

施用氮、磷对油松幼苗叶形态与解剖结构的影响*

陈丽茹¹ 邵景侠^{2**} 李秧秧³

¹西北农林科技大学林学院 杨凌 712100

²西北农林科技大学生命学院 杨凌 712100

³西北农林科技大学水土保持研究所 杨凌 712100

摘要 施用氮和磷素对油松生长有一定的促进作用,为进一步了解其对针叶形态与解剖结构的影响,采用田间小区实验,设置4种处理,即对照(不施氮和磷)、施氮(+N,每次20 kg/hm²,连续施用7次,下同)、施磷(+P,每次10 kg/hm²)及氮磷共施(+NP,每次N 20 kg/hm²+P 10 kg/hm²),对油松当年生针叶开展研究.结果显示:施氮、施磷或氮磷共施增加了油松的地径、冠幅和地上部生物量,施氮或磷后叶氮或磷含量显著增加.对叶长、宽、厚和表面积施氮影响不大但施磷显著增加.施氮显著增加了叶中柱和输导组织的面积及所占比例,而施磷显著增加了表皮层、树脂道腔、中柱、输导组织、木质部和韧皮部的面积,同时树脂道腔、中柱和输导组织面积所占横截面积比例也有显著增加.施氮影响22个形态和解剖结构参数中的4个,而施磷对14个参数都有显著影响,表明施磷对油松针叶形态和解剖结构的影响大于施氮.主成分分析表明施磷主要影响光合和树脂生产能力,而施氮或施磷均增加了输导组织功能.本研究表明磷是油松幼苗生长的主要限制因子,因此生产实践中要重视磷肥的使用.(图3 表3 参27)

关键词 油松幼苗;当年生针叶;形态;解剖结构;氮磷施用

CLC S7791.254.01

Effects of nitrogen and phosphorus application on needle morphological and anatomical structure in Chinese pine seedlings*

CHEN Liru¹, SHAO Jingxia^{2**} & LI Yangyang³

¹College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi

²College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi

³Institute of Soil and Water Conservation, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi

Abstract Nitrogen and phosphorus are the major nutrients that affect vegetation growth and productivity, and their rational application can promote the growth of Chinese pine seedlings; however, their effects on the needle morphology and anatomical structure are unclear. The effects of nitrogen and phosphorus application on the morphological and anatomical traits of current-year needles in Chinese pine seedlings were studied through four treatments with seven applications per treatment: CK (no fertilizer use), N application (+N, 20 kg/hm² per application), P application (+P, 10 kg/hm² per application), and both N and P application (+NP, 20 kg/hm² N + 10 kg/hm² P per application). The results showed that the application of nitrogen, phosphorus, or nitrogen and phosphorus increased the stem diameter, crown size, and aboveground biomass. Nitrogen or phosphorus application increased current-year needle nitrogen or phosphorus content significantly. Nitrogen application had little effect on the length, width, thickness, and surface area of the current-year needles; however, phosphorus application increased the needle length, width, thickness, and surface area. Nitrogen application significantly increased the area and the proportion of the central cylinder as well as the transfusion tissue of current-year needles, whereas phosphorus significantly increased the surface area of the epidermis, resin duct cavities, central cylinder, transfusion tissue, xylem, and phloem, and proportion of the resin duct cavities; the central cylinder and transfusion tissue also increased significantly. Nitrogen application affected 4 of 22 morphological and anatomical structure parameters, whereas phosphorus application had an obvious influence on 14 of 21 parameters, indicating that phosphorus application had a stronger effect on the needle morphology and anatomical structure than nitrogen application. Principal components analysis showed that phosphorus application mainly stimulated photosynthesis and resin production, and nitrogen or phosphorus application increased the function of the transfusion tissue. These results suggest that phosphorus is the major limiting factor for the growth of Chinese pine seedlings, and that phosphorus application should be highlighted in practice.

Keywords Chinses pine seedling; current-year needles; morphology; anatomical structure; nitrogen and phosphorus application

收稿日期 Received: 2016-03-14 接受日期 Accepted: 2016-04-12

*国家自然科学基金项目(41530854, 41371507)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (41530854, 41371507)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: 1658220250@qq.com)

油松是我国北方重要的生态型和用材型乡土树种, 主要分布在吉林南部、辽宁、河北、河南、山东、山西、内蒙古、陕西、甘肃、宁夏、青海及四川等省区^[1], 地理位置上大体位于北纬32°-43° N, 东径102-122° E, 海拔100-2 600 m之间^[2]. 宽分布范围表明油松与其他松科植物一样, 具有有高度的结构及/或功能可塑性来适应不同的生境^[3]. 与植物其他长生长年限的组织相比, 叶结构及/或功能性状对外界环境条件的变化更敏感^[4]. 针叶是松属植物进行光合、蒸腾和呼吸作用的主要器官, 探讨其结构及/或功能性状对不同生境的可塑性有助于揭示油松的适应机制, 为其合理经营与栽培提供理论依据.

