DOI: 10.5846/stxb201411242329
洪丕征,刘世荣,王晖,于浩龙.正常和环割条件下不同形态氮素添加对红椎幼苗光合特性的影响.生态学报,2016,36(14): - .
Hong P Z, Liu S R, Wang H, Yu H L.Effects of different nitrogen forms on foliar photosynthetic characteristics of *Castanopsis hystrix* seedlings under ungirdled and girdled conditions.Acta Ecologica Sinica,2016,36(14): - .

正常和环割条件下不同形态氮素添加对红椎幼苗光合特性的影响

洪丕征[1],刘世荣[1,*],王　晖[1],于浩龙[2]
1 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所,国家林业局森林生态环境重点实验室,北京　100091
2 中国林业科学研究院热带林业实验中心,凭祥　532600

摘要:采用盆栽试验和韧皮部环割方法研究了碳水化合物供应、氮素形态及其交互作用对红椎幼苗叶片光合特性的影响。无机氮源采用硝酸铵(AN)、铵态氮(NH_4^+-N)、硝态氮(NO_3^--N),有机氮源采用尿素(Urea)、精氨酸(Arg)和甘氨酸(Gly),氮素施用量均为 10g N/m^2,处理时间为 10 d。研究结果表明,环割、氮素形态及其交互作用均显著影响了红椎幼苗叶片的净光合速率(*Pn*);单一环割处理显著降低了红椎幼苗叶片 *Pn*、气孔导度(*Gs*)、胞间 CO_2浓度(*Ci*)、蒸腾速率(*Tr*)、相对叶绿素含量和 CO_2利用效率(CUE),但显著提高了叶片水分利用效率(WUE)和气孔限制值(*Ls*),其叶片 *Pn* 降低主要是由气孔限制和叶绿素含量降低所导致的。正常条件下,所有氮素形态处理均显著降低了红椎幼苗叶片的 *Pn*、*Gs*、*Ci* 和 *Tr*,但显著升高了叶片 *Ls* 和 WUE,其叶片 *Pn* 降低的主要原因是供氮过高引起的叶片气孔限制。正常条件下,除 Arg 处理外,其他氮素形态均显著升高了红椎幼苗叶片的 CUE,其中以 Gly 处理的促进作用最大。环割条件下,3 种有机态氮素的添加均显著缓解了单一环割处理对红椎幼苗叶片 *Pn* 的抑制作用,尤其以精氨酸最为明显,供应精氨酸的叶片 *Pn* 值从单一环割处理的强烈抑制中恢复到了对照水平,而无机态氮的供应均未显著改变这种抑制。结果表明短期碳水化合物供应的阻断会显著抑制红椎幼苗叶片的光合能力,适量供应精氨酸、甘氨酸和尿素等有机态氮会有效缓解这种抑制作用,其中以精氨酸的作用最为明显。

关键词:红椎;氮素形态;韧皮部环割;碳水化合物供应;光合特性

Effects of different nitrogen forms on foliar photosynthetic characteristics of *Castanopsis hystrix* seedlings under ungirdled and girdled conditions

HONG Pizheng[1], LIU Shirong[1,*], WANG Hui[1], YU Haolong[2]
1 *Key Laboratory of Forest Ecology and Environmental Sciences of State Forestry Administration, Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing* 100091, *China*
2 *Experimental Center of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Pingxiang* 532600, *China*

Abstract: The effects of carbohydrate supply, available nitrogen forms, and their interactions on the photosynthetic characteristics of *Castanopsis hystrix* seedlings were examined through manipulated pot experiments and phloem girdling. Three inorganic nitrogen sources (ammonia nitrate, AN; ammonium chloride, NH_4^+-N; and potassium nitrate; NO_3^--N) and three organic nitrogen sources (Urea; arginine, Arg; and glycine, Gly), were applied at identical rates of 10g m^{-2} for a 10-d treatment. The carbohydrate supply, N forms, and their interactions had significant effects on the foliar net photosynthetic rate (*Pn*) of *C. hystrix* seedlings. Single girdling treatment significantly decreased leaf *Pn*, leaf stomatal conductance (*Gs*), leaf intercellular CO_2 concentration (*Ci*), leaf transpiration rate (*Tr*), relative chlorophyll content

基金项目:国家科技支撑计划项目(2012BAD22B01)
收稿日期:2014-11-24;　　**网络出版日期**:2015-00-00
* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: liusr@caf.ac.cn

(RCC), and CO_2 use efficiency (CUE) of test seedlings, but it enhanced the leaf stomatal limitation values, as well as water use efficiency (WUE). The decreased *Pn* was mainly caused by leaf stomatal limitation, and reduction of foliar RCC. For non-girdling seedlings of *C. hystrix*, all treatments with N addition significantly decreased foliar *Pn*, *Gs*, *Ci*, and *Tr*, but increased foliar WUE and leaf stomatal limitation values. This is mainly due to stomatal limitation caused by high N loading. Moreover, all treatments with N addition significantly increased leaf CUE, except for the Arg addition treatment. In addition, the strongest stimulation effect on leaf CUE was caused by Gly addition. Correlation analysis indicated that *Gs* and *Tr* demonstrated significant correlations with leaf *Pn*, while *Ci* and RCC showed relatively weak correlations with leaf *Pn*. Additions of three organic N forms significantly reduced the inhibitory effect of the single girdling treatment on *Pn* of *C. hystrix* seedlings, with the most mitigated effect resulting from Arg addition. Due to the intense inhibitory effect of the single girdling treatment, the foliar *Pn* recovered to the control level upon Arg addition 1, whereas all types of inorganic N additions did not have a significantly positive effect on the girdling-induced inhibition of *Pn*. Our results indicate that inhibition of carbohydrate supply could lead to reduction of the photosynthetic capacity of *C. hystrix* seedlings, while these inhibitory effects can be mitigated by organic N supply, such as Arg, Gly, and Urea, of which Arg had the greatest impact.

Key Words: *Castanopsis hystrix*; nitrogen forms; phloem girdling; carbohydrate supply; photosynthetic characteristics

氮素是植物体内叶绿素、蛋白质、核酸和部分激素的重要组成部分,是影响植物正常生长发育的重要营养元素[1]。植物对氮素的吸收利用不仅取决于植物自身代谢的特点,而且取决于生长环境中的各种氮源[2]。植物能吸收并利用的无机态氮主要是铵态氮(NH_4^+-N)和硝态氮(NO_3^--N)[1]。传统的氮循环模式认为,有机氮只有经过土壤微生物作用转化为无机氮(NH_4^++NO_3^-)后才能为植物所利用,根系不能直接从土壤获取有机氮。然而,近年来许多研究发现植物具有从土壤中直接获取自由态的氨基酸(例如甘氨酸、精氨酸等),比如挪威云杉(*Picea abies*)[3]、樟子松(*Pinus sylvestris*)[4]等树种,这对传统的氮循环模式形成了巨大的挑战。目前有关不同形态无机氮对植物光合特性影响的研究开展较多,许多研究证实植物对 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 的吸收、利用有所偏好,这 2 种氮素形态及其配比对植物光合作用的影响有着较大差异[2]。例如,氮素形态(NO_3^--N 和 NH_4^+-N)比例从 0 增加到 75%时,水曲柳(*Fraxinus mandshurica*)幼苗叶片净光合速率(*Pn*)显著增加,而完全供给 NO_3^--N 时,其叶片 *Pn* 下降[5]。Yao 等[6]研究发现我国高山松(*Pinus densata*)和油松(*Pinus tabulaeformis*)幼苗具有偏好 NO_3^--N 的特性,而云南松(*Pinus yunnanensis*)则表现出喜铵的特性,在供应 NH_4^+-N 时,实生苗的生物量和 *Pn* 比供应 NO_3^--N 的大得多。迄今为止,有关不同形态有机氮素对林木叶片光合作用影响的比较研究较少,相关报道主要集中在农作物和木本果树[7-8]。例如,李静[9]研究发现 3 种形态氮(甘氨酸、尿素及氯化铵)添加对甜樱桃(*Prunus avium*)光合、荧光和叶绿素含量影响以甘氨酸、尿素促进作用更明显。可见,供氮形态对植物叶片光合作用的影响因植物种类的不同而有所差异。研究指出,供氮形态可通过改变植物叶面积,叶绿素含量、叶片氮素含量和 Rubiseo 酶含量等进而影响光合作用,还可通过改变气孔导度和光呼吸速率等因素来调控光合速率[10]。

