

# 开放式臭氧浓度升高对 2 个冬小麦品种光合损伤的研究

王亮<sup>1,2</sup>, 曾青<sup>1</sup>, 冯兆忠<sup>3,4</sup>, 朱建国<sup>1\*</sup>, 唐昊冶<sup>1</sup>, 陈曦<sup>1</sup>, 谢祖彬<sup>1</sup>, 刘钢<sup>1</sup>, Kazuhiko Kobayashi<sup>4</sup>

(1. 中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 南京 210008; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 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; 4. 东京大学农学院全球植物资源研究室, 东京 113-8657)

**摘要:**在开放式臭氧浓度升高 (ozone-free air controlled enrichment, O<sub>3</sub>-FACE) 平台上, 观测了高浓度臭氧 (正常大气臭氧浓度的基础上增加 50%) 对 2 个冬小麦 (*Triticum aestivum* L.) 品种 (烟农 19 和扬麦 16) 在灌浆期内功能叶片光合损伤的情况. 观测显示, 整个灌浆期内 2 个小麦品种有关参数响应的趋势表现一致: ①净光合速率 ( $P_n$ ) 逐渐下降, 在臭氧处理 35 d 时, 烟农 19 和扬麦 16 降幅分别达到 56.21% 和 21.82%. ②荧光动力学参数  $F_v/F_m$  (最大光化学量子产量)、 $q_p$  (光化学淬灭系数)、 $\Phi_{exc}$  (PS II 有效光化学量子产量)、 $\Phi_{PSII}$  (PS II 实际光化学量子产量) 呈下降趋势, NPQ (非光化学淬灭系数) 逐渐上升; 在能量分配方面, 吸收的光能在 PS II 天线色素的耗散部分 (%D) 升高、用于 PS II 光化学反应的部分 (%P) 降低, 而不属于前两者的其它消耗部分 (%X) 变化不明显. 在臭氧处理 35 d 时, 烟农 19 和扬麦 16 的  $\Phi_{PSII}$  分别下降 24.42% 和 9.97%. ③光合色素参数 Chl $a$ /Chl $b$  (叶绿素  $a$ /叶绿素  $b$ ) 比值上升, 而 Chl/Car (叶绿素/叶黄素) 的比值下降. ④叶绿体内依赖 Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup> 的 ATP<sub>ase</sub> (ATP 酶) 活性和 ATP 含量均增加. 上述参数随臭氧处理时间延长, 变化幅度和品种间的差异趋于显著, 当臭氧处理 35 d 时, 变幅最大, 且烟农 19 变幅显著大于扬麦 16. 结果表明, 在臭氧浓度升高环境下, 作物通过增加热耗散、改变色素含量和结构、提高 ATP<sub>ase</sub> 活性等进行防御和损伤修复. 随着处理时间的增加, 臭氧对冬小麦的光合损伤具有累积效应, 且 2 个品种表现出较大的差异性.

**关键词:** O<sub>3</sub>-FACE; 冬小麦; 臭氧; 光合损伤

中图分类号: X503.23 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)02-0527-08

## Photosynthetic Damage Induced by Elevated O<sub>3</sub> in Two Varieties of Winter Wheat with Free Air Controlled Enrichment Approach

WANG Liang<sup>1,2</sup>, ZENG Qing<sup>1</sup>, FENG Zhao-zhong<sup>3,4</sup>, ZHU Jian-guo<sup>1</sup>, TANG Hao-ye<sup>1</sup>, CHEN Xi<sup>1</sup>, XIE Zui-bin<sup>1</sup>, LIU Gang<sup>1</sup>, Kazuhiko Kobayashi<sup>4</sup>

(1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 4. Department of Global Agricultural Sciences, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo, Tokyo 113-8657, Japan)

**Abstract:** O<sub>3</sub>-FACE (ozone-free air controlled enrichment) platform has been established for observing the photosynthetic damage induced by elevated O<sub>3</sub> in functional leaves of two winter wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties (Yangmai 16 and Yannong 19) during grain filling stage. The results showed that the response trend of all the parameters was similar: ①The net photosynthetic rate ( $P_n$ ) decreased gradually and after 35 days of O<sub>3</sub> treatment,  $P_n$  decreased by 56.21% and 21.82% for Yannong19 and Yangmai16, respectively. ②Chlorophyll fluorescence kinetics parameters changed as decreased in  $F_v/F_m$  (maximal photochemical efficiency of PS II in the dark),  $q_p$  (photochemical quenching),  $\Phi_{exc}$  (excitation capture efficiency of PS II or intrinsic PS II efficiency),  $\Phi_{PSII}$  (actual photochemical efficiency of PS II in the light), and increased in NPQ (non-photochemical quenching); Energy distribution parameters changed as rose in %D (fraction of light absorbed in PS II that is dissipated in the PSII antenna), reduced in %P (fraction of light absorbed that is used in photochemistry), and no significant changed in %X (fraction of light absorbed that is not used or dissipated in the PSII antenna). After 35 days of O<sub>3</sub> treatment, the actual photochemical efficiency of PS II of Yannong19 and Yangmai16 were reduced by 24.42% and 9.97%, respectively. ③It was declined in Chl/Car (total chlorophyll content/carotenoid content) while the ratio of Chl $a$ /Chl $b$  (chlorophyll a content/chlorophyll b content) was increased. ④There was

收稿日期: 2008-04-01; 修订日期: 2008-06-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30770408); 中国科学院国际合作重点项目 (GJHZ0748); 中国科学院南京土壤研究所知识创新工程领域前沿项目 (ISSASIP0709); 日本环境厅全球环境研究基金项目 (中日合作) (G-062)

作者简介: 王亮 (1982~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为全球气候变化与作物生理生态, E-mail: lwang@issas.ac.cn

\* 通讯联系人, E-mail: jzhu@issas.ac.cn

a growth in  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ -ATP<sub>ase</sub> activities and ATP contents in chloroplast. The extent of variation in the above parameters and the differences between the two varieties were enlarged as the  $O_3$  treatment time increasing and it could be found a more serious damage effect in Yannong 19 than that of in Yangmai16. In conclusion, the responses of the capacities of defense and repair systems of the two varieties to elevated  $O_3$  were reflected by increase in heat dissipation, changes in contents and composition of photosynthetic pigments, and enhancement in the ATP<sub>ase</sub> (ATP enzyme) activities in chloroplast. With the time of  $O_3$  treatment elongating, there was an accumulation effect of  $O_3$  damage to wheat and a great different tolerance between the two varieties was observed.

