

# 中国大陆绒螯蟹线粒体 16S rDNA 序列变异 与分子鉴定标记\*

孙红英<sup>1</sup> 周开亚<sup>1\*\*</sup> 陆健健<sup>1,2</sup> 杨光<sup>1</sup>

1. 南京师范大学江苏省资源生物技术重点实验室, 南京 210097; 2. 华东师范大学河口海岸国家重点实验室, 上海 200062

**摘要** 选取了中国大陆东部 6 个水系合计 110 个绒螯蟹个体, 通过 DNA 序列测定和 PCR/RFLP 分析, 对线粒体 16S rDNA 部分片段的序列变异进行研究. 结果表明, 在 401 bp 的 16S rDNA 片段中, 合浦绒螯蟹(*Eriocheir japonica hepuensis*)与中华绒螯蟹(*E. j. sinensis*)之间存在 3~4 个固定的碱基替代; 合浦绒螯蟹的闽江、九龙江和南流江种群之间未发现碱基变异, 表现为 1 种单元型(C型); 中华绒螯蟹长江和辽河的种群中, 有 1 个固定的碱基替代, 表现为 A, B 两种单元型. 单元型之间的碱基变异反映了绒螯蟹地理种群之间的遗传歧异. 经 *Dra* I 酶切形成的 16S rDNA 酶切片段差异, 为 2 个亚种的鉴定提供了一种准确、简捷的 DNA 分子标记. 对长江水系部分水域绒螯蟹的分子鉴定提示, 长江下游至长江口以中华绒螯蟹的 2 个单元型为主, 但已混有合浦绒螯蟹的单元型. 在江苏、安徽渔场中的饲养种群分别属于单元型 A 型和 B 型. 16S rDNA 的 PCR/RFLP 差异可作为正确鉴定中华绒螯蟹和合浦绒螯蟹的分子鉴定标记; 16S rDNA 片段中 1 个固定位点的碱基替代可作为区分中华绒螯蟹两种单元型的分子鉴定标记.

**关键词** 中华绒螯蟹 合浦绒螯蟹 16S rDNA 序列变异 PCR/RFLP 分子鉴定标记

根据本实验室唐伯平对绒螯蟹属内转录间隔区(ITS)与细胞色素氧化酶亚基 I (COI) 基因序列的研究<sup>[1]</sup>, 中国大陆各水系的绒螯蟹是日本绒螯蟹(*Eriocheir japonica*)的 2 个亚种, 中华绒螯蟹(*E. j. sinensis*)分布于北纬 26°以北; 合浦绒螯蟹(*E. j. hepuensis*)分布于北纬 26°以南. 各水系绒螯蟹的生长速度受到外界环境条件的影响及内在遗传因素的制约. 在养殖中发现, 采自不同水域的绒螯蟹生长差异显著, 严重影响了生产效益<sup>[1]</sup>. 分布于长江水系的中华绒螯蟹是中国的水产珍品, 又名河蟹、大闸蟹、毛蟹, 以其个体大、品质优, 被誉为最具有发展前景的增养殖品种<sup>[1]</sup>. 随着养殖业的发展, 导致了对蟹苗和成蟹的过度捕捞, 长江口的蟹苗资源在 20 世纪 80 年代迅速衰退, 接着辽河蟹南下, 瓯江蟹北上, 从此 3 个水系河蟹, 在江淮流

域种质混杂<sup>[2]</sup>. 但对长江天然水域绒螯蟹是否存在种质资源的混杂, 以及混杂的状况, 尚未有以 DNA 分子标记为依据的报道.

已有的研究表明, 不同水系绒螯蟹在形态学性状<sup>[3,4]</sup>、同工酶酶谱<sup>[5~7]</sup>、核基因组的随机扩增多态性 DNA(RAPD)<sup>[8~11]</sup>等方面存在差异, 但迄今尚未找到一个精确可靠的鉴定方法. 如何鉴定中华绒螯蟹种源, 仍是养殖业的一个难题.

线粒体基因是节肢动物近缘种间、乃至地理种群间多态性分析的有用标记<sup>[12~15]</sup>. 本文通过线粒体 16S rDNA 部分片段序列的核苷酸变异, 分析了中国大陆 6 个水系绒螯蟹的单元型. 用 PCR/RFLP 方法, 寻找能够鉴别不同水系绒螯蟹的分子鉴定标记. 并借助 16S rDNA 的 PCR/RFLP 鉴定标记与序列测定手段, 对长江中华绒螯蟹的种质资源进行初步调查.

