

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.22113

孙鹏飞, 沈雅飞, 王丽君, 陈天, 张萌, 肖文发, 程瑞梅. 外生菌根真菌对不同氮浓度下马尾松幼苗生长和光合特性的影响[J]. 植物科学学报, 2023, 41(1): 112-120

Sun PF, Shen YF, Wang LJ, Chen T, Zhang M, Xiao WF, Cheng RM. Effects of nitrogen addition and ectomycorrhizal fungi on growth and photosynthetic characteristics of *Pinus massoniana* Lamb. seedlings[J]. *Plant Science Journal*, 2023, 41(1): 112-120

外生菌根真菌对不同氮浓度下马尾松幼苗生长和光合特性的影响

孙鹏飞¹, 沈雅飞^{1,2}, 王丽君¹, 陈天¹, 张萌¹, 肖文发^{1,2}, 程瑞梅^{1,2*}

(1. 中国林业科学研究院森林生态环境与自然保护研究所, 国家林业和草原局森林生态环境重点实验室, 北京 100091;
2. 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 南京 210037)

摘要: 为探究马尾松 (*Pinus massoniana* Lamb.) 在日益加剧的氮沉降背景下接种外生菌根真菌 (Ectomycorrhizal fungi, EMF) 后的生理响应规律和适应机制, 以 1 年生马尾松幼苗为对象, 通过模拟氮沉降增加 (氮添加量分别为 0、30、60、90 kg N·hm⁻²·a⁻¹) 和接种外生菌根真菌的方法, 研究施氮和接菌对马尾松幼苗生长和光合特性的影响。结果显示: (1) 在同一施氮浓度下, 两种 EMF 均能促进马尾松幼苗的生长和光合作用, 接种处理对株高、生长量、叶绿素 *b*、*P_n*、*G_s*、*C_i*、*T_r* 影响极显著, 两种 EMF 在不同的施氮浓度下促生效果不同; (2) 在一定的氮沉降范围内, 氮素增加仍可以促进马尾松幼苗的生长, 其径粗、地上部和地下部干质量随施氮浓度的升高呈递增趋势; (3) 二者交互处理下, 马尾松幼苗生长和光合各项指标均有所提高, 其中株高、生长量和叶绿素 *b* 显著增加, 说明施氮和接菌均能促进马尾松的生长。研究结果表明, 在一定程度的氮沉降下接种 EMF 可以促进马尾松的生长和光合作用, 提高马尾松的生产力, 在未来氮沉降增加的背景下, 施氮量增加仍对菌根化马尾松有促生作用。

关键词: 氮添加; 外生菌根真菌; 马尾松; 生长; 光合作用

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2023)01-0112-09

Effects of nitrogen addition and ectomycorrhizal fungi on growth and photosynthetic characteristics of *Pinus massoniana* Lamb. seedlings

Sun Peng-Fei¹, Shen Ya-Fei^{1,2}, Wang Li-Jun¹, Chen Tian¹,
Zhang Meng¹, Xiao Wen-Fa^{1,2}, Cheng Rui-Mei^{1,2*}

(1. State Forestry Administration Key Laboratory of Forest, Ecology and Environment, Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; 2. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: To explore the physiological responses and adaptation mechanisms of *P. massoniana* Lamb. inoculated with ectomycorrhizal fungi (EMF) under increasing nitrogen deposition, one-year-old *P. massoniana* seedlings were inoculated with EMF and stimulated by nitrogen deposition (0, 30, 60, 90 kg N·hm⁻²·a⁻¹, respectively). The effects of nitrogen application and inoculation on the growth and photosynthetic characteristics of *P. massoniana* seedlings were then studied. Results showed that: (1) Under the same nitrogen concentration, both kinds of EMF promoted the growth and photosynthesis of *P. massoniana* seedlings, and inocula-

收稿日期: 2022-06-30, 修回日期: 2022-09-03。

基金项目: 中国林业科学研究院重点基金 (92104-2021)。

This work was supported by a grant from the Key Fund of the Chinese Academy of Forestry Sciences (92104-2021).

作者简介: 孙鹏飞 (1992-), 男, 博士研究生, 研究方向为森林生态学 (E-mail: 1075554411@qq.com)。

* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: chengrm@caf.ac.cn)。

tion had significant effects on plant height, growth, chlorophyll *b*, P_n , G_s , C_i , and T_r . The growth promoting effects of both EMF differed under different nitrogen concentrations. (2) Within a certain range of nitrogen deposition, increasing nitrogen promoted *P. massoniana* seedling growth. Diameter, aboveground dry weight, and underground dry weight increased with the increase in nitrogen concentration. (3) Under interactive treatment, the growth and photosynthetic indices of *P. massoniana* seedlings increased, among which plant height, growth, and chlorophyll *b* increased significantly, indicating that nitrogen application and EMF inoculation promoted *P. massoniana* growth. In general, EMF inoculation promoted the growth, photosynthesis, and productivity of *P. massoniana* under a certain range of nitrogen deposition. Under a background of increasing nitrogen deposition in the future, nitrogen application can promote the growth of mycorrhizal *P. massoniana*, providing a basis for the artificial afforestation of *P. massoniana* as a dominant tree species in the Three Gorges Reservoir area.

