

大气 CO₂ 浓度升高对大豆根瘤量及其固氮活性的影响^{*}

蒋跃林¹ 张庆国¹ 张仕定² 岳伟¹ 陈庭甫¹ 樊丽莉¹

(1. 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036; 2 中国科技大学理化实验中心, 合肥 230026)

摘要 通过开顶式气室控制 CO₂ 浓度, 对盆栽大豆进行试验测定, 研究了大气 CO₂ 浓度升高对大豆根系, 重点是根瘤量和根瘤活性的影响。结果表明, 大气 CO₂ 浓度升高, 促进了大豆根系生长, 大豆根体积、主根长、根鲜重均呈增长趋势, 根冠比增加。CO₂ 浓度为 450、550、650 和 750 μmol/mol 时, 与大气 CO₂ 背景浓度相比, 在初花期, 大豆根瘤数分别增加 6.1%、15.9%、19.2% 和 26.5%, 其中主根根瘤数增加较为显著, 至鼓粒期, 根瘤数增加幅度为 7.8%~48.0%, 增幅较初花期大, 其中侧根根瘤量增加更多。同时, 高 CO₂ 水平下, 根瘤鲜重的变化与根瘤数基本一致。4 种高 CO₂ 浓度下, 初花期根瘤比固氮活性提高 10.1%~24.0%, 大于鼓粒期的 6.0%~13.4% 的增幅; 单株根瘤固氮活性初花期增加 10.6%~55.7%, 鼓粒期则提高了 20.0%~73.9%。

关键词 大豆; CO₂ 增加; 根瘤; 固氮活性

中图分类号 S 565.1 文献标识码 A 文章编号 1000—9841(2006)01—0053—05

全球大气 CO₂ 浓度由于人类活动的影响而显著升高, 大气 CO₂ 浓度已由工业革命前大约 270 μmol/mol 上升到目前的约 350 μmol/mol (植物旺盛生长季), 并且以每年 1~2 μmol/mol 的速度递增, 预计在 21 世纪末将达到目前的 2 倍^[1]。大气 CO₂ 作为植物光合作用的反应底物, 其浓度的升高, 对植物光合作用及一系列生理生化过程产生直接影响, 研究大气 CO₂ 浓度升高对植物, 尤其对作物的影响, 已成为国内外农业研究的热点课题。大豆是世界范围内种植较广泛的豆科作物, 随着人们对植物蛋白质和脂肪需求量的提高, 大豆在农业生产中的地位愈来愈重要。大豆同时又是能固氮的豆科植物, 其共生固氮量占植物所需总氮量的 30%~90%^[2], 大豆结瘤固氮的遗传受共生体双方控制, 而环境生态条件、土壤类型均影响共生固氮作用。长期以来, 国内外关于 CO₂ 增加对植物地上部分尤其是光合作用研究较为细致, 植物地下部分尤其根瘤及其活性对 CO₂ 升高的反应研究较少。而在植物—土壤—大气系统中, 根系是十分活跃的部分, 研究表明, 植物通过光合作用固定的同化物约 20%~50% 运送到地下^[3], CO₂ 浓度升高引起的光合速率

提高将对根系的生长及根际微生物产生影响。本研究拟探讨大豆与根瘤菌之间存在的共生固氮作用在高 CO₂ 浓度下将会产生何种变化, 研究不同 CO₂ 浓度水平下大豆根瘤量和固氮活性的变化趋势, 为在可预见的将来大气 CO₂ 浓度持续升高的背景下, 大豆高产优质栽培提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2004 年在安徽农业大学实验农场进行, 以大豆 (*Glycine max* (L.) Merrill) 品种皖豆 13 为材料, 采用盆栽方式, 6 月 6 日播种, 定植后每盆保留 2 株, 每个气室 15 盆。盆内土壤质地相同, 全生育期管理方法相同, 水肥条件基本满足需要, 无病虫害和杂草。试验土壤为黄褐土, pH 值 6.2, 有机质含量为 1.26%, 全氮含量 0.12%, 速效氮 112.3 μg/g, 速效磷 32.8 μg/g, 速效钾 156.1 μg/g。

