中文核心期刊
中国科技核心期刊
中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊
首批林草科技重点期刊

ISSN 1000-3142
CN 45-1134/Q
CODEN GUZHEI

广西植物

GUIHAIA



第42卷 第7期 Vol. 42 No. 7
2022年7月 Jul. 2022

全球变化与生态环境 专栏

广西壮族自治区中国科学院 广西植物研究所 广西植物学会 主办
Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences
Guangxi Society of Botany

科学出版社 Science Press 出版

http://www.guihaia-journal.com

7
2022

2021 STM WJCI
WORLD JOURNAL CLOUT INDEX

科技期刊世界影响力指数（WJCI）报告（2021）

收录证书

This is certificate for

广西植物

（ISSN: 1000-3142　CN: 45-1134/Q）

to be indexed in

World Journal Clout Index(WJCI) Report of Scientific and Technological Periodicals(2021)

项目联合研发单位 Project research units：
中国科学技术信息研究所Institute of Scientific and Technical Information of China
《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司 Chinese Academic Journal(CD Edition) Electronic Publishing House Co.ltd
清华大学图书馆 Library of Tsinghua University
万方数据有限公司 Wanfang Data Co.Ltd
中国高校科技期刊研究会 Society of China University Journals
中国科学技术期刊编辑学会 China Editology Society of Science Periodicals

广西植物
GUANGXI ZHIWU

2022 年 7 月　第 42 卷 第 7 期
(月刊)

目　　次

专栏：全球变化与生态环境

氮添加对樟子松人工林氮转化及相关功能基因丰度的影响 …… 刘鑫军，魏洪杰(1077)
南方红壤侵蚀区芒萁叶片对微地形的响应 …… 尚艳琼，陈志强，陈志彪，冯柳俊(1088)
适度紫外辐射增强对白鲜光合特性和药用活性成分的影响 …… 苏宇航，宋晓倩，郑晶文，曹　梦，张衷华，唐中华(1096)
亚热带植物春季和秋季物候格局及其对气候变化的响应 …… 陈　沁，唐欣然，薛乾怀，王鑫洋，杜彦君(1105)
天山中段南坡巴伦台地区不同海拔植物群落物种多样性与土壤因子的关系 … 马紫荆，张云玲，刘　彬(1116)
云南高原湖泊水葱克隆生长与有性繁殖特征及影响因子 …… 赵　飘，刘振亚，王　娜，牛孟莹，艾　静，肖德荣，王　行(1126)
滇池湖滨带优势湿地挺水植物分解特征研究 …… 王陈里，崔婉哲，赵　飘，肖德荣，王　行(1136)
长苞香蒲对人工盐碱湿地 Na^+和 K^+的吸收与转运特征 …… 赵宏亮，倪细炉，侯　晖，谢沁宓，程　昊(1150)
桂北典型锰矿区周边土壤重金属污染状况及主要植物富集特征 …… 王新帅，林　华，俞　果，蒋萍萍，刘　杰(1160)

专题：代谢组学

基于 LC-MS/MS 分析马缨杜鹃花代谢物的变化 …… 武绍龙，唐　明，张习敏，唐　婧(1170)
半枫荷调控 RA 模型的非靶向代谢组学研究 …… 王华坤，肖方静，宾万娟，傅春青，尹　丽(1181)
基于代谢组学分析黑老虎植株不同部位黄酮类成分 …… 高渐飞，周　玮，刘　妮，杨　艳(1193)

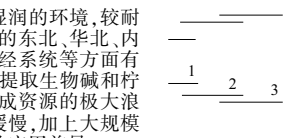
生理与生态

广东南岭 20 hm^2 样地华南五针松空间分布与生境特征研究 …… 龚粤宁，刘志发，水坤春，张　强，吴林芳，郭腾辉，权　擎，沈　勇(1204)
枫香变红过程中叶片组织结构、光合特性及色素含量变化研究 …… 尹国平，刘雄盛，蒋　燚，王　勇，杨继生，肖玉菲，黄荣林，姜　英(1213)
施氮深度和水分胁迫对藜麦幼苗生理及产量的影响 …… 李亚妮，庞春花，张永清，张　媛(1222)
外源水杨酸对铝胁迫下菊芋根系分泌物的影响 … 杨文敏，严浙楠，毛纪隆，倪晓菁，黄家妮，潘蕾蕾，张雅琦，娄赛炜，杨颜裴，张丽宇，刘　鹏(1232)
土壤石砾含量对掌叶木幼苗生长和根系特征的影响 …… 刘天凤，谢　川，郭　松，李在留(1240)
碳酸氢盐处理下桑树和构树的生长、光合和抗逆性差异 …… 李仕洪，姚　凯，刘映良，吴沿友(1248)

责任编辑　周翠鸣　蒋巧媛　李　莉
责任校对　蒋巧媛　李　莉　邓斯丽　周翠鸣
英文编辑/校对　李　莉　周翠鸣　邓斯丽　蒋巧媛
封面/版式设计　周翠鸣　李　莉　蒋巧媛　邓斯丽

期刊基本参数：CN 45-1134/Q * 1981 * m * A4 * 182 * zh+en * P * ￥45.00 * 1200 * 18 * 2022-07

封面说明：白鲜(*Dictamnus dasycarpus*)是一种多年生草本植物，芸香科白鲜属，具有强烈的特殊香气。白鲜喜温暖湿润的环境，较耐寒，幼苗喜阴，主要生长在灌木丛、草原、森林下。在我国大部分地区都有白鲜的生长，野生的白鲜主要生长在我国的东北、华北、内蒙古等地，蒙古、俄罗斯、朝鲜等国也有白鲜的生长。白鲜在抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗过敏反应、抗溃疡、保护肝脏和神经系统等方面有重要药用价值，白鲜特定的有效成分有黄柏酮、柃酮、白鲜碱、柠檬苦素、异白鲜碱和白鲜内酯等。白鲜根部是天然提取生物碱和柠檬苦素的主要来源，其茎叶中同样存在着药用成分，但在日常生活中白鲜往往仅以根皮入药，地上部分全部舍弃，造成资源的极大浪费。白鲜草药的品质受多种因素影响，如外界环境、生产栽培条件等，野生白鲜药材质量虽高，但生长周期长、恢复缓慢，加上大规模的无序采挖，导致白鲜资源逐年减少。因此，在生产实践中，改变环境因素提高白鲜资源的利用率和质量具有广阔的应用前景。



照片示：白鲜的开花植株。**1**. **2**. **3**. 白鲜的花。照片 **1** 由张衷华提供，照片 **2** 和 **3** 由焉志远提供。相关内容详见本期正文 1096~1104 页苏宇航等的文章。

GUIHAIA Jul. 2022 Vol. 42 No. 7
(Monthly)

CONTENTS

Special Column: Global Change and Ecoligical Environment

Effects of nitrogen addition on nitrogen transformation and related functional gene abundance in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation ····· LIU Xinjun, WEI Hongjie(1077)
Responses of *Dicranopteris pedata* leaves to micro-topography in red soil erosion region of South China ····· SHANG Yanqiong, CHEN Zhiqiang, CHEN Zhibiao, FENG Liujun(1088)
Effects of moderate ultraviolet radiation enhancement on photosynthetic characteristics and medicinal active components of *Dictamnus dasycarpus* ····· SU Yuhang, SONG Xiaoqian, ZHENG Jingwen, CAO Meng, ZHANG Zhonghua, TANG Zhonghua(1096)
Spring and autumn phenology patterns of subtropical plants and their responses to climate change ····· CHEN Qin, TANG Xinran, XUE Qianhuai, WANG Xinyang, DU Yanjun(1105)
Relationship between species diversity of plant communities and soil factors at different elevations in Baluntai area, the southern slope of Mid-Tianshan Mountains ····· MA Zijing, ZHANG Yunling, LIU Bin(1116)
Clonal growth and sexual reproduction characteristics and influencing factors of *Schoenoplectus tabernaemontani* in Yunnan Plateau lakes ····· ZHAO Piao, LIU Zhenya, WANG Na, NIU Mengying, AI Jing, XIAO Derong, WANG Hang(1126)
Decomposition characteristics of common wetland emergent plants in Dianchi lakeside ····· WANG Chenli, CUI Wanzhe, ZHAO Piao, XIAO Derong, WANG Hang(1136)
Characteristics of Na^+ and K^+ absorption and transport of *Typha domingensis* in artificial saline wetlands ····· ZHAO Hongliang, NI Xilu, HOU Hui, XIE Qinmi, CHENG Hao(1150)
Heavy metal pollution assessment of a typical manganese mine tailing and heavy metal enrichment characteristics of dominant plant species in North Guangxi ····· WANG Xinshuai, LIN Hua, YU Guo, JIANG Pingping, LIU jie(1160)

Special Subject: Metabonomics

Analysis of metabolites change from flowering to withering of *Rhododendron delavayi* based on LC-MS/MS ····· WU Shaolong, TANG Ming, ZHANG Ximin, TANG Jing(1170)
Untargeted metabonomics study of *Semiliquidambar cathayesis* in treatment of rheumatoid arthritis ····· WANG Huakun, XIAO Fangjing, BIN Wanjuan, FU Chunqing, YIN Li(1181)
Analysis of flavonoids in different tissues of *Kadsura coccinea* plant by widely-targeted metabolomics ····· GAO Jianfei, ZHOU Wei, LIU Ni, YANG Yan(1193)

Physiology and Ecology

Spatial distribution and habitat characteristic of *Pinus kwangtungensis* in the Guangdong Nanling 20 hm^2 forest dynamics plot ····· GONG Yuening, LIU Zhifa, SHUI Kunchun, ZHANG Qiang, WU Linfang, GUO Tenghui, QUAN Qing, SHEN Yong(1204)
Changes of tissue structures, photosynthetic characteristics and pigment contents of *Liquidambar formosana* leaves in the process of turning red ····· YIN Guoping, LIU Xiongsheng, JIANG Yi, WANG Yong, YANG Jisheng, XIAO Yufei, HUANG Ronglin, JIANG Ying(1213)
Effects of nitrogen fertilization depth and water stress on quinoa seedling physiological characteristics and yield ····· LI Yani, PANG Chunhua, ZHANG Yongqing, ZHANG Yuan(1222)
Effects of exogenous SA on root exudates of *Helianthus tuberosus* under aluminum stress ····· YANG Wenmin, YAN Zhenan, MAO Jilong, NI Xiaojing, HUANG Jiani, PAN Leilei, ZHANG Yaqi, LOU Saiwei, YANG Yanpei, ZHANG Liyu, LIU Peng(1232)
Influence of gravel content of soil on growth and root characteristics of *Handeliodendron bodinieri* seedlings ····· LIU Tianfeng, XIE Chuan, GUO Song, LI Zailiu(1240)
Differences in growth, photosynthesis and resistance physiology of *Morus alba* and *Broussonetia papyrifera* under bicarbonate treatments ····· LI Shihong, YAO Kai, LIU Yingliang, WU Yanyou(1248)

Cover images: The flowering plants of *Dictamnus dasycarpus*. **1**. **2**. **3**. The flowers of *D. dasycarpus*. Cover image **1** is provided by ZHANG Zhonghua. Cover images **2** and **3** are provided by YAN Zhiyuan. For detail, please see the text by SU Yuhang et al. on page 1096-1104.

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1077-1087 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202108024

刘鑫军, 魏洪杰. 氮添加对樟子松人工林氮转化及相关功能基因丰度的影响[J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1077-1087.
LIU XJ, WEI HJ. Effects of nitrogen addition on nitrogen transformation and related functional gene abundance in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1077-1087.

氮添加对樟子松人工林氮转化及相关功能基因丰度的影响

刘鑫军[1], 魏洪杰[2]

(1. 河北政法职业学院 生态工程系, 石家庄 050061; 2. 石家庄市城市水系园林中心, 石家庄 050061)

摘 要: 土壤氮(N)的有效性是影响土壤微生物群落结构以及土壤氮循环的重要因子。为探索 N 添加对樟子松人工林氮素转化及 N 功能基因(NFGs)表达的影响及其作用机制,该文以塞罕坝千层板林场的樟子松人工林为研究对象,进行了 2 年的氮添加处理,设置 4 个不同氮添加水平 0、1、5、10 g N·m^{-2}·a^{-1},分别记作 N0、N1、N5、N10,采用功能基因微阵 GeoChip 5.0 系统及室内土壤培养法,探讨了土壤 NFGs 对氮添加的反应及其对氮转化过程的影响。结果表明:(1)与 N0 相比,中低 N 添加处理(N1、N5)促进了氨化(*ureC*、*nirA*、*nrfA*)、硝化(*amoA*)和反硝化(*norB*)相关基因的相对丰度,高 N 处理(N10)则抑制了所有 NFGs 的表达。(2)相关分析表明,N1、N5 的促进作用与土壤有机碳(SOC)、硝态氮(NO_3^--N)和微生物生物量碳(MBC)显著相关,N10 处理显著降低了所有氮转化过程 NFGs 的相对丰度,这种负面影响与溶解性有机碳(DOC)、MBC 含量的减少有关。(3)与氮转化基因丰度规律趋势相似,N1 和 N5 处理显著增加了净 N 硝化、净 N 矿化以及 N_2O 的排放速率,但 N10 促进作用不明显,表明氮添加对氮转化的促进作用存在阈值。(4)多元回归分析进一步表明,*amoA-AOB* 和 MBC 是影响净 N 硝化的关键因素,*ureC*、*nirK* 和 MBC 是影响净氮矿化的关键因素,*narG*、*nirS* 是影响 N_2O 排放的关键因素。综上,N 添加可提高促进樟子松人工林的氮转化及提高部分特定酶功能基因的相对丰度,但氮添加水平存在阈值,当施用 10 g N·m^{-2}·a^{-1}时,氮转化受到抑制,添加 5 g N·m^{-2}·a^{-1}是促进樟子松人工林土壤 N 转化的较佳水平。

关键词: 氮添加, 氮功能基因(NFGs), 净氮转化, N_2O 排放

中图分类号: Q948 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2022)07-1077-11

Effects of nitrogen addition on nitrogen transformation and related functional gene abundance in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation

LIU Xinjun[1], WEI Hongjie[2]

(1. *Department of Ecological Engineering, Hebei Professional College of Political Science and Law*, Shijiazhuang 050061, China; 2. *Shijiazhuang Municipal Water System Garden Center*, Shijiazhuang 050061, China)

Abstract: Soil nitrogen (N) effectiveness is an important factor affecting soil microbial community structure and soil N cycling. In order to explore the effect of N addition on nitrogen transformation and N functional gene (NFGs) expression

收稿日期: 2022-03-16

基金项目: 河北省自然科学基金(HB15JY034)[Supported by Natural Science Foundation of Hebei (HB15JY034)]。

第一作者: 刘鑫军(1972-),硕士,副教授,从事园林栽培、园林规划教学与研究、高职教育理论研究,(E-mail) lxjwhj@126.com。

in *Pinus sylvestris* plantation and its mechanis, in this study, the *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation in the Saihanba Melaleuca Forest Farm were added four different N levels of 0, 1, 5, 10 g N · m^{-2} · a^{-1} for two years, which were designated with N0, N1, N5 and N10, and with the GeoChip 5.0 functional gene microarray system and the greenhouse soil culture method, the response of soil NFGs to N addition and its influence on N transformation processes were discussed. The results were as follows: (1) The N1 and N5 treatments significantly affected the ammonification (*ureC*, *nirA*, *nrfA*), nitrification (*amoA*) and denitrification (*norB*) and compared with the N0 treatment, N10 treatment reduced the expression of all NFGs. (2) Correlation analysis showed that the above promotion was significantly associated with soil organic carbon(SOC), nitrate nitrogen(NO_3^--N) and microbial biomass carbon(MBC), and N10 treatment significantly reduced the relative abundance of NFGs for all N transformation processes, and this negative effect was associated with a reduction in dissolved organic carbon(DOC) and MBC content. (3) Similar to the trend of nitrogen transformation gene abundance, N1 and N5 treatments significantly increased net N nitrification, net N mineralization and N_2O emission rate, but the promotion of N10 was not significantly, which indicated that there was a threshold for the promotion of nitrogen conversion by nitrogen addition. (4) Furthermore, multiple regression analysis further showed that *amoA-AOB* and MBC were key factors affecting net N nitrification, *ureC*, *nirK* and MBC were key factors affecting net N mineralization, and *narG* and *nirS* were key factors affecting N_2O emissions. In conclusion, N addition can improve the promotion of N transformation and increase the relative abundance of some specific enzyme functional genes in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation, but there is a threshold value for N addition level, when 10 g N · m^{-2} · a^{-1} is applied, N transformation is inhibited, and 5 g N · m^{-2} · a^{-1} is a better level to promote soil N transformation in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation.

Key words: Nitrogen addition, nitrogen functional genes(NFGs), net nitrogen transformation, N_2O emissions

土壤氮(N)的有效性是影响陆地生态系统中植物生长和土壤生物化学的重要因素(巨晓棠,2014)。全球 N 沉降正在改变土壤 N 有效性及影响着生态系统土壤的 N 循环(廖珂等,2021;吴玉凤等,2019),包括 N 矿化、硝化以及 N_2O 排放,这可能导致陆地 N 供需失衡、面源污染以及温室气体排放等环境问题(李海霞等,2021)。土壤微生物作用被认为是影响 N 循环过程的主要驱动力,但关于 N 循环的微生物作用核心过程对 N 沉降的响应以及与 N 转化的关系少有报道。

氮功能基因(nitrogen function genes,NFGs)可直接编码关键酶从而影响氮循环过程,是表征氮生物转化功能的直接指标(廖李容等,2019)。以往关于 NFGs 的研究主要集中于农业生态系统和亚热带森林系统。在农业生态系统中,研究发现施氮对 N 固定基因(*nifH*)丰度没有显著影响,但增加了硝化基因(*amoA*)和反硝化基因(*nirK*、*nirS*、*nosZ*)的相对丰度,其主要受氮形态和土壤 pH 调控(Ouyang et al., 2018)。而在亚热带森林土壤中,N 添加降低了 *nifH* 等 N 固定基因和 *amoA* 等反硝化基因丰度,而增加了反硝化基因丰度(Tian et al., 2019)。与亚热带森林和农业土壤相比,北方寒温带森林土壤养分相对贫乏、氮输入低、降水量少以及温度波动较大(Tian et al., 2019),因此可能形成不同的微生物群落结构从而对氮转化的影响存在差异。然而,目前关于氮添加对寒温带森林土壤 NFGs 的影响却鲜有报道。

近几十年来,国内外学者在森林生态系统氮的转化方面进行了一系列研究,初步揭示了氮添加情况下非生物和生物因素对特定氮转化过程(即硝化、矿化和 N_2O 排放)的驱动机制(Chelsea et al., 2016)。在所有的 NFGs 中,影响硝化限速步骤的 *amoA* 基因、影响反硝化第一步的 *narG* 基因以及影响限速步骤的 *nir* 基因通常被认为是控制 N 转化的枢纽因子(Ouyang et al., 2018;Chelsea et al., 2016),且发现土壤有效磷、pH 以及溶解性氮是影响 NFGs 丰度的主要因素,这表明土壤性质和微生物功能在氮素转化中起着重要作用,即外源氮添加可直接影响土壤性质、微生物群落结构,并对氮转化过程产生深远影响(Wang et al., 2017)。但二者在多大程度上作用于氮素转化过程,以及影响氮素转化的主导因素尚不清楚。因此,N 添加能否介导土壤 NFGs 表达,从而影响相关 N 转化过程? 土壤 N 转化过程与 NFGs、土壤性质三者间的相关关系如何? 这些问题都严重制约着人们对樟树人工林土壤氮转化及其影响作用机

制的认识。本研究以河北省塞罕坝樟子松人造林为研究对象，采用功能基因微阵 GeoChip 5.0 系统及室内土壤培养法，通过分析不同氮添加水平对土壤性质、NFGs 及其氮转化过程参数的影响，拟探讨不同氮添加水平条件下 NFGs 和土壤性质对樟子松人工林氮素转化的相对贡献以及影响相关氮素转化过程的关键因素，以期为樟子松人工林的氮肥管理提供依据。

1　材料与方法

1.1 研究区概况

研究区地处大兴安岭山系与冀北山地交汇处，位于河北省围场满族蒙古族自治县北部的塞罕坝机械林场千层板林场内（17°39′42″ E、42°35′45″ N）。该林场于 1962 年建成，人工林面积 20 029.8 hm^2，是我国樟子松种群的主要人造林区，林分密度 1 300～1 600 株，该人工林自建成以来每 8—10 年进行一次采伐及补种。该区域属温带大陆性半干旱半湿润气候区，全年气候冬季漫长，低温寒冷，春秋季短暂，干燥多风，该区域的平均环境氮沉降水平为 3.34 g N · m^{-2} · a^{-1}。试验区海拔高度为 1 432 m，年均降水量为 454.2 mm，年均日照时数为 2 368.8 h，年均蒸发量为 1 244.9 mm，年均相对湿度为 75.3%，年均气温为−1.4 ℃。土壤类型主要为风沙土，主要成土母质为风积物、残积物、堆积物。林下灌木、草本稀疏，以瓣蕊唐松草（*Thalictrum petaloideum*）、腺毛委陵菜（*Potentilla longifolia*）、地榆（*Sanguisorba officinalis*）、大披针薹草（*Carex lanceolata*）为主。

1.2 样地设置与样品采集

2018 年 3 月选择树苗年限为 12 年的样点，设置 4 个氮素处理，每个处理 4 个重复，共 16 个小区，小区面积均为 6 m×6 m，小区之间设置 4 m 的缓冲带。氮素以硝酸铵（NH_4NO_3）溶液的形式在四个氮水平下添加：0（N0），1（N1），5（N5）和 10（N10）g N · m^{-2} · a^{-1}，与该地的自然氮沉降速率（3.34 g N · m^{-2} · a^{-1}）相比，N1，N5 和 N10 处理分别代表了低、中和高氮沉降量。每次施用将对应 NH_4NO_3 稀释于 10 L 蒸馏水中，在 2018 年 6 月至 2020 年 6 月隔两个月施氮一次，施用时间均为月初约早上 10：30，并保证该施用时间前后 15 h 无下雨情况，试验期间共施 12 次。对于 N0 处理，采用等体积的蒸馏水喷洒样地，施用时间及方式与氮素添加处理相同。

2020 年 6 月 20 日（晴天），使用不锈钢土壤螺旋钻（长 20 cm，直径 6 cm）从表土（0～20 cm）收集土壤样本，取样前去除表层凋落物，在每个样地随机选取 5 个取土点土壤汇集成一个样本，保存于无菌聚乙烯袋中，将样品快速储存含干冰的泡沫箱，并快速运送到实验室。所有土壤样本去除残根、凋落物和砾石后分为 3 部分：第一部分保存于 4 ℃，用于测定微生物生物量和溶解营养物以及培养实验；第二部分样品风干后进行土壤基础理化分析；第三部分立即保存于−80 ℃环境采用功能基因微阵 GeoChip 5.0 系统定量分析土壤 NFGs 相对丰度。

1.3 样品分析

1.3.1 土壤样品理化性质测定　土壤样品理化性质测定参照鲍士旦（2000）所述测定。土壤 pH 值测定：称取 10.00 g 风干土壤于 50 mL 烧杯中，加入蒸馏水（水：土=2.5：1），间歇搅拌 30 min，静置 15 min 后采用奥豪斯 ST3100/F 型 pH 计进行酸碱值测定。土壤有机碳（soil organic carbon，SOC）测定：称取过 0.149 mm 筛孔的风干土0.500 0 g放入 150 mL 三角瓶中，加入粉末状 $AgNO_3$ 0.10 g，精确加入 0.8 mol · L^{-1} 重铬酸钾（$K_2Cr_2O_7$）溶液和浓硫酸各 5 mL，瓶口加盖小漏斗，置于 230 ℃电砂浴中加热 15 min，采用 0.1 mol · L^{-1} 的硫酸亚铁溶液还原滴定法测定 SOC 含量。总氮（total nitrogen，TN）测定：称取0.500 0 g风干土壤放入凯氏瓶中，加入适量蒸馏水湿润样品，加入 8 mL 浓硫酸，在通风橱中消解至淡蓝色，采用全自动凯氏定氮仪（KDN-520，杭州绿博仪器有限公司）测定。全磷（TP）测定：称取 0.25 g 风干土壤于镍坩埚，加入 3 滴无水乙醇，在样品上平铺 2 g NaOH，将坩埚放入高温电炉 400 ℃、15 min，采用 75 ℃蒸馏水洗涤坩埚并转移至 100 mL 容量瓶中，吸取消化的母液 5 mL 至 50 mL 容量瓶中，加入蒸馏水稀释至 30 mL，加入二硝基酚 3 滴，加入钼锑抗显色剂 5 mL，定容至刻度，采用紫外分光光度计（T-6M，上海菲勒仪器有限公司）在 700 nm 处测定。有效磷（available phosphorus，AP）的测定：称取 0.25 g 风干土样于 200 mL 带瓶盖的塑料瓶中，加入 50 mL 的 0.5 mol · L^{-1} $NaHCO_3$，恒温（25 ℃）振荡浸提 30 min，采用无磷滤纸过滤，吸取滤液 5 mL 并加入钼酸铵

使用液 5 mL 和氯化亚锡试剂 1 滴,显色 15 min 后借助紫外分光光度计在 680 nm 处测定。土壤铵态氮(NH_4^+-N)和硝态氮(NO_3^--N)测定:称取 5.00 g 风干土放入离心管中,加入 25 mL、2 mol·L^{-1}的 KCl 振荡浸提(120 r·min^{-1}、2 h),振荡结束后高速离心 8 000 r·min^{-1}、15 min,静置后过滤,取两份滤液,一份加入盐酸-乙二胺四乙酸二钠缓冲液用于测定 NO_3^--N,另一份加入苯酚钠-乙二胺四乙酸二钠缓冲液用于测定 NH_4^+-N,二者皆采用连续流动分析仪(SmartChem 200, AMS/Alliance, Italy)测定。溶解性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)测定:称取 20.0 g 风干土样于带盖的 150 mL 塑料瓶中,加入 60 mL、5 g·L^{-1}偏磷酸钠,以转速为 120 r·min^{-1}往复振荡 18 h,振荡悬浮物放置于 60 ℃环境下烘干 48 h,借助 TOC 自动分析仪(TOC-LCPH, Shimadzu, Japan)测定 DOC。总溶解性氮(total dissolved nitrogen, TDN)测定:称取 5.00 g 风干土于 50 mL 带盖的塑料瓶中,加入 25 mL、1 mol·L^{-1}氯化钾溶液,以转速为 180 r·min^{-1},往复振荡 1 h,振荡悬浮物静置 10 min 后过滤于 50 mL 容量瓶中,取 8 mL 滤液加入 10 mL 过硫酸钾氧化剂氧化 15 min,采用连续流动自动分析仪测定 TDN 浓度。溶解性有机氮(dissolved organic nitrogen, DON)以 TDN —(NH_4^+-N + NO_3^--N)计算(吉恒宽等,2020)。称取 40%田间持水量的新鲜土壤 70.0 g 于 80 mL 的烧杯中,将烧杯放入真空干燥器中,同时放入装满氯仿的同规格烧杯,采用熏蒸抽真空装置抽为真空状态,在-0.07 MPa 真空下使氯仿剧烈沸腾 5 min,重复该步骤直至氯仿熏蒸完全;将熏蒸土壤转移至塑料瓶中,加入 100 mL、0.5 mol·L^{-1}硫酸钾溶液振荡(25 ℃、300 r·min^{-1})浸提 30 min,悬浮物过滤,取两份 10 mL 滤液,一份加入 10 mL 六偏磷酸钠溶液用于测定微生物生物量碳(microbial biomass carbon, MBC),另一份置于消煮管中,加入 5 mL 浓硫酸消化,回流 3 h,用于测定微生物生物量氮(microbial biomass nitrogen, MBN),二者均采用 TOC 自动分析仪测定。

1.3.2 土壤净氮转化和 N_2O 排放速率测定 净氮转化分为净氮硝化速率(*Rn*)和净氮矿化速率(*Rm*),皆通过培养 14 d 的土壤样品测定。简而言之,每个样本采用 40.00 g 土壤置于 500 mL 的聚乙烯瓶(高 8 cm,直径 6 cm)中,保持 60%的土壤含水率,在 25 ℃的恒温黑暗培养箱中预培养 6 d,之后在相同的环境条件下正式培养 14 d。在培养的第 1、第 7、第 14 d 分别对培养瓶进行土壤取样,测定样品无机氮浓度。*Rn* 和 *Rm*(mg N kg^{-1}·d^{-1})计算参照王子龙(2021)的方法,*Rn*(mg N kg^{-1}·d^{-1})= 培养后硝态氮(NO_3^--N)含量 - 培养前硝态氮(NO_3^--N)含量/培养时间。*Rm*(mg N kg^{-1}·d^{-1})= 培养后无机氮(NH_4^+-N + NO_3^--N)含量-培养前无机氮(NH_4^+-N + NO_3^--N)含量/培养时间。

通过平行培养实验测定 N_2O 排放速率。所有的聚乙烯瓶都覆盖一层无菌透气的有机膜,以防止水分流失和保持通气。使用 Picarro G2508 型气体浓度分析仪(Picarro G2208 Environment, Picarro Inc., CA, USA)在培养期的第 1、第 3、第 5、第 7 和第 14 天测定 N_2O 排放速率(马芬等,2015)。在测量 N_2O 排放速率前密封乙烯培养罐 12 h,N_2O 排放速率(μg·kg^{-1}·d^{-1})通过 12 h 密闭期中 N_2O 浓度的变化计算。

1.3.3 土壤微生物 NFGs 功能基因测定 利用 GeoChip 5.0 功能微阵列系统对微生物 NFGs 的综合序列进行测定分析,该系统是一个分析微生物群落功能基因的高通量平台。GeoChip 5.0 包含 N57000 个寡核苷酸探针,覆盖了 N373 基因家族中144 000多个基因序列,可以检测比 qPCR 更广泛的基因类型,现已用于不同的微生物功能和生物地球化学过程(卢慧等,2018)。

将每个处理的土壤样品解冻后,称取 0.50 g 土壤样本中使用 PowerSoil 试剂盒(MoBio, Carlsbad, USA)进行 DNA 提取。各样点土壤取 3 组平行样品。DNA 纯度和数量分别使用分光光度计和截面读取系统(FLUOstar OPTIMA, BMG Labtech, Jena, Germany)检测。将检测合格的 DNA 样品进行荧光标记、芯片杂交、芯片扫描与成像(Li et al., 2017)。基因芯片实验每组皆进行 3 个重复。

基因芯片具体步骤如下,采用 Cy-3 荧光染料随机引物标记,采用 QIA 纯化试剂盒(QIAGEN QUICK Purification Kit, Roche NimbleGen Inc, USA)纯化荧光标记后的 DNA,并将标记成功的 DNA 样品采用干燥旋转仪(Savant SVC200, Thermo Savant, Holbrook, NY, USA)在 45 ℃条件下干燥 45 min。接着在标记浓缩后的 DNA 样品加入 120 μL 杂交缓冲液(40%甲酰胺、0.1%十二烷基硫酸钠、10 μg 未标记的 DNA、2×SSC),待完全溶解后 90 ℃变性 5

min，50 ℃保存 30 min，在 MAUI 杂交平台 40 ℃进行杂交 16 h。采用 NimbleGen MS200 微阵列扫描仪（Roche NimbleGen, Inc., Madison, WI, USA）对杂交后的芯片在 633 nm 上扫描微阵列。扫描得到的图像由 Imagene 6.0 软件对扫描图像进行转换、提取及信号强度标准化。

数据的标准化处理包括片间归一化和去假阳性。把各个样本光强总和调整为同一批次光强最高样本水平。去除信噪比小于 2.0 的低质量点。将信号值标准化，最后转化为自然对数数字信息（Zhang et al., 2017）。上述 NFGs 功能基因分析委托上海派森诺生物科技有限公司完成。

1.4 数据处理

使用 IBM SPSS 22.0 单因素方差分析（One-way, ANOVA）和 Tukeytest 多重比较检验评价氮添加对土壤性状、基因相对丰度、NFGs 氮素转化率的影响，利用 Pearson 相关分析检验土壤性质、NFGs 丰度与氮素转化速率之间的关系；采用 Origin 8.5 绘制图形。所有结果均为 4 个重复的平均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）。

2　结果与分析

2.1 氮添加对樟子松人工林土壤理化性质的影响

从图 1 可知，连续两年的 N 添加显著改变了部分土壤的理化性质。从单个土壤指标来看，土壤 NO_3^--N 和 DON 浓度随着 N 添加水平的增加而增加，皆以 N10 处理值最大，且显著大于 N0 处理（$P<0.05$）。随着氮添加水平的提高土壤 NH_4^+-N 含量呈下降趋势，但各处理间均无显著差异。SOC、MBC 以及 C/N 随着 N 添加水平的增加呈先上升后下降的趋势，同时皆表现为 N5 处理具有最大值；DOC 含量随着 N 添加水平的提高亦呈降低趋势，以 N1 处理值最大。其他土壤性质中，各处理的 MBN、TN、TP、AP 和 pH 差距较小，处理间皆均无显著差异。

2.2 氮添加对樟子松人工林氮功能基因（NFGs）相对丰度的影响

从图 2 可知，N 的添加显著改变了部分 NFGs 的相对丰度。就单个 NFG 基因的相对丰度来看，N 养分固定基因（*nifH*）和反硝化基因（*narG*）是 NFGs 丰度值最大的两个基因，分别占总丰度的 16.69%～18.03%和 17.42%～18.98%。同时，较未施氮处理（N0）相比，N1 处理显著增加了参与硝化过程的 *amoA-AOA* 和 *amoA-AOB* 基因（编码单氧化铵酶）、参与反硝化作用的 *norB* 基因（编码亚硝酸还原酶）、参与同化氮还原的 *nirA* 基因（编码硝酸还原酶）、参与异化氮还原的 *nrfA* 基因（编码硝酸还原酶辅酶Ⅱ）的相对丰度；N5 处理显著增加了参与氨化的 *ureC* 基因（编码脲酶）、*amoA-AOB*、*norB*、*nirA* 以及 *nrfA* 的相对丰度。同样，N10 处理中，除了参与氨氧化物的 *hzsa* 基因（编码谷氨酸合酶）与其他处理无显著差异外，其余 NFGs 的相对丰度皆显著下降。

2.3 氮添加对樟子松人工林氮素转化过程 NFGs 总丰度的影响

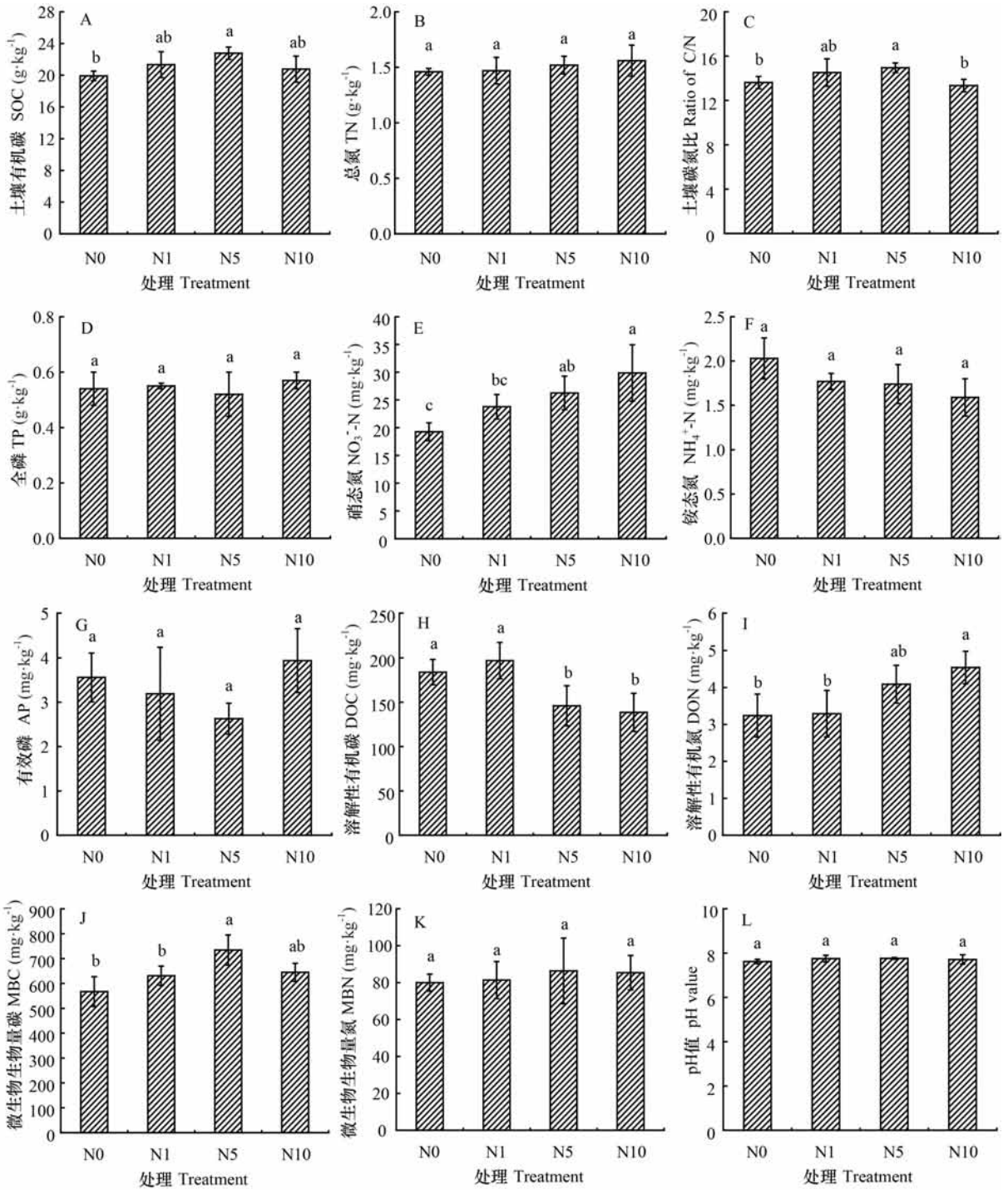
由图 3 可知，就各氮素转化过程的 NFGs 总相对丰度来看，微生物对氮素反硝化、固氮、氨化的过程影响最大，三者丰度总和占总 NFGs 丰度的 73.7%以上。从试验处理丰度值来看，在反硝化、固氮、氨化、厌氧氨氧化、硝化、同化氮还原及异化氮还原 7 个氮素转化过程中，除厌氧氨氧化的 N10 与 N0 无显著差异外，其他各过程皆以 N10 处理显著小于其他处理，且各处理氮素转化过程呈 N5>N1>N0>N10 的趋势，且 N0 与 N1 之间均无显著差异。

2.4 氮添加对樟子松人工林 土壤净 N 硝化速率、净 N 矿化和 N_2O 排放速率的影响

由表 1 可知，与 N0 处理相比，两年的氮添加显著增加了 N1 和 N5 净 N 硝化、净 N 矿化和 N_2O 的排放速率，三者在 N5 处理时达到最大值，之后在 N10 处理时下降，N10 处理与 N0 处理均没有显著差异。与 N0 处理相比，添加氮后净 N 硝化、矿化和 N_2O的排放速率均有不程度提高，净 N 硝化率、矿化和 N_2O 排放速率在加入氮后分别增加了 18.62%～57.41%、10.95%～49.88%和 1.69%～28.55%。

2.5 氮添加下樟子松人工林土壤氮转化 NFGs 丰度与土壤因子的相关分析

从表 2 可知，12 个土壤理化性质指标与固氮、氨化、硝化、反硝化等 7 个氮素转化指标的相关分析中，土壤因子 TN、TP、NO_3^--N、DOC 中与某一氮转化过程 NFGs 丰度存在显著相关性，其余土壤因子与其任一氮转化过程 NFGs 丰度均无显著相关性。就 TN 而言，TN 与硝化、同化氮还原、异化氮还原过程指标均呈显著正相关。TP 与异化氮还原 NFGs 丰度呈显著正相关。在 NO_3^--N 与 DOC 的土



不同小写字母表示不同处理间有显著性差异(P<0.05)。下同。

Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments (P<0.05). The same below.

图 1 氮添加对樟子松人工林土壤理化性质的影响

Fig. 1 Effects of nitrogen addition on soil physical and chemical properties of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation

壤指标中,DOC 与固氮、氨化、反硝化、同化氮还原、异化氮还原呈显著正相关,NO_3^--N 与固氮、氨化、硝化、反硝化、同化氮还原、异化氮还原、厌氧氨氧化的 NFGs 丰度皆呈显著正相关。

表 1　氮添加对樟子松人工林土壤净 N 硝化速率、净 N 矿化率和 N_2O 排放速率的影响

Table 1　Effects of nitrogen addition on soil net N nitrification rate, net N mineralization rate and N_2O emission rate in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation

处理 Treatment	净氮硝化速率 Net N nitrification rate (mg N · kg^{-1} · d^{-1})	净氮矿化率 Net N mineralization rate (mg N · kg^{-1} · d^{-1})	N_2O 的排放率 N_2O emission rate (μg N · kg^{-1} · d^{-1})
N0	0.32±0.05c	0.42±0.05b	5.04±0.34c
N1	0.42±0.04ab	0.54±0.04a	5.64±0.13ab
N5	0.47±0.03a	0.59±0.05a	6.06±0.29a
N10	0.38±0.03bc	0.46±0.02b	5.27±0.41bc

注：不同小写字母表示不同处理间有显著性差异(P<0.05)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments (P<0.05).

2.6 土壤净 N 硝化速率、净 N 矿化和 N_2O 排放速率与 NFGs、土壤性质的相关分析

由表 3 可见，相关系数表明净氮硝化速率(*Rn*)、净氮矿化率(*Rm*)和 N_2O 排放速率(*Re*)与部分 NFGs 的相对丰度和土壤性质指标密切相关。整体来看，*Rn* 与 *UreC*、*AmoA-AOB*、*nirA*、*nrfA* 的相对丰度以及土壤 SOC、NO_3^--N、MBC、MBC 含量呈显著正相关，其中 MBC 和 SOC 与 *Rn* 的相关性较强。净氮矿化率(*Rm*)与参与氮循环过程的 NFGs，如 *ureC*、*gdh*、*nifH*、*amoA-AOB*、*narG*、*nirK*、*norB*、*nirA*、*nrfA* 以及土壤 SOC、MBC 含量呈显著正相关，但与 MBC 含量和 *nrfA* 的相关性比与其他因素的相关性更密切。*Re* 与除 *amoAAOA* 和 *hao* 基因无明显相关关系外，与其他所有硝化和反硝化

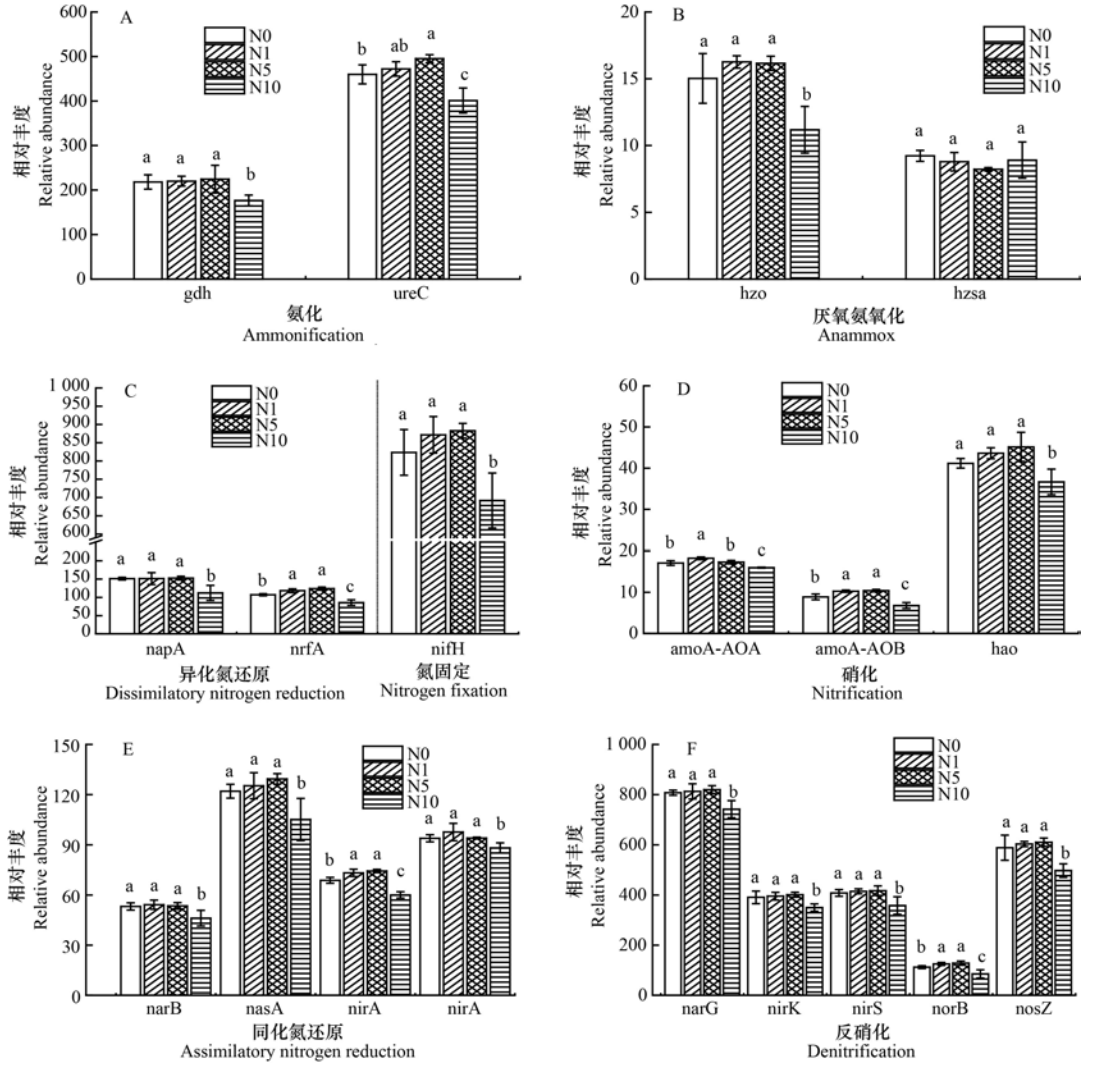


图 2　氮添加对樟子松人工林氮功能基因(NFGs)相对丰度的影响

Fig. 2　Effects of nitrogen addition on the relative abundance of nitrogen functional genes (NFGs) in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation

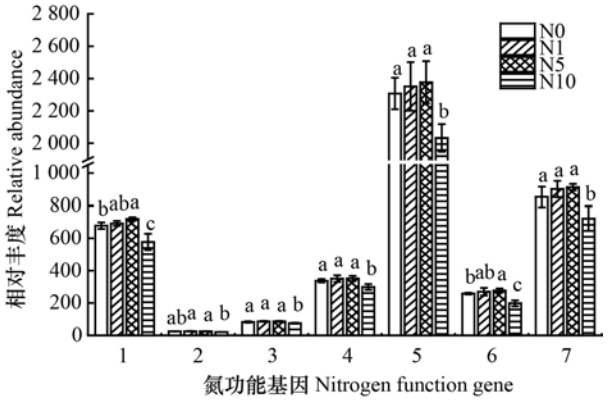


图 3 氮添加对樟子松人工林各氮转化过程 NFGs 相对丰度的影响

Fig. 3 Effects of nitrogen addition on the relative abundance of NFGs in each nitrogen transformation process of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation

基因相对丰度均呈极显著相关,与土壤 SOC、MBC 含量呈极显著正相关,其中 *amoA-AOB*、*narG* 与 *Re* 更密切。

2.7 土壤净氮转化和 N_2O 排放速率与 NFGs、土壤性质的回归分析

由表 4 可见,基于逐步多元回归分析表明,*amoA-AOB* 相对丰度和土壤 MBC 含量是影响净 N 硝化速率(*Rn*)的主导因子,回归分析的决定系数(R^2)值为 0.64($P<0.001$)。*ureC*、*nirK* 相对丰度和土壤 MBC 含量是影响净 N 矿化率(*Rm*)的主导因子,回归分析的 R^2 值为 0.75($P<0.001$);*narG* 相对丰度和 *nirS* 相对丰度是影响 N_2O 排放速率(*Re*)的主导因子,回归分析的 R^2 值为 0.69($P<0.001$)。

3 讨论

适量的氮(N)添加可以缓解生态系统中的氮素限制,为微生物的生长和基础代谢提供底物和能量,从而激发土壤养分有效性、提高微生物的功能活性(Li et al., 2017)。本研究地点位于塞罕坝人工林场,该区域已被证实氮储备较低(任艳林, 2012),因此 N 添加可能对该区域的养分底物有效性产生影响。本研究中,不同氮水平对不同指标影响不一,随着氮素添加水平的提高,土壤 SOC、MBC、DOC 则呈先上升后下降的趋势,当土壤由于过量添加 N 而使土壤 N 饱和时,土壤养分的分配可能会因此受到影响而降低,即 N 添加水平存在一定阈值。在为期 2 年的试验中,各处理的土壤 pH 为 7.62~7.76,处理间无明显差异,且与 NFGs 的相对丰度没有表现出显著的相关性,说明本研究中土壤 pH 对 NFGs 影响较弱。这可能是由于土壤具有较高的缓冲能力(江军等,2019)或与其他微生物的共同作用(例如丛枝菌根菌丝作用)的结果(曹本福等,2021);此外,在 TN、TP、AP、MBN 中各处理亦无明显差异,这可能是因为 2 年的氮添加试验时间较短,不能对其土壤肥力产生全面质变影响的缘故(Ouyang et al., 2016)。

在本研究中,基于 GeoChip 5.0 微阵列系统探索了参与氮转化过程关键基因的相对丰度,结果表明:中低 N 添加处理(N1、N5)对所有 NFGs 皆表现出一定的促进作用,尤其体现在氨化、硝化和反硝化相关基因,而高 N 添加(N10)显著降低了所有 NFGs 的相对丰度。

在氨化循环的相关基因中,N1 和 N5 处理中的 *ureC* 相对丰度显著增加,同时在 N5 处理达到峰值,在 N10 显著下降,且谷氨酰胺合成基因(*gdh*)和厌氧氨氧化基因(*hzsa*)丰度保持不变,这反映了氮素在达到饱和临界状态从而向矿化转化的趋势(Zhang et al., 2019)。此外,本研究发现在 N1 和 N5 处理下的 *nifH* 没有明显增加,这与前人的研究结果一致,即施氮对 *nifH* 的相对丰度没有影响(Berthrong et al., 2014)。这可能是由于在环境中获得的 N 为有效态(NH_4^+-N、NO_3^--N),因此不需要额外的能量代谢投入(Zheng et al.,2017)。

在参与硝化过程的相关基因中,氮添加处理(N1、N5)显著增加了 *amoA-AOA* 和 *amoA-AOB* 的相对丰度,这与 Szukics(2012)在温带森林中的研究结果趋于一致,这意味着区域气候影响不是主导硝化作用的主要驱动因子。此外,本研究发现硝化过程的总基因丰度与土壤 TN、NO_3^--N 呈显著正相关(表 2),表明 N 添加引起的土壤 N 含量增加可提高硝化基因丰度。值得注意的是,在所有处理中 *amoA-AOA* 的丰度皆明显高于 *amoA-AOB*。前人研究表明 *amoA-AOB* 受具有核糖体的功能微生物所介导,因此在营养丰富的环境或适量增加 N 情况下其相对丰度较高。而 *amoA-AOA* 与铵具有较高的亲和力,对氮限制或氮饱和环境具有更好的耐受性(Ouyang et al., 2019)。因此,研究区域中 *amoA-AOA* 在丰度数值上比 *amoA-AOB* 更大, 同

表 2　氮添加下樟子松人工林土壤氮转化功能基因丰度与土壤因子的相关分析

Table 2　Correlation analysis of soil nitrogen transformation process and soil factors in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation under nitrogen addition

土壤因子 Soil factor	固氮基因丰度 N fiaxion gene abundance	氨化基因丰度 Ammonification gene abundance	硝化基因丰度 Nitrification gene abundance	反硝化基因丰度 Denitrification gene abundance	同化氮还原基因丰度 Assimilatory N reduction gene abundance	异化氮还原基因丰度 Dissimilatory N reduction gene abundance	厌氧氨氧化基因丰度 Anammox gene abundance	氮功能基因总丰度 Total abundance of nitrogen function gene
SOC	0.49	0.25	0.48	0.45	0.41	0.43	0.49	0.45
TN	0.24	0.47	0.81*	0.35	0.83*	0.77*	0.24	0.33
C/N	0.44	0.50	0.46	0.43	0.40	0.32	0.46	0.43
TP	0.13	0.49	0.30	0.17	0.09	0.83*	0.26	0.17
NO_3^--N	0.62*	0.73*	0.77*	0.80*	0.82*	0.80*	0.79*	0.82*
NH_4^+-N	0.51	0.63	0.44	0.5	0.57	0.54	0.46	0.53
AP	−0.51	−0.62	−0.46	−0.35	−0.44	−0.35	−0.38	−0.36
DOC	0.75*	0.74*	0.36	0.74*	0.74*	0.73*	0.27	0.76*
DON	−0.19	−0.21	−0.45	−0.23	−0.47	−0.26	−0.33	−0.16
MBC	0.27	0.53	0.54	0.61	0.57	0.60	0.26	0.21
MBN	−0.21	−0.48	−0.46	−0.39	−0.38	−0.58	−0.53	−0.47
pH	0.22	0.09	0.32	0.25	0.17	0.26	0.29	0.22

注：*，**分别表示在 0.05 和 0.01 水平显著和极显著相关。下同。

Note：*，** are significantly and extremely significantly correlated at 0.05 and 0.01 levels respectively. The same below.

表 3　氮添加下樟子松人工林土壤净 N 硝化速率、净 N 矿化率以及 N_2O 排放速率与 NFGs 相对丰度及土壤因子的关系

Table 3　Relationship between soil net N nitrification rate, net N mineralization rate, N_2O emission rate and relative abundance of NFGs and soil factor under nitrogen addition in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation

氮转化过程 N transformation process	氨化 Ammonification		固氮 N fixation	硝化 Nitrification			反硝化 Denitrification					同化氮还原 Assimilatory N reduction				异化氮还原 Dissimilatory N reduction		土壤因子 Soil factor							
	ureC	*gdh*	*nifH*	*amoA-AOA*	*amoA-AOB*	*hao*	*narG*	*nirK*	*nirS*	*norB*	*nosZ*	*narB*	*nasA*	*nirA*	*nirB*	napA	nrfA	SOC	TN	NO_3^--N	NO_4^+-N	DOC	DON	MBC	MBN
Rn	0.50*	0.49	0.48	0.21	0.54*	0.36	0.45	0.45	0.41	0.49	0.42	0.27	0.43	0.55*	0.28	0.37	0.55*	0.56*	0.18	0.50*	0.21	−0.06	0.23	0.72*	−0.09
Rm	0.57*	0.57*	0.56*	0.28	0.60*	0.43	0.56*	0.52*	0.49	0.56*	0.49	0.36	0.50	0.61*	0.37	0.45	0.62*	0.56*	0.11	0.40	0.13	−0.02	0.10	0.69*	−0.14
Re	—	—	—	0.28	0.59*	0.39	0.57*	0.53*	0.51*	0.56*	0.52*	—	—	—	—	—	—	0.55*	0.18	0.33	0.18	0.11	0.31	0.57*	0.17

表 4　NFGs、土壤因子与净 N 硝化速率，净 N 矿化率和 N_2O 排放速率的逐步多元回归分析

Table 4　Stepwise multiple regression analysis of NFGs, soil factor and net N nitrification rate, net N mineralization rate and N_2O emission rate

氮转化过程 N transformation process	方程式 Model	R^2	P
Rn	$Y=0.0276amoA\text{-}AOB+0.001\text{MBC}-0.235$	0.64	<0.001
Rm	$Y=0.007ureC-0.002nirK+0.0005\text{MBC}-0.746$	0.75	<0.001
Re	$Y=0.0708narG+0.066nirS-22.726$	0.69	<0.001

时 *amoA-AOB* 对 N 的增加反应更敏感，这与农业土壤中的观测结果相似（宋延静等，2020）。

在反硝化的相关功能基因中，N1 和 N5 处理显著增加了 *norB* 的相对丰度，但其他反硝化基因的相对丰度几乎不变，本研究结果与前人在森林系统中得到的研究结果不同。前人研究表明 *narG*、*nirK* 和 *nirS* 丰度随着 N 添加的增加而大幅度提升，*norB* 和 *nosZ* 对 N 添加不敏感（Tang et al., 2016）。两者研究结果不同的原因可能与反硝化作用的步骤顺序有关，硝酸盐是反硝化的起始底物，其浓度的变化显著影响 *narG* 的表达；随着反硝化的进行，由于植物吸收或 N 发生气态流失使得硝酸盐浓度降低（刘躲等，2020），因此可能会弱化 N 添加对 *norB* 和 *nosZ* 的影响（Chen et al., 2012）。此外，在本研究中，反硝化基因的相对丰度与 NO_3^--N、DOC 呈显著正相关，这与 Wang 等（2017）研究结论的 *narG* 和 *napA* 相对丰度与 SOC、NO_3^--N 含量呈正相关的结果趋于一致。这可能是参与反硝化作用的微生物

大多是异养型,因而更多的依赖于有机物。

土壤氮素转化过程主要表现为硝化、矿化和 N_2O 排放,是表征氮素供给及氮损失的重要表征(林伟等,2020)。本研究发现,中、低 N 添加显著提高了净氮硝化速率(*Rn*)、净氮矿化率(*Rm*)和 N_2O 排放速率(*Re*),但在高 N 处理(N10)中上述指标均有所下降。*Rn* 和 *Rm* 是反映土壤无机氮库净变化的直接指标,是有机物质分解、矿化、硝化和固定过程相互作用的重要表现(Chen et al., 2012)。本研究发现 *Rn* 与相关 N 转化过程的核心基因显著相关。逐步回归多元分析表明,*amoA-AOB* 的相对丰度和 MBC 含量是影响 *Rn* 的关键因素,且相关性分析表明 *amoA-AOB* 与 *Rn* 之间具有显著相关性,因此 *amoA-AOB* 可能是半干旱人工林生态系统中驱动土壤硝化的主要基因(Zhang et al., 2019;Tang et al., 2019)。此外,逐步回归多元分析显示,*ureC*、*nirK* 丰度和 MBC 含量是影响 *Rm* 的重要参数,表明 *Rm* 与有机氮矿化和反硝化过程密切相关。同理,*Re* 与参与硝化和反硝化过程的 NFGs 显著相关,*Re* 与反硝化途径基因 *narG* 和 *nirS* 密切相关,表明反硝化是温带森林土壤中 N_2O 释放的主要途径,而 *narG*、*nirS* 与 *Re* 显著正相关,这意味着 *nirS* 丰度可作为估算 Re 排放的有效参数(Flaa et al., 2019)。

4 结论

本研究表明,中、低氮添加水平(1、5 g N · m^{-2} · a^{-1})对氮功能基因(NFGs)的总相对丰度没有显著影响,但增加了氨化、硝化和反硝化等特定基因的相对丰度。高 N 添加处理(N10)中,所有氮转化过程的 NFGs 相对丰度皆显著降低。这些影响主要与土壤 C、N 养分指标(SOC、NO_3^--N、DON)的变化有关,而与 pH 无关。相关分析表明,上述促进作用与土壤 SOC、NO_3^--N 和 MBC 显著相关。N10 处理显著降低了所有氮转化过程 NFGs 的相对丰度,这种负面影响与 DOC、MBC 含量的减少有关。与氮转化基因丰度规律趋势相似,N1 和 N5 处理显著增加了净 N 硝化、净 N 矿化以及 N_2O 的排放速率,但 N10 促进作用不明显,表明氮添加对氮转化的促进作用存在阈值。此外,逐步多元回归分析表明,*amoA-AOB* 的相对丰度和 MBC 含量可作为净 N 硝化率的关键预测指标;*ureC*、*nirK* 的相对丰度与 MBC 含量可作为净氮矿化率的关键预测指标;而 *narG*、*nirS* 的相对丰度可作为 N_2O 排放速率的关键预测指标。本研究结果为樟子松人工林的氮肥管理提供了理论依据。

参考文献:

BAO SD, 2000. Soil agrochemical analysis [M]. Beijing: China Agriculture Press. [鲍士旦, 2000. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社.]

CAO BF, JIANG HX, LIU L, et al., 2021. Research progress on mechanism of arbuscular common mycorrhizal networks in plant-plant interactions [J]. J Appl Ecol, 32(9): 3385-3396. [曹本福, 姜海霞, 刘丽, 等, 2021. 丛枝菌根菌丝网络在植物互作中的作用机制研究进展 [J]. 应用生态学报, 32(9): 3385-3396.]

CHEN Z, LIU JB, WU MN, et al., 2012. Differentiated response of denitrifying communities to fertilization regime in paddy soil [J]. Microbiol Ecol, 63(2): 446-459.

CHELSEA JC, NICHOLAS CD, MICHAEL BJ, et al., 2016. Meta-analysis reveals ammonia-oxidizing bacteria respond more strongly to nitrogen addition than ammonia-oxidizing archaea [J]. Soil Biol Biochem, 99: 158-166.

FLAA B, AAMC A, AF A, et al., 2019. Different groups of nitrite-reducers and N_2 O-reducers have distinct ecological niches and functional roles in West African cultivated soils — Science Direct [J]. Soil Biol Biochem, 129: 39-47.

JU XT,2014. The concept and significance of nitrogenous fertilizer efficiency — concurrently discussing the misunderstanding of traditional nitrogenous fertilizer use efficiency [J]. J Soil, 51(5): 921-933. [巨晓棠, 2014. 氮肥有效率的概念及意义——兼论对传统氮肥利用率的理解误区 [J]. 土壤学报, 51(5): 921-933.]

JIANG J, CAO NN, YU MX, et al., 2019. A review of the key mechanisms of acidic forest soils to buffer acid deposition [J]. J Trop Subtrop Bot, 27(5): 491-499. [江军, 曹楠楠, 俞梦笑, 等, 2019. 酸性森林土壤缓冲酸沉降关键机理研究进展 [J]. 热带亚热带植物学报, 27(5): 491-499.]

JI HK, WU YY, FU PJ, et al., 2020. Composition and size distribution characteristics of soil dissolved organic nitrogen under different land use types in tropical coastal areas [J]. J Ecol Environ, 29(3): 525-535. [吉恒宽, 吴月颖, 符佩娇, 等, 2020. 热带滨海区不同土地利用背景下土壤溶解性有机氮的组成与粒径分布特征 [J]. 生态环境学报, 29(3): 525-535.]

JING H, ZHANG P, LI J, et al., 2019. Effect of nitrogen addition on the decomposition and release of compounds from fine roots with different diameters: the importance of initial substrate chemistry [J]. Plant Soil, 438(1/2): 281-296.

LIN W, LI YZ, LI YJ, et al.,2020. Advances in the mechanism of microbe-driven nitrogen cycling [J]. J Plant Nutr Fert, 26(6): 1146 - 1155. [林伟, 李玉中, 李昱佳, 等, 2020. 氮循环过程的微生物驱动机制研究进展 [J]. 植物营养与肥料学报, 26(6): 1146-1155.]

LIAO K, SHEN FF, LIU WF, et al., 2020. C, N and P stoichiometric characteristics of litterfall and soil in a Chinese

fir plantation under long-term nitrogen deposition [J]. Guihaia, 40(11): 1551-1562. [廖珂, 沈芳芳, 刘文飞, 等, 2020. 长期氮沉降下杉木人工林凋落物与土壤的 C、N、P 化学计量特征 [J]. 广西植物, 40(11): 1551-1562.]

LIAO LR, WANG J, ZHANG C, et al.,2019. Effects of grazing exclusion on the abundance of functional genes involved in soil nitrogen cycling and nitrogen storage in semiarid grassland [J]. J Appl Ecol, 30(10): 3473-3481. [廖李容, 王杰, 张超, 等, 2019. 禁牧对半干旱草地土壤氮循环功能基因丰度和氮储量的影响 [J]. 应用生态学报, 30(10): 3473-3481.]

LIU D, WANG L, CAO ZB, et al., 2020. Effects of mycorrhizal fungi on nitrification and denitrification in the rhizospheric soil of aquatic plants and its microbial mechanism [J]. Environ Sci, 41(2): 932-940. [刘躲, 王磊, 曹湛波, 等, 2020. 接种菌根真菌对湿生植物根际土壤硝化反硝化活性的影响及其微生物机制 [J]. 环境科学, 41(2): 932-940.]

LI HX, XING YJ, LI ZH, et al., 2021. Effects of different nitrate form on the growth and physiological characteristics for quercus mongolica seedlings [J]. For Eng, 37(2): 35-40. [李海霞, 邢亚娟, 李正华, 等, 2021.不同氮素形态对蒙古栎幼苗生长及生理特性的影响 [J]. 森林工程, 37(2): 35-40.]

LI H, YANG S, XU ZW, et al., 2017. Responses of soil microbial functional genes to global changes are indirectly influenced by aboveground plant biomass variation [J]. Soil Biol Biochem, 104: 18-29.

LU H, ZHAO Y, SHENG YY, et al.,2018. Research on soil microbial functional genes in alpine meadow based on GeoChip technique [J]. Chin J Ecol, 37(10): 3031-3037. [卢慧, 赵珩, 盛玉钰, 等, 2018. 基于功能基因芯片技术的高寒草甸土壤微生物功能基因研究 [J]. 生态学杂志, 37(10): 3031-3037.]

MA F, MA HL, QIU H, et al.,2015. Effects of water levels and the additions of different nitrogen forms on soil net nitrogen transformation rate and N_2O emission in subtropical forest soils [J]. J Appl Ecol, 26(2): 379-387. [马芬, 马红亮, 邱泓, 等, 2015. 水分状况与不同形态氮添加对亚热带森林土壤氮素净转化速率及 N_2O 排放的影响 [J]. 应用生态学报, 26(2): 379-387.]

OUYANG Y, EVANS SE, FRIESEN ML, et al., 2018. Effect of nitrogen fertilization on the abundance of nitrogen cycling genes in agricultural soils: a meta-analysis of field studies [J]. Soil Biol Biochem, 127: 71-78.

OUYANG Y, NORTON JM, STARK JM, et al., 2016. Ammonia-oxidizing bacteria are more responsive than archaea to nitrogen source in an agricultural soil [J]. Soil Biol Biochem, 96: 4-15.

REN YL, 2012. Effects of precipitation change on inorganic nitrogen and net nitrogen mineralization rate at a plantation of mongolian pine [J]. J Peiking Univ (Nat Sci Ed), 48(6): 925-932. [任艳林, 2012. 降水变化对樟子松人工林土壤无机氮和净氮矿化速率的影响 [J]. 北京大学学报(自然科学版), 48(6): 925-932.]

SONG YJ, MA L, LI M, et al.,2020. Spatial distribution of ammonia oxidizers in rhizosphere soil of *Phragmites australis* in the Yellow River Delta [J]. J Shandong Agric Sci, 52(10): 144-150. [宋延静, 马兰, 李萌, 等, 2020. 黄河三角洲芦苇根际氨氧化微生物的空间分布 [J]. 山东农业科学, 52(10): 144-150.]

SZUKICS U, HACKL E, ZECHMERISTER BS, et al., 2012. Rapid and dissimilar response of ammonia oxidizing archaea and bacteria to nitrogen and water amendment in two temperate forest soils [J]. Microbiol Res, 167(2): 103-109.

TIAN J, DUNGAIT JAJ, LU XK, et al., 2019. Long-term nitrogen addition modifies microbial composition and functions for slow carbon cycling and increased sequestration in tropical forest soil [J]. Glob Change Biol, 25(10): 3267-3281.

TANG YQ, YU GR, ZHANG XY, et al., 2019. Environmental variables better explain changes in potential nitrification and denitrification activities than microbial properties in fertilized forest soils [J]. Sci Total Environ, 647: 653-662.

TANG YQ, ZHANG XY, LI DD, et al., 2016. Impacts of nitrogen and phosphorus additions on the abundance and community structure of ammonia oxidizers and denitrifying bacteria in Chinese fir plantations [J]. Soil Biol Biochem, 103: 284-293.

WU YF, GAO XP, GUI DW, et al.,2019. Research progress on the monitoring methods of atmospheric nitrogen deposition [J]. J Appl Ecol, 30(10): 3605-3614. [吴玉凤, 高霄鹏, 桂东伟, 等, 2019. 大气氮沉降监测方法研究进展 [J]. 应用生态学报, 30(10): 3605-3614.]

WANG ZL, LIU CX, JIANG QX, et al., 2021. Effects of climate warming on the key process and index of black soil carbon and nitrogen cycle during freezing period [J]. Environ Sci, 42(4): 1967-1978. [王子龙, 刘传兴, 姜秋香, 等, 2021.气候变暖对冻结期黑土碳氮循环关键过程及指标的影响 [J]. 环境科学, 42(4): 1967-1978.]

WANG H, NA D, WU D, et al., 2017. Long-term net transformation and quantitative molecular mechanisms of soil nitrogen during natural vegetation recovery of abandoned farmland on the Loess Plateau of China [J]. Sci Total Environ, 607/608(31): 152-159.

ZHANG YG, LIU X, CONG J, et al., 2017. The microbially mediated soil organic carbon loss under degenerative succession in an alpine meadow [J]. Mol Ecol, 26(14): 3676-3686.

ZHANG C, SONG ZL, ZHUANG DH, et al., 2019 Urea fertilization decreases soil bacterial diversity, but improves microbial biomass, respiration, and N-cycling potential in a semiarid grassland [J]. Biol Fert Soils, 55(3): 229-242.

ZHANG M, WANG W, WANG D, et al., 2018. Short-term responses of soil nitrogen mineralization, nitrification and denitrification to prescribed burning in a suburban forest ecosystem of subtropical Australia [J]. Sci Total Environ, 642(15): 879-886.

ZHENG M, WEI Z, LUO Y, et al., 2017. Different responses of asymbiotic nitrogen fixation to nitrogen addition between disturbed and rehabilitated subtropical forests [J]. Sci Total Environ, 601/602: 1505-1512.

（责任编辑　李　莉）

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1088-1095 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202101017

尚艳琼, 陈志强, 陈志彪, 等. 南方红壤侵蚀区芒萁叶片对微地形的响应 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1088-1095.
SHANG YQ, CHEN ZQ, CHEN ZB, et al. Responses of *Dicranopteris pedata* leaves to micro-topography in red soil erosion region of South China [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1088-1095.

南方红壤侵蚀区芒萁叶片对微地形的响应

尚艳琼, 陈志强*, 陈志彪, 冯柳俊

(福建师范大学 地理科学学院, 湿润亚热带山地生态国家重点实验室培育基地, 福州 350007)

摘 要: 植物功能性状可以反映植物应对环境变化的响应策略。该文以芒萁为研究对象,主要采用单因素方差分析和冗余分析,比较了3种微地形(沟脊、沟壁、沟底)中环境因子和芒萁叶片功能性状的差异,分析了芒萁对浅沟微地形的响应及其适应策略。结果表明: (1)芒萁叶片功能性状的总体变异程度在0.05~0.47之间,叶厚和叶面积均表现为沟底>沟壁>沟脊($P<0.05$),沟壁的叶氮含量显著高于沟脊和沟底,沟脊的叶磷含量显著低于沟壁和沟底,比叶面积和叶碳含量在3种微地形间均无显著差异。(2)沟脊的芒萁通过减小叶面积来降低水分散失进行自我保护,沟壁的芒萁通过增加叶氮含量来提高叶片光合速率而促进生长,沟底的芒萁通过增大叶面积来提高光捕获能力而促进生长。综上结果认为,土壤养分和温湿条件的差异,促使芒萁通过调节营养物质含量和改变叶片形态以更好地适应环境。

关键词: 芒萁, 微地形, 功能性状, 环境因子, 南方红壤侵蚀区

中图分类号: Q948 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-3142(2022)07-1088-08

Responses of *Dicranopteris pedata* leaves to micro-topography in red soil erosion region of South China

SHANG Yanqiong, CHEN Zhiqiang*, CHEN Zhibiao, FENG Liujun

(*State Key Laboratory Breeding Base of Humid Subtropical Mountain Ecology, College of Geographical Sciences, Fujian Normal University*, Fuzhou 350007, China)

Abstract: Plant functional traits can reflect response strategies of plants to environmental changes. In this study, we used a one-way ANOVA and redundancy (RDA) to compare the differences in leaf functional characters of *Dicranopteris pedata* in three micro-topographies (ridge, slope and valley of the ephemeral gully) and to analyze the response and adaptation strategy of *D. pedata* to shallow trench micro-topography. The results were as follows: (1) The overall variation degree of leaf functional characters of *D. pedata* was between 0.05 and 0.47. Both leaf thickness and leaf area were showed as the order of valley > slope > ridge ($P<0.05$). The leaf N content at the slope was significantly higher than that at the ridge and valley. The leaf P content was significantly lower at the ridge than those at the slope and valley. There was no significant differences in specific leaf area and leaf C content among three micro-topographies. (2) *D. pedata* at the ridge reduced water loss to protecte itself by reducing leaf area. *D. pedata* at the slope increased the photosynthetic rate of leaves to promote growth by increasing the N content of leaves. *D. pedata* at the valley improved

收稿日期: 2021-05-11

基金项目: 国家自然科学基金 (41371512); 福建省自然科学基金(2020J01143) [Supported by National Natural Science Foundation of China(41371512); Natural Science Foundation of Fujian Provine (2020J01143)]。

第一作者: 尚艳琼(1996-),硕士研究生,研究方向为植被恢复,(E-mail)2518642584@qq.com。

*通信作者: 陈志强,博士,教授,研究方向为水土保持与生态恢复,(E-mail)soiltuqiang061@163.com。

light capture ability to promote growth by increasing the leaf area. The above results indicate that due to the differences of soil nutrients, temperature and humidity conditions, *D. pedata* can achieve better adaption to the environment by adjusting nutrient content and changing leaf morphology.

Key words: *Dicranopteris pedata*, micro-topography, functional trait, enviromental factor, red soil erosion region of South China

植物叶片是植物应对环境变化较为敏感的器官,是植物功能性状差异的主要表现单位。植物功能性状的变化通常被描述为营养器官(结构)和生殖器官(结构)间营养元素分配及形态结构的差异(Westoby et al.,2002)。植物通过调节营养物质的分配和浓度改变对资源的利用效率,同时还(或)通过改变叶片的形态特征适应环境变化(施宇等,2011)。植物功能性状在特定地点的分布往往是从大尺度到小尺度层层过滤、多重因子共同作用的结果。大部分研究都证实,在全球尺度或大尺度上,气候因子对植物功能性状的分布起决定性作用(Han et al., 2005;Meng et al.,2009);在中尺度上,土地利用和干扰起主要作用,而在小尺度或局地范围即微观尺度内,地形因子和土壤因子决定性状的分布(Reich & Oleksyn, 2004;张小芳等,2019)。与宏观尺度相比,小尺度的变化或许能够解释大尺度研究中无法解释的环境过滤效应(Kraft et al.,2008)。在微地形(坡位、坡向等)条件下,光照、热量、土壤养分、水分等条件存在一定差异,导致微气候、微环境的差异,引起植物作出不同响应。目前,有关植物功能性状对环境响应的研究大多集中于大、中尺度(Song et al., 2017),对于局地范围尤其是微尺度下植物功能性状变化的相关研究相对较少,而研究小尺度上微地形对同一物种功能性状的影响,既可以避免种群间遗传差异的影响,也有利于了解植物对异质环境的响应情况及适应策略(Xu et al., 2017),为植物资源保护与恢复提供依据和指导。

芒萁(*Dicranopteris pedata*)为里白科(Gleicheniaceae)芒萁属(*Dicranopteris* Bernh.)蕨类植物,耐酸、耐旱、耐瘠且适应性强,广泛分布于我国长江以南地区,既是亚热带酸性土壤的指示植物,也是南方红壤侵蚀区生态恢复的先锋植物。由于红壤侵蚀区土壤较为贫瘠,干热化严重,芒萁多生长于地势低凹或坡地沟底处,改善生境后向外蔓延,因此形成芒萁斑块(黄美玲,2014)。地形是影响芒萁分布的重要因素,不同微地形的芒萁具有不同的生长特性。目前,有关芒萁与微地形的研究大多集中于芒萁的散布特征(黄美玲,2014;王秋云,2014)、植株养分(鄢新余,2015)等方面。然而,将芒萁功能性状与环境因子相结合的研究却鲜见报道。鉴于此,该文拟通过研究南方红壤侵蚀区芒萁叶片功能性状对微地形的响应,揭示南方红壤侵蚀区芒萁对微地形的响应及试验策略,以期为侵蚀区的生态恢复及水土保持提供理论依据。

1　材料与方法

1.1 研究区概况

朱溪流域位于福建省长汀县河田镇,该流域属于中亚热带季风性湿润气候,湿热多雨、降雨强度大,主要集中在 3—8 月,多年平均气温为 18.3 ℃,年平均降水量为1 730.4 mm。该区域以丘陵和山地为主,广泛分布粗晶花岗岩岩体,出露部分风化发育为抗蚀性差的酸性红壤。由于地形地貌的作用以及历史乃至当今人类对土地不合理的开发利用,因此该区域一度成为生态脆弱区以及南方主要的红壤侵蚀区(潘宗涛等,2019)。乔木多为次生马尾松(*Pinus massoniana*),树种单一,林下灌木主要为散生的轮叶蒲桃(*Syzygium grijsii*)、黄瑞木(*Adinandra millettii*)等,草类主要为芒萁。

来油坑野外试验区(116°28′55″ E、26°39′43″ N)是该流域水土流失未治理样地,面积约为 820 m^2,高程主要在 345~363 m 之间,坡度为 0°~65°(王秋云,2014)。前期受人为干扰,原生植被遭到严重破坏,水土流失严重,形成数条侵蚀浅沟。现今被作为水土流失对照样地保存下来,近三十年来受人为干扰较少。该区域土壤贫瘠,植被种类较为单一,芒萁呈斑块状分布在不同微地形(图 1)。

1.2 样品采集与分析

2017 年 10 月,在采样地选择 3 条近似平行的芒萁生长沟,按照沟脊、沟壁和沟底 3 种微地形,在每个部位分别选取 3 个采样点, 采集 0~20 cm 土层的土样,将土样放入密封袋, 同时在生长旺盛



图 1 研究区实景图
Fig. 1 Reality image of study area

的芒萁植株上随机摘取成熟叶片若干放入密封袋。分别采集土壤分析样品和叶片分析样品 27 个,即 3 种微地形×3 个重复样地×3 个采样点。采用土壤温湿度仪(RR-7125-8, 北京雨根科技有限公司)测量地下 5 cm 温湿度。

将叶片带回实验室用电子游标卡尺测量叶片主脉两侧约 0.25 cm 处的厚度,其平均值即为叶片的厚度(leaf thickness, LT);先用叶面积扫描仪(HP Laser Jet pro M1136 MFP)对芒萁叶片进行扫描,再用叶面积分析软件(Image J)提取叶面积(leaf area, LA)。先将叶片在 105 ℃下杀青 30 min,再在 60 ℃下烘干至恒重,称量,得到叶干重(leaf dry weight, LDW)。比叶面积(specific leaf area, SLA)计算公式如下:

$SLA = LA/LDW$ 。

式中: SLA 为比叶面积, $cm^2 \cdot g^{-1}$; LA 为叶面积, cm^2; LDW 为叶干重, g。

烘干的叶样品经粉碎后,对叶片的碳(C)含量(leaf carbon content,LCC)、氮(N)含量(leaf nitrogen content,LNC)采用植物 C、N 元素分析仪(Vario MAX CN,Elementar, 德国)进行测定;对叶片磷(P)含量(leaf phosphorus content,LPC)经 $HClO_4-H_2SO_4$ 消煮后采用流动分析仪(SKalar san++, 荷兰)进行测定。

将土壤带回实验室后去除杂物自然风干粉碎,测定包括 pH、全碳、全氮、全磷共 4 个指标。测定方法如下:土壤 pH 值采用水土比为 2.5∶1 的水浸电位法测定;全碳、全氮采用土壤 C、N 元素分析仪(Elementar Vario MAX CN)测定;土壤全磷经 $HClO_4-H_2SO_4$ 消煮后采用流动分析仪(SKalar san++,荷兰)测定。

1.3 数据处理

利用软件 Excel 2016 对数据进行统计和预处理,运用软件 SPSS 22.0 和 Canoco 5 进行分析。3 种微地形中土壤元素含量、计量比和其他环境因子及芒萁功能性状指标比较采用单因素(ANOVA)方差分析,采用最小显著差异法(LSD)进行检验($P<0.05$)。统计图均采用软件 Origin 2018 绘制。芒萁叶片功能性状与环境因素进行冗余分析(redundancy, RDA)。

2　结果与分析

2.1 微地形下环境因子的变化特征

研究区的土壤 pH 值在 4.41～4.46 之间，呈酸性，沟底和沟壁之间虽无显著性差异（$P>0.05$），但二者显著低于沟脊（$P<0.05$）。土壤全碳、全氮、全磷含量与 C∶N、C∶P、N∶P 的均值变化范围分别为 2.7～12.44、0.37～0.71、0.07～0.10 g·kg^{-1} 和 7.41～16.51、36.95～132.66、5.13～7.76。C、N、P、C∶N 和 N∶P 均表现为沟脊显著低于沟壁和沟底（$P<0.05$），沟壁和沟底之间没有显著性差异（$P>0.05$）。C∶P 呈现沟底显著大于沟壁（$P<0.05$）、沟壁显著大于沟脊（$P<0.05$）的特征。地下 5 cm 湿度与温度在 3 种微地形间均存在显著差异（$P<0.05$）（表 1）。

表 1　微地形环境因子特征（平均值 ± 标准差）

Table 1　Micro-environment characteristics in micro-topography ($\bar{x} \pm s$)

因子 Factor	浅沟微地形 Gully micro-topography		
	沟脊 Ridge	沟壁 Slope	沟底 Valley
pH	4.61±0.07a	4.44±0.08b	4.41±0.09b
全碳 Total carbon (g·kg^{-1})	2.70±0.58b	9.77±4.33a	12.14±4.53a
全氮 Total nitrogen (g·kg^{-1})	0.37±0.12b	0.66±0.19a	0.71±0.13a
全磷 Total phosphorus (g·kg^{-1})	0.07±0.01b	0.09±0.02a	0.10±0.01a
碳∶氮 C∶N	7.41±0.87b	14.01±2.61a	16.51±3.56a
碳∶磷 C∶P	36.95±7.77c	106.35±15.82b	132.66±32.08a
氮∶磷 N∶P	5.13±1.61b	7.22±2.12a	7.76±2.10a
地下 5 cm 湿度 Moisture underground 5 cm (%)	8.57±1.33c	18.57±0.92b	19.69±0.82a
地下 5 cm 温度 Temperature underground 5 cm (℃)	28.41±0.60a	27.64±0.64b	26.93±0.62c

注：同一行中的不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences in the same row ($P<0.05$).

2.2 微地形下芒萁叶片功能性状的变化特征

研究区芒萁的 6 种叶片功能性状总体差异较大，变异系数在 0.05～0.47 之间（表 2）。叶面积、比叶面积差异最明显，最小值分别是 5.72 cm^2 和 30.74 cm^2·g^{-1}，最大值分别是 33.98 cm^2 和 88.13 cm^2·g^{-1}；叶碳含量差异较小。

从图 2 可以看出，芒萁的 LT 和 LA 在 3 种微地形间均差异显著（$P<0.05$），呈现出沟底>沟壁>沟脊的规律。SLA 和 LCC 在 3 种微地形间没有显著性差异（$P>0.05$）。沟壁的 LNC 显著高于沟脊和沟底（$P<0.05$），沟脊和沟底没有显著性差异（$P>0.05$）。沟脊的 LPC 含量显著低于沟壁和沟底（$P<0.05$），沟壁和沟底没有显著性差异（$P>0.05$）。

2.3 芒萁叶片功能性状与环境因子之间的关系

为了更好地探讨微地形环境因子与芒萁叶片功能性状之间的关系，本研究采用冗余分析（RDA）方法，结果如图 3 所示。第一主轴解释了 70.99%的环境因子对芒萁叶片功能性状影响，第二主轴解释了 8.47%。其中，土壤湿度影响最大，其次是 pH、温度、全碳、全氮等。土壤 pH 与叶面积呈负相关，与叶碳含量呈正相关。土壤碳氮磷含量、C∶P、N∶P、地下 5 cm 湿度与叶面积、叶厚、叶片氮磷含量呈正相关，且相关性大小表现为叶面积>叶厚>叶氮含量≈叶磷含量。地下 5 cm 温度与叶碳含量呈正相关，与叶磷含量、叶厚呈负相关。

3　讨论与结论

3.1 微地形下环境因子特征变化

微地形的差异易造成其土壤养分、水分含量和土温等外界条件的不同，从而影响植物的群落结构、物种组成及叶片性状等的变化（刘旻霞等，2017）。本研究中，土壤 pH、养分、碳氮磷比及温湿度在不同微地形间有显著差异。各微地形土壤均呈酸性，其中沟底酸性最强，这与曾月娥和陈志强（2018）的研究结果一致。该区域成土母质多为酸性岩，在高温多雨的气候条件下，土壤风化淋溶作用强烈，加之沟底芒萁较多，枯落物在腐化的过程中，产生酸性物质造成表层土壤酸化。

土壤 C、N、P 含量及其生态化学计量特征可以表征土壤有机质的组成和质量，是土壤肥力的重要指标（Tian et al.，2010）。土壤 C、N、P 含量均明

表 2 芒萁叶片功能性状的总体特征

Table 2 General characteristics of *Dicranopteris pedata* leaves functional traits

因子 Factor	叶厚度 LT (mm)	叶面积 LA (cm^2)	比叶面积 SLA ($cm^2 \cdot g^{-1}$)	叶碳含量 LCC ($g \cdot kg^{-1}$)	叶氮含量 LNC ($g \cdot kg^{-1}$)	叶磷含量 LPC ($g \cdot kg^{-1}$)
最小值 Min.	0.32	5.72	30.74	426.87	4.07	0.28
最大值 Max.	0.58	33.98	88.13	524.80	9.86	0.52
均值 ± 标准误 $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	0.43±0.00	14.99±0.26	65.20±0.56	477.11±1.28	6.29±0.07	0.40±0.00
变异系数 *CV*	0.18	0.47	0.23	0.05	0.21	0.17

显低于中国陆地土壤的平均水平[C(29.51 g·kg^{-1})、N(2.30 g·kg^{-1})、P(0.56 g·kg^{-1})](Tian et al.,2010),说明该研究区域的土壤比较贫瘠,原因是研究区为红壤侵蚀区,地表植被稀少,养分累积缓慢。土壤养分自沟脊经沟壁到沟底呈现增加趋势,这与朱平宗等(2020)的研究结果一致,这是地形与植被共同作用的结果。曾月娥和陈志强(2018)的研究表明,芒萁的生物量自沟脊经沟壁到沟底呈现增加趋势,沟底芒萁能固定更多的养分,并随着枯落物与根的分解回归土壤。浅沟不同部位受水流、风等外力侵蚀作用不同,沟脊和沟壁的表层土壤在降雨时发生侵蚀和搬运,沟底则出现沉积(杨文利等,2018),从而使土壤养分明显好于沟脊。土壤 C∶N 可以指示有机质的分解速率和 N 的矿化能力,土壤 C∶N 越高,有机质的分解速度越慢,土壤 N 的矿化潜力和供给能力较差(王绍强和于贵瑞,2008)。本研究中,沟脊土壤 C∶N 显著低于沟壁和沟底,且沟脊土壤 C∶N(7.41)低于全国平均水平(14.51),沟底(16.5)高于全国平均水平,沟壁(14.01)与全国平均水平相似(Zhao et al., 2015),说明沟脊有机质的分解速率高于沟壁和沟底,推测是低密度的芒萁植株使枯落物易于暴露,物理破碎较快。本研究中,沟壁 C∶N 较高可能是芒萁生长大量吸收土壤中的 N 素,导致土壤中 N 素较少,使得 C∶N 较大,这与结果分析中沟壁的 LNC 明显高于沟脊和沟底相吻合;沟底 C∶N 低于沟壁的原因是相对湿热的条件使得土壤动物和微生物量增加,加快植被枯落物的分解速率。土壤 C∶P 作为 P 素矿化能力的标志,是衡量土壤矿化作用释放 P 素的一个指标(王绍强和于贵瑞,2008)。本研究区沟脊的 C∶P 低于全国平均水平(61.00)(Tian et al.,2010),沟壁和沟底则高于全国平均水平。芒萁蔓延生长后,枯落物的分解释放了部分 P 素,但 C∶P 不降反升,原因可能是植被覆盖在更大程度上影响了母质风化。

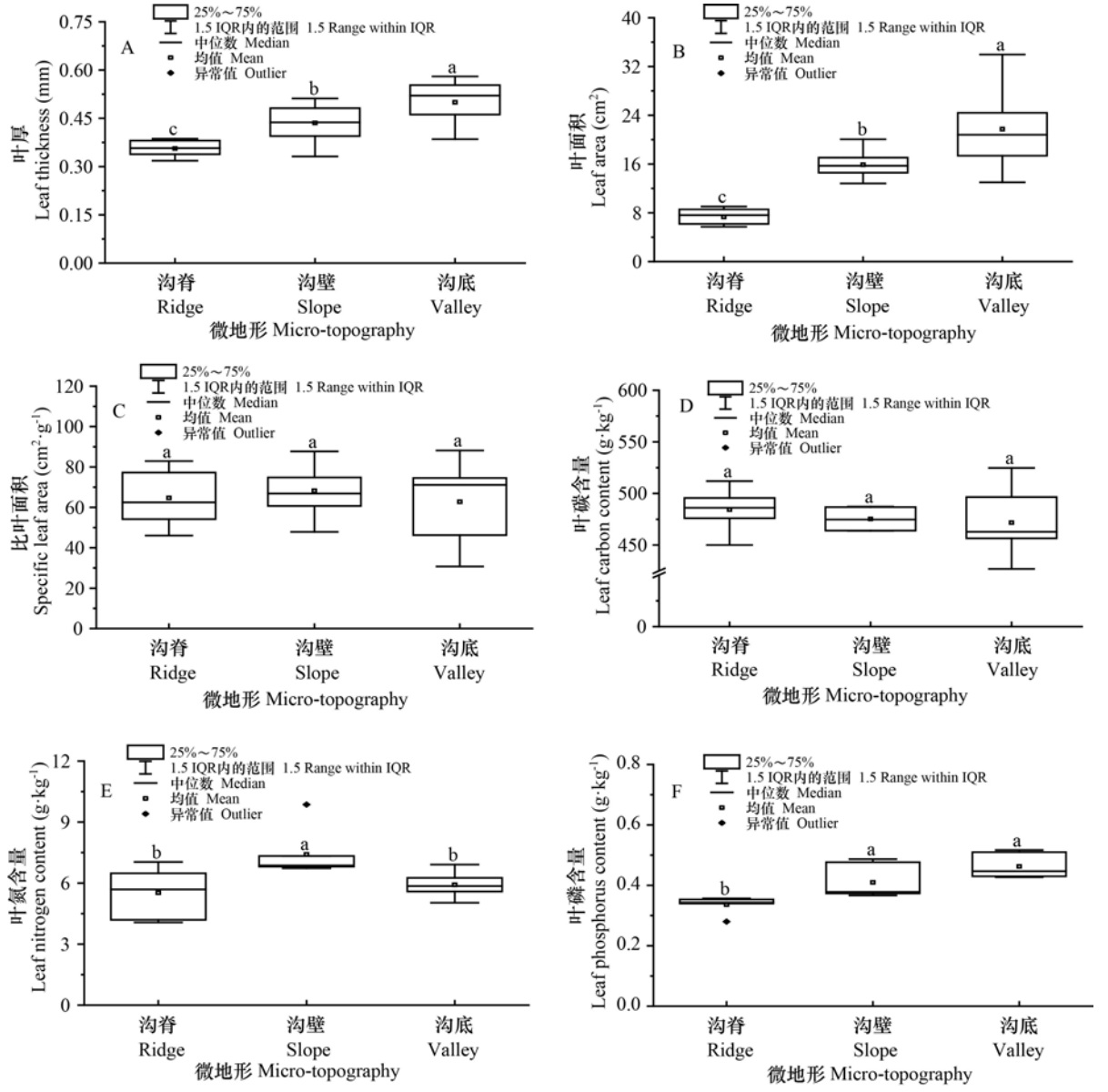
土壤的温湿条件表现为沟底最佳、沟壁次之、沟脊最差的规律,这与曾月娥和陈志强(2018)的研究结论相似。原因是沟底地势偏低形成相对稳定的小气候,空气湿度大且风速偏小,蒸散作用弱,水分散失较少,沟壁的土壤水分受到侧向蒸发的影响,而沟脊受正面和侧面双向蒸发影响,蒸散作用强,温度和水分散失较多。

本研究综合分析环境因子的结果表明,浅沟不同微地形的环境条件优劣表现为沟底>沟壁>沟脊,芒萁的生长状况与此相对应。芒萁为多年生根状茎克隆植物,沟底定植的芒萁随着生境的改善向沟壁蔓延生长,而沟脊更为恶劣的条件使芒萁蔓延受阻,往往只能零星分布。

3.2 微地形对芒萁叶片功能性状的影响

叶片的 C、N、P、LT、LA、SLA 等,在大尺度不同区域由于水分供应与温度不同因此存在分异性(Reich et al., 2004),微地形虽然研究尺度较小,但仍存在类似的梯度变化。同时,微地形导致的土壤养分、光照与水分蒸发等环境因素对植物生长会造成一定的影响,从而使植物随环境的变化表现相应的适应策略。本研究中,不同微地形中芒萁的叶片功能性状存在差异,说明芒萁在 3 种微地形中的适应策略有所不同。

本研究 RDA 分析结果表明,芒萁叶功能性状与微地形环境因素之间的关系。LT、LA 与土壤湿度呈正相关,与土壤温度呈负相关,其中 LT 与土



不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。

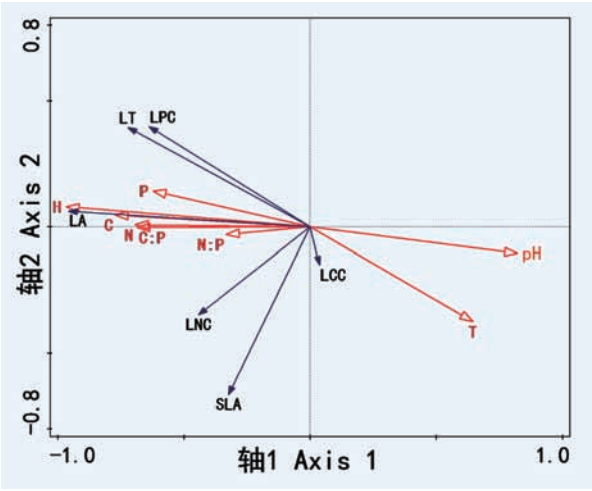
Different lowercase letters indicate significant differences ($P< 0.05$).

图 2　芒萁叶片功能性状对微地形的响应

Fig. 2　Response of leaf functional traits of *Dicranopteris pedata* to micro-topography

壤温湿度之间的相关关系与李芳兰和包维楷(2005)的研究结论不同。研究表明,植物可以通过减小叶面积来减少蒸腾造成的水分损失(Picotte et al.,2007)或者增加叶片厚度来增强保水能力(吴林等,2003)。本研究这一不同可能是土壤养分对叶片扩展性生长(如叶片长、宽、面积、厚度)的贡献更大,使其表现出沟底>沟壁>沟脊的规律,这同 LT、LA 与土壤 C、N、P 显著正相关相吻合,叶厚与叶面积的协调生长抵消了干旱对叶厚的影响,使统计分析结果有别于前人的结论。

本研究比叶面积与叶碳含量在 3 种微地形间没有显著性差异,且 SLA 与环境因子的相关性均不明显。造成这一结果的原因可能是比叶面积受降水、土壤养分、光照等环境因素的影响,具有很高的环境变异性(宋斌等,2015),C 作为构成植物体内干物质的最主要元素,其来源充足导致种内



LT. 叶片厚度; **LA**. 叶面积; **SLA**. 比叶面积; **LCC**. 叶碳含量; **LNC**. 叶氮含量; **LPC**. 叶磷含量; **pH**. 土壤酸碱度; **C**. 土壤全碳含量; **N**. 土壤全氮含量; **P**. 土壤全磷含量; **C**∶**P**.土壤碳磷比; **N**∶**P**. 土壤氮磷比; **H**. 地下 5 cm 湿度; **T**. 地下 5 cm 温度。

LT. Leaf thickness; **LA**. Leaf area; **SLA**. Specific leaf area; **LCC**. Leaf carbon content; **LNC**. Leaf nitrogen content; **LPC**. Leaf phosphorus content; **pH**. Soil pH; **C**. Soil carbon content; **N**. Soil nitrogen content; **P**. Soil phosphorus content; **C**∶**P**.Soil carbon to phosphorus ratio; **N**∶**P**. Soil nitrogen to phosphorus ratio; **H**. Moisture underground 5 cm; **T**. Temperature underground 5 cm.

图 3 芒萁叶片功能性状与土壤和环境因子的 RDA 约束排序分析图

Fig. 3 Biplot of RDA constrained sequencing analysis of leaf functional traits of *Dicranopteris pedata* and soil, environment factors

LCC 没有显著差异,其含量的细微差别仅仅与生长速率有关即沟脊的芒萁因环境恶劣而生长缓慢。

LNC 与土壤养分呈正相关,但沟壁的芒萁 LNC 显著高于沟底,说明沟壁的芒萁倾向于增加叶氮含量提高最大羧化速率,进而提高叶片光合速率来促进生长(闫霜等,2014)。原因是沟壁土壤的 C∶N 较沟底低,土壤有机质分解较快,土壤 N 的矿化和供给能力较高,加之沟壁芒萁的植株密度较低,且高低错落,光照利用率高,芒萁不需要投资过多的生物量到叶面积中提高光捕获能力。沟底的芒萁在 LNC 显著低于沟壁的情况下,LA 显著大于沟壁,通过增大叶面积来提高叶片光捕获能力,从而促进生长。究其原因是沟底水分条件较好,土壤 P 含量相对较高,且 pH 显著影响土壤养分的存在形态和植物养分吸收的有效性(郝瑞军,2014),提高的有效磷含量可以满足叶片细胞分裂增加叶面积时对 P 的需求。

本研究结果表明,由于微地形的土壤养分与温湿条件等方面的差异,因此芒萁在 3 种微地形中的适应策略存在差异。沟脊的芒萁通过较小的叶面积来降低水分散失而进行自我保护,沟壁的芒萁通过增加叶氮含量来提高叶片光合速率而促进生长,沟底的芒萁通过增加叶面积来提高光捕获能力而促进生长。

参考文献:

HAN WX, FANG JY, GUO DL, et al., 2005. Leaf nitrogen and phosphorus stoichiometry across 753 terrestrial plant species in China [J]. New Phytol, 168(2): 377-385.

HAO RJ, 2014. Analysis and evaluation of soil fertility characteristics of Shanghai urban green area [J]. Acta Agric Shanghai, 30(1): 79-84. [郝瑞军, 2014. 上海城市绿地土壤肥力特征分析与评价 [J]. 上海农业学报, 30(1): 79-84.]

HUANG ML, 2014. Dispersal characteristics of *Dicranopteris dichotoma* and soil fertility response on red soil erosion area in the southern China [D]. Fuzhou: Fujian Normal University: 19-23. [黄美玲, 2014. 南方红壤侵蚀区芒萁的散布特征及土壤肥力响应 [D]. 福州: 福建师范大学: 19-23.]

KRAFT NJB, VALENCIA R, ACKERLY DD, 2008. Functional traits and niche-based tree community assembly in an Amazonian forest [J]. Science, 322(5901): 580-582.

LI FL, BAO WK, 2005. Responses of the morphological and anatomical structure of the plant leaf to environmental change [J]. Chin Bull Bot, 22(S1): 118-127. [李芳兰, 包维楷, 2005. 植物叶片形态解剖结构对环境变化的响应与适应 [J]. 植物学通报, 22(S1): 118-127.]

LIU MX, CHE YD, LI LR, et al., 2017. Redundancy analysis of leaf traits and environmental factors of alpine meadow in southern Gansu Province [J]. Chin J Ecol, 36(9): 2473-2480. [刘旻霞, 车应弟, 李俐蓉, 等, 2017. 甘南高寒草甸微地形上植物叶片特征与环境因子的冗余分析 [J]. 生态学杂志, 36(9): 2473-2480.]

MENG TT, NI J, HARRISON SP, 2009. Plant morphometric traits and climate gradients in northern China: a meta-analysis using quadrat and flora data [J]. Ann Bot, 104(6): 1217-1229.

PAN ZT, CHEN ZQ, CHEN ZB, et al., 2019. Bioavailability of rare earth elements in surface soil and migration, absorptioncharacteristics of *Dicranopteris dichotoma* in ion-adsorption rare earth mining areas (southern China)

[J]. Chin Rare Earths, 40(1): 1-13. [潘宗涛, 陈志强, 陈志彪, 等, 2019. 南方离子吸附型稀土矿区表层土壤稀土有效性及芒萁稀土元素迁移、吸收特征 [J]. 稀土, 40(1): 1-13.]

PICOTTE JJ, ROSENTHAL DM, RHODE JM, et al., 2007. Plastic responses to temporal variation in moisture availability: Consequences for water use efficiency and plant performance [J]. Oecologia, 153(4): 821-832.

REICH PB, OLEKSYN J, 2004. Global patterns of plant leaf N and P in relation to temperature and latitude [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 101(30): 11001-11006.

SHI Y, WEN ZM, GONG SH, 2011. Comparisons of relationships between leaf and fine root traits in hilly area of the Loess Plateau, Yanhe River basin, Shaanxi Province, China [J]. Acta Ecol Sin, 31(22): 6805-6814. [施宇, 温仲明, 龚时慧, 2011. 黄土丘陵区植物叶片与细根功能性状关系及其变化 [J]. 生态学报, 31(22): 6805-6814.]

SONG B, ZHANG Y, WANG DX, et al., 2015. Drought resistance on anatomical structure of the leaves of 22 urban forest plants in Xining [J]. J NW For Univ, 30(5): 68-74. [宋斌, 张义, 王得祥, 等, 2015. 西宁市 22 种城市森林植物叶片解剖结构的抗旱性分析 [J]. 西北林学院学报, 30(5): 68-74.]

SONG HJ, XU YD, HAO J, et al., 2017. Investigating distribution pattern of species in a warm-temperate conifer-broadleaved-mixed forest in China for sustainably utilizing forest and soils [J]. Sci Total Environ, 578: 81-89.

TIAN HQ, CHEN GS, ZHANG C, et al., 2010. Pattern and variation of C∶N∶P ratios in China's soils: A synthesis of observational data [J]. Biogeochemistry, 98(1/2/3): 139-151.

WANG QY, 2014. Analysis on relation of *Dicranopteris dichotoma* growth and micro-environmental factors in serious degraded area of southern red soil region [D]. Fuzhou: Fujian Normal University: 40-43. [王秋云, 2014. 南方红壤严重退化区芒萁生长与微环境因子关系分析 [D]. 福州: 福建师范大学: 40-43.]

WANG SQ, YU GR, 2008. Ecological stoichiometry characteristics of ecosystem carbon, nitrogen and phosphorus elements [J]. Acta Ecol Sin, 28(8): 3937-3947. [王绍强, 于贵瑞, 2008. 生态系统碳氮磷元素的生态化学计量学特征 [J]. 生态学报, 28(8): 3937-3947.]

WESTOBY M, FALSTER DS, MOLES AT, et al., 2002. Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species [J]. Ann Rev Ecol Evol Syst, 33(1): 125-159.

WU L, HUO Y, NIE XL, et al., 2003. Studies on leaf tissue parameters and their relations to drought resistance of sea buckthorn [J]. J Jilin Agric Univ, 25(4): 390-393. [吴林, 霍焰, 聂小兰, 等, 2003. 沙棘叶片组织结构观察及其与抗旱性关系的研究 [J]. 吉林农业大学学报, 25(4): 390-393.]

XU QY, LIU H, YE Q, 2017. Intraspecific variability of ecophysiological traits of four Magnoliaceae species growing in two climatic regions in China [J]. Plant Ecol, 218(4): 407-415.

YAN S, ZHANG L, JING YS, et al., 2014. Variations in the relationship between maximum leaf carboxylation rate and leaf nitrogen concentration [J]. Chin J Plant Ecol, 38(6): 640-652. [闫霜, 张黎, 景元书, 等, 2014. 植物叶片最大羧化速率与叶氮含量关系的变异性 [J]. 植物生态学报, 38(6): 640-652.]

YAN XY, 2015. Growth characteristics of *Dicranopteris dichotoma* and soil nutrient response in eroded red soil region of South China [D]. Fuzhou: Fujian Normal University: 32-34. [鄢新余, 2015. 南方红壤侵蚀区芒萁生长特征及土壤养分效应 [D]. 福州: 福建师范大学: 32-34.]

YANG WL, ZHU PZ, CHENG H, et al., 2018. Spatial difference of soil particle size distribution in an ephemeral gully under *Pinus massoniana* forest [J]. J Soil Water Conserv, 32(4): 158-162. [杨文利, 朱平宗, 程洪, 等, 2018. 马尾松人工林地浅沟表层土壤颗粒的空间分布特征 [J]. 水土保持学报, 32(4): 158-162.]

ZENG YE, CHEN ZQ, 2018. Effects of microtopography on *Dicranopteris dichotoma* growth characteristics and soil fertility in an experiment plot inred soil hilly region of South China [J]. Guihaia, 38(6): 687-695. [曾月娥, 陈志强, 2018. 南方红壤丘陵区微地形对芒萁生长特征及其土壤肥力的影响 [J]. 广西植物, 38(6): 687-695.]

ZHANG XF, LIU XD, CAO JJ, et al., 2019. Characteristics of *Leontopodium leontopodioides* leaf stochiometry with altitude and their relationship with soil nutrients in Qilian mountains, Northwest China [J]. Chin J Appl Ecol, 30(12): 4012-4020. [张小芳, 刘贤德, 曹建军, 等, 2019. 祁连山不同海拔火绒草叶片生态化学计量特征及其与土壤养分的关系 [J]. 应用生态学报, 30(12): 4012-4020.]

ZHAO FZ, SUN J, REN CJ, et al., 2015. Land use change influences soil C, N, and P stoichiometry under 'Grain-to-Green Program' in China [J]. Sci Rep, 5(10195): 1-10.

ZHU PZ, ZHANG GH, YANG WL, et al., 2020. Characteristics of soil ecological stoichiometry of different vegetation types in ephemeral gully of forestland in red soil region [J]. Res Soil Water Conserv, 27(6): 60-65. [朱平宗, 张光辉, 杨文利, 等, 2020. 红壤区林地浅沟不同植被类型土壤生态化学计量特征 [J]. 水土保持研究, 27(6): 60-65.]

（责任编辑　蒋巧媛）

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202109068
苏宇航, 宋晓倩, 郑晶文, 等. 适度紫外辐射增强对白鲜光合特性和药用活性成分的影响 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1096-1104.
SU YH, SONG XQ, ZHENG JW, et al. Effects of moderate ultraviolet radiation enhancement on photosynthetic characteristics and medicinal active components of *Dictamnus dasycarpus* [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1096-1104.

适度紫外辐射增强对白鲜光合特性和药用活性成分的影响

苏宇航[1,2], 宋晓倩[1,2], 郑晶文[1,2], 曹 梦[1,2], 张衷华[1,2*], 唐中华[1,2]

(1. 东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 哈尔滨 150040; 2. 东北林业大学 化学化工与资源利用学院, 哈尔滨 150040)

摘 要: 次生代谢成分环境调控是药用植物优质栽培的理论和实践基础。然而,迄今为止,短期紫外光诱导对药用活性成分积累效应方面的研究仍然比较薄弱。该文以光环境敏感植物白鲜(*Dictamnus dasycarpus*)为研究对象,探索短期不同强度(低剂量和中剂量)紫外(UV)辐射增强对其根、茎和叶中黄柏酮、梣酮、白鲜碱和柠檬苦素 4 种有效成分的诱导效应。结果表明:(1)无论是低剂量还是中剂量 UV-A 和 UV-B 辐射条件下,白鲜叶片光系统Ⅱ(PS Ⅱ)最大光化学量子产量(F_v/F_m)均大于 0.76;PS Ⅱ实际光合量子产量 Y(Ⅱ)、调节性能量耗散的量子产量 $Y(NPQ)$、基于"湖泊模型"光化学淬灭系数(qL)和非光化学淬灭系数(NPQ)与对照(未经紫外辐射处理)相比均没有显著差异;低剂量与中剂量 UV-B 辐射均显著增加白鲜 PS Ⅱ的非调节性能量耗散的量子产量 $Y(NO)$。(2)适度短期紫外辐射增强能够诱导白鲜药用活性成分快速积累,根中 4 种有效成分最高可提升 51%,主要在白鲜根中积累。其中,中剂量 UV-A 辐射和低剂量 UV-B 辐射效果最明显,不仅根中黄柏酮、梣酮、白鲜碱和柠檬苦素 4 种活性成分明显提升,还促进茎中白鲜碱和叶中梣酮的积累。综上所述,该研究结果表明短期紫外辐射增强能有效诱导白鲜药用活性成分的积累,并通过提升白鲜 PS Ⅱ非光化学效率来提升白鲜光强耐受性。

关键词: 紫外辐射, 白鲜, 次生代谢, 药用成分, 光合特性
中图分类号: Q945;R914.1 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-3142(2022)07-1096-09

Effects of moderate ultraviolet radiation enhancement on photosynthetic characteristics and medicinal active components of *Dictamnus dasycarpus*

SU Yuhang[1,2], SONG Xiaoqian[1,2], ZHENG Jingwen[1,2], CAO Meng[1,2], ZHANG Zhonghua[1,2*], TANG Zhonghua[1,2]

(1. *Key Laboratory of Forest Plant Ecology*, *Ministry of Education*, *Northeast Forestry University*, Harbin 150040, China; 2. *College of Chemistry*, *Chemical Engineering and Resource Utilization*, *Northeast Forestry University*, Harbin 150040, China)

Abstract: The theory and practice of artificial cultivation are based on the environmental regulation of the secondary metabolism of medicinal plants. However, so far, the research on the accumulation effect of short-term ultraviolet

收稿日期: 2022-03-01
基金项目: 科技基础资源调查项目(2019FY100500);中央高校基本科研业务费专项(2572018BU05)[Supported by Science and Technology Basic Resources Investigation Program of China (2019FY100500); Fundamental Research Fund for the Central Colleges and Universities(2572018BU05)]。
第一作者: 苏宇航(1997-),硕士研究生,研究方向为逆境生理生态,(E-mail)1832264776@qq.com。
*通信作者: 张衷华,博士,高级工程师,硕士研究生导师,研究方向为植物生态,(E-mail) en_cn@126.com。

radiation on the medicinally active ingredients was still relatively weak. In this study, the light environment-sensitive plant *Dictamnus dasycarpus* was taken as the research object, and the inductive effect of short-term enhanced ultraviolet radiation (UV) on four active ingredients, obacunone, fraxinellone, dictamnine, and limonin in the roots, stems, and leaves of *D. dasycarpus* was explored. The results were as follows: (1) Under whether low- or medium-intensity UV-A and UV-B radiation conditions, the maximum quantum yield of photosystem Ⅱ (F_v/F_m) of *D. dasycarpus* was always over 0.76 during the experimental period; Compared with the control (without ultraviolet radiation enhancement treatment), there was no significant differences in the actual photosynthetic quantum yield of photosystem Ⅱ Y(Ⅱ), regulated energy dissipation quantum yield Y(*NPQ*), photochemical quenching coefficient based "lake model" (*qL*) and the non-photochemical quenching coefficient (*NPQ*); Low- and moderate-intensity UV-B radiation significantly promoted the increase of non-regulated energy dissipation quantum yield Y (*NO*) of *D. dasycarpus*. (2) An appropriate enhanced amount of short-term ultraviolet radiation could promote the rapid accumulation of the active ingredients of *D. dasycarpus*, the four active ingredients in the roots could be increased by up to 51%, the accumulation was mainly in the *D. dasycarpus* roots. The effects of moderate intensity UV-A radiation and lower intensity UV-B radiation were the most obvious, and it not only promoted the accumulation of four active ingredients of obacunone, fraxinellone, dictamnine, and limonin in the roots, but also promoted the accumulation of dictamnine in the stems and fraxinellone in the leaves. The results reveal that the effectiveness of the accumulation of active ingredients in *D. dasycarpus* is improved under short-term enhanced ultraviolet radiation conditions. It also reveals that an effective way to improve the tolerance of the *D. dasycarpus* to light intensity and promote the accumulation of active ingredients is to increase the non-photochemical efficiency of the *D. dasycarpus* photosynthetic system.

