

# 氮素浓度对黄檗幼苗生长的光合特性及叶绿素荧光动力学研究

苑海鹏<sup>1,2</sup>, 孙铭隆<sup>1</sup>, 张玉红<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨

<sup>2</sup>黑龙江省林源活性物质生态利用重点实验室, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2022年12月17日; 录用日期: 2023年1月23日; 发布日期: 2023年1月30日

## 摘要

为研究氮素营养对黄檗幼苗生长和光合生理的影响, 以当年生水培黄檗幼苗为实验材料, 在0、2、8、16 mmol·L<sup>-1</sup>四种不同氮浓度条件下, 探讨不同氮素营养对黄檗幼苗生长、光合作用和叶绿素荧光等的影响。结果表明, 随着氮浓度的提高, 黄檗幼苗的鲜重、干重、基径和侧根长度、净光合速率( $P_n$ )、表观量子效率(AQY)、光饱和点(LSP)、气孔导度( $G_s$ )和蒸腾速率( $T_r$ )均呈先上升后下降的趋势, 且均在8 mmol·L<sup>-1</sup>处理时达到最大值, 而光补偿点(LCP)则呈持续下降趋势。最大荧光( $F_m$ )、PSII最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、PSII反应中心光捕获效率( $F_v'/F_m'$ )、快速叶绿素荧光诱导曲线(OJIP曲线)均以氮浓度为8 mmol·L<sup>-1</sup>时最高。不同施氮水平(N2、N8和N6)下, 黄檗幼苗叶片的光化学淬灭系数( $qP$ )均明显高于不施氮素水平(N0) ( $P < 0.05$ ), 并随着氮浓度的增加,  $qP$ 呈降低趋势; 而非光化学淬灭系数(NPQ)则整体呈增加趋势。综合上述研究内容, 氮素浓度在8 mmol·L<sup>-1</sup>时最有利于黄檗幼苗的生长且可以充分发挥其光合能力, 这对黄檗苗木资源培育营养管理与调控提供了指导意义。

## 关键词

黄檗幼苗, 氮素浓度, 幼苗生长, 光合生理, 叶绿素荧光动力学

## Study on Photosynthetic Characteristics and Chlorophyll Fluorescence Kinetics of *Phellodendron amurense* Seedling Growth under Different Nitrogen Concentrations

Haipeng Yuan<sup>1,2</sup>, Minlong Sun<sup>1</sup>, Yuhong Zhang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Forestry Plant Ecology of Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin

\*通讯作者。

Heilongjiang

<sup>2</sup>Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Ecological Utilization of Forestry-Based Active Substances, Harbin  
HeilongjiangReceived: Dec. 17<sup>th</sup>, 2022; accepted: Jan. 23<sup>rd</sup>, 2023; published: Jan. 30<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

In order to study the effects of nitrogen nutrition on the growth and photosynthetic physiology of *Phellodendron amurense* seedling, the hydroponic seedling of *P. amurense* was used as experimental material, the effects of different nitrogen nutrition on the growth, photosynthesis and chlorophyll fluorescence of *P. amurense* seedlings were investigated under the conditions of 0, 2, 8, 16 mmol·L<sup>-1</sup>. The results showed that with the increase of nitrogen concentration, the fresh weight, dry weight, base diameter and lateral root length, net photosynthetic rate ( $P_n$ ), apparent quantum efficiency (AQY), light saturation point (LSP), stomatal conductance ( $G_s$ ) and transpiration rate ( $T_r$ ) of *P. amurense* seedlings were firstly increased and then decreased, and all reached the maximum value when the nitrogen concentration was 8 mmol·L<sup>-1</sup>. While the light compensation point (LCP) showed a trend of continuous decreasing with the increase of nitrogen concentration. Maximum fluorescence ( $F_m$ ), maximum photochemical efficiency of PSII ( $F_v/F_m$ ), photo capture efficiency of PSII reaction center ( $F_v'/F_m'$ ) and rapid chlorophyll fluorescence induction curve (OJIP curve) were the highest when nitrogen concentration was 8 mmol·L<sup>-1</sup>. Under different nitrogen application levels (N2, N8 and N6), the photochemical quenching coefficient ( $qP$ ) of leaves of *P. amurense* seedlings was significantly higher than that without nitrogen application ( $P < 0.05$ ), and  $qP$  showed a decreasing trend with the increase of nitrogen concentration (N0). However, the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) showed an overall increasing trend. In conclusion, the nitrogen concentration of 8 mmol·L<sup>-1</sup> was found to be the most favorable for the growth of *P. amurense* seedlings and to give full play to their photosynthetic capacity, which provided guidance for the nutrient management and regulation of *P. amurense* resources cultivation.

## Keywords

*Phellodendron amurense* Seedling, Nitrogen Concentration, Seedling Growth, Photosynthetic Physiology, Chlorophyll Fluorescence Kinetics

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Open Access

## 1. 引言

氮素是植物生长过程中的必需营养元素之一，也是构成植物体内许多重要有机化合物的主要成分。氮素在植物营养生理中也起着非常重要的作用，供氮水平可通过影响氮代谢关键酶活性而影响植物的生长、发育以及对环境的适应。除了少数的植物可以利用固氮微生物吸收空气中的氮外，大多数植物都是通过根系吸收土壤中的无机态氮。氮素供应水平对植物体内的硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性有不同程度的影响；也在一定程度上影响可溶性蛋白含量，而可溶性蛋白大部分为参与各种代谢的酶类，是植物体内贮藏氮的主要形式，其中绝大多数是卡尔文循环中最关键的酶，在植物的光合作用、生长发育及植物生物量的建成中起着重要作用[1][2]。光合作用是植物生长的重要能量来源和物质基础，氮素浓度能