1.2 试验设计

试验开顶式气室做大气 CO₂ 浓度增加控制实

^{*} 收稿日期: 2005—11—15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (70271062) 和安徽省教育厅自然科学基金重点项目资助。

作者简介: 蒋跃林, (1962—), 男, 副教授, 主要从事作物环境生理生态和农业气象研究。

验。制作气室 5 个,气室为六边型结构,高 2m,边长 1.4m,室壁为无色透明玻璃。以钢瓶装纯 CO₂ 为气体发生源,用 YQB-02 加热型 CO₂ 气体减压流量计控制流量,在 CO₂ 导入气室过程中用风机抽入空气,混合后分别配制成浓度均匀且稳定的高 CO₂ 浓度空气通入气室,设 4 个浓度处理,分别为 450±20、550±20、650±20 和 750±20 μ mol/mol,以只通入空气的 CO₂ 本底浓度约 350 μ mol/mol 为对照。大豆出苗后,开始通气,每天均 24h 供气,至成熟供气结束。试验过程中,选择典型天气进行太阳辐射、气温、空气湿度等气象要素动态对比观测,结果表明,各气室基本一致,因此,本项试验为不同 CO₂ 浓度梯度处理的单要素控制实验^[4]。

1.3 测定项目与方法

于 2004 年 7 月 10 日(初花期)和 8 月 12 日(鼓粒期)对根系取样,每气室每次取 5 盆共 10 株,用慢流水冲洗,洗净根系,在子叶痕处将植株剪断,分为根、冠两部分进行测定。根、冠鲜重测定:用吸水纸吸干根、根瘤及地上部表面附着水分,用电子天平称重。根体积测定采用排水法。根瘤固氮活性利用乙炔还原法测定,根瘤可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定,固氮活性和可溶性糖含量测定设 3 次重复。试验数据用 SPSS 软件处理分析。

2 结果与分析

2.1 大豆根系性状对大气 CO₂ 浓度升高的反应

对大豆根系性状的测定结果表明(表 1),CO₂ 浓度升高,使大豆根生物量提高,体积增大,主根加长,同时根冠比增加,在大豆初花期,与 CO₂ 背景浓度 350 μ mol/mol 相比,CO₂ 为 450、550、650 和 750 μ mol/mol 浓度水平下的大豆单株根体积分别增大 13.8%、17.7%、22.7%和 34.3%;主根长增长 2.1%~14.7%;根生物量增加 13.0%~33.4%,地上部分生物量提高幅度 8.4%~12.9%,地上部分小于根生物量的增加幅度,表现为根冠比随大气 CO₂ 含量增加而呈上升趋势。而到鼓粒期,高 CO₂ 浓度下大豆根系的增加更加显著,4 种高 CO₂ 水平比本底 CO₂ 浓度下大豆单株根体积增加 13.3%~49.0%;主根长提高 6.4%~27.7%;根重提高 6.2%~56.0%;地上部增重 3.0%~30.3%;根冠比由 0.18 增至 0.22。由此可见,大气 CO₂ 浓度的升高,使大豆根系更加发达,根系在形态和生物量上的变化,有助于大豆摄取更多的养分及水分,从而更好地适应高 CO₂ 环境。

表 1 CO₂ 浓度升高对大豆根系性状的影响
Table 1 Root characteristics of soybean affected by high CO₂ levels

生育期 Growth stage	CO ₂ 浓度 (μ mol/mol) CO ₂ concentration	根体积 (cm ³) RV	主根长 (cm) LMR	根鲜重 (g/plant) RFW	地上部鲜重 (g/plant) SFW	根冠比 Root/Shoot
初花期 Initial-flower stage	350(CK)	9.79±0.61c	33.56±2.13b	10.21±0.43c	44.71±3.29c	0.23
	450	11.14±0.47b	34.28±1.79ab	11.54±0.56b	48.45±2.85bc	0.24
	550	11.52±0.54b	37.30±2.42ab	11.87±0.52b	49.88±3.31abc	0.24
	650	12.01±0.66ab	37.75±2.01a	12.39±0.49b	51.41±3.62ab	0.24
	750	13.15±0.58a	38.51±2.06a	13.62±0.41a	54.05±3.02a	0.25
鼓粒期 Seed filling stage	350(CK)	16.64±0.98b	41.08±3.18c	17.13±1.43c	95.33±6.90b	0.18
	450	18.85±1.43b	43.70±2.91c	19.20±1.21c	98.16±6.72b	0.20
	550	21.87±1.09a	46.19±2.65abc	23.24±1.93ab	117.37±8.24a	0.20
	650	24.30±1.31a	51.06±3.29ab	25.30±2.05ab	121.05±7.66a	0.21
	750	24.79±1.50a	52.47±4.40a	26.72±2.80a	124.18±7.09a	0.22

