作物学报 ACTA AGRONOMICA SINICA 2026, 52(4): 1251−1267 http://zwxb.chinacrops.org/
ISSN 0496-3490; CN 11-1809/S; CODEN TSHPA9 E-mail: zwxb301@caas.cn

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.55057

CO_2和NaCl对大豆气孔特征、光合性能及抗氧化系统的影响

李 坤[1] 籍亚腾[1] 田银帅[2] 胡民航[1] 刘 亮[1] 李 菲[1] 李国强[1] 郝立华[1,*] 郑云普[1,*]

[1] 河北工程大学水利水电学院, 河北邯郸 056038; [2] 河北工程大学园林与生态工程学院, 河北邯郸 056038

摘 要: 为深入理解未来大气CO_2浓度升高背景下农田生态系统对NaCl胁迫的响应机制, 利用可精准控制CO_2浓度的环境生长箱, 探讨了NaCl胁迫条件下CO_2浓度升高对大豆气孔形态及其分布、叶片气体交换参数以及抗氧化酶系统的影响。结果表明, 在环境正常CO_2浓度条件下, NaCl胁迫降低近轴面的气孔密度、气孔长度、气孔宽度、气孔周长及气孔面积, 而CO_2浓度升高增加了气孔密度, 并且导致气孔分布更规则, 从而降低了NaCl对叶片气体交换效率的影响。另外, NaCl胁迫导致净光合速率(P_n)降低, 而CO_2浓度升高导致NaCl胁迫(S_0、S_{50}、S_{100}和S_{150})条件下叶片水分利用效率相比环境CO_2浓度分别提高188%、243%、97%和85%, 表明CO_2浓度升高可以有效缓解NaCl对大豆造成的生理胁迫。另外, CO_2浓度升高提高了NaCl胁迫下过氧化物酶活性、超氧化物歧化酶活性以及脯氨酸含量, 且同时降低了重度NaCl胁迫下的丙二醛含量。此外, NaCl胁迫条件下, CO_2浓度升高使得*GmCLC-d1*、*GmCLC-d2*和*GmNHX1*的表达量降低, *GmNcl1*的表达量提高。本研究结果表明, 大气CO_2浓度升高可以通过优化气孔形态及分布、增强光化学与生化过程、提升抗氧化防御能力以及调控耐盐基因表达来缓解NaCl胁迫对大豆造成的生理伤害。本研究结果将为深入理解未来气候变化背景下大豆对大气CO_2浓度升高和NaCl胁迫的生理及分子响应机制提供理论依据。

关键词: 大气CO_2浓度; NaCl胁迫; 气孔特征; 光合性能; 抗氧化系统

Effects of CO_2 and NaCl on stomatal traits, photosynthetic performance, and antioxidant systems in soybean

Li Kun[1], Ji Ya-Teng[1], Tian Yin-Shuai[2], Hu Min-Hang[1], Liu Liang[1], Li Fei[1], Li Guo-Qiang[1], Hao Li-Hua[1,*], and Zheng Yun-Pu[1,*]

[1] School of Water Conservancy and Hydropower, Hebei University of Engineering, Handan 056038, Hebei, China; [2] School of Landscape and Ecological Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056038, Hebei, China

Abstract: To gain a deeper understanding of the response mechanisms of farmland ecosystems under NaCl stress in the context of future elevated atmospheric CO_2 concentrations, this study employed environmental growth chambers with precisely controlled CO_2 levels to investigate the effects of elevated CO_2 on stomatal morphology and distribution, leaf gas exchange parameters, and the antioxidant enzyme system in soybeans under NaCl stress. The results showed that under ambient CO_2 conditions, NaCl stress reduced stomatal density, length, width, perimeter, and area on the adaxial surface. In contrast, elevated CO_2 increased stomatal density and promoted a more regular stomatal distribution, thereby mitigating the negative effects of NaCl on leaf gas exchange efficiency. Moreover, NaCl stress decreased the net photosynthetic rate (P_n), while elevated CO_2 significantly improved leaf water use efficiency under NaCl stress (S_0, S_{50}, S_{100}, and S_{150}) by 188%, 243%, 97%, and 85%, respectively, compared to ambient CO_2,

本研究由国家自然科学基金项目(32071608), 河北省自然科学基金项目(E2025402107, E2024402128)和河北省硕士在读研究生创新能力培养资助项目(CXZZSS2025081)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (32071608), the Hebei Natural Science Foundation of China (E2025402107, E2024402128), and the Hebei Province Graduate Innovation Ability Training Project for Master's Students (CXZZSS2025081).

* 通信作者(Corresponding authors): 郑云普, E-mail: zhengyunpu@hebeu.edu.cn; 郝立华, E-mail: haolihua_000@sina.com

第一作者联系方式: 17836923301@163.com

Received (收稿日期): 2025-08-21; Accepted (接受日期): 2026-01-22; Published online (网络出版日期): 2026-02-03.

URL: https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20260203.1457.010

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

indicating that elevated CO_2 can effectively alleviate NaCl-induced physiological stress in soybeans. Elevated CO_2 also enhanced peroxidase and superoxide dismutase activities and increased proline content, while reducing malondialdehyde levels under severe NaCl stress. Furthermore, under NaCl stress, elevated CO_2 downregulated the expression of *GmCLC-d1*, *GmCLC-d2*, and *GmNHX1*, and upregulated *GmNcl1*. These findings demonstrate that elevated atmospheric CO_2 can alleviate the physiological damage caused by NaCl stress in soybeans by optimizing stomatal traits, enhancing photochemical and biochemical processes, boosting antioxidant defenses, and regulating salt-tolerance gene expression. This study provides a theoretical basis for understanding the physiological and molecular responses of soybeans to elevated CO_2 and NaCl stress under future climate change scenarios.

Keywords: atmospheric CO_2 concentration; NaCl stress; stomatal traits; photosynthetic performance; antioxidant system

当前大气的 CO_2 浓度已经达到 430 μmol mol^{-1}, 相比工业革命之前增加了约 50%。预计到 21 世纪末期, 全球的大气 CO_2 浓度将可能超过 800 μmol mol^{-1} [1]。同时, 土壤盐渍化已成为影响作物生长发育的重要非生物因素之一, 严重威胁着全球的土地利用率和粮食产量[2-3]。NaCl 为土壤盐渍化的主要成分, 较高 NaCl 浓度的盐碱土通常会对农作物造成严重的生理胁迫, 进而影响植物的水分吸收、离子平衡和光合性能, 最终抑制作物的生长及发育过程[4-7]。此外, NaCl 胁迫还会影响农作物的气孔导度(G_s), 降低 CO_2 分子由大气进入叶片的扩散效率, 从而抑制光合作用的碳同化过程[8]。NaCl 胁迫对农作物光合作用的影响还可能与碳同化关键酶 Rubisco、光合色素以及抗氧化酶的变化密切相关[9]。众所周知, CO_2 不仅是一种常见的温室气体, 而且还是植物光合碳同化过程的重要反应底物, 故大气 CO_2 浓度升高可以通过“施肥效应”促进农作物的生长、提高光合速率和粮食产量[10-12]。因此, 未来大气 CO_2 浓度升高可能缓解 NaCl 胁迫对农作物的不利影响, 甚至消除土壤盐渍化对农作物生理生态过程和粮食产量的负面影响。

大豆(*Glycine max* L.)是全球重要的粮食和油料作物。已有研究表明, CO_2 浓度升高可以提高大豆的净光合速率和籽粒产量[13-15]。例如, 李炳言等[16]探讨了 CO_2 浓度升高对大豆光合和水分利用效率的影响, 发现 CO_2 浓度升高明显增加了大豆的净光合速率和水分利用率。而 NaCl 胁迫通过影响大豆的水分吸收、光合作用以及抗氧化系统等生理生态过程, 进而限制其生长发育过程和影响最终产量[17-19]。李思琪等[20]研究了 NaCl 处理对大豆生长过程、光合特性以及叶绿素荧光参数的影响, 结果表明 NaCl 胁迫不仅限制了大豆的根系生长, 而且还降低了叶片的气体交换效率。以往大多数研究主要聚焦于大气 CO_2 浓度升高与干旱、高温、氮沉降等环境因素对大豆生长发育和产量的协同影响[21-23], 而关于大气 CO_2 浓度升高与 NaCl 胁迫对大豆光合性能和气体交换过程产生交互影响的生理生态机制仍不清楚, 亟需从气孔特征优化、抗氧化系统调节以及抗盐基因表达等角度深入探讨大豆生理生态过程对大气 CO_2 浓度升高与 NaCl 胁迫的协同响应机理。

鉴于此, 本研究利用可精准控制 CO_2 浓度的大型环境生长箱, 探究不同程度 NaCl 胁迫下大气 CO_2 浓度升高对大豆气孔形态特征、光合性能、抗氧化酶活性以及抗盐基因表达的影响机理, 进一步揭示大气 CO_2 浓度升高和 NaCl 胁迫协同影响大豆气体交换过程的生理生态机制。研究结果不仅为盐渍化农田可持续管理提供数据支撑, 而且为全球 CO_2 浓度升高背景下盐碱地种植大豆的提质增产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

以华北平原普遍种植的大豆品种“中黄 13”为试验材料, 栽培容器为底部打孔的塑料盆(开口直径 21 cm, 底部直径 16 cm, 高度 21 cm, 容积 5676 cm^3), 每个盆栽容器内均装有栽培基质 5 kg。采用黄壤土混合有机营养土配置(体积比 2∶1)的栽培基质, 盆栽基质的基础肥力为有机质 5.26 g kg^{-1}、全氮 0.78 g kg^{-1}、全磷 0.58 g kg^{-1}、有效磷 21 mg kg^{-1} 以及速效钾 62 mg kg^{-1}, 阳离子代换量为 16.5 cmol kg^{-1}, Na^+含量为 0.33 cmol kg^{-1}, 电导率为 0.8 dS m^{-1}, 田间持水量(field capacity, FC)为 29%, 土壤容重为 0.95 g cm^{-3}。利用 TDR 仪测量盆栽容器内的土壤含水量, 整个试验器期内对大豆植株进行充分灌溉(土壤含水量= FC×80%)。

采用裂区试验设计, 将 CO_2 浓度作为主裂区, 设置 2 个 CO_2 浓度水平, 即 4 台环境生长箱内设定为当前环境大气的 CO_2 浓度 400 μmol mol^{-1} (C_{400}), 另外 4 台环境生长箱内为提高的 CO_2 浓度 800 μmol mol^{-1} (C_{800})。每台环境生长箱均配备一套独立的 CO_2

浓度自动控制系统, 能够准确调控环境生长箱内的 CO_2 浓度(控制精度约为±20 μmol mol^{-1})。同时, 将 NaCl 浓度作为副裂区, 设置 4 个 NaCl 浓度水平模拟不同程度的 NaCl 胁迫, 即无 NaCl 胁迫(0 mmol L^{-1}, S_0)、轻度 NaCl 胁迫(50 mmol L^{-1}, S_{50})、中度 NaCl 胁迫(100 mmol L^{-1}, S_{100})和重度 NaCl 胁迫(150 mmol L^{-1}, S_{150})。通过浇灌 NaCl 溶液的方式向栽培基质中添加 NaCl, 以确保土壤中盐分的分布更加均匀, 每次浇灌 NaCl 溶液 500 mL, 每周浇灌 1 次, 自大豆的分枝期开始至结荚鼓粒期结束(共 4 次)。因此, 本研究得到 8 种不同的 CO_2 浓度和 NaCl 胁迫处理(即 $C_{400}S_0$、$C_{400}S_{50}$、$C_{400}S_{100}$、$C_{400}S_{150}$、$C_{800}S_0$、$C_{800}S_{50}$、$C_{800}S_{100}$ 和 $C_{800}S_{150}$), 其中对照(CK)为 $C_{400}S_0$, 且每种处理下均设置 4 个生物学重复(n = 4)。为了避免环境生长箱自身差异对研究结果造成的影响, 在整个培养期内每周随机调换环境生长箱内的 CO_2 浓度和 NaCl 胁迫处理, 同时轮换相应环境生长箱内的大豆植株。本研究中环境生长箱的光源类型为白色光源, 在整个试验进程中环境生长箱内的环境因子设置为光照强度 1000 μmol m^{-2} s^{-1}、温度 25℃/20℃ (昼/夜)、光照周期 08:00—20:00 (昼) /20:00—08:00 (夜)以及相对湿度 60%~75%。待大豆于环境生长箱内培养至 30 d (分枝期)后, 开展不同 CO_2 浓度和 NaCl 胁迫处理控制试验。待大豆植株生长至 60 d (结荚鼓粒期)时, 测定气孔特征、气体交换参数、抗氧化酶的含量和活性以及 Rubisco 活化酶编码基因和抗盐基因表达量。最后, 在大豆生长 90 d (成熟期)时测量大豆植株的生物量。

