

# 近地层臭氧浓度升高对稻田土壤微生物群落功能多样性的影响\*

余永昌<sup>1,2</sup> 林先贵<sup>1†</sup> 冯有智<sup>1</sup> 张晶<sup>1</sup> 李全胜<sup>1,3</sup> 朱建国<sup>1</sup>

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京土壤研究所-香港浸会大学土壤与环境联合开放实验室, 南京 210008)

(2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

(3 南京农业大学生命科学学院, 农业部农业环境微生物工程重点开放实验室, 南京 210095)

**摘要** 利用中国臭氧 FACE (Free-Air O<sub>3</sub> Concentration Enrichment, 开放式空气臭氧浓度增高) 试验平台, 研究了近地层臭氧浓度升高条件下, 2009 年和 2010 年的稻田土壤微生物功能多样性的响应规律。结果发现, 1.5 倍当前臭氧浓度下稻田土壤水溶性有机碳含量从 100.0 ~ 110.9 μg g<sup>-1</sup> 降低至 81.3 ~ 94.5 μg g<sup>-1</sup>。臭氧浓度升高下 BIOLOG 平均吸光值 (AWCD) 有低于对照的趋势。多样性指数结果表明, 臭氧浓度升高 50% 对稻田土壤微生物丰富度、优势度及均一度无显著影响。2010 年碳源底物利用的主成分分析显示, 1.5 倍当前臭氧浓度下稻田土壤微生物对碳源底物的利用方式发生变化。本研究揭示近地层臭氧浓度升高可能对稻田土壤微生物产生积累效应, 并通过微生物碳源底物有效性的改变最终影响土壤微生物的功能多样性。

**关键词** 臭氧浓度升高; 稻田; 水溶性有机碳; 土壤微生物功能多样性

中图分类号 S154.3

文献标识码 A

臭氧是由 3 个氧原子组成的无色有刺激性气味的气体, 是一种强氧化剂。近地层中臭氧由氮氧化物和挥发性有机物在光热条件下反应产生, 是温室气体和光化学烟雾的主要成分。近年来由于化石燃料和含氮化肥的大量使用, 大气中氮氧化物和挥发性有机物剧增, 导致近地层平均臭氧浓度从工业革命前的不到 10 nmol mol<sup>-1</sup> 迅速上升到目前的 50 nmol mol<sup>-1</sup>。全球近 1/4 的国家和地区面临臭氧浓度 60 nmol mol<sup>-1</sup> 以上的威胁<sup>[3-4]</sup>, 其中又以西欧、美国东部和中西部以及中国东部等地区的背景臭氧浓度最高<sup>[5-6]</sup>, 大气臭氧浓度约以每年 0.5% ~ 2.5% 的速率持续增长, 预计到 2100 年将增加 1 倍<sup>[7]</sup>。

有研究表明, 臭氧浓度的不断增加已对农作物生长发育和产量等造成很大影响<sup>[8-10]</sup>。高浓度臭氧可以抑制植物生长, 降低叶片气孔导度、光合速率、叶面积和株高, 加速植物老化, 改变碳代谢并引起作物减产, 影响输入土壤中凋落物的数量和质量以及植物根系分泌物的数量和成分, 对陆地生态系统产生严重威胁<sup>[11-18]</sup>。臭氧对陆地生态系统地下部分的影响研究非常重要<sup>[19]</sup>, 因为地下部分直接关系到植物的养分吸收, 而且臭氧对地下部分的影响具有积累效应<sup>[20]</sup>。

水稻是亚洲最重要的粮食作物之一, 近地层臭氧浓度升高已经引起稻田生态系统的改变<sup>[21]</sup>, 但是对该生态系统中土壤微生物影响的研究报道较少<sup>[22]</sup>。土壤微生物群落功能多样性是指土壤微生物群落对碳源底物的利用能力, 是反映了土壤状况的重要信息。因此, 研究土壤微生物群落功能多样性的变化情况, 对于

\* 国家自然科学基金项目 (40771202)、中国科学院知识创新方向项目 (KZCX2-EW-414), 国家科技部国际科技合作计划项目 (2009DFA31110)、中国科学院国际合作重点项目 (GJHZ0748) 和日本环境厅全球环境研究基金项目 (中日合作) (C-062) 资助

† 通讯作者, 林先贵 (1955—), 男, 研究员, 博士生导师。E-mail: [xlgin@issas.ac.cn](mailto:xlgin@issas.ac.cn)

作者简介: 余永昌 (1981—), 男, 博士研究生, 主要从事环境微生物的研究。E-mail: [yeyu@issas.ac.cn](mailto:yeyu@issas.ac.cn)

收稿日期: 2011-03-17; 收到修改稿日期: 2011-05-20

正确认识近地层臭氧浓度升高对农田生态系统的影响有重要作用。本研究利用中国唯一的稻麦轮作臭氧 FACE (Free-Air O<sub>3</sub> Concentration Enrichment, 开放式空气臭氧浓度增高) 技术平台, 对稻田土壤微生物功能多样性进行研究, 以为臭氧浓度升高下农田生态系统相应的调控措施提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验区概况及平台设计

