

尖峰岭次生林和原始林林下灌木叶氨基酸对氮添加的响应

李修平¹ 安丽华² 倪晓凤¹ 吉成均^{1,†}

1. 北京大学城市与环境学院生态学系, 北京大学地表过程分析模拟教育部重点实验室, 北京 100871;

2. 北京大学医药卫生分析中心, 北京 100191; † 通信作者, E-mail: jicj@pku.edu.cn

摘要 为了深入地理解热带山地雨林原始林与次生林叶氨基酸对氮添加的响应和适应机制, 以海南尖峰岭热带山地雨林原始林和次生林的林下常见植物为研究对象, 通过设置对照CK (0 kg N/(ha·a))、中氮添加M (50 kg N/(ha·a))和高氮添加H (100 kg N/(ha·a)) 3种氮添加处理的实验, 探究氮添加对林下灌木叶片氨基酸含量的影响。实验结果表明, 无氮添加时, 原始林与次生林的总氨基酸含量和水解氨基酸含量无显著差异, 原始林游离氨基酸总含量显著高于次生林; 中氮添加时, 次生林林下灌木叶氨基酸含量的响应程度高于原始林; 高氮添加时, 次生林与原始林林下灌木水解氨基酸的响应程度无显著差异, 原始林林下灌木游离氨基酸的响应程度高于次生林。

关键词 氮添加; 原始林; 次生林; 叶氨基酸; 热带山地雨林

Response of Leaf Amino Acids of Understory Shrubs to Nitrogen Addition in Primary Forest and Secondary Forest of Mt. Jianfengling

LI Xiuping¹, AN Lihua², NI Xiaofeng¹, JI Chengjun^{1,†}

1. Department of Ecology, College of Urban and Environmental Sciences, Key Laboratory for Earth Surface Processes (MOE), Peking University, Beijing 100871; 2. Medical and Health Analysis Center, Peking University, Beijing 100191;

† Corresponding author, E-mail: jicj@pku.edu.cn

Abstract In order to further understand of the plants response and adaptation mechanism to nitrogen addition in primary and secondary tropical montane rain forests, the authors conducted a nitrogen addition experiment in the primary and secondary forests in Mt. Jianfengling respectively, setting three nitrogen addition treatments (0, 50 and 100 kgN/(ha·yr)) in each forest, to explore the effects of enhanced nitrogen addition on amino acid content in leaves of understory shrubs. The results showed that when no nitrogen was added, the contents of total amino acids and hydrolyzed amino acids in primary forest and secondary forest were not significant, while the content of free amino acids in primary forest was significantly higher than that in secondary forest. When middle nitrogen was added, the response of leaf amino acid content of understory plants in secondary forests was higher than that in primary forests. When high nitrogen was added, there was no significant difference in the response of hydrolyzed amino acids of understory shrubs in primary forest and secondary forest, but the response of free amino acids in understory shrubs in primary forests was higher than that in secondary forests.

Key words nitrogen addition; primary forest; secondary forest; leaf amino acid; tropical mountain rain forest

氮沉降作为全球重大环境问题之一, 直接影响森林生态系统的养分可利用状况和植物的生长^[1-2]。近年来, 国内外相继建成多个森林生态系统养分添

加控制实验平台, 通过人工氮添加实验来模拟大气氮沉降对森林生态系统的影响^[3-6]。在森林植物氮代谢的变化方面, 有研究表明氮添加能促进植物对

氮的吸收,导致叶片含氮量增加,改变叶片氮分配格局^[7-8]。我国也有一些相关报道,如亚热带常绿阔叶林植物叶片的含氮量在氮添加条件下显著地增加^[9];虽然热带次生林林下植物叶片总氮含量的响应在统计意义上不显著,但其叶片氮磷比受到氮添加的显著影响^[10];Liu等^[11]通过研究中国氮沉降的影响发现,从20世纪80年代到21世纪初,木本植物和草本植物的叶片含氮量均显著增加,所有物种的叶片含氮量平均增加32.8%。

植物体内的氮主要以水解氨基酸(即结合氨基酸)、游离氨基酸和无机氮(铵态氮和硝态氮)等形式贮存^[12]。目前,关于氮添加情景下氮代谢的变化研究多关注总氮或铵态氮、硝态氮的变化,集中于养分平衡、氮周转速率以及氮利用效率等方面,而对含氮有机物,特别是氨基酸的关注较少^[1,13-14]。

作为植物吸收同化氮素的初级含氮代谢分子,氨基酸是大气氮沉降进入植物的首要合成物质^[15]。在氮沉降情景下,植物优先选择将多余的氮保存在氨基酸中,经过酶的催化作用,参与蛋白质合成,改变植物的生长^[16]。可以将氨基酸视为植物与环境氮素之间的枢纽,其在不同环境条件下的合成策略直接或间接地影响植物生长发育的各个方面,并作用于氮源的同化以及源/库转运^[17]。因此,研究不同氮添加条件下氨基酸含量的变化,可以从有机氮分配、氮利用效率和构建成本等新视角了解氮沉降情景下森林生态系统植物的响应与适应机制,为制定相应的森林保护和改良对策提供科学依据。

目前,针对植物氨基酸对氮添加的响应,已有一些初步的研究结果,发现植物组织中的游离氨基酸含量可以比总氮含量更好地响应大气氮沉降或氮添加^[18-19]。但是,这些研究多针对单个物种进行监测^[20-21],少量对森林生态系统氨基酸响应氮沉降的研究集中在针叶植物^[22-26],国内除在鼎湖山进行的苗圃实验^[27]外,有关热带山地雨林植物氨基酸含量对氮添加的响应方面尚未见报道。

热带森林贡献了70%以上的全球森林总碳汇^[28],是陆地生态系统碳循环中重要的组成部分。研究表明,氮沉降能使热带森林叶片氮含量显著升高^[29],但对叶氨基酸含量的响应关注较少。根据受人类活动干扰程度的不同,可将热带森林分为原始林和次生林两种类型。热带次生林和原始林植物生长对氮沉降的响应存在差异,次生林生产力对氮沉降的响应更为敏感^[30-31]。因此,热带次生林和原始林植物

的氨基酸含量对氮沉降的响应是否存在差异,这一问题值得研究。探讨热带森林系统中植物叶氨基酸含量在氮添加条件下的变化情况,有助于对全球不同林型植物响应氮沉降的相关研究进行补充。

本研究的实验依托中国森林养分添加实验平台(Nutrient Enrichment Experiments in Chinese Forests, NEECF)的尖峰岭原始林和次生林施肥样地^[6],利用人工氮添加实验来模拟大气氮沉降对森林生态系统的影响。通过分析林下常见植物的叶氨基酸含量,探讨以下科学问题:1)原始林和次生林林下灌木的叶氨基酸含量对氮添加的响应规律;2)林下灌木叶氨基酸对氮添加的响应程度与氨基酸含量占比和氨基酸含氮量的关系。

