

土壤微生物多样性的科学内涵及其生态服务功能*

林先贵^{1,2†} 胡君利^{1,2}

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

(2 中国科学院南京土壤研究所 - 香港浸会大学土壤与环境联合开放实验室, 南京 210008)

摘要 土壤微生物多样性是指土壤生态系统中所有的微生物种类、它们拥有的基因以及这些微生物与环境之间相互作用的多样化程度, 当前研究主要集中在物种多样性、遗传多样性、结构多样性及功能多样性等 4 个方面。土壤微生物多样性作为全球性研究迄今仅有 10 余年时间, 但已呈现对象广、内容多、水平宽、方法新等特点, 特别是分子生物学技术在很大程度上决定并体现了其研究水平和发展进程。然而, 如何进一步改进土壤微生物的培养技能、加强土壤宏基因组学分析与应用、耦合土壤微生物多样性与生态功能、揭示土壤微域结构的影响机制是土壤微生物多样性研究的 4 个关键科学问题。当然, 土壤微生物多样性的生态系统服务功能是其根本价值所在, 主要包括有机物分解、物质循环和生态安全调控等 3 个方面。今后, 土壤微生物多样性研究应紧紧围绕其与土壤生物过程、生态服务功能三者之间的联系, 着重建立土壤微生物多样性的研究指标和方法体系, 进而阐明人类生产活动影响土壤微生物多样性及其生态服务功能的土壤生物过程。

关键词 土壤微生物多样性; 分子生物学技术; 土壤生物过程; 生态服务功能

中图分类号 S154.3 **文献标识码** A

土壤微生物多样性是一门近来在土壤学、微生物学及生物多样性领域均给予较多关注的新兴交叉学科。纵观而言, 土壤微生物多样性研究对于探索自然生命机制、开发超常生物资源、应对全球气候变化、治理各类环境污染、维持生态服务功能及促进土壤持续利用等方面具有重要意义。然而, 目前国内尚缺乏对土壤微生物多样性理论体系的系统整理, 在科学表述、学科架构及关键问题上存在一些模糊, 这在一定程度上影响了该学科的健康成长。鉴此, 本文紧紧围绕土壤微生物多样性的科学内涵, 凝练总结包括基本概念、关键科学问题及生态服务功能等系列理论问题, 回顾归纳本学科的发展简史与国内外研究进展, 讨论并提出本领域进一步研究的发展趋向, 以期对当前我国土壤微生物多样性及其生态服务功能研究有所参考。

1 土壤微生物多样性的基本概念与核心内容

顾名思义, 土壤微生物是土壤中一切肉眼看不

见或看不清楚的微小生物的总称, 通常意义上应当包括古菌、细菌、真菌、病毒、原生动物和显微藻类等。研究指出, 土壤是微生物的大本营, 是微生物生长和繁殖的天然培养基, 土壤微生物资源在自然界中最为丰富多样。所谓土壤微生物多样性, 即指土壤生态系统中所有的微生物种类、它们拥有的基因以及这些微生物与环境之间相互作用的多样化程度。一般认为, 土壤微生物多样性存在于基因、物种、种群以及群落等 4 个层面, 是土壤生态系统的—个基本生命特征, 也是时间和空间的函数^[1,2]。

从生物角度来看, 生态系统是指各种生物与其周围环境所构成的自然综合体。在土壤生态系统中, 土壤生物之间相互依赖、彼此制约, 同时又与周围的环境因子相互作用、往复调控。尽管土壤微生物及其与生物环境之间的关系复杂多样、因种而异, 但总体上可归纳为互生、共生、寄生、拮抗、捕食及竞争等六大关系^[3]。鉴此, 土壤微生物多样性研究的核心内容应是自然或干扰条件下土壤微生物的群落结构、种群消长、生理代谢、遗传变异及其演替规律, 尤其是环境变更或管理分异条件下土壤质

* 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (kzcx2-yw-408) 资助

† 通讯作者, E-mail: xglin@issas.ac.cn

作者简介: 林先贵 (1955 ~), 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事土壤与环境微生物学研究

收稿日期: 2007 - 12 - 30; 收到修改稿日期: 2008 - 03 - 04

量的微生物学监测、评价与调控,以及土壤微生物种质资源的开发与应用。

理论上讲,土壤微生物多样性的研究对象应包括森林、草原、农田、湿地等在内的所有陆地土壤以及包括江河湖海等各类地表水域在内的全部底泥。事实上,土壤学家关注的往往是陆地表面和浅水域底部。尽管如此,土壤微生物多样性已是异常复杂,因为微生物对温度、pH、渗透压和大气压等的适应范围极广,土壤中任何一个能产生能量的生境往往均有微生物的存在^[4]。因而,开展土壤微生物多样性研究技术难度大、方法要求高,当前主要集中在物种多样性、遗传多样性、结构多样性及功能多样性等4个水平。

