

臭氧和干旱交互作用对杨树叶片抗氧化酶活性的影响

周慧敏^{1,2}, 李品^{2,3*}, 高峰^{2,3}, 冯兆忠^{2,3}, 张殷波^{4*}

(1. 山西大学黄土高原研究所, 太原 030006; 2. 中国科学院生态环境研究中心, 城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085; 3. 中国科学院大学资源环境学院, 北京 101408; 4. 山西大学环境与资源学院, 太原 030006)

摘要: 地表臭氧(O₃)污染和干旱成为严重威胁植物正常生长的主要环境胁迫因子。本文研究 3 种 O₃ 浓度(CF: 过滤空气 O₃; NF: 未经过滤的环境空气; NF40: NF + 40 nmol·mol⁻¹ O₃)和 2 种水分处理(充分灌溉; 干旱, 60% 灌溉)及其交互作用对敏感性杨树品种‘546’(*Populus deltoids* cv. 55/56 × *P. deltoides* cv. Imperial) 叶片饱和光合速率、抗氧化酶活性及可溶性蛋白含量的影响。结果表明, O₃ 浓度升高显著降低饱和光合速率, 干旱处理对饱和光合速率的影响不显著, O₃ 和干旱的交互作用显著。干旱显著降低过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性, 且随着处理时间的延长 CAT 和 SOD 活性降低显著。处理时间的延长也显著降低抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性, 增加了可溶性蛋白含量。过氧化物酶(POD)不受 O₃、干旱及 O₃ 与干旱交互作用的显著影响。O₃ 处理以及 O₃ 与干旱的交互作用均未对抗氧化酶活性产生显著影响。该研究结果为应对环境变化背景下 O₃ 浓度升高与干旱加剧对杨树的伤害提供科学依据。

关键词: 杨树; 臭氧; 干旱; 交互; 抗氧化酶

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)09-4359-07 DOI: 10.13227/j.hjxx.201712176

Interactive Effects of Ozone and Drought on Antioxidant Enzyme Activities of Poplar Leaves

ZHOU Hui-min^{1,2}, LI Pin^{2,3*}, GAO Feng^{2,3}, FENG Zhao-zhong^{2,3}, ZHANG Yin-bo^{4*}

(1. Institute of Loess Plateau, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 3. College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China; 4. College of Environmental Science and Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Ground-level ozone (O₃) pollution and drought have become major environmental factors that threaten the normal growth of plants. In this study, we determined the effects of three O₃ concentrations (charcoal-filtered air, CF, non-filtered air, NF and non-filtered air + 40 nmol·mol⁻¹, NF40), two water treatments (well-watered, WW, and mild drought, MD, 60% of WW in volumetric soil water content), and their interactions on the light-saturated photosynthesis rate (A_{sat}) and on the activity of antioxidant enzymes and soluble proteins of the poplar ‘546’ (*Populus deltoids* cv. 55/56 × *P. deltoides* cv. Imperial). Results showed that A_{sat} significantly decreased with elevated O₃, and with interactions between O₃ and drought. Drought significantly reduced the activities of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) but did not affect the activities of peroxidase (POD) or ascorbate peroxidase (APX). Reduction ranges in CAT and SOD increased with drought duration. APX activity significantly decreased with increasing O₃ and drought, but soluble protein content did not. Activities of antioxidant enzymes were not significantly affected by elevated O₃ and their interactions. Results provide a scientific basis for protection of poplar plantations in response to increasing O₃ concentrations and drought under environmental changes.

Key words: poplar; ozone; drought; interaction; antioxidant enzymes

地表臭氧(O₃)是一种对植物具有强氧化毒性作用的二次污染物和重要温室气体^[1]。长期暴露于 O₃ 下的植物会受到不同程度的氧化伤害, 导致植物光合速率降低, 光合产物减少, 影响植物正常生长, 从而导致森林衰退, 作物减产^[2-5]。同时, 干旱也会对植物的生长带来不利影响, 具体表现在损害光合反应器官, 降低卡尔文循环的酶活性, 降低气孔导度, 影响水分蒸散, 缩减叶片的数量和伸长, 降低比叶面积等, 从而影响植物的生长发育^[6-10]。因此, O₃ 和干旱这两种环境胁迫因子都

会给植物生长带来极大威胁。并且, 在植物旺盛生长的夏季, 充足的光照和高温能导致 O₃ 浓度爆发性地升高, 并常常伴随干旱的发生, 使得植物同时受到高浓度 O₃ 和干旱的双重胁迫。

植物细胞在受到 O₃ 或/和干旱胁迫时, 会产生

收稿日期: 2017-12-21; 修订日期: 2018-03-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(31500396, 41771034)

作者简介: 周慧敏(1992~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为污染生态学, E-mail: zhou071222@163.com

* 通信作者, E-mail: pinli@cees.ac.cn; zhangyinbo@sxu.edu.cn

大量活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) ^[11,12], 对细胞膜以及内部的生物大分子, 如核酸、蛋白质和碳水化合物等产生过氧化反应, 从而损伤植物细胞^[13]. 与此同时, ROS 也将诱导植物体内的抗氧化酶系统启动解毒和修复响应, 将 ROS 降解, 从而有效地避免过氧化伤害. 植物抗氧化酶系统由一系列抗氧化酶如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化物酶(POD) 等组成. 通过各个抗氧化酶的协同作用, 可以把细胞内生产的强氧化活性的 ROS 等清除, 阻止和延缓了细胞膜系统的膜脂过氧化作用及生物大分子的氧化损伤, 保障植物细胞内各种生命代谢活动的正常进行^[14,15]. 因此, 抗氧化酶系统在植物生命活动中起到举足轻重的作用.