针叶的形态及解剖结构直接决定着其生理功能. 关于针叶形态及解剖结构对外界环境条件如遮阴^[5-6]、干旱^[7-9]、臭氧胁迫^[10-11]、CO₂浓度升高^[12-13]的响应有较多的研究, 但关于养分(特别是氮和磷)添加对针叶形态和解剖结构的研究相对较少^[14]. 氮或磷亏缺导致低养分含量火山灰上生长的库叶云杉(*Picea glehnii*)针叶长度变短、宽度变宽、厚度变厚且质量变大, 但同样在低养分生境中生长的鱼鳞云杉(*Picea jezoensis*)只有针叶长度变短, 其它针叶形态结构并无明显改变^[15]. 对朝鲜松(*Pinus koraiensis*)的研究表明氮沉降可增加针叶光合活性, 但原因主要是通过针叶内氮分配的优化而非解剖结构的改变^[16]. 磷添加对欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)针叶超微结构有显著影响^[17]. 氮磷添加对针叶形态和解剖结构的影响可能受土壤养分有效性、植物类型以及植物养分吸收、分配和利用策略等的复杂影响. 适度添加氮和磷对油松幼苗生长表现出显著的促进作用^[18-20], 但是否会导致针叶形态及解剖结构发生变化目前尚不清楚, 为此, 我们对这一问题进行了探讨, 旨在揭示油松针叶对不同氮、磷养分生境的适应机制.

1 材料与方 法

1.1 研究区概况

试验地位于陕西省咸阳市杨陵区西北农林科技大学水土保持研究所试验场. 该地位于陕西关中平原中部, 属暖温带大陆性季风半湿润气候, 雨热同期, 夏季降水量占全年降水量的70%左右. 年平均气温12.9 °C, 最冷月(1月)平均气温-1.1 °C, 最热月(7月)平均气温25.8 °C, 年极端最低气温-19.4 °C, 年极端最高气温42 °C. ≥ 0 °C积温为4 903 °C, 持续天数为309 d, 无霜期221 d. 年平均降雨量651 mm. 试验地土壤为壤土.

1.2 试验设计

2013年4月将精选的长相一致的1年生油松幼苗栽植于面积约750 m²试验地, 栽植时株距和行距均为50 cm, 营养钵划破后带根带水栽植, 精心管理以保证无缺苗现象. 经过1年生长后到2014年5月开始试验处理. 处理前土壤有机质含量为10.6 g/kg, 全氮为0.67 g/kg, 矿质态氮和速效磷分别为51.8和8.9 mg/kg.

试验设4个处理: 对照(CK), 未施氮、磷肥; 施氮(+N), 按每年120 kg/hm²纯氮水平添加尿素; 施磷(+P), 按每年60 kg/hm²纯磷水平添加重过磷酸钙; 氮磷同施(+NP),

按每年120 kg/hm²纯氮和60 kg/hm²纯磷水平同时添加尿素和重过磷酸钙. 每个处理设3个小区, 小区面积为50 m², 随机排列. 2014年5月起对各处理进行相应施肥, 共施肥7次, 分别在2014年的5月、7月、9月、11月和2015年的2月、4月和6月, 每次施肥量均为年施肥量的1/6, 施肥结合降雨或人工补水后进行沟施, 沟施距离为距植株25 cm左右. 2014年7月和11月、2015年2月由于月降雨量较少, 故每次补水15 mm(图1), 对照小区也补充同样水量, 其它均为常规管理. 2015年7月13日(距最后一次施肥18 d)从每个小区中随机抽取3棵油松, 测量其生长状况, 其中2棵用于解剖结构研究. 在解剖结构研究的松树上每棵油松随机采集当年生健康松针3枚, 用于形态和解剖结构的测定(每处理18枚叶), 同时在剩余当年生针叶取20枚, 烘干, 用于氮和磷养分含量分析.

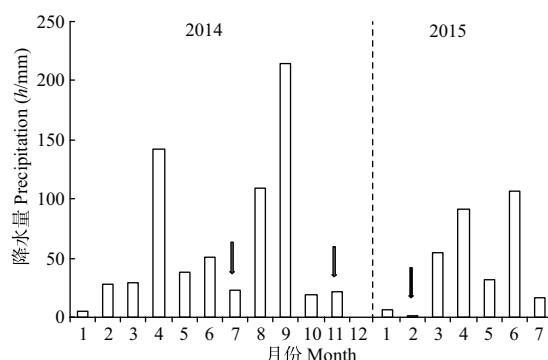


图1 试验处理期间的降水量, 黑色箭头为补水时间.

Fig. 1 Precipitation during the treating period. The black arrows indicate the supplied irrigation.

1.3 测定项目及方法

(1) 油松生长参数: 油松幼苗地径用游标卡尺进行测量, 株高和冠幅用卷尺进行测定, 并统计主茎上所有分枝数, 然后烘干法测定地上部干重.

(2) 针叶氮和磷含量: 针叶样品粉碎过筛后, 用硫酸-双氧水消煮, 采用全自动凯氏定氮仪测定针叶氮含量, 钼黄比色法测定针叶磷含量.

