

臭氧浓度升高对小白菜叶片生理特性的影响随暴露时间的变化研究

高艺芹, 王效科, 万五星, 冯美琪, 张丹红, 耿春梅, 殷宝辉, 张楠, 宋蕊, 刘颖

引用本文:

高艺芹, 王效科, 万五星, 冯美琪, 张丹红, 耿春梅, 殷宝辉, 张楠, 宋蕊, 刘颖. 臭氧浓度升高对小白菜叶片生理特性的影响随暴露时间的变化研究[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(7): 1454–1464.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0984>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

根际促生菌 *Enterobacter* sp. EG16 对小白菜生长及硒吸收的影响

刘东昀, 袁永强, 仇荣亮, 王诗忠, 黄雄飞, 黄海燕

农业环境科学学报. 2021, 40(7): 1420–1431 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1213>

不同生育期臭氧熏蒸对水稻光合作用及生长的影响差异

付娆, 尚博, 张国友, 冯兆忠

农业环境科学学报. 2021, 40(10): 2066–2075 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0139>

作物-鱼共作对淡水养殖系统 N_2O 排放的影响

鲍婷, 王梦杰, 吴俊男, 刘耀斌, 李凤博, 冯金飞, 方福平

农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1344–1353 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1367>

改良剂对镉污染土壤上小白菜镉积累转运及生理特性的影响

李松, 孙向阳, 李素艳, 马其雪, 刘源鑫, 周文洁

农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1229–1235 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1182>

脯氨酸缓解酸性土壤上小白菜铝毒胁迫的效应及其潜在机制

吕波, 王宇函, 姜存仓

农业环境科学学报. 2018, 37(5): 868–874 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1103>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

高艺芹, 王效科, 万五星, 等. 臭氧浓度升高对小白菜叶片生理特性的影响随暴露时间的变化研究[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(7): 1454–1464.

GAO Y Q, WANG X K, WAN W X, et al. Change in effects of elevated ozone concentration on physiological characteristics of *Brassica pekinensis* leaves with prolonged exposure time[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(7): 1454–1464.

臭氧浓度升高对小白菜叶片生理特性的影响随暴露时间的变化研究

高艺芹^{1,2}, 王效科², 万五星^{1*}, 冯美琪^{1,2}, 张丹红², 耿春梅³, 殷宝辉³, 张楠³, 宋蕊¹, 刘颖¹

(1. 河北师范大学生命科学学院, 石家庄 050016; 2. 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; 3. 中国环境科学研究院, 北京 100012)

摘要:为探究近地面臭氧(O_3)浓度升高对植物的不良影响随暴露时间延长的变化情况,本研究以小白菜(*Brassica pekinensis*)为研究对象,采用开顶式气室(OTC),设置4种 O_3 浓度水平,即环境浓度(NF),环境浓度+40 $nmol \cdot mol^{-1}$ (NF40),环境浓度+80 $nmol \cdot mol^{-1}$ (NF80),环境浓度+120 $nmol \cdot mol^{-1}$ (NF120)。根据小白菜叶绿素(Chl)、类胡萝卜素(Car)、可溶性蛋白(SP)、可溶性糖(SS)、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性(PEPC)、丙二醛(MDA)、抗坏血酸(AsA)、谷胱甘肽(GSH)、总抗氧化能力(T-AOC)与 O_3 暴露剂量(AOT40)的线性模型截距与模型斜率在不同测定时间的关系,明确 O_3 浓度升高对小白菜叶片生理特征的影响随暴露时间的变化规律。研究发现,累积熏蒸28 d时,随着 O_3 浓度升高,与NF组相比,NF40、NF80、NF120组小白菜叶片Chl、Car和SP含量分别减少19.09%、30.45%、33.66%,12.85%、24.69%、27.78%和26.30%、37.89%、38.16%($P < 0.05$),而叶片MDA、SS、GSH、AsA、T-AOC含量分别增加31.11%、33.42%、75.23%,165.61%、207.08%、306.00%,78.30%、89.08%、162.09%,14.47%、15.11%、92.35%,27.87%、32.84%、42.61%。结果表明, O_3 浓度升高会造成小白菜叶片光合色素下降和生理伤害增加,并诱使小白菜抵御 O_3 胁迫的抗氧化能力增强。随着 O_3 暴露时间延长,叶片中Chl、Car、SP、MDA对 O_3 的敏感性(即指标对单位 O_3 暴露剂量变化的响应大小)减弱($P < 0.05$),而SS、GSH、AsA、T-AOC对 O_3 敏感性无显著变化,说明随着暴露时间延长 O_3 胁迫对小白菜叶片生理特征的影响强度呈下降趋势,小白菜对 O_3 胁迫的敏感性降低。研究表明,长时间高浓度 O_3 熏蒸降低了小白菜的光合作用,提高了抗氧化能力,最终导致生物量降低,同时降低了小白菜对 O_3 胁迫的敏感性。

关键词: O_3 浓度; 暴露时间; 开顶式气室(OTC); 小白菜; 生理特征

中图分类号: S634.3; X515; X503.23 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2023)07-1454-11 doi:10.11654/jaes.2022-0984

Change in effects of elevated ozone concentration on physiological characteristics of *Brassica pekinensis* leaves with prolonged exposure time

GAO Yiqin^{1,2}, WANG Xiaoke², WAN Wuxing^{1*}, FENG Meiqi^{1,2}, ZHANG Danhong², GENG Chunmei³, YIN Baohui³, ZHANG Nan³, SONG Rui¹, LIU Ying¹

(1. College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China; 2. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 3. Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China)

收稿日期: 2022-10-06 录用日期: 2023-01-16

作者简介: 高艺芹(1997—),女,河北沧州人,硕士研究生,从事环境臭氧对植被的影响研究。E-mail: gaoyiqin0120@163.com

*通信作者: 万五星 E-mail: wan.wx1972@126.com

基金项目: 国家大气污染防治攻关联合中心项目(DQGG2021202); 国家自然科学基金项目(31971509)

Project supported: Chinese Research Academy of Environmental Sciences Foundation (DQGG2021202); The National Natural Science Foundation of China(31971509)

Abstract: The objective of this study was to quantify the adverse interaction effects of increased near-surface ozone (O_3) concentration and prolonged exposure time on physiological indices of *Brassica pekinensis* leaves based on open-top chamber (OTC) analysis. The responses of physiological indices of *B. pekinensis* leaves were measured to the following four O_3 concentration levels: ambient environmental concentration (NF); environmental concentration + 40 $nmol \cdot mol^{-1}$ (NF40); environmental concentration + 80 $nmol \cdot mol^{-1}$ (NF80); and environmental concentration + 120 $nmol \cdot mol^{-1}$ (NF120). The relationship between intercept and slope of the best-fit linear models was temporally assessed with respect to different observation times, and the following physiological indices of *B. pekinensis* were analyzed: chlorophyll (Chl), carotenoid (Car), soluble protein (SP), soluble sugar (SS), phosphoenolpyruvate carboxylase activity (PEPC), malondialdehyde (MDA), ascorbic acid (AsA), glutathione (GSH), total antioxidant capacity (T-AOC), and O_3 exposure dose (AOT40). With the increased O_3 concentration after 28-d cumulative fumigation, the Chl, Car, and SP contents declined by 19.09%, 30.45%, and 33.66%; 12.85%, 24.69%, and 27.78%; and 26.30%, 37.89%, and 38.16% in response to NF40, NF80, and NF120, respectively, relative to the NF control group ($P < 0.05$). The contents of MDA, SS, GSH, AsA, and T-AOC rose by 31.11%, 33.42%, and 75.23%; 165.61%, 207.08%, and 306.00%; 78.30%, 89.08%, and 162.09%; 14.47%, 15.11%, and 92.35%; and 27.87%, 32.84%, and 42.61% in response to NF40, NF80, and NF120, respectively, relative to the NF control group. The increased O_3 concentration decreased the photosynthetic pigment, increased the physiological injury, and induced the antioxidant ability of *B. pekinensis* leaves to resist O_3 stress. With the prolonged O_3 exposure time, the sensitivity of Chl, Car, SP, and MDA to O_3 fell ($P < 0.05$), while the sensitivity of SS, GSH, AsA, and T-AOC to O_3 did not change significantly. This shows that the effect intensity of O_3 on the physiological indices of *B. pekinensis* leaves declined with the prolonged exposure time. The sensitivity of this vegetable species to O_3 stress decreased with time. Overall, the high concentration of O_3 fumigation for a long time reduced photosynthesis of *B. pekinensis*, improved its antioxidant capacity, and finally decreased its biomass, while its sensitivity to O_3 stress decreased.

