

近地层臭氧浓度升高对麦田土壤微生物群落功能多样性的影响*

余永昌^{1,2} 林先贵^{1**} 张 晶¹ 李全胜^{1,3} 朱建国¹

(¹中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室/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 O₃ concentration enrichment, 开放式空气臭氧浓度增高) 试验平台, 通过测定麦季土壤水溶性有机碳含量、土壤呼吸强度和BIOLOG指标, 研究了近地层臭氧浓度升高50%条件下 (~70 nmol mol⁻¹), 麦田土壤微生物功能多样性的响应。结果发现, 臭氧浓度升高下麦田土壤水溶性有机碳含量提高, 土壤呼吸强度增加, 平均吸光值显著高于对照 ($P<0.05$)。多样性指数结果显示, 臭氧浓度升高对麦田土壤微生物丰富度和优势度指数没有显著影响, 但是臭氧处理下均一度指数显著高于对照 ($P<0.05$); 主成分分析显示, 相对于其它碳源, 臭氧浓度升高对麦田土壤微生物的糖类物质利用能力的影响最大。研究揭示了1.5倍的近地层臭氧浓度增强了麦田土壤微生物碳源利用能力, 特别是非优势微生物。图4 表2 参23

关键词 臭氧浓度升高; 麦田; 水溶性有机碳; 呼吸强度; 土壤微生物功能多样性

CLC S154.36

Effect of Elevated Surface O₃ Concentration on Soil Microbial Functional Diversity in Wheat Field*

YU Yongchang^{1,2}, LIN Xiangui^{1**}, ZHANG Jing¹, LI Quansheng^{1,3} & ZHU Jianguo¹

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

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

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

Abstract The effect of elevated surface O₃ concentration (~70 nmol mol⁻¹) on soil microbial functional diversity was investigated by determining water-solution organic carbon (WSOC) content, soil respiration intensity and BIOLOG in China O₃-FACE (Free-air ozone concentration enrichment) field based on a rice/wheat rotation system. The results showed that with the enhancing of O₃ concentration, the WSOC content, soil respiration intensity and AWCD (average well colour development) were significantly increased ($P<0.05$). Diversity indexes showed that with the enhancing of O₃ concentration, Shannon and Simpson indices had no differences, but McIntosh indices was significantly increased ($P<0.05$). The PCA results showed that the elevated O₃ concentration significantly affected the soil microbial ability of utilizing glucide and better than any other substrates. This research suggested that elevated O₃ concentration (~70 nmol mol⁻¹) significantly increased soil microbial functional diversity in wheat field. Fig 4, Tab 2, Ref 23

Keywords elevated O₃ concentration; wheat field; water-soluble organic carbon; respiratory intensity; soil microbial functional diversity

CLC S154.36

收稿日期: 2011-03-07 接受日期: 2011-04-27

*国家自然科学基金项目 (No. 40771202)、中国科学院知识创新方向项目 (No. KZCX2-EW-414)、国家科技部国际科技合作计划项目 (No. 2009DFA31110)、中国科学院国际合作重点项目 (No. GJHZ0748) 和日本环境厅全球环境研究基金项目 (中日合作) (No. C-062) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 40171202), the Knowledge Innovation Program of the Chinese Academy of Sciences (CAS) (No. KZCX2-EW-414), the International Science & Technology Cooperation Program of China (No. 2009DFA31110), the International Cooperation Key Project of CAS (No. GJHZ0748), and the Global Environment Research Fund of the Ministry of Environment, Japan (No. C-062)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: xglin@issas.ac.cn)

近地层中臭氧是由光化学反应产生的二次污染物,是温室气体和光化学烟雾的主要成分,其背景浓度约为 $20\sim 40\text{ nmol mol}^{-1}$ 。自工业革命以来,由于化石燃料、含N化肥的大量使用,大气中 NO_x 、VOCs剧增,导致近地层中臭氧浓度日益升高,全球近1/4的国家和地区面临臭氧浓度 60 nmol mol^{-1} 以上的威胁^[2]。大气臭氧浓度每年大约以0.5%~2.5%的速率持续增长,预计2100年将增加1倍^[3]。高浓度臭氧改变了植物的生理机制,降低了植物的光合作用,改变了碳、氮在植物中的分配,也改变了输入土壤中的凋落物数量和质量以及植物根系分泌物的数量和成分,从而对陆地生态系统产生深远影响^[4~7]。

