地质微生物响应地质环境变化的若干问题
——兼论环境代用指标的应用

谢树成,杨欢,党心悦,王灿发
中国地质大学(武汉)生物地质与环境地质国家重点实验室,武汉,430074

内容提要:微生物能够通过改变细胞膜脂类成分而灵敏地响应地质环境条件的变化,使得人们建立了一系列微生物的古环境代用指标。应用比较广泛的古温度定量化指标包括藻类的长链烯酮 U^{k}_{37}、古菌甘油二烷基甘油四醚的 TEX_{86},以及细菌甘油二烷基甘油四醚的 *MBT/CBT* 等。然而,由于缺乏生理学和生态学分析,人们在应用微生物的环境代用指标时不断发现适用性问题。论文重点从微生物对环境响应的化学过程、生理范围和生态效应这三方面分析了一些环境代用指标在应用时需要考虑的多指标相互验证、线性范围和灵敏度,以及地区性差异等问题。微生物通过脂类响应环境变化有多种化学方式和途径可以实现,使得许多代用指标可以相互验证。微生物对地质环境的生理响应是有线性范围的,这决定了微生物脂类的环境代用指标的灵敏度大小。而微生物对环境因子的生态响应则决定了代用指标的应用存在地区性差异。某种环境的微生物活动往往受到一些限制性因子控制,相应地一些微生物脂类的环境代用指标也主要响应这些限制性环境因子的变化。微生物的古环境代用指标的应用不仅需要了解微生物通过脂类响应环境变化的化学机理,更要了解相应微生物的生理学和生态学原理。

关键词:地质微生物;脂类;地球生物学;生态;全球变化;古气候

古气候古环境重建越来越重要,它有助于我们了解地球环境的演变历史,进而为我们预测未来地球环境的变化趋势提供关键素材。为了探索地质时期气候环境的变化,越来越多的代用指标被相继提出,并得到了广泛的应用。物理、化学和生物学指标均不同程度地用来重建地质时期的古气候古环境变化。例如,黄土高原的磁化率、粒度等物理指标可以分别反映东亚夏季风和冬季风的演化历史。石笋氧同位素、冰芯氧同位素、海洋有孔虫氧同位素等化学指标分别可以反映季风强度、大气温度和海水表面温度等。这些物理和化学指标在全球变化研究中均发挥了极其重要的作用。可以说,没有这些代用指标我们就无从了解地球环境的演变历史,犹如我们没有温度计就不知道现在的天气如何变化一样。然而,许多物理、化学指标往往是定性的环境代用指标,难以实现定量化。

在生物学指标中,与分子和同位素有关的环境代用指标越来越多,这些指标在全球变化领域也正发挥越来越重要的作用。甚至可以说,没有这些代用指标我们就不清楚地质历史时期气候变化的幅度和强度,因为许多指标可以实现定量化。例如,来自藻类的长链烯酮 U^{k}_{37}、来自古菌四醚化合物 TEX_{86} 和细菌的四醚化合物 *MBT/CBT* 均可以用来定量重建古温度。值得注意的是,所有这些生物学指标均基于生物本身对环境变化的生理响应在分子水平上的表现。但目前主要从物理化学机理角度进行分析。例如,甲基可以增大细胞膜内空间,增强细胞膜的流动性;五元环则可以加固细胞膜的稳定性,降低流动性。目前人们缺乏对生物响应环境条件的生理学和生态学分析,因为生物对环境的响应是有生理学和生态学条件的。这就决定了这些生物学指标有一定的适应范围,不能无限地夸大其定量适用范围。

已有研究发现,一些代用指标在一些地区能很好地应用,但在另一些地区又不适用;在某些环境条件下很好应用,但在另一些环境条件又不能适用。这就导致了这样的循环:质疑前人提出的指标,修正或提出新的指标,之后又被修正和质疑。而这个过程缺乏生态学和生理学的深入工作。所有这些问题都在提醒我们,代用指标应用存在许多限制条件。我们不仅需要考虑微生物适应环境的物理化学机

注:本文为国家重点研发计划项目(编号:2016YFA0601104)和国家自然科学基金重点项目(编号:41330103)的成果。
收稿日期:2017-06-23;改回日期:2017-12-21;责任编辑:章雨旭。Doi: 10.16509/j.georeview.2018.01.013
作者简介:谢树成,男,1967年生。教授,长期从事地球生物学与全球变化研究。Email: xiecug@163.com。

