

DOI: 10.5846/stxb201308052029

吴芳芳, 郑有飞, 吴荣军, 王锦旗, 李萍. O_3 浓度升高和太阳辐射减弱对小麦根际土壤微生物功能多样性的影响. 生态学报, 2015, 35(12): 3949-3958.

Wu F F, Zheng Y F, Wu R J, Wang J Q, Li P. Effects of ozone fumigation and depressed solar irradiance on soil microbial functional diversity in winter wheat rhizosphere. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(12): 3949-3958.

O_3 浓度升高和太阳辐射减弱对小麦根际土壤微生物功能多样性的影响

吴芳芳, 郑有飞*, 吴荣军, 王锦旗, 李 萍

南京信息工程大学环境科学与工程学院, 江苏大气环境监测与污染控制高技术研究重点实验室, 南京 210044

摘要: 采用开顶箱(OTC)法和遮光网技术, 设置 100 nL/L 臭氧熏气与 3 个辐射减弱梯度结合, 模拟臭氧浓度升高和太阳辐射减弱的复合大气背景。用 BIOLOG 生态测试板, 采用孔平均颜色变化率法(AWCD)测定冬小麦根际土壤微生物利用不同碳源的能力, 计算微生物群落多样性指数, 对不同碳源的利用率进行了主成分分析。两年试验结果显示, 臭氧熏气与太阳辐射减弱复合作用, 降低了土壤微生物对碳源的利用速度和利用总量; 除了聚合物以外其它碳源利用率显著降低; 对土壤微生物多样性没有直接的影响; 对碳源降解的抑制效应大于增强的 O_3 与减弱的太阳辐射两因素各自的单独作用。太阳辐射减弱 20%, 一定程度上增加了对聚合物类的分解。 O_3 熏气条件下太阳辐射减弱, 糖类、胺类代谢变异度较高, 受环境影响较大。

关键词: 臭氧增加; 太阳辐射减弱; 复合作用; 小麦; 微生物多样性

Effects of ozone fumigation and depressed solar irradiance on soil microbial functional diversity in winter wheat rhizosphere

WU Fangfang, ZHENG Youfei*, WU Rongjun, WANG Jinqi, LI Ping

Jiangsu Key Laboratory of Atmospheric Environmental Monitoring and Pollution Control High-tech Research, Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044, China

Abstract: Enhanced ozone concentration and depressed solar irradiance were simulated by using open-top chambers (OTCs) method and shading net techniques at 100 nL/L ozone fumigation assembling with three different levels of depressed solar irradiance. The effect of enhanced O_3 combination with depressed solar irradiance was also studied. Two experiments were performed over two years. The combination of three OTCs with six shaded chambers was set up. Each OTC fed with 100 nL/L ozone. In the shaded chambers, solar irradiance was reduced to different levels of 20%, 40%, 60% respectively. Combined actions of O_3 and depressed solar irradiance were tested by shading net above OTCs. Using unshaded OTC and unfed with O_3 as controls. OTC fed with 100 nL/L ozone only, and shaded chamber solar irradiance reduced 20% only were applied too. Each chamber was equivalent and repeated three times. Winter wheat was grown to all life stage in OTCs, shading net and their combine chambers. From reviving to mature stages, in OTCs the plants were treated for 8 h (8:00—16:00) every sunny day with O_3 , in shading chambers covered net all life stage. The ability of winter wheat (*Triticum aestivum*) rhizosphere microbial to use different carbon sources were measured by applying BIOLOG ECO MicroPlate and Average Well-Color Development (AWCD). Microbial diversity index and Principal Component Analysis (PCA) were calculated on the utilization of different carbon sources. Each treatment was assayed in triplicate. The data

基金项目: 教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20123228110003); 国家自然科学基金(41075114)

收稿日期: 2013-08-05; 网络出版日期: 2014-10-13

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhengyf@nuist.edu.cn

were initially compared by analysis of variance and differences between means were detected using the Duncans Multiple Range Tests. Values of $P < 0.05$ indicated significance. Quite similar results were obtained during the two years' experiments. The results suggesting that under ozone fumigation and reduced solar irradiance, AWCD was reduced, catabolic ability of single carbon source was declined too. No obvious influence of O_3 combined with shading on soil microbial diversity was found. Principal Component Analysis suggested that different forms of carbon source have different sensitivity. The variation degree of carbohydrates' is higher than others. Under ozone fumigation combined with reduced solar irradiance, AWCD and catabolic ability of single carbon sources were lower than enhanced O_3 or lower solar irradiance single acting. For soil microbial, two years' results showed that combination effects of ozone fumigation and reduced solar irradiation reduced both rate and total utilization of carbon sources except polymers. However, there was no direct impact on the diversity of soil microbial. For Inhibitory effect on the degradation of carbon, combined effect of enhanced ozone concentration and reduced solar irradiation was greater than each factor functioning alone. 20% reduction of solar radiation increased the decomposition of polymers to some extent. On the conditions of combined O_3 fumigation and solar radiation weakened, that makes the metabolism of carbohydrates and amines highly variable, as they are largely affected by the environment. Enhanced O_3 and lower solar irradiation have a cooperative action. Reduced solar irradiance is benefit for winter wheat absorbing O_3 , resulting in a serious injury.

Key Words: ozone; depressed solar irradiance; recombination action; *Triticum aestivum*; soil microbial diversity