臭氧对陆地生态系统地下部分的影响非常值得关注^[8],不仅因为地下部分直接关系到植物的养分吸收,更因为臭氧对地下部分的影响具有积累效应^[9]。小麦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麦田生态系统的改变^[10~11],但是对该生态系统中土壤微生物影响的研究报道较少。土壤微生物群落功能多样性是描述土壤微生物群落特征的一个重要指标,反映了土壤状况的重要信息。因此,通过研究土壤微生物群落功能多样性的变化情况,对于正确认识大气臭氧浓度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_3 concentration enrichment, 开放式空气臭氧浓度增高) 技术平台,对麦田土壤微生物功能多样性进行研究,以期对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 试验地概况

试验地位于江苏省江都市马陵村良种场($32^{\circ}35'5''\text{N}$, $119^{\circ}42'0''\text{E}$),土壤类型为下位砂姜土。试验地气候条件:年降水量980 mm左右,年均蒸发量 $>1\ 100\text{ mm}$,年均气温 $14\sim 16^{\circ}\text{C}$,年日照时间 $>2\ 000\text{ h}$,年无霜天数约为220 d。试验地土壤的基本理化性质:有机质含量 18.39 g kg^{-1} ,全N含量 1.51 g kg^{-1} ,全P含量 0.63 g kg^{-1} ,全K含量 14.02 g kg^{-1} ,pH 7.9,粘粒小于 0.002 mm 含量13.6%,容重 1.16 g cm^{-3} 。试验地耕作方式为水稻/小麦轮作。

1.2 平台设计

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),6个圈随机排列,间隔大于90 m,以减少臭氧释放对其它圈的影响。

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 $50\sim 60\text{ cm}$ 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^{-1})始终比Ambient圈(平均约 45 nmol mol^{-1})高50%,

85%的时间内 O_3 浓度误差控制在目标值的10%以内,其它环境条件与Ambient圈自然状态完全一致。以下几种情况停止熏蒸:1) 阴雨天气,因为没有阳光无法进行光化学反应,即使在未来几十年空气中有大量的臭氧前体也不会有臭氧产生。2) 环境 O_3 浓度低于 20 nmol mol^{-1} 臭氧浓度的背景值一般认为在 $20\sim 40\text{ nmol mol}^{-1}$ (Vingarzan, 2004)^[1],因此在环境浓度低于 20 nmol mol^{-1} 时没有必要在进行熏蒸。3) 当目标 O_3 浓度高于 250 nmol mol^{-1} 时,将浓度设定在以避免植株受到超高浓度 O_3 的直接伤害。供试小麦(*Triticum aestivum*)为长江下游麦区推广品种扬麦16。

1.3 样品的采集及处理

分别在2010年2月24日(分蘖期, Tillering)、3月26日(拔节期, Jointing)、4月26日(开花期, Flowering)、5月17日(灌浆期, Filling)和6月8日(成熟期, Mature)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行采集0~15 cm土层的土壤样品,混合装入自封袋后带回实验室,4℃保藏。一部分鲜土用于BIOLOG测试和土壤呼吸强度测定,另一部分土壤经自然风干后过20目(0.90 mm孔径)分样筛,用于测定土壤水溶性有机碳。

1.4 测定方法

土壤水溶性有机碳测定方法:称取相当于20 g干土的过20目分样筛土,用灭菌蒸馏水浸提(水土比2:1),在室温下震荡30 min,再在高速离心机中($8\ 000\text{ r/min}$)离心15 min后,过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜,滤液直接在耶拿公司TOC-总有机碳分析仪(Mutli N/C 3100)测定^[12]。