理,更要考虑微生物的生态和生理过程。这里重点讨论和分析在应用生物学的环境定量指标上容易被忽视的几方面因素。

1 微生物对环境因子的化学响应:代用指标的相互验证问题

改变细胞膜脂类成分是微生物响应环境变化的一条重要途径,这是微生物脂类可以作为环境代用指标的基础。而这条途径可以通过多种化学过程实现,既可以通过不同脂类的同一化学过程实现,也可以通过不同脂类的不同化学过程实现。从而可以出现多种环境代用指标。例如,微生物降低细胞膜的流动性可以通过改变不同脂类的甲基数这一化学过程实现。这些甲基可以存在于醚(如甘油二烷基甘油四醚 GDGTs)、酸(如异构和反异构脂肪酸)、醇(如异构和反异构脂肪醇)等一系列化合物中。微生物通过改变甲基数来改变流动性,既可以通过某类脂类(如异构和反异构脂肪酸)的甲基数,也可以通过所有脂类(如醚、酸和醇等)的所有甲基数来实现。如此,这些代用指标在重建环境时可以相互验证。神农架地区的工作发现,土壤微生物可以通过3-羟基酸和醚类等不同脂类的甲基数响应温度的变化(Wang Canfa et al., 2016),这两类指标具有很好的相关性,可以互相验证(图 1)。当然,土壤 3-羟基酸可能主要来自革兰氏阴性细菌,而土壤醚类的支链 GDGTs 可能主要来自酸杆菌。酸杆菌属主要也是革兰氏阴性细菌。这可能是同一类别(革兰氏阴性细菌)的不同微生物属种通过不同脂类但相同的化学方式(甲基化)来响应温度这同一个环境因子的结果。然而,我们在这方面还了解得很少。

除了不同脂类的相同化学过程以外,微生物还可以通过脂类的不同化学过程来响应同一个环境因子(如 pH)的变化:既可以通过五元环的变化这个化学过程来实现,也可以通过甲基数的变化这个化学过程来实现。那么,这就涉及到一个问题:同一类微生物是同时通过五元环和甲基数来响应 pH 的变化,是一个综合效应或加权平均的问题,还是不同类微生物是通过不同化学过程来响应的?神农架地区的工作发现(图 2),土壤微生物可以通过不同脂类(酸和醚)的不同方式(甲基化和环化)响应 pH 的变化(Wang Canfa et al., 2016)。这可能是不同微生物通过不同脂类的不同化学方式来响应 pH 这共同环境因子的结果。但目前这方面也很少有研究。

由于微生物响应环境变化可以有多种化学途径和方式,既可以通过不同脂类的同种化学方式(如甲基数)实现,也可以通过不同脂类的不同化学方式(如醚的环化和酸的甲基化)实现。在环境重建时,我们就可以实现多个微生物代用指标的相互验

