

李 蕾, 吴明君, 林冰艳, 等. 二氧化碳倍增对植物叶片¹⁵N 自然丰度的影响[J]. 地球科学与环境学报, 2024, 46(3): 298-306.
LI Lei, WU Ming-jun, LIN Bing-yan, et al. Effect of Carbon Dioxide Enrichment on ¹⁵N Natural Abundance of Leaves[J]. Journal of Earth Sciences and Environment, 2024, 46(3): 298-306.

DOI: 10.19814/j.jese.2023.12003

二氧化碳倍增对植物叶片¹⁵N 自然丰度的影响

李 蕾*, 吴明君, 林冰艳, 孙嫣然, 徐艺宁, 汪旭明, 巩晓颖

(福建师范大学 地理科学学院/碳中和未来技术学院, 福建 福州 350007)

摘 要: 大气 CO₂ 浓度上升通常会提高植物生产力并伴随叶片氮含量的下降。然而大气 CO₂ 如何影响叶片¹⁵N 丰度及其相关机理还不清楚。以小麦和向日葵为实验材料, 测定了两个 CO₂ 浓度 (410 与 820 μmol · mol⁻¹) 处理下叶片的氮同位比值 (δ¹⁵N) 和氮含量。结果表明: 小麦和向日葵叶片氮含量随 CO₂ 浓度升高呈下降趋势, 然而 δ¹⁵N 对 CO₂ 浓度倍增的响应存在差异。在高 CO₂ 浓度处理下小麦叶片 δ¹⁵N 显著下降 6.5‰, 而向日葵叶片 δ¹⁵N 小幅上升 2.1‰, 且叶片和地上部生物量显著增加。基于此, 小麦的氮营养特征符合氮同化受限假说, 而向日葵符合稀释效应假说。小麦叶片 δ¹⁵N 随叶龄或者细胞年龄的增加而显著下降, 因此在利用¹⁵N 来研究植物氮代谢时需要区分叶龄的影响。整合分析结果表明, CO₂ 浓度升高导致非豆科 C₃ 植物的 δ¹⁵N 显著下降达 0.3‰, 与小麦的研究结果相符。综上所述, 限制硝态氮同化是 CO₂ 影响植物氮代谢和¹⁵N 丰度的重要机制。

关键词: 植物氮代谢; 氮同化; ¹⁵N 自然丰度; CO₂ 浓度; 叶龄; 氮利用效率; 氮含量; 稀释效应

中图分类号: Q945

文献标志码: A

文章编号: 1672-6561(2024)03-0298-09

Effect of Carbon Dioxide Enrichment on ¹⁵N Natural Abundance of Leaves

LI Lei*, WU Ming-jun, LIN Bing-yan, SUN Yan-ran, XU Yi-ning,
WANG Xu-ming, GONG Xiao-ying

(School of Geographical Sciences/School of Carbon Neutrality Future Technology,
Fujian Normal University, Fuzhou 350007, Fujian, China)

Abstract: Plant productivity is enhanced by elevated atmospheric CO₂ concentration, but N content of leaf is reduced. How atmospheric CO₂ affects leaf ¹⁵N composition and the related mechanisms remain unclear. δ¹⁵N and N content of wheat and sunflower leaves were determined under two CO₂ concentration (410 and 820 μmol · mol⁻¹) treatments. The results show that the N content of both species decreases with elevated CO₂ concentration, but the response of δ¹⁵N to CO₂ enrichment is different between wheat and sunflower. Under high CO₂ concentration treatment, δ¹⁵N of wheat leaves decreases significantly by 6.5‰, while δ¹⁵N of sunflower leaves increases slightly by 2.1‰, accompanied by a significant increase in leaf mass and aboveground biomass. Therefore, N nutrition characteristics of wheat are consistent with N assimilation

收稿日期: 2023-12-04; 修回日期: 2024-03-20 投稿网址: <http://jese.chd.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31870377, 32120103005, 32201277)

* 通信作者: 李 蕾 (1986-), 女, 江西东乡人, 实验师, E-mail: LL0710@fjnu.edu.cn.

limitation hypothesis, while the response of sunflower is consistent with dilution effect hypothesis. $\delta^{15}\text{N}$ in wheat leaves decreases significantly with leaf aging and cell aging. Therefore, when using $\delta^{15}\text{N}$ to infer environmental impacts on plant N metabolism, it is necessary to account for the leaf age effect. The results of meta-analysis show that $\delta^{15}\text{N}$ of non-legume C_3 plants decreases significantly by 0.3‰ under elevated CO_2 concentration, in line with our results on wheat plants. The study shows that the inhibited N assimilation is an important mechanism related to the CO_2 effect on N metabolism and ^{15}N content of plants.

Key words: plant N metabolism; N assimilation; ^{15}N natural abundance; CO_2 concentration; leaf age; N-use efficiency; N content; dilution effect

0 引言

由于人类活动,大气中的 CO_2 浓度由工业革命前的 $280\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 上升至 $424\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ [1], 并仍在逐年上涨,与之伴随的是全球变暖和各种极端天气的频发 [2]。植物作为维护生态系统功能的重要环节,如何应对 CO_2 浓度升高成为生态学和地球科学研究的热点。植物光合作用过程中,核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)既能催化 CO_2 的羧化反应,也能催化光呼吸过程 [3],其含量决定了植物的光合能力 [4]。因此,植物叶片中大部分的氮被分配于 Rubisco 中 [4]。大气 CO_2 浓度的升高可抑制光呼吸,从而提高光合效率,该效应通常被称为 CO_2 施肥效应 [5]。然而,大量的开放式 CO_2 富集实验(Free-air CO_2 Enrichment, FACE)数据表明: CO_2 升高虽然能提高植物生物量和氮利用效率,可是这种施肥效应随着时间的推移逐步降低,对于陆地生态系统碳循环将产生深远的影响 [6-7]。 CO_2 施肥效应的下降可能与植物的氮含量或者 Rubisco 含量下降有关 [8-11],但相关机理还不清楚。