O₃ 和干旱胁迫对植物的复合效应存在协同加重或拮抗减轻的影响结果. 干旱胁迫诱导气孔关闭, 降低 O₃ 进入气孔剂量, 减少了 O₃ 伤害^[16,17]. 另一方面, 干旱提高了植物对 O₃ 的敏感性, 二者对植物的伤害产生了协同效应^[18,19]. 目前国内外已经开展 O₃ 与干旱胁迫交互对树木影响方面的研究, 但这些研究的结论并不统一^[20-23], 抗氧化酶系统在 O₃ 和干旱复合胁迫下的响应机制还不明确. 我国北方地区干燥少雨, 水量亏缺导致干旱成为最主要的环境胁迫之一^[24]. 同时, 当前北京地区 O₃ 摩尔分数已超过 70 nmol·mol⁻¹^[25], 远超过树木生长的受害临界水平. 目前研究发现, 随着 O₃ 浓度的上升, 植物体内 APX、CAT、SOD 等抗氧化酶的活性是增加的; 在干旱胁迫下, POD、SOD 活性也是有所增加的^[26,27]. 但是在 O₃ 和干旱胁迫的复合影响下, 植物抗氧化酶活性如何变化还不清楚. 本文利用开顶式气室(open top chambers, OTCs) 研究 O₃ 和干旱复合胁迫对臭氧敏感性杨树 '546' ^[23,28] (*Populus deltoids* cv. 55/56 × *P. deltoides* cv. Imperial) 叶片的饱和光合速率、叶片抗氧化酶 SOD、POD、CAT 和 APX 活性及可溶性蛋白含量的影响, 以期了解 O₃ 和干旱复合胁迫下杨树的生长响应提供科学依据.

1 材料与方 法

1.1 实验地点

实验地点位于北京市昌平区马池口镇种子站 (E116°13', N40°19'), 该地区属于半湿润半干旱大陆性季风气候. 2015 年全年降水量为 550 mm, 年平均气温 11.8℃^[23], 全年无霜期为 180~200 d.

1.2 实验材料和实验设计

本实验材料为一年生杨树 '546' (*P. deltoids* cv. 55/56 × *P. deltoides* cv. Imperial) 幼苗, 由中国林业科学研究院提供. 于 2015 年 5 月初种植, 在 5 月 27 日对这些幼苗的株高、基径、叶片数进行测量, 挑选出长势一致的幼苗移栽到 20 L 的花盆中, 并且将它们统一移入 9 个 OTC 中, 每个 OTC 中 10~12 株. 进行 O₃ 熏气之前, 幼苗在 OTC 中预先适应 10 d.

OTC 为高 2.0 m, 边长 1.0 m 的正八面柱体, 由钢架和钢化玻璃所组成的. 实验设置 3 个 O₃ 处理: CF(过滤大气 O₃ 浓度, [O₃] < 40 nmol·mol⁻¹)、NF(环境空气 O₃ 浓度)、NF40(NF + 40 nmol·mol⁻¹ O₃). 每个臭氧处理设置 3 个 OTC 重复. 每个 OTC 设置两个水分处理: 灌溉(土壤饱和含水量) 和干旱(土壤饱和含水量的 50%~60%), 每个处理中设有 3~4 棵植株重复. 自 O₃ 熏蒸 13 d 后, 在根部 5 cm 深处使用 6 个湿度传感器(EC-5, Decagon Device, UK) 连续测量土壤含水量, 直到实验结束. 每 5 min 用数据记录器(EM50, Decagon Device, UK) 收集土壤水分数据. 在整个生长季期间, 灌溉和干旱处理的日平均含水量分别为 (25.4 ± 1.0) % 和 (11.9 ± 1.3) %. 实验期间各个罩子的 O₃ 浓度由美国热电公司 49i O₃ 分析仪监测, O₃ 熏蒸从 2015 年 6 月 5 日至 9 月 8 日, 共持续 96 d. 每天 O₃ 熏蒸时间为 08:00~19:00(6 月 5 日至 7 月 13 日) 或 09:00~18:00(7 月 14 日至 9 月 8 日), 阴雨天停止熏气. 实验期间所有 O₃ 处理(CF、NF 和 NF40) 的平均 O₃ 摩尔分数分别为 34.3、52.1 和 80.3 nmol·mol⁻¹^[28].

1.3 指标测定

采用 Li-6400 便携式光合仪(美国 LI-COR 公司) 测定叶片饱和光合速率. 具体测定方法为: 分别在 8 月、9 月的晴天上午 09:00~11:30, 每个 OTC 内选取 4~5 株作为待测植株, 每株选取 2~3 片中上部健康叶片. 测定时设定的光强为 1 200 μmol·(m²·s)⁻¹, CO₂ 摩尔分数为 400 μmol·mol⁻¹, 气温控制在环境温度 ± 1℃, 相对湿度为 45% ± 5%. 完成气体交换测量后, 在上午 12:00~14:00 将该植物叶片剪下, 用锡箔纸包裹后放入液氮冷冻, 并迅速转移到实验室内 -80℃ 冰箱内保存直至样品分析.