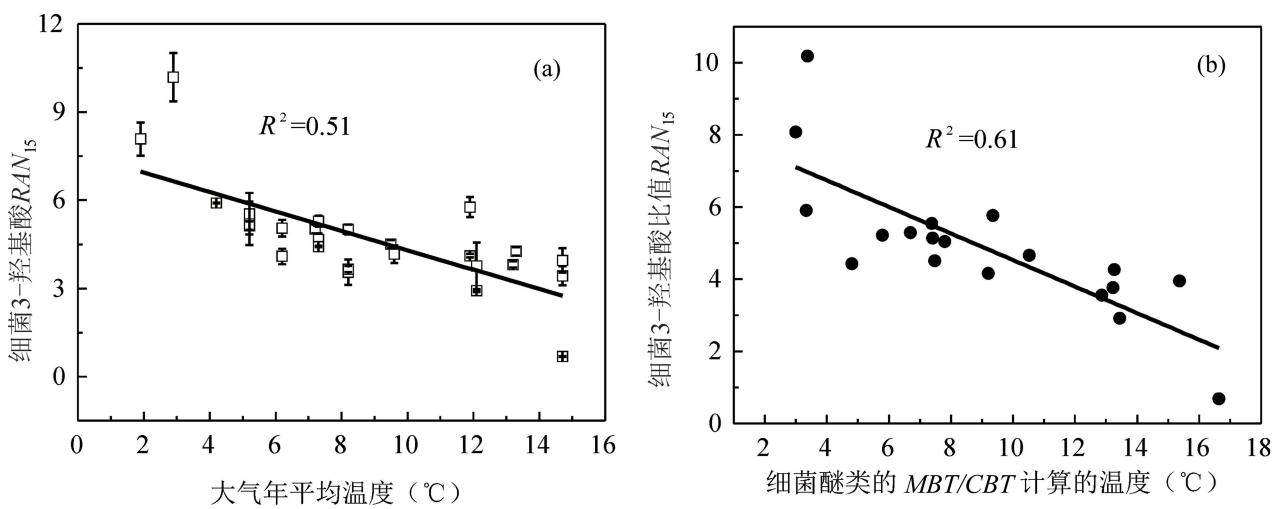

图 1 同一个地区土壤微生物通过不同脂类(酸和醚)的甲基数 RAN_{15}(a)、*MBT/CBT*(b)响应温度变化(Wang Canfa et al., 2016)

Fig. 1 Soil microbes from the same region showing response to temperature via the methylation in *RAN*15(a) and *MBT/CBT* (b) of different lipids including fatty acids and ethers (Wang Canfa et al., 2016)

细菌 3-羟基酸比值 RAN_{15} 为 C_{15} 反异构/正构的比值

RAN_{15} is the ratio of anteiso- to normal C_{15} 3-hydroxy fatty acids of soil bacteria

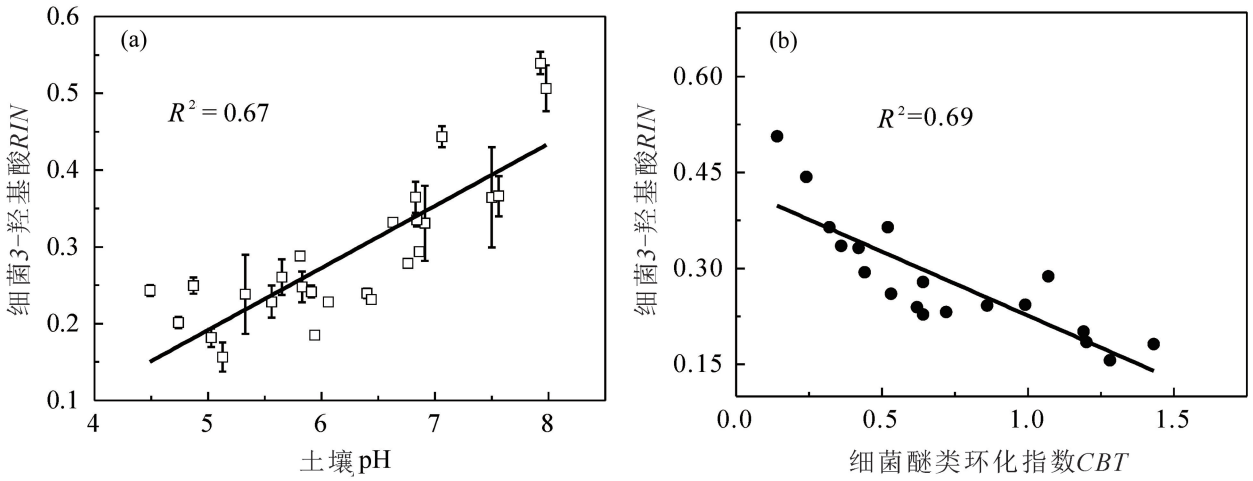

图 2 同一个地区土壤微生物通过甲基 *RIN*(a)和环化 *CBT*(b)两种不同方式同时响应 pH 变化(Wang Canfa et al., 2016)

Fig. 2 Soil microbes from the same region showing response to pH via both the methylation *RIN* (a) and cyclization *CBT* (b) of different lipids (Wang Canfa et al., 2016)

细菌 3-羟基酸比值 *RIN* 为异构/正构的比值

RIN is the ratio of iso- to normal 3-hydroxy fatty acids of soil bacteria

证,确保结果的可靠性。

2　微生物对环境因子的生理响应：代用指标的线性范围和灵敏度问题

微生物对地质环境的生理响应是有线性范围的(图 3),一切基于微生物的定量化指标必须在这个线性范围内应用。许多学者应用定量化指标来讨论极端环境事件,这恰恰是值得特别注意的,因为这些极端环境条件可能已经超出了生物的生理线性响应范围。相反,超出线性范围的,可以进行定性而非定量的应用,从而可以进一步讨论极端环境事件。也就是说,微生物对环境因子的生理响应决定了其灵敏度大小。

