DOI: 10.20103/j.stxb.202401140123

张涵,田彤彤,尚博,冯兆忠.不同施肥措施臭氧浓度升高对不同水稻品种光合特性的影响.生态学报,2024,44(13):5583-5595. Zhang H, Tian T T, Shang B, Feng Z Z.Effects of elevated ozone on the photosynthesis of different rice cultivars under different fertilization measures. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(13):5583-5595.

不同施肥措施臭氧浓度升高对不同水稻品种光合特性 的影响

张 涵1,田彤彤1,尚 博1,2,*,冯兆忠1,2

1 南京信息工程大学生态与应用气象学院,南京 210044
2 中国气象局生态系统碳源汇重点开放实验室,南京 210044

摘要:近地层臭氧(O₃)已严重威胁到作物生产,而施肥可以调节土壤的养分平衡,进而促进作物生长。以两个水稻品种(徽两 优 898 和南梗 9108)为研究对象,利用开顶式气室,设置 2 个 O₃浓度处理(NF:环境大气为对照;NF40:环境大气+40 nmol/mol O₃),每个 O₃处理下嵌套设置 3 个肥料处理(Ino:施无机肥处理,270 kg N hm⁻² a⁻¹; Red:减施无机肥 30%处理,189 kg N hm⁻² a⁻¹; Com:有机无机肥配施处理,Red+有机肥鸡粪 5000 kg hm⁻² a⁻¹),通过测定不同生育期水稻光合参数,探究不同肥料处理下 O₃对水稻不同生育阶段光合生理的影响。结果表明,NF40 对水稻营养生长阶段的饱和光合速率(A_{sta})没有显著影响,而显著地 降低了水稻灌浆期的 A_{sta}。基于两个水稻品种的 A_{sta}和相对叶绿素含量(SPAD)相对减少量与 O₃累积剂量关系的斜率,发现杂 交稻徽两优 898(A_{sta}和 SPAD 的斜率:-1.55 和-0.98)比常规稻南梗 9108(A_{sta}和 SPAD 的斜率:-0.92 和 0.06)对 O₃更敏感。此 外,基于不同 O₃处理下水稻的气孔导度(g_s)和胞间二氧化碳浓度(C_i),可以看出 O₃造成南梗 9108 光合速率降低的主要是非气 孔因素,而徽两优 898 光合的降低是由气孔因素和非气孔因素共同限制。与 Ino 处理相比,Red 处理主要通过降低叶片 SPAD 进而显著地抑制两种水稻品种的 A_{sta},但 Ino 处理和 Com 处理间 A_{sta}没有显著差异,说明有机无机肥配施能部分缓解减施无机肥 造成水稻光合的降低。O₃和肥料处理对两个水稻的所有光合参数都没有显著的交互影响,表明短期有机无机肥配施并不能有 效缓解 O₃对作物造成的负面影响。在 O₃污染背景下,研究结果可以为通过合理的农田氮肥管理措施减缓 O₃造成的作物减产 提供理论依据。

关键词:臭氧;有机无机肥配施;水稻;光合生理;剂量关系

Effects of elevated ozone on the photosynthesis of different rice cultivars under different fertilization measures

ZHANG Han¹, TIAN Tongtong¹, SHANG Bo^{1,2,*}, FENG Zhaozhong^{1,2}

1 School of Ecology and Applied Meteorology, Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044, China

2 Key Laboratory of Ecosystem Carbon Source and Sink, China Meteorological Administration, Nanjing 210044, China

Abstract: Ground-level ozone (O_3) has seriously threatened crop production in China, and the fertilization can regulate soil nutrient balance, thereby promoting crop growth. This study was conducted in open top chambers, using two O_3 treatments (ambient air (NF) as control; ambient air+40 nmol/mol O_3 (NF40)). Three fertilizer treatments were nested under each O_3 treatment, including conventional application of inorganic fertilizer (Ino, 270 kg N hm⁻² a⁻¹), 30% reduction of inorganic fertilizer (Red, 189 kg N hm⁻² a⁻¹), and combination of organic and inorganic fertilizer (Com, Red +5000 kg hm⁻² a⁻¹ chicken manure). The photosynthetic parameters of two rice cultivars (HLY898 and NJ9108) at

基金项目:国家自然科学青年基金项目(42107270);国家自然科学基金面上项目(42377117)

收稿日期:2024-01-14; 采用日期:2024-05-11

^{*} 通讯作者 Corresponding author.E-mail: shangbo@ nuist.edu.cn

different growth stages were measured, which mainly explored the effects of O_3 on the photosynthetic and physiological processes of rice at different growth stages under different fertilizer treatments. The results showed that NF40 had no significant effect on the saturated photosynthetic rate (A_{st}) during the vegetative growth stage of rice, but it significantly reduced the A_{sat} during the filling stage of rice. Based on the slopes of the relationship between the relative reduction of A_{sat} and SPAD of two rice cultivars with the O3 cumulative index, it was found that the hybrid rice cultivar HLY898 (slopes of $A_{\rm sat}$ and SPAD: -1.55 and -0.98, respectively.) was more sensitive to O₃ than the conventional rice cultivar NJ9108 (slopes of A_{sat} and SPAD: -0.92 and 0.06, respectively.). In addition, based on the results for the stomatal conductance (g_s) and intercellular carbon dioxide concentration (C_i) of rice under different O_3 treatments, we found that the decrease photosynthesis caused by O₄ in NJ9108 was mainly attributed to non-stomatal limitations, while the decrease in photosynthesis of HLY898 was limited by both stomatal and non-stomatal factors. Compared with the Ino treatment, the Red treatment significantly inhibited A_{sat} in the two rice cultivars by reducing leaf SPAD, but there was no significant difference in A_{sat} between the Ino and Com treatments. This suggested that the combined application of organic and inorganic fertilizers could partially alleviate the decrease in rice photosynthesis caused by reduced application of inorganic fertilizers. There was no significant interactive effect of O_3 and fertilizer treatment on all photosynthetic parameters of the two rice cultivars, indicating that short-term combination of organic and inorganic fertilizers could not effectively alleviate the negative effects of O_3 on crops. The research results can provide a theoretical basis for mitigating crop yield reduction caused by O_3 through reasonable nitrogen fertilizer management measures in farmland under O₃ pollution.

