

李海霞,张妍妍,白卉,等. 供氮水平对白桦幼苗生物量、碳氮含量与储量的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(22):156-159.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.22.042

供氮水平对白桦幼苗生物量、碳氮含量与储量的影响

李海霞¹, 张妍妍¹, 白卉¹, 邢亚娟²

(1. 黑龙江省林业科学研究所速生林木培育重点实验室,黑龙江哈尔滨 150081; 2. 黑龙江省林业科学研究所,黑龙江哈尔滨 150081)

摘要:研究了不同供氮水平(1、4、8、16 mmol/L)对温室内沙培白桦幼苗根、茎、叶生物量、叶绿素含量、氮含量以及碳氮储量和器官分配的影响。结果表明,供氮水平对白桦幼苗不同器官干生物量、叶绿素含量、氮含量以及碳氮储量的影响不同。地上部分和地下部分生物量在高氮(16 mmol/L)条件下达最大;在 N_8 水平下,叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a + b 总量以及类胡萝卜素含量比低氮(N_1)分别增加了 99.2%、70.0%、89.5% 和 83.8%;幼苗根、茎、叶中的全氮含量在 N_8 水平下达最大,但碳、氮储量由于受生物量影响,均是在高氮供应下达最大。总体来看,增加氮的供应有助于白桦幼苗的生长,生长末期幼苗大部分的营养分配到了根部。

关键词:白桦;供氮水平;生物量;碳氮储量

中图分类号: Q945.12; S792.153.05 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)22-0156-03

氮是植物生长所必需的大量营养元素,在植物生长、发育和繁殖等过程中有着重要的作用。自然状态下,很多生态系统生产力都表现为氮限制、磷限制或者氮磷共限制^[1-2]。氮素的供应量及其有效性制约着林木的生长速度及生长状态,比其他任何一种营养元素更能限制植物的生产力^[3-4],明显影响植物对碳同化物质的分配格局。

白桦(*Betula platyphylla*)属桦木科(Betulaceae)桦木属(*Betula* L.)植物,在我国14个省区有分布。白桦生长快、适应性强、材质优良,是造纸、胶合板材和家具制造的重要原料,也是培育单板类人造板材速生丰产林的首选树种之一^[5-8]。本研究以白桦幼苗为试验材料,研究供氮水平对白桦幼苗不同器官生长、生理以及碳、氮储量与分配的影响,进一步明确不同氮浓度对白桦幼苗生长的影响机制,旨在为白桦幼苗合理施肥提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料来源

试验所用苗木为1年生白桦播种苗。本试验在全自动温室中进行,室内温度25℃左右,湿度50%~60%。

1.2 研究方法

1.2.1 试验设计与处理方法 2015年4月将白桦幼苗根部用清水洗净后,用高锰酸钾溶液进行消毒,再用蒸馏水清洗3遍后装至盛有河沙的钵中栽培,钵底径10.0 cm,上口径15.0 cm,高10.0 cm,钵上沿空出2~3 cm,以便浇水和浇灌营养液,每钵移植白桦幼苗1株。营养液中各成分及浓度如下:4 mmol/L NH_4NO_3 , 1 mmol/L $CaCl_2 \cdot 6H_2O$, 1 mmol/L

KH_2PO_4 , 0.6 mmol/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 mmol/L KCl, 0.021 mmol/L $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 6 μ mol/L $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 0.016 mmol/L H_3BO_3 , 0.3 μ mol/L $ZnCl_2$, 0.3 μ mol/L $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, 0.3 μ mol/L $CuCl_2 \cdot 2H_2O$,用 $Ca(OH)_2$ 或 H_2SO_4 把 pH 值调整到 5.5 左右。

5月末进行不同供氮水平处理。设置4个梯度:1 mmol/L(N_1)、4 mmol/L(N_4)、8 mmol/L(N_8)、16 mmol/L(N_{16}),通过调节 NH_4NO_3 浓度来实现。各个处理均为15株,3次重复。在进行不同处理时,其他营养成分不变。每周二和周五08:00—09:00时浇1次营养液,每次每钵浇50 mL。除周二和周五外每天上午和下午分2次浇水,每次每钵约100 mL^[9]。

1.2.2 测定指标与方法 9月中旬,将处理的白桦幼苗从钵中取出,用流水将河沙冲洗干净,将处理过的苗木带回实验室用电子天平称根、茎和叶鲜质量,然后置于75℃烘箱里烘干至恒质量,测量干质量,每个处理均取3株幼苗,单株重复,重复3次。

