17 个垂枝桦 (*Betula pendula*) 克隆株系的 O<sub>3</sub> 胁迫响应特征, 结果显示: 两个生长季 1.5-1.7 倍环境浓度 O<sub>3</sub> 暴露导致其中 5 个克隆系幼苗根冠比显著减小, 10 个克隆系幼苗根冠比显著增大, 另外 2 个克隆系幼苗根冠比保持稳定 (Yamaji *et al.*, 2003)。Landolt 等基于开顶气室研究了 4 种一年生幼树的 O<sub>3</sub> 胁迫效应, 结果表明: O<sub>3</sub> 胁迫导致欧洲山毛榉 (*Fagus sylvatica*)、白蜡 (*Fraxinus excelsior*) 幼苗根冠比显著降低, 而欧洲云杉 (*Picea abies*)、苏格兰松 (*Pinus sylvestris*) 幼苗根冠比不受 O<sub>3</sub> 处理影响 (Landolt *et al.*, 2000), O<sub>3</sub> 胁迫下树木根冠比的变异特征可能因树木种类、基因型不同而不同, 同时受树木生长环境、发育阶段等因素影响。

N 施加对香樟生物量积累地上部分的促进效应大于地下部分, N30 水平 N 处理导致香樟地上部分、地下部分生物量积累分别增加了 49.4%、40.4%, N60 水平 N 处理对应的香樟地上部分、地下部分生物量增幅分别为 91.7%、72.6%, N60 处理下, 香樟地下部分/地上部分生物量比值显著降低, N 施加条件下植物根冠比的降低在垂枝桦 (*Betula pendula*)、橄榄 (*Olea europaea*)、苏格兰松 (*Pinus sylvestris*) 等其他树种中也有大量报道 (Ericsson, 1995; Hassan *et al.*, 2010; Holopainen *et al.*, 1995)。植物地下部分与地上部分生物量比值的下降一方面会限制植物根际土壤水分、矿质元素的高效吸收; 另一方面可能导致植物体水分蒸腾变大, 水分利用效率降低, 上述效应的不断积累最终可能影响植物对其他胁迫因子

如 O<sub>3</sub> 等的响应特征 (Oksanen, 2005)。

## 第四章 生理生化指标

### 4.1 光合色素

图 4-1 展示了实验期间  $O_3$  处理对香樟幼苗叶片光合色素含量的影响。 $O_3$  处理显著降低了香樟叶片叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 (a+b) 及类胡萝卜素含量 ( $P < 0.01$ )；2009 年  $O_3$  处理导致香樟叶绿素 a/b 显著降低 ( $P < 0.01$ )，而在 2010 年这一效应未达到显著 ( $P = 0.86$ )。验后多重比较结果显示：2009 年 7 月 8 日及 2010 年整个生长季，AA+120 水平  $O_3$  处理导致叶绿素 a 含量显著降低，而 AA+60 水平  $O_3$  处理的显著效应仅在 2009 年 7 月 29 日及 9 月 13 日检测到 (图 4-1 A)； $O_3$  胁迫导致的叶绿素 b、类胡萝卜素含量显著降低同样主要发生在 AA+120 高水平  $O_3$  处理下 (图 4-1 C、E)；此外，2009 年 7 月 29 日，AA+60 以及 AA+120 水平  $O_3$  处理均导致叶绿素 a/b 的显著降低，而在 2009 年 9 月 13 日，只有 AA+120 水平  $O_3$  的处理效应达到显著 (图 4-1 D)。

N 处理具有与  $O_3$  处理相反的效应，导致香樟叶片叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 (a+b)、类胡萝卜素含量显著升高 ( $P < 0.01$ )；叶绿素 a/b 未受 N 处理显著影响，2009、2010 年处理效应对应的 P 值分别为 0.21、0.27。分别针对每一次测量的方差分析结果显示：除 2009 年 7 月 8 日以外，N30 及 N60 水平的 N 处理均导致香樟叶片光合色素含量的显著升高，且两个 N 处理水平之间差异显著；N 处理下，叶绿素 a/b 在 2010 年 5 月 31 日呈显著下降，而在 2010 年 7 月 10 日表现为显著升高 (图 4-2)。

整体分析结果表明： $O_3$  与 N 两种处理的交互作用对香樟叶片光合色素含量的影响未达到显著水平，对应于叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 (a+b)、叶绿素 a/b 及类胡萝卜素含量，交互效应项 P 值在 2009 年分别为 0.11、0.07、0.09、0.73、0.14，在 2010 年交互项 P 值分别为 0.66、0.07、0.07、0.83、0.66。针对每一次测量的独立方差分析结果显示：2009 年 7 月 8 日， $O_3$  与 N 两种处理在影响叶片叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 (a+b) 含量方面存在交互作用 (P 值分别为 0.04、0.02、0.03)；2010 年 10 月 10 日针对叶绿素 a、叶绿素 (a+b) 以及叶绿素 a/b，两种处理之间也表现出显著的交互作用 (P 值分别为 0.02、0.02、0.01)。且交互效应主要表现为：N30 条件下，高浓度  $O_3$  胁迫导致光合色素含量下降幅度最大，以 2010 年 10 月 10 日为例说明：N0 水平 N 处理下，AA+60、AA+120 水平  $O_3$  处理分别导致香樟叶片叶绿素 a 含量下降 8.11%、29.10%；N30 水平下，两种水平  $O_3$  处理导致叶绿素 a

的下降幅度分别为 34.52%、44.70%；而在 N60 水平下，对应值为 27.96%、35.64%；N0 水平下，AA+60、AA+120 水平 O<sub>3</sub> 胁迫导致的叶绿素 b 下降幅度分别为 9.47%、27.98%，而在 N30 水平施 N 条件下，两种水平 O<sub>3</sub> 处理对应的叶绿素 b 下降幅度分别为 28.64%、42.36%，N60 条件下则分别为 24.90%、36.01%。

此外，香樟叶片光合色素含量表现出显著的时间变异特征 (Wilks'  $\lambda < 0.01$ )，叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 (a+b) 以及类胡萝卜素含量均在 2010 年 5 月 31 日出现低谷，随后逐渐增加，8 月份达到极大值，然后下降并与 2009 年生长季中期持平；叶绿素 a/b 具有相反的变化趋势，2009 年生长季末及 2010 年生长季初偏高，2010 年生长季中期有所降低，而后在 2010 年生长季末又有所升高 (图 4-1、图 4-2)。O<sub>3</sub> 处理与处理时间、N 处理与处理时间之间的交互作用在对叶片光合色素含量影响方面表现为统计显著 (Wilks'  $\lambda < 0.01$ )；O<sub>3</sub> 处理、N 处理、处理时间三者之间未检测到显著交互效应 (Wilks'  $\lambda > 0.05$ )。

## 4.2 膜脂过氧化

以研磨溶浆中丙二醛 (Malondialdehyde) 含量水平作为 O<sub>3</sub> 胁迫条件下香樟幼苗叶片膜脂过氧化程度的度量，测定在 2009 年生长季季末进行，结果显示：一个生长季 AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 胁迫导致香樟幼苗叶片丙二醛含量显著升高 (16.1%)，叶片膜脂过氧化程度加剧，而 AA+60 浓度水平 O<sub>3</sub> 未能显著影响香樟叶片的膜脂过氧化程度 (图 4-3 A)；N30 水平 N 处理下，香樟叶片丙二醛含量较对照降低了 3.39%，而 N60 水平 N 处理下，这一指标升高了 5.72%，然而，N 素施加对叶片膜脂过氧化程度的影响并未达到显著水平 (图 5-3 B,  $P = 0.17$ )，且 O<sub>3</sub> 与 N 两种处理之间不存在显著交互作用 ( $P = 0.10$ )。

## 4.3 抗坏血酸

不同 N 水平下，O<sub>3</sub> 处理对香樟叶片抗坏血酸含量及组成的影响存在差异，O<sub>3</sub> 与 N 交互作用显著 ( $P < 0.05$ )。N0 水平下，高浓度 O<sub>3</sub> (AA+60 与 AA+120) 胁迫导致叶片总抗坏血酸含量趋于降低；而 N30 及 N60 水平下，高浓度 O<sub>3</sub> (AA+60 与 AA+120) 导致香樟叶片总抗坏血酸含量趋于上升。然而，这些变化趋势均未达到统计显著 (图 4-4 B)。

还原型抗坏血酸含量在不同施 N 水平下受 O<sub>3</sub> 影响变化趋势与总抗坏血酸含量相似。对照水平 N (N0) 条件下，AA+60 与 AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理对还原型抗坏血酸含量的降低效应均达到显著水平 (分别为 -22.5%、-20.7%)。N 处理下，AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 显著提高了香樟叶片还原型抗坏血酸含量 (N30 水平下提高了 33.4%，N60 水平下提高了 41.3%；AA+60

浓度 O<sub>3</sub> 处理也对叶片还原型抗坏血酸含量有促进效应，但未达到显著水平（图 4-4 A）。

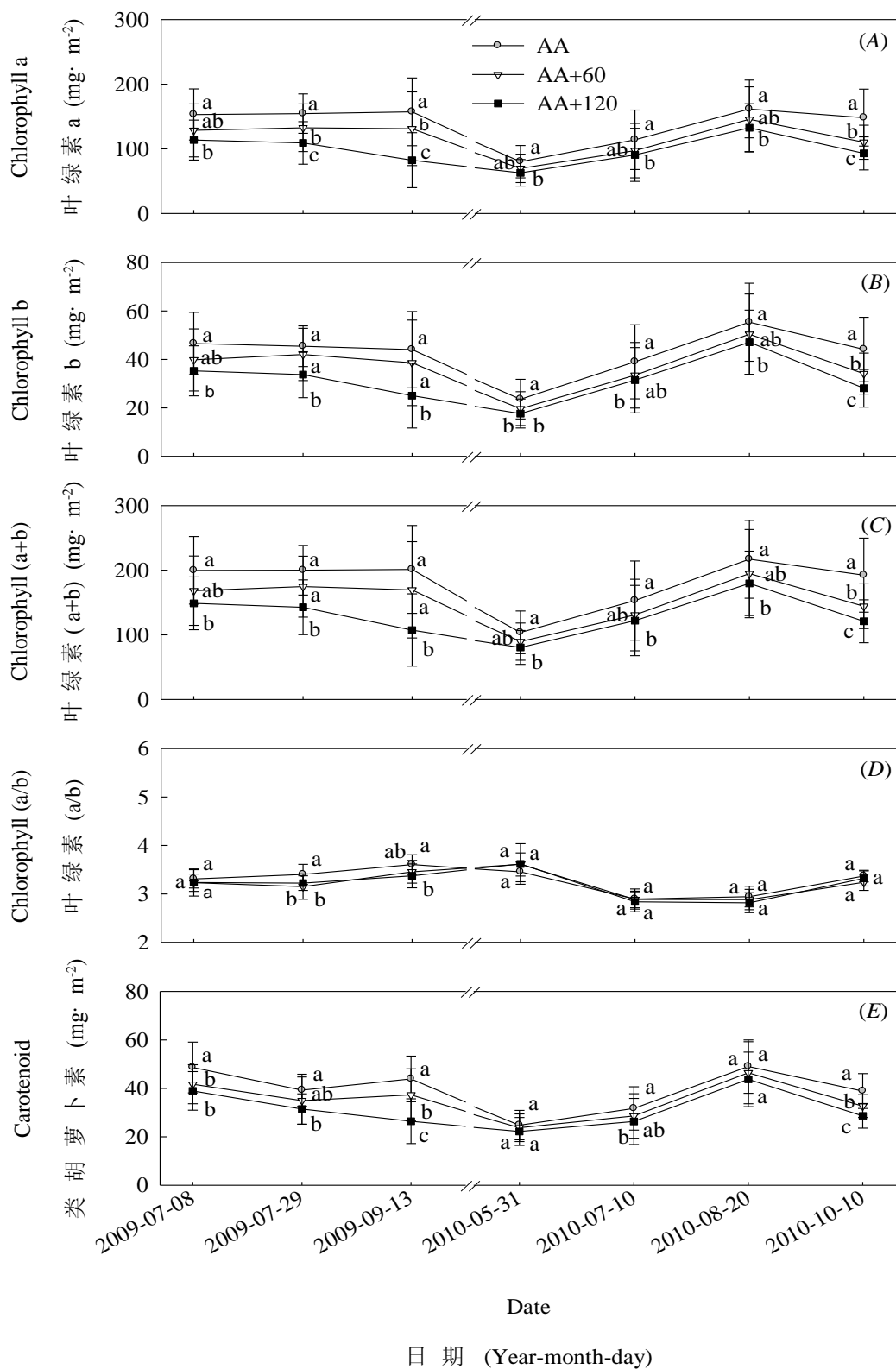


图 4-1 O<sub>3</sub> 处理对香樟幼苗叶片光合色素含量影响

Figure 4-1 Effects of elevated ozone on the foliar chlorophyll contents of *Cinnamomum camphora* seedlings

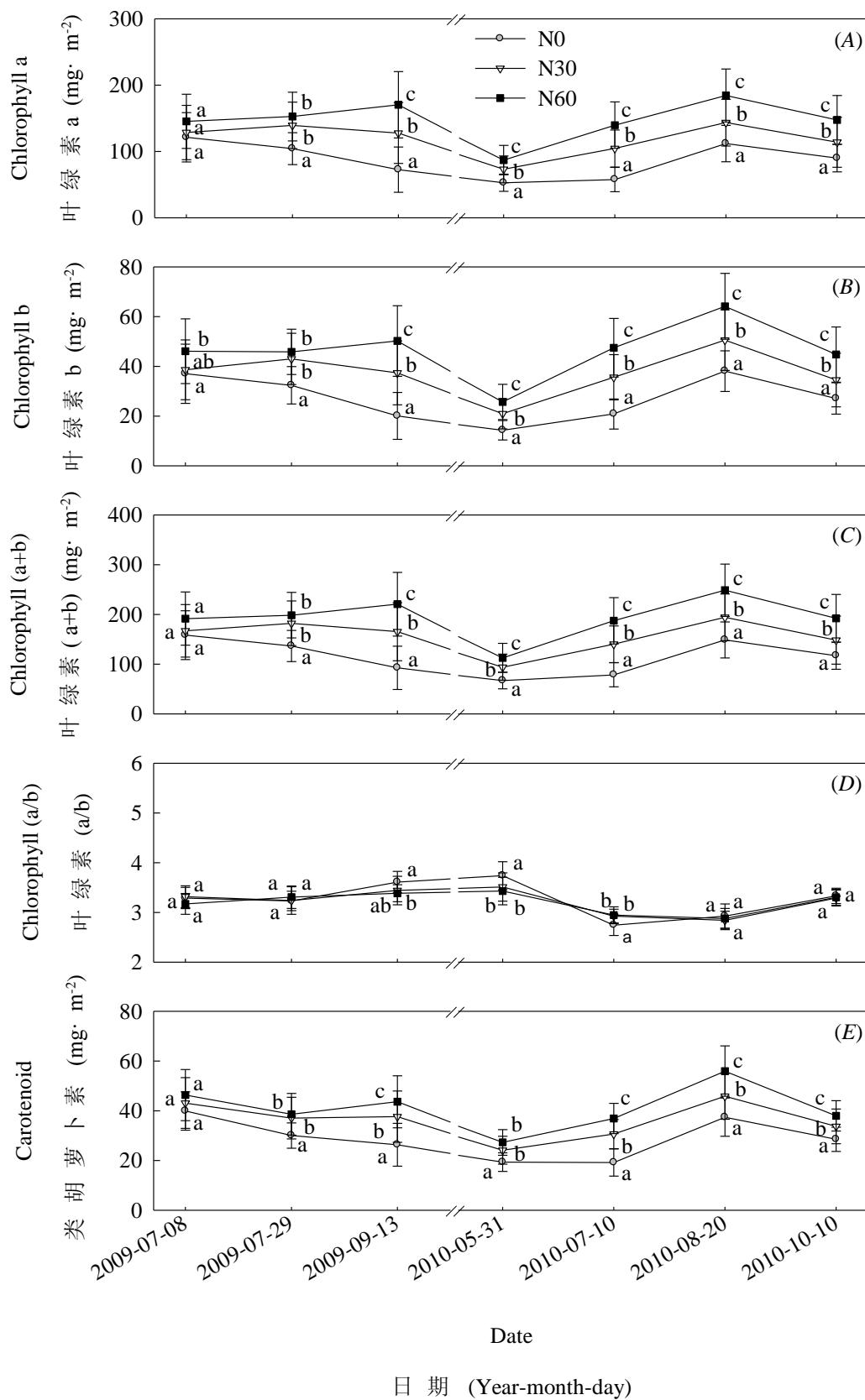


图 4-2 N 处理对香樟幼苗叶片光合色素含量影响

Figure 4-2 Effects of enhanced nitrogen loads on the foliar chlorophyll contents of *Cinnamomum camphora* seedlings

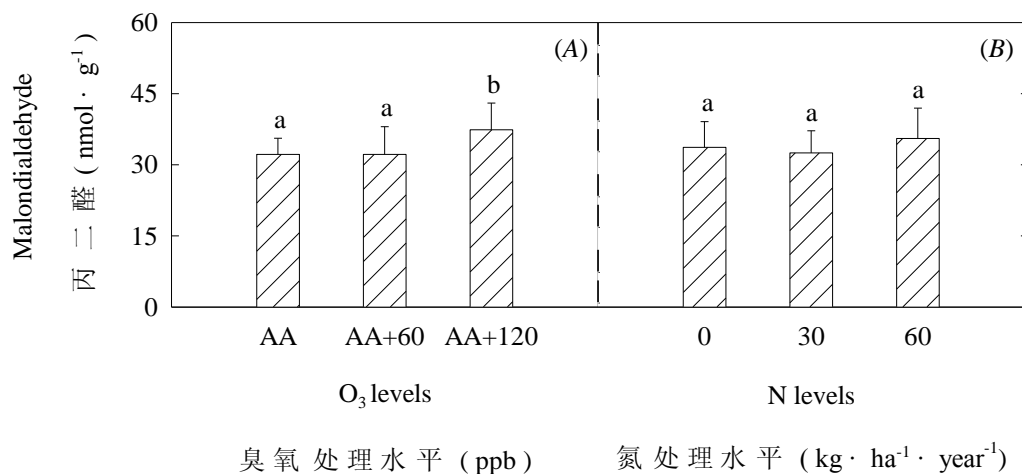


图 4-3 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗叶片膜脂过氧化的影响

Figure 4-3 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the process of lipid peroxidation of *Cinnamomum camphora* seedlings

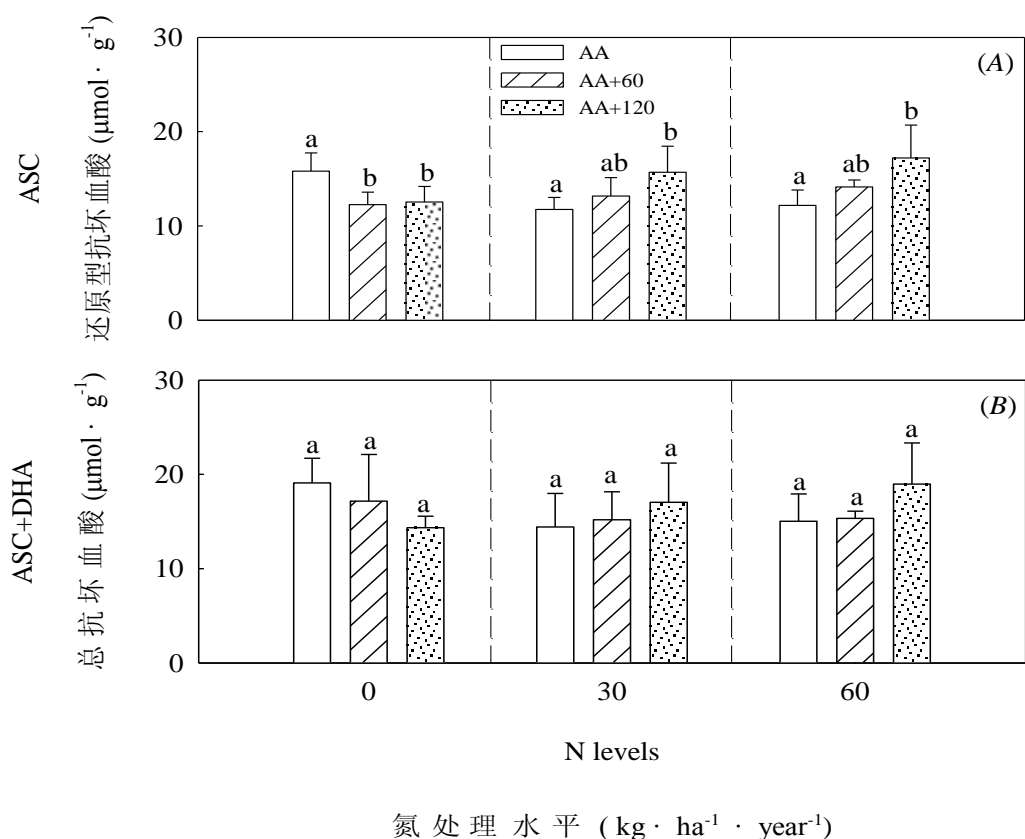


图 4-4 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗叶片抗坏血酸含量影响

Figure 4-4 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the foliar content of ascorbic acid of *Cinnamomum camphora* seedlings

## 4.4 总抗氧化能力

如图 4-5 所示, AA+120 浓度  $O_3$  下, 香樟幼苗叶片总抗氧化能力显著上升 (19.0%), AA+60  $O_3$  下, 叶片总抗氧化能力也有所提高 (5.8%), 但未达到显著水平。AA+60 与 AA+120 两个  $O_3$  水平之间叶片总抗氧化能力差异不显著 (图 4-5 A), N 处理未能显著影响香樟幼苗叶片总抗氧化能力 (图 4-5 B), 同时,  $O_3$  与 N 处理之间交互作用不显著 ( $P=0.82$ )。

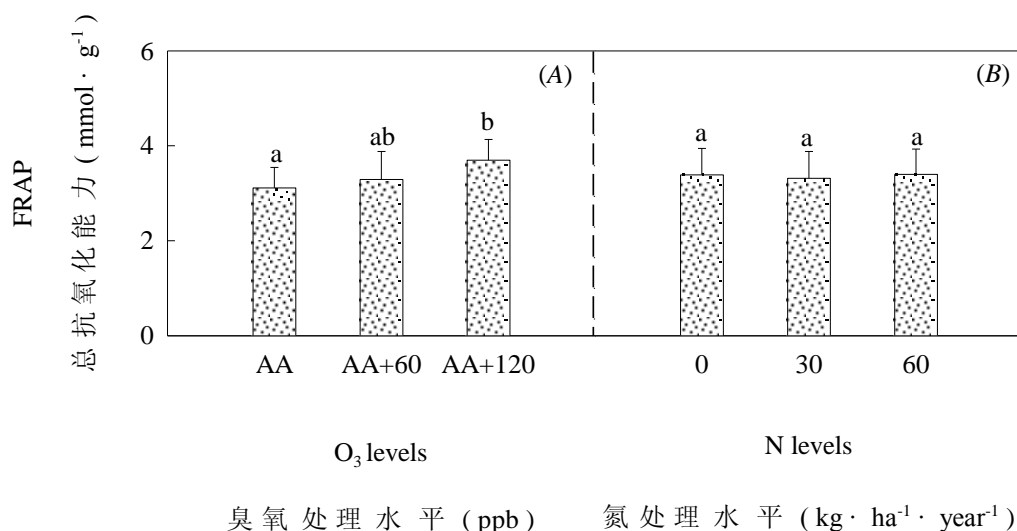


图 4-5  $O_3$  与 N 处理对香樟幼苗叶片总抗氧化能力影响

Figure 4-5 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the foliar FRAP capacity of *Cinnamomum camphora* seedlings

## 4.5 元素含量

AA+60 与 AA+120 浓度  $O_3$  处理分别导致香樟叶片 N 元素含量百分比下降了 11.44% 与 33.21%, 两者均达到统计显著水平, 且两者之间差异显著 (图 4-6 A)。C 元素含量百分比在 AA+120 浓度水平  $O_3$  处理下显著升高, 而在 AA+60 浓度  $O_3$  处理下未发生显著改变 (图 4-6 C)。叶片 C/N 在两种  $O_3$  浓度下均显著升高, AA+60、AA+120 浓度  $O_3$  处理对应的升高幅度分别为 18.91%、51.04% (图 4-6 E)。