Keywords: O_3 concentration; exposure time; OTC; *Brassica pekinensis*; physiological characteristics

对流层臭氧(O_3)是由氮氧化物(NO_x)、挥发性有机化合物(VOCs)等前体物质通过一系列复杂的光化学反应产生的二次污染物^[1-2]。世界气象组织(WMO)监测 O_3 发现,全球背景 O_3 浓度年均增长0.15 $nmol \cdot mol^{-1}$,全球城市 O_3 浓度年均增长0.31 $nmol \cdot mol^{-1}$ ^[3]。生态环境部2022年7月31日发布报告所示, O_3 已成为继 $PM_{2.5}$ 后中国的另一项主要污染物。2022年的调查表明中国 O_3 污染最严重地区为华北平原,特别是京津冀城市及周边地区^[4]。 O_3 污染呈现区域性、聚集性特征^[5]。

O_3 作为一种强氧化性空气污染物,会严重损害生物健康^[6]。大量研究表明, O_3 污染会对植物形态、生理和生产等方面产生一系列负面效应,如:叶片可见明显伤害症状(包括斑块、斑点等)^[7-8],气孔阻力增加,气孔传导降低^[9-10],膜系统破坏,光合色素含量减少,光合速率下降;玉米(*Zea mays*)、大豆(*Glycine max*)、水稻(*Oryza sativa*)等农作物生物量减少^[11]。已有研究证明,随着 O_3 浓度升高和 O_3 暴露时间累积,植物受影响的程度会不断加重^[12-13]。基于生物对环境变化的响应和适应的复杂性,依据植物对环境因子的生态适应规律并结合R语言的统计分析结果可以得知植物对环境胁迫(包括空气污染)的响应程度(即敏感性),随着暴露时间延长可能会出现3种情况:不

变、增强和减弱。到目前为止,小白菜对 O_3 的敏感性随暴露时间的变化方面的数据还比较缺乏^[14-15]。

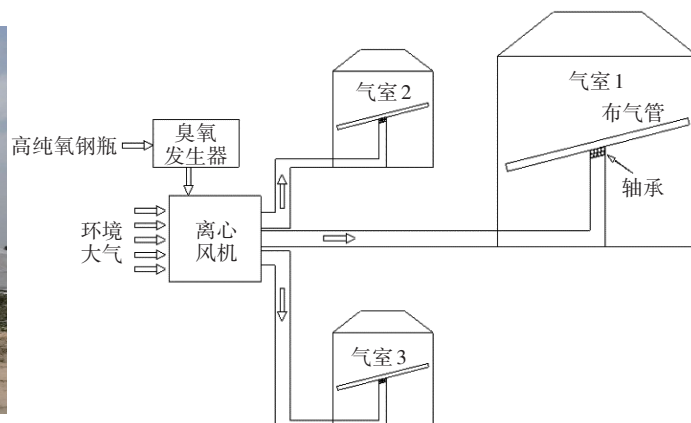
选取十字花科芸薹属栽培植物小白菜(*Brassica pekinensis*)“正旺达88”为研究对象,采用开顶式气室(Open-Top-Chamber, OTC)开展 O_3 熏蒸实验,研究随 O_3 浓度升高和暴露时间延长小白菜叶片生理参数的变化情况,为科学估算 O_3 对蔬菜的危害程度提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料与实验设计

研究地点位于山东淄博市($36^{\circ}57'N$, $118^{\circ}13'E$),该地区属于暖温带大陆性季风气候区,属半湿润气候,气候变化具有明显的季节性。以小白菜“正旺达88”为实验对象,“正旺达88”为杂交一代,速生,叶片油绿、平展、光滑,淡绿帮,生长势旺,抗病能力强,特抗热、耐湿、耐寒。

实验采用圆柱形OTC对小白菜进行 O_3 熏气实验(图1),气室高2 m,底外切圆直径3 m,体积约10 m^3 。为减少外部气体对室内气体的影响,OTC顶端增设45°收缩口(高0.8 m)。本研究中的 O_3 以环境大气作为气源,由 O_3 发生器(3S-A3,北京同林高科科技有限公司)发生不同浓度 O_3 ,通过控制高压空气流量来控制 O_3 产生量。布气管由一根直径为2 m、两端密封的

图1 O₃熏蒸系统实景图 and 通气系统结构图Figure 1 Real picture of O₃ fumigation system and structure picture of ventilation system

PVC管加工而成,管路上分布等距离且与水平成45°夹角的小孔,满足:①小孔总面积≥立管的横截面积,以减少动压损失;②根据作用力与反作用力原理,与水平成45°夹角的小孔喷出的气体为布气管提供旋转的推动力;③从布气管中心至两端,小孔开孔直径逐渐增加以保证在水平截面上布气的均匀性;④布气孔采用外径大于内径的喇叭型开口,以降低对农作物的直吹。PVC气管与立管连接部分采用密封轴承,确保布气管转动自如,且气体没有泄漏。此外,立管高度可随作物株高调整,且保持布气管下缘距离作物冠层≥50 cm。

OTC中加入不同浓度O₃以获得不同实验组,实验共设4个O₃浓度,分别为环境浓度(NF)、环境浓度+40 nmol·mol⁻¹(NF40)、环境浓度+80 nmol·mol⁻¹(NF80)、环境浓度+120 nmol·mol⁻¹(NF120)。每个浓度设3个重复,共计12个OTC。2021年8月5日—9月1日,小白菜进行O₃熏蒸。累积熏气天数28 d,每天熏气8 h(北京时间9:00—17:00),阴雨天(8月20日、8月25日、9月1日共计3 d)不熏气。O₃浓度日变化特征如图2所示。熏气期间NF、NF40、NF80和NF120处理的实际O₃浓度平均分别为49.13、90.81、124.78 nmol·mol⁻¹和151.68 nmol·mol⁻¹。

2021年7月18日,将小白菜种子人工播种在不同处理的OTC地面土壤内。土壤0~20 cm的有机质含量为21.35 g·g⁻¹,水解性氮、速效磷、速效钾含量分别为126.2、30.0、316 mg·kg⁻¹。在播种前,对土壤进行统一杀菌和均匀施农家肥(主成分为牛粪)处理,种植期间不再施加肥料。出苗后首先以漫灌方式将土壤浇透,然后以喷灌形式,约4 d灌溉一次(雨天除外)。小白菜生长出第2片真叶时开始间苗。

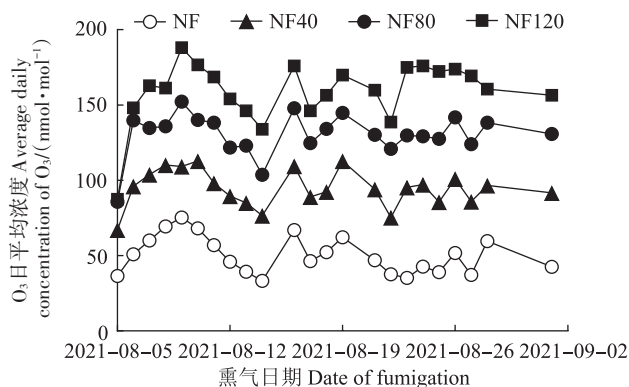
1.2 试验方法

小白菜生长出第一片完全成熟叶片标记为第1叶位,按生长先后顺序标记至第10叶位。小白菜首次出现O₃症状后,每隔7 d采集植株的第5~7叶位叶片作为样本(5~7叶位为开始熏气时完全展开的叶),进行生理生化实验。每株采集2~3片叶片,每次每处理共计15片叶片,其中包含3个重复。全生育期4次采样日期(4期)依次为8月12日、8月19日、8月25日和9月1日。

