苗瑞,赵增浩,蔡泽园,等.人工无本底土壤培养实验下 GDGTs 的含量与分布特征 [J]. 岩矿测试, 2025, 44(2): 316-329. DOI: 10.15898/j.ykcs.202405240120.

MIAO Rui, ZHAO Zenghao, CAI Zeyuan, et al. Abundance and Distribution of GDGTs in Incubated Artificial Soils with No Fossil Pool[J]. Rock and Mineral Analysis, 2025, 44(2): 316–329. DOI: 10.15898/j.ykcs.202405240120.

# 人工无本底土壤培养实验下 GDGTs 的含量与分布特征

苗瑞<sup>1,2</sup>,赵增浩<sup>1</sup>,蔡泽园<sup>1</sup>,刘旭<sup>1,3</sup>,王欢业<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院地球环境研究所,黄土与第四纪地质国家重点实验室,陕西西安710061;

2. 中国科学院大学,北京 100049;

3. 西安地球环境创新研究院,陕西西安 710061)

摘要: 微生物来源的甘油二烷基甘油四醚类化合物 (GDGTs) 是古气候变化研究的重要工具。培养实验有助于明确 GDGTs 对环境参数的响应机理,检验相关气候代用指标的可靠性。然而目前的 GDGTs 培养实验主要针对单一菌株或存在本底信号影响,制约了对土壤环境中 GDGTs 对环境因子精确响应的系统理解。本文利用人工配置的无 GDGTs 土壤进行了 4 年相同温度不同土壤含水量 (SWC) 条件下 (0~10%、0~20%、0~30%、0~40%) 的实验室培养,以探究无本底培养实验获得的 GDGTs 的含量与分布特征及其对培养条件的响应。结果表明:①GDGTs 含量与 SWC 正相关,但添加磷酸盐缓冲溶液会抑制 GDGTs 的产生; ②基于野外调查提出的能反映土壤湿度变化的支链与类异戊二烯四醚 (BIT) 指标与 SWC 无明显相关性,因而土壤中 BIT 指标可能间接而非直接响应 SWC 变化;③本实验条件下 6-甲基支链 GDGTs(brGDGTs) 较 5-甲基 brGDGTs 占绝对主导,导致古温度指标 MBT'<sub>SME</sub> 值极高而 MBT'值极低,从培养实验角度证实较高的 6-甲基 brGDGTs 相对含量会影响 brGDGTs 古温度指标的准确性。

关键词: GDGTs; 培养实验; 高分辨质谱; 土壤湿度指标; 温度指标 要点:

(1) 人工配置土壤培养前未检测到 GDGTs,因此培养获得的 GDGTs 不存在本底信号的干扰,能更好地反映 土壤 GDGTs 对环境因子的响应特征。

(2) 培养实验结果表明 GDGTs 含量和土壤含水量具有正相关关系,而 BIT 指标与土壤含水量无直接相关性。

(3) 此培养条件下获得的 brGDGTs 组分中 6-甲基 brGDGTs 含量显著高于 5-甲基 brGDGTs,同时证实 IR<sub>6ME</sub> 会影响 MBT'<sub>SME</sub> 指标的准确性。

#### 中图分类号: P593 文献标识码: A

甘油二烷基甘油四醚脂 (GDGTs) 是一类有 机生物标志化合物,包含由细菌产生的支链 GDGTs(brGDGTs) 和由古菌产生的类异戊二烯 GDGTs(isoGDGTs)。这类化合物化学性质较稳定, 广泛分布于土壤<sup>[1-2]</sup>、湖泊沉积物<sup>[3-8]</sup>、海洋沉积 物<sup>[9-11]</sup>、泥炭<sup>[12-13]</sup>以及石笋<sup>[14]</sup>和动物骨骼<sup>[15]</sup> 等环境载体中,近年来已成为研究古环境和气候变 化的重要工具<sup>[16-17]</sup>。目前的研究表明 GDGTs 受 包括土壤温度<sup>[18-19]</sup>、水分<sup>[20-26]</sup>、pH 值<sup>[19-20,26]</sup>等 多种环境因子的影响。其中土壤湿度可以直接影响 微生物的生理状态及活性,尤其是在干旱、半干旱地 区,水分是产生 GDGTs 的古菌与细菌等微生物生长

收稿日期: 2024-05-24; 修回日期: 2024-07-22; 接受日期: 2024-07-24; 网络出版日期: 2024-09-06

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (42122021); 国家重点研发计划项目 (2023YFF0804300); 中国科学院青年创新促进会会员 项目 (2019403)

第一作者: 苗瑞, 硕士研究生, 研究方向为生物有机地球化学。E-mail: miaorui@ieecas.cn。

通信作者: 王欢业, 博士, 研究员, 主要从事生物有机地球化学研究。E-mail: wanghy@ieecas.cn。

的重要限制因子,对土壤 GDGTs 的分布起重要作 用<sup>[23-24, 26]</sup>;另外,土壤湿度在一定程度上会影响土 壤孔隙率和土壤中的氧含量,进而间接影响土壤中 的微生物群落以及 GDGTs 组成分布。例如, 厌氧条 件有利于产 brGDGTs 厌氧菌的生长<sup>[27-28]</sup>,且在此 前的培养实验中观察到缺氧条件下泥炭中带有极性 头基的 brGDGTs 与不含极性头基的 brGDGTs 间的 周转时间更长,从而影响 brGDGTs 产量<sup>[29]</sup>。 GDGTs 的相对分布也会响应土壤湿度的变化。土壤 现代过程调查结果显示 brGDGTs 与奇古菌醇 (Crenarchaeol, 一种 isoGDGT) 的相对含量变化对土 壤含水量 (SWC) 非常敏感, 因而表示二者比值的支 链与类异戊二烯四醚指标 (BIT) 被认为可用于指示 土壤湿度<sup>[24]</sup>;此外,随着指标的大量应用及区域性 研究的深入,研究者发现 SWC 或年均降水量 (MAP) 也会影响基于 brGDGTs 分布的古温度指标 (如 brGDGTs 甲基化指数 MBT'等) 在土壤<sup>[2,21,23]</sup> 和泥炭沼泽<sup>[30]</sup>中的适用性。

虽然大量野外现代过程研究结果表明 GDGTs 受多种环境因素控制或影响,但是相关的微生物生 态学和生理学机制还不太明确,仅有少量针对 brGDGTs 母源菌株的纯培养实验<sup>[31-32]</sup>。一些研究 推测 brGDGTs 是由多种细菌合成,并且细菌的群落 组成变化对 GDGTs 分布的影响不能忽视<sup>[33-37]</sup>。 然而,目前的单一菌株纯培养无法模拟自然环境的 基质条件,也无法获取不同来源 GDGTs 的相对变化 特征。例如, Chen 等<sup>[31]</sup>和 Halamka 等<sup>[32]</sup>针对 Candidatus Solibacter usitatus 的培养实验收获的 brGDGTs 组分缺乏 6-甲基 brGDGTs, 并且微生物的 群落效应不能体现。在 GDGTs 生物来源尚不十分 清楚的情况下,通过其他手段开展培养实验也是理 解和探究 GDGTs 环境代用指标原理的有效途径。 目前,已有研究尝试了通过野外原位培养<sup>[38-40]</sup>和实 验室培养<sup>[33,41-45]</sup>来检验 brGDGTs 与环境因子的关 系,结果显示 brGDGTs 分布与温度、pH 和氧气浓度 等密切相关。然而,上述野外原位培养和实验室培 养可能受样品原有 brGDGTs 本底的干扰, 不能完全 获得培养时期新生成 brGDGTs 的信号, 这制约了系 统理解土壤环境中 brGDGTs 对环境因子的精确响应。

本文尝试对人工配置的无 GDGTs 本底土壤进 行了不同湿度下的 GDGTs 长期培养实验,应用高效 液相色谱-大气压化学电离-质谱 (HPLC-APCI-MS) 法 分 析 培 养 后 土 壤 中的 GDGTs, 探 究 其 中 isoGDGTs 和 brGDGTs 的含量与相对分布对不同培 养条件 (包括 SWC 变化、是否添加磷酸盐缓冲溶 液) 的响应, 以及 brGDGTs 自身的分布特征及其对 古温度代用指标的影响。此外, 本文还将讨论不同 分析方法和不同型号仪器对 GDGTs 定量的影响, 相 关结果将为基于 GDGTs 的气候代用指标研究提供 参考。