N30 与 N60 水平 N 处理均导致香樟叶片 N、C 含量百分比显著升高, 但是 N 元素含量百分比的升高幅度高于 C 的升高幅度, N30 水平下, N、C 百分比分别升高了 19.69%、1.29%, N60 水平下, 相应上升量分别为 33.27%、2.87% (图 4-6 B、D)。N 处理下幼苗叶片 N 元素含量百分比的快速升高导致叶片 C/N 的显著降低, N30 水平下, 降低幅度为 15%, N60 水平下为 24% (图 4-6 F)。该实验中,  $O_3$  与 N 处理均未对香樟叶片 S 元素含量产生显著影响 (图 4-6 G、H), 同时, 两种处理在影响叶片 C、N 元素含量及比率的过程中不



存在显著交互作用 (对应于 N、C、S、C/N 交互效应项  $P$  值分别为 0.90、0.57、0.87、0.87)。

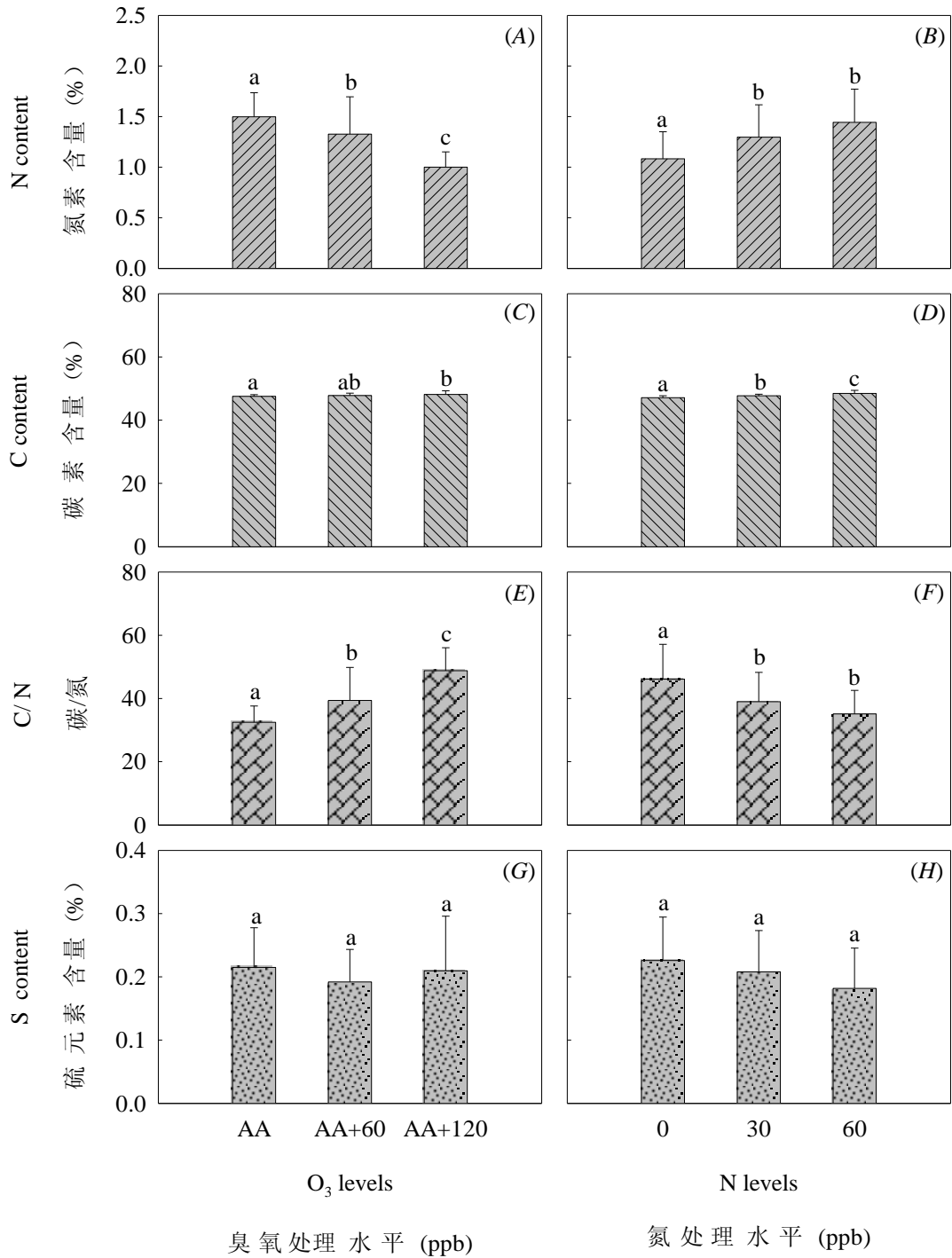


图 4-6 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗叶元素含量影响

Figure 4-6 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the foliar C, N, S concentrations and C/N ratio of *Cinnamomum camphora* seedlings

## 4.6 小结与讨论

膜质过氧化被认为是  $O_3$  胁迫下植物氧化伤害的重要表征 (Brunschön-Harti *et al.*, 1995), 丙二醛作为膜质过氧化的主要产物, 广泛用于膜脂过氧化和植物组织伤害程度的诊断 (Shulaev and Oliver, 2006)。本实验结果显示: AA+120 的高浓度  $O_3$  胁迫导致香樟叶片膜质过氧化程度显著加剧 (图 4-3 A)。 $O_3$  导致的树木叶片膜质过氧化过程加剧已经在自然生境下的欧洲山毛榉 (*Fagus sylvatica*) 和欧洲云杉 (*Picea abies*) 中得到验证 (Sr ánek *et al.*, 2001; Hůnová *et al.*, 2010)。然而, 本试验中 AA+60 浓度  $O_3$  并未显著影响香樟幼苗叶片膜脂过氧化过程, 说明香樟作为常绿树种具有一定程度的  $O_3$  胁迫抗性。王效科等研究发现: 香樟可以  $\geq 20 \mu\text{g g}^{-1} (\text{dw}) \text{h}^{-1}$  的速率释放异戊二烯 (王效科等, 2002), 该化合物可与  $O_3$  发生反应, 稀释叶片边界层  $O_3$  浓度, 减少气孔  $O_3$  通量, 进而降低植物  $O_3$  胁迫 (Fares *et al.*, 2000)。此外, 该实验中 N 施加未能有效缓解  $O_3$  胁迫导致的植物细胞膜脂过氧化 (图 4-3 B)。

植物体内的抗氧化系统是植物  $O_3$  抗性的基础, 能够清除胁迫产生的活性氧及膜脂过氧化的有毒产物, 有利于植物逆境生存 (金明红等, 2000)。抗坏血酸作为植物体内最重要的抗氧化剂, 其含量与植物的  $O_3$  抗性显著相关 (Smirnoff, 2000)。本实验中,  $O_3$  胁迫导致的香樟叶片抗坏血酸含量变化与 N 素施加有关: N30 及 N60 条件下,  $O_3$  处理促进叶片抗坏血酸含量升高, 且以还原型抗坏血酸含量上升为主, AA+120 浓度  $O_3$  水平下达到效应显著; N0 条件下,  $O_3$  胁迫导致叶片总抗坏血酸及还原型抗坏血酸含量均有所下降, 且以还原型抗坏血酸含量下降为主, 达到差异显著水平 (图 4-4)。该结果一方面论证了还原型抗坏血酸在植物体活性氧清除过程中的重要作用 (Chen and Gallie, 2005); 另一方面说明实验中 N 素的施加能够为  $O_3$  胁迫下植物体抗坏血含量的升高提供必要营养支持 (Kansal *et al.*, 1981)。此外, 本实验中 AA+120 浓度  $O_3$  显著提高了香樟叶片总抗氧化能力 (图 4-5), 这可能与抗坏血酸含量的升高有关 (Severino *et al.*, 2007), 也可能是胞质中其他类型抗氧化物质如谷胱甘肽 (Glutathione)、酚类化合物等含量上升导致 (Wilkinson *et al.*, 2011; Saleem *et al.*, 2001)。

植物叶片叶绿素含量降低是  $O_3$  胁迫最普遍的效应之一 (Broadmeadow and Jackson, 2000; Manninen *et al.*, 1999)。本实验中  $O_3$  处理 (AA+60 或 AA+120) 显著降低了香樟叶片叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 (a+b) 及类胡萝卜素含量 (图 4-1 A、B、C、E), 叶绿素的降解与叶绿体膜脂质过氧化有关 (Dhindsa *et al.*, 1981), 并与核酮糖 1, 5-二磷酸羧化酶

(RuBisco) 的降解过程相偶联 (Feller *et al.*, 2008)。膜脂过氧化可引起膜通透性改变, 活性氧分子通过膜通道或以渗透方式进入叶绿体内, 直接作用于叶绿素分子, 或通过攻击 RuBisco 活性位点间接介导叶绿素的降解。此外, 本试验结果显示: 2009 年, AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理显著降低了香樟幼苗叶片叶绿素 a 与叶绿素 b 含量的比值 (图 4-1 D), 叶绿素 a/b 值的下降意味着叶片的加速衰老 (Schelbert *et al.*, 2009)。另一方面, 与 O<sub>3</sub> 胁迫效应相反, 本实验中 N 素施加显著提高了香樟叶片叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 (a+b) 及类胡萝卜素含量, 然而 N 施加未能有效阻止 O<sub>3</sub> 胁迫导致的叶绿素降解, 两种处理之间不存在显著交互作用。Watanabe 等研究了不同 N 施加条件下两年生短柄枹栎 (*Quercus serrata*) 的 O<sub>3</sub> 胁迫效应, 结果显示: N 施加显著增加了研究幼苗叶片叶绿素含量, 然而, N 处理与 O<sub>3</sub> 处理之间并不存在显著交互作用 (Watanabe *et al.*, 2007)。

O<sub>3</sub> 处理导致香樟幼苗叶片 N 元素含量显著降低 (AA+60 浓度 O<sub>3</sub> 下降低了 11.4%; AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 下降低了 33.2%)、C/N 显著升高 (图 4-6 A、E)。Momen 和 Helms 对比研究了酸雨与 O<sub>3</sub> 复合污染胁迫下美国黄松 (*Pinus ponderosa* Dougl. Ex Laws.) 成熟树木与幼苗一年生叶片的 N、C 元素变异特征, 结果表明: 一个生长季两倍大气浓度 O<sub>3</sub> 处理导致两种类型叶片 N 元素含量下降 12-14%, 叶片 C/N 显著增大 (Momen and Helms, 1996)。O<sub>3</sub> 胁迫下树木叶片 N 元素含量的降低在美洲山杨 (*Populus tremuloides*)、纸皮桦 (*Betula papyrifera*)、地中海栎 (*Quercus ilex*) 等树种中也有报道 (Lindroth *et al.*, 2001; Ribas *et al.*, 2005)。O<sub>3</sub> 胁迫下树木叶片 N 元素含量的降低可能与叶绿素降解, 蛋白质、氨基酸等含 N 化合物代谢模式的改变有关 (Manderscheid *et al.*, 1992; Yamaguchi *et al.*, 2010)。此外, O<sub>3</sub> 处理下叶片 N 元素含量大幅度降低导致本实验中香樟幼苗叶片 C 元素相对含量升高 (图 4-6 C)。另一方面, N 施加对香樟幼苗叶片 N 含量具有显著促进作用 (图 4-6 B), 充足的 N 供给有利于光合作用相关酶类化合物、叶绿素等的合成, 进而促进叶片碳同化速率, 导致叶片 C 元素含量随之升高 (图 4-6 D)。然而, N 处理下叶片 N 元素含量的增加幅度远大于 C 元素含量的增加量, C/N 表现为显著下降 (图 4-6 B、D、F), 同时, N 处理下叶片 S 元素含量呈现出某种下降态势 (图 4-6 H), 这主要是由于 N、C 含量的稀释效应导致。O<sub>3</sub> 与 N 处理在影响香樟幼苗叶片元素含量方面不存在显著交互作用。



## 第五章 气体交换与荧光参数

### 5.1 2009 年瞬时光合

分别在 2009 年 5 月 22 日、6 月 26 日、7 月 28 日、9 月 6 日对香樟叶片瞬时光合进行了测定。如表 5-1 所示： $O_3$  处理对香樟叶片光合速率 ( $P_N$ )、蒸腾速率 ( $T_{mmol}$ ) 的影响效应在后 3 次测量中表现为显著 ( $P < 0.01$ )，对叶片气孔导度 ( $g_s$ ) 的影响在 4 次测量中均呈统计显著 ( $P < 0.05$ )；而 N 处理对光合速率、气孔导度及蒸腾速率的影响仅在最后 1 次测量中表现为效应显著 ( $P < 0.01$ )；2009 年未检测到  $O_3$  与 N 两种处理在影响叶片光合速率和气孔导度过程中存在显著交互作用 ( $P > 0.05$ )。此外， $O_3$  处理对叶片胞间  $CO_2$  浓度 ( $C_i$ ) 的影响在第一次、第三次、第四次测量过程中也达到统计显著，而对水分利用效率 ( $P_N/g_s$ ) 的影响仅在第一次、第四次测量中显著；N 处理对胞间  $CO_2$  浓度、水分利用效率的影响在第一次、第四次测量中达到统计显著。此外，在影响叶片胞间  $CO_2$  浓度、水分利用效率以及蒸腾速率方面， $O_3$  与 N 处理之间存在显著的交互效应 (表 5-1)。

图 5-1 展示了 2009 年不同水平  $O_3$  处理、N 处理对香樟叶片光合速率、气孔导度的影响。AA+60 与 AA+120 浓度  $O_3$  处理均导致 2009 年生长季中、后期香樟幼苗叶片光合速率的显著降低，而在实验前期阶段，仅 AA+120 浓度  $O_3$  处理的效应达到统计显著 (图 5-1 A)；N30 及 N60 水平 N 处理导致 2009 年生长季末期叶片光合速率显著增大，且两处理水平之间差异也达到显著 (图 5-1 B)。2009 年 N 处理对香樟幼苗叶片气孔导度的影响仅在 N60 水平下达到显著，且显著效应仅见于 2009 年最后一次测量 (图 5-1 D)。实验初期 (2009-05-22)，AA+120 浓度  $O_3$  导致香樟叶片气孔导度显著增大，随后测量中， $O_3$  对叶片气孔导度的效应表现为抑制效应，且在 AA+60 以及 AA+120 浓度水平  $O_3$  下，抑制效应均达到统计显著，两种  $O_3$  处理水平之间的显著差异仅见于 2009 年 7 月 28 日 (图 5-1 C)。

$O_3$  与 N 处理在影响 2009 年香樟幼苗叶片胞间  $CO_2$  浓度、蒸腾速率、水分利用效率方面存在显著交互作用 (表 5-1)。图 5-2 显示了 2009 年生长季末 (2009 年 9 月 6 日) 不同 N 施加条件下  $O_3$  对上述指标的影响效应。N30 水平 N 处理下，AA+120 浓度  $O_3$  处理导致香樟叶片胞间  $CO_2$  浓度显著降低；而在对照 (N0) 及 N60 水平 N 处理下， $O_3$  处理对胞间  $CO_2$  浓度影响不显著 (图 5-2 A)。叶片蒸腾速率在施 N (N30 或 N60) 条件下，因  $O_3$  胁迫 (AA+60 或 AA+120) 显著降低，而在 N0 条件下，不受  $O_3$  胁迫影响；N30 水平下，AA+60

与 AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 之间叶片蒸腾速率存在显著差异，而在 N60 水平下，两 O<sub>3</sub> 水平之间叶片蒸腾不存在差异（图 5-2 B）。N30 水平施 N 条件下，AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理导致香樟叶片水分利用效率显著提高，而在 N0 或 N60 条件下，O<sub>3</sub> 处理没有显著改变研究幼苗的水分利用效率（图 5-2 C）。

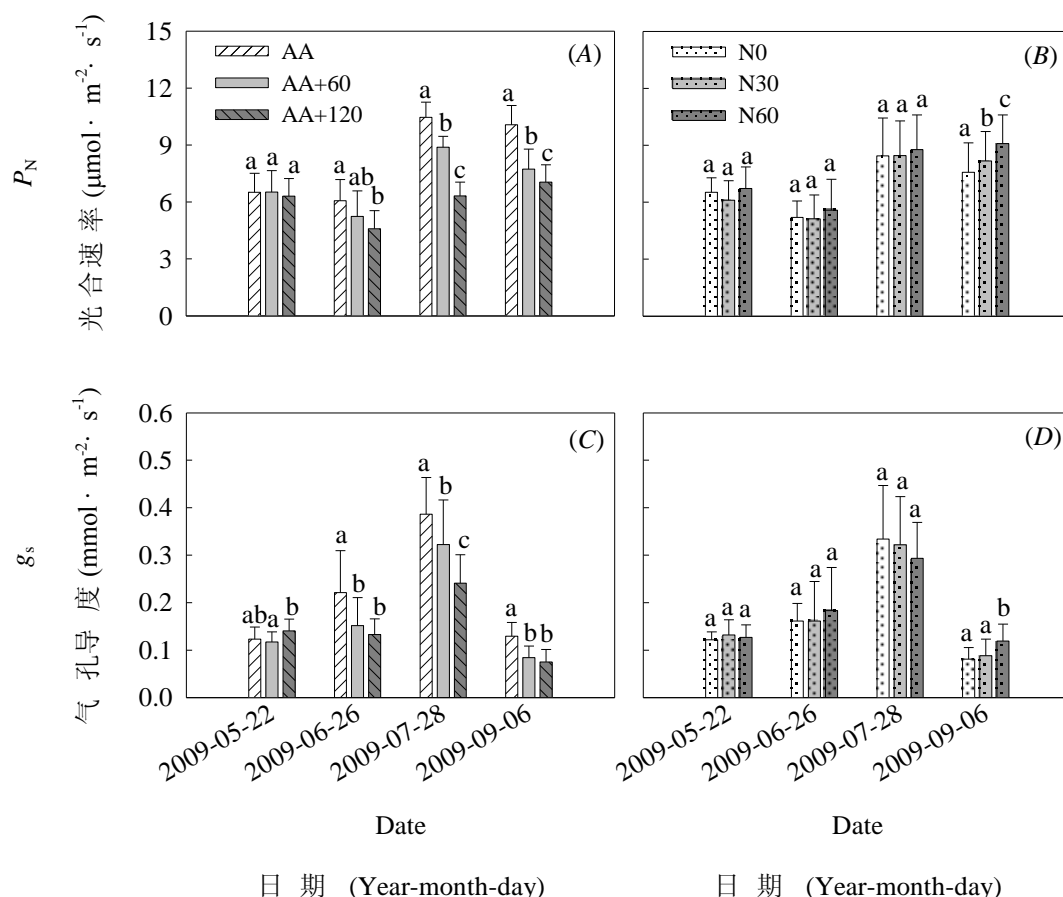


图 5-1 2009 年 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光合与气孔导度影响多重比较分析

Figure 5-1 Multiple comparisons for the effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the net photosynthetic rate and stomatal conductance of *Cinnamomum camphora* seedlings in 2009

## 5.2 2010 年瞬时光合

2010 年顺时光合测定分别在 5 月 30 日、7 月 2 日、8 月 7 日、9 月 7 日进行。如表 5-2 所示：7 月 2 日，O<sub>3</sub>、N 处理对各观测指标的影响均达到统计显著，但是两种处理在影响上述参数变异过程中不存在显著交互作用；8 月 7 日，O<sub>3</sub> 对香樟叶片气孔导度影响未达到统计显著，同时 N 处理对胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 (C<sub>i</sub>) 与水分利用效率 (P<sub>N</sub>/g<sub>s</sub>) 影响也不显著；9 月 7 日，不受 O<sub>3</sub> 胁迫显著影响的光合参数包括胞间 CO<sub>2</sub> 浓度与水分利用效率，同时 N 处理对蒸腾速率影响也未达到显著。2010 年生长季中、后期，O<sub>3</sub> 与 N 处理之间存在显著

交互作用, 8月7日存在显著交互效应的参数包括光合速率、胞间  $\text{CO}_2$  浓度及蒸腾速率; 9月7日, 两种处理之间交互作用体现在除胞间  $\text{CO}_2$  浓度以外的其他光合参数上 (表 5-2)。2012年7月2日,  $\text{O}_3$  与 N 处理在影响香樟叶片光合参数过程中不存在显著交互作用 (表 5-2)。AA+60、AA+120 浓度  $\text{O}_3$  处理均导致香樟幼苗叶片光合速率、气孔导度、胞间  $\text{CO}_2$  浓度及蒸腾速率显著降低 (图 5-3 A、C、E、G); 同时  $\text{O}_3$  处理下叶片水分利用效率显著升高 (图 5-3 I)。N30、N60 水平 N 处理导致香樟幼苗叶片光合速率显著升高, 且两处理之间差异显著 (图 5-3 B), N 施加对叶片气孔导度、胞间  $\text{CO}_2$  浓度、蒸腾速率及水分利用效率的影响效应仅在 N60 水平 N 处理下达到统计显著 (图 5-3 D、F、H、J), 且其对水分利用效率的影响表现为抑制效应 (图 5-3 J), 而对其他参数的影响表现为促进效应。

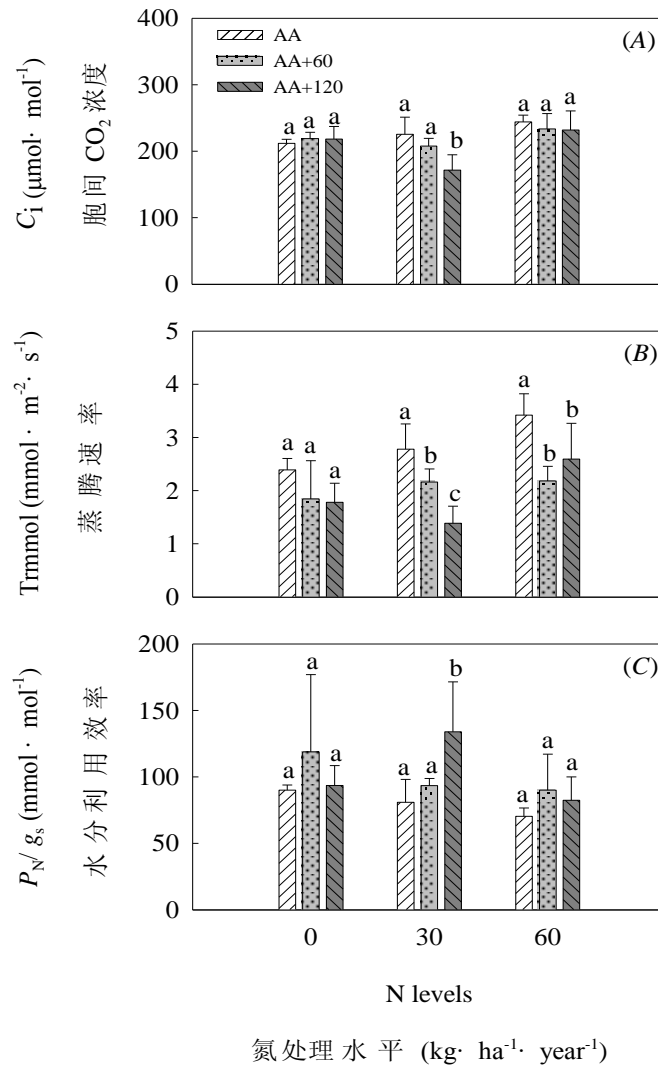


图 5-2 2009 年  $\text{O}_3$  与 N 处理对胞间  $\text{CO}_2$  浓度及水分利用效率影响多重比较分析

Figure 5-2 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the intercellular  $\text{CO}_2$  concentration ( $C_i$ ), transpiration ( $\text{Trmmol}$ ) and water use efficiency ( $P_N/g_s$ ) of *Cinnamomum camphora* seedlings in 2009

表 5-1 2009 年 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光合参数影响显著性

Table 5-1 Significance of the impact of elevated ozone and enhanced nitrogen as well as their interaction on the photosynthetic parameters of *Cinnamomum camphora* seedlings in 2009