1.1 土壤微生物的物种多样性

土壤微生物的物种多样性是指土壤生态系统中微生物的物种丰富度和均一度,这是微生物多样性的最直接表现形式。根据原位的、不经培养的微生物系统发育学研究发现,自然界中95%~99%的微生物种群尚未被分离培养或描述过,从而推算地球上仅细菌就有10万~50万种^[5]。因为绝大多数微生物种群尚不能分离培养,所以目前着重研究一些对人类关系最为密切的微生物种类,并通过培养基最大限度地培养各种菌落,由此了解土壤中可培养的微生物种群。

1.2 土壤微生物的遗传多样性

土壤微生物的遗传多样性是指土壤微生物在基因水平上所携带的各类遗传物质和遗传信息的总和,这是微生物多样性的本质和最终反映。与高等生物相比,微生物的多样性在基因水平上更为突出,不同种群间的遗传物质和基因表达具有很大的差异^[6]。根据研究手段不同,微生物遗传多样性一般表现在基因组大小和基因数目的多样性、遗传物质化学组成和DNA序列的差异、rRNA基因(如16S rRNA、18S rRNA基因)序列的差异以及由基因序列所揭示的遗传背景多样性等方面。

1.3 土壤微生物的结构多样性

土壤微生物的结构多样性是指土壤微生物群落在细胞结构组分上的多样化程度,这是导致微生物代谢方式和生理功能多样化的直接原因。例如,微生物标记物分析法通过提取和分析微生物群落中可用作不同类群标记性指纹的生化组分或胞外产物来获取微生物群落组成和结构多样性的信息^[7]。因为不同菌群的特征谱图不同,在高度专一性基础上又具有多样性,所以标记物的组成变化能

够说明微生物群落结构的变化,从而可以对土壤微生物群落进行识别和定量描述。

1.4 土壤微生物的功能多样性

土壤微生物的功能多样性是指土壤微生物群落所能执行的功能范围以及这些功能的执行过程,如分解功能、营养传递功能以及促进或抑制植物生长的功能等,这些对土壤生态功能及自然界元素循环具有重要意义。目前一般采用底物诱导下的代谢响应模式测算土壤微生物群落的代谢功能多样性^[8]。正是由于微生物具有多种多样的代谢方式和生理功能,因而可以适应各种不同的生态环境,并以不同的生活方式与其他生物相互作用,从而构成了地球上丰富多彩的生态体系。

2 土壤微生物多样性的发展简史与研究进展

土壤微生物多样性的概念是人类在生物多样性研究的发展过程中逐渐演绎出来的,一般作为土壤生物多样性的主体部分开展研究^[9]。1991年,国际生物多样性合作研究计划“DIVERSITAS”的发起揭开了全球生物多样性研究的序幕;1995年,DIVERSITAS计划新方案首次纳入了“土壤生物多样性”内容;2002年,联合国粮农组织因应设立了“土壤生物多样性研究议程(Soil biodiversity initiative, SBI)”。至此,世界各国也陆续组织开展有关研究,推动了人们对土壤生物多样性和关键生态学过程中土壤生物功能的理解^[10]。例如,英国于1998~2004年实施了“土壤生物多样性计划”。我国在2004年成立了国际生物多样性计划中国国家委员会(CNC-DIVERSITAS),并于2006年将“农田土壤生物多样性”列为中国科学院知识创新工程重要方向项目。显然,土壤微生物多样性作为全球性研究迄今仅有10余年时间,但基于土壤微生物学长期以来的学科积累^[11],包括世界各国在生物多样性合作计划之前的科学探索,特别是缘于生物多样性领域研究技术的迅猛发展,土壤微生物多样性研究不仅内容上不断丰富,而且研究成果也在不断充实,独具一格的理论体系和学科框架也在逐步形成和完善之中^[10]。

纵观国际研究概况,当前的土壤微生物多样性研究体现了对象广、内容多、水平宽、方法新等特点。首先从研究对象来看,主要是面向森林、草原和农田生态系统,同时也包括海岸带、矿区、湿地、