除氮素外,碳水化合物的有效性及其在各器官中的分配状况对林木的苗期生长也非常重要[4]。碳水化合物是植物光合作用的主要产物,其中结构性碳水化合物主要用于植物体的形态建成,非结构性碳水化合物则是参与植株生命代谢的重要物质,可以在基因表达水平上对细胞内的代谢过程进行调控,它们在植物生长发育过程中的重要作用已得到广泛的关注[11]。研究证实,一些环境状况可能会限制或者阻断植物幼苗根系碳水化合物的供应和能量代谢,比如在光照较低和低温环境、幼苗贮藏期较长、植物韧皮部受到人为破坏和昆虫、家畜等啃食韧皮部的干扰等状况[4,12]。研究碳水化合物供应和分配状况对植物某些生理生态过程的影响有利于进一步揭示碳水化合物对这些过程的调控机制。韧皮部环割处理是除去木质部周围的树皮和韧皮部组织,导致从树冠到树根的碳水化合物运输停止并进一步影响光合产物的分配,但是环割不会对木质部产生

影响,木质部主要是负责水分、养分和细胞分裂素从根部向枝条的运输,该方法在植物体内碳相关过程和关系的研究中已得到广泛应用[13-14]。

许多研究表明碳水化合物供应的限制或阻断会对植物光合特性产生负面影响[15-16]。然而,植物体内的碳氮循环是高度偶联的,植物对氮素的吸收和同化需要碳水化合物提供的能量,而且构成蛋白质的碳架来自碳水化合物的分解[4]。当碳水化合物的运输和分配被阻断时植物幼苗对某种氮素形态的吸收和同化会受到限制,例如,碳水化物供应阻断显著抑制了欧洲赤松(*P. sylvestris*)幼苗根系对 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 的吸收速率,而对精氨酸的吸收速率无显著影响[4]。与之类似,Dannenmann 等[16]发现环割后欧洲山毛榉(*Fagus sylyatica*)从土壤中吸收了更多的精氨酸和 NO_3^--N。因此,在正常和环割条件下植物对不同氮素形态的吸收速率可能存在较大差异,而这种差异势必会在植物叶片光合能力上有所反馈。那么,在正常条件下植物叶片光合能力对氮素形态的响应机制与碳水化合物阻断时是否存在差异,碳水化合物供应和氮素形态对林木幼苗叶片光合固碳能力的影响是否具有耦合作用,目前有关上述问题的研究较少,有必要开展相关研究工作,这有利于进一步揭示林木体内碳氮循环过程的关系。

红椎(*Castanopsis hystrix*)是热带、亚热带地区常见的珍贵阔叶乡土树种,同时是高效生态用材林树种。本研究以红椎幼苗为对象,采用盆栽试验和韧皮部环割方法研究了碳水化合物供应、氮素形态及其交互作用对红椎幼苗叶片光合特性的影响,目的是揭示碳水化合物供应和供氮形态(有机态氮和无机态氮)及其交互作用对红椎幼苗光合作用的影响机制,为红椎育苗和幼树氮肥管理提供数据参考和理论基础。

1　研究地区与研究方法

1.1　供试材料

供试材料为位于中国林科院热带林业实验中心南方珍贵树种苗木基地所育的 2a 生红椎实生苗,幼苗在自然水分和光照下生长,幼苗平均地径约为 0.4 cm,高度约为 0.75 m。栽培基质为基地内混合均匀的匀质红壤,其有机质、全氮、全磷及全钾含量分别为(25.86±2.26) g/kg、(1.18±0.08) g/kg、(0.23±0.01) g/kg 和(10.23±1.01) g/kg。2014 年 7 月中旬选择生长健康、长势大体一致的红椎苗移入上口径 15 cm、高 25 cm 内部套有塑料袋的花盆内,每盆移栽 1 株,将盆栽苗移入智能玻璃温室内。移植后充足浇水,缓苗 1 月后进行试验处理。

1.2　试验设计

本试验在中国林科院热带林业实验中心智能温室中进行,试验共分为 14 个处理,每个处理共设 3 株幼苗,共计 42 株幼苗(表 1)。环割处理(Girdling)采用韧皮部全割,宽度为 1 cm,环割位置在茎干距离地面 5 cm 处,环割后该宽度的伤口不能随时间的推移完全愈合[15]。本试验采用 3 种无机态氮和 3 种有机态氮。3 种无机氮源采用硝酸铵(AN)、氯化铵(NH_4^+-N)、硝酸钾(NO_3^--N),3 种有机氮源采用尿素(Urea)、精氨酸(Arg)、甘氨酸(Gly)(表 1)。

依据前人的研究,不同植物的光合与生长对氮素的需求量及对氮肥施用量的反应不同,例如,麻疯树(*Jatropha curcas*)[1]、乌药(*Lindera aggregata*)[17]、落叶松(*Larix gmelini*)[18]、日本赤松(*Pinus densiflora*)[19]和西南桦(*Betula alnoides*)[20]幼苗分别在施氮量为 10 g N/m^2、9.6 g N/m^2、8 mmol/L、11.3 g N/m^2、200 mg N/株时光合能力最强,植株生长势最好。彭玉华等[21]研究发现 5 g N/m^2供氮量并配施适量磷钾在短期内(1 个月)即可对红锥营养杯实生苗(近一年生)生长产生的促进作用最大。鉴于其生长量较小(苗高和地径分别为 11.5 cm 和 0.15 cm)和参考其他树种幼苗相关研究,本研究 N 素施用量设置为 180 mg N/株(等同于 10 g N/m^2),以期在试验周期内使其植株叶片光合特性发生变化。同时,每株幼苗均施过磷酸钙 250 mg 和施硫酸钾 200 mg,其中 $N:P_2O_5:K_2O=10:8:6$。于 2014 年 8 月中旬称取各处理所需养分,溶于 60 ml 蒸馏水,用 100 ml 医用注射器均匀喷洒在土壤表面。试验期间温室无遮光,每隔 2 d 浇等量水。

