#### DOI: 10.20103/j.stxb.202206151704

姚扬,程攀,张红星,童思思,赵露,王效科.臭氧暴露对大豆叶片群体光合作用及产量的影响.生态学报,2023,43(21):8759-8768. Yao Y, Cheng P, Zhang H X, Tong S S, Zhao L, Wang X K.Effects of ozone exposure on photosynthesis of leaf population and yield of soybean. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(21):8759-8768.

## 臭氧暴露对大豆叶片群体光合作用及产量的影响

姚 扬<sup>1,3</sup>,程 攀<sup>1,2</sup>,张红星<sup>1,4</sup>,童思思<sup>1,2</sup>,赵 露<sup>1,3</sup>,王效科<sup>1,3,4,\*</sup>

1 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

2 云南大学生态与环境学院,昆明 650091

3 中国科学院大学, 北京 100049

4 北京城市生态系统研究站,北京 100085

**摘要**: 臭氧(O<sub>3</sub>)已经成为我国许多大中城市夏季的首要污染物,其具有较强的植物毒性,严重威胁农业安全。O<sub>3</sub>污染常发生于高温晴天,具有间歇性和累积性的特点,但现有研究多集中于在叶片尺度上探究长期O<sub>3</sub>暴露对植物生理过程的影响,而间歇性暴露对植物整株生长和光合生理特性的影响鲜有报道。以大豆为实验对象,依托开顶式气室(OTC)进行间歇性臭氧暴露,探究大豆叶片群体光合作用及产量对间歇性O<sub>3</sub>暴露的响应。结果发现(1)间歇性O<sub>3</sub>暴露具有累积性和恢复性,在低O<sub>3</sub>暴露剂量(AOT40 ≤ 2.47μL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>)处理下,大豆植株的净光合速率降低,但与对照组无显著差异。当 AOT40 较高时(AOT40 ≤ 5.35μL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>),大豆植株的净光合速率显著降低,而随着O<sub>3</sub>胁迫的消失,大豆植株的净光合速率逐渐回升,并最终恢复。(2)不同的光合参数对间歇性臭氧暴露敏感性不同,其中最大净光合速率最为敏感。在低 AOT40 下最大净光合速率显著降低,且恢复时间更长。(3)O<sub>3</sub>二次暴露后,净光合速率降低幅度较低,且恢复更快,说明间歇性Q<sub>3</sub>暴露可能会提高大豆的耐受阈值。(4)当AOT40 低于 5.35μL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>时,对大豆产量无显著影响,说明间歇性臭氧暴露条件下,大豆减产阈值更高。**关键词**;间歇性臭氧暴露;臭氧胁迫后恢复;净光合速率;光响应曲线拟合

# Effects of ozone exposure on photosynthesis of leaf population and yield of soybean

YAO Yang<sup>1,3</sup>, CHENG Pan<sup>1,2</sup>, ZHANG Hongxing<sup>1,4</sup>, TONG Sisi<sup>1,2</sup>, ZHAO Lu<sup>1,3</sup>, WANG Xiaoke<sup>1,3,4,\*</sup>

1 State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2 School of Ecology and Environmental Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, China

3 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

4 Beijing Urban Ecosystem Research Station, Beijing 100085, China

Abstract:  $Ozone(O_3)$  has become the primary summer pollutant in some large cities in China. Its strong phytotoxicity posed a severe threat to agricultural security. Soybeans are considered one of the most sensitive crops to  $O_3$  contamination, and high levels of ozone exposure can lead to soybean yield reduction.  $O_3$  pollution often occurs on hot and sunny days and is intermittent and cumulative. So under natural conditions, intermittent ozone exposure is the primary exposure mode for soybeans. Still, most previous studies focused on the effects of long-term  $O_3$  stress on plant physiological processes at the leaf scale. In contrast, few studies have investigated the effects of intermittent exposure on whole plant growth and photosynthetic physiological properties. In this study, we set two levels of  $O_3$  concentration control check (ambient  $O_3$ 

收稿日期:2022-06-15; 网络出版日期:2023-06-26

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31971509)

<sup>\*</sup> 通讯作者 Corresponding author.E-mail: Wangxk@ rcees.ac.cn

concentration) and treatment (above ambient 80 nL/L) based on open-top chambers. The fumigation experiments were conducted in two sessions of 5 days each. The 12 pots of soybeans were divided into two groups of six replicates each. Before and after intermittent  $O_3$  exposure, the photosynthesis of the soybeans population was measured by a custom-made dynamic flux chamber. After the soybean was harvested, indicators such as biomass and yield per plant were counted. At last, we investigated the response of soybean leaf population photosynthesis as well as yield to intermittent  $O_3$  exposure when the ambient ozone concentration increases by 80 nL/L. The results showed that (1) The effect of intermittent  $O_3$  exposure was cumulative and reversible, and the net photosynthetic rate of soybean plants was reduced at low  $O_3$  exposure doses (AOT40  $\leq 2.47 \ \mu L \ L^{-1} \ h^{-1}$ ), which was not significantly different from the control group. When AOT40 was less than 5.35  $\ \mu L \ L^{-1} \ h^{-1}$ , the net photosynthetic rate of soybean plants was reduced considerably. While  $O_3$  stress disappeared, the net photosynthetic rate of soybean plants was reduced and eventually recovered. (2) Different photosynthetic parameters were differentially sensitive to intermittent ozone exposure. The maximum net photosynthetic rate was the most sensitive. It was considerably reduced under low AOT40, and the recovery time was longer. (3) The net photosynthetic rate was lower and recovered faster after the secondary  $O_3$  exposure, suggesting that intermittent  $O_3$  exposure might increase the tolerance threshold of soybean. (4) When AOT40 was below 5.35  $\multiple L^{-1} \ h^{-1}$ , there was no significant effect on soybean yield, which indicated that soybean yield reduction thresholds were higher under intermittent ozone exposure conditions.