2001-06-28 收稿, 2001-09-24 收修改稿

\* 江苏省应用基础研究项目(批准号: BJ95109)与江苏省资源生物技术重点实验室开放研究项目(批准号: K99002)

\*\* 联系人, E-mail: kyzhounj@jlonline.com

1) 唐伯平. 绒螯蟹属的分子系统发生学. 南京师范大学理学博士学位论文, 2000

## 1 材料与方法

### 1.1 材料来源

绒螯蟹标本(包括成蟹和大眼幼体)采自长江、辽河、瓯江、九龙江、闽江、南流江6个不同水系,合计110个个体(表1),经95%乙醇浸制保存,部分标本置于-20℃保存。

表1 本研究使用的绒螯蟹标本

亚种名	水系	个体数		采集地
		测序	RFLP	
<i>E. j. sinensis</i>	辽河	3 <sup>b)</sup>	10	辽宁盘锦
<i>E. j. sinensis</i> <sup>1)</sup>	辽河	0	12	辽宁辽河
<i>E. j. sinensis</i>	长江	3 <sup>c)</sup>	5	镇江江段
<i>E. j. sinensis</i>	长江	3 <sup>c)</sup>	18	金河口江段
<i>E. j. sinensis</i>	长江	5 <sup>a),c)</sup>	14 <sup>a)</sup>	长江口
<i>E. j. sinensis</i> <sup>2)</sup>	长江	2 <sup>b)</sup>	8	安徽繁昌龙湖
<i>E. j. sinensis</i> <sup>3)</sup>	长江	2 <sup>b)</sup>	9	安徽繁昌
<i>E. j. sinensis</i> <sup>4)</sup>	长江	3 <sup>b)</sup>	8	南京固城湖
<i>E. j. sinensis</i>	瓯江	3 <sup>b)</sup>	10	浙江瓯海
<i>E. j. hepuensis</i>	闽江	1 <sup>b)</sup>	1	福建闽江
<i>E. j. hepuensis</i>	九龙江	1 <sup>b)</sup>	2	福建九龙江
<i>E. j. hepuensis</i>	南流江	3 <sup>b)</sup>	13	广西合浦

1) 辽河蟹养殖种群,由辽宁河蟹原种场提供;2) 由安徽水产新技术研究所提供;3) 由安徽河蟹原种场提供;4) 由南京固城湖种蟹场提供。未特殊注明标本均来源于天然水域。a) 大眼幼体;b) 用于16S rDNA序列测定,共18个个体;c) 用于16S rDNA测序,并作单元型分析,共11个个体

### 1.2 引物设计

参照相手蟹属(*Sesarma*)16S rDNA序列<sup>[16]</sup>,设计用于扩增绒螯蟹16S rDNA部分片段的引物:IHX-O1-L和IHXO1-H(中国专利申请号:01127215.5)。

### 1.3 DNA提取、PCR反应与序列测定

成蟹取附肢肌肉组织,蟹苗取整体,提取总基因组DNA。PCR体积为30 μL,含Taq酶1U;4种dNTP各150 μmol/L;上、下游引物各0.3 μmol/L;DNA模板约100 ng。循环参数为:95℃预变性4 min,然后进入如下循环:94℃ 40 s,55℃ 30 s,72℃ 1 min,循环35次。循环结束后,在72℃延伸10 min,于4℃保存。扩增的PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳检测,PCR产物经纯化后在ABI 310型遗传分析仪(Perkin Elmers)上进行序列测定。

### 1.4 序列比对与遗传距离分析

应用Clustal X(1.8)软件进行DNA序列比对。在MEGA(1.02)软件中用Kimura-2 parameter法计算遗传距离<sup>[17]</sup>

### 1.5 限制性位点分析与限制性酶切

用DNA-Club软件分析16S rDNA序列中单元型专一的限制性内切酶位点,确定Dra I是可用于PCR/RFLP鉴别的限制性内切酶,并通过16S rDNA片段中Dra I的酶切位点,计算酶切片段长度。酶切产物用2%~2.5%琼脂糖凝胶电泳进行检测。

