

大气 O₃ 浓度升高对 2 种基因型矮菜豆根际微生物的影响

王曙光¹, 宫文亮¹, 王效科^{2,3*}, 刁晓君⁴

(1. 北京化工大学环境科学与工程系, 北京 100029; 2. 中国科学院生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085; 3. 北京城市生态系统研究站, 北京 100085; 4. 中国环境科学研究院城市环境系统工程研究室, 北京 100012)

摘要:在模拟的大气臭氧浓度升高环境中,用磷脂脂肪酸方法(PLFA)分析大气臭氧浓度升高和接种丛枝菌根(AM)真菌对臭氧敏感性不同的 2 种基因型矮菜豆(臭氧敏感性: S156; 臭氧耐受性: R123)根际和菌丝际微生物量及群落结构的影响,旨在明确大气臭氧浓度变化对植物根际微生物的影响,为全面评价臭氧浓度升高对土壤-植物生态系统的影响提供参考. 结果表明,2 种基因型植物的菌根侵染率受 O₃ 影响明显不同, S156 植物的菌根侵染率在 O₃ 50 和 80 nL·L⁻¹ 下明显下降,而 R123 植物的菌根侵染率仅在 O₃ 80 nL·L⁻¹ 时下降. 在 O₃、AM、植物基因型单独及复合作用下,根际放线菌(分别受 genotype、O₃ × AM、O₃ × AM × genotype 影响)和菌丝际革兰氏阳性细菌的生物量(分别受 O₃、AM、AM × genotype 影响)最易受影响. 对于 S156 植物,接种 AM 真菌或 O₃ 浓度升高均可改变根际微生物群落结构,且两者复合作用增强了对根际微生物群落结构的影响,但 O₃ 浓度升高仅显著影响菌根化植物菌丝际的微生物群落结构. 对于 R123 植物, O₃ 浓度升高或接种 AM 真菌均能改变根际微生物的群落结构,但两者复合作用对根际微生物群落结构影响不显著;仅 80 nL·L⁻¹ O₃ 对菌丝际微生物群落结构有显著影响. 本研究表明, O₃ 浓度升高或接种 AM 真菌均能不同程度地影响根际和菌丝际的微生物量和群落结构,但它们的复合影响则与宿主植物对 O₃ 的敏感性有关.

关键词: O₃ 敏感性植物; O₃ 耐受性植物; 丛枝菌根; 高浓度臭氧; 微生物群落结构; 微生物量

中图分类号: X171.5; X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)10-3033-07

Effect of Elevated O₃ on Rhizosphere Microorganisms of Two Genotypes of Snap Bean

WANG Shu-guang¹, GONG Wen-liang¹, WANG Xiao-ke^{2,3}, DIAO Xiao-jun⁴

(1. Department of Environmental Engineering and Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China; 2. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 3. Beijing Urban Ecosystem Research Station, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 4. Office of Urban Environmental Systems Engineering, Chinese Research of Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China)

Abstract: In open top chamber (OTC), elevated atmospheric ozone was simulated to investigate effects of elevated O₃ or/and arbuscular mycorrhizae (AM) inoculation on microbial biomass and microbial community structure (MCR) in rhizosphere and hyphosphere of two genotypes (O₃-sensitive: S156; O₃-tolerant: R123) of snap bean by phospholipid fatty acids (PLFA) method. The objective was to clarify the effect of elevated ozone on rhizosphere microorganism and provide evidence for evaluating the influence of elevated ozone on soil-plant system. The result showed that mycorrhizal colonization rates in two genotypes presented significantly different responses to elevated O₃. Relative to ambient O₃, mycorrhizal colonization rate of S156 plant decreased at both 50 nL·L⁻¹ and 80 nL·L⁻¹ O₃, but it only decreased at 80 nL·L⁻¹ O₃ in R123 plant. Biomass of actinomycetes in rhizosphere and Gram-positive bacteria in hyphosphere showed more sensitive to the treatments than others. Actinomycete biomass was significantly affected by plant genotypes, O₃ × AM and O₃ × AM × genotype, and Gram-positive bacterial biomass was affected O₃, AM and AM × genotype. In S156 plant, AM inoculation and elevated O₃ affected alone MCR in rhizosphere, and their interaction showed greater effect on MCR than single factor. But elevated O₃ only altered MCR in hyphosphere of mycorrhizal plant. In R123 plant, elevated O₃ and AM inoculation altered alone MCR in rhizosphere, but their interaction was slight effect on MCR. MCR in hyphosphere was only affected by 80 nL·L⁻¹ O₃. The conclusion of this study was that elevated O₃ and AM inoculation can alter alone microbial biomass and community in rhizosphere and hyphosphere, but their interaction depended on sensitivity of host plant to ozone.