够显著影响植物的生长和光合作用, 主要影响以下特征: 叶面积、叶片比面重、叶片氮素含量和 Rubisco 酶活性等。另外, 不同氮素浓度还可以通过改变气孔导度和光呼吸速率等因素来调控光合速率。

黄檗(*Phellodendron amurense*)是芸香科(Rutaceae)黄柏属(*Phellodendron*)高大乔木, 又称黄菠萝, 主要分布于我国东北地区大兴安岭南段、小兴安岭、长白山、完达山、千山及华北地区燕山山脉以北的山区, 在俄罗斯远东和萨哈林南部、朝鲜、日本也有少量的分布[3]。黄檗是我国东北“三大硬阔”之一, 也是我国药典收录的传统大宗药材品种——关黄柏的唯一来源植物。因关黄柏具有清热燥湿, 泻火除蒸, 解毒疗疮之功效[4], 市场对关黄柏的需求量逐年增加, 作为关黄柏的唯一来源植物的黄檗目前仍只能依赖于天然资源, 但现有野生资源日益减少, 急需大规模人工培育优良资源, 以保护现有天然黄檗资源[5]。有研究表明, 适量施入 N 肥对黄檗苗木生长有促进作用[6] [7], 本文在前人基础上主要研究了不同氮素水平对黄檗幼苗生长、光合生理特性和叶绿素荧光的影响, 确定黄檗生长所需的最佳氮素条件, 以便进一步对黄檗资源培育和主要药用成分含量的氮肥管理与调控提供基础数据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验材料

试验在东北林业大学植物光照培养室中进行, 温度设定为 18℃~25℃, 每日光照时间为早 7 点晚 5 点。将打破休眠的黄檗种子消毒后播种于托盘中, 在黄檗幼苗生长到两片真叶时, 挑选长势均匀一致的幼苗移栽至不透光的培养盆中进行水培, 用具有孔隙的塑料板将幼苗固定。幼苗先以自来水培养 2 天, 再以 50%浓度的完全 Hoagland 营养液培养一周, 然后再用完全营养液培养一周, 使幼苗生长健壮, 去除弱苗、保留长势一致的壮苗用于进一步的研究。

完全营养液按文献[8]的方法配制, 略加修改:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (4.0 mmol/L)、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1.0 mmol/L)、 $\text{KCl}$  (1.0 mmol/L)、 $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (1.0 mmol/L)、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.6 mmol/L)、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.02 mmol/L)、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (6.0  $\mu\text{mol/L}$ )、 $\text{H}_3\text{BO}_3$  (0.016 mmol/L)、 $\text{ZnCl}_2$  (0.3  $\mu\text{mol/L}$ )、 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.3  $\mu\text{mol/L}$ )、 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.3  $\mu\text{mol/L}$ )。

### 2.2. 实验处理方法

在完全营养液配方的基础上, 通过改变  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  的浓度配制出 4 个氮浓度水平: 0、2、8 和 16 mmol/L (分别标记为 N0、N2、N8 和 N16)。每个处理设 3 次重复, 营养液 3 天更换 1 次, 全天用泵通气, 以防止黄檗苗根部发生霉变和腐烂。每天用 0.1 mmol/L 的 KOH 和 HCl 将营养液 pH 值调至 6.0 左右, 并相应地补充损失的水分; 在不同氮素浓度处理 3 个月后测定不同处理幼苗的各项生理参数。

### 2.3. 光响应曲线的测定

利用便携式光合仪(Li-6400, 美国 LI-COR 公司), 将仪器自带光源分别设定光强(PFD)为 1800、1500、1200、1000、800、500、200、100、50 和 0  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 按照光强由高到低的顺序分别测定不同氮浓度处理下黄檗幼苗叶片的净光合速率( $P_n$ )、气孔导度( $G_s$ )和蒸腾速率( $T_r$ ), 并分别绘制  $P_n$ -PFD、 $G_s$ -PFD 和  $T_r$ -PFD 响应曲线, 用直角双曲线模型求得  $P_n$ -PFD 响应曲线表观量子效率(AQY)、暗呼吸速率( $R_d$ )、光补偿点(LCP)、光饱和点(LSP)、光饱和时的净光合速率( $P_{\text{max}}$ )。

### 2.4. 叶绿素荧光参数的测定

采用便携式脉冲调制荧光仪(FMS-2, 英国 Hansatch 公司), 利用暗适应夹对不同处理下黄檗幼苗顶端第 2 片完全展开叶片进行 0.5 h 的暗适应, 参照 Hu 等[9]方法测定初始荧光( $F_0$ )、最大荧光( $F_m$ )和可变荧光( $F_v$ ), 以及光适应下的最大荧光( $F_m'$ )、光适应下的最小荧光( $F_0'$ ), 计算 PSII 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、