抗氧化酶提取及测定: 称取约 0.1 g 新鲜叶片, 放入预冷的研钵中液氮磨碎, 加入 2 mL 提取液进一步充分研磨至匀浆, 于 4℃、15 000 g 下离

心 20 min, 取上清液作为酶提取液, 用于以下酶活性的测定. 所有操作过程在冰浴中完成. POD 酶活性采用愈创木酚法测定, 以每分钟 A_{470} 增加 0.01 为一个酶活性单位 (1U). CAT 酶活性用紫外比色法测定, 以每分钟 A_{240} 降低 0.1 为 1U. APX 酶活性以每分钟 A_{290} 降低 0.1 为 1U. SOD 酶活性采用氮蓝四唑法测定, 以抑制 NBT 光化学还原 50% 的酶量为 1U^[29~31]. 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G_{250} 法测定^[32], 以牛血清白蛋白 (BSA) 做标准曲线.

1.4 数据分析

所有数据在处理前均进行了方差齐性和正态分布检验. 采用 SPSS 18.0 软件进行三因素 (O_3 、干旱

和处理时间) 方差分析, 检验 O_3 、干旱和处理时间的主效应及其交互效应显著性. 之后采用 Tukey's HSD 进行多重比较, 分析不同处理之间的显著性差异. $P < 0.05$ 认为是处理间达到显著性差异. 柱形图中的数据为平均值 \pm 标准误 (SE).

2 结果与分析

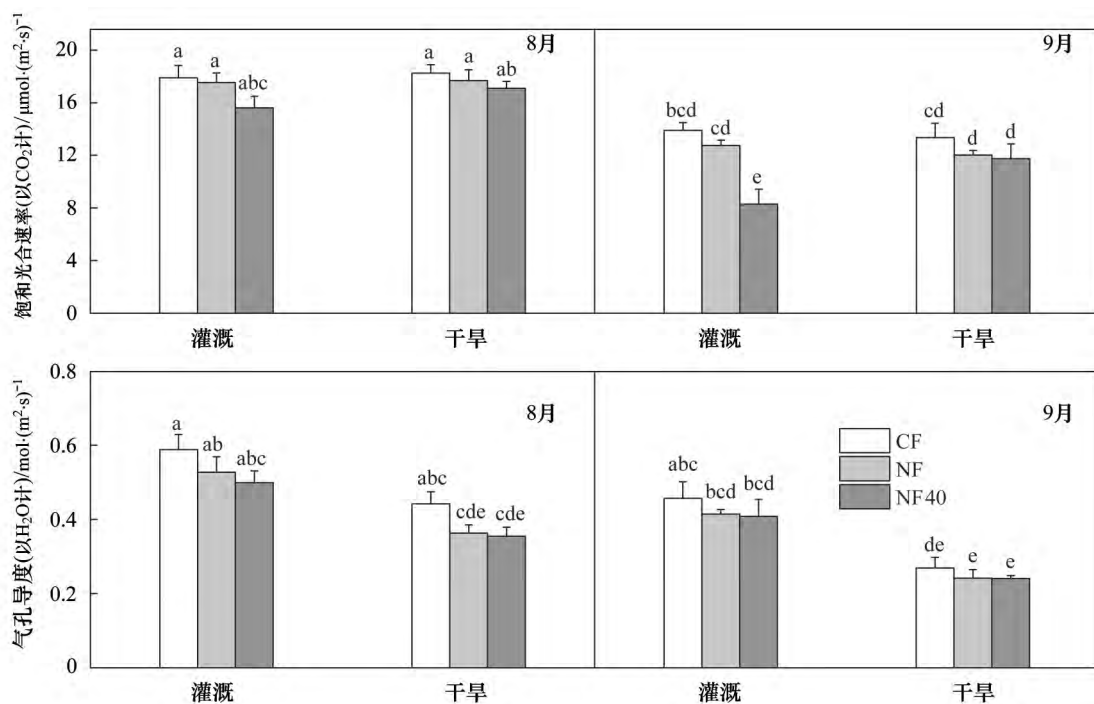
2.1 不同处理对叶片饱和光合速率 (A_{sat}) 的影响

O_3 显著降低了杨树叶片 A_{sat} ($P < 0.0001$) (表 1 和图 1). 与 CF 相比, NF 和 NF40 处理下的叶片 A_{sat} 分别下降 8.4% 和 40.4%. 随着处理时间的延长, 叶片 A_{sat} 明显降低 ($P < 0.0001$). 干旱处理对 A_{sat} 的影响不显著, O_3 与干旱交互作用对 A_{sat} 的影响

表 1 O_3 、干旱、处理时间及共同作用对各因素方差分析结果¹⁾ (P 值)
Table 1 ANOVA analysis of O_3 , drought, treatment time and their interaction on all variables