Key Words: ozone; combined application of organic and inorganic fertilizers; rice; photosynthetic physiology; dose relationship

近地层臭氧(0₃)被称之为"坏"O₃,其主要是通过人为活动排放的氮氧化物(NOx)和挥发性有机化合物 (VOCs)等前体物在光化学反应下形成的二次空气污染物^[1-2]。由于工业化和城市化加剧,近地层 O₃浓度大 幅增加,月平均 O₃浓度已从 19 世纪末的 10 nmol/mol 增加到目前的 40—50 nmol/mol^[3],其浓度的增加影响 了人类健康^[4]、生态系统生物多样性^[5]和农作物生产^[6]。有研究发现 O₃已造成我国小麦,水稻和玉米的相对 产量损失分别为 33%、23%和 9%^[7],已严重威胁我国的粮食安全。O₃导致作物产量下降是由于 O₃通过气孔 进入作物叶片,其强氧化性导致作物抗氧化防御系统失衡和以及活性氧自由基(ROS)积累,进而损害作物的 光合固碳能力^[6]。O₃抑制作物光合作用可以被归因于:(1)气孔限制因素,主要由于 O₃能够降低作物气孔导 度,进而抑制光合原料 CO₂通过气孔进入叶片^[8];(2)非气孔限制因素,ROS 破坏光合色素,降低光合酶的活 性和含量,进而抑制羧化效率和电子传递速率^[9—10]。O₃抑制作物光合作用的主要限制因素因作物种类或者 品种的不同而不同,并且不同作物品种对 O₃的耐受性也不同,通常耐受性作物品种会有更强的抗氧化能力和 较低的气孔导度^[11-12]。此外,有研究发现 O₃对不同生育期作物光合特性的影响不同,通常对生长后期影响 更大^[13]。作物生育后期叶片光合产物可以直接用于形成籽粒产量,是籽粒干物质的主要来源,因此,O₃造成 作物产量损失的主要产量组成因素是单个籽粒重量的减少^[14]。然而,最近的一项研究表明,全球主要小麦产 区的产量和产量组成对 O₃污染的响应不同,被归因于不同地区不同的作物品种和 O₃浓度^[15]。因此,有必要 进一步明确 O₃浓度升高对不同作物品种在不同生育期的光合生理特性的影响。

长期化肥的不合理施用,已引起土壤酸化、地下水污染、水体富营养化、空气污染等一系列环境问题,并且 我国作物氮素利用率低、氮肥损失量大^[16–17]。为了提高农田氮肥利用效率,改善土壤条件,减少对化肥的依 赖。目前,已有很多改善施肥技术,其中有机无机肥配施对土壤养分以及作物生长的影响一直是国内外研究 的热点,也是国家大力倡导的施肥方式^[18–19]。有机无机肥配施,既有化肥成分又有有机成分,两者适当配合 施用,一方面可以通过有机肥的施用提高土壤有机质含量,改善土壤理化以及生物学性质;另一方面通过无机 肥的施用可以为作物提供速效养分用于生长^[20]。大量研究已经证实,有机无机肥配施能够提升土壤肥力^[21]、提高作物产量和改善籽粒的品质^[22]、提高作物氮素利用率^[23]。

有机无机肥配施也可以提高作物的氮肥利用效率和氮素吸收量^[24],进而有利于提升作物的抗氧化能力,可能会缓解 O₃对作物的负面影响。此外,也有研究表明有机无机肥配施能够增大作物的气孔导度^[25],这可能会促进作物的气孔 O₃吸收通量,会加重 O₃对作物的负面影响。基于此,本研究利用开顶式气室(OTCs),设置不同浓度的 O₃和肥料处理,探究两个水稻品种(杂交稻徽两优 898 和常规稻南粳 9108)在不同生育期叶片光合特性的响应,明确有机无机肥配施能否缓解 O₃对作物的负面影响,并阐明不同肥料处理下 O₃抑制不同水稻品种叶片光合速率主要限制因素,研究结果可以为有效防治 O₃污染提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验于 2023 年在南京信息工程大学扬州绿色农业研究与示范基地(119°43′E,32°25′N)的开顶式气室(OTCs)内进行。该试验地位于江苏省扬州市江都区,研究区属典型的亚热带湿润气候区,年平均气温 16.1℃,年降水量 1777.3 mm,全年无霜期较>290 d^[13]。该区域长期以稻麦轮作为主要的耕作制度。在本研 究期间,整个水稻季生育期降水量为 1260.2 mm,降水主要集中在水稻拔节期和灌浆期;整个水稻季平均温度 为 25.8℃,最高温出现在拔节期为 38℃;整个水稻季平均空气湿度高达 85%。

1.2 试验材料

试验选用的两种供试水稻品种分别为杂交稻徽两优 898 和常规稻南粳 9108,均为当地普遍种植的水稻 品种。于 2023 年 5 月 23 日进行播种育秧,6 月 21 日选取长势相近的水稻幼苗插秧至装有当地农田土壤的圆 形花盆中,花盆直径 35 cm,高 30 cm。该实验土壤的本底理化性质为:土壤 pH、土壤总碳、土壤总氮、速效钾 和有效磷分别为 7.68±0.06,(12.9±0.14)g/kg,(1.69±0.02)g/kg,(67.84±2.49)mg/kg和(6.78±1.00)mg/kg。 每个花盆人工插 1 穴水稻幼苗,杂交稻每穴插 1 株水稻幼苗,常规稻每穴插 2 株水稻幼苗。7 月 3 日将所有水 稻移入 OTC 内进行 0₃熏蒸处理。在整个生长季节,对水稻的管理与当地农民保持一致,在水稻分蘖末期、拔 节初期进行烤田,促进水稻根系的生长和强化,之后通过人工浇水使土壤保持田间持水量,在灌浆结实后期进 行干湿交替间歇灌溉停止浇水。同时,密切监视病虫害发生的迹象,一旦发现立即喷施农药,以确保水稻的正 常生长和发育。

