作物学报 ACTA AGRONOMICA SINICA 2026, 52(5): 1459−1471 http://zwxb.chinacrops.org/
ISSN 0496-3490; CN 11-1809/S; CODEN TSHPA9 E-mail: zwxb301@caas.cn

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.55058

油菜叶片功能氮动态变化对光合速率及光合氮利用效率的影响

任依涵[1,2] 赵曼利[1] 代 晶[1] 李银水[1] 顾炽明[1] 杨 璐[1] 杜雪竹[2] 胡文诗[1,*] 秦 璐[1,*]

[1] 中国农业科学院油料作物研究所 / 农业农村部油料作物生物学与遗传育种重点实验室, 湖北武汉 430062; [2] 湖北大学生命科学学院 / 省部共建生物催化与酶工程国家重点实验室, 湖北武汉 430062

摘 要: 油菜是我国重要的油料作物, 其高产依赖大量氮肥投入, 但氮肥利用率偏低。油菜生物量主要来源于光合作用, 通过提高光合速率(P_n)和光合氮利用效率(PNUE)实现高产与氮高效的协同, 对减少氮肥施用量、增加油菜产量, 确保油菜产业可持续发展具有重要意义。本研究选用叶面积和光合速率差异明显的 2 个油菜种质, 通过不同氮水平的水培试验, 测定叶片生长过程中的氮含量、光合能力、功能氮含量及核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)特性的动态变化, 旨在阐明氮素分配调控 P_n 和 PNUE 的生理机制。结果表明, 叶片氮含量随其生长而降低, 但 P_n 并不随之降低, 供氮水平增加促进了 P_n 提升。叶片氮主要为光合氮和储存氮, 占 83.12%~97.61%。在叶面积扩张阶段, 光合氮含量没有显著变化, 而储存氮含量降低, 这使得叶片能够在全氮含量降低的情况下维持 P_n 不变, 从而提高了 PNUE; 在叶片氮含量低于 1.77 g m^{-2} 后, 光合氮和储存氮含量均线性降低, P_n 和 PNUE 降低。在叶片衰老阶段, 光合氮含量降低幅度比储存氮高 6.24%~19.07%, P_n 和 PNUE 均显著降低。Rubisco 含量与光合氮含量呈显著正相关, 光合氮含量与 Rubisco 含量在云油 9 号(P_n 较高的油菜种质)中比福油 3 号(叶面积较大的油菜种质)分别高 5.63%~40.37% 和 0.38%~38.02%。施氮提高油菜叶片光合氮和储存氮含量, 进而提高 P_n。叶片生长过程中, Rubisco 维持光合氮含量而储存氮含量降低, 使得光合速率和光合氮利用效率均较高。因此, 未来通过定向调控 Rubisco 含量以优化叶片内氮素分配, 可能是进一步提高油菜光合能力和氮素利用效率的有效策略。

关键词: 油菜; 光合氮; 储存氮; 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶; 光合速率

Effects of dynamic changes in leaf functional nitrogen on photosynthetic rate and photosynthetic nitrogen use efficiency in *Brassica napus*

Ren Yi-Han[1,2], Zhao Man-Li[1], Dai Jing[1], Li Yin-Shui[1], Gu Chi-Ming[1], Yang Lu[1], Du Xue-Zhu[2], Hu Wen-Shi[1,*], and Qin Lu[1,*]

[1] Oil Crops Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences / Key Laboratory of Biology and Genetics Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430062, Hubei, China; [2] School of Life Sciences, Hubei University / Provincial-Ministry Co-sponsored State Key Laboratory of Biocatalysis and Enzyme Engineering, Wuhan 430062, Hubei, China

Abstract: Rapeseed (*Brassica napus* L.) is China's leading oilseed crop, and high yield depends heavily on nitrogen (N) fertilizer inputs; however, nitrogen use efficiency remains relatively low. Rapeseed biomass is primarily derived from photosynthesis. Enhancing the net photosynthetic rate (P_n) and photosynthetic nitrogen use efficiency (PNUE) may provide a feasible approach to simultaneously improve yield and nitrogen use efficiency, thereby reducing N fertilizer application, increasing rapeseed produc-

本研究由国家自然科学基金项目(32202600), 中国农业科学院创新工程项目(CAAS-ASTIP-2021-OCRI)和中央级科研院所基本科研业务费专项(1610172022008)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (32202600), the Technology Innovation Project of the Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS-ASTIP-2021-OCRI), and the Fundamental Research Funds for Central Non-profit Scientific Institution (1610172022008).

* 通信作者(Corresponding authors): 秦璐, E-mail: qinlu-123@126.com; 胡文诗, E-mail: huwenshi@caas.cn

第一作者联系方式: E-mail: 18271105282@163.com

Received (收稿日期): 2025-08-21; Accepted (接受日期): 2026-02-27; Published online (网络出版日期): 2026-03-12.

URL: https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20260311.1030.004

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

tion, and supporting sustainable development of the rapeseed industry. Here, we conducted a hydroponic experiment with different N levels using two rapeseed germplasms that differed significantly in leaf area and P_n. During leaf development, we quantified dynamic changes in leaf N content, photosynthetic capacity, functional N fractions, and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) characteristics to elucidate how N allocation regulates P_n and PNUE. Leaf N content declined with growth, but P_n did not decrease consistently, and P_n increased with higher N supply. Photosynthetic N (N_{psn}) and storage N (N_{store}) were the dominant components of leaf N, accounting for 83.12%–97.61%. During leaf expansion, N_{psn} changed little whereas N_{store} declined markedly, which helped maintain P_n at lower total leaf N and improved PNUE. When leaf N content fell below 1.77 g m^{-2}, both N_{psn} and N_{store} decreased linearly, leading to significant reductions in P_n and PNUE. During leaf senescence, the decline in N_{psn} was 6.24%–19.07% greater than that of N_{store}, resulting in pronounced decreases in both P_n and PNUE. Rubisco content was significantly and positively correlated with N_{psn}. The germplasm Yunyou 9, which had higher P_n, showed higher N_{psn} and Rubisco content than Fuyou 3, which had larger leaf area, with increases of 5.63%–40.37% and 0.38%–38.02%, respectively. Both N_{psn} and N_{store} increased with increasing N supply, and P_n increased with N_{psn}. Overall, during leaf development, Rubisco helped maintain N_{psn} while N_{store} declined, supporting higher P_n and improved PNUE. Therefore, optimizing within-leaf N allocation by precisely regulating Rubisco content may be an effective strategy to further enhance rapeseed photosynthetic capacity and nitrogen use efficiency.

Keywords: rapeseed; photosynthetic nitrogen; storage nitrogen; Rubisco; photosynthetic rate

油菜是世界第三大油料作物, 是食用植物油的主要来源, 因此, 提高油菜产量对维护我国食用油安全具有重要战略意义。油菜对氮素的需求量较高, 每生产 100 kg 油菜籽的平均吸氮量约为 6.49 kg, 变幅为 3.92~9.55 kg, 然而, 其氮肥利用效率普遍偏低[1-2]。作物生物量主要依赖于绿色器官的光合作用, 而光合作用需要大量的氮以蛋白的形式参与反应。光合作用的强弱可通过光合速率(net photosynthetic rate, P_n)反映, 因此, P_n常作为评价光合能力的关键指标。油菜叶片中的氮在角果期前占 30%~80%, 是植株体内重要的氮库[3-4]。叶片光合氮利用效率(photosynthetic nitrogen use efficiency, PNUE)和氮素生理利用效率呈良好的正相关关系[5-6], 而 PNUE 通常随着施氮量的增加呈现先增加后降低的趋势[7]。因此, 探究如何在维持较高 P_n 的同时有效提升 PNUE, 对于提高油菜产量与氮肥利用效率具有重要意义。

叶片氮根据其功能通常可以分为 4 个部分, 包括用于光合系统的光合氮(N_{psn})、用于线粒体基质中呼吸系统的呼吸氮(N_{resp})、构建细胞壁和核酸的结构氮(N_{str})和没有参与任何新陈代谢或结构组成的储存氮(N_{store}) [8-9]。光合氮是构成光合器官的基础, 主要分配给光合相关的蛋白质、酶和色素, 其与光合速率(P_n)呈显著正相关[10]。在叶片氮充足的条件下, 光合氮约占叶片总氮的 40%~60%, 储存氮占 30%~50%。缺氮时油菜叶片光合氮占比高达 60%~80%, 氮充足时氮素向结构氮、储存氮库分配增加, 光合氮占比下降至 29%~35% [11-12]。在 C_3 植物中, 最佳氮分配可以在不增加氮输入的情况下将光合作用能力提高至 76% [13]。然而, 随着氮素营养供应的增加, 光合蛋白合成逐渐增加, 但 PNUE 往往逐渐降低[14], 可能由于 CO_2 供应不足, 导致光合蛋白发挥不了应有的功能, 使得一部分光合蛋白闲置, 如光合氮的核心酶 Rubisco [15]。Rubisco 在叶片中分配到的氮约占总氮含量的 27%, 是植物体内含量最多的酶, 但由于其对 CO_2 的亲和力低, 且 C_3 植物叶绿体内的 CO_2 浓度低[16-17], 因此没有发挥功能的过量 Rubisco 会以储存氮的形式存在, 进而影响储存氮含量和光合氮含量[18]。维持适宜的 Rubisco 含量有利于平衡储存氮含量与光合氮含量, 通过调节储存氮含量, 可以促进 P_n 与 PNUE 协调增加[19]。可见, 调控氮的动态分配是提升光合速率和氮素利用效率的有效途径。

