

荒漠地区土壤表层固碳作用研究进展

李珂, 张洪勋

中国科学院大学资源与环境学院, 北京 100049

摘要 干旱、半干旱地区的生态环境条件脆弱, 光能自养生物在荒漠地区地表的物质循环和能量流动中起着重要作用。藻类和苔藓是荒漠地区地表普遍存在的固碳生物, 不仅能够改善土壤的物理性质, 起到保护土壤的作用, 同时能够通过特定蓝藻的固氮作用增加土壤的氮含量, 最重要的是这些固碳生物能够通过光合作用固定空气中的 CO₂, 是荒漠地区土壤表层固碳的主要贡献者。荒漠地区生态系统固碳量的研究也是研究全球气候变化的重要组成部分, 固碳量的大小不仅受自然条件的约束, 也与土壤表层固碳生物(主要是藻类和苔藓)的组成密切相关。当土壤中仅有丝状蓝藻存在时固碳速率较低, 随着绿藻等高等藻类和苔藓的出现, 固碳速率快速增加。本文综述了荒漠地区土壤表层固碳生物组成和影响地表固碳的因素, 回顾和展望了地表固碳的研究方法。

关键词 藻类; 苔藓; 光合作用; 固碳作用

中图分类号 X172

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2014.19.013

Research Progress on Carbon Fixation in Desert Topsoils

LI Ke, ZHANG Hongxun

College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract Phototrophic organisms play an important role in biogeochemical cycles of elements in desert soil ecosystems, where the ecological environment is fragile. Algae and moss are ubiquitous and can take photosynthesis in desert ecosystems. They can improve the physical properties of soil to protect the soil, and some of them have the ability of nitrogen fixation to increase soil nitrogen storage. More importantly, these phototrophic organisms are the main contributors of soil carbon storage, because they can fix carbon dioxide. The study of carbon dioxide fixation ability of desert ecosystem is an important part of the study of global climate change. The amount of fixed carbon is not only affected by the natural conditions but also closely related to the composition and abundance of phototrophic microorganisms (mainly algae and moss). The photosynthesis rate is usually low when there are only filamentous cyanobacteria in the topsoils, and the photosynthesis rate will increase when green algae and moss inhabit the topsoils. This article is to summarize the composition of phototrophic organisms in desert topsoils and the influencing factors and review and forecast the analysis methods of carbon fixation.

Keywords algae; moss; photosynthesis; carbon fixation

据估计, 全球干旱半干旱地区的面积至 1995 年已达到 $3.87 \times 10^7 \text{ km}^2$, 占全球陆地面积的 30% 左右, 中国有近一半的土地受干旱或半干旱气候的影响^[1,2]。气候变化、荒漠化及土地利用问题是当今干旱区域面积增加的主要原因。这些干旱地区土壤贫乏, 群落结构简单, 生态环境脆弱, 通过长期以来的大气成分检测, 认为该类型地区的释放碳大于固定碳,

是碳源所在地^[3]。随着涡度相关技术(CO₂通量检测法)在生态系统中的应用, 越来越多的研究表明干旱地区所固定的碳大于释放的碳, 是碳汇所在地^[4,5]。

在干旱及超干旱的荒漠地区, 地表生物要应对干旱、极端温度、较大温差及强辐射等多种不利环境条件。在这些地区, 虽然植物的生长受到限制, 但生物土壤结皮情况广泛存

收稿日期: 2014-02-21; 修回日期: 2014-03-17

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项(XDA05030500)

作者简介: 李珂, 博士研究生, 研究方向为荒漠地区藻类群落结构, 电子信箱: like210@mails.ucas.ac.cn; 张洪勋(通信作者), 教授, 研究方向为环境微生物技术和微生物分子生态信息应用, 电子信箱: hxzhang@ucas.ac.cn

引用格式: 李珂, 张洪勋. 荒漠地区土壤表层固碳作用研究进展[J]. 科技导报, 2014, 32(19): 77-83.

在,甚至在一些极端干旱区域,生物土壤结皮占地表覆盖率的70%以上^[6]。生物土壤结皮是由藻类、真菌及其他异养微生物与土壤粒子相互作用,从而在土壤表层形成的几毫米至几厘米厚的土壤有机复合体^[7,8],它们能够在稀疏分布的植物间表层土壤中形成一个连续光合层^[8-10]。

有生物土壤结皮存在的土壤中往往含有较高的有机碳,据估计,土壤结皮的固碳速率为 $2.8\sim 35\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ ^[11]。目前对荒漠地区不同位点地表固碳速率研究表明,演替阶段较高土壤的固碳速率可达到高等植物的一半以上^[12,13]。荒漠地区的碳通量与土壤所处的演替阶段有关,不同的演替阶段中固碳生物的组成和数量明显不同,而结皮中固碳生物的组成和数量是影响土壤固碳速率的重要因素,其数量在一定程度上反映了碳通量的多少。本文综述荒漠地区土壤表层的主要固碳生物组成、影响荒漠地区固碳量的因素、测定固碳速率的方法,展望土壤表层固碳分析的新方法。

1 荒漠地区土壤表层固碳生物

荒漠地区土壤表层参与固碳的微生物主要是蓝藻、绿藻和苔藓等。这些光合作用生物的存在能够促进土壤生物结皮的形成及演替,通过结皮自身的生理和代谢方式改变周围的微环境,从而在防治土壤风蚀和水蚀、改变水分分布情况和防风固沙等方面产生重要作用^[14,15],也为治理沙漠化提供了新思路。

