

doi: 10.11707/j.1001-7488.20191002

薄壳山核桃果实假果皮的光合特性*

张 韵¹ 刘 涛² 张 涛¹ 谢乐添¹ 黄坚钦¹ 王正加¹ 胡渊渊¹

(1. 浙江农林大学 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室 杭州 311300; 2. 杭州市原种场 杭州 311115)

摘 要: 【目的】通过研究薄壳山核桃不同发育时期果实的外观形态和光合特性参数,并结合 DCMU [3-(3,4-二氯苯基)-1,1-二甲基脲]抑制果实光合作用对其果实干质量的影响,探讨薄壳山核桃果实假果皮光合作用对果实干物质积累的重要贡献,为充分挖掘薄壳山核桃假果皮光合增产潜力和优势,进一步提高产量的技术途径提供参考。【方法】以薄壳山核桃果实为研究对象,在果实发育的关键时期授粉后 80 和 120 天测定果实的干/鲜质量、表面积、气体交换参数、叶绿素荧光参数及假果皮叶绿素(Chl)含量、RuBPC(1,5-二磷酸核酮糖羧化酶)和 PEPC(磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶)活性的变化,并从 7 月 15 日(相当于 75DAP)开始用 DCMU 对果实光合作用进行抑制处理,每周处理 1 次,直至 9 月 12 日果实收获时,分析 DCMU 处理对果实果长/果横径、果仁干/鲜质量和含油率的影响作用。【结果】1) 从授粉后 80~120 天,薄壳山核桃果实鲜质量、干质量和表面积分别增加了 579.33%、447.74%和 227.39%($P<0.01$); 2) 从授粉后 80~120 天,PAR=1 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时薄壳山核桃果实表观光合速率(P_g)显著降低了 24%,但其气孔导度(G_s)与胞间二氧化碳浓度(C_i)未发生显著变化($P>0.05$); 3) 薄壳山核桃果实假果皮叶绿素含量显著降低 63.15%($P<0.05$),其 RuBPC 与 PEPC 活性分别显著降低 56.25%和 48.78%($P<0.05$),而其可溶性蛋白含量未发生显著变化($P>0.05$); 4) PAR=1 801 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时,薄壳山核桃果实假果皮最大光化学效率(F_v/F_m)、实际光化学量子效率($Y(II)$)、光化学猝灭系数(q_p)和电子传递速率(ETR)未发生显著变化($P>0.05$); 5) DCMU 处理薄壳山核桃后,其果实果长和果横径分别减少 5.07%和 4.56%($P<0.05$),果仁干质量和鲜质量分别减少 12.29%和 14.97%($P<0.05$),含油率减少 2.48%($P<0.05$)。【结论】随果实发育进程,薄壳山核桃果实假果皮光合能力明显降低。从授粉后 80~120 天,果实假果皮叶绿素含量、RuBPC 酶和 PEPC 酶活性明显降低是 P_g 显著下降的原因;而叶绿素荧光参数未发生显著变化,表明果实发育期间其假果皮光合机构稳定。DCMU 处理后果实大小以及果实品质明显下降,薄壳山核桃果实光合作用对其果实干物质积累具有重要的作用。

关键词: 果实发育;薄壳山核桃;假果皮;光合特性;干物质积累

中图分类号: S718.43 文献标识码: A 文章编号: 1001-7488(2019)10-0010-09

Photosynthetic Characteristics of Pseudo-peel of Pecan Fruits

Zhang Yun¹ Liu Tao² Zhang Tao¹ Xie Letian¹ Huang Jianqin¹ Wang Zhengjia¹ Hu Yuanyuan¹

(1. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University Hangzhou 311300;

2. Hangzhou Raw Seed Growing Farm Hangzhou 311115)

Abstract: 【Objective】In this study we measured the morphology and photosynthetic parameters of *Carya illinoensis* at different development stages. Furthermore, DCMU [3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea], an inhibitor of photosynthesis, was applied to detect the effect of photosynthesis inhibition on the fruit dry weight. The purpose of this study was to explore the influence of photosynthesis of Pecan pseudo-peel on the fruit dry matter accumulation, which could lay a foundation for further study on potential and advantage of photosynthesis of pseudo-peel of pecan, and provide a technical basis for further improving the yield of pecans. 【Method】In this study, pecan fruits were used as the experimental material. The dynamic changes in dry/fresh mass, surface area, chlorophyll content, the activity of RuBPC (ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase) and PEPC (phosphoenolpyruvate carboxylase) of pecan fruits were investigated at the critical stage of fruit development [80 and 120 days after pollination (DAP)]. In addition, DCMU was applied once

收稿日期: 2019-05-30; 修回日期: 2019-07-15。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31600547); 浙江省自然科学基金项目(LY15C160003); 浙江省科技厅重大研发专项(2018C02004); 浙江省农业新品种选育重大科技专项(2016C02052-13); 中央财政林业科技推广项目(2018)TS 08 号; 国家重点研发计划(2018YFD1000604)。

* 胡渊渊为通讯作者。

a week from July 25th (75DAP) to the fruits harveston September 12th to inhibit the fruit photosynthesis, and the dynamic changes in fruit length/width, fresh/dry weight of nutlet, and oil content were measured to detect the effect of DCMU treatment on fruit dry matter. 【Result】1) From 80 to 120 DAP, fresh weight, dry weight and surface area of pecan fruits increased by 579.33%, 447.74% and 227.39%, respectively ($P < 0.01$). 2) From 80 to 120 DAP, the photosynthetic rate (P_g) decreased by 24% with PAR of $1\ 300\ \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, however, there was no significant change in stomatal conductance (G_s) and intercellular carbon dioxide concentration (C_i) ($P > 0.05$). 3) The chlorophyll content of the pseudo-peel of pecan fruit was significantly reduced by 63.15% ($P < 0.05$). The activity of RuBPC and PEPC decreased by 56.25% ($P < 0.05$) and 48.78% ($P < 0.05$), respectively, while the content of soluble protein did not change significantly ($P > 0.05$). 4) The maximum photochemical efficiency (F_v/F_m), the actual photochemical quantum efficiency ($Y(II)$), the ratio of the PSII reaction centers (q_p) and the electron transfer rate (ETR) in the pseudo-peel of pecan fruits were not significantly changed ($P > 0.05$) at PAR of $1\ 801\ \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. 5) After DCMU treatment, the fruit length and width decreased by 5.07% ($P < 0.05$) and 4.56% ($P < 0.05$), the dry weight and fresh weight of nutlet decreased by 12.29% ($P < 0.05$) and 14.97% ($P < 0.05$), respectively, and the oil content decreased by 2.48% ($P < 0.05$). 【Conclusion】 The results indicated that with the growth of fruits, the photosynthetic capacity of pseudo-peel of pecan fruits was significantly reduced. From 80 to 120 DAP, the decrease in P_g might be due to the decreased chlorophyll content, RuBPC enzyme and PEPC enzyme activity of the pecan fruits' pseudo-peel. However, the chlorophyll fluorescence parameters did not change significantly, and the photosynthetic apparatus of the pseudo-peel was stable. The fruit size and quality decreased significantly after DCMU treatment. Photosynthesis of the pseudo-peel plays an important role in dry matter accumulation of Pecan fruits.