## 1 实验部分

#### 1.1 仪器和设备

高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪 (HPLC-MS 8030, 日本 Shimadzu 公司)。

高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质 谱联用仪 (Vanquish Core HPLC-Orbitrip Exploris 120, 美国 ThermoFisher 公司)。

数控超声波清洗器 (KQ-300DB 型, 昆山市超声 仪器有限公司)。水浴加热氮吹浓缩仪 (MTN-2800W, 天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。低速离心机 (TDL-80-2B, 上海安亭科学仪器厂)。可调式混匀仪 [MX-S, 大龙兴创实验仪器 (北京) 股份公司]。

#### 1.2 实验材料和主要试剂

用于 HPLC-MS 8030 的色谱柱 (两根 Inertsil SIL-100A, 250mm×4.6mm, 3µm, 日本 Shimadzu 公司)。用于 HPLC-Orbitrap Exploris 120 的色谱柱 (两根 ACQUITY UPLC BEH HILIC 柱, 13nm; 150mm× 2.1mm, 1.7µm, 美国 Waters 公司)。

前处理使用溶剂:二氯甲烷、甲醇(色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司)。

HPLC-APCI-MS 流动相使用溶剂:正己烷、 异丙醇(色谱纯,上海安谱实验科技股份有限公司)。

磷酸盐缓冲溶液: 1.0mol/L, pH 7.4(25℃), 购自 美国 Sigma-Aldrich 公司。

#### 1.3 GDGTs 的培养实验

將麦麸、细沙和红黏土 (质量比为 5:93:2) 混 合后充分搅拌, 配置了一种人造土壤。细沙在 500℃ 下燃烧 5h 以去除 GDGTs 本底, 未研磨。红黏土采 集自黄土高原新鲜露头的第三纪剖面并研磨过 100 目筛。麦麸为小麦磨取面粉后筛下的种皮, 呈片状 或粉状。细沙和红黏土的混合物可以提供类似土壤 的质地, 麦麸为微生物的生长提供有机碳。分别取 10g 该人工土壤和 30g 实验所用红黏土样品抽提后均 未检测到 GDGTs, 因此后续培养实验获得的 GDGTs 应该是后期自生的信号, 而不是土壤本底信号。

取 8 等份人造土壤 (每份约 53g) 分成两组, 每 组各 4 份分别置于 250mL 烧杯中, 第一组 (A<sub>1</sub>~A<sub>4</sub>) — 317 — 加入磷酸盐缓冲溶液平衡人工土壤的 pH 值, 第二 组 (B<sub>1</sub>~B<sub>4</sub>)不添加缓冲溶液。在相对恒定的温度 (21.3±2.3℃)和每天约 12h 的光照条件下培养。培 养过程中, 设置 4 个湿度梯度, 按最高土壤含水量 (SWC) 从 10% 到 40% 梯度变化 (表 1), 向所有人工 土壤中定期加入相应含量的蒸馏水 (每月约 2 次)。 含水率计算方法为: (土壤湿重-土壤干重)/土壤干 重×100%。培养的烧杯利用致密的纱布覆盖, 以保持 好氧环境并减少灰尘污染。培养实验持续 4 年后收 获 2 组含 GDGTs 的人工土壤样品, 实验过程中没有 收集中间样品, 以避免实验样品被过多地扰动。

#### 1.4 样品前处理和 GDGTs 定量分析

将样品冷冻干燥后研磨,各取 10g 用二氯甲烷-甲醇 (9:1, *V/V*) 超声提取 3 次,每次 30min,得到含 GDGTs 的萃取液,在氮气下吹干,用正己烷重新溶解 并使用 0.22µm 聚四氟乙烯 (PTFE) 滤膜进行过滤后 等待上机检测。

GDGTs的分析分别在中国科学院地球环境研究所购置的两台 HPLC-APCI-MS上进行。梯度洗脱方法使用改进的色谱方法<sup>[25,46]</sup>,能够分离 5-甲基和 6-甲基 brGDGTs。HPLC-MS 8030 使用正己烷(A)和异丙醇(B)作为流动相,初始流动相 A 比例为 97%,在 0~85min 内线性降至 96%,随后在 4min 内降至 20%并保持 20min,最后升至初始浓度,流动相流速为 0.6mL/min; HPLC-Orbitrap Exploris 120 使用正己烷(A)和正己烷-异丙醇(9:1,B)作为流动相,0~25min 内用 82%的 A 等压洗脱,25~50min 内线性降至 65%,50~80min 降至 0% 后保持 10min,最后恢复至初始状态,流动相流速为 0.2mL/min。两台 HPLC-APCI-MS 柱温均为 40℃,且均在选择离子监测(SIM)模式下对 GDGTs 和 archaeol的特定

#### 表1 本研究培养条件、主要 GDGTs 含量及指标

Table 1 Incubation conditions and concentrations of GDGTs in this study.

[M+H]<sup>+</sup>离子进行分析。HPLC-MS 8030 扫描的质荷 比(m/z)包括:1302.30、1300.30、1298.30、1296.30、 1292.30, 1050.00, 1048.00, 1046.00, 1036.00, 1034.00、1032.00、1022.00、1020.00、1018.00,依次 对应于 isoGDGTs 的 GDGT-0、GDGT-1、GDGT-2、 GDGT-3、 crenarchaeol 和 crenarchaeol', 以 及 brGDGTs 的Ⅲa 和Ⅲa'、Ⅲb 和Ⅲb'、Ⅲc 和Ⅲc'、Ⅱa 和Ⅱa'、Ⅱb和Ⅱb'、Ⅱc和Ⅱc'、Ⅰa、Ⅰb、Ⅰc。类似 的, HPLC-Orbitrip Exploris 120 扫描的 m/z包括: 1300.3071 1302.3227 1298.2914 1296.2757 1292.2444 1050.041 1048.0253 1046.0097、 1034.0097 1036.0253 1031.994 1022.0097 1019.994、1017.9784。 以 HPLC-Orbitrap Exploris 120 在分辨率为 30000(FWHM), 质量精度为 20ppm 下的测试结果为例,各 GDGTs 化合物色谱图如图 1 所示。

#### 1.5 数据质量控制

HPLC-Orbitrap Exploris 120内置 Thermo Scientific<sup>TM</sup> EASY IC<sup>TM</sup> 内标校正源,在仪器工作的 同时即可实时校正质量轴,可实现连续5天质量偏移 小于1ppm。两台HPLC-APCI-MS 均如用C<sub>46</sub>GTGT 作为内 标<sup>[47]</sup>进行 GDGTs 和 archaeol 的定量,假设它们具 有相同的响应因子,多次连续测量峰面积误差不超 过 3%。

#### 1.6 GDGTs 指标计算方法

本文对 MBT'、MBT'<sub>5ME</sub>、IR<sub>6ME</sub>、BIT、ACE 指标 进行计算。其中温度指标 MBT'和 MBT'<sub>5ME</sub> 使用由 Peterse 等<sup>[48]</sup>和 de Jonge 等<sup>[25]</sup>在 Weijers 等<sup>[19]</sup> 的基础上重新定义的公式; 代表 6-甲基 brGDGTs 与 5-甲基 brGDGTs 相对比例的 IR<sub>6ME</sub> 指标根据 de Jonge 等<sup>[49]</sup>计算; 可作为古湿度指标的 BIT 根据

样品编号	缓冲溶液	含水量	archaeol 含量	isoGDGTs 含量	brGDGTs 含量	ACE	BIT	IR <sub>6ME</sub>	MBT'	MBT'5ME
	2011110	(%)	(ng/g)	(ng/g)	(ng/g)					
$A_1$	+	0 ~ 10	0.56	0.81	4.31	19.58	0.91	0.99	0.06	0.87
$A_2$	+	$0 \sim 20$	6.98	4.86	1.85	42.44	0.36	0.86	0.16	0.59
$A_3$	+	0 ~ 30	13.58	11.99	4.82	47.37	0.34	0.99	0.15	0.93
$A_4$	+	$0 \sim 40$	8.75	26.73	13.15	19.92	0.33	1	0.07	0.96
$\mathbf{B}_1$	-	$0 \sim 10$	0.82	9.03	12.75	8.54	0.64	1	0.08	0.98
$B_2$	-	$0 \sim 20$	3.93	34.49	5.89	5.17	0.19	0.99	0.03	0.84
$B_3$	_	$0 \sim 30$	3.80	48.27	3.39	4.75	0.11	0.99	0.06	0.90
$B_4$	_	$0 \sim 40$	3.31	50.26	23.66	3.71	0.45	0.99	0.06	0.97