试验区位于江苏省江都市小纪镇良种场 (32°35'5" N, 119°42'0" E), 土壤类型为下位砂姜土, 耕作方式为水稻/小麦轮作。试验地气候条件: 年降水量 918 ~ 978 mm, 年均蒸发量 > 1100 mm, 年均气温 14 ~ 16 °C, 年日照时间 > 2000 h, 年无霜天数 220 d 左右。试验区土壤的基本理化性质: 有机质含量 18.39 g kg<sup>-1</sup>, 全氮含量 1.51 g kg<sup>-1</sup>, 全磷含量 0.63 g kg<sup>-1</sup>, 全钾含量 14.02 g kg<sup>-1</sup>, pH 7.9, 小于 0.002 mm 黏粒含量 13.6%, 容重 1.16 g cm<sup>-3</sup>。

臭氧 FACE 平台于 2007 年 3 月开始运行, 设 FACE 和 Ambient (当前空气对照) 2 个臭氧浓度处理, 每个处理 3 个重复圈 (直径 12.5 m 的正八边形), 各圈随机排列, 间隔大于 90 m, 以减少臭氧释放对其他圈的影响。FACE 圈采用反映近地层臭氧浓度实情的日变化熏蒸方式, 置于作物灌层上方 50 ~ 60 cm 处的 8 根放气管道于每天 09:00 ~ 18:00 向圈内释放臭氧, 使圈内臭氧浓度 (平均约 70 nmol mol<sup>-1</sup>) 始终较 Ambient 圈 (平均约 45 nmol mol<sup>-1</sup>) 高 50%, 85% 的时间内臭氧浓度误差控制在目标值的 10% 以内。Ambient 圈无排气管, 环境条件与自然状态完全一致。阴雨天气或者环境臭氧浓度低于 20 nmol mol<sup>-1</sup> 时, FACE 圈不释放臭氧。目标臭氧浓度高于 250 nmol mol<sup>-1</sup> 时, 将浓度设定在 250 nmol mol<sup>-1</sup> 以避免植株受到超高浓度臭氧的直接伤害。供试水稻 (*Oryza sativa* L.) 为长江下游稻区推广品种武运粳 21。

### 1.2 样品采集及处理

分别在 2009 年 7 月 8 日 (分蘖期)、8 月 20 日 (开花期)、9 月 28 日 (成熟期) 和 2010 年 07 月 05 日 (分蘖期)、08 月 22 日 (开花期)、09 月 29 日 (成熟期) 采集土壤样品。每次每个试验圈用直径 2 cm 的土钻 5 点以上 S 形采集 0 ~ 15 cm 土层的土壤样品, 混合装入自封袋后带回实验室, 经自然风干后过 20 目 (0.90 mm 孔径) 分样筛, 用于测定土壤水溶性有机碳含量, 成熟期一部分鲜土用于 BIOLOG 测试。

### 1.3 测定方法及数据处理

土壤水溶性有机碳测定方法: 称取相当于 20 g 干土的过筛土, 灭菌蒸馏水浸提 (水土比 2:1), 室温下震荡 30 min, 高速离心机中 (8000 r min<sup>-1</sup>) 离心 15 min 后, 过 0.45 μm 滤膜<sup>[23]</sup>。滤液直接在耶拿公司 TOC-总有机碳分析仪 (Mutli N/C 3100) 测定。

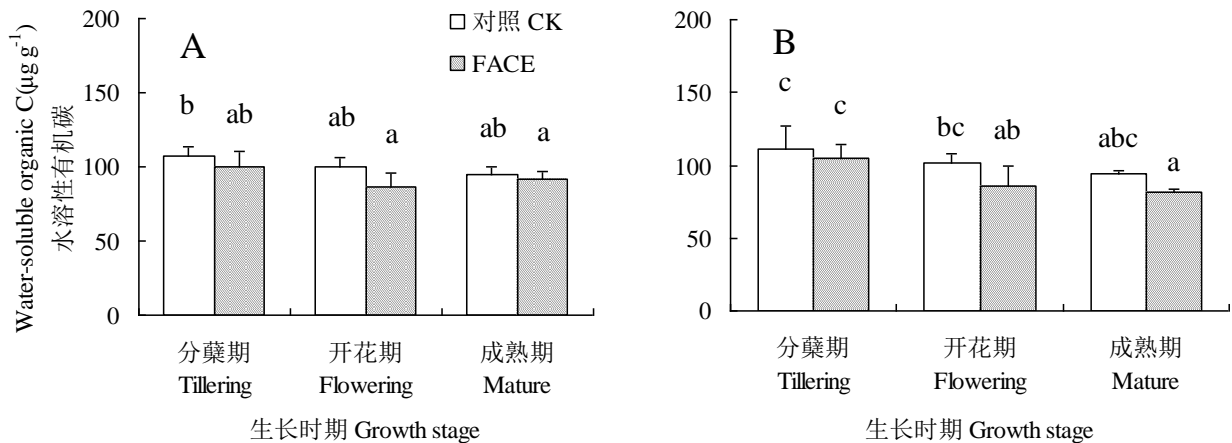
采用 BIOLOG ECO 微平板测定土壤微生物功能多样性。采用 Classen 方法<sup>[24]</sup>进行 ECO 板的接种。称取相当于 5 g 干土的鲜土, 加入装有 45 ml 灭菌的 0.05 mol L<sup>-1</sup> 磷酸缓冲液 (pH 7.0) 三角瓶中, 摇床连续振荡 30 min (180 r min<sup>-1</sup>), 再用上述磷酸缓冲液将悬液稀释至 10<sup>-3</sup>。静置 10 min, 用 8 通道加样器加入 BIOLOG ECO 板, 各孔分别添加 150 μl。接种的 ECO 板 25 °C 培养, 24 h 后每隔 12 h 使用 Biolog Emax<sup>TM</sup> 读板仪利用 Microlog Rel.4.2 软件读取各孔在 750 nm 和 590 nm 波长下的光吸收值。

