

DOI: 10.5846/stxb202203310818

董姣姣, 龚吉蕊, 翟占伟, 张子荷, 矢佳昱, 张魏圆, 宋靛苑, 李颖, 张斯琦. 内蒙古温带草原大针茅叶片光合生理特性对氮添加的响应. 生态学报, 2023, 43(14): 5994-6004.

Dong J J, Gong J R, Zhai Z W, Zhang Z H, Shi J Y, Zhang W Y, Song L Y, Li Y, Zhang S Q. Response of the photosynthetic physiological characteristics to nitrogen addition of *Stipa grandis* leaves in a temperate grassland of the Inner Mongolia. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(14): 5994-6004.

内蒙古温带草原大针茅叶片光合生理特性对氮添加的响应

董姣姣^{1,2}, 龚吉蕊^{1,2,*}, 翟占伟^{1,2}, 张子荷^{1,2}, 矢佳昱^{1,2}, 张魏圆^{1,2}, 宋靛苑^{1,2}, 李颖^{1,2}, 张斯琦^{1,2}

1 北京师范大学地表过程与资源生态国家重点实验室, 北京 100875

2 北京师范大学地理科学学部自然资源学院, 北京 100875

摘要: 大气氮沉降增加生态系统氮有效性, 优势种植物对不同水平氮输入的响应影响草原生态系统结构和功能。研究设置 4 个氮添加水平, 分析内蒙古温带草原优势种大针茅 (*Stipa grandis*) 光合生理特性对不同梯度氮添加的响应。结果表明: 低氮 (0—2 g m⁻² a⁻¹) 处理时, 大针茅叶片氮含量较低, 叶绿素含量和 1, 5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶的活性不高, 光能利用效率低, 导致光系统 II 出现过刺激能, 光合器官受到抑制, 净光合速率相对较低。适量氮添加 (5—10 g m⁻² a⁻¹) 提高了大针茅叶片羧化系统和电子传递系统的氮分配, 进而提高了 1, 5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶的活性以及电子传递速率, 净光合速率增大。高氮 (25 g m⁻² a⁻¹) 处理时, 叶片氮含量较高, 但光合氮分配比例下降, 降低了光合氮利用效率。大针茅光抑制程度增大, 叶绿素含量、1, 5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶的活性下降, 不利于生物量积累。研究结果有助于进一步了解全球变化背景下草原生态系统优势种的生理响应机制, 并为草原的可持续发展提供一定的理论依据。

关键词: 内蒙古温带草原; 氮添加; 光合作用; 光合氮分配; 碳代谢酶

Response of the photosynthetic physiological characteristics to nitrogen addition of *Stipa grandis* leaves in a temperate grassland of the Inner Mongolia

DONG Jiaojiao^{1,2}, GONG Jirui^{1,2,*}, ZHAI Zhanwei^{1,2}, ZHANG Zihe^{1,2}, SHI Jiayu^{1,2}, ZHANG Weiyuan^{1,2}, SONG Liangyuan^{1,2}, LI Ying^{1,2}, ZHANG Siqi^{1,2}

1 State Key Laboratory of Earth Surface Processes and Resource Ecology, Faculty of Geographical Science, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

2 School of Natural Resources, Faculty of Geographical Science, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

Abstract: Atmospheric nitrogen deposition increases ecosystem nitrogen availability, and the response of dominant species to different levels of nitrogen input may change grassland ecosystem structure and function. In this study, four nitrogen addition levels were set to analyze the responses of the photosynthetic physiological characteristics of *Stipa grandis*, a dominant species of temperate grassland in the Inner Mongolia, to different levels of nitrogen addition. The results showed that the nitrogen content of *Stipa grandis* leaves was lower, chlorophyll content and the ribulose 1, 5-diphosphate carboxylation/oxygenase activity were not high, and the low utilization efficiency of light energy led to excess excitation energy in photosystem II, photosynthetic organ was inhibited, resulting in a relatively low net photosynthetic rate under low nitrogen treatment (0—2 g m⁻² a⁻¹). Moderate nitrogen addition (5—10 g m⁻² a⁻¹) improved the nitrogen allocation of leaf carboxylation system and electron transport system, which increased the activity of ribulose 1, 5-diphosphate carboxylation/

基金项目: 内蒙古自治区科技重大专项课题项目 (2021ZD0011-04); 国家自然科学基金面上项目 (41571048)

收稿日期: 2022-03-31; **网络出版日期:** 2023-03-23

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jrgong@bnu.edu.cn

oxygenase and the electron transfer rate, thereby the net photosynthetic rate of *Stipa grandis* was increased. Under high nitrogen treatment ($25 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$), the nitrogen content in *Stipa grandis* leaves was higher, but the allocation ratio of photosynthetic nitrogen decreased, which reduced the utilization efficiency of photosynthetic nitrogen. Meanwhile, the degree of light inhibition of *Stipa grandis* was increased, chlorophyll content and the ribulose 1, 5-diphosphate carboxylation/oxygenase activity decreased, which was not conducive to biomass accumulation. These results help to further understand the physiological response mechanism of dominant species in grassland ecosystems under the global change, and provide a certain theoretical basis for the sustainable development of grassland.

Key Words: Inner Mongolia temperate grassland; nitrogen addition; photosynthesis; photosynthetic nitrogen allocation; enzyme of carbon metabolism

草原约占全国陆地总面积的 28%,是我国最大的陆地生态系统。内蒙古草原作为我国草原重要组成部分,在调节气候、防止土壤侵蚀、保护生物多样性中起着关键作用^[1-2]。氮是植物生长所需的重要营养元素之一,对于调节和维持草原生态系统稳定性和多功能性至关重要^[3]。近年来,由于化石燃料燃烧和肥料施用等人类活动,氮沉降速率显著上升,直接改变了土壤氮有效性,影响草原生态系统生产力和碳储存^[4-5]。适量的氮输入能够改善植物光合性状,提高碳固定量,但当生态系统氮素超过阈值后,会造成植物养分失衡,对植物生长造成负面影响^[6-7]。因此,探究植物对不同梯度氮添加的响应对于草原生态系统的管理和可持续发展具有重要意义。

植物形态随环境变化产生表观可塑性,这是物种长期进化形成的适应性策略,在植物生长和生存中发挥着关键性作用^[8-9]。株高和叶面积是植物重要的形态学指标,二者对养分的变化十分敏感^[10]。氮添加会导致株高和叶面积等形态性状发生变化,植物形态的改变是内部生理活动调控的结果。因此,本研究测定大针茅形态性状,结合光合作用探讨不同氮添加下生理特性对表观形态的的调控。