项目	饱和光合速率	气孔导度	POD 活性	CAT 活性	APX 活性	SOD 活性	可溶性蛋白
臭氧	<0.0001***	0.0224	0.0509	0.2091	0.2604	0.2705	0.2514
干旱	0.0749	<0.0001***	0.6065	0.0017**	0.2087	0.0064**	0.0001***
时间	<0.0001***	<0.0001***	0.6279	0.0138*	<0.0001***	0.0025**	0.6805
臭氧 \times 干旱	0.0094**	0.9560	0.6497	0.6507	0.2852	0.3456	0.9734
臭氧 \times 时间	0.1347	0.5459	0.3242	0.8914	0.7078	0.5421	0.3645
干旱 \times 时间	0.9489	0.5113	0.6724	0.8408	0.2948	0.5138	0.403
臭氧 \times 干旱 \times 时间	0.2148	0.9373	0.8741	0.3205	0.2954	0.4648	0.2046

1) * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$, *** 表示 $P < 0.001$



图中不同字母表示处理间多重比较差异显著 ($P < 0.05$), 下同
图 1 不同时间下 O_3 浓度增加和干旱处理对叶片饱和光合速率和气孔导度的影响
Fig. 1 Effects of elevated O_3 and drought on light-saturated photosynthetic rate and stomatal conductance in the leaves of poplar at two sampling times

显著 ($P=0.0094$, 表 1)。干旱处理显著降低了叶片气孔导度 ($P<0.0001$), 与对照相比, 干旱处理的气孔导度在 8 月和 9 月分别下降了 28.1% 和 41.3%。随着 $[O_3]$ 升高, 气孔导度显著降低 ($P=0.0224$)。NF 和 NF40 处理的叶片气孔导度相比于 CF 分别下降了 11.9% 和 14.0%。随着处理时间的延长, 气孔导度降低趋势减小。9 月气孔导度相比于 8 月份显著降低 ($P<0.0001$)。 O_3 和干旱对气孔导度交互没有影响。

2.2 不同处理对植物的抗氧化酶活性影响

O_3 、干旱、处理时间及其这些因子的交互作用均未对 POD 活性产生显著影响 [表 1、图 2(a) 和 2

(b)]。干旱显著降低 CAT 活性 ($P=0.0017$) 和 SOD 活性 ($P=0.0064$), 且随着处理时间的延长 CAT、SOD 活性降低显著 [表 1、2(c)、2(d)、2(g) 和 2(h)]。处理时间的延长也显著降低 APX 活性 ($P<0.0001$) [表 1、2(e) 和 2(f)]。 O_3 以及 O_3 与干旱的交互作用均未对抗氧化酶活性产生显著影响 (表 1)。

2.3 对植物可溶性蛋白含量的影响

叶片可溶性蛋白含量在干旱胁迫下显著增加 ($P=0.0001$, 图 3), 其中 8 月可溶性蛋白含量升高 10.9%, 9 月升高 45.2%。 O_3 、干旱及处理时间的交互作用对其影响并不显著 (表 1)。