光合参数	05/22			06/26			07/28			09/06		
	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N
$P_N$	0.76	0.18	0.37	<0.01	0.46	0.62	<0.01	0.32	0.87	<0.01	<0.01	0.99
$g_s$	0.02	0.47	0.47	<0.01	0.49	0.14	<0.01	0.28	0.41	<0.01	<0.01	0.19
$C_i$	<0.01	0.03	0.02	<0.01	0.95	0.07	0.39	0.06	0.28	0.01	<0.01	<0.01
$P_N/g_s$	<0.01	0.03	0.03	0.94	0.48	0.56	0.57	0.12	0.15	0.03	0.03	0.04
Trmmol	0.11	0.30	0.30	<0.01	0.82	0.02	<0.01	0.21	<0.01	<0.01	<0.01	0.02

$P_N$ : 光合速率 ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ),  $g_s$ : 气孔导度 ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ),  $C_i$ : 胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ),  $P_N/g_s$ : 水分利用效率 ( $\text{mmol mol}^{-1}$ ), Trmmol: 蒸腾速率 ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )



表 5-2 2010 年 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光合参数影响显著性

Table 5-2 Significance of the impact of elevated ozone and enhanced nitrogen as well as their interaction on the photosynthetic parameters of *Cinnamomum camphora* seedlings in 2010

光合参数	05/30			07/02			08/07			09/07		
	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N
$P_N$	0.22	0.44	0.20	<0.01	<0.01	0.41	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.02
$g_s$	0.48	0.29	0.03	<0.01	<0.01	0.16	0.21	<0.01	0.09	<0.01	<0.01	0.04
$C_i$	0.23	0.45	0.04	<0.01	0.03	0.08	<0.01	0.13	<0.01	0.66	<0.01	0.06
$P_N/g_s$	0.55	0.37	0.05	<0.01	0.03	0.05	<0.01	0.06	0.06	0.56	<0.01	0.03
Trmmol	0.72	0.52	0.06	<0.01	<0.01	0.21	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.13	0.02

$P_N$ : 光合速率 ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ),  $g_s$ : 气孔导度 ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ),  $C_i$ : 胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ),  $P_N/g_s$ : 水分利用效率 ( $\text{mmol mol}^{-1}$ ), Trmmol: 蒸腾速率 ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )

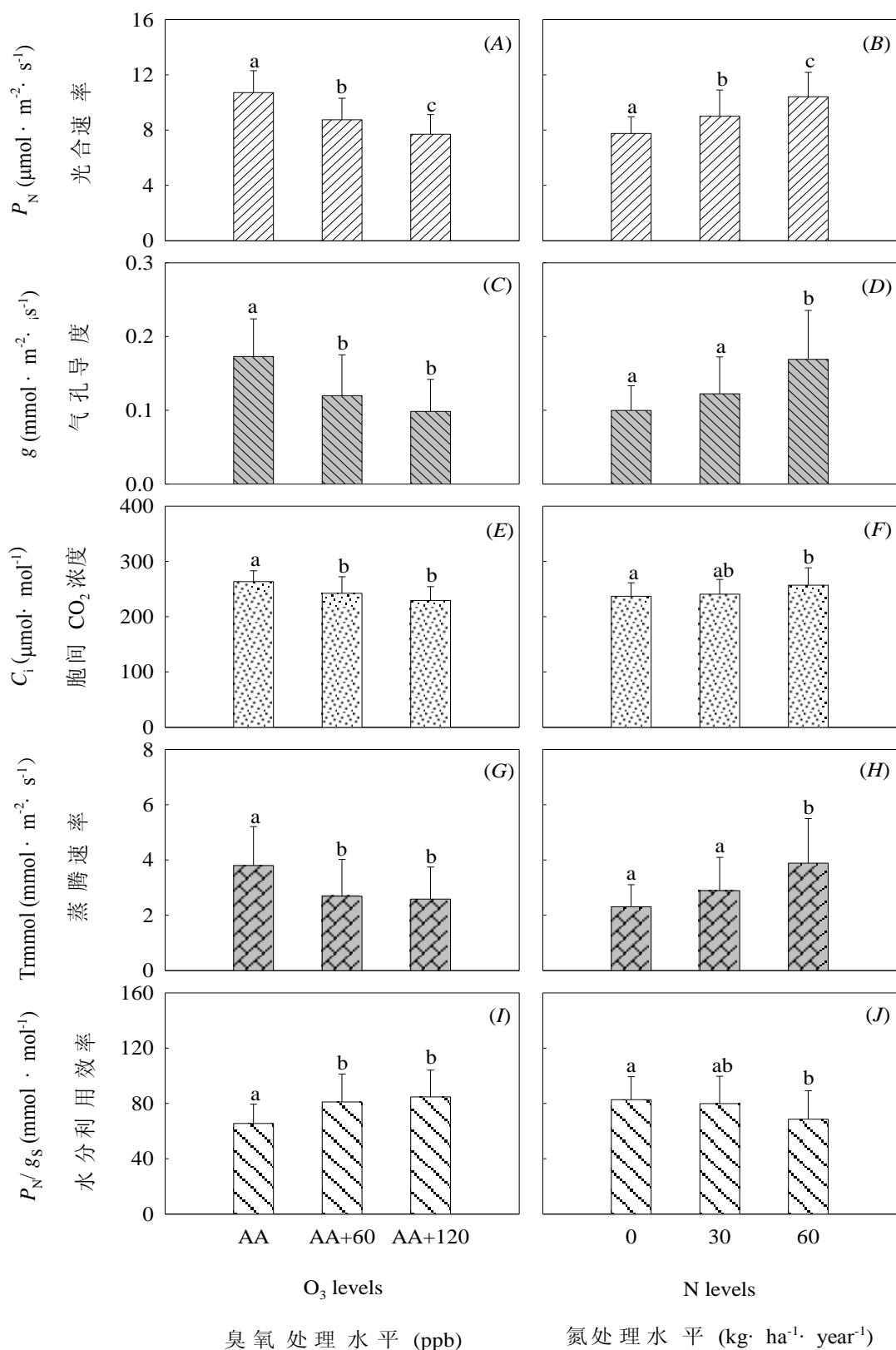


图 5-3 2010 年生长季中期 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光合参数影响多重比较分析

Figure 5-3 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the photosynthetic rate, stomatal conductance, intercellular CO<sub>2</sub> concentration, transpiration and water use efficiency of *Cinnamomum camphora* seedlings on July 2, 2010

图 5-4 所示为 2010 年生长季末（2010 年 9 月 7 日）不同施 N 条件下， $O_3$  处理对香樟叶片光合速率 ( $P_N$ )、气孔导度 ( $g_s$ )、蒸腾速率 ( $T_{mmol}$ ) 及水分利用效率 ( $P_N/g_s$ ) 的影响。对应于 N0、N30、N60 不同施 N 条件，AA+60 浓度  $O_3$  导致香樟叶片光合速率分别下降了 19.03%、15.90%、17.42%，AA+120 浓度  $O_3$  导致的光合下降幅度分别为 32.27%、34.12%、31.26%（图 5-4 A）。N0、N30 条件下，AA+60、AA+120 浓度  $O_3$  处理导致叶片气孔导度、蒸腾速率显著下降；而在 N60 条件下， $O_3$  处理对气孔导度的影响未达到显著，且 AA+60 与 AA+120 浓度  $O_3$  处理之间蒸腾速率差异显著（图 5-4 B、C）。N0 或 N30 水平下，AA+60 浓度  $O_3$  处理对应于香樟幼苗最大水分利用效率，AA+120 浓度  $O_3$  处理倾向于导致香樟幼苗水分利用效率提高；而在 N60 水平施 N 条件下，AA+60 浓度  $O_3$  处理对应于幼苗最小水分利用效率，且 AA+120 浓度  $O_3$  处理导致幼苗水分利用效率略有下降（-9.58%）。但是，不同  $O_3$  浓度处理之间水分利用效率差异未达到统计显著（图 5-4 D）。

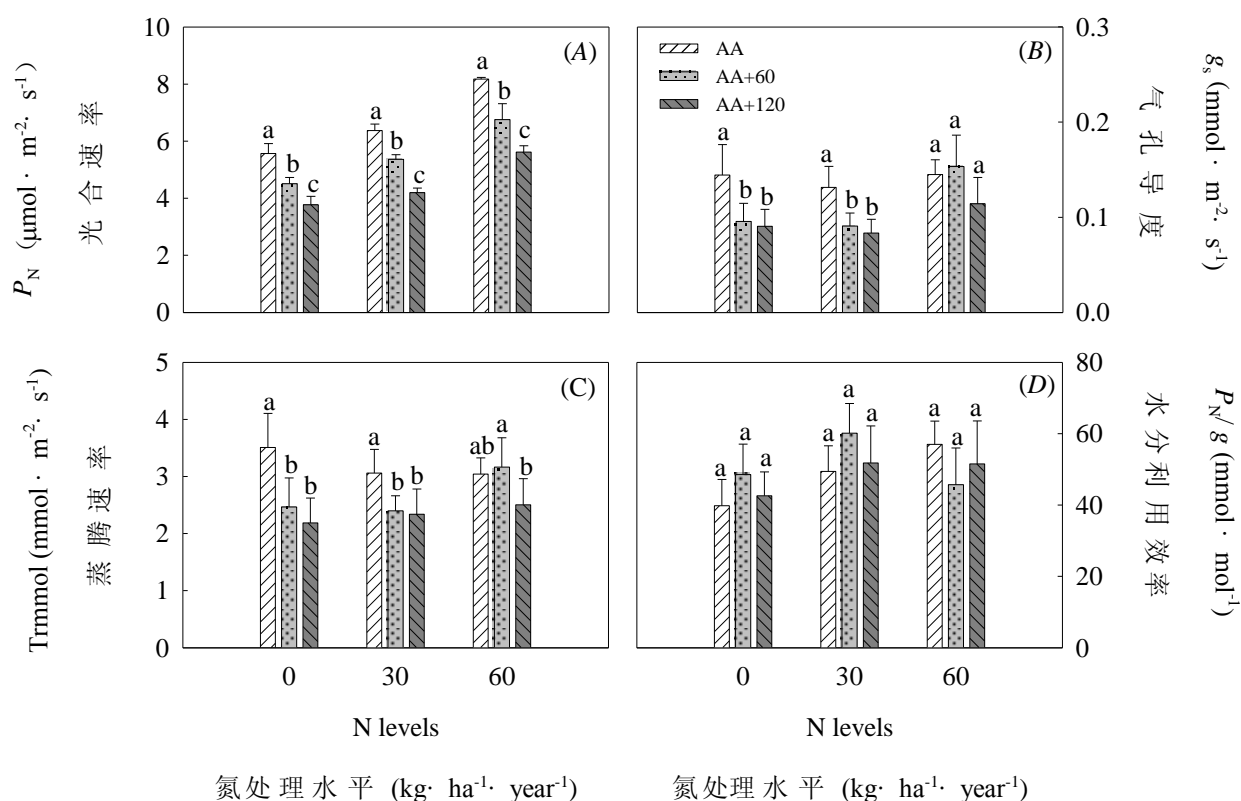


图 5-4 2010 年生长季末期  $O_3$  与 N 处理对香樟幼苗光合参数影响多重比较分析

Figure 5-4 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the photosynthetic rate ( $P_n$ ), stomatal conductance ( $g_s$ ), transpiration ( $T_{mmol}$ ) and water use efficiency (WUE) of *Cinnamomum camphora* seedlings at the end of the 2010 growing season

### 5.3 不同叶位叶片瞬时光合

$O_3$  处理、N 处理对香樟幼苗叶片光合速率 ( $P_N$ )、气孔导度 ( $g_s$ )、胞间  $CO_2$  浓度 ( $C_i$ )、蒸腾速率 ( $Trmmol$ )、水分利用效率 ( $P_N/g_s$ ) 的影响因叶位不同而存在差异, 整体来看, 幼苗上部新生叶片的处理效应较下部老叶更明显。 $O_3$  处理对第 3、第 5、第 7、第 9、第 11 叶位叶片  $P_N$  及  $C_i$  的影响均达到统计显著, 同时第 3 叶位  $Trmmol$  与  $P_N/g_s$  也受  $O_3$  胁迫显著影响。N 处理的显著效应主要体现在对第 3、第 5 叶位  $g_s$  与  $Trmmol$  的影响上, 此外, 第 3 叶位  $P_N$ 、第 5 叶位  $C_i$  也受 N 处理显著影响 (表 5-3)。不同叶位叶片光合参数测定中, 未检测到  $O_3$  与 N 处理之间的显著交互效应 ( $P>0.05$ )。验后多重比较结果显示: AA+60、AA+120 浓度水平  $O_3$  显著抑制了第 7、9、11 叶位叶片光合速率, 而第 3、5 叶位叶片光合速率仅在 AA+120 浓度  $O_3$  下显著降低 (图 5-5 A);  $O_3$  对胞间  $CO_2$  浓度的显著抑制效应仅出现于 AA+120 浓度下 (图 5-5 E); AA+60 与 AA+120 浓度  $O_3$  处理均导致第 3 叶位叶片蒸腾速率显著降低 (图 5-5 G)。施 N 对香樟新叶 (第 3、5 叶位叶片)  $P_N$ 、 $g_s$ 、 $C_i$  与  $Trmmol$  具有促进作用, 但该效应仅在 N60 水平下达到统计显著 (图 5-5 B、D、F、H)。

### 5.4 A- $C_i$ 曲线

分别在 2009 年 8 月 24 日、2010 年 7 月 22 日、9 月 24 日测定了香樟叶片 A- $C_i$  曲线, 并根据 Long 和 Bernacchi 的方法拟合计算了最大羧化速率 ( $V_{cmax}$ )、最大电子传递速率 ( $J_{max}$ ), 并调整到 25 °C 水平。3 次测量中, AA+120 浓度  $O_3$  处理均导致香樟叶片最大羧化速率显著降低, AA+60 浓度  $O_3$  处理在 2010 年 7 月 22 日测量中显著抑制了  $V_{cmax}$ , 而在其他两次测量中其效应未达到显著 (图 5-6 A)。2009 年 9 月 24 日测量中, AA+120 浓度  $O_3$  处理导致  $J_{max}/V_{cmax}$  显著升高。N60 水平 N 素施加显著提高了香樟叶片最大羧化速率、最大电子传递速率, 但这种效应仅见于 2009 年 8 月 24 日测量中 (图 5-6 B、D); 施 N 未对香樟幼苗叶片  $J_{max}/V_{cmax}$  产生显著影响 (图 5-6 F)。

表 5-3 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗不同叶位叶片光合参数影响显著性

Table 5-3 Significance of the impact of elevated ozone and enhanced nitrogen as well as their interaction on the net photosynthetic rate ( $P_N$ ), stomatal conductance ( $g_s$ ), intercellular CO<sub>2</sub> concentration, transpiration rate (Trmmol) and water use efficiency ( $P_N/g_s$ ) of the leaves in different leaf positions of *Cinnamomum camphora* seedlings

光合参数	第 3 片叶	第 5 片叶	第 7 片叶	第 9 片叶	第 11 片叶
$P_N$					
O <sub>3</sub>	<0.01	0.02	<0.01	0.01	<0.01
N	<0.01	0.06	0.08	0.66	0.61
O <sub>3</sub> ×N	0.89	0.59	0.86	0.75	0.35
$g_s$					
O <sub>3</sub>	0.07	0.08	0.94	0.69	0.93
N	<0.01	<0.01	0.37	0.92	0.89
O <sub>3</sub> ×N	0.83	0.33	0.66	0.38	0.67
$C_i$					
O <sub>3</sub>	<0.01	<0.01	<0.01	0.03	0.01
N	0.05	<0.01	0.87	0.97	0.60
O <sub>3</sub> ×N	0.66	0.36	0.90	0.32	0.56
Trmmol					
O <sub>3</sub>	<0.01	0.04	0.90	0.92	0.85
N	<0.01	0.03	0.64	0.67	0.13
O <sub>3</sub> ×N	0.73	0.30	0.69	0.46	0.57
$P_N/g_s$					
O <sub>3</sub>	0.01	0.23	0.44	0.25	0.94
N	0.49	0.24	0.64	0.78	0.45
O <sub>3</sub> ×N	0.09	0.36	0.39	0.07	0.28

$P_N$ : 光合速率 ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ),  $g_s$ : 气孔导度 ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ),  $C_i$ : 胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ),  $P_N/g_s$ : 水分利用效率 ( $\text{mmol mol}^{-1}$ ), Trmmol: 蒸腾速率 ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )

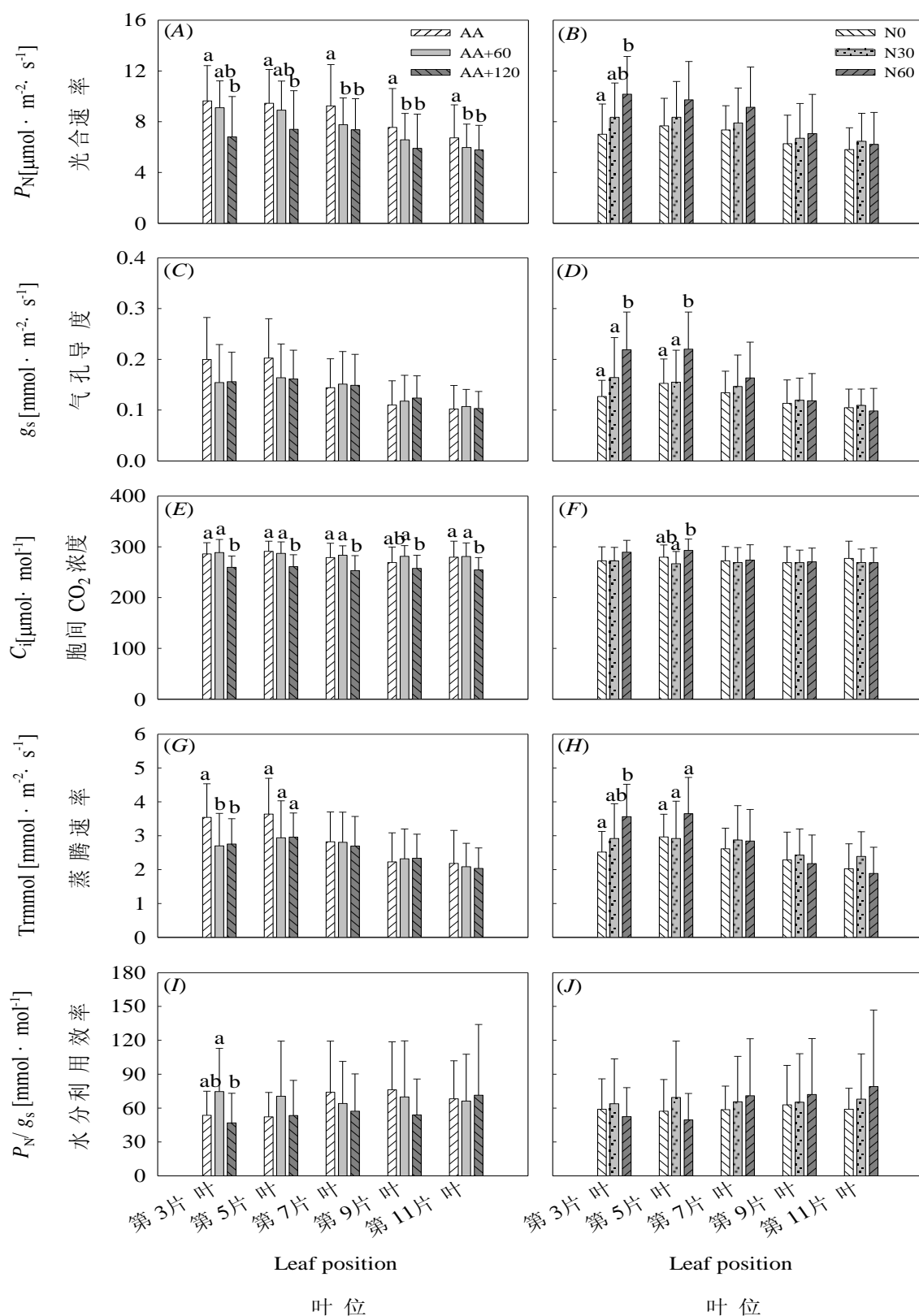


图 5-5  $\text{O}_3$  与 N 处理对香樟幼苗不同叶位叶片光合参数影响多重比较分析

Figure 5-5 Multiple comparisons for the effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the photosynthetic rate ( $P_N$ ), stomatal conductance ( $g_s$ ), intercellular  $\text{CO}_2$  concentration ( $C_i$ ), transpiration ( $Trmmol$ ) and water use efficiency ( $P_N/g_s$ ) of the leaves in different positions of *Cinnamomum camphora* seedlings

## 5.5 光照条件下荧光参数

表 5-4、表 5-5 分别显示了 2009、2010 年 O<sub>3</sub> 处理、N 处理及两种处理交互作用对香樟幼苗饱和光下实际光化学效率 ( $F_v'/F_m'$ )、有效光量子产率 ( $\Phi_{PSII}$ ) 及光化学淬灭系数 ( $qP$ ) 的影响显著性。2009 年 7 月 28 日测量结果显示: O<sub>3</sub> 处理对三者影响均显著, N 处理显著改变了香樟幼苗有效光量子产率, 两种处理在对  $F_v'/F_m'$ 、 $qP$  的影响中存在显著交互效应。2009 年 9 月 6 日测量中, 受 O<sub>3</sub> 处理显著影响的参数包括  $\Phi_{PSII}$  和  $qP$ , 受 N 处理显著影响的参数包括  $F_v'/F_m'$  与  $\Phi_{PSII}$ , O<sub>3</sub> 与 N 的交互效应体现在  $\Phi_{PSII}$  与  $qP$  上。2010 年 7 月 2 日, O<sub>3</sub> 与 N 处理对  $F_v'/F_m'$ 、 $\Phi_{PSII}$  的影响均达到统计显著, 但两处理之间不存在交互效应。2010 年 9 月 7 日测量结果则显示: O<sub>3</sub> 与 N 处理显著改变了香樟叶片  $F_v'/F_m'$ 、 $\Phi_{PSII}$  与  $qP$ , 但两处理之间不存在交互效应。2010 年 8 月 7 日的测定中, O<sub>3</sub> 与 N 的交互效应则体现在  $\Phi_{PSII}$  与  $qP$  上。验后多重比较针对 2009、2010 两个生长季末的测量结果(2009 年 9 月 6 日、2010 年 9 月 7 日) 分别进行。如图 5-6 所示: 2009 年 9 月 6 日, N60 水平 N 处理导致香樟幼苗叶片  $F_v'/F_m'$  显著增大, 而同期 O<sub>3</sub> 处理没有对其产生显著影响(图 5-6 A); AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理导致不同施 N 条件下  $\Phi_{PSII}$  显著下降, 且在 N60 水平 N 处理下下降幅度最大(-42.94%) (图 5-7 B); N30 水平 N 处理下, AA+60、AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理均导致香樟叶片  $qP$  显著降低, 而在 N0 以及 N60 条件下, O<sub>3</sub> 处理对  $qP$  的影响仅在 AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理下显著, N30 水平 N 处理加剧了 O<sub>3</sub> 胁迫对  $qP$  的抑制效应。2010 年 9 月 7 日, AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理显著抑制了香樟幼苗叶片  $F_v'/F_m'$ 、 $\Phi_{PSII}$  及  $qP$ , AA+60 浓度 O<sub>3</sub> 处理对  $\Phi_{PSII}$  与  $qP$  具有显著抑制效应, 然而 AA+60 与 AA+120 两种 O<sub>3</sub> 处理之间差异未达到统计显著, 同时,  $F_v'/F_m'$  未受 AA+60 浓度 O<sub>3</sub> 处理影响(图 5-8 A、C、E); N60 水平 N 处理导致香樟幼苗叶片  $F_v'/F_m'$  显著升高, 而 N30 水平 N 处理未对  $F_v'/F_m'$  产生显著影响(图 5-8 B), 此外, N30、N60 水平 N 处理对叶片  $\Phi_{PSII}$ 、 $qP$  均有显著促进作用, 且在对  $\Phi_{PSII}$  的影响方面, N30 与 N60 水平 N 处理之间差异显著, 而在对  $qP$  的影响中, N30 与 N60 水平 N 处理之间差异不显著(图 6-8 B、D、F)。

## 5.6 潜在光化学效率

O<sub>3</sub> 与 N 处理在对  $F_v'/F_m'$  的影响上不存在显著交互效应, 对应于实验期内各次测量, 交互项  $P$  值依次为: 0.43、0.14、0.65、0.29、0.73、1.00、0.45。2010 年 7 月 7 日、10 月 2 日观测显示: AA+60、AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理均导致  $F_v'/F_m'$  显著降低; 2009 年 8 月 10 日、2010 年 8 月 7 日测定发现 AA+60 浓度 O<sub>3</sub> 显著抑制了  $F_v'/F_m'$ , 而 AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 的抑制效