光合作用是植物重要的生理过程,与植物生长发育和草原生态系统碳循环过程密切相关^[11]。光合作用不仅能反映植物固碳潜力,而且对环境变化的响应十分迅速,常被用来评估氮沉降背景下生态系统生产力的变化^[12]。氮参与叶绿素、光合酶和其他物质的合成,对植物光合作用的具有十分重要的调节作用^[13]。施氮一方面能够提高植物对光能的捕获,实现植物快速生长,另一方面会增加植物叶绿素含量,从而提高植物光合作用,但过量氮添加会降低植物光合酶的活性,影响植物的固碳过程^[14]。探究光合特性对氮添加的响应能够为预测全球变化背景下草原生态系统碳储量提供理论依据。叶绿素荧光参数可以反映植物光系统的能量利用,表观光合速率变化及其对外界环境变化的响应^[15]。因此,结合光合特征和叶绿素荧光有助于从内部机理层面解释植物光合作用与氮添加之间相互关系。

光合作用受植物叶片氮浓度的调控,通常超过一半的叶片氮用于光合作用。光合氮由三个主要部分组成:捕光系统(*Nl*,光捕获的蛋白质和其他光捕获色素蛋白复合物)、电子传递系统(*Nb*,参与电子传递的蛋白质)和羧化系统(*Nr*,卡尔文循环中的蛋白质)^[16-17]。植物光合氮分配能够反映叶片对氮的利用策略,影响光合作用的强弱^[18-19]。1, 5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶(Rubisco)和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)是调节光合同化的关键酶,适量施加氮肥能够提高二者的活性,进而改变植物的光合碳同化过程^[20]。探究不同氮添加水平下植物光合氮分配模式和碳代谢酶活性变化特征能够揭示植物光合作用变化的机制。

草原优势种生理过程影响着群落结构和生态系统对环境变化的响应^[21]。大针茅(*Stipa grandis*)是中国北方温带草原上广泛分布的优势种,具有耐旱性较强、须状根、密生且入土较深等特性,是一种优良牧草^[22]。近年来,关于氮添加对大针茅的影响研究主要集中在生物量、化学计量、根系形态、叶片碳交换等方面^[23-24]。但目前关于氮添加下大针茅的生理机制的研究尚不完善。基于此,本研究设置 4 个氮添加水平,测定大针茅形态特征、气体交换参数、叶绿素荧光参数、叶片氮分配和碳代谢酶活性,探讨大针茅对不同氮添加的响应。具体研究目标如下:(1)分析不同氮添加下大针茅形态和光合特性的变化特征。(2)阐明大针茅叶片氮分配

对氮添加的响应。以期为草原的科学管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

实验样地设置在内蒙古大学毛登牧场草地生态系统研究站(44.80°—44.82°N, 116.03°—116.50°E),海拔约 1055 m,该区属于典型的温带大陆性气候,年平均气温为 0—3℃,年均降水 350—450 mm,主要集中在 6—8 月,无霜期 90—115 d。土壤以栗钙土为主,还包括少量褐色土,栗钙土层 15—80 cm,腐殖质层较厚,土壤肥沃。研究区的优势种为大针茅(*Stipa grandis*)和羊草(*Leymus chinensis*)。

1.2 实验设计

设置了 4 个氮添加水平,分别为 N2(2 g m⁻² a⁻¹),N5(5 g m⁻² a⁻¹),N10(10 g m⁻² a⁻¹)和 N25(25 g m⁻² a⁻¹)和对照处理(CK, 0 g m⁻² a⁻¹),N2 基本代表 2010 年氮沉降量,N5、N10、N25 分别代表未来五十年和两百年沉降量,N25 代表了研究地附近农田的施肥量^[25]。每个处理设置 3 个实验小区,实验小区面积为 6 m×6 m,相邻小区之间设置 1 m 的缓冲带。施加的氮肥为硝酸铵(NH₄NO₃)。氮添加实验于 2014 年开始,每年 6 月施肥,称取硝酸铵用 25 L 水充分溶解后,均匀喷洒在试验小区内,对照处理小区仅喷清水。

1.3 气体交换和叶绿素荧光参数的测定

2015 年 8 月,在晴朗无风 9:00—11:30,在每个实验小区选择 5 株健康成熟的大针茅,利用 LI-6400 便携式光合测定仪(LI-COR, Lincoln, 美国)测定大针茅叶片气体交换参数,每个处理共 15 个重复。控制叶室内 CO₂浓度为 400 μmol/mol,光合有效辐射(PAR)为 1500 μmol m⁻² s⁻¹,得到净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)等参数,通过 P_n 和 T_r 的比值计算水分利用效率(WUE)。

在每个实验小区选择健康无病害的大针茅叶片用锡纸包裹,暗适应半小时,利用 LI-6400-40 脉冲调制式荧光仪(LI-COR, Lincoln, 美国)测定基础荧光参数,包括光下最大荧光(F_m')、光下最小荧光(F_o')、暗适应下最大荧光(F_m)、暗适应下最小荧光(F_o),利用基础荧光参数计算其他荧光参数^[26]。每个实验小区 5 个重复,每个处理共 15 个重复。

此外测定大针茅叶片的光响应曲线和 CO₂响应曲线,每条小区测定一次,每个处理 3 个重复。并通过经典的光合生化动力学(Farquhar)模型计算得到最大净光合速率(P_{max}),最大羧化速率($V_{c,max}$)和最大电子传递速率(J_{max})等^[27]。

1.4 群落调查及优势度计算

2015 年 8 月在每个小区随机选取 50 cm×50 cm 的样方进行群落调查,记录各个物种密度、盖度、高度和频度。群落调查后,采用收割法对各个物种进行取样,带回室内烘干称重,得到各物种的地上生物量。每个小区采集 5 株大针茅带回实验室,用叶面积仪(Li-3100C, Li-COR, Lincoln, 美国)测量叶面积。大针茅优势度=(相对密度+相对频度+相对高度+相对盖度)/4×100^[28]。

1.5 叶片色素含量测定

植物光合测定结束后,收集叶片迅速放于液氮保存,带回实验室测定色素的含量。称取 0.5 g 叶片放入硬质研磨管中,加入 2 mL 95%乙醇,用研磨机进行研磨,将提取液定容至 25 mL 棕色容量瓶,空白对照为 95%乙醇,用 756PC 型紫外可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司)测定^[29]。

1.6 叶片全氮测定及光合氮利用效率计算

植物光合测定结束后,叶片 105℃杀青后在 65℃烘干至恒重。采用全自动元素分析仪测定(CNH-600, Leco, St. Joseph, MI, 美国)叶片全氮含量。光合氮利用效率(PNUE)由最大净光合速率(P_{max})和叶片氮含量(N_{area})比值计算得出^[30]。

1.7 叶片碳氮代谢酶活性的测定

将测定光合后的叶片放入液氮保存,带回实验室测定叶片碳氮代谢酶活性。采用王维光的方法(1980)

测定核酮糖 1, 5-二磷酸羧化酶(Rubisco)活性^[31];采用施教耐的方法(1979)测定磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)活性^[32]。

