

青岛城市公园 3 种植物叶表面颗粒物形态特征及叶际细菌群落结构

徐爱玲¹, 蒋 敏¹, 白萍萍², 宋 琪¹, 李慧娟¹, 宋志文^{1*}

1. 青岛理工大学 环境与市政工程学院, 青岛 266033

2. 山东省调水工程运行维护中心, 青岛 266111

摘 要: 探究植物叶表面颗粒物及微生物群落的分布特征, 对深入了解植物叶片与环境互作机制及城市公园绿植选择具有重要意义。本研究选择青岛市中山公园冬青、女贞和樱花 3 种植物作为供试树种, 利用环境扫描电镜观察植物叶片微观结构, 采用 16S rRNA 高通量测序分析叶际细菌群落多样性与丰富度, 通过组间差异对比分析不同季节不同植物的叶际细菌群落差异。结果显示: 3 种植物叶片对大气颗粒物的滞纳能力为冬青>女贞>樱花, 总体趋势表现为灌木>乔木, 常绿植物>落叶植物, 且受季节变化、植物叶片生长情况与颗粒物累积等因素的影响, 叶面颗粒物滞留量表现为春季显著低于其他季节; 扫描电镜观察到植物叶片表面存在不同类型的真菌且存在明显季节变化, 其中春夏季节植物叶表面存在孢子较多, 而秋冬季节主要为丝状真菌, 这与青岛秋冬季节出现灰霾天气导致空气气溶胶中真菌含量大相关; 高通量测序发现 3 种植物的叶际微生物群落结构存在明显差异, 叶际细菌丰富度为冬青>女贞>樱花, 且夏季叶际细菌群落丰富度最低, 但相对丰度最高的优势菌门均为 Proteobacteria 和 Cyanobacteria, 主要优势菌属为 *norank_f_norank_o_Chloroplast*、*Sphingomonas*、*Acinetobacter* 和 *Hymenobacter*, 预示环境因素对叶际微生物群落结构具有重要影响。本研究证明不同植物叶面颗粒物形态存在明显时空变化规律, 冬青和女贞叶片滞尘能力强, 可作为城市绿化植物的优选; 植物类型是影响叶表面颗粒物及微生物群落分布特征的根本因素, 而季节变化和位置是影响植物叶面微观特征的重要因素。

关键词: 颗粒物; 群落结构; 高通量测序; 环境扫描电镜

Characteristics of particles on leaf surface and phyllosphere bacterial community of three plant species in urban parks of Qingdao

XU Ailing¹, JIANG Min¹, BAI Pingping², SONG Qi¹, LI Huijuan¹, SONG Zhiwen^{1*}

1. School of Environmental and Municipal Engineering, Qingdao University of Technology, Qingdao 266033, China

2. Operation and Maintenance Center of Water Transfer Project in Shandong Province, Qingdao 266111, China

Abstract: Background, aim, and scope Atmospheric particles are a major pollutant in urban air, leading to hazy weather and posing health risks. Leaves play a crucial role in the deposition of atmospheric particles.

收稿日期: 2022-02-17; **录用日期:** 2022-05-21; **网络出版:** 2022-05-31

Received Date: 2022-02-17; **Accepted Date:** 2022-05-21; **Online first:** 2022-05-31

基金项目: 山东省自然科学基金项目 (ZR2020QC027)

Foundation Item: Shandong Provincial Natural Science Foundation (ZR2020QC027)

通信作者: 宋志文, E-mail: songzhiwen@qut.edu.cn

Corresponding Author: SONG Zhiwen, E-mail: songzhiwen@qut.edu.cn

引用格式: 徐爱玲, 蒋 敏, 白萍萍, 等. 2023. 青岛城市公园 3 种植物叶表面颗粒物形态特征及叶际细菌群落结构 [J]. 地球环境学报, 14(4): 458–471.

Citation: Xu A L, Jiang M, Bai P P, et al. 2023. Characteristics of particles on leaf surface and phyllosphere bacterial community of three plant species in urban parks of Qingdao [J]. *Journal of Earth Environment*, 14(4): 458–471.

Phyllosphere microorganisms, residing on the leaf surfaces, are unique particles with essential functions, such as promoting plant growth and degrading environmental pollutants. Therefore, understanding the characteristics of particles on leaf surfaces and the phyllosphere bacterial community is vital for studying plant-environment interactions and selecting suitable green plant species for urban parks. **Materials and methods** In this study, we focused on three plant species (holly, ligustrum, and cherry) in the urban parks of Qingdao. Environmental scanning electron microscopy was used to observe the microstructure of the leaf surface, and the 16S rRNA Illumina high-throughput sequencing was performed to analyze the diversity of phyllosphere bacterial community. **Results** The dust retention ability of the three plant species was ranked as holly>ligustrum>cherry, with lower particle quantities on leaf surfaces during spring compared to other seasons. Seasonal variations were observed for fungi on leaf surfaces, with an abundance of spores in spring and summer, and filamentous fungi dominating in autumn and winter. There were significant differences in phyllosphere bacterial community of three plant species. The richness of phyllosphere bacteria was holly>ligustrum>cherry, and it was lowest in summer. However, the Proteobacteria and Cyanobacteria were the dominant phyla, the dominant species were *norank_f_norank_o_Chloroplast*, *Sphingomonas*, *Acinetobacter*, *Hymenobacter*. **Discussion** The micromorphological characteristics of leaves surface are affected by season, leaf age and the accumulation of particles. The ability of the dust retention was shrubs>trees, evergreen plants>deciduous plants. It is because the leaves of the shrubs are close to the ground, and the leaves are affected by the dust on the ground easily. On the contrary, the trunks of the trees are tall, and the particles on the leaves are blown away by the wind easily and settle on the surface leaves of the shrubs. The accumulation of particles on the leaves of evergreen plants was large because the leaves were exposed to the air for a long time. The leaves of deciduous plants wither in winter, and the particles on the leaves were transferred to the soil with the old leaves, which it had less particles on the leaves surface. The distribution characteristics of phyllosphere microorganisms were related to urban air quality and air microbial community composition. For example, the leaves surface was mainly filamentous fungi in autumn and winter, which was consistent with the large content of fungi in the air aerosol in Qingdao in autumn and winter. In addition, the phyllosphere of the same plant had a specific microbial community, and the relationship between the abundance of phyllosphere bacteria and quantity of particles on leaf surface in different seasons was opposite. It indicated that there was not significant effect of leaves particles retention on the relative richness of phyllosphere bacterial community. The plant type was the main factor affecting the distribution of phyllosphere microbial community. **Conclusions** There were obvious temporal and spatial changes in the morphology of particles on leaf surface in different plants. The holly and ligustrum had higher dust retention capacity, which might be the optimal greening plants in urban. Furthermore, the plant species were the fundamental factors affected the distribution of particles and phyllosphere bacteria, while the season and location were important factors. **Recommendations and perspectives** To investigate the micromorphological characteristics of leaves truly and effectively have great significance for elucidating the relationship between leaf micromorphological characteristics and the growth of host plants. This study can lay a theoretical foundation for improving urban air quality and optimizing the selection of urban greening plants.

Key words: particles; phyllosphere microorganism; high-throughput sequencing; environmental scanning electron microscope

随着工业化进程的加快, 城市空气污染日益严重(李小飞等, 2012)。大气颗粒物已成为城市空气的首要污染物, 尤其是 PM_{10} 和 $PM_{2.5}$ 在空

气中停留时间长, 不仅导致雾霾天气的发生还严重危害人体健康(Kim et al., 2013)。研究发现, 植物对降低大气颗粒物的浓度具有重要作用(Grote

et al., 2016; Selmi et al., 2016)。植物叶片能够改变空气中颗粒物的运动方向,以附着、吸附或直接拦截等方式进行滞尘(Beckett et al., 1998),是大气颗粒物沉降的重要介质。但是这些滞留在植物叶片的颗粒物会遮蔽光强、阻塞气孔、阻碍植物叶片气体交换,进而导致叶片温度升高、抑制植物的光合作用和蒸腾作用,影响植物叶片的新陈代谢和生长发育(李恩宝, 2018)。因此,探究植物叶表面颗粒物对于深入了解大气颗粒物与植物叶片的互作机制有重要意义。

植物叶片的滞尘能力受多种因素的影响(Shao et al., 2019; Paull et al., 2020),如植物的叶片面积、叶表面的绒毛、蜡质层、粗糙度及分泌的黏液等都可直接影响植物叶片的滞尘量。即使是同种植物,在不同的季节、地点和暴露环境中,植物叶片的滞尘量也呈显著差异(Zhang et al., 2015),所以选择同一地区、利用不同树种进一步深入研究,能从不同角度探究植物叶片滞尘能力与影响因素的关系。

