

文章编号: 1000-0240(2010)06-1170-05

不同海拔表层土壤微生物数量消长的机理

刘光琇¹, 董小培², 张 威¹, 章高森¹, 王 鹭², 岳 君²
(1. 中国科学院 寒区旱区环境与工程研究所 沙漠与沙漠化重点实验室, 甘肃 兰州 730000;
2. 兰州大学 生命科学学院 甘肃 兰州 730000)

摘 要: 以乌鲁木齐河源区不同海拔表层土壤样品为研究材料, 利用荧光显微计数技术、寡营养恢复培养技术等, 研究了微生物的数量与土壤理化参数和植被类型的关联度. 结果表明: 表层土壤中可培养细菌数与表土含水量、总 C、总 N 和 pH 值相关性不显著, 与相应的植被类型明显相关, 可培养细菌数从大到小所对应的植被为: 苔草> 嵩草> 芨芨草> 针阔叶混交林> 云杉> 车前草> 山莓草; 在相同植被类型下, 可培养细菌数量表现出随海拔升高而降低的趋势. 植被类型是影响土壤可培养细菌数量的主要因素, 但海拔变化对可培养细菌数量的影响也不可忽略.

关键词: 可培养细菌; 理化性质; 海拔; 植被类型

中图分类号: Q938.1⁺3 **文献标识码:** A

0 引言

多年冻土地表植被不仅对脆弱的地表生态系统有重大影响, 还是连接地上和地下生态区位的物质和能量的纽带, 它们既可以为冻土中微生物提供必要的养料, 也是下伏冻土天然的热力屏障, 影响到达地表的太阳辐射, 对地温及其振幅有过滤和衰减作用, 而且可以减少季节融化层的水分蒸发. 同时, 微生物作为自然界的分解者, 可以为地表植被系统提供基本的营养成分, 为其提供适宜生存的根系环境. 所以说, 地表植被和地下微生物相互依存, 互惠互利^[1].

人为扰动的增强, 气候变化的随机性, 土气作用边界层、积雪、植被、活动层、地表水活动等因素的互作^[2], 以及冻土的缓冲和过滤能力和微生物本身的适应能力和调适速度等, 都对表层冻土中微生物数量会有所影响. 因此, 研究冻土表层中的微生物分布以及在不同的气候条件和冻土表层微生物数量的波动可以为冻土形成、演化和气候环境变化提供佐证线索^[1, 3].

既然冻土微生物和冻土环境之间形成了一系列

相互适应的理化过程, 那么通过不同海拔冻土样品中微生物的数量分析研究, 探讨冻土表层微生物数量消长的机理, 为阐明乌鲁木齐河源区土壤微生物生存的可适环境条件提供科学信息.

1 材料和方法

1.1 研究区域概况和样品采集

乌鲁木齐河上游地区, 海拔 1 710 ~ 3 805 m (空冰斗), 本地区阳坡海拔 3 250 m 以上和阴坡海拔 2 900 m 以上, 发育着高山多年冻土. 在此海拔以下, 发育着季节冻土. 连续 6 a 的地温观测结果表明^[4], 多年冻土厚度随海拔的上升而增大, 年平均地温由海拔 3 348 m 的 -0.7 °C 降到海拔 3 900 m 的 -4.9 °C, 年温度变化层厚度在 10 ~ 18 m.

表层取样: 选取乌鲁木齐河源区分别发育有高山流石堆植被、高山垫状植被、高山沼泽植被、高山草甸植被、亚高山草甸的 1 号冰川左测空冰斗、大西沟气象站附近、水文总控断面、望峰道班等 11 个地点(表 1), 进行表层季节冻土挖剖面取样(40 cm 深).

