

玉米品种对根际微生物利用光合碳的影响

李增强^{1, 2} 赵炳梓^{1†} 张佳宝¹

(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 210008)

(2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要 通过温室盆栽试验, 以玉米品种郑单958(ZD)和陕单8806(SD)为对象, 采用磷脂脂肪酸(PLFA)联合¹³CO₂标记技术对不同品种玉米光合同化碳在玉米—根际土壤系统的分配特征以及利用新光合同化碳的微生物群落进行了定量研究。结果表明: ZD的生物量及其植株和根际土壤的¹³C含量均显著高于相应的SD处理, 说明玉米品种能够显著影响光合同化碳的分配。根际土壤中部分PLFA-C百分比和PLFA-¹³C百分比在两品种间显著不同, 且ZD种植土壤中表征细菌(包括革兰氏阳性菌(G⁺)和革兰氏阴性菌(G⁻))和真菌的PLFA-C及PLFA-¹³C含量均显著高于种植SD土壤。ZD土壤中表征G⁺、G⁻、真菌和放线菌的PLFA-¹³C含量分别占总PLFA-¹³C的2.4%、33%、35%和0.3%, 而上述参数在SD土壤中的值分别为5.9%、55%、11%和1.1%。ZD处理较SD处理提高了真菌/细菌比值, 降低了环丙脂肪酸/前体比值。本研究表明根际微生物对光合同化碳的利用受玉米品种的显著影响, G⁻和真菌是利用光合同化碳的主要群落。

关键词 玉米品种; ¹³CO₂标记; 根际沉积物; 根际微生物; 磷脂脂肪酸

中图分类号 S154.36 **文献标识码** A

根际是植物和微生物交流活跃的土壤微区, 根际微生物受到植物的显著影响。研究表明根际微生物数量和群落结构在不同植物种类间以及同一植物不同品种间均存在显著差异^[1-3]。例如钱秋平等^[2]利用磷脂脂肪酸(PLFA)技术发现不同大豆品种显著影响了其根际微生物群落结构。Aira等^[3]发现不同玉米杂交品种的根际微生物活性和群落结构均存在显著差异。同一作物不同品种对其根际微生物的影响主要与不同品种根系形态以及根际沉积物数量和组成等因素有关^[1, 3]。

植物光合同化碳以根际沉积物的形式进入土壤, 是根际微生物的主要碳源和能量来源。根际微生物能够通过自身代谢活动将这部分碳源或以气体

的形式返回大气, 或以有机质的形式存储于土壤中^[4]。因此, 根际微生物对光合同化碳的利用能够显著影响土壤碳固定过程。研究表明根际不同微生物群落对光合同化碳的利用能力不同^[1, 5-7], 例如Tian等^[5]发现根际革兰氏阴性菌是利用水稻光合同化碳的主要群落。此外, 研究表明不同植物种类^[1]、植物生育期^[6-7]以及土壤环境条件^[5]等因素均能对根际微生物利用光合同化碳产生显著影响。然而, 根际微生物对光合同化碳的利用在同一作物不同品种间的差异尚未引起广泛关注。研究不同作物品种对根际微生物利用光合同化碳的影响对于进一步了解根际土壤碳循环和碳固定过程具有重要意义。

* 国家自然科学基金项目(41271311)、国家重点研发计划项目(2016YFD02500107)和国家科技支撑计划项目(2012BAD05B0203)共同资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 41271311), the National Key Research and Development Program of China (No. 2016YFD0200107), and the National Key Technology R&D Program of China (No. 2012BAD05B0203)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: bzhao@issas.ac.cn

作者简介: 李增强(1987—), 男, 山东潍坊人, 博士研究生, 主要从事土壤微生物和有机碳转化研究。E-mail: zqli@issas.ac.cn

收稿日期: 2015-12-21; 收到修改稿日期: 2016-01-25; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-04-21

近期发展起来的稳定性同位素探针技术 (SIP) 能够定量研究参与光合同化碳转化的微生物群落^[8]。虽然基于核酸 (DNA) 的 SIP 技术可以提供大量关于微生物遗传多样性和分子生态学方面的信息^[9], 但是由于 DNA 的周转率相对较低, 得到足够被 ^{13}C 标记的 DNA 相对比较困难^[8], 同时由于该技术操作繁琐、测试费用高以及后续数据处理复杂等原因, 基于 DNA 的 SIP 技术极少被用于研究根际微生物对光合同化碳的利用。而基于 PLFA 的 SIP 技术由于具有灵敏度高、操作简单等优点被广泛用来研究水稻^[5, 7]、白苜蓿^[1] 以及黑麦草^[1, 10] 等植物光合同化碳的根际微生物代谢过程。这些研究也进一步证实该技术在研究根际微生物利用光合同化碳方面是一项成熟的技术。

华北平原是我国主要的夏玉米产区, 本研究以华北平原常见的郑单958 (ZD) 和陕单8806 (SD) 玉米品种为对象, 通过温室盆栽, 利用基于 PLFA 的 SIP 技术, 定量研究不同玉米品种条件下光合同化碳在作物—土壤系统中的分配及根际微生物对光合同化碳的利用, 其结果对于全面认识植物—微生物间碳循环具有重要科学意义。

1 材料与方法

1.1 供试土壤与试验设计

供试土壤于2007年9月采集自中国科学院封丘农业生态实验站内 ($114^{\circ} 24'\text{E}$, $35^{\circ} 00'\text{N}$), 土壤质地为砂壤, 土壤类型为潮土 (干润冲积新成土, 中国土壤系统分类检索 (2001))。采集表层 (0~20 cm) 土壤样品, 避光风干, 过8 mm筛, 备用。试验开始前土壤基本理化性质为: 有机碳 8.50 g kg^{-1} , 全氮 0.64 g kg^{-1} , 有效氮 27.6 mg kg^{-1} , 有效磷 20.1 mg kg^{-1} , 速效钾 86.1 mg kg^{-1} , pH 8.23。

