

不同月份不同树龄香榧叶片光合特性的变化

刘 琰¹, 陆吕佳¹, 胡渊渊^{1,2}, 戴文圣^{1,2,3}, 索金伟^{1,2,3},
宋丽丽^{1,2,3}, 吴家胜^{1,2,3}, 喻卫武^{1,2,3}, 楼 君^{1,4}

(1. 浙江农林大学 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江 杭州 311300; 2. 浙江农林大学 国家林业草原香榧工程技术研究中心, 浙江 杭州 311300; 3. 浙江农林大学 香榧产业国家创新联盟, 浙江 杭州 311300; 4. 浙江省杭州市富阳区农业技术推广中心 林业站, 浙江 杭州 311400)

摘要: 【目的】研究不同树龄香榧 *Torreya grandis* ‘Merrillii’ 叶片光合作用季节性变化的生理机制, 为香榧苗木的高效栽培和香榧产业的可持续发展提供理论支持。【方法】分别在 5、8 和 11 月测定不同树龄 (6 和 16 年生嫁接苗, 分别记为 6-a 和 16-a) 香榧叶片的叶绿素、二氧化碳 (CO₂) 的响应曲线、单位面积上的叶片氮含量 (N_A) 和光合氮素利用效率 (PNUE) 等, 系统地分析比较表观光合特性和光合内部结构的变化。【结果】5 月和 8 月, 无论树龄大小, 香榧叶片的净光合速率 (P_n)、比叶重 (SLW)、最大 RuBP 羧化速率 (V_{cmax})、光饱和时用于 RuBP 再生的光合电子传递速率 (J_{max})、总叶绿素含量 (Chl) 及分配到 Rubisco 的氮素 (V_{cmax}/N_A)、RuBP 再生作用的氮素 (J_{max}/N_A) 和捕光色素组分的氮素 (Chl/ N_A) 均显著增加, 而 N_A 则显著降低。无论树龄大小, 与 8 月相比, 11 月香榧叶片 Chl、叶片氮含量和 J_{max}/V_{cmax} 比值均显著增加, 而 V_{cmax} 、 J_{max} 、 V_{cmax}/N_A 、 J_{max}/N_A 和 Chl/ N_A 均显著降低, A_{max} 和 SLW 则无显著变化。8 月和 11 月, 6-a 香榧叶片的 V_{cmax}/N_A 下降幅度显著大于 16-a 叶片的, 而 6-a 与 16-a 香榧叶片 J_{max}/N_A 的下降幅度相当。5、8 和 11 月, 6-a 香榧叶片的 PNUE 均显著高于 16-a 叶片的。【结论】从 5 月至 8 月, 无论树龄大小, 香榧叶片的光合能力逐渐增强, 干物质不断的积累, 从而稀释了其叶片中的氮含量, 叶片发育成熟; 从 8—11 月 (随温度的降低), 无论树龄大小, 香榧叶片未发生衰老, 但其氮素在各光合组分中的分配比例发生变化, 即通过 J_{max} 的相对增加来减缓低温对 RuBP 再生作用的影响。随温度的降低, 6-a 香榧叶片分配到 RuBP 羧化作用的氮素较少和分配到 RuBP 再生作用的氮素较多, 可能是导致其叶片 PNUE 相对较高的原因。图 6 表 1 参 39

关键词: 树龄; 香榧; 光响应曲线; CO₂ 响应曲线

中图分类号: S718.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2022)01-0032-09

Changes of photosynthesis in leaves of *Torreya grandis* ‘Merrillii’ in different months and different tree ages

LIU Lian¹, LU Lüjia¹, HU Yuanyuan^{1,2}, DAI Wensheng^{1,2,3}, SUO Jinwei^{1,2,3},
SONG Lili^{1,2,3}, WU Jiasheng^{1,2,3}, YU Weiwu^{1,2,3}, LOU Jun^{1,4}

(1. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. Research Center for *Torreya grandis* of National Forestry and Grassland Administration, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 3. China Industry Innovation Alliance for *Torreya grandis*, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 4. Forestry Station of Agricultural Technology Extension Center in Hangzhou, Fuyang District, Hangzhou 311400, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] This study aims to investigate the physiological mechanism of seasonal changes of

收稿日期: 2021-04-06; 修回日期: 2021-11-03

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (LQ19C160008); 浙江省省院合作林业科技项目 (2021SY11); 国家自然科学基金资助项目 (U20A2049, 32001349); 浙江省科技计划项目 (2018C02004, 2020C02019); 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室开放基金项目 (KF201901)

作者简介: 刘琰 (ORCID: 0000-0002-9294-2569), 从事经济林培育研究。E-mail: 1147690633@qq.com。通信作者: 楼君 (ORCID: 0000-0002-7526-1438), 高级工程师, 从事经济林培育研究。E-mail: 229519152@qq.com

photosynthesis of *Torreya grandis* ‘Merrillii’ leaves at different tree ages, so as to provide theoretical support for the efficient cultivation and sustainable development of *T. grandis* ‘Merrillii’ industry. [Method] The response curves of chlorophyll and CO₂, leaf nitrogen content per unit area (N_A) and photosynthetic nitrogen use efficiency (PNUE) in leaves of *T. grandis* ‘Merrillii’ at different tree ages (6 and 16-year-old grafted trees, named as 6-a and 16-a respectively) were measured in May, August and November. The changes of surface photosynthetic characteristics and internal structure of photosynthesis were systematically analyzed and compared. [Result] In May and August, net photosynthetic rate (P_n), specific leaf weight (SLW), maximum RuBP carboxylation rate (V_{cmax}), photosynthetic electron transfer rate for RuBP regeneration (J_{max}), total chlorophyll content (Chl), nitrogen allocated to Rubisco (V_{cmax}/N_A), nitrogen for RuBP regeneration (J_{max}/N_A), and nitrogen for light harvesting pigment components (Chl/N_A) in leaves increased significantly regardless of tree age, while N_A decreased significantly. Regardless of tree age, Chl content, leaf nitrogen content and $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$ ratio in leaves increased significantly in November compared with those in August, while V_{cmax} , J_{max} , V_{cmax}/N_A , J_{max}/N_A , and Chl/N_A decreased significantly. There was no significant change in A_{max} and SLW. The decrease of V_{cmax}/N_A in 6-a leaves was significantly greater than that in 16-a leaves, while the decrease of J_{max}/N_A and Chl/N_A in 6-a and 16-a leaves was the same. The PNUE of 6-a leaves was significantly higher than that of 16-a leaves in May, August and November. [Conclusion] From May to August, regardless of tree age, the photosynthetic capacity of leaves gradually enhances, and dry matter accumulates continuously, which significantly dilutes the nitrogen content and makes the leaves mature. From August to November (with the decrease of temperature), leaf senescence never occurs. However, the nitrogen distribution proportion in photosynthetic components changes, that is, the effect of low temperature on RuBP regeneration is mitigated by the relative increase of J_{max} . With the decrease of temperature, 6-a leaves allocate less nitrogen to RuBP carboxylation and more nitrogen to RuBP regeneration, which may be the reason for the relatively high PNUE of 6-a leaves. [Ch, 6 fig. 1 tab. 39 ref.]