Key words: Nitrogen addition; Ectomycorrhizal fungus; *Pinus massoniana*; Plant growth; Photosynthesis

近年来,随着工业上大量化石燃料的燃烧及农业化肥的加剧使用,导致氮沉降量急剧增加^[1,2]。自 20 世纪以来,全球范围内大气氮沉降量每年可达 103 Tg,并呈持续增长态势。研究预测,到 2050 年全球氮沉降量可能达到 195 Tg,远远超出全球氮素临界负荷(100 Tg/a)^[3]。据统计,中国氮沉降通量约以每年 8 kg/hm² 的速度不断增长^[4],其中,仅三峡库区年均大气氮沉降通量就已达到 30 kg/hm²,远超过我国氮沉降平均值^[5]。氮沉降量的不断增加会导致陆地生态系统从氮限制状态逐渐转变为氮饱和状态^[6]。氮沉降可以改变植物叶片的形态及理化性质^[7]。例如,氮沉降增加会导致植物株高、叶片比叶面积、干物质含量及叶绿素含量产生变化^[8-10]。过量的氮沉降会造成土壤过度酸化^[11],土壤有机碳含量降低^[12],土壤元素平衡被破坏^[13],植物对磷的吸收受到限制,导致植物生长减缓,甚至死亡等现象^[14]。氮沉降的增加以及过量氮沉降对植被乃至生态环境所产生的影响已成为当前国内外学者重点关注的问题。

外生菌根真菌(Ectomycorrhizal fungi, EMF)是生态系统的重要组成部分,它能通过地下菌丝网络与植物形成相互联系的有机体,其对植物生长及改善生态环境有着极其重要的作用^[15]。较低的土壤养分含量会导致树木生长受限,EMF 可通过与树木根系共生^[16,17],获得由宿主植物提供的部分光合产物维持自身生长^[18,19]。Luciano 等^[20]研究发现邓恩桉(*Eucalyptus dunnii* Maiden)幼苗接种 EMF 后,其生物量、根长及根际土壤磷(P)和钾(K)含量均显著上升,EMF 能够与邓恩桉形成良好的互惠共生关系,促进其生长发育。樟子松

(*Pinus sylvestris* var. *mongolica* Litv.) 接种 EMF 后出现了相同的结果^[21]。然而,绝大多数的共生关系都是基于营养限制条件下发展起来的,关于 EMF 在土壤营养饱和及过饱和状态下与宿主植物之间的相互作用了解甚少,例如 EMF 在高氮含量的土壤中对宿主植物的影响机制认识仍然比较模糊^[22]。

马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)作为典型的外生菌根树种能够与 EMF 形成良好的共生关系,同时因其具有生长快速、适应性强等特点,常作为造林的先锋树种使用,在区域生态建设和林产品供给方面发挥着重要作用^[23]。在全球变化的背景下,氮沉降量不断增加,过量的氮沉降会导致马尾松的生长受到极大威胁,如何缓解这一限制因素,科学提高马尾松生产力已成为当前亟待解决的问题。本研究通过模拟不同程度的氮沉降量,探究接种 EMF 对马尾松幼苗生长及生理特性的影响,以期改善因过量氮沉降造成的林木生长抑制及生态环境破坏等状况,为提高植被生产力提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试 EMF 菌剂为厚环乳牛肝菌(*Suillus grevillea* Sing, Sg)和彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius* Strain, Pt),由中国林业科学研究院森林生态环境与自然保护研究所微生物保藏管理中心提供。供试植物为 1 年生马尾松幼苗,由湖南省林业技术推广站提供。

盆栽基质为土壤(取自湖北秭归三峡库区森

林生态系统国家定位观测研究站院内), 其中全氮含量为 1.01 g/kg, 全磷含量为 0.54 g/kg, 全钾含量为 1.53 g/kg, 速效氮含量为 47.28 mg/kg, 速效磷含量为 8.97 mg/kg, 速效钾含量为 90.17 mg/kg, 有机质含量为 13.97 g/kg, pH 值为 5.97。土壤经高温蒸汽灭菌后备用。

盆栽容器为塑料花盆 (20 cm × 15 cm), 用 95% 乙醇擦净后晾干, 每盆栽土 3 kg。

1.2 实验设计

实验设计为双因素实验。根据当地年均大气氮沉降背景值 (30 kg N·hm⁻²·a⁻¹), 设置添加 4 个不同氮浓度处理, 分别为 N0: 0 kg N·hm⁻²·a⁻¹ (对照组)、N30: 30 kg N·hm⁻²·a⁻¹ (低氮组)、N60: 60 kg N·hm⁻²·a⁻¹ (中氮组) 和 N90: 90 kg N·hm⁻²·a⁻¹ (高氮组), 分别接种 Sg 和 Pt, 并以不接种为对照 (CK), 即氮浓度 (4) × EMF (3) 共 12 组处理, 随机排列, 每个处理重复 100 次。

1.3 接种、播种与管理

实验于 2021 年 1 月至 2022 年 2 月在湖北秭归三峡库区森林生态系统国家定位观测研究站进行。盆栽前使用 70% (V/V) 的酒精对花盆进行消毒处理, 待酒精挥发完全后用蒸馏水冲洗干净, 随后晾干备用。选取长势一致的马尾松幼苗移栽至花盆中, 并加入等量的灭菌基质至其体积的 2/3 处。移栽幼苗生长 10 d 后进行接种处理, 接种时在基质上打 3 个“品”字形小孔, 每个孔用注射器注入 5 mL 的菌液, 对照处理接种等量灭活菌液, 接种完毕后孔口用土壤压实。每隔 2 周移动 1 次苗木, 以减小边际效应。接菌后的幼苗生长 3 个月后 (确保 EMF 与马尾松幼苗形成共生关系) 进行第 1 次施氮处理, 添加硝酸铵溶液的浓度分别为 0、0.714、1.428 和 2.143 g/L, 每次每盆约添加 2 L, 每月 1 次, 共添加 8 次。第 1 次施氮处理前测定生长指标, 最后 1 次施氮结束后 1 个月进行全部指标测定。

1.4 测试指标及方法

1.4.1 生长指标测定

施氮前后两次对马尾松幼苗进行株高、茎粗和生物量测量, 每次每组处理随机选取 6 株马尾松幼苗, 共 72 株进行上述指标的测定。用直尺测量茎基部至顶芽分生的株高; 茎粗用游标卡尺测量胸径; 前后两次植物浇透水后重量的差值即为

