

低钾胁迫下两种不同耐低钾大豆叶片显微结构的差异

曲婷婷,曹敏建,李兴涛,王 伟

(沈阳农业大学农学院,辽宁 沈阳 110161)

摘 要:以耐低钾大豆品种九农 15 和不耐低钾品系 GD8521 为试材,用水培方法研究了低钾胁迫下两种类型大豆叶片显微结构的差异。结果表明:在低钾胁迫下,耐性品种的上表皮结构变化不明显;而不耐品种的上表皮厚度增加,上表皮细胞长度、上表皮细胞密度及上表皮长/宽都减小;低钾胁迫下,耐性品种的栅栏组织仅第一层细胞长度减小,而不耐品种第一、二层栅栏组织细胞长度、宽度均增加,细胞密度减少,栅栏组织增厚;随着供钾水平的降低,耐性品种仍保持较发达的平脉叶肉细胞,而不耐品种平脉叶肉细胞不发达;低钾胁迫下耐性品种海绵组织细胞密度减少,不耐品种栅海比变化显著增大;低钾胁迫下,耐性品种下表皮略有增厚,不耐品种几乎没有差异。

关键词:大豆;耐低钾;叶片显微结构

中图分类号:S565.101

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2009)03-0434-05

Differences of Low Potassium Stress on Leaves Microstructure of Two Soybean Varieties with Different Resistance

QU Ting-ting, CAO Min-jian, LI Xing-tao, WANG Wei

(Agronomy College of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, Liaoning, China)

Abstract: In former thesis, difference of photosynthetic ability due to low K stress between two kinds of resistant varieties had been reported in soybean, but the change of leaves microstructure and factors led to this difference still unclear. So in this experiment, we selected two soybean varieties (lines) with different resistance as material in order to study the effect of low potassium on microstructure of soybean leaves, so as to probing into tolerant mechanism of different resistant varieties on low potassium stress. The plants were grown in modified 1/2 Hoaglands' solution with $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (low potassium stress) and $3.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ of K. Results showed there was no difference in upper epidermis microstructure between low potassium stress and CK for tolerant variety. For resistant variety, the thickness of upper epidermis greatly increased in low potassium stress, but the length of upper epidermis, density of upper epidermis and the ratio of length of upper epidermis to thickness of upper epidermis decreased significantly. At low potassium level, length of the first line palisade cell in tolerant variety reduced. However, length and width of the first and second line palisade cell, thickness of palisade tissue both increased, but the density of palisade cell decreased. Tolerant variety still keep well-developed midvein mesophyll cell and the density of sponge tissue greatly decreased in low potassium stress. The ratio of thickness of palisade tissue to thickness of sponge tissue of resistant variety increased significantly in low K level. Compared with CK, the thickness of lower epidermis of tolerant variety increased, while no differences were found for resistant variety.

Key words: Soybean; Tolerant to potassium; Leaf microstructure

钾是作物所必需的大量元素之一,土壤钾素供应不足将严重影响作物的生长发育和产量形成^[1]。然而,我国钾矿资源贫乏,大部分钾肥须依赖于进口,大量施用钾肥尚有一定困难。我国作为大豆的起源地,丰富的种质资源,为筛选钾高效基因型提供了可能。培育耐低钾基因型品种,是缓解我国钾素

资源短缺,提高钾肥利用率,促进农业可持续发展的一条有效途径。

目前,有关大豆耐低钾品种的研究主要集中在低钾胁迫下大豆形态特征及生理生化的差异方面^[2]。现有资料表明,大豆不同品种对低钾胁迫的反应不同,对于大豆在低钾胁迫下叶片面积、厚度变

收稿日期:2008-12-15

作者简介:曲婷婷(1982-),女,硕士研究生,现主要从事作物抗逆性生理机制研究。E-mail:ly5341550@163.com。

通讯作者:曹敏建,教授,博士生导师。E-mail:caominjian@163.com。

化及叶片光合荧光特性等都进行了深入研究^[3],但关于低钾胁迫下不同低钾耐性大豆的叶片显微结构差异研究还少有报道。叶是作物进行同化和蒸腾作用的主要器官,与周围环境有着密切的关系,低钾营养胁迫下大豆生长受阻,体内代谢发生变化,以叶的结构变化最为明显^[4-5]。有研究表明,低钾胁迫会显著改变棉花叶片栅栏组织、海绵组织细胞形状及排列方式,使细胞间隙增大^[6]。课题组在多年的田间筛选中得到了典型的耐低钾型品种九农 15 和不耐低钾型品种 GD8521,以此为材料,研究低钾胁迫下叶片解剖结构的差异,并进一步深入研究缺钾引起的叶片内部组织的变化情况,旨在明确大豆耐低钾生理特性与解剖结构的关系,为进一步开展耐低钾大豆育种和栽培技术提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选用 2 个大豆品种:耐低钾型品种九农 15(耐性系数 0.82);不耐低钾型品种 GD8521(耐性系数 0.36)^[7]。

