

文章编号:1000-0550(2004)04-0672-04

洱海沉积物中有机质和 DNA 的分布特征

魏中青^{1,2} 刘丛强¹ 梁小兵¹ 汪福顺¹

1(中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室 贵阳 550002)2(中国科学院研究生院 北京 100039)

摘要 测定了洱海沉积物中有机碳、氮,提取了沉积物中的 DNA。有机碳氮呈现相同的变化趋势:降解主要发生在表层 10cm;7cm 前后氧化-还原条件变化,微生物电子受体改变,所以有机质的降解方式不同,出现不同的特征。利用分子生物学和地球化学相结合的方法,能更全面的认识和理解早期成岩过程。

关键词 DNA 分解速率常数 有机碳

第一作者简介 魏中青 女 1979 年出生 博士研究生 环境地球化学

中图分类号 X142 **文献标识码** A

湖泊沉积物是湖泊演化的产物,能够反映湖泊的类型,沉积记录能反映区域及全球环境的变迁。碳、氮是湖泊沉积物中的主要的营养元素,其在沉积物中的小循环不仅影响到湖泊上覆水体的水质,还对全球营养元素的循环,污染物的迁移转化有着重要的意义。微生物对碳、氮在自然界的循环具有重要的影响力,同时伴随着物质流动、能量转化和信息传递过程,而湖泊沉积物中异氧微生物对有机质的降解是早期成岩反应的重要驱动力^[1]。微生物不仅对于湖泊沉积有着重要的作用,而且对于造丘成岩,营养盐固定与释放都有重要的影响^[2,3]。因此,现代地球化学研究越来越重视微生物地球化学的研究。

然而,大量的研究已经指出,环境中绝大多数的微生物,通过传统的培养方法,是不能够分离和培养的^[4,5]。很多微生物在沉积物环境中生活的游刃有余,但是在实验室条件下却不能被培养^[6]。沉积物中微生物 DNA 的分离技术可以克服和弥补传统的培养技术的不足与测定的偏差,从而更精确和全面的探索微生物在自然环境中的作用。自然环境中微生物 DNA 的分离技术已经成为环境研究中新兴而且重要的工具^[7]。利用分子生物学的方法和地球化学方法相结合,解决一些生物地球化学的问题,是地学的前沿领域,目前这方面研究国内研究较少^[8,9]。不同的环境基质应选用适合的方法,本文采样改进的 DNA 的提取和纯化方法,初步研究了沉积物中有机碳和微生物的变化规律,阐述了微生物在有机质的降解过程

的重要作用。

1 样品和方法

1.1 研究区概况

洱海位于云南省大理市北郊,100°05'~100°17'E,25°35'~25°58'N,呈北北西—南南东方向狭长状展布,长 42 km,最大宽度 8.4 km,属澜沧江水系。该湖正常水位 1974 m(海防高程),水面面积 249.8 km²,汇水面积 2656 km²,湖泊补给系数约 10.6;平均水深 10.5 m,最大水深 20.9 m;湖水容量约 2.88 × 10⁹ m³,年输送量 8.13 × 10⁸ m³,湖水寄宿时间 2.75 a。洱海周围岩石、土壤类型较多,大理苍山属变质岩,洱海东面、西面多为石灰岩,但表土以红壤、水稻土、冲积土为主。洱海湖畔的大理市历来都是滇西政治、经济、文化中心,湖区人口稠密、工农业发达、旅游业兴旺。

1.2 采样和分析方法

采用自行研制的便携式沉积物采样器^[10],于 2002 年 7 月在洱海南部开阔深水区采得长 30 cm 的沉积物柱 EH020728-2。所采集到的沉积物柱界面水清澈,沉积物保存完好明显未受到扰动,能够比较好的地反映湖泊自然的沉积状况。沉积物柱在采样现场按 1cm 间隔切分,装入自封袋中密封保存。样品带回实验室,经真空冷冻干燥器(FD3—85D—MP 型冷干仪)干燥后,碾磨成小于 150 目的粉末。沉积物样品用 2N 的盐酸酸化处理后,采用美国 PE 公司生产的 PE2400 SERIES 型元素分析仪进行了 C 和 N 含