Key words: tree ages; *Torreya grandis* ‘Merrillii’; light response curve; CO₂ response curve

随季节变化, 植物生长环境中的光照强度、气温等均会发生改变。一般认为, 植物光合作用的季节性变化是其对气温的适应性响应^[1]。光能和二氧化碳 (CO₂) 分别是光合作用的动力和基本原料, 研究光合作用对光强和 CO₂ 的响应特征有助于阐明植物在环境变化中的生理生态适应性^[2-3]。因此, 研究植物光合作用的季节性变化对预测树种响应气候变化引起的气温改变具有重要的意义^[4]。研究不同季节植物叶片的气体交换参数 (J_{max} 和 V_{cmax})、叶绿素含量、叶氮含量及氮分配的变化是揭示植物叶片光合作用季节性变化的生理机制的一种方法^[1,5-12]。香榧 *Torreya grandis* ‘Merrillii’ 种籽经炒制后食用, 风味香醇, 营养价值高, 是中国珍稀的上等干果。随着市场需求的增大, 从 2008 年开始, 浙江香榧的种植面积迅速增大。截至 2019 年, 浙江省香榧种植面积达 4.8 万 hm², 已成为中国南方山区重要的经济树种^[13]。在生产上, 通常采用 2 年生实生榧树 *Torreya grandis* 作为砧木嫁接香榧, 4~5 a 开始挂果, 15 a 后达盛果期。叶片或树体的生理年龄被认为是评估其对逆境响应能力时需协同考虑的重要因子, 因为不同生理年龄的叶片或树体生长对碳源的需求、酶活性、激素活性、水、冠层微环境和叶片的形态结构等均会发生变化^[14]。随树龄的增加, 树体会由于光合作用/呼吸作用比率降低发生碳饥饿, 树体老化^[15]。橡树 *Quercus cerris* 叶片的光合速率随树龄的增加呈降低趋势^[16]。近年来, 对于香榧的研究主要集中在药用价值和幼苗与生长环境的关系上^[17-19], 对香榧不同树龄不同季节叶片光合特性方面的研究国内尚未见报道。本研究以 6 年生嫁接苗 (初挂果期) 和 16 年嫁接苗 (盛果期) 香榧叶片为研究对象, 从表观光合特性和光合内部机构系统地探讨不同树龄香榧叶片光合作用及对气温的响应机制, 为制定香榧高效栽培措施提供理论依据。

1 材料与方

1.1 材料

试验区位于浙江省杭州市临安区浙江农林大学香榧基地, 29°56′~30°23′N, 118°51′~119°52′E, 属于亚热带季风气候区, 温暖湿润, 光照充足, 雨量充沛。土壤类型为黄壤土, 林地肥料以复合肥为主, 配施农家肥。供试材料为 16 年生和 6 年生香榧嫁接苗。其中, 16 年生香榧嫁接苗为 2000 年采用嫁接苗造林, 林分密度为 450 株·hm⁻², 砧木为 2 年生实生榧树, 接穗为 1 年生香榧, 平均地径为 11.5 cm, 平均树高为 2.6 m, 记为 16-a; 6 年生香榧嫁接苗为 2010 年采用嫁接苗造林, 砧木为 2 年生实生榧树, 接穗为 1 年生香榧, 平均地径为 8.3 cm, 平均树高为 1.8 m, 记为 6-a。香榧于每年 4 月底萌发新叶, 约 50 d 叶片生长成为成熟叶^[20]。本研究分别以 2017 年春季 (5 月) 的未成熟叶片、夏季 (8 月) 的成熟叶和秋季 (11 月) 的成熟叶的当年生叶片为材料。

1.2 方法

1.2.1 净光合速率和暗呼吸速率的测定 气象数据取自杭州市临安区气象局。选择晴朗无风的天气, 采用 Li-6400 便携式光合仪 (Licor-6400, Licor, 美国), 使用可控光簇状叶室 (22 L) 进行香榧当年生叶片的光响应测定。测定时, 叶室内 CO₂ 摩尔分数设置为 400 μmol·mol⁻¹, 由便携式 CO₂ 小钢瓶控制 CO₂ 摩尔分数; 根据气温 (5 月的最低和最高气温分别为 16.2 和 27.2 °C; 8 月分别为 21.0 和 32.5 °C; 11 月分别为 13.3 和 24.7 °C), 将 5 月、8 月及 11 月叶室测定温度分别控制在 25、30 和 20 °C, 叶室的空气相对湿度约 50%; 采用 RGB-18 白光光源, 设定气体流动速度为 500 μmol·s⁻¹。正式记录前, 先用 800 μmol·m⁻²·s⁻¹ 光强对叶片进行光诱导 20 min, 待叶片活化稳定后, 再记录测定数据, 记为净光合速率; 再将光强调至 0 μmol·m⁻²·s⁻¹, 并用黑色布将测定叶室罩住, 待稳定后再记录测定数据, 记为暗呼吸速率。重复 3~5 次, 取平均值作为测定结果, 以上测定均在 9:00—11:00 完成。