1.8 叶片氮分配的计算

通过 Rubisco 的比活性(V_{cr}),即每单位 Rubisco 的最大羧化速率($\mu\text{molCO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ Rubisco s}^{-1}$)估算叶氮在羧化系统的氮分配比例(Nr):

$$Nr = \frac{V_{c, \max}}{6.25 \times V_{cr} \times N_{\text{area}}} \quad (1)$$

式中,6.25 是 Rubisco 转化为氮的系数(g Rubisco/g)^[33]; V_{cr} 在 25℃ 为 $20.78 \mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ Rubisco s}^{-1}$ ^[34], N_{area} 为叶片氮含量。

模型假设氮在电子传递组分的投入与最大电子传递速率($J_{\max}$)成正比。通过单位细胞色素 f 在单位时间的最大电子传输速率(J_{mc})估算叶氮在电子传递组分的分配比例(Nb):

$$Nb = \frac{J_{\max}}{8.06 \times J_{mc} \times N_{\text{area}}} \quad (2)$$

式中,8.06 是每单位细胞色素 f 所含 N 转换系数^[35]; J_{mc} 在 25℃ 为 155.65 ^[34], N_{area} 为叶片氮含量。

叶氮在捕光系统的分配比例(Nl)为:

$$Nl = \frac{C_c}{C_B \times N_{\text{area}}} \quad (3)$$

式中, C_c 为叶片叶绿素含量(mmol/m^2), C_B 为结合 PSI(光系统 I)、PSII(光系统 II)和 LHCII(捕光复合物)中的叶绿素,值为 2.15 mmol/g ^[36], N_{area} 为叶片氮含量。光合组分的氮分配比例 Np 为 Nr 、 Nb 和 Nl 三者之和。非光合组分的氮分配比例 $Nnp = 1 - Np$ 。

1.9 数据统计与分析

运用 SPSS 20.0(SPSS Inc, Chicago, IL, 美国)软件进行数据分析。不同氮添加处理下各指标利用 Tukey 法进行方差分析,运用 Origin 8.5 作图。运用 SPSS 24.0 创建路径分析模型,并使用修正系数修改原始模型,直到拟合指数达到软件定义的标准水平。

2 结果与分析

2.1 大针茅形态特征对不同氮添加的响应

大针茅株高在 N10 处理下达到最大值,与 CK 相比, N5、N10 处理下大针茅株高增大了 12.40% 和 26.36%, N25 处理降低了大针茅株高。N2、N25 与 CK 之间的差异不显著(表 1; $P > 0.05$)。N5 处理对大针茅单株叶面积有显著的促进作用(表 1; $P < 0.05$),叶面积随 N 添加先增大后减小,在 N5 处理下达到最大值,与 CK 相比, N5 处理下叶面积提高了 128.19%。N5 处理对大针茅地上生物量有显著影响, N5 处理下大针茅地上生物量达到了最大值。

表 1 不同氮添加处理下大针茅的形态特征

Table 1 Morphological characteristics of *S. grandis* under different nitrogen addition treatments

处理 Treatments	株高 Height/cm	叶面积 Leaf area/cm ²	地上生物量 Aboveground biomass/(g/m ²)	优势度 Dominance/%
CK	25.80±1.66a	31.64±0.80b	12.92±3.12b	4.66±0.58c
N2	24.80±2.31a	44.54±7.59b	3.80±0.20b	1.27±0.63d
N5	29.00±1.76a	72.20±1.45a	58.14±25.27a	16.75±2.24b
N10	32.60±3.20a	55.24±3.49ab	10.92±1.72b	1.98±0.22d
N25	26.00±1.52a	62.50±2.55ab	37.60±2.40ab	23.47±2.22a

不同小写字母表示不同处理之间存在显著性差异($P < 0.05$); CK, 为不添加氮, N2、N5、N10、N25 表示氮的添加量为 2、5、10、25 $\text{g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$

2.2 气体交换参数对不同氮添加的响应

N 添加显著改变了大针茅 P_n (图 1; $P<0.05$)。 P_n 随 N 添加先增大后降低, 在 N5 处理下达到最大值, 与 CK 相比, N5 处理下 P_n 增大了 52.01%, 其他处理与 CK 差异不显著 ($P<0.05$)。 G_s 和 T_r 随着氮添加先增大后降低, 在 N25 处理下显著增大 (图 1; $P<0.05$), 二者分别在 N5 和 N25 处理下达到最大, 增幅为 33.95%、25.42%。 N 添加对 WUE 有显著影响 (图 1; $P<0.05$)。 WUE 在 N5 处理下达到最大值后下降。

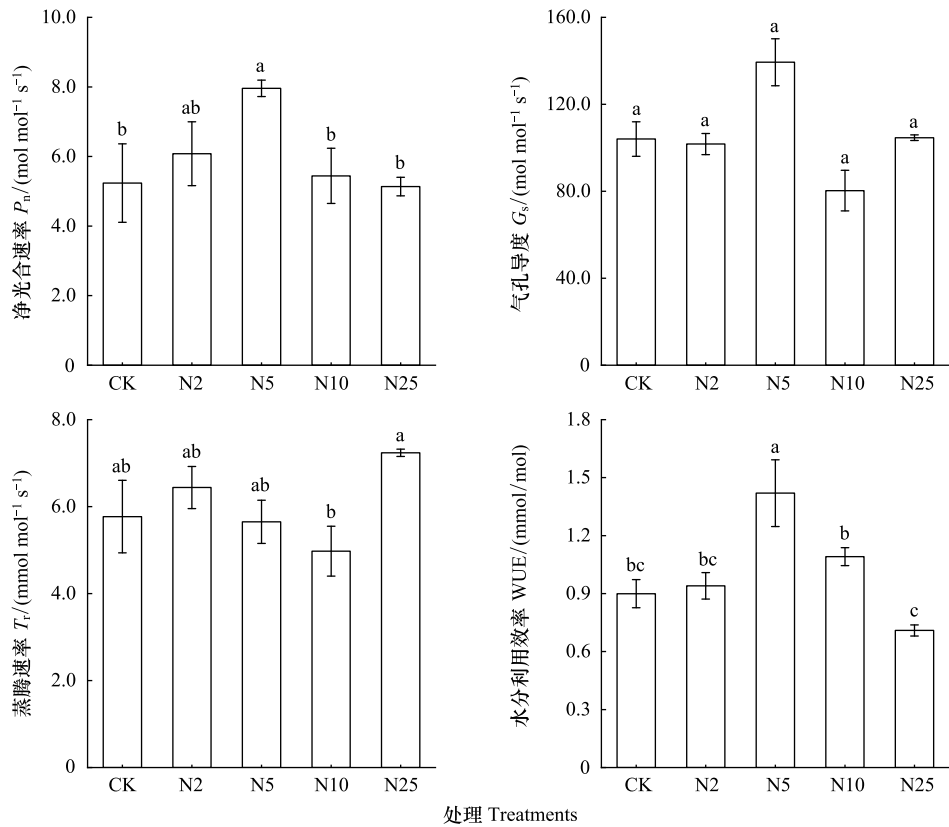


图 1 不同氮添加处理下大针茅气体交换参数

Fig.1 The gas exchange parameters of *S. grandis* under different nitrogen addition treatments