量的测定,分析误差小于5%。

另称取2g干燥样品,加入10mg ml⁻¹的溶菌酶溶液浸湿,37℃温育2小时,期间振荡5至8次。取出,加入DNA提取液5ml,混匀。用冷冻离心机(FD—3—85—MP)在4℃,4000转/分钟条件下离心30分钟,取上清液。残留沉积物重复提取2次,上清液混合在一起。上清液分别用等体积的饱和酚、氯仿-异戊醇抽提多次,上述条件离心,取上清液。最后,用乙醇沉淀DNA。将干燥DNA溶解于100μl TE溶液中,取10μl溶液于点样板上,加入2μl DNA染色液,充分混匀后,转移到含有0.5%的EB的琼脂糖凝胶板孔中,在45V稳压,0.5×TBE缓冲液中,进行琼脂糖凝胶电泳,完毕后,用Tanon GIS—2008成像系统在紫外光下拍摄图像,然后进行图像处理。

2 结果和讨论

2.1 洱海沉积物中有机碳、氮含量分布

洱海沉积物柱芯有机碳、氮含量垂直分布见图1。图上可以看出有机碳总体呈现下降的趋势,表层7cm,有机碳从6%下降到3%,并呈指数下降趋势;7~10cm又出现一个明显的下降的坡度,后保持在2%,基本没有变化。有机氮含量和有机碳的含量分布基本一致。C/N原子比在8~10之间,表明洱海有机质主要来源于无维管束陆源植物。

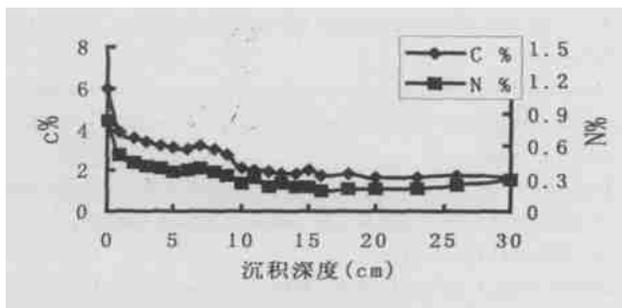


图1 洱海沉积物中有机碳、氮垂直分布曲线

Fig. 1 The distribution of organic carbon and nitrogen in the sediments of Erhai Lake

洱海沉积物有机碳氮的降解主要发生在表层7cm内,可以根据下降的程度估算有机碳、氮的分解速率常数^[11]。设有机碳、氮的分解为一级反应, Z 表示沉积物的深度(cm), C_0 、 C_Z 分别表示深度为0cm和 Z cm时的含量, K 为分解速率常数(a^{-1}), S 为沉积速率($cm a^{-1}$),则

$$K = \ln(C_0/C_Z) / (Z/S),$$

采样点沉积物平均沉积速率 S 为 $0.22 mm \cdot a^{-1}$ ^[12],计算得出洱海沉积物有机碳和氮的分解速率常数分别为 $0.023 a^{-1}$ 、 $0.027 a^{-1}$ 。分解速率常数还可以作为判断有机质在沉积物中保存时间的指标。分解速率常数越大,表明其降解反应迅速,为相对年轻的沉积物,其保存时间也越短。将反应速率常数取倒数即可得到其保存时间,所以,洱海沉积物中有机碳、氮的保存时间约为44a、37a。

有机碳和氮的变化趋势基本一致,二者之间存在明显的相关关系,相关系数 R 值达到0.89(见图2),与计算所得分解速率常数值一致,表明微生物对有机碳和氮的降解速率相当,与海洋中有机氮优先被利用的情况不同。

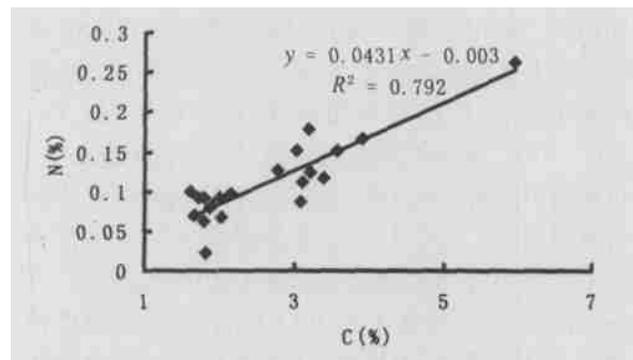


图2 洱海沉积物中有机碳和氮的相关关系

Fig. 2 The relation between organic carbon and nitrogen in sediments of Erhai Lake