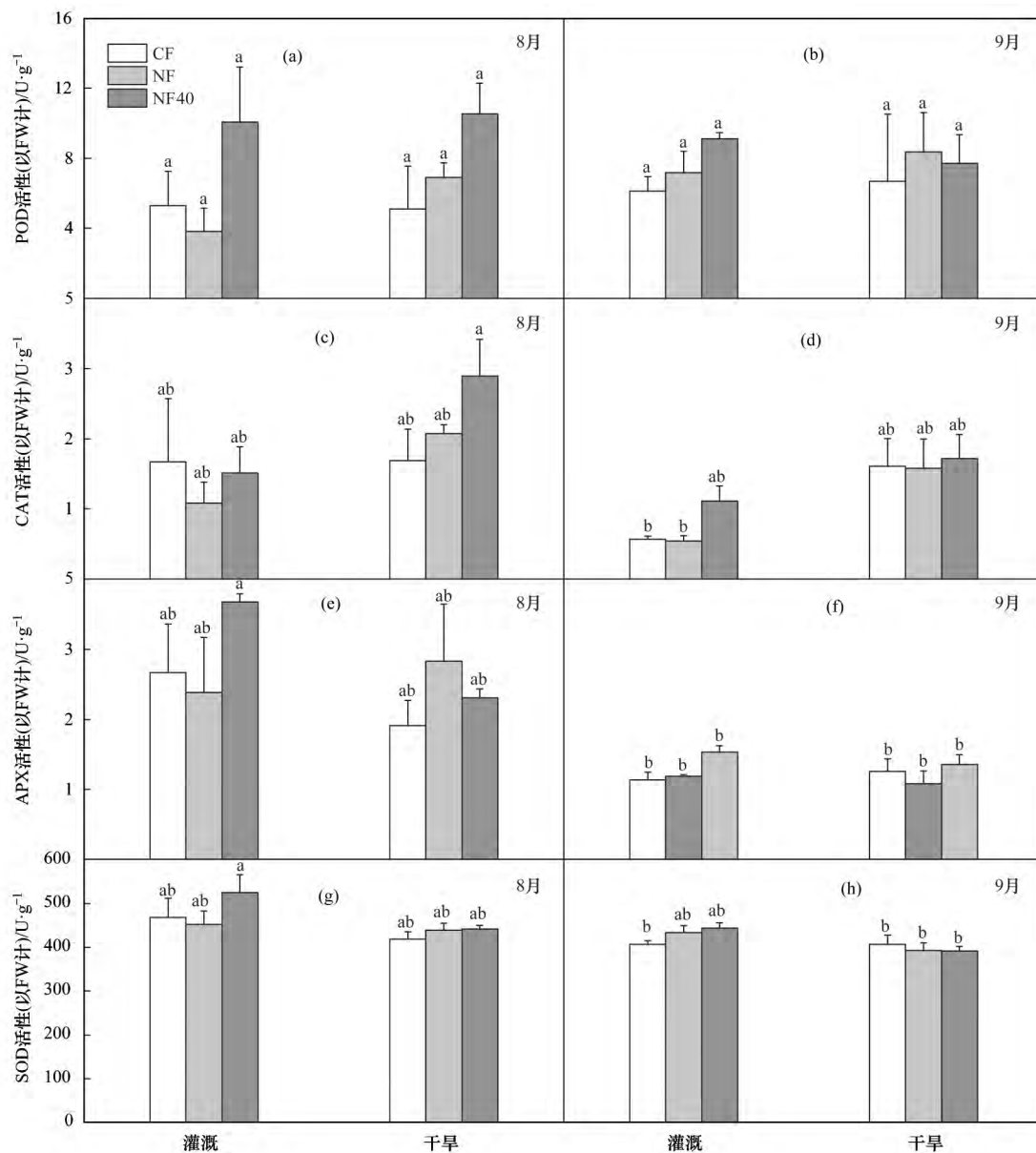


图 2 不同处理时间下 O_3 浓度增加和干旱对杨树叶片四种抗氧化酶活性的影响

Fig. 2 Effects of elevated O_3 and drought on activity of four antioxidant enzymes in poplar leaves at two sampling times

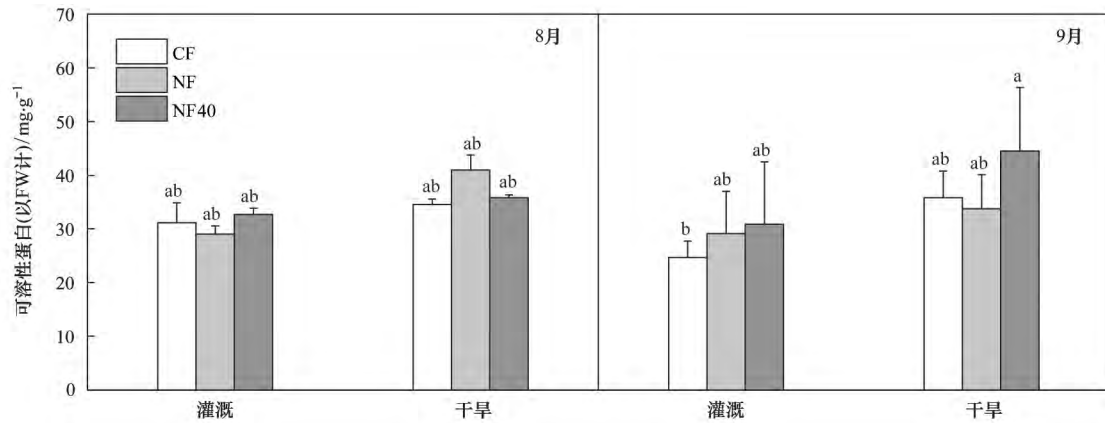


图3 不同处理时间下 O₃ 浓度增加和干旱对杨树叶片可溶性蛋白含量的影响

Fig. 3 Effect of elevated O₃ and drought on soluble protein content in poplar leaves at two sampling times

3 讨论

大量研究表明, O₃ 胁迫能严重影响叶片光合速率. 例如 Feng 等^[33]的研究发现, O₃ 摩尔分数在 100 nmol·mol⁻¹ 和 150 nmol·mol⁻¹ 下处理 25 d 后, 水杉 (*Metasequoia glyptostroboides*) 的光合速率分别比对照减少 41% 和 50%. Zhang 等^[34] 也发现银杏 (*Ginkgo biloba*) 在 80 nmol·mol⁻¹ 的 O₃ 摩尔分数处理下, 光合速率显著降低, 并随着处理时间延长降低幅度增大. 本次实验结果也表明随着 O₃ 摩尔分数的升高, 饱和光合速率显著降低(图 1). O₃ 处理时间对于叶片饱和光合速率也有显著的影响, 这是因为 O₃ 的影响是累积性的. 结果表明随着 O₃ 浓度升高, 气孔导度显著降低, 高浓度 O₃ 能够刺激气孔关闭从而避免更多的 O₃ 进入叶片内部, 这是植物对胁迫的应激响应^[35]. 同时 O₃ 胁迫提高了细胞间 CO₂ 摩尔分数, 降低气孔导度也是对光合速率下降的响应^[36]. 但是在 O₃ 处理下光合速率和气孔导度不存在耦合关系, 这主要是因为高浓度 O₃ 导致气孔响应迟缓^[1]. 干旱处理通常降低植物叶片饱和光合速率, 如胡义等^[37]的研究表明, 香樟叶片在干旱胁迫下光合作用受到抑制使光合速率下降. 然而本研究发现干旱处理对于杨树叶片光合速率没有显著影响, 可能是由于不同干旱处理水平和灌溉频率导致的. 为了避免极端干旱的发生, 本研究 1~2 d 进行一次灌溉, 干旱处理为正常灌溉水量的 1/3, 这种干旱复水过程锻炼了植物的抗旱能力. 而干旱胁迫显著降低了气孔导度, 降低蒸腾速率避免叶片失水过多, 提高了植物水分利用效率^[17]. 本研究表明干旱与 O₃ 对叶片光合速率的交互作用是显著的. 与单独 O₃ 处理相比, O₃ 与干旱的共同作用引起的

光合速率降低的比率较小, 表明干旱对于 O₃ 胁迫有一定的减缓作用. 主要是因为相比正常浇水干旱降低植物叶片的气孔导度, 进而减少植物的 O₃ 气孔吸收通量, 从而减缓了 O₃ 的胁迫作用. 但 O₃ 与干旱的交互作用在 8 月和 9 月的测定结果是一致的, 即 O₃、干旱及处理时间三者交互作用不显著.