叶绿素(Chlorophyll, Chl)和类胡萝卜素(Carotene, Car)含量的测定:95%乙醇提取色素,充足时间暗处理后,测定470、664、649 nm处吸光度,根据 Lichtenthaler^[16]的修正公式计算Chl与Car含量。

丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量的测定:采用硫代巴比妥酸法^[17]。

抗坏血酸(Ascorbic acid, AsA)含量的测定:采用 Okamura(1980)还原Fe³⁺的方法测定还原型抗坏血酸(还原型AsA)与总抗坏血酸(总AsA)含量^[18]。

图2 O₃日平均浓度变化Figure 2 Variation of daily average concentration of O₃

可溶性糖(Soluble sugar, SS)含量的测定:采用蒽酮比色法。使用Solarbio公司生产的植物可溶性糖含量检测试剂盒(BC0035)检测样品^[19]。

可溶性蛋白(Soluble protein, SP)含量的测定:在酸性乙醇溶液中,考马斯亮蓝 G250 与蛋白结合后颜色由棕色变为蓝色,在 595 nm 有最大吸收值。使用上海源叶生物科技有限公司生产的 Bradford 蛋白定量试剂盒(R-21252)检测样品^[20]。

总抗氧化能力(Total antioxidant capacity, T-AOC)的测定:酸性条件下,样品中的抗氧化物质还原 Fe^{3+} -TPTZ 产生 Fe^{2+} -TPTZ,呈现出明显蓝色,于 593 nm 处有最大吸光度。使用上海源叶生物科技有限公司生产的总抗氧化能力检测试剂盒(R-24147)检测样品^[21]。

还原型谷胱甘肽(Glutathione, GSH)含量的测定:谷胱甘肽与 5,5'-二硫代-双-2-硝基苯甲酸反应产生 2-硝基-5-巯基苯甲酸和谷胱甘肽二硫化物。2-硝基-5-巯基苯甲酸为黄色产物,在波长 412 nm 处具有最大吸光度。使用 Solarbio 公司生产的还原型谷胱甘肽含量检测试剂盒(BC1175)检测样品^[22]。

磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性(Phosphoenolpyruvate carboxylase activity, PEPC)的测定:PEPC 催化磷酸烯醇式丙酮酸和 CO_2 生成草酰乙酸和 HPO_4^{2-} ,苹果酸脱氢酶进一步催化草酰乙酸和 NADH 生成苹果酸和 NAD^+ ,在 340 nm 处测定 NADH 减少速率,计算 PEPC 活性。使用 Solarbio 公司生产的磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性检测试剂盒(BC2195)检测样品^[23]。

生物量的测定:每隔 10 d 采样测定植株各器官(根、茎、叶)生物量并计算总生物量。随机选取 3 株新鲜植株样品,将各器官分开测定鲜质量,然后分别于烘箱 105 °C 杀青 30 min, 80 °C 烘干至恒质量后称量。

1.3 数据处理

O_3 暴露剂量 AOT40 (小时 O_3 浓度大于 40 $\text{nmol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 的累积 O_3 暴露值)的计算公式如下:

$$\text{AOT40} = \sum (C_{\text{O}_3} - 40) \quad (1)$$

式中: C_{O_3} 为太阳总辐射大于 50 $\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$ 时的小时平均 O_3 浓度。

利用 R 语言 $\text{lm}()$ 函数建立各次测定的 Chl、Car、SS、SP、PEPC、MDA、GSH、AsA、T-AOC 与 O_3 暴露剂量 AOT40 的线性模型。根据线性模型得到截距、截距标准差,斜率、斜率标准差,分别估算截距的 95% 置信区间(截距 CI, 截距-截距标准差 $\times 1.96$, 截距+截距标准差 $\times 1.96$)和斜率的 95% 置信区间(斜率 CI, 斜率-斜

率标准差 $\times 1.96$, 斜率+斜率标准差 $\times 1.96$)。截距代表非胁迫下小白菜生长过程中的生理指标变化。斜率代表小白菜生长过程中的生理指标对 O_3 暴露的响应敏感性。采用 GraphPad Prism 9.3.1 软件的 Forest plot 分别绘制各次采集的叶片生理指标的截距和斜率置信区间。

利用 R4.2.1 软件进行主成分分析(PCA),在分析之前使用 $\text{as.matrix}()$ 函数将数据转换为矩阵,然后使用 $\text{scale}()$ 函数将数据标准化,通过 Factomine R 程序包中的 PCA() 函数,将主成分分析应用于选定的 AOT40 和生理指标(Chl、Car、SP、SS、MDA、GSH、AsA 和 T-AOC),并通过 Factoextra 程序包的 fviz_pca_ind 与 fviz_pca_var 函数进行可视化图绘制。

2 结果与分析

2.1 小白菜形态和生物量对 O_3 浓度升高及暴露时间延长的响应

实验中,小白菜在不同浓度 O_3 熏蒸下表现出不同程度的伤害症状,且随着时间的延长可见伤害症状加剧。在 O_3 熏蒸 3 d 时, NF120 组小白菜局部可观测到受害症状,首先出现叶边缘褪绿及黄化斑点。随着 O_3 熏蒸的累积,可见伤害症状由叶边缘扩散到叶中部区域乃至整个叶片。 O_3 熏蒸累积 28 d 时,熏气处理的叶片 O_3 可见伤害症状占据叶片的大部分表面(图 3)。小白菜叶片黄化干枯且老化脱落叶片增多,说明高浓度 O_3 熏蒸、积累对小白菜叶片造成了伤害,加速了植株衰老的进程。

随着 O_3 浓度升高,小白菜的各器官生物量和总生物量都呈现下降趋势(图 4)。熏气 28 d 时, NF 组与 NF40、NF80、NF120 组的叶生物量与总生物量存在显著性差异($P < 0.05$);与 NF 组相比较, NF40 组小白菜根、茎、叶和总生物量分别减少了 30.23%、62.91%、94.71% 和 124.28%, NF80 组分别减少了 20.93%、33.73%、101.68% 和 133.32%, NF120 组分别减少了 41.86%、140.86%、137.91% 和 185.01%。

2.2 小白菜生理指标对 O_3 浓度升高及暴露时间延长的响应

2.2.1 光合生理相关参数

从不同采样日期的叶片光合色素(Chl 和 Car)含量和光合作用 PEPC 活性与 AOT40 线性模型参数(图 5 中 a、b、c、d、e、f)可以看出,模型截距从熏气第 7 天到第 28 天呈先略微增加后减少的趋势,说明随小白菜生长,叶片光合色素含量和 PEPC 活性先增后减。

