

# 沙坡头地区生物土壤结皮的固氮活性及其对水热因子的响应

张 鹏 李新荣\* 贾荣亮 胡宜刚 黄 磊

中国科学院寒区旱区环境与工程研究所沙坡头沙漠试验研究站, 兰州 730000

**摘 要** 氮是除水分之外影响干旱区生态系统生物活性的关键因子。生物土壤结皮是干旱半干旱荒漠地表景观的重要组成部分, 也是荒漠生态系统氮素的主要贡献者。通过野外调查采样, 利用开顶式生长室, 模拟不同降水梯度, 采用乙炔还原法连续测定了沙坡头地区典型生物土壤结皮(藻类结皮、地衣结皮和藓类结皮)在其主要固氮活跃期(6–10月, 湿润期)的固氮活性, 及其对水热因子的响应特征。结果表明, 试验期三类生物土壤结皮的固氮活性介于 $2.5 \times 10^3$ – $6.2 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>之间, 其中藻类结皮的最高(平均达 $2.8 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>), 地衣结皮的次之( $2.4 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>), 藓类结皮的最低( $1.4 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>), 差异显著( $p < 0.001$ )。在模拟降水3 mm时, 三类结皮均可达到最大固氮速率, 当发生> 3 mm的降水事件时, 它们的固氮速率无显著增加; 不同结皮的固氮活性与温度均呈显著的负相关关系( $r_{\text{藻类结皮}} = -0.711$ ,  $r_{\text{地衣结皮}} = -0.732$ ,  $r_{\text{藓类结皮}} = -0.755$ ,  $p < 0.001$ ), 藻类和藓类结皮的固氮活性的最适温度区间为25–30 °C, 地衣结皮为20–30 °C。三类结皮之间的这种固氮差异主要归因于结皮组成生物体即隐花植物的差异, 藻类结皮主要成分为大量的蓝细菌和一些绿藻, 地衣结皮也由大量的固氮藻和真菌共生形成, 而藓类结皮的主要组成部分苔藓植物并不具有固氮作用, 其微弱的固氮量是结皮中混生的少量蓝细菌或地衣所致。

**关键词** 乙炔还原法, 生物土壤结皮, 环境因子, 固氮, 固氮活性

## Nitrogenase activity of biological soil crusts and its response to hydrothermic factors in the Shapotou region of northern China

ZHANG Peng, LI Xin-Rong\*, JIA Rong-Liang, HU Yi-Gang, and HUANG Lei

Shapotou Desert Experimental Research Station, Cold and Arid Regions Environmental and Engineering Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China

### Abstract

**Aims** In arid and semi-arid environments such as deserts, nitrogen is often the most limiting nutrient for biological activity. Biological soil crusts (BSCs) are an important component of vegetation in the Shapotou region in the Tengger Desert, northern China. However, their importance as contributors to soil fertility such as nitrogen fixation is relatively unknown. This study was conducted to quantify the potential nitrogenase activity (NA) of different types of BSCs in artificial vegetation areas, as well as their responses to variation in moisture and temperature.

**Methods** Algae crust, lichen crust and moss crust were collected from an artificial vegetation area in the Shapotou region, and were incubated under three gradients of moisture (3, 5 and 10 mm simulated rainfall) and temperature in open-top growth chambers from June to October. The NA was measured using acetylene reduction assay. One-way ANOVA and general linear models (GLM) procedure were applied to compare NA between treatments and interactions between type of BSCs, water and temperature.

**Important findings** NA for each type of BSC was highly variable, ranging from  $2.5 \times 10^3$  to  $6.2 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>. The NA of algae crust was higher than that of lichen crust and moss crust (2.8 vs. 2.4 and  $1.4 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>, respectively). The three types of BSCs under the 3 mm simulated rainfall reached the maximum rate of nitrogen fixation, but > 3 mm did not affect NA. Significant negative correlation was observed between NA of all three types of BSCs and temperature. The optimal temperature for NA in algae crust, moss crust and lichen crust were 25–30 °C, 25–30 °C and 20–30 °C, respectively.

**Key words** acetylene reduction assays (ARA), biological soil crusts, environmental factors, nitrogen fixation, nitrogenase activity