应不显著；2009年9月11日测定发现：AA+120浓度O<sub>3</sub>显著抑制了F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>，而AA+60浓度O<sub>3</sub>的抑制效应不显著（图5-9A）。N素施加对F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>具有促进作用，但该效应只有在N60水平N处理下达到显著，且仅见于2009年9月11日、2010年7月7日两次观测中（图5-9B）。

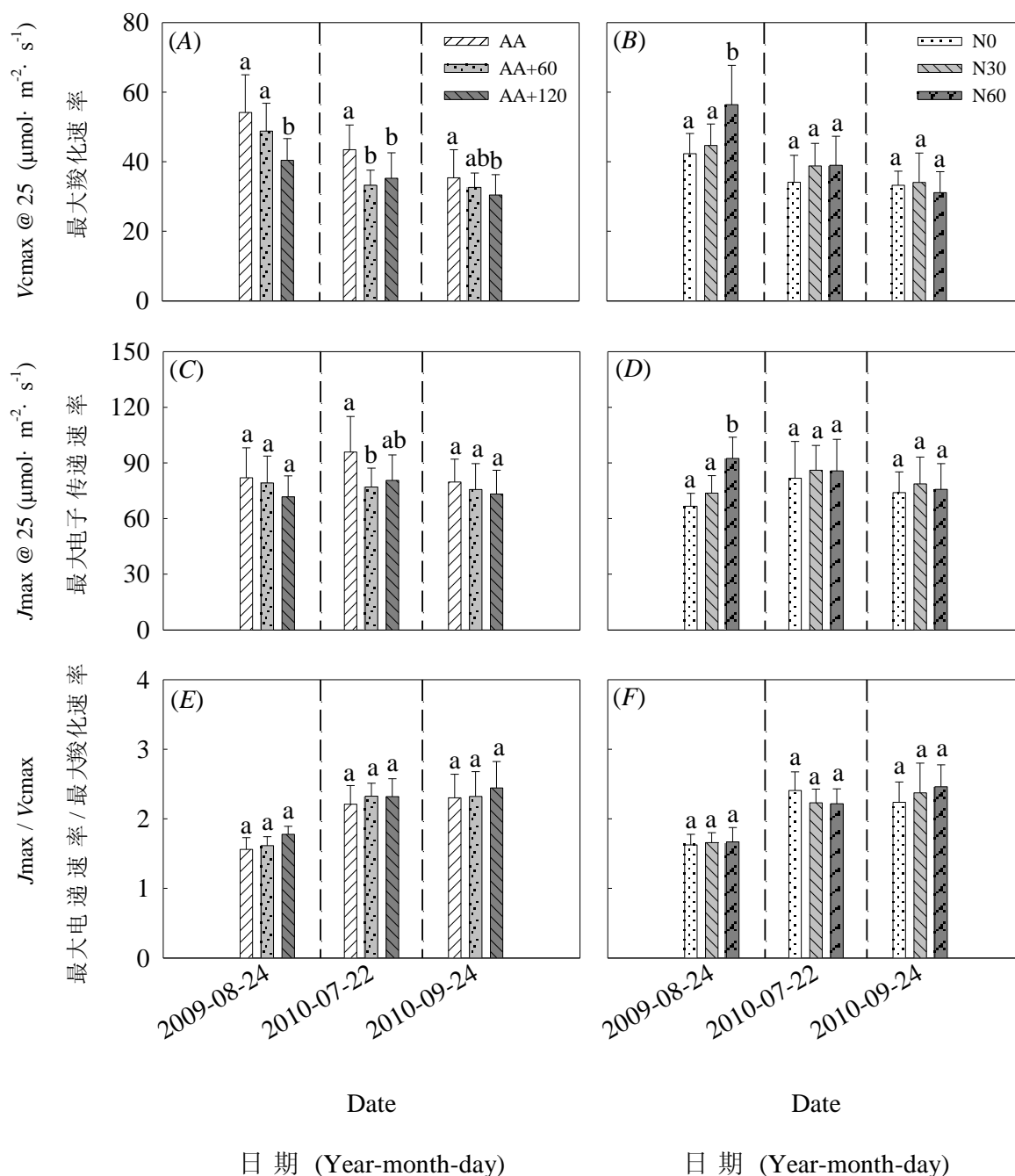


图 5-6 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗最大羧化速率与最大电子传递速率的影响

Figure 5-6 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the the maximum of carboxylation efficiency (Vcmax), the maximum of electron transport (Jmax) and the ratio of Jmax/Vcmax of *Cinnamomum camphora* seedlings



表 5-4 2009 年 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光照荧光参数影响显著性

Table 5-4 Significance of the impact of elevated ozone and enhanced nitrogen as well as their interaction on the actual photochemical efficiency of PSII in saturated light ( $F_v'/F_m'$ ), effective quantum yield of PSII photochemistry ( $\Phi_{PSII}$ ) and photochemical quenching coefficient (qP) of *Cinnamomum camphora* seedlings in 2009

荧光参数	05/22			06/26			07/28			09/06		
	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N
$F_v'/F_m'$	0.55	0.61	0.84	0.016	0.13	0.04	<0.01	0.12	<0.01	0.19	0.01	0.11
$\Phi_{PSII}$	0.35	0.46	0.23	0.07	0.08	0.48	<0.01	0.03	0.18	<0.01	<0.01	<0.01
qP	0.18	0.35	0.24	0.15	0.49	0.94	<0.01	0.37	0.03	<0.01	<0.41	<0.01

$F_v'/F_m'$ : 实际光化学效率;  $\Phi_{PSII}$ : 有效光量子产率; qP: 光化学猝灭系数

表 5-5 2010 年 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光照荧光参数影响显著性

Table 5-5 Significance of the impact of elevated ozone and enhanced nitrogen as well as their interaction on the actual photochemical efficiency of PSII in saturated light ( $F_v'/F_m'$ ), effective quantum yield of PSII photochemistry ( $\Phi_{PSII}$ ) and photochemical quenching coefficient (qP) of *Cinnamomum camphora* seedlings in 2010

荧光参数	05/30			07/02			08/07			09/07		
	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N	O <sub>3</sub>	N	O <sub>3</sub> ×N
$F_v'/F_m'$	0.31	0.11	0.14	<0.01	<0.01	0.32	0.20	0.01	0.22	<0.01	<0.01	0.48
$\Phi_{PSII}$	0.37	0.38	0.30	0.01	0.02	0.49	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.49
qP	0.66	0.68	0.01	0.39	0.50	0.62	<0.01	<0.01	0.04	0.01	<0.01	0.85

$F_v'/F_m'$ : 实际光化学效率;  $\Phi_{PSII}$ : 有效光量子产率; qP: 光化学猝灭系数

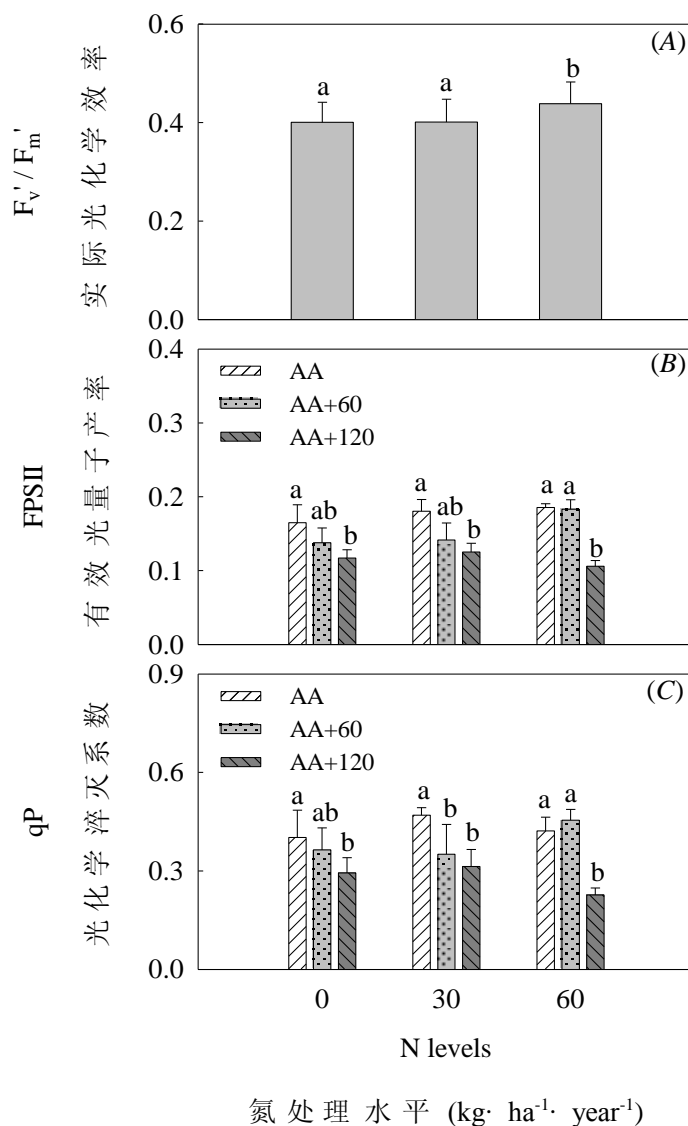


图 5-7 2009 年 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光照荧光参数影响多重比较分析

Figure 5-7 Multiple comparisons for the effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the actual photochemical efficiency of PSII in saturated light ( $F_v'/F_m'$ ), effective quantum yield of photosystem II (PSII) photochemistry ( $\Phi_{PSII}$ ) and photochemical quenching coefficient (qP) of *Cinnamomum camphora* seedlings on September 6, 2009

## 5.7 小结与讨论

O<sub>3</sub> 处理导致香樟幼苗叶片瞬时光合速率显著降低，2009 年生长季末，AA+60 (AOT40=27.2 ppm·h)、AA+120 (AOT40=56.0 ppm·h) 浓度 O<sub>3</sub> 处理分别导致香樟幼苗叶片瞬时光合速率下降 23.2%、30.0% (图 5-1 A)，2010 年生长季末，O<sub>3</sub> 对香樟幼苗瞬时光合速率的抑制效应与 N 处理水平有关 (表 5-2)：N0、N30、N60 施 N 水平下，AA+60 (AOT40=26.1 ppm·h)、AA+120 (AOT40=56.3 ppm·h) 浓度 O<sub>3</sub> 处理导致的香樟叶片瞬时光合速率

下降幅度分别为 19.0%、32.3%； 15.9%、34.1%； 17.4%、31.2%。Calatayud 等针对温州蜜柑 (*Citrus unshiu*) 三年生幼苗的 OTC 研究表明: 36.2 ppm·h AOT40 对应的光合下降幅度为 11.4% (Calatayud *et al.*, 2006); 另一方面, 基于三种落叶栎 *Quercus pyrenaica*, *Q. robur*, *Q. faginea* 的研究显示: 26.2-28.8 ppm·h AOT40 值分别对应于 64%、38%和 33%的光合速率下降幅度 (Calatayud *et al.*, 2011)。

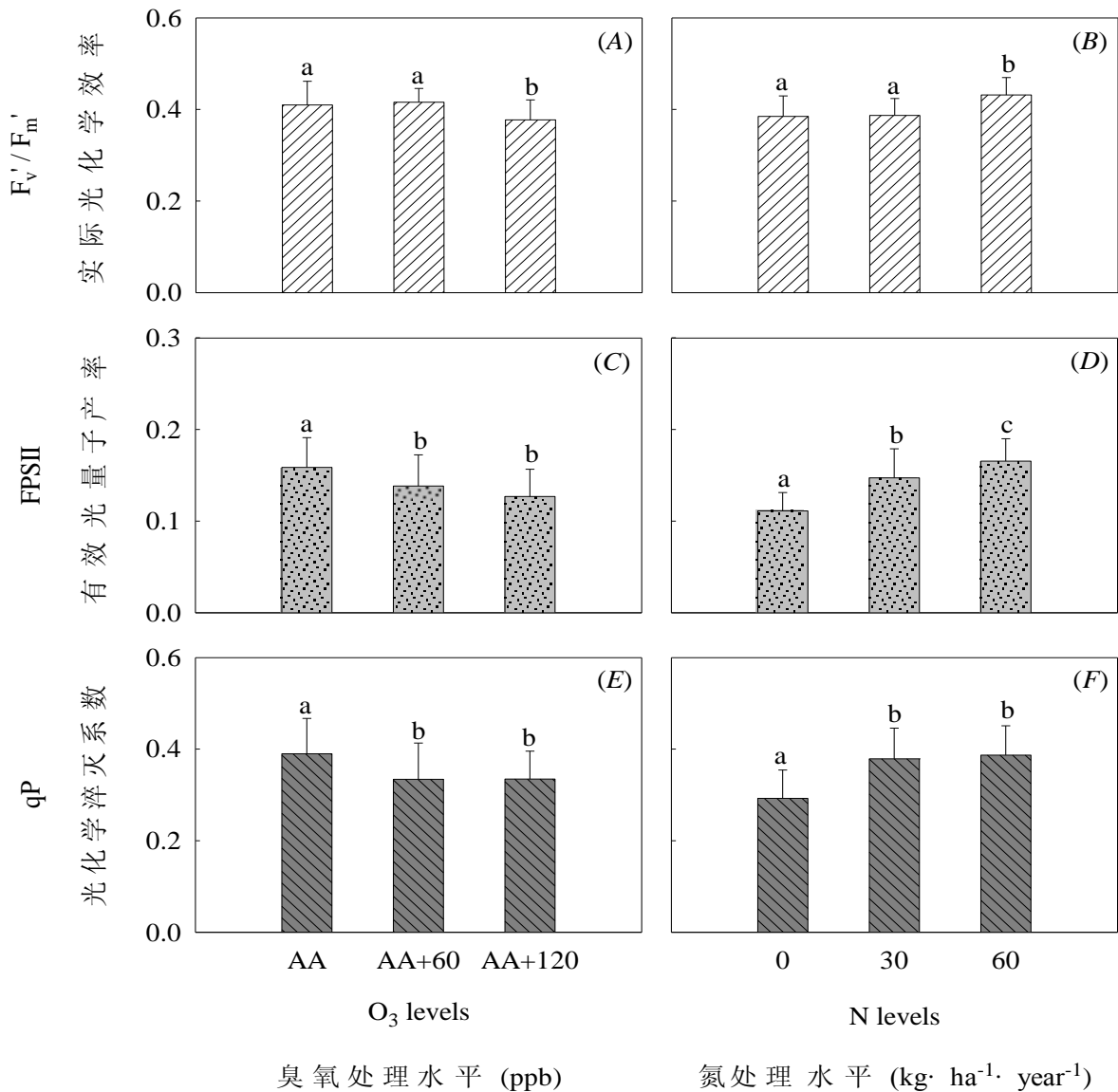


图 5-8 2010 年 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗光照荧光参数影响多重比较分析

Figure 5-8 Multiple comparisons for the effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the actual photochemical efficiency of PSII in saturated light ( $F_v'/F_m'$ ), effective quantum yield of photosystem II (PSII) ( $\Phi_{PSII}$ ) and photochemical quenching coefficient (qP) of *Cinnamomum camphora* seedlings on September 7, 2010

基于以上事实,我们认为:香樟 O<sub>3</sub> 胁迫抗性介于地中海常绿硬叶树种与温带落叶树种之间,较前者弱,较后者强 (Nali *et al.*, 2004; Paoletti, 2006)。O<sub>3</sub> 胁迫下植物叶片光合速率的下降在其他类型落叶树种如短柄枹栎 (*Quercus serrata*)、美洲山杨 (*Populus tremuloides*)、垂枝桦 (*Betula pendula*) 及针叶树种如火炬松 (*Pinus taeda*) 中也有大量报道 (Watanabe *et al.*, 2007; Noormets *et al.*, 2010; Oksanen, 2003; Richardson *et al.*, 1992), 光合速率降低是植物 O<sub>3</sub> 胁迫最普遍的效应之一 (Bussotti *et al.*, 2007)。N 处理有利于植物光合速率的提高, O<sub>3</sub> 与 N 处理在影响香樟光合参数方面存在弱交互效应 (表 5-1、表 5-2), 类似结论在对圆齿水青冈 (*Fagus crenata*) 幼苗的研究中也有报道 (Yamaguchi *et al.*, 2007)。2009 年生长季季末 O<sub>3</sub> 胁迫导致的香樟幼苗光合速率下降与气孔导度下调之间存在很好的偶联关系;而在 2010 年 N60 水平 N 施加条件下, 光合速率的下降与气孔导度变异之间存在一定程度的解偶联, 表明 2009、2010 两个生长季 O<sub>3</sub> 胁迫导致的香樟幼苗光合速率下降可能受不同生理机制驱动。

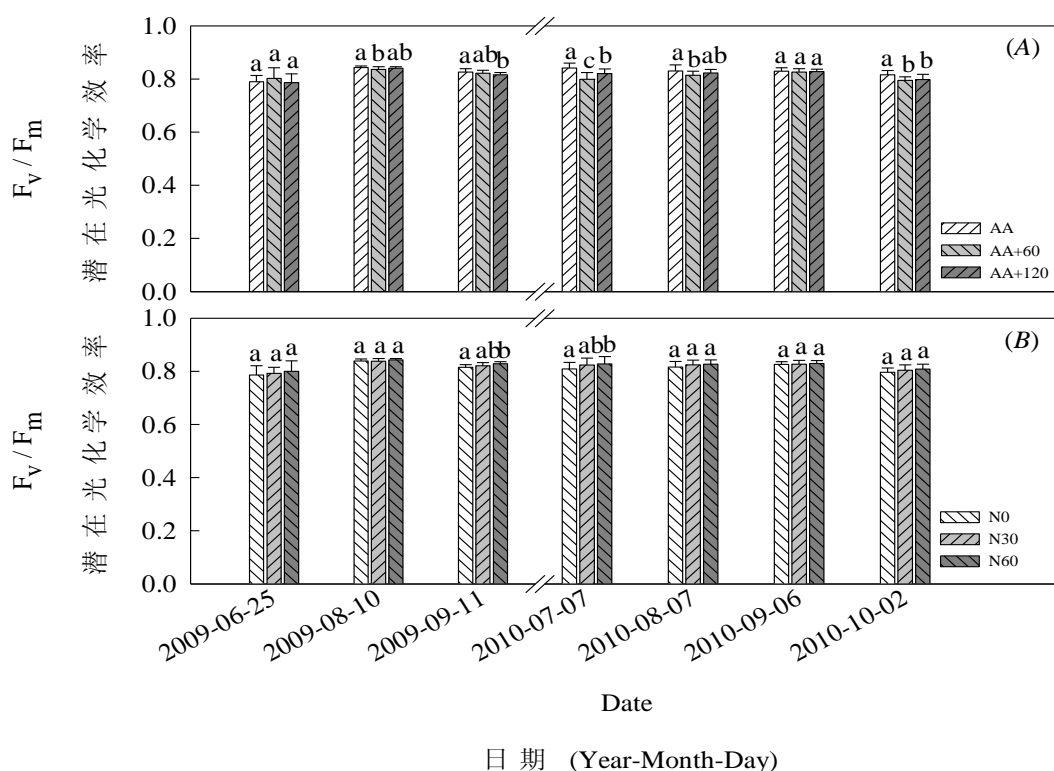


图 5-9 O<sub>3</sub> 与 N 处理对香樟幼苗潜在光化学效率的影响

Figure 5-9 Effects of elevated ozone and enhanced nitrogen on the maximum photochemical efficiency of photosystem II (PSII) of *Cinnamomum camphora* seedlings on September 7, 2010

关于 O<sub>3</sub> 胁迫下植物叶片光合速率下降的驱动机制, 学术界一直存在不同的看法 (Degl'Innocenti *et al.*, 2003)。一种观点认为: O<sub>3</sub> 胁迫下, 植物叶片气孔开度变小甚至完

全关闭，叶片  $\text{CO}_2$  通量下降，光合底物供应不足，植物碳同化过程受到抑制；另一种观点认为  $\text{O}_3$  胁迫下植物光合速率下降主要与活性氧分子对叶肉细胞主要功能位点、光合酶等的损伤、抑制过程有关，而气孔导度的降低只是植物光合速率受抑制情况下气孔对高浓度胞间  $\text{CO}_2$  的一种响应调控 (Matyssek *et al.*, 1991; He *et al.*, 2007; Darbah *et al.*, 2010; Calatayud *et al.*, 2006; Bussotti *et al.*, 2011)。考虑 2009、2010 年生长季季末两次光合参数测定，对气孔导度 ( $g_s$ )、胞间  $\text{CO}_2$  浓度 ( $C_i$ )、叶片蒸腾速率 (Trmmol)、光化学淬灭系数 (qP)、电子传递速率 (ETR) 等光合参数进行数据降维分析，提取得到 2 个主成分：第一主成分与  $g_s$ 、 $C_i$ 、Trmmol 具有较强相关 ( $r > 0.85$ )，主要反映植物气孔因素变异信息；第二主成分在 qP、ETR 上具有较高载荷，反映植物非气孔因素变异信息 (图 5-10)。对上述提取因子进行正交旋转并计算相应因子得分，结果显示：2009 年 9 月 6 日、2010 年 9 月 7 日，气孔因子与非气孔因子对所分析变量变异的累计解释率分别为 89.97%、90.44%。

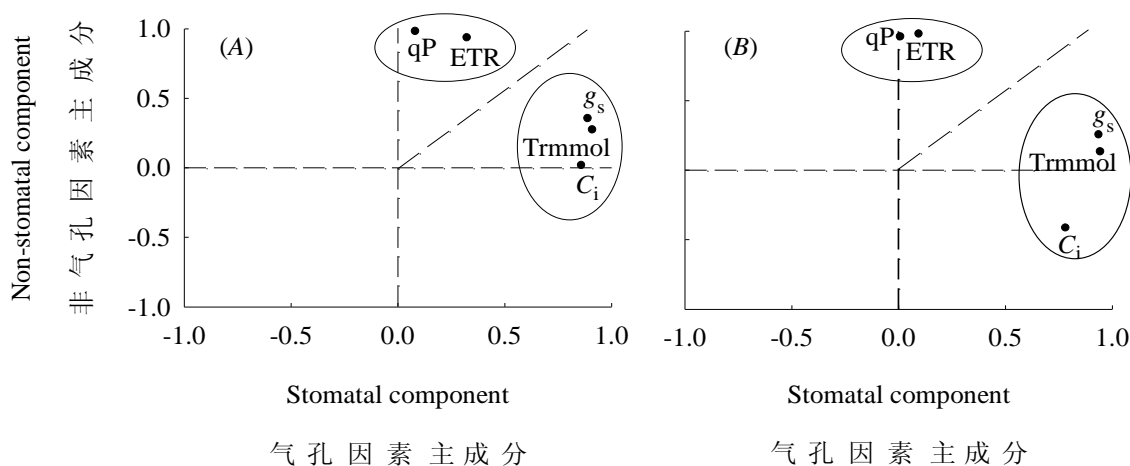


图 5-10 光合参数因子分析主成份载荷示意图

Figure 5-10 Component loadings for the factor analyses of photosynthetic indices including photochemical quenching (qP), electron transport rate (ETR), stomatal conductance ( $g_s$ ), transpiration rate (Trmmol) and intercellular  $\text{CO}_2$  concentration ( $C_i$ ) of *Cinnamomum camphora* seedlings on 6 September 2009 (A) and 7 September 2010 (B)

进一步以光合速率 ( $P_N$ ) 作为因变量，对气孔因子与非气孔因子因子得分进行线性回归，结果如图 5-11 所示： $P_N$  与气孔因子、非气孔因子因子得分之间存在显著线性相关 ( $P < 0.01$ )。2009 年 9 月 6 日，气孔因子、非气孔因子分别解释了香樟叶片光合速率变异信息的 40%、27%，气孔因子作用大于非气孔因子。2010 年 9 月 7 日，气孔因子、非气孔因子对香樟叶片光合速率变异信息的解释分别为 16%、50%，非气孔因子效应远大于气孔因