Key words: fruit development; pecan fruits; pseudo-peel; photosynthetic characteristics; dry matter accumulation

除叶片外,植物非叶组织或绿色器官(如果实)也含有叶绿素,具有一定的光合能力,同时对干物质的积累具有一定的贡献(Aschan *et al.*, 2003)。如番茄(*Lycopersicon esculentum*) (Roessnertunali *et al.*, 2003; 刘洪梅等, 2008)、苹果(*Malus domestica*) (孙山, 2009)、温州蜜桔(*Citrus unshiu*) (陈俊伟等, 2001)等。因此,研究果实的光合作用对果实的生长发育具有十分重要的意义。

果实发育时期不同,果实假果皮叶绿素荧光参数和气体交换参数会发生变化(Wullschleger *et al.*, 1990; Hu *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2016)。果皮光合作用除了与气孔限制有关外,还与叶绿素、光合酶活性等非气孔有关(Lytovchenko *et al.*, 2011; Hua *et al.*, 2011);与 RuBPC (1,5-二磷酸核酮糖羧化酶)活性关系密切(Priwitzer *et al.*, 1998; Hrstka *et al.*, 2005);同一果实在不同发育时期光合酶活性不同,苹果单果 PEPC 酶(磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶)的活性随果实发育过程不断增加(Blanke *et al.*, 1986)。此外,冷锁虎等(1992)通过环割油菜(*Brassica napus*)果柄的方法估算出角果皮的光合产物对籽粒产量的贡献率为 62%~70%;Hu 等(2013)通过对棉花(*Gossypium hirsutum*)铃壳遮荫估算出棉铃假果皮光合作用对棉铃干物质积累的相对贡献率为 25.1%;Xu 等(2016)通过果实 CO₂ 气

体交换估算出,山核桃(*Carya cathayensis*)在授粉后 88~121 天其果实光合作用对果实发育所需碳源的相对贡献率最高,为 13.3%,而薄壳山核桃(*C. illinoensis*)在授粉后 112~123 天果实光合作用对果实发育的相对贡献率最高,为 33.8%。通过使用 3-(3,4-二氯苯基)-1,1-二甲基脲(DCMU)或百草枯等光合抑制剂(Maydup *et al.*, 2010; Hua *et al.*, 2011)方法可以估算出果实和种子光合作用对产量的贡献率,Hu 等(2017)通过对香榧(*Torreya grandis*)果实施用 DCMU 后种子鲜质量下降了 22%;Maydup 等(2010)对小麦(*Triticum aestivum*)旗叶进行 DCMU 处理发现小麦旗叶对小麦穗粒干物质积累的贡献率为 13%~33%;Hua 等(2011)对油菜角果进行环割并分别用 2,4-表油菜素内酯和百草枯处理长角果,2,4-表油菜素内酯明显促进长角果光合作用及碳物质积累,而百草枯抑制长角果生长。

薄壳山核桃又称美国山核桃,为胡桃科(Juglandaceae)山核桃属落叶乔木,原产美国和墨西哥北部(彭方仁等,2012),在我国金华、绍兴等地已有 100 多年栽培历史。其果仁营养丰富,深受广大民众的喜爱,具有很高的经济价值。近年来对薄壳山核桃的研究主要集中在营养成分、开花生物学特性和育种等方面(姚小华等,2004;张继东,2009;

刘广勤等, 2011; 张汇慧等, 2014), 贾晓东等 (2015) 对薄壳山核桃果实发育动态及果实品质机制进行了研究, 但是尚未深入探讨果皮在果实发育过程中光合特性的变化及其对果实发育的影响作用。鉴于此, 本研究通过测定薄壳山核桃果实不同发育时期假果皮叶绿素(Chl)含量、气体交换参数、叶绿素荧光参数及光合酶活性等指标, 并结合分析 DCMU 处理对薄壳山核桃果实大小、果仁鲜/干质量及品质的影响作用, 揭示生长发育过程中薄壳山核桃果实假果皮光合特性的变化规律, 探讨薄壳山核桃果实假果皮光合作用对其果实发育及种子油脂合成的影响及作用, 为进一步提高果实产量和品质提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及试验地概况

试验地位于浙江农林大学薄壳山核桃试验林基地(30°14'10.68"E, 119°43'11.63"N)。该基地地势平缓, 2008 年造林, 2012 年开始结果。每年 4 月花期施少量复合肥及 9 月或 11 月果实采收后施用有机肥。

选择薄壳山核桃结果树东南方向, 距地面 1~1.5 m 的外围果实为试验材料, 1 棵树为 1 个重复, 每个重复分别取 3 个, 共 6 个重复。在薄壳山核桃果实生长发育过程中参考杨先裕 (2014) 设置采样时间。授粉时间为 2017 年 4 月 29 日—5 月 1 日, 薄壳山核桃果实采样时间为授粉后 80、120 天左右。