生长量。将地上 (下) 部分植物洗净, 烘干至恒重称量即为地上 (下) 部干重。

株高净增长量 (cm) = 施氮后株高 - 施氮前株高

茎粗净增长量 (cm) = 施氮后径粗 - 施氮前径粗

1.4.2 叶绿素含量的测定

用分光光度计测定叶绿素浓度, 根据以下公式计算叶片叶绿素含量。

$$\text{Chl } a = 13.95D_{665} - 6.88D_{649}$$

$$\text{Chl } b = 24.96D_{649} - 7.32D_{665}$$

$$\text{Chl } t = (1000D_{470} - 2.05 \text{ Chl } a - 114.8 \text{ Chl } b) / 245$$

叶绿素含量 (mg/g) = 叶绿素浓度 (mg/L) ×

提取液总体积 (mL) × 稀释倍数 / 样品质量 (g)

式中, Chl *a* 为叶绿素 *a* 浓度; Chl *b* 为叶绿素 *b* 浓度; Chl *t* 为叶绿素总浓度; D₆₆₅、D₆₄₉、D₄₇₀ 分别为提取液在 665、649、470 nm 下的吸光值。

1.4.3 叶片相对含水量的测定

摘取健康成熟的马尾松针叶, 迅速称取针叶鲜重 (WF), 之后将叶片放入蒸馏水中, 并在 5℃ 的暗环境中浸泡 24 h, 称取饱和重 (WT), 再将针叶置于烘箱中 80℃ 烘干至恒重, 称取叶片干重 (WD)。相对含水量 (RWC) 的计算公式如下:

$$\text{RWC} = (\text{WF} - \text{WD}) / (\text{WT} - \text{WD}) \times 100\%$$

1.4.4 光合参数的测定

使用 LI-6400 光合仪测定马尾松幼苗的净光合速率 (P_n)、气孔导度 (G_s)、细胞间隙 CO₂ 浓度 (C_i) 和蒸腾速率 (T_r)。每个处理随机选取 9 株, 每株选取 3 根健康成熟针叶, 在天气晴朗无云的上午 9:00 - 11:30 间进行测定。水分利用效率 (WUE_i) 计算公式如下:

$$\text{WUE}_i (\mu\text{mol}/\text{mol}) = P_n / G_s$$

1.5 数据统计分析

采用 SPSS 17.0 软件进行数据统计、单因子和双因子方差分析, 采用 Excel 2003 软件绘图, 多重比较采用 Duncan 法。

2 结果与分析

2.1 不同氮浓度下接种 EMF 对马尾松幼苗生长的影响

本研究对不同处理的马尾松幼苗株高、径粗、地上部和地下部干质量及生长量进行测定, 双因素方差分析结果表明 (表 1), 施氮处理、接种处

理及二者之间的交互作用对株高和生长量影响极显著 ($P < 0.01$)。N0、N30、N60、N90 处理与 CK 相比, 接种 EMF 促进了马尾松幼苗的生长和生物量积累, 与对照相比生长量提高 48% ~ 229% (表 2); 其中 N0 时两种处理的马尾松幼苗株高与对照相比提高 17.9%、21.5% 且效果为 Sg > Pt。马尾松幼苗的径粗、地上部和地下部干质量随施氮浓度的升高呈递增的趋势, 与 N0 相比, N30、N60、N90 处理下马尾松幼苗径粗、地上部和地下部干质量分别增加 27% ~ 81%、13% ~ 156% 和 39% ~ 224%; N90 时接种 Pt 的径粗、地上部和地下部干质量比接种 Sg 效果更好。双因素方差分析结果显示, 施氮处理对马尾松幼苗径粗、地上部和地下部干质量影响极显著 ($P < 0.01$); 它们的交互作用对三者影响不显著 ($P > 0.05$)。Pt + N60 时促生效果最好。

2.2 不同氮浓度下接种 EMF 对马尾松幼苗光和色素含量的影响

本研究发现, 同一施氮浓度下接种菌处理的马尾松幼苗的光合色素含量均高于对照 (表 3), 随着施氮浓度升高, 马尾松幼苗 Chl a、Chl b、Chl t 和类胡萝卜素含量先增加后降低, 均在 N60 处理下达到最高, 接种 Sg 和 Pt 的马尾松幼苗的 Chl a

与对照相比分别提高 31.4%、38.0%; Chl b 分别提高 33.1%、87.3%; Chl t 分别提高 35.0%、43.9%, 类胡萝卜素含量分别提高 33.7%、49.5%; 在 N90 时开始降低, 由双因素方差分析结果可知, 施氮处理对马尾松幼苗 Chl a、Chl t 和类胡萝卜素含量均有极显著影响 ($P < 0.01$), 接种处理、施氮处理和二者交互作用均对马尾松幼苗的 Chl b 影响极显著 ($P < 0.01$)。

2.3 不同氮浓度下接种 EMF 对马尾松幼苗光合气体交换参数的影响

由图 1 可知, 在同一施氮水平下, 接种外生菌根真菌的马尾松幼苗 P_n 、 G_s 、 C_i 、 T_r 均极显著高于对照 ($P < 0.01$)。N0 和 N30 接种 Sg 的效果优于接种 Pt; N60 和 N90 时效果相反。3 种处理的马尾松幼苗 P_n 均随施氮浓度升高而出现先升高后降低的变化, 于 N60 时达到最高, N90 时开始下降, 其中 Pt + N60 处理 P_n 值最大, 为 $13.28 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。双因素方差分析结果表明, 接种处理、施氮处理对马尾松幼苗 P_n 影响极显著 ($P < 0.01$), 交互作用具有显著影响 ($P < 0.05$)。

接种 Sg 的马尾松幼苗 G_s 随施氮浓度升高先升高后降低, 于 N60 时达到最高, N90 时开始下降, Pt 和对照无明显规律; N0 和 N60 时接种 Pt

表 1 施氮、接种处理及两者交互作用对马尾松幼苗各指标的影响

Table 1 Effects of N treatment, EMF treatment, and N × EMF on *Pinus massoniana* seedling parameters

