

DOI: 10.5846/stxb201504210819

俎千惠,王保战,贾仲君,林先贵,冯有智.水稻土中紫色光合细菌沿纬度梯度的空间分异特征.生态学报,2016,36(21): - .

Zu Q H, Wang B Z, Jia Z J, Lin X G, Feng Y Z. Spatial shifts in purple photosynthetic bacterial community composition in paddy soils along the latitude. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(21): - .

水稻土中紫色光合细菌沿纬度梯度的空间分异特征

俎千惠^{1,2}, 王保战¹, 贾仲君¹, 林先贵¹, 冯有智^{1,*}

1 中国科学院南京土壤研究所, 土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 南京 210008

2 中国科学院大学研究生院, 北京 100049

摘要: 紫色光合细菌由于其代谢途径的多样性, 在环境中广泛分布, 是生态系统中碳循环的参与者和推动者之一。但是, 水稻土中紫色光合细菌群落结构的时空分异却鲜有报道。基于此, 本研究沿我国温度梯度带(纬度梯度: 28.38° N—47.43° N), 采集了 8 个典型水稻土, 利用 PCR-DGGE 指纹图谱和系统发育树分析揭示不同地点水稻土中紫色光合细菌群落的组成; 结合多个环境因子, 利用生物信息学, 典范对应分析(Canonical Correspondence Analysis, CCA)和最小判别效应分析(Cladogram, LDA)明确水稻土中紫色光合细菌的时空分异规律。研究发现我国 8 个典型水稻土中紫色光合细菌主要由变形菌门(Proteobacteria)的 α 和 β 这两个分支组成, 主要为紫色非硫细菌; pH 和纬度都是驱动水稻土中紫色光合细菌群落结构分异的关键因子。该认知不仅有助于为我们更好地揭示稻田关键功能微生物群的生物地理学分布, 还有助于我们进一步探究我国稻田生态系统有机质转化的时空差异。

关键词: 水稻土; 紫色光合细菌; PCR-DGGE 指纹图谱; 典范对应分析; 群落组成空间分异

Spatial shifts in purple photosynthetic bacterial community composition in paddy soils along the latitude

ZU Qianhui^{1,2}, WANG Baozhan¹, JIA Zhongjun¹, LIN Xiangui¹, FENG Youzhi^{1,*}

1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Purple phototrophic bacteria (PPB) are a diverse group of Proteobacteria that can use sulfur, hydrogen, iron, or organic compounds as electron donors during light harvesting reactions. Because of their metabolic diversity, PPBs are distributed in a wide variety of ecosystems. They participate in, as well as drive, the processes of the carbon cycle in ecosystems. Among terrestrial ecosystems, paddy soils are a preferred PPB habitat. However, gaps exist in our knowledge about PPB community composition in paddy soil and spatial shifts across a large geologic scale. We studied the spatial distribution of PPB in nine representative paddy sites, along a large latitudinal gradient ranging from 28.38° N to 47.43° N in China, using PCR-DGGE fingerprinting and phylogenetic analyses. Mechanisms for the spatial shifts in community composition were further elucidated by canonical correspondence analyses and cladograms. It was found that the dominant paddy PPB guilds are purple non-sulfur bacteria, affiliated with alpha and beta branches of Proteobacteria. Soil pH and air temperature (latitude) were the main environmental triggers that influenced PPB community composition in paddy soil. This knowledge will help us to better understand the key species in paddy soil. In addition, this information will contribute to the comprehensive understanding of spatial shifts in the transformation of organic matter along the Chinese latitudinal gradient.

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(41430859); 国家自然科学基金(41271256); 中国科学院战略性先导科技专项(B类)(XDB15020104); 土壤与农业可持续发展国家重点实验室优秀青年人才项目(212000009)

收稿日期: 2015-04-21; 网络出版日期: 2015-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yzfeng@issas.ac.cn

Key Words: paddy soil; Purple photosynthetic bacteria; PCR-DGGE fingerprinting; canonical correspondence analysis; spatial shifts in community composition

光合微生物是一类地球上最早出现的具有原始光能合成体系的原核生物。紫色光合细菌是光合微生物的重要组成部分,也是生态系统中一类重要的微生物^[1]。紫色光合细菌具有极其多样的碳源代谢能力,它们可以代谢几乎所有的发酵产物、CO₂、小分子有机酸、甚至 CH₄^[2]。CO₂是紫色光合细菌平衡氧化还原电位所必需的电子受体,也是紫色光合细菌可利用的碳源之一。大部分紫色光合细菌以 Calvin-Benson 循环吸收 CO₂,少部分利用 C4 循环^[3]。此外,有机物也是影响紫色光合细菌生长的一个重要因素:紫色光合细菌的环式光合磷酸化需要外源性的有机物或硫化物补充电子以合成 NAD(P)H;同时,有机物又是紫色光合细菌的主要碳源。紫色光合细菌喜好的有机物为各类小分子有机酸,如甲酸、乙酸、丙酮酸、苹果酸等。极其多样的碳源代谢能力使紫色光合细菌广泛存在于各个生态系统中,并成为碳循环的主要参与者和推动者^[4];同时,紫色光合细菌具有固氮能力,可以给生态系统提供氮素,进而提高土壤肥力^[5]。