叶际微生物是附生或寄生于植物叶表面的特殊颗粒物(Blakeman, 1981),包括细菌、真菌和藻类等(Lindow and Brandl, 2003),是植物生态系统的重要组成部分,其生存的叶面总面积超过 $1 \times 10^8 \text{ km}^2$, 约为全球陆地面积的 2 倍(Woodward and Lomas, 2004; 邓楠等, 2022)。叶际微生物中细菌的丰度最高,据估计细菌个体总数为 10^{26} 个,平均每平方厘米叶片表面约有 10^6 — 10^7 个细菌(Vorholt, 2012),且这些细菌一般以聚合物的形式存在于叶表面(Jumpponen and Jones, 2009)。另有研究(Berlec, 2012; Bulgarelli et al., 2013)表明部分叶际微生物具有促进植物生长、吸附和降解环境污染物、引导叶片气孔关闭阻止病原菌进入等重要功能,在植物溶解磷酸盐、固氮、硝化过程和平衡全球碳氮循环过程起到重要作用(Hunter et al., 2010; Mwajita et al., 2013)。但也存在部分致病微生物,可能会引发植物病害,因此研究叶际微生物随着季节改变的分布规律,能进一步掌握叶际微生物群落结构与宿主植物生长情况的关系。目前较少研究直接观察叶际微生物的微形态特征,且大气颗粒物是植物叶面颗粒物与叶际微生物的重要来源,两者之间的关系有待进一步研究。

城市公园被称为城市中的“绿洲”,是公众

娱乐、游玩、观赏等不可缺少的空间,是改善城市生态环境、贯彻人与自然和谐相处理念的重点区域(梁正荣, 2020)。植物是城市公园的重要组成部分,植物叶片具有净化空气、防尘隔音、调节温度和湿度等重要生态功能(宋晨晨等, 2020)。研究公园中植物叶片对大气颗粒物的滞留能力和叶表面微生物群落的分布特征,能为利用植物改善城市空气颗粒物污染和了解植物叶片与环境互作机制提供数据参考。青岛作为沿海重要城市,目前仅有少量针对青岛园林植物叶片滞尘能力的研究,且缺少结合扫描电镜和分子生物学技术探究大气颗粒物与叶面微形态特征和叶际微生物群落分布特征关系的研究。

本研究以青岛市中山公园的冬青、女贞和樱花 3 种植物作为研究对象,利用 S-3500N 型环境扫描电镜观察不同植物叶表面微形态特征,真实有效地反映植物叶片表面原始的滞尘情况,再根据电镜扫描图分析随着季节变化不同植物叶片表面微形态特征的差异;同时利用洗脱法收集叶表面细菌,通过 Illumina 高通量测序,探究不同季节不同植物的叶际细菌群落结构组成差异,旨在为改善城市空气质量、优化城市绿化植物选择和促进青岛市居民健康发展奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验设计

1.1.1 研究区域概况

青岛市中山公园作为重要旅游景点,是一座位于山东省青岛市市南区的城市公园,地处汇泉湾北岸。公园三面环山,南向大海,地势东北高西南低,属温带季风气候,年平均气温 12.7°C ,春季气温升高慢、夏季多雨湿热、秋季降水少、冬季风大温度低(Chen and Wang, 2012)。中山公园面积 $7.34 \times 10^5 \text{ m}^2$,园内植被种类繁多,风景宜人,是市民与游客游玩的优选地,所以选择中山公园作为研究区域。

1.1.2 采样期间采样点气象情况

选定 2019 年 4、7、10 月及次年 1 月晴朗无风的天气作为采样时间,分别代表一年中对应的春、夏、秋、冬 4 个季节。若取样时降水,取样时间推迟 7 d。由采样期间中山公园空气情况(表 1)可知:夏、冬季节的空气污染状况比春、秋季节严重,尤其是冬季空气质量较差。

表 1 2019—2020 年取样地点空气质量及污染物状况
Tab. 1 Air quality and pollutant status at sampling locations from 2019 to 2020

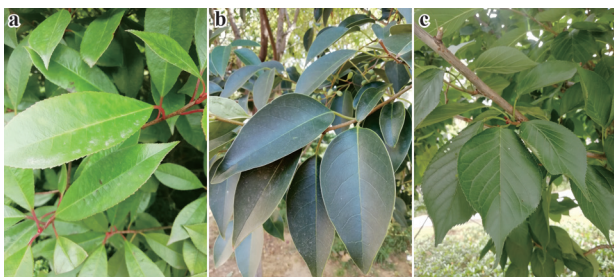
日期 Date	温度 Temperature/℃	相对湿度 Relative humidity/%	质量等级 Quality grade	AQI	PM _{2.5} /(μg·m ⁻³)	PM ₁₀ /(μg·m ⁻³)	NO ₂ /(μg·m ⁻³)	SO ₂ /(μg·m ⁻³)
2019-04-15	15	68	良 Moderate	55	12	60	17	3
2019-07-20	31	68	轻度污染 Lightly polluted	100	75	83	14	3
2019-10-15	13	56	良 Moderate	55	10	61	15	9
2020-01-15	7	51	重度污染 Heavily polluted	268	221	290	98	40

AQI 为空气质量指数, 其值越高表示空气质量越差。

AQI: Air Quality Index, the higher its value, the worse the air quality.

1.1.3 供试树种概况与样品采集

选择广泛分布于青岛市中山公园中的冬青、女贞和樱花 3 种植物作为供试树种, 对于研究不同植物叶表面微形态特征与叶表面细菌群落分布规律有很好的代表性, 分别代表常绿灌木、常绿乔木和落叶小乔木 3 种不同类型的植物。冬青属冬青科, 叶片革质, 呈椭圆形, 边缘呈锯齿状; 女贞属木樨科, 叶片蜡质, 呈卵状椭圆形, 边缘光滑; 而樱花属蔷薇科, 叶片膜质, 呈长卵形, 边缘呈锯齿状。3 种植物叶片形状见图 1。



a: 冬青; b: 女贞; c: 樱花。a: holly; b: ligustrum; c: cherry.

图 1 冬青、女贞和樱花叶片形状图

Fig. 1 Leaves shapes of holly, ligustrum and cherry

选定距离中山公园主干道 5—10 m 处生长良好的冬青、女贞及樱花作为试验树种, 尽量降低人为因素干扰。确定平均采样高度距离地表约 1.5 m, 同种植物每隔 3 m 取一次叶片, 采集试验植物中下层无破损的叶片作为实验材料, 5 次重复采样, 然后将采集的新鲜叶片置于无菌封口袋中, 冰盒 4℃ 保存, 2 h 内带回实验室。取样过程佩戴手套, 减少叶片抖动, 避免叶片受到污染。

1.2 研究方法

1.2.1 植物叶片表面微形态特征的观察

分别从 5 次重复样品中, 随机抽取 3 个新鲜叶片作为电镜观察样品, 并对其叶片表面朝上进行预处理, 在距叶尖 1/3 近中脉处, 切取面积为 4 cm² 的叶片作为电镜观测样品, 再用导电胶将样品黏于扫描电镜的样品台上, 在低真空下应用 RESOLUTION 连续扫描模式进行观察, 对叶表面普遍存在的微观形态特征进行拍照, 获取图像。环境扫描电镜型号 S-3500N, 扫描电镜的工作距离 9.6 mm, 电子束高压 20.00 kV, 强度 12.00, 背散射电子 BSE 分辨率 4.0 nm, 放大倍数约 400—1000。

1.2.2 叶际细菌 DNA 提取

分别从 5 次重复样品中随机抽取 10 个新鲜叶片作为收集菌泥的样品, 并按不同植物种类分别放于装有灭菌水的烧杯中, 用无菌封口膜密封, 置于振荡器中震荡 30 min, 然后用移液枪吸取无菌水反复冲洗叶面, 使叶面细菌从叶表面脱落, 溶于无菌水中, 再将收集的含菌泥水离心浓缩, 按照 DNA 提取试剂盒的说明方法提取叶际细菌的 DNA, 用 NanoPhoto Meter 测定所提取 DNA 的纯度和浓度后, 将满足测序要求的 DNA 样品置于 -20℃ 的环境中保存。

