杉木幼苗生物量分配格局对氮添加的响应

王 娇^{1,3} 关 欣^{1,2} 张伟东^{1,2} 黄 苛^{1,2} 朱睦楠^{1,2} 杨庆朋^{1,2*}

¹中国科学院会同森林生态实验站, 中国科学院森林生态与管理重点实验室, 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; ²亚热带森林生态系统结构与功能湖南省重点实验室, 湖南会同 418307; ³中国科学院大学资源与环境学院, 北京 101408

摘 要 大气氮(N)沉降的急剧增加可能会对植物碳(C)固定和分配产生深远影响。然而, N添加如何影响碳水化合物在植物不同器官之间的分配动态并不十分清楚。该研究利用杉木(*Cunninghamia lanceolata*)幼苗盆栽试验, 设置N添加处理, 测定分析幼苗非结构性碳水化合物(NSC)与结构性碳水化合物(SC)含量和库的变化, 以探讨N添加后杉木幼苗不同器官中NSC与SC的分配模式及调控机制。结果发现: (1) N添加虽然显著增加叶片净光合速率(143.96%), 但却降低了叶片中的NSC含量和库; N添加导致一年生茎的淀粉含量显著下降, 而可溶性糖含量的变化不显著, 当年生茎的NSC组分含量和库没有显著变化; 幼苗根系的NSC及其组分含量和库也有降低的趋势。(2) N添加后地下与地上生物量的比值降低22.09%, 其中SC库比值降低31.07%, 而NSC库比值无显著变化。(3) N添加使地上部分的磷(P)库显著增加, 使地下与地上P库的比值降低了57.02%, 而N库的比值无显著变化。(4) N添加后土壤pH由(4.94 ± 0.09)显著降低到(4.02 ± 0.04), 铵态N和硝态N含量分别增加7.17倍和11.55倍, 土壤有效P含量也增加了42.86%, 而土壤中脲酶(62.75%)和酸性磷酸酶(56.52%)的活性显著降低。研究表明, 低养分条件下杉木幼苗主要通过构建根系结构增加养分吸收, 而非通过向根系分配更多的NSC, 而N添加驱动的养分缓解使更多的碳水化合物分配到地上器官, 导致地上部分SC积累。

关键词 氮添加; 生物量分配; 碳水化合物; 非结构性碳; 磷; 最优分配理论

王娇, 关欣, 张伟东, 黄苛, 朱睦楠, 杨庆朋 (2021). 杉木幼苗生物量分配格局对氮添加的响应. 植物生态学报, 45, 1231-1240. DOI: 10.17521/cjpe.2021.0135

Responses of biomass allocation patterns to nitrogen addition of *Cunninghamia lanceolata* seedlings

WANG Jiao^{1,3}, GUAN Xin^{1,2}, ZHANG Wei-Dong^{1,2}, HUANG Ke^{1,2}, ZHU Mu-Nan^{1,2}, and YANG Qing-Peng^{1,2*}

¹Huitong Experimental Station of Forest Ecology, Key Laboratory of Forest Ecology and Management, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; ²Hunan Key Laboratory for Structure and Ecosystem Service of Subtropical Forest, Huitong, Hunan 418307, China; and ³College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China

Abstract

Aims Sharply increasing atmospheric nitrogen (N) deposition may have profound effects on carbon (C) fixation and allocation of plants. However, a comprehensive understanding of how nitrogen addition influences allocation dynamics of carbohydrates among different organs in plants is still lacking.

Methods In this study, a pot experiment of seedlings of *Cunninghamia lanceolata* was established to investigate the allocation pattern and regulation mechanism of non-structural carbohydrates (NSC) and structural carbohydrates (SC) in different organs of *C. lanceolata* seedlings after N addition. The concentrations and pool sizes of NSC and SC were measured.

Important findings The results showed that: (1) N addition significantly increased the net photosynthetic rate by 143.96%, but decreased the concentration and pool size of NSC in needles. There was no significant change in the components of NSC concentration and pool in current-year stems. Furthermore, N addition resulted in a significant decrease in the starch concentration of one-year-old stems, but a non-significant change in soluble sugar concentration. In addition, the components of NSC concentration and pool in seedlings roots also tended to decrease. (2) After N addition, the ratio of below- to above-ground biomass decreased by 22.09%, and the ratio of below- to above-ground SC pool also decreased by 31.07%, and the ratio of below- to above-ground NSC pool showed no significant difference between control and N addition treatment. (3) N addition significantly increased the phosphorus (P) pool size in the above-ground part and decreased the ratio of below- to above-ground P pool,

收稿日期Received: 2021-04-09 接受日期Accepted: 2021-07-08

基金项目: 国家自然科学基金(41630755、41977092和41877092)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (41630755, 41977092 and 41877092).

* 通信作者Corresponding author (yqp226@iae.ac.cn)

while the ratio of below- to above-ground N pool showed no obvious difference between control and N addition treatment. (4) Under N addition, soil pH decreased significantly from 4.94 to 4.02, ammonium and nitrate nitrogen concentration increased by 7.17 times and 11.55 times, respectively, and soil available P concentration increased by 42.86%, while the activities of urease (62.75%) and acid phosphatase (56.52%) in the soil decreased significantly compared to control. Our results indicate that *C. lanceolata* seedlings increased nutrient uptake amount mainly by the construction of root structure, but not by the allocation of more NSC to the root under low nutrient conditions, while nutrient alleviation driven by nitrogen addition resulted in more carbohydrates allocation to above-ground organs, resulting in the accumulation of SC in above-ground parts.

