

红松球果发育的光合产物分配研究

吴海波^{1, 2, 3}, 殷东生⁴, 张^{1, 2}, 沈海^{1, 3}

(1.东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040; 2.森林生态系统可持续经营教育部重点实验室, 哈尔滨 150040; 3.国家林业和草原局红松工程技术研究中心, 哈尔滨 150040; 4.黑龙江省林业科学研究院, 哈尔滨 150081)

摘要:【目的】果实的生长发育是植物有性繁殖的重要前提条件。为了进一步了解在分支层面上碳素的库-源关系, 改变碳素资源在营养生长和生殖间的再分配, 特别是评价生殖枝和营养枝之间的碳关系有助于检验在球果发育过程中生殖枝是否能碳自给以及碳素在营养枝和生殖枝间的分配策略。【方法】我们将环剥和去叶处理相结合, 并采用原位 ^{13}C 稳定同位素脉冲标记技术, 在球果发育阶段来评估结实红松生殖枝的碳素运输分配规律。【结果】研究表明, 环剥是限制球果发育和枝条生长的主要因素, 环剥处理显著减少了针叶、枝条和球果等组织的生长以及生物量和非结构性碳水化合物浓度的积累, 同时也显著影响了球果的发育。去叶处理对生长、生物量以及非结构性碳水化合物浓度的影响随着去叶强度的增加而增大, 但相对比环剥处理, 其对枝条生长和球果发育的影响是有限的。无论是否去叶, 环剥处理导致球果败育、枝条停止生长或者死亡, 这说明生殖枝自身的光合产物不能满足枝条和球果的生长发育, 需要外来光合产物的输入。此外, 在 ^{13}C 稳定同位素标记 4h 和 24h 后, 在未标记的生殖枝针叶、枝和球果中均检测到较高的 $\delta^{13}\text{C}$, 且显著高于对照处理。同位素标记 4h 和 24h 后, 在生殖枝中分别检测到 4.5% 和 45.4% 的 ^{13}C 同化物的富集。这表明营养枝的 ^{13}C 同化物转移到生殖枝中。【结论】红松生殖枝不是 C 自给的, 球果的发育很大程度上需要邻近营养枝的大量的外源光合产物的输入。然而, C 素易位在很大程度上取决于库-源平衡的改变, 进而表明分支的 C 自给的程度的广泛可塑性。

关键词: 红松; 环剥; 去叶; 碳分配; 同位素标记

1 引言

繁殖是所有生物繁衍后代、延续种族最基本的行为和过程, 也是植物种群形成、发展和进化的核心问题之一, 还是生物群落和生态系统演替的基础^[1-3]。在繁殖过程中不仅是遗传因子与环境因素的适应, 也是通过繁殖过程将资源重新整合分配, 并结合繁殖产量以及植物生活史的组合, 最终达到繁殖成功的目的^[4]。因此, 繁殖不仅是生态系统过程研究中的重要组成部分, 还是全球陆地生态系统物质循环的重要组成部分。光合作用是植物与环境进行物质、能量交换的基础, 植物通过叶片等绿色组织进行光合作用将太阳能转换为化学能, 同时以 CO_2 和水分作为底物合成有机物, 供植物进行物质生产和新陈代谢所需能量的消耗, 这也是植物生长和繁殖的基础^[5, 6]。植物光合作用积累的同化产物是植物生长和繁殖所需的基础资源, 90%以上资源来源于光合作用的积累^[7], 同时, 光合产物还是植物自身新陈代谢、生长、储存、繁殖以及防御胁迫环境的能量物质^[8-10]。光合产物的分配直接影响各器官的生长, 决定植物的生态结构建成, 也是决定植物繁殖的重要因素。开展植物光合作用调控机制以及光合产物分配规律等方面的研究, 为植物生长发育的调控以及经营管理措施具有重要意义。

植物用于生长和繁殖的资源总是有限的。如果植物用于繁殖上的资源较多, 那么植物在生长、生存和防御等其他相关功能投入的资源会减少, 还会影响植物未来的生长、繁殖和生存^[11]。生活史理论认为繁殖与营养生长或存活之间存在某种负相关关系(也称权衡关系)。繁殖、生长、生存和防御之间权衡关系是生物生活史重要组成部分。很多研究表明多年生木本植物繁殖与营养生长或存活之间普遍存在权衡关系^[12-14]。也有一些研究发现, 并不是所有植物个体的营养生长与繁殖活动都存在着“此消彼长”的权衡关系。这是因

为植物个体所处的环境是不相同的。当植物处在资源较为丰富的环境中,可以进行光合作用的营养体较大,光合产物较多,植物体不仅可以具有较高的生育率,在生长和存活方面投入的资源也较多。由于林木所处生境条件不同,导致植物的生长、繁殖和存活之间不同的权衡关系^[15]。另外,植物在不同性状间的资源分配,并不是简单此消彼长的关系^[13]。植物光合作用合成的有机物和从环境中获取的资源,在分配给生长、繁殖和生存的过程中,当植物减少用于繁殖的资源投资时,节省的资源可能用于营养生长,也可能用于生存机制的发展。植物的生长、繁殖和生存之间,不仅在当年生长季存在权衡关系,而且也会影响着未来植物的生长、繁殖与生存^[16]。解析林木的繁殖与生长之间的权衡关系及其影响因素,对于物种的群落演替和种群更新及其生态适应过程和系统发育过程都具有重要意义。

叶片中合成的光合同化物在维持植物生长、繁殖、储存、防御和代谢等过程中发挥着重要的作用^[17, 18]。植物地上部分的花、果实、芽、嫩叶和嫩枝具有不可忽视的光合作用速率,但是不能满足自身生长发育,因此它们通过韧皮部从相邻的成年叶片中输入光合同化物^[19, 20]。库源之间的距离以及库强度是决定光合同化物的运输方向的主要因素,因此发育器官的C自给与自身的库强度以及邻近的源叶有密切的关系^[21, 22]。

树冠是由许多能够碳和矿质养分自主分配利用的分支组成,每个分支在生理上能够发挥完整的生理过程^[23, 24]。一些研究报道,树冠的分支是完全自给的,不需要从其他器官输入光合同化物,但是在枝条生长或者繁殖的过程中消耗大量的C可能会超过分支自身合成贮藏的光合同化物^[24, 25]。也有研究者发现,在繁殖期间,光合同化物从邻近的营养枝向生殖枝运输^[26, 27],这可能是由于分支的C自给与分支的库强度、分支年龄以及所在树冠位置有直接关系^[28, 29]。

通过在枝条水平上进行环剥、去叶或者修剪等控制实验,研究营养枝和生殖枝之间的C运转关系有助于解释分支的库源关系、分支自给以及树木生理等方面的问题^[30-32]。去叶强度对植物的生长、储存以及防御等方面的碳分配有不同影响,有研究表明,植物通过减少茎的二次生长来弥补由于去叶而引起较低的C增加,进而使去叶和未去叶枝条的非结构碳水化合物浓度相似,同时,通过提高叶片单位面积光合作用也可以弥补去叶产生的影响^[32, 33]。很多研究者发现,环剥能够促进果树的坐果率,环剥是阻断韧皮部的养分运输,假如生殖枝是C自给的,那么环剥处理将不会影响枝条生长和果实发育,这也是判断生殖枝能否自给的有效手段。随着同位素技术的发展,碳同位素也在研究树体光合同化物分配运输的研究中广泛应用,¹³C-光合同化物的分配转移已在草地植物^[34]、树苗^[35, 36]和成年树^[37, 38]中得到广泛研究。Sha等^[39]通过全树¹³C标记研究整个生长季节的库活力的变化,研究发现在开花后的120-135天期间¹³C-光同化物向果实转移最多。

由于果树是重要的经济树种,所以分支的C自给在果树中开展了大量的研究^[23, 39-41],但在针叶树种中鲜见报道。红松是我国东北地带性阔叶红松林的优势树种,以其树干高大,干形通直,材质优良,结构细腻,纹理密直,用途广泛而闻名中外,是我国东北地区重要的珍贵用材树种^[42, 43]。红松除了能够提供木材以外,另一项重要功能就是为人类提供食用种子,红松种子粒大,种仁味美,含有丰富的营养成分,是不可多得的天然生态保健品^[44, 45]。因此,培育红松果林具有经济价值高,投资回报快的优点,可以弥补用材林培育周期长、出材晚、投资回报慢的缺陷。红松也是世界上主要的坚果树之一,但与其他坚果树(如杏仁或开心果)相比,它的栽培技术处于初级阶段。在自然条件下红松具有明显的大小年的结实特征,结实大年期间的较高繁殖成本会导致在接下来的几年中结实较少或者不结实,然而,目前尚不清楚球果发育过程中光合产物来源及其分配规律。另外,生殖枝当前的光合同化物能否满足枝条及球果发育尚不清楚,在球果发

育过程中，生殖枝附近的营养枝的光合同化物运输和分配规律如何也尚不清楚。

因此，本研究通过两个控制试验确定结实红松生殖枝的 C 自给，以及当前光合同化物的运输与分配规律。在试验 1 中，对结实红松生殖枝进行环剥和去叶处理确定球果发育的光合产物来源，生殖枝的光合同化物能否满足球果发育的需求。在试验 2 中，对生殖枝邻近的营养枝进行 ^{13}C 光合同化物标记，并结合环剥技术研究生殖枝的生长、非结构碳水化合物浓度和繁殖（例如球果数量、球果生物量和种子含量）是否依赖于相邻营养枝养分的输入。探究在分支水平结实红松球果发育过程中当前光合产物的运输和分配规律，揭示红松光合产物积累过程以及分配策略，并估算分支对红松球果发育的贡献率。

2 研究区域概况及样木选择

研究地点位于东北林业大学帽儿山实验林场(45°23'-45°26' N, 127°34'-127°39' E)。该地区属于张广才岭西北山脊，属于大陆性温带季风气候，夏季温暖湿润，冬季寒冷干燥。年平均气温 3.1°C，1 月和 7 月平均气温分别为 -19.6 和 20.9 °C。生长季从 5 月持续到 9 月，持续时间约为 120-140 天。年降水量为 723mm，其中降水量主要集中在 6-8 月约为 477mm。土壤湿润肥沃，多为暗棕壤森林土，深度 30-50 cm，有机质含量高，排水良好。研究区内植物属长白山植物区系，且为东北地区较为典型的次生林区，主要由处于不同演替阶段的林分类型组成，主要有红松、樟子松、兴安落叶松 (*Larix gmelinii*) 为主的人工林，以水曲柳、胡桃楸、黄檗 (*Phellodendron amurense*) 等珍贵树种为主的硬阔叶混交林，以及枫桦 (*Betula costata*)、白桦、山杨等组成的软阔叶混交林。