1.2　测定方法

1.2.1　植株生物量以及叶片光合色素含量测量

大豆植株生长至 60 d (结荚鼓粒期)时, 称取叶片鲜样 0.1 g, 碾碎后放入灌装有二甲基亚溶液(DMSO)的 10 mL 离心管内, 利用锡箔纸密封后置于黑暗环境中进行 48 h 的避光处理, 24 h 后颠倒一次, 使叶片色素充分溶于 DMSO。随后将含有叶片色素的 DMSO 溶液浸提液进行充分震荡, 取出 1 mL 提取液, 加入 2 mL DMSO, 充分震荡使其混合, 以 DMSO 为空白对照, 在 UV-1500 PC 紫外分光光度计测定波长为 470、663 和 645 nm 处的吸光度值(OD)。依据公式计算叶绿素 *a*、叶绿素 *b*、总叶绿素和类胡萝卜素含量。

大豆生长 90 d (成熟期)时, 将植株的地上部分(茎和叶)与地下部分(根系)分离后, 用清水冲洗干净, 去除残留土壤, 然后置于 105℃的烘箱中高温杀青 2 h。随后将烘箱温度调整为 85℃, 继续烘烤 48 h 至恒定质量。利用电子天平称量地上和地下部分的干重。将植株地上和地下干重相加, 得到植株总生物量。

1.2.2　气孔取样及测量　　自上而下选择第 3 个完全展开的成熟叶片, 从叶片的中部区域(避开边缘和主脉)分别在远轴面和近轴面涂上透明指甲油。在大约 0.5 h 后, 利用镊子采集自然风干后的指甲油气孔印迹, 将其置于载玻片上进行封片, 制成气孔印迹样品。随后利用显微镜(Leica DM2500)观察气孔形态结构并拍照。根据气孔形态照片, 测量气孔密度、气孔长度、气孔宽度、气孔面积、气孔周长以及气孔形状指数。此外, 利用 ArcGIS 10.0 软件将气孔显微照片进行数字化处理, 得到单个气孔的空间坐标值。用空间统计学方法(Ripley's K 方程)解析气孔的空间分布格局。

1.2.3　叶片气体交换参数测定　　利用便携式光合测定系统(LI-6800, LI-COR Biosciences, Lincoln, NE, 美国)配备的光合-荧光叶室(6800-01A, 90%红色和 10%蓝色)测量大豆成熟健康叶片的气体交换参数。气体交换参数包括净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)和暗呼吸速率(R_d)。在测定过程中, LI-6800 叶室内光照强度和温度分别设定为 1500 μmol m^{-2} s^{-1} 和 25℃, 叶室内的 CO_2 浓度设定为环境生长箱内相应的 CO_2 浓度。气体交换参数测定结束后, 关闭叶室内的光源约 15 min, 测定叶片暗呼吸速率(R_d), 此时叶室内的 CO_2 浓度和温度(25℃)均与测定 P_n 时保持一致。此外, 大豆叶片水平的水分利用效率(WUEI)为 P_n 与 T_r 的比值。利用便携式光合测定系统 LI-6800 测定大豆叶片的光合 CO_2 响应曲线(A_n/C_i)。测定开始后, 叶室内的 CO_2 浓度先从 400 μmol mol^{-1} 降低为 50 μmol mol^{-1}, 再逐渐升高至 1600 μmol mol^{-1} (即叶室内的 CO_2 浓度将经历 400、300、200、150、100、50、400、600、800、1000、1200、1400 和 1600 μmol mol^{-1} 的变化)。最后, 拟合最大羧化速率 V_{cmax} 和最大电子传递速率 J_{max}。

1.2.4　叶片抗氧化酶含量及活性测定　　称取 0.2 g 叶片, 按照重量与体积 1∶9 的比例, 加入相应体积的生理盐水或 0.1 mol L^{-1}、pH 7.0 至 7.4 的磷酸盐缓冲液, 在冰水浴环境下制得 10%组织匀浆液。以 3500 转 min^{-1} 的速率离心 10 min, 取上清液备用。采用氮蓝四唑(NBT)法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性, 以蒸馏水作空白对照调零, 在 560 nm

波长、1 cm 光径下测定吸光度值; 运用硫代巴比妥酸(TBA)法检测丙二醛(MDA)含量, 以蒸馏水调零, 在 532 nm 波长、1 cm 光径下测定吸光度值; 利用愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性, 蒸馏水调零后, 在 420 nm 波长、1 cm 光径下测定吸光度值; 采用茚三酮法测定脯氨酸(Pro)含量, 蒸馏水调零, 在 520 nm 波长、1 cm 光径下测定吸光度值。最后, 依据公式计算得到大豆叶片中 SOD 活性、POD 活性、Pro 含量以及 MDA 含量[24]。

1.2.5 抗盐基因和 Rubisco 活化酶编码基因相对表达量测定 本研究选 *GmCLC-d1*、*GmCLC-d2*、*GmNcl1*、*GmNHX1* 作为核心研究的大豆耐盐基因, 上述基因均为大豆中经功能验证的盐胁迫响应核心基因, 分属 NaCl 胁迫下离子稳态调控的不同关键通路, 其中 *GmCLC-d1*、*GmCLC-d2* 介导 Cl^-跨膜转运以缓解 Cl^-毒害, *GmNcl1* 调控 Na^+吸收与外排以降低植株 Na^+积累, *GmNHX1* 通过 Na^+液泡区隔化减轻胞质 Na^+毒害并缓解渗透胁迫, 4 类基因覆盖 Cl^-转运、Na^+外排、Na^+液泡区隔化三大核心环节, 且现有研究尚未明确其在 CO_2 升高与 NaCl 胁迫交互作用下的表达模式及调控机制, 以此为研究对象可系统、精准地解析二者交互作用下大豆离子稳态调控的分子机制。

总 RNA 经 TRIzol 法提取和反转录后, 以 *GmEF-1α* 为内参, 利用所列特异性引物(表 1)在 Archimed X (实时荧光定量 PCR 仪)上完成 qRT-PCR。反应采用 SYBR Green 法, 体系为 20 μL: 2×SYBR Premix Ex Taq 10 μL、10 μmol L^{-1} 上下游引物各 0.4 μL、稀释 5 倍的 cDNA 2 μL; 反应程序为: 95°C 预变性 30 s; 随后进行 40 个循环的扩增(95℃ 5 s, 58℃ 30 s, 72℃ 30 s); 最后进行熔解曲线分析(从 65℃升温至 95℃, 每 0.5℃采集一次荧光信号)。每个样品设 3 次技术重复, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量[25]。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 qRT-PCR primer sequences

基因名称 Gene name	正向引物 Forward primer (5'–3')	反向引物 Reverse primer (5'–3')	产物长度 Product length (bp)
GmCLC-d1	GCTGGTCAATTTGTTCCTGG	AGAGATACTGTCATCCGCATTG	150
GmCLC-d2	GCAAAGCCTGTTTCTAGTAAAGG	TGCCTAAGACCAAGTTGACG	158
GmNcl1	AGCTGTTCATGGTGCATCTC	TTGACCGGACTTTGACTTGG	142
GmNHX1	AGCATCACGATAATCACAGATCC	CTTACGCCACAAACGATGAAC	165
GmRCAa	AGCTTCAGTTCCCAGTTCAG	CCTTTCCATCTGTCCTTGTCTG	149
GmRCAb	CTGAATGGTTCTGGAGCTGG	CATCTGTCCTTGTCGGTCTG	156
GmRCA11	AGAAGGTTATTGGCTCAAGGG	TCCTCTTGTGATGTCCTGTTG	154
GmRCA14	ATTCGGTTCCCAGTTCAGC	CCTTTCCATCTGTCCTTGTTTG	151
GmEF-1α	CTGACTGTGCTGTTCTTATCATTG	ATACCTGGCCTTGGAATACTTG	145

1.3 数据统计与分析

本研究通过单因素方差分析(ANOVA)分析不同 CO_2 浓度和 NaCl 胁迫水平对大豆气孔特征、气体交换参数以及抗氧化系统的影响。同时, 采用裂区设计方差分析来探究 CO_2 浓度与 NaCl 胁迫对大豆生理指标的交互效应。此外, 利用 Student-Newman-Keuls (S-N-K)多重比较方法深入分析不同处理组之间的显著性差异($P < 0.05$)。所有统计分析均在 SPSS 软件中完成。

2 结果与分析

2.1 CO_2 和 NaCl 对大豆植株生物量以及光合色素含量的影响

环境 CO_2 浓度(C_{400})处理下, S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 处理中大豆植株地下生物量相较于 S_0 分别下降 46.7%、44.6%和 49.5%; 与正常 CO_2 浓度相比, 高 CO_2 浓度(C_{800})处理下, S_0 和 S_{50} 处理中大豆的地下生物量分别显著提高 57.0%和 149.9% (图 1-A)。C_{800} 处理下 S_0、S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 处理中地上生物量分别增加 170.4%、121.4%、78.9%和 141.5% (图 1-B), 总生物量分别增加 131.9%、128.0%、64.2%和 115.0% (图 1-C)。双因素方差分析结果显示, 大气 CO_2 浓度([CO_2])和 NaCl 浓度([NaCl])对大豆的总生物量产生显著的交互作用(图 1-C)。同时, CO_2 浓度升高显著改变了大豆叶片的叶绿素 *a*、叶绿素 *b*、总叶绿素和类胡萝卜素含量(图 2)。与 C_{400} 相比, S_{50} 和 S_{100} 处理在 C_{800} 处理下的大豆叶片总叶绿素含量分别升高 32.4%和 82.6% (图 2-C)。另外, 与 C_{400} 相比, S_0、S_{50}、

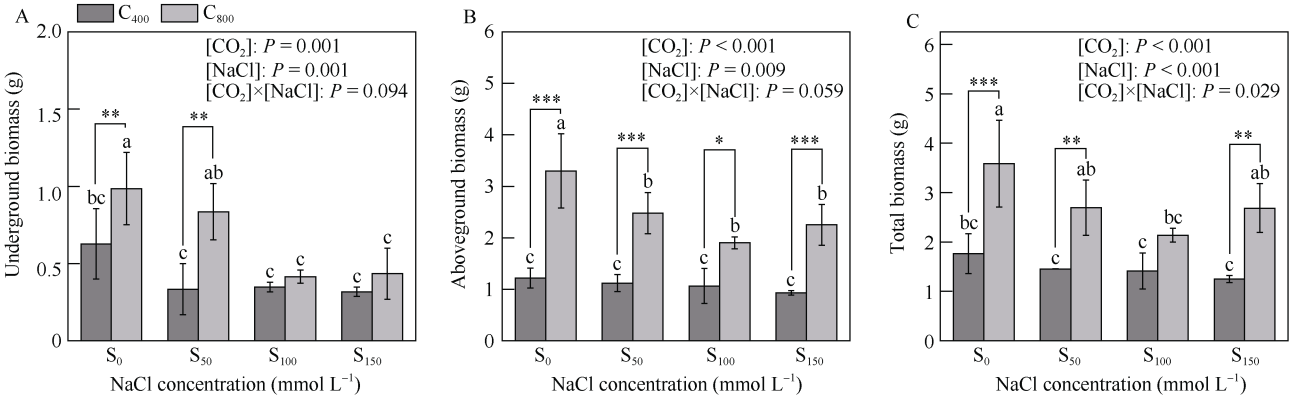


图 1　CO_2 和 NaCl 对大豆植株生物量的影响

Fig. 1　Effects of CO_2 and NaCl on plant biomass of soybeans

[CO_2]: CO_2浓度; [NaCl]: NaCl 浓度。不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著; *、**和***分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 水平具有显著差异。

C_{400}: 400 μmol mol^{-1} CO_2; C_{800}: 800 μmol mol^{-1} CO_2; S_0: 0 mmol L^{-1} NaCl; S_{50}: 50 mmol L^{-1} NaCl; S_{100}: 100 mmol L^{-1} NaCl; S_{150}: 150 mmol L^{-1} NaCl. [CO_2]: CO_2 concentration; [NaCl]: NaCl concentration. Different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 level ($P < 0.05$); *, **, and *** represent significant differences at the levels of 0.05, 0.01, and 0.001, respectively.