### 1.6 PCR/RFLP检测

用获得的16S rDNA PCR/RFLP标记,对6个水系110个个体的16S rDNA进行PCR/RFLP检测,鉴定碱基变异类型。其中包括长江下游至长江口天然水域的37只绒螯蟹个体。在经过RFLP检测的长江天然水域个体中,选取11个进行16S rDNA序列测定,以检测PCR/RFLP鉴定标记的可靠性。同时,通过序列比对,进一步确定长江中华绒螯蟹的单元型类型。

## 2 结果

### 2.1 16S rDNA片段的序列数据

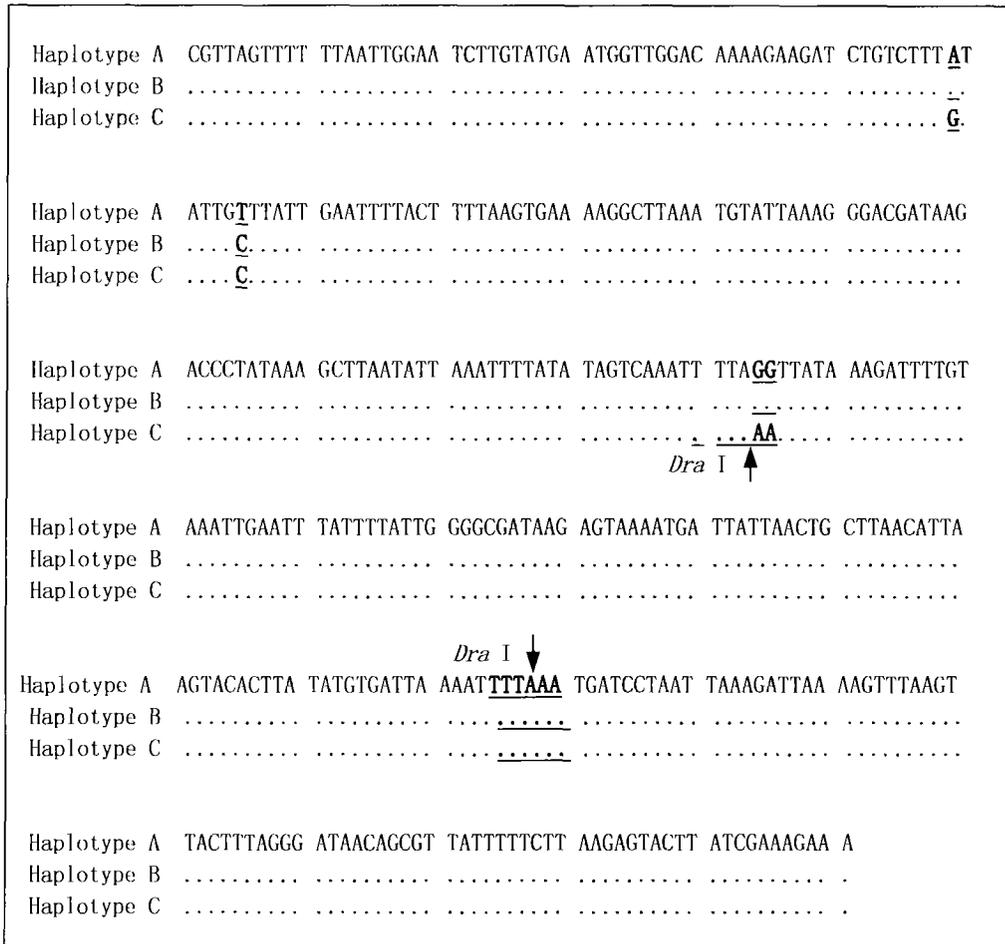
测定了18个个体16S rDNA长度为401 bp片段的序列。比对后,不包括引物区的序列有351 bp,具有4个多态位点,变异位点占序列长度的1.14%。A, T, C, G 4种碱基的平均含量分别是36.8%, 39.1%, 7.9%和16.1%, A+T含量达到75.9%。上述序列已提交GenBank数据库(检索号为:AF411299~AF411316)。

### 2.2 单元型与遗传距离

对上述16S rDNA片段序列进行比较,在18个个体中存在A, B, C 3种单元型,它们在第85, 91, 190和191位4个位点上具有碱基变异(图1)。3种单元型彼此之间的碱基替代分别为A与B发生1次转换,B与C发生3次转换,C与A发生4次转换。单元型A与B之间的遗传距离为0.0029,单元型C与单元型A, B之间的遗传距离为0.0102。