不同的小写字母表示不同处理之间存在显著性差异 ($P<0.05$); CK 为不添加氮, N2、N5、N10、N25 表示氮的添加量为 2、5、10、25 g m⁻² a⁻¹; P_n : 净光合速率 net photosynthetic rate; T_r : 蒸腾速率 transpiration rate; G_s : 气孔导度 stomatal conductance; WUE: 水分利用效率 water-use efficiency

2.3 叶绿素荧光参数对不同氮添加的响应

N 添加对大针茅 F_v/F_m 没有显著影响 (表 2; $P>0.05$)。PSII 实际光化学量子产量 Φ_{PSII} 和电子传递速率

表 2 不同氮添加处理下大针茅叶绿素荧光参数

Table 2 Chlorophyll fluorescence parameters of *S. grandis* under different nitrogen addition treatments

处理 Treatments	F_v/F_m	Φ_{PSII}	ETR/ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	q_P	NPQ
CK	0.74±0.02a	0.26±0.01a	164.86±1.23a	0.63±0.01a	1.94±0.09a
N2	0.74±0.01a	0.29±0.02a	180.30±10.05a	0.67±0.01a	1.61±0.20a
N5	0.72±0.02a	0.29±0.02a	182.45±12.45a	0.61±0.04a	1.47±0.38a
N10	0.75±0.01a	0.26±0.01a	162.39±6.49a	0.70±0.03a	2.38±0.17a
N25	0.75±0.01a	0.34±0.08a	213.02±50.90a	0.72±0.06a	1.79±0.38a

F_v/F_m : PSII 最大光化学量子产量 the maximum quantum efficiency of photosystem II (PSII); Φ_{PSII} : PSII 实际光化学量子产量 effective quantum yield of PSII; ETR: 电子传递速率 electron transport rate; q_P : 光化学淬灭系数 photochemical quenching; NPQ: 非光化学淬灭系数 non-photochemical quenching

(ETR)在 N25 处理达到最大值,但与 CK 相比不存在显著性差异(表 2; $P>0.05$)。 q_p 随 N 添加的提高而提高,在 N25 处理下显著增大,达到了最大值。非光化学淬灭系数(NPQ)在 1.44—2.38 范围内波动变化,N2 和 N5 处理降低了 NPQ(表 2; $P>0.05$)。

2.4 色素含量对不同氮添加的响应

大针茅叶绿素 a+b(Chla+b)、叶绿素 b(Chlb)和类胡萝卜素(Car)在不同处理下差异不显著(图 2; $P<0.05$)。叶绿素 a(Chla)随 N 添加呈现微弱下降趋势,在 N25 处理下达到最小值。Chlb 在 N5 处理下达到最小值,与 CK 相比,降低了 5.16%。N25 处理降低了 Chla+b(图 2; $P>0.05$)。Car 随 N 添加增大,在 N25 处理下增幅最大,但与 CK 相比,不存在显著性差异(图 2; $P>0.05$)。

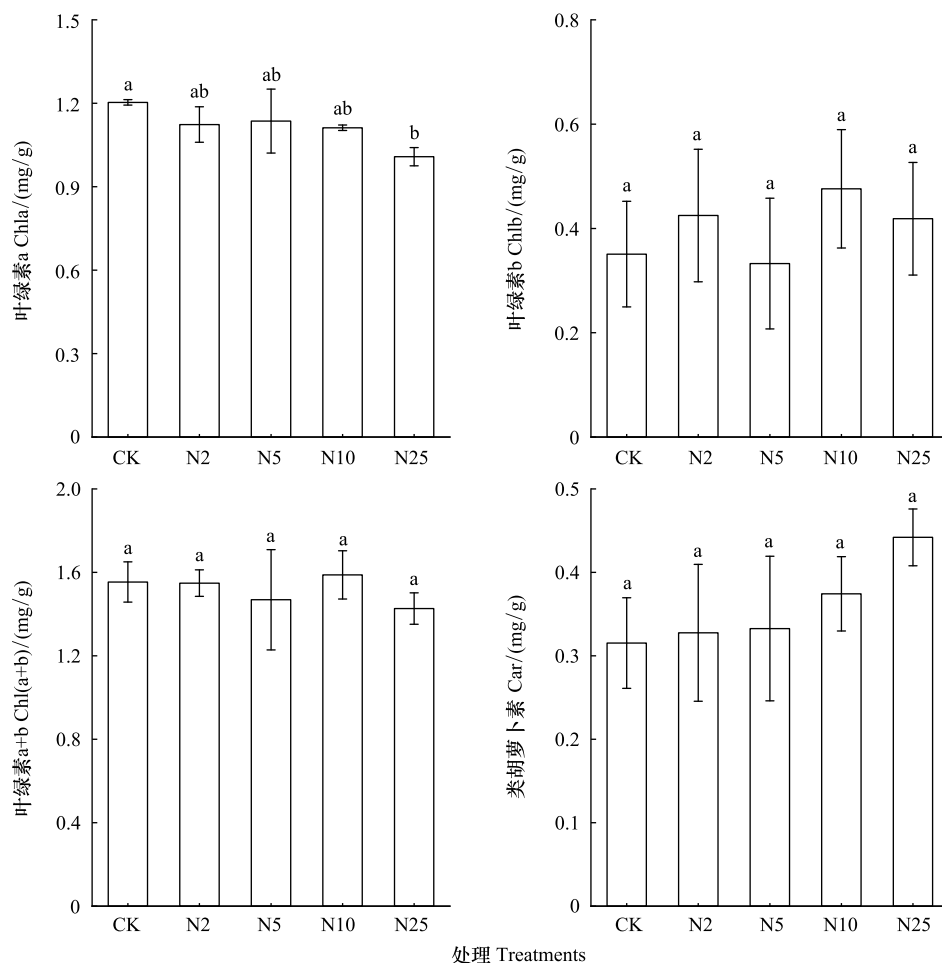


图 2 不同氮添加处理下大针茅色素含量

Fig.2 The pigment contents of *S. grandis* under different nitrogen addition treatments

Chla:叶绿素 a chlorophyll a; Chlb:叶绿素 b chlorophyll b; Chl (a+b):叶绿素 a+b chlorophyll a and chlorophyll b; Car:类胡萝卜素 carotenoid

2.5 叶片氮含量和光合氮利用效率对不同氮添加的响应

氮添加显著提高了大针茅叶片氮含量(图 3; $P<0.05$)。与 CK 相比,N2、N5、N10、N25 处理下大针茅 N_{area} 分别增大了 8.01%、14.74%、27.24%、34.94% (图 3)。N 添加显著降低了大针茅 PNUE(图 3; $P<0.05$)。PNUE 在 N10 达到了最小值,与 CK 相比,N2、N5、N10、N25 处理下大针茅 PNUE 分别降低了 19.93%、47.53%、52.57%、40.16%。

