

DOI: 10.5846/stxb202109132567

李丽, 吴若青, 李金玲, 王效科, 刘晓, 王超. 大气 O_3 浓度升高和模拟 N 沉降对黄豆光合、生物量和非结构性碳水化合物积累及分配的影响. 生态学报, 2022, 42(17): 7198-7209.

Li L, Wu R Q, Li J L, Wang X K, Liu X, Wang C. Effects of elevated O_3 concentration and nitrogen deposition on photosynthesis, accumulation and allocation of biomass and nonstructural carbohydrates in soybean. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(17): 7198-7209.

大气 O_3 浓度升高和模拟 N 沉降对黄豆光合、生物量和非结构性碳水化合物积累及分配的影响

李 丽^{1,2,3}, 吴若青^{1,2,4}, 李金玲^{1,2,4}, 王效科^{3,*}, 刘 晓^{1,2,4}, 王 超^{1,2,4}

1 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 南京 210037

2 南京林业大学竹类研究所, 南京 210037

3 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085

4 南京林业大学生物与环境学院, 南京 210037

摘要:为探究全球气候变化带来的大气臭氧(O_3)浓度升高和氮(N)沉降对黄豆气体交换、生物量和非结构性碳水化合物(NSCs)积累及分配的影响,利用开顶式气室(OTC)设置了2个 O_3 浓度(AA,正常大气;AA060,正常大气+60 $\mu g/m^3 O_3$)和2个施N梯度(对照;施N)并开展了相关实验。研究表明:(1)N沉降处理后叶片净光合速率(Pn)和气孔导度(Gs)显著提高了96.21%和83.77%,但是对黄豆各部位生物量的促进作用没有达到显著水平。N沉降处理后根系溶性糖和非结构性碳水化合物(NSCs)的比例显著下降了42.17%和38.95%,而叶片淀粉分配比增加了41.55%,豆粒和茎的可溶性糖含量分别提高了59.41%和95.29%。(2) O_3 浓度升高处理后叶片Gs增加了94.89%,Pn降低了2.34%。叶片、茎、根和豆粒的生物量在 O_3 处理后分别显著降低了38.14%、56.25%、66.67%和25.49%。豆粒的可溶性糖和淀粉含量和总NSCs分别显著下降了21.94%和49.65%和30.55%。 O_3 浓度升高后根系中淀粉总量的比例增加了56.21%。(3) O_3 和N沉降处理二者共同处理在叶片净光合速率、蒸腾速率、豆粒、茎、根系NSCs组分均具有显著交互作用,主要表现为拮抗作用。综上,中度N沉降提高了叶片光合作用,增加了对地上部分NSCs的分配而降低了对地下根系的分配; O_3 浓度升高抑制了黄豆生长和NSCs积累,但是相对增加了根系中淀粉总量的比例;N沉降一定程度上能够缓解 O_3 对光合和NSCs造成的损害,但未见对生物量下降存在类似效应。

关键词: 大气 O_3 ; N 沉降; 黄豆; 生物量; 气体交换; 非结构性碳水化合物

Effects of elevated O_3 concentration and nitrogen deposition on photosynthesis, accumulation and allocation of biomass and nonstructural carbohydrates in soybean

LI Li^{1,2,3}, WU Ruqing^{1,2,4}, LI Jinling^{1,2,4}, WANG Xiaoke^{3,*}, LIU Xiao^{1,2,4}, WANG Chao^{1,2,4}

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

2 Bamboo Research Institute, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

3 Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

4 College of Biology and the Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

Abstract: Rising concentrations of near surface ozone (O_3) has become a major pollutant in many areas of China. As a strong oxidizer, O_3 has been proved to have many negative effects on photosynthetic physiology and carbohydrate

基金项目:国家自然科学基金面上基金项目(31971509, 32171586); 国家自然科学基金青年基金项目(31700439); 城市与区域生态国家重点实验室开放基金项目(SKLURE 2021-2-3)

收稿日期: 2021-09-13; 采用日期: 2021-12-29

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: Wangxk@rcees.ac.cn

accumulation of plants. Meanwhile, the increase of nitrogen deposition (N) is also an environment factor with negative effects on plant growth. N deposition means the process by which N compounds in the atmosphere enter an ecosystem through abiotic ways. China has become one of the countries with the most serious N deposition in the world. Nonstructural carbohydrates (NSCs), composed of soluble sugar and starch, are known as important energy substance in plants and play an indispensable role in energy transport, respiration substrate and osmotic regulation. The difference in the amount of NSCs in different organs can reveal the distribution of photosynthates. The contents and proportions of NSCs can also directly reflect the nutrient supply situation under different situations. Furthermore, the dynamic change of NSCs is also able to reflect the response of plants to the temporal and spatial variation of the environment. Soybean (*Glycine Max* (Linn.) Merr.) is an important food crop over the world. Many studies have been carried out on the effects of individual N deposition or O₃ concentration increase on soybean yield but there are few studies focusing on their combined effects on soybean biomass, especially the accumulation and allocation of NSCs. It is still not clear whether there is an interaction between the O₃ and N deposition. In this paper, elevated O₃ concentration and N deposition were selected as the main research object. To explore the effects of elevated O₃ concentration and N deposition on gas exchange, biomass as well as nonstructural carbohydrate (NSCs) accumulation and allocation in soybean, this study uses Open top chamber (OTC), setting two O₃ concentrations of O₃(AA, normal atmosphere; AAO60. Normal atmosphere +60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ O₃) and two N application gradients (control; N addition) to carry out relevant experiments. A total of 6 Chambers were used with 3 as the control group and 3 as the O₃ treatment group. 5 repetitions were set for the control and treatment groups of N treatment in each chamber. The results show that: (1) The net photosynthetic rate (Pn) and stomatal conductance (Gs) of leaves were significantly increased by 96.21% and 83.77% after N deposition, but the positive effects of N deposition on biomass of soybean organs were not significant. The allocation ratio of soluble sugar and NSCs in roots decreased by 42.17% and 38.95%. The starch allocation ratio in leaves increased by 41.55% and the soluble sugar content of soybean and stem was increased by 59.41% and 95.29% after N deposition treatment, respectively. (2) After O₃ concentration treatment, leaf Gs increased by 94.89% and Pn decreased by 2.34%. The biomass of leaves, stems, roots and beans was significantly decreased by 38.14%, 56.25%, 66.67% and 25.49%, respectively after O₃ concentration treatment. The soluble sugar, starch and total NSCs in beans were significantly decreased by 21.94%, 49.65% and 30.55%, respectively. After O₃ concentration increased, the proportion of total starch in root system increased by 56.21%. (3) The combined treatment of O₃ and N deposition showed significant interactions on leaf net photosynthetic rate, transpiration rate, and NSCs components in beans, stems and roots, mainly presenting to be antagonistic. In summary, N deposition increased leaf photosynthesis and NSCs allocated to overground parts, but NSCs distributed to underground roots was decreased. Increasing O₃ concentration inhibited soybean growth and NSCs accumulation but increased the proportion of starch in root system. Significant interactions between two factors were observed as the N deposition can alleviate the damage caused by O₃ to photosynthesis and NSCs to a certain extent, but no similar effect on biomass decline was detected. This study helps understand the effects of N deposition, O₃ and their combined effects on the NSCs of soybean crops. This also helps to understand the internal mechanism of impacts, to scientifically assess the impact of climate change on crop quality and yield, and to provide data support for future decisions.