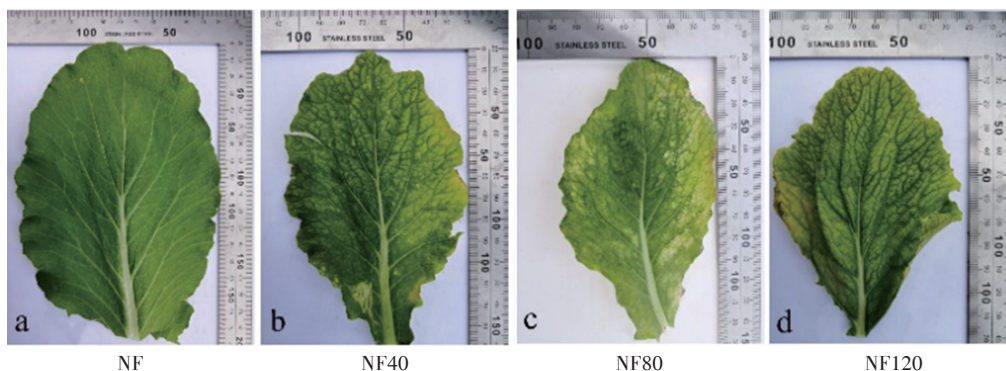
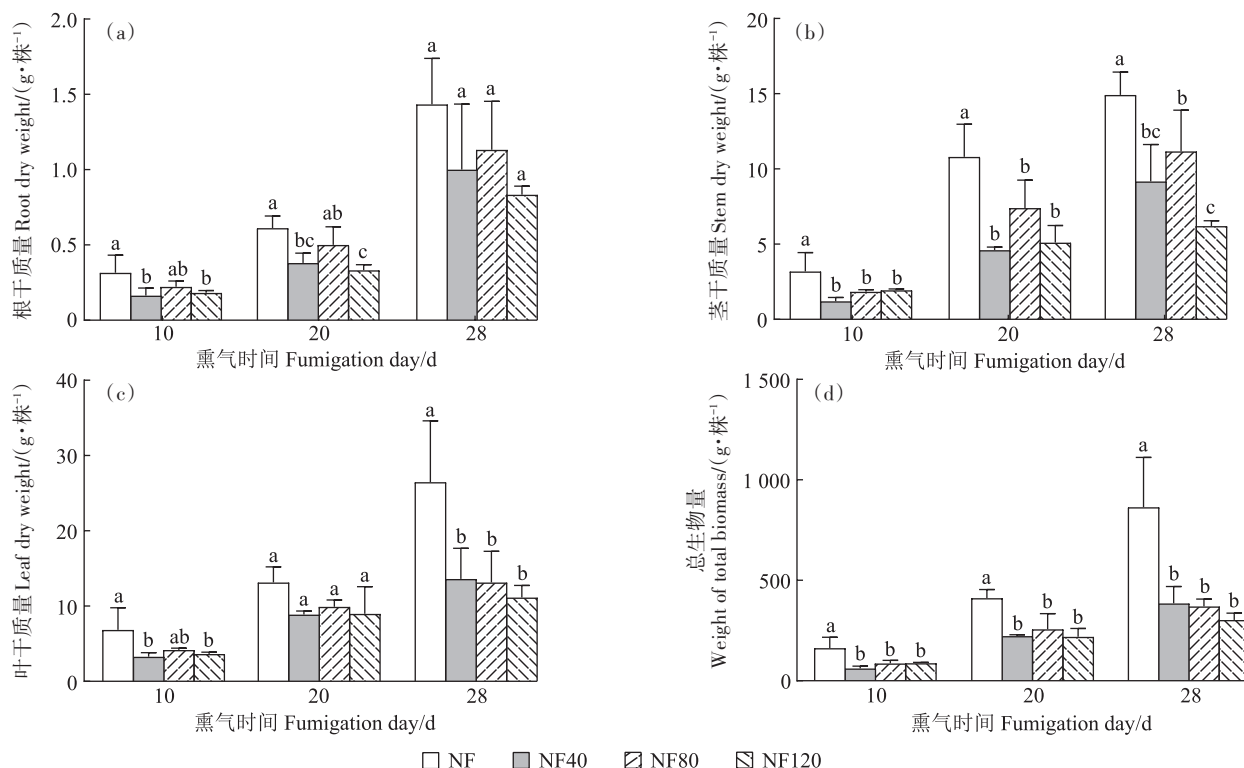


图3 高浓度O₃处理28 d后的小白菜可见伤害症状

Figure 3 Injury symptoms of *Brassica pekinensis* treated with high concentration of O₃ for 28 d



图中误差线为标准差(SD),其上方字母不同表示同一处理组的不同熏蒸时间相互间差异显著($P<0.05$)。
The error line in the figure is the standard deviation(SD), and the different letters above it indicate that there are significant differences in different fumigation times in the same treatment group($P<0.05$).

图4 小白菜各器官生物量随O₃浓度和熏蒸时间的变化

Figure 4 Changes of organ biomass of *Brassica pekinensis* with O₃ concentration and fumigation time

但各期测定得到的模型截距CI重叠,说明随小白菜生长,叶片光合色素含量和PEPC活性没有发生显著变化。光合色素含量的模型斜率CI小于0且与0不重叠,说明O₃胁迫造成叶片光合色素含量显著降低。光合色素含量的模型斜率CI在熏气前3期逐步增加后减少,且斜率CI在第1期和第3期存在不重叠现象,说明叶片光合色素含量对O₃的敏感性随O₃暴露时间延长会显著减弱,至第28天时敏感程度不存在显著差异。PEPC活性的模型斜率CI与0重叠,说明

O₃对PEPC活性没有产生显著影响。

从叶片SS和SP含量与AOT40线性模型参数(图5中g、h、i、j)可以看出,模型截距CI从熏气第7天到第28天呈逐渐减少趋势,并且SP后两期的模型截距CI与前两期不重叠,说明SP含量随小白菜生育进程推移明显减少。SS模型斜率CI大于0且与0不重叠,说明随O₃暴露剂量AOT40增加,叶片SS含量显著增加。SS模型斜率CI在熏气前期较大而后明显变小,但各次模型斜率CI存在重叠,说明叶片SS对O₃

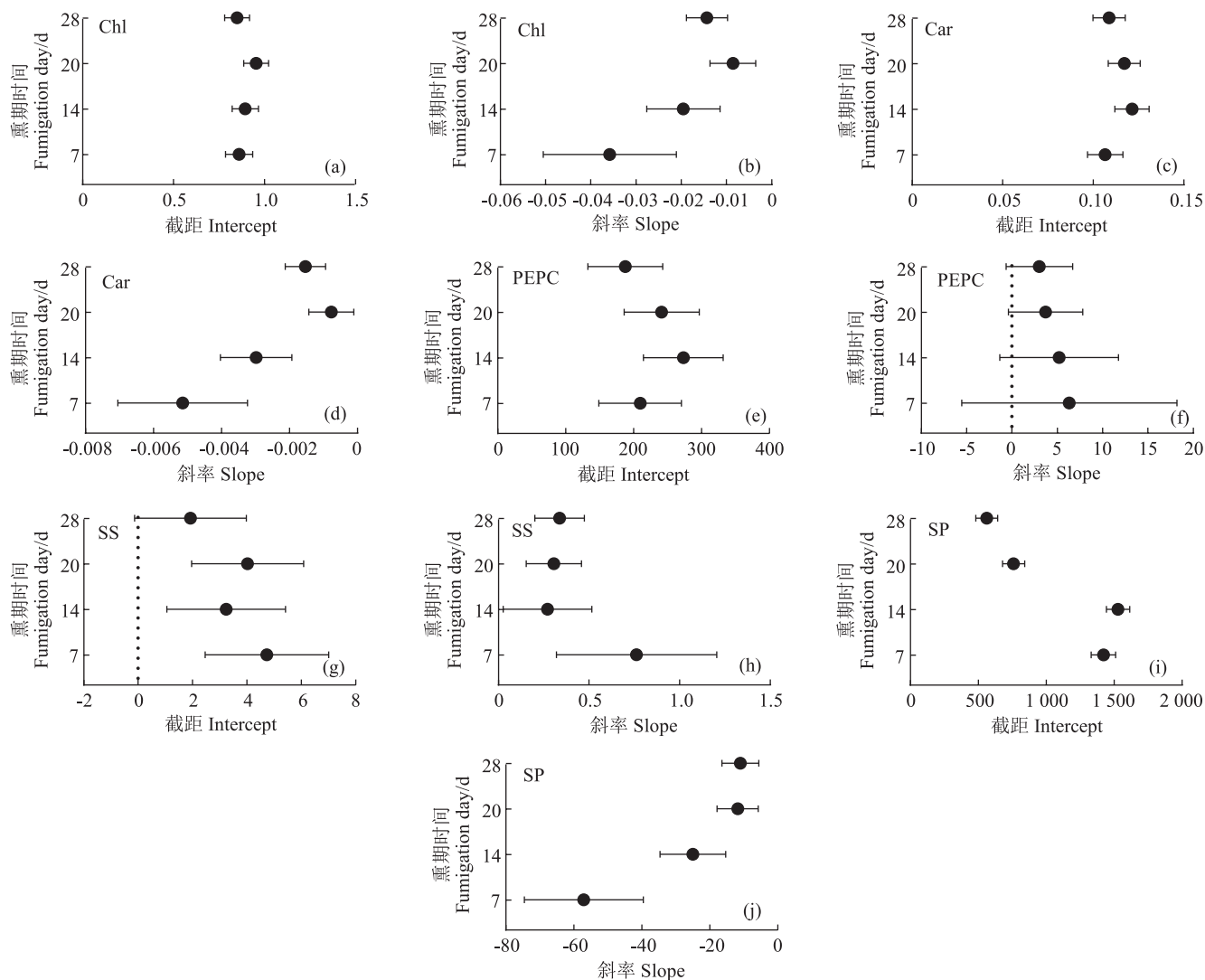


图5 光合生理指标与 O_3 暴露剂量(AOT_{40})线性模型的截距和斜率的95%置信区间(CI)

