

紫外辐射增强对 4 个甘蔗割手密无性系根际真菌数量和优势种群的影响

湛方栋 李 元 祖艳群* 何永美

(云南农业大学资源与环境学院 昆明 650201)

摘要: 采用大田试验方法, 研究了模拟紫外辐射(UV-B, 280 nm~310 nm)增强对 4 个 UV-B 辐射敏感性不同的割手密无性系根际真菌数量和优势种群的影响。结果表明: UV-B 辐射增强不改变割手密根际真菌的数量在分蘖期最大、幼苗期次之、伸长期和成熟期较少的规律性; UV-B 辐射增强条件下, 割手密耐性无性系根际真菌数量显著增加, 并显著多于敏感无性系, 但 UV-B 辐射使割手密无性系根际真菌的优势种群组成减少, 优势种群以青霉属真菌为主。

关键词: 紫外辐射, 割手密, 根际真菌, 数量, 优势种群

Effects of UV-B Radiation on Rhizosphere Fungi Quantity and Dominant Populations of 4 Wild Sugarcane (*Saccharum spontaneum* L.) Clones

ZHAN Fang-Dong LI Yuan ZU Yan-Qun* HE Yong-Mei

(College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201)

Abstract: Field studies were conducted for a season to determine potential for alterations in the rhizosphere fungi quantity dynamics and dominant populations of 4 wild sugarcane clones(*S. spontaneum* L.) with different UV-B sensitivity under an enhanced ultraviolet-B (UV-B, 280 nm~310 nm) radiation. The quantity of rhizosphere fungi was most in tillering stage, second in seedling stage and least in elongating stage and maturing stage, the sequence wasn't alternated by UV-B radiation. The rhizosphere fungi quantity of tolerant clone was obviously increased and greater than the sensitive clone under the enhanced UV-B radiation, however, the number of dominant populations decreased and *Penicillium* was the dominant population during the periods of 4 wild sugarcane clones.

Keywords: UV-B radiation, Wild sugarcane clones(*S. spontaneum* L.), Rhizosphere fungi, Quantity, Dominant population

臭氧层破坏导致到达地表的太阳紫外UV-B辐射增强, 而且在今后几十年内, 地表紫外辐射仍将

持续增强^[1]。UV-B辐射增强不仅对植物地上部分有重要影响, 对植物地下部分也有巨大影响, 并间接

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 30260026); 云南省学术带头人后备人才项目(No. 2006PY01-34)

* 通讯作者: Tel: 0871-5228745; E-mail: liyuanzu@public.km.yn.cn

收稿日期: 2008-03-18; 接受日期: 2008-07-11

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

地影响到植物根际中真菌的分布、数量和种群^[2-4]。但UV-B辐射增强对同一植物UV-B辐射敏感性不同的无性系根际真菌数量和种群的影响研究较少。

因此,在前期研究的基础上[根据株高、分蘖数、叶面积指数、总生物量和锤度等指标,建立响应指数(response index, RI),判断割手密无性系对UV-B辐射的敏感性,以RI>121.69为耐性无性系,RI<-143.59为敏感无性系],研究UV-B辐射增强对UV-B辐射敏感性不同的甘蔗割手密无性系(*Saccharum spontaneum* L.)不同生育期根际真菌的数量和种群的影响,有助于了解不同背景割手密无性系地下部分对UV-B辐射增加的响应,为研究UV-B辐射对敏感性不同的植物地下部分微生态的影响提供

科学依据。

1 材料与方法

1.1 大田试验与紫外辐射处理

试验以栽种在云南农业大学甘蔗研究所内的4个割手密无性系为研究对象,分别为I91-48,92-11,I91-37,II91-81,割手密无性系I91-48和92-11为耐性,I91-37和II91-81为敏感,它们的原产地及背景特征见表1。

试验地土壤背景值:碱解氮(N)150 mg/kg,全氮1.36 g/kg,速效磷(P)36.58 mg/kg,全磷8.30 g/kg,速效钾185.89 mg/kg,全钾5.43 g/kg,有机质4.56%,pH 7.28。

表1 割手密无性系的原产地及其背景特征
Table 1 Origin and background characteristics of 4 wild sugarcane clones