环境胁迫能在一定程度上促进抗氧化酶活性的提高, 但随着胁迫时间的延长和胁迫剂量的累积, 抗氧化酶活性则会受到抑制^[38]. 张仁和等^[39]的研究发现, 玉米在中度干旱胁迫下 POD、CAT 和 SOD 活性均上升, 而在重度干旱处理下, 活性均表现为降低, 这个结果也反映在烟草^[40]的研究中. 本研究表明, 在干旱胁迫下, CAT 和 SOD 活性都显著降低, 并且随着处理时间的延长, CAT、SOD 和 APX 降低显著. 但 O₃、干旱以及处理时间三者的交互作用在本实验中体现不明显. O₃ 处理在本实验 8 月(生长旺期)和 9 月(生长末期)的测定中并未显著促进或者抑制抗氧化酶的活性, 并且未发现干旱处理促进抗氧化酶活性上升的现象. 这可能与设置的 O₃ 浓度水平, 干旱水平和采样时间有关. 在今后的研究中, 增加采样频次和设置胁迫梯度有可能观察到杨树的响应动态.

可溶性蛋白质含量能够反映植物体内细胞中蛋白质的合成、变性和降解等重要信息^[41], O₃ 和干旱等胁迫因子能使叶片中可溶性蛋白含量发生变化. 庄明浩等^[42]的研究表明, O₃ 浓度升高初期可溶性蛋白含量上升, 但是随着 O₃ 处理时间的延长, 蛋白含量降低. 在干旱处理下, 韩蕊莲等^[43]的研究表明, 沙棘叶片在轻度干旱处理初期可溶性蛋白含量增加, 而后含量有所降低, 但降低幅度较小为 12.0%, 而中度或重度干旱使可溶性蛋白含量下

降,降低幅度分别为 26.6% 和 43.9%。本实验结果表明,经过干旱处理,可溶性蛋白含量升高,并且随着干旱处理时间的延长也没有表现出下降的趋势,可能是因为可溶性蛋白含量是相对响应较慢的指标或与选择的物种有关。 O_3 、干旱以及处理时间三者之间的交互作用不显著。

O_3 、干旱以及处理时间对叶片饱和光合速率、抗氧化酶的活性和可溶性蛋白有不同的影响,这可能与臭氧浓度、干旱程度有直接关系。另外,本实验只选取了杨树一个基因型,因此 O_3 、干旱和处理时间以及它们间的交互作用对杨树叶片抗氧化酶活性的影响还需要选取代表性的多个基因型进一步深入研究。

4 结论

(1) 随着 O_3 浓度升高和处理时间延长,杨树叶片饱和光合速率显著降低。干旱对叶片饱和光合速率的影响不显著,但 O_3 与干旱交互作用对饱和光合速率影响显著。

(2) O_3 浓度升高对 POD、CAT、SOD、APX 活性及可溶性蛋白含量影响均不显著。但干旱可显著降低 CAT 和 SOD 活性,增加可溶性蛋白含量。随着处理时间延长,CAT、SOD 和 APX 活性降低显著。

(3) O_3 与干旱的交互作用对杨树抗氧化酶活性产生的影响不显著,这可能与实验处理时间、臭氧浓度、干旱程度等有关。

参考文献:

- [1] Hoshika Y, Carriero G, Feng Z Z, *et al.* Determinants of stomatal sluggishness in ozone-exposed deciduous tree species [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, **481**: 453-458.
- [2] 袁相洋,张巍巍,孙敬松,等. 我国北方两地环境臭氧浓度对矮菜豆生长的影响[J]. *环境科学*, 2014, **35**(8): 3128-3134. Yuan X Y, Zhang W W, Sun J S, *et al.* Influence of ozone on snap bean under ambient air in two sites of northern China [J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(8): 3128-3134.
- [3] Feng Z Z, Sun J S, Wan W X, *et al.* Evidence of widespread ozone-induced visible injury on plants in Beijing, China [J]. *Environmental Pollution*, 2014, **193**: 296-301.
- [4] Zhang W W, Feng Z Z, Wang X K, *et al.* Elevated ozone negatively affects photosynthesis of current-year leaves but not previous-year leaves in evergreen *Cyclobalanopsis glauca* seedlings [J]. *Environmental Pollution*, 2014, **184**: 676-681.
- [5] Zheng Y H, Cheng D, Simmons M. Ozone pollution effects on gas exchange, growth and biomass yield of salinity-treated winter wheat cultivars [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, **499**: 18-26.
- [6] 左文博,吴静利,杨奇,等. 干旱胁迫对小麦根系活力和可溶性糖含量的影响[J]. *华北农学报*, 2010, **25**(6): 191-193. Zuo W B, Wu J L, Yang Q, *et al.* Study on the influence of root