Key words: O₃-sensitive plant; O₃-tolerant plant; arbuscular mycorrhizae (AM); elevated O₃; microbial community structure; microbial biomass

收稿日期: 2011-04-13; 修订日期: 2011-06-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(40701180); 中央高校科研业务费项目(ZZ1106, ZD0904)

作者简介: 王曙光(1973~), 男, 博士, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: shgwang2002@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail: wangxk@rcees.ac.cn

近年来,全球近地层大气 O_3 浓度在以每年 0.3%~2.0% 的速度持续增加,这种异常现象已引起多国学者和政府的高度关注^[1-3]. 在我国,近地层大气 O_3 浓度也随着工业、交通运输业及城市化进程的加快而快速增加,尤其在经济较为发达的东南沿海地区和部分大城市, O_3 浓度超过国家标准几倍甚至十几倍时有发生,严重威胁了人体健康和农业生产^[4,5]. 陈仁杰等^[6]于 2008 年对上海市区的研究发现,近地面臭氧污染导致居民 1 892 例早逝和 26 049 例住院,全年因健康经济损失达 32.42 亿元. 按目前的 O_3 增加速度和农业生产方式,到 2020 年 O_3 污染将使我国大豆产量损失增加 28%~35%,小麦、水稻和玉米产量损失比 1990 年增加 2%~16%,相关的经济损失将增加 82%、33% 和 67%^[3],这对以农业为主的我国来说,影响是巨大的. 因此,有必要加大对我国近地层大气臭氧浓度升高对土壤-植物生态系统影响的研究.

根际微生物是植物-土壤物质交换的参与者、推动者和根际环境的维护者,直接影响植物生长、土壤养分循环和凋落物腐烂^[7],而土壤养分状况还直接影响植物对臭氧胁迫的响应^[8],所以,根际微生物在植物对大气 O_3 胁迫响应中具有重要意义. 然而,目前有关 O_3 胁迫对植物影响的研究多集中在植物地上部分,如光合作用、抗氧化系统、光合产物分配、产量等^[9-11],但对土壤生态系统尤其根际生物对大气 O_3 胁迫的响应研究较少. 虽然臭氧不能穿透土层直接对土壤生态系统和根际生物产生影响,但臭氧对植物根系生物量、根系分泌物和碳分配的改变显示其可能间接影响根际生物活性,因为根际微生物很容易受这些变化的影响^[12,13]. 此外,现有的少量研究也表明臭氧浓度升高对土壤微生物的影响,但是结果并不一致,刺激^[14,15]、抑制^[16,17]和无影响^[18,19]都有报道. 笔者认为,出现这种情况可能与植物种类、臭氧浓度及熏气方式、微生物分析方法等有一定关系. 特别是植物种类,不仅对臭氧敏感性差异很大,而且不同种类植物的根际微生物种群结构差别很大^[20].

丛枝菌根(AM)真菌是一种分布广泛的、与高等植物根系共生的微生物,其通过侵染植物细根系形成 AM 共生结构. 业已证明,AM 在增加植物对移动性差的养分吸收,改善根际微环境,增强植物对干旱、污染、贫瘠、酸化等逆境胁迫的抵抗能力,促进植物生长等方面作用显著^[21]. 分析认为,AM 导致的植物根际环境变化是菌根化植物优势于非菌根化植

物的主要原因之一^[22,23]. 然而,在臭氧浓度升高环境中,AM 对根际生物结构是否具有类似的影响还不是很清楚,相关研究也比较少,仅有几篇关于 O_3 对 AM 侵染率和 AM 菌根化植物生长影响的报道,且结果也不一致^[24-26].

针对现有研究中存在的问题,本研究选择同一种植物的不同基因型(分别为 O_3 敏感性和 O_3 耐受性)作为供试植物,以尽量消除不同种类植物在根际微生物种群结构方面的差异,采用同样的臭氧熏气方式和土壤微生物分析方法探讨大气臭氧浓度升高对不同臭氧敏感性植物根际生物群落结构的影响. 同时,基于 AM 真菌分布的广泛性和其在土壤-植物生态系统中的功能多样性,考察了接种 AM 真菌对植物根际微生物对臭氧浓度变化响应的影响,以期阐明大气 O_3 浓度升高对土壤-植物生态系统的影响及机制提供参考.

1 材料与方法

1.1 土壤和实验盆钵

土壤取自北京市昌平区兴寿镇某农田,基本理化性质如下:有机质含量 $12.3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,全氮 $0.8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效磷 $11.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效钾 $78.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,pH 8.8. 取 0~20 cm 土壤,风干,除去大的植物根系,过 2 mm 筛. 121°C 下湿热灭菌 30 min,连续 3 d 灭菌 3 次,以消除土著微生物的影响.

实验盆钵为五室根箱(图 1),由有机玻璃组成,根室与菌丝室中间由 $75\text{ }\mu\text{m}$ 尼龙网隔开,菌丝室与边室由 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 醋酸纤维素膜隔开,在尼龙网和醋酸纤维膜外侧可分别获得严格意义上的根际和菌丝

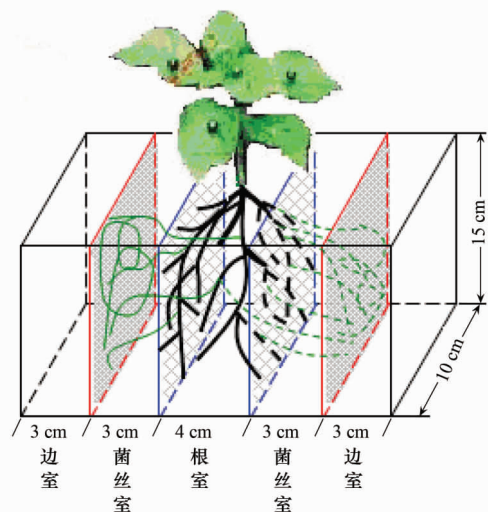


图 1 根箱示意

Fig. 1 Schematic drawing of rhizobox

际土样. 根室种植植物, 接种 AM 真菌.