土壤结皮中固碳生物的种类和数量与土壤结皮的演替阶段密切相关。张元明等^[7]按照物种组成将演替阶段分为早期阶段(土壤酶和土壤微生物阶段)、初级阶段(藻结皮阶段)和高级阶段(地衣结皮和苔藓结皮阶段);兰书斌等^[16]将土壤结皮分为蓝藻结皮、地衣结皮、半苔藓结皮和苔藓结皮4个阶段;Langhans等^[13]依据优势物种和结皮颜色将土壤结皮分为初级土壤结皮和稳定土壤结皮。

土壤结皮的微生物组成示意如图1所示^[17],包括蓝藻(具鞘微鞘藻、念珠藻、墙壁眉藻等)、绿藻(绿球藻等)和苔藓,该结皮的厚度约为1.5 mm(图1)。

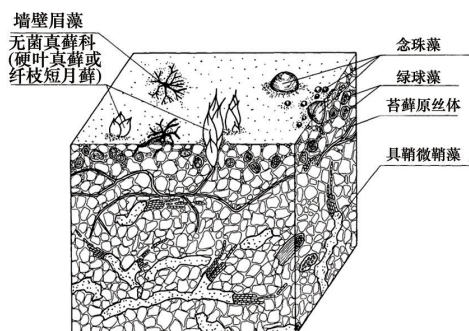


图1 演替阶段由不同微生物组成在土壤表层分布的土壤结皮示意

Fig. 1 Diagrammatic representation of the topsoil layer showing the different groups of organisms that compose a developed soil crust

在土壤结皮演替的早期阶段,颤藻目大型丝状蓝藻(如*Microcoleus*, *Oscillatoria*, *Leptolyngbya*和*Phormidium*等)定植在裸沙中,这些丝状蓝藻大部分具有较厚的细胞壁,能够分泌胞外多聚糖(EPS),使藻类在干旱时能够有效保持体内水分,湿润时能够快速吸收大量水分促进菌丝的生长,将其其他微生物及土壤粒子凝结在一起,促进土壤生物结皮的形成及演替^[13,18]。为免受干旱地区高温、高辐射等不利因素的影响,丝状蓝藻通常分布在土壤结皮的表层以下。只有在湿润的条件下,丝状蓝藻的菌丝才会延伸到土壤表层,这时一些小型的念珠藻目(*Nostocales*)的蓝藻(如*Scytonema*和*Nostoc*等)和绿藻(如*Chlorococcum*和*Stichococcus*)开始定植在土壤结皮的表层^[17]。念珠藻目蓝藻具有分泌抵抗紫外线的色素(伪枝藻素)的能力^[19,20],保护细胞免受高辐射破坏,因此可以生长在结皮的表层,起到保护结皮下方其他微生物的作用^[17]。只有土壤结皮被这些藻类固定之后,苔藓(如真藓属和短月藓属)才能定植在土壤结皮中。苔藓具有假根、原丝体和外卷的叶边缘结构,能够起到保存水分以及减少水分蒸发的作用^[21]。

2 影响荒漠地区土壤表层固碳的主要因素

荒漠地区地表碳通量受多种因素影响,其中水分是决定区域碳通量的关键因素。对同一个区域而言,由于气候影响,土壤演替阶段并不相同。从表现上看,不同土壤演替阶段地表固碳速率相差较大,是测定土壤碳通量必须考虑的因素。下面对影响荒漠地区土壤碳通量的主要因素进行总结。

2.1 水分对固碳量的影响

水分受单次降水量及降水次数控制,是决定荒漠地区碳通量的关键因素^[22,23]。生态系统尺度上的碳循环更大程度上依赖于降水的分配,而不是单纯的降水量。高艳丽等^[24]对腾格尔沙漠沙坡头地区2009、2010年的碳通量总结,得出5月到10月是该地区作为碳汇存在的时期,而该地区每年63.7%的降水量都分布在这个季节。李新荣等^[25]对沙坡头地区两种土壤结皮进行4年的原位研究显示,水分对土壤结皮固碳速率的影响要高于温度和光照。不同季节的藻类达到最大光合速率时藻丝的含水量不同,其中春季菌丝体的水分含量为60%,夏季为80%,秋季为75%。荒漠地区的降水量少,降水周期过长可能会导致生物量下降,但少量降水就可以使地表藻类恢复生物活性。因此荒漠地区降水量多的区域地表藻类生物量更大,生物土壤结皮演替速度更快,更高级演替阶段的生物结皮能够更大程度地将降雨量转变为可利用的水分,促进荒漠生物量增加,形成荒漠生态系统的良性循环。荒漠生态系统中可利用水分的含量对石生藻的生物量及固碳量也起着决定作用^[26]。因此评估荒漠生态系统中的可利用水分含量对评估荒漠地区土壤表层的固碳量具有重要意义。

2.2 演替阶段及物种组成对固碳速率的影响

不同土壤演替阶段的土壤固碳速率相差较大,随着藻结皮发育成熟度增加,其固碳能力显著提高,有利于干旱区土

壤有机碳的累积。丝状蓝藻具有较强的耐高温、抗辐射、耐干旱等能力,是土壤演替早期阶段的主要成员,但是丝状蓝藻的生物量及叶绿素含量都很低,固碳速率较低,通常小于 $0.72 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ ^[27,28]。随着土壤演替的进行,土壤结构更加稳定,土壤中藻类的种类和数量增加,苔藓地衣等微生物开始出现在土壤结皮中,土壤表层的微生物光合速率快速增加,甚至达到 $8.28 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ ^[29]。对于荒漠地区特定演替阶段的结皮而言,其固碳速率也与其物种组成及生物量密切相关。已报道由不同种物种组成的结皮的最大固碳速率相差2个数量级之多(蓝藻结皮最大速率为 $0.08 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$,苔藓结皮最大速率为 $8.28 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$)^[29]。光合固碳速率低的结皮中往往生物量较低,优势蓝藻或者绿藻并未完全裸露在土壤表层因而很难接受到充分的光照。当裸露在土壤表层的地衣蓝藻或绿藻增加时,固碳速率也会大量增加,此时的固碳速率一般为 $2.16 \sim 4.32 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ ^[29]。当地表苔藓的生物量占主导地位后,地表的固碳速率高至 $8.28 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$,是 C_3 植物叶片光合速率的一半左右^[29]。