所有结果均以烘干土为基础 (105 °C, 24 h), 计算平均值和标准差, 运用 SPSS 13.0 进行统计分析, 并使用 Duncan 检验进行多重比较 ( $p < 0.05$ ), EXCEL 2003 作图。

## 2 结果与分析

## 2.1 臭氧浓度升高对稻田土壤水溶性有机碳含量的影响

土壤水溶性有机碳是陆地生态系统中最活跃的碳组分之一，可被土壤微生物迅速代谢并转化成其他组分<sup>[25-26]</sup>。本实验结果显示，随着水稻的生长发育，土壤水溶性有机碳含量逐渐降低（图 1），2009 年稻季从 100.0 ~ 106.9  $\mu\text{g g}^{-1}$  降低至 91.8 ~ 94.5  $\mu\text{g g}^{-1}$ ，2010 年稻季从 104.5 ~ 110.9  $\mu\text{g g}^{-1}$  降低至 81.3 ~ 94.5  $\mu\text{g g}^{-1}$ 。这是因为在整个生长期里稻田土壤微生物消耗碳源底物所致。与对照相比，臭氧浓度升高有降低稻田土壤水溶性有机碳的含量的趋势，2009 年稻季从 94.5 ~ 106.9  $\mu\text{g g}^{-1}$  降低至 91.8 ~ 100.0  $\mu\text{g g}^{-1}$ ，2010 年稻季从 94.5 ~ 111.0  $\mu\text{g g}^{-1}$  降低至 104.5 ~ 81.3  $\mu\text{g g}^{-1}$ 。在 2010 年成熟期，臭氧浓度升高下较对照降低了 13.4%，达到了显著性差异（ $p < 0.05$ ）。



注：同一年中不同字母表示  $p < 0.05$  水平差异显著 Note: Means in same year followed by different letters are significantly different at  $p < 0.05$

图 1 臭氧浓度升高对水稻土水溶性有机碳含量的影响(A, 2009 年 B, 2010 年)

Fig. 1 Effects of elevated ozone concentration on contents of water-soluble organic carbon in paddy soil (A, In 2009 B, In 2010)

## 2.2 臭氧浓度升高对稻田土壤微生物功能多样性的影响

### 2.2.1 平均吸光值 (AWCD) 变化

平均吸光值 (Average Well Color Development, AWCD) 反映了土壤微生物对总体碳源的利用能力<sup>[27]</sup>，与土壤微生物群落功能组成和大小有关<sup>[28]</sup>。从图 2 的结果来看，2009 年臭氧浓度升高下 AWCD 于培养 156 h 达到平台期，而对照下平台期出现在 144 h；2010 年臭氧浓度升高下 AWCD 平台期出现在 144 h，而对照下平台期出现于 168 h。近地层臭氧浓度升高 3 a 和 4 a 的条件下，稻田土壤微生物群落 AWCD 有低于对照的趋势，但是差异未达到显著性水平。结果表明，近地层臭氧浓度升高有降低稻田土壤微生物碳源底物利用能力的趋势，这可能是由于臭氧浓度升高减少土壤水溶性有机碳含量进而降低土壤微生物碳源底物有效性所致。

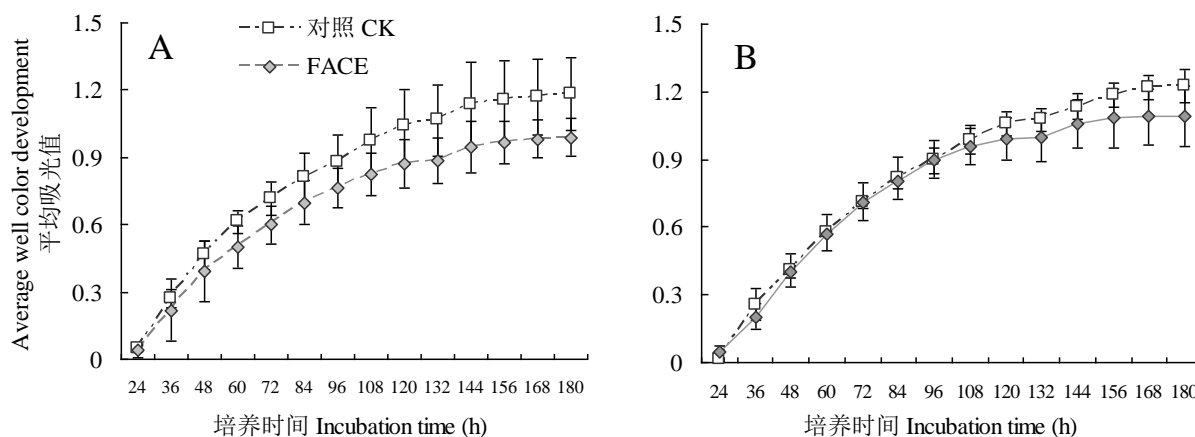


图2 土壤微生物群落温育过程中平均吸光值的变化(A, 2009年 B, 2010年)