生物土壤结皮(biological soil crusts, BSCs)是由隐花植物如蓝细菌、藻类、地衣、苔藓和土壤微生物, 以及相关的其他生物体通过菌丝体、假根和分泌物等与土壤表层颗粒胶结形成的十分复杂的复合体, 是干旱半干旱荒漠地表景观的重要组成部分(Belnap, 2002; Belnap & Lange, 2003; 李新荣等, 2009a)。大多数荒漠生态系统受非生物因子的调控和胁迫, 特别是水分的匮乏, 地表不可能支持大面积、相对均一和连续分布的维管束植物群落的覆盖, 植物稀疏和斑块状的分布为生物土壤结皮的拓殖发育提供了空间和适宜的生态位, 生物土壤结皮的分布面积在干旱区占地表面积的40% (李新荣等, 2009a)。氮素的可利用性是除水分之外影响干旱区生态系统生物活性的关键控制因子(Whitford, 2002)。尽管全球生态系统中存在着巨大的土壤氮库, 但在诸如沙漠、荒漠、稀树草原等干旱区往往缺乏可利用的氮(Billings *et al.*, 2004), 生物可利用氮的输入直接影响该生态系统的生产力。生物土壤结皮中的某些种类具有固氮功能, 如蓝细菌(包括具异形细胞类的鱼腥藻属(*Anabaena*)、眉藻属(*Calothrix*)、裂须藻属(*Schizothrix*)和伪枝藻属(*Scytonema*)等; 和非异形细胞类的鞘丝藻属(*Lyngbya*)、颤藻属(*Oscillatoria*)、微鞘藻属(*Microcoleus*)和席藻属(*Phoridium*)等)、地衣(常见的固氮地衣包括胶衣属(*Collema*)、盾衣属(*Peltula*)和蜂窝衣属(*Heppia*)等, 它们能将大气中的 $N_2$ 固定(fixed)或还原(reduced)为可被生物所利用的铵态氮( $NH_4^+$ ) (Belnap & Lange, 2003)。生物土壤结皮的氮固定是荒漠生态系统土壤氮素提高的一个重要生物来源, 它们的固氮量在某些荒漠生态系统甚至超过了豆科植物和异养菌固氮量的总和(Belnap & Lange, 2003; Billings *et al.*, 2004)。

有关生物土壤结皮固氮活性的研究在世界各地沙漠和荒漠生态系统中均有报道(Zaady *et al.*, 1998; Belnap, 2002; Hartley & Schlesinger, 2002; Aranibar *et al.*, 2003), 但由于各研究区域的生态系统、气候、生物土壤结皮的种类组成及试验中的背景条件、测试方法等存在差异, 导致研究结果在数量级间变化( $1.0 \times 10^{-6}$ – $6.8 \times 10^6$  nmol  $C_2H_4 \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ )

(Wu *et al.*, 2009), 很难比较和评价全球生态系统中生物土壤结皮的氮贡献。此外, 有关生物土壤结皮固氮活性的研究结果大部分是在实验室控制条件下(例如给予最适的温度、水分和光照处理等)得出的, 很难反映野外的真实情况。国内关于生物土壤结皮氮贡献的研究早期主要集中在定性描述方面(李新荣等, 2001; 张元明, 2005), 最近几年有少量工作定量研究生物土壤结皮的固氮活性(吴清风和刘华杰, 2008; Wu *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2010)。

腾格里沙漠东南缘沙坡头地区属于典型的温带荒漠化草原向草原化荒漠的过渡区, 始建于20世纪50年代中期的人工固沙植被体系, 在经过半个多世纪的演替后, 区域内广泛分布着不同发育阶段的生物土壤结皮。它们在研究区内的广泛发育对土壤水文过程、物种多样性、土壤种子库和土壤质地养分等土壤环境条件和植被组成产生了深刻影响(李新荣等, 2009b; Li *et al.*, 2010)。生物土壤结皮随着人工固沙植被的演替逐渐形成、拓殖, 最终成为该生态系统的优势群落。那么, 随着生态系统的演替, 它们对该系统的氮贡献有多大? 环境因子对它们的固氮能力有无影响, 是如何影响的? 我们对这些问题的认识尚停留在测定土壤氮素含量等性状参数方面, 而未直接对生物土壤结皮自身的固氮能力进行定量研究。因此, 我们以腾格里沙漠东南缘沙坡头地区人工植被固沙区发育良好的三类生物土壤结皮(藻类、地衣和藓类为优势种)为研究对象, 野外采集原状结皮土壤样品, 利用开顶式生长室(open-top growth chambers, OTC)研究了三类生物土壤结皮主要发育期(6–10月)的固氮活性的变化, 及其对增温和水分变异的响应特征, 分析并阐述了我国温带荒漠区生物土壤结皮对荒漠生态系统的氮贡献及对系统演替的指示意义。本研究可为正确评价生物土壤结皮对荒漠生态系统的氮贡献提供基础数据, 并为荒漠生态系统的可持续发展和科学管理提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究区概况

研究区位于中国科学院沙坡头沙漠研究试验

站的人工植被固沙区(37°32' N, 105°02' E), 海拔为 1 330 m, 7月平均气温为24.3 °C, 1月平均气温为-6.9 °C; 年平均降水量186.5 mm, 降水主要集中在5–9月(沙坡头气象站1956–2002年的气象资料); 年蒸发量为2 300–2 500 mm, 平均风速2.6 m·s<sup>-1</sup>。土壤基质为松散贫瘠的流沙, 土壤稳定含水量为2%–3%。人工植被区的主要固沙灌木、半灌木为柠条(*Caragana korshinskii*)、花棒(*Hedysarum scoparium*)和油蒿(*Artemisia ordosica*), 草本植物主要有小画眉草(*Eragrostis poaeoides*)、雾冰藜(*Bassia dasyphylla*)等。