2.3 温度对固碳量的影响

藻类对高温的适应性较强,有些固碳微生物如坚韧胶衣(*Collema tenax*)在 41°C 时仍能以最适光合速率的30%进行光合作用^[29],Grote等^[30]对克罗拉多高原及奇瓦瓦沙漠的高级演替阶段土壤结皮对温度的响应研究显示:土壤的净固碳作用在 $20 \sim 25^\circ\text{C}$ 达到最大值,当超过一定温度(科罗拉多沙漠为 25°C ,奇瓦瓦沙漠为 30°C),固碳速率开始下降。Tracy等^[31]的研究发现石生藻类最适固碳速率出现在 0°C 至 42°C 之间,在该范围内温度对固碳速率影响不大。

除上述因素外,坡度、光照强度、风力等因素也可能对荒漠地区地表的土壤结皮的固碳作用造成影响,但这些因素对固碳速率的影响随着土壤演替阶段的增高逐渐降低^[11]。沙丘丘间带及中下部由于所受光照强度较低,光照时间短,且水分易停留,为土壤结皮的演替提供了更适宜的生长条件,光合作用速率较高,反之丘顶和丘坡中上部光合作用效率较低^[27]。光照强度是光合微生物进行光合作用必需的条件,光照强度的高低也影响光合作用速率。风力则影响土壤结皮的稳定性,阻碍土壤结皮的演替^[32],因此也影响沙漠土壤表层固碳速率。

3 荒漠地区土壤表层固碳分析方法的研究

一直以来,人们认为在全球碳循环中,荒漠地区具有植被覆盖率低的特点,是碳源所在,即荒漠地区净释放 CO_2 。近年来,人们在研究荒漠地区碳通量时发现有些沙漠对全球碳循环起着碳汇作用。例如Wohlfahrt等^[4]研究莫哈韦沙漠地区2005、2006年的碳通量时发现,该地区每年的净固碳量可高达 $(110 \pm 70) \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$,中国腾格尔沙漠的沙坡头地区每年固碳量可以达到 $13.87 \sim 23.36 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ ^[24]。荒漠生态系统中除了绿色植物能固定 CO_2 外,藻类和苔藓在碳循环中也起着积极作用,其中藻类是土壤表层的主要固碳微生物^[24],沙坡头地区藻类每

年的固碳量可达到 $11.36 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ ^[33]。藻类固定的 CO_2 一部分以生物量的形式存在,据估计全球干旱半干旱地区藻类的生物量达到 $68 \times 10^{12} \text{ g}$ 碳^[34];另一部分可通过分泌EPS增加土壤的碳库。EPS是由单糖和二糖通过糖苷键结合形成的具有不同长度的碳链,原位试验证明,这些胞外多聚糖通常是藻类自身所需要的糖类,它们能够包裹在藻类细胞及土壤粒子的表面形成不同的结构^[35]。Mager等^[36]证明土壤表层的碳水化合物占土壤表层营养物质的75%以上,揭示了土壤藻类固定的碳是土壤营养的主要来源,EPS作为藻类固定碳的主要产物能快速吸水膨胀包裹周围土壤粒子,还可以利用糖苷键结合其他营养物质,增加土壤营养物质的稳定性。

目前对荒漠地区土壤表层固碳分析方法的研究主要有2个方面:1)通过测定地表的固碳速率与光照时间来推测固碳量的大小;2)通过对地表藻类进行定量反映固碳量的大小。前者是广泛采用的研究荒漠固碳量的方法,测定结果直观、有说服力,后者则是随着分子生物学等技术发展起来从微观的角度来解析荒漠地区的地表固碳能力。

3.1 固碳效率测定的直接方法

对荒漠地区大尺度碳通量研究较多的方法是涡度相关技术(eddy covariance technique)^[24,37],该方法是测定土壤-植物-大气系统界面物质与能量交换的有效观测方法之一,这些研究显示荒漠生态系统对全球碳循环具有重要意义。但目前对荒漠地区土壤表层的固碳能力,即土壤-大气系统的物质与能量交换的研究较少,已有的研究主要集中于小范围内的土壤结皮固碳速率的测定,对于大范围大尺度的研究较少。下面总结了直接测定固碳速率的2种方法,原位装置测定法和Licor 6400便携式光合作用测定系统测定法,为推测大范围内荒漠地区地表的固碳量提供方法依据。

3.1.1 原位装置测定方法

一些研究者根据研究需要自行设计装置来测定光合作用速率。Thomas等^[38]设计了一种野外封闭系统(in situ closed chamber),将这种系统与便携式的气象色谱连用来测定原位的环境条件对固碳速率的影响,这种仪器需要每小时清除一次封闭系统内的空气,重新测定 CO_2 流量,来测定光合作用速率。运用该仪器测定土壤表层 CO_2 ,对原位的土壤结构破坏较小,适用于较广的温度范围($-5 \sim 45^\circ\text{C}$)。Thomas运用该装置测定喀拉哈里沙漠中表层土壤的碳通量与周围的湿润度的关系,研究表明,在表层土和下层土干燥的情况下,地表排放碳速率为 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$,当加入约为8 mm降雨量的水分后,地表的固碳速率快速增加,最高可增至 $1.25 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ 。Zaasy等^[27]和Kuhn等^[39]也设计了一种原位测定土壤表层 CO_2 交换量的动态装置,该装置能够与周围的空气连通,通过测定与外界的空气流来测定土壤表层的固碳速率。研究显示,当光合有效辐射(photosynthetically active radiation, PAR)为 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,温度为 22°C 时,沙丘底部的净同化速率为 $0.48 \sim 0.84 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ (图2)。原位测定地表土壤的固碳速率,可应用于长期