目前我国华东地区大气背景中 O_3 浓度已达 50 nL/L, 已经超过了敏感作物 O_3 伤害阈值 AOT_{40} 的 25%^[1], 而且每年还以 0.5%—2% 的速度递增^[2]。空气中 SO_2 、 NO_x 、黑碳、飞灰、土壤尘粒子等, 引起大气气溶胶光学厚度逐年增加, 导致地面变暗变冷^[3]。仅亚洲大气棕色云的直接辐射强迫引起的年均地表变暗就达 14—16 W/m^2 (大约 6%)^[4]。近地层臭氧浓度增加和大气气溶胶引起的太阳辐射减弱等因素构成了复杂的大气背景。近地层大气太阳辐射减弱和 O_3 浓度增加是全球科学家和公众密切关注的重要环境问题。地表 O_3 和太阳辐射变化对土壤微生物的影响研究较少, Aneja M K 等认为 O_3 浓度增加降低了土壤微生物的群落结构^[5]。陈展等认为臭氧浓度升高降低了盆栽小麦根系的生长和土壤微生物功能^[6]。Voidarou 等认为 O_3 浓度增加降低了环境中指示细菌的生长^[7]。Johnson RM 和李果梅分别报道了 O_3 浓度升高对麦田土壤酶活性及酚酸类物质含量产生影响^[8-9]。太阳辐射减弱通过改变光合有效辐射 (PAR), 使作物光合作用受抑制, 作物减产, 改变了碳、氮在植物中的分配^[10-14], 改变了土壤中凋落物以及植物根系分泌物的数量和成分, 改变了土壤温、湿度和 pH 值^[15-17], 对土壤生态系统产生的影响有大量报道, 而对土壤微生物的影响研究很少, 特别是地表 O_3 浓度增加和太阳辐射减弱复杂大气背景下, 土壤微生物多样性的响应趋势国内外鲜见报道。土壤微生物多样性影响土壤生态系统的结构功能及过程, 是维持土壤生产力的重要组分^[18], 土壤微生物种群的变化是土壤有机质变化的早期指标^[19], 可以敏感地指示气候和土壤环境条件的变化^[20]。土壤微生物多样性在研究方法、研究范围等方面得到了广泛的重视, 大量的研究认为, 植被、土壤的管理方式包括农药的应用、施肥、耕作方式等, 通过影响土壤有机碳和氮的水平、土壤含水量、温度、通气性及 pH 值等来影响土壤微生物多样性^[21-24]。土壤生态系统通过植物倍受大气环境的影响, Lou Y S 报道紫外线增强降低了土壤微生物量碳氮的含量^[25]。展小云等认为, 加倍 CO_2 浓度显著提高土壤微生物的活性及功能多样性^[26]; Gallo M, 张乃莉等, 认为气候变暖和大气 N 沉降改变了土壤微生物多样性^[6, 27]。然而孤立地分析单一环境因子对地下生化过程的影响, 无法准确全面地评估土壤微生物群落对未来全球变化响应的真实情况。因为自然生态系统中, 各种全球变化现象间的交互作用无处不在。为了研究地表 O_3 浓度增加和太阳辐射减弱对土壤微生物多样性的交互影响, 本文定点进行了两年试验, 研究土壤微生物碳代谢指纹的变化, 计算微生物多样性, 为研究复杂大气背景对土壤微生态系统的影响提供参考。

1 材料与方法

1.1 大田试验概况

于 2008 年至 2011 年在南京信息工程大学农业气象试验站(32.16°N, 118.86°E)进行冬小麦生长季田间观测试验。当地多年平均温度为 15.6 °C, 多年平均降水为每年 1 100 mm。供试土壤为潴育型水稻土(灰马肝土属), 土壤质地为壤质黏土, 耕层土壤黏粒含量为 26.10%, 土壤 pH(H₂O) 值为 6.20, 有机碳和全氮的含量分别为 19.40 g/kg、1.15 g/kg。

1.2 臭氧增加与辐射减弱复合作用的大田试验设计

试验采用直径 3 m, 高 2.5 m 的开顶箱(OTC)作为臭氧布气的容纳装置, O₃ 发生器(江苏省南京市万杰臭氧机电设备厂, WJ-H-Y5 型)通过电解空气中的 O₂ 产生 O₃; 风机把空气和由发生器产生的 O₃ 混合后, 由布气系统均匀地吹送到作物冠层; 采用 O₃ 检测仪(新西兰 aeroQUAL 公司, S200 型)对气室内 O₃ 浓度进行监测, 通过阀门对室内浓度进行调节和控制。O₃ 浓度设置为 100 nL/L (T), 为农田本底浓度的 2 倍。OTC 内设置臭氧浓度传感器(精度: 1 nL/L), 对臭氧浓度传感器进行预先设定浓度阈值, 当 OTC 内臭氧浓度未达到此阈值时, 臭氧发生器持续工作并向 OTC 内通入臭氧气体, 当 OTC 内浓度超过此阈值时, 臭氧传感器则提示报警, 其信号通过微型电子控制仪的指令控制与臭氧发生器相连的电磁阀断开, 此时臭氧发生器停止工作。这样可实现 OTC 内臭氧浓度的自动调控, 每天臭氧处理时间段为 08:00—16:00, 遇有雨天则关闭整个装置。

遮荫棚采用镀锌钢管为主要支柱, 搭建成 3 m×3 m×3 m 的立方体, 两两间隔 3 m。遮荫棚顶部用铁丝搭建为可上下调节的网状结构, 用以支撑遮荫网, 采用 TBQ-2 型总辐射表对不同处理下达到冬小麦冠层的太阳总辐射强度进行了监测, 监测时间为 6:00—18:00, 步长为 1 min, 每日实际监测到的太阳总辐射强度瞬时值(W m⁻² min⁻¹)(图 1)。通过计算确定各处理组实际接收的太阳辐射强度分别比对照减弱(20±5)%、(40±5)%、(60±5)%, 田间大气 O₃ 浓度和太阳辐射强度没有人为干扰。并随着作物生长高度, 调节遮荫网与冬小麦冠层间的距离, 根据情况适当更换遮荫网, 保证网下空气流通, 使到达植物冠层的太阳总辐射变化量控制在预设值±5%范围内。在通入 100 nL/L 臭氧的 OTC 棚上方分别搭建不同透光度(网孔密度不同)的黑色聚乙烯遮荫网, 使棚内处于 100 nL/L O₃ 熏气与太阳辐射分别减弱 20%、40%、60%的复合环境中。试验设置 T+S1(O₃ 浓度为 100 nL/L+太阳辐射强度减弱 20%)、T+S2(O₃ 浓度为 100 nL/L+太阳辐射强度减弱 40%)、T+S3(O₃ 浓度为 100 nL/L+太阳辐射强度减弱 60%)三组双因子处理, 另设 T(O₃ 浓度为 100 nL/L)和 S1(太阳辐射减弱 20%)的单独作用, 共 5 个处理, 12 个 OTC 棚和 12 个遮荫棚, 实现每处理 3 次重复。以不通入 O₃ 不加遮荫网的 OTC 棚为对照。同步测定 O₃ 浓度和辐射通量, 使 O₃ 误差控制在 8%, 使辐射误差控制在 5%以内。