目前,对于 CO_2 浓度升高对植物氮同化影响的认知仍不充分 [12],相关研究未得到一致结果。在高 CO_2 浓度下,因光呼吸受到抑制, C_3 植物的光合效率被大大提升。但光呼吸过程又与氮同化过程密切相关,其中包括两个途径:①重新回收谷氨酸在转化成丝氨酸的过程中释放的氨(NH_4^+)。该过程需要大量的能量和还原态的铁氧化还原蛋白 [13-14]。②同化新进入叶片的硝态氮(NO_3^-)。叶片中的 NO_3^- 在硝酸还原酶(NR)和亚硝酸盐还原酶(NiR)作用下还原成 NH_4^+ 后,通过谷氨酰胺合成酶-谷氨酸(GS-GOGAT)合成途径,利用光呼吸过程的中间产物作为碳骨架合成多种氨基酸 [15-17]。丝氨酸作为多种氨基酸的前体,主要来源于光呼吸过程,因此,当光呼吸受到抑制时可能会影响氮同化 [18]。Bloom 等研

究发现,小麦、拟南芥在铵营养下比在硝营养下对大气 CO_2 升高的响应更显著 [19-21]。在高 CO_2 浓度下生长的叶片中,游离态的 NO_3^- 与总叶氮的占比升高,因此认为植物氮含量下降与叶片光呼吸相关的硝态氮同化受阻有关 [22]。但是其他研究团队发现,尽管 CO_2 升高导致植物氮含量下降,但植物同化的氮总量仍然高于相较于低 CO_2 浓度处理。因此,这些研究认为植物的氮同化并未受阻,氮含量的下降主要还是因为碳同化的速率高于氮同化的速率而造成的稀释效应 [7]。

植物氮同位素比值($\delta^{15}\text{N}$)作为综合评估氮循环的重要工具,被广泛用于陆地生态系统氮循环研究 [23-24] 和植物氮代谢研究 [25-27]。由于植物氮同化过程的分馏效应,植物组织的 $\delta^{15}\text{N}$ 相较于氮源相对贫化,但分馏大小与氮素形态(铵态氮、硝态氮、有机氮) [28]、氮素浓度 [29]、植物氮吸收同化转运机制 [30]、植株年龄 [29] 及其他环境因素相关 [31]。硝态氮同化相关的分馏效应通常受底物浓度影响,土壤溶液中低的硝态氮浓度可导致较低的分馏效应 [32]。据全球尺度数据的整合分析,植物叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 通常与土壤硝态氮含量和叶片氮含量成正相关关系 [26]。因此,植物叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 通常可作为表征土壤氮素有效性和植物氮营养状况的指标 [26]。此外,植物组织的 $\delta^{15}\text{N}$ 包含了代谢产物的 $\delta^{15}\text{N}$ 信息,通过细分各种器官及代谢产物的 $\delta^{15}\text{N}$ 信息可以探究植物内的氮代谢特征 [32]。叶片生长是能量获取和生产力提高的重要过程,也是对非生物胁迫响应最敏感的过程之一 [33]。然而,植物叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 如何响应 CO_2 浓度变化、能否反映 CO_2 倍增对叶片氮代谢的影响还不清楚。

本文以小麦和向日葵为研究对象,测定了两个 CO_2 浓度处理(410 与 $820\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)下叶片的 $\delta^{15}\text{N}$ 和氮含量及其他性状指标,拟探究以下问题:①小麦和向日葵氮含量对 CO_2 升高的响应机制是否相同? ②利用 $\delta^{15}\text{N}$ 评估植物氮营养情况时,是否

需要考虑叶龄或者细胞年龄带来的影响? 为证实实验结果的普适性, 笔者还搜集了已发表文献中不同植物类型(豆科与非豆科 C_3 植物、 C_4 植物)氮含量和 $\delta^{15}\text{N}$ 的数据, 分析了 CO_2 浓度升高对叶片氮含量和 $\delta^{15}\text{N}$ 的影响。

1 材料与方法

1.1 植物材料与生长条件

本研究使用小麦和向日葵两种常见 C_3 植物作为实验材料。实验采用土培方法, 将植物种子播种在装有营养土(美国 Scotts Miracle-Gro 公司)的塑料盆(长 10 cm、宽 10 cm、高 14 cm)中进行培养, 营养土中含有 0.68% N, 0.36% K_2O 和 0.27% P_2O_5 。利用两个人工气候室(ZSX1500GS, 武汉瑞华仪器设备有限责任公司)分别设置两个 CO_2 浓度处理: $410\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ (当前大气 CO_2 浓度, 对照处理)和 $820\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ (高 CO_2 浓度处理)。人工气候室的内部尺寸为长 1.45 m、宽 0.72 m、高 1.63 m, 容积为 1 500 L。除了 CO_2 浓度不同外, 两个气候室其余环境参数设定均保持一致: 每天光照时长为 16 h, 且该期间植物冠层顶部的光照强度控制在 $700\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; 昼夜温度为 $25\ ^\circ\text{C}$; 光照时期和黑暗时期的相对湿度均为 70%。为了避免水分胁迫, 每 2~3 d 给植株浇一次水, 整个实验周期大约为 60 d。该实验的每个处理设置 5 个重复, 共对 20 株植物进行测定。

1.2 样品处理

沿茎选取顶部(年轻叶)、中部(中龄叶)和底部(老龄叶)的完全展开、无衰老迹象的叶片用于两种植物叶龄研究。选取长势良好的小麦年轻完全展开叶沿着叶脉用剪刀分成 3 个部分(叶尖、叶中部和叶基部), 用于叶片内不同部位的研究。从叶基部到叶尖组织细胞的年龄逐步增加。所用植株取地上部分, 测量叶片面积、鲜重后, 叶片样品和其余地上部分在 $70\ ^\circ\text{C}$ 的温度下烘干至恒定质量, 称量完干重后, 用球磨机(Tissuelyser-24, 上海净信实业发展有限公司)将叶片研磨混匀后用于氮含量和氮同位素比值分析。

