

# 日偏食对乌鲁木齐空气微生物群落功能多样性的影响

马晶<sup>1,2</sup> 张涛<sup>1</sup> 曾军<sup>1</sup> 林青<sup>2</sup> 段魏魏<sup>2</sup> 娄恺<sup>1\*</sup>

(1. 新疆特殊环境微生物实验室 新疆 乌鲁木齐 830091)

(2. 新疆大学 生命科学与技术学院 新疆 乌鲁木齐 830046)

**摘要:** 为了了解日偏食对空气微生物群落碳代谢的影响, 利用 BIOLOG 指纹图谱方法分析日偏食前后乌鲁木齐空气微生物群落碳代谢功能多样性的变化。结果表明, 日偏食当天空气微生物的碳源代谢能力高于其他几天。微生物群落多样性指数方差分析显示, 当天(2009 年 7 月 22 日) Shannon-Wiener 多样性指数最高; 主成分分析表明对碳源利用起分异作用的主要是羧酸类物质。日偏食会影响乌鲁木齐空气微生物群落功能多样性。

**关键词:** 日偏食, 空气微生物, 功能多样性

## Effect of partial solar eclipse on functional diversity of airborne microbial community in Urumqi

MA Jing<sup>1,2</sup> ZHANG Tao<sup>1</sup> ZENG Jun<sup>1</sup> LIN Qing<sup>2</sup> DUAN Wei-Wei<sup>2</sup> LOU Kai<sup>1\*</sup>

(1. XinJiang Laboratory of Special Environmental Microbiology, Urumqi, Xinjiang 830091, China)

(2. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830046, China)

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the effect of partial solar eclipse on the carbon metabolic diversity of airborne microorganisms. We used Biolog metabolic fingerprinting method to analyze the variation of the carbon metabolic diversity of airborne microbial community in Urumqi before and after partial solar eclipse. The results suggested that the ability of carbon sources utilization for microbes on the day was higher than other days. The analysis of variance of the microbial community diversity indices showed that Shannon-Wiener diversity was the highest on the day; and principal component analysis demonstrated that carboxylic acids was the mainly carbon sources to the differentiation of the airborne microorganisms. Hence partial solar eclipse may affect the functional diversity of air microbial community in Urumqi.

**Keywords:** Partial solar eclipse, Airborne microbe, Functional diversity

2009年7月22日的日全食时间长达6 min, 是1814年至2309年间在我国境内观察持续时间最长、覆盖人口最多的一次<sup>[1]</sup>。此次在新疆地区观测为日偏食, 太阳可视面积为68%, 发生于当日8:21–10:03。

空气微生物作为生态系统重要的生物组成部分, 与空气污染、环境质量和人体健康密切相关<sup>[2]</sup>。目前针对空气微生物的研究主要集中于其类型<sup>[3]</sup>、浓度的时空变化<sup>[4]</sup>及其群落结构的影响因素<sup>[5]</sup>等方面。对空气微生物多样性的研究表现在对物种和生态特征方面, 而对其功能多样性和不同种群间的关系的研究较少。空气微生物群落结构和物种组成很不稳定, 易受各种环境因子的影响而使其种类、数量和浓度等发生很大改变<sup>[6]</sup>。由于日偏食期间气温、空气湿度、气压、紫外指数等环境因素有所变化<sup>[7]</sup>, 空气中的微生物种类和数量可能会受到影响而发生改变。为了了解日偏食对空气微生物的影响, 本研究利用Biolog Eco板探讨了日偏食对乌鲁木齐空气微生物代谢碳源能力的影响, 以揭示日偏食期间空气微生物群落的功能多样性变化, 为日食的微生物学研究提供相应的科学参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品采集:** 2009年7月20日至7月24日(日偏食前2天, 当天和后2天)每天上午9:00、9:15和9:30, 每隔15 min于新疆农业科学院棉花中心实验楼楼顶(42°07'47"N, 88°55'13"E, 距地面30 m左右)采集样品。样品编号分别为Sample 1、Sample 2、Sample 3、Sample 4和Sample 5, 其中Sample 3为日偏食当天(22日)采集。采用液体撞击式微生物气溶胶采样器收集空气于20 mL PBS缓冲液中, 样品采集后立即装入50 mL无菌聚丙烯锥形离心管中于-80℃保藏。温度、湿度等气象指标由新疆气象局气象信息中心提供。