1.2.2 CO₂ 响应曲线 成熟香榧叶片的光饱和点为 (779.0±71.9) μmol·m⁻²·s⁻¹^[21], 因此, 对叶片进行 CO₂ 响应曲线测定时, 光照强度设为 800 μmol·m⁻²·s⁻¹。同时, 为模拟生长环境的温度, 5 月、8 月及 11 月叶室温度分别控制为 25、30 和 20 °C。在开始 CO₂ 响应曲线测定前, 先将叶片在 CO₂ 摩尔分数为 400 μmol·mol⁻¹ 和光强为 800 μmol·m⁻²·s⁻¹ 下持续 30 min, 再依次按不同的 CO₂ 摩尔分数 (400、300、200、100、50、400、800、1 200、1 600、1 800、2 000 μmol·mol⁻¹) 进行净光合速率 (P_n) 的测定, 再将数据通过 FARQUHAR 等^[5] 的模型拟合 CO₂ 响应曲线。当 RuBP 充足时, Rubisco 是光合速率 (A_c) 的限制因子, 公式如下:

$$A_c = \frac{V_{cmax}(C_i - \Gamma^*)}{C_i + K_c(1 + O/K_o)} - R_d \quad (1)$$

式 (1) 中: V_{cmax} 是最大 RuBP 羧化速率; K_c 和 K_o 是 Rubisco 羧化作用和加氧作用的 Michaelis 常数; C_i 和 O 分别为细胞间隙中的 CO₂ 和氧气 (O₂) 摩尔分数; R_d 是光下的呼吸速率; Γ^* 是不含暗呼吸的 CO₂ 补偿点。本研究采用 von CAEMMERER 等^[22] 模型中的 Rubisco 动力学参数进行数据拟合。

当光合速率 (A_j) 受 RuBP 更新的限制, 可表示为:

$$A_j = \frac{J_{max}(C_i - \Gamma^*)}{4C_i + 8\Gamma^*} - R_d \quad (2)$$

式 (2) 中: J_{max} 是光饱和时用于 RuBP 再生的光合电子传递速率。通过非线性最小二乘法得到拟合 $A-C_i$ 曲线, 分析得出 V_{cmax} 和 J_{max} 。叶片的 V_{cmax} 和 R_d 可根据 $A-C_i$ 曲线 ($C_i < 250 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$) 得出; J_{max} 则根据 $A-C_i$ 曲线 ($C_i > 600 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$) 获得。

CO₂ 响应曲线的测定在 9:00—11:30 和 14:00—16:00 完成。每株树为 1 个重复, 每个处理为 5~6 个重复。

1.2.3 比叶重 (SLW) 测定 在气体交换测定完成后, 收集叶片并带回实验室, 将测定枝上的披针叶全部剪下, 用透明胶带把叶片粘贴在复印纸上, 然后把复印出的针叶剪下称量, 叶面积根据单位复印纸的质量计算。随后将叶片放置烘箱, 保持 85 °C 烘干至恒量, 称干质量。比叶重 ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$) = 干质量/叶面积。

1.2.4 叶绿素 (Chl) 测定 采香榧新鲜叶片约 0.02 g, 剪碎浸入盛有 8 mL 提取液 (体积分数为 95% 乙醇) 的离心管中, 密封避光低温浸提至无色^[20]。根据用紫外分光光度计 (UV 2500, 岛津) 检测波长在 649 和 664 nm 处的吸光度。记录所测叶片的鲜质量和面积, 计算叶绿素含量 ($\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$)。

1.2.5 叶片氮含量、光合氮素利用效率 (PNUE) 及氮素在光合机构中的分配 采香榧叶片, 用凯式定氮法^[20]测定单位面积上的叶氮含量 (N_A , $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$)。以饱和和最大光合速率 ($A_{\max}$) 与 N_A 的比值表示光合氮素利用效率 (photosynthetic nitrogen utilization efficiency, PNUE)^[20]。植物叶氮在光合机构中的分配^[12], 即分配到 Rubisco 的氮素 (V_{cmax}/N_A)、RuBP 再生作用的氮素 (J_{max}/N_A) 和捕光组分的氮素 (Chl/N_A)。

1.3 数据处理与分析

用 Excel 处理数据, 通过 SigmaPlot 12.5 作图, 使用 Origin 8.0 绘制光合—光响应曲线和光合— CO_2 响应曲线, 用 SPSS 检验显著性差异。

2 结果与分析

2.1 不同月份不同树龄香榧叶片比叶重的变化

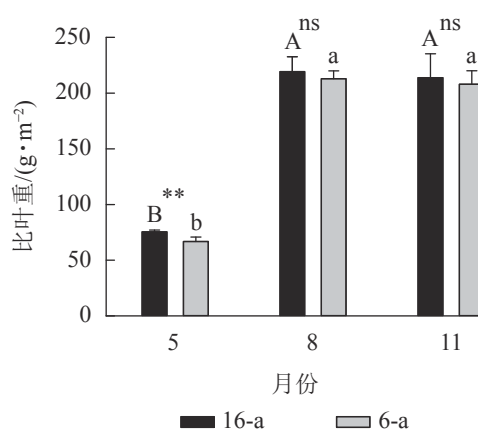
从图 1 可以看出: 无论树龄大小, 8 月和 11 月香榧叶片的比叶重显著大于 5 月香榧叶片的比叶重 ($P < 0.05$), 8 月和 11 月香榧叶片比叶重之间无显著差异 ($P > 0.05$)。5 月, 16-a 的比叶重显著高于 6-a ($P < 0.05$); 8 月和 11 月, 树龄之间的比叶重无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.2 不同月份不同树龄香榧叶片净光合速率和暗呼吸速率的变化

无论树龄大小, 香榧叶片的 P_n 在 5 月较低, 8 月快速上升达到峰值, 且保持稳定至 11 月 (图 2)。5—11 月, 6-a 和 16-a 香榧叶片的 P_n 均无显著差异 ($P > 0.05$)。5 月 6-a 香榧叶片的 R_d 显著高于 16-a ($P < 0.05$), 但 8—11 月两者之间无显著差异 ($P > 0.05$)。

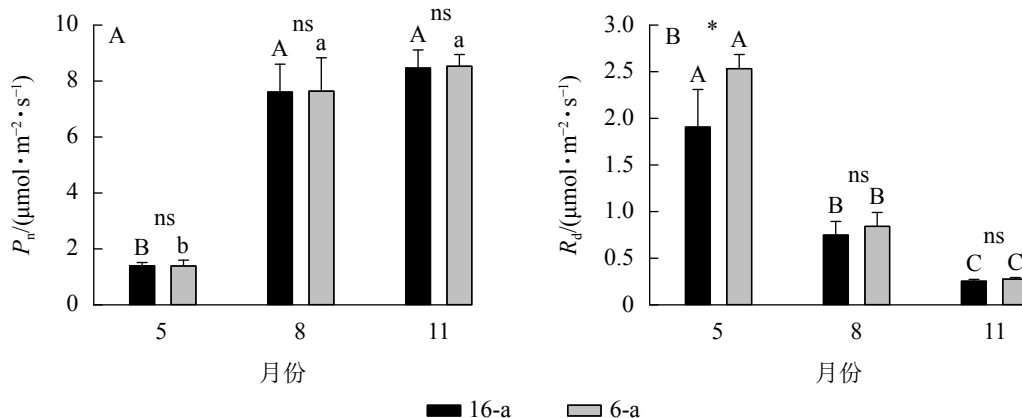
2.3 不同月份不同树龄香榧叶片 CO_2 响应曲线的变化

由图 3 可知: 无论树龄大小, 11 月香榧叶片的 CO_2 饱和点显著高于 8 月 ($P < 0.05$); 8 月时, 16-a 和 6-a 香榧叶片的 CO_2 饱和点分别为 725 和 550 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, 11 月时分别为 740 和 1075 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。由图 4 可知: 无论树龄大小, 5 月香榧叶片的 V_{cmax} 和 J_{max} 均显著低于 8 月和 11 月 ($P < 0.05$)。与 8 月相