1.3 叶片特征参数与氮同位素分析

1.3.1 叶片特征参数测定

利用 Image J 软件(NIH, 美国)和完整鲜叶的图像获得叶片面积。比叶面积(SLA)由叶片面积与叶片干重之比计算得到。

1.3.2 叶片氮含量和 $\delta^{15}\text{N}$ 分析

粉末样品称量 4.5 mg 包入锡杯, 利用元素分析仪(EA, VARIO ELIII, Elementar Analysen Systeme GmbH, 德国)测得叶氮含量。单位面积叶氮含量(N_{area})由氮含量与叶片面积之比计算得到。 $\delta^{15}\text{N}$ 由 EA-IRMS 联测系统测得(EA, Flash2000, Thermo Fisher; IRMS, Delta V Plus, Thermo Fisher, 德国)。将约 4 mg 样品粉末包入锡杯, 在元素分析仪中充分燃烧并还原成 N_2 后, 随着氦气送入 IRMS 中测得 $\delta^{15}\text{N}$ 。其中每 10 个样品插入一个小麦标样用来检验数据的准确性, 并矫正测量中产生的系统漂移。所有分析样品和标样的同位素比值均由实验室的参考气相对量得出, 参考气的同位素比值按 AIR- N_2 标准校准得出。实验测量 $\delta^{15}\text{N}$ 的精确度(标准偏差)为 0.15‰。

1.4 文献数据收集

为了研究 CO_2 浓度升高对植物氮同化的影响, 利用 ^{15}N Natural Abundance、 $\delta^{15}\text{N}$ 、Natural N Isotopic Abundance、 CO_2 Enrichment、Rising CO_2 、Elevated CO_2 、Plant N Assimilation 等关键词在谷歌引擎中搜索已发表文献的图表, 经分析最终筛选出 15 篇可用于荟萃分析的文献。对文献中的数据按以下标准进行筛选: ①当图表涉及多种 CO_2 浓度, 选择浓度最高时对应的氮含量与 $\delta^{15}\text{N}$; ②如同一 CO_2 浓度对应多个处理时期, 选择处理时间最长的数值; ③如有 ^{15}N 标记处理, 仅使用自然丰度数据; ④仅使用年轻成熟叶片或者禾本科植物地上部分的氮同位素自然丰度值。本文最终获得 81 对数据, 每对数据的样本数量、均值和方差(标准误差和标准差)均予收集。由于搜集到的文献并未包括不同叶龄、叶片部位的氮含量与 $\delta^{15}\text{N}$ 数据, 所以整合分析部分仅分析了植物功能类型(豆科和非豆科 C_3 植物、 C_4 植物)和 CO_2 浓度处理的效应。

1.5 数据分析

1.5.1 双因素方差分析

利用 SPSS26.0 软件检验叶龄、叶片不同部位、 CO_2 浓度及它们之间的交互效应对植物叶片特征参数和氮同位素的影响。数值以均值±标准误差的形式表示。图表使用 SigmaPlot 软件进行绘制。数据进行了方差齐性检验, 各组数据均值比较采用成对样本 t 检验, 显著性水平设置为 $p < 0.05$ 。

1.5.2 整合分析

本研究使用整合(Meta)分析来研究 CO_2 浓度升高对植物氮同化的总体影响。单个研究案例的效

应值(y_i)通过比较处理组(高 CO_2 浓度)中 $\delta^{15}\text{N}$ 的平均值(\bar{X}_t)和对照组(低 CO_2 浓度)中 $\delta^{15}\text{N}$ 的平均值(\bar{X}_c)之间的差异得到。其计算公式为

$$y_i = \bar{X}_t - \bar{X}_c \quad (1)$$

案例内方差(v)计算公式为

$$v = \frac{N_t + N_c}{N_t N_c} \quad (2)$$

式中: N_t 、 N_c 分别为高 CO_2 浓度和低 CO_2 浓度的样本数。

使用随机效应模型, y_i 的权重因子 w_i 计算公式为

$$w_i = \frac{1}{v + \tau^2} \quad (3)$$

式中: τ^2 为案例间方差,一般通过限制性最大似然法(Restricted Maximum Likelihood, REML)进行参数估计。

在整合分析中,累计效应值(\bar{y})由高 CO_2 浓度和低 CO_2 浓度之间的个体两两比较的 y_i 值计算得到,其中 $i=1,2,\dots,k$, k 为研究案例数。其具体表达式为

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^k w_i y_i}{\sum_{i=1}^k w_i} \quad (4)$$

总体标准误差(Standard Error, E_{SE})和95%置

信区间(Confidence Interval, I_{CI})的计算公式为

$$E_{SE} = \sqrt{\frac{1}{\sum_{i=1}^k w_i}} \quad (5)$$

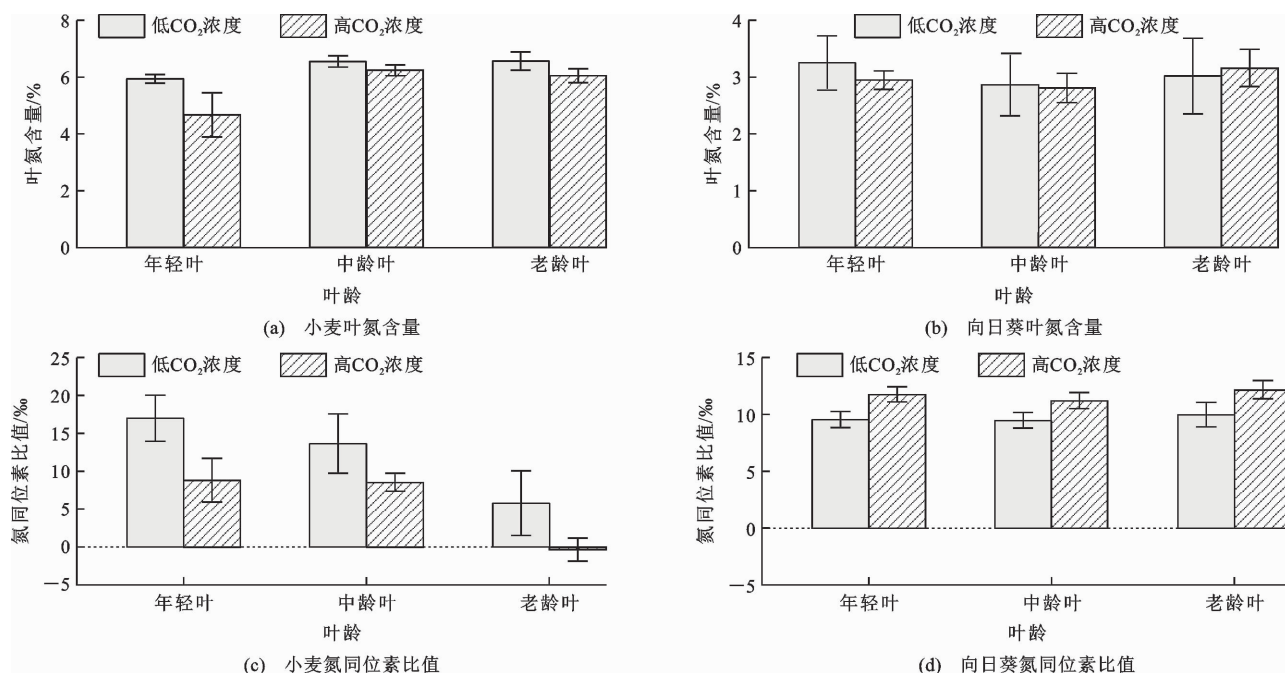
$$I_{CI} = \bar{y} \pm 1.96 E_{SE} \quad (6)$$