这里以细菌细胞膜脂类对外界环境的生理响应为例。外界环境条件的变化会影响微生物细胞膜的流动性。微生物就能够通过调整细胞膜的脂类成分而改变细胞膜的流动性,使之适应变化的环境。例如,气候变冷会导致微生物细胞膜的流动性降低。为了保持细胞膜的流动性,微生物就能够通过降低脂类分子的甲基数量来增加细胞膜的流动性,从而来维持气候变冷时正常的生理代谢能力。微生物的重要脂类——甘油二烷基甘油四醚化合物(GDGTs),具有良好的热稳定性,目前被广泛地应用到古环境重建中。细菌存在支链 GDGTs 化合物,它们的甲基化指数(*MBT*)与温度和 pH 密切相关。对中国土壤的细菌支链 GDGTs 研究发现,*MBT* 与温度在大气年平均温度的 10~20 ℃范围内具有很好的线性相关关系,但在大气年平均温度<10 ℃或>20 ℃范围外均没有很好的线性关系(图 3)。这是由微生物对环境因子生理响应的线性范围所决定的。

除了陆地上的细菌支链 GDGTs 以外,奇古菌 GDGTs 构建的古温度代用指标 TEX_{86} 在古海洋温度重建中也发挥了出色的作用。然而,随着调查范围的扩大,奇古菌 GDGTs 与海水表面温度(*SST*)之间从简单的线性关系演变成近似于指数的关系:在 5~25℃区间内 TEX_{86} 值的变化速率与区间外具有明显的差异(Kim et al., 2008; 2010)。奇古菌等微生物的生长存在最适温度,而 5~25℃温度区间可能是大多数微生物的最适生长温度,这在一定程度上可以解释 TEX_{86} 在不同温度区间对温度响应的生理差异。这也是人们随后提出了不同温度区间具有不同的定量关系式的原因之一。例如,分开高温区间和低温区间可以降低温度重建的误差,并衍生出两个表达五元环数量的新指标,用公式可以分别表示为(Kim et al., 2010):

$$SST/℃ = 67.5 \cdot TEX_{86}^{L} + 46.9 \quad (R^2 = 0.86),$$

其中

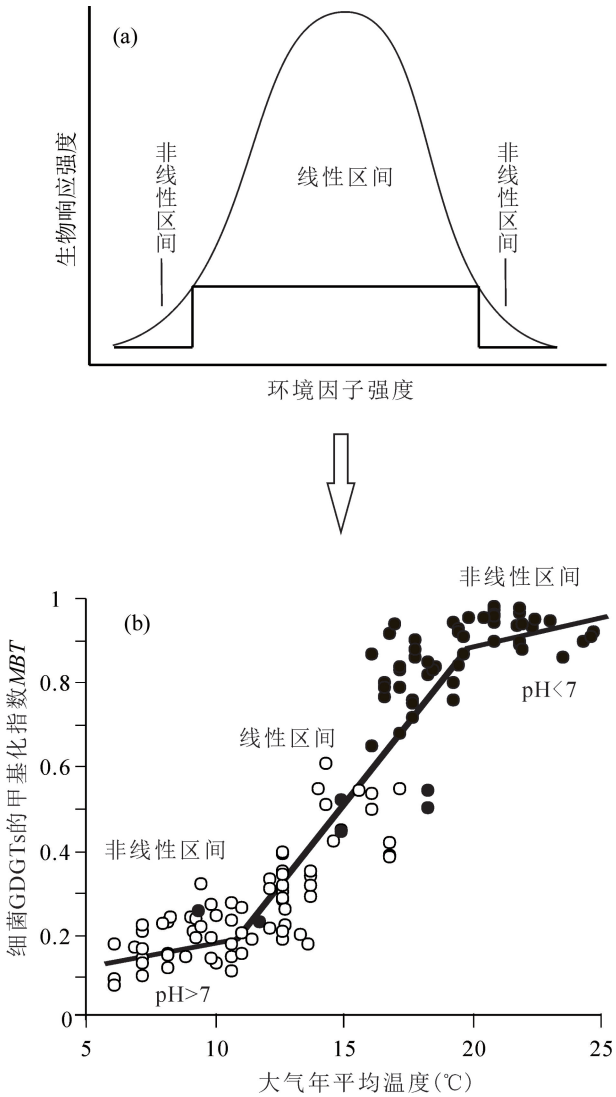

图 3 微生物对环境因子的响应(a)以及中国土壤细菌支链 GDGTs 的甲基化指数(*MBT*)对大气年平均温度的响应(b)(Yang Huan et al., 2014)