## 1.2 样品采集与布置

2010年5月, 在沙坡头人工植被固沙区选择生物土壤结皮发育良好的区域采集样品。为避免地貌和灌木及草本植物对样品的影响, 采样时选择各种类型结皮均有发育的迎风坡和垄间低地, 距离灌丛3 m外的区域采集结皮样品。为保证样品的完整性, 采样前先湿润地表, 用PVC管(直径10 cm, 高10 cm)采集原状结皮土壤样品。将野外采集的原状样带回沙坡头沙漠试验研究站气候观测场, 放置在不同规格的开顶式生长室(OTC)(大OTC: 边长1.3 m、高2 m的等边八边形; 小OTC: 边长1 m、高1.5 m的等边四边形)内及生长室外自然状态下(对照), 3种结皮类型(藻类结皮、地衣结皮和藓类结皮), 3个温度处理(大OTC、小OTC和对照), 3个水分处理(模拟3、5和10 mm降水), 各4个重复。为消除采样及环境因子对实验结果的影响, 样品布置培养15天后开始测定。

## 1.3 生物土壤结皮固氮活性的测定

### 1.3.1 基本原理

采用乙炔还原法(acetylene reduction assay, ARA)测定生物土壤结皮的固氮活性(Hardy *et al.*, 1973; Belnap, 1996; Belnap & Lange, 2003)。该方法的基本原理是在供给等量还原物的情况下, 生物土壤结皮的固氮酶还原乙炔(C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)的量与还原大气中的N<sub>2</sub>呈一定的比例, 一般用生物土壤结皮还原C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>的产物——乙烯(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)的生成速率来表征生物土壤结皮的固氮活性(NA)。

### 1.3.2 实验过程

选晴天, 试验前将模拟3、5和10 mm等量降水量的蒸馏水(23.6、39.5和78.5 mL)均匀地喷洒在结皮样品表面, 之后将透明的有机玻璃罩(直径12 cm,

高15 cm, 下端开口, 上端密封, 中间留一圆孔用橡皮塞密封)罩在结皮样品上, 玻璃罩的下端插入沙子中, 创造一个密闭的环境。之后用注射器向培养器中注入乙炔气体, 使容器乙炔体积百分比(V/V)为10%。在自然状态下培养24 h, 同时记录大、小OTC内及室外的空气温度。之后用注射器收集培养器上部气体6 mL, 带回实验室即刻用Agilent 6820气相色谱仪(GC6820, Agilent Technologies, Palo Alto, USA)测定乙烯生成量。固氮活性结果以乙烯生成速率(nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>)表示。整个实验在6–10月完成, 每月测定2次。

## 1.4 统计分析

采用SPSS 11.5 for Windows (SPSS, Chicago, IL, USA)进行数据统计分析, 用单因素方差分析(one-way ANOVA)模块中的最小显著差数法(least significant difference, LSD)分析不同结皮类型、不同温度和水分处理下生物土壤结皮固氮活性的差异显著性; 用广义线性模型(general linear models, GLM)模块中的Univariate分析结皮类型、温度及水分对生物土壤结皮固氮活性的交互影响。

## 2 结果

### 2.1 不同类型生物土壤结皮固氮活性特征

整个试验期间(6–10月)模拟3、5和10 mm降雨量下三类生物土壤结皮的固氮活性在 $2.5 \times 10^3$ – $6.2 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>间变化, 变异较大, 变异系数为62.08% (图1)。其中藻类结皮、地衣结皮和藓类结皮的固氮活性变化区间分别为 $5.1 \times 10^3$ – $6.2 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>、 $6.9 \times 10^3$ – $5.0 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>和 $2.5 \times 10^3$ – $3.2 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>, 变异系数分别为52.71%、56.38%和53.15%。三类生物土壤结皮固氮活性表现为藻类结皮(平均为 $2.8 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>) > 地衣结皮( $2.4 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>) > 藓类结皮( $1.4 \times 10^4$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>), 差异显著( $p < 0.001$ )。

### 2.2 水分对生物土壤结皮固氮活性的影响

三类生物土壤结皮的固氮活性均在模拟3、5和10 mm降水量之间差异不显著, 但藻类和地衣结皮的固氮活性在3个水分处理下均显著高于藓类结皮(图2)。说明3 mm降水量下三类生物土壤结皮的固氮活性即可达到最大值, 超过3 mm的降水事件时, 其固氮速率无显著增加。

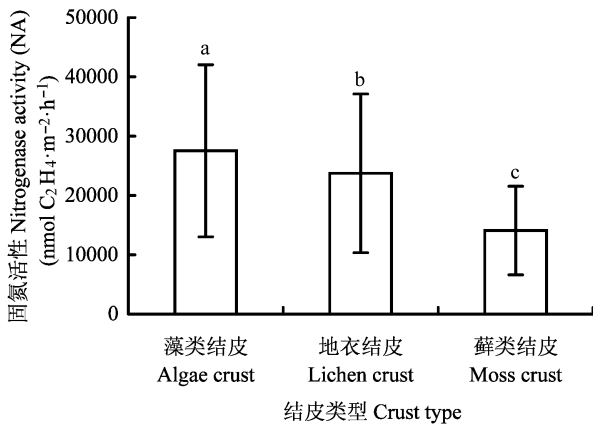


图1 不同类型生物土壤结皮固氮活性特征(平均值±标准偏差)。不同小写字母表示3种类型生物土壤结皮固氮活性差异显著( $p < 0.01$ )。

Fig. 1 Characteristics of nitrogenase activity of different biological soil crusts (mean  $\pm$  SD). Different small letters indicate significant difference in nitrogenase activity between three types of biological soil crusts ( $p < 0.01$ ).

