

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2023.03.008

陈天祥, 杨顺瑛, 苏彦华. 钾通道 *ZmK2;1* 在水稻中超表达提升水稻氮素利用潜力. 土壤, 2023, 55(3): 520–527.

钾通道 *ZmK2;1* 在水稻中超表达提升水稻氮素利用潜力^①

陈天祥^{1,2}, 杨顺瑛¹, 苏彦华^{1,2*}

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 气孔导度控制叶片对碳源(CO₂)的获取能力, 通过影响光合作用对作物生产能力发挥作用。针对稻田过量施氮导致氮素利用效率趋缓的现状, 本研究对高氮投入时促进氮素吸收利用的调控策略进行研究。利用气孔钾通道基因 *ZmK2;1* 超表达水稻遗传材料, 设置氮缺乏(LN, 不施氮)、中量或减少氮投入(MN, 200 kg/hm²)和过量施氮(HN, 350 kg/hm²) 3个处理的田间试验, 对 *ZmK2;1* 超表达植株在生育后期的氮素营养特征和生产特性进行研究。结果表明: *ZmK2;1* 超表达能改善水稻植株在各氮肥施用水平下的产量形成特征, 差异化提升植株氮钾含量, 优化植株整体和剑叶的氮素营养特征, 促进植株生物量积累, 其剑叶在生育后期保持较高的光合效率(Pn)和气孔导度(Gs)。另外, *ZmK2;1* 基因超表达有利于中量氮投入和过量施氮下水稻氮素利用效率的提升, 尤其在过量施氮条件下, 该基因过表达仍能够促进氮肥农学效率(AE_N)、氮素生理效率(PE_N)和氮素收获指数(NHI)。可见, 利用气孔钾通道 *ZmK2;1* 在水稻中超表达可以调节植株和关键功能叶氮钾比, 促进各施氮水平下的光合效率的同时提升水稻产量; 在过量施氮时, 依然能保持较高的光合同化能力, 提升水稻氮素利用率和增产潜力。

关键词: 氮素利用率; 高氮投入; *ZmK2;1* 超表达; 光合效率; 增产潜力

中图分类号: S511.2; Q945.1 文献标志码: A

Overexpression of Potassium Channel *ZmK2;1* in Rice Improves Nitrogen Utilization Potential

CHEN Tianxiang^{1,2}, YANG Shunying¹, SU Yanhua^{1,2*}

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Stomatal conductance controls the ability of leaves to acquire carbon sources (CO₂), and it is closely related to crop productivity by affecting photosynthesis. In view of the current situation of slowing N use efficiency caused by N fertilizer overuse in paddy soil, it is necessary to study the regulation strategy of high N fertilizer input to promote N absorption and utilization. Therefore, *ZmK2;1* overexpression transgenic lines were used to set up a field experiment of three conditions including N deficient (LN, no N application), moderate or reduced N input (MN, 200 kg/hm²) and N fertilizer overuse (HN, 350 kg/hm²), which were used to study the N nutrition characteristics and production traits in the later growth stage. The results show that *ZmK2;1* overexpression can improve the yield characteristics for rice plants under each N application level. At the same time, the content of N and K are increased differentially, it optimizes nitrogen nutrition characteristics of the whole plant and key functional leaves (flag leaves), and promotes the accumulation of plant biomass. Besides, the flag leaf of *ZmK2;1* overexpression plant maintains a promising photosynthetic rate (Pn) and stomatal conductance (Gs) during the later growth period. In addition, *ZmK2;1* overexpression can promote the N use efficiency of rice under the N fertilizer moderate input and N fertilizer overuse, especially under the condition of N fertilizer overuse, the overexpression of this gene can still promote agronomic N use efficiency (AE_N), physiological N use efficiency (PE_N) and N harvest index (NHI). Obviously, overexpression of the stomatal potassium channel *ZmK2;1* in rice can regulate the N/K ratio of plants and key functional leaves, promote photosynthetic rate, and improve the rice yield under different N application. In particular, under the condition of N fertilizer overuse, it can still maintain a high photosynthesis assimilation ability, and plays a positive effect on performing the N use efficiency and yield-increasing

①基金项目: 中国科学院战略性科技先导专项(A类)(XDA24010201)资助。

* 通讯作者(yhsu@issas.ac.cn)

作者简介: 陈天祥(1991—), 男, 甘肃天水人, 博士研究生, 主要从事植物营养生理方面的研究。E-mail: 18795270435@163.com

potential of rice.

Key words: N use efficiency; N fertilizer overuse; *ZmK2;1* overexpression; Photosynthesis rate; Yield-increasing potential

氮素作为水稻产量形成的重要限制因子,其施用量的不同通过影响干物质和养分的积累与分配,对水稻产量形成发挥作用^[1]。氮肥用量过高会降低淀粉合成能力和叶片、茎秆等组织中储藏物质向籽粒转运的能力^[2-3]。植物叶片含氮量与光合强度密切相关,进而影响植株的干物质生产能力。在高氮供应时,水稻 *OsAMT1;1* 过表达导致植株氮同化关键酶活性达到饱和,碳同化步骤受到抑制^[4],而 *OsAMT1;3* 过表达在分蘖期和抽穗期的生物量显著降低^[5]。另外, *OsGSI;1* 和 *OsGSI;2* 过表达水稻叶片光合参数和碳水化合物含量变化较大,高氮用量导致过表达植株在分蘖期和抽穗期的生物量显著降低^[6]。由此可见,强化铵吸收和同化关键基因表达对水稻植株的氮素利用有不同影响,植株体内碳氮含量的相对变化是造成植株氮素利用状况恶化的重要原因。

