

DOI: 10.20103/j.stxb.202307021412

王晓燕, 陈俊刚, 张云海, 毕华兴. 不同频率氮添加对内蒙古典型草原植物叶绿素的影响. 生态学报, 2024, 44(11): 4854-4864.

Wang X Y, Chen J G, Zhang Y H, Bi H X. Effects of different frequencies of nitrogen addition on chlorophyll in typical grassland in Inner Mongolia. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(11): 4854-4864.

不同频率氮添加对内蒙古典型草原植物叶绿素的影响

王晓燕¹, 陈俊刚², 张云海², 毕华兴^{1,3,4,*}

¹ 北京林业大学水土保持学院, 北京 100083

² 中国科学院植物研究所植被与环境变化国家重点实验室, 北京 100093

³ 林木资源高效生产全国重点实验室, 北京 100083

⁴ 山西吉县森林生态系统国家野外科学观测研究站, 北京 100083

摘要: 大气氮沉降会影响植物功能性状的变异和进化, 进而作用于植物个体和生态系统功能。研究草地生态系统植物功能性状在不同氮添加模式下的响应差异, 对更准确地评估植物对环境变化的适应性至关重要。基于内蒙古草原野外长期氮沉降模拟实验平台, 研究氮添加频率对优势物种羊草和冰草叶绿素含量的影响, 结果表明每年一次氮添加使羊草叶绿素含量增加最多 (15.21%), 而每月一次氮添加对冰草叶绿素含量影响最大 (增加了 14.74%)。氮添加尤其是每年一次氮添加显著增加了土壤铵态氮、硝态氮和无机氮含量, 并使土壤 pH 显著降低。这些结果表明: 羊草叶绿素含量对低频率氮添加响应更明显, 而高频率氮添加对冰草叶绿素含量的影响更显著, 这两类物种间养分吸收策略存在明显差异。启示低频率氮添加可能高估了氮沉降对羊草叶绿素含量的影响, 而低估了对冰草叶绿素含量的影响, 这对准确预测植物叶片功能性状对大气氮沉降的变异具有重要意义, 并将有助于应用到植物功能性状预测生态系统功能和过程响应未来全球变化的模型中。

关键词: 氮添加; 羊草; 冰草; 叶绿素含量; 叶片性状; 内蒙古

Effects of different frequencies of nitrogen addition on chlorophyll in typical grassland in Inner Mongolia

WANG Xiaoyan¹, CHEN Jungang², ZHANG Yunhai², BI Huaxing^{1,3,4,*}

¹ College of Soil and Water Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

² State Key Laboratory of Vegetation and Environmental Change, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

³ State Key Laboratory of Efficient Production of Forest Resources, Beijing 100083, China

⁴ Ji County Station, Chinese National Ecosystem Research Network, Beijing 100083, China

Abstract: Nitrogen (N) is vital important for terrestrial ecosystems, which can increase plant growth and aboveground net primary productivity (ANPP) through either enrichment artificial nitrogen application or atmospheric nitrogen deposition. Atmospheric nitrogen deposition affects the variation and evolution of plant functional traits, which in turn affects individual plant and ecosystem functions. However, the frequency of natural atmospheric nitrogen deposition is significantly higher than that of artificial nitrogen addition. Most of the previous studies often used one-time nitrogen application in the growing season, whether the frequency of nitrogen addition alters the response of plant functional traits and ecosystem ANPP still unclear. Studying the differences in the response of plant functional traits in grassland ecosystems under different nitrogen addition modes is essential to more accurately assess the adaptability of plants to environmental changes. Based on the long-term nitrogen deposition simulation experimental platform in the grassland of the Inner Mongolia, the frequency of nitrogen

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32171589, 32122055, 32071603)

收稿日期: 2023-07-02; **网络出版日期:** 2024-03-18

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

addition experiment was established in September 2010, with six randomly set blocks (replicates). The field experiment contained a control (without N addition) and once per year nitrogen addition, twice per year nitrogen and once per month nitrogen addition, and the effect of nitrogen addition frequency on the chlorophyll content of the dominant species of *Leymus chinensis* and *Agropyron cristatum* was studied. The experimental results showed that the chlorophyll content of *L. chinensis* and *A. cristatum* were significantly enhanced by nitrogen addition. The chlorophyll content of *L. chinensis* increased more under the once per year nitrogen addition (15.21%), while once per month nitrogen addition had the greatest impact on the chlorophyll content of *A. cristatum* (increase 14.74%). Meanwhile, nitrogen addition, especially once per year nitrogen application significantly increased soil ammonium nitrogen, nitrate nitrogen and inorganic nitrogen content, and significantly reduced soil pH, while the soil water content (SWC) was similar among the frequencies of nitrogen addition. The results showed that the chlorophyll content of *L. chinensis* had more obvious response to low-frequency nitrogen addition, while the high-frequency nitrogen addition played an important role in increasing the chlorophyll content of *A. cristatum*. and there were obvious differences in nutrient uptake strategies between these two species. This study indicates that low-frequency nitrogen addition may overestimate the effect of nitrogen deposition on chlorophyll content in *L. chinensis*, while underestimate the effect on *A. cristatum*, which is of great significance for accurately predicting the variation of plant leaves functional traits to atmospheric nitrogen deposition, and will be helpful to apply to models of plant functional traits predicting ecosystem functions and processes in response to future global changes.

Key Words: nitrogen addition; *Leymus chinensis*; *Agropyron cristatum*; chlorophyll content; leaf traits; Inner Mongolia

植物功能性状通常是指植物对外界环境长期适应与进化后所表现出的可量度,且与植物的生长、繁殖以及存活等功能密切相关的属性^[1]。这些属性对生态系统的功能有显著的影响,并能够表征植物对环境变化的响应^[2]。植物叶片功能性状能不同程度地反映植物获取资源的能力和对环境变化的响应,以及植物为了适应环境变化所形成的生存对策^[3]。植物性状的变化会影响植物对资源的获取和利用,从而影响生态系统功能^[4-5]。叶绿素含量(Leaf Chlorophyll content, Chl)是叶片最重要的生理性状之一,是植物吸收光能进行光合作用的重要物质基础,直接影响植物的净光合速率,参与光能从吸收到转化等过程,决定着碳同化能力^[6-7]。因此,叶绿素含量是表征植物光合能力和衡量植物对养分吸收程度的重要生理指标之一,对植物生长及植物对环境胁迫的适应具有重要影响^[8]。

