

DOI: 10.20103/j.stxb.202304250869

吴贤杰, 李品, 闫香如, 侯霄帆. 臭氧污染对杨树地上和地下生物量降低的直接和间接效应. 生态学报, 2024, 44(15): 6684-6695.

Wu X J, Li P, Yan X R, Hou X F. Direct and indirect effects of ozone pollution on the reduction of above- and below-ground biomass of poplar. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(15): 6684-6695.

臭氧污染对杨树地上和地下生物量降低的直接和间接效应

吴贤杰, 李品*, 闫香如, 侯霄帆

北京林业大学林木资源高效生产全国重点实验室, 森林培育与保护教育部重点实验室, 干旱半干旱地区森林培育及生态系统研究国家林草局重点实验室, 北京 100083

摘要: 目前尚不清楚地表臭氧(O_3)污染下植物、土壤和微生物之间的直接或间接相互作用对森林地上和地下固碳功能的影响。采用开顶式气室装置和结构方程模型, 研究 4 种 O_3 浓度下欧美杨 107 (*Populus euramericana* cv. '74/76') 的光合性状、叶和细根生化性状、土壤理化因子和土壤微生物群落特征对地上和地下生物量降低的直接和间接效应。结果表明, O_3 浓度升高 (86 nmol/mol) 分别导致杨树地上、地下和总生物量相比对照分别下降 16%、11% 和 15%, 对地上生物量降低的影响大于地下生物量。结构方程模型发现光合速率、叶淀粉和叶非结构性碳水化合物对地上生物量有直接的影响; 表明 O_3 主要通过影响植物的光合生理代谢过程对地上生物量积累产生直接作用。 O_3 对地下生物量的影响是通过直接影响叶氮和土壤总碳, 叶氮再影响叶淀粉从而间接影响地下生物量。土壤 pH、总碳和土壤微生物(细菌和真菌群落)对地上产生直接效应, 且 O_3 对真菌群落的影响效应大于细菌群落, 表明植物通过地下过程对 O_3 的响应可直接反馈作用于生物量的积累和分配过程。本研究通过解析植物、土壤和微生物之间的直接或间接相互作用为评估 O_3 污染对杨树人工林地上和地下固碳功能的影响提供科学依据。

关键词: 臭氧; 结构方程模型; 生物量; 效应; 土壤; 微生物

Direct and indirect effects of ozone pollution on the reduction of above- and below-ground biomass of poplar

WU Xianjie, LI Pin*, YAN Xiangru, HOU Xiaofan

State Key Laboratory of Efficient Production of Forest Resources of Beijing Forestry University, The Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Key Laboratory for Silviculture and Forest Ecosystem of State Forestry and Grassland Administration, Beijing 100083, China

Abstract: Ozone (O_3) pollution can alter carbon allocation and reduce tree growth-both above and below ground, but the effects of direct or indirect interactions among plants, soil and microorganisms under ground-level ozone (O_3) pollution on above- and below-ground carbon sequestration of forests are not yet clear. Here, we used the open-top chamber device and structural equation model to explore the direct and indirect effects of photosynthetic characters (net photosynthetic rate [P_n], stomatal conductance [g_s], intercellular CO_2 concentration [C_i], transpiration rate [T_r], water use efficiency [WUE], excitation energy capture efficiency of PSII reaction center [F_v'/F_m'], actual photochemical efficiency of PSII in the light [Φ PS2], coefficient of photochemical quenching [qP], and apparent electron transport rate [ETR]), leaf and fine root biochemical characters (total carbon, nitrogen, and phosphorus levels, concentrations of non-structural carbohydrates (soluble sugar and starch), lignin, and condensed tannins), soil physicochemical factors (moisture, pH, total carbon, total nitrogen, total phosphorus, and exchangeable NH_4^+ -N and NO_3^- -N levels) and phospholipid fatty acids-

基金项目: 国家自然科学基金 (32271673); 北京林业大学“5·5 工程”科研创新团队项目 (BLRC2023B06)

收稿日期: 2023-04-25; **网络出版日期:** 2024-05-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lipin@bjfu.edu.cn

based soil microbial community characteristics on above- and below-ground biomass reduction of poplar 107 (*Populus euramericana* cv. '74/76') at four O₃ concentrations (charcoal-filtered air, non-filtered air, non-filtered air+40 ppb of O₃, and non-filtered air+60 ppb of O₃). The results showed that compared to CF, an increase in O₃ concentration (86 nmol/mol) resulted in a 16%, 11%, and 15% decrease in aboveground, belowground, and total biomass of poplar trees, respectively, with a greater impact on the reduction of aboveground biomass than belowground biomass. Elevated O₃ concentration significantly decreased P_n , g_s , T_r , WUE, F_v'/F_m' , PhiPS2, qP , and ETR while increased C_i . The increase of O₃ concentration significantly increased the content of soluble sugar and tannin and decreased the content of starch, TNC and lignin in leaves while had no effects on the contents of C, N, soluble sugar, starch, TNC, lignin and tannin in fine roots. The structural equation model found that photosynthetic rate, leaf starch, and non-structural carbohydrates have a direct impact on aboveground biomass; This indicates that O₃ mainly has a direct effect on aboveground biomass accumulation by affecting the photosynthetic physiological metabolism of plants. The effect of O₃ on belowground biomass is achieved by directly affecting leaf N and total soil carbon, and leaf N in turn affects leaf starch, indirectly affecting underground biomass. Soil pH, total carbon, and soil microorganisms (bacterial and fungal communities) have a direct effect on aboveground biomass, and O₃ has a greater impact on fungal communities than bacterial communities, indicating that plant responses to O₃ through belowground processes can directly feedback on biomass accumulation and allocation processes. This study provides a scientific basis for evaluating the impact of O₃ pollution on the carbon sequestration function of poplar plantations above- and below-ground by analyzing the direct or indirect interactions between plants, soil, and microorganisms.

Key Words: ozone; structural equation model; biomass; effects; soil; microbes

地表臭氧(O₃)是一种具有强氧化植物毒性的二次污染物和温室气体^[1]。通常在夏季午后时段,随着气温升高和太阳辐射增强,光化学反应加剧,O₃污染也随之加重。经过大气污染防治行动计划(2013—2017)和打赢蓝天保卫战当年行动计划(2018—2020)的实施,大气细颗粒物(PM_{2.5})浓度明显改善,然而O₃污染却呈现逐年加重的趋势,年增率达到2.2—2.4nmol/mol^[2],目前全国地表小时O₃浓度均值已达(41.2±6.3)nmol/mol,尤其京津冀、长三角和珠三角城市群等地,夏季平均O₃浓度极值已达到每小时300nmol/mol^[2],远超我国空气质量二级标准200nmol/mol,也远超许多城市树木的受害临界阈值40nmol/mol,成为继PM_{2.5}后困扰我国城市空气质量改善和达标管理的最主要污染物之一,预计到本世纪末将超过80nmol/mol^[3]。而且,O₃污染高发季节常与植物生长季(5—9月)重叠,对植物从叶片、根、生物量、土壤和微生物群落等产生连锁负效应^[4—5],从而对森林生产力、植物碳储量、土壤碳循环以及“碳中和”目标产生深远影响^[6—8]。

