

臭氧胁迫对冬小麦叶绿素荧光及气体交换的影响

郑有飞^{1,2}, 赵泽², 吴荣军², 胡程达², 刘宏举²

(1. 南京信息工程大学气象灾害省部共建教育部重点实验室, 南京 210044; 2. 南京信息工程大学环境科学与工程学院, 南京 210044)

摘要:为给 O₃ 等大气污染物胁迫下我国粮食生产和安全评估提供依据, 利用开顶式气室(OTC)开展了 3 种 O₃ 熏蒸水平的大田试验(空气, CK; 100 nL · L⁻¹, T₁; 150 nL · L⁻¹, T₂)。采用 Diving-PAM 叶绿素荧光仪和 LC pro + 光合仪测定了冬小麦(扬麦 13)不同生育期的叶绿素荧光及气体交换参数。结果表明, T₁ 的 F_v/F_m 均高于 0.8, P_n、qP、(1-qP)/NPQ 及 Y(NO) 与 CK 相似, NPQ 及 Y(NPQ) 分别较 CK 上升 13.5%~29.0% 和 13.3%~22.7%, 实际光化学效率在自然光下(快速光曲线, RLC)和暗适应后(诱导曲线达稳态时, IC) 分别下降 4.6%~7.6% 和 11.3%~19.3%, P_n 与 G_s 分别下降 8.0%~9.8% 和 11.0%~23.1%。L_s 在抽穗期和扬花期高于 CK, 在灌浆期和成熟期低于 CK。T₂ 的 F_v/F_m 均略低于 0.8, Y(NO)、(1-qP)/NPQ 及 c_i 分别较 CK 增加 37.9%~75.6%、157.1%~325.8% 和 3.4%~18.1%。实际光化学效率在 RLC 和 IC 条件下分别下降 10.2%~13.6% 和 21.4%~29.1%。P_n、L_s、qP、P_m、NPQ 及 Y(NPQ) 分别下降 28.1%~39.9%、5.2%~21.3%、15.8%~30.4%、27.6%~45.6%、33.3%~52.9% 和 5.7%~17.9%。O₃ 胁迫显著降低了冬小麦的光合能力, 其胁迫效应和作用机制在生长季内呈动态变化, T₁ 的 F_v/F_m 下降是对 NPQ 增加的响应, P_n 与实际光化学效率降低是保护性调节的结果, 其抗氧化系统及热耗散机制足以保护 PS II 反应中心免遭光伤害, T₂ 的 CO₂ 同化与 Q_A 重新氧化受限, 热耗散机制受损, 其光合能力下降是光合系统受到 O₃ 与过剩光能双重伤害的结果; O₃ 损伤冬小麦 PS II 的临界值在 100~150 nL · L⁻¹ 之间, 接近 100 nL · L⁻¹, F_v/F_m 难以指示 O₃ 对冬小麦的胁迫。尽管冬小麦对高浓度 O₃ 具有一定适应能力, 地表 O₃ 浓度升高仍然是我国粮食生产中面临的一个重要的问题。

关键词: 臭氧; 冬小麦; 光合作用; 叶绿素 a 荧光; 光系统 II; 气体交换

中图分类号: 171 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)02-0472-08

Effects of Long-term Ozone Exposure on Chlorophyll a Fluorescence and Gas Exchange of Winter-wheat Leaves

ZHENG You-fei^{1,2}, ZHAO Ze², WU Rong-jun², HU Cheng-da², LIU Hong-ju²

(1. Jiangsu Key Laboratory of Meteorological Disaster, Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044, China)

Abstract: In order to provide basis for evaluating the effects of air pollutant such as O₃ on crops yield and food security, the effects of O₃ fumigation (ambient air, CK; 100 nL · L⁻¹, T₁; 150 nL · L⁻¹, T₂) on chlorophyll a fluorescence and gas exchange of a field-grown winter-wheat (*Triticum aestivum* L. Yang Mai 13) in different growing period were conducted via open-top chamber technique in conjunction with Diving-PAM fluorometer and LC pro + photosynthesis system. Results indicated that F_v/F_m caused by T₁ was higher than 0.8, while the P_n, qP, (1-qP)/NPQ and Y(NO) were similar to those of CK, the NPQ and Y(NPQ) were increased by 13.5%-29.0% and 13.3%-22.7% respectively due to O₃ stress. Under nature light (rapid light curve, RLC) and after dark adaptation (induction curve in steady-state, IC) the Yield of T₁ was decreased by 4.6%-7.6% and 11.3%-19.3% respectively, with 8.0%-9.8% and 11.0%-23.1% reductions in P_n and G_s compared to CK, respectively. In heading stage and blooming stage, the L_s of T₁ was greater than CK, but in filling stage and mature stage, it became lower compared to CK. The F_v/F_m was slightly lower than 0.8 under T₂ treatment, with the Y(NO), (1-qP)/NPQ and c_i were increased by 37.9%-75.6%, 157.1%-325.8% and 3.4%-18.1% relative to CK. Under RLC and IC condition, the Yield of T₂ was respectively decreased by 10.2%-13.6% and 21.4%-29.1%, and the P_n, L_s, qP, P_m, NPQ and Y(NPQ) were decreased by 28.1%-39.9%, 5.2%-21.3%, 15.8%-30.4%, 27.6%-45.6%, 33.3%-52.9% and 5.7%-17.9% in comparison, respectively. Obviously the enhanced O₃ causes a significant decrease in the capacity of photosynthesis of winter wheat, and the influence mechanism presents a series of dynamic changes according to growing seasons. The reduction of F_v/F_m under T₁ treatment is a response of PS II reaction center to the increase of NPQ, and the decrease in P_n and Yield is a consequence of protective adjustment, by this approach, the antioxidant system and energy dissipation mechanism can

收稿日期: 2009-03-27; 修订日期: 2009-06-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(40775072); 江苏省高校自然科学基金项目(09KJA170004); 中国气象局农业气象保障与应用技术重点开放实验室开放基金项目(AMF200904); 南京信息工程大学科研项目(90215)

作者简介: 郑有飞(1959~), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为环境气候变化和农业气象, E-mail: zhengyf@nuist.edu.cn

thus prevent light damage to the PS II reaction center of winter wheat. Under T_2 treatment, the CO_2 assimilation and Q_A re-oxidizing during actinic illumination are restricted, the energy dissipation mechanism was destroyed, and the reduction of photosynthesis was mainly due to damage in photosystem caused by O_3 and excess light. The critical loads for O_3 of PS II reaction center is between $100 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ and $150 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ close to $100 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$. While the F_v/F_m value is not an effective index for assessing O_3 influence on winter-wheat. Although the winter-wheat can have certain adapted ability to O_3 stress, the growing enhancement of surface O_3 is still a great threat to agricultural production in China.