2.6 不同氮添加下大针茅的叶片氮分配和酶活性的变化

不同 N 添加处理下大针茅叶片氮分配均表现出光合器官 N 分配>非光合器官 N 分配,光合器官的 N 分

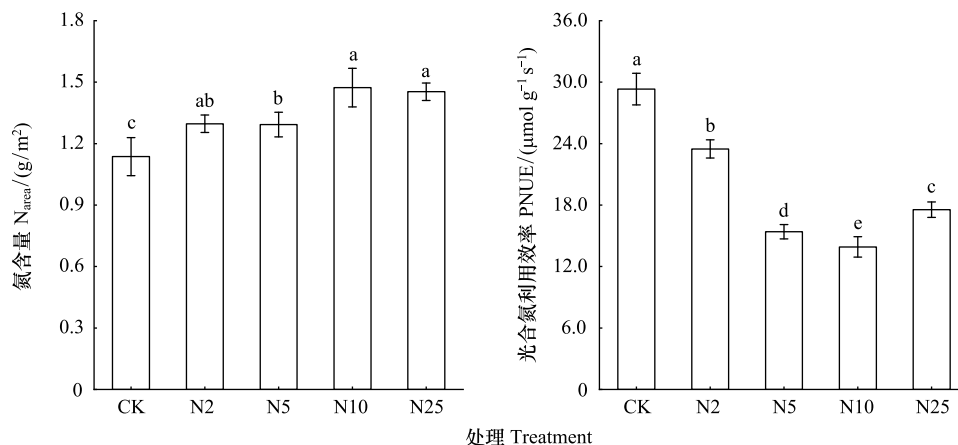


图3 不同氮添加处理下大针茅的叶片氮含量(N_{area})和光合氮利用效率(PNUE)

Fig.3 The N contents and photosynthetic nitrogen use efficiency of *S. grandis* under different nitrogen addition treatments

N_{area} : 叶片氮含量 leaf nitrogen content; PNUE: 光合氮利用效率 photosynthetic nitrogen use efficiency

配均表现出捕光系统 N 分配(Nl) > 羧化系统 N 分配(Nr) > 电子传递系统 N 分配(Nb) (图4)。Nnp 随 N 添加增大, 在 N25 处理下达到最大值, 与 CK 相比, 增大了 45.42%。Nl 和 Nb 随 N 添加呈下降趋势, Nl 在 N25 处理下达到最低, Nr 随 N 添加先增加后下降。整体而言, 光合器官氮分配随 N 添加降低。

Rubisco 随着 N 添加先增大后下降, 在 N5 和 N10 处理下分别达到最大值和最小值, 与 CK 相比, 分别增大和降低了 15.79% 和 13.14%。磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)与 Rubisco 的变化趋势类似, 先增大后降低, 但差异性不显著(图5; $P < 0.05$)。

2.7 不同氮添加下大针茅光响应曲线变化特征

表现量子效率(AQY)随着 N 添加出现了波动性的变化, N2 和 N25 处理下大针茅 AQY 显著增大(表3; $P < 0.05$)。光饱和点(LSP)在处理间达到了显著性差异, N5 和 N10 处理下 LSP 显著增大(表3; $P < 0.05$)。氮添加提高了光补偿点(LCP), 相比 CK, N2、N5、N10、N25 处理下 LCP 分别增大了 52.38%、74.36%、78.02%、62.98%, 而暗呼吸速率(R_d)整体上表现出增加的趋势, N25 处理下达到最大值。

2.8 路径分析

由图6可知, Nr、气孔导度(G_s)和 Rubisco 对 P_n 有直接作用, 其中, G_s 和 Rubisco 对 P_n 有显著影响(图6; $P < 0.05$), Nr 对 P_n 的影响不显著(图6; $P > 0.05$)。模型表明, G_s 对 P_n 的解释量最高, 达到 65%, G_s 和 Rubisco 对 P_n 的总解释量达到 90%。此外, Nr 和 G_s 通过影响 Rubisco 间接影响 P_n , Nr 和 G_s 对 Rubisco 的解释量分别为 52% 和 50%(图6; $P < 0.05$)。

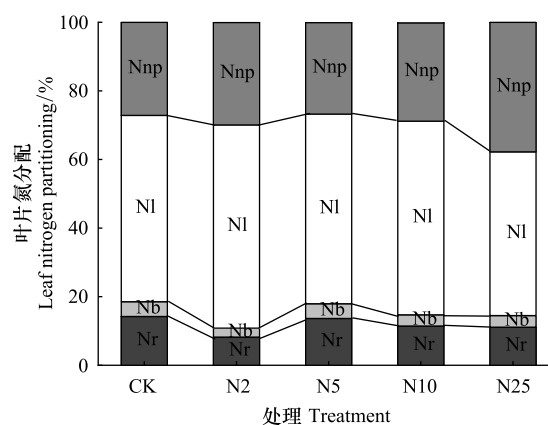


图4 不同氮添加处理下大针茅的叶片氮分配

Fig.4 Leaf nitrogen partitioning of *S. grandis* under different nitrogen addition treatments

Nr: 羧化系统 N 分配比例 the percentage of the total leaf N allocated to Rubisco; Nb: 电子传递系统 N 分配比例 the percentage of the total leaf N allocated to bioenergetics; Nl: 光捕获系统 N 分配比例 the percentage of the total leaf N allocated to light-harvesting complex; Nnp: 非光合部分 N 分配比例 the percentage of the total leaf N allocated to non-photosynthetic fraction

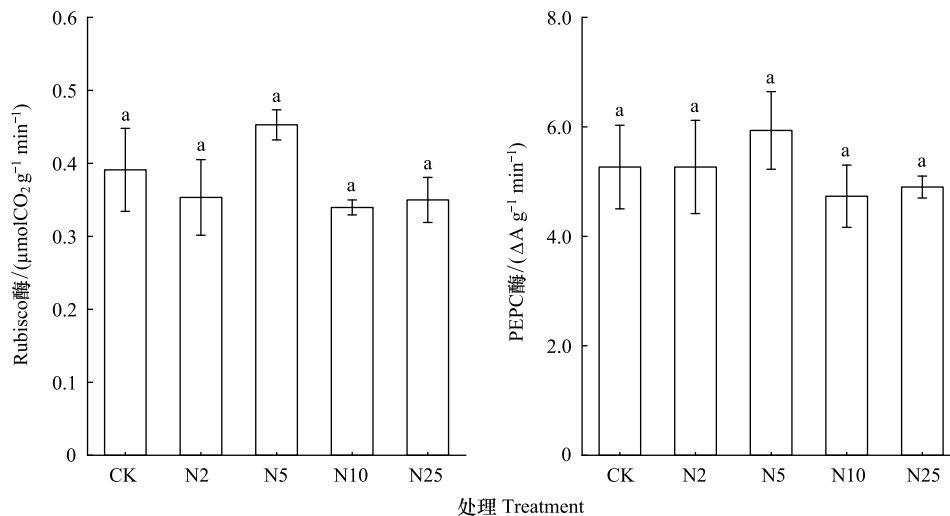


图5 不同氮添加处理下大针茅碳代谢酶活性

Fig.5 Changes of C metabolism enzymes activities in leaves of *S. grandis* under different nitrogen addition treatments