在 2018 年生长季选择两种林龄的红松人工林进行平行试验。试验一：在林龄 54 年的红松人工林的树冠选择 6 个生殖枝并对其进行环剥和去叶处理（以下称试验 1）；试验二：在林龄 25 年的红松幼龄林进行原位同位素标记（以下称试验 2）。2018 年是红松结实较多年份，两个林龄人工林的球果产量均明显高于前两年。对于实验 1，选择 6 株结实较多的健康样木并搭建可攀爬的架子，树木之间的距离足够大，防止彼此之间互相遮挡。测量所选样木的平均树高和胸径分别为 13.5 (± 0.6)m 和 34.0 (± 3.6)cm。对于实验 2，选择 18 株长势一致健康样木，其中 3 株母树没有球果，所选样木的平均树高和胸径分别为 3.95 (± 0.13)m 和 8.57 (± 0.19)cm，并且样木彼此之间无遮挡，用于进行野外全株和枝条标记实验。

2.1 试验设计

2.1.1 试验一：枝和球果的生长

采用环剥和去叶处理相结合来阐明球果发育和分枝生长的光合同化物的来源。在环剥和未环剥的枝条上进行不同强度的去叶（0%、50%、100%去叶），一共有 6 个处理组合，即：（1）未环剥+0%去叶，对照处理；（2）未环剥+50%去叶；（3）未环剥+100%去叶；（4）环剥+0%去叶；（5）环剥+50%去叶；（6）环剥+100%去叶。在每株样木树冠的南面选择 6 枝带有球果的枝条（生殖枝），每个枝条被随机分配到每个处理组合，所选生殖枝的平均枝长和基径分别为 32.69 (± 1.03)cm 和 16.56 (± 0.77)mm，单株为一个重复，即每个处理重复 6 次。由于红松的雌球果着生在 1 年生枝上，因此本实验中的环剥和去叶处理均在 1 年生枝条上进行。2018 年 5 月初同时进行环剥和去叶处理，使用刀片在生殖枝基部小心去掉木质部上方宽度约 2.0 cm 的形成层、韧皮部和树皮，为了尽量减少环剥后的干燥，使用封口膜缠住环剥处。去叶处理是全部剪掉（100%）或均匀剪掉一半（50%）生殖枝 1 年生针叶。9 月初球果成熟后收获生殖枝，测量当年生枝条的基部直径以及枝条生长量。将枝条分为针叶、木质部、韧皮部和球果（包含种子）等组织，分别装入信封中在微波炉中高温杀青 3 min 后转移至 70°C 烘箱中烘至恒重并称量，记录为每个组织的生物量。将烘干

后的组织样品使用球磨机粉碎 (Retsch MM400, German), 将过 80 目筛的样品置于塑封袋中于室温下储存以进行相关生化分析。

2.1.2 试验二: ^{13}C 同化物的运输与分配

利用 ^{13}C 同位素脉冲标记来示踪光合同化物在枝条中的分配规律。从 18 株红松中随机选取 12 株进行枝标记, 在所选 12 株树的上层树冠选择两个相邻的生殖枝 (有 2-3 个球果) 和营养枝 (没有球果), 并对营养枝进行 $^{13}\text{CO}_2$ 同位素标记。此外, 如实验示意图 4-1 所示, 在选择的 12 株树中的 6 株树进行环剥处理, 环剥处理在标记前一天进行, 在营养枝与生殖枝连接处的正下方, 使用刀片去除木质部上方 2cm 宽的树皮、韧皮部和形成层。按照 Kagawa 等^[35]和 Miyazaki 等^[46]的标记方法略加改动使营养枝暴露在富集 ^{13}C O_2 的气室内。 ^{13}C 同位素标记试验是在七月末球果膨大期进行, 选择天气晴好且近期无极端天气的上午 9:00 进行, 用透光率高于 85% 以上的聚乙烯塑料制作成 40cm × 60cm 的透明聚乙烯密闭气室并完全套在营养枝上, 使用专业的封口泥在枝条基部进行封口, 并用绳子扎紧封口袋, 保证塑料袋密封。在标记袋有三根软管, 第一根软管用于使用注射器将 $^{13}\text{CO}_2$ 气体(99% ^{13}C ; Cambridge Isotope Laboratories, Andover, M A, USA)注入到袋中 (图 3-1a); 第二根连接 CO_2 红外气体分析仪(Testo 340, 中国; 准确度 1%; 图 3-1b); 第三根软管用于注入不含 CO_2 的空气(空气经过碱石灰吸收; 图 3-1c)初步测试表明, 密封打约 20min 后, 标记袋内的 CO_2 浓度($[\text{CO}_2]$)能够从 400ppm 降低到 50ppm。为了维持袋内 CO_2 的目标浓度, 每隔 20 分钟向袋内注入 30ml $^{13}\text{CO}_2$ 气体, 气室 1h 标记后, 打开气室, 使枝条暴露在空气中。另外, 为了防止水汽在气室内壁冷凝和气体不均匀, 在气室内垂直放置带有少量硅胶 (约 10g) 的风扇用于吸收水汽(图 3-1d)。在标记结束的 4h 和 24h 后, 破坏性收获标记的营养枝和未标记的生殖枝 (环剥和未环剥各 3 株), 立即置于冷藏箱 (0-4℃) 保存, 并做好标记带回实验室。在实验室将枝条被分为针叶、枝和球果等组织置于微波炉中高温杀青 3 min 后转移至 70℃ 烘箱中烘干至恒重并称重, 用不锈钢粉碎机粉碎过 100 目筛。为了估算不同组织中的 ^{13}C 的自然丰度, 自然样品从远离标记树 (>30m) 的不同树进行取样, 以防标记 $^{13}\text{CO}_2$ 气体对自然样品的影响^[47]。

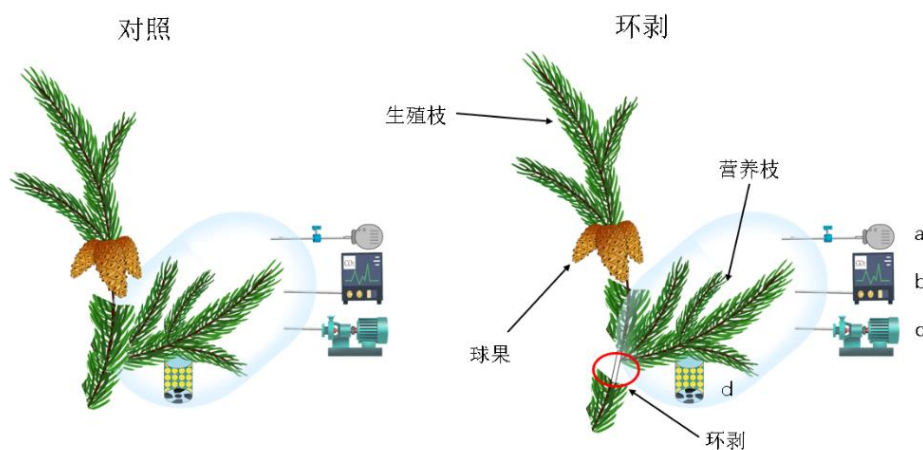


图 1 分支 $^{13}\text{CO}_2$ 脉冲标记实验的示意图。在选择的树中对营养枝进行不环剥 (对照) 或环剥处理 (环剥; 红色圆圈) ($n = 6$)。用 $^{13}\text{CO}_2$ 标记没有球果的侧枝 (即营养枝; VB) 来评估 ^{13}C 同化物向生殖枝 (RB) 的运转。a: 注入 $^{13}\text{CO}_2$; b: CO_2 红外气体分析仪; c: 注入不含 CO_2 的空气, 使环境空气通过碱石灰制备; d: 装有硅胶颗粒的电风扇。

Fig. 1 Scheme of the branches $^{13}\text{CO}_2$ pulse labeling experiment. In each selected tree, a pair of branches were either u

ngirdled (Control) or girdled (Girdled; red circle) ($n = 6$) at the insertion point. The lateral branch bearing no cones (i.e., vegetative branch; VB) was labeled with $^{13}\text{C}_2$ to evaluate potential transport of assimilated ^{13}C to the reproductive branch (RB). a: Infusion of $^{13}\text{C}_2$; b: CO_2 infrared gas analyzer; c: Infusion of CO_2 -free air, prepared by passing ambient air through soda lime; d: Electric fan with silica gel.

2.2 指标测定

2.2.1 生长指标测量:

在进行环剥和去叶处理前测量生殖枝 1 年生枝的枝长和基径, 记录球果数量。9 月收获后, 测量当年生和 1 年生枝的枝长、基径, 记录存活枝条和球果数量, 使用收获后存活枝条或球果数量与处理前总数的比值计算枝条或球果的存活率; 1 年生枝条的生长量使用枝长和基径的增量。

2.2.2 生物量测定:

生殖枝收获后, 将样品分为针叶、枝条、以及球果等组织, 分别装入信封在微波炉中高温杀青 3 min 后转移至 70°C 烘箱中烘至恒重并称重, 记录为每个组织的生物量。

2.2.3 非结构性碳水化合物浓度测定:

非结构性碳水化合物浓度为可溶性糖与淀粉浓度总和, 本研究参照 Mei 等^[48]和 Zhang 等^[49]的方法, 略有改动, 采用蒽酮比色法在 620nm 下进行测定, 根据葡萄糖的标准曲线计算出样品的总可溶性糖浓度。

蔗糖标准液的配置: 蔗糖 (分析纯) 在 65°C 烘干 12h 至恒重, 然后准确称量 0.1000g, 加入去离子水溶解后定容 100ml, 得到 0.1% 的蔗糖标准液; 在分别吸取 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0ml 0.1% 的蔗糖标准液定容至 10ml, 得到不同浓度的蔗糖溶液。

总可溶性糖提取: 准确称量烘干样品 50mg 置于 5ml 离心管内, 加入 4ml 80% 的乙醇溶液, 加入 4 ml 80% 乙醇, 80°C 水浴 30 分钟左右, 期间晃动几次, 在 3000rpm 离心 5 min 后, 转移上清液, 再在沉淀中加入 2 ml 80% 乙醇, 在 3000rpm 离心 5 min 后, 转移上清液, 最后在沉淀中加入 2 ml 80% 乙醇, 在 3000rpm 离心 3 min 后, 转移上清液, 合并上清液 (约 8ml), 用去离子水定容 25ml, 用于可溶性总糖测定。