Key words ozone; winter-wheat; photosynthesis; chlorophyll a fluorescence; photosystem II (PS II); gas exchange

20 世纪 60 年代以来,地表臭氧(O_3)浓度不断增加,已成为许多地区小麦产量损失的重要原因之一^[1-5]。 O_3 可通过影响气孔开放,破坏光合色素,抑制卡尔文循环,降低光能利用效率,损伤光保护系统,阻碍光合电子传递等多种机制降低光合能力,进而导致作物减产^[6-11]。 O_3 对作物的影响因暴露剂量、时期与方式,作物基因型及叶龄不同而存在较大差异^[9-11]。

同时测量叶绿素荧光与气体交换既能全面了解光合器官的状态,还能定位损伤最初发生的部位^[12]。但过去利用叶绿素荧光评估 O_3 对作物的胁迫效应时,较少配合测定气体交换指标,且以往的研究大多只集中于某一生育期,难以全面评估 O_3 浓度增加对作物不同生育期光合作用的影响^[8-10]。因此,本实验通过 OTC (open-top chamber) 对大田生长的冬小麦进行 O_3 胁迫处理,用 Diving-PAM 叶绿素荧光仪和 LC pro + 光合仪研究了 O_3 浓度增加对冬小麦不同生育期的光合作用的影响,并结合国内外相关研究成果,深入分析探讨其作用机制,以期为全面评估 O_3 等大气污染物胁迫下我国的粮食生产和安全提供依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

试验在南京信息工程大学生态与农业气象试验园(32°03' N, 118°51' E)稻麦轮作区进行。所用冬小麦为当地常规品种扬麦 13 号(*Triticum aestivum* L. Yang Mai 13),于 2007 年 11 月中旬撒播,2008 年 5 月 27 日收。水肥管理与当地种植习惯一致,使其不成为冬小麦生长的限制因子。

OTC 由通风系统、 O_3 发生与加入系统、开顶式熏气室 3 部分组成^[6]。熏气室用 202 轻质不锈钢搭建,其主体为边长 1.5m、高 1.9 m 的正八棱柱体。根据 Baldocchi 等^[13]的风洞试验结果,在熏气室顶部设倾角为 30°,上底面积为下底面积 30% 的正八棱台体以阻止外部气体侵入。室壁为聚乙烯大棚膜(向下深埋 0.5m 做防渗处理)。

1.2 O_3 熏气处理

将 O_3 发生器产生的 O_3 与背景大气混合,分别配制成 O_3 浓度为 $100 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ (T_1)和 $150 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ (T_2)的混合气体再输入气室内(每种处理水平 2 个重复)。另设 2 个气室作为对照(CK, 通入空气)。用新西兰 AeroQual 公司的 Series200 手持式 O_3 检测仪测定冬小麦冠层处的 O_3 浓度。2008 年 2 月 23 日将气室安放到田间,3 月 7 日~5 月 10 日每天熏气 8 h (08:00~16:00),雨天不熏气,整个生长季共熏气 50 d。

根据测定结果,每隔 1 h 对处理组的 O_3 浓度进行一次调节,当大气 O_3 浓度达到甚至超过 $100 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,不再向气室内通入 O_3 。结果显示, T_1 与 T_2 的 O_3 浓度分别在 $92 \sim 109 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $138 \sim 161 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间相对恒定。根据实测数据计算得到 CK 的 AOT40 为 $5570 \text{ nL} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, T_1 与 T_2 的 AOT40 分别为 $24000 \text{ nL} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $38500 \text{ nL} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 。冬小麦冠层处 O_3 分布均匀,同一处理组的 2 个气室具有较好的一致性。气室内相对空气湿度为 6.5%~100%, CO_2 浓度为 $367.2 \sim 462.3 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$,土壤含水量为 18.7%~45.8%,气室内外温差 $< 2^\circ\text{C}$ 。

1.3 叶绿素荧光参数的测量与计算

熏气 30 d 后,用德国 WALZ 公司的 Diving-PAM 测量冬小麦的叶绿素荧光。于 10:00 开始在遮蔽自然光条件下测量快速光曲线(rapid light curve, RLC),光强依次为 0、234、366、557、771、1146、1561、2351、3388 $\mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$,间隔 10 s,每种处理 6 个重复。于 21:00 开始对叶片进行 30 min 的暗适应后测量诱导曲线(induction curve, IC),光化光强度为 $557 \mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$,每种处理 4 个重复。测量顺序为 CK1、 T_1 1、 T_2 1,CK2、 T_1 2、 T_2 2,CK3、 T_1 3、 T_2 3.....

光系统 II (photosystem II, PS II) 的最大光量子产量(F_v/F_m)、PS II 的实际光化学效率(Yield)、相对电子传递速率(ETR)、光化学淬灭系数(qP)、非光化学淬灭系数(NPQ)由仪器输出,其他参数按以下公式计算。PS II 处调节性能量耗散的量子产量:

$Y(NPQ) = F_v/F'_m - F_v/F_m^{[14]}$, 式中 F_v 为稳态实时荧光, F'_m 为稳态最大荧光, F_m 为充分暗适应后的最大荧光; PS II 处非调节性能量耗散的量子产量: $Y(NO) = F_v/F_m^{[14]}$, 式中 F_v 及 F_m 同上; 光合功能的相对限制: $L_{(PFD)} = 1 - (qP \times F'_v/F'_m)/0.83^{[15]}$, 式中 1 为 qP 的最适值 0.83 为 F'_v/F'_m 的最适值, $F'_v = F'_m - F_o$, F'_m 与 F_v 同上, F_o 为充分暗适应后的最小荧光; 量子过剩程度 $(1 - qP)/NPQ^{[16]}$, 式中 qP 为光化学淬灭系数, NPQ 为非光化学淬灭系数. 用 Smith 的公式对 RLC 进行拟合: $P = P_m \cdot \alpha \cdot PAR / \sqrt{P_m^2 + (\alpha \cdot PAR)^2}$, 式中 P 为相对电子传递速率, PAR 为光合有效辐射, P_m 为无光抑制时的最大潜在相对电子传递速率, α 是快速光曲线的初始斜率, $I_k = P_m/\alpha$ 为半饱和光强^[17].