作为强氧化剂,O₃通过气孔吸收进入植物体内,首先对叶片光合系统产生最直接损伤。植物叶片(叶肉部分)是O₃攻击的直接位点。O₃敏感性越高的植物,受到O₃污染时叶片首次出现症状的时间也越短^[4]。相比常绿和针叶树种,落叶阔叶树种O₃敏感性更大^[4]。在叶面尺度上,敏感植物会表现出在上表面均匀分布的细密点状缺绿斑、黄褐斑、变黄早衰等可见伤害症状^[9];通过降低气孔导度^[10]、改变叶绿体结构和降低叶绿素含量、降低羧化酶RuBP的含量和活性、加快叶片衰老脱落等一系列气孔限制、生化限制和叶肉限制过程,降低光合速率和光合产物积累^[11]。在个体尺度上,受到O₃胁迫的植物将有限的光合产物用于自身修复和抗氧化剂合成,从而降低植株碳同化物向根系的分配、抑制根系生长、降低根生物量和根冠比^[12],使植物根部矿质营养元素吸收受到限制。在生态系统水平上,O₃通过影响叶和细根凋落物的数量和质量^[13]、根系分泌物和根际土壤微生物活性^[14]等,进而对整个生态系统碳和氮循环产生显著影响^[4]。以上研究都是仅关注O₃对地上部植物生长、叶片光合生理、抗氧化系统、土壤微生物等某一类单一响应变量进行研究,很难系统评价O₃对生态系统各组分之间的连锁影响以及各变量之间的相互作用关系。另外,根际及土壤微生物对O₃浓度升高和

植物地上和地下生长减慢的响应与反馈目前尚不清楚。

杨树(*Populus* spp.)以其速生、易于更新、成林早、抗风力强、适应性广等生物学特点成为我国人工林主要造林树种。目前,我国杨树人工林面积已超 6 万 km²,居世界之首。然而,人工林经营发展需求从追求木材产量的单一目标转向提升生态系统服务功能的多目标^[15],成为绿色发展和应对气候变化和空气污染的新要求。在当前日益严重的 O₃污染下,杨树人工林固碳增汇和生产力维持等生态系统功能稳定性备受关注。本试验通过研究 O₃胁迫对杨树光合性状、叶和细根生化性状、土壤和微生物性状的影响,探寻导致杨树地上和地下生物量降低的关键影响因素以及这些因素的直接和间接效应,以期阐明 O₃如何影响关键过程的改变与杨树人工林生产力形成及土壤固碳等生态功能的关系,为应对 O₃污染引起人工林固碳功能退化提供相应管理建议。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验在延庆野外试验与示范基地(115°97'E, 40°45'N)开展。该基地位于北京市东北方向延庆唐家堡,属半干旱半湿润大陆性季风气候,年均温 11—13℃,夏季平均气温 22—25℃,年降水量 500mm,全年无霜期 200d,年平均日照 2600h。

1.2 试验设计

选用北方防护林带主栽品种欧美杨 107(*Populus euramericana* cv. '74/76')为试验材料。于 4 月将长势较为一致的幼苗移入圆形花盆(20L)中,栽培基质用当地土壤:购买草炭土=3:1 进行混匀。生长 1 个月后,将株高[(38.5±5.6)cm]和地径[(6.4±1.0)mm]一致的幼树移入开顶式钢化玻璃气室(OTCs,高 3.0m,边长 1.0m 的正八面柱体,占地 12.5m²/个)中,适应 10d 后进行 O₃熏蒸试验。在试验期间所有树每 1—2d 进行自动滴灌。

试验共设置 4 个 O₃处理水平:CF(过滤大气, [O₃] < 40nmol/mol), NF(环境大气 [O₃]), NF40(NF+40nmol/mol [O₃]), NF60(NF+60nmol/mol [O₃])。试验增加 40 和 60nmol/mol 的浓度分别是模型预测未来我国 20 世纪中叶和 20 世纪末城市可能达到的 O₃浓度^[1]。每个处理 3 个 OTC 重复,每个 OTC 内 6 盆树随机分布。试验期间 OTCs 的 O₃浓度由美国热电公司 49i 臭氧分析仪(Model 49i; Thermo Scientific, 富兰克林, 美国)持续监测,为保证数据准确, O₃分析仪在实验开始前及实验中的每月利用热电公司 49i-PS 校准仪(Thermo Scientific, 美国)校准标定。每天熏气时间为 10h(08:00—18:00),雨天停止熏气。熏气时间从 6 月 22 日到 9 月 24 日。每个 OTC 内外温湿度由 CR1000 数据纪录器监测,每 5min 纪录 1 次。在整个试验期内, OTC 内部平均气温和湿度比外界环境分别增加 1.5℃ 和 1.6%, 4 个 O₃处理的日平均(10h) O₃浓度分别为(19.2±0.7) nmol/mol、(40.8±0.1) nmol/mol、(67.0±2.9) nmol/mol 和(85.7±0.6) nmol/mol。4 个 O₃处理的 O₃风险评估指数 AOT40(熏蒸期间小时 O₃浓度超过 40nmol/mol 的累积值)分别为(1.1±0.04) μmol/mol、(8.9±0.11) μmol/mol、(28.4±2.32) μmol/mol 和(45.8±0.60) μmol/mol。

1.3 指标测定

1.3.1 植物光合性状

每处理选取 3 株植株在 9 月上旬晴天的 9:30—11:30,用便携式叶片光合测定系统配置 6400-40 荧光叶室(LI-6400XT, LI-COR 公司, 美国)测定叶片气体交换和叶绿素 a 荧光参数。设定光强为 1 200 μmol m⁻² s⁻¹, CO₂浓度为 400 μmol/mol,温度控制在环境温度±1.5℃,相对湿度为 55%。气体交换参数包括净光合速率(P_n)、气孔导度(g_s)、胞间 CO₂浓度(C_i)、蒸腾速率(T_r)。水分利用效率(WUE)由 P_n/T_r计算得到。叶绿素 a 荧光参数包括 PSII 有效光化学量子产量(F_v'/F_m')、实际光化学量子效率(PhiPS2)、光化学猝灭系数(qP)和电子传递速率(ETR)。

1.3.2 生物量

测定完光合性状后进行破坏性取样。分叶片、茎、根、根际土收获共计 12 盆植株。根用清水洗净后分为

细根(直径<2mm)和粗根(直径≥2mm)。将叶片、茎、细根和粗根在 105℃ 下杀青 20min 后,在 65℃ 下烘至恒重,称量生物量;随后用球磨仪(GT200, Beijing Grinder Instrument Co., Ltd., 中国)把叶片和细根磨成粉末,进行化学含量测定。

1.3.3 植物生化性状

叶片和细根碳(C)和氮(N)元素采用 C-N 元素分析仪(Vario EL III, Elementar, 德国)测定。磷(P)元素采用等离子体发射光谱仪(ICP-OES, Prodigy, Leeman, 美国)测定。可溶性糖采用高效液相色谱(Waters HPLC2695, Milford, MA, 美国)测定^[16],淀粉测定采用高氯酸水解-蒽酮比色法。总非结构性碳水化合物(TNC)由可溶性糖加淀粉计算得到。木质素采用巯基乙酸法^[17]测定。单宁参照 Lindroth 等^[18]测定。

1.3.4 土壤理化性状和微生物群落

土壤含水量(SWC)通过鲜土和干土的重量差进行测定。土壤 pH 用 pH 计(1:2.5 土壤:水)悬浮液进行电位分析。土壤无机 N(可交换性 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N)浓度采用连续流动自动分析仪(SEAL-AA3, Norderstedt, 德国)进行测定。土壤总碳(TC)和总氮(TN)用 C-N 元素分析仪(Vario EL III, Elementar, 德国)测定。土壤总磷(TP)用钼酸盐比色法进行测定。