盆栽试验采用高25 cm、直径20 cm的塑料盆, 每盆装风干土5 kg, 以尿素、重过磷酸钙和氯化钾作为基肥与土壤混合, 肥料用量为N 150 mg kg^{-1} 、 P_2O_5 110 mg kg^{-1} 、 K_2O 82.5 mg kg^{-1} , 调节土壤含水量至田间持水量的80%。为了测定微生物群落对光合同化碳的利用, 设置对照组 (UL) 和标记组 (L), 其中未标记组和标记组均包括郑单958 (ZD) 和陕单8806 (SD) 两个品种。每个处理重复3盆, 共计12盆。

1.2 $^{13}\text{CO}_2$ 脉冲标记

玉米于2014年6月15日播种, 每盆播种两粒, 出苗后仅留一颗健壮苗, 间苗后40 d开始标记, 标记方法参考尹云峰等^[11]的方法。标记过程在两个特制的透明有机玻璃箱 (长×宽×高: $100 \text{ cm} \times 70 \text{ cm} \times 180 \text{ cm}$) 中完成, 玻璃箱内装有2个小型风扇, 并留有注射器和温度计插孔。标记于晴天上午的8:00~12:00在南京土壤研究所温室内进行。在玉米自然生长及标记过程中, 每天早上用精密磅秤称量标记组和对照组盆重, 用蒸馏水补充损失的水分。

每次的具体标记步骤如下: (1) 将每个品种的3个塑料盆分别放入标记箱的底座上, 每个底座放置3个烧杯, 其中2个烧杯各装有 $1.5 \text{ g Na}_2^{13}\text{CO}_3$ (^{13}C 丰度为99%, 购自上海化工研究院), 另1个烧杯装有 $4 \text{ g Na}_2^{12}\text{CO}_3$ 。同时每个底座放入冰块, 防止标记过程中温度过高。(2) 将两个玻璃箱分别放在底座槽内, 加水密封, 启动风扇, 让玉米在玻璃箱内进行10 min的光合作用, 关闭风扇。用注射器将100 ml 2 mol L^{-1} 盐酸溶液加入其中一个装有 $\text{Na}_2^{13}\text{CO}_3$ 烧杯中, 然后打开风扇, 让玉米在玻璃箱中进行光合作用。(3) 标记90 min后, 用注射器向另一装有 $\text{Na}_2^{13}\text{CO}_3$ 的烧杯中加入盐酸溶液, 继续进行标记。(4) 最后的60 min内向装有 $\text{Na}_2^{12}\text{CO}_3$ 烧杯中加入足量盐酸溶液产生 $^{12}\text{CO}_2$, 让玉米进行光合作用。标记结束后, 取走玻璃箱。每个品种均同时进行同样的标记过程, 整个标记过程中玻璃箱内的温度在27~37℃之间, 连续标记7 d。与此同时, 对照组放置于离标记玻璃箱5 m以上的区域, 防止污染。

1.3 样品采集与分析

标记结束后的第1天收获对照组和标记组的茎叶部分和根, 同时采用抖根法收集根际土壤。将茎叶和根用去离子水洗净, 105°C 杀青30 min, 70°C 烘干12 h, 粉碎过100目筛。根际土壤样品一部分风干后, 过100目筛, 用来测定碳含量和 $\delta^{13}\text{C}$ 值, 一部分保存于 -20°C 冰箱中用于测定微生物磷脂脂肪酸。

土壤有机碳用重铬酸钾外加热法测定, 植物茎叶和根含碳量采用元素分析仪测定。土壤和植物体 $\delta^{13}\text{C}$ 值用同位素质谱仪 (FLASH-2000 Delta VADVADTAGE, 美国) 测定。其中, 土壤 $\delta^{13}\text{C}$ 值测定前先用 1 mol L^{-1} HCl 溶液将土壤中的碳酸盐除

掉,然后测定 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

微生物群落结构采用磷脂脂肪酸(PLFA)生物标记法测定^[12]。用修正的Bligh和Dyer提取液(柠檬酸缓冲液:甲醇:氯仿体积比为0.8:2:1)震荡提取磷脂,提取2次。合并两次提取液,加入氯仿-柠檬酸缓冲液(体积比为1:1)静置过夜。提取混合液中的氯仿相,氮气吹干。再次用氯仿溶解氮气干燥的样品,转移至硅胶柱(Waters公司,Massachusetts,美国)中,依次采用氯仿、丙酮和甲醇洗脱硅胶柱,收集甲醇相,氮气吹干。甲醇相磷脂用氢氧化钾-甲醇溶液皂化得到磷脂脂肪酸甲酯(FAME),然后氮气吹干,-20℃冷冻保存。用正己烷将样品溶出,加入正十九烷酸甲酯作为内标物质,用气相色谱仪(Agilent 6850,美国)测定。进样量为2 μl,分流比为100:1。程序升温:初始温度为170℃,然后以5℃ min⁻¹升至260℃,后以40℃ min⁻¹升至310℃,保持1.5min。色谱峰鉴定及峰面积采用MIDI软件(MIDI公司,Newark,DE,美国)计算。所用溶剂均为色谱纯。

PLFA的 $\delta^{13}\text{C}$ 值测定采用气相色谱-燃烧-同位素比率质谱联用仪(GC-C-IRMS),型号Deltaplus XL(Thermo Finnigan, San Jose, CA, 美国),电子电离100 eV,燃烧界面温度860℃。气相色谱条件与上述条件相同。在测定每一个样品的前后分别测定三次已知 ^{13}C 丰度的 CO_2 ,用于校正测得的FAME的丰度值。