Rubisco: 1, 5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶 ribulose 1, 5-diphosphate carboxylation/oxygenase; PEPC: 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 phosphoenolpyruvate carboxylase

3 讨论

3.1 大针茅光合和叶绿素荧光对氮添加的响应

光合作用是植物固碳的关键环节,也是影响植物生长发育和生物量累积的决定性因素。本研究发现,低氮处理对大针茅光合速率没有显著影响。叶片 N 含量是影响植物光合作用的关键因子,通常植物的光合能力和叶片 N 含量呈正相关^[37]。低氮处理下,大针茅叶片氮含量较低,不利于叶绿素和相关蛋白的合成,抑制了植物光合作用。N5 处理显著提高大针茅净光合速率,一方面,适量氮添加增大了大针茅的叶片氮含量,改善植物氮养分可利用性,进而提高光合速率。另一方面 N5 处理下,LCP 较低而 LSP 较高,表明大针茅能够利用更多的光能。除此自外,N5 处理还增加叶片的 G_s ,促进 CO_2 向细胞间隙的扩散,提供光合作用所需要的原材料,增加大针茅的 P_n ,N5 处理提高了光合作用,促进大针茅生长和生物量的积累。同时,大针茅的 WUE 也在 N5 处理下达到最大值。WUE 是反映植物光合碳同化和水分利用关系的重要指标,WUE 提高表明大针茅利用更少的水分合成更多的同化物^[38]。N10 和 N25 处理抑制大针茅的光合作用,这可能是因为随着施氮量增大,叶片光合氮分配比例下降,大针茅受到光抑制,造成叶绿素降解,净光合速率显著下降,特别是 N25 处理降低了株高、叶面积和地上生物量,对大针茅生长造成负面影响。

表3 不同氮添加处理下针茅的光响应曲线参数

Table 3 The parameters of light response curves of *S. grandis* under different nitrogen addition treatments

处理 Treatments	表观量子效率 AQY/(mol/mol)	光饱和点 LSP/($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	光补偿点 LCP/($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	暗呼吸速率 R_d /($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
CK	0.035±0.001b	684±19.7b	40±1.2e	3.33±0.10c
N2	0.049±0.001a	483±13.9c	84±2.4d	3.07±0.09c
N5	0.029±0.001c	916±26.4a	156±4.5b	4.26±0.12b
N10	0.024±0.000c	922±14.9a	182±2.9a	3.92±0.06b
N25	0.051±0.002a	523±15.1c	108±3.1c	5.05±0.15a

AQY: 表观量子效率 apparent quantum yield; LSP: 光饱和点 light saturation points; LCP: 光补偿点 light compensation points; R_d : 暗呼吸速率 dark respiration rate

叶绿素荧光动力学能够揭示植物光合反应中心能量分配状况的变化,当植物不能利用过多的光能,就会通过增加热耗散或荧光,保护 PSII 反应中心免受损伤^[15]。 F_v/F_m 代表植物 PSII 的最大光化学效率,当植物光合器官没有受到环境胁迫时, F_v/F_m 在 0.80—0.85 范围内波动^[39]。本研究中,低氮处理时大针茅 F_v/F_m 低于 0.80,说明此时捕获的光能不能有效用于光合作用,光能转化效率低,光合器官受到光抑制,降低大针茅净光合速率^[40—41]。N5 处理时, Φ_{PSII} 和 ETR 增大,激发了更多电荷分离,PS II 反应中心的开放程度和光化学效率提高,能够把捕获的光能更有效地用于光合作用。 q_p 是光化学猝灭系数,其变化特征与电子传递链受体侧质体醌 Q_A 的氧化还原状态有关,提高 q_p 能够改善植物应对外界胁迫的能力^[42]。 q_p 在 N25 处理下达到最大值,这说明高氮处理下光合器官受到损害,受损的 PS II 不能产生足够的光量子来提高 P_n ,为了减轻这种光抑制,大针茅激活了保护机制,通过提高热耗散释放过多的激发能,增大了 NPQ,由于 Car 通过叶黄素循环参与了大针茅的热耗散机制,因此,高氮处理下 Car 含量增大^[43]。

3.2 大针茅叶片氮分配对氮添加的响应

植物大部分氮素集中在叶片,叶片氮分配模式影响了光合作用的强弱^[44]。通常超过一半的叶片氮会分配到光合器官,参与光合作用的氮越多,植物生长越快^[45]。本研究中,光合氮利用效率(PNUE)和光合氮分配的变化一致,二者随着施氮量的增大逐渐减小。低氮处理时,叶片氮含量较低,但光合氮分配比例较高,导致光合氮利用效率(PNUE)达到最大值。其中,捕光系统氮分配最大,这改善了大针茅的光能捕获能力,但电子传递系统和羧化系统分配比例较低,降低了光合系统电子传递速率,捕获的光能不能得到有效利用,导致大针茅出现光抑制,降低了光合速率^[46]。N5 处理时,大针茅光合氮分配比例上升,光合系统内部氮分配也发生了变化,捕光系统氮分配降低,电子传递系统和羧化系统氮分配比例增大,电子传递速率和 Rubisco 的活性显著增大,大针茅的光能利用效率提高,显著改善了大针茅的光合作用^[47]。N25 处理时,大针茅光合氮分配比例达到最低,这意味着 PS II 的光合电子传递和羧化能力降低,大针茅二磷酸核酮糖(RuBP)的再生受到限制, CO_2 同化效率较低,制约大针茅卡尔文循环,对光合作用造成负面影响^[48]。高氮处理时大针茅非光合器官(细胞壁、线粒体和游离氨基酸等)的氮分配比例增大,叶片变厚,增大了 CO_2 到同化位点的距离,导致 PNUE 下降^[19]。

3.3 大针茅叶片碳代谢酶对氮添加的响应

碳代谢调节着植物的生长和生物量积累^[49]。CK 和 N2 处理时大针茅 Rubisco 的活性较低,这是由于大针茅生长受到 N 限制,叶片氮含量较低,限制了 Rubisco 的含量和活性。同时,较低的 G_s 会导致 CO_2 供应不足,光量子利用效率降低,大针茅出现光抑制现象(F_v/F_m 低于 0.8),细胞间隙中 $CO_2:O_2$ 的比例降低,在一定程度上会激发大针茅的光呼吸,Rubisco 可能主要体现加氧作用,进而降低碳(C)同化^[50]。随着施氮量的增大,大针茅的 Rubisco 酶活性逐渐增大,在 N5 处理下达到最大值,因为此时 G_s 也达到了最大值,细胞内 CO_2 含量增大,同时叶片氮分配到羧化系统的比例也提高。适量氮添加提高了 C 同化,有利于生物量的积累。高 N 处理下大针茅受到光抑制,Rubisco 活性降低,光呼吸会消耗固定的 C,不利于大针茅生物量的积累。大针茅 PEPC 活性没有显著变化,说明 PEPC 只是充当了为合成天冬氨酸、苹果酸和柠檬酸 C 骨架的作用^[51]。