土壤微生物群落组成用磷脂脂肪酸(PLFAs)法进行测定。指示特定微生物类群的 PLFA 生物标志物参照 Li 等^[14]确定:革兰氏阳性菌(G^+ 细菌:a11:0, a12:0, a13:0, a14:0; i14:0, a15:0, a15:1 ω 9c, i15:1 ω 6, 9c, a16:0, i16:0, a17:0, i17:0, i17:1 ω 9c, i18:0, a19:0, i19:0)、革兰氏阴性菌(G^- 细菌:10:0 2OH, 14:1 ω 5, 8c, i15:0, 15:1 ω 7c, 16:0 2OH, 16:1 ω 3, 6, 7, 9c, cy17:0 ω 7c, 17:1 ω 6, 8, 9c, 18:1 ω 3, 5, 6, 7, 8c, cy19:0 ω 7, 9c, 19:1 ω 8c, cy20:0 ω 6c, 20:1 ω 8, 9c, 21:0, 21:1 ω 3c, cy22:0 ω 6c)、真菌(18:2 ω 6c)、丛枝菌根真菌(AM 真菌:16:1 ω 6c)、放线菌(10Me 16:0, 10Me 17:0, 10Me 17:1 ω 7c, 10Me 18:0, 10Me 18:1 ω 7c, 10Me 19:1 ω 7c, 10Me 20:0)。

1.4 数据分析

采用 Shapiro-Wilk 检验样本符合正态分布($P>0.05$)。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Tukey's HSD 检验法分析被测指标在不同 O_3 处理之间的差异性。数据为平均值±标准差(Mean±SD, $n=3$ OTCs 重复)。各器官相对生物量参照 Li 等^[13]计算。Pearson 相关分析检验被测指标与各器官生物量的相关性。通过结构方程模型分析 O_3 浓度升高下植物光合性状、生化性状、土壤微生物性状和土壤因子对杨树地上、地下和总生物量的影响的相对重要性、直接效应和间接效应;使用最大似然估计方法将数据拟合到模型中,最终模型拟合效果使用卡方检验($P<0.05$)和低 RMSEA(<0.08)进行评估。运用 R v4.2.2 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 O_3 浓度升高对各器官生物量的影响

O_3 浓度升高显著降低了杨树叶、茎、地上和总生物量($P<0.05$;图 1)。相比 CF, 叶、茎、地上和总生物量在 NF60 处理下分别显著降低 10.4%、20.3%、16.1%和 15.1%(图 1)。 O_3 浓度升高下细根、粗根和地下生物量有降低趋势,但不显著($P>0.05$;图 1); O_3 浓度升高下根冠比有升高趋势但不显著($P>0.05$;图 1)。图 2 显示各器官相对生物量随 AOT40 的下降量。每增加 1 个 AOT40 单位,叶、茎、地上和总生物量分别显著线性下降 0.18%、0.40%、0.30%和 0.27%;细根、粗根和地下生物量随 AOT40 增加有下降的趋势但不显著($P>0.05$)。

2.2 O_3 浓度升高对叶片光合性状的影响

O_3 浓度升高显著降低杨树叶片净光合速率(P_n)、气孔导度(g_s)、蒸腾速率(T_r)、水分利用效率(WUE)、PSII 有效光化学量子产量(F_v'/F_m')、实际光化学量子效率(PhiPS2)、光化学猝灭系数(qP)和电子传递速率(ETR),但增加胞间 CO_2 浓度(C_i)(表 1)。相比 CF, NF40 处理对 P_n 、 g_s 、 T_r 、WUE、 F_v'/F_m' 、PhiPS2 和 ETR 分别显著降低 28.0%、14.8%、13.9%、17.6%、15.5%、18.7%和 18.5%;NF60 处理对 P_n 、WUE、 F_v'/F_m' 、PhiPS2、 qP 和 ETR 分别显著降低 51.7%、55.6%、19.7%、43.9%、28.5%和 43.8%; C_i 在 NF60 处理显著增加 16.7%(表 1)。

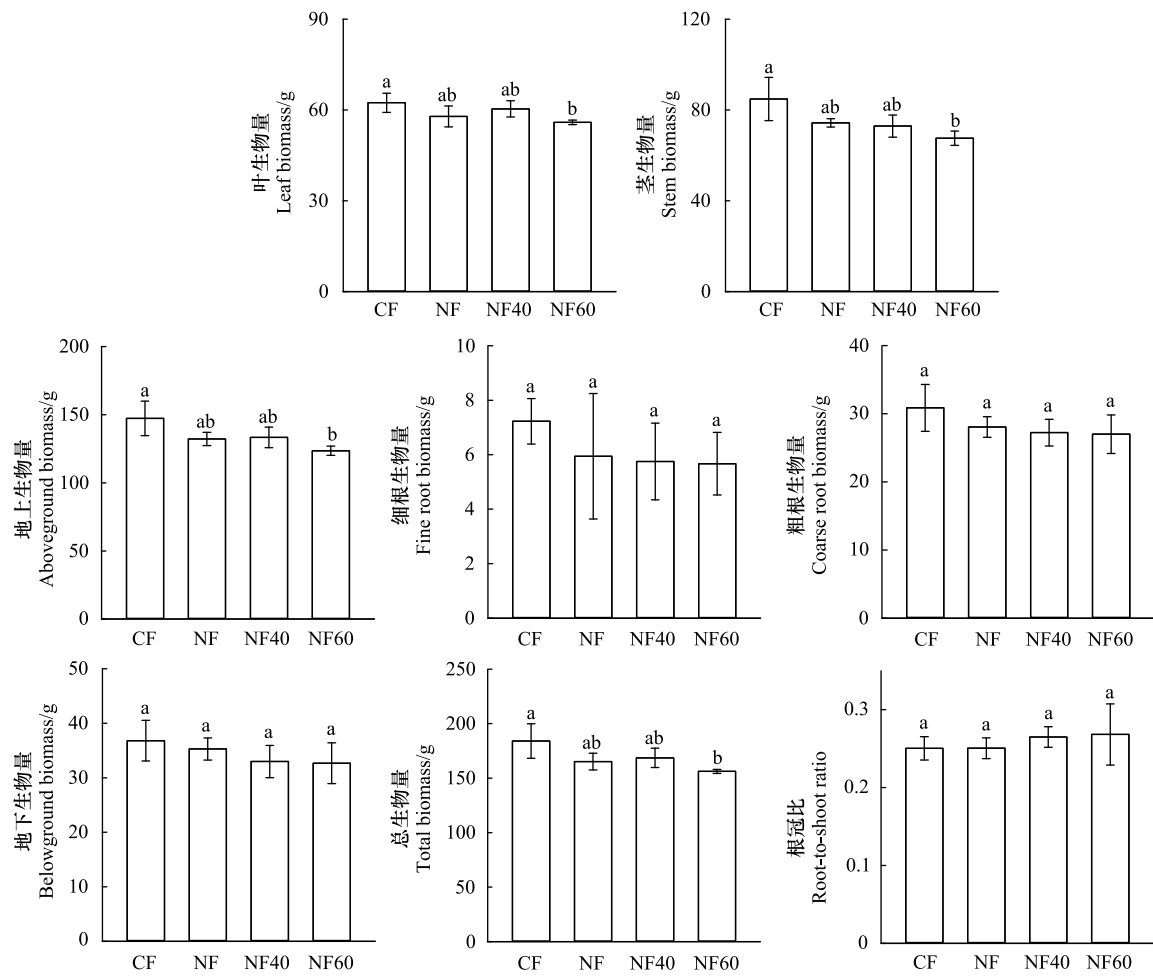


图 1 不同 O₃ 处理下杨树叶、茎、地上、细根、粗根、地下、总生物量和根冠比的变化

Fig.1 Biomass changes of poplar biomass of leaf, stem, aboveground, fine root, coarse root, belowground, total, and root to shoot ratio under different O₃ treatments