由于同位素计算的需要,本文仅选择在标记组和对照组均能测到 $\delta^{13}\text{C}$ 值的14种PLFA单体进行后续的计算,这14种PLFA单体的总和分别占对照组和标记组总PLFA的90%和92%。选择16:0、18:0、i15:0、a15:0、i17:0、a17:0、i16:0、16:1w7c、16:1w5c、18:1w7c、cy19:0和18:1w9c作为细菌特征脂肪酸^[13-14],革兰氏阳性菌(G^+)特征脂肪酸选择i15:0、a15:0、i17:0、a17:0、i16:0,革兰氏阴性菌(G^-)的特征脂肪酸选择16:1w7c、18:1w7c、cy19:0、18:1w9c和16:1w5c^[13],真菌选择18:2w6、9c作为特征脂肪酸^[13],10me16:0作为放线菌特征脂肪酸^[13]。14种PLFA单体的总和表示总微生物生物量。环丙脂肪酸与其前体脂肪酸比值按照cy19:0/18:1w7c计算,可用来表征微生物群落受环境胁迫的程度,此值越高表明微生物群

落受胁迫程度越强^[15]。

1.4 数据处理

利用以下平衡公式将测定的FAME $\delta^{13}\text{C}$ 值转化为对应的PLFA $\delta^{13}\text{C}$ 值^[14]:

$$N_{\text{PLFA}} \delta^{13}\text{C} = (N_{\text{PLFA}} + 1) \delta^{13}\text{C}_{\text{FAME}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{MeOH}} \quad (1)$$

式中, N_{PLFA} 代表未皂化前PLFA碳原子数, $\delta^{13}\text{C}$ 为未皂化前PLFA同位素值, $\delta^{13}\text{C}_{\text{FAME}}$ 为皂化后FAME的同位素值, $\delta^{13}\text{C}_{\text{MeOH}}$ 为皂化介质(本试验为甲醇, $\delta^{13}\text{C}_{\text{MeOH}} = -46.19\text{‰}$)。

PLFA- ^{13}C 含量按照以下公式计算^[6]:

$$X^{-13}\text{C} = ((\text{atom } ^{13}\text{C}\%)_{X,1} - (\text{atom } ^{13}\text{C}\%)_{X,\text{ul}}) \times X\text{-C} \quad (2)$$

式中, $X^{-13}\text{C}$ 为进入玉米植物体、根际土壤或者PLFA的 ^{13}C 含量, $(\text{atom } ^{13}\text{C}\%)_{X,1}$ 和 $(\text{atom } ^{13}\text{C}\%)_{X,\text{ul}}$ 分别为标记处理和对照处理的各部分原子百分数, $X\text{-C}$ 为标记组玉米植物体、根际土壤或者PLFA的总碳含量。

单体PLFA百分比的计算公式如下:

$$\text{PLFA}\% = \text{PLFA}_i / \sum \text{PLFA}_i \times 100 \quad (3)$$

式中, PLFA_i 分别为单体PLFA-C或PLFA- ^{13}C 含量, $\sum \text{PLFA}_i$ 为全部PLFA-C或PLFA- ^{13}C 含量。

以下数据均为标记组的数据。采用Microsoft Excel 2007和Origin 8.0软件对数据进行处理和绘图,采用SPSS 20统计分析软件中的 t -检验对数据进行差异显著性检验($p < 0.05$)。

2 结 果

2.1 玉米品种对植株生物量和 ^{13}C 含量的影响

由表1可知不同玉米品种的茎叶和根生物量显著不同,ZD的茎叶和根生物量分别较SD高20%和24%。不同玉米器官的 $\delta^{13}\text{C}$ 值表现为茎叶>根,且ZD处理的各部分 $\delta^{13}\text{C}$ 值显著高于SD处理。ZD处理的茎叶和根的 ^{13}C 含量分别较SD处理高260%和159%,两处理间差异显著。ZD处理的茎叶 ^{13}C 分配比例显著高于SD处理,根 ^{13}C 分配比例则显著低于SD处理。

2.2 玉米品种对根际土壤 ^{13}C 含量及微生物利用光合同化碳的影响

玉米品种显著影响了根际土壤有机碳含量(图1),其中ZD和SD的根际土壤碳含量分别为9.69和9.25 g kg⁻¹。标记后根际土壤有机碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 值也受

表1 玉米各部分生物量、 $\delta^{13}\text{C}$ 值、 ^{13}C 含量和 ^{13}C 分配比例

Table 1 Biomasses, $\delta^{13}\text{C}$ values, ^{13}C contents and ^{13}C percentages of various organs of maize								
处理 Treatment	茎叶Shoots				根Roots			
	生物量	丰度	^{13}C 含量	^{13}C 分配比例	生物量	丰度	^{13}C 含量	^{13}C 分配比例
	Biomass	$\delta^{13}\text{C}$	^{13}C content	^{13}C percentage	Biomass	$\delta^{13}\text{C}$	^{13}C content	^{13}C percentage
	(g pot ⁻¹)	(‰)	(mg pot ⁻¹)	(%)	(g pot ⁻¹)	(‰)	(mg pot ⁻¹)	(%)
ZD	114.3 ± 4.6a	441 ± 26a	228.0 ± 20.9a	93.4 ± 0.5a	10.8 ± 0.2a	269 ± 33a	11.3 ± 1.0a	4.7 ± 0.4b
SD	95.4 ± 1.7b	143 ± 13b	63.4 ± 4.3b	90.4 ± 0.4b	8.7 ± 0.3b	124 ± 11b	4.4 ± 0.2b	6.2 ± 0.2a

注：ZD为标记郑单958处理，SD为标记陕单8806处理。同一列中不同小写字母表示不同处理间差异显著（ $p < 0.05$ ）。下同
Note: ZD stands for labeled Zhengdan 958, and SD for labeled Shandan 8806. Different lowercase letters in each column indicate significant differences at $p < 0.05$. The same below