Fig. 2 Variation of AWCD with the incubation of soil microbial community (A, In 2009 B, In 2010)

**2.2.2 多样性指数的变化** Shannon 指数用于评估丰富度, Simpson 指数用于评估优势度的指数, McIntosh 指数度量一致性<sup>[29-30]</sup>。取 96h 的平均吸光值计算土壤微生物多样性指数, 所得结果如表 1。2009 年和 2010 年臭氧浓度升高对稻田土壤微生物丰富度 (Shannon Index)、优势度 (Simpson Index) 和均一度 (McIntosh Index) 的影响均未达到显著性水平。

表 1 土壤微生物群落功能多样性指数

Table 1 Functional diversity indices of soil microbial community

年份 Year	处理方法 Treatment	Shannon 指数 Shannon Index	Simpson 指数 Simpson Index	McIntosh 指数 McIntosh Index
2009	FACE	2.99±0.12 a	0.94±0.01 a	4.30±0.31 a
	对照 CK	2.99±0.15 a	0.94±0.01 a	4.70±0.25 a
2010	FACE	3.24±0.01 a	0.96±0.00 a	5.27±0.17 a
	对照 CK	3.14±0.09 a	0.95±0.01 a	5.26±0.25 a

注: 表中数据为测定样品的平均值±标准偏差; 同一年中不同字母表示  $p < 0.05$  水平差异显著 Note: Values in the table are means of three replicates standard errors Means in same year followed by different letters are significantly different at  $p < 0.05$

**2.2.3 主成分分析** 主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA) 采取降维的方法, 使用少数相互无关的综合指数反映原始数据中所包含的绝大多数信息<sup>[31]</sup>。采用 96 h 的数据进行分析, 结果如图 3 所示。2009 年臭氧浓度升高和对照条件下稻田土壤微生物群落碳源利用谱在主成分 1 (Principal Component 1, PC1) 和主成分 2 (Principal Component 2, PC2) 上未能实现分离, 说明臭氧浓度升高 3 a 对稻田土壤微生物总体碳源利用方式没有显著影响; 2010 年臭氧浓度升高和对照条件下稻田土壤微生物群落碳源利用谱在 PC1 和 PC2 上实现了分离, 说明臭氧浓度升高 4 a 对稻田土壤微生物碳源底物利用方式的影响达到显著性水平。臭氧浓度升高 3 a, PC1 和 PC2 之和等于 54%; 而臭氧浓度升高 4 a, PC1 和 PC2 之和达到 68%, 较熏蒸 3 a 的值高出 14%。结果表明, 1.5 倍当年臭氧浓度熏蒸 4 a 对稻田土壤微生物碳源底物利用功能多样性的影响大于熏蒸 3 a 的影响。

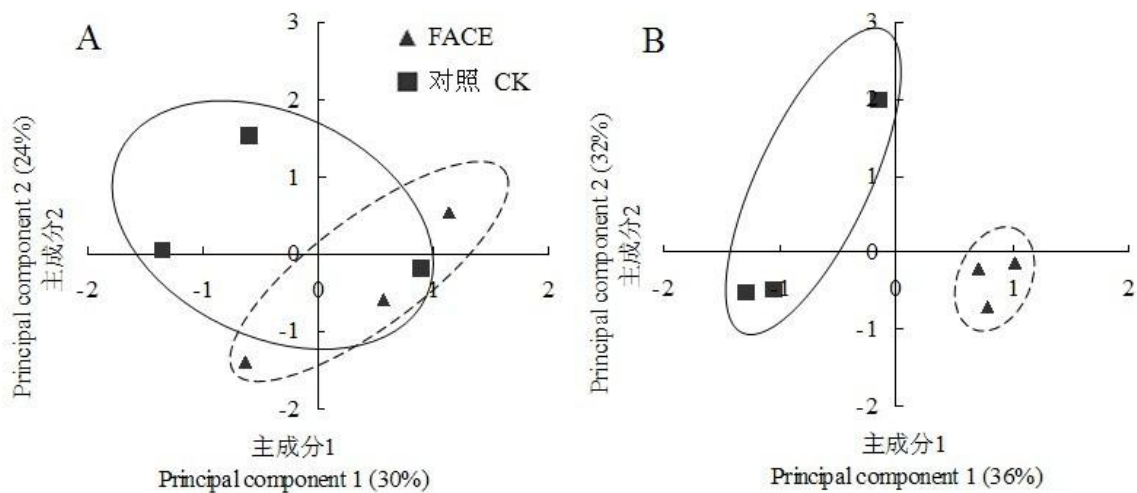


图3 土壤微生物碳源利用特性的主成分分析(PCA) (A, 2009年 B, 2010年)

Fig. 3 Principal components analysis (PCA) of carbon utilization of soil microbial community (A, In 2009 B, In 2010)