CF:过滤大气, NF:环境大气;NF40:环境大气+40nmol/mol[O₃];NF60: 环境大气+60nmol/mol[O₃]

表 1 O₃对叶片光合性状的影响

Table 1 O₃ effects on leaf photosynthetic traits

处理 Treatment	$P_n/$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	$g_s/$ ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	$C_i/$ ($\mu\text{mol/mol}$)	$T_r/$ ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE/ ($\mu\text{mol/mol}$)
CF	14.3±0.54a	0.27±0.01ab	305±12.5b	6.04±0.75ab	2.39±0.28a
NF	14.7±1.65a	0.32±0.06a	313±14.3b	6.75±1.06a	2.18±0.11ab
NF40	10.3±0.68b	0.23±0.01b	316±5.9b	5.20±0.31b	1.97±0.08b
NF60	6.9±0.96c	0.31±0.03a	356±13.3a	6.52±0.70ab	1.06±0.16c
	F_v'/F_m'	PhiPS2	qP	ETR	
CF	0.427±0.01ab	0.214±0.01a	0.502±0.04a	109.0±6.1a	
NF	0.433±0.05a	0.208±0.02ab	0.482±0.03a	106.0±12.3ab	
NF40	0.361±0.02bc	0.174±0.02b	0.483±0.07a	88.8±9.2b	
NF60	0.343±0.05c	0.120±0.02c	0.359±0.09b	61.3±8.8c	

数值代表平均值±标准差, 不同的小写字母代表统计上有显著性差异($P<0.05$); CF:过滤大气, NF:环境大气;NF40: 环境大气+40nmol/mol [O₃];NF60: 环境大气+60nmol/mol[O₃]; P_n :净光合速率; g_s :气孔导度; C_i :胞间 CO₂浓度; T_r :蒸腾速率;WUE:水分利用效率; F_v'/F_m' :叶绿素 a 荧光参数包括 PSII 有效光化学量子产量;PhiPS2:实际光化学量子效率; qP :光化学猝灭系数;ETR:电子传递速率

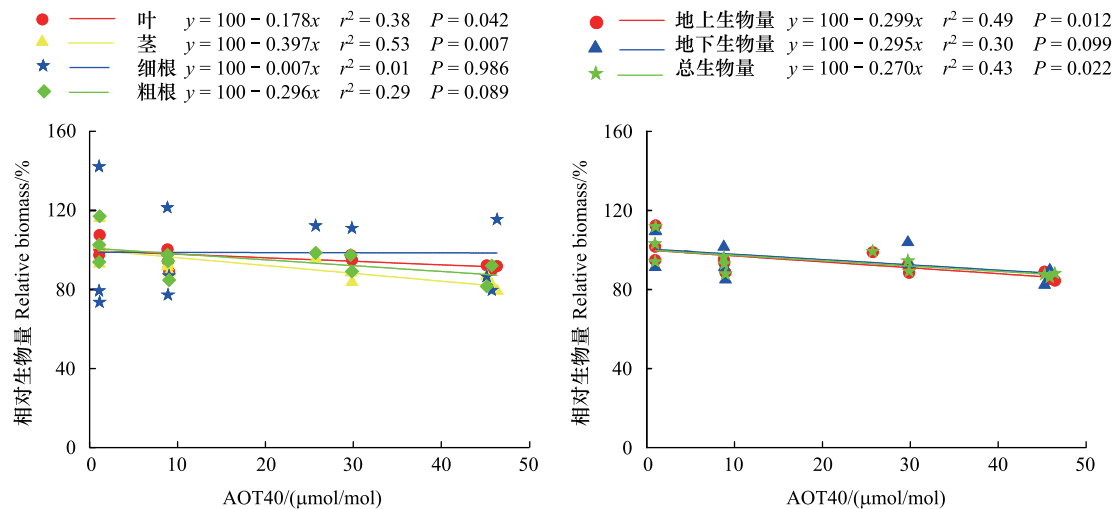


图2 杨树叶、茎、细根和粗根的相对生物量和地上、地下和总生物量与 AOT40 的关系

Fig.2 Relative biomass of poplar leaf, stem, fine root and coarse root and aboveground, belowground and total biomass in relation to AOT40

AOT40:熏蒸期间小时 O₃ 浓度超过 40nmol/mol 的累积值

2.3 O₃ 浓度升高对叶片和细根生化性状的影响

由表 2 可见, O₃ 浓度升高显著增加了叶可溶性糖含量和单宁含量, 降低了叶淀粉含量、叶 TNC 含量和叶木质素含量, 而对叶 C、N 和 P 含量的影响不显著 ($P > 0.05$)。相比 CF, NF 对叶可溶性糖和单宁分别增加 17.8% 和 221.7%, 对叶淀粉和叶木质素分别降低 30.5% 和 40.0%; NF40 对叶可溶性糖和单宁分别增加 21.7% 和 115.7%, 对叶淀粉降低 47.3%; NF60 对叶淀粉和叶 TNC 分别降低 59.5% 和 22.1%, 对叶单宁增加 151.8%。相比 CF, 细根 P 含量在 NF40 和 NF60 分别增加 50% 和 56%, 但对细根 C、N、可溶性糖、淀粉、TNC、木质素和单宁含量的影响不显著 ($P > 0.05$)。

表 2 O₃ 对叶片和细根生化性状的影响Table 2 O₃ effects on biochemical traits of leaves and fine roots

叶 Leaves	C/ (mg/g)	N/ (mg/g)	P/ (mg/g)	可溶性糖 Soluble sugar/ (mg/g)	淀粉 Starch/ (mg/g)	TNC/ (mg/g)	木质素 Lignin/%	单宁 Tannin/%
CF	44.0±0.12a	1.29±0.06a	0.15±0.01a	157±6.6b	131.0±22.8a	289.0±20.9a	23.5±2.7a	0.83±0.15b
NF	44.0±0.36a	1.33±0.04a	0.14±0.01a	185±9.5a	91.0±23.7b	276.0±17.6a	14.1±5.7b	2.67±0.67a
NF40	43.8±0.22a	1.24±0.03a	0.13±0.01a	191±8.5a	69.0±11.2bc	260.0±18.4ab	17.1±0.68ab	1.79±0.32a
NF60	43.8±0.31a	1.32±0.15a	0.14±0.01a	172±16.4ab	53.0±4.54c	225.0±19.0b	20.4±1.4ab	2.09±0.52a
细根 Fine roots	C/ (mg/g)	N/ (mg/g)	P/ (mg/g)	可溶性糖 (mg/g)	淀粉/ (mg/g)	TNC/ (mg/g)	木质素/%	单宁/%
CF	42.6±0.73a	1.17±0.02a	0.16±0.04b	70.4±3.2a	57.0±7.2a	127±8.7a	48.6±2.2a	2.53±0.43a
NF	42.7±0.39a	1.25±0.09a	0.07±0.04c	69.7±11.5a	54.8±5.7a	124±13.9a	45.4±4.6a	2.55±0.34a
NF40	42.7±0.30a	1.26±0.09a	0.24±0.01a	77.2±13.1a	59.2±18.4a	136±23.8a	48.2±3.0a	1.91±0.89a
NF60	43.3±0.32a	1.24±0.07a	0.25±0.02a	76.2±22.5a	56.9±6.8a	133±28.8a	48.3±1.9a	2.82±0.64a

数值代表平均值±标准差, 不同的小写字母代表统计上有显著性差异 ($P < 0.05$); C: 碳含量; N: 氮含量; P: 磷含量; TNC: 总非结构性碳水化合物含量