Key Words: intermittent ozone exposure; recovery from ozone stress; net photosynthetic rate; optical response curve fit

随着城市化的发展,臭氧(O<sub>3</sub>)前体物如机动车排放的氮氧化物(NO<sub>x</sub>),工业能源消耗排放的挥发性有机碳(VOCs)不断增多,导致对流层 O<sub>3</sub>含量显著提升<sup>[1-2]</sup>。在许多大中型城市,O<sub>3</sub>已经成为夏季的首要污染物<sup>[3-4]</sup>。O<sub>3</sub>具有很强的植物毒性<sup>[5]</sup>,有研究显示 O<sub>3</sub>污染导致全球四种主要作物(小麦、水稻、玉米、大豆)减产 2%—16%<sup>[6]</sup>,高浓度 O<sub>3</sub>(70nL/L)暴露可导致大豆和小麦分别减产 24%和 29%<sup>[7-8]</sup>。而且最近的研究结果表明,与国外的栽培品种相比,我国作物品种对 O<sub>3</sub>浓度升高更为敏感<sup>[8-9]</sup>,故 O<sub>3</sub>污染对我国农作物生产和农业 安全存在较大危害<sup>[10-11]</sup>。因此探究 O<sub>3</sub>对农作物的影响对保障我国粮食安全、端牢"中国饭碗"具有重要 意义。

大豆是1年生C3作物的模式作物,是人类蛋白质的重要来源,同时也被认为是最容易受O<sub>3</sub>胁迫的敏感 作物之一<sup>[12-13]</sup>。目前研究多通过开顶式气室(Open Top Chamber, OTC)模拟O<sub>3</sub>浓度升高,探究一定浓度的 臭氧对大豆的影响。研究发现O<sub>3</sub>对大豆的影响因O<sub>3</sub>浓度、暴露条件以及暴露时期等因素而改变<sup>[14-15]</sup>,持续 性O<sub>3</sub>暴露会对叶片产生不可逆的损伤,导致叶片内光合色素含量显著降低<sup>[16]</sup>、光合速率下降<sup>[17]</sup>,呼吸强度增 加<sup>[17]</sup>。此外,O<sub>3</sub>暴露会导致大豆植株生物量积累降低,碳分配改变,造成作物减产<sup>[15,18]</sup>。

但自然界中的 O<sub>3</sub>的形成不但与前体物(NO<sub>x</sub> 和 VOC)浓度有关,而且与气象条件,特别是紫外线辐射,密 切相关<sup>[19-20]</sup>。晴朗高温天气下,紫外线强烈,O<sub>3</sub>更容易形成。而阴雨天,O<sub>3</sub>浓度较低<sup>[20-21]</sup>。因此自然条件 下,臭氧具有日变化和季节变化<sup>[14,22]</sup>,呈现间歇性特性,探究间歇性臭氧暴露对大豆的影响更具有现实意 义<sup>[8,23]</sup>。而目前研究多集中于 O<sub>3</sub>长期气室暴露,对间歇性臭氧暴露关注较少,对于一次或两次的短时 O<sub>3</sub>胁 迫,是否会影响大豆的净光合速率,受影响后是否会恢复等关键问题还鲜有研究。此外,目前研究多是在叶片 尺度证实了 O<sub>3</sub>对大豆净光合速率的影响,而在整株方面则鲜有研究报道。

鼓粒期是大豆种子形成的重要时期,且已有研究表明,大豆产量在鼓粒期对 O<sub>3</sub>胁迫较为敏感<sup>[11]</sup>。因此本研究依托开顶式气室(OTC)对鼓粒期大豆进行间歇性臭氧暴露,基于自制光合通量箱测定大豆植株整株的净光合速率,探究间歇性 O<sub>3</sub>暴露对鼓粒期大豆植株的净光合速率及产量的影响,以期为农业安全和污染恢复应用等方面提供理论依据和科学支撑。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料及设计

本实验在北京市昌平区种子管理站实验基地(116.131260°E,40.189381°N,海拔71m)完成。该地属于温带大陆性季风气候,年均温约11.8℃,年平均降水量约550mm,且集中在6—8月,土壤类型为棕土。

供试作物选择"冀豆 12"(Glycine max (Linn.) Merr. Jidou12),该品种为黄淮夏大豆早熟品种,根系发达, 茎秆粗壮,抗倒性好。大豆幼苗以盆栽方式培养,花盆高度 32cm,直径 22cm,每盆选 10kg 当地土壤加入 8g 混 合肥(含 N、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>和 K<sub>2</sub>O 各 15%),搅拌均匀后装入盆中。每盆种 3 粒种子,2021 年 6 月 15 日播种,2021 年 10 月 15 日收获。