前人研究表明, 叶面积扩张过程中, 储存氮可作为缓冲氮库用于协调叶片生长和光合蛋白合成, 所以其含量随着叶片出苗至完全展开而逐渐降低, 同时光合氮含量逐渐增高; 而叶片衰老阶段, 大分子蛋白降解, 大量氮转移至新生叶片, 储存氮与光合氮含量均降低[10,20-22]。尽管叶片氮含量调控功能氮的关键作用已被广泛认知, 但在叶片生长过程中, 功能氮分配动态变化对光合速率与光合氮利用效率的影响并不十分清楚, 能够实现功能氮分配最优平衡的氮含量范围仍然是一个需要探索的问题。因此, 本试验利用叶面积较大而光合速率相对较低的油菜种质福油 3 号(Fuyou 3, FY3)和叶面积相对较小而光合速率较高的油菜种质云油 9 号(Yunyou 9, YY9), 通过水培试验探究叶片不同生长阶段中光合氮和储存氮分配的动态变化, 及其对光合速率与光合氮利用效率的动态影响, 为提高油菜产量和氮肥利用效

率提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验设计

试验在植物生长温室内进行, 培养条件为: 昼温 22℃、夜温 18℃, 光周期 14 h/10 h (光照/黑暗), 光照强度 250 μmol m^{-2} s^{-1}, 相对湿度 50%~60%。选取饱满、大小一致的油菜种子, 避光催芽 24 h, 将种子均匀播种到塑料育苗盘表面固定的纱布上, 育苗盘中加适量 1/20 浓度的改良霍格兰营养液(不含氮)至刚好浸没纱布, 7 d 后选取长势一致的幼苗移栽至装有 8 L 营养液的黑色培养箱中进行培养。试验营养液采用改良霍格兰营养液, 设置的 3 个氮梯度分别为氮充足(nitrogen sufficient, HN, 8.0 mmol L^{-1})、轻度缺氮(mild nitrogen deficiency, MN, 2.0 mmol L^{-1})和严重缺氮(severe nitrogen deficiency, LN, 0.4 mmol L^{-1}), 每个处理 3 个生物学重复。其他大、中量营养元素包括 3.0 mmol L^{-1} K^+、3.0 mmol L^{-1} Ca^{2+}、1.0 mmol L^{-1} $H_2PO_4^-$、1.0 mmol L^{-1} Mg^{2+}、1.0 mmol L^{-1} SO_4^{2-}, 微量营养元素包括 80.0 μmol L^{-1} Fe-EDTA、4.5 μmol L^{-1} $MnCl_2{\cdot}4H_2O$、0.3 μmol L^{-1} $ZnSO_4{\cdot}7H_2O$、0.16 μmol L^{-1} $CuSO_4{\cdot}5H_2O$、0.16 μmol L^{-1} $NaMo_7O_{24}{\cdot}2H_2O$ 和 20.0 μmol L^{-1} H_3BO_3。分别用 1.0 mol L^{-1} 的 HCl 和 NaOH 溶液调节 pH, 使之维持在 6.0±0.2。营养液每 4 天换一次。前 4 d 用 1/2 浓度的改良霍格兰营养液(氮浓度按对应处理减半), 之后换完全浓度营养液。选用叶面积小、光合速率高的油菜种质云油 9 号和叶面积大、光合速率低的油菜种质福油 3 号 2 份油菜种质作为试验材料。2 份油菜种质来源于前期试验用的 325 份油菜自然群体材料, 该群体材料由中国农业科学院油料作物研究所油料作物基因组学与抗病性改良创新团队提供, 是该团队根据进化关系远近从来自不同区域、不同育种时间、不同遗传背景的 1100 份材料中筛选获得, 具有区域代表性和遗传代表性。

1.2　叶片选择与标记

移栽后第 20 天, 不同氮处理植株长势差异显著, 其中, 严重缺氮(LN)处理的植株有 4~5 片叶, 轻度缺氮处理(MN)与氮充足处理(HN)的植株有 4~6 片叶。每个处理选择 30 株长势一致的植株, 各处理均选择植株顶端新发真叶进行标记, 所标记叶片处于相同发育阶段。在标记后第 1 天(移苗生长第 21 天)、4 天(移苗后第 24 天)、8 天(移苗后第 28 天)和 18 天(移苗后第 38 天), 即在叶片的新叶阶段、快速生长阶段、完全展开阶段和衰老阶段, 进行试验取样与测定。

1.3　测定项目与方法

1.3.1　叶片光合指标的测定　　使用便携式光合测定仪(LI-COR6800, LI-COR Inc, 美国)测定气体交换参数和 CO_2 响应曲线。测定时设置叶室光照为 1200 μmol m^{-2} s^{-1}, 温度 25℃, CO_2 浓度为 400 μmol mol^{-1}, 相对湿度控制在 60%, 流速为 500 μmol s^{-1}, 待读数稳定后, 记录 P_n, 每个处理测定 6 个生物学重复。保持上述参数不变, 采用 CO_2 注入系统调节叶室 CO_2 浓度, 设置浓度梯度为 400、300、200、100、50、400、400、600、800、1000 和 1200 μmol mol^{-1}, 待读数稳定后记录各 CO_2 浓度下的 P_n。采用叶子飘[23]的方法计算最大电子传递速率(J_{max})和最大羧化速率($V_{c,max}$), 每个处理测定 3 个生物学重复。PNUE 为 P_n 与单位面积叶片氮含量(N_{area})之比。

1.3.2　Rubisco 含量　　Rubisco 含量采用 SDS-PAGE 电泳法[24]测定, 具体操作如下: 称取 0.5 g 油菜叶片于研钵中, 分 3 次加入 5 mL 缓冲液(3.03 g Tris 溶解于 300 mL 水中, 加入 173.61 μL β-巯基乙醇, HCl 调节 pH 8.0, 转入容量瓶中, 加入 62.5 mL 甘油, 加水定容至 500 mL), 充分研磨, 匀浆液 4℃、15,000×g 离心 15 min 去沉淀, 向上清液中加入等体积样品溶解液并在沸水中煮 5 min 后用于电泳分析。电泳分离胶浓度为 12.5% (w/v), 浓缩胶浓度为 4.0% (w/v)。电泳时每管等量上样 5 μL, 稳流在 15 mA。电泳结束后将胶取出并用纯水清洗干净, 加入 500 mL 固定液(乙醇∶乙酸∶水= 5∶1∶4)固定 40 min。电泳胶在室温下使用 0.25% (w/v)考马斯亮蓝 R-250 染色液染色 12 h。染色完成后, 将胶置于脱色液中, 在摇床上匀速摇动直至背景无色。用刀片将大小亚基条带切下并放置于 2 mL 离心管中, 加入 1 mL 去离子甲酰胺在 50℃恒温水浴中洗脱 5 h。收集洗脱液并在 595 nm 波长下使用酶标仪(Infinite M200pro)进行测定。配置牛血清蛋白浓度梯度, 绘制标准曲线, 并以背景胶洗脱液作为空白对照, 计算样品中的 Rubisco 含量。

1.3.3　Rubisco 初始活性　　取 0.1 g 油菜鲜样与 2.0 mL 样品提取液(50.0 mmol L^{-1} Tris-HCl (pH 7.5)、10.0 mmol L^{-1} β-巯基乙醇、12.5%甘油、1.0 mmol L^{-1} EDTA-Na_2、10.0 mmol L^{-1} $MgCl_2$、1% PVP-40)快速

混匀后 4℃、15,000×*g* 离心 1 min, 取上清液待用。ATP 和 DTT 调节 pH 为 7.8, 室温下取 100 μL 上清液和 375 μL ATP 缓冲液(6.0 mmol L^{-1} ATP、0.2 mol L^{-1} Tris、20.0 mmol L^{-1} $MgCl_2$、10.0 mmol L^{-1} $KHCO_3$、10.0 mmol L^{-1} DTT)于比色皿中, 静置 2 min 后加入 75 mL 2 mmol L^{-1} 的 NADH、50 mL 的酶混合液(6 mmol L^{-1} 磷酸肌酸、16 U 磷酸肌酸激酶、16 U 3-磷酸甘油醛脱氢酶、16 U 磷酸甘油酸激酶)和 150 mL 的 2.5 mmol L^{-1} RuBP, 快速混匀后, 立即测定 340 nm 波长下的吸光值, 每 10 s 记数, 持续 3 min。吸光值的减小是 NADH 消耗所致, 因此, 根据 NADH 的消耗量可以计算出酶的活力, 进一步通过反应速率计算 Rubisco 活性。

1.3.4 形态生理特征 在完成光合速率测定后, 取叶片与白色对照卡(5 cm×5 cm)平铺, 在黑色幕布上垂直拍照, 用 Image-pro 6.0 软件对照片进行处理并计算单叶面积与比叶重。一半叶片在 105℃杀青 30 min 后于 60℃烘干至恒重, 称重记录叶片干重, 烘干样磨成粉末, 通过 H_2SO_4-H_2O_2 法消煮, 用流动分析仪(SMART CHEM 200, Seal Analytical Inc., 英国)测定植株样品单位质量氮含量(N_{mass})。N_{mass} 与比叶重乘积为单位面积叶片氮含量(N_{area})。另一半叶片用内径为 6 mm 的打孔器取 0.25 g 叶片(避开主脉), 浸泡于 95%乙醇定容至 25 mL, 避光处理 48 h (完全脱色为止), 然后, 于 665 nm 和 649 nm 波长下测定吸光值并计算叶绿素含量。每个处理设置 3 次生物学重复。