2.4 O₃ 浓度升高对土壤理化性质和微生物群落的影响

由表 3 可见, O₃ 浓度升高对土壤 pH、含水量、TC 和 TN 有降低趋势, 对土壤 TP 有增加趋势, 但不显著 ($P >$

0.05)。O₃浓度升高显著降低了总微生物量、细菌、G⁺细菌和 G⁻细菌的含量,对真菌、AM 真菌和放线菌有降低趋势但不显著($P>0.05$)。相比 CF, NF60 分别显著降低总微生物量、细菌、G⁺细菌和 G⁻细菌为 31.4%、32.6%、29.0%和 35.7%。

表 3 O₃对土壤理化性质和微生物群落组成的影响

Table 3 O₃ effects on soil physiochemical properties and microbial community composition

处理 Treatment	SWC/%	pH	NH ₄ ⁺ -N/ (mg/kg)	NO ₃ ⁻ -N/ (mg/kg)	TC/%	TN/%	TP/%
CF	15.3±4.6a	7.90±0.04a	21.0±1.8a	5.86±1.6a	49.1±1.5a	0.91±0.32a	0.078±0.02a
NF	14.6±5.2a	7.91±0.12a	22.7±2.2a	5.29±1.9a	48.4±0.47a	0.90±0.13a	0.078±0.01a
NF40	11.2±1.3a	7.94±0.05a	21.3±0.56a	4.97±1.5a	48.4±1.3a	0.76±0.15a	0.079±0.01a
NF60	15.9±7.0a	7.98±0.02a	19.3±2.4a	7.07±5.4a	48.0±0.35a	0.80±0.25a	0.085±0.01a
	总 PLFAs/ (nmol/g)	细菌/ (nmol/g)	G ⁺ 细菌/ (nmol/g)	G ⁻ 细菌/ (nmol/g)	真菌/ (nmol/g)	AM 真菌/ (nmol/g)	放线菌/ (nmol/g)
CF	87.9±14.1a	70.3±11.2a	27.9±4.12a	27.7±4.88a	14.5±2.59a	4.08±0.73a	3.07±0.43a
NF	67.7±19.5ab	53.5±15.5ab	21.8±6.09ab	20.4±6.35ab	11.4±3.69a	3.48±1.16a	2.81±0.45a
NF40	66.8±2.93ab	53.1±2.87ab	21.9±1.09ab	20.2±1.44ab	10.8±0.22a	3.39±0.20a	2.78±0.22a
NF60	60.3±8.87b	47.4±6.90b	19.8±2.80b	17.8±2.76b	10.2±1.67a	3.28±0.68a	2.75±0.38a

数值代表平均值±标准差,不同的小写字母代表统计上有显著性差异($P<0.05$);SWC:土壤含水量;pH:酸碱性;NH₄⁺-N:铵态氮;NO₃⁻-N:硝态氮;TC:总碳;TN:总氮;TP:总磷;PLFA:磷脂脂肪酸含量;G⁺:革兰氏阳性菌;G⁻:革兰氏阴性菌;AM:丛枝菌根

2.5 O₃升高下植物、土壤和微生物性状对生物量降低的影响

杨树各器官生物量与光合性状、生化性状、土壤微生物群落和土壤理化因子的相关性热图表明(图3):对于光合性状,茎、地上和总生物量与 P_n 、WUE、PhiPS2、 qP 和 ETR 显著正相关;茎生物量和地上生物量与 C_i 显著负相关。对于生化性状,叶、茎、地上、地下和总生物量与叶淀粉显著正相关;茎、地上和总生物量与叶 TNC 显著正相关;细根和地下生物量与叶 N 显著负相关;粗根生物量与叶可溶性糖显著负相关;叶、粗根、地上、地下和总生物量与单宁含量显著负相关;地下生物量与细根 TNC 显著负相关。对于土壤微生物群落,茎、地上和总生物量与总微生物量、细菌、G⁺细菌、G⁻细菌和真菌含量均显著正相关,叶生物量与总微生物量、细菌和 G⁻细菌显著正相关。对于土壤理化因子,叶、地上和总生物量与土壤 pH 显著负相关;茎、粗根、地上、地下和总生物量与土壤 TC 显著正相关($P<0.05$)。

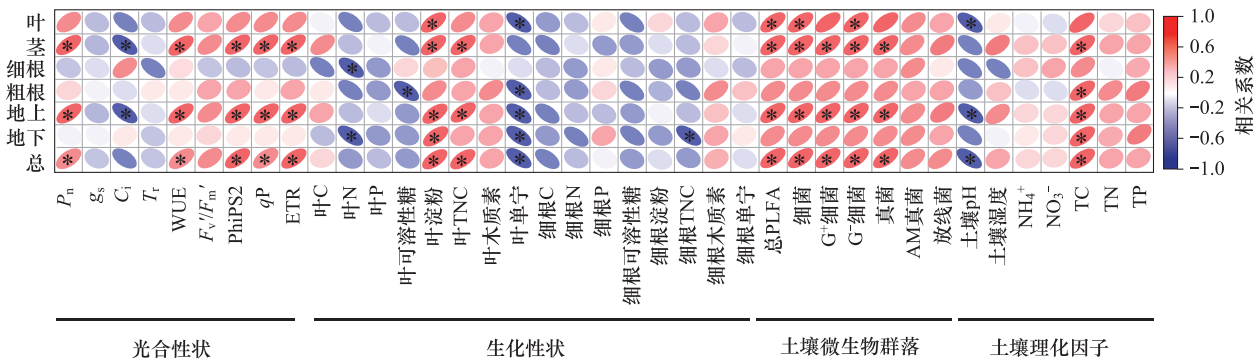


图 3 各器官生物量与光合性状、生化性状、土壤微生物群落和土壤理化因子的相关性热图

Fig.3 Heatmap of correlation between biomass of various organs and photosynthetic traits, biochemical traits, soil microbial community and soil physicochemical properties

P_n :净光合速率; g_s :气孔导度; C_i :胞间 CO₂浓度; T_r :蒸腾速率;WUE:水分利用效率; F_v/F_m' :叶绿素 a 荧光参数包括 PSII 有效光化学量子产量;PhiPS2:实际光化学量子效率; qP :光化学猝灭系数;ETR:电子传递速率;TNC:总非结构性碳水化合物;PLFA:磷脂脂肪酸含量;G⁺:革兰氏阳性菌;G⁻:革兰氏阴性菌;AM:丛枝菌根;NH₄⁺:铵态氮;NO₃⁻:硝态氮;TC:总碳;TN:总氮;TP:总磷

为了量化光合性状、生化性状、土壤微生物群落和土壤理化因子对生物量下降的相对重要性,根据图 3 中生物量与各因子之间的相关关系构建了 3 个结构方程模型(图 4)。模型分别解释了 O_3 浓度升高导致地上生