叶绿素含量的测定:称取0.1 g剪碎的新鲜叶片,加少量石英砂和碳酸钙粉及2 mL 95%乙醇,研成匀浆;再加乙醇10 mL,继续研磨至组织变白;倒入25 mL棕色容量瓶中,用乙醇定容,离心;以95%乙醇为空白,取上清液用T6紫外可见分光光度计分别测定470、649、665、652 nm处的吸光度(D),各叶绿素含量计算公式如下:

$$C_a = 13.95D_{665\text{ nm}} - 6.88D_{649\text{ nm}};$$

$$C_b = 24.96D_{649\text{ nm}} - 7.32D_{665\text{ nm}};$$

$$C_{a+b} = D_{652\text{ nm}} \times 1000/34.5;$$

$$C_{\text{类}} = \frac{1000D_{470\text{ nm}} - 2.05C_a - 114.8C_b}{245};$$

叶绿素含量(mg/g) = $\frac{\text{色素的浓度}(C) \times \text{提取液体积} \times \text{稀释倍数}}{\text{样品鲜质量}}$

每处理均取3株幼苗,单株重复,重复3次。

碳氮含量的测定:将白桦幼苗分根、茎和叶烘干粉碎,用浓 $H_2SO_4 - H_2O_2$ 进行消煮,滤液定容到100 mL容量瓶,用德

收稿日期:2016-06-14

基金项目:黑龙江省森工总局项目(编号:sgzjQ2014005);黑龙江省科研机构创新能力提升专项(编号:YC2014 D005)。

作者简介:李海霞(1980—),女,山西长治人,硕士,副研究员,主要从事森林培育研究。E-mail:lsbjqf@163.com。

通信作者:邢亚娟,博士,研究员,主要从事林木遗传育种研究。

E-mail:xingyajuan@163.com。

国耶拿 multiN/C2100s 碳氮分析仪测定全氮。碳含量的测定采用固体燃烧法,选取 100 mg 粉碎样品,在 1 100 °C 高温下充分燃烧,测定样品中的全碳含量。每处理均取 3 株幼苗,单株重复,重复 3 次。碳(氮)储量 = 碳(氮)浓度 × 生物量。

1.3 数据处理

所有数据采用 Microsoft Excel 软件整理作图,采用 SPSS 16.0 软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 氮处理对白桦幼苗生物量的影响

植物生态系统生物量大小受到土壤中可利用营养元素、

土壤 pH 值、温度、降水等多种理化因子的影响^[10]。其中氮是许多生态系统中限制植物生长最关键的营养元素,因此氮输入的增加可提高土壤中可利用氮的含量,消除或缓解氮的限制,促进植物的生长。

由表 1 可知,随着供氮浓度的增加,白桦叶的生物量逐渐增加,在 N_8 时达到最大,为 2.04 g/株,比 N_1 增加了 30.88%。在高氮(N_{16})供应时,叶的生物量有所下降,但差异不显著($P=0.536 > 0.05$)。茎生物量在 N_{16} 供应下达最大,为 2.14 g/株,地上总生物量也在 N_{16} 水平下达最大,为 4.14 g/株。根生物量与地上部分变化相似,在 N_{16} 水平下达最大,为 4.60 g/株。

表 1 供氮浓度对白桦幼苗生物量的影响

g/株

| 处理 | 地上部分干质量 | | | 根干质量 | 总干质量 |
|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 叶 | 茎 | 地上总质量 | | |
| N_1 | 1.41 ± 0.21b | 1.9 ± 0.72a | 3.31 ± 0.67a | 2.72 ± 0.08b | 6.04 ± 0.65c |
| N_4 | 1.61 ± 0.16b | 1.41 ± 0.40a | 3.02 ± 0.08a | 3.86 ± 0.56b | 6.88 ± 0.64c |
| N_8 | 2.04 ± 0.28a | 1.86 ± 0.71a | 3.90 ± 0.43a | 4.56 ± 0.45a | 8.47 ± 0.87b |
| N_{16} | 2.00 ± 0.73a | 2.14 ± 0.74a | 4.14 ± 1.56a | 4.60 ± 1.71a | 8.74 ± 3.23a |