Figure 5 The 95% confidential interval of intercept and slope of the linear model between photosynthetic physiological indicators and O_3 exposure dose(AOT_{40})

的敏感性随暴露时间无显著变化。SP模型斜率CI小于0且不与0重叠,说明随 O_3 暴露剂量 AOT_{40} 增加,叶片SP含量显著减少。SP模型斜率CI从熏气第7天后一致增加,且后3期与第1期不重叠,说明叶片SP对 O_3 的敏感性随暴露时间延长显著减少。

2.2.2 抗氧化生理相关参数

由叶片MDA、还原型AsA、总AsA和T-AOC与 AOT_{40} 线性回归模型参数(图6中a、b、c、d、e、f、g、h)分析得知,模型截距CI在熏气周期内呈先略增加后减少的趋势,说明随小白菜生长,叶片MDA、还原型AsA、总AsA及T-AOC先增后减。且还原型AsA含量的前两期模型截距CI不存在重叠,MDA和总AsA含量及T-AOC各期测定得到的模型截距CI存在重叠,说明随小白菜生长,叶片还原型AsA含量前两期

出现显著增加,叶片MDA、总AsA和T-AOC含量不存在显著性变化。

MDA含量的模型斜率CI大于0并且不与0重叠,说明随着 O_3 暴露剂量 AOT_{40} 增加MDA含量会显著增加($P<0.05$)。MDA含量的模型斜率CI在熏气前3期呈先减少后略增加趋势。后3期测定得到的模型斜率CI与第1期不存在重叠现象,说明叶片MDA含量随着暴露时间延长对 O_3 的敏感性显著下降。还原型AsA、总AsA和T-AOC的模型累积熏蒸7d时存在斜率CI与0重叠的情况,说明 O_3 胁迫对还原型AsA、总AsA和T-AOC的影响随着暴露时间延长不存在显著性变化。

从叶片GSH含量与 AOT_{40} 线性模型参数(图6中i、j)可以看出,GSH模型截距CI在熏气期间呈增加趋

势。 O_3 暴露20 d后,GSH模型截距CI与无效线0不重叠,说明GSH含量在生长后期发生了显著增加。GSH模型斜率CI大于0且与0不重叠,说明随着 O_3 暴露剂量AOT40增加,叶片GSH含量显著增加。GSH模型斜率CI在熏气前期大而后明显变小,但各期模型斜率CI存在重叠,说明 O_3 对叶片GSH的敏感度随暴露时间没有显著变化。

2.3 小白菜生理指标对 O_3 浓度升高及暴露时间延长响应的综合分析

采用主成分分析对 O_3 浓度升高与暴露时间延长时各生理指标的响应关系进行分析,从主成分分析的二序图(图7b和图7d)可以看出,Dim1和Dim2共同解释了小白菜生理指标值总方差的64.4%。Dim1解释了方差的37.3%(图7d),反映了 O_3 暴露浓度越高,

处理组与NF组离散程度越高,说明 O_3 暴露浓度对小白菜的影响越大。Dim2解释了方差的26.9%(图7b),反映了暴露时间延长对小白菜生长的影响,其中7~14 d离散程度最大,与后两期离散程度减少,说明随着 O_3 暴露时间延长,小白菜对 O_3 胁迫的敏感度有所减小。指标变量间夹角越小,表示变量间相关性越高(图7中a,c)。由图可将研究指标分成3组:第1组为Chl、Car和SP,与光合作用和营养有关;第2组为MDA、SS和GSH,与细胞膜透性、能量供应和抗氧化能力有关;第3组为PEPC、T-AOC和AsA,与光合作用和抗氧化能力有关。MDA和SS与Dim1夹角很小,说明这两个指标与Dim1的关系比较密切,即与 O_3 暴露浓度的关系比较密切。而其他指标与Dim1和Dim2的夹角几乎相等,说明这些指标同时受到 O_3 暴

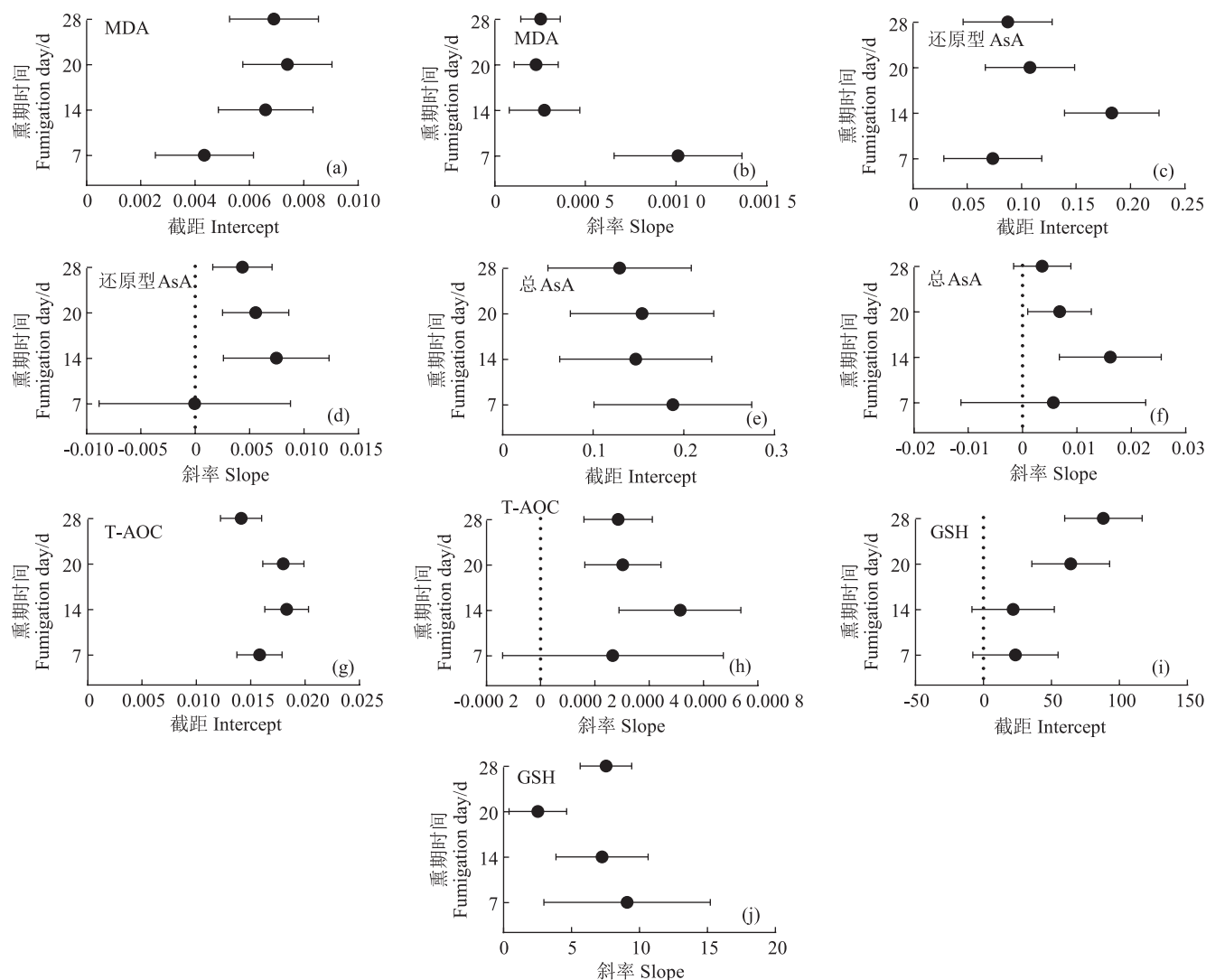


图6 抗氧化生理指标与 O_3 暴露剂量(AOT40)线性模型的截距和斜率的95%置信区间(CI)

Figure 6 The 95% confidence interval of intercept and slope of linear model of plant antioxidant physiological index and ozone exposure dose(AOT40)