沙漠等特殊生境;而从研究内容来看,主要分为自然生态系统的土壤微生物群落结构与功能演化,干扰、退化或污染土壤的微生物群落结构与功能变化,土壤微生物多样性与土壤生物过程之间的关联,根际与微域的土壤微生物多样性等;再从研究水平来看,可以归纳为细胞或菌落形态、种群或群体生理、群落结构与功能、基因序列与表达等4个层面;最后从研究方法来看,大致可分为传统和现代两大类,前者包括菌群培养计数、菌体观察鉴别及土壤生物过程强度测定等^[12],后者主要包含以 PLFA (Phosphor lipid fatty acid, 磷脂脂肪酸) 技术为代表的生物化学方法、以 B DLOG 技术为代表的生理学方法 (Community-level physiological profiling, CLPP) 和以 PCR (Polymerase chain reaction, 多聚酶链式反应) 技术为代表的分子生物学方法等^[13]。其中, PLFA 技术通过分析微生物细胞结构稳定组分脂肪酸的种类及组成比例来考察土壤微生物的结构多样性, B DLOG 技术则根据微生物群落利用不同碳源的能力来测定微生物群落的功能多样性,而特别是分子生物学及其技术的发展为推动土壤微生物多样性研究起到了突出贡献。

目前,从不同角度对土壤微生物多样性进行直接或间接研究的方法很多,但每一种方法均有其优缺点。因此,为了获取较为全面的微生物多样性信息,在条件许可的情况下应尽可能将其中的几种方法结合起来。其中,分子生物学技术是以核酸分析为主,当前的土壤微生物 DNA 分析在很大程度上决定并体现了土壤微生物多样性的研究水平和发展进程,一般也称之为土壤微生物分子生态学。相关研究大致可分为以下4个步骤:土壤微生物 DNA 的提取与纯化、多聚酶链式反应、变性处理(如电泳、酶切、转印、杂交、显影等)以及 DNA 的检验与测序^[13]。然而,随着分子生物学技术在土壤微生物多样性研究中的广泛应用^[14],土壤微生物分子生态学技术已经发展形成了一个庞大的方法集群,其当前的整体发展状况可概述如下。

2.1 经典分子生物学方法历久不衰

例如, RFLP (Restriction fragment length polymorphism, 限制性酶切片段长度多态性) 方法利用电泳技术分析特定 DNA 片段的限制性酶切产物, SSCP (Single strand conformation polymorphism, 单链构象多态性) 方法根据 DNA 片段核苷酸组成不同造成的单链构象差异分析单链 DNA 或 RNA 分子在电泳时产生的特异性谱带^[15]; FISH (Fluorescent in situ

hybridization, 荧光原位杂交) 技术通过荧光标记的特异寡聚核苷酸探针与土壤基因组中的 DNA 分子进行杂交来检测特异微生物种群的存在及丰度, PNA (Peptide nucleic acid, 肽核酸) 探针技术则通过荧光标记的多肽探针与土壤中 DNA 的原位杂交来检测特异微生物^[16]; 16S rDNA、18S rDNA 序列分析技术通过碱基测序 (Sequencing) 后与 Genbank 数据库的比对结果获取系统发育信息, RISA (Ribosomal intergenic spacer analysis, 核糖体基因间区分析) 利用 ITS (rRNA internal transcribed spacer, rRNA 转录间区) 的长度特异性及其混合物在电泳图谱中的长度多态性进行微生物多样性研究^[17]。

2.2 基于 PCR 技术的方法层出不穷

例如, T-RFLP (Terminal-RFLP, 末端限制性片段长度多态性) 方法利用标记引物特异性扩增 DNA 片段, 再经酶切检测末端限制性片段的多态性^[18], RAPD (Random amplified polymorphic DNA, 随机引物扩增多态性) 方法根据电泳后多态性片段的特点检测同源和异源等位基因的存在^[15]; ARDRA (Amplified ribosomal DNA restriction analysis, 扩增性 rDNA 限制性酶切片段多态性) 方法是 PCR 与 RFLP 技术对于研究共生或寄生微生物多样性具有独特优越性的结合^[19], AFLP (Amplification fragment length polymorphism, 扩增片段长度多态性) 则是结合了 RFLP 和 RAPD 技术优点、基于 PCR 技术扩增基因组 DNA 限制性片段的新颖指纹技术^[15]; DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis, 变性梯度凝胶电泳) 与 TGGE (Temperature gradient gel electrophoresis, 温度梯度凝胶电泳) 依据双链 DNA 片段熔解行为的不同分离 PCR 产物中长度相同但序列不同的 DNA 标记片段^[20]。