2.2 洱海沉积物中DNA的变化

采用改进的DNA的提取纯化方法,提取了洱海沉积物中DNA。利用DNA可以在紫外光下发光,而且发光的强度与其含量成正比的效应,对DNA凝胶进行紫外光下拍照(图2横向代表沉积深度)。沉积物表层7cm DNA发光较强,含量相对较高;7cm后发光不明显,含量相对较低。

2.3 洱海沉积物中DNA和有机质的关系

有机质在沉降过程中,一部分已经被降解掉,一部分到达沉积物界面^[13]。这部分有机质在微生物的作用下被进一步降解。洱海是永久性含氧湖泊,表层沉积物中好氧微生物是优势种,生物量高,表层沉积物有机质的降解也最剧烈。从沉积物DNA的图像也可以看出,表层7cmDNA的含量相对较高,表明微生物

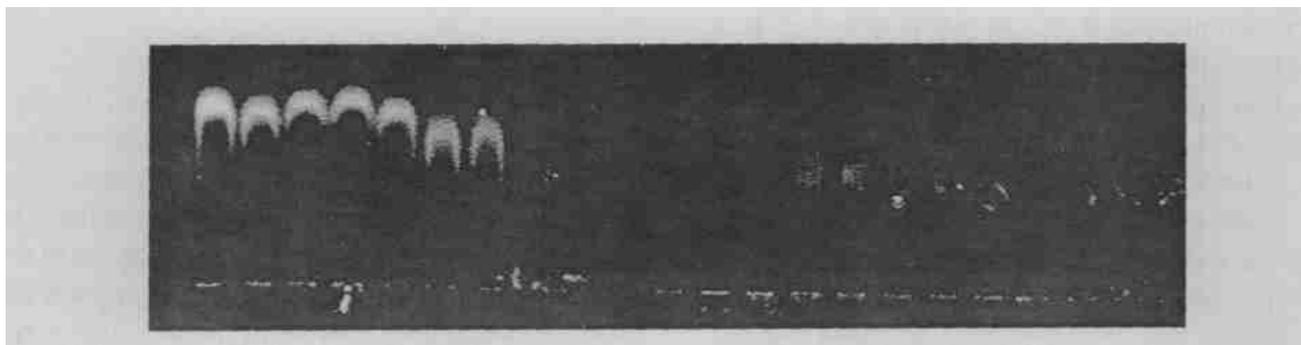


图 3 洱海沉积物中 DNA 的紫外图像

Fig. 3 The UV photo of DNA in the sediments of Erhai Lake

物生物量较高,活动剧烈,对有机质的降解剧烈,此结果与有机质在表层堆积的观点相反。

有机碳氮在 0 cm 至 7 cm 呈指数下降,7 cm 至 10 cm 的坡度可能与微生物对有机质的降解方式不同相关。Nealson 等^[14]通过对沉积物还原产物的观察和热力学角度的推导,发现了海洋沉积物中有机质降解对电子受体的利用顺序: O_2 , NO_3^- , Mn, Fe, SO_4^{2-} , CO_2 。洱海沉积物微生物以好氧微生物为主,沉积物中出现一些贝壳,表明生物扰动较强烈,所以含氧层较深。表层 7 cm 有机质降解主要以 O_2 作为电子受体, DNA 的图像也显示微生物生物量较高。7 cm 后基本处于厌氧环境, DNA 的含量较低,微生物量低,活动较微弱,有机质的好氧降解停止,有机质已经降解掉 75% ~ 80%。罗莎莎等^[15]对洱海沉积物中 Fe、Mn 的研究结果显示, Fe 和 Mn 的总量并没有明显的变化,只有 7 cm 后 Mn^{4+} 出现变化,有机质降解电子受体改变,与本研究有机质在 7cm 出现的坡度和 DNA 的结果相符合。

微生物在沉积物有机质的矿化和保存中起着主要的作用,是早期成岩反应的重要驱动力。应用分子生物学和地球化学相结合的学科交叉的方法,能够从分子水平更细微的了解各元素的生物地球化学行为,更深入的理解一些环境问题的根源,从而更全面的认识和解决地球化学问题。

参考文献(References)

