

施钾量对冬油菜角果皮光合作用的影响机制

胡文诗^{1,2}, 陆志峰³, 孟凡金^{1,2}, 任涛^{1,2,*}, 鲁剑巍^{1,2}

¹华中农业大学资源与环境学院, 武汉430070

²农业农村部长江中下游耕地保育重点实验室, 武汉430070

³南京农业大学资源与环境科学学院, 南京210095

摘要:角果皮是油菜(*Brassica napus*)生育后期重要的光合器官。为了明确钾素营养对角果皮光合特性的影响及作用机制, 通过田间试验, 研究了不同钾肥用量下油菜角果皮面积、光合特性以及结构特征参数。结果表明, 钾肥施用明显增加油菜角果数; 随施钾量增加, 角果皮长度和面积均明显增加, 进而提高单株角果皮面积。施钾显著提高了角果皮净光合速率, 缺钾下气孔限制、叶肉导度限制和生化限制均显著增加, 其中叶肉导度限制占总限制的48.4%~49.6%。施用钾肥促使中果皮细胞壁变薄, 其细胞及叶绿体面向细胞空隙面积增加, 使得CO₂更容易进入叶绿体中, 降低CO₂传输阻力。综上所述, 施钾一方面增加角果皮的光合面积, 另一方面优化细胞结构, 降低CO₂的传输阻力, 促进光合速率, 从而提高植株生产力, 达到增产目的。

关键词:钾; 油菜; 角果皮; 光合速率; 解剖结构; 光合限制因子

非叶器官的光合作用是植物光合作用的重要补充(Aschan和Pfan 2003)。由于非叶器官的结构与叶片有较大的差异, 因此其光合特性与叶片也明显不同。在谷类作物中, 与旗叶相比, 穗壳具有较高的抗旱能力, 能促进谷物灌浆, 从而促进籽粒的形成(Jia等2015); 玉米(*Zea mays*)的苞叶具有比叶片更高的CO₂饱和点(Pengelly等2011); 棉花(*Gossypium hirsutum*)的棉桃壳和苞叶对强光具有更高的适应能力(张亚黎等2010), 对棉铃进行遮阴, 棉铃减产24.1% (Hu等2012)。由此可见, 非叶器官的光合作用对作物产量形成具有重要意义。

油菜(*Brassica napus*)在生长过程中存在明显的光合器官演替的过程, 终花后油菜叶片大量凋落, 角果皮成为此时最主要的光合器官(Diepenbrock 2000)。研究表明角果期角果层的光合产物占此时期总光合产物的80%~95% (李凤阳等2011), 籽粒产量的60%~70%直接来自于角果皮的光合产物(Bennett等2011; Hua等2012)。角果皮的组织特征与叶片不同, 它由外果皮、中果皮、内果皮和维管束构成。与叶片叶肉细胞相比, 角果皮的中果皮细胞排列更紧密(Lu等2017); 在外果皮上分布着气孔, 与叶片下表皮相比, 气孔密度小, 但是表面积较大(Lu等2017); 绝大部分叶绿体分布在外果皮和表层中果皮, 叶绿体数量少于叶片(Wagstaff等2009)。角果皮的光合特性与叶片可能并不相同,

目前对叶片光合特性的研究较为深入, 而角果皮的光合特性并不明确。

钾是油菜生长发育必需的营养元素之一, 油菜对钾的吸收量可达350~450 kg (K₂O)·hm⁻², 远高于其他矿质营养。作为我国冬油菜的主产区, 长江流域土壤速效钾含量普遍偏低, 合理施用钾肥可使油菜平均增产18.5% (Ren等2013)。与缺钾相比, 合理施用钾肥能增加油菜的角果数和每角粒数, 减少阴角率(刘秀秀等2014), 进而提高油菜的产量。产量主要来源于光合作用的碳固定。研究表明施用钾肥可以显著提高叶片的光合速率, 增加植株生物量(Lu等2016): 一方面施钾调节叶绿体形态, 促进了CO₂从气孔下腔传输到羧化位点(Lu等2016), 另一方面增加了1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, RuBisCO)的含量和活性, 促进CO₂固定(郑炳松等2001)。对于钾又是如何影响角果皮的光合特性从而影响了最终产量, 目前仍不清楚。为此, 开展了不同钾梯度的大田试验, 研究了不同钾营养条件下角果皮光合特性和光合作用限制因子, 利

收稿 2018-10-24 修定 2019-04-10

资助 国家自然科学基金(31672231)、国家重点研发计划项目(2018-YFD0200900)和国家油菜产业技术体系建设专项(CARS-12)。

* 通讯作者(rentao@mail.hzau.edu.cn)。

用解剖结构特征阐明了钾对CO₂传导的影响, 为深入理解钾素调控非叶光合器官光合特性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于2016年9月~2017年5月在湖北省武穴市梅川镇(30°06'46"N 115°36'9"E)开展。供试土壤为片麻岩发育而成的水稻土, 前茬作物为水稻(*Oryza sativa* L.), 耕层土壤基本理化性状为: pH 5.3、有机质31.3 g·kg⁻¹、全氮1.79 g·kg⁻¹、速效磷11.7 mg·kg⁻¹、速效钾34.2 mg·kg⁻¹。根据土壤速效钾养分分级指标, 供试土壤属于钾素缺乏土壤, 不施钾或者钾肥施用不足将严重限制油菜(*Brassica napus* L.)产量(Ren等2013)。在本研究中, 与推荐施肥处理相比, 不施钾和钾肥施用不足油菜产量平均分别降低了30.5%和20.5%。