**1.1.2 主要仪器和试剂:** 离心机(5417R, Eppendorf), BIOLOG微生物自动分析系统(Biolog Micro-

Station<sup>TM</sup>, USA), 生化培养箱(LRH-250A 广东省医疗器械厂), 摇床(THZ-C-1 中科院新疆仪器厂)。

**1.1.3 R2A培养基(g/L):** 酵母膏 0.5, 酸水解酪蛋白 0.5, 胍间质蛋白 0.5, 葡萄糖 0.5, 可溶性淀粉 0.5, 丙酮酸钠 0.3, 磷酸氢二钾 0.3, 硫酸镁 0.05, 琼脂 15, pH 7.2,  $1 \times 10^5$  Pa 灭菌 15 min。

### 1.2 方法

**1.2.1 空气微生物群落代谢活性测定:** 采用BIOLOG生态微平板(BIOLOG Eco Plate<sup>TM</sup>)测定。样品解冻后用8道加样枪直接接种于BIOLOG ECO板(150 μL/孔), 将ECO板置于28℃培养7–10 d, 每隔24 h测定750 nm处的光密度值, 直至光密度值稳定为止。

**1.2.2 孔平均颜色变化率(Average well-color development, AWCD):** 采用孔平均颜色变化率法(AWCD)测定空气微生物利用单一碳源的能力。AWCD值的计算公式:

$$AWCD = \sum (C_i - R) / 31$$

式中,  $C_i$  为各反应孔在750 nm下的光密度值;  $R$  为ECO板对照孔A1的光密度值;  $C_i - R$  小于零的孔, 计算中记为零, 即:  $C_i - R \geq 0$ <sup>[8]</sup>; 每种碳源反应孔的平均颜色变化率  $AWCD_i = C_i - R$ , 代谢指纹图谱中  $AWCD_i$  为3次重复平均值。

**1.2.3 多样性分析:** 本研究采用BIOLOG微平板培养指数时期72 h的数据来进行微生物代谢多样性分析。计算Shannon指数  $H'$  (用于评估物种的丰富度)、Simpson指数  $D$  (用于评估某些最常见种的优势度)和McIntosh指数  $U$ <sup>[9]</sup> (用于评估群落物种均匀度)。

**1.2.4 数据处理:** 实验数据采用Excel (V2003)、SPSS (V17.0)进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 日偏食前后乌鲁木齐气象指标的变化

日偏食发生当天, 乌鲁木齐的湿度、气压和紫外指数均有所下降(表1), 日偏食过后1 d, 平均风速和温度均达到最低值。

表 1 日偏食前后乌鲁木齐气象指标  
Table 1 Parameters of meteorology before and after partial solar eclipse in Urumqi

| 环境因子<br>Environmental factor                                | 采样时间 Sampling time  |                     |                     |                     |                     |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|   | 7 月 20 日<br>July 20 | 7 月 21 日<br>July 21 | 7 月 22 日<br>July 22 | 7 月 23 日<br>July 23 | 7 月 24 日<br>July 24 |
| 温度 Temperature (0.1 °C)                                     | 207.5               | 240.0               | 258.0               | 207.5               | 218.0               |
| 湿度 Humidity (1%)  | 47.0                | 36.5                | 27.0                | 38.0                | 28.5                |
| 气压 Pressure (0.1 hPa)                                       | 9 065.5             | 9 054.5             | 9 024.5             | 9 047.5             | 9 049.5             |
| 紫外指数 UV index [ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ] | 3.3                 | 3.2                 | 1.9                 | 1.1                 | 1.8                 |
| 总辐射 Overall radiation (0.01 MJ/m <sup>2</sup> )             | 289.5               | 292.5               | 287.5               | 194.0               | 285.0               |
| 2 min 平均风速 Wind velocity (0.1 m/s)                          | 14.5                | 15.5                | 18.0                | 13.0                | 18.5                |

2.2 板孔平均颜色变化率(AWCD)