自 20 世纪中叶以来,受气候变化以及人类活动等因素的影响,特别是化石燃料燃烧、化学氮肥的大量施用以及畜牧业发展扩张等因素,导致陆地生态系统氮沉降呈显著上升趋势并对生态系统中氮(N)循环过程及其有效性产生深远影响^[9]。在陆地生态系统中,氮(N)元素不仅是植物需求量最大的营养元素,也是植物生长和光合作用的主要限制因子^[10-12]。氮添加一方面会直接影响植物组织氮含量,如提高植物叶氮含量^[13],并将其投入到叶绿素合成中^[14],促进植物最大光合速率^[15]。另一方面,氮添加引起的光竞争加剧^[16]会导致植物改变一系列地上形态性状来获取更多的光资源,包括植物植株高度增加,叶面积和比叶面积增大^[17-18]。除此之外,氮富集也会改变植物其他的形态、物候、繁殖和生理性状^[19-20]。

研究表明氮素添加通过提高植物叶绿素含量^[7,21]来增加羊草等物种的比叶面积和叶片氮含量^[22],增强其叶片对光资源的截获能力^[23]。更高的氮可用性促进光合酶活性和叶片中光合色素的生物合成,从而提高植物光合作用和水分利用效率,最终反映在植物高度、冠层面积、叶面积、比叶重和其他形态功能的优化^[24]。万宏伟等研究发现氮沉降改变了植物群落的光环境,植物通过提高比叶面积和单位质量叶片叶绿素含量以及氮含量来增强对光资源的竞争能力^[25]。而这些植物功能性状都会受到气温、降水等环境因素的影响^[1,26]。

生产力的发展和科学技术的进步极大弱化了环境条件对人类活动的能力和范围的制约。由人为活动导致的大气氮沉降呈全年分布模式,因此探究大气氮沉降对陆地生态系统的影响需考虑氮沉降的季节分布模式和时间格局。目前氮沉降模拟研究多数为生长季单次或多次加入陆地生态系统^[27],这种低频率大脉冲式的

输入^[28],高估了氮沉降下羊草叶绿素含量的增加^[24],并导致土壤酸化^[29]和减缓群落物种丢失速率^[19,30]。由此可见,氮沉降频率可能会影响植物功能性状变异和性状-生态系统功能关系的预测,忽略氮沉降频率将导致预测结论的不准确。因此,需考虑大气氮沉降不同时间分布格局下基于植物不同季节生长阶段变化特征的生态系统属性变化和大气氮沉降驱动的范围变化。通过在野外实验中控制氮素添加频率模拟氮沉降时间动态,探究不同氮频率添加对草地生态系统优势物种生理生态特征参数的影响,这有助于更好地理解以叶绿素为特征的植物光合能力对大气氮沉降的响应差异规律,并可为通过植物功能性状预测气候变化下生态系统功能提供科学依据。

本研究基于内蒙古温带典型草原不同频率氮添加野外模拟实验,实验设置一个对照(不加氮)和三个频率的氮添加即:每年一次(在生长季节加氮),每年两次(在生长季节和冬季加氮)和每月一次。氮添加量为 $10\text{ g m}^{-2}\text{ a}^{-1}$ 。选择两个优势物种羊草(*Leymus chinensis*)和冰草(*Agropyron cristatum*),每个物种 240 株,分别为 1357 片和 1063 片。本实验假设:(1)不同频率氮添加会增加内蒙古温带典型草原羊草和冰草叶片叶绿素含量和生物量;(2)水分是影响内蒙古温带典型草原羊草和冰草叶片叶绿素含量氮添加响应的主要环境因素。

1 材料和方法

1.1 研究区概况

本研究实验在中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站(116°42'E,43°38'N,海拔 1100m)附近的羊草草原上开展,该地位于内蒙古自治区锡林郭勒盟锡林河流域,属于温带半干旱典型草原区。实验区为温带大陆性草原气候,四季分明,暖湿同期有利于植物生长。年平均气温为 1.1 °C,月平均气温从 1 月的-21.1 °C 到 7 月的 20.0 °C。年平均降水量为 341.3 mm,生长季(5—8 月)降水量平均占全年降水量的 71.4%。根据联合国粮农组织(FAO)土壤分类系统和美国土壤分类系统(USA soil classification system),主要土壤类型分为筒育钙积土和钙积正常干旱土^[31]。植物群落以多年生禾本科植物为主,其中羊草(*Leymus chinensis*)、大针茅(*Stipa grandis*)、西伯利亚羽茅(*Achnatherum sibiricum*)和米氏冰草(*Agropyron cristatum*)四种多年生禾本科植物约占地上群落生物量的 88.5%^[7]。

1.2 实验设计

不同频率氮添加实验于 2010 年 9 月开始,试验采用完全随机区组设计(6 个区组),共 4 个实验处理,包括对照和三种频率的氮添加(分别为每年一次、每年两次和每月一次)。其中,每年一次氮添加是在生长季氮添加,每年两次氮添加是在生长季和冬季氮添加。氮添加量为 $10\text{ g m}^{-2}\text{ a}^{-1}$ 。实验所用氮素为硝酸铵(NH_4NO_3)。每个实验小区为 $4\text{ m} \times 4\text{ m}$,实验小区之间间隔 1 m,每种处理包含 6 个重复,共计 24 个实验小区^[32]。

1.3 野外采样与样品测定

本研究选择内蒙古温带典型草原具有无卷曲叶片特征且外形相似的两个优势物种羊草和冰草为研究对象,测定其植株叶片叶绿素含量。在 2020 年 5 月和 2021 年 5 月在所有 24 个实验小区中的每个 $2\text{ m} \times 2\text{ m}$ 的固定样方中随机标记羊草和冰草各 15 株,每个样本株间距至少 10 cm,以尽可能避免来自于地下茎相连植株,并于每年 8 月选取每个物种长势相似的各 10 株,齐地剪下,带回实验室立即测量。对每株样本上的完全展开叶测定叶绿素含量。使用 SPAD-502Plus 便携式叶绿素含量仪(叶绿素含量计 SPAD-502 Plus, Konika-Minolta Inc., Tokyo, Japan)测定叶绿素含量 SPAD 值。沿叶片主脉均匀选取 3 个点测量,通过取平均值作为该叶片叶绿素含量(SPAD)。SPAD 值是一个基于 650 nm 和 940 nm 处叶片吸光度的指数^[33],它被证明是木本植物叶片叶绿素含量的一个替代指数^[34]。

土壤无机氮(铵态氮和硝态氮)使用 0.5 mol/L 氯化钾浸提,而后采用全自动微量流动注射仪(FLASTAR5000, FOSS, Sweden)测定浸提液。土壤含水量采用称重法测定。使用 pH 电位计按土水比 1:2.5 测定土壤 pH。