目前对于紫色光合细菌的研究多集中在海洋生态系统,主要以编码光吸收系统中保守性蛋白的结构基因为生物标记物对紫色光合细菌进行研究,例如厦门大学焦念志等利用 *pufM* 基因对中国沿海水域进行研究,发现海水样本中含有丰富的 *pufM* 基因型,主要为类 γ -变形菌纲 *pufM* 基因型(34.5%)^[6]。随后,焦念志等又利用 *pufM* 基因全面研究了太平洋、大西洋和印度洋中紫色光合细菌的丰度和多样性变化^[7],发现各大洋水体中都有丰富的资源,并且其海水营养状态和其丰度成正相关,而与其多样性成负相关。Karr 等^[8]利用 *pufM* 基因对南极湖水中紫色光合细菌研究发现湖水中存在丰富的紫色非硫细菌资源,并沿水体深度呈现不同的群落结构。相对于水生生态系统,陆地生态系统中紫色光合细菌的研究相对较少。其部分原因是紫色光合细菌是厌氧微生物,很少存活在有氧环境中,且不能发挥生态功能。但是,紫色光合细菌仍可以在陆地生态系统中合适的环境下生长。例如本研究组利用 *pufM* 基因对北极地区 33 个土壤样品进行紫色光合细菌多样性的研究,发现由于常年处于冰封的环境,北极土壤中也含有丰富的紫色光合细菌资源,主要为紫色非硫细菌^[9]。此外,水稻土也是紫色光合细菌喜好的生存场所。稻田土壤富含有机质,同时由于其耕作方式而饱含水分,因此水稻土中含有数量众多,多样性丰富的紫色光合细菌^[10]。在水稻土中,紫色光合细菌由于自身含有多种生物类激素,能够作为一种生物肥料促进水稻的增产^[11]。此外,紫色光合细菌还参加水稻土中多个元素的循环过程。Byrne 等^[12]发现紫色光合细菌, *Rhodospseudomonas* 作为铁氧化细菌而参与铁的氧还过程。本课题组前期的研究发现水稻土中紫色光合细菌驱动着一个自下而上的微生物食物网络,通过该食物网络,土壤微生物驱动着 C、N 等物质循环过程^[13]。然而,目前我们对水稻土中紫色光合细菌群落特性,特别是大尺度下的其地理学分布的认识还严重不足。而该认知能够帮助我们更好的揭示微生物所驱动的稻田生态系统养分和物质循环过程。

我国地域辽阔,从南到北呈现明显的温度梯度带,且土壤类型众多,决定了我国土壤碳含量及其转化功能存在巨大的时空变异^[14-15]。土壤中有有机质降解和转化由土壤微生物参与和驱动,因此在我国温度梯度带上,参与土壤有机质降解和转化的微生物群落结构和功能也必将存在分异和不同。本课题组前期的研究已经发现,处于稻田生态系统碳循环末端的产甲烷古菌在地理学分布已呈现一定的规律性变化^[16]。这也预示着同为稻田生态系统碳循环末端的紫色光合细菌群落结构也将存在时空分异。基于以上认知和前期的工作结果,本研究沿我国纬度梯度变化,从北向南采集了 8 种典型水稻土(黑龙江海伦、江苏扬州、江苏常熟、四川资阳、浙江嘉兴、湖南古市、湖南桃源和江西鹰潭),利用 PCR-DGGE 指纹图谱和系统发育分析揭示不同地点水稻土中紫色光合细菌群落组成,结合环境因子,利用生物信息学,典范对应分析(Canonical Correspondence Analysis, CCA)和最小判别效应分析(Cladogram, LDA)明确紫色光合细菌群落组成的空间分异规律。

1 材料和方法

1.1 供试土壤信息

采集我国不同纬度的海伦、扬州、常熟、资阳、嘉兴、古市、桃源和鹰潭地区 8 个典型水稻土,如表 1 所示。

每个地区水稻种植年限都超过 50 年。于 2011 年在鹰潭、桃源、古市、嘉兴和资阳晚稻收获期后一周内采样,海伦、扬州和常熟为水稻季收获期后一周内采样。每个采样点相隔 20 m,共采样 3 处。各个采样点随机取 6 个 0—5 cm 的水稻土,去除其中的植物残体、根系和石头后充分混匀。用于分子实验的土壤样品于-40℃ 保藏,用于土壤理化性质测定的土壤样品经自然风干后过 20 目(0.90 mm 孔径)分样筛备用。