Fig. 3 Plots showing the linear and non-linear range of microbial response to environmental factors (a), and the linear and non-linear relationship between methylation of branched tetraethers of soil bacteria and mean annual atmospheric temperature(b) (Yang Huan et al., 2014)

$$TXE_{86}^{L} = \lg \frac{Ⅶ}{Ⅵ+Ⅶ+Ⅷ},$$

Ⅵ、Ⅶ、Ⅷ分别为含有 1、2 和 3 个五元环的古菌 GDGT;适用于-3~30℃;

$$SST/℃ = 68.4 \cdot TEX_{86}^{H} + 38.6 \quad (R^2 = 0.87),$$

其中

$$TEX_{86}^{H} = \lg \frac{Ⅶ+Ⅷ+Cren'}{Ⅵ+Ⅶ+Ⅷ+Cren'},$$

式中 Cren′是奇古菌醇的异构体;适用于 5~30℃。

3 微生物对环境因子的生态响应:代用指标的地区性差异问题

微生物可以对许多环境因子同时做出反应。微生物既可以响应温度、干旱等物理条件的变化,还可以响应诸如大气 CO_2 浓度、水体 pH、含氧量等化学条件的变化。一个微生物指标可以是多种环境因子响应的综合结果。特别值得注意的是,在一个地区,当某种环境因子成为限制性因子时,微生物往往主要受控于该环境因子,微生物学指标也主要响应这个环境因子的变化。而在另外一个地区,当另外一种环境因子成为限制性因子时,微生物受控环境因子发生变化,微生物学指标响应的环境因子也会发生变化。这样一来,在不同地区,同样的微生物学指标反映的生态环境因子可能是不同的。微生物对环境因子的生态响应存在地区性差异问题。因此,环境因子是否是微生物的限制性生态因子至关重要,是判断微生物学指标应用的关键所在。

这里还是以细菌支链 GDGTs 为例子。通过对全球土壤的调查发现,细菌支链 GDGTs 中的甲基相对数量(即甲基化指数,*MBT*)与大气年平均温度(*MAT*)和土壤 pH 有紧密联系,而这些化合物的五元环相对数量(环化指数,*CBT*)与土壤 pH 相关,因此,可以利用这两个指数 *MBT/CBT* 重建古温度。

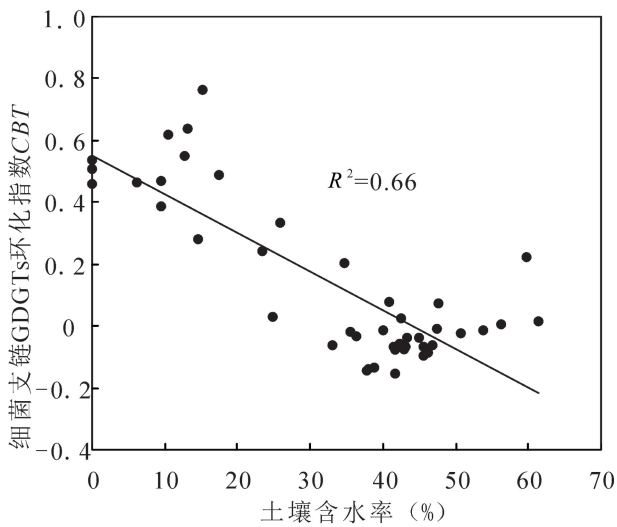

图 4 干旱区土壤细菌支链 GDGTs 的环化指数 *CBT* 与土壤含水率的关系(Dang Xinyue et al., 2016)

Fig. 4 Plot showing the relationship between the cyclization of branched tetraethers of soil microbes and the soil water content in arid regions (Dang Xinyue et al., 2016)

细菌支链 GDGTs 古温度计 *MBT/CBT*(甲基化指数/环化指数)的建立改写了陆地环境缺乏有效的有机地球化学古温度定量指标的状况。然而,利用 *MBT/CBT* 重建黄土高原 S_1 以来古温度值都偏高(Peterse et al.,2011;Gao Li et al.,2012)。这说明这一指标在干旱等极端环境的应用存在问题,可能需要考虑生态响应问题。