1.3.5 叶片氮素分配模型 参考 Ali 等[8]提出的分配模型, 将氮素按功能划分为光合氮(N_{psn})、呼吸氮(N_{resp})、储存氮(N_{store})和结构氮(N_{str})。其中, 结构氮(N_{str})计算参考 Takashima 等[25]的方法, 以脂不溶蛋白氮(Nin-SDS)为代表: 取 0.5 g 新鲜叶片于液氮中研磨, 用 pH 7.5 的 0.1 mol L^{-1} Na-磷酸缓冲液(含 5 mmol L^{-1} 碘乙酸、0.4 mol L^{-1} D-山梨醇、10 mmol L^{-1} 氯化钠、5 mmol L^{-1} 苯甲基磺酰氟、2 mmol L^{-1} 氯化镁和 5 mmol L^{-1} 二硫苏糖醇)清洗, 低温高速离心机(4℃、15,000×*g*)离心 30 min, 去除上清液, 继续向沉淀中加入 2 mL 3%的十二烷基硫酸钠(SDS)溶液于 90℃水浴锅恒温加热 5 min, 4500×*g* 离心 10 min, 重复加热、离心 6 次至上清液清澈无杂质悬浮。然后用乙醇洗涤残渣, 收集最终的 SDS 提取液。向该提取液中加入等体积的 20%三氯乙酸使蛋白质变性, 用定量滤纸分离沉淀物, 最后利用 H_2SO_4-H_2O_2 法消煮, 并用全自动定氮仪(K9860)测定样品的氮素含量, 用同样的空白定量滤纸作为对照。

呼吸氮(N_{resp})根据最大羧化速率($V_{c,max}$)进行估算, 具体公式如下:

$$N_{resp}=\frac{R_t}{33.69}=\frac{0.015V_{c,max}}{33.69} \quad (1)$$

其中, 33.69 为 25℃时单位时间单位氮所能供给的呼吸速率(μmol CO_2 g^{-1} N s^{-1}), R_t 是叶片总呼吸速率, 约为 $V_{c,max}$ 的 1.5% [26]。

根据 Niinemets 和 Tenhunen [27]的研究, 将参与光合作用的叶片氮素(N_{psn})分为羧化系统氮素 N_{cb} (主要为 Rubisco)、电子传递系统氮素 N_{et} (主要为细胞色素 f、铁氧还蛋白 NADP 还原酶和耦合因子)和光捕获系统氮素 N_{lc} (主要成分为光系统 I、II 和其他捕光色素蛋白复合物中的光捕获蛋白)。各系统氮素可以根据最大羧化速率($V_{c,max}$)、最大电子传递速率(J_{max})和叶绿素含量(C_C)估算, 具体计算公式如下:

$$N_{cb}=\frac{V_{c,max}}{6.25\times V_{cr}} \quad (2)$$

$$N_{et}=\frac{J_{max}}{8.06\times J_{mc}} \quad (3)$$

$$N_{lc}=\frac{C_C}{C_B} \quad (4)$$

$$N_{psn}=N_{cb}+N_{et}+N_{lc} \quad (5)$$

其中, 6.25 为 Rubisco 转化为氮的常用系数(g Rubisco g^{-1} N) [28]; V_{cr} 是 25℃下特定 Rubisco 活性, 其值为 47.30 μmol CO_2 g^{-1} Rubisco s^{-1} [29]; 8.06 是细胞色素 f 的 N 结合系数; J_{mc} 为光合电子传输的潜在速率, 在 25℃下的值为 155.65 μmol e^- μmol Cyt f s^{-1} [27]; C_B 为 2.15 mmol g^{-1} N, 代表与 PSI、PSII、LHCII 结合的叶绿素[30]。

储存氮(N_{store})含量为叶片单位面积总氮含量(N_{area})除去 N_{psn}、N_{resp} 和 N_{str} 的部分:

$$N_{store}=N_{area}-\left(N_{spn}+N_{resp}+N_{str}\right) \quad (6)$$

各功能氮占比为对应氮素含量和叶片总氮含量的比值。

1.4 数据统计分析

利用 Excel 软件对试验数据进行统计分析, 利用 SPSS 26.0 软件进行方差分析和多重比较, 使用 SPSS 26.0 非线性回归的分段函数拟合方法来确定阈值[31], 利用 Origin (2025)软件进行制图和线性方程拟合, 处理间比较采用最小显著差法(LSD)。

2　结果与分析

2.1　叶片在不同氮供应下的生理特征

在标记后第 1~8 天不同氮处理的油菜叶面积均显著增加; 而在标记后 8~18 天, LN 和 MN 处理下的叶面积没有显著变化(图 1-A)。供氮量增加显著促进叶面积, 2 个油菜种质叶面积差异显著, FY3 的叶面积在标记后第 8 天比 YY9 平均高 22.14%~32.22%。随叶片生长氮含量快速下降, 在标记后第 8 天的 N_{mass} 和 N_{area} 与标记第 1 天相比分别平均下降了 26.08%~62.23%和 15.75%~53.21%; 之后的氮含量下降幅度减小, 在标记后第 18 天的 N_{mass} 和 N_{area} 与第 8 天相比分别平均下降了 16.20%~47.38%和 0.24%~48.49% (图 1-B, C)。叶片的 P_n 随供氮水平增加而增加, 整个生育进程中 HN 和 MN 处理比 LN 处理平均高出 36.75%~286.75% (图 1-D)。然而, 在标记后第 1~8 天, P_n 并没有随叶片氮含量降低而显著降低, YY9 的 P_n 在叶片扩张阶段先增大后降低, 在标记后第 4 天达最大; FY3 的 P_n 对各氮处理的响应不同, 各处理下 YY9 的 P_n 比 FY3 平均高出 1.79%~11.55%。标记第 18 天各氮处理的 P_n 与标记后第 8 天相比降低了 36.59%~73.20%。不同处理的 PNUE 总体呈现先增加后降低的趋势, 在标记后第 8 天达到最大(图 1-E); YY9 与 FY3 分别较标记后第 1 天平均增大了 44.78%~114.17%和 53.16%~78.38%, MN 处理比 LN 和 HN 处理平均高出 6.10%~28.08%; 在标记后 18 天, 各氮处理的 PNUE 与标记后第 8 天相比降低了 19.03%~57.25%。由叶面积和光合速率的变化可见: 标记后第 1~8 天叶片扩张, 叶面积快速增加、光合速率变化不大; 而标记第 8~18 天叶片衰老, 叶面积变化不大、光合速率急剧降低。

2.2　光合能力与氮含量的关系

标记后第 1~8 天叶片快速生长过程为叶片扩张阶段, 标记后第 8~18 天为叶片衰老阶段。在叶片扩张阶段, P_n 与 N_{area} 呈显著正相关, 在 N_{area} 超过 1.77 g m^{-2} 后, P_n 趋于稳定。3 个氮处理下的 N_{area} 与 PNUE 在叶片扩张阶段均呈显著负相关, 且降低速率由

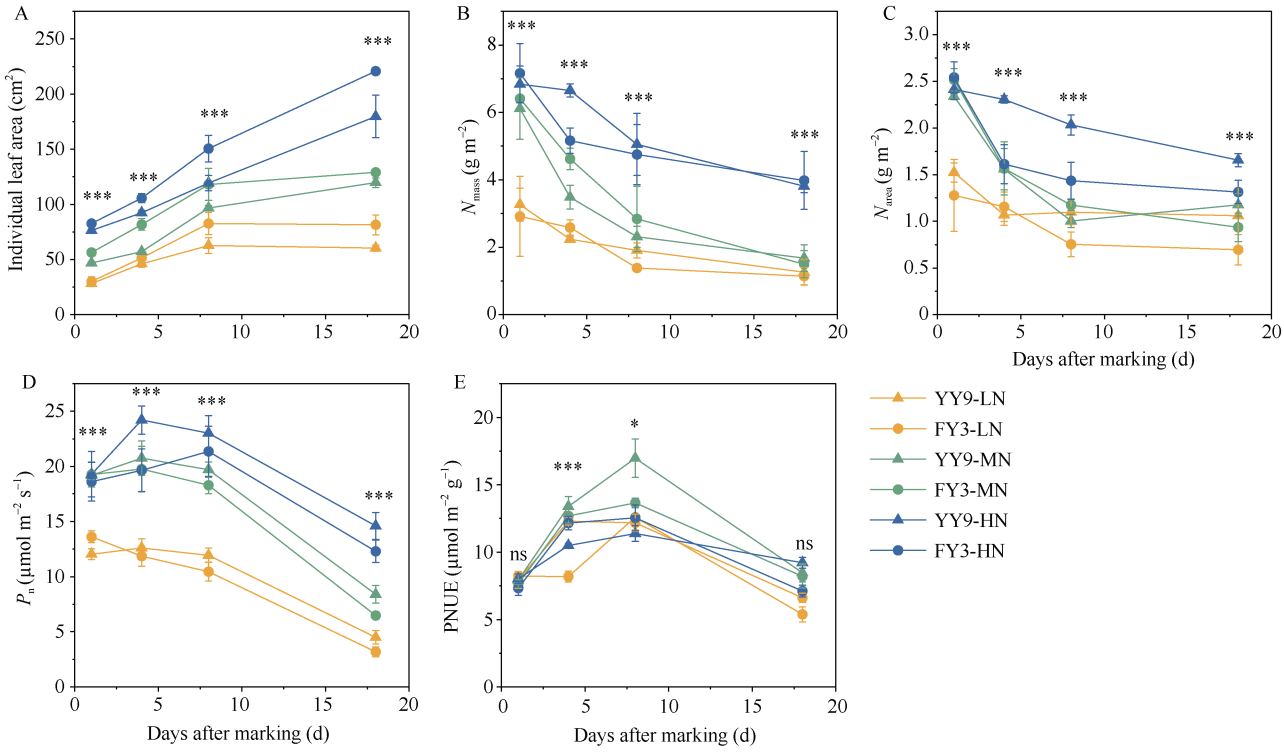


图 1　不同供氮水平下叶片生理特征动态变化

Fig. 1　Dynamic changes in leaf physiological traits under different nitrogen supply levels