注:表中数据为平均值±标准差 Data in the table are expressed as mean±SD
每列不同字母表示 P<0.05 差异显著水平,下同。
The different letters in each column indicate the significant difference at P<0.05. The same as below.
RV: Root volume, LMR: Length of main root, RFW: Root fresh weight, SFW: Shoot fresh weight

2.2 大气 CO₂ 浓度增加对大豆根瘤量和分布的影响

试验结果显示(表 2),与 CO₂ 背景浓度相比,4

种高 CO₂ 浓度下,大豆初花期主根根瘤数分别增加 6.9%、21.4%、25.9%和 33.5%,而侧根根瘤数增加幅度分别为 5.7%、13.1%、15.9%和 23.0%,主根

根瘤数在高 CO₂ 水平下的增加较侧根根瘤数的增加更为显著。但大豆生长发育进行到鼓粒期, 侧根更加发达, CO₂ 浓度升高则对侧根结瘤量的影响更大, 4 种高 CO₂ 水平下大豆侧根根瘤数提高幅度为 8.4%~52.1%, 主根根瘤数增幅为 4.7%~29.2%。从大豆单株根系结瘤数量提高幅度分析, 鼓粒期为 7.8%~48.0%, 较初花期的 6.1%~26.5%更为显著。

高 CO₂ 浓度下大豆根瘤鲜重的变化趋势与根瘤数基本一致, 单株根瘤鲜重显著提高, 同时呈现生长前期主根根瘤鲜重增幅大于后期, 而侧根根瘤鲜重则是后期增幅大于前期的结瘤特征。表明大豆开花以后到鼓粒的生殖生长阶段, 侧根和根瘤的增加对吸收养分水分和共生固氮等生理过程以及大豆生长

可以起更大作用。研究还发现, CO₂ 浓度上升, 对大豆根瘤增重效应比根瘤数量的提高更加显著, 表现为单个根瘤重量随 CO₂ 浓度升高也有不同程度的增加, 大豆初花期主根根瘤单个鲜重由 CO₂ 本底浓度 350 μ mol/mol 的 14.89mg 增加至 750 μ mol/mol CO₂ 水平下的 15.95mg, 侧根单个根瘤鲜重则由 11.22mg 提高到 12.28mg; 而到鼓粒期, 正常 CO₂ 浓度下主根根瘤数量和重量均比初花期下降, 侧根根瘤数量则大幅增加, 单个瘤重提高, 在 CO₂ 浓度升高情景下, 主根和侧根单个根瘤均有增重现象, 750 和 350 μ mol \cdot mol⁻¹ CO₂ 浓度相比, 主根单个根瘤重由 11.69mg 增至 12.56mg, 侧根根瘤重从 13.60mg 微升至 13.96mg。以上分析可见, 高 CO₂ 对大豆根瘤形成和生长发育有显著的促进作用。