研究证实,植物叶片光合参数和叶绿素含量对氮素供应的响应较快[22],例如,葛体达等[22]研究发现实验

处理 8 d 后,氮素形态对番茄(*Lycopersicon esculentum*)幼苗叶片的叶绿素含量和 N 含量产生了显著影响。另外,环割会立即终止光合产物从树冠通过韧皮部向根系的运输,在短期内可显著影响植物 N 素吸收和光合作用[14-15,23]。例如,欧洲赤松(*P. sylvestris*)在环割 3 d 和 7 d 后其根系非结构性碳水化合物均急剧下降,进而显著影响了 N 素的吸收[4]。唐钢梁等[15]研究发现短期环割(10 d)下花花柴(*Karelinia caspia*)和骆驼刺(*Alhagi sparsifolia*)叶绿素含量大幅降低,光合原初反应被抑制,PSII 结构和功能遭到损害,活性降低,光合器官对光能的吸收、传递、转化和电子捕获等过程被抑制。本研究重点在于研究环割处理和氮素形态对植物幼苗叶片光合能力的影响是否存在交互作用,而非研究植物各器官生物量分配等需要在较长的时间尺度上进行研究的生理生态指标。因此,参照上述相关研究进展,本试验的处理时间设置为 10 d,可以满足本次试验特殊的目的。

表 1 试验处理

Table 1 The experimental treatments

处理 Treatments	韧皮部处理 Phloem treatments	氮素形态 N forms	氮源 N sources	处理 Treatments	韧皮部处理 Phloem treatments	氮素形态 N forms	氮源 N sources
1	正常	无	无(CK)	8	环割	无	单一环割(G)
2	正常	无机态氮	硝酸铵(AN)	9	环割	无机态氮	硝酸铵(AN)
3	正常	无机态氮	氯化铵(NH_4^+-N)	10	环割	无机态氮	氯化铵(NH_4^+-N)
4	正常	无机态氮	硝酸钾(NO_3^--N)	11	环割	无机态氮	硝酸钾(NO_3^--N)
5	正常	有机态氮	精氨酸(Arg)	12	环割	有机态氮	精氨酸(Arg)
6	正常	有机态氮	甘氨酸(Gly)	13	环割	有机态氮	甘氨酸(Gly)
7	正常	有机态氮	尿素(Urea)	14	环割	有机态氮	尿素(Urea)

1.3 研究方法

(1) 光合生理生态指标的测定方法

利用 Li-6400XT 便携式光合作用测定系统外加 6400-2B LED 红蓝光源(Li-Cor, USA)测定红椎幼苗叶片的气体交换参数。光合有效辐射强度(PAR)设置为 1200 μmol m^{-2} s^{-1},使用 CO_2蓄气瓶控制叶室内 CO_2浓度为环境 CO_2浓度(400 μmol mol^{-1}),叶室温度为 28—30℃、相对湿度为 81%—83%。测定叶片的生理生态参数如下:净光合速率(*Pn*, μmol CO_2 m^{-2} s^{-1})、气孔导度(*Gs*, mol H_2O m^{-2} s^{-1})、胞间 CO_2浓度(*Ci*, μmol mol^{-1})、蒸腾速率(*Tr*, mmol H_2O m^{-2} s^{-1})、叶面饱和水气压亏缺(VPDL, kPa),测定时间为上午 8:30—11:30。测定时每株幼苗各选取 1 个位置相同、大小相似、生长正常的成熟叶片,即每处理 3 次重复,每个重复待稳定后读取 10 个瞬时光合特性值,取其平均值作为测定值[17]。

采用 OPTI-SCIENCE 生产的 CCM-200 型手持式叶绿素计,对苗木叶片进行叶绿素相对含量(Relative chlorophyll content,缩写为 RCC)测定。每株幼苗选取 3 片健康成熟的功能叶作为测试叶,测定时保持叶片自然生长角度不变。每一处理重复测定 9 次。

(2) 气孔限制值和资源利用效率计算方法

气孔限制值(*Ls*)计算公式为:$Ls = 1 - Ci/Ca$[24]。其中,*Ca* 是环境 CO_2浓度。水分利用效率(WUE)的计算公式为:$WUE = Pn/Tr$[25],CO_2利用效率(CUE)的计算公式为:$CUE = Pn/Ci$[25]。

(3) 净光合速率相对变化量的计算方法

采用叶片光合相关参数与对照的相对变化量(relative change)来衡量在正常和环割条件下不同供氮形态对红椎幼苗叶片光合参数的影响,通过如下公式进行计算[26]:

$$\text{相对变化量(relative change)} = \left[\left(\frac{t_i}{c}\right) - 1\right] \times 100$$

式中 t_i为 *i* 处理组的 3 个重复值,*C* 为对照组 3 次重复的平均值。对照组相对变化量为 0。

1.4　数据分析与处理

对各处理间光合参数的差异进行单因素方差分析(one-way ANOVAs)和邓肯检验(Duncan′s test)($P<0.05$)。利用双因素方差分析(two-way ANOVAs)检验环割、供氮形态及其交互作用对红椎幼苗叶片光合相关参数的影响。方差分析均在统计分析软件 SPSS 19.0 中进行。采用多元逐步回归方法分析叶片各生理生态因子和净光合速率的关系并进行拟合。作图采用 Origin 9.0 软件。

2　结果与分析

2.1　各处理对红椎幼苗叶片净光合速率和叶绿素含量的影响

方差分析表明,环割、氮素形态及其交互作用显著影响了红椎幼苗叶片净光合速率(Pn)和相对叶绿素含量(表 2)。单一环割处理显著降低了红椎幼苗叶片的 Pn 和相对叶绿素含量,较对照分别降低了 75%和 38%($P<0.05$)(图 1)。正常条件下,所有氮素形态处理均显著降低了叶片 Pn($P<0.05$),其中硝酸铵处理下 Pn 的降幅最大。环割条件下,除精氨酸处理外,其他氮素形态并未显著改变单一环割处理对红椎幼苗叶片 Pn 的抑制作用,其 Pn 值均显著低于对照,然而精氨酸的添加使其叶片 Pn 从单一环割处理的抑制中恢复到了对照水平(图 1)。

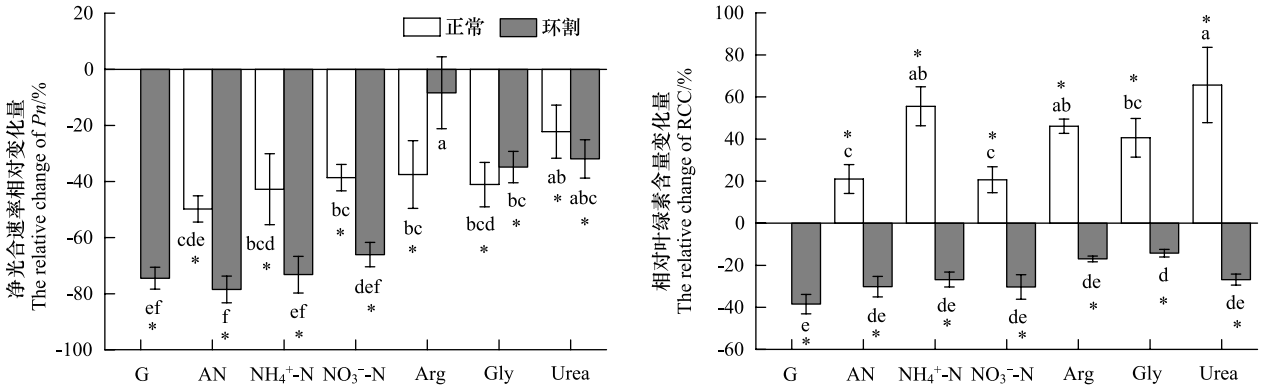

图 1　各处理对红椎幼苗叶片净光合速率(A)和相对叶绿素含量(B)的影响

Fig.1　Responses of foliar net photosynthetic rate (A) and the relative chlorophyll content (B) of *C. hystrix* seedlings to different experimental treatments