1.3 田间管理和取样

供试小麦品种为扬麦 13 号, 水肥供应适量而充分, 其他农田管理措施均相同, 无病虫害及杂草的影响。播种日期、熏气起止日期、采样日期以及 AOT40 累积量如表 1 所示。按五点取样法, 定点分别选取 5 株小麦, 将其 0—20 cm 耕层根系区土样挖出, 抖掉根系外围土, 取紧贴在根表附近的土样, 混合后作为根际土, 用四分法取适量装于无菌纸袋中, 立即带回实验室, 4 °C 下冰箱保存, 用于土壤微生物碳代谢指纹的测定。

1.4 微生物多样性的 BIOLOG 板检测

土壤微生物碳源利用多样性应用 BIOLOG 生态测试板(ECO MicroPlate, 美国 Matrix Technologies Corporation 生产)测定, Biolog EcoPlates™ 技术是一种酶联免疫吸附剂测定方法(ELISA, enzyme linked immunosorbent assay)^[28]。每块 Biolog EcoPlate 微孔板上有 96 个孔, 3 份重复, 每份重复有 32 孔(包括 1 个对照孔和 31 个单一碳源孔), 除对照孔仅有水和指示剂以外, 其余 31 孔都装有单一碳源和四唑染料。微生物利用单一碳源的代谢过程中产生氧化还原反应, 使四唑染料变成紫色, 根据每孔颜色变化程度检测微生物的代谢能力。称取抽穗期各处理新鲜土 10 g, 加入 90 mL 0.85% NaCl 无菌溶液于三角瓶中, 无菌棉花塞封口后在摇床上震荡(200 r/min)30 min, 按 10 倍稀释法用 0.85% NaCl 无菌溶液将其稀释至原来的 1/1000, 稀释液经

离心去除残留的土壤后,上清液用于接种。接种悬浮液于生态测试板微孔板中,每孔 150 μL ,每样 3 次重复,将接种好的测试板加盖在 $(25\pm 1)^\circ\text{C}$ 下暗箱培养;连续培养 10 d,期间每隔 24 h 用 ELISA 反应微平板读数器在 590 nm 处读取吸光度^[29-30]。

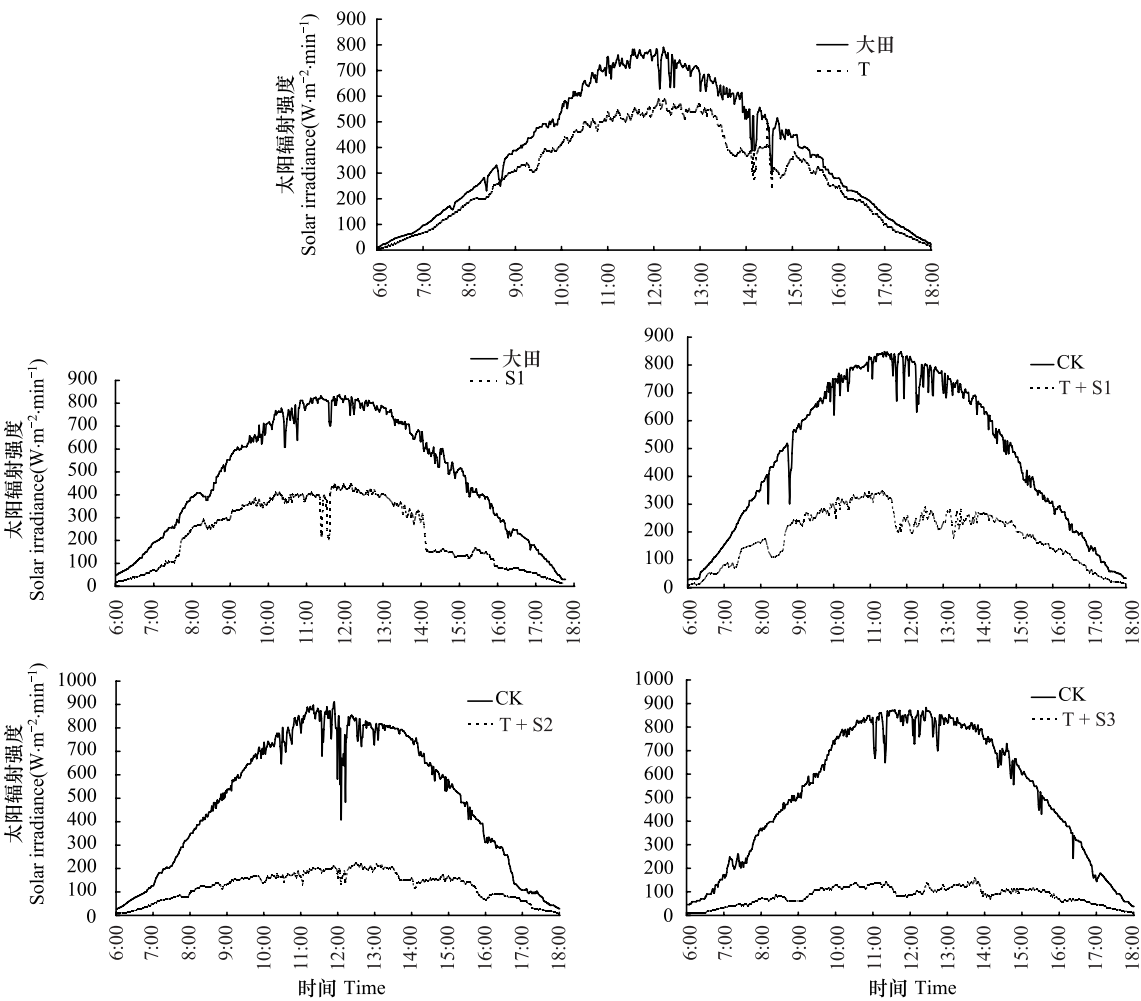


图 1 不同处理下冬小麦冠层太阳辐射强度

Fig.1 Solar irradiance of winter wheat canopy under different treatments

T: O_3 浓度设置为 100 nL/L ; S1: 太阳辐射强度减弱 20%; S2: 太阳辐射强度减弱 40%; S3: 太阳辐射强度减弱 60%

表 1 大田熏气和采样时间表

Table 1 Fumeing and sampling date

试验年份 Test date	播种日期 /(年-月-日) sowing date	开始熏气日期/ (年-月-日) Start fume date	停止熏气日期/ (月-日) Stop fumeing date	日小时 O_3 浓度大于 40 nL/L (AOT40)			bhdg 取样时期 Sampling period
				3—5 月 AOT40 累积量/ ($\text{nL L}^{-1} \text{h}^{-1}$) Cumulant	累积天数 Cumulant day	占试验期 比例/% Percentage of trial period	抽穗期 /(月-日) Heading
2008	2007-11-14	2008-03-07	05-20	8.208	63	68.48	04-17
2009	2008-11-20	2009-03-08	05-21	8.462	59	64.13	04-23
2010	2009-11-12	2010-03-07	05-26	8.638	62	67.39	04-26
2011	2010-11-12	2011-03-07	05-27	8.357	58	63.04	04-22