1.2.3 叶际细菌高通量测定

把 DNA 样品送至上海美吉生物医药科技有限公司进行 16S rRNA 高通量测序, 细菌的通用引物序列为: 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), 扩增 16S rDNA 的 V3—V4 区域, 测序平台为 IlluminaMiSeq。

1.3 数据分析

将扫描电镜得到的图像用 Photoshop 软件进行效果增强处理, 利用 Image J 软件对粒径不同的颗粒物进行统计分析, 利用单因素分析对比不同植物叶片微形态特征差异。

将获得的优质序列在 Uparse 软件平台按相似度为 97% 进行 OTUs (operational taxonomic units) 聚类, 再利用 RDPclassifier 对 OTUs 进行物种分类学注释, 去掉丰度值小于总序列条数 0.01% 的 OTUs, 然后利用 Qiime 软件生成各 OTU 注释结果对应分类水平丰度表。

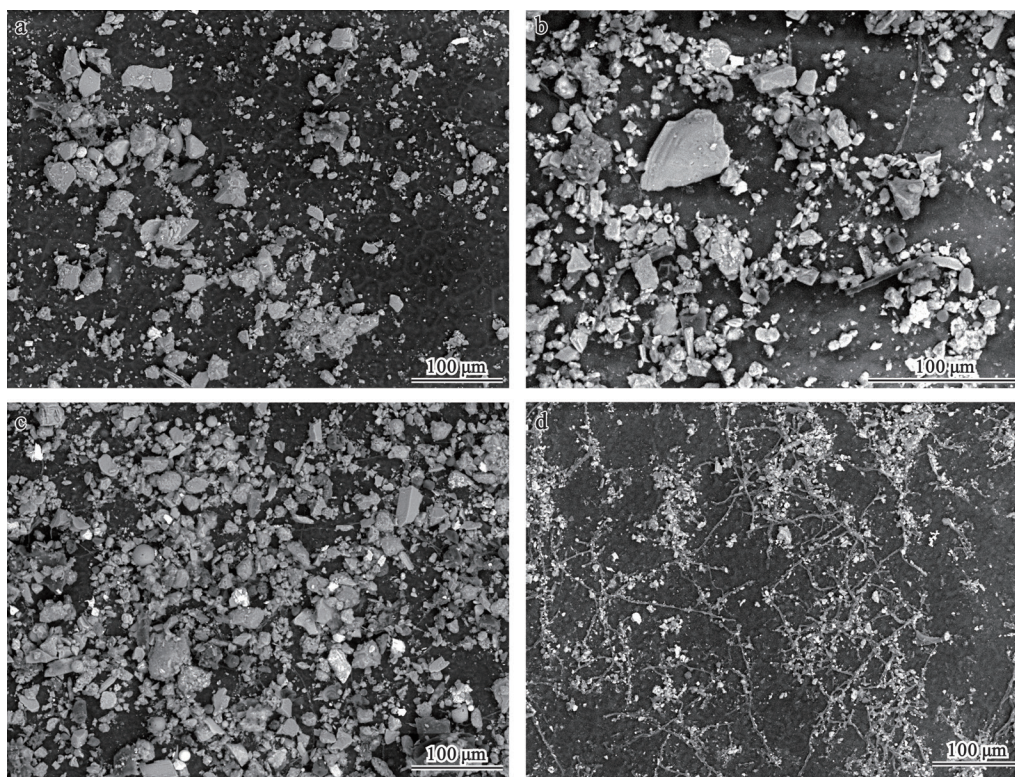
使用 Mothur 软件进行 α 多样性分析, 其中 Coverage 指数表示各样本的群落覆盖度, Chao 和 ACE 指数表示各样本的群落丰富度, Shannon 和 Simpson 指数表示各样本的群落多样性, 同时在门和属水平下进行组间差异分析, 利用 Origin 8.0

软件绘制 Bar 图, R 语言工具统计绘制 Venn 图和 PCoA (principal co-ordinates analysis) 图。

2 结果与分析

2.1 植物叶表面颗粒物与叶际微生物形态观察

叶片是植物滞留大气颗粒物的主要载体, 利用环境扫描电镜观察青岛市中山公园的冬青、女贞和樱花 3 种植物叶表面微观结构, 可直接观察随着季节改变不同植物叶表面颗粒物的变化。由图 2 可知: 4 个季节冬青叶表面纹理均不可见, 春、夏季节叶表面颗粒物粒径较大, 含有少量菌丝体及孢子, 夏季观察到长约 50 μm 的半透明的某种藻类; 秋季 TSP (total suspended particulate) 滞留量最多, 其中含有大量表面光滑呈球状或凹陷的不同类型的真菌及真菌孢子; 冬季植物叶表面布满大量丝状真菌, 叶面颗粒物粒径较小, 含有较多的 PM_{10} 和 $\text{PM}_{2.5}$ 。



a: 春季冬青; b: 夏季冬青; c: 秋季冬青; d: 冬季冬青。a: spring holly; b: summer holly; c: autumn holly; d: winter holly.

图 2 不同季节冬青叶表面微形态特征电镜扫描图

Fig. 2 Scanning electron microscope image of micro-morphological characteristics in different seasons of holly leaf surface

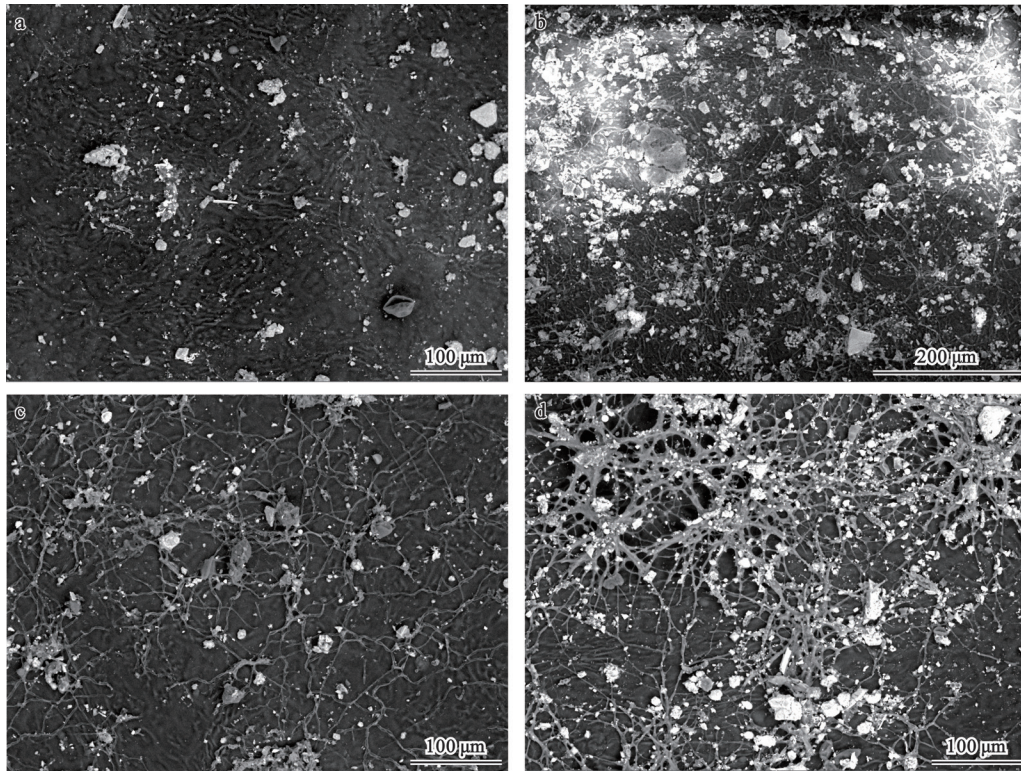
女贞是常绿乔木, 叶表面分布丰富的蜡质层, 可能会增加植物叶片对空气颗粒物的吸附能力 (Jouraeva et al., 2002), 由图 3 可知: 春、秋

季植物叶片表面颗粒物较少, 春季能见植物叶表面纹理, 叶面存在直径约 25 μm 向内褶皱的真菌孢子, 秋季滞留空气动力学当量直径 $D_p < 10 \mu\text{m}$

颗粒物居多, 叶表面菌丝体分裂形成直径约 $20\ \mu\text{m}$ 的厚垣孢子; 夏、冬季节叶面表面滞留大量颗粒物, 其中 $\text{PM}_{2.5}$ 含量高, 但冬季植物叶片表面含有大量丝状真菌, 菌丝直径约为 $2\text{--}10\ \mu\text{m}$, 与颗粒物胶结形成网状并向外延伸形成分生孢子。

樱花是落叶小乔木, 因此仅观察了春夏秋3个季节的植物叶表面微观结构。由图4可知: 由于春季樱花叶片刚生长, 叶面仅滞留少量 $\text{PM}_{2.5}$, 叶面

纹理清晰可见; 夏季滞留颗粒物增多, 但主要是 PM_{10} 和 $\text{PM}_{2.5}$, 在叶面凹陷处滞留少量 $D_p > 10\ \mu\text{m}$ 的颗粒物; 秋季植物叶面主要滞留 $D_p < 10\ \mu\text{m}$ 的颗粒物, 叶面纹理可见, 并观察到一团由菌丝包绕的霉菌和成串分布的真菌孢子与颗粒物缠绕, 附近 $D_p > 10\ \mu\text{m}$ 的颗粒物滞留量明显多于叶片表面其他部分, 可能是因为真菌菌丝形成的网状结构利于颗粒物吸附在植物叶表面。



a: 春季女贞; b: 夏季女贞; c: 秋季女贞; d: 冬季女贞。a: spring ligustrum; b: summer ligustrum; c: autumn ligustrum; d: winter ligustrum.