测定地表固碳量,精确性较高,且数据可靠。但原位测定方法在进行大范围操作时,耗时耗力,且需要在野外操作,受天气等因素影响较大。

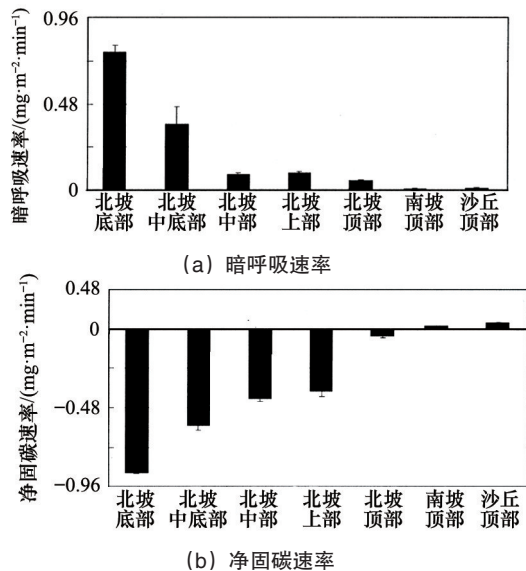


图2 特定实验条件下内盖夫沙漠中沙丘不同位点碳交换情况
Fig. 2 Carbon exchange of soil samples from Negev-dune under controlled laboratory conditions

3.1.2 Licor 6400 便携式光合作用测定系统测定法

Licor 6400 便携式光合作用测定系统是目前测定土壤呼吸,植物光合作用的主要仪器,近年来也广泛应用于土壤结皮光合作用的测定^[25,40]。该仪器功能完备、测定迅速,能在数秒内测定并记录 70 种数据和参数,测定数据准确。该方法既可用于野外试验测定自然条件下地表的光合作用速率,也可用实验室模拟试验,探索不同因素对土壤表层光合作用速率的影响。在光合有效辐射为 200~400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时, Schlesinger 等^[41]运用该装置测定石生自养微生物的光合作用速率,发现其净固碳速率随着 PAR 的增加而增加,为 1.24~1.44 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ (图 3)。

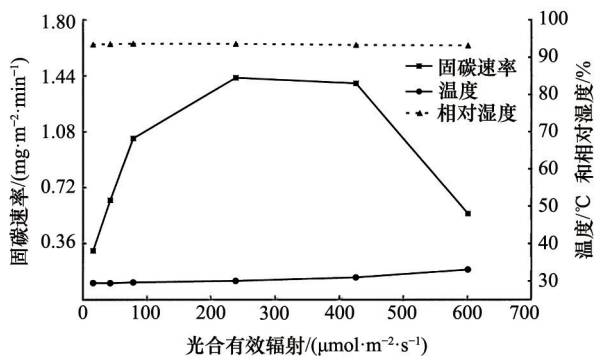


图3 一定光合有效辐射范围内石生自养生物的固碳速率
Fig. 3 Carbon fixation rate of the hypolithic autotrophic community on a single representative rock specimen exposed to a range of PAR

便携式仪器测定光合作用效率的方法已被广泛应用,该仪器携带方便,既可用于在实验样地采样测定,也可将样品采集至实验室测定,测定速度快,可用于大量样品的测定。但该方法更适用于测定较高演替阶段的结皮,不适用于测定光合生物含量较低的土壤。

3.2 间接测定方法

间接测定方法包括通过土壤表层的固碳生物量,叶绿素 a 含量或荧光量,或固碳生物的丰度来反映地表固碳情况。间接测定方法虽然不能直观给出固碳量的多少,但可以比较不同位点的固碳情况。

据估计全球荒漠地区的碳总量为 1×10^{16} g,其中全球干旱半干旱地区藻类的生物量达到 6.8×10^{13} g,通过这些数据推测在这些干旱半干旱区域中的大部分碳是贮存在土壤微生物中^[30,34,42]。Garcia-Pichel 等^[34]对北美、亚洲、非洲、澳大利亚以及中东干旱半干旱地区的藻类生物量统计如表 1 所示。由于研究区域和研究方法的限制,Garcia-Pichel 通过统计土壤中叶绿素 a 的含量来估算荒漠地区藻类的生物量(依据藻类叶绿素 a 含量占土壤中总叶绿素的 90% 左右,及藻类的生物量干重约是藻类叶绿素 a 的 1000 倍),为估算荒漠地区表层的固碳生物量提供思路。

表 1 荒漠地区土壤藻类的储碳量

Table 1 Soil carbon storage of algae in desert area

位点	气候特点	叶绿素 a 含量/ ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$)	藻类生物量干重/ ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$)
莫哈韦沙漠(美国)	干旱	16±20	1440
索诺兰沙漠(美国)	干旱	20±13	1800
米德湖(美国)	干旱	22±21	1980
澳大利亚中部地区	干旱	150±169	15000
内盖夫沙漠(以色列)	干旱	34±51	3060
突尼斯(非洲)	干旱	102	3060
内蒙古(中国)	干旱半干旱区	175±42	15750
塞伦盖蒂(非洲)	半干旱	58±44	5185