Key words nitrogen addition; biomass allocation; carbohydrates; non-structural carbohydrates; phosphorus; optimal partitioning theory

Wang J, Guan X, Zhang WD, Huang K, Zhu MN, Yang QP (2021). Responses of biomass allocation patterns to nitrogen addition of *Cunninghamia lanceolata* seedlings. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 45, 1231-1240. DOI: 10.17521/cjpe.2021.0135

氮(N)添加影响陆地生态系统的生产力和生物量积累, 从而影响生态系统碳(C)循环。近年来, 化石燃料燃烧和化肥施用造成大气中活性N含量持续上升(Davidson, 2009), N沉降的增加极大地提高了陆地生态系统的N有效性。过量的N输入对陆地生态系统有许多负面影响, 如土壤酸化和生物多样性丧失等(Zhang *et al.*, 2016)。但N作为重要的植物养分, 也促进植物吸收CO₂, 影响植物生长(Pregitzer *et al.*, 2008; Reay *et al.*, 2008)。光合作用固定的C可分配到不同的C库和代谢过程中, 包括生长、呼吸、繁殖、储存或输送到根际细菌或菌根真菌等代谢过程(Hartmann *et al.*, 2018)。然而, 随大气N沉降的增加, 有关森林生态系统中N添加诱导的C固定及其在各个器官之间分配的信息尚不全面。因此, 有必要研究N添加对植物C分配的影响, 以便更好地理解并预测森林生态系统C循环对全球气候变化的反馈。

在植物中, 碳水化合物分为结构性碳水化合物(SC, 包括木质素和纤维素等)和非结构性碳水化合物(NSC, 包括可溶性糖和淀粉等)(Dietze *et al.*, 2014)。SC一般用于构建植物组织(Mo *et al.*, 2020), 而NSC主要为植物的生长、呼吸提供C和能量(Würth *et al.*, 2005; Dietze *et al.*, 2014), 可作为植物体内表征C收支状况的指标(Martínez-Vilalta *et al.*, 2016)。之前的研究表明, 缺N时植物会增加分配到根系的碳水化合物比例, 以促进N的吸收(祁瑜等, 2011), 而N有效性增加时则会导致更多的碳水化合物分配到地上器官(Burton *et al.*, 2000; Ågren & Franklin, 2003; Mäkelä *et al.*, 2008)。然而, 以往研究多集中在植物总生物量在不同器官间的分配, 对植物器官中SC和NSC的分配及其权衡机制对N添加的响应关注较少。

地上和地下生物量分配反映了植物调整养分获取的策略来适应环境变化。植物的生物量分配符合最优分配理论, 即植物优先将生物量分配给可获取更多限制性资源的器官以促进生长(Kobe *et al.*, 2010)。例如Wang等(2019)研究发现在N限制的温带森林中, 生物量分配与土壤N有效性紧密相关。然而, 生物化学依赖性共同限制假说(Biochemically dependent co-limitation hypothesis)认为, 一种养分的利用效率取决于另一种养分的有效性(Ågren *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2013b)。已有的研究表明N沉降会加速N循环并提高生态系统的氮磷(P)比, 提高生物对有效P的需求, 从而加剧森林土壤有效P的缺乏(Deng *et al.*, 2017)。我国亚热带地区森林土壤相对缺P, 那么在亚热带地区N添加驱动的植物对N的利用是否会导致植物为获取P而分配更多的生物量到地下器官尚不清楚。

杉木(*Cunninghamia lanceolata*)是一种快速生长的常绿针叶树种, 广泛分布于我国亚热带地区(Yang *et al.*, 2016)。杉木人工林占世界人工林总面积的6.5%, 在森林生态系统C循环中发挥重要作用(闫丽飞等, 2020)。本研究选择杉木幼苗为研究对象, 探讨SC和NSC的分配对N添加的响应。我们提出以下假设: (1) N添加后杉木生物量的变化主要与SC有关; (2) N添加会加剧杉木的P限制, 造成碳水化合物向地下的分配增加, 促进根系生长并吸收有效P。

1 材料和方法

1.1 研究区域概况

本研究于2020年在湖南省会同森林生态实验站(109.68° E, 26.85° N)进行。该地区属于中亚热带季风性湿润气候, 年平均气温16.5 °C, 1月份平均气温

为1.9 °C, 7月份平均气温29.0 °C, 年降水量1 200–1 400 mm, 雨季集中在4–8月(Yang *et al.*, 2016)。采用盆栽控制实验, 供试植物为长势良好且相似的1年生杉木幼苗, 供试土壤取自会同森林生态实验站37年生杉木人工林样地, 土壤pH为4.98, 速效氮含量为49.53 mg·kg⁻¹, 有效磷含量为0.35 mg·kg⁻¹, 土壤全碳含量为12.97 g·kg⁻¹, 全氮含量为1.37 g·kg⁻¹。

1.2 试验设计

2020年3月初将15株长势一致的一年生杉木幼苗移栽到底部开孔的塑料盆中(盆口直径21 cm, 盆高12 cm), 每盆1株, 盆中装入上述采集自杉木人工林的土壤, 定期浇水, 并进行为期一个月的缓苗。4月初, 随机选取株高((26 ± 2) cm)及地径((5.1 ± 0.4) mm)相近的杉木幼苗10株放入2 m × 3 m的透明温室中, 以避免雨水和温度的影响。试验采用单因子两水平随机试验, 即对照和N添加处理, 每个处理设置5个重复, 不同处理的地径和株高无显著差异。本实验以硝酸铵为N源, 从2020年4月至7月模拟氮添加, 每盆施氮量为0.83 g·m⁻² (每月施一次), 共计加氮3.32 g·m⁻², 相当于10 g·m⁻²·a⁻¹的氮沉降。实验期间不同处理的植株随机摆放并定期随机更换位置。不同处理的所有幼苗在8月13日全部采收用于实验室分析。

1.3 叶片光合作用的测定

于2020年8月10日9:00–11:00测量植株净光合速率。使用携带红/蓝LED光源和CO₂注入器的LI-6400便携式光合测定系统(LI-COR, Lincoln, USA)测定净光合速率(Li *et al.*, 2017)。将3–5片成熟叶片置于2 cm × 3 cm的叶室, 叶室中温度设定为25 °C, 光照强度为1 500 μmol·m⁻²·s⁻¹, CO₂浓度为400 mmol·mol⁻¹, 使叶片适应光强15 min后光合速率达到稳定时进行计数。光合作用测定结束后, 收集封闭叶室内的叶片并用叶面积仪(LI-3000, LI-COR, Lincoln, USA)扫描, 用实际叶面积校正净光合速率。