培养期间,每日早晚6点浇水1000mL,待豆苗生长稳定后(约10cm高),每盆保留2株用于实验。当大豆进入鼓粒期(R6期),移到开顶式气室(OTC)内进行熏气实验<sup>[24-25]</sup>,OTC 气室高2.5m,直径2m,体积约8m<sup>3</sup>。设置2个水平的0<sub>3</sub>浓度,对照CK(环境0<sub>3</sub>浓度),处理T(高于环境80nL/L),每个水平6个重复,每个重复2株大豆。农作物熏气期间,使用HOBO温湿度记录仪(Onset Computer Corporation, UX100-011, USA),每隔5分钟自动记录一组空气温度与相对湿度数据;使用光照计(LI-COR, LI-250A, USA)每小时记录一次气室内光合有效辐射。实验期间气室内平均温度为24.4℃,平均湿度为80.1%,平均光合有效辐射为1067.7 $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>。

由于臭氧胁迫具有累积效应,故分两次进行熏气实验,以体现不同 O<sub>3</sub>暴露剂量(AOT40,O<sub>3</sub>浓度高于 40nL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>的累计值)对大豆植株的影响。基于 49i O<sub>3</sub>分析仪实时监测 O<sub>3</sub>浓度,并计算 AOT40,公式如下:

AOT40 =  $\sum_{i=1}^{n} ([O_3] - 40) \times \Delta t$  (1)

式中,  $[O_3]$ 为  $O_3$ 的小时浓度,  $\Delta t = 1h_o$ 

整体实验周期为 2021 年 8 月 21 日至 9 月 22 日, 共熏气两次,每次 5d。熏气时于 09:00—17:00 往 OTC 中通气(阴雨天等恶劣天气停止熏气),熏气结束后将 大豆植株转移到自然环境中,使其自行恢复,于天气条 件相近的大晴天测定大豆植株净光合速率,测定时间及 描述见图 1。

1.2 测定指标及方法

#### 1.2.1 净光合速率

自制动态通量箱(图 2),分别按照处理、对照的顺 序将大豆植株放入植物光合测定罩中,在罩外覆盖固定 透光率的袋子来控制光合有效辐射。光合有效辐射使 用光照计(LI-COR, LI-250A, USA)测定。在 0 层、4 层、8 层、10 层、20 层、纱布层、30 层、黑袋层、不透光层 条件下,基于 LI-820 CO<sub>2</sub>分析仪(LI-COR, LI-820, USA)测定对应光合有效辐射条件下 2min 内,植物光合





测定罩中 CO<sub>2</sub>的浓度、温度及气压值。每次测定完毕后,向罩内鼓入空气,使内部 CO<sub>2</sub>浓度恢复到空气水平。 为避免鼓风带来的误差,取后 1min 的数据计算 CO<sub>2</sub>下降速率(净光合通量)以及大豆植株整体的净光合速率。 计算公式如下:

$$P_n = \frac{\phi \times P \times h}{R \times T} \tag{2}$$

式中,  $P_n$  为大豆植株的净光合速率,  $\phi$  为净光合通量, P 为大气压, h 为光合测定罩的高度(1.2m), R 为气体

常数(8.3×10<sup>-3</sup>m<sup>3</sup> kPa mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>),T 为温度。



图 2 动态通量箱 Fig.2 The custom-made dynamic flux chamber

#### 1.2.2 叶面积校准

实验开始前,统计每株大豆的叶片数,待实验结束后,收集每一盆大豆植株的叶片,选取无 O<sub>3</sub>损伤症状的 200 枚叶片,基于 LI-3000C 叶面积仪(LI-COR, LI-3000C, USA)测得平均叶面积。根据各大豆植株的总叶面积,校正光合通量,消除初始差异。

1.2.3 生物量及单株产量

实验结束后,收获大豆植株茎秆、根系以及豆荚,置于烘箱中,70℃烘干至恒重,测定各部分干重。收获大 豆豆荚及籽粒,统计单株豆荚数、总籽粒数、百粒重,并计算单株产量。

### 1.3 数据分析

1.3.1 净光合速率光合响应曲线模拟

根据实测数据检验四种模型的拟合优度及曲线表征(表1),筛选最优模型。经比较,直角双曲线模型最 为契合本实验的结果。

表1 光响应曲线拟合横型

	AT 200/2000 KE
	Table 1 Light response curve fitting models
拟合模型 Fitting models	计算公式 Formulas
直角双曲线模型 Rectangular hyperbolic model	$P_n = \frac{\alpha \times I \times P_{n\text{max}}}{\alpha \times I + P_{n\text{max}}} - R_d [26]$
直角双曲线修正模型 Modified rectangular hyperbolic model	$P_n = \alpha \times \frac{1 - \beta \times I}{1 + \gamma \times I} \times P_{nmax} - R_d [27]$
非直角双曲线模型 Non-rectangular hyperbolic model	$P_{n} = \frac{\alpha \times I + P_{n\max} \times \sqrt{(\alpha \times I + P_{n\max})^{2} - 4 \times \theta \times \alpha \times I \times P_{n\max}}}{2 \ast \theta} - R_{d} [^{28}]$
指数模型 Exponential model	$P_n = P_{n\max} \times (1 - e^{-b \times (l-l_c)}) - R_d $ <sup>[29]</sup>