1.2 试验方法

1.2.1 对侧根果实干质量、鲜质量和表面积的测定

采用 Baryeh (2001) 和宋慧芝 (2011) 的方法, 取单果采用数显式游标卡尺测量果长 (L)、果横径 (W)、果纵径 (T) (mm), 几何平均径 Dg (mm) 的计算见公式 (1), 果实表面积 S (m^2) 的计算参考公式 (2)。

$$Dg = (LWT)^{1/3}; \quad (1)$$

$$S = \pi \times DgS. \quad (2)$$

在每次采样时, 果实气体交换参数测定后, 采集果实, 用电子天平称量鲜质量和干质量 (60 °C 烘干至恒质量), 精确至 0.01。

1.2.2 薄壳山核桃果实气体交换参数的测定 选择晴朗天气 (上午 8:00—11:00, 下午 14:00—16:00) 利用 Li-6400 便携式光合仪 (Li-Cor, Lincoln, NE) 进行测定。果实使用 RGB 红绿蓝光源簇状叶室 (Li 6400-22L)。设定叶室内气体流速为 $500 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$, 叶室温度为 $(31.7 \pm 2.5) \text{ } ^\circ\text{C}$, CO_2 浓度为 $400 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, 测定光照强度为 $1\ 300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 测定相

对湿度 (RH) 为 $71.5\% \pm 6.1\%$, 水汽压亏缺 (VPD, vapour pressure deficit) 为 $(1.1 \pm 0.16) \text{ kPa}$ 。每株树作为 1 个重复, 每次重复 3 个果实, 共 4 次重复。

果实光合速率为光下的光合速率和黑暗下的呼吸速率之和。薄壳山核桃果实假果皮单位面积的光合速率通过代入果实的表面积/2 (只有上表面积接受光强, 所用的面积也是一面) 进行校准重新计算的。

1.2.3 叶绿素含量的测定 采回的果实用陶瓷刀片对半切开, 再用自制陶瓷双刀片 (厚度为 3 mm) 取果实中部果皮 2 至 3 片 (每片约为 $1 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$) 称鲜质量后快速切碎, 放入装有 8 ml 95% 乙醇的离心管中, 置于暗处浸提 24 h, 定时振荡; 同时取相同果实上的中部果皮, 称鲜质量后, 再在方格纸上记下面积, 用 UV-2550 型分光光度计 (日本岛津), 测定提取液在 665、649 和 470 nm 波长下的 OD 值, 计算方法参照 Lichtenthaler (1987) 的方法。

1.2.4 叶绿素荧光参数测定 采用 Dual PAM-2500 荧光仪 (WALZ, 德国) 测定薄壳山核桃果实不同发育时期假果皮的叶绿素荧光参数。测定前, 先对果实进行充足的暗适应。先测定初始荧光产量 (F_o) 和最大荧光产量 (F_m), 随后打开光化光, 强度为 $1\ 801 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 待荧光信号到达稳态后 (4~5 min) 打开饱和脉冲光, 测定任意时间的实际荧光产量 (F_t) 和光适应下的最大荧光产量 (F'_m)。

荧光参数按下列公式计算: 光系统 II 最大量子产量 $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$; 有效光化学量子产量 $Y(\text{II}) = (F'_m - F_t)/F'_m$ (Genty *et al.*, 1989); 化学淬灭 $q_p = (F'_m - F_t)/(F'_m - F'_o)$ (Krause *et al.*, 1991)。其中 $F'_o = F_o/(F_v/F_m + F_o/F_m)$ (Oxborough *et al.*, 1997); $\text{ETR} = Y(\text{II}) \times \text{PFD} \times 0.5 \times 0.84$, 其中, 0.84 为吸光系数, 0.5 为假设吸收的光被 2 个光系统均分得到的参数 (Schreiber *et al.*, 1995)。

1.2.5 RuBPC 活性与可溶性蛋白的测定 分别取授粉后 80、120 天的薄壳山核桃假果皮适量, 根据 Sayre (1979) 的方法并稍做改进, 测定 RuBPC 酶活性。每个样取 0.5 g 左右的假果皮到研钵中 (4 °C 冰浴处理) 加少量液氮进行研磨。加入 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液 1 mL (pH8), 转移到离心管中, 温度为 4 °C, 转速为 15 000 g 下离心 10 min, 取上层清液测定酶活性。取上层清液 100 μL 加入 3.2 mL 反应液, 内含 $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH8.0), $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl_2 , $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA, $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DTT, $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NADH, $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ATP, $200 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaHCO_3 , 磷酸肌酸激酶 CPK (Creatine phosphokinase)

(2 000 μL^{-1}), 磷酸甘油酸激酶 PGK (3-phosphoglyceric phosphokinase) (4 000 μL^{-1}), 25 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 5 min。

采用考马斯亮蓝法测定假果皮可溶性蛋白含量 (高俊凤, 2006.)。

1.2.6 PEPC 活性的测定 PEPC 活性测定参照施教耐(1979)。反应液总体积 3.1 mL, 内含 1.0 mL 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris- H_2SO_4 (pH9.2), 1.0 mL 酶提取缓冲液 0.1 mL 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 0.1 mL 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaHCO_3 , 0.2 mL 40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸烯醇式丙酮酸 (PEP), 0.3 mL 1.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ NADH, 过量的苹果酸脱氢酶 (MDH 约 10.5U) 0.2 mL, 于 28 $^{\circ}\text{C}$ 水浴预热 10 min, 用 0.2 mL PEPC 提取液启动反应, 然后迅速在 340 nm 下测定吸光度的下降值。

1.2.7 含油率的测定 参考郝再彬等(2004)方法, 先用液氮研磨种子, 放入 65 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱烘干, 滤纸用之前烘 1 h, 取烘干后样品 8 g, 用滤纸包好, 称滤纸重, 滤纸+样品重, 用 30~60 $^{\circ}\text{C}$ 石油醚提取 8~10 h, 用旋转蒸发仪将石油醚与油分离, 将油放入 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 样包放入 65 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱烘干, 计算含油率。

$$\text{含油率} = (B-C) / (B-A) \times 100\%$$

式中, A 为滤纸包质量 (g); B 为滤纸包加烘干样质量 (g); C 为滤纸包加抽提后残渣烘干质量 (g)。

1.2.8 DCMU 处理对果实形态和含油率的影响 在 2017 年 7 月中旬 (约为 75DAP) 对果实进行 DCMU 处理。将标记的薄壳山核桃果实 (每棵树约有 50 个果实) 分为 2 部分, 其中一部分用 DCMU 进行处理, 处理液浓度为 0.1 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 加入 0.1% (v/v) 吐温-20 作表面活性剂; 另一部分作为对照组, 用吐温-20 单独处理, 浓度相同。为防止叶片受到影响, 将样品用纸巾包裹浸泡 30 min 后取下, 于中午进行试验处理, 每周 1 次。在成熟后采收样本, 测量样品的生物量指标, 包括果长、横径和果仁鲜质量、干质量以及含油率。DCMU 是通过结合反应中心中的 D1 蛋白来抑制光合作用中的光系统 II 电子传递的化学抑制剂 (Allen *et al.*, 1986; Chow *et al.*, 1990)。除了抑制植物的光合作用, 没有其他副作用。因此, 本文中 DCMU 处理后薄壳山核桃果实的大小、干物质和含油率的明显下降是由 DCMU 处理抑制果实光合作用引起的。