1.3 试验设计

本试验在高为 2.3 m、直径为 4.8 m 的正八面柱体 OTC 内进行,顶部留有直径约 3 m 的收缩口,以减少外 界空气从顶部侵入对气室内部气体的影响。OTC 气室框架采用塑钢,气室壁采用超白钢化玻璃以减少对光 强的削弱。OTC 内以氧气(O₂)作为气源,通过 O₃发生器(HY003,济南创成科技有限公司)产生 O₃,然后利用 大功率鼓风机(CX-125,上海全风实业有限公司)将 O₃和空气混合并吹送到 OTC 内,并增加气室内气体的交 换频次,使得气室内温度、湿度等环境因素与外界基本保持一致。OTC 内 O₃浓度利用 O₃分析仪(美国 Thermo Scientific 公司)进行监测与记录,并根据 OTC 内实时 O₃浓度与设定目标 O₃浓度的差异,通过计算机控制质量 流量计供应压缩 O₂的流量来实时调控气室内 O₃的浓度。

试验设置两个 O₃处理,包括 NF(环境大气 O₃水平)和 NF40(环境大气+40 nmol/mol O₃)。每个 O₃处理设置 3 个 OTC 重复(*n*=3),一共利用 6 个 OTC。从 7 月 4 日开始 O₃熏蒸,直至 10 月 19 日水稻收获结束。每天 O₃熏蒸时间为的 8:00—18:00(下雨时关闭仪器,停止 O₃熏蒸)。整个 O₃熏蒸期间,NF 和 NF40 处理下,白天 10 h(8:00—18:00)O₃浓度日均值分别为 39.5 nmol/mol 和 75.9 nmol/mol,O₃累积剂量 AOT40 值(试验期间小时 O₃浓度超过 40 nmol/mol 的累计值)分别为 8.3 μmol mol⁻¹ h 和 40.8 μmol mol⁻¹ h(图 1)。

每个 O₃处理下嵌套设置 3 个肥料处理,分别为:(1)常规施无机肥处理(Ino),与当地大田施肥量保持一致为 270 kg N hm⁻² a⁻¹,依据花盆面积换算每盆施氮量为 2.6 g;(2)减施无机肥处理(Red),施肥量为



图 1 整个生育期平均臭氧浓度和小时臭氧浓度超过 40 nmol/mol 的累计值 Fig.1 Summary of mean daytime O₃ concentration and hourly accumulated O₃ exposure over a threshold of 40 nmol/mol (AOT40)

189 kg N hm⁻² a⁻¹,是常规施无机肥量的 70%,依据花盆面积换算每盆施氮量为 1.8 g;(3)有机无机肥配施处 理(Com),在减肥处理基础上添加商业有机肥鸡粪 5000 kg hm⁻² a⁻¹,依据花盆面积换算每盆施商业鸡粪有机 肥 48 g。整个生育期肥料施用频率与当地农民保持一致,分 3 次施入,依据含氮量分别为基肥(40%)、分蘖肥 (20%)和穗肥(40%)。基肥施用商业复合肥(N:P₂O₅:K₂O=15:15:15%),Ino 处理每盆施 6.93 g 复合肥,其中 包含 N、P₂O₅和 K₂O 都为 1.04 g;Red 和 Com 处理每盆施 4.8 g 复合肥,其中包含 N、P₂O₅和 K₂O 都为 0.72 g, Com 处理下的有机肥作为基肥一次性施入。分蘖肥和穗肥施用尿素,Ino 处理每盆在分蘖期和抽穗期分别施 尿素 1.1 g 和 2.2 g,Red 和 Com 处理每盆在分蘖期和抽穗期分别施尿素 0.77 g 和 1.54 g。 1.4 指标测定

1.4.1 气体交换参数测定

在水稻的不同生育期,于8月3日(拔节期)、8月23日(抽穗期)、9月17日(灌浆前期)和10月4日(灌 浆后期),利用Li-6800便携式光合测定仪(LI-COR,美国)测定叶片气体交换参数。在晴天9:00—11:30的时 间段,于每个 OTC 内每个肥料处理下每个品种随机选择水稻2盆,总共72盆水稻,对其最上部叶片(抽穗期 后为旗叶)气体交换参数进行测定。测定前仪器进行自检并校准,然后对仪器参数进行设定,光合有效辐射 设置为1500 μmol m⁻² s⁻¹,CO₂浓度设置为410 μmol/mol,温度和湿度依据测定当天环境条件设定。测定的气 体交换参数主要包括:饱和光合速率(*A*_{sat})、气孔导度(*g*_s)、叶片胞间 CO₂浓度(*C*_i)。

1.4.2 叶片 SPAD 值

在水稻的不同生育期拔节期、抽穗期、灌浆前期和灌浆后期测定完气体交换参数当天,利用 SPAD-502 叶 绿素仪(Minolta,日本)测定 72 盆水稻最上部叶片的叶绿素相对值(SPAD 值),测定时避开主叶脉区域,在叶 片位置距叶尖三分之一至二分之一处进行测定,每张叶片在不同区域测定 5 次,记录平均值即为该叶片的 SPAD 值。

1.5 数据处理

利用 Excel 对实验数据进行整理和分析。然后进一步检查数据的正态性以及方差齐性,并利用 JMP 软件 对每个变量的数据进行多因素方差分析(ANOVA),分析 O₃处理、肥料处理、水稻品种和生育期对所有光合参 数的影响及其各个因子的交互影响。利用 t 双尾检验分析在相同施肥处理、相同生育期、相同品种下不同 O₃ 处理对各变量的显著性差异。分别构建了两个水稻品种 A_{sat}和 SPAD 的相对减少量与 O₃累积剂量 AOT40 的 响应关系,并利用协方差分析(ANCOVA)比较不同品种线性关系斜率之间的差异。A_{sat}和 SPAD 的相对减少 量的计算参考 Feng 等(2019)的方法^[26],在每个取样时期和肥料处理下,对 A_{sat}和 SPAD 与对应测样时期的两 个 O₃处理下的 AOT40 值进行一元回归,以获得 y 截距即零 O₃暴露时变量为最大值,随后将 A_{sat}和 SPAD 的观测值除以相应的 y 截距即为该时期该肥料处理下 A_{sat}和 SPAD 的相对值。采用 Sigmaplot 制图,柱形图中的数 据为平均值±标准偏差(SD),并且以 OTC 为重复单元(n=3)。