露浓度和暴露时间的影响。

3 讨论

3.1 小白菜生理指标随生长的变化

本研究自然状态下(即没有接受 O_3 暴露),在小白菜的生长过程中,其叶片内Chl、Car含量先增加后减少,PEPC活性在初期小幅增长然后下降,SS含量总体呈下降趋势,SP含量在初期略增长后显著降低。这可能是因为小白菜生长期间需要合成大量光合色素进行光合作用并积累有机物,生长后期植株衰老、叶片枯黄、色素降解,并且小白菜自然衰老会促进SP分解^[24]。叶片内MDA含量、T-AOC初期增加后期减少,还原型AsA与总AsA在初期呈动态平衡至后期总体减少,GSH含量增加。这可能是因为面对其他环境胁迫,小白菜膜系统受损,抗氧化物质增加^[24]。

3.2 O_3 浓度升高对小白菜生理特征的影响

本研究表明,高浓度 O_3 会导致叶片产生褪绿、黄化斑点等伤害症状, O_3 伤害症状首先出现在叶片叶肉

部分,主叶脉与小叶脉没有出现受害症状。 O_3 对于作物叶片的解剖学影响首先表现为危害栅栏组织,使其质壁分离,细胞内含物受到破坏且分散^[25-26]。随着 O_3 暴露时间延长,叶片光合色素减少,上表皮的坏死斑点变大,互相融合,最后伤害到海绵组织,形成两面坏死斑,同时叶肉组织减少,叶片变薄,叶边卷曲^[27-29]。本研究中高浓度 O_3 胁迫下,小白菜叶片受伤害面积逐渐增大,叶片变黄、脱落,最终导致生物量降低。同时伤害症状对生理指标光合色素的下降做了进一步验证。已有研究表明, O_3 浓度升高可以显著诱导湿地松(*Pinus elliottii*)针叶凋落,使叶面积减小,最终抑制湿地松的生长^[30]。

根据研究小白菜生理指标与 O_3 暴露剂量(AOT_{40})线性模型斜率的正负及是否与0重叠的结果显示, O_3 浓度升高显著降低了小白菜的光合生理特性($P<0.05$),显著增加了小白菜生理参数($P<0.05$),而小白菜的PEPC活性略微升高但没有产生显著影响,说明高浓度 O_3 胁迫破坏了叶片光合组织,减少了色

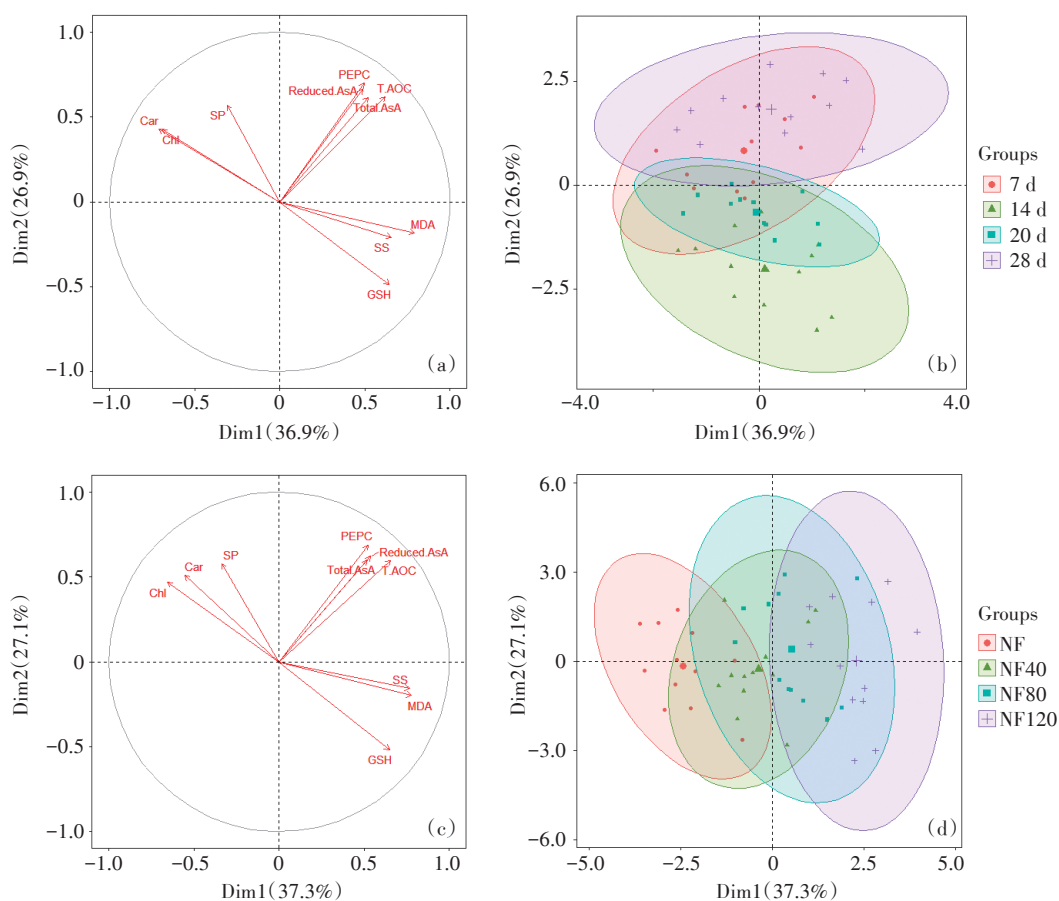


图7 O_3 浓度与熏蒸时间对小白菜生理指标影响的主成分分析

Figure 7 Principal component analysis of the effects of O_3 concentration and fumigation time on physiological indexes of *Brassica pekinensis*

素含量,改变了色素组成,使光合膜系统受损,导致小白菜光合反应速率下降^[31]。 O_3 诱导叶片Chl和Car含量的减少与已有文献中报道的结果相同^[32-33]。SS、SP是植物细胞内重要的渗透调节物质,高浓度 O_3 胁迫下SS含量增加可防止细胞失水过多,从而减少胁迫对细胞的伤害。 O_3 胁迫下的小白菜叶片SS含量增加与庄明浩等^[34]对毛竹(*Phyllostachys edulis*)和四季竹(*Oligostachyum lubricum*)的研究结果相似。而随着AOT40增加,小白菜叶片SP含量显著降低,这可能是由于大多数SP含量下降而氨基酸增加^[35]。逆境胁迫下,光抑制现象在 C_3 植物中普遍存在。本研究中PEPC活性升高,说明 O_3 浓度升高诱导了PEPC活性增加,从而增强小白菜对高浓度 O_3 的抗性。本研究PEPC活性升高的结果与前人研究中菜豆(*Phaseolus vulgaris*)和湿地松(*Pinus elliottii*)的PEPC活性上升的结果相似^[36-37]。

O_3 具有强氧化性,其进入植物细胞后会进行氧化分解产生过氧化氢(H_2O_2)、气态 O_2 、活性氧(ROS)、自由基等产物^[38-40],这些活性氧、自由基等产物使植物叶片细胞中多种功能膜和酶系统被破坏,产生叶片伤害^[41],诱发膜脂过氧化^[42]。MDA为膜脂过氧化的产物,MDA含量显著增加,代表膜受损程度增大,这与前人研究矮化自根砧木M9T337的结果相同^[43]。AsA与GSH是细胞内的一种抗氧化剂^[44],GSH能帮助植物保持正常的免疫系统功能,并具有抗氧化作用和整合解毒作用,主要在AsA-GSH循环中起主要作用^[45]。小白菜体内GSH含量和T-AOC增加,以清除植物各项代谢过程中产生的自由基,缓解膜脂过氧化伤害^[46],这与前人研究甜菜(*Beta vulgaris*)和菠菜(*Spinacia oleracea*)的相关结果基本一致^[47-48]。

综上,在高浓度 O_3 胁迫下,小白菜光合生理指标含量下降,整体光合效率降低,以致小白菜生物量受损严重。因此, O_3 污染可能会对小白菜类叶菜的生长及其经济价值带来不利影响。