淀粉的提取: 上述提取可溶性糖离心后的沉淀用于淀粉的提取, 采用高氯酸法进行提取。将沉淀在 70°C 烘干 12h, 向沉淀中加入 2 ml 蒸馏水, 在沸水浴中煮 15 min 后, 加入 1 ml 9.2 M 高氯酸溶液, 不断晃动 15 min 后, 加入 1 ml 蒸馏水, 混匀, 在 3000rpm 离心 5 min 后; 沉淀中加入 1 ml 4.6 M 高氯酸, 晃动 15 min 后, 加入 1 ml 蒸馏水, 在 3000rpm 离心 5 min, 重复两次。合并上清液 (约 8 ml) 用去离子水定容 25ml, 用于淀粉的测定。

非结构性碳水化合物含量表示为各组织的非结构性碳水化合物浓度与其组织生物量的乘积。

2.2.4 同位素分析:

前期处理好的样品委托中国科学院沈阳应用生态研究所稳定同位素实验室进行 ^{13}C 同位素的分析测定, 同时测定样品的碳所占的比例。简而言之, 使用微量天平 (精度 $0.1 \mu\text{g}$; Sartorius SE2 Mettler Toledo X P2U) 在锡纸杯中约称量 2mg 的样品。样品经元素分析仪 (NC 2500; CE Instruments, Milan, Italy) 中高温燃烧后生成 CO_2 , 同位素质谱仪 (MAT 252; Thermo Electron, Bremen, Germany) 检测到 CO_2 的 ^{13}C 与 ^{12}C 的比率, 并与国际标物 (Pee Dee belemnite 或 (V-PDB)) 对比后分析计算出样品的 $\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$ 的值, 进而计算出样品的 ^{13}C 丰度 ($a^{13}\text{C}$)。我们测量所用的标准物 DL-丙氨酸重复燃烧的标准偏差为 0.07‰ 。

根据 Kagawa 等^[35]和 Ge 等^[34]人的方法计算 $\text{Excess}^{13}\text{C}$ 作为标记样品与自然样品之间的 ^{13}C 差异:

一般样品的 ^{13}C 自然丰度用 $\delta^{13}\text{C}$ 表示为:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \left(\frac{R_{\text{sample}}}{R_{\text{std}}} - 1 \right) \times 1000 \quad (1)$$

式中的 $R_s = ^{12}\text{C}/^{13}\text{C}_s$, R_{std} 为碳同位素的标准比值 ($R_{\text{std}} = ^{12}\text{C}/^{13}\text{C}_{\text{std}}$, 为 0.0112372)。

标记植物的 ^{13}C 丰度采用 Atom% 表示, 可为:

$$\text{Atom}\% ^{13}\text{C} = \frac{(\delta^{13}\text{C} + 1000) \times R_{\text{std}}}{(\delta^{13}\text{C} + 1000) \times R_{\text{std}} + 1000} \times 100 \quad (2)$$

标记样品与自然样品之间的 ^{13}C 差异:

$$\text{Excess } ^{13}\text{C} = a^{13}\text{C}_{\text{sample}} - a^{13}\text{C}_{\text{bsl}} \quad (3)$$

在针叶(CF)、树枝(CT)和球果(CC)等组织中的标记的 ^{13}C 同化物的计算为:

$$^{13}\text{C} \text{ assimilation} = \text{Excess } ^{13}\text{C} \times [\text{C}] \times \text{DB} \quad (4)$$

式中的[C] (g g^{-1}) 和DB (g) 分别为各组织中的C浓度和生物量, 然后分别估算营养枝和生殖枝中标记 ^{13}C 同化物总量为针叶、枝和球果中 ^{13}C 同化物的总和:

$$^{13}\text{C}_{\text{total}} = ^{13}\text{C}_F + ^{13}\text{C}_T + ^{13}\text{C}_C \quad (5)$$

最后, 我们计算了 ^{13}C 同化物在各组织中的分配率:

$$^{13}\text{C}_s (\%) = ^{13}\text{C}_s / ^{13}\text{C}_{\text{total}} \times 100 \quad (6)$$

2.3 数据处理与分析

使用 SPSS 21.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) 进行统计分析。对于试验 1, 对所有调查变量运用线性混合模型分析, 将树作为随机因子, 环剥、去叶及其交互作用作为固定因子。当达到显著水平时, 采用 LSD 法进行处理组间的多重比较分析。调查的变量包括分枝基径和枝长、存活的雌球果数量、枝条和球果存活率、针叶、枝条、球果和种子生物量以及各组织[NSC]和 NSC 含量。对于试验 2, 对生殖枝和营养枝采用双因素方差分析环剥和取样时间对各组织中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 ^{13}C 同化物 (平均值 \pm 标准误差) 的差异, 以确定收获时间和环剥对每个分支和组织内 $\delta^{13}\text{C}$ 和 ^{13}C 同化物的影响。

3 结果与分析

3.1 环剥和去叶对枝条生长的影响

去叶不影响红松枝条的生长, 而与去叶相比, 环剥对枝条生长的影响较大, 并且环剥对所有调查变量均有显著影响 ($p < 0.05$); 环剥和去叶的交互作用对枝条生长影响不显著 ($p > 0.05$; 表 1)。

在不环剥处理下, 去叶强度 (50%和 100%) 对一年生针叶的影响较小, 并且对当年生枝条的生长和针叶的形成影响不显著 (图 3a-d)。环剥导致当年生枝的枝条生长量较小并且当年生枝没有长出新的针叶 (图 3a-d; 图 2)。环剥对 1 年生枝的影响低于当年生枝, 但仍达到显著水平, 100%去叶强度的枝生物量均显著低于 0%和 50%去叶强度 (图 3e, f; 图 2)。在生长季节结束, 未环剥处理不影响枝条生长, 枝条存活率为 100%, 而环剥处理枝条全部死亡, 枝条存活率为 0 (图 4a; 图 2)。



图 2 枝和球果生长试验中同一株红松树冠上环剥和去叶处理的枝条生长情况。

Fig. 2 Visual example of twig growth and cone development in girdled and defoliated branches at harvesting of one *Pinus koraiensis* tree manipulated.

表 1. 环带和去叶及其交互作用对红松树枝生长和 NSC 浓度的方差分析

Table 1. Effect of girdling and defoliation and their interaction on branch growth and NSC concentrations in *Pinus koraiensis* trees.

变异来源	当年生枝				1年生枝				C	C	S	当年生枝				一年生枝				球果		种子	
	Current branches				1-year-old branches							Current branches				1-year-old branches				Cone		Seed	
variation source	N	B	B	B	N	B	B	B	N	B	B	Br	Br	Ne	Ne	Br	Br	Ne	Ne	[[[[
	B	B	L	D	B	B	L	D				anch	anch	edle	edle	anch	anch	edle	edle	SS]	ST]	SS]	ST]
												S]	T]	S]	T]	S]	T]	S]	T]				
环剥	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<
G	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
去叶	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<	0.	<	0.	<	0.	<	<	<	0	0	0
D	.067	.082	.342	.104	.056	.358	.365	.120	.532	.051	.071	0.01	100	0.01	0.11	0.01	277	0.01	0.01	0.01	.150	.157	.545
G × D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.	0.	<	0.	<	0.	0.	<	<	<	0	0
	.068	.200	.531	.188	.495	.859	.951	.434	.532	.150	.071	0.22	509	0.01	0.11	0.01	417	108	0.01	0.01	0.01	.157	.545

注：表中显示显著性 p 值，显著性 $p < 0.05$ 的结果被加粗。缩写：NB:针叶生物量；BB: 枝生物量；BL: 枝长；BD: 枝基部直径；CN: 球果数量；CB: 球果生物量；SB: 种子生物量；[SS]: 可溶性糖浓度；[ST]: 淀粉浓度；G: 环剥 D: 去叶。

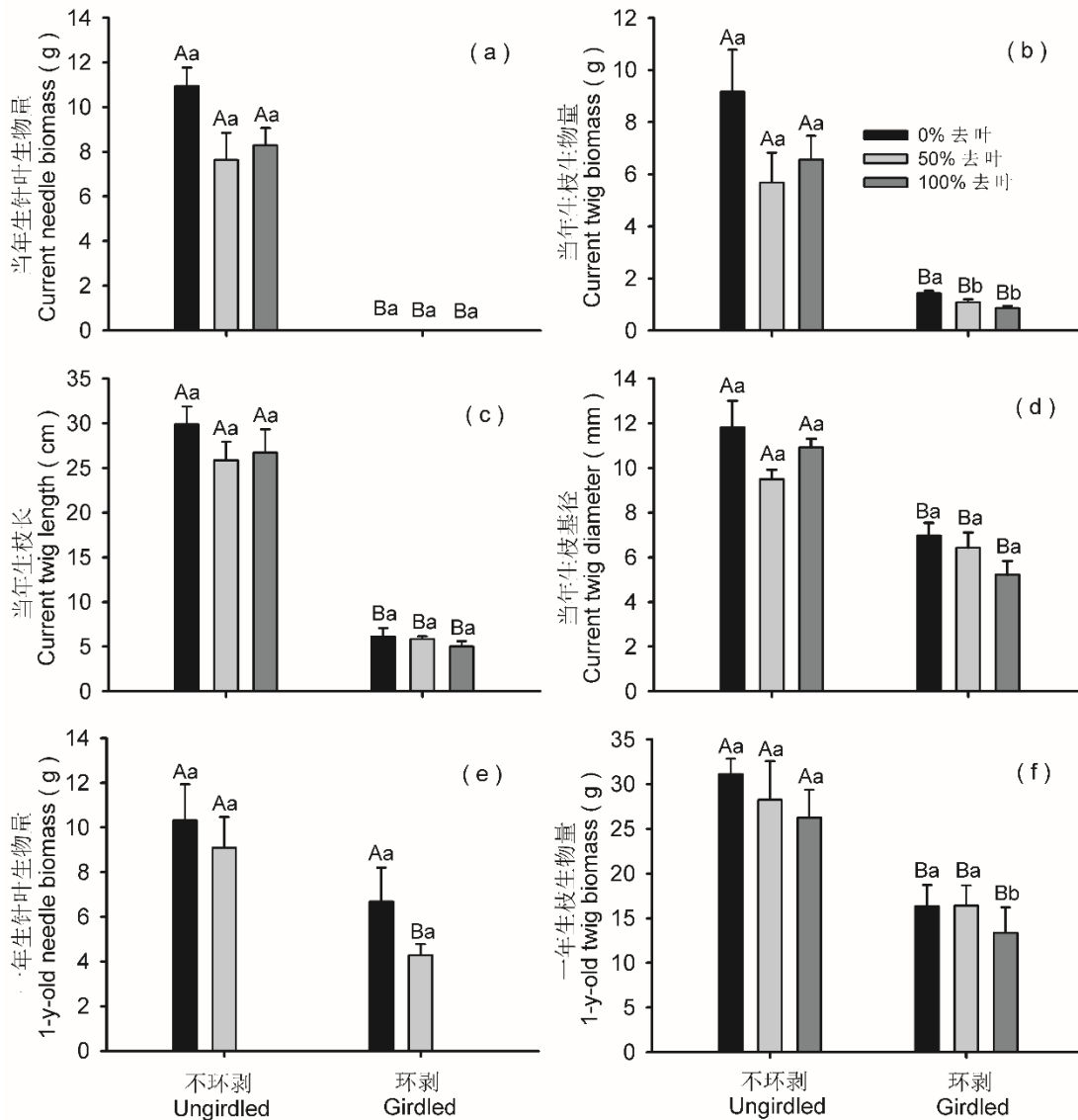


图3 环剥和去叶对红松当年生和一年生枝针叶、枝生物量和生长的影响。

Fig. 3 Needle and twig biomass and twig dimensions (length and diameter) of current and one-year-old *Pinus koraiensis* branches in response to girdling and defoliation treatments.