不同大写字母和小写字母分别表示 16-a 和 6-a 叶片不同月份之间差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示相同月份下不同树龄间差异极显著 ($P < 0.01$), ns 表示不显著

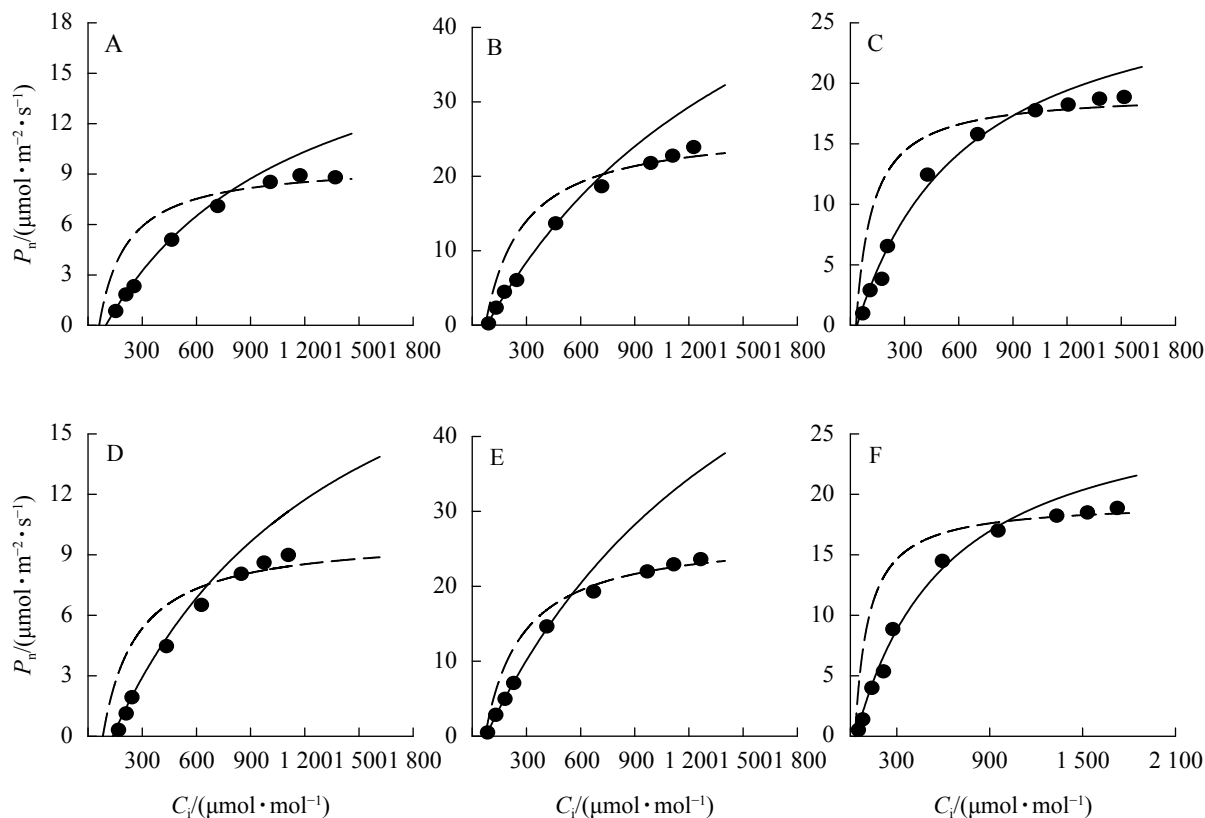
图 1 不同月份不同树龄香榧叶片比叶重的变化
Figure 1 Changes in specific leaf weight (SLW) of *T. grandis* 'Merrillii' at different tree ages among different months



光强为 $800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$; 不同大写字母和小写字母分别表示 16-a 和 6-a 叶片不同月份之间差异显著 ($P < 0.05$); * 表示相同月份下不同树龄间差异显著 ($P < 0.05$), ns 表示不显著

图 2 不同月份不同树龄香榧叶片净光合速率 (P_n) 和暗呼吸速率 (R_d) 的变化

Figure 2 Changes in net photosynthetic rate (P_n) and dark respiration rate (R_d) of *T. grandis* 'Merrillii' at different tree ages among different months

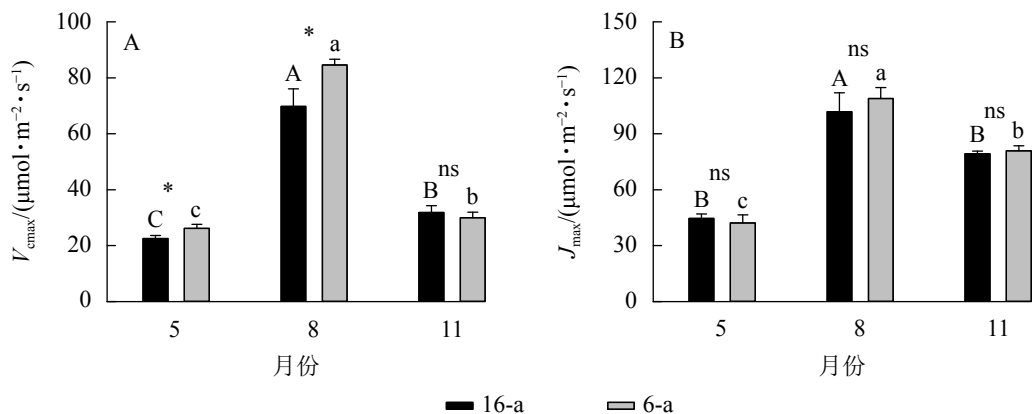


● 实测数据 ——— RuBP 充足时的拟合曲线 — — — RuBP 受限时拟合曲线

A、B、C 分别为 16-a 的 5、8 和 11 月；D、E、F 分别为 6-a 的 5、8 和 11 月

图 3 不同月份不同树龄香榧叶片 CO₂ 光合响应曲线的变化

Figure 3 Changes in CO₂ response curves of photosynthesis in leaves of *T. grandis* 'Merrillii' at different tree ages among different months