供试油菜品种为‘华油杂9号’, 为该区域普遍种植的油菜品种。本研究采用育苗移栽的种植方式, 2016年9月21日播种育苗, 11月4日移栽, 密度为112 500株·hm⁻², 2017年5月4日收获, 每个小区单独收获, 晒干后计产。

田间试验采用单因素设计, 共设置3个钾肥梯度, 分别为施钾0、60、120 kg (K₂O)·hm⁻², 记为K0、K60和K120, 分别表示不施钾处理、钾肥施用不足处理和推荐施钾处理。各处理氮、磷和硼肥用量相等, 分别为180 kg (N)·hm⁻²、90 kg (P₂O₅)·hm⁻²和9 kg (硼砂)·hm⁻²。供试肥料为尿素(含N 46%)、过磷酸钙(含P₂O₅ 12%)、氯化钾(含K₂O 60%)、硼砂(含B 11%)。氮肥60%作基肥, 越冬期和抽薹前期分别追施20%, 磷肥、钾肥和硼砂全部作基肥施用。每个处理3次重复, 随机区组排列, 小区面积为20 m²。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 土壤样品采集与测定

油菜基肥施用前, 采用多点采样法采集耕层(0~20 cm)土壤, 风干磨细过筛后按照实验室常规方法测定各项指标(鲍士旦2000): pH值按照水土质量分数比2.5:1用pH计测定, 有机质含量用外加热-重铬酸钾容量法测定, 全氮含量用半微量开氏法-

标准酸滴定测定, 速效磷含量用0.5 mol·L⁻¹ NaHCO₃浸提-钼锑抗比色法测定, 速效钾含量用1 mol·L⁻¹ NH₄OAc浸提-火焰光度法测定。

1.2.2 光合指标的测定与计算

在油菜开花后45 d (2017年4月10日), 随机选取由上至下的第2个分枝上部角果3个, 此时角果长度和宽度均已达到最大, 角果处于最大光合速率时期, 每个小区选择3株油菜用于角果皮光合参数的测定。

饱和光强下气体交换参数和CO₂响应曲线: 使用LI-COR6400XT便携式光合测定系统, 同步测定饱和光强(1 500 μmol·m⁻²·s⁻¹)下各处理油菜角果的净光合速率(*A*)、气孔导度(*g_s*)和胞间CO₂浓度(*C_i*)。叶室内CO₂浓度设定为400 μmol·mol⁻¹, 角果温度和叶室内空气湿度分别控制在25°C和40%~60%, 流速为300 mol·s⁻¹。待角果皮光活化10~20 min稳定后, 记录各气体交换参数。保持上述参数不变, 将CO₂注入系统提供叶室CO₂浓度测量CO₂响应曲线, 设置CO₂浓度梯度为300、200、150、100、50、400、600、800、1 000、1 200和1 500 μmol·mol⁻¹, 待读数稳定后记录各CO₂浓度下气体交换参数; 每个处理3次重复。参考Long和Bernacchi (2003)的方法计算最大羧化速率(*V_{c max}*)和最大电子传递速率(*J_{max}*); 羧化效率(CE)为*C_i*小于200 μmol·mol⁻¹时*A/C_i*曲线拟合线的斜率; 参考Ethier和Livingston (2004)的方法, 利用非直角双曲线模型CO₂响应曲线进行拟合, 计算叶肉导度(*g_m*)。

光合限制值定量分析: 根据Grassi和Magnani (2005)的研究, 饱和光强下*A*的限制因子主要分为气孔限制(*S_L*)、叶肉导度限制(*MC_L*)和生化限制(*B_L*), 主要受气孔对CO₂的传导能力(*g_{sc}*=*g_s*/1.6)、*g_m*和*V_{c max}*影响, *A*的微分可表示为:

$$\frac{dA}{A} = l_s \cdot \frac{dg_{sc}}{g_{sc}} + l_{mc} \cdot \frac{dg_m}{g_m} + l_b \cdot \frac{dV_{c \max}}{V_{c \max}}$$

其中,

$$l_s = \frac{g_{tot}/g_{sc} \cdot \partial A / \partial C_c}{g_{tot} + \partial A / \partial C_c}$$

$$l_{mc} = \frac{g_{tot}/g_m \cdot \partial A / \partial C_c}{g_{tot} + \partial A / \partial C_c}$$

$$l_b = \frac{g_{tot}}{g_{tot} + \partial A / \partial C_c}$$

g_{tot} 表示叶片对 CO_2 的总导度,根据 $\frac{1}{g_{\text{tot}}} = \frac{1}{g_{\text{sc}}} + \frac{1}{g_{\text{m}}}$ 计算可得, $\partial A/\partial C_c$ 是羧化位点叶绿体内 CO_2 浓度(C_c)为 50~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 时 A/C_c 曲线拟合线的斜率,则:

$$S_L = l_s \cdot \frac{g_{\text{sc r}} - g_{\text{sc}}}{g_{\text{sc r}}} \cdot 100$$

$$\text{MC}_L = l_{\text{mc}} \cdot \frac{g_{\text{m r}} - g_{\text{m}}}{g_{\text{m r}}} \cdot 100$$

$$B_L = l_b \cdot \frac{V_{c \text{ max r}} - V_{c \text{ max}}}{V_{c \text{ max r}}} \cdot 100$$

其中 $g_{\text{sc r}}$ 、 $g_{\text{m r}}$ 和 $V_{c \text{ max r}}$ 分别为选定作为参比的最优处理 g_{sc} 、 g_{m} 和 $V_{c \text{ max}}$ 值。

