

<https://doi.org/10.3799/dqkx.2019.272>



# 神农架大九湖不同生境表土磷脂脂肪酸揭示的微生物群落结构差异

赵美玲<sup>1</sup>, 张一鸣<sup>2</sup>, 张志麒<sup>2,3</sup>, 黄咸雨<sup>1,2\*</sup>

1. 中国地质大学流域关键带演化湖北省重点实验室, 地理与信息工程学院, 湖北武汉 430078
2. 中国地质大学生物地质与环境地质国家重点实验室, 湖北武汉 430078
3. 神农架国家公园管理局, 湖北神农架 442400

**摘要:** 磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFAs)是活体微生物细胞膜的重要组成部分, 微生物通过改变细胞膜中 PLFA 组成, 快速响应环境变化。目前, 表土 PLFAs 研究主要集中于季节和植被群落变化对微生物群落结构影响, 对于不同生境下表土 PLFAs 揭示的微生物群落结构的差异性尚不明确。基于此, 对神农架大九湖 7 种不同生境表土进行 PLFAs 研究。结果表明, 表土样品 PLFAs 集中分布于 C<sub>14</sub> 到 C<sub>19</sub>; 除湿生泥炭沼泽和湿生半退化沼泽生境外, 其他生境以 n16:0 为主峰。不同生境的 PLFAs 含量差异较大, 沼泽生境 TPLFAs 含量是草甸及阔叶林生境下的 3~8 倍。PLFAs 组成还揭示出生境间主要受到 pH 和含水率的影响, 微生物群落结构存在差异。不同生境下表层土壤 PLFAs 揭示的微生物丰度和群落结构具有一定的相似性及差异性。运用 PLFAs 对微生物量及微生物群落结构的划分将有助于更好的了解区域生态系统中微生物群落结构的变化, 为研究微生物参与碳循环及古生态研究奠定基础。

**关键词:** 磷脂脂肪酸; 生境; 微生物量; 微生物群落结构; 表土; 地球生物学。

中图分类号: Q93

文章编号: 1000-2383(2020)06-1877-10

收稿日期: 2019-09-10

## Comparison of Microbial Community in Topsoil among Different Habitats in Dajiuhu, Hubei Province: Evidence from Phospholipid Fatty Acids

Zhao Meiling<sup>1</sup>, Zhang Yiming<sup>2</sup>, Zhang Zhiqi<sup>2,3</sup>, Huang Xianyu<sup>1,2\*</sup>

1. Hubei Key Laboratory of Critical Zone Evolution, School of Geography and Information Engineering, China University of Geosciences, Wuhan 430078, China
2. State Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology, China University of Geosciences, Wuhan 430078, China
3. Shennongjia National Park Administration, Shennongjia 442400, China

**Abstract:** As an important component of microbial cell membrane, phospholipid fatty acid (PLFAs) can respond sensitively to environmental changes, PLFAs can be altered by microorganisms changing their cell membrane composition by changing their metabolic or nutrient pathways. The current researches on soil PLFAs mainly focus on how changes in seasons and vegetation community affect microbial community structure. It is still not clear how habitats mediate the structure of soil microbial community revealed by topsoil PLFAs. In this study, soil PLFAs compositions were investigated among different habitats (including *Sphagnum* peat, herb peat, degraded peat, hygrophite-mesophyte meadow, mesophyte-xeric meadow, xeric meadow, and

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(No.41877317); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(Nos.CUGCJ1703, CUGQY1902); 生物地质与环境地质国家重点实验室自主课题(No.GBL11612).

**作者简介:** 赵美玲(1994—), 硕士研究生, 主要从事土壤微生物脂类研究。ORCID:0000-0003-0225-5640. E-mail:meilingzhao@cug.edu.cn

\* **通讯作者:** 黄咸雨, ORCID:0000-0001-6175-9158. E-mail:xyhuang@cug.edu.cn

**引用格式:** 赵美玲, 张一鸣, 张志麒, 等, 2020. 神农架大九湖不同生境表土磷脂脂肪酸揭示的微生物群落结构差异. 地球科学, 45(6):1877-1886.

deciduous broad-leaved forest) in Dajiuhu, Shennongjia. The results show that totally 26 PLFAs with carbon numbers ranging from C<sub>14</sub> to C<sub>19</sub> are common in the topsoil of the seven habitats. The concentration of total PLFAs in peats is 3–8 times higher than that in meadows. Because of pH and SWC (soil water content) PLFAs also reveal that microbial community structures are different among habitats. The microbial abundance and microbial community structure are similar and different in topsoil under different habitats. The results in this study shed light to better understand the changes of microbial community structure in regional ecosystem, and to facilitate the study of microbe's role in carbon cycle, paleoecology.

**Key words:** phospholipid fatty acid; habitat; microbial biomass; microbial community structure; topsoil; geobiology.

## 0 引言

微生物是土壤有机质的主要分解者,在土壤碳循环中扮演着“碳泵”的角色(Hooper *et al.*, 2000).微生物能够灵敏地响应环境变化和气候变化,并通过其代谢信息进行记录,因此微生物群落结构的研究对更好地了解区域生态系统、土壤质量、生态评估和碳循环具有重要的作用(Liang *et al.*, 2017).来源于微生物细胞膜的磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFAs)被广泛地应用于微生物群落结构的评估,成为研究现代环境的重要技术手段(Lipson *et al.*, 2000; Eberlein *et al.*, 2018).

PLFAs是活体微生物细胞膜的主要成分,当微生物死亡后磷脂在几天到数周内会完全降解(Zhang *et al.*, 2019).PLFAs能够定量分析、反映真实的原位环境和分析微生物间的联合作用(Findlay *et al.*, 1989).前人通过大量的研究发现,PLFAs可以定量揭示土壤中的微生物量和评估微生物群落结构的动态变化(Frostegård *et al.*, 1991; Miura *et al.*, 2017).