不同大写字母和小写字母分别表示 16-a 和 6-a 叶片不同月份之间差异显著 ($P < 0.05$); * 表示相同月份下不同树龄间差异显著 ($P < 0.05$), ns 表示不显著

图 4 不同月份不同树龄香榧叶片的 $V_{\max}$ 和 $J_{\max}$ 的变化

Figure 4 Changes in $V_{\max}$ and $J_{\max}$ in leaves of *T. grandis* 'Merrillii' at different tree ages among different months

比, 11 月 16-a 和 6-a 的 $V_{\max}$ 分别降低了 54.4% 和 64.6%, 而 $J_{\max}$ 分别降低了 22.1% 和 25.8%。

2.4 不同月份不同树龄香榧叶片叶色素含量的变化

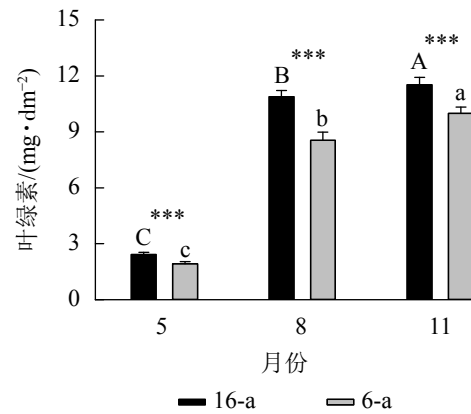
图 5 显示: 无论树龄大小, 5 月香榧叶片的叶绿素含量显著高于 8 和 11 月 ($P < 0.05$), 且 16-a 香榧叶片的叶绿素含量均极显著高于 6-a 香榧叶片的叶绿素含量 ($P < 0.001$)。

2.5 不同月份不同树龄香榧叶片氮含量、光合氮素利用效率 (PNUE) 及氮素在光合机构中的分配

由图 6 可见: 无论树龄大小, 与 5 月相比, 8 月 16-a 和 6-a 香榧叶片的氮含量分别下降了 23.8% 和

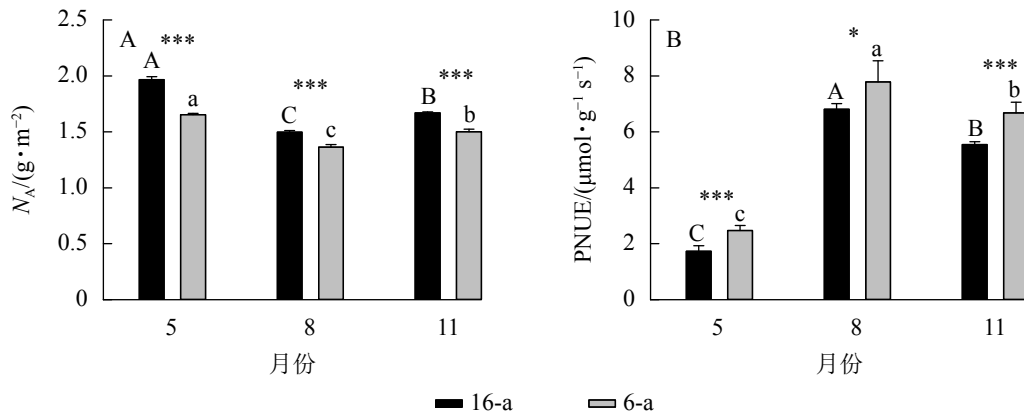
17.6%，差异显著 ($P<0.05$)；与 8 月相比，11 月 16-a 和 6-a 香榧叶片的氮含量均增加了 11.0%，差异显著 ($P<0.05$)；且 6-a 香榧叶片的 PNUE 均极显著高于 16-a ($P<0.001$)；其中 8 月和 11 月时，6-a 香榧叶片的 PNUE 分别为 16-a 香榧叶片的 1.14 和 1.20 倍。

由表 1 可见：无论树龄大小，与 5 月相比，8 月香榧叶片的 $J_{\max}/V_{\max}$ 显著降低 ($P<0.05$)；而与 8 月相比，11 月香榧叶片的 $J_{\max}/V_{\max}$ 显著增加 ($P<0.05$)。5 月和 8 月时，16-a 香榧叶片的 $J_{\max}/V_{\max}$ 显著高于 6-a ($P<0.05$)。无论树龄大小，与 5 月相比，8 月香榧叶片的 $J_{\max}/N_A$ 、 $V_{\max}/N_A$ 和 Chl/N_A 均显著增加 ($P<0.05$)；与 8 月相比，11 月的 16-a 和 6-a 的 $J_{\max}/N_A$ 分别降低了 30.1% 和 29.4%，而 $V_{\max}/N_A$ 分别降低了 60.9% 和 67.8%，而 Chl/N_A 无显著变化 ($P>0.05$)。



不同大写字母和小写字母分别表示 16-a 和 6-a 叶片不同月份之间差异显著 ($P<0.05$)；*** 表示相同月份下不同树龄间差异极显著 ($P<0.001$)

图 5 不同月份不同树龄香榧叶片叶绿素含量的变化
Figure 5 Changes in chlorophyll content in leaves of *T. grandis* 'Merrillii' at different tree ages among different months



不同大写字母和小写字母分别表示 16-a 和 6-a 叶片不同月份之间差异显著 ($P<0.05$)；* 表示相同月份下不同树龄间差异显著 ($P<0.05$)；*** 表示相同月份下不同树龄间差异极显著 ($P<0.001$)

图 6 不同月份不同树龄单位面积上的香榧叶片氮含量 (N_A) 和光合氮素利用效率 (PNUE) 的变化
Figure 6 Changes in nitrogen content per area (N_A) and photosynthetic nitrogen utilization efficiency (PNUE) in leaves of *T. grandis* 'Merrillii' at different tree ages among different months

表 1 不同月份不同树龄香榧叶片 $J_{\max}/V_{\max}$ 、 $J_{\max}/N_A$ 、 $V_{\max}/N_A$ 和 Chl/N_A 的变化

