

马尾松幼苗对 SO₂ 慢性伤害的反应

唐鸿寿¹, Masatoshi Aoki², Tsumugu Totsuka²

(1 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2 Tokyo University of Agricultural and Technology, Tokyo, Japan)

摘要:马尾松(*Pinus massonianas* Lamb.) 幼苗暴露在 SO₂ 浓度分别为 0.0 mg/m³、0.2 mg/m³、0.4 mg/m³ 的 3 个开顶式熏气室中 60 昼夜。在 SO₂ 浓度 0.2 mg/m³ 处理组, 马尾松苗与对照组无显著差异。在 SO₂ 浓度 0.4 mg/m³ 处理组, 马尾松针叶气孔细胞、针叶颜色、根系形态、根毛数量出现异常; 类胡萝卜素含量下降 35%, 针叶含硫量增加 225%, 从针叶渗出的钾离子量比对照增加 185%, 光合速率下降 9.5%, 蒸腾速率增加 13.6%, 干重下降 15.4%, 相对生长速率下降 2.7 mg/(g · d)。

关键词:马尾松; 二氧化硫; 根系; 类胡萝卜素; 钾离子

Response of masson pine seedling to chronic harm of SO₂

TANG Hong-Shou¹, Masatoshi Aoki², Tsumugu Totsuka² (1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo, Japan). *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(2): 375~379.

Abstract: Masson pine (*Pinus massonianas* Lamb.) seedlings were exposed to SO₂ in 3 open top chambers (OTC) for 60 days and nights, in which the concentrations of SO₂ were 0.0 mg/m³ (CK), 0.2 mg/m³ and 0.4 mg/m³, respectively.

In the treatment of SO₂ 0.2 mg/m³, no abnormality of stomata cells, needle colour, and roots was observed. There were no significant difference in chlorophyll content, photosynthetic rate, and transpiration rate compared with the control. However, compared with control, the carotenoid content of needle decreased 12%, the sulfur content of the needle increased 90.6%, the amount of potassium ion leaching from the needle increased 77%, the dry weight decreased 4.1%, and the relative growth rate decreased 0.6 mg/(g · d)。

In the treatment of SO₂ 0.4 mg/m³, abnormality of stomata cells, needle colour, roots conformation and amount of fibril was observed. The chlorophyll content were similar with the control, but compared with the control, the carotenoid content of the needle decreased 35%, the sulfur content of the needle increased 225%, the amount of potassium ion leaching from the needle increased 185%, the photosynthetic rate decreased 9.5%, the transpiration rate increased 13.6%, the dry weight decreased 15.4%, and the relative growth rate decreased 2.7 mg/(g · d)。

Key words: masson pine; sulfur dioxide; root; carotenoid; potassium ion

文章编号: 1000-0933(2005)02-0375-05 中图分类号: Q142, Q89, Q948, X171 文献标识码: A

中国酸沉降的主要污染物为硫酸型酸雨和气态 SO₂, 在重污染区的重庆、柳州、奉节等地, 均发生了大面积森林衰亡的现象, 马尾松是上述衰亡森林的主要树种之一。酸雨对树木的影响已进行过大量研究。SO₂ 与树木生长关系的研究也有报道^[1,2]。由于长周期连续低浓度 SO₂ 对树木的熏气实验对设备要求高、实验周期长、人力物力投入大、植物反应缓慢, 国内基本还是空白。故前人多采用短周期(数日或数小时)、昼夜不连续、高浓度 SO₂ (0.5~140 mg/m³) 熏气实验^[1,2], 在数日内甚至数小时即可获得结果, 致使树木出现急性伤害或死亡。据 1990 年至 2002 年出版的中国环境年鉴, 在我国秦岭淮河以南酸雨区, SO₂ 日平均浓度多在 0.20 mg/m³ 以下, SO₂ 瞬时峰值也多低于 0.50 mg/m³。可见, 在现实环境中, 大气 SO₂ 浓度明显低于上述高浓度 SO₂ 实验条件。另外, 大气中 SO₂ 浓度是长期的、昼夜不间断的。因此, 揭示现实环境中长周期连续低浓度 SO₂ 与树木生长的真

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30170188)

收稿日期: 2004-4-26; 修订日期: 2004-12-20

作者简介: 唐鸿寿(1949~), 男, 满族, 北京市人, 副研究员, 主要从事植物生态学研究, E-mail: tanghs@mail.rcees.ac.cn