表 1 八个地区水稻土地理信息

Table 1 The geographic information of each sample location

地点 Site	纬度 Latitude	经度 Longitude	温度 Temperature /℃ *
鹰潭	28.38° N	116.82° E	18
桃源	28.91° N	111.45° E	17
古市	28.95° N	111.85° E	17
嘉兴	30.63° N	120.77° E	16
资阳	30.08° N	104.57° E	18
常熟	31.93° N	120.71° E	17
扬州	32.58° N	119.70° E	15
海伦	47.43° N	126.63° E	4

* 年平均温度

1.2 土壤理化性质的测定

利用酸度计测定土壤的 pH 值(水土比 2.5:1);分别利用靛酚蓝比色法、镀铜镉还原-重氮化偶合比色法和凯氏定氮法测定土壤的铵态氮、硝态氮、总氮含量;土壤有机质含量采用 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 氧化-容量法进行测定^[17];各样点年平均温度参考各地方气象台信息。

1.3 土壤总 DNA 提取

土壤总 DNA 采用 FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, Santa Ana, CA) 试剂盒和 Fast Prep™ FP120 核酸提取仪提取。按照试剂盒说明书提取 DNA,并将提取到的 DNA 溶解于 75 μL 的 ddH₂O,保存于-20℃。

1.4 PCR-DGGE 指纹图谱分析

1.4.1 PCR 扩增

紫色光合细菌光反应中心蛋白 M 亚基编码基因片段 *pufM* 基因的特异性引物对 *pufM557F* (5'-CGCACCTGGACTGGAC-3'),*pufM750R* (5'-CCCATGGTCCAGCGCCAG AA-3') 进行 *pufM* 基因扩增^[18]。PCR 反应用试剂盒 Premix Taq® Version 2.0 Kit (TaKaRa),50 μL 的 PCR 体系添加 50 ng 的 DNA 模板量。PCR 反应条件:94℃ 3 min;94℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 30 s,30 个循环;72℃ 10 min。PCR 扩增产物在 1.2% (W/V) Tris-acetate- EDTA (TAE) 琼脂糖凝胶中电泳验证。PCR 产物保存于 4℃。

1.4.2 变性梯度凝胶电泳(DGGE)

采用 BIO-RAD Dcode 系统(Bio-Rad, CA, USA)对紫色光合细菌 *pufM* 基因片段 PCR 产物进行 DGGE 指纹图谱电泳。使用 8% 聚丙烯酰胺凝胶,电泳缓冲液为 1×TAE,变性梯度为 45%—70%;PCR 产物上样量为 200 ng DNA;电压 80 V,60℃,电泳 13 h;用 SYBR Green I (Invitrogen) (1:10000, V/V) 染色 30 min,后用 Gel Doc™ EQ imager (Bio-Rad) 成像拍照^[19]。

将 DGGE 特征条带割胶,放入含有 40 μL 去离子水的 1.5 mL 的离心管中,置于 4℃ 冰箱过夜。以此溶液为模板,再次使用 *pufM* 基因引物对其进行扩增。PCR 扩增体系和反应条件如上。将扩增后的 PCR 产物进行 DGGE 验证,以确定各个 *pufM* 基因型的位置和纯度。如不符,继续切带、扩增和验证。

1.5 克隆测序和构建系统发育树

将验证后的 *pufM* 基因片段 PCR 扩增产物连接到 pMD 18-T vector (TaKaRa),并转化到 *Escherichia coli* DH5 α 感受态细胞中,在含有 X-gal、IPTG 和氨苄青霉素的 LB 培养基上培养过夜。挑取具有氨苄青霉素抗性

的白色转化子,采用 T 载体通用引物 M13 进行菌落 PCR,扩增产物经 1.2% (W/V) 琼脂糖凝胶电泳检测是否为阳性克隆。将含有正确克隆子的细胞扩大液交由上海 Invitrogen 公司进行测序。将测序得到的序列在 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 网站上 BLAST 比对,进行同源性检索。利用 Cluster W 软件对本实验获得的产甲烷古菌基因序列以及 NCBI 中亲缘性最高的基因序列进行多重序列比对,根据 N-J (Neighbor-Joining) 法,利用 MEGA 4.0 软件构建系统发育树。

1.6 统计分析

运用 SPSS 13.0 进行统计分析,并使用 Tukey 检验进行多重比较 ($P < 0.05$)。用 Quantity One 4.4.0 (Bio-Rad) 对紫色光合细菌 DGGE 指纹图谱进行数字化分析;利用软件 Canoco for Windows (version 4.5) 进行紫色光合细菌群落组成分异和各个环境因子变化相关性的典范对应分析 (Canonical Correspondence Analysis, CCA);在 <http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy/> 网站上进行最小判别效应分析。