1.2 供试植物和 AM 菌剂

以 2 种基因型不同的矮菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) 为供试植物, 代号分别为 S156 (简称“S”) 和 R123 (简称“T”). 实验表明 S156 属于 O₃ 敏感性植物, 而 R123 属于 O₃ 耐受性植物^[27]. 选取籽粒饱满、大小一致的种子, 在 30% H₂O₂ 中浸泡 10 min, 取出后用蒸馏水冲洗种子表面的 H₂O₂. 暗室中 25℃ 萌发 48 h 后移栽至实验盆钵中.

AM 真菌为 *Glomus aggregatum*, 菌剂由根系、菌丝、孢子和沙粒组成. 该菌是根据前期菌株筛选实验结果确定的. 接种处理中, 菌剂用量为根室土重的 5%. 非接种处理中, 接种 5% 的灭过菌的菌剂. 仅根室土壤接受接种或不接种处理.

1.3 实验处理

实验处理采用三因子设计, 即臭氧浓度 (自然浓度 20 nL·L⁻¹ ± 5 nL·L⁻¹、中浓度 50 nL·L⁻¹ ± 8 nL·L⁻¹、高浓度 80 nL·L⁻¹ ± 10 nL·L⁻¹)、植物基因型 (S156、R123)、AM 真菌 (接种、不接种). 每个处理 3 个重复. 臭氧熏气在植物 OTC 中进行^[17], OTC 内温度白天控制在 20 ~ 25℃, 晚上控制在 15 ~ 20℃, 相对湿度 50% ~ 85%, 光照强度 280 μmol·(m²·s)⁻¹, 光照持续时间 10 h. 每天熏气时间为 09:00 ~ 17:00, 臭氧熏气持续 70 d. 臭氧气体由臭氧发生器产生, 经气体质量流量计调控至目标臭氧浓度. 生长箱中的臭氧浓度由臭氧监测仪实时监测和记录 (美国热电公司, i490). 实验期间, 每天熏气开始前打开生长箱浇水, 更换盆钵位置, 以减少由于位置差异导致的实验误差.

1.4 分析方法

植物收获后, 取 2 g 新鲜根系用交叉划线法测根系侵染率^[28]. 土壤微生物生物量和微生物群落结构分析采用磷脂脂肪酸 (PLFA) 方法, 具体操作过程和 PLFA 命名原则参见文献 [29] 的方法. 标记性 PLFA 规定如下: 直链、单不饱和 PLFA 作为革兰氏阴性细菌的标记性脂肪酸^[30], 支链 PLFAs 作为革兰氏阳性细菌标记性脂肪酸^[31], 甲基 PLFAs 作为放线菌标记性脂肪酸^[32], 直链、多不饱和 PLFA 作为真菌标记性脂肪酸^[33]. 生物量以标记性 PLFA 占总 PLFA 百分比计算.

1.5 统计分析

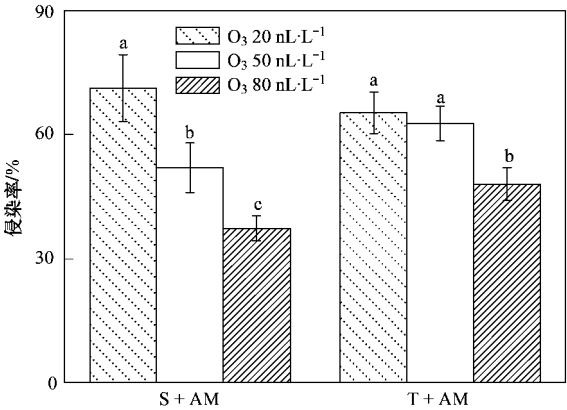
使用 SPSS 13.0 软件对所有数据进行 ANOVA 分析, 用 Multivariate 分析 O₃、AM 真菌、植物基因型及其复合作用对各指标的影响. 对 PLFAs (以摩尔

分数表示) 进行主成分分析 (PCA). Duncan 分析用于判断不同处理间的显著性差异. *P* < 0.05 被认为差异显著.