N_{mass}、N_{area}、P_n 和 PNUE 分别表示单位质量氮含量、单位面积氮含量、光合速率及光合氮利用效率。LN、MN、HN 分别表示缺氮、轻度缺氮与氮充足处理。YY9 与 FY3 分别为油菜种质云油 9 号和福油 3 号。*: $P < 0.05$; ***: $P < 0.001$; ns: 无显著差异。

N_{mass}, N_{area}, P_n, and PNUE denote mass-based nitrogen content, area-based nitrogen content, net photosynthetic rate, and photosynthetic nitrogen use efficiency, respectively. LN, MN, and HN indicate nitrogen deficiency, mild nitrogen deficiency, and nitrogen sufficiency treatments, respectively. YY9 and FY3 indicate the rapeseed germplasms Yunyou 9 and Fuyou 3. *: $P < 0.05$; ***: $P < 0.001$; ns: no significant difference.

HN 到 LN 处理逐渐增大; P_n 与 PNUE 在叶片扩张阶段无显著相关关系(图 2-B, C)。在叶片衰老阶段, P_n 与 N_{area} 呈线性正相关。PNUE 与 N_{area} 呈正相关, 随着 N_{area} 增加而增加, 在 N_{area} 超过 0.78 g m^{-2} 后不再变化(图 2-D, E), 在衰老阶段, P_n 低于 6.22 μmol m^{-2} s^{-1} 后, PNUE 与 P_n 呈线性正相关(图 2-F)。

2.3 不同氮供应下叶片的功能氮变化

在叶片生长过程中, 光合氮(N_{psn})和储存氮(N_{store})是叶片氮的主要组成部分, 本研究中占比 83.12%~97.61%, 呼吸氮(N_{resp})与结构氮(N_{str})占比较少(表 1)。在叶片整个生长过程中, 各氮处理下油菜种质 YY9 的 N_{psn} 均高于种质 FY3, 较 FY3 高出 5.63%~40.37%。在叶片扩张阶段, 各氮处理下 2 个种质的 N_{store} 相较于标记后第 1 天降低了 28.16%~69.77%, 而 N_{psn} 变化不显著; 其中, 各氮处理的 FY3 的 N_{store} 比 YY9 低 1.41%~18.99%, 且 2 个油菜种质均在 MN 处理中 N_{store} 下降幅度最大。而在衰老阶段, 各氮处理下 2 个种质的 N_{store} 下降幅度减小, N_{psn} 显著降低; 其中, FY3 的 N_{psn} 比 YY9 多降低了 3.37%~18.45%, 且在 LN 处理下 2 个油菜种质的 N_{psn} 降低幅度均高于 MN 和 HN 处理。N_{psn} 和 N_{store} 随着 N_{area} 增加而增加, 值得注意的是, 在 N_{area} 超过 1.77 g m^{-2} 后, N_{store} 增加的幅度增大, 而 N_{psn} 有降低的趋势(图 3)。

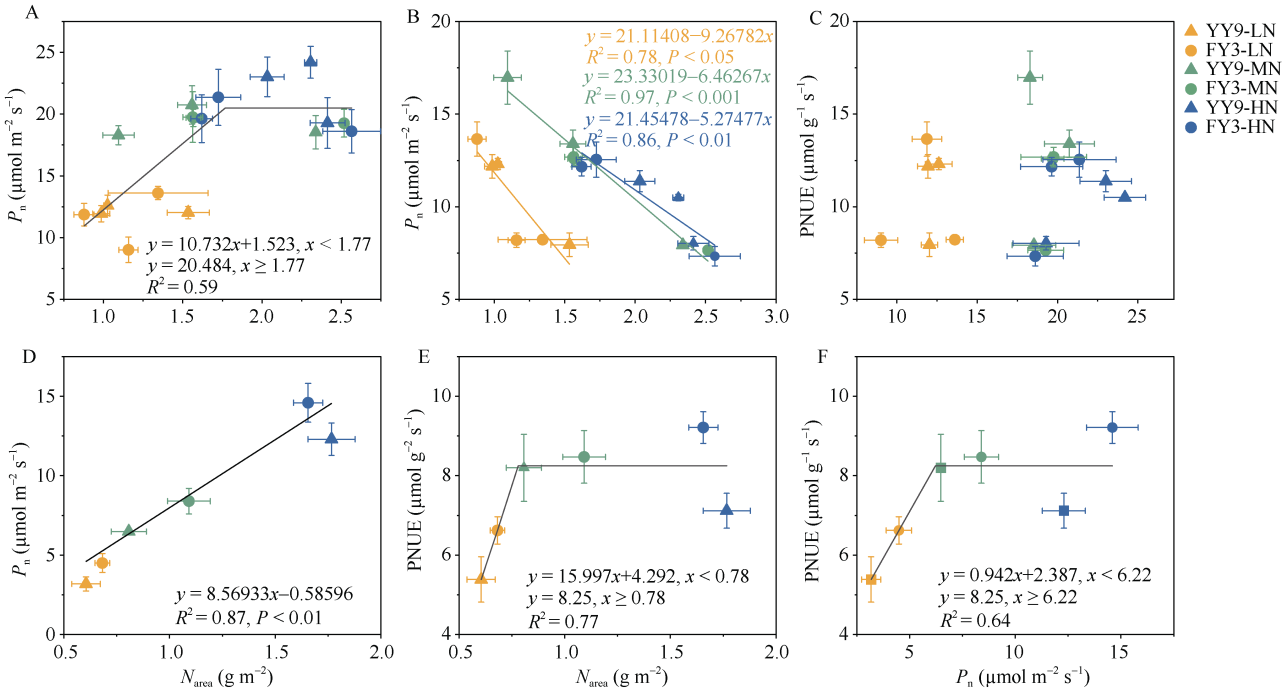


图 2 叶片生长过程中光合速率、光合氮利用效率与单位面积氮含量的关系

Fig. 2 Relationships of net photosynthetic rate and photosynthetic nitrogen use efficiency with area-based nitrogen content during leaf development

缩写和处理同图 1。A–C 表示叶片扩张阶段, D–F 表示叶片衰老阶段。

Abbreviations and treatments are the same as those given in Fig. 1. A–C: leaf expansion stage, D–F: leaf senescence stage.

表 1 不同氮供应下叶片不同功能氮素含量的变化

Table 1 Changes in leaf functional nitrogen fractions under varying nitrogen supply levels

标记后天数 Days after marking (d)	种质 Germplasm	处理 Treatment	光合氮素含量 N_{psn} (g m^{-2})	储存氮素含量 N_{store} (g m^{-2})	呼吸氮素含量 N_{resp} (g m^{-2})	结构氮素含量 N_{str} (g m^{-2})
1	YY9	LN	0.48±0.03 def	0.84±0.03 h	0.03±0.001 cdef	0.05±0.007 def
		MN	0.55±0.02 bcde	1.73±0.02 b	0.03±0.001 cdef	0.04±0.005 ef
		HN	0.61±0.03 cdef	1.74±0.03 b	0.03±0.001 abc	0.04±0.003 f
	FY3	LN	0.40±0.05 ghi	1.17±0.05 e	0.02±0.002 efgh	0.07±0.028 bcdef
		MN	0.51±0.02 cdef	1.95±0.02 a	0.02±0.001 cdefg	0.04±0.006 f
		HN	0.53±0.05 bcde	1.95±0.03 a	0.03±0.002 cdef	0.06±0.028 acdef

(续表 1)