Key words: ultraviolet radiation, *Dictamnus dasycarpus*, secondary metabolism, medicinal ingredients, photosynthesis characteristics

白鲜(*Dictamnus dasycarpus*)是芸香科多年生草本植物,白鲜皮是中医临床常用中药和中国重要的大宗药材(周亚福等,2013),主要药效物质为生物碱和柠檬苦素类化合物,是白鲜体内具有生物活性的一类次级代谢产物,其中最重要的为黄柏酮($C_{26}H_{30}O_7$)、梣酮($C_{14}H_{16}O_3$)、白鲜碱($C_{12}H_9NO_2$)和柠檬苦素($C_{26}H_{30}O_8$)4 种(曹梦等,2018),前 2 种是《中华人民共和国药典》(2020 版)规定的必检测项,要求以干物质重计,黄柏酮含量不少于 0.15%,梣酮含量不少于 0.05%。白鲜主要药效成分含量的多寡是决定白鲜质量的重要指标。虽然野生白鲜药材的质量高,但是生长周期长,采收困难,大面积采收导致白鲜野生资源逐年减少(周亚福等,2013)。在日常生活中白鲜往往仅以根皮入药,地上部分全部舍弃,造成资源的极大浪费(周亚福等,2013)。因此,提高白鲜资源的利用率和质量已经成为当下亟须解决的问题。赵琳琳等(2020)发现部分地区的人工栽培白鲜药用成分也达不到药典要求,黄柏酮含量仅为 0.10%,梣酮仅为 0.033%。生产栽培条件以及环境因子等都会影响白鲜的品质。为提高药材质量,利用环境因子对药用植物的生长进行干扰从而调控其代谢途径,已成为植物学研究的热点,已有研究发现改变环境条件是提高白鲜次生代谢产物的有效途径(杜程芳等,2005;刘雷等,2016)。所以,当下需要开展环境因子对白鲜药用成分的影响研究,指导人工栽培通过环境因子诱导以提升白鲜药用成分含量。

光不仅是植物光合作用所必需的环境因子,光照强度、光质等对植物发育均有影响(刑阿宝等,2018),光还是影响植物初生代谢和次生代谢的主要环境因子之一,并调控植物多种代谢信号过程(Porto et al., 2020)。日光包括紫外、可见和红外等波段,不同波长的光通过光合作用、激活受体和引起损伤等形式作用于植物(Christie & Briggs, 2001; Ahmad et al., 2002; Flint & Caldwell, 2003)。以往研究表明,紫外辐射对植物次生代谢物积累影响的范围为 10% ~ 300%(Kakani et al., 2003)。高等植物进化出一系列避免紫外辐射损伤的防御机制,如茎叶表面形成蜡质或表皮毛,合成类黄酮、酚类等紫外吸收物质(Barnes et al., 2016; Valenta et al., 2020),利用抗氧化系统和酶系统修复受损的 DNA 等(Bornman et al., 2015)。UV-A 决定植物对 UV-B 的敏感性,光敏色素(phytochrome A)、隐花色素(cryptochromes)、向光素(phototropins)等蓝光受体都能吸收一定的 UV-A 辐射(Krizek, 2004),同时,UV-A 对植物生长、生物量分配、酚类和类黄酮等次生代谢物合成也存在或正或负的效应(Valenta et al., 2020)。植物光合作用和药用成分对辐射

的响应取决于辐射强度、植物种类、环境条件等(岳向国等,2005)。李亚敏等(2005)研究发现浙贝母(*Fritillaria thunbergii*)在中剂量 UV-B 辐射下,生长状况良好,生物碱含量显著增加;付金颖等(2017)研究发现紫外辐射增强显著提高了京尼平和黄酮等次生代谢产物含量。适量强度的 UV-B 辐射可以促进多种药用活性成分的积累,如黄酮类化合物(flavonoids)、生物碱(alkaloids)、萜类(terpenoids)等(Zhang & Björn, 2009)。

目前,紫外 LED 技术以及生境适宜性分析技术的发展,使光质定向诱导药用活性成分积累具备了田间生产的可行性,但具体的控制参数仍然匮乏。就目前国内市场而言,人工栽培植物药效远低于野生植物,通过光质定向诱导解决这一关键难题,对于保护野生植物资源意义重大。因此,为提高人工栽培白鲜药用成分的含量,本文以两年生白鲜为研究对象,在不同紫外辐射强度下进行栽培试验,探索白鲜光合特性和 4 种主要活性成分对短期紫外辐射增强的响应情况,拟探讨以下问题:(1)在短期不同紫外辐射条件下,白鲜是否受损;(2)白鲜的利用率是否提高;(3)白鲜各器官药用成分对紫外辐射的响应如何。以期揭示紫外辐射对药用成分积累的影响,为白鲜优质栽培及产业发展提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料和处理条件

试验选择 150 株长势一致的两年生白鲜盆栽植株,林下黑土作为培养基质,每盆定植 3 株,平均分成 5 组,每组 30 株。

在人工气候箱内用白色 LED 光源(惠州雷士光电科技有限公司)进行预培养,光照强度为 400 μmol · m^{-2} · s^{-1},光照时间 10 h · d^{-1},预培养至白鲜植株具有 4 片完全伸展的叶片,预培养后设置 5 种不同光照处理组,具体如下:

(1)以与预处理相同的光照强度和光周期作为对照组(CK);

(2)CK 组光照基础上增加 2 W · m^{-2} UV-A 辐射作为低剂量 UV-A 辐射增强组(UVAL);

(3)CK 组光照基础上增加 4 W · m^{-2} UV-A 辐射作为中剂量 UV-A 辐射增强组(UVAM);

(4) CK 组光照基础上增加 0.25 W · m^{-2} UV-B 辐射作为低剂量 UV-B 辐射增强组(UVBL);

(5) CK 组光照基础上增加 0.50 W · m^{-2} UV-B 辐射作为中剂量 UV-B 辐射增强组(UVBM)。

上述紫外辐射强度通过前期的预试验摸索确定,以不存在明显的叶灼伤为中剂量辐射,低剂量辐射减半,具体强度通过调节植株与紫外 LED 光源之间的距离获得。UV-B LED 光源生产商为北京电光源研究所,强度为 36 W;UV-A LED 光源生产商为东莞市森夏电子科技有限公司,强度为 40 W。为了降低 UV-B 长时间辐射对白鲜损伤的积累效应采取间歇辐射方式,每 30 min 辐射 15 min,一天总 UV-B 辐射时间为 2 h;UV-A 辐射周期与可见光光周期一致,为 10 h · d^{-1}。

处理期 2 d 补充一次土壤水分使其达到最大含水量,此含水量可以保证 2 d 内不会出现植物水分抑制,光合作用测定和药用活性成分分析在处理满 7 d 时进行。

1.2 光合作用测定

处理 7 d 后,在一个晴天上午 8:00—10:00,随机选择长势良好的叶片,从茎尖开始选择第一片完全展开的一致叶位叶片进行光合作用测定,叶片不经过暗适应,在测定过程中气温为 25 ℃,相对湿度为 60%,CO_2 浓度为 400 μmol · mol^{-1},采用 Li-6400 便携式光合测定系统(Li-Cor, USA)进行光响应曲线测定,光辐射强度(PAR)设置为 2 000、1 600、1 200、800、600、200、100、0 μmol · m^{-2} · s^{-1},测定时光强由强到弱,每个光照强度梯度下平衡 5 min 左右,测定指标包括净光合速率(P_n)、呼吸速率(R_d)、蒸腾速率(T_r),每片叶子重复测 5 次,取其平均值,用于统计分析。

光响应曲线拟合模型为指数函数模型:$P_n = P_{n\max}(1-e^{-\alpha I/P_{n\max}}) - R_d$[指数模型是没有极值的函数,要对饱和光强进行估算。参照王满莲等(2006)的方法,假设光合速率为 $0.9P_{n\max}$ 或 $0.99P_{n\max}$ 所对应的光强为饱和光强。$\alpha = 0.05$,$P_{n\max} = 20$,$R_d = 1$]。

叶绿素荧光特性采用 PAM-2000 便携式调制叶绿素荧光仪(Walz, German)测定,叶片暗适应 20 min,依次测定最小荧光产量 F_o、最大荧光产量 F_m、任意时间实际荧光产量 F,按照顺序依次测定 600 μmol · m^{-2} · s^{-1} 光强下的光下荧光 F'、最大荧光 F_m' 和最小荧光 F_o',并依据便携式调制叶绿素荧光仪系统自带公式计算光系统Ⅱ(PSⅡ)最大光合量子产量(F_v/F_m)、PSⅡ实际光合量子产量 Y(Ⅱ)、非光化学淬灭系数(NPQ)、光化学淬灭系数(qP)、基于"湖泊模型"光化学淬灭系数(qL)、非调节性能量耗散的量子产量 $Y(NO)$、调节性能量耗散的量子产量 $Y(NPQ)$,具体公式如下:

$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$;

$Y(\text{Ⅱ})=(F_m'-F')/F_m'$；

$NPQ=(F_m-F_m')/F_m'$；

$qP=(F_m'-F)/(F_m'-F_o')$；

$qL=qP\times(F_o'/F_m')$；

$$Y(NO)=1/[NPQ+1+qL\times(\frac{F_m}{F_o}-1)]$$；

$Y(NPQ)=1-Y(\text{Ⅱ})-Y(NO)$。

1.3 活性成分含量检测

处理 7 d 后，每组取 10 株样品进行测试，分出根、茎和叶后分别加入 8 mL 甲醇研磨，超声提取 1 h（功率 100 W，频率 40 kHz，温度 40 ℃），8 000 r · min^{-1}离心 10 min，抽取上清液在 40 ℃下利用真空旋转蒸发仪浓缩挥干，挥干后用色谱级甲醇复溶到 2 mL，再次 8 000 r · min^{-1}离心 10 min，取上清，密封后-20 ℃保存用于色谱分析。

黄柏酮、栾酮、白鲜碱和柠檬苦素含量参照曹梦等（2018）建立的方法，色谱仪为 e2695-2998 液相检测系统（Waters, USA），Waters Symmetry® C_{18} 色谱柱（4.6 mm × 250 mm, 5 μm, waters）；流动相为乙腈（A）和超纯水（B），梯度洗脱（0～20 min, 45.0%～55.0% A），流速为 1.0 mL · min^{-1}，柱温为 35 ℃，进样量为 10 μL，检测波长为 210 nm 和 236 nm。

1.4 数据分析

使用 R 4.1.2 中 ggsignif 包进行分组差异显著性分析和 t 检验，明确不同处理组之间光合作用特性、药用活性成分含量之间差异是否具有统计学意义；绘图使用 ggplot2 包。

2 结果与分析

2.1 短期紫外辐射增强对白鲜光合特性的影响

短期 UV-A 和 UV-B 辐射增强对白鲜光合特性的影响具有显著差异（图 1）。UVAL 组的 F_v/F_m 显著提高，UVBL 和 UVBM 组则显著降低，各处理组间 $Y(\text{Ⅱ})$、$Y(NPQ)$、qL 和 NPQ 差异均不显著。UVBL 和 UVBM 组对光合量子产量的影响，主要表现为 $Y(NO)$ 显著增加。

尽管 UV-A 处理提高了 P_n，但与 CK 相比，差异并不显著；UVBM 处理对 P_n 有显著的抑制作用；在 R_d 方面，各处理组间差异不显著；UVAM 处理显著提高了 T_r。

2.2 短期紫外辐射增强对白鲜活性成分积累的影响

不同紫外光质和光强辐射对白鲜根、茎和叶中黄柏酮、栾酮、白鲜碱和柠檬苦素含量影响存在差异（图 2、图 3、图 4）。UVAM 和 UVBL 对根中黄柏酮含量具有显著提升作用，UVAM 和 UVBL 分别是 CK 的 1.61、1.54 倍。栾酮则是 UVBM、UVBL 和 UVAM 组诱导效果好，平均为 CK 的 1.5 倍。UVAM、UVBL、UVBM 对柠檬苦素的诱导积累效果显著，分别是 CK 的 1.61、1.54、1.16 倍。UVAL 和 UVAM 对根中白鲜碱有显著诱导积累作用，UVAL 诱导白鲜碱为 CK 的 1.56 倍。

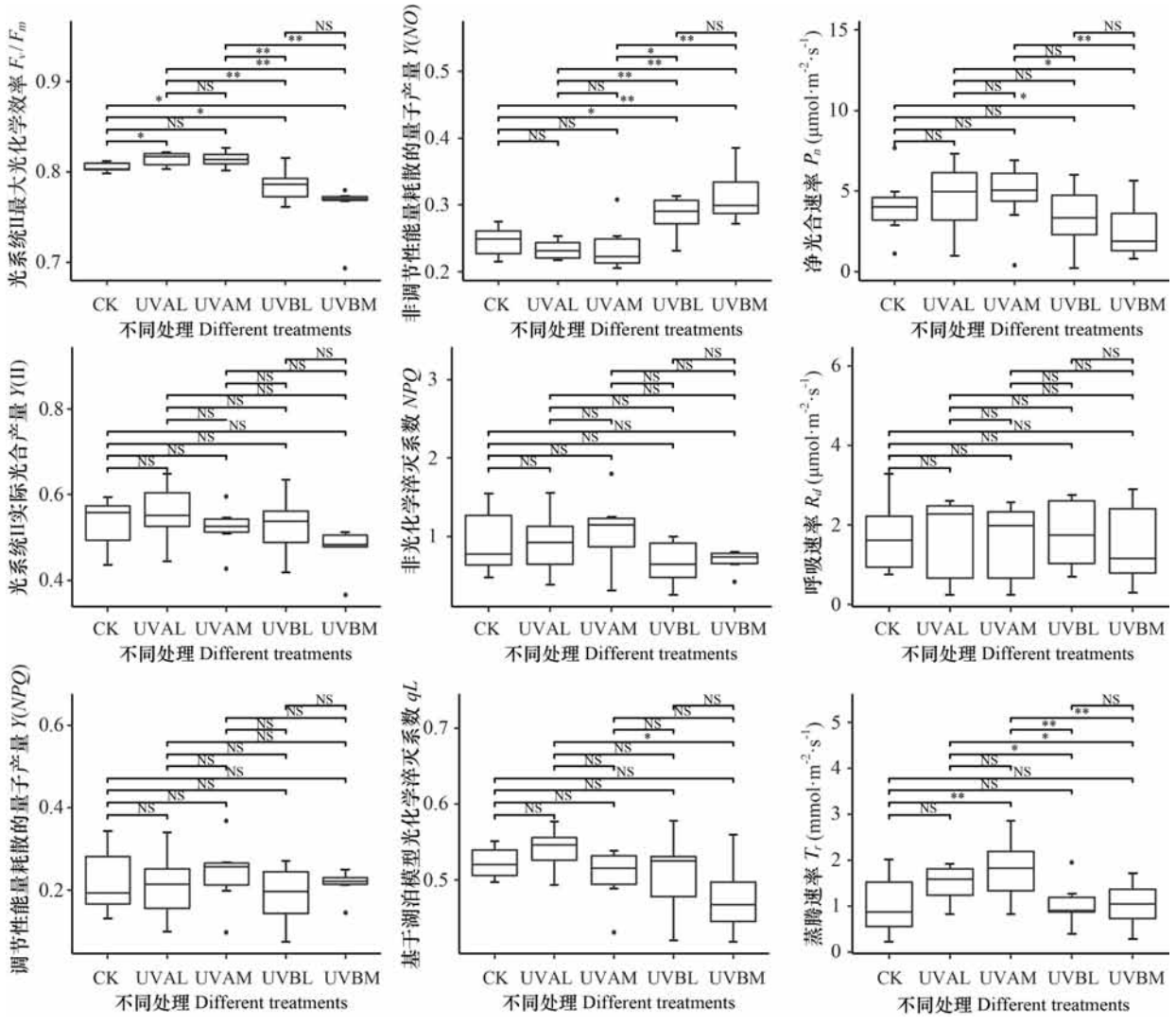
紫外增强对白鲜根中 4 种关键活性成分总含量均有明显影响，UVAM 处理组最高，活性成分含量达到 3.86 mg · g^{-1}，其中柠檬苦素含量提升了 1.46 倍，白鲜碱含量提升了 1.5 倍左右。就药典必测成分黄柏酮和栾酮而言，黄柏酮得到了最大提升，栾酮提升了 1.5 倍以上，其次是 UVBL 处理组，活性成分含量达 3.61 mg · g^{-1}，UVBM 和 UVAL 处理组较低，分别为 3.19、2.94 mg · g^{-1}，CK 为 2.56 mg · g^{-1}，相对于 CK，各处理组总含量最高提升了 51%。

白鲜茎中白鲜碱、栾酮、黄柏酮类和柠檬苦素含量相对较低（图 3），除 UVAM 显著促进白鲜碱含量外，其他处理对茎中 4 种主要活性成分含量均无显著影响。

4 种紫外辐射增强处理，对白鲜叶中黄柏酮、白鲜碱和柠檬苦素含量的影响均不显著，仅栾酮含量受 UVBL 影响，存在明显的诱导积累作用（图 4）。

3 讨论

PSⅡ最大光化学量子产量（F_v/F_m）是各种环境胁迫下衡量 PSⅡ活性的重要参数，可以反映植物受伤害的程度（Zhang & Scheller, 2004），非胁迫条件下植物 F_v/F_m 一般在 0.75～0.85 之间（Kitajima & Butler, 1975; Genty et al., 1989）。研究发现当 F_v/F_m<0.75 时，植物所受到的损伤是不可逆的，而 F_v/F_m<0.44 时，PSⅡ反应中心失去活性（Schansker & Rensen, 1999）。本研究发现，在 UV-A 中剂量和较低剂量辐射条件下，白鲜叶片 F_v/F_m 均稳定在 0.8 以上，说明其并没有受到 UV-A 紫外胁迫的影响；而在低剂量和中剂量 UV-B 辐射条件下，白鲜叶片 F_v/F_m 则显著降低，表明 PSⅡ光破坏的发生，但是其最低值为 0.76，说明其光合能力在 UV-B 辐射下虽受到影响，但影响是可逆的，短期 4 种紫外辐射增强并没有对白鲜造成不可逆的伤害。当光化学能量转换和保护性的调节机制不足以将过剩光能完全消耗掉时，会引起 PSⅡ光抑制，而植物叶片可以通过 PSⅡ的光破坏防御机



** 和* 分别表示在 0.01 和 0.05 水平上存在显著差异；**NS** 表示没有显著差异。**CK**. 对照白色 LED 光；**UVAL**. CK+2 W · m^{-2} UV-A 辐射；**UVAM**. CK+4 W · m^{-2} UV-A 辐射；**UVBL**. CK+0.25 W · m^{-2} UV-B 辐射；**UVBM**. CK+0.50 W · m^{-2}UV-B 辐射。图中的黑点代表离群值。下同。

** and * indicate significant differences at 0.01 and 0.05 levels, respectively; **NS** indicates no significant differences. **CK**. The white LED light; **UVAL**. CK + 2 W · m^{-2} UV-A radiation; **UVAM**. CK + 4 W · m^{-2} UV-A radiation; **UVBL**. CK + 0.25 W · m^{-2} UV-B radiation; **UVBM**. CK+0.50 W · m^{-2} UV-B radiation. The black dots in the figure represent outliers. The same below.

图 1 短期紫外辐射增强对白鲜光合特性的影响

Fig. 1 Effects of short-term enhanced ultraviolet radiation on photosynthesis characteristics of *Dictamnus dasycarpus*

制减小光抑制造成的负面影响(Pascal et al., 2005)。植物光合机构通过叶黄素循环的能量耗散(Demmig-Adams & Adams, 1992)、光呼吸作用(Osmond & Grace, 1995)、Mehler 反应(Flexas et al., 1999)等途径缓解光抑制。而本研究发现不同紫外辐射下白鲜的能量分配策略不同,UV-A 辐射下,随着辐射强度的增加,$Y(NO)$、$Y(\text{Ⅱ})$和 $Y(NPQ)$均保持稳定状态,UV-B 辐射下,白鲜 $Y(NO)$显著增加,表明白鲜用于非化学反应的能量增加(Kramer et al., 2004),光系统趋于受损(Goss & Jakob, 2010; Jahns & Holzwarth, 2012),尽管可能还未受到损伤,但继续紫外照射白鲜将会受损。$Y(NO)$表示的是电子传递到 PS Ⅱ以后既不参与光化学反应,也不以叶黄素循环介导的调节性的热量耗散,而是以光呼吸、Mehler 反应等形式进行耗散或者是将电子传递给氧参与活性氧

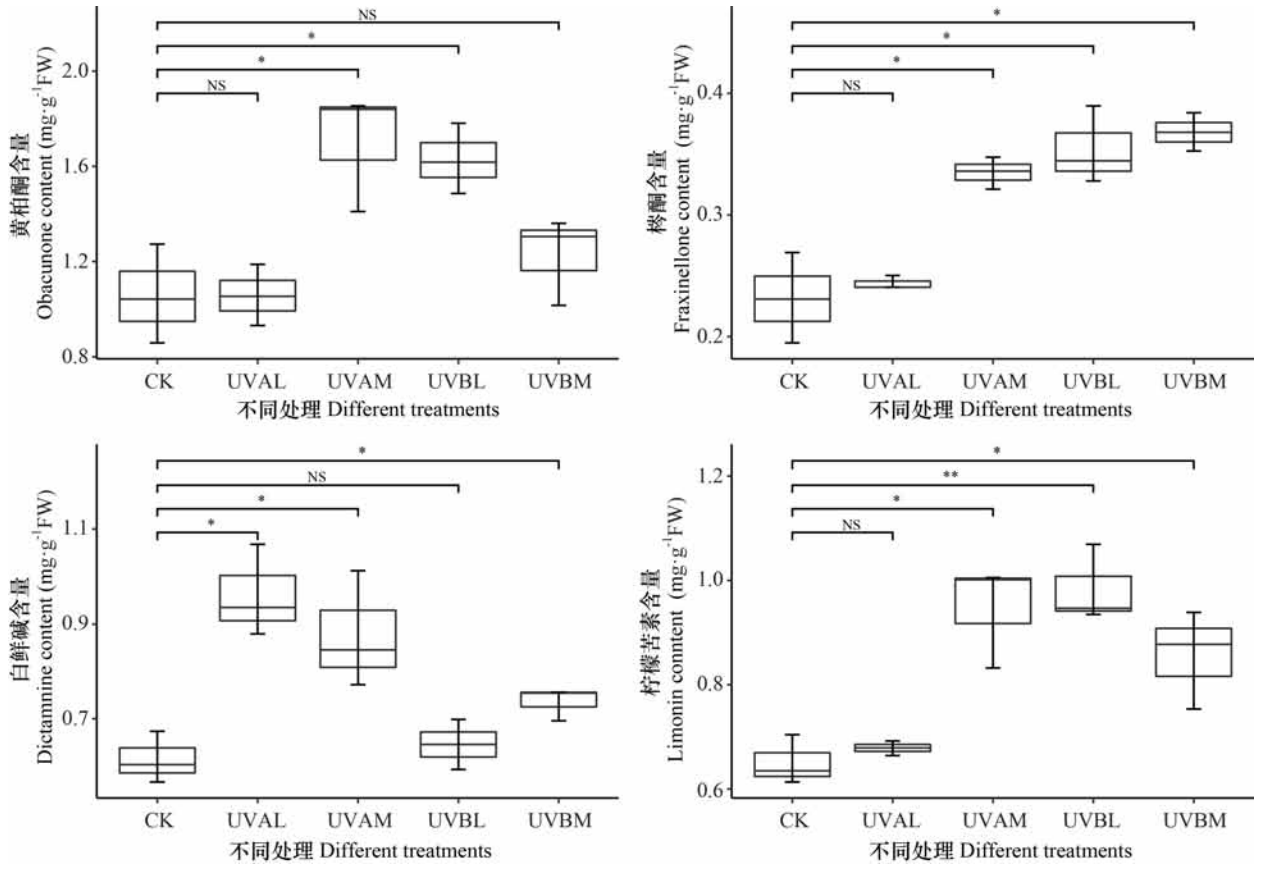


图 2　短期紫外辐射增强对白鲜根中 4 种活性成分的影响

Fig. 2　Effects of short-term enhanced ultraviolet radiation on four active ingredients in *Dictamnus dasycarpus* roots

形成(Wang et al., 2009),表明白鲜可以通过自我调节提高 $Y(NO)$,因此来提升光合系统的非光化学效率使自身不受伤害。本研究还发现所有处理并没有改变白鲜 qL 和 NPQ,其中 qL 可以反映植物对光能的转化能力(Kramer et al., 2004),NPQ 反映的是PS Ⅱ天线色素吸收的光能不能用于光合电子传递而以热的形式耗散掉的光能部分,是一种植物对光合机构的自我保护机制(Kramer et al., 2004),说明白鲜通过提高 $Y(NO)$ 使 PS Ⅱ反应中心电子传递活性恢复正常状态。

植物次生代谢产物因生长环境不同而有所差异(李彦等,2012),调节紫外辐射强度可以提高植物体内某些具有重要药用价值的次生代谢物质含量(吴洋等,2012)。白鲜主要活性成分中,白鲜碱属于生物碱,黄柏酮、柠檬苦素、榄酮都属于柠檬苦素类化合物(曹梦,2019),柠檬苦素类化合物是一类高度氧化的四降三萜类化合物,其中榄酮为降解性柠檬苦素类化合物,黄柏酮与柠檬苦素是柠檬苦素苷元类化合物。本研究发现,中剂量 UV-A 和低剂量 UV-B 对黄柏酮、柠檬苦素、榄酮的诱导效果强烈,紫外辐射促进了三萜的合成,进而影响白鲜体内萜类化合物的含量,黄柏酮与柠檬苦素在榄酮合成的上游(曹梦,2019),推测可能是紫外辐射促进了黄柏酮与柠檬苦素的合成,从而使榄酮含量增加。紫外辐射主要通过改变甲羟戊酸途径(MVA)和 2-甲基赤藓糖-4-磷酸途径(MEP)上相关酶基因的表达量控制白鲜体内这三类柠檬苦素类化合物的合成。当前,关于白鲜的代谢途径的研究较少,且并不十分明确,白鲜活性成分响应紫外辐射的作用机理还需进一步研究。

已有研究证实白鲜活性物质在叶和茎中合成,在根中积累(周亚福等,2017),所以本研究中白鲜根中活性成分含量显著高于茎、叶活性成分含量,与毛少利等(2015)研究结果一致。本研究中剂量 UV-A 辐射显著促进茎中白鲜碱积累,低剂量 UV-B 辐射显著促进叶中榄酮积累,提高白鲜植物茎和叶的利用效率。而白鲜活性成分的质量分数随生长年限的增加而增加(刘丽娟等,2015),本

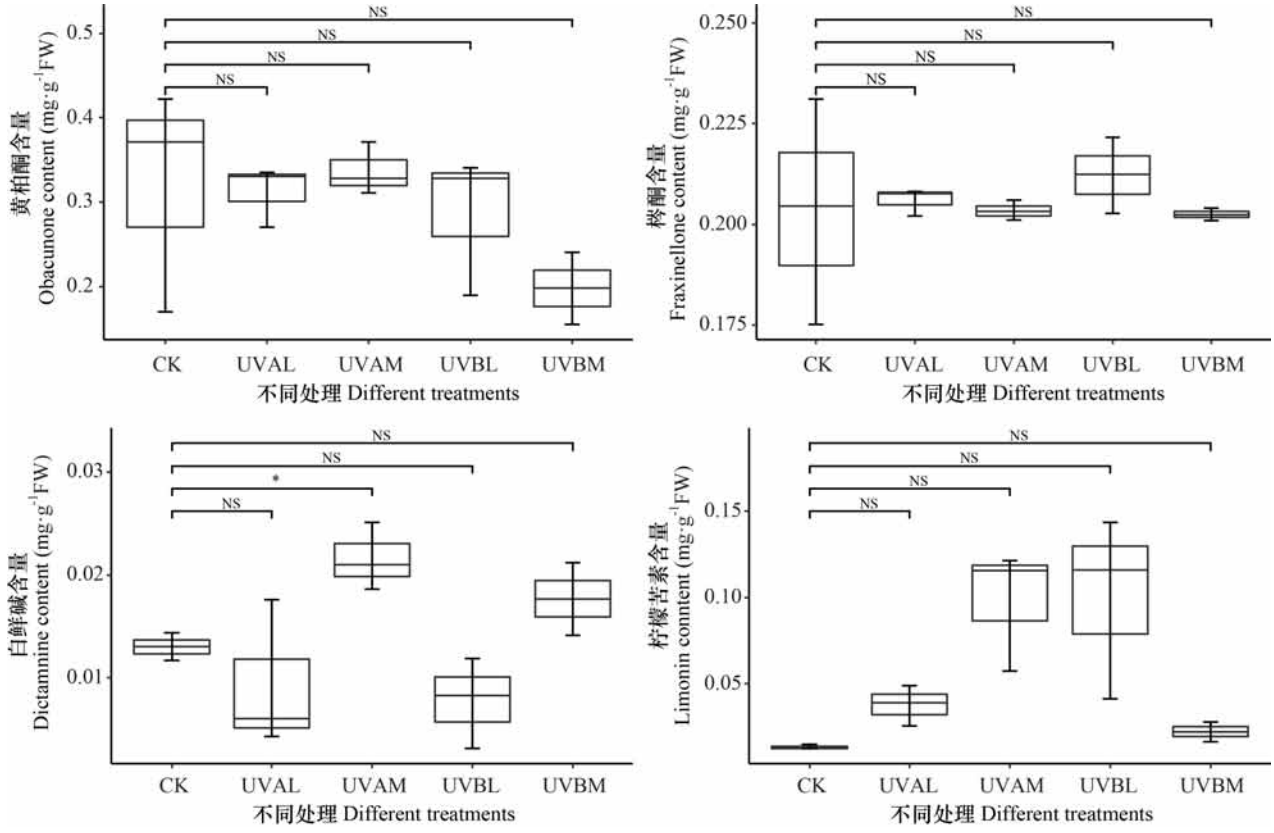


图 3 短期紫外辐射增强对白鲜茎中 4 种活性成分的影响

Fig. 3 Effects of short-term enhanced ultraviolet radiation on four active ingredients in *Dictamnus dasycarpus* stems

研究以两年生白鲜为对象,紫外辐射处理后白鲜药用成分含量提升了 1.5 倍,预期对成株处理时,能够较容易地将人工栽培白鲜品质提升到药典规定标准以上,具有较好的开发利用前景,为白鲜今后高效生产有效药用成分和可持续发展提供了理论基础。

4 结论

本试验通过短期、适度增强 UV-A 和 UV-B 辐射研究了白鲜碱、黄柏酮、梣酮和柠檬苦素 4 种药用活性成分的诱导积累效应。结果表明,在试验条件下,白鲜可以通过自我调节,提升 PS Ⅱ的非光化学效率使自身不受伤害,且适度增强紫外辐射可以提高药用活性成分含量,白鲜根中活性成分含量最高,其中中剂量 UV-A 辐射和低剂量 UV-B 辐射对 4 种活性成分诱导效果比较明显。因此,在田间生产中,可以在采收一周前进行相应的紫外辐射处理,不仅能提升根中活性成分含量,还能提高对茎和叶的利用效率,以达到人工栽培白鲜关键活性成分含量跃升的目标,对促进白鲜资源的可持续利用具有重要意义。

参考文献:

AHMAD M, GRANCHER N, HEIL M, et al., 2002. Action spectrum for cryptochrome-dependent hypocotyl growth inhibition in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 129(2): 774-785.

BARNES PW, TOBLER MA, KEEFOVER-RING K, et al., 2016. Rapid modulation of ultraviolet shielding in plants is influenced by solar ultraviolet radiation and linked to alterations in flavonoids [J]. Plant Cell Environ, 39(1): 222-230.

BORNMAN JF, BARNES PW, ROBINSON SA, et al., 2015. Solar ultraviolet radiation and ozone depletion-driven climate change: effects on terrestrial ecosystems [J]. Photochem Photobiol Sci, 14(1): 88-107.

CAO M, 2019. Effect of ultraviolet radiation on *Dictamnus dasycarpus* Turcz. growth and accumulation of medicinal components [D]. Harbin: Northeast Forestry University: 1-48. [曹梦, 2019. 紫外辐射对白鲜生长和药用成分积累的影响 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学: 1-48.]

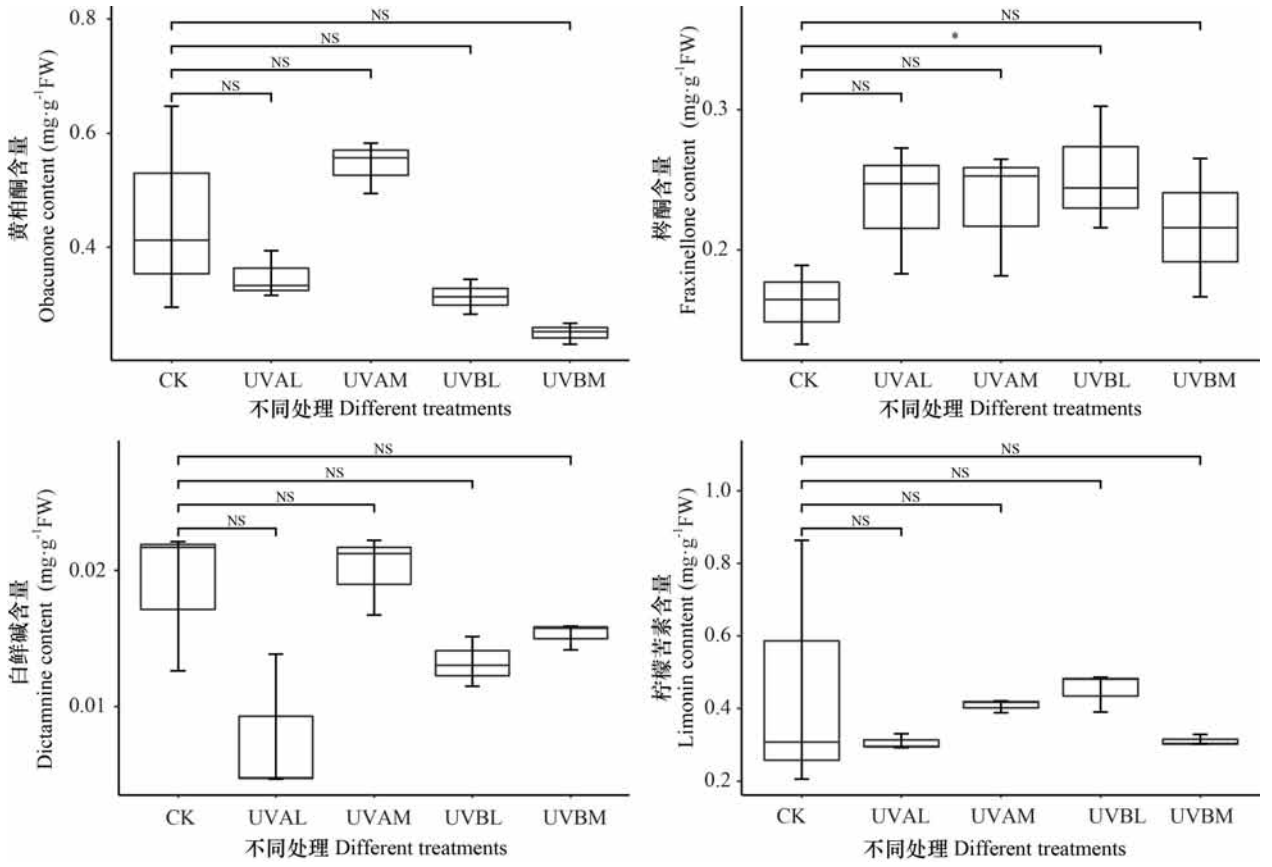


图 4　短期紫外辐射增强对白鲜叶中 4 种活性成分的影响

Fig. 4　Effects of short-term enhanced ultraviolet radiation on four active ingredients in *Dictamnus dasycarpus* leaves

CAO M, TANG ZH, ZHANG ZH, 2018. Simultaneous determination of five components in cortex *Dictamnus dasycarpus* Turcz. by HPLC dual wavelength method [J]. Chin Med Mat, 41(12): 2608-2610. [曹梦, 唐中华, 张衷华, 2018. HPLC 双波长法同时测定白鲜皮中 5 种成分的含量 [J]. 中药材, 41(12): 2608-2610.]

CHRISTIE JM, BRIGGS WR, 2001. Blue light sensing in higher plants [J]. J Biol Chem, 276(15): 11457-11460.

DEMMIG-ADAMS B, ADAMS WW, 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress [J]. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 43(1): 599-626.

DU CF, YANG XX, TU PF, 2005. Studies on chemical constituents in bark of *Dictamnus dasycarpus* [J]. Chin J Chin Mat Med, 30(21): 23-26. [杜程芳, 杨欣欣, 屠鹏飞, 2005. 白鲜皮的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 30(21): 23-26.]

FLEXAS J, BADGER M, CHOW WS, et al., 1999. Analysis of the relative increase in photosynthetic O_2 uptake when photosynthesis in grapevine leaves in inhibited following low night temperatures and/or water stress [J]. Plant Physiol, 121(2): 675-684.

FLINT SD, CALDWELL MM, 2003. A biological spectral weighting function for ozone depletion research with higher plants [J]. Physiol Plantrum, 117(1): 137-144.

FU JY, YANG C, LI DW, et al., 2017. Effects of elevated UV-B radiation on photosynthesis and contents of active substance of *Eucommia ulmoides* plantation [J]. J Anhui Agric Sci, 45(26): 6-10. [付金颖, 杨超, 李德文, 等, 2017. 环境 UV-B 辐射增强对叶用杜仲林叶片光合作用与活性物质含量的影响 [J]. 安徽农业科学, 45(26): 6-10.]

GENTY B, BRIANTAIS JM, BAKER NR, 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence [J]. BBA-Gen Subjects, 990(1): 87-92.

GOSS R, JAKOB T, 2010. Regulation and function of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in algae [J]. Photosynth Res, 106(1-2): 103-122.

JAHNS P, HOLZWARTH AR, 2012. The role of the xanthophyll cycle and lutein in photoprotection of photosystem Ⅱ [J]. BBA-Bioenergetics, 1817 (1): 182-193.

KAKANI VG, REDDY KR, ZHAO D, et al., 2003. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review [J]. Agric For Meteorol, 120(1-4): 191-218.

KITAJIMA M, BUTLER WL, 1975. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone [J]. Biochim Biophys Acta, 376(1):

105-115.
KRAMERDM, JOHNSON G, KIIRATS O, et al., 2004. New fluorescence parameters for the determination of QA redox statean dexcitation energy fluxes [J]. Photosynth Res, 79(2): 209-218.
KRIZEK DT, 2004. Influence of PAR and UV-A in determining plant sensitivity and photomorphogenic responses to UV-B radiation [J]. Photochem Photobiol, 79(4): 307-315.
LI Y, ZHOU XD, LOU ZH, et al., 2012. Review of plant secondary metabolites and the factors that influence its accumulation [J]. S Chin For Sci, 40(3): 54-60. [李彦, 周晓东, 楼浙辉, 等, 2012. 植物次生代谢产物及影响其积累的因素研究综述 [J]. 南方林业科学, 40(3): 54-60.]
LI YM, YUE M, 2005. Effects of supplemental UV-B radiation on *Fritillaria thunbergii* growth and photosynthesis [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 25(4): 740-744. [李亚敏, 岳明, 2005.补充 UV-B 辐射对浙贝母生长和光合作用的影响 [J]. 西北植物学报, 25(4): 740-744.]
LIU L, GUO LN, YU CL, et al., 2016. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Dictamnus dasycarpus* peel [J]. Chin Trad Pat Med, 38(12): 2657-2665. [刘雷, 郭丽娜, 于春磊, 等, 2016. 白鲜皮化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中成药, 38(12): 2657-2665.]
LIU LJ, ZHANG GH, SUN WY, et al., 2015. Variation laws of the content of obacunone and fraxinellone in Dictamni Cortex at different growth stages [J]. J NE For Univ, 43(4): 131-133. [刘丽娟, 张国鸿, 孙文艺, 等, 2015. 不同生长阶段白鲜皮中黄柏酮和梣酮累积量的变化规律 [J]. 东北林业大学学报, 43(4): 131-133.]
MAO SL, ZHOU YF, WANG YC, et al., 2015. Anatomical structures of vegetable organs of *Dictamnus dasycarpus* and dictamine accumulation [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 35(6): 1135-1141. [毛少利, 周亚福, 王宇超, 等, 2015. 白鲜营养器官解剖结构及其与白鲜碱的积累关系 [J]. 西北植物学报, 35(6): 1135-1141.]
OSMOND CB, GRACE SC, 1995. Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field: quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis? [J]. J Exp Bot, 46(290): 1351-1362.
PASCAL AA, LIU ZF, BROESS K, et al., 2005. Molecular basis of photoprotection and control of photosynthetic light-harvesting [J]. Nature, 436(7047): 134-137.
PORTO DD, MATSUUR HN, HENRIQUES AT, et al., 2020. The alkaloid brachycerine contributes to protection against acute UV-B damage in *Psychotria* [J]. Ind Crop Prod, 147(2): 112-216.
SCHANSKER G, RENSEN JJS, 1999. Performance of active photosystem Ⅱ centers in photoinhibited pea leaves [J]. Photosynth Res, 62(2): 175-184.
VALENTA K, DIMAC-STOHL K, BAINES F, et al., 2020. Ultraviolet radiation changes plant color [J]. BMC Plant Biol, 20(1): 253.
WANG LJ, LOESCHER W, DUAN W, et al., 2009. Heat acclimation induced acquired heat tolerance and cross adaptation in different grape cultivars: relationships to photosynthetic energy partitioning [J]. Funct Plant Biol, 36(6): 516-526.
WANG ML, FENG YL, LI X, 2006. Effects of soil phosphorus level on morphological and photosynthetic characteristics of *Ageratina adenophora* and *Chromolaena odorata* [J]. Chin J Appl Ecol, 17(4): 602-606. [王满莲, 冯玉龙, 李新, 2006. 紫茎泽兰和飞机草的形态和光合特性对磷营养的响应 [J]. 应用生态学报, 17(4): 602-606.]
WU Y, FANG MF, YUE M, et al., 2012. Advances in influence of UV-B radiation on medicinal plant secondary metabolism [J]. Chin J Chin Mat Med, 37(15): 2247-2251. [吴洋, 房敏峰, 岳明, 等, 2012. UV-B 辐射对药用植物次生代谢的影响研究进展 [J]. 中国中药杂志, 37(15): 2247-2251.]
XING AB, CUI HF, YU XP, et al., 2018. Effect of nutrient components on growth of *Pholiota adiposa* [J]. N Hortic, 42(3): 163-172. [邢阿宝, 崔海峰, 俞晓平, 等, 2018. 光质及光周期对植物生长发育的影响 [J]. 北方园艺, 42(3): 163-172.]
YUE XG, HAN F, SHI SB, et al., 2005. Effects of UV-B radiation of different intensity on the photosynthesis and the dark respiration of alpine plant *Gentiana straminea* [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 25(2): 231-235. [岳向国, 韩发, 师生波, 等, 2005. 不同强度的 UV-B 辐射对高山植物麻花艽光合作用及暗呼吸的影响 [J]. 西北植物学报, 25(2): 231-235.]
ZHANG J, WEI SL, LI J, et al., 2021. Study on impact of different growing ages and harvesting time of medicinal material: *Fagopyrum dibotrys* on yield and quality [J]. Mod Chin Med, 23(3): 501-505. [张晶, 魏胜利, 李娇, 等, 2021. 不同生长年限与采收期对金荞麦药材产量与质量的影响 [J]. 中国现代中药, 23(3): 501-505.]
ZHANG SP, SCHELLER HV, 2004. Photoinhibition of photosystem I at chilling temperature and subsequent recovery in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Physiol, 45(11): 1595-1602.
ZHANG WJ, BJÖRN LO, 2009. The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants [J]. Fitoterapia, 80(4): 207-218.
ZHAO LL, WEN BO, WEN LY, et al., 2020. Analysis of quality status of Dictamni Cortex in Jilin Province [J]. Guid Chin Med, 18(25): 40-42. [赵琳琳, 温博, 温立义, 等, 2020. 吉林省白鲜皮的质量现状分析 [J]. 中国医药指南, 18(25): 40-42.]
ZHOU YF, MAO SL, LI SF, et al., 2013. Advance on biology and chemical constituents of *Dictamnus dasycarpus* [J]. Chin Agric Sci Bull, 29(7): 65-69. [周亚福, 毛少利, 李思峰, 等, 2013. 白鲜的生物学与化学成分研究进展 [J]. 中国农学通报, 29(7): 65-69.]
ZHOU YF, MAO SL, SHI XW, et al., 2017. Histochemistry of obacunone and fraxinellone in vegetative organs of *Dictamnus dasycarpus* and the content changes in different growth stages [J]. J NW For Univ, 32(1): 239-243. [周亚福, 毛少利, 石新卫, 等, 2017. 白鲜营养器官黄柏酮和梣酮的组化定位及含量的动态变化 [J]. 西北林学院学报, 32(1): 239-243.]

(责任编辑 周翠鸣)

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1105-1115 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202110049

陈沁, 唐欣然, 薛乾怀, 等. 亚热带植物春季和秋季物候格局及其对气候变化的响应 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1105-1115.

CHEN Q, TANG XR, XUE QH, et al. Spring and autumn phenology patterns of subtropical plants and their responses to climate change [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1105-1115.

亚热带植物春季和秋季物候格局及其对气候变化的响应

陈 沁, 唐欣然, 薛乾怀, 王鑫洋, 杜彦君*

(海南大学 林学院, 海口 570100)

摘 要: 全球变暖导致的物候变化已经对生物多样性和生态系统产生了重要影响,与温带和寒带相比,亚热带物候学的研究相对较少,秋季物候的研究也十分缺乏,不同功能群植物的物候对气候变化的响应是否存在差别,都有待进一步研究。为了研究亚热带植物春季和秋季物候对气候变化的响应以及不同功能群间的差异性,该研究利用湖南省长沙植物园 25 种木本植物 20 a 的物候观测数据,根据 AIC 信息标准,先筛选各物种最佳温度和降水模型,并利用 Wilcoxon 秩和检验分析不同功能群的物种对温度的响应是否一致。结果表明:(1)大多数物种的春季物候和秋季物候都对温度变化响应显著,展叶与开花的提前速率分别是 3.76 d·℃$^{-1}$和 6.53 d·℃$^{-1}$,叶变色与落叶的推迟速率分别是 16.66 d·℃$^{-1}$和 3.50 d·℃$^{-1}$。(2)部分物种的春季(展叶物候:60%,开花物候:35%)和秋季(叶变色物候:25%,落叶物候:13%)对降水显著响应。(3)除不同落叶性物种(常绿和落叶之间)的展叶物候表现出对气候的响应有显著差异外,其他不同功能群的物种对气候的响应均无显著差异。该研究认为,亚热带地区植物春季物候显著提前,秋季物候显著推迟,且亚热带地区不同功能群的物种对温度的响应大部分无显著差异,表明气候变化对亚热带地区不同功能群的影响程度大部分趋同。

关键词: 展叶, 开花, 叶变色, 落叶, 功能群, 全球变暖

中图分类号: Q948 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-3142(2022)07-1105-11

Spring and autumn phenology patterns of subtropical plants and their responses to climate change

CHEN Qin, TANG Xinran, XUE Qianhuai, WANG Xinyang, DU Yanjun*

(*College of Forestry*, *Hainan University*, Haikou 570100, China)

Abstract: Phenological changes caused by global warming have already impacted global biodiversity and ecosystems. Compared to temperate and boreal zones, subtropical phenology has been studied relatively less. It remains largely unknown that how autumn phenology response to climate change and how the responses vary among different functional groups. In order to investigate the spring and autumn phenological responses of subtropical plants to climate change and whether the responses vary in different functional groups, an 20-year observational phenological datasets for 25 woody species in Changsha Botanical Garden of Hunan Province were used, and based on the AIC information standard, the best temperature and precipitation models of each species were selected. Wilcoxon test was applied to analyze the consistency of species' responses to temperature for different functional groups. The results were as follows:

收稿日期: 2022-02-06

基金项目: 海南省自然科学基金(320RC504) [Supported by Natural Science Foundation of Hainan Province (320RC504)]。

第一作者: 陈沁(1997-),硕士,主要研究方向为植物物候学,(E-mail)chenqin19971997@163.com。

*通信作者: 杜彦君,博士,副研究员,主要研究方向为植物物候学,(E-mail)yanjun.du@yahoo.com。

(1) Spring phenology and autumn phendogy were significantly responded to temperature for most species by advancing their leaf-out time and flowering time on average 3.76 d · ℃$^{-1}$ and 6.53 d · ℃$^{-1}$, respectively. Leaf-coloration time and defoliation time were significantly responded to temperature for parts of the species by delaying on average, 16.66 d · ℃$^{-1}$ and 3.50 d · ℃$^{-1}$, respectively. (2) Only part of the species showed significant response to precipitation in spring(leaf-out phenology: 60%; flowering phenology: 35%)and autumn (leaf-coloration phenology: 25%; defoliation phenology: 13%). (3) There were no significant differences in response to temperature change among different functional groups, except species of different deciduousness showed significant differences in response to temperature change. We conclude that the spring phenology of plants in the subtropical area is significantly advanced and the autumn phenology is significantly delayed, and there are no significant differences in response to temperature among different functional groups in the subtropical area. The results show that different functional groups converge on their response to climate change in the subtropical area.

Key words: leaf-out, flowering, leaf-coloration, defoliation, functional groups, global warming

植物物候常被认为是生态系统对气候变化响应的最敏感指标之一(Schwartz, 1999; Parmesan, 2006)。全球变暖导致的物候变化已经对生物多样性和生态系统产生了重要影响(Jolly et al., 2004; Ahrends et al., 2009)。亚热带地区占世界生物多样性比重较大,并且维持着许多重要的生态关系和过程,且构成气候系统和全球水、碳和营养循环的很大组成部分(Myers et al., 2000; Bonan, 2008)。然而,以往的研究绝大多数都聚焦于温带植物物候对气候变化的响应(Root et al., 2003; Dai et al., 2013; Du et al., 2017),气候对亚热带地区植物物候变化的影响却少有研究。了解亚热带地区的物候变化对填补我们科学认识的空白很有必要,并对有关气候和其他政策的管理实践也至关重要(Peñuelas et al., 2009; Morellato et al., 2016; Du et al., 2019)。

越来越多的温带地区物候研究表明,北半球的春季物候期开始得更早(Morin et al., 2010; Caradonna et al., 2014; Everill et al., 2014)。一项针对 542 种欧洲植物的荟萃分析发现,78%的物种展叶和开花时间提前(Menzel et al., 2006)。相比之下,亚热带的物候调控机制仍基本未知(Du et al., 2019)。在亚热带地区,温度很少下降到 5 ℃以下,然而 5 ℃被认为是温带植物满足冬季低温需求的必要条件(Zohner & Renner, 2014; Fu et al., 2015; Chuine et al., 2016; Zohner et al., 2016)。因此,亚热带植物通常不会暴露在冬季低温中。最近几项研究表明,亚热带木本植物可能不会受到冬季寒冷的影响(Qian et al., 2021; Song et al., 2021), 温暖的秋冬温度可能会促进叶芽和花芽的生长,从而在次年春季提前开花(Song et al., 2021)。降水也可会影响亚热带植物的物候期。对浙江古田山亚热带常绿阔叶林植物物候研究发现,降水可以促进植物的春季开花物候(胡小丽等,2015)。以分布广泛的多年生草本植物绶草(*Spiranthes sinensis*)为研究对象,对 116 a 间的标本数据进行研究,发现湿润区与非湿润区之间表现出对气候变暖相反的物候响应方式,湿润区开花提前,而非湿润区开花推迟(Song et al., 2020)。

相比春季物候,即便在开展研究较多的温带和极地生态系统,对秋季物候(如叶衰老)的研究仍然较少。这是由多个因素造成的,其中包括秋季物候驱动因子较复杂,秋季物候持续时间较长,以及人们对春季开花物候的兴趣较浓(Gallinat et al., 2015)。尽管如此,秋季物候有其重要的生态学和进化意义,也是气候变暖对生态系统影响的重要组分。近几年,秋季物候对气候变化的响应已经成为一个研究热点。叶衰老已经呈现出随温度变暖而推迟的趋势(Gallinat et al., 2015),然而秋季叶片衰老与秋季气温的关系要弱一些(Menzel et al., 2003)。干旱会加速叶变色和叶脱落,而充足的水分条件会推迟叶片的衰老速度(Leuzinger et al., 2005)。然而,对亚热带秋季物候与气候变化的研究至今少见(Song et al., 2021)。由于人们还不了解秋季叶衰老期的环境驱动因子,导致未来对亚热带地区生长季的估算有很大的不确定性,造成区域和全球碳吸收和碳平衡的不准确估算(Zani et al., 2020)。

不同功能群物种的物候对气候变化的响应可能存在差异,而该方面的研究还比较缺乏。植物的开花与展叶时间已经被证实与几个重要的功能群有联系,如生长型(Molau et al., 2005; Panchen et al., 2014; Du et al., 2015)、传粉方式(Du et al., 2015)、果实类型(Bolmgren & Lönnberg, 2005; Du et al., 2015)、落叶性(Panchen et al., 2014)、种子

扩散方式等都会影响植物的繁殖物候(Sargent & Ackerly, 2008; Devaux et al., 2014)。但是针对不同功能群的物候对气候变化响应差异的研究很少有报道。

本研究基于中国物候监测网长沙站点记载的1963—2008 年的物候数据,来研究并解答以下 3 个科学问题:(1)亚热带植物春季物候是否受温度和降水影响;(2)亚热带植物秋季物候是否受温度和降水影响;(3)不同功能群植物的物候对气候变化的响应是否有差异。

1　材料与方法

1.1 材料

1.1.1 *研究地概况*　湖南长沙植物物候监测点(109.5 E、24.2 N),地处华中平原地区,年平均气温 17.41 ℃,每年 7 月为最高气温,温度为 29.11 ℃,1 月为最低气温,温度为 5.15 ℃。该地区年平均降水量为 1 320 mm,且主要集中在春季和夏季(3—8 月)。该研究地点属于中亚热带湿润地区(郑景云等,2010)。

1.1.2 *物候数据*　本文选用的物候观测资料来自中国物候观测网(Chinese Phenology Observation Network, CPON)。依据观测序列较长和连续性较好的原则,选择含观测期内(1963—1965 年,1973—1974 年,1983—1991 年,2003—2007 年)的展叶期、始花期、叶变色期和落叶期的物候观测记录。为了满足统计分析的最小样本量,我们排除了数据少于 8 a 的物种(Lessard-Therrien et al., 2014; Song et al., 2021),共有 25 个物种有充足的展叶期数据,隶属于 16 科 24 属;有 20 个物种有充足的开花期数据,隶属于 14 科 20 属;有 16 个物种有充足的叶变色期数据,隶属于 11 科 14 属;有 15 个物种有充足的落叶期数据,隶属于 11 科 14 属(表 1,表 2)。

1.1.3 *气象数据*　我们用月度气候数据进行分析,包括月平均温度和月平均降雨量(1963—2008),这些数据均从“气候研究单位 0.5°×0.5°栅格数据集”上获取(CRU TS ver. 4.04, <www.cru.uea.ac.uk/>, Harris et al., 2020)。

1.2 研究方法

物候观测数据采用儒略日的换算方法。将逐年物候事件出现的日期转化成距 1 月 1 日的实际天数。本文利用物候事件发生前 11 个月与物候事件发生当月组成的时间序列,对单月温度、连续 2 个月平均温度、连续 3 个月平均温度与物候期进行回归分析,筛选最佳的温度模型。这与之前的相关研究方法一致(Beaubien & Freeland, 2000; Miller-Rushing & Primack, 2008; Cook et al., 2012; Mazer et al., 2013; Du et al., 2017)。用物候事件发生前 2 个月与物候事件发生当月组成的时间序列,对单月降水、连续 2 个月平均降水、连续 3 个月平均降水数据与物候期进行回归分析,筛选最佳的降水模型。根据 AIC 信息标准,筛选各物种最佳模型。

物候期与温度的线性回归模型的斜率被定义为物候期对温度的敏感性。物候期对降水的敏感性也同样被定义。本文利用线性回归分析降水和温度对植物物候的影响,更陡的斜率代表物种物候期对气候响应更大。

根据传粉方式(风媒与虫媒)、果实类型(肉果与干果)、落叶性(常绿与落叶)对研究物种进行了功能群划分。传粉方式是根据《中国植物志》(http://frps.eflora.cn/)的记载,根据花的形态来划分。具有鲜艳花被的植物属于虫媒传粉;花被少或无花被、柱头表面大量暴露、花粉量多、无花蜜的植物属于风媒传粉。果实类型分为肉质果实型和非肉质果实型。非肉质果实类型包括蒴果、荚果、坚果、翅果等果肉干瘪的果实,而浆果、梨果、柑果、核果和肉质聚合果等果肉富含水分的是肉质果实类型(胡小丽等,2017)。常绿树种一年四季都能保持常绿的特性,落叶树种在秋冬季节或旱季叶全部脱落。在本研究中风媒花植物有 18 种,虫媒花植物有 7 种。肉质果实型植物 8 种,干果植物 13 种。常绿植物 6 种,落叶植物 19 种。

本研究利用线性回归检验物候事件的早晚与温度的关系;利用 Wilcoxon 秩和检验分析不同功能群的物种对温度的响应是否一致。因为对降水敏感的物种比例较小,本文暂且不考虑不同功能群对降水的响应差异。本文所有统计分析用 R 语言 4.0.3 版(R Core Team, 2020)。

2　结果与分析

2.1 物候格局

25 个物种的展叶期都集中在 3 月和 4 月(图 1:A)。其中,40%的物种展叶集中在 3 月,60%的物种展叶集中在 4 月。所有物种展叶平均日期为 4 月 4 日。展叶最早的物种是枇杷(*Eriobotrya japonica*,3 月 5 日),最晚的物种是荷花玉兰(*Magnolia*

grandiflora,4 月 27 日)。

20 个物种的开花时间比较分散,分布在 2—6 月和 11 月(图 1:B),平均开花日期为 5 月 4 日。其中 4 月开花物种最多(35%),其次主要集中在 6 月(20%)、3 月(15%)、5 月(15%)。开花最早的是樟木(*Sassafras tzumu*),2 月开花(2 月 16 日);最晚开花的是枇杷,11 月开花(11 月 9 日)。

叶变色主要集中在 9 月和 10 月(图 1:C)。16 个物种的平均叶变色日期是 10 月 2 日。9 月占比 37.5%,10 月占比 62.5%,其中最早叶变色的物种是紫玉兰(*Yulania liliiflora*,9 月 10 日),最晚叶变色的物种是合欢(*Albizia julibrissin*,10 月 30 日)。

落叶物候主要集中在 9—11 月(图 1:D),其中 9 月落叶物种数占全部物种比为 13%,10 月占比 60%,11 月占比 27%。15 个物种的平均落叶期为 10 月 21 日,落叶最早的物种是紫荆(*Cercis chinensis*,9 月 22 日),最晚的物种是枣(*Ziziphus jujuba*,11 月 5 日)。

2.2 春季物候对气候变化的响应

关于展叶物候,25 个物种里面有 20 个物种(80%)对温度显著敏感(表 1)。只有梧桐(*Firmiana simplex*)和香椿(*Toona sinensis*)的展叶期与温度之间表现出显著的正相关关系,其他 18 个种表现出与温度的显著负相关关系(表 1)。展叶时间对温度的平均敏感性为 -3.76 d · ℃$^{-1}$,敏感性从 -17.03 d · ℃$^{-1}$(荷花玉兰)到 15.95 d · ℃$^{-1}$(构树 *Broussonetia papyrifera*),且绝大多数物种(80%)的展叶时间与 1—4 月温度有较高相关性(表 1)。14 个物种(60%)的展叶期对降水显著敏感,且均表现出与降水有显著正相关关系(表 1)。展叶时间对降水的平均敏感性为 0.21 d · mm^{-1},敏感性从 -0.04 d · mm^{-1}[油茶(*Camellia oleifera*)]到 0.48 d · mm^{-1}[杉木(*Cunninghamia lanceolata*)],且所有物种都表现出对 1—4 月降水的相关性(表 1)。60% 的物种表现出对温度和降水的交互作用敏感(表 1)。

关于开花物候,17 个物种(85%)对温度敏感显著,且均表现出与温度之间的负相关关系(表 1)。开花时间对温度的平均敏感性为 -6.53 d · ℃$^{-1}$,敏感性范围从 -21.15 d · ℃$^{-1}$(杉木)到 13.38 d · ℃$^{-1}$(檫木),且大多数物种(75%)表现出对 2—5 月温度的高敏感性(表 1)。

只有 7 个物种(35%)的开花物候表现出对降水敏感,且除了合欢,都表现出与降水的正相关关系(表 1)。开花时间对降水的平均敏感性为 0.10 d · mm^{-1},敏感性范围从 -0.13 d · mm^{-1}(檫木)到 0.51 d · mm^{-1}(杉木),且 75% 的物种都表现出对 1—4 月降水的相关性(表 1)。仅有 35% 的物种表现出对温度和降水的交互作用敏感,它们是板栗(*Castanea mollissima*)、楝树(*Melia azedarach*)、南酸枣(*Choerospondias axillaris*)、杉木、玉兰(*Yulania denudata*)、樟树(*Cinnamomum camphora*)、紫荆(表 1)。

2.3 秋季物候对气候变化的响应

关于叶变色物候,12 个物种(75%)的叶变色时间表现出对温度显著敏感(表 2)。其中只有玉兰的叶变色期与温度有显著负相关,其他物种的叶变色期与温度都存在显著正相关关系(表 2)。叶变色时间对温度的平均敏感性为 19.90 d · ℃$^{-1}$,敏感性范围从 -11.58 d · ℃$^{-1}$(玉兰)到 37.47 d · ℃$^{-1}$(楝树)。叶变色时间对降水的平均敏感性为 -0.08 d · mm^{-1},且只有 4 个物种(25%)表现出对降水显著敏感,它们是枫杨(*Pterocarya stenoptera*)、南酸枣、乌桕(*Triadica sebifera*)、水杉(*Metasequoia glyptostroboides*)。2 个物种(枫杨和紫玉兰)表现出对温度和降水的交互作用敏感(表 2)。

关于落叶物候,11 个物种(73%)的落叶时间对温度显著敏感(表 2)。其中 5 个物种与温度有显著的负相关关系,6 个物种的落叶时间与温度有显著的正相关关系。落叶时间对温度的平均敏感性为 4.56 d · ℃$^{-1}$(表 2)。只有两个物种(13%)的落叶物候表现出对降水敏感;47% 的物种表现出对温度和降水的交互作用敏感(表 2)。

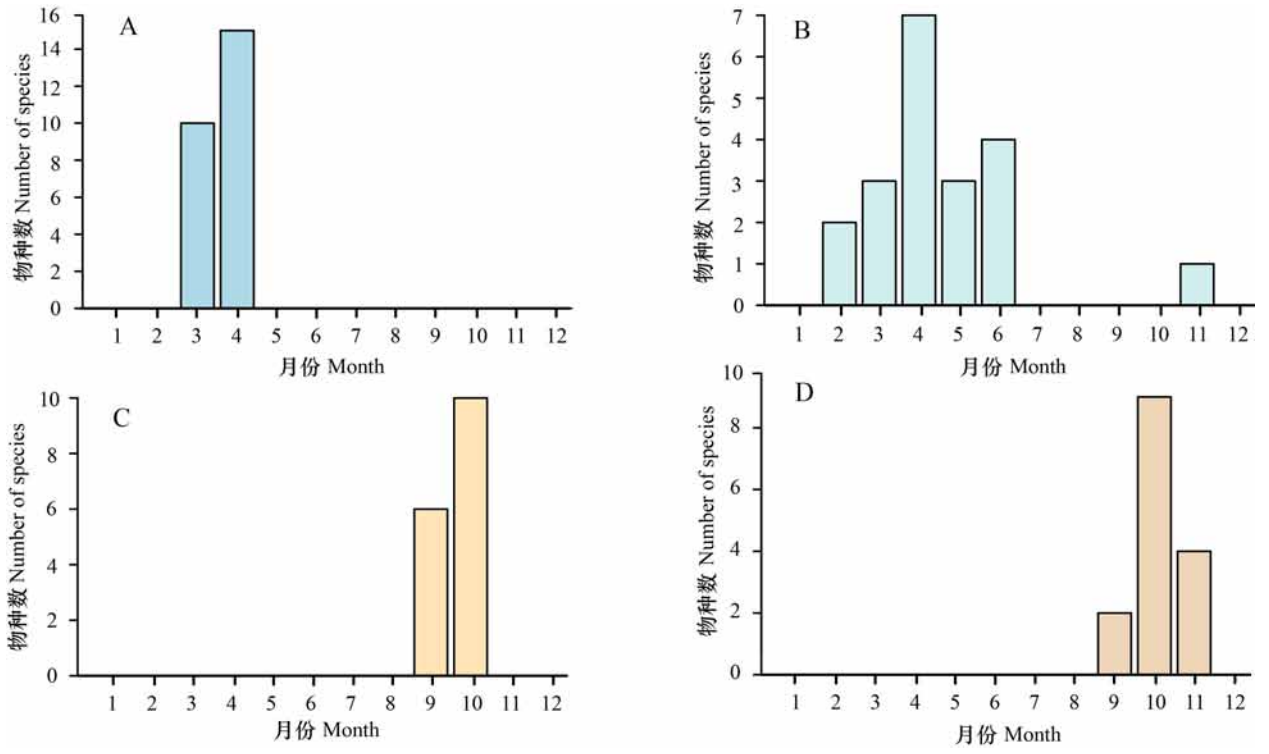
2.4 不同功能群物候对气候变化响应的差异性

不同展叶早晚、果实类型、传粉方式的物种均与对温度的响应无显著相关,但不同落叶性的物种表现出对温度的响应有显著差异(图 2)。开花早晚、果实类型、传粉方式、不同落叶性均对植物开花物候对温度的响应无显著影响(图 3)。叶变色的早晚和落叶的早晚均与温度的响应无显著相关(图 4:A,B)。

3 讨论

3.1 春季物候对气候变化的响应

本研究发现超过 80% 的物种的展叶期和开花期受春季温度的调控,这与温带地区春季物候对气候变化响应的研究结果基本一致,包括亚洲(Dai et al., 2014; Chen et al., 2015; Ge et al., 2015)、欧洲



A. 展叶；**B**. 开花；**C**. 叶变色；**D**. 落叶。
A. Leaf-out; **B**. Flowering; **C**. Leaf-coloration; **D**. Defoliation.

图 1　物候格局图
Fig. 1　Phenological patterns

(Menzel et al., 2006; Vitasse et al., 2011; Fu et al., 2014) 和北美洲 (Abu-Asab et al., 2001; Miller-Rushing & Primack, 2008; Calinger et al., 2013)。本研究地点长沙的开花平均响应速率 (−6.53 d · ℃$^{-1}$) 比纬度高的西安 (5.99 d · ℃$^{-1}$) (Dai et al., 2013) 要大。这与之前的一些认识不一致，如在北半球，在季节变化更强的高纬度地区，植物物候对气候响应的程度更高 (Jones et al., 2012)。最近也有一些研究发现，在中国低纬度地区的木本植物的春季物候响应趋势比高纬度地区更强 (Chen & Xu, 2012; Dai et al., 2014; Ge et al., 2015)；在分布广泛的绥草的研究中发现，物候对气候变化的响应沿纬度的升高而减弱 (Song et al., 2020)，这与我们的结果是相符合的。

本文的结果显示大部分物种的展叶和开花都对物候事件前几个月的温度敏感，此研究结果与温带地区的一些研究结果相符合 (Menzel et al., 2006; Calinger et al., 2013; Du et al., 2017)，也与亚热带的一些研究结果相一致 (Park & Schwartz, 2015; Wang et al., 2015)。这一结果证实了物候事件前几个月的温度才是物候变化最好的指示器，而不是物候事件当月的温度 (Fitter & Fitter, 2002; Miller-Rushing & Primack, 2008)。

我们发现大部分物种的展叶时间与展叶事件前 1~3 个月的降水有显著关系，这与之前的结论相一致：如在对西安的研究中发现，植物展叶时间与展叶事件前 1 月的降水有较明显的相关关系 (白洁等，2010)。但只有 1/3 物种的开花时间对降水敏感，这与之前的研究结论也是相符的 (Abu-Asab et al., 2001; Sparks et al., 2006)。物候期与物候事件前温度和降水的关系表现为部分主要受温度影响，部分受降水影响。春季物候最终提前或推迟取决于温度和降水相互协同或抵消后的结果 (Gordo & Sanz, 2009; Morin et al., 2010)。

本文的研究表明大部分物种的展叶期对温度和降水的交互作用敏感，少数物种的开花期对温度和降水的交互作用敏感。Du 等 (2017) 对温带的研究表明，温度与冬季降水的交互作用对植物

表 1 展叶物候和开花物候的基本信息和回归模型的参数估计

Table 1 Basic informations of leaf-out phenology and flowering phenology and parameter estimation of regression model

物种 Species	展叶物候 Leaf-out phenology								开花物候 Flowering phenology							
	年数 N	月份 Month	物候期 Phenology day	最佳温度月份组合 Best temp month model	斜率 1 Slope 1 (d·℃$^{-1}$)	最佳降水月份组合 Best pre month model	斜率 2 Slope 2 (d·mm^{-1})	温度*降水 Temp*Pre	年数 N	月份 Month	物候期 Phenology day	最佳温度月份组合 Best temp month model	斜率 1 Slope 1 (d·℃$^{-1}$)	最佳降水月份组合 Best pre month model	斜率 2 Slope 2 (d·mm^{-1})	温度*降水 Temp*Pre
合欢 *Albizia julibrissin*	19	4 月 Apr.	109	2+3	−7.04***	2+3	0.18*	0.24***	19	6 月 Jun.	155	3+4+5	−12.49***	6	−0.12*	—
构树 *Broussonetia papyrifera*	19	3 月 Mar.	90	8+9	15.95	3	0.30*	—	17	4 月 Apr.	108	2+3+4	−6.17***	3	0.06	—
油茶 *Camellia oleifera*	11	4 月 Apr.	96	2+3	−3.19	4	−0.04	—	—	—	—	—	—	—	—	—
板栗 *Castanea mollissima*	16	4 月 Apr.	95	3	−4.69***	2+3+4	0.16	—	16	5 月 May.	139	4+5	−7.31	3	0.18*	0.01*
紫荆 *Cercis chinensis*	20	3 月 Mar.	86	2+3	−4.21*	1+2+3	0.34**	0.04***	20	3 月 Mar.	86	2+3	−6.81***	1+2+3	0.28*	0.03**
南酸枣 *Choerospondias axillaris*	18	3 月 Mar.	91	2+3	−5.29***	2+3	0.14	0.01*	17	4 月 Apr.	111	2+3	−8.01***	3	0.08	−0.04**
樟树 *Cinnamomum camphora*	14	3 月 Mar.	85	1+2+3	−7.72**	1+2+3	0.22	0.03*	14	4 月 Apr.	120	2+3+4	−9.72**	2+3+4	0.27	−0.07**
杉木 *Cunninghamia lanceolata*	17	4 月 Apr.	110	2+3+4	−10.27	2+3	0.48*	—	11	3 月 Mar.	78	8+9+10	−21.15*	1+2+3	0.51*	0.02*
枇杷 *Eriobotrya japonica*	15	3 月 Mar.	65	1+2	−5.25*	3	0.20**	−0.04**	10	11 月 Nov.	314	8	7.96	11	−0.1	—
梧桐 *Firmiana simplex*	19	4 月 Apr.	103	11+12+1	7.96*	2	0.08	—	17	6 月 Jun.	161	12	−8.39*	4+5+6	0.13	—
胡桃 *Juglans regia*	10	4 月 Apr.	105	11	10.87	2+3	0.19	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—
女贞 *Ligustrum lucidum*	16	4 月 Apr.	94	2+3+4	−10.93**	3	0.15	−0.09**	18	6 月 Jun.	156	3+4+5	−8.4***	4	0.05	—
荷花玉兰 *Magnolia grandiflora*	13	4 月 Apr.	118	4	−17.03**	2+3	0.38*	−0.13**	13	5 月 May.	136	3+4+5	−9.86***	3	0.09	—
楝树 *Melia azedarach*	19	4 月 Apr.	98	2+3	−5.73**	2+3	0.19*	0.02*	20	4 月 Apr.	119	2+3	−6.49**	3	0.14**	0.02**
水杉 *Metasequoia glyptostroboides*	19	3 月 Mar.	91	2+3	−3.45**	2+3	0.19**	—	—	—	—	—	—	—	—	—
桑 *Morus alba*	13	4 月 Apr.	97	2+3	−7.45**	2+3+4	0.40**	—	8	4 月 Apr.	113	2+3	−8.77*	2	0.03	—
三球悬铃木 *Platanus orientalis*	9	4 月 Apr.	96	2+3+4	−10.85*	2+3	0.20	—	—	—	—	—	—	—	—	—
枫杨 *Pterocarya stenoptera*	17	3 月 Mar.	76	1+2+3	−6.23***	1+2+3	0.18*	0.02**	17	4 月 Apr.	99	3	−6.41*	4	0.08	—
刺槐 *Robinia pseudoacacia*	19	4 月 Apr.	92	2+3+4	−7.94***	2+3	0.16	−0.07***	19	4 月 Apr.	109	2+3	−6.4***	3	0.09*	—
檫木 *Sassafras tzumu*	9	3 月 Mar.	90	11	7.58	2+3	0.16	—	9	2 月 Feb.	47	9+10	13.38	1	−0.13	—
香椿 *Toona sinensis*	8	4 月 Apr.	92	11	7.76*	2+3+4	0.30*	0.02*	—	—	—	—	—	—	—	—
乌桕 *Triadica sebifera*	18	4 月 Apr.	105	3	−6.17**	2+3	0.22*	−0.04*	12	6 月 Jun.	162	5	−5.00*	4+5	0.07	—
玉兰 *Yulania denudata*	18	3 月 Mar.	86	2+3	−4.68**	2+3	0.15	—	18	2 月 Feb.	57	12+1+2	−8.64**	12	0.17	−0.19**
紫玉兰 *Yulania liliiflora*	15	3 月 Mar.	91	2+3	−6.97***	2+3	0.22*	0.02*	16	3 月 Mar.	91	2+3	−4.58*	1	0.10	—
枣 *Ziziphus jujuba*	12	4 月 Apr.	109	2+3	−8.91***	2+3	0.17*	0.02*	12	5 月 May.	143	4	−7.28***	3	0.09*	—

注：**年数**为监测物种物候的年数；**月份**为各物种物候期的平均月份；**物候期**为 1 月 1 日以来各物候期的平均天数；**Temp** 和 **temp** 为温度的缩写形式；**最佳温度月份组合**是展叶期与温度进行回归的最佳温度月份组合；**斜率 1(d·℃$^{-1}$)**为物候期与最佳温度组合的回归的斜率值；**Pre** 和 **pre** 为降水的缩写形式；**最佳降水月份组合**是各物候期与降水进行回归的最佳降水月份组合；**斜率 2(d·mm^{-1})**为物候期与最佳降水组合的回归的斜率；**温度*降水**为温度与降水的交互作用。—表示物种对交互作用不敏感；*** 代表 $P<0.001$；** 代表 $0.001<P<0.01$；* 代表 $0.01<P<0.05$。下同。

Note: **N** is the number of years for monitoring species' phenology; **Month** is the average month of each phenological period of each species; **Phenology day** is the average number of days of each phenological period since January 1; **Temp** and **temp** are the abbreviated form of temperature; **Best temp month model** is the best temperature month model of the regression of each phenological period and temperature; **Slope 1 (d·℃$^{-1}$)** is the slope value of the regression of the best temperature model; **Pre** and **pre** are the abbreviated form of precipitation; **Best pre month model** is the best precipitation month model of the regression of each phenological period and precipitation; **Slope 2 (d·mm^{-1})** is the slope of the regression between phenological period and best precipitation model; **Temp*Pre** is the interaction between temperature and precipitation. — indicates that the species is not sensitive to the interaction; *** represents $P<0.001$; ** represents $0.001<P<0.01$; * represents $0.01<P<0.05$. The same below.

的展叶与开花物候没有显著影响。亚热带地区植物与温带地区植物对气候的响应机制不同,这可能是造成研究差异的原因。为了更有效地建模和预测物候变化,特别是在研究缺乏的亚热带生态系统中,需要更深地了解温度和降水的交互作用如何对物候产生影响。

3.2 秋季物候对气候变化的响应

超过 70%的物种表现出了叶变色期和落叶期与温度间的显著相关性,且大部分物种的叶变色期和落叶期都表现出随温度升高而推迟的趋势。以前的研究发现温度升高会造成秋季叶衰老物候的推迟(Menzel et al., 2006; Piao et al., 2006; Ge et al., 2015),这与本文的结果一致。降水被认为是影响秋季物候的另一个重要的因素(Munne-Bosch & Alegre, 2004; Estrella & Menzel, 2006; Anderegg et al., 2013; Dreesen et al., 2014),这与

表 2　叶变色和落叶物候的基本信息和回归模型的参数估计

Table 2　Basic informations of leaf-coloring phenology and defoliation phenology and parameter estimation of regression model

物种 Species	叶变色物候 Leaf-coloration phenology								落叶物候 Defoliation phenology							
	年数 N	月份 Month	物候期 Phenology day	最佳温度月份组合 Best temp month model	斜率 1 Slope 1 (d · ℃$^{-1}$)	最佳降水月份组合 Best pre month model	斜率 2 Slope 2 (d · mm^{-1})	温度 * 降水 Temp * Pre	年数 N	月份 Month	物候期 Phenology day	最佳温度月份组合 Best temp month model	斜率 1 Slope 1 (d · ℃$^{-1}$)	最佳降水月份组合 Best pre month model	斜率 2 Slope 2 (d · mm^{-1})	温度 * 降水 Temp * Pre
合欢 *Albizia julibrissin*	14	10 月 Oct.	302	6	14.18	8	−0.19	—	17	11 月 Nov.	306	9+10	17.17	10+11	0.30	—
构树 *Broussonetia papyrifera*	14	10 月 Oct.	278	9+10	25.34**	9	−0.18	—	13	11 月 Nov.	307	4	−14.30*	9+10+11	0.49	—
板栗 *Castanea mollissima*	14	10 月 Oct.	276	10	9.39*	8+9+10	0.25	—	14	10 月 Oct.	292	2+3+4	−9.96*	9+10	0.44**	0.04*
紫荆 *Cercis chinensis*	12	9 月 Sep.	262	10+11+12	24.94**	8	0.12	—	16	9 月 Sep.	266	1	−8.40*	8	0.13	−0.08*
南酸枣 *Choerospondias axillaris*	15	10 月 Oct.	284	5+6+7	16.36**	9	−0.27*	—	15	10 月 Oct.	296	9+10	10.07*	8+9+10	−0.32*	—
梧桐 *Firmiana simplex*	16	10 月 Oct.	286	10	16.56**	10	−0.10	—	17	10 月 Oct.	304	11+12+1	15.73	8+9+10	−0.17	—
胡桃 *Juglans regia*	9	10 月 Oct.	275	11+12+1	12.74	9	0.15	—	9	10 月 Oct.	298	6+7+8	−17.91	8+9+10	0.39	—
楝树 *Melia azedarach*	14	9 月 Sep.	263	5+6+7	37.47*	9	−0.53	—	16	10 月 Oct.	289	10	17.53*	8	−0.09	0.20**
水杉 *Metasequoia glyptostroboides*	17	9 月 Sep.	272	10+11+12	24.6***	8+9	0.45**	—	17	11 月 Nov.	309	2+3	−14.82*	9	0.40	—
枫杨 *Pterocarya stenoptera*	15	10 月 Oct.	288	7	18.19***	9+10	−0.37**	18.19***	15	10 月 Oct.	297	10	12.82**	9	−0.24	0.20**
刺槐 *Robinia pseudoacacia*	18	9 月 Sep.	275	10+11+12	27.14***	8	0.11	—	18	10 月 Oct.	290	5+6+7	21.97*	9+10	−0.21	—
檫木 *Sassafras tzumu*	8	10 月 Oct.	264	5	−4.64	7	−0.07	—	—	—	—	—	—	—	—	—
乌桕 *Triadica sebifera*	16	10 月 Oct.	285	5+6+7	21.61**	2+3	0.22*	—	16	10 月 Oct.	301	7	16.96*	8	−0.17	0.20**
玉兰 *Yulania denudata*	12	9 月 Sep.	264	1+2+3	−11.58**	8+9	−0.20	—	13	10 月 Oct.	287	4	−8.45*	8	−0.12	−0.08**
紫玉兰 *Yulania liliiflora*	10	9 月 Sep.	254	9	28.74*	7+8+9	−0.56	0.75**	9	9 月 Sep.	274	10	26.76*	7	−0.21	0.05*
枣 *Ziziphus jujuba*	10	10 月 Oct.	281	9	5.54	10	−0.08	—	9	11 月 Nov.	310	10+11	−12.67	9	0.23	—

本文的研究结果不一致。本研究表明,亚热带地区的叶衰老物候受降水影响较小,主要受温度调控。

温带研究发现,秋季物候受温度和降水的共同作用影响(邓莉君,2017;王明等,2020)。我们发现仅有少数物种的叶变色期和落叶期受到温度与降水的共同作用影响,表明亚热带地区植物叶变色和落叶物候的环境驱动因子可能不同。我们的结果对丰富亚热带地区植物物候与全球气候变化关系的研究具有重要意义。

3.3 不同功能群植物物候对气候变化的响应

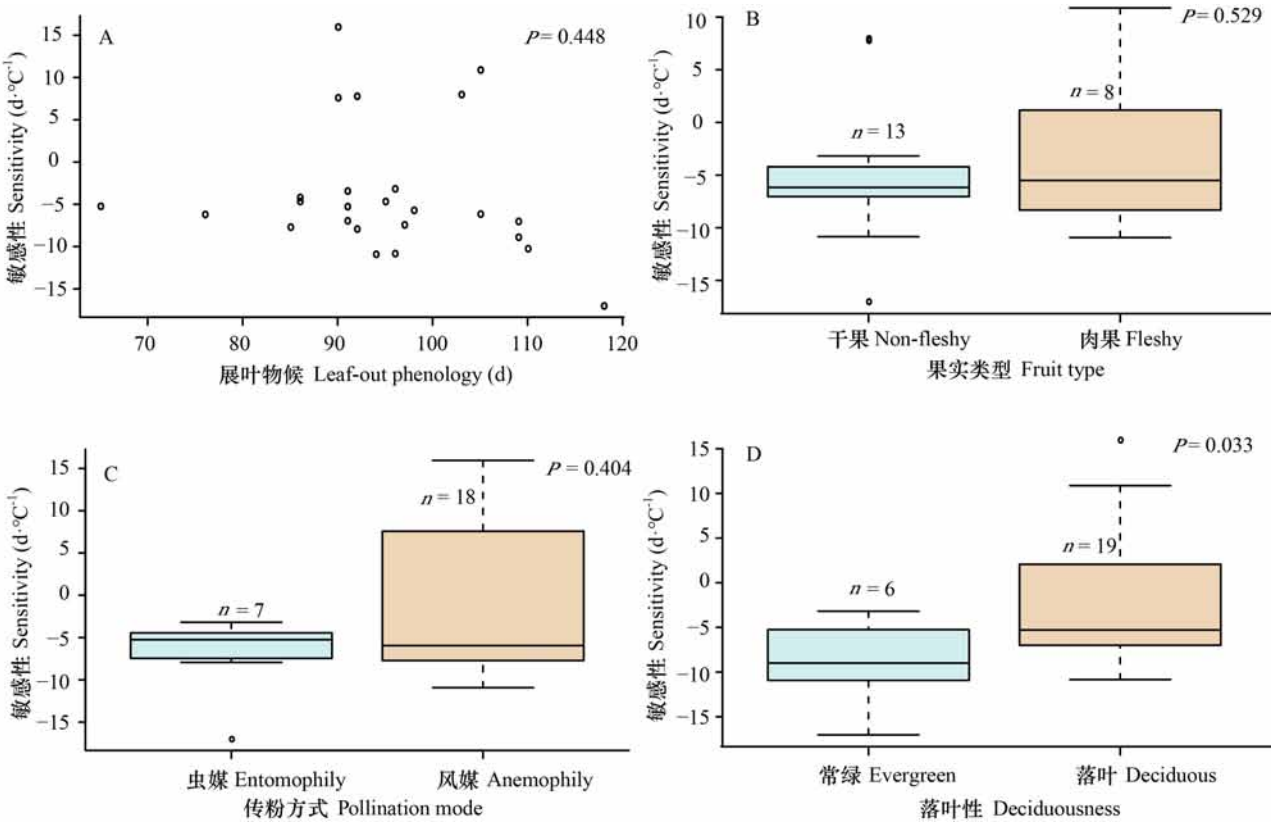
物候期对气候的敏感性与果实类型之间的关系很少被验证。本文研究了亚热带地区不同果实类型物种的展叶物候对温度的响应,结果表明在亚热带地区,肉质果和非肉质果的物种对温度的响应相似,而这种模式背后的机制还需要进一步的研究。

本文首次研究了亚热带地区虫媒和风媒植物物候与对温度的敏感性之间的差异。以前的研究发现早开花物种比晚开花物种对气候变暖的响应更敏感(Fitter & Fitter, 2002; Menzel et al., 2006; Calinger et al., 2013),风媒传粉植物通常比虫媒传粉植物开花更早(Faegri & Pijl, 1979; Du et al., 2015),而本研究并没有发现风媒传粉植物比虫媒传粉植物的响应更大,这可能是由于传粉昆虫在气候变化下所经受的极端低温较高,从进化上虫媒植物也需要较快提高花期从而与传粉昆虫匹配,减少败育的几率(Waser, 1979; Kudo et al., 2008; Rafferty & Ives, 2011)。

常绿树种和落叶树种的展叶物候对气候的响应表现出显著差异,开花物候对气候的响应表现出无显著差异。在温带地区,落叶树种展叶明显早于常绿树种(Panchen et al., 2014);在亚热带地区,不同落叶性树种的展叶物候和温度显著相关(潘元琪,2019),这与我们的结论相符合。常绿树种和落叶树种在开花前期,对降水的稳定性有一定需求,当月降水波动较大时,物种可能无法及时对温度等气候因子响应(潘元琪,2019),造成不同落叶性树种的开花物候对气候的响应无明显差异。

4　结论

本研究为亚热带物候对气候变化响应研究方面提供了重要的案例。亚热带地区植物春季物候显著提前,秋季物候显著推迟,这种改变会导致植物生长季明显延长。对秋季物候应对气候变化的研究能够加深对叶衰老机制的了解,并提高预测



A. 展叶时间早晚; **B**. 果实类型; **C**. 传粉方式; **D**. 落叶性。

A. Earliness of leaf-out time; **B**. Fruit type; **C**. Pollination mode; **D**. Deciduousness.

图 2 不同功能群物种的展叶物候对温度变化的响应

Fig. 2 Response of leaf-out phenology to temperature changes with different functional groups species

叶衰老物候、碳循环和气候变化的可能性(Zani et al., 2020)。我们的结果表明温度和降水对亚热带物候的重要性。评估植物物候对气候的响应里功能群水平的变异性是了解气候变化如何改变生态系统的关键步骤。但本文的研究显示亚热带地区不同功能群的物种对温度的响应大部分无显著差异,说明气候变化对亚热带地区不同功能群的影响程度大部分趋同。这些结果对将来预测亚热带物候事件具有重要意义。

参考文献:

ABU-ASAB MS, PET1ERSON PM, SHETLER SG, et al., 2001. Earlier plant flowering in spring as a response to global warming in the Washington, DC, area [J]. Biodivers Conserv, 10(4): 597-612.

AHRENDS HE, ETZOLD S, KUTSCH WL, et al., 2009. Tree phenology and carbon dioxide fluxes: use of digital photography for process-based interpretation at the ecosystem scale [J]. Clim Res, 39(3): 261-274.

ANDEREGG WRL, PLAVCOVÁ L, ANDEREGG LDL, et al., 2013. Drought's legacy: multiyear hydraulic deterioration underlies widespread aspen forest die-off and portends increased future risk [J]. Global Change Biol, 19(4): 1188-1196.

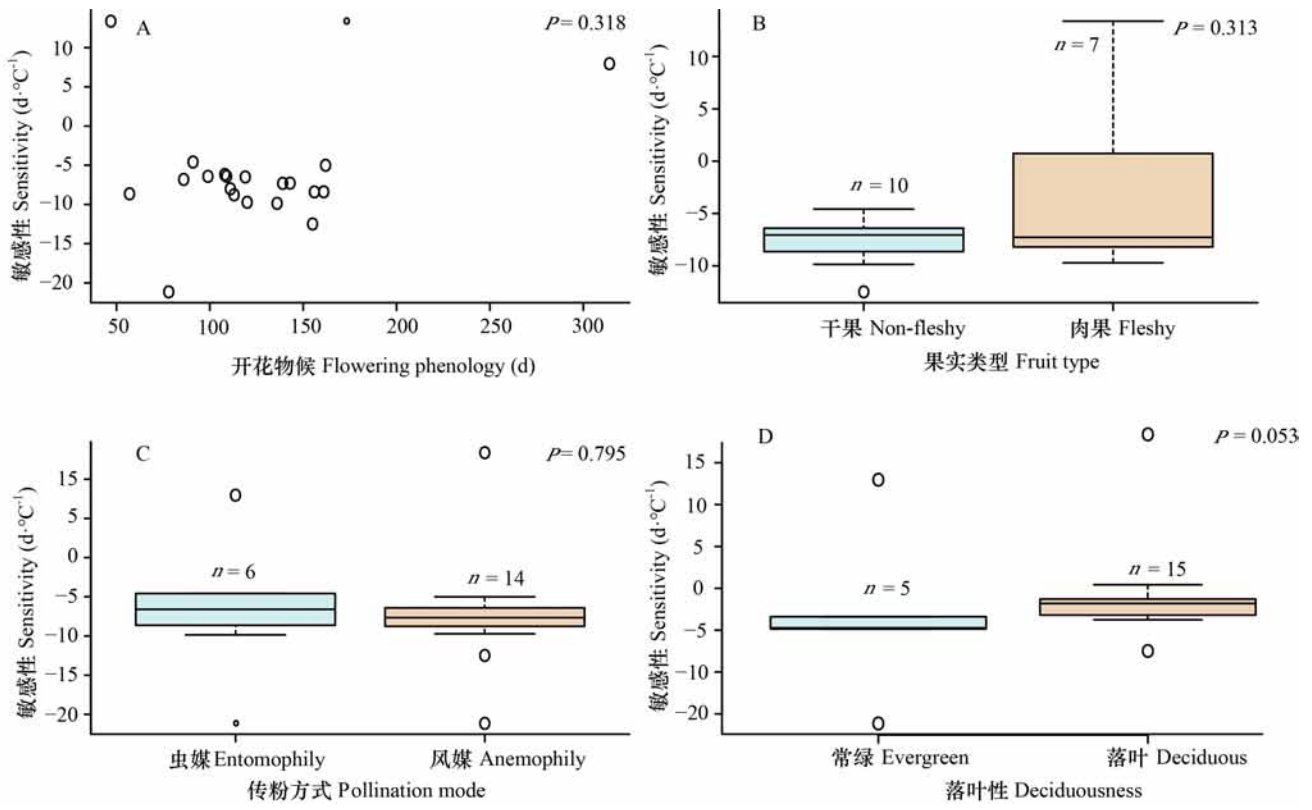
BAI J, GE QS, DAI JH, et al., 2010. Relationship between woody plants phenology and climate factors in Xi'an, China [J]. Chin J Plant Ecol, 34(11): 1274-1282. [白洁, 葛全胜, 戴君虎, 等, 2010. 西安木本植物物候与气候要素的关系 [J]. 植物生态学报, 34(11): 1274-1282.]

BEAUBIEN EG, FREELAND HJ, 2000. Spring phenology trends in Alberta, Canada: links to ocean temperature [J]. Int J Biometeorol, 44(2): 53-59.

BOLMGREN K, LÖNNBERG K, 2005. Herbarium data reveal an association between fleshy fruit type and earlier flowering time [J]. Int J Plant Sci, 166(4): 663-670.

BONAN GB, 2008. Forests and climate change: forcings, feedbacks, and the climate benefits of forests [J]. Science, 320(5882): 1444-1449.

CALINGER KM, QUEENBOROUGH S, CURTIS PS, 2013. Herbarium specimens reveal the footprint of climate

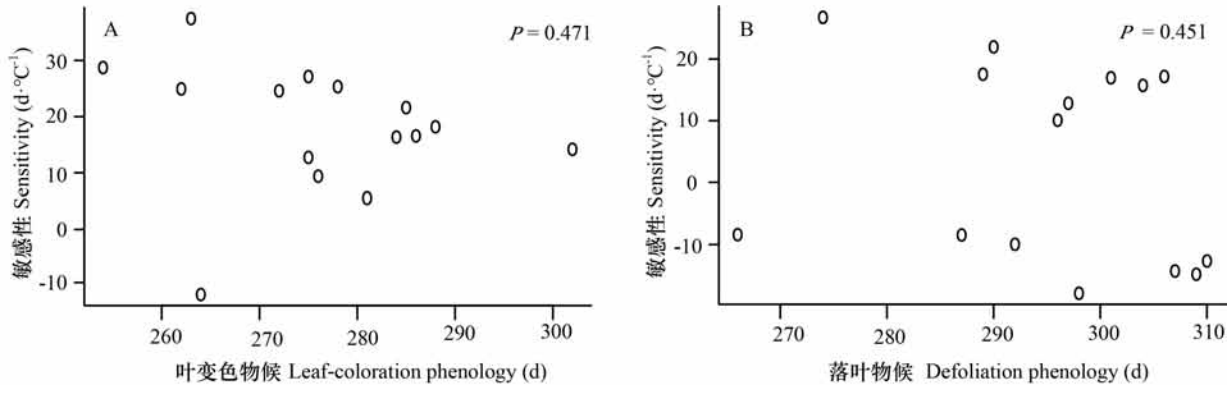


A. 开花时间早晚；**B**. 果实类型；**C**. 传粉方式；**D**. 落叶性。

A. Earliness of flowering time; **B**. Fruit type; **C**. Pollination mode; **D**. Deciduousness.

图 3　不同功能群物种的开花物候对温度变化的响应

Fig. 3　Response of flowering phenology to temperature changes with different functional groups species



A. 叶变色物候；**B**. 落叶物候。

A. Leaf-coloration phenology; **B**. Defoliation phenology.

图 4　秋季物候早晚与物候对温度变化敏感性的关系

Fig. 4　Relationship between sensitivities of autumn phenology earliness and phenology to temperature changes

change on flowering trends across north-central North America [J]. Ecol Lett, 16(8): 1037-1044.

CARADONNA PJ, ILER AM, INOUYE DW, 2014. Erratum: Shifts in flowering phenology reshape a subalpine plant community [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 111(13): 4916-4921.

CHEN XQ, AN S, INOUYE DW, et al., 2015. Temperature and snowfall trigger alpine vegetation green-up on the

world's roof [J]. Global Change Biol, 21(10): 3635-3646.
CHEN XQ, XU L, 2012. Temperature controls on the spatial pattern of tree phenology in China's temperate zone [J]. Agric For Meteorol, 154: 195-202.
CHUINE I, BONHOMME M, LEGAVE JM, et al., 2016. Can phenological models predict tree phenology accurately in the future? The unrevealed hurdle of endodormancy break [J]. Global Change Biol, 22(10): 3444-3460.
COOK BI, WOLKOVICH EM, PARMESAN C, 2012. Divergent responses to spring and winter warming drive community level flowering trends [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 109(23): 9000-9005.
DAI JH, WANG HJ, GE QS, 2013. Multiple phenological responses to climate change among 42 plant species in Xi'an, China [J]. Int J Biometeorol, 57(5): 749-758.
DAI JH, WANG HJ, GE QS, 2014. The spatial pattern of leaf phenology and its response to climate change in China [J]. Int J Biometeorol, 58(4): 521-528.
DENG LJ, 2017. Response of plant phenology to climate change in North China and surveillance camera-based monitoring of plant flowering phenology [D]. Beijing: China University of Geosciences. [邓莉君, 2017. 中国华北植物物候对气候变化的响应分析及基于监控相机的花期监测 [D]. 北京: 中国地质大学.]
DEVAUX C, LANDE R, PORCHER E, 2014. Pollination ecology and inbreeding depression control individual flowering phenologies and mixed mating [J]. Evolution, 68(11): 3051-3065.
DREESEN FE, DE BOECK HJ, JANSSENS IA, et al., 2014. Do successive climate extremes weaken the resistance of plant communities? An experimental study using plant assemblages [J]. Biogeosciences, 11(1): 109-121.
DU YJ, PAN YQ, MA KP, 2019. Moderate chilling requirement controls budburst for subtropical species in China [J]. Agric For Meteorol, 278: 107693.
DU YJ, CHEN JR, WILLIS CG, et al., 2017. Phylogenetic conservatism and trait correlates of spring phenological responses to climate change in northeast China [J]. Front Ecol Evol, 7(17): 6747-6757.
DU YJ, MAO LF, QUEENBOROUGH SA, et al., 2015. Phylogenetic constraints and trait correlates of flowering phenology in the angiosperm flora of China [J]. Global Ecol Biogeogr, 24(8): 928-938.
ESTRELLA N, MENZEL A, 2006. Responses of leaf colouring in four deciduous tree species to climate and weather in Germany [J]. Clim Res, 32(3): 253-267.
EVERILL PH, PRIMACK RB, ELLWOOD ER, et al., 2014. Determining past leaf-out times of New England's deciduous forests from herbarium specimens [J]. Am J Bot, 101(8): 1293-1300.
FAEGRI K, PIJL L, 1979. The principles of pollination ecology [J]. J Ecol, 3(2). DOI: 10.230712257895.
FITTER AH, FITTER RSR, 2002. Rapid changes in flowering time in British plants [J]. Science, 296(5573): 1689-1691.
FU YSH, PIAO SL, OP DE BEECK M, et al., 2014. Recent spring phenology shifts in western Central Europe based on multiscale observations [J]. Global Ecol Biogeogr, 23(11): 1255-1263.
FU YH, PIAO S, VITASSE Y, et al., 2015. Increased heat requirement for leaf flushing in temperate woody species over 1980-2012: effects of chilling, precipitation and insolation [J]. Gcb Bioenergy, 21(7): 2687-2697.
GALLINAT AS, PRIMACK RB, WAGNER DL, 2015. Autumn, the neglected season in climate change research [J]. Trends Ecol Evol, 30(3): 169-176.
GE QS, WANG H, RUTISHAUSER T, et al., 2015. Phenological response to climate change in China: a meta-analysis [J]. Global Change Biol, 21(1): 265-274.
GORDO O, SANZ JJ, 2010. Impact of climate change on plant phenology in Mediterranean ecosystems [J]. Gcb Bioenergy, 16(3): 1082-1106.
HARRIS I, OSBORN TJ, JONES P, et al., 2020. Version 4 of the CRU TS monthly high-resolution gridded multivariate climate dataset [J]. Sci Data, 7(1): 1-18.
HU XL, CHANG ZY, DU YJ, 2017. Effects of pollination mode and fruit type on reproductive phenology of woody plants [J]. Guihaia, 37(3): 315-321. [胡小丽, 常朝阳, 杜彦君, 2017. 传粉方式和果实类型对木本植物繁殖物候的影响 [J]. 广西植物, 37(3): 315-321.]
HU XL, ZHANG YJH, MI XC, et al., 2015. Influence of climate, phylogeny, and functional traits on flowering phenology in a subtropical evergreen broad-leaved forest, East China [J]. Biodivers Sci, 23(5): 601-609. [胡小丽, 张杨家豪, 米湘成, 等, 2015. 浙江古田山亚热带常绿阔叶林开花物候: 气候因素、系统发育关系和功能性状的影响 [J]. 生物多样性, 23(5): 601-609.]
JOLLY WM, RUNNING SW, 2004. Effects of precipitation and soil water potential on drought deciduous phenology in the Kalahari [J]. Global Change Biol, 10(3): 303-308.
JONES PD, LISTER DH, OSBORN TJ, et al., 2012. Hemispheric and large-scale land-surface air temperature variations: An extensive revision and an update to 2010 [J]. J Geophys Res, 117(D5). DOI: 10.1029/2011JD017139.
KUDO G, IDA TY, TANI T, 2008. Linkages between phenology, pollination, photosynthesis, and reproduction in deciduous forest understory plants [J]. Ecology, 89(2): 321-331.
LESSARD-THERRIEN M, DAVIES TJ, BOLMGREN K, 2014. Aphylogenetic comparative study of flowering phenology along an elevational gradient in the Canadian subarctic [J]. Int J Biometeorol, 58(4): 455-462.
LEUZINGER S, ZOTZ G, ASSHOFF R, et al., 2005. Responses of deciduous forest trees to severe drought in Central Europe [J]. Tree Physiol, 25(6): 641-650.
MAZER SJ, TRAVERS SE, COOK BI, et al., 2013. Flowering date of taxonomic families predicts phenological sensitivity to temperature: implications for forecasting the effects of climate change on unstudied taxa [J]. Am J Bot, 100(7): 1381-1397.
MENZEL A, SPARKS TH, ESTRELLA N, et al., 2006. European phenological response to climate chang matches the warming pattern [J]. Global Change Biol, 12(10): 1969-1976.

MENZEL A, 2003. Plant phenological anomalies in Germany and their relation to air temperature and NAO [J]. Climatic Change, 57(3): 243-263.

MILLER-RUSHING AJ, PRIMACK RB, 2008. Global warming and flowering times in Thoreau's Concord: a community perspective [J]. Ecology, 89(2): 332-341.

MOLAU U, NORDENHÄLL U, ERIKSEN B, 2005. Onset of flowering and climate variability in an alpine landscape: a 10-year study from Swedish Lapland [J]. Am J Bot, 92(3): 422-431.

MORELLATO LPC, ALBERTON B, ALVARADO ST, et al., 2016. Linking plant phenology to conservation biology [J]. Biol Conserv, 195: 60-72.

MORIN X, ROY J, SONIÉ L, et al., 2010. Changes in leaf phenology of three European oak species in response to experimental climate change [J]. New Phytol, 186(4): 900-910.

MUNNÉ-BOSCH S, ALEGRE L, 2004. Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress [J]. Funct Plant Biol, 31(3): 203-216.

MYERS N, MITTERMEIER RA, MITTERMEIER CG, et al., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities [J]. Nature, 403(6772): 853-858.

PAN YQ, 2019. The phenological response of woody plants in the evergreen broad-leaved forest of Gutianshan to climate [D]. Chengdu: Chengdu University of Technology. [潘元琪, 2019. 古田山常绿阔叶林木本植物物候对气候的响应研究 [D]. 成都: 成都理工大学.]

PANCHEN ZA, PRIMACK RB, NORDT B, et al., 2014. Leaf out times of temperate woody plants are related to phylogeny, deciduousness, growth habit and wood anatomy [J]. New Phytol, 203(4): 1208-1219.

PARK IW, SCHWARTZ MD, 2015. Long-term herbarium records reveal temperature-dependent changes in flowering phenology in the southeastern USA [J]. Int J Biometeorol, 59(3): 347-355.

PARMESAN C, 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change [J]. Ann Rev Ecol Evol S, 37: 637-669.

PEÑUELAS J, FILELLA I, 2009. Phenology feedbacks on climate change [J]. Science, 324(5929): 887-888.

PIAO SL, FANG JY, ZHOU LM, et al., 2006. Variations in satellite-derived phenology in China's temperate vegetation [J]. Global Change Biol, 12(4): 672-685.

QIAN SW, CHEN XQ, LANG WG, et al., 2021. Examining spring phenological responses to temperature variations during different periods in subtropical and tropical China [J]. Int J Climatol, 41: E3208-E3218.

R Core Team, 2020. R: A Language and Environment for Statistical Computing v. 4.0.3 [CP]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.

RAFFERTY NE, IVES AR, 2011. Effects of experimental shifts in flowering phenology on plant-pollinator interactions [J]. Ecol Lett, 14(1): 69-74.

ROOT TL, PRICE JT, HALL KR, et al, 2003. Fingerprints of global warming on wild animals and plants [J]. Nature, 421(6918): 57-60.

SARGENT RD, ACKERLY DD, 2008. Plant-pollinator interactions and the assembly of plant communities [J]. Trends Ecol Evol, 23(3): 123-130.

SCHWARTZ MD, 1999. Advancing to full bloom: planning phenological research for the 21st century [J]. Int J Biometeorol, 42(3): 113-118.

SONG ZQ, DU YJ, PRIMACK RB, et al., 2021. Surprising roles of climate in regulating flowering phenology in a subtropical ecosystem [J]. Ecography, 44: 1379-1390.

SONG ZQ, FU YSH, DU YJ, et al., 2020. Flowering phenology of a widespread perennial herb shows contrasting responses to global warming between humid and non-humid regions [J]. Funct Ecol, 34(9): 1870-1881.

SONG ZQ, FU YSH, DU YJ, et al., 2021. Global warming increases latitudinal divergence in flowering dates of a perennial herb in humid regions across eastern Asia [J]. Agric For Meteorol, 296: 108209.

SPARKS TH, HUBER K, CROXTON PJ, 2006. Plant development scores from fixed-date photographs: the influence of weather variables and recorder experience [J]. Int J Biometeorol, 50(5): 275-279.

VITASSE Y, FRANÇOIS C, DELPIERRE N, et al., 2011. Assessing the effects of climate change on the phenology of European temperate trees [J]. Agric For Meteorol, 151(7): 969-980.

WANG HJ, DAI JH, ZHENG JY, et al., 2015. Temperature sensitivity of plant phenology in temperate and subtropical regions of China from 1850 to 2009 [J]. Int J Climatol, 35(6): 913-922.

WANG M, SANG WG, 2020. The change of phenology of tree and shrub in warm temperate zone and their relationships with climate change [J]. Ecol Sci, 39(1): 164-175. [王明, 桑卫国, 2020. 暖温带乔木和灌木物候变化及对气候变化的响应 [J]. 生态科学, 39(1): 164-175.]

WASER NM, 1979. Pollinator availability as a determinant of flowering time in ocotillo (*Fouquieria splendens*) [J]. Oecologia, 39(1): 107-121.

ZANI D, CROWTHER TW, MO LD, et al., 2020. Increased growing-season productivity drives earlier autumn leaf senescence in temperate trees [J]. Science, 370(6520): 1066-1071.

ZHENG JY, YIN YH, LI BY, 2010. A new scheme for climate regionalization in China [J]. Acta Geogr Sin, 65(1): 3-12. [郑景云, 尹云鹤, 李炳元, 2010. 中国气候区划新方案 [J]. 地理学报, 65(1): 3-12.]

ZOHNER CM, BENITO BM, SVENNING JC, et al., 2016. Day length unlikely to constrain climate-driven shifts in leaf-out times of northern woody plants [J]. Nat Clim Change, 6(12): 1120-1123.

ZOHNER CM, RENNER SS, 2014. Common garden comparison of the leaf-out phenology of woody species from different native climates, combined with herbarium records, forecasts long-term change [J]. Ecol Lett, 17(8): 1016-1025.

（责任编辑　周翠鸣）

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1116-1125 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202104067

马紫荆, 张云玲, 刘彬. 天山中段南坡巴伦台地区不同海拔植物群落物种多样性与土壤因子的关系 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1116-1125.

MA ZJ, ZHANG YL, LIU B. Relationship between species diversity of plant communities and soil factors at different elevations in Baluntai area, the southern slope of Mid-Tianshan Mountains [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1116-1125.

天山中段南坡巴伦台地区不同海拔植物群落物种多样性与土壤因子的关系

马紫荆[1,2,3], 张云玲[4], 刘　彬[1,2,3*]

(1. 新疆师范大学 生命科学学院,乌鲁木齐 830054; 2. 干旱区植物逆境生物学实验室,乌鲁木齐 830054; 3. 新疆特殊环境物种保护与调控生物学实验室, 乌鲁木齐 830054; 4. 新疆维吾尔自治区草原总站,乌鲁木齐 830049)

摘　要: 为探讨天山中段南坡巴伦台植物群落物种多样性随海拔梯度的分布特征及其与土壤环境因子的关系,该研究采用野外调查的方法,在和静县巴伦台地区海拔范围内设置 34 个样地进行了植物多样性和土壤因子的调查及室内指标的统计分析。结果表明:(1)研究区共调查到 30 科 75 属 134 种植物,草本层为主要优势层。不同海拔高度上土壤理化指标具有异质性,土壤含水量、全盐、有机质、全氮、全钾、有效氮和有效钾差异性显著($P<0.05$),其中除全钾以外,其他土壤因子的含量均表现为中海拔大于低、高海拔区域。随海拔的升高,植物群落在低、高海拔段 Pielou 均匀度指数较高;灌木层物种 Patrick 丰富度指数较低;草本层物种 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数随海拔升高先增加后减小。(2)RDA 分析表明,影响植物群落物种多样性的主要环境因子是海拔、土壤含水量、全盐、有机质、全氮和有效氮。海拔作为主导因子,与草本层各物种多样性指数呈正相关,与灌木层各物种多样性指数呈负相关关系;全盐是抑制植物群落总体物种 Simpson 指数的主要土壤因子;氮元素一定程度上限制灌木、半灌木物种的生长。该研究结果表明土壤因子对不同生活型物种多样性的形成具有一定的筛选作用及不同物种对环境变化的适应策略不同。

关键词: 植物群落, 物种多样性, 海拔梯度, 土壤理化指标, 巴伦台

中图分类号: Q948　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1000-3142(2022)07-1116-10

Relationship between species diversity of plant communities and soil factors at different elevations in Baluntai area, the southern slope of Mid-Tianshan Mountains

MA Zijing[1,2,3], ZHANG Yunling[4], LIU Bin[1,2,3*]

(1. *College of Life Sciences*, *Xinjiang Normal University*, Urumqi 830054, China; 2. *Key Laboratory of Plant Stress Biology in Arid Land*, Urumqi 830054, China; 3. *Xinjiang Key Laboratory of Special Environmental Species Conservation and Regulatory Biology*, Urumqi 830054, China; 4. *Grassland Station of Uygur Autonomous Region*, Urumqi 830049, China)

收稿日期: 2022-01-02

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目(31360039,32160271);新疆维吾尔自治区教育厅重点实验室"新疆特殊环境物种多样性应用与调控重点实验室"项目;新疆师范大学校级重点实验室"干旱区植物逆境生物学实验室"项目 [Supported by National Natural Science Foundation of China (31360039, 32160271); Key Laboratory of Application and Regulation of Species Diversity in Xinjiang Special Environment of Xinjiang Uygur Autonomous Region Education Department; Key Laboratory of Plant Stress Biology in Arid Land of Key Laboratory of Xinjiang Normal University]。

第一作者: 马紫荆,硕士研究生,研究方向为植物生态学,(E-mail)963586516@qq.com。

*通信作者: 刘彬,博士,教授,研究方向为植物生态学及植物区系地理学研究,(E-mail)onlinelb@163.com。

Abstract: In order to investigate the distribution characteristics of plant community species diversity with elevation gradient and its relationship with soil environmental factors on the southern slope of the middle part of Tianshan Mountains. We set up 34 sample plots in the elevation range of Baluntai area of Hejing County for statistical analysis and indoor indexes of plant diversity and soil factors by using field survey method. The results were as follows: (1) A total of 134 species in 75 genera of 30 families were recorded in the study area, and the herbaceous layer was the dominant layer. Soil physicochemical indexes were heterogeneous at different elevations, with significant differences ($P<0.05$) in soil water content, total salt, organic matter, total nitrogen, total potassium, available nitrogen and available potassium, among which all soil factors except total potassium were higher at middle elevations than at low and high elevation zones. With the increase of elevation, the plant communities had higher Pielou evenness index in the low and high elevation zones; the Patrick richness index of shrub layer species was lower; Shannon-Wiener index and Simpson index of herbaceous layer species increased and then decreased with elevation. (2) RDA analysis showed that the main factors affecting the species diversity of plant communities were altitude, soil water content, total salt, organic matter, total nitrogen and available nitrogen. Elevation, as the dominant factor, was positively correlated with the diversity indexes of each species in the herbaceous layer, and was negatively correlated with the diversity indexes of each species in the shrub layer; Total salt was the main soil factor that suppressed the Simpson index of the plant community as a whole; Nitrogen limited the growth of shrub and semi-shrub species to a certain extent. The results of this study indicate that soil factors have a screening effect on the formation of diversity of different living species and different adaptation strategies of different species to environmental changes.

Key words: plant community, species diversity, elevation gradient, soil physicochemical index, Baluntai

植物群落物种多样性是物种丰富度、优势度、均匀度和变化程度的综合反映,是研究生态系统结构、功能及其稳定性的基础(王健铭等,2016)。海拔梯度的改变可以综合地反映影响植物生长的生态环境因子规律性地变化,如温度、光照、湿度和土壤理化性质等(刘娜等,2018)。不同海拔高度上,局部微气候环境的改变使土壤理化性质具有明显的垂直分布特征(任启文等,2019),进而影响植物群落物种多样性及其垂直分布格局。近年来,很多学者对于海拔梯度上植物群落物种多样性与土壤因子的关系做了一定的研究。钟娇娇等(2019)、贺静雯等(2020)和高辉等(2020)分别对秦岭山地天然次生林、干热河谷蒋家沟流域和西藏色季拉山的群落多样性沿海拔梯度对环境因子的响应进行研究,综合结果表明,不同生活型植物群落物种多样性的影响环境因子不同,沿海拔梯度垂直分布格局也不尽相同。目前,这些研究主要集中在暖温带大陆性季风气候、亚热带和半温润地区等,无法代表西北干旱地区植物群落分布格局,因此,探究巴伦台地区海拔梯度上植物群落物种多样性及其影响土壤因子,可为研究我国西北干旱地区植物群落结构类型、组成及科学评估物种多样性与环境因子的耦合作用提供理论依据(刘冠成等,2018),对维持和恢复西北干旱地区生态系统生物多样性具有重要意义。

新疆巴伦台地区位于天山中段南坡,为新疆天山山脉的重要区段,该地区生物多样性分布对于区域生态环境稳定性起着重要的作用,且该区域山脊线(4 500 ~ 5 000 m)与山脚(700 ~ 800 m)的相对高度差较大(Liu, 2017),为植物区系与天然植被的垂直分异分布提供了较大的空间,是研究干旱山区物种多样性沿海拔分布格局的理想区域。近年来,宫珂等(2019)许多学者研究了天山北坡植物群落类型和空间分布特征,而对于天山中段南坡的植物多样性研究主要集中在巴音布鲁克高寒草地及库车山区(刘彬等,2018),目前对于巴伦台地区的研究主要集中在复杂的地质研究(高丽娟等,2018),对植物群落多样性与环境因子间的相关性研究较少,同时在全球气候多变及放牧等因素的驱动影响下,植物多样性在逐渐减少(王靓等,2020)。因此,本文以巴伦台地区不同海拔高度上植物群落作为研究对象,依托样方中植物群落物种多样性指数与土壤因子指标为数据基础,对二者间的相互关系进行了系统分析,以期探讨如下科学问题:(1)巴伦台地区土壤因子海拔梯度上的变化规律及其原因;(2)巴伦台地区植物群落物种多样性在不同海拔高度上的垂直分布特征如何;(3)海拔和土壤因子对该地区植物群落物

种多样性有何影响。期望通过解答这些科学问题为该地区及天山植物资源的保护及合理利用提供理论基础,同时丰富干旱山区物种多样性分布格局的理论研究。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

巴伦台位于新疆巴州和静县北部山区,天山中段南坡的峡谷地带,地处腾格尔峰南侧,42°05′—43°30′ E、82°06′—87°55′ N之间,区域总面积 5 002.67 km^2,温带大陆性气候,光热资源丰富,气温年较差大,日照充足,无霜期长,蒸发旺盛,风沙浮尘天气比较多;多年平均气温 7.0 ℃;无霜期年平均 178 d,最多达 244 d;年平均日照时数 2 400~2 700 h;年平均降水量 150~350.7 mm,降雨集中在每年 5—8 月(李立国等,2016)。

1.2 样地设置与调查

2017 年 7 月和 2019 年 8 月在和静县巴伦台,莫托萨拉和古仁沟区域范围内(海拔 1 500 m 至 3 700 m)设置样带,海拔每升高 200 m 布设 3~4 个 20 m × 20 m 的样地,沿样地对角线设 3 个 5 m × 5 m 的灌木样方和 3 个 1 m × 1 m 的草本样方,同时记录每个样方中植物种类、数量、高度、盖度、密度、频度,其中草本植物数量分蘖性植物以丛计数,并拍摄植物及其周围生态环境照片;每个样地内梅花五点状去除地表枯落物后采集 0~20 cm 地表土壤各 100 g 混合作为一个土样放入自封袋,带回实验室进行处理。共设 34 个样地,54 个灌木样方,102 个草本样方。

1.3 样品处理

参照土样指标常规方法(李敏菲等,2020),用重铬酸钾滴定法测定土壤有机质(soil organic matter,SOM),高氯酸-硫酸消化法测定全氮(total nitrogen,TN),酸溶-钼锑抗比色法测定全磷(total phosphorous,TP),酸溶-原子吸收法测定全钾(total potassium,TK),碱解蒸馏法测定有效氮(碱解氮)(available nitrogen,AN),碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定土壤中有效磷(available phosphorous,AP),乙酸铵浸提-火焰光度计法来测定有效钾(available potassium,AK),干渣法测定全盐(total salt,TS),烘干称重法测定土壤含水量(soil water,SW),雷磁 pH 计测定 pH。

1.4 数据处理与分析

由于研究区乔木物种组成较为单一,高大难以测量,本文只考虑灌草层植物的重要值。计算公式如下(Park et al., 2008):灌木=(相对密度+相对盖度+相对高度)/3,草本=(相对密度+相对盖度+相对高度+相对频度)/4。

选取 Patrick 丰富度指数(R)、Pielou 均匀度指数(E)、Shannon-Wiener 指数(H)和 Simpson 指数(D)对不同海拔 34 个样方的植物群落 α 多样性进行分析。以物种的重要值作为运算单位,计算公式如下(罗清虎等,2018)。Patrick 丰富度指数:$R=(S-1)/\ln N$;Pielou 均匀度指数:$E=H/\ln S$;Shannon-Wiener 指数:$H=-\sum P_i \ln P_i$;Simpson 指数:$D=1-\sum P_i^2$。

式中:S 代表样方中的物种数;N 为样方中所有物种的个体总数;P_i 为第 i 个物种的相对重要值。

常规数据统计分析在软件 Excel 2010 中完成,通过软件 SPSS 19.0 对土壤因子和物种多样性指数进行单因素方差分析(one-way ANOVA),在软件 Origin 2019 中进行植物群落物种多样性指数统计作图,冗余分析(redundancy analysis,RDA)通过 Canoco V 4.5 分析软件及 CanoDraw V 4.0 作图软件实现。

2 结果与分析

2.1 植物群落的物种组成及类型

研究样区共调查到植物 134 种,隶属 30 科 75 属。其中:草本植物有 26 科 70 属 126 种,占研究区植物总科、属、种的比例分别为 86.67%、93.33%、94.02%;灌木植物共在 9 个样地中出现,有 4 科 5 属 8 种,占研究区总植物科、属、种的比例分别为 13.33%、6.67%、5.98%,主要分布在海拔 2 300~2 900 m 处。根据《新疆植物志》(新疆植物志编委会,1999)及样地群落中物种重要值的大小将植物群落划分为八种群落类型(表 1),其中群落Ⅵ的物种丰富度总数最大,分布于海拔 3 000~3 500 m 处,优势种有林地早熟禾(*Poa nemoralis*)、黑花薹草(*Carex melanantha*)、细果薹草(*Carex stenocarpa*)、大赖草(*Leymus racemosus*)。在 8 个群丛中,主要优势种中的灌木物种有驼绒藜(*Ceratoides latens*)、蓝枝麻黄(*Ephedra glauca*)、

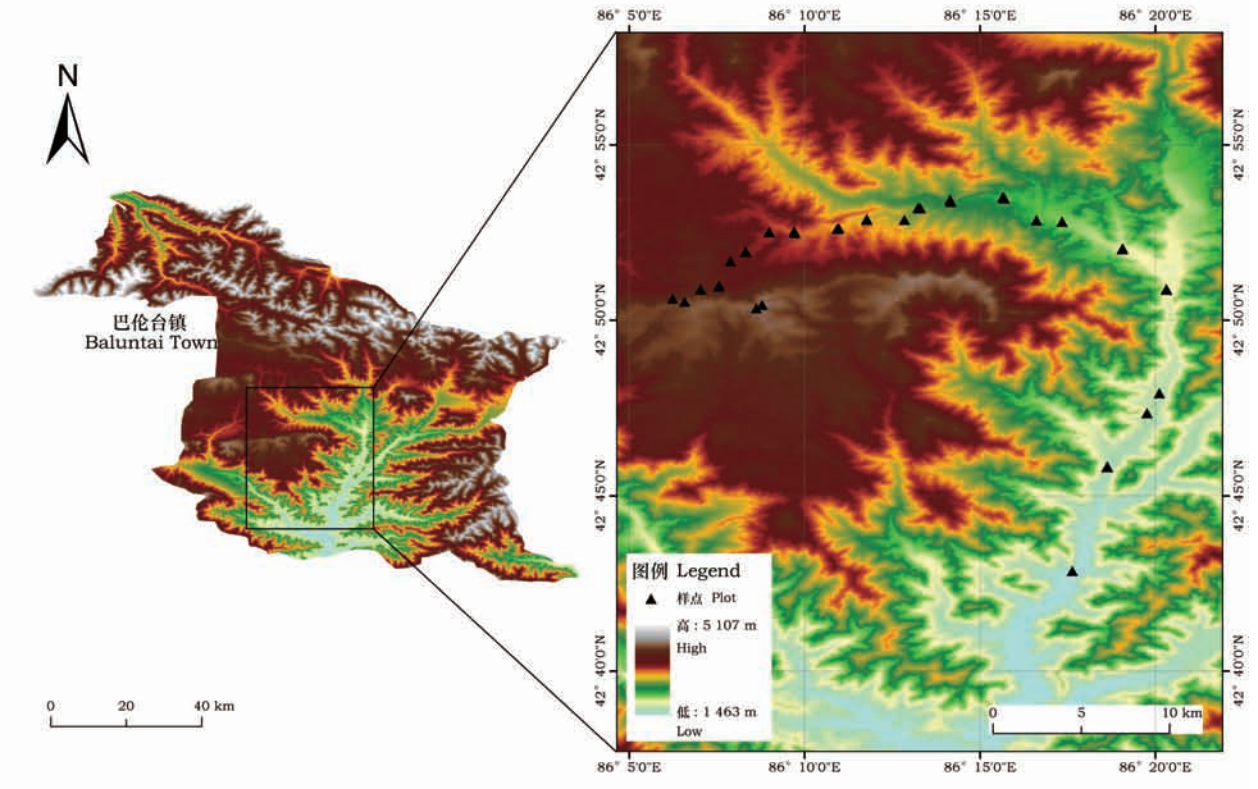


图 1　巴伦台研究区及样地分布示意图

Fig. 1　Distribution of study area and the investigated plots

鬼箭锦鸡儿（*Caragana jubata*）、小叶金露梅（*Pentaphylloides parvifolia*）。

2.2 不同海拔高度土壤因子分布特征

不同海拔高度上，土壤理化性质和土壤母质的不同使植物生长在不同的微环境中。由表 2 可知，不同海拔高度上，除土壤酸碱度、全磷和有效磷差异不显著外（$P>0.05$），其他土壤因子指标均呈现显著性差异（$P<0.05$），说明研究区样地土壤因子在垂直梯度上的分布存在空间异质性。在中海拔区域上（2 500～3 500 m），全盐、全磷出现了各自指标变化中的极值，说明该海拔区域内这两个土壤因子含量变化范围较大。土壤含水量在中高海拔与低海拔区域之间存在明显差异（$P<0.05$），说明中高海拔区域降雨量相对充足，气候温润，土壤质地更适合植物生长。

2.3 不同海拔高度植物群落物种多样性特征

由图 2 可知，植物群落不同层次物种多样性在海拔上呈现不同的变化特征。结果表明灌木层物种主要出现在海拔小于 3 000 m 的区域内，各海拔梯度灌木层各物种多样性指数偏低且差异不显著（$P>0.05$），研究区草本层占主要优势。草本层物种 Shannon-Wiener 指数在不同海拔高度上具有显著性差异（$P<0.05$），且中海拔区域高于其他海拔梯度，说明中海拔区域草本层物种数目更为丰富，群落物种组成更为复杂，而低、高海拔区域受到人为干扰和自然条件等因素影响，草本层物种数目较少，群落结构较为简单。高海拔区域内，群落总体物种 Pielou 均匀度指数显著大于其他海拔（$P<0.05$），说明高海拔区群落总体物种分布最为均匀，且群落总体物种 Pielou 均匀度指数和 Shannon-Wiener 指数随海拔升高先减小再增加。

2.4 植物群落物种多样性指数和环境因子的 RDA 排序分析

对巴伦台 34 个样方中灌木层、草本层、群落总体的多样性指数及环境因子进行 RDA 排序分析，能有效地对环境梯度下多个环境指标进行排序解释。在 RDA 排序中，Monte-Carlo test 显示所有的排序轴都是极显著的（$F=3.913$，$P=0.002$）。

表 1 巴伦台地区植物群落类型及其结构组成

Table 1 The plant community types and its structure in Baluntai area

群落类型 Community type	海拔梯度 Elevation gradient	海拔 Elevation (m)	主要优势种 Major dominant species	伴生种 Companion species
Ⅰ	<2 500	2 360	驼绒藜、芨芨草、米瓦罐 *Ceratoides latens*, *Achnatherum splendens*, *Silene conoidea*	新疆绢蒿、披碱草 *Seriphidium kaschgaricum*, *Elymus dahuricus*
Ⅱ	<2 500	2 452	蓝枝麻黄、大赖草、天山黄耆 *Ephedra glauca*, *Leymus racemosus*, *Astragalus lepsensis*	冷蒿、芨芨草 *Artemisia frigida*, *Achnatherum splendens*
Ⅲ	2 500~3 000	2 575	披碱草、大赖草 *Elymus dahuricus*, *Leymus racemosus*	大叶囊吾、针茅 *Ligularia macrophylla*, *Stipa capillata*
Ⅳ	2 500~3 000	2 732	鬼箭锦鸡儿、小叶金露梅、酸模、亚欧唐松草 *Caragana jubata*, *Pentaphylloides parvifolia*, *Rumex acetosa*, *Thalictrum minus*	芨芨草、针茅 *Achnatherum splendens*, *Stipa capillata*
Ⅴ	2 500~3 000	2 925	仰卧早熟禾、大赖草、大苞点地梅 *Poa supina*, *Leymus racemosus*, *Androsace maxima*	火绒草、二裂委陵菜 *Leontopodium leontopodioides*, *Potentilla bifurca*
Ⅵ	3 000~3 500	3 163	林地早熟禾、黑花薹草、细果薹草、大赖草 *Poa nemoralis*, *Carex melanantha*, *C. stenocarpa*, *Leymus racemosus*	珠芽蓼、天山黄耆、绢毛委陵菜 *Polygonum viviparum*, *Astragalus frigidus*, *Potentilla sericea*
Ⅶ	3 000~3 500	3 373	林地早熟禾、针叶风毛菊、二裂委陵菜 *Poa nemoralis*, *Saussurea chondrilloides*, *Potentilla bifurca*	绢毛委陵菜、细果薹草 *Potentilla sericea*, *Carex stenocarpa*
Ⅷ	>3 500	3 578	林地早熟禾、大红红景天、天山羽衣草 *Poa nemoralis*, *Rhodiola coccinea*, *Alchemilla tianschanica*	天山罂粟、阿尔泰狗娃花 *Papaver canescens*, *Aster altaicus*

注：Ⅰ. 驼绒藜-芨芨草+米瓦罐；Ⅱ. 蓝枝麻黄-大赖草+天山黄耆；Ⅲ. 披碱草+大赖草；Ⅳ. 鬼箭锦鸡儿+小叶金露梅-酸模+亚欧唐松草；Ⅴ. 仰卧早熟禾+大赖草+大苞点地梅；Ⅵ. 林地早熟禾+黑花薹草+细果薹草+大赖草；Ⅶ. 林地早熟禾+针叶风毛菊+二裂委陵菜；Ⅷ. 林地早熟禾+大红红景天+天山羽衣草。

Note: Ⅰ. Ass. *Ceratoides latens-Achnatherum splendens+Silene conoidea*; Ⅱ. Ass. *Ephedra glauca-Leymus racemosus+Astragalus lepsensis*; Ⅲ. Ass. *Elymus dahuricus + Leymus racemosus*; Ⅳ. Ass. *Caragana jubata + Pentaphylloides parvifolia-Rumex acetosa + Thalictrum minus*; Ⅴ. Ass. *Poa supina+Leymus racemosus+Androsace maxima*; Ⅵ. Ass. *Poa nemoralis+Carex melanantha+Carex stenocarpa+Leymus racemosus*; Ⅶ. Ass. *Poa nemoralis+Saussurea chondrilloides+Potentilla bifurca*; Ⅷ. Ass. *Poa nemoralis+Rhodiola coccinea+Alchemilla tianschanica*.