土壤呼吸强度测定方法:取500 mL广口瓶,加20 g新鲜土样,再放入一只盛有10 mL $0.1\text{ mol L}^{-1}\text{ NaOH}$ 的小烧杯,塞紧瓶塞,于 28°C 下培养24 h,另取同样容积的广口瓶,不加土壤,同样处理作为对照,取出后往小烧杯中加入1 mL $2\text{ mol L}^{-1}\text{ BaCl}_2$,以酚酞为指示剂用 $0.1\text{ mol L}^{-1}\text{ HCl}$ 滴定至无色^[13]。

采用BIOLOG ECO微平板测定土壤微生物的功能多样性。采用Classen方法^[14]进行ECO板的接种。称取相当于5 g干土的新鲜土,加入装有45 mL灭菌的 0.05 mol L^{-1} 磷酸缓冲液(pH 7.0)三角瓶中,摇床连续振荡30 min (180 r/min)。然后在超净台上用无菌 0.05 mol L^{-1} 磷酸缓冲液(pH 7.0)将土壤悬液稀释到 10^{-3} 。静置10 min后,用8通道加样器加入Biolog ECO板,各孔中分别添加150 μL 。将接种后的ECO板置于 25°C 培养,在24 h后每隔12 h使用Biolog Emax™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。

1.5 数据处理

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,试验数据由EXCEL 2003作图,运用SPSS 13.0进行统计分析,并使用Duncan检验进行多重比较($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 臭氧浓度升高对麦田土壤水溶性有机碳含量的影响

土壤水溶性有机碳 (Water-soluble organic carbon, WSOC) 是陆地生态系统中最活跃的碳组分之一, 可以被土壤微生物分解并迅速转化成其他组分^[15-16]。本实验结果 (图1) 显示, 臭氧浓度升高有增加麦田土壤WSOC含量的趋势, 从94.7~125.1 $\mu\text{g g}^{-1}$ 增加到101.5~139.2 $\mu\text{g g}^{-1}$, 特别是在开花期, 臭氧下高出对照11.4%。有研究认为, 臭氧浓度升高会促进植物的光合产物, 增加植物释放到根系周围的土壤溶液中的量, 特别是可溶性的非挥发性根系分泌物^[17]。

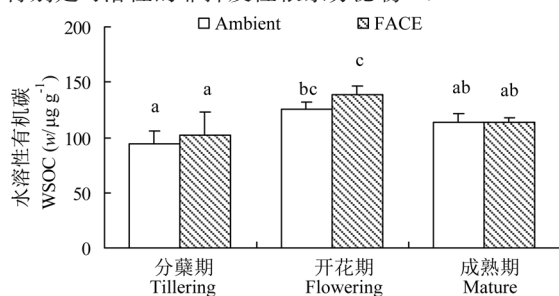


图1 臭氧浓度升高对土壤水溶性有机碳含量的影响

Fig. 1 Effects of elevated O_3 concentration on the content of water-soluble organic carbon in soil

竖条表示标准偏差 ($N=3$), 下同

Bars indicate standard deviation ($N=3$). The same below

2.2 臭氧浓度升高对麦田土壤呼吸强度的影响

土壤呼吸主要表征土壤微生物物质代谢强度, 在一定程度上反映了土壤养分转化及其供应能力, 是土壤肥力的指标之一。如图2所示, 臭氧浓度升高提高了土壤呼吸强度 (以 CO_2 计), 从0.034~0.124 mg g^{-1} 提高到0.052~0.171 mg g^{-1} , 特别在拔节期、开花期和成熟期均达到显著性差异, 臭氧处理比对照提高了38.6~73.2%。该变化可能由于影响了作物的生理活性, 增加了增加土壤WSOC含量所致。