1.4 植物生物量、NSC及C、N、P含量的测定

将采集的所有幼苗分成当年生针叶(CN)、一年生针叶(ON)、当年生茎(CS)、一年生茎(S)、粗根(CR, 直径≥2 mm)和细根(FR, 直径<2 mm) 6部分。所有的样品被置于105 °C杀青30 min后于60 °C烘干至恒质量, 然后称质量并记录每个植物器官的生物量。研磨所有干燥样品并过0.25 mm的筛子, 用于NSC、C、N、P含量的分析。采用元素分析仪(vario MACRO

cube, Elementarvario, Hanau, Germany)测定植物全C、全N含量; 采用硫酸-高氯酸消煮法(浓硫酸与高氯酸体积比10:1), 称取0.800 0 g植物样品于消煮管中并缓慢加入10 mL混合酸放置过夜后进行消煮, 用流动注射分析仪(AA3, SEAL, Hamburg, Germany)测定全P含量(Liu *et al.*, 2018)。

NSC在此定义为可溶性糖和淀粉的总和, 采用分光光度法测定其含量(Yang *et al.*, 2015)。取0.10 g植物样品置于10 mL乙醇水溶液(体积分数80%)中, 在80 °C水浴振荡10 min后用离心机以3 000 r·min⁻¹离心10 min。离心后将上清液和残渣分离, 分别用于测定可溶性糖和淀粉含量。通过K-SUFRG试剂盒酶法测定可溶性糖含量, 用己糖激酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶测定D-葡萄糖含量, 用分光光度计(Lambda 25, Perlin Elmer, Massachusetts, USA)在340 nm波长下测定烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸酯的吸光度; 通过磷酸葡萄糖异构酶异构化测定D-果糖含量, 通过β-果糖苷酶(转化酶)水解蔗糖前后D-葡萄糖的浓度差值评价蔗糖含量。若样品中可溶性糖浓度超过NADPH的阈值则先进行稀释后测定。通过K-TSTA试剂盒酶法测定淀粉含量, 淀粉经α-淀粉酶水解为麦芽糊精后再经淀粉葡萄糖苷酶进一步水解为D-葡萄糖后, 加入葡萄糖氧化酶/过氧化物酶试剂, 用分光光度计在510 nm波长下的吸光度计算淀粉含量。

1.5 土壤样品的测定

收集的土壤样品人工挑出所有的根系并过2 mm的筛子, 分为4 °C冷藏和烘干两部分保存, 用于土壤理化性质和酶活性测定。土壤pH通过土水质量比1:2.5混合, 即称取10.00 g土壤于烧杯中加入25 mL除尽CO₂的去离子水, 剧烈搅拌1 min后静置30 min, 用pH计测定。土壤中NH₄⁺、NO₃⁻用2 mol·L⁻¹ KCl溶液浸提, 称取5.00 g新鲜土壤后用50 mL的KCl溶液浸提, 并用流动注射分析仪测定含量。土壤有效P用0.03 mol·L⁻¹氟化铵和0.025 mol·L⁻¹盐酸浸提, 称取5.00 g风干土样后用50 mL氟化铵-盐酸浸提, 并用流动注射分析仪测定含量(Liu *et al.*, 2018)。

土壤脲酶活性采用的是试剂盒酶法测定, 利用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定。酸性磷酸酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和亮氨酸氨基肽酶活性的测定采用的是荧光比色法(Sinsabaugh *et al.*, 2000, 2008), 即加入荧光标记底物, 通过监测所标记底物的代谢速

率来判定相关的土壤酶活性。取新鲜土样1 g, 加入100 mL浓度为50 mmol·L⁻¹的乙酸钠溶液中并混匀, 在样品孔中加入200 μL的土壤悬浮液和50 μL的荧光底物(酸性磷酸酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶加入4-甲基伞形酮(MUB), 亮氨酸氨基肽酶加入7-氨基-4-甲基伞形酮(MUC)), 然后将荧光酶标板用封口膜密封后置于25 °C条件下避光反应4 h, 利用酶标仪(Epochta, Biotek Instruments, Winooski, USA)检测365 nm激发下的450 nm荧光, 计算各个酶的活性。

1.6 数据处理

为了区分NSC和SC对生物量分配的贡献, SC库的计算(Canham *et al.*, 1999; Kobe *et al.*, 2010)如下:

$$\text{SC库(g)} = m(\text{g}) - \text{NSC库(g)}$$

式中, m 为植物各器官的质量, 各器官NSC库为各器官质量和NSC含量的乘积。

本研究数据的统计分析用SPSS 26.0完成, 利用单因素方差分析检验N添加后植株净光合速率、总生物量和不同器官的生物量及其NSC、可溶性糖、淀粉、N和P的含量与库的差异显著性, 采用双因素方差分析探究N添加处理、不同器官及其交互作用对NSC及其组分含量和库影响的差异显著性。用单因素方差分析检验地下与地上总生物量、NSC库、SC库、N库和P库比值及土壤脲酶、亮氨酸氨基肽酶、酸性磷酸酶和N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性的差异显著性。作图通过Origin 2018完成。

2 结果

2.1 杉木幼苗净光合速率和生物量对N添加的响应

N添加显著提高杉木幼苗的净光合速率($p < 0.05$), 但对植株生物量的影响并不显著。与对照相比, N添加后植株净光合速率增加了143.96% (图1)。虽然N添加没有显著改变各器官的生物量, 但地上和地下生物量表现出相反的趋势, 地上部分表现为增加, 例如, CN (+14.19%)、ON (+14.34%)、CS (+34.52%)、OS (+14.32%), 而地下部分则为降低, 如, CR (-14.98%)、FR (-10.44%)。同时, 与对照相比, 地上总生物量(CN + ON + CS + OS)也增加16.2%, 地下总生物量(CR + FR)也降低11.73%, 但都没有达到显著水平。此外, N添加后幼苗不同器官的生物量存在显著差异, 由高到低依次为CN > FR > ON > OS > CR > OS (图1)。