月份	不同树龄	$J_{\max}/V_{\max}$	$J_{\max}/N_A/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$	$V_{\max}/N_A/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$	$\text{Chl}/N_A/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$
5	16-a	1.98±0.03 B**	22.65±1.24 Cns	11.45±0.80 C*	12.3±0.06 Cns
	6-a	1.61±0.08 b	25.47±2.60 c	15.80±0.88 c	11.6±0.07 b
8	16-a	1.46±0.01 C*	67.98±6.76 Ans	48.74±1.12 A**	78.0±0.22 A***
	6-a	1.29±0.05 c	77.37±2.54 a	62.07±1.49 a	62.7±0.32 a
11	16-a	2.59±0.27 Ans	47.50±0.88 B*	19.06±1.48 Bns	70.2±0.02 B**
	6-a	2.70±0.09 a	54.61±1.82 b	19.96±1.31 b	65.5±0.13 a

说明：不同大写字母和小写字母分别表示 16-a 和 6-a 叶片不同月份之间差异显著 ($P<0.05$)；*、**、*** 和 ns 分别表示相同月份下不同树龄间差异显著 ($P<0.05$)、极显著 ($P<0.01$)、极显著 ($P<0.001$) 和不显著

3 讨论与结论

植物干物质的 90%~95% 来源于光合作用。本研究结果显示：5 月时，16-a 香榧叶片的比叶重显著高于 6-a 叶片的，而此时 16-a 与 6-a 香榧叶片的 P_n 之间无显著差异，但 6-a 香榧叶片的 R_d 则明显大于

16-a 香榧叶片, 这可能是由于呼吸消耗相对较低的 16-a 香榧叶片更有利于干物质的积累, 可为盛果期的丰产提供较多的物质基础。5 和 8 月时, 16-a 和 6-a 香榧叶片的 SLW 均增至最大, 这与其快速增长的 P_n 、太阳总辐射和日照长度的增长密切相关。杭州地区 8 月的太阳总辐射和日照时数均明显多于 5 月^[23]。

本研究结果显示: 与 5 月相比, 无论树龄大小, 8 月香榧叶片的 P_n 和 SLW 均明显增大; 但 8 月香榧叶片的 N_A 均显著降低, 这可能是由于叶片光合作用增强, 碳水化合物快速积累, 而使其叶片中的氮含量被稀释了^[9-10]。有研究表明: 随着山胡椒属 *Lindera* 植物 *Lindera umbellata* 落叶植物叶片的衰老, 叶片中可代谢的氮素 (如光合相关蛋白质) 会降解成可再利用的氮素^[24], 再转移至其他发育的器官中^[25]。无论树龄大小, 与 8 月相比, 11 月香榧叶片的 P_n 略有上升, 且 N_A 显著增加, 表明当年生的香榧叶片并未启动衰老过程, 其所增加的叶片氮含量可能来源于其他多年生衰老的叶片。这与赵雨馨^[26]的研究结果相一致, 12 月香榧叶片光合速率显著高于 7 和 10 月。无论哪个月份, 16-a 香榧叶片的 N_A 均显著高于 6-a 香榧叶片的, 但其 PNUE 却均显著低于 6-a 香榧叶片的, 表明在生产上须注意氮肥的施用, 尤其是像 16-a 这种进入盛果期的香榧。通常, 叶片中 50% 以上的氮素分配到光合作用相关的蛋白质中, 如 Rubisco、捕光蛋白等^[8]。有研究表明: V_{cmax} 的降低通常是由于 Rubisco 含量的减少^[27] 或 Rubisco 活化位点降低^[28]。矮垂头菊 *Daphniphyllum humile* 当年生叶片的氮含量、Rubisco 含量随季节变化 (从春季到秋季) 呈逐渐增加的趋势, 但其叶片的饱和光合速率稳定不变^[9]。本研究结果显示: 无论树龄大小, 与 8 月相比, 11 月香榧叶片 SLW、 P_n 无显著变化, 而其 N_A 均显著增加, 但 V_{cmax} 均显著降低, 表明当年生的香榧叶片 V_{cmax} 的降低可能是 Rubisco 活化位点的减少引起的。8 月时, 6-a 香榧叶片的 V_{cmax} 显著高于 16-a 香榧叶片的, 但两者之间的 A_{max} 无显著差异, 这可能是由于其 Rubisco 未完全激活, 仅起着储存氮素的作用^[29]。已有研究表明: 相比较易招引昆虫的氨基酸形式的氮素形态, Rubisco 是更好的氮素储存形式^[30]。

与 20 世纪相比, 大气 CO_2 摩尔分数和温度均明显升高, 且未来还将会持续升高^[31-32]。本研究结果显示: 无论树龄大小, 香榧叶片的 CO_2 饱和点均大于 $500 \mu mol \cdot mol^{-1}$, 表明香榧叶片的光合作用在当今天气的 CO_2 摩尔分数下仍未达到饱和, 对高摩尔分数 CO_2 有一定的适应性, 这可能也是香榧的结果期可达百年甚至千年的原因之一。研究表明: J_{max}/V_{cmax} 可以指示 RuBP 再生作用和羧化作用 2 个过程的相关蛋白质的分配情况^[33-34]。本研究结果显示: 无论树龄大小, 随温度的降低 (8—11 月), 香榧叶片的 J_{max}/V_{cmax} 均明显增大, 这与前人的研究结果一致^[7, 35]。当光合速率处于受 RuBP 羧化作用限制的阶段 (A_c) 时, 碳同化对温度的变化不太敏感, 由于低温下光呼吸也受抑制, 有利于促进 CO_2 的羧化固定, 降低的光呼吸消耗从一定程度上弥补了低温引发减弱的 RuBP 羧化作用^[36], 而当光合速率受 RuBP 再生作用限制的阶段 (A_j), 其碳同化较易受到低温的影响^[36-37], 因此, 在高 CO_2 摩尔分数下, 温度对其光合碳同化的影响远大于其在低 CO_2 摩尔分数下的影响。由此可知, 较低温下 (与 8 月相比, 11 月香榧苗木生长的环境温度约下降了 $10^\circ C$ 以上), 香榧叶片通过 J_{max} 的相对增加 (下降幅度相对较小) 来减缓低温对 RuBP 再生作用的影响, 即植物通过改变 J_{max}/V_{cmax} 来调整 A_c 和 A_j 之间的失衡状态^[37-38]。