AOT40 (Average Operation Time) 为日小时 O_3 浓度大于 40 nL/L 的累积量

1.5 数据处理及统计分析

采用孔平均颜色变化率法 (AverageWell-Color Development, AWCD) 测定土壤微生物利用单一碳源的能力^[28]。AWCD 的计算公式为:

$$AWCD = \sum (C_i - R) / n$$

式中, C_i 为各反应孔在 590 nm 下的吸光度, R 为对照孔的吸光值, $C_i - R \leq 0$ 的孔在计算中记为 0。 n 为培养基碳源种类数, 本研究为 31。

当能观测到大部分微孔中微生物群落的反应, 而且大部分活跃的微生物群落已达到颜色变化的渐近线时的培养时间为 96 h, 因此选择培养 96 h 时的数据, 采用 DPS 软件, 根据土壤微生物群落对 31 种单一碳源利用的相似性, 应用表 2 中的方法计算多样性指数, 进行新复极差检验和主成分分析。

表 2 土壤微生物群落功能多样性指数的计算公式

Table 2 The equations of function diversity indexes of soil microbe community

多样性指数 Diversity indexes	用途 Purposes	公式 Equations	备注 Remarks
香农指数 Shannon index	评估群落丰富度和均匀度	$H' = - \sum P_i \times \ln(P_i)$	$P_i = (C_i - R) / \sum (C_i - R)$
丰富度指数 Richness index	表示群落丰富度指数	$C_i > 0.2$	$C_i > 0.2$ 则代表该孔碳源被利用, 该孔即为反应孔
均匀度指数 Evenness index	通过 Shannon 指数计算出的均匀度	$E = H' / \ln S$	S 为颜色变化孔的数目
辛普森指数 Simpson index	评估某些最常见种优势度指数	$D = N(N-1) / \sum n_i(n_i-1)$	n_i 是第 i 孔的相对吸光值 ($C-R$), N 是相对吸光值总和。
群落丰富度指数 Brillouin index H	评估群落丰富度	$H = (1/N) \times \ln(N! / (n_1! n_2! n_3! \dots))$	n_i 第 i 个物种的个体数量, N 是所有物种的个体总和。
均匀度指数 McIntosh index	是群落物种均一性指数	$U = \sqrt{\sum n_i^2}$	n_i 是第 i 孔的相对吸光值 ($C-R$)

2 结果与分析

2.1 O₃熏气条件下太阳辐射减弱土壤微生物利用碳源的动力学特征

2010 年与 2011 年两年试验结果显示, O₃熏气与太阳辐射减弱双因子处理下, 土壤微生物对碳源的降解速率 (24—96 h 降解曲线的斜率) 和最终 AWCD 值都显著低于 CK、T 和 S1, 如图 2 所示。这说明, 增强的 O₃ 与减弱的太阳辐射两种因素双因子处理对碳源降解速率的抑制效应大于它们的单独作用。单独 O₃熏气 (T), 土壤微生物对碳源的降解速率、AWCD 最大值均显著低于对照。太阳辐射减弱 20% 单独作用 (S1), 土壤微生物

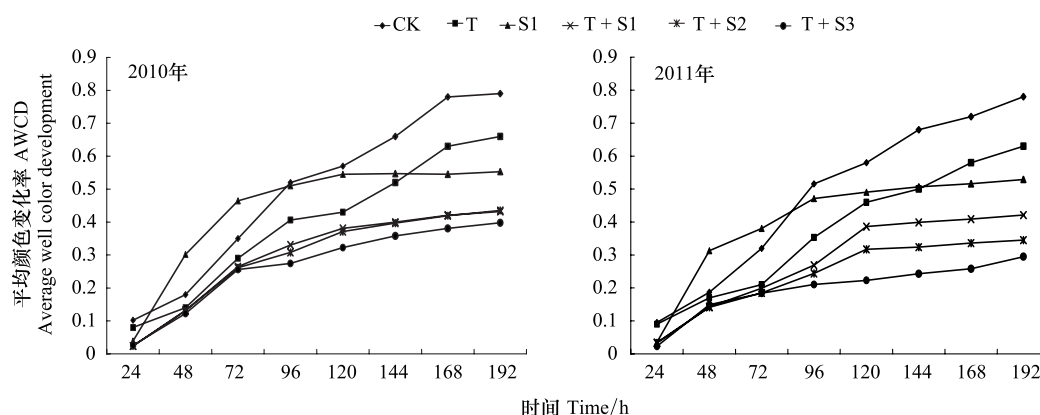


图 2 不同处理土壤平均颜色变化率 (AWCD) 192h 培养期间的变化

Fig.2 AWCD changes of different treatment soils during 192 hours culture on Biolog-eco plates

物对碳源降解速率与 CK 无显著差异,但 AWCD 最大值显著降低。结果说明, O_3 熏气降低了土壤微生物碳源利用的速率和最终碳源利用总量,太阳辐射减弱 20%时对土壤微生物的碳源降解速率没有显著影响,但降低了最终碳源利用总量。