土壤中PLFAs主要来源于革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、真菌、放线菌、硫酸盐还原菌、一般性细菌等6大类.磷脂脂肪酸命名主要考虑碳原子总数、双键数目、双键距离甲基段的位数( $\omega$ )及双键的顺反式(Zelles, 1999).例如16:1 $\omega$ 7c表示为共计有16个碳原子,有一个位于距离甲基端的位数为7的双键,双键是顺式.此外,会在碳原子总数添加前缀,其中*n*-表示正构脂肪酸,*i*-表示异构(甲基位于碳链的2号位上),*a*-表示反异构(甲基位于碳链的3号位上),*cy*-表示碳链中有环丙基,Me-表示中间位置存在甲基团取代基.来源于革兰氏阳性菌的PLFAs主要是直链饱和脂肪酸,如*i*14:0、*i*15:0、*a*15:0、*i*16:0、*i*17:0、*a*17:0(Zogg *et al.*, 1997);来源于革兰氏阴性菌的PLFAs主要是直链单不饱和脂肪酸和环丙基脂肪酸16:1 $\omega$ 7c、16:1 $\omega$ 9c、17:1 $\omega$ 8c、18:1 $\omega$ 5c、18:1 $\omega$ 7c、*cy*17:0、*cy*19:0 (Mutabaruka *et al.*,

2007);16:1 $\omega$ 5c主要来源于丛枝菌根真菌,但是细菌丰度较高时划分为革兰氏阴性菌(Zelles, 1997);来源于真菌的PLFAs主要包括双不饱和脂肪酸18:2 $\omega$ 6,9及单不饱和脂肪酸18:1 $\omega$ 9c(Olsson and Alström, 2000);10Me16:0与10Me18:0划分为硫酸盐还原菌或放线菌主要与其浓度相关.在陆地土壤中10Me16:0的浓度高于10Me18:0时,表明10Me16:0主要来自硫酸盐还原菌,10Me18:0主要来自放线菌;否则二者同来自放线菌(Sundh *et al.*, 1995).前人的研究为我们对微生物群落结构的划分及探讨微生物群落结构的变化奠定了基础.

近些年来,基于PLFAs研究土壤中微生物的群落结构变化主要集中在季节尺度(Börjesson *et al.*, 2016)、温度(Eberlein *et al.*, 2018; Ding *et al.*, 2019)、植被类型(Yu *et al.*, 2018)、水稻土深度梯度(Li *et al.*, 2017)和纬度梯度(Wu *et al.*, 2009)等多个层次进行.目前对局部区域内不同生态环境下微生物群落的差异性了解较少.本项研究以位于长江中游地区的神农架大九湖自然保护区为研究区域,研究不同生境表土PLFAs揭示的微生物生物量和群落结构的差异,以及对环境因子的响应,加强对长江中游地区土壤微生物的群落结构的了解,为研究长江中游的土壤碳动态响应气候环境变化奠定基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况与样品采集

大九湖盆地位于湖北省神农架林区西缘(109°56'~110°11'E, 31°24'~31°33'N),与重庆市的巫溪县、巫山县以及湖北省竹山县、房县交界,总面积为16 km<sup>2</sup>,平均海拔1700 m.盆地内部有华中地区保存最完好的亚高山沼泽湿地.大九湖植被类型丰富,可划分为4个植被型组,7个植被型,20个群系(李静霞等, 2007).盆地周边山地植被主要是落叶阔叶林和针叶混交林,盆地内部主要分布阔叶林、灌丛和草丛(李艳元等, 2017).沼泽苔藓植物主要有

3种:泥炭藓,沼泽皱缩藓和金发藓(Huang *et al.*, 2010).

2018年6月在神农架大九湖盆地设置了南北向的断面,跨越了7种典型生境(湿生泥炭沼泽,湿生草本沼泽,湿生半退化沼泽,湿生一中生草甸,中生一早生草甸,旱生草甸,落叶阔叶林),分别采集表土样品(深度为0~5 cm).生境的划分依据文献(罗涛等,2015).在断面中,由于微地形的差异,不同的生境类型出现的频次略有差别.其中,湿生泥炭沼泽有4份平行样,湿生草本沼泽有5份平行样,湿生半退化沼泽、湿生一中生草甸、落叶阔叶林各有3份平行样,其他2种生境各2份平行样,样品总数为22个.运回实验室后,土壤样品于-20℃保存冰箱中.

## 1.2 PLFAs提取与分析

称取5g已磨好并过60目筛的样品进行脂类提取.以3.8 mL/g的试剂与样品的比例加入已调节为中性的磷酸缓冲液(磷酸缓冲液配制体积比为0.069 g:7.9 mL:10 mL:20 mL的磷酸氢二钾:超纯水:二氯甲烷:甲醇),超声15 min.将超声过的样品以3000 rpm/min的速度离心3 min,分离上清液.收集上清液至分液漏斗中,重复操作1次.然后以3.8 mL/g的试剂与样品的比例加入三氯乙酸缓冲液(三氯乙酸缓冲液配制体积比为0.38 g:7.6 mL:10 mL:20 mL的三氯乙酸:超纯水:二氯甲烷:甲醇),重复操作1次.在上清液中加入二氯甲烷和超纯水(按每克样品加入4 mL的比例),摇晃均匀后静置,分离得到有机相,此步骤重复3次.利用旋转蒸发器对上清液进行浓缩(温度 $\leq 37^\circ\text{C}$ ,压力850 hpa)并移至细胞瓶,于37℃晾干.晾干后,利用硅胶柱层析进行组分的分离,洗脱剂分别为二氯甲烷、丙酮、甲醇,依次得到中性脂类组分、糖脂组分和极性组分(即磷脂组分).对磷脂组分进行酯交换,加入0.2 mol/L的氢氧化钠甲醇溶液,于50℃的加热板上加热30 min后,加入超纯水和冰乙酸,将溶液调成中性,正己烷萃取5遍,形成脂肪酸甲酯(FAME).实验流程全部在避光常温环境下进行.

磷脂脂肪酸组分在HP 5973气相色谱质谱联用仪(GC-MS)进行鉴定分析,胆甾烷作为外标.色谱柱为DB-5MS(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ ),进样口温度为300℃,检测器温度为320℃,载气为氦气,柱流速为1.2 ml/min.升温程序为初始温度70℃,保留1 min;以10℃/min升温到210℃,最后以

2℃每分钟升到310℃,并保留20 min.磷脂脂肪酸组分的定量在岛津气相色谱分析仪进行(2010 GC-FID),岛津气相色谱分析仪进行(2010 GC-FID),色谱柱类型为DB-5,升温程序与GC-MS分析相同.