注: "+"表示在培养中加入磷酸盐缓冲溶液, "-"表示在培养中未加磷酸盐缓冲溶液。archaeol 是一种二醚古菌醇; isoGDGTs 和 brGDGTs 分别为类异戊二烯类 GDGTs 和支链 GDGTs, 均属于 GDGTs。ACE 指标为盐度指标; BIT 指标可指示土壤湿度; IR<sub>6ME</sub> 反映的是 5-甲基 brGDGTs 和 6-甲基 brGDGTs 的相对比例; MBT'和 MBT'<sub>5ME</sub> 为 brGDGTs 古温度指标。



GDGT-0、GDGT-1、GDGT-2、GDGT-3、crenarchaeol 为 isoGDGTs 组分名称; Ⅲa、Ⅲa'、Ⅲb、Ⅲb、Ⅲc、Ⅲc'、Ⅱa、Ⅱa'、Ⅱb、Ⅱb、Ⅱc、Ⅱc'、Ⅱa、Ⅰa、Ⅰb、Ⅱc、Ⅱc'、Ⅰa、Ⅰb、Ⅰc、Ⅱc、Ⅱc'、Ⅰa、Ⅰb、Ⅰc为 brGDGTs 组分名称。

图1 HPLC-Orbitrap Exploris 120 上的 GDGTs 色谱图 (以 B<sub>2</sub> 样品为例)

Fig. 1 Chromatograms of GDGTs on HPLC-Orbitrap Exploris 120 (B₂ sample taken as example). GDGT-0, GDGT-1, GDGT-2, GDGT-3 and crenarchaeol are isoGDGTs. 𝔄 a, 𝔄 a', 𝔄 b, 𝔄 c, 𝔄 c', 𝔄 a, 𝔄 a', 𝔄 b', 𝔄 c', 𝔄 a, 𝔄 b, 𝔄 c are brGDGTs.

Hopmans 等<sup>[50]</sup> 计算; 盐度指标 ACE 计算采用由 各指标计算公式如下,式中各化合物名称代表 Turich 等<sup>[51]</sup> 定义、Wang 等<sup>[52]</sup> 改良的公式。 其相对含量。  $MBT' = \frac{Ia+Ib+Ic}{IIIa+IIIa'+IIa+IIa'+IIb+IIc'+IIc'+Ia+Ib+Ic}$  $MBT'_{SME} = \frac{Ia+Ib+Ic}{IIIa+IIa+IIb+IIc+Ia+Ib+Ic}$  $IR_{6ME} = \frac{IIIa'+IIIb'+IIIc'+IIa'+IIb'+IIc'}{IIIa+IIb+IIc+IIa+IIb+IIc'+IIa'+IIb'+IIc'}$  $BIT = \frac{Ia+Ia+IIa+IIa+IIa'+IIIa'}{Ia+IIa+IIa+IIa'+IIIa'}$ ACE = archaeol/(archaeol+10×GDGT-0)×100

## 2 结果与讨论

## 2.1 液相色谱方法和高分辨质谱条件对 GDGTs 定量分析的影响

对复杂环境样品中 GDGTs 的准确识别和定量 分析,是相关环境代用指标使用的基础。目前用于研究 GDGTs 的分析方法和质谱检测仪器类型众多<sup>[53-54]</sup>, 最常见和使用广泛的仪器为 HPLC-APCI-MS,其中 质谱技术主要有四极杆质谱、离子阱质谱、飞行时间 质谱和轨道阱质谱等。此外,不同的色谱柱以及流 动相条件对 GDGTs 的分离效果可能也会有显著影 响<sup>[46,55-56]</sup>。全球众多有机地球化学实验室使用的 质谱仪和方法均有差异,很难实现实验室标准的统 一,因此 HPLC-APCI-MS 技术经验显得尤为重要, 可以发现检测过程和结果出现的异常情况。

项目组在培养实验的一些样品中发现,由于含 量差异,brGDGTs相较于 isoGDGTs 的色谱响应强 度较低 (图 1)。本研究中使用的两台 HPLC-APCI-MS 在正常工作条件下,一些 brGDGTs 谱图附近存 在杂质峰,这在一定程度上会影响其积分结果。另 外,由于两台 HPLC-APCI-MS 联用仪的色谱柱和洗 脱方法的差异,杂质峰在色谱柱上的保留行为会有 一定差异,进而导致保留时间移动。例如,两台仪器 中 Ia 的色谱图均出现明显的非 GDGTs 的干扰峰, 但 Shimadzu 公司的液相色谱-三重四极杆质谱色谱 结果显示干扰峰前半部分与 Ia 色谱峰重叠 (图 2a), 而 ThermoFisher 公司的液相色谱-轨道阱质谱色谱 结果显示干扰峰后半部分与 Ia 色谱峰重叠 (图 2b)。 对于不同仪器色谱图的结果,这种差异可能会干扰 直接对比。

进一步,质谱的检测精度也会影响 GDGTs 的定 量分析。ThermoFisher 公司的轨道阱质谱仪凭借其 高质量精度和高分辨率,在去除色谱难以分离的杂 质方面表现出显著优势。在质量精度为 100 ppm 的 情况下,即使分辨率较高,也可能难以有效区分质荷 比相近的化合物,从而可能导致干扰峰的出现(图 2b); 然而,当质量精度提高到 20 ppm 时,质谱仪能够提 供更高的数据解析能力,从而减少质荷比相近化合 物之间的干扰,包括那些色谱无法分离的杂质(图 2b), 改善数据的清晰度和可靠性。因此,高质量精度和 高分辨率是提高复杂基质中 GDGTs 分析准确性和 可靠性的两个关键因素。高质量精度保证了测量的 准确性,而高分辨率则确保了离子峰的清晰分离,二 者结合能够提供更可靠的分析结果。

# 2.2 土壤含水量和磷酸盐缓冲溶液对 GDGTs 的 影响

2.2.1 GDGTs的分布特征及含量对培养条件的响应 所有培养后的样品中均能检测到 GDGTs。

对于 isoGDGTs 各 化 合 物, crenarchaeol、GDGT-0、GDGT-2、GDGT-3、GDGT-1 的丰度依次减小; 对于



(a) Ia(m/z 1022) 在 HPLC-MS 8030 上的色谱图, 灰色阴影部分为杂 质峰; (b) 红色线和黑色线分别为质量精度在 20ppm 和 100ppm 下 Ia(m/z 1022) 在 HPLC-Orbitrap Exploris 120 的色谱图, 灰色阴影部分 为杂质峰。

#### 图2 不同色谱方法和质谱条件下杂质峰的色谱行为(以 B<sub>2</sub> 样品为例)

Fig. 2 Performance of chromatographic behavior of impurity peaks using different analytical methods ( $B_2$  sample taken as example). (a) Chromatogram of Ia (m/z 1022) on HPLC-MS 8030, with impurity peaks being shaded in gray; (b) The red and black lines are the chromatograms of Ia (m/z 1022) on HPLC-Orbitrap Exploris 120 with mass tolerance of 20ppm and 100ppm, respectively, and the gray shading part is the impurity peak. brGDGTs 各化合物, Ⅱ a、Ⅱ b、Ⅲ a、Ⅲ b 的丰度高于 其异构体Ⅱ a'、Ⅱ b'、Ⅲ a'、Ⅲ b', 即 5-甲基 brGDGTs 丰度显著低于 6-甲基 brGDGTs(图 3)。