MBT/CBT 指标重建古温度的前提之一是 *CBT* 只响应 pH 的变化。这样可以通过 *CBT* 来消除 *MBT* 中的 pH 影响,提取出 *MBT* 中的古温度信号。但是,在一些干旱环境条件下,当 pH 比较稳定时,土壤的含水率成了微生物的限制环境因子,*CBT* 表现出与含水率有很好的相关性。例如,在西北干旱区的青海湖附近,可以从湖边一直到远离湖构建一个很好的土壤含水率梯度,而其他环境因子(如 pH、温度等)变化不大。在这个土壤含水率梯度剖面上,就发现了 *CBT* 与含水率有很好的相关性(图 4)。*CBT* 表现出与含水率而不是与 pH 存在相关性,这导致 *MBT/CBT* 在重建干旱区的古温度时就会出现问题。这是微生物对环境的生态响应之一。

MBT/CBT 指标重建古温度的另一个前提是 *MBT* 主要响应温度,其次才是响应 pH 的变化,这样才能通过 *CBT* 消除 *MBT* 中的 pH 这个次要影响因素而留下古温度的主要信号。然而,我们的工作发现,在降水量比较丰沛(*MAP*>500mm)的地区,*MBT* 主要响应温度的变化;而在降水量比较少的地区(如干旱区),*MBT* 与温度没有相关性,而主要响应降水量的变化(图 5)。这可能说明,在降水量比较丰沛的地区,含水率不是微生物的一个生态环境限制因子。相反,在降水量比较少的干旱地区,含水率