## 1.3 土壤理化性质分析

将已经冻干研磨好的2g样品( $M_1$ )加入盐酸去除样品中的碳酸盐,冻干、研磨后再次称量( $M_2$ ).称取40~60 mg研磨后的样品在vario macro cube型元素分析仪上进行总有机碳(TOC)和总氮(TN)测试(未考虑加酸对总氮的影响).此项分析在中国地质大学(武汉)地质过程与矿产资源国家重点实验室完成.原始样品的总有机碳含量(TOC)计算公式为:

$$\text{TOC} = M_2 \times \text{TC} / M_1 \times 100. \quad (1)$$

称取3g已磨好的60目样品于离心管中,按着5:1的水土比例加入pH=7的去离子水,震荡均匀,浸泡30分钟后,以4000 rpm/min速度离心3 min,测上清液的pH,每个样品重复测试4次,取平均值.

称取3g新鲜土样于离心管中,加入30 mL KCL溶液(1 mol/L),按照1:10的比例进行浸提,在摇床上混匀1 h,然后2500 r/min离心10 min.离心过滤后取2 mL浸提液,并加上8 mL KCL溶液(1 mol/L),运用连续流动分析仪(Skalar Analytical B.V.,型号为San++)测试氨氮、硝态氮含量.此项分析在武汉工程大学环境生态与生物工程学院实验室完成.

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同生境表层土壤特征对比

本次研究的不同生境土壤特征存在一定的相似性及差异性(表1).7种生境表层土壤的pH介于3.8~6.2之间,都属于弱酸性环境,这与大九湖泥炭地酸性环境相吻合(黄咸雨等,2017).不同生境间土壤含水率(soil water content,简称为SWC)差异明显,从沼泽生境到草甸生境SWC逐渐降低,湿生草本沼泽SWC最高为94%,处于相对较湿的环境,而中生一早生草甸SWC为34%,属于相对偏干的环境.氨氮( $\text{NH}_3\text{-N}$ )和硝态氮( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ )的含量在不同的生境间并没有明显的变化趋势, $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量总体高于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ,但中生一早生草甸和旱生草甸 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的含量相对其他生境高,平均达到0.97 mg/L.生境间总有机碳和碳氮原子比(C/N)变化明显,从沼泽生境到草甸生境,土壤总有机碳的含量(TOC)

表 1 不同生境下表土的物理化学性质

Table 1 Physical and chemical properties of topsoil collected from different habitats

生境类型	SWC	pH	NH <sub>3</sub> -N	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	C/N	TOC	T
	(%)		(mg/L)	(mg/L)		(%)	(°C)
湿生泥炭沼泽 (n=4)	94.0	4.1±0.1	2.9±0.7	0.2±0.1	15.5±2.6	19.8±2.0	17.5±3.7
湿生草本沼泽 (n=5)	84.0±0.1	4.1±0.3	2.6±0.9	0.1±0.1	18.6±2.0	19.7±3.0	16.6±2.9
湿生半退化沼泽 (n=3)	76.0±0.1	3.9±0.2	3.4±1.3	0.2±0.1	16.8±0.6	18.8±5.4	17.7±0.5
湿生-中生草甸 (n=3)	51.0±0.1	4.6±0.1	2.5±0.9	0.2±0.2	18.8±5.0	5.7±2.7	18.7±1.7
中生-早生草甸 (n=2)	34.0±0.1	4.7±0.1	3.0±0.3	1.0±0.6	15.4±4.4	6.9±0.8	19.5±0.6
早生草甸 (n=2)	36.0	4.6±0.1	3.4±0.2	1.0±0.4	16.6±6.2	5.8±1.1	20.0
落叶阔叶林 (n=3)	48.0	4.8±1.0	3.5±1.6	0.1±0.1	25.2±6.9	9.1±0.7	18.0

逐渐降低,但是湿生泥炭沼泽的 TOC 低于一般泥炭地的水平(30%左右),这可能是由于去除碳酸钙过程中,上清液中悬浮物质被去除引起的.温度为采样时不同采样点表层土壤的温度,表土的温度未表现出明显的变化趋势.7种生境具有明显的干湿度梯度和较大的总有机碳含量差异,为研究环境变化对土壤中微生物群落结构的影响提供理想场所.

## 2.2 不同生境表土 PLFAs 分子组成及群落结构特征

在大九湖的 7 种生境表土中,PLFAs 主要包括以下 26 种,包括来源于一般性细菌的 8 种 PLFAs: *n*14:0, *n*15:0, *n*16:0, *n*17:0, *n*18:0; 以异构和反异构为特征的来源于革兰氏阳性菌的 6 种: *i*14:0, *i*15:0, *a*15:0, *i*16:0, *i*17:0, *a*17:0; 以单不饱和 PLFAs 和环丙基 PLFAs 为特征来源于革兰氏阴性菌的 7 种: *16:1ω7c*, *16:1ω5c*, *17:1ω8c*, *cy17:0*, *18:1ω7c*, *18:1ω5c*, *cy19:0*; 以存在两个双键及一个不饱和键位于 9 号位为特征来源于真菌的 2 种: *18:2ω6,9* 和 *18:1ω9c*; 甲基位于 10 号位为特征的 2 种 PLFAs: *10Me16:0* 和 *10Me18:0* 同为放线菌. 不同生境间单不饱和脂肪酸的含量所占比重相对较高,而多不饱和脂肪酸和环丙基脂肪酸的含量所占比重较低,这说明大九湖盆地不同的生境更适合以单不饱和脂肪酸为主的革兰氏阴性菌的生长.

不同生境间 PLFAs 的含量及主峰碳差异明显. 湿生草本沼泽生境下 PLFAs 含量最高,阔叶林生境 PLFAs 含量较低; 沼泽生境的 PLFAs 含量约为草甸、阔叶林生境下 3~8 倍,说明在不同的生境下微生物量存在明显的差异,沼泽生境更适宜大量的微生物的生长. 草甸和阔叶林生境以 *n*16:0 为主峰,已有的研究大多也是以 *n*16:0 为主峰 (Yu *et al.*, 2018). 在沼泽环境下,不同的生境间的主峰碳存在一定的区别,湿生泥炭沼泽生境以 *18:1ω7c* 为主峰,湿生草本沼泽生境以 *n*16:0 为主峰,湿生半退化沼泽生境以

*cy19:0* 为主峰 (图 1). 湿生泥炭沼泽生境以 *18:1ω7c* 为主峰,这与瑞典的一处高纬度 (65°N) 的泥炭相一致 (Borga *et al.*, 1994); 以 *cy19:0* 为主峰碳的目前少见报道. 大九湖沼泽微生境不同的主峰碳数和较大的微生物量差异可能说明基于 PLFAs 技术揭示的沼泽微生境的微生物群落结构相对复杂.