多样性变量土壤累积解释率及多样性-环境关系累积解释率分别为64.1%和96.8%，说明排序结果可信，可以较好解释群落物种多样性指数与环境因子间的关系。

从表3中可知，与RDA第一轴存在极显著（$P<0.01$）负相关关系的是海拔和有效氮，呈显著（$P<0.05$）负相关的是有机质和全氮，呈极显著（$P<0.01$）正相关的是全盐，与第二排序轴呈极显著正相关的唯有土壤含水量。这表明11个环境因子中，影响植物群落物种多样性的主要因子是海拔、土壤含水量、全盐、有机质、全氮和有效氮。

由图3可知：灌木层各物种多样性指数与全盐和有效磷相关性最高，与海拔呈负相关；草本层各多样性指数与海拔、有机质、全氮和有效氮相关性较高，与全盐呈负相关；群落总体物种的丰富度指数（R_t）与土壤pH显著负相关，Simpson指数（D_t）与全盐显著负相关，均匀度指数（E_t）和Shannon-Wiener指数H_t均与海拔相关性较高。

3 讨论

在干旱半干旱地区，小尺度生境异质性是导致群落组成不同和物种共存的重要因素（Bergholz et al., 2017）。本研究结果表明，中海拔区域SOM的含量显著高于低、高海拔区域（$P<0.05$），分析原因是土壤表层SOM含量主要受到植物凋落物量和死亡根系等因素的影响（戴雯笑等，2021），研究区中海拔区域优势层-草本层物种多样性较高，SOM主要通过植物-凋落物-土壤补充进入土壤系统使得中海拔区域含量最高。研究发现，土壤AN在不

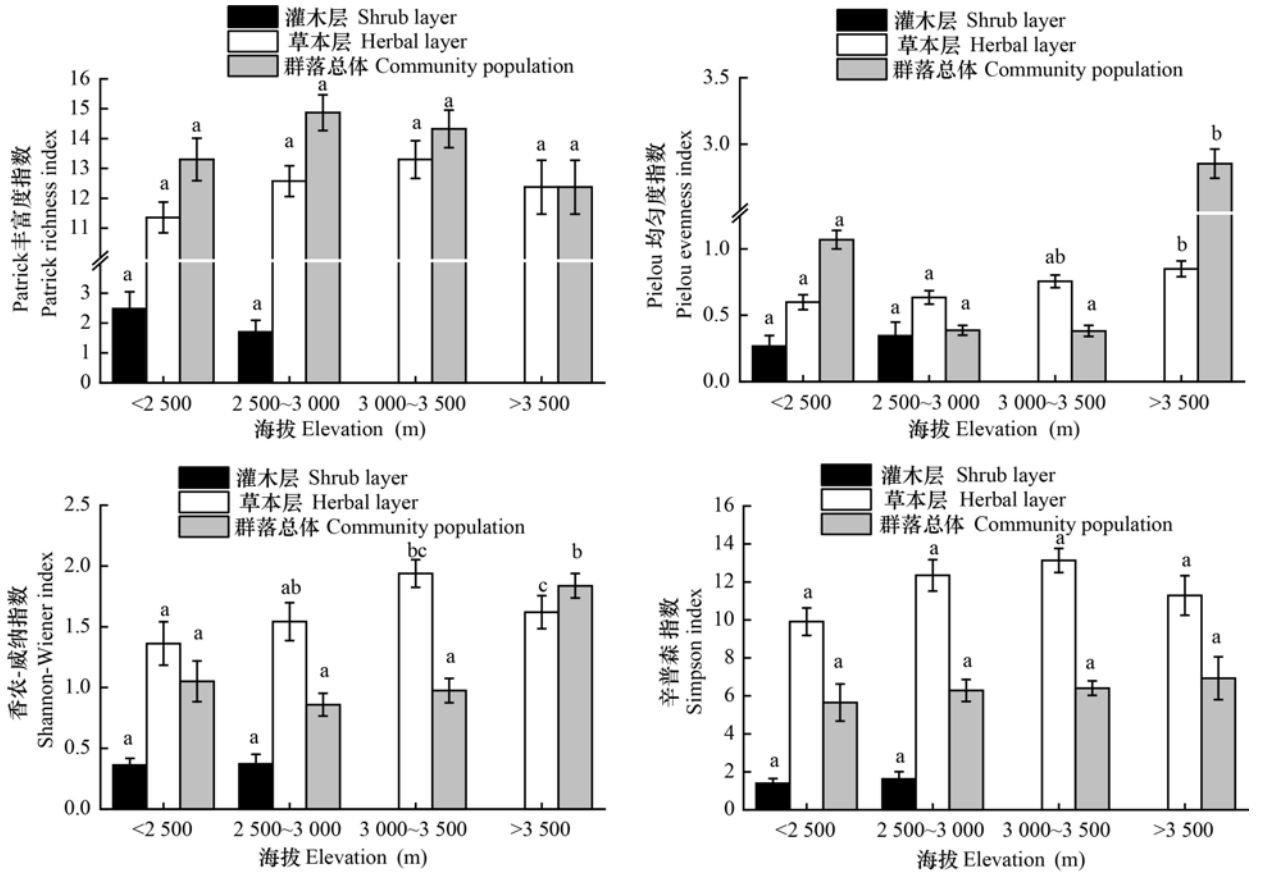
表 2　不同海拔土壤环境因子分布特征

Table 2　Distribution characteristics of soil environmental factors at different elevations

海拔 Elevation (m)	土壤含水量 SW (%)	酸碱度 pH	全盐 TS (g·kg^{-1})	有机质 SOM (g·kg^{-1})	全氮 TN (g·kg^{-1})	全磷 TP (g·kg^{-1})	全钾 TK (g·kg^{-1})	有效氮 AN (mg·kg^{-1})	有效磷 AP (mg·kg^{-1})	有效钾 AK (mg·kg^{-1})
<2 500	36.499±2.835a	7.736±0.032a	5.243±1.880a	40.018±0.853a	2.139±0.446a	0.859±0.040a	13.518±0.399a	98.054±1.120a	6.590±1.019a	195.543±1.396a
2 500~3 000	74.426±1.501b	7.761±0.067a	6.929±1.887a	75.409±2.279b	3.263±0.633b	1.055±0.244a	11.490±0.723b	129.327±0.843a	5.788±0.418a	241.950±2.556a
3 000~3 500	66.706±1.393b	7.811±0.053a	2.036±0.333b	84.986±1.637b	4.263±0.622b	0.762±0.050a	12.835±0.271b	213.067±0.782b	4.200±0.710a	195.222±3.862a
>3 500	66.184±1.457b	7.881±0.027a	2.516±0.893b	56.283±2.663a	3.018±0.288a	0.773±0.071a	13.669±1.481a	150.104±0.833c	4.253±0.281a	110.702±1.221b

注：同一列中不同小写字母表示在 0.05 水平上不同海拔高度各土壤养分含量的差异性。

Note：Different lowercase letters in the same column indicate the differences of each soil nutrient content at the 0.05 level at different elevations.



不同小写字母表示在 0.05 水平上同一生活型物种多样性指数在不同海拔高度的差异性。

Different lowercase letters indicate the differences of species diversity indexes of the same life form at different elevations at the level of 0.05.

图 2　不同海拔段植物群落物种多样性指数分布

Fig. 2　Distribution of species diversity indexes of plant communities at different elevations

同海拔高度上差异性显著(P<0.05)，随海拔升高，AN 含量先增加后减小，本研究结果发现低海拔区域降雨量少，物种丰富度较低，表层裸露的土地被雨水冲刷会使得 N 含量流失，土壤 AN 易淋失使低

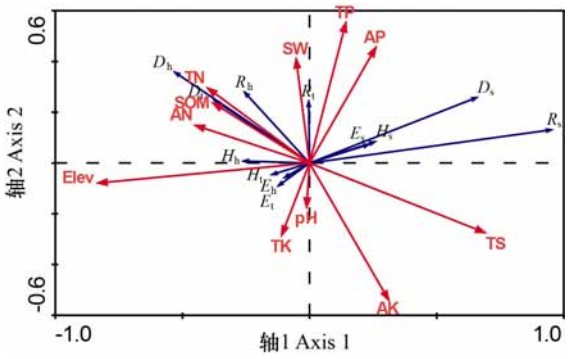
表 3 巴伦台样地环境因子与 RDA 前两轴的相关系数

Table 3 Correlation coefficients of environmental factors with the first two axes of RDA in Baluntai

轴 Axis	海拔 Elevation	土壤含水量 SW	酸碱度 pH	全盐 TS	有机质 SOM	全氮 TN	全磷 TP	全钾 TK	有效氮 AN	有效磷 AP	有效钾 AK
1	−0.757**	0.024	−0.027	0.579**	−0.311*	−0.314*	0.200	−0.143	−0.397**	0.279	0.212
2	0.177	0.448**	0.125	0.071	0.280	0.286	0.125	0.062	0.2443	0.139	0.040

注：*表示影响显著（$P<0.05$）；**表示影响极显著（$P<0.01$）。

Note: * indicates the significant effect ($P<0.05$); ** indicates the extremely significant effect ($P<0.01$).



AN. 有效氮；**AP**. 有效磷；**AK**. 有效钾；**Elev**. 海拔；**SOM**. 有机质；**SW**. 土壤含水量；**pH**. 土壤 pH；**TN**. 全氮；**TP**. 全磷；**TK**. 全钾；**TS**. 全盐；***R***. Patrick 丰富度指数；***E***. Pielou 均匀度指数；***D***. 辛普森指数；***H***. 香农-威纳指数；**h**. 草本层；**s**. 灌木层；**t**. 群落总体。

AN. Available nitrogen; **AP**. Available phosphorus; **AK**. Available potassium; **Elev**. Elevation; **SOM**. Soil organic matter; **SW**. Soil water content; **pH**. Soil pH; **TN**. Total nitrogen; **TP**. Total phosphorus; **TK**. Total potassium; **TS**. Total salt; ***R***. Patrick richness index; ***E***. Pielou evenness index; ***D***. Simpson index; ***H***. Shannon-Wiener index; **h**. Herbaceous layer; **s**. Shrub layer; **t**. Community population.

图 3 植物群落物种多样性指数与环境因子的 RDA 排序图

Fig. 3 RDA ordination chart of plant community species diversity indexes and environmental factors

海拔区域土壤 AN 含量最少（贺静雯等，2020），而高海拔区域较低的土壤温度一定程度上影响土壤 AN 的释放（王霖娇等，2018）使得高海拔区域含量较低。值得注意的是，不同海拔梯度上土壤因子的异质性不仅能够影响植物群落的分布格局，也能反映和指示植物种群的生态适应对策（Chatanga et al., 2019）。pH 值是土壤重要的基本性质之一，与土壤的肥力状况、土壤盐分及微生物活动等密切相关（罗巧玉等，2021），研究区样地土壤 pH [(7.736±0.032)～(7.881±0.027)] 呈偏碱性，随海拔升高土壤 pH 值逐渐升高时禾本科和杂类草植物种类增加，这些植物更加耐旱、抗盐碱，对环境适应性更强。

不同海拔高度微环境发生改变，植物的生态和生理特征随之变化，从而影响到植物群落的结构组成及垂直分布。研究发现，该地区草本植物占据优势，其占总植物种的比例为 94.02%，而海拔大于 2 919m 的区域鲜有灌木生长，这可能是地形因子中海拔极为重要，海拔高度的不同极大程度上影响到温度的改变，海拔越高，低温主导的恶劣环境条件迫使灌木的光合作用降低，限制灌木层生长（康红梅等，2020）。对比库车山区植物群落多样性的调查（常凤等，2018），结果表明虽然两地纬度相似且同处天山中段南坡，但巴伦台地区草本层和灌木层物种都更为丰富，这是因为库车山区气候干燥，降水少，蒸发量大，而巴伦台地处天山阳面，光热资源丰富，年平均降水量大于库车山区年均降水量的一倍，植物受到热量和水分的综合调控，在水热资源更为适宜的巴伦台地区生长丰富。随着海拔的升高，植物群落总体物种丰富度指数（R_t）呈先升高后降低的分布规律，由于低海拔山地气候极端干旱，虽然温度较高，但水分相对缺少，水分是限制植物分布的主要因子，许多植物因不能在这样极端干旱的环境中完成生活史，加之受人为破坏和放牧等影响大而产生负面影响，因此主要以旱生的灌木和少数草本种类为主，植物物种种类较少；而高海拔区域主要受热量限制，昼夜温差大和土壤肥力降低等环境条件严重影响植物生长发育（张世雄等，2020），主要以耐寒型草本为主，物种丰富度指数减少，则中海拔段环境条件相对较好更适宜植物生长，物种丰富度指数更高。这与天山北坡野生无芒雀麦（*Bromus inermis*）群落物种丰富度在海拔梯度上的表现趋势不同（宫珂等，2019），影响物种多样性的因素是多方面的，包括地区间大尺度和海拔等小尺度下的

差异，天山南北坡气候、水文、土壤环境及其他环境影响因子具有差异（秦莉等，2021），因此天山南北坡植物群落对不同海拔的响应情况也有所不同。植物群落总体 Pielou 均匀度指数（E_t）随海拔梯度升高表现出先减小再增加的变化，分析原因可能是中海拔区域样地土壤 TS 和 TP 含量分别出现了各自指标变化中的最大值[（6.929±1.887）g·kg^{-1}和（1.055±0.244）g·kg^{-1}]和最小值[（2.036±0.333）g·kg^{-1}和（0.762±0.050）g·kg^{-1}]，植物赖以生存的土壤环境变化范围较大，且该海拔段物种种类较多，群落内小生境复杂，种群间的复杂关系导致植物群落总体 Pielou 均匀度指数较低，而低、高海拔区域植物群落总体分布向着均匀化方向发展。优势层-草本层物种 Patrick 丰富度指数（R_h）、Shannon-Wiener 指数（H_h）和 Simpson 指数（D_h）随海拔的升高先增大后减小，这与新疆天山南坡中段种子植物区系垂直分布格局呈现单峰分布格局表现吻合（刘彬等，2018）。单峰分布格局在西北干旱、半干旱地区较为普遍，研究区属温带大陆性气候，相对于暖温带大陆性季风气候、亚热带和半温润地区等地的研究来说（钟娇娇等，2019；贺静雯等，2020；高辉等 2020），研究区样地由于远离海洋，或者地形阻挡，湿润气团难以到达，因而干燥少雨，气候呈极端大陆性，平均年降水量不足 500 mm，水土流失和荒漠化较严重，整体物种多样性受水分和温度调控较大，因而就小尺度而言，中海拔处的温度和降水量相对适宜，土壤质地和其水热条件更适宜优势层-草本层植被生长，从而形成物种多样性的峰值区域。

海拔作为主要的地形因子，通过影响着山地生态系统的地理结构和水热过程，进而影响植物群落物种多样性的空间梯度变化。本研究区地质构造复杂，成土母质丰富，随海拔梯度的改变，各环境因子交互作用影响了该地区植物群落物种多样性，这与吴红宝等（2019）研究的结果一致，即在海拔对藏北高寒草地物种多样性和生物量的影响中发现物种多样性的变化受到热量和水分的综合调控，不同的土壤因子对物种多样性海拔梯度格局的解释程度不同。RDA 排序结果表明，土壤理化指标中 SW、AN 和 TS 对植物群落物种多样性影响显著。SW 是植物群落生长的必要环境因子之一，直接影响植物生理生长状况。本研究发现，植物群落总体物种丰富度指数（R_t）与 SW 呈正相关关系，这与天山北坡植物群落多样性及其环境解释研究结果不同（陈乙实等，2019），天山南北坡气候环境迥异，天山南坡与北坡相比受到大西洋和北冰洋水汽作用较小，年降水量小于天山北坡，气候极端干旱，因此植物对 SW 更为敏感，SW 显著影响植物群落总体物种丰富度。灌木层各物种多样性指数与 AN 在 RDA 排序图上呈现负相关，土壤 AN 在中、高海拔区域内含量较高，而灌木层物种种类较少，这与潘占磊（2017）研究发现 N 素过多会显著降低灌木、半灌木物种数的研究结果类似，N 素含量过多会加剧种间竞争，使得弱势种群一定程度上受到抑制。陈乙实等（2019）对影响天山南北坡植物群落物种多样性分布格局的主要环境因子进行分析，研究结果发现土壤 TS 对物种多样性的分布格局作用微弱。但本研究结果不同，RDA 结果表明，TS 与群落总体各物种多样性指数均呈负相关，对物种多样性的分布格局作用显著，这主要是因为研究区样地盐分较高的缘故（Naqinezhad et al.，2009），在干旱缺水的环境条件下，土壤中可溶性盐类过多，植物生长处于生理干旱状态，从而影响群落总体各物种多样性指数。

4　结论

研究区共调查到植物有 30 科 75 属 134 种，划分为 8 个植物群落类型，植物群落在中海拔梯度物种最丰富，在低、高海拔分布较为均匀，说明在中海拔地区植物群落结构复杂、稳定性较高，适合植物生长。

不同海拔高度上，土壤含水量、有机质和有效氮先升高再降低，影响植物群落物种多样性的主要因子是海拔、土壤含水量、全盐，其次是有机质、全氮和有效氮。

综上所述，研究区内植物群落组成及土壤因子均受海拔梯度的显著影响，不同海拔高度上植物采取不同的生存策略来适应微生境，植物群落总体物种多样性指数与土壤养分、水分的分布格局大体一致，反映了环境筛选对植物群落物种多样性形成的作用及不同物种适应环境变化的策略。

参考文献：

BERGHOLZ，MAY，GILADI，et al.，2017. Environmental

heterogeneity drives fine-scale species assembly and functional diversity of annual plants in a semi-arid environment [J]. Perspect Plant Ecol, 24: 138-146.

CHANG F, LIU B, LIU RK, et al., 2018. Plant community diversity and environmental interpretation of adaptive region of *Gentianella turkestanorum* in Kuche Mountain area [J]. Acta Agr Sin, 26 (5): 1084-1090. [常凤, 刘彬, 刘若坤, 等, 2018. 库车山区新疆假龙胆适生地植物群落多样性及其环境解释 [J]. 草地学报, 26(5): 1084-1090.]

CHATANGA P, KOTZE DC, JANKS M, et al., 2019. Classification, description and environmental factors of montane wetland vegetation of the Maloti-Drakensberg region and the surrounding areas — Science Direct [J]. S Afr J Bot, 125: 221-233.

CHEN YS, SUN HR, LI NN, et al., 2019. Plant community diversity in grazed *Seriphidium* semidesert grassland andits relationships with environmental factors [J]. Acta Pratact Sci, 28 (11): 1-11. [陈乙实, 孙海荣, 李娜娜, 等, 2019. 绵羊放牧绢蒿荒漠草地植物群落多样性及其环境解释 [J]. 草业学报, 28(11): 1-11.]

DAI WX, LOU CY, XU DM, et al., 2021. Spatial distribution of litter yield in an evergreen broadleaf forest and its effects on the heterogeneity of soil nutrients [J]. Acta Ecol Sin, 41 (2): 513-521. [戴雯笑, 楼晨阳, 许大明, 等, 2021. 浙西南常绿阔叶林凋落物空间分布及其对土壤养分的影响 [J]. 生态学报, 41(2): 513-521.]

Editorial Committee of Flora of Xinjiangensis, 1999. Flora Xinjiangensis [M]. Urumqi: Xinjiang Science Technology and Health Press. [新疆植物志编委会, 1999. 新疆植物志 [M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社.]

GAO H, LIU LJ, FANG JP, 2020. Distribution pattern and environmental interpretation of forest communities along elevation gradients in Sejila Mountain [J]. J Nat Sci Hunan Norm Univ, 43(5): 43-51. [高辉, 刘丽娟, 方江平, 2020. 色季拉山沿海拔梯度的森林群落分布格局及环境解释 [J]. 湖南师范大学自然科学学报, 43(5): 43-51.]

GAO LJ, ZHAO BB, XING XM, et al., 2018. Short term anomalies detected at balguntay station's component borehole strain before the Hutubi M_s6.2 earthquake, Xinjiang, China [J]. J Geod Geodyn, 38 (8): 102-106. [高丽娟, 赵彬彬, 邢喜民, 等, 2018. 巴伦台分量钻孔应变在呼图壁 M_s6.2 地震前的短临异常初探 [J]. 大地测量与地球动力学, 38(8): 102-106.]

GONG K, JIN GL, YUE YH, et al., 2019. Community characteristics of *Bromus inermis* on the northern slope of Tianshan Mountains [J]. Xinjiang Agric Sci, 56(3): 561-570. [宫珂, 靳瑰丽, 岳永寰, 等, 2019. 天山北坡野生无芒雀麦群落特征研究 [J]. 新疆农业科学, 56(3): 561-570.]

HE JW, LIU Y, LI SY, et al., 2020. Relationship between shrub plant communities and soil at different altitudes in Jiangjiagou watershed [J]. Guihaia, 40 (8): 34-42. [贺静雯, 刘颖, 李松阳, 等, 2020. 蒋家沟流域不同海拔灌草层群落特征与土壤关系的研究 [J]. 广西植物, 40(8): 34-42.]

KANG HM, LI HH, XU DH, et al., 2020. Effects of elevated CO_2 and temperature on *Caragana jubata* (alpine shrub) growth and antioxidant systems [J]. Acta Ecol Sin, 40 (1): 367-376. [康红梅, 李花花, 徐当会, 等, 2020. 大气 CO_2 浓度及温度升高对高山灌木鬼箭锦鸡儿(*Caragana jubata*)生长及抗氧化系统的影响 [J]. 生态学报, 40(1): 367-376.]

LI LG, chief editor in chief, 2016. Ministry of civil affairs of the people's Republic of China; GUO JP, LI NP, TOHUTI Y , chief editor of this volume. The grand ceremony of the people's Republic of China, Xinjiang Uygur Autonomous Region volume [M]. Beijing: China Social Press: 1169-1171. [李立国总主编, 2016. 中华人民共和国民政部编; 郭景平, 李宁平, 托乎提·亚克夫本卷主编.中华人民共和国政区大典·新疆维吾尔自治区卷 [M]. 北京: 中国社会出版社: 1169-1171.]

LI MF, MA YC, LIU GH, et al., 2020. Parttern and drivers of phylogenetic diversity in Xinjiang grassland [J]. Acta Ecol Sin, 40(7): 2285-2299. [李敏菲, 马煜成, 刘耘华, 等, 2020. 新疆草地群落谱系多样性变化特征及影响因素 [J]. 生态学报, 40(7): 2285-2299.]

LIU B, 2017. Vertical patterns in plant diversity and their relationships with environmental factors on the southern slope of the Tianshan Mountains (middle section) in Xinjiang (China) [J]. J MT Sci, 14(4): 742-757.

LIU B, BUMARYAM T, AIBIBAIMU K, et al., 2018. Vertical distribution patterns of the seed plant flora in the middle section on the southern slopes of the Tianshan Mountains in Xinjiang, China [J]. Plant Sci J, 36(2): 191-202. [刘彬, 布买丽娅木·吐如汗, 艾比拜姆·克热木, 等, 2018. 新疆天山南坡中段种子植物区系垂直分布格局分析 [J]. 植物科学学报, 36(2): 191-202.]

LIU GC, HUANG YX, WANG QG, et al., 2018. Efects of environmental factors on plant species diversity: research progress [J]. Chin Agric Sci Bull, 34 (13): 83-89. [刘冠成, 黄雅曦, 王庆贵, 等, 2018. 环境因子对植物物种多样性的影响研究进展 [J]. 中国农学通报, 34(13): 83-89.]

LIU N, BAI KY, YANG YH, et al., 2018. Effects of grazing on vegetation and soil nutrients of a desert steppe in Inner Mongolia [J]. Pratact Sci, 35(6): 1323-1331. [刘娜, 白可喻, 杨云卉, 等, 2018. 放牧对内蒙古荒漠草原草地植被及土壤养分的影响 [J]. 草业科学, 35(6): 1323-1331.]

LUO QH, SUN F, CUI Y, et al., 2018. Interspecific association among main plant species in the unstable slope with high-frequency debris flow [J]. Chin J Appl Environ Biol, 24(4): 689-696. [罗清虎, 孙凡, 崔羽, 等, 2018. 泥石流频发流域失稳性坡面主要植物种间关联性

[J]. 应用与环境生物学报, 24(4): 689-696.]

LUO QY, WANG YL, DU L, et al., 2021. Plant community diversity and soil factor interpretation of adaptive region of *Deschampsia caespitosa* in the source region of the Yellow River [J]. Acta Pratact Sci, 30(4): 80-89. [罗巧玉, 王彦龙, 杜雷, 等, 2021. 黄河源区发草适生地植物群落特征及其土壤因子解释 [J]. 草业学报, 30(4): 80-89.]

NAQINEZHAD A, JALILI A, ATTAR F, et al., 2009. Floristic characteristics of the wetland sites on dry southern slopes of the Alborz Mts., N. Iran: The role of altitude in floristic composition [J]. Flora, 204(4): 254-269.

PAN ZL, 2017. The response of productivity and species diversity to warming and nitrogen addition in *Stipa breviflora* desert steppe [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University: 1-68. [潘占磊, 2017. 短花针茅荒漠草原生产力与物种多样性对增温和氮素添加的响应 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学: 1-68.]

PARK HG, BARRELET CJ, WU Y, et al., 2008. A wavelength-selective photonic-crystal waveguide coupled to a nanowire light source [J]. Nat Photonics, 2(10): 622-626.

QIN L, SHANG HM, ZHANG TW, et al., 2021. Response comparison of the tree-rings $\delta^{13}C$ to climate on the southern and northern slopes of Tianshan Mountain [J]. Acta Ecol Sin, 41 (14): 5713-5724. [秦莉, 尚华明, 张同文, 等, 2021. 天山南北坡树轮稳定碳同位素对气候的响应差异 [J]. 生态学报, 41(14): 5713-5724.]

REN QW, WANG X, LI LD, et al., 2019. Vertical variation of soil physical and chemical properties at different altitudes in Xiaowutai Mountain [J]. J Soil Water Conserv, 33(1): 241-247. [任启文, 王鑫, 李联地, 等, 2019. 小五台山不同海拔土壤理化性质垂直变化规律 [J]. 水土保持学报, 33(1): 241-247.]

WANG JM, DONG FY, BAHAI N, et al., 2016. Plant distribution patterns and the factors influencing plant diversity in the Black Gobi Desert of China [J]. Acta Ecol Sin, 36(12): 3488-3498. [王健铭, 董芳宇, 巴海·那斯拉, 等, 2016. 中国黑戈壁植物多样性分布格局及其影响因素 [J]. 生态学报, 36(12): 3488-3498.]

WANG L, XU XL, LIU L, 2020. Remotely sensed dataset of grassland degradation on the Qinghai-Tibet Plateau [J]. Acta Geogr Sin, 69 (S1): 159-163. [王靓, 徐新良, 刘洛, 2020. 青藏高原草地退化类型空间分布数据集 [J]. 地理学报, 69(S1): 159-163.]

WANG LJ, WANG P, SHENG MY, 2018. Stoichiometric characteristics of soil nutrient elements and its influencing factors in typical karst rocky desertification ecosystems, Southwest China [J]. Acta Ecol Sin, 38 (18): 6580-6593. [王霖娇, 汪攀, 盛茂银, 2018. 西南喀斯特典型石漠化生态系统土壤养分生态化学计量特征及其影响因素 [J]. 生态学报, 38(18): 6580-6593.]

WU HB, SHUI HW, HU GZ, et al., 2019. Species diversity and biomass distribution patterns of alpine grassland along an elevation gradient in the northern Tibetan Plateau [J]. Ecol Environ, 28(6): 1071-1079. [吴红宝, 水宏伟, 胡国铮, 等, 2019. 海拔对藏北高寒草地物种多样性和生物量的影响 [J]. 生态环境学报, 28(6): 1071-1079.]

ZHANG SX, QIN RM, YANG XY, et al., 2020. Pattern of species diversity in herbaceous communities at different altitude gradient and their relationships with environmental factors in Lüliang Mountains in Shanxi Province, China [J]. Guihaia, 40 (12): 1860-1868. [张世雄, 秦瑞敏, 杨晓艳, 等, 2020. 山西吕梁山草本群落物种多样性的海拔梯度格局及与环境因子的关系 [J]. 广西植物, 40(12): 1860-1868.]

ZHONG JJ, CHEN J, CHEN Q, et al., 2019. Quantitative classification of MRT, CCA ordination, and species diversity along elevation gradients of a natural secondary forest in the Qinling mountains [J]. Acta Ecol Sin, 39 (1): 277-285. [钟娇娇, 陈杰, 陈倩, 等, 2019. 秦岭山地天然次生林群落 MRT 数量分类、CCA 排序及多样性垂直格局 [J]. 生态学报, 39(1): 277-285.]

（责任编辑　周翠鸣）

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1126-1135 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202112042

赵飘, 刘振亚, 王娜, 等. 云南高原湖泊水葱克隆生长与有性繁殖特征及影响因子 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1126-1135.

ZHAO P, LIU ZY, WANG N, et al. Clonal growth and sexual reproduction characteristics and influencing factors of *Schoenoplectus tabernaemontani* in Yunnan Plateau lakes [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1126-1135.

云南高原湖泊水葱克隆生长与有性繁殖特征及影响因子

赵 飘[1,2], 刘振亚[1,2], 王 娜[1,2], 牛孟莹[3], 艾 静[4], 肖德荣[5,6], 王 行[1,2*]

(1. 西南林业大学 云南省高原湿地保护修复与生态服务重点实验室, 昆明 650224; 2. 西南林业大学 国家高原湿地研究中心/湿地学院, 昆明 650224; 3. 西南林业大学 生命科学学院, 昆明 650224; 4. 云南省农业科学院甘蔗研究所, 云南 开远 661600; 5. 温州大学 生命与环境科学学院, 浙江 温州 325035; 6. 温州大学 城镇水污染生态治理技术 国家地方联合工程研究中心, 浙江 温州 325035)

摘 要: 为掌握挺水植物克隆生长与有性繁殖参数的空间分布格局特征及环境因子对植物繁殖的影响路径, 该文利用云南高原的立体地形,通过空间替代时间的方法,探讨 6 个湖泊共有挺水植物水葱(*Schoenoplectus tabernaemontani*)的克隆生长、有性繁殖的地理差异和变化规律以及对环境变化的响应。结果表明:(1)密度、株高、基径等克隆生长参数,以及结实率、穗生物量及其投资比、种子产量、活性种子数等繁殖参数在不同地理空间上存在显著差异($P<0.05$),而地上生物量无显著差异。(2)密度、株高、结实率、穗生物量及其投资比等参数具有显著的经纬度、海拔地带性分布特征,其中密度随纬度和海拔的增加而增加、随经度的增加而减小,而株高、结实率、穗生物量及其投资比随纬度和海拔的增加而减小、随经度的增加逐渐增大。(3)暖月和冷月均温,土壤全氮、全磷是影响水葱克隆生长(密度、株高)的关键因子,其中暖月均温影响最大,年均降水、土壤有机碳是影响水葱有性繁殖的关键因子,其中年均降水影响最大。综上认为,气候因子(暖月均温、冷月均温和年均降水)是影响云南高原湖泊湖滨带植物水葱生长和繁殖的主要因子。

关键词: 挺水植物, 湖滨带, 繁殖策略, 气候变化, 高原湖泊

中图分类号: Q945.79 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2022)07-1126-10

Clonal growth and sexual reproduction characteristics and influencing factors of *Schoenoplectus tabernaemontani* in Yunnan Plateau lakes

ZHAO Piao[1,2], LIU Zhenya[1,2], WANG Na[1,2], NIU Mengying[3], AI Jing[4], XIAO Derong[5,6], WANG Hang[1,2*]

(1. *Yunnan Key Laboratory of Plateau Wetland Conservation, Restoration and Ecological Services, Southwest Forestry University*, Kunming 650224, China; 2. *National Plateau Wetlands Research Center/College of Wetlands, Southwest Forestry University*, Kunming 650224, China; 3. *College of Life Sciences, Southwest Forestry University*, Kunming 650224, China; 4. *Sugarcane Research Institute of Yunnan Academy of Agricultural Sciences*, Kaiyuan 661600, Yunnan, China; 5. *College of Life and Environmental Sciences, Wenzhou University*, Wenzhou 325035, Zhejiang, China; 6. *National and Local Joint Engineering Research Center of Ecological Treatment Technology for Urban Water Pollution, Wenzhou University*, Wenzhou 325035, Zhejiang, China)

收稿日期: 2022-04-25

基金项目: 国家自然科学基金(41867059, 41877346);云南省基础研究计划项目(202201AT070057) [Supported by National Nature Science Foundation of China (41867059, 41877346); Yunnan Fundamental Research Project (202201AT070057)]。

第一作者: 赵飘(1996-),硕士研究生,主要从事湿地生态学研究,(E-mail)zhaop714825@163.com。

*通信作者: 王行,博士,副研究员,硕士生导师,主要从事全球变化与湿地环境演变研究,(E-mail)hwang17@163.com。

Abstract: The response of plant growth and reproduction to future climate change has attracted widespread attention. In order to investigate the spatial distribution patterns of clonal growth and sexual reproduction parameters of emergent plants and the pathways of their environmental factors on plant reproduction. Based on the 3D topography of the Yunnan Plateau, we investigated the geographical differences and changes in the clonal growth and sexual reproduction of *Schoenoplectus tabernaemontani*, and the response to environmental changes was further investigated through the method of space alternative time. The results were as follows: (1) There were significant differences in clonal growth parameters such as density, plant height, and diameter, as well as reproductive parameters such as seed setting ratio, spike biomass, spike investment ratio, seed production, and the number of active seed in different geospates ($P<0.05$), but there was no significant differences in above-ground biomass. (2) The density, plant height, seed setting ratio, spike biomass, and spike investment ratio of *S. tabernaemontani* showed significant zonal distribution patterns of latitude, longitude, and altitude. Among them, The density increased with the increase in latitude and altitude, and it was decreased with the increase of longitude. Meanwhile, the plant height, seed setting ratio, spike biomass, and spike investment ratio decreased with the increase of latitude and altitude, and gradually increased with increasing longitude. (3) Mean temperature of the warmest month, mean temperature of the coldest month, soil total nitrogen and soil total phosphorus were the key factors affecting the growth (density and height) of *S. tabernaemontani*, where the warmest month mean temperature was the greatest influence. In addition, mean annual precipitation and soil organic carbon mostly explained the reproductive characteristics of *S. tabernaemontani* compared with other influencing factors, among which the mean annual precipitation had the greatest effect. The investigation further showed that the climatic factors (the warmest month mean temperature, the coldest month mean temperature, and mean annual precipitation) were the main factors affecting the growth and reproduction of *S. tabernaemontani* in the lakeside zone of Yunnan Plateau lakes.

Key words: emergent plant, lakeside, reproductive strategy, climate change, plateau lakes

生长与繁殖是植物实现种群维持与扩散的重要途径(王志保等,2018a),易受环境的变化而发生改变,进而对生态系统的结构和功能产生影响(Sherry et al., 2007)。植物生长与繁殖对未来气候变化的响应受到广泛关注(Roa-Fuentes et al., 2012;王志保等,2018b)。高原湖泊湖滨带植物对气候变化高度敏感(刘振亚等,2017),因此研究湖滨带植物生长与繁殖对外界环境因子的响应规律,是科学评估未来气候变化对高原湖泊有何影响和如何影响的基础。

地形(经纬度、海拔)、气候(降水、温度)和土壤养分等环境因子均对植物的生长和繁殖产生影响(Gong et al., 2019;Zhang et al., 2019)。海拔是影响植物生长和繁殖的主导因子(Körner, 2007),其中植物物候(Walker et al., 2014)、叶片功能性状(Jiang & Ma, 2015)与海拔密切相关。随着海拔的升高,植物的生物量增加(李亚芳,2015)、高度降低(Liu et al., 2016)、个体变小(Méndez & Traveset, 2003),而对繁殖的投入增加(Fabbro & Körner, 2004)。除海拔因素外,植物株高与纬度呈驼峰关系,中纬度最高(Liu et al., 2016),而随着纬度的增加,植物的株高降低(Moles et al., 2009)。地理空间的变化,使植物生境有所差异,有研究表明,温度增加对植物克隆生长或促进(Li et al., 2014)、或抑制(Kreyling et al., 2008)、或无显著影响(Bloor et al., 2010),对其有性繁殖具有明显的促进作用(王志保等,2018a;Xiao et al., 2019)。降水增加导致植物叶片气孔关闭、光合速率降低,植物克隆生长受到抑制(Körner, 2007),降水增加也能促进植物克隆生长(Roa-Fuentes et al., 2012)。增加土壤养分可促进植物个体的生长(Nasto et al., 2019),增加植物种子产量(王亚等,2021)。一般情况下,植物生长及繁殖在大尺度上受气候因子的影响(Svenning & Sandel, 2013),而在山地等区域尺度上则受海拔梯度的影响(唐志尧和方精云,2004)。在低海拔地区,土壤养分对植物生长与繁殖的影响更为显著,而在高海拔地区则是温度更为显著(Sang, 2009)。可见,研究植物生长和繁殖策略对环境变化的响应是生态学研究的热点,然而当前研究结果尚存在较多的不确定性。

云南省地形极为复杂多样,其西北部为横断

山脉、东部为云贵高原,最大垂直高差达6 663.6 m,地形、气候及土壤等环境因子的空间差异明显,具有独特的地质和植被及立体气候特征(杨岚和李恒,2010)。湖泊作为云南高原生态屏障的重要组成,具有典型的“面山-湖滨-湖盆”的生态特征,在生物多样性和特有性保育等方面发挥着不可替代的作用,且对环境变化高度敏感(Xiao et al., 2019)。挺水植物是云南高原湖泊湖滨带的重要组成,是高原湖泊生态结构和功能的基础。水葱(*Schoenoplectus tabernaemontani*)是纳帕海、泸沽湖、拉市海、滇池、杞麓湖及异龙湖等 6 个高原湖泊湖滨带的共有种(杨岚和李恒,2010),其克隆生长和有性繁殖是其维持种群空间分布和扩散的重要途径。因此,研究水葱对不同地理空间环境因子的响应,能很好地诠释湖滨带挺水植物生长与繁殖对未来气候变化的适应策略。

本研究利用云南的立体地形及其独特气候,选择 6 个不同区域的高原湖泊,以其湖滨带共有分布的挺水植物水葱为研究切入点,研究水葱克隆生长(密度、株高、基径、地上生物量)以及有性繁殖(结实率、穗生物量、穗生物量投资比、单位面积种子产量、单位面积活性种子数)等在不同区域的差异特征,分析环境因子(地理位置、气候、土壤和水等环境因子)与水葱生长和繁殖指标的相关关系,拟解决以下科学问题:(1)高原湖泊挺水植物水葱生长和繁殖特征在地理空间分布是否存在地理分布差异;(2)其生长和繁殖特征是否存在经纬度、海拔地带性分布规律;(3)由于地理空间的差异而发生的环境变化对植物克隆生长与有性繁殖造成什么样的影响,其影响程度如何。以期为掌握高原湖泊对未来气候变化的响应机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

选择纳帕海、泸沽湖、拉市海、滇池、杞麓湖、异龙湖等 6 个湖泊为研究地。纳帕海、泸沽湖、拉市海位于滇西北高原,是滇西北高原生物多样性和特有性保护的热点区域,其中纳帕海和拉市海为国际重要湿地。滇池、杞麓湖、异龙湖位于滇中高原,既是滇中城市群经济社会可持续发展的生态屏障,也是关注水生态安全和生物多样性保护的重点区域。6 个湖泊所处地形差异大,地理位置为 99.66°—102.77° E、23.67°—27.85° N,海拔在 1 412 ~3 260 m 之间,跨经度、纬度分别为 3.11° 和 4.18°,海拔高差达 1 848 m。所处地理位置的差异,使 6 个湖泊的气候、水、土壤等环境因子存在一定差异(表 1)。

1.2 样品采集

2020 年 8—10 月,分别在纳帕海、泸沽湖、拉市海、滇池、杞麓湖、异龙湖湖滨带水葱典型分布区域,设置 3 ~ 6 个 1 m × 1 m 样方,其中纳帕海 6 个、泸沽湖 4 个、拉市海 3 个、滇池 3 个、杞麓湖 3 个、异龙湖 4 个,共计 23 个。野外测定样方内水葱总株数、结穗数等指标,并在样方内选取 10 株成熟结穗植株,测定植株高度,用精度为 0.01 mm 的游标卡尺测量基径。将结穗植株剪下带回实验室,测定穗的形态、生物量和种子活性参数。采用收割法,将样方内 25 cm × 25 cm 地上植株带回实验室,测定水葱地上生物量等参数。用 GPS 分别记录植物样方的经纬度和海拔。用定深泥炭钻(荷兰 Eijkelkamp)采集每个样方内表层(0 ~ 10 cm)土壤样品,装入自封袋带回实验室,以测定土壤理化指标。用 500 mL 塑料瓶采集水样带回实验室,测定有关理化指标。

1.3 室内分析

1.3.1 地上生物量及有性繁殖指标的测定 采用烘干称重法,将刈割带回的植株样品放置 65 ℃的烘箱中烘至恒重,测定地上生物量。首先,在室内用精度为 0.1 cm 的直尺测定每个样方带回的 10 株水葱的穗长,记录每穗小穗数、种子数等指标,计算水葱的结实率(结实株数/总株数×100%)、种子产量(每平方米种子数=单株平均种子数×每平方米结实株数)。然后,将分株装袋植株自然风干后,分别测定穗生物量和植株生物量,计算有性繁殖生物量投资比,即穗生物量投资比=穗生物量/植株生物量×100%。最后,将每个样方种子混匀,每个样方分别选取水葱种子 200 粒,3 个重复,通过物理方法剥去种壳,用解剖刀沿种子侧面将胚纵切开,放置在 1% 四唑磷酸缓冲液中,在(30±1)℃条件下染色 24 h,在 10 倍放大镜下分别观察其着色情况及种子活性。胚主要构造呈鲜红色,或胚根尖端 2/3 不染色而其他部分正常染色的种子为有生活力种子。在此基础上,计算单位面积活性种子数量,即活性种子数=种子产量×(着色

种子数/染色种子数×100%)。

1.3.2 土壤和水体环境指标的测定　土壤有机碳含量(soil organic carbon, SOC)采用酸洗法测定(唐伟祥等,2018),土壤全氮(soil total phosphorus, STN)、全磷(soil total phosphorus, STP)采用 H_2SO_4-H_2O_2 消煮法测定。水样全氮(water total nitrogen, WTN)、全磷(water total nitrogen, WTP)采用连续流动分析仪(德国 SEAL Analytical AA3)测定。通过全球网格数据(precision: 0.16°×0.16°; http://www.paleo.bris.ac.uk/),分别获取各采样点的年均温(mean annual temperature, MAT)、最暖月均温(mean temperature of the warmest month, WMT)、最冷月均温(mean temperature of the coldest month, CMT)、年均降水(mean annual precipitation, MAP)等气候参数。各湖泊湖滨带土壤、水体采样点环境参数见表 1。

表 1　各采样点的地理、气候、土壤和水因子的特征

Table 1　Characteristics of geographical, climatic, soil and water factors in each sampling site

采样点 Sampling site	地理位置 Geographic location			气候因子 Climatic factor				土壤因子 Soil factor			水因子 Water factor	
	经度 Longitude (°)	纬度 Latitude (°)	海拔 Altitude (m)	年均温 MAT (℃)	最暖月均温 WMT (℃)	最冷月均温 CMT (℃)	年均降水 MAP (mm)	有机碳 SOC (g·kg^{-1})	全氮 STN (g·kg^{-1})	全磷 STP (g·kg^{-1})	全氮 WTN (mg·L^{-1})	全磷 WTP (mg·L^{-1})
纳帕海 Napahai	99.66	27.85	3 260	7.8f	14.4f	−0.1f	620e	72.4±42.8a	8.9±2.9a	1.2±0.3b	6.9±9.1a	0.04±0.04a
泸沽湖 Luguhu	100.79	27.73	2 690	11.6e	17.6e	3.9e	908d	49.3±29.6a	8.1±2.7ab	1.6±0.2a	1.4±0.2a	0.02±0.01a
拉市海 Lashihai	100.14	26.88	2 445	13.0d	18.5d	5.9d	969c	39.3±0.0a	4.9±0.0b	0.7±0.0c	2.8±0.0a	0.54±0.00a
滇池 Dianchi	102.74	24.86	1 887	15.3c	20.3c	8.3c	993bc	4.7±3.0b	0.5±0.3c	0.6±0.1c	2.5±0.3a	0.03±0.02a
杞麓湖 Qiluhu	102.77	24.17	1 794	16.1b	20.8b	9.3b	1 008b	52.6±17.6a	4.3±0.6b	1.7±0.1a	8.0±9.5a	0.68±1.11a
异龙湖 Yilonghu	102.57	23.67	1 412	18.5a	23.0a	12.0a	1 088a	54.9±30.1a	3.4±1.9b	0.6±0.4c	1.9±1.0a	0.04±0.03a

注：同一列不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

1.4 数据处理

利用 SPSS 19.0 软件,对不同区域水葱密度、株高、基径、地上生物量、结实率、穗生物量及其投资比、单位面积种子产量、单位面积活性种子数量等生长繁殖指标进行单因素方差分析(One-Way ANVOA),差异显著性水平设定为 α= 0.05。通过 Pearson 相关性分析法,研究水葱生长和繁殖指标与气候、土壤、水文因子的相关性。在此基础上,通过 Stepwise 回归分析方法,进一步筛选影响水葱生长与繁殖特征的关键因子。使用 R 4.01 软件中 Agricolae 软件包对影响水葱生长与繁殖的关键因子进行路径分析,研究关键影响因子对水葱生长和繁殖的作用路径和贡献率。

2　结果与分析

2.1 生长与繁殖的空间差异

由表 2 可知,除地上生物量外,水葱生长与繁殖参数在不同地理空间上存在显著差异(P<0.05)。其中,密度在纳帕海最高(853±99 plant·m^{-2}),滇池最低(256±43 plant·m^{-2}),在不同采样点间存在显著差异(P<0.05);株高在异龙湖最高(209±28 cm),纳帕海最低(128±5 cm),在不同采样点间存在极显著差异(P<0.001);基径在异龙湖最高(13.3±0.5 mm),拉市海最低(6.4±1.4 mm),在不同采样点间存在极显著差异(P<0.001);结实率在异龙湖最高(71%±6%),在纳帕海最低(35%±6%),在不同采样点间存在极显著差异(P<0.01);穗生物量在异龙湖最高(457±390 g·m^{-2}),在拉市海最低(46±17 g·m^{-2}),在不同采样点间存在显著差异(P<0.05);穗生物量投资比在异龙湖最高(13.9%±3.9%),在纳帕海最低(2.2%±1.3%),在不同采样点间存在极显著差异(P<0.001);单位面积种子产量在泸沽湖最高($18.0\times10^4\pm6.6\times10^4$ grain·m^{-2}),在滇池最低($3.8\times10^4\pm0.6\times10^4$ grain·m^{-2}),在不同采样点间存在显著差异(P<0.05);单位面积活性种子数量在泸沽湖最高($16.0\times10^4\pm7.1\times10^4$ grain·m^{-2}),在

表 2 水葱在云南高原湖泊的克隆生长和有性繁殖参数特征

Table 2 Clonal growth and sexual reproduction parameters of *Schoenoplectus tabernaemontani* in different on Yunnan Plateau lakes

参数 Parameter	纳帕海 Napahai	泸沽湖 Luguhu	拉市海 Lashihai	滇池 Dianchi	杞麓湖 Qiluhu	异龙湖 Yilonghu	*F* 值 *F* value
密度 Density (plant · m^{-2})	853±99a	748±233ab	453±24bc	256±43c	581±266b	540±237b	6.101**
株高 Height (cm)	128±5b	206±15a	135±19b	155±32b	199±32a	209±28a	12.488***
基径 Diameter (mm)	11.7±1.0a	11.4±1.4a	6.4±1.4c	9.4±1.6b	13.2±0.9a	13.3±0.5a	17.470***
地上生物量 Above-ground biomass (g · m^{-2})	2 786±972a	3 069±1195a	690±175b	1 976±1204a	2 769±502a	2 960±1657a	2.217
结实率 Seed setting ratio (%)	35±6c	48±8bc	58±6ab	56±1ab	54±22b	71±6a	7.631**
穗生物量 Spike biomass (g · m^{-2})	54±16b	127±64b	46±17b	50±22b	220±94ab	457±390a	3.544*
穗生物量投资比 Spike investment ratio (%)	2.2±1.3c	4.0±0.4c	6.7±1.6bc	3.0±1.4c	7.8±2.4b	13.9±3.9a	17.686***
种子产量 Seed production (10^4 grain · m^{-2})	7.0±1.7b	18.0±6.6a	10.0±0.9b	3.8±0.6b	11.0±8.7ab	13.0±6.0ab	4.086*
活性种子 Active seed (10^4 grain · m^{-2})	1.8±09b	16.0±7.1a	9.0±1.0ab	2.7±0.3b	9.5±7.3ab	11.0±5.3a	6.012**

注：同一行不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）；*表示 $P<0.05$；**表示 $P<0.01$；***表示 $P<0.001$。

Note: Different lowercase letters on the same line indicate significant differences ($P<0.05$); * indicates $P<0.05$; ** indicates $P<0.01$; *** indicates $P<0.001$.

滇池最低（$2.7\times10^4\pm0.3\times10^4$ grain · m^{-2}），存在极显著差异（$P<0.01$）。

2.2 生长与繁殖的空间分布规律

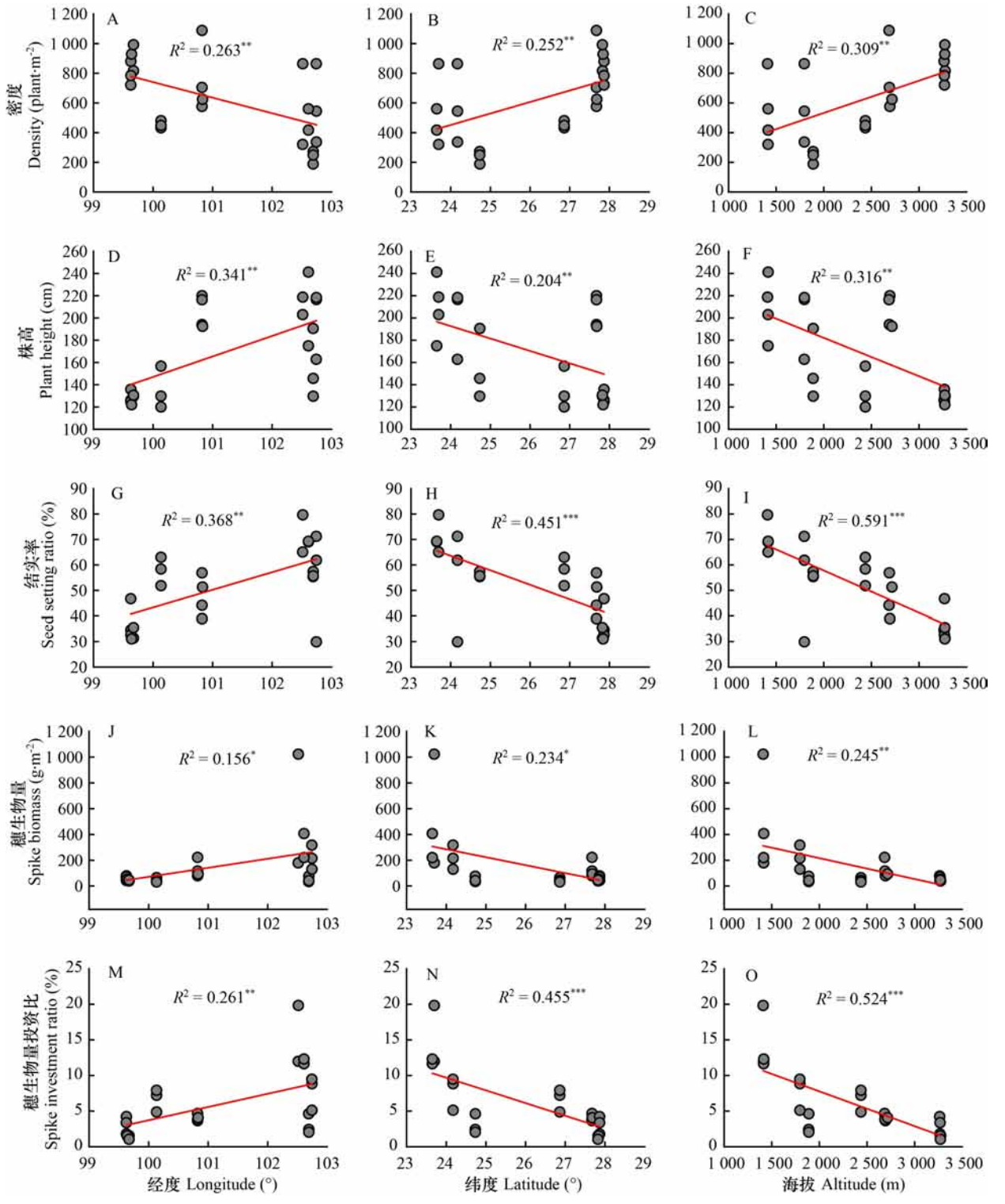
水葱种群生长和繁殖指标在地理空间上存在一定的规律性变化（图 1）。水葱密度随经度的增加而减小（图 1:A），株高、结实率、穗生物量、穗生物量投资比指标随经度的增加而增大（图 1:D,G,J,M）；密度随纬度的增加而增加（图 1:B），株高、结实率、穗生物量、穗生物量投资比等指标随纬度的增加而减小（图 1:E,H,K,N）；水葱密度随海拔的增加而增大（图 1:C），株高、结实率、穗生物量、穗生物量投资比等指标随着海拔的增加而减小（图 1:F,I,L,O）。

2.3 影响水葱生长与繁殖的因子及作用路径

水葱密度与地上生物量、种子产量呈极显著正相关（$P<0.01$），株高与穗生物量、种子产量、活性种子呈显著正相关（$P<0.05$），与穗生物量投资比呈极显著正相关（$P<0.01$），基径与穗生物量呈显著正相关（$P<0.05$），地上生物量与穗生物量、种子产量呈极显著正相关（$P<0.01$），地上生物量与种子活性呈显著正相关（$P<0.05$）（表 3）。

水葱生长和繁殖指标与区域气候因子和土壤因子存在显著相关，而与湖泊水因子无显著相关（表 4）。其中，水葱密度与年均温、最暖月均温、最冷月均温、年均降水呈极显著负相关（$P<0.01$），与土壤全氮呈极显著正相关（$P<0.01$），和全磷呈显著正相关（$P<0.05$）。植株株高与年均温、最暖月均温、最冷月均温、年均降水呈极显著正相关（$P<0.01$），水葱基径和地上生物量与本研究环境因子无显著相关性（$P>0.05$）。水葱结实率与年均温、最暖月均温、最冷月均温、年均降水呈极显著正相关（$P<0.01$），与土壤全氮呈极显著负相关（$P<0.01$）。穗生物量、穗生物量投资比与年均温、最暖月均温、最冷月均温、年均降水呈显著正相关（$P<0.05$）。水葱单位面积种子产量、活性种子与本研究环境因子无显著相关性（$P>0.05$）。

由图 2 可知，最暖月均温、最冷月均温、土壤全氮和全磷是影响水葱克隆生长的关键因子。其中，土壤全氮是影响水葱密度的主要因子，其路径系数为 0.59，贡献度为 35%；最暖月均温、最冷月均温、土壤全磷是影响水葱株高的主要因子，路径系数分别为 0.74、−0.67、0.04，其对株高的贡献度超过 90%（图 2:A）。土壤有机碳、年均降水是影响水葱有性繁殖参数的关键因子，其中，年均降水直接影响水葱结实率、穗生物量、穗生物量投资比，路径系数分别为 0.81、0.56、0.82，土壤有机碳



* 表示 $P<0.05$；**表示 $P<0.01$；***表示 $P<0.001$。

* indicates $P<0.05$; ** indicates $P<0.01$; *** indicates $P<0.001$.

图 1　云南高原湖泊水葱生长与繁殖指标随经纬度、海拔的变化规律

Fig. 1　Changes in growth and reproduction of *Schoenoplectus tabernaemontani* in lakes along with longitude, latitude, and altitude on Yunnan Plateau lakes

表 3 水葱生长与繁殖指标的相关性分析

Table 3 Pearson correlations between growth and reproduction indexes of *Schoenoplectus tabermamontani*

植物参数 Plant parameter	密度 Density (plant · m^{-2})	株高 Height (cm)	基径 Diameter (mm)	地上生物量 Above-ground biomass (g · m^{-2})	结实率 Seed setting ratio (%)	穗生物量 Spike biomass (g · m^{-2})	穗生物量投资比 Spike investment ratio (%)	种子产量 Seed production (grain · m^{-2})	活性种子 Active seed (grain · m^{-2})
密度 Density (plant · m^{-2})	1	−0.159	0.399	0.640**	−0.318	0.212	−0.092	0.546**	0.330
株高 Height (cm)	−0.159	1	0.507*	0.287	0.350	0.518*	0.526**	0.435*	0.545**
基径 Diameter (mm)	0.399	0.507*	1	0.637**	−0.010	0.470*	0.300	0.266	0.175
地上生物量 Above-ground biomass (g · m^{-2})	0.640**	0.287	0.637**	1	−0.011	0.571**	0.151	0.533**	0.427*
结实率 Seed setting ratio (%)	−0.318	0.350	−0.010	−0.011	1	0.602**	0.802**	0.408	0.511*
穗生物量 Spike biomass (g · m^{-2})	0.212	0.518*	0.470*	0.571**	0.602**	1	0.846**	0.563**	0.555**
穗生物量投资比 Spike investment ratio (%)	−0.092	0.526**	0.300	0.151	0.802**	0.846**	1	0.447*	0.508*
种子产量 Seed production (grain · m^{-2})	0.546**	0.435*	0.266	0.533**	0.408	0.563**	0.447*	1	0.961**
活性种子 Active seed (grain · m^{-2})	0.330	0.545**	0.175	0.427*	0.511*	0.555**	0.508*	0.961**	1

注：*表示 $P<0.05$；**表示 $P<0.01$。下同。

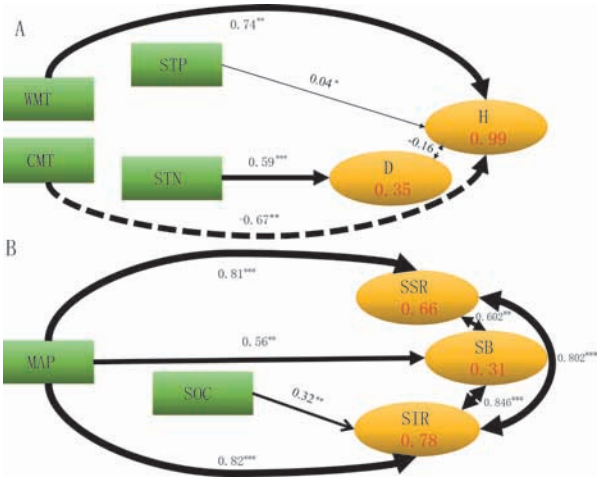
Note: * indicates $P<0.05$; ** indicates $P<0.01$. The same below.

表 4 水葱生长繁殖指标与气候、土壤、水因子的相关性分析

Table 4 Pearson correlations between growth and reproduction indexes of *Schoenoplectus tabermamontani* and climate, soil and water factors

植物参数 Plant parameter	气候因子 Climate factor				土壤因子 Soil factor			水因子 Water factor	
	年均温 MAT (℃)	最暖月均温 WMT (℃)	最冷月均温 CMT (℃)	年均降水 MAP (mm)	全氮 STN (g · kg^{-1})	全磷 STP (g · kg^{-1})	有机碳 SOC (g · kg^{-1})	全氮 WTN (mg · L^{-1})	全磷 WTP (mg · L^{-1})
密度 Density (plant · m^{-2})	−0.572**	−0.571**	−0.578**	−0.566**	0.594**	0.484*	0.381	0.376	0.100
株高 Height (cm)	0.613**	0.624**	0.598**	0.587**	−0.234	0.172	−0.107	−0.279	−0.182
基径 Diameter (mm)	0.173	0.166	0.160	0.101	0.097	0.286	0.238	0.150	−0.055
地上生物量 Above-ground biomass (g · m^{-2})	−0.028	−0.027	−0.041	−0.058	0.036	0.363	−0.025	0.305	−0.099
结实率 Seed setting ratio (%)	0.794**	0.799**	0.795**	0.814**	−0.476*	−0.388	−0.100	−0.083	0.329
穗生物量 Spike biomass (g · m^{-2})	0.536**	0.538**	0.531**	0.557**	−0.245	−0.007	−0.017	−0.067	0.061
穗生物量投资比 Spike investment ratio (%)	0.758**	0.758**	0.758**	0.789**	−0.333	−0.254	0.043	−0.155	0.175
种子产量 Seed production (grain · m^{-2})	0.170	0.188	0.159	0.198	0.152	0.302	0.101	0.054	0.287
活性种子 Active seed (grain · m^{-2})	0.355	0.374	0.345	0.386	−0.042	0.230	−0.061	−0.039	0.287

直接影响水葱穗生物量投资比，其路径系数为0.32。年均降水对结实率和穗生物量的贡献度为66%和31%，年均降水和土壤有机碳对穗生物量投资比的贡献度为78%(图2:B)。



A. 生长特征的影响因子及影响途径；**B**. 有性繁殖特征的影响因子及影响途径。箭头旁边数字代表标准化的路径系数，红色数字为解释度，实线表示正相关，虚线表示负相关；*表示 $P<0.05$；**表示 $P<0.01$；***表示 $P<0.001$。**D**. 密度；**H**. 株高；**SSR**. 结实率；**SB**. 穗生物量；**SIR**. 穗生物量投资比；**STP**. 土壤全磷；**STN**. 土壤全氮；**WMT**. 最暖月均温；**CMT**. 最冷月均温；**MAP**. 年均降水；**SOC**. 土壤有机碳。

A. The influencing factors and influencing ways of growth characteristics. **B**. The influencing factors and influencing ways of sexual reproduction characteristics. The standardized path coefficients are shown beside the arrows. The red numbers are explanatory degrees. The solid lines indicate positive influences, and the dotted lines indicate negative influences; * indicates $P<0.05$; ** indicates $P<0.01$; *** indicates $P<0.001$. **D**. Density; **H**. Height; **SSR**. Seed setting ratio; **SB**. Spike biomass; **SIR**. Spike investment ratio; **STP**. Soil total phosphorus; **STN**. Soil total nitrogen; **WMT**. Mean temperature of the warmest month; **CMT**. Mean temperature of the coldest month; **MAP**. Mean annual precipitation; **SOC**. Soil organic carbon.

图 2　云南高原湖泊关键因子对水葱生长与繁殖特征的影响路径

Fig. 2　Relational graphs of the path analysis linking growth and reproductive characteristics of *Schoenoplectus tabernaemontani* and key factors in Yunnan Plateau lakes

3　讨论与结论

植物生长和繁殖性状能够反映其对空间资源的利用和适应策略（陈玉宝等，2014）。本研究发现，水葱克隆生长（除地上生物量）和有性繁殖参数在不同分布空间存在较大差异，既是所在湖泊气候、土壤、水等环境因子协同作用的结果，也是水葱生长和繁殖策略对不同环境因子响应的体现。与前人对文冠果生长性状和水葱种子繁殖的研究结果一致（王志保等，2018b；张毅等，2019）。但是，不同研究地水葱地上生物量无显著差异，表明湖滨带植物生物量不受地理环境条件的影响，其生物产量适用于最终产量恒定定律。

株高等植物性状的改变是植物长期适应气候环境的结果（Wright et al.，2005）。本研究发现，水葱在滇西北地区有着较小的植株个体，其有性繁殖特征表现出显著的纬度和海拔地带性分布规律，这与植物生境的水热条件密切相关。通常情况下，高纬度高海拔地区的低温会抑制根系对水分及营养物质的吸收，同时高紫外线辐射会降低植物对资源利用效率，进而限制植物生长（Körner，2006；Peñuelas et al.，2009）。从滇中地区到滇西北地区，水葱穗生长指标参数逐渐减小。在高海拔、高纬度地区，低温环境使得植物生长期缩短，植物碳积累降低，促使植物降低了各部分的生物量产量（Méndez & Traveset，2003；王志保等，2018b）。因此，随着海拔、纬度的增加，植物体供应种子繁殖的能量也相应降低，使得植物的穗生长、种子产量等均呈现降低的趋势，这可能是水葱生长与繁殖特征随经纬度、海拔变化呈地带性分布的主要原因。

克隆生长和有性繁殖是植物生活史策略中的两个重要方面，在不同的环境条件下植物不同性状间的关系反映了这些性状的功能联系。本研究中，水葱克隆生长与有性繁殖密切相关。水葱有性繁殖特征大小对植物个体大小表现出较强的依赖性，植物生长性状株高和基径与植物对光的捕获能力、抗机械损伤能力以及对有性繁殖器官的支持能力密切相关。主要表现为株高越高越容易使植物伸展获得更多的光照，但抗机械损伤能力就越弱；基径越大植物的抗机械损伤能力越强，同时能支持更粗的维管结构（Sun et al.，2016），在植物良好生长的同时有性繁殖性状得到促进。随着植物个体的增大，单株植物种子总数及种子总重量会增加（Susko & Lovett-Doust，1998），这可以解释为植物个体越大，获得的总资源量越多，投入到有性繁殖部分的资源量会增加。

本研究中，水葱株高与温度因子密切相关，表明水葱克隆生长主要受温度因子的影响。这是因为温度的升高可以提高植物的光合效率、抑制植物的呼吸作用，使植物生长得到促进，同时，在较

高温度下,植物生长季延长,升温加速了有机质的分解和土壤矿化,植物提高了对土壤养分的利用效率,从而促进植物的营养生长和碳积累(杨兵等,2010)。本研究结果与增温条件下植物根茎长度变化的研究结果一致(Li et al., 2014),有研究者采用 OTC 增温技术对极地物种 *Catex bigelowii* 的研究表明温度升高能使有性植株的株高增加(Stenström et al., 1997)。然而,在以往的研究中发现温度增加对植物克隆生长有抑制作用,存在这种差异的原因可能是非生物应激条件下植物对资源的强烈竞争产生了负面影响。另外,本研究结果显示水葱在降水量高的湖泊有更高的有性繁殖投资,而水体氮磷含量对植物生长和繁殖的影响不显著,这表明丰富的降水能促进挺水植物的有性繁殖,这可能与降水对湖泊湖滨带水淹情况的影响有关。由于挺水植物生境的特殊性,因此水作为湿地生态系统的三大要素之一,通常包括水量和水质两个方面。对于云南高原湖泊而言,其径流主要由降水补给(杨岚和李恒,2010),水葱花果期为 6—9 月,而云南雨季集中在 5—10 月,且降水量从南到北(纬度增加)呈递减的趋势(晏红明等,2018),其湖滨带水位情况发生改变。已有研究发现,地面水位变为零不利于生葱生长(赵湘江等,2015);香蒲在 0 ~ 0.5 m 水深范围内,随着水深的增加,有性繁殖比例增大(Sorrell et al., 2012)。本研究发现,土壤养分含量对植物生长和繁殖有重要影响,其中土壤氮含量对植物的克隆生长影响较大,这是因为植物主要从土壤中获取养分,而氮元素能促进细胞的分裂和增长,植物叶面积增长快,有更多的叶面积来进行光合作用,进而促进植物的克隆生长,本研究结果与增加土壤养分对植物个体生长的研究一致(Nasto et al., 2019)。本研究通过对植物克隆生长和有性繁殖特征的环境影响因子研究发现,其贡献度表现为气候因子>土壤因子>水因子。这表明在云南高原湖泊,相对于土壤、水等环境因子,区域气候因子(最暖月均温、最冷月均温和年均降水)是影响云南高原湖泊湖滨带植物水葱生长和繁殖的主要环境因子。因此,区域气候条件在高原湖泊植物生长和繁殖过程中影响最大,土壤养分含量对植物生长和繁殖有着显著影响,在未来环境变化下水环境因子对高原湖泊植物繁殖特征的影响需要进一步深入研究。

参考文献:

BLOOR JMG, PICHON P, FALCIMAGNE R, et al., 2010. Effects of warming, summer drought, and CO_2 enrichment on aboveground biomass production, flowering phenology, and community structure in an upland grassland ecosystem [J]. Ecosystems, 13(6): 888-900.

CHEN YB, WANG CS, GAO WT, et al., 2014. Study on phenology and growth rhythm of *Aconitum kusnezoffii* [J]. J Jilin Agric Sci Technol Univ, 23(2): 4-6. [陈玉宝, 王重舒, 高文韬, 等, 2014. 北乌头物候及生长节律研究 [J]. 吉林农业科技学院学报, 23(2): 4-6.]

FABBRO T, KÖRNER C, 2004. Altitudinal differences in flower traits and reproductive allocation [J]. Flora, 199(1): 70-81.

GONG HD, YU T, ZHANG X, et al., 2019. Effects of boundary constraints and climatic factors on plant diversity along an altitudinal gradient [J]. Glob Ecol Conserv, 19: e00671.

JIANG ZH, MA KM, 2015. Environmental filtering drives herb community composition and functional trait changes across an elevational gradient [J]. Plant Ecol Evol, 148(3): 301-310.

KÖRNER C, 2006. Significance of temperature in plant life [J]. Plant Growth Clim Chang, 1: 48-69.

KÖRNER C, 2007. The use of 'altitude' in ecological research [J]. Trend Ecol Evol, 22(11): 569-574.

KREYLING J, BEIERKUHNLEIN C, ELMER M, et al., 2008. Soil biotic processes remain remarkably stable after 100-year extreme weather events in experimental grassland and heath [J]. Plant Soil, 308(1): 175-188.

LI Z, LIN J, ZHANG T, et al., 2014. Effects of summer nocturnal warming on biomass production of *Leymus chinensis* in the Songnen Grassland of China: from bud bank and photosynthetic compensation [J]. J Agron Crop Sci, 200(1): 66-76.

LI YF, 2015. Effects of water levels on the growth and reproductive characteristics of dominant plants in the Dongting Lake wetlands [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology: 33-40. [李亚芳, 2015. 洞庭湖湿地克隆植物繁殖分配对水位的响应 [D]. 长沙: 中南林业科技大学: 33-40.]

LIU WL, YANG J, SUN J, et al., 2016. Species turnover of wetland vegetation in northeastern China: Disentangling the relative effects of geographic distance, climate, and hydrogeomorphology [J]. Flora, 220: 1-7.

LIU ZY, ZHANG XN, LI LP, et al., 2017. Influence of simulated warming on light and CO_2 utilization capacities of lakeside dominant plants in a typical plateau wetland in northwestern Yunnan [J]. Acta Ecol Sin, 37(23): 7821-7832. [刘振亚, 张晓宁, 李丽萍, 等, 2017. 大气增温对滇西北高原典型湿地湖滨带优势植物的光和 CO_2 利用能力的影响 [J]. 生态学报, 37(23): 7821-7832.]

MÉNDEZ M, TRAVESET A, 2003. Sexual allocation in single-flowered hermaphroditic individuals in relation to plant and

flower size [J]. Oecologia, 137(1): 69-75.
MOLES AT, WARTON DI, WARMAN L, et al., 2009. Global patterns in plant height [J]. J Ecol, 97(5): 923-932.
NASTO MK, WINTER K, TURNER BL, et al., 2019. Nutrient acquisition strategies augment growth in tropical N_2-fixing trees in nutrient-poor soil and under elevated CO_2 [J]. Ecology, 100(4): e02646.
PEÑUELAS J, RUTISHAUSER T, FILELLA I, 2009. Phenology feedbacks on climate change [J]. Science, 324(5929): 887-888.
ROA-FUENTES LL, CAMPO J, PARRA-TABLA V, 2012. Plant biomass allocation across a precipitation gradient: an approach to seasonally dry tropical forest at Yucatán, Mexico [J]. Ecosystems, 15(8): 1234-1244.
SANG WG, 2009. Plant diversity patterns and their relationships with soil and climatic factors along an altitudinal gradient in the middle Tianshan Mountain area, Xinjiang, China [J]. Ecol Res, 24(2): 303-314.
SHERRY RA, ZHOU XH, GU SL, et al., 2007. Divergence of reproductive phenology under climate warming [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 104(1): 198-202.
SORRELL BK, TANNER CC, BRIX H, 2012. Regression analysis of growth responses to water depth in three wetland plant species [J]. AoB Plants, 43: 1-13.
STENSTRÖM M, GUGERLI F, HENRY GHR, 1997. Response of *Saxifraga oppositifolia* L. to simulated climate change at three contrasting latitudes [J]. Glob Chang Biol, 3(S1): 44-54.
SUN M, SU T, ZHANG SB, et al., 2016. Variations in leaf morphological traits of *Quercus guyavifolia* (Fagaceae) were mainly influenced by water and ultraviolet irradiation at high elevations on the Qinghai-Tibet Plateau, China [J]. Int J Agric Biol, 18(2): 266-273.
SUSKO DJ, LOVETT-DOUST L, 1998. Variable patterns of seed maturation and abortion in *Alliaria petiolata* (Brassicaceae) [J]. Can J Bot, 76(10): 1677-1686.
SVENNING JC, SANDEL B, 2013. Disequilibrium vegetation dynamics under future climatechange [J]. Amer J Bot, 100(7): 1266-1286.
TANG WX, MENG FQ, ZHANG Y, et al., 2018. Comparison of different soil organic carbon determination methods [J]. Soils, 50(3): 552-557. [唐伟祥, 孟凡乔, 张煜, 等, 2018. 不同土壤有机碳测定方法的比较 [J]. 土壤, 50(3): 552-557.]
TANG ZY, FANG JY, 2004. A review on the elevational patterns of plant species diversity [J]. Biodivers Sci, 12(1): 20-28. [唐志尧, 方精云, 2004. 植物物种多样性的垂直分布格局 [J]. 生物多样性, 12(1): 20-28.]
WALKER JJ, DE BEURS KM, WYNNE RH, 2014. Dryland vegetation phenology across an elevation gradient in Arizona, USA, investigated with fused MODIS and Landsat data [J]. Remote Sens Environ, 144: 85-97.
WANG Y, WANG WQ, WANG QK, et al., 2012. Effects of soil nutrients on reproductive traits of invasive and native annual Asteraceae plants [J]. Biodivers Sci, 29(1): 1-9. [王亚, 王玮倩, 王钦克, 等, 2021. 土壤养分对菊科一年生入侵种和本地种繁殖性状的影响 [J]. 生物多样性, 29(1): 1-9.]
WANG ZB, SUN M, LIU ZY, et al., 2018a. Response of seed reproduction of two dominant lakeside species to experimental warming in a typical plateau wetland in Northwestern Yunnan Plateau [J]. Chin J Appl Ecol, 29(3): 696-704. [王志保, 孙梅, 刘振亚, 等, 2018a. 滇西北高原典型湿地湖滨带优势植物种子繁殖对增温的响应 [J]. 应用生态学报, 29(3): 696-704.]
WANG ZB, TIAN K, GUAN DX, et al., 2018b. Responses of seed reproduction traits of a wetland dominant plant *Schoenoplectus tabernaemontani* to environmental changes in Hengduan Mountains [J]. J NE For Univ, 46(3): 12-15. [王志保, 田昆, 管东旭, 等, 2018b. 横断山区湿地优势植物水葱种子繁殖性状对环境变化的响应 [J]. 东北林业大学学报, 46(3): 12-15.]
WRIGHT IJ, REICH PB, CORNELISSEN JHC, et al., 2005. Assessing the generality of global leaf trait relationships [J]. New Phytol, 166(2): 485-496.
XIAO DR, YAN PF, ZHAN PF, et al., 2019. Temperature variations in simulated warming alter photosynthesis of two emergent plants in plateau wetlands, China [J]. Ecosphere, 10(5): e02729.
YAN HM, LI QQ, WANG DQ, 2018. Temporal and spatial characteristics of rainy season in Yunnan and its relationship with atmospheric circulation [J]. J Trop Meteorol, 34(1): 12-22. [晏红明, 李清泉, 王东阡, 2018. 云南雨季的时空特征及与大气环流变化的关系 [J]. 热带气象学报, 34(1): 12-22.]
YANG B, WANG JC, ZHANG YB, 2010. Effect of long-term warming on growth and biomass allocation of *Abies faxoniana* seedlings [J]. Acta Ecol Sin, 30(21): 5994-6000. [杨兵, 王进闯, 张远彬, 2010. 长期模拟增温对岷江冷杉幼苗生长与生物量分配的影响 [J]. 生态学报, 30(21): 5994-6000.]
YANG L, LI H, 2010. Yunnan wetlands [M]. Beijing: China Forestry Press: 14-15. [杨岚, 李恒, 2010. 云南湿地 [M]. 北京: 中国林业出版社: 14-15.]
ZHANG X, HE X, GAO J, et al., 2019. Latitudinal and climate effects on key plant traits in Chinese forest ecosystems [J]. Glob Ecol Conserv, 17: e00527.
ZHANG Y, AO Y, LIU JF, et al., 2019. Differences in growth characters of *Xanthoceras sorbifolium* from different distribution areas and analysis on its correlation with geographical-climatic factors [J]. J Plant Resour Environ, 28(3): 44-50. [张毅, 敖妍, 刘觉非, 等, 2019. 不同分布区文冠果的生长性状差异及其与地理-气候因子的相关性分析 [J]. 植物资源与环境学报, 28(3): 44-50.]
ZHAO XJ, TIAN K, YUE HT, 2015. Growth stress of *Scirpus tabernaemontani* of dominant plant in plateau wetland lakeshore to water level fluctuating [J]. Guihaia, 35(3): 303-308. [赵湘江, 田昆, 岳海涛, 2015. 水位变化对高原湿地湖滨带优势植物水葱的生长胁迫 [J]. 广西植物, 35(3): 303-308.]

(责任编辑　蒋巧媛)

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1136-1149 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202103057

王陈里, 崔婉哲, 赵飘, 等. 滇池湖滨带优势湿地挺水植物分解特征研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1136-1149.
WANG CL, CUI WZ, ZHAO P, et al. Decomposition characteristics of common wetland emergent plants in Dianchi lakeside [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1136-1149.

滇池湖滨带优势湿地挺水植物分解特征研究

王陈里[1], 崔婉哲[1], 赵 飘[1], 肖德荣[1], 王 行[1,2,3*]

(1. 西南林业大学 湿地学院/国家高原湿地研究中心, 昆明 650224; 2. 浙江大学 环境与资源学院 环境科学研究所, 杭州 310058; 3. 中国科学院城市环境研究所, 福建 厦门 361021)

摘 要: 湿地挺水植物是维持湿地生态系统功能的重要载体,其分解过程是物质能量循环的必要环节。为了更全面地了解湿地凋落物的分解特征,该研究选取九种滇池湖滨带优势湿地挺水植物,采集生长旺季、立枯阶段、倒伏阶段、沉水阶段共4个阶段的叶枯落物样品,在3.5 a的培养期内测定了叶枯落物分解速率及3大类指标(16种理化指标),分析了分解速率和理化指标的动态变化及其相关性、物种种类与分解阶段对各指标变异的贡献度。结果表明:(1)分解速率(k)范围为0.43 ~ 1.41 a^{-1},其中茭草分解最快(k=1.41 a^{-1}),再力花分解最慢(k=0.43 a^{-1})。(2)物理性状中的比叶面积、穿刺力度、干物质量在培养期内分别呈"持续上升""持续下降"和"先升后降"的变化趋势;养分元素指标主要呈现"释放-富集""富集-释放"和"净释放"3种变化模式;涉碳化合物指标中,木质素表现为"富集-释放""富集-释放-富集"和"富集"模式,纤维素与半纤维素表现为"富集-释放"的变化规律。(3)叶枯落物分解速率与初始物理指标(比叶面积、穿刺力度、干物质量)和初始涉碳化合物指标(纤维素、半纤维素)的相关性最高。(4)13种指标在培养期内的动态变化由分解阶段主导,3种指标由物种种类主导。其中,比叶面积、穿刺力度、干物质量、碳、钾、钙、硫、铁等在不同植物的分解过程中表现出相似的规律,可作为研究挺水植物枯落物分解的关键指示性指标。该研究表明,不同植物的分解速率不同,物理和涉碳化合物指标是调控分解速率的主要因子;通过揭示不同湿地挺水植物的分解规律,为进一步开展枯落物分解预测提供重要理论参考。

关键词: 挺水植物, 分解动态, 湖滨带, 枯落物, 生境

中图分类号: Q945 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-3142(2022)07-1136-14

Decomposition characteristics of common wetland emergent plants in Dianchi lakeside

WANG Chenli[1], CUI Wanzhe[1], ZHAO Piao[1], XIAO Derong[1], WANG Hang[1,2,3*]

(1. *Wetlands College, Southwest Forestry University/National Plateau Wetlands Research Center*, Kunming 650224, China; 2. *College of Environmental & Resource Sciences, Zhejiang University*, Hangzhou 310058, China; 3. *Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences*, Xiamen 361021, Fujian, China)

Abstract: Wetland emergent plants are important carriers for maintaining the functions of wetland ecosystems, and the decomposition process is a necessary part of the material energy cycle. In order to fully understand the decomposition characteristics of wetland litter, we selected nine dominant wetland emergent plants in Dianchi lakeside and collected the

收稿日期: 2021-05-20

基金项目: 国家自然科学基金(41877346) [Supported by National Natural Science Foundation of China (41877346)]。

第一作者: 王陈里(1994-),硕士研究生,主要从事全球变化与湿地环境演变研究,(E-mail)517647379@qq.com。

*通信作者: 王行,博士,副教授,主要从事全球变化与湿地环境演变研究,(E-mail)hwang17@163.com。

leaf litter samples in four stages from living to death, including vigorous growth season, standing dead stage, lodging stage, and submerged stage. We measured the leaf litter decomposition rate and sixteen physical and chemical indexes during the 3.5 a period. We analyzed the dynamic changes of decomposition rate and physical and chemical indicators, as well as their correlation, and we calculated the contribution of species and decomposition stages to the variation of each indicators. The results were as follows: (1) Decomposition rates (k value) ranged from 0.43 a^{-1} to 1.41 a^{-1}, among which *Zizania latifolia* decomposed the fastest (k = 1.41 a^{-1}), *Thalia dealbata* decomposed the slowest (k = 0.43 a^{-1}). (2) Specific leaf area, puncture strength and dry matter amount showed a trend of "continuous increase" "continuous decrease" and "first increase and then decrease", respectively. Nutrient element indexes mainly presented "release-enrichment" "enrichment-release" and "net release" modes. Among the key carbon-related indexes, lignin showed the trend in "enrichment-release" "enrichment-release-enrichment" and "enrichment", respectively. Cellulose and hemicellulose showed "accumulation-release" changes. (3) Leaf litter decomposition rate had the highest correlation with initial physical indexes (i.e., specific leaf area, puncture strength, amount of dry matter) and initial carbon-related indexes (i.e., cellulose, hemicellulose). (4) Dynamic changes of thirteen indexes during the incubation period were mainly dominated by the decomposition stage, and three indexes were dominated by species. Among them, specific leaf area, puncture strength, amount of dry matter, carbon, potassium, calcium, sulfur, iron and other indexes have consistency in the decomposition dynamics of different emergent plants. Therefore, it can be used as key indexes for emergent plant litter decomposition. This study indicates that the decomposition rates of different plants are different, and physical and carbon-related compound indicators are the main factors regulating the decomposition rate, the decomposition law of wetland emergent plants is revealed to provide crucial theoretical reference for further predicting litter decomposition of wetland emergent plants.

Key words: emergent plants, decomposition of dynamic, lakeside, litter, habitat

湿地挺水植物是湿地生态系统中的主要组成部分,在净化水质、维持生态系统稳定等方面发挥着重要作用(Moore et al., 2010)。湿地挺水植物的分解过程是湿地生态系统物质循环和能量流动的重要环节,它与森林或沙漠植被枯落物分解相比具有显著不同的分解特征(Berg & Mcclaugherty, 1989)。挺水植物衰老后不直接与土壤或水体接触,而是在大气界面保持一定时间的立枯状态,随后因风蚀破碎或重物压倒进入倒伏阶段,经过一段时间枯落物进入水体后进入沉水阶段,表现出较为明显的阶段性分解特征(平云梅,2018;展鹏飞等,2019)。

挺水植物枯落物不同阶段的分解特征受基质质量、养分元素和不同生境及物种等因素影响表现出明显差异。张新厚和宫超(2013)研究了挺水植物的立枯分解,发现环境因子(温度、水分等)和基质质量是影响其立枯分解过程的关键因素。魏江明等(2016)发现,乌梁素海芦苇枯落物的分解速率和营养元素含量变化受其自身质量和环境因子共同影响,且环境因子(温度、溶解氧、pH 值)与枯落物分解速率及元素释放动态显著相关。在闽江河口湿地枯落物立枯与倒伏阶段的分解动态研究中,曾从盛等(2012)指出立枯分解是湿地植物的重要分解阶段,在此阶段下的植物枯落物氮含量略有下降,而倒伏阶段逐渐上升,同时分解过程中磷含量的波动较大。叶枯落物分解在干旱生境下,受微生境(林下、林窗)影响,林窗分解速率大于林下,且基质质量与土壤湿度对分解过程起主导作用(杨晶晶等,2019)。同时,叶片的化学属性也对枯落物的分解发挥着重要作用,如阔叶物种碳氮比小,初始氮含量高,相比于针叶物种,其枯落物分解较快(王清奎等,2007)。同时,部分研究表明,总养分含量(单个养分浓度之和)是影响凋落率的一个重要因素(Zhang et al., 2008;Prescott, 2010)。综合上述研究发现:(1)目前针对挺水植物分解过程中某一阶段的研究较丰富,而有关湿地植物枯落物整体分解特征的研究相对匮乏,特别是关于湿地挺水植物枯落物各分解阶段中不同指标的变化规律缺少系统的探索;(2)鉴于分解生境与叶片基质质量对湿地挺水植物枯落物分解的不同影响,需要进一步对多物种枯落物分解中指标变化的普适性规律进行深入研究,从而量化分解生境与物种差异对叶枯落物分解特征的贡献度大小。

本文在西南第一大湖泊滇池选取水葱(*Schoenoplectus tabernaemontani*)、茭草(*Zizania latifolia*)、再力花(*Thalia dealbata*)、花叶芦竹(*Arundo donax* var. *versicolor*)、荷叶(*Nelumbo nucifera*)、芦苇(*Phragmites australis*)、芦竹(*Arundo donax*)、纸莎草(*Cyperus papyrus*)、芒草(*Miscanthus sinensis*)共 9 种常见湿地挺水植物作为研究对象。结合挺水植物分解特征,将其分为 3 个分解阶段:立枯阶段、倒伏阶段、沉水阶段。并采集生长旺季期植物叶片作为分解阶段的对照。首先,测定了枯落物的分解速率及不同分解阶段中的物理指标、养分元素指标、涉碳化合物指标,共 3 大类、16 个指标;其次,分析了枯落物初始基质质量与分解速率的相关性,旨在揭示挺水植物分解过程中初始基质质量对分解过程的影响;最后,为探究不同指标在物种及分解阶段中的变异程度,我们利用 Adonis 检验进一步分析了物种种类与分解阶段对各指标变异的贡献度,并通过变异系数 R^2 来表示各指标在不同物种及生境中的变异程度,进而筛选出具有明显生境变化规律的指标。对筛选出的指标,进行了多项式拟合,得到不同指标在分解过程中的拟合模型,为进一步预测湿地挺水植物枯落物分解随不同生境的动态变化规律提供参考。

1 研究区概况与研究方法

1.1 研究区概况

滇池位于昆明西南,是中国第六大淡水湖泊,地理坐标为 102°36′—102°47′ E、24°40′—25°02′ N。滇池湖体呈南北向分布,湖面海拔高度1 887.4 m,总面积为 311.3 km^2。研究区域为亚热带高原季风气候,日照长霜期短,年均温为 14.4 ℃,年均降水量为1 036.1 mm。经过前期调查可知,研究区域优势挺水植物群落包括水葱、茭草、再力花、花叶芦竹、荷叶、芦苇、芦竹、纸莎草、芒草 9 类。

1.2 试验设计

1.2.1 凋落物分解试验 于 2015 年 10 月植物生长末期,在滇池湖滨带收集九种植物的地上部分,自然风干一周后于 65 ℃烘箱内杀青并培养 48 h 至恒量。取出后将植物样品分别放入不同分解袋(孔径为 1 mm,规格为 10 cm×15 cm 的尼龙袋)中,每种植物设置 6 个生物学重复,每个重复装取 4 袋(每袋精确放入 5.00 g 植物样品),共 216 袋(9 种植物×6 个重复×4 袋)。将滇池湖滨带挺水植物作为参照母体,采用凋落物分解袋法,模拟其分解过程(图 1)。立枯阶段(分解第一年):2015 年 12 月,将分解袋通过 PVC 管悬于空中 1.2 m 处;倒伏阶段(分解第二年):2016 年 12 月,将分解袋中放入乒乓球悬浮于水中;沉水阶段(分解第三年):2017 年 12 月,将分解袋掩埋在 5 cm 深度的底泥(原位水底沉积物)中。本实验主要用于测定质量残留率从而计算分解速率。

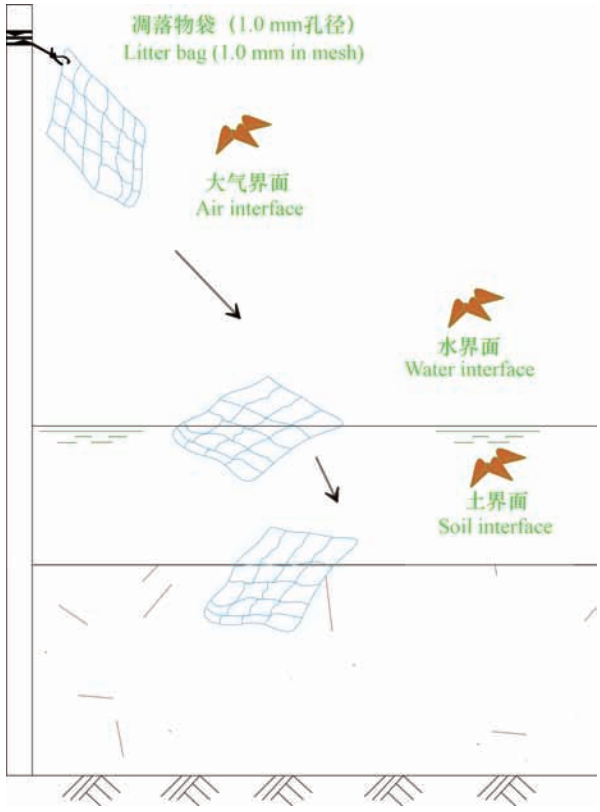


图 1 不同界面中凋落物袋放置示意图

Fig. 1 Litter bags in different interfaces

1.2.2 植物不同分解阶段模拟试验 在昆明滇池湿地生态系统定位研究站建立有 3 个原位研究单元,每个研究单元为长 3 m、宽 2 m、深 0.5 m 的长方形水池。2015 年 4 月在滇池挖取九种植物的克隆单株,选取长势基本相似的植物为试验对象。将植物分别移植到直径 35 cm、高 40 cm 的塑料盆中进行培养,且塑料盆内加入 30 cm 厚的原位水底沉积物。每种植物每个研究单元放置 6 盆,共计 162 盆(9 种植物×3 个单元×6 个重复)。各研究单元引入原环境水体用以模拟其原生淹水环境,

最大程度还原 9 种植物生长及分解的原生环境。植物培养期为 3.5 a，在该培养期内，当年死亡的地上部分叶枯落物陆续经过立枯、倒伏、沉水 3 个阶段。本实验主要用于理化指标测定。

1.3 测定项目与方法

本研究主要测定两类指标，一类为分解速率，另一类为理化性质。针对分解速率，在测定凋落物残留质量时，分阶段回收凋落物袋。当野外植物处于生长旺季期时，每种植物回收 6 个凋落物袋（6 个生物学重复）测定初始质量，随着植物母体进入立枯、倒伏、沉水阶段，依次回收相同数量的凋落物袋并测定残留质量（每种植物共回收 24 个凋落物袋），并通过各个阶段的残留质量计算分解速率。

针对理化性质，于 2018 年 10 月底，从研究单元中采集试验池内处于生长旺盛期阶段（2018 年鲜样）、立枯阶段（2017 年死亡）、倒伏阶段（2016 年死亡）、沉水阶段（2015 年死亡）的植物叶片。在每一个研究单元内，随机选择 2 盆植被，共计 6 个生物学重复。将样品装入 8 号聚乙烯自封袋中，用以测定 3 大指标，包括物理指标（比叶面积、穿刺力度、干物质量）、养分元素指标（碳、氮、磷、钾、钙、镁、硫、铁、锰的含量）和涉碳化合物指标（纤维素、半纤维素、木质素、灰分），共计 216 个样品（9 种植被×3 个单元×2 盆×4 个生长阶段）。在测定 3 大指标时，将采集的样品除去杂质与表面水分，扫描测定叶面积。取部分样品于 65 ℃烘箱中烘干 48 h 后，再次称重以测得植物干物质量，干物质量与叶面积相比得到比叶面积。烘干后的样品粉碎过筛用于分析测定总有机碳、全氮、全磷、钾、钙、镁、硫等元素指标含量。剩余样品留取部分进行烘干，用来测定纤维素、半纤维素、木质素、灰分含量。其中，纤维素含量测定采用硫酸蒽酮比色法，半纤维含量测定采用盐酸水解法，木质素含量测定采用硫代硫酸钠滴定法（熊素敏等，2005），灰分测定采用焚烧法。叶片初始成分见表 1。

1.4 数据处理

本文基于负指数衰减模型（Olson，1963），来表征枯落物的分解过程。Olson 负指数模型是拟合枯落物分解速率的经典模型，公式如下：

$$\frac{M_t}{M_0} = e^{-kt} \tag{1}$$

式中：M_t 为 t 年分解后的残余干重（g）；M_0 为初始枯落物干重（g）；k 为枯落物分解速率（a^{-1}）（李成道等，2019；赵红梅等，2020）。

本研究同时估算了枯落物 50%分解时间 $t_{0.5}$ 和 95%分解时间 $t_{0.95}$，计算公式如下：

$$t_{0.5} = \frac{\ln_{0.5}}{-k} \tag{2}$$

$$t_{0.95} = \frac{\ln_{0.05}}{-k} \tag{3}$$

为深入探讨初始基质质量对分解速率的影响，我们对枯落物分解速率指数与枯落物初始基质质量进行了 Pearson 相关性分析。利用 Adonis 检验分析了不同分组对于样品的解释度（R^2 值），R^2 越大解释度越高（Chan et al.，2016；Xu et al，2017）。为能够进一步阐释挺水植物叶枯落物分解过程中 16 种指标的变异原因，建立了以下公式：

$$RC = R^2_{分解阶段} : R^2_{物种} \tag{4}$$

式中，RC（relative contribution）为阶段贡献度。当 RC 小于 1 时，则为分解阶段对各指标变异的贡献度大，反之则为物种对各指标变异的贡献度大。将 RC>3 的值筛选出来，进行多项式拟合，从而得到这些指标随分解阶段变化的拟合方程。

2　结果与分析

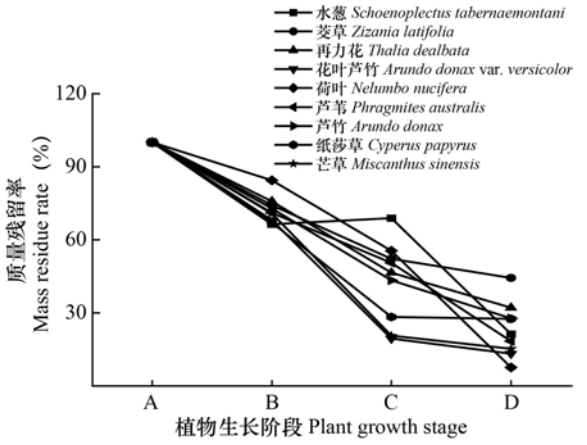
2.1 枯落物质量损失特征

9 种挺水植物在分解过程中的质量残留率变化规律表现一致，随分解时长的延长，枯落物质量残留率均不断减少（图 2）。对比不同分解阶段的质量残留率均值可知：立枯阶段（72.3%）> 倒伏阶段（42.8%）> 沉水阶段（23.1%）。其中，倒伏阶段质量残留率较立枯阶段下降 29.5%，沉水阶段质量残留率较倒伏阶段下降 19.7%，表明从立枯到倒伏阶段的枯落物分解速率更快。

由表 2 可知，Olson 负指数模型拟合的九种挺水植物的 R^2 范围为 0.725 ~ 0.998，k 值范围为 0.43 ~ 1.41 a^{-1}。其中，茭草分解最快（k = 1.41 a^{-1}），再力花分解最慢（k = 0.43 a^{-1}）。茭草分解 50%与 95%所需时间为 0.49 a 与 2.13 a，而再力花分解所需时间最长，其分解至 50%与 95%所需时间分别为 1.62 a 和 6.98 a。

2.2 枯落物物理指标动态变化

9 种植物叶枯落物的比叶面积均呈不断上升



A. 植物生长旺季; **B**-**D** 为植物分解阶段。**B**. 立枯阶段; **C**. 倒伏阶段,**D**. 沉水阶段。下同。

A. Vigorous growth season; **B** - **D**. Plants decomposition stages. **B**. Standing dead stage; **C**. Lodging stage; **D**. Submerged stage. The same below.

图 2 凋落叶分解过程中枯落物的质量残留率变化特征

Fig. 2 Variation characteristics of mass residue rate during decomposition of withered leaf litters

的变化趋势,且在沉水阶段达到最大值(图 3)。其中最大值为水葱 369 $cm^2 \cdot g^{-1}$,最小值为纸莎草 56 $cm^2 \cdot g^{-1}$。穿刺力度与比叶面积变化趋势相反,总体呈持续下降趋势,且纸莎草在不同阶段均为最大值。大多数植物叶枯落物的干物质量呈先升后降的变化模式,在立枯阶段达到最大值,其中芦苇的干物质量最高(94.9%)。

2.3 枯落物养分元素动态变化

大量、中量和微量养分元素在不同植物之间呈现出多种变化模式(图 4)。大量元素中,碳在不同分解阶段中的变化不明显。各类植物(除芦苇外)的氮含量与磷含量在生长旺季至立枯阶段的变化为“释放”模式,在倒伏和沉水阶段,不同的物种呈现出不同的变化模式。各类植物(除水葱外)的钾含量呈现出“释放-富集-释放”“释放-富集”两种模式。水葱的钾含量显著高于其余物种,其初始钾含量为 61.2 $mg \cdot g^{-1}$。

中量元素中,各类植物的镁含量变化多样。各类植物(除荷叶外)的钙含量在整个分解阶段中总体呈“富集-释放”模式;荷叶的钙含量呈“释放-富集-释放”,且在整个分解阶段明显高于其余物种,在倒伏阶段达到 121.0 $mg \cdot g^{-1}$。在各类植物的硫含量动态变化中,“富集-释放”和“释放-富集-释放”为两种主要的变化模式。

微量元素中,各类植物(除花叶芦竹外)的铁含量呈现“富集”模式,且在沉水阶段达到最大值,花叶芦竹的铁含量为“富集-释放”,在倒伏阶段达到最大值。各类植物的锰含量变化模式差异较大,其中再力花的锰含量最高,呈“富集-释放”模式;荷叶的锰含量呈“释放-富集”模式;水葱的锰含量呈“富集”模式;其余植物的锰含量较低,无明显变化趋势。

2.4 枯落物涉碳化合物及灰分动态变化

各类植物的涉碳化合物及灰分呈现出不同的变化模式(图 5)。荷叶和芦竹的木质素呈“富集-释放”模式,水葱和纸莎草的木质素呈“富集-释放-富集”模式,其余植物的木质素呈“富集”模式。其中,荷叶的木质素在各个阶段都高于其他植物。纤维素与半纤维素在整个分解周期内总体呈“富集-释放”模式。其中,芦竹的纤维素呈“释放-富集-释放”模式;荷叶的纤维素与半纤维素在各个阶段都低于其他植物,且变化幅度较小。另外,大多数物种的灰分呈现“富集-释放”模式,立枯阶段的灰分较生长旺季增加了 69.0%,而倒伏阶段较立枯阶段下降了 20.7%,沉水阶段较倒伏阶段下降了 17.9%。

2.5 枯落物初始成分与分解速率的相关性

将初始成分与枯落物分解速率进行 Pearson 相关性分析(图 6),发现分解速率与物理指标及涉碳化合物指标相关性较高,其中主要与比叶面积及干物质量呈显著正相关,与纤维素呈显著负相关。其次,分解速率还与氮含量、钙含量呈正相关关系,与穿刺力度及半纤维素呈现负相关,而与其余指标无相关性。

初始指标之间的两两相关性分析显示,比叶面积与干物质量、碳含量、氮含量、铁含量具有较高的正相关性。穿刺力度与纤维素呈较高正相关,这与上述穿刺力度和纤维素均与分解指数呈负相关一致。干物质量与碳含量、钙含量、镁含量、灰分、木质素呈正相关,与纤维素、半纤维素呈负相关。纤维素和半纤维素与养分元素指标主要呈负相关或相关性不显著。

2.6 植物物种与生境对各指标的相对贡献

在比叶面积、干物质量、穿刺力度和碳、钾、钙、镁、硫、铁、锰的含量以及半纤维素、纤维素、木质素、氮磷比的动态变化过程中,分解阶段对指标

表 1　9 种挺水植物初始成分(平均值)

Table 1　Primary constituents of nine emergent plants ($\bar{x}$)

指标 Index	水葱 *Schoenoplectus tabernaemontani*	茭草 *Zizania latifolia*	再力花 *Thalia dealbata*	花叶芦竹 *Arundo donax* var. *versicolor*	荷叶 *Nelumbo nucifera*	芦苇 *Phragmites australis*	芦竹 *Arundo donax*	纸莎草 *Cyperus papyrus*	芒草 *Miscanthus sinensis*
比叶面积 Specific leaf area ($cm^2 \cdot g^{-1}$)	101.0	173.0	60.4	88.5	66.0	153.0	92.0	21.8	56.1
穿刺力度 Puncture strength (gf)	221.0	78.6	121.0	95.9	93.7	58.1	68.1	554.0	55.5
干物质量 Amount of dry matter (%)	21.5	46.0	39.1	22.5	91.2	50.8	38.6	23.9	15.4
碳含量 Carbon content ($mg \cdot g^{-1}$)	360.0	399.0	415.0	401.0	403.0	429.0	380.0	360.0	335.0
氮含量Nitrogen content ($mg \cdot g^{-1}$)	25.0	30.8	20.8	11.4	18.1	17.4	13.1	6.2	9.2
磷含量Phosphorus content ($mg \cdot g^{-1}$)	6.6	1.5	0.8	0.6	1.1	0.9	1.1	0.8	0.5
钾含量 Kalium content ($mg \cdot g^{-1}$)	61.2	7.4	17.6	17.1	16.8	14.0	25.0	9.9	5.6
钙含量Calcium content ($mg \cdot g^{-1}$)	13.1	9.4	10.4	6.5	71.4	6.5	21.7	9.4	11.1
镁含量Magnesium content ($mg \cdot g^{-1}$)	3.8	1.9	2.6	1.6	5.7	1.7	3.0	1.4	1.6
硫含量Sulphur content ($mg \cdot g^{-1}$)	4.4	1.5	2.3	3.0	4.2	2.7	2.4	1.9	1.3
铁含量 Iron content ($mg \cdot g^{-1}$)	1.2	0.9	0.6	1.4	0.5	0.6	0.6	0.4	0.7
锰含量Manganese content ($mg \cdot g^{-1}$)	0.7	0.5	1.8	0.2	1.3	0.2	0.1	0.7	0.2
纤维素 Cellulose (%)	30.7	30.4	27.2	21.2	16.4	28.7	37.6	44.1	32.9
半纤维素 Hemicellulose (%)	20.6	19.6	16.3	16.7	10.5	22.6	25.2	19.1	23.9
木质素 Lignin (%)	23.9	18.0	23.8	16.6	47.9	27.9	17.6	22.1	16.6
灰分 Ash content (%)	2.7	3.3	3.7	3.7	5.7	1.4	6.7	1.7	1.4

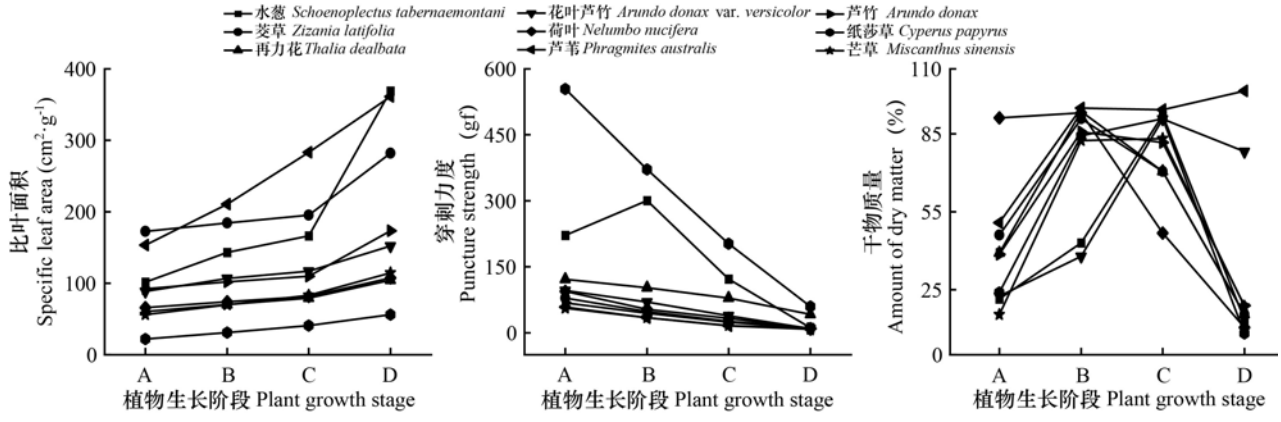


图 3　9 种挺水植物物理指标变化趋势

Fig. 3　Trend of physical indexes for nine emergent plants

变异的解释度最大(表 3)。特别地,分解阶段对涉碳化合物指标变异的解释度大于物理指标和养分元素指标的解释度。植物物种对氮含量、磷含量、灰分指标动态变化的解释度较高。我们对分解阶段贡献度(*RC*)大于 3 的指标进行拟合,得到比叶面积与铁含量在整个分解周期均呈指数型上升、穿刺力度呈下降的趋势。干物质量、纤维素与半纤维素均呈抛物线式的变化规律。碳含量在整个分解周期内的变化较平缓。钾含量与硫含量呈波动下降的变化模式,钙含量呈“微富集-微释放”变化模式。木质素呈持续上升的趋势。具体拟合方程如图 7 所示。

3　讨论

3.1 枯落物初始基质质量对湿地挺水植物分解速率的影响

枯落物基质质量对枯落物的分解具有关键作

表 2 凋落叶分解质量残留率指数回归方程

Table 2 Models ($y=ae^{-kt}$) for the relationship between mass residue rate of leaf litter and time

物种 Species	回归方程 Regression equation	R^2	分解指数 k Decomposing index (a^{-1})	$t_{0.5}$ (a)	$t_{0.95}$ (a)
水葱 *Schoenoplectus tabernaemontani*	$y=143.37e^{-0.568t}$	0.725	0.57	1.22	5.27
茭草 *Zizania latifolia*	$y=431.76e^{-1.409t}$	0.842	1.41	0.49	2.13
再力花 *Thalia dealbata*	$y=114.11e^{-0.429t}$	0.994	0.43	1.62	6.98
花叶芦竹 *Arundo donax* var. *versicolor*	$y=133.51e^{-0.818t}$	0.914	0.82	0.85	3.66
荷叶 *Nelumbo nucifera*	$y=366.7e^{-1.206t}$	0.875	1.21	0.58	2.48
芦苇 *Phragmites australis*	$y=156.41e^{-0.677t}$	0.924	0.68	1.02	4.43
芦竹 *Arundo donax*	$y=116.72e^{-0.483t}$	0.998	0.48	1.44	6.20
纸莎草 *Cyperus papyrus*	$y=91.074e^{-0.445t}$	0.773	0.45	1.56	6.73
芒草 *Miscanthus sinensis*	$y=130.67e^{-0.768t}$	0.891	0.77	0.90	3.90

用。大量研究表明,植物初始质量是影响枯落物分解的重要因子(陈鸽等,2019)。我们前期研究了植物质量、增温及生境三者对湿地植物枯落物分解的贡献,发现植物质量贡献率达 28.8%,仅次于生境(Aerts, 1997;王行等,2018)。本文中,分解速率与养分元素中的初始氮含量成正相关,这与初始基质质量中的氮含量对预测枯落物分解的相关研究结果一致(Swift et al., 1979;马志良等,2015)。同时,枯落物中的初始氮含量越高,微生物可以利用的氮源越高,分解越迅速。涉碳化合物中的纤维素由长链葡萄糖分子构成,其结构相对简单,相比木质素降解较快,但纤维素分子量较大且不溶于水,导致分解前期富集而后期才开始降解,因此初始纤维素含量与分解速率呈显著负相关(邓仁菊等,2010;周世兴等,2016)。半纤维素的种类多样且降解过程较为复杂,降解发生前多具有不同长短的潜伏期(李晗等,2015)。因此,初始半纤维素含量与分解速率也呈负相关。由此可知,枯落物在分解前期受养分元素调控,而到了分解中后期主要受涉碳化合物影响较大。

3.2 湿地挺水植物分解特征

立枯阶段为挺水植物分解的第一个阶段,在这个过程中叶枯落物一直处于大气界面,因此不仅受到本身基质质量的影响,还受到了环境因子的调控(Stefano et al., 2010 张新厚和宫超,2013)。影响立枯枯落物分解的因素包括降水、湿度、太阳辐射、风速以及枯落物质量等,湿度与温度较基质因素相比起决定作用(Vitousek, 1994;王立新等,2003;Eliška & Kateřina, 2006;张新厚和宫超,2013)。由此,立枯阶段植物主要受到降水、湿度等环境因子的影响,从而发生破碎,导致穿刺力度低于生长旺季。本研究发现,叶枯落物的干物质量在立枯阶段不断上升,这主要与立枯阶段植物迅速失水而导致立枯阶段植物干重与鲜重的比值与生长旺季相比不断升高有关。在养分元素指标方面,叶枯落物中的氮主要表现为“释放”模式。杜雨潭等(2020)对亚热带不同植被枯落物层中的碳、氮、磷的含量动态变化进行研究,发现随着植物分解出现释放的过程,这与我们的研究结果一致。与氮的变化相反,在此阶段钙元素作为结构性元素,随叶枯落物干物质量升高表现出富集的趋势(李铭红等,2000)。除上述以钙为代表的稳定元素外,大部分金属元素在枯落物体内以离子态的形式存在,容易受到降水淋溶作用的影响,从而导致分解过程中以铁元素为代表的微量元素出现微释放(李志安等,2004;余星和周运超,2016)。在涉碳化合物指标中,木质素、纤维素、半纤维素的含量在此阶段均略有上升。且木质素会在分解前期积累,与受到木质素聚合体保护的纤维素变化一致(张雨鉴等,2020)。半纤维素的降解需要非常复杂的微生物群落,而在立枯阶段的微生物菌落数量相比沉水阶段少,因此在分解初期半纤维素不断积累(李晗等,2015)。

倒伏阶段在植物分解过程中处于第二个阶段,分解速率加快,枯落物大部分处于大气界面,小部分处于水体界面,因此本阶段的挺水植物主要受到水土界面处的环境因素影响。我们发现,此时的涉碳化合物指标较其余指标变化明显。其中,木质素开始富集,而纤维素、半纤维素略有释放。纤维素的分解主要由纤维素酶控制,而纤维素酶活性主要与环境因子有关(陈亚梅等,2015)。半纤维素会在水分淋溶与干湿交替的剧烈作用下分解,但半纤维素的分解具有一定的潜伏期,且分解需要更为复杂的微生物群落(李晗等, 2015)。

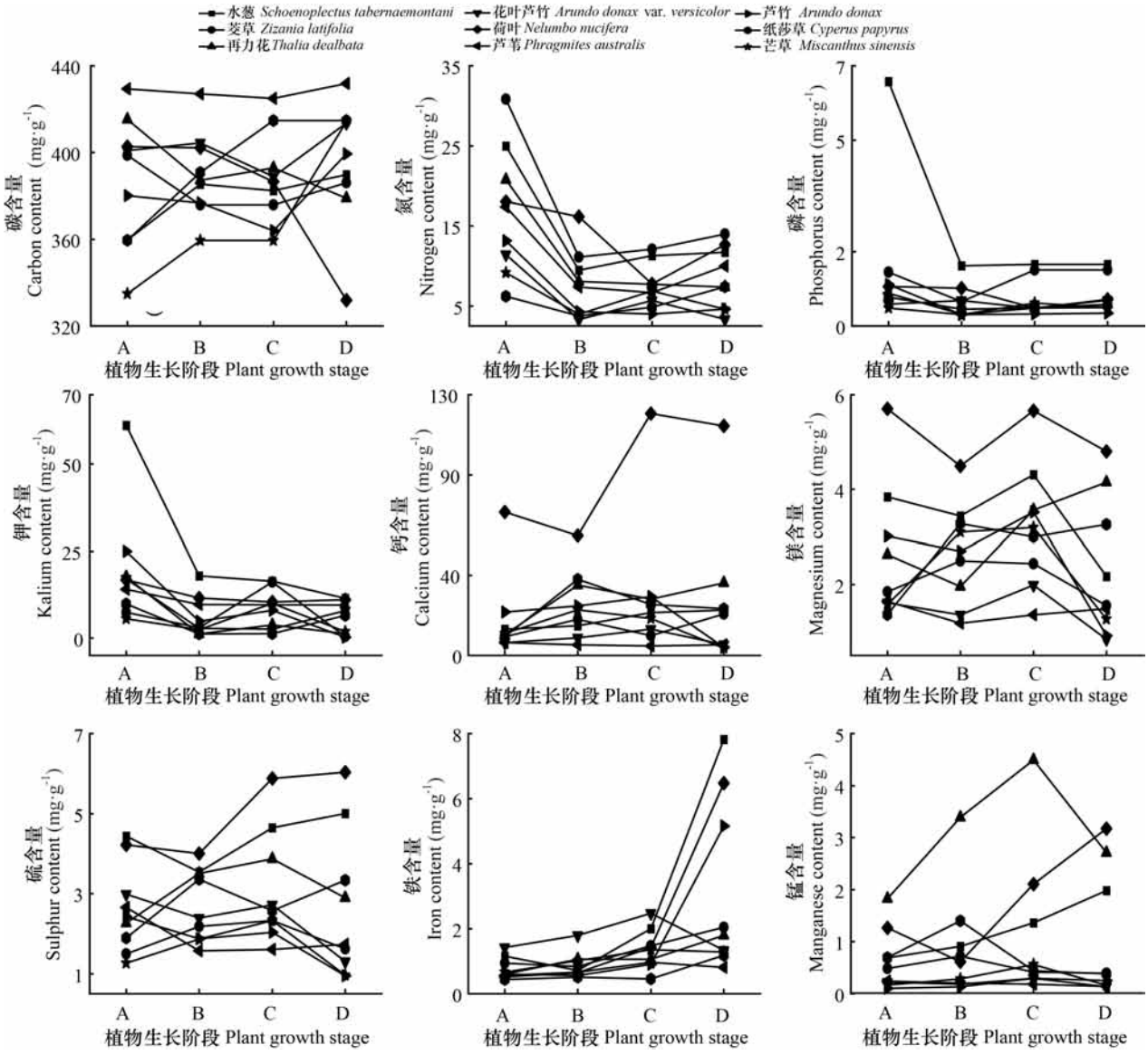


图 4　9 种挺水植物养分元素指标变化

Fig. 4　Trend of nutrient elements in nine emergent plants

有研究表明,环境因子影响微生物群落的结构与活性(岳楷等,2016;Pablo et al., 2016),而此阶段的枯落物受到环境因子的剧烈影响,在叶际形成复杂的微生物群落,对涉碳化合物的分解强烈。中量元素中的钙稍有释放,这可能与水分的淋洗作用有关(刘征,2014)。

沉水阶段为挺水植物分解的第三个阶段,叶枯落物在这个过程中一直处于水体界面,主要受水分因子的影响。养分元素指标方面,大部分枯落物的钾呈释放模式,这主要与在沉水阶段受到水分淋溶作用有关(Boemer, 1984;Kost & Boerner, 1985;李忠文等,2013)。中量元素中的钙在此阶段表现较为稳定,这与李忠文等(2013)对亚热带樟树的研究结果一致。而微量元素中的铁大量富集,这可能与枯落物分解过程中吸附金属元素形成螯合物与配合物有关(He et al., 2020)。在涉碳化合物指标方面,酶解作用是纤维素与半纤维素降解的主要原因之一(陈亚梅等,2015)。真菌是分解不同类型枯落物木质纤维素的主要因素(Wang et al., 2020)。枯落物半纤维素的变化较为复杂,受到水分淋溶、干湿交替等环境的影响(李晗等,2015)。本文中,纤维素与半纤维素在沉水阶段表现为大量释放,这也

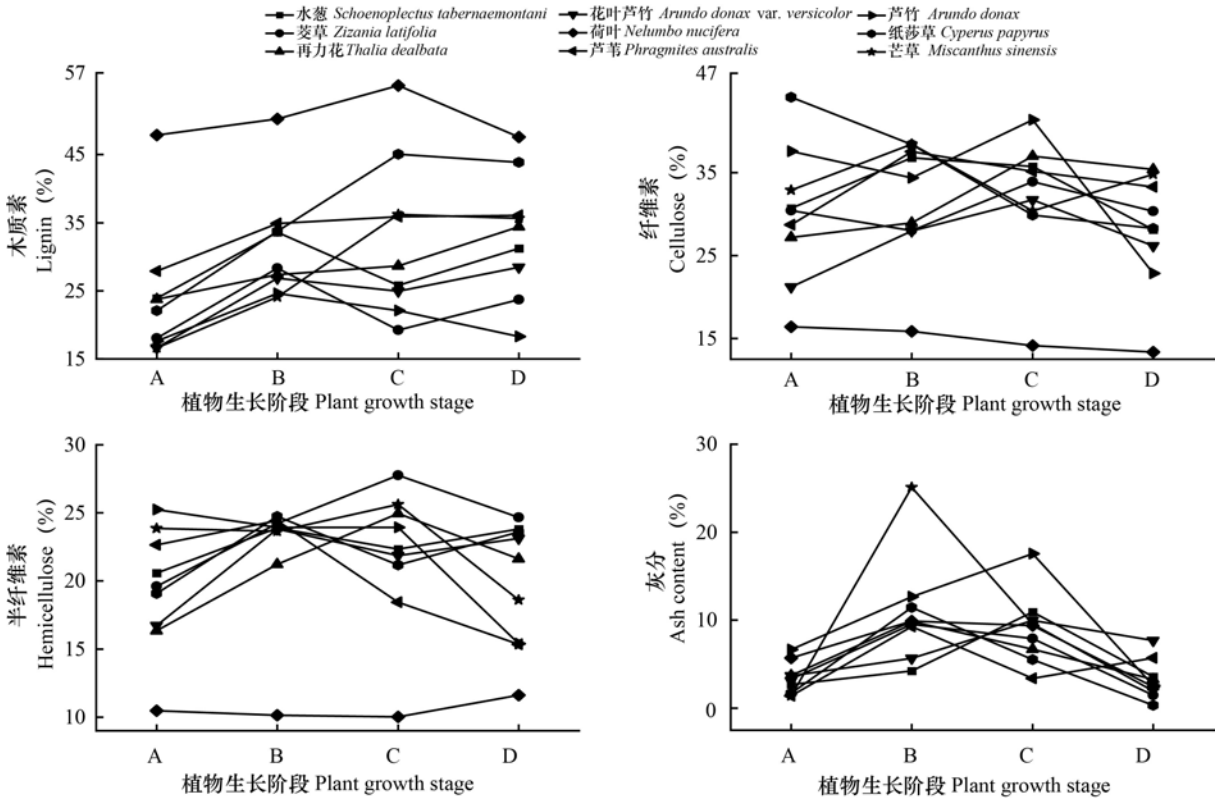


图 5 9 种挺水植物涉碳化合物及灰分变化

Fig. 5 Key carbon-related and ash-related changes in nine emergent plants

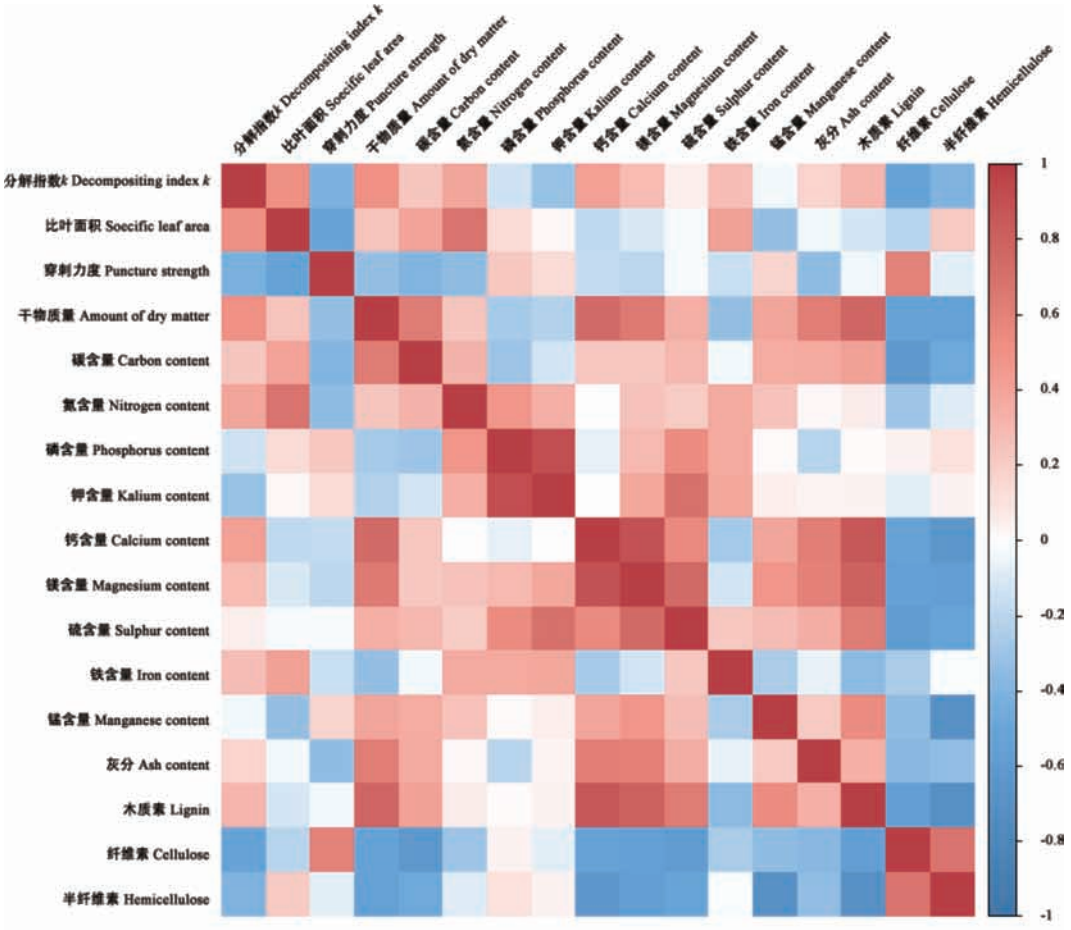
说明了酶、微生物与环境因子对难分解化合物降解的交互作用明显。

3.3 物种差异与分解阶段对关键指标的相对贡献

本研究中,分解阶段对关键指标变异的相对贡献显著大于物种,这主要与不同分解阶段所处不同分解环境有关。在大气界面的枯落物受到降水、风速、太阳辐射、微生物等环境因子的影响,而水体界面的枯落物受到水分淋溶与厌氧微生物及水中动物的影响。研究表明,在季节性冻融特征较为显著的溪流中,水温、浊度等因子能直接影响枯落物养分元素的变化(陈鸽等,2019)。彭倩等(2021)对粗枝云杉不同径级根系分解过程的研究发现,生长环境条件不同对根系分解中养分元素的释放有不同影响。在本研究中,我们发现不同分解阶段对涉碳化合物指标的解释度更高,这主要与涉碳化合物大多为难分解的大分子物质,其分解主要与环境因子中的水分淋溶、物理破碎等有关。另外,分解阶段所主导的环境因子变化会对分解者(如微生物、小型动物)产生影响,进而影响难分解化合物的降解。向元彬等(2015)对不同密度巨桉人工林枯落物分解研究指出,林分密度小的巨桉林环境适合分解木质素和纤维素的菌类生存。干旱生境下 3 种植物叶枯落物分解动态特征的研究表明,林窗中太阳辐射强度大于林下,有利于木质素、纤维素的降解(杨晶晶等,2019)。湿地挺水植物枯落物立枯分解研究表明,难分解成分的微生物活性及分解能力受环境因子影响,从而间接影响了湿地挺水植物枯落物的分解(张新厚和宫超,2013)。在本研究中,分解阶段对枯落物各指标变异的贡献度大于物种种类,这与不同分解阶段环境因子的调控作用密切相关。受此影响,大部分指标在不同分解阶段之间表现出明显的动态变化特征。同时,受不同植物物种初始性状影响,小部分指标的动态变化在物种之间表现出明显差异性。

3.4 湿地挺水植物的一般分解规律

在湿地挺水植物的分解过程中,植被枯落物的分解速率随着时间的增加而减小。立枯阶段至



图中红色表示正相关，蓝色表示负相关，红色越深表示正相关越显著，蓝色越深表示负相关越显著。

The red in the figure indicates the positive correlation, the blue indicates the negative correlation, the deeper the red, the more significant the positive correlation, and the darker the blue, the more significant the negative correlation.