	式中, P <sub>n</sub> 为净光合速率,	$I$ 为光强, $\alpha$ 为表观	光量子效率, $P_{nma}$	"为最大净光合速率,	$R_d$ 为暗呼吸速率,	$\theta$ 为曲线曲率, $I$	$I_c$ 为光补偿点, $\beta$	,γ, <i>t</i>
均	为系数							

分别拟合 12 盆大豆植株的光响应曲线,得到表观光量子效率  $\alpha$ 、最大净光合速率  $P_{nmax}$ 和暗呼吸速率 $R_d$ 三个光合参数。对于三个光合参数对照处理间的差异性检验,应先对数据进行正态性检验和方差齐性检验,若满足,使用独立样本 t 检验,否则采用秩和检验(9.10、9.17 和 9.22 的 $P_{nmax}$ ,9.11 和 9.17 的  $\alpha$  以及 9.1 的 $R_d$ )。

将 12 盆大豆植株按照对照和处理的组别,统一进行光响应曲线的拟合,并相应计算 95%的置信区间,以 比较光响应曲线间的差异及显著性。置信区间的计算公式为

$$s_{y_p} = s \times \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x_p - \bar{x})^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2}}$$
(3)

$$CI = y_p \pm t_{\frac{\alpha}{2}} \times s_{y_p} \tag{4}$$

式中,  $y_p$  为净光合速率的估计值,  $s_{y_p}$  为  $y_p$  的标准差, s 为净光合速率实测值 y 的标准差, n 为样本量,  $x_p$  为自变 量光合有效辐射 x 的给定值,  $x_i$  为有效光合辐射的实测值,  $\bar{x}$  为有效光合辐射实测值  $x_i$  的均值。CI 为置信区 间的上下界,  $t_{a/2}$  为 95%置信度下的 t 值。

基于蒙特卡罗方法,以实测数据点的范围作为分布边界,生成 1000000 个随机点,根据点落在曲线下面的 数量与全部点数量的比值,估算光响应曲线下的面积比例(Area Under Curve, AUC)。基于处理组与对照组 间的 AUC 差值,量化二者光响应曲线的差异,判断间歇性 O<sub>3</sub>暴露对大豆植株的净光合速率的影响程度。计 算几次恢复期间(第一次熏气结束后恢复 3d,二次熏气结束后恢复 1d,1—7d,7—12d)的 AUC 差值变化速率, 表征大豆植株净光合速率的恢复效率差异。

1.3.2 大豆生物量及单株产量比较

经正态性检验和方差齐性检验后,基于独立样本 t 检验探究间歇性 O<sub>3</sub>暴露对大豆各器官生物量(根、茎、 叶、豆荚、籽粒、整株)、单株产量(豆荚重、总籽粒数、百粒重、单株产量)等指标的影响。

#### 2 结果

2.1 间歇性 O<sub>3</sub>暴露对大豆光合参数的影响

O<sub>3</sub>熏气前处理对照间的光合参数无显著差异(*P*>0.05)(图 3),第一次熏气后,大豆植株的最大净光合速 率 *P<sub>nmax</sub>*显著降低,表观光量子效率 α、暗呼吸速率*R<sub>d</sub>*则无显著差异,恢复 3d 后,大豆植株的最大净光合速率 *P<sub>nmax</sub>*上升,与对照组间差异不再显著(*P*>0.05)。





Fig.3 Effect of intermittent O3 on photosynthetic parameters of soybean seedlings

ns 表示差异不显著; \*表示 P< 0.05 差异显著; \*\*表示 P<0.01 差异极显著

http://www.ecologica.cn

8763

二次熏气后,三个光合参数均表现出显著差异,其中表观光量子效率 α 升高,最大净光合速率 P<sub>nmax</sub>下降, 暗呼吸速率R<sub>d</sub>上升,大豆植株的净光合速率显著降低。停止熏气后,受 O<sub>3</sub>胁迫症状随着恢复时间延长逐渐减 轻,恢复 1d 后,仅最大净光合速率 P<sub>nmax</sub>显著低于对照组,表观光量子效率 α、暗呼吸速率R<sub>d</sub>与对照无显著差异 (P>0.05)。恢复 7d 后,最大净光合速率 P<sub>nmax</sub>与对照无显著差异,至恢复 12d 时,α、P<sub>nmax</sub>、R<sub>d</sub>均与对照无显著 差异(P>0.05),O<sub>3</sub>胁迫未表现出延后效应或代偿效应。