1.4 统计分析

分析使用全部叶片的叶绿素含量值,采用线性混合效应模型(LMMs)分析不同频率氮添加对羊草、冰草

叶片叶绿素含量的影响。其中不同频率氮添加和物种为固定变量,并加入了固定变量的交互效应,以及嵌套了随机效应项:(1|block/number),分别为区组嵌套在内的植株序号。使用“lmerTest”包中的“lmer”函数进行线性混合模型方差分析($X \sim N \text{frequency} * \text{Species} + (1| \text{block}/ \text{number})$)后,使用“lsmeans”包的进行不同水平间的多重比较,检验每个物种的叶绿素含量在三种氮添加频率下是否具有统计学差异($\alpha = 0.05$)。分别计算羊草和冰草在三种氮添加频率下叶绿素含量的平均值,并使用 R 包“ggplot2”绘制柱状图。使用单因素方差分析来比较不同频率氮添加处理对土壤含水量、pH、无机氮含量影响的差异。所有的统计分析和绘图均使用 R 4.2.3 (R Core Team, 2023) 完成。

2 结果

2.1 不同频率氮添加对羊草、冰草叶绿素含量及生物量的影响

线性混合模型方差分析结果表明(表 1):不同频率氮添加显著改变了羊草、冰草叶片叶绿素含量($P < 0.05$),且在物种间差异显著($P < 0.05$)。与对照相比,三个氮添加频率均显著增加了羊草、冰草的叶片叶绿素含量,但是在不同频率氮添加处理之间,羊草和冰草物种间有显著差异。一年一次和每月一次氮添加显著增加了羊草叶绿素含量,而每年两次氮添加下羊草叶绿素含量的增加要低于其他处理。不同频率氮添加都显著促进了冰草叶绿素含量,其中每月一次氮添加下冰草叶绿素含量增加最大(14.74%)。总体来看,随着氮添加频率的增加,冰草叶绿素含量受到的影响越大(图 1)。不同频率氮添加并未对羊草和冰草生物量产生显著影响(图 1)。

表 1 羊草、冰草叶绿素含量和生物量在处理 and 物种间的比较

Table 1 Comparison of treatment, Species and two interact on *L. chinensis* and *A. cristatum* chlorophyll content and biomass

	叶绿素含量 Chlorophyll content			生物量 Biomass		
	df	F	P	df	F	P
处理 Treatment	3,2364	156.457	<0.001	3,40	1.0531	0.3797
物种 Species	1,2367	75.064	<0.001	1,40	31.9255	<0.001
处理×物种 Treatment×Species	3,2365	14.653	<0.001	3,40	1.5665	0.2125

*** 显著性水平为 $P < 0.001$,“x”代表其交互作用

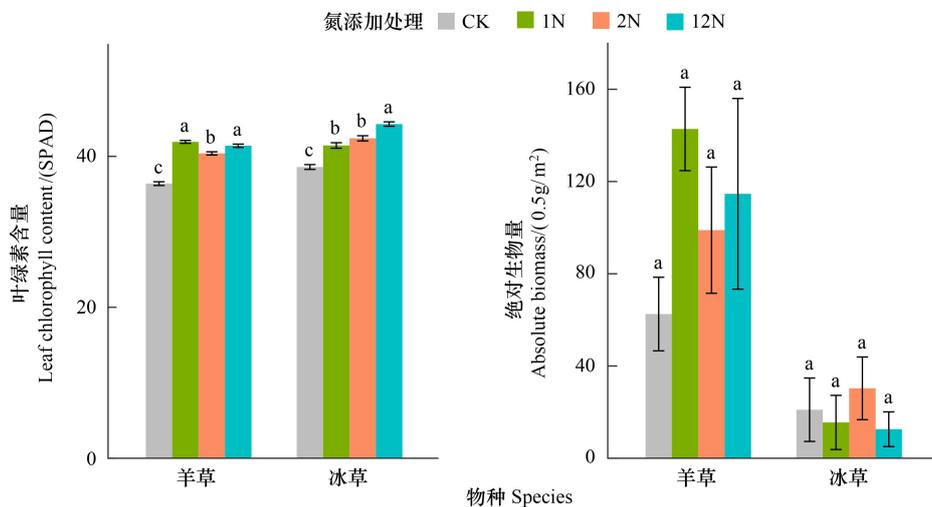


图 1 氮沉降频率对羊草和冰草叶绿素含量及生物量的影响

Fig.1 Effect of nitrogen deposition frequency on *L. chinensis* and *A. cristatum* leaf chlorophyll content and absolute biomass

不同小写字母表示同一物种不同处理间差异显著($P < 0.05$);图中数据为平均值±标准误($n = 6$);其中 CK 为对照处理,1N 为每年一次氮添加,2N 为每年两次氮添加,12N 为每月一次氮添加频率

2.2 不同频率氮添加对土壤特性的影响

不同频率氮添加对土壤 pH 和无机氮含量影响较为显著 ($P < 0.05$), 但对土壤含水量无显著影响 (图 2)。与对照相比, 年一次氮添加对土壤铵态氮、硝态氮和总无机氮的影响最为显著, 显著高于对照和其他氮添加频率处理, 但其他氮添加频率处理与对照间差异不显著 (图 2)。在不同频率氮添加处理间, 每年一次氮添加处理下的土壤铵态氮、硝态氮和无机氮含量最高, 其次是每月一次氮添加, 而每年两次氮添加下的无机氮含量最低 (图 2)。不同频率氮添加对土壤 pH 影响较为显著 ($P < 0.05$), 与对照处理相比氮添加处理均显著降低了土壤 pH, 且在年一次氮添加频率下 pH 值最低 (图 2)。不同频率氮添加处理均对土壤含水量无显著影响 (图 2)。