1.3 数据处理

试验数据采用 Excel 2007 计算和分析, 多重比较采用 LSD 法进行, 独立样本 *t* 检验和方差分析处理均采用 SPSS18.0 版统计软件进行统计学分析处

理, 最后利用 sigmaplot12.0 版专业绘图和数据分析软件进行相关性分析及作图。

2 结果与分析

2.1 薄壳山核桃果实不同发育时期的外观形态、干重和表面积的变化

由图 1 可知, 授粉后 80、120 天, 果实假果皮颜色呈明显变化, 与授粉后 120 天果实相比较, 授粉后 80 天果实假果皮更显绿, 这可能是果实生长后期叶绿素降解造成的。经过 40 天的生长发育, 果实长度和宽度均明显增大, 果实长度、宽度分别增大 56.11% 和 109.85%。从授粉后 80、120 天, 单果干质量、鲜质量和表面积均显著增加 (表 1)。授粉后 120 天, 相较于 80 天, 其果实鲜质量、干质量和表面积分别增加了 579.33%、447.74% 和 227.39%, 果实光合表面积明显增大。



图 1 授粉后 80、120 天薄壳山核桃果实外部形态的变化
Fig.1 Changes in shape of pecan fruits during 80, 120 days after pollination

表 1 授粉后 80 和 120 天薄壳山核桃果实鲜质量、干质量和表面积的变化^①

Tab.1 Changes in fruit shape indices of pecan fruits during 80 and 120 days after pollination

授粉后天数 Days after pollination	鲜质量 Fresh weight/g	干质量 Dry weight/ g	表面积 Surface area/ cm^2
80	6.29±0.44A	1.55±0.10A	17.85±0.28A
120	42.70±0.56B	8.49±0.09B	58.44±3.11B

① 同列数据后不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.01$)。Different capital letters indicates significant difference among treatments at 0.01 level.

2.2 不同发育时期薄壳山核桃果实在同一光强下假果皮气体交换参数的变化

由图 2 可知, 在 PAR 为 1 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时, 从授粉后 80 和 120 天, 单位面积果实假果皮薄壳山核桃光合速率 (P_g) 明显下降, 而 G_s 和 Tr 均明显增

加(图 2B、C、D)。授粉后 80 天,假果皮 P_g 为 $17.44 \mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 经过 40 天的生长发育,授粉后 120 天下降了 32.32%,且差异显著 ($P < 0.05$); G_s 、 C_i 相对于授粉后 80 天有所增加,其中 C_i 增加幅度较小,

G_s 、 C_i 分别增加了 17.87% 和 6.72%,差异均不显著 ($P > 0.05$); Tr 在授粉后 120 天时相较于 80 天增长幅度为 72.15%,且差异显著 ($P < 0.05$) 表明果实发育过程中光合作用可能受非气孔限制因素的影响。

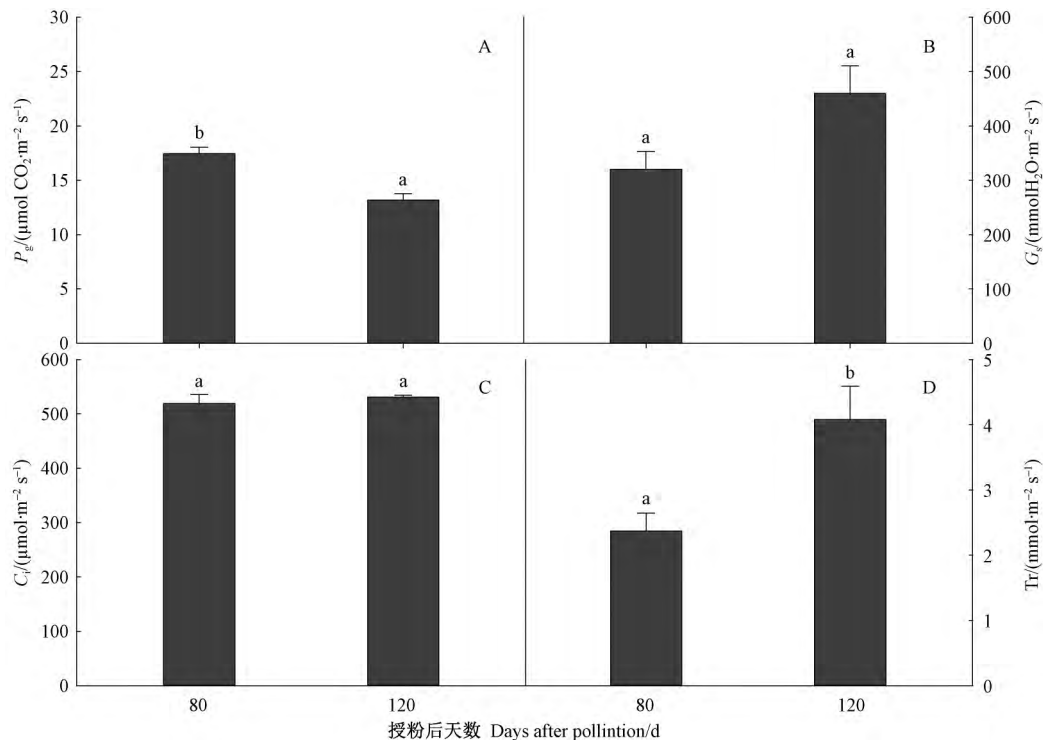


图 2 薄壳山核桃果实单位面积上光合速率(P_g)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)和蒸腾速率(Tr)的变化

Fig.2 The changes in P_g , G_s , C_i and Tr per surface area for fruits of pecan

A: 单位面积光合速率 P_g ; B: 单位面积气孔导度 G_s ; C: 单位面积胞间 CO_2 浓度 C_i ; D: 是单位面积蒸腾速率 Tr。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$),下同。A: P_g of per surface (filled circles in A); B: G_s of per surface; C: C_i of per surface; D: Tr of per surface. Different lowercase letters means significant difference ($P < 0.05$). The same bellow.