2010年稻季，与主成分1和主成分2具有较高相关系数的碳源见表2。对PC1贡献较高的15个碳源中有6个属于糖类物质，4个属于氨基酸底物及其衍生物，3个属于代谢中间产物和次生代谢物，2个属于脂肪酸和脂类。贡献率最大碳源的是L-丝氨酸，属于氨基酸底物及其衍生物，是根系分泌物的一种<sup>[32]</sup>。对PC2贡献较高的9个碳源中有4个属于代谢中间产物和次生代谢物，3个属于糖类物质，1个属于氨基酸底物及其衍生物，还有1个属于脂肪酸和脂类。贡献率最大碳源的是i-赤藻糖醇，属于糖类物质，广泛分布于植物中<sup>[33]</sup>。因此，臭氧浓度升高条件下，对主成分分异的主要碳源涉及的类型比较多，占到5大类碳源的4类，进一步说明臭氧浓度升高对稻田土壤微生物碳源底物利用能力的影响深远。

表2 水稻土中与PCA1和PCA2相关的微生物主要利用碳源(2010年)

Table 2 Main carbon resources of microbial utilization related to PCA1 and PCA2 in paddy soil (In 2010)

主要碳源 Main carbon resources	相关系数 Correlation coefficients	主要碳源 Main carbon resources	相关系数 Correlation coefficients	
PC1 糖类物质及其衍生物 Carbohydrates and their derivants	D-葡萄糖胺酸 D-Glucosaminic Acid	0.935	PC1 脂肪酸和脂类 Fat acid and lipid	
	D-甘露醇 D-Mannitol	0.902		
	D-半乳糖醛酸 D-Galacturonic Acid	0.888		
			吐温 80 Tween 80	0.884
			丙酮酸甲酯 Pyruvic Acid Methyl Ester	0.647
		PC2 代谢中间产物和次生代谢物 Metabolic mediates and secondary		

	$\beta$ -甲基-D-葡萄糖苷	0.674	metabolites	2-羟基苯甲酸	0.884
	$\beta$ -Methyl-D-Glucoside			2-Hydroxy Benzoic Acid	
	肝糖	0.670		苯乙胺	0.878
	Glycogen			Phenylethylamine	
	D-半乳糖酸- $\gamma$ -内酯	0.649		D, L- $\alpha$ -甘油磷酸盐	0.864
	D-Galactonic Acid			D,L- $\alpha$ -Glycerol Phosphate	
	$\gamma$ -Lactone			腐胺	0.846
氨基酸底物及其衍生物				Putrescine	
Amino acid substrates and their derivants					
	L-丝氨酸	0.943	糖类物质及其衍生物		
	L-Serine		Carbohydrates and their derivants		
	L-天冬酰胺	0.862		i-赤藻糖醇	0.935
	L-Asparagine			i-Erythritol	
	L-苏氨酸	0.751		$\alpha$ -D-乳糖	0.774
	L-Threonine			$\alpha$ -D-Lactose	
	L-精氨酸	0.711		D-半乳糖酸- $\gamma$ -内酯	0.635
	L-Arginine			D-Galactonic Acid $\gamma$ -Lactone	
代谢中间产物和次生代谢物			氨基酸底物及其衍生物		
Metabolic mediates and secondary metabolites			Amino acid substrates and their derivants		
	$\alpha$ -丁酮酸	0.858		L-苯丙氨酸	0.628
	$\alpha$ -Ketobutyric Acid			L-Phenylalanine	
	4-羟基苯甲酸	0.637	脂肪酸和脂类		
	4-Hydroxy Benzoic Acid		Fat acid and lipid		
	D-苹果酸	0.633		丙酮酸甲酯	0.604
	D-Malic Acid			Pyruvic Acid Methyl Ester	

### 3 讨论

近地层臭氧浓度的持续升高对农田生态系统影响深远。臭氧浓度升高对该生态系统地上部分影响的工作目前已经全面开展，但是对其地下部分特别是土壤微生物群落功能方面影响的研究还鲜见报道。本试验揭示，近地层臭氧浓度升高下稻田土壤水溶性有机碳含量下降，从而影响了土壤微生物对部分碳源的利用能力。植物的碳源输入不仅是土壤碳库的一个重要组成部分<sup>[34]</sup>，也是土壤微生物重要的碳源和能源之一<sup>[35]</sup>。大气臭氧浓度升高影响了植物的生长发育，导致了其对土壤的碳源输入发生变化<sup>[12-19]</sup>。研究表明，臭氧浓度升高下植物会降低向根系的碳输入、改变根系分泌物组成，从而影响土壤微生物的活性<sup>[36]</sup>。