- 1 Froelich P, Klinkhammer G, Bender M, *et al.* Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: suboxic diagenesis. *Geochim Cosmochim Acta*, 1979, 43:1075 ~ 1090
- 2 刘志礼,刘雪娴,李朋富. 藻类及其有机质的成矿作用试验. *沉积学报*, 1999, 17(1): 9 ~ 18 [Liu Zhili, Liu Xuexian, Li Bengfu. Mineralization tests made by algae and its organic matters. *Acta Sedimentologica Sinica*, 1999, 17(1): 9 ~ 18]
- 3 夏学惠,东野脉兴,周建民,等. 滇池现代沉积物中磷的地球化学及其对环境的影响. *沉积学报*, 2002, 20(3): 416 ~ 420 [Xia Xuehui, Dong Ye Maixing, Zhou Jianmin, *et al.* Geochemistry and influence to environment of phosphorus in modern sediment in Dianchi Lake. *Acta Sedimentologica Sinica*, 2002, 20(3): 416 ~ 420]
- 4 Atlas L R. *Microbial ecology, fundamentals and applications*, 3rd Edition. Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA, 1993. 563
- 5 Amann R L, Ludwig W, Schleifer K H. Phlogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, 1995, 59:143 ~ 169
- 6 Orphan V J, Taylor L T, Hafenbrad D, *et al.* Culture - dependent characterization of microbial assemblages associated with high - temperature petroleum reservoirs. *Applied, and Environmental. Microbiology*, 2000, 66: 700 ~ 711
- 7 Liesack W, Stackebrandt E. Occurrence of novel groups of the domain Bacteria as revealed by analysis of genetic material isolated from an Australian terrestrial environment. *Journal of Bacteriology*, 1992, 174:5072 ~ 5078
- 8 Liang Xiaobing, Wan Guojiang, Huang Ronggui, *et al.* Variation of protein and RNA in the sediments of Lake Aha. *Geochimica*, 2001, 30(4): 343 ~ 346
- 9 Liang Xiaobing, Wan Guojiang, Huang Ronggui, *et al.* Dynamic study of protein and amino acids in lake sediments. *Acta Mineralogica Sinica*, 2001, 21(1): 59 ~ 63
- 10 Wang Yuchun, Huang Ronggui, Wan Guojiang, The newly developed sampler for collecting samples near the lacustrine sediment-water interface. *Geology Geochemistry*, 1998, 1: 94 ~ 96
- 11 Hong Huasheng, Xu Li, Guo Laodong, *et al.* Geochemistry of C, N, P and S in the sediments of South Sea. *These of Marine Biogeochemistry Study*. 1996. 31 ~ 38
- 12 Zheng Zhenke, Wu Ruijin, Shen Ji, *et al.* Lacustrine records of climatic change and human activities in the catchment of Erhai Lake, Yunnan province since the past 1800 years. *Journal of Lake Sciences*, 2000, 12(4): 297 ~ 303.
- 13 Meyers P A, Ishiwatari R. Organic matter accumulation records in lake sediments. In: Lerman, A., Imboden D, Gat J, eds. *Physics and Chemistry of Lakes*. Springer-Verlag, Berlin and Heidelberg, 1995. 279

- ~ 328
- 14 Nealson K H, Saffarini D. Iron and manganese in anaerobic respiration: Environmental significance, physiology and regulation. *Annals Review of Microbiology*, 1994, 48:311 ~ 343
- 15 Luo Shasha, Wan Guojiang, Huang Ronggui. Characteristics of distribution and removal of Fe and Mn at the sediment - water interface of Erhai Lake, Yuannan province. *Environmental Science in Chongqing*, 2000, 22(6):19 ~ 21.

Characteristics of Organic Matter and DNA in Sediments of Lake Erhai

WEI Zhong-qing^{1,2} LIU Cong-qiang¹ LIANG Xiao-bing¹ WANG Fu-shu¹

1(State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002)

2(Graduate School of the Chinese Academy Sciences, Beijing 100039)

Abstract The contents of organic carbon and nitrogen were measured and DNA was extracted in the sediments of Lake Erhai. The distribution of organic carbon and nitrogen is consistent, i. e. degradation of organic carbon and nitrogen occurred in 10cm surface sediments and the modes of degradation change at 7cm, resulting in the different characteristics. Using the methods of molecular biology connecting with geochemistry, diagenesis process can be understood deeply.

Key words DNA, degradation, organic carbon, diagenesis