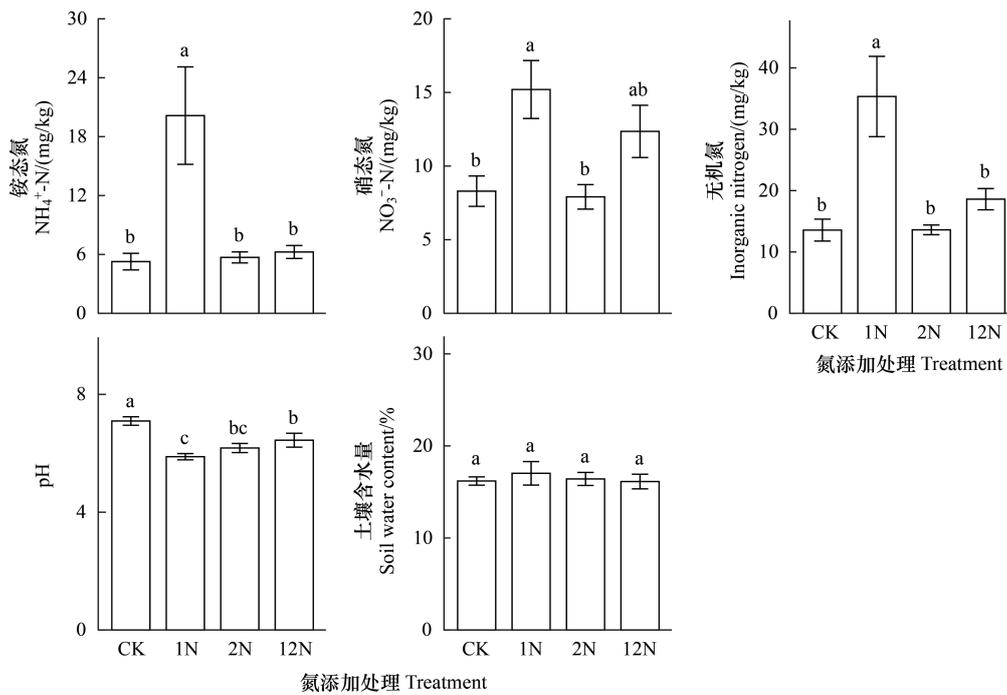


图 2 不同频率氮沉降对土壤特性的影响

Fig.2 Effects of the frequency of N addition on soil properties

不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$); 图中数据为平均值 \pm 标准误 ($n=6$); 其中 CK 为对照处理, 1N 为每年一次氮添加, 2N 为每年两次氮添加, 12N 为每月一次氮添加频率

2.3 环境因子对羊草、冰草叶绿素含量

每月一次氮添加频率下, 羊草叶绿素含量与无机氮含量呈显著正相关关系 ($P < 0.001$), 与硝态氮含量在对照以及三个氮添加处理下均显著相关 ($P < 0.05$), 但在每年两次氮添加下表现出显著负相关关系 ($P < 0.05$ 图 3)。每年两次氮添加频率下, 冰草的叶绿素含量与总无机氮含量呈显著正相关 ($P = 0.02$), 与铵态氮、硝态氮含量线性相关关系并不显著, 仅与硝态氮在对照处理中呈显著正相关关系 (图 3)。根据逐步回归结果可以看出, 羊草主要受土壤硝态氮含量和 pH 影响较为显著, 而冰草主要受到硝态氮的影响 (表 2)。

表 2 土壤特性对羊草、冰草叶绿素含量逐步回归分析结果

Table 2 The results of stepwise regression analysis of soil characteristics on *L. chinensis* and *A. cristatum* leaf chlorophyll content

物种 Species	公式 Formula	R^2	P
羊草 <i>L. chinensis</i>	$Chl = 3.369 NO_3 - 20.355 pH + 319.818$	0.1686	< 0.005
冰草 <i>A. cristatum</i>	$Chl = 1.398 NO_3 + 169.478$	0.01686	0.0445

Chl: 叶绿素 Chlorophyll

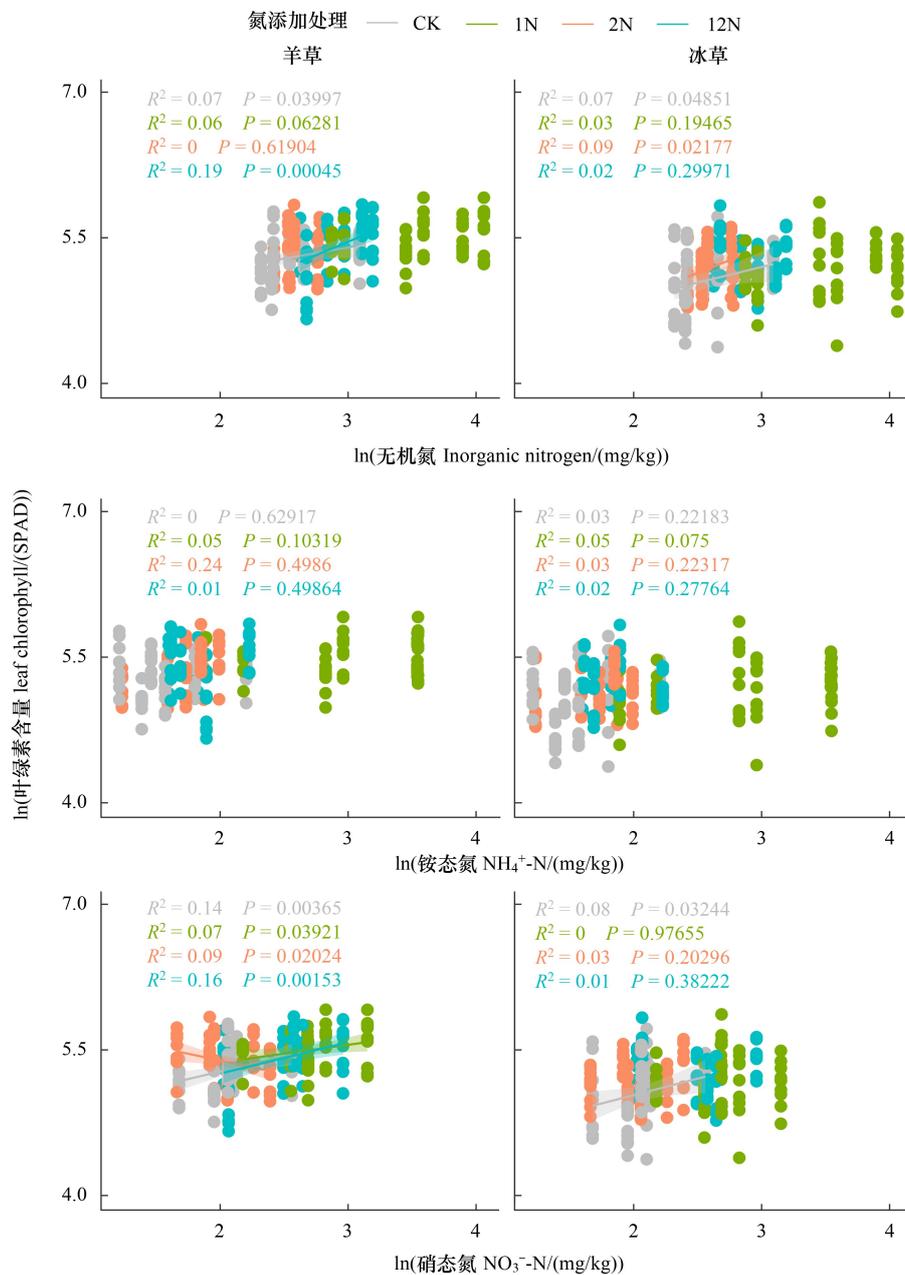


图3 土壤无机氮含量与羊草和冰草叶绿素含量的关系

Fig.3 The relationship between Inorganic nitrogen content and *L. chinensis* and *A. cristatum* leaf chlorophyll content