2 实验结果

2.1 土壤理化性质分析

8 个地区土壤样品的理化性质如表 1 所示:资阳的 pH 和硝态氮含量最高,而 pH 最低的是桃源地区,硝态氮最低的是鹰潭;铵态氮、全氮和有机质的分布相似,最高值都出现在古市,最低值则出现在海伦;而在碳氮比方面,海伦的比值最大,嘉兴和资阳的比值最小。

表 2 八个地区水稻土化学特性

Table 2 The chemical information of each sample location

地点 Site	pH	硝态氮 NO_3^- -N/ ($\mu\text{g/g d.w.s}$)	铵态氮 NH_4^+ -N/ ($\mu\text{g/g d.w.s}$)	总氮 Total N/%	有机质 SOC/%	碳/氮 C/N
鹰潭	5.41 $\pm$ 0.01f	1.42 $\pm$ 0.20f	38.10 $\pm$ 3.96d	0.13 $\pm$ 0.00f	2.35 $\pm$ 0.01g	18.33 $\pm$ 0.18b
桃源	5.18 $\pm$ 0.11g	21.89 $\pm$ 0.14a	97.76 $\pm$ 0.40b	0.23 $\pm$ 0.00b	4.31 $\pm$ 0.04b	18.99 $\pm$ 0.30b
古市	5.63 $\pm$ 0.04e	7.77 $\pm$ 0.04e	114.88 $\pm$ 0.41a	0.26 $\pm$ 0.00a	4.80 $\pm$ 0.04a	18.33 $\pm$ 0.26b
嘉兴	6.16 $\pm$ 0.10a	21.98 $\pm$ 0.35b	65.89 $\pm$ 0.83d	0.19 $\pm$ 0.00d	3.25 $\pm$ 0.02e	17.46 $\pm$ 0.12c
资阳	8.23 $\pm$ 0.04c	39.12 $\pm$ 0.50a	15.23 $\pm$ 0.08c	0.18 $\pm$ 0.00c	3.04 $\pm$ 0.05d	17.06 $\pm$ 0.21c
常熟	5.29 $\pm$ 0.02fg	13.98 $\pm$ 0.14c	2.88 $\pm$ 0.14f	0.15 $\pm$ 0.00e	2.84 $\pm$ 0.01f	18.83 $\pm$ 0.09b
扬州	6.80 $\pm$ 0.04b	14.39 $\pm$ 0.19c	9.18 $\pm$ 0.42e	0.19 $\pm$ 0.00c	3.54 $\pm$ 0.02c	18.52 $\pm$ 0.36b
海伦	5.97 $\pm$ 0.06d	11.42 $\pm$ 0.21d	4.17 $\pm$ 0.30f	0.11 $\pm$ 0.00g	2.19 $\pm$ 0.01h	20.66 $\pm$ 0.35a

数据为 3 个重复均为平均值 $\pm$ 标准差,不同字母显示数据差异显著性 ($P < 0.05$)

2.2 八个地区水稻土中紫色光合细菌群落组成的 DGGE 指纹图谱

PCR-DGGE 指纹图谱用于分析 8 个地区水稻土中紫色光合细菌群落组成的差异 (图 1)。通过比较 8 个地区样品的条带数量和光密度值可以看出各个地区的条带数量和强度 (丰度) 差异明显。其中资阳地区的条带数量最丰富,共有 28 个优势条带,而鹰潭地区的条带数量最少,优势条带只有 7 个。此外,不同条带在各个样品间的分布和强度也不尽相同,例如条带 18 是 8 个地区的共有条带;而条带 1 是海伦地区所特有的,条带 2 是资阳地区所特有的,条带 3 为海伦、扬州、常熟、嘉兴和古市所共有的。在条带的光密度上,条带 4、8、14、24 在扬州的丰度最高,条带 5、11、22、23、26、28 在资阳的丰度最高,条带 6、7、15 在海伦的丰度最高,条带 9、12、17、18、20、21、25、27 在常熟的丰度最高,条带 10 在桃源的丰度最高,条带 13 在鹰潭的丰度最高,条带 16 在古市的丰度最高。

2.3 紫色光合细菌多样性指数分析

根据 DGGE 指纹图谱中展示的条带,我们对 8 个样品中光合细菌群落的多样性进行 Shannon 和 Richness 指数分析,结果如图 2 所示。从图中可以看出,8 个样品的 Shannon 多样性指数存在差异,其中常熟和扬州的 Shannon 多样性最高,桃源和鹰潭最低;与之相类似,Richness 多样性指数也呈现出相同规律,其中常熟和扬州

的 Richness 多样性指数最高,而桃源和鹰潭最低。Shannon 和 Richness 多样性指数与所有环境因子均无相关性。

2.4 紫色光合细菌系统发育分析

从系统发育分析可以看出,8 个地区的紫色光合细菌主要隶属于变形菌门(Proteobacteria)的 α 和 β 的这两个分支上,紫色非硫细菌主导水稻土中紫色光合细菌。其中,8 个地区所共有的条带 18 隶属于 *Roseivivax*;海伦、扬州、常熟、嘉兴和古市所共有的条带 3 与 *Rhizobiales* 的亲缘性最高,同时,海伦地区所特有的条带 1,以及资阳地区所特有的条带 2 都与 *Rhizobiales* 的亲缘性最高。出现在中纬度地区的条带 26 和 28 分别隶属于 *Rhodobacter* 和 *Rhodovulum*。

