

DOI: 10.20103/j.stxb.202401240210

胡雪梅, 滚锬语, 马晨鑫, 严岩, 袁相洋, 曲来叶. 臭氧升高栎树和白皮松光合生理响应机制. 生态学报, 2024, 44(17): 7688-7699.

Hu X M, Gun S Y, Ma C X, Yan Y, Yuan X Y, Qu L Y. Mechanisms of photosynthetic physiological responses of *Koelreuteria paniculata* and *Pinus bungeana* under elevated ozone conditions. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(17): 7688-7699.

臭氧升高栎树和白皮松光合生理响应机制

胡雪梅^{1,2}, 滚锬语¹, 马晨鑫¹, 严岩^{1,2}, 袁相洋³, 曲来叶^{1,2,*}

1 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

2 中国科学院大学, 北京 100049

3 南京信息工程大学应用气象学院, 南京 210044

摘要:工业化和快速城市化进程导致城市树木暴露于高浓度地表臭氧(O_3)和氮(N)沉降的环境。以两种北京常见的城市园林绿化树种栎树(*Koelreuteria paniculata*)和白皮松(*Pinus bungeana*)为研究对象,采用臭氧开顶式气室(OTC)和 ^{15}N 同位素示踪法,研究了2022年5月—9月3种臭氧浓度NF(自然环境臭氧浓度)、NF40(NF + 40 nmol/mol O_3)和NF60(NF + 60 nmol/mol O_3)环境下两种树苗的生理生长特性,特别是生长季末期植物叶片氮吸收的响应机制。研究结果表明:(1)高浓度 O_3 显著抑制栎树和白皮松叶片饱和光合速率、气孔导度、叶绿素含量、类胡萝卜素含量和生物量累积,但增加了叶片N含量。(2)生长季末期栎树与白皮松叶片N元素的吸收策略不同,栎树的新叶比老叶吸收更多的N,同时N可能从老叶转移到新叶;白皮松则将N更多地储存在老叶中以维持叶片常绿,而不是将N转移到新叶中。(3)在生长季结束前一周,不论施N与否 O_3 浓度升高均会显著增加叶片的衰老比率, O_3 浓度越高栎树叶片衰老比率越高,而施N处理可降低由于 O_3 升高导致叶片衰老的比率,越接近生长季结束 O_3 增加栎树叶片衰老和施N缓解叶片衰老的变化规律越显著。由此可见,在研究城市树种应对 O_3 浓度升高和N沉降的环境变化时,不仅要考虑不同功能型如落叶和常绿树种的差异,同时也应关注落叶植物的不同生长时期,特别是生长季末期的变化。

关键词:臭氧;氮沉降; ^{15}N 同位素示踪;叶片;生长季末期

Mechanisms of photosynthetic physiological responses of *Koelreuteria paniculata* and *Pinus bungeana* under elevated ozone conditions

HU Xuemei^{1,2}, GUN Siyu¹, MA Chenxin¹, YAN Yan^{1,2}, YUAN Xiangyang³, QU Laiye^{1,2,*}

1 State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 School of Applied Meteorology, Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044, China

Abstract: Industrialization and rapid urbanization have led to the exposure of urban tree species during their growing seasons under high concentrations of surface ozone (O_3) and nitrogen (N) deposition conditions. To understand the combined effects of elevated O_3 and N deposition on urban trees, two common urban tree species in Beijing, *Koelreuteria paniculata* and *Pinus bungeana*, were selected as experimental materials from May to September 2022. We utilized open-top chambers (OTCs) and the ^{15}N isotope tracing method to investigate the variations in the photosynthetic physiology and leaf N distribution of the two tree species under three different O_3 exposure concentrations: NF (ambient O_3 concentration), NF40 (NF + 40 nmol/mol O_3), and NF60 (NF + 60 nmol/mol O_3). The results showed that: (1) At the end of the growing season, both *K. paniculata* and *P. bungeana* exhibited significant inhibition of leaf light-saturated photosynthetic

基金项目:国家重点研发计划(2017YFE0127700);国家自然科学基金项目(42375111,32101359)

收稿日期:2024-01-24; **网络出版日期:**2024-06-26

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lyqu@rcees.ac.cn

rate (A_{sat}), stomatal conductance (g_s), chlorophyll content (Chl a+b), carotenoid content (Car), and biomass by elevated O_3 concentrations. However, there was an increase in leaf N content and $\delta^{15}N$ abundance. (2) *K. paniculata* and *P. bungeana* adopted different strategies for N absorption at the end of the growing season. *K. paniculata* absorbed more N in new leaves compared to old leaves, and nitrogen might be transferred from old leaves to new leaves before old leaves fall down to the ground. In contrast, *P. bungeana* stored relatively more N in old leaves to maintain evergreen foliage rather than transfer it to the new leaves. (3) During one week before the growing season finished, the elevated O_3 accelerated leaves senescence of *K. paniculata* whether N addition or not, and with the O_3 concentration increased the senescence rate increased. However, N addition could alleviate the negative effect of elevated O_3 . This pattern was shown much more clearly when the growing season nearly finished. When simulating the response of urban tree species to the increased O_3 concentrations and N deposition, it is essential to consider differences in functional types, such as deciduous and evergreen species, as well as the growth period of plants, especially during the late growing season.

Key Words: O_3 ; nitrogen deposition; ^{15}N isotope tracing; leaf; the end of growing season

近地面臭氧(O_3)是由氮氧化物(NO_x)和挥发性有机化合物(VOCs)等前体物经太阳辐射发生光化学反应而生成的二次污染物,具有强氧化性^[1-2]。近地面 O_3 浓度升高对树木及森林生态系统具有显著的负面影响, O_3 浓度的大幅增加是欧洲、北美及日本森林衰退的主要原因之一^[3],而我国森林也同样面临高浓度 O_3 胁迫的风险^[4]。根据 2022 年《中国环境公告》显示,全国 339 个地级及以上城市的 O_3 日最大 8 小时平均值已达到了 90—194 $\mu\text{g}/\text{m}^3$,超过了 O_3 对植物伤害的临界值^[5-6]。而植物在生长季(5—9 月)常常暴露在高浓度 O_3 的氧化伤害以及大气氮(N)沉降等胁迫环境中^[7-9]。高浓度 O_3 被认为是对植物最有害的空气污染物之一^[10-11]。 O_3 主要通过气孔进入植物体内,高浓度 O_3 不仅降解叶绿素、降低气孔导度、抑制光合作用^[12],从而影响树木生长和生产力,亦对生态系统其他过程和功能产生不利影响,包括陆地生态系统的碳和氮循环^[10,13-14]。

此外,我国当前 N 沉降量的变化趋势已由快速增加变为趋于稳定,但总量仍然较高^[15],特别是在一些森林生态系统,氮沉降速率已达到 50 $\text{kg hm}^{-2} \text{a}^{-1}$,超过森林生态系统 N 承载阈值^[16]。适量的 N 添加对植物生理和生长具有促进作用^[6,17-18]。土壤中 N 含量的高低会影响植物对 N 的吸收和同化能力,也影响 N 在植物体内的转运^[19]。Zhang 等对全球 56 个 N 沉降实验进行整合分析,发现 N 沉降一定程度上显著增加木本植物叶片 N 含量,进而提高植物光合速率和水分利用效率,促进叶片生长^[20]。叶是植物最活跃的器官之一,是光合作用进行的场所。而植物养分吸收和分配的策略是活跃度较高的器官具有较高的 N 含量,从而优化这些器官的功能^[20]。当前 N 沉降和高浓度 O_3 对植物的影响已分别开展了广泛研究,但植物对其复合影响的响应存在很大不确定性。有研究表明添加 N 可以减轻 O_3 的负效应^[3,21];而另一些研究则发现,添加 N 也许会加剧 O_3 的负面影响^[22];另外还有研究认为高浓度 O_3 污染与 N 添加之间没有显著的交互作用,他们对植物的影响相互独立^[23]。这些不同的研究结果可能与 O_3 和 N 处理的剂量、作用时间、以及种间差异有关^[24-25]。