1.2.3 角果皮解剖结构参数

选择光合测定后的角果制作石蜡切片。将角果皮切成5 mm×2 mm的碎片,利用系列浓度的乙醇进行脱水,然后进行渗透和包埋。利用切片机将其切成5 μm 薄片,经番红固绿染色后洗去多余染液,再利用显微镜400倍视野进行观察并拍照。另取角果皮切成1 mm×2 mm的块状用于观察细胞壁和叶绿体等超微结构。角果皮碎片放入体积分数为2.5%的戊二醛溶液中,在4°C条件下固定一周。样品经磷酸缓冲液漂洗4次后,转入质量分数为1%、pH 7.2的钨酸中,在4°C条件下固定4 h,再用磷酸缓冲液冲洗3次,经乙醇逐级脱水后,转入Epon 812环氧树脂内浸透包埋。用Leica EMUC6型超薄切片机切片,经醋酸双氧铀和柠檬酸铅对切片双重染色后,在日产JEM-1200 EXII型透射电镜下观察、拍照。采用Image-Pro软件提取数据。每个处理取角果皮3个作为样本。

叶绿体表面积与体积的计算公式分别为:

$$S_{\text{chl}} = 4 \times \pi \times \sqrt[3]{a^2 \times b^4}$$

$$V_{\text{chl}} = (4/3) \times \pi \times a \times b^2$$

其中 a 和 b 分别为叶绿体长、宽的一半(Li等2011)。

结合Syvertsen等(1995)的方法计算叶肉细胞面向细胞空隙的面积(S_m/S)以及叶绿体面向细胞空隙的面积(S_c/S):

$$S_m/S = \frac{L_{\text{mes}}}{w} \times F$$

$$S_c/S = \frac{L_c}{L_{\text{mes}}} \times S_m/S$$

其中 w 是测定截面的宽度, L_{mes} 和 L_c 分别是叶肉细胞和叶绿体细胞面向细胞空隙的周长。根据中果皮的细胞形态和排列紧密度,将其分为外侧和内侧两部分。外侧细胞小,多为椭圆形,类似于叶片的海绵组织;内侧细胞大,排列紧密,类似于叶片的栅栏组织。 F 为根据细胞性状而定的曲度系数,取内侧和外侧细胞的加权平均(Evans等1994)。

1.2.4 角果生理特征

光合性状测定结束后,每个处理选取20个角果,利用游标卡尺测量角果长和宽,角果面积利用克拉克公式计算: $S_a = \pi \times d \times (h_1 + 1/3 \times h_2)$;式中, S_a 为角果皮面积; $h_1 = 0.8H$, $h_2 = 0.2H$, H 为角果长度; d 为角果平均宽度。随后将角果分开籽粒和果皮,保留果皮,经105°C杀青半小时后于60°C烘干至恒重。最后磨细过0.5 mm筛,测定全钾含量。

1.3 数据统计分析

试验数据利用Excel软件进行计算处理,采用SPSS 18.0数据处理软件进行数据的统计分析,采用最小显著性差异法(least significant difference, LSD)检验 $P < 0.05$ 水平上的差异显著性。

2 实验结果

2.1 不同钾肥用量对油菜角果皮形态的影响

如表1所示,施钾明显增加了单株角果数,与K0相比,K60和K120处理单株角果数分别增加了19.0%和41.1%。另一方面,随着钾肥用量增加,角果皮钾含量显著增加,单个角果长度呈现增长的趋势,单个角果皮面积增加;与K0相比,K120处理角果长度和单个角果皮面积分别显著增加了10.8%和17.8%,K60与K0处理单个角果皮面积没有显著差异。单株角果皮面积随钾肥用量提高增加显著,增加了21.2%~67.3%。增施钾肥先促进角果数的增加,继续增加钾肥用量单个角果皮面积增加。

2.2 不同钾肥用量对角果皮光合特征的影响

如表2所示,显著随着钾肥用量的增加,油菜角果皮净光合速率显著增加,K60、K120处理与不

表1 施钾量对油菜角果形态的影响

Table 1 Effect of potassium fertilizer application rate on silique morphological trait in oilseed rape

| 施钾处理 | 单株角果数 | 长/mm | 宽/mm | 钾含量/% | 单个角果皮面积/cm ² | 单株角果皮面积/cm ² |
|------|--------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| K0 | 278.9±30.3 ^b | 50.94±4.61 ^b | 4.19±0.65 ^a | 1.18±0.07 ^c | 5.85±1.15 ^b | 1 619±49 ^c |
| K60 | 332.0±26.9 ^{ab} | 51.51±4.08 ^b | 4.22±0.32 ^a | 1.38±0.05 ^b | 5.92±0.65 ^b | 1 962±122 ^b |
| K120 | 393.4±25.4 ^a | 56.43±5.37 ^a | 4.47±0.23 ^a | 1.98±0.11 ^a | 6.89±0.93 ^a | 2 709±194 ^a |

表中数据为平均值±标准误, 同列数据用不同小写字母标识表示差异显著($P<0.05$)。

表2 施钾量对油菜角果皮CO₂传输特征参数的影响Table 2 Effect of potassium fertilizer application rate on CO₂ transmission characteristics of silique walls in oilseed rape

| 施钾处理 | $A/\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ | $g_s/\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ | $C_i/\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ | $g_m/\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ | $C_c/\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ | $(C_i-C_c)/\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ |
|------|---|--|---|--|---|---|
| K0 | 6.18±0.85 ^c | 0.08±0.01 ^b | 254.2±16.1 ^a | 0.033±0.005 ^b | 59.7±9.0 ^c | 194.8±5.1 ^a |
| K60 | 7.68±0.61 ^b | 0.11±0.03 ^{ab} | 272.4±24.0 ^a | 0.056±0.005 ^a | 135.9±18.3 ^a | 142.1±2.6 ^b |
| K120 | 9.81±0.81 ^a | 0.12±0.02 ^a | 250.8±13.8 ^a | 0.067±0.007 ^a | 103.0±11.5 ^b | 147.8±14.7 ^b |