1.4 气体交换指标的测量与计算

于 10 月 00 日开始用英国 ADC 公司的 LC pro + 光合仪原位测定冬小麦的净光合速率 (net photosynthetic rate, P_n)、气孔导度 (stomatal conductance, G_s) 与胞间 CO_2 浓度 (intercellular CO_2 concentration, c_i). 测量条件如下: 叶片表面 PAR 为 $1276 \mu mol \cdot (m^2 \cdot s)^{-1}$ (红/蓝 LED), 叶室温度为 $(25 \pm 1.3)^\circ C$, CO_2 浓度为 $400 \mu L \cdot L^{-1}$, 相对空气

湿度为 $65\% \pm 5\%$. 叶片在叶室中适应 10 min 后记录数据 3 次, 每种处理水平测量 4 次. 并用 c_i 及空气 CO_2 浓度 (c_a) 计算气孔限制值 (stomatal limitation, L_s)^[18]: $L_s = 1 - c_i/c_a$. 测量顺序与叶绿素荧光相同.

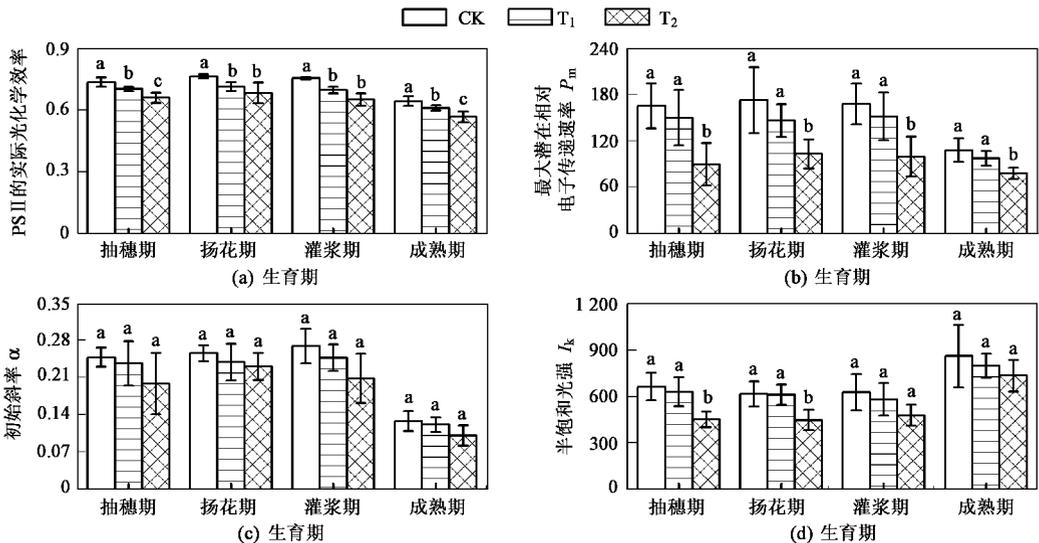
1.5 曲线拟合与数据处理

曲线拟合采用最小二乘法, 用 Statistica 6.0 进行. 差异分析用 SPSS 16.0 进行, $p < 0.05$ 为差异显著, $p < 0.01$ 为差异极显著.

2 结果与分析

2.1 O_3 胁迫对冬小麦不同生育期快速光曲线 (RLC, 自然光下测量) 中相关参数的影响

随着 O_3 浓度增加, 自然光照下 PS II 的实际光化学效率 Yield 呈下降趋势 [图 1(a)]. T_1 较 CK 下降 4.6% ~ 7.6%, 灌浆期降幅最大, 差异极显著 ($p < 0.01$), 其他 3 个生育期均显著低于 CK ($p < 0.05$); T_2 较 CK 下降 10.2% ~ 13.6%, 灌浆期降幅最大, 成熟期次之, 4 个生育期均显著低于 CK ($p < 0.01$), 抽穗期与成熟期还显著低于 T_1 ($p < 0.01$). O_3 胁迫显著降低了自然光照下冬小麦 PS II 反应中心电荷的分离的实际效率.



图中误差线为 SD, 其上方字母不同表示差异显著 ($p < 0.05$) $n = 6$

图 1 O_3 胁迫对冬小麦不同生育期 RLC 中相关参数的影响

Fig. 1 Effects of O_3 stress on RLC of different growing periods of winter-wheat

随着 O_3 浓度增加, 无光抑制时的最大潜在相对电子传递速率 P_m 逐渐降低 [图 1(b)]. T_1 较 CK 下降 9.5% ~ 15.4%, 但偏差较大, 差异不显著; T_2 较 CK 下降 27.6% ~ 45.6%, 抽穗期降幅最大, 4 个生育期

均显著低于 CK ($p < 0.01$) 与 T_1 ($p < 0.05$). T_2 处理显著降低了 PS II 将电子传递到 PS I 的最大潜在速率.

随着 O_3 浓度升高, 快速光响应曲线的初始斜率 α 呈下降趋势, T_1 与 T_2 分别较 CK 下降 4.6% ~ 8.1% 和

9.8%~22.7% 均为灌浆期降幅最大,但偏差较大,各组间差异不显著[图 1(c)].可见,冬小麦捕光色素的原初光能捕获效率一直维持在较高的水平.

随着 O_3 浓度上升,半饱和光强 I_k 逐渐下降[图 1(d)]. T_1 较 CK 下降 5.1%~7.4%(灌浆期降幅最大),差异不显著; T_2 较 CK 下降 14.5%~31.9%(扬花期降幅最大),抽穗期和扬花期显著低于 CK ($p < 0.05$)与 T_1 ($p < 0.05$). T_2 处理降低了冬小麦对强光的耐受能力.