1.2 试验设计

选取籽粒饱满、均匀一致的种子以 1.2% 次氯酸钠溶液消毒 20 min,蒸馏水冲洗 5 遍,均匀的播在石英砂中,置于 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 培养箱中培养。待幼苗真叶长出后选取生长一致的植株移至 1/2 倍 Hoagland 营养液中培养,营养液起始 pH 为 6.0,用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 或 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 调节。培养容器为黑色塑料小桶,再用白色油漆涂抹以降低桶身对热量的吸收。每桶装营养液 3 L,每盆 3 株。每日用通气泵定时通气(通 15 min,停 30 min)。设低钾($\text{K}_{0.5}$, $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)和对照($\text{K}_{3.0}$, $3.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)两个处理,钾源为 KCl。2 个品种与 2 个钾浓度处理组成 4 个处理组合,3 次重复。网室内自然条件下培养,每 5 d 更换 1 次营养液。

1.3 测定项目和方法

培养 15 d 后,选取同位生长健壮、大小相似的叶片,分别裁长 4~5 mm,宽 2~5 mm 的小块若干,投入 FAA 固定液。用石蜡切片法,对固定好的材料进行酒精梯度脱水、透蜡、包埋后切片,切片厚度为 $10 \mu\text{m}$ 。切片脱蜡、番红/固绿双重染色、二甲苯透明后,用中性树胶封片^[8],用 Olympus 显微镜观察并进行拍照,所测的数据,以 9 个视野平均值计算。

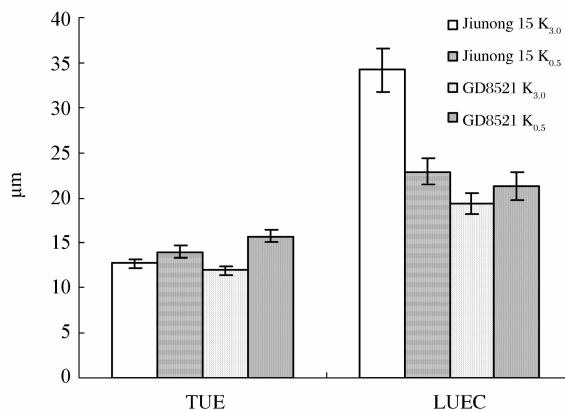
1.4 数据处理

采用 Excel、DPS 软件分析和处理数据,将低钾胁迫($\text{K}_{0.5}$)与对照($\text{K}_{3.0}$)数据进行 t-测验,比较 2 个平均数之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 低钾胁迫下大豆叶片上表皮结构的差异

如图 1 所示,低钾胁迫下,九农 15 和 GD8521 上表皮厚度(TUE)都增加,但增加程度不同,其中 GD8521 上表皮厚度增加了 $3.81 \mu\text{m}$,达到极显著差异水平($P < 0.01$)。GD8521 上表皮细胞长度(LUEC)明显减少,比正常钾水平时减少了 32.90%,达到显著水平($P < 0.05$)。同时 GD8521 上表皮细胞密度均数也由 3.40 个增加到 4.86 个,达到极显著水平($P < 0.01$)。通过计算两大豆品种缺钾时,上表皮细胞长宽比值减小,GD8521 低钾胁迫时减少为正常钾水平的 50.84%,达到极显著水平($P < 0.01$),细胞形状变化明显。结果说明,低钾胁迫下,耐低钾品种九农 15 的上表皮结构无明显变化;不耐品种 GD8521 上表皮结构中,上述各项数值变化都已经达到显著或极显著水平。



