

施氮肥缓解臭氧对小麦光合作用和产量的影响

陈娟^{1,2} 曾青^{1*} 朱建国¹ 刘钢¹ 曹际玲^{1,2} 谢祖彬¹ 唐昊冶¹ 小林和彦³

¹中国科学院南京土壤研究所土壤与可持续农业国家重点实验室, 南京 210008; ²中国科学院研究生院, 北京 100049; ³东京大学农学院全球植物资源研究室, 东京 113-8657, 日本

摘要 以小麦(*Triticum aestivum*)品种‘扬麦16’为试材, 利用开放式空气臭氧(O₃)浓度升高平台, 研究了增施氮(N)肥对O₃对小麦光合作用和产量影响的缓解作用。结果表明, O₃胁迫下灌浆期小麦的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)、叶绿素a (Chl a)、叶绿素b (Chl b)、类胡萝卜素(Car)、总叶绿素含量(Chl t)和可溶性蛋白的含量显著降低, 降幅分别为28.95%、31.79%、23.17%、58.89%、68.64%、22.89%、60.31%和32.00%; 胞间CO₂浓度(C_i)变化很小; 成熟期生物量和收获时产量也明显下降, 降幅分别为12.23%和12.63%; 而增施N肥可以增加小麦灌浆期的P_n、Chl a、Chl b、可溶性蛋白的含量, 进而增加小麦生物量和产量, 增幅分别为25.66%、83.05%、121.57%、30.33%、14.94%和10.67%, 而对C_i、G_s、T_r、Car含量无明显影响。O₃和N肥对小麦叶片的P_n、Chl t及可溶性蛋白含量有明显的交互作用。因此, 在大气O₃浓度升高条件下增施N肥对小麦O₃损伤有一定的缓解作用。

关键词 生物量, 缓解, 氮肥, 臭氧, 光合作用, 产量

Nitrogen supply mitigates the effects of elevated [O₃] on photosynthesis and yield in wheat

CHEN Juan^{1,2}, ZENG Qing^{1*}, ZHU Jian-Guo¹, LIU Gang¹, CAO Ji-Ling^{1,2}, XIE Zu-Bin¹, TANG Hao-Ye¹, and KAZUHIKO Kobayashi³

¹State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; and ³Department of Global Agricultural Sciences, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, the University of Tokyo, Tokyo 113-8657, Japan

Abstract

Aims Our objective was to study the interactive influences of ozone (O₃) and nitrogen (N) on photosynthesis and yield in winter wheat (*Triticum aestivum*).

Methods The winter wheat was exposed to two levels of O₃ (ambient and 1.5 ambient) and two levels of N supply (210 and 250 kg·hm⁻²) under field conditions.

Important findings O₃ exposure significantly reduced the net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s) and transpiration rate (T_r) of wheat leaves in the filling stage by 28.95%, 31.79% and 23.17%, respectively. O₃ exposure also significantly reduced the content of chlorophyll a (Chl a), chlorophyll b (Chl b), carotene (Car), total chlorophyll (Chl t) and soluble protein in the filling stage by 58.89%, 68.64%, 22.89%, 60.31% and 32.00%, respectively, while intercellular CO₂ concentration (C_i) changed slightly. Biomass in the maturing stage and yield of the wheat were also reduced by elevated O₃ by 12.23% and 12.63%, respectively. High N availability significantly increased P_n, Chl a, Chl b, soluble protein, biomass and yield of the wheat leaves by 25.66%, 83.05%, 121.57%, 30.33%, 14.94% and 10.67%, respectively, while G_s, C_i, T_r and Car were influenced slightly by high N, which indicated that the increase of P_n was mainly caused by the increment of Chl a, Chl b and soluble protein. The interactive effects of O₃ and N on the concentrations of P_n, Chl a, Chl b and soluble protein were significant. These results suggest that sufficient N supply can modify the effects of elevated O₃ on photosynthesis and yield in wheat.