2.2 O_3 胁迫对冬小麦不同生育期诱导曲线(IC,夜间暗适应后测量)达稳态时相关参数的影响

2.2.1 O_3 对冬小麦不同生育期光合活性的影响

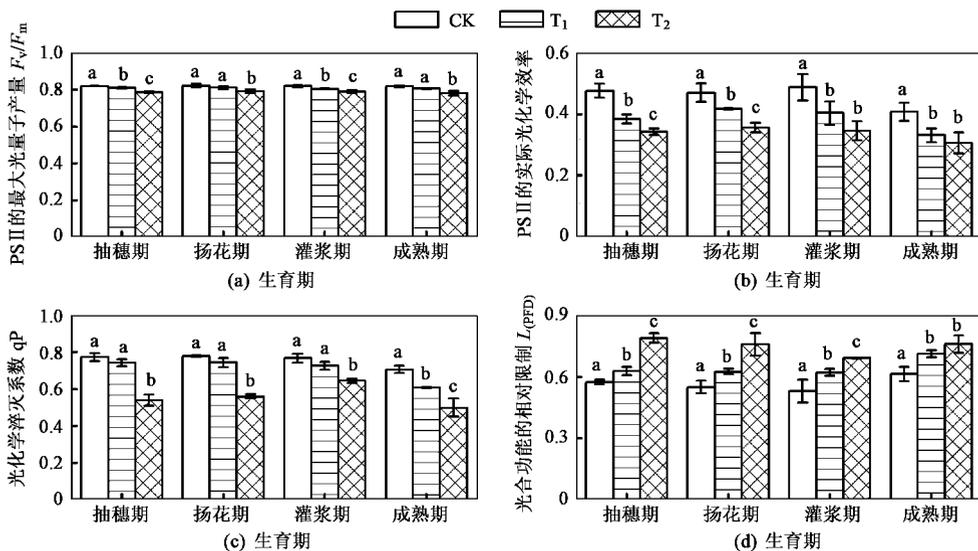
随着 O_3 浓度升高,PS II 的最大光量子产量 F_v'/F_m 逐渐降低[图 2(a)]. T_1 较 CK 下降 1.1%~1.8%,灌浆期降幅最大,抽穗期和灌浆期显著低于 CK ($p < 0.05$); T_2 较 CK 下降 3.6%~4.4%,成熟期降幅最大,4 个生育期均显著低于 CK ($p < 0.01$)与 T_1 ($p < 0.05$). O_3 胁迫显著降低了 PS II 反应中心的最大光量子产量.

图 2(b)为经过充分暗适应后,光合作用速率在 $557 \mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$ 的光化光下逐渐上升至稳定时 PS II 反应中心的实际光化学效率(Yield). T_1

较 CK 下降 11.3%~19.3%(灌浆期降幅最大),4 个生育期均显著低于 CK ($p < 0.05$); T_2 较 CK 下降 21.4%~29.1%(灌浆期降幅最大),4 个生育期均显著低于 CK ($p < 0.01$),抽穗期和扬花期还显著低于 T_1 ($p < 0.05$). O_3 胁迫显著降低了光合诱导阶段 PS II 反应中心电荷分离的实际效率.

随着 O_3 浓度升高,光化学淬灭系数 qP 逐渐降低[图 2(c)]. T_1 较 CK 下降 5.1%~7.4%,仅成熟期显著低于 CK ($p < 0.05$); T_2 较 CK 下降 15.8%~30.4%,抽穗期降幅最大,4 个生育期均显著低于 CK ($p < 0.01$)与 T_1 ($p < 0.01$). T_2 处理使 PS II 受体侧原初醌受体(the primary quinone acceptor of PS II acceptor-side in the electron transport chain, Q_A)重新氧化受限,显著降低了 PS II 反应中心的开放程度.

图 2(d)为冬小麦的光合作用相对其最适状态($qP = 1, F_v'/F_m' = 0.83$)受到的限制($L_{(PFDD)}$).随着 O_3 浓度升高, $L_{(PFDD)}$ 逐渐增大. T_1 较 CK 上升 9.4%~17.3%(灌浆期增幅最大),4 个生育期均显著高于 CK ($p < 0.05$); T_2 较 CK 上升 23.7%~38.0%(扬花期增幅最大),4 个生育期均显著高于 CK ($p < 0.01$),除成熟期外还显著高于 T_1 ($p < 0.05$). O_3 胁迫对冬小麦的光合作用造成了严重限制.



图中误差线为 SD,其上方字母不同表示差异显著 ($p < 0.05$) $n = 4$,下同

图 2 O_3 胁迫对冬小麦不同生育期叶片光合活性参数的影响

Fig. 2 Effects of O_3 stress on photosynthetic activity of different growing periods of winter-wheat leaves

2.2.2 O_3 胁迫对冬小麦不同生育期能量耗散机制的影响

随着 O_3 浓度升高,非光化学淬灭系数 NPQ 先升高后下降[图 3(a)]. T_1 较 CK 上升 13.5%~

29.0%(灌浆期增幅最大),除成熟期外均显著高于 CK ($p < 0.05$); T_2 较 CK 下降 33.3%~52.9%,抽穗期降幅最大,4 个生育期均显著低于 CK ($p < 0.05$)与 T_1 ($p < 0.01$). T_1 处理下冬小麦的热耗散显