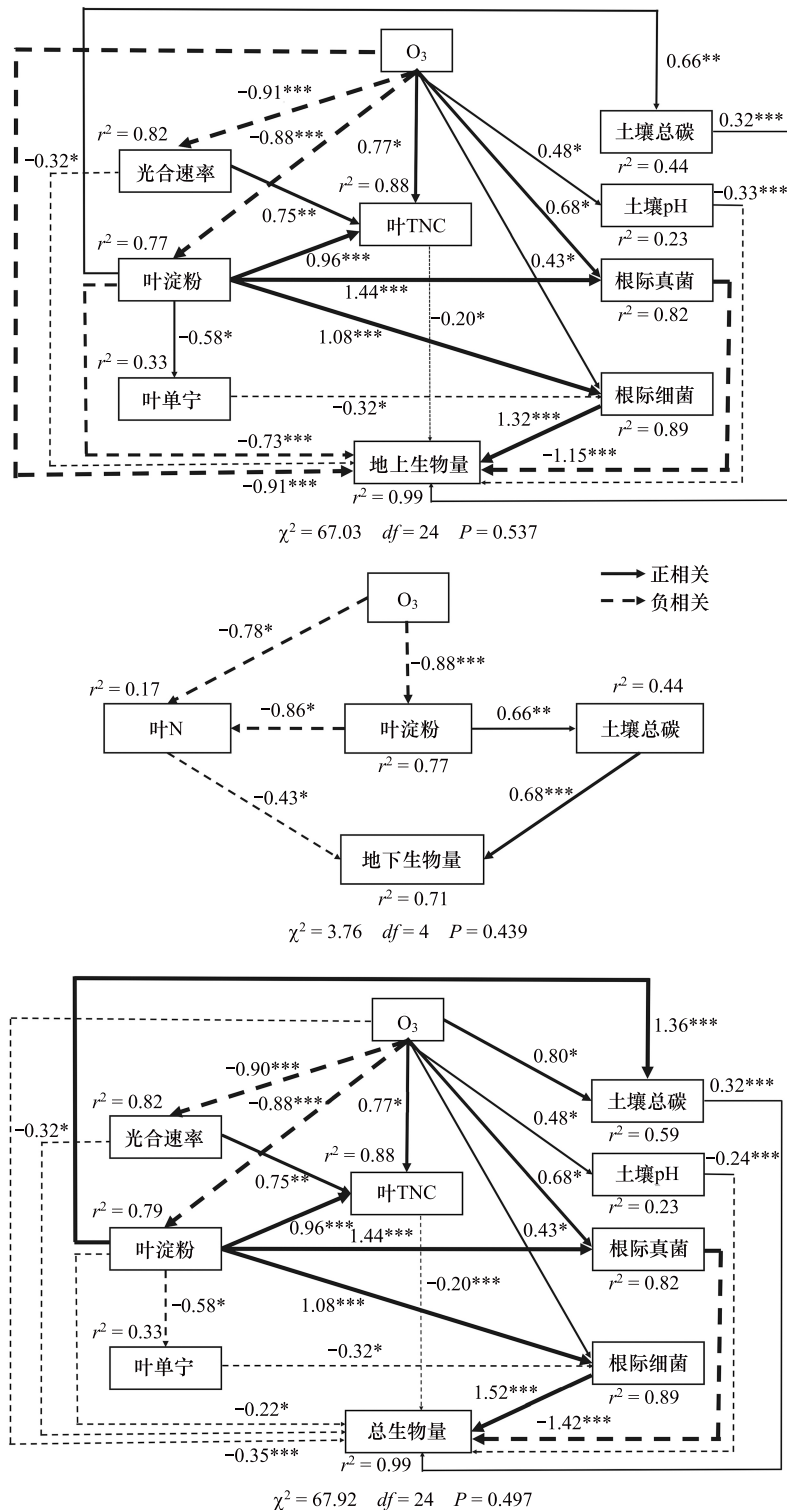


图 4 结构方程模型显示 O_3 浓度升高下植物-土壤-微生物系统对杨树地上、地下和总生物量的直接和间接影响

Fig.4 Structural equation modeling showing the direct and indirect effect of the plant-soil-microbe system to above-, below-ground and total biomass of poplar under elevated O_3 concentration

黑色和灰色箭头分别表示显著的正相关和负相关 ($P < 0.05$)。箭头的宽度与关系的强度成正比;箭头处的数字为标准化路径系数 ($* P < 0.05$, $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$),反映了关系的效应大小;模型中每个响应变量旁的 r^2 为各变量的解释比例

物量、地下生物量和总生物量下降的 99%、71%和 99%。对于地上生物量,土壤细菌和土壤总碳对地上生物量有直接的正向影响,而 O_3 、光合速率、叶淀粉、叶 TNC、土壤真菌和土壤 pH 对地上生物量有直接的负向影响;此外,光合速率和叶单宁对地上生物量具有较强的负向间接影响。土壤微生物(细菌和真菌)和叶单宁分别是地上生物量最重要的直接和间接影响因子(图 5)。对于地下生物量,土壤总碳对地下生物量有直接的正向影响,而叶 N 对地下生物量有直接的负向影响; O_3 浓度升高和叶淀粉对地下生物量具有较强的间接影响。土壤总碳和叶淀粉分别是地下生物量最重要的直接和间接影响因子(图 5)。对于总生物量,土壤细菌和土壤总碳对总生物量有直接的正向影响,而 O_3 、叶淀粉、叶 TNC、土壤真菌和土壤 pH 对总生物量有直接的负向影响;此外, O_3 、光合速率、叶淀粉和叶单宁对总生物量具有较强的间接影响。综上,土壤微生物(细菌和真菌)和叶单宁分别是总生物量最重要的直接和间接影响因子(图 5)。

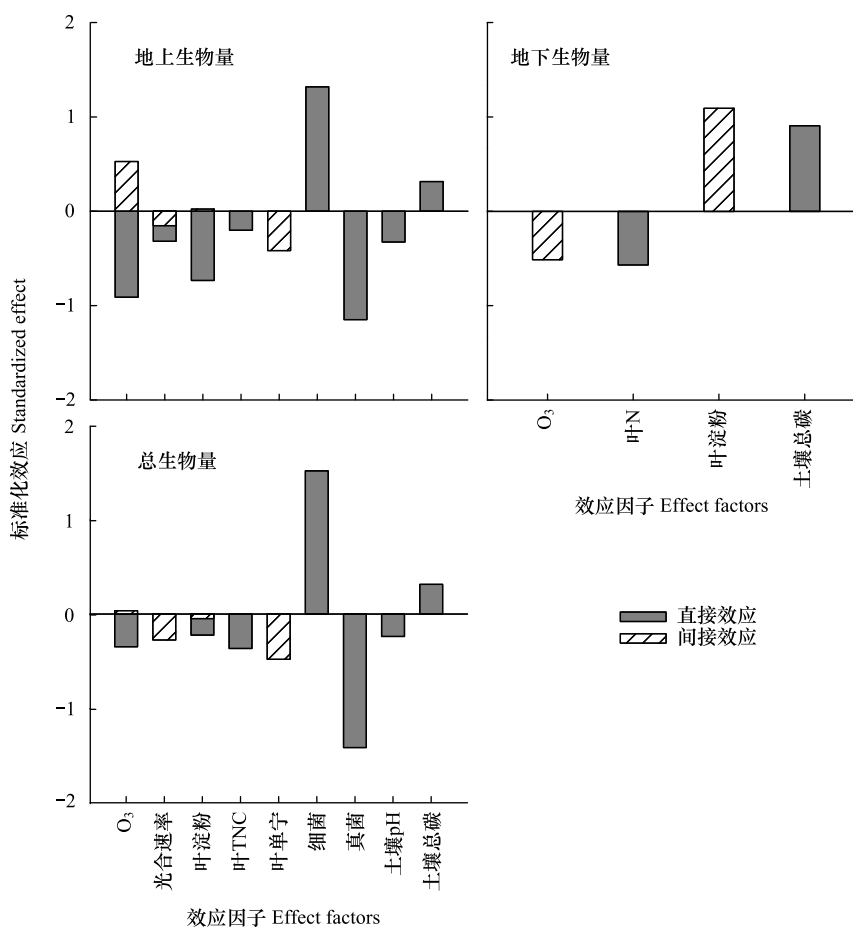


图 5 结构方程模型中各因子对生物量的标准化直接和间接效应

Fig.5 Standardized direct and indirect effects derived from the structural equation modeling