Key words biomass, mediation, nitrogen, ozone, photosynthesis, yield

对流层大气中的臭氧(O₃)主要是由排入大气的氮氧化物等一次性污染物经光化学反应生成的。近

年来, 汽车尾气排放、工业生产等人为原因导致近地面O₃浓度日益增高, 预计2015年至2050年对流层

中的O₃浓度将增加20%–25%，2100年将增加40%–60% (Morgan *et al.*, 2006; Sitch *et al.*, 2007)。对流层中O₃增加到一定程度不仅会对人类健康造成伤害，而且对植物生长发育也产生深刻影响(Ashmore, 2005)。它能引起植物气孔关闭，光合组织结构和功能的破坏，抑制光合系统电子传递，改变色素含量和组成，降低核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)的含量和活性，导致光合能力下降，并进一步降低植物生物量和产量(Kobayashi & Okada, 1995; Maurer *et al.*, 1997; Long & Naidu, 2002; Chen *et al.*, 2008)。近年来，有关缓解作物臭氧损伤措施的研究很多，主要采用ethylenediurea (EDU) (姚芳芳等, 2007)、外源抗坏血酸(郑启伟等, 2006)和施肥(Utraiainen & Holopainen, 2001a, 2001b)等3类方式。前两者由于环境和经济因素的限制，应用前景不大，但营养元素特别是氮(N)对植物生长有重要作用，可在一定程度上增加植物的生物量、产量以及光合作用(Utraiainen & Holopainen, 2001a, 2001b)，并且可行性大。因此，为如何避免未来O₃浓度升高引起的产量损失，研究增施N肥是否能缓解小麦O₃损伤及其机制是十分必要的。目前，关于N肥和O₃交互作用对植物生长的影响国外已有一定的研究。如Watanabe等(2008)利用开顶式气室(OTC)进行的盆栽试验将O₃设为3个浓度，分别为大气O₃浓度的1.0倍、1.5倍和2.0倍，N为0、20和50 kg·hm⁻² 3个水平。试验表明，O₃浓度增加显著降低栲树(*Castanopsis sieboldii*)幼苗的光合速率和总干重，而增施N肥(50 kg·hm⁻²)后光合速率和总干重显著增加；Singh等(2009)对热带油料作物*Brassica campestris*的研究也有类似结果，可能是因为高N条件下，改善了植物的营养状况，增加了抵抗力。这些已有的研究多是在OTC或封闭式气室条件下进行的盆栽试验，由于OTC及封闭式气室内的温度、湿度、通风、光照及降水等与周边环境有较大差异，无法客观地反映大气O₃浓度升高对植物的真实效应，目前为止针对我国主要粮食作物小麦的相关施N缓解O₃损伤的研究很少。本试验利用我国稻麦(O₃ free air controlled enrichment, O₃-FACE)平台对O₃和N肥交互作用对小麦(*Triticum aestivum*)光合和产量方面的影响进行研究，揭示增施N肥对小麦O₃损伤缓解作用的原因，为全球气候变化情况下我国粮食生产提供理论依据和思路。

1 材料和方法

1.1 试验地和平台概况

试验地位于江苏省江都市小纪镇马凌村良种场(119°42'0" E, 32°35'5" N)，土壤类型为中层砂浆水稻土；年平均降水量980 mm左右，潜在年蒸发量>1 100 mm，年平均温度14.9 °C，年日照时间>2 100 h，年无霜期220天。土壤基本理化性质为：有机碳18.4 g·kg⁻¹，全N 1.45g·kg⁻¹，全P 0.63 g·kg⁻¹，全K 14.0 g·kg⁻¹，速效P 10.1 mg·kg⁻¹，速效K 70.5 mg·kg⁻¹；砂粒(2–0.02 mm) 578.4 g·kg⁻¹，粉砂粒(0.02–0.002 mm) 285.1 g·kg⁻¹，黏粒(<0.002 mm) 136.5 g·kg⁻¹；容重1.16 g·cm⁻³；pH值7.2。

试验平台设有3个O₃处理圈(O₃-FACE)和3个对照圈(Ambient)。O₃-FACE圈设计为直径14.5 m的正八面形，O₃-FACE圈与对照圈之间间隔大于90 m，以减少O₃释放对对照圈的影响。通过围成正八角形的8根橡胶管带上直径0.5 mm × 0.9 mm的小孔向圈中心喷射O₃气体，放气管带的高度在作物冠层上方50–60 cm，电脑控制O₃-FACE圈内O₃浓度保持在对照圈的1.5倍，控制误差为10%。对照田块没有安装O₃-FACE管道，环境条件与自然状态完全一致。O₃-FACE圈内自2009年3月6日开始布气。

1.2 试验设计

供试小麦品种为当地主品种‘扬麦16’。2008年11月18日播种，行距为25 cm，基本苗为225万株·hm⁻²。大气O₃设对照和FACE两个处理，施N量设常N (210 kg·hm⁻², NN)和高N (250 kg·hm⁻², HN)两个水平，共4个处理组合，各重复3次，每个圈内隔离出1.2 m²进行小区试验。2009年6月8日收获。

当地常规施肥水平为：N 210 kg·hm⁻²，P₂O₅ 84 kg·hm⁻²，K₂O 84 kg·hm⁻²。各时期的施肥量为：N，基肥60%，壮蘖肥10%，拔节肥30%；P和K，基肥60%，拔节肥40%。肥料品种为尿素和复合肥(15:15:15)。本试验高N处理在最后一次施肥时，在常规施肥基础上追加N肥40 kg·hm⁻²，追加的N肥占总施N量的19%，品种为尿素。田间管理为大田常规管理。

1.3 测定项目与方法

在小麦抽穗期、开花期、灌浆期进行光合和气体交换指标测定，并采样进行室内生理生化分析，并在抽穗期、开花期、成熟期采集测定生物量。收获时计产。

1.3.1 气体交换参数的测定

采用LI-6400便携式光合仪(LI-COR, Lincoln, USA)在9:00–11:00分别测定各处理小麦功能叶净光合速率(P_n)值, 气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)、胞间 CO_2 浓度(C_i), 每处理各选取5–6片长势一致的功能叶。光合速率测定时选择红蓝光源控制光强为1 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, CO_2 浓度为380 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, 测定气体流速为500 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$, 测定温度与当时叶温一致, 湿度为当时空气湿度。