注:表中数据均为均值 ± 标准差,同列数值后不同小写字母表示差异达 5% 显著水平。

经方差分析,不同供氮浓度对根、叶以及总干质量的影响差异显著(根 $P < 0.05$,叶 $P < 0.05$,总质量 $P < 0.05$)。根、茎和叶这 3 个器官生物量的变化最终导致白桦幼苗全株总生物量在 1 ~ 16 mmol/L 的供氮范围内在 N_{16} 时达最大,为 8.74 g/株,比 N_1 、 N_4 、 N_8 分别增加了 30.93%、21.24% 和 3.09%。

2.2 氮处理对白桦幼苗叶片色素含量的影响

由图 1 可以看出,随供 N 浓度的提高白桦幼苗叶中叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a + b 总量、类胡萝卜素含量均增加,在供 N 浓度为 8 mmol/L (N_8) 时达最大,叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a + b 总量、类胡萝卜素含量分别为 2.68、0.88、3.63 和 0.53 mg/g,与 N_1 相比净增加幅度为 99.2%、70.0%、89.5% 和 83.8%。当超过 N_8 时,叶绿素含量有所下降。

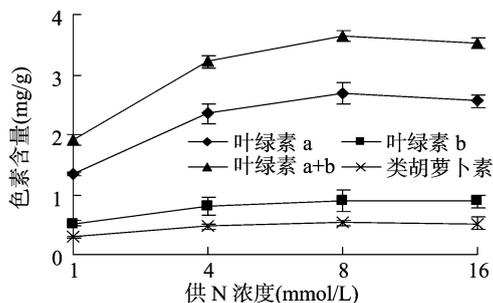


图 1 供 N 浓度对白桦幼苗色素含量的影响

2.3 氮处理对白桦幼苗全氮含量的影响

氮是限制植物生长最重要的大量元素之一^[11],它直接限制着森林生产力^[12-14]。有研究表明植物根系的氮吸收能力与根系内部含量呈负相关^[15],当土壤中的养分含量非常丰富或者施肥量过高时,叶片和根系的氮含量与土壤养分供给量不成正比^[16],但当其成为限制性资源时,根系中的养分含量和叶片中的养分含量也相应降低。

在本研究中,随着氮素供应量的增加,白桦幼苗根、茎、叶中氮的浓度均呈上升趋势(图 2)。相对于其他器官,叶片中氮浓度最高,根次之,茎最低,可见幼苗吸收的氮素主要分配

到了幼苗的叶部分。根中全氮浓度在 N_{16} (16 mmol/L) 处理下达到了最大值,为 14.72 mg/g,分别比 N_1 、 N_4 、 N_8 增加了 40%、18.6% 和 20.5%,但茎中氮的浓度在正常供氮 N_8 (8 mmol/L) 最高,超过正常供氮,反而有所下降,由正常供氮的 12.45 mg/g 降为 10.8 mg/g。叶中全氮浓度的变化与茎相似,这说明增加氮的供应量可导致幼苗根、茎、叶中氮的积累。

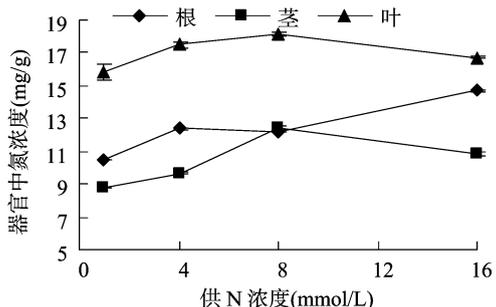


图 2 供 N 浓度对白桦幼苗各器官全氮含量的影响

2.4 供氮水平对白桦幼苗碳含量的影响

从图 3 可以看出,白桦幼苗茎中碳含量最高,叶次之,根最低。经方差分析可知,在本试验中,不同的供氮浓度对全碳含量的影响差异不显著。

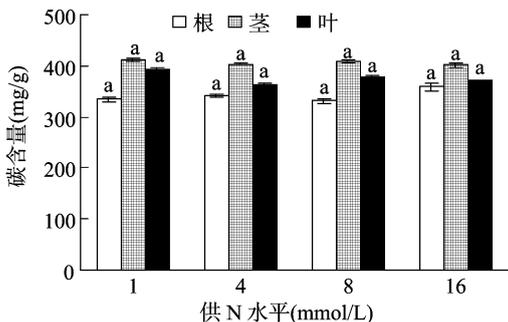
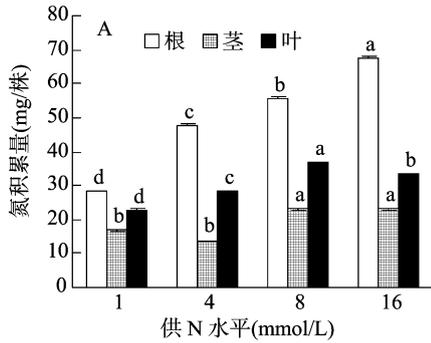