2.2 O_3 熏气和太阳辐射减弱土壤微生物对不同类别碳源的利用强度

采用土壤 ELISA 反应 96 h 的数据分析土壤微生物对不同类别碳源的利用强度,从图 3 可看出,T,T+S1,T+S2,T+S3 处理显著降低了碳源利用总量,S1 对碳源总量的利用则没有显著影响。不同类型碳源的利用强度如表 3 所示,糖类、氨基酸、羧酸、酚酸和胺类的利用率在 T、T+S1、T+S2、T+S3 作用下显著降低,S1 对它们则没有明显影响。聚合物类的 AWCD 值较小,说明难以被微生物分解,S1 却能显著提高聚合物的利用强度。两年试验变化趋势相同。结果说明,适度的太阳辐射减弱(减弱 20%),一定程度上增加了对聚合物类的分解, O_3 浓度单独增加处理,以及 O_3 熏气和太阳辐射减弱双因子处理下,除了聚合物类以外其它碳源利用率显著降低。增加的 O_3 和减弱的辐射两因素复合作用比 O_3 单因素作用对碳源利用强度的抑制效应强。

2.3 O_3 熏气和太阳辐射减弱对土壤微生物群落功能多样性指数的影响

O_3 熏气和太阳辐射减弱条件下,土壤微生物群落功能多样性指数: Simpson 指数 (D)、Shannon 指数 (H')、McIntosh (Dmc) 指数以及 Simpson 均匀度在两年的试验中均没有显著变化;只有评估微生物丰富度的 Brillouin 指数 (H) 比对照及 S1 处理低(表 4)。可见增强的 O_3 与减弱的太阳辐射处理,对麦田土壤常见微生物类群影响不大,对不同种类微生物生长繁衍的刺激作用没有很大差异,没有使某些物种大幅度增长或减少,群落均匀性变化不显著。微生物丰富度是否降低还需长期试验观察。

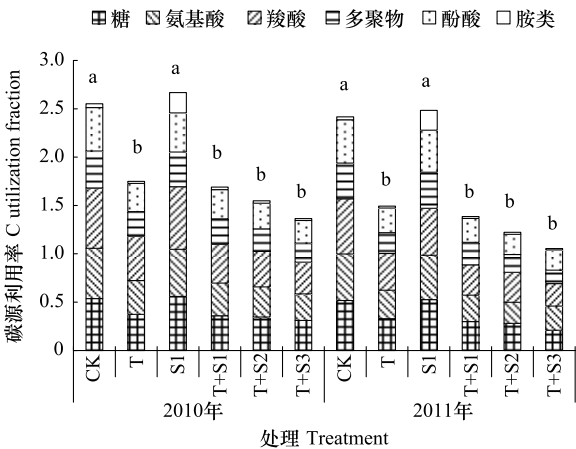


图 3 O_3 熏气和太阳辐射减弱下土壤微生物对不同类别碳源的利用

Fig.3 Fraction of utilization for different types of carbon sources by microbes under ozone fumigation and depressed solar irradiance

不同字母表示处理间经 Duncan 氏多重极差检验差异显著 ($P < 0.05$)

表 3 O_3 熏气和太阳辐射减弱处理下土壤不同类别碳源 AWCD 值

Table 3 AWCD of different types carbon sources under ozone fumigation and depressed solar irradiance							
试验年份 Test year	处理 Treatment	糖类 Carbohydrates	氨/胺类 Amines/amides	氨基酸 Amino acids	羧酸 Carboxylic acids	酚酸 Phenolic acid	聚合物 Polymers
2010	CK	0.530a	0.520a	0.624a	0.383a	0.449a	0.040a
	T	0.373b	0.350b	0.460b	0.253b	0.293b	0.020a
	S1	0.558a	0.489a	0.647a	0.359a	0.405a	0.209b
	T+S1	0.359b	0.339b	0.401bc	0.263b	0.302b	0.025a
	T+S2	0.346b	0.312b	0.368bc	0.231bc	0.266b	0.025a
	T+S3	0.3118b	0.275b	0.328c	0.197c	0.234b	0.020a
2011	CK	0.517a	0.482a	0.570a	0.370a	0.449a	0.030a
	T	0.328b	0.295b	0.380b	0.215b	0.255b	0.020a
	S1	0.526a	0.459a	0.485a	0.374a	0.435a	0.205b
	T+S1	0.300b	0.273b	0.314b	0.232b	0.247b	0.020a
	T+S2	0.281bc	0.217b	0.312bc	0.183bc	0.210b	0.020a
	T+S3	0.209c	0.251b	0.231c	0.141c	0.209b	0.015a

不同字母表示处理间经 Duncan 氏多重极差检验差异显著 ($P < 0.05$)

表 4 O₃熏气条件下太阳辐射减弱土壤微生物群落功能多样性指数

Table 4 Function diversity index of soil microbe community under ozone fumigation and depressed solar irradiance

试验年份 Test date	处理 Treatment	碳源种类 Species	Richness 指数	Simpson 指数 (D)	Shannon 指数 (H')	Simpson 均匀度	Brillouin 指数 (H)	McIntosh (Dmc) 指数
2010	CK	31	16	1.0193a	4.6164a	0.9318a	3.1267a	1.0515a
	T	31	11	1.0460a	4.5229a	0.9129a	2.3232b	1.1128a
	S1	31	16	1.0240a	4.7710a	0.9630a	3.1087a	1.0660a
	T+S1	31	10	1.0563a	4.6171a	0.9320a	2.3009b	1.1397a
	T+S2	31	10	1.0629a	4.5978a	0.9281a	2.1632b	1.1531a
	T+S3	31	9	1.0775a	4.5750a	0.9235a	1.9469b	1.1841a
2011	CK	31	15	1.0223a	4.6035a	0.9292ab	3.1618a	1.0590a
	T	31	9	1.0605a	4.4739a	0.9031a	2.2564b	1.1428a
	S1	31	15	1.0279a	4.7463a	0.9580b	3.0094a	1.0751a
	T+S1	31	8	1.0789ab	4.5432a	0.9170ab	2.1479b	1.1860a
	T+S2	31	8	1.0932ab	4.5426a	0.9169ab	1.8559bc	1.2153a
	T+S3	31	7	1.1233b	4.5382a	0.9160ab	1.6683c	1.2799a