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 30170188)

Received date: 2004-04-26; Accepted date: 2004-12-20

Biography: TANG Hong-Shou, Associate professor, mainly engaged in plant ecology. E-mail: tanghs@mail.rcees.ac.cn

实关系比进行人为设置的对树木进行超高浓度 SO_2 熏气实验更为重要,可对林木生长与环境现状的关系做出科学评价,为决策提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料材料为马尾松,将已萌发 76d,长势一致,平均株高 7.0cm,单株平均干重为 72mg 的马尾松幼苗移植在容量为 500ml 的聚乙烯花盆内,每盆 1 株,每个处理 50 株,3 个处理共 150 株。

1.2 实验条件 实验在 3 个室外日光型开顶式熏气室(OTC)内进行,OTC 外形为六边形立柱体,底座对角线长度 1.3 m,高 2 m,OTC 内换气量为 15 次/min。

1.3 处理方法 OTC 内的 SO_2 浓度分别为 0.0 mg/m^3 (CK)、0.2 mg/m^3 (T1)和 0.4 mg/m^3 (T2)。上述浓度 24h 恒定,用日本 Kimoto 公司 365 型 SO_2 荧光分析仪对 SO_2 浓度进行监测和控制。 SO_2 源为日本三井化学公司生产的钢瓶气体,纯度 99.99%。 SO_2 气体经主阀门、减压阀门、针型阀门、流量计导入 OTC 进气管道与空气混合,以减压阀门、针型阀门、流量计控制 OTC 内的 SO_2 浓度。

1.4 光合速率测定 采用全封闭法,将单株马尾松的针叶全部置于叶室内,用美国 LICOR 公司 LI-6200 型 CO_2 分析仪测定,测定后剪取样品全部针叶,80℃烘干 3d 至恒重,称样品干重。本测定选择不同植株重复 10 次。光合作用速率单位为 $\text{mg CO}_2/(\text{g DW} \cdot \text{h})$,其中 DW 为干重。

1.5 蒸腾速率测定 采用重量差法^[3],为防止土壤水分蒸发干扰结果,将单个花盆置于一聚乙烯袋内,只露出松苗,塑料袋口与松苗茎结合部用胶带粘牢,连同花盆一起称重,在 OTC 内放置 1h 后再次称重,前后重量差即蒸腾量。然后剪取松苗地上部作为样品,80℃烘干 3d 后称重。本测定在每个处理组选择不同植株重复 10 次。蒸腾速率单位为 $\text{g H}_2\text{O}/(\text{g DW} \cdot \text{h})$ 。

1.6 叶绿素和类胡萝卜素测定 采用乙醇丙酮法(50%乙醇+50%丙酮),测定 663nm、646nm、470nm 处的光密度值^[3]。在每个处理中随机取 5 株马尾松苗,各剪取松苗全部针叶分别置于 5 个试管中,加入乙醇丙酮混合液 10 ml,试管加盖,避光静置 48h 后,用日本 HITACHI 公司 100-30 型分光光度计测定。光密度值测定后,针叶样品 80℃烘干 3d 后称重。叶绿素和类胡萝卜素单位为 $\text{mg}/\text{g DW}$ 。

1.7 针叶含硫量测定方法 在每个处理中随机取 5 株松苗,各剪取松苗全部针叶,分别置于 5 个纸袋中,80℃烘干 3d 后称样品干重,用日本 HORIBA 公司 EMIA-120 型燃烧式硫磺含量分析仪测定硫含量($\mu\text{g}/\text{g DW}$)。

1.8 叶钾离子渗出量测定方法 在每个处理中随机取 5 株松苗,各剪取松苗全部针叶,无离子水冲洗浮尘后,分别置于 5 个广口锥形瓶内,各加入 100ml 无离子水,瓶口加盖,静置 24h,取上清液,用美国 PE 公司 Optima 2000 DV 型等离子体发射光谱仪(ICP)测定钾离子浓度。针叶 80℃烘干 3d 后称重。叶钾离子渗出量单位为 $\mu\text{g}/\text{g DW}$ 。