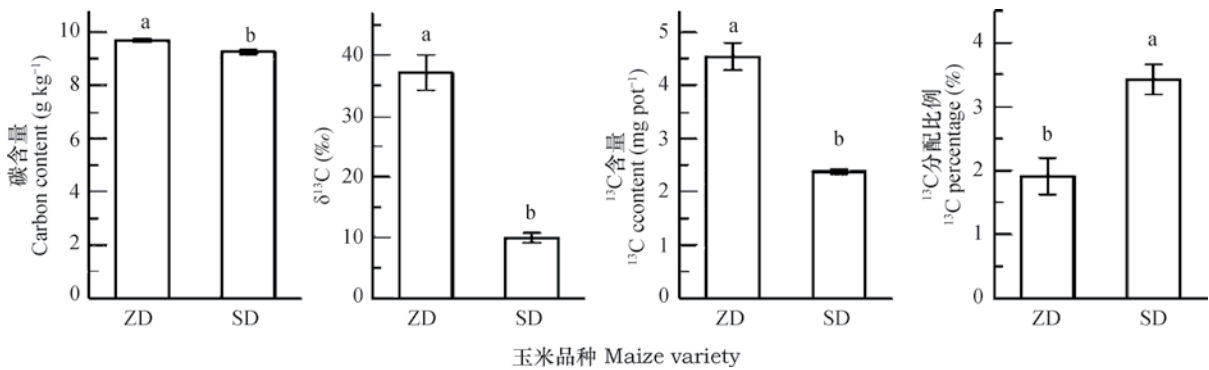


图1 两玉米品种根际土壤有机碳含量、 $\delta^{13}\text{C}$ 值、 ^{13}C 含量和 ^{13}C 分配比例

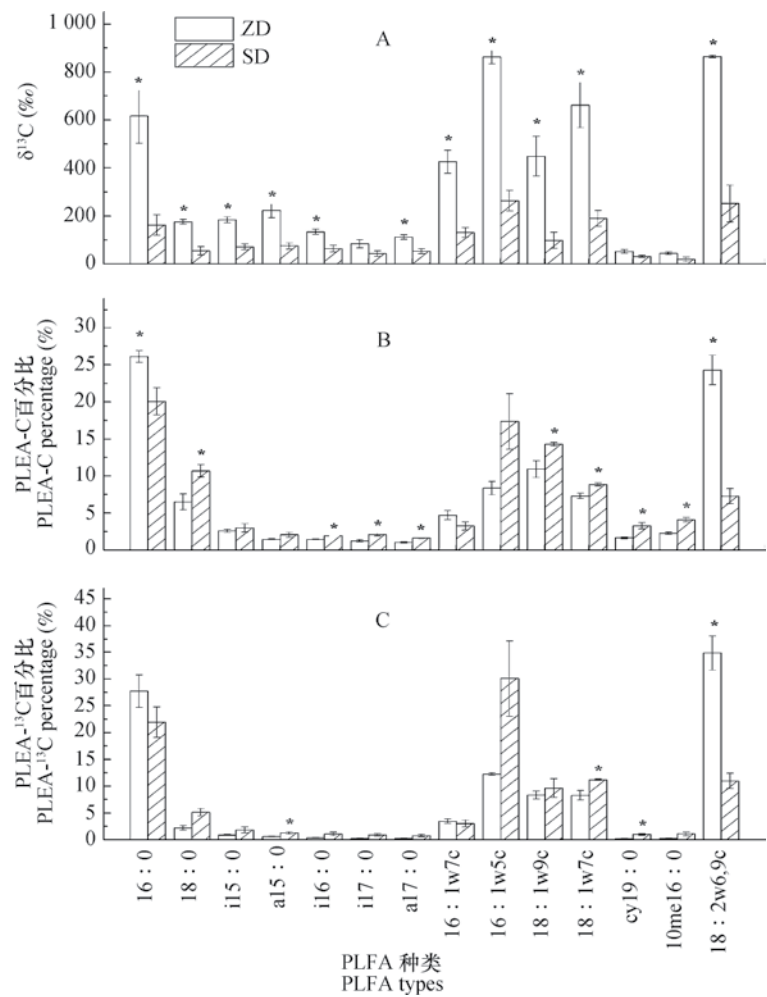
Fig. 1 Organic carbon contents, $\delta^{13}\text{C}$ values, ^{13}C contents and ^{13}C percentages in the rhizosphere soils of two maize varieties ZD and SD

玉米品种的显著影响，ZD的 $\delta^{13}\text{C}$ 值约是SD的4倍。同时ZD根际土壤中 ^{13}C 含量较SD处理高91%，两品种间差异显著。ZD根际土壤中 ^{13}C 分配比例显著低于SD处理。

标记后不同PLFA单体的 $\delta^{13}\text{C}$ 值不同，与SD处理相比，ZD处理显著提高了16 : 0、18 : 0、i15 : 0、a15 : 0、i16 : 0、a17 : 0、16 : 1w7c、16 : 1w5c、18 : 1w9c、18 : 1w7c和18 : 2w6，9c的 $\delta^{13}\text{C}$ 值（图2A）。不同玉米品种显著影响了PLFA-C百分比，ZD处理较SD处理显著提高了16 : 0和18 : 2w6，9c百分比，而显著降低了18 : 0、i16 : 0、i17 : 0、a17 : 0、18 : 1w9c、18 : 1w7c、cy19 : 0和10me16 : 0百分比（图2B），表明不同玉米品种的根际微生物群落结构不同。不同玉米品种也显著影响了PLFA- ^{13}C 百分比，ZD处理较SD处理显著提高了18 : 2w6，9c百分比，而显著降低了a15 : 0、18 : 1w7c和cy19 : 0百分比（图2C）。