2 结果与分析

2.1 不同浓度臭氧和肥料处理对水稻气体交换参数的影响

O₃处理、肥料处理、水稻品种和生育期对所有光合参数影响的多因素方差分析结果在表 1 中显示,结果显示不同 O₃处理、肥料处理以及取样时期下水稻的 A_{sat}都有显著的不同,两个水稻品种的 A_{sat}没有显著差异。O₃ 对水稻两个品种的 A_{sat}的降低主要在灌浆期(图 2)。当平均三种肥料处理,NF40 处理下南粳 9108 灌浆前期和灌浆后期的 A_{sat}比 NF 处理下的分别低 8.5%和 36.5%,NF40 处理下徽两优 898 灌浆前期和灌浆后期的 A_{sat}比 NF 处理下的分别低 8.5%和 36.5%,NF40 处理下徽两优 898 灌浆前期和灌浆后期的 A_{sat}比 NF 处理下的分别低 38.0%和 40.4%。当平均不同时期和 O₃处理,与 Ino 处理相比,Red 处理显著的降低了



图 2 臭氧对三种施肥处理下的两个水稻品种不同生育期叶片饱和光合速率(A_{sat})的影响

Fig.2 Effects of elevated ozone on the saturated photosynthetic rate (A_{sat}) of two rice cultivars under three fertilization treatments at different development stages

(* *P*<0.1, ** *P*<0.05)

南梗 9108 和徽两优 898 的 *A*_{sat}分别为 9.5%和 10.2%, Ino 处理和 Com 处理间 *A*_{sat}没有显著差异(表 1 和图 2)。 O₃和肥料处理对 *A*_{sat}没有显著的交互影响, 但水稻品种和时期对 *A*_{sat}有交互作用(表 1)。水稻的 *A*_{sat}在分蘖期 和抽穗期明显高于灌浆期, 并且在 NF 处理下, 南粳 9108 的 *A*_{sat}比徽两优 898 的 *A*_{sat}在抽穗期高 17.3%, 但在灌 浆前期和灌浆后期分别低 24.9%和 22.1%(图 2)。

表 1 O₃处理、肥料处理、水稻品种与取样时期的交互作用对光合参数影响的方差分析结果

Table 1 ANOVA results (P values) for main effects and interactions of O_3 treatment, fertilizer treatment, rice cultivar and sampling stage on the saturated photosynthetic parameters

变量 Parameters	饱和光合速率 Saturated photosynthetic rate	气孔导度 Stomatal conductance	胞间 CO ₂ 浓度 Intercellular carbon dioxide concentration	叶绿相对值 Relative chlorophyll content
臭氧 O3	< 0.01	< 0.01	0.08	<0.01
肥料 Fertilizer	0.02	0.12	0.04	< 0.01
品种 Cultivar	0.23	< 0.01	< 0.01	< 0.01
时期 Stage	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
臭氧×肥料 O3×Fertilizer	0.88	0.84	0.64	0.45
臭氧×品种 O3×Cultivar	0.55	0.81	0.99	< 0.01
臭氧×时期 O3×Stage	0.73	0.65	< 0.01	< 0.01
肥料×品种 Fertilizer×Cultivar	0.99	0.94	0.35	0.25
肥料×时期 Fertilizer×Stage	0.46	0.75	0.46	0.42
品种×时期 Cultivar×Stage	< 0.01	< 0.01	0.03	< 0.01
臭氧×肥料×品种 O3×Fertilizer×Cultivar	0.08	0.35	0.25	0.62
臭氧×肥料×时期 03×Fertilizer×Stage	0.63	0.44	0.86	0.21
臭氧×品种×时期 03×Cultivar×Stage	0.16	0.11	0.20	< 0.01
肥料×品种×时期 Fertilizer×Cultivar×Stage	0.86	0.90	0.87	0.18
臭氧×肥料×品种×时期 O ₃ ×Fertilizer×Cultivar×Stage	0.79	0.73	0.74	0.60

基于多因素方差分析结果表明,不同 O₃处理、不同品种以及不同取样时期下 g_s有显著的不同,肥料处理 对 g_s没有显著的影响(表 1)。NF40 处理显著降低了 Ino 和 Com 处理下徽两优 898 灌浆前期的 g_s分别为 57.7%和 44.3%(图 3)。与 A_{sat}相似,水稻的 g_s在分蘖期和抽穗期显著高于灌浆期(图 3)。水稻品种和时期对 g_s有显著的交互作用(表 1),在 NF 处理下平均所有的肥料处理,分蘖期和抽穗期水稻徽两优 898 的 g_s比南粳 9108 的高 45.2%和 29.0%,在灌浆期两个品种的 g_s是相近的(图 3)。

综合了所有肥料处理、水稻品种和取样时期,O₃对 C_i没有显著的影响,O₃和时期对 C_i有交互作用(表1)。 相对于 NF 处理,NF40 显著增加了 Ino 和 Com 处理下南粳 9108 灌浆后期的 C_i分别为 11.5%和 10.9%(图4)。 平均所有 O₃处理、水稻品种和取样时期,Com 处理下的 C_i比 Ino 和 Red 处理下的 C_i分别低 2.0%和 1.7%。徽 两优 898 的 C_i显著高于南粳 9108 的 C_i,灌浆后期水稻 C_i显著低于分蘖期的 C_i(图 4)。此外,品种和时期对 C_i也有交互作用(表 1),与分蘖期相比,灌浆后期南粳 9108 的 C_i降低(15.4%)比徽两优 898 的 C_i降低 (10.6%)更多(图 4)。