TUE: Thickness of upper epidermis; LUEC: Length of upper epidermis cell

图 1 不同耐性品种在两种处理下上表皮结构比较

Fig. 1 Comparison of upper epidermis in different K levels for two varieties

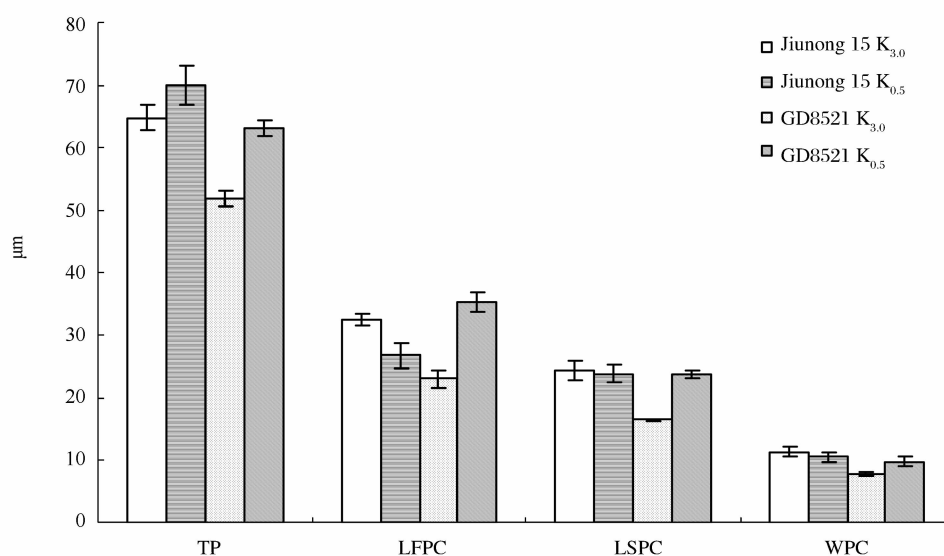
2.2 低钾胁迫下大豆叶片栅栏组织的差异

两品种在低钾胁迫时栅栏组织有增厚现象(见图 2),九农 15 的栅栏组织厚度(TP)增加了 $5.22 \mu\text{m}$;GD8521 $\text{K}_{0.5}$ 处理时栅栏组织的厚度较 CK 增加 $11.11 \mu\text{m}$,增厚比九农 15 明显。栅栏组织是叶片内含有较多叶绿体的组织,栅栏组织的增厚可提高叶绿体含量同时减少光对作物自身的伤害。九农

15 第一层和第二层栅栏组织细胞变短,为对照的 82.55% 和 98.19%,第一层栅栏细胞长度(LFPC)差异达到了显著水平($P < 0.05$);不耐品种 GD8521 第一层和第二层栅栏组织细胞均变长,为对照的 157.68%、144.65%,第一层栅栏细胞长度增加达到了极显著水平($P < 0.01$),第二层栅栏细胞伸长有显著差异($P < 0.05$)。两品种都有增厚但增厚方式不同,九农 15 为栅栏组织细胞层数增加;GD8521 增厚表现在第一二层细胞长度增加。

耐性品种九农 15 栅栏组织细胞宽度(WPC)和栅栏组织细胞密度在低钾胁迫下变化并不明显;GD8521 栅栏细胞宽度增加,达到了显著水平($P < 0.05$),同时,栅栏组织细胞密度则较 CK 水平减少 37.96%,差异极显著($P < 0.01$)。

说明低钾胁迫下,九农 15 栅栏组织变化不明显;不耐品种 GD8521 的栅栏组织厚度没有显著增加,而栅栏组织细胞密度减幅显著,这会大大影响其光合作用的强度。



TP: Thickness of palisade tissue; LFPC: Length of the first line palisade cell;
LSPC: Length of the second line palisade cell; WPC: Width of palisade cell

图 2 不同耐性品种在两种处理下栅栏组织结构比较

Fig. 2 Comparison of palisade tissue in different K levels for two varieties

2.3 低钾胁迫下大豆叶片平脉叶肉结构的差异

平脉叶肉细胞存在于大豆复叶栅栏组织和海绵组织之间,起着叶片内物质的水平运输作用,观察到栽培和野生大豆长成的复叶均有 1 层,初生叶有 2 层平脉叶肉细胞,不仅上与栅栏组织,下与海绵组织紧密相接,还与叶脉韧皮部相连,平脉叶肉细胞之间形成许多通道,这十分有利于叶片光合产物的横向运输和组织之间的气体交换^[9]。图 3 可见,低钾胁迫下九农 15 平脉叶肉细胞比较发达(图 3A、3B),GD8521 平脉叶肉细胞没有九农 15 发达(图 3C、3D)。结果说明,低钾胁迫下耐性品种九农 15 仍保有较发达的平脉叶肉细胞,这更利于光合产物的运输和组织间气体交换。