光合同化过程是植物进行物质生产和生长发育的保证,不仅受叶片氮素含量变化的影响,也与气孔运动特征密切相关。研究表明,钾素在调节酶促反应、物质运输和维持细胞渗透压等生理过程的同时,也对气孔运动发挥重要作用^[7-8]。该过程由气孔周围的一对保卫细胞具体执行^[9-10]。而保卫细胞对 K^+ 的吸收和释放主要是由 K^+ 通道来完成^[11-12]。在水稻中,其保卫细胞中表达的内向钾通道 *OsKAT2* 和 *OsKAT3*^[13-14] 和外向钾通道 *OsSKOR* 负责调控保卫细胞钾水平^[15],以此操控气孔运动。气孔导度是衡量植株光合特征的重要参数,气孔运动的行为会直接导致气孔导度的变化,其大小与叶片氮钾营养特征有密切关系^[16-17]。利用气孔钾通道基因超表达调节光合碳同化来改善水稻氮素利用特征的相关报道比较少见,本研究中涉及的基因 *ZmK2;1* 是已经在玉米中被克隆的内向型钾通道基因,该通道在保卫细胞钾内流方面发挥重要作用^[18]。因此,本研究利用 *ZmK2;1* 基因在水稻中超表达,开展高施氮背景下通过干预气孔导度,以气孔调控的增碳策略为手段和出发点,对水稻氮素营养特征和产量形成特征进行研究,以期对水稻氮素利用效率的改善提供更多途径。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验于 2020 年稻作季在中国科学院常熟农业生态野外观测站(31°15'15" N, 120°57'43" E)进行。该研

究站地处长江下游平原腹地,属于亚热带北部湿润季风气候区,年平均气温为 17 °C 左右,平均年降水量在 1 200 mm 左右。供试田块土壤类型为潜育型水稻土,基础土壤(0~20 cm 土层)理化性质如下:pH 7.65、有机质 36.82 g/kg、全氮 1.66 g/kg、有效磷 12.99 mg/kg、速效钾 53.12 mg/kg。

1.2 供试水稻材料的创制和鉴定

玉米 *ZmK2;1* 基因的编码序列^[18],克隆到由 pCambia1301 改造后的植物表达载体 pUN1301 中,置于 Ubiquitin 启动子的驱动之下。水稻愈伤组织转化、植株再生委托武汉博远生物技术有限公司进行。经潮霉素筛选的抗性再生植株进行种子繁殖获得 T2 代株系。T2 代种子在含有潮霉素(50 mg/L)的培养基上再次筛选,并最终通过 PCR 确认。所得纯合性转基因株系用作试验材料。转基因株系中 *ZmK2;1* 基因的超表达丰度,由 qPCR 确定,大致为内参基因 *OsActin* 的 15 倍。qPCR 引物序列为 *ZmK2;1*-F: 5'-GGAGACTATGCTGAGATAGATG-3', *Nos*-R: 5'-GGCTTTACTTTATGCTTCCGG-3'。

1.3 试验设计

本试验设置氮缺乏(LN, 不施 N)、中度或减少氮投入(MN, 200 kg/hm²)和氮过量施用(HN, 350 kg/hm²) 3 个处理条件。小区间做田埂隔离,并用塑料薄膜覆盖埂体,保证各小区单独排灌,株距和行距为 0.2 m×0.2 m。以尿素(46% N)为氮肥肥源,按照基肥:分蘖肥:穗肥=5:2:3 的比例施用,其中基肥在插秧前施入,分蘖肥在 7 月中旬施入,穗肥在 8 月中旬施入。磷肥肥源为普通过磷酸钙(12% P₂O₅),钾肥肥源为氯化钾(60% K₂O)。磷肥施用量为 P₂O₅ 90 kg/hm²,钾肥施用量为 K₂O 120 kg/hm²;磷肥作为基肥一次施入,钾肥分 60% 基肥和 40% 穗肥分别施用。各个氮水平条件的磷肥和钾肥用量一致,各氮肥水平设置在 12 m×7 m 的田块中,划分小区重复 3 次。灌溉、田间病虫害防治按常规管理,其他管理措施统一按照台站常规栽培要求实施。

1.4 测定内容与分析方法

分别于灌浆期、完熟期采集水稻植株样品,各处理取有代表性植株,带回室内获取鲜物质质量。然后在 105 °C 杀青 30 min,再在 60 °C 烘干至恒重,称量干物质质量,粉碎后待测定含氮量。灌浆期采集剑叶,采集时间以齐穗期为基准(离收获 4 周),采集 3 份叶片

作为生物学重复,做好标记带回室内,烘干至恒重后称量干物质量,待测定相关指标。

试验于灌浆期在田间进行剑叶光合效率的测定。以齐穗期作为基准,每个小区选择长势一致的植株,采用 Li-6400 便携式光合测定系统(Li-Cor, Lincoln, USA)测定每株主茎剑叶。测定时间为晴天的上午 8:30—11:30,正式测试前,机器开机预热 20 min,设置光强为 1 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, CO_2 浓度为 400 $\mu\text{mol}/\text{mol}$,流速 500 $\mu\text{mol}/\text{s}$ 。

称取一定量的粉碎后的样品,采用 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消煮^[19]。消煮液冷却定容后按照测定要求稀释至合适浓度范围,消化液中的含氮量使用化学分析仪(Smartchem 200, Westco Co., Italy)进行测定并计算,钾含量采用火焰光度计测定并计算。

收获时期各处理各株系收获长势均匀的植株,标记处理后装入尼龙网袋带回室内,用于后期的考种。分样前先统计每份样品的单株分蘖数和有效穗数并记录。将稻穗进行脱粒,之后数取并称量测定籽粒千粒重,获取穗粒数,收集所有实粒并称量,产量测定以 1 m^2 植株为标准脱粒后处理测定。