O_3 浓度升高不仅会抑制叶片的养分吸收^[26],高浓度 O_3 还会加速叶片衰老,N 沉降导致的 N 添加能否减缓叶片衰老?众所周知,叶片矿质元素的再运转是一个重要的养分再分配过程^[27],落叶树衰老叶片中的 N 元素可在叶落之前在植物体内进行再分配,将 N 从老叶转移到幼叶^[28]。那么,N 添加是否延迟高浓度 O_3 环境下 N 从老叶向新叶的转移?目前臭氧升高和 N 添加对叶片 N 在生长季末期的分配规律还不清楚。

城市树木在维持城市生态平衡,改善和缓解城市生态环境问题等方面起着无可替代的重要作用。栎树(*Koelreuteria paniculata*)和白皮松(*Pinus bungeana*)是两种常见的城市绿化树种,本研究选取它们的幼苗为研究材料,探讨 O_3 浓度升高和 N 沉降环境落叶和常绿树种生理响应机制,特别是生长季末期落叶树叶片 N 吸收变化规律,为城市树种应对环境变化提供参考依据。 O_3 浓度升高会加速植物衰老,最终导致叶片提前脱落。

在施加 N 后,是否会延迟栎树和白皮松在高浓度 O_3 环境下 N 从老叶到新叶的转移。同时又根据叶片损伤差异, O_3 浓度升高会改变 N 从老叶到新叶的转运,从而影响 N 再分配。因此,我们假设施加 N 可降低 O_3 升高导致的叶片衰老的比率,而栎树属于落叶树种,白皮松属于常绿树种,又假设栎树在落叶前叶片中的 N 会进行再分配,而白皮松老叶中的 N 含量保持动态平衡。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

实验区位于北京市延庆区唐家堡村(40°48'N, 115°99'E),属典型的暖温带半湿润大陆性气候。2006 年至 2016 年的年平均降水量和温度分别为 467 mm 和 9.9℃。 O_3 模拟的研究主要采用 OTCs 暴露法。本研究使用的 OTCs 为高 3.0 m、边长 1.0 m 的正十面柱体,为减少外界气体对气室内气体的影响,在柱体顶端加了一个高 1 m、倾斜角为 45°的收缩口,气室由钢架和钢化玻璃组成。可根据实验需求设置不同浓度 O_3 处理剂量。

1.2 试验材料

两种树种,分别为阔叶树栎树(*Koelreuteria paniculata*)和针叶树白皮松(*Pinus bungeana*),两年生实生幼苗,购于辽宁省本溪市本溪绿园苗圃。供试氮肥品种为 $^{15}NH_4^{15}NO_3$ (上海麦克林公司), ^{15}N 丰度为 10 atom%, N 含量为 98.5%。

1.3 实验处理

2022 年 5 月将实生幼苗种植于 0—10 cm 的表层土进行缓苗,于 6 月选取株高(84.3±1.6) cm 和(26.2±2.8) cm 的栎树和白皮松幼苗移栽到体积 3 L 的塑料圆形花盆(23 cm × 14 cm × 17.6 cm)。盆中为农田土壤(70%)和有机物(30%)混合均匀,并移入 OTCs。混合土壤的总碳、总氮和总磷浓度分别为(37.18±2.53)、(1.83±0.2)和(1.08±0.12) g/kg。土壤 pH 值为 7.47±0.17。在 6 月 28 日,将幼苗随机分配到 3 个 O_3 处理(NF、NF40、NF60)共 9 个 OTCs 中,共 108 棵幼苗。在整个 O_3 熏气期间每天给植物供应充足等量的水分,每周对 OTCs 内的花盆移动位置。于 2022 年 8 月 17 日进行一次收获,每个罩子各取栎树和白皮松一株作为对照,即栎树和白皮松 NF、NF40、NF60 各 3 株。2022 年 8 月 18 日对全部幼苗进行氮添加,分别每株施入 0.5 g $^{15}NH_4^{15}NO_3$ (试剂溶于 50 mL 水中,用 10 mL 针管对花盆内土壤进行 5 次均匀注射)。分别在示踪后 7、14、21 d 和 28 d,收取每个罩子栎树和白皮松各一株的全部叶片分为新叶(施加氮后新长出来的叶片)和老叶(施加氮时植株原本的叶片),洗净后放入信封,65℃ 烘干。

1.4 植物生理生长指标测定及方法

1.4.1 气体交换参数与叶绿素荧光参数

实际 N 施加后的第 0、7、14、21 d 和 28 d,采用便携式光合系统(Li-COR 6400,美国)分别测量光合速率和气孔参数,包括饱和光合速率($A_{sat}/\mu mol m^{-2} s^{-1}$)和气孔导度($g_s/mmol m^{-2} s^{-1}$)。具体测量方法如下:晴天上午 09:00—12:00,选取栎树中间的 2—3 片成熟健康的叶片进行测量,选取白皮松中间的 6 片成熟健康的针叶在空气室中进行测量。在测量过程中,光合有效辐射(PAR)保持恒定在 1200 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$,环境 CO_2 浓度设定为 380 $\mu mol/mol$,温度设定为环境温度±1℃。相对湿度保持在 45%。在开始测量前,还将叶片暴露在 1200 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ 的饱和光照强度下,进行 15—30 min 的光诱导,使光系统 II 充分开放,测量过程中保持叶室的光照强度和温湿度一致。

1.4.2 叶绿素含量

将测完光合的同一叶片用面积为 0.36 cm² 的打孔器打孔(栎树)或用剪刀剪碎后称重约 0.01 g 左右(白皮松),放入 2 mL 离心管中,加入 1.5 mL 的 95%乙醇溶液,置于 4℃ 黑暗环境中,直至完全褪色。取上清液,用紫外分光光度计(EnSpire2300, PerkinElmer, USA)分别测定 665 nm、649 nm 和 470 nm 处的吸光度。根据 Lichtenthaler(1987)^[29] 的校正公式,计算叶绿素含量和类胡萝卜素含量。

1.4.3 植物元素分析

氮元素含量的测定基于元素分析仪平台(Vario ELIII, Germany)进行,叶片经 65℃ 烘箱烘干至恒重,粉碎

研磨过 100 目筛,取大约 7 mg 装入锡舟进样分析。 ^{15}N 丰度:用稳定同位素质谱仪(Thermo Fisher,美国)(精度 0.0001)测定。

$\delta^{15}\text{N}$ 丰度表示如下所示:

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{样品}} = [(R_{\text{样品}}/R_{\text{标准}}) - 1] \times 1000\text{‰}$$

式中, $R_{\text{样品}}$ 为样品中 ^{15}N 与 ^{14}N 的比值; $R_{\text{标准}}$ 为标准物质(空气氮库中) ^{15}N 与 ^{14}N 的比值($^{15}\text{N}/^{14}\text{N} = 3.3675 \times 10^{-3}$)。

1.4.4 叶生物量

实验结束后,收获试验植株的叶片,置于烘箱中,在 65°C 烘干至恒重,测定叶片干重,为叶生物量。

1.4.5 叶片衰老比率

在 9 月 17 日和 9 月 23 日分别统计栎树叶片的衰老比率,叶片衰老的比率用黄化以及凋落的叶子数量与该植株所有叶片数量的比值百分比来估算,达到 20% 开始计算衰老比率。

1.5 数据分析

在进行数据分析之前,使用 Shapiro-Wilk 检验和 Levene 检验来检验数据方差的正态性和同质性。统计单位为单个 OTC($n=3$ 个 OTC)。采用 Tukey's HSD 检验对单个树种进行多重比较。统计分析使用 JMP 软件(SAS Institute, Cary, NC, USA)进行。使用 Origin 2018(Origin-Lab Corp, Northampton, MA, USA)生成图表。采用 $P<0.05$ 的显著性水平来表示统计学意义。文章图表中数据均为平均值 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD)。