3.3 小白菜生理指标对 O_3 污染的敏感性随暴露时间延长的变化

根据小白菜生理指标与 O_3 暴露剂量(AOT40)线性模型斜率在不同观测时间是否存在显著性差异,可以看出小白菜生理指标敏感性(即指标对单位 O_3 暴露剂量变化的响应大小)是否随暴露时间延长而发生显著变化,结果表明随着 O_3 暴露时间的延长,初期Chl、Car、SP、MDA的斜率参数显著降低,熏气28 d时略有上升。综上说明小白菜叶片Chl、Car、SP、MDA

含量对 O_3 影响的敏感性会随着暴露时间延长整体下降。这是因为随着 O_3 熏蒸时间延长,小白菜会产生一定的适应能力和抗性,以致光合生产能力(Chl含量)和氧化能力(MDA含量)对 O_3 暴露剂量的敏感性变弱, O_3 对小白菜叶片的生理影响并没有出现快速恶化的现象。已有研究报道,对于高浓度 O_3 处理的银杏(*Ginkgo biloba*),随着暴露时间的延长,其叶片光合参数对 O_3 胁迫的敏感性下降^[49];油松(*Pinus tabulaeformis*)针叶的膜脂过氧化程度随暴露时间延长,高浓度 O_3 引起的MDA增加量(相对于对照)会变大^[50],但如果考虑熏蒸时间延长的 O_3 累积因素,单位暴露累积剂量引起的光合作用下降幅度并不会明显增加,同样单位暴露累积剂量引起的MDA增加幅度也不会明显增加。

在其他环境胁迫研究中发现,随着胁迫暴露时间的延长,植物生理指标对胁迫暴露累积剂量的敏感性下降。例如高粱(*Sorghum bicolor*) Moench H21 幼苗Chl对长时间低温胁迫的敏感性降低^[51]。随着低温胁迫时间延长,油菜(*Brassica napus*)叶片SP、MDA对长时间干旱胁迫敏感度整体呈下降趋势^[52]。随着高温胁迫时间延长,蝴蝶兰(*Phalaenopsis* sp.)幼苗叶片Chl、SP、MDA对长时间高温胁迫敏感性整体下降^[53]。这也意味着单采用线性的 O_3 暴露剂量响应关系,有时会高估 O_3 暴露对小白菜一些生理指标的影响,因此需结合 O_3 熏蒸累积,进一步验证植物对 O_3 胁迫的敏感性。

由主成分分析可知, O_3 浓度越高,小白菜植株生理指标受 O_3 胁迫的影响越大(图7b、图7d),说明 O_3 对小白菜叶片生理指标的影响是同时受到 O_3 暴露浓度和时间的影响。不同生理指标受 O_3 暴露浓度和熏蒸时间延长的影响程度存在差异(图7a、图7c)。反映细胞膜透性(MDA)和能量供应(SS)的2个指标与 O_3 暴露水平的关系更加密切。

4 结论

(1)随着 O_3 浓度升高,小白菜叶片的叶绿素(Chl)、类胡萝卜素(Car)和可溶性蛋白(SP)含量减少($P<0.05$),丙二醛(MDA)、可溶性糖(SS)、还原型谷胱甘肽(GSH)、抗坏血酸(AsA)以及总抗氧化能力(T-AOC)增加,表明 O_3 浓度升高会造成小白菜叶片中光合色素下降和生理伤害增加,并诱使小白菜抵御 O_3 胁迫的抗氧化能力增强。

(2)随着 O_3 暴露时间延长,叶片中Chl、Car、SP、MDA对 O_3 的敏感性减弱($P<0.05$),而SS、GSH、AsA、

T-AOC对O₃敏感性没有显著变化,表明O₃对小白菜叶片生理特性的影响强度会随暴露时间延长而下降,小白菜对O₃胁迫的敏感性随时间延长表现出下降的特征。

(3)通过主成分分析,将受O₃影响的小白菜叶片的指标按相关性划分成三类,分别是:Chl、Car和SP;MDA、SS和GSH;PEPC、T-AOC和AsA。这些指标的变化与O₃暴露水平和暴露时间有关,其中反映细胞膜透性(MDA)和能量供应(SS)的2个指标与O₃暴露水平的关系更加密切。

参考文献:

- [1] CARRIERO G, BRUNETTI C, FARES S, et al. BVOC responses to realistic nitrogen fertilization and ozone exposure in silver birch[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 213:988–995.
- [2] SICARD P, ANAV A, MARCO A D, et al. Projected global ground-level ozone impacts on vegetation under different emission and climate scenarios[J]. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 2017, 17 (19): 12177–12196.
- [3] SICARD P. Ground-level ozone over time: an observation-based global overview[J]. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 2021, 19:100226.
- [4] LU X, HONG J, ZHANG L, et al. Severe surface ozone pollution in China: a global perspective[J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2018, 5(8):487–494.
- [5] MOURA B B, ALVES E S, MARABESI M A, et al. Ozone affects leaf physiology and causes injury to foliage of native tree species from the tropical Atlantic Forest of southern Brazil[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 610/611:912–925.
- [6] XU X. Recent advances in studies of ozone pollution and impacts in China: a short review[J]. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 2021, 19:100225.
- [7] CASSIMIRO J C, MORAES R M. Responses of a tropical tree species to ozone: visible leaf injury, growth, and lipid peroxidation[J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2016, 23(8):8085–8090.
- [8] AINSWORTH E A. Understanding and improving global crop response to ozone pollution[J]. *The Plant Journal*, 2017, 90(5):886–897.
- [9] VAHISALU T, KOLLIST H, WANG Y F, et al. SLAC1 is required for plant guard cell S-type anion channel function in stomatal signalling[J]. *Nature*, 2008, 452(7186):487–491.
- [10] WITTIG V E, AINSWORTH E A, NAIDU S L, et al. Quantifying the impact of current and future tropospheric ozone on tree biomass, growth, physiology and biochemistry: a quantitative meta-analysis[J]. *Global Change Biology*, 2009, 15(2):396–424.
- [11] CONKLIN P L, LAST R L. Differential accumulation of antioxidant mRNAs in *Arabidopsis thaliana* exposed to ozone[J]. *Plant Physiology*, 1995, 109(1):203–212.
- [12] CHEN B, XU J, LIU D, et al. Response of *Ginkgo biloba* growth and physiological traits to ozone stress[J]. *Global Ecology and Conservation*, 2022, 34:e02020.
- [13] SINGH P, KANNAUJIA R, NARAYAN S, et al. Impact of chronic elevated ozone exposure on photosynthetic traits and anti-oxidative defense responses of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit tree under field conditions[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 782: 146907.
- [14] 帅祖苹, 刘汉燚, 崔浩, 等. 磷、锌和镉交互作用对小白菜生长和锌镉累积的影响[J]. *环境科学*, 2022, 43(11):5234–5243. SHUAI Z P, LIU H Y, CUI H, et al. Effects of interaction of zinc and cadmium on growth and cadmium accumulation of *Brassica campestris* L.[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(11):5234–5243.
- [15] 伍文. 大气臭氧浓度升高对农作物生长及农田土壤参与氮循环微生物功能群的影响机理[D]. 桂林: 广西师范大学, 2012: 10–12. WU W. Impact mechanism of elevated O₃ on crops and abundance of functional genes in soil nitrogen cycle[D]. Guilin: Guangxi Normal University, 2012: 10–12.
- [16] LICHTENTHALER H K. Chlorophylls and carotenoids, pigments of photosynthetic biomembranes[J]. *Methods in Enzymology*, 1987, 148: 350–382.
- [17] HEATH R L, RACKER L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1968, 125(1):189–198.
- [18] JI Y W, ZHANG P P, XING Y X, et al. Effect of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 on the osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells and the underlying regulatory mechanism[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019, 43(1):167–176.
- [19] BUYSSE J, MERCKX R. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1993, 44(10):1627–1629.
- [20] LIN Q Q, PAN L B, DENG N H, et al. Protein digestibility of textured-wheat-protein(TWP) based meat analogues: (I) Effects of fibrous structure[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 130:107694.
- [21] YAN Z, XIE L, LI M, et al. Phytochemical components and bioactivities of novel medicinal food: peony roots[J]. *Food Research International*, 2021, 140:109902.
- [22] CHEN L P, ZUO W B, XIAO Z M, et al. A carrier-free metal-coordinated dual-photosensitizers nanotheranostic with glutathione-depletion for fluorescence/photoacoustic imaging-guided tumor phototherapy[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2021, 600:243–255.
- [23] ZHANG Y H, WANG Z M, HUANG Q. Phosphoenolpyruvate carboxylase activity in ear organs is related to protein concentration in grains of winter wheat[J]. *Journal of Cereal Science*, 2008, 47(2):386–391.
- [24] 蔡淑芳, 吴宝意, 廖水兰, 等. 基于光温效应的温室小白菜生理指标动态模拟[J]. *南方农业学报*, 2020, 51(9):2191–2198. CAI S F, WU B Y, LIAO S L, et al. Dynamic simulation of physiological index of *Brassica chinensis* L. in greenhouse based on light and temperature function[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51(9):2191–2198.
- [25] KARNOSKY D F, SKELLY J M, PERCY K E, et al. Perspectives regarding 50 years of research on effects of tropospheric ozone air pollution on US forests[J]. *Environ Pollut*, 2007, 147(3):489–506.
- [26] CALATAYUD V, GARCIA-BREJO F J, CERVERO J, et al. Physiological, anatomical and biomass partitioning responses to ozone in the Mediterranean endemic plant *Lamottea dianae*[J]. *Ecotoxicol Environ*