2.2 间歇性 O<sub>3</sub>暴露对大豆光响应曲线的影响

间歇性 O<sub>3</sub>暴露对大豆的光响应表现出明显的累积效应。O<sub>3</sub>熏气前,处理组与对照组的大豆植株光响应 曲线无显著差异,AUC 差值仅为 0.0042(*P*>0.05)(图 4,图 5)。第一次 O<sub>3</sub>熏气后,大豆植株净光合速率降低, 光响应曲线 AUC 差值增大为 0.0704,但与对照组无显著差异(*P*>0.05)。恢复 3d 后,大豆植株的净光合速率 略微回升,光响应曲线 AUC 差值上升至 0.067(回升 0.0034),仍远高于初始差值(*P*>0.05)。二次熏气后,O<sub>3</sub>





Fig.4 Effect of intermittent O<sub>3</sub> on light response curve in soybean seedlings

伤害进一步累积,大豆植株的净光合速率显著降低,AUC 差值达到 0.1137(进一步降低 0.0463),此时当光合 有效辐射高于 1000μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>时,光响应曲线出现显著差异(图 4)。

同时,间歇性 O<sub>3</sub> 暴露对大豆光响应表现出明显的恢复效应。二次熏气后大豆植株的净光合速率显著降低,但在恢复 1d 后,大豆植株的净光合速率回升,AUC 差值由 0.1137 恢复至 0.099,其受 O<sub>3</sub>影响的表征不再显著(*P*>0.05)(图 4,图 5),而随着恢复时间的延长,处理组的大豆植株净光合速率不断回升,至恢复 12d 后,AUC 差值为 0.0174,基本恢复至 O<sub>3</sub>熏气前的水平(图 4)。

两次间歇性 O<sub>3</sub>暴露,大豆植株净光合速率的损伤程度不同(图 5),第一次 O<sub>3</sub>暴露后处理组与对照组大豆 光响应曲线 AUC 差值降低 0.0704,二次暴露后 AUC 差值降低 0.0462,间歇性 O<sub>3</sub>暴露可能提高了大豆植株的 耐受性。而从恢复效率来看,第一次 O<sub>3</sub>暴露后,大豆净光合速率的恢复效率较慢,AUC 差值恢复速率为 0.00097/d(8.29—9.1,恢复 3d),O<sub>3</sub>损伤未得到明显缓解。二次 O<sub>3</sub>暴露后,AUC 差值恢复速率分别为 0.0142/ d(9.10—9.11,恢复 1d),0.0081/d(9.11—9.17,恢复 6d),0.0065/d(9.17—9.22,恢复 5d)。总体而言,二次 O<sub>3</sub> 暴露后,大豆植株净光合速率的恢复速率由快到慢,逐渐降低,但仍高于第一次 O<sub>3</sub>暴露后的恢复速率。

2.3 间歇性 O<sub>3</sub>暴露对大豆生物量及单株产量的影响

当 O<sub>3</sub>暴露剂量 AOT40≤5.35µL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>时,间歇性 O<sub>3</sub>暴露对大豆植株的根、茎、叶、豆荚、大豆生物量以及 整株干重均无显著影响(图 6)。此外,间歇性 O<sub>3</sub>暴露对大豆植株的豆荚数、总籽粒数、百粒重、单株产量亦无 显著影响(图 7)。处理组的各生物量以及产量指标略高于对照组(除百粒重),大豆植株可能表现出一定的 补偿效应,但差异不显著(P>0.05)。







图6 大豆株重指标

Fig.6 Soybean plant weight index

a 为显著性差异字母标记,若对照组与处理组字母相同,则不存在 显著差异

#### 3 讨论

**3.1** 0<sub>3</sub>熏气暴露后整株与叶片尺度净光合速率的差异

本实验基于自制动态通量箱实现了群体光合通量测定,表征了大豆植株的整体状况,避免了叶片尺度由 于测定叶位和叶龄不同及测定叶数量不足带来的不确定性<sup>[17,30]</sup>。由于高浓度 O<sub>3</sub>胁迫主要表现为叶片损伤, 其会破坏叶绿素等光合色素,并导致气孔反应滞后,甚至失灵<sup>[2,31]</sup>。因此对于叶片,O<sub>3</sub>暴露后会出现明显的 O<sub>3</sub>伤害症状,单叶净光合速率显著降低,且效果不可逆<sup>[30,32]</sup>。实验结果表明:对于植株整体而言,在低 O<sub>3</sub>暴 露剂量(AOT40≤2.47µL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>)时其净光合速率受损不明显,仅最大净光合速率  $P_{nmax}$ 较为敏感<sup>[33]</sup>,其显著 降低,但很快恢复。二次熏气后(AOT40=5.35µL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>),此时由于 O<sub>3</sub>损伤累积,叶片气孔的损伤不断加剧, 导致叶绿素被破坏,气孔密度减少等<sup>[32,34]</sup>,此时大豆植株的净光合速率显著降低,最大净光合速率  $P_{nmax}$ 下降, 表观光量子效率  $\alpha$  降低,暗呼吸速率 $R_a$ 升高,表现出与叶片尺度相近的结果。