(3) 针叶形态和解剖结构: 首先用游标卡尺测量针叶长(NL), 然后在解剖显微镜(日本OLYMPUS有限公司SZ2-LGB型)下测量针叶中部2 mm长近轴端和远轴端的气孔数和气孔线数(SR), 根据下述公式, 计算测量距离内针叶的表面积^[21], 在此基础上得出单位表面积的气孔密度(SD).

$$SA = \pi \times NW \times NL / 2 + NW \times NL \quad (1)$$

式中, NW为针叶宽, NL为针叶长, NW来自于石蜡切片测定的针叶宽. 总针叶表面积(NSA)亦利用上述公式计算.

取针叶中部1 cm, 进行徒手切片或石蜡切片, 其中1/3样品用石蜡切片, 2/3用徒手切片. 石蜡切片先取样品置于FAA固定液(乙醇50%: 冰醋酸5%: 甲醛3.7%)中进行固定, 乙醇梯度脱水, 常规石蜡切片方法透明、浸蜡、包埋、切片和脱蜡^[22], 番红和固绿染色, 切片厚度8 μm. 无论是徒手还是石蜡切片, 每个针叶至少获得3张切片, 从中挑选清晰度最高的切片在显微镜(日本OLYMPUS有限公司CX31型)下拍照, 每张照片分别在100×和400×下拍照, 100×下照片主要用于油松叶横截面积(CROSS)、针叶宽(NW)、厚度(NT)、表皮层面

积 (HYPA)、中柱面积 (CCA)、叶肉组织面积 (MESA)、树脂道数 (RES) 和树脂道腔面积 (RESA) 的测量, 400×下照片主要用于木质部面积 (XYLA) 和韧皮部面积 (PHLOA) 的测定, 运输组织面积 (TRANSA) 为中柱面积减去木质部和韧皮部面积 (图2), 各部分所占比例为相应面积与油松针叶横截面积的百分比. 各部分所占面积用Image J图像分析软件进行分析.

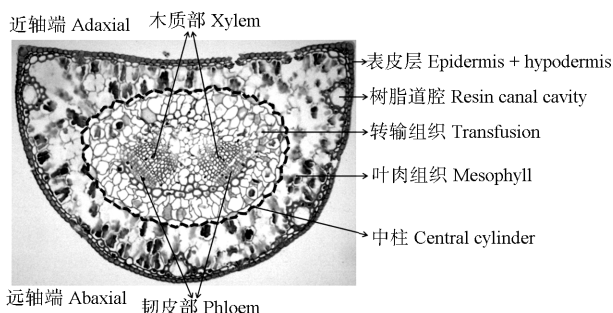


图2 油松针叶横截面解剖结构示例图. 图中照片为N处理的石蜡切片(1:100).

Fig. 2 Needle cross section anatomical structure of Chinese pine. The photo is paraffin section of N treatment (1:100).

1.4 统计分析

所有测定值均用平均值 ± 标准误差表示. 用双因素方差分析检验氮、磷的效应及交互作用的大小, 用单因素方差分析检验各处理间的差异, 若单因素方差分析达到显著后, 用Duncan法进行多重比较. 利用Pearson相关分析检验各参数间的相关关系, 并用主成分分析判别对氮和磷响应的主要形态与解剖结构参数. 所有统计分析均用SPSS11.5软件进行.

2 结果与分析

2.1 施用氮、磷对油松幼苗生长和养分含量的影响

施氮和施磷对株高和总分枝数无显著影响, 但施氮和施磷均显著增加了地径、冠幅和地上部生物量, 二者的交互作用对地径和地上部生物量的影响达到显著水平. 4个处理中, 施氮或施磷处理的地径、冠幅和生物量明显高于对照, 但对株高影响不大, 表明连续施氮和施磷主要促进了油松的径向生长. 和对照相比, 施氮显著增加油松针叶氮含量, 施磷显著提高了针叶磷含量, 氮和磷同施对叶氮和磷含量的交互作用不显著 (表1).

2.2 施用氮、磷对油松针叶形态和解剖结构的影响

施氮对油松针叶形态参数无显著影响, 但施磷显著增加

了针叶长、针叶宽、针叶厚和针叶表面积, 氮磷同施对针叶形态参数无显著的交互作用. 解剖结构参数中, 施氮显著增加了中柱面积和运输组织面积, 提高了中柱和运输组织面积所占比例. 磷施显著增加了针叶横截面积、表皮层面积、树脂道腔面积、中柱面积、运输组织面积、木质部面积和韧皮部面积, 且显著增加了树脂道腔、中柱和运输组织面积所占横截面积比例. 氮磷同施对中柱面积、运输组织面积和韧皮部面积、树脂道腔面积所占比例、叶肉组织面积所占比例、中柱面积所占比例、运输组织面积和韧皮部面积所占比例具有显著的交互作用 (表2).

2.3 油松针叶形态和解剖结构参数间的相互关系

Pearson相关分析表明不同针叶形态和解剖结构参数间具有显著的相关关系. 叶解剖结构各组成部分 (表皮层、树脂道腔、叶肉组织、中柱、运输组织、木质部和韧皮部) 面积与叶长、叶宽、叶厚、叶表面积和叶横截面积间呈显著正相关 (木质部面积与叶厚度间相关关系除外), 但叶表皮层面积所占比例与这些参数均呈极显著负相关关系, 木质部面积所占比例与针叶宽、针叶厚度亦呈显著负相关关系 (表3), 表明油松解剖结构各部分面积与针叶形态结构参数间存在协同及制约关系.