研究者通常会利用磷脂脂肪酸不同碳链的比值来揭示微生物群落结构的变化、微生物生存的环境及可能承受的环境压力. 目前较为常用的指标主要有 PLFAs 总量 (缩写为 TPLFAs)、真菌与细菌比值 (缩写为 F:B)、革兰氏阳性菌与阴性菌比值 (缩写为 G<sup>+</sup>:G<sup>-</sup>)、异构 PLFAs 与反异构 PLFAs 比值 (缩写为 *i*N:0: *a*N:0)、好氧菌与厌氧菌比值 ((*16:1ω7c*+*18:1ω7c*)/(*cy17:0*+*cy19:0*), 缩写为 Aer:Anaer).

大量的研究表明, TPLFAs 的含量能够反映样品中微生物的丰度 (Frostegeård *et al.*, 1991). 大九湖不同生境下 TPLFAs 的含量差异明显,其平均含量变化范围为 12~327 μg/g. 湿生草本沼泽生境下, TPLFAs 的含量平均为 327 μg/g, 湿生泥炭沼泽生境 TPLFAs 的含量仅次于湿生草本沼泽,其 TPLFAs 的平均含量 240 μg/g, 草甸生境总的 TPLFAs 平均为 30 μg/g. 总微生物量与总有机碳含量呈现较好的相关性 ( $r=0.66$ ,  $p=0.01$ ; 图 2), 说明较高的总有机碳的含量是造成不同生境微生物量差异明显的主要因素之一; 有机碳能为微生物的生长提供底物和能量来源 (Frostegeård *et al.*, 1991; Miltner *et al.*, 2012). 但也有研究表明, 森林表土 TPLFA 会受到植被的郁闭度和生长季节的影响 (Moore-Kucera and Dick, 2008).

真菌与细菌比值 (F:B) 能够揭示土壤生态系统的稳定性 (Anderson and Domsch, 1973). 大九湖不同生境 F:B 值均小于 1 (图 3). 基于 F:B 与 pH 之间

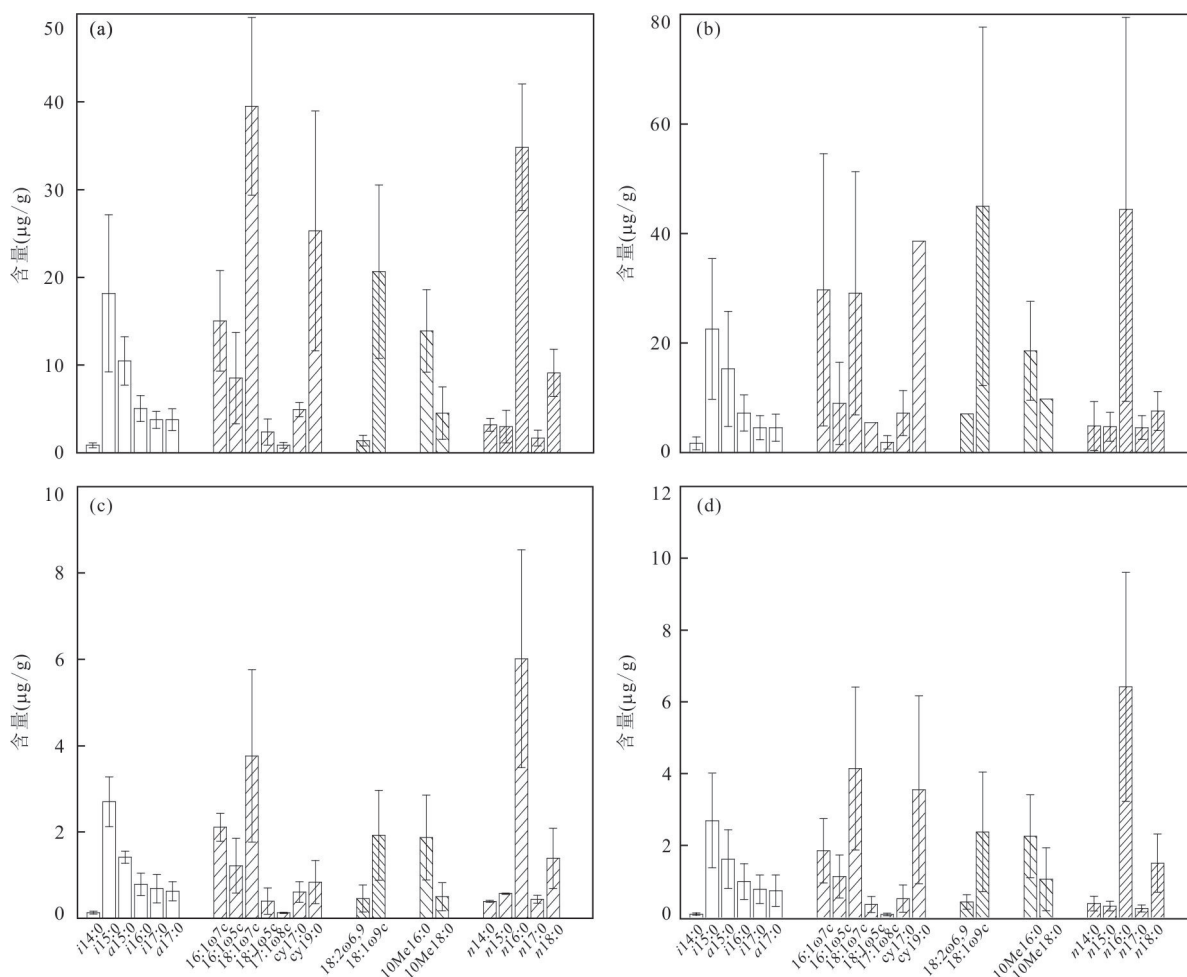


图 1 大九湖代表性生境表土 PLFAs 含量分布

Fig. 1 PLFAs concentration in topsoils collected from typical habitats in Dajiu湖 basin

a. 湿生泥炭沼泽; b. 湿生草本沼泽; c. 湿生—中生草甸; d. 落叶阔叶林

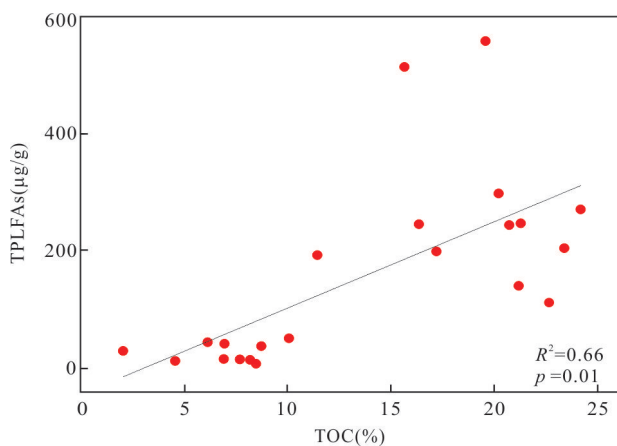


图 2 总有机碳含量与总 PLFAs 含量关系

Fig. 2 The relationship between total organic carbon content and total PLFAs concentration