Key Words: atmospheric O₃; nitrogen deposition; soybean; biomass; gas exchange; nonstructural carbohydrates

氮(N)沉降是指大气中的含氮化合物通过非生物途径进入生态系统的过程,中国近百年来的 N 沉降通量 NH_x 和 NO_x 均呈上升趋势,从 1961 年至 2010 年,中国大陆 N 沉降速率增加了约 8 倍^[1],中国已成为世界 N 沉降集中最为严重的国家之一, N 沉降的增加已是一个不可避免的趋势。氮是植物形态建成的重要组分,也是光合呼吸代谢过程中的重要元素,但研究表明过多或过少的 N 均会对植物的生长产生负面作用,会影响植物生物量的分配策略^[2]。农作物产量和营养物质分配与人类的生活息息相关,因此,明确 N 沉降对农作物影响具有重要的科学意义。

臭氧(O_3)是氧的同素异形体,是一种强氧化剂,多分布于地表以上 20—40 km 的平流层,少部分存在于近地表的对流层中。高浓度的地表 O_3 已成为影响我国很多地区空气质量的主要污染物。 O_3 对植物的光合生理、碳水化合物积累与分配等方面存在诸多负面影响^[3-4]。我国于 2017 年发布的《中国环境状况公报》显示,京津冀和长三角地区从 2013 年至 2016 年, O_3 平均质量分数从 155 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 和 144 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 上升至 172 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 和 159 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 且这一数字仍在增长^[5]。2021 年 2 月 25 日国家生态环境部召开的“大气污染防治”的新闻发布会上指出“我国 O_3 浓度近年来总体呈缓慢上升态势”。 O_3 污染会造成农业减产、森林衰退,据估算, O_3 浓度平均每增加 1 单位将会使全国小麦减产 80.81 万吨,同时带来 6.17 亿元的利润损失^[6]。

植物光合作用的主要产物为碳水化合物,按照其存在形式的区别通常将其分为结构性碳水化合物(SCs)和非结构性碳水化合物(NSCs)。SCs 主要包括木质素、纤维素等用于植物形态建成的组分。NSCs 由可溶性糖和淀粉等组成,参与了植物大部分的生命活动。可溶性糖是植物体内重要的能源物质,担当了植物体内能量运输、呼吸底物、渗透调节等重要作用^[7]。淀粉是多糖的一种,以葡萄糖为单元,是植物体内主要的能源储存物质,在植物组织中可由蔗糖合成而来或水解为蔗糖^[8-9]。植物体可以通过降解淀粉获得可溶性糖的方式能有助于植物进行渗透调节^[10]。不同植物在 O_3 和 N 沉降胁迫下常表现出不同的应对策略, O_3 浓度的增加会逐渐降低杨树(*Populus nigra*)叶片中 NSC 总量,增加总可溶性糖及其组分的含量^[7];而闽楠(*Phoebe bournei*)叶片中可溶性糖和淀粉含量则在 O_3 熏蒸下发生了显著的提升^[11],对金光菊(*Rudbeckia laciniata* L.)的研究也显示了淀粉对 O_3 胁迫的敏感性^[12]。N 沉降对植物 NSC 的积累通常表现为正面影响,也会趋向于将 NSC 分配至根与叶这类生理活动较为活跃的器官,在对水稻(*Oryza sativa* L.)^[13]、玉米(*Zea mays* Linn.)^[14]等众多植物的研究中均体现出了 N 沉降对植物 NSCs 积累的促进作用,而 N 沉降超过一定强度时会对芒萁(*Dicranopteris dichotoma*)和淡竹叶(*Lophatherum gracile*)等植物的 NSCs 积累存在负面影响^[15]。NSCs 在植物体内的含量和各部位比例能够直观地反应植物的养分供应状况,不同部位 NSCs 量的差异能够揭示植物体内光合产物的分配规律,且 NSCs 的动态变化能够体现植物对于环境时空变化的响应^[9,16]。

黄豆(*Glycine max*(Linn.) Merr.)是我国重要的粮食作物,目前对于单独的 N 沉降和 O_3 浓度升高对黄豆的产量的影响以及开展了较多研究^[17],但是对于在 N 沉降和 O_3 浓度升高共同作用下黄豆的生物量尤其是体内 NSCs 积累和分配的变化研究较少,对于 N 沉降和 O_3 浓度升高二者是否存在交互作用,以及可能的作用方向和结果这一问题,目前尚不明确。因此,开展此项研究有助于理解和明确 N 沉降、 O_3 及二者同时存在以及可能的交互作用对黄豆作物主要 NSCs 的影响,有助于科学评估气候变化对农作物质量和产量的影响,能够为未来相关决策的制定提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 实验地概况

研究地设在北京市昌平区种子管理站(40°12'N, 116°8'E),该站位于北京市西北部,处在温带季风区,属暖温带大陆性季风气候,全年四季分明,雨热同期,年均降水量为 550.3 mm,雨量集中在 6—8 月份,年均温为 11.8℃,年均日照时数为 2694 h,无霜期为 20 d 左右^[18]。土壤的有机质含量为 16.4 g/kg,全氮 0.9 g/kg,速效钾 102.1 mg/kg,速效磷 38.1 mg/kg, pH 8.3,基质类型为潮土,质地为砂壤。

1.2 实验开顶式气室和实验设置

开顶式气室(Open top chamber, OTC)材料为 85%透光率的阳光板,形状为直径 2 m 和高 3 m 的圆柱体,顶部部分采用收口设计,最顶端用透明挡板来防止雨水进入,OTC 内外气体自由流通,每个 OTC 周围挖有 25 cm 宽和 75 cm 深的水沟,以防止外部雨水进入。实验 O_3 的产生利用医用纯 O_2 放电反应产生,通过质量流量计控制进入 O_3 发生器的氧气的量来控制 OTC 内 O_3 浓度。具体监测过程为将从 O_3 发生器产生的 O_3 与来自离心风机的空气混合后,利用旋转顶吹布气方法进入到 OTC。利用 O_3 分析仪和可编程逻辑控制器(PLC)来监测 OTC 内的实时 O_3 浓度,同时记录在数据采集器,并通过实时 O_3 浓度数据和质量流量计调整 OTC 内