不同小写字母表示处理间的差异达到显著水平($P<0.05$);*表示各处理下参数变化量与 0(对照)的差异达到显著水平($P<0.05$);误差线表示标准误(SE)

表 2　环割、氮素形态及其交互作用对红椎幼苗叶片光合相关参数的影响

Table 2　Effects of girdling, N forms and their interactions on the photosynthetic parameters of *C. hystrix* seedlings

变量 Variables	环割 Girdling		氮素形态 N forms		交互作用 Interactions	
	F	*P*	*F*	*P*	*F*	*P*
净光合速率(Pn)	21.502	*PP*<0.001	8.057	*P*<0.001	8.782	*P*<0.001
气孔导度(Gs)	0.003	0.960	5.933	*P*<0.001	9.146	*P*<0.001
胞间 CO_2浓度(Ci)	14.233	*P*<0.01	10.694	*P*<0.001	6.707	*P*<0.001
蒸腾速率(Tr)	1.099	0.304	5.459	*P*<0.01	7.719	*P*<0.001
叶面饱和水气压亏缺(VPDL)	74.772	*P*<0.001	4.763	*P*<0.01	19.265	*P*<0.001
水分利用效率(WUE)	6.454	*P*<0.05	2.141	0.080	2.249	0.068
CO_2利用效率(CUE)	112.611	*P*<0.001	6.745	*P*<0.001	4.965	*P*<0.01
相对叶绿素含量 (RCC)	254.971	*P*<0.001	7.789	*P*<0.001	3.472	*P*<0.05
气孔限制值 (Ls)	16.995	*P*<0.001	12.950	*P*<0.001	8.117	*P*<0.001

Pn:净光合速率 net photosynthetic rate;Gs:气孔导度 stomatal conductance;Ci:胞间 CO_2浓度 intercellular CO_2 concentration;Tr:蒸腾速率 transpiration rate;VPDL:叶面饱和水气压亏缺 vapor pressure deficit;WUE:水分利用效率 water use efficiency;CUE:CO_2利用效率 CO_2 use efficiency;RCC:相对叶绿素含量 relative chlorophyll content;Ls:气孔限制值 leaf stomatal limitation values

正常条件下,所有氮素形态处理都显著升高了红椎幼苗叶片的相对叶绿素含量($P<0.05$)。其中,铵态氮和尿素处理下叶片相对叶绿素含量的增幅最大,其次为甘氨酸和精氨酸处理,硝酸铵和硝态氮对其的影响最小。环割条件下,所有氮处理下红椎幼苗叶片的相对叶绿素含量均显著低于对照(图 1)。

2.2 各处理对红椎幼苗叶片气孔导度、胞间 CO_2浓度、蒸腾速率和叶面饱和水气压亏缺的影响

方差分析表明,氮素形态与氮素形态和环割的交互作用显著影响了红椎幼苗叶片的气孔导度(*Gs*)、胞间 CO_2浓度(*Ci*)、蒸腾速率(*Tr*)和叶面饱和水气压亏缺(VPDL)(表 2)。但是,环割处理对这 4 个光合参数的影响并不一致,环割处理对叶片 *Gs* 和 *Tr* 的影响并不显著,而对叶片的 *Ci* 和 VPDL 的影响显著,说明环割处理组和正常处理组的叶片 *Gs* 和 *Tr* 的组间差异并不显著,而环割处理组和正常处理组的叶片 *Ci* 和 VPDL 存在显著的组间差异(表 2,图 4)。

单一环割处理显著降低了红椎幼苗叶片的 *Gs*、*Ci* 和 *Tr*,分别较对照降低了 85%、31%和 82%,但显著升高了叶片的 VPDL(较对照升高了 15%)($P<0.05$)(图 2)。正常条件下,除精氨酸处理外,其他氮素形态均显著降低了红椎幼苗叶片的 *Gs*、*Ci* 和 *Tr*(图 2)。环割条件下,除精氨酸处理外,其他氮素形态也均显著降低了红椎幼苗叶片的 *Gs*、*Ci* 和 *Tr*(图 2)。此外,环割条件下精氨酸处理对红椎幼苗叶片的 *Gs* 和 *Tr* 无显著影响,但显著升高了叶片的 *Ci*(图 2)。正常条件下,所有氮素形态均显著升高了红椎幼苗叶片的 VPDL(图 2)。环割条件下,精氨酸处理显著降低了叶片的 VPDL,但在其他形态氮处理下叶片 VPDL 值较对照均显著升高(图 2)。