标记后天数 Days after marking (d)	种质 Germplasm	处理 Treatment	光合氮素含量 N_{psn} (g m^{-2})	储存氮素含量 N_{store} (g m^{-2})	呼吸氮素含量 N_{resp} (g m^{-2})	结构氮素含量 N_{str} (g m^{-2})
4	YY9	LN	0.37±0.03 hij	0.57±0.04 ij	0.02±0.002 gh	0.07±0.014 bcdef
		MN	0.57±0.02 bc	0.85±0.04 h	0.03±0.001 cdef	0.11±0.030 abc
		HN	0.65±0.04 a	1.53±0.07 c	0.03±0.002 ab	0.09±0.031 abcd
	FY3	LN	0.34±0.01 ij	0.65±0.01 i	0.02±0.000 h	0.09±0.002 abcd
		MN	0.54±0.02 bcde	0.97±0.04 g	0.03±0.001 cdef	0.09±0.020 abcd
		HN	0.55±0.02 bcde	1.02±0.02 fg	0.03±0.002 bcd	0.07±0.008 abcd
8	YY9	LN	0.38±0.02 hij	0.51±0.02 k	0.02±0.001 fgh	0.07±0.011abcdef
		MN	0.53±0.02 bcde	0.55±0.03 j	0.03±0.001 bcde	0.06±0.008 def
		HN	0.65±0.05 a	1.25±0.06 d	0.02±0.011 a	0.11±0.041 abcde
	FY3	LN	0.32±0.02 hij	0.35±0.02 l	0.03±0.001 h	0.12±0.004 a
		MN	0.49±0.05 cdef	0.65±0.06 i	0.03±0.002 cedf	0.09±0.018 abcde
		HN	0.57±0.04 bc	1.03±0.07 fg	0.03±0.003 abc	0.10±0.026 ab
18	YY9	LN	0.18±0.01 k	0.45±0.01 k	0.01±0.000 a	0.05±0.001 def
		MN	0.43±0.03 fgh	0.61±0.04 ij	0.02±0.002 j	0.03±0.003 f
		HN	0.55±0.02 bcd	1.10±0.02 ef	0.02±0.002 defgh	0.05±0.003 def
	FY3	LN	0.16±0.03 k	0.32±0.04 l	0.01±0.001 j	0.06±0.005 def
		MN	0.30±0.03 j	0.45±0.03 k	0.01±0.002 ij	0.04±0.003 def
		HN	0.46±0.04 efg	1.16±0.05 de	0.02±0.003 hi	0.04±0.008 def
F 值 *F* value						
标记后天数 Days after marking (D)			56.66^{***}	987.02^{***}	14.90^{***}	17.32^{***}
种质 Germplasm (G)			31.12^{***}	10.46^{**}	3.05^{ns}	1.87^{ns}
处理 Treatment (T)			184.57^{***}	1078.73^{**}	19.58^{***}	1.17^{ns}
D×G			0.63^{ns}	13.91^{***}	1.76^{ns}	1.02^{ns}
D×T			6.54^{***}	59.36^{***}	1.10^{ns}	1.78^{ns}
G×T			2.10^{ns}	10.49^{***}	0.39^{ns}	2.24^{ns}
D×G×T			1.81^{ns}	37.90^{***}	1.21^{ns}	0.87^{ns}

缩写和处理同图 1。不同小写字母代表同一生长天数不同处理差异显著($P < 0.05$)。***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; ns: 无显著差异。

Abbreviations and treatments are the same as those given in Fig. 1. N_{psn}, N_{store}, N_{resp}, and N_{str} represent the nitrogen content in photosynthesis, storage, respiration, and structure, respectively. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments on the same day ($P < 0.05$). ***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; ns: no significant difference.

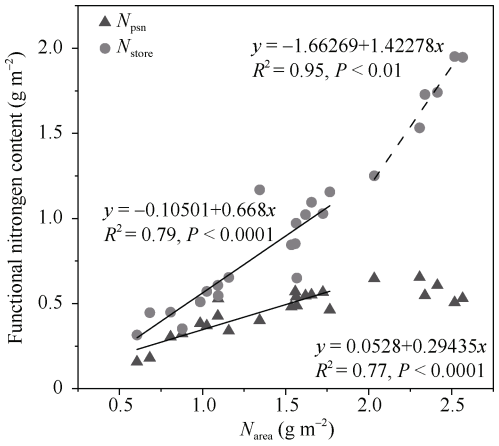


图 3　单位面积氮含量与光合氮含量、储存氮含量的关系

Fig. 3　Relationships between area-based nitrogen content and photosynthetic nitrogen and storage nitrogen

缩写同图 1 和表 1。实线表示 N_{area} 小于 1.77 g m^{-2}; 虚线表示 N_{area} 大于 1.77 g m^{-2}。

Abbreviations are the same as those given in Fig. 1 and Table 1. Solid lines indicate $N_{area} < 1.77$ g m^{-2}; dashed lines indicate $N_{area} > 1.77$ g m^{-2}.

2.4　功能氮分配与光合能力的关系

如图 4 所示, 在叶片扩张阶段, P_n 与 N_{psn} 呈正相关(图 4-A), 然而, P_n 与 N_{store}、N_{psn} 占比及 N_{store} 占比均无相关性(图 4-B~D); 在叶片衰老阶段, P_n 与 N_{psn} 及 N_{store} 均呈正相关(图 4-a, b), 与两者占比均无相关性(图 4-c, d)。然而, 在叶片扩张阶段, PNUE 与 N_{psn} 无相关性, 但与 N_{store} 呈负相关(图 4-E, F), 与 N_{psn} 占比与 N_{store} 占比分别呈正相关与负相关(图 4-G, H); 在衰老阶段, N_{psn} 与 PNUE 无相关性, 值得注意的是, 在 N_{store} 低于 0.50 g m^{-2} 后, PNUE 与 N_{store} 呈正相关, 当 N_{store} 大于 0.50 g m^{-2} 后, PNUE 不再显著变化(图 4-e, f), 且 PNUE 同样也与 N_{psn} 占比和 N_{store} 占比无相关性(图 4-g, h)。

2.5　不同氮供应下 Rubisco 的动态变化

Rubisco 作为 N_{psn} 的核心酶, 不同氮供应下 Rubisco

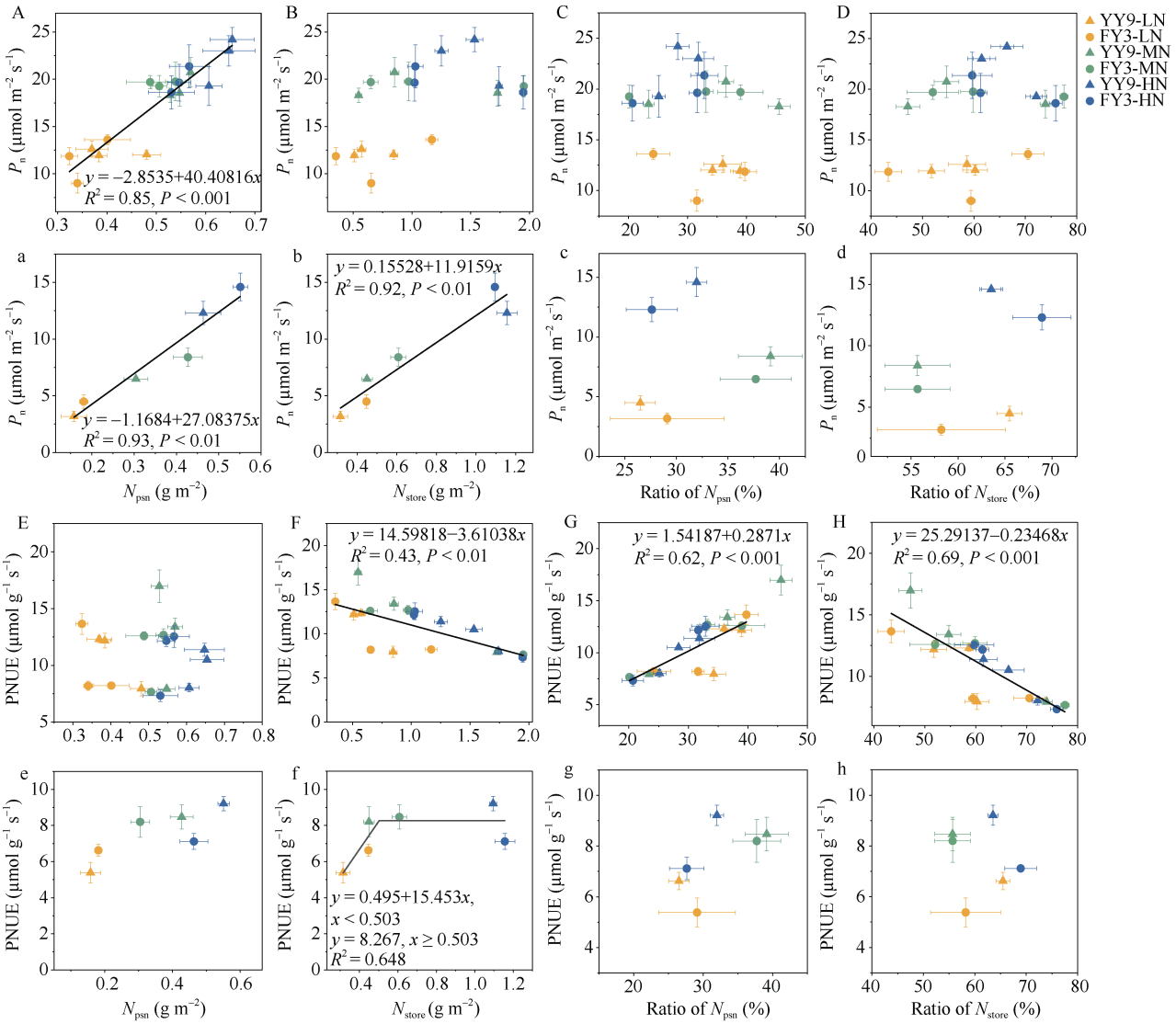


图 4 功能氮分配与光合能力的关系

Fig. 4 Relationships between functional nitrogen allocation and photosynthetic capacity

缩写和处理同图 1。N_{psn}、N_{store} 分别表示光合氮素含量和储存氮素含量。A–H 表示叶片扩张阶段, a–h 表示叶片衰老阶段。

Abbreviations and treatments are the same as those given in Fig. 1. N_{psn} and N_{store} represent the nitrogen content in photosynthesis and storage, respectively. A–H: leaf expansion stage, a–h: leaf senescence stage.