PSII 反应中心光能捕获效率( $F_v'/F_m'$ )、光化学淬灭系数( $qP$ )和非光化学淬灭( $NPQ$ )等。每处理 3 次重复。

## 2.5. 快速叶绿素荧光动力学曲线(OJIP)的测定

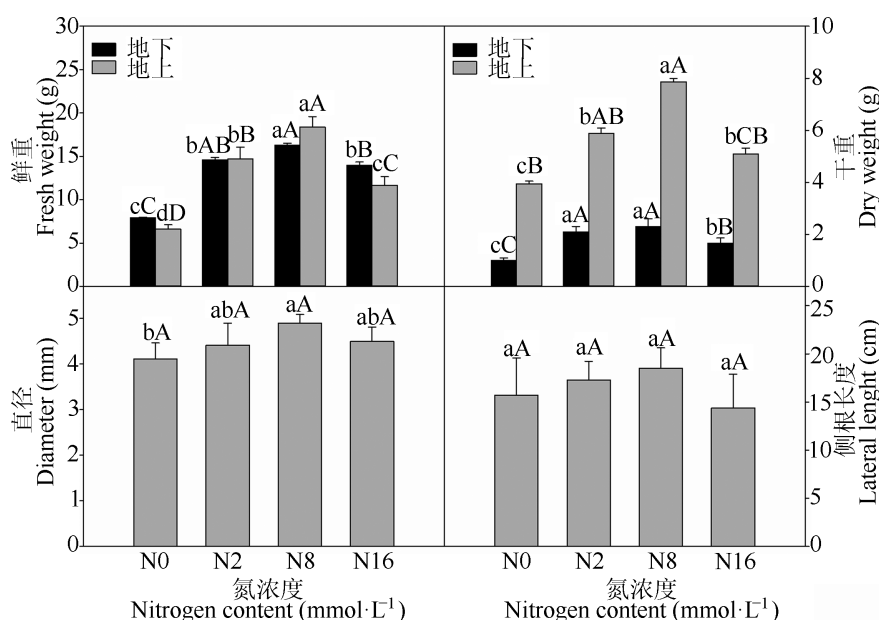
选择不同氮水平处理下黄檗幼苗完全展开叶片, 进行 30 min 暗适应后利用 Mini 调制式掌上叶绿素荧光仪(Fluorpen FP 100 max, 捷克)测定各暗适应后叶片的 OJIP 曲线。OJIP 曲线由  $3000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的脉冲红光诱导, 相对荧光强度的记录从  $10 \mu\text{s}$  开始至 1 s 结束, 利用 5 次重复的平均值绘制 OJIP 曲线。其中 OJIP 曲线上 O、J、I 和 P 点分别为 0、2、30 和 1000 ms 对应的时刻, L 和 K 点分别表示 0.15 和 0.3 ms 对应的时刻。

## 2.6. 数据处理

每个实验重复处理 3 次。采用 Excel 2010、Sigmaplot 12.5 等软件进行绘图、利用 SPSS 18.0 软件进行方差分析、LSD 法进行差异显著性分析, 其中, 显著性水平  $P < 0.05$ , 以小写字母表示其显著差异性; 显著性水平  $P < 0.01$ , 以大写字母表示其极显著差异性。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 不同氮浓度对黄檗幼苗植株生长的影响



Note: Lowercase letter and capital letter mean the differences are significant ( $P < 0.05$ ) and ( $P < 0.01$ ) respectively, same below.

注: 同一参数中不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ), 不同大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ ), 下同。

**Figure 1.** Effects of different nitrogen concentration on growth of *P. amurensis* seedlings

**图 1.** 不同氮浓度对黄檗幼苗植株生长的影响

由图 1 可以看出, 随着营养液中氮浓度的增加, 黄檗幼苗的地下部、地上部鲜重和总鲜重以及地下部、地上部干重和总干重均呈先增加后降低的趋势, 并且均在氮浓度为  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时达最大值, 氮浓度过高( $16 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )时, 黄檗幼苗的各部位鲜重和干重均稍低于氮浓度为  $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 但不同氮浓度下黄檗幼苗的生长均明显高于无氮处理。不同氮浓度处理下黄檗幼苗的直径和根长与鲜重和干重的变化趋势相似, 氮浓度为  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时的直径分别高于氮浓度为 0、2 和  $16 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 19.12% ( $P < 0.05$ )、10.81%

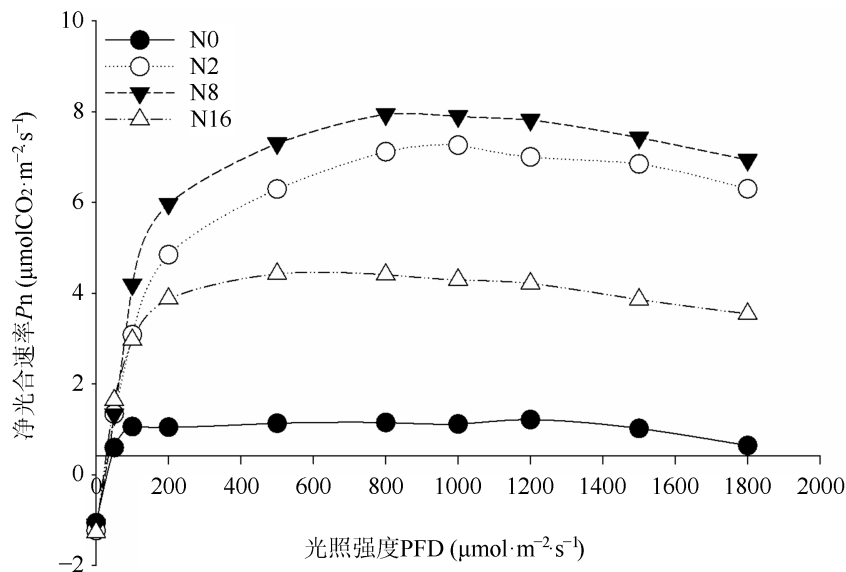
( $P > 0.05$ )和 8.86% ( $P > 0.05$ ), 而根长分别高于 0、2 和 16  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 17.73% ( $P > 0.05$ )、6.82% ( $P > 0.05$ ) 和 28.52% ( $P > 0.05$ )。