2.3 薄壳山核桃果实在不同发育时期叶绿素含量的变化

由图 3 可知,授粉后 80 天时,假果皮单位面积叶绿素含量较高,为 $13.35 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$,随发育进程,其叶绿素含量明显降低,授粉后 120 天时,叶绿素含量下降了 63.15%,这与图 1 发育后期果实假果皮颜色偏黄是一致的。

2.4 薄壳山核桃果实不同发育时期 RuBPC 酶、PEPC 酶活性及可溶性蛋白含量的变化

由图 4 可知,随果实发育进程,薄壳山核桃假果皮单位鲜质量 RuBPC 活性、PEPC 活性和可溶性蛋白含量有不同的变化趋势,其中 RuBPC 活性和 PEPC 活性呈明显的下降趋势,分别下降了 56.25% 和 48.78% ($P < 0.05$); 但其可溶性蛋白含量无明显变化 ($P > 0.05$)。

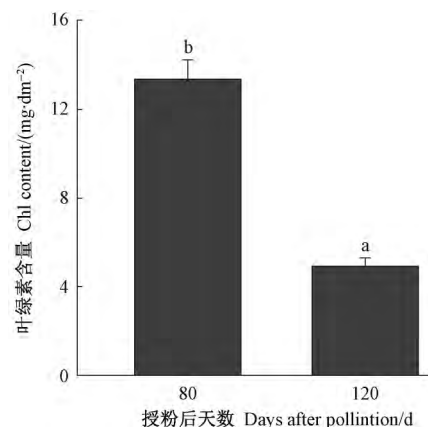


图 3 授粉后 80 和 120 天薄壳山核桃果实假果皮叶绿素含量的变化

Fig.3 Changes in chlorophyll content in pseudo-peel of pecan fruits during 80 and 120 days after pollination

2.5 不同发育时期薄壳山核桃果实假果皮叶绿素荧光参数的变化

PAR 为 $1\ 801\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时 授粉后 120 天薄壳

山核桃果实假果皮的 F_v/F_m 值、 $Y(II)$ 、 qP 和 ETR 与授粉后 80 天相比均未发生明显变化 ($P>0.05$) (表 2) 表明薄壳山核桃果实的光合机构比较稳定。

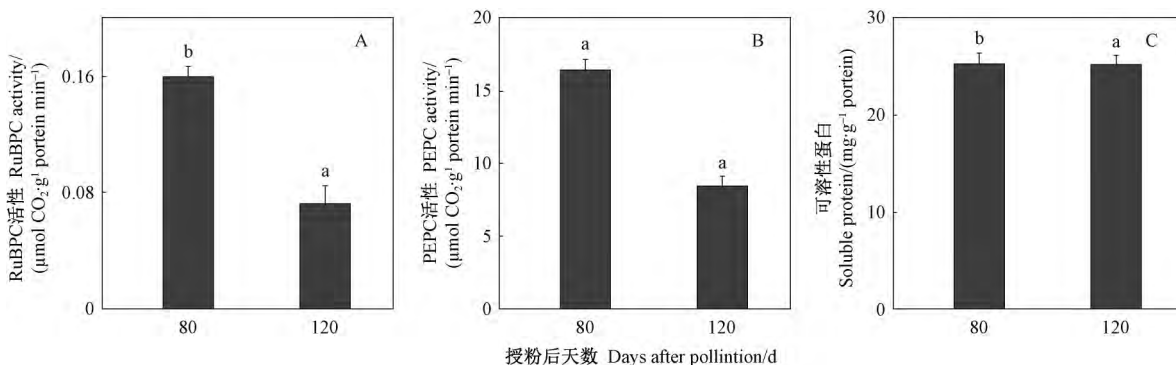


图 4 授粉后 80、120 天薄壳山核桃假果皮单位鲜质量上 RuBPC 酶、PEPC 酶活性及可溶性蛋白含量变化

Fig.4 Changes in RuBPC, PEPC activity and soluble protein content expressed on fresh weight of pseudo-peel on pecan fruit during 80, 120 days after pollination

A: RuBPC 酶活性; B: PEPC 酶活性; C: 为可溶性蛋白含量。

A: Presents the RuBPC activity, B: Presents the PEPC activity, C: Presents the soluble protein content.

表 2 授粉后 80 和 120 天薄壳山核桃果实假果皮叶绿素荧光参数的变化

Tab.2 Changes in chlorophyll fluorescence parameters of pseudo-peel of pecan fruit during 80 and 120 days after pollination

授粉后天数 Days after pollination/d	最大光化学速率 F_v/F_m	实际光化学效率 $Y(II)$	光化学猝灭系数 qP	表观电子传递速率 ETR/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)
80	$0.74\pm0.02a$	$0.049\pm0.01a$	$0.07\pm0.01a$	$22.22\pm4.05a$
120	$0.77\pm0.03a$	$0.054\pm0.01a$	$0.06\pm0.02a$	$19.34\pm2.54a$

2.6 施用 DCMU 的作用

DCMU 处理对薄壳山核桃果实的生长影响很大。与 CK 相比, DCMU 处理的果实明显变小。由表 3 可知, 与 CK 相比, DCMU 处理的果长/果横径、果仁干/鲜质量和含油率均明显减少显著降低, 其中果长和果横径分别减少了 5.07% ($P<0.05$) 和 4.56% ($P<0.05$) 果仁干质量和鲜质量分别减少了 12.29% ($P<0.05$) 和 14.97% ($P<0.05$) ,含油率减少了 2.48% ($P<0.05$) ,表明 DCMU 的施用使得果实大小及含油率明显降低。

表 3 施用 DCMU 处理薄壳山核桃果实形态、种仁鲜/干质量和含油率的变化

Tab.3 The changes in fruit characters fresh/day weight of kernel and its oil content of pecan caused by treatment with DCMU

参数 Parameters	CK	DCMU
果长 Length/mm	$75.214\pm4.642a$	$71.404\pm2.992b$
果横径 Width/mm	$39.625\pm1.790a$	$37.820\pm1.731b$
果仁鲜质量 Fresh weight of nutlet	$5.964\pm0.798a$	$5.071\pm1.067b$
果仁干质量 Dry weight of nutlet	$2.286\pm0.201a$	$2.005\pm0.333b$
含油率 Oil content(%)	$72.6\pm0.003a$	$70.8\pm0.002b$

