

DOI: 10.5846/stxb202204261166

圣倩倩, 宋爽, 陈文静, 宋敏, 祝遵凌. NO_2 胁迫下三角梅叶片形态解剖结构和最优光响应模型研究. 生态学报, 2023, 43(12): 5110-5121.

Sheng Q Q, Song S, Chen W J, Song M, Zhu Z L. Morphological, anatomical structure and optimal light response model of *Bougainvillea spectabilis* leaves under NO_2 stress. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(12): 5110-5121.

NO_2 胁迫下三角梅叶片形态解剖结构和最优光响应模型研究

圣倩倩^{1,2}, 宋爽^{1,2}, 陈文静^{1,2}, 宋敏^{1,2}, 祝遵凌^{1,2,3,*}

1 南京林业大学风景园林学院, 南京 210037

2 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 南京 210037

3 南京林业大学艺术设计学院, 南京 210037

摘要:植物的形态结构和光合作用能够反映植物对城市空气污染的响应特性。探究城市道路机动车尾气中的典型污染物 NO_2 气体, 对植物叶片的生理光合响应特性。以二年生三角梅 (*Bougainvillea spectabilis*) 幼苗为对象, 利用智能化人工熏气室模拟熏气 (NO_2 体积分数分别为 0 $\mu\text{L/L}$ (自然空气)、4 $\mu\text{L/L}$, 8 $\mu\text{L/L}$, 记作 CK、T1、T2), 观察 NO_2 胁迫后三角梅的叶片形态、微观结构和光合特征。结果表明: (1) 通过叶片形态观察发现, 与 CK 相比, 低浓度 T1 组叶片变化不明显, 随着 NO_2 气体胁迫浓度的增加, 高浓度 T2 组叶片逐渐出现失水、叶表面有明显的水渍状或烧灼状黄色斑点。 (2) 通过叶片微观结构解剖发现, 高浓度 NO_2 胁迫后气孔皱缩程度增加, 气孔开度减小; 叶绿体结构变形, 尤其是类囊体结构疏松, 膨胀等变化。 (3) 叶片光合特性分析发现, T1 和 T2 组的 NO_2 胁迫导致光饱和点 (LSP) 和最大净光合速率 (P_{max}) 下降、光补偿点 (LCP) 增加, 表观量子效率 (AQE) 和暗呼吸速率 (R_d) 在 4 种光响应模型中变化规律存在一定的差异性。 (4) 4 种光响应模型中, CK 组决定系数 (R^2) 越高, 均方根误差 (RMSE) 越低, 精度最高, 尤以叶子飘等机理模型为最优, 拟合效果最好, 其次是直角双曲线模型。研究结果表明三角梅可通过自身的形态变化、调整光合特征参数, 较好地适应不同浓度的 NO_2 , 尤其是高浓度急性胁迫下, 该研究结果有助于促进不同道路绿地三角梅的推广应用, 对探究三角梅的景观效益和生态效益, 揭示其对环境异质性的适应机制具有重要意义。

关键词:三角梅; NO_2 胁迫; 解剖结构; 光合特性

Morphological, anatomical structure and optimal light response model of *Bougainvillea spectabilis* leaves under NO_2 stress

SHENG Qianqian^{1,2}, SONG Shuang^{1,2}, CHEN Wenjing^{1,2}, SONG Min^{1,2}, ZHU Zunling^{1,2,3,*}

1 College of Landscape Architecture, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

2 Co-Innovation Center for the Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

3 College of Art and Design, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

Abstract: Plant morphology and photosynthesis can serve as indicators of how well a plant will react to urban air pollution. The physiological photosynthetic response of plant leaves to NO_2 , a characteristic contaminant in vehicle exhaust from urban roads, was studied in this study. The intelligent artificial fumigation chamber was used to simulate the biennial *Bougainvillea spectabilis* seedlings (NO_2 volume fraction was 0 $\mu\text{L/L}$ (natural air), 4 $\mu\text{L/L}$, and 8 $\mu\text{L/L}$, labeled as CK, T1, and T2). After NO_2 stress, we looked at the leaf morphology, microstructure, and photosynthetic traits of *B. spectabilis*. The findings revealed that: (1) It was discovered that the low concentration T1 group's leaves underwent minimal alteration

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目 (32101582); 江苏省自然科学基金 (BK20210613); 江苏省高等学校自然科学研究面上项目 (21KJB220008)

收稿日期: 2022-04-26; 网络出版日期: 2022-10-25

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhuzunling@njfu.edu.cn

in comparison to CK. The leaves in the high concentration T2 group gradually lost water as the concentration of NO₂ gas stressed them, leaving either clear water stains or cauterized yellow patches on the leaf surface. (2) Leaf microstructure study revealed that under conditions of high NO₂ stress, the extent of stomatal shrinking increased and stomatal openness reduced. Chloroplast structure changes, particularly the loosening and enlargement of the thylakoid structure. (3) Leaf photosynthetic characteristics study revealed that NO₂ stress in the T1 and T2 groups decreased the maximum net photosynthetic rate (P_{nmax}) and the light saturation point (LSP), while increasing the light compensation point (LCP). There were differences between the four light response models in terms of apparent quantum efficiency (AQE) and dark respiration rate (Rd). (4) Among the four light response models, the CK group had the highest accuracy, the lowest root mean square error, and the highest coefficient of determination (R^2) among the four. Particularly, the rectangular hyperbola model comes in second place to the leaf drift mechanism model in terms of best fitting performance. Our study's findings demonstrate that *B. spectabilis* may adapt to varying NO₂ concentrations, notably high concentrations under acute stress, by changing its morphology and photosynthetic characteristic characteristics. The findings will assist spread awareness of and use of various road greenbelt *B. spectabilis*. It is crucial to understand *B. spectabilis*' ecological and spatial advantages as well as its process of adaptation in order to better understand environmental heterogeneity.

Key Words: *Bougainvillea spectabilis*; NO₂ stress; Anatomical structure; Photosynthetic characteristics

当前,城市化发展迅速,城市群、都市圈等已成为中国新时代城市化的主体形态,所以如何化解城市生态系统中人与自然之间的矛盾,保障城市安全,推动高质量发展是我国城市生态环境面临的一个现实问题^[1]。而城市绿化植被能否高效率助力城市生态环境的高质量发展,面对日益增长的环境污染问题,如何极大地发挥城市绿化植被的净化作用,成为当下国际研究的热点问题。植物叶片与外界接触最多,对逆境胁迫表现最为敏感,同时叶片是最能体现植物与外界交换的器官,而研究叶片微观结构有助于了解植物对逆境胁迫的响应,气孔是蒸腾作用和光合作用中水分出入的门户,气孔小而密对植物应对逆境胁迫具有积极的作用^[2]。

而在经济繁华的都市生活中,由道路交通尾气产生的气体污染物,其中主要污染物之一即是氮氧化物,经过空气氧化作用后形成二氧化氮(NO₂)气体,对周边的环境和人类活动造成严重干扰。根据中国生态环境状况公报(2020)统计显示,在城市主要大气污染物中,NO₂的年均浓度为24 μg/m³,其中江苏省环境空气中NO₂的年均浓度为30 μg/m³,虽呈现逐年下降趋势,但仍为城市主要的大气污染物之一^[3-4]。NO₂污染作为一种典型的逆境气体胁迫,对植物的形态维持、生理生化代谢正常进行存在一定的影响,而不同园林植物对大气污染具有不同的吸收、净化及抵抗能力^[5-11],目前主要集中于无患子、三叶草、鹅耳枥等单一绿化树种的研究和多绿化树种的抗性强弱筛选,而关于NO₂气体胁迫的实验设计主要分为长期低浓度连续污染气体(超过30 d,慢性胁迫)和短期高浓度污染气体(0—7 d,急性胁迫)处理,在实验室控制条件下,通过自动连续监测并记录NO₂污染气体的装置,研究植物受到短期高浓度NO₂污染气体胁迫后的应急响应,尤其是关于园艺观赏品种三角梅的生长和光合参数的变化,尚未见报道。