指标 Parameter	接种处理 EMF treatment		施氮处理 Nitrogen treatment		接种处理 × 施氮处理 EMF × Nitrogen treatment	
	F	P	F	P	F	P
株高	49.71	0.00**	137.07	0.00**	10.27	0.00**
径粗	3.61	0.04*	179.88	0.00**	1.59	0.19ns
地上部干质量	2.61	0.08ns	8.05	0.00**	0.39	0.88ns
地下部干质量	1.24	0.30ns	6.49	0.00**	0.30	0.93ns
生长量	264.39	0.00**	162.86	0.00**	26.22	0.00**
叶绿素 a 含量	1.37	0.27ns	7.65	0.00**	0.29	0.94ns
叶绿素 b 含量	19.43	0.00**	28.38	0.00**	5.87	0.00**
总叶绿素含量	3.06	0.07ns	10.89	0.00**	0.58	0.74ns
类胡萝卜素含量	1.46	0.25ns	4.91	0.00**	0.37	0.89ns
水分利用效率	3.23	0.06ns	7.90	0.00**	0.43	0.85ns
相对含水量	0.37	0.69ns	0.35	0.79ns	0.06	1.00ns
净光合速率	16.62	0.00**	46.55	0.00**	3.27	0.02*
气孔导度	20.30	0.00**	10.92	0.00**	1.34	0.28ns
胞间 CO ₂ 浓度	14.53	0.00**	0.92	0.45ns	1.75	0.15ns
蒸腾速率	18.26	0.00**	2.33	0.10ns	1.83	0.14ns

注: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ns, 不显著。

Note: ns, non-significant.

表 2 施氮与接种外生菌根真菌对马尾松幼苗生长的影响
Table 2 Effects of N application and EMF inoculation on *Pinus massoniana* seedling growth

接菌 Inoculation	氮浓度 Nitrogen concentration / kg N·hm ⁻² ·a ⁻¹	株高净增长量 Net growth of plant height / cm	茎粗净增长量 Net growth of stem diameter / cm	地上部干重 Aboveground dry weight / g	地下部干重 Underground dry weight / g	生长量 Growth weight / g
Sg	0	10.83 ± 0.37d	0.77 ± 0.02f	11.93 ± 3.23bc	2.87 ± 0.92bc	75.56 ± 5.97de
	30	11.36 ± 0.28c	0.99 ± 0.04e	18.58 ± 2.01ab	4.72 ± 0.53abc	85.08 ± 4.13d
	60	12.09 ± 0.33ab	1.23 ± 0.02b	22.05 ± 4.08a	5.91 ± 0.58ab	120.68 ± 2.16b
	90	12.02 ± 0.24ab	1.12 ± 0.03cd	19.00 ± 4.65ab	4.74 ± 1.58abc	101.36 ± 4.38c
Pt	0	10.51 ± 0.39d	0.74 ± 0.05f	10.50 ± 2.04bc	2.73 ± 0.20c	49.39 ± 2.81g
	30	10.85 ± 0.17d	0.96 ± 0.01e	14.60 ± 2.14abc	3.86 ± 0.37bc	63.22 ± 4.03f
	60	12.35 ± 0.23a	1.34 ± 0.12a	23.09 ± 3.28a	6.99 ± 1.60a	133.12 ± 1.46a
	90	11.88 ± 0.14b	1.17 ± 0.03bc	15.64 ± 2.58abc	4.57 ± 1.04abc	130.61 ± 3.22ab
CK	0	8.92 ± 0.35e	0.74 ± 0.03f	7.73 ± 0.81c	2.69 ± 0.55c	22.92 ± 3.90h
	30	10.73 ± 0.31d	0.95 ± 0.03e	11.66 ± 1.90bc	3.03 ± 0.42bc	42.38 ± 2.67g
	60	11.79 ± 0.19b	1.23 ± 0.03b	17.35 ± 2.94ab	5.25 ± 1.26abc	68.28 ± 2.62ef
	90	11.38 ± 0.37c	1.08 ± 0.03d	17.08 ± 2.50ab	3.64 ± 0.70bc	47.46 ± 2.59g

注：同列不同小写字母代表差异显著 ($P < 0.05$)。下同

Note: Different letters in same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level among treatments. Same below.

表 3 不同氮浓度下接种 EMF 对马尾松幼苗光合色素含量的影响
Table 3 Effects of EMF inoculation on photosynthetic pigment content in *Pinus massoniana* seedlings under different N concentrations

接菌 Inoculation	氮浓度 N concentration / kg N·hm ⁻² ·a ⁻¹	叶绿素 a 含量 Chl a content / mg/g	叶绿素 b 含量 Chl b content / mg/g	总叶绿素含量 Chl f content / mg/g	类胡萝卜素含量 Carotenoid content / mg/g
Sg	0	0.323 ± 0.058cd	0.104 ± 0.034c	0.426 ± 0.057cd	0.103 ± 0.018abc
	30	0.355 ± 0.031bcd	0.112 ± 0.070c	0.467 ± 0.094cd	0.105 ± 0.012abc
	60	0.548 ± 0.010ab	0.157 ± 0.040b	0.699 ± 0.014ab	0.150 ± 0.001ab
	90	0.468 ± 0.064abcd	0.152 ± 0.024b	0.625 ± 0.101abc	0.132 ± 0.020abc
Pt	0	0.312 ± 0.039cd	0.099 ± 0.020c	0.412 ± 0.059cd	0.088 ± 0.001bc
	30	0.357 ± 0.062bcd	0.097 ± 0.001c	0.457 ± 0.065cd	0.102 ± 0.021abc
	60	0.575 ± 0.065a	0.221 ± 0.038a	0.747 ± 0.076a	0.167 ± 0.014a
	90	0.519 ± 0.080abc	0.171 ± 0.012b	0.740 ± 0.113ab	0.142 ± 0.033abc
CK	0	0.275 ± 0.022d	0.093 ± 0.017c	0.367 ± 0.039d	0.071 ± 0.017c
	30	0.327 ± 0.021cd	0.094 ± 0.001c	0.420 ± 0.029cd	0.094 ± 0.003bc
	60	0.460 ± 0.106abcd	0.118 ± 0.031c	0.578 ± 0.137abcd	0.130 ± 0.031abc
	90	0.417 ± 0.111abcd	0.102 ± 0.045c	0.518 ± 0.156bcd	0.112 ± 0.036abc