加入磷酸盐缓冲溶液的人工土壤中, GDGTs 含 量为 5.14~39.89ng/g, 其中 crenarchaeol 丰度最高 (平均 33.72%),反映了更高的奇古菌对于 isoGDGTs 的贡献,其次为Ⅱa'(21.51%)、Ⅲa'(12.3%)、GDGT-0 (9.06%)。未加磷酸盐缓冲溶液的人工土壤中 GDGTs 含量为 21.79~73.95ng/g, 显著高于添加磷 酸盐缓冲溶液的人工土壤的 GDGTs 含量。另外,加 入磷酸盐缓冲溶液的人工土壤中二醚类 archaeol 化 合物含量普遍高于未加磷酸盐缓冲溶液的人工土壤 (表 1)。不论是否添加磷酸盐缓冲溶液, SWC 对 GDGTs 含量均有很强的影响, GDGTs 总体含量随最 高 SWC 的增加呈上升趋势 (图 4a), 这与在自然环境 中观察到的 GDGTs 含量与 SWC 关系一致<sup>[23-24, 26]</sup>。 另外,本实验样品中 isoGDGTs 含量显著高于 brGDGTs(表 1,图 4b),与之前报道的中国干旱、半干 旱地区 (如黄土高原) 的碱性土壤一致<sup>[1,57]</sup>, 与湿润 地区 (如华南地区)的酸性土壤不一致<sup>[1]</sup>。这可能 是由于实验过程中是以间歇性而非持续性给水的方 式来控制 SWC 的,因此土壤是间歇性干旱的状态, 更有利于产 isoGDGTs 的古菌生长。

#### 2.2.2 GDGTs 指标对培养条件的响应

GDGTs 指标计算显示, MBT、MBT'<sub>5ME</sub>、IR<sub>6ME</sub> 变化范围较小(图 5), 而 BIT 指标和 ACE 指标变化 范围较大, BIT 指标的整体变化范围介于 0.11~0.91



(+)代表添加了磷酸盐缓冲溶液的人工土壤。

#### 图3 培养样品 GDGTs 的平均丰度

Fig. 3 Average abundance of GDGTs in incubated samples. (+) Represents artificial soils incubated with phosphate buffer solution.



(+)代表添加了磷酸盐缓冲溶液的人工土壤。

- 图4 培养实验 GDGTs 含量与最高培养湿度的关系:
  (a) 总 GDGTs 与培养湿度的关系;
  (b) brGDGTs 和 isoGDGTs 与培养湿度的关系
- Fig. 4 Relationship between concentrations of GDGTs and maximum humidity. (a) Relationship between total GDGTs and humidity; (b) Relationship between brGDGTs, isoGDGTs and humidity. (+) Represents artificial soils incubated with phosphate buffer solution.

之间 (表 1,图 5),加入磷酸盐缓冲溶液和未加磷酸盐 缓冲溶液的人工土壤 ACE 值分别为 19.6~47.4 和 3.7~8.5(表 1,图 5)。实验结果显示 SWC 与 brGDGTs 含量并无显著的相关性,但与 crenarchaeol 浓度呈显 著 的 正 相关 (*R*<sup>2</sup>=0.90),这导 致 反 映 土 壤 细 菌 brGDGTs 与奇古菌标志物 crenarchaeol 的相对丰度 的 BIT 指标与 SWC 无明显关系,与以往研究者在天 然环境中观察到的 BIT 指标与 SWC 或降水量呈正 相关的现象<sup>[1,24,57]</sup>不同。这表明 SWC 不是影响 BIT 的直接因素,自然环境中 SWC 可能是通过影响 其他环境参数 (如土壤通气条件)对 BIT 指标产生影 响的,较低的土壤含水率可以促进高氧生态位的形 成。另一方面,由于培养实验所用红黏土没有进行 一定的灭菌处理,后续培养的菌群可能只能代表黄

土高原产 GDGTs 的菌群生态组成, 而不能代表其他 环境产 GDGTs 的菌群生态组成。因此, 在使用 BIT 指标进行古气候研究时,需要综合考虑土壤湿度以 及其他环境因素,以更准确地解释和推断古湿度条 件。在加入磷酸盐缓冲溶液的土壤中 ACE 盐度指 标的值偏高,其原因可能是磷酸盐缓冲溶液导致土 壤盐度增加,盐度直接影响微生物的生长或调控微 生物群落组成<sup>[31,52,58]</sup>。另外,基于磷酸盐缓冲溶液 对 GDGTs 含量的影响, 在今后的土壤培养实验中要 谨慎使用缓冲盐溶液,考虑在培养过程中其对于 GDGTs 母源微生物的作用。虽然磷酸盐缓冲溶液是 一种微生物实验中良好的缓冲溶液,可以有效地减 少培养实验 pH 变化, 但在间歇性给水的土壤中, 磷 酸盐缓冲溶液带来的 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>等交换阳离子在土壤 表面聚集可能成为抑制 GDGTs 产生的潜在因素<sup>[59]</sup>。 除ACE 指标外,磷酸盐缓冲溶液对 MBT、MBT'5ME、 IR6ME等常用指标似乎也有一定影响(表 1,图 5), 但这些指标变化范围并不是非常显著,其原因有待 进一步探究。

需要指出的是,培养环境和自然环境存在一定 的差异,培养环境是一种简化和人为控制的条件,虽 然容易控制某方面条件用于研究微生物的基本特性 和生长规律,但自然环境才是微生物生态系统的真 实反映,其中存在着更多的复杂性和动态性,如不同 区域的土壤有不同的土壤质地、蒸散发和植被情况 等。另外,在自然环境中,微生物面临着与其他微生 物之间复杂的竞争和相互作用(包括资源竞争、共生 关系、竞争性抑制等),这些相互作用可能会对微生 物产生重要影响。因此,在今后的研究中需要同时 考虑培养环境和自然环境,以更全面地理解微生物 的生态学和功能。

## 6-甲基 brGDGTs 培养结果对 brGDGTs 古温度 指标研究的启示

### 2.3.1 较纯 6-甲基 brGDGTs 的培养

本研究结果显示,可通过无本底培养实验获得 较纯的 6-甲基 brGDGTs。对于大部分样品,代表 6-甲基 brGDGTs 与 5-甲基 brGDGTs 相对比例的 IR<sub>6ME</sub> 指标 $\geq$ 0.99。例如,未添加磷酸盐缓冲溶液的 人工培养土壤样品 (B<sub>1</sub>~B<sub>4</sub>)中,在设置的湿度范围 内 (0%~40%),6-甲基brGDGTs 的绝对含量(10.35ng/g) 显著高于 5-甲基 brGDGTs(0.05ng/g)。前人研究推 测 5-甲基 brGDGTs 和 6-甲基 brGDGTs 可能由不同 的细菌产生<sup>[33,56,60]</sup>,最近对 *Candidatus Solibacter usitatus* 的独立培养结果显示,该菌株在不同温度、



(+)代表添加了磷酸盐缓冲溶液的人工土壤。

图5 磷酸盐缓冲溶液对 BIT (a)、ACE(b)、MBT'(c)和 MBT'<sub>5ME</sub>(d)指标的影响

Fig. 5 Effects of phosphate buffer solution on BIT (a), ACE (b), MBT' (c) and MBT'<sub>SME</sub> (d) proxies in artificial soil. (+) Represents artificial soils incubated with phosphate buffer solution.

pH 和含氧水平下均能产生 5-甲基 brGDGTs 和四甲 基化 brGDGTs, 但不产生 6-甲基 brGDGTs<sup>[31-32]</sup>。 本培养实验表明 6-甲基 brGDGTs 的母源细菌也有 望独立于 5-甲基 brGDGTs 的母源细菌被培养,从培 养实验的角度进一步支持了 5-甲基 brGDGTs 和 6-甲基 brGDGTs 来源于不同种类微生物的观点。本 研究中纯 6-甲基 brGDGTs 大量产生的原因可能是 产 6-甲基 brGDGTs 的细菌相对于其他产 brGDGTs 的细菌生长繁殖更快,或是产 6-甲基 brGDGTs 的细 菌非常适应该培养实验条件 (如间歇性干旱条件或 好氧条件)。之前的研究也显示了在较干旱的黄土高 原和西北干旱区, 6-甲基 brGDGTs 的含量高于 5-甲 基 brGDGTs, 而在较湿润的南方和东北地区 (尤其是 大兴安岭), 5-甲基 brGDGTs 占优势 <sup>[61-63]</sup>。因此, 较纯的 6-甲基 brGDGTs 反映了在这种环境压力下, 能够产生这种 GDGTs 的微生物相对较多或相对活 跃。进一步的微生物学实验和分析可以验证这些假 设,并提供更全面的解释。