1.9 测定顺序 为提高实验工作效率,某些项目的测定可在同一次取样中完成。例如对同一样品,可先测光合作用,再测蒸腾作用,然后测定干重,最后测定硫含量。

1.10 数据处理方法 叶绿素含量、类胡萝卜素含量、针叶含硫量、叶钾离子渗出量等项目的测定,每个处理平行样测定 5 次,计算平均值和标准差,并进行方差分析和显著性分析。光合速率、蒸腾速率、干重和相对生长速率分析,每个处理测定 10 个样本,数据进行方差分析和显著性分析。相对生长速率(RGR)计算公式如下:

$$RGR = \int \frac{1}{W} \cdot \frac{dW}{dt} dt = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1}$$

式中, W 为整株植物干重的变化函数; t 为时间; W_i 为 i 时刻整株植物干重。

2 结果

2.1 慢性伤害症状特点

T1 组马尾松与 CK 组马尾松针叶颜色均为暗紫红色,而 T2 组马尾松针叶颜色为绿色。

T1 组马尾松与 CK 组根系形态发育正常。根毛数量多,上下分布均匀。根系完全被土壤包裹,根系表面土壤不易洗脱。T2 组马尾松根系发育不正常。与 CK 组对应部位的根系比较,距地表 6cm 以内,根直径仅为 CK 组的 75%~85%左右。T2 组马尾松根毛较短,数量少,上下数量分布不均匀。越接近地表,根毛越少。越远离地表,根毛形态数量越接近 CK 组。距地表 6cm 土层内根毛稀疏,短,细小。T2 根系被少量土壤包裹,上部根系表面的土壤极易洗脱,中部次之,下部接近 CK 组(表 1)。

2.2 气孔保卫细胞形态变化

在 150 倍显微镜下观察发现,T1 处理 60d 后,针叶的气孔保卫细胞内侧边缘整齐,与 CK 组一致。T2 处理 60d 后,马尾松成熟叶的气孔保卫细胞内侧边缘不整齐。这一差异仅出现在成熟叶(指进入熏气室前长度大于 4cm 的针叶),在幼叶中(指熏气过程中长出的新叶,熏气结束后长度小于 2cm 的针叶)未见差异。表明气孔保卫细胞受损与 SO_2 浓度和处理时间有关。

2.3 叶绿素含量变化

表1 SO₂暴露60d后马尾松根毛差异

Table 1 The fibril difference of mason pine after exposed to SO₂ for 60 days

处理 Treatment	CK	T1	T2
根毛数/株(根) Amount of fibril per plant	243±52	235±47	156±33
根毛长度(mm) Length of fibril	1~5	1~5	0.2~2

实验结果表明(图1),马尾松幼苗经过T1和T2处理60d后,与CK比较,马尾松针叶的叶绿素含量变化很小,虽然有少量降低,但经方差分析,无显著差异。

2.4 类胡萝卜素含量变化

对样品分析发现(图2),T1处理20d和40d后,针叶类胡萝卜素含量与CK无显著差异,暴露60d后比CK组下降12%。T2处理20、40、60d后,类胡萝卜素含量分别比CK组下降5%、14%、35%。经方差分析,T2组处理60d后,差异显著($p<0.01$)。实验中还发现,正常生长的马尾松针叶中的类胡萝卜素含量不是恒定不变的,在不同的发育阶段有其自身的变化规律。在本实验阶段中,针叶类胡萝卜素含量表现出随苗龄的增加而增加。

2.5 针叶含硫量变化

实验结果表明(图3),T1处理20d、40d和60d后,针叶硫含量分别比CK增加7.3%、40.7%和90.6%。T2处理暴露20d、40d和60d后,针叶硫含量分别比CK增加24.4%、72.9%和225%。经显著性分析,差异显著($p<0.01$)。上述结果表明,马尾松针叶硫含量与SO₂浓度和SO₂暴露时间均呈正相关。在实验中发现,马尾松针叶含硫量不是恒定不变的,在本实验阶段,含硫量随叶龄增加而下降(SO₂处理前马尾松针叶含硫量为0.92mg/kg)。