2.3 PCR 技术根据研究需求不断改进

例如, 嵌套 PCR (Nested-PCR) 通过设计外侧与内侧两对引物对含有靶序列的 DNA 片段进行 2 次 PCR 扩增^[21], 多重 PCR (Multiplex PCR) 则是在同一反应体系里使用 2 对以上引物同时扩增 DNA 模板的多个核酸片段^[22]; 递减 PCR (Touchdown PCR) 通过在 PCR 的前几个循环使用严谨的退火条件来提高扩增特异性^[23], 热启动 PCR (Hotstart PCR) 则在 PCR 仪达到变性温度前通过抑制 1 种基本成分延迟 DNA 合成来提高特异性^[24]; RT-PCR (Reverse transcription-PCR, 逆转录 PCR) 方法利用反转录酶将土壤中的 mRNA 反转录为 DNA 后进行研究^[25], 实时荧光定量 PCR (Real-time Q-PCR) 通过引入荧

光化学物质实时检测 PCR 扩增反应中每一个循环产物的荧光信号,进而实现对起始模板的定性及定量分析^[26]。

2.4 DNA 与 RNA 的提取方法日渐成熟

土壤微生物总 DNA 或 RNA 的提取是分子生物学技术在微生物生态学研究得以应用的物质基础^[27]。因为提取土壤样品基因组 DNA/RNA 时伴有腐殖质、多糖、酚类等杂质,这极大地影响了后续 PCR 过程中有关酶的活性以及实验结果的真实性和稳定性。因此,要想获得真实可靠的实验结果,提取较高纯度的总 DNA 或 RNA 是至关重要的^[28,29]。土壤样品总 DNA/RNA 直接提取法是采用研磨、超声波或机械破碎等物理方法,或采用添加变性剂 SDS、CTAB、PVP 及溶菌酶等化学方法,将细胞中的 DNA/RNA 游离释放出来后提取;间接提取法是通过改进人工分离培养基的特异性和培养条件来分离纯化土壤微生物,然后提取纯 DNA,但该方法的微生物多样性信息存在一定不足^[27]。因此,如何针对土样自身特性,高效、直接地提取土壤微生物总 DNA/RNA 一直是相关研究的重要内容,适用范围较广的提取方法已日渐成熟。

3 土壤微生物多样性研究的关键科学问题

土壤微生物多样性是全球生物多样性的重要组成部分。然而,土壤是自然环境中最为复杂的异质体系,这决定了土壤微域环境的多样化和土壤微生物的高度多样性^[30]。但长久以来,由于研究手段和关注程度的限制,与对其他生物的认识相比,人类对微生物多样性的了解最为贫乏,而基于培养的多样性评估对单细胞的原核微生物而言尤为困难。研究指出,土壤巨大微生物多样性的绝大部分目前尚未开发,不仅是基于培养的传统研究方法对此难以推进,且当前基于 rRNA 或 DNA 的诸多新技术也只是揭示了其中很少的一部分^[31]。因此,如何改进土壤微生物的培养技能、加强土壤宏基因组分析与应用、耦合土壤微生物多样性与功能、揭示土壤微域环境对微生物的影响机制是当前和今后研究土壤微生物多样性的 4 个关键科学问题。

3.1 土壤微生物的分离与纯培养

人们研究各种微生物的特性,往往要先使它们处于纯培养状态,即培养物中的所有细胞只是微生物的某 1 个种或株。然而,自然界中各种微生物混

杂生活在一起,即使只取少量样品也是许多微生物的共存群体,所以考察土壤微生物的物种丰富度和均一度极其艰难,微生物的分离也就显得非常必要。所谓土壤微生物的分离,即指从混杂的土壤微生物群体中获得只含某 1 种或某 1 株微生物的过程^[32]。例如,显微操作分离法就是在荧光显微镜下分离单个微生物细胞,最早由 Warcup 成功地用于土壤真菌的分离,后经 Casida 改进用于细菌分离,又经 Skeman 改进用于琼脂薄膜载玻片上初长菌落单个细胞的分离,因而可以用于比较微生物细胞在自然条件与人工培养条件下的形态学差异。

1880 年, Koth 发明微生物平板分离纯化技术,稀释涂布平板法、平板划线分离法也自此成为常规方法,它们为微生物的资源获取和学科发展做出了巨大贡献^[32]。因为纯培养对于探索微生物生命机制和开发种质资源非常重要,即使在分子生物学时代,纯培养技术也依然是人类认识微生物不可替代的基本手段。当前,通过改进传统培养方法或采用新型培养技术来提高微生物的可培养性(如寡营养细菌等^[33]),争取更全面、准确地了解微生物细胞的生命规律及微生物群落的作用过程,进而对其进行高效的利用是土壤微生物多样性研究的一个重要目标^[34]。当然,近来发展的 PCR、16S rRNA 探针杂交技术、荧光抗体技术等也已开始用于土壤环境中某些特殊微生物的分离与鉴定,特别是对那些现在认为非可培养的微生物具有更大意义^[32]。