图 6　初始成分与枯落物分解速率 Pearson 相关性

Fig. 6　Pearson correlation between initial components and litter decomposition rate

倒伏阶段分解速率最大，倒伏阶段至沉水阶段次之，沉水阶段以后的分解速率最小。本研究结果与张全军等(2020)的研究结果相一致。不同物种的分解速率也存在较大的差异，本研究计算的 9 种植物中，分解速率最大的为芰草(1.41 a^{-1})，分解速率最小为再力花(0.43 a^{-1})。枯落物分解 50%，芰草仅需半年时间，而再力花需要 1.62 a。

对比其他生态系统发现，沙漠生态系统植被的枯落物分解速率普遍较低，如李成道等(2019)研究发现，在光照条件下，极端干旱区植被在一年半的分解率不到 40%，远远小于湿地挺水植物。森林生态系统较为复杂，植被枯落物分解速率受植被类型影响较大，如米彩红(2014)研究指出，几种人工林枯落物分解速率，最大值为小叶杨(2.91 a^{-1})，最小值为松柏(0.60 a^{-1})。整体而言，森林植被的枯落物分解速率最快，其次为湿地植被，最慢为沙漠植被。

4　结论

本研究测定了滇池湖滨带九种优势挺水植物在 4 个生长阶段的质量衰减及关键指标变化动态，得到如下结论：(1)不同湿地挺水植物的枯落物分解速率不同。例如：芰草的 k 值为 1.41 a^{-1}，是本研究中分解速率最快的挺水植物；再力花的 k 值为 0.43 a^{-1}，是最难分解的挺水植物。(2)通过对分解速率与枯落物初始成分进行 Pearson 相关性分析可知，分解速率与物理指标及涉碳化合物

表 3 各指标非参数多因素方差分析

Table 3 Variance analysis of non-parametric multivariate for each index

指标 Index	物种 Species		分解阶段 Decomposition stage		阶段贡献率 Relative contgribution *RC*
	R^2	*P*	R^2	*P*	
干物质量 Amount of dry matter (%)	0.036	0.799	0.325	0.002	9.03
比叶面积 Specific leaf area ($cm^2 \cdot g^{-1}$)	0.265	0.090	0.880	0.001	3.32
穿刺力度 Puncture strength (gf)	0.168	0.238	0.747	0.001	4.45
碳含量 Carbon content ($mg \cdot g^{-1}$)	0.088	0.490	0.519	0.001	5.90
氮含量 Nitrogen content ($mg \cdot g^{-1}$)	0.493	0.011	0.409	0.001	0.83
磷含量 Phosphorus content ($mg \cdot g^{-1}$)	0.514	0.003	0.350	0.001	0.68
钾含量 Kalium content ($mg \cdot g^{-1}$)	0.094	0.581	0.431	0.001	4.59
钙含量 Calcium content ($mg \cdot g^{-1}$)	0.062	0.715	0.549	0.001	8.85
镁含量 Magnesium content ($mg \cdot g^{-1}$)	0.120	0.311	0.300	0.001	2.50
硫含量 Sulphur content ($mg \cdot g^{-1}$)	0.103	0.400	0.422	0.001	4.10
铁含量 Iron content ($mg \cdot g^{-1}$)	0.224	0.087	0.695	0.001	3.10
锰含量 Manganese content ($mg \cdot g^{-1}$)	0.189	0.131	0.531	0.001	2.81
纤维素 Cellulose (%)	0.091	0.404	0.552	0.001	6.07
半纤维素 Hemicellulose (%)	0.016	0.885	0.754	0.001	47.10
木质素 Lignin (%)	0.151	0.325	0.627	0.001	4.15
灰分 Ash content (%)	0.305	0.006	0.131	0.034	0.43

指标的相关性较高,其中与比叶面积及干物质量呈显著正相关,与纤维素呈显著负相关。其次,分解速率还与凋落物氮含量、钙含量呈正相关,与穿刺力度及半纤维素呈负相关。(3)物理指标(比叶面积、穿刺力度、干物质量)在不同植物之间的分解动态特征相似;养分元素指标主要呈“释放-富集”“富集-释放”“净释放”三种模式;涉碳化合物指标中,木质素呈“富集-释放”“富集-释放-富集”和“富集”模式,纤维素与半纤维素在整个分解周期内总体呈“富集-释放”模式。(4)所测 16 种指标中,13 种指标(比叶面积、干物质量、穿刺力度和碳、钾、钙、镁、硫、铁、锰的含量以及半纤维素、纤维素、木质素)在不同分解阶段表现出明显变异,这些指标的动态变化主要由分解阶段主导;物种种类对其余 3 种指标(氮和磷的含量和灰分)变异的解释度较高,这些指标的动态变化主要由物种种类主导。拟合分析发现,比叶面积、穿刺力度、干物质量和碳、钾、钙、硫、铁的含量以及木质素、纤维素、半纤维素在不同植物之间的变化趋势一致,或可作为表征湿地挺水植物叶枯落物分解的指示性指标,在未来挺水植物凋落物分解规律的研究及预测中应重点关注。

参考文献:

AERTS R, 1997. Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship [J]. Oikos, 79(3): 1-10.

BERG B, MCCLAUGHERTY C, 1989. Nitrogen and phosphorus release from decomposing litter in relation to the disappearance of lignin[J]. Can J Bot, 67(4):1148-1156.

BOEMER REJ, 1984. Foliar nutrient dynamics and nutrient use efficiency of four deciduous tree species in relation to site fertility [J]. J Appl Ecol, 21(3): 1-10.

CHAN AA, BASHIR M, RIVAS MN, et al., 2016. Characterization of the microbiome of nipple aspirate fluid of breast cancer survivors [J]. Sci Rep, 6: 2-15.

CHEN G, WANG L, GONG YW, et al., 2019. Release dynamics of nitrogen and phosphorus of leaf litter in a forest stream of the Changbai Mountains during seasonal freezing-thawing period [J]. Ecol Environ Sci, 28(12): 2341-2348. [陈鸽, 王璐, 宫雨薇, 等, 2019. 季节性冻融期长白山森林溪流中凋落叶 N、P 的释放动态 [J]. 生态环境学报, 28(12): 2341-2348.]

CHEN YM, HE RL, DENG CC, et al., 2015. Litter decomposition and lignocellulose enzyme activities of *Actinothuidium hookeri* and *Cystopteris montana* in alpine timberline ecotone of western Sichuan, China [J]. Chin J Appl Ecol, 26(11): 3251-3268. [陈亚梅, 和润莲, 邓长春, 等, 2015. 川西高山林线交错带两种地被物分解的木质纤维素酶活性特征 [J]. 应用生态学报, 26(11): 3251-3268.]

DENG RJ, YANG WQ, ZHANG J, et al., 2010. Changes in litter quality of subalpine forests during one freeze-thaw season [J]. Acta Ecol Sin, 30(3): 830-835. [邓仁菊, 杨万勤, 张健, 等, 2010. 季节性冻融期间亚高山森林凋落物的质量变化 [J]. 生态学报, 30(3): 830-835.]

DU YT, CHEN JL, LI LD, et al., 2020. C, N and P stoichiometry characteristics of forest floor litter layer at different vegetation restoration stages in the mid-subtropical regions,China [J]. J Cent S Univ For Technol, 40(2): 108-119. [杜雨潭, 陈金磊, 李雷达, 等, 2020. 亚热带不同植

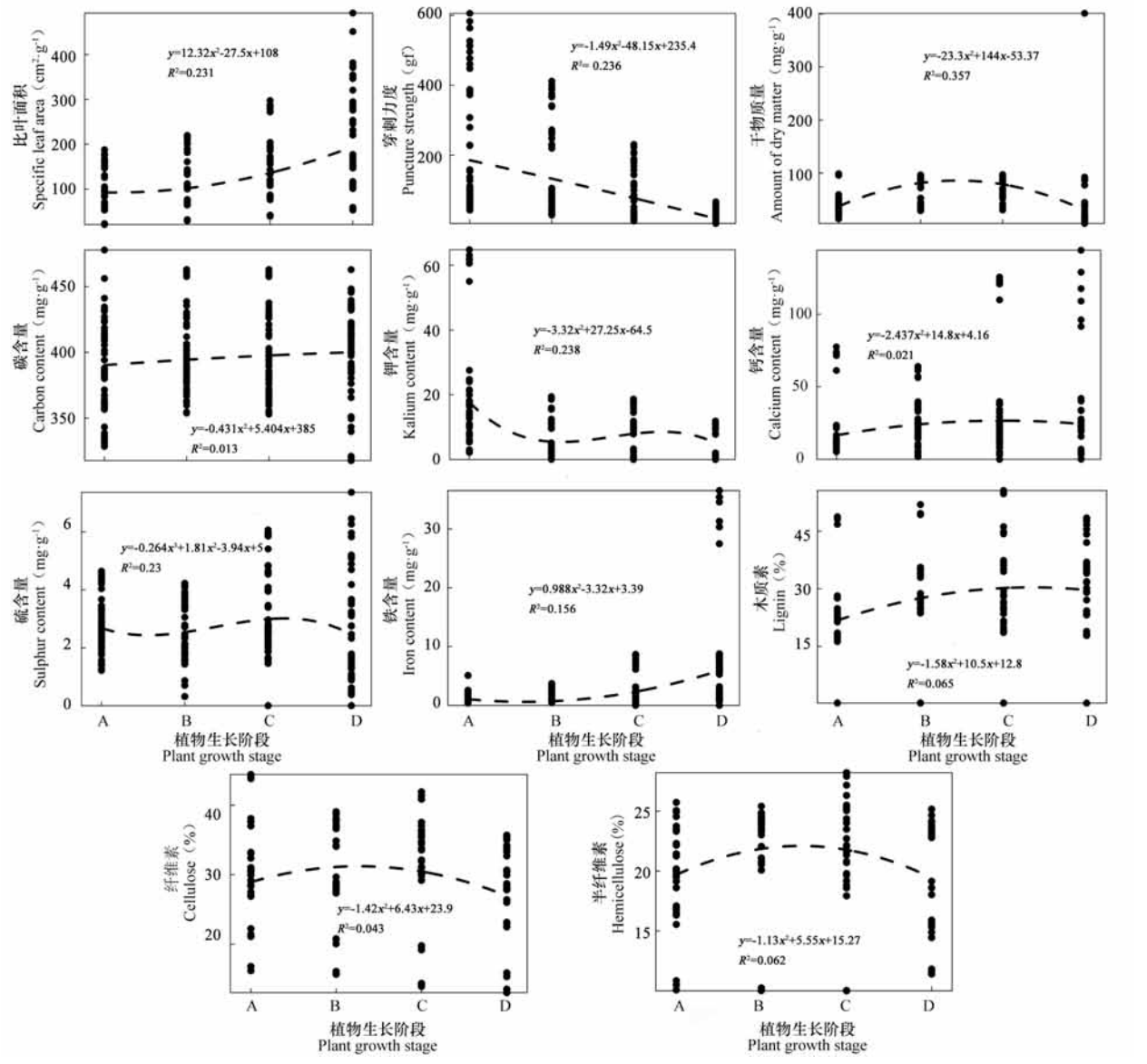


图 7　指标与不同分解阶段的多项式拟合

Fig. 7　Index fitted with polynomials at different decomposition stages

被恢复林地凋落物层碳、氮、磷化学计量特征［J］. 中南林业科技大学学报，40(2)：108-119.］

ELIŠKA R，KATEŘINA H，2006. Wetland plant decomposition under different nutrient conditions：what is more important，litter quality or site quality［J］. Biogeochemistry，80(3)：15-26.

HE W，LEI L，MA ZY，et al.，2020. Nonadditive effects of decomposing mixed foliar litter on the release of several metallic elements in a *Pinus massoniana* Lamb. forest［J］. Ann For Sci，77(2)：22-36.

KOST JA，BOERNER REJ，1985. Foliar nutrient dynamics and nutrient use efficiency in Cornus florida［J］. Oecologia，66(4)：1-15.

LI CD，LI XY，SUN HJ，et al.，2019. Decomposition characteristics of *Karelinia caspia*，*Alhagi sparsifolia* and *Populus euphratica* leaves in extremely arid areas［J］. J Desert Res，39(2)：193-201.［李成道，李向义，SUN HJ，等，2019. 极端干旱区花花柴(*Karelinia caspia*)、骆驼刺(*Alhagi sparsifolia*)和胡杨(*Populus euphratica*)叶片凋落物分解特征［J］. 中国沙漠，39(2)：193-201.］

LI H，WU FZ，YANG WQ，et al.，2015. Effects of forest gap on hemicellulose dynamics during foliar litter decomposition in an subalpine forest［J］. Chin J Plant Ecol，39(3)：229-238.［李晗，吴福忠，杨万勤，等，2015. 亚高山森林林窗

对凋落物分解过程中半纤维素动态的影响 [J]. 植物生态学报, 39(3): 229-238.]

LI MH, YU MJ, PAN WR, 2000. Release dynamics of calcium in an evergreen broad-leaved forest dominated by *Cyclobalanopsis glauca* in East China [J]. J Zhejiang Univ (Sci Ed), 27(3): 334-346. [李铭红, 于明坚, 潘文戎, 2000. 青冈常绿阔叶林钙的释放动态 [J]. 浙江大学学报(理学版), 27(3): 334-346.]

LI ZA, ZOU B, DING YZ, et al., 2004. Key factors of forest litter decomposition and research progress [J]. Chin J Ecol, 23(6): 77-83. [李志安, 邹碧, 丁永祯, 等, 2004. 森林凋落物分解重要影响因子及其研究进展 [J]. 生态学杂志, 23(6): 77-83.]

LI ZW, YAN WD, ZHENG W, et al., 2013. Litter fall production and nutrient dynamic of *Cinnamomum camphora* and *Pinus massoniana* mixed forests in subtropics China [J]. Acta Ecol Sin, 33(24): 7707-7714. [李忠文, 闫文德, 郑威, 等, 2013. 亚热带樟树-马尾松混交林凋落物量及养分动态特征 [J]. 生态学报, 33(24): 7707-7714.]

LIU Z, SUN N, 2014. Establishemnt of ISSR-PCR reaction system of *Cymbidium sinense* and its optimization [J]. J Green Sci Technol, 3: 145-147. [刘征, 孙楠, 2014. 不同密度杂种落叶松枯枝落叶营养元素的动态特征 [J]. 绿色科技, 3: 145-147.]

MA ZL, GAO S, YANG WQ, et al., 2015. Litter decomposition of six common tree species at different rainy periods in the subtropical region [J]. Acta Ecol Sin, 35(22): 7553-7561. [马志良, 高顺, 杨万勤, 等, 2015. 亚热带常绿阔叶林 6 个常见树种凋落叶在不同降雨期的分解特征 [J]. 生态学报, 35(22): 7553-7561.]

MI CH, 2014. Effect of litter decomposition and nutrient circulation on soil polarization in the planted pure forests of Loess Plateau [D]. Yangling: Northwest A & F University. [米彩红, 2014. 黄土高原人工纯林枯落物分解和养分循环对土壤极化的影响 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学.]

MOORE M, ROMANO SP, COOK T, 2010. Synthesis of Upper Mississippi River System submersed and emergent aquatic vegetation: Past, present, and future [J]. Hydrobiologia, 640: 103-114.

OLSON JS, 1963. Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems [J]. Ecology, 44(2): 15-26.

PABLO GP, IVÁN P, JEAN MARC O, et al., 2016. Disentangling the litter quality and soil microbial contribution to leaf and fine root litter decomposition responses to reduced rainfall [J]. Ecosystems, 19(3): 16-29.

PENG Q, REN YZ, ZHANG Y, et al., 2021. The release dynamic of four nutrient elements in decomposing *Picea asperata* roots of different diameters [J]. Chin J Appl Environ Biol, 27(1): 8-14. [彭倩, 任雨之, 张悦, 等, 2021. 粗枝云杉不同径级根系分解过程中 4 个养分元素释放特征 [J]. 应用与环境生物学报, 27(1): 8-14.]

PING YM, CUI LJ, LI W, et al., 2018. Research review of litters decomposition of wetland emergent plants [J]. World For Res, 31(3): 15-20. [平云梅, 崔丽娟, 李伟, 等, 2018. 湿地挺水植物凋落物分解研究概述 [J]. 世界林业研究, 31(3): 15-20.]

PRESCOTTP CE, 2010. Litter decomposition: what controls it and how can we alter it to sequester more carbon in forest soils [J]. Biogeochemistry, 101(1/2/3): 1-10.

STEFANO M, JOHN AT, ROBERT BJ, et al., 2010. Stoichiometric controls on carbon, nitrogen, and phosphorus dynamics in decomposing litter [J]. Ecol Monogr, 80(1): 15-26.

SWIFT MJ, HEAL OW, ANDERSON JM, et al., 1979. Decomposition in terrestrial ecosystems [J]. Stud Ecol, 5(14): 2772-2774.

VITOUSEK PM, 1994. Beyond global warming: ecology and global change [J]. Ecology, 75(7): 1861-1876.

WANG H, YAN PF, ZHAN PF, et al., 2018. The relative contribution of plant quality, simulated rising temperature, and habitat to litter decomposition [J]. Chin J Appl Ecol, 29(2): 474-482. [王行, 闫鹏飞, 展鹏飞, 等, 2018. 植物质量、模拟增温及生境对凋落物分解的相对贡献 [J]. 应用生态学报, 29(2): 474-482.]

WANG LX, WANG J, HUANG JH, et al., 2003. Comparison of major nutrient release patterns of *Quercus liaotungensis* leaf litter decomposition in different climatic zones [J]. Acta Bota Sin, 45(4): 399-407. [王立新, 王瑾, 黄建辉, 2003. 辽东栎叶片凋落物在不同气候带下的分解及其主要元素释放的比较 [J]. 植物学报, 45(4): 399-407.]

WANG QK, WANG SL, YU XJ, et al., 2007. Effects of *Cunninghamia* lanceolata-broad leaved tree species mixed leaf litters on active soil organic matter [J]. Chin J Appl Ecol, 18(6): 1203-1207. [王清奎, 汪思龙, 于小军, 等, 2007. 杉木与阔叶树叶凋落物混合分解对土壤活性有机质的影响 [J]. 应用生态学报, 18(6): 1203-1207.]

WANG WB, ZHANG Q, SUN XM, et al., 2020. Effects of mixed-species litter on bacterial and fungal lignocellulose degradation functions during litter decomposition [J]. Soil Biol Biochem, 141: 14-26.

WEI JM, WANG LX, LIU DW, et al., 2016. On the decomposition dynamics and nutrient release of *Phragmites australis* litter in Wuliangsu Lake [J]. J Saf Environ, 16(5): 364-370. [魏江明, 王立新, 刘东伟, 等, 2016. 乌梁素海芦苇枯落物分解动态及营养元素释放研究 [J]. 安全与环境学报, 16(5): 364-370.]

XIANG YB, HUANG CD, HU TX, et al., 2015. Changes in masses of substrates during litter decomposition in *Eucalyptus grandis* plantations with different densities [J]. J NW A & F Univ (Nat Sci Ed), 43(4): 65-72. [向元彬, 黄从德, 胡庭兴, 等, 2015. 不同密度巨桉人工林凋落物分解过程中基质质量的变化 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学

版)，43(4)：65-72.]
XIONG SM, ZUO XF, ZHU YY, 2005. Determination of cellulose, hemi-cellulose and ligin in rice hull [J]. Cereal Feed Indust, 1(8): 40-51. [熊素敏，左秀凤，朱永义，2005. 稻壳中纤维素、半纤维素和木质素的测定 [J]. 粮食与饲料工业，1(8)：40-51.]
XU KY, XIA GH, LU JQ, et al., 2017. Impaired renal function and dysbiosis of gut microbiota contribute to increased trimethylamine-N-oxide in chronic kidney disease patients [J]. Sci Rep, 7(1): 4-16.
YANG JJ, ZHOU ZL, LÜ RH, et al., 2019. Dynamic decomposition of foliar litters of three plant species in arid habitats [J]. Arid Zone Res, 36(4): 916-923. [杨晶晶，周正立，吕瑞恒，等，2019. 干旱生境下 3 种植物叶凋落物分解动态特征 [J]. 干旱区研究，36(4)：916-923.]
YU X, ZHOU YC, 2016. Dynamic of trace elements releasing in the process of litter decomposition in the *Pinus mussonian* plantation [J]. Hubei Agric Sci, 55(7): 1682-1696. [余星，周运超，2016. 马尾松凋落物分解过程中的微量元素释放动态 [J]. 湖北农业科学，55(7)：1682-1696.]
YUE K, YANG WQ, PENG Y, et al., 2016. Effects of streams on lignin degradation during foliar litter decomposition in an alpine forest [J]. Chin J Plant Ecol, 40(9): 893-901. [岳楷，杨万勤，彭艳，等，2016. 高寒森林溪流对凋落叶分解过程中木质素降解的影响 [J]. 植物生态学报，40(9)：893-901.]
ZENG CS, ZHANG LH, WANG TE, et al., 2012. Nutrient dynamics of the litters during standing and sediment surface decay in the Min River estuarine mars [J]. Acta Ecol Sin, 32(20): 6289-6299. [曾从盛，张林海，王天鹅，等，2012. 闽江河口湿地植物枯落物立枯和倒伏分解主要元素动态 [J]. 生态学报，32(20)：6289-6299.]
ZHANG DQ, HUI DQ, LUO YQ, et al., 2008. Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and controlling factors [J]. J Plant Ecol, 1(2): 85-93.
ZHANG PF, LI H, LIU YS, et al., 2019. Dynamics of phyllospheric fungal community in a wetland plant, *Schoenoplectus tabernaemontani* [J]. Chin J Ecol, 38(6): 1800-1809. [展鹏飞，李晖，刘耘硕，等，2019. 湿地植物水葱叶围真菌群落动态特征 [J]. 生态学杂志，38(6)：1800-1809.]
ZHANG XH, GONG C, 2013. Research advances in standing litter decomposition of emergent macrophyte in wetlands [J]. Ecol Environ Sci, 22(4): 712-717. [张新厚，宫超，2013. 湿地挺水植物凋落物立枯分解研究进展 [J]. 生态环境学报，22(4)：712-717.]
ZHANG YJ, WANG KQ, SONG YL, et al., 2020. Response of litter decomposition of zonal vegetation to simulated nitrogen deposition in central Yunnan, China [J]. Acta Ecol Sin, 40(22): 8274-8286. [张雨鉴，王克勤，宋娅丽，等，2020. 滇中亚高山地带性植被凋落物分解对模拟氮沉降的响应 [J]. 生态学报，40(22)：8274-8286.]
ZHAO HM, CHENG JH, ZHANG WT, et al., 2020. Litters decomposition characteristics of five species in the Gurbantunggut Desert [J]. J Desert Res, 40(2): 165-176. [赵红梅，程军回，张文太，等，2020. 古尔班通古特沙漠 5 种植物凋落物分解特征 [J]. 中国沙漠，40(2)：165-176.]
ZHANG QJ, ZHANG GS, YU XB, et al., 2020. Dynamic characteristics of the decomposition rate and carbon, nitrogen and phosphorus release of the dominant plants in Poyang Lake Wetland [J]. Acta Ecol Sin, 40(24): 8905-8916. [张全军，张广帅，于秀波，等，2020. 鄱阳湖湿地优势植物枯落物的分解速率及碳、氮、磷释放动态特征 [J]. 生态学报，40(24)：8905-8916.]
ZHOU SX, HUANG CD, XIANG YB, et al., 2016. Effects of simulated nitrogen deposition on lignin and cellulose degradation of foliar litter in natural evergreen broad-leaved forest inrainy area of western China [J]. Chin J Appl Ecol, 27(5): 1368-1374. [周世兴，黄从德，向元彬，等，2016. 模拟氮沉降对华西雨屏区天然常绿阔叶林凋落物木质素和纤维素降解的影响 [J]. 应用生态学报，27(5)：1368-1374.]

（责任编辑　李　莉）

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1150-1159 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202110041

赵宏亮, 倪细炉, 侯晖, 等. 长苞香蒲对人工盐碱湿地 Na^+和 K^+的吸收与转运特征 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1150-1159.

ZHAO HL, NI XL, HOU H, et al. Characteristics of Na^+ and K^+ absorption and transport of *Typha domingensis* in artificial saline wetlands [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1150-1159.

长苞香蒲对人工盐碱湿地 Na^+和 K^+的吸收与转运特征

赵宏亮[1,2], 倪细炉[2,3*], 侯　晖[2], 谢沁宓[2], 程　昊[1,2]

(1. 宁夏大学 农学院, 银川 750021; 2. 宁夏大学西北土地退化与生态恢复国家重点实验室培育基地, 银川 750021; 3. 宁夏贺兰山森林生态系统国家定位观测研究站, 银川 750021)

摘　要: 为揭示长苞香蒲(*Typha domingensis*)对盐生湿地生态系统中 Na^+和 K^+的吸收与转运特征,探讨长苞香蒲对盐生湿地的生态修复效果,该研究采用人工模拟盐生湿地的方法,设置 CK(对照)、T1(浇灌 100 mmol·L^{-1}盐水)、T2(浇灌 200 mmol·L^{-1}盐水)及 T3(浇灌 300 mmol·L^{-1}盐水)4 种不同盐浓度的人工湿地生态系统,并分别于 5 月 5 日(开始盐胁迫处理,S0)、5 月 30 日(S1)、6 月 30 日(S2)和 7 月 30 日(S3)测量其株高和干重、植株地上与地下部分 Na^+和 K^+的含量以及底泥和水体中 Na^+和 K^+的含量以分析长苞香蒲对盐碱湿地的脱盐作用。结果表明:(1)各处理的长苞香蒲的株高和干重随着处理时间的延长呈增加趋势,但与 CK 相比,各处理生长量随盐浓度升高出现下降趋势。(2)高浓度盐处理(T3)使长苞香蒲的地上部分和地下部分的 Na^+分别增加了 2.56 倍和 1.75 倍,地上部分及地下部分的 K^+含量分别降低了 34.1%和 35.8%。(3)地上部分和地下部分的 Na^+/K^+在处理和对照间均随处理时间延长呈增加的趋势,选择性转移系数与 Na^+和 K^+转移系数总体随处理时间延长呈降低的趋势。(4)在 S0 至 S3 期间,长苞香蒲对处理组土壤 Na^+和 K^+的去除率为 10.6%~15.8%和 2.3%~12.8%,对处理组水体 Na^+和 K^+的去除率为 55.0%~65.1%和 1.6%~67.0%。综上表明,盐胁迫能影响长苞香蒲体内的 Na^+和 K^+平衡,长苞香蒲能够有效地吸收 Na^+,并在一定盐浓度下能通过 K^+的交换将 Na^+从根部吸收转运至地上部分。因此,长苞香蒲可通过离子转运的形式完成对盐离子的吸收,可作为盐碱湿地生态修复的优良植物。

关键词: 长苞香蒲, Na^+和 K^+含量, 脱盐作用, 转运特征, 植物修复

中图分类号: Q945; X144　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1000-3142(2022)07-1150-10

Characteristics of Na^+ and K^+ absorption and transport of *Typha domingensis* in artificial saline wetlands

ZHAO Hongliang[1,2], NI Xilu[2,3*], HOU Hui[2], XIE Qinmi[2], CHENG Hao[1,2]

(1. *School of Agriculture*, *Ningxia University*, Yinchuan 750021, China; 2. *Breeding Base for State Key Laboratory of Land Degradation and Ecological Restoration in Northwest China*, *Ningxia University*, Yinchuan 750021, China; 3. *Ningxia Helan Mountain Forest Ecosystem Research Station*, *State Forestry Administration*, Yinchuan 750021, China)

收稿日期: 2021-10-15

基金项目: 国家自然科学基金(31960038,31660045);宁夏重点研发项目(2020BFG03006,2021BEG02005);宁夏自然科学基金(2020AAC03107)[Supported by National Natural Science Foundation of China (31960038, 31660045); Ningxia Key Research and Development Project (2020BFG03006, 2021BEG02005); National Science Foundation of Ningxia (2020AAC03107)]。

第一作者: 赵宏亮(1996-),硕士研究生,研究方向为植物逆境生理生态,(E-mail)ldzhl@qq.com。

*通信作者: 倪细炉,博士,副研究员,研究方向为植物逆境生理生态,(E-mail)nixilu@nxu.edu.cn。

Abstract: In order to reveal the characteristics of both Na^+ and K^+ absorption and transport in *Typha domingensis* distribution in a wetland system, and to investigate the remediation effect of *T. domingensis* planting in the saline wetland, artificial saline wetlands with four different salinity concentrations were adopted in this experiment, namely CK (irrigation with tap water), T1 (irrigation with 100 mmol · L^{-1} saline water), T2 (irrigation with 200 mmol · L^{-1} saline water), and T3 (irrigation with 300 mmol · L^{-1} saline water), the height, dry weight, contents of Na^+ and K^+ in aboveground part and belowground part of the seedlings, as well as contents of Na^+ and K^+ in the water body and sediment. The effects of wetland salinity on the balance of Na^+ and K^+ in *T. domingensis* and its Na^+ transport characteristics were analyzed via the variation in Na^+/K^+ and the former's Na^+/K^+ transfer factor under different treatments in different periods. The removal ratios of Na^+ and K^+ from soil and water body were calculated to analyze the desalination of wetlands by *T. domingensis*. The results were as follows: (1) The plant height and dry weight increase of *T. domingensis* in each treatment showed an increasing trend during the whole treatment stage, but the height of *T. domingensis* in different treatments were lower than that of CK. (2) The concentrations of Na^+ in the aboveground and underground parts of *T. domingensis* were 2.56 times and 1.75 times of the CK, respectively, and the concentrations of K^+ in the aboveground and belowground parts were decreased by 34.1% and 35.8%. (3) The value of Na^+/K^+ in the aboveground and underground parts showed an increasing trend during the whole experimental stage, and the selective transfer coefficient and the Na^+ and K^+ transfer coefficients generally showed a decreasing trend during the whole experimental stage. (4) The removal rates of Na^+ and K^+ in the soil of the treatment group by *T. domingensis* were 10.6%−15.8% and 2.3%−12.8%, the removal rates of Na^+ and K^+ in the water body of the treatment group were 55.0%−65.1% and 1.6%−67.0%. All the above results indicate that salt stress can affect the balance of Na^+ and K^+ in *T. domingensis*. Na^+ can be effectively absorbed by *T. domingensis*, and Na^+ can be transferred from the belowground part to the aboveground part by exchange with K^+ in the plant. Therefore, the salt can be absorbed and transferred from the wetland system into the organ of *T. domingensis* by the mean of ion transport, which can be used as an excellent plant for saline wetland restoration.

Key words: *Typha domingensis*, Na^+ and K^+ contents, desalination, transport characteristics, plant remediation

盐碱土是地球上广泛分布的非地带性土壤类型,是一种重要的土地资源,同时也是世界性的低产土壤(邱并生,2014)。土壤中积盐过多,影响植物的气孔关闭,伤害植物组织,导致植物根系吸收水分、养分非常困难,容易引发生理干旱,滞缓营养吸收;同时过多的盐分使土壤物理性质恶化、肥力降低(翁亚伟等,2017)。土壤盐渍化不仅对植物的生长不利,给农牧业生产造成巨大的损失,还对区域生态环境构成严重的威胁(Sertel et al., 2017)。因此,盐碱化土地的治理和利用已成为我国目前亟待解决的问题。

宁夏位于我国西北内陆高原,属大陆性气候,具有干旱少雨、气温日差大、风大沙多等特点。由于气候和土壤状况的限制,黄河水长期漫灌,加之人类不合理的土壤耕作方式,宁夏引黄灌区土壤盐碱化面积不断加重,其中以银北地区最为严重,部分土地已经不能进行正常的农业生产(方媛,2012),银北地区盐碱土主要以低洼盐碱土为主,地下水位偏高。种植耐盐水生植物,可提高土壤有机质含量,改善土壤局部环境,提高土壤肥力,从而抑制土壤盐分的积累(Radhakrishnan & Baek, 2017)。

盐生植物是指能在高盐(高碱性)生境中生存的一类具有较强抗盐(抗碱)能力的植物(孙兆军,2017)。我国盐碱地量大面广,且具有广泛的盐生植物资源,为盐碱地生态修复提供了物质基础。盐生植物具有聚盐泌盐的特性(弋良朋和王祖伟,2017),其根系的生长延伸能改善土壤的通透性(肖克飚,2013),盐碱地改良时可以通过水分淋洗滤去 Na^+ 和 K^+,或者植物在生长过程中通过吸收土壤和水体中 Na^+ 和 K^+,然后通过收获而去除土壤和水体中的盐碱;同时植物的蒸腾作用可以降低水位,从而抑制底层土壤返盐。由于生物措施具有投入成本低、稳定性和可持续性好等特点(史文娟等,2015),在盐碱地治理中应用较多,前景十分广阔。

长苞香蒲(*Typha domingensis*)为多年生挺水植物(褚润等,2017),喜光照,耐盐性好,经济价值

和观赏价值较高,目前对于长苞香蒲的研究主要集中在长苞香蒲对水体中微生物的吸收(Shaukat et al., 2019)和对水体的净化(李龙山等,2013; Anant et al., 2018; Sathe et al., 2019),对碳捕获能力的评估及季节性碳输入的评估(Afreen et al., 2019),对土壤重金属的富集和转运(严莉等,2016),而长苞香蒲对 Na^+和 K^+的吸收转运即对盐碱地的改良报道目前较少。本研究以长苞香蒲为对象在模拟人工盐碱湿地环境下,测定不同处理不同时期植株体内的 Na^+和 K^+含量,以及人工湿地中土壤及水体的 Na^+和 K^+含量变化,拟解决以下科学问题:(1)测定长苞香蒲对人工盐碱湿地的脱盐效果;(2)探讨长苞香蒲对人工盐碱湿地中 Na^+和 K^+的吸收转运特征;(3)揭示长苞香蒲耐盐机制,从而为盐碱湿地的生物改良提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验点位于宁夏银川植物园内(106°10′33.28″ E、38°25′3.73″ N),研究区属黄河中温带大陆性气候。基本气候特征是:日照充足,年平均气温 9.5~11.4 ℃,相对湿度 45%~66%;干旱少雨,年平均降水量 180~200 mm,主要集中在夏季,时间分配不均;蒸发强烈,平均蒸发量 1 300~2 200 mm;冬季寒冷,夏季炎热。

1.2 试验设计

试验材料选用在宁夏地区广泛分布的湿地植物长苞香蒲,试验用的长苞香蒲幼苗高约 80 cm、鲜重约 55 g。本试验采用桶栽试验,栽培土壤采用沙壤土(全盐量小于 0.2%且过 2 mm 筛)。将植株分别移栽到带土的桶中(桶高 85 cm,上口直径 74 cm,下口直径 52 cm,土壤高度 40 cm),每桶种植 4 株长苞香蒲,共栽植 40 桶。本试验共设 4 个处理,(1)对照,30 L 普通自来水(CK);(2)浇灌 100 mmol·L^{-1}的盐水 30 L(T1);(3)浇灌 200 mmol·L^{-1}的盐水 30 L(T2);(4)浇灌 300 mmol·L^{-1}的盐水 30 L(T3)。每个处理设置 3 次重复,其余 4 桶也做相应处理,用做备用材料。缓苗后第 3 周进行盐胁迫处理,每周按时补水 1 次至 30 L(自来水的含盐量为 550~600 mg·L^{-1},土壤电导率为 800~900 μs·cm^{-1},pH 为 6.8~7.2),补水时每次间隔 1 h,30 L 水分 5 次浇灌在桶中,将桶置于四周通风的带有透明塑料的大棚下,防止自然降雨的影响。试验期间进行正常管护,拔除杂草,防止病虫害的侵扰,每次测定时,每个处理中随机取一桶,共取 12 桶 48 株,S0 为刚种植的初始时期(5 月 5 日),5 月 30 日(S1)开始测定植物的株高和干重,每月的 30 日测定 1 次,至 7 月 30 日结束,处理时期分别记为 S1、S2 和 S3。

1.3 试验方法

生物量的测定:在 5—7 月每月 30 日将不同处理的长苞香蒲分地上部分和地下部分收割,做好标记,称量鲜重后置于 105 ℃烘箱中杀青 15 min,然后在 65 ℃下烘干至恒重,称其干重,计算各部分生物量。

株高的测定:用钢卷尺于试验期间每月 30 日测定不同处理下的株高,从土壤表面到最高点的距离记为株高,保留 2 位小数。

地上、地下部分取样时是全株根系和地上部分生物量全部进行收集,用蒸馏水冲洗干净,分别烘干后,用于测定相关的指标。

1.4 数据处理

用火焰分光光度计法(Hajbagheri et al., 1984)分别测定长苞香蒲地上部分及地下部分、土壤、水体中的 Na^+与 K^+含量,并进行以下指标的计算:

长苞香蒲植株不同部位的钠钾比(Na^+/K^+):

$$Na^+/K^+ = C_{Na^+}/C_{K^+} \quad (1)$$

不同植物或同一植物在不同盐胁迫下对盐分的转运特征不同,其衡量标准为转移系数(transfer factor,TF)。转移系数为某种离子在植物地上部分的浓度与相应离子在植物地下部分中浓度的比值,其作为衡量植物体对特定离子吸收与转运能力的指标,比值的大小与转运能力呈正相关。

$$TF = C_{地上}/C_{地下} \quad (2)$$

式中:$C_{地上}$为植物地上部分某离子浓度(mg·kg^{-1});$C_{地下}$为植物地下部分某离子浓度(mg·kg^{-1})。

$$离子去除率(\%) = (1 - C_3/C_0) \times 100 \quad (3)$$

离子去除率可反映出后期底泥或水体中 Na^+与 K^+含量去除的百分率,式中:C_3为 Na^+或 K^+于 S3 时期在底泥或水体中的含量;C_0为 Na^+或 K^+于 S0 时期(S0 为栽植的初始时期)在底泥或水体中的含量。

通过 IBM SPSS statistics 22.0 分析软件进行试验数据的统计计算，在进行方差分析之前，对所有数据进行了正态性及方差齐性检验，相关指标差异在 5%水平上的显著性通过 LSD 单因素方差分析进行检验，并用 Origin 2019 软件作图。

2　结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对长苞香蒲株高和干重的影响

如表 1 所示，长苞香蒲的株高和干重随着处理时间和盐浓度的增加均呈升高趋势，而其生长量随着盐浓度的增加呈现下降趋势，长苞香蒲植株虽受到不同程度的盐胁迫，但仍生长。与 CK 相比，各处理的地上干重、地下干重和株高整体上显著降低，尤其在 T3 浓度下降最显著。T3 盐浓度下，5 月、6 月及 7 月份长苞香蒲的地上干重较对照分别下降了 57.2%、46.9%、16.2%，地下干重较对照分别下降了 20.2%、30.7%、31.9%，株高分别下降了 9.9%、18.3%、15.0%，株高与地上干重和地下干重的变化相比相对较低。

表 1　NaCl 胁迫对长苞香蒲生长及生物量的影响

Table 1　Effects of NaCl stress on the growth and biomass of *Typha domingensis*

月份 Month	处理 Treatment	长苞香蒲 *Typha domingensis* 地上干重 Aboveground dry weight (g)	地下干重 Belowground dry weight (g)	株高 Plant height (cm)
5	CK	8.45±0.65a	15.47±1.11a	103.08±3.83a
	T1	6.67±0.40b	13.81±0.90b	99.58±0.77a
	T2	4.28±0.20c	12.55±0.59b	97.21±2.43ab
	T3	3.62±0.70c	12.34±0.64b	92.90±4.92b
6	CK	41.92±3.13a	35.47±1.11a	124.65±4.24a
	T1	37.39±2.06b	33.15±2.86a	118.36±2.63b
	T2	26.43±1.23c	25.30±2.72b	106.87±3.52c
	T3	22.25±0.89d	24.57±2.20b	101.88±2.28c
7	CK	46.45±2.75a	53.12±1.93a	146.64±7.54a
	T1	44.55±2.07a	44.79±4.28b	140.94±2.41ab
	T2	42.80±1.71ab	42.74±1.74b	132.64±3.98bc
	T3	38.96±3.23b	36.19±2.65c	124.62±5.27c

注：同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。

Note: Different letters in the same rows indicate significant differences (P<0.05).

2.2 NaCl 胁迫对长苞香蒲体内 Na^+和 K^+含量的影响

如图 1 所示，随着盐胁迫时间的延长，处理组长苞香蒲体内 Na^+含量较对照显著升高(P<0.05)，而 K^+含量均较对照组显著降低(P<0.05)；随着处理时长的增加，其对照组根部的 Na^+含量缓慢降低，而其地上部分的 Na^+含量表现为先升高后降低的趋势；同时，对照组长苞香蒲地上部分 K^+含量持续降低，而其根部 K^+含量逐渐升高。随着盐胁迫处理时间的延长，T1 处理组中长苞香蒲的根部和地上部分 Na^+含量的变化趋势与对照组一致，而 T2 和 T3 处理组根部的 Na^+含量呈降低趋势，其地上部分 Na^+含量呈升高趋势；处理组长苞香蒲根部 K^+含量均呈现为先升高后降低的趋势，地上部分 K^+含量持续降低，说明随着盐胁迫的增强及胁迫时间的延长，Na^+逐渐由长苞香蒲的根内转移至其地上部分，而 K^+则向长苞香蒲的根部转运。

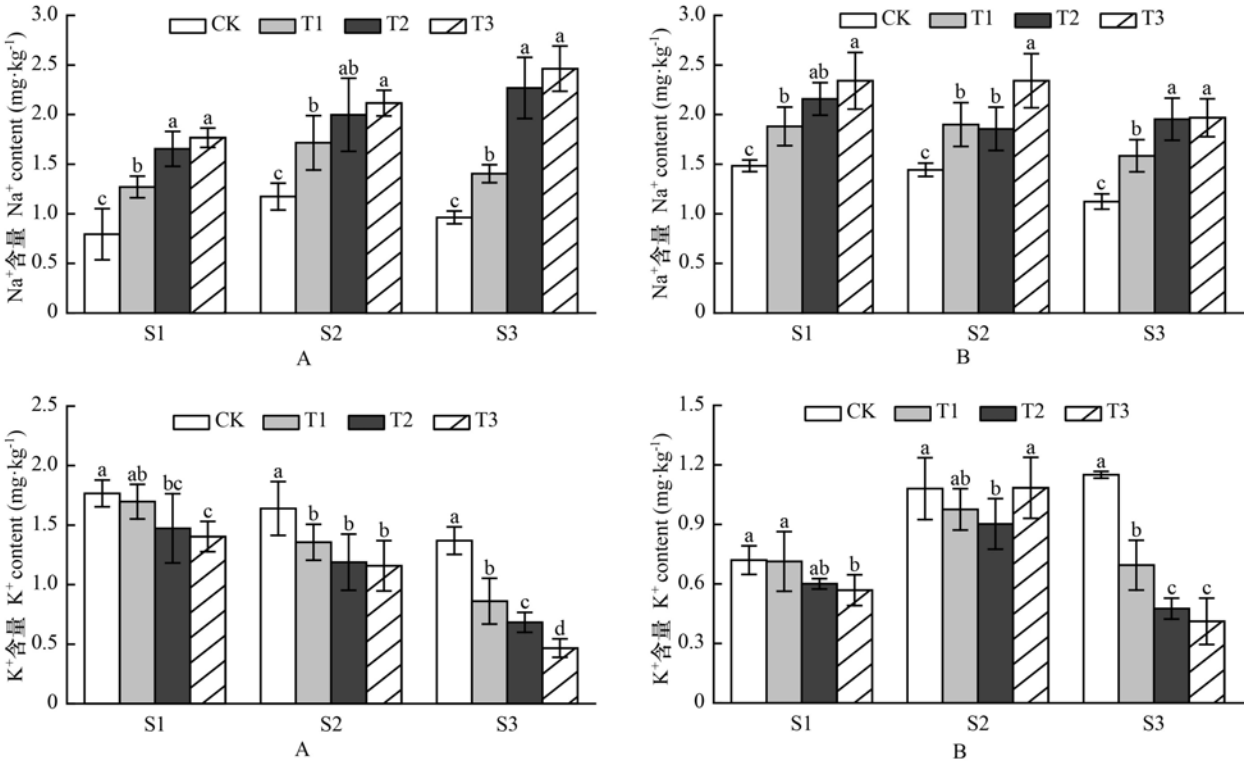
2.3 NaCl 胁迫对 Na^+和 K^+选择性运输的影响

由图 2 可知，随着盐胁迫时间的延长，长苞香蒲地上部分的钠钾比在处理和对照间均呈增加的趋势，但 S3 时期各处理间较 S1 和 S2 差异更显著，S3 时期不同处理间均存在显著性差异(P<0.05)，而地下部分的钠钾比则是先降低后升高的趋势，但 S3 时期也同样呈现出比 S1 和 S2 差异大，S3 时期各个处理间也存在显著性差异(P<0.05)，表明 S3 时期，由于盐胁迫处理时间最长，大量的盐分有了一定的累积，使得钠钾比大于 S1 和 S2 时期。

由图 3 可知，经盐胁迫处理后，长苞香蒲植株的钠钾选择性转移系数均降低，且随着时间的延长，T1 处理的钠钾选择性转移系数与对照组趋于一致，而 T2 和 T3 处理的钠钾选择性转移系数较对照仍有显著降低(P<0.05)，表明随着盐胁迫时间的延长，各个处理之间长苞香蒲体内钠钾选择性转移系数在降低，且盐浓度越高，其降低速率越快，最后接近于 1。

2.4 长苞香蒲对盐分的转运特征

由图 4 可见，随着处理时间的延长，在对照组



A. 地上部分; **B**. 地下部分; **S1**. 5 月 30 日; **S2**. 6 月 30 日; **S3**. 7 月 30 日。同处理的不同字母表示差异显著(P<0.05)。下同。
A. Aboveground; **B**. Belowground; **S1**. May 30; **S2**. June 30; **S3**. July 30. Different letters in the same treatment indicate significant differences (P<0.05). The same below.

图 1 长苞香蒲体内 Na^+和 K^+含量
Fig. 1 $Na^+$and K^+contents in *Typha domingensis*

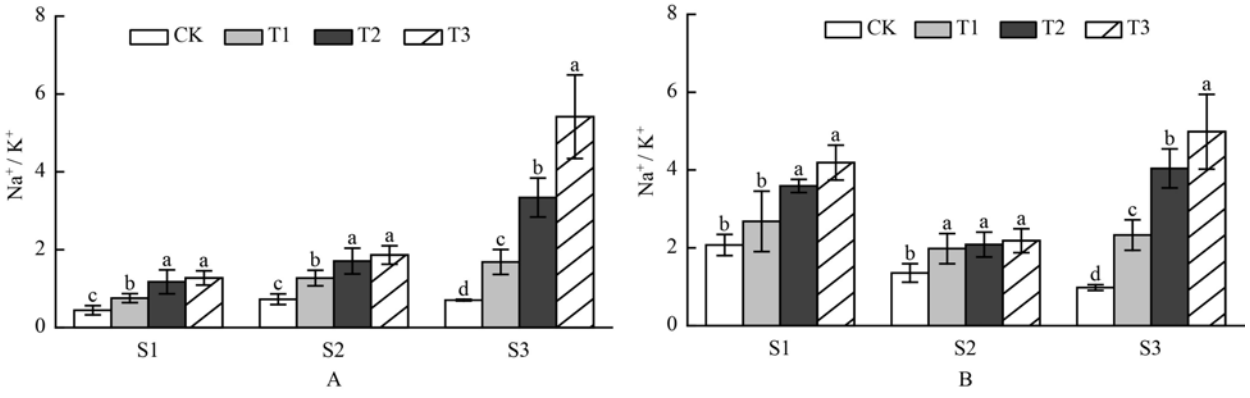


图 2 长苞香蒲体内 Na^+/ K^+
Fig. 2 Na^+/K^+ of *Typha domingensis*

和处理组中长苞香蒲对 K^+的转移系数均随时间延长而减小,且各组之间差异不大。长苞香蒲对 Na^+的转运特征也遵循同一模式,转运各组之间相似,转移系数均随处理时间的延长而增加,其中 T2 的中后期及 T3 后期大于 1,且在每个时期处理组对 Na^+的转移系数均较对照组高。由此可见,在一定盐浓度下,长苞香蒲始终能够较为有效地将地下部分多余的 Na^+转运至地上部分。

2.5 长苞香蒲对人工盐碱湿地土壤的脱盐作用

长苞香蒲对不同盐浓度的湿地土壤的 Na^+和

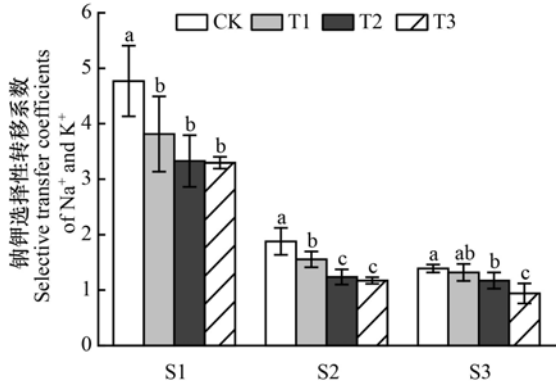


图 3　长苞香蒲体内 Na^+和 K^+选择性转移系数

Fig. 3　Selective transfer coefficients of Na^+ and K^+ in *Typha domingensis*

K^+有一定的富集作用(图 5)。土壤 Na^+含量,CK 和各处理组均随处理时间的延长而降低,并最终显著降低。同一时期的不同处理组中土壤 Na^+含量随处理浓度的增加而升高。对于土壤 K^+含量,CK 和 T1 表现出相同的规律,即均随处理时间的延长逐渐降低,并于 S3 时期显著降低($P<0.05$);而 T2 及 T3 土壤 K^+含量在 S3 时期较 S0 时期有所下降,但降低并不显著,且二者在 S1 和 S2 时期存在反弹回升的现象,回升的含量甚至超过了 S0,表明高浓度 Na^+的存在会抑制长苞香蒲对 K^+的吸收,或导致其根部 K^+的交换。

2.6 长苞香蒲对盐碱湿地水体的脱盐作用

对不同盐浓度的湿地水体的 Na^+和 K^+有一定的富集作用(图 6)。同一时期不同处理组的 Na^+含量随处理浓度增加而升高。随着处理时间的延长,CK 及各处理组水体 Na^+含量逐渐降低,最终显著降低;其中 T1 在 S2 时期基本降到最低,其余各组在 S3 时期降至最低。对于水体 K^+含量,各组在 S0 时期差异不大,随处理时间的延长,CK 及 T1 处理 K^+含量逐渐降低,并在 S2 及 S3 时期显著降低($P<0.05$);而 T2 在 S1 及 S2 时期水体 K^+含量上升、T3 在 S2 时期水体 K^+含量上升,且上升含量超过了 S0 时期,T2 及 T3 水体 K^+含量在 S3 时期无显著降低。因此,结合水体 Na^+和 K^+含量的变化,可见在低盐胁迫下,长苞香蒲能够有效去除水体 Na^+和 K^+。

2.7 K^+和 Na^+在人工盐碱地中的分配

由表 2 可见,对水体 K^+的去除率 CK 最高,T1 次之,而 T2 及 T3 很低,说明在水体 Na^+为一定浓度范围下长苞香蒲能够有效除去 K^+,但过高的 Na^+含量将显著抑制植物体对 K^+的吸收。整体而言,长苞香蒲对水体 Na^+、K^+的去除效果及脱盐作用优于土壤。CK 及各处理组对土壤中 Na^+的去除率较低,在 10%左右;CK 及 T1 对土壤 K^+的去除率显著高于 T2 及 T3,这可能是 T2 及 T3 土壤及水体中 Na^+含量较高,抑制长苞香蒲根部对 K^+吸收的结果。CK 对于水体中 Na^+的去除率为 49.4%,说明正常条件下长苞香蒲能够有效吸收水体中的 Na^+;而 CK 对水体 Na^+的去除率显著低于各处理组,表明长苞香蒲不仅具有较强耐盐性,更能在盐浓度较高的条件下有效除去水体中多余的 Na^+。

3　讨论

3.1 NaCl 胁迫对长苞香蒲生物量及体内 Na^+和 K^+含量的影响

本试验中的植物长苞香蒲能在一定盐浓度下正常生长,说明具有一定的耐盐性。NaCl 的胁迫不仅会影响植物体内 Na^+和 K^+的含量,更会不同程度地降低其生物量(李洪涛等,2014)。王澍等(2011)研究了甜瓜(*Cucumis melo*)的耐盐性,结果表明盐胁迫主要通过离子胁迫和渗透胁迫这两种途径来影响植物的生长发育。由于 Na^+的竞争,植物对钾、磷等营养元素的吸收会相应减少,磷的转移会受到抑制,严重影响植物的营养生长状况(陈静波等,2014;伍会萍等,2018;陈碧华等,2020),对于长苞香蒲株高及生物量均有明显影响。在盐胁迫初期,长苞香蒲地上生物量存在大幅度降低,但随着胁迫时间的延长,长苞香蒲的地上生物量降低幅度减小。在各时期,不同强度盐胁迫下的长苞香蒲地上及地下部分 Na^+含量均显著高于对照组($P<0.05$),且长苞香蒲体内 Na^+含量也随着盐浓度的升高而升高,说明在各处理条件下,长苞香蒲能够有效得将根部吸收的 Na^+转运并储存在整个植物体内,这与王晨等(2018)研究芦苇(*Phragmites australis*)对盐碱湿地中 Na^+的吸收与转运结果一致。在对照及各浓度处理下,Na^+在长苞香蒲地下部分的含量起初都要高于地上部分,且随处理时间的延长,这种含量差逐渐减小;值得注意的是,在 T2 及 T3 浓度处理下的 S2 及 S3 时期,Na^+在长苞香蒲地上部分的含量超过了地下部

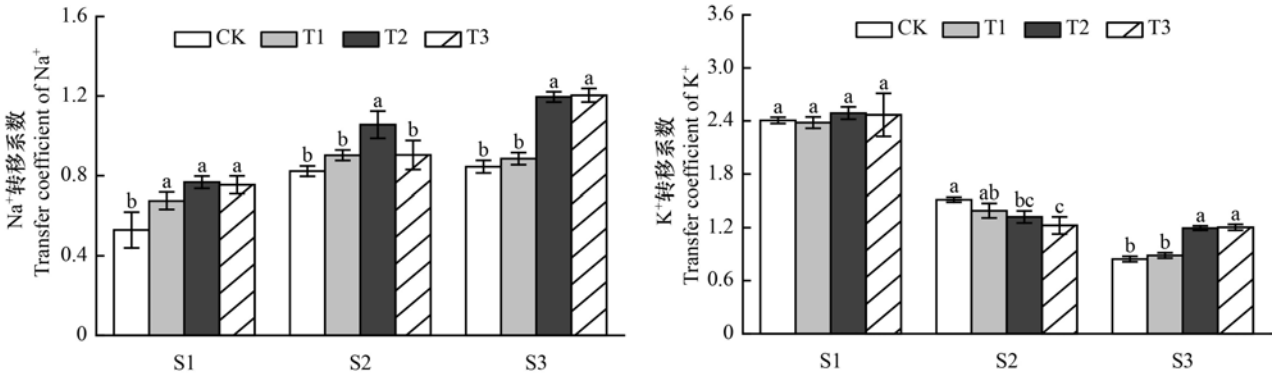
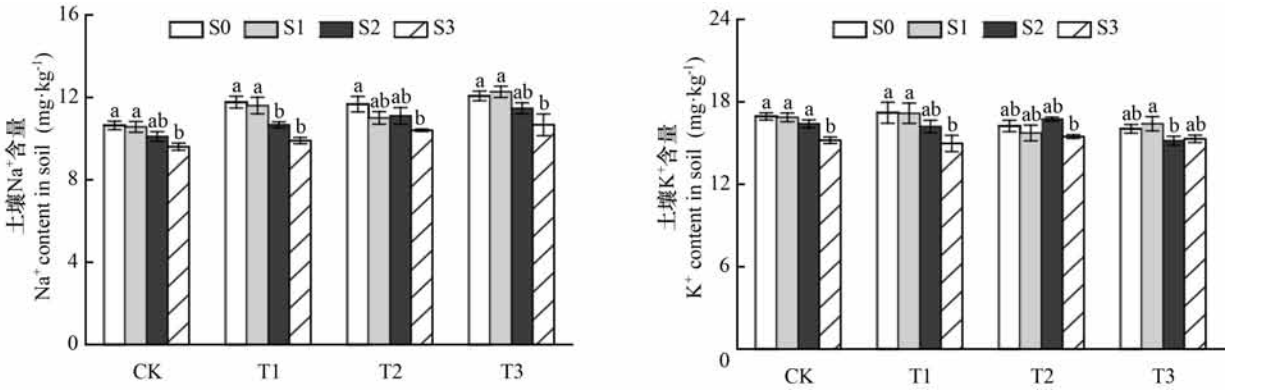


图 4 长苞香蒲体内 Na^+和 K^+转移系数

Fig. 4 Na^+ and K^+ transfer coefficients of *Typha domingensis*



S0. 5 月 5 日。下同。

S0. May 5. The same below.

图 5 土壤中 Na^+和 K^+含量

Fig. 5 Na^+ and K^+ contents in soil

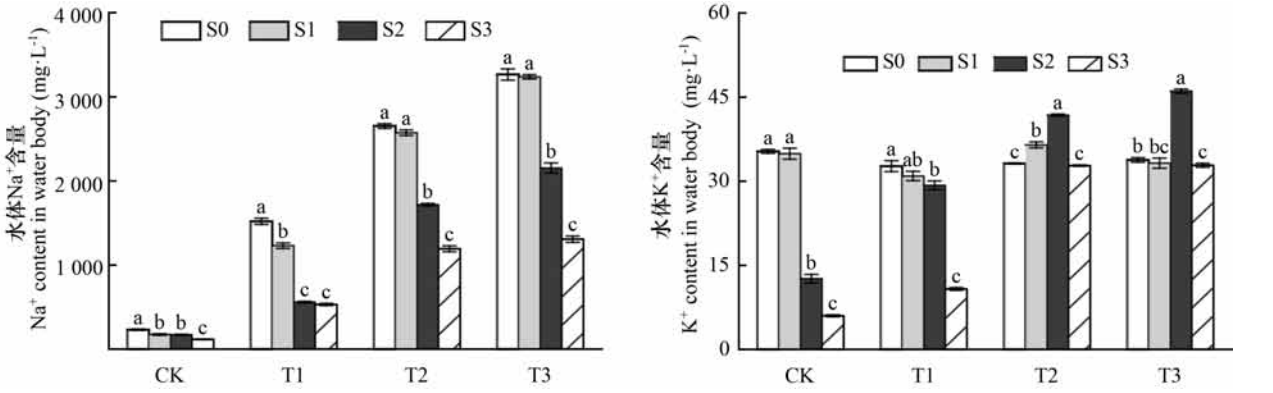


图 6 水体中 Na^+和 K^+含量

Fig. 6 Na^+ and K^+ contents in water

分,这说明 Na^+起初积累于长苞香蒲的地下部分,然后转运并存储于地上部分,这有利于通过收割除去土壤中的 Na^+。

3.2 Na^+和 K^+在不同植物体内的转移特征

盐胁迫不可避免地会影响植物体内的离子平衡,植物对 Na^+的过度吸收会降低植物体内 K^+含

表 2　长苞香蒲对土壤及水体 Na^+、K^+ 去除率

Table 2　Na^+ and K^+ removal ratios in soil and water body of *Typha domingensis*

介质 Medium	盐离子 Saline ion	离子去除率 Ion removal ratio(%)			
		CK	T1	T2	T3
土壤 Soil	Na^+	9.23±0.34c	15.79±0.61a	10.60±0.26b	11.80±0.28b
	K^+	10.11±0.18b	12.83±0.20a	4.44±0.13c	2.33±0.15d
水体 Water body	Na^+	49.40±0.39d	65.09±0.63a	55.02±0.48c	59.97±0.33b
	K^+	83.04±0.32a	67.02±0.41b	1.11±0.06d	5.58±0.24c

注：同行不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Different letters in the same line indicate significant differences($P<0.05$).

量。一方面，对于长苞香蒲，植物体内 K^+ 含量对照组要高于处理组，K^+ 含量也随着盐浓度的升高而降低，且随时间的延长，K^+ 的地上部分含量降低，地下部分含量逐渐升高。这刚好与 Na^+ 在长苞香蒲体内的含量变化相反，说明 K^+ 和 Na^+ 在地上及地下部分相互交换，最终使 Na^+ 积累于地上部分。另一方面，Na^+/K^+ 可以更直观地反映出随时间的延长及胁迫强度的增加，Na^+ 被有效地转运到长苞香蒲的地上部分，且最终其地上及地下部分均储存有较高浓度的 Na^+。本研究结果表明，长苞香蒲地上部分的 Na^+/K^+ 一直在升高，且主要体现在 S2 至 S3 这段时期，而地下部分的在 S1 至 S2 这段时期下降并于 S2 至 S3 这段时期上升；这些变化表明长苞香蒲将 Na^+ 转移至地上部分的时间集中在生物量增长迅速的 S2 时期。钠钾选择性转运系数即为植物根部钠钾比与其地上部分钠钾比的比值，其数值大小反映了植物由根部向地上部分转运 K^+ 而抑制 Na^+ 的能力，其值越大说明植物的选择性运输能力越强（于宝勒，2021），不仅能反映出长苞香蒲不同时间及胁迫强度下的转运特征，还能看出对盐胁迫的反应差异。长苞香蒲的钠钾选择性转运系数各处理组及对照组遵循同一规律，即始终随时间及浓度降低，说明其离子选择性随时间及浓度下降，体现出了其对盐胁迫的耐受及适应性。转移系数显示出长苞香蒲在对照处理下能够将 Na^+ 逐渐转移至地上，但含量始终是地下部分较高，且在环境含盐量较高（>200 mmol · L^{-1}）时地上部分 Na^+ 含量可高于地下部分。不同植物对盐的耐性存在差异，耐盐机制也不同（Walter，1961）；盐生植物主要通过液泡积累无机盐（Paul & Lade，2014），且主要是 NaCl。在对 6 种储盐植物的研究中，碱蓬（*Suaeda glauca*）和马齿苋（*Portulaca oleracea*）表现出了更强的储盐能力以及土壤盐分的清除能力，二者通过将胞质中有毒的 Na^+、K^+ 和 Ca^{2+} 存储到液泡中，并通过增加液泡的体积来调节和富集这些离子。因此，碱蓬和马齿苋被成功地通过连续栽培用于除去作物区土壤中的 NaCl，碱蓬液泡体积占细胞体积的 77%（吴丹等，2019），这使其能够累积盐浓度高达 500 mmol · L^{-1}（Dracup et al.，1985；Ravindran et al.，2007）。还有很多植物的耐盐性得益于能够通过叶片将多余的 Na^+ 排除，这些植物通过表皮细胞组成的盐腺从叶肉细胞中汲取盐分并将其分泌到叶片表面，在叶表面形成一层盐结晶（Munns，2002；James et al.，2011）。本试验中的长苞香蒲通过吸收、转运及 K^+ 的交换将 Na^+ 存储在地上部分，这与许多其他植物的机制相似。

3.3 长苞香蒲对土壤和水体的脱盐作用

盐生植物的种植是为了能够改善土壤及农田排水质量，从而应用于盐碱土地的植物修复。Ammari 等（2008）研究发现，饲料甜菜（*Beta vulgaris*）及大麦（*Hordeum vulgare*）均能有效地去除土壤中的盐分和 Na^+，收获的饲料甜菜地上部分含盐量为 156 kg · hm^{-2}，而大麦为 75 kg · hm^{-2}，二者能够去除 10 cm 深表层土壤 12% 的 Na^+ 含量。盐碱土中的 Na^+ 可被同是阳离子的 Ca^{2+} 交换析出，Qadir 等（2003）研究发现，通过向盐碱土中施加石灰或种植苜蓿（*Medicago sativa*）均能有效降低 Na^+ 含量，苜蓿能够为分解根际的碳酸钙提供 Ca^{2+}，并且苜蓿生长一定年限后会使根际周边土壤的 pH 值和含盐量进一步降低（魏晓斌等，2013；罗慧等，2020）。整体而言，通过种植耐盐植物对盐碱土中 Na^+ 的去除效率不弱于化学方法，且经济可持续性高、无二次污染。显然，盐碱地及农田排水中不止含有 Na^+，通过研究 8 种水生植物对农田排水的脱盐效果，发现芦苇、长苞香蒲及菹草（*Potamogeton crispus*）3 种植物具有较高的脱盐能力，其中通过收割芦苇和长苞香蒲每年能从农田排水中脱盐 10%～26%，另外，二者对于 Ca^{2+}、Mg^{2+}、Na^+、Cl^- 和 SO_4^{2-} 等离子的吸收率为每年 9%～15%（Yang et

al., 2015)。耐盐植物双穗草(*Leptochloa fusca*)的种植能够降低土壤盐碱度、可溶性阳离子 Na^+、K^+、Ca^{2+}、Mg^{2+}及阴离子 Cl^-、SO_4^{2-}和 HCO_3^-的浓度,且随着双穗草的种植,土壤肥力和性质的改善保持了 5 年以上,说明通过种植耐盐植物是修复盐碱荒地的可持续性生物方法(Akhter et al., 2003),耐盐植物的种植对土壤物理性质、土壤有机质及微生物环境等均有较好的改善作用,而化学方法修复盐碱地会带来一系列经济及生态问题,植物修复越来越受到重视(肖克飚,2013)。因此,对不同植物耐盐机理的进一步研究将有助于之后在土壤植物修复中的实际应用。

4 结论

通过试验结果进行分析,可以得出以下三点结论:(1)长苞香蒲体内的 Na^+和 K^+平衡会因盐胁迫而打破,其植株体内 Na^+含量逐渐升高,而 K^+含量则逐渐降低。(2)长苞香蒲能够将土壤和水体中吸收的 Na^+从地下部分转移至地上部分,能有效去除土壤和水体中的 Na^+和 K^+,即可通过收割的方法来降低土壤和水体中的盐碱,从而达到去除盐碱的目的。(3)在较高浓度盐胁迫下,多余 Na^+依然能够被有效除去,但高的 Na^+浓度及长苞香蒲对 Na^+的大量吸收阻碍了长苞香蒲对水体 K^+的去除,甚至在某些时期出现了植物体 K^+外渗的现象。

参考文献:

AFREEN J, AMRIK S, MALKIAT C, et al., 2019. Carbon sequestration potential of macrophysics and seasonal carbon input assessment into the Hokersar Wetland, Kashmir [J]. Wetlands, 39(3): 453-472.

AKHTER J, MAHMOOD K, MALIK KA, et al., 2003. Amelioration of a saline sodic soil through cultivation of a salt-tolerant grass *Leptochloa fusca* [J]. Environ Conserv, 30(2): 26-35.

AMMARI TG, TAHBOUB AB, SAOUB HM, et al., 2008. Salt removal efficiency as influenced by phyto-amelioration of salt-affected soils [J]. J Sci Food Agric Environ, 6(3): 456-460.

ANANT Y, FLORENT C, SRIKANTH M, 2018. Development of the "French system" vertical flow constructed wetland to treat raw domestic wastewater in India [J]. Ecol Eng, 113(113): 88-93.

CHEN BH, GUO WL, MENG FR, et al., 2020. Effect of cadmium stress on cadmium uptake accumulation and photosynthetic characteristics of pumpkin [J]. J Irrig Drain, 39(12): 1-6. [陈碧华, 郭卫丽, 孟凡茹, 等, 2020. 镉胁迫对南瓜植株镉吸收积累及光合特性的影响 [J]. 灌溉排水学报, 39(12): 1-6.]

CHEN JB, NIU JW, TIAN HY, et al., 2014. Effect of NaCl stress on growth and Na^+ and K^+ accumulation of cultivars 'Suzhi No. 2' and 'Tifgreen' of hybrid Bermuda grass [J]. J Plant Resour Environ, 23(3): 45-51. [陈静波, 牛佳伟, 田海燕, 等, 2014. NaCl 胁迫对杂交狗牙根品种'苏植 2 号'和'Tifgreen'生长及 Na^+和 K^+积累的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 23(3): 45-51.]

CHU R, CHEN NL, WANG XJ, et al., 2017. The nitrogen removal effect of emergent plant in constructed wetland [J]. Environ Poll Control, 39(8): 884-889. [褚润, 陈年来, 王小娟, 等, 2017. 人工湿地挺水植物脱氮效果研究 [J]. 环境污染与防治, 39(8): 884-889.]

DRACUP MNH, GREENWAY H, 1985. A procedure for isolating vacuoles from leaves of the halophyte *Suaeda maritima* [J]. Plant Cell Environ, 8(2): 149-154.

FANG Y, 2012. Study on soil salinization in typical areas of north central Ningxia based on WET [D]. Xi'an: Chang'an University. [方媛, 2012. 基于 WET 的宁夏中北部典型地区土壤盐渍化研究 [D]. 西安: 长安大学.]

GE LP, WANG ZW, 2017. Effects of different types of halophytes on the concentration of cadmium in coastal saline soil [J]. Acta Ecol Sin, 37(14): 4656-4662. [弋良朋, 王祖伟, 2017. 滨海盐渍土壤中不同类型盐生植物富集镉的效应 [J]. 生态学报, 37(14): 4656-4662.]

HAJIBAGHERI MA, HALL JL, FLOWERS TJ, 1984. Stereological analysis of leaf cells of the halophyte *Suaeda maritima* (L.) Dum [J]. J Exp Bot, 35(159): 1547-1557.

JAMES RA, BLAKE C, BYRT CS, et al., 2011. Major genes for Na^+ exclusion, Nax1 and Nax2 (wheat HKT1;4 and HKT1;5), decrease Na^+ accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. [J]. J Exp Bot, 62(8): 2939.

LI HT, CHEN HY, LI DW, et al., 2014. Effect of NaCl tolerance on contents of Na^+ and K^+ of Mudanhua pomegranate plants [J]. J Henan Agric Sci, 43(7): 130-132. [李洪涛, 陈海燕, 李东伟, 等, 2014. NaCl 胁迫对牡丹花石榴植株体内 Na^+、K^+含量的影响 [J]. 河南农业科学, 43(7): 130-132.]

LI LS, NI XL, LI ZG, et al., 2013. Sewage cleaning abilities of five wetland plants [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 33(11): 2292-2300. [李龙山, 倪细炉, 李志刚, 等, 2013. 5 种湿地植物对生活污水净化效果研究 [J]. 西北植物学报, 33(11): 2292-2300.]

LUO H, FENG CC, YUE ZH, et al., 2020. Effects of phytoremediation on soil enzyme activity and thermodynamic characteristics of enzymatic reaction in severe saline-alkali

land [J]. Chin J Appl Ecol, 31(12): 4243-4250. [罗慧, 冯程程, 岳中辉, 等, 2020. 植被修复对重度盐碱地土壤酶活性和酶反应热力学特征的影响 [J]. 应用生态学报, 31(12): 4243-4250.]

MUNNS R, 2002. Comparative physiology of salt and water stress. [J]. Plant Cell Environ, 25(2): 239-250.

PAUL D, LADE H, 2014. Plant-growth-promoting rhizobacteria to improve crop growth in saline soils: a review [J]. Agron Sustain Dev, 34(4):737-752.

QADIR M, STEFFENS D, YAN F, et al., 2003. Sodium removal from a calcareous saline-sodic soil through leaching and plant uptake during phytoremediation [J]. Land Degrad Dev, 14(3): 301-307.

QIU BS, 2014. Microbes in saline-alkali soil [J]. Microbiology, 41(1): 200. [邱并生, 2014. 盐碱土壤微生物 [J]. 微生物学通报, 41(1): 200.]

RADHAKRISHNAN R, BAEK KH, 2017. Physiological and biochemical perspectives of non-salt tolerant plants during bacterial interaction against soil salinity [J]. Plant Physiol Biochem, 116(116):116-126.

RAVINDRAN KC, VENKATESAN K, BALAKRISHNAN V, et al., 2007. Restoration of saline land by halophytes for Indian soils [J]. Soil Biol Biochem, 39(10):2661-2664.

SATHE SM, MUNAVALLI GR, 2019. Domestic wastewater treatment by modified bio-rack wetland system [J]. Proc Eng, 28(28): 240-249.

SERTEL E, GORJI T, TANIK A, 2017. Monitoring soil salinity via remote sensing technology under data scarce conditions: A case study from Turkey [J]. Ecol Indic, 74(74): 384-391.

SHAUKAT A, RASHID M, AREESHA M, et al., 2019. Assessment of spring water microbiology and role of *Typha angustata* as bio sorbent [J]. Water Environ Res, 91(12): 1705-1717.

SHI WJ, YANG JQ, MA Y, 2015. Review on saline-alkali soil improvement with planting halophyte method in arid region [J]. J Water Resour Water Eng, 26(5): 229-234. [史文娟, 杨军强, 马媛, 2015. 旱区盐碱地盐生植物改良研究动态与分析 [J]. 水资源与水工程学报, 26(5): 229-234.]

SUN ZJ, 2017. Ecological restoration of typical saline-alkali soils in northern China [M]. Beijing: Science Press: 19-20. [孙兆军, 2017. 中国北方典型盐碱地生态修复 [M]. 北京: 科学出版社: 19-20.]

WALTER H, 1961. Salinity problems in the acid zones, the adaptations of plants to saline soils [J]. Arid Zone Res, 14: 65-68.

WANG C, TAN LL, NI XL, et al.,2018. Characteristics of Na^+ absorption and transport of *Phragmites communis* in artificial saline wetlands [J]. J Agro-Environ Sci, 37(9): 1970-1976. [王晨, 谭玲玲, 倪细炉, 等, 2018. 芦苇对人工盐碱湿地中 Na^+ 的吸收与转运特征 [J]. 农业环境科学学报, 37(9): 1970-1976.]

WANG S, ZHU CY, YU CX, et al., 2011. K^+ and Na^+ contents in plants of muskmelon varieties under NaCl stress [J]. J Shanghai Jiaotong Univ (Agric Sci Ed), 29(3): 41-46. [王澍, 朱春燕, 俞晨玺, 等, 2011. NaCl 对不同甜瓜品种植株中 K^+ 和 Na^+ 含量的影响 [J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 29(3): 41-46.]

WEI XB, WANG ZF, YU HZ, et al., 2013. Effects of alfalfa with different growth years on soil saline-alkali land [J]. Pratact Sci, 30(10): 1502-1507. [魏晓斌, 王志锋, 于洪柱, 等, 2013. 不同生长年限苜蓿对盐碱地土壤肥力的影响 [J]. 草业科学, 30(10): 1502-1507.]

WENG YW, ZHANG L, ZHANG S, et al., 2017. Effects of salt with drought stress on growth and water uptake of wheat seedlings [J]. Acta Ecol Sin, 37(7): 2244-2252. [翁亚伟, 张磊, 张姗, 等, 2017. 盐旱复合胁迫对小麦幼苗生长和水分吸收的影响 [J]. 生态学报, 37(7): 2244-2252.]

WU D, SUN P, CHEN GL, et al., 2019. Water purification effect and saline-alkali tolerance improvement mechanism of *Suaeda salsa* in the estuary area [J]. Environ Sci, 40(12): 5384-5393. [吴丹, 孙萍, 陈广琳, 等, 2019. 外源 Ca^{2+} 和 K^+ 作用下河口区碱蓬水质净化效果和耐盐碱提高机制 [J]. 环境科学, 40(12): 5384-5393.]

WU HP, DING ZJ, NI XL, 2018. Effects of NaCl stress on growth and photosynthetic properties of *Phragmites australis* and *Typha angustata* [J]. Jiangsu Agric Sci, 46(24): 134-138. [伍会萍, 丁振杰, 倪细炉, 2018. NaCl 胁迫对长苞香蒲和芦苇生长及光合特性的影响 [J]. 江苏农业科学, 46(24): 134-138.]

XIAO KB, 2013. Experimental study on mechanism of halophyte-remediation in alkali-saline soil in north region of Yinchuan City Ningxia Province [D]. Yangling: Northwest A & F University. [肖克飚, 2013. 宁夏银北地区耐盐植物改良盐碱土机理及试验研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学.]

YAN L, LI LS, NI XL, et al., 2016. Accumulation of soil heavy metals in five species of wetland plants [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 36(10): 2078-2085. [严莉, 李龙山, 倪细炉, 等, 2016. 5 种湿地植物对土壤重金属的富集转运特征 [J]. 西北植物学报, 36(10): 2078-2085.]

YANG YN, SHENG Q, ZHANG L, et al., 2015. Desalination of saline farmland drainage water through wetland plants [J]. Agric Water Manag, 156: 19-29.

YU BL, 2021. Remediation measures of saline-alkali land: A review [J]. Chin Agric Sci Bull, 37(7): 81-87. [于宝勒, 2021. 盐碱地修复利用措施研究进展 [J]. 中国农学通报, 37(7): 81-87.]

(责任编辑　李　莉)

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1160-1169 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202110027

王新帅, 林华, 俞果, 等. 桂北典型锰矿区周边土壤重金属污染状况及主要植物富集特征 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1160-1169.

WANG XS, LIN H, YU G, et al. Heavy metal pollution assessment of a typical manganese mine tailing and heavy metal enrichment characteristics of dominant plant species in North Guangxi [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1160-1169.

桂北典型锰矿区周边土壤重金属污染状况及主要植物富集特征

王新帅[1], 林 华[1,2,3], 俞 果[1,2,3*], 蒋萍萍[1,2,3], 刘 杰[1,2,3]

(1. 桂林理工大学 环境科学与工程学院, 广西 桂林 541004; 2. 桂林理工大学岩溶地区水污染控制与利用安全保障协同创新中心, 广西 桂林 541004; 3. 广西环境污染控制理论与技术重点实验室科教结合科技创新基地, 广西 桂林 541004)

摘 要: 为探究桂北某典型锰矿尾库区周边土壤和农作物重金属污染状况,筛选适合该地区污染土壤修复的植物材料,该研究在矿区周边采集了9种农作物和23种主要植物及其根际土壤,并测定了Cd、Mn、Cr、Pb和Zn 5种重金属含量,采用单因子污染指数法和综合污染指数法评价了矿区农田土壤、农作物中重金属的生态风险,通过计算植物对重金属的富集和转运系数评估其应用潜力。结果表明:(1)研究区土壤Cd、Mn污染最为严重,单因子污染指数分别为18.53、147.09,达到重度污染级别。(2)研究区花生和小白菜等作物可食用部位中的Cd、Cr、Pb含量均超过食品国家安全标准(GB 2762—2017)中的阈值,具有较高健康风险。(3)23种主要植物中青葙、鬼针草、一点红、蜈蚣草等对多种重金属转运系数大于1,具备富集型植物特征;一把伞南星、蓖麻、千里光等根部重金属含量较高,转运系数较低,具备根部囤积型植物特征;响铃豆、筒轴茅、苎荬菜等富集的重金属含量相对较低,且在重金属污染土壤中能健康生长,具备规避型植物特征。该研究结果表明,研究区土壤存在较严重的Cd/Mn复合污染,青葙等植物用于修复该复合污染土壤极具应用潜力。

关键词: 土壤重金属, 锰矿区, 污染评价, 富集植物, 转运系数

中图分类号: Q948 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2022)07-1160-10

Heavy metal pollution assessment of a typical manganese mine tailing and heavy metal enrichment characteristics of dominant plant species in North Guangxi

WANG Xinshuai[1], LIN Hua[1,2,3], YU Guo[1,2,3*], JIANG Pingping[1,2,3], LIU jie[1,2,3]

(1. *College of Environmental Science and Engineering*, *Guilin University of Technology*, Guilin 541004, Guangxi, China; 2. *Collaborative Innovation Center for Water Pollution Control and Utilization in Karst Areas*, *Guilin University of Technology*, Guilin 541004, Guangxi, China; 3. *Guangxi Environmental Pollution Control Theory and Technology Key Laboratory*, *Science and Education Combination Technology Innovation Base*, Guilin 541004, Guangxi, China)

收稿日期: 2022-03-01

基金项目: 国家自然科学基金(52070051, 41867022);广西科技计划项目(2020GXNSFAA297256, 2021GXNSFBA220055, 2021GXNSFBA196023);广西科技基地和人才专项(桂科 AD19110156);桂林市科学技术研究开发项目(20190219-3) [Supported by National Natural Science Foundation of China (52070051, 41867022); Guangxi Science and Technology Plan Project (2020GXNSFAA297256, 2021GXNSFBA220055, 2021GXNSFBA196023); Guangxi Special Project of Science and Technology Base and Talent Development (Guike AD19110156); Guilin Project of Science and Technology Development (20190219-3)]。

第一作者: 王新帅(1995-),硕士研究生,研究方向为重金属污染土壤植物修复,(E-mail)1450013597@qq.com。

*通信作者: 俞果,博士,实验师,研究方向为受损环境的生态修复,(E-mail)yuguo@glut.edu.cn。

Abstract: In order to assess the heavy metal pollution of soils and crops around a typical manganese mine tailing in North Guangxi, and to select suitable plant materials for the remediation of heavy metal pollution in this area, nine crop samples, 23 dominant plant species and their rhizosphere soils, were collected. The contents of Cd, Mn, Cr, Pb and Zn of the samples were analyzed. The ecological risks of heavy metals in the soils and crops were evaluated using the single factor and comprehensive pollution index. The bioconcentration and translocation factors of the dominant plant species were calculated. The results were as follows: (1) Cd and Mn were the dominant pollutants in the soils of the studied area. The values of single factor pollution index of Cd and Mn reached 18.53 and 147.09 respectively. (2) The contents of Cd, Cr and Pb in crops such as *Arachis hypogaea* and *Brassica chinensis* exceeded the threshold values in the National Food Safety Standards (GB 2762—2017), which had great health risks. (3) Among the 23 dominant plant species, the translocation factors of *Celosia argentea*, *Bidens pilosa*, *Emilia sonchifolia* and *Eremochloa ciliaris* for several heavy metals were greater than one, indicating that they have the characteristics of metal accumulating plants. The heavy metal contents in roots of *Arisaema erubescens*, *Ricinus communis*, and *Senecio scandens* were relatively higher, while their translocation factors were relatively lower, indicating that they were root hoarding plant. The metal contents in the shoots and roots of *Crotalaria albida*, *Rottboellia exaltata* and *Sonchus arvensis* were relatively lower, while they kept healthy in the contaminated soil, indicating that they were elusive plants. The results show that the soils in the studied area are seriously polluted by Cd and Mn, and *Celosia argentea* is a potential plant material for the remediation of the co-contaminated soil.

Key words: soil heavy metal, manganese mining area, pollution assessment, accumulator plant, translocation factor

有色金属矿山的开采推动了国民经济的快速发展,但同时也引起了严重的环境污染问题(Luckeneder et al.,2021)。矿产开发活动产生的废水、废渣通常会导致矿区周边土壤被重金属污染(Dong et al., 2019)。与有机污染物相比,重金属具有不可降解的特性,且易于通过土壤-作物-食物链进入人体,严重威胁粮食生产安全和人类健康(Xiao et al., 2017)。因此,矿区土壤重金属污染受到学界的广泛关注。广西矿产资源丰富,被称为“有色金属之乡”,其中锰矿的储量和开采规模居全国之首(Liu et al., 2020)。研究表明,锰矿区及其周边土壤常存在 Mn、Cd、Pb、Zn 等重金属复合污染(Hao & Jiang, 2015)。此外,广西高达 67%的耕地为酸性土壤,这使土壤生态环境面对重金属污染时更加敏感和脆弱(Liu et al., 2020)。不同矿区的重金属污染特征以及周边土壤理化性质、农作物类型都有较大差异,因此对矿区周边土壤和农作物的重金属污染特征以及生态风险进行正确的评价对于土壤修复和安全利用具有重要意义。

植物修复技术(phytoremediation)被认为是修复重金属污染土壤最具潜力的方法之一,与传统的物理化学修复手段相比,具备治理过程的原位性、治理成本的低廉性、环境美学的兼容性等多项优点(Sarda et al., 2021)。超富集植物(hyperaccumulator)是植物修复技术的核心载体,在修复重金属污染土壤过程中具有重要的作用(Dai et al., 2021)。在矿区筛选重金属富集能力强、耐受性强、易于繁殖的特征植物用于植物修复已成为近年来的国内外学者的研究热点。优势植物一般指在地区植物群落中数量较多,覆盖度较大,对生境影响较大的植物种(Wu et al., 2021)。虽然矿区土壤往往存在养分匮乏、基质结构差等问题,但仍有一部分优势植物能适应这种恶劣的环境并健康地生长。程俊伟等(2021)研究了贵州湘江锰矿区 13 种优势植物对 Mn、Cb、Pb、Cu、Zn、Cr 和 Hg 的富集能力,发现垂序商陆、小蓬草、酸模叶蓼和苍耳具有较强的重金属富集能力,可用于该地区重金属污染土壤修复的先锋植物。Wu 等(2021)研究了四川兴文县西南部黄铁矿 29 种优势植物对 Cd、Cu、Cr 和 Ni 的富集能力,发现苎麻、野菊花、五节芒、小蓬草、川莓、千里光和苋草对 Cr、Cd、Ni 和 Cu 具有较强的富集能力,是治理该地区土壤污染潜在的修复植物。

本研究以桂北典型锰矿尾库区为研究区域,对研究区内优势植物、农作物和土壤进行了现场调查和样品采集,采用单因子污染指数法和 Nemerow 综合污染指数法,通过计算植物对重金属的富集和转运系数筛选能大量富集重金属的优势植物,拟探讨以下问题:(1)研究区土壤和农作物的重金属污染现状及其生态风险;(2)研究区主要

植物重金属富集转运能力。研究成果有望为该类型矿区农田土壤的风险管控和生态修复提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于广西壮族自治区桂林市平乐县阳安乡北部的锰矿尾库区,矿区为丘陵地貌,地处110°53′39.12″ E、24°32′23.64″ N。研究区属于中亚热带季风性气候,年平均降雨量 1 492 mm,年平均气温 17.7 ℃,区域以壤土或砂壤土为主,土壤偏酸性(pH 为 6.5 左右)。研究区的锰矿开采活动开始于 1958 年,目前该矿区已停止开采,当地村民在矿区周围种植少量农作物。研究区及采样点位置见图 1。

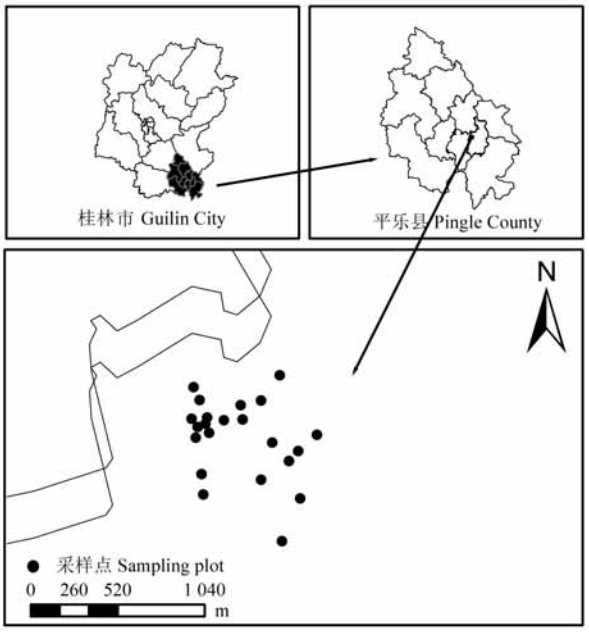


图 1 采样点位图

Fig. 1 Distribution maps of soil sampling areas and plots

1.2 实验设计及样品采集

于 2020 年 8 月,对研究区内主要植物、农作物和植物根际土壤进行了现场调查和样品采集。根据优势度筛查,选取研究区生长状况较好、分布较多的 23 种优势植物作为研究对象,分属于 11 个科和 22 个属,其中菊科 7 种(占 30.4%)、豆科 4 种(占 17.4%)、禾本科 3 种(占 13.0%),其他如旋花科、大戟科、天南星科、柳叶菜科、马钱科、山柑科、苋科、锦葵科各 1 种,如表 1 所示。此外,采集研究区村民种植的 9 种处于成熟期的常见农作物,包括芝麻(*Sesamum indicum*)、花生(*Arachis hypogaea*)、小白菜(*Brassica chinensis*)、南瓜(*Cucurbita moschata*)、赤小豆(*Vigna umbellata*)、玉米(*Zea mays*)、大豆(*Glycine max*)、扁豆(*Lablab purpureus*)、葱(*Allium fistulosum*)。对选取的优势植物和农作物每种采集 3 株,并进行标记,优势植物取其地上部分和根部,农作物取其可食用部分。采集植物样品的同时采集根际土壤,将植物根系附着的土壤取下后混合均匀,用四分法取 1 kg 装于自封袋中带回实验室。

1.3 样品处理和测定

剔除土壤样品中的石子、根须等杂物,自然风干后过 0.841 mm 尼龙筛网备用。新鲜植物样品及作物样品用去离子水反复冲洗,吸水纸吸去表面水分后放入烘箱 105 ℃杀青 30 min,60 ℃烘至恒重,植物样品将地上部分和根分别磨碎,作物样品剥取可食用部分,即芝麻籽、花生粒、小白菜叶、南瓜瓤、赤小豆粒、玉米粒、大豆粒、扁豆荚和葱叶,研磨成粉。分别称取土壤样品、植物样品和作物样品 0.20 g(精确到 0.000 1 g),采用美国国家环保署(US EPA)推荐的 HNO_3-H_2O_2体系消解土壤样品,采用 HNO_3-$HClO_4$法(EPA 3050B)消解植物和作物样品。消解后采用原子吸收光谱仪(PE-AA700 型)测定重金属含量,同时设置空白和质控样参比,使用国家标准土壤样品(GBW08303)和国家标准植物样品(GBW07604)进行质量控制,标样回收率分别为 Cd 89.21%~101.02%、Mn 85.60%~111.89%、Cr 85.14%~109.12%、Pb 86.55%~108.22%、Zn 85.15%~109.17%。分析过程中所采用的试剂均为优级纯试剂。

1.4 数据处理与分析

单因子污染指数(P_i)(Lee et al., 2008; Lei et al., 2015)和 Nemerow 综合污染指数(P_{com})(Ogunkunle & Fatoba, 2013)通常被用来评估土壤的污染水平。P_i和 P_{com}的计算公式和评价标准如下所示:

$$P_i = \frac{C_i}{S_i} \quad (1)$$

式中:P_i为单因子污染指数;C_i是污染物的实际测定浓度;S_i则为污染物的标准值,以土壤污染

表 1　研究区优势植物种类

Table 1　Dominant plant species in the study area

科 Family	属 Genus	种 Species
禾本科 Gramineae	蜈蚣草属 *Eremochloa*	蜈蚣草 *Eremochloa ciliaris*
	筒轴茅属 *Rottboellia*	筒轴茅 *Rottboellia exaltata*
	穇属 *Eleusine*	牛筋草 *Eleusine indica*
旋花科 Convolvulaceae	牵牛属 *Pharbitis*	牵牛 *Pharbitis nil*
大戟科 Euphorbiaceae	蓖麻属 *Ricinus*	蓖麻 *Ricinus communis*
天南星科 Araceae	天南星属 *Arisaema*	一把伞南星 *Arisaema erubescens*
菊科 Asteraceae	假臭草属 *Praxelis*	假臭草 *Praxelis clematidea*
	鬼针草属 *Bidens*	鬼针草 *Bidens pilosa*
	一点红属 *Emilia*	一点红 *Emilia sonchifolia*
	白酒草属 *Conyza*	小蓬草 *Conyza canadensis*
	千里光属 *Senecio*	千里光 *Senecio scandens*
	蒿属 *Artemisia*	青蒿 *Artemisia caruifolia*
		蒙古蒿 *A. mongolica*
	苦苣菜属 *Sonchus*	苣荬菜 *Sonchus arvensis*
豆科 Fabaceae	链荚豆属 *Alysicarpus*	链荚豆 *Alysicarpus vaginalis*
	葛属 *Pueraria*	葛 *Pueraria lobata*
	猪屎豆属 *Crotalaria*	响铃豆 *Crotalaria albida*
	木豆属 *Cajanus*	蔓草虫豆 *Cajanus scarabaeoides*
柳叶菜科 Onagraceae	丁香蓼属 *Ludwigia*	丁香蓼 *Ludwigia prostrata*
马钱科 Loganiaceae	醉鱼草属 *Buddleja*	白背枫 *Buddleja asiatica*
山柑科 Capparaceae	白花菜属 *Cleome*	黄花草 *Cleome viscosa*
苋科 Amaranthaceae	青葙属 *Celosia*	青葙 *Celosia argentea*
锦葵科 Malvaceae	赛葵属 *Malvastrum*	赛葵 *Malvastrum coromandelianum*

风险筛选值(锰以广西背景值)为标准计算污染指数(中华人民共和国生态环境部,2018;广西环境保护科学研究所,1992)。作物重金属污染指数的计算与土壤类似,以国家食品安全标准最大值作为标准值(Liu et al., 2018)。评价结果分为四个等级:$P_i \leq 1.0$,未污染;$1.0 < P_i \leq 2.0$,轻度污染;$2.0 < P_i \leq 3.0$,中度污染;$P_i > 3.0$,重度污染。P_i越大代表污染越严重。

$$P_{com} = \sqrt{\frac{(P_{max}^2 + P_{ave}^2)}{2}} \quad (2)$$

其中:P_{com}表示综合污染指数;P_{ave}表示单因子污染指数的平均值;P_{max}表示单因子污染指数的最大值。评价结果分为五个等级:$P_{com} \leq 0.7$,未污染;$0.7 < P_{com} \leq 1.0$,警戒值;$1.0 < P_{com} \leq 2.0$,轻度污染;$2.0 < P_{com} \leq 3.0$,中度污染;$P_{com} > 3.0$,重度污染。

生物富集系数(bioconcentration factor, BCF)是植物地上部分重金属含量与土壤中对应重金属含量的比值,转运系数(translocation factor, TF)是植物地上部分重金属含量与植物根部对应重金属含量的比值,其分别反映了植物从土壤中吸收重金属的能力和植物将重金属从根部转移到地上部分的能力(Liu et al., 2014)。

2　结果与分析

2.1 土壤重金属污染状况

研究区土壤污染状况及污染指数见表 2。结果表明,各重金属含量最高值分别为标准值的 36.43、292.14、1.01、0.89 和 1.82 倍。以广西土壤背景值作为标准参考(广西环境保护科学研究所,1992),5 种重金属元素单因子污染指数高低顺序为 Mn>Cd>Zn>Pb>Cr。其中,Cd、Mn 和 Zn 达到重度污染级别;Pb 达到中度污染级别;Cr 达到轻度污染级别。以国家土壤背景值作为标准参考(中国环境监测总站,1990),5 种重金属元素单因子污染指数高低顺序为 Cd>Mn>Zn>Pb>Cr。其中,Cd、Mn 和 Zn 达到重度污染级别;Pb 达到中度污染级别;Cr 处于未污染状态。以土壤污染风险筛选值作为标准参考(中华人民共和国生态环境部,2018),5 种重金属元素单因子污染指数高低顺序为 Cd>Mn>Zn>Pb>Cr。其中,Cd 和 Mn 达到重度污染级别;Zn 处于轻度污染级别;Cr 和 Pb 处于未污染状态,主要表现为 Cd/Mn 复合污染。研究区 Nemerow 综合污染指数远超重度污染限值。土壤镉含量均值显著高于《土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准(试行)》(GB 15618—2018)中规定的土壤管制值。

2.2 作物可食用部分重金属含量及污染指数

基于国家食品标准的阈值,对研究区 9 种作物可食用部位中 5 种重金属含量及污染程度进行了

表 2 研究区土壤重金属含量及污染指数

Table 2 Heavy metal contents and the pollution index in soils

指标 Index	重金属含量 Heavy metal content (mg · kg^{-1})				
	Cd	Mn	Cr	Pb	Zn
最大值 Maximum	10.93	51 416.67	151.78	79.78	364.10
最小值 Minimum	0.19	360.56	54.89	18.04	95.93
均值 Average value	5.56	25 888.62	103.34	48.91	230.02
土壤筛选值 Screening value for soil	0.30	—	150.00	90.00	200.00
土壤管制值 Intervention value for soil	2.00	—	850.00	500.00	—
广西土壤背景值 Soil background value of Guangxi	0.267	176.00	65.30	19.50	75.60
中国土壤背景值 Soil background value of China	0.07	583.00	150.00	24.00	64.70
TOB	20.82	147.09	1.58	2.51	3.04
COB	79.43	44.41	0.69	2.04	3.55
单因子污染指数 P_i	18.53	147.09	0.69	0.54	1.15
综合污染指数 P_{com}			106.69		

注：TOB 为根据广西土壤背景值计算出的单因子污染指数值；COB 为根据中国土壤背景值计算出的单因子污染指数值；土壤筛选值和土壤管制值适用的 pH 范围为 5.5<pH≤6.5。

Note: TOB is the value of single factor pollution index calculated by the soil background value of Guangxi; COB is the value of single factor pollution index calculated by the soil background value of China; The applicable pH range of the soil screening value and soil control value is 5.5<pH≤6.5.

研究，结果见表 3。大部分作物可食用部位中重金属含量均超出了食品国家安全标准(GB 2762—2017)中的阈值。矿区周边作物的重金属污染指数及其污染程度见表 4，4 种重金属元素单因子污染指数高低顺序为 Pb>Cr>Cd>Zn(食品安全国家标准中未包含 Mn)，除 Zn 外各重金属 P_i 值均值都在 3 以上，高于重度污染级别。Nemerow 综合污染指数结果显示，所有作物都处于重度污染级别。研究区 9 种作物重金属综合污染程度高低顺序为赤小豆>小白菜>花生>芝麻>扁豆>玉米>大豆>葱>南瓜。

2.3 优势植物重金属含量及富集转运能力

本研究中，23 种优势植物体内重金属含量范围为 Cd 为 0.08～7.64 mg · kg^{-1}，Mn 为 101.93～2 400.70 mg · kg^{-1}，Cr 为 1.30～94.63 mg · kg^{-1}，Pb 为 1.88～30.04 mg · kg^{-1}，Zn 为 3.63～61.88 mg · kg^{-1}(表 5)。其中，Cd 的最低值出现在苣荬菜和葛的根部，最高值出现在千里光的根部；Mn 的最低值出现在筒轴茅的地上部，最高值出现在青葙的地上部；Cr 的最低值出现在千里光的地上部，最高值出现在牛筋草的根部；Pb 的最低值出现在筒轴茅的地上部，最高值出现在假臭草的根部；Zn 的最低值出现在牛筋草的根部，最高值出现在牵牛的根部。一般情况下，生长在未污染土壤中的陆生植物的正常重金属含量范围为 Mn 为 1～700 mg · kg^{-1}，Cd 为 0.2～0.8 mg · kg^{-1}，Cr 为 0.006～18 mg · kg^{-1}，Pb 为 0.1～41.7 mg · kg^{-1}，Zn 为 1～160 mg · kg^{-1}(Gardea et al., 2004; Hao et al., 2015)。本研究中 23 种优势植物的 Pb 和 Zn 含量均处于正常范围内，大部分植物的 Cd、Mn 和 Cr 含量均超出了正常范围的上限值。

如表 6 所示，不同优势植物对同种重金属的富集系数和转运系数存在较大差异。牛筋草和假臭草对 Cd 的富集系数最高，分别为 1.80 和 1.53；仅有牛筋草对 Mn 的转运系数超过 1，为 2.57；其余 3 种重金属的植物富集系数均未超过 1。葛和青葙对 Cd 的转运系数最高，分别为 2.42 和 2.24；青葙和青蒿对 Mn 的转运系数最高，分别为 8.30 和 6.79；青蒿对 Cr 的转运系数高达 9.94；青葙、响铃豆和一点红对 Pb 的转运系数较高，分别为 2.78、1.68 和 1.66；苣荬菜、牛筋草和蜈蚣草对 Pb 的转运系数较大，分别为 4.93、3.49 和 3.26。

表 3　研究区作物可食用部分重金属含量（单位：mg · kg^{-1}）

Table 3　Heavy metal contents in the edible parts of crops in the study area (Unit: mg · kg^{-1})

作物名称 Crop name	Cd	Mn	Cr	Pb	Zn
芝麻 *Sesamum indicum*	**1.69**	170.69	**1.90**	**14.40**	25.63
花生 *Arachis hypogaea*	**7.79**	550.14	**65.64**	**9.63**	16.72
小白菜 *Brassica chinensis*	**1.08**	365.00	**66.08**	**5.47**	14.13
南瓜 *Cucurbita moschata*	0.24	5.00	**1.28**	0.06	56.25
赤小豆 *Vigna umbellata*	0.07	28.18	**62.89**	**33.22**	30.13
玉米 *Zea mays*	0.01	21.19	**1.67**	**11.40**	24.88
大豆 *Glycine max*	**2.75**	114.01	**3.32**	**1.92**	78.50
扁豆 *Lablab purpureus*	0.01	68.86	**63.19**	**5.11**	24.00
葱 *Allium fistulosum*	0.07	488.61	**1.76**	**2.64**	14.75
均值 Average value	1.52	201.30	29.75	9.32	31.67
食品安全国家标准 Threshold value in the national food safety standard	0.05~0.50	—	0.50~1.00	0.10~0.20	20~100
	GB 2762—2017	—	GB 2762—2017	GB 2762—2017	GB 13106—1991

注：— 表示没有国家标准；对超过食品安全国家标准的数值加粗。

Note: — means there is no national standard; The values that exceed threshold values in the national food safety standard are highlighted in bold.

表 4　研究区作物重金属污染指数

Table 4　Pollution indexes of heavy metals in crops

作物名称 Crop name	单因子污染指数（P_i） Single factor pollution index (P_i)					Nemerow 综合污染指数（P_{com}） Nemerow comprehensive pollution index (P_{com})
	P_{Cd}	P_{Mn}	P_{Cr}	P_{Pb}	P_{Zn}	
芝麻 *Sesamum indicumxi*	3.38	—	1.90	70	0.51	51.28
花生 *Arachis hypogaea*	15.58	—	65.64	48.15	0.33	51.77
小白菜 *Brassica chinensis*	5.40	—	132.16	18.23	0.71	97.46
南瓜 *Cucurbita moschata*	4.80	—	2.56	0.6	2.81	3.89
赤小豆 *Vigna umbellata*	0.35	—	62.89	166.1	0.30	124.27
玉米 *Zea mays*	0.10	—	1.67	57	0.50	41.65
大豆 *Glycine max*	13.75	—	3.32	9.60	0.79	10.87
扁豆 *Lablab purpureus*	0.10	—	63.19	25.55	1.20	47.43
葱 *Allium fistulosum*	0.35	—	3.52	8.80	0.74	6.66
均值 Average value	4.87	—	37.43	44.89	0.88	48.36

3　讨论

锰矿尾库区通常是重金属污染源，矿区附近的土壤一般重金属严重超标且肥力低下。本研究中，桂北某典型锰矿尾库区周边土壤中 Mn、Cd、Pb 和 Zn 的含量都处于较高水平，Nemerow 综合污染指数表明研究区整体处于重度污染级别，单因子污染指数分析表明研究区 Cd 和 Mn 具有较高的污染风险，为典型的 Cd/Mn 复合污染。土壤 Cd/Mn 复合污染常见于锰矿区及其周边受污染土壤。黄小娟等(2014)分析了重庆溶溪锰矿尾渣堆积区土壤以及周边农田土壤的重金属含量并应用 Hakanson 潜在生态危害指数法开展生态风险评价，结果表明尾矿堆积区土壤的锰和镉最高含量分别为120 565.7 mg · kg^{-1}和 6.82 mg · kg^{-1}，是全

表 5 优势植物地上部分和根部重金属含量（单位：mg · kg^{-1}）

Table 5 Heavy metal contents in the roots and shoots of dominant plant species (Unit: mg · kg^{-1})

物种 Species	根部 Root					地上部 Shoot				
	Cd	Mn	Cr	Pb	Zn	Cd	Mn	Cr	Pb	Zn
蜈蚣草 *Eremochloa ciliaris*	**4.90**	**707.92**	15.74	13.92	5.00	**0.82**	232.71	**36.92**	4.05	16.31
牵牛 *Pharbitis nil*	**0.89**	557.36	10.03	4.83	61.88	0.26	548.26	5.42	7.58	45.63
蓖麻 *Ricinus communis*	**3.85**	258.19	5.26	14.33	47.00	0.22	515.12	2.20	1.92	28.56
一把伞南星 *Arisaema erubescens*	**2.78**	**1 555.06**	17.53	10.13	31.50	0.40	677.92	**66.35**	8.53	25.44
假臭草 *Praxelis clematidea*	**1.40**	277.78	**75.36**	30.40	16.13	**1.04**	567.71	**67.74**	3.02	16.13
链荚豆 *Alysicarpus vaginalis*	**1.33**	233.61	6.04	5.76	13.13	**0.88**	446.46	**62.51**	4.22	13.50
鬼针草 *Bidens pilosa*	**1.67**	529.31	12.43	11.03	14.75	0.41	514.47	**68.66**	15.36	15.00
一点红 *Emilia sonchifolia*	**1.50**	**1 333.33**	5.08	4.10	28.63	**1.90**	**1 085.42**	2.52	6.78	54.81
葛 *Pueraria lobata*	0.08	567.64	**70.22**	9.15	19.50	0.20	**943.06**	**71.81**	9.37	15.63
丁香蓼 *Ludwigia prostrata*	**2.76**	282.64	**66.61**	6.06	31.50	0.17	**824.60**	**64.67**	4.59	21.00
小蓬草 *Conyza canadensis*	**0.89**	230.42	**68.69**	7.75	17.75	**1.15**	267.01	**58.57**	5.17	9.88
千里光 *Senecio scandens*	**7.64**	561.81	15.28	5.21	16.13	**1.19**	242.21	1.30	5.24	14.81
青蒿 *Artemisia caruifolia*	0.60	82.93	4.18	4.00	9.50	0.35	562.77	**41.56**	5.85	23.06
白背枫 *Buddleja asiatica*	0.38	245.00	6.00	7.86	30.63	0.67	433.90	1.93	0.28	25.06
蒙古蒿 *Artemisia mongolica*	0.68	495.14	**70.18**	13.60	19.38	0.47	587.99	**71.73**	5.11	26.06
黄花草 *Cleome viscosa*	0.68	316.53	**69.57**	6.97	18.88	0.64	**730.21**	**68.49**	6.63	18.50
青葙 *Celosia argentea*	0.57	290.00	**68.54**	2.01	9.50	**1.28**	**2 400.70**	**24.91**	5.60	10.94
赛葵 *Malvastrum coromandelianum*	0.39	306.81	**70.63**	9.67	17.38	0.66	**708.26**	**63.62**	4.78	26.00
响铃豆 *Crotalaria albida*	0.54	121.65	**66.22**	7.97	17.00	0.36	546.18	**66.57**	13.40	6.06
蔓草虫豆 *Cajanus scarabaeoides*	0.11	**712.22**	**73.74**	12.65	13.63	0.12	591.67	**68.87**	14.98	12.00
筒轴茅 *Rottboellia exaltata*	**2.03**	535.56	**83.21**	28.19	32.75	0.10	101.93	2.58	1.88	21.25
牛筋草 *Eleusine indica*	0.38	492.50	**94.63**	14.18	3.63	0.61	**925.83**	3.35	5.15	47.50
苣荬菜 *Sonchus arvensis*	0.08	487.50	10.08	4.33	3.75	**1.14**	337.36	5.79	3.92	18.50

注：对超过生长在未污染土壤中的陆生植物的正常重金属浓度范围的数值加粗。

Note: Values that exceed the normal range of heavy metal concentrations for terrestrial plants grown in uncontaminated soils are highlighted in bold.

国土壤背景值的数十倍，是该矿区土壤的主要污染元素。唐文杰等(2016)在广西桂林市全州县绍水镇、南宁市武鸣县双桥镇、崇左市大新县下雷镇的三处锰矿开展土壤污染调查，分别从未开采区、开采区、尾矿坝和恢复区采集土壤样品进行分析，结果表明锰和镉是这三个矿区土壤的主要污染元素。这些结果说明锰矿区 Cd/Mn 复合污染存在较大生态风险。土壤中较高的 Cd、Mn 含量可能是研究区植物种类较少的原因。研究表明，土壤中的镉通过根系进入植物体内后会引起一系列的毒性反应，首先破坏根细胞的酶系统，影响正常生理代谢功能，抑制根系对营养物质的吸收，还会对叶绿体造成损伤，造成光合作用速率降低(Haider et al., 2021)。植物摄入过量的锰会发生锰中毒，叶上会出现暗褐色斑点、失绿症、叶片干枯脱落等症状，锰中毒还会导致植物体继发性铁缺乏和细胞磷含量降低，抑制根系生长(Santos et al., 2017)。因此，在如此恶劣的环境下依然能生长繁育并成为优势种，说明植物对重金属污染环境具有极强的适应能力。从这些植物中筛选出具有重金属耐性和富集能力的植物用于当地的污染土壤修复具有很大的应用潜力。

农田土壤中过高的重金属含量会严重抑制作物的生长并影响其可食用性(王浩等，2020)。由于广西的耕地资源较为匮乏，在矿区周围土壤种植农作物的现象较为普遍。本研究结果表明，尾

表 6　优势植物的生物富集系数和转运系数

Table 6　Bioconcentration factor (BCF) and translocation factor (TF) of dominant plants

物种 Species	富集系数 BCF					转运系数 TF				
	Cd	Mn	Cr	Pb	Zn	Cd	Mn	Cr	Pb	Zn
蜈蚣草 *Eremochloa ciliaris*	**1.06**	0.03	0.26	0.11	0.10	0.17	0.33	**2.35**	0.29	**3.26**
牵牛 *Pharbitis nil*	**1.35**	0.11	0.04	0.20	0.28	0.29	0.98	0.54	**1.57**	0.74
蓖麻 *Ricinus communis*	0.58	0.03	0.02	0.04	0.14	0.06	**2.00**	0.42	0.13	0.61
一把伞南星 *Arisaema erubescens*	0.71	0.42	0.95	0.24	0.27	0.51	0.44	**3.79**	0.84	0.81
假臭草 *Praxelis clematidea*	**1.53**	0.07	0.49	0.09	0.10	0.74	0.44	0.90	0.10	**1.00**
链荚豆 *Alysicarpus vaginalis*	0.73	0.03	0.51	0.11	0.07	0.66	1.91	0.95	0.73	**1.03**
鬼针草 *Bidens pilosa*	0.60	0.09	0.65	0.63	0.09	0.61	0.97	**2.12**	**1.39**	**1.02**
一点红 *Emilia sonchifolia*	0.75	0.11	0.02	0.23	0.31	**1.26**	0.81	0.50	**1.66**	**1.13**
葛 *Pueraria lobata*	0.05	0.05	0.75	0.13	0.09	**2.42**	**1.66**	**1.02**	**1.02**	0.80
丁香蓼 *Ludwigia prostrata*	0.72	1.04	0.81	0.13	0.20	0.06	**2.92**	0.97	0.76	0.67
小蓬草 *Conyza canadensis*	0.43	0.01	0.53	0.12	0.06	**1.30**	**1.16**	0.85	0.67	0.56
千里光 *Senecio scandens*	0.45	0.01	0.01	0.13	0.09	0.16	0.43	0.08	**1.01**	0.92
青蒿 *Artemisia caruifolia*	0.63	0.11	0.39	0.20	0.15	0.59	**6.79**	**9.94**	**1.46**	**1.18**
白背枫 *Buddleja asiatica*	**1.20**	0.08	0.02	0.01	0.16	**1.80**	**1.77**	0.32	0.04	0.82
蒙古蒿 *Artemisia mongolica*	0.85	0.11	0.67	0.18	0.16	0.70	**1.19**	1.02	0.38	**1.35**
黄花草 *Cleome viscosa*	0.45	0.06	0.72	0.21	0.09	0.94	**2.31**	0.98	0.95	0.98
青葙 *Celosia argentea*	**1.26**	0.30	0.32	0.26	0.06	**2.24**	**8.30**	0.36	**2.78**	**1.15**
赛葵 *Malvastrum coromandelianum*	0.08	0.02	0.42	0.06	0.08	**1.70**	**2.31**	0.90	0.49	**1.50**
响铃豆 *Crotalaria albida*	0.04	0.01	0.44	0.17	0.02	0.67	**4.49**	**1.01**	**1.68**	0.36
蔓草虫豆 *Cajanus scarabaeoides*	0.01	0.01	0.45	0.19	0.04	**1.06**	0.83	0.93	**1.18**	0.88
筒轴茅 *Rottboellia exaltata*	0.28	0.02	0.02	0.05	0.13	0.05	0.19	0.03	0.07	0.65
牛筋草 *Eleusine indica*	**1.80**	**2.57**	0.06	0.20	0.42	**1.63**	**1.88**	0.04	0.36	**3.49**
苣荬菜 *Sonchus arvensis*	**1.24**	0.05	0.06	0.16	0.11	**1.05**	0.69	0.57	0.90	**4.93**

注：对富集系数和转运系数大于 1 的数值加粗。

Note: Values of bioconcentration factor (BCF) and translocation factor (TF) that are greater than one are highlighted in bold.