- of different wheat varieties under drought stress [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2010, **25**(6): 191-193.
- [7] Bréda N, Huc R, Granier A, *et al.* Temperate forest trees and stands under severe drought: A review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences [J]. *Annals of Forest Science*, 2006, **63**(6): 625-644.
- [8] 王鸾春,陆爱君,冯健,等. 干旱胁迫对日本落叶松生理指标的影响[J]. *东北林业大学学报*, 2016, **44**(8): 13-17. Wang Q C, Lu A J, Feng J, *et al.* Effects of drought stress on physiological indices of Japanese larch [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2016, **44**(8): 13-17.
- [9] 吴敏,张文辉,周建云,等. 干旱胁迫对栓皮栎幼苗细根的生长与生理生化指标的影响[J]. *生态学报*, 2014, **34**(15): 4223-4233. Wu M, Zhang W H, Zhou J Y, *et al.* Effects of drought stress on growth, physiological and biochemical parameters in fine roots of *Quercus variabilis* Bl. Seedlings [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, **34**(15): 4223-4233.
- [10] 种培芳,李航逸,李毅. 荒漠植物红砂根系对干旱胁迫的生理响应[J]. *草业学报*, 2015, **24**(1): 72-80. Zhong P F, Li H Y, Li Y. Physiological responses of seeding roots of the desert plant *Reaumuria soongorica* to drought stress [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, **24**(1): 72-80.
- [11] Ernst D, Jürgensen M, Bahnweg G, *et al.* Common links of molecular biology with biochemistry and physiology in plants under ozone and pathogen attack [A]. In: Matyssek R, Schnyder H, Oßwald W, *et al.* (Eds.). *Growth and Defence in Plants*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2012. 29-51.
- [12] Yao Y Q, Liu X P, Li Z Z, *et al.* Drought-induced H_2O_2 accumulation in subsidiary cells is involved in regulatory signaling of stomatal closure in maize leaves [J]. *Planta*, 2013, **238**(1): 217-227.
- [13] Pandey D M, Goswami C L, Kumar B, *et al.* Hormonal regulation of photosynthetic enzymes in cotton under water stress [J]. *Photosynthetica*, 2001, **38**(3): 403-407.
- [14] Pan Y, Wu L J, Yu Z L. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) [J]. *Plant Growth Regulation*, 2006, **49**(2-3): 157-165.
- [15] Iyer N J, Tang Y H, Mahalingam R. Physiological, biochemical and molecular responses to a combination of drought and ozone in *Medicago truncatula* [J]. *Plant Cell and Environment*, 2013, **36**(3): 706-720.
- [16] Li L, Manning W J, Tong L, *et al.* Chronic drought stress reduced but not protected Shantung maple (*Acer truncatum* Bunge) from adverse effects of ozone (O_3) on growth and physiology in the suburb of Beijing, China [J]. *Environmental Pollution*, 2015, **201**: 34-41.
- [17] Gao F, Catalayud V, Paoletti E, *et al.* Water stress mitigates the negative effects of ozone on photosynthesis and biomass in poplar plants [J]. *Environmental Pollution*, 2017, **230**: 268-279.
- [18] Pollastrini M, Desotgiu R, Camin F, *et al.* Severe drought events increase the sensitivity to ozone on poplar clones [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2014, **100**: 94-104.
- [19] Alonso R, Elvira S, González Fernández I, *et al.* Drought stress does not protect *Quercus ilex* L. from ozone effects: results from a comparative study of two subspecies differing in ozone sensitivity [J]. *Plant Biology*, 2014, **16**(2): 375-384.