### 2.3 限制性酶切分析

单元型A和B的16S rDNA片段中,具有1个Dra I的酶切位点(图1),酶切后形成2个长度分别为293 bp和108 bp的片段。在单元型C中,由于第190与191位的碱基为AA,形成了Dra I的第2个酶切位点(图1),将293 bp片段切成188 bp与105 bp两个片段,所产生的105 bp与108 bp片段在琼脂糖凝胶中不能够分辨,显示为一条电泳带。单元



分布和数量: 单元型 A, 固城湖 3; 单元型 B, 繁昌 4, 盘锦 3, 瓠江 2; 单元型 C, 闽江 1, 九龙江 1, 南流江 3, 瓠江 1. 不包括引物序列

图 1 6 个水系绒螯蟹 3 种单元型 16S rDNA 核苷酸序列比对与酶切标记

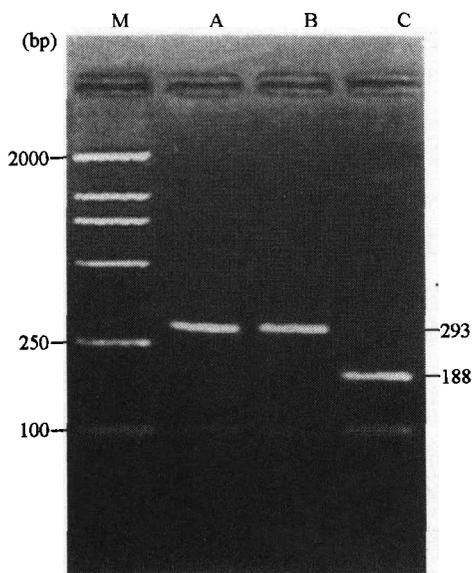


图 2 3 种单元型 16S rDNA 片段 *Dra* I 酶切产物的琼脂糖凝胶电泳

型 A, B 与单元型 C 之间, 在经 *Dra* I 消化的 16S rDNA 酶切片段中, 形成 293 bp 与 188 bp 的片段长度差异(图 2), 可以作为分子鉴定的标记. 但单元型 A 与单元型 B 之间 1 个位点的碱基变异尚不能通过内切酶进行识别.

#### 2.4 6 个水系绒螯蟹 16S rDNA 的 RFLP 检测

以 *Dra* I 酶切片段作标记, 对 6 个水系绒螯蟹的 RFLP 检测结果如表 2 所示. 闽江、九龙江和南流江 3 个水系的绒螯蟹, 与长江水系绒螯蟹及辽河水系绒螯蟹之间在 16S rDNA 第 190 与 191 位点具有固定的碱基替代. 前者均为 AA, 归属于合浦亚种; 后者均为 GG, 归属于中华亚种. 瓠江水系绒螯蟹在该 2 位点的碱基有 AA 和 GG 两种变异类型, 其中, 具有 GG 的检出率占 70%. 长江天然水域绒螯蟹中, 具有 GG 碱基的个体占 94.6%, 另有 5.4% 的个体具有 AA 碱基.

表2 用 *Dra* I 对6个水系绒螯蟹 16S rDNA 片段变异位点的 RFLP 检测

<i>E. j. sinensis</i>		<i>E. j. hepuensis</i>	
水系	变异位点碱基类型 (检出只数/检验只数)	水系	变异位点碱基类型 (检出只数/检验只数)
辽宁盘锦	GG(10/10)	闽江	AA(1/1)
辽河蟹养殖种群 <sup>1)</sup>	GG(12/12)	九龙江	AA(2/2)
长江蟹养殖种群 <sup>2)-4)</sup>	GG(25/25)	南流江	AA(13/13)
长江金河口江段	GG(18/18)		
长江镇江江段	GG(4/5); AA(1/5)		
长江口	GG(13/14); AA(1/14)		
瓯江	GG(7/10); AA(3/10)		

1)~4)同表1注

## 2.5 标记可靠性检验与长江天然水域绒螯蟹单元型的检测

对长江天然水域绒螯蟹 RFLP 鉴定结果的测序检验表明, 在 16S rDNA 第 190~191 碱基位点具有 AA 碱基的个体, 其 16S rDNA 序列均与单元型 C 相同; 具有 GG 碱基的个体, 则分别属于 A, B 两种不同的单元型, 说明 16S rDNA 的 PCR/RFLP 标记的鉴定结果可靠. 长江水域绒螯蟹 3 种单元型的相对数量与分布如表 3 所示.