3 讨论

植物、土壤和微生物之间的相互作用在生物地球化学循环(如碳和氮)中起着关键作用。地表 O_3 浓度升高对生态系统碳循环产生一连串级联损伤:降低光合作用速率和气孔导度、破坏叶片膜脂过氧化和抗氧化系统、增大细胞膜透性、改变光合色素含量和组成、加速植株衰老、改变碳氮分配、抑制植株生长、抑制根系活性及对养分的吸收能力、降低土壤微生物群落组成和多样性,从而抑制生物量积累、降低生态系统碳汇能力,改变“植物-土壤-大气”生物地球化学循环和生态系统结构和功能^[4-5]。目前 O_3 污染导致植物叶片光合气体交换的破坏、生长抑制和生物量降低等方面研究已取得诸多进展^[4-5, 9, 12-14],但关于 O_3 浓度升高对生态系统的

综合影响尚未报道。地下部分(土壤微生物等)是生态系统碳氮分配和水分供给的核心环节,探究地下生态系统对地表 O_3 浓度升高的响应对于准确理解地表 O_3 浓度升高对整个生态系统的影响至关重要。然而,目前有关 O_3 对地下生态过程的响应机制尚不明确,因此无法将土壤微生物过程(如微生物生物量、群落组成和多样性)与土壤关键生物地球化学循环过程^[14],以及与植物地上生态过程关联起来。本研究前瞻性地将杨树地上光合生理过程、快速周转器官(叶和细根)的功能性状、土壤和土壤微生物性状整合,解释造成地上和地下生物量下降的直接和间接控制因素。

本研究发现 O_3 浓度升高对地上生物量降低的影响大于地下根生物量,且直接影响地上生物量而间接影响地下生物量。相比对照(O_3 浓度 19nmol/mol), O_3 浓度升高(86nmol/mol)分别导致杨树地上、地下和总生物量分别下降 16%、11% 和 15%。 O_3 很难直接进入土壤影响地下过程,通常通过影响植物的生理代谢、生物量积累和元素分配对土壤微生物群落结构和土壤性质产生影响^[19]。 O_3 导致地上生物量降低幅度较大的原因可能在于:首先, O_3 胁迫直接造成叶片气孔部分关闭,抵御 O_3 进入细胞的同时也降低了光合底物 CO_2 的摄入,引起光合速率降低,导致碳水化合物合成减少,从而导致生物量减少^[20];从结构方程模型中也发现光合速率、叶淀粉和叶非结构性碳水化合物对地上生物量有直接的影响。其次,植物为了解毒修复被 O_3 破坏的叶肉细胞及光合作用系统,会消耗大量 C 用于构建防御组织,比如叶单宁含量的增加^[21],从而减少植物叶片同化物向非叶器官(茎和根)的转移,导致茎和根的碳固定下降^[22]。此外, O_3 胁迫加快叶片早衰,植物为了应对胁迫会以补偿性方式将碳水化合物转移供给新叶生长,进一步抑制了茎、侧枝和根系生长^[5, 11]。本研究中 O_3 对地下根生物量的影响是通过直接影响叶 N 和叶淀粉,叶淀粉再影响叶 N 和土壤总碳从而间接影响地下生物量。处于 O_3 胁迫中的树木会产生生态驯化过程以及适应特征,导致地上和地下碳氮分配关系的转变^[23],树木生长趋于减少根部的碳分配量来抵御环境胁迫^[12]。

目前有两种假说关于 O_3 胁迫对碳在植物器官之间分配的影响^[23]:假说一认为叶片是 O_3 伤害的直接位点,因此 O_3 降低了叶片的碳源与碳库能力。在碳源方面, O_3 损坏气孔功能和光合作用系统,从而降低了吸收和固定 CO_2 的能力; O_3 也降低光合酶的含量和活性,加快叶绿素降解、导致光合有效叶面积的减少和早衰,从而显著降低植株的光合能力^[24]。在碳库方面,叶片增加了将自身合成同化物的消耗需求以增强抗氧化系统,用于植株解毒修复代谢;同时,叶片为了增强抗氧化系统从而加大叶片对同化物的需求,使得同化物向外运输的能力降低,从而导致叶片中同化产物的积累^[25],进而引起光合的反馈抑制。假说二认为 O_3 通过直接降低光合速率来影响生物量,因为光合速率对外界环境变化的反应是生理响应中极其敏感的(分钟尺度)^[26]。本研究结构方程模型同时支持这两种假说: O_3 直接降低光合速率影响了地上(叶和茎)生物量,同时还通过影响叶片合成和运输光合产物的过程间接影响地上和地下生物量。

本研究发现土壤细菌和真菌群落对地上和总生物量产生直接效应。 O_3 胁迫对根系分泌物和根际沉积的减少,降低了根际土壤微生物对于 β -葡萄糖苷酶等碳代谢相关酶的分泌和与几丁质、纤维素和半纤维素等碳源降解相关基因的表达^[27],从而可能会减缓地下微生物驱动的固碳过程,改变地上地下碳分配格局^[5]。另外,我们还发现 O_3 对真菌群落的影响效应大于细菌群落,这与前人的研究^[28-29]一致。Six 等^[30]发现相对于细菌,真菌对碳的需求更多,真菌细胞壁的分解也比细菌更缓慢。一些真菌类群(如纤维素分解真菌、嗜粪真菌和腐养真菌),与植物是重要的共生关系介质,这些微生物参与不稳定/顽固的碳可利用性和底物分解速率^[31]。 O_3 浓度升高降低凋落物中易分解组分(如 N 和非结构性碳水化合物),同时增加难分解组分(如单宁和木质素);这种由 O_3 驱动的微生物底物可用性的降低,加上真菌对碳的更高需求,可能解释真菌比细菌对于 O_3 的响应更敏感的原因。

本研究发现土壤 pH 和总碳对生物量也产生直接效应。 O_3 增加了土壤 pH ($7.9 \sim 8.0$),土壤碱化改变钙、镁、硼、锰、钼、锌和铁等营养物质的可用性,会对植物和微生物的生长产生影响^[5]。Li 等^[29]发现 O_3 升高会降低土壤溶解有机碳,溶解有机碳主要由低 pH 的低分子量的化合物(如有机酸、氨基酸和糖)组成; O_3 降低参与还原性醋酸生成途径的重要功能基因丰度^[29],导致乙酸产量减少,从而导致 pH 升高。 O_3 诱导的根分泌物

(包括有机酸、氨基酸、螯合剂、糖等)的减少也降低碳水化合物向根际的输入,也可能导致土壤 pH 值增加^[19]。本研究未涉及 O₃诱导的其它地下过程(如根系分泌物和土壤酶活性等)的变化研究,将是未来研究的重点。

4 结论

(1) O₃浓度升高对地上生物量降低的影响大于地下生物量,且直接影响地上生物量而间接影响地下生物量;O₃对地下根生物量的影响是通过直接影响叶 N 和叶淀粉,叶淀粉再影响叶 N 和土壤总碳间接影响地下生物量碳间接影响地下生物量。

(2) O₃直接降低光合速率影响了地上生物量,同时还通过影响叶片合成和运输光合产物的过程间接影响地上和地下生物量,导致植株碳源与碳库能力的双重降低。

(3) 本研究通过解析植物、土壤和微生物之间的直接或间接相互作用为评估 O₃污染对杨树人工林地上和地下固碳功能的影响提供科学依据。

参考文献(References):