针叶解剖结构参数之间, (1) 表皮层面积与树脂道腔、叶肉组织和韧皮部面积呈显著正相关 (r 分别为0.514、0.467和0.414, $P < 0.05$, $N = 24$), 表皮层面积所占比例与叶肉组织面积所占比例呈显著负相关 ($r = -0.503$, $P < 0.05$, $N = 24$); (2) 树脂道腔面积与中柱、运输组织、木质部和韧皮部面积呈极显著正相关 (r 分别为0.743、0.740、0.708和0.671, $P < 0.01$, $N = 24$), 树脂道腔面积与叶肉组织面积并无显著相关性, 但树脂道腔面积所占比例与叶肉面积所占比例存在显著负相关 ($r = -0.513$, $P < 0.05$, $N = 24$); (3) 叶肉面积与表皮层、中柱、运输组织、木质部和韧皮部各部分面积所占比例呈极显著负相关 (r 分别为-0.787、-0.687、-0.574、-0.713和-0.597, $P < 0.05$, $N = 24$), 叶肉面积所占比例也与表皮层、中柱、运输组织、木质部和韧皮部各部分面积所占比例呈极显著负相关 (r 分别为-0.503、-0.959、-0.881、-0.615和-0.630, $P < 0.05$, $N = 24$), 表明叶肉组织面积及比例与表皮层和中柱各部分面积所占比例存在制约关系. (4) 中柱面积与运输组织面积、木质部面积和韧皮部面积呈极显著正相关 (r 分别为0.950、0.667、0.726, $P < 0.01$, $N = 24$), 中柱面积所占比例与运输组织面积所占比例呈极显著正相关 ($r = -0.842$, $P < 0.01$, $N = 24$). 这些结果表明油松表皮层与树脂道腔、叶肉组织和韧皮部发育存在协同性, 树脂道发育依赖

表1 施用氮、磷对油松幼苗生长和针叶养分含量的影响

Table 1 Effects of N and P application on the growth and needle nutrient concentrations of Chinese pine seedlings

性状 Traits	处理 Treatment				方差分析 ANOVA		
	CK	+N	+P	+NP	N	P	N × P
株高 Height (h/cm)	63.83 ± 6.53	62.33 ± 3.13	65.50 ± 2.59	70.33 ± 7.25	NS	NS	NS
地径 Basal diameter (d/cm)	1.80 ± 0.04 c	2.45 ± 0.03 b	2.31 ± 0.02 b	2.78 ± 0.03 a	*	*	*
冠幅 Canopy size (D/cm)	35.75 ± 2.13 b	44.67 ± 1.97 a	45.67 ± 1.80 a	50.58 ± 2.85 a	**	**	NS
地上部生物量 Aboveground biomass (m/g, DW)	160 ± 29 c	234 ± 36 b	282 ± 59 b	313 ± 77 a	*	**	*
总分枝数 Branching	10.17 ± 1.45	12.50 ± 1.56	12.17 ± 2.00	15.17 ± 2.74	NS	NS	NS
叶氮含量 Leaf N con. (w/mg g ⁻¹)	11.6 ± 0.6	13.8 ± 0.9	12.6 ± 0.7	15.5 ± 1.0	*	NS	NS
叶磷含量 Leaf P con. (w/mg g ⁻¹)	10.4 ± 1.1	9.2 ± 0.8	12.8 ± 0.9	13.4 ± 0.6	NS	**	NS

表2 施氮和施磷对油松针叶形态和解剖结构的影响

Table 2 Effects of N and P addition on needle morphology and anatomical structure of Chinese pine seedlings