A: 净光合速率; g_s : 气孔导度; C_i : 胞间CO₂浓度; g_m : 叶肉导度; C_c : 叶绿体CO₂浓度。

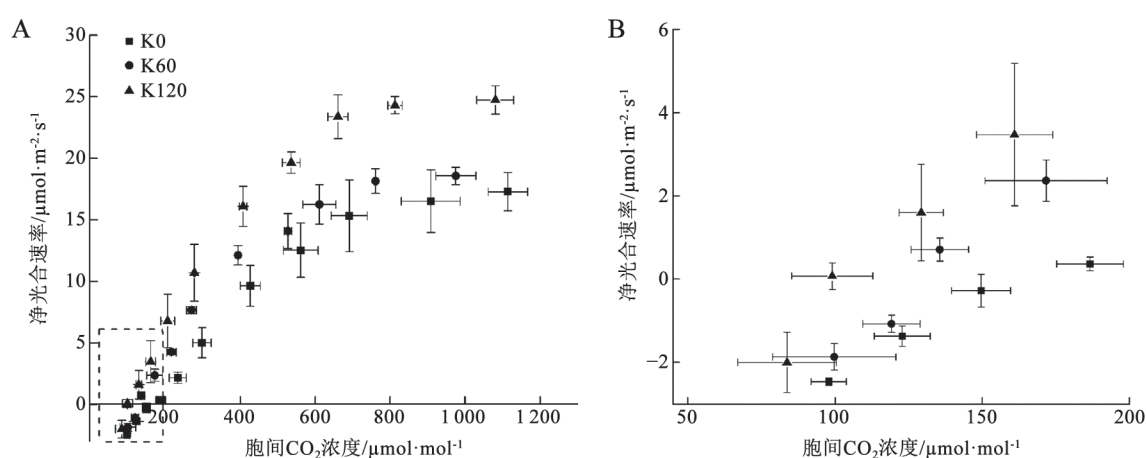
施钾相比分别显著提高了24.3%和58.7%。从CO₂传输来看, 钾肥施用明显改善了CO₂在细胞中的传输, K120处理的 g_s 和 g_m 显著高于K0处理, 分别提高了50.0%和103.0%, 而K120和K60处理之间 g_s 和 g_m 无显著差异。尽管不同钾处理之间 C_i 无显著差异, 但高 g_m 下 C_i-C_c 值较小, 表明CO₂在传导过程中损耗的少; 不施钾处理CO₂传输受到限制, C_c 显著最低, 施钾后 C_c 增加了0.7~1.3倍。

如图1所示, 随着CO₂浓度升高, 角果皮的净光合速率逐渐增加。在饱和光强下, 角果皮最大净

光合速率可达17.3~24.8 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 与K0相比, K120处理的最大净光合速率可增加43%左右。如表3所示, 施钾显著提高角果CE、 $V_{c\max}$ 和 J_{\max} ; 与K0相比, K60和K120处理的角果皮的CE、 $V_{c\max}$ 和 J_{\max} 分别增加了90.9%和123.5%、70.9%和99.3%、31.1%和46.6%。而不施钾处理的 $J_{\max}/V_{c\max}$ 显著高于施钾处理, 表明不施钾处理下角果皮羧化速率降低是其光合速率降低的主要原因。

2.3 角果皮光合作用限制因子分析

以最优处理K120为参照, 计算K0、K60处理

图1 不同施钾处理下油菜角果皮的CO₂响应曲线Fig.1 CO₂ response curves of silique walls under different potassium fertilizer application rates in oilseed rape

B为A中虚线矩形框的放大图。

表3 不同施钾处理下油菜角果皮的CO₂响应曲线拟合参数Table 3 Critical parameters calculated from CO₂ response curves of silique walls under different potassium fertilizer application rates in oilseed rape

| 施钾处理 | $V_{c\max}/\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ | $J_{\max}/\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ | $J_{\max}/V_{c\max}$ | CE/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ |
|------|---|--|------------------------|---|
| K0 | 32.1±5.1 ^c | 76.8±11.3 ^b | 2.34±0.04 ^a | 0.032±0.005 ^b |
| K60 | 54.9±4.6 ^b | 100.7±9.1 ^a | 1.84±0.16 ^b | 0.061±0.007 ^a |
| K120 | 64.0±3.9 ^a | 112.6±12.8 ^a | 1.75±0.09 ^b | 0.071±0.008 ^a |

$V_{c\max}$: 最大羧化速率; J_{\max} : 最大电子传递速率; CE: 羧化效率。

下油菜角果皮光合作用各限制所占的比例(图2)。施用钾肥显著降低光合作用总限制值, 其由K0的47.5%降低为K60的13.6%。与K0相比, K60处理的 S_L 、 MC_L 和 B_L 分别降低了82.1%、70.7%和68.1%。三种限制中 MC_L 占总限制的比例最大, 分别占总限制的48.4%和49.6%; 其次是 B_L , 分别占36.8%和41.1%; S_L 相对最弱。

2.4 角果皮解剖结构特征和光合特征参数

以K0与K120处理油菜角果皮为研究对象, 从解剖结构角度深入分析钾肥施用对CO₂传导的影响。从表4结果可以看出, 施钾后中果皮细胞 S_m/S 增加了10.4%, S_j/S 增加18.6%, 有利于CO₂进入到叶绿体中。细胞壁变薄了11.7%, 表明施钾降低了CO₂穿过细胞壁的阻力; 叶绿体距离细胞壁的距离没有显著差异。结合图3可见, 中果皮内侧细胞排