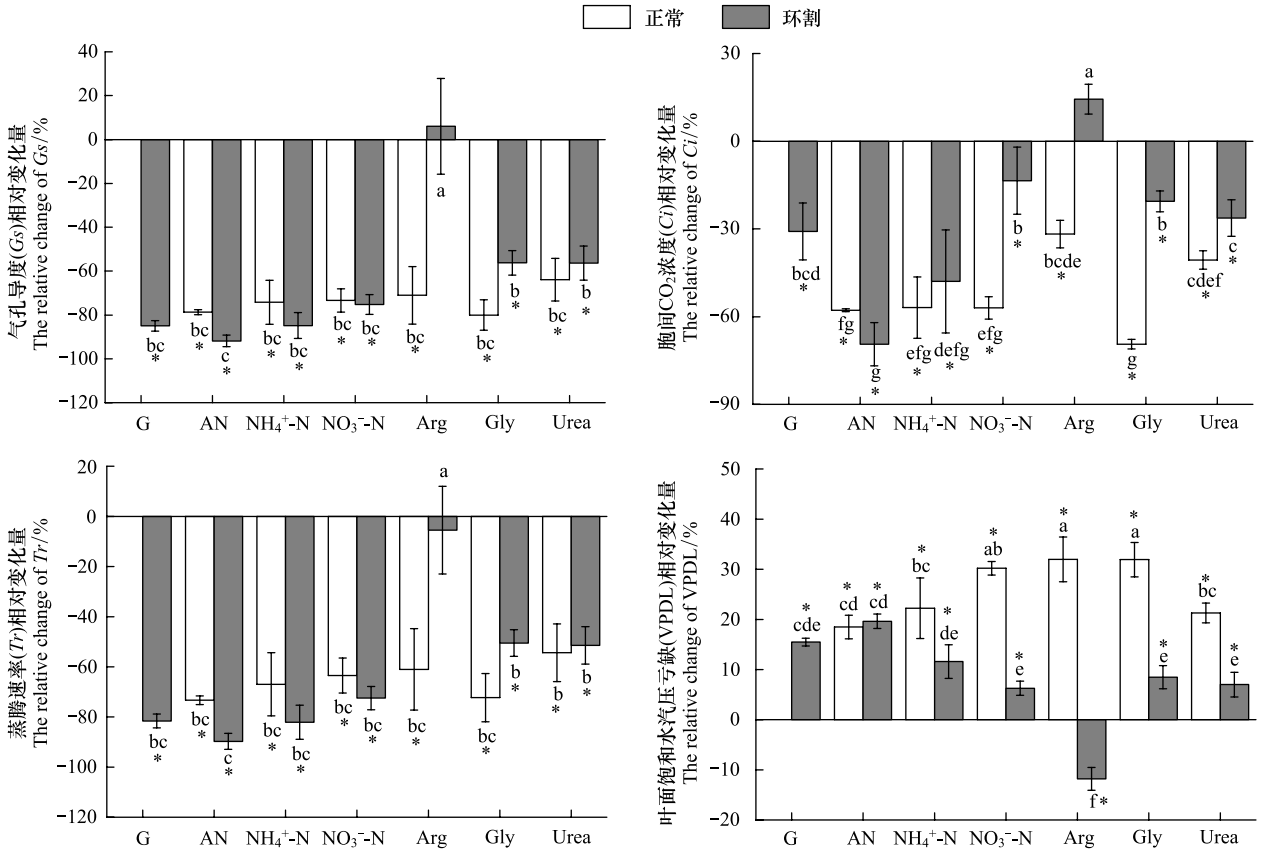

图 2 各处理对红椎幼苗叶片气孔导度(A)、胞间 CO_2浓度(B)、蒸腾速率(C)和叶面饱和水汽压亏缺(D)的影响

Fig.2 Effects of experimental treatments on the floliar stomatal conductance (A), intercellular CO_2 concentration (B), transpiration rate (C) and vapor pressure deficit (D) of *C. hystrix* seedlings

Gs: 气孔导度 stomatal conductance; *Ci*: 胞间 CO_2浓度 intercellular CO_2 concentration; *Tr*: 蒸腾速率 transpiration rate; VPDL: 叶面饱和水汽压亏缺 vapor pressure deficit; G: 环割处理 girdling treatment; AN: 硝酸铵 ammonia nitrate; NH_4^+-N: 氯化铵 ammonium chloride; NO_3^--N: 硝酸钾 potassium nitrate; Urea: 尿素 urea; Arg: 精氨酸 arginine; Gly: 甘氨酸 glycine

2.3　各处理对红椎幼苗叶片气孔限制值、水分利用效率和 CO_2 利用效率的影响

总体上,环割、氮素形态及其交互作用均显著影响了红椎幼苗叶片的气孔限制值(*Ls*)(表 2)。单一环割处理显著升高了红椎幼苗叶片的 *Ls*($P<0.05$)。正常条件下,所有氮素形态均显著升高了红椎幼苗叶片的 *Ls*,其中以精氨酸的促进作用最大。环割条件下,精氨酸处理显著降低了红椎幼苗叶片的 *Ls*,但其他氮素形态均显著升高了其叶片 *Ls*,其中以硝酸铵的促进作用最大(图 3)。

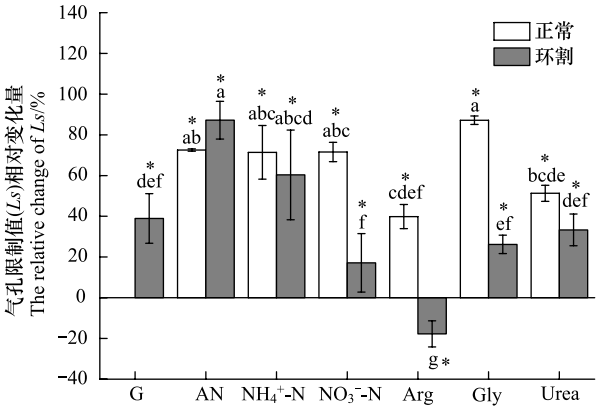

图 3　各处理对红椎幼苗叶片气孔限制值的影响

Fig. 3　Effects of experimental treatments on the leaf stomatal limitation value (*Ls*) of *C. hystrix* seedlings

方差分析表明,环割处理显著影响了红椎幼苗叶片的水分利用效率(WUE),但氮素形态和环割与氮素形态的交互作用对其的影响并不显著(表 2)。单一环割处理显著升高了红椎幼苗叶片的 WUE。正常条件下所有氮添加处理均显著升高了红椎幼苗叶片的 WUE($P<0.05$),但各处理间其增幅无显著差异($P>0.05$)。环割条件下,除精氨酸处理外,其他氮处理也均显著升高了红椎幼苗叶片的 WUE(图 4)。

总体上,环割、氮素形态及其交互作用显著影响了红椎幼苗叶片的 CO_2 利用效率(CUE)(表 2)。单一环割处理显著降低了叶片的 CUE,较对照显著降低了 62%($P<0.05$)。另外,正常条件下,除精氨酸处理外,其他氮素形态均显著升高了红椎幼苗叶片的 CUE,其中,在甘氨酸处理下其增幅最大。环割条件下,所有氮处理下红椎幼苗叶片的 CUE 均显著低于对照组(图 4)。

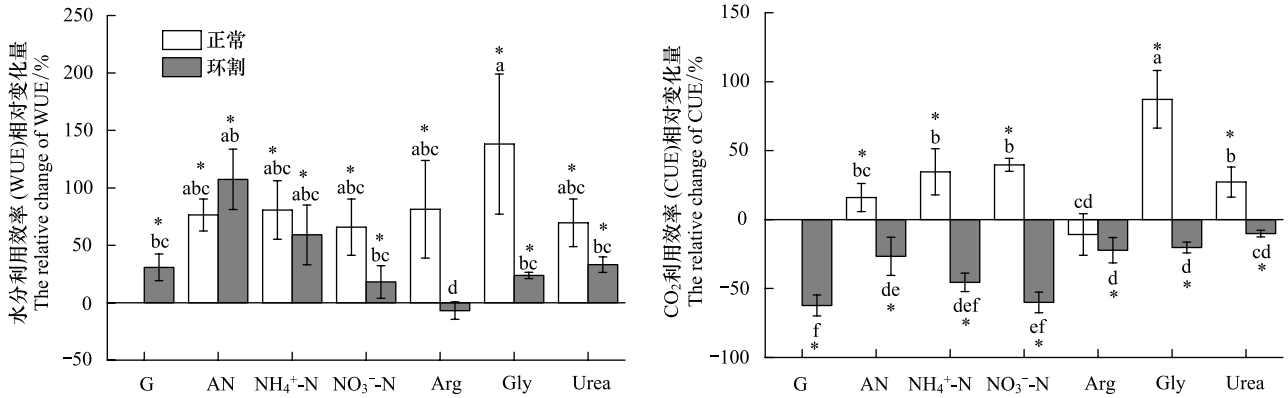

图 4　各处理对红椎幼苗叶片水分利用效率(A)和 CO_2 利用效率(B)的影响

Fig.4　Responses of foliar water use efficiency (A) and CO_2 use efficiency (B) of *C. hystrix* seedlings to experimental treatments