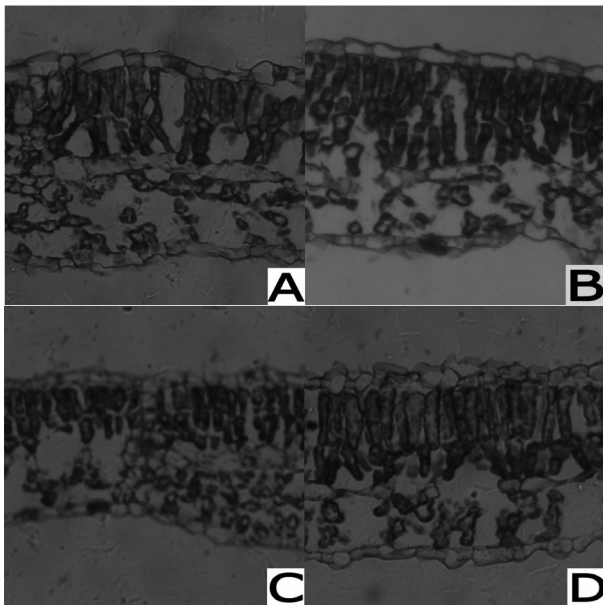
2.4 低钾胁迫下大豆叶片海绵组织的差异

作物海绵组织细胞大小、形状不规则,排列疏松,数目比栅栏组织少得多,含有的叶绿体也少,细

胞间隙大,便于气体的交换和流通^[10]。低钾胁迫下,两品种海绵组织的厚度及密度均减小(图 4),九农 15 海绵组织密度的变化显著($P < 0.05$),为对照处理的 86.71%;GD8521 海绵组织密度减少了 21.19%。栅栏组织与海绵组织的比值在低钾胁迫下均增大,九农 15 增加了 12.73%;GD8521 栅海比增大了 37.50% 达到显著($P < 0.05$)。说明低钾胁迫使两品种大豆叶片海绵组织更加松散,更利于气体的交换流通。

2.5 低钾胁迫下大豆叶片下表皮结构的差异

低钾胁迫下,九农 15 的下表皮厚度略有增加,相反 GD8521 的厚度几乎不变(图 5),由于叶片的下表皮分布着大量的气孔,控制作物气体交换和水分的交换,作物下表皮的厚度影响着作物气体和水分的交换^[11]。九农 15 下表皮厚度增加可提高大豆叶片储水能力,防止水分散失。结果说明,低钾胁迫



A. 九农 15 $K_{3.0}$ 大豆叶片横切; B. 九农 15 $K_{0.5}$ 大豆叶片横切; C. GD8521 $K_{3.0}$ 大豆叶片横切; D. GD8521 $K_{0.5}$ 大豆叶片横切

A. $K_{3.0}$ Leaf transverse section of Jiunong 15; B. $K_{0.5}$ Leaf transverse section of Jiunong 15; C. $K_{3.0}$ Leaf transverse section of GD8521; D. $K_{0.5}$ Leaf transverse section of GD8521

图 3 大豆叶的解剖结构 $\times 100$

Fig. 3 Anatomical structure of soybean leaf $\times 100$

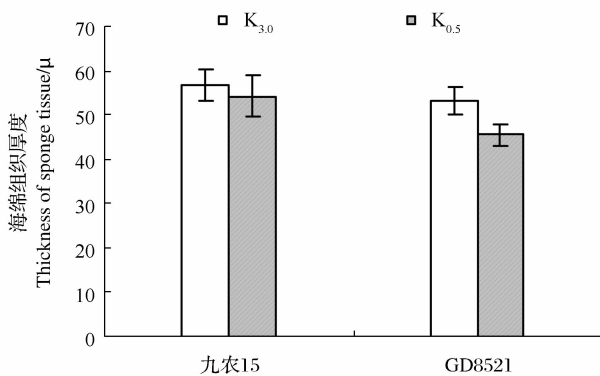


图 4 不同钾处理下海绵组织厚度

Fig. 4 Thickness of sponge tissue under two different levels of K 下九农 15 下表皮结构较 GD8521 更利于大豆生长, 提高光合效率。