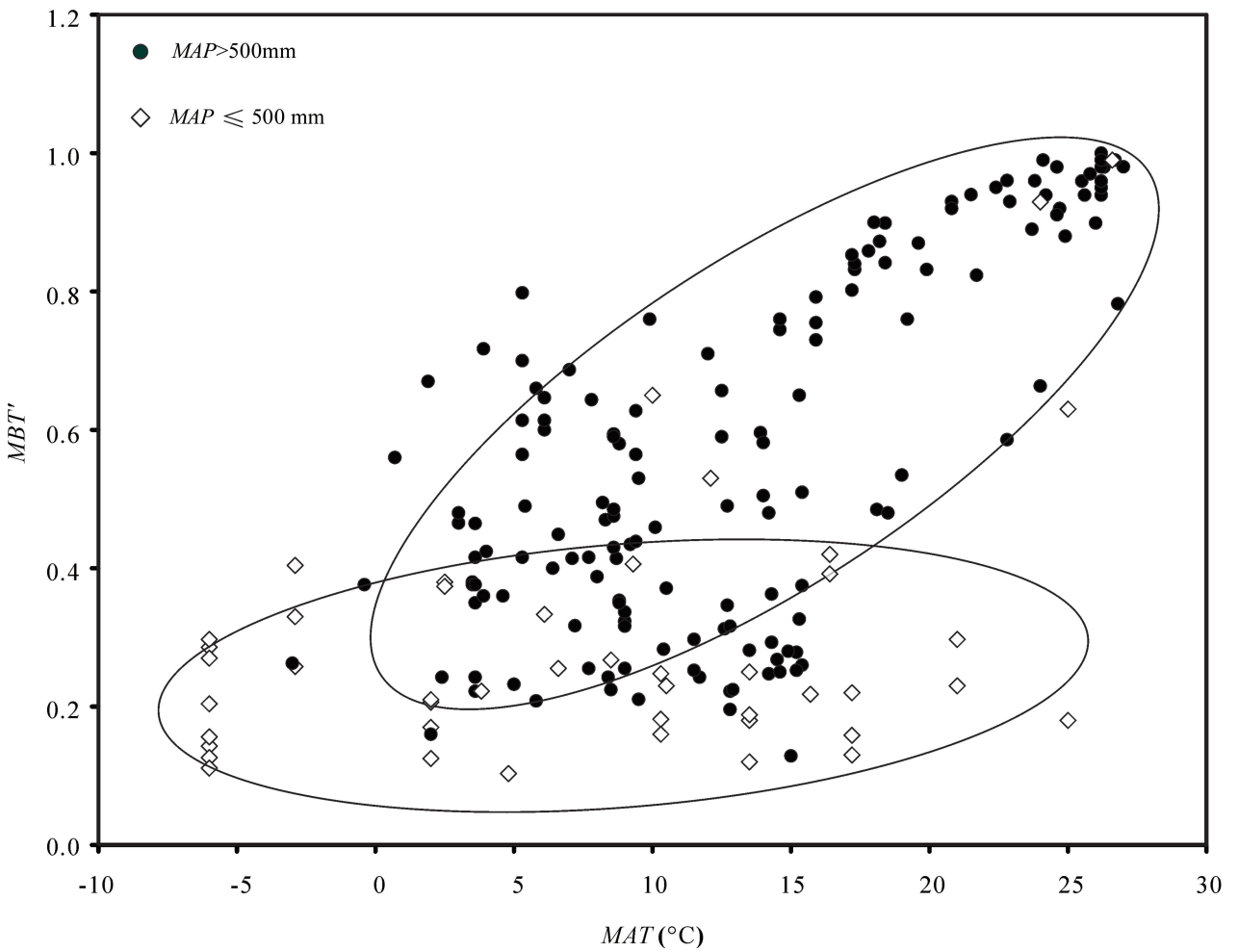

图 5 全球土壤细菌支链 GDGTs 的甲基化指数 *MBT'* 在不同的降水区(*MAP*)与温度(*MAT*)的相关性比较(Dang Xinyue et al., 2016)

Fig. 5 Plot showing different relationship between methylation of branched tetraethers of soil bacteria and mean annual atmospheric temperature (*MAT*) in regions with contrasting rainfall amount (*MAP*) in the world (Dang Xinyue et al., 2016)

成了微生物的一个生态环境限制因子,从而使 *MBT* 表现出与降水量的密切关系。这里又进一步说明,代用指标还需要考虑微生物的生态响应问题。

从以上细菌支链 GDGTs 的 *MBT/CBT* 的应用情况可以看出,生态环境限制因子对微生物的环境代用指标的应用具有特别重要意义。不同地区的生态环境限制因子不同,导致了同样的微生物指标可能响应不同的环境因子。因此,微生物的环境代用指标在不同地区应用时需要注意微生物的生态问题,特别需要注意一个地区的生态环境限制因子。

4 结论

微生物脂类的环境代用指标在定量重建古环境中发挥了突出的作用,但同时也存在许多值得注意的问题。在应用这些环境代用指标时,不仅要了解微生物通过脂类响应环境变化的化学机理,更要了解相应的微生物生态学和生理学原理。微生物通过脂类响应环境变化有多种化学方式可以实现,既可以通过不同脂类的同种化学方式实现,也可以通过不同脂类的不同化学方式实现。微生物对环境变化的多种化学响应方式使得许多代用指标可以实现相互验证,增强古环境重建结果的可靠性。微生物对地质环境的生理响应是有线性范围的,这决定了微生物脂类的环境代用指标的灵敏度。微生物对环境因子的生态响应决定了代用指标的应用存在地区性差异。某种生态环境的微生物活动往往受到一些限制性环境因子的控制,相应地微生物脂类的环境代用指标也主要响应这些限制性环境因子的变化。有些环境代用指标在一个地区可能响应温度的变化,而在另一个干旱地区则可能响应降水量的变化。因此,在应用环境代用指标时需要弄清楚微生物响应的化学途径、生理范围和生态效应。

参 考 文 献 / References

Dang Xinyue, Yang Huan, Naafs D, Pancost R D, Xie Shucheng. 2016. Direct evidence of moisture control on the methylation of branched glycerol dialkyl glycerol tetraethers in semi-arid and arid soils. Geochimica et Cosmochimica Acta, 189: 24~36.

Gao Li, Nie Junsheng, Clemens S, Liu Weiguo, Sun Jimin, Zech R, Huang Yongsong. 2012. The importance of solar insolation on the temperature variations for the past 110kyr on the Chinese Loess Plateau. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 317/318: 128~133.

Kim J H, Schouten S, Hopmans E C, Donner B, Sinninghe Damsté J S. 2008. Global sediment core—top calibration of the TEX_{86} paleothermometer in the ocean. Geochimica et Cosmochimica Acta, 72(4): 1154~1173.

Kim J H, van der Meer J, Schouten S, Helmke P, Willmott V, Sangiorgi F, Koç N, Hopmans E C, SinninghеDamsté J S. 2010. New indices and calibrations derived from the distribution of crenarchaeal isoprenoid tetraether lipids: Implications for past sea surface temperature reconstructions. Geochimica et Cosmochimica Acta, 74(16): 4639~4654.

Peterse F, Prins M A, Beets C J, Troelstra S R, Zheng H, Gu Z, Schouten S, Sinninghe Damsté J S. 2011. Decoupled warming and monsoon precipitation in East Asia over the last deglaciation. Earth and Planetary Science Letters, 301(1~2): 256~264.