图中实线对应处理表示该处理下线性关系显著($P < 0.05$); CK 为对照处理, 1N 为每年一次氮添加, 2N 为每年两次氮添加, 12N 为每月一次氮添加频率

从图4可以看出,羊草叶绿素含量与土壤含水量仅在对照中表现出显著负相关关系,氮添加处理与其没有显著的线性关系。羊草叶绿素含量随pH值增加呈现负线性相关关系,且在一年一次氮添加和每年两次氮添加(即低频率氮添加)下负相关关系显著($P < 0.05$)。冰草叶绿素含量与土壤含水量在每月一次氮添加频率下呈显著负相关($P = 0.04$),但与pH无显著相关关系。

3 讨论

本研究选取内蒙古温带草原两个优势禾本科物种(羊草和冰草)叶绿素含量对不同频率氮添加的响应进

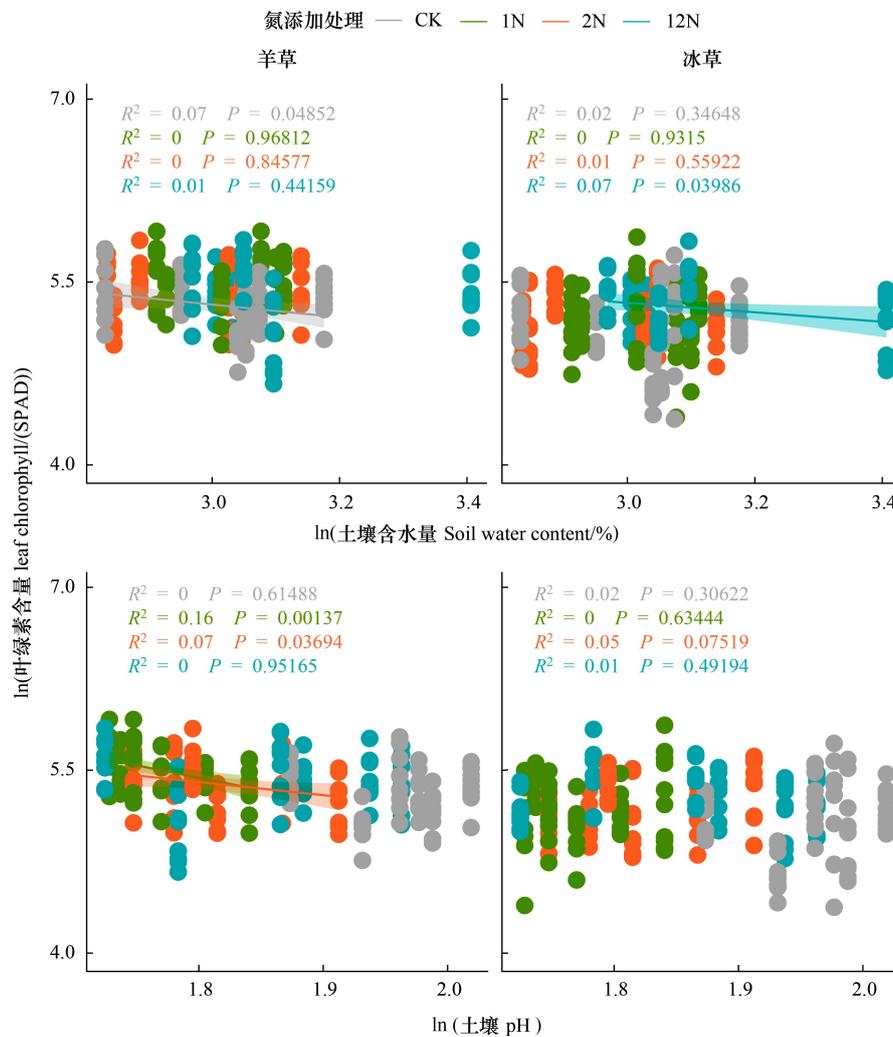


图4 土壤特性与羊草和冰草叶绿素含量的关系

Fig.4 The relationship between soil properties and *L. chinensis* and *A. cristatum* leaf chlorophyll content

图中实线对应处理表示该处理下线性关系显著($P < 0.05$),其中CK为对照处理,1N为每年一次氮添加,2N为每年两次氮添加,12N为每月一次氮添加频率

行量化分析,并将土壤含水量、pH和无机氮含量等指标纳入,分析其对羊草和冰草叶片叶绿素含量的影响。植物在氮含量升高的环境中,对养分的竞争强度降低,并通过改变自身功能性状来获取更多光资源^[21]。叶绿素对绿色植物进行光合作用、产生物质和能量以保证生存来说至关重要,其含量的多少会影响到其在群落中的优势度和生态位^[7,35]。在不同频率氮添加处理下,羊草和冰草的叶绿素含量均显著提高,即通过增加叶绿素含量,捕获更多的光能来提高自身的光合作用。本研究将测得的不同频率氮添加下的羊草和冰草叶绿素含量与土壤含水量、pH和无机氮指标相结合,对不同频率氮添加下羊草、冰草叶片叶绿素含量的变化机理进行更好的阐明。

3.1 不同频率氮添加对土壤pH、含水量以及养分含量的影响

不同草原生态系统由于气候条件、土壤性质的不同,对氮素添加的响应不完全相同。本研究结果表明,氮添加导致土壤pH显著降低(图2),这与大多数研究结果相一致^[36]。其中,在氮添加处理中,每年一次氮添加影响最为显著。氮添加导致土壤酸化可能有两方面原因。一方面,以 NO_3^- 的形式进行氮添加,则会直接导致土壤酸化^[37];另一方面,以 NH_4^+ 的形式进行氮添加,那么 NH_4^+ 在植物吸收以及硝化过程中也会释放出 H^+ 进