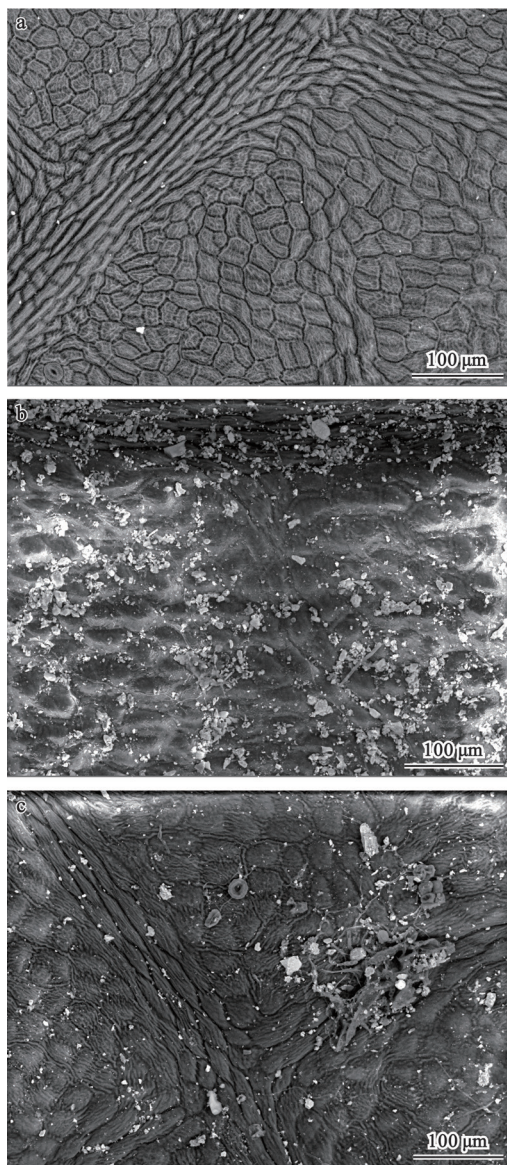
图3 不同季节女贞叶表面微形态特征电镜扫描图

Fig. 3 Scanning electron microscope image of micro-morphological characteristics in different seasons of ligustrum leaf surface

2.2 叶际细菌的 α 多样性分析

对青岛市中山公园不同季节冬青、女贞、樱花的叶际细菌进行高通量测序, 按最小样本序列抽平后共得到 319132 条有效序列, 单一样品序列数为 29012 条, 按照 97% 相似性对非重复序列进行 OTU 聚类, 共检测到 2614 个 OTUs。各样品的稀释曲线趋于平缓, 代表本次测序数据量满足多样性分析要求。对比随着季节变化3种植物叶际细菌的 Shannon、Simpson、Ace、Chao、Coverage 指数(表2), 发现3种植物在不同季节的 Coverage 指数均超过 98%, 说明样品的群落覆盖度 (community coverage) 高。3种植物的叶际细菌 Ace 和 Chao

指数在夏季显著低于其他季节, 说明夏季的群落相对丰富度 (community richness) 低, 其中冬青叶面细菌 Ace 和 Chao 指数冬季 > 秋季 > 春季 > 夏季, 女贞叶面细菌 Ace 和 Chao 指数春季 > 冬季 > 秋季 > 夏季, 樱花叶面细菌 Ace 和 Chao 指数春季 > 秋季 > 夏季。Shannon 指数越高、Simpson 指数越低反映群落多样性 (community diversity) 越高, 分析发现冬青在秋、冬季节的叶际细菌群落多样性高于春、夏季节, 女贞在春、冬季节的叶际细菌群落多样性高于夏、秋季节, 而樱花在夏、秋季的叶际细菌群落多样性高, 但总体上3种植物的叶际细菌群落多样性无显著性差异。



a: 春季樱花; b: 夏季樱花; c: 秋季樱花。
a: spring cherry; b: summer cherry; c: autumn cherry.

图 4 不同季节樱花叶表面微形态特征电镜扫描图
Fig. 4 Scanning electron microscope image of micro-morphological characteristics in different seasons of cherry leaf surface

2.3 叶际细菌的群落组成

通过高通量测序, 3 种植物共鉴定到 32 门、68 纲、180 目、348 科、857 属、1537 种。在门和属水平下统计分析样品的物种相对丰富度, 并将样品中相对丰度少于 1% 的物种归为 others。在门水平上 (图 5), 占优的为变形菌门 (Proteobacteria)、蓝藻门 (Cyanobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、放线菌门 (Actinobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、

异常球菌-栖热菌门 (Deinococcus-Thermus) 和芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes), 它们在植物叶片上所占比丰度随着季节改变有所不同。Proteobacteria 的相对丰度为 13.31%—88.04%, 在冬青、女贞和樱花叶际细菌门中占绝对优势, 其中, 在女贞叶面细菌优势门中占比最低的春季也有 44.79%, 而秋季占比高达 88.04%; 春季 Proteobacteria 的优势度不如其他季节, 在樱花叶面的相对丰度仅为 13.31%。Cyanobacteria 的相对丰度为 0.24%—82.18%, 在春季占绝对优势, 在冬青、女贞、樱花叶际细菌门中分别占 52.10%、38.37%、82.18%; 在冬季的冬青和夏季的女贞叶面优势度明显, 占比分别为 32.55%、20.95%。Bacteroidetes 的相对丰度为 1.01%—23.96%, 在冬青春季叶面优势菌门占比为 4.68%, 明显低于其他季节; 在女贞冬季叶面优势菌门占比为 23.96%, 显著高于其他季节; 而在樱花秋季叶面优势菌门占比为 19.46%, 高于其他季节, 说明同种优势菌门在不同季节不同植物叶面相对丰度差异显著。Actinobacteria 的相对丰度为 1.36%—5.98%, 在 3 种植物的叶际细菌丰度无显著性差异; Firmicutes 的相对丰度为 0.62%—9.07%, 在秋季的相对丰度高于其他季节; Acidobacteria、Deinococcus-Thermus、Gemmatimonadetes 的相对丰度相对较小。

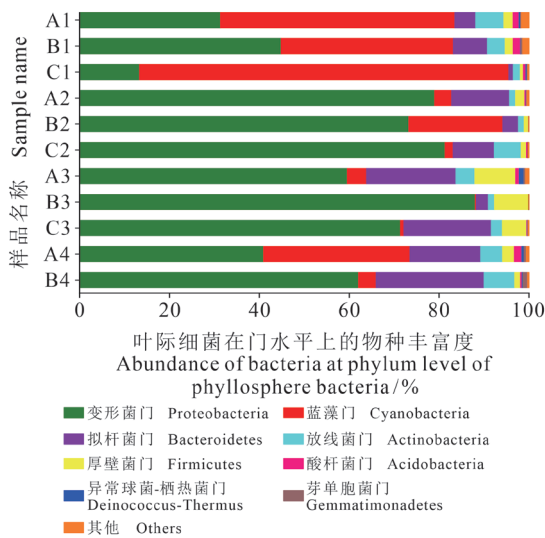
在属水平上 (图 6), 样品相对丰度大于 1% 的菌属共 44 个, 优势菌属主要包括 *norank_f_norank_o_Chloroplast*、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、薄层菌属 (*Hymenobacter*)、马赛菌属 (*Massilia*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、欧文氏菌属 (*Erwinia*)、泛菌属 (*Pantoea*) 等。*norank_f_norank_o_Chloroplast* 的相对丰度在春季显著高于其他季节, 在冬青、女贞和樱花叶面优势菌属分别占 51.45%、38.19%、82.05%; 其次是在冬季的冬青和夏季的女贞叶际优势菌属中占比较高, 分别为 32.15% 和 20.95%。*Sphingomonas* 和 *Hymenobacter* 在冬季的优势度明显, 在冬青和女贞叶表面 *Sphingomonas* 占比分别为 10.98% 和 35.47%, 而 *Hymenobacter* 占比分别为 13.74% 和 20.22%。冬青和樱花叶表面 *Massilia* 在夏、秋季优势度明显, 女贞和樱花叶表面 *Acinetobacter* 在秋季占比较高, 分别为 47.11% 和 25.75%, 说明不同植物不同季节