图 3 供 N 浓度对白桦幼苗各器官全碳含量的影响

2.5 供氮水平对白桦幼苗氮、碳积累量的影响

氮在苗木体内不同器官的积累分配反映苗木的营养状

态。由图4-A可以看出,在不同供氮浓度下,白桦幼苗根中氮积累量最大,叶次之,茎最少。随着供氮浓度的增加,氮积累量逐渐增加。白桦幼苗体内氮积累量在不同供氮浓度下差异显著(根、茎、叶 $P < 0.05$)。根中氮积累量在 N_{16} 下达最大,为 67.76 mg/株,分别是 N_1 、 N_4 、 N_8 的 2.36、1.41、1.21 倍,这主要是由生物量引起的。茎和叶中氮积累量均在 N_8 水平下达最大,分别为 23.09 mg/株和 36.96 mg/株, N_8 茎中氮含量是 N_1 、 N_4 的 1.38 和 1.69 倍, N_8 叶片中氮积累量是 N_1 、 N_4 、 N_{16} 的 1.64、1.31、1.10 倍。这主要是由氮浓度和生物



量共同作用导致的。

白桦幼苗各器官(根、茎、叶)碳积累量在不同供氮水平下差异显著($P < 0.05$) (图4-B)。根和茎随着供氮水平的升高,积累量逐渐增加,在 N_{16} 水平下达最大,分别为 1650.80 mg/株和 858.22 mg/株,其中根部 N_{16} 水平下碳积累量是 N_1 、 N_4 、 N_8 的 1.81、1.25、1.09 倍, N_{16} 茎中碳积累量是 N_1 、 N_4 、 N_8 的 1.09、1.50、1.13 倍,而叶的碳积累量在 N_8 水平下达最大,为 768.62 mg/株。

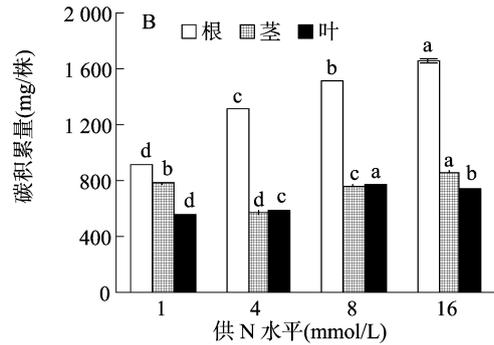


图4 不同供N水平对白桦幼苗氮、碳积累量的影响

3 结论与讨论

在自然条件下,土壤中的矿质元素受到限制或有效性降低,都会限制树木的生长。因此,在氮养分缺乏的土壤中,加大氮的供应会促进树木生长。但如果氮供应过量,则可能对幼苗生长产生抑制作用^[17]。在本研究中,白桦幼苗中叶的生物量在高氮供应下有所降低,可能就是由于高氮供应抑制了叶片的生长。根和茎的生物量超过正常供氮虽仍在增加,但增加幅度逐渐降低。营养成分的供应不仅影响生物量的大小,而且还与生物量的分配有关。有研究表明,供应养分受到限制时,光合物质的分配更有利于地下生长^[18]。在本研究中,不同氮浓度供应下白桦幼苗根的生物量占总生物量的 45.1% ~ 56.1%。

在本试验中,白桦幼苗根系、茎和叶中全氮浓度均因供氮水平的提高而提高,说明树木对氮的吸收与供氮水平密切相关。但幼苗组织中全氮浓度在高氮水平下又有所降低,说明高氮供应对幼苗营养的吸收有一定程度的抑制。幼苗中叶片和根系的全氮浓度比茎要高,这主要是因为根系和叶片作为营养器官,其组织中的养分含量相对较高,而茎作为运输功能的组织,其养分含量相对较低^[19]。

植物根系中碳的积累与分配主要取决于茎中的碳向根系中的转运量,而茎所能转运的碳量的多少又与植物的光合作用关系密切^[20]。根系中,碳的积累量的增加导致根生长加快,并最终表现在生物量的增高上,这也导致白桦幼苗根系中的碳氮积累量大于茎和叶。在本研究中,供氮水平与白桦幼苗组织碳含量没有呈现出有规律的变化,有待下一步补充研究。

参考文献:

[1] Elser J J, Bracken M E, Cleland E E, et al. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems [J]. *Ecology Letters*, 2007, 10 (12):

1135 - 1142.