此外, 调整氮素在光合机构的分配常被认为是植物适应温度变化的重要机制^[11]。本研究结果显示: 随着气温的降低 (8—11 月), 香榧叶片分配到 Rubisco 的氮素 (V_{cmax}/N_A) 显著减少, 其下降幅度明显大于分配到其他光合蛋白的氮素 (J_{max}/N_A 和 Chl/N_A)。这可能是由于不同光合蛋白的理化性质引起的, 即 Rubisco 是一种可溶性蛋白, 而反应中心和捕光蛋白 (如 LHCII) 是类囊体膜蛋白, 因此, Rubisco 中氮素再利用效率明显高于其他捕光蛋白 (如 LHCII) 中的氮素。有研究表明: 在高 CO_2 摩尔分数下, 如果将氮素相对较少地分配到 Rubisco, 且相对较多地分配到 RuBP 再生作用相关的光合蛋白上, 则会大大提高氮素的光合利用效率^[37, 39]。本研究结果显示: 随着气温的降低 (8—11 月), 6-a 香榧叶片 V_{cmax}/N_A 的下降幅度明显大于 16-a 叶片的, 而 6-a 与 16-a 香榧叶片 J_{max}/N_A 的下降幅度相差不多, 因此, 低温下 (11 月), 6-a 香榧叶片分配到 RuBP 羧化作用的氮素较少和分配到 RuBP 再生作用的氮素较多是其叶片 PNUE 相对较高的原因。此外, 香榧是一种长寿的经济树种, 是否能够通过调控氮素在光合组分中的分配来适应逐渐变暖、 CO_2 摩尔分数持续上升的全球气候变化? 因此, 未来应该重点研究香榧古树与新种植的香榧树对温度和 CO_2 摩尔分数倍增变化的适应性是否存在差异。

4 参考文献

- [1] SILVA E A, DAMATTA F M, DUCATTI C, *et al.* Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of Arabica coffee trees [J]. *Field Crops Res*, 2004, **89**(2/3): 349 – 357.
- [2] XIA Jiangbao, ZHANG Shuyong, ZHANG Guangcan, *et al.* Critical responses of photosynthetic efficiency in *Campsis radicans* (L.) seem to soil water and light intensities [J]. *Afr J Biotechnol*, 2011, **10**(77): 17748 – 17754.
- [3] VONGCHAROEN K, SANTANOO S, BANTERNG P, *et al.* Seasonal variation in photosynthesis performance of cassava at two different growth stages under irrigated and rain-fed conditions in a tropical savanna climate [J]. *Photosynthetica*, 2018, **56**(4): 1398 – 1413.
- [4] MEDLYNE B E, LOUSTAU D, DELZON S. Temperature response of parameters of a biochemically based model of photosynthesis (I) Seasonal changes in mature maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) [J/OL]. *Plant Cell Environ*, 2002, **25**(9) [2021-03-04]. doi: [10.1046/j.1365-3040.2002.00890.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00890.x).
- [5] FARQUHAR G D, CAEMMERER S V, BERR J A. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species [J]. *Planta*, 1980, **149**(1): 78 – 90.
- [6] MURAOKA H, KOIZUMI H. Photosynthetic and structural characteristics of canopy and shrub trees in a cool-temperate deciduous broadleaved forest: implication to the ecosystem carbon gain [J]. *Agric Fort Meteorol*, 2005, **134**(1/4): 39 – 59.
- [7] ONODA Y, HIKOSAKA K, HIROSE T. Seasonal change in the balance between capacities of RuBP carboxylation and RuBP regeneration affects CO₂ response of photosynthesis in *Polygonum cuspidatum* [J]. *J Exp Bot*, 2005, **56**(412): 755 – 763.
- [8] MAKINO A. Rubisco and nitrogen relationships in rice: leaf photosynthesis and plant growth [J]. *Soil Sci Plant Nutr*, 2003, **49**(3): 319 – 327.
- [9] MIGLIETTA C K. Long term effects of naturally elevated CO₂ on Mediterranean grassland and forest trees [J]. *Oecologia*, 1994, **99**: 343 – 351.
- [10] ONODA Y, HIROSE T, HIKOSAKA K. Effect of elevated CO₂ levels on leaf starch, nitrogen and photosynthesis of plants growing at three natural CO₂ springs in Japan [J]. *Ecol Res*, 2007, **22**: 475 – 484.
- [11] KATAHATA S, NARAMOTO M, KAKUBARI Y, *et al.* Seasonal changes in photosynthesis and nitrogen allocation in leaves of different tree ages in evergreen understory shrub *Daphniphyllum humile* [J]. *Trees-Struct Funct*, 2007, **21**(6): 619 – 629.
- [12] OSADA N, ONODA Y, HIKOSAKA K. Effects of atmospheric CO₂ concentration, irradiance, and soil nitrogen availability on leaf photosynthetic traits of *Polygonum sachalinense* around natural CO₂ springs in northern Japan [J]. *Oecologia*, 2010, **164**(1): 41 – 52.
- [13] 何祯, 王宗星, 张骏, 等. 浙江省香榧产业发展现状与对策[J]. 浙江农业科学, 2020, **61**(7): 1345 – 1347.
- HE Zhen, WANG Zongxing, ZHANG Jun, *et al.* Present situation and countermeasures of *Torreya grandis* ‘Merrillii’ industry development in Zhejiang [J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 2020, **61**(7): 1345 – 1347.
- [14] HYINK D M, ZEDAKER S M. Stand dynamics and evolution of forest decline [J]. *Tree Physiol*, 1987, **3**(1): 17 – 27.
- [15] GERISH G. Relating carbon allocation patterns to tree senescence in *Metrosideros* forests [J]. *Ecology*, 1990, **71**(3): 1176 – 1184.
- [16] WOLKERSTORFER S V, WONISCH A, STANKOVA T, *et al.* Seasonal variations of gas exchange, photosynthetic pigments, and antioxidants in Turkey oak (*Quercus cerris* L.) and Hungarian oak (*Quercus frainetto* Ten.) of different ages [J]. *Trees*, 2011, **25**: 1043 – 1052.
- [17] 徐超, 王鸿飞, 邵兴锋, 等. 香榧子油抗氧化活性及降血脂功能研究[J]. 中国粮油学报, 2012, **27**(8): 43 – 47.
- XU Chao, WANG Hongfei, SHAO Xingfeng, *et al.* Study on antioxidant activity and reducing blood fat function of kaga oil [J]. *J Chin Cereals Oil Assoc*, 2012, **27**(8): 43 – 47.
- [18] SHEN Chaohua, HU Yuanyuan, DU Xuhua, *et al.* Salicylic acid induces physiological and biochemical changes in *Torreya grandis* cv. ‘Merrillii’ seedlings under drought stress [J]. *Trees-Struct Funct*, 2014, **28**(4): 961 – 970.
- [19] LI Tingting, HU Yuanyuan, DU Xuhua, *et al.* Salicylic acid alleviates the adverse effects of salt Stress in *Torreya grandis* cv. Merrillii seedlings by activating photosynthesis and enhancing antioxidant systems[J/OL]. *PLoS One*, 2014, **9**(10): e0109492 [2021-03-04]. doi: [10.1371/journal.pone.0109492](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109492).
- [20] 黄增冠, 喻卫武, 罗宏海, 等. 香榧不同叶龄叶片光合能力与氮含量及其分配关系的比较[J]. 林业科学, 2015, **51**(2): 44 – 51.