叶表面优势菌属有差异。*Erwinia* 和 *Pantoea* 是植物病原菌属 (冯洁, 2017), 夏季优势度明显高于其他季节, 尤其 *Erwinia* 在夏季冬青叶际细菌中占比高达 35.84%, 且在 OTU 水平总数为 3124,

占比为 31.03%, 说明该菌具有致病的潜能, 这与青岛夏季空气质量差、湿度大, 易于致病菌的生长繁殖有关, 因此青岛夏季应注意植物病害的防治。

表 2 不同季节冬青、女贞、樱花叶际细菌 Alpha 多样性指数表
Tab. 2 Alpha Diversity Index table of phyllosphere bacteria in different seasons of holly, ligustrum and cherry

季节 Season	植物 Plant	Shannon	Simpson	Ace	Chao	Coverage/%
春 Spring	冬青 Holly	3.63	0.21	1677.79	1655.45	98.53
	女贞 Ligustrum	4.14	0.09	2096.12	1799.86	98.40
	樱花 Cherry	1.44	0.65	1751.22	1291.32	98.71
夏 Summer	冬青 Holly	2.96	0.14	654.59	527.54	99.57
	女贞 Ligustrum	2.82	0.11	329.96	316.29	99.74
	樱花 Cherry	3.75	0.06	775.03	855.80	99.30
秋 Autumn	冬青 Holly	4.81	0.02	1751.09	1706.27	98.42
	女贞 Ligustrum	2.86	0.12	628.00	596.29	99.56
	樱花 Cherry	3.92	0.05	1204.33	1047.18	99.16
冬 Winter	冬青 Holly	4.41	0.06	2286.04	1894.75	98.22
	女贞 Ligustrum	4.10	0.06	1520.48	1163.26	98.95



A1: 春季冬青; A2: 夏季冬青; A3: 秋季冬青; A4: 冬季冬青;
B1: 春季女贞; B2: 夏季女贞; B3: 秋季女贞; B4: 冬季女贞;
C1: 春季樱花; C2: 夏季樱花; C3: 秋季樱花。
A1: spring holly; A2: summer holly; A3: autumn holly; A4: winter holly; B1: spring ligustrum; B2: summer ligustrum; B3: autumn ligustrum; B4: winter ligustrum; C1: spring cherry; C2: summer cherry; C3: autumn cherry.

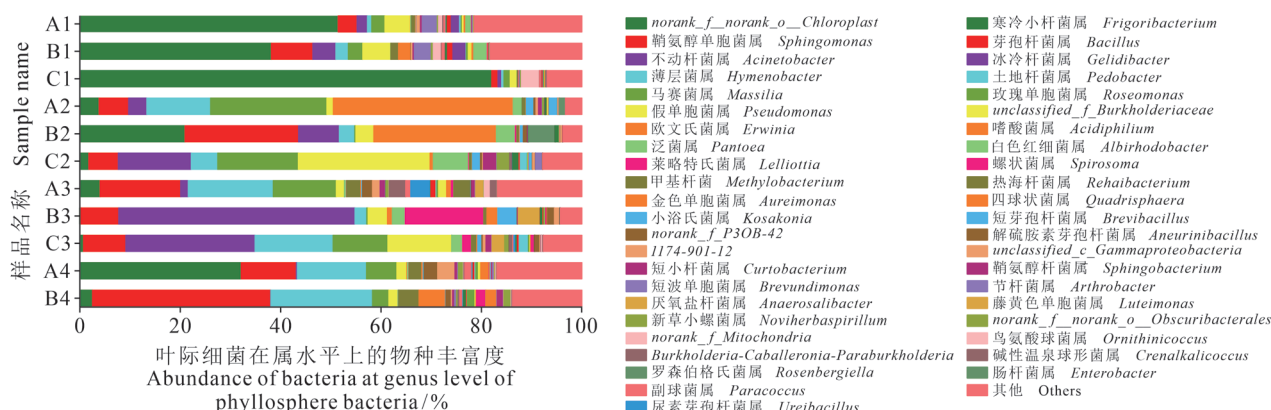
图 5 不同季节下冬青、女贞和樱花叶际细菌在门水平上的物种组成
Fig. 5 Abundance of phyllosphere bacteria at phylum level in different seasons of holly, ligustrum and cherry

2.4 叶际细菌 Venn 图分析

Venn 图用于统计多组样品所独有或共有的物

种数目, 可直观看出不同样品物种组成相似性或重叠情况。在 OTU 水平分析不同季节 3 种植物的叶际细菌 Venn 图 (图 7), 春季叶际细菌 OTUs 数量最高, 共 1778 个 OTUs, 其余为冬季>秋季>夏季。其中 4 个季节 3 种植物的叶际细菌共有 OTUs 数为 393 个, 分别占每个季节 OTUs 总数的 22.10%、56.96%、28.62% 和 27.29%, 夏季叶际细菌共有 OTUs 占比最大。春夏秋冬 4 个季节独有的叶际细菌 OTUs 数分别为 560、63、313 和 241 个, 说明随着季节改变叶际细菌群落结构会发生改变, 其中既包括共有的叶际细菌群落, 也存在自己特有的叶际细菌。

在 OTU 水平分析春季 3 种植物的叶际细菌 Venn 图 (图 8), 樱花叶际细菌 OTUs 数量最低, 共 768 个 OTUs, 冬青和女贞差距不大, 分别为 1179 和 1199 个。3 种植物在春季共有 OTUs 数为 454 个, 分别占其总数的 38.51%、37.86% 和 59.11%, 樱花叶际共有 OTUs 占比最大。冬青、女贞和樱花 3 种植物独有的叶际细菌 OTUs 数分别为 347、382 和 135 个, 说明在相同季节不同植物叶表面微生物群落结构存在差异, 且樱花叶际细菌 OTUs 数量较低可能是因为春季樱花叶片刚生长, 受气候影响最大, 这与春季植物叶表面颗粒物分布较少的结果一致。



A1: 春季冬青; A2: 夏季冬青; A3: 秋季冬青; A4: 冬季冬青; B1: 春季女贞; B2: 夏季女贞; B3: 秋季女贞; B4: 冬季女贞; C1: 春季樱花; C2: 夏季樱花; C3: 秋季樱花。

A1: spring holly; A2: summer holly; A3: autumn holly; A4: winter holly; B1: spring ligustrum; B2: summer ligustrum; B3: autumn ligustrum; B4: winter ligustrum; C1: spring cherry; C2: summer cherry; C3: autumn cherry.