**Key words:**  $O_3$ -FACE; winter wheat;  $O_3$ ; photosynthetic damage

近地层臭氧浓度平均以每年 2% 左右的速度递增, 本世纪初全球陆地上空对流层的臭氧平均浓度已达到  $60 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ , 远超过了敏感植物包括主要农作物臭氧损伤的阈值, 即  $40 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ , 而东亚地区特别是我国的中东部, 臭氧浓度增幅更大<sup>[1-3]</sup>.

在光合作用研究方面, 有关臭氧对作物的伤害报道很多, 近年来这方面的研究主要向 2 个方向拓展, 其一是探讨更深层次的损伤机制, 其二则是借助不断发展更新的试验平台. 从臭氧造成的损伤机制来看, 高臭氧浓度使植物出现光抑制甚至光损伤现象<sup>[4]</sup>是由于叶片气孔导度相对降低<sup>[5]</sup>、光能捕获和  $CO_2$  固定过程的氧化损伤<sup>[6,7]</sup>、膜和细胞组分损伤<sup>[8,9]</sup>以及基因表达抑制等造成的<sup>[10-12]</sup>. 另一方面, 从试验平台升级角度来看, 近 10 年来, 国内关于臭氧对水稻<sup>[13-17]</sup>、小麦<sup>[16-19]</sup>、油菜<sup>[20]</sup>和大豆<sup>[21]</sup>等作物损伤的研究大多是在 OTC (open top chamber) 平台中进行的. 但由于 OTC 的箱壁效应, 使得试验结果用于预测评估具有很多不确定性. 而在 20 世纪 90 年代国外出现的开放式  $O_3$ -FACE 研究平台, 系统无任何隔离设施, 仅仅是对臭氧浓度进行模拟, 因此能更好地反映未来臭氧浓度升高下农作物的真实响应状况. 如美国的大豆臭氧风险评估项目就在此平台上进行<sup>[22]</sup>.

小麦是我国重要的粮食作物, 同时也被认为是臭氧特别敏感的作物之一<sup>[23]</sup>, 尤其在决定产量的灌浆期, 而且不同小麦品种对臭氧的响应具有较大的差异性<sup>[24]</sup>. 本研究利用中日合作建立的亚洲首个稻/麦轮作的  $O_3$ -FACE 平台, 观测 2 个品种的冬小麦在产量形成关键期的相关光合指标的变化情况, 探讨臭氧损伤机制, 以期更好地为臭氧污染对农田生态的风险评估提供理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验地位于江苏省江都市马陵村良种场 ( $119^\circ 42' \text{E}$ ,  $32^\circ 35' \text{N}$ ), 土壤类型为清泥土; 年均降水量 980 mm 左右, 年均蒸发量  $> 1\,100 \text{ mm}$ , 年平均

温度  $14.9^\circ \text{C}$ , 年日照时间  $> 2\,100 \text{ h}$ , 年无霜期 220 d, 耕作方式为水稻/冬小麦轮作.

### 1.2 $O_3$ -FACE 平台

分设 3 个臭氧处理 ( $O_3$ -FACE) 圈和 3 个对照 (Ambient) 圈, 各圈之间间隔  $> 70 \text{ m}$ , 以减少臭氧释放对其它圈的影响.  $O_3$ -FACE 圈直径为 14 m 正八角形, 8 根放气管道在作物灌层上方 50~60 cm 处. 晴天每天 09:00~18:00 释放  $O_3$ , 使圈内  $O_3$  浓度始终比对照圈臭氧浓度高 50%. 在 90% 的放气时间内, 平台控制区域臭氧浓度的误差在控制目标值的 20% 以内. 对照圈无  $O_3$ -FACE 管道, 环境条件与自然状态完全一致. 臭氧放气时间为 2007-04-14~2007-05-22, 共计 39 d.  $O_3$ -FACE 圈与 Ambient 圈内臭氧变化情况见图 1.

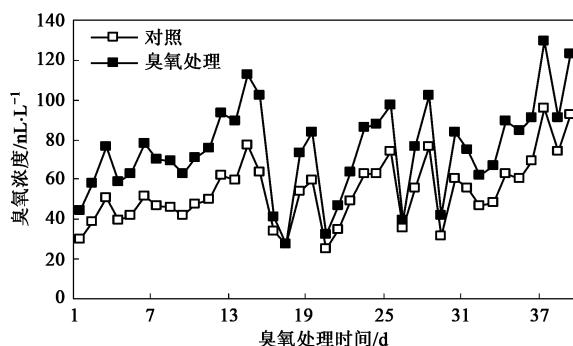


图1  $O_3$ -FACE圈与 Ambient 圈内臭氧浓度变化情况

Fig. 1  $O_3$  concentration changes in  $O_3$ -FACE and Ambient

### 1.3 试验布置

施肥水平与当地常规水平一致, 施用 N、P、K 肥的总量分别为 21、8.4、8.4  $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ . 各时期施肥量分别为: 基肥, 均施 N、P、K 肥各自总量的 60%; 拔节肥, 施 N 肥总量的 10%; 穗肥, 分别施 N、P、K 肥各自总量的 30%、40%、40%. 病虫害防治等为为稻田常规管理.

### 1.4 试验材料与采样时间

试验小麦品种选用烟农 19 和扬麦 16, 前者对环境变化较为敏感, 后者有较好的耐性. 分别于臭氧处理 19 d (2007-05-02)、27 d (2007-05-10)、35 d (2007-

05-18), 即小麦灌浆期内, 选取长势一致的旗叶进行光合参数测定, 并采同一叶片进行生化分析.