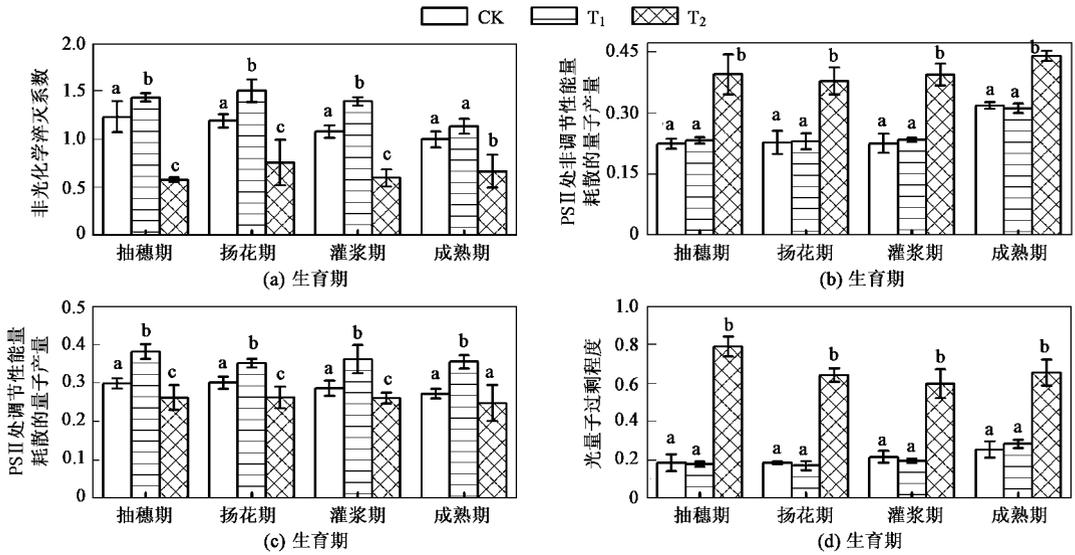


图 3 O_3 胁迫对冬小麦不同生育期叶片能量耗散机制的影响

Fig. 3 Effects of O_3 stress on energy dissipation mechanisms of different growing periods of winter-wheat leaves

著增强, T_2 处理严重损伤了冬小麦的热耗散机制。

图 3(b) 为 PS II 处非调节性能量耗散的量子产量 $[Y(NO)]$ 。 T_1 与 CK 相似(差异 $< 4\%$); T_2 较 CK 上升 $37.9\% \sim 75.6\%$ (抽穗期上升 75.6% , 灌浆期上升 74.3%), 显著高于 CK ($p < 0.01$) 与 T_1 ($p < 0.01$)。 T_2 处理严重破坏了冬小麦的光化学能量转换系统和保护性的调节机制, 其叶片极可能受过剩光能伤害。

随着 O_3 浓度升高, PS II 处调节性能量耗散的量子产量 $[Y(NPQ)]$ 先上升后下降[图 3(c)]。 T_1 较 CK 上升 $13.3\% \sim 22.7\%$, 4 个生育期均显著高于

CK ($p < 0.05$); T_2 较 CK 下降 $5.7\% \sim 17.9\%$, 除成熟期外均显著低于 CK ($p < 0.05$) 与 T_1 ($p < 0.01$)。 T_1 处理下冬小麦的调节性热耗散显著增强。

图 3(d) 为光量子过剩程度 $(1 - qP)/NPQ$ 。 T_1 前 3 个生育期较 CK 下降 $3.7\% \sim 9.5\%$, 成熟期较 CK 上升 11.2% , 4 个生育期均与 CK 差异不显著; T_2 较 CK 上升 $157.1\% \sim 325.8\%$, 显著高于 CK ($p < 0.01$) 与 T_1 ($p < 0.01$)。 T_2 处理显著提高了同一光强下的光量子过剩程度。

2.3 O_3 胁迫对冬小麦不同生育期气体交换的影响

图 4 可看出, 随着 O_3 浓度上升, 冬小麦不同生

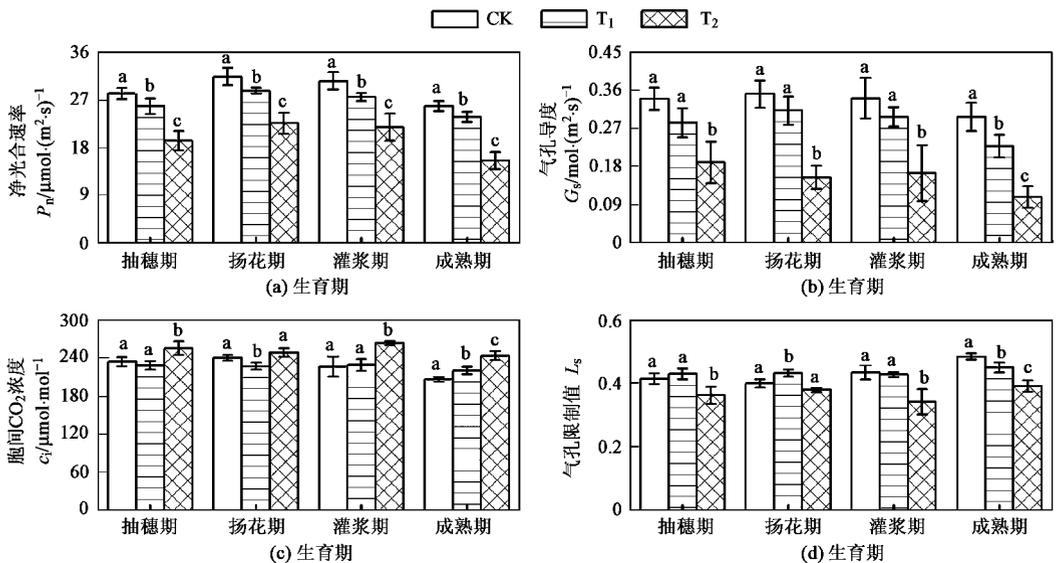


图 4 O_3 胁迫对冬小麦光合作用气体交换参数的影响

Fig. 4 Effects of O_3 stress on gas exchange of different growing period of winter-wheat leaves

育期的气体交换参数呈动态变化。 T_1 的净光和速率 P_n 在 4 个生育期均显著低于 CK ($p < 0.05$); 气孔导度 G_s 在成熟期显著低于 CK ($p < 0.01$), 其余生育期虽然低于 CK, 但差异不显著; 胞间 CO_2 浓度 c_i 在扬花期显著低于 CK ($p < 0.05$), 在成熟期显著高于 CK ($p < 0.05$); 气孔限制值 L_s 在扬花期显著高于 CK ($p < 0.05$), 在成熟期显著低于 CK ($p < 0.05$)。 T_2 的 P_n 与 G_s 在 4 个生育期均显著低于 CK ($p < 0.01$) 与 T_1 ($p < 0.01$); c_i 在 4 个生育期均显著高于 T_1 ($p < 0.01$), 除扬花期外均显著高于 CK ($p < 0.01$); L_s 在 4 个生育期均显著低于 T_1 ($p < 0.01$), 除扬花期外均显著低于 CK ($p < 0.01$)。