孔平均颜色变化率反映了微生物群落碳源利用水平,是微生物群落利用单一碳源能力的一个重要指标,可以反映空气微生物的活性和生理功能多样性<sup>[10]</sup>。在整个培养期间(196 h),AWCD 值在 24 h 之前很小,说明在 24 h 之内碳源未被很好利用。培养 24 h 后 AWCD 急剧上升,反映出此后碳源利用较快。培养 120 h 之前,发现日偏食发生前和当天 AWCD 值均高于其发生之后,尤其是当天(22 日, Sample 3)空气微生物利用碳源能力均高于其他几天,120 h 之后趋于稳定并逐渐下降,表明 5 个样本当中空气微生物利用碳源能力存在明显差异(图 1)。

2.3 日偏食前后乌鲁木齐空气微生物群落多样性分析

选取 72 h 测定的 AWCD 值根据各指数计算公式分析其多样性。发现 72 h 时各项多样性指数均随日偏食临近而增大,随后减小,日偏食当天为最大(表 2)。

2.4 微生物群落功能主成分分析(Principal component analysis, PCA)

培养 72 h 的数据经标准化后,进行微生物群落功能主成分分析(PCA)。结果表明,5 个样品在 31 种碳源构建的主成分三维体系中存在明显的空间分异(图 2)。按照统计分析的原理累积方差贡献率大于 85%时可以反映系统的变异<sup>[11]</sup>,因此 31 个主成分

中提取前 4 个因子,其累积贡献率达到 91.143% ( $\geq 85\%$ ),特征根分别为 2.052、1.075、0.968、0.462、0.443,前 3 个因子累积贡献率达 81.907% (表 3),可以解释一半以上的差异,因此选取前 3 个主成分来分析微生物群落功能多样性。由图 2 可见,5 个样品在主成分坐标体系中分布差异十分明显,其中 PC1 可以很好地区分开几个样品, Sample 1、Sample 2 和 Sample 3 投影点均分布在 PC1 和 PC3 的负端, Sample 4 和 Sample 5 投影点分布在 PC1 的正端、PC3 的负端。

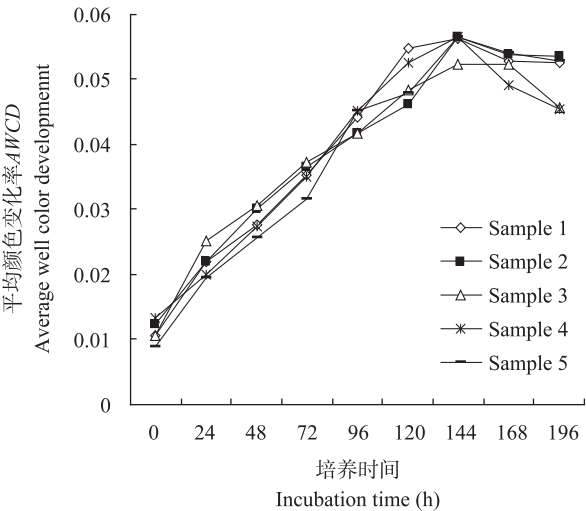


图 1 196 h 培养期间平均颜色变化率  
Fig. 1 Changes of average well color development (AWCD) during 196 h incubation

| 表 2 日偏食前后乌鲁木齐空气微生物群落多样性指数   |                                    |                         |                             |
|---|------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Table 2 Indices of diversity of airborne microbial community before and after partial solar eclipse in Urumqi |                                    |                         |                             |
| 样品编号  | 多样性指数                              | 基尼指数                    | 麦金指数                        |
| Sample code   | Shannon-Wiener index ( <i>H'</i> ) | Gini index ( <i>D</i> ) | McIntosh index ( <i>U</i> ) |
| Sample 1  | 2.689 95±0.224 62b                 | 0.887 82±0.055 54a      | 0.370 96±0.254 15a          |
| Sample 2  | 2.964 28±0.145 29a                 | 0.887 96±0.101 82a      | 0.510 05±0.111 14a          |
| Sample 3  | 3.173 62±0.075 16a                 | 0.904 16±0.014 96a      | 0.561 16±0.201 17a          |
| Sample 4  | 2.615 91±0.121 15b                 | 0.896 97±0.072 71a      | 0.437 48±0.219 78a          |
| Sample 5  | 2.583 27±0.168 31b                 | 0.847 66±0.045 89a      | 0.430 41±0.207 21a          |

注: 同一列中具有相同字母表示结果差异不显著( $P<0.05$ ).  
Note: The same letters in same column means no significant difference at ( $P<0.05$ ).