- [20] Desotgiu R, Pollastrini M, Cascio C, *et al.* Chlorophyll *a* fluorescence analysis along a vertical gradient of the crown in a poplar (Oxford clone) subjected to ozone and water stress [J]. *Tree Physiology*, 2012, **32**(8): 976-986.
- [21] Hayes F, Williamson J, Mills G. Species-specific responses to ozone and drought in six deciduous trees [J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2015, **226**(5): 156.
- [22] Xu S, Fu W, He X Y, *et al.* Drought alleviated the negative effects of elevated O₃ on *Lonicera maackii* in Urban Area [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2017, **99**(5): 648-653.
- [23] Hu E Z, Gao F, Xin Y, *et al.* Concentration-and flux-based ozone dose-response relationships for five poplar clones grown in North China [J]. *Environmental Pollution*, 2015, **207**: 21-30.
- [24] Liu Y L, Pan Z H, Zhuang Q L, *et al.* Agriculture intensifies soil moisture decline in Northern China [J]. *Scientific Reports*, 2015, **5**: 11261.
- [25] Yuan X Y, Calatayud V, Jiang L J, *et al.* Assessing the effects of ambient ozone in China on snap bean genotypes by using ethylenediurea (EDU) [J]. *Environmental Pollution*, 2015, **205**: 199-208.
- [26] Alonso R, Elvira S, Castillo F J, *et al.* Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis* [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2001, **24**(9): 905-916.
- [27] Huseynova I M, Aliyeva D R, Aliyev J A. Subcellular localization and responses of superoxide dismutase isoforms in local wheat varieties subjected to continuous soil drought [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, **81**: 54-60.
- [28] Yuan X Y, Feng Z Z, Liu S, *et al.* Concentration-and flux-based dose-responses of isoprene emission from poplar leaves and plants exposed to an ozone concentration gradient [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2017, **40**(9): 1960-1971.
- [29] 郑炳松, 王正加. 现代植物生理生化研究技术 [M]. 北京: 气象出版社, 2006. 91-92.
Zheng B S, Wang Z J. Research techniques in contemporary plant physiology and biochemistry [M]. Beijing: Meteorological Press, 2006. 91-92.
- [30] 孙群, 胡景江. 植物生理学研究技术 [M]. 杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2006. 167-170.
Sun Q, Hu J J. Research technology of plant physiology [M]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University Press, 2006. 167-170.
- [31] 张以顺, 黄霞, 陈云凤. 植物生理学实验教程 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2009. 1-180.
Zhang Y S, Huang X, Chen Y F. Experiment course of plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2009. 1-180.
- [32] 胡玉净, 邓丽娟, 张杰, 等. 干旱胁迫下外源 ABA 对观赏海棠叶片可溶性蛋白和脱水素积累的影响 [J]. *林业科学*, 2012, **48**(4): 35-42.
Hu Y J, Deng L J, Zhang J, *et al.* Effects of exogenous ABA on accumulation of the soluble proteins and dehydrins in leaves of ornamental crabapples under soil drought stress [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2012, **48**(4): 35-42.
- [33] Feng Z Z, Zeng H Q, Wang X K, *et al.* Sensitivity of *Metasequoia glyptostroboides* to ozone stress [J]. *Photosynthetica*, 2008, **46**(3): 463-465.
- [34] 张巍巍, 赵天宏, 王美玉, 等. 臭氧浓度升高对银杏光合作用的影响 [J]. *生态学杂志*, 2007, **26**(5): 645-649.
Zhang W W, Zhao T H, Wang M Y, *et al.* Effects of elevated ozone concentration on Ginkgo biloba photosynthesis [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2007, **26**(5): 645-649.
- [35] Ainsworth E A, Yendrek C R, Sitch S, *et al.* The effects of tropospheric ozone on net Primary productivity and implications for climate change [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2012, **63**: 637-661.
- [36] Wittig V E, Ainsworth E A, 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 [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2007, **30**(9): 1150-1162.
- [37] 胡义, 胡庭兴, 胡红玲, 等. 干旱胁迫对香樟幼树生长及光合特性的影响 [J]. *应用与环境生物学报*, 2014, **20**(4): 675-682.
Hu Y, Hu T X, Hu H L, *et al.* Effects of drought stress on growth and photosynthetic characteristics of *Cinnamomum camphora* saplings [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2014, **20**(4): 675-682.
- [38] 吴芳芳, 郑有飞, 吴荣军, 等. 近地层臭氧对小麦抗氧化酶活性变化动态的影响 [J]. *生态学报*, 2011, **31**(14): 4019-4026.
Wu F F, Zheng Y F, Wu R J, *et al.* Concentration of O₃ at the atmospheric surface affects the changes characters of antioxidant enzyme activities in *Triticum aestivum* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, **31**(14): 4019-4026.
- [39] 张仁和, 郑友军, 马国胜, 等. 干旱胁迫对玉米苗期叶片光合作用和保护酶的影响 [J]. *生态学报*, 2011, **31**(5): 1303-1311.
Zhang R H, Zheng Y J, Ma G S, *et al.* Effects of drought stress on photosynthetic traits and protective enzyme activity in maize seedling [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, **31**(5): 1303-1311.
- [40] 李国芸, 李志伟, 甄焕菊, 等. 水分胁迫条件下烟草生理生化响应研究进展 [J]. *植物生理科学*, 2007, **23**(9): 298-301.
Li G Y, Li Z W, Zhen H J, *et al.* Research advance on physiological and biochemical responses in tobacco under water stress [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, **23**(9): 298-301.
- [41] 尚德荣, 宁劲松, 赵艳芳, 等. 条斑紫菜中磷和钙的亚细胞分布及其与富集砷的关系 [J]. *生态毒理学报*, 2016, **11**(4): 258-264.
Shang D R, Ning J S, Zhao Y F, *et al.* The subcellular fate of phosphorus and calcium in the seaweed *Porphyra yezoensis* and its relationship with the arsenic accumulation [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016, **11**(4): 258-264.
- [42] 庄明浩, 李迎春, 陈双林等. 毛竹和四季竹对臭氧胁迫的耐受力差异 [J]. *生态学杂志*, 2011, **30**(10): 2191-2196.
Zhuang M H, Li Y C, Chen S L. Differences in O₃ stress tolerance between *Phyllostachys edulis* and *Oligostachyum lubricum* [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2011, **30**(10): 2191-2196.
- [43] 韩蕊莲, 李丽霞, 梁宗锁. 干旱胁迫下沙棘叶片细胞膜透性与渗透调节物质研究 [J]. *西北植物学报*, 2003, **23**(1): 23-27.
Han R L, Li L X, Liang Z S. Seabuckthorn relative membrane conductivity and osmotic adjustment under drought stress [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2003, **23**(1): 23-27.