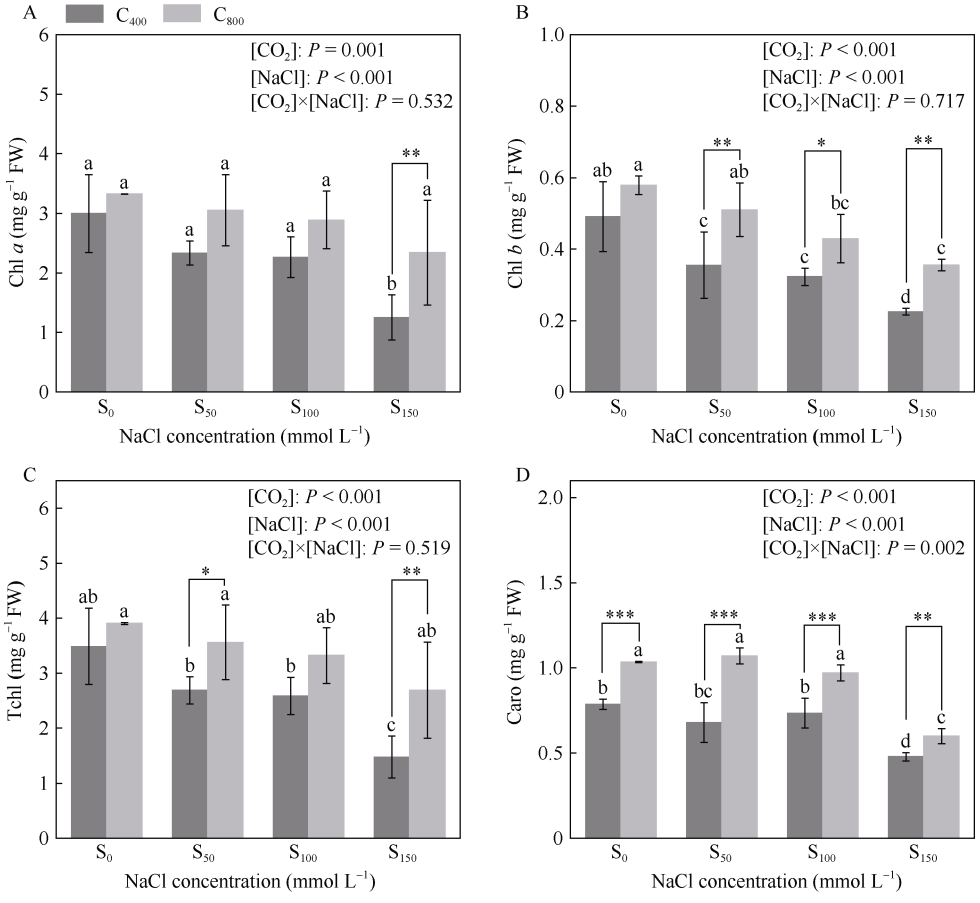


图 2　CO_2 和 NaCl 对大豆叶片光合色素含量的影响

Fig. 2　Effects of CO_2 and NaCl on photosynthetic pigments content in soybean leaves

处理及缩写同图 1。FW: 鲜重。Chl *a*: 叶绿素 *a*; Chl *b*: 叶绿素 *b*; Tchl: 总叶绿素; Caro: 类胡萝卜素。不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著; *、**和***分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 水平具有显著差异。

Treatments and abbreviations are the same as those given in Fig. 1. FW: fresh weight. Chl *a*: chlorophyll *a*; Chl *b*: chlorophyll *b*; Tchl: total chlorophyll; Caro: carotenoid. Different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 level; *, **, and *** represent significant differences at the levels of 0.05, 0.01, and 0.001, respectively.

S_{100} 和 S_{150} 处理在 C_{800} 条件下大豆的类胡萝卜素分别显著升高 31.7%、57.7%、32.4%和 25.1% (图 2-D)。此外, [CO_2]和[NaCl]对大豆叶片的类胡萝卜素含量产生显著的交互效应(图 2-D)。因此, 本研究结果表明大气 CO_2 浓度升高可以有效缓解 NaCl 胁迫对大豆生物累积的限制, 且提高了 NaCl 胁迫下大豆叶片光合色素的含量。

2.2 CO_2 和 NaCl 对气孔形态特征以及空间分布格局的影响

环境 CO_2 浓度(C_{400})处理下, 与 S_0 相比, 近轴面气孔面积在 S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 处理中分别显著降低 21.9%、40.6%和 55.0%, 近轴面气孔宽度分别显著降低 23.4%、52.0%和 52.1%, 远轴面气孔密度分别显著降低 57.4%、55.6%和 59.9% (表 2 和表 3); 近轴面

表 2 CO_2 和 NaCl 对大豆近轴面气孔形态特征的影响
Table 2 Effects of CO_2 and NaCl on the stomatal morphology on the adaxial leaf surface of soybeans

气孔特征 Stomatal trait	CO_2 浓度 [CO_2]	NaCl 浓度 [NaCl]	气孔密度 Stomatal density (No. mm^{-2})	气孔长度 Stomatal length (μm)	气孔宽度 Stomatal width (μm)	气孔周长 Stomatal perimeter (μm)	气孔面积 Stomatal area (μm^2)	形状指数 Shape index (%)
近轴面 Adaxial surface	C_{400}	S_0	22.50±2.38 c	13.25±0.8 a	4.14±0.6 a	35.12±0.7 ab	53.56±2.0 a	1.26±0.06 c
		S_{50}	20.00±1.93 c	12.71±1.2 ab	3.17±0.4 b	33.59±0.5 b	41.85±1.6 b	1.35±0.08 c
		S_{100}	12.00±2.16 d	12.10±1.6 ab	1.98±0.3 c	25.95±2.3 c	31.79±0.8 c	1.54±0.07 a
		S_{150}	11.75±1.71 d	11.42±1.2 b	1.98±0.4 c	23.43±0.3 d	24.08±0.6 e	1.40±0.05 b
	C_{800}	S_0	71.75±3.30 a	12.02±1.0 ab	3.62±0.4 ab	36.74±2.3 a	51.71±3.3 a	1.28±0.03 c
		S_{50}	69.25±9.54 a	12.36±0.9 ab	3.12±0.7 b	33.70±1.6 b	44.24±2.9 b	1.41±0.07 b
		S_{100}	37.75±6.95 b	12.26±0.6 ab	1.94±0.2 c	26.79±0.6 c	32.74±0.8 c	1.59±0.05 a
		S_{150}	34.00±1.83 b	11.11±0.7 b	1.95±0.2 c	25.22±0.5 cd	28.06±2.2 d	1.61±0.05 a
CO_2 浓度[CO_2]			***	ns	ns	***	ns	***
NaCl 浓度[NaCl]			***	**	***	***	***	***
[CO_2]×[NaCl]			***	ns	ns	ns	ns	**

处理及缩写同图 1。表中的数据以平均值±标准差表示(n = 4)。不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著; **和***分别表示在 0.01 和 0.001 水平具有显著差异; ns 表示差异不显著。

Treatments and abbreviations are the same as those given in Fig. 1. Data are expressed as mean ± standard deviation (n = 4). Different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 level; ** and *** represent significant differences at the levels of 0.01 and 0.001, respectively; ns indicates no significant difference.

表 3 CO_2 和 NaCl 对大豆远轴面气孔形态特征的影响
Table 3 Effects of CO_2 and NaCl on stomatal morphology on abaxial leaf surface of soybeans

气孔特征 Stomatal trait	CO_2 浓度 [CO_2]	NaCl 浓度 [NaCl]	气孔密度 Stomatal density (No. mm^{-2})	气孔长度 Stomatal length (μm)	气孔宽度 Stomatal width (μm)	气孔周长 Stomatal perimeter (μm)	气孔面积 Stomatal area (μm^2)	形状指数 Shape index (%)
远轴面 Abaxial surface	C_{400}	S_0	51.75±3.50 b	13.85±1.2 a	3.33±0.1 a	25.27±0.2 a	44.29±1.3 a	1.33±0.02 a
		S_{50}	22.00±4.90 c	14.19±1.4 a	2.91±0.2 ab	24.65±1.8 a	34.11±2.8 b	1.26±0.03 a
		S_{100}	23.00±6.68 c	11.82±0.7 ab	2.51±0.2 bc	21.74±1.3 a	32.18±0.7 c	1.24±0.05 a
		S_{150}	20.75±2.63 c	12.71±1.9 a	2.31±0.4 c	18.19±3.3 a	35.37±2.0 e	1.30±0.04 a
	C_{800}	S_0	85.00±3.37 a	10.62±0.3 b	3.19±0.2 a	30.35±1.3 a	35.50±1.4 a	1.27±0.01 a
		S_{50}	51.50±10.34 b	13.00±2.0 ab	1.83±0.2 d	29.68±2.3 a	30.20±0.8 b	1.44±0.08 a
		S_{100}	49.00±7.07 b	10.23±2.2 b	3.07±0.7 a	29.31±1.3 a	26.97±2.7 c	1.40±0.27 a
		S_{150}	44.75±8.85 b	13.20±2.0 ab	2.40±0.2 bc	25.62±1.4 a	34.28±2.3 d	1.35±0.03 a
CO_2 浓度[CO_2]			***	**	ns	***	***	ns
NaCl 浓度[NaCl]			***	**	***	***	***	*
[CO_2]×[NaCl]			ns	**	***	ns	**	ns

处理及缩写同图 1。表中的数据以平均值±标准差表示(n = 4)。不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著; *、**和***分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 水平具有显著差异; ns 表示差异不显著。

Treatments and abbreviations are the same as those given in Fig. 1. Data are expressed as mean ± standard deviation (n = 4). Different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 level; *, **, and *** represent significant differences at the levels of 0.05, 0.01, and 0.001, respectively; ns indicates no significant difference.

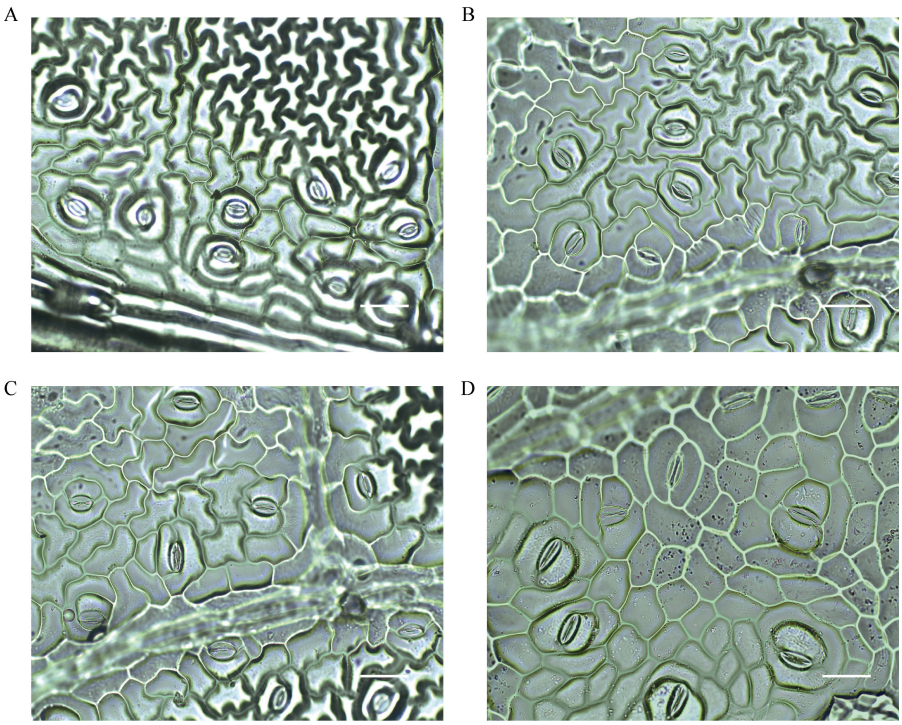


图 3　大豆叶片气孔光学显微照片

Fig. 3　Optical micrographs of stomata on soybean leaves

A: 近轴面环境 CO_2 浓度; B: 远轴面环境 CO_2 浓度; C: 近轴面升高 CO_2 浓度; D: 远轴面升高 CO_2 浓度。标尺: 50 μm。

A: ambient CO_2 concentration on adaxial surface; B: ambient CO_2 concentration on abaxial surface; C: elevated CO_2 concentration on adaxial surface; D: elevated CO_2 concentration on abaxial surface. Scale bar = 50 μm.