列紧密, 细胞大小没有显著差异, S_m/S 增加主要是中果皮外侧细胞变化的结果。与K0相比, K120处理油菜中果皮外侧单位细胞面积减小了7.2%, 但是长度增加了13.8%, 细胞变大; 叶绿体长度平均增加了7.8%, 宽度增加了16.2%, 表面积与体积分别增加了22.5%和37.4%。

3 讨论

光合生产力由光能利用率、太阳总辐射能共同决定。太阳总辐射能主要由气候和地理位置决定, 人力调控力度弱, 代价高。在栽培管理得当的条件下, 光能利用率主要由光合面积和光合速率决定。在大田作物中光合时间主要由气候决定, 人力调控力度弱, 代价高, 因此调控光合面积和净光合速率是提高作物生产力的主要途径。本研究结果表明施钾对角果的作用: 一方面增加了单株角果数和角果的长度, 从而增加单株角果皮表面积, 进而提高光合面积; 另一方面增加了角果皮的净光合速率, 从而提高油菜的光合生产力, 增加光合产物的形成, 促进油菜角果的发育和籽粒的充实。这也解释了合理施用钾肥能增加上部油菜的角果数、减少阴角率(刘秀秀等2014)的原因。

在本研究中 MC_L 和 B_L 是缺钾胁迫下油菜角果皮光合作用的主要限制因子。 g_m 反映了CO₂从气孔下腔到达叶绿体羧化位点的能力, 而细胞和叶绿体形态结构的改变必然会影响CO₂传输过程。橡树叶片 S_c/S 增大会增加 g_m 从而获得高的净光合速率(Peguero-Pina等2017), 除 S_c/S 外, 细胞壁的厚度同样影响 g_m (Tosens等2012)。叶片钾浓度的增加提高了细胞渗透压, 促进细胞伸长(Yang等2016)。此外钾调节叶绿体形态, 高钾下叶绿体离细胞壁的距离

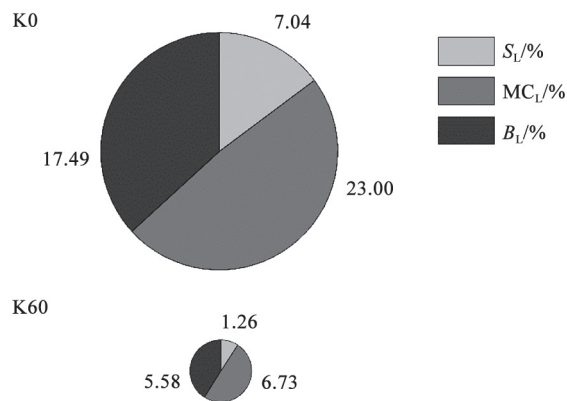


图2 不同施钾处理下油菜角果皮光合限制因子定量分析

Fig.2 Quantitative limitation analysis of silique photosynthesis under different potassium fertilizer application rates in oilseed rape

S_L : 气孔限制; MC_L : 叶肉导度限制; B_L : 生化限制。数字表示限制值。

表4 施钾量对油菜角果皮解剖结构特征和光合特征参数的影响
Table 4 Effect of potassium application rate on anatomical structure and photosynthetic characteristics of silique walls in oilseed rape

| 施钾处理 | 中果皮 | | | | | | 中果皮外侧细胞 | | | | | | 中果皮内侧细胞 | | |
|------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | $(S_w/S)/m^2 \cdot m^{-2}$ | $(S_c/S)/m^2 \cdot m^{-2}$ | $T_{cw}/\mu m$ | $D_{ew-oh}/\mu m$ | $L_{chl}/\mu m$ | $T_{chl}/\mu m$ | $S_{chl}/\mu m^2$ | $V_{chl}/\mu m^3$ | $L_{cell}/\mu m$ | $W_{cell}/\mu m$ | $S/\mu m^2$ | $L_{cell}/\mu m$ | $W_{cell}/\mu m$ | $L_{cell}/\mu m$ | $W_{cell}/\mu m$ |
| K0 | 6.32±0.14 ^b | 4.99±0.07 ^b | 0.291±0.002 ^a | 0.211±0.004 ^a | 6.16±0.02 ^b | 1.76±0.01 ^b | 22.90±0.14 ^b | 10.89±0.10 ^b | 36.3±0.1 ^b | 21.7±0.1 ^a | 0.83±0.00 ^b | 64.0±0.3 ^a | 36.6±0.2 ^a | 64.0±0.3 ^a | 36.6±0.2 ^a |
| K120 | 6.98±0.21 ^a | 5.92±0.28 ^a | 0.257±0.002 ^b | 0.193±0.004 ^a | 6.64±0.02 ^a | 2.04±0.01 ^a | 28.06±0.17 ^a | 14.96±0.13 ^a | 41.3±0.1 ^a | 22.8±0.1 ^a | 0.77±0.00 ^b | 68.8±0.3 ^a | 34.8±0.1 ^a | 68.8±0.3 ^a | 34.8±0.1 ^a |

S_w/S : 叶肉细胞面向细胞空隙的面积; S_c/S : 叶绿体面向细胞空隙的面积; T_{cw} : 细胞壁厚度; D_{ew-oh} : 叶绿体离细胞壁的距离; L_{chl} : 叶绿体长度; D_{chl} : 叶绿体厚度; S_{chl} : 叶绿体表面积; V_{chl} : 叶绿体体积; L_{cell} : 细胞长度; W_{cell} : 细胞宽度; S : 单位细胞面积。