注：在环剥处理中当年生针叶生物量为 0，图中显示平均值±标准误。不同的大写字母表示在一定的去叶强度下环剥处理间的差异显著($p < 0.05$)。不同小写字母表示不同环剥处理的去叶强度间差异显著($p < 0.05$)。

3.2 环剥和去叶对球果发育的影响

环剥处理对球果发育（成熟球果数量、球果、种子和种鳞生物量）有显著影响($p < 0.05$; 表 1; 图 2 和 5)。在环剥处理中，环剥后，球果基本停止了发育并没有产生成熟的球果和种子，也就是说环剥处理的球果成活率为 0，而未环剥处理，无论去叶强度如何，球果发育正常即球果的成活率为 100%（图 2, 4, 5）。与环剥处理相比，去叶不影响球果的发育。

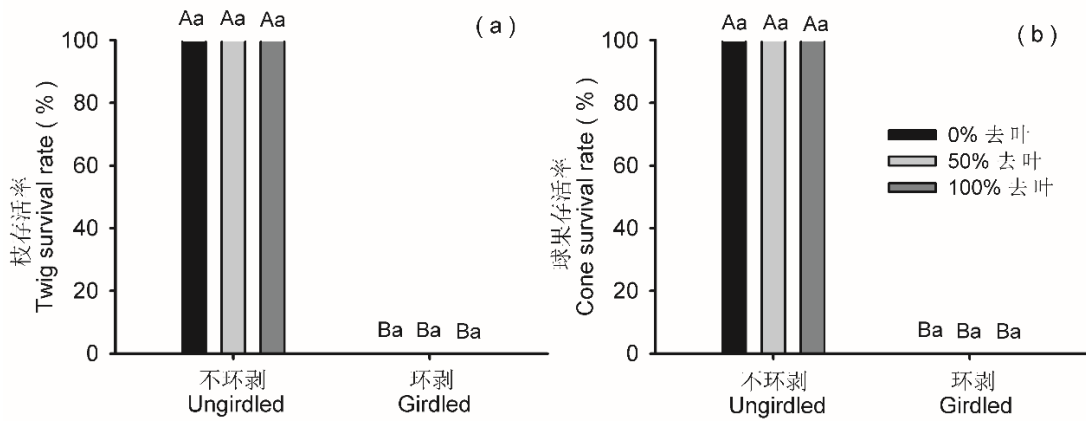


图 4 环剥和去叶对红松枝和球果存活率的影响。

Fig. 4 Twig and cone survival rate in *Pinus koraiensis* branches in response to girdling and defoliation treatments.

注：环剥处理中枝条和球果的存活率为 0。不同的大写字母表示在一定的去叶强度下环剥处理间的差异显著($p < 0.05$)。不同小写字母表示不同环剥处理的去叶强度间差异显著($p < 0.05$)。

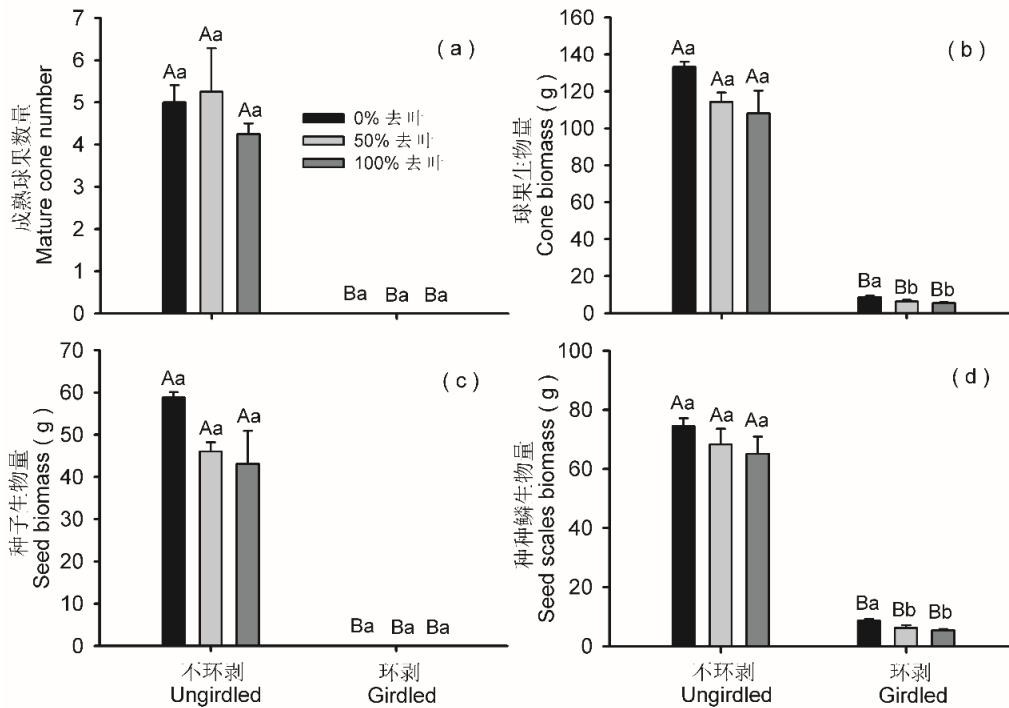


图 5 环剥和去叶对球果数量、球果、种子以及种鳞生物量的影响。

Fig.5 Number of mature cones (a) and cone, seed and seed scales biomass (b-d) in response to girdling and defoliation treatments in *Pinus koraiensis*.

注：环剥处理的成熟球果数量和种子生物量均为 0，图中显示平均值±标准误。不同的大写字母表示在一定的去叶强度下环剥处理间的差异显著($p < 0.05$)。不同小写字母表示不同环剥处理的去叶强度间差异显著($p < 0.05$)。

3.3 环剥和去叶对非结构性碳水化合物分配的影响

去叶对当年生和 1 年生枝枝条的[SS]、针叶的[NSC]以及球果的[SS]影响显著；环剥对当年生和 1 年生枝

的针叶、枝条以及球果和种子的[NSC]影响显著；环剥和去叶的交互作用对当年生和1年生枝条的[SS]、针叶的[NSC]以及球果的[NSC]影响显著 ($p < 0.05$, 表 1, 图 6)。在环剥处理中, 去叶显著降低了[NSC], 当年生和1年生枝的针叶、枝条以及球果的[NSC]和[SS]随去叶强度的增加而减小, [ST]呈现类似减小的趋势, 但是减少的不明显(图 6)。在不环剥处理中, 去叶对[NSC]的影响不如环剥处理中这么明显。

NSC含量的变化趋势与[NSC]相似, 在不环剥处理下, 50%和100%强度去叶对当年生枝、针叶、1年生枝以及种子的SS含量影响是明显的, 尽管在5%水平上不显著(图 7)。环剥显著降低了当年生和1年生枝的针叶、枝条以及球果的NSC含量, 与不环剥处理相比, 环剥处理的当年生和1年生枝以及球果中NSC含量降低非常明显。在不环剥处理中, 是否去叶对球果的NSC含量影响不显著, 球果的NSC含量分别是当年生和1年生枝的8-10倍, 是当年生针叶的3-5倍, 说明在球果发育过程中需要大量的同化产物。