2.2 不同浓度臭氧和肥料处理对水稻叶绿素相对值的影响

基于多因素方差分析结果显示不同的 O₃处理、肥料处理、品种以及取样时期下 SPAD 都有显著的不同, 并且 O₃处理×品种、O₃处理×取样时期、品种×取样时期、O₃处理×品种×取样时期对 SPAD 都有显著的交互影 响(表1)。O₃对南粳 9108 的 SPAD 没有显著的影响,然而,与 NF 处理相比,NF40 处理显著降低了灌浆后期 Ino 处理、Com 处理和 Red 处理下徽两优 898 的 SPAD 分别为 24.0%、36.9%和 38.5%(图 5)。当平均不同 O₃ 处理、水稻品种和取样时期,与 Ino 处理相比,Com 和 Red 处理显著降低了 SPAD 3.7%和 3.6%,Com 和 Red 处 理的水稻 SPAD 没有显著的不同(图 5)。南粳 9108 的叶片 SPAD 仅在灌浆后期有显著的降低,而徽两优 898



图 3 臭氧对三种施肥处理下的两个水稻品种不同生育期叶片气孔导度(g_s)的影响



* P<0.1, ** P<0.05

在灌浆前期 SPAD 就有显著的降低。在 NF 处理下,与分蘖期相比灌浆后期南梗 9108 和徽两优 898 的 SPAD 分别降低了 31.8%和 49.9%,并且在灌浆期徽两优 898 叶片 SPAD 显著低于南梗 9108 的 SPAD(图 5)。 2.3 光合参数与 O₃累积剂量的响应关系

建立 O₃累积剂量(AOT40)与相对 A_{sat}和 SPAD 的关系(图 6),发现随着 AOT40 增加,两种水稻品种的相 对 A_{sat}都显著降低,但仅有徽两优 898 的相对 SPAD 显著降低,这与图 2 和图 5 的结果一致。此外,徽两优 898 的相对 A_{sat}和 SPAD 与 AOT40 的线性关系斜率显著大于南粳 9108 线性关系的斜率(图 6)。

3 讨论

3.1 臭氧对水稻不同生育期光合特性的影响 光合作用是作物生长的主要生理过程,其合成的碳水化合物不仅可以用于作物生物量和产量的积累,也



图 4 臭氧对三种施肥处理下的两个水稻品种不同生育期叶片胞间 CO₂浓度(C_i)的影响

Fig.4 Effects of elevated ozone on the intercellular carbon dioxide concentration (C_i) of two rice cultivars under three fertilization treatments at different development stages

*P < 0.1, **P < 0.05

可为作物主要代谢、解毒和修复等过程提供能量。本研究对整个生育期水稻的气体交换参数进行测定,发现 O₃浓度升高对两个水稻品种所有光合相关参数的影响主要是在其生长后期的灌浆期(图 2—5)。之前有研究 在水稻生长的不同生育期(营养生长阶段和生殖生长阶段)进行 O₃熏蒸试验,并使得不同熏蒸阶段 O₃累积计 量 AOT40 值保持相近,结果显示在抽穗灌浆期进行 O₃熏蒸处理下水稻光合生理生长过程受到的影响更 大^[13]。O₃对作物不同生育期光合固碳的影响,也会表现在其对作物产量组成的影响。之前大量研究已经表 明 O₃降低水稻产量主要被归因于其单个籽粒重以及饱粒率^[27-28],与本研究中 O₃主要影响灌浆期水稻的 A_{sat} 结果相一致(图 2)。然而,不同地区的作物品种和 O₃浓度,使得作物产量及产量组成对 O₃浓度升高的响应不 完全相同^[29]。光合参数反映的仅是水稻叶片尺度的生长参数,不同处理下水稻的分蘖数和叶片面积不同,会 综合影响整株水稻的生长以及籽粒产量。

O,诱导作物光合速率降低可以被归因于气孔限制和非气孔限制,有研究发现不同 O,浓度水平造成作物



图 5 臭氧对三种施肥处理下的两个水稻品种不同生育期叶绿素相对值(SPAD)的影响

Fig.5 Effects of elevated ozone on the SPAD value of two rice cultivars under three fertilization treatments at different development stages *P < 0.1, **P < 0.05

光合速率降低的限制因素不同,并且 O₃对不同作物品种光合速率降低的限制因素也有所不同^[30]。在本研究中,基于 g_s和 C_i对 O₃的响应结果发现,对于杂交稻徽两优 898,NF40 显著的降低了其灌浆期的 g_s但对灌浆后期的 C_i没有显著影响,相反地,NF40 显著的升高了南梗 9108 灌浆后期的 C_i,但对 g_s没有显著的影响(图 3 和 图 4)。这些结果表明,O₃造成灌浆期常规稻南粳 9108 光合速率降低的主要是非气孔因素,而杂交稻徽两优 898 光合的降低是由气孔因素和非气孔因素共同限制的。此外,NF40 显著的降低了徽两优 898 灌浆期水稻 叶片的 SPAD,但对南粳 9108 的 SPAD 没有显著影响(图 5)。尽管叶绿素是植物光合作用的主要色素,但本 研究 SPAD 的结果并不能完全解释以上关于光合限制因素的结论。主要由于 O₃抑制作物光合速率的非气孔 限制因素不仅包括光合色素含量,还包括光合相关酶的含量和活性、电子传递速率和叶肉细胞同化能力等^[9]。最新研究也发现叶肉导度也是 O₃诱导植物光合作用减少的关键限制因素^[29],也需要进一步探究 O₃对作物叶肉导度的影响及其对抑制光合速率的贡献。

13 期



• 南粳9108 o 徽两优898

图 6 两种水稻品种的相对饱和光合速率和相对叶绿素含量与 \mathbf{O}_3 累积剂量(AOT40)的响应关系

Fig.6 Ozone exposure-response relationships with relative saturated photosynthetic rate (A_{sat}) and relative chlorophyll content (SPAD)