无性系Clone	响应指数Response index	对紫外辐射敏感性Sensitivity to UV-B radiation	原产地Origin	原产地海拔(m)Original altitude(m)	生境Habitat
I91-48	848.04	耐性	四川良中	350	旱生
92-11	313.31	耐性	海南崖城	12	旱生
I91-37	-169.3	敏感	四川简阳	550	旱生
II91-81	-232.75	敏感	福建沼安	60	旱生

试验在自然光条件下,模拟紫外辐射(UV-B)增强,处理为紫外辐射,对照为无紫外辐射。模拟UV-B辐射使用上海顾村电光仪器厂生产的30W UV-B灯管(光谱为280 nm~310 nm),灯管悬于植株上方,4月7日开始UV-B辐射,每天光照7 h(10:00~17:00),阴雨天除外,直到成熟收获。灯管的高度每周调1次,以保证割手密顶部的辐射强度为5.0 kJ/m²。用紫外辐射仪(北京师范大学仪器范大学仪器厂)测297 nm波长处辐射强度(以植株顶部计),设0(自然光对照)和5.0 kJ/m²(处理)两个辐射水平,相当于昆明地区(北纬25°、海拔1950 m)0和20%臭氧衰减所增加的紫外线辐射水平。每个处理重复3次,每个重复采集1个样品。

1.2 样品采集与根际土悬浊液制备

在割手密幼苗期(4月12日),分蘖期(5月8日),伸长期(8月18日)和成熟期(12月12日),采集割手密无性系的根际土壤。取5 cm~20 cm土层中的根系,轻轻抖动除去粘附在根表面的大土壤,用灭菌的纸袋包扎密封,带回实验室,先剪成2 cm~3 cm长,混合,然后取新鲜根系20条左右,置于盛有100 mL

无菌水的三角瓶中,振荡15 min,去除根系,获得割手密无性系的根际土壤悬浊液,用于根际真菌的测定。

1.3 根际真菌的分离计数和鉴定

采用稀释平板法,马丁氏培养基,对4个割手密无性系根际真菌进行分离计数。以在最高稀释度平板上出现的5~10个菌落的菌株作为根际中的优势菌株^[5]。

去除根系后,用已经在105°C的烘箱中烘了6 h~8 h的、至恒重的滤纸过滤根际土悬浊液,获得的根际土进行与滤纸相同的处理,烘干至恒重,得到根际土的干重,从而获得根际真菌计数的基本单位CFU/g干土(colony forming unit, 菌落形成单位)^[6]。

根际优势真菌的分类鉴定^[7],采用察氏培养基,于28°C±1°C培养,观察它的培养特征和显微形态。

1.4 统计方法

使用t-检验(n=3)来分析对照和处理间的差异显著性,F-检验分析不同生育时期间的差异显著性。采用统计软件DPS3.01进行分析。

2 结果与分析

2.1 自然光照条件下4个割手密无性系根际真菌数量动态变化

图1表明,在正常自然光照条件下,随着割手密的生育进程,4个无性系的根际真菌数量都产生了明显的变化,其中,分蘖期的根际真菌数量最大,与其余3个时期(幼苗期、伸长期和成熟期)根际真菌数量的差异达到极显著水平($P < 0.01$),幼苗期的根际真菌数量次之,伸长期和成熟期的根际真菌数量较少。

在分蘖期,敏感无性系I91-37根际真菌的数量最多,敏感无性系II91-81次之,耐性无性系I91-48最少,最多者与最少者之间差异极显著($P < 0.01$),较多者与最少者差异显著($P < 0.05$)。正常光照条件下,割手密无性系根际真菌数量表现为敏感无性系显著多于耐性无性系。