累计效应和95%置信区间由OpenMEE软件^[34]计算得到。利用限制性最大似然随机效应模型来计算 CO_2 浓度升高影响下每个研究案例的权重因子^[35],如果95%置信区间不包括0,则认为影响显著^[36]。数据库中潜在的发表偏倚由漏斗图、Egger检验和失安全系数来检验。检验结果显示没有明显发表偏倚的迹象。

2 结果分析

2.1 对不同叶龄叶片氮含量和 $\delta^{15}\text{N}$ 的影响

CO_2 浓度升高处理下,小麦和向日葵的叶氮含量和 $\delta^{15}\text{N}$ 呈不同的响应趋势。高 CO_2 浓度培养的小麦叶片的氮含量显著低于低 CO_2 浓度处理,而且叶氮含量明显受到叶龄的影响(图1和表1)。高 CO_2 浓度下生长的植株叶片 $\delta^{15}\text{N}$ (平均值为5.68‰)显著低于低 CO_2 浓度处理(平均值为12.17‰)。在相同 CO_2 浓度培养条件下,小麦年轻叶 $\delta^{15}\text{N}$ 显著高于老龄叶,而年轻叶的叶氮含量则低于中龄叶和老龄叶(图1和表1)。



数据以均值±标准误差的形式呈现($n=15$)

图1 CO_2 浓度升高对不同叶龄叶片氮含量和 $\delta^{15}\text{N}$ 的影响

Fig. 1 Effects of Elevated CO_2 Concentration on N Content and $\delta^{15}\text{N}$ of Leaves with Different Ages

表 1 小麦和向日葵各参数双因素方差分析结果

Table 1 Two-way ANOVA Results of Wheat and Sunflower

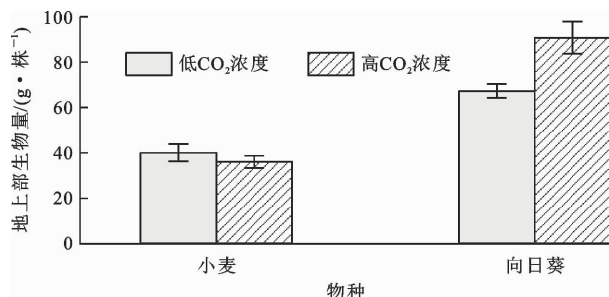
参数	只考虑 CO ₂ 浓度		只考虑叶龄		同时考虑 CO ₂ 浓度和叶龄	
	小麦	向日葵	小麦	向日葵	小麦	向日葵
氮同位素比值/‰	0.014 *	0.003 **	0.005 *	0.634	0.876	0.941
氮含量/%	0.034 *	0.842	0.015 *	0.804	0.420	0.888
干重/mg	0.868	0.527	0.081	<0.001 **	0.873	0.989
鲜重/mg	0.760	0.771	0.193	<0.001 **	0.350	0.905
单位叶面积氮含量/(g·cm ⁻²)	0.425	0.856	0.001 **	0.003 **	0.421	0.771
比叶面积/(cm ² ·mg ⁻²)	0.179	0.347	<0.001 **	<0.001 **	0.529	0.500

注: * 表示在 0.05 水平下显著; ** 表示在 0.01 水平下显著。

向日葵叶片的氮含量同样呈现随 CO₂ 浓度升高而下降的趋势,但叶龄和 CO₂ 浓度的效应统计检验不显著(图 1 和表 1)。高 CO₂ 浓度处理下的植株叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 高于低 CO₂ 浓度处理,但是差值较小。高 CO₂ 浓度处理下叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 为 9.04‰~14.44‰(平均值为 9.64‰),低 CO₂ 浓度处理下叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 为 7.81‰~13.84‰(平均值为 11.69‰)。

2.2 对地上部生物量和不同叶龄叶片形态学特征的影响

CO₂ 浓度升高对小麦和向日葵地上部生物量的影响不同。其中,小麦的地上部生物量不受 CO₂ 浓度升高的影响,向日葵的地上部生物量随 CO₂ 浓度升高而显著上升($p < 0.05$)(图 2)。



数据以均值±标准误差的形式呈现($n=15$)

图 2 CO₂ 浓度升高对地上部生物量的影响Fig. 2 Effect of Elevated CO₂ Concentration on Shoot Biomass

小麦和向日葵的叶片干重随着叶龄的增加呈现出相似的响应趋势。合并不同 CO₂ 浓度数据,中龄叶和老龄叶的干重更高,年轻叶的干重最低(小麦为 0.025 mg,向日葵为 0.19 mg)(图 3)。小麦和向日葵的比叶面积对 CO₂ 浓度升高没有明显的响应($p > 0.05$),但均显著受到叶龄的影响。小麦的比叶面积随着叶龄的增加而下降,向日葵的比叶面积随着叶龄的增加而升高(图 3 和表 1)。