1.5 测定方法

1.5.1 荧光参数和净光合速率测定

用 LI-6400 便携式光合仪(美国 LI-COR 公司)测定净光合速率( $P_n$ ). 用 FMS-2 便携调制式荧光仪(英国 Hansatech 公司)测定荧光参数暗下最小荧光( $F_0$ )、暗下最大荧光( $F_m$ )、光下最小荧光( $F'_0$ )、光下最大荧光( $F'_m$ )和稳态荧光( $F_s$ ), 并计算  $F_v/F_m$ 、 $\Phi_{exc}$ 、 $\Phi_{PSII}$ 、 $q_p$ 、NPQ 以及 % D、% P 和 % X. 具体计算公式详见文献[25]:  $F_v = F_m - F_0$ ;  $F'_v = F'_m - F'_0$ ;  $\Phi_{exc} = F'_v/F'_m$ ;  $\Phi_{PSII} = (F'_m - F_s)/F'_m$ ;  $q_p = (F'_m - F_s)/F'_v$ ;  $NPQ = F_m/F'_m - 1$ ; % D =  $(1 - F'_v/F'_m) \times 100$ ; % P =  $(F'_v/F'_m) \times q_p \times 100$ ; % X =  $(F'_v/F'_m) \times (1 - q_p) \times 100$ . 圈内每品种重复 6 次.

1.5.2 叶绿素的测定

参照 Amon<sup>[26]</sup> 和 Lichtenthaler<sup>[27]</sup> 的方法以 80% 的丙酮研磨提取叶绿素, 测定 Chla、Chlb、Chlt(Chla+Chlb) 及 Car 的含量.

1.5.3 叶绿体中 ATP 酶活性和 ATP 含量的测定

参照薛应龙<sup>[28, 29]</sup> 的方法制备叶绿体后, 测定 ATP<sub>ase</sub> 活力和 ATP 含量. 酶活性以每 mg 叶绿素每 h 无机磷的释放量 [ $\mu\text{mol} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$ ] 表示, ATP 含量以每 mg 叶绿素所含 ATP 的量 ( $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ ) 表示.

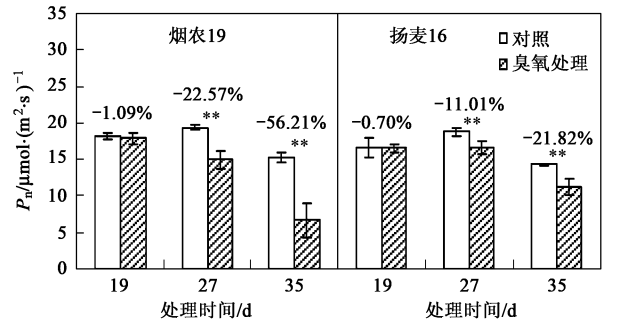
1.6 数据统计及分析

用 Excel 软件制图. 用 SPSS 软件进行三因素方差分析, 其中因素分别为臭氧浓度、品种和臭氧处理时间.

2 结果与分析

2.1 臭氧浓度升高对灌浆期旗叶荧光参数的影响

2 个冬小麦品种的  $P_n$  在整个处理时期差异逐渐变大, 27 d 后均有极显著差异, 在臭氧处理 35 d 时差异达极显著(图 2), 烟农 19 和扬麦 16 降幅分别达到 56.21% 和 21.82%. 除品种、品种与时间的交互对  $P_n$  无显著效应外, 其它因素及组合对  $P_n$  有极显著效应(表 1).



图中百分数表示 O<sub>3</sub> FACE 与 Ambient 相比参数变化的幅度.

\* 表示差异显著 ( $p < 0.05$ ), \* \* 表示差异极显著 ( $p < 0.01$ ), 下同

图 2 臭氧浓度升高对灌浆期旗叶净光合速率的影响

Fig. 2 Effect of elevated O<sub>3</sub> concentration on  $P_n$  of flag leaves during filling stage

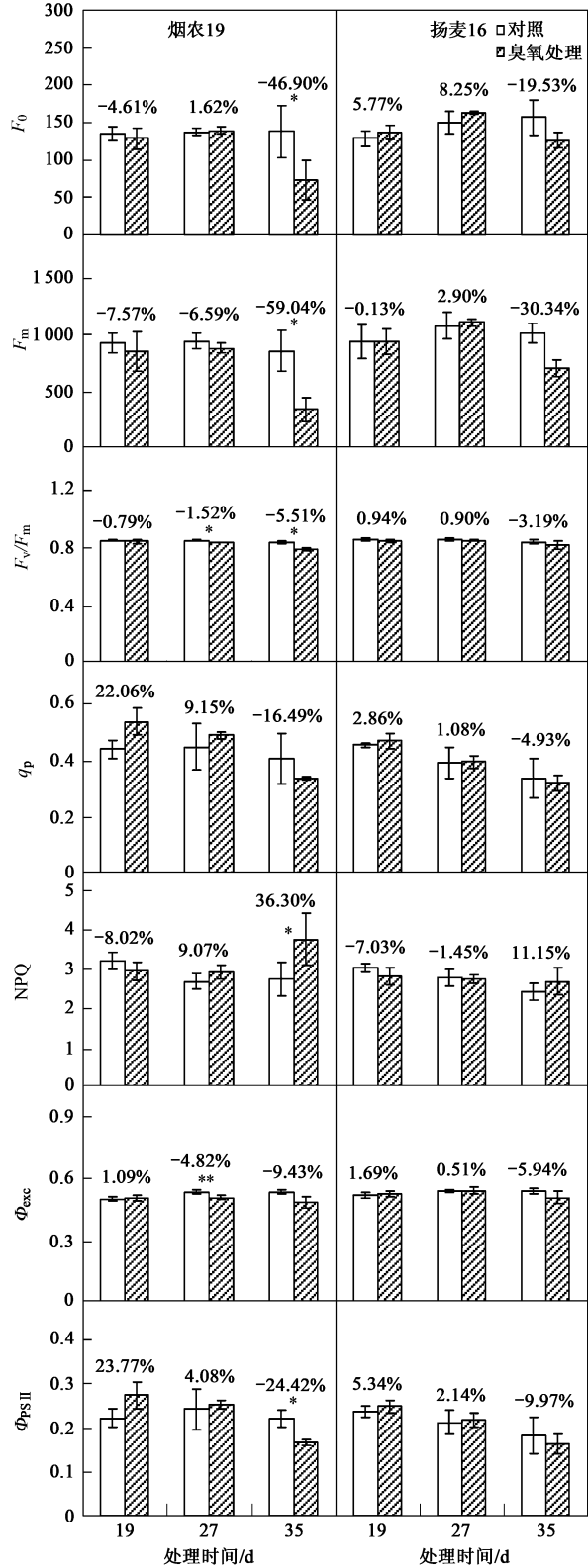
表 1 臭氧、品种、处理时间及它们之间的交互作用对各相关光合参数的显著性分析<sup>1)</sup>