不同的作物品种对 O₃的耐受性不同^{[11][31]},并且已经有大量研究探究了不同耐受性品种的抗氧化机制^[32]。基于两个水稻品种的 A_{sat}和 SPAD 相对减少量与 AOT40 的剂量关系斜率(图6),可以看出两个水稻品种对 O₃的敏感性显著不同,杂交稻徽两优 898 比常规稻南粳 9108 更敏感。这与之前关于 12 个水稻品种(4 个杂交稻品种和 8 个常规稻品种)的研究结果一致,不同水稻品种间的光合作用对 O₃的响应存在显著差异,杂交稻比常规稻响应更敏感^[11],通过喷施抗氧化剂 EDU 筛选水稻抗性品种的研究中也得到了同样的结果^[33]。主要由于杂交稻相对于常规稻有更大的 g_s(图 3),进而有更大的气孔 O₃吸收通量。然而,本研究仅选择了两个水稻品种,并且这两个品种的遗传背景差异很大,还需选择多个品种进一步探究杂交稻和常规稻对 O₃的敏感性及其差异机制。此外,相对 A_{sat}和 SPAD 与 AOT40 的响应函数参数也可以提高相关模型性能,叶片叶绿素很容易通过田间的 SPAD 仪进行测量,可以与冠层尺度的遥感数据(例如,NDVI)相结合,用于评估 O₃对作物产量的影响^[34],并且在评估中需要考虑作物不同品种对 O₃的响应差异^[7]。

3.2 有机无机肥配施对水稻不同生育期种光合特性的影响

利用有机肥替代部分化肥的技术是发展现代绿色可持续农业的重要措施之一,可以减少对化肥的依赖, 也能一定程度解决农业有机废弃物的不合理处置。目前关于有机无机肥配施的研究主要关注对土壤性质和 肥力、土壤温室气体排放、作物产量、营养的摄取和利用等方面的影响^{[19][23][35-36]},很少关注有机无机肥配施 对作物光合生理过程的影响^[37-39]。仅有的研究结果表明,与单施无机肥相比,有机无机肥配施可以延缓灌浆 中后期叶片衰老,延缓叶绿素的降解^[38],使作物具有较强的光合能力^[37]。在本研究中,当平均不同取样时期 和 O₃处理,不同肥料处理下两种水稻品种的 A_{sat}的排序为:Ino 处理 > Com 处理 > Red 处理(图 2),这与之前 在小麦群体光合特性的研究结果完全一致^[37]。与 Ino 处理相比,Red 处理显著地降低了两种水稻品种的 A_{sat}, 而 Ino 处理和 Com 处理间 A_{sat}没有显著差异(图 2),这说明减肥 30%能够显著抑制水稻的光合,但在减肥处理 下配施有机肥能够有效缓解这种抑制作用。此外,不同肥料处理下水稻的 g_s没有显著差异(表 2),Ino 处理下 水稻叶片 SPAD 显著的高于 Red 处理下的 SPAD(图 5),并且 Red 处理下 C_i最高(图 4),这些结果都表明与常 规施肥相比,减施氮肥 30%下叶片叶绿素含量及相关光合酶含量降低等非气孔限制因子抑制了水稻光合速 率。然而,与 Red 处理相比,Com 能够促进水稻光合作用,主要由于有机无机肥配施既弥补了有机肥前期肥 效不足的缺点,又能延长无机肥的肥效。然而,现有研究已经表明有机肥替代无机肥比例过高会抑制作物生 长以及产量^[23],因此,关于有机无机肥不同配施比例下对作物光合特性的影响有待于进一步的研究,进而提 出最优有机无机配施方案。

3.3 臭氧和有机无机肥配施对水稻光合特性的复合影响

目前已有一些研究探究了不同氮肥施用水平下 03对主要农作物光合生理、生长以及产量的影响,包括水

稻^[40-41]、小麦^[42-43]和玉米^[44-45]。然而,目前关于 O₃和氮肥对作物的复合影响没有统一的结论。有研究显示增施氮肥在一定程度上可缓解 O₃对作物的光合损伤,并且在生长前期增施氮肥效果会更好^[40]。此外,抗氧化防御在保护植物免受 O₃胁迫中起着重要作用,增施氮肥处理增强了作物的抗氧化防御^[43],进而缓解 O₃对作物产量的负面影响^[42]。由于不同作物品种对 O₃的敏感性不同,导致 O₃和氮肥对不同作物品种的复合影响也不一致^[43],也有研究发现 O₃和氮肥对作物的影响并没有交互作用^[45]。在本研究中,O₃和肥料处理对两个水稻品种的光合参数都没有显著的交互作用(表1),这也表明有机无机肥并没有缓解 O₃对水稻光合的负面影响。主要由于不同肥料处理并没有改变水稻的 g_s(表1),因此,不同肥料处理下水稻气孔 O₃吸收通量没有显著不同。这也与之前的关于 O₃和氮添加对植物复合影响的 meta 分析研究结果是一致的,氮添加/沉降没有改变 O₃对植物的造成的损伤^[26]。此外,施用有机肥被广泛认为是由于额外的有机质和养分输入而改善土壤结构和土壤肥力的方法,有机无机肥配施具有长期可持续地提高氮肥利用率,随施肥年限的延长,有机无机肥配施对土壤养分含量提升效果增强^[40-47]。然而,本研究有机无机肥配施仅仅为一年的短期试验,因此,需要开展长期试验进一步探究有机无机肥配施能否有效缓解 O₃对作物的负面影响。

4 结论

(1)O₃浓度升高对两种水稻品种光合作用相关参数的影响主要是在其生长后期的灌浆期,水稻生育后期 叶片光合产物可以直接用于籽粒产量形成。此外,O₃抑制不同水稻品种光合的主要限制因素不同,O₃主要通 过非气孔因素造成南粳 9108 光合降低,而徽两优 898 光合降低是由气孔因素和非气孔因素共同限制的。不 同水稻品种的光合作用对 O₃的响应也存在品种差异,杂交稻徽两优 898 比常规稻南粳 9108 的 O₃敏感性更 大。分别建立了不同品种下光合速率和叶绿素与 O₃累积剂量的响应函数,可以用于区域尺度评估 O₃对作物 的影响。