图1 氮添加对杉木幼苗净光合速率(A)、生物量(B)及不同器官(O)生物量(C)的影响(平均值±标准误, $n = 5$)。CK, 对照, 不添加氮肥; N, 添加氮肥处理。CN, 当年生叶; CR, 粗根; CS, 当年生茎; FR, 细根; ON, 一年生叶; OS, 一年生茎。图中不同小写字母表示不同处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 1 Effect of nitrogen addition on net photosynthetic rate (A), total plant biomass (B) and biomass of different organs (O) of *Cunninghamia lanceolata* seedlings (mean ± SE, $n = 5$). CK, control, no nitrogen fertilizer addition; N, nitrogen addition. CN, current-year needles; CR, coarse roots; CS, current-year stems; FR, fine roots; ON, one-year-old needles; OS, one-year-old stems. Different lowercase letters indicate significant difference between treatments ($p < 0.05$).

2.2 杉木幼苗各器官NSC对N添加的响应

与对照相比, N添加显著降低杉木幼苗叶片NSC及其组分的含量, 其中CN的降低幅度较ON更大。除FR的淀粉含量略有增加外, 幼苗其他器官的NSC、可溶性糖和淀粉含量均有不同程度的降低。其中, 地上器官的NSC含量降低31.13%, 而地下器官的降低22.44% (图2; 表1)。在相同处理水平下, 杉木幼苗各器官NSC及其组分的含量存在显著差异($p < 0.05$)。对照中NSC、可溶性糖和淀粉含量都表现为CN最高, FR最低; 然而, 氮添加后NSC含量在CS中最高, 在FR中最低(图2A), 且器官中可溶性糖与NSC含量表现相似(图2B), 而淀粉在CR中的含量最高, OS中最低(图2C)。尽管N添加对器官NSC及其组分的库没有显著影响, 但在相同处理下, 杉木幼苗各器官NSC、可溶性糖和淀粉库的大小存在显著差异, 其中CN最高(图2D-2F)。

图2 氮添加对杉木幼苗不同器官(O)非结构性碳水化合物(NSC)含量(A)、可溶性糖含量(B)、淀粉(C)含量、NSC库(D)、可溶性糖库(E)和淀粉库(F)的影响(平均值±标准误, $n = 5$)。CN, 当年生叶; CR, 粗根; CS, 当年生茎; FR, 细根; ON, 一年生叶; OS, 一年生茎。CK, 对照, 不添加氮肥; N, 添加氮肥处理。图中不同小写字母表示同一器官内不同处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 2 Effect of nitrogen addition on the concentration of non-structural carbohydrates (NSC)(A), soluble sugar (B) starch (C), and the pool sizes of non-structural carbohydrates (NSC)(D), soluble sugar (E) and starch (F) in different organs (O) of *Cunninghamia lanceolata* seedlings (mean ± SE, $n = 5$). CN, current-year needles; CR, coarse roots; CS, current-year stems; FR, fine roots; ON, one-year-old needles; OS, one-year-old stems. CK, control, no nitrogen fertilizer addition; N, nitrogen addition. The different lowercase letters of the same organs indicate significant difference between treatments ($p < 0.05$).

表1 氮(N)添加对杉木幼苗各器官非结构性碳水化合物(NSC)、可溶性糖、淀粉、N和磷(P)含量的影响

Table 1 Effect of nitrogen (N) addition on the concentrations of non-structural carbohydrates (NSC), soluble sugar, starch, N and phosphorus (P) in different organs of *Cunninghamia lanceolata* seedlings

器官 Organ	NSC (mg·g ⁻¹)	可溶性糖 Soluble sugar (mg·g ⁻¹)	淀粉 Starch (mg·g ⁻¹)	N (mg·g ⁻¹)	P (mg·g ⁻¹)
CN	↓	↓	↓	↑	↑
ON	↓	↓	↓	↑	↑
CS	0	0	0	↑	0
OS	0	0	↓	↑	↑
CR	0	0	0	↑	0
FR	0	0	0	↑	0

↑, 显著增加; ↓, 显著降低; 0, 无显著变化。CN, 当年生叶; CR, 粗根; CS, 当年生茎; FR, 细根; ON, 一年生叶; OS, 一年生茎。

↑, significant increase; ↓, significant decrease; 0, no significant effect. CN, current-year needles; CR, coarse roots; CS, current-year stems; FR, fine roots; ON, one-year-old needles; OS, one-year-old stems.

2.3 杉木幼苗各器官的N、P含量对N添加的响应

N添加不仅显著增加杉木幼苗地上地下器官的N含量, 也增加了各器官的P含量, 尤其是CN、ON

和OS的P含量变化达到显著水平($p < 0.05$), 分别增加94.80%、49.88%和95.08%(图3; 表1)。N添加也增加了各器官的N库和地上部分器官的P库, 但减少了根系的P库(图3)。N添加并没有改变杉木各器官N的分配, 即N含量和N库都为CN和FR较高, 其余器官较低。然而, N添加却改变了幼苗器官中P的分配, 对照中FR的P含量和P库较高, 而氮添加后CN中较高。此外, 在相同处理水平下, 幼苗不同器官的N、P含量和库也存在显著差异($p < 0.05$)。

2.4 地下与地上生物量、N、P分配对N添加的响应

从图4中可以看出, N添加改变了地下与地上器官生物量的分配。N添加对地上和地下部分总生物量、NSC库和SC库均没有显著影响(表2)。与对照相比, N添加显著降低地下/地上总生物量的比值(减少22.09%, $p < 0.05$, 图4A)。其中, 仅SC库的地下与地上比值显著降低(降低31.70%, 图4C), 而NSC库的

图3 氮添加对杉木幼苗不同器官(O)氮(N)含量(A)、磷(P)含量(B)、N库(C)和P库(D)的影响(平均值±标准误, $n = 5$)。CN, 当年生叶; CR, 粗根; CS, 当年生茎; FR, 细根; ON, 一年生叶; OS, 一年生茎。CK, 对照, 不添加氮肥; N, 添加氮肥处理。图中不同小写字母表示同一器官内不同处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 3 Effect of nitrogen addition on nitrogen (N) concentration (A), phosphorus (P) concentration (B), the pool sizes of N (C) and the pool sizes of P (D) in different organs (O) of *Cunninghamia lanceolata* seedlings (mean $\pm$ SE, $n = 5$). CN, current-year needles; CR, coarse roots; CS, current-year stems; FR, fine roots; ON, one-year-old needles; OS, one-year-old stems. CK, control, no nitrogen fertilizer addition; N, nitrogen addition. The different lowercase letters of the same organs indicate significant difference between treatments ($p < 0.05$).