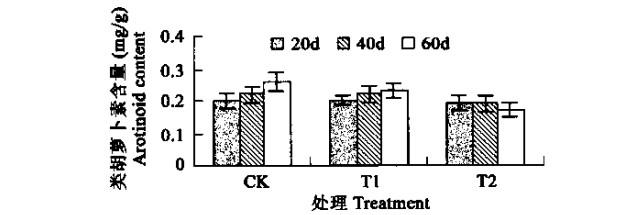


图2 SO₂暴露后马尾松针叶类胡萝卜素含量

Fig. 2 Carotinoid content of masson pine needle after exposed to SO₂

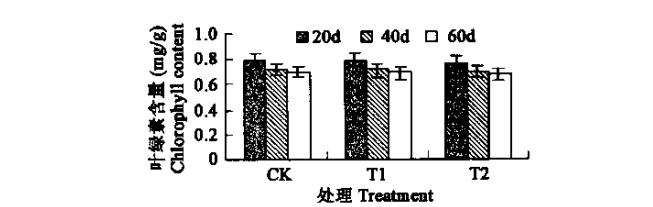


图1 SO₂暴露后马尾松针叶叶绿素含量

Fig. 1 Chlorophyll content of masson pine needle after exposed to SO₂

实验结果表明(图1),马尾松幼苗经过T1和T2处理60d后,与CK比较,马尾松针叶的叶绿素含量变化很小,虽然有少量降低,但经方差分析,无显著差异。

对样品分析发现(图2),T1处理20d和40d后,针叶类胡萝卜素含量与CK无显著差异,暴露60d后比CK组下降12%。T2处理20、40、60d后,类胡萝卜素含量分别比CK组下降5%、14%、35%。经方差分析,T2组处理60d后,差异显著($p<0.01$)。实验中还发现,正常生长的马尾松针叶中的类胡萝卜素含量不是恒定不变的,在不同的发育阶段有其自身的变化规律。在本实验阶段中,针叶类胡萝卜素含量表现出随苗龄的增加而增加。

实验结果表明(图3),T1处理20d、40d和60d后,针叶硫含量分别比CK增加7.3%、40.7%和90.6%。T2处理暴露20d、40d和60d后,针叶硫含量分别比CK增加24.4%、72.9%和225%。经显著性分析,差异显著($p<0.01$)。上述结果表明,马尾松针叶硫含量与SO₂浓度和SO₂暴露时间均呈正相关。在实验中发现,马尾松针叶含硫量不是恒定不变的,在本实验阶段,含硫量随叶龄增加而下降(SO₂处理前马尾松针叶含硫量为0.92mg/kg)。

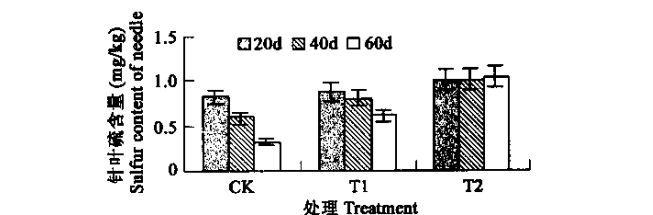


图3 SO₂暴露后针叶含硫量

Fig. 3 Sulfur content of needle after exposed to SO₂

2.6 钾离子渗出量的变化

马尾松苗(图4)经浓度分别为0.2mg/m³和0.4mg/m³的SO₂处理30d后,针叶钾离子渗出量分别比CK增加44%和105%;处理60d后,针叶钾离子渗出量分别比对照增加77%和185%。经显著性分析,差异显著($p<0.01$)。可见,针叶钾离子渗出量对SO₂十分敏感。

2.7 光合作用和蒸腾作用

测定马尾松的蒸腾作用和光合作用结果表明(图5),浓度为0.2mg/m³SO₂暴露60d后对马尾松的蒸腾速率和光合作用速率均无明显改变。浓度为0.4mg/m³的SO₂暴露60d后使马尾松的光合作用速率下降9.5%,经方差分析,无显著性差异。但T2处理组马尾松蒸腾速率比CK组增加13.6%,经方差分析,差异显著($p<0.05$)。

2.8 植株干重和相对生长速率(RGR)

从图6得知,经T1和T2处理60d后,与CK组比较,马尾松单株茎叶干重分别下降3.8%和16.4%,单株根干重分别下降4.9%和13.5%,单株总干重分别下降4.1%±1.7%和15.4%±5.2%。T1组与CK组比较,单株干重有所下降,但经方差分析,无显著性差异。T2组单株总干重下降明显,经方差分析,差异显著($p<0.05$)。

经过浓度为0.2mg/m³和0.4mg/m³的SO₂暴露60d后,马尾松相对生长速率比CK组分别下降0.6mg/(g·d)和2.7mg/(g·d)。经方差分析,T2组马尾松相对生长速率下降差异显著($p<0.05$)(表2)。