2 结果与分析

2.1 施氮前臭氧浓度升高对栎树和白皮松生理和生长特性的影响

方差分析结果表明, O_3 处理(NF:环境臭氧浓度;NF40:NF+40 nmol/mol O_3 ;NF60:NF+60 nmol/mol O_3) 和不同树种(栎树和白皮松)显著地影响叶片饱和光合速率、类胡萝卜素含量和生物量(表 1),其中种间差异极其显著。具体来说 O_3 浓度升高显著降低了叶片饱和光合速率、类胡萝卜素含量和叶生物量。另外 O_3 升高与树种的交互作用对叶片饱和光合速率和生物量的影响极显著。

表 1 O_3 浓度升高和树种对叶片饱和光合速率、气孔导度、类胡萝卜素含量、叶绿素含量、全氮含量、 $\delta^{15}\text{N}$ 丰度和叶生物量的影响

Table 1 Effects of O_3 and species identity on leaf A_{sat} , g_s , carotenoid content, chlorophyll content, $\delta^{15}\text{N}$ abundance, total N content and biomass

因子 Parameters	臭氧 O_3	树种 Species	树种 $\times$ 臭氧 Species $\times$ O_3
饱和光合速率 A_{sat} Saturated photosynthetic rate	<0.0001	<0.0001	0.0102
气孔导度 g_s Stomatal conductance	0.0742	<0.0001	0.1291
类胡萝卜素含量 Carotenoid content	0.0195	<0.0001	0.1208
叶绿素含量 Chlorophyll content	0.0710	0.0250	0.2165
全 N 含量 Total N content	0.8572	0.0006	0.7528
$\delta^{15}\text{N}$ 丰度 $\delta^{15}\text{N}$ abundance	0.1281	<0.0001	0.0092
叶生物量 Leaf biomass	<0.0001	<0.0001	<0.0001

2.2 施氮后臭氧浓度升高对栎树和白皮松生理和生长特性的影响

2.2.1 叶片光合气体交换参数

叶片饱和光合速率显著受到 O_3 升高、 O_3 胁迫时间以及不同物种的影响。不同浓度的 O_3 熏蒸均使得栎树和白皮松 A_{sat} 和 g_s 较对照幼苗(NF)呈下降趋势,这表明 O_3 升高抑制了两种植物的光合作用(图 1)。与 NF 相比,在施加 N 后的 0 d、7 d、14 d、21 d 和 28 d, NF 40 和 NF 60 处理下栎树和白皮松叶片 A_{sat} 均呈显著下降趋势,其中 7 d 时下降幅度最大,分别为对照的 23.9%、50.48% 和 42.54%、74.22%。在相同 O_3 浓度处理下,随着处理时间的延长,栎树和白皮松 A_{sat} 和 g_s 均呈现出先上升再下降的趋势。 O_3 升高、胁迫时间增加以及二者交

互作用对栎树和白皮松叶片 A_{sat} 均存在极显著抑制影响(图 1)。

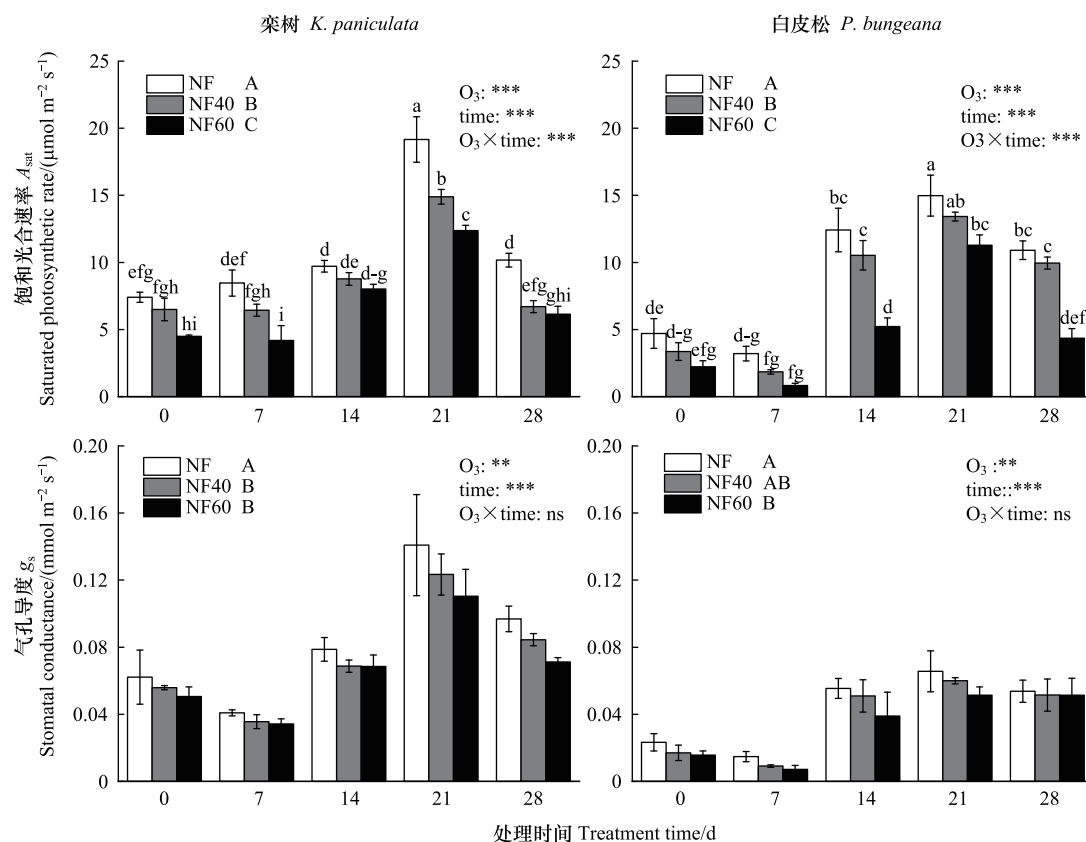


图 1 O_3 浓度升高对栎树和白皮松叶片饱和光合速率(A_{sat})和气孔导度(g_s)的影响

Fig.1 Effect of elevated O_3 concentration on saturated photosynthetic rate (A_{sat}) and stomatal conductance (g_s) in leaves of *K. paniculata* and *P. bungeana*

NF: 自然环境 O_3 浓度; NF40: NF + 40 nmol/mol O_3 ; NF60: NF + 60 nmol/mol O_3 ; 柱状图上不同小写字母表示不同处理之间差异显著, 不同大写字母表示不同臭氧浓度处理之间差异显著 ($P < 0.05$); ns 不显著; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

2.2.2 叶片光合色素含量

叶片叶绿素含量和类胡萝卜素含量显著受到 O_3 升高、 O_3 胁迫时间以及不同物种的影响。如图 2 所示, 臭氧浓度升高 (NF40 和 NF60) 条件下, 栎树和白皮松的叶绿素含量和类胡萝卜素含量显著下降。当不考虑处理时间变化的前提下, 与 NF 相比, NF60 处理下栎树叶绿素含量和类胡萝卜素含量分别下降了 18.78% 和 25.41%。栎树 O_3 胁迫处理 7 d 时, 叶片叶绿素含量在 NF40 下较 NF 下降显著, 下降了 11.71%; 处理 14 d、21 d 和 28 d 时, 栎树叶片叶绿素含量在 NF40 和 NF60 熏蒸下较 NF 显著下降, 其中 O_3 处理 21 d 时分别下降了 13.64% 和 21.14%, 下降幅度达到最大。胁迫 28 d 时, NF40 和 NF60 熏蒸使得叶绿素含量比 NF 分别下降了 17.89% 和 15.89%。栎树叶片类胡萝卜素含量随臭氧浓度升高而降低, 胁迫 21 d 时, NF40 和 NF60 比 NF 熏蒸处理显著降低栎树叶片类胡萝卜素含量, 达到了 28.78% 和 32.05%, 相比于其他处理时间, 21 d 时栎树叶片类胡萝卜素含量下降幅度最大。当不考虑处理时间的前提下, 与 NF 相比, NF60 处理下白皮松叶绿素含量和类胡萝卜素含量分别下降了 24.01% 和 22.75%。白皮松叶片类胡萝卜素含量在处理 7 d 和 28 d 时, 与 NF 相比, NF60 处理下分别显著降低 33.26% 和 39.02%。胁迫 14 d 时, 与 NF 相比, 白皮松叶绿素含量在 NF40 和 NF60 处理下分别显著下降 29.21% 和 33.08%, 而在处理 21 d 时 NF40 和 NF60 熏蒸处理白皮松的叶绿素含量比 NF 分别显著下降了 20.59% 和 25.75%。