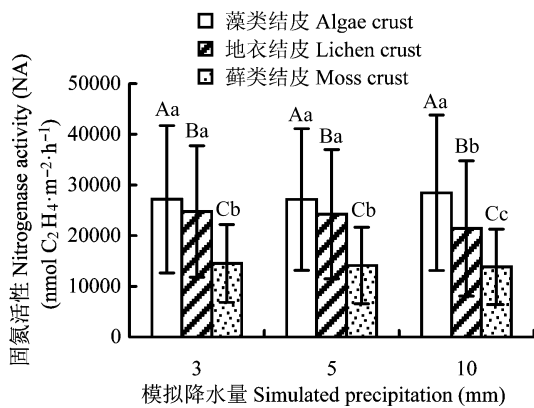


图2 水分处理对不同类型生物土壤结皮固氮活性的影响(平均值±标准偏差)。不同大写字母表示同一类型生物土壤结皮固氮活性在不同水分处理下差异显著( $p < 0.01$ ); 不同小写字母表示不同类型生物土壤结皮固氮活性在相同水分处理下差异显著( $p < 0.01$ )。

Fig. 2 Effect of water treatment on nitrogenase activity of different biological soil crusts (mean  $\pm$  SD). Different capital letters indicate significant difference in nitrogenase activity of the same biological soil crusts among different water treatments; different small letters denote significant difference in nitrogenase activity among different biological soil crusts in the same water treatment ( $p < 0.01$ ).

### 2.3 温度对不同类型生物土壤结皮固氮活性的影响

试验期间, 大、小OTC内及室外的空气温度在20–40 °C范围内变化, 相关分析表明, 三类生物土壤结皮的固氮活性与温度均呈极显著的负相关关

系, 随着温度增加, 三类生物土壤结皮固氮活性均显著降低(图3,  $p < 0.001$ )。为进一步明确不同类型生物土壤结皮固氮活性的最适温度区间, 将试验期间温度变化范围按5 °C的间隔划分为4个温度区间, 方差分析发现, 藻类和藓类结皮在25–30 °C具有最高的固氮活性, 地衣结皮在20–30 °C具有最高的固氮活性。在20–25 °C和30–35 °C的温度区间, 藻类结皮和地衣结皮的固氮活性差异不显著, 但都显著高

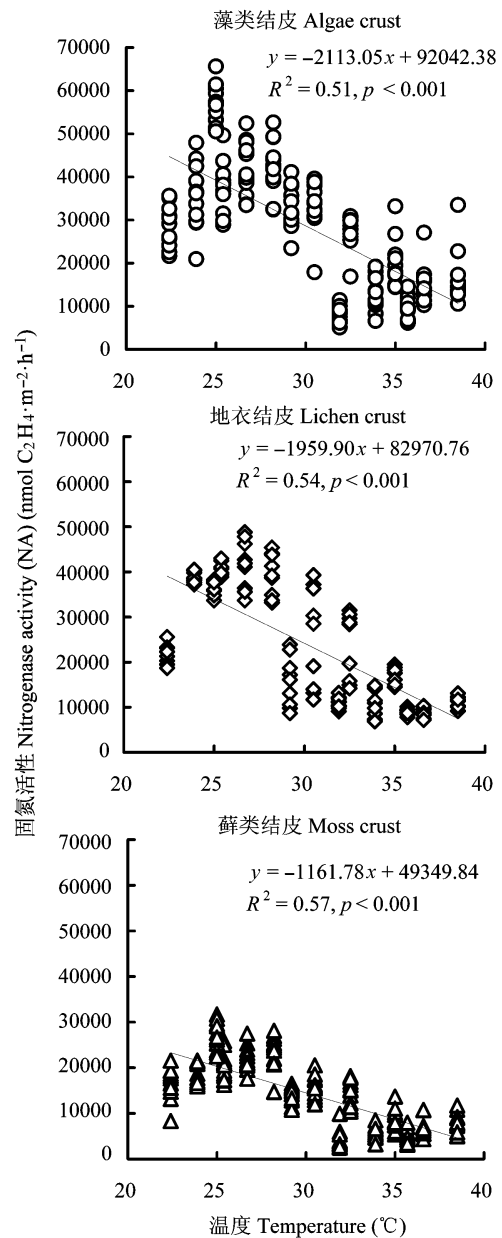


图3 不同类型生物土壤结皮固氮活性与温度的关系。  
Fig. 3 Relationships between nitrogenase activity of different biological soil crusts and temperature.