在不同生长阶段的变化也不同。氮素供应促进 Rubisco 含量增加, 高光合能力油菜种质 YY9 叶片 Rubisco 含量高于种质 FY3, 较 FY3 高出 0.38%~38.02%。叶片生长过程中 2 个种质 Rubisco 含量变化规律基本一致: 在 MN 与 HN 处理下, Rubisco 含量均在叶片扩张阶段增加, 在完全展开阶段达到最大, 衰老阶段显著降低。然而, 在 LN 处理下, Rubisco 含量在新叶阶段最大, 之后持续降低(图 5-A, B)。Rubisco 初始活性在叶片扩张阶段增加, 完全展开阶段达到最大, 2 个种质的 Rubisco 初始活性对供氮的响应并不一致, YY9 的 Rubisco 初始活性在 MN 处理下最高, 其次是 HN。然而, FY3 的 Rubisco 初始活性在 HN 处理下最高, 且 FY3 在快速增长阶段增长幅度略有减缓。在衰老阶段, 2 个种质 Rubisco 初始活性均显著降低(图 5-C, D)。

2.6 Rubisco 与功能氮含量及光合能力的关系

如图 6 所示, Rubisco 在不同生长阶段对功能氮与光合性能的影响不同。Rubisco 含量与 P_n 在叶片扩张阶段呈显著正相关, 与 PNUE 在衰老阶段呈显著正相关(图 6-A, B, a, b); Rubisco 初始活性与 P_n 呈正相关, 与 PNUE 不相关, 当 Rubisco 初始活性超过 1.02 nmol s^{-1}g^{-1} 时, P_n 不再变化(图 6-C, D, c, d)。Rubisco 含量在叶片整个生长阶段均与 N_{psn} 呈显著正相关, 与 N_{store} 不相关(图 6-E, F, e, f)。

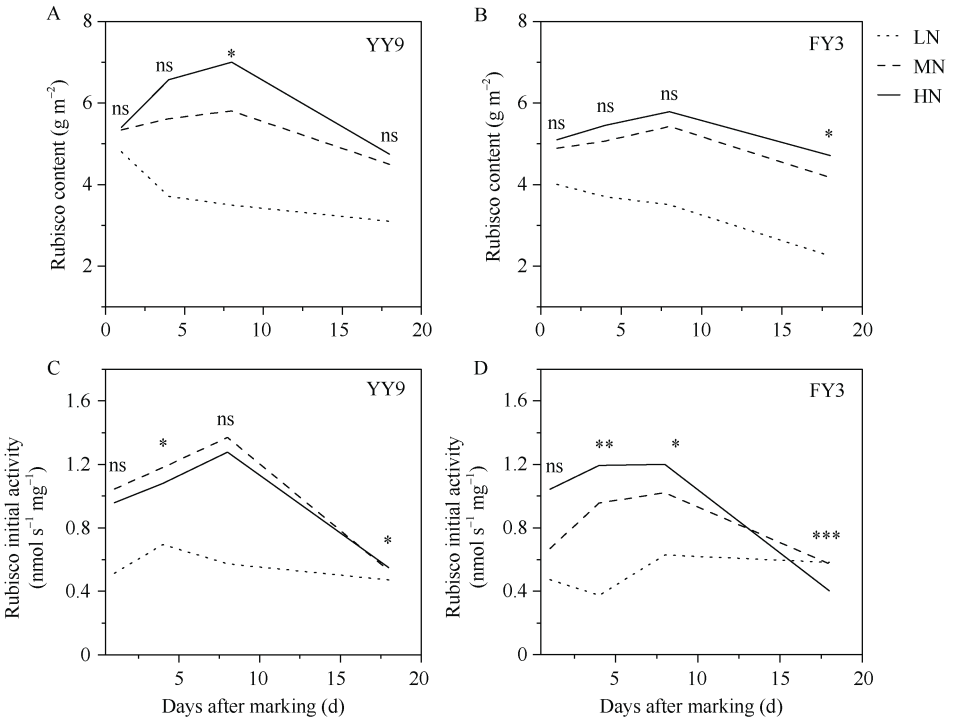
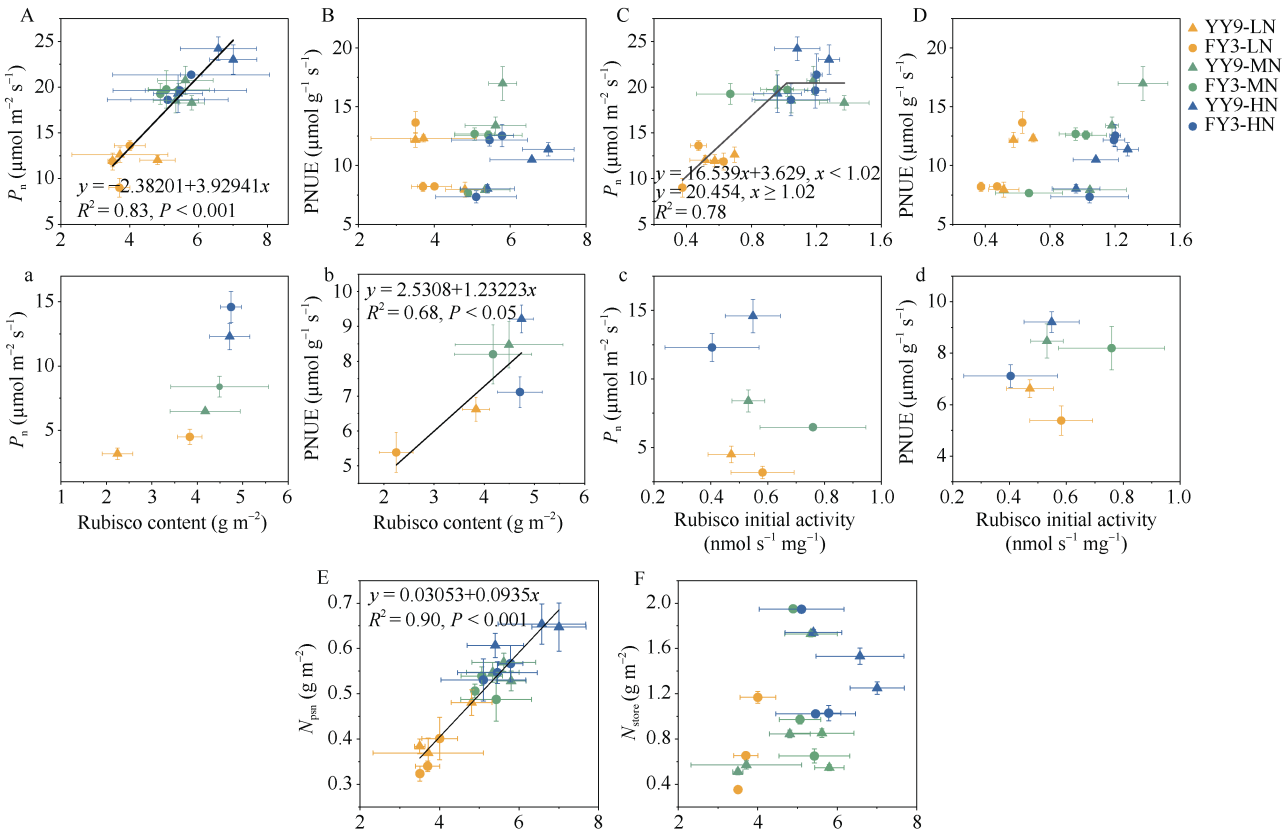


图 5　不同种质油菜在不同氮供应下 Rubisco 的特性

Fig. 5　Rubisco characteristics in rapeseed germplasms under different nitrogen supply levels

缩写和处理同图 1。***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$; ns: 无显著差异。

Abbreviations and treatments are the same as those given in Fig. 1. ***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$; ns: no significant difference.



(图 6)

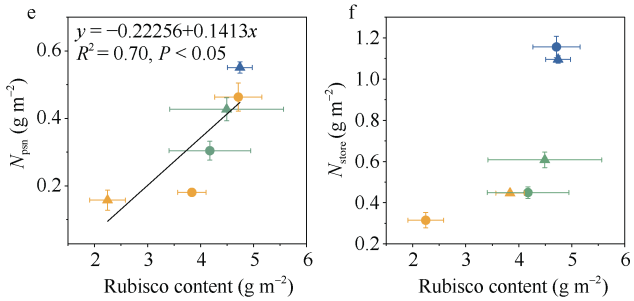


图 6 不同氮供应下 Rubisco 与光合能力及功能氮素的关系

Fig. 6 Relationships among Rubisco, photosynthetic capacity, and functional nitrogen under different nitrogen supply levels

缩写和处理同图 1。N_{psn}、N_{store}分别表示光合氮素含量和储存氮素含量。A–F 为叶片扩张阶段, a–f 为叶片衰老阶段。

Abbreviations and treatments are the same as those given in Fig. 1. N_{psn} and N_{store} represent the nitrogen content in photosynthesis and storage, respectively. A–F: leaf expansion stage, a–f leaf senescence stage.