而导致土壤酸化^[38]。土壤铵态氮、硝态氮和无机氮在每年一次氮添加下均显著增加,而每年一次高剂量氮输入诱导的土壤酸化导致土壤 pH 值降低。

在内蒙古草原,受到氮素有效性制约的同时也受到水分的制约^[39]。在水分条件差的情况下,水分是限制草原初级生产力水平的首要因子,在降水充足或降水分布比较好的情况下,限制因子才会由水分向氮素转移。本研究发现,氮添加对土壤含水量无显著影响,这与先前的研究一致^[40]。本研究中,不同频率氮添加并没有导致地上生物量显著增加,尽管氮添加诱导的叶片叶绿素含量增加会提高植物光合作用速率,但是否会对植物叶片蒸腾作用产生影响仍未知。实验地土壤含水量和地上生产力没有随着氮添加频率而变化,侧面反映出在内蒙古半干旱典型草原水分是影响植物生长的主要限制因子。

3.2 不同频率氮添加对羊草、冰草叶片叶绿素含量和地上生物量的影响

研究表明不同频率氮添加显著增加了羊草、冰草的叶绿素含量(图 1),增强了其对光的截获能力,这与前人的研究一致^[7,23]。同时发现每年一次氮添加显著增加羊草叶绿素含量,而每月一次氮添加对冰草叶绿素含量影响显著,表明两个物种在养分吸收策略上可能存在物种差异。每年一次氮添加对羊草叶绿素含量影响显著,这与前人的研究一致^[7],而每年两次氮添加对羊草叶绿素含量的影响最小,这一结果与之前的研究不同^[7]。本文中每年两次氮添加频率处理下土壤中无机氮含量最低,而土壤中无机氮含量会直接影响土壤氮素有效性^[7],导致羊草在每年两次氮添加频率下从土壤中吸收的用于生成叶片叶绿素的氮素较少,因此仅在生长季节的氮添加可能会高估氮素有效性及其对羊草叶片叶绿素含量的影响。此外,这些非生长季节的氮富集可能通过淋溶、径流和反硝化造成氮的损失^[30]。因此,与仅在生长季氮添加相比,大气氮沉降可能导致非生长季土壤氮有效性降低。但冰草却表现出了相反的结果,每月一次氮添加对冰草叶绿素影响显著,可能是因为冰草根对养分的吸收灵活性较差^[41],每年一次氮添加造成的养分脉冲较大,超过了冰草根系的吸收能力,而每月一次的低频率氮添加养分输入方式较为缓和,较为适应冰草根对养分的吸收利用。

氮添加使得羊草和冰草叶片中的叶绿素含量均显著增加(图 1)。这可能是由于绿色植物在进行光合作用的过程中,叶绿素含量的多少对捕获环境中可利用的光能至关重要^[6]。不同频率氮添加有利于羊草和冰草储存更多的氮素供后期使用,并且氮素是叶绿素生成过程中不可或缺的元素之一^[42-43],植物体内氮素的积累可以使得参与叶绿素生成的相关酶浓度和活性有所增加,从而间接使得植物体内叶绿素含量增加^[44]。

羊草是多年生根茎型禾草,具备发达的根茎结构^[42]且具有发达的根鞘,能够将氮素储存在根茎中以供后期使用,并且羊草可以较为灵活地适应较大范围的环境变化,具有快速寻找和吸收土壤中氮元素的能力^[45-46],所以低频率氮添加有利于羊草储存更多的氮,并促进生长季的生物生产。与之不同的冰草是丛生型禾草,其根系分布范围较根茎型小,根鞘不发达,所以在资源吸收利用和协调方面的灵活性较差,一年一次的氮添加量超过了其根系吸收能力,相比之下每月一次的氮添加频率对其养分供给效果更好^[41]。与预期相反,并未发现三种氮添加频率间羊草、冰草地上生物量的显著差异。添加氮后地上生物量无显著增加可能是由于植物氮吸收增强和植物氮利用效率降低之间的平衡关系所致,例如 Lü 等的研究表明包括草原在内的各种生态系统中,植物氮利用效率与土壤氮有效性呈负相关关系^[47]。随着氮添加频率增加,羊草和冰草叶绿素含量呈不同递变趋势,羊草在每年一次氮添加下叶绿素含量最高,冰草叶片叶绿素含量随氮添加频率增加而增加,表明氮添加频率改变了二者的资源利用策略,羊草更适应低频率氮添加,而冰草更倾向高频率氮输入方式。

3.3 羊草、冰草叶片叶绿素含量对环境因素的响应

本研究发现氮添加处理显著增加了土壤中铵态氮、硝态氮和总无机氮含量,并且在每年一次氮添加下影响最为显著($P < 0.005$),这与前人的研究一致^[48-49],说明生长季氮添加使得土壤中氮素有效性最大化。羊草具备发达的根茎结构^[50]和灵活的养分吸收策略^[45],这可能是造成在氮添加处理下,羊草叶绿素含量与无机氮含量表现出正线性相关关系的原因。而每年两次氮添加对土壤硝态氮含量的影响最小(图 2),即土壤氮素可用性在该处理下最低,加之冰草对硝态氮的吸收偏好可能导致二者之间存在硝态氮的养分竞争,这可用于解释羊草叶绿素含量在每年两次氮添加频率下与硝态氮含量呈负相关。冰草叶绿素含量与铵态氮和硝态氮

含量无显著相关关系,仅与无机氮含量在每年两次氮添加下呈显著正相关。虽然冰草本身偏好吸收硝态氮^[41],但铵态氮和硝态氮之间的氧化还原转化,植物、土壤和季节变化都可能会导致冰草对无机氮的吸收和获取会随氮添加表现出非线性关系^[45-46]。加之冰草本身体型较小,丛生型根系分布范围不发达,资源吸收协调利用方面的灵活性较差^[41],养分脉冲较大的氮添加会超过其根系吸收能力,而每年两次氮添加对无机氮含量的增加幅度最小,养分输入相对和缓,导致冰草叶绿素含量与无机氮在每年两次氮添加下呈现出正相关关系。

本文的结论仅基于羊草和冰草叶绿素含量这光合生理特征,未来需将其与叶片形态特征(如叶面积、株高等)相结合,系统地揭示叶片功能性状对环境因子协同变化的响应规律。本研究采用的氮素添加策略克服了以往研究多采用的低频率和单次添加导致的脉冲效应,能更好地预测叶片功能性状对环境氮资源变化的响应,并对模拟实验中氮素添加频率对预测植物功能性状变异具有重要意义,这对于揭示植物的资源利用策略及其环境适应性至关重要。