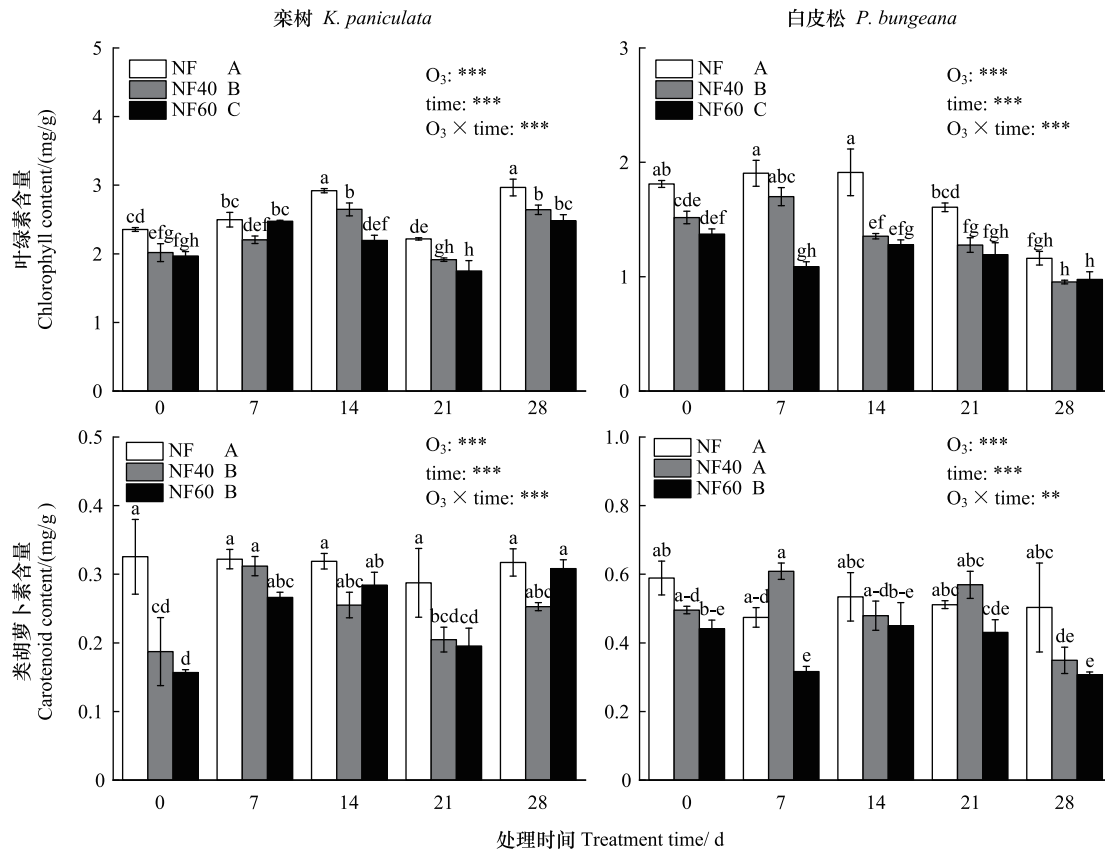


图2 O₃浓度升高对栎树和白皮松叶绿素含量和类胡萝卜素含量的影响

Fig.2 Effect of elevated O₃ concentration on chlorophyll content and carotenoid content of *K. paniculata* and *P. bungeana*

2.2.3 叶片 N 元素含量

如图3所示,与NF相比,O₃升高、胁迫时间增加对栎树新叶N含量没有显著的影响,在NF40处理的14 d、21 d和28 d时,栎树新叶N含量分别比NF上升18.55%、10.43%和3.12%。在试验28 d期间,不同浓度O₃熏蒸下,栎树老叶N含量未受到O₃升高的显著影响。高浓度O₃胁迫显著促进了白皮松新叶N含量的增加,并随着胁迫时间增加,呈现出先上升后下降的趋势。而与NF相比,NF60处理下显著增加了白皮松老叶N含量,达到了13.24%。

2.2.4 叶片 δ¹⁵N 变化

O₃浓度升高、O₃熏蒸时间增加对栎树和白皮松新叶和老叶δ¹⁵N丰度均存在显著影响。如图4所示,胁迫处理14 d和21 d时,在NF40处理下栎树新叶δ¹⁵N丰度较NF显著升高19.31%和30.87%;处理28 d时,在NF60处理下较NF显著升高52.32%。而白皮松与栎树相反,O₃浓度升高显著抑制了¹⁵N的吸收,在胁迫处理14 d、21 d和28 d时,NF40和NF60处理下白皮松新叶δ¹⁵N丰度较NF分别显著下降58.55%、84.06%、56.33%和87.03%、94.6%、82.52%。随着O₃熏蒸时间的增加,栎树和白皮松老叶δ¹⁵N丰度都呈现上升的趋势。

2.2.5 叶生物量

高浓度O₃胁迫显著抑制了栎树和白皮松叶片生物量的累积。如图5所示,与NF相比,NF40和NF60处理21 d时,栎树和白皮松叶生物量分别显著下降14.78%、49.97%和47.09%、60.55%。在试验28 d内,不同浓度O₃熏蒸下,O₃胁迫时间显著增加了栎树和白皮松叶生物量。

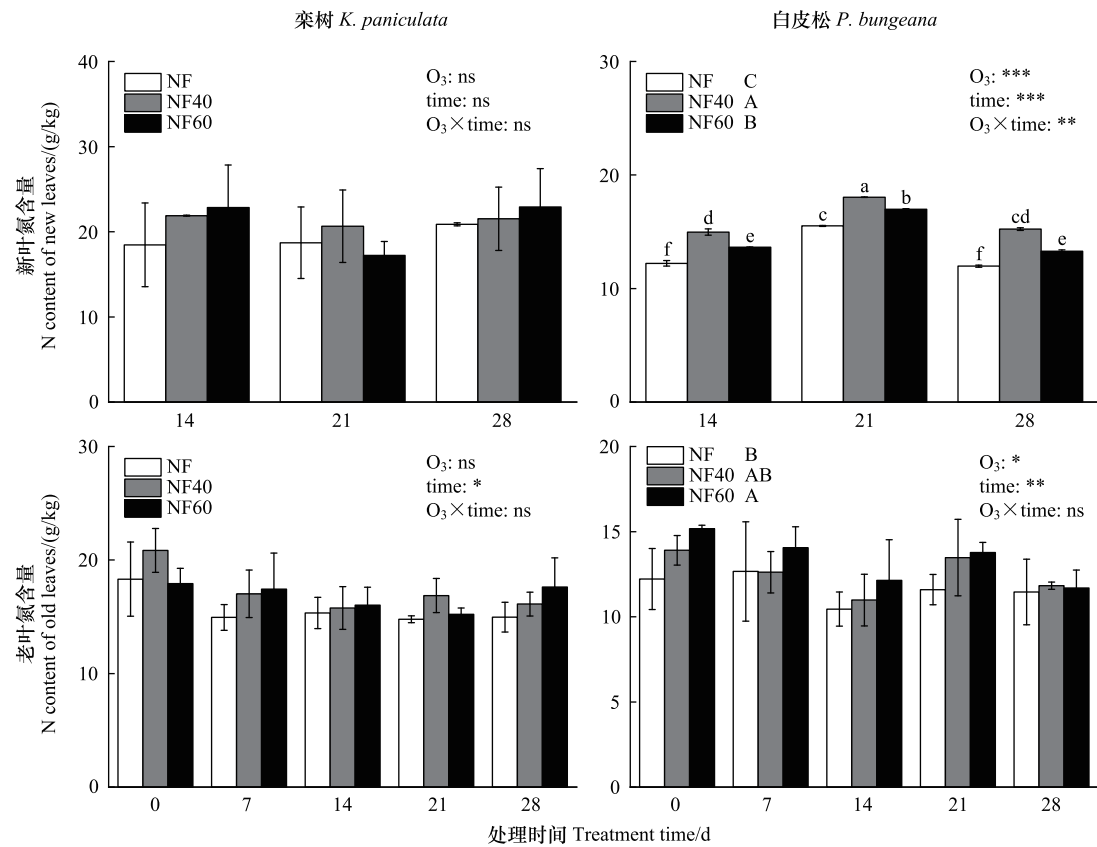


图 3 O₃ 浓度升高对栎树和白皮松新叶和老叶氮含量的影响

Fig.3 Effect of elevated O₃ concentration on nitrogen content of new and old leaves of *K. paniculata* and *P. bungeana*