2.3 对小麦叶片不同部位的氮含量和 $\delta^{15}\text{N}$ 的影响

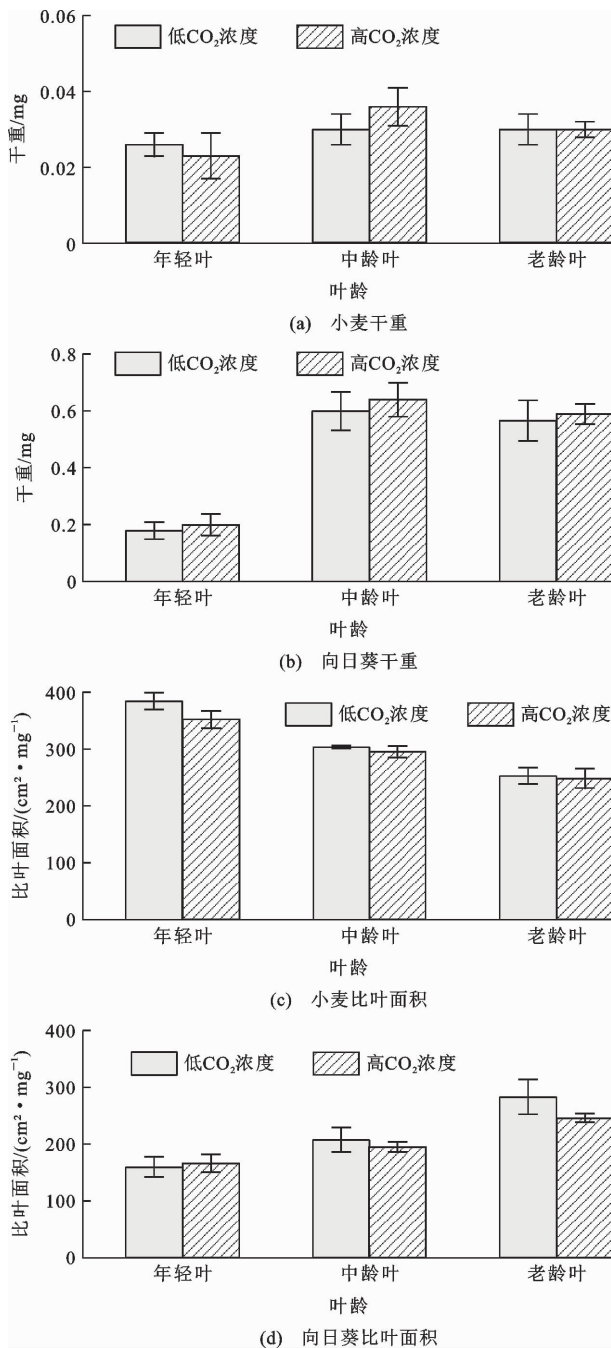
低 CO₂ 浓度处理下小麦叶片氮含量显著高于高 CO₂ 浓度处理。此外,叶中部的氮含量高于叶尖和叶基部(图 4)。CO₂ 浓度升高使得叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 显著下降($p < 0.05$),其中叶基部、叶中部和叶尖部的 $\delta^{15}\text{N}$ 分别下降 5.85‰、6.10‰和 6.78‰。此外, $\delta^{15}\text{N}$ 呈现由叶基部→叶中部→叶尖逐渐降低的趋势(图 4)。

2.4 对不同植物类型 $\delta^{15}\text{N}$ 的影响

根据搜集已发表文献中的相关结果,随着 CO₂ 浓度升高,非豆科 C₃ 植物叶片 $\delta^{15}\text{N}$ (-0.30‰)显著降低。C₄ 植物和豆科 C₃ 植物的叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 呈现出随 CO₂ 浓度的升高而下降的趋势,但是该效应没有达到显著水平($p > 0.05$)(图 5)。

3 讨论

大量研究已经观测到植物叶片的氮含量在 CO₂ 浓度升高的条件下呈下降趋势。在本次实验中,小麦与向日葵在 CO₂ 浓度升高条件下也呈现同样的结果。在高 CO₂ 浓度下,小麦与向日葵叶片的干重均呈上升趋势,而年轻叶的氮含量呈现下降趋势。小麦叶片的 $\delta^{15}\text{N}$ 显著下降 6.49‰,而叶片干重无显著变化,其对 CO₂ 浓度升高的响应符合氮同化受阻假说。该结论与 Bloom 等开展的小麦叶片¹⁵N 标记实验结果^[21-22]相符。在 Bloom 等的实验^[21-22]中,小麦叶片在高 CO₂ 浓度下 $\delta^{15}\text{N}$ 同样发生显著下降,下降幅度约为 4‰;拟南芥 $\delta^{15}\text{N}$ 下降的幅度为 1‰~5‰(取决于施氮量)。目前已经明确 NO₃⁻ 还原过程发生约 15‰的分馏效应^[31],即 NO₃⁻ 还原酶更倾向于还原和同化¹⁴N-NO₃⁻。叶片有机氮 $\delta^{15}\text{N}$ 下降通常表明,叶片中 NO₃⁻ 同化的速度相对较低,而可供同化的 NO₃⁻ 含量较高。在 CO₂ 浓度倍增情况下,光呼吸和伴随的还原剂 NADH 生产速率降



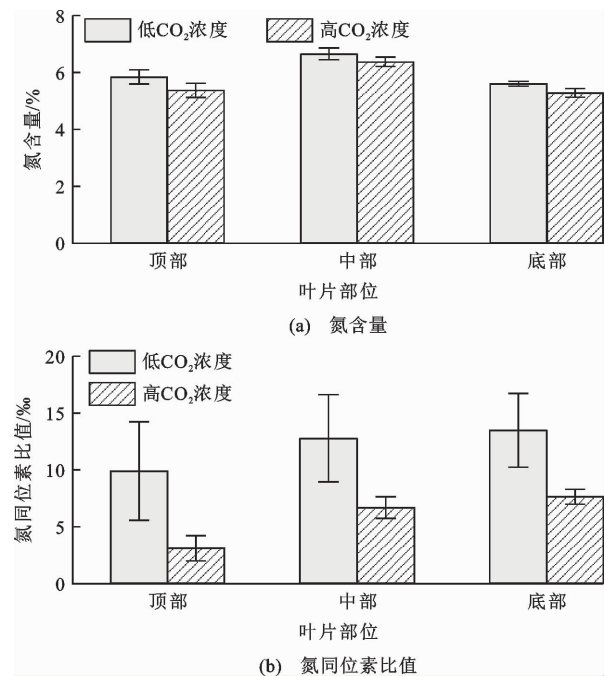
数据以均值±标准误差的形式呈现($n=15$)