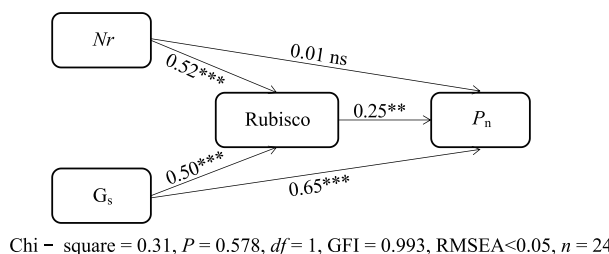


图 6 路径分析

Fig. 6 Path analysis model

Nr: 羧化系统 N 分配比例 the percentage of the total leaf N allocated to Rubisco; G_s : 气孔导度 stomatal conductance; Rubisco: 1, 5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶的活性 the activity of ribulose 1, 5-diphosphate carboxylation/oxygenase; P_n : 净光合速率 net photosynthetic rate; GFI: 拟合优度指数 goodness of fit index; RMSEA: 近似值的均方根误差 root-mean-square error of the approximation; 显著性: *, **, *** 分别代表 $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$; ns, 不显著

4 结论

氮添加影响大针茅形态和内部生理特征。低氮处理下,大针茅叶片氮含量低,抑制了光合作用。适量氮添加($5-10 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$)提高了大针茅电子传递系统和羧化系统的氮分配比例,N5 处理增大了植物光能利用效率和光合酶活性,有利于植物光合作用,增加了大针茅的地上生物量。过量氮添加降低叶片光合系统氮分配的比例,Rubisco 活性降低,抑制植物生长和生物量积累。本研究结合叶片光合氮分配分析不同氮添加下草原生态系统优势种大针茅光合作用的动态和响应机制,为理解植物对氮添加的响应提供一个新的见解。对于理解和预测未来氮沉降背景下温带草原生态系统动态演变机制具有重要意义,同时为草原的可持续发展提供一定的理论依据。

参考文献(References):

- [1] Costanza R, d'Arge R, de Groot R, Farber S, Grasso M, Hannon B, Limburg K, Naeem S, O'Neill R V, Paruelo J, Raskin R G, Sutton P, van den Belt M. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 1997, 387(6630): 253-260.
- [2] Fan F, Liang C Z, Tang Y K, Harker-Schuch I, Porter J R. Effects and relationships of grazing intensity on multiple ecosystem services in the Inner Mongolian steppe. *Science of the Total Environment*, 2019, 675: 642-650.
- [3] 刘文辉, 刘勇, 马祥, 魏小星. 高寒区施肥和混播对燕麦人工草地生物碳储量影响的研究. *草地学报*, 2018, 26(5): 1150-1158.
- [4] Fowler D, Coyle M, Skiba U, Sutton M A, Cape J N, Reis S, Sheppard L J, Jenkins A, Grizzetti B, Galloway J N, Vitousek P, Leach A, Bouwman A F, Butterbach-Bahl K, Dentener F, Stevenson D, Amann M, Voss M. The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2013, 368(1621): 20130165.
- [5] 韩其飞, 李莹莹, 彭开兵, 李超凡, 黄晓东, 许文强. 大气氮沉降对中亚草地生态系统净初级生产力的影响. *生态学报*, 2021, 41(21): 8545-8555.
- [6] 李德军, 莫江明, 方运霆, 蔡锡安, 薛璟花, 徐国良. 模拟氮沉降对三种亚热带树苗生长和光合作用的影响. *生态学报*, 2004, 24(5): 876-882.
- [7] Wang X, Wang B, Wang C Z, Wang Z H, Li J, Jia Z, Yang S, Li P, Wu Y T, Pan S N, Liu L L. Canopy processing of N deposition increases short-term leaf N uptake and photosynthesis, but not long-term N retention for aspen seedlings. *The New Phytologist*, 2021, 229(5): 2601-2610.
- [8] Kitaoka S, Watanabe Y, Koike T. The effects of cleared larch canopy and nitrogen supply on gas exchange and leaf traits in deciduous broad-leaved tree seedlings. *Tree Physiology*, 2009, 29(12): 1503-1511.
- [9] 侯颖. CO₂ 浓度和气温升高对植物形态结构影响的研究进展. *生态科学*, 2013, 32(2): 253-258.
- [10] 王进, 朱江, 艾训儒, 姚兰, 黄小, 吴漫玲, 朱强, 洪建峰. 湖北星斗山地形变化对不同生活型植物叶功能性状的影响. *植物生态学报*, 2019, 43(5): 447-457.
- [11] 许大全, 张玉忠, 张荣铎. 植物光合作用的光抑制. *植物生理学通讯*, 1992, 28(4): 237-243.
- [12] 郝琨, 刘小刚, 张岩, 韩志慧, 余宁, 杨启良, 刘艳伟. 干旱胁迫-复水与氮肥耦合对小粒咖啡生长和水氮生产力的影响. *应用生态学报*, 2017, 28(12): 4034-4042.
- [13] 沈豪, 董世魁, 李帅, 许驭丹, 韩雨晖, 张静. 氮添加对高寒草甸植物功能群数量特征和光合作用的影响. *生态学杂志*, 2019, 38(5): 1276-1284.
- [14] Salesse C, Sharwood R, Sakamoto W, Stern D. The rubisco chaperone BSD2 may regulate chloroplast coverage in maize bundle sheath cells. *Plant Physiology*, 2017, 175(4): 1624-1633.
- [15] van der Tol C, Berry J A, Campbell P K E, Rascher U. Models of fluorescence and photosynthesis for interpreting measurements of solar-induced chlorophyll fluorescence. *Journal of Geophysical Research Biogeosciences*, 2014, 119(12): 2312-2327.
- [16] Xu C G, Fisher R, Wulfschleger S D, Wilson C J, Cai M, McDowell N G. Toward a mechanistic modeling of nitrogen limitation on vegetation dynamics. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37914.
- [17] Elrys A S, Ali A, Zhang H M, Cheng Y, Zhang J B, Cai Z C, Müller C, Chang S X. Patterns and drivers of global gross nitrogen mineralization in soils. *Global Change Biology*, 2021, 27(22): 5950-5962.
- [18] Luo X Z, Keenan T F, Chen J M, Croft H, Colin Prentice I, Smith N G, Walker A P, Wang H, Wang R, Xu C G, Zhang Y. Global variation in the fraction of leaf nitrogen allocated to photosynthesis. *Nature Communications*, 2021, 12: 4866.
- [19] Liu T, Ren T, White P J, Cong R H, Lu J W. Storage nitrogen co-ordinates leaf expansion and photosynthetic capacity in winter oilseed rape. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(12): 2995-3007.
- [20] Parry M A J, Andralojc P J, Khan S, Lea P J, Keys A J. Rubisco activity: effects of drought stress. *Annals of Botany*, 2002, 89(7): 833-839.
- [21] 张景慧, 王铮, 黄永梅, 陈慧颖, 李智勇, 梁存柱. 草地利用方式对温性典型草原优势种植物功能性状的影响. *植物生态学报*, 2021, 45(8): 818-833.
- [22] 薛文杰, 陈万杰, 古琛, 乌力吉, 杜宇凡, 赵萌莉. 不同刈割方式对大针茅草地群落特征和生物多样性的影响. *中国草地学报*, 2015, 37