气孔周长在 S_{100} 和 S_{150} 处理下分别显著降低 26.4%和 33.2%, 近轴面气孔密度分别显著降低 47.0%和 48.0%, 远轴面气孔宽度分别显著降低 23.8%和 30.5% (表 2 和表 3)。另外, 在 C_{800} 处理条件下, S_0、S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 的远轴面气孔密度较 C_{400} 分别显著增加 64.3%、134.1%、113.0%和 115.7% (表 2), 近轴面气孔密度分别显著增加 218.9%、246.3%、214.6%和 189.4% (表 3)。双因素方差分析结果表明, [CO_2]×[NaCl]对远轴面气孔密度、气孔周长以及气孔面积均产生显著的交互影响, 对近轴面气孔密度以及形状指数产生显著的交互作用(表 2 和表 3)。升高 CO_2 浓度会降低大豆叶片近轴面与远轴面的气孔密度和开度, 且远轴面的响应更显著; 同时, 在 2 个不同 CO_2 浓度条件下, 近轴面的气孔密度始终高于远轴面(图 3)。综上, 本研究结果表明大气 CO_2 浓度升高能够减小 NaCl 胁迫对大豆气孔形态特征产生的负效应, 且大豆气孔形态特征对 CO_2 和 NaCl 交互效应的响应在叶片近轴面与远轴面之间存在明显差异。

此外, 大豆叶片气孔的分布格局表现出典型的空间尺度依赖性特征(图 4)。在小尺度范围内(10~100 μm), 气孔呈规则分布, 而在较大尺度上(> 200 μm)呈现随机分布。同时, 随着 NaCl 胁迫程度的加剧, 近轴面气孔分布由规则转换为随机分布的空间尺度随之减小, 表明 NaCl 胁迫导致近轴面气孔的分布格局更趋向于随机分布。此外, $C_{400}S_0$ 和 $C_{800}S_0$ 处理中远轴面气孔由规则分布转换为随机分布的空间尺度分别为 60 μm 和 40 μm。另外, C_{800} 导致近轴面和远轴面气孔分布的最小邻域距离 Lhat (d)值减小, 并且导致 S_{100} 和 S_{150} 处理下近轴面呈最规则分布时的空间尺度减小, 但使 S_0 处理下近轴面呈最规则分布时的空间尺度增大(图 4-C)。由此可知, CO_2 浓度升高导致 NaCl 胁迫下大豆叶片气孔的空间分布格局由随机分布转变为规则分布, 且 CO_2 浓度和 NaCl 胁迫对气孔分布的影响具有不同空间尺度及叶片轴面特异性。

2.3　CO_2 和 NaCl 对气体交换参数的影响

C_{800} 处理下 S_0 和 S_{50} 的净光合速率(P_n)相比 C_{400} 分别显著提高 153.8%和 203.4% (图 5-A)。同时, [CO_2]和[NaCl]对 P_n 产生显著的交互效应(图 5-A)。NaCl 胁迫导致蒸腾速率(T_r)和气孔导度(G_s)整体下降, 且均呈现胁迫程度加重、降幅增大的趋势(图 5-B, C)。CO_2 浓度升高导致 S_0、S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 处理中的瞬

时水分利用效率(WUEI)分别显著提高 187.5%、243.2%、97.2%和 84.5% (图 5-D), 且[CO_2]×[NaCl]对 WUEI 产生显著的交互效应(图 5-D)。另外, C_{800}处理下, S_{50}、S_{100}和 S_{150}的最大羧化速率(V_{cmax})相对于 S_0分别显著降低 30.2%、49.6%和 76.8% (图 6-A)。C_{800}处理下 S_0和 S_{100}的 V_{cmax}相对于 C_{400}分别显著提高 35.5%和 66.7% (图 6-A)。CO_2浓度升高导致 S_0和 S_{50}的最大电子传递效率(J_{max})分别显著提高 61.8%和 43.5% (图 6-B)。双因素方差分析的结果也表明, [CO_2]×[NaCl]对 J_{max}和 V_{cmax}/J_{max}产生显著的交互作用(图 6-B, C)。因此, 上述研究结果表明大气CO_2浓度升高可以提高 NaCl 胁迫条件下大豆的光合性能及水分利用效率, 从而缓解高盐胁迫对大豆光合作用过程的抑制效应。

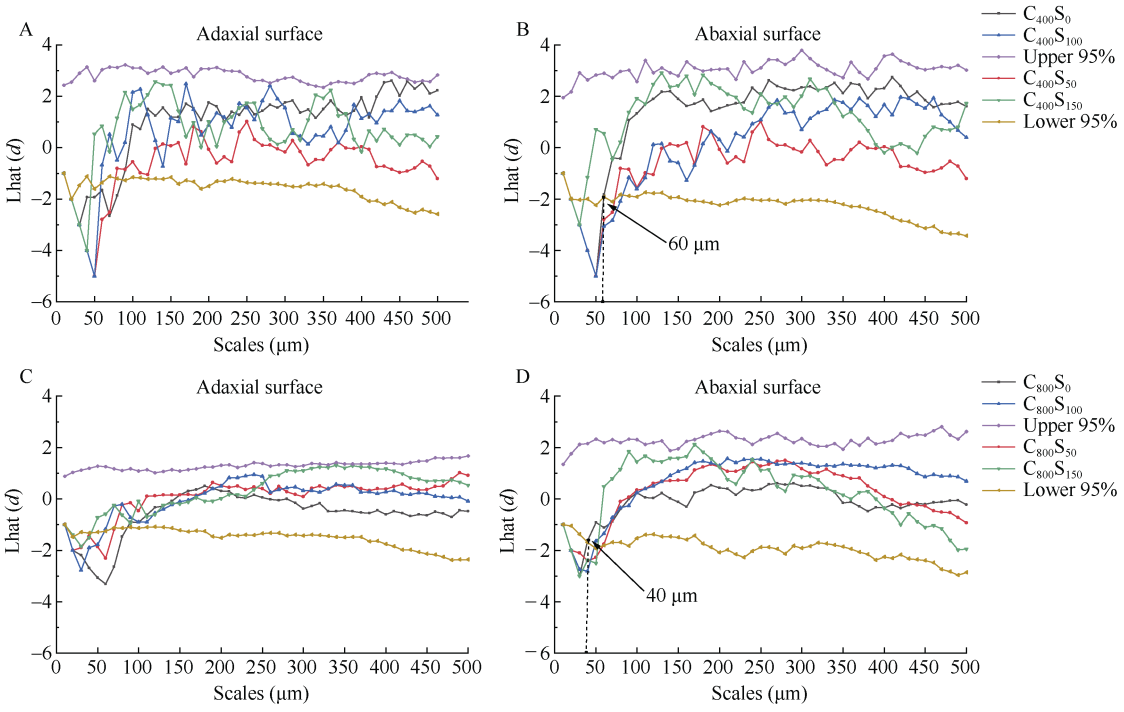
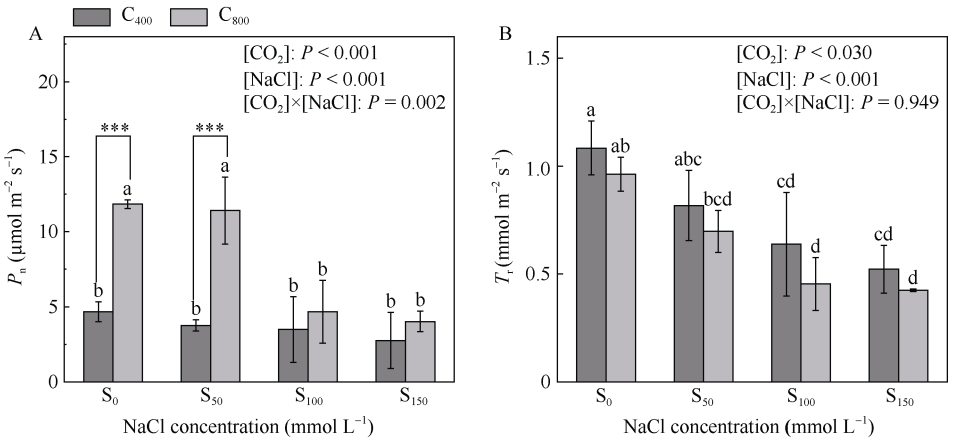


图 4 CO_2和 NaCl 对大豆气孔空间分布格局的影响

Fig. 4 Effects of CO_2 and NaCl on stomatal distribution pattern in soybeans

处理同图 1。Lhat (*d*): 最小邻域距离; Upper 95%: 95%置信区间上界; Lower 95%: 95%置信区间下界。

Treatments are the same as those given in Fig. 1. Lhat (*d*): minimum neighbor distance; Upper 95%: upper bound of the 95% confidence interval; Lower 95%: lower bound of the 95% confidence interval.



(图 5)

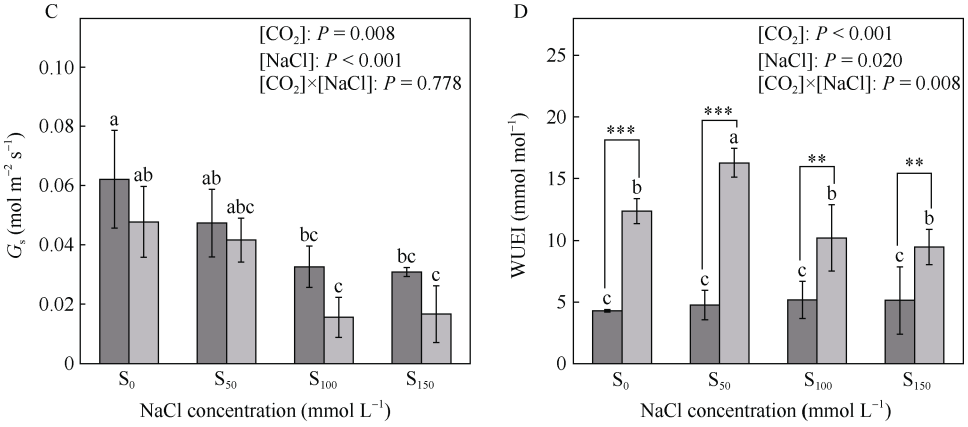


图 5　CO_2 和 NaCl 对大豆气体交换参数的影响

Fig. 5　Effects of CO_2 and NaCl on leaf gas exchange in soybeans

处理及缩写同图 1。P_n: 净光合速率; T_r: 蒸腾速率; G_s: 气孔导度; WUEI: 瞬时水分利用效率。不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著; **和***分别表示在 0.01 和 0.001 水平具有显著差异。

Treatments and abbreviations are the same as those given in Fig. 1. P_n: net photosynthetic rate; T_r: transpiration rate; G_s: stomatal conductance; WUEI: instantaneous water use efficiency. Different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 level; ** and *** represent significant differences at the levels of 0.01 and 0.001, respectively.

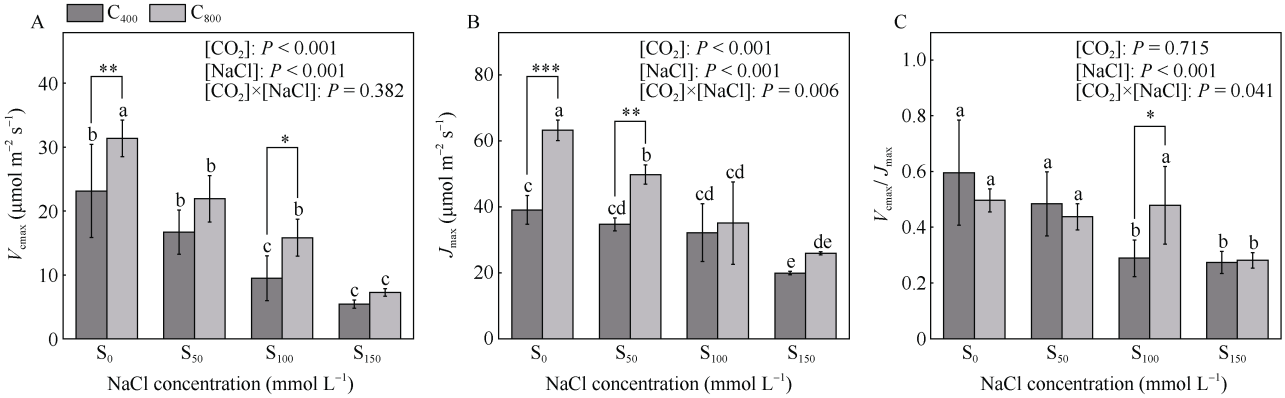


图 6　CO_2 和 NaCl 对大豆最大羧化速率(V_{cmax})和最大电子传递效率(J_{max})的影响

Fig. 6　Effects of CO_2 and NaCl on the maximum carboxylation rate (V_{cmax}) and maximum electron transport efficiency (J_{max}) of soybeans

处理及缩写同图 1。V_{cmax}: 最大羧化速率; J_{max}: 最大电子传递速率。不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著; *、**和***分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 水平具有显著差异。

Treatments and abbreviations are the same as those given in Fig. 1. V_{cmax}: maximum carboxylation rate; J_{max}: maximum electron transport rate. Different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 level; *, **, and *** represent significant differences at the levels of 0.05, 0.01, and 0.001, respectively.