矿区周边土壤上种植的作物主要受到 Cd、Cr 和 Pb 的重金属污染，花生、大豆和芝麻的 Cd 含量严重超出食品安全国家标准中的上限值，这可能与油料作物易于在籽粒中富集 Cd 有关(Rai et al., 2019)，花生、小白菜、赤小豆和扁豆中的 Cr 含量都超过了 60 mg · kg^{-1}，高于标准上限值的 60 倍，除南瓜外其余 8 种作物的 Pb 含量也都超过了标准上限值。陆素芬等(2016)调查了广西南丹某矿区附近 166 个蔬菜样品的重金属污染情况，发现 Pb 和 Cd 的超标现象较为显著，对蔬菜品质和居民身体健康构成隐患。本研究中 9 种作物的综合污染指数水平都达到了重度污染级别，这与前人的研究结果相似。例如，陈春强等(2017)对广西荔浦、平乐、来宾 3 个锰矿恢复区的 19 种农作物进行重金属含量分析，综合污染指数表明重度污染率达到 93.5%。本研究所采集作物样品均为当地居民日常食用作物，长期食用该研究区的作物将对人体产生较高健康风险。

植物地上部分中重金属含量对于筛选超富集植物具有重要的参考作用，虽然目前对于超富集植物的定义还存在一定的争论，但目前较为公认的超富集植物界定标志包括：(1)植物地上部分含量超过临界值，例如：Mn 10 000 mg · kg^{-1}，Zn 3 000 mg · kg^{-1}，Cd、Se 100 mg · kg^{-1}，Cr、As、Cu、Ni、Pb 1 000 mg · kg^{-1}；(2)植物吸收的重金属更多地分布在地上部分，即转运系数大于 1；(3)对重金属具有很强的耐受性，吸收重金属时不影响其正常生长(Fernández et al., 2017; Sharda et al.,

2021)。从本研究中 23 种优势植物地上部分重金属含量来看,5 种重金属均未达到临界值,且差距较大。考虑到这些植物中蜈蚣草、鬼针草、青葙等已被报道是超富集植物或者富集植物,这种现象很可能由于土壤中重金属有效性较低影响了植物的吸收而导致。这一点从富集系数的结果可以得到验证,结果显示大部分植物的富集系数都远远小于 1,说明植物对土壤中重金属的富集较少。此外,根据植物对重金属应对不同机制可将植物分为富集型植物、根部囤积型植物和规避型植物(Vaculik et al., 2012)。在对矿区及其周边重金属污染土壤进行修复和安全利用的过程中,应根据植物的特性采取相应的措施,富集型植物可用于污染程度较轻的农田修复,根部囤积型植物和规避型植物更适合用于污染程度较重区域的植被恢复工作(Zhu et al., 2018)。顿梦杰等(2022)研究了贵州牛角塘铅锌矿区 30 种优势植物的重金属富集特征,结果表明鬼针草、千里光、头花蓼等为富集型植物,紫茉莉、节节草为根部囤积型植物、河北木蓝为规避型植物。富集型植物能大量吸收土壤中的重金属并将其转运到地上部分。本研究中青葙、鬼针草、一点红、蜈蚣草等对多种重金属转运系数大于 1,富集能力较强,具备富集型植物特征。其中,青葙对 Cd 和 Mn 的转运系数为所有植物中最高,考虑到该地区以 Cd/Mn 复合污染为主的土壤污染特征,青葙可作为锰矿区土壤修复的优选修复植物。根部囤积型植物对土壤中重金属的吸收能力较强,但大部分重金属不向地上部分转移,本研究中一把伞南星、蓖麻、千里光等根部重金属含量较高,转运系数较低,具备根部囤积型植物特征。规避型植物能避免根部对土壤中重金属的吸收,本研究中响铃豆、筒轴茅、苣荬菜等富集的重金属含量相对较低,且在重金属污染土壤中能健康生长,具备规避型植物特征。

4 结论

(1)研究区土壤重金属含量较高,其中 Cd 和 Mn 是主要污染元素,其单因子污染指数分别为 18.53 和 147.09,具有较高的生态风险。

(2)23 种优势植物体内重金属含量超过正常范围,其中青葙、鬼针草、一点红、蜈蚣草等对多种重金属转运系数大于 1,具备富集型植物特征,但地上部重金属含量均未达到超富集植物的临界标准,可用于当地重金属污染土壤的生态修复。

(3)研究区花生、小白菜等作物可食用部位中的 Cd、Cr、Pb 含量均超过食品国家安全标准(GB 2762—2017)中的阈值,具有较高健康风险。因此在修复污染土壤的同时,应对农作物污染程度进行监测,保障农产品质量安全。

参考文献:

CHENG JW, CAI SW, HUANG MQ, 2021. Bioconcentration of heavy metals in dominant plants of Xiangjiang manganese mining area in Guizhou Province [J]. Ecol Environ, 30(8): 1742-1750. [程俊伟, 蔡深文, 黄明琴, 2021. 贵州湘江锰矿区优势植物重金属富集特征研究 [J]. 生态环境学报, 30(8): 1742-1750.]

CHEN CQ, DENG H, CHEN XM, 2017. Assessment on human health risk of heavy metal in the food crops from three manganese mine recovery areas in Guangxi, China [J]. J Guangxi Norm Univ (Nat Sci Ed), 35(4): 127-135. [陈春强, 邓华, 陈小梅, 2017. 广西 3 个锰矿恢复区农作物重金属健康风险评价 [J]. 广西师范大学学报(自然科学版), 35(4): 127-135.]

China National Environmental Monitoring Centre, 1990. Background values of soil elements in China [M]. Beijing: China Environmental Science Press. [中国环境监测总站, 1990. 中国土壤元素背景值 [M]. 北京: 中国环境科学出版社.]

DAI HP, WEI SH, SKUZA L, et al., 2021. Phytoremediation of two ecotypes cadmium hyperaccumulator *Bidens pilosa* L. sourced from clean soils [J]. Chemosphere, 273: 129652.

DONG B, ZHANG RZ, GAN YD, et al., 2019. Multiple methods for the identification of heavy metal sources in cropland soils from a resource-based region [J]. Sci Total Environ, 651(2): 3127-3138.

DUN MJ, ZHANG YX, SONG B, et al., 2022. Heavy metal enrichment of dominant plants in Niujiaotang mining area Guizhou Province [J]. Guihaia, 42(3): 479-490. [顿梦杰, 张云霞, 宋波, 等, 2022. 贵州牛角塘铅锌矿区优势植物的重金属富集特征 [J]. 广西植物, 42(3): 479-490.]

FERNANDEZ S, POSCHENRIEDER C, MARCENO C, et al., 2017. Phytoremediation capability of native plant species living on Pb-Zn and Hg-As mining wastes in the Cantabrian range, north of Spain [J]. J Geochem Explor, 174: 10-20.

GARDEA TJL, PERALTA VJR, MONTES M, et al., 2004. Bioaccumulation of cadmium, chromium and copper by *Convolvulus arvensis* L.: impact on plant growth and uptake of nutritional elements [J]. Bioresour Technol, 92(3): 229-235.

Guangxi Institute of Environmental Protection Science,

1992. Soil background research methods and soil background values in Guangxi [M]. Nanning: Guangxi Science and Technology Press. [广西环境保护科学研究所, 1992. 土壤背景研究方法及广西土壤背景值 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社.]

HAIDER FU, LI C, COULTER JA, et al., 2021. Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies [J]. Ecotoxicol Environ Safety, 211: 111887.

HAO QJ, JIANG CS, 2015. Heavy metal concentrations in soils and plants in Rongxi Manganese Mine of Chongqing, Southwest of China [J]. Acta Ecol Sin, 35(1): 46-51.

HUANG XJ, JIANG CS, HAO QJ, 2014. Assessment of heavy metal pollutions in soils and bioaccumulation of heavy metals by plants in Rongxi Manganese mineland of Chongqing [J]. Acta Ecol Sin, 34(15): 4201-4211. [黄小娟, 江长胜, 郝庆菊, 2014. 重庆溶溪锰矿区土壤重金属污染评价及植物吸收特征 [J]. 生态学报, 34(15): 4201-4211.]

LEE JS, LEE SW, CHON HT, et al., 2008. Evaluation of human exposure to arsenic due to rice ingestion in the vicinity of abandoned Myungbong Au-Ag mine site, Korea [J]. J Geochem Explor, 96: 231-235.

LEI M, TIE BQ, SONG ZG, et al., 2015. Heavy metal pollution and potential health risk assessment of white rice around mine areas in Hunan Province, China [J]. Food Sec, 7(1): 45-54.

LIU J, ZHANG XH, LI TY, et al., 2014. Soil characteristics and heavy metal accumulation by native plants in a Mn mining area of Guangxi, South China [J]. Environ Monit Assess, 186(4): 2269-2279.

LIU KH, ZHANG HC, LIU YF, et al., 2020. Investigation of plant species and their heavy metal accumulation in manganese mine tailings in Pingle Mn mine, China [J]. Environ Sci Poll Res, 27(16): 19933-19945.

LIU KH, FAN LQ, LI Y, et al., 2018. Concentrations and health risks of heavy metals in soils and crops around the Pingle manganese (Mn) mine area in Guangxi Province, China [J]. Environ Sci Poll Res, 25(30): 30180-30190.

LIU PF, WU ZQ, LUO XR, et al., 2020. Pollution assessment and source analysis of heavy metals in acidic farmland of the karst region in southern China — A case study of Quanzhou County [J]. Appl Geochem, 123: 104764.

LUCKENEDER S, GILIUM S, SCHAFFARTZIK A, et al., 2021. Surge in global metal mining threatens vulnerable ecosystems [J]. Glob Environ Chang, 69: 102303.

LU SF, SONG B, FU FY, et al., 2016. Heavy metal content in vegetable and its health risk as affected by mining activities in Nandan County [J]. J Ecol Rural Environ, 32(3): 478-485. [陆素芬, 宋波, 伏凤艳, 等, 2016. 南丹矿业活动影响区蔬菜重金属含量及健康风险 [J]. 生态与农村环境学报, 32(3): 478-485.]

Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China, 2018. Soil environment quality risk control standard for soilcontamination of agriculture land [S]. Beijing: China Environmental Press. [中华人民共和国生态环境部, 2018. 土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准(试行) [S]. 北京: 中国环境出版社.]

OGUNKUNLE CO, FATOBA PO, 2013. Pollution loads and the ecological risk assessment of soil heavy metals around a mega cement factory in Southwest Nigeria [J]. Pol J Environ Stud, 22(2): 487-493.

RAI PK, LEE SS, ZHANG M, et al., 2019. Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management [J]. Environ Int, 125: 365-385.

SANTOS EF, KONDO S, JOSE M, et al., 2017. Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants: Mn toxicity responses [J]. Plant Physiol Biochem, 113: 6-19.

SHARDA P, VARTIKA M, ARUSHI G, et al., 2021. Molecular mechanisms underlying heavy metal uptake, translocation and tolerance in hyperaccumulators — an analysis: Heavy metal tolerance in hyperaccumulators [J]. Environ Challenges, 4: 100197.

SHARMA P, NGO HH, KHANAL S, et al., 2021. Efficiency of transporter genes and proteins in hyperaccumulator plants for metals tolerance in wastewater treatment: Sustainable technique for metal detoxification [J]. Environ Technol Innov, 9: 101725.

TANG WJ, DENG H, HUANG JB, 2016. Evaluation of soil heavy metal pollution in wasteland of manganese mining area in Guangxi [J]. Hubei Agric Sci, 55(3): 575-580. [唐文杰, 邓华, 黄江波, 2016. 广西锰矿区废弃地土壤重金属污染评价 [J]. 湖北农业科学, 55(3): 575-580.]

VACULIK M, KONLECHNER C, LANGER I, et al., 2012. Root anatomy and element distribution vary between two *Salix caprea* isolates with different Cd accumulation capacities [J]. Environ Poll, 163: 117-126.

WANG H, YE LL, CHEN YS, et al., 2020. Heavy metal content characteristics and health risk assessment of vegetables in reclaimed land of bauxite mine region in Guangxi [J]. SW Chin J Agric Sci, 33(11): 2655-2661. [王浩, 叶丽丽, 陈永山等, 2020. 广西典型铝矿区复垦地蔬菜中重金属含量特征及健康风险评价 [J]. 西南农业学报, 33(11): 2655-2661.]

WU BH, PENG H, SHENG MP, et al., 2021. Evaluation of phytoremediation potential of native dominant plants and spatial distribution of heavy metals in abandoned mining area in Southwest China [J]. Ecotoxicol Environ Safety, 220: 112368.

XIAO R, WANG S, LI RH, et al., 2017. Soil heavy metal contamination and health risks associated with artisanal gold mining in Tongguan, Shaanxi, China [J]. Ecotoxicol Environ Safety, 141: 17-24.

YU G, JIANG PP, FU XF, et al., 2020. Phytoextraction of cadmium-contaminated soil by *Celosia argentea* Linn.: A long-term field study [J]. Environ Poll, 266: 115408.

ZHU GX, XIAO HY, GUO QJ, et al., 2018. Heavy metal contents and enrichment characteristics of dominant plants in wasteland of the downstream of a lead-zinc mining area in Guangxi, Southwest China [J]. Ecotoxicol Environ Safety, 151: 266-271.

(责任编辑　李　莉)

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1170-1180 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202110021

武绍龙, 唐明, 张习敏, 等. 基于 LC-MS/MS 分析马缨杜鹃花代谢物的变化 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1170-1180.
WU SL, TANG M, ZHANG XM, et al. Analysis of metabolites change from flowering to withering of *Rhododendron delavayi* based on LC-MS/MS [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1170-1180.

基于 LC-MS/MS 分析马缨杜鹃花代谢物的变化

武绍龙[1,2,3], 唐 明[1,2,3], 张习敏[1,2,3], 唐 婧[1,2,3*]

(1. 贵州师范大学 生命科学学院, 贵阳 550025; 2. 贵州师范大学, 贵州省植物生理与发育调控重点实验室, 贵阳 550025; 3. 贵州师范大学, 国家林业和草原局西南喀斯特山地生物多样性保护重点实验室, 贵阳 550025)

摘 要: 为分析马缨杜鹃(*Rhododendron delavayi*)花开花至凋谢过程中的代谢产物差异及其通路,该文采用 LC-MS/MS 技术对其花苞期、开裂期、传粉期、盛开期、衰老期和凋谢期的化学成分进行非靶向代谢组学分析。结果表明:(1)共鉴定到 973 种代谢物,主要包含黄酮类、有机酸、酚酸类、氨基酸及其衍生物、脂类、生物碱等。(2)主成分分析(PCA)表明样本间代谢物存在差异,结合正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)、*t* 检验的 *P* 值和单变量分析的差异倍数(fold-change)筛选差异代谢物(*VIP*>1, *P*<0.05, *Fc*>2 或 *Fc*<0.5),涉及 591 种,在马缨杜鹃花期进入衰老期和凋谢期后差异代谢物数量和表达量显著上升,其中花苞期至开裂期差异代谢物的表达主要呈现下调,而进入衰老期和凋谢期后差异代谢物的表达主要呈现上调。(3)KEGG 注释到 68 条代谢通路,其中差异代谢物极显著富集($P < 0.01$)通路 3 条,包括苯丙素类生物合成、植物激素的生物合成和类黄酮生物合成。(4)结合苯丙素类、黄酮类等有效成分生物合成通路共筛选到 10 种代谢物包括苯丙氨酸(L-phenylalanine)、反式肉桂酸(trans-cinnamic acid)、查耳酮(chalcone)、柚皮素(naringenin)、对香豆酰基莽草酸(p-coumaroyl shikimic acid)、阿魏酸(ferulic acid)、松柏醇(coniferyl alcohol)、芥子酸(sinapic acid)、紫丁香苷(syringin)、槲皮素(quercetin)。此外,有效成分的差异代谢物表明苯丙素类生物合成代谢活动随马缨杜鹃花的发育逐渐增强,而黄酮类化合物生物合成逐渐减弱,这些关键差异代谢物可能对马缨杜鹃花的发育有重要的调控作用。该研究为马缨杜鹃花开花至凋谢进程中的有效成分代谢途径活性物质的研究提供了代谢组学基础,为进一步研究马缨杜鹃花花期调控的分子机理提供参考。

关键词: 马缨杜鹃, 花期, 代谢组, LC-MS/MS, 代谢通路

中图分类号: Q945.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2022)07-1170-11

Analysis of metabolites change from flowering to withering of *Rhododendron delavayi* based on LC-MS/MS

WU Shaolong[1,2,3], TANG Ming[1,2,3], ZHANG Ximin[1,2,3], TANG Jing[1,2,3*]

(1. *School of Life Sciences, Guizhou Normal University*, Guiyang 550025, China; 2. *Key Laboratory of Plant Physiology and Developmental Regulation, Guizhou Normal University*, Guiyang 550025, China; 3. *Key Laboratory of State Forestry and Greassland Administration on Biodiversity Conservation in Karst Mountainous Areas of Southwestern China, Guizhou Normal University*, Guiyang 550025, China)

收稿日期: 2021-12-21

基金项目: 贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2021]一般 459); 贵州省喀斯特山地生态安全工程研究中心(黔教科合 KY 字[2021]007); 百里杜鹃景区杜鹃花腐病绿色防控技术研究(黔林科合[2019]10 号); 国家自然科学基金(U1812401)[Supported by Guizhou Province Science and Technology Support Plan Project (qkhzc[2021]yb459); Karst Mountain Ecological Security Engineering Research Center of Guizhou Province (qjkh KY[2021]007); Study on Green Control Technology of *Rhododendron* Rot in Baili Rhododendron Scenery Spot (qlkh[2019] No.10); National Natural Science Foundation of China (U1812401)]。

第一作者: 武绍龙(1995-),硕士,研究方向为代谢组学,(E-mail)3063166501@qq.com。

* **通信作者:** 唐婧,博士,高级实验师,研究方向为生物信息学,(E-mail)tangjing2016@gznu.edu.cn。

Abstract: In order to analyze the differences of metabolites and their pathways from flowering to withering of *Rhododendron delavayi*, we used LC-MS/MS material separation and identification technique to non-targeted the chemical components of bud stage, dehiscence stage, pollination stage, blooming stage, senescence stage and withering stage. The results were as follows: (1) A total of 973 kinds of metabolites were detected, mainly including flavonoids, organic acids, phenolic acids, amino acids and their derivatives, lipids, alkaloids and so on. (2) Principal component analysis (PCA) showed that there were differences in metabolites among samples. Combined with orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), *P* value of *t*-test and fold change of univariate analysis, differential metabolites ($VIP > 1$, $P < 0.05$, $Fc > 2$ or $Fc < 0.5$) were screened out, involving 591 species, the quantity and expression of differential metabolites increased significantly after the *R. delavayi* flower stage entered the senescence stage and the withering stage, in which the expression of differential metabolites from bud stage to dehiscence stage was mainly down-regulated, while those after entering senescence stage and withering stage were mainly up-regulated. (3) A total of 68 differential metabolic pathways were annotated by KEGG, of which three pathways were significantly enriched with differential metabolites ($P < 0.01$), including phenylpropanoids biosynthesis, plant hormone biosynthesis and flavonoid biosynthesis. (4) Based on the analysis of biosynthetic pathways of phenylpropanoids, flavonoids and other effective components, ten kinds of differential metabolites were screened from flowering to withering of *R. delavayi*, including L-phenylalanine, trans-cinnamic acid, chalcone, naringenin, p-coumaroyl shikimic acid, ferulic acid, coniferyl alcohol, sinapic acid, syringin and quercetin. In addition, the differential metabolites of effective components showed that phenylpropanoids biosynthesis and metabolism activities gradually increased with the development of *R. delavayi*, while flavonoid biosynthesis gradually decreased. These key differential metabolites may play an important role in regulating the development of *R. delavayi*. This study provides a metabonomic basis for the study of effective components in the metabolic pathway during the process from flowering to withering of *R. delavayi*, and provides a reference for the further study of the molecular mechanism of flowering period regulation of *R. delavayi*.

Key words: *Rhododendron delavayi*, flowering period, metabolome, LC-MS/MS, metabolic pathway

马缨杜鹃(*Rhododendron delavayi*)属于常绿灌木或小乔木,因其花色鲜艳,形状酷似马头饰的璎珞而得名,主要分布于西南地区,包括四川西南部、云南全省和贵州西北部等(张长芹等,2015),其中贵州西北部以普底和金坡景区分布最为广泛,为主要的建群种和优势种(李苇洁和陈训,2005)。每年 3 月中旬前完成初花期(花瓣开始开张到 10%花序开放);3 月下旬到 4 月初进入为盛开期(10%花序开放到 10%花序出现凋谢);4 月中旬进入凋谢期(10%花序出现凋谢到 70%花序出现凋谢),马缨杜鹃整个花期为 25~30 d。研究马缨杜鹃花开花至凋谢进程中的代谢组分变化,对延长和调节马缨杜鹃花期,充分发挥马缨杜鹃的观赏价值和经济价值,对贵州省地方经济以及乡村振兴具有极其重要的研究意义。目前,关于马缨杜鹃花主要包括花特征和花粉性状的研究,以百里杜鹃保护区马缨杜鹃为实验材料研究花特征分化和资源分布情况(胡德美 等,2021);用显微镜观察马缨杜鹃花粉形态大小、外壁纹饰、孔沟形态等性状(毛加宁,2000)。同时,在马缨杜鹃花花期调控的研究则主要集中于营养元素、植物激素和温度等处理方法,包括用不同浓度的 N、P、K、Ca 等营养元素处理马缨杜鹃观察对花芽发育和花期的影响(洪鲲等,2010);在马缨杜鹃花芽发育初期和开花前期喷施外源激素对始花期、盛开期、末花期和开花数的影响(宋庆发等,2010);通过不同浓度的生长调节物质及矿物质营养处理马缨杜鹃的花蕾,探索马缨杜鹃花花期调控方法(岳保超,2015)。目前,仅有少量关于马缨杜鹃茎和根代谢物的研究报道,利用各种色谱技术从马缨杜鹃的茎分离鉴定得到 10 种化合物(徐金金等,2012),然而马缨杜鹃花的发育进程中代谢物和代谢物途径研究尚未见相关报道。

近年来,植物代谢组学研究已经被广泛地应用于分析果树生长、发育、果实成熟过程中的代谢物变化(Aaron et al., 2008; Zhang et al., 2011; Li et al., 2020),目前也开始应用于研究植物花形成、发育的代谢机制研究(贾岩等,2017;程少禹等,2020);薛水玉等(2012)采用气相色谱-质谱法技术分析款冬花不同发育阶段代谢组,发现款

冬花蕾发育过程中部分特征代谢物呈现显著变化;He 等(2020)利用转录组和代谢组研究铁皮石斛花的发育机制,发现次生代谢和碳水化合物的变化与花的发育有关;徐红霞等(2020)采用 GC-MS 技术检测枇杷花发育进程中的代谢物质,揭示影响花发育进程的生理与代谢机制。代谢组学对植物花的发育代谢产物及代谢通路研究提供了方法。

本研究以贵州省毕节市大方县百里杜鹃风景区为研究区域,以马缨杜鹃花为研究对象。选取花苞期、开裂期、传粉期、盛开期、衰老期和凋谢期的花为材料,采用非靶向代谢组学(LC-MS/MS)分析方法,研究马缨杜鹃花开花至凋谢进程中 6 个阶段的代谢产物及代谢通路,拟探讨以下问题:(1)马缨杜鹃花开花至凋谢进程中不同阶段代谢物如何变化;(2)分析马缨杜鹃花差异显著的代谢物和相关的代谢通路;(3)筛选出与马缨杜鹃花发育相关的重要代谢物。本研究结果为马缨杜鹃花花期调控提供理论基础和科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料为贵州省毕节市大方县百里杜鹃风景区马缨杜鹃。

2020 年选取长势基本一致马缨杜鹃,分别在花苞期(3 月 20 日)、开裂期(3 月 24 日)、传粉期(3 月 30 日)、盛开期(4 月 3 日)、衰老期(4 月 10 日)、凋谢期(4 月 15 日),从 6 株树上采集适量马缨杜鹃花样本,经液氮冷冻后运回实验室进行代谢组学检测,每个时期取 6 个生物学重复样本。

1.2 马缨杜鹃花代谢物提取

基于液质联用(LC-MS/MS)技术(Warwick et al., 2011;Want et al., 2010)进行非靶向代谢组学研究。取 100 mg 液氮研磨的马缨杜鹃花样本,置于 EP 管中,加入 500 μL 含 0.1%甲酸的 80%甲醇水溶液,涡旋震荡,冰浴静置 5 min,15 000 r·min^{-1}、4 ℃离心 10 min,取 100 μL 的上清加超纯去离子水稀释至甲醇含量为 53%,并置于离心管中 15 000 *g*、4 ℃离心 10 min,收集上清液,进样 LC-MS/MS 进行检测分析。

从每个实验样本中取等体积样本混匀作为(quality control)QC 样本。空白样本为含 0.1%甲酸的 53%甲醇水溶液代替实验样本,前处理过程与实验样本相同。

1.3 非靶向代谢组学(LC-MS/MS)检测

采用 Thermo Hyperil Gold column 色谱柱(C18),柱温 40 ℃,流速 0.2 mL·min^{-1}。正离子模式:流动相 A 为 0.1%甲酸,流动相 B 为甲醇;负离子模式:流动相 A 为 5mmol 醋酸铵(pH 9.0),流动相 B 为甲醇;梯度洗脱(0 ~ 1.5 min,98%A,2%B;1.5 ~ 12 min,100%B;12 ~ 14 min,100%B;14 ~ 14.1 min,98%A,2%B;14.1 ~ 17.0 min,98%A,2% B)。进样量为 10 μL。利用 Thermo Vanquish UHPLC 液相色谱 Thermo QE 系列质谱分别进行正、负离子模式采集。扫描范围选择 *m/z* 70 ~ 1 050;ESI 源的设置如下:Spray voltage 为 3.2 kV;Sheath gas flow rate 为 35 arb;Aux gas flow rate 为 10 arb;Capillary temp 为 320 ℃。Polarity:positive;negative;MS/MS 二级扫描为 data-dependent scans。每 10 个分析样本进行一次 QC 样本,评价整个实验过程中仪器状态的稳定性和检测数据结果的准确性。

1.4 数据分析

将采集到的原始数据导入 CompoundDiscoverer 3.1(CD)软件中,通过保留时间、质荷比对数据进行过滤,然后根据保留时间偏差 0.2 min 和质量偏差 5 μg·mL^{-1}进行峰对齐,随后根据质量偏差 5 μg·mL^{-1}、信号强度偏差 30%(Dai et al., 2017)等信息进行峰提取,同时对峰面积进行定量,再整合目标离子,然后通过分子离子峰和碎片离子进行分子式的预测并与 mzCloud、mzVault 和 MassList 数据库进行比对,用 blank 样本去除背景离子,并对定量结果进行归一化,最后得到数据的鉴定和定量结果。

使用 MetaX(Wen et al., 2017)软件对数据进行对数转换处理,将所有实验样本和 QC 样本导入 SIMCA14.1 软件进行多元统计分析(阿基业,2010),采用主成分分析(PCA)观察各样本的整个过程的稳定性,然后进一步使用有监督的正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)来区分各组间代谢物的差异性。根据多变量 OPLS-DA 模型分析中变量权重(*VIP*>1)、结合 *t* 检验的 *P* 值(*P*<0.05)和单变量分析差异倍数(fold-change,*Fc*>2 或 *Fc*<0.5)筛选差异代谢物。维恩图由 TB tools 0.6 软件完成,代谢通路富集分析基于 KEGG 数据库。

2　结果与分析

2.1 马缨杜鹃花开花至凋谢过程的形态变化

将马缨杜鹃花开花至凋谢过程分为 6 个时期，如图 1 所示。花苞期(A)：花未开，表现为花苞状态，内部花药还未成熟，雄蕊未开裂；开裂期(B)：花苞已经初步打开，雄蕊刚开裂，雌蕊柱头上未有花粉；传粉期(C)：花苞较为开发，雄蕊完全裂开，雌蕊柱头上已经结合覆盖花粉；盛开期(D)：花朵呈现完全盛开，颜色艳丽，雄蕊已经完全开裂，且花粉已经全部裂出，雌蕊柱头上花粉已经不多，传粉受精已完成；衰老期(E)：花朵开始凋谢，出现萎蔫状态；凋谢期(F)：花朵完全枯萎、凋谢和萎蔫。

2.2 马缨杜鹃花样本主成分分析

为分析马缨杜鹃花各个时期间代谢组的相互关系，采用主成分分析(PCA)通过建立数学模型进行正交变换简化降维分析样本间代谢谱的内部结构关系。马缨杜鹃花主成分分析(图 2)表明，不同时期代谢物各组间存在明显的分离趋势，每个样本的数据处理结果可信，每个样本之间存在明显差异，且组内生物学重复重叠效果好，说明在实验过程中数据组的重现性好，可用于后续差异代谢物分析。花苞期和开裂期、传粉期、盛开期代谢物的变化相对较大，衰老期与凋谢期的代谢物相对最大。

为筛选出马缨杜鹃开花至凋谢进程中的差异代谢物，采用正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)区分 6 个时期代谢物的总体差异，结果如图 3 所示。马缨杜鹃开花至凋谢进程中，花苞期、开裂期、传粉期、盛开期、衰老期、凋谢期 6 个时期的代谢物明显分离，表明各组样本代谢物存在显著性的差异变化。该模型质量参数 R^2 和 Q^2 均大于 0.9，说明当前 OPLS-DA 分析模型稳定可靠，具有良好的预测能力，有利于寻找潜在的马缨杜鹃开花至凋谢进程中的差异代谢物。

2.3 马缨杜鹃花代谢物分析

研究马缨杜鹃花开花至凋谢进程中代谢物的变化，采用 LC-MS/MS 检测马缨杜鹃花 6 个时期的代谢物多峰图，花苞期代谢物色谱图见图 4。共检测到 973 种代谢物，正离子模式 587 种，负离子模式 386 种，其中黄酮类 114 种；有机酸 114 种；酚酸类 112 种；氨基酸及其衍生物 75 种；脂类 61 种；生物碱 57 种；萜类 45 种；核苷酸及其衍生物 43 种；糖类及其衍生物 36 种；苯丙素类 33 种；醇和多元醇 33 种；鞣质 11 种；甾体 3 种；其他类 236 种。

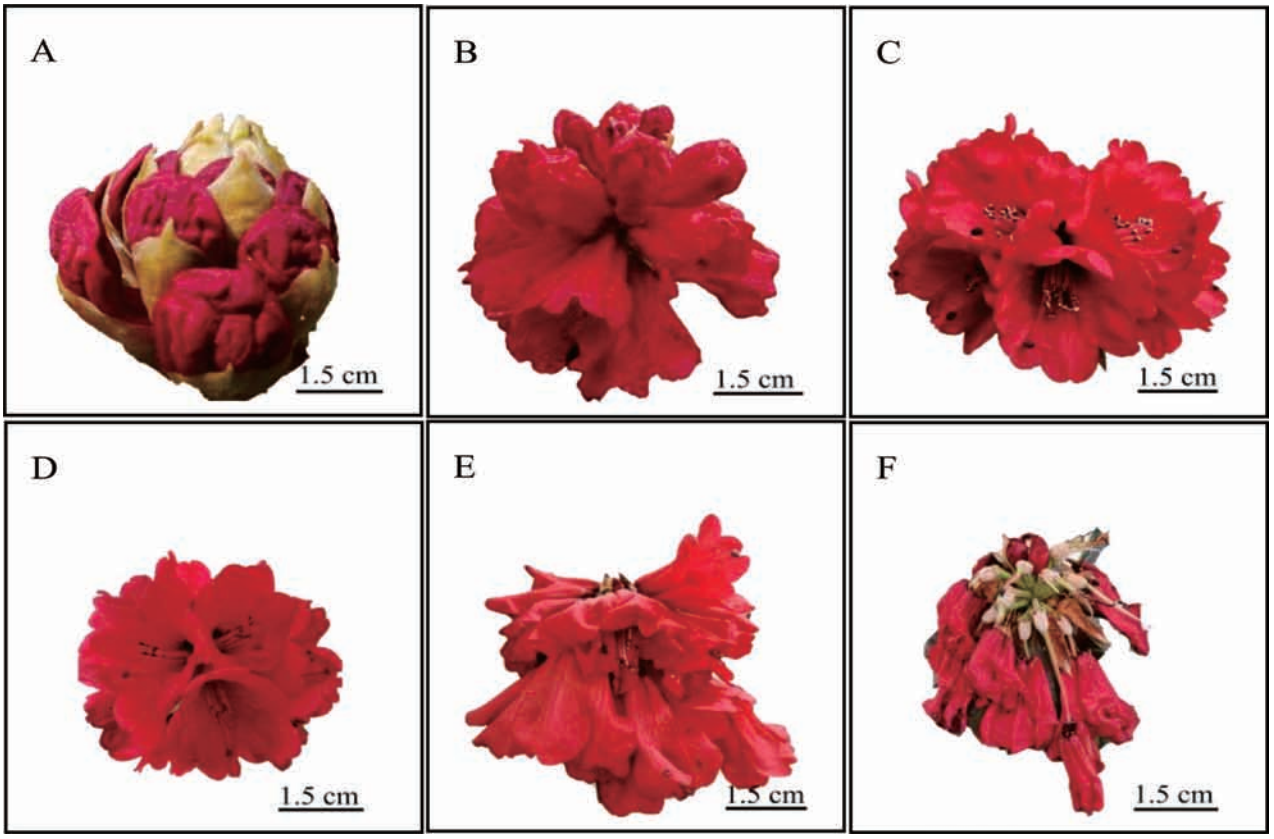
2.4 差异代谢物分析

根据 OPLS-DA 模型的变量重要性投影值筛选马缨杜鹃花 6 个时期的差异代谢物($VIP>1$、$P<0.05$ 和 $Fc>2$ 或 $Fc<0.5$)。从花苞期、开裂期、传粉期、盛开期、衰老期到凋谢期进行相邻两个时期的代谢组比较，结果发现：马缨杜鹃花开花到凋谢进程中共有 591 种差异代谢物。其中，花苞期与开裂期有 170 种差异代谢物(正离子模式 87，负离子模式 83)，48 种上调，122 种下调；开裂期与传粉期有 144 种差异代谢物(正离子模式 89，负离子模式 55)，68 种上调，76 种下调；传粉期与盛开期有 111 种差异代谢物(正离子模式 67，负离子模式 44)，75 种上调，36 种下调；盛开期与衰老期有 284 种差异代谢物(正离子模式 184，负离子模式 100)，177 种上调，107 种下调；衰老期与凋谢期有 314 种差异代谢物(正离子模式 180，负离子模式 134)，260 种上调，54 种下调。在马缨杜鹃花期进入衰老期和凋谢期后差异代谢物数量明显增多于开花过程，且大部分是表达量显著上升的差异代谢物。而在马缨杜鹃花苞期至开裂期过程中，差异代谢物中大部分的表达量显著下调。差异代谢物维恩图分析表明(图 5)，绝大部分(≥46.8%)的差异代谢物都只出现在一个相邻变化时期，没有任何差异代谢物出现在整个开发至凋谢过程。

2.5 代谢通路分析

通过 KEGG Pathway 富集分析显著差异代谢物(Kanehisa & Goto, 2000；Lin et al., 2014)，如图 6 所示。注释到 68 条代谢通路，显著代谢通路($P<0.05$)要有 6 条，分别是苯丙素类生物合成，植物激素的生物合成，类黄酮生物合成，精氨酸和脯氨酸代谢，苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成鸟氨酸、赖氨酸和烟酸生物碱的生物合成。其中，极显著的代谢通路($P<0.01$)包括苯丙素类生物合成、植物激素的生物合成和类黄酮生物合成。

本研究根据代谢组学分析差异代谢物与代谢通路的关系，挖掘与马缨杜鹃花开花至凋谢相关的差异代谢物，推测代谢物可能的作用机制。结合代谢通路图(图 7)，共筛选到 10 种差异代谢物，包括苯丙氨酸(L-phenylalanine)、反式肉桂酸(*trans*-cinnamic acid)、查耳酮(chalcone)、柚皮素



A. 花苞期; **B**. 开裂期; **C**. 传粉期; **D**. 盛开期; **E**. 衰老期; **F**. 凋谢期。
A. Bud stage; **B**. Dehiscence stage; **C**. Pollination stage; **D**. Blooming stage; **E**. Senescence stage; **F**. Withering stage.

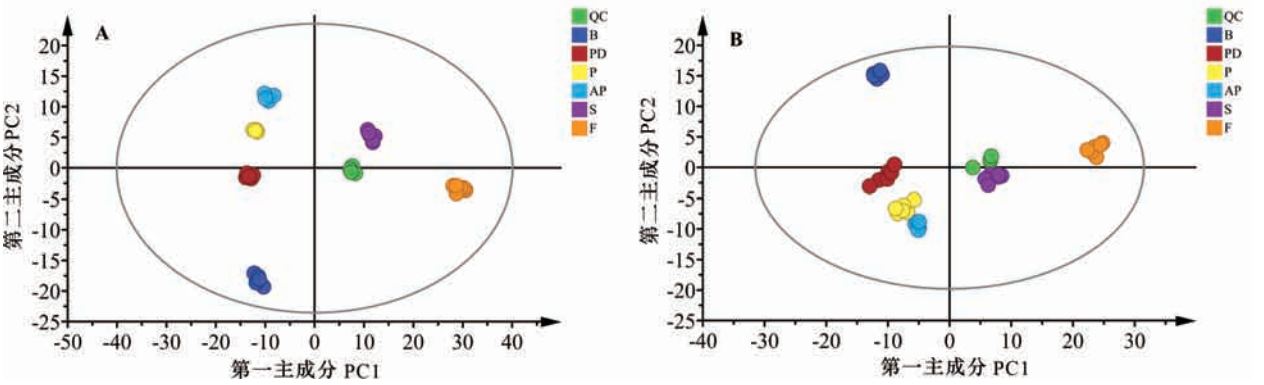
图 1 马缨杜鹃花开花至凋谢过程的形态变化
Fig. 1 Morphological changes of *Rhododendron delavayi* from flowering to withering

(naringenin)、对香豆酰基莽草酸(*p*-coumaroyl shikimic acid)、阿魏酸(ferulic acid)、松柏醇(coniferyl alcohol)、芥子酸(sinapic acid)、紫丁香苷(syringin)、槲皮素(quercetin)。在马缨杜鹃花的 6 个时期,代谢物含量表达如图 6 所示,苯丙素类生物合成相关的差异代谢物包括苯丙氨酸、反式肉桂酸、对香豆酰莽草酸、松柏醇、芥子酸、紫丁香苷在衰老期(S)和凋谢期(F)两个时期均为上调表达,特别是在凋谢期(F)达到最高值;而黄酮类生物合成相关的代谢物柚皮素、槲皮素和查尔酮随着花的生长发育含量呈现下调表达。在'夏黑'葡萄二季果冬芽分化关键时期,CCC 处理会诱导苯丙素合成和类黄酮合成通路中部分基因的上调或下调表达,通过改变与成花相关的基因表达和次级代谢产物的合成和代谢来实现促进成花(时晓芳等,2021)。转录组学分析不同发育阶段款冬叶,发现叶片生长发育的过程中苯丙素类生物合成相关基因表达量不断增多(聂佳慧等,2018)。马缨杜鹃花开花至代谢进程中苯丙素类代谢物表达量逐渐升高,而黄酮类代谢物表达量逐渐降低,苯丙素类和黄酮类代谢物表达可能与马缨杜鹃花发育有关。

3 讨论与结论

3.1 马缨杜鹃花差异代谢物

代谢物是生物体表型的基础,能帮助我们更直观有效地了解生物学过程及其机理(熊欢欢等,2019;霍冬敖等,2021)。采用 GC-MS 技术对枇杷花整个发育进程中代谢物质分析,C/N 含量比是决定花发育进程的重要因素之一(徐红霞等,2020)。长期以来马缨杜鹃花花期调控一直都是研究热点,马缨杜鹃花的开花至凋谢进程是十分复杂的生理过程,该过程可能与代谢物种类和含



A. 正离子模式；**B**. 负离子模式。**QC**. 质控样本；**B**. 花苞期；**PD**. 开裂期；**P**. 传粉期；**AP**. 盛开期；**S**. 衰老期；**F**. 凋谢期。下同。

A. Positive ion mode; **B**. Negative ion mode. **QC**. Quality control sample; **B**. Bud stage; **PD**. Dehiscence stage; **P**. Pollination stage; **AP**. Blooming stage; **S**. Senescence stage; **F**. Withering stage. The same below.

图 2　马缨杜鹃花开花至凋谢进程中代谢物 PCA 模型得分图

Fig. 2　PCA model scores of metabolites from flowering to withering of *Rhododendron delavayi*

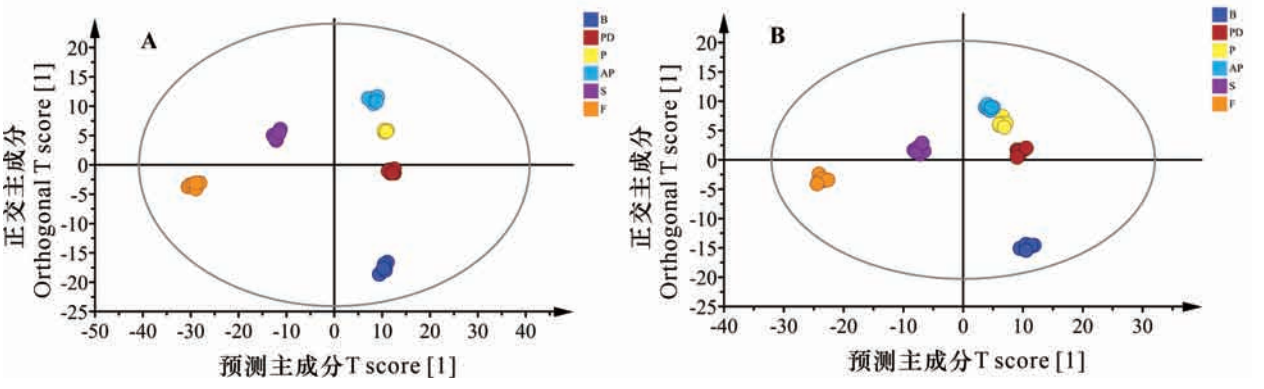


图 3　马缨杜鹃花开花至凋谢进程中代谢物 OPLS-DA 得分图

Fig. 3　OPLS-DA scores of metabolites from flowering to withering of *Rhododendron delavayi*

量密切相关。本研究采用非靶向代谢组学方法，研究马缨杜鹃花开花至凋谢的 6 个时期（花苞期、开裂期、传粉期、盛开期、衰老期和凋谢期）代谢物变化。通过代谢组学分析，共筛选获得 591 种差异表达代谢物，主要包括黄酮类、有机酸、酚酸类、氨基酸，及其衍生物、脂质和生物碱等，这些差异代谢物在花的生长发育不同时期表达情况不相同，随着马缨杜鹃花的生长发育差异代谢物在花苞期至盛开期逐渐减少，进入衰老期和凋谢期后显著增加；而上调代谢物在整个开花至凋谢进程中逐渐增加，并且在凋谢期达到最大值；下调代谢物则在花苞期至盛开期逐渐减少，衰老期增加，凋谢期减少。本研究表明，马缨杜鹃花的不同发育阶段差异代谢物种类和表达可能与花的开花至凋谢进程密切相关。

3.2 马缨杜鹃花差异代谢通路

基于 KEGG PATHWAY 数据库对差异代谢物富集分析，注释到 68 条代谢通路，其中 3 条极显著的代谢通路（$P < 0.01$）分别是苯丙素类生物合成、植物激素的生物合成和类黄酮生物合成。其中，苯丙素类生物合成是最显著的代谢通路，苯丙氨酸为下游次生代谢产物提供原料。本研究基于苯丙素类、黄酮类等有效成分生物合成通路共筛选获得 10 种有效成分生物合成有关的差异代谢

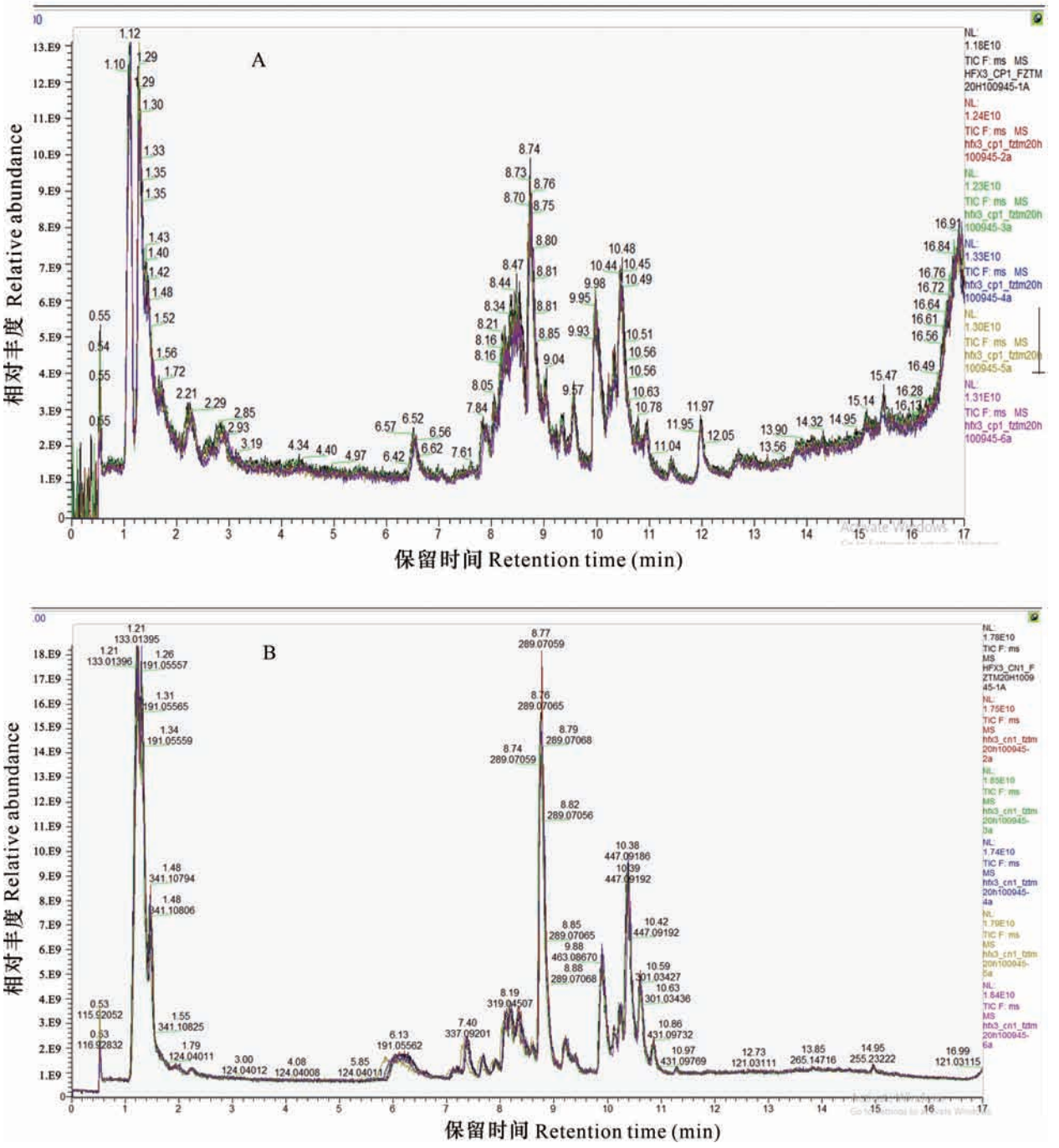
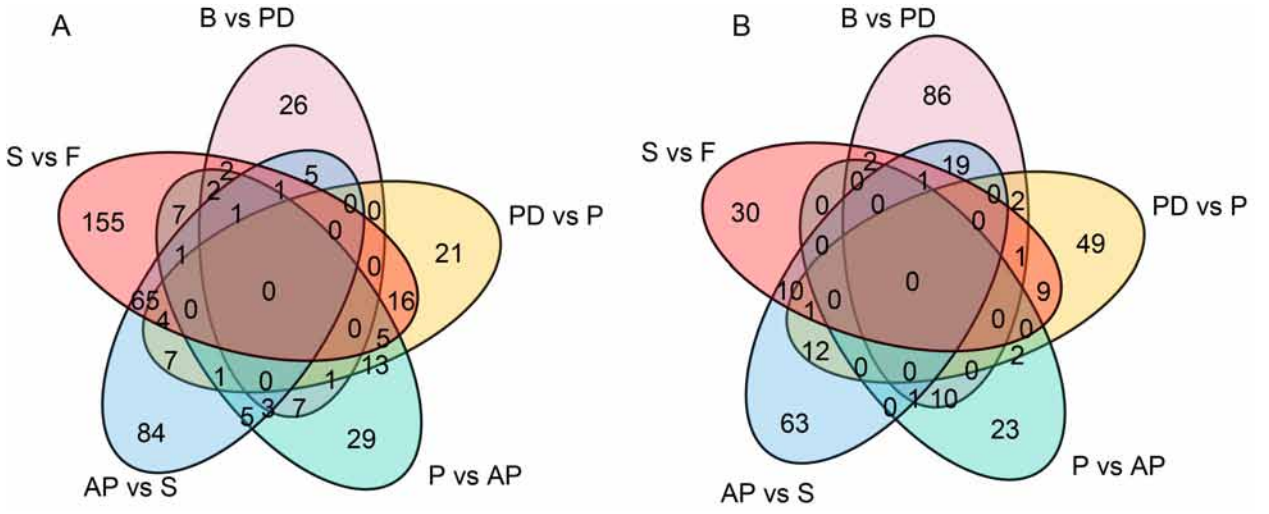


图 4 LC-MS/MS 代谢物检测多峰图

Fig. 4 LC-MS/MS metabolite detection multimodal graph

物。进一步研究发现,苯丙素类生物合成相关的代谢物表达量同马缨杜鹃花的其他时期相比,在衰老期和凋谢期代谢物表达量逐渐升高,而黄酮类生物合成相关的代谢物随着花的生长发育含量呈现下调表达,这些代谢物可能对马缨杜鹃花凋谢有重要调控作用。在马缨杜鹃花的花苞期苯丙氨酸表达量相对较低,随着花的生长发育代谢物表达量逐渐升高,代谢通路上相关代谢也发生相应变化,说明它对整个代谢通路的完成具有重要调控作用。



A. 上调代谢物；**B**. 下调代谢物。

A. Up-regulated metabolites; **B**. Down-regulated metabolites.

图 5　马缨杜鹃花开花至凋谢进程中差异代谢物维恩图

Fig. 5　Venn diagram of differential metabolites from flowering to withering of *Rhododendron delavayi*

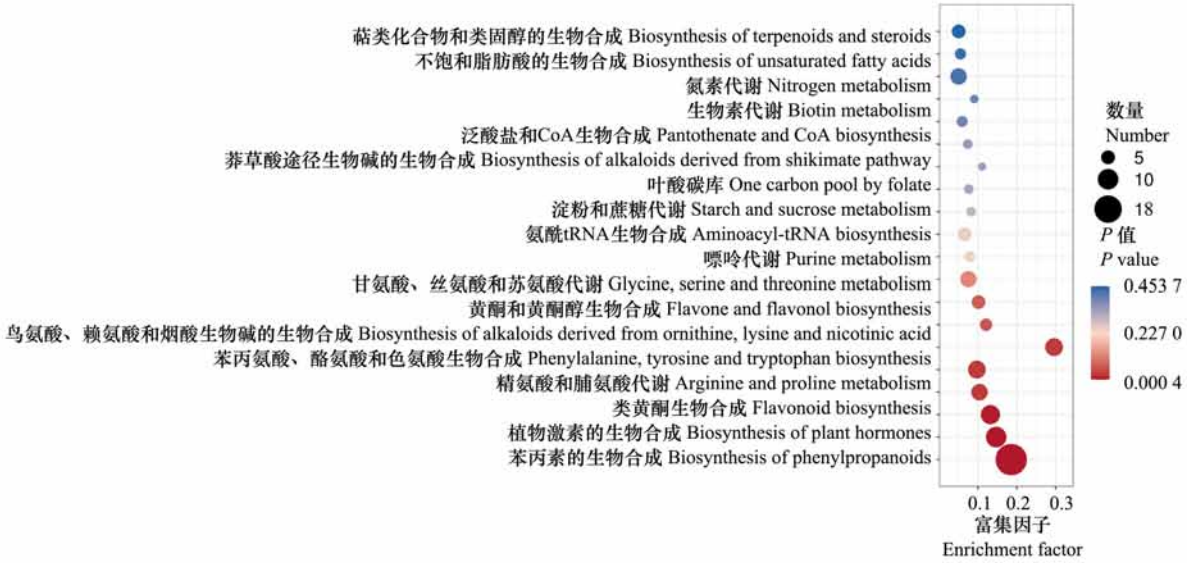


图 6　马缨杜鹃花开花至凋谢进程中差异代谢物主要代谢通路富集分析

Fig. 6　Enrichment analysis of main metabolic pathways of differential metabolites from flowering to withering of *Rhododendron delavayi*

现有研究发现，苯丙素类生物合成是最重要的植物次生代谢途径之一（Dong & Lin, 2021），植物的苯丙素类生物合成代谢途径及其分支途径会产生许多次生代谢产物，如色素、酚酸、黄酮、类黄酮、木质素等（文欢等，2017）。款冬花不同生长发育阶段的次生代谢物代谢组成明显不同，苯丙素类代谢物在发育初期至中后期表达量较高；黄酮类代谢物在发育的各个阶段表达量均有波动，但总体变化不大，次生代谢物累积促进花的发育（贾岩等，2017）。采用高通量测序技术对川佛手不同发育时期转录组学研究，发现苯丙素生物合成中 7 个相关基因随着果实的发育及变色呈现显著差异

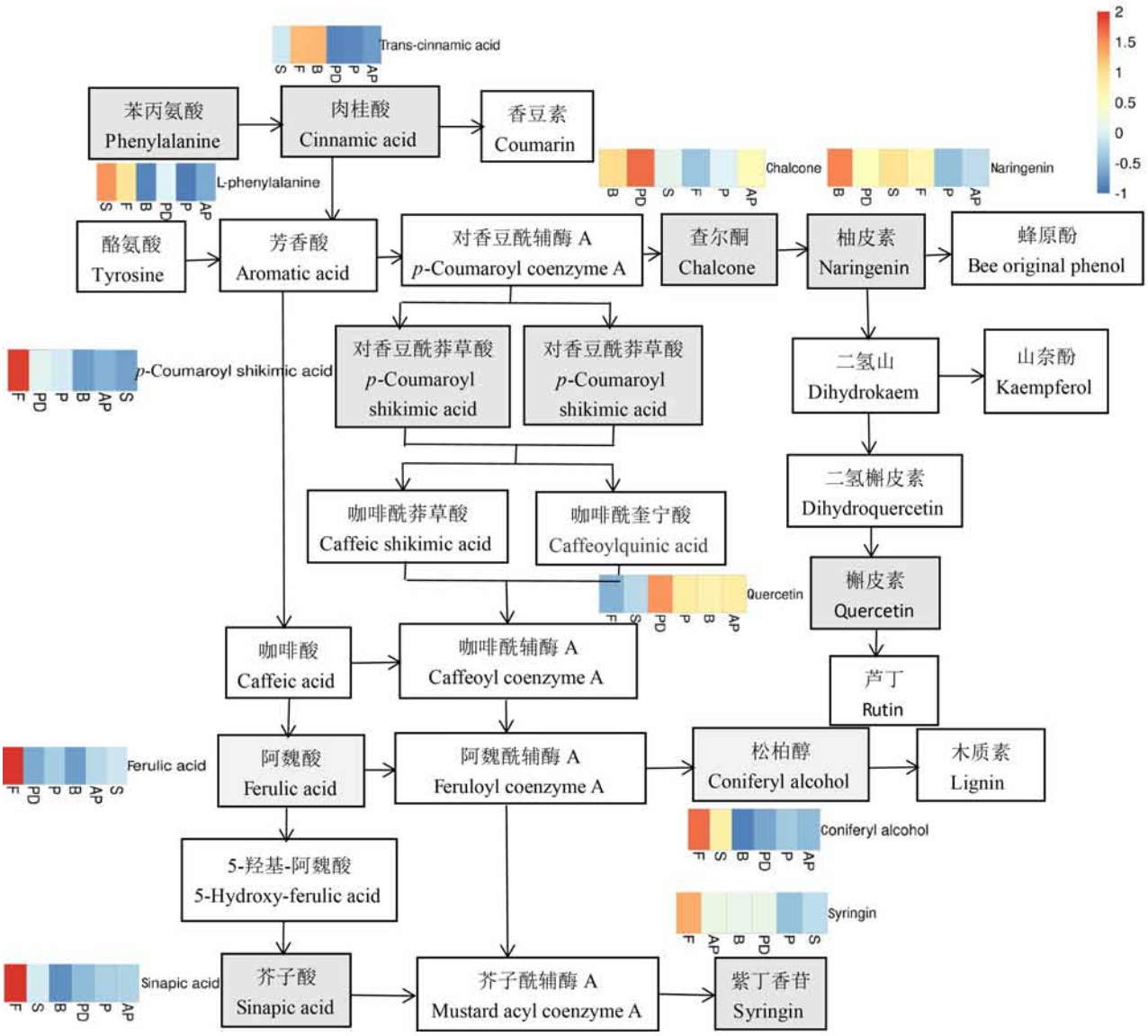


图 7 苯丙素类、黄酮类等有效成分生物合成通路

Fig. 7 Biosynthesis pathway of active components about phenylpropanes and flavones

表达,提高其表达从而促进果实发育(潘媛等,2020)。苯丙素类生物合成途径的前端苯丙氨酸转化为反式肉桂酸,再由肉桂酸羟化酶(C4H)产生对羟基香豆酸,再经 4-香豆酰-CoA 连接酶(4CL)催化生成 4-香豆酸 CoA,进一步向下游特异性合成途径,转化为不同的苯丙素类代谢产物,包括香豆素、黄酮类、萜类和木质素等(王玉等,2019;霍冬敖等,2021)。在马缨杜鹃花开花至凋谢进程中苯丙素类生物合成相关的差异代谢物苯丙氨酸、反式肉桂酸、对香豆酰莽草酸、松柏醇、芥子酸、紫丁香苷代谢物随着花的生长发育含量呈现上调表达,特别是在凋谢期(F)达到最高值;而黄酮类生物合成相关的代谢物柚皮素、槲皮素和查尔酮在花的生长发育过程中下调表达。对不同发育时期大白菜花的转录组研究,发现花香的主要成分是苯丙素,而黄酮类化合物是花、果实和种子的主要显色物质,此外它还能影响花瓣的伸长,促进花粉的萌发(李改珍等,2017)。在苯丙素类生物合成中 L-苯丙氨酸(侯思宇等,2015)、柚皮素(Tu et al., 2016)、阿魏酸(Louie et al., 2010)等作为中间体,它们的表达量高低直接限制到下游代谢途径的进行,从而影响花的开花至凋谢过程。

苯丙素类、黄酮类等代谢物作为重要次生代谢产物，推测其可能为马缨杜鹃花开花至凋谢进程具有重要的调控作用。更好地了解代谢物的生物合成与马缨杜鹃花开花至凋谢进程中的关系还需通过进一步的深入分子水平研究。

本研究通过非靶向代谢组学技术对马缨杜鹃花开花至凋谢进程中不同阶段的代谢成分进行分析，基于 KEGG 数据库对差异代谢物进行注释并获得了相应通路，构建了马缨杜鹃花中苯丙素类、黄酮类等有效成分生物合成途径，为进一步研究代谢物的基因调控作用以及全面解析代谢途径提供代参考，为延长马缨杜鹃花花期调控机制提供了理论基础和科学依据。

参考文献：

A JY, 2010. Analysis of metabolomics data: principal component analysis [J]. Chin J Clin Pharm Ther, 15(5): 481-489. [阿基业, 2010. 代谢组学数据处理方法——主成分分析 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 15(5): 481-489.]

AARON F, KATI H, ROMINA B, et al., 2008. Reconfiguration of the achene and rceptacle metabolic networks during strawberry fruit development [J]. Plant Physiol, 148(2): 730-750.

CHENG SY, XUAN LJ, DONG B, et al., 2020. Identification of differential metabolic pathways and key regulatory genes in the two flower bud differentiation processes of *Magnolia liliiflora* [J]. Hortic Plant J, 47(8): 1490-1504. [程少禹, 宣铃娟, 董彬, 等, 2020. '红元宝'紫玉兰两次花芽分化差异代谢通路及关键调控基因筛选 [J]. 园艺学报, 47(8): 1490-1504.]

DAI WD, XIE DC, LU ML, et al., 2017. Characterization of white tea metabolome: Comparison against green and black tea by a nontargeted metabolomics approach [J]. Food Res Inte, 96(96): 40-45.

DONG NQ, LIN HX, 2021. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions [J]. J Integr Plant Biol, 63(1): 180-209.

HE CM, LIU XC, LIU N, et al., 2020. Transcriptome sequencing and metabolite profiling analyses provide comprehensive insight into molecular mechanisms of flower development in *Dendrobium officinale* (Orchidaceae) [J]. Plant Mol Biol, 104(4/5): 529-548.

HONG K, ZHANG XM, YI Y, et al., 2010. Effect of nutrient elements on bud development and florescence of *Rhododendron delavayi* Franch [J]. N Hortic, (21): 84-86. [洪鲲, 张习敏, 乙引, 等, 2010. 营养元素对马缨杜鹃花芽发育和花期的影响 [J]. 北方园艺, (21): 84-86.]

HOU SY, ZHAO GC, LIU RH, et al., 2015. Cloning, bioinformatics and molecular evolution analysis of *Ft4CL* in *Fagopyrum tataricum* [J]. J Shanxi Agric Univ (Nat Sci Ed), 35(1): 411-415. [侯思宇, 赵盖超, 刘荣华, 等, 2015. 苦荞 *Ft4CL* 基因克隆、生物信息学及分子进化分析 [J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 35(1): 411-415.]

HUO DA, TIAN RF, REN YQ, et al., 2021.UPLC-MS/MS-Based metabonomic characterization and contrastive analysis between *Allium wallichii* Kunth and *Allium tuberosum* Rottl seeds [J/OL]. Guihaia. http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.q.20211027.1654.002.html. 霍冬敖, 田瑞丰, 任永权, 等, 2021. 基于 UPLC-MS/MS 技术的野生及栽培韭菜籽的代谢组学研究 [J/OL]. 广西植物. http://kns. cnki. net/kcms/detail/45. 1134. q. 20211027. 1654. 002.html.

HU DM, DONG X, WU JM, et al., 2021. Comparison of floral traits of three *Rhododendron* species in different habitats [J]. Guihaia, 42(1): 1-16. [胡德美, 董溪, 吴江明, 等, 2021. 不同生境三种杜鹃属植物花特征比较 [J]. 广西植物, 42(1): 1-16.]

JIA Y, ZHANG FS, XIAO SX, et al., 2017. Component analyses of *Tussilago farfara* in different development stages by metabonomic and comparative transcriptomic approaches [J]. Chin J Biochem Mol Biol, 33(6): 615-623. [贾岩, 张福生, 肖淑贤, 等, 2017. 款冬花不同发育阶段的代谢组学和比较转录组学分析 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 33(6): 615-623.]

KANEHISA M, GOTO S, 2000. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes [J]. Nucl Acids Res, 28(1): 27-30.

LI GZ, QI XH, LI ML, ZHAO JL, et al., 2017. Research on transcriptome of *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* flower buds at different development stages [J]. J Shanxi Agric Univ (Nat Sci Ed), 37(10): 701-706. [李改珍, 齐仙惠, 李梅兰, 等, 2017. 大白菜花发育不同时期的转录组研究 [J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 37(10): 701-706.]

LI WJ, CHEN X, 2005. A preliminary study on structure and regeneration of *Rhododendron Delavayi* population in Baili Azalea Forest Park [J]. Guizhou Sci, 23(3): 46-49. [李苇洁, 陈训, 2005. 百里杜鹃森林公园马缨杜鹃种群结构与更新初步研究 [J]. 贵州科学, 23(3): 46-49.]

LI Y, CHEN Y, ZHOU L, et al., 2020. MicroTom Metabolic Network: Rewiring tomato metabolic regulatory network throughout the growth cycle [J]. Mol Plant, 13(8): 1203-1218.

LIN H, RAO J, SHI JX, et al., 2014. Seed metabolomic study reveals significant metabolite variations and correlations among different soybean cultivars [J]. J Integr Plant Biol, 56(9): 826-836.

LOUIE GV, BOWMAN, TU Y, et al., 2010. Structure-function analyses of a caffeic acid O-methyltransferase from perennial ryegrass reveal the molecular basis for substrate preference [J]. Plant Cell, 22(12): 4114-4127.

MAO JN, 2000. A study on pollen morphology of 4 azalea (*Rhododendron*) species [J]. J SW Agric Univ, 22(6): 525-529. [毛加宁, 2000. 杜鹃花属 4 种植物花粉形态特点研究 [J]. 西南农业大学学报, 22(6): 525-529.]

NIE JH, ZHANG FS, TIAN D, et al., 2018. Comparative transcriptomic analysis of leaves of *Tussilago farfara* in different development stages [J]. Chin Trad Herb Drugs, 49(13): 3095-3101. [聂佳慧, 张福生, 田栋, 等, 2018. 款冬叶不同发育阶段的转录组学分析 [J]. 中草药, 49(13): 3095-3101.]

PAN Y, CHEN DX, LI LY, 2020. Comparative transcriptomics analysis of *Citrus medica* var. *sarcodactylis* at different developmental stages [J]. China J Chin Mater Med, 45(21): 5169-5176. [潘媛, 陈大霞, 李隆云, 2020. 川佛手开花至凋谢过程中的比较转录组学分析 [J]. 中国中药杂志, 45(21): 5169-5176.]

PAN Y, ZHAO X, CHEN DX, 2021. Different development phase of transcription proteomics and metabolomics of flower of *Lonicera macranthoides* [J]. Chin J Chin Mat Med, 46(11): 2798-2805. [潘媛, 赵晓, 陈大霞, 2021. 灰毡毛忍冬花不同发育阶段的转录组学与代谢组学研究 [J]. 中国中药杂志, 46(11): 2798-2805.]

RAOJ, CHENG F, HU CY, et al., 2014. Metabolic map of mature maize kernels [J]. Metabolomics, 10(5): 775-787.

SHI XF, WEI RF, HUANG GY, et al., 2021. Study on the molecular mechanism of promotion of inflorescence formation of CCC treatment for the second fruiting in grape [J]. J Fruit Sci, 38(2): 153-167. [时晓芳, 韦荣福, 黄桂媛, 等, 2021. 矮壮素处理促进葡萄二季果成花的分子机制研究 [J]. 果树学报, 38(2): 153-167.]

SONG QF, ZHANG XM, YI Y, et al., 2010. Effect of spraying plant hormones on the flowering stage of wild *Rhododendron delavayi* Franch. [J]. For Sci Technol, (5): 52-53. [宋庆发, 张习敏, 乙引, 等, 2010. 喷施植物激素对野生马樱杜鹃花期的影响 [J]. 林业实用技术, (5): 52-53.]

TU YH, LIU F, GUO DD, et al., 2016. Molecular characterization of flavanone 3-hydroxylase gene and flavonoid accumulation in two chemotyped safflower lines in response to methyl jasmonate stimulation [J]. BMC Plant Biol, 16(1): 132.

WANT EJ, WILSON ID, GIKA H, et al., 2010. Global metabolic profiling procedures for urine using UPLC-MS [J]. Nat Protoc, 5(6): 1005-1018.

WANG Y, YANG X, YANG RJ, et al., 2019. Advances in research of *MYB* transcription factors in regulating phenylpropane biosynthesis [J]. J Anhui Agric Univ, 46(5): 859-864. [王玉, 杨雪, 杨蕊菁, 等, 2019.调控苯丙烷类生物合成的 *MYB* 类转录因子研究进展 [J].安徽农业大学学报, 46(5): 859-864.]

WARWICK BD, DAVID B, PAUL B, et al., 2011. Procedures for large-scale metabolic profiling of serum and plasma using gas chromatography and liquid chromatography coupled to mass spectrometry [J]. Nat Protoc: Reci Res, 6(7): 1060-1083.

WEN B, MEI ZL, ZENG CW, et al., 2017. MetaX: a flexible and comprehensive software for processing metabolomics data [J]. BMC Bioinf, 18(1): 183.

WEN H, ZHANG DY, PENG C, et al., 2017. Transcriptional analysis of phenylpropanoid metabolic pathway in *Gastrodia elata* [J]. Chin Med Mat, 40(4): 789-796. [文欢, 张大燕, 彭成, 等, 2017. 天麻苯丙烷代谢途径的转录组学分析 [J]. 中药材, 40(4): 789-796.]

XU HX, LI XY, CHEN JW, 2020. Studies on the amino acid metabolism and carbohydrate metabolism variation during flower development in *Eriobotrya japonica* [J]. Hortic Plant J, 47(2): 233-241. [徐红霞, 李晓颖, 陈俊伟. 2020. 枇杷花发育进程中氨基酸和碳水物代谢的变化 [J]. 园艺学报, 47(2): 233-241.]

XU JJ, WHANG YH, WANG HS, et al., 2012. Chemical constituents from stems of *Rhododendron delavayi* Franch [J]. Nat Prod Res Dev, 24(6): 757-760. [徐金金, 王跃虎, 王鸿升, 等, 2012. 马缨杜鹃茎的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 24(6): 757-760.]

XUE SY, WANG XJ, SUN HF, et al., 2012. Metabolomic study of flower buds of *Tussilago farfara* in different development stages by GC-MS [J]. Chin J Chin Mat Med, 37(19): 2863-2869. [薛水玉, 王雪洁, 孙海峰, 等, 2012. 基于气质联用的款冬花蕾动态发育代谢组学特征分析 [J]. 中国中药杂志, 37(19): 2863-2869.]

YUE BC, 2015. Study on characteristics of the flower bud development and blooming control of *Rhododendron delavayi* [D]. Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering. [岳保超, 2015. 马缨杜鹃的花芽发育特征研究及花期调控初探 [D]. 广州: 仲恺农业工程学院.]

ZHANG CQ, HUANG CL, HUANG JY, et al., 2015. Investigation of germplasm resources of the genus *Rhododendron* in Baili Nature Reserve in Guizhou [J]. Plant Divers Resour, 37(3): 357-364. [张长芹, 黄承玲, 黄家勇, 等, 2015. 贵州百里杜鹃自然保护区杜鹃花属种质资源的调查 [J]. 植物分类与资源学报, 37(3): 357-364.]

ZHANG JJ, WANG X, YU O, et al., 2011. Metabolic profiling of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) during fruit development and maturation [J]. J Exp Bot, 62(3): 1103-1118.

(责任编辑 李 莉)

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1181-1192 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202107057

王华坤, 肖方静, 宾万娟, 等. 半枫荷调控 RA 模型的非靶向代谢组学研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1181-1192.
WANG HK, XIAO FJ, BIN WJ, et al. Untargeted metabonomics study of *Semiliquidambar cathayesis* in treatment of rheumatoid arthritis [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1181-1192.

半枫荷调控 RA 模型的非靶向代谢组学研究

王华坤[1], 肖方静[1], 宾万娟[1], 傅春青[1], 尹 丽[1,2*]

(1. 玉林师范学院 生物与制药学院, 广西 玉林 537000; 2. 玉林师范学院地产药用资源开发与生物工程技术中心, 广西 玉林 537000)

摘 要: 为探讨半枫荷干预类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)模型大鼠血浆内容物代谢轮廓的变化和特征,该研究以半枫荷正丁醇提取物给药前后 RA 模型大鼠血浆为研究对象,借助超高效液相色谱联用四极杆飞行时间质谱(UPLC-QTOF/MS)技术进行非靶向代谢组学检测,并用 SIMCA-P 软件对代谢物测定结果进行多元变量统计分析,筛选差异代谢物并作通路富集分析。结果表明:(1)给药前后大鼠血浆代谢轮廓存在显著差异,与模型组相比,给药组在正负离子模式合并后筛选出 321 种差异代谢物,其中负离子模式鉴定到 174 种代谢物,正离子模式鉴定到 192 种代谢物。(2)鉴定到的所有代谢物根据其化学分类归属信息归为 12 种类型,有机酸及其衍生物和脂类及类脂分子这 2 类代谢物数量占比较高。(3)通路富集获得 37 个代谢通路且呈显著性差异($P<0.05$),给药组中蛋白质的消化和吸收、肿瘤胆碱代谢通路和 ABC 转运蛋白通路出现较大扰动且富集到的差异代谢物数量最多,所有通路均显著上调($P<0.05$)。这对阐明半枫荷调控 RA 症状的变化机制具有一定指导价值和理论意义。

关键词: 超高效液相色谱联用四极杆飞行时间质谱, 血浆, 差异代谢物, 代谢通路, 壮药

中图分类号: Q943 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-3142(2022)07-1181-12

Untargeted metabonomics study of *Semiliquidambar cathayesis* in treatment of rheumatoid arthritis

WANG Huakun[1], XIAO Fangjing[1], BIN Wanjuan[1], FU Chunqing[1], YIN Li[1,2*]

(1. *College of Biology and Pharmacy*, *Yulin Normal University*, Yulin 537000, Guangxi, China; 2. *Bioengineering & Technology Center for Native Medicinal Resources Development*, *Yulin Normal University*, Yulin 537000, Guangxi, China)

Abstract: In order to explore the changes and characteristics of plasma content metabolic profile in rheumatoid arthritis (RA) model rats after the intervention of effective parts of *Semiliquidambar cathayesis*. Based on the Ultra-performance liquid chromatography tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-QTOF/MS) technique, the differences of plasma metabolite profiles in rat arthritis models before and after the administration from the perspective of nontargeted metabolomics were analysed. Chromatographic experiments were performed on a HILIC column (100 mm×

收稿日期: 2022-01-13

基金项目: 广西自然科学基金青年创新人才科研专项(桂科 AD19245050);广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2020KY14019);2020 年大学生创新创业训练计划项目(202010606167) [Supported by Natural Science Foundation of Guangxi Talent Special Projects (Gui Ke AD19245050); Young and Middle-aged Teachers Basic Scientific Research Capacity Improvement Project Colleges and Universities in Guangxi (2020KY14019); College Students Innovation and Entrepreneurship Training Project in 2020 (202010606167)]。

第一作者: 王华坤(1983-),硕士,主管药师,研究方向为药用植物药理学研究,(E-mail)48061650@qq.com。

*通信作者: 尹丽,博士,副研究员,研究方向为药用植物开发应用,(E-mail)yinli@ylu.edu.cn。

2.1 mm, 1.7 μm) using a mobile phase that consisted of 25 mmol · L^{-1} ammonium acetate and 25 mmol · L^{-1} ammonia in water and acetonitrile. Mass spectrometry was conducted in the positive and negative modes by electrospray ionization (ESI). Metabolic information about the plasma was acquired using a multivariate statistical analysis model. Principal component analysis (PCA) and partial least square discriminant analysis (PLS-DA) were conducted for pattern recognition and difference analysis. PCA was performed for data variables in the positive and negative ion modes, respectively. The metabolic compounds were divided into different groups on the basis of their chemical taxonomy. A permutation test (n=200) was conducted to verify the fit of the model. The differential metabolites were screened on the basis of variable importance in project (VIP>1), analysis of variance (ANOVA, P<0.05) and maximum fold change (>1.5) by using the PLS-DA model. The compounds were identified based on the data retrieved from the METLIN and HMDB databases according to the quality information of percursor ions and fragment ions. Plasma metabolic profile before and after administration showed significant differences. Metabolite determination results were screened by SIMCA-P software, followed by t-test and fold change analysis, screening differential metabolites and pathway enrichment analysis. The results were as follows: (1) Compared with the model group, after the combination of positive and negative ion mode, 321 different metabolites were selected, 174 metabolites were identified in the negative ion pattern, 192 metabolites were identified in positive ion pattern. (2) All metabolites identified were classified into 12 types according to their chemical classification attribution information, organic acids and derivatives, lipids and lipid-like molecules accounted for a high number of metabolites. (3) A total of 37 metabolic pathways were obtained by pathway enrichment and showed significant difference (P<0.05), digestion and absorption of proteins, tumor choline metabolism pathways and ABC transporters enriched the largest number of differential metabolites, all pathways were significantly upregulated (P<0.05). Accordingly, a theoretical reference has been presented for the transformation mechanism of *S. cathayesis* regulating RA.

Key words: UPLC-QTOF/MS, plasma, differential metabolites, metabolic pathways, Zhuang medicine

类风湿性关节炎又称类风湿(rheumatoid arthritis, RA),是一种病因未明的以关节滑膜炎症病变为主的全身性慢性疾病,滑膜炎症、关节肿胀疼痛、软骨和骨损坏、功能受限为主要症状(Kowalik et al., 2018; Zulfiqar et al., 2019; Pandey et al., 2019),RA 影响患者的生命周期、治疗周期长且医疗费用较高。临床上用于治疗 RA 药物主要有非甾体类抗炎(NSAIDS)(Zavodovsky & Sivordova, 2018; Malano & Strusberg, 2019; Abbasi et al., 2019)、改善病情抗风湿药(DMARDs)(Roodenrijs et al., 2018; Cacciapaglia et al., 2018; Khilfeh et al., 2019)、糖皮质激素(George & Baker, 2019; Lillegraven et al., 2019)、生物剂制(Aletaha & Smolen, 2018)等,能够改善僵硬及减缓痛楚,但常出现物质代谢和水盐代谢紊乱、免疫耐受及胃肠道方面的副作用,不宜长期用药(Krüger, 2018; Wilson et al., 2019)。因此,研究人员将重点转向传统中药及方剂,筛选药性温和、毒副作用少、活性成分和作用机制比较明确的中药缓解病患痛苦。

半枫荷(*Semiliquidambar cathayesis*)为金缕梅科半枫荷属,全株入药,是中国特有的单种属植物(国家中医药管理局中华本草编委会, 1999)。药用半枫荷始载于《岭南采药录》,具有活血化瘀止痛、温经散寒除湿的作用(南京中医药大学, 2006),主治“肢体麻痹、风湿腰腿痛、跌打损伤、关节不利、半身不遂、产后风瘫”等,为民间验方的组成之一,广泛使用于苗族、瑶族、畲族、壮族等多个民族,有着悠久的临床用药历史和确切的疗效(中国科学院中国植物志编辑委员会, 1984; 国家中医药管理局中华本草编委会, 1999; 中国科学院广西植物研究所, 2005)。广西壮族民间用半枫荷煎汤当茶饮,治疗类风湿性关节炎疗效甚佳,临床上以金缕梅科半枫荷最为常用且抗风湿效果最佳(Liang et al., 2015; Yang et al., 2016)。由于半枫荷资源稀少,分布零散,所以目前对半枫荷的研究属于起步阶段。叶兴状等(2020)分析了半枫荷转录组中的 SSR 位点信息,为分子标记辅助育种提供参考。田晓明等(2018, 2021)先后采用 UPLC-QTOF/MS 分析半枫荷根不同部位化学成分及半枫荷不同组织间差异代谢物,发现瓜氨酸、胆酸、白藜芦醇和 7-羰基豆甾醇等化学成分在根皮

中含量最高，不同组织中差异萜类化合物主要为三萜化合物。廖娜等(2019)成功制备金缕半枫荷的总多酚并证实其具有显著的抗菌、抗氧化能力。蒋杨等(2021)发现半枫荷的水、醇提取物对小鼠具有明显的镇痛抗炎作用。目前，关于半枫荷的研究主要涉及遗传育种、化学成分和药理活性等方面，鲜少涉及代谢组学领域。

代谢组学可用于研究 RA 疾病特征和发病机制(Ma et al., 2018)，采用代谢组学和动物病症模型相互结合的研究思路和方法，偏重应用现代分析手段考察类风湿性关节炎发展进程中的内源性小分子代谢物，阐明疾病发病机制和药物作用机制。本课题组前期通过图谱指认以及文献调研(梁伟红等，2015；卢海啸等，2015)，明确了半枫荷抗类风湿性关节炎的药用部位为半枫荷根，抗炎镇痛天然活性物质含量丰富。同时，采用弗氏完全佐剂(CFA)诱导的大鼠类风湿性关节炎模型，以足肿胀、关节炎指数、大鼠体重增加、免疫器官指数、外周血液单核细胞中环氧合酶-2(COX-2)和 5-脂氧合酶(5-LOX)表达水平及大鼠血清中炎性细胞因子表达为依据，初步证实半枫荷根正丁醇提取部位高剂量组具有显著的抗 RA 活性。半枫荷在广西少数民族地区使用广泛且疗效确切，但活性成分及作用机制不清，为了进一步阐明该壮药对 RA 调控作用，本研究借助 UPLC/QTOF-MS 对半枫荷根活性部位提取物给药前后 RA 模型大鼠血浆进行非靶向代谢组学分析，拟探讨以下问题：(1) 大鼠给药组和模型组血浆是否存在差异代谢物；(2) 差异代谢物富集在哪些信号通路；(3) 半枫荷正丁醇提取物主要通过调节哪些内源性代谢物水平从而调控 RA。以期从内源性代谢物的角度为半枫荷根抗 RA 的开发利用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1 药材

半枫荷 (*Semiliquidambar cathayensis*)由玉林师范学院卢海啸教授采集并鉴定为金缕梅科半枫荷属植物半枫荷的干燥根。本课题组前期实验结果显示半枫荷根正丁醇提取部位高剂量组具有显著的抗 RA 活性，故选其作为该文实验用药。提取方法：干燥的半枫荷根药材经粉碎过筛，选用 75%乙醇回流提取 2～3 次，每次 0.5～1.5 h，合并提取液，减压浓缩得到浸膏，用水混悬后正丁醇进行萃取，合并 3 次萃取液用旋转蒸发仪回收溶剂并浓缩为稠浸膏即得，出膏率为 10.67%。

1.2 动物

SPF 级健康 SD 种雄性大鼠，体重(250±1) g，购自广西医科大学动物实验中心［许可证号：SCXK(桂)2014-0002］。饲养条件：室温 22～25 ℃，相对湿度：55%～70%。

1.3 试剂与仪器

ACQUITY UPLCBEH HILIC 色谱柱(美国 Waters 公司)；Triple TOF 6600+四级杆高分辨飞行时间质谱仪(美国 SCIEX 公司)；Agilent 1290 Infinity 超高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)；RE-52A 型旋转蒸发仪和 SHZ-D (III)循环水真空泵(上海亚荣生化仪器厂)；DZKW-S-8 型水浴锅(北京市永光明医疗仪器厂)；FW100 型高速万能粉碎机(北京市永光明医疗仪器厂)；Micro21R 型台式高速冷冻离心机(美国 Thermo 公司)；ZNCL-T 型电热套(上海科升仪器有限公司)；ABS 型小动物气体麻醉机(上海玉研科学仪器有限公司)；色谱纯甲醇和乙腈(德国 Merck 公司)；弗氏完全佐剂(美国 Sigma-Aldrich 公司)；Milli-Q 纯水系统(美国 Millipore 公司)。

1.4 方法

1.4.1 *动物给药及样品采集*　24 只雄性 SD 大鼠随机分为两组：模型组和给药 1 h 组(经预实验，选用半枫荷根正丁醇提取液给药 1 h 后取血)，$n=12$；大鼠右后足趾皮下注射 0.1 mL CFA 致炎造模，给药前 12 h 禁食不禁水。根据前期试验结果，半枫荷根正丁醇提取液给药剂量按 5.4 g · kg^{-1}体重计算，模型组给予等体积生理盐水；大鼠灌胃给药 1 次，给药后 1 h 后麻醉大鼠并经肝门静脉采集血样，模型组同法操作；用抗凝管采血，4 ℃ 4 000 r · min^{-1}离心 15 min，收集血浆并分装于离心管，液氮速冻后置于−80 ℃保存。

1.4.2 *样本处理*　吸取血浆 100 μL 置于不含抗凝剂的无菌 Ep 管中，加适量经预冷处理的甲醇/乙腈/水溶液(2∶2∶1，v/v)，涡旋混匀后低温超声处理 30 min，−20 ℃ 条件下放置 10 min，4 ℃条件下以 14 000 *g* 离心 20 min，真空干燥上清液，分析前加乙腈水溶液(乙腈∶水=1∶1，v/v)100 μL 复溶，4 ℃ 条件下以 14 000 *g* 离心 15 min，取上清液

5 μL 进样分析。质控(quality control,QC)样本为所有血浆样本混合后取 100 μL,同法处理。

1.4.3 数据采集 样品采用 Agilent 1290 Infinity 超高效液相色谱系统(UHPLC)配合 ESI 源,ACQUITY UPLCBEH HILIC 色谱柱(100 mm×2.1 mm,1.7 μm)在正负离子模式下进行数据采集。柱温 25 ℃;流速 0.5 mL·min^{-1};进样量 2 μL;流动相组成 A 为水+25 mmol·L^{-1}乙酸铵+25 mmol·L^{-1}氨水,B 为乙腈。梯度洗脱程序如下:0~0.5 min,95% B;0.5~7 min,B 从 95%线性变化至 65%;7~8 min,B 从 65%线性变化至 40%;8~9 min,B 维持在 40%;9~9.1 min,B 从 40%线性变化至 95%;9.1~12 min,B 维持在 95%。HILIC 色谱分离后的 ESI 源条件如下:质谱参数为雾化气(GS1) 60 psi,辅助加热气(GS2) 60 psi,气帘气(CUR) 30 psi,温度(TEM) 600 ℃,毛细管电压(IS)±5 500 V(正负两种模式);TOF MS 扫描范围 *m/z* 为 60~1 000 Da,产物离子扫描范围 *m/z* 为 25~1 000 Da,TOF MS 扫描累积时间为 0.20 s/spectra,产物离子扫描累积时间为 0.05 s/spectra;二级质谱采用信息依赖型获取模式(IDA)获得,并且采用超高灵敏度模式,去簇电压(DP)±60 V(正负两种模式),CES 碰撞能力叠加(35±15) eV。IDA 设置如下:排除 4 Da 内的同位素,每个循环监测的候选离子:10。采取随机顺序进行样本连续分析,可以避免仪器检测信号波动带来的影响,取等量的各组样品混合作为质控样本,每运行 6 个样本采集一次质控样本,以评价和监测系统稳定性及实验数据可靠性。

1.4.4 数据分析 UPLC/QTOF-MS 导出原始数据,使用 Progenesis(V2.3,UK)软件进行数据预处理,去躁、基线校准、峰对齐、峰识别、积分、精确保留时间、计算归一化峰强度。化合物鉴定基于精确质量数、二级碎片以及同位素分布,利用 PeakView(AB SCIEX,USA)提取差异代谢物的二级碎片质谱并借助 HMDB(Human Metabolome Database)和 METLIN (metlin.scripps.edu)进行鉴定并验证。所得数据矩阵作统计分析,利用 MarkerView(AB SCIEX,USA)进行一级质谱的提取,经数据校正和归一化后导入 SIMCA-P(14.0)进行 PCA 和 OPLS-DA 等多维统计分析。根据变量的 VIP(variable importance in projection)>1 和|Pcorr|(Pearson correlation)>0.52 为标准,挑选差异代谢物。SPSS(20.0)对筛出的变量进行两组独立样本 *t* 检验,挑选 $P<0.05$ 的代谢物。KEGG pathway(https://www.kegg.jp/)数据库对血浆样品差异代谢物作通路富集分析,用独立样本 *t* 检验比较给药前后试验组的差异。

2 结果与分析

2.1 血浆代谢物定性分析及化学分类归属

用 UPLC-MS 技术对所有血浆样本进行色谱分离及质谱分析,代谢物在正离子和负离子模式下得到很好区分。通过重叠比较质控样本总离子流色谱图(total ion chromatogram,TIC)(图 1),发现各色谱峰的响应强度和保留时间基本重叠,说明实验进程中仪器误差引起的变异较小。经 The Human Metabolome Database、Lipidmaps(V2.3)以及 METLIN 数据库定性分析,正负离子模式合并后共鉴定出 321 种代谢物,其中负离子模式鉴定出 174 种代谢物,正离子模式鉴定出 192 种代谢物。所有鉴定的代谢物(合并正负离子鉴定到的代谢物)根据其化学分类归属信息进行分类统计归为 12 种类型:有机酸及衍生物、脂类及类脂分子、有机杂环化合物、有机含氧化合物、核苷、核苷酸及类似物、苯环型化合物、有机氮化合物、有机硫化合物、苯丙烷类和聚酮酸类、未分类化合物。分类信息显示有机酸及其衍生物和脂类及类脂分子这 2 类代谢物数量占比均较高,在代谢物中分别占 20.87%和 15.89%(图 2)。

2.2 组间差异分析

2.2.1 单变量统计分析 分析给药组和模型组血浆代谢物差异,主要的单变量统计分析方法包含变异倍数分析(Fold Change Analysis, FC Analysis)、*t* 检验/非参检验。单变量分析法对正、负离子模式下得到的所有代谢物(含未被鉴定的代谢物)做差异性分析,采用火山图(图 3)的形式来进行可视化展示,玫红色表示 FC>1.5,$P<0.05$ 显著差异代谢物(上调),蓝色表示 FC<0.67,$P<0.05$ 显著差异代谢物(下调)。

2.2.2 多元统计分析 非监督性的主成分分析(PCA)评价仪器和方法的稳定性,分析所有实验样本和质控样本提取得到的峰,如图 4:A 所示。在 PCA 图中,R^2X 为决定 PCA 模型质量的主要参数,经过 7 次循环交互验证得知 $R^2X(\mathrm{cum})=0.579>$

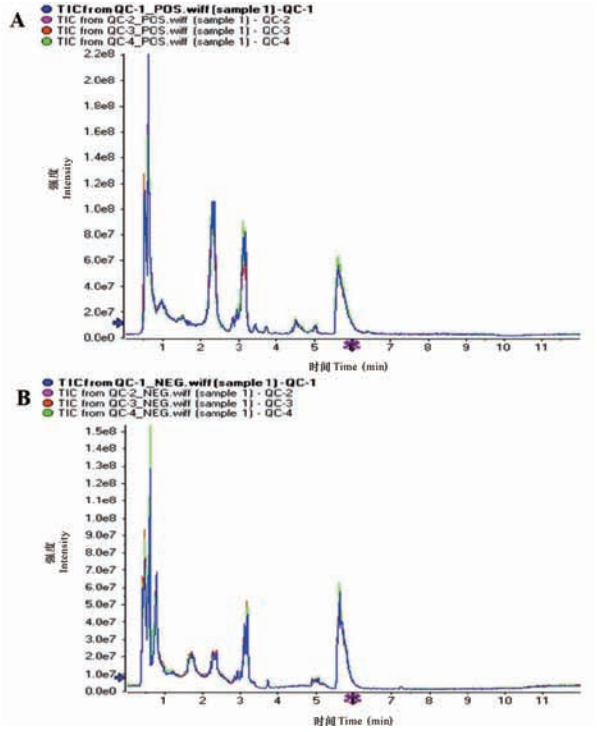
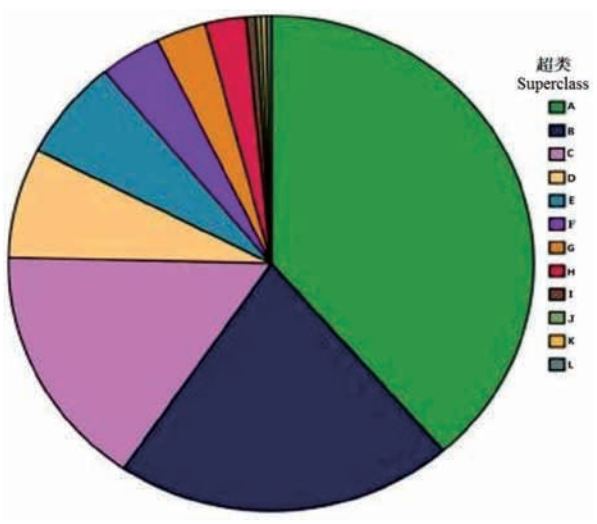


图 1　正离子(**A**)和
负离子(**B**)模式血浆样本总离子流图

Fig. 1　LC-MS total ion chromatography (TIC) of plasma samples in ES+ mode (**A**) and ES- mode (**B**)



A. 未分类化合物；**B**. 有机酸及衍生物；**C**. 脂类及类脂分子；**D**. 有机杂环化合物；**E**. 有机含氧化合物；**F**. 核苷、核苷酸及类似物；**G**. 有机含氮化合物；**H**. 苯环型化合物；**I**. 苯丙烷类和聚酮酸类；**J**. 有机氮化合物；**K**. 有机硫化合物；**L**. 苯丙烷类和聚酮酸类/生物碱及衍生物。

A. Undefiend; **B**. Organic acids and derivatives; **C**. Lipids and lipid-like molecules; **D**. Organic oheterocyclic compounds; **E**. Organic oxygen compounds; **F**. Nucleosides, nucleotides and analog-ues; **G**. Organic nitrogen compounds; **H**. Benzenoids; **I**. Phenylpropanoids and polyketides; **J**. Organic nonitrogen compounds; **K**. Organic sulfur compounds; **L**. Phenylpropanoids and polyketides/alkalo ids and derivatives.

图 2　鉴定的代谢物在各化学分类的数量占比

Fig. 2　Percentage of identified metabolites by chemical classification

0.5，质控样本聚集紧密，显示采集样品期间仪器稳定、方法稳定性和数据重现性较好，可进行下一步分析。另外，PCA 图也显示给药组和模型组血浆分离完全，两组间代谢轮廓间存在显著性差异，给药组的代谢差异明显区别于模型组。之后建立偏最小二乘判别分析(PLS-DA)模型验证给药组和模型组之间的代谢谱分离状况。PLS-DA 模型参数 $R^2Y(\text{cum})=0.997$，$Q^2(\text{cum})=0.892>0.5$，表明模型稳定可靠(图 4：B)。为避免在建模过程中发生模型过拟合，对模型采用置换检验以保证模型的有效性。200 次检测结果随着置换保留度逐渐降低，随机模型的 R^2 和 Q^2 均逐渐下降，表明原模型不存在过拟合状况，模型良好稳健，可以据此结果筛选差异代谢物。借助监督性的 OPLS-DA 分析，进行潜在差异代谢物寻找，给药组和模型组(图 4：C)分离完全，7 次循环交互验证和 200 次响应排序检验的结果显示，$R^2X(\text{cum})=0.574$，$R^2Y(\text{cum})=0.963$，$Q^2=0.841$，再次表明给药前后血浆代谢物之间的差异显著，OPLS-DA 模型稳定可靠。同时，对该模型进行置换检验，随着置换保留度逐渐降低，随机模型的 R^2 和 Q^2 均逐渐下降，没有过拟合(图 4：D)。以上结果说明，在 PCA 模型、PLS-DA 模型和 OPLS-DA 模型中给药组和模型组的血浆样本均存在显著性差异，所获得的数据可用于差异代谢物的筛选。本试验以 OPLS-DA VIP>1 和 $P<0.1$ 为显著差异代谢物筛选标准，最后一共筛选鉴定到 12 个潜在差异代谢物(表 1)，如 D-甘露醇、3-甲基组氨酸、二乙醇胺、D-脯氨酸、鞘氨醇、胆酸、DL-苯丙氨酸等。鉴定到的显著性差异代谢差异倍数变化以柱状图直观展示(图 5)。各代谢物在给药组和模型组血浆中的相对水平通过热图分析可视化(图 6)。

2.3 差异代谢物通路富集

通路富集分析得知 12 种差异代谢物的 37 个通路有显著性差异($P<0.05$)。以气泡图形式呈现代谢通路富集分析结果(图 7)，以横坐标和气泡

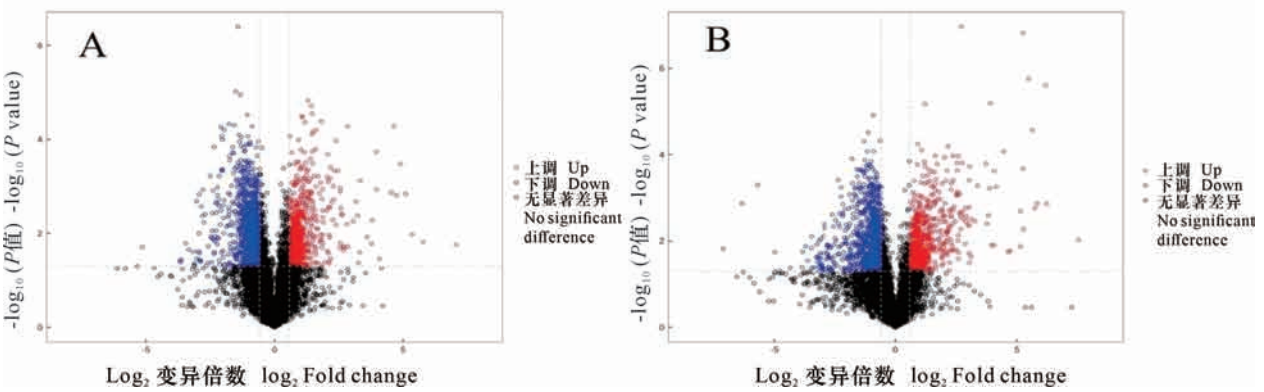
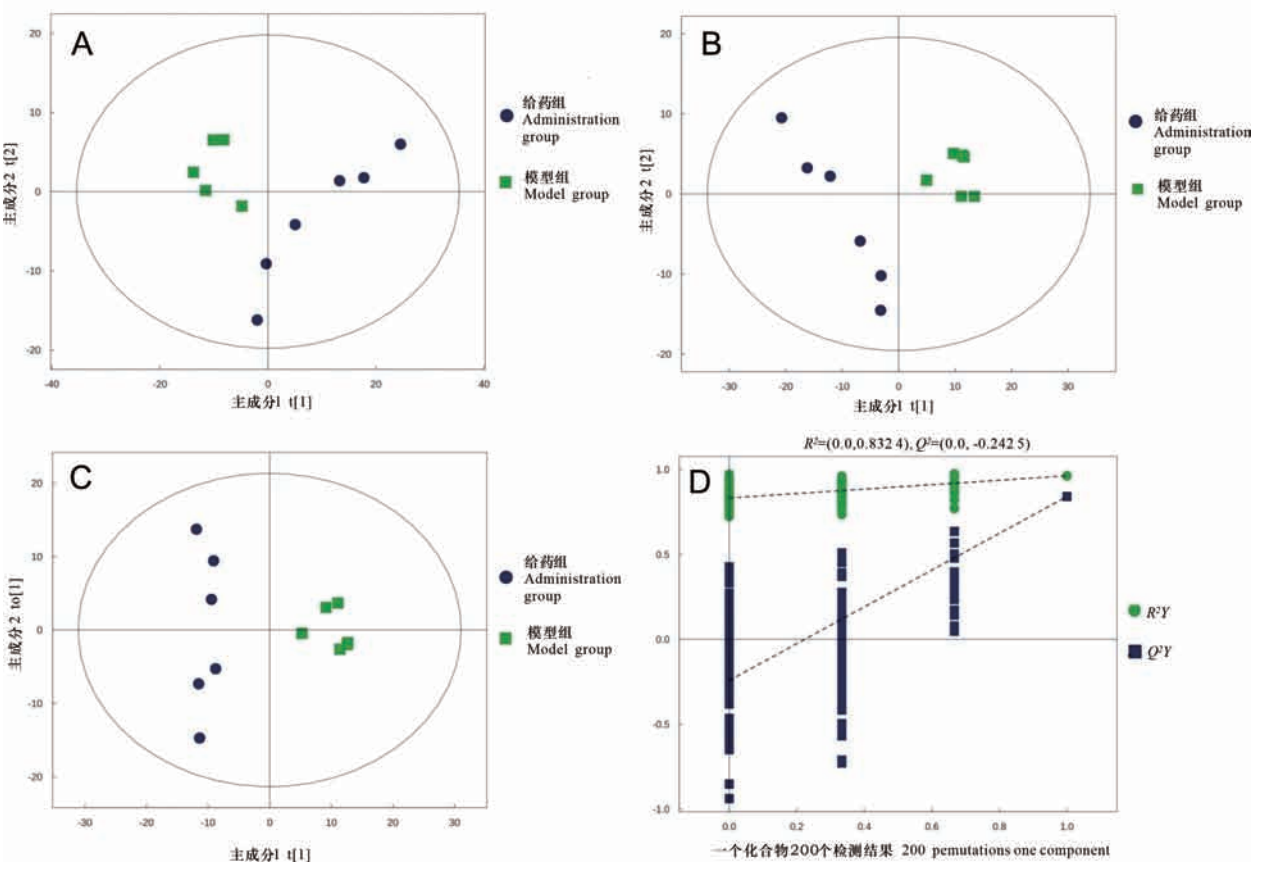


图 3 正离子(**A**)和负离子(**B**)模式火山图

Fig. 3 Volcanic plots of ES+ mode (**A**) and ES- mode (**B**)



A. 总体样本主成分分析得分图; **B**. 偏最小二乘判别分析平面散点图; **C**. 正交偏最小二乘判别分析得分图; **D**. 正交偏最小二乘判别分析模型置换检验结果图。

A. Score plot for PCA model; **B**. Score plot for PLS-DA mode; **C**. Score plot for OPLS-DA model; **D**. Validation plot of OPLS-DA model.

图 4 给药组和模型组血浆代谢物多维统计分析结果

Fig. 4 Multivariate statistical analysis of plasma metabolites in administration and model groups

大小的形式体现代谢通路的影响因子大小,气泡大小与影响因子成正比;以纵坐标和气泡颜色示意富集分析的 P 值,颜色越深 P 值越小,富集程度越显著。通路富集表明, 氨基酸代谢通路较为丰

表 1　正离子模式显著性差异代谢物表

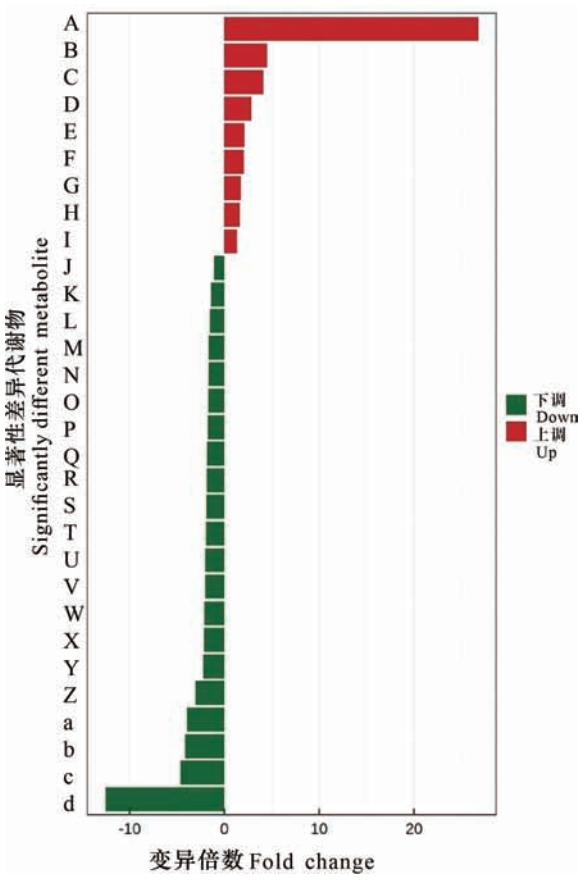
Table 1　Metabolite table with significant difference in positive ion mode

化合物加和离子信息 Compound addition ion information	代谢物名称 Metabolite name	变量投影重要度 Variable importance for the projection	差异倍数 Fold change	*P* 值 *P* value	质荷比 Mass to charge ratio	出峰时间 Peak time (s)
(M+H−H_2O)+	甘露醇 D-mannitol	2.41	0.28	0.015	165.07	157.793
(M+H)+	3-甲基组氨酸 3-Methylhistidine	7.73	0.34	0.021	170.09	453.270
(M+H-H_2O)+	二乙醇胺 Diethanolamine	6.74	1.58	0.038	0.038	206.579
(M+H)+	D-脯氨酸 D-proline	4.22	0.62	0.045	116.07	320.881
(M+H)+	神经鞘氨醇 Sphingosine	1.74	1.68	0.048	300.29	45.609
(M+H)+	油酰基-甘油-3-磷酸胆碱 1-Oleoyl-glycero-3-phosphocholine	13.05	0.55	0.055	522.35	187.606
(2M+K)+	二甲基砜 Dimethyl sulfone	3.04	1.05	0.056	226.99	345.616
(M+Na)+	二十烷酰基-4-鞘氨醇-1-*O*-磷酰胆碱 *N*-docosanoyl-4-sphingenyl-1-*O*-phosphorylcholine	1.99	0.43	0.065	809.64	123.164
(M+H-2H2O)+	胆酸 Cholic acid	4.69	5.12	0.068	373.27	223.616
(M+H)+	肉豆蔻酰基-*sn*-甘油-3-磷酸胆碱 1-Myristoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine	2.66	0.56	0.072	468.31	194.506
(M+Na)+	1,2-二棕榈酰-*sn*-甘油-3-磷酰胆碱 PC(16:0/16:0)	2.79	0.43	0.075	756.55	39.051
(M+CH3CN+H)+	DL-苯丙氨酸 DL-phenylalanine	1.83	1.30	0.088	207.11	229.940

富，分别为甘氨酸，丝氨酸与苏氨酸代谢、氨酰-tRNA 生物合成、氨基酸生物合成、β-丙氨酸代谢、苯丙氨酸，酪氨酸和色氨酸的生物合成。此外，蛋白质的消化和吸收、肿瘤胆碱代谢通路和 ABC 转运蛋白富集到的差异代谢物数量最多。37 个通路均表现为显著上调(表 2)。

3　讨论与结论

针对鉴定得到的半枫荷活性部位调控疾病的差异代谢物及通路进行分析，可知佐剂型关节炎代谢异常化合物的种类错综复杂，涉及的代谢通路多且富集在脂类代谢和氨基酸代谢通路。半枫荷根正丁醇提取物主要影响氨基酸(如苯丙氨酸、脯氨酸、组氨酸和色氨酸等)、嘧啶(尿嘧啶)和脂类代谢产物(1-硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油、二乙醇胺、神经鞘氨醇、D-甘露醇、1-硬脂酰-2-烯酰-*sn*-甘油 3-磷酸胆碱等)等内源性代谢物的表达水平。本研究表明，氨基酸、神经鞘氨醇、磷脂等内源性代谢物体内表达量与 RA 疾病发展息息相关，氨基酸代谢紊乱直接影响 RA 疾病进展。多种氨基酸介导炎症因子的产生，导致体内氨基酸水平甚至能够调控疾病疼痛程度。色氨酸可反映膝关节骨关节炎的存在和严重程度，色氨酸代谢增加，提示其机体内存在炎症反应。色胺酰-tRNA 合成酶 (tryptophanyl-tRNA-synthetase，TTS)能介导色氨酸与 tRNA 特异性结合，催化合成的色胺酰-tRNA 复合物直接构成了蛋白质合成的色氨酸储存库，在局部组织内激发色氨酸水平升高，进而刺激淋巴细胞的增殖和分化。外周血微环境中的色氨酸代谢途径失衡可通过激活 RA 患者自身反应性免疫细胞破坏自身组织，导致 RA 发病(Han et al.，2017)。陈双双等(2020)研究发现中医药方法治疗前、后，RA 患者血清中的游离氨基酸表达水平具有显著性差异，治疗后患者血清谷氨酸、天冬氨酸及苯丙氨酸水平降低，γ-氨基酸、亮氨酸、色氨酸、牛磺酸及甘氨酸的水平升高明显，提示蛋白分解代谢增强，本实验研究结果与这些报道一致。3-甲基组氨酸为多肽链上的组氨酸经过甲基化所得的产物，属于动物骨骼肌蛋白分解代谢产物之一(Kochlik et al.，2018)，可参与蛋白质消化吸收代谢，组氨酸能够治疗心脏病、贫血、风湿性关节炎等，RA 患者适量多食用富含组氨酸食物有益于关节健康。本研究中半枫荷根正丁醇提取物降低了



A. 四氢巴豆甾酮; **B**. L-色氨酸; **C**. 牛磺鹅(去氧)胆酸; **D**. 1-硬脂酰-2-油酰-*sn*-甘油-3-磷酸胆碱; **E**. *N*-二十二碳酰-4-鞘氨醇-1-*O*-磷酰胆碱; **F**. 1-棕榈酰-2-羟基-*sn*-甘油-3-磷酸乙醇胺; **G**. 1-硬脂酰-2-花生四烯醇-*sn*-甘油; **H**. 1,2-二油基-*sn*-甘油-3-磷脂酰胆碱; **I**. 甜菜碱; **J**. 二甲基砜; **K**. 牛胆素; **L**. L-苯丙氨酸; **M**. 尿素; **N**. L-组氨酸; **O**. 肌酸; **P**. 2-乙氧基乙醇; **Q**. 神经鞘氨醇; **R**. 3-羟基丁酸乙酯; **S**. 泛酸酯; **T**. L-缬氨酸; **U**. 烟酰胺; **V**. 甜菜醛; **W**. 尿嘧啶; **X**. 皮质酮; **Y**. 二乙醇胺; **Z**. (3-羧基丙基)三甲基铵阳离子; **a**. 1-甲基烟酰胺; **b**. 氧化三甲胺; **c**. 2-甲基丁基肉碱; **d**. 胆酸。

A. Tetrahydrocroticosterone; **B**. L-tryptophan; **C**. Taurochenodeoxycholate; **D**. 1-Stearoyl- 2- oleoyl-*sn*-glycerol-3-phosphocholine (SOPC); **E**. *N*-Docosanoyl-4-sphingenyl-1-*O*-phosphorylcho-line; **F**. 1-Palmitoyl-2-hydroxy-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine; **G**. 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol; **H**. 1, 2-Dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine; **I**. Betaine; **J**. Dimethyl sulf one; **K**. Taurine; **L**. L-Phenylalanine; **M**. Urea; **N**. L-Histidine; **O**. Creatine; **P**. 2-Ethoxyethanol; **Q**. Sphingosine; **R**. Ethyl 3-hydroxybutyrate; **S**. Pantothenate; **T**. L-valine; **U**. Nicotinamide; **V**. Betaine aldehyde; **W**. Uracil; **X**. Corticosterone; **Y**. Diethanolamine; **Z**. (3-Carboxypropyl) trimethylammonium cation; **a**. 1-Methylnicotinamide; **b**. Trimethylamine *N*-oxide; **c**. 2-Methyl butyroyl carnitine; **d**. Cholic acid.

图 5 显著性差异代谢物表达差异倍数分析

Fig. 5 Difference multiple analysis of significant metabolites expression

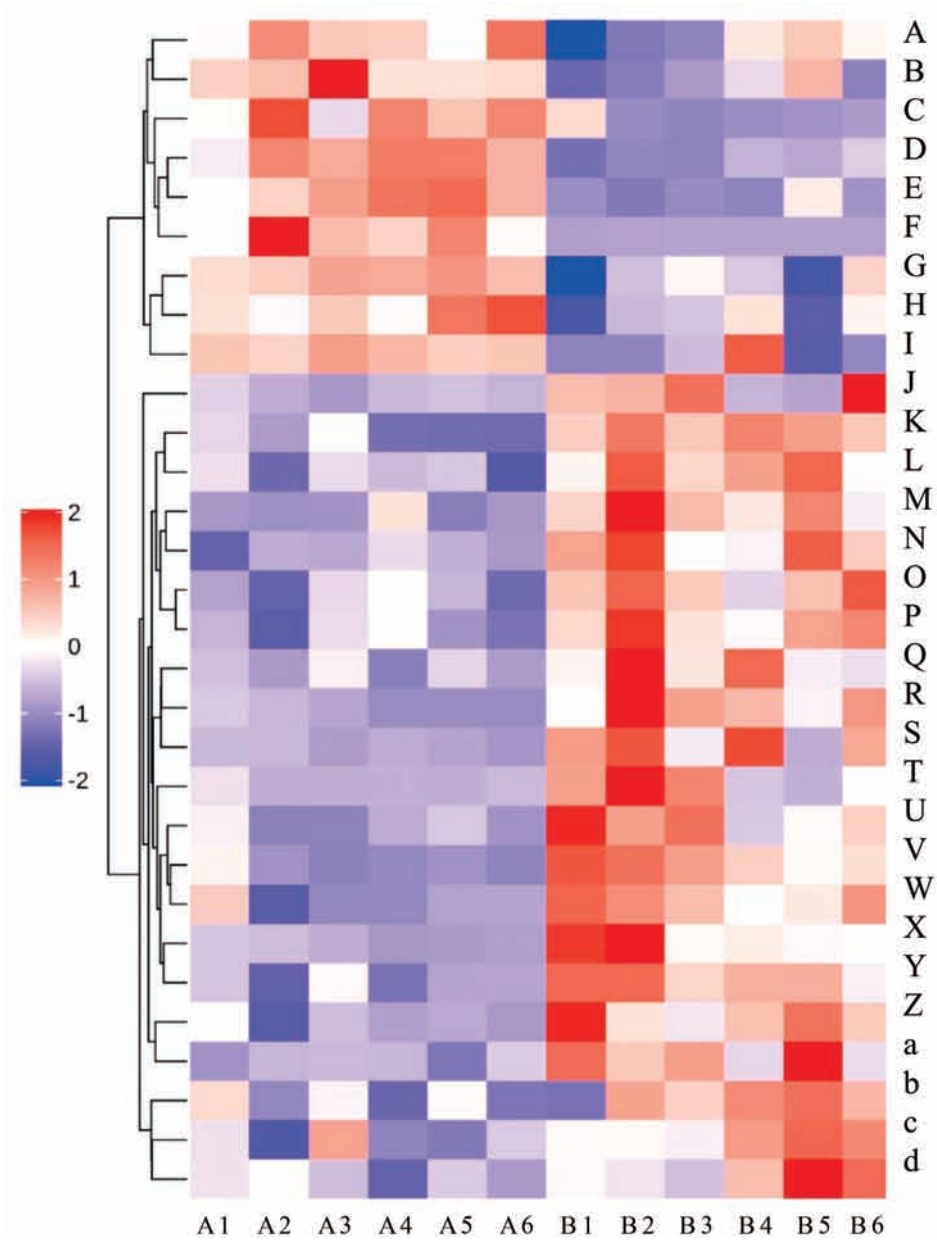
大鼠血浆中的3-甲基组氨酸含量,推测其通过抑制大鼠骨骼肌蛋白分解代谢,调控能量代谢,进而调节肌肉收缩功能障碍等原因,改善了给药组大鼠类风湿性关节炎症状。神经酰胺是炎症关键信号分子,神经鞘氨醇是神经酰胺细胞内的合成原料来源之一,被认为是细胞凋亡信号传导的一个机械性途径(mechanistic pathway)(Goins & Spassieva, 2018)。本研究表明鞘氨醇在给药组和模型组之间存在差异,给药组血浆内鞘氨醇水平降低,参与蛋白质消化吸收通路,表明鞘氨醇合成大量神经酰胺对炎症反应进行应答。D-甘露醇和D-脯氨酸参加 ABC 转运蛋白代谢通路,其作为渗透性脱水剂迅速提高血浆渗透压并能诱导细胞凋谢,两者水平在给药大鼠体内下调,缓解了体内血液渗透压,从而使半枫荷根正丁醇提取物达到改善关节炎的效果。文献显示,RA 发病与体内脂质代谢异常同样存在密切关系。日常餐饮中改变脂肪成分能够影响机体内细胞膜脂肪酸构成,包括细胞免疫系统,而这些变化也可以改变膜的功能,进而影响风湿性疾病的发生和发展。脂肪酸的免疫调节功能参与代谢和免疫之间的相关性,作为一种信号分子,通过多种方式参与炎症和内质网应激信号通路,诱发炎症反应(Tong & Zhou, 2018)。Pang 等(2018)采用血浆代谢组学技术评估 CIA 大鼠代谢变化,同样得出 RA 发病与脂质代谢异常相关这一结论。鞘氨醇等鞘脂代谢物参与 RA 等疾病的发展过程,调节免疫功能和炎症反应,揭示了本研究结果中 RA 模型组和给药组血浆内脂质代谢物表达差异的原因。本研究从内源性代谢物角度科学合理地解释半枫荷根正丁醇提取物对 RA 的调控方式,主要是通过调节与疾病发生密切相关的氨基酸和脂类等异常代谢物的表达水平而发挥作用。本研究结果可为半枫荷药用资源的深入开发提供新研究策略。

参考文献:

ABBASI M, MOUSAVI MJ, JAMALZEHI S, et al., 2019. Strategies toward rheumatoid arthritis therapy; the old and the new [J]. J Cell Physiol, 234(7): 10018-10031.

ALETAHA D, SMOLEN JS, 2018. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: a review [J]. JAMA, 320(13): 1360-1372.

CACCIAPAGLIA F, ANELLI MG, RINALDI A, et al., 2018.



A. 甜菜碱；**B**. 1-棕榈酰-2-羟基-*sn*-甘油-3-磷酸乙醇胺；**C**. 牛磺鹅胆酸盐；**D**. 1-硬脂酰-2-油酰-*sn*-甘油-3-磷酸胆碱；**E**. L-色氨酸；**F**. 四氢巴豆甾酮；**G**. 1-硬脂酰-2-花生四烯醇-*sn*-甘油；**H**. 1,2-二油基-*sn*-甘油-3-磷脂酰胆碱；**I**. *N*-二十二碳酰-4-鞘氨醇-1-*O*-磷酰胆碱；**J**. L-缬氨酸；**K**. 牛胆素；**L**. 泛酸酯；**M**. 甜菜醛；**N**. 二乙醇胺；**O**. 2-乙氧基乙醇；**P**. 3-羟基丁酸乙酯；**Q**. L-组氨酸；**R**. 2-甲基丁基肉碱；**S**. 1-甲基烟酰胺；**T**. 胆酸；**U**. 尿嘧啶；**V**. 氧化三甲胺；**W**. 尿素；**X**.（3-羧基丙基）三甲基铵阳离子；**Y**. 肌酸；**Z**. 烟酰胺；**a**. 皮质酮；**b**. L-苯丙氨酸；**c**. 神经鞘氨醇；**d**. 二甲基砜。

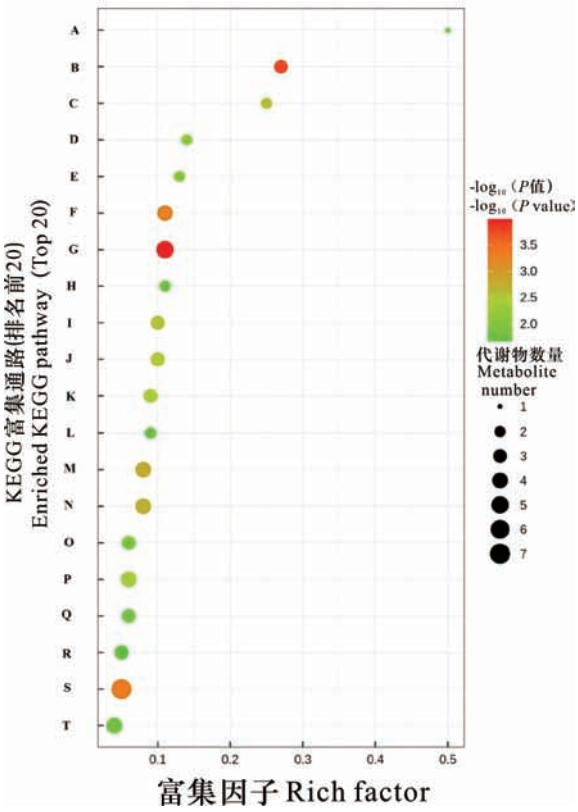
A. Betaine；**B**. 1-Palmitoyl-2-hydroxy-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine；**C**. Taurochenode- oxycholate；**D**. 1-Stearoyl-2-oleoyl-*sn*-glycerol 3-phosphocholine(SOPC)；**E**. L-tryptophan；**F**. Tet-ahydrocroticosterone；**G**. 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol；**H**. 1,2-Dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine；**I**. *N*-docosanoyl-4-sphingenyl-1-*O*-phosphorylcholine；**J**. L-valine；**K**. Taurine；**L**. Pantothenate；**M**. Betaine aldehyde；**N**. Diethanolamine；**O**. 2-Ethoxyethanol；**P**. Ethyl 3-hydroxy- butyrate；**Q**. L-histidine；**R**. 2-Methylbutyroylcarnitine；**S**. 1-Methylnicotinamide；**T**. Cholic acid；**U**. Uracil；**V**. Trimethylamine *N*-oxide；**W**. Urea；**X**.（3-Carboxypropyl）trimethylammonium cation；**Y**. Creatine；**Z**. Nicotinamide；**a**. Corticosterone；**b**. L-phenylalanine；**c**. Sphingosine；**d**. Dimethyl sulfone.