由表2可知不同玉米品种显著影响了PLFA-C含量，ZD处理的细菌、真菌、放线菌、革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和总PLFA-C含量分别较SD处理高89%、629%、27%、65%、61%和127%。玉米品种也显著影响了PLFA- ^{13}C 含量，ZD处理的细菌、真菌、放线菌、革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和总PLFA- ^{13}C 含量分别为SD处理的6.4倍、26.2倍、2.0倍、3.4倍、5.2倍和8.6倍。ZD和SD处理的细菌PLFA- ^{13}C 含量分别占总PLFA- ^{13}C 含量的65%和88%，真菌PLFA- ^{13}C 分别占35%和11%，放线菌分别占0.3%和1.1%，其中细菌中的革兰氏阳性菌PLFA- ^{13}C 分别占2.4%和5.9%，革兰氏阴性菌PLFA- ^{13}C 分别占33%和55%。

ZD处理的细菌、真菌、放线菌、革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和总PLFA- ^{13}C 含量分别占PLFA-C含量的57%、92%、7.4%、19%、64%和65%，SD处理的细菌、真菌、放线菌、革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和总PLFA- ^{13}C 含量分别占



注：*表明ZD和SD处理间差异显著 ($p < 0.05$) Note: * indicates significant differences between ZD and SD at $p < 0.05$

图2 两玉米品种根际土壤PLFA $\delta^{13}\text{C}$ 值 (A)、PLFA-C百分比 (B) 和PLFA- ^{13}C 百分比 (C)

Fig. 2 PLFA $\delta^{13}\text{C}$ values (A) and percentage of PLFA-C (B) and PLFA- ^{13}C (C) in rhizosphere soil of two maize varieties ZD and SD

表2 两玉米品种根际土壤微生物的PLFA-C和PLFA- ^{13}C 含量

Table 2 Content of PLFA-C and PLFA- ¹³ C in the rhizospheric soil microbes as affected by variety of maize (ng g ⁻¹)						
处理 Treatment	PLFA-C					总PLFA ^⑥
	细菌 ^①	真菌 ^②	放线菌 ^③	革兰氏阳性菌 ^④	革兰氏阴性菌 ^⑤	
ZD	8667 ± 277a	2865 ± 220a	268 ± 20a	921 ± 71a	3895 ± 159a	11800 ± 103a
SD	4589 ± 707b	393 ± 107b	211 ± 31a	558 ± 85b	2426 ± 389b	5193 ± 838b

PLFA- ¹³ C						
处理 Treatment	细菌 ^①	真菌 ^②	放线菌 ^③	革兰氏阳性菌 ^④	革兰氏阴性菌 ^⑤	总PLFA ^⑥
	细菌 ^①	真菌 ^②	放线菌 ^③	革兰氏阳性菌 ^④	革兰氏阴性菌 ^⑤	
ZD	4976 ± 577a	2636 ± 170a	20 ± 3a	179 ± 18a	2482 ± 185a	7633 ± 565a
SD	780 ± 82b	101 ± 26b	10 ± 3a	53 ± 14b	478 ± 13b	890 ± 109b

注Note: ①Bacteria, ②Fungi, ③Actinomycetes, ④Gram-positive, ⑤Gram-negative, ⑥Total PLFA

表3 两玉米品种根际土壤中革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌比值、真菌与细菌比值以及环丙脂肪酸与其前体的比值

Table 3 Ratio of G^+ to G^- , ratio of fungi to bacteria and ratio of cyclopropane PLFA to their precursor in two maize varieties ZD and SD

处理 Treatment	PLFA-C			处理 Treatment	PLFA- ^{13}C		
	革兰氏阳性菌 /革兰氏阴性菌 ^①	真菌/细菌 ^②	环丙脂肪酸/前体 ^③		革兰氏阳性菌 /革兰氏阴性菌 ^①	真菌/细菌 ^②	环丙脂肪酸/前体 ^③
ZD	0.236 ± 0.01a	0.333 ± 0.03a	0.227 ± 0.01b	ZD	0.072 ± 0.01a	0.545 ± 0.07a	0.024 ± 0.01b
SD	0.234 ± 0.03a	0.082 ± 0.01b	0.371 ± 0.04a	SD	0.111 ± 0.03a	0.125 ± 0.02b	0.090 ± 0.02a

注Note: ①Gram-positive/Gram-negative (G^+/G^-), ②Fungi/Bacteria (F/B), ③Cyclopropane/ precursor (cyc/pre)

PLFA-C含量的17%、26%、4.7%、9.5%、20%和17%。

由表3可知无论是PLFA-C还是PLFA- ^{13}C 的 G^+/G^- 值在ZD和SD处理间均无显著差异 ($p > 0.05$)。与SD处理相比, ZD处理显著提高了PLFA-C和PLFA- ^{13}C 的真菌/细菌 (F/B) 值, 而显著降低了环丙脂肪酸/前体 (cyc/pre) 值。

3 讨 论

3.1 玉米品种对光合同化碳在玉米-土壤系统中分配的影响

由于 ^{13}C 稳定同位素具有安全可靠、操作简便、标记均匀等优点, $^{13}C-CO_2$ 标记技术成为研究植物光合碳固定、分配与转化的重要手段, 相关研究已有较多报道^[4, 7]。由于条件有限以及考虑到本实验的目的, 本研究的光合碳分配主要指茎叶、根和根际土壤。本研究发现ZD处理较SD处理显著提高了茎叶和根的 $\delta^{13}C$ 值和分配的 ^{13}C 含量。Rossi等^[16]也发现 $^{13}CO_2$ 标记后不同品种玉米的各部分 $\delta^{13}C$ 值不同。Wu等^[7]利用 $^{13}CO_2$ 标记技术发现在不同水稻生育期, 水稻品种均显著影响了光合同化 ^{13}C 在不同植物器官的分配。同时, 大部分光合同化 ^{13}C 主要分配在玉米茎叶部分 (约占总光合同化 ^{13}C 数量的90%~93%), 分配在根际土的比例最低 (占2%~3.5%)。这与安婷婷等^[17]的研究结果类似。ZD处理较SD处理显著增加了茎叶部分的 ^{13}C 分配比例, 降低了根和根际土部分的 ^{13}C 分配比例。以上结果表明相同管理条件下, 玉米品种能够显著影响植物固定 CO_2 和转移光合产物的能力。由于本实验两玉米品种的日常管理措施相同, 本实验结果可能与不同玉米品种的内在生理特性如光合速率、气孔导度、平均干物质转移率和转换率等有