- HUANG Zengguan, YU Weiwu, LUO Honghai, *et al.* Photosynthetic characteristics and their relationships with leaf nitrogen content and nitrogen allocation in leaves at different leaf age [J]. *Sci Silv Sin*, 2015, **51**(2): 44 – 51.
- [21] 陈佳妮, 廖亮, 黄增冠, 等. 香榧与榧树叶片光合特性及其光保护机制的比较[J]. 林业科学, 2015, **51**(10): 134 – 141.
- CHEN Jiani, LIAO Liang, HUANG Zengguan, *et al.* A comparative study on photosynthetic characteristics and photoprotective mechanisms between *Torreya grandis* cv. ‘Merrillii’ and *Torreya grandis* [J]. *Sci Silv Sin*, 2015, **51**(10): 134 – 141.
- [22] Von CAEMMERER S, EVANS J R, HUDSON G S, *et al.* The kinetics of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in vivo inferred from measurements of photosynthesis in leaves of transgenic tobacco [J]. *Planta*, 1994, **195**(1): 88 – 97.
- [23] 张立波, 姜伟平. 1961—2010年杭州太阳总辐射及日照时数气候变化[J]. 浙江气象, 2013, **34**(1): 37 – 41.
- ZHANG Libo, LOU Weiping. Total solar radiation and sunshine duration’s climate change from 1960–2010 [J]. *J Zhejiang Meterol*, 2013, **34**(1): 37 – 41.
- [24] YASUMURA Y, HIKOSKA K, HISROSE T. Seasonal changes in photosynthesis, nitrogen content and nitrogen partitioning in *Lindera umbellata* leaves grown in high or low irradiance [J]. *Tree Physiol*, 2006, **26**(10): 1315 – 1323.
- [25] MAE T. Leaf senescence and nitrogen metabolism[M]// NOODÉN L D. *Plant Cell Death Processes*. Amsterdam: Elsevier, 2004: 157 – 168.
- [26] 赵雨馨. 氮沉降与生物炭对香榧生长和种子品质的影响[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2018.
- ZHAO Yuxin. *Effects of Nitrogen Deposition and Biochar on the Growth and Seed Quality of Torreya grandis*[D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2018.
- [27] BENOMAR L, MOUTAOUIK M T, ELFERJANI R, *et al.* Thermal acclimation of photosynthetic activity and RuBisCO content in two hybrid poplar clones[J/OL]. *PLoS One*, 2019, **14**(2): e438069[2021-03-04]. doi: [10.1101/438069](https://doi.org/10.1101/438069).
- [28] SHAO Yuhang, LI Shiyu, GAO Lijun, *et al.* Magnesium application promotes Rubisco activation and contributes to high-temperature stress alleviation in wheat during the grain filling[J/OL]. *Front Plant Sci*, 2021, **12**: 675582[2021-03-04]. doi: [10.3389/fpls.2021.675582](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.675582).
- [29] WARREN C R, ADAMS M A. Evergreen trees do not maximize instantaneous photosynthesis [J]. *Trends Plant Sci*, 2004, **9**: 270 – 274.
- [30] COCKFIELD S D. Relative availability of nitrogen in host plants of invertebrate herbivores: three possible nutritional and physiological definitions [J]. *Oecologia*, 1988, **77**: 91 – 94.
- [31] YAMAGUCHI D P, NAKAJI T, HIURA T, *et al.* Effects of seasonal change and experimental warming on the temperature dependence of photosynthesis in the canopy leaves of *Quercus serrata* [J]. *Tree Physiol*, 2016, **36**(10): 1283 – 1295.
- [32] VITALI V, BUNTEGEN U, BAUHUS J. Seasonality matters: the effects of past and projected seasonal climate change on the growth of native and exotic conifer species in central Europe [J]. *Dendrochronologia*, 2018, **48**: 1 – 9.
- [33] HIKOSAKA K, HIROSE T. Leaf and canopy photosynthesis of C₃ plants at elevated CO₂ in relation to optimal partitioning of nitrogen among photosynthetic components: theoretical prediction [J]. *Ecol Modelling*, 1998, **106**: 247 – 259.
- [34] HIKOSAKA K. Nitrogen partitioning in the photosynthetic apparatus of *Plantago asiatica* leaves grown under different temperature and light conditions: similarities and differences between temperature and light acclimation [J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, **46**(8): 1283 – 1290.
- [35] YAMORI W, NOGUCHI K, TERASHIMA I. Temperature acclimation of photosynthesis in spinach leaves: analyses of photosynthetic components and temperature dependencies of photosynthetic partial reactions [J]. *Plant Cell Environ*, 2005, **28**(4): 536 – 547.
- [36] KIRSCHBAUM M U F, FARQUHAR G D. Temperature dependence of whole-leaf photosynthesis in *Eucalyptus pauciflora* Sieb. ex Spreng [J]. *Aust J Plant Physiol*, 1984, **11**: 519 – 538.
- [37] HIKOSAKA K, MURAKAMI A, HIROSE T. Balancing carboxylation and regeneration of ribulose-1, 5-bisphosphate in leaf photosynthesis: temperature acclimation of an evergreen tree, *Quercus myrsinaefolia* [J]. *Plant Cell Environ*, 1999, **22**(7): 841 – 849.
- [38] HIKOSAKA K. Modelling optimal temperature acclimation of the photosynthetic apparatus in C₃ plants with respect to nitrogen use [J]. *Ann Bot*, 1997, **80**: 721 – 730.
- [39] MEDLYN B E. The optimal allocation of nitrogen within the C₃ photosynthetic system at elevated CO₂ [J]. *Aust J Plant Physiol*, 1996, **23**(5): 593 – 603.