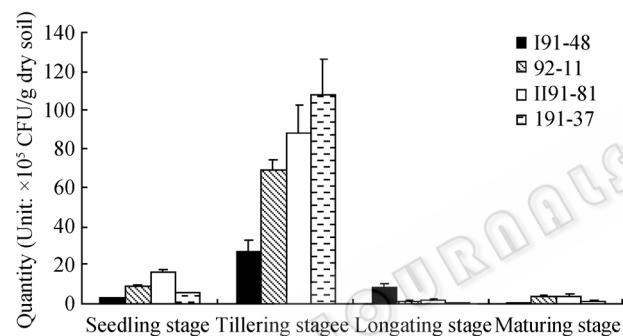


图1 自然光照条件下4个割手密无性系根际真菌数量动态变化

Fig. 1 The fungi quantity dynamic in the rhizosphere of 4 wild sugarcane clones under field conditions

2.2 UV-B辐射增强条件下4个割手密无性系根际真菌数量动态变化

图2表明,UV-B辐射增强条件下,4个割手密无性系的根际真菌数量随着割手密生长,都产生了与正常自然光照条件下相似的变化,根际真菌数量在分蘖期的最大。

在分蘖期,耐性无性系I91-48根际真菌数量最多,耐性无性系92-11次之,敏感无性系I91-37较少,敏感无性系II91-81最少,最大者与最小者之间差异显著($P < 0.05$)。UV-B辐射增强条件下,割手密无性系根际真菌数量表现为耐性无性系显著大于敏感无性系。

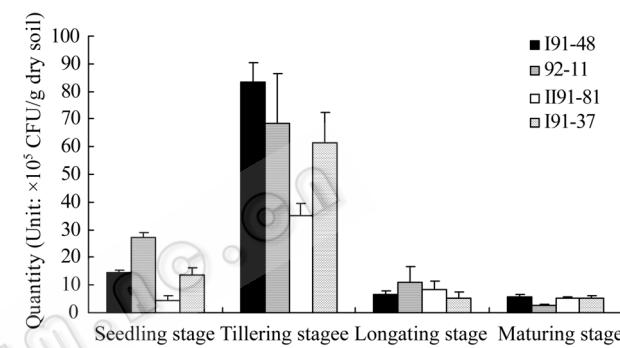


图2 UV-B辐射增强条件下4个割手密无性系根际真菌数量动态变化

Fig. 2 The fungi quantity dynamic in the rhizosphere of 4 wild sugarcane clones under enhanced UV-B radiation

2.3 UV-B辐射增强对4个割手密无性系根际真菌数量的影响

从表2可知,UV-B辐射增强条件下,耐性无性系I91-48根际真菌数量在幼苗期、分蘖期和成熟期均极显著多于自然光照下的根际真菌数量($P <$

表2 UV-B辐射增强对4个割手密无性系根际真菌数量($\times 10^5$ CFU/g干土)的影响
Table 2 The effects of enhanced UV-B radiation on the rhizosphere fungi quantities ($\times 10^5$ CFU/g dry soil) of 4 wild sugarcane clones

无性系 Clone	幼苗期 Seedling stage		分蘖期 Tillering stage		伸长期 Elongating stage		成熟期 Maturing stage	
	自然光照 Natural light	紫外辐射 UV-B radiation	自然光照 Natural light	紫外辐射 UV-B radiation	自然光照 Natural light	紫外辐射 UV-B radiation	自然光照 Natural light	紫外辐射 UV-B radiation
	3.12 ± 0.22	14.44 ± 0.82**	27.42 ± 5.23	83.33 ± 7.22**	8.98 ± 1.43	6.40 ± 1.40	0.81 ± 0.06	5.91 ± 0.87**
I91-48	9.66 ± 0.35	27.37 ± 1.51**	69.68 ± 4.98	68.26 ± 18.06	1.52 ± 0.25	10.77 ± 5.68	3.80 ± 0.87	2.60 ± 0.32
II91-81	16.42 ± 0.93**	4.29 ± 2.01	88.07 ± 14.62*	35.05 ± 4.50	2.05 ± 0.40	8.55 ± 2.71	2.55 ± 1.45	5.16 ± 0.52
I91-37	5.67 ± 0.21	13.68 ± 2.74*	107.97 ± 18.22	61.31 ± 10.85	0.71 ± 0.14	5.14 ± 2.14	1.48 ± 0.37	5.29 ± 0.74**