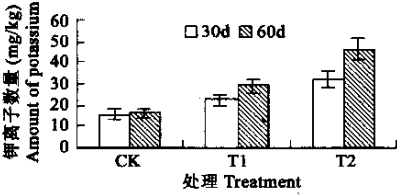


图 4 SO₂ 暴露后马尾松针叶钾离子渗出量

Fig. 4 Amount of potassium ion leaching from masson pine needle after exposed to SO₂

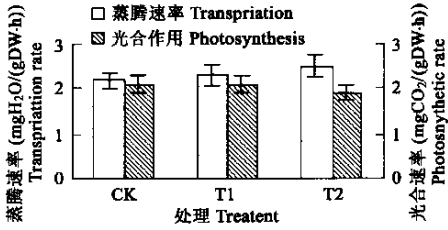


图 5 SO₂ 暴露 60d 后马尾松光合速率和蒸腾速率

Fig. 5 Photosynthetic rate and transpiration rate of masson pine after exposed to SO₂ for 60 days

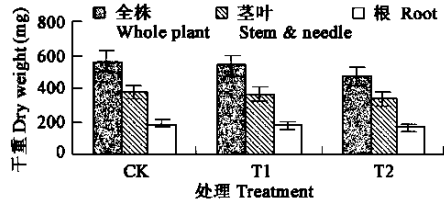


图 6 SO₂ 暴露 60d 后马尾松干重

Fig. 6 Dry weight of masson pine after exposed to SO₂ for 60 days

表 2 SO₂ 暴露 60d 马尾松的相对生长速率

Table 2 Relative growth rate (RGR) of masson pine exposure to SO₂ for 60 days

处理 Treatment	CK	T1	T2
相对生长速率 Relative growth rate	mg/m/d 34.0	33.4	31.3 *

* SO₂ 暴露前的马尾松整株干重为 72mg Initial sampling is 72mg; * $p < 0.05$

3 结论与讨论

外部症状观察发现,T2 组与 CK 组马尾松苗成熟针叶颜色明显不同。T2 组针叶颜色为绿色,而 CK 组和 T1 组针叶颜色为暗紫红色。仅从叶色看,T2 组马尾松枝叶颜色更翠绿,似乎生长得更好。但从干物质测定得知,CK 组马尾松干重大于 T2 组,说明浓度为 0.4mg/m³ 的 SO₂ 暴露后使得马尾松生长迟缓。另外,从叶绿素含量测定结果得知,在各处理与 CK 之间无显著差异。显然,叶色差异不是叶绿素含量差异所致。通过补充实验发现,SO₂ 浓度长期连续维持在 0.4mg/m³ 可使针叶中类胡萝卜素受到了破坏,导致叶色异常。类胡萝卜素的减少使叶绿素失去保护,导致叶绿素的颜色直接暴露在阳光下,因而叶色表现为绿色。Foyer 等^[4]发现,叶中的类胡萝卜素具有保护叶绿素分子的作用,可与活性氧作用,使叶绿素分子在强日光下不致被光氧化而破坏,以保证光合作用效率。Demmig 等^[5]提出,类胡萝卜素中的叶黄素可耗散多余的光能,以保护叶绿素分子的完整并维持正常的光合作用。

Ondrej 等^[6]发现,某些植物间歇暴露在高浓度 SO₂ 中时,会出现气孔暂时关闭,引起蒸腾作用下降。停止 SO₂ 暴露,气孔会马上张开,蒸腾速率恢复正常。Biscoe 等^[7]发现,植物长期暴露在低浓度 SO₂ 中时,会伤害气孔保卫细胞。从实验结果可知,马尾松苗暴露在 SO₂ 浓度 0.4mg/m³ 中时,蒸腾速率高于 CK。气孔是植物体与外界进行气体交换的必经之路,最易受到气态污染物的损害。尽管 SO₂ 浓度较低,但气孔保卫细胞受到伤害后无修复时间。实验中观察到马尾松苗气孔保卫细胞内侧边缘受损,正是 SO₂ 长期连续暴露的结果。由于气孔保卫细胞受到破坏后关闭不严,造成蒸腾速率增加,导致马尾松苗体内水分失衡。