近地层臭氧浓度升高也改变了稻田土壤微生物群落碳源利用能力的多样性。BIOLOG 结果表明，臭氧浓度升高下稻田土壤微生物碳源底物利用能力改变，AWCD 值有底于对照的趋势。多样性指数分析结果显示，熏蒸 3 a 和 4 a 对稻田土壤微生物的丰富度、优势度、均一度均无显著影响。有研究表明，臭氧浓度升高对土壤细菌群落结构多样性的影响非常小<sup>[37]</sup>。主成分分析结果显示，3 a 的臭氧浓度升高对稻田土壤微生物部分碳源底物利用的无显著性影响，但是升高 4 a 后有了显著性影响，即在 PC1 和 PC2 上实现分离，这可能因为近地层臭氧浓度升高对农田生态系统地下部分的影响有累积效应<sup>[21]</sup>，熏蒸 4 a 的影响超过熏蒸 3 a。臭氧浓度升高会导致植物向土壤有机质输入减少，从而减少了土壤微生物数量<sup>[38]</sup>，最终可能导致土壤生态系统过程的功能变化<sup>[39]</sup>。结合多样性指数结果分析，可以认为，熏蒸 4 a 后的稻田土壤优势微生物对碳源底物的利用能力发生显著变化。在对 PC1 贡献较高的 15 个碳源中，贡献率最大的是 L-丝氨酸，属于氨基酸底物及其衍生物。此外，臭氧浓度升高下稻田土壤微生物对部分根系分泌物，如 L-丝氨酸、L-天冬酰胺、L-苏氨酸、L-精氨酸、D-苹果酸和 4-羟基苯甲酸利用能力影响较大。这一现象可能源于臭氧浓度的升高会影响植株根系分泌物释放到根系周围的土壤溶液中的量<sup>[36]</sup>，有研究者普遍认为受胁迫的植物根系分泌物的种类和数量均有改变<sup>[40-42]</sup>。其中，D-苹果酸含量的变化可能会影响到作物根系对营养元素 P 和 K 的吸收<sup>[43]</sup>，因此臭氧浓度升高可能会通过间接影响土壤微生物活性的变化而反馈于作物的生长发育。此外，糖类物质占 40%，贡献率较高的糖类物质中，D-甘露醇， $\beta$ -甲基-D-葡萄糖苷都是纤维素或半纤维素的水解产物。臭氧浓度可能影响纤维素的降解，从而影响了该 2 种糖类物质的含量<sup>[44]</sup>，进而影响稻田土壤微生物群落对这 2 种糖类底物的利用能力。

从本实验结果可以看出，熏蒸 4 a 对土壤微生物碳源底物利用功能多样性的影响比熏蒸 3 a 的影响大。尽管熏蒸 3 ~ 4 a 对稻田土壤微生物的多样性指数暂时没有显著影响，但是作者认为，随着熏蒸时间的延长，量的积累必将引起质变，对稻田土壤微生物功能多样性的影响可能会更加深远。因此，需跟踪研究大气臭氧浓度对作物碳源循环和土壤微生物不同碳源利用的影响，以期更准确地揭示全球气候变化对农田生态系统的影响，为应对未来全球气候变化负面效应打下理论基础和提供实践指导。

## 参考文献

- [1] Volz A, Kley D. Evaluation of the montsouris series of ozone measurements made in the 19th- century. *Nature*, 1988, 332: 240-242
- [2] Fiscus E L, Booker F L, Burkey K O. Crop responses to ozone: Uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning. *Plant, Cell and Environment*, 2005, 28: 997-1011