子效应 (图 5-11)。香樟幼苗光合速率降低在两个生长季末期受不同机制驱动:  $O_3$  胁迫下植物气孔开度降低、叶片  $CO_2$  通量下降是第一个生长季 (2009) 光合抑制的主要原因; 而在第二个生长季 (2010), 非气孔损伤构成香樟叶片光合速率下降的主导因素。

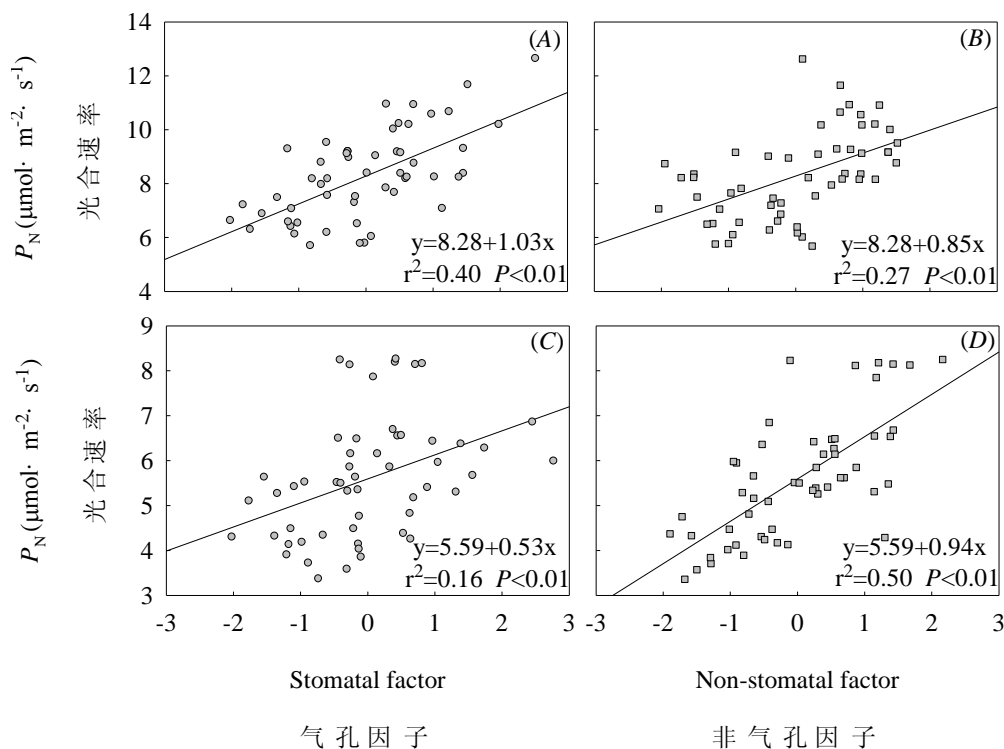


图 5-11 光合速率对气孔因子与非气孔因子的线性回归

Figure 5-11 Linear regression of the photosynthetic rates ( $P_N$ ) with stomatal and non-stomatal factor scores (A, B for 2009 and C, D for 2010)

光合酶类与光反应中心核酮糖 1, 5-二磷酸羧化酶 (RuBisco) 通常被认为是  $O_3$  胁迫下活性氧分子进攻的主要位点 (Noormets *et al.* 2001, Fontaine *et al.* 1999)。本实验中,  $O_3$  处理导致 2010 年生长季香樟叶片最大羧化速率 ( $V_{cmax}$ ) 显著降低 (图 5-6 A), 类似结果在美洲山杨 (*Populus tremuloides*)、垂枝桦 (*Betula pendula*) 等树种的研究中也有报道 (Noormets *et al.*, 2010; Kets *et al.*, 2010; Eichelmann *et al.*, 2004)。此外, 本实验中,  $O_3$  胁迫导致 2010 年香樟幼苗叶片最大电子传递速率 ( $J_{max}$ ) 显著降低 (图 5-6 C), 而  $J_{max}/V_{cmax}$  未受  $O_3$  胁迫影响 (图 5-6 E), 相对恒定的  $J_{max}/V_{cmax}$  表明香樟叶片中核酮糖 1, 5-二磷酸 (RuBP) 羧化过程与光驱动的电子传递过程之间存在很好的偶联关系, 通常认为二者高度相关且随环境因子变异模式一致 (Warren *et al.*, 2003),  $J_{max}$  的降低在一定程度上可能是对低水平  $V_{cmax}$  的一种响应 (Rogers and Humphries, 2000)。2010 年,  $O_3$  活性氧分子对 RuBisco 的降解与抑制导致香樟幼苗  $V_{cmax}$  显著降低, 后者进一步介导叶片光合电子传递速率下调,

并最终导致植物光合速率下降 (Dann *et al.*, 1989)。2009 年, N60 水平 N 施加对  $V_{\text{cmax}}$ 、 $J_{\text{max}}$  具有显著促进作用 (图 5-6 B、D), 高 N 条件有利于促进植物 RuBisco 等光合酶蛋白类化合物的合成。然而, 本实验中未检测到  $\text{O}_3$  与 N 在影响香樟幼苗  $J_{\text{max}}$ 、 $V_{\text{cmax}}$  及  $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$  方面存在显著交互效应。

两个生长季  $\text{O}_3$  处理导致香樟幼苗叶片实际光化学效率 ( $F_v'/F_m'$ )、潜在光化学效率显著降低 (图 5-8A、图 5-9A), 光系统 II 反应中心非辐射型能量淬灭过程增强 (Strand and Öquist, 1985)。同时, 本实验中  $\text{O}_3$  处理导致香樟叶片有效光量子产率 ( $\Phi_{\text{PSII}}$ )、光化学淬灭系数 ( $qP$ ) 显著下降 (图 5-7 B、C, 图 5-8 C、E) (Calatayud *et al.*, 2006), 这些参数的降低意味着植物光化学反应过程消耗的能量占光反应系统能量吸收总量的比例降低 (Feng *et al.*, 2011), 反应中心捕光色素捕获的太阳能更多以热能形式扩散损耗, 而热扩散本身会对 PSII 反应中心持续加温, 并引起光反应中心电子传递链等的热损伤。 $\text{O}_3$  及其衍生型活性氧分子对植物膜系统、光合器官的直接氧化损伤, 以及由于其对植物光化学过程抑制导致的热扩散增强对光合反应中心造成的热损伤可能是  $\text{O}_3$  胁迫下植物光合速率下降的重要原因。

N 处理对香樟  $F_v'/F_m'$ 、 $\Phi_{\text{PSII}}$ 、 $qP$  具有显著促进作用 (表 5-4、表 5-5); 2009 年生长季末,  $\text{O}_3$  与 N 处理对  $\Phi_{\text{PSII}}$ 、 $qP$  的影响存在显著交互效应 (图 5-7 B): N0、N30、N60 水平 N 处理下, AA+120 浓度  $\text{O}_3$  处理导致香樟幼苗  $\Phi_{\text{PSII}}$  分别降低了 29.03%、30.55%、42.94%, 相同处理组合下  $qP$  的下降幅度分别为 26.95%、33.38%、46.30%, 施 N 加剧了  $\text{O}_3$  对香樟叶片  $\Phi_{\text{PSII}}$ 、 $qP$  的抑制效应。 $\text{O}_3$  与 N 处理对  $F_v'/F_m'$  的影响在两个生长季之间均不在交互效应; 2010 年生长季  $\text{O}_3$  与 N 处理对香樟叶片  $\Phi_{\text{PSII}}$ 、 $qP$  的影响也不存在交互作用 (表 5-5)。此外, 本研究发现 2009 年生长季季末、2010 年生长季初期, 香樟叶片  $F_v/F_m$  在 N60N 处理下显著升高 (图 5-9 B), N 素施加有利于增强植物光合作用潜在光化学效率, 表现为施肥效应, 然而, N 处理没有显著改变香樟叶片  $F_v/F_m$  对  $\text{O}_3$  处理的响应, 两种处理之间表现为加性关系。此外, 本实验中, 香樟幼苗不同叶位叶片对  $\text{O}_3$  胁迫、N 施加的响应幅度存在差异, 幼苗顶部新生叶 (第三、第五叶位) 较幼苗中下部老叶处理效应更明显 (图 5-3)。





## 第六章 植株呼吸与树干液流

### 6.1 植株呼吸

2010 年生长季末, 对香樟幼苗呼吸速率进行测定, 结果表明: 持续两个生长季 AA+120 浓度  $O_3$  处理导致香樟幼苗暗呼吸速率显著增高 (56.05%), AA+60 浓度  $O_3$  处理也导致香樟幼苗呼吸速率升高 (19.46%), 但上升幅度未达到统计显著 (图 6-1 A)。N60 水平 N 施加显著促进香樟幼苗整株呼吸速率, 而 N30 水平 N 施加未对其产生显著影响 (图 6-1 B)。  $O_3$  处理与 N 处理在影响香樟幼苗整株呼吸速率方面不存在显著交互作用, 双因素方差分析模型中交互项对应的概率  $P$  值为 0.99。

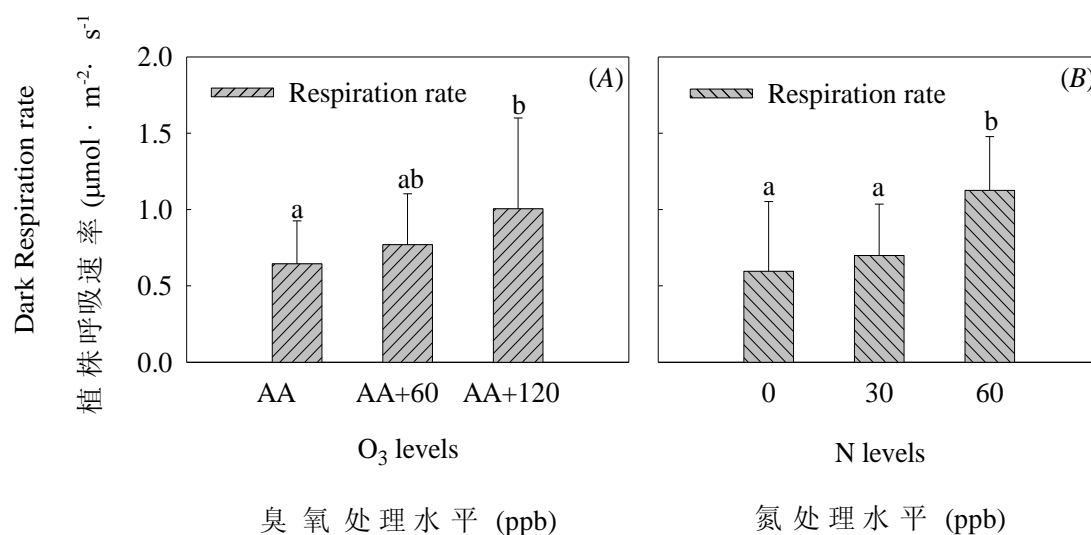


图 6-1  $O_3$  与 N 处理对香樟幼苗植株呼吸速率的影响

Figure 6-1 Effect of elevated ozone and enhanced nitrogen on the whole seedling respiration rates of *Cinnamomum camphora* after treatment for two growing seasons

### 6.2 树干液流

于 2010 年 10 月 5 日-10 月 30 日对不同水平  $O_3$  处理下香樟幼苗树干液流动态进行了连续监测, 监测仅针对 N0 水平组进行, AA、AA+60 浓度  $O_3$  处理水平各取三株幼树作为重复。图 6-2 显示了监测期间不同  $O_3$  浓度下香樟幼苗小时液流密度 (06:00-18:00) 变异特征: 液流日变化呈现出明显的单峰格局, 10 月下旬液流密度显著低于 10 月中上旬; AA、AA+60 浓度  $O_3$  处理下小时液流密度均值分别为 5.04、5.55  $g \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ , 日液流密度均值分别为 65.50、72.19  $g \text{ cm}^{-2} \text{ day}^{-1}$ ,  $O_3$  处理导致香樟幼苗液流速率升高, 但由于本实验中组内幼

苗之间液流变异较大, O<sub>3</sub> 对液流的处理效应未达到统计显著。监测期内, 香樟幼苗累积液流总量分别为 1703.01、1876.97 g (图 6-2 B)。

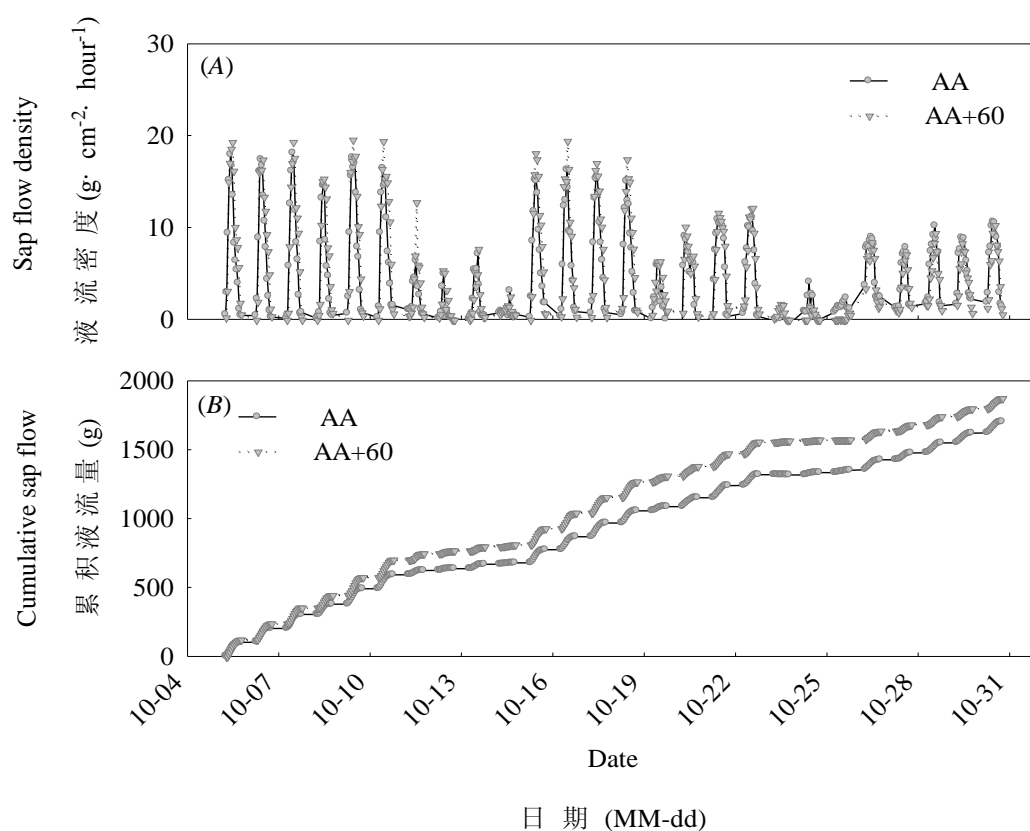


图 6-2 不同 O<sub>3</sub> 处理下香樟树幼苗干液流动态变化特征

Figure 6-2 Sap flow dynamics of *Cinnamomum camphora* seedlings after ozone treatment for two growing seasons

图 6-3 显示了 AA、AA+60 浓度 O<sub>3</sub> 下香樟树干液流与环境因子之间的关系。树干液流与太阳辐射 (图 6-3 A)、空气温度 (图 6-3 B) 之间呈显著正相关 ( $P < 0.01$ ), 与空气相对湿度 (图 6-3 C) 之间呈显著负相关 ( $P < 0.01$ )。本实验中, 树干液流与土壤含水量 (图 6-3 D) 之间不存在显著相关关系 ( $P > 0.05$ ), 这可能与控制实验条件下, 适时灌溉致使土壤水分供应充足, 植物未受干旱胁迫有关。

分别以 AA、AA+60 浓度 O<sub>3</sub> 处理下香樟幼苗小时液流密度为因变量, 太阳辐射、空气温度、空气相对湿度、土壤含水量为自变量进行逐步回归, 得到如下回归方程:

$$Y_1 = 13.891 + 0.007X_1 - 0.134X_3 \quad R^2 = 0.83 \quad (6-1)$$

$$Y_2 = 10.030 + 0.005X_1 + 0.232X_2 - 0.133X_3 \quad R^2 = 0.88 \quad (6-2)$$

其中  $Y_1$ : AA 浓度  $O_3$  下小时液流密度,  $Y_2$ : AA+60 浓度  $O_3$  下小时液流密度,  $X_1$ : 太阳辐射,  $X_2$ : 空气温度,  $X_3$ : 空气相对湿度,  $O_3$  处理下香樟树干液流对环境温度变异更加敏感。

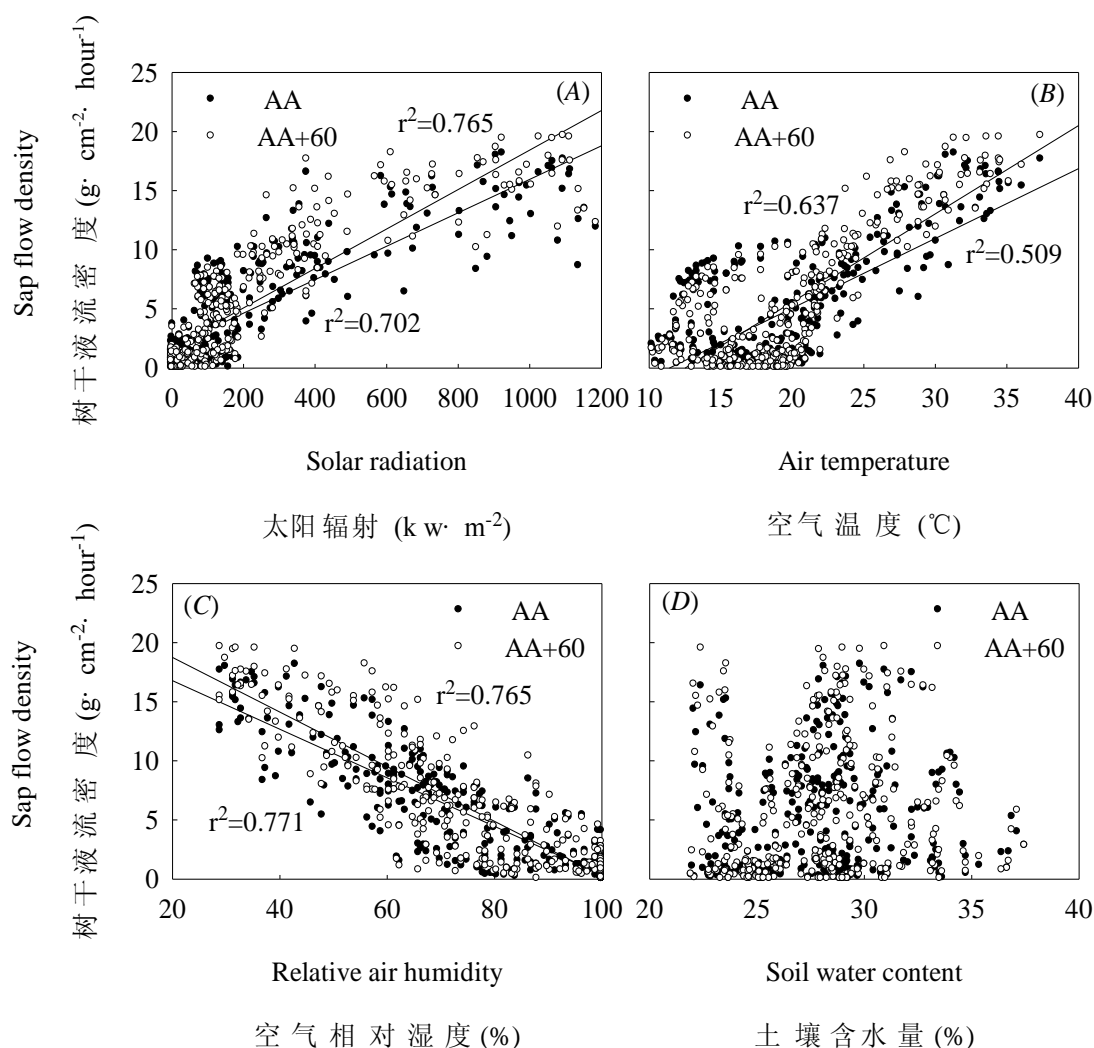


图 6-3 不同  $O_3$  处理下香樟幼苗树干液动态变化与环境因子的关系

Figure 6-3 Relationship of the *Cinnamomum camphora* seedling sap flow with solar radiation, air temperature, relative air humidity and soil water content.

### 6.3 小结与讨论

大量研究表明： $O_3$ 胁迫导致植物呼吸速率增大 (Coleman *et al.*, 1995; He *et al.*, 2007; Deckmyn *et al.*, 2007)，这可能植物内源性抗氧化物合成过程中对能量的大量需求有关。本实验中，两个生长季AA+120浓度 $O_3$ 处理导致香樟幼苗暗呼吸速率升高了56.05%，Barnes等针对三年生欧洲云杉 (*Picea abies*) 幼苗的研究显示：200  $\mu\text{g m}^{-3}$   $O_3$ 熏蒸导致肥沃土壤条件下植株呼吸速率增大了40%、贫瘠土壤条件下植株呼吸速率增大了58% (Barnes *et al.*,

1990); Tjoelker等针对杂交杨 (*Populus tristis* × *P. balsamifera*) 幼苗的O<sub>3</sub>胁迫效应研究结果表明: 持续30-40天95-110 ppb O<sub>3</sub>处理导致光照条件下幼苗植株呼吸速率增大了50%以上 (Tjoelker *et al.*, 1993)。本实验中, N60水平N处理导致香樟幼苗植株呼吸速率显著增大, 类似的结果在对美国花旗松 (*Pseudotsuga menziesii* var) (Manter *et al.*, 2005)、麻风树 (*Jatropha curcas*) (Jiao *et al.*, 2011)、苹果树 (*Malus domestica*) (Campbell and Marini, 1990) 的研究中也有报道。然而, 本实验中O<sub>3</sub>与N处理对香樟幼苗植株呼吸速率的影响不存在交互作用。此外, 两个生长季AA+60浓度O<sub>3</sub>处理并没有显著改变香樟幼苗树干液流速率, 液流速率主要受太阳辐射强度、大气温湿度等环境因子调控 (Ma *et al.*, 2005)。

## 第七章 主要结论

基于开顶气室 O<sub>3</sub>熏蒸平台研究了人工模拟 N 沉降条件下,我国亚热带地区典型常绿树种香樟的 O<sub>3</sub>胁迫效应,该研究以一年生幼苗为实验对象,持续两个生长季进行实验处理,从叶片表观症状、叶形态、叶片光合色素、抗性生理、叶元素含量、光合碳同化、荧光、植株呼吸、树干液流、整树生长、生物量积累分配等多个方面阐述了香樟幼苗的污染胁迫响应特征。主要结论包括:

(1) O<sub>3</sub> 浓度升高导致香樟幼苗叶片出现褪绿、萎黄、棕黑色斑点等多种损伤症状,叶损伤症状首次出现对应的 AOT40 高于常见落叶树种中首例叶片症状出现对应的 AOT40。

(2) O<sub>3</sub> 胁迫下香樟幼苗叶片显著变小,植物发育更小的叶片可以实现对 O<sub>3</sub> 胁迫症状的局部化和高效隔离,较小症状叶片脱落对植物生长的负面效应小于较大症状叶片。

(3) O<sub>3</sub> 胁迫导致香樟幼苗叶片叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量显著降低,叶绿素 a/b 含量基本维持稳定状态;叶片 N 元素相对含量显著降低,C 元素相对含量显著升高,C/N 显著增大。O<sub>3</sub> 胁迫下叶绿素降解可能是导致叶片 N 素流失的重要原因。

(4) O<sub>3</sub> 胁迫导致香樟幼苗叶片丙二醛含量显著升高,膜脂过氧化程度加剧;叶片还原型抗坏血酸含量的 O<sub>3</sub> 胁迫效应与 N 施加影响: N0 水平 N 处理下, O<sub>3</sub> 胁迫导致还原型抗坏血酸含量显著降低; N 施加条件下 (N30/N60) 条件下, AA+120 浓度 O<sub>3</sub> 处理导致香樟叶片还原型抗坏血酸含量显著升高; O<sub>3</sub> 胁迫导致香樟叶片总抗氧化能力显著提高,这一方面可能是由于还原型抗坏血酸含量的升高引起,另一方面也可能是其他类型抗氧化物如还原型谷胱甘肽含量、酚类化合物含量等的上升引起。