表3 长江水域绒螯蟹 16S rDNA 的单元型

	A/GG	B/GG	C/AA	个体数
金河口	1	2	0	3
镇江	2	0	1	3
长江口	2	2	1	5
总数	5	4	2	11

斜线上为序列测定结果, A, B, C 表示单元型的类型; 斜线下为 PCR/RFLP 结果, AA, GG 表示变异位点的碱基类型

## 3 讨论

### 3.1 分子鉴定标记

如何应用不同水系绒螯蟹种群之间已知的遗传差异, 来建立准确、便捷的鉴定方法是绒螯蟹资源保护与良种选育中亟待解决的问题. 已有的鉴定方法有形态学判别、同工酶鉴别和 RAPD 鉴别, 但由于技术等方面的问题, 这些方法在实际应用中都存在一定的局限.

早期的分子鉴定多采用同工酶技术, 这种鉴定标记由于存在个体特异性和组织特异性<sup>[5]</sup>, 直接影响到检测结果的可重复性, 在鉴定应用中受到一定局限. 20 世纪 90 年代末, 随着 RAPD 技术的广泛应用, RAPD 标记引起了许多学者的关注. 周开亚

等<sup>[10]</sup>首次应用 RAPD 技术对长江种群与辽河、瓯江种群进行了分子鉴定研究, 在 200 个随机引物中, 筛选到能够鉴别长江种群的 2 个特异性引物. 此后, 李思发等<sup>[11]</sup>使用 RAPD 技术, 找到了鉴别日本绒螯蟹与中华绒螯蟹的分子标记. 并在长江、黄河和辽河种群的鉴别中, 提出以 *Opp17* 扩增的 947 bp 片段出现的频率作为 3 个水系种群间的鉴定标记. 在实际应用中, 这种将片段出现频率作为鉴别定性的标记极易受到待测样品数量的限制而出现误检或漏检, 从而影响到鉴定结果的可靠性. 此外, RAPD 技术对 DNA 模板的质量要求很高, 检测样品之间模板质量的差异会直接影响到检测结果的准确性.

基于 PCR 扩增产物的 RFLP 标记, 可以通过 PCR 方法很好地控制 DNA 片段大小, 从而控制酶切位点数; 又可以扩大模板量, 适用于微量组织样品的分析. 由于检测中仅需要很少量的组织材料, 尤其适于对物种早期发育阶段的鉴别研究. Stepien 等<sup>[18]</sup>利用线粒体 16S rDNA 部分片段的 PCR/RFLP 标记, 对双壳类 4 个近缘种的幼体成功地进行了快速鉴别. 本文的结果表明, 绒螯蟹 16S rDNA 扩增产物经 *Dra* I 酶切片段的长度差异, 可作为合浦亚种与中华亚种特异性的 DNA 分子鉴定标记. 对标记鉴别结果的测序检验显示, 该标记的鉴定结果准确、可重复性好; 未发现个体特异性; 由于扩增片段的长度仅有 401 个核苷酸, 扩增反应对模板 DNA 分子大小的质量要求不高; 成体和幼体组织材料对检测结果无影响. 这个标记为绒螯蟹 2 亚种的鉴别提供了一种准确、易行的分子鉴定方法.

单元型 A 的碱基(第 91 位点)“T”在单元型 B 被“C”替代. 这是可以鉴别中华亚种 2 种单元型的分子标记.

### 3.2 长江绒螯蟹种群现状

长江绒螯蟹的分子鉴定结果表明：(1) 长江下游至长江口的天然绒螯蟹中发现了合浦亚种的单元型 C，平均检出率为 5.4%。在长江口捕捞的蟹苗和镇江江段捕捞的成蟹中均发现单元型 C 的个体，这是否表明人类活动已把南方水系的绒螯蟹引入了长江，造成了长江蟹种源的混杂，值得做进一步的研究；(2) A, B 两种单元型是长江中捕捞到的中华绒螯蟹主要的单元型，很可能都具有长江蟹的优良性状。在江苏和安徽的河蟹原种场中已分别建立了这两种单元型的养殖种群。在江苏高淳固城湖建立的养殖种群属于单元型 A，在安徽繁昌建立的属于单元型 B。这 2 个养殖种群都保存着长江蟹的珍贵基因资源。长江水域绒螯蟹中是否存在更多的单元型，尚需要作进一步的研究。