收稿日期: 2010-01-05; 修订日期: 2010-09-06
基金项目: 国家自然科学基金项目(30770329; 30800154; 40971034); 中国博士后科学基金项目(20080430794)资助
作者简介: 刘光琇(1962—), 男, 甘肃民勤人, 研究员, 2004 年在兰州大学获博士学位, 主要从事全球变化生物学方面的研究.
E-mail: liugx@lzb.ac.cn

表 1 不同海拔采样位置及地表植被类型

Table 1 Sampling sites and dominant plants at different altitudes

样品号	海拔/m	主要优势植物	样品号	海拔/m	主要优势植物
H 1	3805	山莓草	H 7	2700	嵩草
H 2	3637	嵩草	H 8	2500	苔草
H 3	3540	嵩草	H 9	2300	云杉
H 4	3300	嵩草	H 10	1850	针阔叶混交林
H 5	3100	嵩草	H 11	1710	芨芨草
H 6	2900	车前草			

为了避免带入非原位微生物, 钻芯的侧表层部分用事先灭菌的刀子削下, 海拔样品取到 40 cm 深的位置, 样品装入已就地浸泡乙醇灼烧灭菌的取样筒中, 迅速保存于冰柜, 在低温下运回实验室, 储存于-20 ℃备用。

1.2 土壤理化性质分析

样品带回后立即进行土壤理化性质分析。其中含水量通过烘干法测定, pH 用酸度计(PHBJ-260, 上海雷磁仪器厂)来分析水/土(1 : 1, 质量比)混合物, 全 C 和全 N 在 CHNS-analyser (Elementar Vario EL, Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, Germany)上以 1 800 ℃供氧高温燃烧法测定(兰州大学分析测试中心)。

1.3 微生物培养和计数

将冻土样品从-20 ℃冰箱中取出置于 4 ℃下解冻, 取约 0.5 g 按质量比用无菌生理盐水(0.85%)稀释到 10⁻¹, 同时加入数粒无菌玻璃珠, 置摇床 250 转·min⁻¹(rpm)振摇 30 min, 取 1 mL 悬液加入到 9 mL 无菌生理盐水中进行梯度稀释, 直至 10⁻⁴。将 10 mL 稀释液过滤浓缩于 0.22 μm 无菌的 Millipore 微孔滤膜(全部过滤仪器已灭菌)。沉积于膜上的微生物细胞用 SYBR Gold 荧光染料(1.5×)于暗处染色 15 min, 然后用 OLIMPUS (BX51TRF)荧光显微镜进行观察计数^[5]。计数时, 每份样品至少计数 30 个随机选择的视野, 计算细胞数的平均值(cell·g⁻¹)。依下列公式计算冻土样品中细胞总数:

$$E = X \cdot S_1 / S_2 \cdot 1 / V \cdot 10^4 \tag{1}$$

式中: E 为样品中细胞总数(cell·g⁻¹); X 为 30 个视野细菌总数的平均值(cell); S_1 为滤膜面积(mm²); S_2 为显微镜的视野面积(mm²); V 为过滤样品的体积(mL)。