(5) O<sub>3</sub> 胁迫导致香樟幼苗叶片光合最大羧化速率 ( $V_{cmax}$ ) 显著降低、最大电子传递速率 ( $J_{max}$ ) 趋于下降,  $J_{max}/V_{cmax}$  的 O<sub>3</sub> 胁迫影响效应不显著,反映了光合作用暗反应 CO<sub>2</sub> 固定过程与光反应电子传递过程之间存在很好的偶联关系,二者随环境因子变异模式一致。

(6) O<sub>3</sub> 胁迫导致香樟幼苗光照条件下实际光化学效率 ( $F_v'/F_m'$ )、有效光量子产率 ( $\Phi_{PSII}$ )、光化学淬灭系数 (qP) 显著降低,植物的光合作用光反应过程受到显著抑制; O<sub>3</sub> 胁迫导致香樟幼苗叶片潜在光化学效率 ( $F_v/F_m$ ) 显著降低,叶片光反应中心呈现某种程

度的不可逆损伤。

(7)  $O_3$  胁迫下, 香樟幼苗叶片瞬时光合速率 ( $P_N$ ) 显著降低; 幼苗顶部新生叶片较低叶位叶片  $O_3$  胁迫敏感性更高; 2009、2010 两个生长季  $O_3$  胁迫导致香樟幼苗瞬时光合速率下降的调控机理不同: 2009 年  $O_3$  胁迫导致香樟幼苗气孔导度降低, 叶片  $CO_2$  通量下降,  $CO_2$  供给不足进一步形成对光合同化速率的抑制; 2010 年非气孔因素在调节植物瞬时光合速率下降过程中起主导作用:  $O_3$  及其衍生型活性氧分子对植物核酮糖 1, 5-二磷酸羧化酶 (RuBisco) 的活性抑制、降解, 对植物膜系统、光合器官的直接氧化损伤, 以及由于其对植物光化学过程抑制导致的热扩散增强对光合反应中心造成的热损伤, 可能是  $O_3$  胁迫下植物光合速率下降的主要原因, 而气孔导度的下降仅仅是对植物  $O_3$  胁迫下光合速率下降、胞间  $CO_2$  浓度升高的一种响应。

(8)  $O_3$  胁迫导致香樟幼苗植株呼吸速率显著增大, 整树耗水量趋于增加; 前者可能与植物氧化胁迫条件下抗氧化物质大量合成对能量的大规模需求有关; 后者一方面可能与  $O_3$  毒性导致植物叶片气孔调节机制钝化有关: 虽然气孔导度有所降低, 但是气孔不能完全关闭或者关闭过程延缓等; 另一方面, 耗水量增多本身意味着植物通过上调其生理活动过程, 形成对  $O_3$  胁迫的积极响应。

(9)  $O_3$  处理显著抑制了 2010 年生长季香樟株高、基径生长, 而对 2009 年香樟生长的抑制效应未达到统计显著。 $O_3$  对植物生长的抑制效应存在年际差异, 且具有时间累积效应。此外, 本研究中, 基径较株高生长对  $O_3$  胁迫具有更高敏感性, 前者在 AA+60、AA+120 浓度  $O_3$  处理下均显著降低, 后者仅在 AA+120 浓度  $O_3$  处理下显著降低。

(10) 两个生长季  $O_3$  胁迫导致香樟幼苗生物量积累显著降低,  $O_3$  对香樟幼苗地下部分生物量积累的抑制效应大于其对幼苗地上部生物量积累的抑制效应, 导致植物根冠比显著降低。 $O_3$  胁迫下植物体内抗氧化物合成对光合同化产物的叶部截留效应, 以及  $O_3$  介导的氧化损伤对树木韧皮部同化产物输送功能的阻断可能是植物地下部分与地上部分生物量比值降低的主要原因。

(11) 本研究中, N 素施加对香樟叶片大小、根冠比的影响与  $O_3$  胁迫效应一致: 两种处理均导致叶片显著变小, 根冠比显著降低; 然而在对其他指标的影响方面, N 处理与  $O_3$  处理具有相反的效应方向, N 处理具有施肥效应, 一定程度上促进了香樟幼苗的生长。N 处理与  $O_3$  处理之间的交互效应主要体现在对香樟叶片还原型抗坏血酸含量、特定观测阶段叶片色素含量、光合、荧光参数等方面: 一方面 N 施加为  $O_3$  胁迫下香樟叶片还原型抗

坏血酸的合成提供了必要营养支持；另一方面 N 施加条件下，O<sub>3</sub> 胁迫导致的香樟叶片光合色素含量下降幅度较对照 N 水平处理下更大；而对光合、荧光参数的影响方面，O<sub>3</sub> 与 N 的交互作用不存在固定模式。

(12) 本研究所得结果可为我国亚热带地区常绿阔叶树种 O<sub>3</sub> 敏感性评估提供基础数据和理论依据，为有效开展该区森林生态系统的保护工作提供可用参考。然而，控制实验条件下充足的水分供给、盆栽对植物根系生长的限制以及树木幼苗阶段生长发育的独特生理生长机制等因素可能导致本实验所得结果与自然生境实际情况之间存在一定偏差，研究结论在推广到自然生境下成熟树木中的时候还需结合原位观测进行相关校正。考虑到亚热带地区独特的气候、地理和植被条件，在全球变化的大背景下加强该区树种 O<sub>3</sub> 胁迫敏感性的研究十分必要。





## 参考文献

- Aber J D, McDowell W, Nadelhoffer KJ, Steudler P and Melillo J M. Nitrogen saturation in Northern forest ecosystems, hypotheses revisited. *Bioscience*, 1998, 48, 921-934.
- Adams R M, Hamilton S A and McCarl B A. The benefits of pollution control: the case of ozone and U.S. Agriculture. *American Journal of Agricultural Economics*, 1986, 68, 886-893.
- Andersen C P, Hogsett W E, Plocher M, Rodecap K and Lee E H. Blue wild-rye grass competition increases the effects of ozone on ponderosa pine seedlings. *Tree Physiology*, 2001, 21, 319-327.
- Ashmore M R. Assessing the future global impacts of ozone on vegetation. *Plant Cell Environment*, 2005, 28, 949-964.
- Avnery S, Mauzerall D L, Liu J F, Horowitz L W. Global crop yield reductions due to surface ozone exposure: 2. Year 2030 potential crop production losses and economic damage under two scenarios of O<sub>3</sub> pollution. *Atmospheric Environment*, 2011, 45, 2297-2309.
- Avnery S, Mauzerall D L, Liu J, Horowitz L W. Global crop yield reductions due to surface ozone exposure: 1. Year 2000 crop production losses and economic damage. *Atmospheric Environment*, 2011, 45, 2284-2296.
- Bai J H, Wang M X, Graham J and Prinn R G. A Study of the Nonmethane Hydrocarbons at Subtropical Forest Part II: Diurnal Variation Climatic and Environmental Research (in Chinese), 2001, 6 (4), 456-466.
- Barnes J D, Eamus D and Brown K. A. The influence of ozone, acid mist and soil nutrient status on Norway spruce. [*Picea abies* (L.) Karst.]. *New Phytologist*, 1990, 115, 149-156.
- Berntsen T K, Myhre G, Stordal F and Isaksen I S A. Time evolution of tropospheric ozone and its radiative forcing. *Journal of Geophysical Research*, 2000, 105, 8915-8930.
- Bianco J and Dalstein L. Abscisic acid in needles of *Pinus cembra* in relation to ozone exposure. *Tree Physiology*, 1999, 19, 787-791
- Binkley D, Son Y, Valentine WD. Do forest receive occult inputs of nitrogen? *Ecosystems*, 2000, 3, 321-331.
- Bortier K, Ceulemans R and de Temmerman L. Effects of ozone exposure on growth and photosynthesis of beech seedlings (*Fagus sylvatica*). *New Phytologist*, 2000, 146, 271-280.
- Bortier K, De Temmerman L and Ceulemans R. Effects of ozone exposure in open-top chambers on poplar (*Populus nigra*) and beech (*Fagus sylvatica*): a comparison. *Environmental Pollution*, 2000, 109 509-516.

- Broadmeadow M J and Jackson S B. Growth responses of *Quercus petraea*, *Fraxinus excelsior* and *Pinus sylvestris* to elevated carbon dioxide, ozone and water supply. *New Phytologist*, 2000, 146, 437-451.
- Broadmeadow M. Ozone and forest trees. *New Phytologist*, 1998, 139, 123-125.
- Brown K A and Roberts T M. Effects of ozone on foliar leaching in Norway spruce (*Picea abies* L. Karst): Confounding factors due to NO<sub>x</sub> production during ozone generation. *Environmental Pollution*, 1998, 55, 55-73.
- Brunschön-Harti S, Fangmeier A, Jäger H-J. Influence of ozone and ethylenediurea (EDU) on growth and yield of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in open-top field chambers. *Environmental Pollution*, 1995, 90 (1), 89-94.
- Bussotti F and Ferretti M. Visible injury, crown condition, and growth responses of selected Italian forests in relation to ozone exposure. *Environmental Pollution*, 2009 (157), 1427-1437.
- Bussotti F, Agati G, Desotgiu R, Matteini P and Tani C. Ozone foliar symptoms in woody plant species assessed with ultrastructural and fluorescence analysis. *New Phytologist*, 2005, 166 (3), 941-955.
- Bussotti F, Desotgiu R, Cascio C, Pollastrini M, Gravano E, Gerosa G, Marzuoli R, Nali C, Lorenzini G, Salvatori E, Manes F, Schaub M, Strasser R J. Ozone stress in woody plants assessed with chlorophyll a fluorescence. A critical reassessment of existing data. *Environmental and Experimental Botany*, 2011, 73, 19-30.
- Bussotti F, Desotgiu R, Cascio C, Strasser R J, Gerosa G and Marzuoli R. Photosynthesis responses to ozone in young trees of three species with different sensitivities, in a 2-year open-top chamber experiment (Curno, Italy). *Physiologia Plantarum*, 2007, 130, 122-135.
- Bussotti F. Functional leaf traits, plant communities and acclimation processes in relation to oxidative stress in trees: a critical overview. *Global Change Biology*, 2008, 14 (11), 2727-2739.
- Bussotti F., Strasser R J, Schaub, M. Photosynthetic behavior of woody species under high ozone exposure probed with the JIP-test: A review. *Environmental Pollution*, 2007, 147, 430-437.
- Bytnerowicz A, Arbaugh M, Schilling S, Fraczek W and Alexander D. Ozone distribution and phytotoxic potential in mixed conifer forests of the San Bernardino Mountains, southern California *Environmental Pollution*, 2008, 155, 398-408.
- Bytnerowicz A, Godzik B, Grodzinska K, Fraczek W, Musselman R, Manning W, Badea O, Popescu F, Fleischer P. Ambient ozone in forests of the central and eastern European mountains. *Environment Pollution*, 2004, 130, 5-16.

- Calatayud A, Iglesias D J, Talon M, Barreno E. Effects of long-term ozone exposure on citrus: chlorophyll a fluorescence and gas exchange. *Photosynthetica*, 2006, 44, 548-554.
- Calatayud V, Cerveró J, Calvo E, García-Breijó F-J, Reig-Armiñana J, Sanz M J. Responses of evergreen and deciduous *Quercus* species to enhanced ozone levels. *Environmental Pollution*, 2011 (159), 55-63.
- Calatayud V, Marco F, Cerveró J, Sánchez-Peña G, Sanz M J. Contrasting ozone sensitivity in related evergreen and deciduous shrubs, *Environmental Pollution*, 2010, 158, 3580-3587.
- Campbell R G and Marini R P. Nitrogen Fertilization Influences the Physiology of Apple Leaves Subjected to European Red Mite Feeding. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1990, 115 (1), 89-93.
- Cano I, Calatayud V, Cerveró J and Sanz M J. Ozone effects on three *Sambucus* species. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2007 (128), 83-91.
- Carlsson A, Sandelius A-S and Selldén G. Exposure of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) to ozone in open-top chambers. Effects on membrane lipid acyl composition in needles during the winter. *Physiologia Plantarum*, 1990, 79, A124.
- Chand D and Lal S. High ozone at rural sites in India. *Atmospheric Chemistry Physics*, 2004, 4, 3359-3380.
- Chappelka A H and Samuelson L J. Ambient ozone effects on forest trees of the eastern United States: a review. *New Phytologist*, 1998, 139, 91-108.
- Chen Z, Gallie D. Increasing tolerance to ozone by elevating foliar ascorbic acid confers greater protection against ozone than increasing avoidance. *Plant Physiology*, 2005, 138, 1673-1689.
- Cheng L, Zhu J G, Chen G, Zheng X, Oh NH, Rufty TW, Richter D, Hu S. Atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment facilitates cation release from soil. *Ecology Letters*, 2010, 13, 284-291.
- Cieslik S A. Ozone uptake by various surface types: a comparison between dose and exposure. *Atmospheric Environment*, 2004, 38, 2409-2420.
- Cofala J, Amann M, Klimont Z, Kupiainen K, Höglund-Isaksson L. Scenarios of global anthropogenic emissions of air pollutants and methane until 2030. *Atmospheric Environment*, 2007, 41, 8486-8499.
- Coleman M D, Isebrands J G, Dickson R E and Karnosky D F. Photosynthetic productivity of aspen clones varying in sensitivity to tropospheric ozone. *Tree Physiology*, 1995, 15, 585-592.
- Conklin P L and Barth C. Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogens, and the onset of senescence. *Plant, Cell and Environment*, 2004,

27, 959-970.

Cynthia Lin C Y, Jacob D J, Fiore A M. Trends in exceedances of the ozone air quality standard in the continental United States, 1980-1998. *Atmospheric Environment*, 2001, 35, 3217-3228.

Dann M S, Pell E J. Decline of Activity and Quantity of Ribulose Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase and Net Photosynthesis in Ozone-Treated Potato Foliage. *Plant Physiology*, 1989, 91, 427-432.

Darbah J N T, Kubiske M E, Nelson N, Kets K, Riikonen J, Sober A, Rouse L, Karnosk D F. Will photosynthetic capacity of aspen trees acclimate after long term exposure to elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>? *Environmental Pollution*, 2010, 158, 983-991.

Davis D D, Wood F A. The influence of plant age on the sensitivity of Virginia pine to ozone. *Phytopathology*, 1973, 63, 381-388.

Davis D D, Skelly J M. Growth response of four species of eastern hardwood tree seedlings exposed to ozone, acidic precipitation, and sulfur dioxide. *Journal of the Air Waste Management Association*, 1992, 42, 309-311.

De Kok L J, Tausz M. The role of glutathione in plant reaction and adaptation to air pollutants. In: Grill D, Tausz M, De Kok L J, eds. *Significance of glutathione in plant adaptation to the environment*. Amsterdam, Kluwer, 2001.

Deckmyn G, Op de Beeck M, Low M, Then C, Verbeeck H, Wipfler P and Ceulemans R. Modelling Ozone Effects on Adult Beech Trees through Simulation of Defence, Damage, and Repair Costs: Implementation of the CASIROZ Ozone Model in the ANAFOR Forest Model. *Plant Biology*, 2007, 9, 320-330.

Degl'Innocenti E, Vaccà C, Guidi L, Soldatini G F. CO<sub>2</sub> photoassimilation and chlorophyll fluorescence in two clover species showing different response to O<sub>3</sub>. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2003, 41, 485-493.

Dhindsa R S, Plumb-Dhinds P, Thorpe T A. Leaf Senescence: Correlated with Increased Levels of Membrane Permeability and Lipid Peroxidation, and Decreased Levels of Superoxide Dismutase and Catalase. *Journal of Experimental Botany*, 1981, 32 (1), 93-101.

Didyk N D and Blum O B. Natural antioxidants of plant origin against ozone damage of sensitive crops. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2011, 33, 25-34.

Dingenen R V, Dentener F J, Raes F, Krol M C, Emberson L, Cofala J. The global impact of O<sub>3</sub> on agricultural crop yields under current and future air quality legislation. *Atmospheric Environment*, 2009, 43, 604-618.

Dochinger L S, Bender F W, Fox F L, Heck W W. Chlorotic dwarf of eastern white pine caused

- by an ozone and sulphur dioxide interaction. *Nature*, 1970, 225, 476.
- European Environmental Agency. Air pollution by ozone in Europe in summer 2006. European Environment Agency Technical Report No 5/2007, 2007, Copenhagen, Denmark.
- Eichelmann H, Oja V, Rasulov B, Padu E, Bichele I, Pettai H, Möds T, Kasparova I, Vapaavuori E and Laisk A. Photosynthetic parameters of birch (*Betula pendula* Roth.) leaves growing in normal and in CO<sub>2</sub>- and O<sub>3</sub>-enriched atmospheres. *Plant Cell Environment*, 2004, 27, 479-495.
- Emberson L D, Biker P, Ashmore M R, Mills G, Jackson L S, Agrawal M, Atikuzzaman M D, Cinderby S, Engardt M, Jamir C, Kobayashi K, Oanh N T K, Quadir Q F, Wahid A. A comparison of North American and 24 Asian exposure-response data for ozone effects on crop yields. *Atmospheric Environment*, 2009, 43, 1945-1953.
- Emberson L D, Ashmore M R, Cambridge H M. Development of methodologies for mapping Level II Critical Levels of Ozone. Imperial College of London, DETR Report No. EPG1/3/82, 1998.
- Ericsson T. Growth and shoot:root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. *Plant and Soil*, 1995, 168-169, 205-214.
- Fares S, Goldstein A, Loreto F. Determinants of ozone fluxes and metrics for ozone risk assessment in plants. *Journal of Experimental Botany* 2009, 61, 629-633.
- Feller U, Anders I, Mae T. RuBiscolytics: fate of RuBisco after its enzymatic function in a cell is terminated. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59 (7), 1615-1624.
- Felzer B, Kicklighter D, Melillo J, Wang C, Zhuang Q and Prinn R. Effects of ozone on net primary production and carbon sequestration in the conterminous United States using a biogeochemistry model. *Tellus*, 2004, 56, 230-248
- Feng Z W, Jin M H, Zhang F Z and Huang Y Z. Effects of ground-level ozone (O<sub>3</sub>) pollution on the yields of rice and winter wheat in the Yangtze River delta. *Journal of Environmental Sciences*, 2003, 15, 360-362.
- Feng Z Z and Kobayashi K. Assessing the impacts of current and future concentrations of surface ozone on crop yield with meta-analysis. *Atmospheric Environment*, 2009, 43, 1510-1519.
- Feng Z Z, Niu J F, Zhang W W, Wang X K, Yao F F and Tian Y. Effects of ozone exposure on sub-tropical evergreen *Cinnamomum camphora* seedlings grown in different nitrogen loads. *Trees*, 2011, 25, 617-625.
- Feng Z Z, Pang J, Kobayashi K, Zhu J G, Ort D R. Differential responses in two varieties of winter wheat to elevated ozone concentration under fully open-air field conditions. *Global*

- Change Biology, 2011, 17, 580-591.
- Fiore A M, Jacob D J, Logan J A and Yin J H. Long-term trends in ground level ozone over the contiguous United States, 1980-1995. *Journal of Geophysical Research*, 1998, 103, 1471-1480.
- Fiscus E L, Booker F L and Burkey K O. Crop responses to ozone: uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning. *Plant, Cell and Environment*, 2005, 28 (8), 997-1011.
- Fisher L S, Mays P A, Wylie C. L. An Overview of Nitrogen Critical Loads for Policy Makers, Stakeholders, and Industries in the United States. *Water, Air and Soil Pollution*, 2007, 179, 3-18.
- Fontaine V, Pelloux J, Podor M, Afif D, G érant D, Grieu P, Dizengremel P. Carbon fixation in *Pinus halepensis* submitted to ozone. Opposite response of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and phosphorrenol-pyruvate carboxylase. *Physiological Plant*, 1999, 105, 187-192.
- Fowler D, Amann M, Anderson F, Ashmore M, Cox P, Depledge M, Derwent D, Grennfelt P, Hewitt N, Hov O, Jenkin M, Kelly F, Liss P S, Pilling M, Pyle J, Slingo J, Stevenson D. Ground-Level Ozone in the 21st Century: Future Trends, Impacts and Policy Implications. Science Policy Report 15/08. The Royal Society, London, 2008.
- Frei M, Kohno Y, Tietze S, Jekle M, Hussein M A, Becker T and Becker K. The response of rice grain quality to ozone exposure during growth depends on ozone level and genotype. *Environmental Pollution*, 2012, 163, 199-206.
- Friend A L and Tomlinson P T. Mild ozone exposure alters <sup>14</sup>C dynamics in foliage of *Pinus taeda* L. *Tree Physiology*, 1992, 11, 215-227.
- Fuhrer J and Booker F. Ecological issues related to ozone: agricultural issues. *Environment International*, 2003, 29, 141-154.
- Galloway J N and Cowling E B. Relative nitrogen and the world: 200 years of change. *Ambio*, 2002, 31, 64-71.
- Galloway J N, Schlesinger W H, Levy H, Michaels A, Schnoor J L. Nitrogen fixation: Anthropogenic enhancement-environmental response. *Global Biogeochemical Cycles*, 1995, 9, 235-252.
- Galloway J N. Acid deposition: Perspectives in time and space. *Water Air Soil Poll*, 1995, 85, 15-24.
- Galloway J N. The global nitrogen cycle: Past, present and future. *Science China: Ser C*, 2005, 48, 669-677.
- Gauss M, Myhre G, Isaksen I S A, Grewe V, Pitari G, Wild O, Collins W J, Dentener F J,

- Ellingsen K, Gohar L K, Hauglustaine D A, Iachetti D, Lamarque J-F, Mancini E, Mickley L J, Prather M J, Pyle J A, Sanderson M G, Shine K P, Stevenson D S, Sudo K, Szopa S and Zeng G. Radiative forcing since preindustrial times due to ozone change in the troposphere and the lower stratosphere, *Atmospheric Chemistry and Physics*, 2006, 6, 575-599.
- Gauss M, Myhre G, Pitari G, Prather M J, Isaksen I S A, Berntsen T K, Brasseur G P, Dentener F J, Derwent R G, Hauglustaine D A, Horowitz L W, Jacob D J, Johnson M, Law K S, Mickley L J, Müller J-F, Plantevin P-H, Pyle J A, Rogers H L, Stevenson D S, Sundet J K, van Weele M and Wild O. Radiative forcing in the 21st century due to ozone changes in the troposphere and the lower stratosphere. *Journal of Geophysical Research*, 2003, 108, 4292, doi: 10.1029/2002JD002624.
- Gerant D, Podor M, Grieu P, Afif D, Cornu S, Morabito D, Banvoy J, Robin C, Dizengremel P. Carbon Metabolism Enzyme Activities and Carbon Partitioning in *Pinus halepensis* Mill, exposed to Mild Drought and Ozone. *Journal of Plant Physiology*, 1996, 148, 142-147.
- Gerosa G, Marzuoli R, Bussotti F, Pancrazi M, Ballarin-Denti A. Ozone sensitivity of *Fagus sylvatica* and *Fraxinus excelsior* young trees in relation to leaf structure and foliar ozone uptake. *Environmental Pollution*, 2003, 125, 91- 98.
- Gerosa G, Marzuoli R, Desotgiu R, Bussotti F and Ballarin-Denti A. Visible leaf injury in young trees of *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L. in relation to ozone uptake and ozone exposure. An Open-Top Chambers experiment in South Alpine environmental conditions. *Environmental Pollution*, 2008, 152, 274-284.
- Giacomo B, Forino L M C, Tagliasacchi A M, Bernardi R and Durante M. Ozone damage and tolerance in leaves of two poplar genotypes. *Caryologia*, 2010, 63, 422-434.
- Gielen B, Löw M, Deckmyn G, Metzger U, Franck F, Heerdt C, Matyssek R, Valcke R, Ceulemans R. Chronic ozone exposure affects leaf senescence of adult beech trees: a chlorophyll fluorescence approach. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58, 785-795.
- Grace S C, Logan B, Adams WW III. Seasonal differences in foliar content of chlorogenic acid, a phenylpropanoid antioxidant, in *Mahonia repens*. *Plant Cell and Environment*, 1998, 21, 513-521.
- Grantz D A, Gunn S and Vu H-B. Ozone impacts on plant development: a meta-analysis of root/shoot allocation and growth. *Plant Cell Environment*, 2006, 29: 1193-1209.
- Grantz D A. Ozone impacts on cotton: towards an integrated mechanism. *Environment Pollution*, 2003, 126, 331-344.
- Griffin S P, Bhagooli R. Measuring antioxidant potential in corals using the FRAP assay. *Journal*