2.3 臭氧浓度升高对麦田土壤微生物功能多样性的影响

2.3.1 土壤微生物群落平均吸光值变化 平均吸光值 (Average well color development, AWCD) 是反映土壤微生物对总体碳

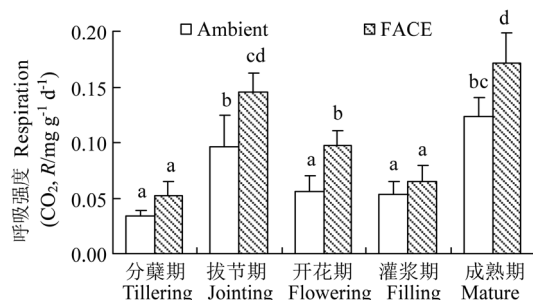


图2 臭氧浓度升高对土壤呼吸强度的影响

Fig. 2 Effects of elevated O_3 concentration on the respiratory intensity in soil

源的利用能力, 反映其生物活性的一个重要指标^[18]。从图3的结果来看, 臭氧浓度升高下的AWCD于培养132 h达到平台期, 而对照下的AWCD平台期出现在168 h。培养36 h臭氧浓度升高下的AWCD开始高于对照, 从培养60 h起直到培养180 h, 臭氧浓度升高下的AWCD在整个培养期间都高于对照处理, 培养96 h臭氧浓度升高下的AWCD高出对照31.6%。试验结果表明, 臭氧浓度升高提高了麦田土壤微生物碳源底物的利用能力, 这可能是因为臭氧浓度升高增加了土壤WSOC含量进而刺激土壤微生物的活性所致。AWCD分析结果和土壤呼吸强度结果相一致, 即臭氧浓度升高刺激了麦田土壤微生物的活性。

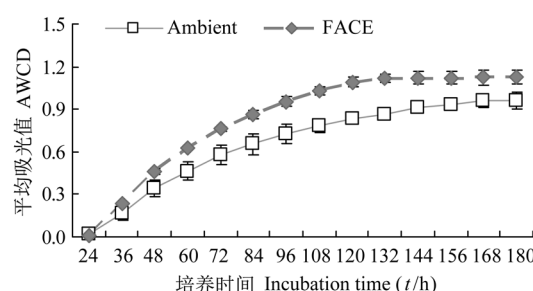


图3 土壤微生物群落温育过程中平均吸光值的变化

Fig. 3 Variation in AWCD during the incubation of soil microbial community

2.3.2 土壤微生物群落代谢功能多样性指数变化 取96 h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。臭氧浓度升高对麦田土壤微生物的丰富度 (Shannon index)、优势度 (Simpson index) 没有显著影响, 但是对麦田土壤微生物的均一度 (McIntosh index) 有显著影响, 臭氧下显著高于对照 ($P < 0.05$)。臭氧浓度升高提高了在碳源底物利用上的非优势菌数量。

2.3.3 土壤微生物群落代谢功能主成分分析 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。采用96 h的数据进行分析, 结果如图4所示, 臭氧处理和对照下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) 上实现了分离, 说明臭氧浓度升高对麦田土壤微生物某些碳源底物利用能力产生了显著的影响。

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18个碳源中有9个属于糖类物质, 3个属于氨基酸底物及其衍生物, 3个属于脂肪酸和脂类以及3个属于代谢中间产物和次生代谢物。贡献最高的是D-纤维二糖, 属于糖类物质, 纤维素的水解产物。对PC2贡献较高的7个碳源中有3个属于糖类物质, 1个属于氨基酸底物及其衍生物, 2个属于脂肪酸和脂类, 还有1个属于代谢中间产物和次生代谢

表1 土壤微生物群落功能多样性指数 ($N=3$)Table 1 Functional diversity indices of soil microbial community ($N=3$)

处理 Treatment	Shannon index	Simpson index	McIntosh index
FACE	3.27 ± 0.01 a	0.96 ± 0.00 a	5.44 ± 0.09 b
Ambient	3.24 ± 0.05 a	0.96 ± 0.00 a	4.73 ± 0.33 a

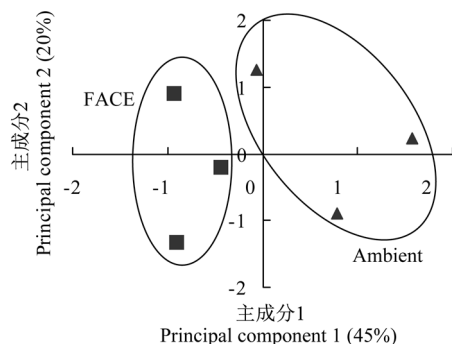


图4 土壤微生物碳源利用特性的主成分分析 (PCA)