1.3.2 叶绿素含量的测定

用95%乙醇提取叶绿素, 用7530G紫外/可见分光光度计(安捷伦科技上海分析仪器有限公司, 上海)测定叶绿素a (Chl a)、叶绿素b (Chl b)、叶绿素总量(Chl t)及类胡萝卜素(Car)的含量。称取鲜叶0.1 g, 剪碎, 用25 mL 95%乙醇避光浸提, 放入4 °C冰箱过夜, 直到叶片碎片无色为止, 在波长665、649和470 nm下测定吸光度。按以下公式计算单位鲜质量中各种色素的含量($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$):

$$\text{叶绿素a含量 } C_a = (13.95A_{665} - 6.88A_{649}) \times \frac{\text{提取液体积}}{\text{样品鲜质量}} \quad (1)$$

$$\text{叶绿素b含量 } C_b = (24.96A_{649} - 7.32A_{665}) \times \frac{\text{提取液体积}}{\text{样品鲜质量}} \quad (2)$$

$$\text{类胡萝卜素含量 } C_{\text{car}} = (1000A_{470} - 2.05C_a - 114.8C_b) \div 245 \times \frac{\text{提取液体积}}{\text{样品鲜质量}} \quad (3)$$

$$\text{叶绿素总量 } C_{a+b} = C_a + C_b \quad (4)$$

1.3.3 可溶性蛋白含量的测定

采用考马斯亮蓝法(Makino *et al.*, 1986)测定可溶性蛋白的含量。称取鲜叶0.25–0.50 g, 用5 mL蒸馏水研磨成匀浆后, 3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min, 取上清液0.1 mL于试管中(每个样品重复2次), 加入5 mL考马斯亮蓝G-250溶液, 充分混匀, 放置2 min后在595 nm下比色, 测定吸光度, 并通过标准曲线查得蛋白质含量。

1.3.4 生物量和产量的测定

分别在小麦抽穗期、开花期、成熟期采样, 每个圈中每个处理均采20株左右, 把根洗净(尽量不破坏根系), 根、茎、叶、穗分开装入信封, 放入烘箱105 °C杀青30 min, 然后80 °C烘至恒重, 称样。产量采用风干、称重的方法。

1.4 统计分析

采用SPSS统计软件进行方差分析, 采用Excel软件作图。

2 结果和分析

2.1 不同 O_3 浓度和N肥处理对小麦气体交换参数的影响

由图1可知, 在常N水平下, O_3 处理的光合速率在小麦生长的前期与对照没有显著差异, 而生长后期即灌浆期 O_3 -FACE条件比对照显著降低了28.95% ($p < 0.01$); 高N水平下, 在小麦生长前期与常N水平下相似, O_3 -FACE和对照没有显著性差异, 而在灌浆期 O_3 -FACE与对照的差异同样没有达到显著性水平。在高N条件下, O_3 -FACE处理小麦叶片的光合速率比常N条件下增加了25.66% ($p < 0.05$)。由此表明, 增施N肥可增加小麦灌浆期光合速率。由方差分析可知, O_3 和N对小麦叶片的净光合速率有显著的交互作用($p < 0.05$)。

在不同N水平条件下, O_3 -FACE和对照处理前两个时期的 G_s 均没有明显差别, 而在灌浆期, O_3 -FACE比对照明显下降, 且降幅达到了显著水平($p < 0.05$), 常N下降幅为31.79%, 高N下降幅为24.69%。说明在 O_3 -FACE条件下增施N肥对 G_s 有一定的增加作用, 但高N与常N之间的差异没有达到显著水平。在各个时期, 不同 O_3 浓度和N水平下, C_i 均没有明显差异。 T_r 的变化在前两个时期与 G_s 相似, 但在灌浆期, 无论是常N还是高N条件下, O_3 -FACE均比对照明显降低, 且达到了显著水平($p < 0.01$)。而增施N肥对 O_3 -FACE条件下的 C_i 无显著影响。由方差分析可知, O_3 和N交互对 G_s 、 C_i 、 T_r 均没有显著影响。可见, 施N对 O_3 升高条件下小麦气孔损伤的修复作用不显著。

2.2 不同 O_3 浓度和N肥处理对小麦光合色素的影响

由图2可知, 无论在常规N水平还是高N条件下, O_3 -FACE处理小麦叶片Chl a含量在生长前期与对照没有明显差异, 而在灌浆期 O_3 处理小麦叶片Chl a含量与对照相比明显降低, 并达到极显著水平($p < 0.01$), 常N下降幅为58.87%, 高N下降幅为29.85%, 且在灌浆期 O_3 -FACE条件下, 常N与高N处理之间小麦叶片Chl a含量的差异达到极显著水平($p < 0.01$), 在高N条件下Chl a含量比常N增加83.05%, 结果表明增施N肥对小麦叶片Chl a含量增加有显著的促进作用。Chl b、Chl t与Chl a变化相似。Car含量在抽穗期和开花期的变化趋势与Chl a等相似, 各处理间没有差异, 但在灌浆期, 无论是常规

