

## CO<sub>2</sub> 倍增和 UV-B 辐射增强对大豆根际氨氧化细菌数量及土壤酶活的影响

吕志伟,万国峰,张 朋,张思亮,郭 彦,张文会

(聊城大学 生命科学学院,山东 聊城 252059)

**摘 要:**以根瘤超着生大豆突变体 0498 和完全不结瘤的大豆突变体 0701 为材料,在人工气候室内模拟大气 CO<sub>2</sub> 浓度倍增以及 UV-B 辐射增强的复合逆境胁迫条件,研究其对大豆根际氨氧化细菌数量和根际土壤酶活的影响。结果表明:与对照相比,CO<sub>2</sub> 浓度倍增能显著提高大豆根际氨氧化细菌的数量,增加土壤中脲酶、转化酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的活性,对完全不结瘤的 0701 影响更加显著;UV-B 辐射增强对氨氧化细菌数量无显著影响,对土壤酶活存在一定的抑制作用。超量根瘤的存在,使 CO<sub>2</sub> 倍增和 UV-B 辐射增强对上述指标的影响得到一定的缓解。

**关键词:**二氧化碳;UV-B;大豆;土壤酶;氨氧化细菌

**中图分类号:**S565.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2012)01-0069-04

## Effects of Doubled CO<sub>2</sub> and Enhanced UV-B Radiation on Rhizosphere Ammonia-oxidizing Bacteria and Soil Enzymes in Soybean(*Glycine max* Merr.)

LÜ Zhi-wei, WAN Guo-feng, ZHANG Peng, ZHANG Si-liang, GUO-Yan, ZHANG Wen-hui

(School of Life Sciences, Liaocheng University, Liaocheng 252059, Shandong, China)

**Abstract:** The increase of atmospheric CO<sub>2</sub> concentration and ultraviolet-B radiation (UV-B) significantly affect crops growth, development and physiological processes. In this study, the soil enzyme activities and amount of soybean rhizosphere ammonia-oxidizing bacteria were analyzed under the condition of doubled CO<sub>2</sub> concentration and enhanced UV-B irradiation. Related experiments were imitated in artificial climate room using super-nodulating mutant 0498 and not nodulated soybean mutant 0701 as materials. The results showed that, the amounts of soybean rhizosphere ammonia-oxidizing bacteria activities of soil urease, invertase, acid phosphatase and alkaline phosphatase of doubled CO<sub>2</sub> were enhanced compared with CK; the influence on 0701 was more significant. UV-B had no effect on amounts of soybean rhizosphere ammonia-oxidizing bacteria and reduced soil enzymes activities. The existence of super nodule could lessen the influence of CO<sub>2</sub> concentration and UV-B irradiation on soybean rhizosphere ammonia-oxidizing bacteria and soil enzyme activities.

**Key words:** Carbon dioxide; UV-B; Soybeans; Soil enzyme; Ammonia-oxidizing bacteria

自 20 世纪以来,随着经济的快速发展,人类的活动加剧了环境的恶化。其中较为突出的是大气中 CO<sub>2</sub> 浓度增高和紫外线 B 波段 (UV-B, 280 ~ 320 nm) 辐射增强对陆地生态系统产生了显著影响<sup>[1]</sup>。UV-B 辐射会降低生物量<sup>[2]</sup>, 但是 CO<sub>2</sub> 浓度的增加能够提高生物量和产量<sup>[3-4]</sup>, 而 UV-B 辐射的持续增加会降低 CO<sub>2</sub> 浓度增加所产生的增产效应<sup>[5]</sup>。在前期工作中,课题组从光合作用的角度研究了大气 CO<sub>2</sub> 浓度增加以及 UV-B 辐射增强的复合胁迫对大豆生长及根际微生物数量的影响。结果表明,CO<sub>2</sub> 倍增主要增加了光合系统的光合作用能力,UV-B