2.2.6 叶片衰老的影响

在 9 月 17 日和 9 月 23 日分别统计栎树叶片衰老的比率,发现在此期间不论施 N 与否 O₃ 浓度升高均会显著增加栎树叶片的衰老率,NF60 处理下栎树叶片衰老率最高;在相同的臭氧处理条件下,与 N0 相比,N50 处理可减少叶片衰老比率;而与 9 月 17 日相比,9 月 23 日臭氧增加叶片衰老和施 N 缓解叶片衰老的变化规律更明显(表 2)。

表 2 O₃ 浓度升高和施 N 对栎树叶片衰老的影响(9 月 17 日—9 月 23 日)

Table 2 Effects of ozone, nitrogen on senescence rate of *K. paniculata* during September 17 and September 23

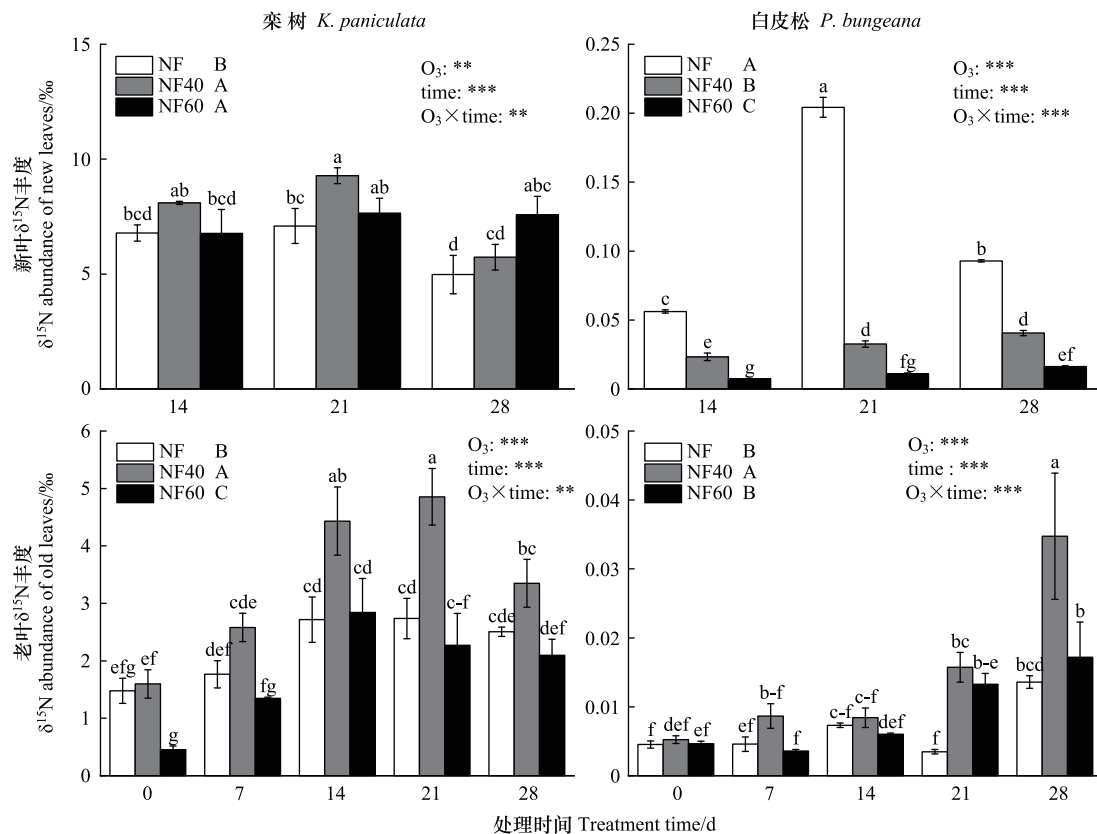
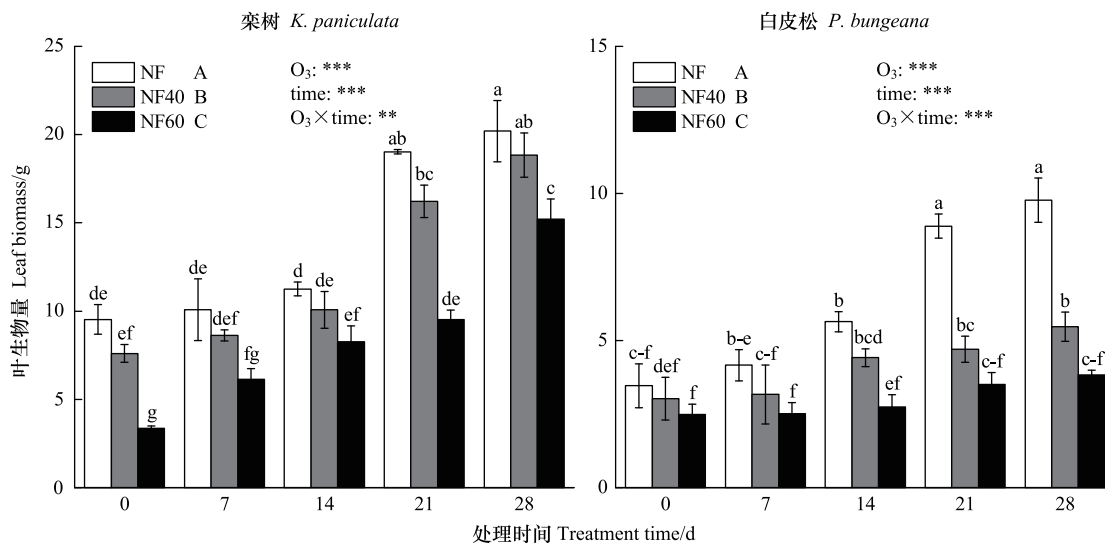
处理 Treatments	9 月 17 日		9 月 23 日	
	N0	N50	N0	N50
NF	25.33%±2.08% Ac	19.67%±2.52% Bc	41.00%±2.65% Ac	36.00%±1% Bc
NF40	37.67%±1.53% Ab	31.67%±2.08% Bb	51.67%±2.08% Ab	41.33%±1.15% Bb
NF60	53.67%±3.21% Aa	48.00%±2.65% Ba	75.33%±4.73% Aa	54.00%±2.65% Ba

NF: 自然环境 O₃ 浓度;NF40:NF + 40 nmol/mol O₃;NF60:NF + 60 nmol/mol O₃;N0:不加氮(无额外氮添加);N50:添加 50 kg hm⁻² a⁻¹ 氮;不同大写字母表示不同氮处理间差异显著(P<0.05);不同小写字母表示不同臭氧处理间差异显著(P<0.05)

O₃ 浓度升高、施 N、不同时间以及交互作用显著影响栎树叶片衰老比率(表 3)。在生长季结束的时期发现 O₃ 和 N 之间存在显著交互作用,说明施 N 可缓解 O₃ 胁迫对叶片衰老的负作用。