的效果优于 Sg; N30 和 N90 接种 Sg 的效果优于 Pt, 所有处理中 Pt + N60 处理 G_s 值最大, 为 $0.33 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。双因素方差分析结果表明, 接种处理、施氮处理对马尾松幼苗 G_s 影响极显著 ($P < 0.01$), 交互作用影响不显著 ($P > 0.05$)。

在同一施氮水平下, 接种 EMF 的马尾松幼苗 C_i 均高于对照, 且接种 Sg 的马尾松幼苗 C_i 高于接种 Pt, 4 个施氮浓度下接种 Sg 的马尾松幼苗 C_i 与对照相比分别提高 20.4%、11.0%、22.1% 和

10.5%; Sg + N60 处理 C_i 值最大, 为 $351.36 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。双因素方差分析结果显示, 接种处理对马尾松幼苗 C_i 影响极显著 ($P < 0.01$), 施氮处理和二者交互作用影响不显著 ($P > 0.05$)。

4 个施氮浓度下, 接种 EMF 马尾松幼苗 T_r 均高于对照, 接种 Sg 的马尾松幼苗 T_r 随施氮浓度升高而先升高后降低, 于 N60 时达到最高, N0 时接种 Pt 的 T_r 值大于接种 Sg, 二者与对照相比分别提高 24.5% 和 53.8%; N30、N60、N90 时

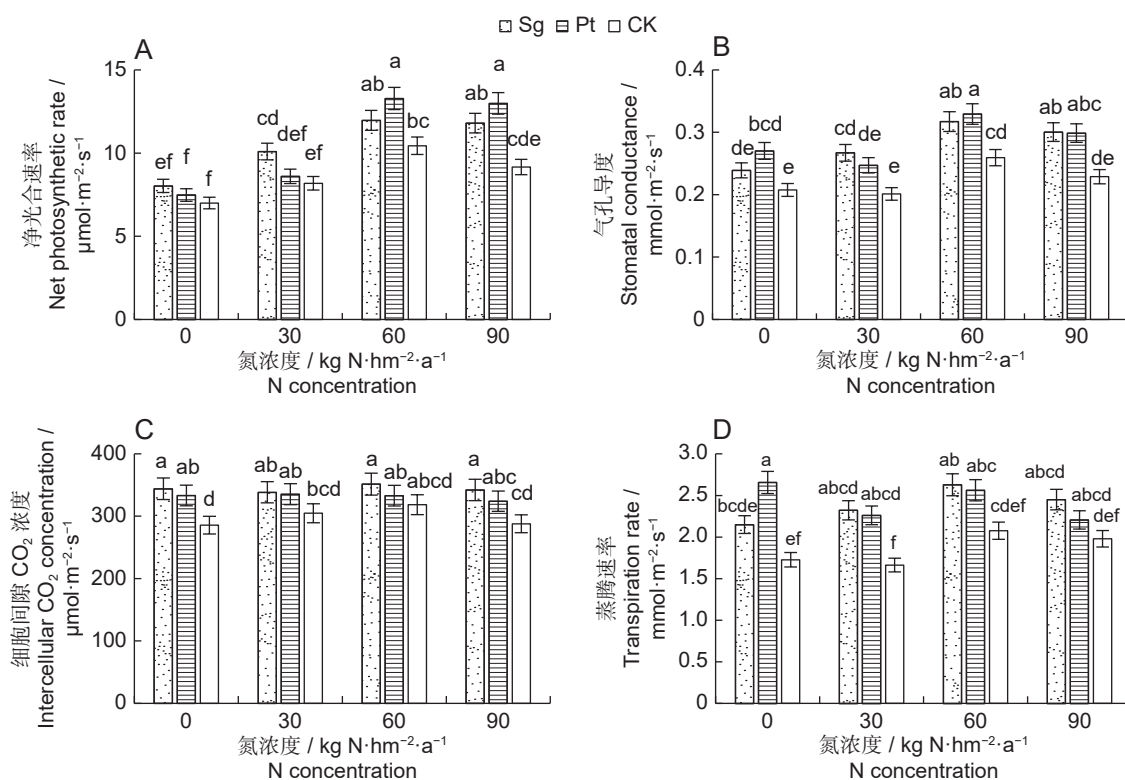


图 1 不同氮浓度下接种 EMF 对马尾松幼苗气体交换参数的影响

Fig. 1 Effects of EMF inoculation on gas exchange parameters of *Pinus massoniana* seedlings under different N concentrations

数值为均值 \pm 标准差 ($n = 3$)。相同字母表示两者之间在 $P < 0.05$ 的水平下差异不显著 (Duncan's test), 下同。

Values are means \pm SD ($n = 3$). Means followed by the same letter are not significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's test, same below.