	性状 Traits	处理 Treatments				方差分析 ANOVA		
		CK	+N	+P	+NP	N	P	N × P
形态参数 Morphological parameters	针叶长 (NL/mm)	114.41 ± 8.19	114.30 ± 4.98	133.49 ± 10.24	131.01 ± 7.43	NS	*	NS
	针叶宽 (NW/mm)	1.08 ± 0.04	1.08 ± 0.03	1.17 ± 0.04	1.14 ± 0.02	NS	*	NS
	针叶厚 (NT/mm)	0.74 ± 0.03	0.73 ± 0.02	0.79 ± 0.03	0.80 ± 0.01	NS	*	NS
	针叶表面积 (NSA/mm ²)	321.01 ± 31.45	317.06 ± 18.21	404.60 ± 41.45	386.58 ± 27.24	NS	*	NS
解剖结构参数 Anatomical structure parameters	气孔线数 (SR)	10.89 ± 0.44	10.78 ± 0.36	12.05 ± 0.50	11.72 ± 0.75	NS	NS	NS
	气孔密度 (SD/mm ²)	40.94 ± 2.02	40.94 ± 2.02	47.34 ± 2.54	46.23 ± 1.95	NS	NS	NS
	树脂道数 (RES)	3.61 ± 0.32	3.33 ± 0.12	4.39 ± 0.63	4.39 ± 0.60	NS	NS	NS
	横截面积 (CROSS/10 ⁻² mm ²)	63.29 ± 4.98	61.86 ± 2.60	72.58 ± 5.07	72.37 ± 2.50	NS	*	NS
	表皮层面积 (HYP/10 ⁻² mm ²)	10.46 ± 0.40 b	10.36 ± 0.18 b	10.99 ± 0.55 ab	12.03 ± 0.25 a	NS	**	NS
	树脂道腔面积 (RESA/10 ⁻² mm ²)	0.58 ± 0.05 b	0.78 ± 0.04 ab	0.98 ± 0.09 a	0.91 ± 0.07 a	NS	**	NS
	叶肉组织面积 (MESA/10 ⁻² mm ²)	36.88 ± 4.48	30.01 ± 2.36	35.55 ± 4.12	35.40 ± 2.20	NS	NS	NS
	中柱面积 (CCA/10 ⁻² mm ²)	15.37 ± 0.71 c	20.71 ± 0.38 b	25.07 ± 1.02 a	24.03 ± 0.85 a	*	**	**
	转输组织面积 (TRANS/10 ⁻² mm ²)	12.69 ± 0.79 c	17.57 ± 0.37 b	21.27 ± 0.95 a	21.61 ± 0.79 a	**	**	**
	木质部面积 (XYLA/10 ⁻² mm ²)	1.06 ± 0.05 c	1.09 ± 0.03 bc	1.38 ± 0.06 a	0.24 ± 0.04 ab	NS	**	NS
	韧皮部面积 (PHLOA/10 ⁻² mm ²)	1.63 ± 0.07 b	2.04 ± 0.16 ab	2.41 ± 0.11 a	2.16 ± 0.07 a	NS	**	**
	表皮层面积所占比例 (HYP/%)	16.88 ± 1.00	16.86 ± 0.58	15.39 ± 0.93	16.70 ± 0.55	NS	NS	NS
	树脂道腔面积所占比例 (RES/%)	0.93 ± 0.05 b	1.26 ± 0.06a	1.35 ± 0.06 a	1.26 ± 0.10 a	NS	**	**
	叶肉组织面积所占比例 (MES/%)	57.25 ± 2.67 a	48.14 ± 1.88 b	48.16 ± 2.54 b	48.70 ± 1.69 ab	NS	NS	*
	中柱面积所占比例 (CC/%)	24.93 ± 1.94 b	33.74 ± 1.37 a	35.11 ± 2.01 a	33.34 ± 1.25 a	*	**	**
	转输组织面积所占比例 (TRANS/%)	20.51 ± 1.68 b	28.68 ± 1.42 a	29.81 ± 1.86 a	29.89 ± 0.59 a	*	**	*
	木质部面积所占比例 (XYL/%)	1.74 ± 0.21	1.78 ± 0.07	1.93 ± 0.10	1.72 ± 0.07	NS	NS	NS
韧皮部面积所占比例 (PHLO/%)	2.68 ± 0.32	3.27 ± 0.14	3.36 ± 0.12	3.00 ± 0.15	NS	NS	*	

NL, NW, NT and NSA are needle length, needle width, needle thickness and needle surface area, respectively. CROSS, HYP, RESA, MESA, CCA, TRANS, XYLA, PHLOA represent total cross section area, the epidermis + hypodermis area, the resin canal cavity area, the mesophyll area, the central cylinder area, the transfusion tissue area, the xylem area, the phloem area, respectively. HYP, RES, MES, CC, TRANS, XYL, PHLO indicate the proportions of HYP, RESA, MESA, CCA, TRANS, XYLA, PHLOA, respectively. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, NS: $P > 0.05$.

表3 油松针叶形态与解剖结构参数间的相关关系 ($N = 24$)Table 3 Correlation between needle morphology and anatomical structure of different Chinese pine seedlings ($N = 24$)

形态特征 Traits	解剖结构参数 Anatomical structure parameters										
	CROSS	HYP	RESA	MESA	CCA	TRANS	XYLA	PHLOA	HYP	MES	XYL
NL	0.792	0.553	0.596	0.639	0.523	<i>0.493</i>	<i>0.498</i>	<i>0.451</i>	-0.606	0.278	-0.393
NW	0.967	0.581	0.673	0.842	0.543	0.532	<i>0.533</i>	<i>0.510</i>	-0.823	<i>0.447</i>	-0.551
NT	0.975	0.668	0.623	0.876	<i>0.478</i>	<i>0.503</i>	<i>0.356</i>	<i>0.470</i>	-0.765	<i>0.507</i>	-0.699
NSA	0.886	0.587	0.658	0.731	0.562	0.533	0.559	<i>0.499</i>	-0.698	0.337	-0.437

NL, NW, NT and NSA 分别代表针叶长、宽、厚和表面积; CROSS, HYP, RESA, MESA, CCA, TRANS, XYLA, PHLOA 分别代表针叶横截面、表皮层、树脂道腔、叶肉组织、中柱、转输组织、木质部和韧皮部面积; HYP, MES 和 XYL 分别代表表皮层、叶肉组织和木质部面积所占比例; 一些无显著关系的解剖结构参数未列入。斜体和涂黑字体分别表示在 0.05 和 0.01 水平下达到显著差异。

NL, NW, NT and NSA are needle length, needle width, needle thickness and needle surface area, respectively. CROSS, HYP, RESA, MESA, CCA, TRANS, XYLA, PHLOA represent total cross section area, the epidermis + hypodermis area, the resin canal cavity area, the mesophyll area, the central cylinder area, the transfusion tissue area, the xylem area, the phloem area, respectively. HYP, MES and XYL indicate the proportions of HYP, MESA and XYLA, respectively. Italics and boldfaces mean significant difference at 0.05 and 0.01 level, respectively.