用于分析荒漠地区地表固碳量的间接方法有镜检法、平板计数法、叶绿素 a 定量法、叶绿素 a 荧光法、固碳生物实时定量法。这些方法不需要长期野外操作,可以同时多个样品进行检测,为荒漠地区表层碳通量的研究提供数据。

3.2.1 镜检法及平板计数法

由于对土壤微生物缺乏合理有效的研究方法,直接镜检法及平板计数法在最近 5 年内仍被用于土壤藻类生物量的估算。胡春香等^[43]采用直接计数法及培养计数法对沙坡头地区不同季节的样品的生物量统计显示:土壤藻生物量在 8 月份达到最大值(最高达 2×10^6 个 $\cdot\text{g}^{-1}$),2 月份达到最低值(接近于 0),大多数样品的培养计数结果低于直接镜检结果。但上述

2种方法都有不足之处:1) 一些绿藻和蓝藻的体积小、数量少、不易鉴定,因而在直接镜检中容易被遗漏;2) 大多数藻不可培养,平板计数法通常存在较大误差,特别是土壤中的优势蓝藻——具鞘微鞘藻(*M. vaginatus*)培养后的计数结果仅为直接计数的68%~76%,绿藻和硅藻的培养结果也仅为直接镜检的78%~86%和6%~11%。因此通过培养计数的结果一般仅为直接镜检法的16%~48%。同时由于丝状蓝藻特别是具鞘微鞘藻的菌丝较长,大量的藻丝粘在一起,最终形成一个菌落,在利用平板计数法时丝状蓝藻的数量被降低几倍、甚至数十倍。

3.2.2 叶绿素a定量法

叶绿素a含量虽然不能反映生物的群落组成,但仍被认为是评估藻类等固碳生物生物量的最好方法之一,其检测方法操作简单、可靠性强,被广泛采用。Garcia-Pichel等^[44]通过测定叶绿素a的含量来研究科罗拉多干旱地区土壤结皮中固碳微生物(主要是蓝藻)的垂直分布情况,结果显示结皮表层2 mm固碳生物的叶绿素a占结皮总叶绿素a的75%左右,在不同演替阶段中生物量相差也很大。Garcia-Pichel^[34]于2003年对不同干旱地区土壤藻类的叶绿素a分布进行统计,为了解藻类在干旱地区生态系统中的地位做了很大贡献。

但在萃取叶绿素a的方法中,由于萃取溶剂的多样化,可能会导致样品间可比性降低。用于叶绿素a提取的有机溶剂有甲醇、乙醇、丙酮、二甲亚砜(DMSO)、二甲基甲酰胺(DMF)。Castle等^[45,46]通过对不同有机溶剂对土壤结皮中叶绿素a的提取效果比较发现,乙醇和二甲亚砜的提取效率最高。叶绿素a的检测方法包括分光光度法,荧光分析法和高效液相色谱分析法(HPLC)^[47]。其中荧光分析法和分光光度法比较快捷,测定迅速,但是样品中叶绿素a杂质同晶体和衍生物的存在会影响结果的准确性,由于这些物质在665 nm下也有吸光度,因而导致利用分光光度检测和荧光检测时所测值要比实际值大^[47],另外叶绿素a的提取方法和样品中腐殖质等杂质也会对结果产生影响。HPLC的检测方法具有荧光法的灵敏性、高选择性,且分离度高,可以将叶绿素a的杂质同晶体和衍生物物质分离开,是较好的检测叶绿素a的方法,常被用来分析叶绿素a提取方法和有机溶剂的优劣^[48]。

3.2.3 叶绿素荧光分析技术

叶绿素荧光分析技术用于推测光合作用固碳速率。叶绿素吸收光主要有2种用途:1) 促使光合作用的发生;2) 引发自身产生荧光。一般来说这2种用途是相互竞争的关系。荧光量的测定可以由植物效率分析仪(plant efficiency analyser, PEA)或者增强型调制荧光计(pulse amplitude modulation, PAM)来完成^[31]。该方法可以测定样品在自然光照条件下进行正常的光合作用时所激发的叶绿素荧光信号,得出 F_0 (初始荧光,即光系统开放时的荧光)、 F_m (最大荧光,即光系统关闭时的荧光)、 F_v (可变荧光 $F_v = F_m - F_0$)等参数,以判断光合作用中心PS II效率。Housman等^[49]测定科罗拉多及奇瓦瓦沙漠的初级及高级演替阶段土壤生物结皮的叶绿素

荧光量(F_v/F_m)显示,高级演替阶段的土壤结皮光合效率显著高于早期阶段。

3.2.4 实时荧光定量聚合酶链式反应

实时荧光定量聚合酶链式反应(实时定量PCR)是定量检测核酸的技术,广泛应用于微生物生态学^[50,51]。其基本原理是通过在PCR体系中加入荧光基团,利用特定仪器鉴定荧光信号积累的强弱,进而实时监测每一轮PCR反应产物,并对其与产物量呈正相关的初始模板进行定量分析的技术,其常用机制包括荧光染料检测(SYBR Green I检测)和水解探针检测(TaqMan探针检测)^[50,52]。实时定量PCR灵敏度高,可以检测到单拷贝的基因;准确性高,不受扩增效率和试剂损耗的影响,可以精准检测到初始的模板量;特异性强,荧光探针是针对靶序列设计,具有高特异性。