2.3.2 较纯 6-甲基 brGDGTs 对 MBT'<sub>SME</sub> 和 MBT' 温度代用指标的影响

这种由 6-甲基 brGDGTs 母源细菌产生的 GDGTs 组分对于 brGDGTs 古温度指标也会产生一 定影响。例如, MBT'<sub>SME</sub> 指标是由四甲基化 brGDGTs (包括 Ia、Ib、Ic)和 5-甲基 brGDGTs 的相对比例差 异计算所得<sup>[25]</sup>,似乎与 6-甲基 brGDGTs 无关。然 而,最近一些天然样品显示即使在没有 5-甲基 brGDGTs 时,四甲基化 brGDGTs 也会与 6-甲基 brGDGTs 一同生成<sup>[33]</sup>, 且当代表 6-甲基 brGDGTs 比例的 IR<sub>6ME</sub>>0.5 时 MBT'<sub>SME</sub>(或 MBT') 与温度之间 的相关性较差<sup>[21,64]</sup>, 所以仅将 6-甲基 brGDGTs 从 brGDGTs 温度指标中剔除而不考虑其对相关四甲基 化 brGDGTs 的影响并不合适。

最近, Wang 等<sup>[65]</sup>使用非线性理论模型验证 了 brGDGTs 母源微生物种属变化 (包括 5-甲基种属 和 6-甲基种属)导致的 IR<sub>6ME</sub> 变化会影响 MBT'5ME 和MBT温度指标适用性,且随着 IR<sub>6ME</sub> 的增加,其 对 MBT'5ME 和 MBT'的影响显著增强。因此,自然环 境中的 brGDGTs 被认为至少可以分为两组:① 5-甲 基GDGTs组,包括5-甲基brGDGTs以及相应的四 甲基化 brGDGTs(I<sub>5</sub>); 2 6-甲基 GDGTs 组, 包括 6-甲 基 brGDGTs 以及相应的四甲基化 brGDGTs(I6)。分 别代表 5-甲基 brGDGTs 组和 6-甲基 brGDGTs 组 MBT'的 MBT',和 MBT',指标均与温度正相关,但各 自的斜率不同<sup>[65]</sup>。本研究从培养实验的角度进一 步支持了 Wang 等<sup>[65]</sup>的观点, 尽管样本数量有限, 无法确定 IR<sub>6ME</sub> 与 MBT'5ME 或 MBT'之间的确切相关 性,但培养实验结果显示在 IR6ME 指数接近于1时, MBT'5ME 指标值极高而 MBT'指标值非常低 (表 1), 这与 Wang 等<sup>[65]</sup>的理论模型结果一致。

另外,根据培养实验获得的较纯的 6-甲基 brGDGTs 组信号,本研究进一步计算了培养温度下 6-甲基 brGDGTs 组的 MBT'端元值 (MBT'<sub>6</sub>),以验 证其与生长温度的定量关系。对于 IR<sub>6ME</sub>≥0.99 的 样品 (除 A<sub>2</sub> 的其他 7个样品), MBT'<sub>6</sub>平均值为 0.07±0.04(*N*=7)。这与 Wang 等<sup>[65]</sup> 根据天然湖泊和 土壤样品推断的 0~25℃ 范围内普遍较低的 MBT'。 值是一致的,在一定程度上证实了低 MBT'。端元的 可靠性。然而,需要注意的是,本培养实验结果计算 的 6-甲基组 MBT'。比通过天然样品推断的该温度下 的 MBT'。端元值稍偏低 (图 6)。因此未来需要开展 更多不同条件下的培养实验来明确 MBT'。与温度的 精确定量关系,进一步校正基于 MBT'<sub>5</sub>和 MBT'。的 温度定量计算方程<sup>[65]</sup>。

### 3 结论

利用人工配置的无 GDGTs 本底土壤探究了土 壤湿度及其他培养条件对 GDGTs 含量以及部分代 用指标的影响。对培养样品进行 GDGTs 分析时发 现了未完全分离的杂质峰,且不同 HPLC-APCI-MS 的色谱条件会影响 GDGTs 杂质峰的色谱行为, 而高 分辨率质谱条件可有效地去除杂质峰对 GDGTs 定 量的干扰,因此采用了高分辨条件进行 GDGTs 的定 量分析。GDGTs 定量分析结果显示:实验条件下 BIT 指标与 SWC 并无明显相关性,表明土壤湿度可 能不是影响 BIT 的直接因素:另外,磷酸盐缓冲溶液 的加入会给培养系统带来更多的盐离子,显著抑制 isoGDGTs 和 brGDGTs 的产生, 但有利于 archaeol 的产生,导致 ACE 值升高。进一步针对细菌产生的 brGDGTs,本研究发现可以通过培养实验获得较纯 的 6-甲基 brGDGTs,并从培养实验的角度验证了产 6-甲基 brGDGTs 的微生物的贡献会影响 MBT'SME 和 MBT 古温度指标的定量应用。

利用人工配置的无本底土壤进行 GDGTs 培养



 $MBT_{5}$ 和 MBT<sub>6</sub>分别代表 5-甲基 brGDGTs 组和 6-甲基 brGDGTs 组 的 MBT,绿色箱线图表示本研究中培养土壤的 MBT<sub>6</sub>数据,其他 数据均来自 Wang 等<sup>[65]</sup>使用的前人已发表数据<sup>[31-33,60,62,66-70]</sup>。

#### 图6 MBT's和 MBT'。与生长温度的定量关系

Fig. 6 Quantitative relationships between MBT'<sub>5</sub> (or MBT'<sub>6</sub>) and growth temperature. MBT'<sub>5</sub> and MBT'<sub>6</sub> represent MBT' of the 5-methyl brGDGT set and 6-methyl brGDGT set, respectively. The green boxplot represents the MBT'<sub>6</sub> data for the incubation soils in this study, while other data are from previous studies <sup>[31-33, 60, 62, 66-70]</sup> used by Wang, et al <sup>[65]</sup>.

研究具有一定的先行性,将为后续培养实验和基于 GDGTs 的气候代用指标的应用提供重要启示。但本 实验也存在一些缺陷,例如,缺少平行实验,实验过 程中未对环境参数进行详细监测,缺乏微生物分析 等。后续可以考虑进一步完善培养实验,引入更多 影响 GDGTs 生成的因素作为控制变量,从而有助于 更为全面地评估 GDGTs 在不同环境条件下的生成 与分布规律,为基于 GDGTs 的古环境重建工作提供 更为详尽的实验数据基础。

# Abundance and Distribution of GDGTs in Incubated Artificial Soils with No Fossil Pool

MIAO Rui<sup>1,2</sup>, ZHAO Zenghao<sup>1</sup>, CAI Zeyuan<sup>1</sup>, LIU Xu<sup>1,3</sup>, WANG Huanye<sup>1\*</sup>

- State Key Laboratory of Loess and Quaternary Geology, Institute of Earth Environment, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710061, China;
- 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;
- 3. Xi'an Institute for Innovative Earth Environment Research, Xi'an 710061, China)

#### HIGHLIGHTS

- (1) No fossil GDGTs were detected in the artificial soil used in the incubation experiment, and therefore the obtained GDGTs were completely newly produced and can better reflect response to incubation conditions.
- (2) The results of the incubation experiment showed that there was a positive correlation between SWC and concentrations of GDGTs, but no direct correlation between BIT and SWC.
- (3) In this incubation condition, 6-methyl brGDGTs were more abundant than 5-methyl brGDGTs, and the brGDGT distributions confirmed that IR<sub>6ME</sub> could affect the applicability of the MBT'<sub>5ME</sub> paleothermometer.

**ABSTRACT:** Glycerol dialkyl glycerol tetraethers (GDGTs) derived from microorganisms are important tools for the study of paleoclimate changes. Incubation experiments are helpful to clarify the mechanisms for the responses of GDGTs to environmental parameters, and to test the reliability of related climatic proxies. However, previous GDGT incubation experiments were mainly conducted on a single strain or suffered from the influence of a background signal, hampering systematically understanding the precise response of this biomarker to environmental factors in a soil environment. In this paper, artificial soils without GDGTs were incubated under the same temperature but different soil water content (SWC) conditions. The results showed that: (1) The abundances of GDGTs were positively correlated with SWC, but phosphate buffer could inhibit the production of GDGTs; (2) The branched and isoprenoid tetraether index (BIT), a soil moisture proxy developed in natural soils, was not significantly correlated with SWC; (3) 6-methyl brGDGTs were more abundant than 5-methyl brGDGTs, resulting in extremely high values of MBT'<sub>SME</sub> and low MBT'. The results suggest that the BIT soil moisture proxy may indirectly (rather than directly) respond to SWC changes and confirm that high relative abundance of 6-methyl brGDGTs can affect the applicability of the MBT'<sub>SME</sub> paleothermometer in soils. The BRIEF REPORT is available for this paper at http://www.ykcs.ac.cn/en/article/doi/10.15898/j.ykcs.202405240120.