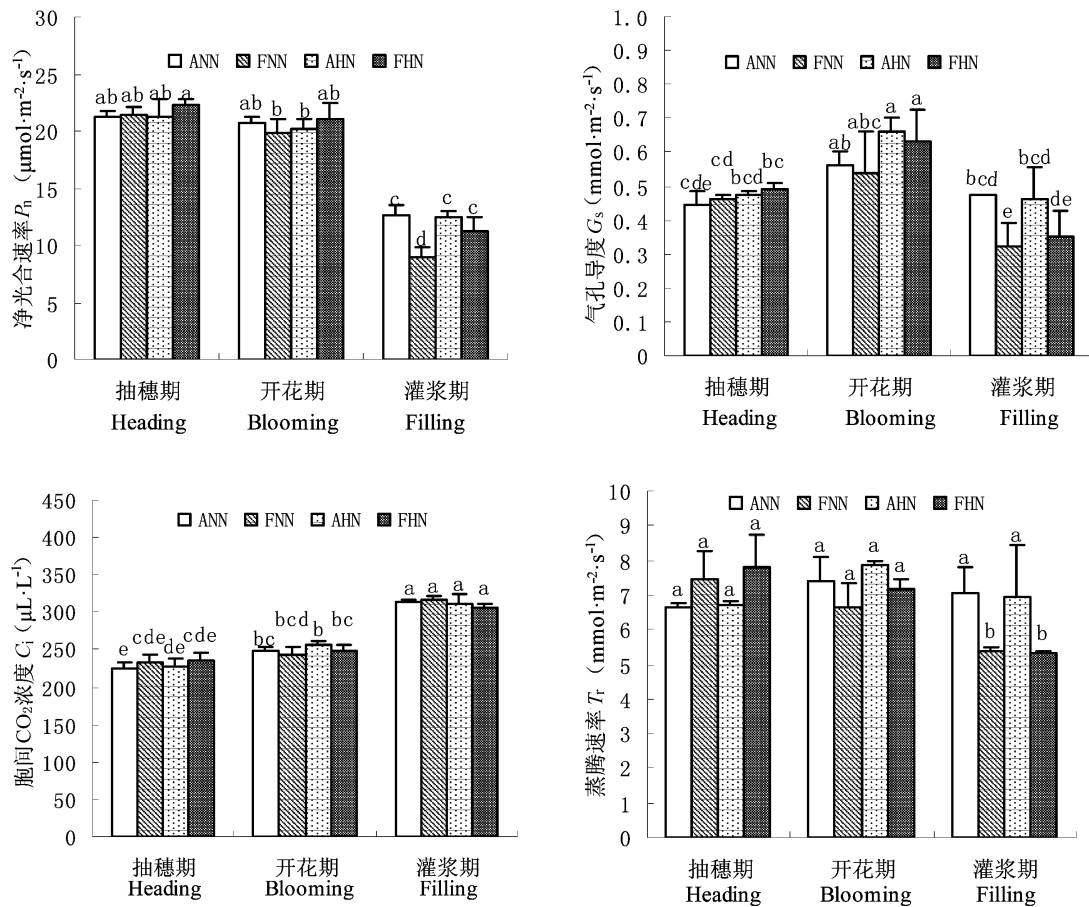


图1 O_3 和N交互作用对小麦叶片净光合速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度和蒸腾速率的影响(平均值 \pm 标准偏差)。AHN, 对照处理高N水平; ANN, 对照处理常规N水平; FNN, O_3 处理常规N水平。FHN, O_3 处理高N水平。不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。
Fig. 1 Interactive effects of elevated O_3 and nitrogen on net photosynthesis rate (P_n), stomatal conductance (G_s), intercellular CO_2 concentration (C_i) and transpiration rate (T_r) of the wheat leaves (mean \pm SD). ANN, ambient ozone and normal nitrogen. AHN, ambient ozone and high nitrogen; FNN, elevated ozone and normal nitrogen; FHN, elevated ozone and high nitrogen. Different letters mean significance at $p < 0.05$ level.

N水平还是高N情况下, Car均明显低于对照, 且达到显著差异($p < 0.05$), 但 O_3 -FACE处理间没有差异, 说明增施N肥对小麦叶片Car含量没有显著影响。 O_3 和N肥对小麦叶片叶绿素含量($p < 0.01$)有显著的交互作用, 而对Car含量没有显著的交互作用。

2.3 不同 O_3 浓度和N肥处理对小麦可溶性蛋白含量的影响

小麦叶片的可溶性蛋白含量在前两个时期, 无论是常N还是高N水平下, O_3 -FACE和对照处理均没有明显差异, 而在灌浆期, 常N条件下 O_3 -FACE小麦叶片可溶性蛋白与对照相比明显下降, 且差异达到极显著水平($p < 0.01$), 降幅为32.0%, 但在高N条件下 O_3 -FACE小麦叶片可溶性蛋白含量与对照比降

幅仅为8.64%, 差异没有达到显著水平。说明 O_3 -FACE条件下增施N肥对小麦叶片的可溶性蛋白含量的增加有促进作用。在灌浆期, O_3 和N肥对小麦叶片可溶性蛋白含量有明显的交互作用($p < 0.01$)。

2.4 不同 O_3 浓度和N肥处理对小麦生物量和产量的影响

由表1可知, 不同生育时期, O_3 和N肥交互对小麦生物量的影响不同。在抽穗期, 不论是高N还是常规N水平条件下, O_3 处理中小麦的生物量都略高于对照, 但没有达到显著水平; 而到了开花期 O_3 处理中小麦的生物量与对照几乎没有差别, 但有低于对照的趋势, 且常规N水平下这种趋势更明显; 在成熟期, 常规N水平条件下, O_3 处理中小麦生物量