图4 氮添加对杉木幼苗总生物量(A)、非结构性碳水化合物(NSC)(B)和结构性碳水化合物(SC)(C)库的地下与地上比值的的影响(平均值±标准误, $n = 5$)。CK, 对照, 不添加氮肥; N, 添加氮肥处理。图中不同小写字母表示不同处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 4 Effect of nitrogen addition on the ratio of below- to aboveground total biomass (A), non-structural carbohydrates (NSC) pool size (B) and structural carbohydrates (SC) pool size (C) of *Cunninghamia lanceolata* seedlings (mean $\pm$ SE, $n = 5$). CK, control, no nitrogen fertilizer addition; N, nitrogen addition. Different lowercase letters indicate significant difference between treatments ($p < 0.05$).

地下与地上比值并无显著变化(图4B)。此外, N添加显著增加地上和地下部分的N库。对P库而言, N添加虽没有显著影响地下部分P库, 但显著增加了地上部分总P库(表2)。N添加处理也没有显著改变杉木地下/地上N库的比值(图5A), 但是显著降低植株地下/地上总P库的比值($p < 0.05$), 降低了57.02% (图5B)。

2.5 土壤酶活性对N添加的响应

施N后不仅土壤铵态N和硝态N含量显著增加(铵态N含量由 $(15.24 \pm 0.49) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 增加到 $(124.51$

$\pm 7.42) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 硝态N含量由 $(4.92 \pm 1.61) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 增加到 $(61.75 \pm 1.36) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 土壤有效P含量也显著增加, 相比于对照增加了42.86% (表3)。与对照相比, N添加显著降低土壤脲酶(对照: $(124.28 \pm 5.31) \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$; 氮处理: $(46.30 \pm 3.97) \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)和酸性磷酸酶活性(对照: $(71.35 \pm 6.20) \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 氮处理: $(31.02 \pm 1.63) \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), 分别降低62.75%和56.52% (图6A、6B), 但对亮氨酸氨基肽酶和N-乙酰氨基葡萄糖苷酶的活性没有显著影响($p >$

表2 氮添加对杉木幼苗地上和地下部分生物量、非结构性碳水化合物(NSC)和结构性碳水化合物(SC)、氮(N)库和磷(P)库的影响

Table 2 Effect of nitrogen addition on the pool sizes of biomass, non-structural carbohydrates (NSC) and structural carbohydrates (SC), nitrogen (N) and phosphorus (P) in the below- and aboveground of *Cunninghamia lanceolata* seedlings

器官 Organ	生物量 Biomass (g)	C (g)		N (g)	P (g)
		NSC	SC		
CN	0	0	0	↑	↑
ON	0	0	0	0	0
CS	0	0	0	↑	0
OS	0	0	0	↑	↑
CR	0	0	0	0	0
FR	0	0	0	↑	0
地下总量(库) Belowground (pool)	0	0	0	↑	0
地上总量(库) Aboveground (pool)	0	0	0	↑	↑
地下/地上(库) Belowground/Aboveground (pool)	↓	0	↓	0	↓

↑, 显著增加; ↓, 显著降低; 0, 无显著变化。CN, 当年生叶; CR, 粗根; CS, 当年生茎; FR, 细根; ON, 一年生叶; OS, 一年生茎。

↑, significant increase; ↓, significant decrease; 0, no significant effect. CN, current-year needles; CR, coarse roots; CS, current-year stems; FR, fine roots; ON, one-year-old needles; OS, one-year-old stems.

图5 氮添加对杉木幼苗氮(N)库(A)和磷(P)库(B)的地下与地上比值的影响(平均值±标准误, $n = 5$)。CK, 对照, 不添加氮肥; N, 添加氮肥处理。图中不同小写字母表示不同处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 5 Effect of nitrogen addition on the ratio of below- to aboveground nitrogen (N) pool size (A) and phosphorus (P) pool size (B) of *Cunninghamia lanceolata* seedlings (mean $\pm$ SE, $n = 5$). CK, control, no nitrogen fertilizer addition; N, nitrogen addition. Different lowercase letters indicate significant difference between treatments ($p < 0.05$).

表3 氮添加对土壤pH、有效磷、铵态氮和硝态氮含量的影响(平均值±标准误, $n = 5$)

Table 3 Effect of nitrogen addition on soil pH, available phosphorus (AP), ammonium ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) and nitrate nitrogen ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) concentrations of soil (mean $\pm$ SE, $n = 5$)

处理 Treatment	pH	有效磷 AP ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	铵态氮 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	硝态氮 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
CK	4.94 $\pm$ 0.09 ^a	0.28 $\pm$ 0.01 ^b	15.24 $\pm$ 0.49 ^b	4.92 $\pm$ 1.61 ^b
N	4.02 $\pm$ 0.04 ^b	0.40 $\pm$ 0.02 ^a	124.51 $\pm$ 7.42 ^a	61.75 $\pm$ 1.36 ^a

CK, 对照, 不添加氮肥; N, 添加氮肥处理。不同小写字母表示不同处理间差异显著($p < 0.05$)。

CK, control, no nitrogen fertilizer addition; N, nitrogen addition. Different lowercase letters indicate significant difference between treatments ($p < 0.05$).