3 讨论

3.1 O_3 胁迫下冬小麦光合系统的运行状况

光合作用是植物生理的核心功能, 其运转状况可用来表征植物的健康状况与活力^[12]。冬小麦的光合作用对地表 O_3 浓度增加非常敏感, 而叶绿素荧光是研究植物光合功能的快速、无损探针^[11, 18]。 $Y(NPQ)$ 为通过光保护途径以热的形式耗散掉的光能所占的比例, 是光保护的重要指标, 反映 PS II 处理过剩光能的能力, 是 NPQ 保护机制的组成部分^[14]。 $Y(NO)$ 表示因 PS II 反应中心关闭引起的以热和荧光的形式耗散掉的过剩光能所占的比例, 是光伤害的重要指标, 其上升表明光化学能量转换和保护性的调节机制(如热耗散)已不足以将植物吸收的过剩光能完全耗散掉, 此时植物可能已经受到损伤, 或继续照光将受到损伤^[19]。由 T_1 的 $Y(NPQ)$ 与 NPQ 显著高于 CK, $Y(NO)$ 与 CK 相似; T_2 的 $Y(NPQ)$ 与 NPQ 显著低于 CK 和 T_1 , $Y(NO)$ 显著高于 CK 与 T_1 可知, T_1 的光保护机制仍在高效运行, 而 T_2 的光保护机制受到了严重破坏。

O_3 胁迫并未显著降低冬小麦 PS II 反应中心的原初光能捕获效率 α , 故诱导曲线达稳态时实际光化学效率下降很可能与 Q_A 不能进行正常的电荷分离有关。然而, 较高的 qP 显示 T_1 处理并未损伤冬小麦重新氧化 Q_A 的能力, 其 NPQ 上升也与 Q_A 损失没有多大关系。因 PS II 反应中心的可逆性失活不是冬小麦的主要热耗散方式, 故传递到 PS II 受体侧次级醌受体(the secondary quinone acceptor of PS II acceptor-side in the electron transport chain, Q_B)的过量电子极可能通过与细胞色素 Cyt b559 相关的循环电子传递和依赖跨内囊体膜质子梯度 ΔpH 的能量耗散机制转变成热量耗散出去, 这可对质体醌

(plastoquinone)及其下游的电子传递进行调节, 使之与 CO_2 同化速率达到动态平衡^[11, 18, 20]。此外, 适度的 O_3 胁迫可促进还原型辅酶 I-质体醌-氧化还原酶复合体(NADH-plastoquinone-oxidoreductase complex)在内囊体膜上累积, 这可优化与细胞色素 Cyt b559 相关的循环电子传递, 从而增强作物的热耗散能力^[21]。 T_1 的 $Y(NPQ)$ 显著上升及实际光化学效率的下降幅度远大于 qP 与上述推论相符, 故 T_1 的实际光化学效率下降是 PS II 保护性调节的结果^[18, 19, 22]。

T_2 的 qP 在 4 个生育期均显著低于 CK 与 T_1 , 这与光照下冬小麦重新氧化 Q_A 的能力下降及卡尔文循环受抑制有关, 即 T_2 处理显著提高了冬小麦 PS II 的激发压($1 - qP$), 导致 PS II 反应中心关闭的比例增加, 进而引起 $Y(NO)$ 升高^[8-10, 20]。同时, T_2 处理下 O_3 对脂膜的损伤可能抑制了光照下 ΔpH 的形成, 而 ΔpH 增加不仅是对光能过剩响应最快的保护机制, 也是其他热耗散机制尤其是作为冬小麦主要热耗散机制的叶黄素循环运转的前提^[18]。 NPQ 及 $Y(NPQ)$ 的变化规律支持这一推论。此外, ΔpH 降低不利于 ATP 合成, 可能使 ATP 与 NADPH 的比例失去平衡, 导致光合磷酸化循环加强, 其代价是量子效率降低^[18]。 qP 及 Yield 的变化规律与上述推论吻合。($1 - qP$)/NPQ 将激发压(excitation pressure, $1 - qP$)与 NPQ 联系起来, 可以很好地表征光量子过剩程度^[23]。由 ($1 - qP$)/NPQ 的变化规律可知, $557 \mu mol \cdot (m^2 \cdot s)^{-1}$ 的光化光照射 6 min 后, T_2 的光能过剩程度显著增加。过剩光能增加可促进三线态 P680 形成并与 O_2 作用形成单线态氧 O_2 , 进而破坏附近的蛋白质和色素分子, 使 PS II 受体侧遭受光破坏^[18]。过剩光能增加还可能导致单线态叶绿体去激发(de-excitation), 使热耗散及用于光化学反应的激发能所占的比例下降^[10]。由于自然条件下 PAR 普遍超过 $557 \mu mol \cdot (m^2 \cdot s)^{-1}$, T_2 的光合系统极有可能受到过剩光能伤害^[18, 19, 22]。

O_3 通过气孔进入植物组织后, 首先与脂膜上的不饱和脂肪酸发生反应, 损伤膜的一定部位并抑制细胞膜上的 K^+ -ATPase 离子泵, 导致保卫细胞的膨压下降, 使气孔呈关闭趋势^[6, 18]。此外, 进入叶片的 O_3 会与非质体的组成物质发生反应, 生成一系列的活性氧自由基, 超过一定值还会破坏植物的抗氧化系统, 导致活性氧自由基累积, 进而破坏光合系统的蛋白质和色素分子乃至整个植物细胞, 成为限制光合作用的非气孔因素^[6-8, 20, 24]。可由 c_i 和 L_s 的变