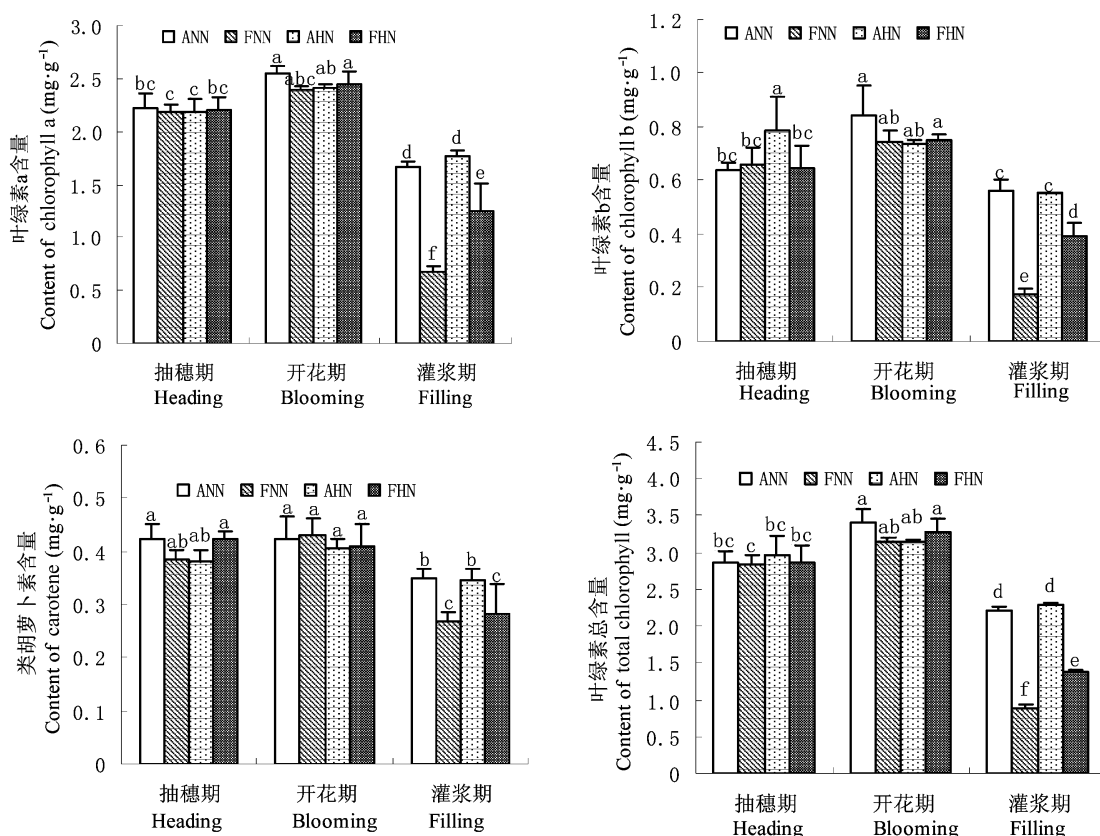


图2 O₃和N交互作用对小麦叶片光合色素含量的影响(平均值±标准偏差)。AHN, 对照处理高N水平; ANN, 对照处理常规N水平; FHN, O₃处理高N水平; FNN, O₃处理常规N水平。不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 2 Interactive effects of elevated O₃ and nitrogen on the photosynthetic pigment content of wheat leaves (mean ± SD). ANN, ambient ozone and normal nitrogen; AHN, ambient ozone and high nitrogen; FNN, elevated ozone and normal nitrogen; FHN, elevated ozone and high nitrogen. Different letters mean significance at $p < 0.05$ level.

表1 O₃和N肥交互作用对小麦产量和不同生育期生物量(kg·hm⁻²)的影响(平均值±标准偏差)

Table 1 Interactive effects of elevated O₃ and nitrogen on the yield and biomass of different growth period (kg·hm⁻²) of wheat (mean ± SD)

处理 Treatment		总生物量 Total biomass			产量 Yield
		抽穗期 Heading	开花期 Blooming	成熟期 Maturing	收获期 Harvesting
NN	A	9 003 ± 897	12 195 ± 1235	14 657 ± 140	8 029 ± 396
	F	10 565 ± 1 023	11 700 ± 676	12 865 ± 428	7 014 ± 259
HN	A	9 809 ± 690	12 252 ± 1 310	14 491 ± 1 031	8 224 ± 548
	F	11 324 ± 814	11 831 ± 322	14 787 ± 447	7 762 ± 265
N		ns	ns	ns	ns
O ₃		ns	ns	ns	*
N × O ₃		ns	ns	ns	ns

A, 对照; F, O₃处理; NN, 常规N水平; HN, 高N。*, $p < 0.05$; ns, 差异不显著。

A, ambient; F, O₃-FACE; NN, normal nitrogen; HN, high nitrogen. *, $p < 0.05$; ns, not significant.

与对照相比明显降低, 降幅为12.23%, 而高N处理下O₃处理中小麦生物量和对照小麦生物量几乎没有差异。在O₃处理条件下, 增施N肥显著增加了小

麦的生物量, 增幅为14.94%, 且达到了极显著水平($p < 0.01$)。表明在O₃浓度升高情况下, 增施N肥可以明显增加小麦成熟期的生物量。

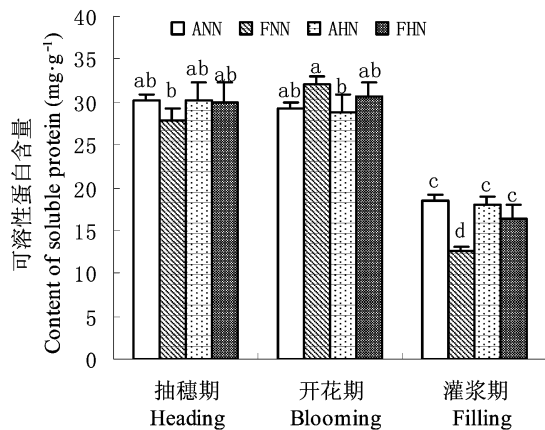


图3 O_3 和N交互对小麦叶片可溶性蛋白含量的影响(平均值 \pm 标准偏差)。ANN, 对照处理常规N水平; AHN, 对照处理高N水平; FNN, O_3 处理常规N水平; FHN, O_3 处理高N水平。不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 3 Interactive effects of elevated O_3 and nitrogen on soluble protein content in wheat leaves (mean \pm SD). ANN, ambient ozone and normal nitrogen; AHN, ambient ozone and high nitrogen; FNN, elevated ozone and normal nitrogen; FHN, elevated ozone and high nitrogen. Different letters mean significance at $p < 0.05$ level.