的效果正相反,CO<sub>2</sub> 倍增能够缓解 UV-B 辐射增强对株高、生物量的抑制作用;CO<sub>2</sub> 浓度倍增能够促进根际真菌数量的增加,对细菌及放线菌没有明显效果;附加 UV-B 处理降低了细菌和放线菌的数量,对根瘤的数量及真菌的数量没有显著效果;CO<sub>2</sub> 浓度倍增能够缓解附加 UV-B 处理对放线菌的抑制作用等<sup>[1]</sup>。该研究以 2 个大豆突变体为材料,在人工气候室内模拟大气 CO<sub>2</sub> 浓度增加、UV-B 辐射增强及复合逆境胁迫环境,研究了它们对大豆根际氨氧化细菌数量及土壤酶活的影响,以期从根际氮循环和土壤酶活性角度进一步阐明 CO<sub>2</sub> 和 UV-B 对大豆植株根部的影响机制。

收稿日期:2011-11-24

基金项目:山东省自然科学基金(2009ZRB01762);山东省教育厅基金(J11LC04)。

第一作者简介:吕志伟(1981-),男,博士,讲师,研究方向为环境微生物。E-mail:laolv327@126.com。

通讯作者:张文会(1963-),男,博士,教授,研究方向为植物胁迫生理。E-mail:whzhang@lcu.edu.cn。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

试验于 2010 年在聊城大学生命科学学院植物生理生态实验室进行,以遗传背景相同的根瘤超着生突变体 0498 及完全不结瘤变体 0701 为材料。

选取籽粒饱满的大豆种子室温下浸种。待种子吸水膨胀后放置在 25℃ 培养箱中催芽,选取胚根长度一致的发芽种子播种于长 50 cm、宽 40 cm、高 30 cm 的塑料箱中。箱内铺 17 cm 厚的大田土(除去 2~3 cm 的表层土),每箱施加硫酸钾型复合肥 10 g。播种深度约为 2 cm,每穴播种 3 粒,每箱 20 穴。待长出第一对真叶后间苗,行距株距均为 10 cm 左右,每箱留苗 20 株。播种后放入人工气候室内培养,昼/夜室温分别为 25 和 20℃,光照时间为 8:00~20:00,光照强度约为  $600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,间苗后进行 UV-B 与  $\text{CO}_2$  处理。

试验设  $\text{CO}_2$  浓度倍增单独处理( $\text{CO}_2$ )、UV-B 辐射增强单独处理(UV-B)、二者复合处理( $\text{CO}_2 + \text{UV-B}$ ),以正常空气条件为对照(CK)。采用 A、B 2 个人工气候室,A 室内设置  $\text{CO}_2$  和  $\text{CO}_2 + \text{UV-B}$  处理,B 室内设置对照和 UV-B 处理。A 室内利用  $\text{CO}_2$  供给装置 24 h 连续供给  $\text{CO}_2$ , $\text{CO}_2$  处理浓度为  $(0.070 \pm 0.005)\%$ ;B 室只通入空气( $\text{CO}_2$  浓度约为 0.035%)。A、B 室内 UV-B 增强处理区均悬挂紫外灯管,UV-B 照射灯具吊挂在植物体的正上方 20 cm 处,以维持 UV-B 照射强度约为  $15 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,每天连续照射 8 h。UV-B 光源采用北京电光源研究所生产的最大放射波长为 315 nm 的紫外灯管,灯管周围(距灯管约 5~8 cm)用双醋酸纤维素膜包裹,以除去 290 nm 以下的短波长的光,膜每 14 d 更换 1 次;以上各处理均设 6 次重复(6 箱)。

在大豆的鼓粒期分别采取土样,将植株根部土抖落后收集,过 2 mm 筛后于 4℃ 保存备用。

### 1.2 测定项目与方法

**1.2.1 氨氧化细菌数量的测定** 采用 MPN-Griess 法,其中土样用无菌生理盐水稀释成  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$  和  $10^{-6}$  共 6 个稀释度,每个稀释度接种时设 4 个重复。28℃ 培养箱培养 14 d,测定氨氧化细菌数量,然后换算成 1 g 干土中所含的氨氧化细菌数量<sup>[6]</sup>。