3 讨论

叶绿素是植物进行光合作用的主要色素,在光能吸收和转化中起着重要的作用,是光合作用的基础(刘秀香, 2013)。本研究结果显示,随果实发育进程(授粉后 80~120 天),薄壳山核桃果实假果皮颜色由绿变黄(图 1),这与叶绿素的降解有关,同 Hu 等(2017)和李艳秋(2006)的研究结果是一致的。研究表明,叶绿素的降解过程是叶片不断衰老的过程(Kurahotta *et al.*, 1987)。本研究结果显示,授粉后 80~120 天,果实假果皮叶绿素含量下降了 63%(图 3),这表明叶绿素含量的降低可能是导致果实光合能力下降的原因之一。授粉后 80~120 天,果实的 G_s 明显增大,但 C_i 无显著变化,表明非气孔因素限制可能是果实发育过程假果皮光合速率降低的原因(郑国琦, 2002)。RuBPC 酶是碳同化关键酶,其浓度和活性的变化很大程度上决定光合速率的变化(Lawlor *et al.*, 1989)。RuBPC 酶通常是光合组织中主要的可溶性蛋白,大约占到 50%左右(Makino *et al.*, 1983)。本研究结果显示,授粉后 120 天时假果皮的 RuBPC 酶活性为授粉后 80 天

时的一半,但单位面积上的可溶性蛋白含量几乎保持不变(图 4A、C),可能是由于核桃科果实假果皮含有大量的可溶性蛋白质(包括 RuBPC 酶),但并没有完全活化(Warren *et al.*, 2004)。RuBPC 是一种重要的氮储存形式,可为后期种仁的充实提供物质保障(Warren *et al.*, 2002)。因此,可认为在授粉后 120 天,薄壳山核桃果实假果皮较高的可溶性蛋白含量可以作为一个有效的供氮源,可使薄壳山核桃树有更强的适应能力。但要证实这一假说,还需要进一步的研究。PEPC 酶与果实的光合作用再固定呼吸作用放出的 CO_2 相关(Blanke *et al.*, 1991)。授粉后 80~120 天,PEPC 酶活性显著降低(图 4B),这可能是由于其果实 CO_2 再固定能力下降有关(Blanke *et al.*, 1987)。综上所述,授粉后 80~120 天,薄壳山核桃果皮叶绿素含量、RuBPC 酶及 PEPC 酶活性的降低是其 P_g 明显降低的原因。

叶绿素荧光参数是研究植物光合作用与环境关系的内在探针,常用来描述植物光合作用机制和光合生理状况的变化,观察反映植物内在的特点(Krause *et al.*, 1991)。 F_v/F_m 值反映植物果实 PSII 原初光能转换效率及 PS II 潜在活性,是植物发生光抑制的敏感指标(梁新华等, 2001; 李叶云, 2014); $Y(II)$ 是 PS II 的实际光合效率,反映了光合机构的实际光能转换效率(Genty *et al.*, 1989); q_p 为光化学淬灭参数,代表光合能量用于暗反应固定能量的部分,其值越高表示光能中转变为活泼化学能的能量越多,植物对光能的利用效率也越高(杜鹏珍等, 2014); ETR 为表现光合电子传递速率,光合能量的传递速率可以用其值的高低来表示(杨柳青等, 2014)。本研究结果显示,授粉后 80 至 120 天,薄壳山核桃果实假果皮的 F_v/F_m 、 $Y(II)$ 、 q_p 和 ETR 未发生明显变化(表 2),表明薄壳山核桃果实的光合机构比较稳定,具有较稳定的光合电子传递能力和光化学效率是薄壳山核桃具有较稳定光合能力的原因。

为进一步揭示假果皮在果实生长发育过程中作用,对薄壳山核桃假果皮进行 DCMU 处理发现,果实的大小、干物质量和含油率均明显低于 CK 处理,表明薄壳山核桃假果皮光合作用对其果实大小、干物质积累及含油率的形成均有着重要作用,这与香榧和山核桃的研究结果是一致的(Hu *et al.*, 2017; 黄仁, 2018)。

4 结论

授粉后 80~120 天,薄壳山核桃果实假果皮光

合能力明显降低。果实假果皮叶绿素含量、RuBPC 酶和 PEPC 酶活性均显著降低是 P_g 显著下降的原因; 叶绿素荧光参数不变说明薄壳山核桃在生长发育过程中光合机构保持稳定。DCMU 处理后果实大小以及果实品质明显下降,由此可进一步说明薄壳山核桃假果皮光合作用的重要性。

参 考 文 献

- 陈俊伟,张上隆,张良诚,等. 2001. 温州蜜柑果实发育进程中光合产物运输分配及糖积累特性. 植物生理学报, 27(2): 186-192. (Chen J W, Zhang S L, Zhang L C, *et al.* 2001. Transport and distribution of photosynthetic products and sugar accumulation in the development of *Citrus unshiu* fruits. Acta Phytophysiological Sinica, 27(2): 186-192. [in Chinese])
- 杜鹏珍,廖绍波,孙冰,等. 2014. 班克木幼苗的光合色素及叶绿素荧光特性. 中南林业科技大学学报, 34(9): 49-54. (Du P Z, Liao S B, Sun B, *et al.* 2014. Photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescent characteristics of 17 provenances of *Banksia* seedlings. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 34(9): 49-54. [in Chinese])
- 高俊凤. 2006. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社. (Gao J F. 2006. Guidance of plant physiology experiment. Beijing: Higher Education Press. [in Chinese])
- 郝再彬,苍晶,徐仲. 2004. 植物生理实验. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社. (Hao Z B, Cang J, Xu Z. 2004. Plant physiology experiment. Harbin: Harbin Institute of Technology Press. [in Chinese])
- 黄仁. 2018. 异源花粉授粉下山核桃外果皮光合增强的分子机理研究. 临安: 浙江农林大学硕士学位论文. (Huang R. 2018. The molecular mechanism on the improved photosynthetic capacity of hickory pericarp by cross-pollination. Lin'an: MS thesis of Zhejiang A&F University. [in Chinese])
- 贾晓东,罗会婷,翟敏,等. 2015. '波尼'薄壳山核桃果实发育动态分析. 果树学报, 32(2): 247-253. (Jia X D, Luo H T, Zhai M, *et al.* 2015. Dynamic analysis of pecan (*Carya illinoensis* 'Pawnee') nut development. Journal of Fruit Science, 32(2): 247-253. [in Chinese])
- 冷锁虎,朱耕如,邓秀兰. 1992. 油菜籽粒干物质来源的研究. 作物学报, 18(4): 250-257. (Leng S H, Zhu G R, Deng X L. 1992. Study on the source of dry matter in *Brassica napus* grain. Acta Agronomica Sinica, 18(4): 250-257. [in Chinese])
- 李艳秋. 2006. 黄瓜果实成熟衰老特性的研究. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文. (Li Y Q. 2006. Studies on senescence and ripeness character of *Cucumber* fruit. Harbin: MS thesis of Northeast Agricultural University. [in Chinese])
- 李叶云,舒锡婷,周月琴,等. 2014. 自然越冬过程中 3 个茶树品种的生理特性变化及抗寒性评价. 植物资源与环境学报, 23(3): 52-58. (Li Y Y, Shu X T, Zhou Y Q, *et al.* 2014. Change in physiological characteristics and cold resistance evaluation of three cultivars of