2.5 八个地区水稻土中紫色光合细菌群落结构的 CCA 分析

利用 8 个地区的紫色光合细菌群落结构的 DGGE 图谱条带和 8 个主要的环境因子做 CCA 分析(图 4)。

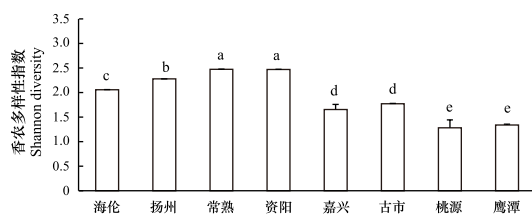


图 2 紫色光合细菌 Shannon (A) 和 Richness (B) 多样性指数分析

Fig.2 Purple photosynthetic bacteria Shannon (A) and Richness (B) diversity indices

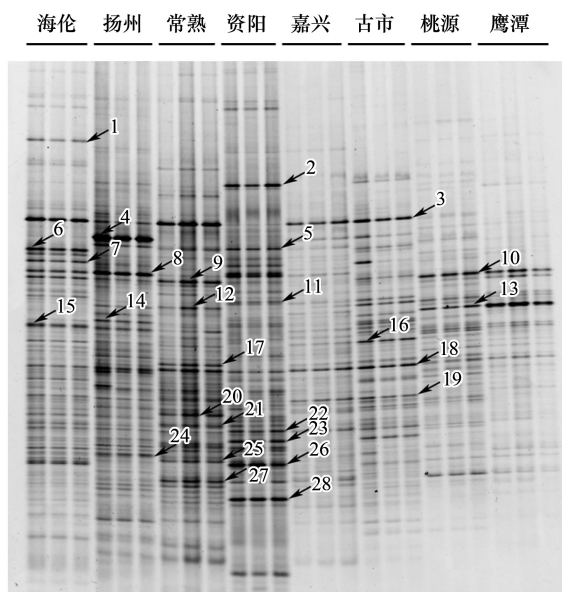
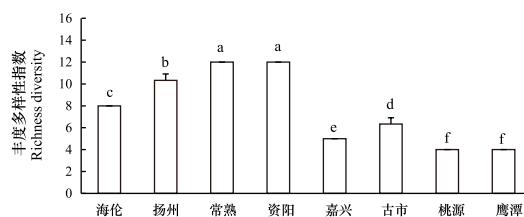


图 1 *pufM* 基因片段的 DGGE 指纹图谱

Fig.1 DGGE fingerprinting profiles of *pufM* genes



从图中可以看出,在横坐标上 pH 是主要的影响因素,贡献率为 29.8%;纵坐标上 C/N 是主要的影响因素,贡献率为 20.5%。温度、硝态氮与全氮对紫色光合细菌的影响方向一致,与纬度因子的影响方向相反。根据紫色光合细菌群落组成的相似性,从主要相关因素 pH 因子上看,pH 值较高的资阳地区位于左侧,pH 值较低的桃源和鹰潭位于右侧。C/N 较高的海伦、扬州位于下部,比值较低的资阳位于图中的上部。纬度较高的鹰潭、桃源、嘉兴和古市聚在一起,纬度较低的常熟、海伦和扬州聚在一起。

2.6 最小判别效应分析

将 8 个地区的物种信息进行最小判别效应分析,结果如图 5 所示。在 8 个地区中海伦、桃源和鹰潭地区的紫色光合细菌物种差异最显著,其中,鹰潭地区由于具有 14 个 Unclassified species 的优势条带而与其他地区相区别,海伦地区具有较多的隶属于 *Rhizobiales* 门的优势条带而与其他地区相区别,而桃源地区由于缺少隶属于 *Rhodobacterales* 门的优势条带和其他地区不同。

3 讨论

目前,关于紫色光合细菌的研究主要集中在水生生态系统,对于陆地生态系统特别是稻田生态系统的关注较少。基于以上原因,本文开展了相关研究。首先,通过 PCR-DGGR 指纹图谱,展示出我国 8 个典型水稻土样品中紫色光合细菌的群落组成(图 1),以及各自优势物种在数量和多样性的差异(图 2)。8 个地区的紫色光合细菌主要隶属于变形菌门(Proteobacteria)的 α 和 β 的这两个分支上,为紫色非硫细菌(图 3)。这与本