图6 氮添加对土壤脲酶(A)、亮氨酸氨基肽酶(B)、酸性磷酸酶(C)和N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(D)活性的影响(平均值±标准误, $n = 5$)。CK, 对照, 不添加氮肥; N, 添加氮肥处理。图中不同小写字母表示不同处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 6 Effect of nitrogen addition on urease (A), Leucine aminopeptidase (B), acid phosphatase (C) and N-acetyl-glucosidase (NAG)(D) activity of soil (mean $\pm$ SE, $n = 5$). CK, control, no nitrogen fertilizer addition; N, nitrogen addition. Different lowercase letters indicate significant difference between treatments ($p < 0.05$).

0.05)(图6C、6D)。N添加后土壤pH显著降低, 由对照的(4.94 $\pm$ 0.09)降低到(4.02 $\pm$ 0.04)。

3 讨论

NSC及其组分对N添加的响应在不同的器官间存在差异。本研究中N添加显著增加了杉木叶片的光合速率(图1), 但我们不仅没有发现叶片中NSC及其组分含量和库的增加, 反而发现N添加显著降低了叶片NSC的含量和库(图2), 另外我们也发现N添加促进杉木幼苗茎、叶等地上部分的生长, 这表明施N处理下杉木相对较高的生长速度导致叶片碳水化合物的消耗。Alderman等(2011)也发现了类似的结果, 即叶片NSC的储存是由养分有效性介导的。当植物生长的养分限制得到缓解时, 植物增加了对NSC的利用, 降低了NSC的储存量(Knox & Clarke, 2005)。与叶片NSC的响应不同, 我们发现施N后当年生茎和一年生茎的NSC含量和库没有显著变化, 这可能与植物的茎是叶片和根部养分输送的通道有

关(冯婵莹等, 2019)。尽管如此, 我们发现杉木茎的NSC组分对N添加的响应不同, 尤其是一年生茎。N添加导致一年生茎的淀粉含量显著下降, 而可溶性糖含量变化不显著, 这可能因为N添加促进的C同化还不足以满足杉木幼苗生长和呼吸的C需求, 因此树木需要利用储存的淀粉来支持增加的C消耗(Wiley & Helliker, 2012; Palacio *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2018)。此外, 本研究发现N添加后杉木幼苗地下根系的NSC及其组分含量有下降的趋势但不显著, 与Ai等(2017)发现地下器官的淀粉/可溶性糖及NSC含量随施N量的增加而增加的结果不同。

N添加后杉木幼苗生物量分配的变化与SC分配一致, 而与NSC分配无关。本研究中施N后植物的地上生物量较高(图1), 且杉木幼苗地下与地上总生物量的比值显著降低(图4), 表明N添加有利于植物的碳水化合物向地上器官分配(Li *et al.*, 2020)。这是符合最优分配理论的, 即施N驱动的养分缓解减少了植物向地下器官分配的碳水化合物(Kobe *et al.*, 2010)。一般而言, 植物根系吸收土壤养分有两种策略。其一, 植物积累的NSC既可作为根系分泌物的C源, 使土壤难溶性养分活化; 也能支持菌根定殖, 增加吸收面积(Graham *et al.*, 1997; Dakora & Phillips, 2002; Dijkstra & Cheng, 2007)。在低养分条件下, 植物通常会向根系分配更多的NSC促进限制性养分的吸收, 而随养分增加会减少对根系和菌根的C投资(Portsmouth & Niinemets, 2007)。但本研究没有发现地下与地上部分NSC库的比值显著变化, 可见N添加并没有改变杉木幼苗NSC的分配。其二, 植物将产生的碳水化合物用于构建细根结构, 增加根系比表面积、比根长和侧根数量, 从而促进养分吸收(冯婵莹等, 2019)。而本研究恰恰发现, 与生物量类似, N添加也显著降低地下与地上SC库的比值, 可见低养分条件下杉木通过延长根系长度和增加吸收根表面积获取限制生长的土壤养分(Zhang *et al.*, 2013a), 而土壤N有效性提高后, 植物更易从土壤中获取养分, 故将更多的碳水化合物分配到地上器官, 导致地上部分SC的积累(Wang *et al.*, 2019)。因此, N添加后地下与地上生物量比值的降低可能是SC分配改变造成的, 而并非是NSC的变化引起的。

本研究发现, 杉木幼苗生物量分配的改变与N添加诱导的P的相对缺乏无关, 表明土壤N是杉木幼苗生长的主要限制因子, 杉木幼苗对土壤P的相

对缺乏有一定的适应机制。我们发现N添加显著增加地下和地上部分的N库(图3), N作为植物重要的养分元素, 有利于植物生物量的积累(Lu *et al.*, 2010)。然而, 我们没有观察到地下与地上部分N库比值的变化, 反而发现P库比值显著降低, 且与生物量的比值变化趋于一致(图5), 可见生物量分配的改变可能与P的分配密切相关。同时, 与地下总P库不同的是, 地上总P库显著增加, 尤其是当年生叶片增加68.57%, 这表明根系吸收或储存的有效P更多地输送到地上部分, 用于地上器官结构上的快速生长所需, 即N添加驱动的植物生长对N的利用可能与P的有效性有关(Yan *et al.*, 2016)。此外, 我们发现N添加使幼苗叶片的N:P显著增加, 这表明随时间的推移N和P输入的不平衡可能使植物生长向P限制转变(Li *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2020)。然而, 与假设相反, 本研究并未发现杉木幼苗由于P的缺乏而向地下器官分配更多的碳水化合物, 这可能与杉木长期生长在缺P的土壤环境中有关, 已经产生对P缺乏的适应机制, 或者说是P的缺乏还没有达到一定的阈值, 而植物自身对环境变化具有特定的调控机制(Fita *et al.*, 2011)。一般而言, N添加可以增强土壤磷酸酶的活性, 加速有机P的矿化, 从而提高植物对P的利用(Zhang *et al.*, 2013b)。然而, 本研究却发现施N显著抑制土壤酸性磷酸酶活性(图6), 表明N添加并非通过刺激酸性磷酸酶的活性而促进有机磷的矿化进而提高土壤有效P含量。本研究N添加后土壤有效P含量增加的原因可能是N添加导致的土壤酸化促使铁、铝结合物中磷酸盐释放(Barrow, 2017), 迅速弥补土壤中可被植物吸收的有效P (Casson *et al.*, 2012)。