注: *: 对照与处理间差异显著, $P < 0.05$; **: 对照与处理间差异极显著, $P < 0.01$; n=3

Note: *: The difference between CK and treatment was significant at $P < 0.05$; **: Very significant at $P < 0.01$; n=3

0.01); 耐性无性系 92-11 根际真菌数量在幼苗期极显著多于自然光照下的根际真菌数量($P < 0.01$)。UV-B 辐射增强条件下, 2 个耐性无性系 I91-48 和 92-11 根际真菌数量表现为的显著增加。

敏感无性系 II91-81 根际真菌数量在幼苗期和分蘖期都显著少于自然光照下的根际真菌数量($P < 0.05$); 而敏感无性系 I91-37 根际真菌数量在幼苗期显著多于自然光照下的根际真菌数量($P < 0.05$), 在成熟期极显著多于自然光照下的根际真菌数量($P < 0.01$)。UV-B 辐射增强对敏感无性系根际真菌数量的影响存在差异。

2.4 UV-B 辐射增强对 4 个割手密无性系根际优势真菌的影响

由表 3 可知, 自然光照条件下, 分离获得根际优势真菌菌株 29 株, 属于 8 个属, 其中, 毛霉属为 7

株, 青霉属和头孢霉属均为 6 株, 木霉属 4 株, 曲霉属 3 株, 枝孢霉属、根霉属和镰刀孢属均为 1 株, 主要以毛霉属、青霉属和头孢霉属真菌为主。随着割手密生育进程割手密无性系根际真菌优势种群出现变化, 在幼苗期以青霉属为主, 分蘖期以毛霉属为主, 伸长期以木霉属为主。

UV-B 辐射增强条件下, 分离获得根际优势真菌菌株 27 株, 属于 4 个属, 其中, 青霉属为 15 株, 头孢霉属 7 株, 木霉属 3 株, 毛霉属 2 株, 主要以青霉属真菌为主, 头孢霉属真菌次之, 随割手密生育进程优势种群组成变化较小, 青霉属始终处于优势地位。可见, UV-B 辐射增强对割手密耐性和敏感无性系根际真菌优势种群有一致的影响, 表现为根际真菌优势种群组成减少, 趋向于以青霉属真菌为主, 并始终处于优势地位。

表 3 4 个割手密无性系根际真菌的优势种群
Table 3 Dominant fungi populations in the rhizosphere of 4 wild sugarcane clones

处理 Treatment	无性系 Clone	幼苗期 Seedling stage	分蘖期 Tillering stage	伸长期 Elongating stage	成熟期 Maturing stage
自然光照 Natural light	I91-48	青霉属 <i>Penicillium</i>	毛霉属	木霉属 <i>Trichoderma</i> 头孢霉属	根霉属 <i>Rhizopus</i> 曲霉属
	92-11	青霉属 曲霉属 <i>Aspergillus</i> 头孢霉属 <i>Cephalosporium</i>	毛霉属	青霉属 木霉属	毛霉属 头孢霉属
	II91-81	青霉属 曲霉属 头孢霉属	毛霉属 镰刀孢属 <i>Fusarium</i>	木霉属 头孢霉属	青霉属 头孢霉属
	I91-37	毛霉属 <i>Mucor</i>	毛霉属	青霉属 木霉属	毛霉属 枝孢霉属 <i>Cladosporium</i>
紫外辐射 UV-B radiation	I91-48	青霉属	青霉属	青霉属 木霉属	青霉属 木霉属
	92-11	青霉属	青霉属	青霉属	青霉属 头孢霉属
	II91-81	青霉属 毛霉属	青霉属 头孢霉属	青霉属 头孢霉属	青霉属 头孢霉属
	I91-37	青霉属	青霉属 头孢霉属	青霉属 木霉属 头孢霉属	毛霉属 头孢霉属

3 讨论

割手密根际真菌数量总体表现为分蘖期 > 幼苗期 > 伸长期或成熟期, 具有随生育期变化的规律

性。这可能是与甘蔗不同生育期的生长特点有关, 在幼苗期, 甘蔗地下部分生长较强, 分蘖期地下部分生长最强, 而伸长期和成熟期则以地上部分生长为主^[8]。作物地上和地下部分的生长状况影响着根