3 讨论

3.1 叶片生长过程中氮分配变化平衡光合能力与叶片扩张

氮水平的提高显著促进了油菜叶片的生长, 叶面积随叶片氮含量增加而增大, 这与 Liu 等[10]、Vos 等[32]在油菜与玉米上观察到的现象一致。本研究中, 供氮水平的提高显著促进了油菜叶面积扩张, 同时提高了叶片氮含量与 P_n, 然而, 相比于 MN 处理, 2 个种质均在 HN 处理下标记后第 4 天及第 8 天阶段, PNUE 均出现了降低的趋势(图 1-E)。这与前人的研究结果一致, 例如, 在水稻中, 叶片氮素含量每提高 1 倍, PNUE 会降低约 27%[33], 这一现象导致随着氮素水平的提高, 产量增加逐渐减缓, 氮素利用不充分的问题也随之加剧[34]。表明当氮供应超过一定阈值后, 继续增加氮供应反而会降低 PNUE。研究表明, 随着 N_{area} 增加, 吸收的氮大于自身所需的, 多余的氮在叶片中积累形成储存氮, 当叶片氮供应不足时, 储存氮发挥作用供植物生长发育[21,35]。储存氮作为缓冲氮源, 在受到环境胁迫或者叶片衰老时会转换为其他功能氮。氮充足条件下更多的叶片氮素以储存氮的形式存在, 较高的储存氮含量有利于叶片生长和维持光合氮含量[36]。这与本研究结果一致, 在 N_{area} 超过 1.77 g m^{-2} 后, 储存氮累积的速率增大, 而光合氮含量开始出现降低的趋势(图 3), 表明过量的氮主要以储存氮形式积累。本研究中在 HN 处理下, 新增的氮素优先向储存氮库分配, 储存氮素含量显著高于 MN 和 LN 处理(表 1); 随着叶片逐渐扩张, 叶面积增大, 叶片氮含量虽然逐渐减少, 但减少的部分主要为储存氮, 同时光合氮含量基本维持在一个水平, 导致储存氮所占比例降低, 光合氮占比增加(表 1), 进而出现氮含量降低、P_n 不降低且 PNUE 增加的现象。在衰老阶段 LN 处理、MN 处理和 HN 处理的光合速率分别降低 67.77%、60.61%、39.51%, PNUE 分别下降 51.44%、45.02%、31.15%, HN 处理下储存氮转化为光合氮, 以此在叶片衰老阶段保持较高光合速率。叶片衰老阶段的 P_n 与光合氮和储存氮含量均呈正相关(图 4-A, B)。叶片质体中的光合蛋白在早期的衰老阶段会最大幅度地降解[37]。所以衰老阶段蛋白解体, 大量氮转移到新生叶片, 储存氮和光合氮含量均显著降低, 导致叶片氮含量和光合速率均降低, 进而影响 PNUE。由此可见, 供氮水平的增加提高了光合氮和储存氮含量, 进而促进了叶片生长和 P_n, 但是, 叶片扩张阶段叶片储存氮含量降低并不影响 P_n, 进而提高了叶片的 PNUE。

3.2 Rubisco 调控光合氮影响叶片光合能力

光合氮是维持叶片光合能力的主要氮库, 主要由 3 个部分组成: 羧化系统氮素(N_{cb})、电子传递氮素(N_{et})与捕光系统氮素(N_{lc})。光合氮分配以羧化系统氮为核心, 占叶片总氮的 30%左右, 其次是电子传递氮素占比为 20%左右, 捕光系统氮分配比例最低[28,38-39]。而在羧化过程中, Rubisco 是催化 CO_2 进入碳循化的关键酶, 其含量占 C_3 植物总叶氮含量的 15%~30%, 是叶片中含量最丰富的蛋白质[40-41]。Rubisco 含量随供氮水平的提高而增加。LN 处理影响叶片扩张, 叶片气孔导度下降, 限制 CO_2 供应, 酶活性受到抑制, 这与 Bernacchi 等[42]的研究结果一致。由于 Rubisco 对 CO_2 的亲和力低, 且 C_3 植物叶绿体内的 CO_2 浓度有限, 造成了 Rubisco 的活性相对较低, 因此, 叶片中 Rubisco 可以分为具有催化活性和未激活两部分[43]。与低氮供应相比, 高氮供

应促进了更多的氮分配给 Rubisco, 但过量的 Rubisco 含量抑制了 Rubisco 活性, 造成未激活的 Rubisco 含量增加, 这被普遍认为是高氮处理下 PNUE 降低的重要原因[11,40,44-45]。

在叶片扩张阶段, Rubisco 含量与初始活性均有所增加, 并均与 P_n 呈显著正相关, 这与翁晓燕等[46]研究结果一致。当 Rubisco 含量超过光合作用所需时, 过剩部分将以储存氮形式存在, 所以酶含量影响叶片氮素在光合氮素和储存氮素的分配[47]。在 N_{area} 超过 1.77 g m^{-2} 后, Rubisco 含量稳定, 在维持光合氮的同时, 多余氮以储存氮形式存在, 但当氮含量低于阈值时, Rubisco 大量降解, 光合氮随之降低, 进而影响 P_n。在光合氮估算模型中, 羧化系统的氮由 Rubisco 最大羧化速率估算, 羧化系统的氮低于叶片分配到 Rubisco 中的氮含量, 但光合氮含量与 Rubisco 含量在叶片生长过程中均呈显著正相关(图 6-B), 对 P_n 有促进作用, 进而提高了叶片的 PNUE。然而, 当 Rubisco 初始活性超过一定阈值时, P_n 不再显著增加, 推测可能是过量的 Rubisco 含量在一定程度上抑制 Rubisco 初始活性, 从而导致 P_n 不再提高。而在叶片衰老阶段, Rubisco 含量与初始活性均随叶片的衰老而降低, 从而导致光合氮含量减少, P_n 大幅度降低, 进而导致 PNUE 降低。

4　结论

油菜叶面积扩张过程中, 储存氮含量降低, 光合氮含量不变, 促使油菜利用更少的氮素维持无明显变化的 P_n, 进而提高 PNUE。随着叶片生育进程推进, 氮含量低于一定阈值后, 光合氮与储存氮含量均降低, 导致 P_n 和 PNUE 下降。Rubisco 与光合氮含量呈正相关, 高 Rubisco 含量的油菜种质光合氮含量高, 从而维持较高的光合速率; 而叶面积较大的油菜种质储存氮含量较高。综上所述, 适宜的氮素含量在促进油菜叶片生长的同时维持较高的 P_n 和 PNUE, 调控 Rubisco 含量优化光合氮与储存氮阶段性的动态分配可以在降低氮含量的同时提高光合速率与光合氮利用效率。

References

[1] Weisler F, Behrens T, Horst W J. The role of nitrogen-efficient cultivars in sustainable agriculture. Sci World J, 2001, 1: 61–69.

[2] 任涛, 鲁剑巍. 中国冬油菜氮素养分管理策略. 中国农业科学, 2016, 49: 3506–3521.
Ren T, Lu J W. Integrated nitrogen management strategy for winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) in China. Sci Agric Sin, 2016, 49: 3506–3521 (in Chinese with English abstract).

[3] Rossato L, MacDuff J H, Laine P, et al. Nitrogen storage and remobilization in *Brassica napus* L. during the growth cycle: effects of methyl jasmonate on nitrate uptake, senescence, growth, and VSP accumulation. J Exp Bot, 2002, 53: 1131–1141.

[4] 张振华, 宋海星, 刘强, 等. 油菜生育期氮素的吸收、分配及转运特性. 作物学报, 2010, 36: 321–326.
Zhang Z H, Song H X, Liu Q, et al. Absorption, distribution, and translocation of nitrogen at growth stages in oilseed rape plant. Acta Agron Sin, 2010, 36: 321–326 (in Chinese with English abstract).

[5] Bown H E, Watt M S, Mason E G, et al. The influence of nitrogen and phosphorus supply and genotype on mesophyll conductance limitations to photosynthesis in Pinus radiata. Tree Physiol, 2009, 29: 1143–1151.

[6] Ray D, Sheshshayee M S, Mukhopadhyay K, et al. High nitrogen use efficiency in rice genotypes is associated with higher net photosynthetic rate at lower rubisco content. Biol Plant, 2003, 46: 251–256.

[7] Rotundo J L, Cipriotti P A. Biological limits on nitrogen use for plant photosynthesis: a quantitative revision comparing cultivated and wild species. New Phytol, 2017, 214: 120–131.

[8] Ali A A, Xu C, Rogers A, et al. A global scale mechanistic model of photosynthetic capacity (LUNA V1.0). Geosci Model Dev, 2016, 9: 587–606.

[9] Xu G H, Fan X R, Miller A J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. Annu Rev Plant Biol, 2012, 63: 153–182.

[10] Liu T, Ren T, White P J, et al. Storage nitrogen co-ordinates leaf expansion and photosynthetic capacity in winter oilseed rape. J Exp Bot, 2018, 69: 2995–3007.

[11] 刘涛. 氮供应对油菜叶片氮形态分配与光合氮利用效率的影响机制. 华中农业大学博士学位论文, 湖北武汉, 2018.
Liu T. Mechanisms Underlying the Effects of Nitrogen Supply on Leaf Nitrogen-forms Partitioning and Photosynthetic Nitrogen Use Efficiency of Brassica Napus. PhD Dissertation of Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei, China, 2018 (in Chinese with English abstract).

[12] 赵洪贤, 刘鹏, 史曼英, 等. 毛乌素沙地典型固沙植物黑沙蒿和赖草叶片氮分配对最大净光合速率的影响. 植物生态学报, 2025, 49: 460–474.
Zhao H X, Liu P, Shi M Y, et al. Effect of leaf nitrogen allocation on maximum net photosynthetic rate of two common sand-fixing species, Artemisia ordosica and Leymus secalinus, in Mau Us Sandy Land. Chin J Plant Ecol, 2025, 49: 460–474 (in Chinese with English abstract).

[13] Zhu X G, de Sturler E, Long S P. Optimizing the distribution of resources between enzymes of carbon metabolism can dramatically increase photosynthetic rate: a numerical simulation using an evolutionary algorithm. Plant Physiol, 2007, 145: 513–526.