Fig. 4 Principal components analysis (PCA) of carbon utilization of soil microbial community

表2 土壤中与PCA1和PCA2相关的微生物主要利用碳源

Table 2 Main carbon resources of microbial utilization related to PCA1 and PCA2 in soil

主要碳源 Main carbon	相关系数 Correlation coefficient	主要碳源 Main carbon	相关系数 Correlation coefficient
糖类物质及其衍生物 Carbohydrates and their derivants		代谢中间产物和次生代谢物 Metabolic mediates and secondary metabolites	
<i>D</i> -纤维二糖 <i>D</i> -cellobiose	0.985	4-羟基苯甲酸 4-hydroxy benzoic acid	0.829
β -甲基- <i>D</i> -葡萄糖 β -methyl- <i>D</i> -glucoside	0.876	葡萄糖-1-磷酸盐 Glucose-1-phosphate	0.726
<i>i</i> -赤藻糖醇 <i>i</i> -erythritol	0.846	<i>D</i> -苹果酸 <i>D</i> -malic acid	0.621
<i>D</i> -葡萄糖胺 <i>D</i> -glucosaminic acid	0.828	糖类物质及其衍生物 Carbohydrates and their derivants	
<i>N</i> -乙酰- <i>D</i> -葡萄糖氨 <i>N</i> -acetyl- <i>D</i> -glucosamine	0.825	肝糖 Glycogen	0.808
<i>D</i> -甘露醇 <i>D</i> -Mannitol	0.817	<i>D</i> -木糖 <i>D</i> -xylose	0.745
α -环式糊精 α -Cyclodextrin	0.795	α - <i>D</i> -乳糖 α - <i>D</i> -lactose	0.713
<i>D</i> -半乳糖醛酸 <i>D</i> -Galacturonic Acid	0.746	氨基酸底物及其衍生物 Amino acid substrates and their derivants	
<i>D</i> -半乳糖- γ -内酯 <i>D</i> -Galactonic Acid γ -Lactone	0.602	甘氨酸- <i>L</i> -谷氨酸 Glycyl- <i>L</i> -glutamic acid	0.609
氨基酸底物及其衍生物 Amino acid substrates and their derivants		脂肪酸和脂类 Fat acid and lipid	
<i>L</i> -苏氨酸 <i>L</i> -Threonine	0.907	吐温80 Tween 80	0.672
<i>L</i> -天冬酰胺 <i>L</i> -Asparagine	0.897	丙酮酸甲酯 Pyruvic acid methyl ester	0.619
<i>L</i> -苯丙氨酸 <i>L</i> -Phenylalanine	0.880	代谢中间产物和次生代谢物 Metabolic mediates and secondary metabolites	
脂肪酸和脂类 Fat acid and lipid		苯乙胺 Phenylethylamine	0.792
吐温40 Tween40	0.897		
衣康酸 Itaconic Acid	0.693		
丙酮酸甲酯 Pyruvic Acid Methyl Ester	0.647		

物. 贡献率最大的是肝糖, 也属于糖类物质. 因此, 臭氧浓度升高条件下, 对主成分分异的主要碳源是糖类物质.

3 讨论

近地层臭氧浓度的持续增高对陆地生态系统产生深远影响. 臭氧浓度升高对植物影响的工作目前已经深入开展, 但是对土壤生态系统地下部分, 特别是土壤微生物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, 麦田土壤WSOC含量有增高趋势, 从而刺激了土壤微生物的整体活性, 显著提高土壤呼吸强度, 特别某些非优势土壤微生物对部分碳源的利用能力.