课题组之前的研究结果一致^[18],说明水稻土中的紫色光合细菌含有丰富的多样性。紫色光合细菌主要分为两大类,紫色非硫细菌和紫色硫细菌。前者主要利用有机质异养生长,而紫色硫细菌主要利用光能自养生长。土壤生态系统与水生生态系统相比,富含有机质,且日光只能进入土壤几个厘米,绝大多数环境处于黑暗状态,因此水稻土中紫色光合细菌主要为 α - 和 β -Proteobacteria 类的紫色非硫细菌,而水生生态还含有大量 γ -Proteobacteria 类的紫色光合细菌^[6, 20]。紫色非硫细菌是一类具有重要生态功能的紫色光合细菌,例如 *Rhodobacter* 和 *Rhodopseudomonas*。例如 Byrne 等^[12]发现 *Rhodopseudomonas* 作为铁氧化细菌和 *Geobacter* 共同参与铁的氧还过程;本课题组研究发现水稻土中以 *Rhodopseudomonas* 为主的紫色光合细菌驱动着一个自下而上的微生物食物网络,通过该食物网络,土壤微生物驱动着 C、N 等物质循环过程^[13]。结合本研究的结论,我们可以推断以上过程可能普遍存在于稻田生态系统。该认知将有助于我们更好的认识稻田生态系统中养分循环机制。

鉴于紫色光合细菌是一类具有重要生态功能的土壤微生物,我们又进一步研究了其地理学分布。PCR-DGGR 指纹图谱明确的揭示出 8 个地区紫色光合细菌在群落组成上的差异性(图 1)。8 个地区中优势条带的数量和种类都不相同,其中,资阳地区的条带数量最丰富,共有 28 个优势条带,而鹰潭地区的条带数量最少,优势条带只有 7 个。从资阳到鹰潭,物种数量呈现一定递减的趋势。为了更好地展示紫色光合细菌群落不同地点差异及其驱动因子,我们将其与环境变量相结合,进行典范对应分析以及最小判别效应分析。研究发现,在多种环境因子中 pH 和纬度(温度)是影响水稻土中紫色光合细菌群落发生分异的关键因素(图 4 和 5)。pH 是土壤的一个重要环境因子,它由多种环境因素所共同决定^[21];在前期的工作中,本课题组已经证明,在北极地区的土壤中,pH 对紫色光合细菌群落组成和多样性都有重要影响^[9],是预测土壤中微生物群落发生分异的重要因素。其部分原因是由于紫色光合细菌细胞表面 zeta 电位的需求^[22];在同化 CO₂ 时,紫色光合细菌必须尽量保持自己的细胞膜不处于负电荷状态,以保证不(少)吸附 Ca²⁺ 和保护自己不被 CaCO₃ 沉淀所伤害^[23]。因此,pH 值对紫色光合细菌细胞膜的 zeta 电位影响很大^[24],进而对其群落结构也影响很大。同时,与水稻土中紫色光合细菌生态位相似,同处在碳循环末端的产甲烷古菌也被证实 pH 是影响其群落分异的主要驱动因子^[16]。此外,纬度也是影响土壤中紫色光合细菌群落分异的关键环境因素。前期工作也发现温度(纬度)对产甲烷古菌的群落结构也有影响^[16]。温度上升,增加土壤微生物数量和多样性^[25],增强土壤微生物代谢活性^[26],从而促进土壤碳转化效率^[9]。因此,CCA 图上显示纬度和土壤理化性质有着较高的相关性(图 4)。紫色光合细菌是碳循环末端的微生物,温