表 2 不同 CO₂ 浓度大豆根瘤数和鲜重的变化

Table 2 Changes of root nodule number and fresh weight in soybean under different elevated CO ₂ levels							
生育期 Growth stage	CO ₂ 浓度 (μ mol/mol) CO ₂ concentration	根瘤数 Root nodule number (NO/plant)			根瘤鲜重 Root nodule fresh weight (mg/plant)		
		主根	侧根	全株	主根	侧根	全株
		Main root	Lateral root	Total	main root	Lateral root	Total
初花期 Initial-flower stage	350(CK)	10.26 \pm 0.86b	20.43 \pm 1.71c	30.69 \pm 2.42b	152.77 \pm 4.21c	229.13 \pm 18.40c	381.90 \pm 30.18c
	450	10.97 \pm 1.13b	21.60 \pm 2.04bc	32.57 \pm 2.95b	164.81 \pm 13.85bc	256.97 \pm 19.63bc	421.78 \pm 31.72bc
	550	12.45 \pm 0.99ab	23.11 \pm 1.93abc	35.56 \pm 2.80ab	187.49 \pm 14.46ab	290.45 \pm 21.09a	477.94 \pm 33.24ab
	650	12.92 \pm 1.30a	24.67 \pm 2.10ab	37.59 \pm 3.16a	205.72 \pm 16.04a	278.12 \pm 23.44ab	483.84 \pm 35.69a
	750	13.70 \pm 1.25a	25.13 \pm 2.35a	38.83 \pm 3.29a	218.46 \pm 16.29a	308.51 \pm 26.18a	526.97 \pm 38.16a
鼓粒期 Seed filling stage	350(CK)	9.65 \pm 0.81b	44.62 \pm 3.41c	54.27 \pm 3.90c	112.84 \pm 8.21d	606.68 \pm 52.19d	719.52 \pm 53.66c
	450	10.10 \pm 0.76b	48.39 \pm 4.25bc	58.49 \pm 4.55bc	129.36 \pm 8.60c	685.56 \pm 46.43d	814.92 \pm 49.05d
	550	10.77 \pm 1.17ab	54.65 \pm 3.84b	65.42 \pm 4.18b	134.08 \pm 10.54bc	763.78 \pm 43.06c	897.86 \pm 47.31c
	650	11.83 \pm 0.94a	62.90 \pm 4.60a	74.73 \pm 4.71a	142.45 \pm 11.75ab	875.50 \pm 48.95b	1017.95 \pm 53.29b
	750	12.47 \pm 1.05a	67.86 \pm 4.37a	80.33 \pm 4.62a	156.61 \pm 12.23a	947.33 \pm 56.72a	1103.94 \pm 64.11a

表 3 大气 CO₂ 浓度升高对大豆根瘤固氮活性和可溶性糖含量的影响

Table 3 Effect of elevated CO ₂ concentration on nitrogen fixation activity and water-soluble sugar contents in soybean root nodules						
CO ₂ 浓度 (μ mol/mol) CO ₂ concentration	初花期 Initial-flower stage			鼓粒期 Seed filling stage		
	比固氮活性 SNA	单株固氮活性 TNA	可溶性糖含量 CSS	比固氮活性 SNA	单株固氮活性 TNA	可溶性糖含量 CSS
	(μ mol/(g \cdot h))	(μ mol/(plant \cdot h))	(mg/g)	(μ mol/(g \cdot h))	(μ mol/(plant \cdot h))	(mg/g)
350(CK)	53.07 \pm 3.66c	22.27 \pm 1.58d	0.46 \pm 0.06b	18.54 \pm 1.06b	13.34 \pm 0.78d	0.19 \pm 0.02c
450	58.42 \pm 4.21bc	24.63 \pm 1.79cd	0.52 \pm 0.07ab	19.65 \pm 1.35ab	16.01 \pm 1.10c	0.21 \pm 0.01bc
550	56.79 \pm 3.80bc	27.14 \pm 1.82bc	0.49 \pm 0.06ab	20.31 \pm 1.14a	18.24 \pm 1.03b	0.23 \pm 0.02ab
650	61.48 \pm 3.39ab	29.75 \pm 1.65b	0.53 \pm 0.04ab	19.87 \pm 1.45ab	20.23 \pm 1.49b	0.23 \pm 0.02ab
750	65.81 \pm 3.74a	34.68 \pm 1.97a	0.57 \pm 0.05a	21.02 \pm 1.42a	23.20 \pm 1.56a	0.24 \pm 0.03a

注: SNA: Specific nitrogen fixation activity based on fresh weight
TNA: Total nitrogen fixation activity per plant
CSS: Concents of water-soluble sugar