图 6　大鼠模型组和给药组血浆差异代谢物热图分析

Fig. 6　Heat map of difference metabolites of plasma differential metabolites in model and administration groups

Lipids and atherogenic indices fluctuation in rheumatoid arthritis patients on long-term tocilizumab treatment [J]. Mediators Inflamm,(7):1-7.

CHEN SS, SUN J, ZHU KD, et al., 2020. Effects of Juanbi



A. EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药; **B**. 癌症胆碱代谢; **C**. 非洲锥虫病; **D**. 脂肪细胞脂解; **E**. 鞘脂信号通路; **F**. 癌症中枢碳代谢; **G**. 蛋白质消化吸收; **H**. 逆行内酰苷信号; **I**. 矿质吸收; **J**. 泛酸和辅酶 A 生物合成; **K**. β-丙氨酸代谢; **L**. 醛固酮合成和分泌; **M**. 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢; **N**. 氨酰 tRNA 生物合成; **O**. 初级胆汁酸生物合成; **P**. 嘧啶代谢; **Q**. 甘油磷脂代谢; **R**. 脂肪酸生物合成; **S**. ABC 转运蛋白; **T**. 胆汁分泌。

A. EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance; **B**. Choline metabolism in cancer; **C**. African trypanosomiasis; **D**. Regulation of lipolysis in adipocytes; **E**. Sphingolipid signaling pathway; **F**. Central carbon metabolism in cancer; **G**. Protein digestion and absorption; **H**. Retrograde endocannabinoid signaling; **I**. Mineral absorption; **J**. Pantothenate and CoA biosynthesis; **K**. β-Alanine metabolism; **L**. Aldosterone synthesis and secretion; **M**. Glycine, serine and threonine metabolism; **N**. Aminoacyl-tRNA biosynthesis; **O**. Primary bile acid biosynthesis; **P**. Pyrimidine metabolism; **Q**. Glycerophospholipid metabolism; **R**. Fatty acid biosynthesis; **S**. ABC transporters; **T**. Bile secretion.

图 7 大鼠给药组和模型组血浆差异代谢物 KEGG 通路富集分析

Fig. 7 KEGG pathway enrichment analysis of plasma differential metabolites in administration and model groups

Xiaozhong and Fuzheng Zhuyu on serum free amino acids and chemokines in patients with rheumatoid arthritis [J]. Mod J Integr Trad Chin W Med, 29(34): 3841-3843. [陈双双, 孙建, 朱科达, 等, 2020. 蠲痹消肿, 扶正逐瘀法对类风湿关节炎患者血清游离氨基酸与趋化因子的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 29(34): 3841-3843.]

Editorial Board of Chinese Materia Medica of the State Administration of Traditional Chinese Medicine, 1999. Chinese materia medica [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 5: 793-794. [国家中医药管理局中华本草编委会, 1999. 中华本草. 第 5 卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 5: 793-794.]

Editorial Committee of Chinese Materia Medica of the State Administration of Traditional Chinese Medicine, 1999. Chinese Materia Medica [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press: 389-390. [国家中医药管理局中华本草编委会, 1999. 中华本草. 第 5 卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社: 389-390.]

Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences, 1984. Flora Reipublicae Popularis Sinicae [M]. Beijing: Science Press, 49: 178. [中国科学院中国植物志编辑委员会, 1984. 中国植物志. [M]. 北京:科学出版社,49: 178.]

GEORGE MD, BAKER JF, 2019. Perioperative management of immunosuppression in patients with rheumatoid arthritis [J]. Curr Opin Rheumatol, 31(3): 300-306.

GOINS L, SPASSIEVA S, 2018. Sphingoid bases and their involvement in neurodegenerative diseases [J]. Adv Biol Regul, 70(12): 65-73.

Guangxi Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, 2005. Flora of Guangxi. Vol 2. Seed plants [M]. Nanning: Guangxi Science Press: 129. [中国科学院广西植物研究所, 2005. 广西植物志. 第 2 卷. 种子植物 [M]. 南宁: 广西科学出版社: 129.]

HAN SS, YU SS, YE HY, et al., 2017. Correlation study of tryptophanyl-tRNA synthetase with rheumatoid arthritis [J]. Chin J Health Lab Technol, 27(7): 982-985. [韩珊珊, 俞松山, 叶惠英, 等, 2017. 类风湿性关节炎患者外周血色胺酰-tRNA 合成酶表达与疾病活动相关性研究 [J]. 中国卫生检验志, 27(7): 982-985.]

JIANG Y, QIU XH, CHEN B, et al., 2021. Analgesic and anti-inflammatory role of water and ethanol extracts from cathayensis in mice [J]. J Guangdong Med Univ, 39(6): 672-675. [蒋杨, 丘晓花, 陈博, 等, 2021. 半枫荷水, 乙醇提取物对小鼠的镇痛抗炎作用 [J]. 广东医科大学学报, 39(6): 672-675.]

KHILFEH I, GUYETTE E, WATKINS J, et al., 2019. Adherence, persistence, and expenditures for high-cost anti-inflammatory drugs in rheumatoid arthritis: an exploratory study [J]. J Manag Care Spec Pharm, 25(4): 461-467.

KOCHLIK B, GERBRACHT C, GRUNE T, et al., 2018. The Influence of dietary habits and meat consumption on plasma 3-methylhistidine-a potential marker for muscle protein turnover [J]. Mol Nutr Food Res, 62(9): e1701062.

KOWALIK K, WĘGIERSKA M, BARCZYŃSKA T, et al., 2018.

表 2　大鼠给药组和模型组 KEGG 通路富集分析

Table 2　Enrichment analysis of KEGG pathways of administration and model groups

编号 No.	注释 ID Annotation ID	注释 Annotation	代谢物 Metabolite	*P* 值 *P* value	上调(↑)或下调(↓) Up(↑) or down(↓)
1	rno04974	蛋白质消化吸收 Protein digestion and absorption	苯丙氨酸 L-Phenylalanine	<0.001	↑
2	rno05231	癌症胆碱代谢 Choline metabolism in cancer	硬脂酰-2-烯酰-*sn*-甘油 3-磷酸胆碱（SOPC） 1-Stearoyl-2-oleoyl-*sn*-glycerol 3-phosphocholine（SOPC）	<0.001	↑
3	rno02010	ABC 转运蛋白 ABC transporters	L-组氨酸 L-Histidine	<0.001	↑
4	rno05230	癌症中枢碳代谢 Central carbon metabolism in cancer	L-色氨酸 L-Tryptophan	<0.001	↑
5	rno00260	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢 Glycine, serine and threonine metabolism	L-色氨酸 L-Tryptophan	0.002	↑
6	rno00970	氨基酰-tRNA 生物合成 Aminoacyl-tRNA biosynthesis	L-色氨酸 L-Tryptophan	0.002	↑
7	rno05143	非洲锥虫病 African trypanosomiasis	L-色氨酸 L-Tryptophan	0.003	↑
8	rno04978	矿质吸收 Mineral absorption	L-色氨酸 L-Tryptophan	0.003	↑
9	rno00770	泛甲酸和辅酶 A 生物合成 Pantothenate and CoA biosynthesis	尿嘧啶 Uracil	0.003	↑
10	rno00410	*β*-丙氨酸代谢 *β*-Alanine metabolism	尿嘧啶 Uracil	0.004	↑
11	rno00240	嘧啶代谢 Pyrimidine metabolism	尿素 Urea	0.004	↑
12	rno04923	脂肪细胞脂解 Regulation of lipolysis in adipocytes	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.009	↑
13	rno04071	鞘脂信号通路 Sphingolipid signaling pathway	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.010	↑
14	rno00120	初级胆汁酸生物合成 Primary bile acid biosynthesis	牛胆素 Taurine	0.012	↑
15	rno04723	逆行内腺苷信号 Retrograde endocannabinoid signaling	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.016	↑
16	rno00564	甘油磷脂代谢 Glycerophospholipid metabolism	硬脂酰-2-烯酰-*sn*-甘油 3-磷酸胆碱（SOPC） 1-Stearoyl-2-oleoyl-*sn*-glycerol 3-phosphocholine（SOPC）	0.016	↑
17	rno04976	胆汁分泌 Bile secretion	甲基烟酰胺/石胆酸 1-Methylnicotinamide/ Lithocholic acid	0.017	↑
18	rno01521	EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药 EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.021	↑
19	rno04925	醛固酮合成分泌 Aldosterone synthesis and secretion	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.021	↑
20	rno00061	脂肪酸生物合成 Fatty acid biosynthesis	油酸 Oleic acid	0.021	↑
21	rno04064	NF-kappa B 信号通路 NF-kappa B signaling pathway	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.031	↑
22	rno04658	Th1 and Th2 细胞分化 Th1 and Th2 cell differentiation	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.031	↑
23	rno05020	朊病毒类疾病 Prion diseases	肾上腺酮 Corticosterone	0.031	↑
24	rno00591	亚油酸代谢 Linoleic acid metabolism	全顺式-(6,9,12)-亚麻酸 all cis-(6,9,12)-Linolenic acid	0.033	↑
25	rno01040	不饱和脂肪酸生物合成 Biosynthesis of unsaturated fatty acids	全顺式-(6,9,12)-亚麻酸 All cis-(6,9,12)-Linolenic acid	0.040	↑
26	rno04012	ErbB 信号通路 ErbB signaling pathway	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.041	↑
27	rno04650	天然杀伤细胞介导细胞毒性 Natural killer cell mediated cytotoxicity	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.041	↑
28	rno04659	Th17 细胞分化 Th17 cell differentiation	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.041	↑
29	rno04660	T 细胞受体信号通路 T cell receptor signaling pathway	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.041	↑
30	rno04662	B 细胞受体信号通路 B cell receptor signaling pathway	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.041	↑
31	rno04935	生长激素合成、分泌和作用 Growth hormone synthesis, secretion and action	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.041	↑
32	rno05214	神经胶质瘤 Glioma	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.041	↑
33	rno05235	癌症中 PD-L1 的表达和 PD-L1 的检查点通路 PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer	硬脂酰-2-花生四烯酰-*sn*-甘油 1-Stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol	0.041	↑
34	rno04210	细胞凋亡 Apoptosis	神经鞘氨醇 Sphingosine	0.041	↑
35	rno01230	氨基酸生物合成 Biosynthesis of amino acids	L-缬氨酸 L-Valine	0.042	↑
36	rno00920	硫磺代谢 Sulfur metabolism	牛胆素 Taurine	0.045	↑
37	rno00400	苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成 Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	L-色氨酸 L-Tryptophan	0.048	↑

Pharmacoeconomic evaluation of costs of rheumatoid arthritis therapy with selected biological treatment [J]. Reumatologia, 56(6): 340-345.

KRÜGER K, 2018. Pharmacological treatment of rheumatoid arthritis and its comorbidities [J]. Internist (Berl), 59(4): 341-351.

LIANG WH, LU HX, ZENG M, 2015. Effect of *Semiliquidambar cathayensis* Chang extract on blood stasis model rats [J]. Chin Med Mat, 38 (2): 366-369. [梁伟红, 卢海啸, 曾孟, 2015. 半枫荷提取物对血瘀模型大鼠的影响 [J]. 中药材, 38(2) : 366-369.]

LIAO N, WEI LB, JIN W, et al., 2019. Extraction technology and antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from *Semiliquidambar cathayensis* [J]. Guihaia, 39 (4): 523-530. [廖娜,韦柳斌,金旺,等, 2019. 金缕半枫荷多酚提取及其抗氧化抗菌活性研究 [J]. 广西植物, 39(4): 523-530.]

LILLEGRAVEN S, GREENBERG JD, REED GW, et al., 2019. Immunosuppressive treatment and the risk of diabetes in rheumatoid arthritis [J]. PLoS ONE,14(1): e0210459.

LU HX, WU ZL, LIANG WJ, et al., 2015. Chemical constituents from *Semiliquidambar cathayensis* roots [J]. Chin Med Mat, 38(12): 2543-2546. [卢海啸, 吴卓玲, 梁伟江, 等, 2015. 半枫荷根的化学成分研究 [J]. 中药材, 38(12): 2543-2546.]

MA GZ, CHEN XS, JIANG SS, et al., 2018. Determination of 16 amino acids in urine of rheumatoid arthritis rats by precolumn derivatization HPLC-UV [J]. J Xinjiang Med Univ, 41(8): 1001-1005. [马桂芝, 陈雪珊, 蒋思思, 等, 2018. 柱前衍生 HPLC-UV 法测定类风湿性关节炎大鼠尿样中 16 种氨基酸含量 [J]. 新疆医科大学学报, 41(8): 1001-1005.]

MALANO DJ, STRUSBERG I, 2019. Assisted fertilization with at term pregnancies in two patients with severe rheumatoid arthritis while in treatment with etanercept [J]. Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba, 76(1): 59-62.

Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 2006. Dictionary of traditional Chinese medicine. Vol. I [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press: 1082. [南京中医药大学, 2006. 中药大辞典. 上册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社: 1082.]

PANDEY PK, MAHESHWARI R, RAVAL N, et al., 2019. Nanogold-core multifunctional dendrimer for pulsatile chemo-, photothermal- and photodynamic- therapy of rheumatoid arthritis [J]. J Coll Interf Sci, 15 (544): 61-77.

PANG ZQ, WANG GQ, RAN N, et al., 2018. Inhibitory effect of methotrexate on rheumatoid arthritis and comprehensive metabolomics analysis using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time of flight-mass spectrometry (UPLC-Q/TOF-MS) [J]. Int J Mol Sci, 19(10): 2894.

ROODENRIJS NMT, DE HAIR MJH, WHEATER G, et al., 2018. The multi-biomarker disease activity score tracks response to rituximab treatment in rheumatoid arthritis patients: a post hoc analysis of three cohort studies [J]. Arthrit Res Ther, 20(1): 256.

TIAN XM, YAN LH, JIANG LY, et al., 2018. Chemical constituents of *Semiliquidambar cathayensis* Chang root based on UPLC/Q-TOF/MS metabonomics technology [J]. Chin Agri Sci Bull, 34(12): 76-83. [田晓明, 颜丽红, 蒋利媛, 等, 2018. 基于 UPLC/Q-TOF-MS 代谢组学技术的半枫荷根化学成分分析 [J]. 中国农学通报, 34(12): 76-83.]

TIAN XM, YAN LH, JIANG LY, et al., 2021. Chemical comparison of different tissues of *Semiliquidambar cathayensis* Chang by UHPLC-QTOF/MS-based metabonomics [J]. J Plant Physiol, 57(6): 1311-1318. [田晓明, 颜丽红, 蒋利媛, 等, 2021. 基于 UHPLC/Q-TOF-MS 代谢组学技术比较分析半枫荷不同组织化学成分 [J]. 植物生理学报, 57(6): 1311-1318.]

TONG XX, ZHOU JG, 2018. Role of fatty acid in rheumatic diseases [J]. Med Recap, 24 (1): 12-16. [童晓霞, 周京国, 2018. 脂肪酸在风湿性疾病中的作用 [J]. 医学综述, 24 (1): 12-16.]

WILSON JC, SARSOUR K, GALE S, et al., 2019. Incidence and risk of glucocorticoid-associated adverse effects in patients with rheumatoid arthritis [J]. Arthrit Care Res (Hoboken), 71(4): 498-511.

YANG L, WANG YQ, LIU SC, et al., 2016. Research progress of chemical constituents and pharmacological activities from three commonly used *Semiliquidambar cathayensis* Chang medicinal plants [J]. Chin J Exp Trad Med Form, 22(22): 191-196. [杨丽, 王雅琪, 刘升长, 等, 2016. 三种常用半枫荷类药用植物的化学成分与生物活性研究概况 [J]. 中国实验方剂学杂志, 22(22): 191-196.]

YE XZ, YANG XJ, WANG MQ,et al., 2020. Analysis of SSR loci in transcriptome of rare and endangered plants of *Semiliquidambar cathayensis* [J]. Mol Plant Breed, 18(5): 1585-1592. [叶兴状, 杨先吉, 王妙青, 等, 2020. 濒危珍稀植物半枫荷转录组中 SSR 位点分析 [J]. 分子植物育种, 18(5): 1585-1592.]

ZAVODOVSKY BV, SIVORDOVA LE, 2018. Cardiovascular safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs in chronic inflammatory rheumatic diseases [J]. Ter Arkh, 90 (8): 101-106.

ZULFIQAR AA, NIAZI R, PENNAFORTE JL, et al., 2019. Late-onset rheumatoid arthritis: clinical, biological, and therapeutic featuresabout a retrospective study [J]. Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil, 17(1): 51-62.

(责任编辑 李 莉)

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1193-1203 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202104009

高渐飞, 周玮, 刘妮, 等. 基于代谢组学分析黑老虎植株不同部位黄酮类成分 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1193-1203.
GAO JF, ZHOU W, LIU N, et al. Analysis of flavonoids in different tissues of *Kadsura coccinea* plant by widely-targeted metabolomics [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1193-1203.

基于代谢组学分析黑老虎植株不同部位黄酮类成分

高渐飞[1], 周　玮[2], 刘　妮[1], 杨　艳[3]

(1. 贵州科学院/贵州省山地资源研究所, 贵阳 550001; 2. 贵州工业职业技术学院, 贵阳 550008; 3. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550014)

摘　要: 黑老虎的根是常用中药,黄酮类化合物是药用植物的主要活性成分之一。为探究黑老虎植株叶和茎中可能含有与根类似或具有高度富集的类黄酮化合物,挖掘其利用价值。该文利用广泛靶向代谢组学技术,鉴定了黑老虎的叶、茎和根的代谢物,并根据结构配置分类,解析其中类黄酮的多样性和丰度。结果表明:(1)黑老虎叶中类黄酮数量(80 个)>茎(73 个)>根(67 个),3 个部位均有 61 个相同的黄酮类化合物,叶和茎中含有更多的黄酮醇类化合物,从而使类黄酮多样性高于根。(2)在 3 个部位积累量比较高的是黄酮醇类、黄酮类、黄烷醇类和查尔酮类,其中黄酮醇和黄酮在茎和根积累量下降,导致类黄酮丰度从叶(24.00×10^7)-茎(13.45×10^7)-根(9.05×10^7)连续大幅度下调。(3)叶和茎中含有大量与根相同和多种根中没有的类黄酮,可以考虑替代或互补利用,3 个部位儿茶素类化合物表达量都较高,叶中还富含槲皮素及其衍生物,具有较高的利用价值。

关键词: 黑老虎, 不同部位, 代谢组学, 多样性与丰度, 黄酮, 药用植物

中图分类号: Q946　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1000-3142(2022)07-1193-11

Analysis of flavonoids in different tissues of *Kadsura coccinea* plant by widely-targeted metabolomics

GAO Jianfei[1], ZHOU Wei[2], LIU Ni[1], YANG Yan[3]

(1. *Guizhou Mountainous Resources Institute in Guizhou Academy of Sciences*, Guiyang 550001, China; 2. *Guizhou Industry Polytechnic College*, Guiyang 550008, China; 3. *Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences*, Guiyang 550014, China)

Abstract: The root of *Kadsura coccinea* is a commonly used herb in traditional Chinese medicine, and flavonoids are one of the main active constituents of medicinal plants. This study intended to investigate whether the leaves and stems of *K. coccinea* plants may contain similar or highly enriched flavonoids in roots and to explore its application value. Widely-targeted metabolomics was used to identify the compounds in different organs of *K. coccinea*. According to their structural distribution and categories, the diversity and abundance of flavonoids were analyzed. The results were as follows: (1)

收稿日期: 2021-09-08

基金项目: 贵州省科技计划重大专项(黔科合平台人才 [2017] 5411 号); 国家重点研发计划课题(2016YFC0502601) [Supported by Key Project of Science and Technology Program of Guizhou Province ([2017]5411); National Key R & D Program of China(2016YFC0502601)]。

第一作者: 高渐飞(1985-),硕士,高级工程师,主要从事生态治理与植物资源利用研究,(E-mail)gaojf2010@163.com。

The number of flavonoids metabolites in *K. coccinea* was sorted in descending order as leaf (80) > stem (73) > root (67), and a total of 61 flavonoids were the same in three parts. Leaves and stems contained more flavonols, contributing to a diversity of flavonoids greater than that in the roots. (2) Flavonols, flavonoids, flavanols, and chalcones were highly accumulated in the three parts. Among them, the accumulation of flavonols and flavonoids was lower in the stems and roots, resulting in a continuously, substantially decreasing abundance of flavonoids from leaf (24.00×10^7) to stem (13.45×10^7) to root (9.05×10^7). (3) Leaves and stems of *K. coccinea* contained a large amount of flavonoids that were also found in the roots and a variety of those not found in the roots, which could be considered for alternative or complementary use. Catechins highly expressed in all three parts, and the leaves were also rich in quercetin and its derivatives, which were highly valuable in application.

Key words: *Kadsura coccinea*, different tissues, metabolomics, diversity and abundance, flavonoids, medicinal plant

黑老虎(*Kadsura coccinea*)又名冷饭团、布福娜、大叶五味子等,为多年生常绿木质藤本植物,南五味子属五味子科,分布于贵州、广西、云南等地。其根茎俗称大血藤,是一种重要的中药材,用于治疗胃肠溃疡、急性肠胃炎、风湿性关节炎、跌打肿痛等(国家中医药管理局,1999;舒永志等,2011),由于具有抗氧化、抗肿瘤、抗 HIV、保肝、调节血脂等作用(Puet al., 2008; Ban et al., 2009; 延在昊等,2013; Ma et al., 2014),因此受到广泛关注。黑老虎药用部位除主要成分为木脂类和三萜类外,还有一些倍半萜类、甾体类和氨基酸等(舒永志等,2012),总木脂素含量为 0.93% ~ 2.11%。目前,已从中分离得到南五味子素 *O*、冷饭团素、异戊酰基-日本南味子木脂素 A 等 70 余种木脂素类化合物,绯红南五味子酮 A 和 B、黑老虎酸等 80 余种三萜类化合物(舒永志等,2012;段林坪,2018;李力等,2020)。同时,倍半萜、甾体类化合物、原儿茶酸、香草酸等成分逐步被分离鉴定,挥发油中的主要成分(烯类、醇和烃类)也相继被检出(李昕等,2014;杨艳和高渐飞,2018)。

黄酮类化合物是药用植物的主要活性成分之一,具有重要的生物活性和药理作用,在药物和食品保健领域应用前景广泛(文开新等,2010;苏明媛等,2011; Roohbakhsh et al., 2015; 邹丽秋等,2016)。关于黑老虎药用和非药用部位的类黄酮多样性和丰度的代谢组学信息还鲜有报道。代谢组学通过高通量化学分析技术对生物样品中的小分子代谢产物进行定性和定量分析,能够直接反映生命体终端和表型信息,已应用于解析植物不同的阶段、组织、加工方式中物质的变化规律(钱瑞等,2019;孙伟丽等,2019;方贤胜等,2020;戴宇樵等,2020)。利用广泛靶向代谢组学方法,鉴定黑老虎植株叶、茎、根中的代谢物,根据其结构配置进行归类,解析黄酮类成分在不同部位的富集格局,旨在阐明叶和茎中与根类似或高度富集物质,为挖掘黑老虎的利用价值提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品的采集和提取方法

所用黑老虎为人工栽培,所处环境为 80% 遮阳网塑料大棚,位于贵阳市乌当区下坝镇普渡村,定期修剪管理、长势良好,栽培 6 a,藤蔓已木质化。2020 年 7 月 29 日,选 3 株长势较为接近的植株进行取样。用小铲子辅助刨开土壤,每株剪下 2~3 个主根及细根作为根部样品,2~3 个地表以上约 10 cm 起的主蔓之一为其茎部,5~6 片中下部长势较好的成熟叶片作为叶;分别用 10 mL 冻存管取 3 个重复,分别编号为 KR1-3(根)、KS1-3(茎)和 KL1-3(叶);之后,迅速置于液氮中,随后转运到-80 ℃超低温冰箱保存备用。

将 3 组供试样品真空冷冻干燥,研磨仪(MM 400, Retsch)研磨(30 Hz, 1.5 min)至粉末状;称取 100 mg 粉末,溶解于 1.2 mL 70% 甲醇提取液中;每 30 min 涡旋一次,每次持续 30 s,共涡旋 6 次,置于 4 ℃冰箱过夜;离心(转速 12 000 r · min^{-1}, 10 min)后,吸取上清,用微孔滤膜(0.22 μm pore size)过滤样品,并保存于进样瓶中用于分析。

1.2 色谱质谱采集条件

采用高效液相-串联质谱(UPLC-MS/MS)对样本进行物质鉴定,液相条件如下。色谱柱:Agilent SB-C18 1.8 μm, 2.1 mm × 100 mm;流动相:A 相为超纯水(加入 0.1%的甲酸),B 相为乙腈(加入 0.1%的甲酸);洗脱梯度: 0.00 min B 相

比例为 5%，9.00 min 内 B 相比例线性增加到 95%，并维持在 95% 1 min，10.00～11.10 min，B 相比例降为 5%，并以 5%平衡至 14 min；流速 0.35 mL·min^{-1}，柱温 40 ℃，进样量 4 μL。

利用 AB4500 Q TRAP UPLC/MS/MS 系统（配备了 ESI Turbo 离子喷雾接口）检测电喷雾离子源（ESI），由 Analyst 1.6.3 软件（AB Sciex）控制运行（Xu et al.，2020）。ESI 源操作参数：离子源，涡轮喷雾；源温度 550 ℃；离子喷雾电压（IS）5 500 V（正离子模式）/−4 500 V（负离子模式）；离子源气体 I（GS I），气体Ⅱ（GS Ⅱ）和帘气（CUR）分别设置为 50、60、25.0 psi，参数设置为高。

1.3 样本质控

质控（quality control，QC）样本由样本提取物混合制备而成，用于分析样本在相同的处理方法下的重复性。在仪器分析的过程中，每 3 个检测分析样本中插入一个质控样本，以监测分析过程的重复性。

1.4 数据分析

基于迈维（武汉）生物技术有限公司 MVDB V 2.0 数据库和代谢物信息公共数据库，根据二级谱信息进行物质定性，之后用三重四极质谱多反应监测模式（MRM）定量。获得不同样本的代谢物质谱，对所有物质质谱峰进行峰面积积分，并对其中同一代谢物在不同样本中的质谱出峰进行积分校正（Fraga et al.，2010）。采用多元统计分析，对样本进行主成分分析（PCA），正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）模型分析代谢组数据，进一步展示各分组之间的差异。OPLS-DA 模型的预测参数及解读如 Thévenot 等（2015）和戴宇樵等（2020）所述。基于 OPLS-DA 结果，进一步参照差异代谢物筛选方法（戴宇樵等，2020），按照：（1）选取 fold change≥2 和 fold change≤0.5 的代谢物为差异显著；（2）选取 VIP≥1 的为差异显著。同时，将得到的相应差异代谢物（differentially accumulating metabolites，DAMs）提交到 KEGG 网站，进行相关通路分析。

2　结果与分析

2.1 样本质控及主成分分析

通过对不同质控 QC 样本质谱检测分析的 MRM 代谢物检测多峰图（多物质提取的离子流谱图，XIC）进行重叠展示分析，可以看到重复样本不同物质的离子峰值重叠性比较好（图 1），说明实验过程具有稳定性，检测结果可靠。

通过对样本（包括质控样本）进行主成分分析，判别黑老虎的叶（KL1-3）、茎（KS1-3）、根（KR1-3）各样本组间和组内的变异度大小。全部样本 PCA 得分图（图 2）结果显示，LC-MS 分析所得原始数据在 PC1、PC2 两种主成分中得到良好呈现。由图 2 可知，第一主成分的贡献率为 65.3%，第二主成分的贡献率为 26.6%，代表 2 个主成分能够基本反映检测样本的主要特征信息。3 组样本在二维图上表现出明显的分离趋势，表明对各样本数据处理结果可信，各样本间存在明显差异。

2.2 代谢物分析

经 LC-MS/MS 检测后，根据保留时间、质荷比及峰强的矩阵进行代谢物注释，鉴定出黑老虎根、茎、叶中代谢物，基于其结构配置进行分类。其中，黄酮类化合物有 85 个，叶、茎和根中分别含有 80、73 和 67 个，3 个部位均有 61 个相同的黄酮类化合物（表 1）。进一步将检出的类黄酮分类，包括查耳酮、二氢黄酮、二氢黄酮醇、黄酮、黄酮醇、黄酮碳糖苷和黄烷醇类 7 类，其中以黄酮和黄酮醇占主导，占总数的 54.1%；二氢黄酮醇和黄酮碳糖苷最少，分别为 1 个和 2 个。叶和茎中黄酮醇分别为 34 个和 31 个，远高于根中的 22 个，黄酮碳糖苷和黄烷醇类数量相同，其余类数量较接近（图 3）。这表明黄酮醇数量分布不均是造成 3 个部位类黄酮总数差异的主要原因。

通过离子流强度累计，叶中类黄酮离子流强度 24.00×10^7、茎中 13.45×10^7、根中 9.05×10^7，含量分别为22.8%、15.6%和 8.8%，呈现连续大幅度下降趋势。其中，黄酮醇在茎、根中持续向下表达最为显著，黄酮也明显下调，二者分别是所在部位类黄酮成分富集量最主要的贡献者（另外是黄烷醇类和查尔酮）（图 3）。由此可知，黑老虎叶、茎、根中类黄酮富集量差异显著，其主要受黄酮醇和黄酮积累模式（向下或向上）的影响。

2.3 差异代谢物筛选分析

为了鉴别出具体有哪些 DAMs 造成了分离现象，建立黑老虎叶与茎（KL vs KS）、叶与根（KL vs KR）、茎与根（KS vs KR）之间的 3 组 OPLS-DA 模型。3 组比较 OPLS-DA 得分结果显示，模型具有

表 1 黑老虎根、茎和叶中黄酮类成分

Table 1 Flavonoid compounds in roots, stems and leaves of *Kadsura coccinea*

质荷比 *m/z*	离子模式 Ion mode	化合物 Compound	归类 Class Ⅱ	离子流强度 Ion intensity (cps)		
				叶 KL	茎 KS	根 KR
289.07	[M-H]⁻	儿茶素 Catechin	黄烷醇类 Flavanols	7 275 567	48 135 667	45 031 667
305.07	[M-H]⁻	表没食子儿茶素 Epigallocatechin	黄烷醇类 Flavanols	21 141 000	29 548 333	19 250 000
307.08	[M+H]⁺	没食子儿茶素 Gallocatechin	黄烷醇类 Flavanols	1 589 100	3 083 333	1 498 033
275.09	[M+H]⁺	表阿夫儿茶精 Epiafzelechin	黄烷醇类 Flavanols	85 293	223 963	31 865
291.09	[M+H]⁺	表儿茶素 Epicatechin	黄烷醇类 Flavanols	66 334	155 580	126 590
433.11	[M-H]⁻	异柚葡萄糖苷 Isohemiphloin	黄酮碳糖苷 Flavonoid carbonoside	1 448 033	480 327	51 517
463.09	[M-H]⁻	槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷(异槲皮苷) Quercetin-3-*O*-glucoside (Isoquercitrin)	黄酮醇 Flavonols	31 514 333	1 601 767	133 243
463.09	[M-H]⁻	槲皮素-4′-*O*-葡萄糖苷 (绣线菊苷) Quercetin-4′-*O*-glucoside (Spiraeoside)	黄酮醇 Flavonols	26 994 667	1 326 633	109 970
463.09	[M-H]⁻	槲皮素-7-*O*-葡萄糖苷 Quercetin-7-*O*-glucoside	黄酮醇 Flavonols	20 446 333	1 003 170	100 559
481.10	[M-H]⁻	杨梅素-3-*O*-葡萄糖苷 Myricetin-3-*O*-glucoside	黄酮醇 Flavonols	14 598 433	6 445 033	425 277
447.09	[M-H]⁻	山柰酚-3-*O*-半乳糖苷(三叶豆苷) Kaempferol-3-*O*-galactoside (Trifolin)	黄酮醇 Flavonols	9 741 400	—	—
611.16	[M+H]⁺	槲皮素 3-*O*-新橘皮糖苷 Quercetin-3-*O*-neohesperidoside	黄酮醇 Flavonols	9 134 567	3 152 367	141 803
595.17	[M+H]⁺	山柰酚-3-*O*-新橙皮糖苷 Kaempferol-3-*O*-neohesperidoside	黄酮醇 Flavonols	4 871 833	542 090	78 865
449.11	[M+H]⁺	山柰酚-3-*O*-葡萄糖苷(紫云英苷)(黄芪苷) Kaempferol-3-*O*-glucoside (Astragalin)	黄酮醇 Flavonols	4 343 333	16 029	7 692
315.05	[M-H]⁻	异鼠李素 Isorhamnetin	黄酮醇 Flavonols	4 096 000	120 587	23 018
465.10	[M+H]⁺	异金丝桃苷 Isohyperoside	黄酮醇 Flavonols	3 767 100	136 067	—
465.10	[M+H]⁺	6-羟基山柰酚-7-*O*-葡萄糖苷 6-Hydroxykaempferol-7-*O*-glucoside	黄酮醇 Flavonols	3 359 233	992 910	68 459
609.15	[M-H]⁻	槲皮素-3-*O*-芸香糖苷 (芦丁) Quercetin-3-*O*-rutinoside (Rutin)	黄酮醇 Flavonols	2 667 200	1 168 833	79 240
479.12	[M+H]⁺	异鼠李素-7-*O*-葡萄糖苷 (蔓菁苷) Isorhamnetin-7-*O*-glucoside (Brassicin)	黄酮醇 Flavonols	2 594 167	417 487	—
479.12	[M+H]⁺	异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷 Isorhamnetin-3-*O*-Glucoside	黄酮醇 Flavonols	2 440 833	365 980	136 027
303.05	[M+H]⁺	槲皮素 Quercetin	黄酮醇 Flavonols	2 171 000	184 350	—
627.16	[M+H]⁺	杨梅素-3-*O*-芸香糖苷 Myricetin-3-*O*-rutinoside	黄酮醇 Flavonols	2 139 133	840 100	48 485
597.14	[M+H]⁺	槲皮素-3-*O*-桑布双糖苷 Quercetin-3-*O*-sambubioside	黄酮醇 Flavonols	1 240 333	111 917	28 223
757.21	[M+H]⁺	槲皮素-3-*O*-芸香糖苷-7-*O*-鼠李糖苷 Quercetin-3-*O*-rutinoside-7-*O*-rhamnoside	黄酮醇 Flavonols	999 833	263 317	—
285.04	[M-H]⁻	山柰酚 Kaempferol (3,5,7,4′-Tetrahydroxyflavone)	黄酮醇 Flavonols	538 917	7 502	—
743.20	[M+H]⁺	槲皮素-3-*O*-(2″-*O*-阿拉伯糖基)芸香糖苷 Quercetin-3-*O*-(2″-*O*-arabinosyl) rutinoside	黄酮醇 Flavonols	512 683	141 457	535 677
771.21	[M+H]⁺	异鼠李素-3-*O*-[2‴-*O*-(6″-对香豆酰)葡萄糖基]鼠李糖苷 Isorhamnetin-3-*O*-[2‴-*O*-(6″-*p*-coumaryl) glucosyl] rhamnoside	黄酮醇 Flavonols	476 757	13 993	1 278
595.14	[M+H]⁺	望春花黄酮醇苷 I Biondnoid I	黄酮醇 Flavonols	456 467	12 604	2 479
773.21	[M+H]⁺	槲皮素-3-*O*-芸香糖苷-7-*O*-葡萄糖苷 Quercetin-3-*O*-rutinoside-7-*O*-glucoside	黄酮醇 Flavonols	284 107	20 836	—
435.09	[M+H]⁺	槲皮素-3-*O*-木糖苷 (瑞诺苷) Quercetin-3-*O*-xyloside (Reynoutrin)	黄酮醇 Flavonols	264 760	—	—

续表 1

质荷比 *m/z*	离子模式 Ion mode	化合物 Compound	归类 Class Ⅱ	离子流强度 Ion intensity (cps)		
				叶 KL	茎 KS	根 KR
435.09	[M+H]$^+$	扁蓄苷（广寄生苷） Avicularin (Quercetin-3-*O*-α-L-arabinofuranoside)	黄酮醇 Flavonols	219 010	37 680	24 315
461.11	[M-H]$^-$	8-甲氧基山奈酚-7-*O*-鼠李糖苷 8-Methoxykaempferol-7-*O*-rhamnoside	黄酮醇 Flavonols	126 780	596 617	—
773.21	[M+H]$^+$	棉黄素-3-*O*-芸香糖苷-8-*O*-鼠李糖苷 Gossypetin-3-*O*-rutinoside-8-*O*-rhamnoside	黄酮醇 Flavonols	126 400	9 255	—
919.27	[M+H]$^+$	槲皮素-3-*O*-葡萄糖基-(1→4)-鼠李糖苷-7-*O*-芸香糖苷 Quercetin-3-*O*-glucosyl (1 → 4) rhamnoside-7-*O*-rutinoside	黄酮醇 Flavonols	123 333	—	—
625.18	[M+H]$^+$	异鼠李素-3-*O*-新橙皮糖苷 Isorhamnetin-3-*O*-neohesperidoside	黄酮醇 Flavonols	86 896	128 900	1 908 733
787.23	[M+H]$^+$	异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷-4′-*O*-葡萄糖苷 Isorhamnetin-3-*O*-rutinoside-4′-*O*-glucoside	黄酮醇 Flavonols	56 226	11 666	—
757.22	[M+H]$^+$	山奈酚-3-*O*-新橙皮糖苷-7-*O*-葡萄糖苷 Kaempferol-3-*O*-neohesperidoside-7-*O*-glucoside	黄酮醇 Flavonols	21 796	—	—
271.06	[M-H]$^-$	3,4′,7-三羟基黄烷酮 Garbanzol	黄酮醇 Flavonols	16 279	19 526	15 474
773.21	[M+H]$^+$	6-羟基山奈酚-3-*O*-芸香糖-6-*O*-葡萄糖苷 6-Hydroxykaempferol-3-*O*-rutin-6-*O*-glucoside	黄酮醇 Flavonols	13 011	3 260	12 931
329.07	[M-H]$^-$	3,7-二-*O*-甲基槲皮素 3,7-Di-*O*-methylquercetin	黄酮醇 Flavonols	4 360	15 379	56 646
757.22	[M+H]$^+$	槲皮素-3-*O*-(2″-*O*-鼠李糖基)芸香糖苷 Quercetin-3-*O*-(2″-*O*-Rhamnosyl) rutinoside	黄酮醇 Flavonols	—	10 367	163 067
739.19	[M-H]$^-$	木犀草素-7-*O*-芸香糖苷-5-*O*-鼠李糖苷 Luteolin-7-*O*-rutinoside-5-*O*-rhamnoside	黄酮 Flavonoid	18 741 667	173 887	37 983
625.18	[M+H]$^+$	异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷（水仙苷） Isorhamnetin-3-*O*-rutinoside (Narcissin)	黄酮 Flavonoid	4 008 900	2 069 000	603 270
449.10	[M-H]$^-$	二氢山奈酚-7-*O*-葡萄糖苷 Dihydrokaempferol-7-*O*-glucoside	黄酮 Flavonoid	3 846 133	3 889 533	5 292 633
595.17	[M+H]$^+$	木犀草素-7-*O*-新橘皮糖苷（忍冬苷） Luteolin-7-*O*-neohesperidoside (Lonicerin)	黄酮 Flavonoid	3 066 267	387 340	59 274
593.15	[M-H]$^-$	山奈酚-3-*O*-芸香糖苷(烟花苷) Kaempferol-3-*O*-rutinoside(Nicotiflorin)	黄酮 Flavonoid	2 720 267	222 967	20 703
595.17	[M+H]$^+$	木犀草素-7-*O*-芸香糖苷 Luteolin-7-*O*-rutinoside	黄酮 Flavonoid	2 560 067	267 887	37 209
449.11	[M+H]$^+$	木犀草素-7-*O*-葡萄糖苷（木犀草苷） Luteolin-7-*O*-glucoside (Cynaroside)	黄酮 Flavonoid	2 108 567	234 887	40 091
317.07	[M+H]$^+$	柽柳黄素 Tamarixetin (3,3′,5,7-Tetrahydroxy-4′-methoxyflavone)	黄酮 Flavonoid	947 750	25 170	4 583
509.13	[M+H]$^+$	柠檬素-3-*O*-半乳糖苷 Limocitrin-3-*O*-galactoside	黄酮 Flavonoid	353 527	610 557	658 157
509.13	[M+H]$^+$	丁香亭-7-*O*-葡萄糖苷 Syringetin-7-*O*-glucoside	黄酮 Flavonoid	343 283	634 740	610 737
581.15	[M+H]$^+$	山奈酚-3-*O*-桑布双糖苷 Kaempferol-3-*O*-sambubioside	黄酮 Flavonoid	276 357	—	113 687
505.10	[M-H]$^-$	苜蓿素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 Tricin-7-*O*-glucuronide	黄酮 Flavonoid	246 127	8 854	—
493.13	[M+H]$^+$	苜蓿素-7-*O*-葡萄糖苷 Tricin-7-*O*-glucoside	黄酮 Flavonoid	233 173	276 683	82 010
465.13	[M-H]$^-$	花旗松素-3′-*O*-葡萄糖苷 Taxifolin-3′-*O*-glucoside	黄酮 Flavonoid	170 217	341 830	35 033
579.17	[M+H]$^+$	芹菜素-7-*O*-芸香糖苷（异野漆树苷） Apigenin-7-*O*-rutinoside (Isorhoifolin)	黄酮 Flavonoid	160 230	139 920	71 647
579.15	[M+H]$^+$	芹菜素-7-*O*-(6″-对香豆酰)葡萄糖苷 Apigenin-7-*O*-(6″-*p*-coumaryl) glucoside	黄酮 Flavonoid	156 730	133 100	67 230
419.10	[M+H]$^+$	山奈酚-3-*O*-阿拉伯糖苷 Kaempferol-3-*O*-arabinoside	黄酮 Flavonoid	104 809	—	—
639.19	[M+H]$^+$	苜蓿素-7-*O*-芸香糖苷 Tricin-7-*O*-rutinoside	黄酮 Flavonoid	76 935	43 121	5 558

续表 1

质荷比 *m/z*	离子模式 Ion mode	化合物 Compound	归类 Class Ⅱ	离子流强度 Ion intensity (cps) 叶 KL	茎 KS	根 KR
727.21	[M+H]$^+$	山奈酚-3-*O*-(2″-*O*-木糖基-6″-*O*-鼠李糖基)葡萄糖苷 Kaempferol-3-*O*-(2″-*O*-xylosyl-6″-*O*-rhamnosyl) glucoside	黄酮 Flavonoid	51 739	21 405	626 080
507.15	[M+H]$^+$	异泽兰黄素-7-*O*-葡萄糖苷 Eupatilin-7-*O*-glucoside	黄酮 Flavonoid	47 406	56 765	9 654
509.13	[M+H]$^+$	柠檬素-7-*O*-葡萄糖苷 Limocitrin-7-*O*-glucoside	黄酮 Flavonoid	46 448	—	—
491.12	[M-H]$^-$	苜蓿素-5-*O*-葡萄糖苷 Tricin-5-*O*-Glucoside	黄酮 Flavonoid	36 611	139 553	77 143
331.08	[M+H]$^+$	苜蓿素(麦黄酮) Tricin (5,7,4′-Trihydroxy-3′,5′-dimethoxyflavone)	黄酮 Flavonoid	33 534	38 118	18 958
595.19	[M+H]$^+$	5,7-二羟基-4-甲氧基黄酮-3-*O*-木糖-(1-6)-葡萄糖 5, 7-Dihydroxy-4-methoxyflavone-3-*O*-xylose-(1-6)-glucose	黄酮 Flavonoid	23 135	195 323	153 397
345.06	[M-H]$^-$	丁香亭 Syringetin	黄酮 Flavonoid	22 532	25 838	179 823
479.12	[M+H]$^+$	柠檬素-3-*O*-阿拉伯糖苷 Limocitrin-3-*O*-arabinoside	黄酮 Flavonoid	20 706	21 931	28 925
771.23	[M+H]$^+$	异鼠李素-3-O-芸香糖苷-7-*O*-鼠李糖苷 Isorhamnetin-3-*O*-rutinoside-7-*O*-rhamnoside	黄酮 Flavonoid	—	84 587	1 169 233
359.10	[M+H]$^+$	5-羟基-7,8,2′,6′-四甲氧基黄酮 5-Hydroxy-7,8,2′,6′-tetramethoxyflavone (Altisin)	黄酮 Flavonoid	—	—	334 550
343.12	[M+H]$^+$	5,7,8,4′-四甲氧基黄酮 5,7,8,4′-Tetramethoxyflavone	黄酮 Flavonoid	—	—	9 294
451.12	[M+H]$^+$	二氢山奈酚-3-*O*-葡萄糖苷 Dihydrokaempferol-3-*O*-glucoside	二氢黄酮醇 Dihydroflavonol	711 180	47 799	11 007
303.05	[M-H]$^-$	二氢槲皮素(花旗松素) Dihydroquercetin(Taxifolin)	二氢黄酮醇 Dihydroflavonol	189 833	236 473	151 870
579.17	[M-H]$^-$	柚皮素-7-*O*-芸香糖苷(芸香柚皮苷) Naringenin-7-*O*-rutinoside(Narirutin)	二氢黄酮 Dihydroflavone	1 463 400	1 603 833	497 560
579.17	[M-H]$^-$	柚皮素-7-*O*-新橙皮糖苷(柚皮苷) Naringenin-7-*O*-neohesperidoside(Naringin)	二氢黄酮 Dihydroflavone	1 249 167	1 349 633	427 527
433.11	[M-H]$^-$	柚皮素-7-*O*-葡萄糖苷 (樱桃苷) Naringenin-7-*O*-glucoside (Prunin)	二氢黄酮 Dihydroflavone	1 231 700	381 137	62 585
449.11	[M-H]$^-$	圣草酚-3′-*O*-葡萄糖苷 Eriodictyol-3′-*O*-glucoside	二氢黄酮 Dihydroflavone	371 767	54 190	—
271.06	[M-H]$^-$	柚皮素 Naringenin (5,7,4′-Trihydroxyflavanone)	二氢黄酮 Dihydroflavone	34 286	7 854	5 623
451.12	[M+H]$^+$	圣草酚-7-*O*-葡萄糖苷 Eriodictyol-7-*O*-glucoside	二氢黄酮 Dihydroflavone	12 702	13 799	—
303.05	[M-H]$^-$	5,7,3′,4′,5′-五羟基二氢黄酮 5,7,3′,4′,5′-Pentahydroxydihydroflavone	二氢黄酮 Dihydroflavone	11 017	9 098	6 634
435.13	[M-H]$^-$	二氢查尔酮-4′-*O*-葡萄糖苷 Dihydrocharcone-4′-*O*-glucoside	查耳酮 Chalcones	5 808 500	8 957 067	4 052 500
435.13	[M-H]$^-$	根皮苷 Phloretin-2′-*O*-glucoside (Phlorizin)	查耳酮 Chalcones	4 937 500	7 975 367	3 431 533
567.17	[M-H]$^-$	根皮素-2′-*O*-(6″-*O*-木糖基)葡萄糖苷 Phloretin-2′-*O*-(6″-*O*-xylosyl) glucoside	查耳酮 Chalcones	1 205 933	1 962 433	1 203 433
273.08	[M-H]$^-$	根皮素 Phloretin	查耳酮 Chalcones	252 263	223 653	110 710
451.12	[M-H]$^-$	3-羟基根皮苷 Sieboldin	查耳酮 Chalcones	105 763	288 617	58 131
405.15	[M+H]$^+$	2′-羟基-3,4,5,3′,4′,6′-六甲氧基查耳酮 2′-Hydroxy-3,4,5,3′,4′,6′-hexameth-oxychalcone	查耳酮 Chalcones	—	—	77 554

注：— 表示未检出。

Note: — indicates not detected.

很好的预测能力和可靠性，能够很好地表现各组间代谢物的变化趋势；对 OPLS-DA 模型进行 200 次排列验证，$P<0.05$ 模型最佳(表 2)，可根据 VIP 值分析筛选其 DAMs。

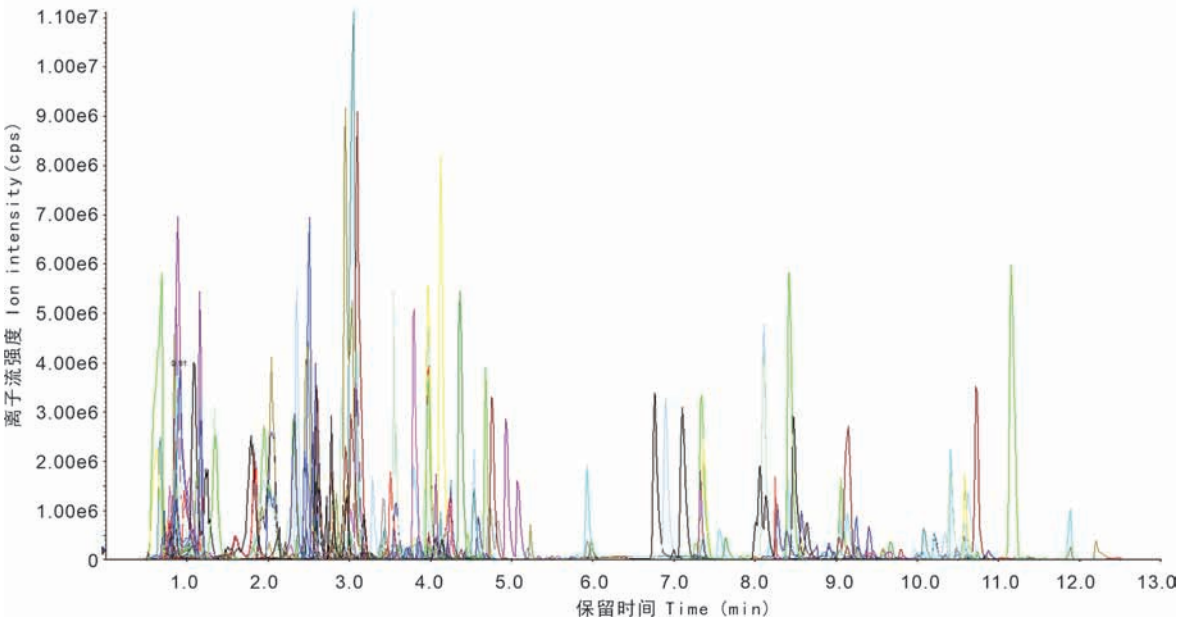


图 1　MRM 代谢物检测多峰图

Fig. 1　Multimodal diagram of MRM metabolite detection

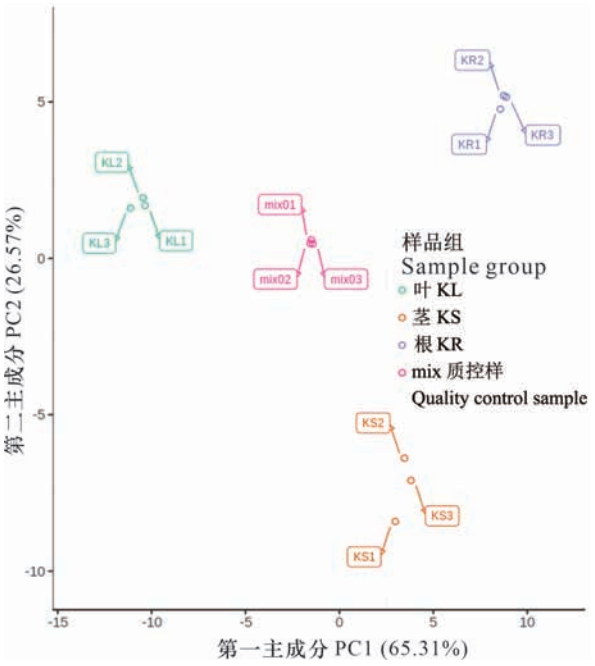


图 2　样本 PCA 得分图

Fig. 2　PCA score chart of samples

基于 OPLS-DA 结果，根据 DAMs 筛选标准，KL vs KS 筛选到的 DAMs 最少，为 55 个，KL vs KR 和 KS vs KR 分别筛选到 67 个和 59 个（图 5）。3 组对比 DAMs 总数为 74 个，均为 DAMs 的有 38 个，其中 33 个呈连续下调趋势，仅有 3 个为连续上调；下调 DAMs 比例均在 80%左右，其以黄酮醇占主导。这表明 3 个部位类黄酮的分离现象主要由黄酮醇类 DAMs 所造成。

进一步选出差异倍数排在前 20（上调和下调）的 DAMs（图 6），3 组对照中 DAMs 下调的倍数明显大于上调，下调物质以黄酮醇为主，其中山萘酚-3-*O*-半乳糖苷（三叶豆苷）的倍数最大，为 20.05（下调）。

2.4 代谢通路分析

利用 KEGG 数据库对 3 组对照中的 DAMs 进行注释，并进行通路富集分析。以 $P<0.01$ 为阈值筛选显著富集通路，获得 1 条富集极显著的通路，即黄酮和黄酮醇的生物合成途径（flavone and flavonol biosynthesis）。3 组对照共有 12 个 DAMs 注解到该通路中，分别是山奈酚、槲皮素、3,7-二-*O*-甲基槲皮素、丁香亭、山奈酚-3-*O*-半乳糖苷（三叶豆苷）、山奈酚-3-*O*-葡萄糖苷（紫云英苷）（黄芪苷）、木犀草素-7-*O*-葡萄糖苷（木犀草苷）、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷（异槲皮苷）、木犀草素-7-*O*-新橘皮糖苷（忍冬苷）、山奈酚-3-*O*-芸香糖苷（烟花苷）、槲皮素-3-*O*-桑布双糖苷、槲皮素-3-*O*-芸香糖苷（芦丁）。通过代谢通路图可以看出，其中有 10 个 DAMs 在叶中丰度显著高于茎和根，仅有 2 个在

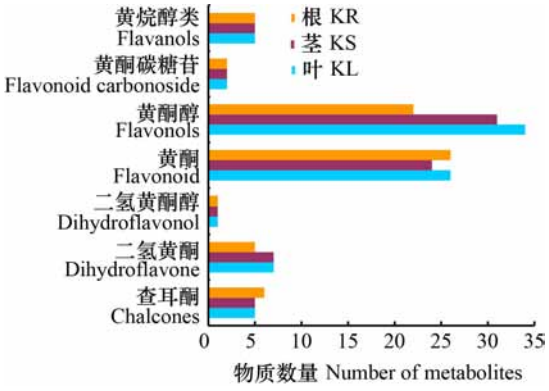


图 3 黑老虎根、茎和叶中黄酮类代谢物数量分布

Fig. 3 Quantitative distribution of flavonoid metabolites in roots, stems and leaves of *Kadsura coccinea*

表 2 3 组比较的 OPLS-DA 模型验证值

Table 2 OPLS-DA model validation values for three groups

对比组 Pairwise group	R^2X	R^2Y	Q^2	0/200
叶与茎 KL vs KS	0.901	1	0.998	$P<0.005$
叶与根 KL vs KR	0.937	1	0.999	$P<0.005$
茎与根 KS vs KR	0.932	1	0.998	$P<0.005$

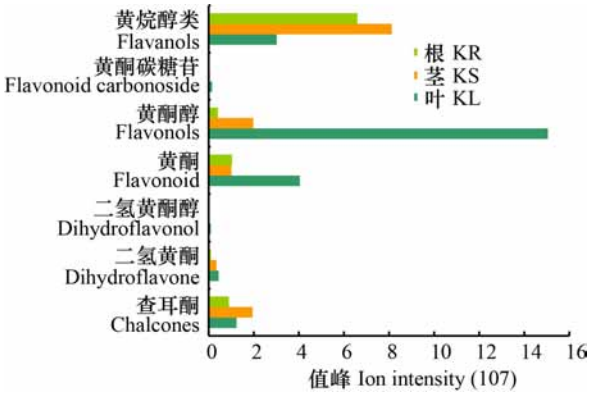


图 4 黑老虎叶、茎和根中黄酮类代谢物分布及丰度

Fig. 4 Distribution and accumulation of flavonoid metabolites in roots, stens and leaves of *Kadsura coccinea*

根中向上表达(图 7),进一步表明黑老虎叶(茎)中富含黄酮和黄酮醇相关代谢物。

3 讨论与结论

本研究基于广泛代谢组学技术,在黑老虎叶、茎、根中鉴定出多种富集度高,具有重要生物活性和药理作用的黄酮类化合物,表明其具有显著利用价值。例如,3 个部位中儿茶素及衍生物在文中表达量都较高,研究证实这类物质不仅具有抗炎症、抗菌、抗病毒及抗氧化等效用,而且可以预防心脑血管疾病(Nance et al., 2009; Tadashi et al., 2010)以及可以保护肾脏、肝脏和神经系统等(延玺等,2012)。此外,儿茶素还是茶叶中的主要功能成分。同时,叶中富含槲皮素及其衍生物,其具有优异的抗氧化特性(Pu et al., 2008),在神经系统疾病、炎症、肝脏疾病、心血管疾病、细菌和真菌感染(Yao et al., 2008)、抗癌(Chou et al., 2010)等疾病中具有重要药理作用,对维持人体健康至关重要。

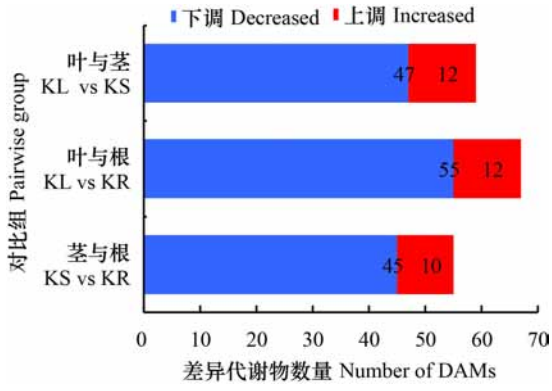
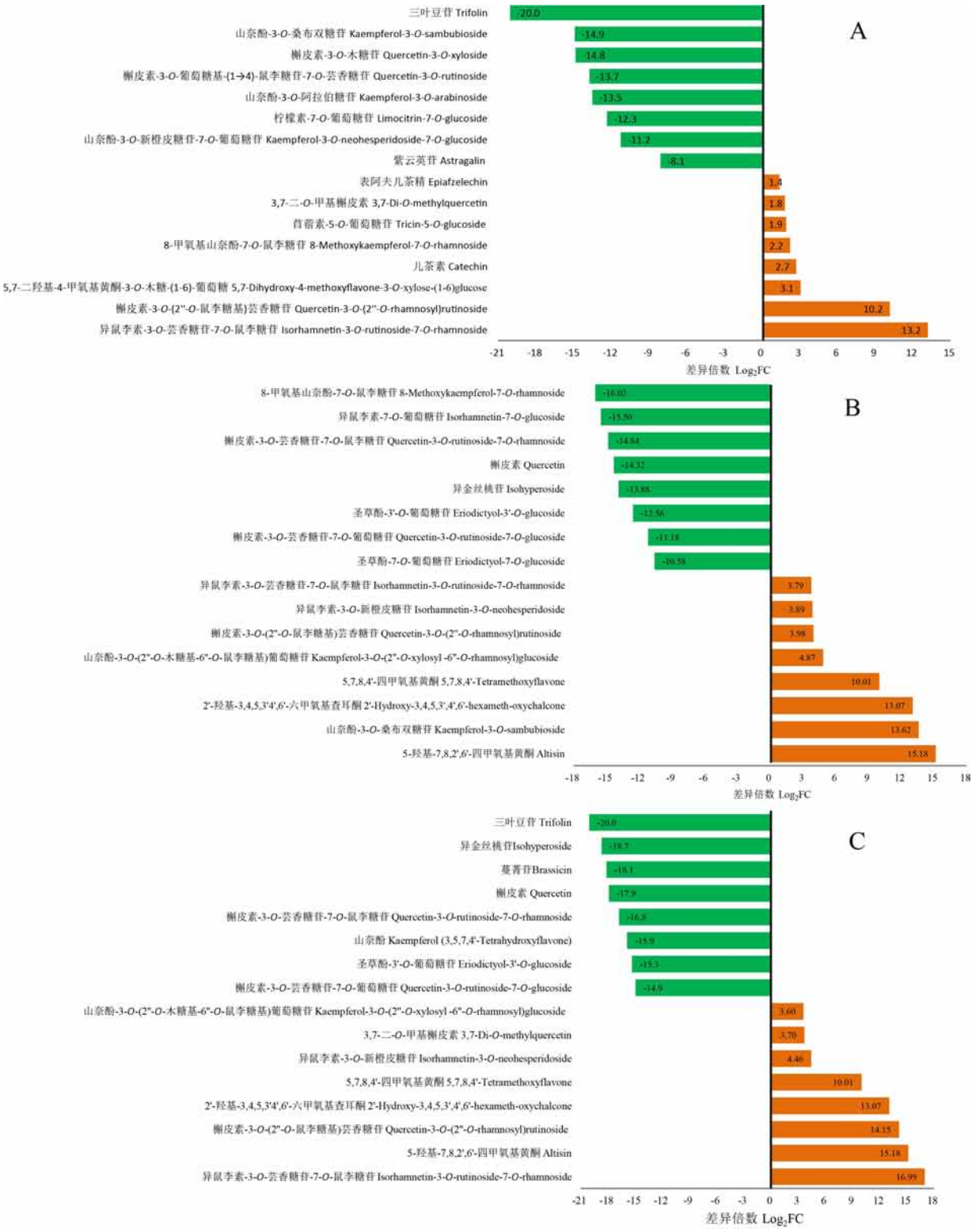


图 5 不同对照组中差异代谢物数量

Fig. 5 Number of differentially accumulated metabolites (DAMs) among the three pairwise groups

本研究中,黑老虎作为民间中药材之一,主要以根入药,而代谢组解析发现,叶和茎中类黄酮多样性和丰度都优于根,提示其可药用的可能。根中特有类黄酮成分 3 个,分别为 2′-羟基-3,4,5,3′4′,6′-六甲氧基查耳酮、5,7,8,4′-四甲氧基黄酮、5-羟基-7,8,2′,6′-四甲氧基黄酮,研究表明多甲氧基黄酮的生物学活性明显优于非多甲氧基黄酮(Kurowska & Manthey, 2004; Whitman et al., 2005),但是否为支持其传统药用方式的关键物质基础还有待进一步研究。本研究叶和茎中含有大量与根相同和多种根中没有的黄酮类成分,表明 3 个部位会具有相似的生物活性,可考虑替代或互补利用(尤其近 10 a 黑老虎药用资源明显减少,而其果实作为一种新型水果被广泛关注, 种植面积

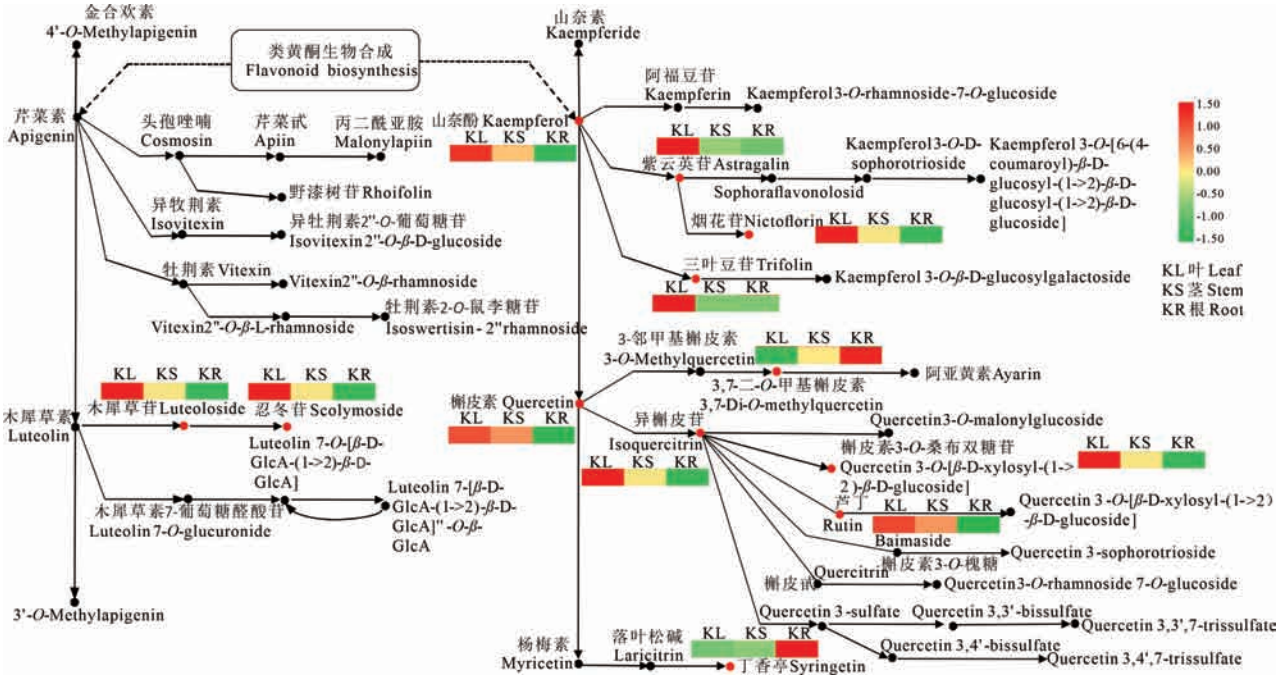


A. 叶与茎；**B**. 叶与根；**C**. 茎与根。

A. KL vs KS; **B**. KL vs KR; **C**. KS vs KR.

图 6　差异倍数最大的 20 种代谢物

Fig. 6　Top 20 DAMs among the three pairwise groups



黑点处为非 DAMs,红点处为 DAMs,名称附近的热图代表该物质在 3 个部位中丰度(离子流强度经 $\log_{10}$转化)。

Metabolites with black dot denote non-differentially accumulated metabolites, while those with red dot denote differentially accumulated metabolites detected in leaf (KL), stem (KS) and root (KR). The heatmap near each DAMs gives the level of abundance in each organ (The ion intensity of each metabolite is transformed by $\log_{10}$).

图 7 黄酮和黄酮醇生物合成途径的代谢物

Fig. 7 Metabolites involved in flavone and flavonol biosynthesis pathway

不断扩大,有大量被修剪的茎和叶)。筛选到的显著富集通路(黄酮和黄酮醇生物合成途径),为进一步利用生物工程定向积累具有重要生物学功能的类黄酮提供参考。

本研究在黑老虎植株中共鉴定出黄酮类代谢物 85 个,其中以黄酮和黄酮醇占主导,黄酮醇类、黄酮类、黄烷醇类和查尔酮类富集度较高。叶、茎、根中类黄酮多样性和丰度存在显著差异,黄酮醇类分布不均衡是多样性差异的主要原因,而丰度主要受黄酮醇和黄酮积累模式(向下或向上)的影响。

参考文献:

BAN NK, THANH BV, KIEM PV, et al., 2009. Dibenzocyclooctadiene lignans and lanostane derivatives from the roots of *Kadsura coccinea* and their protective effects on primary rat hepatocyte injury induced by t-butyl hydroperoxide [J]. Planta Med, 75(11): 1253-1257.

CHOU CC, YANG JS, LU HF, et al., 2010. Quercetin-mediated cell cycle arrest and apoptosis involving activation of a caspase cascade through the mitochondrial pathway in human breast cancer MCF-7 cells [J]. Arch Pharm Res, 33: 1181-1191.

DUAN LP, 2018. Study on chemical constituents of *Kadsura coccinea* and their bioactivities [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [段林坪, 2018. 黑老虎化学成分及生物活性研究 [D]. 南京: 南京农业大学.]

DAI YQ, LÜ CY, HE LN, et al., 2020. Metabolic changes in the processing of Yunkang 10 sun-dried green tea based on metabolomics [J]. Sci Agric Sin, 53(2): 357-370. [戴宇樵, 吕才有, 何鲁南, 等, 2020. 基于代谢组学的'云抗 10 号'晒青茶加工过程代谢物变化 [J]. 中国农业科学, 53(2): 357-370.]

Chinese Herbal Medicine Editorial Boards of NATCM, 1999. Chinese herbal medicine: Book 2 [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press: 895. [国家中医药管理局《中华本草》编委会, 1999. 中华本草: 第 2 册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社: 895.]

FANG XS, WU T, XIAO LJ, 2020. Differential analysis of the metabolites on kernel pellicles between light yellow and purple walnuts by widely targeted metabolomics [J]. Food Sci, 40(9): 769-774. [方贤胜, 吴涛, 肖良俊, 2020. 基于广泛靶向代谢组学的浅黄色和紫色核桃内种皮成分差异分析 [J]. 食品科学, 40(9): 769-774.]

FRAGA CG, CLOWERS BH, RONALD J, et al., 2010. Signature-discovery approach for sample matching of a nerve-agent precursor using liquid chromatography-mass spectrometry, XCMS, and chemometrics [J]. Anal Chem, 82(10): 4165-4173.

KUROWSKA EM, MANTHEY JA, 2004. Hypolipidemic effects and absorption of citrus polymethoxylated flavones in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia [J]. J Agric Food Chem, 52(10): 2879-2886.

LI ZC, SUN J, FENG Y, et al., 2011. An experimental animal investigation on toxicity and blood lipid modulating effect of *Kadsura coccinea* fruit [J]. Food Sci, 32(1): 203-205. [李志春, 孙健, 封毅, 等, 2011. 黑老虎果毒理实验及其对血脂的调节作用 [J]. 食品科学, 32(1): 203-205.]

LI L, TANG LJ, XU YL, et al., 2020. Studies on the chemical constituents and functional effects of *Kadsura coccinea* in recent ten years [J]. J Chin Med Mat, 43(1): 236-242. [李力, 汤立洁, 徐永莉, 等, 2020. 近十年黑老虎的化学成分及功能作用研究进展 [J]. 中药材, 43(1): 236-242.]

LI X, NIE J, GAO ZD, et al., 2014. Analysis of volatile oil from north and south fruit of Chinese magnoliavine by ultrasound microwave assisted steam distillation coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Sci, 35(8): 269-274. [李昕, 聂晶, 高正德, 等, 2014. 超声微波协同水蒸气蒸馏-GC-MS 分析南、北五味子挥发油化学成分 [J]. 食品科学, 35(8): 269-274.]

MA DF, ZHANG YM, YANG TT, et al., 2014. Isoflavone intake inhibits the development of 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene(DMBA)-induced mammary tumors in normal and ovariectomized rats [J]. J Clin Biochem Nutr, 54(1): 31-38.

NANCE CL, SIWAK EB, SHEARER WT, 2009. Preclinical development of the green tea catechin, epigallocatechin gallate, as an HIV-1 therapy [J]. J Allerg Clin Immunol, 123(2): 459-465.

PU JX, YANG LM, XIAO WL, et al., 2008. Compounds from *Kadsura heteroclita* and related anti-HIV activity [J]. Phytochemistry, 69: 1266-1272.

ROOHBAKHSH A, PARHIZ H, SOLTANI F, et al., 2015. Molecular mechanisms behind the biological effects of hesperidin and hesperetin for the prevention of cancer and cardiovascular diseases [J]. Life Sci, 124: 64-74.

SU MY, NIU JL, LI L, et al., 2011. *In vitro* anti-tumor activity of nobiletin against five human cancer cell lines and its mechanism [J]. Chin Trad Pat Med, 33(9): 1479-1483. [苏明媛, 牛江龙, 李林, 等, 2011. 川陈皮素的体外抑癌活性及其机制研究 [J]. 中成药, 33(9): 1479-1483.]

SHU YZ, CHENG L, JI RZ, et al., 2012. Chemical constituents in roots and vine stems of *Kadsura coccinea* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 43(3): 428-431. [舒永志, 成亮, 吉溶喆, 等, 2012. 黑老虎的化学成分研究 [J]. 中草药, 43(3): 428-431.]

SHU YZ, CHENG L, YANG PM, 2011. Advances in studies on chemical constituents in *Kadsura coccinea* and their pharmacological activities [J]. Chin Trad Herb Drugs, 42(4): 805-813. [舒永志, 成亮, 杨培明, 2011. 黑老虎的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 42(4): 805-813.]

SUN WL, ZHAO HP, WANG XH, et al., 2019. Analysis on differential metabolites of Cervi Cornu Pantotrichum based on metabolomics [J]. Chin Trad Herb Drugs, 50(20): 5047-5053. [孙伟丽, 赵海平, 王雪华, 等, 2019. 基于代谢组学技术分析不同区段鹿茸差异代谢分子物质 [J]. 中草药, 50(20): 5047-5053.]

THÉVENOT EA, ROUX A, XU Y, et al., 2015. Analysis of the human adult urinary metabolome variations with age, body mass index, and gender by implementing a comprehensive workflow for univariate and OPLS statistical analyses [J]. J Proteome Res, 14(8): 3322-3335.

TADASHI N, KAYO M, HIROMICHI Y, et al., 2010. Anti-inflammatory effect of catechin on cultured human dental pulp cells affected by bacteria-derived factors [J]. Eur J Oral Sci, 118(2): 145-150.

WHITMAN SC, KUROWSKA EM, MANTHEY JA, et al., 2005. Nobiletin, a citrus flavonoid isolated from tangerines, selectively inhibits class a scavenger receptor-mediated metabolism of acetylated LDL by mouse macrophages [J]. Atherosclerosis, 178(1): 25-32.

WEN KX, WANG CZ, YAN XB, et al., 2010. Research progress of flavonoids biological activity [J]. Pratac Sci, 4(6): 115-122. [文开新, 王成章, 严学兵, 等, 2010. 黄酮类化合物生物学活性研究进展 [J]. 草业科学, 4(6): 115-122.]

XU L, XU ZZ, WANG X, et al. 2020. The application of pseudotargeted metabolomics method for fruit juices discrimination [J]. Food Chem, 316: 126278.

YAN X, LIU HQ, ZOU YQ, et al., 2008. Physiological activities and research advance in synthesis of flavonoids [J]. Chin J Org Chem, 28(9): 46-56. [延玺, 刘会青, 邹永青, 等, 2008. 黄酮类化合物生理活性及合成研究进展 [J]. 有机化学, 28(9): 46-56.]

YAO LH, JIANG YM, SHI J, et al., 2004. Flavonoids in food and their health benefits [J]. Plant Food Hum Nutr, 59: 113-122.

YAN ZH, CHENG L, KONG LY, et al., 2013. Chemical constituents and their anti-oxidative activiities of *Kadsura coccinea* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 44(21): 2969-2973. [延在昊, 成亮, 孔令义, 等, 2013. 黑老虎化学成分及其抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 44(21): 2969-2973.]

YANG Y, GAO JF, 2018. Volatile components and their antioxidant activities in different parts of *Kadsura coccinea* [J]. Guihaia, 38(7): 943-952. [杨艳, 高渐飞, 2018. 冷饭团不同部位挥发性成分及抗氧化活性分析 [J]. 广西植物, 38(7): 943-952.]

ZOU LQ ,WANG CX, KUANG XJ, et al., 2016. Advance in flavonoids biosynthetic pathway and synthetic biology [J]. Chin J Chin Mat Med, 41(22): 4124-4128. [邹丽秋, 王彩霞, 匡雪君, 等, 2016. 黄酮类化合物合成途径及合成生物学研究进展 [J].中国中药杂志, 41(22): 4124-4128.]

（责任编辑　蒋巧媛）

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1204-1212 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202108019

龚粤宁, 刘志发, 水坤春, 等. 广东南岭 20 hm² 样地华南五针松空间分布与生境特征研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1204-1212.

GONG YN, LIU ZF, SHUI KC, et al. Spatial distribution and habitat characteristic of *Pinus kwangtungensis* in the Guangdong Nanling 20 hm² forest dynamics plot [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1204-1212.

广东南岭 20 hm² 样地华南五针松空间分布与生境特征研究

龚粤宁[1], 刘志发[1], 水坤春[1], 张 强[2], 吴林芳[3], 郭腾辉[3], 权 擎[2], 沈 勇[2*]

(1. 广东南岭国家级自然保护区管理局, 广东 韶关 512727; 2. 广东省科学院动物研究所, 广东省动物保护与资源利用重点实验室, 广东省野生动物保护与利用公共实验室, 广州 510260; 3. 广州林芳生态科技有限公司, 广州 510520)

摘 要: 华南五针松(*Pinus kwangtungensis*)是中国特有种和二级保护植物,因环境变化和人为干扰而导致其生境受损、种群逐渐衰退。为了解华南五针松的种群现状、空间分布格局和生境特征,该研究在广东南岭国家级自然保护区建立了 20 hm²的永久监测样地,对样地内胸径≥1 cm 的木本植物进行监测,测量土壤、地形等多种环境因子,并采用径级分析预测种群的发展趋势和空间点格局(*L* function)方法分析个体的空间分布及建立零膨胀泊松(Zero-inflated Poisson, ZIP)回归模型,探讨影响个体分布的重要环境因子。结果表明:(1)华南五针松径级分布近似"钟型"("bell-shaped"),小径级的个体数量较少,种群更新受限制;华南五针松偏好海拔较高且地形陡峭的山坡和山脊,呈现较强的生境特异性。(2)空间点格局分析结果显示,个体为显著的聚集分布,其分布格局主要由扩散限制和生境异质性导致。(3)ZIP 的结果显示,华南五针松分布的区域(0 到 1),土壤铵态氮和速效钾含量较高,有机质含量低;多种环境因子对其多度产生影响(1 到 N),多度与海拔、物种多样性和平均胸径虽为正相关关系,但与树高、铵态氮、总磷和总钾含量为负相关关系。综上认为,不稳定的径级结构及聚集分布导致的种内竞争将加速其种群的衰退,应重点保护高海拔及土壤养分较低的生境,并减少人为干扰维持其原生生境,该研究结果可用于指导华南五针松的保护和恢复。

关键词: 华南五针松, 径级分布, 空间分布, 生境偏好, 环境因子

中图分类号: Q948.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2022)07-1204-09

Spatial distribution and habitat characteristic of *Pinus kwangtungensis* in the Guangdong Nanling 20 hm² forest dynamics plot

收稿日期: 2021-10-16

基金项目: 广东南岭国家级自然保护区生态保护工程项目(YT2020SG010);广东省科学院发展专项(2020GDASYL-20200103098, 2020GDASYL-20200103095);广东省科学院科技发展专项(2018GDASCX-0107) [Supported by Ecological Protection Engineering Program of Guangdong Nanling National Nature Reserve (YT2020SG010); Project of Science and Technology Development of Guangdong Academy of Sciences (2020GDASYL-20200103098, 2020GDASYL-20200103095); Special Project of Science and Technology Development of Guangdong Academy of Sciences (2018GDASCX-0107)]。

第一作者: 龚粤宁(1974-),高级工程师,主要从事自然保护区管理和生物多样性保护研究,(E-mail)gyn1974@126.com。

*通信作者: 沈勇,博士,研究方向为群落生态学,(E-mail)shenyong@giz.gd.cn。

GONG Yuening[1], LIU Zhifa[1], SHUI Kunchun[1], ZHANG Qiang[2], WU Linfang[3], GUO Tenghui[3], QUAN Qing[2], SHEN Yong[2*]

(1. *Guangdong Nanling National Nature Reserve*, Shaoguan 512727, Guangdong, China; 2. *Guangdong Key Laboratory of Animal Conservation and Resource Utilization*, *Guangdong Public Laboratory of Wild Animal Conservation and Utilization*, *Institute of Zoology*, *Guangdong Academy of Sciences*, Guangzhou 510260, China; 3. *Guangzhou Linfang Ecological Technology Co., Ltd.*, Guangzhou 510520, China)

Abstract: Understanding the ecological processes that affect species distribution patterns is fundamental to the conservation and restoration of rare and endangered species. *Pinus kwangtungensis* is an endemic and Class-II protected plant in China. However, environmental change and human disturbance result in habitat damage and population decline. In order to understand current situation of its population, spatial distribution pattern and habitat characteristics, and to guide the conservation and restoration of this species, we established a 20 hm² forest dynamics plot in the Nanling National Nature Reserve, Guangdong Province. All woody plants with diameter at breast height ≥1 cm were monitored, and multiple environmental factors, including soil and topography, were measured. We used a size-class analysis to predict population trends, the spatial point pattern analysis (*L* function) to reveal spatial distribution of individuals, and established a Zero-Inflated Poisson (ZIP) regression model to explore the important environmental factors that affect individual distribution. The results were as follows: (1) size-class distribution was "bell-shaped", the number of small size-class individuals was low, indicating that population regeneration was limited. *P. kwangtungensis* preferred the slopes and ridges with high altitude and steep terrain, showing a strong habitat specialization. (2) Spatial point pattern analysis (*L* function) presented that spatial distribution was significantly aggregated compared with null models, which might cause by dispersal limitation and habitat heterogeneity. (3) The ZIP regression model showed that high soil ammonium nitrogen, available potassium and low organic matter content associated with the occurrence of *P. kwangtungensis* (from 0 to 1), and the abundance (from 1 to N) was positively correlated with altitude, species diversity, and mean DBH, but negatively correlated with tree height, ammonium nitrogen, total phosphorus, and total potassium. The results indicate that the unstable size-class structure and intraspecific competition caused by spatial aggregation will accelerate the decline of the population, we suggest that the habitats with low soil nutrients at high elevations should be conserved preferentially, and reduce anthropogenic disturbance to maintain the original habitats.

Key words: *Pinus kwangtungensis*, size-class distribution, spatial distribution, habitat preference, environmental factors

华南五针松(*Pinus kwangtungensis*),又名广东松,属松科(Pinaceae)松属(*Pinus*)常绿乔木。2021 年国家重点保护野生植物名录将华南五针松列为中国二级保护植物,其种群在湖南、广东、广西、贵州、海南等地均有分布(沈燕等,2016)。迄今为止,国内发现的面积较大、保存较完好的华南五针松种群位于广东南岭国家级自然保护区内石坑尾(112° 56′ 8″—113°4′18″ E、24° 30′ 28″—24°48′9″ N),该区域分布约1 300 hm²华南五针松原生林(张璐等,2006)。华南五针松目前处于近危状态(张璐等,2006),加强该物种的研究对于物种的保护具有现实意义。目前,针对该物种的研究涉及种间关系(丁忠江等,2000)、群落特征(王献溥和李信贤,1989;古炎坤等,1993;沈燕等,2016)、种群现状(杜道林等,1996)、生理特征(段小平和陈卫军,1992;周佑勋和段小平,1993)及对气候变化的响应(黄蕴凯等,2021)等方面。因此,针对珍稀濒危植物的保护探索其空间分布格局,从而确定其群落结构形成的生态学过程(Boyden et al., 2005),并明确其生境特征,对于制定相应的就地保护方案,以及完善其迁地保护策略具有重要的指导作用。然而,目前尚未见有针对华南五针松开展此类研究的报道。

空间点格局分析(spatial point pattern analysis)被认为是研究群落结构形成机制的有效手段,对揭示植物群落的动态具有重要作用(de la Cruz et al., 2008)。比如,空间聚集假说(the spatial segregation hypothesis)认为种内的聚集导致种间的隔离,从而导致竞争主要发生在种内的个体之间,而不是发生在种间不同个体之间。该假说预测,

经过该过程,竞争能力过强的物种将会被抑制,避免处于竞争劣势的物种被排除,从而促进物种共存(Tilman, 1994;Chesson, 2000)。此外,生境的保护是珍稀濒危植物保护最重要的环节之一(Volis, 2019;Caissy et al., 2020),理解物种分布与环境因子的关联对于制定有效的保护措施至关重要(Austin, 2002; Pliscoff et al., 2014)。已有研究证明,非生物环境因子包括土壤养分、水分、地形等,以及生物环境因子,如物种多样性、邻体特征等,对目标物种的分布、生长、更新等过程均有不同程度的影响(Guisan & Thuiller, 2005;Elith & Graham, 2009;Chuine, 2010)。充分结合不同的环境因子,分析其与目标物种的关联,从而确定影响珍稀濒危物种种群动态的重要环境因子,可用于指导珍稀濒危植物的保护。

本研究通过在广东南岭国家级自然保护区建立 20 hm^2永久监测样地,对样地内的植物进行调查监测,并测量土壤、地形等多种环境因子,分析该区域内华南五针松的种群现状、空间分布格局以及其生境特征。拟解决以下 3 个科学问题:(1)华南五针松个体的径级分布如何反映其种群发展趋势;(2)华南五针松个体具有怎样的空间分布格局;(3)哪些环境因子对华南五针松的个体数量分布具有重要的影响。

1 材料与方法

1.1 研究地点概况

广东南岭国家级自然保护区位于 112°30′—113°04′ E、24°37′—24°57′ N,保护区面积为 58 368.4 hm^2,位于广东省韶关市乳源县、清远市阳山县和连州市行政境界内,最高峰石坑崆,海拔 1 902 m,为广东省第一高峰。该区域气候为亚热带温湿气候,年平均气温为 17.7 ℃,降水量较充沛(3—8 月为雨季),年平均降雨量为 1 705 mm,年平均相对湿度为 84%。南岭保护区除保留了典型的亚热带常绿阔叶林外,还分布有沟谷雨林、针阔混交林、针叶林和山顶矮林等植被类型。南岭山脉在生物进化历史上具有重要的地位,既是古热带动植物的避难所,近代东亚温带、亚热带植物的发源地之一,也是现今我国 16 个生物多样性热点地区之一(班美玲等,2018)。

1.2 研究方法

1.2.1 20 hm^2森林动态监测样地建设 广东南岭国家级自然保护区 20 hm^2样地于 2020 年开始建设,2021 年 5 月完成样地调查。样地建设参照 ForestGEO (https://forestgeo.si.edu)森林样地监测技术规范,样地建设主要包括样方设置、地形测绘、网格化设置和标记、以及树木标记。首先,用全站仪精确测定样地地形,确定样地范围并进行网格化设置,包括把样地分成 500 个投影面积为 20 m × 20 m 的基本样方单元,测量每个样方的地形,包括海拔(elevation)、坡向、坡度等,每个样方单元进一步分为 16 个 5 m × 5 m 的小样方。然后,对网格化样地进行界桩标记,包括对每个 20 m × 20 m 样方四角用花岗岩桩进行永久标记,对 5 m × 5 m 的小样方四角用 PVC 管进行标记;对样地内所有胸径≥1 cm 的木本植物(含分枝)进行每木标记,标记内容包括画漆和挂牌。最后,进行每木调查,包括测量胸径、树高、冠幅,鉴定到物种,记录个体坐标等。

1.2.2 土壤理化性质测定和分析 参照 ForestGEO 森林样地土壤采样技术规范,选择固定点加随机点的方法确定采样点,以充分考虑土壤环境的空间异质性。把南岭大样地划分成 238 个 30 m × 30 m的网格,取网格顶点为基准点;在每个基准点的东、东南、南、西南、西、西北、北和东北 8 个方向上随机选取 1 个方向,并在沿该方向 2、4、12 m 处随机取两个作为采样点,每个采样点安装 PVC 管并标记编号。总共设计 700 个土壤采样点,获取每个采样点 0~15 cm 的表层土壤,测定其水分含量(water,%)、pH 值、有机质(OM,$g \cdot kg^{-1}$)、全钾(TK,$g \cdot kg^{-1}$)、速效钾(AK,$mg \cdot kg^{-1}$)、全磷(TP,$g \cdot kg^{-1}$)、速效磷(AP,$mg \cdot kg^{-1}$)、全氮(TN,$g \cdot kg^{-1}$)、硝态氮(AN1,$mg \cdot kg^{-1}$)和铵态氮(AN2,$mg \cdot kg^{-1}$)等土壤理化性质。土壤理化性质与华南五针松多度分布的关系分析以 20 m × 20 m 样方为单位。因此,采用普通克里格插值(ordinary krige)的方法分别对这 10 个土壤因子进行插值(Shen et al., 2019a),得到样地范围内每个 20 m × 20 m 样方的土壤变量数据。

1.2.3 生物环境因子 以 500 个 20 m × 20 m 样方为单位,根据植物调查数据,计算每个样方的物种丰富度(S)、多样性指数(Shannon-Weiner index,H'),个体的密度(density)、平均胸径(DBH)和树

高(height)，以及胸高断面积(basal area，BA)总和。

1.3 数据分析

1.3.1 20 hm^2 样地华南五针松种群现状　基于南岭 20 hm^2 样地的调查和监测数据，对样地内的华南五针松种群现状进行分析，包括计算个体数量、个体大小、个体高度、径级分布、空间分布等基础信息。

1.3.2 空间点格局分析　基于个体的坐标，采用 Ripley's K 函数(Ripley's K function)分析华南五针松的空间分布格局(Ripley，1977)。Ripley's K 函数的定义为目标个体周围一定距离内的平均个体数量，通过 K 函数计算华南五针松空间分布的观测值，并与随机模型产生的分布格局进行对比(de la Cruz et al.，2008)。Ripley's K 函数通常转换为 L 函数(L function)。计算方法如下：

$$L(r) = \sqrt{\frac{K(r)}{\Pi}} - r。$$

式中：$K(r)$ 表示在某个距离内(r = 100 m)华南五针松目标个体周围的同种个体的数量，与随机模型(模拟 9 999 次)生成的格局相比较；$\Pi = \pi$。

实际的 L function 如果向上偏离包迹线，说明该物种是聚集分布，向下偏离包迹线则表示该物种为均匀分布，在包迹线范围内则为随机分布(Shen et al.，2013)。Ripley's K 函数采用 R 语言(4.1.0)"spatstat"包来实现。

1.3.3 华南五针松多度与环境因子的零膨胀泊松模型　为了研究哪些生物环境因子和非生物环境因子影响华南五针松的分布与否(0 到 1)，以及分布数量的多少(1 到 N)，采用零膨胀泊松模型(Zero-inflated Poisson，ZIP)(缪柏其等，2008；赵静等，2020)。

以 500 个 20 m × 20 m 样方为单位，未出现华南五针松的样方 y 为 0，出现华南五针松的样方 y 为 N(个体数量)。ZIP 的拟合采用 R 语言(4.1.0)"pscl"包中的"zeroinfl"函数来执行。具体的公式如下：

zeroinfl(y ~ ele+H'+height+DBH+S+density+ba+water+pH+AN1+AN2+AP+AK+TN+TP+TK+OM | ele+H'+height+DBH+S+water+pH+AN1+AN2+AP+AK+TN+TP+TK+OM, dist = "Poisson")。

式中：分隔符"|"将零膨胀模型分为两部分，分别对应二项过程和计数过程，每一部分使用的解释变量组合通过模型筛选来确定，获得最优模型。

具体方法如下：先建立饱和模型，即包含所有的 17 个预测变量，再通过不同预测变量之间的组合进行模型筛选，以赤池信息准则(akaike information criterion，AIC)来衡量模型拟合度，AIC 越小表明模型拟合得越好，从中选出最优模型。模型筛选采用"MuMIn"包中的"dredge"和"model.sel"函数来完成(Shen et al.，2019b)。

为明确多重共线性的影响，最优模型采用方差膨胀因子分析(variance inflation factor analysis，VIF)来检验，自变量的 VIF 小于 10 则认为多重共线性较弱，适合建立回归模型(Ohlemuller et al.，2006)。

2　结果与分析

2.1 南岭 20 hm^2 样地概况

广东南岭国家级自然保护区 20 hm^2 森林动态监测样地的海拔为 1 008～1 254 m，是华南五针松种群的集中分布区域。样地的森林类型主要为亚热带常绿阔叶林，并伴有少量的落叶树种。样地共调查和监测了 132 905 个胸径≥ 1 cm 的木本植物，属于 63 科 127 属的 229 个物种。优势物种多为樟科(Lauraceae)、壳斗科(Fagaceae)、蔷薇科(Rosaceae)、五列木科(Pentaphylacaceae)、山矾科(Symplocaceae)、杜鹃花科(Ericaceae)和冬青科(Aquifoliaceae)的物种。个体数量最多的物种为五列木(*Pentaphylax euryoides*)，多度为 13 495；最大的个体为甜槠(*Castanopsis eyrei*)，胸径达125.2 cm。

2.2 华南五针松径级及空间分布

华南五针松在样地内分布的多度为 402，多数个体为大树，平均胸径达到 17.5 cm，其中最大的个体胸径达到 70.1 cm，径级分布近似钟型(bell-shaped)(图 1)，中间径级的个体数量最多，大径级和小径级的个体数量都相对较少。所有个体的平均高度为 7.6 m，高度范围为 2～18 m。其在样地内主要的分布区域为西南角及东侧的海拔较高且地形比较陡峭的山坡和山脊上(图 2)，尤其是在样地的西南角分布最为集中，在海拔较低且地势较平缓的样地中部(地形为沟谷)则几乎无分布，在空间上呈现出较为明显的聚集分布，以及较强的生境特异性(依赖于地形)。

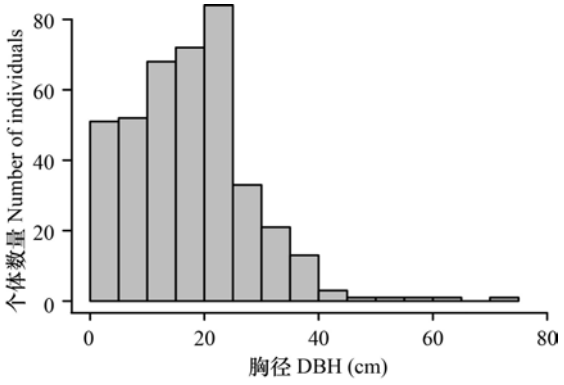


图 1 南岭 20 hm²样地华南五针松径级分布

Fig. 1 Size-class distribution of *Pinus kwangtungensis* in the Nanling 20 hm² forest dynamics plot

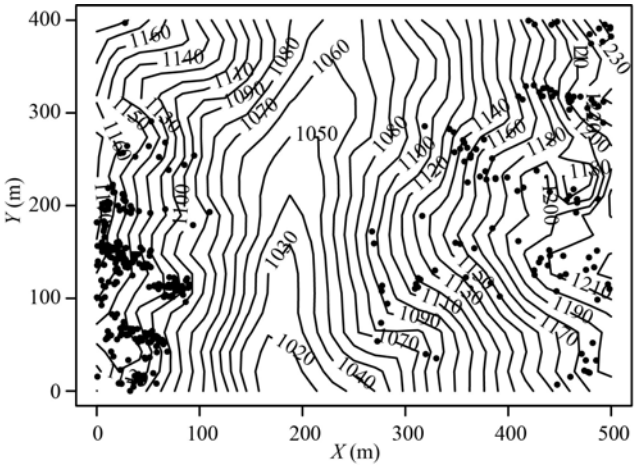
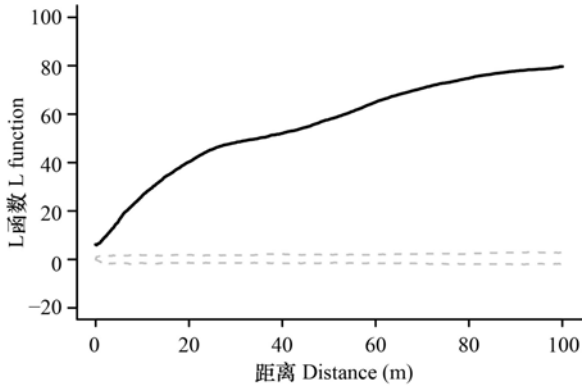


图 2 南岭 20 hm²样地华南五针松空间分布

Fig. 2 Spatial distribution of *Pinus kwangtungensis* in the Nanling 20 hm² forest dynamics plot



黑色实线为 L function 的实际观测值,灰色虚线为随机模型产生的包迹线的上限和下限。观测值向上偏离包迹线说明该物种是聚集分布;向下偏离包迹线则表示该物种为均匀分布;在包迹线范围内则为随机分布。

The solid line is the observed $L(r)$ and the dashed lines represent the simulations envelopes under the null models. Significant associations occur at scales where the observed $L(r)$ exceeds the simulated envelopes. The observed positive departure of $L(r)$ from the envelopes indicates an aggregated distribution, and a negative departure of $L(r)$ from the envelopes indicates a regular distribution, within the envelopes indicates a random distribution.

图 3 南岭 20 hm²样地华南五针松空间点格局分析(L function)结果

Fig. 3 Results of the spatial point pattern analysis (L function) for *Pinus kwangtungensis* in the Nanling 20 hm² forest dynamics plot

采用 L 函数对华南五针松的空间分布格局进一步的分析发现,其空间分布的观测值(黑线)远高于 9 999 次随机模型产生的包迹线(虚线)(图 3),并且随着距离的增大,实际的观测值与随机模型值的差异逐渐增大,图 3 结果显示,华南五针松在空间分布上为显著的聚集分布,即目标个体周围同种个体的数量远远高于随机模型的结果,且随着距离的增大这种聚集效应也在不断增强。

2.3 华南五针松生境特征

采用零膨胀泊松回归模型可以研究生物和非生物环境因子对华南五针松分布的影响。零膨胀泊松回归模型分为两部分,包括二项式逻辑回归和泊松对数回归,前者解释的是环境因子如何影响华南五针松的有无(从 0 到 1 的过程),后者解释的是华南五针松的多度分布(从 1 到 N 的过程)。通过不同变量之间的组合进行模型筛选,得到最优模型(表 1)。最优模型的 AIC 最小,为 782.2;权重(weight)最大,为 0.349(权重从 0 到 1,越大表示模型拟合度越好)。所有自变量的 VIF 值均小于 10(1.53~7.40),自变量之间多重共线性程度较低。

二项式逻辑回归的结果显示,土壤养分对于华南五针松的分布与否具有较密切的关联。与无华南五针松分布的区域相比,有华南五针松分布的区域通常具有较高的铵态氮(AN1)和速效钾(AK),但其有机质含量(OM)却较低。海拔和生物环境因子在二项式逻辑回归中均不显著。从泊松对数回归的结果来看,海拔、土壤养分和生物环境因子均对华南五针松的多度分布有影响。在华南五针松分布的区域,海拔越高其分布的个体越

表 1　生物和非生物环境因子影响华南五针松分布的最优零膨胀泊松回归模型

Table 1　Parameters of the optimal Zero-inflated Poisson regression model for the effects of environmental factors on the distribution of *Pinus kwangtungensis*

回归组分 Regression component	变量 Variable	系数 Coefficient	*P* 值 *P* value
二项式逻辑回归 Binomial with logit link	截距 Intercept	0.96	0.04
	海拔 Elevation	−0.70	0.05
	铵态氮 AN1	0.89	0.04
	速效钾 AK	0.81	0.03
	总磷 TP	−0.24	0.70
	总钾 TK	−0.26	0.35
	有机质 OM	−4.28	<0.001
	物种数 S	0.07	0.91
	平均胸径 DBH	0.64	0.16
	平均树高 Height	0.01	0.98
泊松对数回归 Poisson with log link	截距 Intercept	−0.94	<0.001
	海拔 Elevation	0.39	<0.001
	铵态氮 AN1	−0.51	<0.001
	速效钾 AK	0.01	0.91
	总磷 TP	−0.58	0.004
	总钾 TK	−0.32	<0.001
	有机质 OM	0.07	0.71
	物种数 S	0.53	<0.001
	平均胸径 DBH	0.53	<0.001
	平均树高 Height	−0.50	<0.001

注：变量的定义及缩写见研究方法。

Note: For definitions and abbreviations of variables, see research methods.

多；而土壤养分的结果则相反，华南五针松个体分布较多的区域，其土壤养分较低，包括铵态氮、总磷（TP）和总钾（TK）均与华南五针松的多度呈显著的负相关关系。从生物环境因子来看，华南五针松个体主要分布在较为成熟的林分中，如物种多样性（H'）较高且平均胸径（DBH）较大的区域，但其多度与周围植被的高度（height）却呈显著的负相关关系。

3　讨论与结论

气候环境的变化以及人为干扰的加剧，导致华南五针松种群数量急剧下降，目前原生的华南五针松种群已不多见，且分布的面积都较小，IUCN 亦将其列为近危（NT）等级。因此，探索该物种的种群特征、分布以及影响其分布的环境因素和生态学过程，对华南五针松的保护和人工繁育等都具有现实的意义。本研究通过大规模的调查和监测，以及结合多维度的环境因子，探讨了华南五针松空间分布格局产生的生态学过程，为该物种的保护提供了重要的科学依据。

3.1 华南五针松“钟形”径级结构–种群衰退

种群径级分布结构是预测种群稳定性的重要指标。比如，个体数量随径级增大逐步减少，其径级结构表现为“倒 J 型”，通常认为种群是较稳定的。但是，幼树的减少将导致种群的径级结构呈现出“钟形”（叶万辉等，2008；Shen et al., 2013），这种径级分布可能是种群更新困难和衰退的信号（Condit et al., 1998; Venter & Witkowski, 2010）。本研究结果显示，华南五针松的径级分布形状近似于钟形，小径级和大径级的个体数量均较少，意味着该种群可能存在更新缓慢的问题，一定程度上反映了种群衰退的迹象。此外，从南岭 20 hm^2 样地的 600 个 1 m × 1 m 的幼苗监测样方的结果来看，2021 年调查数据显示，林下无华南五针松幼苗的更新，进一步证实了该区域的华南五针松存在更新困难的现象，需要进一步加强监测和保护以防止种群的急剧衰退。

3.2 个体聚集分布种内竞争加剧

从空间分布来看，华南五针松的分布呈现较强的聚集分布，其偏好的地形为海拔较高且地形较为陡峭的山坡和山脊。通过空间点格局分析进一步证实，华南五针松的分布格局为强的聚集分布，且随着距离的增大聚集效应增强。物种聚集分布在热带和亚热带森林中很常见（Manabe et al., 2000; Mitsui & Kimura, 2000; Plotkin et al., 2000），通过空间点格局的分析可以研究产生该格局的生态学过程（Janzen, 1970；Connell, 1971；He & Duncan, 2000），是理解和模拟生物多样性空间变化的基础（He et al., 2002；Wright, 2002；Wills et al., 2006）。已有的研究认为，多种生态学过程，包括生态位隔离（Pielou 1961）、生境异质性（Harms et al., 2001）、邻体竞争（He et al., 2000）和扩散限制（Hubbell, 2011）等，均可以导致物种的聚集分布。

对于热带森林中的树种，现有的研究认为，扩散限制可以使不同物种在空间上形成隔离（种内聚集分布），减少种间竞争排斥，如同种空间聚集

的范围和程度与种子传播方式相关(Seidler & Plotkin, 2006),通过动物传播种子的物种比通过风或喷射性传播的物种传播距离更远,通过动物传播的物种比风传播或喷射传播的物种聚集程度更低(Li et al., 2009)。松科物种的种子主要依靠风力来传播,仅有少量的种子通过鸟类或者啮齿类传播。因此,华南五针松种子传播的距离有限,一方面可以避免其与其他物种产生强烈的竞争(Tilman, 1994;Chesson, 2000);另一方面导致其种内的竞争加剧,且种群的扩散受到限制,不利于种群的恢复和发展。

3.3 个体有无及数量多少依赖于不同的环境因子

生境异质性一直被认为是影响物种分布的主要因素之一(Li et al., 2009)。物种基于生态位分化的生境特异性是导致不同物种在不同生境中具有自身优势的原因(Harms et al., 2001)。物种聚集分布在适宜的生境中,使其具有更高的适合度(Cody, 1991)。比如,本研究关注的华南五针松,其适宜的生境主要是海拔较高、地形陡峭的山坡或者山脊(王献溥和李信贤,1989;陶翠等,2012),而在地势较为平缓的沟谷中几乎没有分布,其分布格局表现出极强的生境特异性。

虽有研究报道华南五针松耐贫瘠(丁忠江等,2000),但本研究结果却发现,与没有华南五针松分布的区域相比,华南五针松分布的区域具有较高的硝态氮和速效钾含量,说明其亦倾向于选择土壤养分较高的区域生长,以满足其基本的养分需求,这些土壤养分元素对于热带和亚热带森林树种的生长具有非常重要的影响(Wright et al., 2011;Santiago et al., 2012;Shen et al., 2014)。但是,其分布的区域具有较低的有机质,可能是由于其生境地形陡峭,枯枝落叶层更容易被风和降雨冲刷,导致腐殖质层流失(Garciaoliva et al., 1995; Shen et al., 2014),土壤表层的有机质减少。针对华南五针松多度的分析(泊松对数回归)则得到更为不同的结果。首先,海拔的重要性显现,华南五针松在样地海拔范围内(1 008~ 1 254 m)均可以生长繁殖,海拔较高且地形陡峭的区域其多度要高于低海拔区域。然后,土壤养分的效应发生变化,高土壤养分的区域反而不利于多度的增加,这种现象可能与竞争的强度相关。比如,华南五针松为显著的聚集分布,种内竞争较强,且在环境较好的区域,资源的竞争加剧(Katabuchi et al., 2012; Shen et al., 2016),竞争导致同种个体减少,群落结构趋异(Spasojevic & Suding, 2012)。最后,群落的结构(生物环境因素)对于华南五针松的多度分布产生了影响。本研究结果显示,华南五针松个体多分布在较为成熟(物种多样性高,个体较大)的群落中,作为阳生树种(沈燕等,2016),冠层太高则不利于华南五针松个体的生长。华南五针松为群落的先锋和建群种之一,建群种在群落中处于优势地位(叶万辉等,2008; Shen et al., 2013)。因此,华南五针松同样在较为成熟的群落中处于优势的地位,而其多度与树高呈现出显著的负相关,可能是其生境多为陡峭的地形,该地形下群落冠层的高度受到限制。

本研究仅在局域尺度上研究了华南五针松的空间分布格局和生境特征,预测不同区域的格局时应考虑其他重要的环境因子的影响,如温度和光照等。此外,对于华南五针松的保护还需要结合实验的手段研究其生理、繁殖特征等,同时促进就地和迁地保护。

参考文献:

AUSTIN MP, 2002. Spatial prediction of species distribution: an interface between ecological theory and statistical modelling [J]. Ecol Modell, 157(2/3): 101-118.

BAN ML, XIE H, XIE Z, et al., 2018. Problems and countermeasures of biodiversity conservation in Nanling Region of Guangxi [J]. S Chin Agric, 12(16): 65-68. [班美玲, 谢华, 谢洲, 等, 2018. 广西南岭区域生物多样性保护现状问题及对策分析 [J]. 南方农业, 12(16): 65-68.]

BOYDEN S, BINKLEY D, SHEPPERD W, 2005. Spatial and temporal patterns in structure, regeneration, and mortality of an old-growth ponderosa pine forest in the Colorado Front Range [J]. For Ecol Manage, 219(1): 43-55.

CAISSY P, KLEMET-N'GUESSAN S, JACKIW R, et al., 2020. High conservation priority of range-edge plant populations not matched by habitat protection or research effort [J]. Biol Conserv, 249: 108732.

CHESSON P, 2000. General theory of competitive coexistence in spatially-varying environments [J]. Theor Popul Biol, 58(3): 211-237.

CHUINE I, 2010. Why does phenology drive species distribution? [J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 365(1555): 3149-3160.

CODY ML, 1991. Niche theory and plant growth form [J]. Vegetatio, 97(1): 39-55.

CONDIT R, SUKUMAR R, HUBBELL SP, et al., 1998. Predicting population trends from size distributions: a direct test in a tropical tree community [J]. Am Nat, 152(4): 495-509.

CONNELL JH, 1971. On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rain forest trees [M]//CONNELL JH, DEN BOER PJ, GRADWELL GR. Dynamics of populations. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation: 298-312.

DE LA CRUZ M, ROMAO RL, ESCUDERO A, et al., 2008. Where do seedlings go? A spatio-temporal analysis of seedling mortality in a semi-arid gypsophyte [J]. Ecography, 31(6): 720-730.

DING ZJ, XIAO CW, WU YJ, et al., 2000. A study of neighborhood interference intensity of *Pinus kwangtungensis* in Maolan karst mountain forest [J]. J Guizhou Norm Univ (Nat Sci Ed), 18(2): 13-16. [丁忠江, 肖春旺, 吴云江, 等, 2000. 茂兰喀斯特山地华南五针松邻体干优强度研究 [J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 18(2): 13-16.]

DU DL, LIU YC, SU J, 1996. A study on population structure and dynamics of *Pinus kwangtungensis* in karst mountains of Maolan [J]. Chin J Plant Ecol, 20(2): 159-166. [杜道林,刘玉成,苏杰, 1996. 茂兰喀斯特山地广东松种群结构和动态初步研究 [J]. 植物生态学报, 20(2): 159-166.]

DUAN XP, CHEN WJ, 1992. A study on seed dormancy physiology of *Pinus kwangtungensis* [J]. Hunan For Sci Technol, 19(3): 25-30. [段小平, 陈卫军, 1992. 华南五针松种子休眠生理的初步研究 [J]. 湖南林业科技, 19(3): 25-30.]

ELITH J, GRAHAM CH, 2009. Do they? How do they? WHY do they differ? On finding reasons for differing performances of species distribution models [J]. Ecography, 32(1): 66-77.

GARCIAOLIVA F, MAASS JM, GALICIA L, 1995. Rainstorm analysis and rainfall erosivity of a seasonal tropical region with a strong cyclonic influence on the pacific coast of Mexico [J]. J Appl Meteorol, 34(11): 2491-2498.

GU YK, XIAO MY, LIN SN, 1993. Structural characteristics and dynamic analysis of *Pinus kwangtungensis* and *Tsuga longibracteata* at old-growth forests in Ruyang mountain of Guangdong Province [J]. J S Chin Agric Univ, 14(2): 84-90. [古炎坤, 肖绵韵, 林书宁, 1993. 广东乳阳山地广东松、长苞铁杉原生林的结构特征和动态分析 [J]. 华南农业大学学报, 14(2): 84-90.]

GUISAN A, THUILLER W, 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models [J]. Ecol Lett, 8(9): 993-1009.

HARMS KE, CONDIT R, HUBBELL SP, et al., 2001. Habitat associations of trees and shrubs in a 50-ha neotropical forest plot [J]. J Ecol, 89(6): 947-959.

HE FL, DUNCAN RP, 2000. Density-dependent effects on tree survival in an old-growth Douglas fir forest [J]. J Ecol, 88(4): 676-688.

HE FL, LEGENDRE P, 2002. Species diversity patterns derived from species-area models [J]. Ecology, 83(5): 1185-1198.

HUANG YK, SHEN Y, WANG X, et al., 2021. Response of radial growth of *Pinus kwangtungensis* at different elevations to climate factors in Mangshan [J]. J Trop Subtrop Bot, 29(6): 605-615. [黄蕴凯, 沈燕, 王旭, 等, 2021. 莽山不同海拔华南五针松径向生长对气候因子的响应 [J]. 热带亚热带植物学报, 29(6): 605-615]

HUBBELL SP, 2011. The unified neutral theory of biodiversity and biogeography (MPB-32) [M]. Princeton: Princeton University Press.

JANZEN DH, 1970. Herbivores and the number of tree species in tropical forests [J]. Am Nat, 104(940): 501-528.

KATABUCHI M, KUROKAWA H, DAVIES SJ, et al., 2012. Soil resource availability shapes community trait structure in a species-rich dipterocarp forest [J]. J Ecol, 100(3): 643-651.

LI L, HUANG ZL, YE WH, et al., 2009. Spatial distributions of tree species in a subtropical forest of China [J]. Oikos, 118(4): 495-502.

MANABE T, NISHIMURA N, MIURA M, et al., 2000. Population structure and spatial patterns for trees in a temperate old-growth evergreen broad-leaved forest in Japan [J]. Plant Ecol, 151(2): 181-197.

MIAO BQ, WEI J, SONG WG, et al., 2008. Logistic and ZIP regression models of forest fire data [J]. Fire Saf Sci, 17(3): 143-149. [缪柏其, 韦剑, 宋卫国, 等, 2008. 林火数据的 Logistic 和零膨胀 Poisson(ZIP) 回归模型 [J]. 火灾科学, 17(3): 143-149.]

MITSUI H, KIMURA MT, 2000. Coexistence of drosophilid flies: aggregation, patch size diversity and parasitism [J]. Ecol Res, 15(1): 93-100.

OHLEMULLER R, WALKER S, WILSON JB, 2006. Local vs regional factors as determinants of the invasibility of indigenous forest fragments by alien plant species [J]. Oikos, 112(3): 493-501.

PIELOU E, 1961. Segregation and symmetry in two-species populations as studied by nearest-neighbour relationships [J]. J Ecol, 49(2): 255-269.

PLISCOFF P, LUEBERT F, HILGER HH, et al., 2014.

Effects of alternative sets of climatic predictors on species distribution models and associated estimates of extinction risk: A test with plants in an arid environment [J]. Ecol Modell, 288: 166-177.

PLOTKIN JB, POTTS MD, LESLIE N, et al., 2000. Species-area curves, spatial aggregation, and habitat specialization in tropical forests [J]. J Theor Biol, 207(1): 81-99.

RIPLEY BD, 1977. Modeling Spatial Patterns [J]. J R Stat Soc Series B Stat Methodol, 39(2): 172-212.

SANTIAGO LS, WRIGHT SJ, HARMS KE, et al., 2012. Tropical tree seedling growth responses to nitrogen, phosphorus and potassium addition [J]. J Ecol, 100(2): 309-316.

SEIDLER TG, PLOTKIN JB, 2006. Seed dispersal and spatial pattern in tropical trees [J]. PLoS Biol, 4(11): e344.

SHEN Y, LUO JP, WANG X, et al., 2016. Characteristics of *Pinus kwangtungensis* community at Mangshan, Hunan province [J]. J Cent S Univ For Technol, 36(2): 1-7. [沈燕, 罗江平, 王旭, 等, 2016. 湖南莽山华南五针松群落特征 [J]. 中南林业科技大学学报, 36(2): 1-7.]

SHEN Y, GILBERT GS, LI W, et al., 2019a. Linking aboveground traits to root traits and local environment: implications of the plant economics spectrum [J]. Front Plant Sci, 10(1412): 1-12.

SHEN Y, UMAÑA MN, LI W, et al., 2019b. Coordination of leaf, stem and root traits in determining seedling mortality in a subtropical forest [J]. For Ecol Manage, 446: 285-292.

SHEN Y, SANTIAGO LS, MA L, et al., 2013. Forest dynamics of a subtropical monsoon forest in Dinghushan, China: recruitment, mortality and the pace of community change [J]. J Trop Ecol, 29(2): 131-145.

SHEN Y, SANTIAGO LS, SHEN H, et al., 2014. Determinants of change in subtropical tree diameter growth with ontogenetic stage [J]. Oecologia, 175(4): 1315-1324.

SHEN Y, YU SX, LIAN JY, et al., 2016. Inferring community assembly processes from trait diversity across environmental gradients [J]. J Trop Ecol, 32(4): 290-299.

SPASOJEVIC MJ, SUDING KN, 2012. Inferring community assembly mechanisms from functional diversity patterns: the importance of multiple assembly processes [J]. J Ecol, 100(3): 652-661.

TAO C, LI XX, WANG QC, et al., 2012. Relationships between geographical distribution of endangered *Pinus kwangtungensis* and climate in China [J]. Plant Sci J, 30(6): 577-583. [陶翠, 李晓笑, 王清春, 等, 2012. 中国濒危植物华南五针松的地理分布与气候的关系 [J]. 植物科学学报, 30(6): 577-583.]

TILMAN D, 1994. Competition and biodiversity in spatially structured habitats [J]. Ecology, 75(1): 2-16.

VENTER SM, WITKOWSKI E, 2010. Baobab (*Adansonia digitata* L.) density, size-class distribution and population trends between four land-use types in northern Venda, South Africa [J]. For Ecol Manage, 259(3): 294-300.

VOLIS S, 2019. Plant conservation: the role of habitat restoration [M]. Cambridge: Cambridge University Press.

WANG XP, LI XX, 1989. The study of the phytocoenological features of *Pinus kwangtungensis* forest in Huangjiang County, Guangxi [J]. Bull Bot Res, 9(3): 77-86. [王献溥, 李信贤, 1989. 广西环江县石灰岩山地广东松林群落学特点的研究 [J]. 植物研究, 9(3): 77-86.]

WILLS C, HARMS KE, CONDIT R, et al., 2006. Nonrandom processes maintain diversity in tropical forests [J]. Science, 311(5760): 527-531.

WRIGHT JS, 2002. Plant diversity in tropical forests: a review of mechanisms of species coexistence [J]. Oecologia, 130(1): 1-14.

WRIGHT SJ, YAVITT JB, WURZBURGER N, et al., 2011. Potassium, phosphorus, or nitrogen limit root allocation, tree growth, or litter production in a lowland tropical forest [J]. Ecology, 92(8): 1616-1625.

YE WH, CAO HL, HUANG ZL, et al., 2008. Community structure of a 20 hm^2 lower subtropical evergreen broadleaved forest plot in Dinghushan, China [J]. Chin J Plant Ecol, 32(2): 274 - 286. [叶万辉, 曹洪麟, 黄忠良, 等, 2008. 鼎湖山南亚热带常绿阔叶林 20 公顷样地群落特征研究 [J]. 植物生态学报, 32(2): 274-286.]

ZHANG L, SU ZY, CHEN BG, 2006. Interspecific relationships in the forest community dominated by *Pinus kwangtungensis*, a Chinese native species [J]. Acta Ecol Sin, 26(4): 1063 - 1072. [张璐, 苏志尧, 陈北光, 2006. 中国特有植物——华南五针松群落的种间关系 [J]. 生态学报, 26(4): 1063-1072.]

ZHAO J, LIU XX, WU JH, et al., 2020. Application of zero-inflated model in predicting the distribution of rare fish species: A case studu of *Coilis nasus* in Yangtze estuary, China [J]. Chin J Ecol, 39(9): 3155-3163. [赵静, 柳晓雪, 吴建辉, 等, 2020. 零膨胀模型在珍稀鱼类资源时空分布预测中的应用: 以长江口刀鲚为例 [J]. 生态学杂志, 39(9): 3155-3163.]

ZHOU YX, DUAN XP, 1993. A study on seed dormancy physiology of *Pinus kwangtungensis* [J]. J Cent S Univ For Technol, 13(2): 122-127. [周佑勋, 段小平, 1993. 华南五针松种子休眠生理的研究 [J]. 中南林学院学报, 13(2): 122-127.]

(责任编辑 蒋巧媛)

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1213-1221 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202012046

尹国平, 刘雄盛, 蒋燚, 等. 枫香变红过程中叶片组织结构、光合特性及色素含量变化研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1213-1221.

YIN GP, LIU XS, JIANG Y, et al. Changes of tissue structures, photosynthetic characteristics and pigment contents of *Liquidambar formosana* leaves in the process of turning red [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1213-1221.