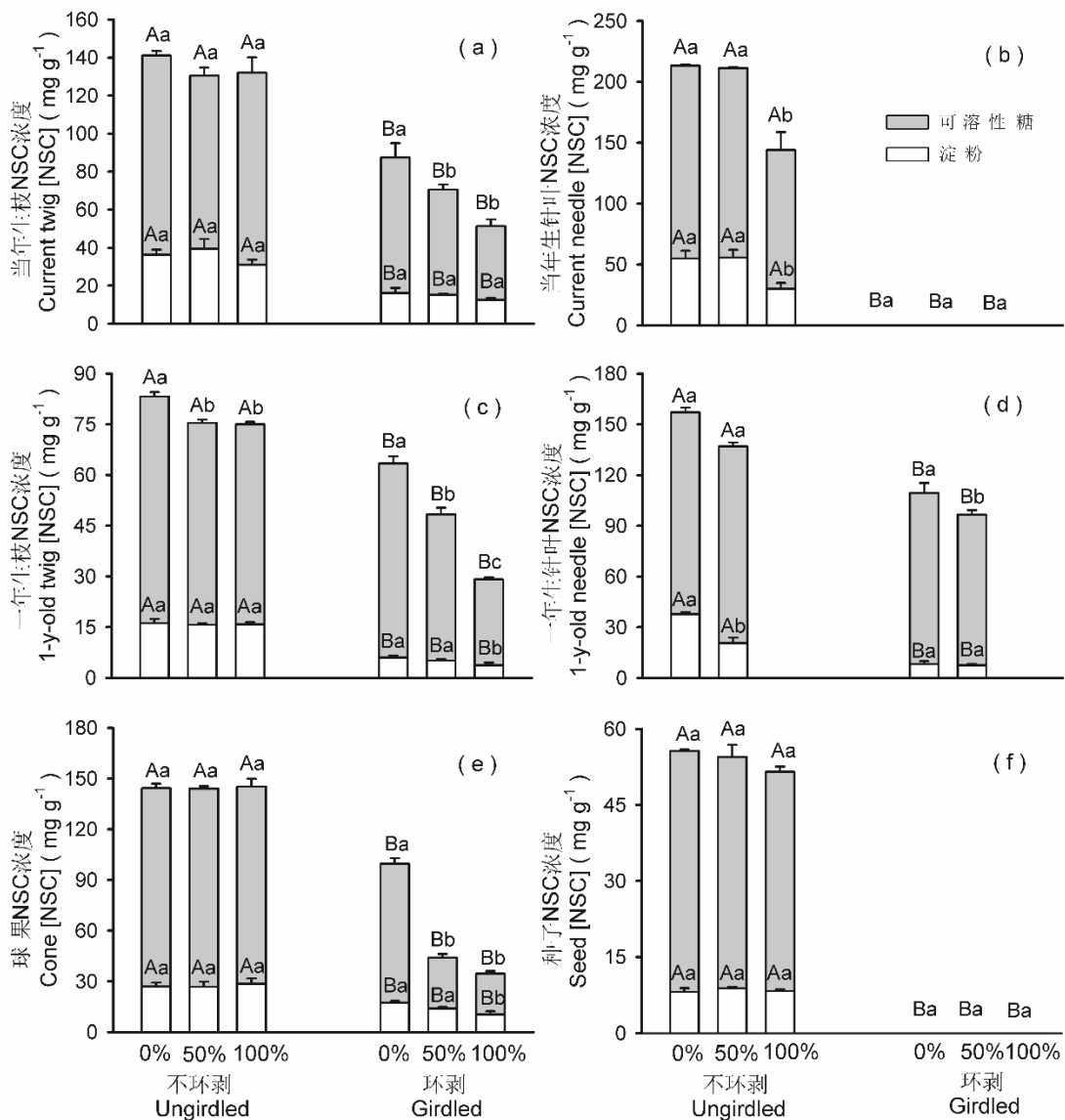


图 6 环剥和去叶对当年生和1年生枝、叶以及球果的[NSC]的影响。

Fig.6 Non-structural carbohydrate concentration ([NSC]) of current and one-year-old *Pinus koraiensis* branches and needles in response to girdling and defoliation treatments.

注：当年生针叶和种子的[NSC]为 0,图中显示平均值±标准误。不同的大写字母表示在一定的去叶强度下环剥处理间的差异显著($p < 0.05$)。不同小写字母表示不同环剥处理的去叶强度间差异显著($p < 0.05$)。

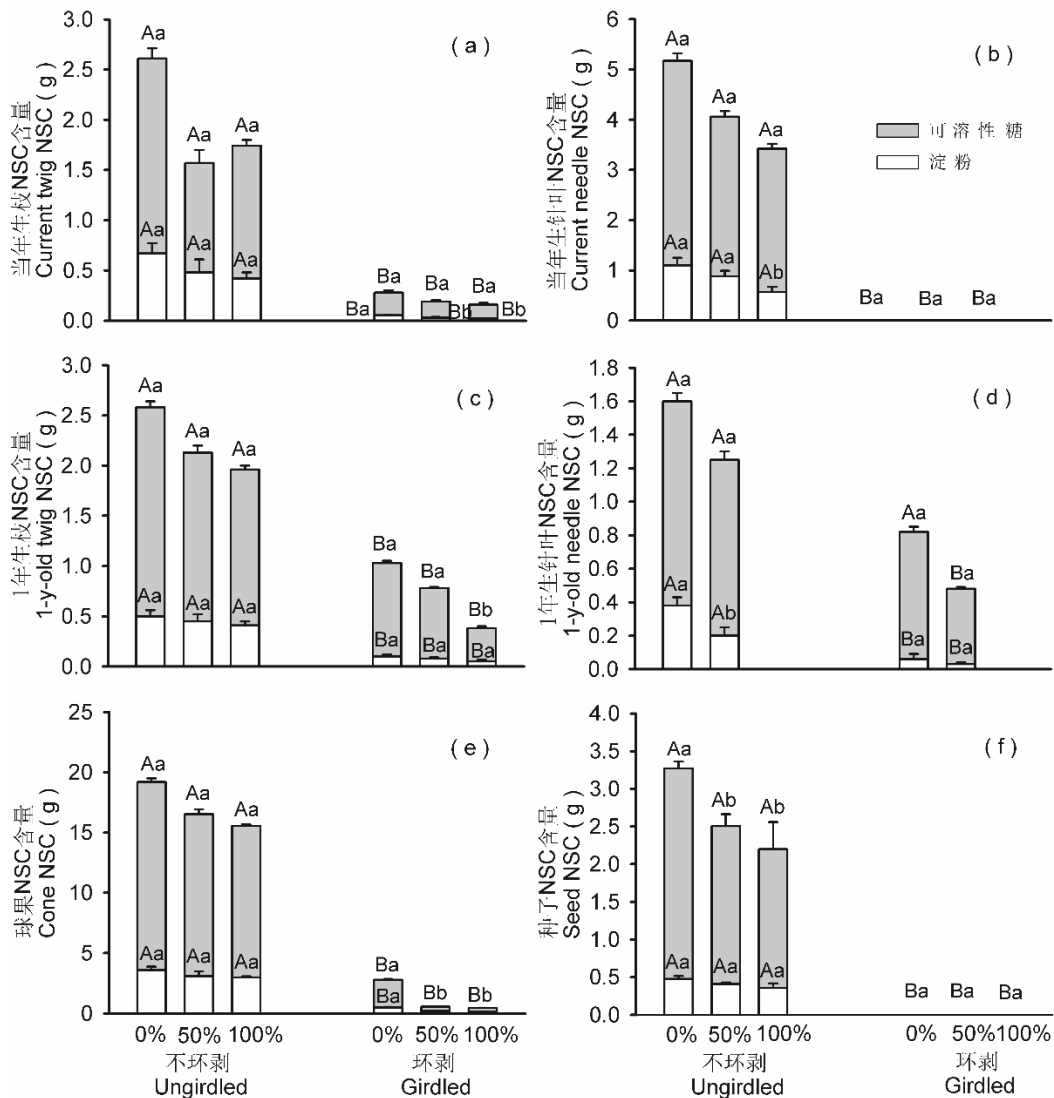


图 7 环剥和去叶对当年生和 1 年生枝以及球果的 NSC 含量的影响。

Fig. 7 Non-structural carbohydrate content (NSC) of current and one-year-old *Pinus koraiensis* branches in response to girdling and defoliation treatments.

注：当年生针叶和种子的[NSC]为 0，图中显示平均值±标准误。不同的大写字母表示在一定的去叶强度下环剥处理间的差异显著($p < 0.05$)。不同小写字母表示不同环剥处理的去叶强度间差异显著($p < 0.05$)。

3.4 光合同化物在不同组织的运输规律

为了评估光合同化物在各组织器官的运输规律以及营养枝的同化产物对生殖枝的贡献，我们分析了营养枝 (^{13}C 标记) 和生殖枝 (未标记) 以及全株各组织中的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。收获时间×环剥处理对营养枝和生殖枝各组织 $\delta^{13}\text{C}$ 值的影响均有统计学意义($p < 0.05$; 图 8 和表 2)。

在分支标记中，未标记的树木的针叶、枝和锥体组织的平均 $\delta^{13}\text{C}$ 范围为-27.4%至-26.6% (见图 8 中虚

线)。收获时间对分支类型和各组织中的 $\delta^{13}\text{C}$ 影响很大。标记后, 营养枝针叶中的 $\delta^{13}\text{C}$ 呈现正值并且在所有组织中最高, 尤其是在脉冲标记结束 4h 后, $\delta^{13}\text{C}$ 开始下降, 说明营养枝固定的同化物向生殖枝转运(图 8a、b)。标记结束 24h, 营养枝针叶的 $\delta^{13}\text{C}$ 降低, 营养枝的枝条 $\delta^{13}\text{C}$ 增加(达到正值), 在环剥处理的生殖枝针叶 $\delta^{13}\text{C}$ 也显著升高(达到正值)(图 1, 8)。在标记 4h 后, 环带处理对各组织的 $\delta^{13}\text{C}$ 的影响不显著, 但在标记 24h 后各组织的 $\delta^{13}\text{C}$ 显著增加(除营养枝针叶外)。此时, 与未环剥处理相比, 环剥处理的营养枝的针叶和枝 $\delta^{13}\text{C}$ 较低, 但生殖枝的针叶、枝和球果中 $\delta^{13}\text{C}$ 较高(图 8)。

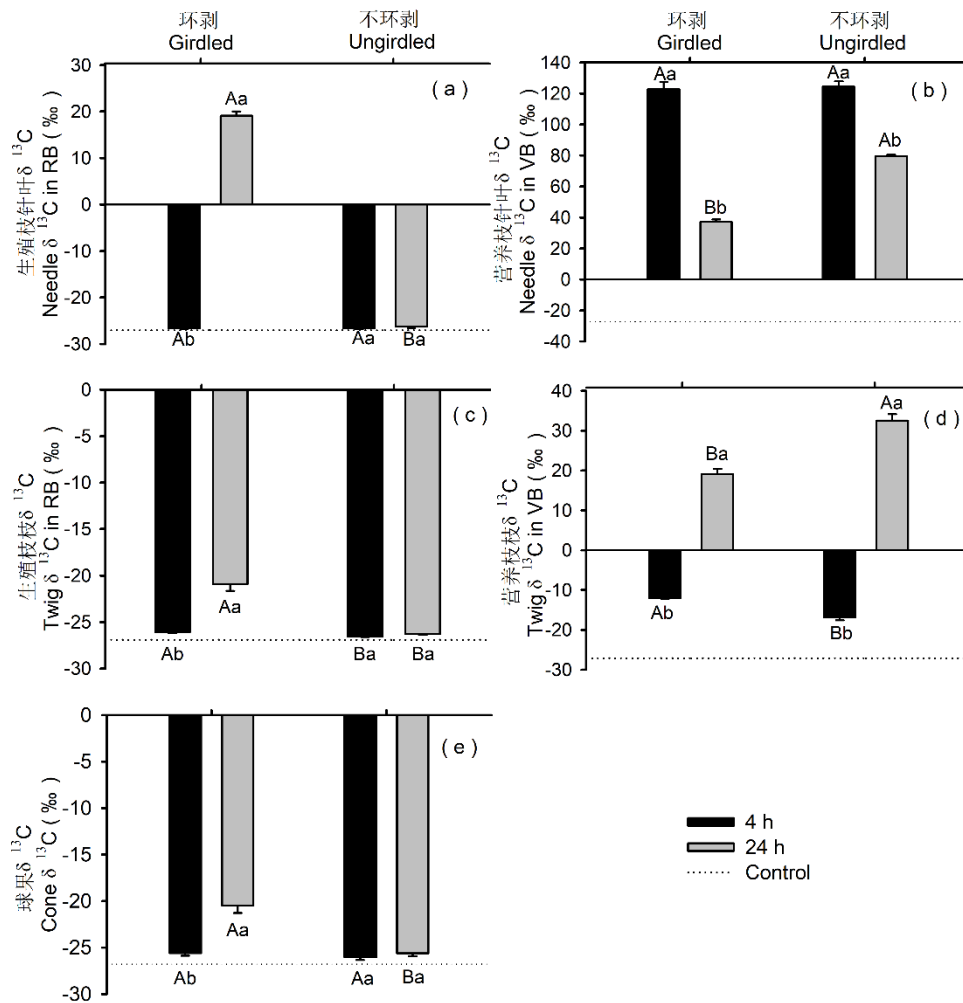


图 8 红松营养枝 $^{13}\text{CO}_2$ 脉冲标记结束 4h 和 24h 后针叶、枝和球果中的 $\delta^{13}\text{C}$ 的变化。

Fig. 8 Carbon isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) in needle (a, b), twig (c, d), and cone (e) tissues after 4 h and 24 h of the $^{13}\text{CO}_2$ labeling pulse to which vegetative branches of *Pinus koraiensis* were subjected.