Table 1 Significance of elevated O<sub>3</sub>, variety, time of O<sub>3</sub> treatment and their interactions on various measures of related photosynthetic parameters

| 参数                                   | 臭氧  | 品种  | 处理时间 | 臭氧 × 品种 | 臭氧 × 处理时间 | 品种 × 处理时间 | 臭氧 × 品种 × 处理时间 |
|--------------------------------------|-----|-----|------|---------|-----------|-----------|----------------|
| $P_n$                                | * * | ns  | * *  | * *     | * *       | ns        | * *            |
| $F_0$                                | * * | * * | * *  | *       | * *       | *         | ns             |
| $F_m$                                | * * | * * | * *  | ns      | * *       | *         | ns             |
| $F_v/F_m$                            | * * | ns  | * *  | ns      | *         | ns        | ns             |
| $q_p$                                | ns  | * * | * *  | ns      | ns        | ns        | ns             |
| NPQ                                  | ns  | * * | ns   | ns      | * *       | *         | ns             |
| $\Phi_{exc}$                         | * * | *   | *    | ns      | * *       | ns        | ns             |
| $\Phi_{PSII}$                        | ns  | *   | * *  | ns      | * *       | ns        | ns             |
| % D                                  | *   | *   | *    | ns      | * *       | ns        | ns             |
| % P                                  | ns  | *   | * *  | ns      | * *       | ns        | ns             |
| % X                                  | ns  | * * | * *  | ns      | ns        | ns        | ns             |
| Chla                                 | * * | ns  | * *  | ns      | * *       | ns        | ns             |
| Chlb                                 | * * | ns  | * *  | ns      | * *       | ns        | ns             |
| Chlt                                 | * * | ns  | * *  | ns      | * *       | ns        | ns             |
| Car                                  | * * | *   | * *  | * *     | * *       | ns        | ns             |
| Chla/Chlb                            | *   | *   | *    | ns      | *         | ns        | ns             |
| Chl/Car                              | * * | * * | * *  | ns      | * *       | ns        | * *            |
| Mg <sup>2+</sup> -ATP <sub>ase</sub> | * * | * * | * *  | * *     | * *       | * *       | * *            |
| Ca <sup>2+</sup> -ATP <sub>ase</sub> | * * | * * | * *  | * *     | * *       | * *       | * *            |
| ATP 含量                               | * * | *   | * *  | * *     | ns        | ns        | ns             |

1) ns 表示无显著差异

2 个冬小麦品种的  $F_0$ 、 $F_m$  和  $F_v/F_m$  在  $O_3$  FACE 条件下随处理时间延续而有所下降(图 3). 对烟农 19 而言, 臭氧处理 35 d, 以上指标降幅达显著或极



显著, 而扬麦 16, 未检测到显著差异. 表明由于最小荧光、最大荧光下降程度不同, PS II 最大光化学量子产量下降, 烟农 19 发生光抑制较扬麦 16 明显. 2 个冬小麦品种的  $q_p$  在  $O_3$  FACE 条件下随处理时间先增后减, NPQ 在臭氧处理前期略有减少而后期增加. 对烟农 19 而言, NPQ 在后 2 个采样时期有显著差异. 扬麦 16 各个时期均无显著差异. 表明吸收的光能用于光化学反应减少, 而用于热耗散等非光化学淬灭部分增加, 其中烟农 19 热耗散明显. 2 个冬小麦品种的  $\Phi_{exc}$ 、 $\Phi_{psII}$  在  $O_3$  FACE 条件下随处理时间先增后减, 前者转折期出现在臭氧处理 27 d, 后者则在 35 d. 对烟农 19 而言, 臭氧处理 27 d 的  $\Phi_{exc}$  和 35 d 的  $\Phi_{psII}$  有显著差异. 对扬麦 16 而言, 但各个时期均无显著差异. 在臭氧处理 35 d 时, 烟农 19 和扬麦 16 的实际光化学量子产量分别下降了 24.42% 和 9.97%. 臭氧、品种、处理时间对  $F_0$ 、 $F_m$ 、 $\Phi_{exc}$  均有显著或极显著效应, 三因素间的两两交互对  $F_0$  效应明显. 未检测出三因素互作(表 1).

2 个冬小麦品种的 %D 随臭氧处理时间延长有上升趋势, %P 前 2 个采样时期升高, 最后 1 个时期降低, %X 与之正好相反. 表明吸收的光能在 PS II 天线色素上的耗散逐步增加, 而用于光化学反应的能量先增后减. 对烟农 19 而言, D% 在臭氧处理的 27 d 和 32 d, %P 在 35 d 以及 %X 在 19 d 有显著或极显著差异. 对扬麦 16 而言, 以上参数在各个时期均无显著差异(图 4). 说明烟农 19 响应强度明显大于扬麦 16. 臭氧、品种、时间对 %D 影响达显著或极