### 3.2. 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片光合特性的影响

#### 3.2.1. 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片净光合速率光响应曲线的影响

由图 2 可以看出, 不同氮浓度下黄檗幼苗叶片的净光合速率  $P_n$ -PFD 曲线明显不同, 其中光强为 0 时, 不同处理下黄檗幼苗叶片的  $P_n$  差异较小, 即暗呼吸速率  $R_d$  差异较小, 但不同浓度处理下以氮浓度为 16  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时  $R_d$  最高, 而氮浓度为 0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  最低。随着光强的增加, 氮浓度为 0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时黄檗幼苗叶片的  $P_n$  增加幅度较小。随着光强的增加, 氮浓度为 8  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时黄檗幼苗叶片的  $P_n$  增加幅度最大, 氮浓度为 2  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  次之。

根据直角双曲线模型求得  $P_n$ -PFD 响应曲线的各光合参数可以看出(表 1), 表观量子效率 AQY 表现为  $\text{N8} > \text{N2} > \text{N16} > \text{N0}$ , 光饱和点 LSP 表现为相同的变化趋势, 但黄檗幼苗叶片的光补偿点 LCP 则随着营养液中氮浓度的增加呈降低趋势。不同氮浓度处理下黄檗幼苗叶片的最大净光合速率  $P_{\max}$  在氮浓度为 8  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时最高, 氮浓度 2  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  次之, 明显高于氮浓度为 16 和 0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 并且而营养液中氮浓度为 0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时黄檗幼苗叶片的  $P_{\max}$  最低。



**Figure 2.** Effects of different nitrogen concentration on net photosynthetic rate to illumination intensity in leaves of *P. amurense* seedlings

**图 2.** 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片净光合速率光响应曲线的影响

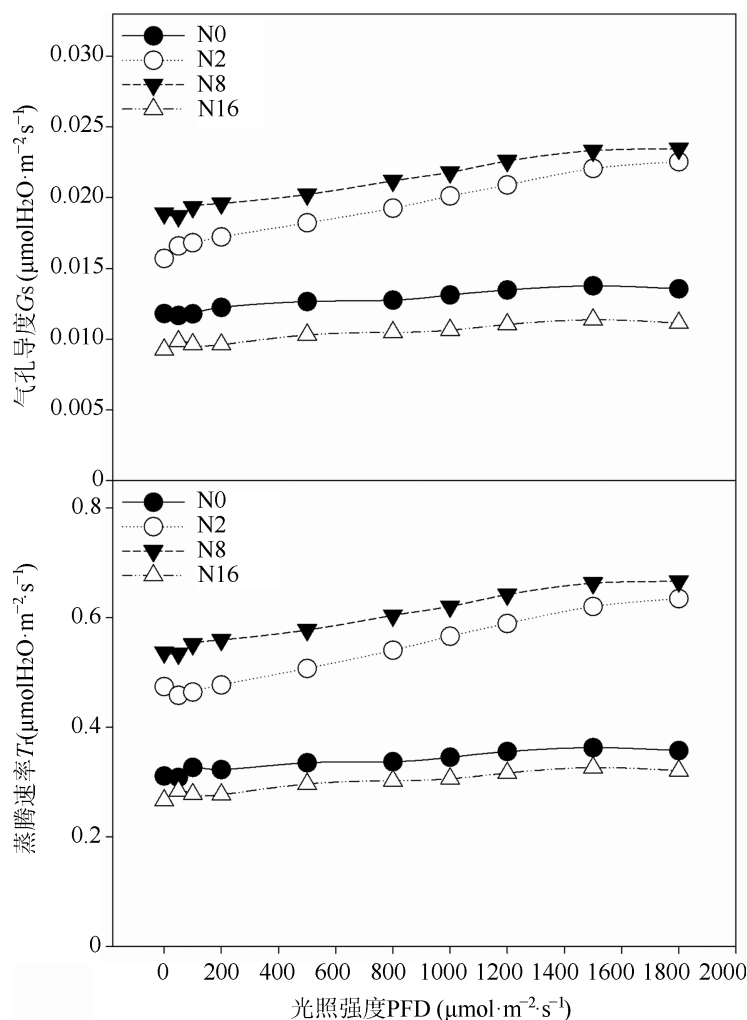
**Table 1.** Photosynthetic parameters in leaves of *P. amurense* seedlings under different nitrogen concentration

**表 1.** 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片的光合参数

测定参数 Parameters	表观量子效率 AQY	暗呼吸速率 $R_d$ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	光补偿点 LCP ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	光饱和点 LSP ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	最大净光合速率 $P_{\max}$ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )
N0	0.31	1.06	43.89	670.89	1.14
N2	0.64	1.23	19.21	778.00	8.93
N8	0.73	1.10	13.86	827.00	9.25
N16	0.59	1.27	11.92	739.88	5.47

### 3.2.2. 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片气孔导度( $G_s$ )和蒸腾速率( $T_r$ )光响应曲线的影响

由图3可以看出,不同氮浓度下黄檗幼苗叶片的 $G_s$ 和 $T_r$ 的变化趋势相似,随着光强的增加,不同处理下黄檗幼苗叶片的 $G_s$ 和 $T_r$ 均有小幅度的增加,但随光强增加,氮浓度为2和8  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时黄檗幼苗叶片的 $G_s$ 和 $T_r$ 增加的幅度明显大于氮浓度为0和16  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时。另外,在不同光强下,不同氮浓度处理下黄檗幼苗叶片的 $G_s$ 和 $T_r$ 均表现为 $\text{N8} > \text{N2} > \text{N0} > \text{N16}$ ,其中N8和N2处理较为接近,并且明显大于N0和N16处理。



**Figure 3.** Effects of different nitrogen concentration on stomatal conductance and transpiration rate to illumination intensity, in leaves of *P.amurensis* seedlings  
**图3.** 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片气孔导度和蒸腾速率光响应曲线的影响