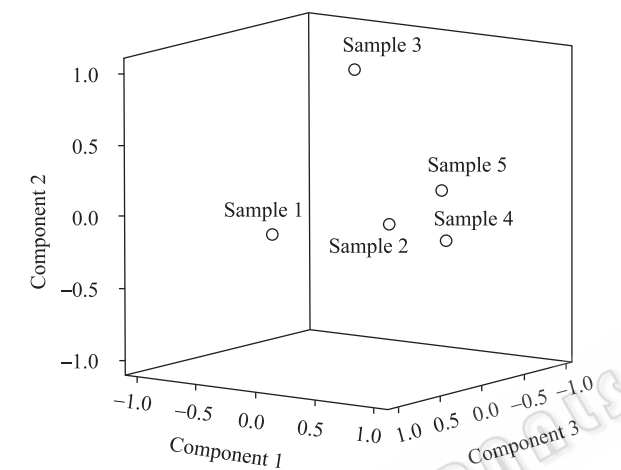


图 2 空气微生物 72 h 主成分分析因子载荷图  
Fig. 2 Loadings of principal component analysis after 72 h culturing for airborne microbes

| 表 3 主成分特征根   |             |                         |                               |
|--|-------------|-------------------------|-------------------------------|
| Table 3 Principal components characteristic vector |             |                         |                               |
| 成分   | 特征根         | 方差贡献率                   | 累积方差贡献率                       |
| Component  | Latent root | Percent of variance (%) | Percent of total variance (%) |
| PC1  | 2.052       | 41.038                  | 41.038                        |
| PC2  | 1.075       | 21.507                  | 62.544                        |
| PC3  | 0.968       | 19.363                  | 81.907                        |
| PC4  | 0.462       | 9.236                   | 91.143                        |
| PC5  | 0.443       | 8.857                   | 100.000                       |

主成分分析中的载荷因子可反映不同碳代谢的差异, 绝对值越大表明该基质的影响越大<sup>[12]</sup>。5 个样品中空气微生物代谢基质可分为 3 个主成分(表 4), 第一主成分荷载 0.5 以上的有 20 种基质, 荷载 0.8 以上的有 7 种, 其中羧酸类占 4 种; 第二主成分

荷载 0.5 以上的有 6 种基质; 第三主成分荷载 0.5 以上的有 4 种基质。这说明供试的大部分空气微生物碳代谢功能群结构的差异主要体现在第一主成分荷载因子高的基质上, 特别是羧酸类, 但一些微生物碳代谢功能群结构的差异也反映在利用第二、第三主成分荷载因子比较高的基质上。  
31 种基质对 PC1、PC2 和 PC3 贡献的特征向量系数大于 0.50 的碳源类型中(表 4), 对 PC1 贡献大的碳源有 20 种, 其中羧酸类占 35%, 碳水化合物类占 25%, 氨基酸类占 20%, 可见影响 PC1 的主要是羧酸类, 对 PC2 和 PC3 贡献大的碳源分别为 6 种和 4 种, 表明羧酸类可能是空气微生物生理代谢途径的重要物质, 也可能是空气微生物在这些碳源的利用能力上有差异。

3 讨论

相关研究表明, 日食对当地气象会有相应影响。Pleijel 等人<sup>[7]</sup>发现土耳其发生日食期间温度降低 5℃, 大气压力变化不大。本次日偏食期间, 太阳可视面积为 68%, 致使紫外指数、总辐射值在日偏食当天降低, 温度和风速在过后 1 d 降为最低。这与 Fernandez 等人<sup>[13]</sup>的研究结果一致。

空气微生物活性和功能多样性可通过 AWCD 值和多样性指数来反映<sup>[14]</sup>。日偏食当天所测得 AWCD 值和多样性指数均高于其他几天, 分析发现当天通过可培养方法分离到的菌株数量和种类也高于其他几天, 使得微生物利用碳源能力较强。