Sg > Pt; Sg + N0 处理时 T_r 值最大, 为 $2.63 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。双因素方差分析结果表明, 接种处理对马尾松幼苗 T_r 具有极显著影响 ($P < 0.01$), 施氮处理和二者交互作用影响不显著 ($P > 0.05$)。

2.4 不同氮浓度下接种 EMF 对马尾松幼苗叶片水分状况的影响

接种外生菌根真菌提高了马尾松幼苗的

WUEi 和 RWC (图 2)。接种 Sg 的马尾松幼苗 WUEi 随施氮浓度升高而升高, 在 N0、N30、N60、N90 4 个施氮浓度下接种马尾松幼苗的 WUEi 比对照分别提高 21.8%、5.7%、0.7%、5.1%; 接种 Pt 的马尾松幼苗 WUEi 在 N90 时达到最高, 与对照相比提高 16.8%。由双因素方差分析结果可知, 施氮处理对马尾松幼苗 WUEi 影响极显著 ($P <$

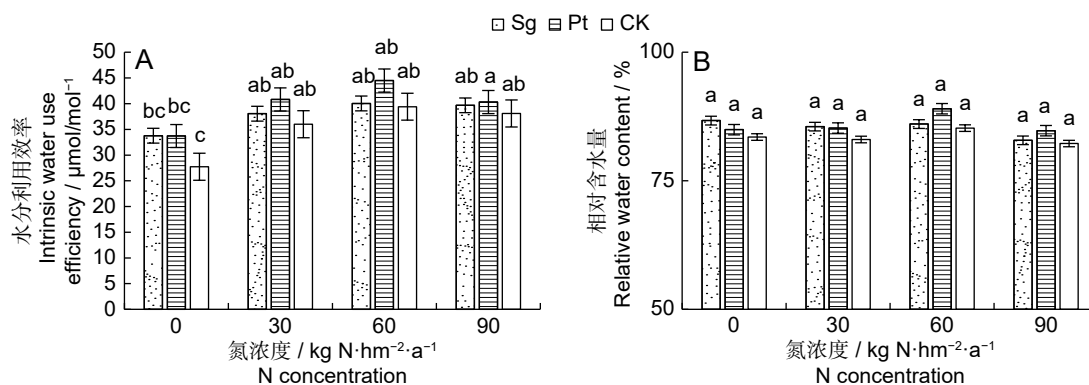


图 2 不同氮浓度下接种 EMF 对马尾松幼苗水分利用效率和叶片相对含水量的影响

Fig. 2 Effects of EMF inoculation on water use efficiency and relative water content of *Pinus massoniana* seedlings under different N concentrations

0.01), 接种处理和二者交互作用对 WUEi 影响不显著 ($P > 0.05$)。在 N0 和 N30 两个施氮浓度下接种 Sg 的马尾松幼苗 RWC 比对照分别提高 3.8%、3.0%; 接种 Pt 的马尾松幼苗 RWC 在 N60、N90 处理下比对照分别提高 3.0% 和 4.4%。双因素方差分析结果表明接种处理、施氮处理和二者交互作用均对 RWC 影响不显著 ($P > 0.05$)。

3 讨论

本研究选择三峡库区植被恢复常用的造林先锋树种马尾松幼苗为研究对象, 将两种典型的 EMF 接种到其根系, 以探究不同氮浓度下 EMF 对马尾松幼苗生长和光合特性的影响。结果表明, 随着施氮浓度的升高, 马尾松幼苗株高、茎粗、地上部、地下部干重和生长量均呈现先升高后下降的趋势, 接种 EMF 能够显著促进其生长发育。氮作为影响植被生产力的重要元素, 在植物生长发育过程中扮演着极其重要的角色^[24]。适量的氮沉降能够在一定程度上提高植物光合碳同化能力, 使因土壤氮贫瘠导致植物生长发育受限的状况得到一定程度的改善^[25]。在一定范围内, 马尾松幼苗生物量随着施氮浓度的增加而增加, 且因接种 EMF 使得其生物量维持在较高水平, 这可能是因为较高的土壤氮含量能够充分给予植物生长发育所需的大量氮元素, 植物根系和 EMF 形成的菌根共生体能够帮助植物获取水及其他营养物质, 从而提高马尾松的生产力^[26]。然而土壤中过高浓度的氮含量会导致接种及未接种 EMF 的马尾松幼苗生物量降低, 这可能与高浓度氮含量加剧了磷的匮乏, 磷成为限制其生长的主要原因有关^[14], 也有可能是高浓度的氮含量造成土壤过度酸化, 土壤元素平衡被破坏所致^[13]。此外, 过高的土壤氮含量会对参与氮循环的菌丝产生抑制, 造成菌丝减少, 菌根量及其活力降低等现象^[27], 这也许是 EMF 在高氮环境下对植物生长促进效果减弱的重要原因。

光合色素作为吸收和传递光能的重要物质, 对植物光合作用有着重要意义^[24]。研究表明, 光合色素对氮的响应十分显著, 氮输入的增加有利于植物光合色素的合成, 提高植物光合碳同化能力^[28, 29], EMF 与植物根系的共生在一定程度上能调控植物叶片光合色素的合成, 促进植物光合作用^[30]。施氮浓度在 $0 \sim 60 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ 时, 随着

施氮浓度的增加植物叶片光合色素含量显著增加, 气孔导度和净光合速率显著上升, 这可能是因为高的氮含量有利于植物将更多的氮分配到光合色素中, 较高的光合色素含量会增强植物的捕光能力^[31, 32], 一系列电子传递信号反馈到气孔促使其打开以吸收更多 CO_2 , 进而提高植物净光合速率^[33]。外生菌根真菌在获得光合产物的同时也会帮助植物吸收大量营养物质, 从而促进植物光合作用^[34]。植物光合碳同化能力的高低也与共生菌根真菌的类型有关^[22], 研究发现, Pt 的接种效果显著优于 Sg, 可能是由于 Pt 与马尾松根系相互识别和相互接受的传递信号较为强烈, 能够形成更加稳定的共生关系^[35]。过高的氮含量会对土壤环境产生消极影响, 导致植物叶片光合色素及光合参数降低, 进而影响光合作用, 抑制植物生长发育。