1.5 相关指标计算

氮素利用效率的计算和评价指标分别采用氮素收获指数^[20],以及氮素生理效率、氮肥吸收效率和氮肥农学效率^[21]来表示。

氮肥吸收效率 (RE_N , %) = (施氮区植株吸氮量 - 空白区的植株吸氮量) / 施氮量 $\times 100$

氮素生理效率 (PE_N , kg/kg) = (施氮区的籽粒产量 - 空白区籽粒产量) / (施氮区植株氮积累量 - 空白区植株氮积累量)

氮肥农学效率 (AE_N , kg/kg) = (施氮区最终的籽粒产量 - 空白区最终的籽粒产量) / 施氮量

氮素收获指数 (NHI , %) = 籽粒最终氮积累量 / 植株最终氮积累量 $\times 100$

1.6 数据统计

试验数据采用 Microsoft Excel 2019 软件进行计算处理;利用 SPSS 13.0 软件进行数据统计和方差分析,通过邓肯新复极差法进行显著性检验,显著性水平为 $P < 0.05$;采用 Sigmaplot 12.5 软件进行制图。

2 结果与分析

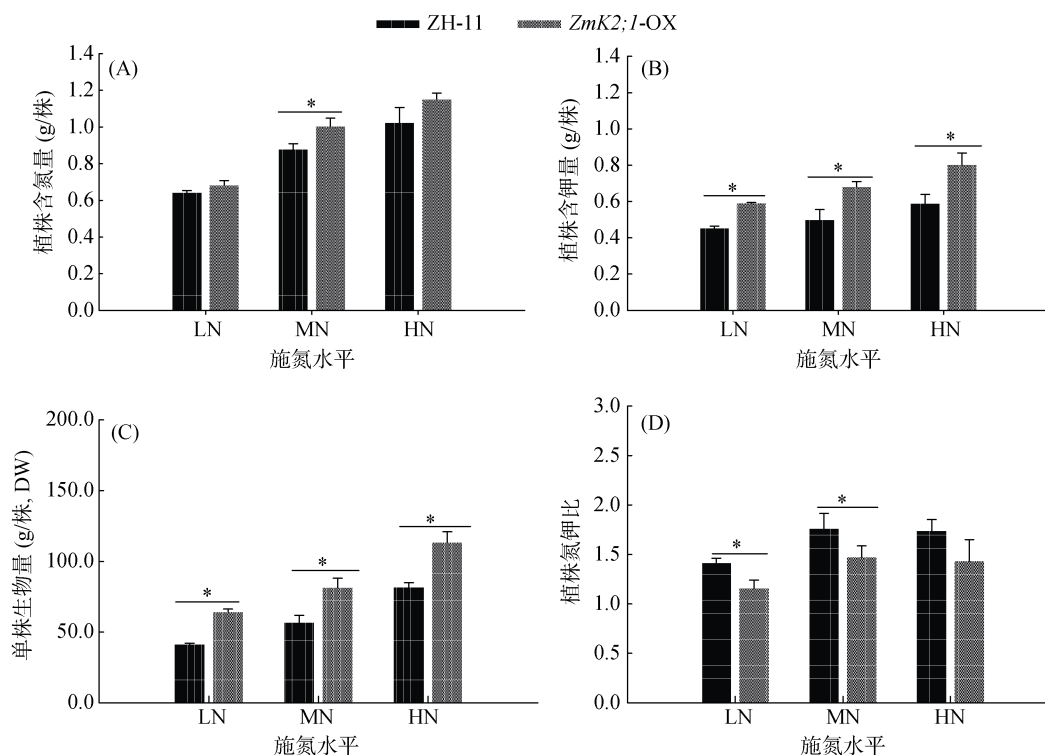
2.1 *ZmK2;1* 超表达株系在关键生育期的生物量累积变化特征

对各施氮水平下 *ZmK2;1* 超表达和野生型 (ZH-11) 水稻植株氮钾养分含量、生物量积累和氮钾

比等指标进行分析。由图 1A 可以看出,施氮量的增加促进了野生型和转基因水稻植株的氮素积累;在 MN 条件下, *ZmK2;1* 超表达植株的单株含氮量较野生型高出 14.27%, 差异达显著水平 ($P < 0.05$); 在 HN 水平下, *ZmK2;1* 超表达仍能促进水稻植株氮素吸收, 但差异不显著。就植株钾素含量而言, 野生型和转基因水稻植株钾素含量均有明显提升(图 1B), 尤其在 MN 和 HN 水平下, *ZmK2;1* 超表达植株的单株含钾量与野生型相比, 显著促进了植株钾素吸收和积累。通过对单株生物量的分析发现(图 1C), 在各施氮处理下, *ZmK2;1* 超表达水稻植株的单株生物量均显著高于野生型, 尤其在 MN 和 HN 水平下, *ZmK2;1* 超表达水稻植株的单株生物量分别比野生型高出 43.31% 和 38.88%。另外, 与野生型水稻植株相比, *ZmK2;1* 超表达植株氮钾比在各施氮水平下均有所降低, 尤其在 LN 和 MN 水平下, 降低差异达显著水平, HN 水平差异不显著; 随施氮量的增加, 野生型和 *ZmK2;1* 超表达植株氮钾比先升高后趋于稳定(图 1D)。可见, *ZmK2;1* 超表达能够促进水稻植株氮钾养分的积累, 特别在 HN 条件下, 植株钾素吸收的显著增加, 对协调植株氮钾养分平衡发挥了作用, 对植株生物量的积累有利。