- (5): 40-45.
- [23] 张晓琳, 翟鹏辉, 黄建辉. 降水和氮沉降对草地生态系统碳循环影响研究进展. 草地学报, 2018, 26(2): 284-288.
- [24] 周双喜, 吴冬秀, 张琳, 施慧秋. 降雨格局变化对内蒙古典型草原优势种大针茅幼苗的影响. 植物生态学报, 2010, 34(10): 1155-1164.
- [25] Wang B, Gong J R, Zhang Z H, Yang B, Liu M, Zhu C C, Shi J Y, Zhang W Y, Yue K X. Nitrogen addition alters photosynthetic carbon fixation, allocation of photoassimilates, and carbon partitioning of *Leymus chinensis* in a temperate grassland of Inner Mongolia. Agricultural and Forest Meteorology, 2019, 279: 107743.
- [26] Demmig-Adams B, Adams W W III. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. Trends in Plant Science, 1996, 1(1): 21-26.
- [27] Long S P, Bernacchi C J. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. Journal of Experimental Botany, 2003, 54(392): 2393-2401.
- [28] 赵丽娅, 高丹丹, 熊炳桥, 陈涛, 李艳蕾, 李锋瑞. 科尔沁沙地恢复演替进程中群落物种多样性与地上生物量的关系. 生态学报, 2017, 37(12): 4108-4117.
- [29] 苏正淑, 张宪政. 几种测定植物叶绿素含量的方法比较. 植物生理学通讯, 1989, 5: 77-78.
- [30] 李大勇, 陈展宇, 徐克章, 张治安, 武志海, 季平, 张鹏. 不同年代大豆品种叶片氮含量及其与净光合速率的关系. 中国油料作物学报, 2013, 35(2): 171-178.
- [31] 王维光, 李立人. 菠菜二磷酸核酮糖(RuBP)羧化酶简化提纯研究. 植物生理学报, 1980, 6(3): 257-262.
- [32] 施教耐, 吴敏贤, 查静娟. 植物磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶的研究——I. PEP 羧化酶同工酶的分离和变构特性的比较. 植物生理学报, 1979, 5(3): 225-235.
- [33] Jordan D B, Ogren W L. The CO_2/O_2 specificity of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. Planta, 1984, 161(4): 308-313.
- [34] Niinemets Ü, Tenhunen J D. A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum*. Plant, Cell and Environment, 1997, 20(7): 845-866.
- [35] Nolan W G, Smillie R M. Temperature-induced changes in hill activity of chloroplasts isolated from chilling-sensitive and chilling-resistant plants. Plant Physiology, 1977, 59(6): 1141-1145.
- [36] Hodgson J, Wilson P, Hunt R, Grime J P, Thompson K. Allocating C-S-R plant functional types: a soft approach to a hard problem. Oikos, 1999, 85: 282-294.
- [37] Feng Y L, Lei Y, Wang R F, Callaway R, Valiente-Banuet A, Inderjit, Li Y P, Zheng Y L. Evolutionary tradeoffs for nitrogen allocation to photosynthesis versus cell walls in an invasive plant. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2009, 106: 1853-1856.
- [38] 王景燕, 龚伟, 包秀兰, 唐海龙, 胡文, 苟国军. 水肥耦合对汉源花椒幼苗叶片光合作用的影响. 生态学报, 2016, 36(5): 1321-1330.
- [39] 王建秋, 曹子林, 王晓丽, 张晋龙, 彭辰吟. 铅胁迫对滇白前生长、光合作用及叶绿素荧光的影响. 草地学报, 2021, 29(11): 2422-2427.
- [40] 张云, 夏国华, 马凯, 李根有, 代英超, 严彩霞. 遮阴对堇叶紫金牛光合特性和叶绿素荧光参数的影响. 应用生态学报, 2014, 25(7): 1940-1948.
- [41] 张娅, 施树倩, 李亚萍, 高天鹏, 杨颖丽. 不同盐胁迫下小麦叶片渗透性调节和叶绿素荧光特性. 应用生态学报, 2021, 32(12): 4381-4390.
- [42] 林球, 汤响, 张纪涛, 闫万丽, 肖建红, 丁超, 董川, 籍增顺. 不同水势对黄瓜花后叶片气体交换及叶绿素荧光参数的影响. 应用生态学报, 2015, 26(7): 2030-2040.
- [43] 张小燕, Alison Kim Shan Wee, Tadashi Kajita, 朱俊杰, 曹坤芳. 两种红树植物不同种源幼苗对模拟高温热浪的光合生理响应差异. 植物科学学报, 2021, 39(4): 424-432.
- [44] 刘涛, 鲁剑巍, 任涛, 汪威, 王振, 王少华. 适宜氮水平下冬油菜苗期不同叶位叶片光合氮分配特征. 中国农业科学, 2016, 49(18): 3532-3541.
- [45] Leuning R, Cromer R N, Rance S. Spatial distributions of foliar nitrogen and phosphorus in crowns of *Eucalyptus grandis*. Oecologia, 1991, 88(4): 504-510.
- [46] Matteo D, Xu X T. Optimal leaf life strategies determine V_c , max dynamic during ontogeny. The New Phytologist, 2020, 228(1): 361-375.
- [47] Hou W F, Tränkner M, Lu J W, Yan J Y, Huang S Y, Ren T, Cong R H, Li X K. Interactive effects of nitrogen and potassium on photosynthesis and photosynthetic nitrogen allocation of rice leaves. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 302.
- [48] Trouwborst G, Hogewoning S W, Harbinson J, van Ieperen W. Photosynthetic acclimation in relation to nitrogen allocation in cucumber leaves in response to changes in irradiance. Physiologia Plantarum, 2011, 142(2): 157-169.
- [49] Liu C G, Wang Y J, Pan K W, Zhu T T, Li W, Zhang L. Carbon and nitrogen metabolism in leaves and roots of dwarf bamboo (*Fargesia denudata* Yi) subjected to drought for two consecutive years during sprouting period. Journal of Plant Growth Regulation, 2014, 33(2): 243-255.
- [50] Mu X H, Chen Y L. The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 158: 76-82.
- [51] Shi J H, Yi K K, Liu Y, Xie L, Zhou Z J, Chen Y, Hu Z H, Zheng T, Liu R H, Chen Y L, Chen J Q. Phosphoenolpyruvate carboxylase in *Arabidopsis* leaves plays a crucial role in carbon and nitrogen metabolism. Plant Physiology, 2015, 167(3): 671-681.