的冗余关系研究(图 4), pH 是影响群落结构中 F:B 值的关键性因素; pH 与 F:B 呈一定的负相关关系,

与 TOC 和 SWC 呈正相关关系. 不同生境间细菌占据主要地位, 真菌占次要地位, 这与大九湖偏酸性的环境 (pH 为 4~6), 更适合细菌的生长有关; 真菌与土壤有机质的含量相关. Lauber *et al.* (2008) 对比林地和农业用地及草地, 土壤 pH 并无明显变化时, 林地 F:B 值较高, 认为可能是森林中土壤有机质的含量明显高于农业用地和草地. 基于冗余关系研究表明在大九湖 7 种生境中 TOC、SWC 和 pH 共同控制着生境间生态系统稳定性(图 4).

评估微生物群落结构时, 来源于革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌的 PLFAs 比值 ( $G^+ : G^-$ ) 能够揭示土壤中微生物对土壤有机碳的获取, 反映土壤的营养状况 (Borga *et al.*, 1994; Kourtev *et al.*, 2003). 当底物中可以利用的碳源减少时, 其比值增加 (Fani-na *et al.*, 2019). 大九湖不同生境共检测出 7 种来源于革兰氏阴性菌的 PLFAs, 6 种来源于革兰氏阳性菌的

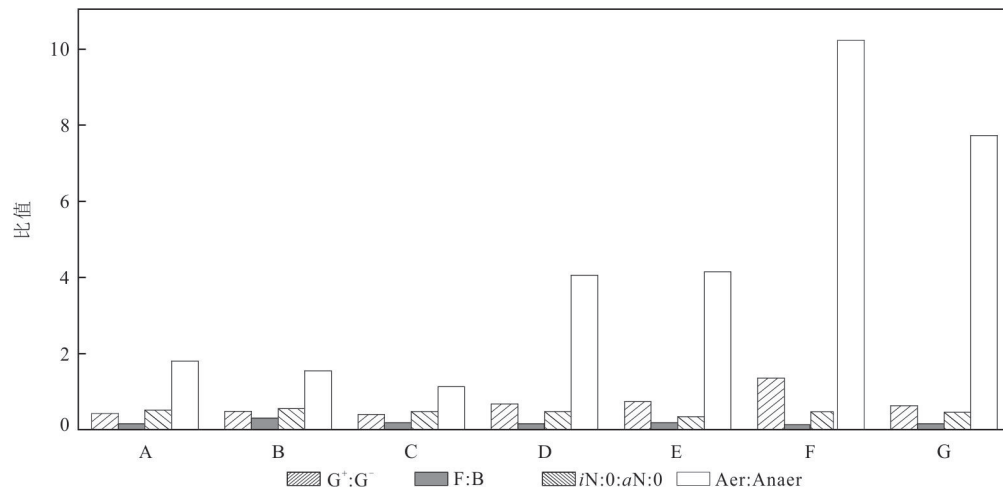


图3 基于PLFAs的微生物群落结构分析

Fig.3 Analysis of microbial community structure based on PLFAs

A. 湿生泥炭沼泽; B. 湿生草本沼泽; C. 湿生半退化沼泽; D. 湿生—中生草甸; E. 中生—旱生草甸; F. 旱生草甸; G. 落叶阔叶林

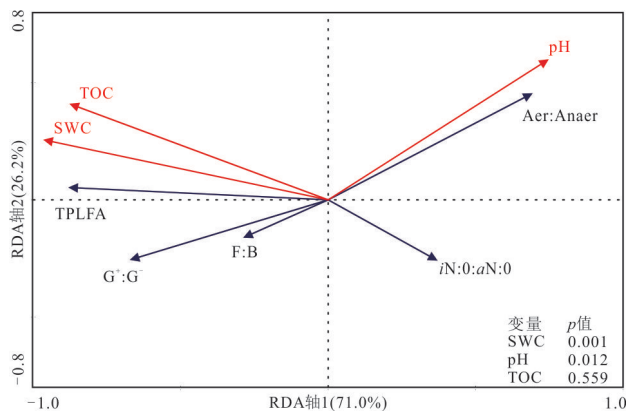


图4 RDA(冗余分析)基于PLFAs的微生物群落结构与环境因子关系

Fig.4 Redundancy analysis between microbial community structure and environmental factors based on PLFAs

PLFAs. 旱生草甸以来源于革兰氏阳性菌的PLFAs为主,其他生境以来源于革兰氏阴性菌的PLFAs为主. 湿生半退化沼泽下 $G^+:G^-$ 比值最小(0.4),这表明旱生草甸可利用的碳源相对较少;而其他生境可利用碳源相对较多,更适宜微生物的生长.但是来源于革兰氏阴性菌的PLFAs含量在湿生草本沼泽环境下最高,其含量可达 $116 \mu\text{g/g}$ ,湿生沼泽环境和湿生半退化沼泽生境革兰氏阴性菌的含量有所降低(图3).这可能是由于革兰氏阴性菌对土壤含水率相对比较敏感,湿生草本沼泽的含水率更适宜革兰氏阴性菌的生长(Wagner *et al.*, 2015).