- Camellia sinensis* during natural overwintering period. *Journal of Plant Resources and Environment* 23(3): 52-58. [in Chinese]
- 梁新华, 许 兴, 徐兆桢, 等. 2001. 干旱对春小麦旗叶绿素 a 荧光动力学特征及产量间关系的影响. *干旱地区农业研究*, 19(3): 72-77.
- (Liang X H, Xu X, Xu Z Z, et al. 2001. Effects of drought on Chl a fluorescence kinetics and yield of spring wheat flag leaves. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 19(3): 72-77. [in Chinese])
- 刘广勤, 王秀云, 生静雅, 等. 2011. 薄壳山核桃育种研究进展. *林业工程学报*, 25(4): 1-5.
- (Liu G Q, Wang X Y, Sheng J Y, et al. 2011. The advance in Pecan breeding. *Journal of Forestry Engineering*, 25(4): 1-5. [in Chinese])
- 刘洪梅, 李 英, 卜贵军, 等. 2008. 番茄果皮与叶片光合细胞超微结构的比较. *东北农业大学学报*, 39(6): 22-25.
- (Liu H M, Li Y, Bu G J, et al. 2008. Ultrastructural comparison of photosynthetic cells between peel and leaf of *Lycopersicon esculentum*. *Journal of Northeast Agricultural University*, 39(6): 22-25. [in Chinese])
- 刘秀香. 2013. 松嫩平原两种生境芦苇叶片光合色素的时空动态. 长春: 东北师范大学硕士学位论文.
- (Liu X X, 2013. Spatiotemporal dynamics on photosynthetic pigments of reed leaves in two habitats of Songnen plain. Changchun: MS thesis of Northeast Normal University. [in Chinese])
- 彭方仁, 李永荣, 郝明灼, 等. 2012. 我国薄壳山核桃生产现状与产业化发展策略. *林业科技开发*, 26(4): 1-4.
- (Peng F R, Li Y R, Hao M Z, et al. 2012. Production status and industrialization development strategy of *Carya cathayensis* in China. *China Forestry Science and Technology*, 26(4): 1-4. [in Chinese])
- 施教耐, 吴敏贤, 查静娟. 1979. 植物磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶的研究——I. PEP 羧化酶同功酶的分离和变构特性的比较. *植物生理学报*, (3): 44-54.
- (Shi J N, Wu M X, Zha J J. 1979. Studies on plant phosphoenolpyruvate carboxylase —— I. isolation and structural characterization of PEP carboxylase isozymes. *Plant Physiology Journal*, (3): 44-54. [in Chinese])
- 宋慧芝, 张京平, 何 勇. 2011. 香榧青果的物理特性和其坚果力学特性研究. *农机化研究*, 33(11): 170-173.
- (Song H Z, Zhang J P, He Y. 2011. Study on the physical and mechanical properties of *Torreya grandis* fruit. *Journal of Agricultural Mechanization Research*, 33(11): 170-173. [in Chinese])
- 孙 山. 2009. 苹果绿色果皮光合生理特性及果皮灼伤机制的研究. 泰安: 山东农业大学博士学位论文.
- (Sun S. 2009. Study on photosynthetic characteristics and mechanism of sunburn in green peel of apple fruit. Tai'an: PhD thesis of Shandong Agricultural University. [in Chinese])
- 杨柳青, 张 柳, 廖飞勇, 等. 2014. 低温胁迫对南美天胡荽光合作用的影响. *经济林研究*, 32(4): 99-102.
- (Yang L Q, Zhang L, Liao F Y, et al. 2014. Effects of low temperature stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters in *Hydrocotyle vulgaris*. *Nonwood Forest Research*, 32(4): 99-102. [in Chinese])
- 杨先裕. 2014. 薄壳山核桃 'Mahan' 品种落果的生物学原因初探. 临安: 浙江农林大学硕士学位论文.
- (Yang X Y. 2014. Primary study on fruit-drop biological reason of *Carya illinoensis* of Mahan. Lin'an: MS thesis of Zhejiang A&F University. [in Chinese])
- 姚小华, 王开良, 任华东, 等. 2004. 薄壳山核桃优新品种和无性系开花物候特性研究. *江西农业大学学报*, 26(5): 675-680.
- (Yao X H, Wang K L, Ren H D, et al. 2004. A study on flowering phenology of *Carya illinoensis* new varieties and clones in east China. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 26(5): 675-680. [in Chinese])
- 张汇慧, 吴彩娥, 李永荣, 等. 2014. 不同品种薄壳山核桃营养成分比较. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 38(3): 55-58.
- (Zhang H H, Wu C E, Li Y R, et al. 2014. Comparison of nutritive compositions in different cultivars of pecans. *Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition*, 38(3): 55-58. [in Chinese])
- 张继东. 2009. 美国薄壳山核桃育苗技术. *林业实用技术*, (2): 25-26.
- (Zhang J D. 2009. Seedling raising technology of *Carya illinoensis*. *Practical Forestry Technology*, (2): 25-26. [in Chinese])
- 郑国琦, 许 兴, 徐兆桢, 等. 2002. 盐胁迫对枸杞光合作用的气孔与非气孔限制. *西北农业学报*, 11(3): 87-90.
- (Zheng G Q, Xu X, Xu Z Z, et al. 2002. The effect of salt stress on the stomatal and non-stomatal limitation of photosynthesis of Wolf Berry. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 11(3): 87-90. [in Chinese])
- Allen J F, Holmes N G. 1986. Electron transport and redox titration in photosynthesis energy transduction, a practical approach. eds M. F. Hipkins and N. R. Baker(Oxford: IRL Press), 103-141.
- Aschan G, Pfanz H. 2003. Non-foiar photosynthesis - a strategy of additional carbon acquisition. *Flora(Jena)*, 198(2): 0-97.
- Baryeh E A. 2001. Physical properties of bambara groundnuts. *Journal of Food Engineering*, 47(4): 321-326.
- Blanke M M, Notton B A. 1991. Kinetics and physiological significance of photosynthetic phosphoenolpyruvate carboxylase in avocado fruit. *Journal of Plant Physiology*, 137(5): 553-558.
- Blanke M M, Notton B A, Hucklesby D. 1986. Physical and kinetic properties of photosynthetic phosphoenolpyruvate carboxylase in developing apple fruit. *Phytochemistry*, 25(3): 601-606.
- Blanke M M, Hucklesby D P, Notton B A. 1987. Distribution and physiological significance of photosynthetic phosphoenolpyruvate carboxylase in developing apple fruit. *Journal of Plant Physiology*, 129(s3-4): 319-325.
- Blanke M M, Notton B A. 1991. Kinetics and physiological significance of photosynthetic phosphoenolpyruvate carboxylase in avocado fruit. *Journal of Plant Physiology*, 137(5): 553-558.
- Chow W S, Hope A B, Anderson J M. 1990. A reassessment of the use of herbicide binding to measure photosystem II reaction centres in plant thylakoids. *Photosynthesis Research*, 24(1): 109-13.
- Fan D Y, Nie Q, Hope A B, et al. 2007. Quantification of cyclic electron flow around Photosystem I in spinach leaves during photosynthetic