3.2 土壤宏基因组学技术及应用

传统研究大多局限于从固体培养基上分离微生物,然后通过生物化学性状或特定表现型来分析,由于培养基质和培养条件的选择性作用,所以不能充分反映土壤微生物群落的原始结构和生态功能。显然,全基因组测序使鉴别和描绘 1 个物种的全部基因成为可能,并可获悉一些新型代谢途径和基因调控机制,认识一些病理、毒理、抗病或其他功能基因,进而可以洞察基因与物种的进化等等。特别是针对看家基因或功能基因的定量分析可以推进人类对微生物群落遗传多样性和功能多样性的理解,而微阵列(microarray)技术可用于测定基因表达图谱与新型代谢途径,进而洞悉未知基因的功能信息等,这些对于了解微生物细胞对碳源、能源、电子受体等复杂条件的调控过程以及对环境变化的响应机制等均非常重要^[31]。当然,其他一些新型研究手段也可能有助于增强人们对基因进化过程及多样性调控因子的认识。

土壤宏基因组学技术即从土壤环境样品中直接提取微生物基因组 DNA (宏基因组) 并克隆于不同载体, 再将重组载体转移到适宜的宿主以建立宏基因组文库, 同时结合不同的筛选技术从基因文库中筛选新的基因或生物活性物质^[30]。其中, 宏基因组文库的构建为揭示新基因提供了基础, 而筛选技术大致可分为基于核酸序列差异 (序列驱动)、基于克隆子特殊代谢活性 (功能驱动) 以及基于底物诱导基因表达 (Substrate-induced gene-expression screening, SIGEX) 等 3 大类。但由于土壤宏基因组的复杂性, 也需要进一步建立和发展高通量和高灵敏度的方法来筛选和鉴定文库中的有用基因。当然, 土壤宏基因组学技术除用于新基因和生物活性物质的筛选和挖掘之外, 也为研究土壤微生物复杂群落结构提供了重要工具, 使土壤微生物多样性分析趋于完整和客观^[35], 也为土壤微生物纯培养技术提供可供参考的培养基资源^[30]。

3.3 土壤微生物多样性与功能耦合

当前, 微生物学面临的重大挑战应是微生物系统发育与生态功能之间的耦合问题^[31]。如前所述, 功能多样性是微生物全部多样性的一个方面, 但土壤微生物多样性与功能之间的联系很大程度上仍是未知的。譬如, 研究认为土壤微生物多样性可以影响生态系统的稳定性、生产力以及应对压力与扰动的恢复力^[36], 但其影响过程尚不十分明确。目前一般通过 PLFA 图谱与底物利用能力 (B DLOG) 及酶活性联结土壤微生物的群落结构与生态功能, 虽然 PLFA 包含了群落的全体组分, 但 B DLOG 只能反映少数适宜在微平板 (microplate) 培养基上生长的微生物, 即通过微生物群落对选择性培养基或刺激物的反应来测定代谢活性, 所以不能反映实际状态^[31]。尽管环境基因组学通过基因序列及其特征表达提供了一些功能信息, 但仍需要联合其他方法来发现和判定土壤中的功能菌群, 诸如现在已经比较熟悉的氨氧化细菌、反硝化细菌、甲烷氧化菌等。

功能基因组学 (Functional genomics) 也称后基因组学 (Postgenomics), 它利用结构基因组所提供的信息和产物, 发展和应用新的实验手段, 通过在基因组或系统水平上全面分析基因的功能, 使得生物学研究从对单一基因或蛋白质的研究转向对多个基因或蛋白质同时进行系统研究。显然, 这是在基因组静态的碱基序列分析清楚之后转入对基因组动态的生物功能学研究, 包括基因功能发现、基因表达分析及突变检测等。功能基因组学采用的经

典手段包括减法杂交、差示筛选、cDNA 代表差异分析以及 mRNA 差异显示等, 但这些技术不能对基因进行全面系统的分析, 因而迫切需要发展新技术, 包括基因表达的系统分析 (Serial analysis of gene expression, SAGE)、cDNA 微阵列 (cDNA microarray)、DNA 芯片 (DNA chip) 等^[37]。