O₃ 浓度。本实验设置 2 个 O₃ 浓度梯度和两个 N 处理梯度, 实验设计如图 1 所示, 处理分别是: 大气 O₃ 浓度 (环境背景大气 O₃ 浓度, 45—60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) (低浓度, AA)、大气 O₃ 浓度+N 沉降处理 (AAN, 以下简称“N 沉降”)、大气+ 60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ O₃ (中浓度, AA60) 和大气+ 60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ O₃+N 沉降处理 (AAN60) 每个处理 5 至 6 个重复。N 沉降处理通过施氮肥来实现, 依据对我国 N 沉降分布以及趋势的分析结果^[19], 选择一个中度强度 N 沉降水平, 经换算后将 0.75 g 氮肥 (N15—P15—K15) 溶于 1000 mL 水中, 每周每盆施肥一次, 对照施加等量的清水。每 3 个 OTC 一个 O₃ 浓度, 本实验两个 O₃ 浓度, 共 6 个 OTC。每个 OTC 内均匀放置黄豆 10 盆, 每盆实验期间保证盆栽供水充足。O₃ 熏蒸从 2019 年 6 月 12 日开始, 每天进行熏蒸的时间为 8:00—17:00 (共 9 小时), 在下雨天和阴天停止熏蒸, 于 2019 年 8 月 22 日停止实验, 除阴雨天停止 O₃ 熏蒸, 实验期间一共熏蒸 33 天, 熏蒸实验期间当地 8:00—17:00 环境大气 O₃ 均值为 (44±13) $\mu\text{g}/\text{m}^3$, AA+60 处理后 O₃ 值为 (118±16) $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 满足实验处理的要求。

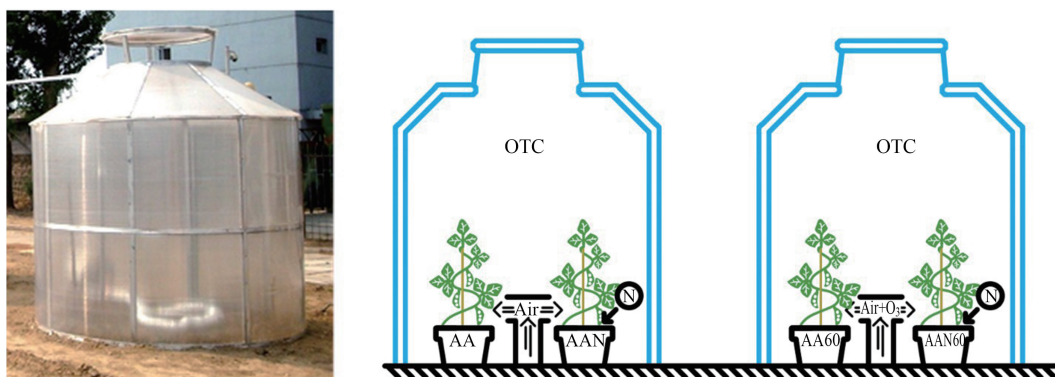


图 1 实验设计示意图

Fig.1 Schematic diagram of experiment design

AA: 环境背景大气 O₃ 浓度 Environment Background Atmospheric O₃ concentration; AAN: 大气 O₃+氮处理 Atmospheric O₃+Nitrogen Treatment; AA60 大气 O₃+60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ O₃ Atmospheric O₃+60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ O₃; AAN60: 大气 O₃+氮处理+60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ O₃ Atmospheric O₃+Nitrogen Treatment+60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ O₃; OTC: 开顶式气室 Open top chamber,

1.3 实验材料

实验材料选择的是市场上常见的台湾 292 黄豆 (*Glycine max* (Linn.) Merr.), 特点是生长快、早熟品种, 65—70 d 左右成熟, 平均产量 600—900 kg/666.7 m²。于 5 月 30 日播种, 待发芽后于 6 月 10 日选择长势一致的幼苗进行分装缓苗, 每个处理设置 10 盆重复, 6 月 12 日放入各 OTC 开始熏蒸实验。

1.4 数据采集

于 2019 年 7 月和 8 月月中选择晴朗的日期, 利用便携式光合仪 (LI-6400, Li-Cor, Lincoln, USA), 配置标准叶室对标记叶 (植株从下往上数的第 2 片和第 4 片叶子) 进行净光合速率 (Pn, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)、气孔导度 (Gs, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)、胞间二氧化碳浓度 (Ci, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$)、蒸腾速率 (E, $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) 指标的测定。在生长末期, 每个处理随机选取 4 盆, 将叶、茎、根、豆粒分别收获, 用清水洗净后, 在 105℃ 下杀青 15 min, 并在 70℃ 下烘干 24 h。将各个部位干样用研钵磨碎后放入低温冰箱待测。

NSCs 的测定采用蒽酮比色法, 称取 0.15 g 磨好的样品与离心管中, 加入 5 mL 蒸馏水, 放入恒温水浴锅 100℃ 煮沸 20 min。放入离心机 13000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液于 50 mL 容量瓶中, 后再加入 5 mL 蒸馏水重复上述步骤, 重复 2 次后定容并摇匀, 吸取 0.5 mL 于试管中, 加入 1.5 mL 蒸馏水, 加入 5 mL 的 2% 蒽酮硫酸试剂, 于 80℃ 恒温水浴锅中煮沸 10 min, 取出后迅速放入水中冷却至室温, 使用紫外分光光度计测定在 460 nm 下的吸光度, 并用葡萄糖配置标准曲线, 经比对获得可溶性糖含量。

在离心后的残渣中加入 7.5 mL 30% 的高氯酸, 摇匀后静置 12 h, 放入恒温水浴锅 80℃ 煮沸 10 min, 放

入离心机 13000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液于 50 mL 容量瓶中, 加蒸馏水定容至 50 mL, 吸取 0.5 mL 于试管中, 加入 1.5 mL 蒸馏水, 加入 5 mL 2% 蒽酮硫酸试剂, 于 80℃ 恒温水浴锅中消煮 10 min, 取出后迅速放入水中冷却至室温, 使用紫外分光光度计测定在 460 nm 下的吸光度, 并用葡萄糖配置标准曲线, 经比对获得淀粉含量。

1.5 数据分析

数据使用 SPSS 22.0 软件进行双因素方差分析, 并使用 LSD 模式进行多重比较, 在 $P \leq 0.05$ 时认为处理间具有显著性差异。获得分析结果后, 使用 Sigmaplot 14.0 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 施氮和 O_3 对黄豆气体交换的影响

实验结果表明, 与对照相比, N 处理后叶片净光合速率(Pn)显著提高了 96.21%, 而 O_3 处理显著降低了叶片的 Pn, 降低了 2.34%。两个处理共同存在时对 Pn 有显著的交互作用, 表现为处理缓解了 O_3 造成的下降, 但是减弱了 N 沉降引起的 Pn 值升高(图 2)。