实时定量PCR可用于藻类的群落动态变化检测,可同时对多个样品进行分析,适合于检测时间和空间上的动态变化。目前该技术已经在水体藻类的定量中广泛应用。Rinta-Kanto等^[53]利用特异性的16S rRNA基因以及微囊藻毒素合成基因 $mcyD$ 扩增微囊藻属蓝藻,荧光定量PCR显示:发生水华的水体中微囊藻的细胞数量为 $2 \times 10^3 \sim 4 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$,总蓝藻及微囊藻属蓝藻的数量在莫米河口的最大,随与河口距离的增加而降低,其数值可降低3个数量级之多。因而实时定量PCR与其他卫星图片及毒素数据的结合,可为检测水华中蓝藻的数目及精确判断水华中蓝藻种类提供有效方法。Moreira等^[54]运用实时定量PCR技术检测水体中总蓝藻、拉氏拟柱孢藻(*Cylindrospermopsis raciborskii*)及柱孢藻毒素基因在葡萄牙沿海区湖水中2年内的变化,对于预测水体藻毒素的合成及对水华的治理有重要意义。已有研究者将实时定量PCR应用于土壤结皮中藻类的定量,Li等^[55]通过实时定量PCR对阜康盐土表层的藻类进行定量,发现每克盐土中藻类细胞数量为 $10^6 \sim 10^8$,高盐结皮的丰度比低盐结皮高两个数量级。Bates等^[56]以真菌的25-28S rRNA基因以及细菌16S rRNA基因作为分子标记估算土壤生物结皮中微生物的丰度,结果显示在所有的样品中细菌的丰度要比真菌的丰度高的多(细菌的丰度是真菌的 $10^2 \sim 10^3$ 倍),表明在土壤生物结皮中细菌的地位高于真菌,对结皮的能量输入及物质循环有重要意义。

4 结论

近年来随着对陆地生态系统固碳速率和碳通量认证方法的不断完善,对于荒漠地区生态系统在全球碳循环中的地位认识有所加深。土壤藻类作为荒漠地区地表的主要生产者,对土壤演替做了重要贡献,有利于荒漠地区生态系统的稳定。目前研究土壤表层固碳生物对荒漠地区碳汇的贡献作用逐渐增多,研究方法多集中于采用Licor 6400来测定土壤的固碳速率。然而荒漠地区的面积大,碳交换量受多种因素的影响,仅仅利用该方法并不能全面地了解荒漠地区固碳生物的生态地位。实时定量PCR技术作为核酸的定量方法,

在微生物生态学领域中应用广泛。如果能够建立不同藻类及苔藓的丰度与固碳量的关系,通过实时定量PCR来估算土壤表层固碳生物的固碳量就成为可能。

研究区域及研究位点的选择是研究荒漠藻类的关键,荒漠地区地形复杂,土壤种类多、降水量不同等条件都使大范围研究土壤藻类受到限制,研究荒漠藻类的组成需要综合考虑地形、气候、土壤演替阶段等因素。但是由于这些因素的分类条件并不十分明确,例如土壤结皮的演替阶段的分类并不一致,分类的因素的界限不能明确区分:张元明等^[7]将土壤的演替阶段分为早期(土壤酶和土壤微生物阶段)、初级阶段(藻结皮阶段)、高级阶段(地衣结皮和苔藓结皮阶段), Garcia-Pichel 等^[57]将土壤结皮分为初级演替阶段(light crusts)、高级演替阶段(dark crusts)。随着分子生物学的方法在微生物生态学中广泛应用,在一定程度上能够提供不同土壤演替阶段藻类的多样性组成及数量分布的数据,改进传统的显微镜观察的物种鉴定及计数方法,进而为土壤演替阶段的分类提供新的依据。在未来的研究中,如何能够准确确定不同土壤演替阶段中藻类的多样性组成以及不同藻种的含量是研究的关键。采用16S rRNA基因及功能基因来考察土壤藻类的组成及量化土壤藻类的丰度,需要考察引物或探针的特异性及模板在细胞中的拷贝数。另一方面确定特定固碳生物的丰度与固碳量的关系也是研究的关键。建立固碳生物丰度与固碳量的关系,需要考虑影响固碳速率的因素,总结大量的数据,多种方法验证,因此需要长期的研究。只要两者关系建立,通过地表固碳生物的定量就可以推测其固碳量,对于评估荒漠地区土壤表层固碳生物对全球碳循环的贡献作用具有重要意义。

参考文献(References)