土壤的氧化状态是影响土壤微生物群落结构的重要因素之一,可以用来自好氧菌与厌氧菌PLFAs

比值(Aer: Anaer)来表征(Wickland *et al.*, 2001). 在大九湖,不同生境均以好氧菌占据主体;厌氧菌则处于次要地位,这与水位及土壤含水率密切相关(图4).即便是沼泽环境下,表层的泥炭高于水位,未被水长期淹没,仍处于一种好氧的环境(Andersen *et al.*, 2010; Xie *et al.*, 2013; 秦养民等, 2018). 在草甸及阔叶林生境下,好氧菌所占的比重明显高于湿生沼泽生境,好氧菌所占的比重升高是由于水位下降,土壤中含水率较低,为好氧菌微生物的生长提供更适宜生存的环境(图4).

土壤中来自革兰氏阳性菌的异构PLFAs与反异构PLFA比值( $iN:0:aN:0$ )可以用来表征土壤微生物面临的环境压力,其通常用来反映营养利用状况和环境压力(Zhang *et al.*, 2015). 不同生境中异构PLFAs的比率高于反异构,说明大九湖不同生境中异构的PLFAs相对于反异构的PLFAs具有生存优势;不同生境间 $iN:0:aN:0$ 比值相似,表明不同生境间微生物的营养利用状况及承受的环境压力表现一定的相似性(图3). 这可能主要由于不同生境间存在适合微生物生长的营养来源,其生物量在合理的范围之内,并没有营养匮乏现象,因此不同生境均能满足生境中活体微生物的生长,其面临营养匮乏压力较小.

### 2.3 表土PLFAs揭示的微生物群落结构对区域环境的响应

环境的变化会促使微生物群落结构和功能发生改变,微生物改变自身的结构进而适应环境的变化(Jaatinen *et al.*, 2005). 通过冗余分析(RDA)发

现, pH和土壤含水率(SWC)是影响微生物群落结构的关键因素; TOC,  $\text{NH}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , C/N与微生物群落结构相关性较小, 对微生物群落结构的影响较小.

影响大九湖不同生境微生物和微生物群落结构差异的关键因素之一是土壤pH值( $p=0.012$ ). 在大九湖, PLFAs的含量均随着pH的升高而降低, 但PLFAs揭示的群落结构与pH的相关性并不是很高. 大九湖不同生境表土(0~5 cm)的pH介于3.8~6.2, 来源于PLFAs的微生物随着pH升高到 $4.5 \pm 0.3$ , 其含量逐渐降低, 当pH为6时, 来源于PLFAs的微生物的含量均降到最低. Rousk *et al.* (2010a)发现当土壤的pH降低时, 土壤革兰氏阳性菌含量增加, 真菌和放线菌的含量降低, 和我们在大九湖的发现是相反的, 可能由于所研究的大九湖生境均属于弱酸性环境. 不同生境微生物类型与pH相关性较小, 可能是由于pH并没有与所有来源于真细菌的PLFAs呈固定相关性. 例如同为来自革兰氏阴性菌的PLFAs, 单不饱和脂肪酸16:1 $\omega$ 7和环丙基脂肪酸cy17:0与pH的线性回归分析趋势相反(Rousk *et al.*, 2010b).

大九湖不同生境土壤有机碳含量差距较大, 为微生物的生长提供了不均一的生存环境. 大九湖不同生境F:B、TPLFAs与TOC呈现正相关关系, 较高的土壤有机质有利于微生物的生长, 土壤有机质为微生物的生长提供了大量的能量来源(图4). 当土壤中可利用土壤有机碳含量增加时, 微生物大量生长, 尤其是真菌生长繁殖的速度大大提升. 源于革兰氏阳性菌的异构与反异构的PLFAs比值( $iN:0:aN:0$ )与C/N对比发现, 二者呈明显的反相关, 当C/N值较高时,  $iN:0:aN:0$ 所揭示微生物结构面临的环境压力较小, 微生物更容易获取能量来源.

土壤含水率不同, 为微生物营造的生长环境差异明显(Liu *et al.*, 2018). 从RDA分析可以看出, 土壤含水率对PLFAs影响较大(图4). 从旱生草甸生境到湿生草本沼泽生境土壤含水率逐渐增加, 来自革兰氏阴性菌的PLFAs的变化最为明显, 来自真菌的PLFAs变化较小. 随着土壤含水率的升高, 革兰氏阴性菌的含量增加; 但是湿生泥炭沼泽生境土壤含水率达到最大值(94%), 革兰氏阴性菌的含量降低, 说明土壤的含水率并非越高越适宜微生物的生长(图5). 革兰氏阴性菌对水位存在一定的生理阈值, 在适宜的含水率区间更适宜革兰氏阴性菌的生

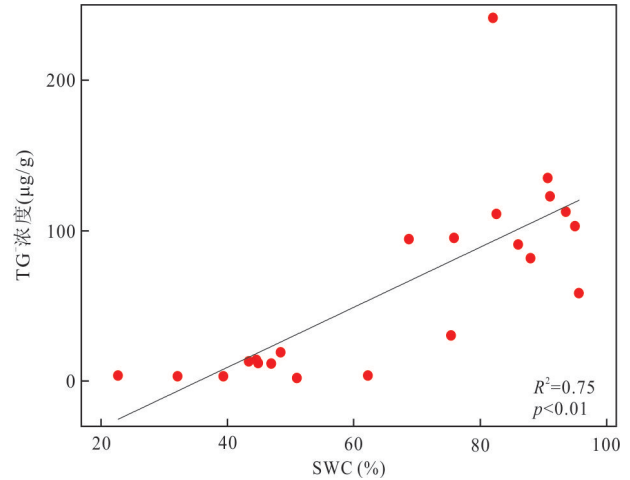


图5 来源于革兰氏阴性菌的PLFAs含量与土壤含水率关系  
Fig.5 The relationship between the concentration of gram-negative bacteria derived PLFAs and soil moisture content

长. Wagner *et al.* (2015)发现发生洪涝过后, 革兰氏阴性菌的含量会迅速下降; 洪涝过后的一到两个月革兰氏阴性菌的含量增加. 因此认为土壤不同的干湿度会影响土壤的微生物群落结构调整与适应, 当含水率较高时, 促进土壤中厌氧菌或者通过维管束植物获取氧气的需氧菌的生长; 而土壤含水率较低的情况下, 细菌丰度降低, 但能促进好氧菌的大量生长.