系脱落物和分泌物的数量和种类, 而作物根系的分泌物和脱落物是根际微生物的主要营养源, 从而必然影响到根际微生物的数量, 表现出根际微生物数量随作物生育期变化的规律性。而且, 这种规律性不被紫外辐射所改变, 这与已报道的紫外辐射不影响春小麦根际土壤微生物数量动态变化的结论一致^[9]。UV-B辐射增强下, 耐性割手密无性系根际真菌数量增加, 敏感性无性系数量下降或增加, 这与UV-B辐射降低割手密无性系土壤微生物数量以及紫外辐射均降低春小麦根际微生物数量的结论并不一致^[2,9]。

地上部分良好的长势能促进地下根系的分泌作用, 能够为根际真菌提供较多的营养, 增加根际真菌的数量。敏感性不同割手密无性系的对UV-B辐射增强响应的有差异, 自然光照下, 敏感无性系的分蘖数更多, 生物量更大, 割手密敏感无性系根际真菌数量多于耐性无性系; 而在紫外辐射增强条件下, 敏感无性系生长受到更大抑制, 其分蘖数减少很大, 耐性无性系受到的影响较小, 使得耐性无性系分蘖数多于敏感无性系, 生物量更大, 割手密耐性无性系根际真菌数量多于敏感无性系。

由于UV-B辐射仅仅能够穿透大约100 μm厚的土壤, UV-B辐射增强间接影响土壤真菌种群。UV-B辐射增强显著影响了毛桦(*Betula pubescens*)落叶降解真菌的群落结构, 导致枝孢属(*Cladosporium* spp.)和青霉属(*Pencillium* spp.)等真菌丰富度变化^[10]。野外连续5年UV-B辐射增强导致拂子茅(*Calamagrostis epigeios*)和苔草(*Carex arenaria*)内生真菌的感染率分别降低了18%和20%^[11]。

UV-B辐射增强对土壤真菌间接影响的机理主要通过影响土壤中的营养循环、C/N比、植物生物量的分配和根系分泌等作用而实现的^[12,13]。UV-B辐射增强影响土壤N、P、K、Fe、Mg和Zn等矿质元素的循环^[14], 影响大豆根系有机化合物(如有机酸、氨基酸、多肽和酰胺等)的分泌作用^[15], 增加水稻根际中抗菌物质——稻壳酮B的累积^[16], 改变纳茜菜(*Narthecium ossifragum*)的根冠比, 促进一元羧酸在根际中分泌, 抑制窄叶羊胡子草(*Eriophorum angustifolium*)的根系分泌作用^[17], 而根系分泌物是根际微生物的主要营养源和能源, 从而间接地影响到植

物根际微生物的数量和种群的组成。

土壤和根际微生物在土壤养分循环和植物生长发育过程中有着重要作用, 是土壤—植物生态系统重要组成之一。目前大量的研究集中在UV-B辐射增强对地上生态系统的影响, 对地下生态系统的的影响研究相对较少, 需要更深入地开展这方面研究, 了解UV-B辐射增强对土壤和根际微生物的间接影响及其机理, 有助于更全面地了解UV-B辐射增强对全球生态系统的生态效应。

致谢: 感谢云南农业大学王海云、李进学、白健萍和王薇4位同学在本实验中付出的努力!