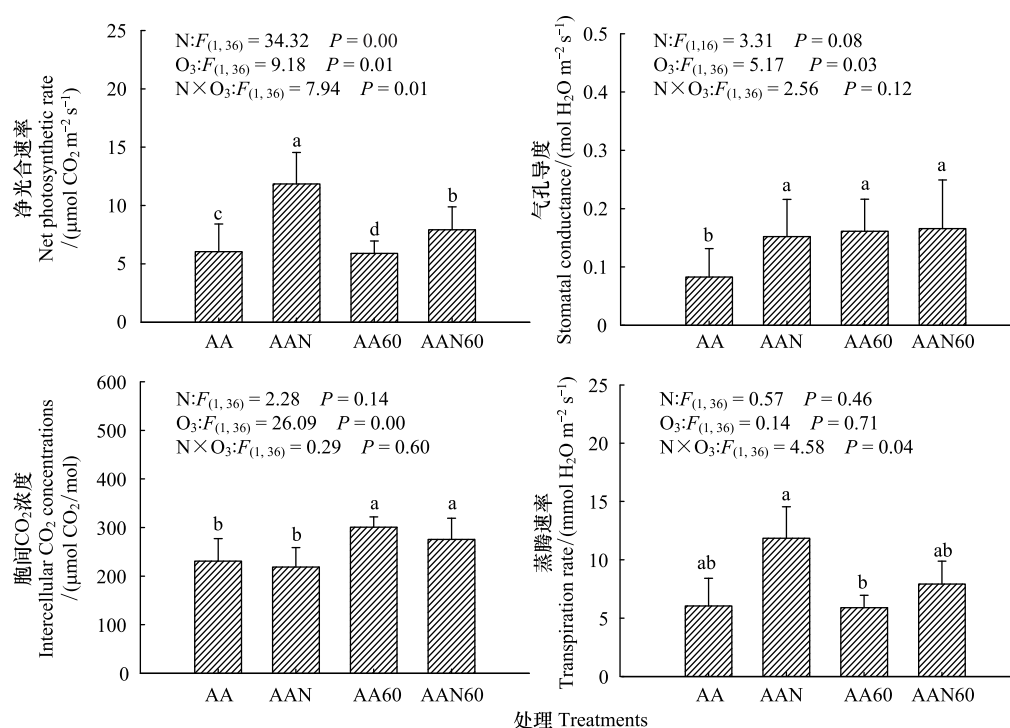


图 2 O_3 浓度升高和 N 沉降对黄豆种子净光合速率、气孔导度、胞间二氧化碳浓度和蒸腾速率的影响

Fig.2 Effects of elevated O_3 and N deposition on net photosynthetic rate(Pn), stomatal conductance(G_s), intercellular CO_2 concentration(Ci) and transpiration rates of leaves(E)

N: 大气 N 沉降增加处理 Nitrogen deposition increase effect; O_3 : 大气 O_3 浓度升高处理 O_3 concentrations increase effects; $N \times O_3$: 大气 N 沉降增加和大气 O_3 浓度升高共同处理 Simultaneous of nitrogen deposition and O_3 concentrations increase treatment; 柱子上的小写字母代表处理间多重比较结果在 $P \leq 0.05$ 水平上显著

叶片气孔导度(G_s) 在 O_3 处理后显著增加, 与对照相比增加了 94.89%。N 沉降和 O_3 处理二者共同存在未发现对 G_s 存在有显著的交互作用(图 2)。

大气 O_3 浓度升高处理后叶片胞间二氧化碳浓度(Ci) 显著升高了 30.24%, 未发现显著的交互作用(图 2)。

叶片蒸腾速率(E) 表现出与 Pn 相似的趋势, 但是单独处理的差异均未达到显著水平。二者共同处理

存在显著的交互作用, 依然表现为共同处理缓解了 O₃ 造成的 E 下降, 但是减弱了 N 沉降引起的升高(图 2)。

2.2 O₃ 浓度升高和 N 沉降对黄豆生物量的影响

结果表明, N 沉降对黄豆各部位生物量的积累具有促进作用, 但都没有达到显著水平。而 O₃ 浓度的增加显著降低了叶片、茎、根和豆粒的生物量, 相比对照组, 叶片、茎、根和豆粒的生物量分别显著降低了 38.14%、56.25%、66.67% 和 25.49%。总生物量在 O₃ 熏蒸处理后, 相比对照组下降了 36.88%。未见显著交互作用(表 1)。

表 1 O₃ 浓度升高和 N 沉降对黄豆生物量影响

Table 1 Effects of elevated O₃ and N deposition on soybean biomass

处理 Treatments	叶片 Leaf/g	茎 Stem/g	根 Root/g	豆粒 Soybean/g	总生物量 Total biomass/g
AA	2.36±0.75ab	2.72±1.19ab	0.39±0.13ab	6.08±0.99ab	11.55±1.61b
AAN	2.98±0.98a	3.45±1.26a	0.45±0.18a	7.28±1.37a	14.16±3.06a
AA60	1.46±0.17b	1.19±0.12c	0.13±0.02c	4.51±0.45c	7.29±0.48c
AA60N	1.74±0.28b	1.59±0.19bc	0.17±0.02c	5.26±0.51bc	8.76±0.38c
P _N	0.26	0.29	0.42	0.10	0.08
P _{O₃}	0.02 **	0.01 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **
P _{N×O₃}	0.65	0.75	0.86	0.69	0.59

AA: 环境背景大气 Ambient air; AAN: 环境背景大气+氮沉降 Ambient air+Nitrogen deposition increase; AA60: 环境背景大气+60 μg/m³ O₃ Ambient air +60 μg/m³ O₃; AAN60: 环境背景大气+氮处理+60 μg/m³ O₃ Ambient air+Nitrogen deposition +60 μg/m³ O₃; P_N: 氮沉降增加处理方差分析的 P 值 P value of nitrogen deposition increase treatment effect; O₃: P_{O₃}: O₃ 浓度增加处理方差分析的 P 值 P value of O₃ concentration increase effect; P_{N×O₃}: P value of the simultaneous of nitrogen deposition increase and O₃ concentration increase effect; 数字后的不同小写字母表示同一器官不同处理间多重比较差异显著 (P≤0.05); 数字右上角“*”表示方差分析结果 P≤0.05, “**”表示方差分析结果 P≤0.01

2.3 O₃ 浓度升高和 N 沉降对黄豆 NSCs 组分含量的影响

2.3.1 豆粒

结果表明, 豆粒可溶性糖和总 NSCs 在 N 沉降处理后显著提升了 59.41% 和 35.86%。O₃ 处理显著降低了 21.94% 的可溶性糖和 49.65% 的淀粉(图 3), 因此总 NSCs 在 O₃ 处理下同样显著下降了 30.55%。O₃ 和 N 沉降处理二者共同处理对于可溶性糖和总 NSCs 含量存在显著的交互作用, 交互作用表现为缓解了 O₃ 造成的下降, 其中可溶性糖的下降减少为 14.43%, 总 NSCs 的下降作用也降低至 27.88%(图 3)。

2.3.2 叶片

N 沉降和 O₃ 浓度升高对叶片可溶性糖和 NSCs 均无显著影响(图 4)。而 O₃ 浓度升高处理后黄豆叶片的淀粉含量显著下降了 5.31%。在黄豆叶片中, N 沉降和 O₃ 处理二者之间未发现显著的交互作用(图 4)。

2.3.3 茎

N 沉降和 O₃ 浓度升高单独作用未对茎淀粉含量产生显著影响(图 5)。N 沉降处理使黄豆茎的可溶性糖和总 NSCs 分别显著上升了 95.29% 和 35.32%, 但 O₃ 处理使黄豆茎的糖和总 NSCs 含量显著下降了 58.83% 和 36.46%, 对茎淀粉含量未造成显著影响。二者共同处理对茎可溶糖和淀粉含量均存在显著的交互作用, 表现为缓解了 N 沉降和 O₃ 浓度升高导致的淀粉含量下降(图 5)。