图3 CO_2 浓度升高对不同叶龄叶片干重和比叶面积的影响

Fig. 3 Effects of Elevated CO_2 Concentration on Dry Weight and SLA of Leaves with Different Ages

低,导致叶片同化 NO_3^- 受阻,从而产生较高的 ^{15}N 分馏现象^[21]。

向日葵地上部生物量受 CO_2 浓度升高的影响显著上升,氮含量呈现下降趋势,叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 并未显著降低,表明向日葵的氮同化没有受到 CO_2 浓度升高的抑制,符合稀释效应假说。本实验中植物的培养条件和土壤均保持一致,两种植物的光合作用参



数据以均值±标准误差的形式呈现($n=15$)

图4 CO_2 浓度升高对小麦叶片不同部位氮含量和 $\delta^{15}\text{N}$ 的影响

Fig. 4 Effects of Elevated CO_2 Concentration on N Content and $\delta^{15}\text{N}$ of Different Leaf Segments

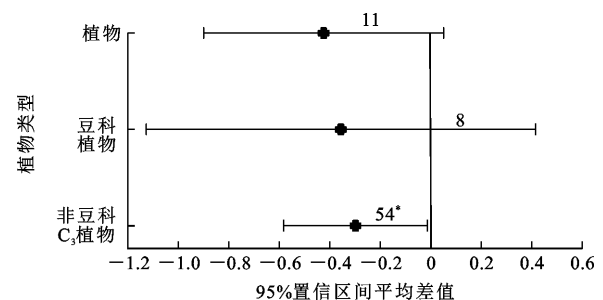


图5 CO_2 浓度升高对不同植物类型 $\delta^{15}\text{N}$ 的影响

Fig. 5 Effect of Elevated CO_2 Concentration on $\delta^{15}\text{N}$ of Different Plant Types

数处于正常范围并体现了典型的 CO_2 响应特征^[37]。因此,可以认为物种之间的差异并非源于实验误差。向日葵含氮量低于小麦,叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 变幅较小,这一结果也可能与向日葵体型较大、吸氮量高有关系。在土壤氮有效性相对较低的情况下,与 NO_3^- 同化相关的 $\delta^{15}\text{N}$ 分馏下降,即使 NO_3^- 同化受到一定程度抑制,也不足以产生显著的 $\delta^{15}\text{N}$ 分馏差异。后续的研究应该考虑 CO_2 浓度和施氮量的交互效应。

不同植物类型的氮获取和同化过程存在差异,对 CO_2 浓度升高的响应可能不同。因此,本研究还开展了对现有 CO_2 浓度控制实验结果的整合分析。结果表明:非豆科 C_3 植物的 $\delta^{15}\text{N}$ 随 CO_2 浓度的升

高呈现下降的趋势。这与本实验中小麦的结果和 Bloom 团队实验结果^[21-22]相吻合。 C_4 植物和豆科 C_3 植物的 $\delta^{15}\text{N}$ 对 CO_2 浓度升高的响应未达到显著水平。对于 C_4 植物而言,由于自身 CO_2 浓缩机制,在维管束鞘细胞内的 CO_2 浓度较高,其光呼吸速率较低几乎可忽略,所以 CO_2 浓度升高对 C_4 植物光呼吸速率无显著影响^[38-39]。对于豆科 C_3 植物而言,虽然 CO_2 浓度升高可能影响 NO_3^- 同化,但根瘤菌能够通过固氮酶把大气中的氮气转化为植物所能利用的铵态氮,生物固氮与根系吸收无机氮的 $\delta^{15}\text{N}$ 有较大差异。因此,豆科植物的 $\delta^{15}\text{N}$ 主要受根瘤菌固氮与植物氮吸收比例的影响,与其他植物类型相比有更大的 $\delta^{15}\text{N}$ 变异范围。

在本次实验中,植物不同叶龄或者细胞组织年龄 $\delta^{15}\text{N}$ 存在明显差异。在 410 和 $820\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 的 CO_2 浓度条件下,小麦叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 随着叶龄的增加呈现出显著下降的趋势,老龄叶的 $\delta^{15}\text{N}$ 相比于幼龄叶的 $\delta^{15}\text{N}$ 下降了 10.2% ,而 CO_2 浓度倍增效应带来的叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 变化仅为 6.5% 。在同一年轻叶内部,最先生长的叶尖 $\delta^{15}\text{N}$ 相比于较晚生长的叶基部 $\delta^{15}\text{N}$ 下降了 4.1% 。无论是叶片尺度还是叶内不同部位, $\delta^{15}\text{N}$ 均呈现随年龄增加而下降的趋势。因此,在研究某个环境因素对植物 $\delta^{15}\text{N}$ 的影响时,在样品采集过程中需要考虑植物器官年龄。这一结果在国内外文献中未见报道,因此无法通过整合分析进一步验证。叶片或者叶片组织年龄对于 $\delta^{15}\text{N}$ 的影响机理还不清楚,需要在更多物种中进一步研究。目前 CO_2 富集和植物氮代谢的研究主要关注氮吸收和同化过程,本研究涉及的叶片衰老过程中有机氮的再活化和转运分配过程^[27]也需要关注。

4 结 语

氮利用效率是提高净初级生产力和缓解气候变化的关键^[40-43]。了解 CO_2 浓度升高对植物氮吸收、利用过程的影响,对于预测陆地生态系统碳、氮循环具有重要意义^[44-45]。小麦和向日葵在高 CO_2 浓度处理下均发生了叶氮含量下降,然而响应情况及机制不同。其中,小麦叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 在高 CO_2 浓度处理下显著下降,其氮营养变化特征符合氮同化受限假说,而向日葵符合稀释效应假说。整合分析结果表明,非豆科 C_3 植物在高 CO_2 浓度处理下 $\delta^{15}\text{N}$ 显著下降,进一步证实了 CO_2 富集导致的叶片氮同化受限可能是普遍存在的现象。另外,本研究还发现小