2.3 大气 CO₂ 浓度升高对大豆根瘤固氮活性的影响

根瘤固氮活性是衡量大豆根瘤固氮作用的重要指标。从不同梯度的高 CO₂ 水平下根瘤固氮活性变化(表 3)分析,无论在初花期还是鼓粒期,均出现根瘤比固氮活性随 CO₂ 浓度上升而增强的趋势,4 种高 CO₂ 浓度下与背景 CO₂ 浓度相比,初花期根瘤比固氮活性提高 10.1%~24.0%,鼓粒期根瘤比固氮活性提高 6.0%~13.4%,虽然鼓粒期增幅不及初花期,但植株生育后期固氮活性的有限增强,有利于延长根瘤有效固氮期。高 CO₂ 浓度还导致根瘤可溶性糖含量升高,初花期上升 13.0%~23.9%,鼓粒期升幅为 10.5%~26.3%。从单株大豆根瘤固氮活性来看,因为高 CO₂ 浓度对单株根瘤鲜重和比固氮活性同时有促进作用,所以单株根瘤固氮活性随 CO₂ 增加而有显著提高(表 3),4 种高 CO₂ 条件下单株大豆根瘤固氮活性,在初花期的提高幅度为 10.6%~55.7%,鼓粒期则达到 20.0%~73.9%。大气 CO₂ 浓度升高使大豆根瘤固氮能力增强,提高了农田生态系统中氮的循环量,将使大豆比非共生固氮植物更具增产潜力。

3 讨论

大豆根瘤固氮活性受品种、生育阶段、植株生长状况及环境条件等多种因素的制约^[4]。反映固氮酶催化活性的强弱,取决于能量(ATP)、还原能力(NAOP)的供应水平和为移走铵离子的碳架的多少^[5],这三者均直接或间接来源于光合作用,碳水化合物供应是固氮活力的一个限制因子。笔者前期研究表明,大气 CO₂ 浓度的升高,促进大豆叶片净光合速率的提高,但长期高 CO₂ 浓度水平下,在鼓粒期净光合速率的提高幅度明显小于开花期,即产生了光合适应现象(photosynthetic acclimation)^[6],笔者认为高 CO₂ 对不同生育期大豆根瘤比固氮活性增强效应的递减是光合适应现象在根瘤固氮作用上某种程度的体现。

关于单株植物根瘤总固氮活性对高 CO₂ 环境反应研究,大多数实验认为,CO₂ 浓度升高通过增加根瘤数量或通过改变单个根瘤重量使总根瘤重量增加,来实现总固氮活性的提高^[7],但高 CO₂ 对根瘤比固氮活性影响研究结果相差很大,白克智等认为大豆比固氮活性随 CO₂ 增加是提高了^[5],Finn 等则得

出高 CO₂ 下大豆比固氮活性并不增加甚至降低的结论^[8]。本项研究表明,大豆根瘤总固氮活性在高 CO₂ 水平下的提高,是根瘤数量和单个根瘤重量以及比固氮活性均有增加而共同作用的结果,而且在初花期和鼓粒期变化趋势是一致的。

在自然生态系统中,氮素一般较为缺乏,氮缺乏可以通过降低光合作用有关酶的表达及限制蛋白质合成而影响代谢活动和生长发育。高 CO₂ 浓度下植物生长加速,对氮的需求加大,因此氮成为生态系统生产力能否持续提高的主要限制因子^[9]。CO₂ 浓度上升对大豆根瘤固氮能力的提高效应,植株可获得较多氮素,为体内碳氮平衡提供条件,对缓解自然生态系统氮缺乏,提高大豆产量和品质有特殊的积极意义。本项及相关研究还表明,在大气 CO₂ 浓度持续升高的趋势背景下,包括大豆在内的共生固氮植物的生理反应更为强烈^[10],在生态系统氮素平衡中起更重要的作用,使共生固氮植物比非共生固氮植物具有更强的竞争力,从而对植物群落和农田生态系统的组成、结构和功能产生更为深刻的影响,有待进一步深入研究。