2 结果与分析

2.1 表土微生物数量及其与土壤性质的关系

表土中细胞总数、可培养细菌总数、含水量、总 C、总 N 含量和 pH 值见图 1, 可培养细菌数占细胞总数的比值见图 2。

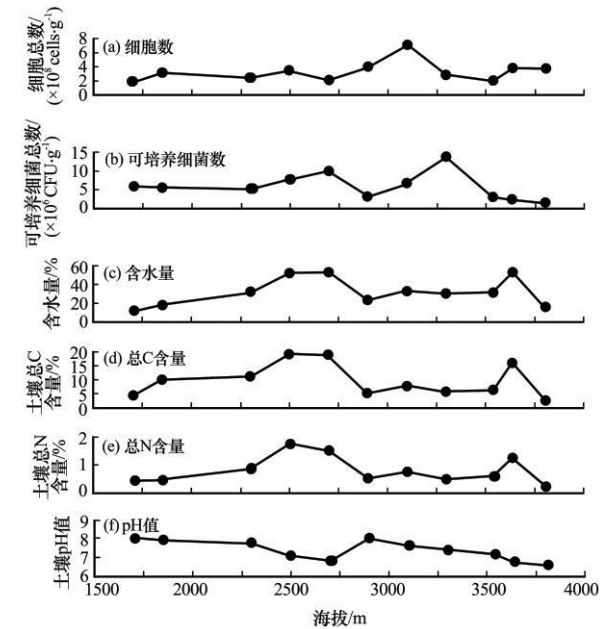


图 1 海拔样品各数据分析

Fig. 1 Variations of the soil and bacteria parameters with altitudes

不同海拔样品中细胞总数在 1.89×10⁸ cells·g⁻¹~7.02×10⁸ cells·g⁻¹之间(平均值±标准偏差为 3.28×10⁸±8.90×10⁷0. cells·g⁻¹), 可培养细菌数在 1.30×10⁶ CFU·g⁻¹~1.38×10⁷ CFU·g⁻¹之间, 与西伯利亚土壤中细菌数量接近, 而明显高于青藏高原土壤中可培养的细菌(10² cells·g⁻¹~10⁵ cells·g⁻¹)^[6]。海拔样品中含水量在 12.41%~53.25% 之间, 总 C 含量在 2.56%~

19.02%之间,总 N 含量在 0.23%~1.74%之间。

海拔样品中可培养细菌数与含水量、总 C、总 N 和 pH 值相关性不明显,其原因可能是深坑样品所处环境相对较为封闭,受表层环境影响较小,而不同海拔各样品中的细菌数除受含水量、总 C、总 N 和 pH 值的影响外,其表层环境和植被也影响细菌的数量^[7-8]。两变量相关分析显示:含水量与总 C ($r=0.890$, $p<0.01$)、总 N ($r=0.929$, $p<0.01$)呈显著正相关,总 C 与总 N ($r=0.955$, $p<0.01$)也呈显著正相关;而海拔与 pH 值 ($r=-0.687$, $p<0.05$)呈显著负相关。

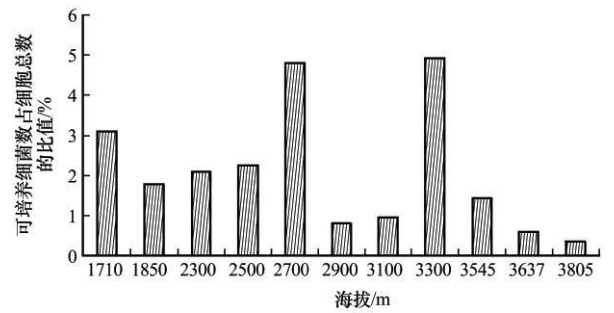


图 2 不同海拔样品中可培养细菌数占细胞总数的比值
Fig. 2 The ratios of CFU to total cell number at different altitudes

从可培养细菌数占细胞总数的比值趋势图(图 2)可以看出,可培养细菌数占细胞总数的比值除在海拔 3 300 m 和 2 700 m 处较高外,其它位点随海拔的增高呈下降趋势。海拔的增高带来非生物因素(温度、降水、大气成分等)和生物因素(植被、生物多样性和组成)的重大环境差异梯度,例如温度的降低和营养物质的减少,随着环境条件的恶化,微生物的生存能力有所下降。

2.2 表土微生物数量与植被的关系

作为陆地生态系统有机质的主要输入者,植物被认为对导向土壤微生物群落形成有深远的影响^[7-8]。研究认为:植物群落的组成和多样性影响着土壤微生物的群落^[9]。在苔藓植物为主的区域,有更高的土壤养分浓度和更高的易降解的基质产生^[10]。同样, Latour 等^[11]表明,荧光假单胞杆菌(*Fluorescent pseudomonas* spp.)物种的多样性受植物多样性的影响。现存的植被通常是碳源和氮源的主要输入来源,土壤微生物物种结构的组成和多样性明显与植物群落相关。植物根系可以释放有机化合物,主要是多糖、可溶性分泌物和细胞裂解液;针叶林森林带,具有比其他植被带较高的植物

多样性和初级生产能力,因此能够给土壤微生物提供更多的有机物质使其土壤微生物物种更加丰富^[12]。

图 3 显示了植被与可培养细菌数之间的相互关系。如图 3 所示,可培养细菌数从大到小所对应的优势植被为:苔草>嵩草>芨芨草>针阔叶混交林>云杉>车前草>山莓草。其中,苔草、嵩草和芨芨草都属于单子叶草本植物;云杉及针阔叶混交林植物都属于乔木类植物;山莓草和车前草都属于双子叶草本植物。因此,单子叶草本植物生长的地点较乔木类植物更有利于细菌的生长,而乔木类植物对细菌生长的促进作用又大于双子叶草本植物。