参 考 文 献

- [1] McKenzie RL, Bjorn LO, Bats A, et al. Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the earth's surface. *Photochem Photobio Sci*, 2003, 2(1): 5–15.
- [2] 祖艳群, 魏兰芳, 杨济龙, 等. 紫外辐射增加对40个割手密无性系土壤微生物种群数量动态和多样性的影响. *农业环境科学学报*, 2005, 24(1): 6–11.
- [3] Searles LS, Kropp BR, Flint SD, et al. Influence of solar UV-B radiation on peatland microbial communities of southern Argentinia. *New Phytologist*, 2001, 152: 213–221.
- [4] Johnson D, Campbell CD, Lee JA, et al. Nitrogen storage (communication arising): UV-B radiation and soil microbial communities. *Nature*, 2003, 423: 137–138.
- [5] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法. 北京: 中国科学出版社, 1985, pp.44–59.
- [6] 湛方栋, 陆引罡, 关国经, 等. 烤烟根际微生物群落结构及其动态变化的研究. *土壤学报*, 2005, 42(3): 488–494.
- [7] 魏景超. 真菌鉴定手册. 上海: 科学技术出版社, 1979.
- [8] 轻工业部甘蔗糖业科学研究所, 广东省农业科学院. 中国甘蔗栽培学. 北京: 中国农业出版社, 1985, pp.66–89.
- [9] 李元, 杨济龙, 王勋陵, 等. 紫外辐射增加对春小麦根际土壤微生物种群数量的影响. *中国环境科学*, 1999, 19(2): 157–160.
- [10] Moody SA, Paul ND, Björn LO, et al. In situ simulation and manipulation of a glacial stream ecosystem in the Canadian High Arctic. *Plant Ecology*, 2001, 154: 29–36.
- [11] J van de Staaij, J Rozema, A van Beem, et al. Increased solar UV-B radiation may reduce infection by arbuscular

- mycorrhizal fungi (AMF) in dune grassland plants: evidence from five years of field exposure. *Plant Ecology*, 2001, **154**: 169–177.
- [12] 胡正华, 蒋静艳, 牛传坡, 等. 地表UV-B辐射增强对土壤-冬小麦系统呼吸速率和N₂O排放的影响. *环境科学*, 2007, **28**(3): 449–454.
- [13] David J. Response of terrestrial microorganisms to ultraviolet-B radiation in ecosystems. *Research in Microbiology*, 2003, **154**: 315–320.
- [14] 杜彩艳, 祖艳群, 李元. UV-B辐射对植物残体分解的影响及其机理. *云南农业大学学报*, 2004, **19**(6): 731–736.
- [15] 强维亚, 陈拓, 汤红官, 等. Cd胁迫和增强UV-B辐射对大豆根系分泌物的影响. *植物生态学报*, 2003, **27**(3): 293–298.
- [16] Kato-Noguchi H, Kujime H, Ino T. UV-induced momilactone B accumulation in rice rhizosphere. *J Plant Physiol*, 2007, **164**(11): 1548–1551.
- [17] Rinnan R, Gehrke C, Michelsen A. Two mire species respond differently to enhanced ultraviolet-B radiation: effects on biomass allocation and root exudation. *New Phytol*, 2006, **169**(4): 809–818.

(上接 p.1707)

征稿简则

3.4 摘要写作注意事项

3.4.1 英文摘要:

1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的; 2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免好多长句, 以求简单清晰; 3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; 4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA, ATP等; 6) 在英文摘要中, 不要使用中文字体标点符号。

3.4.2 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如基因、表达……

4 特别说明

4.1 关于测序类论文

凡涉及测定DNA、RNA或蛋白质序列的论文, 请先通过国际基因库EMBL(欧洲)或GenBank(美国)或DDBJ(日本), 申请得到国际基因库登录号(Accession No.)后再投来。

4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章, 请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章, 所有形式的(即各种文字、各种介质的)版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议, 敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工, 但如涉及内容的大量改动, 将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性, 因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果, 由作者自负。

4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。凡被录用的稿件将及时发出录用通知, 对不录用的稿件, 一般在收稿1个月内通过E-mail说明原因, 打印稿不退。稿件经过初审、终审通过后, 作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充, 然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊网址上传电子版修改稿, 待编辑部复审后将给作者发送稿件录用通知单, 请作者将修改稿纸稿和签字盖章后的承诺书一并寄回编辑部, 按照稿号顺序进入排队发表阶段。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准, 对稿件采取择优先登的原则。如作者要求提前发表, 请在投稿的同时提出书面报告, 说明该研究成果的重要性、创新性、竞争性和提前发表的必要性, 经过我刊的严格审查并通过后, 可予提前刊出。

5 发表费及稿费

论文一经录用, 将在发表前根据版面收取一定的发表费, 并酌付稿酬、赠送样刊及单行本。

6 联系我们

地址: 北京市朝阳区大屯路中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部(100101)

Tel: 010-64807511

E-mail: tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>