2 结果与讨论

2.1 菌根侵染率的变化

菌根侵染率是反映丛枝菌根真菌与植物建立共生关系程度的指标, 其在很大程度上影响着 AM 的功能, 研究也表明 AM 真菌侵染植物的程度与植物表现出的受益程度有很大关系^[34]. 虽然 O₃ 穿透力比较差, 不能直接影响处在土层下几 cm 或几十 cm 的 AM 真菌菌丝、孢子和其他侵染体, 但是由于 AM 真菌属于专性活体营养微生物, 生长严格依赖宿主植物的光合产物, 而已有研究表明高浓度 O₃ 会降低植物的光合作用和光合产物向根系的分配^[9, 12], 所以, 高浓度 O₃ 仍可能影响菌根侵染率. 在本研究中, 由于土壤经过了灭菌处理, 所以在未接种 AM 真菌处理中没有或仅观察到极低 (< 5%) 的菌根侵染率, 可以认为植物没受 AM 真菌侵染 (图 2 中未示出). 相反, 在接种 AM 真菌处理中, 臭氧浓度升高显著抑制了 S156 植物的菌根侵染率 (图 2), 50 nL·L⁻¹ 和 80 nL·L⁻¹ O₃ 时菌根侵染率分别比正常大气臭氧水平时 (20 nL·L⁻¹) 降低 27.1% 和 47.7%, 但在 R123 植物上, 仅 80 nL·L⁻¹ O₃ 明显导致了侵染率的下降, 比正常大气臭氧浓度时下降 26.5%. 这与 McCool 等^[24]的研究结果类似, 他们发现臭氧降低了西红柿的菌根侵染率, 原因可能是臭氧浓度升高导致的光合作用下降及光合产物向根系



S + AM 表示 S156 植物接种 AM 真菌, T + AM 表示 R123 植物接种 AM 真菌; 图中数值为平均值 + 标准偏差

图 2 大气臭氧浓度升高对 2 种基因型植物菌根侵染率的影响

Fig. 2 Effects of elevated atmospheric O₃ on mycorrhizal colonization rate of two genotypes

分配减少抑制了 AM 的形成^[35]. 然而, 本研究结果与 Duckmanton 等^[25] 的报道相反, 他们发现高浓度臭氧对总菌根侵染率没有显著影响, 但导致泡囊、菌丝圈和内生菌丝侵染比例增加, 以及丛枝侵染比例的下降. 这可能与宿主植物种类、AM 真菌种类、O₃ 浓度及熏气方式等有很大关系. 在 Duckmanton 等^[25] 的研究中, 使用 1a 苗龄的糖槭 (*Acer saccharum*) 苗分别在 ×0、×1、×1.5、×3 倍自然 O₃ 浓度环境中熏气了 1 个和 2 个生长季, 属于长期熏气. 此外, 土壤未经灭菌, 侵染率来自土著 AM 真菌, 并且作者也指出侵染率不能排除有致病真菌和其他内生真菌的影响.

2.2 根际微生物生物量的变化

由表 1 可以看出, O₃ 熏气显著增加了根际革兰氏阴性细菌标记性 PLFA 的相对比例, 但明显降低了根际革兰氏阳性细菌标记性 PLFA 的相对比例. 接种 AM 真菌对 4 类根际微生物的 PLFA 相对比例没有明显影响. 2 种基因型植物的根际真菌和放线菌 PLFA 相对比例差异较明显. 复合影响方面, O₃ × AM × Genotype 和 O₃ × AM 影响真菌标记性 PLFA 的相对比例, 而 AM × Genotype 影响革兰氏阴性细菌标记性 PLFA 的相对比例.

表 1 大气臭氧浓度升高对 2 种基因型植物根际微生物生物量的影响¹⁾/%

Table 1 Effect of elevated atmospheric O₃ on microbial biomass in rhizosphere of two genotypes/%

处理	G ⁻ -PLFA	G ⁺ -PLFA	F-PLFA	A-PLFA
S + 20 nL · L ⁻¹ O ₃	34.3	28.2	11.0	4.2
S + 50 nL · L ⁻¹ O ₃	37.6	25.4	9.8	5.0
S + 80 nL · L ⁻¹ O ₃	39.1	23.0	11.6	3.3
S + AM + 20 nL · L ⁻¹ O ₃	36.6	25.0	10.8	5.1
S + AM + 50 nL · L ⁻¹ O ₃	41.4	21.7	11.5	3.9
S + AM + 80 nL · L ⁻¹ O ₃	38.7	24.3	10.2	4.6
T + 20 nL · L ⁻¹ O ₃	37.2	25.7	10.2	4.7
T + 50 nL · L ⁻¹ O ₃	37.1	24.8	10.4	5.2
T + 80 nL · L ⁻¹ O ₃	38.0	24.3	10.4	5.0
T + AM + 20 nL · L ⁻¹ O ₃	36.4	25.1	10.2	5.3
T + AM + 50 nL · L ⁻¹ O ₃	36.8	25.5	10.3	5.4
T + AM + 80 nL · L ⁻¹ O ₃	36.2	25.4	10.5	5.4
ANOVA				
O ₃	0.042	0.040	NS	NS
AM	NS	NS	NS	NS
Genotype	NS	NS	0.028	0.003
O ₃ × AM	NS	NS	0.028	NS
O ₃ × Genotype	NS	NS	NS	NS
AM × Genotype	0.043	NS	NS	NS
O ₃ × AM × Genotype	NS	NS	0.013	NS

1) NS 表示差异不显著 ($P > 0.05$); G⁻-PLFA、G⁺-PLFA、F-PLFA、A-PLFA 分别代表革兰氏阴性细菌 PLFA、革兰氏阳性细菌 PLFA、真菌 PLFA 和放线菌 PLFA; S 和 T 分代表 S156 矮菜豆和 R123 矮菜豆, 下同