**KEY WORDS**: GDGTs; incubation experiment; high resolution mass spectrometry; soil moisture proxy; temperature proxy

#### **BRIEF REPORT**

**Significance:** Glycerol dialkyl glycerol tetraethers (GDGTs) are a series of microbial membrane lipids produced by archaea and bacteria. They are widely distributed in a range of natural environments including soils, lakes, oceans, peat bogs, stalagmites, and fossil bones<sup>[1-15]</sup>, relatively resistent to degradation, and sensitive to environmental variables. Therefore, they have increasingly been used as a popular tool in the study of past cliamte changes<sup>[16-17]</sup>. In soils, the distribution of brGDGTs are significantly correlated with soil moisture condition and temperature, therefore, many GDGT-based paleotemperature and paleohydrological proxies have been developed. Particularly, for soil moisture, modern investigations suggest that, the branched and isoprenoid tetraether index (BIT) which — 324 —

represents the ratio of bacterial brGDGTs to crenarchaeol, can track soil water content (SWC) changes and thus can be used as a soil moisture proxy<sup>[24]</sup>. On the other hand, soil mosture condition can also affect the applicablity of brGDGT-based paleotemperautre proxies<sup>[2,21,23]</sup>. The mechanisms for the effect of soil moisture on the BIT soil moisture proxy and other paleotemperautre proxies, however, remain inadequately understood.

Incubation experiments are helpful to clarify the mechanisms for the responses of GDGTs to environmental variables, and to test the reliability of related climatic proxies. Two recent studies incubated *Candidatus Solibacter usitatus* and observed abundant brGDGTs<sup>[31-32]</sup>, but the results of this single-strian incubation cannot fully represent those for all brGDGT-producing microrganisms in the soil matrix. Some other works tested the correlation between incubated parameters and brGDGTs by *in situ* experiments in the field<sup>[38-40]</sup> or laboratory incubation experiments<sup>[33,41-45]</sup>, but the interference of fossil signals cannot be exluded.

In this paper, we performed a 4-year incubation experiment using artificial soils without fossil GDGTs. By incubating these artificial soils under the same temperature but different soil water content (SWC), the response of newly produced GDGTs to incubated parameters was explored, and the impact of brGDGT distribution on the applicablity of the brGDGT paleothermometer was assessed. While the abundances of incubated GDGTs were positively correlated with SWC, the BIT soil moisture proxy was not significantly correlated with SWC, suggesting that this index may indirectly (rather than directly) respond to SWC changes. Additionally, 6-methyl brGDGTs were more abundant than 5-methyl brGDGTs, resulting in extremely high values of MBT'5ME and low MBT', confirming that high relative abundance of 6-methyl brGDGTs can affect the applicability of the MBT'<sub>SME</sub> paleothermometer in soils. To our knowledge, this is the first work that incubates GDGTs using artificial materials to imitate soil matrix conditions, but excludes the interference of fossil GDGT signals. The results will provide important implications of the study of GDGTs and their related paleoclimatic proxies.

**Methods:** Wheat bran, combused sand, and red clay were mixed in a ratio of 5:93:2 to create an artificial soil. Sand and red clay can provide a soil-like condition while wheat bran can provide organic carbon for the growth of microrganisms. No GDGTs were detected in the artificial soil and therefore the GDGTs obtained after incubation should all be produced *in situ*. A total of 8 samples (each 53g in a 250mL beaker) were used in this experiment. These samples were divided into two groups, and phosphate buffer solution was added to one group  $(A_1-A_4)$  to adjust pH during incubation but not added to the other group  $(B_1-B_4)$ . Each group was incubated under relatively constant temperature  $(21.3\pm2.3\,^{\circ}\text{C})$  with a maximum SWC gradient from 10% to 40% (Table 1). The incubated samples were harvested after 4 years.

The incubated soils were ground after freeze-drying, and ultersonicly extracted 3 times with MeOH:dichloromethane (1 : 9, V/V). The total lipid extracts containing GDGTs were dried under nitrogen gas, redissolved in hexane and filtered through a PTFE filter. GDGTs were analyzed on two high performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (HPLC-APCI-MS) systems (Shimadzu HPLC-MS 8030 and ThermoFisher Vanquish Core HPLC-Orbitrip Exploris 120) in Institute of Earth Environment, Chinese Academy of Sciences. The separation of lipids was obtained with coupled silica columns following the chromatography methods capable of separating 5-methyl and 6-methyl brGDGTs<sup>[25,46]</sup>. MS scanning was performed in selected ion monitoring (SIM) mode that targeted specific  $[M+H]^+$  ions for GDGTs. The chromatograms of GDGTs on HPLC-Orbitrap Exploris 120 are shown in Fig.1. The uncertainty for peak area is less than 3% for continuous measurements.  $C_{46}$  GTGT was used for quantification of GDGTs and archaeol on the two HPLC-APCI-MS, assuming that their response factors are identical.

**Data and Results:** There are impurity peaks which cannot be fully resolved with GDGTs in the chromatograms of both HPLC-MS 8030 and HPLC-Orbitrap Exploris 120 (at 100ppm resolution). However, when analyzing the chromatograms of HPLC-Orbitrap Exploris 120 at 20ppm resolution, the impurity peaks no longer exist. Therfore,

high-resolution mode for GDGT quantification was used in this work.

The concentrations of GDGTs range from 5.14 to 39.89ng/g for incubated soils with phosphate buffer solution, are systematically higher than those for incubated soils without phosphate buffer solution (21.79–73.95ng/g) (Table 1, Fig.4). For both groups, the concentrations of GDGTs increase with increasing SWC (Fig.4), in agreement with those observed from natural soils<sup>[23-24,26]</sup>. The BIT index varies between 0.11 and 0.91, but exhibits no obvious relationship with SWC (Table 1). This confirms the field observation of a positive relationship between BIT and SWC or precipitation<sup>[1,24,57]</sup>. Moreover, the Archaeol and Caldarchaeol Ecometric (ACE) salinity proxy ranges from 19.6 to 47.4 and from 3.7 to 8.5 for incubated soils with and without phosphate buffer solution, respectively (Table 1, Fig.5), indicating that the addition of phosphate buffer solution can result in higher salinity.

For most of the incubated soil, relatively pure 6-methyl brGDGTs can be obtained (Fig.1), and the relative proportion of 6-methyl brGDGTs versus 5-methyl brGDGTs, expressed in the isomer ration (IR<sub>6ME</sub>) index, is quite high ( $\geq 0.99$ ) (Table 1). The MBT'<sub>5ME</sub> values are extremely high while MBT' values are extremely low when IR<sub>6ME</sub> approaches 1 (Table 1). For samples with IR<sub>6ME</sub> values  $\geq 0.99$ , the average MBT' value is  $0.07\pm0.04$  (*N*=7), representing the MBT'<sub>6</sub> endmember of 6-methyl brGDGTs at this incubation temperature (21.3±2.3 °C) (Fig.6).

The weak correlation between BIT and SWC indicates that the BIT soil moisture proxy may indirectly, rather than directly, respond to SWC changes. The relatively lower concentration of GDGTs in incubated soils with phosphate buffer solution suggests that this procedure will inhibit the production of GDGTs, and therefore caution should be used when adding phosphate buffer solution in incubation experiments. Moreover, the significantly biased MBT'<sub>SME</sub> and MBT' values confirm that high relative abundance of 6-methyl brGDGTs can affect the applicability of the brGDGT paleothermometer in soils.

## 参考文献

- Yang H, Pancost R D, Dang X Y, et al. Correlations between microbial tetraether lipids and environmental variables in Chinese soils: Optimizing the paleoreconstructions in semi-arid and arid regions[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2014, 126: 49–69.
- [2] 郑峰峰,张传伦,陈雨霏,等.支链四醚膜脂在中国土 壤中的分布:对 MBT/CBT 指标作为古环境指标可靠 性的评估[J].中国科学:地球科学,2016,46(6): 782-800.

Zheng F F, Zhang C L, Chen Y F, et al. Branched tetraether lipids in Chinese soils: Evaluating the fidelity of MBT/CBT proxies as paleoenvironmental proxies[J]. Science China Earth Sciences, 2016, 46(6): 782–800.