- [3] 冯兆忠, 小林和彦, 王效科, 等. 小麦产量形成对大气臭氧浓度升高响应的整合分析. 科学通报, 2008,53(24): 3080-3085. Feng Z Z, Kaobayashi Kazuhiko, Wang X K, et al. Impact of elevated ozone concentration on growth, physiology, and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.): A meta-analysis (In Chinese). Chinese Science Bulletin, 2008,53(24): 3080-3085
- [4] Karnosky D F, Pregitzer K S, Zak D R, et al. Scaling ozone responses of forest trees to the ecosystem level in a changing climate. Plant, Cell & Environment, 2005, 28: 965-981
- [5] Prather M, Ehhalt D, Dentener F, et al. Atmospheric chemistry and greenhouse gases// Houghton J T, Ding Y, Griggs D J, et al. //Climate Change 2001: The scientific basis. Contribution of working group I to the third assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge, UK /New York, N Y, USA: Cambridge University Press, 2001: 239-287
- [6] Prather M, Gauss M, Bernsten T, et al. Fresh air in the 21st century? Geophysical Research Letters, 2003, 30 ( 2): 1100
- [7] Ashmore M R, Bell J N. The Role of ozone in global change. Annals of Botany, 1991, 67(1): 39-48
- [8] 王春乙, 白月明, 郑昌玲, 等. CO<sub>2</sub> 和 O<sub>3</sub> 浓度倍增对作物影响的研究进展. 气象学报, 2004, 62 (5) : 875-881. Wang C Y, Bai Y M, Zheng C L, et al. The study on effects of double CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> on crops (In Chinese). Acta Meteorologica Sinica, 2004, 62 (5) : 875-881
- [9] 郭建平, 高素华. 土壤水分对冬小麦影响机制研究. 气象学报, 2003, 61 (4) : 501-506. Guo J P, Gao S H. Mechanism study on impact of soil water on winter wheat (In Chinese). Acta Meteorologica Sinica, 2003, 61 (4) : 501-506
- [10] 王春乙, 白月明, 郭建平, 等. 臭氧浓度对中国地区作物和蔬菜的影响. 气象学报, 2004, 18(1) :105-116. Wang C Y, Bai Y M, Guo J P, et al. Impacts of ozone concentration changes on crops and vegetables in China (In Chinese). Acta Meteorologica Sinica, 2004, 18(1):105-116
- [11] McCrady J K, Andersen C P. The effect of ozone on below-Ground carbon allocation in wheat. Environmental Pollution, 2000, 107(3): 465-472
- [12] Johnson R M, Pregitzer K S. Concentration of sugars, phenolic acids, and amino acids in forest soils exposed to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(12): 3159-3166
- [13] Nelson T, Edwards S. Root and soil respiration responses to ozone in *Pinus taeda* L. Seedlings. New Phytologist, 1991, 118(2): 315-321
- [14] Fitzgerald L B, Stephen A P, Torbert H A, et al. Decomposition of soybean grown under elevated concentrations of CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>. Global Change Biology, 2005, 11(4): 685-698
- [15] 胡君利, 林先贵, 王俊华, 等. 大气对流层臭氧浓度升高下 AM 真菌对小麦生长的影响. 环境科学, 2009, 30(11): 3393-3398. Hu J L, Lin X G, Wang J H, et al. Arbuscular mycorrhizal fungal effects on wheat growth in response to elevated tropospheric O<sub>3</sub> concentration (In Chinese). Environmental Science, 2009, 30(11): 3393-3398
- [16] 黄辉, 王春乙, 白月明, 等. O<sub>3</sub> 与 CO<sub>2</sub> 浓度倍增对大豆叶片及其总生物量的影响研究. 中国生态农业学报, 2005, 13(4):52-55. Huang H, Wang C Y, Bai Y M, et al. Impact of O<sub>3</sub> and CO<sub>2</sub> concentration doubling on the soybean leaf development and biomass (In Chinese). Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2005, 13(4):52-55
- [17] 董文霞, 陈宗懋. 大气臭氧浓度升高对植物及其昆虫的影响. 生态学报, 2006, 26(1):3878-3884. Dong W X, Chen Z M. The effect of elevated ozone concentration on plants and insects (In Chinese). Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(1): 3878-3884
- [18] Yang W Q, Wang K Y. Advances on soil enzymology. Chinese Journal Applied Environment and Biology, 2002, 8(5): 564-570
- [19] Hofstra G, Ali A, Wukasch R T, et al. The rapid inhibition of root respiration after exposure of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to ozone. Atmospheric Environment, 1981, 15: 483-487
- [20] Kasurinen A, Gonzales P K, Riikonen J, et al. Soil CO<sub>2</sub> efflux of two silver birch clones exposed to elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> levels during three growing seasons. Global Change Biology, 2004, 10: 1654-1665
- [21] Guang Y S, Lian X Y, Yun X W, et al. Impact of elevated ozone concentration on yield of four Chinese rice cultivars under fully open-air field conditions. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2009, 131: 178-184
- [22] 李全胜, 林先贵, 胡君利, 等. 近地层臭氧浓度升高对稻田土壤氨氧化与反硝化细菌活性的影响. 生态环境学报, 2010, 19(8):1789-1793. Li Q S, Lin X G, Hu J L, et al. Elevated surface O<sub>3</sub> concentration effects on soil ammonia-oxidizing and denitrifying bacterial activities in a rice field (In Chinese). Ecology and Environmental Sciences, 2010, 19(8):1789-1793
- [23] Haynes R J, Francis G S. Changes in microbial biomass C, soil carbohydrate composition and aggregate stability induced by growth of selected crop and forage species under field conditions. Journal of Soil Science, 1993, (44): 665-675
- [24] Classen A T, Boyle S I, Haskins K E, et al. Community—level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. FEMS Microbiology, 2003, 44: 319-328