图 6 不同季节下冬青、女贞和樱花叶际细菌在属水平上的物种组成

Fig. 6 Abundance of phyllosphere bacteria at genus level in different seasons of holly, ligustrum and cherry

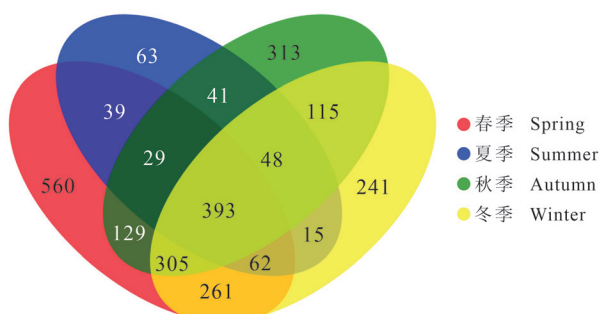


图 7 不同季节冬青、女贞和樱花叶际细菌在 OTUs 水平下 Venn 图

Fig. 7 Venn of OTUs levels of phyllosphere bacteria in different seasons of holly, ligustrum and cherry

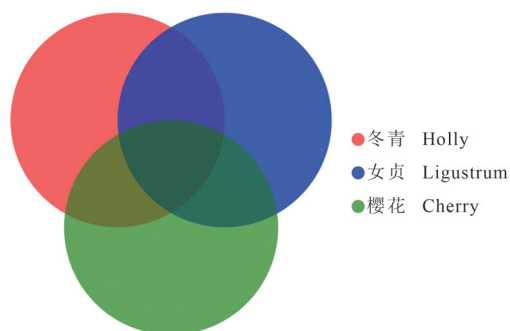


图 8 春季冬青、女贞和樱花叶际细菌在 OTUs 水平下 Venn 图

Fig. 8 Venn of OTUs levels of phyllosphere bacteria in spring of holly, ligustrum and cherry

2.5 叶际细菌的 PCoA 分析

PCoA 分析用于研究样本群落组成之间的相似

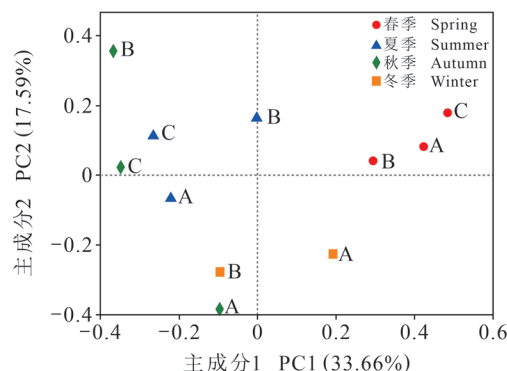
性或差异性。两样本点越接近,说明两样本物种组成差异越小。对不同季节的冬青、女贞和樱花叶际细菌在 OTUs 水平上进行 PCoA 分析(图 9), PC1(主成分 1)和 PC2(主成分 2)分别解释了 33.66% 和 17.59% 的细菌群落变化。不同季节对应的 3 种植物相对距离较远,叶际细菌的群落组成存在差异性。春季 3 种植物的叶际细菌组成相似度较高;夏季女贞在 PC1 上与冬青和樱花有差异,而冬青在 PC2 上与其他 2 种植物有差异;秋季 3 种植物的叶际细菌差异显著,尤其是在 PC2 上差异较大;冬季 2 种植物主要在 PC1 上差异较大。由此可知,季节变化和植物类型都是造成叶际细菌群落差异的因素。

3 讨论

3.1 植物叶表面微形态特征观察分析

利用环境扫描电镜观察植物叶片发现,3 种植物叶表面微形态特征存在显著差异。植物叶表面颗粒物的滞留量表现为冬青>女贞>樱花,与王会霞等(2015)发现不同植物滞尘能力总体趋势表现为灌木>乔木、常绿植物>落叶植物的结果一致。冬青作为小型灌木,距离地面高度低,叶片受地面扬尘的影响,易滞留 $D_p > 10 \mu\text{m}$ 颗粒物,且含颗粒物的气流经过高大乔木会被阻挡而减速,导致部分颗粒物沉降于较矮的灌木叶表面。女贞作为乔木,树干较高,叶面 TSP 容易被风吹散,叶面滞留 $D_p < 10 \mu\text{m}$ 颗粒物较多。樱花作为

落叶小乔木,冬季植物叶片凋零,叶面积累的颗粒物随老叶转移至土壤中,而常绿植物叶片生长期较长,在空气中暴露时间长,导致叶片表面颗粒物累计量较多。植物叶表面的丝状真菌数量表现为女贞>冬青,在樱花叶片上未观察到大量丝状真菌,且女贞叶表面丝状真菌数量呈现冬季>秋季>夏季,冬季叶面菌丝尤为发达,直径约为2—10 μm ,而冬青叶面丝状真菌仅在冬季出现,其他季节叶片表面主要分布孢子和藻类,可能是女贞叶表面蜡质层丰富利于真菌的生长繁殖,与王飞(2006)研究马唐植物叶片发现蜡质利于真菌吸附生长的结果一致。樱花仅在秋季观察到一团由菌丝包绕的霉菌和成串分布的真菌孢子,是因为受冬季落叶影响,导致春、夏季植物叶片表面真菌较少,这与田柳等(2010)研究北京市杨树人工林中杨树叶表面真菌分布的结论一致。而秋季叶面真菌群落丰富,可能是因为秋季樱花出现2次生长势,利于微生物吸收叶际营养物质在叶表面定殖。



A: 冬青; B: 女贞; C: 樱花。A: holly, B: ligustrum, C: cherry.

图9 不同季节下冬青、女贞和樱花叶际细菌在 OTUs 水平下的 PCoA 分析图

Fig. 9 PCoA analysis chart of OTUs levels of plant phyllosphere bacteria in different seasons of holly, ligustrum and cherry

对比3种植物的滞尘情况和叶表面微生物形态,发现冬青、女贞和樱花3种植物叶表面微生物形态特征存在明显的季节效应。有研究认为植物叶片在夏秋季节生长旺盛,滞尘能力较强(吕铃钥等,2016),与本研究3种植物叶表面颗粒物滞留量的规律一致,说明植物叶表面颗粒物滞留量季节变化规律与其生长期密切相关。冬季青岛市燃煤供暖导致空气污染,致使空气中 PM_{10} 和 $\text{PM}_{2.5}$ 的含量高,而冬季冬青和女贞叶表面也主要

是 PM_{10} 和 $\text{PM}_{2.5}$,说明城市空气特征对植物叶表面颗粒物的组成有显著影响。另外,冬季植物叶表面 $D_p < 10 \mu\text{m}$ 的颗粒物含量大,是因为其他季节的颗粒物在植物叶表面存在累积效应,且 PM_{10} 和 $\text{PM}_{2.5}$ 吸附能力强,不易被风吹散。春季叶表面颗粒物滞留量少,主要是因为青岛市春季空气质量好,污染物浓度低,且春季樱花正处于展叶期,所以叶表面纹理清晰可见。扫描电镜观察到3种植物叶表面存在不同类型的真菌且存在明显的季节变化,与Osono et al. (2004)发现季节变化可影响微生物在植物叶表面定殖和分布的结论一致。其中春、夏季节植物叶片表面的孢子较多,形状主要为近三角状卵形或椭圆状,表面光滑或凹凸不平,与何红燕等(2009)观察藓类孢子形态相似;而秋、冬季节植物叶表面主要是丝状真菌,是因为青岛秋、冬容易发生灰霾天气导致空气气溶胶中真菌含量大(祁建华等,2014),这与王琳(2014)研究青岛市不同功能区空气微生物群落结构发现秋、冬季节生物气溶胶中存在更多类似霉菌的分生孢子的情况一致,说明叶际微生物分布特征与城市空气质量、空气微生物群落组成等因素密切相关。

3.2 叶际细菌群落多样性和相对丰富度分析

总体上,本研究中冬青、女贞和樱花在不同季节的叶际细菌群落多样性无显著差异,说明相同地点植物叶表面共享一个核心生物群(Shade and Handelsman, 2012)。3种植物的叶际细菌群落相对丰富度呈现冬青>女贞>樱花,总体上与3种植物的叶面颗粒物滞留量情况表现一致。但同种植物在不同季节叶际细菌相对丰富度与叶面颗粒物滞留量的关系却相反,如3种植物的叶际细菌相对丰富度呈现夏季显著低于春季,与Yadav et al. (2008)研究一致,而叶面颗粒物滞留量却呈现夏季显著高于春季,说明叶面颗粒物滞留量对叶际细菌群落相对丰富度影响不显著,植物类型才是影响叶际细菌群落组成的主要因素(Whipps et al., 2008),同种植物的叶际有特定的微生物群落(Yang et al., 2001),与高爽等(2016)综述叶际微生物与外界互作研究进展的结论一致。Rico et al. (2014)发现橡树叶际微生物群落丰富度在夏季高,与本研究结果不一致,是因为不同地区的光照、湿度和大气氧浓度等气候因子存在差异,导致相同季节叶际细菌相对丰富度的结果

有所区别 (Jager et al., 2001)。而与植物类型相比, 季节差异引起的温度、风速和紫外线等是影响叶际细菌群落相对丰富度的次要因素, 导致不同季节叶际优势菌群也存在一定差异性 (潘建刚等, 2011)。