**1.2.2 土壤酶活性的测定** 脲酶活性的测定采用靛酚比色法,转化酶(蔗糖酶)活性的测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法。磷酸酶活性的测定采用对硝基苯磷酸钠(p-NPP)法,其中酸性磷酸酶的反应 pH 为 6.5,碱性磷酸酶活性的反应 pH 设定为

11<sup>[6]</sup>。

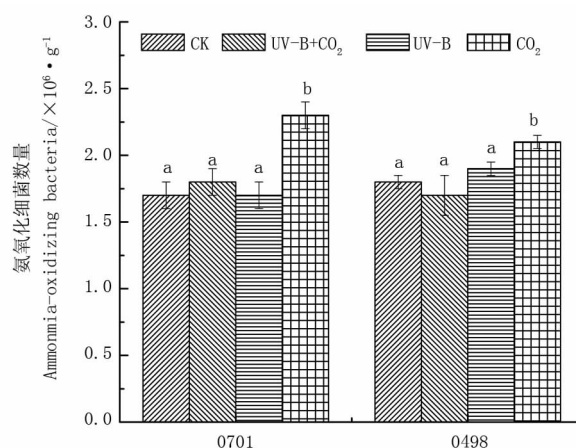
### 1.3 数据分析

采用 Origin 8.0 和 SPSS 13.0 进行数据分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 根际土壤氨氧化细菌数量

由图 1 可知,与对照相比,单独  $\text{CO}_2$  浓度的倍增使得 2 种大豆突变体根际氨氧化细菌的数量显著增加( $P < 0.05$ ),突变体 0701 的根际氨氧化细菌数量增加 35.3%,突变体 0498 增加 16.7%,表明突变体 0701 根际氨氧化细菌的数量对外界  $\text{CO}_2$  的浓度变化,较 0498 更加敏感。与对照相比,单独 UV-B 增强处理及 UV-B 增强与  $\text{CO}_2$  倍增复合处理对 2 个大豆突变体根际氨氧化细菌数量无显著影响( $P > 0.05$ )。



不同字母表示不同处理间差异显著( $P < 0.05$ ),下表同。

Different letters indicate significant difference among treatments( $P < 0.05$ ), the same below.

图 1 不同处理的根际氨氧化细菌数量

Fig.1 Amount of ammonia-oxidizing bacteria under different treatment

### 2.2 根际土壤脲酶活性

如图 2 所示,突变体 0701 在  $\text{CO}_2$  倍增的条件下,土壤脲酶活性显著高于对照和其它处理;UV-B 处理的脲酶活性则显著低于对照,而 UV-B 与  $\text{CO}_2$  倍增复合处理的脲酶活性比 UV-B 单独处理略有增加,但差异不显著( $P > 0.05$ )。突变体 0498 在  $\text{CO}_2$  倍增条件下,土壤脲酶活性显著高于对照(18.8%),单独的 UV-B 增强处理及 UV-B 增强与  $\text{CO}_2$  倍增复合处理则与对照无显著差异。

### 2.3 根际土壤转化酶活性

由图 3 可见,突变体 0701 在  $\text{CO}_2$  倍增处理下,土壤转化酶活性显著高于对照和其它处理,其它处理转化酶活性均低于对照,但差异不显著。0498 在  $\text{CO}_2$  倍增的处理下,土壤的转化酶活性显著高于对