表 4 空气微生物代谢 31 种基质的主成分分析载荷因子  
Table 4 Loading factors of three principle components indicating utilization of 31 substrates of airborne microbes

| 基质                      | Substrates                          | PC1    | PC2    | PC3    |
|-------------------------|-------------------------------------|--------|--------|--------|
| 氨基酸类<br>Amino acids     | L-Arginine                          | 0.245  | -0.048 | 0.064  |
|                         | L-Asparagine                        | 0.824  | 0.175  | -0.356 |
|                         | L-Phenylalanine                     | 0.784  | -0.468 | -0.131 |
|                         | L-Serine                            | 0.723  | -0.381 | 0.328  |
|                         | L-Threonine                         | 0.765  | -0.060 | -0.385 |
|                         | Glycyl-L-glutamic acid              | 0.412  | -0.050 | -0.561 |
| 碳水类<br>Carbohydrates    | D-Cellobiose                        | 0.410  | -0.120 | -0.131 |
|                         | $\alpha$ -D-Lactose                 | 0.477  | 0.693  | 0.130  |
|                         | $\beta$ -Methyl-D-glucoside         | 0.257  | 0.814  | 0.314  |
|                         | D-Xylose                            | 0.684  | -0.315 | 0.587  |
|                         | D-Erythritol                        | 0.417  | -0.394 | -0.032 |
|                         | D-Mannitol                          | 0.789  | -0.388 | 0.355  |
|                         | N-acetyl-D-glucosmine               | 0.774  | -0.234 | -0.499 |
|                         | Glucose-1-phosphate                 | 0.693  | 0.224  | -0.366 |
|                         | D,L- $\alpha$ -glycerol             | 0.396  | 0.874  | 0.114  |
|                         | D-Galactonic acid $\gamma$ -lactone | 0.589  | 0.218  | 0.394  |
| 羧酸类<br>Carboxylic acids | Pyruvic acid methyl ester           | 0.452  | 0.347  | 0.707  |
|                         | D-Glucosaminic acid                 | 0.827  | 0.444  | 0.057  |
|                         | D-Galacturonic acid                 | 0.838  | 0.237  | 0.196  |
|                         | 2-Hydroxy benzoic                   | 0.636  | -0.648 | 0.136  |
|                         | 4-Hydroxy benzoic                   | 0.864  | -0.334 | 0.243  |
|                         | $\gamma$ -Hydroxybutyric acid       | 0.870  | -0.139 | -0.287 |
|                         | Itaconic acid                       | 0.591  | -0.555 | 0.392  |
|                         | $\alpha$ -Ketobutyric acid          | 0.584  | 0.144  | -0.684 |
|                         | D-Malic acid                        | 0.185  | 0.804  | 0.243  |
| 胺类<br>Amines            | Putrescine                          | 0.873  | 0.219  | 0.103  |
|                         | Phenylethyl-amine                   | 0.407  | 0.491  | -0.495 |
| 多聚物类<br>Polymers        | $\alpha$ -Cyclodextrin              | 0.916  | -0.002 | -0.254 |
|                         | Tween 40                            | 0.605  | -0.396 | 0.160  |
|                         | Tween 80                            | -0.033 | -0.149 | 0.161  |
|                         | Glycogen                            | 0.744  | 0.488  | 0.098  |

主成分分析可以很好地区分日偏食前后空气微生物群落的代谢特征。发现日偏食前和当天空气微生物利用碳源能力相近,其后 2 d 由于微生物数量和种类减少使其利用碳源能力降低。分析可能是因为日偏食的发生引起环境因素如温度、风速、紫外指数等的变化造成空气微生物代谢碳源能力有所不同。

利用 BIOLOG Eco 板反映空气微生物对碳源利

用能力虽然方便、快捷,但其所得信息主要是基于能利用 BIOLOG Eco 板固定碳源并维持生长的微生物,因此存在一定的局限性。后续研究应结合分子生态学方法对其功能多样性进行更深入研究。



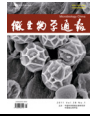

参 考 文 献

[1] 孙正凡. 2009 日全食[J]. 科学世界, 2009(7): 4-7.  
[2] Raisi L, Lazaridis M, Katsivela E. Relationship between