3.4 土壤微域环境与微生物多样性

土壤是由不同理化梯度和间断环境条件下的各种微域构成的复杂体系。土壤微生物适宜群居在具有一定界限的微域环境里, 与其他土壤生物既彼此依赖又相互作用。基于微域水平的空间分异研究显示, 土壤中 80% 以上的细菌栖息在土壤稳定团聚体的微孔内, 因为微孔提供了最为有利的水分与养分生长条件^[31]。因此, 土壤微域结构与空间分异应是环境条件影响土壤微生物多样性的最直接因素。土壤微域即指土壤中某些在性质上与整个土体具有巨大差异的区域, 包括根际、肥际等^[38]。研究发现, 土壤团聚体粒级大小可以显著影响土壤 pH 及有机质的种类和数量等, 进而也会影响微生物的群落结构^[31]。因此, 研究环境变更或管理分异对土壤微域结构的影响以及微域环境对土壤微生物多样性的调控显得十分重要。

研究认为, 互作是调控土壤微生物群落结构和多样性的关键因子, 例如土壤结构与水分状况的互作促成了微生物群落的空间分异。研究指出, 土壤微生物多样性与不同营养水平间的互作可以通过“生态系统简易模型 (Simple ecosystem model) 加以阐明, 即分解菌对有机营养物质的再循环效率是控制系统生态过程的重要参数^[31]。虽然土壤粒级被视为土壤实体在微尺度上调节诸多土壤生物化学过程中矿物与有机质间互作的最小单元, 但微域水平上的微生物行为以及施肥处理等影响不同土壤粒级中微生物群落结构与活性的过程和幅度在很大程度上仍是未知的^[39]。因此, 加强不同管理措施与施肥水平对土壤粒级的影响及其与微生物多样性之间的关联研究也是今后土壤微生物多样性研究的一个关键途径。

4 土壤微生物多样性的生态系统服务功能

微生物是地球生物演化进程中的先锋种类, 例如细菌和蓝细菌就是地球上最早出现的生命, 它们在生物发展进化的初始阶段起着不可替代的作用。

而且,最初的生命体还通过改变大气圈的化学组成等来改善地球环境条件,使更多的生物得以出现、生存和进化,最终构成了当今地球生物种类繁多的景象^[6]。而今来看,微生物在生态系统乃至整个生物圈的能量流动和物质循环中发挥着关键作用。土壤微生物多样性影响土壤生态系统的结构、功能及过程,是维持土壤生产力的重要组分^[40],也是评价自然或人为干扰引起土壤质量变化的重要指标。可以说,土壤微生物多样性的生态系统服务功能是其根本价值所在。以下着重从有机物分解、物质循环和生态安全调控等3个角度,简要介绍土壤微生物多样性的生态系统服务功能。

4.1 土壤微生物对有机物的分解作用

微生物在生态系统中的最大价值在于其分解功能。绝大多数微生物作为异养生物,它们分解着生物圈内存在的动物、植物和微生物的残体以及各种复杂有机物质,吸收某些分解产物,最终将有机物分解成简单的无机物,如 CO_2 、 H_2O 、 NH_3 、 SO_4^{2-} 和 PO_4^{3-} ,这些无机物又可以被初级生产者利用,再次参与物质循环。尤其是一些特殊物质,如腐殖质、蜡和许多合成化学物质,只有微生物才能分解。如果没有微生物,地球上的动植物残体将堆积如山,长期存留于人类生存的环境中,生物所需的各种营养元素终将消耗殆尽,人类社会势难世代绵延向前发展^[6]。

4.2 土壤微生物在物质循环中的作用

地球上的大部分元素均以不同的循环速率参与生物地球化学循环。生命物质的主要组成元素(C、H、O、N、P、S)循环很快,微量元素(Mg、K、Na、卤族元素)和微量元素(Al、Co、Cr、Cu、Mo、Ni、Se、V、Zn)则循环缓慢。少(微)量元素中的Fe、Mn、Ca和Si是例外,Fe和Mn以氧化还原的方式快速循环,而Ca和Si在原生质外的其他结构中含量很高。C、N、P、S的循环受2个主要的生物过程控制,一是光合生物对无机营养物的同化,二是后来进行的有机物的生物矿化。尽管所有生物都参与生物地球化学循环,但微生物在有机物的矿化中起决定性作用,例如地球上90%以上有机物的矿化均是由细菌和真菌完成的^[6]。

4.3 土壤微生物的生态安全调控机能

土壤质量是指土壤容纳和净化污染物质、维护和保障绿色植物生长以及满足人类其他合理需求的综合能力量度^[41],而土壤微生物在维护土壤健康、保障土壤可持续利用和调控生态安全等方面发

挥着重要作用。例如,丰富而稳定的土壤微生物多样性有利于保持土壤肥力、防控土传病害、促进农业增产、保障产品质量^[42];另从直接生产生物质角度来看,某些土壤真菌的大型子实体也可被食用或药用。其次,土壤微生物种质资源在修复污染环境方面也大有作为,尤其在土壤修复、水体治理、固废处理过程中可以起到关键性作用,利用微生物分解有毒有害物质的生物修复技术被公认为治理大面积污染区域的一种有价值的方法。