### 3.3 绒螯蟹的分类

迄今为止，中国大陆绒螯蟹的分类归属，国内外存在 3 方面的意见。一是将中国大陆绒螯蟹分为 2 个不同的物种。其中有 3 种不同观点：(1) 依据形态学、同工酶和 RAPD 指纹标记研究，认为分布于华南地区珠江和南流江的绒螯蟹是日本绒螯蟹 (*Eriocheir japonica* de Haan)，分布于华东、华北及东北地区的是中华绒螯蟹 (*E. sinensis* H. Milne)<sup>[4,7,11]</sup>。(2) 认为分布于广西合浦南流江的绒螯蟹为日本绒螯蟹合浦亚种 (*E. j. hepuensis* Dai)<sup>[19]</sup>。(3) 将日本绒螯蟹合浦亚种提升为种，即合浦绒螯蟹 (*E. hepuensis* Dai)<sup>[20]</sup>。第 2 种意见认为分布于中国大陆的绒螯蟹都属于日本绒螯蟹，中华绒螯蟹是日本绒螯蟹的同物异名<sup>[21]</sup>。第 3 种意见则认为分布于中国大陆的绒螯蟹都属于中华绒螯蟹，产于合浦和珠江的绒螯蟹是中华绒螯蟹的一个地理种群<sup>[22]</sup>。

我们对 16S rDNA 部分序列的研究显示，在分布于闽江、九龙江的绒螯蟹与分布于南流江的合浦亚种种群之间未发现序列歧异，都属于单元型 C，认为属于同一地理亚种。分布于长江、辽河的绒螯蟹属于单元型 A, B 型，两者之间的序列歧异远低于它们与合浦亚种之间的序列歧异。表明单元型 A, B 都属于中华绒螯蟹 (*E. j. sinensis*)。这一结果支持唐伯平将大陆绒螯蟹划分为日本绒螯蟹 2 个亚种的提法。但是，在瓯江种群中，30% 的个体属合浦亚种单元型，70% 属中华亚种单元型，其分类归属有待进一步研究。

**致谢** 本文得到安徽水产新技术研究所赵乃刚研究员的支持和指导，安徽河蟹原种场张小梅、李自保，天津水产研究所马维龄等馈赠部分标本。江苏省水产局和华东师范大学河口海岸国家重点实验室对标本采集给予了大力协助，南京师范大学遗传资源研究所徐信荣先生、高志千、唐伯平和吴平博士等协助采集标本，特致衷心感谢。

### 参 考 文 献

- 1 赵乃刚, 等. 河蟹增养殖新技术. 北京: 中国农业出版社, 1998. 88~126
- 2 王怡平, 等. 中国的河蟹养殖及其发展前景. 水生生物学报, 1999, 23(6): 735
- 3 许加武, 等. 长江、辽河、瓯江中华绒螯蟹种群的形态判别. 水产学报, 1997, 21(3): 269
- 4 李晨虹, 等. 中国大陆沿海 6 水系绒螯蟹(中华绒螯蟹和日本绒螯蟹)群体亲缘关系: 形态判别分析. 水产学报, 1999, 23(4): 237
- 5 郑曙明, 等. 中华绒螯蟹同工酶的研究. 水生生物学报, 1994, 18(2): 183
- 6 王丹, 等. 辽河、长江两水系中华绒螯蟹脂酶和乳酸脱氢酶的同工酶比较研究. 辽宁大学学报, 1995, 22(4): 79
- 7 赵金良, 等. 中国大陆沿海 6 水系绒螯蟹(中华绒螯蟹和日本绒螯蟹)群体亲缘关系: 生化遗传差异分析. 水产学报, 1999, 23(4): 331
- 8 邱涛, 等. RAPD 方法对中华绒螯蟹长江, 辽河, 瓯江三群体的遗传多样性分析. 淡水渔业, 1997, 27(5): 2
- 9 高志千, 等. 中华绒螯蟹遗传变异的 RAPD 分析. 生物多样性, 1998, 6(3): 186
- 10 周开亚, 等. RAPD 标记鉴别中华绒螯蟹种群的初步研究. 应用与环境生物学报, 1999, 5(2): 176
- 11 李思发, 等. 中国大陆沿海 6 水系绒螯蟹(中华绒螯蟹和日本绒螯蟹)群体亲缘关系: RAPD 指纹标记. 水产学报, 1999, 23(4): 325
- 12 Maggioni R, et al. Molecular phylogeny of western Atlantic *Farfantepenaeus* and *Litopenaeus* shrimp based on mitochondrial 16S partial sequences. *Mol Phylogenet Evol*, 2001, 18(1): 66
- 13 Zane L, et al. Molecular evidence for genetic subdivision of Antarctic krill (*Euphausia superba* Dana) populations. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 1998, 291(1413): 2387
- 14 Meyran J C, et al. Taxonomic status and phylogenetic relationships of some species of the genus *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda) deduced from mitochondrial DNA sequences. *Mol Phylogenet Evol*, 1997, 8(1): 1
- 15 Lehman N, et al. A hierarchical molecular phylogeny within the genus *Daphnia*. *Mol Phylogenet Evol*, 1995, 4(4): 395
- 16 Schubart C D, et al. Rapid evolution to terrestrial life in Jamaican crabs. *Nature*, 1998, 393, 363