Phillips 等^[36] 发现高浓度臭氧导致真菌 PLFA 下降而细菌 PLFA 上升, 这与本研究的结果不一致, 可能是因为, 在他们的研究中, PLFA 来自特殊功能菌群, 即在土壤中添加 ¹³C 标记的基质, 经过一定时间后提取微生物中的 ¹³C-PLFA, 这样得到的 PLFA 仅来自能代谢 ¹³C-基质的微生物^[37], 并非全微生物. 而在笔者的研究中, PLFA 提取自全微生物. 本实验中, 接种 AM 真菌对 2 种基因型植物根际微生物数量没有明显影响, 这也与已有的大多研究不一致. 无论是在污染还是逆境环境中, 接种 AM 真菌大都可促进根际微生物量^[21]. 可能的原因是, 在 O₃ 胁迫环境中, AM 对根际微生物的促进作用被根系碳分配的减少降低或抵消了^[9].

与根际微生物响应不同, 菌丝际革兰氏阳性细菌和放线菌受接种 AM 真菌影响显著 (表 2), 这是因为未接种植物不存在菌丝际, 虽然也是在 0.45 μm 处取得的土样, 但其实跟普通土壤没有实质区别, 不受根系和菌丝的影响, 所以也几乎不受 O₃ 熏气影响, 而接种植物的菌丝际是由 AM 外生菌丝形成的特殊微域, 可能受 O₃ 熏气影响, 两者对比很易出现显著性差异. 此外, O₃ 熏气改变了菌丝际革兰氏阳性细菌和真菌 PLFA 的相对比例, 这可能与碳分配改变导致菌丝量发生变化有关. 2 种基因型植物菌丝际革兰氏阳性细菌和真菌显著不同, 这是由于 2 种基因型植物对臭氧胁迫的响应不同所致. 然而, 复合影响仅出现在 AM × Genotype 中.

表 2 大气臭氧浓度升高对 2 种基因型植物菌丝际微生物生物量的影响/%

Table 2 Effect of elevated atmospheric O₃ on microbial biomass in hyphosphere of two genotypes/%

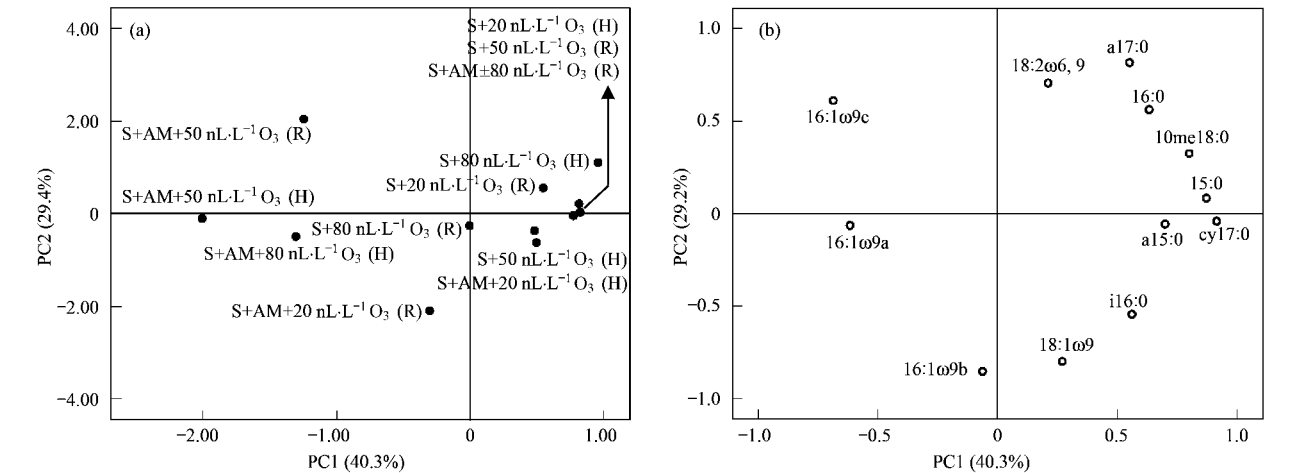
处理	G ⁻ -PLFA	G ⁺ -PLFA	F-PLFA	A-PLFA
S + 20 nL · L ⁻¹ O ₃	37.6	25.8	10.4	4.1
S + 50 nL · L ⁻¹ O ₃	40.3	24.0	9.9	3.8
S + 80 nL · L ⁻¹ O ₃	42.1	26.2	7.8	3.5
S + AM + 20 nL · L ⁻¹ O ₃	39.5	23.8	10.1	4.7
S + AM + 50 nL · L ⁻¹ O ₃	45.1	21.3	10.4	3.5
S + AM + 80 nL · L ⁻¹ O ₃	46.1	21.0	8.9	3.4
T + 20 nL · L ⁻¹ O ₃	38.5	23.7	12.2	3.7
T + 50 nL · L ⁻¹ O ₃	40.1	22.9	10.3	3.5
T + 80 nL · L ⁻¹ O ₃	39.9	23.7	11.1	3.6
T + AM + 20 nL · L ⁻¹ O ₃	38.0	24.5	10.6	4.7
T + AM + 50 nL · L ⁻¹ O ₃	39.3	23.8	10.1	4.5
T + AM + 80 nL · L ⁻¹ O ₃	36.5	25.5	9.6	5.4
ANOVA				
O ₃	NS	0.022	0.030	NS
AM	NS	0.016	NS	0.018
Genotype	0.007	NS	0.018	NS
O ₃ × AM	NS	NS	NS	NS
O ₃ × Genotype	NS	NS	NS	NS
AM × Genotype	0.019	0.000	NS	0.041
O ₃ × AM × Genotype	NS	NS	NS	NS