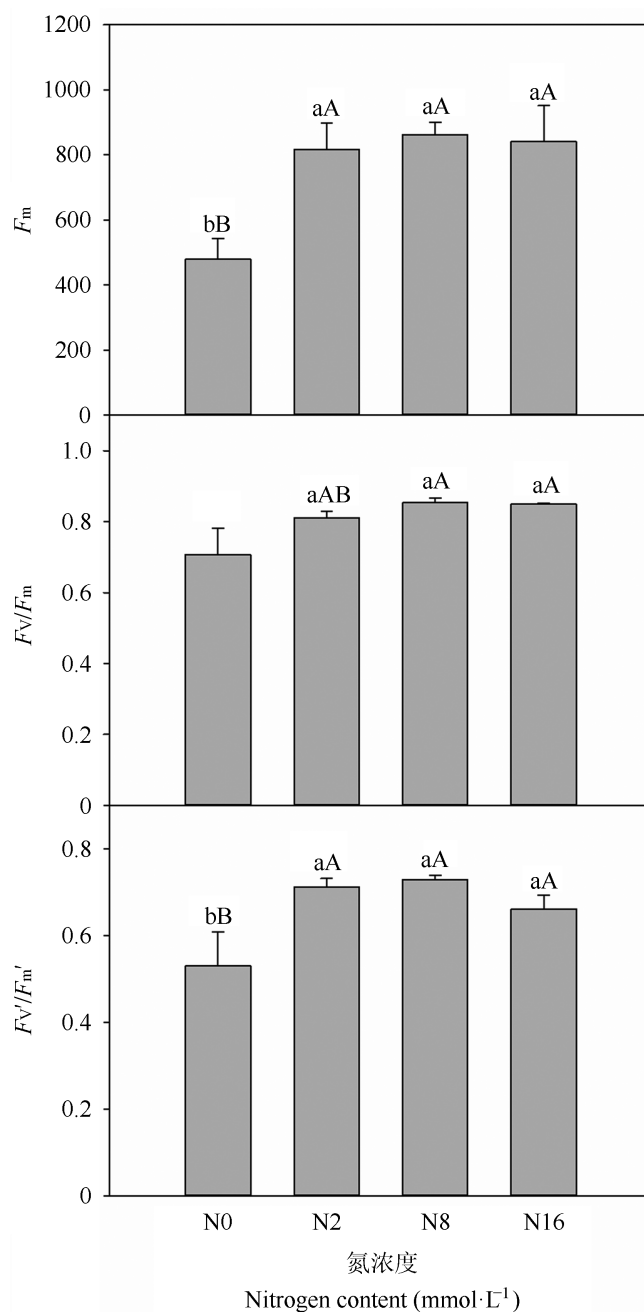
### 3.3. 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片叶绿素荧光特性的影响

#### 3.3.1. 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

由图4可以看出,在营养液中氮浓度为0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时黄檗幼苗叶片的最大荧光( $F_m$ )、PSII最大光化学效率( $F_v/F_m$ )和PSII反应中心光能捕获效率( $F_v'/F_m'$ )均明显低于不同氮素浓度处理,氮浓度为2、8和16  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时黄檗幼苗叶片的 $F_m$ 分别高于氮浓度为0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时70.29%、79.82%和75.50%,均达极显著差异水平( $P < 0.01$ ), $F_v'/F_m'$ 分别高于氮浓度为0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时14.86% ( $P < 0.05$ )、20.76% ( $P < 0.01$ )和20.24%



( $P < 0.01$ ),  $F_v'/F_m'$  分别高于氮浓度为  $0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时 34.42% ( $P < 0.01$ )、37.76% ( $P < 0.01$ ) 和 24.86% ( $P < 0.01$ ), 其中, 氮浓度为  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时黄檗幼苗叶片  $F_m$ 、 $F_v/F_m$  和  $F_v'/F_m'$  最高。



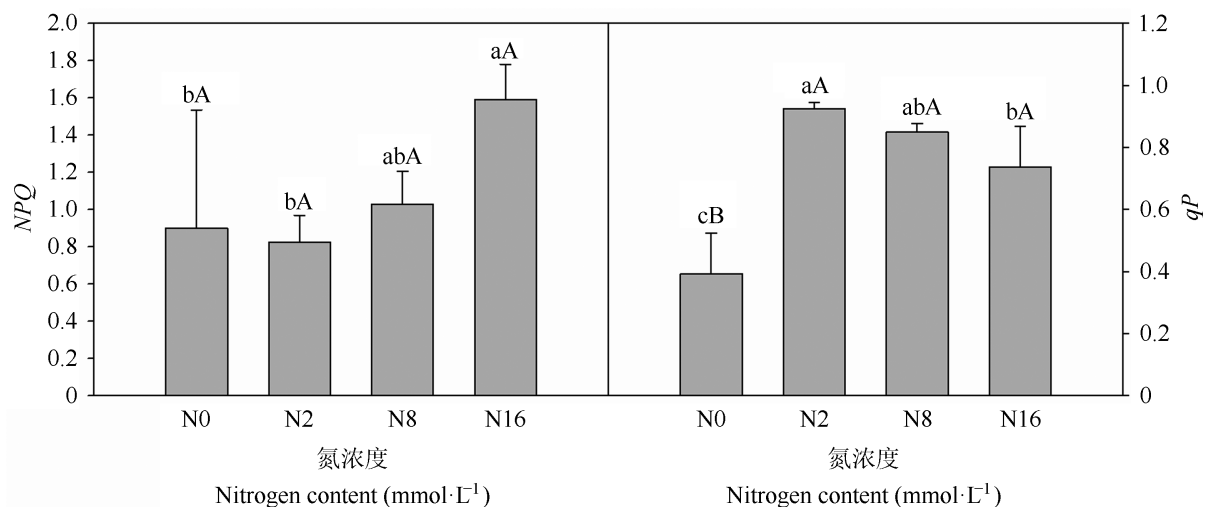
**Figure 4.** Effects of different nitrogen concentration on chlorophyll II fluorescence characteristics in leaves of *P. amurense* seedlings