3 结论与讨论

结果发现,低钾胁迫下不耐品种 GD8521 叶片上表皮厚度,上表皮细胞宽度,上表皮细胞密度及上表皮长/宽均较对照有显著变化。由于表皮上有大量气孔,上表皮厚度的增加直接影响了气体和水分的交换,这与王伟等研究的不耐品种 GD8521 气孔

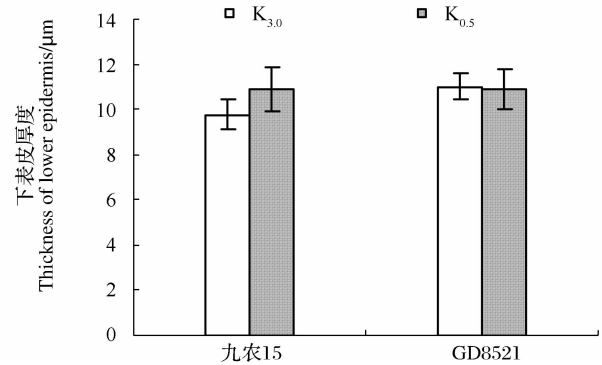


图 5 不同钾处理下下表皮厚度

Fig. 5 Thickness of lower epidermis under two different levels of K 限制是导致光合速率下降的一个原因相一致^[3]。耐性品种上表皮变化不显著,说明缺钾对其表皮结构影响较小。

低钾胁迫下两品种栅栏组织层数变化不同,苗以农等研究发现大多数新品种或高产品种第 3 ~ 4 节位和 12 ~ 15 节位复叶具有 3 层栅栏细胞,初生叶存在着 3 ~ 4 层栅栏细胞^[9]。低钾处理下,不耐品种 GD8521 栅栏组织层数由 3 层减少为 2 层,而耐性品种九农 15 栅栏组织层数由 2 层变为 3 层,这无疑能增强单位叶面积光合作用的能力。由此可见低钾对大豆影响可能是在生长初期就已经产生。试验过程中, GD8521 栅栏组织厚度增加,和第一层栅栏细胞伸长变化极显著,但同时栅栏组织密度的减少达到极显著水平,王伟等研究表明低钾胁迫使大豆叶片厚度增加且叶面积减少^[3],张桂茹等研究认为叶片厚度和栅栏组织密度的增加有利于气体交换和减少叶肉对 CO_2 扩散的阻力及光能吸收的适应^[8],是大豆叶片对低钾胁迫的适应性变化。低钾胁迫下虽然叶片肉厚度增加但是海绵组织的厚度和密度都在减小,海绵组织较栅栏组织叶绿体含量少,这可能是叶片为了尽可能的进行光合作用进行的一种内部调节。至于低钾条件下,叶面积减小与叶片增厚的内部变化规律以及不同效应型大豆品种,栅栏组织采取不同增厚方式的原因仍需进一步研究。

中耐性品种九农 15 在 $K_{3.0}$ 和 $K_{0.5}$ 两种水平处理下,平脉叶肉细胞都很发达,与之相对不耐品种 GD8521 的平脉叶肉细胞不很发达,这不利于光合产物的运输。比较发现, GD8521 平脉叶肉细胞不发达,栅栏组织层数减少;相反,九农 15 叶片在低钾胁迫下保持发达的平脉叶肉细胞和增加栅栏组织层数,说明较不耐品种更容易捕获光能,光合产物传递及组织间气体交换更畅通,因而能维持较好的

生长。

综上所述,不同耐性品种(系)大豆,低钾胁迫时叶片显微结构的变化具有差异。不耐品系显微结构变化较大,集中在上表皮结构和栅栏组织上。一方面上表皮厚度增加限制了气体与水分的内外交换;另一方面,栅栏组织细胞密度的减少也显著降低了叶绿体的含量从而减少了叶片对光能的捕获机会。此外不耐品系平脉叶肉细胞不发达直接影响了光合产物的运输和组织间气体交换,由此可见,低钾胁迫对不耐品系显微结构的影响是多方面的。低钾胁迫下耐性品种显微结构较对照变化不明显,仅栅栏组织第一层细胞长度显著减少,但其栅栏组织层数相对增加总厚度仍大于低效品种,这表明由于基因型差异,耐性大豆品种在低钾胁迫下通过自身叶片结构的变化能较好的维持叶片的光合功能,为耐低钾大豆品种选育提供选择指标。