常规N水平条件下, O_3 浓度升高可明显降低小麦产量, 降幅为12.63%, 而在 O_3 浓度升高条件下, 增施N肥后小麦产量与常规N水平相比明显增加, 且达到了显著水平($p < 0.05$), 增幅为10.7%。由此可见, 在 O_3 浓度升高条件下增施N肥可以缓解 O_3 浓度升高对小麦产量降低的影响。但 O_3 和N对小麦生物量和产量没有明显的交互作用。

3 讨论

本试验平台已有研究表明, O_3 浓度升高条件下, 小麦生长后期光合速率明显下降, 并且光合速率下降与叶绿素、可溶性蛋白、Rubisco含量下降以及电子传递速率和光能利用率下降有关(曹际玲等, 2009; 王亮等, 2009; Feng *et al.*, 2011)。研究还表明, O_3 对小麦的损伤具有累积效应, 并与小麦生育期和 O_3 的季节变化规律有关, O_3 浓度升高并持续处理一段时间后, 各参数变化才达到显著水平(曹际玲等, 2009)。本试验结果与此一致。而增施N肥后, FACE条件下小麦叶片的光合速率、叶绿素含量及可溶性蛋白含量与对照相比虽仍有所下降, 但下降幅度已明显减小, 与常规N水平FACE条件下相比明显增

加。说明在 O_3 浓度升高条件下增施N肥对小麦光合损伤有显著的缓解作用。这与他人对其他植物的研究一致。例如, 国外一些研究结果表明 O_3 浓度升高条件下增施N肥可以增加欧洲白杨(*Populus tremula*) (Häikiö *et al.*, 2007)、加州黑橡树(*Quercus kelloggii*) (Handley & Grulke, 2008)、日本山毛榉(*Fagus crenata*)幼苗(Yamaguchi *et al.*, 2007)的净光合速率, 而光合速率的增加主要是由于光合色素、Rubisco含量的增加引起的。

光合色素的变化是光合作用受抑制最为直观的表现, 它是类囊体膜的重要组成部分, 其含量和组成是光合能力的重要指标。N是叶绿素的组分元素, 当植物缺N时, 体内叶绿素含量下降, 叶片黄化, 光合作用强度减弱, 光合产物减少, 从而使作物产量降低。常N条件下, Chl a、Chl b和Car含量的降低必然影响小麦叶片对光能的吸收和传递(王亮等, 2009), 而 O_3 条件下, 增施N肥后叶绿素含量明显增加, 势必会增加小麦叶片的光能吸收, 进而影响光合速率。例如: Utriainen和Holopainen (2001a, 2001b)对挪威云杉(*Picea abies*)的研究发现增施N肥可以增加叶绿素含量, 从而增强光能的吸收传递, 进而增加光合速率, 而云杉的气孔导度并没有增加, 本试验研究结果与此一致。本试验中增施N肥后, O_3 -FACE条件下叶绿素含量与对照相比仍有所下降, 但与常规N水平下相比均显著提高, 而 G_s 、 C_i 和 T_r 均与常N条件下变化一致, 说明增施N肥后叶绿素含量的增加是小麦光合速率增加的主要原因之一, 而光合速率的增加并不是由气孔因素引起的。

N是蛋白质的重要组成部分, 蛋白质中平均含N 16%–18%, 而蛋白质是构成原质质的基础物质, 在作物生长发育过程中, 细胞的生长和分裂以及新细胞的形成都必须有蛋白质的参与。本研究发现, 常N条件下, 可溶性蛋白含量在 O_3 -FACE下与对照相比明显降低, 这与国内外(Nakaji & Izuta, 2001; Nakaji *et al.*, 2004; Yamaguchi *et al.*, 2007; 曹际玲等, 2009)的研究一致。增施N肥后, 虽然对照条件下可溶性蛋白含量变化不大, 但 O_3 -FACE下却比常N条件下明显增加。Yamaguchi等(2007)的研究发现, 增施N肥显著增加了日本山毛榉的羧化效率、可溶性蛋白含量及Rubisco含量, 从而增加了光合速率。本试验中可溶性蛋白的增加很可能引起Rubisco含量

的增加,从而增加小麦的光合速率。因为Rubisco是光合碳同化的关键酶,其活性高低直接影响光合速率的大小(Makino *et al.*, 1983),同时也是植物可溶性蛋白质中含量最高的蛋白质(Andrews & Lorimer, 1987),所以增施N肥后可溶性蛋白含量的增加,可能引起Rubisco含量的增加,进而使光合速率增加。所以,可溶性蛋白的增加可能是光合速率增加的又一个原因。