2.3 根际微生物群落结构的变化

在主成分分析中,由于 PC1 对整个 PLFA 总变异的贡献率远大于 PC2 (S156 植物: 40.3% 和 29.4%; R123 植物: 65.8% 和 12.2%, 因此重点分析 PLFA 图谱沿 PC1 的变化.

由图 3(a)可以看出,对非菌根化植物来说, 80 nL·L⁻¹ O₃ 改变了 S156 植物根际微生物的群落结构,因为 S + 80 nL·L⁻¹ O₃ (R) 在 PC1 上的载荷值与 S + 20 nL·L⁻¹ O₃ (R) 和 S + 50 nL·L⁻¹ O₃ (R) 有显著差异,但后两者差异不显著. 接种 AM 真菌后 S + AM + 20 nL·L⁻¹ O₃ (R) 和 S + 20 nL·L⁻¹ O₃ (R) 在 PC1 上的载荷值差异显著,表

明接种 AM 真菌改变了根际微生物群落结构. O₃ 熏气也显著改变了菌根化植物根际的微生物群落结构,因为 S + AM + 80 nL·L⁻¹ O₃ (R)、S + AM + 50 nL·L⁻¹ O₃ (R)、S + AM + 20 nL·L⁻¹ O₃ (R) 三者 在 PC1 上的载荷值差异显著,这也表明接种 AM 真菌增加了 S156 植物根际微生物对 O₃ 胁迫的响应. 非菌根化植物菌丝际的微生物群落结构不受 O₃ 熏气影响,而菌根化植物菌丝际的微生物群落结构则受 O₃ 熏气影响明显,因为 S + AM + 80 nL·L⁻¹ O₃ (H)、S + AM + 50 nL·L⁻¹ O₃ (H)、S + AM + 20 nL·L⁻¹ O₃ (H) 三者 在 PC1 上的载荷值差异显著.



(R)表示根际,(H)表示菌丝际;S表示 S156 矮菜豆,T表示 R123 矮菜豆,下同

图 3 臭氧浓度升高和接种 AM 真菌对 S156 植物根际微生物 PLFA 图谱和标记性 PLFA 载荷值的影响

Fig. 3 Effects of elevated O₃ and AM inoculation on PLFAs patterns and loading values for individual PLFAs in S156 plant

就标记性 PLFA 来说[图 3(b)],大多数 PLFA 分布在 PC1 的右端,表明它们在非菌根化植物根际和菌丝际含量普遍较高,而 16:1ω9a、16:1ω9b 与 PC1 呈负相关,表明部分革兰氏阴性细菌在菌根化植物菌丝际含量较高.

图 4 是 O₃ 耐性植物 R123 根际微生物群落结构随 O₃ 熏气和接种 AM 真菌的变化. 由图 4(a)可以看出, R123 植物的根际和菌丝际土壤微生物群落结构明显不同,根际微生物群落结构主要分布在载荷图的右侧,与 PC1 呈正相关,而菌丝际微生物群落结构主要分布在载荷图的左侧,与 PC1 呈负相关. 臭氧浓度增加改变了根际微生物的群落结构,因为 80 nL·L⁻¹ O₃ 和 50 nL·L⁻¹ O₃ 在 PC1 上的载荷值与 20 nL·L⁻¹ O₃ 差异显著. 但接种 AM 真菌后,根

际微生物群落结构不受 O₃ 熏气的影响,因为 3 个 O₃ 浓度下的微生物群落结构在 PC1 上的载荷值差异不显著. 然而,与非菌根化植物相比,接种 AM 真菌改变了根际微生物群落结构,因为 T + AM + 20 nL·L⁻¹ O₃ (R) 和 T + 20 nL·L⁻¹ O₃ (R) 在 PC1 的载荷值差异显著. 虽然 PC2 仅占 PLFA 总变异的 12.2%,但从 PC2 来看,T + 20 nL·L⁻¹ O₃ (R)、T + 50 nL·L⁻¹ O₃ (R)、T + 80 nL·L⁻¹ O₃ (R) 分布在第一象限,而 T + AM + 20 nL·L⁻¹ O₃ (R)、T + AM + 50 nL·L⁻¹ O₃ (R)、T + AM + 80 nL·L⁻¹ O₃ (R) 分布在第四象限,也表明接种 AM 真菌改变了根际的微生物群落结构.