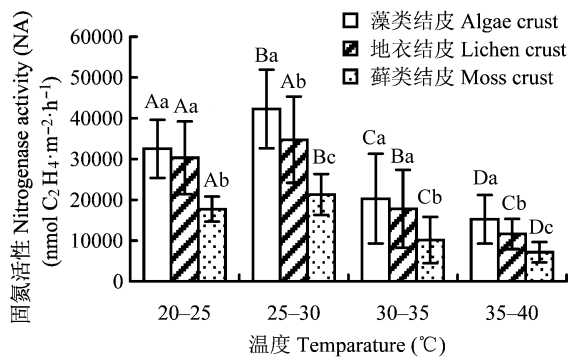


图4 不同温度范围3种生物土壤结皮固氮活性的变化(平均值±标准偏差)。不同大写字母表示同一类型生物土壤结皮固氮活性在不同温度范围差异显著( $p < 0.01$ ); 不同小写字母表示不同类型生物土壤结皮固氮活性在同一温度范围差异显著( $p < 0.01$ )。

Fig. 4 Variations at nitrogenase activity of three biological soil crusts in different temperature ranges (mean  $\pm$  SD). Different capital letters indicate significant difference in nitrogenase activity of same biological soil crusts among different temperature ranges ( $p < 0.01$ ); different small letters denote significant difference in nitrogenase activity among different biological soil crusts in the same temperature range ( $p < 0.01$ ).

于藓类结皮的固氮活性; 而在25-30 °C和35-40 °C的温度区间, 三类生物土壤结皮的固氮活性差异显著( $p < 0.001$ ), 藻类结皮的固氮活性最高, 地衣结皮次之, 藓类结皮最低(图4)。

#### 2.4 结皮类型、水分及温度对生物土壤结皮固氮活性的交互影响

为明确结皮类型、水热因子对生物土壤结皮固

氮活性的交互影响, 进行主效应方差分析。结果表明, 不仅结皮类型、水分、温度对生物土壤结皮的固氮活性具有显著影响, 三者的交互效应同样显著(表1,  $p < 0.01$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 不同类型生物土壤结皮的固氮活性

藻类、地衣和藓类结皮在腾格里沙漠东南缘沙坡头人工植被固沙区广泛发育, 是该生态系统地表景观的重要组成部分。在6-10月试验期间, 三类生物土壤结皮固氮活性在 $2.5 \times 10^3$ - $6.2 \times 10^4$  nmol  $C_2H_4 \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ 之间变化, 藻类结皮固氮活性显著高于地衣结皮和藓类结皮, 考虑到藻类结皮在该地区的广泛分布(Li *et al.*, 2003), 藻类结皮可能是该生态系统氮素的主要贡献者。Wu等(2009)在年际尺度上研究了我国古尔班通古特沙漠不同类型生物土壤结皮固氮活性的季节变化, 变化范围在 $1.8 \times 10^2$ - $2.8 \times 10^4$  nmol  $C_2H_4 \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ , 也表现为藻类结皮>地衣结皮>藓类结皮, 在6-10月固氮活性达到最高, 但固氮速率略低于我们的研究结果, 这可能是因为: 古尔班通古特沙漠属于冷沙漠, 相对较低的气温(6-10月平均气温为19.7 °C)抑制了生物土壤结皮的固氮速率。来自暖沙漠(如Sonoran Desert, Negev Desert, Kalahari Desert)的研究表明, 这些区域的生物土壤结皮具有较高的固氮活性, 介于 $6.4 \times 10^4$ - $6.8 \times 10^6$  nmol  $C_2H_4 \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ 之间, 变幅较小(Eskew

表1 主效应方差分析表

Table 1 Tests of between-subjects effects

变异来源 Source of variation	III型平方和 Type III sum of squares	df	均方 Mean square	F	p
校正模型 Corrected model	$8.46 \times 10^{10}$	134	$6.31 \times 10^8$	53.00	0.000
截距 Intercept	$2.31 \times 10^{11}$	1	$2.31 \times 10^{11}$	19 365.37	0.000
结皮类型 Crust type	$1.71 \times 10^{10}$	2	$8.57 \times 10^9$	719.66	0.000
水分处理 Water treatment	$1.14 \times 10^8$	2	$5.72 \times 10^7$	4.81	0.009
温度 Temperature	$5.77 \times 10^{10}$	14	$4.12 \times 10^9$	346.26	0.000
结皮类型×水分处理 Crust type $\times$ Water treatment	$3.88 \times 10^8$	4	$9.71 \times 10^7$	8.15	0.000
结皮类型×温度 Crust type $\times$ Temperature	$6.86 \times 10^9$	28	$2.45 \times 10^8$	20.58	0.000
水分处理×温度 Water treatment $\times$ Temperature	$1.04 \times 10^9$	28	$3.72 \times 10^7$	3.13	0.000
结皮类型×水分处理×温度 Crust type $\times$ Water treatment $\times$ Temperature	$1.70 \times 10^9$	56	$3.03 \times 10^7$	2.55	0.000
误差 Error	$4.29 \times 10^9$	360	$1.19 \times 10^7$		
总和 Total	$3.20 \times 10^9$	495			
校正总和 Corrected total	$8.89 \times 10^{10}$	494			

$R^2 = 0.952$  ( $R^2_{Adjusted} = 0.934$ ).