(2)与正常施肥相比,减施 30%无机肥显著降低了叶片光合速率和叶绿素含量分别为 10%和 4%,在减肥 处理下配施有机肥能够提高水稻叶片光合速率。因此,在不影响作物生长的前提下,可以通过有机肥替代部 分无机肥,减少对化肥的过量施用,也能解决农业有机废弃物的不合理处置。O₃和肥料处理对所有水稻的光 合参数都没有显著的交互影响,说明短期有机无机肥配施并没有缓解 O₃造成水稻叶片光合速率的降低。

参考文献(References):

- [1] 冯兆忠,李品,袁相洋,高峰,姜立军,代碌碌.我国地表臭氧生态环境效应研究进展.生态学报,2018,38(5):1530-1541.
- [2] Lu X, Hong J Y, Zhang L, Cooper O R, Schultz M G, Xu X B, Wang T, Gao M, Zhao Y H, Zhang Y H. Severe surface ozone pollution in China: a global perspective. Environmental Science & Technology Letters, 2018, 5(8): 487-494.
- Brauer M, Freedman G, Frostad J, van Donkelaar A, Martin R V, Dentener F, van Dingenen R, Estep K, Amini H, Apte J S, Balakrishnan K, Barregard L, Broday D, Feigin V, Ghosh S, Hopke P K, Knibbs L D, Kokubo Y, Liu Y, Ma S, Morawska L, Sangrador J L T, Shaddick G, Anderson H R, Vos T, Forouzanfar M H, Burnett R T, Cohen A. Ambient air pollution exposure estimation for the global burden of disease 2013. Environmental Science & Technology, 2016, 50(1): 79-88.
- [4] Sicard P, Agathokleous E, De Marco A, Paoletti E, Calatayud V. Urban population exposure to air pollution in Europe over the last decades. Environmental Sciences Europe, 2021, 33(1): 28.
- [5] Agathokleous E, Feng Z Z, Oksanen E, Sicard P, Wang Q, Saitanis C J, Araminiene V, Blande J D, Hayes F, Calatayud V, Domingos M, Veresoglou S D, Peñuelas J, Wardle D A, De Marco A, Li Z Z, Harmens H, Yuan X Y, Vitale M, Paoletti E. Ozone affects plant, insect, and soil microbial communities: a threat to terrestrial ecosystems and biodiversity. Science Advances, 2020, 6(33): eabc1176.
- [6] Ramya A, Dhevagi P, Poornima R, Avudainayagam S, Watanabe M, Agathokleous E. Effect of ozone stress on crop productivity: a threat to food security. Environmental Research, 2023, 236(Pt 2): 116816.
- [7] 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: 47-56.
- [8] Feng Z Z, Pang J, Kobayashi K, Zhu J G, Ort D R. Differential responses in two varieties of winter wheat to elevated ozone concentration under fully open-air field conditions. Global Change Biology, 2011, 17(1): 580-591.

- [9] Feng Z Z, Wang L, Pleijel H, Zhu J G, Kobayashi K. Differential effects of ozone on photosynthesis of winter wheat among cultivars depend on antioxidative enzymes rather than stomatal conductance. The Science of the Total Environment, 2016, 572: 404-411.
- [10] Wang J L, Liu G, Liu F X, Zhu J G. Responses of antioxidant enzymes to chronic free-air ozone stress in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars with different ozone-sensitivities. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2019, 103(3): 428-434.
- [11] 何龙鑫,徐彦森,冯兆忠,张涵,曹蓉,钟鑫,马艳泽.不同水稻品种光合特性及叶绿素对臭氧浓度升高的响应差异.农业环境科学学报,2023,42(4):715-723.
- [12] Frei M, Tanaka J P, Wissuwa M. Genotypic variation in tolerance to elevated ozone in rice: dissection of distinct genetic factors linked to tolerance mechanisms. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(13): 3741-3752.
- [13] 付娆,尚博,张国友,冯兆忠.不同生育期臭氧熏蒸对水稻光合作用及生长的影响差异.农业环境科学学报,2021,40(10):2066-2075.
- [14] 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.
- [15] Xu Y S, Kobayashi K, Feng Z Z. Wheat yield response to elevated O₃ concentrations differs between the world's major producing regions. The Science of the Total Environment, 2024, 907: 168103.
- [16] Zhang X, Davidson E A, Mauzerall D L, Searchinger T D, Dumas P, Shen Y. Managing nitrogen for sustainable development. Nature, 2015, 528 (7580): 51-59.
- [17] 巨晓棠,谷保静.我国农田氮肥施用现状、问题及趋势.植物营养与肥料学报,2014,20(4):783-795.
- [18] 潘根兴,周萍,张旭辉,李恋卿,郑聚锋,邱多生,储秋华.不同施肥对水稻土作物碳同化与土壤碳固定的影响——以太湖地区黄泥土 肥料长期试验为例. 生态学报, 2006, 26(11): 3704-3710.
- [19] Xia L L, Lam S K, Yan X Y, Chen D L. How does recycling of livestock manure in agroecosystems affect crop productivity, reactive nitrogen losses, and soil carbon balance? Environmental Science & Technology, 2017, 51(13): 7450-7457.
- [20] Zhang X Y, Fang Q C, Zhang T, Ma W Q, Velthof G L, Hou Y, Oenema O, Zhang F S. Benefits and trade-offs of replacing synthetic fertilizers by animal manures in crop production in China: a meta-analysis. Global Change Biology, 2020, 26(2): 888-900.
- [21] Bhattacharyya R, Chandra S, Singh R, Kundu S, Srivastva A, Gupta H. Long-term farmyard manure application effects on properties of a silty clay loam soil under irrigated wheat-soybean rotation. Soil and Tillage Research, 2007, 94(2): 386-396.
- [22] Liu B, Wang X Z, Ma L, Chadwick D, Chen X P. Combined applications of organic and synthetic nitrogen fertilizers for improving crop yield and reducing reactive nitrogen losses from China's vegetable systems: a meta-analysis. Environmental Pollution, 2021, 269: 116143.
- [23] Ding W C, Xu X P, He P, Ullah S, Zhang J J, Cui Z L, Zhou W. Improving yield and nitrogen use efficiency through alternative fertilization options for rice in China; a meta-analysis. Field Crops Research, 2018, 227; 11-18.
- [24] 刘益仁,李想,郁洁,沈其荣,徐阳春.有机无机肥配施提高麦-稻轮作系统中水稻氮肥利用率的机制.应用生态学报,2012,23(1): 81-86.
- [25] Ye S L, Liu T C, Niu Y. Effects of organic fertilizer on water use, photosynthetic characteristics, and fruit quality of pear jujube in northern Shaanxi. Open Chemistry, 2020, 18(1): 537-545.
- [26] Feng Z Z, Shang B, Li Z Z, Calatayud V, Agathokleous E. Ozone will remain a threat for plants independently of nitrogen load. Functional Ecology, 2019, 33(10): 1854-1870.
- [27] Shao Z S, Zhang Y L, Mu H R, Wang Y L, Wang Y X, Yang L X. Ozone-induced reduction in rice yield is closely related to the response of spikelet density under ozone stress. The Science of the Total Environment, 2020, 712: 136560.
- [28] Shang B, Fu R, Agathokleous E, Dai L L, Zhang G Y, Wu R J, Feng Z Z. Ethylenediurea offers moderate protection against ozone-induced rice yield loss under high ozone pollution. The Science of the Total Environment, 2022, 806(Pt 3): 151341.
- [29] Xu Y S, Feng Z Z, Peng J L, Uddling J. Variations in leaf anatomical characteristics drive the decrease of mesophyll conductance in poplar under elevated ozone. Global Change Biology, 2023, 29(10): 2804-2823.
- [30] Shang B, Deng T T, Chen H, Xu Y S. Effects of elevated ozone on physiology, growth, yield and grain quality of rice (*Oryza sativa* L.): an ozone gradient experiment. Agriculture Ecosystems & Environment, 2024, 363: 108858.
- [31] Pang J, Kobayashi K, Zhu J G. Yield and photosynthetic characteristics of flag leaves in Chinese rice (*Oryza sativa* L.) varieties subjected to freeair release of ozone. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2009, 132(3/4): 203-211.
- [32] Wang J L, Zeng Q, Zhu J G, Liu G, Tang H Y. Dissimilarity of ascorbate glutathione (AsA GSH) cycle mechanism in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars under experimental free-air ozone exposure. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2013, 165: 39-49.
- [33] Zhang G Y, Kobayashi K, Wu H C, Shang B, Wu R J, Zhang Z J, Feng Z Z. Ethylenediurea (EDU) protects inbred but not hybrid cultivars of rice from yield losses due to surface ozone. Environmental Science and Pollution Research, 2021, 28(48): 68946-68956.
- [34] Chi G Y, Huang B, Shi Y, Chen X, Li Q, Zhu J G. Detecting ozone effects in four wheat cultivars using hyperspectral measurements under fully