[2] Vitousek P M, Porder S, Houlton B Z, et al. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen - phosphorus interactions [J]. *Ecological Applications*, 2010, 20(1): 5 - 15.

[3] Cassman K G, Kropff M J, Gaunt J, et al. Nitrogen use efficiency of rice reconsidered; what are the key constraints? [J]. *Plant and Soil*, 1993, 155 - 156(1): 359 - 362.

[4] Crawford N M, Glass A D. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants [J]. *Trends in Plant Science*, 1998, 3(10): 389 - 395.

[5] 李天芳,姜静,杨传平,等. 我国白桦育种研究概况 [J]. *江苏林业科技*, 2008, 35(2): 47 - 49.

[6] 刘福妹,姜静,刘桂丰. 施肥对白桦树生长及开花结实的影响 [J]. *西北林学院学报*, 2015, 30(2): 116 - 120.

[7] 郁书君,汪天,金宗郁,等. 白桦容器栽培试验(I) [J]. *北京林业大学学报*, 2001, 23(1): 24 - 28.

[8] 俞天珍. 白桦在青海省育苗成功的技术措施 [J]. *甘肃科技纵横*, 2005, 34(4): 59.

[9] 李海霞,李正华,郭树平,等. 不同氮磷水平对红松幼苗碳氮积累与分配的影响 [J]. *西北林学院学报*, 2013, 28(5): 24 - 29.

[10] Chapin F I, Matson P A. *Principles of terrestrial ecosystem ecology* [M]. 2nd ed. New York: Springer - Verlag, 2011.

[11] Ludovici K H, Morris L A. Responses of loblolly pine, sweetgum and crab grass roots to localized increases in nitrogen in two watering regimes [J]. *Tree Physiology*, 2004, 16(11_12): 933 - 939.

[12] Zhao M, Xiang W, Tian D, et al. Effects of increased Nitrogen deposition and rotation length on long - term productivity of *Cunninghamia lanceolata* plantation in southern China [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55376.

[13] Lu X K, Mo J M, Gundersen P, et al. Effect of simulated N deposition on soil exchangeable cations in three forest types of subtropical China [J]. *Pedosphere*, 2009, 19(2): 189 - 198.

[14] Miller A J, Fan X R, Orsel M, et al. Nitrate transport and signalling

杨红,顾妍,张朝阳,等. 辐射花粉授粉诱导西瓜单倍体[J]. 江苏农业科学,2017,45(22):159-161.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.22.043

辐射花粉授粉诱导西瓜单倍体

杨红,顾妍,张朝阳,孙玉东,罗德旭

(江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所/淮安市设施蔬菜重点实验室,江苏淮安 223001)

摘要:以 Bonbon、嘉年华二号、先甜 74、超玉 4 个西瓜品种为试验材料,采用辐射花粉授粉结合胚挽救技术,研究其对西瓜单倍体的诱导效果,结果表明,授粉 11~12 d 的西瓜果实相对较好,能得到较多的幼嫩种子;采用西瓜表面灼烧消毒再取种的方法简便易行,污染率极低。

关键词:单倍体;辐射花粉;胚挽救;授粉;诱导效果;西瓜

中图分类号: S651.036 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)22-0159-03

γ 射线是辐射花粉授粉诱导葫芦科蔬菜作物单倍体的有效辐射源。近年来,通过辐射花粉诱导雌核发育获得单倍体技术已应用于育种中,并培育出黄瓜、西瓜、甜瓜等多种葫芦科植物单倍体植株^[1-3]。西瓜种子由雌花中的胚珠发育而来,一般普通种子是经授粉后双受精产生,而用辐射处理过的花粉进行授粉无法完成双受精过程而产生瘪种,及时对其进行胚挽救,可以更快得到单倍体。采用化学试剂处理可使雌花不经授粉直接膨大,形成的种子就是单倍体。本试验采用辐射花粉授粉结合胚挽救技术,探讨西瓜辐射花粉经不同胚挽救处理对坐果和单倍体胚产生的影响,为西瓜单倍体材料的获得奠定良好的基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验于 2012—2014 年在江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所进行,供试西瓜品种 Bonbon、嘉年华二号、先甜 74、超玉。Bonbon 为日本引进西瓜品种,超玉为江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所育成,这 2 个西瓜品种的种子略大;嘉年华二号和先甜 74 由先正达公司提供,均为小籽西瓜品种。