三角梅(*Bougainvillea spectabilis*),亚热带常绿藤本灌木,热带城市广泛种植,由于其适应性强,管理粗放、四季持续开花,近年来被广泛应用于城市园林绿化和庭院绿化,并且已被厦门、深圳等多个城市评为市花。而三角梅在发挥绿化观赏用途过程中,是否兼具吸附净化大气氮污染作用,仍需进一步深入研究。因此,本文以二年生三角梅为试验材料,对其进行NO₂人工模拟熏气实验,分别研究急性胁迫下不同浓度NO₂胁迫下三角梅幼苗的生长和光合生理响应,该研究结果有助于促进不同道路绿地三角梅的推广应用,对探究三角梅的景观效益和生态效益,揭示其对环境异质性的适应机制具有重要意义。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2020 年 4—8 月在江苏省南京市南京林业大学园林实验中心进行。以二年生三角梅小苗 (*Bougainvillea spectabilis*) 作为试验材料。将园土、草木灰、蛭石和珍珠岩 (体积比 1:1:1:1) 充分混匀, 装入直径 20 cm、高 25 cm 的花盆中。三角梅小苗培育期间, 每周浇水 2—3 次, 每两周补充 0.5 L 的霍格兰营养液。培养两个月后, 将幼苗放置于空白熏气装置中继续进行适应性培养, 两周后选择健康、长势一致的幼苗进行 NO_2 熏气试验。供试 NO_2 气体来自于上海耐澄生物科技有限公司, 气体纯度为 99%。

1.2 试验装置

为满足实验需要, 本课题团队自主设计并发明了一种可以远程实时监测气体浓度的 NO_2 熏气装置, 如图 1 所示, 包括气体发生模块、气体浓度检测模块、云平台数据处理中心、气体电磁阀控制器和熏气室^[1]。熏气室为 120 cm×120 cm×80 cm 的长方体, 可以实时且精准的控制 NO_2 气体浓度, 并通过手机小程序或 pad 客户端实时查看 NO_2 的浓度变化以此来监测 NO_2 动态变化规律。

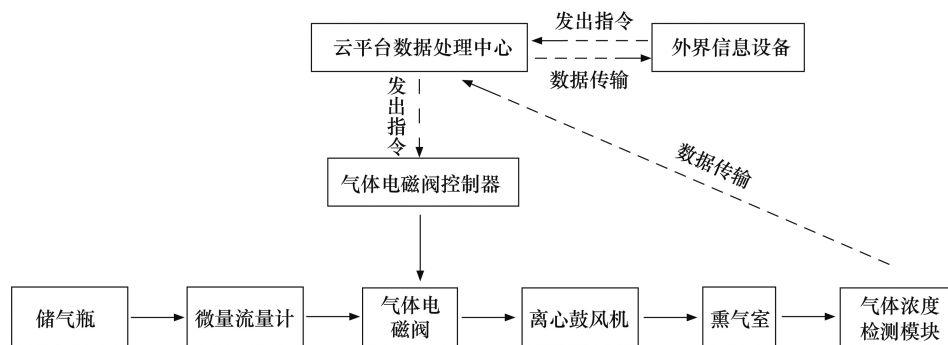


图 1 NO_2 熏气实验装置工作流程图

Fig.1 Working flow chart of NO_2 fumigation experimental device

1.3 试验方法

参照课题团队前期的研究^[8—10], 和相关文献^[13—14], 设计短时间高浓度 NO_2 熏气试验, 共设置了 3 种 NO_2 体积分数的熏气处理 (分别为 0 $\mu\text{L/L}$ 、4 $\mu\text{L/L}$ 、8 $\mu\text{L/L}$, 记作 CK、T1、T2), 每种 NO_2 体积分数的熏气处理的三角梅 20 株, 平行试验重复 3 次。从早上 9 点到下午 5 点, 连续熏气 8 h 后。采集样品, 进行各项形态、生长和光合指标的测定, 形态观察阶段, 分别距离顶端第三片叶子开始依次采集叶片用于观察形态变化。

1.4 叶片微观结构的观察

叶片结构: 选择植株顶端第 3 片生长完好、无病虫害的叶片并取样, 在叶片上切取 0.3 cm×0.1 cm 的组织块迅速放入福尔马林-乙酸-乙醇固定液中固定, 具体方法参照陈春如^[15—16]。

叶肉细胞结构: 摘取植株顶端第 3 片完好无病虫害的叶片, 快速切取 1—3 mm³ 大小, 立刻放入 4% 戊二醛溶液固定, 具体方法参照孟凡娟^[17]。

1.5 叶绿素含量的测定

选择茎顶部第 3—5 片成熟且生长健康的叶片, 运用丙酮和乙醇混合液浸提法提取, 参照刘萍等^[16]测定叶绿素 a (Chlorophyll a, Chl a)、叶绿素 b (Chlorophyll b, Chl b) 和总叶绿素 (Chl (a+b)) 的含量的方法并计算类胡萝卜素 (Carotenoid) 的值。

1.6 光合生理指标的测定

熏气实验结束后, 次日上午 9:00—11:30, 选择植株顶部第 3 片完全展开且完整无病害的叶片为测定叶

片,每株选择三片,每片重复记录 3—5 组数据,采用提式光合测定仪(CIRAS-3)测定各光合生理指标。每个不同的光强值设定数据采集时间为 3 min,CO₂浓度设置为 400 μmol m⁻² s⁻¹,温度设置为 25 °C,利用系统红蓝光光源分别设置 1800、1600、1400、1200、1000、800、600、400、300、200、150、100、50、20、0 μmol m⁻² s⁻¹光合有效辐射,分别测定净光合速率(P_n)、蒸腾速率(Tr)、气孔导度(Gs)、胞间 CO₂浓度(Ci)等指标。

1.7 光响应模型

根据前人的研究^[18–22],本文采用以下 4 种光响应模型,以期筛选出拟合度比较高的模型,对 NO₂胁迫下三角梅幼苗进行光响应曲线拟合,计算其光合参数。

1.7.1 叶子飘等机理模型^[18]

叶子飘等机理模型的数学表达式为:

$$P_n = \frac{\alpha' \beta' N_0 \sigma_{ik} \varphi \theta}{s} \times \frac{1 - \frac{(1 - g_i/g_k) \sigma_{ik} \tau}{\xi_3 + (\xi_1 k_p + \xi_2 k_D) \tau} I}{1 + \frac{(1 + g_i/g_k) \sigma_{ik} \tau}{\xi_3 + (\xi_1 k_p + \xi_2 k_D) \tau} I} I - R_{\text{light}} \quad (1)$$

式中,α'为光能在 PSII 和 PSI 的分配系数(无量纲);β'为叶片的光吸收系数(无量纲);N₀为单位面积捕光色素的分子数;σ_{ik}为捕光色素分子的本征光能吸收截面(单位为 m²);φ为激子的利用效率(无量纲,一般取 0.95);θ为光合电子的利用效率;S为所测叶片的面积(单位为 m²);g_i为捕光色素分子处于基态*i*的简并度(无量纲);g_k为捕光色素分子处于激发态*k*的简并度(无量纲);k_p是光反应常数(单位为 s⁻¹);k_D是热耗散常数(单位为 s⁻¹);τ为捕光色素分子处于最低激发态的平均寿命(单位为 s);ξ₁、ξ₂和 ξ₃分别为激子传递到光反应、热耗散和荧光的统计权重(无量纲)^[19]。I为光强(单位为 μmol photons m⁻² s⁻¹);R_{light}为植物的光下呼吸,一般近似等于植物的暗呼吸速率(R_d)。