open-air field conditions. Remote Sensing of Environment, 2016, 184: 329-336.

- [35] 张东旭, 胡丹珠, 闫金龙, 冯丽云, 邬志远, 李岩华, 闫海丽, 程永明, 张俊灵. 有机肥替代化肥对小麦生长及土壤养分的影响[J/OL], 生态学杂志.(2023-02-20) [2024-02-16].http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1148.Q.20230926.1015.002.html.
- [36] Zhu L Q, Li J, Tao B R, Hu N J. Effect of different fertilization modes on soil organic carbon sequestration in paddy fields in South China: A metaanalysis. Ecological Indicators, 2015, 53: 144-153.
- [37] 赵隽, 董树亭, 刘鹏, 张吉旺, 赵斌. 有机无机肥长期定位配施对冬小麦群体光合特性及籽粒产量的影响. 应用生态学报, 2015, 26(8): 2362-2370.
- [38] 杨长明,杨林章.有机-无机肥配施对水稻剑叶光合特性的影响.生态学杂志,2003,22(1):1-4.
- [39] 祝海竣, 唐舟, 石爱龙, 文天, 文璨, 薛华良, 王学华. 灌溉模式和有机肥配施对水稻产量、光合特性和氮肥利用率的影响. 土壤, 2022, 54(4): 700-707.
- [40] 罗克菊,朱建国,刘钢,唐吴冶,李春华,曾青. 臭氧胁迫对水稻的光合损伤与施氮的缓解作用. 生态环境学报, 2012, 21(3): 481-488.
- [41] Tatsumi K, Abiko T, Kinose Y, Inagaki S, Izuta T. Effects of ozone on the growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.) under different nitrogen fertilization regimes. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26(31): 32103-32113.
- [42] 陈娟,曾青,朱建国,刘钢,曹际玲,谢祖彬,唐吴冶,小林和彦.施氮肥缓解臭氧对小麦光合作用和产量的影响.植物生态学报,2011, 35(5):523-530.
- [43] Pandey A K, Ghosh A, Agrawal M, Agrawal S B. Effect of elevated ozone and varying levels of soil nitrogen in two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars: growth, gas-exchange, antioxidant status, grain yield and quality. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 158: 59-68.
- [44] Peng J L, Xu Y S, Shang B, Qu L Y, Feng Z Z. Impact of ozone pollution on nitrogen fertilization management during maize (Zea mays L.) production. Environmental Pollution, 2020, 266(Pt 2): 115158.
- [45] Peng J L, Xu Y S, Shang B, Agathokleous E, Feng Z Z. Effects of elevated ozone on maize under varying soil nitrogen levels: Biomass, nitrogen and carbon, and their allocation to kernel. The Science of the Total Environment, 2021, 765: 144332.
- [46] 宋惠洁, 胡丹丹, 邬磊, 都江雪, 胡志华, 张文菊, 李大明, 余红英, 柳开楼. 长期有机无机肥配施下玉米氮素利用率和红壤碱解氮含量的阶段性变化. 植物营养与肥料学报, 2022, 28(11): 2030-2040.
- [47] 杨胜玲,黄兴成,李渝,刘彦伶,张雅蓉,张文安,蒋太明. 有机肥长期替代化肥对水稻产量及土壤养分的影响. 贵州农业科学, 2021, 49(4): 36-44.