大气臭氧浓度升高影响了植物的生长发育, 导致其对土壤的碳源输入发生变化, 植物的碳源输入不仅是土壤碳库的一个重要组成部分^[19], 也是土壤微生物重要的碳源和能源之一^[20]. 大量的文献表明, 高浓度 ($100 \text{ nmol mol}^{-1}$ 以上) 臭氧熏蒸下, 植物会降低向根系的碳输入, 从而影响土壤微生物的活性^[21]. 但是在低浓度 ($70\sim75 \text{ nmol mol}^{-1}$) 下却有相反的结果.

果. Mc Crady和Andersen研究臭氧对小麦地下碳分配的影响表明, 臭氧显著增加了光合产物释放到根系周围的土壤溶液中的量, 特别是可溶性的非挥发性根系分泌物^[17]. Sami等人的研究结果表明, 长期低浓度臭氧熏蒸处理提高了土壤微生物底物(包括有机酸)有效性, 从而增加土壤微生物生物量, 进而表现出土壤微生物整体活性的提高^[22]. 我们的结果也发现, 在~70 nmol mol⁻¹的大气臭氧浓度下麦田WSOC含量增加, 微生物整体活性提高.

近地层臭氧浓度升高, 不仅提高了麦田土壤微生物的整体活性, 也改变了麦田土壤微生物群落碳源利用能力的多样性. BIOLOG结果表明, 臭氧浓度升高下麦田土壤微生物碳源底物利用能力增强, AWCD值显著高于对照. 主成分分析结果显示, 臭氧浓度升高对麦田土壤微生物部分碳源底物利用的影响显著, 即在PC1和PC2上实现分离. 在对PC1贡献较高的18个碳源中, 糖类物质占50%; 对PC2贡献较高的7个碳源中, 糖类物质占43%. 该结果说明臭氧浓度升高可能主要通过影响麦田土壤中糖类物质的种类和含量, 进而对土壤微生物功能多样性产生影响. *D*-纤维二糖, β -甲基-*D*-葡萄糖苷和*D*-甘露醇都是纤维素或半纤维素的水解产物. 臭氧浓度可能促进麦田纤维素的降解^[7], 进而影响了该3种糖类物质的含量. 此外, 臭氧升高下麦田土壤微生物对部分根系分泌物, 如4-羟基苯甲酸、*D*-苹果酸、*L*-天冬酰胺、*L*-苯丙氨酸和*L*-苏氨酸的利用能力也增强. 这一现象可能源于臭氧浓度的适当升高会增加小麦非挥发性根系分泌物产物释放到根系周围的土壤溶液中的量^[17]. 此外, *D*-苹果酸尤其值得关注, 因为*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^[23], 因此臭氧浓度升高可能会通过土壤微生物活性的变化而反作用于作物的生长.

从本实验结果可以看出, 臭氧浓度升高对农田土壤的影响比较复杂. 作物和土壤微生物对不同臭氧浓度的响应不尽相同. 因此, 仍需要进一步、更深入地研究大气臭氧浓度对作物和土壤微生物的影响, 以期更全面地揭示全球气候变化对农田生态系统的影响, 为未来全球气候变化负面效应的预防与减灾奠定理论基础和提供实践指导.