& Ting, 1978; Skarpe & Henriksson, 1987; Zaady *et al.*, 1998)。而来自冷沙漠(如Colorado Desert, Great Basin Desert)的研究结果显示, 该区域生物土壤结皮固氮活性介于 $4.0 \times 10^3$ – $9.0 \times 10^5$   $\text{nmol C}_2\text{H}_4 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 之间, 固氮活性较低, 且变幅大(Belnap, 1995, 1996)。以上研究结果与不同生物气候区的气候条件和生物土壤结皮的组成有关, 如暖沙漠降雨主要发生在夏季, 具有固氮功能的蓝细菌种类丰富, 个体小, 具异形胞, 以蓝细菌占优势的结皮固氮活性高, 变幅小。而冷沙漠降水多发生在冬季, 固氮蓝细菌个体大, 为非异形胞, 固氮活性低, 易受干扰影响, 变幅大(Belnap & Lange, 2003)。

生物土壤结皮物种组成的差异是造成不同类型生物土壤结皮固氮活性差异的主要因素。胡春香等(2000)对沙坡头地区藻类结皮中藻类种类组成的研究表明, 该地区藻类共有22种, 涉及蓝细菌门、绿藻门、硅藻门和裸藻门。其中, 蓝细菌10种, 占该地区调查的所有藻类总数的45.5%; 丝状蓝细菌占蓝细菌总数的70%。固氮蓝细菌是一类具有原核结构而能进行光合作用的生物类群, 它们既能进行光合作用固定碳, 同时又能固定大气中的氮气合成能被生物利用的氮化物。大量研究表明, 固氮蓝细菌是荒漠藻类结皮中的建群种和拓殖种(胡春香等, 2000; Li *et al.*, 2003)。实际研究中也发现, 沙坡头人工植被固沙区藻类结皮发育良好, 分布广泛, 具有最高的固氮活性。通常固氮地衣为胶衣属(*Collema*), 该属在全球干旱半干旱区均有分布, 虽然呈小块状分布, 盖度低, 但固氮能力强。如Wu等(2009)在古尔班通古特沙漠中测得地衣结皮在6–10月的固氮速率为 $9.06 \times 10^3$   $\text{nmol C}_2\text{H}_4 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ; Belnap (2002)在美国犹他州荒漠生境中测得胶衣属固氮活性为 $1.5 \times 10^5$   $\text{nmol C}_2\text{H}_4 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。本研究结果居于二者之间。藓类结皮本身不具固氮能力, 其固氮活性主要由分布在苔藓植物假根周围的少量固氮藻类完成, 而苔藓植物所创造的微环境可能进一步为这些藻类的发育提供适宜的微环境, 如水分的捕获, 抗风蚀、水蚀等方面。我们的研究结果也证实了这一点, 如图1所示, 藓类结皮固氮活性显著低于藻类结皮和地衣结皮, 且变幅最小。

### 3.2 水分对生物土壤结皮固氮活性的影响

由于生物土壤结皮仅在湿润条件下才能进行新陈代谢(Nash, 1996), 其光合速率也与结皮生物

体的含水量密切相关(Lange *et al.*, 1998), 而固氮作用所需的ATP和碳仅能由光合作用合成(Honegger, 1998), 所以水分条件被认为是影响生物土壤结皮固氮活性的最重要的环境因子(Belnap & Lange, 2003)。大量研究也证实了生物土壤结皮对降水变化的反应极其敏感, 水分是激活其生理活性的关键因子。预实验中, 将采集的原状结皮样品培育15天后, 在无降水发生的情况下未检测到固氮活性, 也进一步证明水分匮乏限制了生物土壤结皮的生理活性和固氮作用。在6–10月试验期间, 三类生物土壤结皮的固氮活性均在模拟3、5和10 mm降水量之间差异不显著, 但藻类和地衣结皮的固氮活性在3个水分梯度下均显著高于藓类结皮(图2), 说明在该生态系统下三类生物土壤结皮固氮活性在3 mm降水下即可达到最高值, 超过3 mm的降水对其固氮活性的影响不大。但考虑到降水后结皮湿润的持续时间, 在综合评价生物土壤结皮对土壤氮素的贡献时, 还应考虑固氮活性的持续时间。因为生物土壤结皮不具有直接利用土壤深层水分的能力(李新荣等, 2009a, 2009b), 在干旱半干旱区土壤表面湿度与降水的关系极为密切, 而生物土壤结皮的固氮活性只有在降水后表层土壤湿润时才能表现出来。

水分对生物土壤结皮固氮功能的影响首先可归因于降水激活其生理活性, 为固氮作用提供必需的物质和能量。荒漠藻类结皮能通过代谢失活较长时间忍受干旱而生存, 一旦有少量的降水发生, 它们即可迅速激活并启动光合、呼吸、固氮等新陈代谢活动。有研究证实, 地衣结皮内较低的含水量可抑制光合作用, 在干湿交替过程中, 地衣结皮中共生真菌和藻细胞的膜通透性常因受损而增高, 这样就使得光合作用固定的碳通过淋溶而释放到体外(Honegger, 1998), 而复水后的呼吸作用进一步消耗光合产物(Belnap & Lange, 2003), 最终导致无法供应固氮作用必需的物质和能量, 使固氮活性降低。也有研究表明, 添加葡萄糖可使蓝细菌的固氮活性提高(Hartley & Schlesinger, 2002), 说明光合产物和能量水平的降低与较低的固氮活性直接相关。此外, 缺水可引起固氮蓝细菌和地衣体内固氮酶水平的降低; 复水后, 光合产物和能量一般首先被用于碳水化合物合成和能量的储备, 其次才用于固氮酶体系的重建(Nash, 1996)。因此, 干旱持续的时间越久, 复水后固氮酶活性达到最高固氮活性所需的时间