参 考 文 献

- 1 Keeling C D, Whorf T P, Wahlen M, et al. Interannual extremes in the rate of rise of atmospheric carbon dioxide since 1980[J]. *Nature*, 1995, 375: 660~670
- 2 董钻. 大豆产量生理[M]. 北京: 农业出版社, 2000: 106~115
- 3 Lambers H. Growth, respiration, exudation and symbiotic associations; the fate of carbon translocated to the roots. In: Gregory P J, et al eds. *Root Development and Function*[M]. Cambridge UK: Cambridge University Press, 1987: 125~146
- 4 蒋跃林, 张庆国, 张仕定, 等. 大气 CO₂ 浓度增加对大豆营养品质的影响[J]. *中国粮油学报*, 2005, 20(5): 85~88
- 5 白克智, 钟泽璞, 丁莉, 等. 大豆对大气 CO₂ 倍增的一些生理反应[J]. *科学通报*, 1996, 41(2): 164~166
- 6 蒋跃林, 张庆国, 岳伟, 等. 大豆光合特性对大气 CO₂ 浓度升高的响应[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(3): 290~293
- 7 Schortemeyer M, Hartwig U A, Hendrey G R, et al. Microbial community changes in the rhizospheres of white clover and perennial ryegrass exposed to free air carbon dioxide enrichment (FACE)[J]. *Soil Biol Biochem*, 1996, 28(12): 1717~1724
- 8 Finn G A, Brun W A. Effect of atmospheric CO₂ enrichment on growth, non-structural carbohydrate content and root nodule activity in soybean[J]. *Plant Physiol*, 1982, 69: 327~331
- 9 杨江龙. 大气 CO₂ 与植物氮素营养的关系[J]. *土壤与环境*, 2002, 11(2): 163~166
- 10 郑凤英, 彭少麟, 李跃林. CO₂ 浓度升高对植物-土壤系统地下部分碳流的影响[J]. *生态学杂志*, 2002, 21(3): 57~60

EFFECT OF ELEVATED ATMOSPHERIC CO₂ CONCENTRATION ON
ROOT NODULES AND NITROGENASE ACTIVITY IN SOYBEAN

Jiang Yuelin¹ Zhang Qingguo¹ Zhang Shiding² Yue Wei¹ Chen Tinfu¹ Fan Lili¹

(1. College of Resources and Environmental Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;
2. Center for Physics and Chemistry Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230026)

Abstract The root characteristics including root volume, root fresh weight, length of main root, ratio of root fresh weight to shoot fresh weight, root nodule number and nitrogen fixation activity of soybean were measured under ambient and elevated CO₂ concentrations, and their responses to elevated CO₂ were analysed. The results showed that growth of root system was promoted under high CO₂ levels. The root nodule number increased by 6.1%, 15.9%, 19.2% and 26.5% at initial—flower stage under elevated (450, 550, 650 and 750 μmol/mol) CO₂, compared to the ambient air CO₂ concentration. However, the root nodule number increased by 7.8%~48.0% at seed filling stage. On the other hand, the specific nitrogen fixation activity based on root nodules fresh weight increased by 10.1%~24.0% and 6.0%~13.4%, at initial—flower, and seed filling stage. At the same time, the total nitrogen fixation activity per plant increased by 10.6%~55.7% and 20.0%~73.9% at two growth stages under four high CO₂ levels.

Key words Soybean; Elevated CO₂; Root nodule; Nitrogen fixation activity

(上接第 52 页)

increased by 28.67% and 3.43% respectively. Compared with that of N50, the soluble protein content of N75 increased by 36.67%, 65.90%, 19.70% respectively at V₄, R₂, R₄ stages, significant at p=5%, but the ureide content decreased at reproductive stage, and the starch content decreased by 22.34% and 18.21% respectively at R₄ and R₆ stage, significant at p=5%. However, compared with that of N50, the ureide content of N75+Mg increased by 59.81%, 8.47% and 25.67% respectively at R₂, R₄, R₆ stage, the starch content increased by 23.60%, 62.78% respectively at R₄ and R₆ stage, significant at p=5%, the yield and seeds content increased by 34.38% and 2.93% respectively, all significant at p=5%, which demonstrated that application of appropriate Mg at high nitrogen level could adjust the carbon and nitrogen metabolism to realize high yield and good quality.

Key words Soybean; Magnesium(Mg); Carbon and nitrogen metabolism