关^[18-19]。此外, ZD处理显著增加了根际土壤 ^{13}C 含量, 表明ZD处理有更多的光合同化碳以根际沉积物的形式进入土壤。根尖是产生根际沉积物的主要区域, 根系数量与根际沉积物含量间存在显著正相关关系^[20]。ZD处理显著增加了根系生物量, 从而有利于更多的光合同化 ^{13}C 通过根系进入土壤。

3.2 玉米品种对根际微生物群落利用光合同化碳的影响

根际是土壤微生物最活跃的区域, 作物通过改变根际沉积物的组成和土壤环境能够显著影响根际土壤微生物数量和群落结构^[1]。本研究发现单株PLFA-C的百分比在ZD和SD处理间显著不同, 表明不同玉米品种的根际微生物群落结构不同。Bouffaud等^[21]也发现不同玉米品种显著影响了根际细菌群落结构, 且主要由 β 变形菌属和伯克氏菌属变化所引起的。Berg和Smalla^[22]认为根系分泌物组成、根系形态特征以及根际土壤环境条件等均能显著影响根际微生物群落结构。本研究中的郑单958和陕单8806两玉米品种的根系形态和根系分泌物组成可能不同, 从而导致根际微生物群落结构在不同品种间发生变化。同时, ZD处理的细菌 (包括革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌) 以及真菌PLFA-C含量显著高于SD处理, 表明ZD处理有利于提高微生物生物量。土壤微生物生长和代谢主要受土壤可利用活性碳源数量的限制, 增加土壤活性碳源数量能够显著增加土壤微生物生物量^[23]。ZD处理较高的微生物生物量可能与更多的光合同化碳进入根际土壤有关。此外, 微生物群落受到土壤环境胁迫时 (如养分缺乏), 环丙脂肪酸与其前体脂肪酸的比值 (cyc/pre) 会升高^[15], ZD处理的cyc/pre值显著低于SD处理, 表明ZD处理可能通过根系活动以及根系分泌物等显著改善了根际土壤环境条件, 从而有利于不同微生物群落的生长代谢, 这也

可能是微生物群落结构在不同玉米品种间产生变化的另一个重要原因。

植物通过根系释放的光合产物是根际微生物重要的能量来源和碳源。光合产物以根际沉积物的形式进入土壤,为根际微生物所利用成为微生物生物量碳的一部分。磷脂脂肪酸分析联合 $^{13}\text{C}\text{O}_2$ 标记(PLFA- ^{13}C)技术已经被广泛用来研究植物根际微生物对根际沉积物的代谢过程^[5-7]。本研究发现 ^{13}C 并非均匀分布于各微生物群落中,PLFA中16:0、16:1w5c、18:1w9c、18:1w7c和18:2w6,9c的 $\delta^{13}\text{C}$ 值和PLFA- ^{13}C 百分比在ZD和SD处理中均较高,表明这些微生物可能更容易利用新光合同化碳。其中,16:1w5c、18:1w9c和18:1w7c属于革兰氏阴性菌,18:2w6,9c属于真菌,因此,本研究结果表明革兰氏阴性菌和真菌是利用新光合同化碳的主要群落。此外,ZD和SD处理的革兰氏阳性菌PLFA- ^{13}C 分别占总PLFA- ^{13}C 的2.4%和5.9%,放线菌PLFA- ^{13}C 分别占总PLFA- ^{13}C 的0.3%和1.1%,则进一步表明革兰氏阳性菌和放线菌不是利用新根际沉积物的主要群落。Tian等^[5]也发现革兰氏阴性菌和真菌群落是利用水稻新光合同化碳的主要群落。这主要是因为革兰氏阴性菌活性与可利用有机物数量存在显著的正相关关系^[24],以易溶于水的小分子有机物组成的根际沉积物大量进入根际土壤后能够快速增加革兰氏阴性菌活性,从而促进了其对新根际沉积物的分解利用。然而,真菌对根际沉积物的利用则往往被忽视,本研究表明真菌也是利用根际沉积物的主要群落。Johnson等^[25]利用 $^{13}\text{C}\text{-CO}_2$ 标记技术发现丛枝真菌能在短时间内转化利用草地植物光合同化碳。这可能是因为真菌能够利用菌丝吸收到更多的光合碳源。

此外,本研究发现ZD处理的革兰氏阴性菌和真菌PLFA- ^{13}C 含量显著高于SD处理,表明根际微生物群落对新光合同化碳的利用受玉米品种的显著影响,这与Wu等^[7]在水稻上的研究结果相似。杨智仙等^[26]利用BILOG技术研究发现与蚕豆套作的不同小麦品种根际微生物利用的糖类、氨基酸类和羧酸类碳源的种类不同。本研究结果一方面可能与不同玉米品种显著改变了根际微生物群落结构有关,另一方面可能与不同玉米品种的根际沉积物组成不同有关。由于本实验并未测定两品种的根际沉

积物组成,因此需要进一步研究不同品种根际沉积物组成与微生物群落利用之间的关系。

4 结 论

不同玉米品种的生物量和光合同化碳分配不同,郑单958品种的茎叶、根和根际土壤的 ^{13}C 含量显著高于陕单8806品种。同时,郑单958品种较陕单8806品种显著提高了细菌(包括革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌)和真菌的PLFA-C和PLFA- ^{13}C 含量,且单体PLFA-C百分比在两处理间显著不同,说明根际微生物数量和群落结构受玉米品种的显著影响。此外,革兰氏阴性菌和真菌PLFA- ^{13}C 占总PLFA- ^{13}C 比例最高,表明革兰氏阴性菌和真菌是利用新光合同化碳的主要群落。