- [3] Sun Q, Chu G Q, Liu M M, et al. Distributions and temperature dependence of branched glycerol dialkyl glycerol tetraethers in recent lacustrine sediments from China and Nepal[J]. Journal of Geophysical Research, 2011, 116: 12.
- [4] Li X M, Wang M D, Hou J Z. Centennial-scale climate variability during the past 2000 years derived from lacustrine sediment on the western Tibetan Plateau[J].
   Quaternary International, 2019, 510: 65–75.
- [5] Russell J M, Hopmans E C, Loomis S E, et al.
   326 —

Distributions of 5- and 6-methyl branched glycerol dialkyl glycerol tetraethers (brGDGTs) in East African lake sediment: Effects of temperature, pH, and new lacustrine paleotemperature calibrations[J]. Organic Geochemistry, 2018, 117: 56–69.

- [6] Zhao C, Rohling E J, Liu Z Y, et al. Possible obliquityforced warmth in southern Asia during the last glacial stage[J]. Science Bulletin, 2021, 66(11): 1136–1145.
- [7] Yao Y, Zhao J J, Bauersachs T, et al. Effect of water depth on the TEX<sub>86</sub> proxy in volcanic lakes of northeastern China[J]. Organic Geochemistry, 2019, 129: 88–98.
- [8] 李婧婧,郑峰峰,徐敏,等.长江中下游湖泊 GDGTs 分布及其环境意义[J]. 地球科学,2023,48(11): 4335-4348.

Li J J, Zheng F F, Xu M, et al. Distribution and environmental implication of GDGTs in lake surface sediments from middle and lower reaches of Yangtze River[J]. Earth Science, 2023, 48(11): 4335–4348.

[9] Xiao W J, Wang Y S, Liu Y S, et al. Predominance of hexamethylated 6-methyl branched glycerol dialkyl glycerol tetraethers in the mariana trench: Source and environmental implication[J]. Biogeosciences, 2020, 17: 2135–2148.

第 44 卷

- [10] Wu W Y, Xu Y, Hou S, et al. Origin and preservation of archaeal intact polar tetraether lipids in deeply buried sediments from the South China Sea[J]. Deep Sea Research Part I : Oceanographic Research Papers, 2019, 152: 8.
- [11] Dong L, Li Z Y, Jia G D. Archaeal ammonia oxidation plays a part in late Quaternary nitrogen cycling in the South China Sea[J]. Earth and Planetary Science Letters, 2019, 509: 38–46.
- [12] Rao Z G, Guo H C, Wei S K, et al. Influence of water conditions on peat brGDGTs: A modern investigation and its paleoclimatic implications[J]. Chemical Geology, 2022, 606: 12.
- Zheng Y, Yu S Y, Fan T Y, et al. Prolonged cooling interrupted the bronze age cultures in northeastern China 3500 years ago[J]. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 2021, 574: 110461.
- Zang J J, Yang H, Zhang J H, et al. Application of microbial membrane tetraether lipids in speleothems[J].
   Frontiers in Ecology and Evolution, 2023, 11: 14.
- Zhao J J, Huang Y S, Yao Y, et al. Calibrating branched GDGTs in bones to temperature and precipitation: Application to Alaska chronological sequences[J].
   Quaternary Science Reviews, 2020, 240: 12.
- [16] Inglis G N, Bhattacharya T, Hemingway J D, et al. Biomarker approaches for reconstructing terrestrial environmental change[J]. Annual Review of Earth and Planetary Sciences, 2022, 50: 369–394.
- [17] 姚鹏, 于志刚, 赵美训. GDGT 在全球气候变化研究中的应用进展[J]. 中国海洋大学学报 (自然科学版), 2011, 41(5): 71-78.
  Yao P, Yu Z G, Zhao M X. Advances in application of GDGT in global climate change study[J]. Journal of Ocean University of China, 2011, 41(5): 71-78.
- Peterse F, Schouten S, van Der Meer J, et al. Distribution of branched tetraether lipids in geothermally heated soils: Implications for the MBT/CBT temperature proxy[J].
   Organic Geochemistry, 2009, 40(2): 201–205.
- [19] Weijers J W H, Schouten S, van Den Donker J C, et al. Environmental controls on bacterial tetraether membrane lipid distribution in soils[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2007, 71(3): 703–713.
- [20] Zheng F F, Chen Y F, Xie W, et al. Diverse biological sources of core and in tact polar isoprenoid GDGTs in terrace soils from southwest of China: Implications for their use as environmental proxies [J]. Chemical Geology,

2019, 522: 108-120.

- [21] Dang X Y, Yang H, Naafs B D A, et al. Evidence of moisture control on the methylation of branched glycerol dialkyl glycerol tetraethers in semi-arid and arid soils[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2016, 189: 24–36.
- [22] Wang H Y, Liu W G, Zhang C L. Dependence of the cyclization of branched tetraethers on soil moisture in alkaline soils from arid-subhumid China: Implications for palaeorainfall reconstructions on the Chinese Loess Plateau[J]. Biogeosciences, 2014, 11(23): 6755–6768.
- [23] Dirghangi S S, Pagani M, Hren M T, et al. Distribution of glycerol dialkyl glycerol tetraethers in soils from two environmental transects in the USA[J]. Organic Geochemistry, 2013, 59: 49–60.
- Wang H Y, Liu W G, Zhang C L, et al. Branched and isoprenoid tetraether (BIT) index traces water content along two marsh-soil transects surrounding Lake Qinghai: Implications for paleo-humidity variation[J]. Organic Geochemistry, 2013, 59: 75–81.
- [25] de Jonge C, Hopmans E C, Zell C I, et al. Occurrence and abundance of 6-methyl branched glycerol dialkyl glycerol tetraethers in soils: Implications for palaeoclimate reconstruction[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2014, 141: 97–112.
- [26] Menges J, Huguet C, Alcañiz J M, et al. Influence of water availability in the distributions of branched glycerol dialkyl glycerol tetraether in soils of the Iberian Peninsula[J]. Biogeosciences, 2014, 11(10): 2571–2581.
- [27] Halamka T A, Mcfarlin J M, Younkin A D, et al. Oxygen limitation can trigger the production of branched GDGTs in culture [J]. Geochemical Perspectives Letters, 2021, 19: 36–39.
- [28] Zeng Z Y, Xiao W J, Zheng F F, et al. Enhanced production of highly methylated brGDGTs linked to anaerobic bacteria from sediments of the Mariana Trench[J].Frontiers in Marine Science, 2023, 10: 1233560.
- [29] Huguet A, Meador T B, Laggoun-Défarge F, et al. Production rates of bacterial tetraether lipids and fatty acids in peatland under varying oxygen concentrations[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2017, 203: 103–116.
- [30] Huguet A, Fosse C, Laggoun-Defarge F, et al. Occurrence and distribution of glycerol dialkyl glycerol tetraethers in a French peat bog[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2010, 74(12): A436.

— 327 —

- [31] Chen Y F, Zheng F F, Yang H, et al. The Production of diverse brGDGTs by an acidobacterium providing a physiological basis for paleoclimate proxies[J].
   Geochimica et Cosmochimica Acta, 2022, 337: 155–165.
- [32] Halamka T A, Raberg J H, Mcfarlin J M, et al. Production of diverse brGDGTs by acidobacterium solibacter usitatus in response to temperature, pH, and O<sub>2</sub> provides a culturing perspective on brGDGT proxies and biosynthesis[J]. Geobiology, 2022, 21(1): 102–118.
- [33] Weber Y, Damsté J S S, Zopfi J, et al. Redox-dependent niche differentiation provides evidence for multiple bacterial sources of glycerol tetraether lipids in lakes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(43): 10926–10931.
- [34] Chen Y F, Li J J, Chen S Z, et al. Potential influence of bacterial community structure on the distribution of brGDGTs in surface sediments from Yangtze River Estuary to East China Sea[J]. Chemical Geology, 2024, 647: 15.
- [35] de Jonge C, Radujkovic D, Sigurdsson B D, et al. Lipid biomarker temperature proxy responds to abrupt shift in the bacterial community composition in geothermally heated soils[J]. Organic Geochemistry, 2019, 137: 13.
- [36] de Jonge C, Kuramae E E, Radujkovic D, et al. The influence of soil chemistry on branched tetraether lipids in midand high latitude soils: Implications for brGDGT-based paleothermometry[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2021, 310: 95–112.
- [37] Guo J J, Ma T, Liu N N, et al. Soil pH and aridity influence distributions of branched tetraether lipids in grassland soils along an aridity transect[J]. Organic Geochemistry, 2022, 164: 104347.
- [38] Huguet A, Francez A J, Jusselme M D, et al. A climatic chamber experiment to test the short term effect of increasing temperature on branched GDGT distribution in *Sphagnum* peat[J]. Organic Geochemistry, 2014, 73: 109–112.
- [39] Huguet A, Fosse C, Laggoun-Défarge F, et al. Effects of a short-term experimental microclimate warming on the abundance and distribution of branched GDGTs in a French peatland[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2013, 105: 294–315.
- [40] Ofiti N O E, Huguet A, Hanson P J, et al. Peatland warming influences the abundance and distribution of branched tetraether lipids: Implications for temperature reconstruction[J]. Science of the Total Environment,

2024, 924: 171666.