4 结论

植物通过协调地上与地下部分器官的生物量分配来响应N有效性增加。N添加促进杉木幼苗的光合作用, 但不改变植株总生物量和NSC库, 故植株通过改变C分配来适应N添加。本研究中, N添加显著降低地下与地上器官生物量比值, 且生物量与SC的地上地下分配一致, 而与NSC的分配无关, 表明氮添加主要通过改变细根构建而影响生物量分配。此外, 本研究发现氮添加导致的杉木幼苗生物量分配主要由N的有效性驱动, 与N添加诱导的P的相对缺乏无关。然而, 本研究的结论是建立在短期N添加测

定结果之上, 且盆栽幼苗在植物养分摄取方面有一定的局限性, 自然环境下树木遭受的N沉降的持续性及养分的淋失等原因有可能对N添加的响应是有差异的, 因此今后的研究应该考虑野外人工林的C分配对N沉降的响应。

参考文献

- Ågren GI, Franklin O (2003). Root:shoot ratios, optimization and nitrogen productivity. *Annals of Botany*, 92, 795-800.
- Ågren GI, Wetterstedt JÅM, Billberger MFK (2012). Nutrient limitation on terrestrial plant growth—Modeling the interaction between nitrogen and phosphorus. *New Phytologist*, 194, 953-960.
- Ai ZM, Xue S, Wang GL, Liu GB (2017). Responses of non-structural carbohydrates and C:N:P stoichiometry of *Bothriochloa ischaemum* to nitrogen addition on the Loess Plateau, China. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36, 714-722.
- Alderman PD, Boote KJ, Sollenberger LE, Coleman SW (2011). Carbohydrate and nitrogen reserves relative to regrowth dynamics of 'Tifton 85' bermudagrass as affected by nitrogen fertilization. *Crop Science*, 51, 1727-1738.
- Barrow NJ (2017). The effects of pH on phosphate uptake from the soil. *Plant and Soil*, 410, 401-410.
- Burton AJ, Pregitzer KS, Hendrick RL (2000). Relationships between fine root dynamics and nitrogen availability in Michigan northern hardwood forests. *Oecologia*, 125, 389-399.
- Canham CD, Kobe RK, Latty EF, Chazdon RL (1999). Inter-specific and intraspecific variation in tree seedling survival: effects of allocation to roots versus carbohydrate reserves. *Oecologia*, 121, 1-11.
- Casson NJ, Eimers MC, Watmough SA (2012). An assessment of the nutrient status of sugar maple in Ontario: indications of phosphorus limitation. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184, 5917-5927.
- Chen J, van Groenigen KJ, Hungate BA, Terrer C, van Groenigen JW, Maestre FT, Ying SC, Luo Y, Jorgensen U, Sinsabaugh RL, Olesen JE, Elsgaard L (2020). Long-term nitrogen loading alleviates phosphorus limitation in terrestrial ecosystems. *Global Change Biology*, 26, 5077-5086.
- Dakora FD, Phillips DA (2002). Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant and Soil*, 245, 35-47.
- Davidson EA (2009). The contribution of manure and fertilizer nitrogen to atmospheric nitrous oxide since 1860. *Nature Geoscience*, 2, 659-662.
- Deng Q, Hui DF, Dennis S, Reddy KC (2017). Responses of terrestrial ecosystem phosphorus cycling to nitrogen addition: a meta-analysis. *Global Ecology and Biogeography*, 26, 713-728.
- Dietze MC, Sala A, Carbone MS, Czimczik CI, Mantooth JA, Richardson AD, Vargas R (2014). Nonstructural carbon in woody plants. *Annual Review of Plant Biology*, 65, 667-687.
- Dijkstra FA, Cheng WX (2007). Interactions between soil and tree roots accelerate long-term soil carbon decomposition. *Ecology Letters*, 10, 1046-1053.
- Feng CY, Zheng CY, Tian D (2019). Impacts of nitrogen addition on plant phosphorus content in forest ecosystems and the underlying mechanisms. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 43, 185-196. [冯婵莹, 郑成洋, 田地 (2019). 氮添加对森林植物磷含量的影响及其机制. *植物生态学学报*, 43, 185-196.]
- Fita A, Nuez F, Picó B (2011). Diversity in root architecture and response to P deficiency in seedlings of *Cucumis melo* L. *Euphytica*, 181, 323-339.
- Graham JH, Duncan LW, Eissenstat DM (1997). Carbohydrate allocation patterns in *Citrus* genotypes as affected by phosphorus nutrition, mycorrhizal colonization and mycorrhizal dependency. *New Phytologist*, 135, 335-343.
- Hartmann H, Adams HD, Hammond WM, Hoch G, Landhäuser SM, Wiley E, Zaehle S (2018). Identifying differences in carbohydrate dynamics of seedlings and mature trees to improve carbon allocation in models for trees and forests. *Environmental and Experimental Botany*, 152, 7-18.
- Knox KJE, Clarke PJ (2005). Nutrient availability induces contrasting allocation and starch formation in resprouting and obligate seeding shrubs. *Functional Ecology*, 19, 690-698.
- Kobe RK, Iyer M, Walters MB (2010). Optimal partitioning theory revisited: nonstructural carbohydrates dominate root mass responses to nitrogen. *Ecology*, 91, 166-179.
- Li RS, Yang QP, Zhang WD, Zheng WH, Chi YG, Xu M, Fang YT, Gessler A, Li MH, Wang SL (2017). Thinning effect on photosynthesis depends on needle ages in a Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) plantation. *Science of the Total Environment*, 580, 900-906.
- Li WB, Hartmann H, Adams HD, Zhang HX, Jin CJ, Zhao CY, Guan DX, Wang AZ, Yuan FH, Wu JB (2018). The sweet side of global change-dynamic responses of non-structural carbohydrates to drought, elevated CO₂ and nitrogen fertilization in tree species. *Tree Physiology*, 38, 1706-1723.
- Li WB, Zhang HX, Huang GZ, Liu RX, Wu HJ, Zhao CY, McDowell NG (2020). Effects of nitrogen enrichment on tree carbon allocation: a global synthesis. *Global Ecology and Biogeography*, 29, 573-589.
- Li Y, Niu SL, Yu GR (2016). Aggravated phosphorus limitation on biomass production under increasing nitrogen loading: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 22, 934-943.
- Liu X, Zhao WR, Meng MJ, Fu ZY, Xu LH, Zha Y, Yue JM, Zhang SF, Zhang JC (2018). Comparative effects of simulated acid rain of different ratios of SO₄²⁻ to NO₃⁻ on fine root in subtropical plantation of China. *Science of the Total Environment*, 618, 336-346.