于中柱, 叶肉组织面积及比例制约着表皮层、树脂道和中柱的面积及所占比例, 中柱面积及所占比例主要依赖于转输组织面积及所占比例。

主成分分析表明 18 个形态和解剖结构参数可用 2 个主成分表示, 总共可解释变异的 70.7% (图 3), 其中第一个主成分可解释总变异的 40.74%, 其主要与针叶形态参数 (叶长、叶宽、叶厚和叶表面积)、叶横截面积、叶肉组织面积、树脂道腔面积呈显著正相关, 而与表皮层面积所占比例呈显著负相关, 可以认为第一个主成分主要与叶同化面积、光合和树脂生产能力有关, 施氮对与第一主成分相关的主要参数影响很小, 而施磷对这些参数影响显著 (表 2)。第二个主成分与中柱面积所占比例、转输组织面积所占比例、树脂道腔面积所占比例、中柱面积呈显著正相关, 而与叶肉组织面积所占比例呈负相关, 可解释变异的 29.96%。第二个主成分主要与水

分、养分等物质相对传输和贮存能力有关, 施氮和施磷对第二主成分相关的主要参数影响均较大 (表 2)。

3 讨论

3.1 施用氮、施磷对油松幼苗生长的影响

本研究中, 施氮和施磷均增加了油松幼苗的地径、冠幅和地上部生物量, 但对高生长影响不大, 表明施氮或施磷主要促进了径向生长。施磷可明显促进南美和美国南部生长的松树 (*Pinus taeda*) 生长, 施氮对生长的作用不同研究中并未表现出相同趋势, 在无干季的亚热带甚至表现出负效应^[23]。适度添加氮和磷对油松幼苗生长表现出显著的促进作用^[18-19], 盆栽实验中连续 3 年超过 11.2 kg hm⁻² a⁻¹ 的氮用量添加对油松幼苗生长表现出抑制作用, 其叶面积和最大光合速率

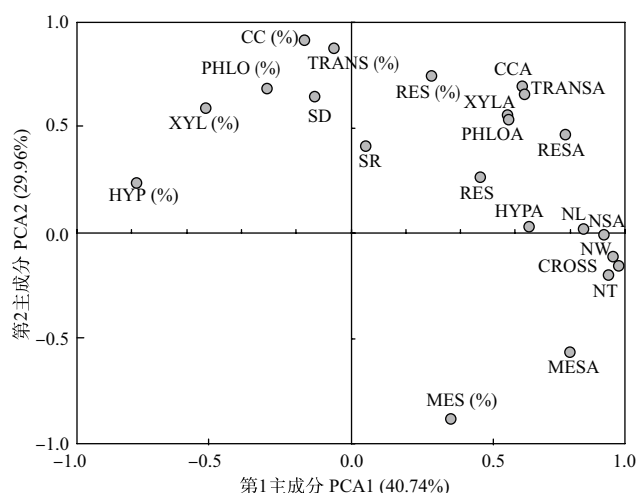


图3 油松针叶形态和解剖参数在2个主成分上的载荷。NL、NW、NT、NSA分别代表针叶长、宽、厚和表面积；SR和SD分别代表气孔线数和气孔密度；RES代表树脂道数；CROSS、HYPA、RESA、MESA、CCA、TRANSA、XYLA和PHLOA分别代表横截面积、表皮层面积、树脂道腔面积、叶肉组织面积、中柱面积、运输组织面积、木质部面积和韧皮部面积；HYP、RES、MES、CC、TRANS、XYL和PHLO分别代表表皮层、树脂道腔、叶肉组织、中柱、运输组织和木质部、韧皮部面积所占横街面积的比例。

Fig. 3 The loading scores of each needle morphological and anatomical trait by Principal Components Analysis. NL, NW, NT and NSA are needle length, needle width, needle thickness and needle surface area, respectively. SR and SD indicate stomatal lines and density, respectively. RES represents the number of resin canal. CROSS, HYPA, RESA, MESA, CCA, TRANSA, XYLA, PHLOA are total cross section area, the epidermis + hypodermis area, the resin canal cavity area, the mesophyll area, the central cylinder area, the transusion tissue area, the xylem area, the phloem area, respectively. HYP, RES, MES, CC, TRANS, XYL and PHLO means the proportions of HYPA, RESA, MESA, CCA, TRANSA, XYLA, PHLOA, respectively.