2.4 O₃熏气和太阳辐射减弱条件下微生物群落功能主成分分析(PCA)

对培养 96 h 的 AWCD 数据进行微生物群落功能主成分分析(PCA),土壤微生物碳源利用功能多样性 2010 年相关的主成分 1(PC1)、主成分 2(PC2)依次解释变量方差的 70.24%、20.16%,PC1、PC2 的累计贡献率达到 90.40%;2011 年相关的主成分 1、主成分 2 依次解释变量方差的 76.17%、12.80%,PC1、PC2 的累计贡献率达到 88.97%;PC1、PC2 是变异的主要来源,可以解释变异的绝大部分信息(表 5)。再将土壤碳利用主成分进行分权计算,并计算出各因子在各主成分上的载荷:载荷=(特征向量×特征值^{1/2})² [31],得到表 6,得出 31 种碳源在两个主成分上的载荷值。由表 7 可知,2010 年,PC1 主要综合了 15 种碳源的信息,分别属于糖类(5 种)、氨基酸(4 种)、羧酸(4 种)、聚合物(1 种)酚酸(1 种),说明有 15 种碳源使土壤微生物群落代谢功能多样性在 PC1 上差异显著,决定 PC1 的分异。与 PC2 显著相关的碳源有 6 种,分别属于糖类(5 种)、胺类(1 种),说明有 6 种碳源使土壤微生物群落代谢功能多样性在 PC2 上差异显著,决定 PC2 的分异。2011 年,PC1 主要综合了 15 种碳源的信息,分别属于糖类(6 种)、氨基酸(4 种)、羧酸(3 种)、聚合物(1 种)酚酸(1 种),说明有 15 种碳源使土壤微生物群落代谢功能多样性在 PC1 上差异显著,决定 PC1 的分异。与 PC2 显著相关的碳源有 3 种,分别属于糖类(2 种)、胺类(1 种),说明有 3 种碳源使土壤微生物群落代谢功能多样性在 PC2 上差异显著。由于大气 O₃浓度增加和太阳辐射减弱引起土壤中微生物环境出现差异造成 15 种碳源分解有显著变化。

表 5 O₃熏气和太阳辐射减弱条件下根际土壤微生物碳源主成分特征值

Table 5 Principal component eigenvalues of different carbon sources types by rhizosphere soil microbes under ozone fumigation and depressed solar irradiance (2010,2011)

主成分 Principal components	2010 年			2011 年		
	特征值 Eigen values	方差贡献率 Proportion/%	累积方差贡献率 Cumulative/%	特征值 Eigen values	方差贡献率 Proportion/%	累积方差贡献率 Cumulative/%
第一主成分 PC1 First principal component	21.77	70.24	70.24	23.61	76.17	76.17
第二主成分 PC2 Second principal component	6.25	20.16	90.40	3.97	12.80	88.97

3 讨论

复杂的大气背景中,多种大气成分相互影响,NASA Goddard 报道,臭氧对硫酸化合物的浓度影响很

表 6 O₃熏气和太阳辐射减弱条件下土壤微生物对不同碳源利用的主成分特征向量

Table 6 Principal component eigenvectors of different carbon sources types by rhizosphere soil microbes under ozone fumigation and depressed solar irradiance (2010,2011)

特征向量 eigenvector	2010 年				2011 年			
	因子 1 1 st principal component	载荷-1/% loading capacity-1	因子 2 2 nd principal component	载荷-2/% loading capacity-2	因子 1 1 st principal component	载荷-1/% loading capacity-1	因子 2 2 nd principal component	载荷-2/% loading capacity-2
D-半乳糖酸-γ-内酯 D-Galactonic Acid-γ-Lactone	0.0084	0.0015	-0.1104	0.0762	0.2006	0.9501	0.0706	0.0198
β-甲基 D-葡萄糖苷 Methyl-D-Glucoside	0.1331	0.3857	0.3105	0.6024	0.1672	0.6600	-0.1431	0.0813
D-纤维二糖 D-Cellobiose	0.1438	0.4502	-0.2951	0.5441	0.1673	0.6608	0.2899	0.3335
α-D-乳糖 α-D-Lactose	0.1986	0.8587	-0.0002	0.0000	0.1758	0.7297	-0.2017	0.1614
L-赤藓糖醇 I-Erythritol	0.2129	0.9868	0.0384	0.0092	0.2027	0.9701	-0.0190	0.0014
葡萄糖-1-磷酸 Glucose-1-Phosphate	0.1393	0.4225	0.2954	0.5453	0.1944	0.8922	-0.0665	0.0175
D-木糖 D-Xylose	0.1863	0.7556	0.0846	0.0447	0.2007	0.9510	-0.0302	0.0036
D-甘露醇 D-Mannitol	0.2086	0.9474	0.0549	0.0188	0.2041	0.9835	-0.0448	0.0080
N-乙酰基-D-葡萄糖胺 N-Acetyl-D-Glucosamine	0.1377	0.4128	-0.3038	0.5767	0.1332	0.4189	0.3814	0.5772
D,L-α-磷酸甘油 D, L-α-Glycerol	0.2036	0.9025	-0.1085	0.0736	0.1718	0.6969	-0.2206	0.1931
D-半乳糖醛酸 D-Galacturonic Acid	0.2125	0.9831	-0.0016	0.0000	0.2026	0.9691	0.0042	0.0001
D-葡萄糖胺酸 D-Glucosaminic Acid	0.1398	0.4255	-0.3022	0.5706	0.1310	0.4052	0.3868	0.5937
L-天冬酰胺酸 L-A sparagine	0.2056	0.9203	-0.0981	0.0601	0.1883	0.8371	0.0698	0.0193
L-苯基丙氨酸 L-Phenylalanine	0.2123	0.9813	0.0418	0.0109	0.2039	0.9816	-0.0360	0.0051
L-精氨酸 L-Arginine	0.0583	0.0740	0.2839	0.5036	0.0730	0.1258	-0.1299	0.0670
L-苏氨酸 L-Threonine	0.1566	0.5339	0.2250	0.3163	0.1900	0.8523	-0.0746	0.0221
L-丝氨酸 L-Serine	0.2116	0.9748	0.0454	0.0129	0.1925	0.8749	-0.0185	0.0014
甘氨酸-L-谷氨酸 Glycyl-L-L-Glutamic Acid	0.1981	0.8544	-0.1463	0.1337	0.1950	0.8978	0.0302	0.0036
γ-羟基丁酸 γ-Hydroxybutyric Acid	0.2047	0.9123	-0.0841	0.0442	0.1896	0.8487	-0.0834	0.0276
衣康酸 Itaconic Acid	0.1946	0.8245	0.1024	0.0655	0.2019	0.9624	-0.0204	0.0017
α-丁酮酸 α-Ketobutyric Acid	0.2130	0.9878	-0.0266	0.0044	0.1595	0.6006	-0.1997	0.1582
D-苹果酸 D-Malic Acid	0.2032	0.8990	-0.0374	0.0087	0.1903	0.8550	-0.1675	0.1113
丙酮酸甲酯 Pyruvic Acid Methyl Ester	0.2033	0.8998	0.0995	0.0619	0.1779	0.7472	-0.2032	0.1638
α-环式糊精 α-Cyclodextrin	0.1936	0.8160	-0.1214	0.0921	0.1739	0.7140	0.2442	0.2366
肝糖 Glycogen	0.2095	0.9556	0.0566	0.0200	0.2018	0.9615	-0.0427	0.0072
吐温 40 Tween 40	0.1872	0.7630	0.0866	0.0469	0.1851	0.8089	-0.0127	0.0006
吐温 80 Tween 80	0.1096	0.2615	0.2599	0.4221	0.1805	0.7692	-0.0764	0.0232
2-羟基苯甲酸 2-Hydroxy Benzoic Acid	0.2112	0.9711	0.0510	0.0163	0.1924	0.8740	0.0153	0.0009
4-羟基苯甲酸 4-Hydroxy Benzoic Acid	0.1692	0.6233	0.2438	0.3714	0.1683	0.6687	-0.1353	0.0726
苯乙胺 Phenylethyl-L-Amine	0.1376	0.4122	-0.3060	0.5851	0.1287	0.3911	0.3915	0.6082
腐胺 Putrescine	0.1625	0.5749	-0.2565	0.4111	0.1529	0.5520	0.3356	0.4469