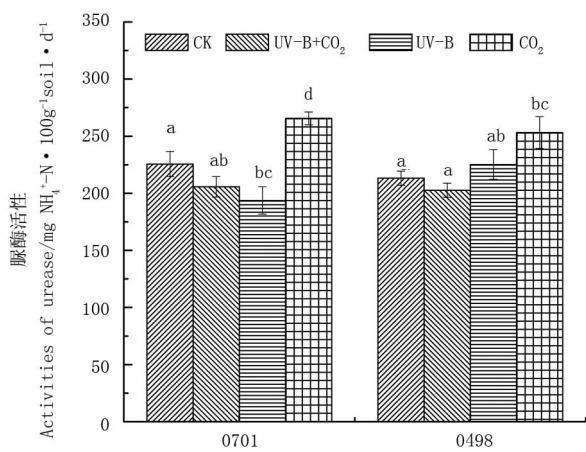


图2 不同处理的根际土壤脲酶活性

Fig. 2 Activity of soil urease under different treatments

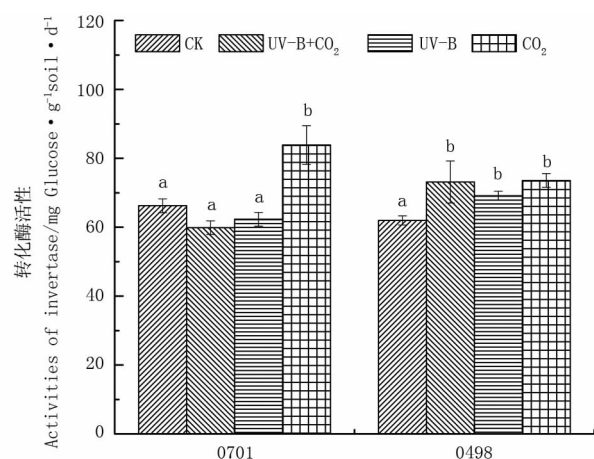


图3 不同处理的根际土壤转化酶活性

Fig. 3 Activity of soil invertase under different treatments

照(18.7%),但增幅小于0701;3个处理的土壤转化酶活性均显著高于对照( $P < 0.05$ ),处理间差异不显著( $P > 0.05$ )。

## 2.4 根际土壤磷酸酶活性

**2.4.1 酸性磷酸酶活性** 由图4可知,CO<sub>2</sub>浓度的倍增使得2种大豆突变体根际土壤酸性磷酸酶活性显著高于对照和其它处理( $P < 0.05$ )。与对照相比,UV-B与CO<sub>2</sub>倍增复合处理使得2个突变体根际土壤酸性磷酸酶活性都有下降,且突变体0498的降幅达到差异显著水平;单独的UV-B增强处理使得2个突变体根际土壤酸性磷酸酶活性都显著低于对照。

**2.4.2 碱性磷酸酶活性** 由图5可知,与对照相比,单独的UV-B增强处理,使得2种大豆突变体根际土壤碱性磷酸酶活性显著降低( $P < 0.05$ );UV-B与CO<sub>2</sub>倍增复合处理使得2个突变体根际土壤碱性磷酸酶活性都有下降,且突变体0498的降幅达到差异显著水平;单独CO<sub>2</sub>浓度的倍增,使得2种大豆突变体根际土壤碱性磷酸酶活性均升高,0701增幅达