1 研究区概况

研究区位于海南尖峰岭自然保护区的热带山地雨林,经纬度为18°43'N,108°53'E,海拔870 m。研究区属低纬度热带岛屿季风气候,雨热同期,降水丰富,干湿两季明显,年均气温为24.7℃^[32],年均降水量为2449 mm,年均蒸发量为1249 mm^[33],本地氮沉降速率为25 kg N/(ha·a)^[6]。

研究区物种多样性强,成分复杂,乔木层、灌木层和草本层层次分明,层间多分布附生蕨类和气生兰类等植物,具有典型的热带森林特征^[34-35]。常见林下植物有多刺鸡藤(*Calamus tetradactyloides*)、射毛悬竹(*Ampelocalamus actinotrichus*)、大白叶颜树(*Ginonniera subaequalis*)和棕竹(*Rhapis excelsa*)等,多为灌木。

研究区原始林是长期未受到人类活动干扰的天然成熟林,次生林则是在20世纪60—70年代原始林皆伐迹地上发育的天然更新林。两种林型的气候条件相似,但其森林结构和功能、植物物种组成和土壤特性(尤其是土壤含氮量)存在差异(表1)。

2 研究方法

2.1 实验设计

实验样地为NEECF项目养分添加实验平台的实验样地之一,建立于2010年9月,包含原始林和次生林两种林型,均设置对照CK(0 kg N/(ha·a))、中氮添加M(50 kg N/(ha·a))和高氮添加H(100 kg N/(ha·a))3个氮浓度梯度,且按照随机试验的方式,将样地划分为3种氮添加处理×3个重复的9个小样方,每个小样方大小为20 m×20 m,样方之间设置

表 1 原始林和次生林样地基本信息^[36]
Table 1 Basic information of primary and secondary forests^[36]

样地类型	物种丰富度	生物量/(t·ha ⁻¹)	表层土壤年均温/℃	表层土壤年均相对湿度/%	表层土壤容重/(g·cm ⁻³)	表层土壤有机碳含量/(mg·g ⁻¹)	表层土壤总氮含量/(mg·g ⁻¹)	表层土壤总磷含量/(mg·g ⁻¹)
原始林	290 ^a	476.2 ^a	20.3 ^a	23.4 ^a	1.2 ^a	21.5 ^a	1.7 ^a	0.13 ^a
次生林	199 ^a	505.5 ^a	19.2 ^a	28.5 ^a	1.2 ^a	25.9 ^b	2.1 ^b	0.16 ^a

注: 相同字母表示二者差异不显著($p>0.05$)。

至少 10 m 的缓冲带。

使用硝酸铵(NH₄NO₃)进行施氮处理, 施氮方式如下: 将硝酸铵水溶液喷洒至实验样地的森林地面上, 在控制样地则喷洒相同体积不含氮的水, 施氮时间为全年, 频率为每月一次。

2.2 样品采集和处理

采样时间为 2019 年 1 月, 与下次施氮时间相隔 1 周。采集叶片时, 优先选择两种林型的共有种。在每个样方, 每种植物选取 3 株进行采样, 采集植株北面或东北面的健康成熟叶片, 避免光照影响。本次采样所选择的林下灌木物种信息见表 2。

将采集的植物叶片样品用蒸馏水反复冲洗至无泥土, 并剔除杂质, 装入信封中带回实验室, 40℃烘干至恒重。用 ZM 200 型研磨仪磨碎, 过 100 目筛, 混合均匀后密封保存。

水解氨基酸样品处理: 在充氮密封条件下, 将样品用 6 mol/L 的盐酸在 110℃水解 22 小时。进行显色预实验(取 20 μL 水解液加入 200 μL 茚三酮反应

液中, 混匀, 100℃水浴 3 分钟, 与氨基酸标样(含氨基酸 100 ng/mL)进行颜色对比), 确定适当的稀释倍数。取适量水解液放入离心管中, 用浓缩仪蒸干盐酸。向离心管中加入 0.02 mol/L 盐酸 1 mL, 溶解样品。以 10000 rpm 的转速离心 15 分钟, 析出沉淀物, 上清液经 0.45 μm 滤膜过滤后上机测试。

游离氨基酸样品处理: 将适量样品置于离心管中, 加入适量 0.05 mol/L 盐酸, 室温下超声波振荡萃取 30 分钟。加入浓度为 5%~10% 的磺基水杨酸, 充分混匀, 静置 1 小时, 去除溶液中的蛋白质。进行显色预实验(步骤同水解样品), 确定适当的稀释倍数。取适量游离液入离心管中, 加入 0.02 mol/L 盐酸稀释至 1 mL, 以 10000 rpm 的转速离心 15 分钟, 上清液经 0.45 μm 滤膜过滤后上机测试。

使用全自动氨基酸分析仪(日立 L8900)进行氨基酸溶液测定, 通过阳离子交换柱和茚三酮反应柱进行氨基酸离子交换和显色反应。氨基酸分析仪内置可见光分光光度计, 进行两种波长(570 nm(用于

表 2 尖峰岭样地林下灌木采集物种
Table 2 Species collection of understory shrubs in Jianfengling site

样地类型	物种	拉丁名	所属科/属	生活型
原始林	射毛悬竹	<i>Ampelocalamus actinotrichus</i>	禾本科/悬竹属	灌木
	多刺鸡藤	<i>Calamus tetradactyloides</i>	棕榈科/省藤属	灌木
	大叶白颜树	<i>Ginonniera subaequalis</i>	榆科/白颜树属	灌木
	棕竹	<i>Rhapis excelsa</i>	棕榈科/棕竹属	灌木
	粗毛野桐	<i>Mallotus hookerianus</i>	大戟科/野桐属	灌木
	厚壳桂	<i>Cryptocarya chinensis</i>	樟科/厚壳桂属	灌木
	九节	<i>Psychotria rubra</i>	茜草科/九节属	灌木
次生林	多刺鸡藤	<i>Calamus tetradactyloides</i>	棕榈科/省藤属	灌木
	射毛悬竹	<i>Ampelocalamus actinotrichus</i>	禾本科/悬竹属	灌木
	大叶白颜树	<i>Ginonniera subaequalis</i>	榆科/白颜树属	灌木
	棕竹	<i>Rhapis excelsa</i>	棕榈科/棕竹属	灌木
	毛荔枝(红毛丹)	<i>Nephelium lappaceum</i>	无患子科/韶子属	灌木
	九节	<i>Psychotria rubra</i>	茜草科/九节属	灌木
	柏拉木	<i>Blastus cochinchinensis</i>	野牡丹科/柏拉木属	灌木