2.4　CO_2 和 NaCl 对抗氧化酶系统的影响

与 C_{400} 相比, C_{800} 导致 S_0、S_{100} 和 S_{150} 处理中的过氧化物酶(POD)活性分别显著提高 6.0%、3.6%和 5.7% (图 7-A), S_{150} 处理中的丙二醛(MDA)含量显著降低 60.3% (图 7-B)。同时, C_{800} 导致 S_0、S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 的超氧化物歧化酶(SOD)活性分别显著提高 111.3%、98.2%、67.2%和 52.3% (图 7-C), 脯氨酸(Pro)含量分别显著增加 131.4%、122.8%、113.5%和 114.2% (图 7-D)。另外, C_{800} 条件下, S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 处理的 Pro 含量相对于 S_0 分别显著增加 35.0%、60.5%和 116.4% (图 7-D)。双因素方差分析的结果也证实, [CO_2]显著影响了 POD 活性、SOD 活性、Pro 含量以及 MDA 含量, [NaCl]显著影响 POD 活性、SOD 活性和 Pro 含量, [CO_2]×[NaCl]对 POD 活性、SOD 活性和 Pro 含量均产生了显著的交互效应(图 7)。由此可见, CO_2 浓度升高能够增强 NaCl 胁迫下大豆叶片的抗氧化能力与渗透调节功能。

2.5　CO_2 和 NaCl 对 Rubisco 活化酶编码基因和抗盐基因表达的影响

CO_2 浓度升高导致 S_0、S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 处理下大豆 Rubisco 活化酶编码基因(*GmRcaA*、*GmRcaB*、*GmRca11* 和 *GmRca14*)表达量均降低, 尤其是 S_0 处

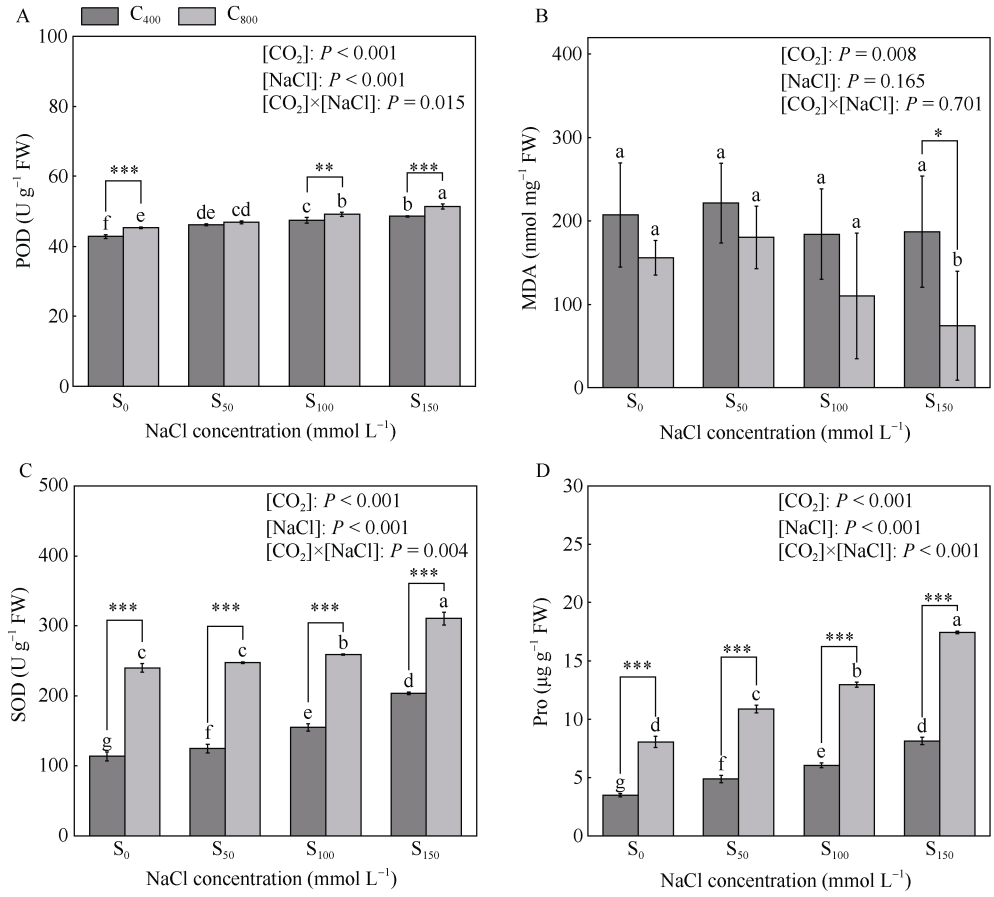


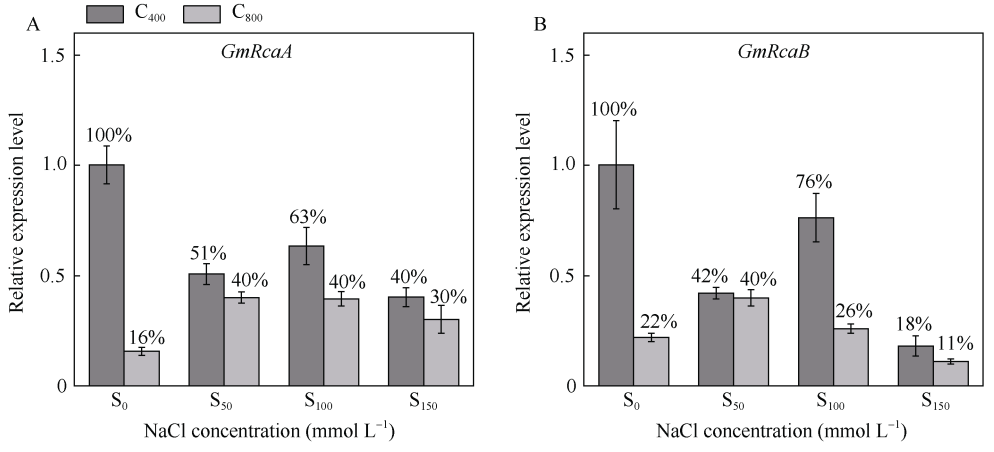
图 7 CO_2 和 NaCl 对抗氧化酶系统的影响

Fig. 7 Effects of CO_2 and NaCl on antioxidant enzymes systems of soybeans

处理及缩写同图 1。FW: 鲜重; POD: 过氧化物酶; MDA: 丙二醛; SOD: 超氧化物歧化酶; Pro: 脯氨酸。不同小写字母表示 0.05 水平差异显著; *、**和***分别表示在 0.05、0.01 以及 0.001 水平下具有显著差异。

Treatments and abbreviations are the same as those given in Fig. 1. FW: fresh weight; POD: peroxidase; MDA: malondialdehyde; SOD: superoxide dismutase; Pro: proline. Different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 level; *, **, and *** represent significant differences at the levels of 0.05, 0.01, and 0.001, respectively.

理下的 *GmRcaA*、*GmRcaB*、*GmRca11* 和 *GmRca14* 分别降低 84.3%、78.3%、71.5%和 69.9% (图 8)。然而，C_{800} 条件下 S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 的 *GmRcaA* 和 *GmRca14* 表达量同 S_0 相比分别提高 155.2%、151.8%和 92.1% (图 8-A)以及 110.0%、47.7%和 114.5% (图 8-D)。C_{800} 处理下各 NaCl 处理中大豆 *GmRcaB* 和 *GmRca11* 基因相对表达量均呈现先上升后下降的变化趋势(图 8)。



(图 8)

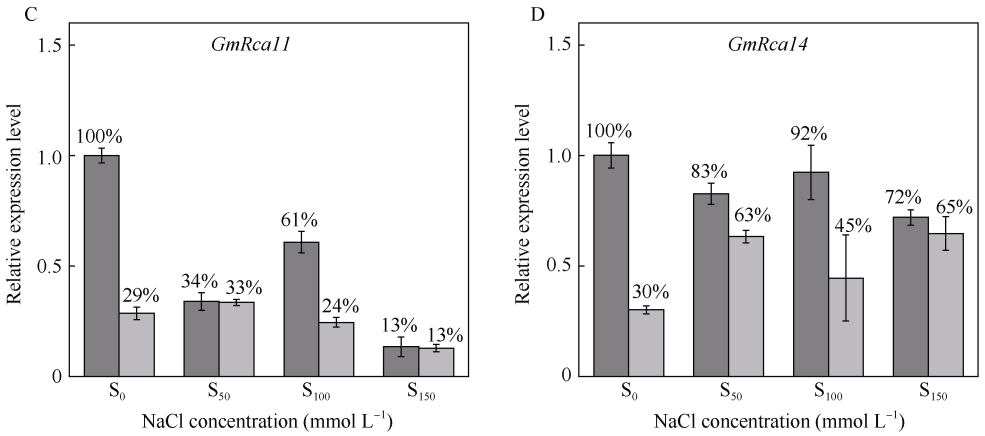


图 8　CO_2 和 NaCl 对大豆 Rubisco 活化酶编码基因表达量的影响

Fig. 8　Effects of CO_2 and NaCl on the expression levels of Rubisco activase-encoding genes in soybeans

处理同图 1。Treatments are the same as those given in Fig. 1.

在 C_{400} 条件下, S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 处理中 *GmCLC-d1* 的表达量较 S_0 分别提高 20.8%、23.1%和 59.6% (图 9-A), *GmCLC-d2* 表达量在 S_{100} 和 S_{150} 处理下较 S_0 分别增加 37.1%和 71.2% (图 9-B), 表明 NaCl 胁迫可以激活抗盐基因 *GmCLC* 的表达。然而, 在 C_{800} 条件下, S_0、S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 处理的 *GmCLC-d1* 表达量较 C_{400} 分别降低 11.5%、27.2%、10.1%和 38.5% (图 9-A); S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 的 *GmCLC-d2* 表达量降低 24.4%、23.2%和 35.4% (图 9-B)。CO_2 浓度升高导致 S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 的 *GmNHX1* 表达量较 C_{400} 分别降低