5 土壤微生物多样性研究的主流趋向展望

研究认为,微生物多样性对于人类缓解在粮食、能源、资源和环境等方面的危机,均有着全球性的重大意义^[4]。首先,微生物在生物圈的维持中起中枢作用,是地球生物化学循环的主要推动者,可用于环境变化监控和环境污染治理;其次,极端环境微生物的研究可为人类了解和探索生命的策略和极限、为超常物质的开发提供资源,在生物技术领域(如开发抗菌、抗肿瘤的产品)亦极具价值;再次,微生物在高等生物的保护和生态恢复中起着重要作用,如菌根真菌可以帮助植物成功地定植在土壤中,实现目标地区的森林再造;最后,微生物在地球上起源早,具有独特的交叉反应且容易操作,可作为阐明生态演化和生物进化原理的模式种群。土壤的微生物多样性远远超过水体^[31],因而是挖掘微生物资源的重要基地^[32]。

研究指出,土壤微生物生态学的新纪元应是从土壤宏基因组的染色体库里提取基因序列、系统发育以及功能演化的信息^[31]。显然,土壤微域生物的基因序列及其在不同条件下的表达研究将有助于我们改良或设计更接近自然生境的新培养技术,而生物信息学和新统计方法等将有助于我们获取多维研究的庞大数据和获悉微生物生理活动与分子分析结果之间的联结,并为深入理解土壤微生物的生态关系绘就更加全面的多样性图谱。当然,系统发育、功能基因以及原位活性等的测定都将增进我们对土壤微生物群落结构与生态功能的认识,尤其是基因测序、比较基因组学及微阵列技术将有助于我们理解结构与功能之间的关系以及生命或非生命物质对土壤微生物群落结构的影响。因此,基因组与环境因子之间的互作关系将是未来研究的一大主题^[31]。

研究强调,新方法和新技术的发展将引导我们以全新的视角审视微生物系统发育和功能多样性之间的联系^[31]。因此,土壤微生物多样性研究应不断设计和探索更加准确、简单、可视或可读性强的研究方法,并加强分子生物学不同方法之间的联结及其与传统研究方法的有机结合^[36]。此外,土壤微生物功能多样性与土壤功能关系密切,土壤微生物功能多样性是土壤功能的保证,同时也是恢复土壤功能的基础,因而应当加强对土壤微生物功能多样性和功能群的研究^[43]。迄今为止,研究较多的功能多与C、N、S等元素的物质循环和污染物降解过程相关,而其他生态过程(如P循环等)的相关功能研究结果则很少。土壤微生物多样性研究需要将功能多样性提到更加突出的位置,在物种尺度之上也更强调功能群的划分,围绕某一土壤生态功能群开展研究正成为土壤生物多样性研究的重要趋势^[43]。

综合而言,今后的土壤微生物多样性研究应紧紧围绕其与土壤生物过程及生态服务功能三者之间的联系,着重建立和完善土壤微生物多样性的研究指标和方法体系,进而阐明人类生产活动影响土壤微生物多样性及其生态服务功能的土壤生物过程^[44]。