化趋势(而非程度)来判断 P_n 下降是否因气孔受限所致,只有 c_i 和 P_n 都减少且 L_s 增大时,气孔限制才是 P_n 下降的主要原因,否则,无论 G_s 如何变化,气孔限制都不是 P_n 下降的决定性因素^[18,25].由 P_n 、 c_i 及 L_s 的变化规律可知, T_1 的 P_n 降低是气孔因素与非气孔因素共同作用的结果,在抽穗期及扬花期以气孔限制为主,灌浆期和成熟期则以二磷酸核酮糖 RuBP(ribulose-1,5-diphosphate)羧化与再生受限、二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶 Rubisco(ribulose-1,5-diphosphate carboxylase/oxygenase)含量和活性下降以及活性氧自由基破坏光合系统等非气孔因素为主, T_2 的 P_n 下降与气孔限制无关,可能是卡尔文循环活性降低、PS II 受损、非循环电子传递受阻等多种原因造成的^[8-10,24-27].此外, CO_2 同化速率下降不仅是 O_3 导致气孔关闭与 Rubisco 受损的结果,还是植物调节自身光合代谢以适应新环境的一种自我保护机制^[8,19].较低的 CO_2 同化速率会降低对光反应产生的 ATP 以及还原型辅酶 II(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)的需求,从而降低 ETR,得到较低的还原当量与能量密度,减缓活性氧的产生与累积^[8].上述推论同与细胞色素 Cyt b559 相关的循环电子传递和依赖 ΔpH 的能量耗散机制可对质体醌及其下游的电子传递进行调节,使之与 CO_2 同化速率达到动态平衡的推论相符.综上所述, T_1 的 P_n 降低是气孔因素与非气孔因素共同作用的结果,是保护性调节的结果, T_2 的 P_n 降低是光合系统受损的结果.

尽管大部分参数显示冬小麦灌浆期受 O_3 影响最大,但 O_3 只有通过累积效应达到一定程度才开始影响植物的生理响应,故不能据此断定灌浆期对 O_3 最敏感^[6,18,16].此外,地表 O_3 浓度升高对冬小麦光合作用的影响随其生长发育及 O_3 暴露(剂量 \times 时间)呈动态变化,与发展到一定程度即稳定的可视伤害症状不同,二者的发展具有一定独立性^[6,9].

3.2 O_3 损伤冬小麦 PS II 的临界值

F_v/F_m 为 PS II 反应中心的内荧光能转换效率,表征光合系统原初光能转换效率的高低,非胁迫条件下该参数的变化极小,在 0.8~0.85 之间,不受物种和生长条件影响,胁迫条件下该参数明显下降. PS II 捕光天线的 NPQ 增加、qP 下降或 PS II 反应中心的光损伤都可能造成 F_v/F_m 下降^[8,22].由 NPQ 及 qP 的变化规律可知, T_1 的 F_v/F_m 下降是 PS II 捕光天线的 NPQ 增加的结果, T_2 的 F_v/F_m 下降与 Q_A 不能进行正常的电荷分离有关^[8]. F_v/F_m 低于 0.8 指

示的光抑制可能来自于光保护或者 PS II 反应中心受损,在干旱、温度、盐、光等环境因子胁迫中均发现 F_v/F_m 随胁迫程度加重而降低,且灵敏性较好,故常用来指示环境对植物的胁迫^[28]. T_1 的 F_v/F_m 均高于 0.8,而 T_2 的均略低于 0.8,其所指示的 O_3 影响冬小麦 PS II 的临界值在 100~150 $nL \cdot L^{-1}$ 之间,接近 150 $nL \cdot L^{-1}$.然而, T_1 的 P_n 下降主要是气孔关闭、Rubisco 受损及其自身的保护性调节造成的,此时 O_3 主要影响光合作用的卡尔文循环^[9,19,20].当 1 个胁迫因子主要影响卡尔文循环时, F_v/F_m 可能不受影响,即使荧光诱导动力学的其他参数有所响应时也不例外,故 F_v/F_m 难以用来指示 O_3 对作物的胁迫^[8,9,29]. T_1 的 P_n 与实际光化学效率(表征光合能力)显著低于 CK, NPQ 与 $Y(NPQ)$ 表征光保护能力)显著高于 CK, P_m 、qP 及 $Y(NO)$ 等指标与 CK 相似,此时冬小麦虽已受到一定程度的胁迫,但仍可通过增强热耗散有效地保护 PS II 反应中心免遭光伤害.姚芳芳等^[30]发现浙江嘉兴的大气 O_3 浓度(最大瞬时浓度 108.3 $nL \cdot L^{-1}$, 09:00~17:00 平均浓度 45.9 $nL \cdot L^{-1}$)对冬小麦的生长无明显抑制作用.综上所述, O_3 伤害冬小麦 PS II 的临界值在 100~150 $nL \cdot L^{-1}$ 之间,接近 100 $nL \cdot L^{-1}$.这一结论高于国内外的大部分研究结果,可能与冬小麦品种、生长环境(如较高的大气 CO_2 浓度,空气温湿度,辐射强度等)之间的差异造成叶片的 O_3 吸收通量下降,以及冬小麦对当地 O_3 水平的适应有关^[6,11,31].

冯兆忠等^[11]对国内外相关研究结论进行了整合分析,发现与环境大气 O_3 浓度(35 $nL \cdot L^{-1}$)相比,平均 O_3 浓度为 77 $nL \cdot L^{-1}$ 时可使小麦产量降低 26%.可见,与 PS II 的生理功能相比,冬小麦的产量对 O_3 浓度升高更加敏感.另一方面, O_3 胁迫可显著改善冬小麦的品质^[6].虽然各项参数均显示 100 $nL \cdot L^{-1}$ 并未超出冬小麦 PS II 的承受能力,但卡尔文循环已受到抑制,光合作用的保护性调节可能会导致减产.故在评价地表 O_3 浓度升高对我国冬小麦生长及生产的影响时,既要考虑冬小麦的生理承受能力,还要考虑人们对产量及品质的需求.

4 结论

(1) T_1 处理下冬小麦光合能力下降与气孔关闭及卡尔文循环活性下降有关,是保护性调节的结果,其热耗散机制足以保护 PS II 反应中心免遭光伤害.