2.2 *ZmK2;1* 超表达对水稻关键功能叶氮钾营养特征和光合特征的影响

植株生物量和籽粒产量的形成与灌浆阶段关键功能叶(剑叶)氮钾营养状况关系密切。由图 2A 可以看出, 在各处理条件下, *ZmK2;1* 超表达水稻植株的剑叶含氮量均表现出高于野生型的趋势, 尤其在 MN 条件下, 其较野生型高出 14.46%, 差异达到显著水平 ($P < 0.05$); 过量施氮条件下延续了这种趋势, 但差异不显著, 表明通过该基因超表达能够增强剑叶氮素的获取和分配潜力。另外, *ZmK2;1* 超表达水稻植株的剑叶含钾量均显著高于野生型植株(图 2B, $P < 0.05$), 尤其在 MN 条件下, *ZmK2;1* 超表达水稻植株的剑叶钾含量较野生型高出 49.85%, 差异显著 ($P < 0.05$); 在 HN 条件时较野生型高出 30.51%, 仍然有显著促进作用 ($P < 0.05$)。通过对剑叶氮钾比的分析发现(图 2C), 超表达水稻植株和野生型剑叶氮钾比在各施氮条件下均表现出降低的趋势, 在 MN 和 HN 条件下, 超表达植株剑叶氮钾比相比野生型显著降低 ($P < 0.05$), 主要是由于该基因超表达导致向剑叶钾素的分配能力增强。这种变化对其光合作用产生了积极影响, *ZmK2;1* 超表达植株剑叶光合效率和气孔导度在同样的处理条件下显著高于野生型(图 2D、2E,



(ZH-11 为野生型水稻株系, *ZmK2;1*-OX 为 *ZmK2;1* 超表达株系。A. 植株氮积累量; B. 植株钾积累量; C. 单株生物量; D. 植株氮钾比。
*表示同一处理不同水稻株系间差异达 $P < 0.05$ 显著水平, $n=4$, 下图同)

图 1 *ZmK2;1* 超表达对水稻氮钾养分和生物量积累的影响

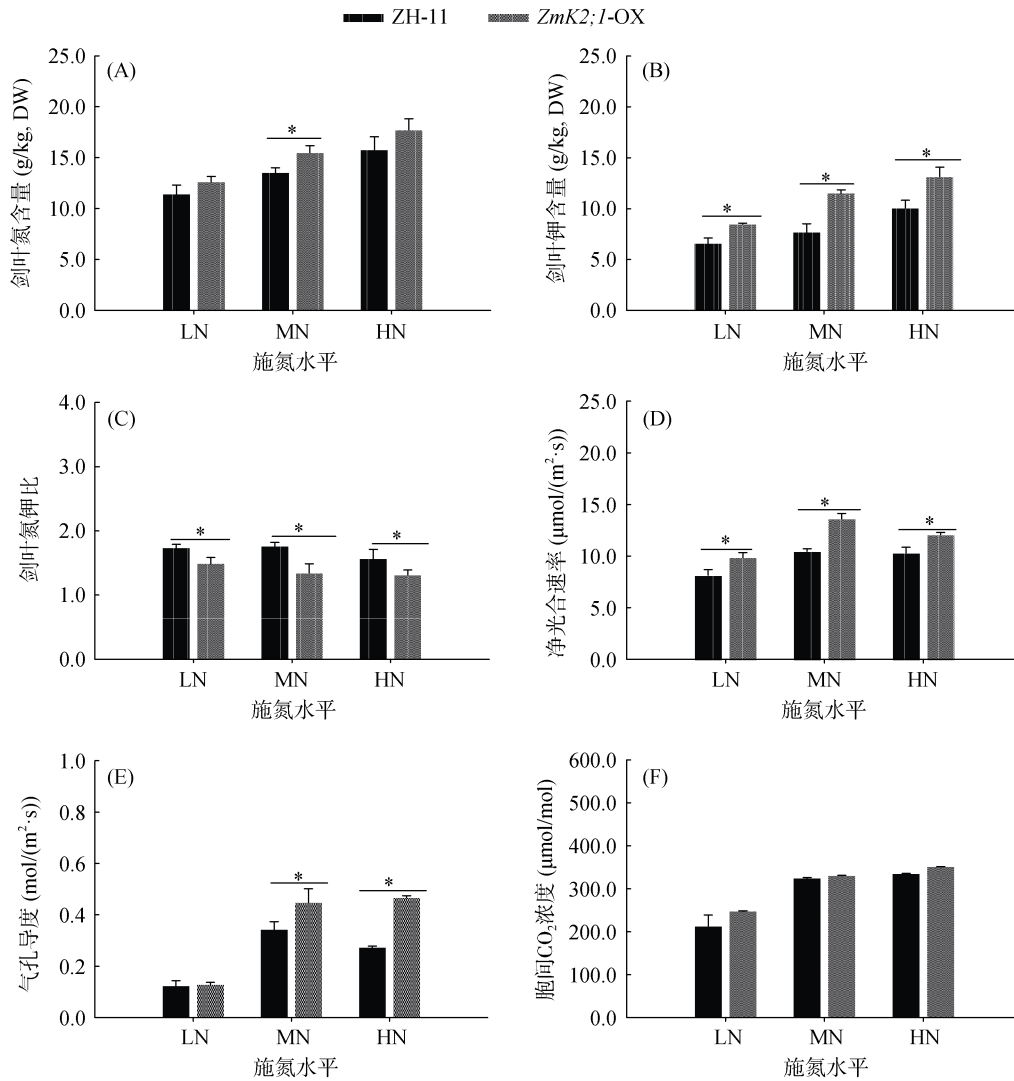
Fig. 1 Effects of *ZmK2;1* overexpression on nitrogen and potassium nutrients and biomass accumulation in rice