植物叶片水分利用效率是由水分消耗和光合产物的形成共同决定, 施氮和接菌会在一定程度上改变植物叶片水分状况, 影响植物生长发育^[36]。Wu 等^[37]研究发现, 杨属 (*Populus*) 植物的生产力与大量的氮需求有关, 植物叶片光合作用及水分状况与施加氮浓度成正比, 接菌有利于植物氮吸收进而影响 WUEi。一定范围内, 施氮浓度的增加能够显著促进马尾松幼苗 WUEi 的升高, 这与充足的氮供应保证了光合作用高效进行有关, 过高的氮浓度会对植物光合作用产生负反馈现象, 降低 WUEi^[38]。然而施氮和接菌对马尾松叶片的相对含水量影响并不显著, 这可能是因为叶片相对含水量受水分因素影响较大, 马尾松幼苗生长的土壤水分状况较为优越, 植物叶片含水量与饱和含水量差异不显著。

参考文献:

- [1] Galloway JN, Townsend AR, Erismann JW, Bekunda M, Cai ZC, et al. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions[J]. *Science*, 2008, 320 (5878): 889-892.
- [2] Yu GR, Jia YL, He NP, Zhu JX, Chen Z, et al. Stabilization of atmospheric nitrogen deposition in China over the past decade[J]. *Nat Geosci*, 2019, 12 (6): 424-429.
- [3] Du YG, Ke X, Li JM, Wang YY, Cao GM, et al. Nitrogen deposition increases global grassland N_2O emission rates steeply: a meta-analysis[J]. *Catena*, 2021, 199: 105105.
- [4] Wang YB, Jiang Q, Yang ZM, Sun W, Wang DL. Effects of water and nitrogen addition on ecosystem carbon

- exchange in a Meadow Steppe[J]. *PLoS One*, 2015, 10 (5): e0127695.
- [5] 王丽君, 程瑞梅, 肖文发, 沈雅飞, 曾立雄, 等. 三峡库区马尾松人工林土壤酶活性和微生物生物量对氮添加的季节性响应[J]. *生态学报*, 2021, 41(24): 9857-9868.
Wang LJ, Cheng RM, Xiao WF, Shen YF, Zeng LX, et al. Seasonal responses of soil enzyme activities and microbial biomass to nitrogen addition at different levels in *Pinus massoniana* plantation in the Three Gorges Reservoir Area[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41 (24): 9857-9868.
- [6] Lu XK, Mo JM, Gilliam FS, Zhou GD, Fang YT. Effects of experimental nitrogen additions on plant diversity in an old-growth tropical forest[J]. *Global Change Biol*, 2010, 16 (10): 2688-2700.
- [7] Zhang XF, Misra A, Nargund S, Coleman GD, Sriram G. Concurrent isotope-assisted metabolic flux analysis and transcriptome profiling reveal responses of poplar cells to altered nitrogen and carbon supply[J]. *Plant J*, 2018, 93 (3): 472-488.
- [8] Xia JY, Wan SQ. Global response patterns of terrestrial plant species to nitrogen addition[J]. *New Phytol*, 2008, 179 (2): 428-439.
- [9] Cleveland CC, Townsend AR, Taylor P, Alvarez-Clare S, Bustamante MMC, et al. Relationships among net primary productivity, nutrients and climate in tropical rain forest: a pan-tropical analysis[J]. *Ecol Lett*, 2011, 14 (12): 1313-1317.
- [10] Zheng LL, Zhao Q, Yu ZY, Zhao SY, Zeng DH. Altered leaf functional traits by nitrogen addition in a nutrient-poor pine plantation: a consequence of decreased phosphorus availability[J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 7415.
- [11] Manning P, Newington JE, Robson HR, Saunders M, Eggers T, et al. Decoupling the direct and indirect effects of nitrogen deposition on ecosystem function[J]. *Ecol Lett*, 2006, 9 (9): 1015-1024.
- [12] Pisani O, Frey SD, Simpson AJ, Simpson MJ. Soil warming and nitrogen deposition alter soil organic matter composition at the molecular-level[J]. *Biogeochemistry*, 2015, 123 (3): 391-409.
- [13] Treseder KK. Nitrogen additions and microbial biomass: a meta-analysis of ecosystem studies[J]. *Ecol Lett*, 2008, 11 (10): 1111-1120.
- [14] Su Y, Ma XF, Gong YM, Li KH, Han WX, Liu XJ. Responses and drivers of leaf nutrients and resorption to nitrogen enrichment across northern China's grasslands: a meta-analysis[J]. *Catena*, 2021, 199: 105-110.
- [15] Frey SD. Mycorrhizal fungi as mediators of soil organic matter dynamics[J]. *Ann Rev Ecol Evolut Systemat*, 2019, 50 (1): 237-259.
- [16] 刘润进, 唐明, 陈应龙. 菌根真菌与植物抗逆性研究进展[J]. *菌物研究*, 2017, 15(1): 70-88.
Liu RJ, Tang M, Chen YL. Recent advances in the study of mycorrhizal fungi and stress resistance of plants[J]. *Journal of Fungal Research*, 2017, 15 (1): 70-88.
- [17] Plett KL, Singan VR, Wang M, Ng V, Grigoriev IV, et al. Inorganic nitrogen availability alters *Eucalyptus grandis* receptivity to the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus albus* but not symbiotic nitrogen transfer[J]. *New Phytol*, 2020, 226 (1): 221-231.
- [18] Nehls U, Göhringer F, Wittulsky S, Dietz S. Fungal carbohydrate support in the ectomycorrhizal symbiosis: a review[J]. *Plant Biol*, 2010, 12 (2): 292-301.
- [19] Lindahl BD, Tunlid A. Ectomycorrhizal fungi-potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs[J]. *New Phytol*, 2015, 205 (4): 1443-1447.
- [20] Luciano A, Oliveira VL, Filho GNS. Utilization of rocks and ectomycorrhizal fungi to promote growth of eucalypt[J]. *Brazil J Microbiol*, 2010, 41 (3): 676-684.
- [21] Smits MM, Bonneville S, Benning LG, Banwart SA, Leake JR. Plant-driven weathering of apatite-the role of an ectomycorrhizal fungus[J]. *Geobiology*, 2012, 10 (5): 445-456.
- [22] Plett KL, Snijders F, Castañeda-Gómez L, Wong-Bajracharya JWH, Anderson IC, et al. Nitrogen fertilization differentially affects the symbiotic capacity of two co-occurring ectomycorrhizal species[J]. *Environ Microbiol*, 2022, 24 (1): 309-323.
- [23] 张雪, 梅莉, 宋利豪, 刘力诚, 赵泽尧. 模拟氮沉降对马尾松土壤微生物群落结构及温室气体释放的影响[J]. *生态学报*, 2019, 39(6): 1917-1925.
Zhang X, Mei L, Song LH, Liu LC, Zhao ZY. Effects of simulated nitrogen deposition on microbial community and greenhouse gases emission of *Pinus massoniana* soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39 (6): 1917-1925.
- [24] Kwaku EA, Dong SK, Shen H, Li W, Sha W, et al. Biomass and species diversity of different alpine plant communities respond differently to nitrogen deposition and experimental warming[J]. *Plants*, 2021, 10 (12): 2719.
- [25] Wang JJ, Hussain S, Sun X, Zhang P, Javed T, et al. Effects of nitrogen application rate under straw incorporation on photosynthesis, productivity and nitrogen use efficiency in winter wheat[J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 862088.
- [26] Högberg MN, Högberg P, Wallander H, Nilsson LO. Carbon-nitrogen relations of ectomycorrhizal mycelium across a natural nitrogen supply gradient in boreal forest[J]. *New Phytol*, 2021, 232 (4): 1839-1848.