从 PC1 来看,非菌根化植物菌丝际[T + 20 nL·L⁻¹ O₃ (H)、T + 50 nL·L⁻¹ O₃ (H)、T + 80

$\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}\text{O}_3(\text{H})$]主要分布在沿 PC1 靠近原点附近,三者 在 PC1 上的载荷值差异不显著;菌根化植物的 菌丝际分布在 PC1 的偏左端, $\text{T}+\text{AM}+80\text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$

$\text{O}_3(\text{H})$ 在 PC1 上的载荷值与 $\text{T}+\text{AM}+20\text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}\text{O}_3(\text{H})$ 和 $\text{T}+\text{AM}+50\text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}\text{O}_3(\text{H})$ 差异显著,表明 高浓度臭氧改变菌丝际的微生物群落结构.

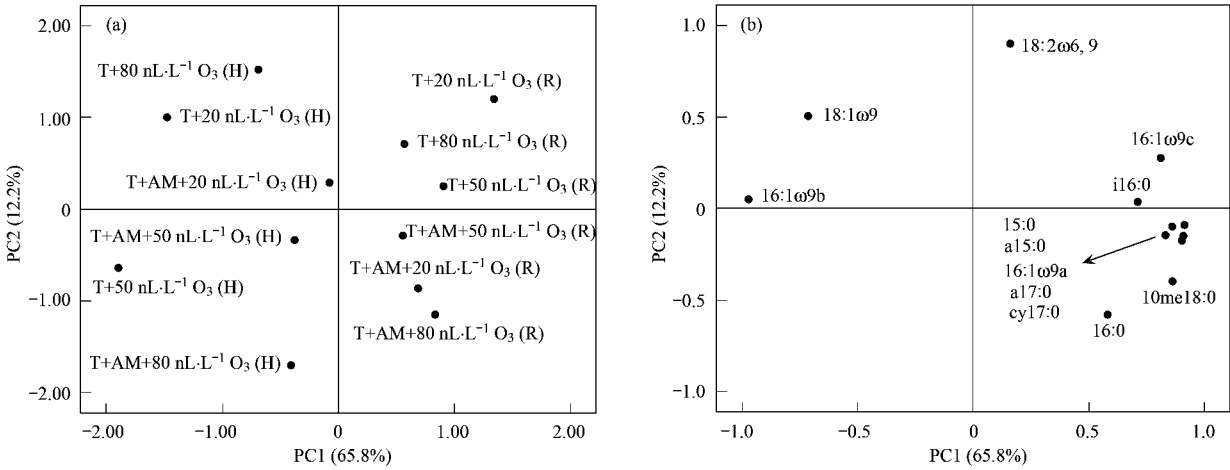


图 4 臭氧浓度升高和接种 AM 真菌对 R123 植物根际微生物 PLFA 图谱和标记性 PLFA 载荷值的影响
Fig.4 Effects of elevated O₃ and AM inoculation on PLFAs patterns and loading values for individual PLFAs in R123 plant

就标记性 PLFA 来说,大部分 PLFA 在根际含量 较高,因为它们分布在 PC1 的偏右端[图 4(b)]. 而部分革兰氏阴性细菌 PLFA 16:1ω9b、18:1ω9 分布 在 PLFA 图谱的偏左侧,与 PC1 呈负相关,表明部分 革兰氏阴性细菌在菌根化植物的菌丝际含量较高.

3 结论

(1)大气臭氧浓度升高抑制了 2 种基因型植物 的菌根侵染率,尤其是 O₃ 敏感性植物 S156.

(2)根际和菌丝际微生物生物量受 O₃、AM、植 物基因型及其复合作用的影响,尤其根际放线菌和 菌丝际革兰氏阳性放线菌最为敏感.

(3)2 种基因型植物根际和菌丝际的微生物群 落结构受 O₃ 熏气和接种 AM 真菌的影响,但其复合 作用受宿主植物对 O₃ 敏感性的影响.

致谢:非常感谢 University of Massachusetts 的 William Manning 教授提供植物种子.

参考文献:

[1] ICPP. Climate change 2001: the scientific basis. Technical summary [R]. URL: <http://www.ipcc.ch/pub/wglTARtechsum.pdf>, 2001.
[2] EEA. Air Pollution in Europe 1990- 2004. European Environment Agency[R]. Report No. 2/2007; 2007. 79.
[3] Wang X, Mauzerall D L. Characterizing distributions of surface ozone and its impact on grain production in China, Japan and South Korea; 1990 and 2020 [J]. Atmospheric Environment, 2004, **38**: 4383-4402.

[4] Geng F H, Zhao C S, Tang C, et al. Analysis of ozone and VOCs measured in Shanghai: A case study [J]. Atmospheric Environment, 2007, **41**: 989-1001.
[5] Wang X, Manning W, Feng Z W, et al. Ground-level ozone in China: Distribution and effects on crop yields [J]. Environmental Pollution, 2007, **47**: 394-400.
[6] 陈仁杰,陈秉衡,阚海东.上海市近地面臭氧污染的健康影响评价[J].中国环境科学,2010,**30**(5):603-608.
[7] 陆雅海,张福锁.根际微生物研究进展[J].土壤,2006,**38**(2):113-121.
[8] Pääkkönen E, Holopainen T. Influence of nitrogen supply on the response of clones of birch (*Betula pendula* Roth.) to ozone [J]. New Phytologist, 1995, **129**: 595-603.
[9] Andersen C P. Source-sink balance and carbon allocation below ground in plants exposed to ozone [J]. New Phytologist, 2003, **157**: 213-228.
[10] Guidi L, Degl'Innocenti E, Genovesi S, et al. Photosynthetic process and activities of enzymes involved in the phenylpropanoid pathway in resistant and sensitive genotypes of *Lycopersicon esculentum* L. exposed to ozone [J]. Plant Science, 2005, **168**: 153-160.
[11] Akhtar N, Yamaguchi M, Inada H, et al. Effects of ozone on growth, yield and leaf gas exchange rates of four Bangladeshi cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Environmental Pollution, 2010, **158**: 2970-2976.
[12] McCrady J K, Andersen C P. The effect of ozone on below-ground carbon allocation in wheat [J]. Environmental Pollution, 2000, **107**: 465-472.
[13] Fu S L, Zou X M, Coleman D. Highlights and perspectives of soil biology and ecology research in China [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2009, **41**: 868-876.