- Saf, 2011, 74(5): 1131–1138.
- [27] KIVIMAENPAA M, SELLDEN G, SUTINEN S. Ozone-induced changes in the chloroplast structure of conifer needles, and their use in ozone diagnostics[J]. *Environmental Pollution*, 2005, 137(3): 466–475.
- [28] GUIDI L, BONGI G, CIOMPI S, et al. In *Vicia faba* leaves photoinhibition from ozone fumigation in light precedes a decrease in quantum yield of functional PS II centres[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1999, 154(2): 167–172.
- [29] FISCUS E L, BOOKER F L, BURKEY K O. Crop responses to ozone: uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning[J]. *Plant Cell Environ*, 2005, 28(8): 997–1011.
- [30] DAVID P B, THOMAS J D, JON D J. Long-term effects of ozone and simulated acid rain on the foliage dynamics of slash pine (*Pinus elliotii* var. *elliotii* Engelm.) [J]. *New Phytologist*, 1992, 120(1): 61–67.
- [31] MASAHIRO Y, MAKOTO W, NAOKI M, et al. Effects of nitrogen supply on the sensitivity to O₃ of growth and photosynthesis of Japanese beech (*Fagus crenata*) seedlings[J]. *Water, Air, & Soil Pollution: Focus*, 2007, 7(1/2/3): 131–136.
- [32] BINDI M, HACOUR A, VANDERMEIREN K, et al. Chlorophyll concentration of potatoes grown under elevated carbon dioxide and/or ozone concentrations[J]. *European Journal of Agronomy*, 2002, 17(4): 319–335.
- [33] BETZELBERGER A M, GILLESPIE K M, MCGRATH J M, et al. Effects of chronic elevated ozone concentration on antioxidant capacity, photosynthesis and seed yield of 10 soybean cultivars[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2010, 33(9): 1569–1581.
- [34] 庄明浩, 李迎春, 陈双林. 毛竹和四季竹对臭氧胁迫的耐受力差异[J]. *生态学杂志*, 2011, 30(10): 2191–2196. ZHUANG M H, LI Y C, CHEN S L. Differences in O₃ stress tolerance between *Phyllostachys edulis* and *Oligostachyum lubricum* [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2011, 30(10): 2191–2196.
- [35] 高吉喜, 张林波, 舒俭民, 等. 臭氧对植物新陈代谢的影响[J]. *农村生态环境*, 1996, 12(4): 42–46. GAO J X, ZHANG L B, SHU J M, et al. Effects of ozone on plant metabolism[J]. *Rural Eco-Environment*, 1996, 12(4): 42–46.
- [36] FONTAINE V, CABANE M, DIZENGREMEL P. Regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase in *Pinus halepensis* needles submitted to ozone and water stress[J]. *Physiologia Plantarum*, 2003, 117(4): 445–452.
- [37] GUIDI L, DEGL'INNOCENTI E, MARTINELLI F, et al. Ozone effects on carbon metabolism in sensitive and insensitive *Phaseolus* cultivars[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 66(1): 117–125.
- [38] KANOFISKY J R, SIMA P D. Singlet oxygen generation from the reaction of ozone with plant leaves[J]. *Biological Chemistry*, 1996, 270(14): 7850–7852.
- [39] FUHRER J. Ozone risk for crops and pastures in present and future climates[J]. *Naturwissenschaften*, 2009, 96(2): 173–194.
- [40] FISCUS E L, BOOKER F L, BURKEY K O. Crop responses to ozone: uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2005, 28(8): 997–1011.
- [41] WILKINSON S, MILLS G, ILLIDGE R, et al. How is ozone pollution reducing our food supply? [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(2): 527–536.
- [42] JIANG L, FENG Z, DAI L, et al. Large variability in ambient ozone sensitivity across 19 ethylenediurea-treated Chinese cultivars of soybean is driven by total ascorbate[J]. *Environmental Sciences*, 2018, 64: 10–22.
- [43] GONG X, CHEN X, FENG S, et al. Effects of ozone stress on physiological and biochemical characteristics dwarfing rootstock M9T337[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2017, 18(4): 579–582, 606.
- [44] CASTAGNA A, RANIERI A. Detoxification and repair process of ozone injury: from O₃ uptake to gene expression adjustment[J]. *Environmental Pollution*, 2009, 157(5): 1461–1469.
- [45] DIZENGREMEL P, THIEC D L, BAGARD M, et al. Ozone risk assessment for plants: central role of metabolism-dependent changes in reducing power[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 156(1): 11–15.
- [46] RIBAS A, PENUELAS J, ELVIRA S, et al. Ozone exposure induces the activation of leaf senescence-related processes and morphological and growth changes in seedlings of Mediterranean tree species[J]. *Environmental Pollution*, 2005, 134(2): 291–300.
- [47] LUWE M W F, TAKAHAMA U, HEBER U. Role of ascorbate in detoxifying ozone in the apoplast of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves[J]. *Plant Physiology*, 1993, 101(3): 969–976.
- [48] 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 Physiology and Biochemistry*, 2003, 41(9): 839–845.
- [49] 张巍巍, 赵天宏, 王美玉, 等. 臭氧浓度升高对银杏光合作用的影响[J]. *生态学杂志*, 2007, 26(5): 645–649. ZHANG W W, ZHAO T H, WANG M Y, et al. Effects of elevated ozone concentration on *Ginkgo biloba* photosynthesis[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2007, 26(5): 645–649.
- [50] 阮亚男, 何兴元, 陈玮, 等. 臭氧浓度升高对油松抗氧化系统活性的影响[J]. *应用生态学报*, 2009, 20(5): 1032–1037. RUAN Y N, HE X Y, CHEN W, et al. Effects of elevated O₃ concentration on antioxidative enzyme activities in *Pinus tabulaeformis* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(5): 1032–1037.
- [51] 邵文静, 张今杰, 盖胜男, 等. 低温胁迫下高粱幼苗叶片生理变化及相关基因表达分析[J]. *农业生物技术学报*, 2021, 29(5): 857–870. SHAO W J, ZHANG J J, GAI S N, et al. Physiological changes and related genes expression analysis of sorghum (*Sorghum bicolor*) seedlings under low temperature stress[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2021, 29(5): 857–870.
- [52] 白鹏, 冉春艳, 谢小玉. 干旱胁迫对油菜薹期生理特性及农艺性状的影响[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(18): 3566–3576. BAI P, RAN C Y, XIE X Y. Influence of drought stress on physiological characteristics and agronomic traits at bud stage of rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(18): 3566–3576.
- [53] 杨华庚, 陈慧娟. 高温胁迫对蝴蝶兰幼苗叶片形态和生理特性的影响[J]. *中国农学通报*, 2009, 25(11): 123–127. YANG H G, CHEN H J. Effect of high temperature stress on morphological and physiological characteristics in *Phalaenopsis* Seedlings[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(11): 123–127.