1.7.2 直角双曲线模型^[20]

直角双曲线模型的数学表达式为:

$$P_n = \frac{\alpha I P_{n\max}}{\alpha I + P_{n\max}} - R_d \quad (2)$$

式中,α是光响应曲线的初始斜率,P_{nmax}为最大净光合速率,其它符号的定义同 1.7.1。

1.7.3 非直角双曲线模型^[21]

非直角双曲线模型的数学表达式为:

$$P_n = \frac{\alpha I + P_{n\max} - \sqrt{(\alpha I + P_{n\max})^2 - 4\theta \alpha I P_{n\max}}}{2\theta} - R_d \quad (3)$$

式中,θ为曲线的曲率,其它符号的定义同上。

1.7.4 指数方程^[22]

指数方程的数学表达式则为:

$$P_n = P_{n\max} (1 - e^{-\alpha I / P_{n\max}}) - R_d \quad (4)$$

式中,符号的定义同上。

1.7.5 模型评价

采用决定系数(R²)、均方根误差(RMSE)和平均绝对误差(MAE)来进行模型拟合优度的评价,有学者研究认为 R²越大、RMSE 及 MAE 值越小则说明模型的拟合优度越好^[23, 24]。其中 R²可以通过光合计算模型(<http://photosynthetic.sinaapp.com/calc.html>)计算出来,运用数理统计软件 SPSS 25 计算 RMSE 和 MAE。

1.8 数据处理

利用 SPSS 26.0 和 DPS 9.5 软件对数据进行方差分析,计算平均值及标准误,用 Duncan 法进行多重比较。通过光合计算模型(<http://photosynthetic.sinaapp.com/calc.html>)用于 4 种光响应模型(叶子飘等机理模型、

直角双曲线模型、非直角双曲线模型和指数方程)中光合参数的计算^[24,25]。

2 结果与分析

2.1 NO₂胁迫对三角梅叶片形态的影响

由图 2 可知,三角梅在受到不同浓度 NO₂胁迫后,嫩叶和老叶的颜色、形态等发生了一定的变化。随着 NO₂胁迫浓度的增加,叶片的受害症状越来越明显。CK 组三角梅正处在植物生长的旺季,总体长势良好,顶芽也不断伸长,叶片颜色逐渐变绿。T1 组三角梅形态变化不明显,少许叶片有轻微的发黄。而 T2 组三角梅叶片部分出现枯黄以及明显的水渍状斑点或烧灼状斑点,从嫩叶到老叶均出现不同程度的伤害,叶片受害症状明显。

2.2 NO₂胁迫对三角梅叶片微观结构的影响

由图 3 可知,三角梅叶片表皮细胞排列紧密,主要由表皮毛、上表皮、下表皮、海绵组织和栅栏组织等结构组成,其中,上表皮细胞呈圆形至椭圆形,下表皮细胞圆形至长形。叶肉中栅栏组织呈长柱形,排列紧凑、整齐,海绵组织形状不规则、排列疏松,细胞间隙大,随着 NO₂浓度的增加,三角梅叶片解剖结构发生了一定的变化。而与 CK 组对比,NO₂胁迫对三角梅叶片各解剖结构形态均产生不同程度的影响。其中,叶片气孔开度方面,随着 NO₂胁迫浓度的增加,叶片气孔皱缩程度增加,气孔开度减小,T2 组的气孔皱缩程度加剧。透射电镜观察三角梅叶片的叶肉细胞,发现不同 NO₂胁迫处理的三角梅幼苗叶肉细胞组成相似,均由细胞壁、细胞膜、细胞质、叶绿体、线粒体、高尔基体、淀粉粒、液泡、液泡膜和细胞核等细胞器构成,但不同细胞器结构随着 NO₂浓度胁迫程度的增加,结构发生一定程度的变化,如叶绿体由原来的长条形规则结构,逐渐出现类囊体结构松散,错综缠绕,结构失衡,叶绿体出现膨胀,外形出现不规

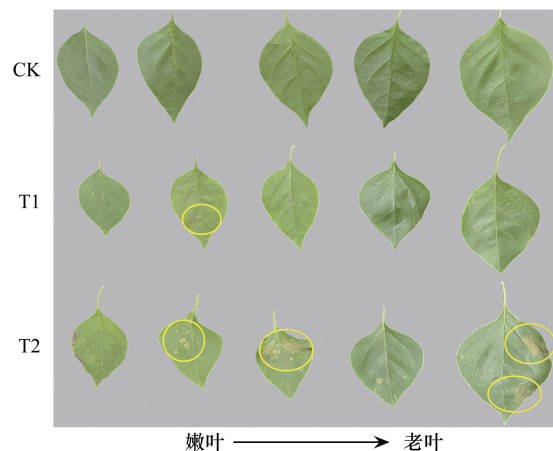


图 2 NO₂胁迫下三角梅幼苗叶片形态变化

Fig.2 Leaf morphology change of *B. spectabilis* seedlings under NO₂ stress

图片从上到下分别表示三角梅在 0.0 μL/L、4.0 μL/L、8.0 μL/L NO₂胁迫下植物的形态变化情况;CK 代表 0.0 μL/L,T1 代表 4.0 μL/L,T2 代表 8.0 μL/L

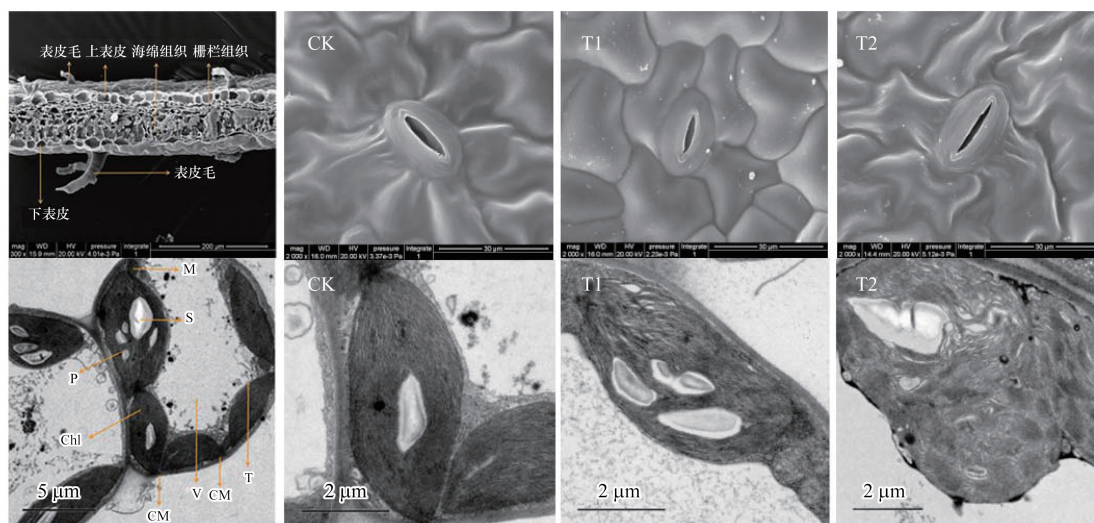


图 3 三角梅叶片解剖结构图

Fig.3 Anatomical structure of leaves of *B. spectabilis*

M: 高尔基体, P: 淀粉粒, CM: 细胞壁, V: 液泡, CM: 细胞膜, T: 液泡膜, Chl: 叶绿体, S: 细胞核

则、无规律性等变化;淀粉粒数量增多,细胞质膜出现一定程度的分离等结构变化。

2.3 NO₂胁迫对三角梅叶片叶绿素含量的影响

由表 1 可看出,NO₂胁迫后,相比 CK 组,NO₂处理组的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素的含量呈现先降低后增加的趋势;其中 T1 组的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素的含量分别为 1.83、0.76 和 3.20 mg/g,与 CK 组相比分别降低了 1.85%、6.8%、2.66%,T2 组的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素以及类胡萝卜素的含量分别为 1.90、0.83、3.39 和 0.66 mg/g,分别增加了 1.43%、2.5%、3.01%、6.32%,但各处理组间的含量变化差异性不显著。