枫香变红过程中叶片组织结构、光合特性及色素含量变化研究

尹国平[1], 刘雄盛[1], 蒋　燚[1*], 王　勇[1], 杨继生[2], 肖玉菲[1], 黄荣林[1], 姜　英[1]

(1. 广西壮族自治区林业科学研究院, 广西优质用材林资源培育重点实验室, 南宁 530002; 2. 广西大学, 南宁 530004)

摘　要: 枫香(*Liquidambar formosana*)因其叶片入秋后逐渐变红而极具观赏价值,是优良的景观生态树种。为了解枫香叶片结构变化与叶色的关系,该文通过连续监测枫香叶片变红过程中组织结构、光合特性及色素含量的变化,分析叶片结构与其光合特性和色素的关系。结果表明:(1)叶片变色过程中,表皮细胞均为椭圆形,紧密排列,未观察到明显的细胞变异,表面未附着绒毛和蜡质,且上表皮细胞与栅栏组织细胞间排列紧密,未出现较大的气室。(2)随着叶片逐渐变红,叶片结构变化显著,其中叶片、上表皮、栅栏组织和海绵组织厚度及气孔开度均逐渐减小,而气孔器长和宽、单个气孔器面积则逐渐增大。(3)随着叶片结构的变化,其叶绿素含量逐渐减少,致使净光合速率逐渐减小,在出现光破坏时,叶片通过在栅栏组织细胞液泡内合成花色苷来自我保护,而大量的花色苷致使叶片表面呈现红色。综上认为,叶绿素含量降低,花色素苷大量积累是导致枫香叶片变红的直接原因,而枫香叶色变红则是其一系列生理结构特征综合作用的结果。

关键词: 枫香, 叶片变红, 栅栏组织, 海绵组织, 气孔器, 光合速率, 叶绿素, 花色苷

中图分类号: Q945, Q246　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1000-3142(2022)07-1213-09

Changes of tissue structures, photosynthetic characteristics and pigment contents of *Liquidambar formosana* leaves in the process of turning red

YIN Guoping[1], LIU Xiongsheng[1], JIANG Yi[1*], WANG Yong[1], YANG Jisheng[2], XIAO Yufei[1], HUANG Ronglin[1], JIANG Ying[1]

(1. *Guangxi Key Laboratory of Superior Trees Resource Cultivation*, *Guangxi Zhuang Autonomous Region Forestry Research Institute*, Nanning 530002, China; 2. *Guangxi University*, Nanning 530004, China)

Abstract: *Liquidambar formosana* is an excellent landscape ecological tree species because its leaves turn red gradually after autumn, which is of great ornamental value. In this paper, the changes of tissue structures, photosynthetic

收稿日期: 2021-04-04

基金项目: 广西壮族自治区林业科学研究院基本科研业务费项目(林科 201809 号);广西重点研发计划项目(桂科 AB16380100);广西优良用材林资源培育重点实验室自主课题(2019-A-03-02) [Supported by Fundamental Research Fund for Guangxi Zhuang Autonomous Region Forestry Research Institute (Linke 201809); Guangxi Key Research and Development Plan (AB16380100); Independent Research Fund of the Guangxi Key Laboratory of Superior Timber Trees Resource Cultivation(2019-A-03-02)]。

第一作者: 尹国平(1968-),高级工程师,主要从事森林培育研究,(E-mail)fxyj1012@163.com。

* **通信作者:** 蒋燚,博士,教授级高级工程师,主要从事森林培育研究,(E-mail)jy68@163.com。

characteristics and pigment contents of *L. formosana* leaves were continuously monitored, and the relationships between leaf structures and photosynthetic characteristics and pigment were analyzed in order to understand the relationships between leaf structure changes and leaf color. The results were as follows: (1) During the discoloration process of *L. formosana* leaves, the epidermal cells were oval and closely arranged, no obvious cell variation was observed, no villi and wax were attached to the surface, and the upper epidermal cells were closely arranged with palisade tissue cells, there was no large air chamber. (2) With the leaf turning red gradually, the leaf structure changed significantly. The thickness of leaf, upper epidermis, palisade tissue, spongy tissue and stomatal aperture decreased gradually, whereas the length and width of stomatal apparatus and the area of single stomatal apparatus gradually increased. (3) With the change of leaf structure, the chlorophyll content decreased gradually, resulting in the decrease of net photosynthetic rate. When light damage occurred, leaves protected themselves by synthesizing anthocyanins in the vacuoles of palisade tissue cells, then a large amount of anthocyanins caused the leaf surface to show red. Therefore, the decrease of chlorophyll content and the accumulation of anthocyanins were the direct reasons for the redness of *L. formosana* leaves. To sum up, the red color of *L. formosana* leaves is the combination result of a series of physiological structure characteristics.

Key words: *Liquidambar formosana*, leaf turn red, palisade tissue, spongy tissue, stomatal apparatus, photosynthesis rate, chlorophyll, anthocyanins

随着人们对优美生态环境需求日益增加,在森林景观营造和城乡绿化美化中,彩叶树种越来越受到青睐。彩叶树种因其亮丽丰富的色彩和较高的观赏价值而在现代化城市园林景观建设中发挥着越来越重要的作用,从而备受人们关注(Sheue et al., 2012;李卫星等,2017)。随着研究者对彩叶植物的不断研究,将彩叶分为色素型和结构型 2 大类。其中,色素型分为叶绿素亏缺型(叶绿体发生变化,叶绿素合成受阻)和其他色素型(如叶黄素或花色苷大量积累使叶片呈黄色或红色),而结构类彩叶则主要有表皮型和空隙型。表皮型表现为表皮细胞变异(乳状凸起、不规则形状等)和表皮细胞上附着其他物质(蜡质、绒毛等)使光线发生折射、衍射以及干涉而呈色,而空隙型叶片表皮细胞与栅栏组织细胞间存在较大气室,入射光在气室间形成漫反射,致使叶片呈现其他颜色(Sheue et al., 2012;王振兴等,2016;杜文文等,2019;梁玲等,2020)。目前,对彩叶树种叶片变化成因的研究多集中在色素的种类、含量及分布等方面(Rocca et al., 2011;冯露等,2017;李卫星等,2017),而对叶片组织结构与叶片呈色的关系研究相对较少。

枫香(*Liquidambar formosana*)为金缕梅科(Hamamelidaceae)枫香树属(*Liquidambar*)落叶乔木,分布广泛(主要分布于我国秦岭及淮河以南各省,北起河南、山东,东至台湾,西至四川、云南及西藏,南至广东),适应性和耐火力强,天然易更新,入秋后,其叶片逐渐由绿色变为红色、紫色、橙黄等颜色(主要以变红为主),极具观赏价值,是优良的景观生态树种(王冬雪等,2017)。目前,王冬雪等(2019)描述了不同光质处理下枫香叶色变化过程中色素含量的变化;刘儒等(2017)描述了枫香叶色变化与色素的关系;罗紫东等(2016)研究指出随着枫香叶片逐渐变黄和变红,其净光合速率的光响应能力逐渐降低。然而,这些报道中并没有枫香叶色变化过程中组织结构变化的研究。因此,对于枫香叶色变色是由色素引起还是色素和结构两种兼而有之,尚未得出明确的结论。为此,本文以枫香变红植株为研究对象,通过连续监测自然条件下枫香叶片变红过程中叶片的组织结构、光合特性以及色素含量的变化,分析叶色变化过程中组织结构与光合特性以及色素的关系,旨在探讨叶片结构与枫香叶色变红的关系,为深入研究枫香呈色机理提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

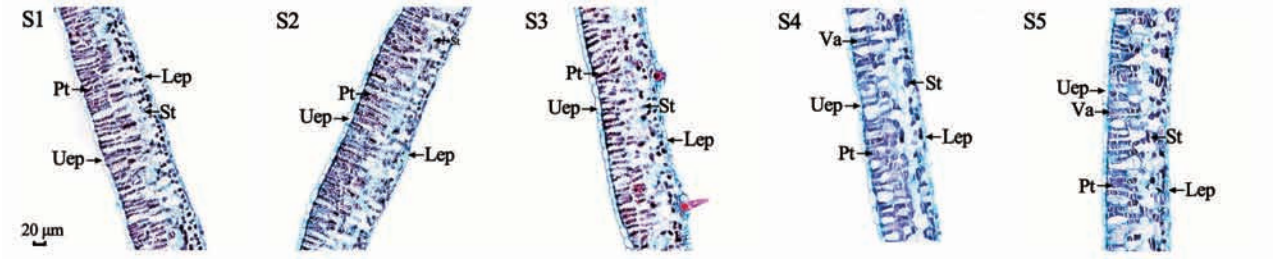
所用材料来源于广西德保县红叶森林公园枫香天然林(106°39′5″ E、23°21′19″ N)。红叶森林公园地处北回归线以南,属亚热带湿润气候,以棕壤为主,占地总面积 7.29 km^2,枫香林面积2.44 km^2。

采用平均木法,选取 5 株秋季叶片变红、生长健壮的成年枫香植株。从 2018 年 9 月底开始,在每株枫香树上选取东、南、西、北四个方向的枝条做好标记,每 15~20 d 观测和采集样品 1 次,自试验开始至结束共进行 5 次叶片观测和样品采样,分别标记为 S1(2018-09-29)、S2(2018-10-13)、S3(2018-11-2)、S4(2018-11-22)、S5(2018-12-12),如图 1 所示。



S1. 全绿；**S2**. 变红面积<1/3；**S3**. 1/3<变红面积<2/3；**S4**. 变红面积>2/3；**S5**. 全红。下同。
S1. All-green; **S2**. Reddened area < 1/3; **S3**. 1/3 < Some reddened area < 2/3; **S4**. Totally red area > 2/3; **S5**. All-red. The same below.

图 1　不同变色时期枫香的叶片颜色
Fig. 1　Leaf color of *Liquidambar formosana* at different discoloration stages



Uep. 上表皮；**Lep**. 下表皮；**Pt**. 栅栏组织；**St**. 海绵组织；**Va**. 液泡。
Uep. Upper epidermis; **Lep**. Lower epidermis; **Pt**. Palisade tissue; **St**. Spongy tissue; **Va**. Vacuole.

图 2　不同变色时期枫香叶片的叶肉解剖结构
Fig. 2　Anatomical structure of mesophyll of *Liquidambar formosana* leaves at different discoloration stages

1.2 叶片解剖结构测定

在枫香变色的 5 个时期，分别对每株枫香取 6 片典型叶片，对每片叶片从叶基部以上 1/3 处（保留主脉）用单面刀片将叶片切成 0.5 cm × 0.5 cm 的小块，放入 FAA 固定液（体积比为 70 %乙醇：甲醛：冰醋酸 = 90：5：5），固定 24 h 后，用于石蜡切片的制作。在每片叶片中部叶脉与叶片边缘之间切取 1.0 mm × 0.5 cm 的小块，用 2.5%戊二醛固定 24 h 后，先经磷酸缓冲液清洗，再用 1%的锇酸固定 2 h，用于叶片气孔超微结构观测。

采用常规石蜡切片法（刘雄盛等，2020），对处理后的叶片进行切片，对每个变色时期每株枫香选取 3 块组织，用每块组织制作 3 张切片，切片厚度为 8 μm，用番红-固绿对切片进行双重对染，中性树胶封片，于 Motic BA410 型光学显微镜下观察。每张切片在叶脉和叶肉组织分别观察 5 个视野，并拍照，之后用 Digmizer 软件测定叶片栅栏组织、海绵组织以及上、下表皮等组织的厚度。各组织测量 10 个数值。

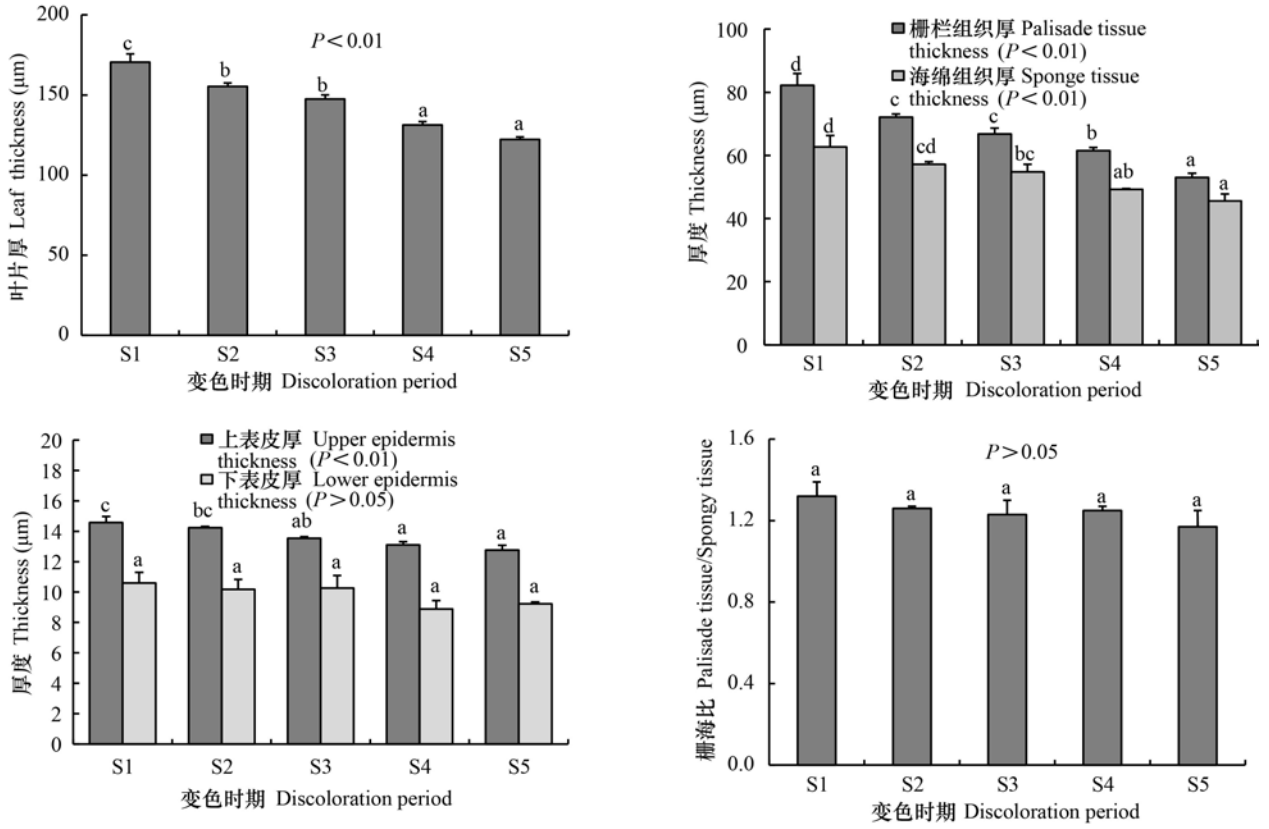
气孔超微结构观测参照齐红岩等（2009）的方法，对每个变色时期每株枫香选取 3 块组织，按常规系列乙醇丙酮脱水，醋酸异戊脂置换，在液态 CO_2 中干燥后进行样品粘台，对其进行喷金处理，在S-450型扫描电子显微镜下观察并拍照。用 Digmizer 软件测量气孔长（*SL*）、气孔宽（*SW*）、气孔器长度（*SAL*）、气孔器宽度（*SAW*），并计算气孔开度（*SA*）、单个气孔器面积（*SSA*）。其中，$SA = \pi \times SL \times SW$，$SSA = \pi \times SAL \times SAW/4$（$\pi = 3.14$）。每个处理观察 10 个视野，对每个视野随机选取 30 个气孔器进行测量。

1.3 光合作用日变化测定

光合特性的测定参照郭连金等（2017）的方法。在枫香变色 5 个时期，选择在连续 3 d 晴朗无风天气，采用 LI-6400 便捷式光合仪测定枫香植株叶片光合参数的日变化。测定时在每株枫香四个方向枝条上分别选取健康无病虫害的 3 个叶片作为测定叶。测定时间为 7:00—17:00，每 2 h 测 1 次。采用自然光源，标准叶室（2 cm × 3 cm），测定指标有净光合速率（P_n）、蒸腾速率（T_r）、胞间二氧化碳浓度（C_i）、气孔导度（G_s）等。

1.4 叶片色素含量测定

在枫香变色的 5 个时期，在每株枫香东、南、

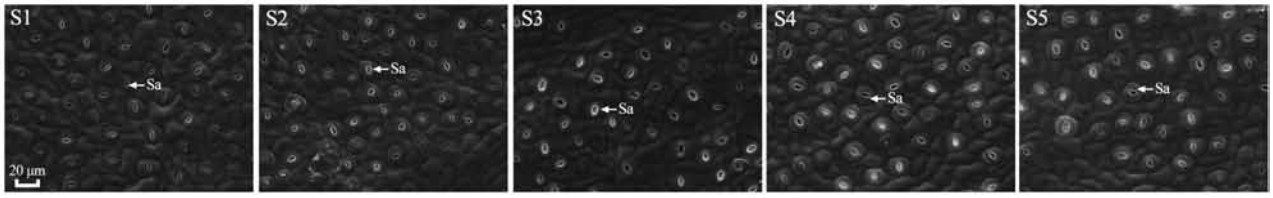


同一颜色柱子上不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。下同。

Different lowercase letters on the same color column indicate significant differences ($P<0.05$). The same below.

图 3 不同变色期叶片的横切面结构特征参数

Fig. 3 Changes of leaf anatomical structure in different discoloration stages



Sa. 气孔器。

Sa. Stomatal apparatus.

图 4 不同变色期枫香叶片的气孔分布特征

Fig. 4 Stomatal distribution characteristics of *Liquidambar formosana* leaves at different discoloration stages

西、北四个方向的枝条上分别随机选取健康完整的 5 片叶片，混合后用锡箔纸包裹住，放入液氮灌中短暂保存，带回实验室进行色素含量的测定。叶绿素和类胡萝卜素含量测定参照李合生（2000）的方法，称取 0.2 g 新鲜叶片粉末，加入 5 mL 80% 丙酮，置于 4 ℃冰箱中避光浸提 24 h，取上清液过滤后，利用 UV-4802 双光束分光光度计，分别测定 445、645、663 nm 处的吸光值，计算叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素的含量及类胡萝卜素含量。

花色苷含量测定参照 Kytridis 和 Manetas（2006）的方法，称取新鲜叶片粉末 1.0 g，加入 10 mL 1%盐酸甲醇溶液，于 32 ℃恒温培养箱中浸提 5 h，过滤，将滤液稀释 5 倍。利用双光束分光光度计测定 530 nm 和 657 nm 处的吸光值，计算花色苷含量。

1.5 数据统计分析

使用 Excel 2016 软件对叶片结构和光合作用

参数的数据进行常规统计和作图。运用 SPSS 19.0 软件对不同变色时期叶片结构和光合作用参数进行方差分析和多重比较(采用邓肯氏新复极差法),并进行叶片结构与光合作用参数的相关性分析。所有分析显著性水平均设定为 $\alpha=0.05$。

2　结果与分析

2.1 枫香叶色变化过程中叶片结构特征的变化

枫香叶片为阔卵形、薄革质、掌状 3 裂,是典型的异面叶。横切面观:枫香叶片的叶肉由栅栏组织和海绵组织组成,栅栏组织由 2 层排列整齐、紧密的柱状细胞组成,海绵组织由 3~4 层形状不规则细胞组成,细胞大小不等,间隙大,排列疏松;枫香叶片的表皮由上表皮和下表皮组成,上表皮由 1 层椭圆形细胞紧密排列组成,下表皮由 1 层长条形或椭圆形细胞紧密排列组成(图 2)。

不同变色期枫香的叶片厚度、上表皮厚度、栅栏组织厚度以及海绵组织的厚度均差异显著($P<0.01$),下表皮厚度和栅海比差异不显著($P>0.05$)(图 3)。随着叶片逐渐由绿变红,叶片厚度、上表皮厚度、栅栏组织厚度以及海绵组织厚度均逐渐减小,下表皮厚度和栅海比呈波动性增减。S1 时期时,叶片厚度、上表皮厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、下表皮厚度以及栅海比分别为 170.53、14.58、82.18、62.70、10.60 μm、1.32,S5 时期时,分别为 122.23、12.76、53.01、45.59、9.23 μm、1.17,较 S1 时期分别减小 28.3%、12.5%、35.5%、27.3%、12.9%、11.4%。

通过扫描电子显微镜观察发现,枫香叶片气孔仅分布于下表皮,气孔器形状呈近圆形或椭圆形、外凸,排列方式不规则(图 4)。由图 5 可知,不同变色时期枫香叶片气孔开度、气孔器长、气孔器宽、单个气孔器面积均差异显著($P<0.05$)。其中,随着叶片逐渐变红,气孔开度逐渐减小,S1 时期最大(为 28.33 μm^2),至 S5 时期减小(为 15.12 μm^2);气孔器长、单个气孔器面积逐渐增大,均在 S1 时期最小,分别为 18.54 μm、259.21 μm^2,至 S5 时期增大(分别为 21.90 μm、377.97 μm^2);气孔器宽呈波动性增减,在 S5 时期最大(为 21.99 μm),S1 时期最小(为 17.77 μm)。

2.2 枫香叶色变化过程中光合作用的日变化

由图 6 可知,枫香叶色变化过程中,各时期叶片净光合速率(P_n)日变化差异明显。其中,S1 和 S2 时期叶片 P_n 日变化趋势一致,均为双峰型,均在 11:00 时和 15:00 时达到高峰,13:00 时出现光合“午休”现象;S3、S4、S5 时期叶片 P_n 日变化趋势一致,均为单峰型,S3 时期 P_n 在 11:00 时达到高峰,S4 和 S5 时期 P_n 均在 13:00 时达到高峰。各时期叶片胞间 CO_2 浓度(C_i)日变化趋势基本一致,均先降低后升高。其中,S1、S2、S4、S5 时期叶片 C_i 均在 13:00 时到达最小值,S3 在 11:00 时到达最小值。各时期叶片气孔导度(G_s)日变化均呈先升高后降低趋势。其中,S1、S2、S3 时期 G_s 在 11:00时达最大值,S4 和 S5 时期 G_s 在 15:00 时达最大值。各时期叶片蒸腾速率(T_r)日变化趋势不一。其中,S1 和 S2 时期 T_r 日变化呈波动性升降,均在 11:00 时达最大值,S3、S4、S5 时期 T_r 日变化均呈先升高后降低趋势,均在 11:00 时达最大值。

就光合作用参数的日均值比较,叶片 P_n 大小排序为 S1>S2>S3>S4>S5,C_i 大小排序为 S5>S4>S3>S2>S1,G_s 大小排序为 S1>S2>S3>S4>S5,T_r 大小排序为 S1>S2>S3>S4>S5。方差分析结果表明,不同变色时期枫香叶片 P_n、C_i、G_s、T_r 日均值差异均显著($P<0.05$)(表 1)。

2.3 枫香叶色变化过程中叶片色素含量的变化

由图 7 可知,不同变色期枫香叶片叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素、花色苷含量均差异显著($P<0.05$)。随着叶色逐渐变红,叶绿素 a、叶绿素 b 含量均表现出持续减少的趋势,花色苷则持续增加,类胡萝卜素无明显变化规律。S1 时期,叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素、花色苷含量分别为 0.469、0.319、0.973、0.155 $mg \cdot g^{-1}$;S5 时期,叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素、花色苷含量分别为 0.189、0.086、2.348、0.113 $mg \cdot g^{-1}$,较 S1 时期叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量分别减小 59.6%、73.0%、14.5%,花色苷含量增加 41.3%。随着叶片逐渐变红,各色素含量百分比变化明显,其中叶绿素 a、叶绿素 b 百分比逐渐减小,至 S5 时期仅占总色素的 9.8%、4.4%;类胡萝卜素百分比先增后减,在 S2 时期占比最大(为 9.8%),至 S5 时期仅占 5.8%;花色苷百分比逐渐增加,至 S5 时期占总色素的 50.8%。

3　讨论与结论

枫香叶片变色过程中,表皮细胞均为椭圆形,紧密排列,未观察到明显的细胞变异,也未发现绒毛和蜡质等明显的附着物,且上表皮细胞与栅栏组织细胞间排列紧密,未出现较大的气室。因此,枫香叶片变红与其表皮细胞结构及其细胞排列方式无关,与苏佳露等(2020)对 6 个彩叶竹种叶片

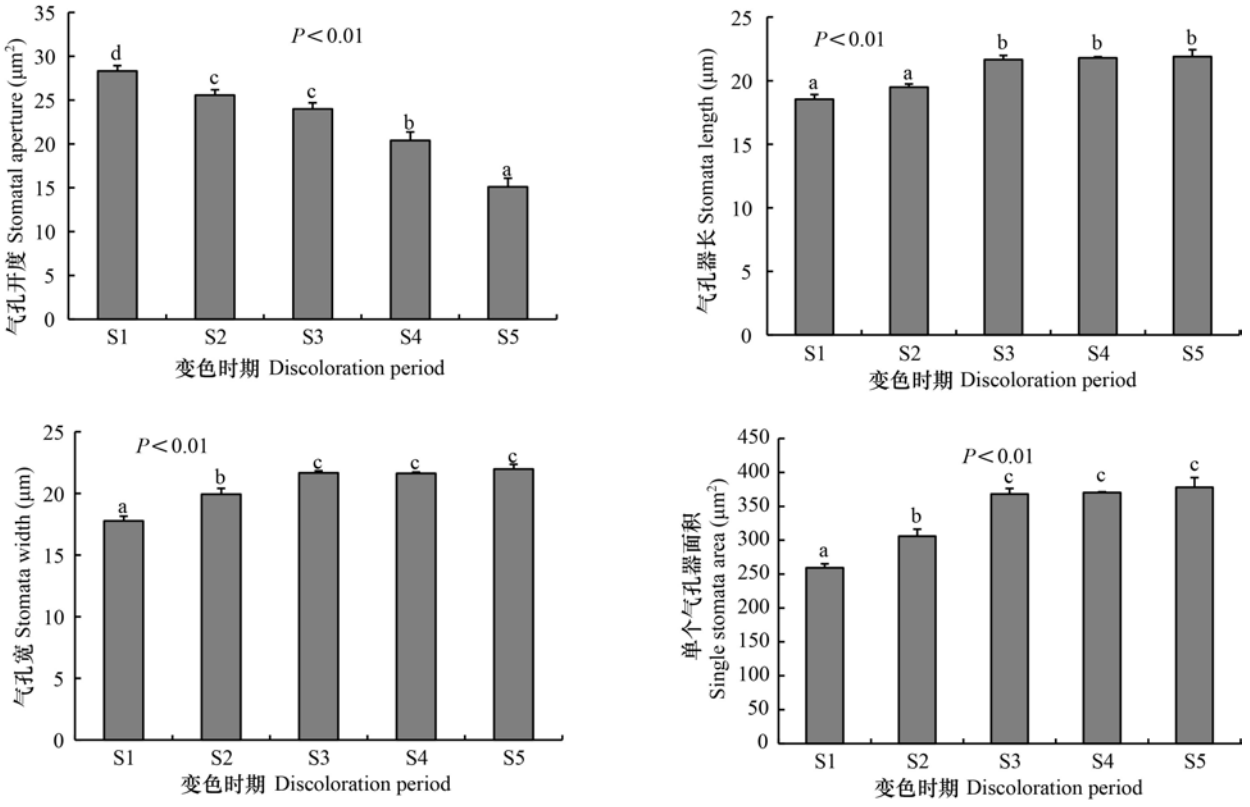


图 5 不同变色期枫香叶片的气孔特征

Fig. 5 Stomatal characteristics of *Liquidambar formosana* leaves under different discoloration stages

解剖结构研究和孙旺旺等(2020)对金叶连翘(*Forsythia koreana* 'Sun Gold')不同叶色解剖结构的研究结果一致。除表皮型和空隙型 2 种结构类彩叶外,一些植物彩叶的结构与正常绿色叶片相比差异显著。本研究中,枫香叶片不同变色期结构差异显著,叶片变色过程中其厚度、栅栏组织厚度和海绵组织逐渐减小,与金叶连翘叶片由绿转黄过程中叶片结构变化类似(孙旺旺等,2020),而与梁玲等(2020)对不同色彩珙桐(*Davidia involucrata*)叶片解剖结构研究结果却相反,可能是因为珙桐为阴性树种(梁玲等,2020),而枫香为阳性树种,二者对环境的适应策略不同。落叶树种在叶片衰老、变色过程中,大部分可溶性糖、氮、磷等营养元素会被回收、转移至线粒体,为叶片脱落或失去光合能力后,通过线粒体呼吸维持冬季正常生理代谢提供能量(Keskitalo et al., 2005; Zhang et al., 2013)。因此,枫香叶片变色过程中叶片厚度、栅栏组织厚度和海绵组织厚度逐渐减小可能是由于营养物质被回收、转移所致。

栅栏组织和海绵组织是叶绿体的主要合成部位,栅栏组织和海绵组织厚度减小势必会导致叶绿体数量和叶绿素含量减少,叶片光合能力降低,在秋冬季节低温和强光条件下,最终导致光能的过剩,产生大量活性氧自由基,破坏植物叶片的光合机构,造成光抑制甚至光破坏,而花色苷能够吸收绿光和紫外光,反射红光和蓝光,从而起到滤光和消除活性氧、防止强光氧化胁迫和降低光抑制的作用(Zhang et al., 2011; Junker & Ensminger, 2016)。本研究结果表明,随着叶片逐渐变红,栅栏组织和海绵组的厚度逐渐减小,细胞排列逐渐松散,叶绿素含量减少,净光合速率随之逐渐降低,花色苷含量逐渐增加,至 S4 和 S5 时期,第二层栅栏组织明显退化,此时叶片叶绿素含量和净光合速率大幅下降,花色苷含量迅速升高,且栅栏组织细胞内出现大量液泡,Lee 等(2003)研究指出红色叶片花色苷仅分布在栅栏组织柱状薄壁细胞的液泡中。这说明在叶片变色后期(S4~S5),可能出现光抑制甚至光破坏,致使叶片在栅栏组织细胞的液泡中合成大量花色苷以降低光抑制和光破坏,而大量花色苷的积累直接致使叶片变红。因此,叶绿素含量降低,花色素苷大量积累是导致枫香叶片变红的直接原因,枫香红色叶片属于色素型彩叶。

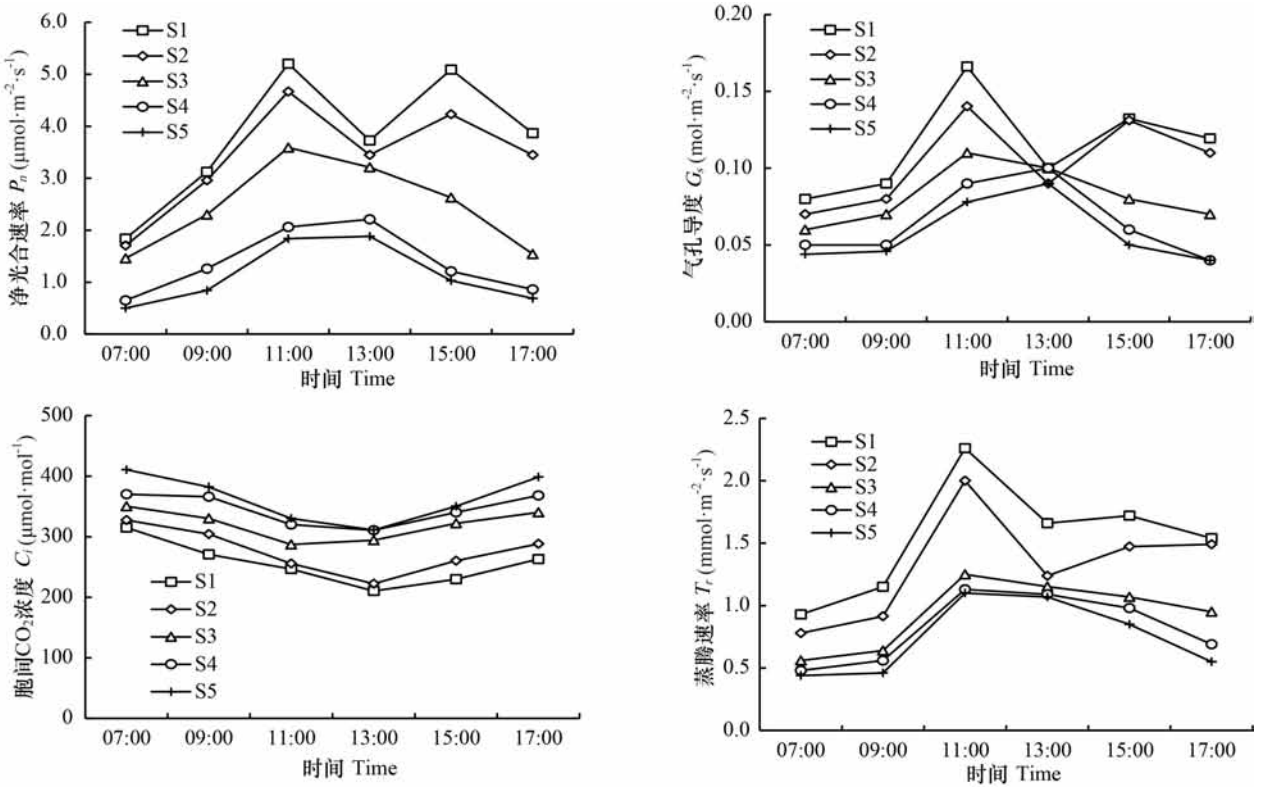


图 6　不同变色期枫香净光合速率(P_n)、胞间 CO_2浓度(C_i)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)的日变化

Fig. 6　Diurnal variation of net photosynthesis rate (P_n), intercellular CO_2 concentration (C_i), stomatal conductance (G_s) and transpiration rate (T_r) of *Liquidambar formosana* under different discoloration stages

气孔是植物叶片与外界环境进行 H_2O 和 CO_2等气体交换的门户,气孔开度和气孔器大小直接影响植物水分状况及 CO_2同化(Hetherington & Woodward, 2003)。气孔控制水分和 CO_2的进出,是调节光合作用和蒸腾作用的关键所在,气孔开度减小,能减少蒸腾损失,但气孔阻力增加,CO_2进入叶片受阻,导致光合速率下降(Peeva & Cornic, 2009; 可静等,2017)。本研究中,枫香叶片变色过程中,气孔开度逐渐减小,而胞间 CO_2浓度逐渐增加,说明枫香叶片气孔开度减小,虽然减少了 CO_2进入叶片的量,但叶片内被光合作用转化的 CO_2量少于进入叶片 CO_2的量,进而致使叶片内 CO_2浓度逐渐增加(Zhang et al., 2013)。因此枫香叶片光合速率减小,并不是气孔开度减小,进入叶片的 CO_2受阻所引起,而是由于秋冬季节干燥少雨,枫香通过减小气孔开度来增加气孔阻力以减少叶片水分散失,阻碍水分亏缺(文志等,2014)。Casson 和 Gray(2008)认为气孔大小主要受温度影响,温度降低气孔器长宽指数则增大;费松林等(1999)认为气孔器大小与最冷月温度有关,温度越低气孔器越大,枫香叶片变色过程中气孔器增大可能是为了适应外界低温环境。因此枫香叶片变色过程中气孔器形态特征变化是为了适应环境,与其叶色变化无明显的直接关系,是否存在其他或更深层次的关系还有待进一步研究。

综上所述,由于枫香叶片变红过程中表皮细胞未出现明显的变异以及绒毛和蜡质等附着物,且上表皮细胞与栅栏组织细胞间排列紧密,没有出现较大的气室,因此枫香不属于结构类彩叶。枫香叶片变红是由于枫香为回收、转移营养物质,叶片厚度和栅栏组织、海绵组织的厚度减小导致叶绿体数量和叶绿素含量减少,光合能力下降,在受到光抑制和光破坏时,合成大量花色苷来自我保护所引起,属于色素型彩叶。因此,枫香叶片变红是其一系列生理结构特征综合作用的结果,这些“特征综合体”反映了枫香对环境的适应以及资源利用策略。

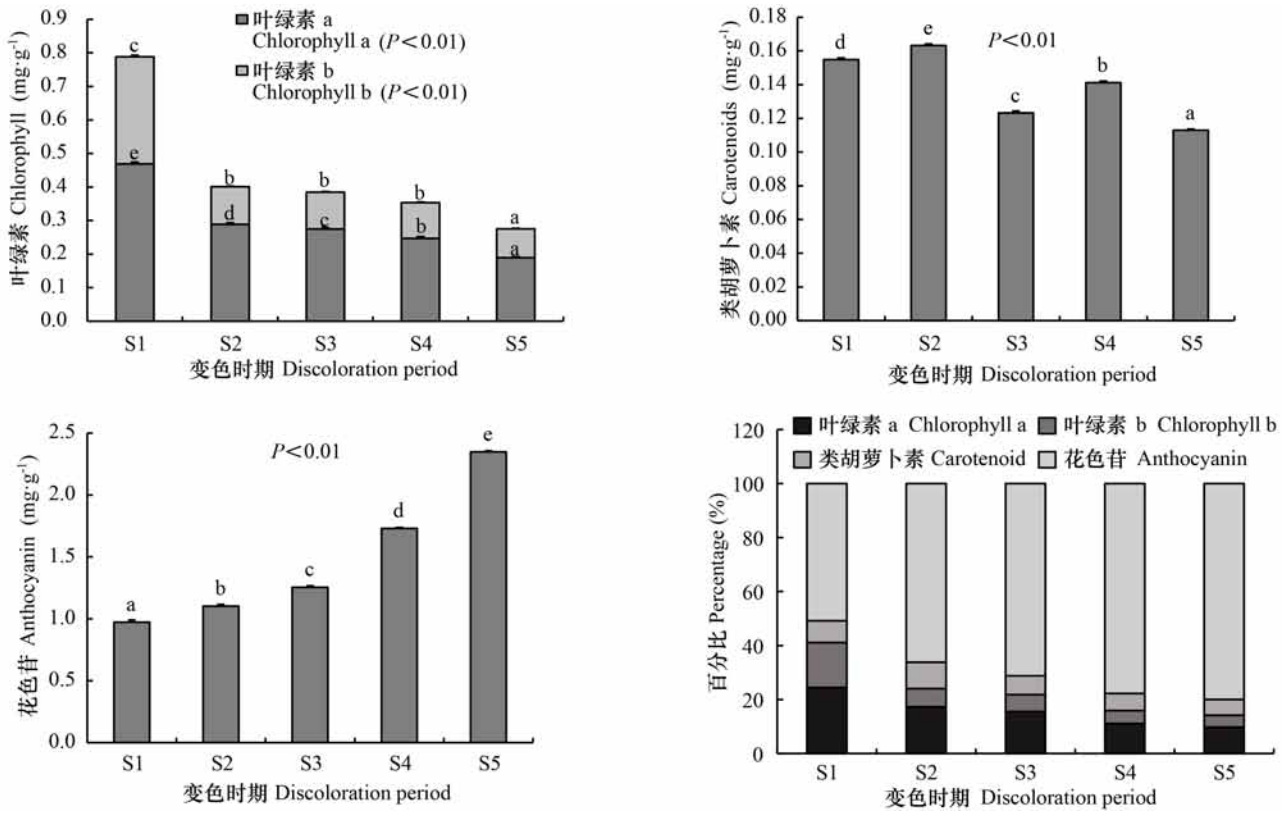


图 7 不同变色时期枫香叶片的色素含量

Fig. 7 Pigment content of *Liquidambar formosana* leaves at different discoloration stages

表 1 不同变色期枫香叶片光合作用参数的日均值

Table 1 Daily mean values of photosynthesis parameters of *Liquidambar formosana* leaves under different discoloration stages

变色时期 Discoloration period	净光合速率 P_n (μmol·m^{-2}·s^{-1})	胞间 CO_2 浓度 C_i (μmol·mol^{-1})	气孔导度 G_s (mol·m^{-2}·s^{-1})	蒸腾速率 T_r (mmol·m^{-2}·s^{-1})
S1	3.81±0.03e	256.00±2.63a	0.11±0.01c	1.54±0.02d
S2	3.41±0.03d	276.55±2.43b	0.10±0.01bc	1.32±0.02c
S3	2.45±0.03c	320.82±1.52c	0.08±0.01ab	0.94±0.03b
S4	1.38±0.02b	345.96±2.09d	0.07±0.01a	0.82±0.02a
S5	1.13±0.03a	363.88±3.30e	0.06±0.01a	0.75±0.03a
P	**	**	**	**

注：数据为平均值 ± 标准误。同一列不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。** 表示在 0.01 水平上差异显著。

Note: Data are $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). ** shows significant differences at 0.01 level.

参考文献：

CASSON S, GRAY JE, 2008. Influence of environmental factors onstomatal development [J]. New Phytol, 178: 9-23.

DU WW, CUI GF, WANG JH, et al., 2019. Effects of foliar variegation structure on leaf color in *Begonia gulinqingensis* [J]. Guihaia, 39(6): 812-820. [杜文文, 崔光芬, 王继华, 等, 2019. 古林箐秋海棠叶斑结构对叶色的影响 [J]. 广西植物, 39(6): 812-820.]

FEI SL, FANG JY, FAN YJ, et al., 1999. Anatomical characteristics of leaves and woods of *Fagus lucida* and their relationship to ecological factors in Mountain Fanjingshan, Guizhou, China [J]. Acta Bot Sin, 41(9): 1002-1009. [费松林, 方精云, 樊拥军, 等, 1999. 贵州梵净山亮叶水青冈叶片和木材的解剖学特征及其与生态因子的关系 [J]. 植物学报, 41(9): 1002-1009.]

FENG L, WU JY, JU YQ, et al., 2017. Leaf color characteristics and photosynthetic characteristics of purple-leafed *Lagerstroemia indica* 'Ebony Ember' [J]. J Beijing For Univ, 39(12): 93-101. [冯露, 吴际洋, 鞠易倩, 等, 2017. 紫叶紫薇呈色生理及光合特性研究 [J]. 北京林业大学学报, 39(12): 93-101.]

GUO LJ, DU JP, WU YP, et al., 2017. Photosynthetic characteristics of *Emmenopterys henryi* seedlings and their

relationships with environmental factors [J]. Chin J Appl Ecol, 28(5): 1473-1481. [郭连金, 杜佳朋, 吴艳萍, 等, 2017. 香果树实生苗的光合特性及其与环境因子的关系 [J]. 应用生态学报, 28(5): 1473-1481.]

HETHERINGTON AM, WOODWARD FI, 2003. The role of stomata in sensing and environmental change [J]. Nature, 424: 901-908.

JUNKER LV, ENSMINGER I, 2016. Relationship between leaf optical properties, chlorophyll fluorescence and pigment changes in senescing *Acer saccharum* leaves [J]. Tree Physiol, 36(6): 694-711.

KE J, LI J, LÜ HY, et al., 2017. Change of stomatal aperture and ultrastructure on *Lycium ruthenicum* Murr. leaves under different conditions [J]. Arid Zone Res, 34(6): 1362-1370. [可静, 李进, 吕海英, 等, 2017. 不同条件下黑果枸杞叶片气孔开度和超微结构的变化 [J]. 干旱区研究, 34(6): 1362-1370.]

KESKITALO J, BERGQUIST G, GARDESTRM P, et al., 2005. A cellular timetable of autumn senescence [J]. Plant Physiol, 139(4): 1635-1648.

KYTRIDIS VP, MANETAS Y, 2006. Mesophyll versus epidermal anthocyanins as potential *in vivo* antioxidants: evidence linking the putative antioxidant role to the proximity of oxy-radical source [J]. J Exp Bot, 57: 2203-2210.

LEE DW, KEEFE J, HOLBROOK NM, et al., 2003. Pigment dynamics and autumn leaf senescence in a New England deciduous forest, eastern USA [J]. Ecol Res, 18(6): 677-694.

LI HS, 2000. Experimental principles and techniques of plant physiology and biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press: 130-134. [李合生, 2000. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社: 130-134.]

LI WX, YANG XB, HE ZC, et al., 2017. Research advances in the regulatory mechanisms of leaf coloration [J]. Acta Hortic Sin, 44(9): 1811-1824. [李卫星, 杨舜博, 何智冲, 等, 2017. 植物叶色变化机制研究进展 [J]. 园艺学报, 44(9): 1811-1824.]

LIANG L, HUANG YQ, CHEN XH, 2020. Anatomical structure and pigment content of *Davidia involucrate* leaves and bracts with different colors [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 40(9): 1539-1548. [梁玲, 黄玉琼, 陈小红, 2020. 不同色彩珙桐叶片和苞片解剖结构及色素含量比较研究 [J]. 西北植物学报, 40(9): 1539-1548.]

LIU R, YUAN QQ, YUAN XP, et al., 2017. The relationship with change of pigment content in leaves of different *Liquidambar formosana* families and change of leaf color [J]. S Chin For Sci, 45(4): 46-49. [刘儒, 原勤勤, 袁小平, 等, 2017. 不同枫香家系叶片色素含量变化及其与叶色变化的关系 [J]. 南方林业科学, 45(4): 46-49.]

LIU XS, XIAO YF, WANG Y, et al., 2020. Anatomical structures of vegetative organs of *Keteleeria fortunei* (Murr.) Carr. var. *cyclolepis* (Flous) Silba and its ecological adaptability [J]. Plant Sci J, 38(1): 39-46. [刘雄盛, 肖玉菲, 王勇, 等, 2020. 江南油杉营养器官的解剖结构及其生态适应性 [J]. 植物科学学报, 38(1): 39-46.]

LUO ZD, GUAN HD, ZHANG XP, et al., 2016. Changes in photosynthetic capacity during leaf senescence of *Liquidambar formosana* [J]. Chin J Appl Ecol, 27(10): 3129-3136. [罗紫东, 关华德, 章新平, 等, 2016. 枫香叶片衰老过程中光合能力的变化 [J]. 应用生态学报, 27(10): 3129-3136.]

PEEVA V, CORNIC G, 2009. Lea photosynthesis of *Haberlea rhodopensis* before and during drought [J]. Environ Exp Bot, 65: 310-318.

QI HY, LIU Y, LIU HT, 2009. Effect of water deficit onstomatal characteristics and ultrastructure of chloroplast in tomato leaves [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 29(1): 9-15. [齐红岩, 刘洋, 刘海涛, 2009. 水分亏缺对番茄叶片气孔特性及叶绿体超微结构的影响 [J]. 西北植物学报, 29(1): 9-15.]

ROCCA LN, RASCIO N, PUPILLO P, 2011. Variegation in *Arum italicum* leaves. A structural-functional study [J]. Plant Physiol Biochem, 49(12): 1392-1398.

SHEUE CR, PAO SH, CHIEN LF, et al., 2012. Natural foliar variegation without costs? The case of *Begonia* [J]. Ann Bot, 109: 1065-1074.

SU JL, SHI WS, YANG YY, et al., 2020. Comparison of leaf color and pigment content and observation of leaf structure at different growth stages from six bamboo species [J]. Sci Silv Sin, 56(7): 194-203. [苏佳露, 史无双, 杨雅运, 等, 2020. 6 个竹种叶色与光合色素含量及叶片结构比较 [J]. 林业科学, 56(7): 194-203.]

SUN WW, MENG XM, XU XY, et al., 2020. Contents of pigments and anatomical structure in the leaves of *Forsythia koreana* 'Sun Gold' [J]. Bull Bot Res, 40(3): 321-329. [孙旺旺, 孟宪敏, 徐秀源, 等, 2020. 金叶连翘叶片色素含量和解剖结构研究 [J]. 植物研究, 40(3): 321-329.]

WANG DX, DE YJ, SHI X, et al., 2017. Change of leaf color of four *Liquidambar formosana* families under different environmental conditions [J]. For Res, 30(3): 503-510. [王冬雪, 德永军, 施翔, 等, 2017. 4 个枫香家系在不同环境下的叶色变化 [J]. 林业科学研究, 30(3): 503-510.]

WANG DX, SUN HJ, DE YJ, et al., 2019. Change of leaf color of *Liquidambar formosana* seedlings under different light quality treatments [J]. For Res, 32(4): 158-164. [王冬雪, 孙海菁, 德永军, 等, 2019. 不同光质处理对枫香幼苗叶色的影响 [J]. 林业科学研究, 32(4): 158-164.]

WANG ZF, YU YF, CHEN L, et al., 2016. Advances in leaf pigment composition, structure and photosynthetic characteristics of colored-leaf plants [J]. J Plant Physiol, 52(1): 1-7. [王振兴, 于云飞, 陈丽, 等, 2016. 彩叶植物叶片色素组成、结构以及光合特性的研究进展 [J]. 植物生理学报, 52(1): 1-7.]

WEN Z, WANG L, WANG XK, et al., 2014. Combined effects of ozone and drought on leaf stomata of *Acer truncatum* [J]. Chin J Ecol, 33(3): 560-566. [文志, 王丽, 王效科, 等, 2014. O_3和干旱胁迫对元宝枫叶片气孔特征的复合影响 [J]. 生态学杂志, 33(3): 560-566.]

ZHANG KM, WANG XM, CUI JX, et al., 2011. Characteristics of gas exchange and chlorophyll fluorescence in red and green leaves of *Begonia semperflorens* [J]. Biol Plantarum, 55(2): 361-364.

ZHANG YJ, YANG QY, LEE DW, et al., 2013. Extended leaf senescence promotes carbon gain and nutrient resorption: importance of maintaining winter photosynthesis in subtropical forests [J]. Oecologia, 173(3): 721-730.

（责任编辑　蒋巧媛）

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1222-1231 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202012050

李亚妮, 庞春花, 张永清, 等. 施氮深度和水分胁迫对藜麦幼苗生理及产量的影响 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1222-1231.

LI YN, PANG CH, ZHANG YQ, et al. Effects of nitrogen fertilization depth and water stress on quinoa seedling physiological characteristics and yield [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1222-1231.

施氮深度和水分胁迫对藜麦幼苗生理及产量的影响

李亚妮[1], 庞春花[1,2*], 张永清[1,3], 张 媛[1]

(1. 山西师范大学 生命科学学院, 山西 临汾 041000; 2. 山西师范大学 现代文理学院, 山西 临汾 041000; 3. 山西师范大学 地理科学学院, 山西 临汾 041000)

摘 要: 为了探讨藜麦应对施肥深度和水分胁迫的响应,该文以藜麦(*Chenopodium quinoa*)为材料,在盆栽条件下,设置3种施氮处理[D1(控释尿素施在0~8 cm深度)、D2(控释尿素施在8~16 cm深度)、D3(控释尿素施在16~24 cm深度)]和3种水分处理[W1(正常供水)、W2(中度干旱)、W3(重度干旱)],分析施氮深度和水分胁迫对藜麦幼苗生理及产量的影响。结果表明:(1)相同水分条件下,随着施肥深度的增加,藜麦生长指标(株高、茎粗、叶面积、地上部生物量、主根长、根系表面积、根系体积)、生理指标[超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、叶绿素总量]和产量指标呈先升高后降低趋势。D2处理(适当的深施氮肥)均高于D1处理(浅层施氮)和D3处理(底层施氮)。(2)相同施氮深度条件下,随着干旱胁迫程度的增加,藜麦生长指标和产量指标呈逐渐降低的趋势,生理指标均呈先升高后降低的趋势。说明藜麦幼苗对水分需求明显,可通过增加抗氧化酶活性和渗透调节物质适应一定程度的干旱,生产实践中应注意苗期水分的供应,以促进生育后期产量的形成。综上可知,适宜的水氮管理(D2W1)可以促进藜麦的生长及生理特性,增强藜麦的抗旱能力,提高藜麦的产量。该研究结果为进一步研究藜麦的水肥管理、高产栽培提供参考。

关键词: 藜麦, 水分胁迫, 施肥深度, 控释尿素, 幼苗形态发育, 幼苗生理特性, 产量

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2022)07-1222-10

Effects of nitrogen fertilization depth and water stress on quinoa seedling physiological characteristics and yield

LI Yani[1], PANG Chunhua[1,2*], ZHANG Yongqing[1,3], ZHANG Yuan[1]

(1. *College of Life Sciences*, *Shanxi Normal University*, Linfen 041000, Shanxi, China; 2. *College of Modern Arts and Sciences*, *Shanxi Normal University*, Linfen 041000, Shanxi, China; 3. *College of Geographical Sciences*, *Shanxi Normal University*, Linfen 041000, Shanxi, China)

Abstract: To explore the response mechanism of quinoa (*Chenopodium quinoa*) to fertilization depth and water stress. Quinoa in pots were used as materials to set three nitrogen fertilization treatments [D1, placement of controlled-release urea (CRU) at 0-8 cm depth; D2, placement of CRU at 8-16 cm depth; D3, placement of CRU at 16-24 cm depth] and three kinds of water treatments (W1, normal moisture; W2, moderate drought; W3, severe drought) to

收稿日期: 2021-04-04

基金项目: 国家自然科学基金(31571604);山西师范大学现代文理学院基础研究项目(2019JCY15) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31571604); Basic Research Project of College of Modern Arts and Sciences, Shanxi Normal University (2019JCY15)]。

第一作者: 李亚妮(1994-),硕士研究生,主要从事植物生理生态研究,(E-mail)lynzg126@126.com。

*通信作者: 庞春花,硕士,教授,主要从事植物生理生态方面的教学与研究,(E-mail)pangch6269@162.com。

discuss the effects of quinoa seedling physiological characteristics and yield. The results were as follows: (1) Under the same water condition, with the increase of fertilization depth, the growth indexes (plant height, stem diameter, leaf area, aboveground biomass, length of main root, surface area of root, root volume), physiological indexes [superoxide (SOD) activity, peroxidase(POD) activity, catalase (CAT) activity, soluble sugar content, soluble protein content, and the total chlorophyll content] and yield index tended to increase initially and then decrease. D2 treatment (appropriate deep nitrogen fertilization) was higher than D1 (shallow deep nitrogen fertilization) and D3 treatment (bottom deep nitrogen fertilization). (2) Under the same nitrogen fertilization depth, with the increase of drought stress, the growth indexes and yield index of quinoa decreased gradually, and the physiological indexes were rising firstly and then decreasing. It was suggested that the water demand of quinoa seedlings was obvious, which could adapt to drought to some extent by increasing antioxidant enzyme activities and osmotic regulating substances. In practice, attention should be paid to the supply of water in seedling stage to promote the formation of yield in the later stage of growth. In conclusion, suitable water and nitrogen management (D2W1) can promote the growth and physiological characteristics of quinoa, and enhance the drought resistance of quinoa and improve the yield of quinoa. The results of this study provide a reference for further study on water and fertilization management and high yield cultivation of quinoa.

Key words: *Chenopodium quinoa*, water stress, fertilization depth, controlled-release urea (CRU), morphological development of seedling, physiological characteristics of seedling, yield

藜麦是藜科藜属一年生草本植物,原产于南美洲安第斯山脉,因其具有较高的营养价值和良好的生态适应性,成为国内外多个研究领域的热点(庞春花等,2017)。在干旱和半干旱地区,水分亏缺是影响作物产量的主要因素,选育和栽培耐旱作物是应对干旱的一项重要措施,藜麦作为一种节水抗旱作物,明确其抗旱机理,提高其抗旱能力,将在我国土壤利用开发中发挥重要作用(刘文瑜等,2019)。水肥与产量的关系是重要的研究课题,生产上通过一定的水肥措施达到“以肥促根”“以根调水”的目的(李秧秧和邵明安,2000),进而提高水肥利用率,实现作物增产。

控释尿素作为一种新型肥料,能够根据作物对养分的需求控制其养分释放模式,使养分释放与作物养分吸收基本同步,从而减少氮素损失,提高氮肥利用率(刘威等,2019)。有研究表明,普通尿素施入土壤后在短期内溶解,不能全部被植物吸收利用(武鹏等,2018)。因此,控释尿素合理的施用对藜麦在旱地农业的发展具有重要意义。

研究表明,合理的施肥深度是提高肥效的关键所在(苏志峰等,2016),改变施肥深度,可以间接调节作物的根系分布,充分调动作物根系对土壤水分和养分的吸收利用(沈玉芳和李世清,2019)。与肥料表施或浅施相比,肥料深施可以提高肥料利用率,延长肥效,促进作物后期生长,进而提高作物产量(于晓芳等,2013;谷晓博等,2016)。据报道,肥料深施还可以有效避免因肥料与种子太过接近而造成毒害,避免烧苗(Zhang & Rengel ,2002),但肥料的深施范围尚不明确(杨云马等,2016)。张永清等(2006)研究认为,小麦施肥深度 10~30 cm 有利于根系对较深层次土壤养分的吸收。赵堂甫等(2020)研究认为,在 5~20 cm 深度内,玉米的产量随着施肥深度的增加而显著提高。可见,不同作物适宜生长的施肥深度存在较大差异,目前,藜麦的最适施氮深度尚不明确。国内外学者对水肥耦合的研究比较多,把水分和施肥深度结合起来的研究则鲜有报道(康小华等,2017)。由于施肥深度显著影响作物水氮条件的供应,所以探明水分胁迫和施氮深度对藜麦幼苗生长、生理特性的影响,确定最佳水分条件和施氮深度,提高氮肥利用率,对实现藜麦增产具有重要意义。本研究结合幼苗生长、生理活性和产量分析,探索了藜麦在干旱及半干旱地区施肥深度和水分供应最佳组合,旨在为干旱及半干旱地区藜麦科学合理的水肥管理提供理论基础和实践依据。

1　材料与方法

1.1 供试材料和试验设计

供试藜麦品种为“亿隆 1 号”,购自山西忻州

亿隆藜麦科技推广有限公司。供试控释尿素(controlled-release urea,CRU)为“硫包衣尿素”(含N 37%)。供试磷肥和钾肥分别是过磷酸钙(含$P_2O_5$15%)、氯化钾(含K_2O 52%)。控释尿素、过磷酸钙、氯化钾用量分别为0.2、0.2、0.15 g·kg^{-1}。所有肥料均用作基肥,一次性施入。试验所用盆的规格为31 cm(直径)×31 cm(盆深),每盆装风干土15 kg。为了模拟黄土高原旱薄区的土壤养分情况,供试土壤采用距地表3 m以下养分含量相对较低的生土,其基本理化性质为碱解氮含量2.3 mg·kg^{-1}、速效磷含量3.4 mg·kg^{-1}、速效钾含量93.5 mg·kg^{-1}、有机质含量1.7 g·kg^{-1}、土壤pH 7.9。装土前将土壤风干碾碎并过筛,分层装入。为了模拟田间自然条件下的水分情况,采用插管底部灌水法进行盆栽试验。

试验设计为双因素完全随机设计,因素D为施氮深度,综合前人研究(于晓芳等,2013;谷晓博等,2016;杨云马等,2016;刘威等,2019;赵堂甫等,2020)共设3个水平:D1(控释尿素施在0~8 cm深度)、D2(控释尿素施在8~16 cm深度)和D3(控释尿素施在16~24 cm深度);因素W为供水量,综合前人研究(倪瑞军等,2015;庞春花等,2017)同样设3个水平:正常供水(W1,土壤相对含水量为65%~75%)、中度干旱胁迫(W2,土壤相对含水量为45%~55%)和重度干旱胁迫(W3,土壤相对含水量为25%~35%),每天pm 18:00采用称重法控制土壤含水量在设定范围内。试验共3×3=9个处理组合,每个处理重复3次,共27盆。试验选取饱满、大小一致的藜麦种子,用10%H_2O_2对种子进行消毒10 min,用蒸馏水反复冲洗多次,于2019年5月11日播种,每盆播35粒。待出苗后第5天(三叶期),每盆均留苗7株,每个处理3盆,花盆随机摆放。在出苗后第15天(幼苗期)取3次重复进行指标的测定,将地上部和地下部分开收获,将地下部冲洗干净保存在4 ℃冰箱进行形态指标和各项生理指标的测定。于2019年9月11日(成熟期)收获,取3次重复进行产量指标的测定。

1.2 测定项目和方法

生长指标:采用烘干称重法测定地上部和地下部干重;采用直尺直接测量株高;采用精度0.02 mm的游标卡尺测量茎粗;用L-3000A叶面积仪测量叶面积;用根系扫描仪Win-RHIZO测量总根长、根系平均直径、根系表面积、根系体积。

生理指标:采用NBT法测超氧化物歧化酶(SOD)活性,愈创木酚法测过氧化物酶(POD)活性,氮蓝四唑法测定过氧化氢酶(CAT)活性,蒽酮比色法测定可溶性糖含量,考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白含量,丙酮-乙醇直接浸提法测定叶绿素总量(张志良等,2009)。

产量指标:顶穗粒数、顶穗小穗数、分枝数、穗数用直接计数法测定,产量和千粒重采用称重法测定。

1.3 数据处理

用Microsoft Excel 2007软件对实验数据进行整理,用SPSS 17.0软件对数据进行统计分析,采用Duncan's法进行多重比较,SigamPlot 12.5软件作图,数据结果用平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 施氮深度和水分胁迫对藜麦地上部生长的影响

表1结果表明,施肥深度、水分处理及二者的交互作用均对藜麦的株高、茎粗、地上部生物量有显著影响,施肥深度和水分处理对藜麦的叶面积有显著影响。

藜麦幼苗株高、茎粗、叶面积、地上部生物量在各处理均随控释尿素的施用深度增加先升高后降低,均在D2处理最大。株高在D2处理分别比D1和D3处理显著提高了4.74%、13.97%、3.00%和7.02%、3.41%、7.15%;茎粗在D2处理分别比D1和D3处理显著提高了36.10%、38.07%、16.12%和23.84%、19.49%、20.76%;叶面积在D2处理分别比D1和D3处理显著提高了5.38%、9.13%、11.21%和11.86%、7.75%、8.66%;地上部生物量在D2处理分别比D1和D3处理显著提高了10.71%、21.83%、6.37%和10.29%、7.02%、16.96%。随着水分胁迫增强,各施肥深度处理藜麦株高、茎粗、叶面积、地上部生物量均表现为W1>W2>W3。株高在W2和W3处理比W1处理显著减小了15.67%、31.50%、17.18%和32.45%、10.51%、27.11%;茎粗和叶面积在部分处理差异显著;地上部生物量在W2和W3处理比W1处理显著减小了15.11%、29.33%、19.05%和32.14%、7.11%、27.92%。

表 1　水分和控释尿素耦合对藜麦地上部生长的影响

Table 1　Effects of water and controlled-release urea coupling on the upper growth of quinoa

处理 Treatment	株高 Plant height (cm)	茎粗 Stem diameter (mm)	叶面积 Leaf area (cm^2)	地上部生物量 Aboveground biomass (g)
D1W1	28.85± 0.24b	1.72± 0.08bc	4.46± 0.04b	2.25± 0.02b
D1W2	24.33± 0.20e	1.63± 0.03c	4.09± 0.09d	1.91± 0.03e
D1W3	19.76± 0.19h	1.27± 0.04d	3.73± 0.05e	1.59± 0.02h
D2W1	30.29± 0.09a	2.70± 0.04a	4.71± 0.05a	2.52± 0.02a
D2W2	25.08± 0.11d	1.94± 0.03b	4.61± 0.03ab	2.04± 0.01c
D2W3	20.46± 0.10g	1.57± 0.05c	4.04± 0.06d	1.71± 0.03g
D3W1	26.06± 0.16c	1.67± 0.07c	4.28± 0.02c	1.97± 0.01d
D3W2	23.32± 0.23f	1.48± 0.05cd	4.06± 0.08d	1.83± 0.01f
D3W3	19.00± 0.28i	1.25± 0.02d	3.69± 0.06e	1.42± 0.01i
D	1 562.62**	52.45**	50.80**	290.60**
W	130.47**	53.64**	103.08**	1 066.52**
D×W	17.04**	7.72*	1.82	23.65**

注：数据=平均值+标准差。**D1**. 控释尿素施在 0~8 cm 深度；**D2**. 控释尿素施在 8~16 cm 深度；**D3**. 控释尿素施在 16~24 cm 深度；**W1**. 正常供水；**W2**. 中度干旱；**W3**. 重度干旱。各因素数据(D、W)为方差分析 F 值。同列不同字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。*表示 $P<0.05$；**表示 $P<0.01$。下同。

Note: Data = $\bar{x} \pm s$. **D1**. Placement of CRU at 0-8 cm depth; **D2**. Placement of CRU at 8-16 cm depth; **D3**. Placement of CRU at 16-24 cm depth; **W1**. Normal moisture; **W2**. Moderate drought; **W3**. Severe drought. The data of each factor (D, W) are anova F values. Different letters in the same column indicate significant differences among different treatments($P<0.05$). * indicates $P<0.05$; ** indicates $P<0.01$. The same below.

2.2 施氮深度和水分胁迫对藜麦根系生长的影响

植株的主根长、根系平均直径、根系表面积和根系体积是分析根系生长发育情况、研究作物抗旱性的重要指标，可反映根系生长与环境的适应性。表 2 结果表明，施肥深度、水分处理及两者的交互作用对藜麦的根系表面积有显著影响，施肥深度和水分处理对藜麦的主根长、根系平均直径和根系体积也有显著影响。

藜麦幼苗主根长、根系体积、根系表面积和根系平均直径在各处理均随氮肥施用深度的增加先升高后降低，均在 D2 处理最大。主根长在 D2 处理分别比 D1 和 D3 处理显著提高了 5.96%、13.80%、10.48%和 16.58%、10.11%、15.45%；根系体积在 D2 处理分别比 D1 和 D3 处理显著提高了 13.22%、21.85%、13.24%和 20.95%、22.64%、36.47%；根系表面积在 D2 处理分别比 D3 处理显著提高了22.62%、10.06%、17.33%，D1 和 D2 处理差异不显著；根系体积在各施肥深度处理部分差异显著。藜麦主根长、根系体积、根系表面积和根系平均直径均随水分胁迫逐渐减小。主根长在 W2 和 W3 处理比 W1 处理显著减小了 23.54%、48.89%、19.69%和 46.54%、22.28%、47.56%；根系体积在 W2 和 W3 处理比 W1 处理显著减小了 31.47%、73.30%、31.45%和 70.04%、30.67%、75.65%；根系表面积在 W2 和 W3 处理比 W1 处理显著减小了 46.03%、70.22%、42.81%和 71.70%、43.96%、70.37%；根系平均直径在部分处理差异显著。

表 2　水分和控释尿素耦合对藜麦根系生长的影响

Table 2　Effects of water and controlled-release urea coupling on root growth of quinoa

处理 Treatment	主根长 Length of main root (cm)	根系平均直径 Average root diameter (mm)	总根系表面积 Surface area of total root (cm^2)	根系体积 Root volume (cm^3)
D1W1	16.24± 0.18b	0.45± 0.01abc	24.92± 0.45b	3.28± 0.07b
D1W2	12.42± 0.25e	0.42± 0.01cd	13.45± 0.42e	2.25± 0.14e
D1W3	8.30± 0.17h	0.34± 0.02fg	7.42± 0.17fg	0.88± 0.10g
D2W1	17.27± 0.24a	0.48± 0.02a	29.15± 0.60a	3.78± 0.06a
D2W2	13.87± 0.14d	0.48± 0.01ab	16.67± 0.38d	2.59± 0.08d
D2W3	9.23± 0.24g	0.38± 0.02de	8.25± 0.05f	1.13± 0.07f
D3W1	14.89± 0.23c	0.43± 0.01bc	23.02± 0.26c	2.96± 0.04c
D3W2	11.57± 0.34f	0.37± 0.02ef	12.90± 0.51e	2.05± 0.07e
D3W3	7.81± 0.14h	0.32± 0.02g	6.82± 0.42g	0.72± 0.09g
D	899.22**	18.55**	1 616.13**	645.34**
W	63.29**	43.76**	73.12**	39.02**
D×W	1.84	0.81	9.77**	1.63

2.3 施氮深度和水分胁迫对藜麦生理指标的影响

表 3 结果表明，施肥深度、水分处理均对藜麦

的 SOD、POD、CAT 活性和可溶性糖、可溶性蛋白含量及叶绿素总量有显著影响,施肥深度和水分处理的交互作用对藜麦的 POD、CAT 活性有显著影响。

表 3 水分和控释尿素耦合对藜麦生理特性的影响

Table 3 Effects of water and controlled-release urea coupling on physiological characteristics of quinoa

指标 Index	D	W	D×W
SOD 活性 SOD activity	26.32**	63.50**	1.94
POD 活性 POD activity	29.52**	289.63**	4.23*
CAT 活性 CAT activity	341.06**	144.26**	10.15**
可溶性糖含量 Soluble sugar content	52.88**	7.71*	0.84
可溶性蛋白含量 Soluble protein content	16.02**	19.88**	0.21
叶绿素总量 Total chlorophyll content	11.46*	27.49**	1.61

从图 1 可以看出,藜麦幼苗根系 SOD、POD 和 CAT 活性均随控释尿素的施用深度增加先升高后降低,均在 D2 处理最大。SOD 活性在 D2 处理(W1、W2 和 W3 处理分别为 150.56、239.51、172.14 U · g^{-1} FW)分别比 D1 和 D3 处理显著提高了 29.10%、20.87%、21.43% 和 28.05%、17.18%、16.84%;POD 活性仅在 W1 和 W2 处理差异显著;CAT 活性在 D2 处理(W1、W2 和 W3 处理分别为 31.65、34.99、32.35 U · g^{-1}FW)分别比 D1 和 D3 处理显著提高了 25.71%、30.44%、9.80% 和 22.47%、17.96%、22.89%。藜麦幼苗的 3 种酶活性均随干旱胁迫增强先升高后降低,SOD 活性在 W2 处理(D1、D2 和 D3 处理幼苗分别为 188.19、239.51、172.33 U · g^{-1} FW)分别比 W1 处理显著提高了 43.28%、37.14%和 30.87%;POD 活性在 W2 处理(D1、D2 和 D3 处理幼苗分别为 472.45、505.44、428.33 U · g^{-1} FW)分别比 W1 处理显著提高了 39.83%、37.56%和 30.96%;CAT 活性在 W2 处理(D1、D2 和 D3 处理幼苗分别为 31.56、34.99、27.13 U · g^{-1}FW)分别比 W1 处理显著提高了 25.52%、9.56%和 18.85%,不同干旱处理间差异显著。

藜麦幼苗可溶性糖、可溶性蛋白含量和叶绿素总量均随氮肥的施用深度增加先升高后降低,均在 D2 处理最大。可溶性蛋白含量和叶绿素总量仅在部分水分处理差异显著;可溶性糖含量在 D2 处理(W1、W2 和 W3 处理分别为 5.10、5.97、5.87 mg · g^{-1})分别比 D1 和 D3 处理显著提高了 22.27%、33.78%、15.52% 和 37.91%、16.78%、39.96%。藜麦可溶性糖、可溶性蛋白含量和叶绿素总量均随水分胁迫增强先增大后减小。可溶性糖含量在 W2 胁迫处理最大,D1 和 D2 处理差异显著,D3 处理差异不显著;可溶性蛋白含量在 W2 处理最大(D1、D2 和 D3 处理分别为 1.83、1.96、1.66 mg · g^{-1})分别比 W1 处理显著提高了 20.17%、15.38%和 16.43%;叶绿素总量在 W2 处理最大(D1、D2 和 D3 处理分别为 3.50、4.56、3.32 mg · g^{-1})分别比 W1 处理显著提高了 32.46%、35.19%和 54.18%,不同干旱处理间可溶性糖、可溶性蛋白含量和叶绿素总量差异不显著。

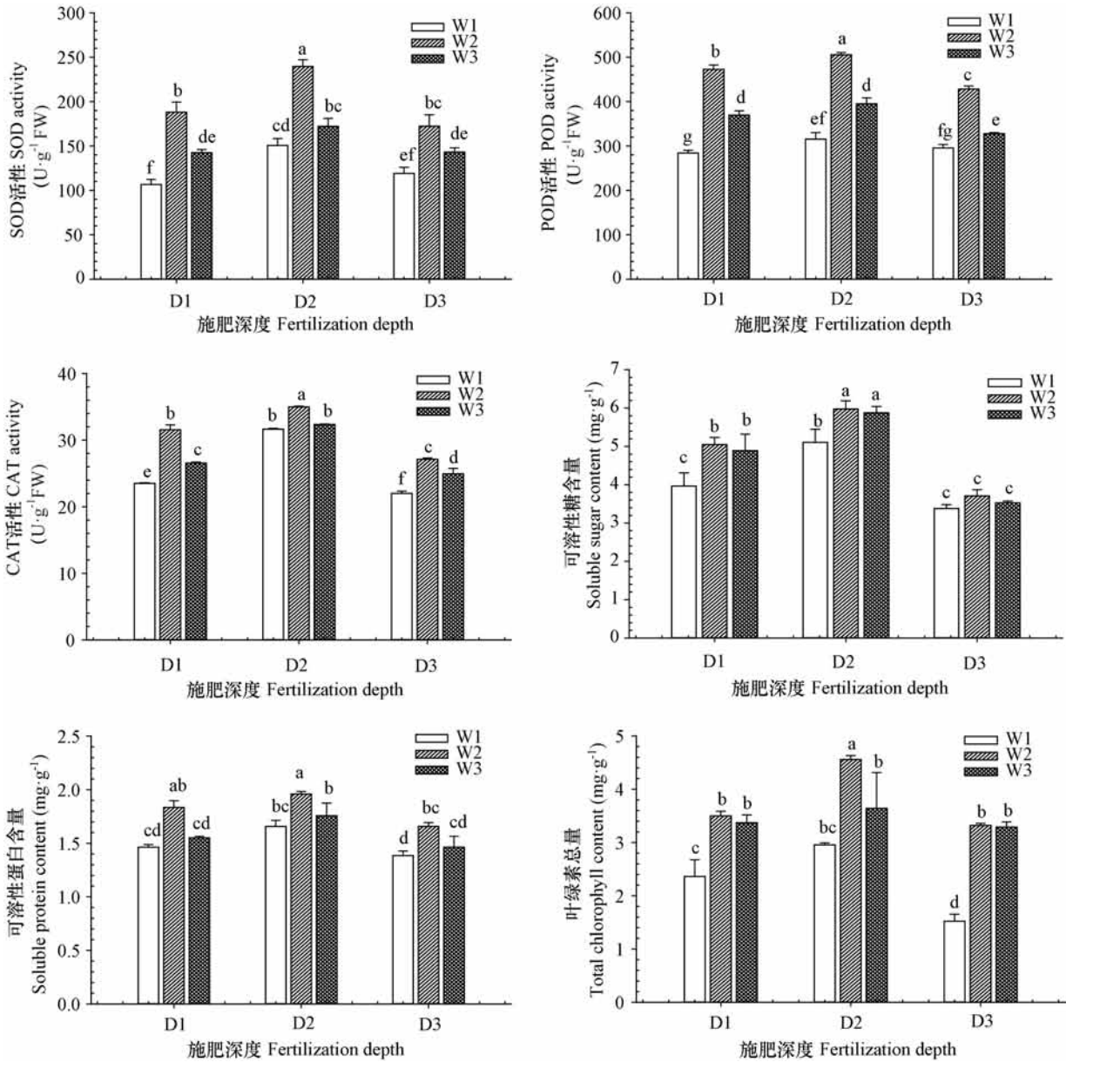
2.4 施氮深度和水分胁迫对藜麦产量的影响

表 4 结果表明,施肥深度、水分处理及二者的交互作用均对藜麦的顶穗小穗数、产量和千粒重均有显著影响,控释尿素和水分处理还对藜麦的分枝数和穗数有显著影响,施氮深度和水分交互对藜麦的顶穗粒数有显著影响。藜麦顶穗粒数、顶穗小穗数、分枝数、穗数、产量和千粒重在各处理均随氮肥深度增加先升高后降低,均在 D2 处理最大。顶穗粒数在 D2 处理条件下分别比 D1 和 D3 处理显著提高了 14.56%、10.89%、36.93% 和 9.78%、17.02%、11.00%;顶穗小穗数、分枝数、穗数、产量和千粒重在部分处理差异显著。随着干旱胁迫增强,藜麦顶穗粒数、顶穗小穗数、分枝数、穗数、产量和千粒重在各施肥深度处理均随干旱胁迫逐渐降低,顶穗粒数在 W2 和 W3 处理比 W1 处理显著减小了 39.70%、53.00%、18.45% 和 51.60%、17.43%、51.67%;顶穗小穗数在 W2 和 W3 处理比 W1 处理显著减小了 41.00%、57.00%、13.27% 和 50.44%、8.08%、53.54%;分枝数和穗数在部分处理差异显著;产量在 W2 和 W3 处理比 W1 处理显著减小了 26.79%、64.24%、13.74% 和 55.56%、11.07%、56.79%;千粒重在部分处理差异显著。

3 讨论

3.1 施肥深度和水分胁迫对藜麦形态性状的影响

在黄土高原上引种藜麦经常会面临干旱缺水



D1. 控释尿素施在 0~8 cm 深度；**D2**. 控释尿素施在 8~16 cm 深度；**D3**. 控释尿素施在 16~24 cm 深度；**W1**. 正常供水；**W2**. 中度干旱；**W3**. 重度干旱。不同字母表示不同处理间差异显著(P<0.05)。

D1. Placement of CRU at 0–8 cm depth; **D2**. Placement of CRU at 8–16 cm depth; **D3**. Placement of CRU at 16–24 cm depth; **W1**. Normal moisture; **W2**. Moderate drought; **W3**. Severe drought. Different letters indicate significant differences among different treatments (P<0.05).

图 1　水分和控释尿素耦合对藜麦生理特性的影响

Fig. 1　Effects of water and controlled-release urea (CRU) coupling on physiological characteristics of quinoa

的问题(倪瑞军等,2015)。水分条件和施氮深度的合理利用能提高水肥利用率,促进作物的生长(刘新永和田长彦,2007;邵丽芳等,2012;赵堂甫等,2020)。崔红红和李援农(2014)研究证明,在一定施氮条件下,灌水量的增加能显著促进小麦各项形态指标的增加,灌水定额以 80 mm 为宜。段娜等(2019)的研究结果表明,60%~80%水分供应为欧李生长的最适生态位。本研究结果表明,在施氮深度相同条件下,藜麦株高、茎粗、叶面积、地上部生物量均随土壤含水量的增加而增加,但增加的幅度不同,均在供水量为 65%~75%时达到最大值,与上述研究结果相似。说明水分胁迫显著

表 4 水分和控释尿素耦合对藜麦产量及其构成因素的影响

Table 4 Effects of water and controlled-release urea coupling on yield and its components of quinoa

处理 Treatment	顶穗粒数 Grain number of apical apikes	顶穗小穗数 Spikelet number of apical apikes	分枝数 Number of branches	穗数 Number of spikes	产量 Yield (g·pot^{-1})	千粒重 1 000-grain weight (g)
D1W1	968.00±13.32c	33.33±0.88b	27.33±0.88ab	23.33±0.88ab	48.57±0.49bc	2.64±0.03bc
D1W2	583.67±8.99f	19.67±0.88d	24.00±1.00cd	19.33±0.67cd	35.56±1.28e	2.32±0.03e
D1W3	455.00±13.65h	14.33±0.67e	20.00±1.00e	17.00±1.00e	17.37±1.65g	2.03±0.05f
D2W1	1 133.00±13.58a	37.67±0.88a	28.33±0.67a	25.33±0.33a	53.55±0.94a	2.79±0.05a
D2W2	924.00±16.80d	32.67±1.45bc	27.00±0.00ab	22.67±0.33b	46.20±0.59cd	2.73±0.04ab
D2W3	548.33±11.22g	18.67±0.67d	23.00±0.58d	19.00±0.58de	23.80±1.31f	2.48±0.06d
D3W1	1 009.67±10.27b	33.00±1.00b	27.33±0.88ab	23.00±1.00b	49.62±0.43b	2.74±0.01ab
D3W2	833.67±5.04e	30.33±0.33c	25.67±0.67bc	21.33±0.88bc	44.13±0.89d	2.63±0.06bc
D3W3	488.00±4.04h	15.33±0.33e	22.33±0.88de	18.33±0.33de	21.44±0.54f	2.52±0.03cd
D	227.55**	53.75**	6.66**	8.74**	42.29**	56.08**
W	1662.00	360.97**	43.26**	48.31**	717.88**	58.50**
D×W	40.84**	14.29**	0.78	0.88	4.09*	6.18**

抑制肥效的发挥,充足的水分对藜麦幼苗具有明显的促进作用。藜麦叶面积和株高形态变化显著,说明苗期株高和叶面积对水分条件相对敏感,茎粗的增加幅度较小可能是因为幼苗期植株的生长期较短,影响物质分配。干旱条件下,氮肥施用过深和过浅均使藜麦的株高、茎粗、叶面积和地上部生物量不同程度地降低,这可能是因为氮素供应不足直接导致藜麦生长受到抑制,表现为植株矮小、生长缓慢,而适宜深施氮肥可以促进植株对养分的吸收,降低对藜麦幼苗地上部生长的抑制效应,从而缓解水分不足造成的不利影响。

根系作为吸收水分和养分的器官,受水分胁迫的影响最为明显,且在不同土层影响不同(张玉等,2014;丁红等,2015),通过改变施肥深度可以调节作物根系在不同土层深度中的分布,适当加深施肥深度有利于保持作物根系活力,促进根系的生长和水分利用率的提高(张永清和苗果园,2006;孙权等,2007)。本研究中,干旱胁迫显著抑制藜麦主根长、根系平均直径、根系表面积和根系体积,且干旱胁迫程度越大,对藜麦根系发育的抑制作用越强,不同的施氮深度,藜麦根系对水分胁迫的敏感程度不同,与 D1 和 D3 处理相比,D2 处理施用效果最好,说明适宜深施控释尿素处理改善了藜麦深层根系生长状况,为根系深层扩展提供良好条件,表现为根系发达,减缓深层根系衰老(Li et al., 2009;Guo et al., 2016),提高了藜麦根系的耐旱性。本研究中,施肥深度对正常供水条件下藜麦根系平均直径、根系表面积和根系体积无显著差异,说明施氮深度对正常供水条件下藜麦根系发育的影响效应低于干旱胁迫处理,说明水分条件对幼苗的影响大于施肥深度对幼苗的影响,施氮深度对水分有一定的补偿效应,这与 Hu 等(2013)、Fageria 和 Carvalho(2014)的研究结果相似。

3.2 施肥深度和水分胁迫对藜麦生理指标的影响

研究表明,抗氧化酶活性越高,作物对逆境的抗性越强。可溶性糖和可溶性蛋白作为渗透调节物质,能够保持原生质和环境的渗透平衡,维持植物的正常代谢,其含量的多少可以反映植物的抗逆性(李鑫等,2015)。不同施肥深度,对作物根系生理活性影响显著,深层施肥小麦根系 SOD、CAT 活性保持较高水平,可溶性蛋白含量降低,有效缓解根系衰老(石岩等,2011)。本研究结果表明,干旱胁迫条件下,D2 处理藜麦 SOD、POD 和 CAT 活性增强,可溶性糖和可溶性蛋白的含量升高,说明不同的抗氧化酶和渗透调节物质均有相同的调节机制抵抗干旱,这与乌日娜等(2020)的研究结果相似。藜麦在中度干旱条件下能够保持较高的抗

氧化酶活性和渗透调节物质含量，且 D2 处理最高，说明 D1 和 D3 处理均不利于藜麦抵御逆境胁迫，适宜深施氮肥能够改善藜麦内在生理活性，增强藜麦抗旱性，促进对水分的吸收和维持水分平衡的能力，保护细胞免受干旱胁迫的危害，提高藜麦对水分胁迫的耐受性，控释尿素施用过浅和过深，藜麦抗氧化酶活性和渗透调节物质均降低，加速根系衰老。重度干旱条件下，藜麦抗氧化酶活性降低，自由基代谢失衡，说明藜麦在响应不同的水分胁迫时表现出一定的差异性，幼苗能忍受中度干旱胁迫，在重度干旱胁迫时幼苗受迫害严重，可能是因为重度干旱对藜麦细胞已造成了损伤，清除活性氧的能力降低，这与岳凯等（2019）的研究结果一致。叶绿素含量对光合作用有重要影响（张仁和等，2012），本研究中，藜麦在 D2W2 条件下叶绿素含量保持较高水平，说明中度干旱胁迫和适宜施氮深度促进叶绿素的合成，提高了应对干旱胁迫的能力，维持正常的光合作用，与藜麦幼苗抗氧化酶活性和渗透调节物质含量表现出了一致性。

3.3 施肥深度和水分胁迫对藜麦产量的影响

有研究表明，适度的水氮供应能够提升作物的产量、改善作物品质（胡钧铭等，2018），深施肥有利于提高玉米的产量（李振等，2014），但深施肥不利于木薯产量的增加（郑玉等，2011）。玉米苗期和成熟期干物质量以施肥深度在种下 6 cm 和 12 cm 最高，10 cm 深度施肥氮肥利用率较高，施在 24 cm 会显著降低氮肥利用率，影响玉米产量和氮吸收量（李振等，2014；杨云马等，2016）。鲁飘飘等（2014）研究表明氮肥深施有利于油菜地上部与根系和籽粒的协调，且施用深度为 16 cm 时油菜产量最高。本研究结果表明，相同水分条件下，D2 处理藜麦顶穗粒数、顶穗小穗数、分枝数、穗数和千粒重指标数均最高，促进藜麦产量的形成，表现为产量最高，D3 处理产量次之，D1 处理产量最低，综合藜麦产量和产量构成情况，初步得出适宜藜麦生长的施肥深度为 8～16 cm，表明深施控释尿素显著提高了藜麦的产量，D1 和 D3 处理对藜麦产量呈负效应，这可能是因为肥料浅施处理促进了藜麦生育前期的生长，随着植株的生长，根系的趋肥性导致根系范围小，生育后期水分和养分吸收不足，抑制了藜麦产量的形成；肥料施用过深使藜麦发育前期养分供应不足，生理活性最低，但促进藜麦生育后期根系下扎，水分和养分充足，生长恢复，弥补了生育前期养分不足造成的影响，藜麦的产量次高；而肥料适宜深施满足了藜麦各生育期对水分和养分的需求，产量最高。以上研究表明，在一定水分条件下，适当调节施氮深度可以促进作物产量的形成。Kaushal 等（2006）认为在 20 cm 处施缓释肥可提高大豆产量，与本研究结果不一致，这可能与研究材料和肥料种类及环境因素等差异所致。本研究中，在干旱胁迫下藜麦产量构成存在显著差异，干旱胁迫降低了藜麦顶穗粒数、顶穗小穗数、分枝数、穗数和千粒重，从而抑制藜麦产量的形成，藜麦形成产量的最佳水分条件为 W1，虽然藜麦自身具有一定的抗旱性，但是不同的水肥条件下，藜麦的抗旱能力不尽相同，导致藜麦的产量不同，说明在施肥深度一定时，可以适当增加土壤含水量来提高藜麦的产量（Guo et al.，2016；崔红艳和方子森，2016）。

4　结论

本试验条件下，调整水分和施氮深度能够诱导根系寻找深层土壤水分和养分，进而调节藜麦的根系分布，促进藜麦生长，增强藜麦生理特性，显著提高藜麦的产量，且藜麦种植最佳方案为 D2W1，可以作为提高藜麦产量的一种参考途径。然而，水分和施肥深度对藜麦生长发育的影响还受作物内在因素、外界生长环境（崔婉莹等，2019）和肥料施用类型等诸多因素的影响。因此，其他生态条件下，藜麦种植的最优栽培方案可在本研究基础上作进一步的研究与探讨。

参考文献：

CUI HH, LI YN, 2014. Study on infiltration-reducing effect of cement infiltrating into the riverbed alluvial silt [J]. J Irr Drain, 33(3): 101-114. [崔红红, 李援农, 2014. 起垄覆膜沟播与水氮耦合对拔节抽穗期冬小麦生长的影响 [J]. 灌溉排水学报, 33(3): 101-114.]

CUI HY, FANG ZS, 2016. Effect of nitrogen and irrigation interaction on matter production and grain yield oil flax under different irrigation modes [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 36(1): 156-164. [崔红艳, 方子森, 2016. 水氮互作对胡麻干物质生产和产量的影响 [J]. 西北植物学报, 36(1): 156-164.]

CUI WY, LIU SJ, WEI YW, et al., 2019. Effects of nitrogen

addition on biomass allocation of *Pinus koraiensis* and *Fraxinus mandshu-rica* seedlings under water stress [J]. Chin J Appl Ecol, 30(5): 1454-1462. [崔婉莹, 刘思佳, 魏亚伟, 等, 2019. 氮添加和水分胁迫对红松、水曲柳幼苗生物量分配的影响 [J]. 应用生态学报, 30(5): 1454-1462.]

DING H, ZHANG ZM, DAI LX, et al., 2015. Effects of water stress and nitrogen fertilization on peanut root morphological development and leaf physiological activities [J]. Chin J Appl Ecol, 26(2): 450-456. [丁红, 张志猛, 戴良香, 等, 2015. 水分胁迫和氮肥对花生根系形态发育及叶片生理活性的影响 [J]. 应用生态学报, 26(2): 450-456.]

DUAN N, XU J, CHEN HL, et al., 2019. Effects of drought stress on phenotypic plasticity of *Cerasus humilis* [J]. Guihaia, 39(9):1159-1165. [段娜, 徐军, 陈海玲, 等, 2019. 干旱胁迫对欧李幼苗表型可塑性的影响 [J]. 广西植物, 39(9): 1159-1165.]

FAGERIA NK, CARVALHO MC, 2014. Comparison of conventional and polymer coated urea as nitrogen sources for lowland rice production [J]. Plant Nutr, 37 (8): 1358-1371.

GU XB, LI YN, DU YD, et al., 2016. Effects of fertilization depth on yield, root distribution and nutrient uptake of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) [J]. Trans Chin Soc Agric Mach, 47(6): 120-128. [谷晓博, 李援农, 杜娅丹, 等, 2016. 施肥深度对冬油菜产量、根系分布和养分吸收的影响 [J]. 农业机械学报, 47(6): 120-128.]

GUO LW, NING TY, NIE LP, et al., 2016. Interaction of deep placed controlled-release urea and water retention agent on nitrogen and water use and maize yield [J]. European J Agron, 75(1): 118-129.

HU HY, NING TY, LI ZJ, et al., 2013. Coupling effects of urea types and sub soiling on nitrogen-water use and yield of different varieties of maize in northern China [J]. Field Crop Res, 142(12): 85-94.

HU JM, HUANG ZH, LUO WG, et al., 2018. Effects of micro-sprinkler irrigation on soil water and nitrogen and yield under banana-mung bean intercropping [J]. Guihaia, 38(6):710-718. [胡钧铭, 黄忠华, 罗维钢, 等, 2018. 蕉肥间作下微喷灌对蕉园土壤水氮动态及香蕉产量的影响 [J]. 广西植物, 38(6): 710-718.]

KANG XH, SHEN BY, WANG HL, et al., 2017. Effects of nitrogen fertilizer application rate and ratio base to topdressing on yield and economic characters of quinoa [J]. J Agric, 7(12): 34-37. [康小华, 沈宝玉, 王海龙, 等, 2017. 不同氮肥施用量及基追比对藜麦产量及经济性状的影响 [J]. 农学学报, 7(12): 34-37.]

KAUSHAL T, ONDA M, ITO S, et al., 2006. Effect of deep placement of slow-release fertilizer (lime nitrogren) applied at different rates on growth, N_2 fixation and yield of soya bean (*Glycine max* [L.] Merr.) [J]. J Agron Crop Sci, 192(6): 417-426.

LI SX, WANG ZH, HU TT, et al., 2009. Chapter 3 nitrogen in dryland soils of China and its management [J]. Adv Agron, 101(8): 123-181.

LI X, ZHANG YQ, WANG DY, et al., 2015. Effects of coupling water and nitrogen on root physio-ecological indices and yield of adzuki bean [J]. Chin J Eco-Agric, 23(12): 1511-1519. [李鑫, 张永清, 王大勇, 等, 2015. 水氮耦合对红小豆根系生理生态及产量的影响 [J]. 中国生态农业学报, 23(12): 1511-1519.]

LI YY, SHAO MA, 2000. Physio-ecological response of spring wheat root to water and nitrogen [J]. Plant Nutr Fert Sci, 6(4): 383-388. [李秧秧, 邵明安, 2000. 小麦根系对水分和氮肥的生理生态反应 [J]. 植物营养与肥料学报, 6(4): 383-388.]

LI Z, SONG QL, YAN C, et al., 2014. Effect of fertilization depth on N, P, K absorption and yield in corn [J]. J Maize Sci, 22(4): 132-136. [李振, 宋秋来, 闫超, 等, 2014. 种肥深度对东北北部春玉米氮磷钾吸收及产量的影响 [J]. 玉米科学, 22(4): 132-136.]

LIU W, ZHOU JX, XIE YY, et al., 2019. Ammonia volatilization and nitrogen use efficiency in the field of fresh edible maize as affected by different band fertilization depths of controlled-release urea [J]. Chin J Appl Ecol, 30(4): 1295-1302. [刘威, 周剑雄, 谢媛圆, 等, 2019. 控释尿素条施深度对鲜食玉米田间氨挥发和氮肥利用率的影响 [J]. 应用生态学报, 30(4): 1295-1302.]

LIU WY, HE B, YANG FY, et al., 2019. Physiological response to drought and re-watering of different quinoa varieties [J]. Pratact Sci, 36(10): 2656-2666. [刘文瑜, 何斌, 杨发荣, 等, 2019. 不同品种藜麦幼苗对干旱胁迫和复水的生理响应 [J]. 草业科学, 36(10): 2656-2666.]

LIU XY, TIAN CY, 2007. Coupling effect of water and nitrogen of cotton under plastic mulching by drip irrigation [J]. Plant Nutr Fert Sci, 13(2): 286-291. [刘新永, 田长彦, 2007. 棉花膜下滴灌水氮耦合效应研究 [J]. 植物营养与肥料学报, 13(2): 286-291.]

LU PP, WU J, HU XR, et al., 2014. Effects of nitrogen application depth on yield and nutrient utilization of rape seed [J]. Chin Agric Sci Bull, 30(30): 34-37. [鲁飘飘, 武际, 胡现荣, 等, 2014. 氮肥基施深度对油菜产量和养分吸收利用的影响 [J]. 中国农学通报, 30(30): 34-37.]

NI RJ, ZHANG YQ, PANG CH, et al., 2015. Plastic response of quinoa seedling to change of water and nitrogen coupling [J]. Crops, (6): 91-98. [倪瑞军, 张永清, 庞春花, 等, 2015. 藜麦幼苗对水氮耦合变化的可塑性响应 [J]. 作物杂志, (6): 91-98.]

PANG CH, ZHANG ZW, ZHANG YQ, 2017. Effect of water and phosphorus coupling on root growth, biomass allocation and yield of quinoa [J]. Sci Agric Sin, 50(21): 4107-4117. [庞春花, 张紫薇, 张永清, 2017. 水磷耦合对藜麦根系生长、生物量积累及产量的影响 [J]. 中国农业科学, 50(21): 4107-4117.]

SHAO LF, GONG YB, GUAN L, et al., 2012. Effects of

different moisture gradients and N-fertilizer levels on *Cupressus chengiana* seedling growth [J]. Bull Soil Water Conserv, 3(21): 45-53. [邵丽芳, 宫渊波, 关灵, 等, 2012. 不同水氮条件对岷江柏幼苗生长的影响 [J]. 水土保持通报, 3(21): 45-53.]

SHEN YF, LI SQ, 2019. Effect of fertilization depth on root characteristics and hydraulic lift of winter wheat under different water treatments [J]. J NW A & F Univ(Nat Sci Ed), 47(4): 65-73. [沈玉芳, 李世清, 2019. 施肥深度对不同水分条件下冬小麦根系特征及提水作用的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 47(4): 65-73.]

SHI Y, WEI DB, YU ZW, et al., 2011. Influence of fertilization depth on root system senescence of upland wheat after anthesis [J]. Chin J Appl Ecol, 12(4): 573-575. [石岩, 位东斌, 于振文, 等, 2011. 施肥深度对旱地小麦花后根系衰老的影响 [J]. 应用生态学报, 12(4): 573-575.]

SU ZF, YANG WP, DU TQ, et al., 2016. Effect of fertilization depth on maize root and rhizosphere soil fertility vertical distribution in immature loess subsoil [J]. Chin J Eco-Agric, 24(2): 142-153. [苏志峰, 杨文平, 杜天庆, 等, 2016. 施肥深度对生土地玉米根系及根际土壤肥力垂直分布的影响 [J]. 中国生态农业学报, 24(2): 142-153.]

SUN Q, WANG JF, WANG SF, et al., 2007. Influence of fertilization depth on NPK content in leaves, yield and fruit quality of grapevine [J]. J Fruit Sci, 24(4): 445-459. [孙权, 王静芳, 王素芳, 等, 2007. 不同施肥深度对酿酒葡萄叶片养分和产量及品质的影响 [J]. 果树学报, 24(4): 445-459.]

WU P, WANG YF, YANG KJ, et al., 2018. Effect of different nitrogen form and ratios on yield of maize and soil nutrient and enzymatic activity [J]. Soil Fert Sci Chin, (5): 24-32. [武鹏, 王玉凤, 杨克军, 等, 2018. 不同氮素形态及配比对土壤养分和酶活性及玉米产量的影响 [J]. 中国土壤与肥料, (5): 24-32.]

WU RN, SHI FY, XU B, 2020. Zhilixing response and adaptation strategy to drought stress and rehydration [J]. Chin J Eco-Agric, 28(12): 1901-1912. [乌日娜, 石凤翎, 徐舶, 2020. 直立型扁蓿豆对干旱胁迫和复水的响应及适应策略 [J]. 中国生态农业学报, 28(12): 1901-1912.]

YANG YM, SUN YM, JIA LL, et al., 2016. Effect of base nitrogen application depth on summer maize yield, nitrogen utilization efficiency and nitrogen residue [J]. J Plant Nutr Fert, 22(3): 830-837. [杨云马, 孙彦铭, 贾良良, 等, 2016. 氮肥基施深度对夏玉米产量、氮素利用及氮残留的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 22(3): 830-837.]

YU XF, GAO JL, YE J, et al., 2013. Effects of deep loosening with nitrogen deep placement on root growth, grain yield and nitrogen use efficiency of super high-yield spring maize [J]. J Maize Sci, 21(1): 114-119. [于晓芳, 高聚林, 叶君, 等, 2013. 深松及氮肥深施对超高产春玉米根系生长、产量及氮肥利用效率的影响 [J]. 玉米科学, 21(1): 114-119.]

YUE K, WEI XH, LIU WY, et al., 2019. Evaluation of drought tolerance of various quinoa species under PEG stress [J]. Agric Res Arid Areas, 37(3): 52-59. [岳凯, 魏小红, 刘文瑜, 等, 2019. PEG 胁迫下不同品系藜麦抗旱性评价 [J]. 干旱地区农业研究, 37(3): 52-59.]

ZHANG RH, GUO DW, ZHANG XH, et al., 2012. Effects of nitrogen on photosynthesis and antioxidant enzyme activities of maize leaf under drought stress [J]. J Maize Sci, 20(6): 118-122. [张仁和, 郭东伟, 张兴华, 等, 2012. 干旱胁迫下氮肥对玉米叶片生理特性的影响 [J]. 玉米科学, 20(6): 118-122.]

ZHANG XK, RENGEL Z, 2002. Temporal dynamics of gradients of phosphorus, ammounium, pH, and electrical conductivity between a diammonium phosphate band and wheat roots [J]. Crop Pasture Sci, 53(53): 985-992.

ZHANG Y, QIN HD, HUANG M, et al., 2014. Effect of different nitrogen application modes on root growth, rhizosphere soil characteristics and rice yield under no-tillage [J]. Guihaia, 34(5): 681-685. [张玉, 秦华东, 黄敏, 等, 2014. 氮肥运筹对免耕水稻根系生长、根际土壤特性及产量的影响 [J]. 广西植物, 34(5): 681-685.]

ZHANG YQ, LI H, MIAO GY, 2006. Effect of fertilization depth on distribution and late senescence of root system of spring wheat [J]. Soils, 38(1): 110-112. [张永清, 李华, 苗果园, 2006. 施肥深度对春小麦根系分布及后期衰老的影响 [J]. 土壤, 38(1): 110-112.]

ZHANG YQ, MIAO GY, 2006. Biological response of winter wheat root system to ferilization depth [J]. Chin J Eco-Agric, 14(4): 72-75. [张永清, 苗果园, 2006. 冬小麦根系对施肥深度的生物学响应研究 [J]. 中国生态农业学报, 14(4): 72-75.]

ZHANG ZL, QU WJ, LI XF, 2009. Plant physiology experiment guidance [M]. 4th ed. Beijing: Higher Education Press: 32-227. [张志良, 瞿伟菁, 李小芳, 2009. 植物生理学实验指导 [M]. 4 版. 北京: 高等教育出版社: 32-227.]

ZHAO TF, XIAO HJ, ZHAO H, et al., 2020. Response of maize yield, biological traits and nutrient utilization and soil fertility to fertilization depth in Guizhou [J]. J Irr Drain, 39(Supp. 1): 21-25. [赵堂甫, 肖厚君, 赵欢, 等, 2020. 基肥深施对贵州高产玉米产量和养分吸收利用的影响 [J]. 灌溉排水学报, 39(Supp. 1): 21-25.]

ZHENG Y, HUANG J, FAN WF, et al., 2011. Effect of different fertilization depths on yield characters of cassava [J]. Acta Agric Jiangxi, 23(11): 135-136. [郑玉, 黄洁, 范伟峰, 等, 2011. 施肥深度对木薯产量性状的影响 [J]. 江西农业学报, 23(11): 135-136.]

(责任编辑　周翠鸣)

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1232-1239 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202101032

杨文敏, 严浙楠, 毛纪隆, 等. 外源水杨酸对铝胁迫下菊芋根系分泌物的影响 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1232-1239.
YANG WM, YAN ZN, MAO JL, et al. Effects of exogenous SA on root exudates of *Helianthus tuberosus* under aluminum stress [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1232-1239.

外源水杨酸对铝胁迫下菊芋根系分泌物的影响

杨文敏, 严浙楠, 毛纪隆, 倪晓菁, 黄家妮, 潘蕾蕾, 张雅琦, 娄赛炜, 杨颜裴, 张丽宇, 刘 鹏*

(浙江师范大学 植物学实验室, 浙江 金华 321004)

摘 要: 为探究铝胁迫对菊芋根系分泌物的影响以及外源水杨酸(SA)的缓解作用,该文以耐铝型南京菊芋和铝敏感型资阳菊芋为试验材料,采用土培法,设置铝浓度 500 μmol·L^{-1},分析了不同浓度(10、100、1 000 μmol·L^{-1})SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌物中有机酸、氨基酸以及根尖相关代谢酶活的影响。结果表明:(1)单铝胁迫会导致菊芋根系分泌物中柠檬酸、草酸、苹果酸浓度升高,且南京菊芋升高幅度大于资阳菊芋;柠檬酸合酶和苹果酸脱氢酶在单铝胁迫下活性增强;脯氨酸含量显著提升,总氨基酸浓度均显著减少。(2)外源 SA 加入后,南京菊芋根系分泌的柠檬酸、草酸、苹果酸浓度均得到不同程度提高,但经高浓度(1 000 μmol·L^{-1})SA 处理后资阳菊芋根系分泌草酸显著降低,且在各浓度 SA 处理下苹果酸浓度均无明显变化;柠檬酸合酶活性出现不同程度的增强,但对南京菊芋根尖中苹果酸脱氢酶活性影响不大,且高浓度(1 000 μmol·L^{-1})SA 处理后显著降低了资阳菊芋根尖中苹果酸脱氢酶活性;脯氨酸含量显著下降,从总氨基酸浓度变化来看,南京菊芋在高浓度(1 000 μmol·L^{-1})SA、资阳菊芋在低浓度(10 μmol·L^{-1})SA 处理下得到最大缓解效果。因此,菊芋通过分泌有机酸应对铝毒侵害,外源 SA 可促进菊芋根系有机酸代谢速率,分泌更多的有机酸来缓解铝胁迫,这种缓解效果在耐铝性相对较强的南京菊芋中表现更好。

关键词: 菊芋, 红壤地区, 铝胁迫, 水杨酸, 根系分泌物

中图分类号: Q945 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-3142(2022)07-1232-08

Effects of exogenous SA on root exudates of *Helianthus tuberosus* under aluminum stress

YANG Wenmin, YAN Zhenan, MAO Jilong, NI Xiaojing, HUANG Jiani, PAN Leilei, ZHANG Yaqi, LOU Saiwei, YANG Yanpei, ZHANG Liyu, LIU Peng*

(*Botany Laboratory*, *Zhejiang Normal University*, Jinhua 321004, Zhejiang, China)

Abstract: To investigate the effects of aluminum stress on root exudates of *Helianthus tuberosus* and the alleviating effect of exogenous salicylic acid (SA), we used aluminum-tolerant Nanjing *H. tuberosus* and aluminum-sensitive Ziyang *H. tuberosus* as experimental materials and set aluminum concentration of 500 μmol·L^{-1} by soil culture method, and

收稿日期: 2021-03-21

基金项目: 国家自然科学基金(32001224, 41702181, 30540056);浙江省公益技术研究农业项目(2011C22053);浙江省自然科学基金(Y307408)[Supported by National Natural Science Foundation of China (32001224, 41702181, 30540056); Zhejiang Public Technology Research Agricultural Project (2011C22053); Zhejiang Natural Science Foundation (Y307408)]。

第一作者: 杨文敏(1995-),硕士研究生,研究方向为植物逆境生理,(E-mail)1397510322@qq.com。

*通信作者: 刘鹏,博士,教授,主要从事植物生理生态、环境生态、植物营养、生物多样性保护的研究,(E-mail)sky79@zjnu.cn。

analyzed the effects of different concentrations (10, 100, 1 000 μmol · L^{-1}) of SA on the organic acids and amino acids in root exudates of *H. tuberosus* and related metabolic enzymes in root tips under aluminum stress. The results were as follows: (1) Concentrations of citric acid, oxalic acid and malic acid in the root exudates of *H. tuberosus* increased under single Al stress, and the increase was greater in Nanjing *H. tuberosus* than in Ziyang *H. tuberosus*; The activities of citrate synthase and malate dehydrogenase increased under single Al stress; The proline content increased significantly, and the concentration of total amino acids decreased significantly. (2) The concentrations of citric acid, oxalic acid and malic acid secreted by the root system of Nanjing *H. tuberosus* were increased to different degrees after the addition of exogenous SA, but the oxalic acid secreted by the root system of Ziyang *H. tuberosus* was significantly reduced after treatment with high concentration (1 000 μmol · L^{-1}) of SA, and there was no significant change in malic acid concentration under all concentrations of SA treatment; The citrate synthase activity appeared to be enhanced to different degrees, but it had little effect on malate dehydrogenase activity in the root tips of Nanjing *H. tuberosus*, and malate dehydrogenase activity in the root tips of Ziyang *H. tuberosus* was significantly reduced after treatment with high concentration (1 000 μmol · L^{-1}) of SA; The proline content decreased significantly, from terms of changes in total amino acid concentration, the maximum alleviating effect was obtained at high concentration (1 000 μmol · L^{-1}) SA for Nanjing *H. tuberosus* and at low concentration (10 μmol · L^{-1}) SA for Ziyang *H. tuberosus*. Therefore, *H. tuberosus* responds to aluminum toxicity by secreting organic acids, and exogenous SA can promote the rate of organic acid metabolism in the root system of *H. tuberosus* to secrete more organic acids to alleviate aluminum stress, and this alleviation effect is better in Nanjing *H. tuberosus*, which is relatively strong in aluminum tolerance.

Key words: *Helianthus tuberosus*, red soil region, aluminum stress, salicylic acid (SA), root exudates

红壤作为我国南方的地带性土壤,占近全国土地总面积的四分之一(陈永波和王成华,2001)。红壤具有较低的 pH(pH 值为 4~5.5),其中有机质和交换性盐基离子较少,加上我国南方酸雨发生频率高等原因,土壤酸化日益加重,活化了大量难溶性铝(Liu et al., 2015)。土壤中可溶性铝含量的增加显著提高了富铝化程度,对植物根系发育和水分、养分的吸收影响甚大,是目前公认的制约酸性土壤作物生长的主要因素之一(王宁等,2011)。植物对铝离子的耐受机制主要有两种,即体外排斥机制和内部耐受机制(李交昆和唐璐璐,2013)。其中植物根系分泌有机酸、酚类化合物、磷酸盐等改变根系环境,将铝离子螯合成无毒或毒性较小的化合物,增强植物内部对铝离子的吸收、转运和耐受,降低铝离子对植物体的危害(Zhang et al., 2019)。另外植物通过耐受基因的转录参与调控,有研究发现 *ART*1 与 *STOP*1 在调节植物对铝离子耐受性上有重要作用(Ohyama et al., 2013)。转录因子 *WRKY*46 和 *ASR*5 对耐铝基因的调控方式与 *ART*1 和 *STOP*1 调控方式不同,*WRKY*46 参与渗透胁迫反应和气孔运动的调节,*ASR*5 与 *STAR*1 基因的启动子区域结合,增强 *STAR*1 基因的表达,使水稻对铝离子的耐受性增强(Ding et al., 2013; Arenhart et al., 2013; Arenhart et al., 2014)。

菊芋(*Helianthus tuberosus*)又名洋姜、鬼子姜,菊科(Compositae),向日葵属(*Helianthus* L.),为多年生草本植物。该植物对各种生态环境的适应能力很强,全球范围内种植广泛(Wall et al., 1986; Wyse et al., 1986)。菊芋富含菊糖可作为生产乙醇、生物发酵及制取油脂的良好来源;作为药用植物,具有清热凉血和利水除湿等功效。为菊芋在南方种植的广泛推广,如何解决铝胁迫对菊芋生长的影响成为亟待解决的问题,因此开展菊芋根系分泌物中有机酸及相关代谢酶活性测定有助于进一步探清菊芋对铝胁迫的响应。

水杨酸(salicylic acid, SA)属酚类化合物,在植物体内广泛存在,为应对逆境的信号传导分子,它通过诱导病程相关蛋白(PR)基因的表达来使系统获得抗性(SAR)(Shiras et al., 1997)。许多研究表明其在缓解生物和非生物的胁迫下发挥重要作用,马志博等(2020)发现外源 SA 可提高盐胁迫下酸枣幼苗抗氧化能力,缓解盐胁迫对酸枣的伤害,提高植株净光合速率和生长量。曹林等(2015)探究得出铝胁迫下菊芋通过外源 SA 提高抗氧化酶活性和光合作用效率,但菊芋根尖分泌的有机酸和氨基酸如何应对铝胁迫条件,外源 SA 又发挥了怎么样的作用,这些问题值得探究。所

以本文将对铝胁迫条件下菊芋根系分泌物中柠檬酸、苹果酸、草酸、脯氨酸、氨基酸以及根尖柠檬酸合酶和苹果酸脱氢酶进行分析讨论,以期为菊芋在红壤酸铝地区的安全种植与应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取耐铝性较强的南京菊芋和耐铝性较弱的资阳菊芋作为本次试验材料。

1.2 试验方法

选取大小相同的菊芋块茎进行土培,放于光照培养箱中催芽(白天:30 ℃,90%相对湿度,60%光照,14 h;黑夜:26 ℃,80%相对湿度,0%光照,10 h),待其地上部长到 8 cm 左右时,再选择长势大致相同的菊芋幼苗移入带孔塑料盆中培养,每盆 3 株,每组设置 3 个重复。Al^{3+} 与完全营养液混合成等量处理液用来均匀喷洒至菊芋根系土壤,Al^{3+} 以 $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ 形式提供,利用稀释的 HCl 将处理液 pH 调节至 4.5。每天对菊芋叶片正反两面均匀喷洒等量 SA 溶液,处理 7 d,进行根系分泌物的收集。所用浓度根据实验室前期预实验所得,试验分组如表 1 所示。

表 1 试验处理分组情况

Table 1 Grouping of experimental treatments

试验编号 Experiment number	试验处理 Experimental treatment
T0	完全营养液 Complete nutrient solution (CNS)
T1	完全营养液+500 μmol · L^{-1} Al^{3+} CNS+500 μmol · L^{-1} Al^{3+}
T2	完全营养液+500 μmol · L^{-1} Al^{3+}+10 μmol · L^{-1} SA CNS+500 μmol · L^{-1} Al^{3+}+10 μmol · L^{-1} SA
T3	完全营养液+500 μmol · L^{-1} Al^{3+}+100 μmol · L^{-1} SA CNS+500 μmol · L^{-1} Al^{3+}+100 μmol · L^{-1} SA
T4	完全营养液+500 μmol · L^{-1} Al^{3+}+1 000 μmol · L^{-1} SA CNS+500 μmol · L^{-1} Al^{3+}+1 000 μmol · L^{-1} SA

根系分泌物收集:挑选健康完整的菊芋根系用蒸馏水进行冲洗 3~4 次,然后用滤纸将残留水吸干,同一处理每三株菊芋幼苗放入装有 200 mL 0.5 mmol · L^{-1} $CaCl_2$ 溶液的烧杯中,使根系完全浸入,用锡纸包裹烧杯底部避光,光照下收集 6 h,取出用 100 mL 去离子水清洗根系,共得 300 mL 根系分泌物,之后在 40 ℃的旋转蒸发仪下浓缩至 25 mL,将浓缩液过 0.45 μm 水系滤膜后,保存至-20 ℃待用测定各项指标。

粗酶液制取:称取植物 2 cm 根尖 0.1 g,置于 4 ℃冰浴的研钵中以 1 mL 提取液研磨成匀浆,提取液包含 100 mmol · L^{-1} Tris-HCl buffer (pH 8.0),0.1% (V/V) Triton X-100 (曲拉通-100),2% (W/V) PVP (聚乙烯基吡咯烷酮),10 mmol · L^{-1} 异抗坏血酸,以冷冻离心机在 4 ℃下 15 000 r · min^{-1} 离心 5 min,上清液用于酶活测定(Chen et al., 2009)。

1.3 指标测定

采用酸性茚三酮显色法测定脯氨酸含量(李小芳和张志良,2016)。采用高效液相色谱法(HPLC)测定柠檬酸、草酸、苹果酸和氨基酸浓度(王玉云等,2011)。柠檬酸合酶活性测定:取 20 μL 粗酶提取液加入 1 mL 柠檬酸合酶反应液[100 mmol · L^{-1} Tris-HCl buffer (pH 8.0),5 mmol · L^{-1} 氯化镁,0.5 mmol · L^{-1} DTNB,0.15 mmol · L^{-1} 乙酰辅酶 A,再加 4 mmol · L^{-1} 草酰乙酸混合,DTNB 注意避光]。通过测定 412 nm 处吸光值变化率,每隔 30 s 测定一次吸光度,记录其变化,时间为 3 min (Li et al., 2000)。苹果酸脱氢酶活性测定:取 20 μL 粗酶提取液加入 1 mL 苹果酸合酶反应液(100 mmol · L^{-1} pH 8.0 Tris-HCl buffer, 0.5 mmol · L^{-1} EDTA-Na_2, 0.2 mmol · L^{-1} NADH, 70 mmol · L^{-1} KCl),再加入 1 mL 1 mmol · L^{-1} 草酰乙酸启动反应。混匀后立即计时,每隔 30 s 在 340 nm 下测定 1 次吸光度,共测 3 min,以 NADH 的增加或减少作为评价标准(Johnson et al., 1994)。

1.4 数据处理

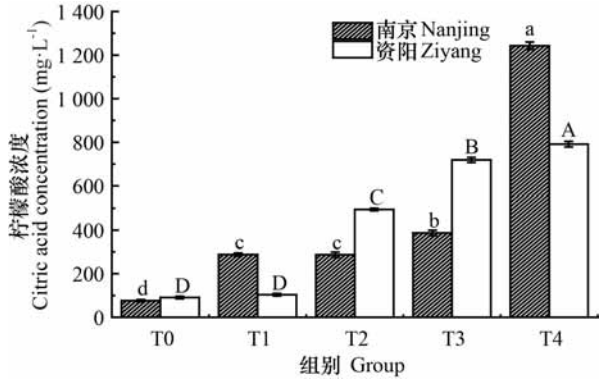
所有测定均设 3 次重复,计算平均值和标准误差,数据处理采用 SPSS 22.0 软件中的 Duncan 法进行显著性差异分析,用 Origin 8.5 软件制图。

2 结果与分析

2.1 外源 SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌物中柠檬酸浓度的影响

从图 1 可以看出,单铝处理组(T1)中,南京菊芋根系分泌物的柠檬酸浓度显著增加,提升了

2.78 倍($P<0.05$)，而资阳菊芋中柠檬酸浓度升高不明显，只升高了 14.78%($P>0.05$)，这显示出 2 个菊芋品种经铝胁迫处理后根系分泌物中柠檬酸浓度响应存在差异。2 个品种的柠檬酸浓度都随着 SA 浓度的增大而不断升高，其中南京菊芋 T4 与 T1 相比，上升幅度达 3.32 倍($P<0.05$)，资阳菊芋 T4 与 T1 相比，上升幅度达 6.63 倍($P<0.05$)，说明 SA 能够改变菊芋根系分泌物中柠檬酸浓度来应对铝的胁迫，而且对敏感型资阳菊芋的缓解效果更加明显。



具体组别介绍见表 1。大写字母表示资阳菊芋同一指标在不同处理之间的差异显著，小写字母表示南京菊芋同一指标在不同处理之间的差异显著($P<0.05$)。测定值以平均值±标准误表示。下同。

See Table 1 for detailed groups introduction. Capital letters indicate that the same index of Ziyang *Helianthus tuberosus* has significant differences between different treatments, and lowercase letters indicate that the same index of Nanjing *H. tuberosus* has significant differences between different treatments($P<0.05$). The measured value is expressed as $\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$. The same below.