- Lu XK, Mo JM, Gilliam FS, Zhou GY, Fang YT (2010). Effects of experimental nitrogen additions on plant diversity in an old-growth tropical forest. *Global Change Biology*, 16, 2688-2700.
- Mäkelä A, Valentine HT, Helmisaari HS (2008). Optimal co-allocation of carbon and nitrogen in a forest stand at steady state. *New Phytologist*, 180, 114-123.
- Martínez-Vilalta J, Sala A, Asensio D, Galiano L, Hoch G, Palacio S, Piper FI, Lloret F (2016). Dynamics of non-structural carbohydrates in terrestrial plants: a global synthesis. *Ecological Monographs*, 86, 495-516.
- Mo QF, Chen YQ, Yu SQ, Fan YX, Peng ZT, Wang WJ, Li ZA, Wang FM (2020). Leaf nonstructural carbohydrate concentrations of understory woody species regulated by soil phosphorus availability in a tropical forest. *Ecology and Evolution*, 10, 8429-8438.
- Palacio S, Hoch G, Sala A, Körner C, Millard P (2014). Does carbon storage limit tree growth? *New Phytologist*, 201, 1096-1100.
- Portsmouth A, Niinemets Ü (2007). Structural and physiological plasticity in response to light and nutrients in five temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Functional Ecology*, 21, 61-77.
- Pregitzer KS, Burton AJ, Zak DR, Talhelm AF (2008). Simulated chronic nitrogen deposition increases carbon storage in Northern Temperate forests. *Global Change Biology*, 14, 142-153.
- Qi Y, Huang YM, Wang Y, Zhao J, Zhang JH (2011). Biomass and its allocation of four grassland species under different nitrogen levels. *Acta Ecologica Sinica*, 31, 5121-5129. [祁瑜, 黄永梅, 王艳, 赵杰, 张景慧 (2011). 施氮对几种草地植物生物量及其分配的影响. 生态学报, 31, 5121-5129.]
- Reay DS, Dentener F, Smith P, Grace J, Feely RA (2008). Global nitrogen deposition and carbon sinks. *Nature Geoscience*, 1, 430-437.
- Sinsabaugh RL, Lauber CL, Weintraub MN, Ahmed B, Allison SD, Crenshaw C, Contosta AR, Cusack D, Frey S, Gallo ME, Gartner TB, Hobbie SE, Holland K, Keeler BL, Powers JS, *et al.* (2008). Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters*, 11, 1252-1264.
- Sinsabaugh RL, Reynolds H, Long TM (2000). Rapid assay for amidohydrolase (urease) activity in environmental samples. *Soil Biology & Biochemistry*, 32, 2095-2097.
- Wang B, Gong JR, Zhang ZH, Yang B, Liu M, Zhu CC, Shi JY, Zhang WY, Yue KX (2019). 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*, 279, 107743. DOI: 10.1016/j.agrformet.2019.107743.
- Wiley E, Helliker B (2012). A re-evaluation of carbon storage in trees lends greater support for carbon limitation to growth. *New Phytologist*, 195, 285-289.
- Würth MKR, Peláez-Riedl S, Wright SJ, Körner C (2005). Non-structural carbohydrate pools in a tropical forest. *Oecologia*, 143, 11-24.
- Yan LF, Yang QP, Zheng WH, Huang K, Zhao FX (2020). Responses of non-structural carbohydrates in above-ground tissues/organs and root to shading and light restoration in *Cunninghamia lanceolata* saplings. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 40, 311-318. [闫丽飞, 杨庆朋, 郑文辉, 黄苛, 赵峰侠 (2020). 杉木幼苗非结构性碳水化合物对遮阴及恢复光照的响应. 西北植物学报, 40, 311-318.]
- Yan ZB, Guan HY, Han WX, Han TS, Guo YL, Fang JY (2016). Reproductive organ and young tissues show constrained elemental composition in *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany*, 117, 431-439.
- Yang QP, Liu LL, Zhang WD, Xu M, Wang SL (2015). Different responses of stem and soil CO₂ efflux to pruning in a Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) plantation. *Trees*, 29, 1207-1218.
- Yang QP, Zhang WD, Li RS, Xu M, Wang SL (2016). Different responses of non-structural carbohydrates in above-ground tissues/organs and root to extreme drought and re-watering in Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) saplings. *Trees*, 30, 1863-1871.
- Zhang Y, Zhou ZC, Yang Q (2013a). Genetic variations in root morphology and phosphorus efficiency of *Pinus massoniana* under heterogeneous and homogeneous low phosphorus conditions. *Plant and Soil*, 364, 93-104.
- Zhang Y, Zhou ZC, Yang Q (2013b). Nitrogen (N) deposition impacts seedling growth of *Pinus massoniana* via N:P ratio effects and the modulation of adaptive responses to low P (phosphorus). *PLOS ONE*, 8, e79229. DOI: 10.1371/journal.pone.0079229.
- Zhang YH, Loreau M, Lü XT, He NP, Zhang GM, Han XG (2016). Nitrogen enrichment weakens ecosystem stability through decreased species asynchrony and population stability in a temperate grassland. *Global Change Biology*, 22, 1445-1455.

责任编辑: 李彦 责任编辑: 李敏