表 1 NO₂胁迫下三角梅幼苗叶绿素质量分数的变化

Table 1 Changes of chlorophyll content in *B. spectabilis* seedlings under NO₂ stress

参数 Parameter / (mg/g)	CK	T1	T2
叶绿素 a 含量 Chlorophyll a Content	1.87±0.04Aa	1.83±0.02Aa	1.90±0.03Aa
叶绿素 b 含量 Chlorophyll b Content	0.81±0.05Aa	0.76±0.02Aa	0.83±0.04Aa
总叶绿素含量 Total Chlorophyll Content	3.29±0.26Aa	3.20±0.28Aa	3.39±0.35Aa
类胡萝卜素含量 Carotenoid Content	0.62±0.02Aa	0.62±0.01Aa	0.66±0.01Aa

图中不同大写字母表示不同处理间差异显著 ($P<0.05$),不同小写字母表示不同处理间差异极显著 ($P<0.01$)

2.4 NO₂胁迫对三角梅叶片光合生理特性的影响

由图 4 可知,随着 NO₂胁迫浓度的增加,净光合速率呈现持续降低的趋势,与 CK 相比,T2 组下降了 69.97%。其余三种光合生理指标,气孔导度、胞间 CO₂浓度和蒸腾速率,随着 NO₂胁迫浓度的增加,均呈现先增加后降低的趋势。气孔导度是影响植物光合作用、呼吸作用及蒸腾作用的主要因素之一,从气孔的开闭程度可以分析植物对 NO₂的吸收情况,如图 3 所示的结果,认为 T2 组的气孔周围出现极度皱缩,气孔出现趋近闭合的状态,与气孔导度降低有关,相比 CK 组,T1 组的气孔导度上升了 54.6%,T2 组的气孔导度下降了 80.42%。胞间 CO₂浓度是研究植物光合生理生态的重要参数之一,其变化趋势是确定光合速率变化的主要原因,与蒸腾速率、气孔导度存在一定的正相关性,T1 组的胞间 CO₂浓度高于 CK 组,增加了 20.17%,T2 组与 CK 组之间存在显著差异。T1 组对三角梅幼苗的蒸腾速率有一定的积极作用,比 CK 组增加了 41.13%。

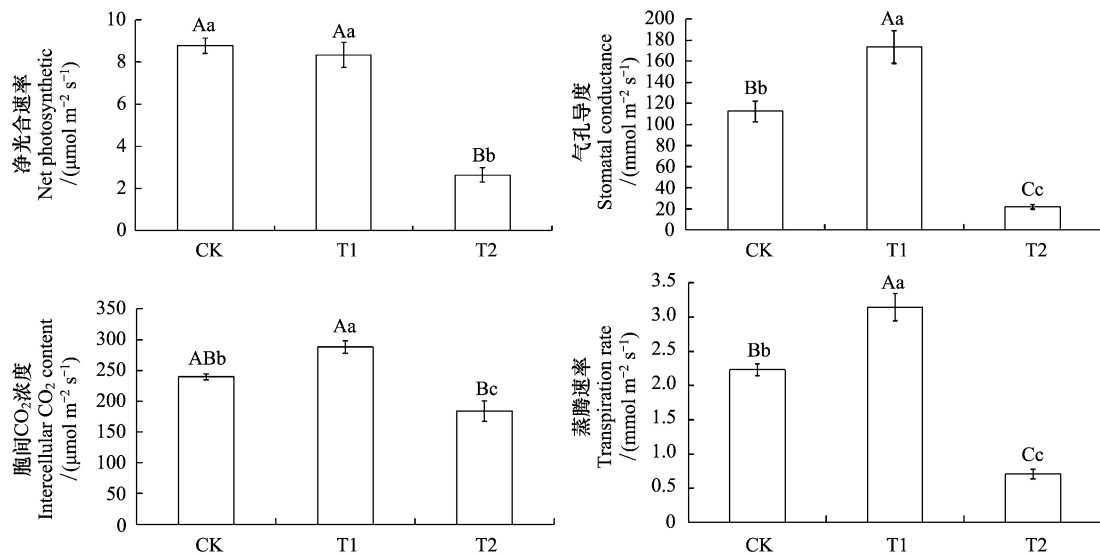


图 4 NO₂胁迫对三角梅幼苗光合指标的影响

Fig.4 Effect of NO₂ stress on photosynthetic indexes in *B. spectabilis* seedlings

净光合速率: Net photosynthetic rate, 气孔导度: Stomatal conductance, 胞间 CO₂ 浓度: Intercellular CO₂ concentration, 蒸腾速率: Transpiration rate; 图中不同大写字母表示不同处理间差异显著 ($P<0.05$), 不同小写字母表示不同处理间差异极显著 ($P<0.01$)

2.5 NO₂胁迫下三角梅叶片的光合参数响应曲线

在不同的 NO₂胁迫浓度下,研究三角梅幼苗的光合参数响应曲线,如图 5 所示,不同光合参数变化趋势不一,随着光合有效辐射的增加,胞间 CO₂ 浓度从 0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 到 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 范围,呈现逐渐下降趋势,而从 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以后,趋近平缓稳定。气孔导度,大部分光合有效辐射内,NO₂ 处理组低于 CK 组,说明受到 NO₂ 胁迫后,气孔导度出现一定程度的下降,其中大部分 T2 组的气孔导度低于 T1 组,说明胁迫浓度越高,气孔导度下降越明显。而蒸腾速率的变化趋势规律不明显。水蒸气压亏缺在各光合有效辐射间差异不明显。净光合速率和水分利用效率,在 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 内呈现负值,说明此时植物的呼吸速率大于光合速率,光合作用受限于光合有效辐射,而随着光合有效辐射的增加,从 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 到 600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 间,净光合速率和水分利用效率逐渐增加,光合有效辐射超过 600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以后,二者变化趋势不明显,趋近平稳。