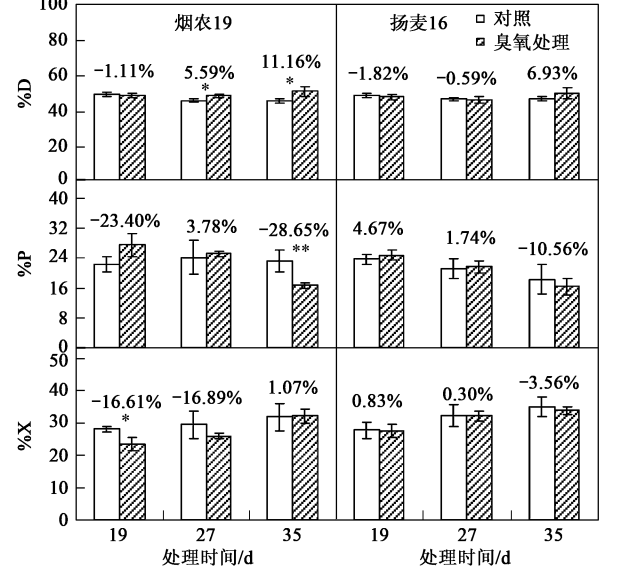


图 4 臭氧浓度升高对灌浆期旗叶能量分配参数的影响  
Fig. 4 Effect of elevated  $O_3$  concentration on energy distribution parameters of flag leaves during filling stage

图 3 臭氧浓度升高对灌浆期旗叶荧光动力学参数的影响  
Fig. 3 Effect of elevated  $O_3$  concentration on chlorophyll a fluorescence kinetics parameters of flag leaves during filling stage

显著水平, 臭氧与时间的交互效应也达极显著. 参数%P 除臭氧对其无显著效应外, 其它情况与% D 类似. 品种和时间对% X 效应达到极显著和显著水平. 所有荧光参数均没有三因素互作效应(表 1).

2.2 臭氧浓度升高对灌浆期旗叶光合色素的影响

臭氧、时间及它们的交互效应对冬小麦色素各指标影响均达显著或极显著水平. 臭氧对 Car、Chla/Chlb、Chlt/Car 有显著或极显著效应, 臭氧和品种互作仅对 Car 有极显著效应, 而三因素互作对 Chlt/Car 有极显著作用(表 1). 对烟农 19 而言, O<sub>3</sub>-FACE 条件下 Chla、Chlb、Chlt、Car 在臭氧处理 27 d 内略有上升, 35 d 后除 Car 外均极显著下降,

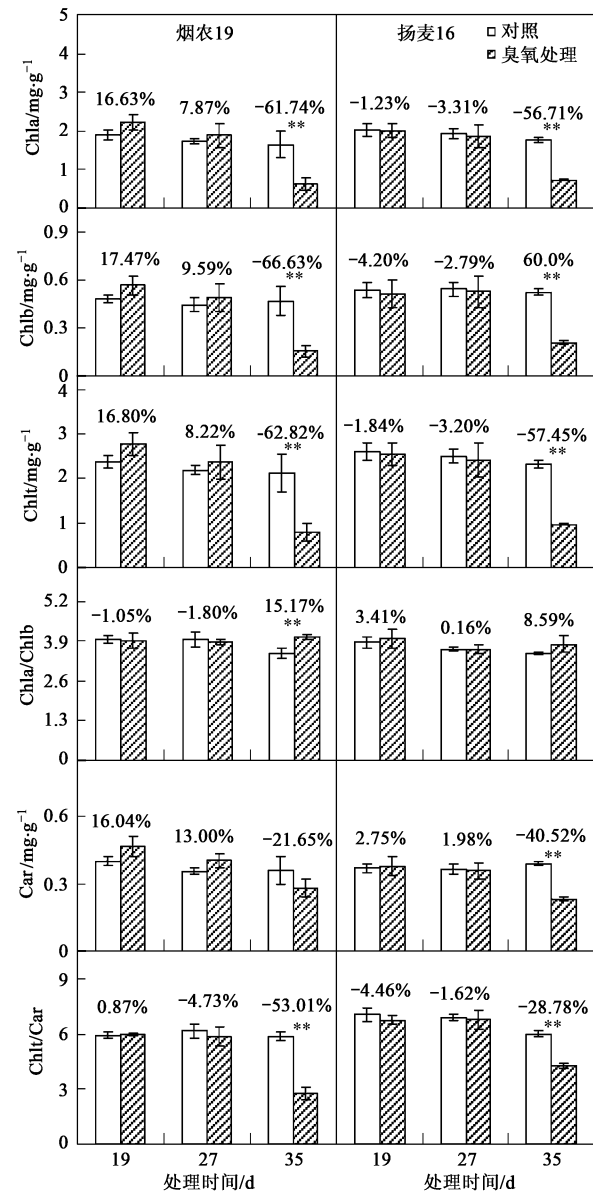


图5 臭氧浓度升高对灌浆期旗叶光合色素含量和组成的影响

Fig. 5 Effect of elevated O<sub>3</sub> concentration on photosynthetic

pigment content and composition of flag leaves during filling stage.

Chla/Chlb和Chlt/Car 前 2 个采样时时期变化不大, 臭氧处理 35 d 后前者极显著上升, 后者极显著下降. 对扬麦 16 而言, 以上参数变化趋势与烟农 19 基本一致, 臭氧处理 35 d 后除 Chla/Chlb 外其它参数变化均达到极显著水平(图 5). 表明臭氧降低光合色素的含量, 但各色素的分解程度不同, 因而改变了色素的组成. 烟农 19 的改变程度比扬麦 16 明显.

2.3 臭氧浓度升高对灌浆期旗叶叶绿体 ATP 酶活性及 ATP 含量的影响

对冬小麦灌浆期旗叶 ATP 酶活性而言, 臭氧、品种、时间及它们相互的一级和二级互作效应均达到极显著水平, 臭氧、品种以及时间和臭氧互作对 ATP 含量影响达显著或极显著水平(表 1). 对烟农 19 而言, O<sub>3</sub>-FACE 条件下无论依赖 Mg<sup>2+</sup> 还是 Ca<sup>2+</sup> 的 ATPase 活性前期均变化不大, 而臭氧处理 35 d 后极显著增加, ATP 含量一直都显著高于对照. 对扬麦 16 而言, 有类似现象, 但参数变化均未达到显著水平(图 6). 表明 O<sub>3</sub>-FACE 条件下, 叶绿体 ATP 大量产生并积累, 烟农 19 尤为明显.