2.3.4 根

N 沉降未对黄豆根系 NSCs 产生显著影响。但 O₃ 对可溶性糖和总 NSCs 含量造成了显著的负面影响, 使其含量分别下降了 66.21% 和 50.34% (图 6)。二者共同作用未发现对根系 NSCs 含量存在明显交互作用(图 6)。

2.4 O₃ 浓度升高和 N 沉降处理对 NSCs 组分在黄豆各器官分配率的影响

2.4.1 各器官可溶性糖总量的分配率

N 沉降处理显著降低了根系溶性糖的分配, 与对照相比, 其比例显著下降了 42.17%, 对其它部分总可

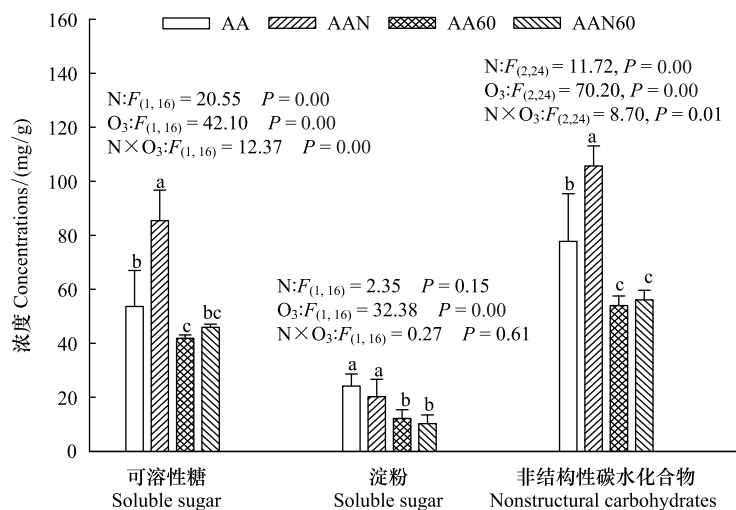


图3 O₃浓度升高和N沉降对黄豆豆粒可溶性糖、淀粉以及非结构性碳水化合物的影响

Fig.3 Effects of elevated O₃ and N deposition on soluble sugar, starch and nonstructural carbohydrates (NSCs) of soybean beans

柱子上的不同字母表示不同处理间多重比较差异显著 ($P \leq 0.05$)

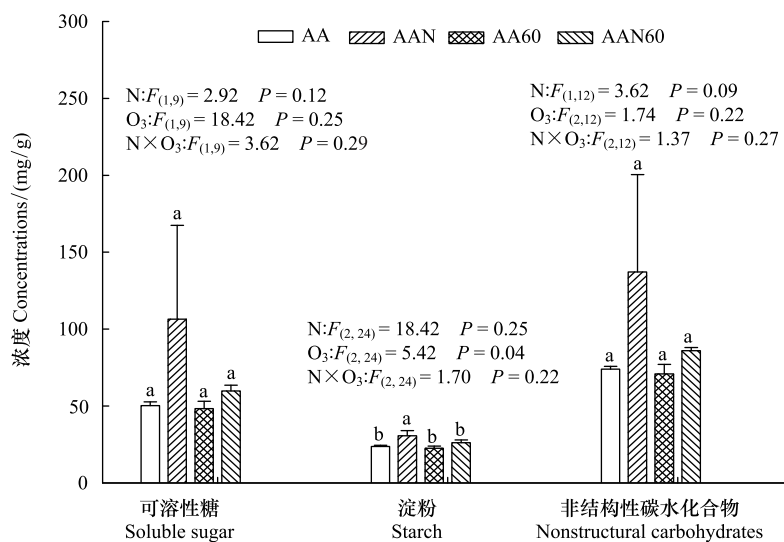


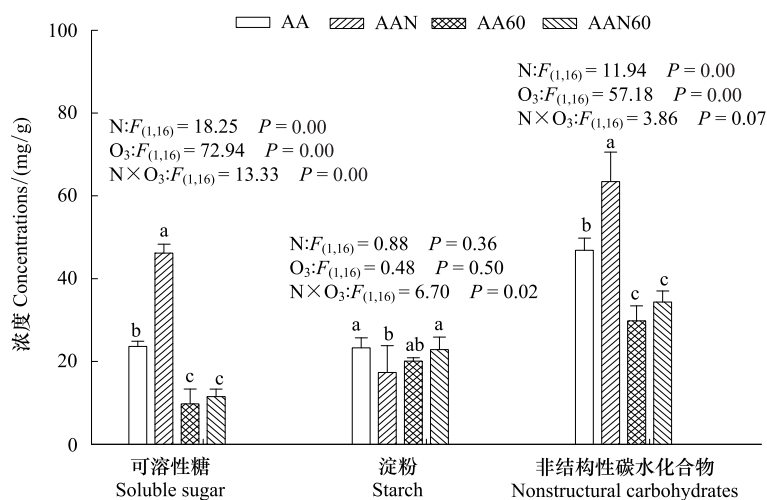
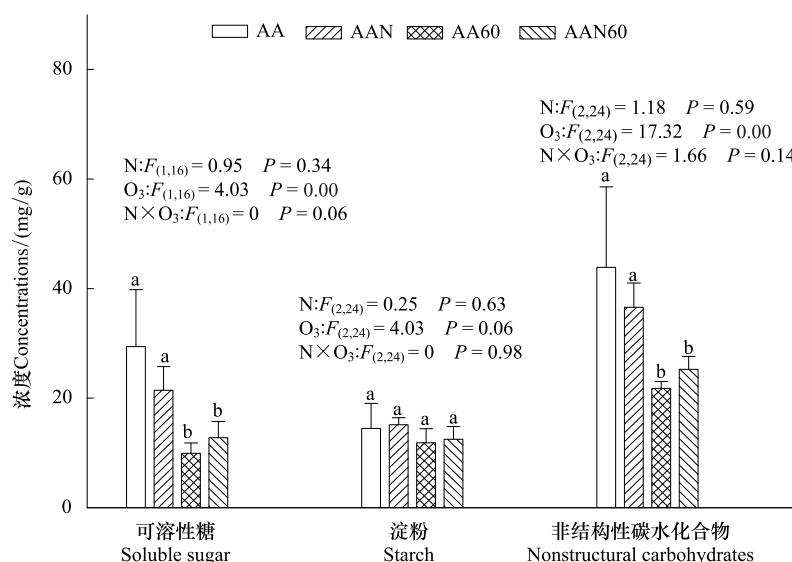
图4 O₃浓度升高和N沉降对黄豆叶片可溶性糖、淀粉和非机结构性碳水化合物的影响

Fig.4 Effects of elevated O₃ and N deposition on soluble sugar, starch and nonstructural carbohydrates (NSCs) of leaves

溶性糖在全株的百分比无显著影响(表2)。O₃使茎中可溶性糖总量比例显著下降了69.07%。同时,O₃和N沉降的共同处理对根系的可溶性糖比例具有显著的交互作用,二者共同作用提高了根系可溶性糖的比例,比单独的O₃处理上升了4.80%(表2)。各处理对豆粒中可溶性糖的分配率未见显著变化。