http://www.ecologica.cn



Fig.7 Soybean yield Indicators

实验也表明大豆植株的净光合速率较快恢复。随着熏气结束,在恢复 1d 后,除较为敏感的 *P<sub>nmax</sub>*外,α 和 *R<sub>a</sub>*均恢复至无显著差异的状态,7d 后所有参数均恢复。且随着恢复时间的延长,对照组与处理组的各光合参数以及光响应曲线 AUC 的差值不断缩小(由二次熏气后的 0.1137 变为恢复 12d 后的 0.0174)。大豆整株的净光合速率在 O<sub>3</sub>暴露后表现出明显的恢复效应,一方面可能是由于类胡萝卜素相对稳定,受短期 O<sub>3</sub>暴露后,仍可保证叶片的光合作用<sup>[35]</sup>,另一方面是当前 AOT40 对所有叶片的伤害程度不一,多数叶片伤害较轻,被破坏的叶绿素开始重新合成<sup>[36]</sup>,只有少数表现出明显的臭氧伤害症状,且未见明显叶片提前枯萎脱落。而在叶片尺度,单一受损叶片的恢复效应则相对慢得多,其恢复效应可能被忽视,部分受损严重叶片则会枯萎脱落,难以测定其恢复效应<sup>[24]</sup>。

3.2 间歇性 O<sub>3</sub>暴露对大豆净光合速率的影响

本实验表明,当  $O_3$ 暴露剂量 AOT40  $\leq 5.35 \mu L L^{-1} h^{-1}$ 时,大豆的净光合速率显著降低,表观光量子效率  $\alpha$ , 最大净光合速率  $P_{nmax}$ ,暗呼吸速率 $R_d$ 等光合参数均发生显著变化,其中最大净光合速率  $P_{nmax}$ 最为敏感,变化 幅度最大。其次, $O_3$ 暴露对处于较高光合有效辐射水平时的大豆净光合速率影响较大(图 4),在较低的光合 有效辐射区间内,处理对照间的净光合速率差异较小,而当光合有效辐射较高时(>500 $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>),处理组 的净光合速率则呈现出低于对照组的态势(P>0.05)。该曲线表征主要由最大净光合速率  $P_{nmax}$ 决定,且与气 孔导度密切相关<sup>[31]</sup>。因此当前臭氧暴露剂量下,大豆植株叶片的气孔导度受到胁迫,但功能并未被完全摧 毁,恢复一段时间后,大豆净光合速率恢复,仅稍低于对照组(AUC 差值 0.0174)(P>0.05)。

此外,间歇性 O<sub>3</sub>暴露可能提高了大豆对 O<sub>3</sub>的耐受阈值,本实验中,第一次 O<sub>3</sub>暴露后处理组与对照组大豆 光响应曲线 AUC 差值降低 0.0704,二次暴露后 AUC 差值降低了 0.0462,而且恢复速率较第一次更快。 **3.3** 间歇性 O<sub>3</sub>暴露对大豆生物量及产量的影响

臭氧暴露对植物的伤害具有累积效应,而影响程度与臭氧暴露时间长度和大豆所处的生育期有关<sup>[11, 37]</sup>。 已有实验多开始于大豆生长初期,且持续了大豆完整的生育期,高浓度 O<sub>3</sub>暴露后大豆植株生物量及产量显著 降低<sup>[12, 24]</sup>。研究结果显示,短期间歇性 O<sub>3</sub>暴露后,处理组大豆植株各器官的生物量和最终产量并未显著降 低,可能原因在于本实验 O<sub>3</sub>暴露时间较短(10d,AOT40≤5.35µL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>),此时,O<sub>3</sub>对大豆叶片的形态损伤较 小,只有少数叶片表现出臭氧伤害症状,而且,O<sub>3</sub>暴露后大豆的净光合速率虽然显著降低,但很快恢复,O<sub>3</sub>对 大豆叶片生理机制的损伤亦不明显,大豆植株仍可正常进行光合作用,因此大豆生物量及单株产量未显著降 低。此外,部分研究显示,单次臭氧暴露会使作物生长期延长,最终使大豆生物量及产量略微增加,表现出对 前期胁迫的补偿效应<sup>[38]</sup>。该干扰补偿效应可能亦是导致大豆未显著减产的原因。

43 卷

对于臭氧暴露引起的大豆产量下降,前人研究表明当大豆生长期平均臭氧浓度为63,70,75.5 nL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> 时,大豆产量分别下降21.6%,24%,28.3%<sup>[37, 39-40]</sup>。Feng 等研究显示大豆产量下降5%的O<sub>3</sub>AOT40 风险阈值 为4.17µL L<sup>-1</sup> h<sup>-1[10]</sup>,Bernhard 基于 LPJml 模型估算了当 AOT40 为6.48µL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>时,亚洲大豆的产量平均下 降 6.2%<sup>[41]</sup>。而本研究中臭氧暴露剂量 AOT40 为5.35µL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,介于以上阈值之间,但产量未显著下降,因 此间歇性臭氧暴露条件下,大豆减产阈值可能更高。

本实验 0<sub>3</sub>水平设置较少(1个处理水平和1个对照),且在实验过程中天气因素(如多云、突降小雨等)也 会在一定程度上影响大豆对间歇性臭氧暴露的响应。后续需要开展更多实验水平及更长期的实验,深入研究 自然条件下间歇性臭氧暴露对作物整体生理生态特性的影响以及发生刚性损伤的浓度阈值。