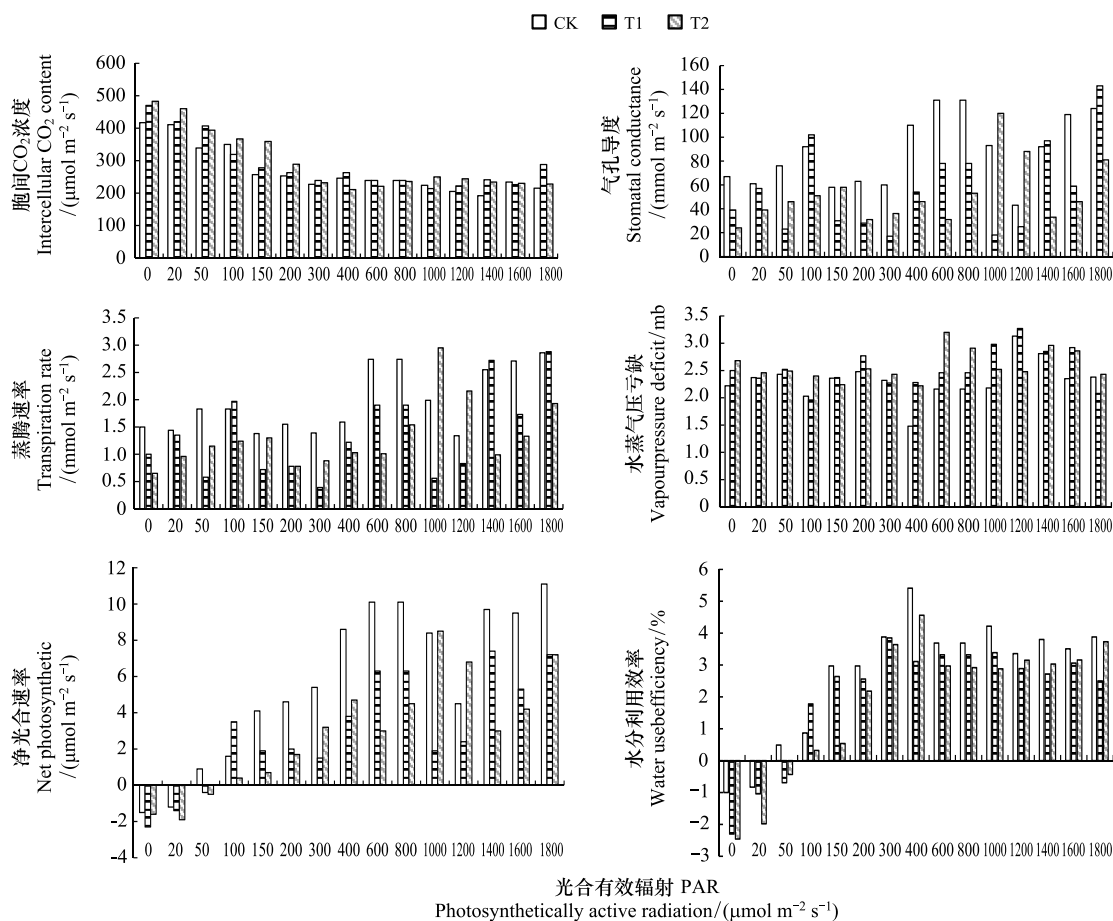


图 5 NO₂胁迫下三角梅叶片的光合参数响应曲线

Fig.5 Response curves of photosynthetic parameters of *B. spectabilis* leaf under NO₂ stress

2.6 不同光响应模型对光响应曲线的拟合效果

光响应模型可反映植物净光合速率(P_n)和光合有效辐射(PAR)之间的非线性关系,并且可估算植物的表观量子效率、饱和光强、光补偿点、最大净光合速率及暗呼吸速率等光合参数,对研究 NO₂胁迫下植物的光合特性的变化十分重要^[26]。由表 2 所示,通过 4 种光合模型模拟不同浓度 NO₂胁迫下三角梅幼苗的光合参数,研究不同浓度 NO₂胁迫后三角梅幼苗的光合生理响应。对于 LSP 而言,浮动范围为 386.727—902.037 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$,随着胁迫浓度的增加,呈现下降趋势,且差异显著。 $P_{n\max}$ 的浮动范围为 4.632—12.652 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$,与 CK 组相比,呈现下降趋势,同种光合模型中,从 CK 到 T2 组,呈现逐级下降趋势。

LCP、AQE 和 Rd 是代表植物利用弱光能力的重要参数。LCP 的浮动范围为 34.303—69.564 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 从 CK 到 T2 组逐渐增加。AQE 的浮动范围为 0.022—0.039, 随着胁迫浓度的增加, 叶子飘等机理模型的 AQE 与其他组差异显著, 计算的 CK、T1 和 T2 组的 AQE 分别为 0.039、0.030 和 0.025, 呈现逐渐下降趋势, 其余组差异不明显。Rd 的浮动范围为 1.330—2.289 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 各光合模型拟合出来的 Rd 值变化趋势不一。

表 2 4 种模型模拟不同浓度 NO₂胁迫下三角梅幼苗的光合参数拟合值Table 2 Four light response models fitted values of photosynthetic parameters for different concentration of NO₂ stress

NO ₂ 胁迫 NO ₂ stress	模型 Model	表观量子效率 AQE	光饱和点 LSP/ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	光补偿点 LCP/ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	最大净光合 速率 $P_{n\text{max}}$ / ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	暗呼吸速率 Rd/ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
CK	CL	—	≈600	≈40.256	≈11.523	≈1.942
	YZ	0.039	—	34.303	—	2.121
	RH	0.031	471.710 *	37.029	12.652	1.971
	NRH	0.031	460.161 *	38.453	12.351	1.914
	IE ***	0.030	— **	34.197	8.862	1.189
T1	CL	—	≈600	≈49.892	≈7.035	≈1.904
	YZ	0.030	—	46.198	—	2.119
	RH	0.023	442.087 *	47.648	8.095	2.073
	NRH	0.023	445.739 *	46.945	8.160	2.092
	IE ***	0.022	— **	58.779	5.149	1.330
T2	CL	—	≈600	≈62.168	≈4.632	≈1.354
	YZ	0.025	902.037	65.651	4.899	1.965
	RH	0.023	429.478 *	52.859	7.589	2.289
	NRH	0.022	386.727 *	69.564	6.648	1.860
	IE ***	0.022	— **	67.995	4.576	1.434

AQE:表观量子效率 Apparent quantum efficiency; LSP:光饱和点 Light saturation point; LCP:光补偿点 Light compensation point; $P_{n\text{max}}$:最大净光合速率 maximum net photosynthetic rate; Rd:暗呼吸速率 Dark respiration rate; CL:实测值 Measured value; YZ:叶子飘等机理模型 Leaf flapping mechanism model; RH:直角双曲线模型 Rectangular hyperbolic model; NRH:非直角双曲线模型 Non-rectangular hyperbolic model; IE:指数方程 Index equation; *: 用方程 $P_n = \text{AQE} \times \text{LSP} - \text{Rd}$ 求植物的饱和光强; **: 假定净光合速率为 $0.9P_{n\text{max}}$ 所对应的光强为 LSP; ***: 指数方程的表达式为 $P_n = P_{n\text{max}}(1 - e^{-\alpha I/P_{n\text{max}}}) - R_d$ [20]

如图 6 所示,在不同 NO₂浓度处理下,当 PAR<200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 4 种光响应模型所拟合的曲线与 CK 组变化趋势基本一致, P_n 均呈现快速增加的趋势,并且拟合值与实测值较为接近,随着 PAR 的增加,不同模型的拟合曲线变化趋势存在差异。当 PAR>200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 时,CK 与 T1 的直角双曲线修正模型曲线(YZ)、直角双曲线(RH)及非直角双曲线(NRH)均呈现缓慢增加的趋势,其中 YZ 模型的拟合曲线与实测值的走势较为相似,而指数模型(IE)的拟合曲线在 PAR>800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 时趋于平稳。相比 CK 组,当 PAR>800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 时,T2 处理下仅 YZ 模型曲线呈现明显下降趋势。总的来说,4 种光响应模型拟合效果最优的是对照组,其次是 T1 组,光响应曲线差异最大的是 T2 组。