间也越长,从而导致该时间段固氮活性的降低(刘华杰等, 2009)。Belnap (2002)基于野外原位测定的结果,提出实验前3天内有无降水发生会显著影响实验结果,并提出在测定评价生物土壤结皮固氮活性时,应进行严格的预处理,以消除降水事件对实验结果的影响。

### 3.3 温度对生物土壤结皮固氮活性的影响

在适宜的水分条件下,温度是影响生物土壤结皮固氮活性的关键控制因子。大多数蓝细菌和固氮地衣在 $-5-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 均具有固氮活性,且固氮活性随着温度升高而增加,其固氮作用的理想温度在 $20-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Belnap, 1996, 2001; Belnap & Lange, 2003)。试验期间温度在 $20-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变化,相关分析表明三类生物土壤结皮的固氮活性均与温度呈显著负相关关系(图3),藻类和藓类结皮固氮活性的最适温度为 $25-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,地衣结皮为 $20-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (图4),与前人的研究结果一致。也有研究认为生物土壤结皮固氮酶在 $1-26\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持活性,在水分适宜时,在这个温度范围内固氮酶活性与温度成正比(Belnap, 2001)。温度升高直接影响固氮酶活性,而在短期内提高固氮活性,但当温度过高时则会显著抑制固氮酶活性,使固氮活性降低。我们在研究中也发现,在 $30-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,三类生物土壤结皮的固氮活性显著低于 $20-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (图4)。此外,温度会通过影响结皮层的水分含量而影响生物土壤结皮的光合作用过程,进而影响其固氮速率。当温度较低时,虽然结皮的光合速率降低,但结皮表面持续湿润的时间延长,同时呼吸消耗降低,而有研究证实生物土壤结皮的光合作用超过呼吸作用后,固氮速率达到最高(Belnap & Lange, 2003)。相反,当温度较高时,光合及呼吸速率增加,同时结皮表面水分散失的速率亦增加,结皮光合产物积累降低,固氮活性也随之下降。极端低温(低于 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ )对生物土壤结皮固氮活性的影响主要表现为降低光合速率,减少了可利用的ATP和能量储备(Belnap, 2002; Belnap & Lange, 2003),从而降低其固氮活性。同时,低温下结皮内生物的胞内冰晶形成而引起的损害,尤其在湿润时胞内冰晶的形成可使固氮酶体系受损,能量水平下降(Hartley & Schlesinger, 2002),从而导致固氮活性降低。

实际上,水分和温度并不是单独影响着生物土壤结皮的固氮活性,而总是交织在一起共同起作用的。例如较大的降水量可使结皮表面迅速湿润,而

较高的气温又能使结皮层的水分在较短的时间散失,致使结皮表面湿润的持续时间缩短,固氮活性降低。长期干旱和湿润都会不同程度地降低生物土壤结皮的固氮活性,而干湿交替的刺激会使之形成新的异形胞、抗旱蛋白和合成新的固氮酶,使固氮活性升高(Belnap, 1996, 2001; 李佳格和徐继, 1997)。结皮类型、水分和温度对生物土壤结皮固氮活性的主效应方差分析也证明了这一点,无论结皮类型、温度、水分,还是三者之间的交互效应,都对结皮固氮活性具有显著的影响(表1)。

生物土壤结皮作为人工固沙植被建立后的中间产物进入荒漠生态系统,为系统提供了重要的生物氮源,改善了贫瘠的荒漠生境。进一步为种子萌发、后继高等植物的定居,尤其是浅根系草本的进入和繁衍提供了条件,对维护荒漠生态系统的稳定性和生物多样性起着重要作用。

**致谢** 中国科学院重要方向性项目(KZCX2-EW-301)和国家自然科学基金(40930636)资助。

### 参考文献

- Aranibar JN, Anderson IC, Ringrose S, Macko SA (2003). Importance of nitrogen fixation in soil crusts of southern African arid ecosystems: acetylene reduction and stable isotope studies. *Journal of Arid Environments*, 54, 345–358.
- Belnap J (1995). Surface disturbances: their role in accelerating desertification. *Environmental Monitoring and Assessment*, 37, 39–57.
- Belnap J (1996). Soil surface disturbances in cold deserts: effects on nitrogenase activity in cyanobacterial-lichen soil crusts. *Biology and Fertility of Soils*, 23, 362–367.
- Belnap J (2001). Factors influencing nitrogen fixation and nitrogen release in biological crusts. In: Belnap J, Lange OL eds. *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*. Springer, New York. 241–261.
- Belnap J (2002). Nitrogen fixation in biological soil crusts from southeast Utah, USA. *Biology and Fertility of Soils*, 35, 128–135.
- Belnap J, Lange OL (2003). *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*. Springer-Verlag, Berlin.
- Billings SA, Schaeffer SM, Evans RD (2004). Soil microbial activity and N availability with elevated  $\text{CO}_2$  in Mojave Desert soils. *Global Biogeochemical Cycles*, 18, GB1011.
- Eskew DL, Ting IP (1978). Nitrogen fixation by legumes and blue-green algal-lichen crusts in a Colorado desert environment. *American Journal of Botany*, 65, 850–856.
- Hardy RWF, Burns RC, Holsten RD (1973). Applications of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen