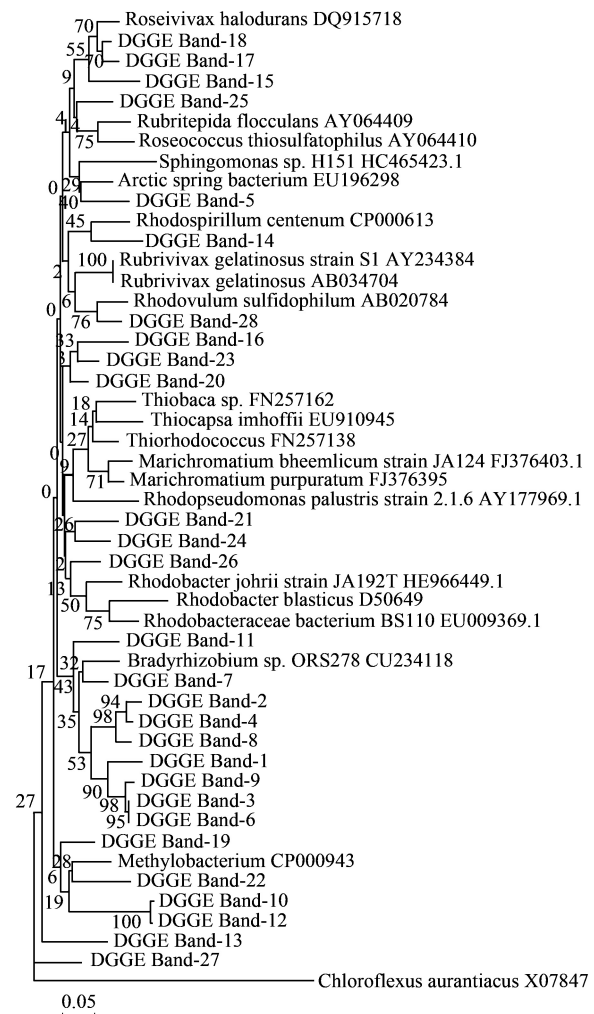


图 3 八个地区水稻土中优势紫色光合细菌 *pufM* 基因片段的系统发育树

Fig.3 Phylogenetic analysis showing the relationships of *pufM* genes in DGGE fingerprinting profiles to the closest relatives in GenBank

The numbers at the nodes indicate the percentages of occurrence in 1000 bootstrapped trees. The GenBank accession number of each strain is indicated in parentheses and the scale bar represents 5% sequences difference

度升高通过增加底物供应而影响其群落结构。在研究中我们发现一些 *Roseivivax* 出现在纬度较高的海伦地区,而在低纬度地区并没有出现,例如条带 15(图 1 和 5)。所以在纬度(温度)梯度上,紫色光合细菌群落结构也发生分异。

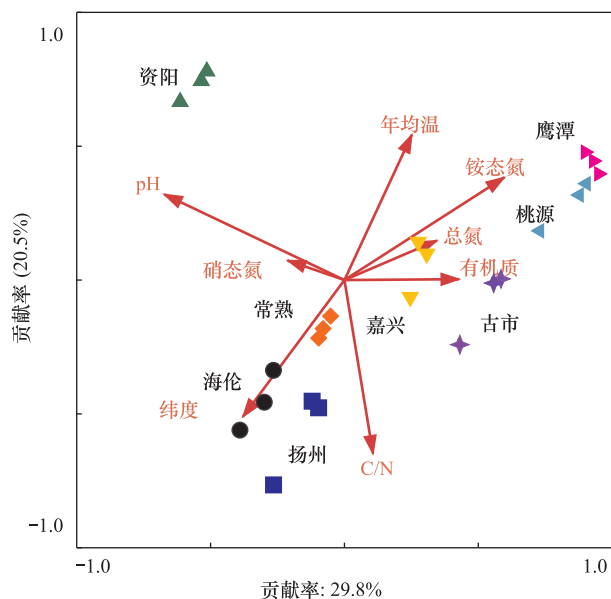


图 4 八个地区水稻土中紫色光合细菌群落组成的典范对应分析

Fig. 4 Canonical correspondence analysis relating DGGE fingerprinting patterns with environmental variables

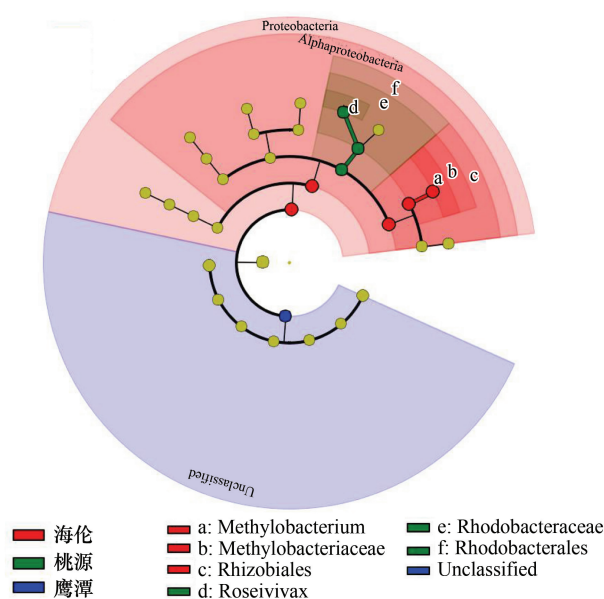


图 5 八个地区水稻土中紫色光合细菌群落组成的最小判别效应分析

Fig. 5 Cladogram analysis showing the community structure about purple photosynthetic bacteria

综上所述,本研究发现水稻土中含有丰富的紫色光合细菌资源,主要为紫色非硫细菌。8 个地区差异分析发现 pH 和纬度(温度)是影响水稻土中紫色光合细菌群落分异的 2 个关键因素。此外,本研究还发现水稻土中还有很多尚未发现的紫色光合细菌物种。由于 PCR-DGGE 指纹图谱只能半定量的表征物种的多样性,靶标土壤中少数优势微生物,所以今后我们还可以在更高的分辨率和更大的基因通量下深入的研究水稻土中紫色光合细菌的空间分异规律。

参考文献 (References):