Wang Canfa, Bendle J, Yang Yi, Yang Huan, Sun Huiling, Huang Junhua, Xie Shucheng. 2016. Impacts of pH and temperature on soil bacterial 3-hydroxy fatty acids: Development of novel terrestrial proxies. Organic Geochemistry, 94: 21~31.

Yang Huan, Pancost R D, Dang Xinyue, Zhou Xinying, Evershed R P, Xiao Guoqiao, Tang Changyan, Gao Li, Guo Zhengtang, Xie Shucheng. 2014. Correlations between microbial tetraether lipids and environmental variables in Chinese soils: Optimizing the paleo-reconstructions in semi-arid and arid regions. Geochimica et Cosmochimica Acta, 126: 49~69.

Some Issues in Microbial Responses to Environmental Change and the Application of Molecular Proxies

XIE Shucheng, YANG Huan, DANG Xinyue, WANG Canfa

State Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology, China University of Geosciences, Wuhan, 430074

Objectives: Microbes can show sensitive response to environmental change via the variation of cell membrane lipids. This enables the proposal and establishment of a series of molecular proxies for paleoenvionmental conditions. Among them, U^k_{37} of algal unsaturated long-chained ketones, TEX_{86} of archaeal tetraethers, and the *MBT/CBT* of bacterial tetraethers are the most widely-used proxies in paleoenvironmental reconstruction. However, the proxies were found difficult in practical application in some cases, which awaits the systematic analysis on the microbial physiology and ecology.

Methods: Molecular data of a variety of proxies were compiled from different microbes in different regions with various environmental conditions in modern soils in the world. Comparison was made among the molecular data

published, which enables us to investigate the biogeochemical, physiological, and ecological differences in microbial responses to the ambient environmental conditions.

Results: Three aspects related to the application of proxies were proposed to be deciphered, including the cross-check of multiple proxies due to the various biogeochemical processes, the sensitivity and the linear range of the proxies resulting from physiological responses, and the spatial heterogeneity of the proxies arising from the ecological difference. Biogeochemically, microbes can show responses to the ambient environmental conditions via several molecular patterns and pathways, providing a unique chance for the cross-check of multiple proxies. Physiologically, microbes are found to show a linear response to the environmental conditions only in certain range. The linear physiological response thus determines the sensitivity of the proxies for paleoenvironmental reconstruction. Ecologically, microbes might show responses to different environmental factors in different regions. The heterogeneity of ecological responses could affect the proxies used in different regions. Microbial activities in a specific environment might be restricted by a specific factor, such as the aridity in arid region, which in turn leads to the molecular proxies in a sensitive response to this particular factor instead of other factors.

Conclusions: Application of microbial molecular proxies awaits the systematic investigations on all the biogeochemical, physiological and ecological responses. Care should be taken when we use these proxies without any knowledge of physiology and ecology of the corresponding microbes.

Keywords: Geomicrobes; lipids; geobiology; ecology; global change; paleoclimate

Acknowledgements: The work is financially supported by the State Key R&D Program of China (grant no. 2016YFA0601104), and the National Natural Science Foundation of China (grant no. 41330103).

First author: XIE Shucheng, male, born on October 10, 1967, Professor, major research interest in geobiology and global change. Email address: xiecug@163.com

Manuscript received on: 2017-06-23; Accepted on: 2017-12-21; Edited by: ZHANG Yuxu

Doi: 10.16509/j.georeview.2018.01.013

《地质论评》等继续被授予“中国最具国际影响力学术期刊”称号

2017 年 11 月 22～23 日，由中国期刊协会、中国科学技术期刊编辑学会、中国高校科技期刊研究会、全国高等学校文科学报研究会、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社有限公司主办的“2017 中国学术期刊未来论坛”上，《地质论评》、《地质学报》和《地质学报》(英文版)等继续被授予“2017 中国最具国际影响力学术期刊”称号。

“中国最具国际影响力学术期刊”是国际影响力指数 *CI* 在前 5%的期刊，每年共遴选 175 种。而前 5%～10%的 175 种期刊被授予“国际影响力优秀学术期刊”称号。国际影响力指数 *CI* 是依据期刊被“SCI”统计源期刊等引用的他引总被引频次(*TC*)和他引影响因子(*IF*)、*JMI* 指数，依一定公式计算得出。

***Geological Review* et al. Continuously Awarded the Title of “the Most Influential International Academic Journals of China”**