**图 4.** 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片叶绿素荧光特性的影响

### 3.3.2. 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片非光化学淬灭(NPQ)和光化学淬灭系数(qP)的影响

由图 5 可以看出, 当氮浓度 2 和  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 黄檗幼苗叶片的 NPQ 与氮浓度为  $0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时的差异较小, 但当氮浓度增加到  $16 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时却分别较 0、2 和  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的氮浓度下黄檗幼苗叶片的 NPQ

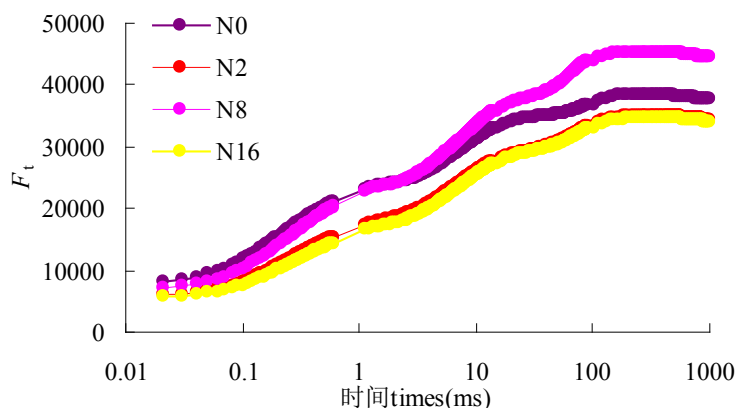
增加了 76.77% ( $P < 0.05$ )、93.39% ( $P < 0.05$ )和 54.85% ( $P > 0.05$ ), 与  $NPQ$  不同, 在 2、8 和 16  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的氮浓度下黄檗幼苗叶片  $qP$  均明显高于氮浓度为 0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 但随着营养液中氮浓度的增加, 黄檗幼苗叶片的  $qP$  呈明显的降低趋势。



**Figure 5.** Effects of different nitrogen concentration on  $qP$  and  $NPQ$  in leaves of *P. amurensis* seedlings  
**图 5.** 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片光化学淬灭系数( $qP$ )和非光化学淬灭( $NPQ$ )的影响

### 3.3.3. 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片 OJIP 曲线的影响

由图 6 可以看出, 不同氮浓度处理下黄檗幼苗叶片的 OJIP 曲线各点的相对荧光强度明显不同, 其中, 整体来看各点的相对荧光强度以氮浓度为 8  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时最高, 氮浓度为 2 和 16  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理下黄檗幼苗叶片各点的相对荧光强度均明显降低, 而在氮浓度为 0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, O 点到 J 点(即 0 ms~2 ms)的相对荧光强度稍高于其它 3 个供氮水平, 而超过 2 ms 时, 黄檗幼苗叶片各点的相对荧光强度明显低于氮浓度为 8  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 却高于氮浓度为 2 和 16  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时。



**Figure 6.** Effects of different nitrogen concentration on OJIP curve in leaves of *P. amurensis* seedlings  
**图 6.** 不同氮浓度对黄檗幼苗叶片 OJIP 曲线的影响

## 4. 讨论

氮是植物体内最为重要的营养元素之一, 在植物的生长发育和代谢过程中占有重要的地位[10]。合理的氮素调控是保证植物正常生长发育的重要措施之一[11] [12]。本研究结果表明, 不同氮水平下黄檗幼苗



植株的生物量积累明显不同,其中,在无氮素供应时,黄檗幼苗的地上部、地下部鲜重和干重均最低,并且其植株的直径和根系长度也明显低于供氮处理。但是,随着营养液中氮浓度的增加,黄檗幼苗植株的地上部、地下部生物量以及鲜重均呈现先增加后降低的趋势,并且不同处理下均以氮浓度为  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时达最大值,即黄檗幼苗水培条件下较适宜的供氮水平约为  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,当氮素浓度过高或过低时均会抑制黄檗幼苗的生长。