$P < 0.05$), 特别在 HN 条件下, 气孔导度仍显著高于野生型, 光合效率较野生型高出 17.07%, 差异显著 ($P < 0.05$)。胞间 CO_2 浓度随施氮量增加趋于稳定(图 2F)。这些生理特征的差异表明, *ZmK2;1* 超表达通过影响剑叶氮钾营养的获取和分配, 对其光合特征也产生促进作用。剑叶作为水稻进行光合生产的关键功能叶片, *ZmK2;1* 超表达可以促进植株在不同处理条件下的剑叶钾分配, 使得超表达植株剑叶氮钾比显著低于野生型, 而这种变化使剑叶气孔导度和光合效率都有显著增加 ($P < 0.05$)。在 MN 和 HN 条件下, 两种植株间剑叶胞间 CO_2 浓度没有明显的变化, 主要是因为 *ZmK2;1* 超表达植株剑叶有较高的光合效率, 对碳源有较强的同化利用能力所致; 可见, *ZmK2;1* 超表达可以通过优化其氮钾营养状况改善高氮条件下的水稻光合同化效率。

2.3 *ZmK2;1* 超表达对水稻产量特征的影响

由表 1 可以看出, *ZmK2;1* 超表达对水稻产量构成特征参数有着不同程度的影响。在各个氮肥施用条件下, *ZmK2;1* 超表达水稻植株的单株分蘖数均高于野生型(ZH-11)水稻植株, 尤其在 MN 和 HN 条件下, 差异达到显著水平 ($P < 0.05$), 分别较野生型高出 18.93% 和 25%。通过对单株有效穗数的分

析发现, 在各个氮肥施用条件下, *ZmK2;1* 超表达水稻植株的单株有效分蘖数均高于野生型水稻植株, 尤其在 MN 和 HN 条件下差异显著 ($P < 0.05$), 分别较野生型高出 30.95% 和 38.86%。通过计算成穗率发现, 超表达植株成穗率在各施氮条件下均高于野生型植株, 尤其 MN 和 HN 条件时显著高于野生型 ($P < 0.05$), 表明单株有效分蘖的形成数量随单株总分蘖数增加同步增加。就单穗粒数而言, 同样在 MN 和 HN 条件下, 超表达植株表现出显著增加的趋势 ($P < 0.05$), 分别较野生型高出 10.91% 和 7.44%。在各个氮肥处理条件下, *ZmK2;1* 超表达水稻植株的千粒重均高于野生型植株, 尤其在 MN 条件下, 较野生型高出 18.26%, 差异显著 ($P < 0.05$); HN 水平时, 千粒重仍能表现出优势, 表明超表达株系在高氮投入时仍维持较高的灌浆潜力。另外, 通过分析籽粒产量的变化趋势发现, 在 MN 和 HN 条件下的总体产量水平趋于稳定, 而 *ZmK2;1* 超表达水稻产量较野生型分别高出 20.21% 和 17.11%。可以看出, 中量施氮和高量施氮条件下 *ZmK2;1* 超表达植株的产量均有显著增加 ($P < 0.05$); 尤其在高氮投入下, 较高的成穗率、单穗粒数和千粒重是 *ZmK2;1* 超表达植株发挥增产潜力的积极因素。



(A. 剑叶含氮量; B. 剑叶含钾量; C. 剑叶氮钾比; D. 光合速率; E. 气孔导度; F. 胞间 CO₂ 浓度)

图 2 灌浆中期剑叶氮钾含量及光合特性

Fig. 2 Flag leaf N, K contents and photosynthetic characteristics at grain filling stages