测定除脯氨酸外的其余氨基酸)和 440 nm(用于测定脯氨酸)下的测定,得到样品溶液的色谱图,其中曲线与横坐标(基准线)所围成的面积即为溶液中的氨基酸含量($\text{ng}/20\mu\text{L}$),经过换算得到对应叶片样品的氨基酸含量(mg/g)。测定的氨基酸包括天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、半胱氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸(蛋氨酸)、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、赖氨酸、组氨酸和精氨酸等 17 种。

2.3 参数选用与数据统计分析

响应程度指氮添加样地叶氨基酸含量与对照样地叶氨基酸含量的相对变化量(relative variation),用来表征叶氨基酸的响应情况,计算公式为

$$D = (a_N - a_0)/a_0,$$

其中, D 表示响应程度, a_N 表示氮添加样地叶氨基酸含量, a_0 表示对照样地叶氨基酸含量。对照样地的 D 值为 0, 将 0 作为对照值, 若计算得出的响应程度与对照样地的 0 值有显著差异, 表明该氮添加条件下叶氨基酸存在显著响应, 反之则无显著响应。

用氨基酸含量占比表示该氨基酸含量占总氨基酸含量的比例。因水解氨基酸与游离氨基酸的含量(mg/g)的数量级差异过大, 为使横坐标轴相对一致, 且考虑到响应程度(纵坐标)的数值多在 0~1 之间, 故使用含量占比替代真实含量来建立关系。用氨基酸含氮量表示该氨基酸分子中氮元素占总分子量的比例。使用 Excel 2016 进行数据处理和绘图, 使用 SPSS 18.0 进行独立样本 t 检验和单因素方差分析(one-way ANOVA)。

3 实验结果

3.1 次生林和原始林林下灌木叶氨基酸的本底值

比较原始林与次生林对照样地林下灌木的叶氨基酸含量(表 3)可知, 次生林的水解氨基酸总含量($94.6478 \text{ mg}/\text{g}$)略高于原始林($86.6151 \text{ mg}/\text{g}$), 但差异不显著; 游离氨基酸则表现为原始林总含量($1.9442 \text{ mg}/\text{g}$)显著高于次生林($1.0513 \text{ mg}/\text{g}$) ($p < 0.05$)。由于水解氨基酸总含量远高于游离氨基酸, 故氨基酸总含量也呈现次生林($95.6991 \text{ mg}/\text{g}$)略高于原始林($88.5593 \text{ mg}/\text{g}$)的结果, 但差异不显著。

从表 3 看出, 次生林中 17 种水解氨基酸的含量均略大于原始林, 但差异不显著; 次生林中 17 种游

表 3 原始林和次生林林下灌木叶氨基酸含量
Table 3 Amino acid contents in leaves of understory shrub species in primary forest and secondary forests

氨基酸种类	水解氨基酸($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		游离氨基酸($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	
	次生林	原始林	次生林	原始林
天冬氨酸	10.2899 ^a	9.8959 ^a	0.0665 ^a	0.1278 ^b
苏氨酸	4.8473 ^a	4.4411 ^a	0.0577 ^a	0.1124 ^b
丝氨酸	5.0855 ^a	4.7253 ^a	0.0763 ^a	0.1384 ^b
谷氨酸	10.6285 ^a	9.8389 ^a	0.0966 ^a	0.1806 ^b
脯氨酸	6.2804 ^a	5.9386 ^a	0.1401 ^a	0.2813 ^a
甘氨酸	6.2183 ^a	5.6515 ^a	0.0149 ^a	0.0288 ^b
丙氨酸	6.1243 ^a	5.5555 ^a	0.1246 ^a	0.1969 ^b
半胱氨酸	0.6350 ^a	0.5601 ^a	0.0071 ^a	0.0101 ^b
缬氨酸	5.8508 ^a	5.3999 ^a	0.0756 ^a	0.1503 ^b
甲硫氨酸	1.2712 ^a	1.2601 ^a	0.0077 ^a	0.0152 ^b
异亮氨酸	4.6644 ^a	4.2653 ^a	0.0533 ^a	0.1021 ^b
亮氨酸	8.9867 ^a	7.9633 ^a	0.0968 ^a	0.1647 ^a
酪氨酸	3.5051 ^a	3.0899 ^a	0.0280 ^a	0.0386 ^a
苯丙氨酸	6.2935 ^a	5.5935 ^a	0.0660 ^a	0.1293 ^b
赖氨酸	5.8896 ^a	5.2540 ^a	0.0443 ^a	0.0827 ^b
组氨酸	2.5990 ^a	2.2616 ^a	0.0177 ^a	0.0272 ^a
精氨酸	5.4783 ^a	4.9208 ^a	0.0782 ^a	0.1577 ^a
总含量	94.6478 ^a	86.6151 ^a	1.0513 ^a	1.9442 ^b

注: 相同字母表示二者差异不显著($p > 0.1$)。

离氨基酸含量多数显著低于原始林($p < 0.1$)。

3.2 次生林和原始林林下灌木叶氨基酸对氮添加的响应

比较游离氨基酸总量与水解氨基酸总量(图 1)可知, 在中氮添加条件下, 次生林水解氨基酸的响应程度显著大于原始林(次生林 $D=0.0998$, 原始林 $D=0.0696$, $p < 0.05$), 游离氨基酸的响应情况与之相似(次生林 $D=0.4978$, 原始林 $D=0.2228$, $p < 0.05$)。

对 17 种氨基酸而言, 在中氮添加条件下, 次生林(除甲硫氨酸外)和原始林水解氨基酸的响应程度与对照样地的 0 值相比均无显著差异, 即对氮添加的响应不显著; 次生林(除半胱氨酸和酪氨酸外)和原始林(除丙氨酸外)游离氨基酸的响应程度与对照样地的 0 值相比亦均无显著差异, 即对氮添加的响应不显著。从图 2 可以看出, 植物叶氨基酸含量对氮添加响应的方向存在差异, 使得整体上对氮添加的响应程度不高。

分析氨基酸响应程度与氨基酸含量占比的关系(图 3)可知, 次生林水解氨基酸对氮添加的响应程度随氨基酸含量占比的增加而显著减小($p=0.033$),

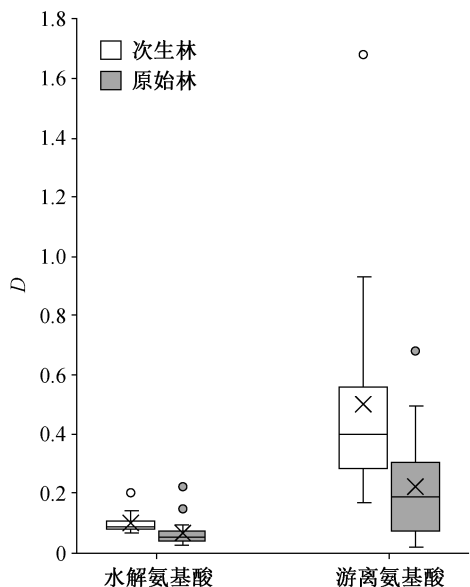


图 1 次生林和原始林中林下灌木叶氨基酸对中氮添加的响应程度
Fig. 1 Relative variations of amino acid contents for middle nitrogen addition in leaves of understory shrub species in primary forest and secondary forest