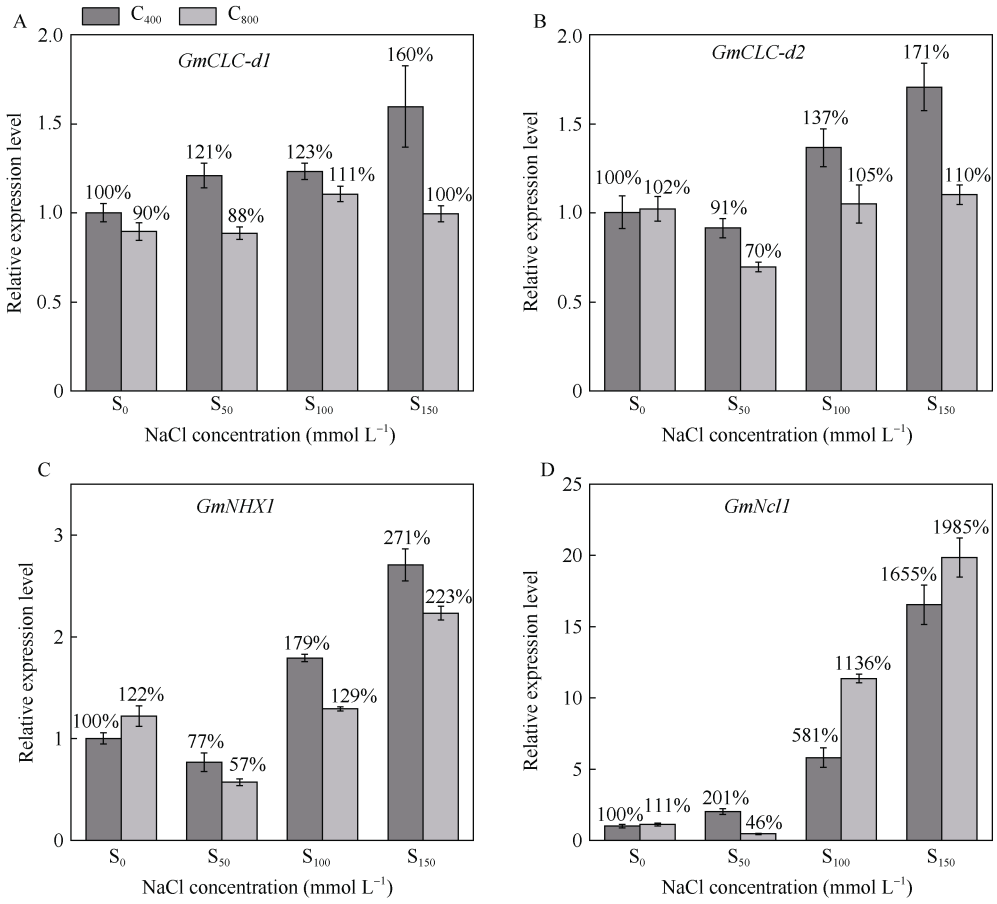


图 9　CO_2 和 NaCl 对大豆抗盐基因表达量的影响

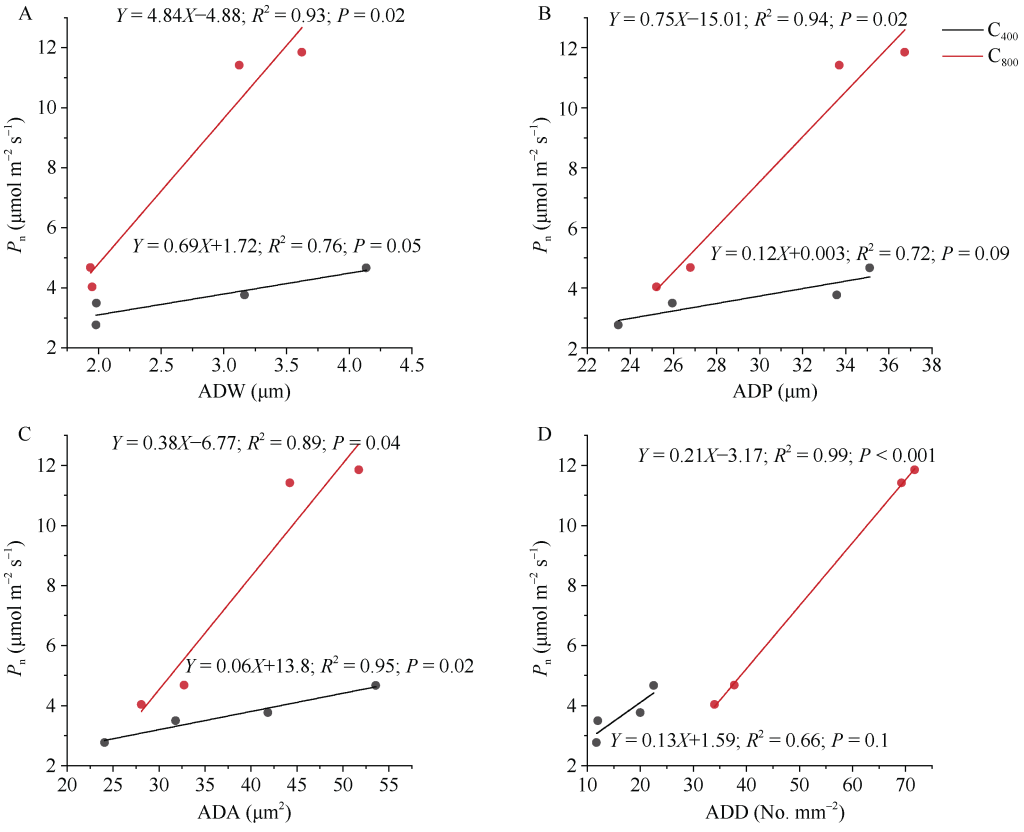
Fig. 9　Effects of CO_2 and NaCl on the expression levels of salt-resitant genes in soybeans

处理同图 1。Treatments are the same as those given in Fig. 1.

26.2%、28.5%和 18.4% (图 9-C)。CO_2 浓度升高导致 S_{100} 和 S_{150} 的 *GmNcl1* 表达量较 C_{400} 分别提高 96.3% 和 20.5% (图 9-D)。CO_2 和 NaCl 对 Rubisco 活化酶基因以及抗盐基因的表达量均存在显著的交互作用。上述研究结果表明，CO_2 浓度升高能够抑制 Rubisco 活化酶基因的表达；同时，CO_2 浓度升高还改变了大豆对高盐胁迫的响应模式，抑制了部分氯离子通道蛋白基因(*GmCLC-d1* 和 *GmCLC-d2*)的表达，但显著提高 *GmNcl1* 对高盐胁迫的响应程度。

2.6 CO_2 和 NaCl 处理下大豆叶片 P_n 与各生理生化指标关系拟合

本研究系统分析了净光合速率(P_n)与气孔形态特征及光合生理参数之间的关联性，以揭示 CO_2 浓度升高条件下大豆光合性能优化的结构性与生理性调控基础。为此，本研究选取了气孔形态特征、V_{cmax}、J_{max} 以及大豆植株生物量等指标与 P_n 进行拟合，以明确不同 CO_2 环境下光合作用的主要限制因子及其调控途径。结果表明，CO_2 和 NaCl 处理下大豆叶片近轴面的气孔宽度、气孔面积、气孔密度均与 P_n 呈现出较好的相关性(图 10-A~D)。在 C_{400} 条件下，大豆叶片的 P_n 同近轴面的气孔宽度(R^2 = 0.76, P = 0.05)和气孔面积(R^2 = 0.95, P = 0.02)存在显著的正相关关系(图 10)。C_{800} 下的大豆叶片近轴面气孔周长(R^2 = 0.94, P = 0.02)、气孔宽度(R^2 = 0.93, P = 0.02)、气孔面积(R^2 = 0.89, P = 0.04)及气孔密度(R^2 = 0.99, P < 0.001)也均与 P_n 存在显著的正相关关系，相关性公式的斜率较 C_{400} 更高，表明随着大气 CO_2 浓度的升高大豆叶片近轴面气孔特征的优化对 P_n 的提升具有更显著的促进作用。最大羧化速率(V_{cmax})和净光合速率(P_n)在 C_{400} 条件下存在显著的正相关关系(R^2 = 0.91, P = 0.03)，而在 C_{800} 下斜率由 0.10 增加至 0.37，表明大气 CO_2 浓度升高条件下 V_{cmax} 对 P_n 变化的贡献更大(图 10-E)。同样，最大电子传递速率(J_{max})的斜率由 C_{400} 的 0.09 升高至 C_{800} 的 0.24，表明大气 CO_2 浓度升高条件下 J_{max} 对 P_n 变化的贡献率较大(图 10-F)。此外，P_n 与大豆植株地下生物量(R^2 = 0.82, P = 0.002)、地上生物量(R^2 = 0.72, P = 0.007)以及总生物量(R^2 = 0.90, P < 0.001)呈显著的正相关关系(图 11-A~C)。由此可见，CO_2 浓度升高不仅增强了大豆叶片气孔形态特征与 P_n 之间的正相关关系，还显著提升了光合参数对 P_n 变异的解释度。



(图 10)

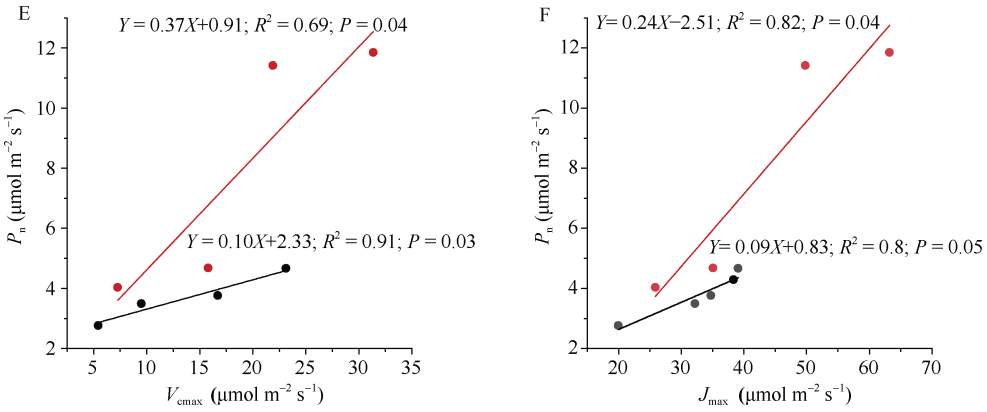


图 10　CO_2 和 NaCl 处理下大豆叶片 P_n 与生理生化指标关系拟合

Fig. 10　Relationships between P_n and physiological and biochemical parameters in soybean leaves under CO_2 and NaCl treatments

处理同图 1。P_n: 净光合速率; ADW: 近轴面气孔宽度; ADP: 近轴面气孔周长; ADA: 近轴面气孔面积; ADD: 近轴面气孔密度; V_{cmax}: 最大羧化速率; J_{max}: 最大电子传递速率。

Treatments are the same as those given in Fig. 1. P_n: net photosynthetic rate; ADW: adaxial stomatal width; ADP: adaxial stomatal perimeter; ADA: adaxial stomatal area; ADD: adaxial stomatal density; V_{cmax}: maximum carboxylation rate; J_{max}: maximum electron transport rate.

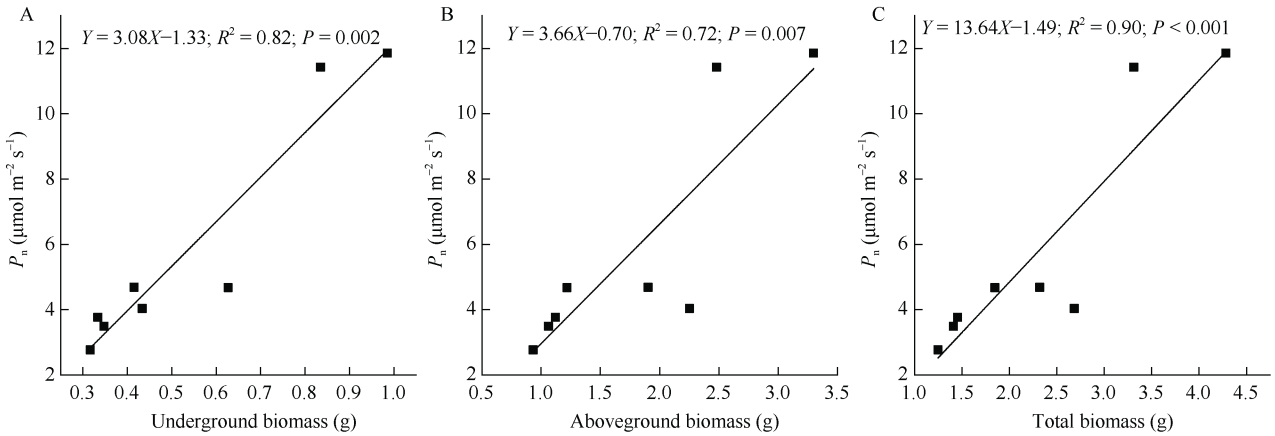


图 11　CO_2 和 NaCl 处理下大豆叶片 P_n 与植株生物量关系拟合

Fig. 11　Relationships between P_n and and plant biomass of soybeans under CO_2 and NaCl treatments

P_n: 净光合速率。P_n: net photosynthetic rate.