图 1　外源 SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌物中柠檬酸浓度的影响

Fig. 1　Effects of exogenous SA on *Helianthus tuberosus* citric acid concentrations in root exudates under aluminum stress

2.2 外源 SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌物中草酸浓度的影响

从图 2 可以看出，单铝处理(T1)下显著增加了菊芋根系分泌物中的草酸浓度($P<0.05$)。不同浓度的外源 SA 处理后，南京菊芋的草酸浓度随着水杨酸浓度的不断增大而升高，最大值出现在 SA 浓度为 1 000 μmol · L^{-1}(T4)时，相比 T1 增长了 192.69%($P<0.05$)，而资阳菊芋中草酸含量在 100 μmol · L^{-1}外源 SA 处理(T3)时达到最大值，增加了 2.44 倍($P<0.05$)。1 000 μmol · L^{-1}外源 SA 处理(T4)时其草酸含量显著低于 T1($P<0.05$)，这可能是由于 SA 浓度过高对菊芋根系分泌草酸产生抑制作用。

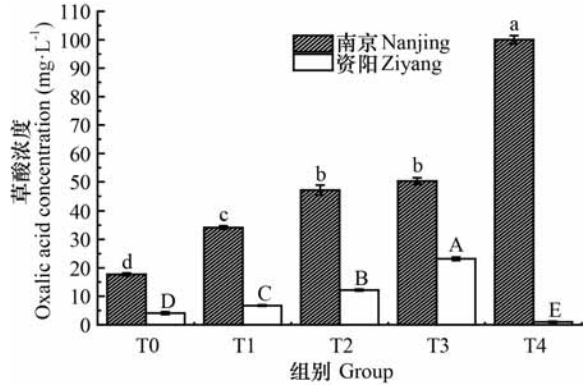


图 2　外源 SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌物中草酸浓度的影响

Fig. 2　Effects of exogenous SA on *Helianthus tuberosus* oxalic acid concentrations in root exudates under aluminum stress

2.3 外源 SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌物中苹果酸浓度的影响

如图 3 所示，单铝处理(T1)时，南京菊芋和资阳菊芋根系分泌物中苹果酸浓度与对照组(T0)相比并无明显变化。外源 SA 处理后，南京菊芋在 10 μmol · L^{-1}的外源 SA 加入(T2)时达到最大值，苹果酸浓度为 T1 时的 2.15 倍($P<0.05$)，资阳菊芋也在此浓度达到最大值，但上升程度不明显($P>0.05$)。

2.4 外源 SA 对铝胁迫下菊芋根尖柠檬酸合酶及苹果酸脱氢酶活性的影响

由表 2 可知，在对照组(T0)中，南京菊芋根尖柠檬酸合酶和苹果酸脱氢酶活性都显著低于资阳菊芋($P<0.05$)。在单铝处理组(T1)中，菊芋根尖中柠檬酸合酶活性得到提升。10、100、1 000 μmol · L^{-1} SA 的加入可不同程度地提升菊芋根尖中柠檬酸合酶活性，但在资阳菊芋中仅高浓度 SA(T4)处理后其活性发生明显升高($P<0.05$)。南京菊芋在 10 μmol · L^{-1} SA 加入(T2)时达到柠檬酸合酶活性最大值，与 T1 组相比上升了 1.46 倍($P<0.05$)。与单铝处理组相比，不同浓度外源 SA 加入后对南京菊芋根尖中苹果酸脱氢酶活性影响

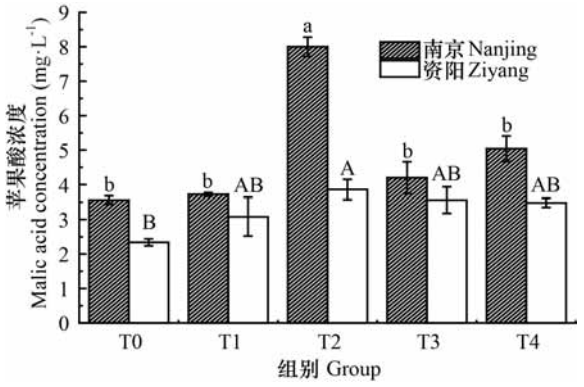


图 3 外源 SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌物中苹果酸浓度的影响

Fig. 3 Effects of exogenous SA on *Helianthus tuberosus* malic acid concentrations in root exudates under aluminum stress

表 2 外源 SA 对铝胁迫下菊芋根尖苹果酸脱氢酶和柠檬酸合酶活性的影响

Table 2 Effects of exogenous SA on *Helianthus tuberosus* malate dehydrogenase and citrate synthase activities in root tips under aluminum stress

酶活性 Enzyme activity	组别 Group	南京 Nanjing	资阳 Ziyang
柠檬酸合酶活性 Citrate synthase activity (U·g⁻¹·min⁻¹)	T0	0.20±0.02d	0.75±0.03b
	T1	0.26±0.04c	0.83±0.06b
	T2	0.64±0.01a	0.82±0.06b
	T3	0.45±0.01b	0.86±0.08b
	T4	0.44±0.01b	1.00±0.06a
苹果酸脱氢酶活性 Malate dehydrogenase activity (U·g⁻¹·min⁻¹)	T0	0.07±0.02a	0.23±0.01b
	T1	0.10±0.02a	0.47±0.01a
	T2	0.10±0.01a	0.44±0.01a
	T3	0.11±0.02a	0.39±0.02ab
	T4	0.12±0.01a	0.22±0.01b

注：不同小写字母表示显著性差异($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

不大，但显著降低了资阳菊芋根尖中苹果酸脱氢酶活性，最低值(T4)与最高值(T1)相比下降53.19%($P<0.05$)。

2.5 外源 SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌物中脯氨酸含量的影响

如图 4 所示，在单铝胁迫 T1 组中，南京菊芋和资阳菊芋根系分泌物脯氨酸含量均显著提升，分别升高了 3.79%和 3.08%($P<0.05$)。菊芋在加入不同浓度外源 SA 后，根系分泌物中脯氨酸含量与 T1 相比呈显著性下降趋势($P<0.05$)。南京菊芋在 SA 浓度 100 μmol·L^{-1}(T3)时下降最大，降低了 5.11%($P<0.05$)，而资阳菊芋在 SA 浓度为 1 000 μmol·L^{-1}(T4)时脯氨酸含量下降了 4.48%($P<0.05$)。

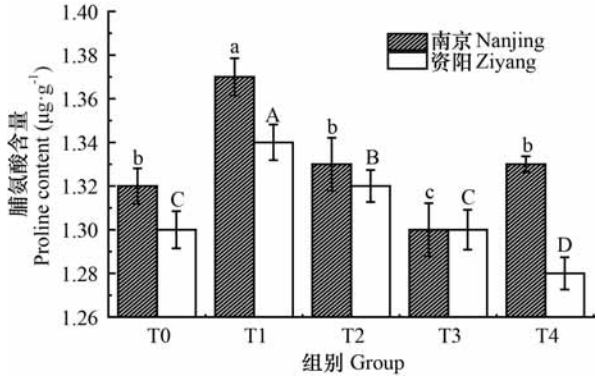


图 4 外源 SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌物中脯氨酸含量的影响

Fig. 4 Effects of exogenous SA on *Helianthus tuberosus* proline contents in root exudates under aluminum stress

2.6 外源 SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌物中氨基酸浓度的影响

如图 5 所示，在单铝处理组(T1)中，南京菊芋和资阳菊芋根系分泌物中总氨基酸浓度在铝处理下均大幅度下降，可见 500 μmol·L^{-1}铝离子浓度下氨基酸分泌会受阻，其中南京菊芋根系分泌物中氨基酸浓度降低显著，下降了 89.59%($P<0.05$)。南京菊芋的总氨基酸浓度在外源 SA 加入后呈现增加的趋势，高浓度(1 000 μmol·L^{-1}) SA 的加入(T4)使南京菊芋根系分泌物中总氨基酸浓度升高显著($P<0.05$)，资阳菊芋根系分泌物中总氨基酸浓度变化趋势与南京菊芋相反，低浓度(10 μmol·L^{-1}) SA(T2)使资阳菊芋根系分泌物中总氨基酸浓度显著高于 T1 且达到缓解的最高水平($P<0.05$)。

3 讨论与结论

曾有研究指出，在铝胁迫下植物根系分泌的柠檬酸、草酸、苹果酸等与铝胁迫浓度显著正相关(钱莲文等，2018)。铝胁迫处理对植物根系分泌

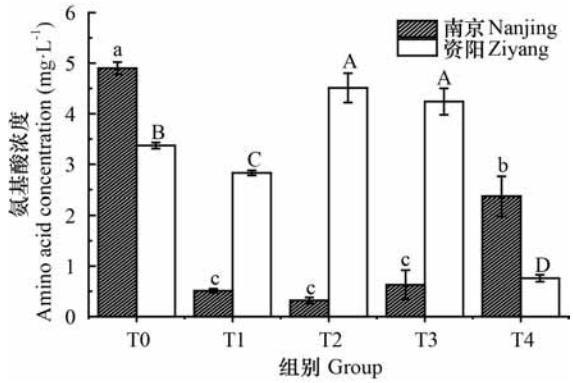


图 5　外源 SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌物中氨基酸浓度的影响

Fig. 5　Effects of exogenous SA on *Helianthus tuberosus* amino acid concentrations in root exudates under aluminum stress

柠檬酸的探究阐明，铝胁迫会使大豆（*Glycine max*）（徐跃滋，2015）、栝楼（*Trichosanthes kirilowii*）（高培培，2013）分泌的柠檬酸增多，我们的试验也检测到了这一指标的变化，并且发现若适当增加 SA 含量，根系分泌物中有机酸及根尖相关代谢酶发生利于植物生长的变化。与单铝组（T1）相比，当施加 10、100、1 000 μmol · L^{-1} SA 时，柠檬酸含量随缓解浓度的升高呈显著上升趋势，这表明了外源 SA 调节了菊芋根系对柠檬酸的合成代谢。另外，在探究外源 SA 对铝胁迫下菊芋根系分泌草酸含量的变化时，我们得到草酸在两地菊芋中有不同的表现：耐铝性强的南京菊芋随外源 SA 的加入，其草酸分泌量不断增加，并且随浓度的增加而上升，而铝敏感型的资阳菊芋却呈现出“低促高抑”的现象，过高浓度的 SA 可能对菊芋耐铝调节起不到正向作用，这与刘宁（2011）研究水杨酸对大豆耐铝性调控机制的结论一致，其发现低浓度（10 μmol · L^{-1}）SA 处理大豆能显著缓解 Al 对根伸长的抑制，降低 Al 在根尖中的积累，SA 浓度过高不仅不能缓解铝毒，反而还会造成双重胁迫。因此，认为单铝胁迫下菊芋根系 3 种有机酸的迅速增加有利于减少铝离子对根尖的伤害，外源施加的 SA 调节了菊芋根系有机酸及相关代谢酶对铝胁迫的响应，最终表现在植物体中有机酸不断积累，以达到缓解铝胁迫的目的，这与孔令楠（2013）所研究的铝胁迫下过氧化氢对大豆耐铝性调控及其与水杨酸信号互作关系结果一致。施加一定浓度外源 SA 后可缓解菊芋在铝胁迫下造成的损害，它可能通过影响相应酶对有机酸的分泌代谢产生作用，从而引起植株体内有机酸浓度的变化，增强菊芋的耐铝性。另外，Ma 等（2001）发现耐铝小麦在铝胁迫下根尖分泌的苹果酸比敏感品种多 5～10 倍。Ryan 等（1995）通过对 36 个品种小麦进行相同程度的铝处理，证明了根尖有机酸分泌量与其耐铝性呈正相关性。在 2 个菊芋品种对比中我们得到铝胁迫下南京菊芋根尖有机酸分泌量均大于资阳菊芋，可知耐铝性菊芋可分泌更多的有机酸来应对不良条件。

柠檬酸合酶（CS）和苹果酸脱氢酶（MDH）是与生物代谢相关的两种关键酶（徐爱红等，2020），前者是调控三羧酸循环（tricarboxylic acid cycle）的第一步反应，催化乙酰辅酶 A 和草酰乙酸形成柠檬酸，而后者可以催化苹果酸与草酰乙酸之间的可逆反应，是 TCA 循环的重要酶之一。植物个体通过提高 CS 酶的表达量来应对逆境条件（张宁宁，2012），本研究结果显示受铝胁迫后菊芋根系柠檬酸合酶活性有增强变化。外源 SA 加入后 2 个菊芋品种的 CS 酶上升趋势有所不同，南京菊芋需要的 SA 浓度远低于资阳菊芋，两者的柠檬酸含量在 CS 酶的催化作用下总体呈现上升趋势。苹果酸脱氢酶基因的表达量可以提高植物的耐铝能力（Tesfaye et al.，2001；Wang et al.，2010），说明 MDH 活性的强弱直接影响植物的耐铝性。通过探究我们发现铝胁迫与外源 SA 的处理对资阳菊芋有较大的影响，铝胁迫后其活性较之前有显著性差异而对耐铝性较强的南京菊芋没有显著的影响，可能是耐铝能力强的南京菊芋在遭受铝毒时，其 MDH 酶活性增强促使根系迅速分泌大量有机酸与 Al^{3+} 产生螯合作用，提高了植物的耐铝性。

氨基酸能够提高植物对外界非生物胁迫的适应性，当植物遇到外界胁迫条件时，氨基酸主要通过参与改变植物体内某些生理代谢，或调节相关基因表达和关键酶活性等方式来增强植物对各种逆境的适应性反应（宋奇超等，2012）。在单铝胁迫时菊芋脯氨酸含量均显著增加，这与王丹等（2011）的结缕草抗寒性研究结果一致，表明植物在逆境胁迫下可以通过增加脯氨酸含量来维持自身细胞内外压力平衡。当外源 SA 加入后，胁迫程度得到一定的缓解，菊芋根系分泌的脯氨酸含量

都有所下降,这在大豆试验中也得到证实(刘宁,2011)。铝胁迫下菊芋根系分泌的总氨基酸浓度显著下降,菊芋总氨基酸含量下降的原因之一可能是受到了高浓度的铝胁迫,其根系遭到破坏,从而导致氨基酸分泌量下降;另一种原因可能是铝胁迫对氨基酸内部的不同成分有不同的影响,使细胞内正常游离态氨基酸的数量产生变化,一部分氨基酸增加,另一部分氨基酸减少,总量呈现减少的趋势。加入 SA 后氨基酸浓度有所上升,但仍达不到正常水平,所以认为在 500 μmol · L^{-1}铝胁迫下菊芋主要通过分泌有机酸减弱铝对植物的危害。氨基酸浓度虽然在加入 SA 后有所上升,但依旧远小于 3 种有机酸,因此氨基酸更可能以营养作用为主,解毒只能起到辅助效果,这在铝胁迫下常绿杨根系有机酸和氨基酸的分泌试验中得到了印证(钱莲文等,2018)。

综上所述,Al^{3+}胁迫使菊芋根系分泌物中有机酸、氨基酸等指标受到显著影响。铝能诱导菊芋根系分泌有机酸,有机酸的分泌与菊芋抗逆境响应密切相关。施加外源 SA 后,资阳菊芋中草酸浓度显示出“低促高抑”的效果,除此之外菊芋根系分泌物中柠檬酸、草酸、苹果酸浓度与单铝胁迫下相比有不同程度的增加,其中在南京菊芋组中表现更为明显。在单铝胁迫下,菊芋根系分泌的总氨基酸低于正常环境下的分泌量,外源 SA 加入后总体呈现上升趋势。综合评价认为一定浓度外源 SA 加入后可通过根系分泌更多的有机酸缓解铝胁迫,且在耐铝性较强的南京菊芋中缓解效果更好。

参考文献:

ARENHART RA, BAI Y, OLIVEIRA LFV, et al., 2014. New insights into aluminum tolerance in rice: the *ASR*5 protein binds the *STAR*1 promoter and other aluminum-responsive genes [J]. Mol Plant, 7(4): 709-721.

ARENHART RA, DELIMA JC, PEDRON M, et al., 2013. Involvement of *ASR* genes in aluminium tolerance mechanisms in rice [J]. Plant Cell Environ, 36(1): 52-67.

CAO L, WU YH, ZHANG Y, 2015. Effects of exogenous salicylic acid on photosynthetic characteristics and aluminum tolerance of *Trichosanthes kirilowii* under aluminum stress [J]. J Soil Water Conserv, 29(4): 260-266. [曹林, 吴玉环, 章艺, 等, 2015. 外源水杨酸对铝胁迫下菊芋光合特性及耐铝性的影响 [J]. 水土保持学报, 29(4): 260-266.]

CHEN LS, TANG N, JIANG HX, et al., 2009. Changes in organic acid metabolism differ between roots and leaves of *Citrus grandis* in response to phosphorus and aluminum interactions [J]. J Plant Physiol, 166(18): 2023-2034.

CHEN YB, WANG CH, 2001. Landslide system monitoring and forecasting [J]. Soil Water Conserv Res, 8(2): 112-114. [陈永波, 王成华, 2001. 滑坡系统监测及预报 [J]. 水土保持研究, 8(2): 112-114.]

DING ZJ, YAN JY, XU XY, et al., 2013. *WRKY*46 functions as a transcriptional repressor of *ALMT*1, regulating aluminum-induced malate secretion in *Arabidopsis* [J]. Plant J Cell Mol Biol, 76(5): 825-835.

GAO PP, 2013. Regulating mechanism of salicylic acid on aluminum resistance in *Trichosanthes kirilowii* Maxim. [D]. Jinhua: Zhejiang Normal University. [高培培, 2013. 水杨酸对栝楼耐铝性的调控机理研究 [D]. 金华: 浙江师范大学.]

JOHNSON JF, ALLAN DL, VANCE CP, 1994. Phosphorus stress induced proteoid roots show altered metabolism in *Lupinus albus* [J]. Plant Physiol, 10(4): 657-665.

KONG LN, 2013. The regulation mechanism of hydrogen peroxide on aluminum tolerance of soybean and its interaction with salicylic acid under aluminum stress [D]. Changchun: Jilin University. [孔令楠, 2013. 铝胁迫下过氧化氢对大豆耐铝性的调控及其与水杨酸信号互作关系的研究 [D]. 长春: 吉林大学.]

LI JK, TANG LL, 2013. Research advances on the molecular mechanisms of aluminum tolerancein plants [J]. Chin Bull Life Sci, 25(6): 588-594. [李交昆, 唐璐璐, 2013. 植物抗铝分子机制研究进展 [J]. 生命科学, 25(6): 588-594.]

LI XF, MA JF, MATSUMOTO H, 2000. Pattern of aluminum-induced secretion of organic acids differs between rye and wheat [J]. Plant Physiol, 123(4): 1537-1543.

LI XF, ZHANG ZL, 2016. Experimental guidance on plant physiology [M]. 5th ed. Beijing: Higher Education Press. [李小芳, 张志良, 2016. 植物生理学实验指导 [M]. 5 版. 北京: 高等教育出版社.]

LIU N, 2011. Regulating mechanism of salicylic acid on aluminum resistance in soybean (*Glycine max* L.) [D]. Changchun: Jilin University. [刘宁, 2011. 水杨酸对大豆耐铝性的调控机制 [D]. 长春: 吉林大学.]

LIU PY, LI YJ, WEN QL, et al., 2015. Mechanism and kinetics of aluminum dissolution during copper sorption by acidity paddy soil in South China [J]. J Environ Sci, 34(8): 100-106.

MA JF, RYAN PR, DELHAIZE E, 2001. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids [J]. Trend Plant Sci, 6(6): 273-278.

MA ZB, CHEN RH, HE AB, et al., 2020. Effects of exogenous

salicylic acid on physiological responses and ion absorption of wild jujube (*Ziziphus jujuba* var. *spinosa*) seedlings under salt stress [J]. J NW For Univ, 35(6): 103-109. [马志博, 陈蕊红, 贺傲兵, 等, 2020. 外源水杨酸对盐胁迫下酸枣幼苗生理特性及离子吸收的影响 [J]. 西北林学院学报, 35(6): 103-109.]

OHYAMA Y, ITO H, KOBAYASHI Y, et al., 2013. Characterization of *AtSTOP*1 orthologous genes in tobacco and other plant species [J]. Plant Physiol, 162(4): 1937-1946.

QIAN LW, LI QB, SUN JW, et al., 2018. The secretion of organic acids and amino acids in roots of evergreen poplar under aluminum stress [J]. J Xiamen Univ (Nat Sci Ed) 263(2): 79-85. [钱莲文, 李清彪, 孙境蔚, 等, 2018. 铝胁迫下常绿杨根系有机酸和氨基酸的分泌 [J]. 厦门大学学报(自然科学版), 263(2): 79-85.]

RYAN PR, DELHAIZE E, RANDALL PJ, 1995. Malate efflux from root apices and tolerance to aluminium are highly correlated in wheat [J]. Functi Plant Biol, 22(4): 531-536.

SHIRAS K, NAKAJIMA H, RAJASHEKAR K, 1997. Salicylic acid potentiates an agonist dependent gain control that amplifies pathogen signal in the activation of defense mechanisms [J]. Plant Cell, 9(2): 261-270.

SONG QC, CAO FQ, GONG YY, et al., 2012. Current research progresses of amino acids uptake, transport and their biological roles in higher plants [J]. J Plant Nutr Fert, 18(6): 1507-1517. [宋奇超, 曹凤秋, 巩元勇, 等, 2012. 高等植物氨基酸吸收与转运及生物学功能的研究进展 [J]. 植物营养与肥料学报, 18(6): 1507-1517.]

TESFAYE M, TEMPLE SJ, ALLEN DL, et al., 2001. Overexpression of malate dehydrogenase intransgenic alfalfa enhances organic acid synthesis and confer tolerance to aluminum [J]. Plant Physiol, 127(4): 1836-1844.

WALL DA, KIEHN FA, FRIESEN GH, 1986. Control of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) in barley (*Hordeum vulgare*) [J]. Weed Sci, 34(5): 761-764.

WANG D, XUAN JP, GUO HL, et al., 2011. Seasonal changes of freezing tolerance and its relationship to the contents of carbohydrates, proline, and soluble protein of *Zoysia* [J]. Acta Pratact Sin, 20(4): 98-107. [王丹, 宣继萍, 郭海林, 等, 2011. 结缕草的抗寒性与体内碳水化合物, 脯氨酸, 可溶性蛋白季节动态变化的关系 [J]. 草业学报, 20(4): 98-107.]

WANG N, ZHENG Y, WANG FM, et al., 2011. Effect of phosphorus on speciation and distribution of aluminum in the roots of buckwheat under aluminum toxicity [J]. J Soil Water Conserv, 25(5): 168-171. [王宁, 郑怡, 王芳妹, 等, 2011. 铝毒胁迫下磷对荞麦根系铝形态和分布的影响 [J]. 水土保持学报, 25(5): 168-171.]

WANG QF, ZHAO Y, YI Q, et al., 2010. Overexpression of malate dehydrogenase in transgenic tobacco leaves: enhanced malate synthesis and augmented Al-resistance [J]. Acta Physiol Plant, 32(6): 1209-1220.

WANG YH, WU J, BAI JL, et al., 2019. Determination and comparison of amino acid content in *Tricholoma matsutake* from different habitats [J]. Acta Nutr Sin, 41(5): 519-520. [王永辉, 吴瑾, 白家磊, 等, 2019. 不同产地松茸中氨基酸含量测定及比较 [J]. 营养学报, 41(5): 519-520.]

WANG YY, 2011. The influence of Cd stress on roots exudation organie acid and amino acid and Cd content of the diflbrent rice [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University. [王玉云, 2011. Cd 胁迫对不同水稻根系分泌有机酸和氨基酸及根系 Cd 含量的影响 [D]. 成都: 四川农业大学.]

WYSE DL, YOUNG FL, JONES RJ, 1986. Influence of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) density and duration of interference on soybean (*Glycine max*) growth and yield [J]. Weed Sci, 34(2): 243-247.

XU AH, XU CS, LIU LX, et al., 2020. The effects of pollination varieties on organic acid accumulation and key enzyme activities of metabolism in 'Red Fuji' apple fruit [J]. J Plant Physiol, 56(9): 1955-1962. [徐爱红, 徐臣善, 刘丽霞, 等, 2020. 授粉品种对'红富士'苹果果实有机酸积累和代谢关键酶活性的影响 [J]. 植物生理学报, 56(9): 1955-1962.]

XU YZ, 2015. The expression of soybean *NADP-ME* gene and its relationship with citrate efflux under aluminum stress [D]. Changchun: Jilin University. [徐跃滋, 2015. 铝胁迫下大豆 *NADP-ME* 基因表达及与柠檬酸分泌的关系 [D]. 长春: 吉林大学.]

ZHANG NN, 2012. Physiological responses and citrate synthase mechanism of *Sinapis alba* under drought stress [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University. [张宁宁, 2012. 干旱条件下白芥的生理差异与柠檬酸合酶表达研究 [D]. 郑州: 郑州大学.]

ZHANG X, LONG Y, HUANG JJ, 2019. Molecular mechanisms for coping with Al toxicity in plants [J]. Int J Mol Sci, 20(7): 1551. DOI: 10.3390/ijms20071551.

(责任编辑　周翠鸣)

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1240-1247 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202011034

刘天凤, 谢川, 郭松, 等. 土壤石砾含量对掌叶木幼苗生长和根系特征的影响 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1240-1247.
LIU TF, XIE C, GUO S, et al. Influence of gravel content of soil on growth and root characteristics of *Handeliodendron bodinieri* seedlings [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1240-1247.

土壤石砾含量对掌叶木幼苗生长和根系特征的影响

刘天凤, 谢　川, 郭　松, 李在留*

(广西大学 林学院, 南宁 530004)

摘　要: 为探讨土壤石砾含量对珍稀濒危植物掌叶木幼苗生长和根系的影响,该研究以 1 个月生掌叶木幼苗为试验材料,进行 5 种不同土壤石砾含量[0(CK),20%,40%,60%和 80%]盆栽试验,筛选最适宜掌叶木幼苗生长的土壤石砾含量。结果表明:(1)土壤石砾含量对掌叶木幼苗生长有极显著影响,其中幼苗苗高和地径相对增长率、叶面积、苗木质量指数、生物量(根、叶和全株)和根冠比均在土壤石砾含量为 40%时最大。(2)土壤石砾含量对掌叶木幼苗根系形态具有极显著影响,总根长和根表面积在土壤石砾含量为 40%时最大;而根系平均直径随石砾含量增加逐渐减小,当土壤石砾含量高达 80%时,根系平均直径最小。(3)土壤石砾含量对掌叶木幼苗根系拓扑结构和分形特征无显著影响,而对根系平均连接长度和分叉数有极显著影响,其中各处理根系拓扑指数(TI)、修正拓扑指数(q_a 和 q_b)均趋近于 1,即掌叶木幼苗根系在不同土壤石砾含量中分支模式更趋近于鱼尾形分支;根系平均连接长度随石砾含量增加先增大后减小,在土壤石砾含量 40%时最大;根系分叉数随石砾含量增加逐渐减小。(4)综合评价幼苗生长和根系形态与构型指标表明,掌叶木幼苗在 40%土壤石砾含量中地下根系和地上茎叶生长状况最好。因此,土壤添加适量石砾能促进掌叶木幼苗生长,当石砾含量为 40%时幼苗生长效果最好,苗木质量指数最高,最适宜掌叶木幼苗生长。

关键词: 掌叶木幼苗, 土壤石砾含量, 生长指标, 根系形态, 根系构型

中图分类号: Q948　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1000-3142(2022)07-1240-08

Influence of gravel content of soil on growth and root characteristics of *Handeliodendron bodinieri* seedlings

LIU Tianfeng, XIE Chuan, GUO Song, LI Zailiu*

(*Forestry College of Guangxi University*, Nanning 530004, China)

Abstract: In order to explore the influence of gravel content of soil on the growth and root of the rare and endangered plant *Handeliodendron bodinieri* seedlings, one month age of *H. bodinieri* seedlings were used as materials and five pot experiments with different soil gravel contents [0 (CK), 20%, 40%, 60% and 80%] were carried out and the most suitable soil gravel content for the growth of *H. bodinieri* seedlings were selected. The results were as follows: (1) The gravel content of soil had a highly significant influence on the growth of *H. bodinieri* seedlings. Seedling height and ground diameter of relative growth rate, leaf area, seedling quality index, biomass (root, leaf and whole plant) and root-shoot ratio were all maximum when gravel content was 40%. (2) The gravel content of soil had a very significant

收稿日期: 2021-06-19

基金项目: 国家自然科学基金(31560200)[Supported by National Natural Science Foundation of China (31560200)]。

第一作者: 刘天凤(1995-),硕士研究生,研究方向为森林培育,(E-mail)ltfltfll@163.com。

*通信作者: 李在留,博士,副教授,研究方向为植物资源保护、繁育与利用等,(E-mail)lizailiu666@163.com。

influence on root morphology of *H. bodinieri* seedlings. The total root length and root surface area all reached the maximum when gravel content was 40%. However, the root average diameter decreased with the increase of the gravel content, and reached the minimum when the gravel content of soil was 80%. (3) The gravel content of soil had no obvious influence on root topological architecture and fractal characteristic of *H. bodinieri* seedlings, but had very significant influence on root average link length and root forks numbers. Root topological index (TI), modified topological index (q_a, q_b) all tended to be one in every treatment, so the branching pattern of the roots of *H. bodinieri* seedlings was close to fishtail branching in different gravel contents of soil. The root average link length increased first and then decreased with the increase of gravel content, and reached the maximum at 40% gravel content. The root forks number of *H. bodinieri* seedlings showed a gradually decreasing growth trend with the increase of gravel content. (4) According to the results of comprehensive evaluation of the seedlings growth, root morphology and architecture, *H. bodinieri* seedlings had the best growth status when the gravel content of soil was 40%. Therefore, adding a suitable amount of gravel in the soil can promote the growth of *H. bodinieri* seedlings. The seedling growth status and seedings quality index were the best under the treatment of gravel content of 40%.

Key words: *Handeliodendron bodinieri* seedlings, gravel content of soil, growth indexes, root morphology, root architecture

石砾是土壤中常见的固体颗粒,可通过改变土壤内部结构和理化性质影响苗木的生长发育,同样由于根系分泌物、根系共生微生物、死亡根系等作用可促进土壤的形成和发育,因此植物亦可作为石砾和土壤之间的催化剂(王邵军,2020)。植物根系对植物生长非常重要,生长环境的改变导致植物根系形态的变化,根系长度、根表面积、根尖数以及根系分叉数等在一定程度上体现了植物根系探索土壤资源、吸收土壤养分和水分以及在土壤中的分布空间和生理代谢能力(杜明新等,2014;孙浩燕等,2014)。研究表明,不同土壤含石量对泡桐生长量有极显著影响,且土壤含石量为5%~15%时更适合泡桐生长(刘俊龙,2015);绿宝苹果幼树在多石砾黏壤土条件下种植更为适宜(张志晓等,2016);降香黄檀在50%石砾含量土壤中生长最佳(刘震等,2016)。因此,开展土壤石砾含量对植物幼苗生长的影响研究对促进苗木培育尤其是一些珍稀濒危植物的苗木培育具有重要意义。

掌叶木(*Handeliodendron bodinieri*)是中国特有珍稀濒危单属种孑遗植物(黄仕训等,2002),仅分布于广西、贵州以及云南交界喀斯特山区,是一种优良的石漠化治理和木本粮油树种(郭松等,2019),但掌叶木种子因富含油脂,易被动物采食,易受虫害,自然状态下更新能力极弱。因此,人工繁育对掌叶木种群扩繁、保护和适度利用意义重大。但是,掌叶木种子难贮藏,易霉变,萌发率低,幼苗生长弱,繁育较困难(周洪英和张著林,2000;李樱花等,2016)。因此,本研究基于掌叶木喀斯特生境的地域性分布特点,探讨不同土壤石砾含量对掌叶木幼苗生长和根系形态、构型特征的影响,并筛选最适宜其生长的土壤石砾含量,以期为掌叶木的人工培育、种群扩繁提供科学依据,为其喀斯特石山地区造林推广和生态治理奠定科学基础。

1　材料与方法

1.1 试验材料

试验于广西大学林学院苗圃(107°19′ E, 22°12′ N)进行。以苗高为(7.5±0.5) cm,地径为(1.9±0.5) mm,主根长为(5.0±1.0) cm 的 1 个月生掌叶木幼苗为试验材料,根据前期试验基础,采用规格为 15 cm(口径)×10.6 cm(底径)×13.0 cm(高)的塑料盆栽植;土壤为喀斯特地区过筛去除石砾和枯枝落叶等杂物的壤土,pH 为 7.16,全氮含量为 5.95 g·kg^{-1},全磷含量为 2.02 g·kg^{-1},全钾含量为 0.28 g·kg^{-1},有机质含量为 33.07 g·kg^{-1},土壤田间持水量为 26.2%;石砾为石山地区石灰岩,加工成约 0.5 cm^{3}的颗粒。

1.2 试验设计

试验时间为 2018 年 4 月至 2019 年 9 月,参考罗映虹等(2014)和杨昌儒等(2017)的研究方法,将土壤和石砾按照体积比配置成石砾含量为 0

(CK),20%,40%,60%和 80%的不同石砾含量土壤,并将掌叶木幼苗栽植到不同石砾含量土壤中,每盆 1 株,每个处理 15 株,重复 3 次。试验期间所有处理苗木采用统一的水肥管理。

1.3 试验方法

1.3.1 生长指标测定 在试验开始和结束时使用直尺测量苗高,游标卡尺测量地径,并计算各处理苗高和地径相对增长率。同时,在生长结束时采用手持激光叶面积仪,测定掌叶木幼苗功能叶片的叶面积。

1.3.2 根系形态、构型测定 2019 年 9 月对掌叶木幼苗进行破坏性取样,并进行根、茎和叶分离。通过根系扫描仪(Espon Perfection V700)获得根系图像,然后用 WinRHIZO 根系分析系统分析根系图像,以获得总根长、根表面积、根尖数、根系内外连接数、根系平均连接长度等根系指标。采用分形理论盒维数法获得根系分形维数和分形分度等根系构型指标(Ketipearachchi & Tatsumi,2000)。计算根系拓扑指数(topological index,TI)(TI = lg 最长根系路径内部连接总数/lg 根外部连接总数)(Fitter et al,1991)、修正拓扑指数 q_a 和 q_b(q_a = $\frac{\text{最长根系路径内部连接总数} - 1 - lbv_0}{\text{根外部连接总数} - 1 - lbv_0}$; q_b = $\frac{\text{根系平均拓扑长度} - 1 - lbv_0}{\frac{\text{根外部连接总数} + 1}{2} - \text{根外部连接总数}^{-1} - lbv_0}$; lbv_0 = ln 根外部连接总数 /ln2)(Oppelt et al,2001)、根系分叉数(根系分叉数=根系分枝数/总根长)(刘佳等,2010)。当 TI=1 和 TI=0 时,根系分别为鱼尾形分支和叉状分支;$q_a = q_b = 1$,根系为鱼尾形分支;$q_a = q_b = 0$ 根系为叉状分支。

1.3.3 生物量指标测定 将各处理掌叶木幼苗茎、叶和测量后的根系分别装入信封标记后置于 105 ℃杀青后温度调至 85 ℃烘干至恒重,用天平称量样品烘干后的质量,得到各组织生物量。并计算根冠比[根冠比=(根干重)/(茎干重+叶干重)]和苗木质量指数(qiality index,QI)(QI=总干质量/[(苗高/地径)+(茎干重/根干重)]。

1.4 数据处理及分析

采用 Excel 2010 处理数据,SPSS 24.0 进行显著性分析(显著水平为 $P<0.05$),以 Duncan 法进行多重比较,并参照刘济铭等(2019)的方法进行主成分分析。图表中数据为平均值±标准误差($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$)。

2 结果与分析

2.1 土壤石砾含量对掌叶木幼苗地上部分生长的影响

由表 1 可知,土壤石砾含量对掌叶木幼苗苗高和地径相对增长率、叶面积和苗木质量指数均具有极显著影响($P<0.01$)。其中,不同处理对幼苗苗高生长影响不同,石砾含量 20%和 80%时苗高相对增长率相比 CK 有所减小,但未达到显著水平;而 40%和 60%时苗高相对增长率显著高于 CK,且在 40%时最大。各处理地径相对增长率随石砾含量增加先增大后减小,其中 20%、40%和 60%处理显著促进地径生长,80%处理下地径生长受抑制。对叶面积而言,随石砾含量增加影响作用先增大后减小,石砾含量 40%处理下叶面积显著高于 CK,而 80%处理下叶面积生长受抑制,显著低于 CK。苗木质量指数随石砾含量增加呈先增大后减小的生长趋势,其中 40%处理下苗木质量指数显著高于其余各处理。

2.2 土壤石砾含量对掌叶木幼苗生物量分配的影响

从表 2 可知,土壤石砾含量对掌叶木幼苗生物量(根、茎、叶和全株)和根冠比均有极显著影响($P<0.01$)。根生物量随石砾含量逐渐增加先增大后减小;相较于 CK,石砾含量 20%和 40%处理下显著促进根生物量积累,而 80%处理下显著抑制根生物量积累。对茎生物量而言,40%和 80%处理下显著抑制茎生物量积累,仅有 20%处理下显著促进其积累。相比于 CK,20%、60%和 80%处理下显著抑制叶生物量积累,而 40%处理下显著促进叶生物量积累。全株生物量随石砾含量逐渐增加先增大后减小,在石砾含量 40%处理下显著高于其余各处理。对根冠比而言,添加不同石砾含量均显著促进其增大,且在石砾含量 40%时根冠比最大。

2.3 土壤石砾含量对掌叶木幼苗地下根系形态的影响

由表 3 可知,不同土壤石砾含量对掌叶木幼苗总根长、根表面积、根平均直径、根尖数均存在极显著差异($P<0.01$)。随着石砾含量的增加,总根长和根表面积先增大后减小,且在石砾含量 40%时达到最大;根系平均直径逐渐减小,当石砾含量

表 1　土壤石砾含量对掌叶木幼苗地上部分生长的影响

Table 1　Influence of the ground growth of *Handeliodendron bodinieri* seedlings with different gravel contents of soil

石砾含量 Gravel content (%)	苗高相对增长率 Seedling height relative growth rate (%)	地径相对增长率 Ground diameter relative growth rate (%)	叶面积 Leaf area (cm^2)	苗木质量指数 Seedling quality index
0 (CK)	50.208±0.631^{c}	34.428±0.678^{c}	53.440±0.638^{b}	0.681±0.008^{bc}
20	47.121±0.560^{c}	38.920±0.348^{b}	54.497±0.751^{ab}	0.697±0.006^{b}
40	68.714±0.790^{a}	44.353±0.707^{a}	56.333±0.719^{a}	0.917±0.012^{a}
60	61.375±2.157^{b}	39.380±0.537^{b}	55.566±0.336^{ab}	0.658±0.001^{c}
80	48.379±1.119^{c}	30.143±0.144^{d}	51.150±0.850^{c}	0.581±0.002^{d}
均值 Mean	55.159±1.052	37.445±0.483	54.197±0.659	0.707±0.006
P 值 *P* value	0.000**	0.000**	0.003**	0.000**

注：同一项目不同小写字母表示不同土壤石砾含量间差异显著($P<0.05$)，** 表示 *F* 检验差异极显著($P<0.01$)。下同。

Note: Different lowercase letters in the same item indicate significant differences among different gravel contents ($P<0.05$); ** indicates extremely significant differences in *F* test($P<0.01$). The same below.

表 2　不同土壤石砾含量下掌叶木幼苗的生物量分配表

Table 2　Biomass distribution of *Handeliodendron bodinieri* seedlings with different gravel contents of soil

石砾含量 Gravel content (%)	根生物量 Root biomass (g)	茎生物量 Stem biomass (g)	叶生物量 Leaf biomass (g)	全株生物量 Whole plant biomass (g)	根冠比 Root-shoot ratio
0 (CK)	1.424±0.007^{c}	0.934±0.004^{b}	0.316±0.008^{b}	2.673±0.007^{c}	1.140±0.009^{d}
20	1.576±0.008^{b}	0.967±0.006^{a}	0.269±0.001^{c}	2.812±0.016^{b}	1.275±0.003^{b}
40	1.888±0.006^{a}	0.897±0.004^{c}	0.465±0.01^{a}	3.250±0.005^{a}	1.387±0.013^{a}
60	1.437±0.003^{c}	0.932±0.006^{b}	0.274±0.003^{c}	2.643±0.003^{d}	1.192±0.006^{c}
80	1.374±0.01^{d}	0.867±0.003^{d}	0.203±0.005^{d}	2.443±0.008^{e}	1.284±0.011^{b}
均值 Mean	1.540±0.007	0.919±0.005	0.306±0.005	2.764±0.008	1.255±0.009
P 值 *P* value	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**

80%时最小；根尖数先增大后减小，且在石砾含量60%时最大，显著高于其余各处理。

2.4 土壤石砾含量对掌叶木幼苗根系构型的影响

不同土壤石砾含量下掌叶木幼苗根系拓扑结构特征如表 4 所示，幼苗根系拓扑指数(TI)和修正拓扑指数(q_a和q_b)在各处理间无显著差异($P>0.05$)。TI 随石砾含量增加呈先增大后减小的趋势，且在 40%处理中 TI 最大，CK 中 TI 最小。随着石砾含量逐渐增加，q_a和q_b呈先增大后减小再增大的趋势，其中 40%处理组的 q_a和 q_b均最大，分别为 0.730 和 0.636；CK 中 q_a和 q_b均最小，分别为0.692 和 0.606。各处理 TI、q_a和 q_b均趋近于 1，说明掌叶木幼苗根系在不同土壤石砾含量中分支模式更趋近于鱼尾形分支。从根系分形特征看，掌叶木根系分形维数和分形分度在不同土壤石砾含量中均无显著差异($P>0.05$)，但二者均随石砾含量增加呈先增大后减小再增大的趋势，均在 40%处理组中最大。另外，不同土壤石砾含量下掌叶木根系平均连接长度和分叉数存在极显著差异($P<0.01$)，前者随土壤石砾含量增加呈先增大后减小趋势，且 40%处理组最大；后者随石砾含量增加呈逐渐减小的趋势，且均显著低于 CK。

2.5 土壤石砾含量对掌叶木幼苗质量影响综合评价

为评价不同土壤石砾含量对掌叶木幼苗生长的影响，对其生长相关的 19 个指标进行主成分分析

表 3 不同土壤石砾含量下掌叶木幼苗根系形态特征

Table 3 Dynamics of root morphology characteristics of *Handeliodendron bodinieri* seedlings with different gravel contents in soils

石砾含量 Gravel content (%)	总根长 Total root length (cm)	根表面积 Root surface area (cm^2)	根平均直径 Root average diameter (mm)	根尖数 Root tip number
0 (CK)	130.156±4.283^{c}	51.157±0.577^{d}	1.845±0.173^{a}	315.000±13.055^{c}
20	183.506±6.398^{ab}	68.636±0.882^{c}	1.723±0.153^{a}	489.670±24.333^{d}
40	193.396±5.482^{a}	86.018±1.732^{a}	1.505±0.139^{ab}	708.330±38.702^{b}
60	167.490±6.488^{b}	74.035±1.155^{b}	1.368±0.159^{ab}	768.000±49.082^{a}
80	85.716±4.055^{d}	52.646±1.453^{d}	0.951±0.122^{b}	510.330±41.186^{c}

表 4 不同土壤石砾含量下掌叶木幼苗根系构型特征

Table 4 Root architecture characteristics of *Handeliodendron bodinieri* seedlings with different gravel contents in soils

石砾含量 Gravel content (%)	根系拓扑指数 Root topological index (TI)	修正拓扑指数 Modified topological index (q_a)	修正拓扑指数 Modified topological index (q_b)	分形维数 Fractal dimension	分形分度 Fractal abundance	平均连接长度 Average link length (cm)	根系分叉数 Root fork number
CK	0.728±0.026^{a}	0.692±0.022^{a}	0.606±0.025^{a}	1.216±0.058^{a}	1.601±0.081^{a}	0.756±0.048^{c}	10.017±0.173^{a}
20	0.769±0.003^{a}	0.702±0.022^{a}	0.617±0.029^{a}	1.244±0.031^{a}	1.624±0.044^{a}	1.018±0.068^{ab}	9.091±0.083^{b}
40	0.808±0.007^{a}	0.730±0.003^{a}	0.636±0.016^{a}	1.297±0.021^{a}	1.694±0.038^{a}	1.141±0.075^{a}	8.639±0.187^{c}
60	0.778±0.046^{a}	0.694±0.036^{a}	0.617±0.023^{a}	1.101±0.106^{a}	1.452±0.163^{a}	0.954±0.042^{b}	7.448±0.046^{d}
80	0.774±0.078^{a}	0.717±0.003^{a}	0.626±0.006^{a}	1.148±0.062^{a}	1.515±0.083^{a}	0.796±0.040^{c}	7.314±0.056^{d}

(表 5),前 5 个主成分的累计贡献率达90.400%,基本能反映掌叶木幼苗在不同土壤石砾含量中的生长状况。第一主成分(F1)贡献率为39.891%,因子载荷较大的为苗高、地径相对增长率和生物量(根、叶和全株),说明 F1 主要表征了掌叶木幼苗生长指标的信息。第二主成分(F2)贡献率为22.043%,其中茎生物量和根系分叉数载荷因子较大,说明 F2 重点表征了幼苗生长和根系构型的信息。第三(F3)、第四(F4)和第五主成分(F5)贡献率分别为 15.149%、7.649%和 5.667%,其中根表面积、根平均连接长度、TI 的因子载荷较高,表明 F3、F4 和 F5 重点表征幼苗根系形态和构型特征。

基于对不同土壤石砾含量中掌叶木幼苗生长和根系特征相关指标的主成分分析结果,对不同处理下掌叶木幼苗生长效应进行综合评价(表 6)。掌叶木幼苗在土壤石砾含量 40%中生长状况最好,综合排名第一(2.134);在土壤石砾含量 80%中生长状况最差,综合排名得分最低(-1.310),其余土壤石砾含量中掌叶木幼苗生长状况综合得分位于二者之间,说明土壤中混入适量石砾能够促进掌叶木幼苗生长发育。

3 讨论

3.1 土壤石砾含量对掌叶木幼苗生长的影响

珍稀濒危植物掌叶木是西南喀斯特石山地区特有的喜钙树种(Leng et al.,2020),同时也是一种多功能潜力树种,对石山生境具有一定的适应性和依赖性,是喀斯特石山地区造林推广和生态治理的理想物种。研究表明,植物根系分泌物中的有机酸以及其呼吸作用产生的无机酸能够影响岩石的风化速率,加快养分释放(王邵军,2020)。不同土壤石砾含量对掌叶木幼苗的生长和生物量分配均具有极显著影响,表现在苗高、地径和叶面积均随石砾含量的增加呈先增大后减小的变化趋势,且均在石砾含量 40%时达到最大值,这可能是由于根系分泌物的分泌促进了石砾的风化,加快了养分的释放,从而促进了掌叶木幼苗生长,这与

表 5　掌叶木幼苗各指标主成分分析的因子载荷

Table 5　Factor loading of the principal component analysis on each index of *Handeliodendron bodinieri* seedlings

因素 Factor	主成分 Principal component				
	F1	F2	F3	F4	F5
苗高相对增长率 Seedling height relative growth rate (%)	0.908	−0.146	0.148	−0.301	−0.066
地径相对增长率 Ground diameter relative growth rate (%)	0.881	0.316	0.241	0.143	−0.125
叶面积 Leaf area (cm^2)	0.681	0.382	0.356	−0.389	0.225
根生物量 Root biomass (g)	0.912	0.168	−0.162	0.247	0.101
茎生物量 Stem biomass (g)	−0.116	0.794	0.443	0.227	−0.248
叶生物量 Leaf biomass (g)	0.883	0.313	−0.156	−0.123	0.203
全株生物量 Whole plant biomass (g)	0.903	0.321	−0.105	0.16	0.104
根冠比 Root-shoot ratio	0.669	−0.368	−0.305	0.468	0.066
总根长 Total root length (cm)	0.606	0.567	0.205	−0.423	0.100
根表面积 Root surface area (cm^2)	0.607	−0.053	0.666	0.061	−0.282
根平均直径 Root average diameter (mm)	−0.661	0.368	0.267	0.26	0.255
根尖数 Root tips number	0.684	−0.466	0.483	−0.009	−0.18
根平均连接长度 Root average link length (cm)	0.457	−0.074	0.197	0.593	−0.258
根系分叉数 Root forks number	−0.016	0.908	−0.325	−0.022	0.159
根系拓扑指数(TI) Root topological index	0.262	−0.181	0.236	0.391	0.715
修正拓扑指数(q_a) Modified topological index	0.437	−0.834	0.019	−0.221	0.100
修正拓扑指数(q_b) Modified topological index	0.454	−0.706	−0.469	−0.097	0.044
分形维数 Franch dimension	0.414	0.328	−0.740	0.071	−0.166
分形丰度 Franch abundance	0.376	0.291	−0.751	−0.006	−0.219
特征值 Eigen value	7.579	4.188	2.878	1.453	1.077
贡献率 Contribution rate (%)	39.891	22.043	15.149	7.649	5.667
累计贡献率 Cumulative contribution rate (%)	39.891	61.934	77.083	84.732	90.400

表 6　不同土壤石砾含量下掌叶木幼苗生长效应的综合评价

Table 6　Conprehensive evaluation on growth of *Handeliodendron bodinieri* seedlings with different gravel contents of soils

石砾含量 Gravel content (%)	F1	F2	F3	F4	F5	综合得分 Comprehensive score	综合排名 Comprehensive order
0 (CK)	0.912	−1.804	0.477	−1.722	−0.293	−0.122	3
20	−1.698	−2.540	0.770	1.020	0.105	−1.147	4
40	3.058	1.752	1.541	0.649	0.701	2.134	1
60	1.711	0.321	−2.359	0.637	−0.750	0.445	2
80	−3.983	2.271	−0.428	−0.584	0.237	−1.310	5

罗映虹等(2014)的研究结果类似。此外,Mokany 等(2006)和龙毅等(2015)认为植物能通过增大地下生物量的分配,增加根冠比获取有限资源以适应逆境。本试验中,随石砾含量增加,土壤资源逐渐减少,掌叶木幼苗为生存,将更多生物量分配到根系,以探寻更多土壤资源,只是其探寻能力有限,故其根生物量与根冠比均先增加后减小,但各处理根生物量均大于地上部分生物量。

3.2 土壤石砾含量对掌叶木幼苗根系形态的影响

掌叶木幼苗总根长、根表面积和根尖数均随石砾的含量增加呈先增大后减小的变化趋势,这可能是由于土壤透气性和透水性增强,促进了苗木根系的生长,而石砾添加过多时,土壤含量过少,不足以提供苗木生长所需而抑制苗木生长。其中,总根长和根表面积均在土壤含 40%石砾含量时达最大,而根尖数则在 60%石砾含量时达最大,说明 40%石砾含量土壤有利于掌叶木幼苗根系对土壤资源的探索以及养分、水分的吸收,而 60%石砾含量土壤则更有利于根系的生理代谢活动,因此适量石砾具有促进掌叶木根系发育的作用,这与倪周游等(2018)的研究结果类似。此外,随石砾含量不断增加,掌叶木幼苗根系直径表现出逐渐减小,活跃性逐渐增加的环境变化适应性,这与 Yuan 和 Chen(2010)的结论一致。

3.3 土壤石砾含量对掌叶木根系构型的影响

植物根系拓扑结构特征决定了根系在土壤中的空间分布,同时也影响着根系对营养的吸收和能量的固定(周元满等,2013)。不同石砾含量土壤中掌叶木幼苗 TI、q_a 和 q_b 均趋近于 1,即根系分支模式趋近于更好适应贫瘠土壤环境的鱼尾形分支,这与单立山等(2012)的研究结果相似。其中,40%石砾含量土壤中掌叶木幼苗 TI、q_a 和 q_b 均最大,说明该处理下其根系垂直向土层中延伸能力最强,从土壤中吸收养分和水分的能力亦最强,这可能是掌叶木能够在喀斯特生境中生存的一大原因。根系分形维数、分形分度分别表征根系发育的差异性和对空间的占有能力(Pierce et al.,2013)。本研究结果表明,40%石砾含量土壤中掌叶木幼苗根系分形维数和分形分度均为最大,表现在其根系分支数最多,发育状况最好,占有土壤空间和竞争营养的能力最强,与陈吉虎等(2006)的研究结果一致。

根系平均连接长度和根系分叉数反映了根系在土壤中的分布空间、延伸范围和对土壤资源的利用能力(孙浩燕等,2014)。本研究中,从 CK 至 40%石砾含量处理中掌叶木幼苗根系平均连接长度逐渐增大,根系分叉数则逐渐减小,二者之间呈现出“此消彼长”的趋势,这可能是因为随着石砾含量增加,掌叶木幼苗根系为适应土壤资源贫瘠的环境,通过增加根系平均连接长度、减少根系分叉数来减少根系内部对营养物质的竞争并扩大根系在贫瘠土壤中的有效空间范围,这与张伟涛等(2017)的研究结果一致。

4 结论

土壤添加适量石砾能促进掌叶木幼苗生长,其中幼苗苗高和地径相对增长率、叶面积、生物量(根、叶和全株)、苗木质量指数、总根长、根表面积、平均连接长度、根系拓扑结构和分形特征等指标均在石砾含量为 40%土壤中最大;且综合评价幼苗生长、根系形态和构型指标表明,掌叶木幼苗在 40%石砾含量土壤中地下根系和地上茎叶生长状况最好。因此,土壤 40%石砾含量处理下掌叶木幼苗生长效果最好,苗木质量指数最高,可为今后掌叶木的人工培育、种群扩繁及其在喀斯特石山地区造林推广和生态治理提供科学依据。

参考文献:

CHEN JH, YU XX, YOU XL, et al., 2006. Fractal characteristics of *Tilia tomentosa*'s root system under different water conditions [J]. Sci Soil Water Conserv, 4(2): 71-74. [陈吉虎, 余新晓, 有祥亮, 等, 2006. 不同水分条件下银叶椴根系的分形特征 [J]. 中国水土保持科学, 4(2): 71-74.]

DU MX, ZHOU XR, ZHOU ZY, et al., 2014. Vertical root distribution characteristics of *Amorpha fruticosa* on southern Mu Us Sandy Land [J]. Acta Pratacul Sin, 23(2): 125-132. [杜明新, 周向睿, 周志宇, 等, 2014. 毛乌素沙南缘紫穗槐根系垂直分布特征 [J]. 草业学报, 23(2): 125-132.]

FITTER AH, STICKLAND TR, HARVEY ML, et al., 1991. Architectural analysis of plant root systems 1. architectural correlates of exploitation efficiency [J]. New Phytol, 118(3): 375-382.

GUO S, LI ZL, XUE JH, et al., 2019. Establishment and optimization of comprehensive evaluation model for seed and seed oil traits of *Handeliodendron bodinieri* [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 35(6): 314-322. [郭松, 李在留, 薛建辉, 等, 2019. 掌叶木种子及其籽油性状综合评价模型构建和优选 [J]. 农业工程学报, 35(6): 314-322.]

HUANG SX, LUO WH, TANG WX, et al., 2002. Study on the adaptability of the rare and threatened limestone plants *ex-situ* conservation [J]. Guihaia, 22(2): 136-139. [黄仕训, 骆文华, 唐文秀, 等, 2002. 石山稀有濒危植物迁地保护适应性研究(简报) [J]. 广西植物, 22(2): 136-139.]

KETIPEARACHCHI KW, TATSUMI J, 2000. Local fractal dimensions and multifractal analysis of the root system of legumes [J]. Plant Prod Sci, 3(3): 289-295.

LI YH, GUO S, LI ZL, et al., 2016. Seed coat obstacle and

endogenous inhibitory activity of various parts of *Handeliodendron bodinieri* seed [J]. Guihaia, 36(4): 443-448. [李樱花, 郭松, 李在留, 等, 2016. 掌叶木种皮障碍及种子各部位内源抑制活性的研究 [J]. 广西植物, 36(4): 443-448.]

LIU J, XIANG WH, XU X, et al., 2010. Analysis of architecture and functions of fine roots of five subtropical tree species in Huitong, Hunan Province, China [J]. Chin J Plant Ecol, 34(8): 938-945. [刘佳, 项文化, 徐晓, 等, 2010. 湖南会同 5 个亚热带树种的细根构型及功能特征分析 [J]. 植物生态学报, 34(8): 938-945.]

LUO YH, ZHOU JH, LI YP, et al., 2014. Effects of tephra gravel content on growth of flue-cured tobacco at seedling stage [J]. J S Agric, 45(4): 570-574. [罗映虹, 周冀衡, 李永平, 等, 2014. 火山灰石砾含量对烤烟苗期生长的影响 [J]. 南方农业学报, 45(4): 570-574.]

LONG Y, MENG FD, WANG CS, et al., 2015. Above-and below-ground biomass distribution of main alpine meadow plants and impact of degradation on root/shoot ratio and root area [J]. Guihaia, 35(4): 532-538. [龙毅, 孟凡栋, 王常顺, 等, 2015. 高寒草甸主要植物地上地下生物量分布及退化对根冠比和根系表面积的影响 [J]. 广西植物, 35(4): 532-538.]

LIU JM, CHEN Z, SUN CW, et al., 2019. Variation in fruit and seed properties and comprehensive assessment of germplasm resources of the genus *Sapindus* [J]. Sci Silv Sin, 55(6): 44-54. [刘济铭, 陈仲, 孙操稳, 等, 2019. 无患子属种质资源种实性状变异及综合评价 [J]. 林业科学, 55(6): 44-54.]

LIU JL, 2015. Germplasm resource collection of *Paulownia* fortune and induction and cultivation techniqunes in hilly areas [D]. Hefei: Anhui Agricultural University: 1-53. [刘俊龙, 2015. 泡桐种质资源收集及丘陵岗地引种栽培技术研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学: 1-53.]

LENG XH, XUE L, WANG J, et al., 2020. Physiological responses of *Handeliodendron bodinieri* (Levl.) Rehd. to exogenous calcium supply under drought stress [J]. Forests, 11(1): 69.

LIU Z, YU SZ, CHEN H, et al, 2016. Effects of cultivation medium with different gravel contents on growth and physiology indexes of *Dalbergia odorifera* seedlings [J]. Hubei Agric Sci, 55(19): 4941-4944. [刘震, 玉舒中, 陈欢, 等, 2016. 不同石砾含量栽培基质对降香黄檀幼苗生长及生理指标的影响 [J]. 湖北农业科学, 55(19): 4941-4944.]

MOKANY K, RAISON RJ, PROKUSHKIN AS, et al., 2006. Critical analysis of root: shoot ratios in terrestrial biomes [J]. Glob Chang Biol, 12(1): 84-96.

NI ZY, YANG ZD, YANG CR, et al., 2018. Effects of simulated extreme stony desertification on the spatial distribution of *Dalbergia odorifera* root system [J]. Hubei Agric Sci, 57(5): 67-70. [倪周游, 杨振德, 杨昌儒, 等, 2018. 模拟极端石漠化土壤条件对降香黄檀根系空间分布的影响 [J]. 湖北农业科学, 57(5): 67-70.]

OPPELT AL, KURTH W, GODBOLD DL, et al., 2001. Topology, scaling relations and Leonardo's rule in root systems from African tree species [J]. Tree physiol, 21(2/3): 117-128.

PIERCE SC, KOONTZ MB, PEZESHKI SR, et al., 2013. Response of *Salix nigra* [Marsh.] cuttings to horizontal asymmetry in soil saturation [J]. Environ Exp Bot, 87: 137-147.

SHAN LS, LI Y, DONG QL, et al., 2012. Ecological adaptation of *Reaumuria soongorica* root system architecture to arid environment [J]. J Desert Res, 32(5): 1283-1290. [单立山, 李毅, 董秋莲, 等, 2012. 红砂根系构型对干旱的生态适应 [J]. 中国沙漠, 32(5): 1283-1290.]

SUN HY, LI XK, REN T, et al., 2014. Effects of fertilizer in shallow soils on growth and distribution of rice roots at seedling stage [J]. Sci Agric Sin, 47(12): 2476-2484. [孙浩燕, 李小坤, 任涛, 等, 2014. 浅层施肥对水稻苗期根系生长及分布的影响 [J]. 中国农业科学, 47(12): 2476-2484.]

WANG SJ, 2006. Key ecological issues in plant-soil feedback: Pattern, process and mechanism [J]. J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed), 44(2): 1-9. [王邵军, 2020. "植物-土壤"相互反馈的关键生态学问题: 格局、过程与机制 [J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 44(2): 1-9.]

YUAN ZY, CHEN HYH, 2010. Fine root biomass, production, turnover rates, and nutrient contents in boreal forest ecosystems in relation to species, climate, fertility, and stand age: Literature review and meta-analyses [J]. Crit Rev Plant Sci, 29(4): 204-221.

YANG CR, LIU Z, NI ZY, et al., 2017. Effects of cultivation medium with different gravel contents on physiological indexes of *Dalbergia odorifera* seedlings [J]. Hubei Agric Sci, 56(17): 3287-3291. [杨昌儒, 刘震, 倪周游, 等, 2017. 不同石砾含量栽培基质对降香黄檀生理指标的影响 [J]. 湖北农业科学, 56(17): 3287-3291.]

ZHANG WT, ZHAO CZ, SONG QH, et al., 2017. Trade-off between root forks and link length of *Potentilla acaulis* in degraded alpine grassland [J]. Acta Ecol Sin, 37(24): 8518-8525. [张伟涛, 赵成章, 宋清华, 等, 2017. 高寒退化草地星毛委陵菜根系分叉数和连接长度的关系 [J]. 生态学报, 37(24): 8518-8525.]

ZHOU YM, HUANG JJ, LIU ZM, et al., 2013. Study on spatial connection and fractal characteristics of prop roots of natural *Rhizophora stylosa* [J]. For Res, 26(3): 95-101. [周元满, 黄剑坚, 刘志美, 等, 2013. 天然红海榄支柱根的空间连接与分形表征 [J]. 林业科学研究, 26(3): 95-101.]

ZHANG ZX, WANG Y, ZHENG X, et al., 2016. Research on the suitability of bramley young treesto different soil conditions [J]. Tianjin Agric Sci, 22(3): 107-110. [张志晓, 王燕, 郑鑫, 等, 2016. 绿宝苹果幼树对不同土壤条件适应性的研究 [J]. 天津农业科学, 22(3): 107-110.]

ZHOU HY, ZHANG ZL, 2000. Sexual reproduction test and observation of *Handeliodendron bodinieri* [J]. Guizhou For Sci Technol, (4): 30-33. [周洪英, 张著林, 2000. 掌叶木有性繁殖试验与观察 [J]. 贵州林业科技, (4): 30-33.]

(责任编辑　李　莉)

广西植物 Guihaia Jul. 2022, 42(7): 1248-1258 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202009064

李仕洪, 姚凯, 刘映良, 等. 碳酸氢盐处理下桑树和构树的生长、光合和抗逆性差异 [J]. 广西植物, 2022, 42(7): 1248-1258.

LI SH, YAO K, LIU YL, et al. Differences in growth, photosynthesis and resistance physiology of *Morus alba* and *Broussonetia papyrifera* under bicarbonate treatments [J]. Guihaia, 2022, 42(7): 1248-1258.

碳酸氢盐处理下桑树和构树的生长、光合和抗逆性差异

李仕洪[1], 姚　凯[1], 刘映良[1], 吴沿友[2*]

(1. 贵州师范大学 生命科学学院, 贵阳 550025; 2. 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550081)

摘　要: 为探究喀斯特生境中,在碳酸氢盐的胁迫下 HCO_3^- 对植株生长及生理特性的影响,该文以构树和桑树幼苗为研究对象,对不同浓度 $NaHCO_3$ 溶液(0、15、30 mmol · L^{-1})处理下植株的生长情况、光合能力、抗氧化酶活性、渗透调节物质含量和细胞膜系统损伤情况进行研究。结果表明:(1)在 HCO_3^- 处理下,构树和桑树的生长和光合能力均受到抑制,叶片细胞内均发生显著的抗氧化和抗渗透胁迫生理响应。(2)HCO_3^- 对构树和桑树生长的抑制作用与其浓度有关,并有显著差异性($P<0.05$)。(3)30 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理对植株生长、光合、抗氧化酶系统和渗透调节系统的抑制作用以及植物细胞的损伤情况要显著强于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理的效果。(4)同等浓度的 HCO_3^- 处理下,构树的生长、光合能力、抗氧化酶活性、渗透调节物质含量显著高于桑树,其叶片细胞损伤情况显著低于桑树。综上结果均表明,构树对碳酸氢盐胁迫的耐受能力要优于桑树。该研究为阐明桑科植物对喀斯特环境适应机制提供科学支撑。

关键词: 桑树, 构树, 碳酸氢盐, 抗氧化酶, 渗透调节, 细胞损伤

中图分类号: Q946　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1000-3142(2022)07-1248-11

Differences in growth, photosynthesis and resistance physiology of *Morus alba* and *Broussonetia papyrifera* under bicarbonate treatments

LI Shihong[1], YAO Kai[1], LIU Yingliang[1], WU Yanyou[2*]

(1. *School of Life Sciences*, *Guizhou Normal University*, Guiyang 550025, China; 2. *State Key Laboratory of Environmental Geochemistry*, *Institute of Geochemistry*, *Chinese Academy of Sciences*, Guiyang 550081, China)

Abstract: To investigate the effects of HCO_3^- on the growth and physiological characteristics of plants under the stress of bicarbonate in karst environment. The growth, photosynthetic capacity, antioxidant enzyme activity, osmotic regulation

收稿日期: 2022-02-25

基金项目: 国家自然科学基金(U1612441);国家重点研究发展计划(2016YFC0502602);国家自然科学地区基金(31760124);贵州师范大学资助博士科研项目(11904/0517067);国家自然科学基金委员会-贵州省人民政府喀斯特科学研究中心项目(U1812401)[Supported by National Natural Science Foundation of China (U1612441); National Key Research and Development Plan (2016YFC0502602); National Natural Science Regional Foundation (31760124); Guizhou Normal University Funded Doctoral Research Project (11904/0517067); Joint Fund of National Natural Science Foundation of China and the Karst Science Research Center of Guizhou Province (U1812401)]。

第一作者: 李仕洪(1998-),硕士研究生,研究方向为植物生态学,(E-mail)2752390486@qq.com。

*通信作者: 吴沿友,博士,研究员,研究方向为喀斯特植物适生生理,(E-mail)wuyanyou@mail.gyig.ac.cn。

substance content and cell membrane damage of *Broussonetia papyrifera* and *Morus alba* seedlings under three different concentrations of $NaHCO_3$(0, 15, 30 mmol · L^{-1}, respectively) were examined in the present study. The results were as follows: (1) Under HCO_3^- treatment, the growth and photosynthetic capacity of *Broussonetia papyrifera* and *Morus alba* seedlings were significantly inhibited, accompanying the physiological responses of leaf cells to antioxidant and osmotic stress were significant. (2) The inhibitory effects of HCO_3^- on the growth of *Broussonetia papyrifera* and *Morus alba* were concentration-dependent, and showed significant differences among examined concentrations ($P < 0.05$). (3) The inhibitory effects of the growth, photosynthesis, antioxidant enzyme system and osmotic regulation system and the damage of plant cells under 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- treatment were significantly stronger than those of 15 mmol · L^{-1} HCO_3^- treatment. (4) Under the same concentration of HCO_3^-, the growth, photosynthetic capacity, antioxidant enzyme activity, osmotic regulating substance content of *Broussonetia papyrifera* were significantly higher than those of *Morus alba*, and its leaf cell damage was significantly lower than that of *M. alba*. The results mentioned above indicate that HCO_3^- inhibits the growth, photosynthesis and resistance physiology of *M. alba* and *Broussonetia papyrifera* under bicarbonate stress, and the tolerance of *B. papyrifera* to bicarbonate stress is better than that of *Morus alba*, which means that *Broussonetia papyrifera* is more adaptable to the environment of bicarbonate stress. This study provides scientific support for the adaptation mechanism of Moraceae to karst environment.

Key words: *Morus alba*, *Broussonetia papyrifera*, bicarbonate, antioxidant enzymes, osmotic regulation, cell damage

在喀斯特生物地球系统中,由于水对石灰岩和白云石的溶蚀作用,土壤和水中形成稳定的 HCO_3^- 库,其浓度显著高于非喀斯特地区(Stokes & Griffiths, 2019)。根据已有研究,喀斯特河流和湖泊中,HCO_3^-的浓度通常约为 4.5 mmol · L^{-1}(Zhang et al., 2012),而钙质土壤中 HCO_3^-的浓度通常为 1~5 mmol · L^{-1}(McCray & Matocha, 1992)。此外,在环境 pH 值大于 7 时,HCO_3^-的浓度通常高于二氧化碳浓度的数倍(Hussner et al., 2016)。由于喀斯特地区的土壤和水中均含有较高浓度的 HCO_3^-,探究其对喀斯特生境植物的影响具有重要研究意义。

在 NaCl、$NaHCO_3$、Na_2CO_3等盐碱胁迫下,植物体内生理活动易受到干扰,造成渗透胁迫和离子胁迫等生理胁迫,并影响其正常的生长发育(朱虹等,2009;Ahmad & Sharma, 2010)。通常将中性盐胁迫称为盐胁迫,而将碱性盐胁迫称为碱胁迫,且碱胁迫对植物的破坏作用明显大于盐胁迫(石德成和殷丽娟,1993;Lu et al., 2009)。碳酸氢盐属于碱性盐,在土壤中大量释放出 HCO_3^-,土壤的 pH 值升高,使植物同时受到碱胁迫和高 pH 值胁迫(Hartung et al., 2002;李彬等,2005;Chen et al., 2012)。HCO_3^-在环境中对植物的生长具有多重作用。首先,在高浓度 HCO_3^-的作用下,植物细胞内的 SOD、POD、CAT 等抗氧化酶活性升高,表现出明显的胁迫生理响应(窦艳艳等,2008)。其次,HCO_3^-对植物获取多种矿质元素都有显著的影响,可以使植物体内的 Na^+浓度上升,而 Fe^{2+}、Zn^{2+}、Ca^{2+}、Mg^{2+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}和 K^+等金属离子的含量下降(Michael et al., 2012)。更重要的是,HCO_3^-是植物碳同化的碳源(Salbitani et al., 2020),尤其是胁迫条件下气孔关闭时,根际 HCO_3^-占植物吸收的碳的很大比例(Keeley et al., 1984),植物从根际获取用于光合的可溶性无机碳(DIC)约占植物在干旱胁迫下获取总碳的 20%(Rao & Wu, 2017)。除作为光合作用底物外,HCO_3^-还可直接对光合系统的结构和功能的完整性产生作用。在光合作用反应过程中,HCO_3^-紧密结合在 PSⅡ的反应中心内,对其电子间的传递起到重要作用,提高光合作用速率(Tikhonov et al., 2018)。另外,较高浓度的 HCO_3^-还可通过影响植株内还原态铁离子的数量,降低叶绿体的含量(Shahsavandia et al., 2020)。由此可见,HCO_3^-对植物生长、细胞内抗氧化酶活性、光合作用等都有重要的作用,因此,探究不同浓度 HCO_3^-对植物生理特性的影响,对植物在喀斯特环境中适应机制的研究具有重要意义。

桑科植物是喀斯特地区常见的典型先锋植物之一(Wu et al., 2009)。其中,桑树(*Morus alba*)为桑科桑属落叶乔木,有丰富的种质资源,可适应较强的胁迫条件并具有水土保持和美化环境的生态功能,因此受到广泛的关注(任迎虹等,2017)。同为桑科植物的构树(*Broussonetia papyrifera*),是一种分布较为广泛的落叶乔木,其生长速度快、适

应性强,具有耐旱、耐盐、耐贫瘠等特性,常用于土壤植被修复(高肖卡,2020;Tian et al., 2020)。然而,目前尚未见探究两者在不同浓度 HCO_3^- 处理下生理特性差异的相关报道,因此,本研究以 2 种桑科植物(构树和桑树)为研究对象,依托人工气候温室进行幼苗培育,采用碳酸氢盐模拟胁迫的方法,通过分析不同浓度碳酸氢盐处理下构树和桑树的生长特性和生理生化指标的变化,拟探讨以下问题:(1) HCO_3^- 胁迫下构树和桑树的生理响应机制是怎样的;(2)构树和桑树响应 HCO_3^- 胁迫有何差异性;(3)构树和桑树对 HCO_3^- 胁迫的耐受能力如何。以期为阐明桑科植物对喀斯特环境的适应机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料培养

本实验采取从种子萌发开始的材料培养方式。本实验的构树种子收集于贵州省贵阳市中国科学院地球化学研究所老所园区;桑树种子收集于贵州省贵阳市贵州省农业科学院。选取籽粒饱满的种子,置于盛有一定体积的珍珠岩的育苗盒中,种子上覆盖一薄层的珍珠岩,育苗盘的盛水盒中注入一定量的蒸馏水,以不浸泡种子为宜。培养室温度为 25 ℃,湿度为 50%~60%,光照时间为 12 h。约 12 d 时,种子开始萌发。待幼苗出现 4 片叶片时,选取生长均一、茁壮的幼苗移植到 12 孔育苗盒中。每个育苗盒栽培 2 株幼苗,保持适当间距,确保幼苗生长至适宜实验要求的过程中,互不干扰,移苗后,将种植有植株的育苗盒置于人工气候室内,设置光周期为 12 h,光合有效辐射(PPFD)为 300 μmol · m^{-2} · s^{-1},日间气温保持为 25 ℃,夜间气温保持为 20 ℃,相对湿度为 55%~65%。桑树和构树幼苗均采用水培方式进行培养,以 1/2 浓度的霍格兰营养液为植物幼苗提供营养和水分。

1.2 碳酸氢盐胁迫处理

待植物的株高达到 16~18 cm 时,在营养液中加入不同浓度的 $NaHCO_3$ 制成处理液并将其酸碱值调为 pH 7.8,进行碳酸氢盐处理实验。共设置 3 个浓度(0、15、30 mmol · L^{-1})梯度的碳酸氢盐,其中 0 mmol · L^{-1} 为对照(CK)。在本试验浓度中 Na^+ 对植物的生长和光合能力没有明显的抑制作用和影响,HCO_3^- 则具有主要影响作用。设置好浓度梯度后,每天在固定时间对 $NaHCO_3$ 溶液进行更换。间隔一天,测量植株的各项生长指标和光合指标,并采集 2 片宽度在 80 mm 左右的叶片,于 -80 ℃条件下冷冻保存,供后续测量植株叶片在碳酸氢盐胁迫下的各项生理生化指标。每个指标均重复测定 3 次。

1.3 植株生长参数测定

为了测量碳酸氢盐作用下构树和桑树生长指标的动态变化,本研究采取测量植株地上部分的各项指标来分析、评估植物的生长情况。该测量过程应尽量避免影响植物的正常生长。碳酸氢盐处理后,分别于第 0、第 2、第 4、第 6、第 8、第 10、第 12 天对植株的生长指标进行测量。本实验选取株高(H)、基径(D_b)、叶片数(N)和大于等于 80 mm 叶片宽度的叶片数(N_{80})作为判断植物生长情况的各项指标。

1.4 植株叶片光合参数测定

进行碳酸氢盐胁迫处理后,分别于第 0、第 2、第 4、第 6、第 8 天对植株的光合参数进行测定,测定时间固定于下午的 14:00—16:00,避开植物可能产生午休现象的时间。使用进口 LI-6400XT 便携式光合测量系统(LI-COR,Lincoln,NE,USA)对植株叶片的净光合速率(P_n)、气孔导度(g_s)、二氧化碳浓度(C_i)和蒸腾速率(T_r)进行测定。气孔限制值(L_s)由公式 $L_s = 1 - C_i/C_a$(C_a 为空气中 CO_2 浓度)计算得出(Farquhar & Sharkey, 1982;韩瑞宏等,2007)。

1.5 植株叶片抗氧化酶活性测定

酶液的提取参照彭方仁等(2007)的方法;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定参照 Zhang 等(2000)的方法;过氧化物酶(POD)活性测定参照 Zhang 等(2000)的方法;过氧化氢酶(CAT)活性测定参照 Aebi(1984)的方法。

1.6 植株叶片渗透调节物质含量测定

脯氨酸含量测定参照 Lei 等(2007)的方法;可溶性糖含量测定参照邹琦(2003)的方法。

1.7 硫代巴比妥酸反应物(TBARS)测定

参照 Heath 和 Packer(1968)的方法。

1.8 数据统计与分析

文中数据采用软件 Microsoft Excel 2019 进行基础数据整理,用软件 IBM SPSS Statistics 20.0 进行双因素方差分析检验不同树种和不同 $NaHCO_3$ 浓度对植株的生长情况、光合能力、抗氧化酶活性、渗透调节物质含量和细胞膜系统损伤情况等

影响的显著性，用独立样本 t 检验不同树种之间的生长情况、光合能力、抗氧化酶活性、渗透调节物质含量和细胞膜系统损伤情况等影响的显著性，测定不同处理方式间在 0.05 水平上的显著差异，运用软件 Origin 2019b 32Bit 绘制图表。

2　结果与分析

2.1 HCO_3^-处理对构树和桑树生长指标的影响

由表 1 可知，同一树种不同浓度 HCO_3^-处理下，随着浓度的增加，30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下构树和桑树的生长指标受抑制作用强于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理，并且 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-和 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下构树和桑树的各项生长指标均与对照组有显著差异（P<0.05）。不同树种同一浓度 HCO_3^-处理下，构树在 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下的生长指标显著高于桑树（P<0.05），表明构树抗 HCO_3^-胁迫能力优于桑树，适应能力更强，也显示构树对较低浓度碳酸氢盐处理的适应能力更强。

表 1　HCO_3^-处理 8 d 后桑树和构树的生长指标

Table 1　Growth indices of *Morus alba* and *Broussonetia papyrifera* after HCO_3^- treatments for eight days

物种 Species	生长增量 Growth increment	对照 Control	15 mmol · L^{-1} HCO_3^-	30 mmol · L^{-1} HCO_3^-
桑树 *Morus alba*	株高 ΔH（cm）	6.80±0.54Aa	1.81±0.17Bb	1.73±0.13Bb
	基径 ΔD_b（mm）	0.59±0.03Ba	0.21±0.05Bb	0.22±0.02Ab
	叶片数 ΔN（n）	2.67±0.15Aa	1.33±0.58Ba	0.33±0.58Bb
	叶片数（叶宽>70 mm）ΔN_{70}（leaf width>70 mm）（n）	2.33±0.58Aa	0.67±0.58Bb	0.00±0.00Bc
构树 *Broussonetia papyrifera*	株高 ΔH（cm）	5.87±0.42Ba	3.43±0.13Ab	1.84±0.26Ac
	基径 ΔD_b（mm）	0.74±0.02Aa	0.57±0.04Ab	0.21±0.03Ac
	叶片数 ΔN（n）	2.67±0.58Aa	2.33±0.58Aab	1.33±3.58Ab
	叶片数（叶宽>70 mm）ΔN_{70}（leaf width>70 mm）（n）	2.00±0.58Ba	1.33±3.58Aa	0.33±3.58Ab

注：数据为平均值±标准差。不同小写字母表示同一树种不同浓度 HCO_3^-处理差异显著（P<0.05）；不同大写字母表示不同树种同一浓度 HCO_3^-处理差异显著（P<0.05）。下同。

Note：Data are $\bar{x}\pm s$. Different lowercase letters indicate those treatments of the same tree species with different concentrations of HCO_3^- are significantly different（P<0.05）；Different capital letters indicate those treatments of different tree species with the same concentration of HCO_3^- are significantly different（P<0.05）. The same below.

2.2 HCO_3^-处理对构树和桑树光合特征的影响

如表 2 所示，同一树种不同浓度 HCO_3^-处理下，随着浓度的增加，构树和桑树的 P_n、g_s和 T_r 均显著下降。桑树的 C_i减小，L_s增大，而构树的 C_i先减小再增加，L_s先增加后减小。30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下构树和桑树的各项光合指标受抑制程度均强于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理，且 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-和 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下构树和桑树的各项光合指标均与对照组有显著差异（P<0.05）。不同树种同一浓度 HCO_3^-处理下，构树在 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下的光合指标显著高于桑树（P<0.05），构树光合作用受抑制的程度小于桑树。

2.3 HCO_3^-处理下构树和桑树的抗氧化酶活性

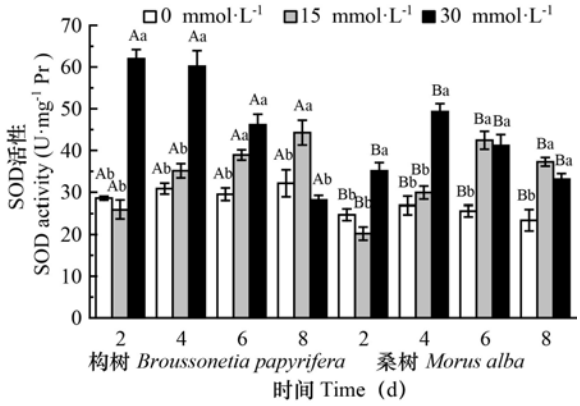
如图 1 所示，同一树种不同浓度 HCO_3^-处理下，随着处理浓度和时间的增加，构树和桑树叶片 SOD 活性均显著升高后下降，30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理对构树和桑树 SOD 活性的抑制作用显著强于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理（P<0.05）。不同树种同一浓度 HCO_3^-处理下，随着时间的增加，15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下，构树叶片 SOD 活性逐渐升高，第 8 天时到达最大值，而桑树叶片中 SOD 活性在第 6 天时达到最高，随后下降。30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下，构树叶片 SOD 活性第 2 天时最高，而桑树叶片 SOD 活性在第 4 天时最高，随后，两种植物叶片 SOD 值均下降。构树叶片 SOD 活性显著高于桑树（P<0.05）。

由图 2 可知，同一树种不同浓度 HCO_3^-处理下，随着处理浓度和时间的增加，构树叶片 POD 活

表 2 HCO_3^-处理 8 d 后桑树和构树的光合参数

Table 2 Photosynthetic parameters of *Morus alba* and *Broussonetia papyrifera* after HCO_3^- treatments for eight days

物种 Species	光合参数 Photosynthetic parameter	对照 Control	15 mmol · L^{-1} HCO_3^-	30 mmol · L^{-1} HCO_3^-
桑树 *Morus alba*	P_n(μmol · m^{-2} · s^{-1})	7.06±0.54Aa	2.26±0.15Bb	1.26±0.10Ac
	g_s(mol · m^{-2} · s^{-1})	0.16±0.01Aa	0.06±0.01Ab	0.02±0.00Ab
	T_r(μmol · m^{-2} · s^{-1})	3.25±0.35Aa	0.99±0.10Ab	0.72±0.05Ab
	C_i(μmol · mol^{-1})	472.73±19.58Aa	372.18±13.79Bab	296.25±18.65Bb
	L_s(μmol · mol^{-1})	0.21±0.02Aa	0.38±0.02Bab	0.49±0.02Bb
构树 *Broussonetia papyrifera*	P_n(μmol · m^{-2} · s^{-1})	8.08±0.25Aa	4.67±0.15Ab	1.73±0.12Ac
	g_s(mol · m^{-2} · s^{-1})	0.23±0.03Aa	0.12±0.01Ab	0.02±0.00Ac
	T_r(μmol · m^{-2} · s^{-1})	3.46±0.28Aa	1.78±0.10Ab	0.58±0.02Ac
	C_i(μmol · mol^{-1})	549.38±31.01Aa	431.58±15.76Ab	469.69±19.23Ab
	L_s(μmol · mol^{-1})	0.09±0.01Aa	0.28±0.03Ab	0.21±0.02Bb



不同小写字母表示同一树种不同浓度 HCO_3^-处理差异显著($P<0.05$);不同大写字母表示不同树种同一浓度 HCO_3^-处理差异显著($P<0.05$)。数据为平均值±标准差。下同。

Different lowercase letters indicate those treatments of the same tree species with different concentrations of HCO_3^- are significantly different ($P<0.05$); Different capital letters indicate those treatments of different tree species with the same concentration of HCO_3^- are significantly different ($P<0.05$). Data are $\bar{x}\pm s$. The same below.

图 1 在对照、15 mmol · L^{-1} HCO_3^-和 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下构树和桑树叶片 SOD 活性的变化

Fig. 1 Changes of SOD activities in *Broussonetia papyrifera* and *Morus alba* leaves under 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-, 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- and control treatments

性 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理高于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理,桑树叶片 POD 活性显著上升后下降,30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理对桑树叶片 POD 活性的抑制作用显著强于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理($P<0.05$)。不同树种同一浓度 HCO_3^-处理下,随着时

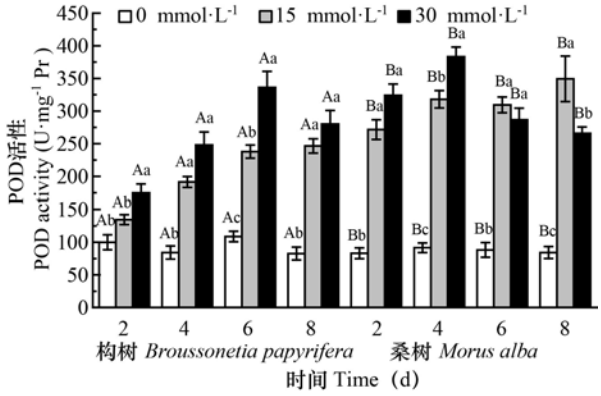


图 2 在对照、15 mmol · L^{-1} HCO_3^-和 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,构树和桑树叶片 POD 活性的变化

Fig. 2 Changes of POD activities in *Broussonetia papyrifera* and *Morus alba* leaves under 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-, 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- and control treatments

间的增加,15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,构树叶片 POD 活性从第 2 天至第 8 天持续上升,而桑树叶片 POD 活性先上升再下降再上升。30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,构树叶片 POD 活性从第 2 天至第 6 天持续上升,并达到最高值,之后下降,而桑树叶片 POD 活性第 4 天时最高,之后显著下降。构树和桑树的 POD 活性有显著差异性($P<0.05$)。

图 3 表明,同一树种不同浓度 HCO_3^-处理下,随着处理浓度和时间的增加,构树叶片 CAT 活性 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理显著高于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理($P<0.05$),而桑树叶片 CAT 活性显著升高后又显著下降,30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理对桑树叶片

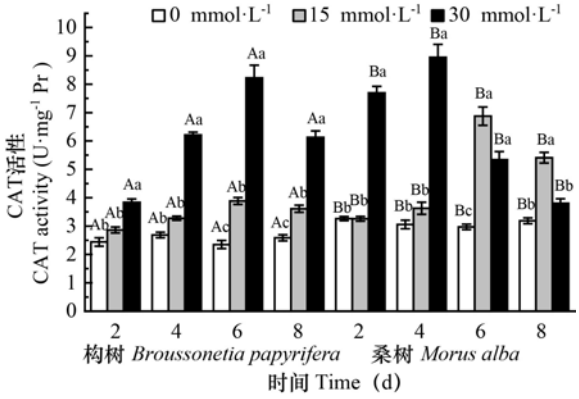


图 3　在对照、15 mmol · L^{-1} HCO_3^-和 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下构树和桑树叶片 CAT 活性的变化

Fig. 3　Changes of CAT activities in *Broussonetia papyrifera* and *Morus alba* leaves under 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-, 30 mmol · L^{-1} $HCO_3^-$and control treatments

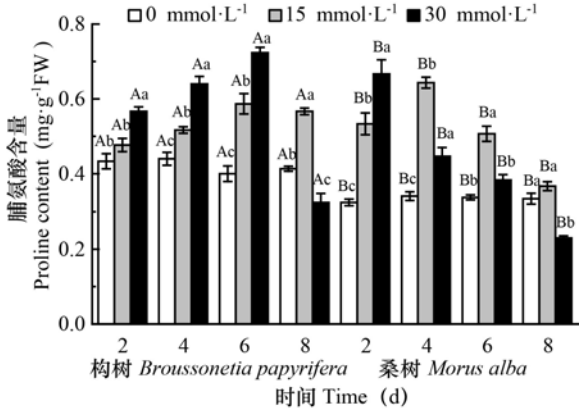


图 4　在对照、15 mmol · L^{-1} HCO_3^-和 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下构树和桑树叶片脯氨酸含量的变化

Fig. 4　Changes of proline contents in *Broussonetia papyrifera* and *Morus alba* leaves under 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-, 30 mmol · L^{-1} $HCO_3^-$and control treatments

CAT 活性的抑制作用显著强于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理($P<0.05$)。不同树种同一浓度 HCO_3^-处理下,随着时间的增加,15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,构树和桑树叶片 CAT 活性均在第 6 天时最高;30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,构树叶片 CAT 活性从第 2 天至第 6 天持续上升并达到最高值,而桑树叶片 CAT 活性在第 4 天时最高,之后显著下降。构树和桑树的 CAT 活性有显著差异性($P<0.05$)。

2.4 HCO_3^-处理下构树和桑树的渗透调节物质含量

从图 4 可以看出,同一树种不同浓度 HCO_3^-处理下,随着处理浓度和时间的增加,构树和桑树叶片脯氨酸含量均显著上升后下降,30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理对构树和桑树脯氨酸含量的抑制作用显著强于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理($P<0.05$)。不同树种同一浓度 HCO_3^-处理下,随着时间的增加,15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,构树叶片脯氨酸含量从第 2 天至第 6 天持续升高并保持稳定,而桑树叶片中脯氨酸含量第 4 天时最高,之后显著下降;30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,构树叶片脯氨酸含量第 2 天至第 6 天持续上升并到达最高,而桑树叶片脯氨酸含量从第 2 天至第 8 天一直持续下降。构树和桑树的脯氨酸含量有显著差异性($P<0.05$)。

如图 5 所示,同一树种不同浓度 HCO_3^-处理下,随着处理浓度和时间的增加,构树和桑树叶片可溶性糖含量均轻微升高后显著下降,30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理均对构树和桑树叶片可溶性糖含量的抑制作用显著强于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理($P<0.05$)。不同树种同一浓度 HCO_3^-处理下,随着时间的增加,15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,构树叶片可溶性糖含量在第 4 天时上升到 120 mg · g^{-1}左右后基本保持稳定,而桑树叶片可溶性糖含量从第 4 天后开始下降;30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,构树叶片可溶性糖含量在第 4 天时达到最大值,随后缓慢下降,而桑树叶片可溶性糖含量从第 2 天到第 8 天一直持续下降。

2.5 HCO_3^-处理下构树和桑树的细胞损伤情况

如图 6 所示,同一树种不同浓度 HCO_3^-处理下,随着处理浓度和时间的增加,构树和桑树叶片 TBARS 含量均是 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理高于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理($P<0.05$),所以 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理对构树和桑树叶片细胞损伤的程度均显著高于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理。不同树种同一浓度 HCO_3^-处理下,随着时间的增加,15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,桑树叶片 TBARS 含量显著上升,到第 4 天时稳定在 110 nmol · g^{-1}左右,TBARS 含量与对照组有显著差异($P<0.05$),而构树叶片 TBARS 含量与对照组没有显著差异($P>0.05$);30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,构树和桑树叶片中的 TBARS 含量均从第 2 天至第 8 天持续上升并到达最高。桑树的 TBARS 含量始终高于构树,因此桑树叶片细胞损伤的程度高于构树。

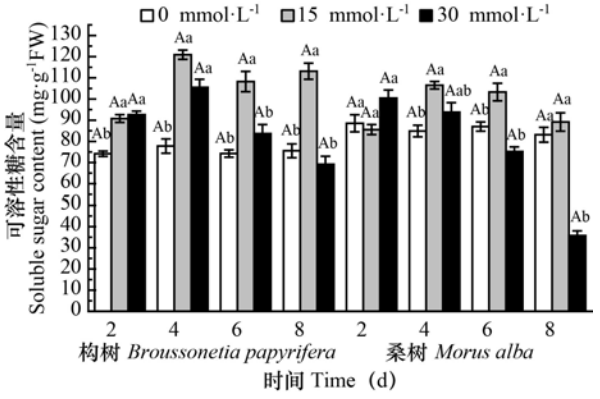


图 5 在对照、15 mmol · L^{-1} HCO_3^-和 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下构树和桑树叶片可溶性糖含量的变化

Fig. 5 Changes of soluble sugar contents in *Broussonetia papyrifera* and *Morus alba* leaves under 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-, 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- and control treatments

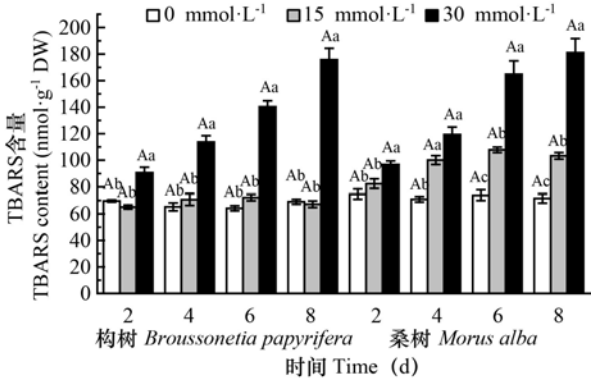


图 6 在对照、15 mmol · L^{-1} HCO_3^-和 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下构树和桑树叶片 TBARS 含量的变化

Fig. 6 Changes of TBARS contents in *Broussonetia papyrifera* and *Morus alba* leaves under 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-, 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- and control treatments

3 讨论与结论

3.1 HCO_3^-处理下构树和桑树幼苗生长的变化

碳酸氢盐处理对植物具有多方面的作用,一方面,HCO_3^-不仅能够使环境的 pH 值升高,而且能够影响植物对矿质元素的吸收(Maria et al., 2014),还能够通过渗透作用导致植物难以从环境中吸收水分;另一方面,HCO_3^-又是植物光合系统中不可缺少的成分(Terentyev & Zharmukhamedov, 2020),而且还能够通过根系的吸收成为植物进行光合作用的底物。不同浓度碳酸氢盐对同种植物、同等浓度碳酸氢盐对不同植物造成的影响都有可能是截然不同的(Hajiboland et al., 2003)。

植物的外部形态特征可以直观反映其耐盐碱胁迫能力(路斌等,2015)。本实验通过评估构树和桑树幼苗的生长指标,探究这两种植物在碳酸氢盐处理下抗碱胁迫能力。研究构树和桑树的生长指标显示,30 mmol · L^{-1}和 15 mmol · L^{-1} $NaHCO_3$处理使它们的生长均受到不同程度抑制,并有停止生长的趋势。但有学者表明,30 mmol · L^{-1}及其以下浓度的 Na^+对植物生长有促进作用(Anas & Vivekanandan, 2000;刘强等,2017),只有当 Na^+浓度大于 100 mmol · L^{-1}时,才会对植物产生较为明显的抑制作用(Zhu, 2001;李青松等,2009;闫国超等,2020)。本研究采用浓度为 15 mmol · L^{-1}和 30 mmol · L^{-1} $NaHCO_3$处理后,构树和桑树的生长受到抑制而非促进,可能是由碳酸氢盐中的 HCO_3^-胁迫造成的。

本实验中,30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理时,植物生长指标受抑制程度均高于其他浓度处理的结果,可能是随着 HCO_3^-的浓度增加,会升高 pH 导致植物根系对水和无机盐的吸收减弱(郭瑞等,2016),从而影响其正常的生长发育。此外,在 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,构树的生长情况要明显优于桑树,说明构树抗 HCO_3^-胁迫能力优于桑树。

3.2 HCO_3^-处理对构树和桑树光合特征的变化

光合作用能为植物提供生长所需的物质和能量,光合速率的大小能反映植物的生长情况(Greenway & Munns, 1980;白文波等,2008)。盐碱胁迫会影响光合作用并抑制植物生长(郭书奎和赵可夫,2001)。本研究中,构树和桑树的光合参数显示,在 30 mmol · L^{-1}和 15 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理下,它们的光合作用均受到不同程度的抑制,在 30 mmol · L^{-1} HCO_3^-处理时,受到抑制的程度最强。

在 $NaHCO_3$胁迫下,使植物光合作用受到抑制的原因可能是 HCO_3^-带来高 pH 使植物气孔关闭阻碍了 CO_2进入叶片引起的气孔限制,以及碱胁迫对光合器官直接的毒害引起的非气孔限制(Lauteri, 1991)。当 P_n下降,C_i减小,L_s增大时,可以认为 P_n

降低的原因是气孔限制；而 C_i 升高，L_s 减小，说明是非气孔限制（Farquhar & Sharkey, 1982; Mediavilla et al.,2002）。桑树和构树在 HCO_3^- 的胁迫下，随着其浓度的增强，桑树的 P_n 和 C_i 同时减小，L_s 增大，表明气孔限制是影响桑树光合速率降低的主要因素；而构树的 P_n 下降，C_i 先减小再增大，L_s 先增大后减小，显示影响其光合速率降低的因素有气孔和非气孔限制。说明在 HCO_3^- 胁迫下，气孔限制和非气孔限制对光合作用的抑制不是相互独立的（刘建新等，2012），随着 HCO_3^- 胁迫的浓度和时间不断增加，两者对植物的影响会不断发生变化。

本研究中，在两种浓度的 HCO_3^- 胁迫下，构树和桑树的光合作用均明显下降。虽然构树受到气孔和非气孔限制，但结果显示构树光合能力受抑制的程度要低于桑树。根据吴沿友等（2011）的研究可知，这是由于构树为喀斯特适生树种，对根际 HCO_3^- 的利用能力要高于桑树。而较高的吸收根际 HCO_3^- 能力能够为植株提供更多的光合底物，有利于维持其光合能力。但桑树在高浓度 HCO_3^- 添加到根际时，受到强烈的碱胁迫，这种高渗胁迫导致其气孔进一步关闭，并降低了植物根系吸收 HCO_3^- 的能力，使植物的光合系统和膜系统受到更严重的破坏（Cirillo et al., 2019），导致桑树的光合同化能力严重下降。所以构树的光合作用能力在 HCO_3^- 胁迫下强于桑树。

3.3 HCO_3^- 处理下构树和桑树的抗氧化酶活性、渗透调节物质含量及细胞损伤情况的变化

在盐碱胁迫下，植物的抗氧化酶保护与渗透调节作用同时存在并相互协作（袁泽斌等，2020）。碱胁迫增加了高 pH 的影响，抑制了植物细胞对离子的吸收并破坏离子平衡（Guo et al., 2010; Javid et al., 2012; Lin et al., 2012），使植物体内产生活性氧簇（ROS），造成一定程度的氧化伤害（刘建新等，2008）。SOD、CAT、POD 等抗氧化酶作为植物耐 $NaHCO_3$ 的生化选择指标（Ahmad et al., 2014），能够有效还原和清除植物体内的损伤膜系统共同抵制活性氧对细胞膜系统的伤害（陈展宇等，2017；陈展宇等，2019）。可溶性糖和脯氨酸作为研究抗盐碱性指标之一，在盐碱胁迫下可以引起渗透调节物质的积累，从而维持细胞内的渗透平衡，增强细胞结构稳定性（Smirnoff & Cumbes, 1989; Bohnert & Jensen, 1996; 张丽，2010）。

本研究中，构树和桑树在 $NaHCO_3$ 处理下，其抗氧化酶系统和渗透调节系统均受到影响，构树和桑树的抗氧化酶系统在碳酸氢盐胁迫处理初期均被激活以清除植株叶片内增多的 ROS。在长时间 15 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理下，桑树和构树 SOD、POD 和 CAT 活性均能维持较高水平；而 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理下，两个树种的抗氧化酶活性均在升高后下降，这说明 HCO_3^- 对构树和桑树的胁迫强度随着其浓度的升高而增强，而持久的胁迫作用使植物的代谢水平难以维持较高的抗氧化酶活性。其中，构树和桑树叶片的抗氧化酶活性指标显示，构树在 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- 的处理下其 POD 和 CAT 的活性从第 2 天到第 6 天持续上升，并高于对照、15 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理；而桑树在 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理下的 SOD、POD 和 CAT 活性第 4 天时最高，从第 6 天开始显著下降，并始终低于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理。构树的抗氧化酶活性在高浓度 HCO_3^- 胁迫下能维持植物正常代谢水平时间较长，说明构树有较强的耐碱胁迫能力（刘艳阳等，2006；高战武等，2018）。

在 15 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理下，构树的脯氨酸和可溶性糖含量逐步上升并保持稳定，渗透调节系统能维持在较高水平，而桑树却从第 4 天开始逐步下降，不能维持其叶片内渗透调节物质的含量。在 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理下，两个树种叶片内渗透性调节物质的含量均上升后下降。其中，构树在 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理下脯氨酸含量从第 2 天到第 6 天持续上升并到达最高，均高于其他浓度的处理；而桑树在 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理下脯氨酸和可溶性糖含量从第 2 天到第 8 天一直持续下降，并始终低于 15 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理，表现出桑树渗透调节能力较弱。以上结果也说明构树抗氧化酶系统和渗透调节系统耐 HCO_3^- 胁迫的能力均显著强于桑树。

TBARS 在一定程度上不仅能够反映细胞膜系统的损伤情况，而且还能与细胞内的蛋白质、核酸发生反应并使其变性（Smirnoff, 1993）。本研究中，在 30 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理下，构树和桑树的细胞膜系统均受到严重的损伤，并出现持续恶化的现象。但在 15 mmol · L^{-1} HCO_3^- 处理下，构树和桑树均能够通过抗氧化酶系统和渗透调节系统的作用，将细胞的损伤程度维持在一定水平，并且构树叶片细胞受到的伤害要低于桑树。

综上所述,在碳酸氢盐的胁迫下,HCO_3^-对植物光合能力、抗氧化酶活性、渗透调节物质含量等均有较为显著的抑制作用,并造成了植物叶片细胞损伤,结果也显示构树抗 HCO_3^-胁迫能力要优于桑树,这为探究 HCO_3^-处理下桑树和构树的生长、光合和抗逆性差异提供了一定的科学依据,同时对保护该环境下的桑科植物也有一定的指导作用。

参考文献:

AEBI H, 1984. Catalase *in vitro* [J]. Method Enzymol, 105(105): 121-126.

AHMAD P, OZTURK M, SHARMA S, et al., 2014. Effect of sodium carbonate-induced salinity-alkalinity on some key osmoprotectants, protein profile, antioxidant enzymes, and lipid peroxidation in two mulberry (*Morus alba* L.) cultivars [J]. J Plant Interact, 9(1): 460-467.

AHMAD P, SHARMA S, 2010. Physio-biochemical attributes in two cultivars of mulberry (*Morus alba* L.) under $NaHCO_3$ stress [J]. Int J Plant Produc, 4(2): 79-86.

ANAS S, VIVEKANANDAN M, 2000. Influence of NaCl salinity on the behavior of hydrolases and phosphatases in mulberry genotypes: relationship to salt tolerance [J]. J Plant Biol, 43(4): 217-225.

BAI WB, LI PF, LI BG, 2008. Responses of growth and photosynthetic characteristics of *Iris lactea* var. *chinensis* under NaCl and $NaHCO_3$ stress [J]. Acta Pedol Sin, 45(2): 328-335. [白文波, 李品芳, 李保国, 2008. NaCl 和 $NaHCO_3$胁迫下马蔺生长与光合特性的反应 [J]. 土壤学报, 45(2): 328-335.]

BOHNERT HJ, JENSEN RG, 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants [J]. Trends Biotechol, 14(3): 89-97.

CHEN S, XING J, LAN H, 2012. Comparative effects of neutral salt and alkaline salt stress on seed germination, early seedling growth and physiological response of a halophyte species *Chenopodium glaucum* [J]. Afr J Biotechnol, 11(40): 9572-9581.

CHEN ZY, CHANG YT, DENG C, et al., 2017. Effects of saline-alkali habitat on antioxidant enzyme activity and biomass of sweet sorghum seedlings [J]. J Jilin Agric Univ, 39(1): 15-19. [陈展宇, 常雨婷, 邓川, 等, 2017. 盐碱生境对甜高粱幼苗抗氧化酶活性和生物量的影响 [J]. 吉林农业大学学报, 39(1): 15-19.]

CHEN ZY, FEI XY, SUN F, et al., 2019. Effects of saline-alkali stress on activities and gene expression of antioxidant enzymes of transgenic *Lc-CDPK* rice [J]. J NW A & F Univ (Nat Sci Ed), 47(5): 15-22. [陈展宇, 费小钰, 孙帆, 等, 2019. 盐碱胁迫对转 *Lc-CDPK* 基因水稻抗氧化酶活性及基因表达的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 47(5): 15-22.]

CIRILLO C, DE MV, ARENA C, et al., 2019. Biochemical, physiological and anatomical mechanisms of adaptation of *Callistemon citrinus* and *Viburnum lucidum* to NaCl and $CaCl_2$ salinization [J]. Front Plant Sci, 10(4): 742.

DOU YY, WANG BZ, ZHANG L, et al., 2008. Mitigtive effect of HCO_3^--DIC on eutrophication stress on *Vallisneria natans* [J]. Ecol Environ, 17(4): 1581-1585. [窦艳艳, 王保忠, 张浏, 等, 2008. 碳酸氢根缓解高营养负荷下苦草(*Vallisneria natans*)胁迫的作用 [J]. 生态环境, 17(4): 1581-1585.]

FARQUHAR GD, SHARKEY TD, 1982. Stomatal conductance and photosynthesis [J]. Ann Rev Plant Physiol, 33(1): 317-345.

GAO XK, 2020. Research progress on application of *Broussonetia papyrifera* fermented feed in pigs and poultry breeding [J]. Animal Indust Environ, 28(12): 73. [高肖卡, 2020. 构树发酵饲料在猪禽养殖中的应用研究进展 [J]. 畜牧业环境, 28(12): 73.]

GAO ZW, LIU J, LIU QY, et al., 2018. Adaptive morphological and physiological responses of oat seedlings to stress on two basic salts ($NaHCO_3$ and Na_2CO_3) [J]. Bot Res, 7(6): 611-626. [高战武, 刘晶, 刘权昱, 等, 2018. 燕麦幼苗对两种碱性盐($NaHCO_3$和 Na_2CO_3)胁迫的适应性形态和生理响应 [J]. 植物学研究, 7(6): 611-626.]

GREENWAY H, MUNNS RA, 1980. Mechanisms of salt tolerance innonhalophytes1 [J]. Ann Rev Plant Physiol, 31(4): 149-190.

GUO R, LI F, ZHOU J, et al., 2016. Eco-physiological responses of linseed (*Linum usitatissimum*) to salt and alkali stresses [J]. Chin J Plant Ecol, 40(1): 69-79. [郭瑞, 李峰, 周际, 等, 2016. 亚麻响应盐、碱胁迫的生理特征 [J]. 植物生态学报, 40(1): 69-79.]

GUO R, SHI LX, DING XM, et al., 2010. Effects of saline and alkaline stress on germination, seedling growth, and lon balance in wheat [J]. Agron J, 102(4): 1252-1260.

GUO SK, ZHAO KF, 2001. The possible mechanisms of NaCl inhibit photosynthesis of maize seedlings [J]. Acta Phytophysiol Sin, 27(6): 461-466. [郭书奎, 赵可夫, 2001. NaCl 胁迫抑制玉米幼苗光合作用的可能机理 [J]. 植物生理学报, 27(6): 461-466.]

HAJIBOLAND R, YANG XE, ROMHELD V, 2003. Effects of bicarbonate and high pH on growth of Zn-efficient and Zn-inefficient genotypes of rice, wheat and rye [J]. Plant Soil, 250(2): 349-357.

HAN RH, LU XS, GAO GJ, et al., 2007. Photosynthetic physiological response of alfalfa (*Medicago sativa*) to drought stress [J]. Acta Ecol Sin, 27(12): 5229-5237. [韩瑞宏, 卢欣石, 高桂娟, 等, 2007. 紫花苜蓿(*Medicago sativa*)对干旱胁迫的光合生理响应 [J]. 生态学报, 27(12): 5229-5237.]

HARTUNG W, LEPORT L, RATCLIFFE, et al., 2002. Abscisic acid concentration, root pH and anatomy do not explain growth differences of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and lupin (*Lupinus augustifolius* L.) on acid and alkaline soils [J]. Plant Soil, 240(1): 191-199.

HEATH R, PACKER L, 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. Arch Biochem Biophys, 125 (1): 189-198.

HUSSNER A, METTLER-ALTMANN T, WEBER APM, et al., 2016. Acclimation of photosynthesis to supersaturated CO_2 in aquatic plant bicarbonate users [J]. Freshwater Biol, 61(10): 1720-1732.

JAVID M, FORD R, NICOLAS ME, 2012. Tolerance responses of *Brassica juncea* to salinity, alkalinity and alkaline salinity [J]. Funct Plant Biol, 39(8): 699-707.

KEELEY JE, OSMOND CB, RAVEN JA, 1984. Stylites, a vascular land plant without stomata absorbs CO_2 via its roots [J]. Nature, 310(5979): 694-695.

LAUTERI BM, 1991. Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C_3 non-halophytes [J]. Plant Physiol, 95(2): 628-635.

LEI YB, YIN CY, LI CY, 2007. Differences in some morphological, physiological, and biochemical responses to drought stress in two contrasting populations of *Populus przewalskii* [J]. Physiol Plantarum, 127(2): 182-191.

LI B, WANG ZC, SUN ZG, et al., 2005. Resources and sustainable resource exploitation of salinized land in China [J]. Agric Res Arid Areas, 23(2): 152-158. [李彬, 王志春, 孙志高, 等, 2005. 中国盐碱地资源与可持续利用研究 [J]. 干旱地区农业研究, 23(2): 154-158.]

LI QS, ZHOU CJ, SHANG HB, et al., 2009. Effects of transpiration on sodium accumulation in the shoots of winter wheat under salt stress [J]. Plant Nutr Fert Sci, 15(1): 32-40. [李青松, 周春菊, 尚浩博, 等, 2009. 盐胁迫下蒸腾对冬小麦地上部钠积累的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 15(1): 32-40.]

LIN JX, LI XY, ZHANG ZJ, et al., 2012. Salinity-alkalinity tolerance in wheat: seed germination, early seedling growth, ion relations and solute accumulation [J]. Afr J Agric Res, 7(3): 467-474.

LIU JX, HU HB, WANG X, 2008. Alleviative effects of exogenous nitric oxide on root growth inhibition and its oxidative damage in rye grass seedlings under NaCl stress [J]. Bull Bot Res, 28(1): 7-13. [刘建新, 胡浩斌, 王鑫, 2008. 外源 NO 对盐胁迫下黑麦草幼苗根生长抑制和氧化损伤的缓解效应 [J]. 植物研究, 28(1): 7-13.]

LIU JX, WANG X, JIA HY, et al., 2012. Differences in photosynthetic responses of *Lolium perenne* seedlings under NaCl and $NaHCO_3$ stress [J]. J Desert Res, 32(5): 1342-1348. [刘建新, 王鑫, 贾海燕, 等, 2012. 黑麦草幼苗对 NaCl 和 $NaHCO_3$ 胁迫的光合响应差异 [J]. 中国沙漠, 32(5): 1342-1348.]

LIU Q, WANG ZW, ZHOU XM, 2017. Osmotic adjustments in *Lycium dasystemum* and *Lycium chinense* under $NaHCO_3$ stress [J]. J NE For Univ, 45(2): 34-38. [刘强, 王占武, 周晓梅, 2017. $NaHCO_3$ 胁迫下新疆枸杞和枸杞的渗透调节作用 [J]. 东北林业大学学报, 45(2): 34-38.]

LIU YY, LI JZ, CHEN L, et al., 2006. Effects of low temperature stress on peroxidation product of membrane lipids and activity of related enzymes in wheat seedling leaves [J]. J Tritic Crops, 24 (4): 77-80. [刘艳阳, 李俊周, 陈磊, 等, 2006. 低温胁迫对小麦叶片细胞膜脂质过氧化产物及相关酶活性的影响 [J]. 麦类作物学报, 24(4): 77-80.]

LU B, HOU YM, LI XY, et al., 2015. Physiological response and salt-tolerance of *Gleditsia microphylla* under NaCl stress [J]. Chin J Appl Ecol, 26(11): 3293-3299. [路斌, 侯月敏, 李欣洋, 等, 2015. 野皂荚对 NaCl 胁迫的生理响应及耐盐性 [J]. 应用生态学报, 26(11): 3293-3299.]

LU S, ZHANG S, XU X, et al., 2009. Effect of increased alkalinity on Na^+ and K^+ contents, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in two populations of *Populus cathayana* [J]. Biol Plant, 53(3): 597-600.

MARIA J, GARCIA MJ, GARCIA M, et al., 2014. Hypoxia and bicarbonate could limit the expression of iron acquisition genes in strategy I plants by affecting ethylene synthesis and signaling in different ways [J]. Physiol Plant, 150(1): 95-106.

MCCRAY JM, MATOCHA JE, 1992. Effects of soil water levels on solution bicarbonate, chlorosis and growth of sorghum [J]. J Plant Nutr, 15(10): 1877-1890.

MEDIAVILLA S, SANTIAGO H, ESCUDERO A, 2002. Stomatal and mesophyll limitations to photosynthesis in one evergreen and one deciduous Mediterranean oak species [J]. Photosynthetica, 40(4): 553-559.

MICHAEL TR, TERRY JR, JUAN P, et al., 2012. Root metabolic response of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with contrasting tolerance to zinc deficiency and bicarbonate excess [J]. Planta, 236(4): 959-973.

PENG FR, YANG YZ, ZHU ZX, 2007. Effects of drought stress on lipid peroxidation and protective enzyme systems in leaf of *Toona sinensis* from different provenances [J]. J Plant Resour Environ, 16(2): 44-47. [彭方仁, 杨玉珍, 朱振贤, 2007. 干旱胁迫对不同种源香椿叶片膜脂过氧化和保护酶系统的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 16(2): 44-47.]

RAO S, WU YY, 2017. Root-derived bicarbonate assimilation in response to variable water deficit in *Camptotheca acuminate* seedlings [J]. Photosynth Res, 134(1): 59-70.

REN YH, LIU SQ, QI WL, et al., 2017. Changes of super oxygen anion in mulberry varieties under water stress

[J]. Guihaia, 37 (9): 1122-1129. [任迎虹, 刘松青, 祁伟亮, 等, 2017. 干旱胁迫下桑树叶片中超氧阴离子的变化规律 [J]. 广西植物, 37(9): 1122-1129.]

SALBITANI G, BOLINESI F, AFFUSO M, 2020. Rapid and positive effect of bicarbonate addition on growth and photosynthetic efficiency of the green microalgae *Chlorella sorokiniana* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae) [J]. Appl Sci, 10(13): 4515.

SHAHSAVANDIA F, ESHGHIA S, GHARAGHANIAB A, et al., 2020. Effects of bicarbonate induced iron chlorosis on photosynthesis apparatus in grapevine [J]. Sci Hortic, 270(12): 109427.

SHI DC, YIN LJ, 1993. Difference between salt (NaCl) and alkaline (Na_2CO_3) stresses on *Puccinellia tenuiflora* (Griseb.) Scribn. et Merr. plants [J]. Acta Bot Sin, 35 (2): 144-149. [石德成, 殷丽娟, 1993. 盐(NaCl)与碱(Na_2CO_3)对星星草胁迫作用的差异 [J]. 植物学报, 35(2): 144-149.]

SMIRNOFF N, 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation [J]. New Phytol, 125(1): 27-58.

SMIRNOFF N, CUMBES QJ, 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes [J]. Phytochemistry, 28(4): 1057-1060.

STOKES TR, GRIFFITHS PA, 2019. An overview of the karst areas in British Columbia, Canada [J]. Geosci Can, 46(1): 49-66.

TERENTYEV VV, ZHARMUKHAMEDOV SK, 2020. Evolutionary loss of the ability of the photosystem I primary electron donor for the redox interaction with Mn-bicarbonate complexes [J]. Biochemistry, 85(6): 697-708.

TIAN H, CHEN Y, ZHU N, et al., 2020. Effect of *Broussonetia papyrifera* silage on the serum indicators, hindgut parameters and fecal bacterial community of Holstein heifers [J]. AMB Express, 10(1): 197.

TIKHONOV K, SHEVELA D, KLIMOV VV, et al., 2018. Quantification of bound bicarbonate in photosystem II [J]. Photosynthetica, 56(1): 210-216.

WU YY, LIU CQ, LI PP, et al., 2009. Photosynthetic characteristics involved in adaptability to karst soil and alien invasion of paper mulberry (*Broussonetia papyrifera* (L.) Vent.) in comparison with mulberry (*Morus alba* L.) [J]. Photosynthetica, 47(1): 155-160.

WU YY, XING DK, LIU Y, 2011. The characteristics of bicarbonate used by plants [J]. Earth Environ, 39 (2): 273-277. [吴沿友, 邢德科, 刘莹, 2011. 植物利用碳酸氢根离子的特征分析 [J]. 地球与环境, 39(2): 273-277.]

YAN GC, FAN XP, TAN L, et al., 2020. Exogenous silicon effectively enhances salt stress resistance of rice by upregulating antioxidant enzymes activities and expression of genes related to Na/K homeostasis [J]. Plant Nutr Fert Sci, 26 (11): 1935-1943. [闫国超, 樊小平, 谭礼, 等, 2020. 盐胁迫下添加外源硅提高水稻抗氧化酶活性与钠钾平衡相关基因表达 [J]. 植物营养与肥料学报, 26(11): 1935-1943.]

YUAN ZB, MOU CH, WANG B, et al., 2020. Effects of mixed salt stress of NaCl and $NaHCO_3$ on physiological characteristics of *Iris lactea* var. *chinensis* seedlings [J]. J Zhejiang Agric Sci, 61(1): 91-95. [袁泽斌, 牟昌红, 王波, 等, 2020. NaCl 和 $NaHCO_3$混合盐胁迫对马蔺幼苗生理特性的影响 [J]. 浙江农业科学, 61(1): 91-95.]

ZHANG C, WANG JL, PU JB, et al., 2012. Bicarbonate daily variations in a karst river: the carbon sink effect of subaquatic vegetation photosynthesis [J]. Acta Geol Sin, 86(4): 973-979.

ZHANG L, 2010. Research of response to salt stress and the mechanism of salt-tolerance on three *Nitraria* species [D]. Beijing: China Academy of Forestry Science: 56-66. [张丽, 2010. 3 种白刺对盐胁迫的响应及耐盐机理研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院: 56-66.]

ZHANG S, CHEN LH, DUAN BL, et al., 2000. Population differences in water-use efficiency of *Eucalyptus microtheca* seedlings under different watering regimes [J]. Physiol Plantarum, 108(2): 134-139.

ZHU H, ZU YG, WANG WJ, et al., 2009. Effects of proline on plant growth under different stress conditions [J]. J NE For Univ, 37(4): 86-89. [朱虹, 祖元刚, 王文杰, 等, 2009. 逆境胁迫条件下脯氨酸对植物生长的影响 [J]. 东北林业大学学报, 37(4): 86-89.]

ZHU JK, 2001. Plant salt tolerance [J]. Trends Plant Sci, 6(2): 66-71.

ZOU Q, 2003. Laboratory procedure of plant physiology [M]. Beijing: China Agricultural Press: 110-114. [邹琦, 2003. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社: 110-114.]

(责任编辑 周翠鸣)



《广西植物》：

经评估，你刊入选

林草科技重点期刊

有效期：2022年7月至2025年7月

证书编号：202223

国家林业和草原局

2022年7月

EBSCO

INFORMATION SERVICES

CERTIFICATE OF INCLUSION 收 录 证 书

This acknowledges that

Guihaia

has been licensed for indexing and inclusion in EBSCO research database from 2014 vol. 34(3) onwards.

兹证明

广西植物

从2014年第34(3)期被收录于 EBSCO 学术数据库。

EBSCO INTERNATIONAL CHINA CO., LTD.

艾博思科印刷出版咨询（北京）有限公司

Ref. no. 备查号：MID-HR3O

广西植物 被国际和国内重要数据库收录：

☆ 俄罗斯《文摘杂志》(AJ，VINITI，Abstract Journal)
☆ 美国《化学文摘》(CA，Chemical Abstracts)
☆ 英国《国际农业与生物科学研究中心（全文库）》(CABI)
☆ 英国《全球健康》(Global Health)
☆ 美国《剑桥科学文摘》(CSA：NS)
☆ 波兰《哥白尼索引》(IC，Index of Copernicus)
☆ 日本《日本科学技术振兴机构数据库》(JST，Japan Science and Technology Agency)
☆ 美国《乌利希国际期刊指南》(Ulrich's，PD)
☆ 美国《史蒂芬斯全文数据库—艾博思科数据库》(EBSCOhost)
☆ 英国《邱园索引》(Index Kewensis)
☆ 美国《柯尔比科学文化信息中心》(CICSC)
☆ 中国《中文核心期刊要目总览》—中文核心期刊
☆ 中国科技论文统计与分析数据库(CSTPCD)—中国科技核心期刊
☆ 中国科学引文数据库(CSCD)、科学引文数据库（SCD）
☆ 中国生物学文献数据库(CBAD)、中国生物学文摘(CBA)
☆ 中国学术期刊文摘数据库(CSAD)、中国化学化工文摘(网络版)
☆ 中国期刊全文数据库(CJFD)
☆ 中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)
☆ 中国知识资源总库—中国科技期刊精品数据库(http://epub.cnki.net)
☆ 中国知网《中国学术期刊(网络版)》(CAJ-N)首批收录期刊(http://navi.cnki.net/knavi/JournalDetail?pcode=CJFD&pykm=GXZW)
☆ 中文科技期刊数据库（SWIC）(http://www.cqvip.com)
☆ 中国核心期刊（遴选）数据库(http://wanfangdata.com.cn)
☆ 中国生物医学文献服务系统(SinoMed) (http://www.sinomed.ac.cn)
☆ 中国台湾华艺中文电子期刊服务资料库—思博网(CEPS)(http://www.ceps.com.tw)
☆ 博看网(http://www.bookan.com.cn)、龙源期刊网(http://www.qikan.com.cn)
☆ 中国科学院科技论文预发布平台(ChinaXiv)(http://chinaxiv.org)
☆ 中国科学院科技期刊开放获取平台(CAS-OAJ)(http://www.oaj.cas.cn)
☆ 国家科技期刊开放平台（http://doaj.istic.ac.cn）

广西植物
月刊，1981年创刊
第42卷 第7期 2022年7月

GUIHAIA
Monthly，Started in 1981
Vol. 42 No. 7 Jul. 2022

主管单位：广西科学院
主办单位：广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所
广西植物学会
名誉主编：马克平
主　　编：李先琨
副 主 编：蒋巧媛(常务)　李　莉
编辑单位：《广西植物》编辑部
地　　址：桂林市雁山　邮编：541006
电话/传真：（0773）3550074
电子信箱：guihaia@gxib.cn
网　　址：http://www.guihaia-journal.com
出版单位：科学出版社
（北京东黄城根北街16号　邮编：100717）
印刷装订：桂林日报印刷厂
订 购 处：全国各地邮局
总 发 行：科学出版社
国内发行：中国邮政集团公司桂林市分公司
海外总发行：中国国际图书贸易集团有限公司
（北京399信箱）

Supervised by Guangxi Academy of Sciences
Sponsored by Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences
Guangxi Society of Botany
Honorary Editor-in-Chief: MA Keping
Editor-in-Chief: LI Xiankun
Associate Editors-in-Chief: JIANG Qiaoyuan(Managing)　LI Li
Edited by Editorial Office of *GUIHAIA*
Addr.: Yanshan, Guilin 541006, Guangxi, China
Tel. / Fax: 86-773-3550074
E-mail: guihaia@gxib.cn
http://www.guihaia-journal.com
Published by Science Press
(16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China)
Printed by Guilin Daily Printer (China)
Subscribed by All Local Post Offices in China
Distributed by Science Press
Domestically Distributed by Guilin Branch of China Post Group
Overseas Distributed by China International Book Trading Corporation
(P.O.Box 399, Beijing)

ISSN 1000-3142
CN 45-1134/Q
国内定价：45.00元
国内邮发代号：48-43
国外发行代号：MO-5054

版权所有©　国内外公开发行

（购买本刊请扫上方二维码）

ISSN 1000-3142
07