原始林也有相同的趋势,但不显著;次生林和原始林游离氨基酸对氮添加的响应程度均不显著,次生林有随氨基酸含量占比增加而减小的趋势,原始林则有微弱的相反趋势。

从氨基酸对氮添加的响应程度与氨基酸含氮量的关系(图 4)可知,次生林与原始林氨基酸含量占比的变化趋势基本上一致。水解氨基酸的响应程度

有随氨基酸含氮量增加而减少的趋势,游离氨基酸的响应程度有随氨基酸含氮量增加而增加的趋势。

3.3 次生林和原始林林下灌木叶氨基酸对高氮添加的响应

从图 5 可以看出,在高氮添加条件下,水解氨基酸的响应程度在次生林与原始林之间无显著差异(次生林 $D=0.0951$, 原始林 $D=0.1009$),游离氨基酸的响应程度则次生林显著低于原始林(次生林 $D=0.3995$, 原始林 $D=0.6806$)($p<0.05$)。

图 6 显示,对 17 种氨基酸而言,在高氮添加条件下,次生林(除半胱氨酸外)和原始林(除甘氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、酪氨酸和组氨酸外)中水解氨基酸的响应程度与对照样地的 0 值有显著差异($p<0.1$),次生林(除天冬氨酸、苏氨酸、谷氨酸、脯氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸和精氨酸外)和原始林(除谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸和精氨酸外)中游离氨基酸的响应程度与对照样地的 0 值有显著差异($p<0.1$)。上述结果表明,与中氮添加相比,更多种类的叶氨基酸对高氮添加表现为正响应。

从氨基酸对氮添加响应程度与氨基酸含量占比之间的关系(图 7)可以发现,对水解氨基酸而言,次生林的响应程度呈现随其含量占比增加而减小的趋势,原始林则相反;对游离氨基酸而言,次生林和原始林的响应程度均呈现随其含量占比增加而减小的趋势。

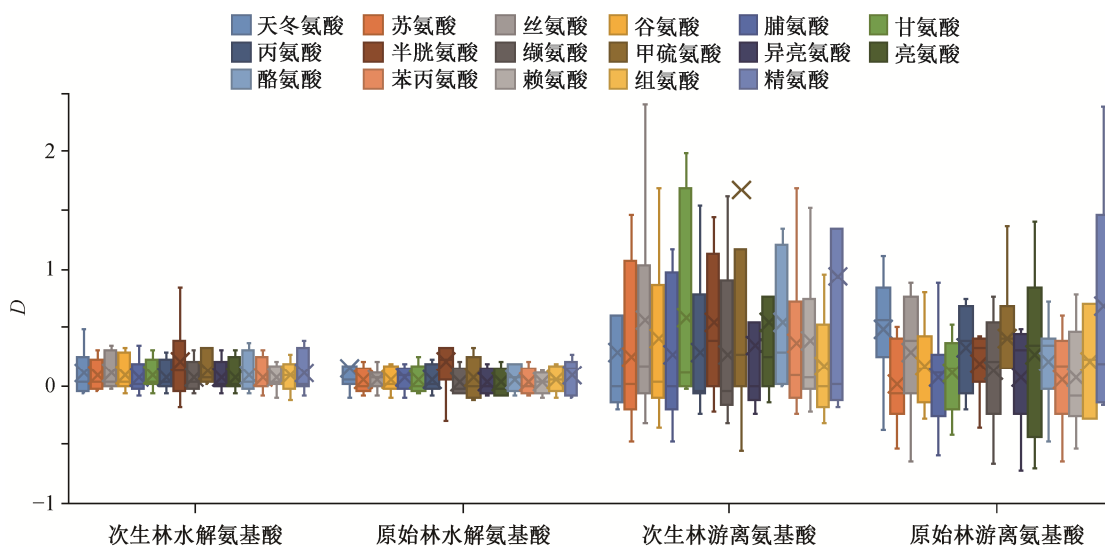
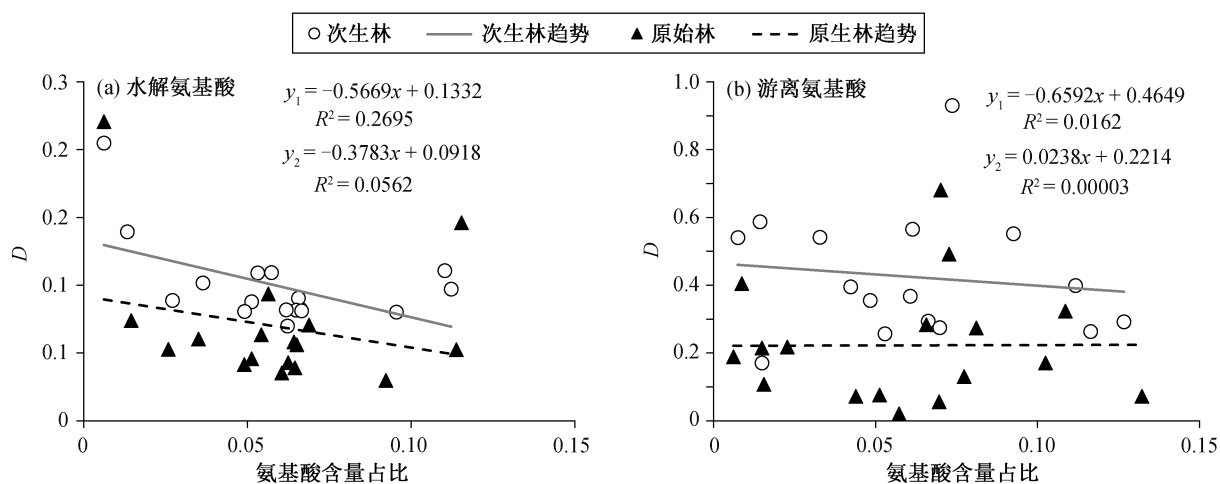


图 2 17 种氨基酸对中氮添加的响应程度
Fig. 2 Relative variations of 17 amino acid contents for middle nitrogen addition



y_1 代表次生林, y_2 代表原始林, 下同

图 3 氨基酸对中氮添加的响应程度与氨基酸含量占比的关系

Fig. 3 Relationship between relative variations and proportions of amino acid contents for middle nitrogen addition