2.7 不同光响应模型的拟合优度

为了进一步定量检验 4 种光响应模型的拟合效果,本研究引入 R^2 、RMSE 和 MAE 来评估模型的拟合精度。由表 3 可知,对于 CK 组,指数方程模型的 R^2 与其他三种的存在差异显著,且 R^2 最低, RMSE 最高,说明其拟合精度最差。叶子飘等机理模型、直角双曲线模型和非直角双曲线模型之间不存在显著性差异。对于 T1 组,通过比较 R^2 、RMSE 和 MAE,拟合精度从高到低分别为直角双曲线模型、叶子飘等机理模型、非直角双曲线模型和指数方程。对于 T2 组,直角双曲线模型与其他三组模型之间存在显著性差异,且 R^2 最低,指数方程的 R^2 最高, RMSE 在三组模型中最低,拟合效果较好。通过比较三个处理间 4 种光合模型的拟合优度发现差异较大,不同处理组适宜的模型不一,拟合效果最好的应是 CK 组的叶子飘等机理模型,其次是直角双曲线模

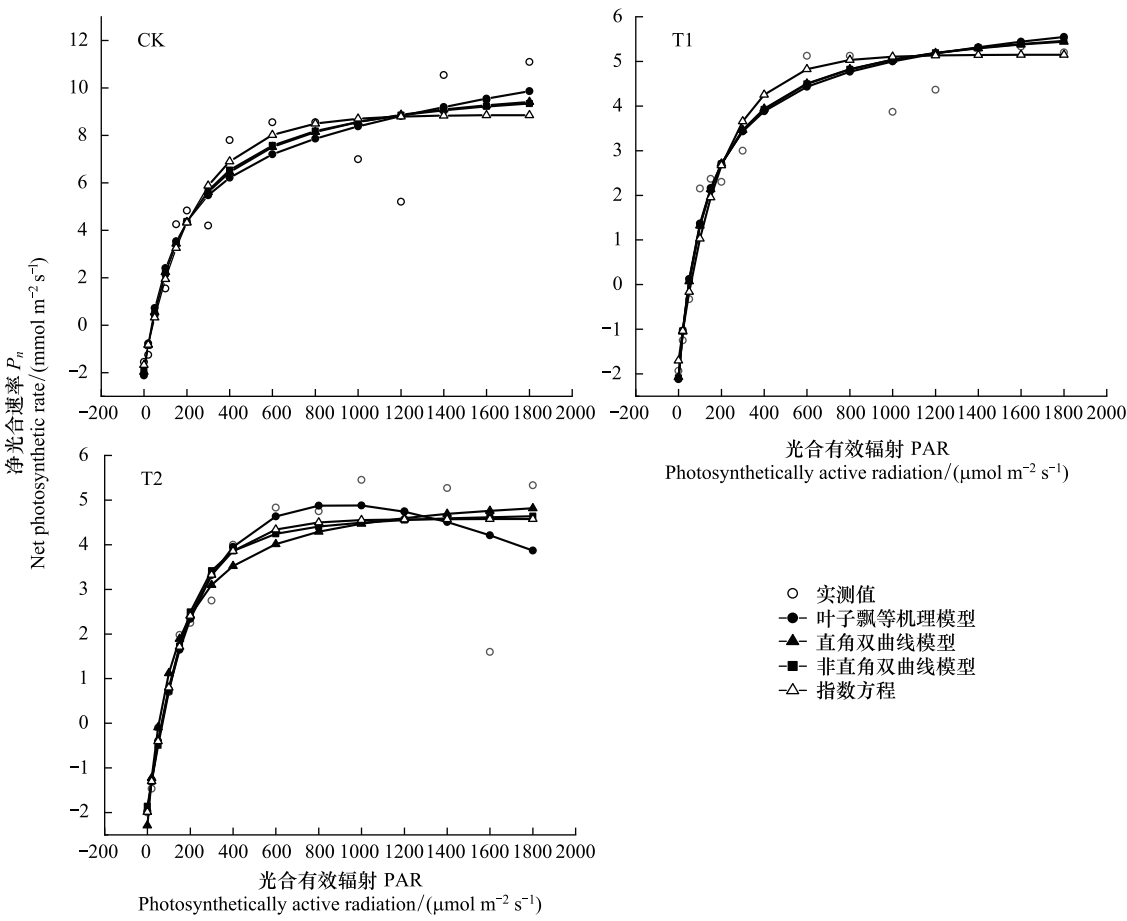


图 6 4 种光响应模型拟合的光响应曲线

Fig.6 The optical response curves fitted by light response models

型,第三是非直角双曲线模型,最后的指数方程。而对于不同浓度的 NO_2 处理组,由于受到逆境胁迫后,三角梅幼苗的光合参数出现的差异性,影响最后的拟合优度,拟合数值在三种处理中,以 CK 组精度最高,因此在评价不同的光合模型方面,应以对照组为准。

表 3 4 种模型模拟不同浓度 NO_2 胁迫下三角梅幼苗的拟合优度比较

Table 3 Comparison of goodness-of-fit on four light response models for different concentration of NO_2 stress

处理 Treatment	模型 Model	拟合优度 Goodness of fit			处理 Treatment	模型 Model	拟合优度 Goodness of fit		
		RMSE	MAE	R^2			RMSE	MAE	R^2
CK	YZ	0.251	0.193	0.996	T2	NRH	0.177	0.141	0.990
	RH	0.274	0.224	0.995		IE	0.214	0.155	0.993
	NRH	0.283	0.230	0.995		YZ	0.227	0.177	0.991
	IE	0.326	0.243	0.993		RH	0.169	0.134	0.989
T1	YZ	0.176	0.139	0.990		NRH	0.213	0.143	0.992
	RH	0.182	0.132	0.995		IE	0.206	0.147	0.992

R^2 : 决定系数 Coefficient of determination; RMSE: 均方根误差 Root-mean-square error; MAE: 平均绝对误差 Mean absolute error.

3 讨论

3.1 不同浓度 NO_2 胁迫下三角梅叶片的形态结构变化

植物不同的叶片功能性状,是植物适应环境变化所形成的形态、生理和物候特征,能够反映植物对逆境的响应和适应性机制^[27]。本研究发现,不同浓度 NO_2 胁迫下,三角梅幼苗的形态特征发生一系列的负面变化,

从叶片形态上看,随着 NO₂胁迫浓度的增加,叶片呈现的烧灼状黄色斑点增加,减少叶片的肉质化,分析认为外界高浓度 NO₂浓度,这种强酸性对叶片呈现强腐蚀性,而叶片为了适应这种逆境变化,严重的甚至是超过了叶片的适应阈值,叶片是植物处于逆境中首先发生形态变化的器官,也是最敏感的部位,而这种类似于叶片极度干旱的形态变化,能够避免植物因维持短时自身大量代谢造成的水分散失,维持植物整体的水分平衡,这也是对高浓度 NO₂环境的应激表现,同时也是一种被动型适应。

植物在感知外界不良环境因子的过程中,可以通过调整内部结构来适应逆境,这种调节过程可以反映植物对环境变化的适应能力^[28]。本试验中,NO₂胁迫后,通过对三角梅幼苗叶片解剖结构分析可见,叶片叶绿体形态发生一定的畸形变化,部分细胞出现一定的质壁分离。其中,三角梅叶片气孔开度方面,随着 NO₂胁迫浓度的增加,叶片气孔皱缩程度增加,气孔开度减小,以此应对逆境胁迫,具有积极的作用,气孔保卫细胞是一种高度分化的细胞,它有复杂的信号转导机制,能够非常灵敏地感受各种生物和非生物刺激,并转化成胞内信号来控制气孔的大小,从而调节植物的生理状态,这也是植物内部结构对环境条件适应的结果,气孔开放程度减小,这是因为植物体内信号在进行转导的过程中受到了 NO₂胁迫后代谢的干扰或者保卫细胞活性降低而使气孔形态和气孔运动发生了异常^[29]。