- [14] Scagel C F, Andersen C P. Seasonal changes in root and soil respiration of ozone-exposed ponderosa pine (*Pinus ponderosa*) grown in different substrates [J]. *New Phytologist*, 1997, **136**: 627-643.
- [15] Yoshida L C, Gamon J A, Andersen C P. Differences in above- and below-ground responses to ozone between two populations of a perennial grass [J]. *Plant and Soil*, 2001, **233**: 203-211.
- [16] Islam K R, Mulchi C L, Ali A A. Interactions of tropospheric CO₂ and O₃ enrichments and moisture variations on microbial biomass and respiration in soil [J]. *Global Change Biology*, 2000, **6**: 255-265.
- [17] Chen Z, Wang X K, Feng Z Z, *et al.* Impact of elevated O₃ on soil microbial community function under wheat crop [J]. *Water, Air and Soil Pollution*, 2009, **198**: 189-198.
- [18] Dohrmann A B, Tebbe C C. Effect of elevated tropospheric ozone on the structure of bacterial communities inhabiting the rhizosphere of herbaceous plants native to Germany [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**: 7750-7758.
- [19] Dohrmann A B, Tebbe C C. Genetic profiling of bacterial communities from the rhizospheres of ozone damaged *Malva sylvestris* (Malvaceae) [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2006, **42**: 191-199.
- [20] Smalla K G, Wieland A, Buchner A, *et al.* Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**: 4742-4751.
- [21] Van der Heijden M G A, Sanders I R. *Mycorrhizal Ecology* [M]. New York: Springer-Verlag, 2002.
- [22] Mansfeld-Giese K, Larsen J, Bødker L. Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, **41**: 133-140.
- [23] Johansson J F, Paul L R, Finlay R D, *et al.* Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **48**: 1-13.
- [24] McCool P M, Menge J A. Influence of ozone on carbon partitioning in tomato: potential role of carbon flow in regulation of the mycorrhizal symbiosis under conditions of stress [J]. *New Phytologist*, 1983, **94**: 241-247.
- [25] Duckmanton L, Widden P. Effect of ozone on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in sugar maple saplings [J]. *Mycologia*, 1994, **86**: 181-186.
- [26] Miller J E, Shafer S R, Schoeneberger M M, *et al.* Influence of a mycorrhizal fungus and/or rhizobium on growth and biomass partitioning of subterranean clover exposed to ozone [J]. *Water, Air and Soil Pollution*, 1997, **96**: 233-248.
- [27] Flowers M D, Fiscus E L, Burkey K O, *et al.* Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and yield of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes differing in sensitivity to ozone [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, **61**: 190-198.
- [28] McGonigle T P, Miller M H, Evans D G, *et al.* A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *New Phytologist*, 1990, **115**: 495-501.
- [29] Frostegård Å, Bååth E, Tunlid A. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1993, **25**: 723-730.
- [30] Wilkinson S G. Gram-negative bacteria [A]. In: Ratledge C, Wilkinson S G. (Eds.). *Microbial Lipids* [M]. London: Academic Press, 1988. 299-488.
- [31] O'Leary W M, Wilkinson S G. Gram-positive bacteria [A]. In: Ratledge C, Wilkinson S G. (Eds.). *Microbial Lipids* [M]. London: Academic Press, 1988. 117-202.
- [32] Kroppenstedt R M. The genus *Nocardiopsis* [A]. In: Balows A, Trüper H G, Dworkin M, *et al.* (Eds.). *The prokaryotes* [M]. (2nd edition). New York: Springer-Verlag, 1992. 1139-1156.
- [33] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, **29**: 111-129.
- [34] Gange A C, Ayres R L. On the relation between arbuscular mycorrhizal colonization and plant "benefit" [J]. *Oikos*, 1999, **87**: 615-621.
- [35] Nasim G, Bajwa R, Hakeem A. Response of arbuscular mycorrhizal mungbean plants to ambient air pollution [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2007, **4**(3): 295-310.
- [36] Phillips R L, Zak D R, Holmes W E, *et al.* Microbial community composition and function beneath temperate trees exposed to elevated atmospheric carbon oxide and ozone [J]. *Oecologia*, 2002, **131**: 236-244.
- [37] Radajewski S, McDonald I R, Murrell J C. Stable-isotope probing of nucleic acids: a window to the function of uncultured microorganisms [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2003, **14**: 296-302.