References

- Vingarzan R. A review of surface ozone background levels and trends. *Atmos Environ*, 2004, **38** (21): 3431~3442
- Feng ZZ (冯兆忠), 小林和彦, Wang XK (王效科), Feng ZW (冯宗伟). 小麦产量形成对大气臭氧浓度升高响应的整合分析. *Chin Sci Bull* (科学通报), 2008, **53** (24): 3080~3085
- Ashmore MR, Bell JN. The Role of ozone in global change. *Ann Bot*, 1991, **67** (1): 39~48
- McCrady JK, Andersen CP. The effect of ozone on below-ground carbon allocation in wheat. *Environ Poll*, 2000, **107** (3): 465~472
- Johnson RM, Pregitzer KS. Concentration of sugars, phenolic acids, and amino acids in forest soils exposed to elevated atmospheric CO₂ and O₃. *Soil Biol & Biochem*, 2007, **39** (12): 3159~3166
- Nelson T, Edwards S. Root and soil respiration responses to ozone in *Pinus taeda* L. seedlings. *New Phytol* 1991, **118** (2): 315~321
- Fitzgerald LB, Stephen AP, Torbert HA, Edwin LF, Walter AP, Shuijin H. Decomposition of soybean grown Under elevated concentrations of CO₂ and O₃. *Global Change Biol*, 2005, **11** (4): 685~698
- Hofstra G, Ali A, Wukasz RT, Fletcher RA. The rapid inhibition of root respiration after exposure of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to ozone. *Atmos Environ*, 1981, **15**: 483~487
- Kasurinen A, Gonzales PK, Riikonen J, Vapaavuori E, Holopainen T. Soil CO₂ efflux of two silver birch clones exposed to elevated CO₂ and O₃ levels during three growing seasons. *Global Change Biol*, 2004, **10**: 1654~1665
- Li GM (李果梅), Wang YQ (王昱屹), Shi Y (史奕), Chen X (陈欣). Effects of elevated ozone and temperature on soil enzymes activities and phenolic compounds content in spring wheat. *Chin J Agro-Environ Sci*, 2008, **27** (1): 121~125
- Shi GY, Yang LX, Wang YX, Kobayashi K, Zhu JG, Tang HY, Pan ST, Chen T, Liu G, Wang YL. Impact of elevated ozone concentration on yield of four Chinese rice cultivars under fully open-air field conditions. *Agric, Ecosyst & Environ*, 2009, **131**: 178~184
- Haynes RJ, Francis GS. Changes in microbial biomass C, soil carbohydrate composition and aggregate stability induced by growth of selected crop and forage species under field conditions. *J Soil Sci*, 1993, **44**: 665~675
- Xu GH (许光辉), Zheng HY (郑洪元). 土壤微生物分析方法手册. Beijing, China: China Agriculture Press (北京: 农业出版社), 1986
- Classen AT, Boyle SI, Haskins KE, Overby ST, Hart SC. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. *FEMS Microbiol*, 2003, **44**: 319~328
- Ni JZ (倪进治), Xu JM (徐建民), Xie ZM (谢正苗). Advances in soil water-soluble organic carbon research. *Chin Ecol & Environ* (生态环境), 2003, **12** (1): 71~75
- Chen CR, Xu ZH. Analysis and behavior of soluble organic nitrogen in

- forest soils. *J Soils & Sediments*, 2008, **8** (6): 363~378
- 17 Nelson T, Edwards S. Root and soil respiration responses to ozone in *Pinus taeda* L. seedlings. *New Phytol*, 1991, **118** (2): 315~321
- 18 Choi KH, Dobbs FC. Comparison of two kinds of biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities. *J Microbiol Methods*, 1999, **36** (3): 203~213
- 19 Hackett CA, Griffiths BS. Statistical analysis of the time-course of Biolog substrate utilization. *J Microbiol Methods*, 1997, **30** (1): 63~69
- 20 Rogers H, Runion G., Krupa S. Plant responses to atmospheric CO₂ enrichment with emphasis on roots and the rhizosphere. *EnvironPoll*, 1994, **83**: 155~189
- 21 Krafczyk I, Trolldenier G, Beringer H. Soluble root exudates of maize - Influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. *Soil Biol & Biochem*, 1984, **16**: 315~322
- 22 Sami KM, Jaana KH, Riikka P, Paivi T, Sanna S, Jouko S, Toini H, Perttj M. Long-term ozone effect on vegetation, microbial community and methane dynamics of boreal peatland microcosms in open-field conditions. *Global Change Biol*, 2008, **14**: 1891~1903
- 23 Lin WX (林文雄), Xiong J (雄君), Zhou JJ (周军建), Qiu L (邱龙), Shen LH(沈荔花), Li ZF (李振方), Chen H(陈慧), Hao HR (郝慧荣), Chen T (陈婷), Lin RY(林瑞余), He HB (何海斌), Liang YY (梁义元). Research status and its perspective on the properties of rhizosphere biology mediated by allelopathic plants. *Chin J Eco-Agric* (中国生态农业学报), 2007, **15** (4): 1~8