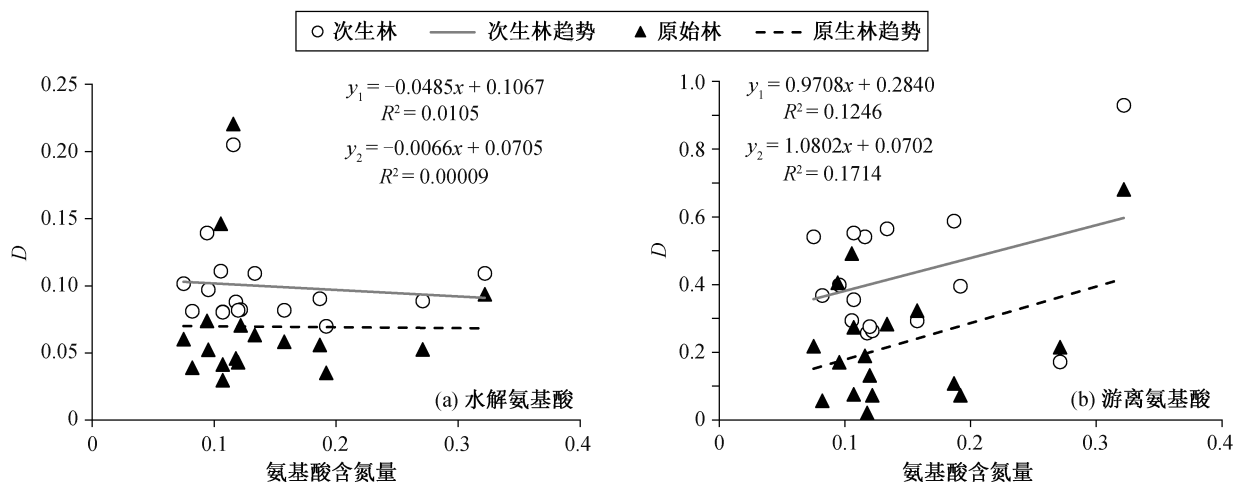


图 4 氨基酸对中氮添加的响应程度与氨基酸含氮量的关系

Fig. 4 Relationship between relative variations and nitrogen contents of amino acids for middle nitrogen addition

通过分析响应程度与氨基酸含氮量的关系(图 8)可知, 次生林与原始林的变化趋势较为一致。水解氨基酸对氮添加的响应程度有随氨基酸含氮量增加而减少的趋势, 但不显著; 游离氨基酸对氮添加的响应程度有随氨基酸含氮量增加而增加的趋势, 并在次生林中表现显著($p=0.036$)。

3.4 不同氮添加条件下次生林和原始林林下灌木叶氨基酸响应的差异

通过对比氨基酸对中氮添加和高氮添加的响应程度(图 9)可知, 次生林中两种条件下氨基酸响应程度无显著差异(水解氨基酸: 中氮添加时 $D=0.0998$, 高氮添加时 $D=0.0951$; 游离氨基酸: 中氮添加时 $D=0.4978$, 高氮添加时 $D=0.3995$); 原始林中氨基

酸对高氮添加的响应程度显著高于中氮添加(水解氨基酸: 中氮添加时 $D=0.0696$, 高氮添加时 $D=0.1009$; 游离氨基酸: 中氮添加时 $D=0.2228$, 高氮添加时 $D=0.6806$) ($p<0.05$)。

也就是说, 原始林中氨基酸对高氮添加的响应程度更大, 而次生林中氨基酸对两种氮添加的响应程度基本上一致。在响应程度与氨基酸含量占比的关系方面, 原始林与次生林的趋势相对较为一致, 均有响应程度随氨基酸含量占比增加而减小的趋势。在响应程度与氨基酸含氮量的关系方面, 次生林与原始林的趋势相对一致, 但水解氨基酸与游离氨基酸的趋势相反, 即随着氨基酸含氮量的增加, 水解氨基酸响应程度有减小的趋势, 游离氨基酸响

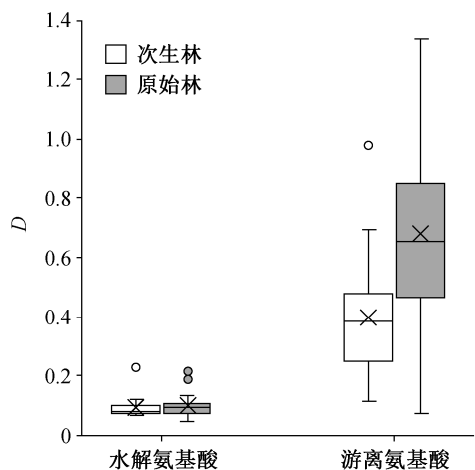


图 5 不同林型的林下灌木叶氨基酸对高氮添加的响应程度
Fig. 5 Relative variations of amino acid contents for high nitrogen addition in leaves of understory shrub species in primary forest and secondary forest

应程度有增加的趋势。

4 讨论

4.1 次生林和原始林林下灌木叶氨基酸含量对氮添加响应的差异

中氮添加时,次生林林下灌木叶氨基酸含量对中氮添加的响应程度高于原始林,原因可能是次生林与原始林林下灌木对土壤氮的需求存在差异以及这两种林型的叶氨基酸含量存在差异。通常认为,氮添加对大多数热带原始森林的生长没有促进作用,而对某些热带次生森林的生长有促进作用^[30,37-41],如马素辉^[36]通过实验发现,尖峰岭次生林中部分物

种在中氮添加时就表现出叶片氮元素的积累现象,即次生林的生长受到氮相对不足的限制。本研究对无氮添加样地叶氨基酸含量的研究表明,原始林游离氨基酸总含量显著地高于次生林,或许暗示尖峰岭的次生林更缺氮,使得该地次生林植物对中氮添加比原始林更敏感,因此在中氮添加条件下,次生林林下灌木叶氨基酸含量的响应程度高于原始林。

高氮添加时,原始林水解氨基酸的响应程度与次生林无显著差异,而游离氨基酸的响应程度高于次生林。由于尖峰岭的本底氮沉降值(25 kg/(ha·a))较高^[6],长期的高氮添加可能导致土壤氮过量,我们推测这种游离氨基酸的响应差异可能与氮过量有关。大量的研究表明,一定程度的氮添加可以促进植物生长,过量的氮添加则会抑制植物生长^[14,16,37,42-43]。氮过量时,植物可以通过将多余的氮储存在氨基酸中来避免含氮物质(如氨)过高带来的生理伤害^[16]。除作为合成蛋白质的原料库外,游离氨基酸在防御病虫害和抵抗逆境方面也具有重要的作用^[15]。由于尖峰岭原始林林下灌木游离氨基酸的总含量显著高于次生林,原始林林下灌木的氮过量现象可能更明显,因此表现为原始林游离氨基酸的响应程度高于次生林。