2.4　环割和不同供氮形态下红椎幼苗叶片光合生理生态因子之间的相关性

多元逐步回归分析结果表明,各处理下红椎幼苗叶片的 *Gs*、*Tr* 与 *Pn* 呈显著正相关($R^2=0.81$,$P<0.0001$;$R^2=0.87$,$P<0.0001$)(图 5)。*Ci* 和叶片相对叶绿素含量也与 *Pn* 呈显著正相关($R^2=0.27$,$P<0.001$;$R^2=0.14$,$P<0.05$)(图 5),但其决定系数 R^2 相对较小,说明环割和不同形态氮素处理下红椎幼苗叶片 *Gs* 和 *Tr* 的变化对 *Pn* 的影响最大。另外,叶片 *Gs* 与 *Tr* 呈显著线性正相关,其决定系数 R^2 达到了 0.98($P<0.0001$),说明环割和不同形态氮添加条件下气孔导度的变化是导致红椎幼苗叶片蒸腾速率变化的决定性因素。

3　讨论

3.1　正常生长条件下不同形态氮处理对植物光合特性的影响

一般认为,施氮后植物叶绿素含量增加,叶片吸光强度和叶肉细胞光合活性增强,最终使净光合速率

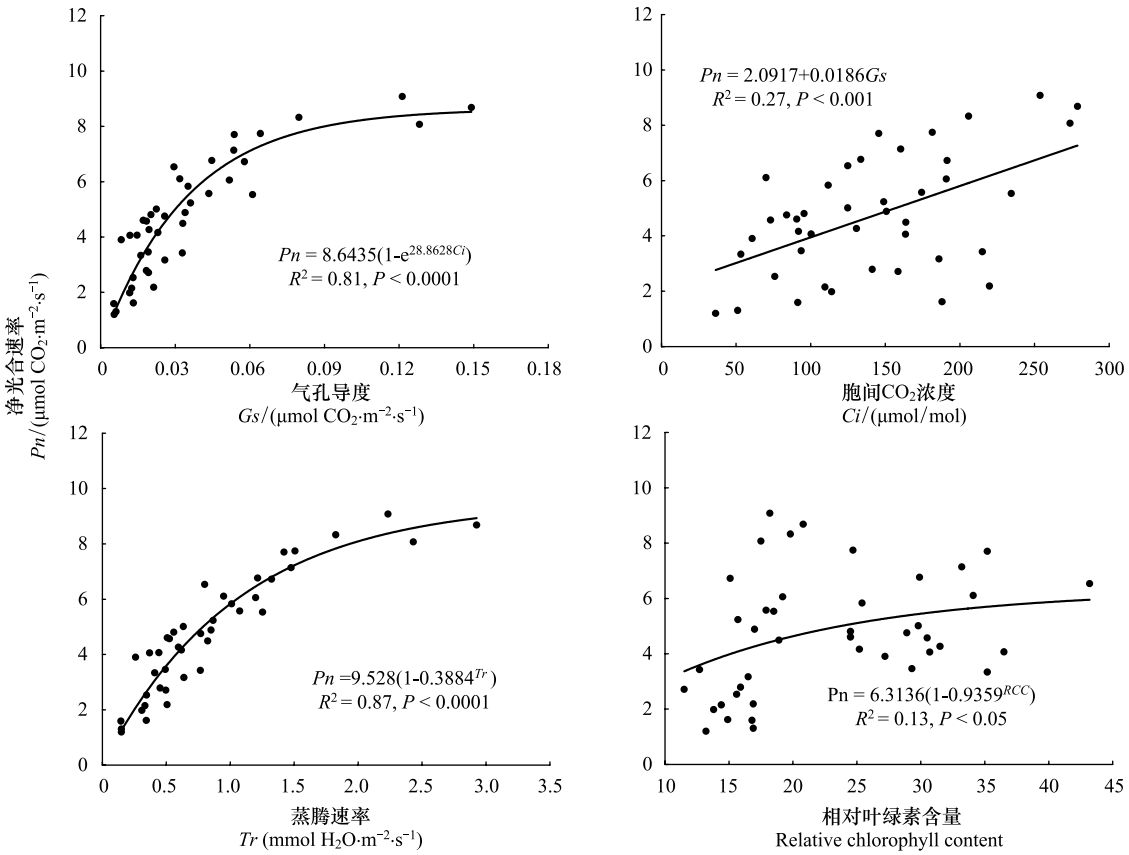

图 5 叶片气孔导度(A)、胞间 CO_2 浓度(B)、蒸腾速率(C)及相对叶绿素含量(D)与净光合速率的相关性

Fig.5 Correlations between leaf stomatal conductance (A), intercellular CO_2 concentration (B), transpiration rate (C) with relative chlorophyll content (D) and leaf net photosynthetic rate (n=42)

(Pn)增加,促进植株干物质的积累[17-18, 27]。但是,越来越多的研究认为不同植物的生长对氮素的需求量及对氮肥施用量的反应不同[1]。本研究发现正常条件下所有氮素形态均显著降低了红椎幼苗叶片的 Pn(图 1)。有研究表明植物的叶氮含量、光合能力和生长与施氮量之间并不呈线性关系,即达到一定施氮量后,植株的光合能力和生长可能会对施氮反应不明显甚至受到抑制[1, 18-29]。因此,本研究中各氮素形态处理下红椎幼苗叶片 Pn 受到抑制主要是由供氮过高引起的,供氮过高导致植物光合固碳能力受抑制的现象在其他植物中也有所报道[1-2,19, 28]。

本研究中过量供氮对红椎幼苗叶片 Pn 引发负面效应的原因是多方面的,最大可能是由于气孔限制的结果。研究指出,判断植物叶片光合速率降低的主要原因是气孔因素还是非气孔因素的两个可靠依据,是胞间 CO_2 浓度(Ci)和气孔限制值(Ls)的变化方向:Ci 降低和 Ls 升高表明气孔导度降低是主要原因;而 Ci 升高和 Ls 降低则表明主要原因是非气孔因素即叶肉细胞的光合活性[29]。本研究中各氮素形态处理下红椎幼苗叶片的 Ci 均显著降低(图 2),而 Ls 均显著升高(图 3),这表明红椎幼苗叶片 Pn 的下降主要是气孔限制在起作用。气孔的行为受制于气孔细胞的水分(渗透势)状况,氮处理下土壤及植株体内氮素浓度较高,细胞液渗透压的降低迫使植株在低的气孔导度下运作[30]。另外,诸多研究表明较高的饱和水汽压亏缺(VPDL)将引起叶片气孔关闭,气孔阻力增加,叶片光合速率降低,从而导致生产力降低[31-33]。本研究发现各氮素形态处理下红椎幼苗叶片 VPDL 均显著升高(图 2),这说明各氮素形态处理下红椎幼苗叶片气孔限制值的升高可能是由于叶片 VPDL 显著升高导致的。各氮素形态处理下红椎幼苗叶片 Pn 下降的另一个原因可能是过量供氮导致的植株体内营养失衡抑制了 Rubisco 蛋白的合成,从而使叶片光合能力降低[34]。此外,氮、碳同化对光合作用光反应产生的同化力(即 ATP 和 NADPH)的竞争也可能是导致光合碳同化速率降低的原因之一[35]。本研究还发

现供应精氨酸和甘氨酸显著降低了红椎幼苗叶片的 *Pn* 值(图 1),并且在这 2 个有机氮素形态处理下叶片 VPDL 的升高幅度要大于其他氮素形态(图 2),这从侧面说明红椎幼苗根系可从土壤中吸收有机态氮素进而显著影响其叶片光合特性。