- [1] Le Houérou H. Climate change, drought and desertification[J]. *Journal of Arid Environments*, 1996, 34(2): 133-186.
- [2] 李鹏飞, 孙小明, 赵昕奕. 近50年中国干旱半干旱地区降水量与潜在蒸散量分析[J]. *干旱区资源与环境*, 2012, 26(7): 57-63.
Li Pengfei, Sun Xiaoming, Zhao Xinyi. Analysis of precipitation and potential evapotranspiration in arid and semi area of China in recent 50 years[J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2012, 26(7): 57-63.
- [3] Klopatek J, Conant R, TKlopatek C. Environmental factors controlling soil respiration in three semiarid ecosystems[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2000, 64(1): 383-390.
- [4] Wohlfahrt G, Fenstermaker L, Farnone III J. Large annual net ecosystem CO₂ uptake of a Mojave Desert ecosystem[J]. *Global Change Biology*, 2008, 14(7): 1475-1487.
- [5] Xie J, Li Y, Zhai C, et al. CO₂ absorption by alkaline soils and its implication to the global carbon cycle[J]. *Environmental Geology*, 2009, 56(5): 953-961.
- [6] Belnap J, Lange O. Structure and functioning of biological soil crusts: A synthesis, in *Ecological Studies[M]*/Belnap J, Lange O. *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2001: 471-479.
- [7] 张元明, 王雪芹. 荒漠地表生物土壤结皮形成与演替特征概述[J]. *生态学报*, 2010, 30(16): 4484-4492.
- Zhang Yuanming, Wang Xueqin. Summary on formation and developmental characteristics of biological soil crusts in desert areas [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(16): 4484-4492.
- [8] Harper K, Marble J. A role for nonvascular plants in management of arid and semiarid rangelands[M]/Tueller P. *Vegetation Science Applications for Rangeland Analysis and Management*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1988: 137-169.
- [9] West N. Structure and function of microphytic soil crusts in wildland ecosystems of arid to semi-arid regions[J]. *Advances in Ecological Research*, 1990, 20: 179-223.
- [10] Belnap J. Surface disturbances: Their role in accelerating desertification [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 1995, 37(1-3): 39-57.
- [11] Evans R, Johansen J. Microbiotic crusts and ecosystem processes[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 1999, 18(2): 183-225.
- [12] Lange O, Belnap J, Reichenberger H. Photosynthesis of the cyanobacterial soil crust lichen *Collema tenax* from arid lands in southern Utah, USA: Role of water content on light and temperature responses of CO₂ exchange[J]. *Functional Ecology*, 2002, 12(2): 195-202.
- [13] Langhans T, Storm C, Schwabe A. Community assembly of biological soil crusts of different successional stages in a temperate sand ecosystem, as assessed by direct determination and enrichment techniques[J]. *Microbial Ecology*, 2009, 58(2): 394-407.
- [14] Abed R, Al Kharusi S, Schramm A, et al. Bacterial diversity, pigments and nitrogen fixation of biological desert crusts from the Sultanate of Oman[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 72(3): 418-428.
- [15] Castillo-Monroy A, PMAestre F. Biological soil crusts: Recent advances in our knowledge of their structure and ecological function[J]. *Revista Chilena De Historia Natural*, 2011, 84(1): 1-21.
- [16] Lan S, Wu L, Zhang D, et al. Assessing level of development and successional stages in biological soil crusts with biological indicators [J]. *Microbial Ecology*, 2013, 66(2): 394-403.
- [17] Lange O, Kidron G, Budel B, et al. Taxonomic composition and photosynthetic characteristics of thebiological soil crusts' covering sand dunes in the western Negev Desert[J]. *Functional Ecology*, 1992, 6: 519-527.
- [18] Belnap J, Gardner J. Soil microstructure in soils of the Colorado Plateau: The role of the cyanobacterium *Microcoleus vaginatus*[J]. *Western North American Naturalist*, 1993, 53(1): 40-47.
- [19] Belnap J, Phillips S, Flint S, et al. Global change and biological soil crusts: effects of ultraviolet augmentation under altered precipitation regimes and nitrogen additions[J]. *Global Change Biology*, 2008, 14 (3): 670-686.
- [20] Büdel B, Darienko T, Deutschewitz K, et al. Southern African biological soil crusts are ubiquitous and highly diverse in drylands, being restricted by rainfall frequency[J]. *Microbial Ecology*, 2009, 57(2): 229-247.
- [21] Belnap J. The potential roles of biological soil crusts in dryland hydrologic cycles[J]. *Hydrological Processes*, 2006, 20(15): 3159-3178.
- [22] Sponseller R. Precipitation pulses and soil CO₂ flux in a Sonoran Desert ecosystem[J]. *Global Change Biology*, 2007, 13(2): 426-436.
- [23] Belnap J, Phillips S, Miller M. Response of desert biological soil crusts to alterations in precipitation frequency[J]. *Oecologia*, 2004, 141 (2): 306-316.
- [24] Gao Y, Li X, Liu L, et al. Seasonal variation of carbon exchange from a revegetation area in a Chinese desert[J]. *Agricultural and Forest*