- [25] 倪进治, 徐建民, 谢正苗. 土壤水溶性有机碳的研究进展. 生态环境, 2003, 12(1): 71-75. Ni J Z, Xu J M, Xie Z M. Advances in soil water-soluble organic carbon research (In Chinese). Ecology and Environment, 2003, 12(1): 71-75
- [26] Chen C R, Xu Z H. Analysis and behavior of soluble organic nitrogen in forest soils. Journal of Soils and Sediments, 2008, 8(6): 363-378
- [27] Xue D, Yao H Y, Ge D Y, et al. Soil microbial community structure in diverse land use systems: A comparative study using Biolog, DGGE, and PLFA analyses. Pedosphere, 2008, 18(5): 653-663
- [28] 徐秋芳, 姜培坤, 邬奇峰. 集约经营板栗林土壤微生物量碳与微生物多样性研究. 林业科学, 2007, 43(3): 15-19. Xu Q F, Jiang P K, Wu Q F. Effects of intensive management on soil microbial biomass and functional diversity in *Castanea mollissima* stands (In Chinese). Scientia Silvae Sinicae, 2007, 43(3): 15-19
- [29] Zak J C, Willig M R, Moorhead D L, et al. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. Soil Biology and Biochemistry, 1994, 26: 1101-1108
- [30] 李云, 孙波, 李忠佩. 气候对旱地紫色土微生物功能多样性的长期影响. 土壤, 2009, 41(2): 230-235. Li Y, Sun B, Li Z P. Long-term effect of climate condition on soil microbial diversity of purple soil upland (In Chinese). Soils, 2009, 41(2): 230-235
- [31] 戴珏, 胡君利, 林先贵, 等. 免耕对潮土不同粒级团聚体有机碳含量及微生物碳代谢活性的影响. 土壤学报, 2010, 47(5): 923-930. Dai J, Hu J L, Lin X G, et al. Effects of non-tillage on content of organic carbon and microbial carbonic metabolism of soil aggregates in a fluvo-aquic soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2010, 47(5): 923-930
- [32] 刘军, 温学森, 郎爱东. 植物根系分泌物成分及其作用的研究进展. 食品与药品, 2007, 9(03A): 63-65. Liu J, Wen X S, Lang A D. Progress in components and effects of plant root exudates (In Chinese). Food and Drug, 2007, 9(03A): 63-65
- [33] 张燕燕, 曲来叶, 陈利顶. Biolog EcoPlate™ 实验信息提取方法改进. 微生物学通报, 2009, 36(7): 1083-1091. Zhang Y Y, Qu L Y, Chen L D. An amendment on information extraction of Biolog EcoPlate™ (In Chinese). Microbiology, 2009, 36(7): 1083-1091
- [34] Hackett C A, Griffiths B S. Statistical analysis of the time-course of Biolog substrate utilization. Journal of Microbiological Methods, 1997, 30(1): 63-69
- [35] Rogers H, Runion G, Krupa S. Plant responses to atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment with emphasis on roots and the rhizosphere. Environmental Pollution, 1994, 83: 155-189
- [36] Kraficzky I, Trolldenier G, Beringer H. Soluble Root Exudates of maize-influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. Soil Biology & Biochemistry, 1984, 16: 315-322
- [37] 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. Applied and Environment Microbiology, 2005, 71(12): 7750-7758
- [38] Manninen S, Aaltonen H, Kanerva T, et al. Plant and soil microbial biomasses in *Agrostis capillaris* and *Lathyrus pratensis* monocultures exposed to elevated O<sub>3</sub> and CO<sub>2</sub> for three growing seasons. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42: 1967-1975
- [39] Kanerva T; Palojarvi A; Ramo K, et al. Changes in soil microbial community structure under elevated tropospheric O<sub>3</sub> and CO<sub>2</sub>. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40: 2502-2510
- [40] 张俊英, 王敬国, 许永利. 大豆根系分泌物中氨基酸对根腐病菌生长的影响. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(2): 308-315. Zhang J Y, Wang J G, Xu Y L. Effect of amino acids from soybean root exudates on hyphal growth of pathogenic fungi of soybean root rot (In Chinese). Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2008, 14(2): 308-315
- [41] 李廷轩, 马国瑞, 张锡洲, 等. 籽粒苋不同富钾基因型根系分泌物中有机酸和氨基酸的变化特点. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(5): 647-653. Li T X, Ma G R, Zhang X Z, et al. Change characteristics of organic acid and amino acid in root exudates in different grain amaranth genotypes (In Chinese). Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2005, 11(5): 647-653
- [42] 林文雄, 雄君, 周军建, 等. 化感植物根际生物学特性研究现状与展望. 中国生态农业学报, 2007, 15(4):1-8. Lin W X, Xiong J, Zhou J J, et al. Research status and its perspective on the properties of rhizosphere biology mediated by allelopathic plants (In Chinese). Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2007, 15(4):1-8
- [43] Stefan S, Jürgen B, Weigel H J. Ozone exposure of field-grown winter wheat affects soil mesofauna in the rhizosphere. Environmental Pollution, 2009, 157: 3357-3362
- [44] Fitzgerald L B, Stephen A H. Allen T, et al. Decomposition of soybean grown under elevated concentrations of CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>. Global Change Biology, 2005, 11: 685-698

# Effects of Elevated Surface O<sub>3</sub> Concentration on Functional Diversity of Soil Microbial Community in Rice Field

Yu Yongchang<sup>1,2</sup> Lin Xiangui<sup>1\*</sup> Feng Youzhi<sup>1</sup> Zhang Jing<sup>1</sup> Li Quansheng<sup>1,3</sup> Zhu Jianguo<sup>1</sup>

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Joint Open Laboratory of Soil and the Environment, Hong Kong Baptist University & Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(2 Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

(3 Key Laboratory for Microbiological Engineering of Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract** Effect of elevated surface O<sub>3</sub> concentration (~70 nmol mol<sup>-1</sup>) on functional diversity of soil microbial communities in paddy field under the rice/wheat rotation system was investigated in 2009 and 2010 through determination of water-soluble organic carbon (WSOC) content and BIOLOG index, by making use of the O<sub>3</sub>-FACE (Free-Air ozone Concentration Enrichment) platform of China. Results show that with O<sub>3</sub> concentration elevated, both WSOC content, and AWCD (Average Well Colour Development) tended to decrease. Diversity indexes determined in the two years indicate that elevated O<sub>3</sub> concentration did not have much effect on Shannon, Simpson and McIntosh indices. PCA results in 2010 show that elevation of O<sub>3</sub> concentration affected the edaphon's ability of utilizing substrates of some specific carbon sources. The findings of the experiment suggest that under elevated O<sub>3</sub> concentration (~70 nmol mol<sup>-1</sup>), functional diversity of soil microbes was significantly increased in rice field.

**Key words** Elevated O<sub>3</sub> concentration; Rice field; Water-soluble organic carbon; Soil microbial functional diversity