- 17 Kumar S, et al. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, version 1.02. Pennsylvania: The Pennsylvania State University, University Park, 1993
- 18 Stepien C A, et al. Diagnostic genetic markers and evolutionary relationships among invasive dreissenoid and corbiculoid bivalves in North America; Phylogenetic signal from mitochondrial 16S rDNA. Mol Phylogenet Evol, 1999, 13 (1): 31
- 19 戴爱云. 绒螯蟹属亚种分化的研究(十足目: 短尾派). 系统进化动物学重点实验室论文集(第一集). 北京: 中国科学技术出版社, 1991. 61
- 20 Gao J K, et al. The taxonomy of three commercially important species of mitten crabs of the genus *Eriocheir* de Hann, 1835 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Grapsidae). Raffles Bull Zool, 1997, 45(2): 445
- 21 Li G, et al. Morphometric and biochemical genetic variation of the mitten crab, *Eriocheir*, in southern China. Aquaculture, 1993, 111: 103
- 22 Chan T Y, et al. Identity of *Eriocheir rectus* (Stimpson, 1858) (Decapoda: Brachyura), With description of a new mitten crab from Taiwan. J Crust Biol, 1995, 15(2): 301

## 中国水稻/小麦 FACE 研究在基金支持下取得重要进展

在国家自然科学基金委员会与中国科学院有关部门的支持下, 由中国科学院南京土壤研究所主持的“中国水稻/小麦 FACE 研究”项目经过近 1 年的系统调试和实际观测取得了部分重要成果。

FACE(Free Air CO<sub>2</sub> Enrichment)即在近地面空气中增加二氧化碳浓度. 通过对 FACE 的研究, 进而模拟未来二氧化碳增加的情况下, 研究微域生态环境变化规律. 这一研究可以为未来全球大气中二氧化碳浓度增加, 土壤、植被、农产品的变化提供直接证据. 直至目前为止, 在国际上能够开展 FACE 研究的国家为数不多. 水稻/小麦轮作系统的 FACE 研究在国际尚属首例.

通过近 1 年的观测研究, 取得如下发现和成果:

(1) FACE 处理能显著提高水稻产量, N 素水平相同时, 提高 P 素的施用水平有利于水稻产量的提高, 同时提高了茎鞘中可溶性糖含量;

(2) 在 FACE 条件下, 和正常磷水平的植株相比, 高磷水平导致叶片的 P<sub>n</sub>, g<sub>s</sub> 明显增高, 但 C<sub>i</sub> 没有明显变化. 高磷水平的水稻叶片的可溶性蛋白、Rubisco 和 Rubisco 活化酶含量都要比正常磷水平高;

(3) 土壤脲酶、磷酸酶和蔗糖酶活性随水稻生育期变化而变化, 生长初、后期酶活性变化较小, 生长盛期酶活性增加较大;

(4) 在 FACE 条件下, 土壤养分循环中碳、氮以及地下、地上生物量发生显明变化;

(5) 在 FACE 条件下, 痕量气体排放变化量不大. 但是, 在高氮处理条件下, 水稻生长初期, 大气 CO<sub>2</sub> 会显著促进土壤(水)与植物呼吸排放 CO<sub>2</sub>.

(供稿: 韩建国、杜生明、陆则慰、宋长青、冷疏影)