参考文献

- [1] 李春杰,王建国,许艳丽,等. 钾对大豆产量及品质的影响[J]. 农业系统科学与综合研究,2005,21(2):154-155,160. (Li C J, Wang J G, Xu Y L, et al. Effect of potassium on the yield and quality of soybean[J]. System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture, 2005, 21(2): 154-155, 160.)
- [2] 王晓光,曹敏建,蒋文春,等. 钾肥对不同基因型大豆叶片生理功能的影响[J]. 大豆科学,2006,25(2):133-136. (Wang X G, Cao M J, Jiang W C, et al. Effects of potassium deficiency on photosynthetic function of different soybean genotypes[J]. Soybean Science, 2006, 25(2): 133-136.)
- [3] 王伟,李兴涛,蔡左莹,等. 低钾胁迫对不同效应型大豆光合特性及叶绿素荧光参数的影响[J]. 大豆科学,2008,27(3):451-455. (Wang W, Li X T, Qi Z Y, et al. Effect of low potassium stress on photosynthetic and chlorophyll fluorescence parameters of two soybean varieties with different K-efficiency[J]. Soybean Science, 2008, 27(3): 451-455.)
- [4] 李芳兰,包维楷. 植物叶片形态解剖结构对环境变化的响应与适应[J]. 植物学通报,2005,22(增刊):118-127. (Li F L, Bao W K. Responses of the morphological and anatomical structure of the plant leaf to environmental change[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2005, 22(Supplement): 118-127.)
- [5] 谢洋,吴军,马晓,等. 银杏观叶新品种叶片解剖结构研究[J]. 河南农业大学学报,2005,39(3):265-269. (Xie Y, Wu J, Ma X, et al. Study on anatomical structure of leaves of new cultivars of Ginkgo biloba[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2005, 39(3): 265-269.)
- [6] 姜存仓. 不同基因型棉花对钾的反应差异及其机理研究[D]. 武汉:华中农业大学,2006:101-108 (Jiang C C. Different Effects and Mechanisms of Potassium on Varied Cotton Genotypes [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2006: 101-108.)
- [7] 唐劲驰,曹敏建,刘限. 大豆品种(系)耐低钾性的筛选与评价[J]. 大豆科学,2003,22(1):18-21. (Tang J C, Cao M J, Liu X. Resistance mechanism and screening of soybean genotype resistance to low potassium[J]. Soybean Science, 2003, 22(1): 18-21.)
- [8] 张桂茹,杜维广,满为群,等. 不同光合特性大豆叶的比较解剖研究[J]. 植物学通报,2002,19(2):208-214. (Zhang G R, Du W G, Man W Q, et al. Study on leaf comparative anatomy of different genotypes of soybean[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2002, 19(2): 208-214.)
- [9] 苗以农,许守民,徐克章,等. 大豆光合生理生态的研究第17报大豆叶结构的多样性及其生理意义[J]. 大豆科学,1995,14(3):251-254. (Miao Y N, Xu S M, Xu K Z, et al. The diversity of structure in the leaves of soybean and its related physiological function[J]. Soybean Science, 1995, 14(3): 251-254.)
- [10] 沈阳农业大学. 植物学[M]. 长春:吉林科学技术出版社,1995:119. (Shenyang Agriculture University. Botany[M]. Changchun: Jilin Science & Technology Press, 1995: 119.)
- [11] 桂克印,李炎林,唐前瑞,等. 不同光照处理下的绿萝叶片及叶片解剖结构[J]. 吉林大学学报(自然科学版),2007,28(5):95-98. (Gui K Y, Li Y L, Tang Q R, et al. Leaf anatomy of scindapsus aureus growing under illumination treatment[J]. Journal of Jilin University, 2007, 28(5): 95-98.)

About Agronomy Journal

Articles relating to original research in soil-plant relationships; crop science; soil science; biometry; crop, soil, pasture, and range management; crop, forage, and pasture production and utilization; turfgrass; agroclimatology; agronomic modeling; statistics; production agriculture; and computer software are published in *Agronomy Journal* subsequent to review and approval by the editorial board. Articles should make a significant contribution to the advancement of knowledge or toward a better understanding of existing agronomic concepts. The study reported must be of potential interest to a significant number of scientists and, if specific to a local situation, must be relevant to a wide body of knowledge in agronomy. Additional details on requirements for articles are published in *Agronomy Journal* each year.

Review papers that are either volunteered or invited by the editorial board may be printed in the journal. Invitational papers from nonmembers may be published on approval by the president if found acceptable by the editorial board.

For detailed information, please visit <http://agron.sci journals.org/>