#### 4 结论

本实验基于自制动态通量箱测定了大豆植株的净光合速率以及单株产量对间歇性 O<sub>3</sub>暴露的群体响应。 结果发现间歇性 O<sub>3</sub>暴露具有累积性和恢复性,在较高 O<sub>3</sub>暴露剂量(AOT40=5.35µL L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>)下大豆植株的净 光合速率才会显著降低。而随着 O<sub>3</sub>胁迫的消失,大豆植株的净光合速率会逐渐恢复,恢复速率一般由快到 慢。不同的光合参数对间歇性 O<sub>3</sub>暴露的响应程度存在差异,最大净光合速率 P<sub>nmax</sub>变化幅度最大。

此外间歇性 O<sub>3</sub>暴露可能会提高大豆的耐受阈值,O<sub>3</sub>二次暴露造成的伤害程度较第一次轻,且恢复更快。 而且间歇性臭氧暴露条件下,大豆减产阈值更高。因此在评估 O<sub>3</sub>伤害时,需要考虑作物对间歇性 O<sub>3</sub>暴露的响 应特征,从而科学评价 O<sub>3</sub>对农作物的影响。

#### 参考文献(References):

- [1] 张红星, 孙旭, 姚余辉, 万五星, 肖扬, 孙滨峰, William J.Manning, 韩春萌, 部世奇, 高付元, 徐卫华, 冯兆忠, 欧阳志云, 王效科. 北京 夏季地表臭氧污染分布特征及其对植物的伤害效应. 生态学报, 2014, 34(16): 4756-4765.
- [2] Paoletti E, Grulke N E. Ozone exposure and stomatal sluggishness in different plant physiognomic classes. Environmental Pollution, 2010, 158 (8): 2664-2671.
- [3] Li K, Jacob D J, Liao H, Qiu Y L, Shen L, Zhai S X, Bates K H, Sulprizio M P, Song S J, Lu X, Zhang Q, Zheng B, Zhang Y L, Zhang J Q, Lee H C, Kuk S K. Ozone pollution in the North China Plain spreading into the late-winter haze season. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2021, 118(10): e2015797118.
- [4] Wang Y H, Gao W K, Wang S, Song T, Gong Z Y, Ji D S, Wang L L, Liu Z R, Tang G Q, Huo Y F, Tian S L, Li J Y, Li M G, Yang Y, Chu B W, Petäjä T, Kerminen V M, He H, Hao J M, Kulmala M, Wang Y S, Zhang Y H. Contrasting trends of PM<sub>2.5</sub> and surface-ozone concentrations in China from 2013 to 2017. National Science Review, 2020, 7(8): 1331-1339.
- [5] Hu E Z, Ren Z M, Xu S, Zhang W W. Elevated tropospheric ozone concentration alters soil CO<sub>2</sub> emission: a meta-analysis. Sustainability, 2021, 13(8): 4571.
- [6] Ainsworth E A. Understanding and improving global crop response to ozone pollution. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2017, 90 (5): 886-897.
- 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.
- [8] 冯兆忠,彭金龙.地表臭氧对中国主要粮食作物产量与品质的影响:现状与展望.农业环境科学学报,2020,39(4):797-804.
- [9] Feng Z Z, Xu Y S, Kobayashi K, Dai L L, Zhang T Y, Agathokleous E, Calatayud V, Paoletti E, Mukherjee A, Agrawal M, Park R J, Oak Y J, Yue X. Ozone pollution threatens the production of major staple crops in East Asia. Nature Food, 2022, 3(1): 47-56.
- [10] 冯兆忠,彭金龙.中国粮食作物产量和木本植物生物量与地表臭氧污染的响应关系.环境科学,2021,42(6):3084-3090.
- [11] 张巍巍, 王光华, 王美玉, 刘晓冰, 冯兆忠. 东北春大豆品种东生 1 号对臭氧胁迫的响应. 环境科学, 2014, 35(4): 1473-1478.
- [12] 杨连新,王云霞,赵秩鹏,朱建国,王余龙.自由空气中臭氧浓度升高对大豆的影响.生态学报,2010,30(23):6635-6645.
- [13] 金东艳,赵天宏,付宇,孙加伟,黄爽. 臭氧浓度升高对大豆光合作用及产量的影响. 大豆科学, 2009, 28(4): 632-635.
- [14] 李程程, 张子蕤, 宋晓萱, 孔娟娟, 韩阳, 阮亚男. 臭氧胁迫对大豆抗氧化代谢与生殖生长的影响. 生态环境学报, 2022, 31(7): 1383-1392.
- [15] 郑有飞,刘瑞娜,吴荣军,胡程达,赵泽,王连喜. 地表臭氧胁迫对大豆干物质生产和分配的影响. 中国农业气象, 2011, 32(1): 73-80.