- airborne microbial and particulate matter concentrations in the ambient air at a mediterranean site[J]. *Global Nest Journal*, 2010, 12(1): 84–91.
- [3] Schwartz J, Coull B, Laden F, et al. The effect of dose and timing of dose on the association between airborne particles and survival[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2008, 116(1): 64–69.
- [4] Shaffer BT, Lighthart B. Survey of culturable airborne bacteria at four diverse locations in Oregon: urban, rural, forest, and coastal[J]. *Microbial Ecology*, 1997, 34(3): 167–177.
- [5] Chao HJ, Schwartz J, Milton DK, et al. Populations and determinants of airborne fungi in large office buildings[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2002, 110(8): 777–782.
- [6] 凌琪. 空气微生物学研究现状与展望[J]. 安徽建筑工业学院学报: 自然科学版, 2009, 17(1): 75–79.
- [7] Håkan P. Observations of temperature and air humidity during the total solar eclipse 29 March 2006 at side, Turkey[J]. *Meteorologische Zeitschrift*, 2009, 18(1): 107–109.
- [8] Selmants PC, Hart SC, Boyle SI, et al. Red alder (*Alnus rubra*) alters community-level soil microbial function in conifer forests of the Pacific northwest, USA[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(10): 1860–1868.
- [9] Buyer JS, Kaufman DD. Microbial diversity in the rhizosphere of corn grown under conventional and low-input systems[J]. *Applied Soil Ecology*, 1996, 5(1): 21–27.
- [10] Zabinski CA, Gannon JE. Effects of recreational impacts on soil microbial communities[J]. *Environmental Management*, 1997, 21(2): 233–238.
- [11] 张海涵, 唐明, 陈辉, 等. 不同生态条件下油松(*Pinus tabulaeformis*)菌根根际土壤微生物群落[J]. 生态学报, 2007, 27(12): 5463–5470.
- [12] 曹均, 吴姬, 赵小蓉, 等. 北京 9 个典型板栗园土壤碳代谢微生物多样性特征[J]. 生态学报, 2010, 30(2): 527–532.
- [13] Fernández W, Hidalgo H, Coronel G, et al. Changes in meteorological variables in Coronel Oviedo, Paraguay, during the total solar eclipse of 3 November 1994[J]. *Earth, Moon, and Planets*, 1996, 74(1): 49–59.
- [14] Liu AM, Huang WY. Microbial activities and functional diversity of community in soils polluted with copper tailing after cultivate[J]. *Ecology and Environment*, 2005, 14(6): 876–879.

## 征订启事

## 2012 年中科院微生物所期刊联合编辑部联合征订

|   |   |
|---|---|
|  | 《微生物学报》月刊(每月 4 日出版), 单价 55.00 元, 全年定价 660 元。刊号: ISSN 0001-6209; CODEN WSHPA8。国内邮发代号: 2-504; 国外邮发代号: BM67。     |
|  | 《生物工程学报》月刊(每月 25 日出版), 单价 65.00 元, 全年定价 780 元。刊号: ISSN 1000-3061; CODEN SGXUED。国内邮发代号: 82-13; 国外邮发代号: BM5608。 |
|  | 《微生物学通报》月刊(每月 20 日出版), 单价 58.00 元, 年价 696 元。刊号: ISSN 0253-2654; CODEN WSWPDI。国内邮发代号: 2-817; 国外邮发代号: BM413。    |
|  | 《菌物学报》双月刊(单月 15 日出版), 单价 80 元, 全年定价 480 元。刊号: ISSN 1672-6472; CODEN JXUUAЕ。国内邮发代号: 2-499; 国外邮发代号: Q723。       |
| 订阅  | 欢迎广大读者直接与本刊发行部联系订购, 我们将按期免费为您邮寄。  |
|   | 汇款地址: (100101)北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中科院微生物所 B401   |
|   | 收信人: 《 》编辑部; 电话: 010-64806142; E-mail: bjb@im.ac.cn   |
|   | 请在附言处注明“订刊费”及所订期刊名称、年代、卷、期和数量。  |