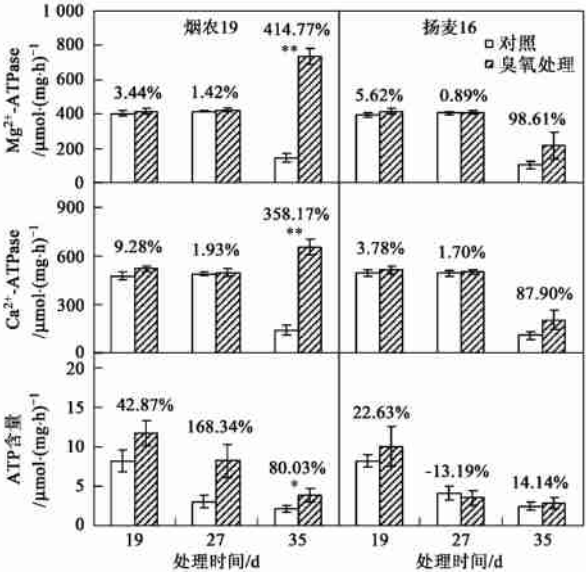


图6 臭氧浓度升高灌浆期旗叶叶绿体 ATP 酶活和 ATP 含量的变化影响

Fig. 6 Effect of elevated O<sub>3</sub> concentration on ATPase activities and ATP contents in chloroplast of flag leaves during filling stage

3 讨论

3.1 臭氧浓度升高对灌浆期旗叶光合能量分配的影响

叶绿素荧光动力学技术被认为是探测植物光合生理的高效快速的无损探针, 常用来研究各种外界

因子对其的影响. 植物体内的叶绿素荧光主要来自 PS II 的天线色素, 其参数反映了原初反应和相关的 光合生理状况<sup>[30]</sup>. 高臭氧浓度条件下, 各荧光参数 均有不同程度的响应.  $F_v/F_m$  代表了 PS II 潜在活 性, 其值降低是发生光抑制的重要表征, 大多 OTC 试验认为此比值下降是因为臭氧引起  $F_m$  下降的同 时  $F_0$  上升, 既光合结构发生了损伤<sup>[31, 32]</sup>, 而本试验 条件下,  $F_m$  和  $F_0$  均下降是由于各自减少程度不同 从而引起  $F_v/F_m$  比值下降, 光抑制的程度可能不如 OTC 下的程度, 表明光 PS II 未造成较大损伤, 此时  $F_0$  的下降也说明热耗散的增加.  $\Phi_{exc}$ 、 $\Phi_{sII}$  分别表 示了 PS II 的有效和实际光化学效率, 前期  $\Phi_{sII}$  在  $P_n$  下降的同时并未见同步下降, 表明在 PS II 传递 的电子没有全部进入 PSI, 能量通过光化学以外的途 径被消耗. 后期两者均降低, 则显示一方面是植物将 所吸收的光量子转变为热能而耗散的结果, 另一方 面则是电子传递、能量转化可能受阻, 光合结构的 PS II 遭受损伤. 就 2 个品种而言, 烟农 19 的 PS II 的 损伤比扬麦 16 严重.

$q_p$  的先升后降、NPQ 的先降后升, 以及能量分 配参数的改变反映出作物对臭氧的防御过程, 证实 叶绿素吸收的光能用于光化学反映部分比例减少, 非光化学淬灭增加, 这与 OTC 的结论一致<sup>[31-35]</sup>. 过 剩的光能通过热能形式消耗对于光能的吸收、电子 传递有重要作用, 能防止光合结构发生光抑制甚至 光破坏.

### 3.2 臭氧浓度升高对灌浆期旗叶净光合速率的 影响

净光合速率是植物碳同化能力的重要表征, 直 接体现了植物光合能力.  $P_n$  随臭氧处理时间的延续 而明显降低, 表明在灌浆前期臭氧对作物光合作用 抑制不明显, 中期时臭氧对作物光合抑制开始出现 显著效应, 当到达末期, 抑制作用已非常明显. 与 OTC 结果相比, 臭氧对灌浆前中期光合抑制并没有 OTC 模拟在同等臭氧浓度下的程度<sup>[18]</sup>. 虽然后期光 合抑制严重, 但此时影响产量形成的灌浆期已基本 结束, 因此推测未来由臭氧造成的产量损失时, 基于 OTC 的数据<sup>[16-19]</sup> 可能过高估计了臭氧对作物的损 害, 但这是否由于品种、施肥等因素的差异造成的, 还有待进一步长期观测和比较. 对于 2 个品种而言, 烟农 19 损伤和扬麦 16 表现出较大的区别, 臭氧对 于后者的光合抑制更大, 也说明了 2 个品种光合作 用对于臭氧的明显差异性.

### 3.3 臭氧浓度升高对 2 个冬小麦品种灌浆期旗叶 光合色素的影响

臭氧下光合作用受到抑制, 尤以光合色素最为 直观, 而它是类囊体膜的重要组成部分, 所以其含量和组 成是光合能力的又一重要指标. Chla、Chlb 在臭氧处 理 32 d 后均极显著降低, 必然影响叶片对光能的吸 收, 但适度减少也是一种保护方式, 因为臭氧对类囊 体膜上的光合结构造成不同程度损伤, 使光化学效 率下降, 此时减少色素含量, 从而缓解因吸收过量的 光能而发生严重的光抑制甚至光破坏.

Chla/Chlb 比值同电子传递、质子转移、最大光 合能力呈正相关<sup>[36]</sup>. 类似浓度的 OTC 条件下, 其比 值略有上升<sup>[18, 37]</sup>, 当继续提高浓度时, 比值明显下 降, 此时由于电子、质子在光合链上的传递受到阻 遏, 光合能力降低, 是因为光合链被破坏的结果. 而 本试验 Chla/Chlb 比值明显上升, 说明在光合链相对 完好的前提下, 作物通过加快链上的传递速度来抵 御不良环境. 同时 Chla/Chlb 值的增加可增加植物对 红光的利用, 从而提高其光能利用率, 因为进入夏季 长波长的红光较多.