注: 虚线表示各组织的自然 $\delta^{13}\text{C}$ 值, 图中显示平均值 \pm 标准误。不同的大写字母表示在一定的收获时间内环剥处理间的差异显著($p < 0.05$)。不同小写字母表示不同环剥处理下收获时间之间的差异显著($p < 0.05$)。

表 2 标记结束环剥处理和取样时间对生殖枝和营养枝各组织中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 ^{13}C 同化物的影响。

Table 2 Effect of girdling and time and their interaction on the carbon isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) and ^{13}C assimilation (^{13}C) throughout branch tissues (needles, twigs, and cones) in reproductive and vegetative

branches of *Pinus koraiensis* trees

变异来源 variation source	生殖枝 Reproductive branch						营养枝 Vegetative branch				Undetected (^{13}C)
	T	Ne	C	T	N	C	Tw	N	T	Ne	
	wig	edle	one	wig	eedle	one	ig	eedle	wig	edle	
e	($\delta^{13}\text{C}$)	($\delta^{13}\text{C}$)	($\delta^{13}\text{C}$)	(^{13}C)	(^{13}C)	(^{13}C)	($\delta^{13}\text{C}$)	($\delta^{13}\text{C}$)	(^{13}C)	(^{13}C)	
环剥	5.832	21.0084	1.411	6.473	5.3164	3.656	14.11	5.262	0.9	0.207	30.94
Girdling	*	**	**	**	*	*	**	*	n	ns	
时间	5.000	21.6210	3.526	3.678	5.7876	1.961	12.5796	4.5976	4.59	28.824	33.47
Time	*	**	**	**	*	*	**	*	*	**	
Girdling × Time	4.094	20.9411	3.475	3.431	5.5159	2.269	64.73	4.472	1.134	13.44	0.48
Time	*	**	**	**	*	*	**	*	*	*	

3.5 光合同化物在不同组织的运输规律

相对于固定的 ^{13}C -光合同化物总量，在标记结束后 4h， ^{13}C -光合同化物在营养枝（标记）中的分配达到最大值，在环剥和未环剥处理的分支中分别为 93.8% 和 95.5%（图 9），其中营养枝针叶的固定的 ^{13}C -光合同化物的比例最大（环剥和未环剥处理的营养枝针叶中分别为 77.1% 和 86.2%）。随着标记时间的延长，营养枝中的 ^{13}C -光合同化物逐渐减少，在标记结束后 24h，环剥和未环剥处理的营养枝枝条中 ^{13}C -光合同化物分别占同化物总量的 54.6% 和 92.2%（图 9）。未环剥处理的营养枝针叶的 ^{13}C -光合同化物显著下降，枝条同化物增加，其他各组织的分配与标记后 4h 相似，但环剥处理的 ^{13}C -光合同化物分配于标记后 4h 显著不同，在环剥处理的营养枝的 ^{13}C -光合同化物向生殖枝的枝条、针叶和球果中分别分配了 14.5%、17.2% 和 13.7%。

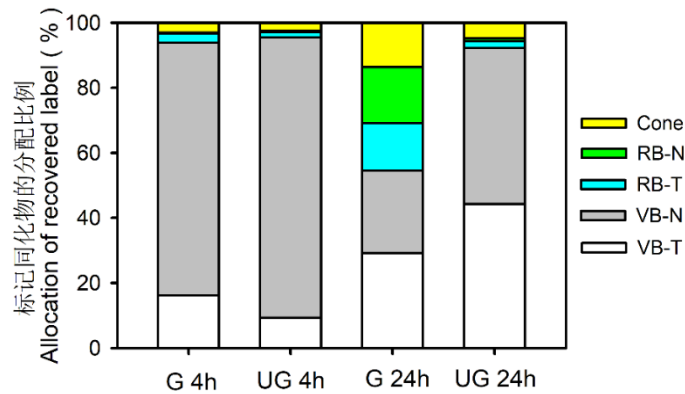


图9 红松营养枝 $^{13}\text{CO}_2$ 脉冲标记结束 4h 和 24h 后 ^{13}C 同化物在两种枝型
针叶、枝和球果中的分配率。

Fig. 9 Allocation of ^{13}C photoassimilates throughout tissues (needles, twigs, and cones) of vegetative (VB) and reproductive (RB) branches after 4 h and 24 h of ^{13}C pulse labeling in VB of *Pinus koraiensis*.

4 讨论

4.1 环剥和去叶对红松生长的影响

大量的研究表明，当分支储存的同化物和当前的光合同化物能够维持自身生长、繁殖和代谢对碳素的需求时，枝条被认为是 C 自给的^[24, 25, 50]。Hoch 等^[24]通过环剥和去叶处理组合研究发现欧洲鹅耳枥 (*Carpinus betulus*)、阔叶槲 (*Tilia platyphyllos*) 和欧洲山毛榉 (*Fagus sylvatica*) 三个被子植物的枝条均能够 C 自给，然而也有学者发现山茶花 (*Camellia sasanqua*)^[27]和欧洲榛子 (*Corylus avellana*)^[51]等树种的枝条是需要分支间的养分输入。我们的研究表明红松的生殖枝是不能够 C 自给的，生殖枝的生长和球果发育需要大量的碳输入。在未环剥处理中，去叶对整个枝条的生长和球果发育几乎没有影响，随着去叶强度的增加，当年生枝的针叶数量、枝长和基径以及各器官的生物量均呈现下降趋势，但去叶各处理间的差异不显著 (图 2, 3 和 5)，另外，去叶没有导致当年生和球果死亡。因此，生殖枝 1 年生针叶的光合作用对枝条生长和球果发育的作用是有限的，邻近枝条或者茎干中储存的碳对生殖枝生长发育有重要的作用，这在日本梨 (*Pyrus pyrifolia*)^[52]和欧洲榛子^[51]等经济树种中已有报道。去叶后导致的 C 短缺可能通过在枝条木质组织中储存的光合同化物、发育的绿色生殖结构或者落叶后新长出来的针叶进行光合作用来补充 C 源^[53-55]。然而，环剥对分支的发育有显著影响，这也进一步支持了生殖枝生长发育需要大量的养分输入。在环剥处理中，无论去叶强度如何，环剥阻断了韧皮部的养分运输，进而导致生殖枝的当年生针叶较少，球果和分枝几乎全部死亡，生殖枝的生长和生物量都显著降低。尽管，环剥对生殖枝的影响会随着去叶强度的增加而加剧，但是与环剥相比，去叶的影响是微不足道的。因为在环剥处理中枝条和球果的存活率为 0，这说明由于碳水化合物的缺乏导致枝条死亡，在开心果 (*Pistacia vera*)^[17]和咖啡 (*Coffea arabica*)^[56]的研究中也发现类似的结论。总之，生殖枝对环剥和去叶处理的响应表明，生殖枝自身存储的 C 以及当前光合同化物不足以支持红松生殖枝生长和球果发育，需要输入碳水化合物维持其生长发育，我们之前的研究也证明的这一观点^[57, 58]。

4.2 环剥和去叶对 NSC 浓度的影响

非结构性碳水化合物是当树木中碳水化合物积累过剩时的暂存储存，是树木生长代谢过程中的重要供应能量的主要来源，其浓度和含量的大小通常可以反应植物整体的 C 供需关系。当 C 的供需关系在时间或者

空间发生改变时, 树木会通过重新动员整个器官存储的 C 来满足 C 库的需求。很多研究报道在结实大时, 从花原基的分化到种子发育成熟, 大量的 NSC 被用于繁殖过程^[18, 26, 59, 60]。在我们的研究中, 环剥导致针叶、当年生和 1 年生枝、球果和种子的[NSC]显著降低, 尽管去叶对[NSC]的影响较小, 但是在去叶后, 环剥处理的针叶、枝条以及球果中的[NSC]降低的更加显著(图 6), 这也进一步证明红松生殖枝自身储存的同化物和针叶当前的光合同化物不能满足球果和枝条发育的需求, 需要从其他组织输入碳水化合物。在本研究中, 淀粉并不是引起[NSC]降低的唯一的来源, 淀粉是植物长期的储存物质, 环剥后球果发育和枝条的生长需要大量的碳水化合物, 由于针叶的减少导致光合产物供应不足, 进而导致碳水化合物的减少, 这可能说明淀粉水解后维持[SS]进而维持树木的代谢活动^[31, 61]。环剥和去叶联合作用后, 既阻断了外部碳水化合物的输入也使当前的光合产物减少, 球果发育和枝条生长只能消耗自身贮藏的 NSC, 因而引起枝条的死亡。去叶引起[SS]的浓度降低可能是在红松 C 增加受限期间存在较小的 SS 缓冲池, 减小[NSC]库的急剧降低。因此, 去叶对整个采样组织的体积生长和生物量没有显著影响, 仅对[NSC]的较强的影响, 这也表明当前的 NSC 优先用于枝条的生长而不是储存。特别是在环剥处理中, 球果的[NSC]急剧减少, 而针叶和枝条的[NSC]的减小相对有限, 这表明在资源受限时, 植物将减少碳水化合物在生殖器官的分配, 而将资源优先分配用于生长。在本研究中, 环剥导致韧皮部损害, 并阻断外来碳水化合物的输入, 球果和枝条生长耗尽自身贮藏的 NSC 库, 进而导致枝条枯死。尽管如此, C 饥饿可能并不是引起枝条和球果死亡的原因, 因为在环剥枝条中 NSC 库急剧减小但并没有完全耗尽(图 6 和图 7)。这可能原因: 1) 环剥降低木质部的栓塞修复能力, 进而降低导管对水分的运输能力, 从而导致枝条中的水分含量降低, 进而会造成 C 短缺, 这可能加剧了枝条的死亡^[62]。2) 枝条中用于维持生命活动的 NSC 库不能被移动, 例如在 10 中温带树种的非功能性芯材解剖结构中发现在已经死亡的器官中的 NSC 也没有完全被消耗^[63]。