光合作用是植物获取物质和能量的基础,氮作为植物叶绿素的重要组成部分,其供应能力直接影响着植物对光能的吸收和利用,因此,氮除了直接影响植物的生长及氮代谢过程外还会间接影响植物的光合作用[13]。碳氮代谢是植物生命活动中最重要的两大代谢过程,二者常偶联在一起发挥作用[14]。本研究中,不同氮素水平下黄檗幼苗叶片的净光合速率  $P_n$  在不同光强下明显不同,其中不同氮水平下以氮浓度为  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时黄檗幼苗叶片的  $P_n$  最高,而以氮浓度为  $0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  最低,说明无氮营养供应时明显抑制了黄檗幼苗叶片的碳同化能力和光能利用能力,其原因可能与无氮时黄檗幼苗叶片的叶绿素合成受到抑制,导致其对光能的捕获能力明显降低,或氮素供应不足导致其光合作用相关酶的合成或活性受到抑制有关,但这方面的验证有待更进一步的研究。另外,氮素供应过高时,即氮浓度为  $16 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时黄檗幼苗叶片的光合能力也受到了限制,这与魏丽娜等人在水曲柳上的研究结果相似[15]。光合曲线拟合出的参数表观量子效率(AQY)是植物对光能利用效率的重要指标,反映了植物捕获光量子用于光合作用的能力[16],光饱和时的最大光化学效率( $P_{\text{max}}$ )体现了植物潜在的光合能力[17],光补偿点和光饱和点(LCP 和 LSP)反映了植物对光能的利用能力。本研究中,根据直角双曲线模型求得  $P_n$ -PFD 响应曲线的各光合参数可以看出,黄檗幼苗叶片的 AQY 和 LSP 均表现为  $\text{N8} > \text{N2} > \text{N16} > \text{N0}$ ,而黄檗幼苗叶片的光补偿点 LCP 则随着营养液中氮浓度的增加呈降低趋势,即,在无氮供应时,黄檗幼苗叶片对光能的捕获和利用能力明显降低,特别是对弱光的捕获能力和对强光的利用能力下降是导致其光合碳同化能力降低的主要原因之一。不同氮浓度下黄檗幼苗叶片的气孔导度( $G_s$ )和蒸腾速率( $T_r$ )的变化趋势相似,随着光强的增加,不同处理下黄檗幼苗叶片的  $G_s$  和  $T_r$  均有小幅度的增加,但随光强增加,氮浓度为  $8$  和  $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时黄檗幼苗叶片的  $G_s$  和  $T_r$  增加的幅度明显大于氮浓度为  $0$  和  $16 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时。另外,在不同光强下,不同氮浓度处理下黄檗幼苗叶片的  $G_s$  和  $T_r$  均表现为  $\text{N8} > \text{N2} > \text{N0} > \text{N16}$ ,其中  $\text{N8}$  和  $\text{N2}$  处理较为接近,并且明显大于  $\text{N0}$  和  $\text{N16}$  处理。说明在合理的氮素供应下可以保证黄檗幼苗叶片的气孔开度和正常的蒸腾速率,以保证碳同化原料  $\text{CO}_2$  的正常供应和水分代谢过程。

叶绿素荧光技术作为研究植物光合作用的重要手段之一,在反应植物光合作用内在机理,特别是 PSII 光化学活性和光能利用方面发挥着重要的作用[18][19]。本研究中,不同氮素水平下黄檗幼苗叶片的最大荧光( $F_m$ )、PSII 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )和 PSII 反应中心光能捕获效率( $F_v'/F_m'$ )均明显高于无氮素供应时,即氮素的供应会明显影响黄檗幼苗叶片的 PSII 光化学效率,但是不同供氮水平下,黄檗幼苗叶片的  $F_m$ 、 $F_v/F_m$  和  $F_v'/F_m'$  均以营养液氮浓度为  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时最高,即此时黄檗幼苗叶片的 PSII 光化学效率最高,氮素供应过高或过低时均会抑制其 PSII 光化学效率,这与光合碳同化的结果相符合,这也是导致不同处理之间黄檗幼苗叶片光合碳同化之间差异的内在原因。光化学淬灭系数( $qP$ )在一定程度上反应了光系统 II 反应中心的开放程度[20],而 Li 等人的研究发现,非光化学淬灭( $NPQ$ )则与依赖叶黄素循环的热耗散显著正相关,即  $NPQ$  主要为依赖叶黄素循环的能量耗散部分[21]。本研究中,不同氮素水平下黄檗幼苗叶片的  $qP$  均明显高于不施氮水平,即氮素可以明显促进黄檗幼苗叶片的 PSII 反应中心光开放程度,但随着氮浓度的增加,黄檗幼苗叶片的  $qP$  呈降低趋势,而  $NPQ$  则整体呈增加趋势,说明较高氮浓度下,黄檗幼苗叶片的过剩光能主要通过依赖于叶黄素循环的能量耗散方式进行耗散,以减轻 PSII 反应中心的压力,但在无氮供应时,由于  $NPQ$  水平较低,过剩光能可能不能进行有效耗散,从而导致其 PSII 反应中心光开放程度和光化学活性较低。

不同氮水平下均明显改变了黄檗叶片的快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP)曲线形态,通过对不同处理下黄檗叶片的 OJIP 曲线标准化分析可以看出,不同氮素水平下黄檗叶片的 J 点的相对可变荧光呈明显不同,其中,氮浓度为  $0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时黄檗幼苗叶片 J 点和 I 点的相对可变荧光最高,但 J 点相对可变荧光的变化幅度明显大于 I 点。J 点的相对可变荧光可以反映电子传递体  $Q_A$  的还原量,即  $Q_A^-$  的积累量, J 点的相对可变荧光的增加被认为是光合电子传递链中  $Q_A$  (光系统 II 电子传递链初级电子受体)到  $Q_B$  (光系统 II 电子传递链次级电子受体)的电子传递受阻,还原态  $Q_A$  积累量逐渐增多,而 I 点荧光变化则反映了 PQ 库的异质性[22] [23],即,在无氮素供应时,黄檗幼苗叶片 PSII 电子传递链电子受体侧的电子传递受阻,表现为 PSII 受体侧接受电子的能力降低,但其主要抑制作用位点主要发生在  $Q_A$  向  $Q_B$  的电子传递过程,即  $Q_B$  接受电子能力的降低,而受 PQ 库的影响相对较小。另外,在氮浓度为  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时黄檗幼苗叶片 J 点和 I 点的相对可变荧光最低,而氮浓度为 2 和  $16 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时的变化较小,即此时对黄檗幼苗 PSII 受体侧电子传递速率的影响较小,而光合 PSII 活性的降低和功能的抑制可能与其它因素有关。