PS II 活力下降、碳同化能力的降低常加剧假环 式电子传递, 增加流向  $O_2$  的光合电子, 造成叶绿体 内活性氧积累, 在臭氧下更加剧氧化伤害<sup>[38]</sup>. Car 除 了吸收以及传递光能进行光合作用外, 还是植物体 内一种重要的抗氧化剂, 是叶绿体中清除活性氧的 非酶促反应系统的成分之一, 可以通过直接与活性 氧物质反应而将其清除掉. 同时它还能将通过热耗 散的形式消耗掉过多的光能. Chlt/Car 数值的显著降 低, 表示和对照相比,  $O_3$ -FACE 条件下 Car 降解速度 不及 Chlt, 更多的 Car 起到了保护光合机构的作用.

就 2 个品种而言, 两者各指标大多都达到了显 著水平, 但烟农 19 响应程度更大, 其更大程度地减 缓类胡萝卜素的降解, 减少光合作用色素进行防御.

### 3.4 臭氧浓度升高对灌浆期旗叶光合产能系统的 影响

$ATP_{ase}$  和 AT 含量的一致性地增加, 这说明在臭 氧胁迫条件下, 环绕 PSI 的环式电子传递可能被加 强, 被还原的 Fd(铁氧化还原蛋白)并没有将电子传 给  $NADP^+$ , 而是交给细胞色素  $b_6/f$  循环使用, 产生 更大的质子梯度, 一方面光化学产物积累势必造成 戊糖还原过程受阻, 但另一方面植物适应逆境胁迫 是一个需要 ATP 的过程, 由此产生的 ATP 对于 PS II 的修复可能具有重要意义. Godde 等<sup>[39]</sup> 研究表明, 臭 氧使 PS II 反应中心 D1 蛋白的合成和分解作用都有

增加, 而 D1 的合成需要 ATP 的参与. 有研究表明<sup>[40, 41]</sup>, 在光能过剩条件下, 环绕 PSI 的环式电子传递增加同时可以有效地保护 PS II, 因为它参与将多余的光能通过热耗散的机制消除, 从而保护光合结构. 而 Lehnher 等<sup>[42]</sup>在 OTC 下观测的结果有所不同, 他们观测到随臭氧浓度从  $0.015 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$  增加到  $0.10 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ , ATP 含量变化不大, 但 ATP/ADP 的比值却是显著上升的.

就 2 个品种而言, 烟农 19 响应非常强烈, 而扬麦 16 只检测到类似趋势, 也再次证实此目标臭氧浓度对烟农 19 PS II 造成损伤明显大于对扬麦 16 PS II 的损伤. 结合收获期实测的干物质质量来看, 烟农 19 和扬麦 16 分别损失 11% 和 8%, 两者均未有显著差异, 但从产量数据来看, 烟农 19 的子粒产量较对照下降 17.6%, 扬麦 16 下降 14.2%, 而千粒重的下降比例分别为 24.2% 和 12.4%, 均达到统计显著差异 (数据待发表). 这与光合损伤结果是一致的.

## 4 结论

(1) 臭氧对小麦的损伤具有累积作用, 在处理至 27 d 左右, 2 个品种的大多参数相对于对照变化未达到统计显著, 但处理时间达到 35 d 时, 各参数就有较显著的变化, 特别是烟农 19. 因此应进一步探讨更长时间的处理效应.

(2) 臭氧对 2 不同耐性品种损伤差异明显, 应进一步探讨敏感与耐性品种在机制上的区别, 为今后选育品种提供理论依据.

致谢: 感谢南京师范大学陆长梅副教授在试验过程中提供的帮助.