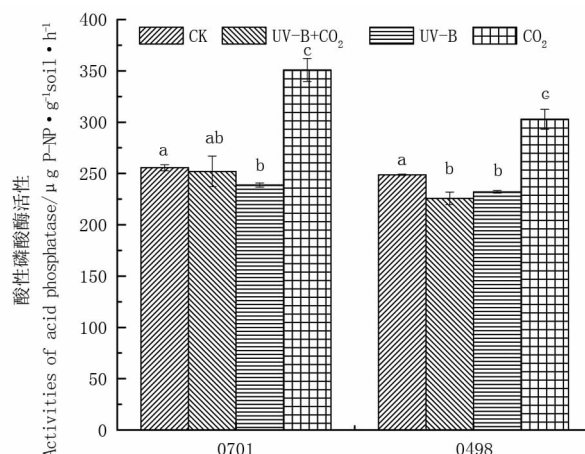


图4 不同处理的根际土壤酸性磷酸酶活性

Fig. 4 Activity of soil acid phosphatase under different treatments

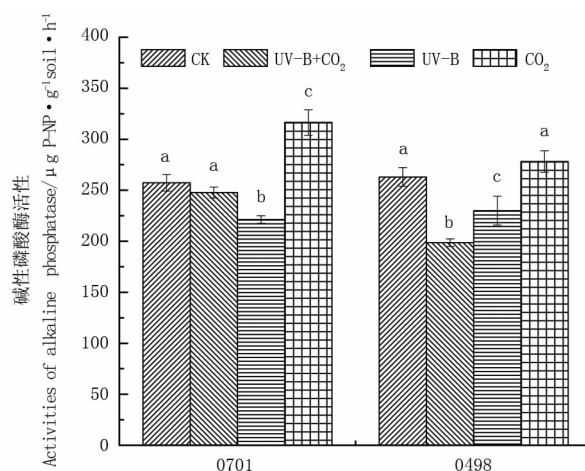


图5 不同处理的根际土壤碱性磷酸酶活性

Fig. 5 Activity of soil alkaline phosphatase under different treatments

到显著水平( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

CO<sub>2</sub>浓度倍增处理使根际土壤氨氧化细菌数量明显增加,原因可能是CO<sub>2</sub>浓度倍增促使大豆株高和地上生物量显著增加<sup>[7]</sup>,使得根系活性<sup>[8]</sup>、根系分泌物及土壤有机碳输入都增加<sup>[9]</sup>,影响了氨氧化细菌的数量。根瘤菌和氨氧化细菌是土壤氮循环的重要组成部分,0498为超结瘤株,结根瘤数量是正常大豆的十余倍,可能在一定程度上减缓了根际微生物的变化幅度。CO<sub>2</sub>浓度的倍增有助于氨氧化细菌数量的增加,进而提高土壤氮素循环的效率,促进植物的生长。

CO<sub>2</sub>浓度的倍增能增加土壤中脲酶、转化酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的活性,这4种酶与土壤氮、碳、磷循环密切相关,因此能提高土壤的营养转

化,进而促使大豆的株高和地上生物量的显著增加,这与课题组前期的研究结果<sup>[1,7,10]</sup>一致。

UV-B 辐射降低大豆的株高和地上部生物量,也对大豆根系生物量产生抑制作用<sup>[1,10]</sup>,进而可能降低根际土壤酶活性。这种影响在不结根瘤的 0701 根际土壤酶活上相对显著;但是超量根瘤的存在使得这种抑制作用得到一定的缓解,可能与根瘤菌的生长能促进根系分泌物的量有关。CO<sub>2</sub> 倍增能够缓解 UV-B 辐射引起的部分土壤脲酶和磷酸酶活性的降低,但无明显规律,原因有待于进一步研究。