均出现降低的趋势^[20]，本研究中施氮和磷都表现出对生长的促进作用，可能与土壤中氮和磷不能满足油松生长需求有关。施氮和磷对径向生长的作用大于高生长，可能与氮、磷在植物组织的分配有关，氮和磷可能优先满足茎形成层细胞的分裂需求。

3.2 施用氮、磷对油松幼苗针叶形态和解剖结构的影响

施氮促进了油松幼苗的径向生长，油松针叶氮含量也有显著增加，但磷含量变化不大，这与在杉木人工林施氮后针叶氮含量显著增加，磷含量出现下降趋势的结果^[24]不同。施氮处理和对照的针叶形态结构参数（针叶长、宽、厚和表面积）几乎相同；在解剖结构参数中，施氮显著增加了中柱面积和运输组织面积，提高了中柱和运输组织占整个叶横截面积的比例（表2）。由于中柱包含运输组织、木质部和韧皮部3部分所占面积，而施氮对木质部和韧皮部面积及所占比例影响不大，因而可认为氮主要通过影响运输组织面积及比例而导致中柱面积及比例的不同。运输组织是松科植物针叶特有特征，由管胞和薄壁细胞组成，主要承担叶脉与叶肉间的双向径向传输，具有贮存水分、保护木质部、降低径向阻力、获取溶质及增加叶脉与叶肉间接触的表面积等作用^[25-26]。在北美红杉（*Sequoia sempervirens*）树上，树高增加导致针叶运输组织面积明显增加^[27]，从而增加了其针叶耐水分胁迫的能

力；干旱生境中加拿利松（*Pinus canariensis*）针叶中运输组织面积所占比例为湿润生境中的3倍^[8]，氮增加导致的运输组织面积增加可能有助于增加针叶水分贮存能力，促进养分的吸收和运转。

施磷显著增加了针叶磷含量，同时针叶长、宽、厚和表面积显著增加，表明施磷增加了针叶的光合同化面积。与此同时，叶解剖结构参数也有明显响应。施磷使表皮层、树脂道腔、中柱及各部分（运输组织、木质部和韧皮部）面积均有显著增加，同时亦提高了树脂道腔面积、中柱、运输组织和韧皮部面积所占比例。油松针叶的表皮层由角质层、上表皮和皮下组织组成，其作用主要是防止水分散失，并提供机械支持作用，施磷增加了表皮层面积但所占比例变化不大，表明施磷导致的表皮层面积增加主要与针叶横截面积增加有关。施磷使树脂道腔面积和所占比例均增加，树脂道腔面积可间接反映树脂的生产能力，施磷增加了树脂的生产能力，从而使植物能更好抵御外界逆境和病虫害等的胁迫。树脂道产生是一个消耗能量的过程，缺磷影响树脂道分泌细胞的分裂和分化，因而可能影响树脂道腔面积。施磷对运输组织、韧皮部面积及二者所占比例有较大影响，但只影响木质部所占面积而对其所占比例无显著影响，表明施磷可能促进了光合产物的生产和运输，而对水分和无机养分运输能力的影响相对较小。主成分分析亦表明施磷对光合同化面积、光合能力与树脂生产能力有显著影响。

氮和磷同施对中柱面积、运输组织面积和韧皮部面积及所占比例表现出显著的交互作用，对叶肉组织和树脂道面积所占比例亦有显著的交互作用，表明氮和磷同施增加了光合产物的传输，且对叶肉组织的光合能力和树脂道生产能力有显著的促进作用。

本研究中，施磷对22个形态生理参数中的14个有显著影响，而施氮仅影响4个参数，表明施磷的效果大于氮。其原因除与土壤中的养分亏缺程度和养分吸收、转运的差异有关外，还可能与氮和磷在植物体内的分配和利用方式不同有关，尚需进一步研究。

参考文献 [References]

- 1 吴中伦. 中国松属的分类与分布[J]. 植物分类学报, 1956, 5 (3): 131-164 [Wu ZL. The taxonomic revision and phytogeographical study of Chinese pines [J]. *J Syst Evol*, 1956, 5 (3): 131-164]
- 2 徐化成. 油松地理变异和种源选择[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991: 21-30 [Xu HC. Geographic variation and provenance selection of *Pinus tabulaeformis* [M]. Beijing: Chinese Forestry Press, 1991: 21-30]
- 3 Martínez-Vilalta J, Sala A, Piñol J. The hydraulic architecture of Pinaceae—a review [J]. *Plant Ecol*, 2004, 171: 3-13
- 4 Sultan SE. Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants [J]. *Evol Biol*, 1987, 21: 127-178
- 5 Robakowski P, Montpied P, Dreyer E. Plasticity of morphological and physiological traits in response to different levels of irradiance in seedlings of silver fir (*Abies alba* Mill) [J]. *Trees*, 2003, 17 (5): 431-441
- 6 Gebauer R, Volarik D, Urban J, Bsrja I, Nagy NE, Eldhuset TD, Krokene P. Effect of thinning on anatomical adaptations of norway spruce needles [J]. *Tree Physiol*, 2011, 31 (10): 1103-1113