- induction. *Photosynthesis Research*, 94(2-3): 347-357.
- Genty B, Briantais J M, Baker N R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta: General Subjects*, 990(1): 87-92.
- Hrstka M, Urban O, Marek M V. 2005. Long-term effect of elevated CO₂ on spatial differentiation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity in Norway spruce canopy. *Photosynthetica*, 43(2): 211-216.
- Hu H, Wang L, Wang Q, et al. 2014. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence characteristics, and chlorophyll content of soybean seedlings under combined stress of bisphenol A and cadmium. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(11): 2455-2462.
- Hu Y Y, Oguchi R, Yamori W, et al. 2013. Cotton bracts are adapted to a microenvironment of concentrated CO₂ produced by rapid fruit respiration. *Annals of Botany*, 112(1): 31-40.
- Hu Y, Zhang Y, Yu W, et al. 2017. Novel insights into the influence of seed sarcotesta photosynthesis on accumulation of seed dry matter and oil content in *Torreya grandis* cv. "Merrillii". *Frontiers in Plant Science*, 8: 2179.
- Hua W, Li R J, Zhan G M, et al. 2011. Maternal control of seed oil content in *Brassica napus*: The role of silique wall photosynthesis. *The Plant Journal*, 69(3): 432-444.
- Krause G H, Weis E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42(1): 313-349.
- Kurahotta M, Satoh K, Katoh S. 1987. Relationship between photosynthesis and chlorophyll content during leaf senescence of rice seedlings. *Plant and Cell Physiology*, 28(7): 1321-1329.
- Lawlor D W, Kontturi M, Young A T. 1989. Photosynthesis by flag leaves of wheat in relation to protein, ribulose biphosphate carboxylase activity and nitrogen supply. *Journal of Experimental Botany*, 40(1): 43-52.
- Lichtenthaler H K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148(1): 350-382.
- Lytovchenko A, Eickmeier I, Pons C, et al. 2011. Tomato fruit photosynthesis is seemingly unimportant in primary metabolism and ripening but plays a considerable role in seed development. *Plant Physiology*, 157(4): 1650-1663.
- Makino A, Mae T, Ohira K. 1983. Photosynthesis and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves: Changes in photosynthesis and enzymes involved in carbon assimilation from leaf development through senescence. *Plant Physiology*, 73(4): 1002-1007.
- Maydup M L, Antonietta M, Guiamet J J, et al. 2010. The contribution of ear photosynthesis to grain filling in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Research*, 119(1): 0-58.
- Oxborough K, Baker N R. 1997. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components—calculation of q_p and FV'/FM' without measuring F_0' . *Photosynthesis Research*, 54(2): 135-142.
- Priwitzer T, Urban O, Šprtová M, et al. 1998. Chloroplastic carbon dioxide concentration in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) needles relates to the position within the crown. *Photosynthetica*, 35(4): 561-571.
- Roessnertunali U, Hegemann B, Lytovchenko A, et al. 2003. Metabolic profiling of transgenic tomato plants overexpressing hexokinase reveals that the influence of hexose phosphorylation diminishes during fruit development. *Plant Physiology*, 133(1): 84-99.
- Sayre R T, Kennedy R A, Pringnitz D J. 1979. Photosynthetic enzyme activities and localization in *Mollugo verticillata* populations differing in the levels of C₃ and C₄ cycle operation. *Plant Physiology*, 64(2): 293-299.
- Schreiber U, Bilger W, Neubauer C. 1995. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. *Ecophysiology of Photosynthesis*, 100.
- Warren C R, Adams M A. 2002. Phosphorus affects growth and partitioning of nitrogen to Rubisco in *Pinus pinaster*. *Tree Physiology*, 22(1): 11-19.
- Warren C R, Adams M A. 2004. Evergreen trees do not maximize instantaneous photosynthesis. *Trends in Plant Science*, 9(6): 270-274.
- Wullschlegel S D, Oosterhuis D M. 1990. Photosynthetic carbon production and use by developing cotton leaves and bolls. *Crop Science*, 30: 1259-1264.
- Xu Q, Wu J, Cao Y, et al. 2016. Photosynthetic characteristics of leaves and fruits of hickory (*Carya cathayensis* Sarg.) and pecan (*Carya illinoensis* K.Koch) during fruit development stages. *Trees*, 30(5): 1523-1534.

(责任编辑 王艳娜)