### 3 结论

本研究利用磷脂脂肪酸技术来揭示神农架大九湖7种不同生境活体微生物的生物量及微生物群落结构的变化和群落结构变化对区域环境的响应. 结果显示, 不同生境表土微生物量存在明显差异, 湿生泥炭沼泽和草本沼泽, 湿生半退化沼泽的微生物量是湿生—中生、中生—旱生草甸、旱生草甸和落叶阔叶林生境的3~8倍. 控制微生物量变化的主导因素是总有机碳含量, 当总有机碳含量较高时, 能够为微生物的生长提供丰富的营养来源, 促进微生物的生长; 否则将会限制微生物的生长. PLFAs组成还揭示出生境间的微生物群落结构的差异主要受到pH和含水率的影响, 不同生境间微生物群落结构存在一定的相似性和差异性. 了解不同生境间微生物丰度及微生物群落结构的差异, 有助于更好地应用于微生物代谢特征和对生态环境变化的响应研究.

## References

- Andersen, R., Grasset, L., Thormann, M. N., et al., 2010. Changes in Microbial Community Structure and Function Following Sphagnum Peatland Restoration. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(2): 291–301. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.006>
- Anderson, J.P.E., Domsch, K.H., 1973. Quantification of Bacterial and Fungal Contributions to Soil Respiration. *Archives of Microbiology*, 93:113–127.
- Borga, P., Nilsson, M., Tunlid, A., 1994. Bacterial Communities in Peat in Relation to Botanical Composition as Revealed by Phospholipid Fatty Acid Analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(7): 841–848. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(94\)90300-x](https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90300-x)
- Börjesson, J., Menichetti, L., Thornton, B., et al., 2016. Seasonal Dynamics of the Soil Microbial Community: Assimilation of Old and Young Carbon Sources in a Long-Term Field Experiment as Revealed by Natural <sup>13</sup>C Abundance. *European Journal of Soil Science*, 67: 79–89. <https://doi.org/10.1111/ejss.12309>
- Ding, X., Chen, S., Zhang, B., et al., 2019. Warming Increases Microbial Residue Contribution to Soil Organic Carbon in an Alpine Meadow. *Soil Biology and Biochemistry*, 15: 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.04.004>
- Eberlein, C., Baumgarten, T., Starke, S., et al., 2018. Immediate Response Mechanisms of Gram-Negative Solvent-Tolerant Bacteria to Cope with Environmental Stress: Cis-Trans Isomerization of Unsaturated Fatty Acids and Outer Membrane Vesicle Secretion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102:2583–2593. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8832-9>
- Fanina, N., Kardola, P., Farrell, M., et al., 2019. The Ratio of Gram-Positive to Gram-Negative Bacterial PLFA Markers as an Indicator of Carbon Availability in Organic Soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 128: 111–114. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.10.010>
- Findlay, R. H., King, G. M., Watling, L., 1989. Efficacy of Phospholipid Analysis Determining Microbial Biomass in Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(11):2888–2893.
- Frostegård, A., Tunlid, A., Bååth, E., 1991. Microbial Biomass Measured as Total Lipid Phosphate in Soils of Different Organic Content. *Journal of Microbiological Methods*, 14(3):151–163.
- Hooper, D.U., Bignell, D.E., Brown, V.K., et al., 2000. Interactions between Aboveground and Belowground Biodiversity in Terrestrial Ecosystems. *Bioscience*, 50(12): 1049–1061.
- Huang, X., Wang, C., Xue, J., et al., 2010. Occurrence of Diploptene in Moss Species from the Dajiuhe Peatland in Southern China. *Organic Geochemistry*, 41: 321–324. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2009.09.008>
- Huang, X. Y., Zhang, Z. Q., Wang, H. M., et al., 2017. Overview on Critical Zone Observatory at Dajiuhe Peatland, Shennongjia. *Earth Science*, 42(6): 1026–1038(in Chinese with English abstract). <https://doi.org/10.3799/dp-kx.2017.081>
- Jaatinen, K., Tuittila, E. S., Laine, J., et al., 2005. Methane-Oxidizing Bacteria in a Finnish Raised Mire Complex: Effects of Site Fertility and Drainage. *Microbial Ecology*, 50(3): 429–439. <https://doi.org/10.1007/s00248-005-0219-7>
- Kourtev, P.S., Ehrenfeld, J.G., Häggblom, M.H., 2003. Experimental Analysis of the Effect of Exotic and Native Plant Species on the Structure and Function of Soil Microbial Communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(7): 895–905. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00120-2](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00120-2)
- Lauber, C.L., Strickland, M.S., Bradford, M.A., et al., 2008. The Influence of Soil Properties on the Structure of Bacterial and Fungal Communities across Land-Use Types. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9): 2407–2415. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.05.021>
- Li, J.X., Li, J., Dang, H.S., et al., 2007. Vegetation and Conservation Strategy of Dajiuhe Wetland Park in Shennongjia Region. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 25(6):605–611(in Chinese with English abstract).
- Li, X. Y., Sun, J., Wang, H. H., et al., 2017. Changes in the Soil Microbial Phospholipid Fatty Acid Profile with Depth in Three Soil Types of Paddy Fields in China. *Geoderma*, 290: 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.11.006>
- Li, Y. Y., Ge, J. W., Peng, F. J., et al., 2017. Characteristics of Methane Flux and Their Effect Factor on Dajiuhe Peatland of Shennongjia. *Earth Science*, 42(5): 832–842(in Chinese with English abstract). <https://doi.org/10.3799/dqkx.2017.071>
- Liang, C., Schimel, J.P., Jastrow, J.D., 2017. The Importance of Anabolism in Microbial Control over Soil Carbon Storage. *Nature Microbiology*, 2: 17105. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.105>
- Lipson, D. A., Schmidt, S. K., Monson, R. K., 2000. Carbon Availability and Temperature Control the Post-Snowmelt Decline of Microbial Biomass in an Alpine Soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 32: 441–448.