参 考 文 献

- [1] Kušlienė G, Rasmussen J, Kuzyakov Y, et al. Medium-term response of microbial community to rhizodeposits of white clover and ryegrass and tracing of active processes induced by ^{13}C and ^{15}N labelled exudates. *Soil Biology & Biochemistry*, 2014, 76: 22—33
- [2] 钱秋平, 杨统一, 程林润, 等. 不同大豆品种对根际土壤微生物群落影响的差异. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2010, 34(5): 1—6
Qian Q P, Yang T Y, Cheng L R, et al. Differential responses of rhizosphere microbial communities to the planting of different soybean varieties (In Chinese). *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition)*, 2010, 34(5): 1—6
- [3] Aira M, Gomez-Brandon M, Lazcano C, et al. Plant genotype strongly modifies the structure and growth of maize rhizosphere microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry*, 2010, 42(12): 2276—2281
- [4] 王智平, 陈全胜. 植物近期光合碳分配及转化. *植物生态学报*, 2005, 29(5): 845—850
Wang Z P, Chen Q S. Recently photosynthesized carbon allocation and turnover: A minor review of the literature (In Chinese). *Acta Phytocologica Sinica*, 2005, 29(5): 845—850
- [5] Tian J, Dippold M, Pausch J, et al. Microbial response to rhizodeposition depending on water regimes in paddy soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 2013, 65: 195—203
- [6] Lu Y H, Murase J, Watanabe A, et al. Linking

- microbial community dynamics to rhizosphere carbon flow in a wetland rice soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 48 (2): 179—186
- [7] Wu W X, Liu W, Lu H H, et al. Use of ^{13}C labeling to assess carbon partitioning in transgenic and nontransgenic (parental) rice and their rhizosphere soil microbial communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 67 (1): 93—102
- [8] 连腾祥, 王光华, 于镇华, 等. 植物光合碳在根际土壤中的微生物转化与SIP技术. *土壤与作物*, 2013, 2 (2): 77—83
Lian T X, Wang G H, Yu Z H, et al. Microbial turnover of photosynthetic carbon in the rhizosphere and SIP technology (In Chinese). *Soil and Crop*, 2013, 2 (2): 77—83
- [9] Dumont M G, Murrell J C. Stable isotope probing—linking microbial identity to function. *Nature Review Microbiology*, 2005, 3 (6): 499—504
- [10] Butler J L, Williams M A, Bottomley P J, et al. Microbial community dynamics associated with rhizosphere carbon flow. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69 (11): 6793—6800
- [11] 尹云峰, 杨玉盛, 高人, 等. 植物富集 ^{13}C 标记技术的初步研究. *土壤学报*, 2010, 47 (4): 790—793
Yin Y F, Yang Y S, Gao R, et al. A preliminary study on phyto-enrichment ^{13}C labeling technique (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 47 (4): 790—793
- [12] Frostegård A, Tunlid A, Bååth E. Phospholipid fatty-acid composition, biomass, and activity of microbial communities from 2 soil types experimentally exposed to different heavy-metals. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59 (11): 3605—3617
- [13] Frostegård A, Bååth E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 22 (1/2): 59—65
- [14] Zhang H J, Ding W X, Yu H Y, et al. Carbon uptake by a microbial community during 30-day treatment with ^{13}C -glucose of a sandy loam soil fertilized for 20 years with NPK or compost as determined by a GC-C-IRMS analysis of phospholipid fatty acids. *Soil Biology & Biochemistry*, 2013, 57: 228—236
- [15] Guckert J B, Hood M A, White D C. Phospholipid ester-linked fatty-acid profile changes during nutrient deprivation of vibrio-cholerae-increases in the trans cis ratio and proportions of cyclopropyl fatty-acids. *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, 52 (4): 794—801
- [16] Rossi L, Costantini M L, Brilli M. Does stable isotope analysis separate transgenic and traditional corn (*Zea mays* L.) detritus and their consumers? *Applied Soil Ecology*, 2007, 35 (2): 449—453
- [17] 安婷婷, 汪景宽, 李双异, 等. 用 ^{13}C 脉冲标记方法研究施肥与地膜覆盖对玉米光合碳分配的影响. *土壤学报*, 2013, 50 (5): 948—955
An T T, Wang J K, Li S Y, et al. Effect of fertilization and plastic film mulching on distribution of photosynthetically fixed carbon in maize: Explored with ^{13}C pulse labeling technique (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2013, 50 (5): 948—955
- [18] 邵瑞鑫, 杨青华, 毛建昌, 等. 氮素水平对旱作不同玉米品种光合性能的影响. *玉米科学*, 2012, 20 (5): 131—134
Shao R X, Yang Q H, Mao J C, et al. Effect of nitrogen rate on photosynthetic function of two maize varieties (In Chinese). *Journal of Maize Sciences*, 2012, 20 (5): 131—134
- [19] 徐祥玉, 张敏敏, 翟丙年, 等. 施氮对不同基因型夏玉米干物质累积转移的影响. *植物营养与肥料学报*, 2009, 15 (4): 786—792
Xu X Y, Zhang M M, Zhai B N, et al. Effects of nitrogen application on dry matter accumulation and translocation of different genotypes of summer maize (In Chinese). *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2009, 15 (4): 786—792
- [20] Pausch J, Kuzyakov Y. Photoassimilate allocation and dynamics of hotspots in roots visualized by ^{14}C phosphor imaging. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2011, 174 (1): 12—19
- [21] Bouffaud M L, Kyselkova M, Gouesnard B, et al. Is diversification history of maize influencing selection of soil bacteria by roots? *Molecular Ecology*, 2012, 21 (1): 195—206
- [22] Berg G, Smalla K. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 68 (1): 1—13
- [23] Dungait J A J, Kemmitt S J, Michallion L, et al. Variable responses of the soil microbial biomass to trace concentrations of ^{13}C -labelled glucose, using ^{13}C -PLFA analysis. *European Journal of Soil Science*, 2011, 62 (1): 117—126
- [24] Drenovsky R E, Vo D, Graham K J, et al. Soil water content and organic carbon availability are major determinants of soil microbial community composition. *Microbial Ecology*, 2004, 48 (3): 424—430
- [25] Johnson D, Leake J R, Ostle N, et al. In situ $^{13}\text{CO}_2$