[14] Qiang B B, Chen S Y, Fan Z, et al. Effects of nitrogen application levels on soybean photosynthetic performance and yield: insights from canopy nitrogen allocation studies. Field Crops Res, 2025, 326: 109871.

[15] Millard P, Sommerkorn M, Grelet G A. Environmental change and carbon limitation in trees: a biochemical, ecophysiological

and ecosystem appraisal. New Phytol, 2007, 175: 11–28.

[16] Makino A, Shimada T, Takumi S, et al. Does decrease in ribulose-1,5-risphosphate carboxylase by antisense RbcS lead to a higher N-use efficiency of photosynthesis under conditions of saturating CO_2 and light in rice plants? Plant Physiol, 1997, 114: 483–491.

[17] Jin S H, Hong J, Li X Q, et al. Antisense inhibition of Rubisco activase increases Rubisco content and alters the proportion of Rubisco activase in stroma and thylakoids in chloroplasts of rice leaves. Ann Bot, 2006, 97: 739–744.

[18] Imai K, Suzuki Y, Makino A, et al. Effects of nitrogen nutrition on the relationships between the levels of rbcS and rbcL mRNAs and the amount of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase synthesized in the eighth leaves of rice from emergence through senescence. Plant Cell Environ, 2005, 28: 1589–1600.

[19] Hu W S, Zhao M L, Zhang S S, et al. Optimized leaf storage and photosynthetic nitrogen trade-off promote synergistic increases in photosynthetic rate and photosynthetic nitrogen use efficiency. Physiol Plant, 2023, 175: e14013.

[20] Zhuo H, Liu X Y, Luo S, et al. Physiological changes underlying increased photosynthetic-nitrogen use efficiency in response to low-nitrogen conditions in *Brassica napus* L. Ind Crops Prod, 2024, 211: 118240.

[21] 冯旭飞, 雷长英, 张玉洁, 等. 棉花花铃期叶片氮分配对光合氮利用效率的影响. 植物生态学报, 2023, 47: 1600–1610.
Feng X F, Lei Z Y, Zhang Y J, et al. Effect of leaf nitrogen allocation on photosynthetic nitrogen use efficiency at flowering and boll stage of Gossypium spp. Chin J Plant Ecol, 2023, 47: 1600–1610 (in Chinese with English abstract).

[22] 孟晓倩, 邵占海, 许丽, 等. 苗圃氮加载及水分胁迫对栓皮栎苗木叶片光合氮分配及生物量积累的影响. 生态学报, 2023, 43: 3203–3212.
Meng X Q, Shao Z H, Xu L, et al. The combined effects of nitrogen loading and spring drought on photosynthetic machinery nitrogen distribution and accumulation of biomass of Quercus variabilis seedlings. Acta Ecol Sin, 2023, 43: 3203–3212 (in Chinese with English abstract).

[23] 叶子飘. 光合作用对光和 CO_2 响应模型的研究进展. 植物生态学报, 2010, 34: 727–740.
Ye Z P. A review on modeling of responses of photosynthesis to light and CO_2. Chin J Plant Ecol, 2010, 34: 727–740 (in Chinese with English abstract).

[24] 李卫芳, 王忠, 韩鹰, 等. 小麦 Rubisco 活化酶的纯化及其活性特性. 中国农业科学, 2002, 35: 929–933.
Li W F, Wang Z, Han Y, et al. Purification and activity characteristics of Rubisco activase from wheat leaves. Sci Agric Sin, 2002, 35: 929–933 (in Chinese with English abstract).

[25] Takashima T, Hikosaka K, Hirose T. Photosynthesis or persistence: nitrogen allocation in leaves of evergreen and deciduous Quercus species. Plant Cell Environ, 2004, 27: 1047–1054.

[26] Collatz G J, Ball J T, Grivet C, et al. Physiological and environmental regulation of stomatal conductance, photosynthesis and transpiration: a model that includes a laminar boundary layer. Agric For Meteor, 1991, 54: 107–136.

[27] Niinemets Ü, Tenhunen J D. A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species Acer saccharum. Plant Cell Environ, 1997, 20: 845–866.

[28] Jordan D B, Ogren W L. The CO_2/O_2 specificity of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase: dependence on ribulosebisphosphate concentration, pH and temperature. Planta, 1984, 161: 308–313.

[29] Ali A A, Xu C G, Rogers A, et al. Global-scale environmental control of plant photosynthetic capacity. Ecol Appl, 2015, 25: 2349–2365.

[30] Hikosaka K, Terashima I. A model of the acclimation of photosynthesis in the leaves of C_3 plants to sun and shade with respect to nitrogen use. Plant Cell Environ, 1995, 18: 605–618.

[31] 李利, 樊明寿. 利用 SPSS 进行作物产量与施肥量关系的线性加平台回归模型拟合. 面向未来的土壤科学(下册)——中国土壤学会第十二次全国会员代表大会暨第九届海峡两岸土壤肥料学术交流研讨会论文集. 成都, 2012. pp 542–547.
Li L, Fan M S. The use of SPSS in fitting linear plus plateau regression models of relationship between crop yield and fertilization rate. Soil Science for the Future (Volume II): Proceedings of the 12th National Congress of Soil Science Society of China and the 9th Cross-Strait Symposium on Soil and Fertilizer Science. Chengdu, 2012. pp 542–547 (in Chinese with English abstract).

[32] Vos J, van der Putten P E L, Birch C J. Effect of nitrogen supply on leaf appearance, leaf growth, leaf nitrogen economy and photosynthetic capacity in maize (*Zea mays* L.). Field Crops Res, 2005, 93: 64–73.

[33] 李勇. 氮素营养对水稻光合作用与光合氮素利用率的影响机制研究. 南京农业大学博士学位论文. 江苏南京, 2011.
Li Y. Studies on Mechanisms of the Effects of Different Nitrogen Supplies on Photosynthesis and Photosynthetic Nitrogen Use Efficiency of Rice Plants. PhD Dissertation of Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu, China, 2011 (in Chinese with English abstract).

[34] 朱启林, 向蕊, 汤利, 等. 间作对氮调控玉米光合速率和光合氮利用效率的影响. 植物生态学报, 2018, 42: 672–680.
Zhu Q L, Xiang R, Tang L, et al. Effects of intercropping on photosynthetic rate and net photosynthetic nitrogen use efficiency of maize under nitrogen addition. Chin J Plant Ecol, 2018, 42: 672–680 (in Chinese with English abstract).

[35] Staswick P E. Storage proteins of vegetative plant tissues. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1994, 45: 303–322.

[36] Lattanzi F A, Schnyder H, Thornton B. The sources of carbon and nitrogen supplying leaf growth: assessment of the role of stores with compartmental models. Plant Physiol, 2005, 137: 383–395.

[37] Masclaux-Daubresse C, Daniel-Vedele F, Dechorgnat J, et al. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. Ann Bot, 2010, 105: 1141–1157.

[38] Makino A, Sakuma H, Sudo E, et al. Differences between maize and rice in N-use efficiency for photosynthesis and protein allocation. Plant Cell Physiol, 2003, 44: 952–956.

[39] 韩肖肖, 梁霞, 文涛, 等. 荫蔽下大豆苗期叶片氮分配对光合氮利用效率的影响. 四川农业大学学报, 2024, 42: 1263–1271.
Han X X, Liang X, Wen T, et al. Effects of leaf nitrogen allocation on photosynthetic nitrogen use efficiency in shaded soybean

seedlings. J Sichuan Agric Univ, 2024, 42: 1263–1271 (in Chinese with English abstract).

[40] Makino A, Sato T, Nakano H, et al. Leaf photosynthesis, plant growth and nitrogen allocation in rice under different irradiances. Planta, 1997, 203: 390–398.

[41] Evans J R. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C_3 plants. Oecologia, 1989, 78: 9–19.

[42] Bernacchi C J, Pimentel C, Long S P. In vivo temperature response functions of parameters required to model RuBP-limited photosynthesis. Plant Cell Environ, 2003, 26: 1419–1430.

[43] Warren C R, Dreyer E, Adams M A. Photosynthesis-Rubisco relationships in foliage of Pinus sylvestris in response to nitrogen supply and the proposed role of Rubisco and amino acids as nitrogen stores. Trees, 2003, 17: 359–366.

[44] Mu X H, Chen Q W, Chen F J, et al. Within-leaf nitrogen allocation in adaptation to low nitrogen supply in maize during grain-filling stage. Front Plant Sci, 2016, 7: 699.

[45] Suzuki Y, Miyamoto T, Yoshizawa R, et al. Rubisco content and photosynthesis of leaves at different positions in transgenic rice with an overexpression of RBCS. Plant Cell Environ, 2009, 32: 417–427.

[46] 翁晓燕, 陆庆, 蒋德安. 水稻 Rubisco 活化酶在调节 Rubisco 活性和光合日变化中的作用. 中国水稻科学, 2001, 15(1): 35–40.
Weng X Y, Lu Q, Jiang D A. Rubisco activase and its regulation on diurnal changes of photosynthetic rate and the activity of ribulose 1,5-bisphosphate carboxyase/oxygenase (Rubisco). Chin J Rice Sci, 2001, 15(1): 35–40 (in Chinese with English abstract).

[47] Sage R F, Pearcy R W. The nitrogen use efficiency of C_3 and C_4 plants: II. leaf nitrogen effects on the gas exchange characteristics of *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.). Plant Physiol, 1987, 84: 959–963.