3　讨论

3.1　CO_2 和 NaCl 胁迫对大豆气孔特征和分布格局的影响

作为植物与外界进行气体交换的重要通道, 气孔结构和功能的变化直接影响植物叶片的光合作用效率[26]。以往研究表明, NaCl 胁迫将减小植物的气孔面积、气孔长度和气孔宽度[27]。然而, 大气 CO_2 浓度升高却可以提高植物的气孔面积以及气孔密度[28]。因此, 大气 CO_2 浓度升高可以在一定程度上抵消 NaCl 胁迫对植物气体交换过程产生的不利影响。在本研究中, 随着 NaCl 胁迫程度的加剧, 大豆叶片近轴面的气孔密度、气孔长度、气孔宽度、气孔周长及气孔面积均显著降低(表 2), 这可能与 NaCl 胁迫导致的渗透胁迫和离子毒害有关, 进而影响气孔的发育过程和功能[29]。另外, CO_2 浓度升高条件下近轴面和远轴面的气孔密度均显著增加(表 2), 表明在应对大气 CO_2 浓度升高的环境时, 大豆可能通过调整其叶片气孔的发育程序来增加气孔密度以优化叶片的水分利用与碳获取之间的平衡[30]。同时, CO_2 浓度升高条件下气孔参数与净光合速率(P_n)之间呈显著正相关(图 10), 也证实了大气 CO_2 浓度升高不仅可以提高光合反应底物的浓度以增加净光合速率, 还可以通过优化气孔形态提高气体交换效率, 从而进一步提高植物的光合性能[31]。

本研究中大豆叶片上气孔分布规则程度随着 NaCl 胁迫的加剧而降低(图 4), 暗示 NaCl 胁迫可能削弱了大豆对气孔发育过程的调控能力, 从而导致气孔在更小的空间尺度上呈现出随机分布的格局[32]。

大气 CO_2 浓度升高条件下气孔分布格局最小领域距离 Lhat (*d*)值的减小, 表明 CO_2 浓度升高可以降低大豆气孔规则分布的程度, 尤其是中度和重度 NaCl 胁迫条件下的 Lhat (*d*)明显减小, 暗示在未来 CO_2 浓度升高和 NaCl 胁迫双重影响下大豆的气体交换效率将明显降低(图 4)。上述结果表明, NaCl 胁迫条件下大豆净光合速率与气孔密度、气孔长度、气孔宽度、气孔周长、气孔面积以及气孔空间分布规则程度密切相关, 表明 NaCl 胁迫下大豆的光合作用可能会受到气孔限制[33]。以往研究也表明, 植物气孔分布格局的变化可能与不同环境条件下植物叶片气体交换和水分管理的优化策略有关[34]。本研究证实了大气 CO_2 浓度升高和 NaCl 胁迫可以通过改变气孔形态特征及其空间分布格局来影响叶片的气体交换效率。

3.2 CO_2 和 NaCl 胁迫对大豆光合性能的影响

本研究发现在高 CO_2 浓度环境下, S_0 和 S_{50} 的大豆植株光合作用能力(净光合速率 P_n)和碳同化物向地下的分配(地下生物量)均显著提高, 表明 CO_2 浓度升高可以增加光合碳同化反应的底物浓度, 从而提高大豆的光合碳同化效率。同时, S_0 和 S_{50} 处理气孔导度(G_s)和蒸腾速率(T_r)降低(图 5-B, C), 且 S_{50}、S_{100} 和 S_{150} 处理中 V_{cmax} 显著降低, 表明 NaCl 胁迫对大豆光合作用的抑制是气孔限制和非气孔限制并存的过程。在轻度 NaCl 胁迫时, 气孔限制可能占主导作用; 然而, 随着 NaCl 胁迫程度的加重, 其对叶肉细胞光合机构的损伤(非气孔限制)成为更主要的限制因素。CO_2 浓度升高还通过改变光合作用的光化学过程和生物化学过程进一步影响大豆的净光合速率[35]。J_{max} 反映了植物光合作用电子传递的最大能力, V_{cmax} 代表了植物进行光合作用时固定 CO_2 的能力, 是评估植物光合作用效率的重要指标。CO_2 浓度升高不仅增加了 S_0 和 S_{100} 的 V_{cmax}, 而且还提高了 S_0 和 S_{50} 的 J_{max}, 表明 CO_2 浓度升高增加了光合电子传递链的电子传递效率和植物的光合碳同化效率[36]。拟合分析的结果也进一步揭示了 CO_2 浓度升高条件下 P_n 与 V_{cmax}、J_{max} 的相关性关系(图 10)。

关于 Rubisco 活化酶编码基因相对表达量的分析表明, 大气 CO_2 浓度升高抑制了 Rubisco 活化酶编码基因 *GmRcaA*、*GmRcaB*、*GmRca11* 和 *GmRca14* 的表达过程。上述现象可能与植物在长期高 CO_2 环境下产生的“光合适应”机制有关, 因为充足的碳源供给可能会促使植物 Rubisco 及其活化酶编码基因表达量的下调, 从而将更多的氮资源重新配置到光合电子传递及碳代谢等限制性环节, 以实现整个光合系统层面上的资源优化与效率提升[37]。同时, Rubisco 活化酶活性在调控光合作用效率方面也起着非常关键的作用, 因为 Rubisco 活化酶可以通过与 Rubisco 相结合来进一步恢复 Rubisco 酶的活性, 最终提高光合暗反应中 Rubisco 固定 CO_2 的催化效率[38]。然而, 本研究仅探讨了不同 CO_2 和 NaCl 处理下 Rubisco 活化酶编码基因表达量的差异, 而未考虑在 Rubisco 活化酶活性蛋白水平上的变化, 这将可能在深入理解大豆光合作用响应 CO_2 和 NaCl 潜在机制方面仍存在一定的局限性。因此, 今后的相关研究应该同时监测 CO_2 和 NaCl 处理下 Rubisco 活化酶编码基因表达量及其活性的变化, 以期从分子和蛋白水平更加深入地理解大豆光合作用对 CO_2 和 NaCl 的响应机理。

瞬时水分利用效率(WUEI)是植物叶片水分利用特性方面的一个重要的生理指标, 主要反映植物在消耗等量水分时固定 CO_2 的能力[39]。本研究结果表明, 大气 CO_2 浓度升高条件下大豆 WUEI 的变化主要依赖于净光合速率和蒸腾速率的平衡状态, 而 CO_2 浓度升高影响 WUEI 的主要因素在不同 NaCl 胁迫处理间存在明显差异。在 S_0 和 S_{50} 条件下, 由于高 CO_2 浓度时碳同化反应底物充足, 此时大豆 WUEI 的提高主要来自净光合速率的增加; 而在 S_{100} 和 S_{150} 条件下, 大豆 WUEI 的提高主要是由于 NaCl 胁迫使叶片气孔关闭, 从而降低 T_r, 表明此时大豆 WUEI 的提高主要归因于蒸腾速率的降低。

3.3 CO_2 和 NaCl 胁迫对大豆抗氧化系统的影响

通常而言, 植物通过优化气孔形态特征及其分布格局、提高净光合速率以及增强抗氧化防御系统等多种抗逆机制与生存策略来抵抗和适应盐碱环境[40]。以往研究表明, NaCl 胁迫可以触发植物的氧化应激反应, 促使活性氧(ROS)在细胞中积累, 进而导致细胞膜脂质过氧化生成丙二醛(MDA)等氧化损伤产物, 最终破坏细胞膜的结构和功能[41]。然而, 植物体内含有超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等抗氧化酶可以有效分解植物体内的活性氧自由基[42], 从而降低植物体遭受生理胁迫和伤害的程度。同时, 植物体内的游离脯氨酸(Pro)可以增加植物细胞在高温、盐碱等逆境条件下功能蛋白的数量[43], 保护膜系统的稳定性[44], 提高植物抵抗逆境的能力[45]。相关研究结果表明, 随着 NaCl 胁迫程度的升高, 植物体内的 SOD、POD 活性以及 Pro 含量

均呈上升趋势[46]。本研究也发现 NaCl 胁迫条件下大豆叶片的 POD、SOD 活性及 Pro 含量显著增加, 表明大豆可以通过合成抗氧化酶和脯氨酸的途径来降低活性氧造成的损伤, 从而将 MDA 含量控制在正常水平。研究结果表明, 较高的 CO_2 浓度能够增加大豆叶片中 POD、SOD 活性和 Pro 含量, 用以清除多余的 MDA, 从而缓解 NaCl 对植物体造成的生理胁迫(图 7)。另外, CO_2 浓度升高改变了大豆的盐响应模式, CO_2 浓度升高抑制了部分组成型表达的氯通道基因, 但同时显著增强了 *GmNcl1* 基因的胁迫响应幅度, 表明 CO_2 浓度升高大豆可能从一种“广泛”离子稳态防御策略转向一种“高效”策略。而 *GmNcl1* 基因的响应, 很可能直接参与调控了离子的区域化隔离或外排, 这与观察到的渗透调节功能增强以及细胞稳态维持直接相关; 也可能是实现抗氧化与渗透调节等生理功能改善, 并最终缓解高盐毒害的根本原因之一。

4　结论

利用大型环境生长箱探讨了 NaCl 胁迫和 CO_2 浓度协同影响大豆气孔特征、光合性能以及抗氧化系统的潜在机制。大气 CO_2 浓度升高可以优化气孔形态特征及其空间分布格局, 进一步降低气孔限制对气体交换过程的影响, 从而提高叶片的气体交换效率, 在一定程度上削弱 NaCl 胁迫对大豆生长发育过程产生的高盐毒害效应。大气 CO_2 浓度升高不仅增加大豆的净光合速率, 而且同时降低叶片的蒸腾速率, 从而大幅提高 NaCl 胁迫条件下大豆的瞬时水分利用效率(WUEI), 最终缓解高盐胁迫对大豆植株造成的生理伤害; 大气 CO_2 浓度升高能够诱导大豆的抗盐基因表达上调、抗氧化酶系统激活以及渗透调节物质增多, 进一步提高大豆植株抵抗 NaCl 高盐毒害的能力。

References

[1] Calvin K, Dasgupta D, Krinner G, et al. Climate change 2023: synthesis report. Geneva, Switzerland: IPCC, 2023.

[2] 王佺珍, 刘倩, 高娅妮, 等. 植物对盐碱胁迫的响应机制研究进展. 生态学报, 2017, 37: 5565–5577.
Wang Q Z, Liu Q, Gao Y N, et al. Review on the mechanisms of the response to salinity-alkalinity stress in plants. Acta Ecol Sin, 2017, 37: 5565–5577 (in Chinese with English abstract).

[3] 齐琪, 马书荣, 徐维东. 盐胁迫对植物生长的影响及耐盐生理机制研究进展. 分子植物育种, 2020, 18: 2741–2746.
Qi Q, Ma S R, Xu W D. Advances in the effects of salt stress on plant growth and physiological mechanisms of salt tolerance. Mol Plant Breed, 2020, 18: 2741–2746 (in Chinese with English abstract).

[4] 冯凯月, 赵鑫焱, 李子妍, 等. 植物响应盐碱胁迫的分子机制研究进展. 生物技术通报, 2024, 40(10): 122–138.
Feng K Y, Zhao X Y, Li Z Y, et al. Research advances in the molecular mechanisms of plant response to saline-alkali stress. Biotechnol Bull, 2024, 40(10): 122–138 (in Chinese with English abstract).

[5] 李晓院, 解莉楠. 盐胁迫下植物 Na^+调节机制的研究进展. 生物技术通报, 2019, 35(7): 148–155.
Li X Y, Xie L N. Research progress in Na^+ regulation mechanism of plants under salt stress. Biotechnol Bull, 2019, 35(7): 148–155 (in Chinese with English abstract).

[6] Balasubramaniam T, Shen G X, Esmaeili N, et al. Plants' response mechanisms to salinity stress. Plants, 2023, 12: 2253.

[7] Fu H Q, Yang Y Q. How plants tolerate salt stress. Curr Issues Mol Biol, 2023, 45: 5914–5934.

[8] 豆昕桐, 王英杰, 王华忠, 等. 耐盐和盐敏感型小麦品种对 NaCl 胁迫的生理响应及耐盐性差异. 生态学报, 2021, 41: 4976–4992.
Dou X T, Wang Y J, Wang H Z, et al. Physiological response and tolerance difference of two wheat varieties to NaCl stress. Acta Ecol Sin, 2021, 41: 4976–4992 (in Chinese with English abstract).

[9] Prywes N, Phillips N R, Oltrogge L M, et al. A map of the rubisco biochemical landscape. Nature, 2025, 638: 823–828.

[10] 陈天笑, 白晓刚, 张志威, 等. 不同种源顶果木幼苗生长、光合和叶绿素荧光特性比较. 生态学杂志, 2023, 42: 2561–2568.
Chen T X, Bai X G, Zhang Z W, et al. Comparison of growth, photosynthetic, and chlorophyll fluorescence characteristics for different provenances of Arcocarpus fraxinifolius. Chin J Ecol, 2023, 42: 2561–2568 (in Chinese with English abstract).

[11] 张泽龙, 刘鑫, 南丽丽, 等. 外源 SA 对 NaCl 胁迫下红豆草生长和生理特性的影响. 中国草地学报, 2024, 46(2): 92–100.
Zhang Z L, Liu X, Nan L L, et al. Effects of exogenous salicylic acid on sainfoin growth and physiological characteristics under sodium chloride stress. Chin J Grassland, 2024, 46(2): 92–100 (in Chinese with English abstract).