O₃浓度升高条件下,光合速率的下降可能引起同化物的减少,从而使小麦生长受到影响,生物量和产量降低。郑启伟等(2007)研究表明,高浓度的O₃能减少光合色素数量;光合色素含量的降低影响了小麦对光能的捕获和光合膜的功能,从而降低光合效率和光合产物的积累,降低小麦产量。O₃-FACE条件下对水稻的研究表明O₃浓度升高使水稻提前衰老,限制了叶片的光合作用以及叶片中的光合同化物向籽粒的转移,从而降低水稻生物量和籽粒产量(Pang *et al.*, 2009)。本试验对小麦的研究也有类似结果,常规N水平条件下, O₃浓度升高,小麦的产量和成熟期生物量显著降低。小麦生物量和产量的降低主要是由于光合速率的降低使光合产物减少引起的,正如前面讨论的光合速率的降低主要是由于光合色素含量和可溶性蛋白含量的降低引起的。而增施N肥后,小麦生物量和产量明显增加,这也是由于增施N肥后小麦叶片光合色素以及可溶性蛋白含量的增加进而光合速率增加从而使光合产物增加引起的。结果表明O₃浓度升高条件下增施N肥对小麦生长后期的生物量和产量损失有一定的缓解作用。而在生长前期,小麦生物量在O₃条件下没有明显差异是由于O₃对小麦的损伤具有累积作用,增施N肥对生物量影响也不大,可能是由于当地常规施N已满足了小麦正常生长所需。在后期, O₃浓度升高加剧了小麦的衰老,影响了同化物分配,从而使生物量和产量表现出明显的差异,而增施N肥延缓了小麦衰老,可能改善了同化物的分配,从而使生物量表现出差异,更深层次的原因有待进一步研究。

也有与本试验结果不同的报道, Vilhena和Barnes (2001)关于N肥供应对小麦对CO₂和O₃浓度升高的响应影响的研究表明,当向小麦供应低N(1.5 mmol·L⁻¹ NO₃⁻)时,高浓度O₃(CF + 75 nL·L⁻¹)对小麦的生长和光合速率没有显著影响,但是,当

向其供应高N(4和14 mmol·L⁻¹ NO₃⁻)时,小麦的生长和光合速率降低了。推测可能是低N条件下N重新分配(优先新生组织)的结果,但需要进一步研究工作来证实。但由于其试验是在封闭气室条件下进行的盆栽试验,不论其试验设施条件还是施N水平都与大田情况有较大差别,而本试验利用的亚洲首个中日合作O₃-FACE平台,不论是试验设施条件还是施N水平都与大田实际情况一致,所以更能准确地反映实际影响结果。

综上所述,大气O₃浓度升高条件下小麦光合功能衰退加剧,进而导致产量下降,增施N肥可以显著缓解O₃对小麦的光合和产量损伤。在O₃胁迫下增施N肥可以通过增加小麦的光合速率,使籽粒中同化物增加,进而增加小麦产量,而小麦光合速率的增加主要是由于Chl a、Chl b及可溶性蛋白含量的增加等非气孔因素引起的。

致谢 国家自然科学基金面上项目(30770408)、中国科学院知识创新方向项目(KZCX2-EW-414)、中国科学院国际合作重点项目(GJHZ05)、中国科学院科研装备研制项目(YZ0603)、国家科技部国际合作计划项目(2009DFA31110)、中国科学院南京土壤研究所知识创新工程领域前沿项目(ISSASIP-0709)和日本环境厅全球环境研究基金项目(中日合作)(C-062)共同资助。

参考文献

- Andrews JT, Lorimer GH (1987). Rubisco: structure, mechanisms, and prospects for improvement. In: Stumpf PK, Conn EF eds. *The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise, Photosynthesis*. Academic Press, San Diego. 10, 131-218.
- Ashmore MR (2005). Assessing the future global impacts of ozone on vegetation. *Plant, Cell & Environment*, 28, 949-964.
- Cao JL (曹际玲), Wang L (王亮), Zeng Q (曾青), Liang J (梁晶), Tang HY (唐昊治), Xie ZB (谢祖彬), Liu G (刘钢), Zhu JG (朱建国), Kobayashi K (2009). Characteristics of photosynthesis in wheat cultivars with different sensitivity to ozone under O₃-free air control enrichment conditions. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 35, 1500-1507. (in Chinese with English abstract)
- Chen Z, Wang XK, Feng ZZ, Zheng FX, Duan XN, Yang WR (2008). Effects of elevated ozone on growth and yield of field-grown rice in Yangtze River Delta. *Journal of Environmental Sciences*, 20, 320-325.
- Feng ZZ, Pang J, Kobayashi K, Zhu JG (2011). Differential responses in two varieties of winter wheat to elevated ozone concentration under fully open-air field conditions.