## 参考文献:

- [1] IPCC. Climate Changes 2001: the scientific basis. Contribution of working group I to the third assessment report of the intergovernmental panel on climate change [M]. Cambridge, UK/New York, USA: Cambridge University Press, 2002: 239-287.
- [2] Vingarzan R. A review of surface ozone background levels and trends [J]. Atmos Environ, 2004, **38**(21): 3431-3442.
- [3] 李莉, 陈长虹, 黄成, 等. 长江三角洲地区大气  $\text{O}_3$  和  $\text{PM}_{10}$  的区域污染特征模拟[J]. 环境科学, 2008, **29**(1): 237-245.
- [4] Darral N M. The effect of air pollutants on physiological processes in plants[J]. Plant Cell Environ, 1989, **12**(1): 1-30.
- [5] Feng Z Z, Yao F F, Chen Z, et al. Response of gas exchange and yield components of field-grown *Triticum aestivum* L. to elevated ozone in China[J]. Photosynthetica, 2007, **45**(3): 441-446.
- [6] Sanders G E, Coils J J, Clark A G. Physiological changes in *Phaseolus vulgaris* in response to long-term ozone exposure[J]. Ann Bot, 1992, **69**: 123-133.
- [7] Calatayud A, Ramirez J W, Iglesias D J, et al. Effects of ozone on photosynthetic  $\text{CO}_2$  exchange, chlorophyll a fluorescence and antioxidant systems in lettuce leaves[J]. Physiol Plant, 2002, **116**(3): 308-316.
- [8] Kangasjarvi J, Talvinen J, Utriainen M, et al. Plant defense systems induced by ozone[J]. Plant Cell Environ, 1994, **17**(7): 783-794.
- [9] 金明红, 冯宗伟, 张福珠. 臭氧对水稻叶片膜脂过氧化和抗氧化系统的影响[J]. 环境科学, 2000, **21**(3): 1-5.
- [10] Pelloux J, Jolivet Y, Fontaine V, et al. Changes in Rubisco activase gene expression and polypeptide content in *Pinus halepensis* M. subjected to ozone and drought[J]. Plant Cell Environ, 2001, **24**(1): 123-131.
- [11] Booker F L. Influence of ozone on ribonuclease activity in wheat (*Triticum aestivum*) leaves[J]. Physiol Plant, 2004, **120**(2): 249-255.
- [12] Li P, Mane S P, Sison A A, et al. Effects of chronic ozone exposure on gene expression in *Arabidopsis thaliana* ecotypes and in *Thellungiella halophila* [J]. Plant Cell Environ, 2005, **29**(5): 854-868.
- [13] 白月明, 郭建平. 臭氧对水稻叶片伤害、光合作用及产量的影响[J]. 气象, 2001, **27**(6): 17-21.
- [14] 谢居清, 郑启伟, 王效科, 等. 臭氧对原位条件下水稻叶片光合、穗部性状及产量构成的影响[J]. 西北农业学报, 2006, **15**(3): 27-30.
- [15] 郑启伟, 王效科, 冯兆忠, 等. 用旋转布气法开顶式气室研究臭氧对水稻生物量和产量的影响[J]. 环境科学, 2007, **28**(1): 170-175.
- [16] Feng Z W, Jin M H, Zhang F Z, et al. Effects of ground-level ozone ( $\text{O}_3$ ) pollution on the yields of rice and winter wheat in Yangtze River delta[J]. J Environ Sci, 2003, **15**: 360-362.
- [17] Wang X K, Manning W, Feng Z W, et al. Ground-level ozone in China: Distribution and effects on crop yields[J]. Environ Pollut, 2007, **147**(2): 394-400.
- [18] 郑启伟, 王效科, 冯兆忠, 等. 臭氧和模拟酸雨对冬小麦气体交换、生长和产量的复合影响[J]. 环境科学学报, 2007, **27**(9): 1542-1548.
- [19] 姚芳芳, 王效科, 欧阳志云, 等. 臭氧胁迫下冬小麦物质生产与分配的数值模拟[J]. 应用生态学报, 2007, **18**(11): 2586-2593.
- [20] 冯兆忠, 王效科, 郑启伟, 等. 油菜叶片气体交换对  $\text{O}_3$  浓度和熏蒸方式的响应[J]. 生态学报, 2006, **26**(3): 823-829.
- [21] 王春乙, 白月明, 温民, 等.  $\text{CO}_2$  和  $\text{O}_3$  浓度倍增及复合效应对大豆生长和产量的影响[J]. 环境科学, 2004, **25**(6): 6-10.
- [22] Morgan P B, Bemacchi C J, Ort D R, et al. An in vivo analysis of the effect of season-long open-air elevation of ozone to anticipated 2050 levels on photosynthesis in soybean[J]. Plant Physiol, 2004, **135**: 2348-2357.
- [23] Guderian R. Emissions and ambient ozone concentration [A]. In: Guderian R (Ed). Air pollution by photochemical oxidants: formation, transport, control and effects on plants[C]. Berlin: Springer, 1985. 11-67.
- [24] Fuhrer J, Grimmer A G, Tschannen W, et al. The response of spring wheat (*Triticum aestivum*) to ozone at high elevations [J]. New

- Phytol, 1992, **121**(2): 211-219.
- [25] Degl' innocent i E, Guidi L, Soldatini G F. Effects of elevated ozone on chlorophyll a fluorescence in symptomatic and asymptomatic leaves of two tomato genotypes[J]. Biol Plantarum, 2007, **51**(2): 313-321.
- [26] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. Plant Physiol, 1949, **24**: 1-15.
- [27] Lichtenthaler H K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes [J]. Meth Enzymol, 1987, **148**: 350-382.
- [28] 薛应龙. 植物生理学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 111-117.
- [29] 薛应龙. 植物生理学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1985. 78-80.
- [30] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide [J]. J Exp Bot, 2000, **51**(345): 659-668.
- [31] Meyer U, Klöner B, Willenbrink J, et al. Effects of different ozone exposure regimes on photosynthesis, assimilates and thousand grain weight in spring wheat[J]. Agr Ecosyst Environ, 2000, **78**(1): 49-55.
- [32] Flowers M D, Fiscus E L, Burkey K O, et al. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and yield of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes differing in sensitivity to ozone [J]. Environ Exp Bot, 2007, **61**(2): 190-198.
- [33] Guidi L, Degl' innocent i E, Soldatini G F. Assimilation of CO<sub>2</sub>, enzyme activation and photosynthetic electron transport in bean leaves, as affected by high light and ozone[J]. New Phytol, 2002, **156**(3): 377-388.
- [34] Degl' innocent i E, Guidi L, Soldatini G F. Characterization of the photosynthetic response of tobacco leaves to ozone: CO<sub>2</sub> assimilation and chlorophyll fluorescence [J]. J Plant Physiol, 2002, **159**(8): 845-853.
- [35] Carrasco-Rodriguez J L, del Valle-Tascon S. Impact of elevated ozone on chlorophyll a fluorescence in field-grown oat (*Avena sativa*) [J]. Environ Exp Bot, 2001, **45**(2): 133-142.
- [36] Anderson J M. Photoregulation of the composition, function, and structure of thylakoid membranes [J]. Annu Rev Plant Physiol, 1986, **37**: 93-136.
- [37] Calatayud A, Barreno E. Response to ozone in two lettuce varieties on chlorophyll a fluorescence, photosynthetic pigments and lipid peroxidation[J]. Plant Physiol Biochem, 2004, **42**(6): 549-555.
- [38] Asada K. Radical production and scavenging in the chloroplasts[A]. In: Neil R B (Ed). Photosynthesis and the environment [C]. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1996. 123-150.
- [39] Godde D, Buchhold J. Effect of long term fumigation with ozone on the turnover of the D1 reaction center polypeptide of photosystem II in spruce (*Picea abies*) [J]. Physiol Plant, 1992, **86**(4): 568-574.
- [40] Endo T, Shikanai T, Takabayashi A, et al. The role of chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in photoprotection [J]. FEBS Lett, 1999, **457**(1): 5-8.
- [41] Thomas D J, Thomas J, Youderian P A, et al. Photoinhibition and light-induced cyclic electron transport in ndhB- and psaE- mutants of *Synachocystis* sp. PCC 6803 [J]. Plant Cell Physiol, 2001, **42**(8): 803-812.
- [42] Lehnher B, Mächler F, Grandjean A, et al. The regulation of photosynthesis in leaves of field-grown spring wheat (*Triticum aestivum* L., cv Albis) at different levels of ozone in ambient air [J]. Plant Physiol, 1988, **88**: 1115-1119.