- of experimental marine biology and ecology, 2004, 302 (2), 201-211.
- Grulke N E, Miller P R, Scioli D. Response of giant sequoia canopy foliage to elevated concentrations of atmospheric ozone. *Tree Physiology*, 1996, 16 (6), 575-581.
- Günthardt-Goerg M S, Matyssek R, Scheidegger C, Keller T. Differentiation and structural decline in the leaves and bark of birch (*Betula pendula*) under low ozone concentrations. *Trees*, 1993, 7, 104-114.
- Gupta P, Duplessis S, White H, Karnosky D F, Martin F and Podila G K. Gene expression patterns of trembling aspen trees following long-term exposure to interacting elevated CO<sub>2</sub> and tropospheric O<sub>3</sub>. *New phytologist*, 167, 129-142.
- Häikiö E, Freiwald V, Silfver T, Beuker E, Holopainen T, Oksanen E. Impacts of elevated ozone and nitrogen on growth and photosynthesis of European aspen (*Populus tremula*) and hybrid aspen (*P. tremula* × *P. tremuloides*) clones. *Canadian Journal of Forest Research*, 2007, 37, 2326-2336.
- Handley T, Grulke N E. Interactive effects of O<sub>3</sub> exposure on California black oak (*Quercus kelloggii* Newb.) seedlings with and without N amendment. *Environmental Pollution*, 2008, 156, 53-60.
- Hassan H S A, Hagag L F, Rawash M A, El-Wakeel H, Abdel-Galel A. Response of Klamata Olive Young Trees to Mineral, Organic Nitrogen Fertilization and Some Other Treatments. *Nature and Science*, 2010, 8 (11), 59-65.
- Hayes F, Mills G, Harmens H, Norris D. Evidence of widespread ozone damage to vegetation in Europe (1990-2006), 2007.
- He X Y, Fu S L, Chen W, Zhao T H, Xu S and Tuba Z. Changes in effects of ozone exposure on growth, photosynthesis, and respiration of *Ginkgo biloba* in Shenyang urban area. *Photosynthetica*, 2007, 45, 555-561.
- He X Y, Ruan Y N, Chen W, Lu T. Responses of the anti-oxidative system in leaves of *Ginkgo biloba* to elevated ozone concentration in an urban area. *Botanical Studies*, 2006, 47, 409-416.
- Heagle A S, Body D E, Heck W W. An open-top field chamber to assess the impact of air pollution on plants. *Journal of Environmental Quality*, 1973, 2, 365-368.
- Heagle A S, Philbeck R B, Rogers H H, Letchworth M B. Dispensing and monitoring ozone in open-top field chambers for plant-effects studies. *Phytopathology*, 1979, 69 (1), 15-20.
- Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives in Biochemistry and Biophysics*, 1968, 125 (1), 189-198.
- Heck W W, Philbeck R B, Dunning J A. Continuous Stirred Tank Reactor (CSTR) System for



- Exposing Plants to Gaseous Contaminants: Principals, Specifications, Construction, and Operation. USDA-ARS Publ. No. ARS-S-181. USDA, New Orleans, LA, 1978.
- Heck W W, Cure W, Rawlings J, Zaragoza L, Heagle A, Heggestad H E, Kohut R J, Kress L W, Temple P J. Assessing impacts of ozone on agricultural crops. II. Crop yield functions and alternative exposure statistics. *Journal of the Air Pollution Control Association*, 1984, 34, 810-817.
- Herbinger K, Then C, Löw M, Haberer K, Alexous M, Koch N, Remele K, Heerd C, Grill D, Rennenberg H, Häberle K-H, Matyssek R, Tausz M, Wieser G. Tree age dependence and within-canopy variation of leaf gas exchange and antioxidative defence in *Fagus sylvatica* under experimental free-air ozone exposure. *Environmental Pollution*, 2005, 137, 476-482.
- Hildebrand E, Skelly J M, Fredericksen T S. Foliar response of ozone-sensitive hardwood tree species from 1991 to 1993 in Shenandoah National Park, Virginia. *Canadian Journal of Forest Research*, 1996, 26, 658-669.
- Holland M, Kinghorn S, Emberson L, Cinderby S, Ashmore M, Mills G, Harmens H. Development of a framework for probabilistic assessment of the economic losses caused by ozone damage to crops in Europe. Part of the UNECE International Cooperative Programme on Vegetation. Contract Report EPG 1/3/205, 2006, CEH Project No: C02309NEW.
- Holopainen J K, Rikala R, Kainulainen P, Oksanen J. Resource partitioning to growth, storage and defence in nitrogen-fertilized Scots pine and susceptibility of the seedlings to the tarnished plant bug *Lygus rugulipennis*. *New Phytologist*, 1995, 131, 521-532.
- Horemans N, Foyer C H, Asard H. Transport and action of ascorbate at the plasma membrane. *Trends in Plant Science*, 2000, 5, 263-267.
- Houston D B. Response of selected *Pinus strobus* L. clones to fumigations with sulfur dioxide and ozone. *Canadian Journal of Forest Research*, 1974, 4, 65-68.
- Huenneke L F, Hamburg S T, Koide R, Mooney H A, Vitousek P M. Effects of soil resources on plant invasion and community structure in Californian serpentine grassland. *Ecology*, 1990, 71, 478-491
- Hůnová I, Novotný R, Uhlířová H, Vrablík Tomáš, Horálek J, Lomský B and Sramek Vít. The impact of ambient ozone on mountain spruce forests in the Czech Republics indicated by malondialdehyde. *Environmental Pollution* 2010, 158, 2393-2401.
- Ibrahim L, Proe M F, Cameron A D. Main effects of nitrogen supply and drought stress upon whole-plant carbon allocation in poplar. *Canadian Journal of Forest Research*, 1997, 27, 1413-1419.

- Iglesias D J, Calatayud A, Barreno B, Primo-Millo E and Talon M. Responses of citrus plants to ozone: leaf biochemistry, antioxidant mechanisms and lipid peroxidation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2006, 44, 125-131.
- IPCC (2007) In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (eds Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M, Miller H L), Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change), 2001. *Climate change 2001: the scientific basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 881 pp (ISBN 0521807670).
- Izuta T and Nakaji T. Effects of High Nitrogen Load and Ozone on Forest Tree Species. *Eurasian Journal of Forest Research*, 2003, 6 (2), 155-170.
- Jacob D J, Logan J A and Murti P P. Effect of rising Asian emissions on surface ozone in the United States. *Geophysical Research Letters*, 1999, 26, 2175-2178.
- Jarvis P G. The interpretation of the variations in leaf water potential and stomatal conductance found in canopies in the field. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 1976, 273 (927), 593-610.
- Jiao J Y, Yin C Y and Chen K. Effects of soil water and nitrogen supply on the photosynthetic characteristics of *Jatropha curcas* seedlings. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2011, 35 (1), 91-99.
- Jones M E, Paine T D, Fenn M E and Poth M A. Influence of ozone and nitrogen deposition on bark beetle activity under drought conditions. *Forest Ecology and Management*, 2004, 200, 67-76.
- Junge C E. University of Mainz Global ozone budget and exchange between stratosphere and troposphere. *Tellus*, 1962, 14, 363-377.
- Jüttner F. Changes of monoterpene concentrations in needles of pollution-injured *Picea abies* exhibiting montane yellowing. *Physiologia Plantarum*, 1988, 72, 48-56.
- Kansal B D, Singh B, Bajaj K L, Kaur G. Effect of different levels of nitrogen and farmyard manure on yield and quality of spinach (*Spinacea oleracea* L). *Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum)*. 1981, 31 (2), 163-170.
- Karenlampi L, Metsarinne S, Paakkonen E. Stomatal conductance of birch leaves-plenty of variation in the variable which determines the ozone dose. *Chemosphere*, 1998, 36, 675-678.

- Karnosky D F, Werner H, Holopainen T, Percy K, Oksanen T, Oksanen E, Heerd C, Fabian P, Nagy J, Heilman W, Cox R, Nelson N, Matyssek R. Free-air exposure systems to scale up ozone research to mature trees. *Plant Biology*, 2007, 9, 181-190.
- Karnosky D F. Threshold levels for foliar injury to *Populus tremuloides* by sulfur dioxide and ozone. *Canadian Journal of Forest Research*, 1976, 6, 166-169.
- Kets K, Darbah J N T, Sober A, Riikonen J, Sober J, Karnosky D F. Diurnal changes in photosynthetic parameters of *Populus tremuloides*, modulated by elevated concentrations of CO<sub>2</sub> and/or O<sub>3</sub> and daily climatic variation. *Environmental Pollution*, 2000, 158, 1000-1007.
- Klnoslan J R. Ozone-Precursor Relationships from EKMA Diagrams. *Environmental Science & Technology*, 1982, 16, 880-883.
- Kobayashi K, Okadab M, Nouchi I. Effects of ozone on dry matter partitioning and yield of Japanese cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1995, 53 109-122.
- Kohno Y, Matsumura H, Ishii T, Izuta T. Establishing critical levels of air pollutants for protecting East Asia vegetation-a challenge. *Plant responses to air pollution and global change*, 2005, VII, 243-250.
- Kolb T E, Matyssek R. Limitations and perspectives about scaling ozone impacts in trees. *Environmental Pollution*, 2001, 115, 373-392.
- Krupa S V, Nosal M, Legge A H. numerical analysis of the combined open-top chamber data from the USA and Europe on ambient ozone and negative crop response. *Environmental Pollution*, 1998, 101, 157-160.
- Kurpius M R, McKay J, Goldstein AH. Annual ozone deposition to a Sierra Nevada ponderosa pine plantation. *Atmospheric Environment*, 2002, 36, 4503-4515.
- Landolt W, BuÈhlmann U, Bleuler P, Bucher J B. Ozone exposure -response relationships for biomass and root/shoot ratio of beech (*Fagus sylvatica*), ash (*Fraxinus excelsior*), Norway spruce (*Picea abies*) and Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Environmental Pollution*, 2000, 109, 473-478.
- Landolt W, Gunthardt-Goerg M S, Pfenninger I, Einig W, Hampp R, Maurer S, Matyssek R. Effect of fertilization on ozone induced changes in the metabolism of birch (*Betula pendula*) leaves. *New Phytologist*, 1997, 137, 389-397.
- Larson R A. The antioxidants in higher plants. *Phytochemistry*, 1988, 27, 969-978.
- Lee J C, Skelly J M, Steiner K C, Zhang J W, Savage J E. Foliar response of black cherry

- (*Prunus serotina*) clones to ambient ozone exposure in central Pennsylvania. *Environmental Pollution*, 1999, 105, 325-331.
- Lee J C, Steiner K C, Zhang J W, Skelly J M. Heritability of ozone sensitivity in open-pollinated families of black cherry (*Prunus serotina* Ehrh.). *Forest Science*, 2002, 48, 111-117.
- Lefohn A, Simpson J, Knudsen H, Bhumralkar C, Logan J. An evaluation of the kriging method to predict 7-hour seasonal mean ozone concentrations for estimating crop losses. *Journal of the Air Pollution Control Association*, 1987, 37, 595-602.
- Legge A H, Grunhage L, Nosal M, Jager H J, Krupa S V. Ambient ozone and adverse crop response: an evaluation of north American and European data as they related to exposure indices and critical levels. *Journal of Applied Botany*, 1995, 69, 192-205.
- Li Q B, Jacob D J, Fairlie T D, Liu H Y, Martin R V, Yantosca R M. Stratospheric versus, pollution influences on ozone at Bermuda: Reconciling past analyses. *Journal of Geophysical Research*, 2002, doi: 10.1029/2002JD002138 .
- Lichtenthaler H K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembrance. *Methods in enzymology*, 1987, 148, 350-382.
- Lilleskov E A, Fahey T J, Horton T R, Lovett G M. Below-ground ectomycorrhizal fungal community change over a nitrogen deposition gradient in Alaska. *Ecology*, 2002, 83, 103-115.
- Lindroth R L, Kopper B J, Parsons W F J, Bockheim J G, Karnosky D F, Hendrey G R, Pregitzer K S, Isebrands J G, Soberc J. Consequences of elevated carbon dioxide and ozone for foliar chemical composition and dynamics in trembling aspen (*Populus tremuloides*) and paper birch (*Betula papyrifera*). *Environmental Pollution*, 2001, 115, 395-404.
- Linzon S N. Effects of gaseous pollutants on forests in Eastern North America. *Water, Air, & Soil Pollution*, 1986, 31, 537-550.
- Linzon S N. The development of foliar symptoms and the possible cause and origin of white pine needle blight. *Canadian Journal of Botany*, 1960, 38, 153-161.
- Lippert M, Häberle K-H, Steiner K, Payer H-D, Rehfuss K-E, 1996. Interactive effects of elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> on photosynthesis and biomass production of clonal 5-year-old Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] under different nitrogen nutrition and irrigation treatments. *Trees*, 1996, 10, 382-392.
- Lisac I, Grubisic V. An analysis of surface ozone data measured at the end of the 19<sup>th</sup> century in Zagreb, Yugoslavia. *Atmospheric Environment*, 1991, 25A (2), 481-486.
- Liu X J, Duan L, Mo J M, Du E Z, Shen J L, Lu X K, Zhang Y, Zhou X B, He C N, Zhang F S. Nitrogen deposition and its ecological impact in China: An overview. *Environmental*

- Pollution, 2011, 159 (10): 2251-2264.
- Logan J. Ozone in rural areas of the United States. *Journal of Geophysical Research*, 1989, 94, 463-482.
- Long S P, Bernacchi C J. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54, 2393-2401.
- Long S P, Naidu S L. Effects of oxidants at the biochemical, cell and physiological levels, with particular reference to ozone. In *Air Pollution and Plant Life* (eds. Bell J N B and Treshow M), West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd., 2002, 69-88.
- Ma L, Zhao P, Rao X Q, Cai X A, Zeng X P, Lu P. Effects of environmental factors on sap flow in *Acacia mangium*. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (9), 2145-2151.
- Macklon A E S, Sin A. Modifying effects of non-toxic levels of aluminum on the uptake and transports of phosphate in ryegrass. *Journal of Experimental Botany*, 1992, 43, 915-923.
- Manderscheid R, Jager H J, Kress L W. Effects of ozone on foliar nitrogen metabolism of *Pinus taeda* L. and implications for carbohydrate metabolism. *New Phytologist*, 1992, 121 (4), 623-633.
- Mandl R H, Weinstein L H, McCune D C, Keveny M. A Cylindrical open-top field chamber for exposure of plants to air pollutants in the field. *Journal of Environmental Quality*, 1973, 2, 371-376.
- Manninen S, Le Thiec D, Rose C, Nourrisson G, Radnai F, Garrec J P, Huttunen S. Pigment Concentrations and Ratios of Aleppo Pine Seedlings Exposed to Ozone. *Water, Air, & Soil Pollution*, 1999, 116 (1), 333-338.
- Manter D K, Kavanagh K L, Rose C L. Growth response of Douglas-fir seedlings to nitrogen fertilization: importance of RuBisco activation state and respiration rates. *Tree Physiology*, 2005, 25 (8), 1015-1021.
- Maskell L C, Smart S M, Bullock J M, Thompson K, Stevens C J. Nitrogen deposition causes widespread loss of species richness in British habitats. *Global Change Biology*, 2010, 16 (2), 671-679.
- Massman W J. Toward an ozone standard to protect vegetation based on effective dose: a review of deposition resistance and a possible metric. *Atmospheric Environment*, 2004, 38, 2323-2337.
- Matson P A, McDowell W H, Townsen A R, Vitousek P M. The globalization of N deposition: ecosystem consequences in tropical environments. *Biogeochemistry*, 1999, 46, 67-83.

- Matyssek R, Bytnerowicz A, Karlsson P E, Paoletti E, Sanz M, Schaub M and Wieser G. Promoting the O<sub>3</sub> flux concept for European forest trees. *Environmental Pollution*, 2007, 146, 587-607.
- Matyssek R, Giinthardt-Goerg M S, Keller, Scheidegger C. Impairment of gas exchange and structure in birch leaves (*Betula pendula*) caused by low ozone concentrations. *Trees*, 1991, 5, 5-13.
- Matyssek R, Karnosky D F, Wieser G, Percy K, Oksanen E, Grams T EE, Kubiske M, Hanke D, Pretzsch H. Advances in understanding ozone impact on forest trees: Messages from novel phytotron and free-air fumigation studies. *Environmental Pollution*, 2010, 158, 1990-2006.
- Matyssek R, Wieser G, Nunn A J, Kozovits A R, Reiter I M, Heerd C, Winkler J B, Baumgarten M, H äberle K H, Grams T E E, Werner H, Fabian P, Havranek W M. Comparison between AOT40 and ozone uptake in forest trees of different species, age and site conditions. *Atmospheric Environment*, 2004, 38, 2271-2281.
- Mauzerall D L, Wang X P. Protecting agricultural crops from the effects of tropospheric ozone exposure: reconciling science and standard setting in the United States, Europe, and Asia. *Annual Review of Energy and the Environment*, 2001, 26, 237-268.
- McGrath J M, Karnosky D F, Ainsworth E A. Spring leaf flush in aspen (*Populus tremuloides*) clones is altered by long-term growth at elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Environmental Pollution*, 2010, 158, 1023-1028.
- Meagher J F, Lee N T, Valente R J, Parkhurst W J. Rural ozone in the southeastern United States. *Atmospheric Environment*, 1987, 21, 605-615.
- Miller P R, Parmeter J R, Taylor O C, Cardiff E A. Ozone injury to the foliage of *Pinus ponderosa*. *Phytopathology*, 1963, 53, 1072-1076.
- Mills G, Buse A, Gimeno B, Bermejo V, Holland M, Emberson L, Pleijel H. A synthesis of AOT40-based response functions and critical levels of ozone for agricultural and horticultural crops *Atmospheric Environment*, 2007, 41, 2630-2643.
- Minocha R, Stephanie L, Bauer G A, Berntson G M, Magill A H, Aber, J and Bazzaz F A. Nitrogen Availability and Net Primary Production in Temperate Forests: The Role of Leaf Physiology, Foliage Turnover and Canopy Structure. Available from <http://abstracts.aspb.org/aspp2001/public/P34/0093.html>.
- Moffat A S. Global nitrogen overload problem grows critical *Science*, 1989, 244, 776-783.
- Momen B, Helms J.A. Effects of simulated acid rain and ozone on foliar chemistry of field-grown *Pinus ponderosa* seedlings and mature trees. *Environmental Pollution*, 1996, 91, 105-111.

- Musselman R C, Mc Cool P M, Oshima R J, Teso R R. Field chambers for assessing crop loss from air pollutants. *Journal of Environmental Quality*, 1986, 15 (2), 152-157.
- Musselmana R C, Lefohnb A S, Massmana W J, Heath R L. A critical review and analysis of the use of exposure- and flux-based ozone indices for predicting vegetation effects. *Atmospheric Environment*, 2006, 40, 1869-1888.
- Nakaji T, Takenaga S, Kuroha M, Izuta T. Photosynthetic response of *Pinus densiflora* seedlings to high nitrogen load. *Environmental Sciences*, 2002, 9 (4), 269-282.
- Nakicenovic N, Alcamo J, Davis G, de Vries B, Fenhann J, Gaffin S, Gregory K, Grubler A, Jung T Y, Kram T, La Rovere E L, Michaelis L, Mori S, Morita T, Pepper W, Pitcher H, Price L, Raihi K, Roehrl A, Rogner H-H, Sankovski A, Schlesinger M, Shukla P, Smith S, Swart R, van Rooijen S, Victor N, Dadi Z. IPCC Special Report on Emission Scenarios. A Special Report of Working Group III of the Intergovernmental Panel on Climate Change; Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2000, 599 pp.
- Nali C, Paoletti E, Marabottini P, Della Rocca G, Lorenzini G, Paolacci A R, Ciaffi M, Badiani M. Ecophysiological and biochemical strategies of response to ozone in Mediterranean evergreen broadleaf species. *Atmospheric Environment*, 2004, 38, 2247-2257.
- Noormets A, Kull O, Sõber A, Kubiske M E, Karnosky D F. Elevated CO<sub>2</sub> response of photosynthesis depends on ozone concentration in aspen. *Environmental Pollution*, 2010, 158, 992-999.
- Noormets A, Sober A, Pell E J, Dickson R E, Podila G K, Sõber J, Isebrands J G, Karnosky D F. Stomatal and non-stomatal limitation to photosynthesis in two trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) clones exposed to elevated CO<sub>2</sub> and /or O<sub>3</sub>. *Plant Cell Environment*, 2001, 24, 327-336.
- Novak K, Cherubini P, Saurer M, Fuhrer J, Skelly J M, Kräuchi N, Schaub M. Ozone air pollution effects on tree-ring growth, delta (13) C, visible foliar injury and leaf gas exchange in three ozone-sensitive woody plant species. *Tree Physiology*, 2007, 27 (7), 941-949.
- Okamura M. An improved method for determination of L-ascorbic acid and L-dehydroascorbic acid in blood plasma. *Clinica Chimica Acta*, 1980, 103, 259-268.
- Oksanen E, Kontunen-Soppela S, Riikonen J, Peltonen P, Uddling J, Vapaavuori E. Northern environment predisposes birches to ozone damage. *Plant Biology*, 2007, 9, 191-196.
- Oksanen E. in: *Plant Responses to Air Pollution and Global Change*, ed. K. Omasa, I. Nouchi and L. J. de Kok, Springer, Tokyo, 1st edn., 2005, 29-35.
- Oksanen E. Responses of selected birch (*Betula pendula* Roth) clones to ozone change over time.