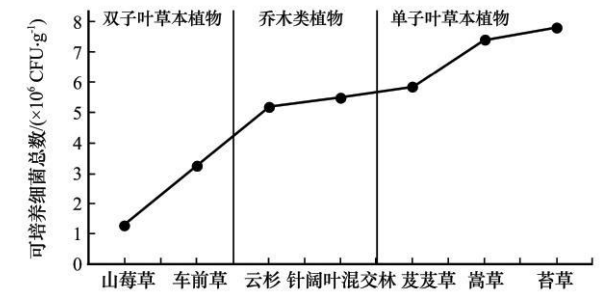


图 3 海拔样品中可培养细菌数与植被类型的对应关系
Fig. 3 The relationship between CFU and vegetation types at different altitudes

从表 1 可知,在海拔 3 637 m、3 540 m、3 300 m、3 100 m 和 2 700 m 处主要优势植物之一均为嵩草,除海拔 3 300 m 可培养细菌数量偏高外,其他 4 个采样地点恢复培养出的细菌数多少顺序为:2 700 m>3 100 m>3 540 m>3 637 m,呈现出相同植被下高海拔地区可培养细菌数要少于低海拔细菌数。至于海拔 3 300 m 出现可培养细菌数量比海拔 3 100 m 处还多的现象,其原因可能与该处取样地接近高山研究基地,因此人为活动更强有关,当然也不能排除气候因素、大气溶胶菌群的输入以及周边特殊的地形地貌等因子的影响,这有待进一步专门研究^[13-14]。

3 结论

海拔的增高带来非生物因素(温度、降水、大气成分等)和生物因素(植被、生物多样性和组成)的重大环境差异梯度,例如温度的降低和营养物质的减少,随着环境条件的下降,微生物的生存能力开始下降。然而,不同海拔各样品中的细菌数受含水量、总 C、总 N 和 pH 值的影响相关性不显著,其表层环境植被对冻土细菌数量的影响很明显。现

存的植被通常是碳源和氮源的主要输入来源, 土壤微生物物种结构的组成和多样性明显与植物群落相关。这可能是植物根系可以释放有机化合物, 主要是多糖、可溶性分泌物和细胞裂解液, 这些物质改变了冻土的理化性质, 间接地影响着冻土微生物的生存活力。可培养细菌数从大到小所对应的植被为: 苔草> 嵩草> 芨芨草> 针阔叶混交林> 云杉> 车前草> 山莓草。总之, 海拔样品中可培养细菌数及细胞总数的多少是其与植被类型及其它环境因素相互作用、相互影响的结果。

参考文献(References):