- Meteorology, 2012, 156: 134–142.
- [25] Li X, Zhang P, Su Y, et al. Carbon fixation by biological soil crusts following revegetation of sand dunes in arid desert regions of China: A four-year field study[J]. *Catena*, 2012, 97: 119–126.
- [26] Warren-Rhodes K, Rhodes K, Pointing S, et al. Hypolithic cyanobacteria, dry limit of photosynthesis, and microbial ecology in the hyperarid Atacama Desert[J]. *Microbial Ecology*, 2006, 52(3): 389–398.
- [27] Zaady E, Kuhn U, Wilske B, et al. Patterns of CO₂ exchange in biological soil crusts of successional age[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(7): 959–966.
- [28] Garcia-Pichel F, Belnap J. Microenvironments and microscale productivity of cyanobacterial desert crusts[J]. *Journal of Phycology*, 1996, 32(5): 774–782.
- [29] Lange O. Photosynthesis of soil crust biota as dependent on environmental factors [M]//Belnap J, Lange O. *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2001: 217–240.
- [30] Grote E, Belnap J, Housman D, et al. Carbon exchange in biological soil crust communities under differential temperatures and soil water contents: Implications for global change[J]. *Global Change Biology*, 2010, 16(10): 2763–2774.
- [31] Tracy C, Streten-Joyce C, Dalton R, et al. Microclimate and limits to photosynthesis in a diverse community of hypolithic cyanobacteria in Northern Australia[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(3): 592–607.
- [32] Belnap J. Biological soil crusts and wind erosion, in *Ecological Studies [M]//Belnap J, Lange O. Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2001: 339–347.
- [33] 苏延贵, 李新荣, 陈应武, 等. 温度和CO₂浓度升高对荒漠藻结皮光合作用的影响[J]. *应用生态学报*, 2010, 21(9): 2217–2222.
Su Yangui, Li Xinrong, Chen Yingwu, et al. Effects of elevated temperature and CO₂ on desert algal crust photosynthesis[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(9): 2217–2222.
- [34] Garcia-Pichel F, Belnap J, Neuer S, et al. Estimates of global cyanobacterial biomass and its distribution[J]. *Algal Studies*, 2003, 109(1): 213–227.
- [35] Chen L, Li D, Song L, et al. Effects of salt stress on carbohydrate metabolism in desert soil *Alga Microcoleus vaginatus* Gom[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2006, 48(8): 914–919.
- [36] Mager D, Thomas A. Extracellular polysaccharides from cyanobacterial soil crusts: A review of their role in dryland soil processes[J]. *Journal of Arid Environments*, 2011, 75(2): 91–97.
- [37] Unland H, Houser P, Shuttleworth W, et al. Surface flux measurement and modeling at a semi-arid Sonoran Desert site[J]. *Agricultural and Forest Meteorology*, 1996, 82(1–4): 119–153.
- [38] Thomas A, Hoon S, Linton P. Carbon dioxide fluxes from cyanobacteria crusted soils in the Kalahari[J]. *Applied Soil Ecology*, 2008, 39(3): 254–263.
- [39] Kuhn U, Wolf A, Gries C, et al. Field measurements on the exchange of carbonyl sulfide between lichens and the atmosphere[J]. *Atmospheric Environment*, 2000, 34(28): 4867–4878.
- [40] Su Y, Wu L, Zhang Y. Characteristics of carbon flux in two biologically crusted soils in the Gurbantunggut Desert, Northwestern China[J]. *Catena*, 2012, 96: 41–48.
- [41] Schlesinger W, Phippen J, Wallenstein M, et al. Community composition and photosynthesis by photoautotrophs under quartz pebbles[J]. *Southern Mojave Desert Ecology*, 2003, 84(12): 3222–3231.
- [42] Lee Y, Ahn C, Kim H, et al. Cyanobactericidal effect of *Rhodococcus* sp isolated from eutrophic lake on *Microcystis* sp[J]. *Biotechnology Letters*, 2010, 32(11): 1673–1678.
- [43] 胡春香, 刘永定. 土壤藻生物量及其在荒漠结皮的影响因子[J]. *生态学报*, 2003, 23(2): 284–291.
Hu Chunxiang, Liu Yongding. Soil algal biomass and its influential factors in desert soil crusts[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(2): 284–291.
- [44] Garcia-Pichel F, Johnson S, Youngkin D, et al. Small-scale vertical distribution of bacterial biomass and diversity in biological soil crusts from arid lands in the Colorado Plateau[J]. *Microbial Ecology*, 2003, 46(3): 312–321.
- [45] Castle S, Morrison C, Barger N. Extraction of chlorophyll a from biological soil crusts: A comparison of solvents for spectrophotometric determination[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(4): 853–856.
- [46] 兰书斌, 刘永定, 胡春香. 不同有机溶剂萃取生物结皮中叶绿素a效率的比较研究[J]. *中国沙漠*, 2009, 29(3): 524–528.
Lan Shubin, Liu Yongding, Hu Chunxiang. Comparison of contents of chlorophyll-a extracted by different organic solvents in biological crusts[J]. *Journal of Desert Research*, 2009, 29(3): 524–528.
- [47] Lan S, Wu L, Zhang D. Ethanol outperforms multiple solvents in the extraction of chlorophyll-a from biological soil crusts[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(4): 857–861.
- [48] Meyns S, Illi R, Ribic B. Comparison of chlorophyll-a analysis by HPLC and spectrophotometry: Where do the differences come from? [J]. *Archiv fur Hydrobiologie*, 1994, 132(2): 129–139.
- [49] Housman D, Powers H, Collins A, et al. Carbon and nitrogen fixation differ between successional stages of biological soil crusts in the Colorado Plateau and Chihuahuan Desert[J]. *Journal of Arid Environments*, 2006, 66(4): 620–634.
- [50] 张晶, 张惠文, 张成刚. 实时荧光定量PCR及其在微生物生态学中的应用[J]. *生态学报*, 2005, 25(6): 1445–1450.
Zhang Jing, Zhang Huiwen, Zhang Chenggang. Real-time fluorescent quantitative PCR and its application in microbial ecology[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(6): 1445–1450.
- [51] Koskeniemi K, Lyra C, Rajaniemi-Wacklin P, et al. Quantitative real-time PCR detection of toxic *Nodularia* cyanobacteria in the Baltic Sea[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(7): 2173–2179.
- [52] Ginzinger D. Gene quantification using real-time quantitative PCR: An emerging technology hits the mainstream[J]. *Experimental Hematology*, 2002, 30(6): 503–512.
- [53] Rinta-Kanto J, Ouellette A, Boyer G, et al. Quantification of toxic *Microcystis* spp. during the 2003 and 2004 blooms in western Lake Erie using quantitative real-time PCR[J]. *Environmental Science and Technology*, 2005, 39(11): 4198–4205.
- [54] Moreira C, Martins A, Azevedo J, et al. Application of real-time PCR in the assessment of the toxic cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* abundance and toxicological potential[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 92(1): 189–197.
- [55] Li K, Liu R, Zhang H, et al. The diversity and abundance of bacteria and oxygenic phototrophs in Saline Biological Desert Crusts in Xinjiang, Northwest China[J]. *Microbial Ecology*, 2013, 66(1): 40–48.
- [56] Bates S, Nash III T, Sweat K, et al. Fungal communities of lichen-dominated biological soil crusts: Diversity, relative microbial biomass, and their relationship to disturbance and crust cover[J]. *Journal of Arid Environments*, 2010, 74(10): 1192–1199.
- [57] Garcia-Pichel F, Belnap J. Small-scale environments and distribution of biological soil crusts, in *Ecological Studies[M]//Belnap J, Lange O. Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2001: 193–201.

(编辑 田恬)