研究表明施肥能提高植物渗透调节能力,尤其是增施氮肥可显著抑制蒸腾失水,提高水分利用效率(WUE),但施肥过量或不适当时,会导致植物水分利用效率下降[36]。与之类似,本研究发现所有氮素形态均显著升高了红椎幼苗叶片的 WUE,但各氮素形态间的差异并不显著(图 4)。根据以往研究结果[36-37],本研究中红椎幼苗叶片水分利用效率升高的机制可能是:供氮过高显著升高了植株叶片的气孔限制值(图 3),从而降低了叶片的气孔导度(图 2),并减小了叶片的光合速率和蒸腾作用(图 1, 图 2),但由于光合对气孔开度的依赖小于蒸腾对气孔开度的依赖,因而明显提高了植株叶片的 WUE。

此外,本研究发现虽然所有氮处理均显著升高了红椎幼苗叶片叶绿素含量(图 1),但叶片 *Pn* 反而受到抑制(图 1),金雅琴等[38]研究认为植物叶片光合作用强度下降可能源于叶片气孔的关闭以及胞间 CO_2浓度的降低,而与光合色素的含量无直接关系,这说明叶绿素含量的高低对 *Pn* 的影响并不是决定性的,本研究的结果也表明各处理下红椎幼苗叶片 *Pn* 与相对叶绿素含量的相关性较弱,而与叶片 *Gs*、*Ci* 和 *Tr* 的相关性较强(图 5)。

3.2　环割条件下不同形态氮处理对植物光合特性的影响

诸多研究发现韧皮部环割会降低植物叶片的净光合速率(*Pn*)[39-43],本研究也有类似发现。本研究表明,单一环割处理下红椎幼苗叶片 *Pn* 显著下降,同时 *Ci* 显著降低且 *Ls* 显著,根据许大全[29]的研究结果,可以判定韧皮部环割导致 *Pn* 下降的主要原因是气孔因素(气孔导度降低)。本研究发现单一环割处理显著升高了红椎幼苗叶片的气孔限制值(图 3),进而抑制了植株叶片的 *Ci* 和 *Tr*。此外,本研究还发现单一环割处理显著降低了红椎幼苗叶片的相对叶绿素含量(图 1),这与唐钢梁等[15]对花花柴(*K. caspia*)和骆驼刺(*A. sparsifolia*)进行短期(10d)环割试验得出的结果一致。植物在光合作用能量转化过程中,光合色素担负着光能吸收、传递、转化的功能。环割处理下叶绿素含量的显著降低说明韧皮部环割对红椎幼苗叶片造成较为严重的损害,这将会大幅度降低光合作用速率。因此,韧皮部环割处理下,红椎幼苗叶片光合作用受到抑制可能主要是由气孔限制和叶绿素含量降低造成的。

本研究发现,除精氨酸处理外,环割条件下其他氮素形态虽然并未显著改变单一环割处理对红椎叶片 *Pn* 的抑制作用,其 *Pn* 值均显著低于对照,但各氮素形态处理间叶片 *Pn* 的降幅存在显著差异。总体趋势为:无机态氮>有机态氮(图 1)。供应精氨酸、甘氨酸和尿素的叶片 *Pn* 的降幅要远小于单一环割处理,其中,供应精氨酸的叶片 *Pn* 值从单一环割的抑制中恢复到了对照水平(图 1),说明环割条件下这 3 种氮素形态的添加对植株叶片 *Pn* 产生了正效应。然而,供应 3 种无机态氮的叶片 *Pn* 降幅与单一环割处理无显著差异(图 1A)。由此可见,精氨酸、甘氨酸和尿素对红椎幼苗叶片 *Pn* 的正效应显著缓解了单一环割处理对红椎幼苗叶片 *Pn* 的负效应,尤其以精氨酸处理最为明显,该处理下叶片 *Gs*、*Ci* 和 *Tr* 均从单一环割处理的抑制中恢复至或超过对照水平(图 2)。环割条件下精氨酸供应对红椎幼苗叶片 *Pn* 产生正效应的机制可能是供应精氨酸显著降低了叶片气孔限制值(图 3),导致叶片气孔导度有升高的趋势(图 2),进而显著升高了叶片胞间 CO_2浓度(图 2),最终对叶片净光合速率产生正效应。然而,环割和氮素形态的交互作用不是二者单独作用的简单叠加,有关其相互作用机制还需深入研究。

4　结论

碳水化合物供应、氮素形态及其交互作用显著影响了红椎幼苗叶片的光合固碳能力。短期韧皮部环割显著降低了红椎幼苗叶片的净光合速率(*Pn*)、其降低主要是由气孔限制和叶绿素含量降低所导致的。正常条件下,所有氮素形态均显著降低了红椎幼苗叶片的 *Pn*,但均显著升高了叶片的水分利用效率,*Pn* 降低主要是由供氮过高导致的气孔限制导致的。环割只是模拟植物叶片碳水化合物向根系运输发生阻断状况的工具,在

本研究中用于探讨植物叶片碳水化合物供应和不同供氮形态对植物光合能力的影响是否具有一定的耦合关系。然而,其他一些环境状况也可限制植物幼苗根系碳水化合物供应和能量代谢,比如,在光照较低和低温环境中、幼苗贮藏期长时、植物韧皮部受到人为破坏和昆虫、家畜等啃食韧皮部的干扰等状况[4, 12]。然而,本研究的结果表明:短期碳水化合物供应的阻断会显著抑制红椎幼苗叶片的光合固碳能力,适量供应精氨酸、甘氨酸和尿素等有机态氮会有效缓解这种抑制作用,其中以精氨酸的作用最为明显。

参考文献(References):

[1] 尹丽, 胡庭兴, 刘永安, 谢财永, 冯毅, 颜震, 王永杰. 施氮量对麻疯树幼苗生长及叶片光合特性的影响. 生态学报, 2011, 31(17): 4977-4984.

[2] 唐辉, 李婷婷, 沈朝华, 胡渊渊, 吴家胜. 氮素形态对香榧苗期光合作用、主要元素吸收及氮代谢的影响. 林业科学, 2014, 50(10): 159-163.

[3] Näsholm T, Ekblad A, Nordin A, Giesler R, Högberg M, Högberg P. Boreal forest plants take up organic nitrogen. Nature, 1998, 392(6679): 914-916.

[4] Gruffman L, Palmroth S, Näsholm T. Organic nitrogen uptake of Scots pine seedlings is independent of current carbohydrate supply. Tree Physiology, 2013, 33(6): 590-600.

[5] 吴楚, 王政权, 范志强, 孙海龙. 不同氮浓度和形态比例对水曲柳幼苗叶绿素合成、光合作用以及生物量分配的影响. 植物生态学报, 2003, 27(6): 771-779.

[6] Yao B Q, Cao J, Zhao C M, Rengel Z. Influence of ammonium and nitrate supply on growth, nitrate reductase activity and N-use efficiency in a natural hybrid pine and its parents. Journal of Plant Ecology, 2011, 4(4): 275-282.

[7] 袁伟, 董元华, 王辉. 氨基酸态氮和硝态氮混合营养下番茄生长及其生态化学计量学特征. 土壤, 2010, 42(4): 664-668.

[8] 申明, 成学慧, 谢荔, 李翠, 孙新娥, 张治平, 汪良驹. 氨基酸叶面肥对砂梨叶片光合作用的促进效应. 南京农业大学学报, 2012, 35(2): 81-86.