载荷-1,2 分别指各主成分上承载的各因子的方差百分率

大^[32]。硫酸化合物是重要的负辐射强迫物质,造成到达地面的太阳辐射减少。单文坡等认为,近地面 O_3 浓度与太阳辐射和气温有很好的相关性^[33],这主要是由于太阳辐射和气温是许多与 O_3 相关的大气化学或光化学过程的控制因素,而相对湿度可以直接影响大气中自由基的数量,从而对 O_3 化学产生影响。晴天地表各污染物浓度的变化比较平稳,阴天变化波动较大,这也说明了太阳辐射在近地面大气化学中的重要作用。 O_3 熏气能使太阳负辐射强迫增强,增强了因太阳辐射减弱而给农田生态带来的负面影响。太阳辐射减弱促进了植物对 O_3 的化学吸收。两年的定点试验得出, O_3 熏气条件下与太阳辐射减弱复合作用均显著降低了不同类型碳源的降解速率和降解总量,糖类、氨基酸类的分解变异度较高。辐射减弱与 O_3 熏气结合能加剧 O_3 对碳源分解的抑制作用, O_3 与辐射减弱之间存在协同关系。

土壤微生物对大气环境变化的响应受到土壤温度、 CO_2 、养分利用效率和水分状况等因素的制约^[34], O_3 浓度升高和太阳辐射减弱长期作用引起土壤养分有效性^[35]和水分利用效率的变化将改变土壤微生物最初的响应。 O_3 与太阳辐射减弱的交互作用,在不同年份差异显著性不同,这可能是土壤微生物异质性的结果。由于长期环境变化对生态系统微生物过程及结果的预测受到有限的生态学信息的制约,很难确定在较长时间尺度上 O_3 浓度升高和太阳辐射减弱对土壤微生物的作用,更不能进行小尺度向大尺度的推绎,因为在不同的时间尺度土壤微生物对大气环境变化的响应可能很不一致。

大气环境变化对植物根际土壤微生物多样性的影响是通过植物生长代谢间接作用的结果,不仅随着植物类型改变,还随着植物的生长发育过程改变,具有非常强的时空特征^[36]。土壤微生物多样性对大气环境的响应与植物生长发育过程有关。太阳辐射减弱增加了植物对 O_3 的吸收,加重了 O_3 伤害, O_3 浓度升高与太阳辐射减弱的交互作用加剧了对土壤根际微生物活性的抑制。

表征微生物群落功能多样性的指数没有显著变化,说明 O_3 熏气条件下与太阳辐射减弱在较短时期内没有改变土壤微生物的群落结构和功能多样性。要确定在较长时间尺度上 O_3 浓度升高和太阳辐射减弱对土壤微生物多样性的影响,需长期的后续研究。

4 结论

(1) O_3 熏气和太阳辐射减弱条件下,土壤微生物代谢活性下降,不同类型碳源的分解速率、分解总量下降。

(2) 辐射减弱 20% 的单因素作用对碳源的分解没有显著影响,但与 O_3 结合则能加剧了 O_3 对碳源分解的抑制作用, O_3 与遮荫之间存在协同关系。 O_3 浓度增加与太阳辐射减弱复合背景下,糖类、氨基酸类的分解变异度较高。

(3) O_3 熏气和太阳辐射减弱条件下,表征微生物优势度、均匀度、丰富度的多样性指数在两年试验中没有显著变化,微生物群落结构功能多样性在短期内没有明显影响。

参考文献 (References):

- [1] Tausz M, Grulke N E, Wieser G. Defense and avoidance of ozone under global change. *Environmental Pollution*, 2007, 147(3): 525-531.
- [2] Fuhrer J, Skärby L, Ashmore M R. Critical levels for ozone effects on vegetation in Europe. *Environmental Pollution*, 1997, 97(1/2): 91-106.
- [3] Forster P, Ramaswamy V, Artaxo P, Bernsten T, Betts R, Fahey D W, Haywood J, Lean J, Lowe D C, Myhre G, Nanga J, Prinn R, Raga G, Schulz M, Van Dorland R. Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing // Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt K B, Tignor M, Miller H L. *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Working Group I Contribution to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, United Kingdom and New York: Cambridge University Press, 2007.
- [4] Satheesh S K, Ramanathan V. Large differences in tropical aerosol forcing at the top of the atmosphere and earth's surface. *Nature*, 2000, 405(6782): 60-63.
- [5] Aneja M K, Sharma S, Fleischmann F, Stich S, Heller W, Bahnweg G, Charles M J, Schlöter M. Influence of ozone on litter quality and its subsequent effects on the initial structure of colonizing microbial communities. *Microbial Ecology*, 2007, 54(1): 151-160.
- [6] Gallo M, Amonette R, Lauber C, Sinsabaugh R L, Zak D R. Microbial community structure and oxidative enzyme activity in nitrogen-amended north temperate forest soils. *Microbial Ecology*, 2004, 48(2): 218-229.