本研究还发现,次生林和原始林各氨基酸的响应程度与该氨基酸含量的关系基本上一致,原因可能是本次实验选择的次生林和原始林物种基本上相同,所以这两种林型的氨基酸对氮添加响应在一定程度上具有相似性。

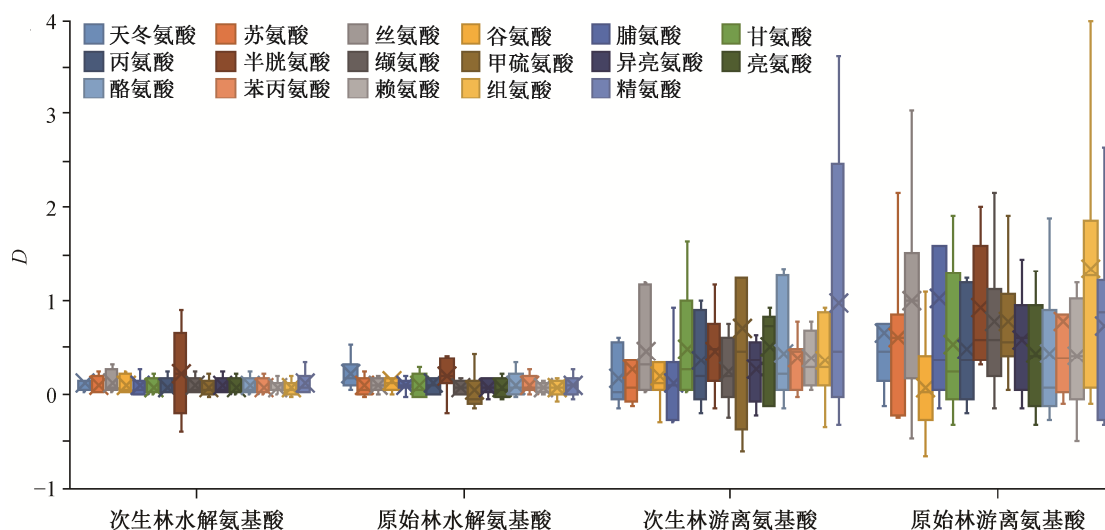


图 6 17 种氨基酸对高氮添加的响应程度
Fig. 6 Relative variations of 17 amino acid contents for high nitrogen addition

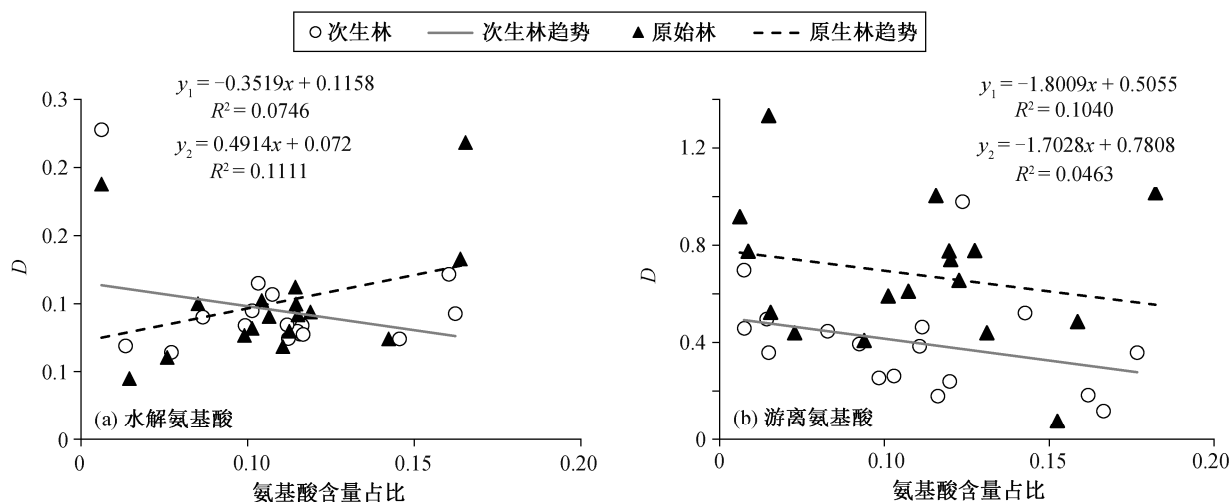


图 7 氨基酸对高氮添加的响应程度与氨基酸含量占比的关系

Fig. 7 Relationship between relative variations and proportions of amino acid contents for high nitrogen addition

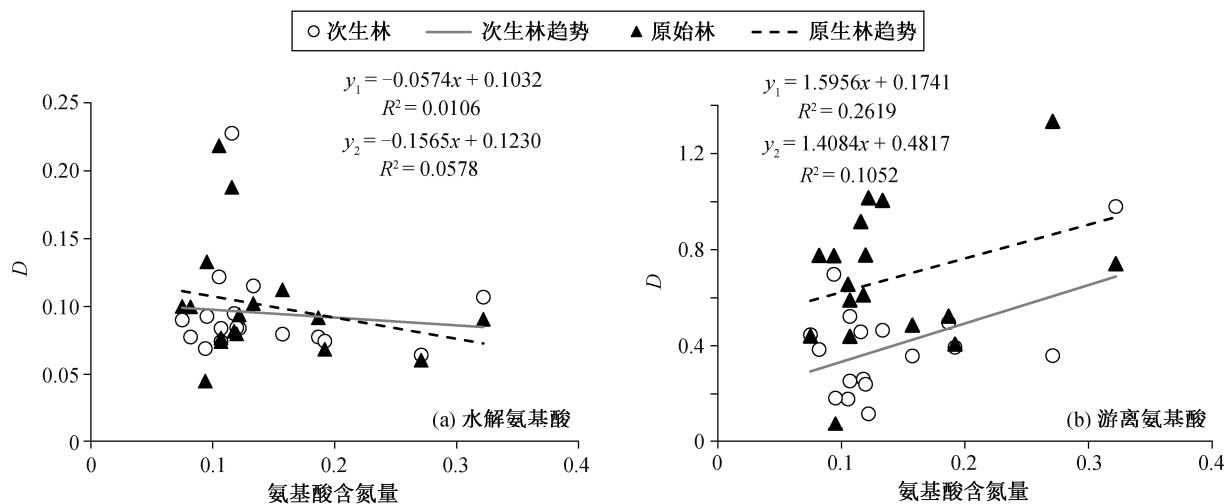


图 8 氨基酸对高氮添加的响应程度与氨基酸含氮量的关系

Fig. 8 Relationship between relative variations and nitrogen contents of amino acids for high nitrogen addition