[9] 李静. 不同形态氮对甜樱桃涝后恢复过程中生理生化特性影响的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2008.

[10] 李勇. 氮素营养对水稻光合作用与光合氮素利用率的影响机制研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.

[11] 潘庆民, 韩兴国, 白永飞, 杨景成. 植物非结构性贮藏碳水化合物的生理生态学研究进展. 植物学通报, 2002, 19(1): 30-38.

[12] Scott-Denton L E, Rosenstiel T N, Monson R K. Differential controls by climate and substrate over the heterotrophic and rhizospheric components of soil respiration. Global Change Biology, 2006, 12(2): 205-216.

[13] Chen D, Zhang Y, Lin Y B, Zhu W X, Fu S L. Changes in belowground carbon in *Acacia crassicarpa* and *Eucalyptus urophylla* plantations after tree girdling. Plant and Soil, 2010, 326(1/2): 123-135.

[14] Di Vaio C, Petito A, Buccheri M. Effect of girdling on gas exchanges and leaf mineral content in the "Independence" nectarine. Journal of Plant Nutrition, 2001, 24(7): 1047-1060.

[15] 唐钢梁, 李向义, 林丽莎, 李磊, 鲁建荣. 短期环割对塔克拉玛干沙漠南缘两种荒漠植物的生理影响. 植物生态学报, 2013, 37(12): 1101-1113.

[16] Dannenmann M, Simon J, Gasche R, Holst J, Naumann P S, Kögel-Knabner I, Knickerd H, Mayerc H, Schlotere M, Penaf R, Pollef A, Rennenbergb H, Papen H. Tree girdling provides insight on the role of labile carbon in nitrogen partitioning between soil microorganisms and adult European beech. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(8): 1622-1631.

[17] 王强, 金则新, 彭礼琼. 氮沉降对乌药幼苗生理生态特性的影响. 应用生态学报, 2012, 23(10): 2766-2772.

[18] 郭盛磊, 阎秀峰, 白冰, 于爽. 供氮水平对落叶松幼苗光合作用的影响. 生态学报, 2005, 25(6): 1291-1298.

[19] Nakaji T, Fukami M, Dokiya Y, Lzuta T. Effects of high nitrogen load on growth, photosynthesis and nutrient status of *Cryptomeria japonica* and *Pinus densiflora* seedlings. Trees, 2001, 15(8): 453-461.

[20] 陈琳, 曾杰, 徐大平, 赵志刚, 郭俊杰, 林开勤, 沙二. 氮素营养对西南桦幼苗生长及叶片养分状况的影响. 林业科学, 2010, 46(5): 35-40.

[21] 彭玉华, 郝海坤, 曹艳云, 黄志玲, 陆国导, 何峰. 红锥营养杯苗苗期施肥试验. 广西林业科学, 2010, 39(4): 214-216.

[22] 葛体达, 黄丹枫, 宋世威, 芦波, 杨冬冬. 不同氮素形态对番茄幼苗碳、氮积累的影响. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3168-3176.

[23] Högberg P, Nordgren A, Buchmann N, Taylor A F S, Ekblad A, Högberg M N, Nyberg G, Ottosson-Löfvenius M, Read D J. Large-scale forest girdling shows that current photosynthesis drives soil respiration. Nature, 2001, 411(6839): 789-792.

[24] 刘冉, 石峰, 刘伟成, 马梅, 李镇, 郭世伟, 郑春芳. 不同形态氮素对盐胁迫下番茄细胞超微结构与光合作用的影响. 园艺学报, 2015,

42(3): 471-479.

[25] 宋英石, 李锋, 王效科, 付芝红, 赵丹. 城市地表硬化对银杏生境及生理生态特征的影响. 生态学报, 2014, 34(8): 2164-2171.

[26] Chaer G, Fernandes M, Myrold D, Bottomley P. Comparative resistance and resilience of soil microbial communities and enzyme activities in adjacent native forest and agricultural soils. Microbial Ecology, 2009, 58(2): 414-424.

[27] 唐晓清, 肖云华, 赵雪玲, 周海凤, 李臻颖, 林志超, 杨月. 不同氮素形态及其比例对菘蓝生物学特性的影响. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(1): 129-138.

[28] Nakaji T, Takenaga S, Kuroha M, Izuta T. Photosynthetic response of *Pinus densiflora* seedlings to high nitrogen load. Environmental Sciences, 2002, 9(4): 269-282.

[29] 许大全. 光合作用气孔限制分析中的一些问题. 植物生理学报, 1997, 33(4): 241-244.

[30] Zhao P, Sun G C, Peng S L. Ecophysiological research on nitrogen nutrition of plant. Ecologic Science, 1998, 17(2): 37-42.

[31] 付刚, 周宇庭, 沈振西, 张宪洲, 石培礼, 何永涛, 余桂荣, 武建双. 不同海拔高度高寒草甸光能利用效率的遥感模拟. 生态学报, 2011, 31(23): 6989-6998.

[32] 同小娟, 李俊, 于强. 农田生态系统光能利用效率及其影响因子分析. 自然资源学报, 2009, 24(8): 1393-1401.

[33] Almeida A C, Landsberg J J. Evaluating methods of estimating global radiation and vapor pressure deficit using a dense network of automatic weather stations in coastal Brazil. Agricultural and Forest Meteorology, 2003, 118(3/4): 237-250.

[34] 李德军, 莫江明, 方运霆, 彭少麟, Gundersen P. 氮沉降对森林植物的影响. 生态学报, 2003, 23(9): 1891-1900.

[35] 曹翠玲, 李生秀, 苗芳. 氮素对植物某些生理生化过程影响的研究进展. 西北农业大学学报, 1999, 27(4): 96-101.

[36] 江云, 马友华, 陈伟, 王鹏举, 宋法龙, 方灿华, 王桂玲. 作物水分利用率的影响因素及其提高途径探讨. 中国农学通报, 2007, 23(9): 269-273.

[37] 山仑, 徐萌. 节水农业及其生理生态基础. 应用生态学报, 1991, 2(1): 70-76.

[38] 金雅琴, 李冬林, 丁雨龙, 王磊. 盐胁迫对乌桕幼苗光合特性及叶绿素含量的影响. 南京林业大学学报(自然科学版), 2011, 35(1): 29-33.

[39] Iglesias D J, Lliso I, Tadeo F R, Talon M. Regulation of photosynthesis through source: sink imbalance in citrus is mediated by carbohydrate content in leaves. Physiologia Plantarum, 2002, 116(4): 563-572.

[40] Urban L, Alphonsout L. Girdling decreases photosynthetic electron fluxes and induces sustained photoprotection in mango leaves. Tree Physiology, 2007, 27(3): 345-352.

[41] Cheng Y H, Arakawa O, Kasai M, Sawada S. Analysis of reduced photosynthesis in the apple leaf under sink-limited conditions due to girdling. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2008, 77(2): 115-121.

[42] Rivas F, Fornes F, Agusti M. Girdling induces oxidative damage and triggers enzymatic and non-enzymatic antioxidative defences in Citrus leaves. Environmental and Experimental Botany, 2008, 64(3): 256-263.

[43] De Schepper V, Steppe K, Van Labeke M C, Lemeur R. Detailed analysis of double girdling effects on stem diameter variations and sapflow in young oak trees. Environmental and Experimental Botany, 2010, 68(2): 149-156.