1.2 试验方法

1.2.1 γ 射线辐照花粉授粉对西瓜种子形成的影响

收稿日期:2016-05-18

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(14)2014]。

作者简介:杨红(1982—),女,新疆乌鲁木齐人,硕士,助理研究员,主要从事蔬菜育种与栽培研究。E-mail:linrainhong@qq.com。

通信作者:孙玉东,研究员,主要从事蔬菜遗传育种和设施蔬菜栽培等研究。E-mail:sunyudong@aliyun.com。

[J]. Journal of Experimental Botany, 2007, 58(9): 2297-2306.

[15] Jones H E, Ohlsson H. Nutrient assessment of a forest fertilization experiment in northern Sweden by root bioassays[J]. Forest Ecology and Management, 1991, 64: 59-69.

[16] Berg P H. Lars högbom and helga schinkel. nitrogen-related root variables of trees along an n-deposition gradient in Europe[J]. Tree Physiology, 1998, 18(12): 823-828.

[17] 范志强,王政权,吴楚,等. 不同供氮水平对水曲柳苗木生物

量、N 分配及其季节变化的影响[J]. 应用生态学报, 2004, 15(9): 1497-1501.

射处理过的花粉进行授粉,标明花粉辐射剂量及授粉时间;授粉后 8~20 d,分别采集正常生长的未成熟果实进行胚挽救试验,调查种子发育情况,同时,尝试用 0.1% 氯吡啶(重庆诺意)处理部分雌花,使其直接膨大,处理后 8 d 采集正常生长的未成熟果实进行胚挽救试验。胚挽救以 MS 培养基为基础添加 2% 蔗糖、2% D-甘露醇、7% 琼脂固化, pH 值为 5.8;继代培养以 MS 培养基为基础添加 3% 蔗糖、7% 琼脂固化, pH 值为 5.8。

1.2.2 不同消毒方式对西瓜幼胚的消毒效果 将未成熟西瓜果实中的种子取出,放入灭菌烧杯中,用 0.1% 氯化汞(HgCl₂)溶液和不同浓度次氯酸钠(NaClO)溶液分别浸泡 2~30 min(表 1);灭菌水冲洗 5~6 次,置于灭菌纸上吸干水分,接种于灭菌培养基上培养 3~5 d,观察是否污染以确定消毒效果。

将取回的西瓜果实用 75% 乙醇擦拭表面,放于铁盘中,用少量的 95% 乙醇淋湿西瓜表面,用灼烧方法进行灭菌;无菌手术刀切开西瓜,将西瓜中的未成熟种子接种于灭菌培养基上培养 3~5 d,观察是否污染以确定消毒效果。

1.2.3 不同接种方法的接种效果 试验设 4 个处理:切去种子远胚端约 1/3 后,将近胚端朝下插入培养基;切去种子远胚端约 1/3 后,将胚平放于培养基上;种子近胚端朝下插入培养基;种子平放于培养基上。接种时种子为白色或淡黄色,待种子转绿,转接至普通 MS 培养基上培养 2~5 周,种子鼓起、表皮变褐或子叶长出时去除种皮,转接至分化培养基上。

1.2.4 6-BA 浓度对西瓜未成熟胚生长的影响 将消毒西瓜种子接种于含有不同浓度 6-BA 的培养基上培养 4 d,观察并记录种子转绿过程及萌发状态。

1.2.5 西瓜种子幼胚观察及倍性鉴定 西瓜种子萌发前,对

[18] 肖文发,徐德应. 森林能量利用与产量形成的生理生态基础[M]. 北京:中国林业出版社,1999:34-39.

[19] Lareher W. Plant ecophysiology[M]. Germany: Verlag Eugen Ulmer GmbH and Co, 1993.

[20] 那守海,郝铁钢,阎秀峰. 供氮水平对落叶松根系碳、氮积累与分配的影响[J]. 东北林业大学学报, 2007, 35(11): 19-22.