叶际微生物对生态系统的结构和功能有重要影响, 冬青、女贞和樱花的优势叶际细菌门组成无显著性差异, 其中 Proteobacteria、Cyanobacteria 和 Bacteroidetes 占绝对优势, 3 者相对丰度之和为 83.72%—97.64%。其中 Proteobacteria 是最丰富的优势菌门, 是具有光合作用的细菌类群, 对植物叶片生长有重要作用 (Dong et al., 2019), 它的外膜可保护内部遗传物质, 耐受环境因素变化, 在叶际细菌群落中有着显著的优势地位 (Kembel et al., 2014)。还有研究表明 Cyanobacteria 和 Bacteroidetes 是常见的叶际细菌优势门类 (陈梅春等, 2018), 与本研究结果一致。而在属水平上, 3 种植物的叶际优势菌 *norank_f_norank_o_Chloroplast* 是蓝藻门下的菌属, 在春季占比显著高于其他季节, 有研究发现蓝细菌门是温暖季节下大气细菌群落的优势菌 (Gandolfi et al., 2015), 这与青岛春季大气温度逐渐升高一致, 另外还有研究指出蓝细菌门数量激增可能会导致水体出现水华等环境问题 (朱喜和朱云, 2019)。青岛春季大气的相对湿度较高, 均说明叶际细菌的群落分布与空气特征变化密切相关。而 *Hymenobacter* 和 *Sphingomonas* 在春季占比低于其他季节, 说明相同季节 3 种植物叶表面优势菌分布差异明显。*Sphingomonas* 作为 3 种植物叶表面的优势菌属, 与 Delmotte et al. (2009) 发现 *Sphingomonas* 是大豆、三叶草和拟南芥叶面优势菌属的结果一致。*Sphingomonas* 能防紫外线辐射, 对植物叶片生长有保护作用 (刘利玲等, 2020)。*Pseudomonas* 是一种拮抗菌 (刘天波等, 2021), 可用于抑制植物叶片发生病害, 在夏季樱花叶际细菌中含量大; *Erwinia* 是一种植物病原细菌 (López et al., 2011), Zeng et al. (2020) 发现 *Erwinia* 最容易在春季发生病害循环, 因为春季气温上升, 病菌迅速滋生, 病原菌容易在叶际增殖, 而本实验发现该菌在夏季冬青和女贞叶际细菌中占比大, 可能是因为青岛春季气温上升缓慢, 夏季多雨湿热的气候更利于 *Erwinia* 生长。*Acinetobacter* 能抑制植物病原真菌 (谭小艳等, 2006), 在秋季的女贞

和樱花叶际细菌群落中占比大, 说明季节变化和植物类型都会影响叶际优势菌的丰度。因此, 关注叶际微生物群落组成变化, 对植物防治病害也有重要意义。

4 结论

(1) 植物类型是影响植物叶表面微形态特征和叶际细菌群落丰富度的决定性因素。3 种植物叶表面颗粒物的滞留量表现为冬青>女贞>樱花, 总体趋势表现为灌木>乔木, 常绿植物>落叶植物, 与叶际细菌群落丰富度呈现一致性; 叶表面蜡质层丰富利于真菌的生长繁殖, 叶表面的丝状真菌数量表现为女贞>冬青, 樱花叶片上未观察到大量丝状真菌; 冬青和女贞叶片滞尘能力强, 可作为城市绿化植物的优选。

(2) 季节变化是影响植物叶表面微形态特征和叶际细菌群落丰富度的重要因素。3 种植物的叶表面颗粒物滞留量在夏季较大, 春季叶片表面颗粒物滞留量少, 秋季主要是冬青植物叶面颗粒物滞留量大, 冬季叶表面主要是 PM₁₀ 和 PM_{2.5}; 扫描电镜可观察到不同类型的真菌, 春、夏季节植物叶片表面孢子较多, 秋、冬季节主要为丝状真菌; 植物叶面颗粒物滞留量对叶际细菌群落丰富度影响不显著, 虽同种植物的叶际细菌群落丰富度在夏季显著低于其他季节, 与叶面颗粒物的滞留量相反, 但其主要受植物类型的影响, 与城市空气特征密切相关。

(3) 季节变化和植物类型都是影响叶际细菌优势菌群分布特征的重要因素。相同地点植物叶表面共享一个核心生物群, 3 种植物总体叶际细菌群落多样性无显著差异; 3 种植物的叶际优势菌分布特征存在差异, 门水平下优势菌主要为 Proteobacteria、Cyanobacteria 和 Bacteroidetes, 属水平下 *norank_f_norank_o_Chloroplast*、*Sphingomonas*、*Acinetobacter*、*Hymenobacter* 相对丰度较高; 植物叶表面不同优势细菌执行不同的生态功能, 能促进或抑制植物叶片的生长; 青岛夏季空气质量差、湿度大, 易于致病菌的生长繁殖, 病原细菌 *Erwinia* 和 *Pantoea* 相对丰度高。

参考文献

- 陈梅春, 朱育菁, 刘波, 等. 2018. 基于宏基因组的茉莉花内生细菌多样性分析 [J]. 热带亚热带植物学报, 26(6): 633–643. [Chen M C, Zhu Y J, Liu B, et al. 2018. Analysis of endophytes diversity in *Jasminum sambac* (L.)

- Ait by metagenomic technology [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 26(6): 633–643.]
- 邓楠, 田育新, 宋庆安, 等. 2022. 南洞庭湖地区杨树清理迹地典型植物叶际微生物群落结构 [J]. *生态与农村环境学报*, 38(7): 915–924. [Deng N, Tian Y X, Song Q A, et al. 2022. Characteristics of microbial structure of typical plant communities in South Dongting Lake poplar clearing area [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 38(7): 915–924.]
- 冯洁. 2017. 植物病原细菌分类最新进展 [J]. *中国农业科学*, 50(12): 2305–2314. [Feng J. 2017. Recent advances in taxonomy of plant pathogenic bacteria [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 50(12): 2305–2314.]
- 高爽, 刘笑尘, 董铮, 等. 2016. 叶际微生物及其与外界互作研究进展 [J]. *植物科学学报*, 34(4): 654–661. [Gao S, Liu X C, Dong Z, et al. 2016. Advance of phyllosphere microorganisms and their interaction with the outside environment [J]. *Plant Science Journal*, 34(4): 654–661.]
- 何红燕, 熊源新, 邓坦, 等. 2009. 五种藓类孢子形态的研究 [J]. *贵州农业科学*, 37(8): 69–71. [He H Y, Xiong Y X, Deng T, et al. 2009. Spore morphology of five moss species [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 37(8): 69–71.]
- 李恩宝. 2018. 杭州市校园几种常见绿化植物滞尘能力及光合响应差异 [D]. 杭州: 浙江农林大学. [Li E B. 2018. Differences of dust retention capacity and plant photosynthesis of several green plants in the campus of Hangzhou [D]. Hangzhou: Zhejiang A & F University.]
- 李小飞, 张明军, 王圣杰, 等. 2012. 中国空气污染指数变化特征及影响因素分析 [J]. *环境科学*, 33(6): 1936–1943. [Li X F, Zhang M J, Wang S J, et al. 2012. Variation characteristics and influencing factors of air pollution index in China [J]. *Environmental Science*, 33(6): 1936–1943.]
- 梁正荣. 2020. 公园绿地在城市生态环境保护中的作用探究 [J]. *中华建设*, (4): 142–143. [Liang Z R. 2020. Discussion on the role of park green space in urban ecological environment protection [J]. *China Construction*, (4): 142–143.]
- 刘利玲, 李会琳, 蒙振思, 等. 2020. 青杨雌雄株叶际微生物群落多样性和结构的差异 [J]. *微生物学报*, 60(3): 556–569. [Liu L L, Li H L, Meng Z S, et al. 2020. Differences in phyllosphere microbial communities between female and male *Populus cathayana* [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 60(3): 556–569.]
- 刘天波, 滕凯, 周向平, 等. 2021. 拮抗菌群对烟草野火病的防治效果及叶际微生物群落多样性的影响 [J]. *微生物学通报*, 48(8): 2643–2652. [Liu T B, Teng K, Zhou X P, et al. 2021. Effects of antagonistic bacteria on tobacco wild fire and responses of phyllosphere microbiota [J]. *Microbiology China*, 48(8): 2643–2652.]
- 吕铃钥, 李洪远, 杨佳楠. 2016. 植物吸附大气颗粒物的时空变化规律及其影响因素的研究进展 [J]. *生态学杂志*, 35(2): 524–533. [Lü L Y, Li H Y, Yang J N. 2016. The temporal-spatial variation characteristics and influencing factors of absorbing air particulate matters by plants: a review [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 35(2): 524–533.]
- 潘建刚, 呼庆, 齐鸿雁, 等. 2011. 叶际微生物研究进展 [J]. *生态学报*, 31(2): 583–592. [Pan J G, Hu Q, Qi H Y, et al. 2011. Advance in the research of phyllospheric microorganism [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 31(2): 583–592.]
- 祁建华, 武丽娟, 高冬梅, 等. 2014. 青岛近海生物气溶胶中可培养微生物浓度及群落多样性的季节变化 [J]. *环境科学*, 35(3): 801–809. [Qi J H, Wu L J, Gao D M, et al. 2014. Concentration and community diversity of microbes in bioaerosols in the Qingdao coastal region [J]. *Environmental Science*, 35(3): 801–809.]
- 宋晨晨, 刘时彦, 赵娟娟, 等. 2020. 基于功能特征的城市植物群落生态功能评价 [J]. *生态学杂志*, 39(2): 703–714. [Song C C, Liu S Y, Zhao J J, et al. 2020. Evaluation of ecological function for urban plant communities based on functional traits [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 39(2): 703–714.]
- 谭小艳, 黄思良, 任建国, 等. 2006. 柑桔溃疡病生防细菌 Bt8 的研究 [J]. *微生物学报*, 46(2): 292–296. [Tan X Y, Huang S L, Ren J G, et al. 2006. Study on a bacterial strain Bt8 for biocontrol against citrus bacterial canker [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 46(2): 292–296.]
- 田柳, 任桂芳, 李永, 等. 2010. 北京市杨树人工林微生物区系分析 [J]. *林业科学*, 46(3): 80–88. [Tian L, Ren G F, Li Y, et al. 2010. Investigation on microflora of poplar plantations in Beijing [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 46(3): 80–88.]
- 王飞. 2006. 画眉草弯孢霉菌特异性入侵马唐中病原菌酯酶和植物叶表层蜡质及其互相作用 [D]. 南京: 南京农业大学. [Wang F. 2006. The roles of extracellular