3 讨论

我国 O₃ 浓度不断上升,而 N 沉降总量虽保持较高水平,但变化趋势已由快速增长转为趋于稳定^[15]。二

图4 O_3 浓度升高对栎树和白皮松新叶和老叶 $\delta^{15}N$ 丰度的影响Fig.4 Effect of elevated O_3 concentration on $\delta^{15}N$ abundance of new and old leaves of *K. paniculata* and *P. bungeana*图5 O_3 浓度升高对栎树和白皮松叶生物量的影响Fig.5 Effect of elevated O_3 concentration on leaf biomass of *K. paniculata* and *P. bungeana*

者对树木生长的影响是否存在耦合关系是本项研究的主要议题。本研究的主要研究结果发现高浓度 O_3 (NF40 和 NF60) 抑制栎树和白皮松的生长, 而 N 添加对栎树和白皮松的生长有促进作用; 但是, O_3 浓度升高与 N 添加之间不存在显著的交互作用, 对两种树苗生长的影响具有显著种间差异。

表 3 O₃浓度升高和施 N 影响栎树叶片衰老的因素分析(9月17日—9月23日)Table 3 ANOVA analysis for effects and interactions of ozone and nitrogen on leaf senescence rates of *K. paniculata* during September 17 and September 23

因子 Parameters	时间 Time	臭氧 O ₃	氮 N	臭氧×时间 O ₃ ×Time	氮×时间 N×Time	臭氧×氮 O ₃ ×N	臭氧×氮×时间 O ₃ ×N×Time
<i>df</i>	1	2	1	2	1	2	2
<i>F</i>	268.24	351.94	112.635	2.013	14.438	7.97	8.116
<i>P</i>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.156	0.001	0.002	0.002

O₃浓度升高对植物叶片的影响,包括破坏叶片叶绿素结构、损伤光合电子传递链等方式,导致光合作用下降^[30]。O₃浓度升高促进了植物的膜脂过氧化,进而对膜系统造成了不可逆的损伤,导致叶绿素含量下降,从而影响光合产物的降解与合成,这也可能是 A_{sat} 下降原因^[31–32], A_{sat} 显著降低是植物对 O₃ 胁迫的典型反应之一^[9]。本研究发现随着 O₃ 浓度的升高,白皮松和栎树 A_{sat} 和 g_s 显著降低,同时叶片的叶绿素和类胡萝卜素含量均显著下降,说明高浓度 O₃ 对白皮松和栎树光饱和速率抑制确实与光合色素的降解^[33] 有关。类胡萝卜素在叶绿体中不仅传递光合能量,还能保护受光激发的叶绿体免受氧化破坏,部分维持膜的完整性,从而使光合作用在胁迫下仍能正常进行等有关^[34]。在高浓度 O₃ 胁迫下,白皮松的类胡萝卜素含量高于栎树,这表明白皮松对 O₃ 升高的抗性强于栎树,白皮松可能具有较强的清除活性氧 ROS 的能力。植物叶片大量 ROS 的积累对叶绿素造成氧化破坏,导致叶绿素合成减少,降解速度加快^[18]。Dumont 等提出了响应 O₃ 胁迫的氨基酸的再分配,以提供能量和抗氧化剂来抵消 O₃ 升高的负面影响^[35]。在高浓度 O₃ 胁迫下,更多的 N 被分配给结构蛋白以增强结构防御^[36–37],这以降低光合速率为代价,这也是 O₃ 升高环境下白皮松和栎树生长受到抑制的原因之一。

N 元素是构成蛋白质、叶绿素、核酸以及众多次生代谢产物的主要成分之一^[38],叶片 N 主要以蛋白质和氨基酸的形式储存在叶绿素中,因此叶绿素含量是表征植物叶片 N 水平的重要指标;同时叶片 N 也是光合作用核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧(Rubisco)酶的重要组分^[39],与植物光合性能密切相关。O₃ 浓度升高会加速植物衰老,最终导致叶片提前脱落。我们也发现栎树和白皮松受到高剂量 O₃ 影响的老叶先出现叶片损伤症状。植物组织衰老过程中,养分吸收是维持生态平衡的重要策略和生态过程^[40]。在生长季结束前一周,本研究发现施 N 可降低由于 O₃ 升高导致叶片衰老的比率,O₃ 升高与施 N 的显著交互作用不仅延长落叶树的生长时间,对于未来 O₃ 持续升高导致的环境污染问题可能提供了有效的解决途径。有研究报道 O₃ 与 N 沉降两者对树木生长不存在显著的交互作用^[23],这可能与两者在树木在生长不同时期的影响不同而导致。由此可见,树木不同生长时期对于研究多重因素对树木生理和生长也应被关注。

根据叶片损伤差异,O₃ 浓度升高会改变养分从老叶到新叶的转运,从而影响 N 再分配^[41]。Schmutz 等研究发现 O₃ 暴露导致叶片中 N 含量显著增加^[42]。由此可见 N 再分配与土壤中养分有效性、O₃ 暴露浓度和时间有关,以及物种对 O₃ 反应的差异有关^[43]。在生长季末期 O₃ 浓度升高对栎树和白皮松对 N 吸收都有影响,但 N 的吸收模式因物种而异。施氮 7 d 内并没有长出新叶,故新叶 N 含量和 $\delta^{15}\text{N}$ 丰度从 14 d 后开始计算。O₃ 浓度升高(NF60)显著抑制了栎树和白皮松叶片 N 吸收量,包括新叶和老叶(图 6)。栎树叶片的 N 吸收量高于白皮松叶片 N 吸收量,这可能与栎树比白皮松叶面积小^[44] 有关。但是,本研究发现 O₃ 浓度升高增加了栎树和白皮松叶片的 N 含量。虽然 O₃ 浓度升高(NF60)对栎树新叶和老叶的 N 含量没有显著影响,但显著增加了白皮松新叶和老叶的 N 含量。植物可通过增加叶片养分含量以增强对 O₃ 胁迫的抵抗力^[45–46],可见栎树和白皮松也通过叶片 N 含量增加抵抗高浓度 O₃ 胁迫。针对 19 种木本植物的综合分析表明,与落叶树种相比,常绿树种通常具有更高的水分利用效率、更低的光合速率和更有效的养分消耗方法^[47]。而且落叶植物在短暂的生长季节可以生长得更快,并具有更好的吸收叶片 N 的潜力^[43,48]。因此,由于它们获取资源的方式,落叶物种往往具有较高的 N 含量^[48]。这可能也是本研究中栎树 N 含量高于白皮松 N 含量的原因。生长季末

期,栎树新叶的 N 含量和标记 N 含量高于老叶的 N 含量和标记 N 含量,说明叶片衰老过程中, N 可能从老叶转移到新叶,而非留在老叶中^[49-50]。但是 O₃胁迫下,叶片的修复和防御过程可增加酶的产生和周转^[51],增加新叶对于 N 的需求。与此相反,白皮松老叶的 N 含量和标记 N 含量高于新叶,表明白皮松可能将 N 储存在老叶中,以维持常绿叶片的寿命^[52],而不是转移到新叶中。高浓度 O₃胁迫下叶片 N 分配机制,如叶绿体和细胞壁 N 含量^[38]的变化规律仍需要进一步的研究。