- [1] Yang Sizhong, Jin Huijun, Wei Zhi, *et al.* Microbial adaptation to the habitat of permafrost and their responses to global change and engineering disturbance in cold regions: advances and prospects[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2007, **29**(2): 279—285. [杨思忠, 金会军, 魏智, 等. 微生物对冻土生境的适应以及对全球变化和寒区工程扰动的响应: 进展与展望[J]. 冰川冻土, 2007, **29**(2): 279—285.]
- [2] Jin Huijun, Yu Wenbing, Chen Youchang, *et al.* (Differential) frost heave and thaw settlement in the engineering design and construction of oil pipelines in permafrost regions: a review[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2005, **27**(3): 454—464. [金会军, 喻文兵, 陈友昌, 等. 多年冻土区输油管道工程中的(差异性)融沉和冻胀问题[J]. 冰川冻土, 2005, **27**(3): 454—464.]
- [3] Jin Huijun, Cheng Guodong, Lin Qin. The effects of freeze thaw processes and subzero temperature on soil chemistry and microbiology[C]//Proceeding of the Fifth Chinese Conference on Glaciology and Geocryology. Lanzhou: Gansu Culture Press, 1996: 1092—1103. [金会军, 程国栋, 林清. 冻融作用和负温对土壤化学及微生物的影响[C]//第五届全国冰川冻土学大会论文集. 兰州: 甘肃文化出版社, 1996: 1092—1103.]
- [4] Liu Guangxiu, Hu Changqin, Zhang Jingpu, *et al.* Microbial communities in permafrost of the Tibetan Plateau and their significance [J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2001, **23**(4): 419—422. [刘光琇, 胡昌勤, 张靖溥, 等. 青藏高原多年冻土微生物的分离分析及其意义[J]. 冰川冻土, 2001, **23**(4): 419—422.]
- [5] Amato P, Hennebelle R, Magand O, *et al.* Bacterial characterization of the snow cover at Spitzberg, Svalbard[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2007, **59**(2): 255—264.
- [6] Zhang Gaosen. Microbial Diversity in the Qinghai-Tibetan Plateau Permafrost Region and Its Potential Application [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2007. [章高森. 青藏高原多年冻土区微生物多样性及其潜在应用研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2007.]
- [7] Insam H, Domsch K H. Relationship between soil organic carbon and microbial biomass in chronosequences of reclamation sites[J]. Microbiology Ecology, 1988, **15**: 177—188.
- [8] Wardle D A, Verhoef H A, Clarholm M. Trophic relationships in the soil microfood web: predicting the responses to a changing global environment [J]. Global Change Biology, 1998, **4**: 713—727.
- [9] Insam H, Haselwandter K. Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession[J]. Oecologia, 1989, **79**: 174—178.
- [10] Ohtonen R, Vare H. Vegetation composition determines microbial activities in a boreal forest soil[J]. Microbiology Ecology, 1998, **36**: 328—335.
- [11] Latour X, Philippot L, Corberand T, *et al.* The establishment of an introduced community of *fluorescent pseudomonads* in the soil and in the rhizosphere is affected by the soil type [J]. FEMS Microbiology Ecology, 1996, **30**: 163—170.
- [12] Delhaize E, Hebb D M, Ryan P R. Expression of a *Pseudomonas aeruginosa* citrate synthase gene in tobacco is not associated with either enhanced citrate accumulation or efflux [J]. Plant Physiology, 2001, **125**: 2059—2067.
- [13] Xu J Z, Hou S G, Chen F K, *et al.* Tracing the sources of particles in the East Rongbuk ice core from Mt. Qomolangma [J]. Chinese Science Bulletin, 2009, **54**(10): 1781—1785.
- [14] Zhang Y, Kang S, Zhang Q. Seasonal and spatial variability of microparticles in snowpits on the Tibetan Plateau, China [J]. Journal of Mountain Science, 2010, **7**(1): 1672—6316.

The Changing Mechanisms of Microbial Number on
Surface Soil with Altitude

LIU Guang-xiu¹, DONG Xiao-pei², ZHANG Wei¹, ZHANG Gao-sen¹,
WANG Lu², YUE Jun²

(1. Key Laboratory of Desert and Desertification, Cold and Arid Regions Environmental and Engineering
Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou Gansu 730000, China;
2. School of Life Science, Lanzhou University, Lanzhou Gansu 730000, China)

Abstract: Surface soil were sampled from different altitude and then sent to study the relationship among the microbial abundance, the soil physico-chemical parameters and the vegetation types by using the fluorescence microscope enumeration method and oligo-culture method. It was found that the abundance of cultivable bacteria was correlated insignificantly with soil moisture, total carbon and total nitrogen concentrations, and pH value. However, it was significantly correlated with

vegetation types, and the abundance of cultivable bacteria followed the order: *Carex*> *Kobresia*> *Achnatherum*> mixed coniferous broad leaved forest> *Picea*> *Plantago*> *Sibbaldia*. The abundance of cultivable bacteria was also correlated negatively with altitude for the same vegetation type. All the results suggested that the vegetation type was the principal factor that controlled the abundance of soil cultivable bacteria, but the altitude effect can not be ignored.

Key words: cultivable bacteria; physicochemical property; altitude; vegetation types