透射电镜观察三角梅叶片的叶肉细胞,发现不同 NO₂胁迫处理的三角梅幼苗叶肉细胞组成相似,但不同细胞器结构随着 NO₂浓度胁迫程度的增加变化不一,其中叶绿体和线粒体对胁迫比较敏感且所担负功能较为重要的 2 个细胞器,受到 NO₂胁迫后,叶绿体结构发生变化,尤其是类囊体结构,出现疏松,错综缠绕,叶绿体出现膨胀,外形出现不规则、无规律性等变化。叶绿体也是植物细胞产生活性氧的细胞器之一,正常情况下这些氧自由基的产生和清除是处于动态平衡的,当植物受到 NO₂胁迫后,这种平衡遭到破坏,与此同时,细胞体内产生大量的活性氧(如 O₂⁻、H₂O₂)和膜脂过氧化物,导致膜脂过氧化水平提高、膜脂成分改变以及膜透性增加,从而引起叶绿体膜系统的紊乱和破坏^[30]。而三角梅幼苗叶片通过结构的变化,来抵抗适应 NO₂胁迫,有助于自己提高逆境生存的能力,因此,NO₂胁迫从低浓度到高浓度的处理过程中,三角梅叶片超微结构从开始适应到伤害的过程^[31]。

3.2 不同浓度 NO₂胁迫下三角梅叶片的光合生理特性

光合作用是植物最重要的合成代谢过程之一,受到植物器官的相对含水量和叶绿素等众多指标影响^[32]。光合色素是植物进行光合作用的基础,NO₂胁迫导致叶绿体膜系统的紊乱或叶绿体结构整体性的破坏,从而影响光合色素的合成^[33],本研究中,随着 NO₂胁迫浓度的增加,三角梅幼苗叶片的叶绿素含量先降低后增加的趋势,但变化量不显著,虽然光合色素含量的高低并不能完全反映叶片光合能力的强弱,但其含量的减少,直接导致叶片衰老和光合速率的降低^[31]。通过光合生理参数分析发现,随着 NO₂浓度的增加,净光合速率呈现持续降低的趋势,与 CK 相比,T2 组下降了 69.97%,其中 T1 与 CK 差异不显著。气孔导度、胞间 CO₂浓度和蒸腾速率,随着 NO₂浓度的增加,均呈现先增加后降低的趋势。光合速率下降,抑制三角梅叶片对光能的吸收、传递和转化,导致叶片气孔开度变小,进而引起光抑制,而受到 NO₂胁迫后,植物叶片出现黄褐色斑点等,进而引起叶片叶绿体结构的变化,加速三角梅叶片的光合速率降低^[34]。此外,植物在逆境胁迫下导致光合速率降低主要取决于气孔和非气孔因素,判断标准主要是根据胞间 CO₂浓度和气孔限制值的变化方向,即胞间 CO₂浓度降低、气孔限制值升高(根据胞间 CO₂浓度计算),而关键在于胞间 CO₂浓度,本研究中 T1 组的 P_n 稍微下降,气孔导度增加,T2 组的 P_n 显著下降,而气孔导度下降,两组的胞间 CO₂浓度均降低,因此推测认为净光合速率的变化是由于气孔因素导致^[35]。

3.2 不同光响应模型对 NO₂胁迫下三角梅叶片的光合参数的拟合效果

本研究使用了 4 种模型来模拟 NO₂胁迫下三角梅幼苗的光响应曲线,除叶子飘等机理模型外,其他 3 个模型均为一条没有极值的渐近线,无法直接求得 P_{nmax} 、饱和光强及植物在光抑制情况下的光响应数据,并且由于直角双曲线模型、非直角双曲线模型采用其他办法估算出的光合参数数值,具有一定的人为性^[36]。但这种通过量化模型计算出的拟合数值已是目前最佳的途径。本研究中随着 NO₂胁迫浓度的增加,LSP 和 P_{nmax} 呈

现下降趋势,LCP 呈现增加趋势,AQE 和 Rd 各个模型中变化规律不一。而从拟合效果来看,对于 CK 组,指数方程模型的 R^2 与其他三种的存在差异显著,且 R^2 最低, RMSE 最高,说明其拟合精度最差。叶子飘等机理模型、直角双曲线模型和非直角双曲线模型之间不存在显著性差异。对于 T1 组,通过比较 R^2 、RMSE 和 MAE,拟合精度从高到低分别为直角双曲线模型、叶子飘等机理模型、非直角双曲线模型和指数方程。对于 T2 组,直角双曲线模型与其他三组模型之间存在显著性差异,且 R^2 最低,指数方程的 R^2 最高, RMSE 在三组模型中最低,拟合效果较好。通过比较三个处理间 4 种光合模型的拟合优度发现差异较大,不同处理组适宜的模型不一,通过分析决定系数 R^2 、均方根误差 RMSE 和平均绝对误差 MAE,CK 组的模型精度最高, R^2 越高, RMSE 越低,拟合效果越好,因此综合分析认为拟合效果最好的应是 CK 组的叶子飘等机理模型,其次是直角双曲线模型,第三是非直角双曲线模型,最后的指数方程。而对于不同浓度的 NO_2 处理组,由于受到逆境胁迫后,三角梅幼苗的光合参数出现的差异性,影响最后的拟合优度,拟合数值在三种处理中,以 CK 组精度最高,因此在评价不同的光合模型方面,应以对照组为准,即以叶子飘等机理模型最优,其次是直角双曲线模型^[37]。

4 结论

不同浓度 NO_2 污染胁迫下,三角梅叶片形态变化不一,随着 NO_2 浓度的升高,叶片表明的烧灼状黄色斑点增加,叶片的肉质化减少。在叶片解剖结构方面, NO_2 胁迫后,随着 NO_2 胁迫浓度的增加,叶片气孔皱缩程度增加,气孔开度减小,但不同细胞器结构随着 NO_2 浓度胁迫程度的增加均出现一定程度的结构失衡等变化。本研究中随着 NO_2 胁迫浓度的增加,LSP 和 $P_{n\max}$ 呈现下降趋势,LCP 呈现增加趋势,AQE 和 Rd 各个模型中变化规律不一,其中净光合速率的变化是由于非气孔因素导致。从拟合效果来看,分析发现,决定系数 R^2 、均方根误差 RMSE 和平均绝对误差 MAE,CK 组的模型精度最高, R^2 越高, RMSE 越低,拟合效果越好,因此本研究中尤以叶子飘等机理模型最优,其次是直角双曲线模型。该研究结果共同表明三角梅对 NO_2 的污染胁迫是一种被动适应性。

参考文献 (References):