4.3 红松光合同化物的运输分配特征

同位素示踪标记技术被广泛应用到研究树木器官之间的 C 运转并且有助于我们了解树木 C 运输分配特征^[64]。¹³CO₂ 已经被广泛用在测试 ¹³C-同化物在相邻分支之间易位的研究中, 很多研究中通过未在标记枝邻近的生殖枝检测到 ¹³C 富集表明西伯利亚桤木 (*Alnus hirsuta* var. *sibirica*)、欧洲鹅耳枥(*Carpinus betulus* L.)和桃 (*Prunus persica*) 分支具有高度的 C 自给^[41, 50, 65]。本研究为了便于在野外人工林中进行原位同位素示踪, 在实验 2 中, 我们选择相对较矮且已经处于结实期的幼树进行分支和全株标记, 并在种子养分积累最大和籽粒灌浆的球果膨大期, 将营养枝暴露在 ¹³CO₂ 中, 通过这种方法, 保证生殖枝的 C 库最大, 以确保生殖枝和营养枝对 NSC 的强烈竞争^[66, 67]。在全株标记结束后 4h。在红松的根系中已经检测到标记的 ¹³C 富集, 由此可知, 针叶固定的 ¹³C-光合同化物已经由源叶运输到根系, 且光合同化物的运输速率大于 0.1m/h, 这与前人在欧洲落叶松 (*Larix decidua*) ^[68]和黑皮云杉 (*Picea mariana*) ^[69]的研究结果相似。而在分支标记中, 在标记结束 24h, 在环剥处理中生殖枝的针叶、枝和球果中均有显著的 ¹³C 富集, 这说明 C 从邻近的生殖枝运输到生殖枝中, 这也进一步支持我们在实验 1 中得到生殖枝不能 C 自给, 球果和枝条的发育需要 C 的输入。与我们研究结果类似, 在玉玲花 (*Styrax obassia*), 山毛榉 (*Fagus crenata*), 梨 (*Pyrus spp*) 和板栗 (*Castanea mollissima*) 的果实和分枝中也观察到营养枝的标记同化物在相邻分支之间的易位^[46, 52, 70, 71]。

我们通过环剥技术改变库源关系和不同的收获时间(4h 和 24h)来评估红松的 C 分配模式。我们的研究结果显示在脉冲标记 4h 后, 大部分的 ¹³C 同化物保留在标记枝中 (> 95%), 而主要分配在针叶中 (77-8

6%), 这与是否环剥无关(图 3-9)。而在标记后 24h, 环剥处理显著影响 ^{13}C 同化物的分配。在未环剥处理的枝条中, ^{13}C 同化物最大比例保留在营养枝内(针叶和枝条分别为 50%和 44%), 而在生殖枝中仅发现少量 ^{13}C 同化物; 相反, 在环剥处理中, 在生殖枝中(针叶, 枝条和球果中分别为 17%, 14% 和 13%) 检测到大量的 ^{13}C 同化物富集, 环剥处理间的差异也突出了碳源汇关系在碳分配模式中的作用。因为每个生殖枝连接着 4-6 个营养枝, 我们假设环剥阻断了光和产物从其他分支向生殖枝运输, 因此, 这也加剧了光合产物只能从标记的营养枝向生殖枝运输。根据 Münch 提出的压力流学说认为同化物在韧皮部的流动方向是由韧皮部筛管两端的渗透压力梯度所驱动的^[72]。因此, 营养枝和生殖枝的[NSC]的差异是由于韧皮部的[NSC]浓度梯度差进行加载和卸载^[72]。因此, 营养枝和生殖枝之间[NSC]较大的差异可能是分别由于增强韧皮部的加载和卸载。在碧桃^[41]和油茶^[27]的同位素标记实验中也发现与我们的相似结果, 这表明 C 库强度在研究同位素 C 易位标记试验中起着主导因素。通过落叶、摘果或环剥等技术手段改变库源关系, ^{13}C 在标记枝和未标记枝条的不同组织中的富集量有很大变化, 这表明分支 C 的自主程度不仅受物种特异性状的影响, 而且还受环境或试验因素的高度影响。

5 结论

环剥处理显著减小了生殖枝针叶和枝条生长以及生物量和 NSC 浓度的积累, 同时也影响了球果的发育。去叶处理对生长、生物量以及非结构性碳水化合物浓度的影响随着去叶强度的增加而增大, 但相对比环剥处理, 其对枝条生长和球果发育的影响是有限的。这说明环剥是枝条和球果生长发育的主要限制因子。无论是否去叶, 环剥处理导致球果败育、枝条停止生长或者死亡, 这也表明生殖枝自身的光合产物不能满足枝条和球果的生长发育, 需要外来光合产物的输入。通过采用 $^{13}\text{CO}_2$ 稳定同位素示踪技术分别对营养枝进行标记 4h 和 24h 后, 在未标记的生殖枝中分别检测到 4.5%和 45.4%的 ^{13}C 同化物的富集, 这一结果进一步支持和验证了我们在实验 1 中得到结论即: 红松的生殖枝不是碳自给的, 枝条和球果的生长发育需要额外的碳源输入。

参 考 文 献

- [1] 苏智先, 张素兰, 钟章成. 植物生殖生态学研究进展[J]. 生态学杂志, 1998(01):40-47+65.
- [2] 孙凡, 钟章成. 四川大头茶繁殖分配及其环境适应性的关联度研究[J]. 植物生态学报, 1997(01):46-54.
- [3] 王灵艳. 湿地植物燕子花 (*Iris laevigata*) 的繁殖对策研究[D]. 东北师范大学, 2020.
- [4] 陈海军. 荒漠草原主要植物种群繁殖性状及化学计量特征对载畜率的响应[D]. 内蒙古农业大学, 2011.
- [5] Churkina G, Schimel D, Braswell BH, Xiao X. Spatial analysis of growing season length control over net ecosystem exchange[J]. *Global Change Biology*, 2005, 11(10):1777-1787.
- [6] 于贵瑞, 王秋凤等. 植物光合、蒸腾与水分利用的生理生态学[M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [7] Makino A. Photosynthesis, grain yield, and nitrogen utilization in rice and wheat[J]. *Plant physiology*, 2011, 155(1):125-129.
- [8] Adams HD, Germino MJ, Breshears DD, Barron-Gafford GA, Guardiola-Claramonte M, Zou CB, Huxman TE. Nonstructural leaf carbohydrate dynamics of *Pinus edulis* during drought-induced tree mortality reveal role for carbon metabolism in mortality mechanism[J]. *New Phytologist*, 2013, 197(4):1142-1151.
- [9] O'Brien MJ, Leuzinger S, Philipson CD, Tay J, Hector A. Drought survival of tropical tree seedlings enhanced by non-structural

- carbohydrate levels[J]. *Nature climate change*, 2014, 4(8):710-714.
- [10] Myers JA, Kitajima K. Carbohydrate storage enhances seedling shade and stress tolerance in a neotropical forest[J]. *Journal of Ecology*, 2007, 95(2):383-395.
- [11] 王娟, 张春雨, 赵秀海, 邹璐, 姜庆彪, 丁胜建. 雌雄异株植物鼠李的生殖分配[J]. *生态学报*, 2011, 31(21):6371-6377.
- [12] Obeso JR. The costs of reproduction in plants[J]. *New Phytologist*, 2002, 155(3):321-348.
- [13] Roff D. The evolution of life histories: Theory and analysis[M]. New York: Chapman and Hall, 1992.
- [14] Stearns S. The Evolution of Life Histories[M]. Oxford: Oxford University Press, 1992.
- [15] Zhang DY, Jiang XH. Size-dependent resource allocation and sex allocation in herbaceous perennial plants[J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2002, 15(1):74-83.
- [16] Pesendorfer MB, Koenig WD, Pearse IS, Knops JM, Funk KA. Individual resource limitation combined with population-wide pollen availability drives mast seeding in the valley oak (*Quercus lobata*)[J]. *Journal of Ecology*, 2016, 104(3):637-645.
- [17] Elloumi O, Ghrab M, Mimoun MB. Effects of flower buds removal on seasonal starch storage and mobilization in fruiting and non-fruiting branches of pistachio trees cv. Mateur under dry and warm climate[J]. *Scientia Horticulturae*, 2014, 172:19-25.
- [18] Pearse IS, Koenig WD, Kelly D. Mechanisms of mast seeding: resources, weather, cues, and selection[J]. *New Phytologist*, 2016, 212(3):546-562.
- [19] Lough TJ, Lucas WJ. Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57:203-232.
- [20] Thompson G, Schulz A. Macromolecular trafficking in the phloem[J]. *Trends in Plant Science*, 1999, 4(9):354-360.
- [21] Gifford RM, Evans L. Photosynthesis, carbon partitioning, and yield[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1981, 32(1):485-509.
- [22] Watson M. Integrated physiological units in plants[J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 1986, 1(5):119-123.
- [23] Lacoïnte A, Deleens E, Ameglio T, Saint-Joanis B, Lelarge C, Vandame M, Song G, Daudet FA. Testing the branch autonomy theory: a $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$ double-labelling experiment on differentially shaded branches[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2004, 27(9):1159-1168.
- [24] Hoch G. Fruit-bearing branchlets are carbon autonomous in mature broad-leaved temperate forest trees[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2005, 28(5):651-659.
- [25] Obeso J. Effects of defoliation and girdling on fruit production in *Ilex aquifolium*[J]. *Functional Ecology*, 1998, 12(3):486-491.
- [26] Miyazaki Y. Dynamics of internal carbon resources during mast seeding behavior in trees[J]. *Ecological research*, 2013, 28(2):143-150.
- [27] Oitate H, Noguchi K, Sone K, Terashima I, Suzuki AA. Patterns of photoassimilate translocation to reproductive shoots from adjacent shoots in *Camelliasasanqua* by manipulation of sink-source balance between the shoots[J]. *Journal of Plant Research*, 2011, 124(1):131-136.
- [28] Li Y, Yang D, Sun S, Gao X. Effects of twig size on biomass allocation within twigs and on Lamina area supporting efficiency in *Rhododendron*: allometric scaling analyses[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2008, 32(5):1175.
- [29] Millard P, Grelet G. Nitrogen storage and remobilization by trees: ecophysiological relevance in a changing world[J]. *Tree physiology*, 2010, 30(9):1083-1095.
- [30] Asao S, Ryan MG. Carbohydrate regulation of photosynthesis and respiration from branch girdling in four species of wet tropical