2.4.2 淀粉在各器官的百分比

N沉降处理后,叶片淀粉总量占植株淀粉总量的比例显著增加,增加了41.55%。同时,O₃显著增加了根系中淀粉总量的比例,增加了56.21%(表3)。O₃和N沉降对茎中淀粉的百分比产生了显著的交互作用,二者共同处理相比减轻了单独的O₃和N处理的下降作用(表3)。各处理对豆粒中淀粉的分配率未见显著变化。

图5 O₃ 浓度升高和 N 沉降对黄豆茎可溶性糖、淀粉和非结构性碳水化合物 (NSCs) 的影响Fig.5 Effects of elevated O₃ and N deposition on soluble sugar, starch and nonstructural carbohydrates (NSCs) of soybean stem图6 O₃ 浓度升高和 N 沉降对根可黄豆溶性糖、淀粉和非结构性碳水化合物 (NSCs) 的影响Fig.6 Effects of elevated O₃ and N deposition on soluble sugar, starch and nonstructural carbohydrates (NSCs) of soybean root

2.4.3 NSCs 在各器官中的百分比

N 沉降减少了 NSCs 向根系的分配, 减少的比例为 38.95%。O₃ 处理降低了茎中 NSCs 的百分比, 降低的比例为 51.14%。O₃ 和 N 沉降两个处理对根系 NSCs 分配具有显著的交互作用, 二者共同处理缓解了对根系 NSCs 的下降作用 (表 4)。各处理对豆粒中 NSCs 的分配率未见显著变化。

3 讨论

3.1 O₃ 处理对黄豆叶片光合、植株生物量和 NSCs 含量和分配的影响

O₃ 是一种强氧化剂, 在通过气孔被植物体吸收之后, 对植物光合生理所需的膜结构及相关酶造成伤害, 从而对植物的光合生理产生损伤, 进而影响光合产物的合成^[4]。O₃ 对植物光合的影响通常分为气孔限制和非气孔限制, 在本研究中, 气孔导度、蒸腾速率以及胞间二氧化碳浓度均在 O₃ 处理后发生了显著的提高, 且

表 2 O₃浓度升高和 N 沉降对可溶性糖在各器官分配率的影响Table 2 Effects of elevated O₃ and N deposition on soluble sugar allocations proportions among all organs

处理 Treatments	器官 Organs			
	豆粒 Bean	茎 Stem	叶 Leaf	根 Root
AA	65.60±16.40a	0.97±0.49a	14.46±0.73a	18.97±6.68a
AAN	68.97±9.09a	1.18±0.03a	20.95±12.00a	8.90±1.80b
AA60	74.60±2.16a	0.30±0.07b	14.12±1.35a	10.97±2.07b
AAN60	71.02±3.59a	0.34±0.11b	16.76±1.07a	11.88±2.79b
P _N	0.96	0.27	0.27	0.02 *
P _{O₃}	0.21	0.00 **	0.58	0.17
P _{N×O₃}	0.44	0.54	0.63	0.01 **

表 3 O₃浓度升高和 N 沉降对淀粉在各器官分配率的影响Table 3 Effects of elevated O₃ and N deposition on starch allocations proportions among all organs

处理 Treatments	器官 Organs			
	豆粒 Beans	茎 Stem	叶 Leaf	根 Root
AA	63.66±11.69a	2.05±0.25a	14.68±0.47b	19.96±6.31b
AAN	56.07±17.99ab	1.53±0.22bc	20.78±2.21a	21.63±1.79b
AA60	51.69±13.79ab	1.48±0.48c	15.65±1.03b	31.18±6.83a
AAN60	44.61±6.52b	1.92±0.07b	20.74±1.41a	32.73±6.17a
P _N	0.24	0.77	0.00 **	0.53
P _{O₃}	0.07	0.57	0.60	0.00 **
P _{N×O₃}	0.97	0.00 **	0.57	0.98

表 4 O₃浓度升高和 N 沉降对非结构性碳水化合物 (NSCs) 在各器官分配率的影响Table 4 Effects of elevated O₃ and N deposition on nonstructural carbohydrates (NSCs) allocations proportions among all organs

处理 Treatments	器官 Organs			
	豆粒 Beans	茎 Stem	叶 Leaf	根 Root
AA	64.87±14.76a	1.31±0.30a	14.53±0.34a	19.28±6.45a
AAN	72.01±4.65a	1.37±0.06a	13.79±9.67a	11.77±1.42b
AA60	67.08±4.44a	0.64±0.15b	15.51±1.25a	16.95±0.99a
AAN60	63.35±1.72a	0.75±0.08b	18.78±0.45a	17.34±1.63a
P _N	0.69	0.54	0.16	0.03 *
P _{O₃}	0.89	0.00 **	0.64	0.31
P _{N×O₃}	0.50	0.39	0.63	0.02 *

净光合速率出现下降,由此可以得出 O₃对黄豆得影响主要为非气孔限制的结论^[19],非气孔限制在对油菜 (*Brassica napus*)^[20]、梓树 (*Catalpa ovata*)^[21]、冬小麦 (*Triticum aestivum* L.)^[18,22-23]、白桦 (*Betula platyphylla*)^[24]等的研究中均有体现,非气孔限制可能的原因是叶绿素分解、酶失活和衰老等^[25]。实验中叶片气孔导度在 O₃浓度升高处理后出现显著增加,可能的原因是高浓度 O₃的强氧化和毒害作用导致气孔失活无法及时收缩,类似的结果在其它树木或作物中曾有报道^[26]。实验中在 O₃处理(90μg/m³左右)作用下叶片光合下降了降低了 2.34%,下降的程度相比较其它农作物较低,如水稻 (15.67%—27.26%)^[27],冬小麦 (19%)^[28],黄豆 (40—60 μg/m³, 10%)^[29],可能的原因与光合测量开展较早, O₃累积效应并未变得严重以及和补偿作用有关。其它各器官对于叶片的补偿作用,表现为在实验后期叶片 NSCs 含量并未发生变化 (图 4),这对于 O₃不利影响产生了抵消作用。但是,由于 O₃的强氧化性对叶片具有显著早衰作用,处理后黄豆植株的叶片提前变黄凋落因而叶片数量和重量 (表 1) 相比于对照显著减少,所以 O₃浓度升高对植株整体光合造成的下降程度要大于对单叶的光合的下降。

O₃浓度升高导致农作物产量下降已经开展了大量的研究,产量的下降与叶绿素含量下降、光合速率下

降、叶片数量减少、叶面积变化和碳水化合物积累减少有关^[17,28]。本研究中发现 N 沉降对黄豆各部位生物量的积累具有促进作用但都没有达到显著水平。但由于碳水化合物积累的受限, O₃ 浓度升高后总生物量下降了 36.88%, 而豆粒生物量下降了 25.49%, 根系和茎的下降远大于豆粒, 这个结果与 Morgan 等在 2003 年的 Meta 分析文献的结果(总生物量下降 38%, 豆粒产量下降 24%)相似^[17], 可能的解释是逆境条件中, 一年生植物对于环境适应的结果是趋向于消耗更多的根系和茎中的碳水化合物, 而相对将营养物质更多的分配和保存到种子中, 以提高下一代的生存率^[30-31]。