离降低(潘勇辉等2015), 相邻叶绿体间距离减少, CO_2 在细胞质中的传输路径降低(Lu等2016)。在本研究中, 与K0相比, K120处理中果皮内侧和外侧细胞长度分别平均增加了7.5%和13.8%; S_m/S 增加了10.4%, 中果皮外侧单位细胞面积降低了7.2%, 表明钾促进细胞伸长, 细胞变得疏松, 空隙增加, CO_2 更容易直接进入到了叶绿体中。在本研究中细胞壁厚度减小降低了 CO_2 穿过细胞壁的阻力。研究表明在缺钾时棉花叶片细胞壁中与果胶多糖结合的硼含量降低(吴秀文等2016); 而这种降低会破坏细胞壁中果胶的网状结构, 从而改变细胞壁蛋白结构, 导致细胞壁增厚(董肖昌2016)。不同钾处理下叶绿体距离细胞壁的间距并无显著差异, 说明此时光强对角果叶绿体无明显抑制作用, 这也印证了与叶片相比, 角果具有更高的光饱和点(张耀文等2015)。

RuBisCO催化的羧化反应是 CO_2 固定的第一步。在黄瓜(*Cucumis sativus*)皮中, RuBisCO主要存在于外果皮(Sui等2017)。缺钾时, 叶片中RuBisCO含量降低, 活性下降, 影响光合速率(郑炳松等2001)。角果皮在缺钾条件下, RuBisCO酶的 $V_{c,max}$ 和CE也均降低。RuBisCO活性受到自身酶含量和活性的影响, 同时也受到羧化位点的 CO_2 浓度的影响(Flexas等2006)。与K120相比, K60处理的角果皮 C_c 增加, 但是 $V_{c,max}$ 降低, 表明钾对RuBisCO产生影响导致其活性降低; 而K0处理 C_c 含量、 $V_{c,max}$ 和CE均显著降低。我们对K0和K120处理的RuBisCO特性(S_{c_0})和RuBisCO羧化和氧化速率的相对大小(V_o/V_c)进行了计算, K0处理相对K120处理 S_{c_0} 降低了20.1%, V_o/V_c 增加了12.0% (测定结果未展示)。缺钾下RuBisCO自身羧化活性降低, 从而降低碳固定速率。

角果皮分为外果皮、中果皮和内果皮, 与叶片不同, 角果皮气腔籽粒呼吸作用会产生 CO_2 , 角果腔内的 CO_2 浓度可达0.8%~2.5% (King等1998)。研究表明在豌豆(*Pisum sativum*)荚和黄瓜表皮中, 除了外果皮和表层中果皮从外部大气中捕获 CO_2 外, 含有叶绿体的内果皮同样可以吸收种子释放的 CO_2 进行光同化作用(Sui等2017)。油菜角果皮的内果皮叶绿体含量较少(Wagstaff等2009), 也有研

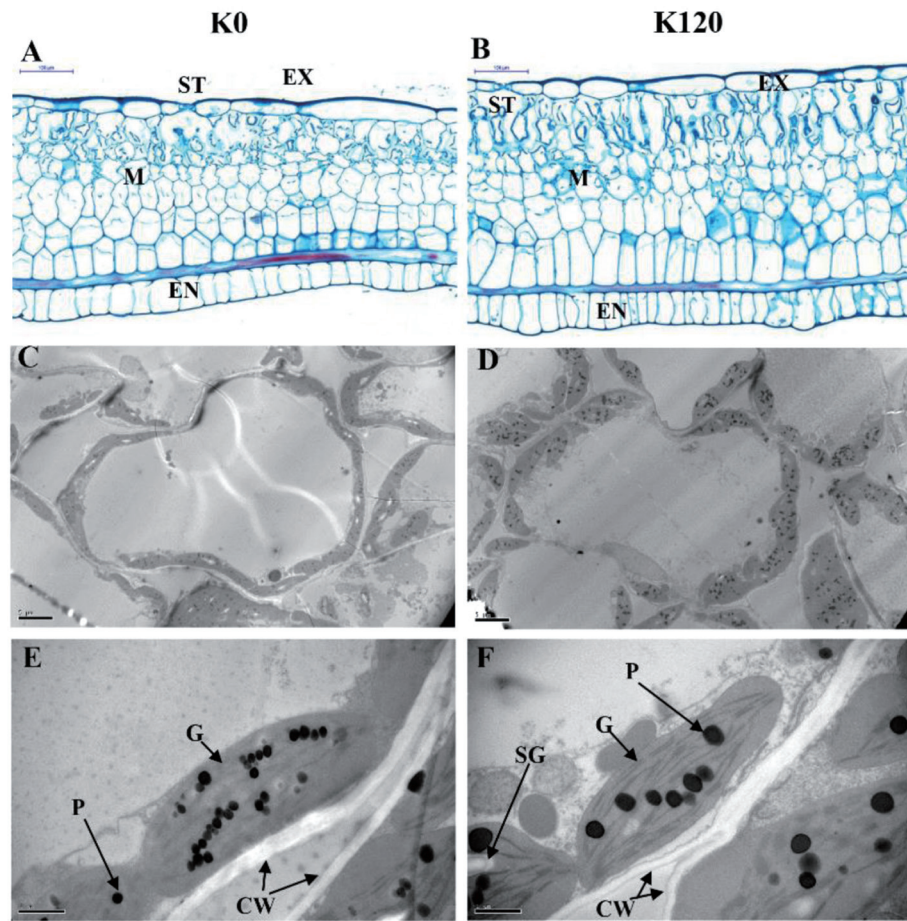


图3 不同施钾处理下油菜角果皮结构和叶绿体超微结构

Fig.3 Structure and chloroplast ultrastructure of silique walls under different potassium fertilizer application rates in oilseed rape