- rain forest trees[J]. *Tree Physiology*, 2015, 35(6):608-620.
- [31] Miranda JC, Rodríguez-Calcerrada J, Pita P, Saurer M, Oleksyn J, Gil L. Carbohydrate dynamics in a resprouting species after severe aboveground perturbations[J]. *European Journal of Forest Research*, 2020, 139:841-852.
- [32] Piper FI, Gundale MJ, Fajardo A. Extreme defoliation reduces tree growth but not C and N storage in a winter-deciduous species[J]. *Annals of Botany*, 2015, 115(7):1093-1103.
- [33] Barry K, Quentin A, Eyles A, Pinkard E. Consequences of resource limitation for recovery from repeated defoliation in *Eucalyptus globulus* Labillardière[J]. *Tree physiology*, 2012, 32(1):24-35.
- [34] Ge ZM, Zhou X, Kellomäki S, Biasi C, Wang KY, Peltola H, Martikainen PJ. Carbon assimilation and allocation (^{13}C labeling) in a boreal perennial grass (*Phalaris arundinacea*) subjected to elevated temperature and CO_2 through a growing season[J]. *Environmental and experimental botany*, 2012, 75:150-158.
- [35] Kagawa A, Sugimoto A, Maximov TC. Seasonal course of translocation, storage and remobilization of ^{13}C pulse-labeled photoassimilate in naturally growing *Larix gmelinii* saplings[J]. *New Phytologist*, 2006, 171(4):793-804.
- [36] Blessing CH, Werner RA, Siegwolf R, Buchmann N. Allocation dynamics of recently fixed carbon in beech saplings in response to increased temperatures and drought[J]. *Tree physiology*, 2015, 35(6):585-598.
- [37] Gavrichkova O, Liberati D, de Dato G, Abou Jaoude R, Brugnoli E, de Angelis P, Guidolotti G, Pausch J, Spohn M, Tian J et al. Effects of rain shortage on carbon allocation, pools and fluxes in a Mediterranean shrub ecosystem—a ^{13}C labelling field study[J]. *Sci Total Environ*, 2018, 627:1242-1252.
- [38] Streit K, Rinne KT, Hagedorn F, Dawes MA, Saurer M, Hoch G, Werner RA, Buchmann N, Siegwolf RT. Tracing fresh assimilates through *Larix decidua* exposed to elevated CO_2 and soil warming at the alpine treeline using compound-specific stable isotope analysis[J]. *New Phytologist*, 2013, 197(3):838-849.
- [39] Sha J, Wang F, Xu X, Chen Q, Zhu Z, Jiang Y, Ge S. Studies on the translocation characteristics of ^{13}C -photoassimilates to fruit during the fruit development stage in ‘Fuji’ apple[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 154:636-645.
- [40] Moreira RA, Fernandes DR, da Cruz MdCM, Lima JE, de Oliveira AF. Water restriction, girdling and paclobutrazol on flowering and production of olive cultivars[J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 200:197-204.
- [41] Volpe G, Lo Bianco R, Rieger M. Carbon autonomy of peach shoots determined by ^{13}C -photoassimilate transport[J]. *Tree physiology*, 2008, 28(12):1805-1812.
- [42] Zyryanova OA, Yaborov VT, Abaimov AP, Koike T, Sasa K, Terazawa M. Problems in the maintenance and sustainable use of forest resources in Priamurye in the Russian Far East[J]. *Eurasian Journal of Forest Research*, 2005, 8(1):53-64.
- [43] Wu H, Yin D, Salomón RL, Rodríguez-Calcerrada J, Zhang J, Zhang P, Shen H. Cone-Bearing Branches of *Pinus koraiensis* Are Not Carbon Autonomous during Cone Development[J]. *Forests*, 2021, 12(9):1257.
- [44] Zhang P, Liu C, HL S. Edible nut pine trees and their utilization worldwide[J]. *World Forestry Research*, 2017(1):3.
- [45] Nergiz C, Dönmez I. Chemical composition and nutritive value of *Pinus pinea* L. seeds[J]. *Food Chemistry*, 2004, 86(3):365-368.
- [46] Miyazaki Y, Hiura T, Funada R. Allocation of photo-assimilated ^{13}C from reproductive and non-reproductive shoots to fruits in *Styrax obassia*[J]. *Plant Species Biology*, 2007, 22(1):53-57.
- [47] Salomon RL, De Roo L, Bode S, Boeckx P, Steppe K. Efflux and assimilation of xylem-transported CO_2 in stems and leaves of tree species with different wood anatomy[J]. *Plant Cell and Environment*, 2021, 44(11):3494-3508.

- [48] Mei L, Xiong Y, Gu J, Wang Z, Guo D. Whole-tree dynamics of non-structural carbohydrate and nitrogen pools across different seasons and in response to girdling in two temperate trees[J]. *Oecologia*, 2015, 177(2):333-344.
- [49] Zhang K, Li Z, Li Y, Li Y, Kong D, Wu R. Carbohydrate accumulation may be the proximate trigger of anthocyanin biosynthesis under autumn conditions in *Begonia semperflorens*[J]. *Plant Biology*, 2013, 15(6):991-1000.
- [50] Hasegawa S, Koba K, Tayasu I, Takeda H, Haga H. Carbon autonomy of reproductive shoots of Siberian alder (*Alnus hirsuta* var. *sibirica*)[J]. *Journal of Plant Research*, 2003, 116(3):183-188.
- [51] Pasqualotto G, Carraro V, De Gregorio T, Huerta E, Anfodillo T. Girdling of fruit-bearing branches of *Corylus avellana* reduces seed mass while defoliation does not[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 255:37-43.
- [52] Zhang C, Tanabe K. Partitioning of ¹³C-photosynthates from different current shoots neighboring with fruiting spur in later-maturing Japanese pear during the period of rapid fruit growth[J]. *Scientia Horticulturae*, 2008, 117(2):142-150.
- [53] De Roo L, Salomon RL, Oleksyn J, Steppe K. Woody tissue photosynthesis delays drought stress in *Populus tremula* trees and maintains starch reserves in branch xylem tissues[J]. *New Phytologist*, 2020, 228(1):70-81.
- [54] Żywiec M, Zielonka T. Does a heavy fruit crop reduce the tree ring increment? Results from a 12-year study in a subalpine zone[J]. *Trees*, 2013, 27(5):1365-1373.
- [55] Ávila E, Herrera A, Tezara W. Contribution of stem CO₂ fixation to whole-plant carbon balance in nonsucculent species[J]. *Photosynthetica*, 2014, 52(1):3-15.
- [56] Vaast P, Angrand J, Franck N, Dauzat J, Génard M. Fruit load and branch ring-barking affect carbon allocation and photosynthesis of leaf and fruit of *Coffea arabica* in the field[J]. *Tree physiology*, 2005, 25(6):753-760.
- [57] Yin D, Wu H, Zhang J, Ge W, Zhou Z, Shen H. Effects of girdling and defoliation on the growth of female cones and branches and nutrient content in different tissues and organs of *Pinus koraiensis*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30:3671-3680.
- [58] Zhang J, Yin D. Effects of female cone development on the vegetative growth and biomass accumulation of shoots and needles of *Pinus koraiensis*[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2019, 38(6):1646-1652.
- [59] Hoch G, Siegwolf RT, Keel SG, Körner C, Han Q. Fruit production in three masting tree species does not rely on stored carbon reserves[J]. *Oecologia*, 2013, 171(3):653-662.
- [60] Han Q, Kabeya D. Recent developments in understanding mast seeding in relation to dynamics of carbon and nitrogen resources in temperate trees[J]. *Ecological research*, 2017, 32(6):771-778.
- [61] Martínez-Vilalta J, Sala A, Asensio D, Galiano L, Hoch G, Palacio S, Piper FI, Lloret F. Dynamics of non-structural carbohydrates in terrestrial plants: a global synthesis[J]. *Ecological Monographs*, 2016, 86(4):495-516.
- [62] Christman MA, Sperry JS, Smith DD. Rare pits, large vessels and extreme vulnerability to cavitation in a ring-porous tree species[J]. *New Phytologist*, 2012, 193(3):713-720.
- [63] Hoch G, Richter A, Körner C. Non-structural carbon compounds in temperate forest trees[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2003, 26(7):1067-1081.
- [64] Epron D, Bahn M, Derrien D, Lattanzi FA, Pumpanen J, Gessler A, Hogberg P, Maillard P, Dannoura M, Gerant D. Pulse-labelling trees to study carbon allocation dynamics: a review of methods, current knowledge and future prospects[J]. *Tree Physiology*, 2012, 32(6):776-798.
- [65] Hoch G, Keel SG. ¹³C labelling reveals different contributions of photoassimilates from infructescences for fruiting in two temperate forest tree species[J]. *Plant Biology*, 2006, 8(5):606-614.

- [66] Crone EE, Rapp JM. Resource depletion, pollen coupling, and the ecology of mast seeding[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2014, 1322(1):21-34.
- [67] Spann TM, Beede RH, DeJong TM. Seasonal carbohydrate storage and mobilization in bearing and non-bearing pistachio (*Pistacia vera*) trees[J]. *Tree physiology*, 2008, 28(2):207-213.
- [68] Schneider A, Schmitz K. Seasonal course of translocation and distribution of ¹⁴C-labelled photoassimilate in young trees of *Larix decidua* Mill[J]. *Trees*, 1989, 3(4):185-191.
- [69] Thompson R, Fensom D, Anderson R, Drouin R, Leiper W. Translocation of ¹³C from leaves of *Helianthus*, *Heracleum*, *Nymphoides*, *Ipomoea*, *Tropaeolum*, *Zea*, *Fraxinus*, *Ulmus*, *Picea*, and *Pinus*: comparative shapes and some fine structure profiles[J]. *Canadian Journal of Botany*, 1979, 57(8):845-863.
- [70] Han Q, Kagawa A, Kabeya D, Inagaki Y. Reproduction-related variation in carbon allocation to woody tissues in *Fagus crenata* using a natural ¹³C approach[J]. *Tree physiology*, 2016, 36(11):1343-1352.
- [71] Xie P, Guo S. Patterns of photoassimilate translocation between shoots in Chinese chestnut trees during flowering and fruit growth[J]. *Australian Forestry*, 2015, 78(2):86-91.
- [72] Knoblauch M, Knoblauch J, Mullendore DL, Savage JA, Babst BA, Beecher SD, Dodgen AC, Jensen KH, Holbrook NM. Testing the Münch hypothesis of long distance phloem transport in plants[J]. *Elife*, 2016, 5:e15341.