非结构性碳水化合物是植物体内重要的能量储存和物质运输成分。非结构性碳水化合物在植物各部位的储量、分配状况可以用来指示植物体自身在不同环境条件下的碳供应和需求^[32]。实验结果显示 O₃ 处理后, 除茎和根系表现为淀粉无显著变化外, 豆粒和叶片淀粉的下降程度要大于可溶性糖(图 3—6), 可能的解释是一般认为, 在逆境胁迫下, 植物趋向于将 NSCs 更多分配至营养器官。黄豆作为一年生植物, 其根系和茎的生理功能并不是植株用于储存的器官, 而相对于豆粒和叶片是直接进行存储和光合作用的器官, 所以器官中淀粉可能转化成可溶性糖用于直接的供应能量以维持正常光合、修复 O₃ 损伤以及提高叶片以及下一代的抗性, 这一补偿作用与对多个品种的小麦^[33]、油菜^[21]和大豆(*Glycine max* (Linn.) Merr.)^[34]研究的结果一致。与叶片和豆粒结果不同的是, O₃ 处理后根系和茎秆中可溶性糖含量显著下降而淀粉含量未见显著差异, O₃ 显著提高了根系中淀粉总量占植株的比例(表 3), 可能的原因是根和茎本身生物量下降较为严重, 实验末期相比于其它器官, 没有足够的淀粉可进行额外的运输和转化, 同时也可能转化运输过程受阻^[35]。

3.2 N 沉降处理对黄豆叶片光合、植株生物量和 NSCs 含量和分配的影响

N 是蛋白质合成的必要成分, 作为植物生长的必要元素, N 的增加能够为植物提供光合色素以及其他酶的合成原料, N 沉降对植物生物量、非结构性碳水化合物含量的影响多为正面促进。N 沉降处理显著增加了叶片、茎和豆粒的可溶性糖和总 NSCs 含量, 这一结果与对纳塔栎(*Quercus nuttallii*)^[36]、红砂(*Reaumuria soongorica*)^[37]、茶树(*Camellia sinensis*)^[38]等植物的研究结果相符。一般认为, N 的添加会驱使植物将更多的生长重心从地下转移至地上, 减少根冠的生物量和 NSCs 比。本研究结果也表明, N 处理显著增加了叶片的淀粉含量、增加了叶片淀粉总量占植株淀粉总量的比例(图 4, 表 3, 表 4), 降低了根的可溶性糖占全株的百分比, 这与对夏腊梅(*Sinocalycanthus chinensis*)^[39]、羊草(*Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng)^[40]等研究的结果相似, 是 N 沉降有利于地上部分 NSCs 积累的体现。

3.3 N 与 O₃ 的交互作用对黄豆叶片光合、植株生物量和 NSCs 含量和分配的影响

O₃ 与 N 沉降的交互作用对植物生理的影响目前研究较少, 且由于植物之间的种间差异, O₃ 与 N 沉降之间究竟是拮抗还是协同作用依然存在争议, 首先 N 沉降的施肥作用能够利于植物光合作用与地上部分的生长, 这可能在一定程度上弥补了 O₃ 对植物光合系统的损害, 而 N 添加导致的高强度光合带来的气孔导度增加有可能会加剧植物叶片对 O₃ 的吸收, 高强度光合也意味着对水分更多的需求, 而 O₃ 熏蒸带来的对气孔控制的负面作用则可能会让植物无法通过蒸腾作用获得足够的水分从而加剧 O₃ 的损害, 具体交互作用是否存在, 存在的方向除了与植物本身的特点有关, 也取决于 O₃ 和 N 沉降两个因素处理的强度和作用时间。本研究中, O₃ 和 N 沉降共同处理对于净光合速率、豆粒和茎的 NSCs 组分含量以及根系可溶性糖分配率、茎中淀粉和根系 NSCs 的分配率等均有显著的交互作用, 表现为 N 沉降处理对以上指标所受到的来自 O₃ 的损害均有缓解的作用, 这与对青杨(*Populus cathayana*)^[41]的研究结果一致。

4 结论

(1) O₃ 使各黄豆茎和豆粒的淀粉以及根的可溶性糖含量发生了显著下降, 并降低了黄豆豆粒产量的同时降低了全株的生物量。另一方面 N 添加趋向于增加地上部分的生物量并增加了叶片、茎和豆粒的可溶性糖以及总 NSCs 含量。

(2) O₃ 对 NSCs 的分配格局产生了影响, 降低了根系可溶性糖的占比并提高了叶片淀粉的占比, 趋向于

使 NSCs 从地下部分分配至叶以保证生长。

(3) N 沉降与 O₃ 存在部分显著的交互作用, N 沉降对于黄豆的非结构性碳水化合物及其组分含量在 O₃ 胁迫下受到的损害具有一定的缓解作用, 并进一步增加了可溶性糖从根向叶分配的比例。

致谢: 感谢北京市昌平种子管理站徐明站长、钟连全副站长和多年合作的白迎福对实验开展给予的帮助。

参考文献 (References):