表 1 *ZmK2;1* 超表达对水稻产量构成特征的影响

Table 1 Contribution of *ZmK2;1* overexpression to grain yield characteristic

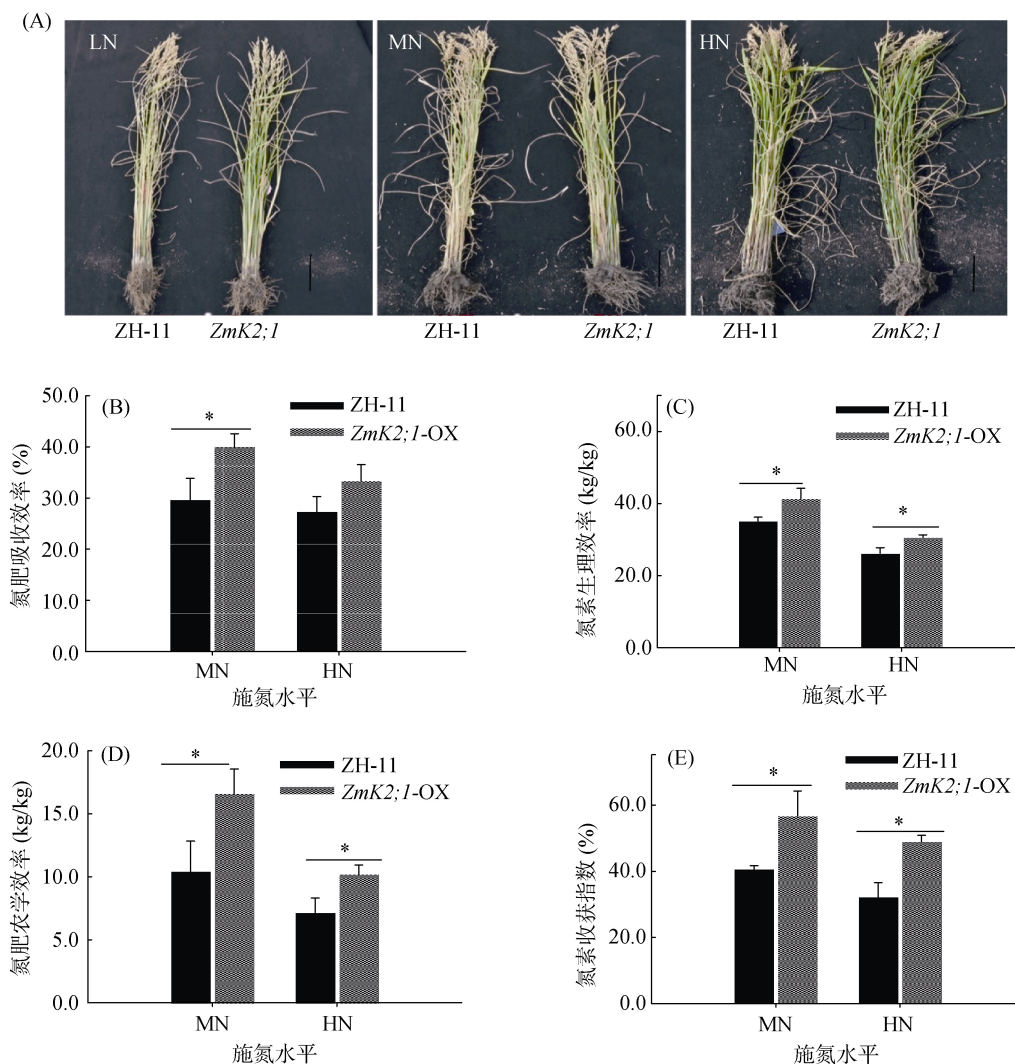
处理	水稻株系	单株分蘖	单株有效穗数	成穗率	单穗粒数	千粒重(g)	产量(t/hm ²)
LN	ZH-11	20.5 ± 0.3 b	17.3 ± 0.5 b	0.84 ± 0.04 a	80.7 ± 1.4 a	25.88 ± 0.06 b	5.38 ± 0.46 a
	<i>ZmK2;1</i> -OX	22.0 ± 0.9 a	18.7 ± 1.5 a	0.85 ± 0.02 a	82.8 ± 2.0 a	29.38 ± 0.08 a	5.67 ± 0.32 a
MN	ZH-11	28.0 ± 0.9 b	21.0 ± 0.7 b	0.75 ± 0.03 b	107.2 ± 2.0 b	28.26 ± 0.05 b	7.47 ± 0.29 b
	<i>ZmK2;1</i> -OX	33.3 ± 1.9 a	27.5 ± 1.3 a	0.83 ± 0.01 a	118.9 ± 5.1 a	33.42 ± 0.07 a	8.98 ± 0.28 a
HN	ZH-11	26.8 ± 2.6 b	17.5 ± 0.3 b	0.65 ± 0.03 b	111.6 ± 1.5 b	26.91 ± 0.13 b	7.89 ± 0.41 b
	<i>ZmK2;1</i> -OX	33.5 ± 0.7 a	24.3 ± 2.4 a	0.73 ± 0.04 a	119.9 ± 2.7 a	28.48 ± 0.16 a	9.24 ± 0.27 a

注: 表中数据表示为平均值±标准差; 同列数据小写字母不同表示同一处理不同水稻株系间差异达 $P < 0.05$ 显著水平。

2.4 *ZmK2;1* 超表达对水稻氮素利用效率和氮素分配的影响

由图 3A 可以看出, 增加施氮量明显促进了野生型和 *ZmK2;1* 超表达植株生物量的增加, 且超表达植株的叶片持绿特征更明显。图 3B 的结果表明, 在 MN

条件下, *ZmK2;1* 超表达能够促进植株对氮素的吸收和积累, 超表达水稻植株的氮肥吸收效率较野生型 (ZH-11) 水稻植株高出 34.97%, 差异达到显著水平 ($P < 0.05$); 在 HN 条件下, 仍然保持了增加的趋势, 但差异不显著。通过对水稻植株氮素生理效率的分析



(A. 完熟期植株生长的代表性照片, Bar=1 dm; B. 氮素吸收效率(RE_N); C. 氮素生理效率(PE_N); D. 氮肥农学效率(AE_N); E. 氮素收获指数(NHI); $n=3$)

图 3 *ZmK2;1* 超表达对水稻氮素利用效率的影响

Fig. 3 Effects of *ZmK2;1* overexpression on N use efficiencies of rice

发现(图 3C), 在 MN 条件下, *ZmK2;1* 超表达水稻植株的氮素生理效率较野生型植株增加 17.68%, 达到显著差异水平($P<0.05$), 并且在 HN 条件下延续了这种积极的变化趋势。另外, 在 MN 和 HN 条件下, *ZmK2;1* 超表达植株氮肥农学效率均显著高于野生型(图 3D, $P<0.05$), 表明该基因的超表达能够耐高氮, 并发挥一定的增产潜力。就氮素收获指数而言(图 3E), 在 MN 和 HN 条件下, *ZmK2;1* 超表达植株分别较野生型高出 39.47% 和 51.88%, 差异达显著水平($P<0.05$)。可见, *ZmK2;1* 超表达植株能够显著促进施氮条件下水稻对氮素的吸收利用, 氮肥农学利用率和氮素收获指数随之显著提升, 特别在高量施氮条件下, 同样能对植株氮素利用效率的提升发挥作用。由于 *ZmK2;1* 基因超表达改善了植株氮钾营养

特征, 使植株光合碳同化效率得以增强, 这种变化也有利于籽粒产量形成, 从而提升了高氮条件下的氮素利用潜力。

3 讨论

水稻干物质积累和分配与氮素和钾素水平密切相关, 提高钾素用量可以增加水稻干物质累积速率^[22]。钾素营养潜力取决于它与植物代谢过程的关系^[23]。而气孔作为 CO_2 进出植物体的重要门户, 其运动状态将在很大程度上作用于光合作用, 利用内向型钾通道调控的手段, 将比较有效地改善作物光合生产能力^[24]。本研究发现, 在各个氮素水平下, 在水稻中超表达 *ZmK2;1* 能够促进氮素和钾素的吸收。在中量施氮(MN)条件下, 超表达植株氮钾积累量均显著