- fixation. *Soil Biology & Biochemistry*, 5, 47–81.
- Hartley AE, Schlesinger WH (2002). Potential environmental controls on nitrogenase activity in biological crusts of the northern Chihuahuan Desert. *Journal of Arid Environments*, 52, 293–304.
- Honegger R (1998). The lichen symbiosis—What is so spectacular about it? *The Lichenologist*, 30, 193–212.
- Hu CX (胡春香), Liu YD (刘永定), Song LR (宋立荣), Huang ZB (黄泽波) (2000). Species composition and distribution of algae in semi-desert algal crusts. *Chinese Journal of Applied Ecology (应用生态学报)*, 11, 61–65. (in Chinese with English abstract)
- Lange OL, Belnap J, Reichenberger H (1998). 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 CO<sub>2</sub> exchange. *Functional Ecology*, 12, 195–202.
- Li JG (李佳格), Xu J (徐继) (1997). Mechanism of biological nitrogen fixation. *Chinese Bulletin of Botany (植物学通报)*, 14(3), 1–13. (in Chinese)
- Li XR (李新荣), Jia YK (贾玉奎), Long LQ (龙立群), Wang XP (王新平), Zhang JG (张景光) (2001). Advances in microbiotic soil crust research and its ecological significance in arid and semiarid regions. *Journal of Desert Research (中国沙漠)*, 21, 4–11. (in Chinese with English abstract)
- Li XR, Tian F, Jia RL, Zhang ZS, Liu LC (2010). Do biological soil crusts determine vegetation changes in sandy deserts? Implications for managing artificial vegetation. *Hydrological Processes*, 24, 3621–3630.
- Li XR (李新荣), Zhang YM (张元明), Zhao YG (赵允格) (2009a). A study of biological soil crusts: recent development, trend and prospect. *Advances in Earth Science (地球科学进展)*, 24, 11–24. (in Chinese with English abstract)
- Li XR (李新荣), Zhang ZS (张志山), Wang XP (王新平), Liu LC (刘立超), Huang L (黄磊) (2009b). The ecohydrology of the soil vegetation system restoration in arid zones: a review. *Journal of Desert Research (中国沙漠)*, 29, 845–852. (in Chinese with English abstract)
- Li XR, Zhou HY, Wang XP, Zhu YG, O’Conner PJ (2003). The effects of sand stabilization and revegetation on cryptogam species diversity and soil fertility in the Tengger Desert, Northern China. *Plant and Soil*, 251, 237–245.
- Liu HJ (刘华杰), Fang SB (房世波), Wu QF (吴清凤) (2009). Effect of drought duration on nitrogen fixation of *Collema tenax* and *Peltigera didactyla* in a semiarid grassland of Inner Mongolia, China. *Mycosystema (菌物学报)*, 28, 783–789. (in Chinese with English abstract)
- Nash TH III (1996). *Lichen Biology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Skarpe C, Henriksson E (1987). Research note: nitrogen fixation by cyanobacterial crusts and by associative-symbiotic bacteria in western Kalahari, Botswana. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 1, 55–59.
- Whitford WG (2002). *Ecology of Desert Systems*. Academic Press, San Diego, USA.
- Wu N, Zhang YM, Downing A (2009). Comparative study of nitrogenase activity in different types of biological soil crusts in the Gurbantunggut Desert, Northwestern China. *Journal of Arid Environments*, 73, 828–833.
- Wu QF (吴清凤), Liu HJ (刘华杰) (2008). Effect of range fire on nitrogen fixation of *Collema tenax* in a semiarid grassland of Inner Mongolia, China. *Journal of Plant Ecology (Chinese Version) (植物生态学报)*, 32, 908–913. (in Chinese with English abstract)
- Zaady E, Groffman P, Shachak M (1998). Nitrogen fixation in macro- and microphytic patches in the Negev Desert. *Soil Biology & Biochemistry*, 30, 449–454.
- Zhang YM (张元明) (2005). The microstructure and formation of biological soil crust in their early developmental stage. *Chinese Science Bulletin (科学通报)*, 50(1), 42–47. (in Chinese)
- Zhao Y, Xu M, Belnap J (2010). Potential nitrogen fixation activity of different aged biological soil crusts from rehabilitated grasslands of the hilly Loess Plateau, China. *Journal of Arid Environments*, 74, 1186–1191.

责任编辑: 黄建辉 责任编辑: 王 葳