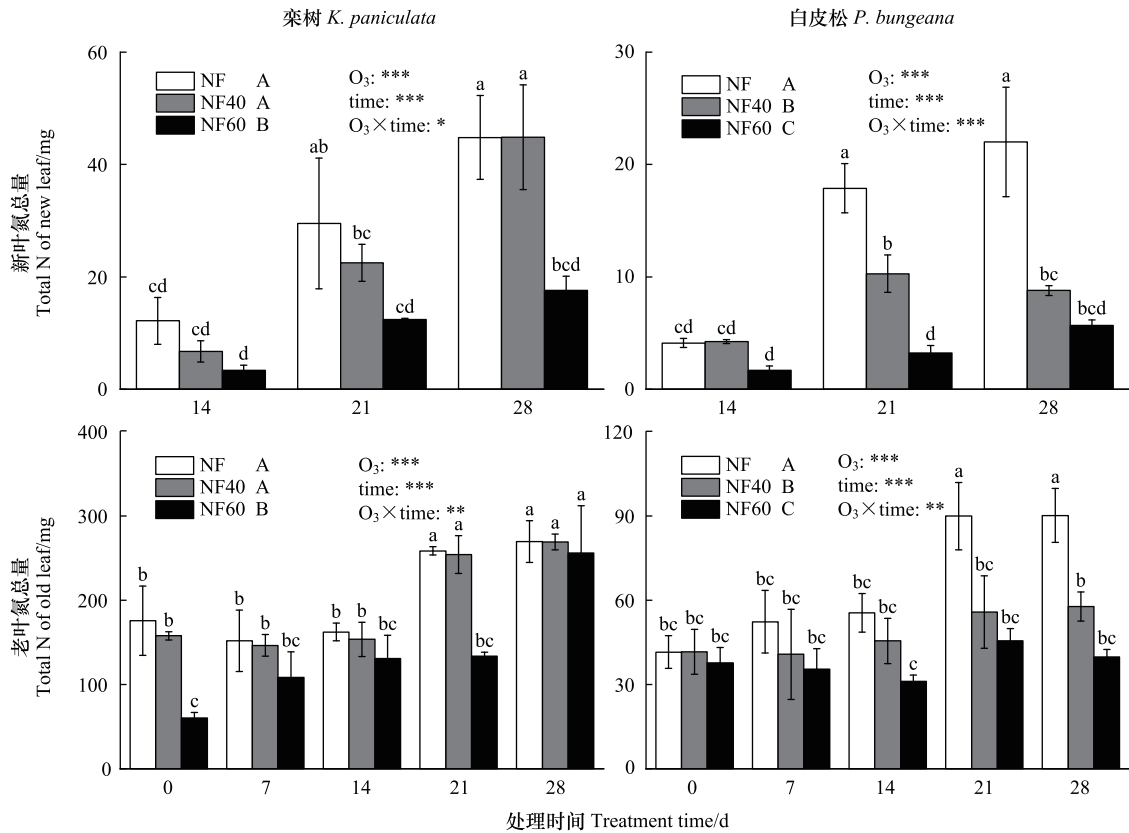


图 6 O₃浓度升高对栎树和白皮松新叶和老叶氮总量的影响

Fig.6 Effect of elevated O₃ concentration on total N of new and old leaves of *K. paniculata* and *P. bungeana*

在模拟城市树种应对 O₃升高和 N 沉降的环境变化时,不仅要考虑不同功能型如落叶和常绿树种的差异,特别是落叶植物不同生长时期的响应,比如生长季末期的变化。此外,目前大多数的研究在 OTCs 中进行,可能会高估 O₃胁迫的风险,未来的研究可加强自然环境 O₃升高和 N 沉降树木适应和响应机制研究。

4 结论

生长季末期,栎树和白皮松在 O₃浓度升高的条件下显著抑制 A_{sat} 、 g_s 、叶绿素含量,但增加了叶片 N 含量。但栎树与白皮松生长季末期 N 元素的吸收策略不同,栎树新叶比老叶吸收更多的 N,同时 N 可能从老叶转移到新叶;而白皮松正相反,将 N 更多地储存在老叶中以维持常绿叶片,而不是转移到新叶中。在生长季结束前栎树叶片衰老比率揭示不论施 N 与否 O₃浓度升高均会显著增加栎树叶片的衰老率,O₃浓度越高栎树叶片衰老率越高,而施 N 处理可降低由于 O₃升高导致叶片衰老的比率;越接近生长季结束 O₃增加栎树叶片衰老和施 N 缓解叶片衰老的变化规律越明显,表明生长时期在栎树应对大气 O₃升高和 N 沉降的响应的重要性。

参考文献 (References):

- [1] Cooper O R, Parrish D D, Ziemke J, Balashov N V, Cupeiro M, Galbally I E, Gilge S, Horowitz L, Jensen N R, Lamarque J F, Naik V,

- Oltmans S J, Schwab J, Shindell D T, Thompson A M, Thouret V, Wang Y, Zbinden R M. Global distribution and trends of tropospheric ozone: An observation-based review. *Elementa: Science of the Anthropocene*, 2014, 2: 000029.
- [2] 黎武标, 王永达, 姜文英. 对流层臭氧污染对植物生理影响的研究进展. *地球与行星物理论评*, 2024, 55(2): 195-204.
- [3] Paoletti E. Impact of ozone on Mediterranean forests: a review. *Environmental Pollution*, 2006, 144(2): 463-474.
- [4] Li P, De Marco A, Feng Z, Anav A, Zhou D, Paoletti E. Nationwide ground-level ozone measurements in China suggest serious risks to forests. *Environmental Pollution*, 2018, 237: 803-813.
- [5] Novak K, Skelly J M, Schaub M, Kräuchi N, Hug C, Landolt W, Bleuler P. Ozone air pollution and foliar injury development on native plants of Switzerland. *Environmental Pollution*, 2003, 125(1): 41-52.
- [6] 中华人民共和国生态环境部. 2022 中国生态环境状况公报. 2022.
- [7] Frei M. Breeding of ozone resistant rice: Relevance, approaches and challenges. *Environmental Pollution*, 2015, 197: 144-155.
- [8] Li P, Zhou H, Xu Y, Shang B, Feng Z. The effects of elevated ozone on the accumulation and allocation of poplar biomass depend strongly on water and nitrogen availability. *Science of The Total Environment*, 2019, 665: 929-936.
- [9] 赵楠, 卢毅敏. 中国地表臭氧浓度估算及健康影响评估. *环境科学*, 2022, 43(3): 1235-1245.
- [10] Agathokleous E, Feng 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, Harmens H, Yuan X, Vitale M, Paoletti E. Ozone affects plant, insect, and soil microbial communities: a threat to terrestrial ecosystems and biodiversity. *Science Advances*, 2020, 6(33): 1176.
- [11] 李品, 王泽锦, 冉堃. 城市绿化树种对臭氧升高抗性响应的生理特征. *森林与环境学报*, 2023, 43(3): 272-279.
- [12] Feng Z, Agathokleous E, Yue X, Oksanen E, Paoletti E, Sase H, Gandin A, Koike T, Calatayud V, Yuan X, Liu X, De Marco A, Jolivet Y, Kontunen-Soppela S, Hoshika Y, Saji H, Li P, Li Z, Watanabe M, Kobayashi K. Emerging challenges of ozone impacts on asian plants: actions are needed to protect ecosystem health. *Ecosystem Health and Sustainability*, 2021, 7(1): 1911602.
- [13] Emberson L. Effects of ozone on agriculture, forests and grasslands. *Philosophical Transactions of The Royal Society A*, 2020, 378(2183): 20190327.
- [14] Sicard P, Agathokleous E, Anenberg S C, De Marco A, Paoletti E, Calatayud V. Trends in urban air pollution over the last two decades: A global perspective. *Science of The Total Environment*, 2023, 858: 160064.
- [15] Wen Z, Xu W, Li Q, Han M, Tang A, Zhang Y, Luo X, Shen J, Wang W, Li K, Pan Y, Zhang L, Li W, Collett J L, Zhong B, Wang X, Goulding K, Zhang F, Liu X. Changes of nitrogen deposition in China from 1980 to 2018. *Environment International*, 2020, 144: 106022.
- [16] Lu X, Vitousek P M, Mao Q, Gilliam F S, Luo Y, Zhou G, Zou X, Bai E, Scanlon T M, Hou E, Mo J. Plant acclimation to long-term high nitrogen deposition in an N-rich tropical forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2018, 115(20): 5187-5192.
- [17] 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: 898-908.
- [18] 辛月, 尚博, 陈兴玲, 冯兆忠. 氮沉降对臭氧胁迫下青杨光合特性和生物量的影响. *环境科学*, 2016, 37(9): 3642-3649.
- [19] Yu G, Jia Y, He N, Zhu J, Chen Z, Wang Q, Piao S, Liu X, He H, Guo X, Wen Z, Li P, Ding G, Goulding K. Stabilization of atmospheric nitrogen deposition in China over the past decade. *Nature Geoscience*, 2019, 12(6): 424-429.
- [20] Zhang H, Li W, Adams H D, Wang A, Wu J, Jin C, Guan D, Yuan F. Responses of woody plant functional traits to nitrogen addition: a meta-analysis of leaf economics, gas exchange, and hydraulic traits. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 683.
- [21] Chen L, Wang C, Dell B, Zhao Z, Guo J, Xu D, Zeng J. Growth and nutrient dynamics of *Betula alnoides* seedlings under exponential fertilization. *Journal of Forestry Research*, 2018, 29(1): 111-119.
- [22] De Vries W, Dobbertin M H, Solberg S, Van Dobben H F, Schaub M. Impacts of acid deposition, ozone exposure and weather conditions on forest ecosystems in Europe: an overview. *Plant and Soil*, 2014, 380: 1-45.
- [23] Feng Z, Shang B, Li Z, Calatayud V, Agathokleous E. Ozone will remain a threat for plants independently of nitrogen load. *Functional Ecology*, 2019, 33(10): 1854-1870.
- [24] Yamaguchi M, Watanabe M, Iwasaki M, Tabe C, Matsumura H, Kohno Y, Izuta T. Growth and photosynthetic responses of *Fagus crenata* seedlings to O₃ under different nitrogen loads. *Trees*, 2007, 21(6): 707-718.
- [25] Shang B, Feng Z, Peng J, Xu Y, Paoletti E. Effects of elevated ozone and nitrogen addition on leaf nitrogen metabolism in poplar. *Journal of Plant Ecology*, 2021, 14(3): 555-568.
- [26] Shi C, Eguchi N, Meng F, Watanabe T, Satoh F, Koike T. Retranslocation of foliar nutrients of deciduous tree seedlings in different soil condition under free-air O₃ enrichment. *iForest - Biogeosciences and Forestry*, 2016, 9(5): 835-841.
- [27] Zhang J, Schaub M, Ferdinand J A, Skelly J M, Steiner K C, Savage J E. Leaf age affects the responses of foliar injury and gas exchange to tropospheric ozone in *Prunus serotina* seedlings. *Environmental Pollution*, 2010, 158(8): 2627-2634.