(2) T_2 的 CO_2 同化与 Q_A 重新氧化受限, 热耗散机制受损, 其光合能力下降是光合系统受到 O_3 与过剩光能的双重伤害的结果。

(3) 长期 O_3 胁迫显著降低了冬小麦的光合能力, 其胁迫效应和作用机制在生长季内呈动态变化。损伤冬小麦 PS II 的临界值在 $100 \sim 150 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间, 接近 $100 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 。难以用 F_v/F_m 是否低于 0.8 来判断 O_3 是否对冬小麦造成胁迫。

(4) 虽然长三角地区的冬小麦对高浓度 O_3 具有较强的适应性, 地表 O_3 浓度升高仍将是我国粮食生产与粮食安全面临的一大挑战。

参考文献:

- [1] Guicherit R, Roemer M. Tropospheric ozone trends [J]. *Chemosphere-Global Change Science*, 2000, **2** : 167-183.
- [2] Wang H X, Kianga C S, Tang X Y *et al.* Surface ozone: A likely threat to crops in Yangtze delta of China [J]. *Atmos Envir*, 2005, **39** : 3843-3850.
- [3] Liu F, Wang X K, Zhu Y G. Assessing current and future ozone-induced yield reductions for rice and winter wheat in Chongqing and the Yangtze River Delta of China [J]. *Environ Pollut*, 2009, **157** : 707-709.
- [4] Rai R, Agrawal M, Agrawal S B. Assessment of yield losses in tropical wheat using open top chambers [J]. *Atmos Envir*, 2007, **41** : 9543-9554.
- [5] Pleijel H, Danielsson H, Emberson L, *et al.* Ozone risk assessment for agricultural crops in Europe: further development of stomatal flux and flux-response relationship for European wheat and potato [J]. *Atmos Envir*, 2007, **41** : 3022-3040.
- [6] 王春乙, 白月明. 臭氧和气溶胶浓度变化对农作物的影响研究 [M]. 北京: 气象出版社, 2007. 26-59.
- [7] 郑启伟, 王效科, 冯兆忠, 等. 臭氧对原位条件下冬小麦叶片光合色素、脂质过氧化物的影响 [J]. *西北植物学报*, 2005, **25** (11) : 2240-2244.
- [8] Calatayud A, Iglesias D J, Talón M, *et al.* Effects of 2-month ozone exposure in spinach leaves on photosynthesis, antioxidant systems and lipid peroxidation [J]. *Plant Phys Bio*, 2003, **41** : 839-845.
- [9] Degl'Innocenti E, Guidi L, Soldatini G F. Effects of elevated ozone on chlorophyll a fluorescence in symptomatic and asymptomatic leaves of two tomato genotypes [J]. *Biol Plant*, 2007, **51** (2) : 313-321.
- [10] Pleijel H, Berglen E A, Danielsson H, *et al.* Differential ozone sensitivity in an old and a modern Swedish wheat cultivar-grain yield and quality, leaf chlorophyll and stomatal conductance [J]. *Environ Exp Bot*, 2006, **56** : 63-71.
- [11] 冯兆忠, 小林和彦, 王效科, 等. 小麦产量形成对大气臭氧浓度升高响应的整合分析 [J]. *科学通报*, 2008, **53** (24) : 3080-3085.
- [12] Calatayud A, Iglesias D J, Talón M, *et al.* Effects of long-term ozone exposure on citrus: chlorophyll a fluorescence and gas exchange [J]. *Photosynthe*, 2006, **44** (4) : 548-554.
- [13] Baldocchi D D, White R, Johnston J W. A wind tunnel study to design large, open-top chambers for whole-tree pollutant exposure experiments [J]. *Journal of the Air and Waste Management*

Association, 1989, **39** (12) : 1549-1556.

- [14] Cailly A L, Rizza F, Genty B, *et al.* Fate of excitation at PS II in leaves. The non-photochemical side [J]. *Plant Physiol Biochemistry*, 1996(special issue) : 86.
- [15] Schreiber U, Bilger W, Neubauer C. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis [A]. In: Schulze E D, Caldwell M M (eds). *Ecophysiology of Photosynthesis* [C]. Berlin: Springer-Verlag, 1994. 49-70.
- [16] Park Y, Chow W S, Anderson J M. The quantum yield of photoinactivation of photosystem II in pea leaves is greater at low than at high photon exposure [J]. *Plant Cel P*, 1995, **36** (6) : 1163-1167.
- [17] Smith E L. Photosynthesis in Relation to Light and Carbon Dioxide [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1936, **22** (8) : 504-511.
- [18] 许大全. 光合作用效率 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002. 57-61.
- [19] Klughammer C, Schreiber U. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method [J]. *PAM Application Notes*, 2008, **1** : 27-35.
- [20] 王颖君, 叶寄宇. 脓青素对光抑制条件下菠菜叶绿体的保护作用 [J]. *植物生理学报*, 1996, **22** : 123-129.
- [21] Guéra A, Calatayud A, Sabater B, *et al.* Involvement of the thylakoidal NADH-plastoquinone-oxidoreductase complex in the early responses to ozone exposure of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings [J]. *J Ex Bot*, 2005, **56** (409) : 205-218.
- [22] Osmond C B, Ramus J, Levavasseur G, *et al.* Fluorescence quenching during photosynthesis and photoinhibition of *Ulva rotundata* blid [J]. *Planta*, 1993, **190** (1) : 97-106.
- [23] Kitajima M, Butler W L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1975, **376** (1) : 105-115.
- [24] Reichenauer T G, Goodman B A, Kostecki P, *et al.* Ozone sensitivity in *Triticum durum* and *T. aestivum* with respect to leaf injury, photosynthetic activity and free radical content [J]. *Physiol Plant*, 1998, **104** (4) : 681-686.
- [25] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis [J]. *Ann Rev Plant Physiol*, 1982, **3** : 317-345.
- [26] Horton P, Hague A. Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in barley protoplasts IV Resolution of non-photochemical quenching [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1988, **932** : 107-115.
- [27] Miller J D, Arteca R N, Pell E J. Senescence-associated gene expression during ozone-induced leaf senescence in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 1999, **120** : 1015-1023.
- [28] 刘培雁, 刘威, 韩志国. 砷胁迫下蜈蚣草光合作用的变化 [J]. *生态环境*, 2007, **16** (3) : 775-778.
- [29] Schreiber U, Bilger W. Progress in chlorophyll fluorescence research: Major developments during the last years in retrospect [J]. *Progress in Botany*, 1993, **54** : 151-173.
- [30] 姚芳芳, 王效科, 陈展, 等. 农田冬小麦生长和产量对臭氧动态暴露的响应 [J]. *植物生态学报*, 2008, **32** (1) : 212-219.
- [31] Grünhage L, Jäger H J. From critical levels to critical loads for ozone: a discussion of a new experimental and modelling approach for establishing flux-response relationships for agricultural crops and native plant species [J]. *Environ Pollut*, 2003, **125** (1) : 99-110.