[12] 李彦生, 金剑, 刘晓冰. 作物对大气 CO_2 浓度升高生理响应研究进展. 作物学报, 2020, 46: 1819–1830.
Li Y S, Jin J, Liu X B. Physiological response of crop to elevated atmospheric carbon dioxide concentration: a review. Acta Agron Sin, 2020, 46: 1819–1830 (in Chinese with English abstract).

[13] 刘昭霖, 宗毓铮, 张东升, 等. 大气 CO_2 浓度和气温升高对大豆叶片光合特性及氮代谢的影响. 中国农业气象, 2021, 42: 426–437.
Liu Z L, Zong Y Z, Zhang D S, et al. Effects of elevated atmospheric CO_2 concentration and increased air temperature on photosynthetic characteristics and nitrogen metabolism of soybean leaves. Chin J Agrometeorol, 2021, 42: 426–437 (in Chinese with English abstract).

[14] 张春雨, 李彦生, 于镇华, 等. 大气 CO_2 浓度和温度升高影响作物产量的光合生理及分子生物学机制. 土壤与作物, 2021, 10: 256–265.
Zhang C Y, Li Y S, Yu Z H, et al. Mechanism of photosynthetic physiology and molecular biology of crop yield as affected by elevated atmospheric CO_2 concentration and temperature: a

review. Soils Crops, 2021, 10: 256–265 (in Chinese with English abstract).

[15] 景立权, 赖上坤, 王云霞, 等. 大气 CO_2 浓度和温度互作对水稻生长发育的影响. 生态学报, 2016, 36: 4254–4265.
Jing L Q, Lai S K, Wang Y X, et al. Combined effect of increasing atmospheric CO_2 concentration and temperature on growth and development of rice: a research review. Acta Ecol Sin, 2016, 36: 4254–4265 (in Chinese with English abstract).

[16] 李炳言, 王娜, 郝兴宇, 等. 大气 CO_2 浓度升高和干旱的交互作用对大豆光合作用的影响. 山西农业科学, 2019, 47: 222–225.
Li B Y, Wang N, Hao X Y, et al. Effects of interaction between elevated atmospheric CO_2 concentration and drought on photosynthesis of soybean. J Shanxi Agric Sci, 2019, 47: 222–225 (in Chinese with English abstract).

[17] 徐芬芬, 楚婕妤, 刘誉, 等. 盐胁迫对大豆种子萌发过程中吸水和水解酶活性的影响. 大豆科学, 2017, 36: 74–77.
Xu F F, Chu J Y, Liu Y, et al. Effects of salt stress on water uptake and hydrolytic enzyme activities during soybean seed germination. Soybean Sci, 2017, 36: 74–77 (in Chinese with English abstract).

[18] 许基磊, 汪兴中, 范吉标. 盐胁迫诱导野大豆生理和光合作用的变化. 植物科学学报, 2022, 40: 829–838.
Xu J L, Wang X Z, Fan J B. Changes in physiology and photosynthesis of Glycine soja Sieb. et Zucc. induced by salt stress. Plant Sci J, 2022, 40: 829–838 (in Chinese with English abstract).

[19] 王聪, 董永义, 贾俊英, 等. NaCl 胁迫下外源壳聚糖对菜用大豆叶绿体抗氧化系统的影响. 植物营养与肥料学报, 2016, 22: 1356–1365.
Wang C, Dong Y Y, Jia J Y, et al. Effects of exogenous chitosan on antioxidant system in chloroplast of vegetable soybean under NaCl stress. J Plant Nutr Fert, 2016, 22: 1356–1365 (in Chinese with English abstract).

[20] 李思琪, 杜艳丽, 胡爱博, 等. 盐旱胁迫对不同大豆品种(系)生长和光合特性的影响. 山东农业科学, 2024, 56(11): 36–43.
Li S Q, Du Y L, Hu A B, et al. Effects of salt and drought stresses on growth and photosynthetic characteristics of different soybean varieties (lines). Shandong Agric Sci, 2024, 56(11): 36–43 (in Chinese with English abstract).

[21] 李阿立, 冯雅楠, 李萍, 等. 大豆叶片响应 CO_2 浓度升高、干旱及其交互作用的转录组分析. 作物学报, 2022, 48: 1103–1118.
Li A L, Feng Y N, Li P, et al. Transcriptome analysis of leaves responses to elevated CO_2 concentration, drought and interaction conditions in soybean [*Glycine max* (Linn.) Merr.]. Acta Agron Sin, 2022, 48: 1103–1118 (in Chinese with English abstract).

[22] 苏营, 张逸飞, 牟文雅, 等. 大豆主要株型和产量指标对大气 CO_2 和温度升高的响应. 生态学报, 2016, 36: 2597–2606.
Su Y, Zhang Y F, Mu W Y, et al. Morphological traits and yield of soybean under elevated atmospheric CO_2 concentration and temperature. Acta Ecol Sin, 2016, 36: 2597–2606 (in Chinese with English abstract).

[23] Sharkey T D. What gas exchange data can tell us about photosynthesis. Plant Cell Environ, 2016, 39: 1161–1163.

[24] Cheng C, Liu Y M, Liu X, et al. Recretohalophyte *Tamarix TrSOS1* confers higher salt tolerance to transgenic plants and yeast than glycophyte soybean *GmSOS1*. Environ Exp Bot, 2019, 165: 196–207.

[25] Schmittgen T D, Livak K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. Nat Protoc, 2008, 3: 1101–1108.

[26] 刘梦龙, 魏健, 任姿蓉, 等. 气孔研究进展: 从保卫细胞到光合作用. 生命科学, 2024, 36: 1289–1304.
Liu M L, Wei J, Ren Z R, et al. Research progress of stomata: from guard cells to photosynthesis. Chin Bull Life Sci, 2024, 36: 1289–1304 (in Chinese with English abstract).

[27] 张浩, 郑云普, 叶嘉, 等. 外源钙离子对盐胁迫玉米气孔特征、光合作用和生物量的影响. 应用生态学报, 2019, 30: 923–930.
Zhang H, Zheng Y P, Ye J, et al. Effects of exogenous Ca^{2+} on stomatal traits, photosynthesis, and biomass of maize seedings under salt stress. Chin J Appl Ecol, 2019, 30: 923–930 (in Chinese with English abstract).

[28] 刘亮, 张运鑫, 郝立华, 等. 大气 CO_2 浓度倍增和高温对玉米气孔特征及气体交换参数的影响. 农业工程学报, 2022, 38(22): 73–80.
Liu L, Zhang Y X, Hao L H, et al. Effects of double atmospheric CO_2 concentration and high temperature on the stomatal traits and leaf gas exchange of maize plants. Trans CSAE, 2022, 38(22): 73–80 (in Chinese with English abstract).

[29] 潘凌云, 马家冀, 李建民, 等. 植物盐胁迫应答转录因子的研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(1): 50–65.
Pan L Y, Ma J J, Li J M, et al. Advances of salt stress-responsive transcription factors in plants. Chin J Biotechnol, 2022, 38(1): 50–65 (in Chinese with English abstract).

[30] Chater C, Peng K, Movahedi M, et al. Elevated CO_2-induced responses in stomata require ABA and ABA signaling. Curr Biol, 2015, 25: 2709–2716.

[31] Lyu C H, Huang Y, Sun W J, et al. Elevated [CO_2] raises the temperature optimum of photosynthesis and thus promotes net photosynthesis of winter wheat and rice. Physiol Plant, 2022, 174: e13757.

[32] 李依蓉, 熊栋梁, 王容, 等. 6 种木兰科植物叶片气孔的空间分布特征. 西部林业科学, 2022, 51(2): 57–65.
Li Y R, Xiong D L, Wang R, et al. Spatial distribution characteristics of stomata of six Magnoliaceae species. J West China For Sci, 2022, 51(2): 57–65 (in Chinese with English abstract).

[33] 熊慧, 马承恩, 李乐, 等. 不同生境条件下蕨类和被子植物的气孔形态特征及其对光强变化的响应. 植物生态学报, 2014, 38: 868–877.
Xiong H, Ma C E, Li L, et al. Stomatal characteristics of ferns and angiosperms and their responses to changing light intensity at different habitats. Chin J Plant Ecol, 2014, 38: 868–877 (in Chinese with English abstract).

[34] 郭丽丽, 郝立华, 贾慧慧, 等. NaCl 胁迫对两种番茄气孔特征、气体交换参数和生物量的影响. 应用生态学报, 2018, 29: 3949–3958.
Guo L L, Hao L H, Jia H H, et al. Effects of NaCl stress on stomatal traits, leaf gas exchange parameters, and biomass of two tomato cultivars. Chin J Appl Ecol, 2018, 29: 3949–3958 (in Chinese with English abstract).

[35] Gunn L H, Martin Avila E, Birch R, et al. The dependency of red Rubisco on its cognate activase for enhancing plant photosynthe-

sis and growth. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117: 25890–25896.

[36] 陈铸峰, 田利金. 植物光合作用原初反应与电子传递调控. 自然杂志, 2024, 46: 35–45.
Chen Z F, Tian L J. Regulation of light harvesting and electron transfer process of plant photosynthesis. Chin J Nat, 2024, 46: 35–45 (in Chinese with English abstract).

[37] Cun Z, Wu H M, Zhang J Y, et al. High nitrogen inhibits biomass and saponins accumulation in a medicinal plant Panax notoginseng. PeerJ, 2023, 11: e14933.

[38] Xia L Y, Jiang Y L, Kong W W, et al. Molecular basis for the assembly of Rubisco assisted by the chaperone Raf1. Nat Plants, 2020, 6: 708–717.

[39] 姜寒冰, 张玉翠, 任晓东, 等. 作物水分利用效率研究方法及尺度传递研究进展. 中国生态农业学报(中英文), 2019, 27: 50–59.
Jiang H B, Zhang Y C, Ren X D, et al. A review of progress in research and scaling-up methods of crop water use efficiency. Chin J Eco-Agric, 2019, 27: 50–59 (in Chinese with English abstract).

[40] Mittler R, Zandalinas S I, Fichman Y, et al. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. Nat Rev Mol Cell Biol, 2022, 23: 663–679.

[41] 陈威, 童宇艳, 冯瑜, 等. 盐胁迫对红树植物红榄李幼苗叶绿体超微结构及光合荧光特性的影响. 生态学杂志, 2024, 43: 716–723.
Chen W, Tong Y Y, Feng Y, et al. Effects of salt stress on chloroplast ultrastructure and photosynthetic fluorescence characteristics of Lumnitzera littorea (Jack) Voigt seedlings. Chin J Ecol, 2024, 43: 716–723 (in Chinese with English abstract).

[42] 钱玥, 李思源, 饶良懿. 盐碱胁迫对菊芋渗透调节及抗氧化酶系统的影响. 干旱区研究, 2023, 40: 1465–1471.
Qian Y, Li S Y, Rao L Y. Effects of saline-alkali stress on organic osmoregulatory substances and antioxidant enzyme systems of Helianthus tuberosus. Arid Zone Res, 2023, 40: 1465–1471 (in Chinese with English abstract).

[43] 徐鹏, 贺一哲, 黄亚茹, 等. 花期短时高温对不同品种水稻颖花开放动态及产量的影响. 中国农业气象, 2023, 44: 25–35.
Xu P, He Y Z, Huang Y R, et al. Effects of short-term high temperature on spikelet opening dynamics and yield of different rice varieties during flowering period. Chin J Agrometeorol, 2023, 44: 25–35 (in Chinese with English abstract).

[44] 李聪聪, 宋勇, 孙东泉. 不同品种玉米在盐碱复合胁迫下的幼苗生长差异及其生理机制. 生态学杂志, 2023, 42: 2486–2493.
Li C C, Song Y, Sun D Q. Seedling growth difference and physiological mechanism of different maize cultivars under mixed salinealkali stress. Chin J Ecol, 2023, 42: 2486–2493 (in Chinese with English abstract).

[45] 张林, 陈翔, 吴宇, 等. 脯氨酸在植物抗逆中的研究进展. 江汉大学学报(自然科学版), 2023, 51(1): 42–51.
Zhang L, Chen X, Wu Y, et al. Research progress of proline in plant stress resistance. J Jianghan Univ (Nat Sci Edn), 2023, 51(1): 42–51 (in Chinese with English abstract).

[46] 曲清华, 王士超, 谢锦, 等. 赤霉素浸种对紫花苜蓿幼苗盐胁迫的缓解作用及机制. 中国生态农业学报(中英文), 2025, 33: 1360–1370.
Qu Q H, Wang S C, Xie J, et al. The alleviating effect of gibberellin seed soaking on salt stress in alfalfa. Chin J Eco-Agric, 2025, 33: 1360–1370 (in Chinese with English abstract).