- [27] 薛璟花, 莫江明, 李炯, 方运霆, 李德军. 氮沉降对外生菌根真菌的影响[J]. 生态学报, 2004, 24(8): 1785-1792.
Xue JH, Mo JM, Li J, Fang YT, Li DJ. Effects of nitrogen deposition on ectomycorrhizal fungi[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(8): 1785-1792.
- [28] 方兴, 钟章成. 增强UV-B辐射和氮对谷子叶光合色素及非酶促保护物质的影响[J]. 生态学报, 2012, 32(23): 7411-7420.
Fang X, Zhong ZC. Effects of enhanced UV-B radiation and nitrogen on photosynthetic pigments and non-enzymatic protection system in leaves of foxtail millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.) [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(23): 7411-7420.
- [29] 兰艳, 伍鑫, 王锦, 吴超越, 段强, 等. 施氮量对绿米稻叶绿素含量及光合特性的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2021, 36(4): 566-572.
Lan Y, Wu X, Wang J, Wu CY, Duan Q, et al. Effect of nitrogen application rates on the chlorophyll content and photosynthetic characteristics of green rice[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2021, 36(4): 566-572.
- [30] 彭思利, 王晓燕, 李剑, 夏大娟, 葛之葳, 薛建辉. 外生菌根真菌接种对干旱胁迫下构树幼苗生长及光合特性的影响[J]. 生态学杂志, 2021, 40(9): 2719-2726.
Peng SL, Wang XY, Li J, Xia DJ, Ge ZW, Xue JH. Effects of ectomycorrhizal fungi inoculation on growth and photosynthetic characteristics of *Broussonetia papyrifera* seedlings under drought stress[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2021, 40(9): 2719-2726.
- [31] 胡倩, 刘天泉, 陈晓龙, 王凌晖, 滕维超. 模拟氮沉降对桢楠幼苗生理特性的影响[J]. 广西林业科学, 2018, 47(4): 469-472.
Hu Q, Liu TQ, Chen XL, Wang LH, Teng WC. Effects of nitrogen deposition on physiological characteristics of phoebe *Zhennan* seedlings[J]. *Guangxi Forestry Science*, 2018, 47(4): 469-472.
- [32] 彭礼琼, 金则新, 王强. 模拟氮沉降对夏蜡梅幼苗生理生态特性的影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33(4): 989-995.
Peng LQ, Jin ZX, Wang Q. Effects of simulated nitrogen deposition on the eco-physiological characteristics of *Sinocalycanthus chinensis* seedlings[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2014, 33(4): 989-995.
- [33] Wang GJ, Zeng FL, Song S, Sun B, Wang Q, Wang JY. Effects of reduced chlorophyll content on photosystem functions and photosynthetic electron transport rate in rice leaves[J]. *J Plant Physiol*, 2022, 272: 153669.
- [34] Galardis MMB, Sánchez RCL, Fall F, Eichler-Löbermann B, Pruneau L, Bâ AM. Growth and physiological responses of ectomycorrhizal *Coccoloba uvifera* (L.) L. seedlings to salt stress[J]. *J Arid Environ*, 2022, 196: 104650.
- [35] 刘润进, 陈应龙. 菌根学[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 225-227.
- [36] 李文娆, 李永竞, 冯士珍. 不同施氮量和分施比例对棉花幼苗生长和水分利用效率的影响及其根源ABA调控效应[J]. 生态学报, 2017, 37(20): 6712-6723.
Li WR, Li YJ, Feng SZ. Regulation of root-sourced ABA to growth and water use efficiency of cotton seedlings and their response to different nitrogen levels and distribution ratios[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(20): 6712-6723.
- [37] Wu F, Zhang HQ, Fang FR, Wu N, Zhang YX, Tang M. Effects of nitrogen and exogenous *Rhizopagus irregularis* on the nutrient status, photosynthesis and leaf anatomy of *Populus × canadensis* 'Neva'[J]. *J Plant Growth Regulat*, 2017, 36(4): 824-835.
- [38] 展小云, 于贵瑞, 盛文萍, 方华军. 中国东部南北样带森林优势植物叶片的水分利用效率和氮素利用效率[J]. 应用生态学报, 2012, 23(3): 587-594.
Zhan XY, Yu GR, Sheng WP, Fang HJ. Foliar water use efficiency and nitrogen use efficiency of dominant plant species in main forests along the North-South Transect of East China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(3): 587-594.

(责任编辑: 周媛)