- Global Change Biology*, 17, 580–591.
- Häikiö E, Freiwald V, Silfver T, Beuker E, Holopainen T, Oksanen E (2007). Impacts of elevated ozone and nitrogen on growth and photosynthesis of European aspen (*Populus tremula*) and hybrid aspen (*P. tremula* × *Populus tremuloides*) clones. *Canadian Journal of Forest Research*, 37, 2326–2336.
- Handley T, Grulke NE (2008). Interactive effects of O₃ exposure on California black oak (*Quercus kelloggii* Newb.) seedlings with and without N amendment. *Environmental Pollution*, 156, 53–60.
- Kobayashi K, Okada M (1995). Effects of ozone on the light use of rice (*Oryza sativa* L.). *Plants Agriculture, Ecosystems and Environment*, 53, 1–12.
- Long SP, Naidu SL (2002). Effects of oxidants at the biochemical, cell and physiological levels, with particular reference to ozone. In: Bell JNB, Treshow M eds. *Air Pollution and Plants* 2nd edn. John Wiley and Sons Ltd., West Sussex. 69–88.
- Makino A, Mae T, Ohira K (1983). Photosynthesis and ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase in rice leaves. *Plant Physiology*, 73, 1002–1007.
- Makino A, Mae T, Ohira K (1986). Colorimetric measurement of protein stained with Coomassie Brilliant Blue R on sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis by eluting with formamide. *Agricultural and Biology Chemistry*, 50, 1911–1912.
- Maurer S, Matyssek R, Günthardt-Goerg MS, Landolt W, Einig W (1997). Nutrition and the ozone sensitivity of birch (*Betula pendula*). I. Responses at the leaf level. *Trees*, 12, 1–10.
- Morgan PB, Mies TA, Bollero GA, Nelson RL, Long SP (2006). Season-long elevation of ozone concentration to projected 2050 levels under fully open-air conditions substantially decreases the growth and production of soybean. *New Phytologist*, 170, 333–343.
- Nakaji T, Izuta T (2001). Effects of ozone and/or excess soil nitrogen on growth, needle gas exchange rates and rubisco contents of *Pinus densiflora* seedlings. *Water, Air, and Soil Pollution*, 130, 971–976.
- Nakaji T, Kobayashi T, Kuroha M, Omori K, Matsumoto Y, Yonekura T, Watanabe K, Utriainen J, Izuta T (2004). Growth and nitrogen availability of red pine seedlings under high nitrogen load and elevated ozone. *Water, Air, and Soil Pollution*, 4, 277–287.
- Pang J, Kobayashi K, Zhu JG (2009). Yield and photosynthetic characteristics of flag leaves in Chinese rice (*Oryza sativa* L.) varieties subjected to free-air release of ozone. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 132, 203–211.
- Singh P, Agrawal M, Agrawal SB (2009). Evaluation of physiological, growth and yield responses of a tropical oil crop (*Brassica campestris* L. var. *kranti*) under ambient ozone pollution at varying NPK levels. *Environmental Pollution*, 157, 871–880.
- Sitch S, Cox PM, Collins WJ, Huntingford C (2007). Indirect radiative forcing of climate change through ozone effects on the land-carbon sink. *Nature*, 448, 791–795.
- Utriainen J, Holopainen T (2001a). Influence of nitrogen and phosphorus availability and ozone stress on Norway spruce seedlings. *Tree Physiology*, 21, 447–456.
- Utriainen J, Holopainen T (2001b). Nitrogen availability modifies the ozone responses of Scots pine seedlings exposed in an open-field system. *Tree Physiology*, 21, 1205–1213.
- Vilhena JC, Barnes J (2001). Does nitrogen supply affect the response of wheat (*Triticum aestivum* cv. Hanno) to the combination of elevated CO₂ and O₃? *Journal of Experimental Botany*, 52, 1901–1911.
- Wang L (王亮), Zeng Q (曾青), Feng ZZ (冯兆忠), Zhu JG (朱建国), Tang HY (唐昊冶), Chen X (陈曦), Xie ZB (谢祖彬), Liu G (刘钢), Kobayashi K (2009). Photosynthetic damage induced by elevated O₃ in two varieties of winter wheat with free air controlled enrichment approach. *Environmental Science* (环境科学), 30, 527–534. (in Chinese with English abstract)
- Watanabe M, Yamaguchi M, Matsumura H, Kohno Y, Izuta T (2008). Effects of ozone on the growth and photosynthesis of *Castanopsis sieboldii* seedlings growth under different nitrogen loads. *Journal of Agricultural Meteorology*, 64, 143–155.
- Yamaguchi M, Watanabe M, Matsuo N, Naba J, Funada R, Fukami M, Matsumura H, Kohno Y, Izuta T (2007). Effects of nitrogen supply on the sensitivity to O₃ of growth and photosynthesis of Japanese beech (*Fagus crenata*) seedlings. *Water Air Soil Pollution*, 7, 131–136.
- Yao FF (姚芳芳), Wang XK (王效科), Feng ZZ (冯兆忠), Zheng FX (郑飞翔), Feng ZW (冯宗炜), Ouyang ZY (欧阳志云) (2007). Influence of ozone and ethylenediurea (EDU) on physiological characters and foliar symptom of spinach (*Spinacia oleracea* L.) in open-top chambers. *Ecology and Environment* (生态环境), 16, 1399–1405. (in Chinese with English abstract)
- Zheng QW (郑启伟), Wang XK (王效科), Feng ZZ (冯兆忠), Feng ZW (冯宗炜), Ouyang ZY (欧阳志云) (2007). Combined impact of ozone and simulated acid rain on gas exchange, growth and yield of field-grown winter wheat. *Acta Scientiae Circumstantiae* (环境科学学报), 27, 1542–1548. (in Chinese with English abstract)
- Zheng QW (郑启伟), Wang XK (王效科), Xie JQ (谢居清), Feng ZZ (冯兆忠), Feng ZW (冯宗炜), Ni XW (倪雄伟), Ouyang ZY (欧阳志云) (2006). Effects of exogenous ascorbate acid on membrane protective system of *in situ* rice leaves under O₃ stress. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 26, 1131–1137. (in Chinese with English abstract)

责任编辑: 蒋高明 责任编辑: 李敏