- [1] 邓湔丹, 叶露锋, 刘丽香, 杨科, 韩永伟. 城市生态安全研究进展. 环境工程技术学报, 2022, 12(1): 248-259.
- [2] 赵广兴, 徐天渊, 李王成, 高海燕, 赵相宇. 白茎盐生草幼苗对于旱胁迫的响应研究. 干旱区资源与环境, 2021, 35(4): 195-202.
- [3] 中华人民共和国生态环境部. 2020 中国生态环境状况公报. (2021-05-24). <http://www.mee.gov.cn/hjzl/sthjzk/zghjzkgb/202105/P020210526572756184785.pdf>.
- [4] 江苏省生态环境厅. 2020 年江苏省生态环境状况公报. (2021-11-29). http://sthjt.jiangsu.gov.cn/art/2021/11/29/art_83855_10135275.html.
- [5] 王月, 滕志远, 张秀丽, 车延辉, 孙广玉. 大气 NO_2 影响植物生长与代谢的研究进展. 应用生态学报, 2019, 30(01): 316-324.
- [6] 彭立, 杨振乾, 刘敏敏, 黄满红, 张翠翠, 杜勇立. 大气污染物与绿化植物光合速率的关系研究. 生态环境学报, 2015, 24(7): 1166-1170.
- [7] 梁淑英. 部分城市绿化树种的生理特性及其对大气污染的响应. 南京: 南京林业大学, 2008.
- [8] Sheng Q, Zhu Z. Physiological Response of European Hornbeam Leaves to Nitrogen Dioxide Stress and Self-recovery. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2019, 144(1): 23-30.
- [9] 圣倩倩, 徐晶圆, 宋敏, 祝遵凌. NO_2 胁迫下 38 种园林植物的形态伤害指数分析. 中南林业科技大学学报, 2020, 40(12): 151-158.
- [10] 圣倩倩, 戴安琪, 宋敏, 唐睿, 祝遵凌. NO_2 胁迫下两种鹅耳枥的光合生理特性变化. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2021, 45(2): 10-16.
- [11] Wang W, Ganzeveld L, Rossabi S, Hueber J, Helmig D. Measurement report; Leaf-scale gas exchange of atmospheric reactive trace species (NO_2 , NO , O_3) at a northern hardwood forest in Michigan. Atmospheric Chemistry and Physics, 2020, 20(19): 11287-11304.
- [12] 宋敏, 圣倩倩, 祝遵凌. 一种监测熏气装置气体浓度的装置: 中国, CN211825964U. 2020-10-30.
- [13] Wang Y, Zhang H H, Wang J C, Zhao H C, He G Q, Huang D, Yang F W, Zhao M C, Che Y H, Teng Z Y, Liu G J, Sun G Y. Elevated NO_2 damages the photosynthetic apparatus by inducing the accumulation of superoxide anions and peroxynitrite in tobacco seedling leaves. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 196: 110534.

- [14] Hu Y B, Bellaloui N, Tigabu M, Wang J H, Diao J, Wang K, Yang R, Sun G Y. Gaseous NO₂ effects on stomatal behavior, photosynthesis and respiration of hybrid poplar leaves. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2015, 37(2): 39.
- [15] 陈春如, 谢佩吾, 邹家通, 连辉明, 汪迎利, 邱文霞, 何波祥, 蔡燕灵, 梁东成, 陈一群, 陈杰连. 12 种金花茶组植物叶片的比较形态学研究. *林业与环境科学*, 2019, 35(6): 7-15.
- [16] 孟凡娟, 庞洪影, 王建中, 李淑艳, 王彦杰. NaCl 和 Na₂SO₄ 胁迫下两种刺槐叶肉细胞叶绿体超微结构. *生态学报*, 2011, 31(3): 734-741.
- [17] 刘萍, 李明军. 植物生理学实验. 2 版. 北京: 科学出版社, 2016.
- [18] Ye Z P, Suggett J D, Robakowski P, Kang H J. A mechanistic model for the photosynthesis-light response based on the photosynthetic electron transport of photosystem II in C₃ and C₄ species. *New Phytologist*, 2013, 199(1): 110-120.
- [19] 叶子飘, 闫小红, 段世华. 高产水稻剑叶的叶绿素含量、捕光色素分子的内禀特性与饱和光强关系的研究. *井冈山大学学报(自然科学版)*, 2015, 36(2): 25-53.
- [20] Baly E C C. The kinetics of photosynthesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 1935, 117(804): 218-239.
- [21] Thornley J H M. *Mathematical Models in Plant Physiology*. London: Academic Press, 1976: 86-110.
- [22] Platt T, Gallegos C L, Harrison W G. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *Journal of Marine Research*, 1980, 38: 687-701.
- [23] 许国春, 罗文彬, 李华伟, 许泳清, 纪荣昌, 李国良, 林赵森, 邱思鑫, 汤浩. 彩色马铃薯光合光响应曲线模拟及其特征参数分析. *福建农业学报*, 2020, 35(7): 691-698.
- [24] 李雪琴, 卢艺苗, 黄爱梅, 袁荣斌, 李锦隆, 胡丹丹, 钟全林, 程栋梁. 亚热带 10 种蕨类植物光响应模型拟合及光合特性研究. *生态学报*, 2021, 42(8): 3333-3344.
- [25] 叶子飘. 光合作用对光和 CO₂ 响应模型的研究进展. *植物生态学报*, 2010, 34(6): 727-740.
- [26] 李英浩, 刘景辉, 赵宝平, 田露, 米俊珍, 王琦, 戴云仙. 干旱胁迫下腐植酸肥料对燕麦光响应曲线的影响. *中国农业大学学报*, 2020, 25(11): 34-44.
- [27] 何雅琴, 史晓洁, 陈国杰, 赖敏英, 曾纪毅, 魏凯, 邓传远. 滨柃叶功能性状对环境因子的响应. *生态学报*, 2022, 42(6): 2418-2429.
- [28] 谭艳秋, 孙姝璟, 董静云, 徐伟, 王玲玲, 王永飞. 植物细胞质膜离子通道研究进展. *植物学报*, 2019, 54(1): 102-118.
- [29] 张云, 陈金发, 李海涛, 高容, 孙琪旗. 复合重金属胁迫下 5 种植物微观结构的变化. *草原与草坪*, 2021, 41(1): 33-40.
- [30] 闻志彬, 莱孜提·库里库, 张明理. 干旱胁迫对 3 种不同光合类型荒漠植物叶绿体和线粒体超微结构的影响. *西北植物学报*, 2016, 36(6): 1155-1162.
- [31] 孙小玲, 许岳飞, 马鲁沂, 周禾. 植株叶片的光合色素构成对遮阴的响应. *植物生态学报*, 2010, 34(8): 989-999.
- [32] 师生波, 刘克彪, 张莹花, 刘世增, 康才周, 李得禄. 民勤沙生植物园 4 种云杉属植物光化学特性的趋同适应. *生态学报*, 2017, 37(15): 5039-5048.
- [33] 姚春娟, 郭圣茂, 马英超, 赖晓莲, 杨肖华. 干旱胁迫对 4 种决明属植物光合作用和叶绿素荧光特性的影响. *草业科学*, 2017, 34(9): 1880-1888.
- [34] Sheng Q Q, Zhu Z L. Photosynthetic capacity, stomatal behavior and chloroplast ultrastructure in leaves of the endangered plant *Carpinus putoensis* W.C.Cheng during gaseous NO₂ exposure and after recovery. *Forests*, 2018, 9: 561.
- [35] Earl H J. Stomatal and non-stomatal restrictions to carbon assimilation in soybean (*Glycine max*) lines differing in water use efficiency. *Environmental and Experimental Botany*, 2002, 48(3): 237-246.
- [36] Evans J R, Jakobsen I, Ögren E. Photosynthetic light-response curves. 2. Gradients of light absorption and photosynthetic capacity. *Planta*, 1993, 189(2): 191-200.
- [37] 杨阳, 马绎皓, 王润元, 齐月, 张凯. 干旱胁迫下半干旱雨养区春小麦光响应曲线的拟合. *中国农学通报*, 2020, 36(29): 15-21.