## 参考文献

- [1] 张文会,刘立科,苗秀莲,等. CO<sub>2</sub> 倍增及 UV-B 增强对大豆植株生长和根际微生物的影响[J]. 西北植物学报,2009,29(4): 724-732. (Zhang W H, Liu L K, Miao X L, et al. Effects of doubled carbon dioxide and enhanced UV-B radiation on growth and rhizosphere microorganisms in soybean (*Glycine max* Merr.) [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2009, 29(4): 724-732.)
  - [2] Ros J, Tevini M. Interaction of UV-radiation and IAA during growth of seedling and hypocotyls segments of sunflower[J]. Journal of Plant Physiology, 1995, 146: 295-302.
  - [3] Poorter H. Interspecific variation in the growth response of plants to an elevated ambient CO<sub>2</sub> concentration[J]. Plant Ecology, 1993, 104: 77-79.
  - [4] Britt A B, Chen J J, Wykoff D, et al. A UV-sensitive mutant of *Ara-*  
~~~~~  
*bidopsis* defective in the repair of pyrimidine-pyrimidinone (6-4) dimmers[J]. Science, 1993, 261: 1571-1574.
  - [5] Teramura A H, Ziska L H. CO<sub>2</sub> enhancement of growth and photosynthesis in rice (*Oryza sativa*): modification by increased ultraviolet-B radiation[J]. Plant Physiology, 1992, 99: 473-481.
  - [6] 许光辉,郑洪元. 土壤微生物学分析手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 110-113, 249-291. (Xu G H, Zheng H Y. Soil Microbiology analysis handbook [M]. Beijing: Agricultural Press, 1986: 110-113, 249-291.)
  - [7] 张朋,张文会,苗秀莲,等. CO<sub>2</sub> 浓度倍增对大豆生长及光合作用的影响[J]. 大豆科学, 2010, 29(1): 60-63. (Zhang P, Zhang W H, Miao X L, et al. Effects of doubled CO<sub>2</sub> concentration on growth and photosynthesis of soybean[J]. Soybean Science, 2010, 29(1): 64-67.)
  - [8] 辛丽花,韩士杰,郑俊强,等. CO<sub>2</sub> 浓度升高对土壤微生物及土壤酶影响的研究进展[J]. 土壤通报, 2006, 37(6): 1231-1235. (Xin L H, Han S J, Zheng J Q, et al. Effects of elevated CO<sub>2</sub> on soil microorganism and enzyme: a review [J]. Chinese Journal of Soil Science, 2006, 37(6): 1231-1235.)
  - [9] 陈改革,朱建国,程磊. 高 CO<sub>2</sub> 浓度下根系分泌物的研究进展[J]. 土壤, 2005, 37(6): 602-606. (Chen G P, Zhu J G, Cheng L. A summary of researches on effects of CO<sub>2</sub> elevation on root exudates[J]. Soils, 2005, 37(6): 602-606.)
  - [10] 张文会,张朋,刘立科,等. 紫外线 B 辐射增强对大豆生长及光合作用相关指标的影响[J]. 大豆科学, 2009, 28(2): 229-232. (Zhang W H, Zhang P, Liu L K, et al. Effects of enhanced UV-B radiation on growth and photosynthesis in soybean (*Glycine max* Merr.) [J]. Soybean Science, 2009, 28(2): 229-232.)
- (上接第 68 页)
- [14] 李维江,张冬梅,唐薇,等. 转 *Bt* 基因抗虫棉和有色棉苗期耐盐性差异研究[J]. 棉花学报, 2001, 13(4): 234-237. (Li W J, Zhang D M, Tang W, et al. A comparative study on salt tolerance between *Bt* transgenic cotton and naturally coloured cotton during seedling stage[J]. Cotton Science, 2001, 13(4): 234-237.)
  - [15] 聂呈荣,骆世明,王建武. *Bt* 玉米光合作用和生长性状的变化[J]. 生态学报, 2006, 26(6): 1957-1962. (Nie C R, Luo S M, Wang J W. Change of photosynthesis and growth of *Bt* corn[J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(6): 1957-1962.)
  - [16] 宋小玲,强胜,彭于发. 抗草甘膦转基因大豆 (*Glycine max* L. Merri.) 杂草性评价的试验实例[J]. 中国农业科学, 2009, 42(1): 145-153. (Song X L, Qiang S, Peng Y F. An experimental case of safety assessment of weediness of transgenic glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L. Merri.) [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(1): 145-153.)
  - [17] 皇甫超河,杨殿林,刘红梅,等. 转基因抗草甘膦大豆的光合及荧光特性[J]. 中国油料作物学报, 2010, 32(3): 383-389. (Huangfu C H, Yang D L, Liu H M, et al. Photosynthetic and chlorophyll fluorescence characteristics of transgenic glyphosate-tolerant soybean[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2010, 32(3): 383-389.)
  - [18] Benbrook C M. Evidence of the magnitude and consequences of the Roundup Ready soybean yield drag from university-based varietal trials in 1998 [A]. Sandpoint, Idaho: Benbrook Consulting Services, 1999.
  - [19] Elmore R W, Roeth F W, Nelson L A, et al. Glyphosate-resistant soybean cultivar yields compared with sister lines[J]. Agronomy Journal, 2001, 93(2): 408-412.