4 结论

本研究从内蒙古温带草原优势物种羊草和冰草叶绿素含量入手来研究草地生态系统对不同氮素添加频率处理的响应。施用氮肥可以使该地区草地植物群落主要优势物种(羊草和冰草)光合性状之一的叶绿素含量显著增加。低频率氮添加下羊草叶绿素含量显著高于高频率氮添加下的叶绿素含量,高频率氮添加导致非生长季土壤氮素有效性降低,所以低频率的氮添加可能会放大羊草叶绿素含量对氮沉降的效应。而高频率氮添加下冰草叶绿素含量显著高于低频率氮添加处理,说明羊草和冰草物种间的养分吸收策略存在差异。土壤特性对羊草冰草叶绿素含量有重要影响,低频率氮添加下硝态氮和 pH 与羊草叶绿素含量呈显著相关,而高频率氮添加下含水量显著影响冰草叶绿素含量。总之,本文探究了不同氮添加频率(每年一次、每年两次和每月一次氮添加频率)对内蒙古典型草原优势物种羊草和冰草叶绿素含量的影响,有助于全面理解草地生态系统植物光合功能性状对大气氮沉降的响应机制,对植物生理生态性状调节植物应对全球变化的适应和进化,以及通过植物功能性状预测群落组成变化和生态系统功能具有重要意义。

参考文献(References):

- [1] 孟婷婷,倪健,王国宏. 植物功能性状与环境 and 生态系统功能. 植物生态学报, 2007, 31(1): 150-165.
- [2] 何念鹏,刘聪聪,张佳慧,徐丽,于贵瑞. 植物性状研究的机遇与挑战:从器官到群落. 生态学报, 2018, 38(19): 6787-6796.
- [3] 刘晓娟,马克平. 植物功能性状研究进展. 中国科学:生命科学, 2015, 45(4): 325-339.
- [4] Díaz S, Lavorel S, de Bello F, Quétier F, Grigulis K, Robson T M. Incorporating plant functional diversity effects in ecosystem service assessments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(52): 20684-20689.
- [5] Li R H, Zhu S D, Lian J Y, Zhang H, Liu H, Ye W H, Ye Q. Functional traits are good predictors of tree species abundance across 101 subtropical forest species in China. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 541577.
- [6] Croft H, Chen J M, Luo X Z, Bartlett P, Chen B, Staebler R M. Leaf chlorophyll content as a proxy for leaf photosynthetic capacity. *Global Change Biology*, 2017, 23(9): 3513-3524.
- [7] 张云海,何念鹏,张光明,黄建辉,韩兴国. 氮沉降强度和频率对羊草叶绿素含量的影响. 生态学报, 2013, 33(21): 6786-6794.
- [8] Li Y, He N P, Hou J H, Xu L, Liu C C, Zhang J H, Wang Q F, Zhang X M, Wu X Q. Factors influencing leaf chlorophyll content in natural forests at the biome scale. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2018, 6: 64.
- [9] Vitousek P M, Aber J D, Howarth R W, Likens G E, Matson P A, Schindler D W, Schlesinger W H, Tilman D G. Technical report: human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecological Applications*, 1997, 7(3): 737.
- [10] Krause K, Cherubini P, Bugmann H, Schleppei P. Growth enhancement of *Picea abies* trees under long-term, low-dose N addition is due to morphological more than to physiological changes. *Tree Physiology*, 2012, 32(12): 1471-1481.
- [11] Wang G L, Liu F. Carbon allocation of Chinese pine seedlings along a nitrogen addition gradient. *Forest Ecology and Management*, 2014, 334: 114-121.
- [12] Du J, Shu S, Shao Q S, An Y H, Zhou H, Guo S R, Sun J. Mitigative effects of spermidine on photosynthesis and carbon-nitrogen balance of

- cucumber seedlings under $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ stress. *Journal of Plant Research*, 2016, 129(1): 79-91.
- [13] Cui E Q, Weng E S, Yan E R, Xia J Y. Robust leaf trait relationships across species under global environmental changes. *Nature Communications*, 2020, 11: 2999.
- [14] 翟占伟, 龚吉蕊, 罗亲普, 潘琰, 宝音陶格涛, 徐沙, 刘敏, 杨丽丽. 氮添加对内蒙古温带草原羊草光合特性的影响. *植物生态学报*, 2017, 41(2): 196-208.
- [15] Liang X Y, Zhang T, Lu X K, Ellsworth D S, BassiriRad H, You C M, Wang D, He P C, Deng Q, Liu H, Mo J M, Ye Q. Global response patterns of plant photosynthesis to nitrogen addition: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 2020, 26(6): 3585-3600.
- [16] Hautier Y, Niklaus P A, Hector A. Competition for light causes plant biodiversity loss after eutrophication. *Science*, 2009, 324(5927): 636-638.
- [17] Lavorel S, Grigulis K. How fundamental plant functional trait relationships scale-up to trade-offs and synergies in ecosystem services. *Journal of Ecology*, 2012, 100(1): 128-140.
- [18] 周一平, 张玉革, 马望, 梁潇洒, 马欣雨, 王正文. 氮添加和干旱对呼伦贝尔草原 5 种植物性状的影响. *生态环境学报*, 2020, 29(1): 41-48.
- [19] Tian Q Y, Lu P, Ma P F, Zhou H R, Yang M, Zhai X F, Chen M M, Wang H, Li W C, Bai W M, Lambers H, Zhang W H. Processes at the soil-root interface determine the different responses of nutrient limitation and metal toxicity in forbs and grasses to nitrogen enrichment. *Journal of Ecology*, 2021, 109(2): 927-938.
- [20] Zhao M, Zhang H X, Baskin C C, Wei C Z, Yang J J, Zhang Y H, Jiang Y, Jiang L, Han X G. Intra-annual species gain overrides species loss in determining species richness in a typical steppe ecosystem after a decade of nitrogen enrichment. *Journal of Ecology*, 2022, 110(8): 1942-1956.
- [21] 肖胜生, 董社社, 齐玉春, 彭琴, 何亚婷, 刘欣超. 内蒙古温带草原羊草叶片功能特性与光合特征对外源氮输入响应. *环境科学学报*, 2010, 30(12): 2535-2543.
- [22] 梁潇洒, 马望, 王洪义, 雒文涛, 王正文. 呼伦贝尔草原 3 种植物的功能性状对氮磷添加的响应. *中国草地学报*, 2019, 41(1): 61-67.
- [23] 詹书侠, 郑淑霞, 王扬, 白永飞. 羊草的地上-地下功能性状对氮磷施肥梯度的响应及关联. *植物生态学报*, 2016, 40(1): 36-47.
- [24] Zhang H X, Li W B, Adams H D, Wang A Z, Wu J B, Jin C J, Guan D X, Yuan F H. 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.
- [25] 万宏伟, 杨阳, 白世勤, 徐云虎, 白永飞. 羊草草原群落 6 种植物叶片功能特性对氮素添加的响应. *植物生态学报*, 2008, 32(3): 611-621.
- [26] Diaz S, Cabido M, Casanoves F. Plant functional traits and environmental filters at a regional scale. *Journal of Vegetation Science*, 1998, 9(1): 113-122.
- [27] 周晓兵, 张元明. 干旱半干旱区氮沉降生态效应研究进展. *生态学报*, 2009, 29(7): 3835-3845.
- [28] Mo J, Zhang W, Zhu W X, Gundersen P, Fang Y T, Li D J, Wang H. Nitrogen addition reduces soil respiration in a mature tropical forest in Southern China. *Global change biology*, 2008, 14(2): 403-412.
- [29] 周纪东, 史荣久, 赵峰, 韩斯琴, 张颖. 施氮频率和强度对内蒙古温带草原土壤 pH 及碳、氮、磷含量的影响. *应用生态学报*, 2016, 27(8): 2467-2476.
- [30] Zhang Y H, Lü X T, Isbell F, Stevens C, Han X, He N P, Zhang G M, Yu Q, Huang J H, Han X G. Rapid plant species loss at high rates and at low frequency of N addition in temperate steppe. *Global Change Biology*, 2014, 20(11): 3520-3529.
- [31] Ren Z R, Zhang Y Q, Zhang Y H. Nitrogen deposition magnifies the positive response of plant community production to precipitation: ammonium to nitrate ratio matters. *Environmental Pollution*, 2021, 276: 116659.
- [32] Song C C, Zhang Y Q, Ren Z R, Lu H N, Chen X, Liu R X, Chen J G, Zhang Y H. Soil nitrate mediates the responses of plant community production to the frequency of N addition in a temperate grassland: a decadal field experiment. *Plant and Soil*, 2023, 491(1): 9-20.
- [33] Uddling J, Gelang-Alfredsson J, Piikki K, Pleijel H. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthesis Research*, 2007, 91(1): 37-46.
- [34] Yan Z B, Guo Z F, Serbin S P, Song G Q, Zhao Y Y, Chen Y, Wu S B, Wang J, Wang X, Li J, Wang B, Wu Y T, Su Y J, Wang H, Rogers A, Liu L L, Wu J. Spectroscopy outperforms leaf trait relationships for predicting photosynthetic capacity across different forest types. *The New Phytologist*, 2021, 232(1): 134-147.
- [35] Goedhart C M, Pataki D E, Billings S A. Seasonal variations in plant nitrogen relations and photosynthesis along a grassland to shrubland gradient in Owens Valley, California. *Plant and Soil*, 2010, 327(1): 213-223.
- [36] Guo X, Wang R Q, Chang R Y, Liang X Q, Wang C D, Luo Y J, Yuan Y F, Guo W H. Effects of nitrogen addition on growth and photosynthetic characteristics of *Acer truncatum* seedlings. *Dendrobiology*, 2014, 72: 151-161.
- [37] Stevens C J, Thompson K, Grime J P, Long C J, Gowing D J G. Contribution of acidification and eutrophication to declines in species richness of calcifuge grasslands along a gradient of atmospheric nitrogen deposition. *Functional Ecology*, 2010, 24(2): 478-484.