高于野生型。在过量施氮(HN)条件下,超表达植株含钾量和生物量仍能得到显著提升,表明 *ZmK2;1* 超表达有利于氮钾营养吸收,而吸收水平的差异有利于协调植株氮钾比,促进植株生长。

关键功能叶(剑叶)的光合特性能够在一定程度上代表该植株的籽粒生产能力^[25-26]。气孔运动所导致的气孔开度的变化影响光合过程,这种运动受钾通道活性变化的控制^[27]。在本研究中,剑叶氮钾含量随处理水平表现出升高的趋势,钾含量显著高于野生型。超表达植株和野生型植株剑叶气孔导度随施氮量增加趋于饱和,在 MN 和 HN 条件下, *ZmK2;1* 超表达剑叶光合效率和气孔导度显著高于野生型,表明该基因超表达提升剑叶钾含量的同时促进了气孔开放。叶片钾含量的提高会提升保卫细胞膨压以保障气孔开放^[28],进而提高叶片碳同化水平;光合效率的提升耦合了高施氮量下较高的剑叶含氮量,从而提升干物质生产能力。另外,气孔导度与叶片钾含量间存在显著的正相关关系^[29-30]。本研究中,各处理水平下, *ZmK2;1* 超表达植株和野生型水稻植株剑叶胞间 CO₂ 浓度表现出先升高然后稳定的趋势,超表达植株和野生型间无明显差异。可见,剑叶氮钾水平的协同提高有利于光合同化效率,尤其在 HN 条件下, *ZmK2;1* 超表达植株剑叶仍能维持较高的光合效率和气孔导度,这也是其胞间 CO₂ 浓度与野生型基本持平的原因所在。

水稻产量形成的过程实际上就是干物质合成、转运和积累的过程,提高干物质积累是实现高产的前提^[31]。增施氮肥可以显著提高水稻的净光合速率和产量,过量则不利^[32]。氮钾配施能够对叶片氮钾营养特征产生影响,进而在一定范围内对光合碳同化过程产生积极作用^[33]。本研究中产量构成因素的相关结果表明, *ZmK2;1* 超表达和野生型相比能够提升植株的分蘖能力,对穗粒数、千粒重和籽粒产量有明显的促进作用,表明该基因表达活性的增加能够提升水稻植株的籽粒生产和灌浆能力, *ZmK2;1* 超表达通过改善植株和关键功能叶的氮钾养分状况促进了植株的氮素干物质生产能力,而这种变化得益于灌浆期较高的剑叶光合碳同化能力,对提升水稻生育后期的灌浆能力和产量形成有利。

氮素利用包括植株对氮素的吸收同化,以及向籽粒的分配效率^[31]。本研究中,在 MN 和 HN 条件下, *ZmK2;1* 基因超表达能够促进氮素吸收,超表达水稻植株的氮肥吸收效率明显提高。在 MN 水平下, *ZmK2;1* 超表达水稻植株的氮素生理效率得到显著提

升,在 HN 条件下仍有优势。氮肥农学效率表示增施氮肥的水稻增产效果,在 MN 和 HN 条件下, *ZmK2;1* 超表达植株氮肥农学效率均显著高于野生型,尤其 HN 条件时, *ZmK2;1* 超表达水稻植株仍有增产优势。然而,此前有研究通过关键铵吸收基因和同化基因的过表达,发现植株长势均弱于野生型,籽粒生产能力减弱,认为是由于植株碳源供应的差异所致^[4, 6]。可见,高氮条件下,通过气孔钾通道基因超表达增强光合碳同化能力,能够弥补高氮条件下植株碳不足的情况。另外, *ZmK2;1* 超表达植株氮素收获指数在 MN 和 HN 条件下较野生型均有显著提升,尤其过量施氮条件下,氮素收获指数明显提高,表明通过气孔调控途径增加光合碳同化的方式对协同提高籽粒氮分配有积极作用,高量氮投入所导致的水稻体内的高氮环境需要碳同化过程的协调,才能更好发挥氮素利用潜力。

4 结论

ZmK2;1 超表达水稻植株有较强的有效分蘖的形成能力,植株生物量和千粒重的提升表明 *ZmK2;1* 超表达能够促进水稻植株干物质积累和籽粒灌浆效率。在中量施氮时, *ZmK2;1* 超表达对植株氮钾营养特征的改善使关键功能叶在生育期内保持较高的光合同化效率,促进植株体氮素利用效率和产量的提升。尤其在过量施氮条件下, *ZmK2;1* 超表达仍能促进气孔开放和碳源的利用,提升水稻在高氮环境下的光合效率,这对植株氮素利用率和增产潜力的发挥有利。

参考文献:

- [1] 霍中洋, 杨雄, 张洪程, 等. 不同氮肥群体最高生产力水稻品种各器官的干物质和氮素的积累与转运[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(5): 1035-1045.
- [2] 王维, 张建华, 杨建昌, 等. 水分胁迫对贪青迟熟水稻茎贮藏碳水化合物代谢及产量的影响[J]. 作物学报, 2004, 30(3): 196-204.
- [3] 殷春渊, 赵全志, 刘贺梅, 等. 水稻籽粒非结构性碳水化合物及充实的氮素调控[J]. 中国农学通报, 2011, 27(30): 6-11.
- [4] Ranathunge K, El-kereamy A, Gidda S, et al. AMT1; 1 transgenic rice plants with enhanced NH₄⁺ permeability show superior growth and higher yield under optimal and suboptimal NH₄⁺ conditions[J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(4): 965-979.
- [5] Bao A L, Liang Z J, Zhao Z Q, et al. Overexpressing of OsAMT1-3, a high affinity ammonium transporter gene, modifies rice growth and carbon-nitrogen metabolic status[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(5): 9037-9063.
- [6] Bao A L, Zhao Z Q, Ding G D, et al. Accumulated expression