4.2 植物叶氨基酸对氮添加响应随氨基酸含氮量及氨基酸含量占比的变化规律

研究表明,部分含量较高或含氮量较高的氨基酸对氮添加较为敏感^[44-47]。本文发现,水解氨基酸对氮添加的响应程度随含氮量的变化规律不明显,游离氨基酸对氮添加的响应程度则表现出随含氮量增加而增大的规律。在氨基酸含量占比方面,游离氨基酸对中氮添加的响应程度随氨基酸含量占比的变化规律不明显,对高氮添加的响应程度则表现出随氨基酸含量占比增加而减小的趋势。有关氨基酸对氮添加的响应程度随氨基酸含氮量的变化规律,本文结论与文献^[44-47]基本上一致,说明植物倾向

于选择含氮量高的氨基酸,以便提高贮存效益。有关氨基酸对氮添加的响应程度随氨基酸含量占比的变化规律,本文结果与文献^[44-47]存在差异,可能是由于文献^[44-47]中探讨氨基酸含量的影响时主要关注某些具体的氨基酸,如精氨酸和赖氨酸等,而未讨论氨基酸响应程度与氨基酸含量的关系。本文通过综合研究 17 种氨基酸,发现氨基酸含量占比与含氮量之间并非显著正相关,如精氨酸含氮量最高,赖氨酸含氮量也相对较高,但氨基酸含量占比最高的为谷氨酸、脯氨酸和丙氨酸。因此,相比于较高的本底含量,植物可能更倾向于选择含氮量较高的氨基酸来贮存氮。

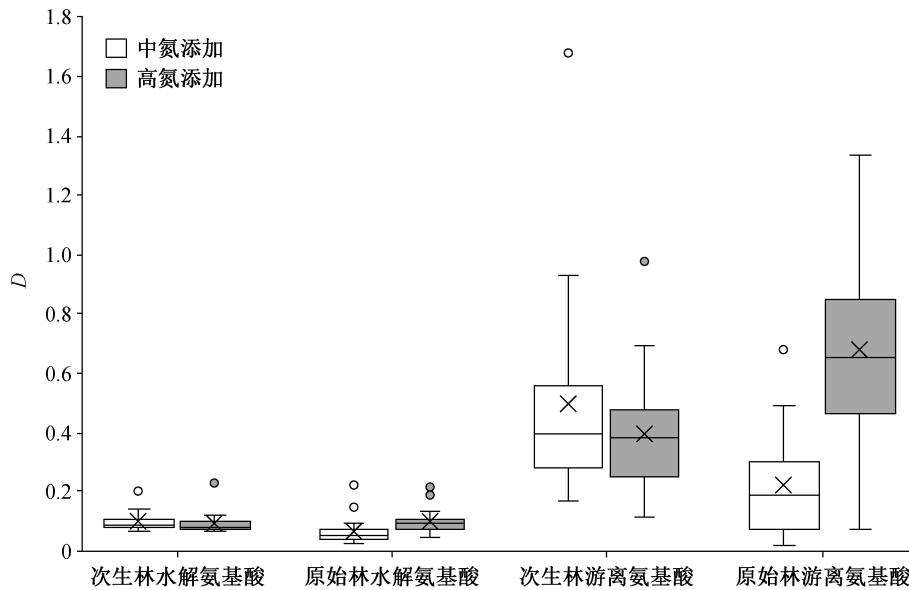


图 9 不同林型林下灌木叶氨基酸对氮添加的响应程度

Fig. 9 Relative variations of amino acid contents for nitrogen addition in leaves of understory shrub species

本研究的施氮样地没有出现北方针叶林中常见的精氨酸含量剧增现象。精氨酸具有较低的 C/N 值 (1.5), 是植物移除多余氮素的最有效的氨基酸^[19], 由于北方森林长期处于氮限制状态^[48], 因此当有外源氮添加时, 植物会大量吸收土壤中的氮, 而精氨酸的剧增可以保证植物吸收的氮得以有效地储存。但是, 热带森林多处于磷限制状态, 土壤氮相对充足, 故植物对氨基酸合成的分配与北方森林有一定的差异, 这也说明热带森林植物对氮的适应采取了不同于北方森林的策略。

5 结论

本文研究结果表明, 未施氮时, 尖峰岭两种林型林下灌木的总氨基酸含量和水解氨基酸含量无显著差异, 原始林游离氨基酸总含量显著高于次生林; 中氮添加时, 次生林林下灌木叶氨基酸含量的响应程度高于原始林; 高氮添加时, 两种林型水解氨基酸的响应程度无显著差异, 游离氨基酸的响应程度则原始林显著高于次生林; 在氮添加条件下, 相比于本底含量占比较高的氨基酸, 植物更倾向于选择含氮量较高的氨基酸来进行氮的贮存。

致谢 感谢北京大学城市与环境学院博士研究生马素辉同学提供尖峰岭试验站背景数据, 并在样品采集过程中提供帮助。

参考文献

- [1] Güsewell S. N:P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. *New Phytologist*, 2004, 164(2): 243–266
- [2] Liu X J, Zhang Y, Han W X, et al. Enhanced nitrogen deposition over China. *Nature*, 2013, 494(1): 459–462
- [3] Wright R F, Rasmussen L. Introduction to the NITREX and EXMAN projects. *Forest Ecology and Management*, 1998, 101(1): 1–7
- [4] Aber J D, Magill A H. Chronic nitrogen additions at the Harvard Forest (USA): the first 15 years of a nitrogen saturation experiment. *Forest Ecology and Management*, 2004, 196(1): 1–5
- [5] Lu X K, Mo J M, Gilliam F S, et al. Effects of experimental nitrogen additions on plant diversity in an old-growth tropical forest. *Global Change Biology*, 2010, 16(10): 2688–2700
- [6] Du E Z, Zhou Z, Li P, et al. NEECF: a project of nutrient enrichment experiments in China's forests. *Journal of Plant Ecology*, 2013, 6(5): 428–435
- [7] Rose L, Rubarth M C, Hertel D, et al. Management alters interspecific leaf trait relationships and trait-based species rankings in permanent meadows. *Journal of Vegetation Science*, 2013, 24(2): 239–250
- [8] Sardans J, Grau O, Chen H, et al. Changes in nutrient concentrations of leaves and roots in response to glo-