- 7 Grill D, Tausz M, Pöllinger U, Jiménez MS, Morales D. Effect of drought on needle anatomy of *Pinus canariensis* [J]. *Flora*, 2004, **199**: 85-89
- 8 López R, Climent J, Gil L. From desert to cloud forest: the non-trivial phenotypic variation of Canary Island pine needles [J]. *Trees*, 2008, **22**: 843-849
- 9 López R, Climent J, Gil L. Intraspecific variation and plasticity in growth and foliar morphology along a climate gradient in the Canary Island pine [J]. *Trees*, 2010, **24**: 343-350
- 10 Utriainen J, Holopainen T. Influence of nitrogen and phosphorus availability and ozone stress on Norway spruce seedlings [J]. *Tree Physiol*, 2001, **21** (7): 447-456
- 11 Kivimaenpää M, Sellden G, Sutinen S. Ozone-induced changes in the chloroplast structure of conifer needles, and their use in ozone diagnostics [J]. *Environ Pollut*, 2005, **137** (3): 466-475
- 12 Lin JX, Jach ME, Ceulemans R. Stomatal density and needle anatomy of Scots pine (*Pinus sylvestris*) are affected by elevated CO₂ [J]. *New Phytol*, 2001, **150** (3): 665-674
- 13 Luomala EM, Laitinen K, Sutinen S, Kellomäki S, Vapaavuori E. Stomatal density, anatomy and nutrient concentrations of Scots pine needles are affected by elevated CO₂ and temperature [J]. *Plant Cell Environ*, 2005, **28** (6): 733-749
- 14 张明明, 高瑞馨. 针叶植物叶片比较解剖及生态解剖研究综述[J]. 森林工程, 2012, **28** (2): 9-13 [Zhang MM, Gao RX. Research review on comparative anatomy and ecological anatomy of conifers blade [J]. *For Eng*, 2012, **28** (2): 9-13]
- 15 Ishii H, Ooishi M, Maruyama Y, Koike T. Acclimation of shoot and needle morphology and photosynthesis of two *Picea* species to differences in soil nutrient availability [J]. *Tree Physiol*, 2003, **23** (7): 453-461
- 16 Makoto K, Koike T. Effects of nitrogen supply on photosynthetic and anatomical changes in current-year needles of *Pinus koraiensis* seedlings grown under two irradiances [J]. *Photosynthetica*, 2007, **45** (1): 99-104
- 17 Palomäki V, Holopainen T. Effects of phosphorus deficiency and recovery fertilization on growth, mineral concentration, and ultrastructure of Scots pine needles [J]. *Can J For Res*, 1994, **24** (12): 2459-2468
- 18 吴春芳, 贾小明, 许晓英. 磷营养对侧柏、樟子松、油松抗旱性的影响[J]. 西北林学院学报, 2005, **20** (1): 53-56 [Wu CF, Jiao XM, Xu XY. Influence of phosphorus nutrition on the drought resistance of *Platycladus orientalis*, *Pinus sylvestris* var. *mongolica* and *P. tabulaeformis* [J]. *J Northwest For Univ*, 2005, **20** (1): 53-56]
- 19 李化山, 汪金松, 法蕾, 赵秀海. 模拟氮沉降对油松幼苗生长的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2013, **19** (5): 774-780 [Li HS, Wang JS, Fa L, Zhao XH. Effect of simulated nitrogen deposition on seedling growth of *Pinus tabulaeformis* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2013, **19** (5): 774-780]
- 20 Wang GL, Liu F. Carbon allocation of Chinese pine seedlings along a nitrogen addition gradient [J]. *For Ecol Manage*, 2014, **334**: 114-121
- 21 张林, 金冬梅. 针叶树种叶面积的主要测定方法[C]//马克平主编. 中国生物多样性保护与研究进展VIII 第八届全国生物多样性保护与持续利用研讨会论文集. 北京: 气象出版社, 2010: 293-297 [Zhang L, Jin DM. Principal method of measuring leaf area of conifer trees [C]// Ma KP. Advances in biodiversity conservation and research in China VIII: proceedings of the eighth national symposium on the conservation and sustainable use of biodiversity in China [M]. Beijing: China Meteorological Press, 2010: 293-297]
- 22 李和平. 植物显微技术[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 9-48 [Li HP. Plant Microscopy Techniques [M]. Beijing: Beijing Science Press, 2009: 9-48]
- 23 Faustino LI, Bulfe NML, Pinazo MA, Monteoliva SE, Graciano C. Dry weight partitioning and hydraulic traits in young *Pinus taeda* trees fertilized with nitrogen and phosphorus in a subtropical area [J]. *Tree Physiol*, 2013, **33**: 241-251
- 24 刘文飞, 樊后保, 张子文, 杨跃霖, 王启其, 徐雷. 杉木人工林针叶养分含量对模拟氮沉降增加的响应[J]. 应用与环境生物学报, 2008, **14** (3): 319-323 [Liu WF, Fan HB, Zhang ZW, Yang YL, Wang QQ, Xu L. Foliar nutrient contents of chinese fir in response to simulated nitrogen deposition [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2013, **19** (5): 774-780]
- 25 Canny MJ. Transfusion tissues of pine needles as a site of retrieval of solutes from the transpiration stream [J]. *New Phytol*, 1993, **123**: 227-232
- 26 Brodribb TJ, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Palma B. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima [J]. *New Phytol*, 2005, **165**: 839-846
- 27 Oldham AM, Sillett SC, Tomescu AMF, Koch GW. The hydrostatic gradient, not light availability, drives height-related variation in *Sequoia sempervirens* (Cupressaceae) leaf anatomy [J]. *Am J Bot*, 2010, **97** (7): 1087-1097