- [1] Mills G, Harmens H, Wagg S, Sharps K, Hayes F, Fowler D, Sutton M, Davies B. Ozone impacts on vegetation in a nitrogen enriched and changing climate. *Environmental Pollution*, 2016, 208(Pt B): 898-908.
- [2] Li K, Jacob D J, Liao H, Shen L, Zhang Q, Bates K H. Anthropogenic drivers of 2013-2017 trends in summer surface ozone in China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(2): 422-427.
- [3] Fleming Z L, Doherty R M, von Schneidmesser E, Malley C S, Cooper O R, Pinto J P, Colette A, Xu X B, Simpson D, Schultz M G, Lefohn A S, Hamad S, Moolla R, Solberg S, Feng Z Z. Tropospheric Ozone Assessment Report: present-day ozone distribution and trends relevant to human health. *Elementa: Science of the Anthropocene*, 2018, 6: 12.
- [4] Li P, Feng Z Z, Catalayud V, Yuan X Y, Xu Y S, Paoletti E. A meta-analysis on growth, physiological, and biochemical responses of woody species to ground-level ozone highlights the role of plant functional types. *Plant, Cell & Environment*, 2017, 40(10): 2369-2380.
- [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] Yue X, Unger N, Harper K, Xia X G, Liao H, Zhu T, Xiao J F, Feng Z Z, Li J. Ozone and haze pollution weakens net primary productivity in China. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 2017, 17(9): 6073-6089.
- [7] Qiu Y P, Guo L J, Xu X Y, Zhang L, Zhang K C, Chen M F, Zhao Y X, Burkey K O, Shew H D, Zobel R W, Zhang Y, Hu S J. Warming and elevated ozone induce tradeoffs between fine roots and mycorrhizal fungi and stimulate organic carbon decomposition. *Science Advances*, 2021, 7(28): eabe9256.
- [8] Xia L L, Lam S K, Kiese R, Chen D L, Luo Y Q, van Groenigen K J, Ainsworth E A, Chen J, Liu S W, Ma L, Zhu Y H, Butterbach-Bahl K. Elevated CO₂ negates O₃ impacts on terrestrial carbon and nitrogen cycles. *One Earth*, 2021, 4(12): 1752-1763.
- [9] Hou X F, Wu X J, Ma C H, Tian D, Yan Z B, Li P. Effect of the elevated ozone on greening tree species of urban: alterations in C-N-P stoichiometry and nutrient stock allocation to leaves and fine roots. *Urban Forestry & Urban Greening*, 2022, 76: 127735.
- [10] Li P, Feng Z Z, Shang B, Uddling J. Combining carbon and oxygen isotopic signatures to identify ozone-induced declines in tree water-use efficiency. *Tree Physiology*, 2021, 41(12): 2234-2244.
- [11] Ainsworth E A, Yendrek C R, Sitch S, Collins W J, Emberson L D. The effects of tropospheric ozone on net primary productivity and implications for climate change. *Annual Review of Plant Biology*, 2012, 63: 637-661.
- [12] Li P, Yin R B, Shang B, Agathokleous E, Zhou H M, Feng Z Z. Interactive effects of ozone exposure and nitrogen addition on tree root traits and biomass allocation pattern: an experimental case study and a literature meta-analysis. *The Science of the Total Environment*, 2020, 710: 136379.
- [13] Li P, Yin R B, Zhou H M, Xu S, Feng Z Z. Functional traits of poplar leaves and fine roots responses to ozone pollution under soil nitrogen addition. *Journal of Environmental Sciences: China*, 2022, 113: 118-131.
- [14] Li P, Yin R B, Zhou H M, Yuan X Y, Feng Z Z. Soil pH drives poplar rhizosphere soil microbial community responses to ozone pollution and nitrogen addition. *European Journal of Soil Science*, 2022, 73(1): e13186.
- [15] 刘世荣, 杨予静, 王晖. 中国人工林经营发展战略与对策: 从追求木材产量的单一目标经营转向提升生态系统服务质量和效益的多目标

- 经营. 生态学报, 2018, 38(1): 1-10.
- [16] 李品, 周慧敏, 冯兆忠. 臭氧污染、氮沉降和干旱胁迫交互作用对杨树叶和细根非结构性碳水化合物的影响. 环境科学, 2021, 42(2): 1004-1012.
- [17] Schenk S, Schikora A. Lignin extraction and quantification, a tool to monitor defense reaction at the plant cell wall level. BIO-PROTOCOL, 2015, 5(6): e1430.
- [18] Lindroth R L, Osier T L, Barnhill H R H, Wood S A. Effects of genotype and nutrient availability on phytochemistry of trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) during leaf senescence. Biochemical Systematics and Ecology, 2002, 30(4): 297-307.
- [19] Chen Z, Maltz M R, Cao J X, Yu H, Shang H, Aronson E. Elevated O₃ alters soil bacterial and fungal communities and the dynamics of carbon and nitrogen. The Science of the Total Environment, 2019, 677: 272-280.
- [20] Gao F, Catalayud V, Paoletti E, Hoshika Y, Feng Z Z. Water stress mitigates the negative effects of ozone on photosynthesis and biomass in poplar plants. Environmental Pollution, 2017, 230: 268-279.
- [21] Li Z Z, Yang J, Shang B, Xu Y S, Couture J J, Yuan X Y, Kobayashi K, Feng Z Z. Water stress rather than N addition mitigates impacts of elevated O₃ on foliar chemical profiles in poplar saplings. The Science of the Total Environment, 2020, 707: 135935.
- [22] Shang B, Yuan X Y, Li P, Xu Y S, Feng Z Z. Effects of elevated ozone and water deficit on poplar saplings: Changes in carbon and nitrogen stocks and their allocation to different organs. Forest Ecology and Management, 2019, 441: 89-98.
- [23] Andersen C P. Source-sink balance and carbon allocation below ground in plants exposed to ozone. The New Phytologist, 2003, 157(2): 213-228.
- [24] Hartmann H, Trumbore S. Understanding the roles of nonstructural carbohydrates in forest trees-from what we can measure to what we want to know. The New Phytologist, 2016, 211(2): 386-403.
- [25] Hartmann H, Adams H D, Hammond W M, Hoch G, Landhäusser S M, Wiley E, Zaehle S. Identifying differences in carbohydrate dynamics of seedlings and mature trees to improve carbon allocation in models for trees and forests. Environmental and Experimental Botany, 2018, 152: 7-18.
- [26] 李品, 侯霄帆, 殷荣宾. 欧美杨 107 幼树叶片和细根的功能性状对臭氧剂量的响应. 北京林业大学学报, 2023, 45(2): 49-57.
- [27] Dolker T, Mukherjee A, Agrawal S B, Agrawal M. Responses of a semi-natural grassland community of tropical region to elevated ozone: an assessment of soil dynamics and biomass accumulation. The Science of the Total Environment, 2020, 718: 137141.
- [28] Kanerva T, Palojarvi A, Rämö K, Manninen S. Changes in soil microbial community structure under elevated tropospheric O₃ and CO₂. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(10): 2502-2510.
- [29] Li X Y, Deng Y, Li Q, Lu C Y, Wang J J, Zhang H W, Zhu J G, Zhou J Z, He Z L. Shifts of functional gene representation in wheat rhizosphere microbial communities under elevated ozone. The ISME Journal, 2013, 7(3): 660-671.
- [30] Six J, Frey S D, Thiet R K, Batten K M. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. Soil Science Society of America Journal, 2006, 70(2): 555-569.
- [31] Spatafora J W, Chang Y, Benny G L, Lazarus K, Smith M E, Berbee M L, Bonito G, Corradi N, Grigoriev I, Gryganskyi A, James T Y, O'Donnell K, Roberson R W, Taylor T N, Uehling J, Vilgalys R, White M M, Stajich J E. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. Mycologia, 2016, 108(5): 1028-1046.