在 10 倍解剖镜下观察发现,T2 组马尾松苗根系与土壤结合松散,在水中可轻易洗脱土壤,洗脱浮土后根系表面光滑,无任何土壤包裹。而在 CK 组,根系与土壤结合紧密,根系表面完全被土壤紧紧包裹,由于根分泌物的作用,很难将根系表面的土壤洗脱。另外,在 T2 组与 CK 组之间,根系和根毛的形态也出现明显差异,T2 根系发育状况为上部最差,中部次之,下部接近 CK。根毛长度明显低于 CK 组,根毛数量仅为 CK 组的 66%。表明 SO₂ 可以穿过湿润土壤,直接影响或通过形成 SO₂ 水合物、衍生物影响根系的发育。由于湿的土壤对二氧化硫有吸附和过滤作用,离土壤表层越近,二氧化硫浓度越高,根系形态的改变越大。离土壤表层越远,二氧化硫浓度越低,根形态的改变越小。

Prikryl Z^[8]对根系分泌物的研究发现,正常植物根向根际土壤分泌可溶性和不可溶性分泌物,形成根与土壤界面的密切联系,让整个根系尤其是根尖和须根被土壤紧密包裹,便于吸收土壤中的营养物质。本实验 T2 组导致马尾松根部失去土壤紧密包裹,其内在原因是根分泌物的成分和数量发生了变化。张福锁发现^[9],植物在受到某一逆境胁迫诱导时,体内合成一系列代谢物质,并通过主动分泌输入根际成为特定根系分泌物。Prikryl Z^[8]还发现,如果植物生长缓慢,根分泌物的量也会马上减少。如果根的生长停止,几乎没有分泌物的产生。上述分析表明,SO₂ 浓度长时间连续维持在 0.4mg/m³,可自上而下地引起根的发育异常和根分泌物的异常。

卞咏梅等发现^[10],植物经高浓度 SO₂ 暴露后,不仅出现肉眼可见伤害,细胞膜透性也发生改变。本实验中,T1 组马尾松外观形态与 CK 组无异,但针叶钾离子渗出量已高于 CK 组,说明细胞膜已经受到损害,表明针叶细胞膜透性对 SO₂ 敏感。

References:

[1] Chen S Y, Xu H B, Xie M Y. Effects of acid rain and SO₂ on some fastness tree seedling. *Chin. J. Ecol.*,1998,**17**(2):20~25.

[2] Liu Y Y,Cao H F,Shu J M. Effects of acid rain and SO₂ on growth and output of vegetable. *Acta Sci. Circumstantiae*,1991,**11**(3):327~335.

[3] Zhang Z A, Zhang M S, Wei R H. *Experiment direction of plant physiology*. Beijing: China Agriculture Press,2000. 43~55.

[4] Foyer C H, Lelandais M, Kuner K J. Photooxidative stress in plants. *Physiol Plant*, 1994, **92**: 696~717.

[5] Demmig B, Winter K, Kruger A. Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves; a possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. *Physiol Plan.*,1987, **84**:218~224.

[6] Ondrej Majernik, T A Mansfield. Direct effect of SO₂ pollution on the degree of opening of stomato. *Nature*, 1970, **227**: 377~378.

[7] Biscoe P V, Unsworth M H, Pinckney H R. The effects of low concentrations of sulphur dioxide on stomatal behaviour in *Vicia faba*. *New Phytol.*, 1973, **72**: 1299~1306.

[8] Prikryl Z. Root exudates of plants. *Plant and Soil*, 1980,**57**:69~83.

[9] Zhang F S. *Environment intimidation and root surface nutrition of plant*. Beijing:China Agriculture Press,1997. 18~19.

[10] Bian Y M,Chen S Y. Effect of SO₂ on permeation of plant cell membrane. *Communication of Plant Physiology*, 1982,(1):41~45.

参考文献:

[1] 陈树元, 徐和宝, 谢明云. 酸雨和 SO₂ 对一些不同抗性幼树的影响. *生态学杂志*,1998,**17**(2):20~25.

[2] 刘燕云,曹洪法,舒俭民. 酸雨和 SO₂ 对蔬菜生长和产量的影响. *环境科学学报*,1991,**11**(3):327~335 .

[3] 张治安,张美善,蔚荣海. 植物生理学实验指导. 北京:中国农业出版社,2000. 43~55.

[9] 张福锁. 环境胁迫与植物根际营养. 北京:中国农业出版社,1997. 18~19.

[10] 卞咏梅,陈树元. SO₂ 对植物细胞膜透性的影响. *植物生理学通讯*, 1982,(1):41~45.