- esterase of pathogen and epicuticular waxes of plant during the specific invasion of *Digitaria sanguinalis* by *Crvularia eragrostidis* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University.]
- 王会霞, 王彦辉, 杨 佳, 等. 2015. 不同绿化树种滞留 PM_{2.5} 等颗粒污染物能力的多尺度比较 [J]. 林业科学, 51(7): 9–20. [Wang H X, Wang Y H, Yang J, et al. 2015. Multi-scale comparisons of particulate matter and its size fractions deposited on leaf surfaces of major greening tree species [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 51(7): 9–20.]
- 王 琳. 2014. 青岛市市区街道和人工湿地空气微生物群落结构研究 [D]. 青岛: 青岛理工大学. [Wang L. 2014. Studies on air microbial community structure at urban streets and wetland in Qingdao [D]. Qingdao: Qingdao Tehcnology University.]
- 朱 喜, 朱 云. 2019. 太湖蓝藻暴发治理存在的问题与治理思路 [J]. 环境工程技术学报, 9(6): 714–719. [Zhu X, Zhu Y. 2019. Problems and countermeasures of controlling cyanobacteria bloom in Taihu Lake [J]. *Journal of Environmental Engineering Technology*, 9(6): 714–719.]
- Beckett K P, Freer-Smith P H, Taylor G. 1998. Urban woodlands: their role in reducing the effects of particulate pollution [J]. *Environmental Pollution*, 99(3): 347–360.
- Berlec A. 2012. Novel techniques and findings in the study of plant microbiota: search for plant probiotics [J]. *Plant Science*, 193/194: 96–102.
- Blakeman J P. 1981. Microbial ecology of the phylloplane [M]. London: Academic Press.
- Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, et al. 2013. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 64: 807–838.
- Chen W, Wang W M. 2012. Middle—Late Holocene vegetation history and environment changes revealed by pollen analysis of a core at Qingdao of Shandong Province, East China [J]. *Quaternary International*, 254: 68–72.
- Delmotte N, Knief C, Chaffron S, et al. 2009. Community proteogenomics reveals insights into the physiology of phyllosphere bacteria [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(38): 16428–16433.
- Dong C J, Wang L L, Li Q, et al. 2019. Bacterial communities in the rhizosphere, phyllosphere and endosphere of tomato plants [J]. *PLoS One*, 14(11): e0223847. DOI: 10.1371/journal.pone.0223847.
- Gandolfi I, Bertolini V, Bestetti G, et al. 2015. Spatio-temporal variability of airborne bacterial communities and their correlation with particulate matter chemical composition across two urban areas [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(11): 4867–4877.
- Grote R, Samson R, Alonso R, et al. 2016. Functional traits of urban trees: air pollution mitigation potential [J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 14(10): 543–550.
- Hunter P J, Hand P, Pink D, et al. 2010. Both leaf properties and microbe-microbe interactions influence within-species variation in bacterial population diversity and structure in the lettuce (*Lactuca* Species) phyllosphere [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(24): 8117–8125.
- Jager E S, Wehner F C, Korsten L. 2001. Microbial ecology of the mango phylloplane [J]. *Microbial Ecology*, 42(2): 201–207.
- Jouraeva V A, Johnson D L, Hassett J P, et al. 2002. Differences in accumulation of PAHs and metals on the leaves of *Tilia x euechlora* and *Pyrus calleryana* [J]. *Environmental Pollution*, 120(2): 331–338.
- Jumpponen A, Jones K L. 2009. Massively parallel 454 sequencing indicates hyperdiverse fungal communities in temperate *Quercus macrocarpa* phyllosphere [J]. *New Phytologist*, 184(2): 438–448.
- Kembel S W, O'Connor T K, Arnold H K, et al. 2014. Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(38): 13715–13720.
- Kim K H, Jahan S A, Kabir E. 2013. A review on human health perspective of air pollution with respect to allergies and asthma [J]. *Environment International*, 59: 41–52.
- Lindow S E, Brandl M T. 2003. Microbiology of the phyllosphere [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(4): 1875–1883.
- López M M, Roselló M, Llop P, et al. 2011. *Erwinia piriflorinigrans* sp. nov., a novel pathogen that causes necrosis of pear blossoms [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(Pt 3): 561–567.
- Mwajita M R, Murage H, Tani A, et al. 2013. Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria

- and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters [J]. *SpringerPlus*, 2: 606. DOI: 10.1186/2193-1801-2-606.
- Osono T, Bhatta B K, Takeda H. 2004. Phyllosphere fungi on living and decomposing leaves of giant dogwood [J]. *Mycoscience*, 45(1): 35–41.
- Paull N J, Krix D, Irga P J, et al. 2020. Airborne particulate matter accumulation on common green wall plants [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 22(6): 594–606.
- Rico L, Ogaya R, Terradas J, et al. 2014. Community structures of N₂-fixing bacteria associated with the phyllosphere of a Holm oak forest and their response to drought [J]. *Plant Biology*, 16(3): 586–593.
- Selmi W, Weber C, Rivière E, et al. 2016. Air pollution removal by trees in public green spaces in Strasbourg City, France [J]. *Urban Forestry & Urban Greening*, 17: 192–201.
- Shade A, Handelsman J. 2012. Beyond the Venn diagram: the hunt for a core microbiome [J]. *Environmental Microbiology*, 14(1): 4–12.
- Shao F, Wang L H, Sun F B, et al. 2019. Study on different particulate matter retention capacities of the leaf surfaces of eight common garden plants in Hangzhou, China [J]. *Science of the Total Environment*, 652: 939–951.
- Vorholt J A. 2012. Microbial life in the phyllosphere [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 10(12): 828–840.
- Whipps J M, Hand P, Pink D, et al. 2008. Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 105(6): 1744–1755.
- Woodward F I, Lomas M R. 2004. Vegetation dynamics—simulating responses to climatic change [J]. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 79(3): 643–670.
- Yadav R K P, Papatheodorou E M, Karamanoli K, et al. 2008. Abundance and diversity of the phyllosphere bacterial communities of Mediterranean perennial plants that differ in leaf chemistry [J]. *Chemoecology*, 18(4): 217–226.
- Yang C H, Crowley D E, Borneman J, et al. 2001. Microbial phyllosphere populations are more complex than previously realized [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(7): 3889–3894.
- Zeng Q, Puławska J, Schachterle J. 2021. Early events in fire blight infection and pathogenesis of *Erwinia amylovora* [J]. *Journal of Plant Pathology*, 103(1): 13–24.
- Zhang W K, Wang B, Niu X. 2015. Study on the adsorption capacities for airborne particulates of landscape plants in different polluted regions in Beijing (China) [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(8): 9623–9638.