- [28] Bielenberg D G, Lynch J P, Pell E J. Nitrogen dynamics during O₃-induced accelerated senescence in hybrid poplar. *Plant, Methods Enzymol*, 2002, 25(4): 501-512.
- [29] Lichtenthaler H K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 1987, 148: 350-382.
- [30] Uddling J, Teclaw R M, Pregitzer K S, Ellsworth D S. Leaf and canopy conductance in aspen and aspen-birch forests under free-air enrichment of carbon dioxide and ozone. *Tree Physiology*, 2009, 29(11): 1367-1380.
- [31] Shang B, Feng Z, Li P, Yuan X, Xu Y, Calatayud V. Ozone exposure- and flux-based response relationships with photosynthesis, leaf morphology and biomass in two poplar clones. *Science of The Total Environment*, 2017, 603: 185-195.
- [32] Bussotti F, Desotgiu R, Cascio C, Strasser R J, Gerosa G, Marzuoli R. Photosynthesis responses to ozone in young trees of three species with different sensitivities, in a 2-year open-top chamber experiment (Curno, Italy). *Physiologia Plantarum*, 2007, 130(1): 122-135.
- [33] 李丽, 牛俊峰, 文志, 崔健, 王效科. 干旱和臭氧浓度升高对元宝枫早生和晚生叶片色素和脱落酸含量的影响. *生态学报*, 2016, 36(21): 6804-6811.
- [34] 郭雄飞, 黎华寿, 杨宝仪, 陈红跃, 王志云. 秋枫和木棉对大气臭氧浓度升高的生理响应. *中南林业科技大学学报*, 2015, 35(2): 49-53.
- [35] Dumont J, Keski-Saari S, Keinänen M, Cohen D, Ningre N, Kontunen-Soppela S, Baldet P, Gibon Y, Dizengremel P, Vaultier M N, Jolivet Y, Oksanen E, Le Thiec D. Ozone affects ascorbate and glutathione biosynthesis as well as amino acid contents in three Euramerican poplar genotypes. *Tree Physiology*, 2014, 34(3): 253-266.
- [36] Guan L L, Wen D Z. More nitrogen partition in structural proteins and decreased photosynthetic nitrogen-use efficiency of *Pinus massoniana* under in situ polluted stress. *Journal of Plant Research*, 2011, 124(6): 663-673.
- [37] Hoshika Y, Cotrozzi L, Gavrichkova O, Nali C, Pellegrini E, Scartazza A, Paoletti E. Functional responses of two Mediterranean pine species in an ozone Free-Air Controlled Exposure (FACE) experiment. *Tree Physiology*, 2023, 43(9): 1548-1561.
- [38] 史作民, 唐敬超, 程瑞梅, 罗达, 刘世荣. 植物叶片氮分配及其影响因子研究进展. *生态学报*, 2015, 35(18): 5909-5919.
- [39] LeBauer D S, Treseder K K. Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology*, 2008, 89(2): 371-379.
- [40] Lü X, Reed S, Yu Q, He N, Wang Z, Han X. Convergent responses of nitrogen and phosphorus resorption to nitrogen inputs in a semiarid grassland. *Global Change Biology*, 2013, 19(9): 2775-2784.
- [41] Brewster C, Fenner N, Hayes F. Chronic ozone exposure affects nitrogen remobilization in wheat at key growth stages. *Science of The Total Environment*, 2024, 908: 168288.
- [42] Schmutz P, Buci R J B, Gunthardtgoerg M S, Tarjan D, Landolt W. Response of poplar to ozone alone and in combination with N₂O at different nitrogen fertilization levels. *Phyton (Horn, Austria)*, 1995, 35(2): 269-289.
- [43] Hou X, Wu X, Ma C, Tian D, Yan Z, 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.
- [44] Li P, Feng Z, Catalayud V, Yuan X, Xu Y, 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.
- [45] Cao J, Shang H, Chen Z, Tian Y, Yu H. Effects of elevated ozone on stoichiometry and nutrient pools of *Phoebe Bournei* (Hemsl.) Yang and *Phoebe Zhennan* S. Lee et F. N. Wei seedlings in subtropical China. *Forests*, 2016, 7(12): 78.
- [46] Shang B, Feng Z, Li P, Calatayud V. Elevated ozone affects C, N and P ecological stoichiometry and nutrient resorption of two poplar clones. *Environmental Pollution*, 2018, 234: 136-144.
- [47] Zhong G, Tian Y, Liu P, Jia X, Zha T. Leaf traits and resource use efficiencies of 19 woody plant species in a plantation in fangshan, beijing, China. *Forests*, 2022, 14(1): 63.
- [48] Díaz S, Kattge J, Cornelissen J H C, Wright I J, Lavorel S, Dray S, Reu B, Kleyer M, Wirth C, Colin Prentice I, Garnier E, Bönisch G, Westoby M, Poorter H, Reich P B, Moles A T, Dickie J, Gillison A N, Zanne A E, Chave J, Joseph Wright S, Sheremet'ev S N, Jactel H, Baraloto C, Cerabolini B, Pierce S, Shipley B, Kirkup D, Casanoves F, Joswig J S, Günther A, Falczuk V, Rüger N, Mahecha M D, Gorné L D. The global spectrum of plant form and function. *Nature*, 2016, 529: 167-171.
- [49] Shi C, Watanabe T, Koike T. Leaf stoichiometry of deciduous tree species in different soils exposed to free-air O₃ enrichment over two growing seasons. *Environmental and Experimental Botany*, 2017, 138: 148-163.
- [50] Marschner H. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed. London: Academic Press, 1995.
- [51] Shang B, Li Z, Yuan X, Xu Y, Feng Z. Effects of elevated ozone on the uptake and allocation of macronutrients in poplar saplings above- and belowground. *Science of The Total Environment*, 2022, 851: 158044.
- [52] Temple P J, Riechers G H. Nitrogen allocation in ponderosa pine seedlings exposed to interacting ozone and drought stresses. *New Phytologist*, 1995, 130(1): 97-104.