- [1] 高冬冬, 丹利, 范广洲, 田汉勤, 彭静, 杨秀静, 杨富强, 李悦悦. 中国植被碳通量与氮沉降通量百年尺度时空变化及其与气候的关系. 中国科学: 地球科学, 2020, 50(5): 693-710.
- [2] 毛晋花, 邢亚娟, 闫国永, 王庆贵. 陆生植物生物量分配对模拟氮沉降响应的 Meta 分析. 生态学报, 2018, 38(9): 3183-3194.
- [3] Li L, Wang X K, Niu J F, Cui J, Zhang Q Q, Wan W X, Liu B J. Effects of elevated atmospheric O₃ concentrations on early and late leaf growth and elemental contents of *Acer truncatum* Bung under mild drought. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(1): 31-34.
- [4] 列淦文, 叶龙华, 薛立. 臭氧胁迫对植物主要生理功能的影响. 生态学报, 2014, 34(2): 294-306.
- [5] 中华人民共和国生态环境部. 2017 中国生态环境状况公报. (2019-04-09). http://www.gov.cn/guoqing/2019-04/09/content_5380689.htm.
- [6] 杨泳冰, 易福金, 胡浩. 农业环境对粮食生产收益的新挑战——以近地面臭氧污染下的冬小麦种植为例. 中国农村经济, 2016, (9): 72-82.
- [7] 周慧敏, 李品, 冯兆忠, 张殷波. 地表臭氧浓度升高与干旱交互作用对杨树非结构性碳水化合物积累和叶根分配的短期影响. 植物生态学报, 2019, 43(4): 296-304.
- [8] 高志英. 不同水分处理对冬小麦物质分配和可溶性碳水化合物含量的影响[D]. 开封: 河南大学, 2007.
- [9] Shi P L, Körner C, Hoch G. End of season carbon supply status of woody species near the treeline in western China. Basic and Applied Ecology, 2006, 7(4): 370-377.
- [10] Iannucci A, Russo M, Arena L, Di Fonzo N, Martiniello P. Water deficit effects on osmotic adjustment and solute accumulation in leaves of annual clovers. European Journal of Agronomy, 2002, 16(2): 111-122.
- [11] Chen Z, Shang H, Cao J X, Yu H. Effects of ambient ozone concentrations on contents of nonstructural carbohydrates in *Phoebe bournei* and *Pinus massoniana* seedlings in subtropical China. Water, Air, & Soil Pollution, 2015, 226(9): 310.
- [12] Neufeld H S, Peoples S J, Davison A W, Chappelka A H, Somers G L, Thomley J E, Booker F L. Ambient ozone effects on gas exchange and total non-structural carbohydrate levels in cutleaf coneflower (*Rudbeckia laciniata* L.) growing in Great Smoky Mountains National Park. Environmental Pollution, 2012, 160: 74-81.
- [13] Deng F, Wang L, Mei X F, Li S X, Pu S L, Ren W J. Polyaspartate urea and nitrogen management affect nonstructural carbohydrates and yield of rice. Crop Science, 2016, 56(6): 3272-3285.
- [14] Wu Y W, Zhao B, Li Q, Kong F L, Du L J, Zhou F, Shi H C, Ke Y P, Liu Q L, Feng D J, Yuan J C. Non-structural carbohydrates in maize with different nitrogen tolerance are affected by nitrogen addition. PLoS One, 2019, 14(12): e0225753.
- [15] Wang F C, Chen F S, Wang G G, Mao R, Fang X M, Wang H M, Bu W S. Effects of experimental nitrogen addition on nutrients and nonstructural carbohydrates of dominant understory plants in a Chinese fir plantation. Forests, 2019, 10(2): 155.
- [16] 王文娜, 李俊楠, 王会仁, 谷加存. 不同树种叶片非结构性碳水化合物季节动态比较. 东北林业大学学报, 2014, 42(4): 46-49, 108-108.
- [17] Morgan P B, Ainsworth E A, Long S P. How does elevated ozone impact soybean? A meta-analysis of photosynthesis, growth and yield. Plant, Cell & Environment, 2003, 26(8): 1317-1328.
- [18] 佟磊, 冯宗炜, 苏德·毕力格, 王琼, 耿春梅, 逯非, 王玮, 殷宝辉, 王效科. 冬小麦气孔臭氧通量拟合及通量产量关系的比较分析. 生态学报, 2012, 32(9): 2890-2899.
- [19] 贾彦龙. 中国及全球大气氮沉降的时空格局研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2016.
- [20] 熊冬兰, 李静, 徐胜, 何兴元, 邓莉兰, 陈玮, 黄彦青, 付伟. 臭氧胁迫对梓树光合生理特性的影响. 生态学杂志, 2017, 36(4): 944-950.
- [21] 郑启伟, 王效科, 冯兆忠, 冯宗炜, 欧阳志云, 谢居清. 不同臭氧熏气方式对油菜光合速率、生物量和产量的影响. 生态毒理学报, 2006, 1(4): 323-329.
- [22] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology, 1982, 33: 317-345.
- [23] 郑有飞, 胡会芳, 吴荣军, 徐卫民, 孙健, 李建. 臭氧胁迫下遮荫对孕穗期冬小麦叶片光合系统的影响. 中国农业气象, 2013, 34(4): 410-418.

- [24] 付伟, 高江艳, 徐胜, 邓莉兰, 何兴元, 陈玮, 赵诣, 苏丽丽. 高浓度臭氧对城市白桦和银中杨光合作用的影响. 生态学杂志, 2014, 33(12): 3184-3190.
- [25] Li L, Manning W J, Lei T, Wang X K. Chronic drought stress reduced but not protected Shantung maple (*Acer truncatum* Bunge) from adverse effects of ozone (O₃) on growth and physiology in the suburb of Beijing, China. Environmental Pollution, 2015, 201: 34-41.
- [26] Paoletti E, Grulke N E. Ozone exposure and stomatal sluggishness in different plant physiognomic classes. Environmental Pollution, 2010, 158(8): 2664-2671.
- [27] 梁晶, 朱建国, 曾青, 谢祖彬, 刘钢, 唐昊治, 曹际玲, 朱春梧. 开放式臭氧浓度升高对水稻叶片光合作用日变化的影响. 农业环境科学学报, 2010, 29(4): 613-618.
- [28] 郭建平, 王春乙, 白月明, 温民, 霍治国, 刘江歌, 李雷. 大气中臭氧浓度变化对冬小麦生理过程和籽粒品质的影响. 应用气象学报, 2001, 12(2): 255-256.
- [29] Ashmore M R. Effects of oxidants at the whole plant and community level//Bell J N B, Treshow M, eds. Air Pollution and Plant Life. 2nd ed. New York: Wiley, 2002: 89-118.
- [30] Lux D, Leonardi S, Müller J, Wiemken A, Flückiger W. Effects of ambient ozone concentrations on contents of non-structural carbohydrates in young *Picea abies* and *Fagus sylvatica*. New Phytologist, 1997, 137(3): 399-409.
- [31] Spencer D F, Ryan F J, Aung L, Ksander G G. Soluble sugar concentrations associated with tuber and winter bud sprouting. Journal of Aquatic Plant Management, 2001, 39(1): 45-47.
- [32] 潘庆民, 韩兴国, 白永飞, 杨景成. 植物非结构性贮藏碳水化合物的生理生态学研究进展. 植物学通报, 2002, 19(1): 30-38.
- [33] 寇太记, 于伟伟, 朱建国, 朱新开. 臭氧污染对不同品种小麦干物质与生物量碳积累与分配的影响. 环境科学, 2012, 33(8): 2862-2867.
- [34] Miller J E, Vozzo S F, Patterson R P, Pursley W A, Heagle A S. Effects of ozone and water deficit on field-grown soybean: ii. Leaflet nonstructural carbohydrates. Journal of Environmental Quality, 1995, 24(4): 670-677.
- [35] Grantz D A, Farrar J F. Acute exposure to ozone inhibits rapid carbon translocation from source leaves of Pima Cotton. Journal of Experimental Botany, 1999, 50(336): 1253-1262.
- [36] 倪铭, 高振洲, 吴文, 张于卉, 喻方圆. 不同氮素施肥方法对纳塔栎容器苗生长及非结构性碳水化合物积累的影响. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2021, 45(4): 107-113.
- [37] 张婉婷, 单立山, 李毅, 白亚梅, 马静. 氮添加与降雨变化对红砂幼苗非结构性碳水化合物的影响. 生态学杂志, 2020, 39(3): 803-811.
- [38] 向芬, 李维, 刘红艳, 周凌云, 银霞, 曾泽莹. 氮素水平对茶树叶片氮代谢关键酶活性及非结构性碳水化合物的影响. 生态学报, 2019, 39(24): 9052-9057.
- [39] 赵喆, 金则新. 模拟氮沉降对夏蜡梅幼苗生长及非结构性碳水化合物的影响. 植物研究, 2020, 40(1): 41-49.
- [40] Zhang T, Yang S B, Guo R, Guo J X. Warming and nitrogen addition alter photosynthetic pigments, sugars and nutrients in a temperate meadow ecosystem. PLoS One, 2016, 11(5): e0155375.
- [41] 辛月, 尚博, 陈兴玲, 冯兆忠. 氮沉降对臭氧胁迫下青杨光合特性和生物量的影响. 环境科学, 2016, 37(9): 3642-3649.