- [https://doi.org/10.1016/s0038-0717\(99\)00068-1](https://doi.org/10.1016/s0038-0717(99)00068-1)
- Liu, H. Y., Gu, Y. S., Lun, Z. J., et al., 2018. Phytolith-Inferred Transfer Function for Paleohydrological Reconstruction of Dajiuhu Peatland, Central China. *The Holocene*, 28: 1623–1630. <https://doi.org/10.1177/0959683618782590>
- Luo, T., Lun, Z. J., Gu, Y. S., et al., 2015. Plant Community Survey and Ecological Protection of Dajiuhu Wetlands in Shengnongjia Area. *Wetland Science*, 13(2): 153–160(in Chinese with English abstract).
- Miltner, A., Bombach, P., Schmidt-Brücken, B., et al., 2012. SOM Genesis: Microbial Biomass as a Significant Source. *Biogeochemistry*, 111(1–3): 41–55. <https://doi.org/10.1007/s10533-011-9658-z>
- Miura, T., Makotoa, K., Niwab, S., et al., 2017. Comparison of Fatty Acid Methyl Ester Methods for Characterization of Microbial Communities in Forest and Arable Soil: Phospholipid Fraction (PLFA) versus Total Ester Linked Fatty Acids (EL-FAME). *Pedobiologia Journal of Soil Ecology*, 63: 14–18. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2017.04.002>
- Moore-Kucera, J., Dick, R. P., 2008. PLFA Profiling of Microbial Community Structure and Seasonal Shifts in Soils of a Douglas-Fir Chronosequence. *Microbial Ecology*, 55(3): 500–511. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9295-1>
- Mutabaruka, R., Hairiah, K., Cadisch, G., 2007. Microbial Degradation of Hydrolysable and Condensed Tannin Polyphenol-Protein Complexes in Soils from Different Land-Use Histories. *Soil Biology and Biochemistry*, 39: 1479–1492. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.12.036>
- Olsson, S., Alström, S., 2000. Characterisation of Bacteria in Soils under Barley Monoculture and Crop Rotation. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(10): 1443–1451. [https://doi.org/10.1016/s0038-0717\(00\)00062-6](https://doi.org/10.1016/s0038-0717(00)00062-6)
- Qin, Y. M., Gong, J., Gu, Y. S., et al., 2018. Ecological Monitoring and Environmental Significance of Testate Amoebae in Subalpine Peatlands in West Hubei Province, China. *Earth Science*, 43(11): 4036–4045(in Chinese with English abstract). <https://doi.org/10.3799/dqkx.2018.599>
- Rousk, J., Brookes, P. C., Bååth, E., 2010a. Investigating the Mechanisms for the Opposing pH Relationships of Fungal and Bacterial Growth in Soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42: 926–934. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.02.009>
- Rousk, J., Brookes, P. C., Bååth, E., 2010b. The Microbial PLFA Composition as Affected by pH in an Arable Soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42: 516–520. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.026>
- Sundh, I., Borgå, P., Nilsson, M., et al., 1995. Estimation of Cell Numbers of Methanotrophic Bacteria in Boreal Peatlands Based on Analysis of Specific Phospholipid Fatty Acids. *FEMS Microbiology Ecology*, 18: 103–112. [https://doi.org/10.1016/0168-6496\(95\)00046-d](https://doi.org/10.1016/0168-6496(95)00046-d)
- Wagner, D., Eisenhauer, N., Cesarz, S., 2015. Plant Species Richness does not Attenuate Responses of Soil Microbial and Nematode Communities to a Flood Event. *Soil Biology and Biochemistry*, 89: 135–149. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.07.001>
- Wickland, K. P., Striegl, R. G., Mast, M. A., et al., 2001. Carbon Gas Exchange at a Southern Rocky Mountain Wetland, 1996–1998. *Global Biogeochemical Cycle*, 15: 321–335. <https://doi.org/10.1029/2000GB001325>
- Wu, Y., Ma, B., Zhou, L., et al., 2009. Changes in the Soil Microbial Community Structure with Latitude in Eastern China, Based on Phospholipid Fatty Acid Analysis. *Applied Soil Ecology*, 43(1–2): 234–240. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.08.002>
- Xie, S. C., Evershed, R. P., Huang, X. Y., et al., 2013. Concordant Monsoon-Driven Postglacial Hydrological Changes in Peat and Stalagmite Records and Their Impacts on Prehistoric Cultures in Central China. *The Geological Society of America*, 41(8): 827–830. <https://doi.org/10.1130/g34318.1>
- Yu, S. F., She, G. H., Ye, S. M., et al., 2018. Characteristics of Soil Microbial Biomass and Community Composition in *Pinus Yunnanensis* var. *Tenuifolia* Secondary Forests. *Journal of Sustainable Forestry*, 20: 1–19. <https://doi.org/10.1080/10549811.2018.1483250>
- Zelles, L., 1997. Phospholipid Fatty Acid Profiles in Selected Members of Soil Microbial Communities. *Chemosphere*, 35: 275–294. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(97\)00155-0](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(97)00155-0)
- Zelles, L., 1999. Fatty Acid Patterns of Phospholipids and Lipopolysaccharides in the Characterisation of Microbial Communities in Soil: A Review. *Biology and Fertility of Soils*, 29(2): 111–129.
- Zhang, G., Zheng, C. Y., Wang, Y., et al., 2015. Soil Organic Carbon and Microbial Community Structure Exhibit Different Responses to Three Land Use Types in the North China Plain. *Acta Agricultura Scandinavica*, 65(4): 341–349. <https://doi.org/10.1080/09064710.2015.1011223>
- Zhang, Y. Y., Zheng, N. G., Wang, J., et al., 2019. High Turnover Rate of Free Phospholipids in Soil Confirms the

Classic Hypothesis of PLFA Methodology. *Soil Biology and Biochemistry*, 135: 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.023>

Zogg, P.G., Zak, D.R., Ringelberg, D.B., et al., 1997. Compositional and Functional Shifts in Microbial Communities Due to Soil Warming. *Soil Science Society of America Journal*, 61(2): 475–481. <https://doi.org/10.2136/sssaj1997.03615995006100020015x>

#### 附中文参考文献

黄咸雨, 张志麒, 王红梅, 等, 2017. 神农架大九湖泥炭湿地关

键带监测进展. *地球科学*, 42(6):1026–1038.

李静霞, 李佳, 党海山, 等, 2007. 神农架大九湖湿地公园的植被现状与保护对策. *武汉植物学研究*, 25(6):605–611.

李艳元, 葛继稳, 彭凤娇, 等, 2017. 神农架大九湖泥炭湿地 CH<sub>4</sub> 通量特征及影响因子. *地球科学*, 42(5):832–842.

罗涛, 伦子健, 顾延生, 等, 2015. 神农架大九湖湿地植物群落调查与生态保护研究. *湿地科学*, 13(2):153–160.

秦养民, 巩静, 顾延生, 等, 2018. 鄂西亚高山泥炭地有壳变形虫生态监测及对水位的指示意义. *地球科学*, 43(11): 4036–4045.