- level of cytosolic glutamine synthetase 1 gene (OsGS1; 1 or OsGS1; 2) alter plant development and the carbon-nitrogen metabolic status in rice[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e95581.
- [7] Sardans J, Peñuelas J. Potassium control of plant functions: Ecological and agricultural implications[J]. *Plants (Basel, Switzerland)*, 2021, 10(2): 419.
- [8] Hasanuzzaman M, Bhuyan M H M B, Nahar K, et al. Potassium: A vital regulator of plant responses and tolerance to abiotic stresses[J]. *Agronomy*, 2018, 8(3): 31.
- [9] Battie-laclau P, Laclau J P, Beri C, et al. Photosynthetic and anatomical responses of *Eucalyptus grandis* leaves to potassium and sodium supply in a field experiment[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2014, 37(1): 70–81.
- [10] Andrés Z, Pérez-Hormaeche J, Leidi E O, et al. Control of vacuolar dynamics and regulation of stomatal aperture by tonoplast potassium uptake[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(17): E1806–E1814.
- [11] Kim T H, Böhmer M, Hu H H, et al. Guard cell signal transduction network: Advances in understanding abscisic acid, CO₂, and Ca²⁺ signaling[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61: 561–591.
- [12] Murata Y, Mori I C, Munemasa S. Diverse stomatal signaling and the signal integration mechanism[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2015, 66: 369–392.
- [13] Hwang H, Yoon J, Kim H Y, et al. Unique features of two potassium channels, OsKAT2 and OsKAT3, expressed in rice guard cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72541.
- [14] Moon S J, Kim H Y, Hwang H, et al. A dominant negative OsKAT2 mutant delays light-induced stomatal opening and improves drought tolerance without yield penalty in rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 772.
- [15] Nguyen T H, Huang S G, Meynard D, et al. A dual role for the OsK_{5.2} ion channel in stomatal movements and K⁺ loading into xylem sap[J]. *Plant Physiology*, 2017, 174(4): 2409–2418.
- [16] Guo R Q, Ruan H, Yang W J, et al. Differential responses of leaf water-use efficiency and photosynthetic nitrogen-use efficiency to fertilization in Bt-introduced and conventional rice lines[J]. *Photosynthetica*, 2011, 49(4): 507–514.
- [17] Ono K, Maruyama A, Kuwagata T, et al. Canopy-scale relationships between stomatal conductance and photosynthesis in irrigated rice[J]. *Global Change Biology*, 2013, 19(7): 2209–2220.
- [18] Su Y H, North H, Grignon C, et al. Regulation by external K⁺ in a maize inward shaker channel targets transport activity in the high concentration range[J]. *The Plant Cell*, 2005, 17(5): 1532–1548.
- [19] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [20] Huang L Y, Sun F, Yuan S, et al. Different mechanisms underlying the yield advantage of ordinary hybrid and super hybrid rice over inbred rice under low and moderate N input conditions[J]. *Field Crops Research*, 2018, 216: 150–157.
- [21] Rathke G W, Behrens T, Diepenbrock W. Integrated nitrogen management strategies to improve seed yield, oil content and nitrogen efficiency of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): A review[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2006, 117(2/3): 80–108.
- [22] 杨林生, 张宇亭, 杨柳青, 等. 不同氮钾水平对水稻干物质累积、转运及产量的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2019(4): 89–95.
- [23] Wang Y, Wu W H. Genetic approaches for improvement of the crop potassium acquisition and utilization efficiency[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2015, 25: 46–52.
- [24] Lawson T, Matthews J. Guard cell metabolism and stomatal function[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2020, 71: 273–302.
- [25] Long S P, Bernacchi C J. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54(392): 2393–2401.
- [26] Long S P. Virtual Special Issue (VSI) on mechanisms of plant response to global atmospheric change[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2012, 35(10): 1705–1706.
- [27] Sharma T, Dreyer I, Riedelsberger J. The role of K⁺ channels in uptake and redistribution of potassium in the model plant *Arabidopsis thaliana*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4: 224.
- [28] Srivastava A K, Shankar A, Nalini Chandran A K, et al. Emerging concepts of potassium homeostasis in plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(2): 608–619.
- [29] Jin S H, Huang J Q, Li X Q, et al. Effects of potassium supply on limitations of photosynthesis by mesophyll diffusion conductance in *Carya cathayensis*[J]. *Tree Physiology*, 2011, 31(10): 1142–1151.
- [30] Hu W, Yang J S, Meng Y L, et al. Potassium application affects carbohydrate metabolism in the leaf subtending the cotton (*Gossypium hirsutum* L.) boll and its relationship with boll biomass[J]. *Field Crops Research*, 2015, 179: 120–131.
- [31] Bhattacharya A. Effect of low temperature on dry matter, partitioning, and seed yield: A review[M]// *Physiological Processes in Plants Under Low Temperature Stress*. Singapore: Springer, 2022: 629–734.
- [32] Ju C X, Buresh R J, Wang Z Q, et al. Root and shoot traits for rice varieties with higher grain yield and higher nitrogen use efficiency at lower nitrogen rates application[J]. *Field Crops Research*, 2015, 175: 47–55.
- [33] Hou W F, Yan J Y, Jáklí B, et al. Synergistic effects of nitrogen and potassium on quantitative limitations to photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(20): 5125–5132.