- [7] Voidarou C, Tzora A, Skoufos I, Vassos D, Galogiannis G, Alexopoulos A., Bezirtzoglou E. Experimental effect of ozone upon some indicator bacteria for preservation of an ecologically protected watery system. *Water, Air and Soil Pollution*, 2007, 181(1/4): 161-171.
- [8] Johnson R M, Pregitzer K S. Concentration of sugars, phenolic acids, and amino acids in forest soils exposed to elevated atmospheric CO₂ and O₃. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(12): 3159-3166.
- [9] 李果梅, 王昱屹, 史奕, 陈欣. O₃ 浓度升高及温度对麦田土壤酶活性及酚酸类物质含量的影响. *农业环境科学学报*, 2008, 27(1): 121-125.
- [10] 刘贤赵, 康绍忠, 邵明安, 王力. 土壤水分与遮阴水平对棉花叶片光合特性的影响研究. *应用生态学报*, 2000, 11(3): 377-381.
- [11] 杨渺, 毛凯, 马金星. 遮阴生境下假俭草的形态变化与能量分配研究. *中国草地*, 2004, 26(2): 44-48, 62.
- [12] 王迅, 张新全, 刘金平. 草坪草对遮荫胁迫的生理反应. *草业科学*, 2006, 23(4): 86-90.
- [13] 文军. 遮荫对粤西香根草光合特性和生长的影响 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2007.
- [14] 韦海建, 杨惠敏, 赵亮. 遮荫环境对白三叶草气孔和光合特性的影响. *草业科学*, 2007, 24(10): 94-97.
- [15] 翟薇. 大气气溶胶辐射效应对长江三角洲地区主要作物生产的影响 [D]. 北京: 中国气象科学研究院, 2007.
- [16] 蔡瑞国, 王振林, 张敏, 王晓英, 张体彬, 周印富, 王文颇, 李彦生. 挑旗-开花期遮光对强筋小麦干物质积累的影响. *河北科技师范学院学报*, 2009, 23(1): 12-19.
- [17] Chen Z, Wang X K, Feng Z Z, Xiao Q, Duan X N. Impact of elevated O₃ on soil microbial community function under wheat crop. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2009, 198(1/4): 189-198.
- [18] Bastida F, Zsolnay A, Hemández T, Garcia C. Past, present and future of soil quality indices: a biological perspective. *Geoderma*, 2008, 147(3/4): 159-171.
- [19] Lundquist E J, Jackson L E, Scow K M, Hsu C. Changes in microbial biomass and community composition, and soil carbon and nitrogen pools after incorporation of rye into three California agricultural soils. *Soil Biology and Chemistry*, 1999, 31(2): 221-236.
- [20] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29(2): 111-129.
- [21] 杨永华, 姚健, 华晓梅. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响. *微生物学杂志*, 2000, 20(2): 23-25, 47-47.
- [22] 徐华勤, 肖润林, 邹冬生, 宋同清, 罗文, 李盛华. 长期施肥对茶园土壤微生物群落功能多样性的影响. *生态学报*, 2007, 27(8): 3355-3361.
- [23] 王加龙, 刘坚真, 陈杖榴, 陈林. 恩诺沙星残留对土壤微生物数量及群落功能多样性的影响. *应用与环境生物学报*, 2005, 11(1): 86-89.
- [24] 区余端, 苏志尧, 彭桂香, 刘刚. 车八岭山地常绿阔叶林冰灾后土壤微生物群落功能多样性. *生态学报*, 2009, 29(11): 6156-6164.
- [25] Lou Y S, Ren L X, Li Z P, Cheng H Y, Zhang T L. Effect of elevated ultraviolet-B radiation on microbial biomass carbon and nitrogen in barley rhizosphere soil. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2011, 219(1/4): 501-506.
- [26] 展小云, 吴冬秀, 张琳, 张灿娟, 周双喜, 杨云霞. 小叶锦鸡儿根际微生物群落功能多样性对环境变化的响应. *生态学报*, 2010, 30(12): 3087-3097.
- [27] 张乃莉, 郭继勋, 王晓宇, 马克平. 土壤微生物对气候变暖和大气 N 沉降的响应. *植物生态学报*, 2007, 31(2): 252-261.
- [28] Zheng H, Ouyang Z Y, Fang Z G, Zhao T Q. Application of biolog to study on soil microbial community functional diversity. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(3): 456-461.
- [29] Zogg G P, Zak D R, Pregitzer K S, Bruton A J. Microbial immobilization and the retention of anthropogenic nitrate in a northern hardwood forest. *Ecology*, 2000, 81(7): 1858-1866.
- [30] Sparling G P. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health // Pankhurst C, Doube B M, Gupta V V S R. *Biological Indicators of Soil Health*. Wallingford, UK: CAB International, 1997: 97-119.
- [31] 邱莉萍, 刘军, 王益权, 孙慧敏, 和文祥. 土壤酶活性与土壤肥力的关系研究. *植物营养与肥料学报*, 2004, 10(3): 277-280.
- [32] 张燕. 臭氧和硫化物对地球气候变化的影响. *科学与管理*, 2006, (5): 94-94.
- [33] 单文坡. 大气臭氧浓度变化规律及相关影响因素研究 [D]. 济南: 山东大学, 2006.
- [34] Tscherko D, Kandeler E, Jones T H. Effect of temperature on below-ground N-dynamics in a weedy model ecosystem at ambient and elevated atmospheric CO₂ levels. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(4/5): 491-501.
- [35] 吴芳芳, 郑有飞, 吴荣军, 李萍, 王锦旗. 4 年 O₃ 熏气对小麦根际土壤氮素微生物转化的影响. *生态学报*, 2013, 33(24): 7679-7689.
- [36] 吴芳芳, 郑有飞, 吴荣军, 王锦旗. 近地层臭氧对小麦抗氧化酶活性变化动态的影响. *生态学报*, 2011, 31(14): 4019-4026.