A和B: 角果皮纵切面叶肉细胞形态结构石蜡切片效果图; C和D: 角果皮细胞叶绿体分布透射电镜图; E和F: 角果皮叶绿体结构透射电镜图。EX: 外果皮; M: 中果皮; EN: 内果皮; ST: 气孔; CW: 细胞壁; G: 基粒; SG: 淀粉粒; P: 质体小球。

究在测量角果皮的光合作用中忽略了籽粒呼吸作用产生的 CO_2 的再固定(Wang等2016), 而在本研究中也忽略了籽粒呼吸作用产生的 CO_2 对光合作用产生的影响, 只考虑角果皮从外界吸收 CO_2 的情况。在今后的试验中可以采用 ^{14}C 和 ^{13}C 标记的方法区分两种 CO_2 吸收途径对光合作用的影响, 从而深入理解油菜角果皮光合作用的机制, 挖掘调控角果皮光合能力的潜在途径。

参考文献(References)

- Aschan G, Pfan H (2003). Non-foliar photosynthesis – a strategy of additional carbon acquisition. *Flora*, 198 (2): 81–97
- Bao S (2000). *Analysis Method for Soil Agro-chemistry*. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 14–107 (in Chinese) [鲍士旦(2000). 土壤农化分析. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 14–107]
- Bennett EJ, Roberts JA, Wagstaff C (2011). The role of the pod in seed development: strategies for manipulating yield. *New Phytol*, 190 (4): 838–853
- Diepenbrock W (2000). Yield analysis of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): a review. *Field Crops Res*, 67 (1): 35–49
- Dong X (2016). Different response and structure change and metabolic mechanism of different citrus rootstock under boron deficiency (dissertation). Wuhan: Huazhong Agricultural University, 66–91 (in Chinese with English abstract) [董肖昌(2016). 不同柑橘砧木对缺硼的响应差异及结构变化与代谢机制(学位论文). 武汉: 华中农业大学, 66–91]

- Ethier GJ, Livingston NJ (2004). On the need to incorporate sensitivity to CO₂ transfer conductance into Farquhar-von Caemmerer-Berry leaf photosynthesis model. *Plant Cell Environ*, 27: 137–153
- Evans JR, von Caemmerer S, Setchell BA, et al (1994). The relationship between CO₂ transfer conductance and leaf anatomy in transgenic tobacco with a reduced content of Rubisco. *Aust J Plant Physiol*, 21 (4): 475–495
- Flexas J, Ribas-Carbó M, Bota J, et al (2006). Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. *New Phytol*, 172: 73–82
- Grassi G, Magnani F (2005). Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant Cell Environ*, 28: 834–849
- Hu YY, Zhang YL, Luo HH, et al (2012). Important photosynthetic contribution from the non-foliar green organs in cotton at the late growth stage. *Planta*, 235: 325–336
- Hua W, Li RJ, Zhan GM, et al (2012). Maternal control of seed oil content in *Brassica napus*: the role of silique wall photosynthesis. *Plant J*, 69 (3): 432–444
- Jia S, Lv J, Jiang S, et al (2015). Response of wheat ear photosynthesis and photosynthate carbon distribution to water deficit. *Photosynthetica*, 53: 95–109
- King SP, Badger MR, Furbank RT (1998). CO₂ refixation characteristics of developing canola seeds and silique wall. *Aust J Plant Physiol*, 25: 377–386
- Li F, He J, Guan C (2011). Advances in research on photosynthesis of rapeseed leaves and pods. *Crop Res*, 25 (4): 405–409 (in Chinese) [李凤阳, 何激光, 官春云(2011). 油菜叶片和角果光合作用研究进展. *作物研究*, 25 (4): 405–409]
- Li Y, Ren B, Ding L, et al (2013). Does chloroplast size influence photosynthetic nitrogen use efficiency? *PLoS ONE*, 8 (4): e62036
- Liu XX, Lu JW, Wang Y, et al (2014). Effects of potassium deficiency on yield characters in terminal raceme of oilseed rape and potassium fertilizer application effect. *Soils*, 46 (5): 875–880 (in Chinese with English abstract) [刘秀秀, 鲁剑巍, 王寅等(2014). 缺钾对油菜主序产量性状的影响及施钾效果. *土壤*, 46 (5): 875–880]
- Long SP, Bernacchi CJ (2003). Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *J Exp Bot*, 54 (392): 2393–2401
- Lu Z, Lu J, Pan Y, et al (2016). Anatomical variation of mesophyll conductance under potassium deficiency has a vital role in determining leaf photosynthesis. *Plant Cell Environ*, 39 (11): 2428–2439
- Lu Z, Pan Y, Hu W, et al (2017). The photosynthetic and structural differences between leaves and siliques of *Brassica napus* exposed to potassium deficiency. *BMC Plant Biol*, 17: 240
- Pan YH, Lu ZF, Lu JW, et al (2015). Photosynthetic characteristics and chloroplast ultrastructure of wintering oilseed rape under potassium deficiency. *Chin J Oil Crop Sci*, 37 (5): 688–693 (in Chinese with English abstract) [潘勇辉, 陆志峰, 鲁剑巍等(2015). 缺钾对越冬期油菜光合特性和叶绿体超微结构的影响. *中国油料作物学报*, 37 (5): 688–693]
- Peguero-Pina JJ, Sisó S, Flexas J, et al (2017). Cell-level anatomical characteristics explain high mesophyll conductance and photosynthetic capacity in sclerophyllous Mediterranean oaks. *New Phytol*, 214 (2): 585–596
- Pengelly JLL, Kwasny S, Bala S, et al (2011). Functional analysis of corn husk photosynthesis. *Plant Physiol*, 156: 503–513
- Ren T, Lu J, Li H, et al (2013). Potassium-fertilizer management in winter oilseed-rape production in China. *J Plant Nutr Soil Sci*, 176 (3): 429–440
- Sui X, Shan N, Hu L, et al (2017). The complex character of photosynthesis in cucumber fruit. *J Exp Bot*, 68 (7): 1625–1637
- Syvvertsen JP, Lloyd J, McConchie C, et al (1995). On the relationship between leaf anatomy and CO₂ diffusion through the mesophyll of hypostomatous leaves. *Plant Cell Environ*, 18: 149–157
- Tosens T, Niinemets Ü, Westoby M, et al (2012). Anatomical basis of variation in mesophyll resistance in eastern Australian sclerophylls: news of a long and winding path. *J Exp Bot*, 63 (14): 5105–5119
- Wagstaff C, Yang TJW, Stead AD, et al (2009). A molecular and structural characterization of senescing *Arabidopsis* siliques and comparison of transcriptional profiles with senescing petals and leaves. *Plant J*, 57 (4): 690–705
- Wang C, Hai J, Yang J, et al (2016). Influence of leaf and silique photosynthesis on seeds yield and seeds oil quality of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Eur J Agron*, 74: 112–118
- Wu XW, Hao YS, Lei J, et al (2016). Effect of different levels of potassium and boron on stress physiology and cell wall boron content of cotton leaf. *J Agr Resour Environ*, 33 (1): 29–34 (in Chinese with English abstract) [吴秀文, 郝艳淑, 雷晶等(2016). 不同钾和硼水平对棉花叶片逆境生理及其细胞壁硼的影响. *农业资源与环境学报*, 33 (1): 29–34]
- Yang J, Hu W, Zhao W, et al (2016). Fruiting branch K⁺ level affects cotton fiber elongation through osmoregulation. *Front Plant Sci*, 7: 13