16	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
----	------	------	-----	-------------------	-------	-------	-------	-----------

- [17] 孙铭禹,王岩,范仁雪,牟琳,赵天宏. 臭氧浓度升高条件下大豆光合能力变化及光响应曲线的拟合模型比较. 大豆科学, 2021, 40(4): 497-503.
- [18] Pleijel H, Broberg M C, Uddling J, Mills G. Current surface ozone concentrations significantly decrease wheat growth, yield and quality. Science of the Total Environment, 2018, 613/614: 687-692.
- [19] Watanabe K, Inn E C Y, Zelikoff M. Absorption coefficients of oxygen in the vacuum ultraviolet. The Journal of Chemical Physics, 1953, 21(6): 1026-1030.
- [20] Calfapietra C, Fares S, Manes F, Morani A, Sgrigna G, Loreto F. Role of Biogenic Volatile Organic Compounds (BVOC) emitted by urban trees on ozone concentration in cities: a review. Environmental Pollution, 2013, 183: 71-80.
- [21] Bornman J F, Barnes P W, Robson T M, Robinson S A, Jansen M A K, Ballaré C L, Flint S D. Linkages between stratospheric ozone, UV radiation and climate change and their implications for terrestrial ecosystems. Photochemical & Photobiological Sciences: Official Journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology, 2019, 18(3): 681-716.
- [22] Bulbovas P, Souza S R, Esposito J B N, Moraes R M, Alves E S, Domingos M, Azevedo R A. Assessment of the ozone tolerance of two soybean cultivars (*Glycine max* cv. Sambaíba and Tracajá) cultivated in Amazonian areas. Environmental Science and Pollution Research, 2014, 21(17): 10514-10524.
- [23] Wang Z B, Li J X, Liang L W. Spatio-temporal evolution of ozone pollution and its influencing factors in the Beijing-Tianjin-Hebei Urban Agglomeration. Environmental Pollution, 2020, 256: 113419.
- [24] 李彩虹,李勇,乌云塔娜,吴光磊,蒋高明.高浓度臭氧对大豆生长发育及产量的影响.应用生态学报,2010,21(9):2347-2352.
- [25] 郑启伟,王效科,冯兆忠,宋文质,冯宗炜,欧阳志云.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.环境科学, 2007,28(1):170-175.
- [26] Baly E C C. The kinetics of photosynthesis. Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences, 1935, 117(804): 218-239.
- [27] 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.
- [28] Thornley J H M. Mathematical Models in Plant Physiology. London: Academic Press, 1976, 86-110.
- [29] Prado C A, De Moraes J A P V. Photosynthetic capacity and specific leaf mass in twenty woody species of Cerrado vegetation under field conditions. Photosynthetica, 1997, 33(1): 103-112.
- [30] 杨宁, 王效科, 张玉龙, 郑飞翔, 陈媛媛. 不同植物叶片臭氧伤害症状及其生理响应机制的差异. 生态毒理学报, 2017, 12(6): 141-149.
- [31] 李品, 冯兆忠, 尚博, 袁相洋, 代碌碌, 徐彦森. 6 种绿化树种的气孔特性与臭氧剂量的响应关系. 生态学报, 2018, 38(8): 2710-2721.
- [32] Li K, Jacob D J, Shen L, Lu X, De Smedt I, Liao H. Increases in surface ozone pollution in China from 2013 to 2019: anthropogenic and meteorological influences. Atmospheric Chemistry and Physics, 2020, 20(19): 11423-11433.
- [33] Shang B, Feng Z Z, Li P, Yuan X Y, Xu Y S, Calatayud V. Ozone exposure- and flux-based response relationships with photosynthesis, leaf morphology and biomass in two poplar clones. Science of the Total Environment, 2017, 603/604: 185-195.
- [34] Xu Y S, Shang B, Peng J L, Feng Z Z, Tarvainen L. Stomatal response drives between-species difference in predicted leaf water-use efficiency under elevated ozone. Environmental Pollution, 2021, 269: 116137.
- [35] Giri N. Ozone stimulates the production of anthocyanins as a secondary antioxidant defense in *Arabidopsis thaliana*. Monroe, LA, USA: University of Louisiana at Monroe, 2021.
- [36] Grulke N E, Heath R L. Ozone effects on plants in natural ecosystems. Plant Biology: Stuttgart, Germany, 2020, 22(Suppl 1): 12-37.
- [37] Li C H, Gu X, Wu Z Y, Qin T Y, Guo L Y, Wang T Z, Zhang L, Jiang G M. Assessing the effects of elevated ozone on physiology, growth, yield and quality of soybean in the past 40 years: a meta-analysis. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 208: 111644.
- [38] Mulchi C L, Slaughter L, Saleem M, Lee E H, Pausch R, Rowland R. Growth and physiological characteristics of soybean in open-top chambers in response to ozone and increased atmospheric CO<sub>2</sub>. Agriculture, Ecosystems & Environment, 1992, 38(1/2): 107-118.
- [39] Osborne S A, Mills G, Hayes F, Ainsworth E A, Büker P, Emberson L. Has the sensitivity of soybean cultivars to ozone pollution increased with time? An analysis of published dose-response data. Global Change Biology, 2016, 22(9): 3097-3111.
- [40] Feng Z Z, Kobayashi K. Assessing the impacts of current and future concentrations of surface ozone on crop yield with meta-analysis. Atmospheric Environment, 2009, 43(8): 1510-1519.
- [41] Schauberger B, Rolinski S, Schaphoff S, Müller C. Global historical soybean and wheat yield loss estimates from ozone pollution considering water and temperature as modifying effects. Agricultural and Forest Meteorology, 2019, 265: 1-15.