- [38] Nakaji T, Takenaga S, Kuroha M, Izuta T. Photosynthetic response of *Pines densiflora* seedlings to high nitrogen load. *Environmental Sciences*, 2002, 9(4): 269-282.
- [39] Chen Q, Hooper D U, Lin S. Shifts in species composition constrain restoration of overgrazed grassland using nitrogen fertilization in Inner Mongolian steppe, China. *PLoS One*, 2011, 6(3): e16909.
- [40] 陈鸿飞, 赵芳草, 王一昊, 董宽虎, 王常慧, 陈晓鹏. 氮添加对盐渍化草地根际土壤理化性质的影响. *应用生态学报*, 2023, 34(1): 67-74.
- [41] Liu M, Li H M, Song J J, Song M H, Qiao N, Tian Y Q, Liu Y J, Niu H S. Interactions between intercropped *Avena sativa* and *Agropyron cristatum* for nitrogen uptake. *Plant and Soil*, 2020, 447: 611-621.
- [42] Wu C, Wang Z Q, Sun H L, Guo S L. Effects of different concentrations of nitrogen and phosphorus on chlorophyll biosynthesis, chlorophyll a fluorescence, and photosynthesis in *Larix olgensis* seedlings. *Frontiers of Forestry in China*, 2006, 1(2): 170-175.
- [43] 黄成能, 卢晓鹏, 肖玉明, 李静, 曹雄军, 孙敏红, 谢深喜. 施氮对桤柑叶片氮同化叶绿素合成关键酶基因表达的影响. *果树学报*, 2014, 31(1): 7-12.
- [44] Davies W J, Bacon M A, Stuart Thompson D, Sobeih W, González Rodríguez L. Regulation of leaf and fruit growth in plants growing in drying soil: exploitation of the plants' chemical signalling system and hydraulic architecture to increase the efficiency of water use in agriculture. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(350): 1617-1626.
- [45] Xi N X, Zhu B R, Zhang D Y. Contrasting grass nitrogen strategies reflect interspecific trade-offs between nitrogen acquisition and use in a semi-arid temperate grassland. *Plant and Soil*, 2017, 418(1): 267-276.
- [46] Cao J R, Yang L Y, Pang S, Yang J J, Hu Y C, Li Y C, Li L H, Wang Q B. Convergent nitrogen uptake patterns and divergent nitrogen acquisition strategies of coexisting plant species in response to long-term nitrogen enrichment in a temperate grassland. *Environmental and Experimental Botany*, 2021, 185: 104412.
- [47] Lü X T, Dijkstra F A, Kong D L, Wang Z W, Han X G. Plant nitrogen uptake drives responses of productivity to nitrogen and water addition in a grassland. *Scientific Reports*, 2014, 4: 4817.
- [48] 樊后保, 刘文飞, 徐雷, 李燕燕, 廖迎春, 王启其, 张子文. 氮沉降下杉木(*Cunninghamia lanceolata*)人工林凋落叶分解过程中C、N元素动态变化. *生态学报*, 2008, 28(6): 2546-2553.
- [49] Bai Y F, Han X G, Wu J G, Chen Z Z, Li L H. Ecosystem stability and compensatory effects in the Inner Mongolia grassland. *Nature*, 2004, 431: 181-184.
- [50] Wang R Z, Gao Q. Morphological responses of *Leymus chinensis* (Poaceae) to the large-scale climatic gradient along the North-east China Transect (NECT). *Diversity and Distributions*, 2004, 10(1): 65-73.