## 5. 结论

黄檗幼苗的重量、基径和侧根长度、净光合速率( $P_n$ )、表观量子效率(AQY)、光饱和点(LSP)、气孔导度( $G_s$ )和蒸腾速率( $T_r$ )等光合指标,最大荧光( $F_m$ )、PSII 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、PSII 反应中心光捕获效率( $F_v'/F_m'$ )、快速叶绿素荧光诱导曲线(OJIP 曲线)等叶绿素荧光指标均在氮浓度为  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理时达到最大值,表明氮素浓度在  $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时最有利于黄檗幼苗的生长和壮苗培育,这种对生长促进作用主要是通过提升黄檗幼苗的光合和叶绿素荧光能力、体内碳氮代谢来实现的。研究结果有助于黄檗的资源培育。

## 基金项目

感谢黑龙江省应用技术研究开发与计划项目(GA19B201)和国家自然科学基金项目(31370630)的资助。

## 参考文献

- [1] 蒋志敏, 王威, 储成才. 植物氮高效利用研究进展和展望[J]. 生命科学, 2018, 30(10): 1060-1071.
- [2] Mu, X.H. and Chen, Y.L. (2021) The Physiological Response of Photosynthesis to Nitrogen Deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, **158**, 76-82. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.019>
- [3] 国家林业局. 中国重点保护野生植物资源调查[M]. 北京: 中国林业出版社, 2009: 156-157.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020年版, 一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 153.
- [5] 张志鹏, 张阳, 张昭, 等. 我国黄檗野生种群生存现状及化学表征研究[J]. 植物科学学报, 2016, 34(3): 381-390.
- [6] 张俊, 程广有, 刘岩. 黄檗生长性状氮磷钾响应模型[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2021, 22(2): 182-186.
- [7] 王亚娟. 三种土壤类型下氮添加对黄柏幼苗生长生理的影响[D]: [硕士学位论文]. 成都: 四川农业大学林学院, 2019.
- [8] 中科院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 74-78.
- [9] Hu, Y.B., Sun, G.Y. and Wang, X.C. (2007) Induction Characteristics and Response of Photosynthetic Quantum Conversion to Changes in Irradiance in Mulberry Plants. *Journal of Plant Physiology*, **164**, 959-968. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.07.005>
- [10] Burke, I.C., Lauenroth, W.K. and Parton, W.J. (1997) Regional and Temporal Variation in Net Primary Production and Nitrogen Mineralization in Grasslands. *Ecology*, **78**, 1330-1340. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1997\)078\[1330:RATVIN\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1997)078[1330:RATVIN]2.0.CO;2)
- [11] The, S.V., Snyder, R. and Tegeder, M. (2021) Targeting Nitrogen Metabolism and Transport Processes to Improve Plant Nitrogen Use Efficiency. *Frontiers in Plant Science*, **11**, Article ID: 628366. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.628366>

- [12] 邢鸿林, 刘天义, 扎史都吉, 等. 光照与氮添加对红皮云杉幼树生长与叶形态功能的影响[J]. 森林工程, 2022, 38(4): 1-9.
- [13] Liu, X., Yin, C.M., Xiang, L., *et al.* (2020) Transcription Strategies Related to Photosynthesis and Nitrogen Metabolism of Wheat in Response to Nitrogen Deficiency. *BMC Plant Biology*, **20**, 448. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02662-3>
- [14] Baslam, M., Mitsui, T., Sueyoshi, K., *et al.* (2021) Recent Advances in Carbon and Nitrogen Metabolism in C3 Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 318. <https://doi.org/10.3390/ijms22010318>
- [15] 魏丽娜, 周冠军, 孙海龙, 等. 氮磷施肥对水曲柳叶片光合特征及体内非结构性碳的影响[J]. 森林工程, 2021, 37(5): 20-27.
- [16] 陈美倩, 夏令, 罗睿. 不同半夏属植物光合作用相关生理特征研究[J]. 贵州大学学报(自然科学版), 2021, 38(5): 20-24, 39.
- [17] 李鑫, 张会慧, 张秀丽, 等. 不同光环境下兴安胡枝子叶片光合和叶绿素荧光参数的光响应特点[J]. 草业科学, 2016, 33(4): 706-712.
- [18] 甘龙, 罗玉红, 李晓玲, 等. Cd胁迫下一年蓬的生长、Cd积累及叶绿素荧光特性[J]. 武汉大学学报(理学版), 2018, 64(1): 70-78.
- [19] Zhuang, J., Wang, Y.L., Chi, Y.G., *et al.* (2020) Drought Stress Strengthens the Link between Chlorophyll Fluorescence Parameters and Photosynthetic Traits. *PeerJ*, **8**, e10046. <https://doi.org/10.7717/peerj.10046>
- [20] 何勇, 符庆功, 朱祝军. 低温弱光对辣椒叶片光合作用、叶绿素荧光猝灭及光能分配的影响[J]. 核农学报, 2013, 27(4): 479-486.
- [21] Li, X.P., Björkman, O., Shih, C., *et al.* (2000) A Pigment-Binding Protein Essential for Regulation of Photosynthetic Light Harvesting. *Nature*, **403**, 391-395. <https://doi.org/10.1038/35000131>
- [22] 常翠翠, 张东升, 郝兴宇, 等. CO<sub>2</sub>浓度与温度升高对冬小麦叶片光合与快速叶绿素荧光特征的影响[J]. 植物生理学报, 2021, 57(4): 919-928.
- [23] Kupper, H., Benedikty, Z., Morina, F., *et al.* (2019) Analysis of OJIP Chlorophyll Fluorescence Kinetics and Q(A) Reoxidation Kinetics by Direct Fast Imaging. *Plant Physiology*, **179**, 369-381. <https://doi.org/10.1104/pp.18.00953>