- Zhang YL, Feng GY, Hu YY, et al (2010). Photosynthetic activity and its correlation with matter production in non-foliar green organs of cotton. *Acta Agron Sin*, 36 (4): 701–708 (in Chinese with English abstract) [张亚黎, 冯国艺, 胡渊渊等(2010). 棉花非叶绿色器官光合能力的差异及与物质生产的关系. *作物学报*, 36 (4): 701–708]
- Zhang YW, Zhao XG, Tian JH, et al (2015). Comparison of photosynthetic gas exchange parameters between leaf and pod of *Brassica napus* under different conditions. *Acta Agr Boreali-Sin*, 30 (3): 153–162 (in Chinese with English abstract) [张耀文, 赵小光, 田建华等(2015). 甘蓝型油菜叶片和角果气体交换参数差异的比较. *华北农学报*. 30 (3): 153–162]
- Zheng BS, Jiang DA, Weng XY, et al (2001). Effects of potassium on the contents and activities of Rubisco, Rubisco activase and photosynthetic rate in rice leaf. *J Zhejiang Univ Agr Life Sci*, 27 (5): 489–494 (in Chinese with English abstract) [郑炳松, 蒋德安, 翁晓燕等(2001). 钾营养对水稻剑叶光合作用关键酶活性的影响. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 27 (5): 489–494]

Effect of potassium application rate on photosynthesis of winter oilseed rape (*Brassica napus*) silique wall

HU Wen-Shi^{1,2}, LU Zhi-Feng³, MENG Fan-Jin^{1,2}, REN Tao^{1,2,*}, LU Jian-Wei^{1,2}

¹College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

²Key Laboratory of Arable Land Conservation (Middle and Lower Reaches of Yangtze River), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430070, China

³College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: Silique wall is a dominant photosynthetic organ in the late growth stage of oilseed rape (*Brassica napus*). To evaluate the effect of potassium (K) nutrition on the photosynthetic characteristics of silique wall, a field experiment with different K fertilizer application rates was conducted to compare the photosynthetic area, characteristics and structural parameters of silique wall. The results show that K fertilizer application significantly increased the amount of siliques. The lengths and surface areas of siliques increased with increasing K supply, which enhanced the population photosynthetic area. K application improved the net photosynthetic rate of silique wall. Compared to the sufficient K fertilization treatment, stomatal limitation, mesophyll conductance limitation and biochemical limitation of silique wall remarkably increased when exposed to K deficiency, among which the mesophyll conductance limitation accounted for 48.4%–49.6% of the total limitation. K fertilization accelerated the cell wall of mesocarp thinner, facilitated higher mesophyll and chloroplast surface area exposed to intercellular air space per leaf area, which facilitated the diffusion of CO₂ from intercellular air space to chloroplast. Overall, optimal K application enhanced photosynthetic area of silique wall, and optimized the mesophyll cell structure to reduce the CO₂ conductance resistance and thus improved photosynthetic capacity and ultimately heightened plant productivity and seed yield.

Key words: potassium; oilseed rape; silique wall; photosynthetic rate; anatomical structure; photosynthetic limiting factors

Received 2018-10-24 Accepted 2019-04-10

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31672231), the National Key Research and Development Program of China (2018YFD0200900), and the Earmarked Fund for China Agriculture Research System (CARS-12).

*Corresponding author (rentao@mail.hzau.edu.cn).