- Plant, Cell and Environment, 2003, 26, 875-886.
- Richardson C J, Sasek T W, Fendick E A, Kress L W. Ozone exposure response relationships for photosynthesis in genetic strains of loblolly pine seedlings. Forest Ecology and Management, 1992, 52, 163-168.
- Ollinger S V, Aber J D, Reich P B. Predicting the effects of tropospheric ozone on forest productivity in the northeastern U.S. In: Proceedings, 1995 Meeting of the Northern Global Change Program, USDA USFS General Technical Report NE-214, 1996, 217-225.
- Ollinger S V, Aber J D, Reich P B. Simulating ozone effects on forest productivity: interactions among leaf-, canopy- and stand-level processes. Ecological Applications, 1997, 7 (4), 1237-1251.
- Olszyk D M, Tibbitts T W and Hertzberg W M. Environment in Open-top Field Chambers Utilized for Air Pollution Studies. Journal of Environmental Quality, 1980, 9 (4), 610-615.
- Oltmans S J, Lefohn A S, Harrisa J M, Galbally I, Scheel H E, Bodekerf G, Brunke E, Claude H Tarasick D, Johnson B J, Simmonds P, Shadwick D, Anlauf K, Hayden K, Schmidlin F, Fujimoto T, Akagi K, Meyer C, Nichol S, Davies J, Redondas A and Cuevaso E. Long-term changes in tropospheric ozone. Atmospheric Environment, 2006, 40, 3156-3173.
- Oltmans S J. Surface ozone measurements from a global network. Atmospheric Environment, 1994, 28, 9-24.
- Orendovici T, Skelly J M, Ferdinand J A, Savage J E, Sanz M-J, Smith G C. Response of native plants of northeastern United States and southern Spain to ozone exposures; determining exposure/response relationships. Environmental pollution, 2003, 125, 31-40.
- Ottosson S, Wallin G, Skärby L, Karlsson P E, Medin E L, Råntfors M, Pleijel H and Selldén G. Four years of ozone exposure at high or low phosphorus reduced biomass in Norway spruce. Trees, 2003, 17, 299-307.
- Pääkkönen E and Holopainen T. Influence of nitrogen supply on the response of clones of birch (*Betula pendula* Roth.) to ozone. New Phytologist, 1995, 129, 595-603.
- Pääkkönen E, Holopainen T and Kärenlampi L. Effects of ozone on birch (*Betula pendula* Roth.) clones. Water, Air & Soil Pollution, 1995, 85, 3, 1331-1336.
- Paoletti E, Grulke N E. Ozone exposure and stomatal sluggishness in different plant physiognomic classes. Environmental Pollution, 2010, 158, 2664-2571.
- Paoletti E. Impact of ozone on Mediterranean forests: a review. Environmental Pollution, 2006, 144, 463-474.
- Pasqualini S, Antoniellia M, Ederlia L, Piccionia C and Loreto F. Ozone uptake and its effect on photosynthetic parameters of two tobacco cultivars with contrasting ozone sensitivity. Plant



- Physiology Biochemistry, 2002, 40 (6-8), 599-603.
- Pell E J, Sinn J P, Johansen C V. Nitrogen supply as a limiting factor determining the sensitivity of *Populus tremuloides* Michx. to ozone stress. *New Phytologist*, 1995, 130, 437-446.
- Plöchl M, Lyons T, Ollerenshaw J, Barnes J. Simulating ozone detoxification in the leaf apoplast through the direct reaction with ascorbate. *Planta*, 2000, 210, 454-467.
- Rai R, Agrawal M, Agrawal S B. Assessment of yield losses in tropical wheat using open top chambers. *Atmospheric Environment*, 2007, 41, 9543-9554.
- Reich P B, Amundson R G. Ambient levels of ozone reduce net photosynthesis in tree and crop species. *Science*, 1985, 230 (4725), 566-570.
- Ren W, Tian H Q, Liu M L, Zhang C, Chen G S, Pan S F, Felzer B, Xu X F. Effects of tropospheric ozone pollution on net primary productivity and carbon storage in terrestrial ecosystems of China. *Journal of geophysical research*, 2007, 112, D22S09, doi: 10.1029/2007JD008521.
- Ren W, Tian H Q, Tao B, Chappelka A, Sun G, Lu C Q, Liu M L, Chen G S, Xu X F. Impacts of tropospheric ozone and climate change on net primary productivity and net carbon exchange of China's forest ecosystems. *Global Ecology and Biogeography*, 2011, 20, 391-406.
- Ren W, Tian H Q, Chen G S, Liu M L, Zhang C, Chappelka A H, Pan S F. Influence of ozone pollution and climate variability on net primary productivity and carbon storage in China's grassland ecosystems from 1961 to 2000. *Environmental Pollution*, 2007, 149, 327-335.
- Rezende F M, Furlan C M. Anthocyanins and tannins in ozone fumigated guava trees. *Chemosphere*, 2009, 76, 1445-1450.
- Ribas A, Peñuelas J. Biomonitoring of tropospheric ozone phytotoxicity in rural Catalonia. *Atmospheric Environment*, 2003, 37, 63-71.
- Ribas À, Penñuelas J, Elvira S, Gimeno B S. Ozone exposure induces the activation of leaf senescence-related processes and morphological and growth changes in seedlings of Mediterranean tree species. *Environmental Pollution*, 2005, 134, 291-300.
- Richards B L, Middleton J T, Hewitt W B. Ozone Stipple of Grape Leaf: lesions on the upper leaf surfaces and premature leaf fall occur on grapevines in areas polluted by air-borne ozone. *California Agriculture*, 1959, 13 (12), 4-11.
- Rogers A, Humphries S W. A mechanistic evaluation of photosynthetic acclimation at elevated CO<sub>2</sub>. *Global Change Biology*, 2000, 6, 1005-1011.
- Ryan A, Cojocariu C, Possell M, Davies W J, Hewitt C N. Defining hybrid poplar *Populus*

- deltoides* × *Populus trichocarpa* tolerance to ozone: identifying key parameters. *Plant, Cell and Environment*, 2009, 32, 31-45.
- Ryerson T B, Trainer M, Holloway J S, Parrish D D, Huey L G, Sueper D T, Frost G J, Donnelly S G, Schauffler S E, Atlas L, Kuster W C, Goldan P D, Hübler G, Meagher J F, Fehsenfeld F C. Observations of Ozone Formation in Power Plant Plumes and Implications for Ozone Control Strategies. *Science*, 2001, 292, 719-723.
- Saitanis C J. Background ozone monitoring and phytodetection in the greater rural area of Corinth-Greece. *Chemosphere*, 2003, 51, 913-923.
- Saleem A, Lojonen J, Pihlaja K, Oksanen E. Effects of long-term open-field ozone exposure on leaf phenolics of European silver birch (*Betula pendula* Roth). *Journal of Chemical Ecology*, 2001, 27 (5), 1049-1062.
- Scheel H E, Areskoug H, Geiss H, Gomiscek B, Granby K, Haszpra L, Klasinc L, Kley D, Laurila T and Lindskog T, Roemer M, Schmitt R, Simmonds P, Solberg S, Toupan G. On the Spatial Distribution and Seasonal Variation of Lower-Troposphere Ozone over Europe. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 28, 45-59.
- Schelbert S, Aubry S, Burla B, Agne B, Kessler F, Krupinska K, Härtensteiner S. Pheophytin Pheophorbide Hydrolase (Pheophytinase) Is Involved in Chlorophyll Breakdown during Leaf Senescence in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 2009, 21 (3), 767-785.
- Schmieden U, Wild A. The contribution of ozone to forest decline. *Physiologia Plantarum*, 1995, 54, 371-378.
- Seinfeld J H. Urban air pollution: state of the science. *Science*, 1989, 243, 745-752.
- Severino J F, Stich K, Soja G. Ozone stress and antioxidant substances in *Trifolium repens* and *Centaurea jacea* leaves. *Environmental Pollution*. 2007, 146 (3): 707-714.
- Shan W P, Yin Y Q, Zhang J D, Ding Y P. Observational study of surface ozone at an urban site in East China. *Atmospheric Research*, 2008, 89, 252-261.
- Shavnin S, Maurer S, Matyssek R, Bilger W and Scheidegger C. The impact of ozone fumigation and fertilization on chlorophyll fluorescence of birch leaves (*Betula pendula*). *Trees*, 1999, 14 (1), 10-16.
- Shulaev V, Oliver D J. Metabolic and Proteomic Markers for Oxidative Stress. *New Tools for Reactive Oxygen Species Research*. *Plant Physiology*, 2006, 141 (2), 367-372.
- Simini M, Skelly J M, Davis D D, Savage J E, Comrie A C. Sensitivity of four hardwood species to ambient ozone in north central Pennsylvania. *Canadian Journal of Forest Research*, 1992, 22, 1789-1799.
- Sitch S, Cox P M, Collins W J and Huntingford C. Indirect radiative forcing of climate change

- through ozone effects on the land-carbon sink. *Nature*, 2007, 448, 791-794.
- Skelly J M. Tropospheric ozone and its importance to forests and natural plant communities of the northeastern United States. *Northeastern Naturalist*, 2000, 7, 221-236.
- Smirnoff N, Conklin P L and Loewus F.A. Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. *Annual Review of Plant. Physiology and Molecular Biology*, 2001, 52, 437-467.
- Smirnoff N. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000, 3, 229-235.
- Solomon S. *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, 2007.
- Sparks J, Walker J, Turnipseed A, Guenther A. Dry nitrogen deposition estimates over a forest experiencing free air CO<sub>2</sub> enrichment. *Global Change Biology*, 2008, 14, 768-781.
- Spash C L. Assessing the Economic Benefits to Agriculture from Air Pollution Control. *Journal of Economic Surveys*, 1997, 11, 47-70.
- Spicer C W, Joseph D W, Stickse P R, Ward G F. Ozone sources and transport in the northeastern United States. *Environment Science & Technology*, 1979, 13, 975-985.
- Šrámek V, Novotný R, Bednářov á E and Hana Uhl řov á Monitoring of ozone risk for forest in the Czech Republic: preliminary results. *The Scientific World Journal*. 2007, 7, 78-83.
- Strand M, Öquist G. Inhibition of photosynthesis by freezing temperatures and high light levels in cold-acclimated seedlings of Scots pine (*Pinus sylvestris*)-II. Effects on chlorophyll fluorescence at room temperature and 77 K. *Physiological Plantarum*, 1985, 65, 117-123.
- Sudo K, Akimoto H. Global source attribution of tropospheric ozone: Long-range transport from various source regions. *Journal of Geophysical Research*, 2007, 112, doi: 10.1029/2006JD007992.
- Suorsa M, Jokela A, Sarjala T, Manninen S, Huttunen S. Ozone-induced free polyamine response in scots pine in northern Finland. *Environmental Pollution*, 2002, 119 (3), 279-281.
- Tang G, Wang Y, Li X, Ji D, Gao X. Spatial-temporal variations of surface ozone and ozone control strategy for Northern China. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 2011, 11, 26057-26109.
- Tausz M, Grulke N E, Wieser G. Defense and avoidance of ozone under global change. *Environmental Pollution*, 2007, 147, 525-531.
- Thomas V F D, Braun S, Flückiger W. Effects of simultaneous ozone exposure and nitrogen

- loads on carbohydrate concentrations, biomass, growth, and nutrient concentrations of young beech trees (*Fagus sylvatica*) Environmental Pollution, 2006, 43, 341-354.
- Thomas V F D, Braun S, W Flückiger. Effects of simultaneous ozone exposure and nitrogen loads on carbohydrate concentrations, biomass, growth, and nutrient concentrations of young beech trees (*Fagus sylvatica*). Environmental pollution, 2006, 143, 341-354.
- Thomas V F D, Braun S, Fluckiger W. Effects of simultaneous ozone exposure and nitrogen loads on carbohydrate concentrations, biomass, and growth of young spruce trees (*Picea abies*). Environmental Pollution, 2005,137, 507-516.
- Thwaites R H, Ashmore M R, Morton A J, Pakeman R J. The effects of tropospheric ozone on the species dynamics of calcareous grassland. Environmental Pollution, 2006, 144, 500-509.
- Tingey D T, Hogsett W E, Lee E H. Analysis of crop loss for alternative ozone exposure indices. In: Schneider T, Lee S D, Wolters G J R, Grant L D (Eds.). Atmospheric Ozone Research and its Policy Implications: Proceedings of the Third US-Dutch International Symposium, Studies in Environmental Science, vol. 35, May 1988, Nijmegen, the Netherlands. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp. 219-227.
- Tjoelker M G, Volin J C, Oleksyn J, Reich P B. Light Environment Alters Response to Ozone Stress in Seedlings of *Acer saccharum* Marsh and *Hybrid Populus* L.I. In situ Net Photosynthesis, dark respiration and growth. New Phytologist, 1993, 124, 637-646.
- Utriainen J, Holopainen T. Nitrogen availability modifies the ozone responses of Scots pine seedlings exposed in an open-field system. Tree Physiology, 2001, 21, 1205-1213.
- Van Breemen N, Van Dijk H F G. Ecosystem effects of atmospheric deposition of nitrogen in the Netherlands. Environmental Pollution, 1988, 54, 249-274.
- Van Dijk H F G, de Louw M H J, Roelofs J G M, Verburch J J. Impact of artificial, ammonium-enriched rainwater on soils and young coniferous trees in a greenhouse. Part II-Effects on the trees. Environmental Pollution, 1990, 63 (1), 41-59.
- Vingarzan R. A review of surface ozone background levels and trends. Atmospheric Environment, 2004, 38, 3431-3442.
- Vollenweider P, Ottiger M, G üthardt-Goerg M S. Validation of leaf ozone symptoms in natural vegetation using microscopical methods. Environmental Pollution, 2003, 124, 101-118.
- Volz A, Kley D. Evaluation of the Montsouris series of ozone measurements made in the nineteenth century. Nature, 1988, 322, 240-242.
- Wahid A, Maggs R, Shamsi S R, Bell J N, Ashmore M R. Effects of air pollution on rice yield in the Pakistan Punjab. Environmental pollution, 1995, 90, 323-329.
- Walker R F, McLaughlin S B. Ozone, Acid Deposition, and Mycorrhization Effects on Loblolly

- Pine and White Oak. *Journal of Sustainable Forestry*, 2001, 14 (2): 31-58.
- Wallin G, Skärby L, Selldén G. Long-term exposure of Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst., to ozone in opentop chambers III. Effects on the light response of net photosynthesis in shoots of different ages. *New Phytologist*, 1992, 121 (3), 387-394.
- Wallin G, Skärby L, Selldén G. Long-Term Exposure of Norway Spruce, *Picea abies* (L.) Karst., to Ozone in Open-Top Chambers. I. Effects on the Capacity of Net Photosynthesis, Dark Respiration and Leaf Conductance of Shoots of Different Ages. *New Phytologist*, 1990, 115, 335-344.
- Wang X P, Mauzerall D L. Characterizing distributions of surface ozone and its impact on grain production in China, Japan and South Korea: 1990 and 2020 Atmospheric Environment, 2004, 38, 4383-4402.
- Wang C H, Li J Q, Yang Y. Effects of eutrophic nitrogen nutrition on carbon balance capacity of *Liquidambar formosana* seedlings under low light. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22 (12), 3117-3122.
- Wang D, Bormann F H, Karnosky D F. Regional tree growth reductions due to ambient ozone: evidence from field experiments. *Environmental Science and Technology*, 1986, 20, 1122-1125.
- Wang K Y, Kellomaki S. Effects of elevated CO<sub>2</sub> and soil-nitrogen supply on chlorophyll fluorescence and gas exchange in Scots pine, based on a branch-in-bag experiment. *New Phytologist*, 1997, 136, 277-286.
- Wang X H, Kent M, Fang X F. Evergreen broad-leaved forest in Eastern China: its ecology and conservation and the importance of resprouting in forest restoration. *Forest Ecology and Management*, 2007, 245, 76-87.
- Wang Y X, Frei M. Stressed food - The impact of abiotic environmental stresses on crop quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2011, 141, 271-286.
- Wang Y, Zhang Y, Hao J, Luo M. Seasonal and spatial variability of surface ozone over China: contributions from background and domestic pollution. *Atmospheric Chemistry Physics*, 2011, 11, 3511-3525.
- Warren C R, Dreyer E, Adams M A. Photosynthesis-RuBisco relationships in foliage of *Pinus sylvestris* in response to nitrogen supply and the proposed role of RuBisco and amino acids as nitrogen stores. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 17, 359-366.
- Watanabe M, Yamaguchi M, Tabe C, Iwasaki M, Yamashita R, Funada R, Fukami M, Matsumura H, Kohno M, Izuta T. Influences of nitrogen load on the growth and photosynthetic responses of *Quercus serrata* seedlings to O<sub>3</sub>. *Trees*, 2007, 21, 421-432.

- Watanabe M, Yamaguchi M, Matsumura H, Kohno Y, Izuta T. Effects of ozone on the growth and photosynthesis of *Castanopsis sieboldii* seedlings grown under different nitrogen loads. *Journal of Agricultural Meteorology*, 2008, 64, 143-155.
- Wedlich KV, Rintoul N, Peacock S, Cape JN, Coyle M, Toet S, Barnes J, Ashmore M. Effects of ozone on species composition in an upland grassland. *Oecologia*, 2011, DOI: 10.1007/s00442-011-2154-2.
- Wilkinson S, Davies W J. Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community. *Plant, Cell and Environment*, 2010, 33, 510-525.
- Wilkinson S, Mills G, Illidge R, Davies W J. How is ozone pollution reducing our food supply? *Journal of Experimental Botany*, 2011, 10, 1-10.
- Winkler P. Surface ozone over the Atlantic ocean. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 1988, 7, 73-91.
- Wittig V E, Ainsworth E A and Long S P. To what extent do current and projected increases in surface ozone affect photosynthesis and stomatal conductance of trees? A meta-analytic review of the last 3 decades of experiments. *Plant Cell Environment*, 2007, 30: 1150-1162.
- Wittig V, Ainsworth E A, Naidu S L, Karnosky D F and Long S. Quantifying the impact of current and future tropospheric ozone on tree biomass, growth, physiology and biochemistry: a quantitative meta-analysis. *Global Change Biology*, 2009, 15, 396-424.
- Wright R F, Rasmussen L. Introduction to the NITREX and EXMAN projects. *Forest Ecology and Management*, 1998, 101, 1-7.
- Xu H, Chen S B, Biswas D K, Li Y G, Jiang G M. Photosynthetic and yield responses of an old and a modern winter wheat cultivars to short-term ozone exposure. *Photosynthetica*, 2009, 47, 247-254.
- Yamaguchi M, Watanabe M, Iwasaki M, Tabe C, Matsumura H, Kohno Y, Izuta T. Growth and photosynthetic responses of *Fagus crenata* seedlings to O<sub>3</sub> under different nitrogen loads. *Trees*, 2007, 21, 707-718.
- Yamaguchi M, Watanabe M, Matsumura H, Kohno Y, Izuta T. Effects of ozone on nitrogen metabolism in the leaves of *Fagus crenata* seedlings under different soil nitrogen loads. *Trees-Structure and Function*, 2010, 24, 175-184.
- Yamaguchi M, Watanabe M, Matsuo N, Naba J, Funada R, Fukami M, Matsumura H, Kohno Y, Izuta T. Effects of Nitrogen Supply on the Sensitivity to O<sub>3</sub> of Growth and Photosynthesis of Japanese Beech (*Fagus crenata*) Seedlings. *Water Air Soil Pollut: Focus*, 2007, 7,131-136.
- Yamaji K, Akimoto H, Ohara T, Kurokawa J and Uno I., Future prediction of surface ozone over

- East Asia up to 2020. Presented at the 6th Annual CMAS conference, Chapel Hill, NC, October, 2007.
- Yamaji K, Julkunen-Tiitto R, RousI M, Freiwald V and Oksanen E. Ozone exposure over two growing seasons alters root-to-shoot ratio and chemical composition of birch (*Betula pendula* Roth.). *Global Change Biology*, 2003, 9, 1363-1377.
- Yan K, Chen W, He X Y, Zhang G Y, Xu S and Wang L L. Responses of photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant system in leaves of *Quercus mongolica* to elevated O<sub>3</sub>. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, 69, 198-204.
- Yang Y S, Skelly J M, Chevone BI. Effects of short-term ozone exposure on net photosynthesis, dark respiration, and transpiration of three eastern white pine clones *Environment International*, 1983, 9, 265-269.
- Yoshitomi M, Wild O, Akimoto H. Contributions of regional and intercontinental transport to surface ozone in the Tokyo area. *Atmospheric Chemistry Physics*, 2011, 11, 7583-7599.
- Zhang L, Jacob D J, Knipping E M, Kumar N, Munger J W, Carouge C C, van Donkelaar A, Wang Y X, Chen D. Nitrogen deposition to the United States: distribution, sources, and processes. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, 2012, 12, 241-282.
- Zhang W W, Niu J F, Wang X K, Tian Y, Yao F F and Feng Z Z. Effects of Elevated Ozone Concentration on Slash Pine (*Pinus elliottii*) Seedlings. *Chinese Journal of Environmental Science*, 2011, 32 (6), 1710-1716.
- Zheng F X, Wang X K, Lu F, Hou P Q, Zhang W W, Duan X N, Zhou X P, Ai Y P, Zheng H, Ouyang Z Y, Feng Z Z. Effects of elevated ozone concentration on methane emission from a rice paddy in Yangtze River Delta, China. *Global Change Biology*, 2011, 17, 898-910.
- Zheng F X, Wang X K, Hou P Q, Zhang W W, Lu F, Ou Yang Z Y. Influences of elevated ozone on growth and C, N, S allocations of rice. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31 (6), 1479-1486.
- Zheng X H, Fu C B, Xu X K, Yan X D, Huang Y, Han S H, Hu F, Chen G X. The Asian nitrogen cycle case study. *Ambio*, 2002, 31 (2), 79-87.
- Zhou X. *The Interaction between the Atmosphere and Ecosystems in Yangtze Delta Region*. Meteorological Press, Beijing, 2004, 175-185.
- Zhu C W, Zhu J G, Zeng Q, Liu G, Xie Z B, Tang H Y, Cao J L, Zhao X Z. Elevated CO<sub>2</sub> accelerates flag leaf senescence in wheat due to ear photosynthesis which causes greater ear nitrogen sink capacity and ear carbon sink limitation. *Functional Plant Biology*, 2009, 36, 291-299.
- 金明红, 冯宗炜, 张福珠. 臭氧对水稻叶片膜脂过氧化和抗氧化系统的影响. *环境科学*,

2000, 21 (3), 1-5.

任仁, 白乃彬. 中国降水化学数据的化学计量学分析. 北京工业大学学报, 2000, 26 (2), 90-95.

阮亚男, 何兴元, 陈玮, 陈振举, 孙雨. 臭氧浓度升高对油松抗氧化系统活性的影响. 应用生态学报, 2009, 20 (5), 1032-1037.

宋玉芝, 秦伯强, 杨龙元, 胡维平, 罗淑葱. 大气湿沉降向太湖水生生态系统输送氮的初步估算. 湖泊科学, 2005, 17 (3), 226-230.

王效科, 牟玉静, 欧阳志云, 张晓山, 倪士峰, 傅承新. 太湖流域主要植物异戊二烯排放研究. 植物学通报. 2002, 19 (2): 224-230.

张巍巍, 牛俊峰, 王效科, 田媛, 姚芳芳, 冯兆忠. 大气臭氧浓度增加对湿地松幼苗的影响. 环境科学, 2011, 32 (6), 1710-1716.

张修峰. 上海地区大气 N 沉降对湿地水环境的影响. 应用生态学报, 2006, 17(6), 1099-1102.

张颖, 刘学军, 张福锁, 巨晓棠, 邹国元, 胡克林. 华北平原大气 N 沉降的时空变异. 生态学报, 2006, 26 (6), 1633-1639.

周国逸, 闫俊华. 鼎湖山区域大气降水特征和物质元素输入对森林生态系统存在和发育的影响. 生态学报, 2001, 21, 2002-2012.



## 作者简介及在学期间发表的学术论文与研究成果

### 作者简介:

1985年10月20日出生于山西岚县。

2003年09月——2007年07月，在兰州大学生命科学学院（系）获得学士学位。

2007年09月——2012年07月，在中国科学院生态环境研究中心攻读博士学位。

### 获奖情况:

- 1、中国科学院生态环境研究中心 2009 年度三等奖学金。
- 2、中国科学院生态环境研究中心 2010 年度一等奖学金。
- 3、中国科学院生态环境研究中心 2011 年度特等奖学金。

### 已发表（或正式接受）的学术论文:

- 1、Niu J F, Zhang W W, Feng Z Z, Wang X K and Tian Y. Impact of elevated O<sub>3</sub> on visible foliar symptom, growth and biomass of *Cinnamomum camphora* seedlings under different nitrogen loads. *Journal of Environmental Monitoring*, 2011, 13, 2873-2879.
- 2、Feng Z Z, Niu J F, Zhang W W, Wang X K, Yao F F and Tian Y. Effects of ozone exposure on sub-tropical evergreen *Cinnamomum camphora* seedlings grown in different nitrogen loads. *Trees-Structure and Function*, 2011, 25, 617-625.
- 3、Zhang W W, Niu J F, Wang X K and Feng Z Z. Effects of ozone exposure on growth and photosynthesis of the seedlings of *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg, a native tree species of sub-tropical China. *Photosynthetica*, 2011, 49, 29-36.
- 4、Zhang W W, Feng Z Z, Wang X K, Niu J F. Responses of native broadleaved woody species to elevated ozone in subtropical China. *Environmental Pollution*, 2012, 163, 149-157.
- 5、牛俊峰, 李丽, 张巍巍, 王效科, 冯兆忠, 姚芳芳. 2012. 臭氧浓度升高对香樟叶片光合色素及抗过氧化的影响及其氮素响应. *生态学报*, doi:10.5846/stxb201202060156.
- 6、张巍巍, 牛俊峰, 王效科, 田媛, 姚芳芳, 冯兆忠. 臭氧浓度升高对湿地松幼苗的影响. *环境科学*, 2011, 32 (6).

- 7、张巍巍, 牛俊峰, 冯兆忠, 王效科, 田媛, 姚芳芳. 全缘冬青幼苗(*Ilex integra* Thunb.) 对大气 O<sub>3</sub> 浓度升高的回应. 环境科学, 2011, 32 (8).

### 参加的研究项目:

- 1、国家自然科学基金青年科学基金项目 (30700086) “大气臭氧浓度升高对我国亚热带城市绿化树种水杉和香樟碳代谢的影响机制”。
- 2、浙江天童森林生态系统国家野外科学观测研究站开放课题 (XT200707) “中国亚热带树种对近地层臭氧的敏感性响应机制”。
- 3、国家自然科学基金面上项目 (31170424) “干旱胁迫下的城市林木生长和水分利用对臭氧污染的响应机制研究”。
- 4、环境保护部公益性行业科研专项 (200809152) “大气臭氧污染对粮食作物理化生化指标影响及臭氧交换通量估算”。