- [1] Madigan M T. Anoxygenic phototrophic bacteria from extreme environments. *Photosynthesis Research*, 2003, 76(1/3): 157-171.
- [2] Pfennig N. Photosynthetic bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 1967, 21: 285-324.
- [3] Madigan M T. Photocatabolism of acetone by nonsulfur purple bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 1990, 71(3): 281-285.
- [4] Van Gernerden H, Beertink H H. Ecology of phototrophic bacteria // Ormerod J G, ed. *The Phototrophic Bacteria*. Berkeley: University of California Press, 1983: 146-185.
- [5] Madigan M T. Microbiology of nitrogen fixation in photosynthetic bacteria // Blankenship R E, Madigan M T, Bauer C E, eds. *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1995: 915-928.
- [6] Hu Y H, Du H L, Jiao N Z, Zeng Y H. Abundant presence of the γ -like Proteobacterial *pufM* gene in oxic seawater. *Fems Microbiology Letters*, 2006, 263(2): 200-206.
- [7] Jiao N Z, Zhang Y, Zeng Y H, Hong N, Liu R L, Chen F, Wang P X. Distinct distribution pattern of abundance and diversity of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in the global ocean. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(12): 3091-3099.
- [8] Karr E A, Sattley W M, Jung D O, Madigan M T, Achenbach L A. Remarkable diversity of phototrophic purple bacteria in a permanently frozen Antarctic lake. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(8): 4910-4914.
- [9] Feng Y Z, Grogan P, Caporaso J G, Zhang H Y, Lin X G, Knight R, Chu H Y. PH is a good predictor of the distribution of anoxygenic purple phototrophic bacteria in Arctic soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 74: 193-200.
- [10] 冯有智, 林先贵, 王一明. 紫色非硫细菌固体石蜡双层平板培养法. *微生物学通报*, 2011, 38(9): 1435-1442.

- [11] Harada N, Nishiyama M, Otsuka S, Matsumoto S. Effects of inoculation of phototrophic purple bacteria on grain yield of rice and nitrogenase activity of paddy soil in a pot experiment. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2005, 51(3): 361-367.
- [12] Byrne J M, Klueglein N, Pearce C, Rosso K M, Appl E, Kappler A. Redox cycling of Fe (II) and Fe (III) in magnetite by Fe-metabolizing bacteria. *Science*, 2015, 347(6229): 1473-1476.
- [13] Feng Y Z, Lin X G, Zhu J G, Jia Z J. A phototrophy-driven microbial food web in a rice soil. *Journal of Soils and Sediments*, 2011, 11(2): 301-311.
- [14] 王秀红. 我国水平地带性土壤中有机质的空间变化特征. *地理科学*, 2001, 21(1): 19-23.
- [15] 李执强, 汪景宽, 曹宏杰, 李双异, 于树. 水热梯度变化及不同施肥处理对东北地区土壤轻组有机碳氮的影响. *土壤通报*, 2009, 40(5): 1014-1017.
- [16] 俎千惠, 王保战, 郑燕, 贾仲君, 林先贵, 冯有智. 我国 8 个典型水稻土中产甲烷古菌群落组成的空间分异特征. *微生物学报*, 2014, 54(12): 1397-1405.
- [17] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 296-316.
- [18] Feng Y Z, Lin X G, Wang Y M, Zhang J, Mao T T, Yin R, Zhu J G. Free-air CO₂ enrichment (FACE) enhances the biodiversity of purple phototrophic bacteria in flooded paddy soil. *Plant and Soil*, 2009, 324(1/2): 317-328.
- [19] Feng Y Z, Xu Y P, Yu Y C, Xie Z B, Lin X G. Mechanisms of biochar decreasing methane emission from Chinese paddy soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 46: 80-88.
- [20] Waidner L A, Kirchman D L. Aerobic anoxygenic photosynthesis genes and operons in uncultured bacteria in the Delaware River. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(12): 1896-1908.
- [21] Lauber C L, Strickland M S, Bradford M A, Fierer N. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2407-2415.
- [22] Hayashi H, Nihei T, Ono M, Tsuneda S, Hiratat A, Sasaki H. Rapid recovery of bacterial cells from a stable dispersion by heterocoagulation to a fibrous collector. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2001, 243(1): 109-115.
- [23] Martinez R E, Gardés E, Pokrovsky O S, Schott J, Oelkers E H. Do photosynthetic bacteria have a protective mechanism against carbonate precipitation at their surfaces? *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2010, 74(4): 1329-1337.
- [24] Bosak T, Greene S E, Newman D K. A likely role for anoxygenic photosynthetic microbes in the formation of ancient stromatolites. *Geobiology*, 2007, 5(2): 119-126.
- [25] Noll M, Klose M, Conrad R. Effect of temperature change on the composition of the bacterial and archaeal community potentially involved in the turnover of acetate and propionate in methanogenic rice field soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 73(2): 215-225.
- [26] Peng J J, Lü Z, Rui J P, Lu Y H. Dynamics of the methanogenic archaeal community during plant residue decomposition in an anoxic rice field soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(9): 2894-2901.