麦叶片的 $\delta^{15}\text{N}$ 随叶龄和细胞组织年龄的增加呈下降的趋势,该效应甚至大于 CO_2 浓度倍增导致的叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 变化。因此,在使用 $\delta^{15}\text{N}$ 来表征植物氮代谢特征时,需要考虑叶龄带来的影响。

参 考 文 献 :

References :

- [1] NOAA. Broken Record: Atmospheric Carbon Dioxide Levels Jump Again[R]. Boulder: NOAA, 2023.
- [2] CIAIS P, SABINE C, BALA G, et al. Carbon and Other Biogeochemical Cycles[M] // STOCKER T F, QIN D, PLATTNER G K, et al. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Cambridge: Cambridge University Press, 2014: 465-570.
- [3] JENSEN R G. Activation of Rubisco Regulates Photosynthesis at High Temperature and CO_2 [J]. PNAS, 2000, 97(24): 12937-12938.
- [4] LUO X Z, KEENAN T F, CHEN J M, et al. Global Variation in the Fraction of Leaf Nitrogen Allocated to Photosynthesis[J]. Nature Communications, 2021, 12: 4866.
- [5] CHEN C, RILEY W J, PRENTICE I C, et al. CO_2 Fertilization of Terrestrial Photosynthesis Inferred from Site to Global Scales[J]. PNAS, 2022, 119(10): e2115627119.
- [6] WANG S H, ZHANG Y G, JU W M, et al. Recent Global Decline of CO_2 Fertilization Effects on Vegetation Photosynthesis [J]. Science, 2020, 370: 1295-1300.
- [7] LEAKEY A D B, AINSWORTH E A, BERNACCHI C J, et al. Elevated CO_2 Effects on Plant Carbon, Nitrogen, and Water Relations: Six Important Lessons from FACE [J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(10): 2859-2876.
- [8] NAKANO H, MAKINO A, MAE T. The Effect of Elevated Partial Pressures of CO_2 on the Relationship Between Photosynthetic Capacity and N Content in Rice Leaves[J]. Plant Physiology, 1997, 115(1): 191-198.
- [9] ARANJUELO I, IRIGOYEN J, NOGUES S, et al. Elevated CO_2 and Water-availability Effect on Gas Exchange and Nodule Development in N_2 -fixing Alfalfa Plants[J]. Environmental and Experimental Botany, 2009, 65(1): 18-26.
- [10] AINSWORTH E A, LONG S P. 30 Years of Free-air Carbon Dioxide Enrichment (FACE): What Have We Learned About Future Crop Productivity and Its Potential for Adaptation? [J]. Global Change Biology,

- 2021,27(1):27-49.
- [11] MASON R E, CRAINE J M, LANY N K, et al. Evidence, Causes, and Consequences of Declining Nitrogen Availability in Terrestrial Ecosystems [J]. Science, 2022, 376: eabh3767.
- [12] ZHAO H L, CHANG T G, XIAO Y, et al. Potential Metabolic Mechanisms for Inhibited Chloroplast Nitrogen Assimilation Under High CO₂ [J]. Plant Physiology, 2021, 187(3): 1812-1833.
- [13] DUSENG E M E, DUARTE A G, WAY D A. Plant Carbon Metabolism and Climate Change: Elevated CO₂ and Temperature Impacts on Photosynthesis, Photorespiration and Respiration [J]. New Phytologist, 2018, 221(1): 32-49.
- [14] KEYS A J. The Re-assimilation of Ammonia Produced by Photorespiration and the Nitrogen Economy of C₃ Higher Plants [J]. Photosynthesis Research, 2006, 87(2): 165-175.
- [15] COSCHIGANO K T, MELO-OLIVEIRA A R, LIM J, et al. Arabidopsis *gls* Mutants and Distinct Fd-GOGAT Genes: Implications for Photorespiration and Primary Nitrogen Assimilation [J]. The Plant Cell, 1998, 10(5): 741-752.
- [16] BAUWE H, HAGEMANN M, FERNIE A R. Photorespiration: Players, Partners and Origin [J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(6): 330-336.
- [17] FOYER C H, NOCTOR G, HODGES M. Respiration and Nitrogen Assimilation: Targeting Mitochondria-associated Metabolism as a Means to Enhance Nitrogen Use Efficiency [J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(4): 1467-1482.
- [18] BUSCH F A, SAGE R F, FARQUHAR G D. Plants Increase CO₂ Uptake by Assimilating Nitrogen via the Photorespiratory Pathway [J]. Nature Plants, 2018, 4: 46-54.
- [19] BLOOM A J. Photorespiration and Nitrate Assimilation: A Major Intersection Between Plant Carbon and Nitrogen [J]. Photosynthesis Research, 2015, 123(2): 117-128.
- [20] RUBIO-ASENSIO J S, BLOOM A J. Inorganic Nitrogen Form: A Major Player in Wheat and Arabidopsis Responses to Elevated CO₂ [J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(10): 2611-2625.
- [21] BLOOM A J, BURGER M, RUBIO-ASENSIO J S, et al. Carbon Dioxide Enrichment Inhibits Nitrate Assimilation in Wheat and Arabidopsis [J]. Science, 2010, 328: 899-903.
- [22] BLOOM A J, BURGER M, BRUCE A K, et al. Nitrate Assimilation Is Inhibited by Elevated CO₂ in Field-grown Wheat [J]. Nature Climate Change, 2014, 4: 477-480.
- [23] 方运霆, 刘冬伟, 朱飞飞, 等. 氮稳定同位素技术在陆地生态系统氮循环研究中的应用 [J]. 植物生态学报, 2020, 44(4): 373-383.
- FANG Yun-ting, LIU Dong-wei, ZHU Fei-fei, et al. Applications of Nitrogen Stable Isotope Techniques in the Study of Nitrogen Cycling in Terrestrial Ecosystems [J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2020, 44(4): 373-383.
- [24] KAHMEN A, WANEK W, BUCHMANN N. Foliar δ¹⁵N Values Characterize Soil N Cycling and Reflect Nitrate or Ammonium Preference of Plants Along a Temperate Grassland Gradient [J]. Oecologia, 2008, 156(4): 861-870.
- [25] REICH P B, ELLSWORTH D S, WALTERS M B. Leaf Structure (Specific Leaf Area) Modulates Photosynthesis-nitrogen Relations: Evidence from Within and Across Species and Functional Groups [J]. Functional Ecology, 1998, 12(6): 948-958.
- [26] CRAINE J M, ELMORE A J, WANG L X, et al. Isotopic Evidence for Oligotrophication of Terrestrial Ecosystems [J]. Nature Ecology & Evolution, 2018, 2(11): 1735-1744.
- [27] YANG F, SCHÄUFELE R, LIU H T, et al. Gross and Net Nitrogen Export from Leaves of a Vegetative C₄ Grass [J]. Journal of Plant Physiology, 2020, 244: 153093.
- [28] KOLB K J, EVANS R D. Influence of Nitrogen Source and Concentration on Nitrogen Isotopic Discrimination in Two Barley Genotypes (*Hordeum Vulgare* L.) [J]. Plant, Cell & Environment, 2003, 26(9): 1431-1440.
- [29] EVANS R D. Physiological Mechanisms Influencing Plant Nitrogen Isotope Composition [J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(3): 121-126.
- [30] HU Y, GUY R D. Isotopic Composition and Concentration of Total Nitrogen and Nitrate in Xylem Sap Under Near Steady-state Hydroponics [J]. Plant, Cell & Environment, 2020, 43(9): 2112-2123.
- [31] TCHERKEZ G. Natural ¹⁵N/¹⁴N Isotope Composition in C₃ Leaves: Are Enzymatic Isotope Effects Informative for Predicting the ¹⁵N-abundance in Key Metabolites? [J]. Functional Plant Biology, 2011, 38(1): 1-12.
- [32] CUI J, LAMADE E, FOUREL F, et al. δ¹⁵N Values in Plants are Determined by Both Nitrate Assimilation