- bal change factors. *Global Change Biology*, 2017, 23(9): 3849–3856
- [9] 王乔姝怡, 郑成洋, 张歆阳, 等. 氮添加对武夷山亚热带常绿阔叶林植物叶片氮磷化学计量特征的影响. *植物生态学报*, 2016, 40(11): 1124–1135
- [10] 陈轶群, 王文娟, 黄荣银, 等. 热带次生林两种林下植物叶片生理特性对氮磷添加的响应. *应用与环境生物学报*, 2019, 25(3): 626–633
- [11] Liu X J, Zhang Y, Han W X, et al. Enhanced nitrogen deposition over China. *Nature*, 2013, 494: 459–462
- [12] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. *生物化学*. 3版. 北京: 高等教育出版社, 2002: 123–129
- [13] Li H, Li M C, Luo J, et al. N-fertilization has different effects on the growth, carbon and nitrogen physiology, and wood properties of slow- and fast-growing *Populus* species. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(17): 695–709
- [14] Tian D, Du E Z, Jiang L, et al. Responses of forest ecosystems to increasing N deposition in China: a critical review. *Environmental Pollution*, 2018, 243: 75–86
- [15] Shanti S S, Dietz K J. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(4): 711–726
- [16] Palmroth S, Holm Bach L, Nordin A, et al. Nitrogen-addition effects on leaf traits and photosynthetic carbon gain of boreal forest understory shrubs. *Oecologia*, 2014, 175(2): 457–470
- [17] Mifflin B J, Lea P J. Amino acid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2003, 28(1): 299–329
- [18] Power S A, Collins C M. Use of *Calluna vulgaris* to detect signals of nitrogen deposition across an urban-rural gradient. *Atmospheric Environment*, 2010, 44(14): 1772–1780
- [19] 高肖飞. 植物叶片中游离氨基酸的测定及其对大气氮沉降的响应[D]. 南昌: 南昌大学, 2015
- [20] Edfast AB, Nasholm T, Ericsson A. Free amino acids in needles of Norway spruce and Scots pine trees on different sites in areas with two levels of nitrogen deposition. *Canadian Journal of Forest Research*, 1990, 20(8): 1132–1136
- [21] Krywult M, Karolak A, Bytnerowicz A. Nitrate reductase activity as an indicator of ponderosa pine response to atmospheric nitrogen deposition in the San Bernardino Mountains. *Environmental Pollution*, 1996, 93(2): 141–146
- [22] Huhn G, Schulz H. Contents of free amino acids in Scots pine needles from field sites with different levels of nitrogen deposition. *New Phytologist*, 1996, 134(1): 95–101
- [23] Kim Y T, Glerum C, Stoddart J. Effect of fertilization on free amino acid concentrations in black spruce and jack pine containerized seedlings. *Canadian Journal of Forest Research*, 1987, 17(1): 27–30
- [24] Gezelius K, Näsholm T. Free amino acids and protein in Scots pine seedlings cultivated at different nutrient availabilities. *Tree Physiology*, 1993, 13(1): 71–86
- [25] Calanni J, Berg E, Wood M. Atmospheric nitrogen deposition at a conifer forest: response of free amino acids in Engelmann spruce needles. *Environmental Pollution*, 1999, 105(1): 79–89
- [26] 石蕾, 严善春, 金虎, 等. 兴安落叶松游离氨基酸的动态变化与损伤因子的关系. *生态学报*, 2010, 30(4): 958–968
- [27] 鲁显楷, 莫江明, 彭少麟, 等. 鼎湖山季风常绿阔叶林林下层3种优势树种游离氨基酸和蛋白质对模拟氮沉降的响应. *生态学报*, 2006, 26(1): 743–753
- [28] Pan Y D, Birdsey R A, Fang J Y, et al. A large and persistent carbon sink in the world's forests. *Science*, 2011, 333: 988–993
- [29] Hietz P, Turner B L, Wanek W, et al. Long-term change in the nitrogen cycle of tropical forests. *Science*, 2011, 334: 664–666
- [30] Wright S J, Yavitt J B, Wurzbarger N, et al. Potassium, phosphorus, or nitrogen limit root allocation, tree growth, or litter production in a lowland tropical forest. *Ecology*, 2011, 92(8): 1616–1625
- [31] Wright S J. Plant responses to nutrient addition experiments conducted in tropical forests. *Ecological Monographs*, 2019, 89(4): e01382
- [32] 周璋, 林明献, 李意德, 等. 海南岛尖峰岭林区近50年的热量因子变化特征. *生态环境学报*, 2015, 24(4): 575–582
- [33] 周璋, 李意德, 陈德祥, 等. 海南岛尖峰岭热带山地雨林区26年的气候变化特征——光、水和风因子. *生态学报*, 2009, 29(3): 1112–1120
- [34] 李意德. 海南岛尖峰岭热带山地雨林的群落结构特征. *热带亚热带植物学报*, 1997, 5(1): 18–26
- [35] 李意德, 陈步峰, 周光益, 等. 中国海南岛热带森林及其生物多样性保护研究. 北京: 中国林业出版

- 社, 2002
- [36] 马素辉. 氮磷添加对海南热带山地雨林碳循环主要过程的影响[D]. 北京: 北京大学, 2020
- [37] Cusack D F, Silver W L, Torn M S, et al. Changes in microbial community characteristics and soil organic matter with nitrogen additions in two tropical forests. *Ecology*, 2011, 92(3): 621–632
- [38] Alvarez-Clare S, Mack M C, Brooks M. A direct test of nitrogen and phosphorus limitation to net primary productivity in a lowland tropical wet forest. *Ecology*, 2013, 94(7): 1540–1551
- [39] Báez S, Homeier J. Functional traits determine tree growth and ecosystem productivity of a tropical montane forest: insights from a long-term nutrient manipulation experiment. *Global Change Biology*, 2018, 24(1): 399–409
- [40] Wright S J, Turner B L, Yavitt J B, et al. Plant responses to fertilization experiments in lowland, species-rich, tropical forests. *Ecology*, 2018, 99(5): 1129–1138
- [41] Waring B G, Pérez-Aviles D, Murray J G, et al. Plant community responses to stand-level nutrient fertilization in a secondary tropical dry forest. *Ecology*, 2019, 100(6): e02691
- [42] 李德军, 莫江明, 方运霆, 等. 氮沉降对森林植物的影响. *生态学报*, 2003, 23(9): 1891–1900
- [43] 方运霆, 莫江明, 周国逸, 等. 鼎湖山主要森林类型植物胸径生长对氮沉降增加的初期响应. *热带亚热带植物学报*, 2005, 13(3): 198–204
- [44] van Dijk H F G, Roelofs J G M. Effects of excessive ammonium deposition on the nutritional status and condition of pine needles. *Acta Physiologiae Plantarum*, 1988, 73(4): 494–501
- [45] Nordin A, Sholm T, Ericson L. Effects of simulated N deposition on understorey vegetation of a boreal coniferous forest. *Functional Ecology*, 2002, 12(4): 691–699
- [46] Pitcairn C E, Fowler D, Leith I D, et al. Bioindicators of enhanced nitrogen deposition. *Environmental Pollution*, 2003, 126(3): 353–361
- [47] Throop H L, Lerdau M T. Effects of nitrogen deposition on insect herbivory: implications for community and ecosystem processes. *Ecosystems*, 2004, 7(2): 109–133
- [48] Vitousek P M, Howarth R W. Nitrogen limitation on land and in the sea: how can it occur?. *Biogeochemistry*, 1991, 13(2): 87–115