- [41] Martínez-Sosa P, Tierney J E, Meredith L K. Controlled lacustrine microcosms show a brGDGT response to environmental perturbations[J]. Organic Geochemistry, 2020, 145: 8.
- [42] Martínez-Sosa P, Tierney J E. Lacustrine brGDGT response to microcosm and mesocosm incubations[J]. Organic Geochemistry, 2019, 127: 12–22.
- [43] Ajallooeian F, Deng L, Lever M A, et al. Seasonal temperature dependency of aquatic branched glycerol dialkyl glycerol tetraethers: A mesocosm approach[J]. Organic Geochemistry, 2024, 189: 104742.
- [44] Chen Y F, Zheng F F, Chen S Z, et al. Branched GDGT production at elevated temperatures in anaerobic soil microcosm incubations[J]. Organic Geochemistry, 2018, 117: 12–21.
- [45] Zhao J J, Tsai V C, Huang Y S. A nonlinear model for resolving the temperature bias of branched glycerol dialkyl glycerol tetraether (brGDGT) temperature proxies[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2022, 327: 158–169.
- [46] Hopmans E C, Schouten S, Damsté J S S. The effect of improved chromatography on GDGT-based palaeoproxies[J]. Organic Geochemistry, 2016, 93: 1–6.
- [47] Huguet C, Hopmans E C, Febo-Ayala W, et al. An improved method to determine the absolute abundance of glycerol dibiphytanyl glycerol tetraether lipids[J].
   Organic Geochemistry, 2006, 37(9): 1036–1041.
- [48] Peterse F, van Der Meer J, Schouten S, et al. Revised calibration of the MBT-CBT paleotemperature proxy based on branched tetraether membrane lipids in surface soils[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2012, 96: 215–229.
- [49] de Jonge C, Stadnitskaia A, Fedotov A, et al. Impact of riverine suspended particulate matter on the branched glycerol dialkyl glycerol tetraether composition of lakes: The outflow of the Selenga River in Lake Baikal (Russia)
  [J]. Organic Geochemistry, 2015, 83–84: 241–252.
- [50] Hopmans E C, Weijers J W H, Schefuß E, et al. A novel proxy for terrestrial organic matter in sediments based on branched and isoprenoid tetraether lipids[J]. Earth and Planetary Science Letters, 2004, 224(1): 107–116.
- [51] Turich C, Freeman K H. Archaeal lipids record paleosalinity in hypersaline systems[J]. Organic Geochemistry, 2011, 42(9): 1147–1157.
- [52] Wang H Y, Liu W G, Zhang C L, et al. Assessing the

第2期

ratio of archaeol to caldarchaeol as a salinity proxy in highland lakes on the northeastern Qinghai—Tibetan Plateau[J]. Organic Geochemistry, 2013, 54: 69–77.

- [53] Law K P, Zhang C L L. Current progress and future trends in mass spectrometry-based archaeal lipidomics[J]. Organic Geochemistry, 2019, 134: 45–61.
- [54] 战楠,孙青,李琪,等. 地质环境中生物标志物 GDGTs 分析技术研究进展[J]. 岩矿测试, 2024, 43(1): 30-46.
  Zhan N, Sun Q, Li Q, et al. Research progress in analytical methods of biomarker GDGTs in geological environments[J]. Rock and Mineral Analysis, 2024, 43(1): 30-46.
- [55] Becker K W, Lipp J S, Zhu C, et al. An improved method for the analysis of archaeal and bacterial ether core lipids[J]. Organic Geochemistry, 2013, 61: 34–44.
- [56] Yang H, Lü X X, Ding W H, et al. The 6-methyl branched tetraethers significantly affect the performance of the methylation index (MBT') in soils from an altitudinal transect at Mount Shennongjia[J]. Organic Geochemistry, 2015, 82: 42–53.
- [57] Wang H Y, Liu W G, Lu H X, et al. Potential degradation effect on paleo-moisture proxies based on the relative abundance of archaeal vs. bacterial tetraethers in loess-paleosol sequences on the Chinese Loess Plateau[J]. Quaternary International, 2017, 436: 173–180.
- [58] Peaple M D, Beverly E J, Garza B, et al. Identifying the drivers of GDGT distributions in alkaline soil profiles within the Serengeti ecosystem[J]. Organic Geochemistry, 2022, 169: 14.
- [59] de Jonge C, Guo J J, Hallberg P, et al. The impact of soil chemistry, moisture and temperature on branched and isoprenoid GDGTs in soils: A study using six globally distributed elevation transects [J]. Organic Geochemistry, 2024, 187: 15.
- [60] Wu J, Yang H, Pancost R D, et al. Variations in dissolved O<sub>2</sub> in a Chinese lake drive changes in microbial communities and impact sedimentary GDGT distributions[J]. Chemical Geology, 2021, 579: 12.
- [61] 晁倩,赵晖,侯居峙,等.中国干旱-半干旱区表土 bGDGTs 与气候环境因子数据再分析[J]. 第四纪 研究, 2022, 42(2): 449-460.
  Chao Q, Zhao H, Hou J Z, et al. Reanalysis of surface

soils and climatic and environmental factors in arid and semi-arid regions of China[J]. Quaternary Sciences, 2022, 42(2): 449–460.

- [62] Zang J J, Lei Y Y, Yang H. Distribution of glycerol ethers in Turpan soils: Implications for use of GDGTbased proxies in hot and dry regions[J]. Frontiers of Earth Science, 2018, 12(4): 862–876.
- [63] Wang H Y, An Z S, Lu H X, et al. Calibrating bacterial tetraether distributions towards *in situ* soil temperature and application to a loess-paleosol sequence[J]. Quaternary Science Reviews, 2020, 231: 106172.
- [64] Naafs B D A, Gallego-Sala A V, Inglis G N, et al. Refining the global branched glycerol dialkyl glycerol tetraether (brGDGT) soil temperature calibration[J]. Organic Geochemistry, 2017, 106: 48–56.
- [65] Wang H Y, Liu Z H, Zhao H, et al. New calibration of terrestrial brGDGT paleothermometer deconvolves distinct temperature responses of two isomer sets[J]. Earth and Planetary Science Letters, 2024, 626: 118497.
- [66] Chen C H, Bai Y, Fang X M, et al. Evaluating the potential of soil bacterial tetraether proxies in westerlies dominating western Pamirs, Tajikistan and implications for paleoenvironmental reconstructions[J]. Chemical Geology, 2021, 559: 12.
- [67] van Bree L G J, Peterse F, Baxter A J, et al. Seasonal variability and sources of *in situ* brGDGT production in a permanently stratified African crater lake[J].
   Biogeosciences, 2020, 17(21): 5443–5463.
- [68] Kou Q Q, Zhu L P, Ju J T, et al. Influence of salinity on glycerol dialkyl glycerol tetraether-based indicators in Tibetan Plateau lakes: Implications for paleotemperature and paleosalinity reconstructions[J]. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 2022, 601: 12.
- [69] Bittner L, de Jonge C, Gil-Romera G, et al. A holocene temperature (brGDGT) record from Garba Guracha, a high-altitude lake in Ethiopia[J]. Biogeosciences, 2022, 19(23): 5357–5374.
- [70] Crampton-Flood E D, Tierney J E, Peterse F, et al. BayMBT: A Bayesian calibration model for branched glycerol dialkyl glycerol tetraethers in soils and peats[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2020, 268: 142–159.