- pulse-labelling of upland grassland demonstrates a rapid pathway of carbon flux from arbuscular mycorrhizal mycelia to the soil. *New Phytologist*, 2002, 153 (2) : 327—334
- [26] 杨智仙, 汤利, 郑毅, 等. 不同品种小麦与蚕豆间作对蚕豆枯萎病发生、根系分泌物和根际微生物群落功能多样性的影响. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20

(3) : 570—579

Yang Z X, Tang L, Zheng Y, et al. Effects of different wheat cultivars intercropped with faba bean *Fusarium* wilt, root exudates and rhizosphere microbial community functional diversity (In Chinese). *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20 (3) : 570—579

Effects of Maize Variety on Rhizospheric Microbe Utilizing Photosynthetic Carbon

LI Zengqiang^{1, 2} ZHAO Bingzi^{1†} ZHANG Jiabao¹

(1 *State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China*)

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

Abstract 【Objective】Photosynthesis of terrestrial vegetation is the major force driving carbon cycling between the soil and the atmosphere. Photosynthetic carbon is a primary source of carbon in the soil and affects significantly biomass and composition of the microbial community in the rhizosphere in the form of rhizodeposit. Therefore, if plants different in variety may have different effect on distribution of photosynthetic carbon, rhizospheric microbe may also vary in community composition and microbial utilization of photosynthetic carbon as affected by plant variety. In order to understand and predict carbon cycling in the plant-soil system, a large volume of research work has been done on how to quantify transportation and distribution of photosynthetic carbon in the system. However, so far little is known about effects of plants different in variety on transportation and distribution of photosynthetic carbon in the plant-soil system and on rhizospheric microbe utilizing photosynthetic carbon. The study on input, distribution and microbial utilization of photosynthetic carbon in the plant-soil system is essential to understanding soil carbon sequestration process and soil biochemical processes. 【Method】To that end, a pot experiment was carried out using the PLFA and ¹³CO₂ labeling technique to quantitatively study partitioning of photosynthetic carbon and utilization of newly photosynthesized carbon by rhizospheric microbe in two maize-rhizospheric soil systems different in maize variety, Zhengdan 958 (ZD) and Shandan 8806 (SD). The distribution of newly photosynthesized carbon to soil microbe was estimated by analyzing the ¹³C profile of microbial phospholipid fatty acids (PLFA). This experiment had two groups: one labeled for 7 days with ¹³CO₂ (98 atom% ¹³C) and the other labeled with ¹²CO₂ in natural abundance. Based on the difference between the two groups in abundance of ¹³C, the distribution of photosynthetic ¹³C in the maize-rhizospheric soil systems was calculated. 【Result】Results show that Treatment ZD was 20% and 24% higher than Treatment SD in biomass of shoot and root, respectively, and 260% and 159% higher in ¹³C content in the shoot and root, respectively. In comparison with Treatment SD, Treatment ZD significantly increased ¹³C in the shoot and lowered ¹³C in the root. In addition, Treatment ZD significantly increased organic carbon content, δ¹³C value and ¹³C content in the rhizosphere soil, but decreased ¹³C percentage in the rhizosphere soil, as compared with Treatment SD. These findings indicate that the distribution of photosynthetic carbon in the maize-rhizospheric soil system was influenced by maize varieties. Treatment ZD was significantly higher than Treatment SD in δ¹³C value of 11 types of PLFA among the total of 14. Significant difference in distribution of individual PLFA—C percentage

was observed between Treatments ZD and SD, indicating that the microbial communities in the two treatments differed in composition. Besides, Treatment ZD was much higher than Treatment SD in 18 : 2w6, 9c PLFA-¹³C percentage and much lower in a15 : 0, 18 : 1w7c and cy19 : 0 PLFA-¹³C percentage. Treatment DZ was 89%, 65%, 61%, 629%, and 127% higher than Treatment SD in content of gram-positive bacteria, gram-negative bacteria, fungi and total PLFA-C, respectively, but was 6.4, 3.4, 5.2, 26.2 and 8.6 times higher in ¹³C content in the above-listed microbes, respectively. In Treatment ZD, the PLFA-¹³C content in gram-positive bacteria, gram-negative bacteria, fungi and actinomycetes accounted for 33%, 35%, 2.4%, and 0.3%, respectively, of the total PLFA-¹³C, respectively, while in Treatment SD it accounted for 55%, 11%, 5.9%, and 1.1%, respectively. Treatment ZD was significantly higher than Treatment SD in ratio of fungi to bacteria in PLFA-C and PLFA-¹³C, but much lower in ratio of cyclopropane PLFA to their precursor in PLFA-C and PLFA-¹³C. However, the two treatments did not differ much in ratio of gram-positive bacteria to gram-negative bacteria in PLFA-C and PLFA-¹³C. 【Conclusion】 In conclusion, this study demonstrates that maize varieties significantly affect the biomass and photosynthetic carbon distribution in the maize-rhizospheric soil systems, and consequently composition of the microbial community in the rhizosphere and microbial utilization of photosynthetic carbon, and that gram-negative bacteria and fungi communities may be the principal microbial communities that utilize newly photosynthesized carbon in the rhizosphere.

Key words Maize varieties; ¹³CO₂ labeling; Rhizodeposits; Rhizospheric microorganisms; Phospholipid fatty acids

(责任编辑：陈荣府)