- and Circulation[J]. *New Phytologist*, 2020, 226(6): 1696-1707.
- [33] PANTIN F, SIMONNEAU T, MULLER B. Coming of Leaf Age: Control of Growth by Hydraulics and Metabolism During Leaf Ontogeny[J]. *New Phytologist*, 2012, 196(2): 349-366.
- [34] WALLACE B C, LAJEUNESSE M J, DIETZ G, et al. OpenMEE: Intuitive, Open-source Software for Meta-analysis in Ecology and Evolutionary Biology[J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2017, 8(8): 941-947.
- [35] VERONIKI A A, JACKSON D, VIECHTBAUER W, et al. Methods to Estimate the Between-study Variance and Its Uncertainty in Meta-analysis[J]. *Research Synthesis Methods*, 2016, 7(1): 55-79.
- [36] LAJEUNESSE M J, ROSENBERG M R, JENNIONS M D. *Handbook of Meta-analysis in Ecology and Evolution* [M]. Princeton: Princeton University Press, 2013.
- [37] SUN Y R, MA W T, XU Y N, et al. Short- and Long-term Responses of Leaf Day Respiration to Elevated Atmospheric CO₂ [J]. *Plant Physiology*, 2023, 191(4): 2204-2217.
- [38] COUSINS A B, BLOOM A J. Influence of Elevated CO₂ and Nitrogen Nutrition on Photosynthesis and Nitrate Photo-assimilation in Maize (*Zea Mays* L.) [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2003, 26(9): 1525-1530.
- [39] GONG X Y, SCHÄUFELE R, SCHNYDER H. Bundle-sheath Leakiness and Intrinsic Water Use Efficiency of a Perennial C₄ Grass Are Increased at High Vapour Pressure Deficit During Growth[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(2): 321-333.
- [40] KUYPERS M M M, MARCHANT H K, KARTAL B. The Microbial Nitrogen-cycling Network[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(5): 263-276.
- [41] CHEN K E, CHEN H Y, TSENG C S, et al. Improving Nitrogen Use Efficiency by Manipulating Nitrate Remobilization in Plants[J]. *Nature Plants*, 2020, 6(9): 1126-1135.
- [42] 耿雪琪, 唐亚坤, 王丽娜, 等. 氮添加增加中国陆生植物生物量并降低其氮利用效率[J]. *植物生态学报*, 2024, 48(2): 147-157.
- GENG Xue-qi, TANG Ya-kun, WANG Li-na, et al. Nitrogen Addition Increases Biomass But Reduces Nitrogen Use Efficiency of Terrestrial Plants in China [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2024, 48(2): 147-157.
- [43] 冯旭飞, 雷长英, 张玉洁, 等. 棉花花铃期叶片氮分配对光合氮利用效率的影响[J]. *植物生态学报*, 2023, 47(11): 1600-1610.
- FENG Xu-fei, LEI Zhang-ying, ZHANG Yu-jie, et al. Effect of Leaf Nitrogen Allocation on Photosynthetic Nitrogen Use Efficiency at Flowering and Boll Stage of *Gossypium* spp [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2023, 47(11): 1600-1610.
- [44] 冯兆忠, 李 品, 张国友, 等. 二氧化碳浓度升高对陆地生态系统的影响: 问题与展望[J]. *植物生态学报*, 2020, 44(5): 461-474.
- FENG Zhao-zhong, LI Pin, ZHANG Guo-you, et al. Impacts of Elevated Carbon Dioxide Concentration on Terrestrial Ecosystems: Problems and Prospective [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2020, 44(5): 461-474.
- [45] 杨元合, 石 岳, 孙文娟, 等. 中国及全球陆地生态系统碳源汇特征及其对碳中和的贡献[J]. *中国科学: 生命科学*, 2022, 52(4): 534-574.
- YANG Yuan-he, SHI Yu, SUN Wen-juan, et al. Terrestrial Carbon Sinks in China and Around the World and Their Contribution to Carbon Neutrality[J]. *Science China: Life Sciences*, 2022, 52(4): 534-574.