参考文献

- [1] 周德庆编著. 微生物学教程. 北京: 高等教育出版社, 1993. 1, 281~282. Zhou D Q. Essential Microbiology (In Chinese). Beijing: Higher Education Press, 1993. 1, 281~282
- [2] 黄昌勇主编. 土壤学. 北京: 中国农业出版社, 2000. 50~55. Huang C Y. Soil Science (In Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 2000. 50~55
- [3] 池振明编著. 微生物生态学. 济南: 山东大学出版社, 1999. 56~65. Chi Z M. Microbial Ecology (In Chinese). Jinan: Shandong University Press, 1999. 56~65
- [4] 阎章才, 东秀珠. 微生物的生物多样性及应用前景. 微生物学通报, 2001, 28(1): 96~102. Yan Z C, Dong X Z. Microbial diversity and its application foreground (In Chinese). Microbiology, 2001, 28(1): 96~102
- [5] Amann R L, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiological Reviews, 1995, 59: 143~169
- [6] 李顺鹏主编. 环境生物学. 北京: 中国农业出版社, 2002. 78~86. Li S P. Environmental Biology (In Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 2002. 78~86
- [7] 焦晓丹, 吴凤芝. 土壤微生物多样性研究方法的进展. 土壤通报, 2004, 35(6): 789~792. Jiao X D, Wu F Z. Progress of methods for studying soil microbial diversity (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 2004, 35(6): 789~792
- [8] 郑华, 欧阳志云, 方治国, 等. Biolog在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用. 土壤学报, 2004, 41(3): 456~461. Zheng H, Ou 'yang Z Y, Fang Z G, et al. Application of Biolog to study on soil microbial community functional diversity (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(3): 456~461
- [9] 傅声雷. 土壤生物多样性的研究概况与发展趋势. 生物多样性, 2007, 15(2): 109~115. Fu S L. A review and perspective on soil biodiversity research (In Chinese). Biodiversity, 2007, 15(2): 109~115
- [10] 韩兴国, 王智平. 土壤生物多样性与微量气体(CO₂、CH₄、N₂O)代谢. 生物多样性, 2003, 11(4): 322~332. Han X G, Wang Z P. Soil biodiversity and trace gases (CO₂, CH₄, N₂O) metabolism: A review (In Chinese). Biodiversity Science, 2003, 11(4): 322~332
- [11] 林先贵. 土壤微生物学的研究进展和发展方向. 土壤, 1991, 23(4): 210~213. Lin X G. Progress and perspective on soil microbiology (In Chinese). Soils, 1991, 23(4): 210~213
- [12] 中国科学院南京土壤研究所微生物室编. 土壤微生物研究方法. 北京: 科学出版社, 1985. 40~273. Department of Microbiology, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. Analytical Methods of Soil Microbe (In Chinese). Beijing: Science Press, 1985. 40~273
- [13] 章家恩, 蔡燕飞, 高爱霞, 等. 土壤微生物多样性实验研究方法概述. 土壤, 2004, 36(4): 346~350. Zhang J E, Cai Y F, Gao A X, et al. Review on laboratory methods for soil microbial diversity (In Chinese). Soils, 2004, 36(4): 346~350
- [14] 马万里, Tibbits J, Adams M. 土壤微生物多样性研究的新方法. 土壤学报, 2004, 41(1): 103~107. Ma W L, Tibbits J, Adams M. A new method for research on soil microbial diversity (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(1): 103~107
- [15] 谢冰, 徐亚同. 环境微生物的分子生物学研究方法. 世界科技研究与发展, 2003, 25(2): 48~53. Xie B, Xu Y T. The molecular biological methods on environmental microorganisms studies (In Chinese). World Sci-Tech R & D, 2003, 25(2): 48~53
- [16] 张惠文, 张倩茹, 周启星, 等. 分子微生物生态学及其研究进展. 应用生态学报, 2003, 12(2): 286~292. Zhang H W, Zhang Q R, Zhou Q X, et al. Introduction and progress of molecular microbial ecology (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 12(2): 286~292
- [17] 田扬捷, 杨虹, 吴秀娟, 等. 综合应用 ITS及 16S rDNA 进行环境微生物生态研究. 微生物学通报, 2004, 31(4): 85~88. Tian Y J, Yang H, Wu X J, et al. Application of ITS and ribosomal DNA to environmental microbial ecology (In Chinese). Microbiology, 2004, 31(4): 85~88
- [18] Thies J E. Soil microbial community analysis using terminal restriction fragment length polymorphisms. Soil Science Society of American Journal, 2007, 71(2): 579~591
- [19] Heyndrickx M, Vauterin L, Vandamme P. Applicability of combined amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) patterns in bacterial phylogeny and taxonomy. Journal of Microbiological Methods, 1996, 26: 247~259
- [20] Heuer H, Wieland G, Schonfeld J, et al. Bacterial community

- profiling using DGGE or TGGE analysis *Environmental Molecular Microbiology: Protocols and Applications*, 2001, 9: 177 ~ 190
- [21] 龙良鲲, 羊宋贞, 姚青, 等. AM真菌 DNA的提取与 PCR-DGGE分析. *菌物学报*, 2005, 24(4): 564 ~ 569. Long L K, Yang S Z, Yao Q, *et al* DNA extraction from arbuscular mycorrhizal fungi and analysis by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (In Chinese). *Mycosystema*, 2005, 24(4): 564 ~ 569
- [22] 董秀丽, 赵斌. 嵌套多重 PCR——研究田间植物部分丛枝菌根真菌和微生物区系的一个可行技术. *中国科学 C辑: 生命科学*, 2006, 36(1): 59 ~ 65. Dong X L, Zhao B. Nested-multiplex PCR: a feasible technology for research on microflora and some arbuscular mycorrhizae in field plant (In Chinese). *Science in China Series C: Life Sciences*, 2006, 36(1): 59 ~ 65
- [23] Don R H, Cox P T, Wainwright B J, *et al* 'Touch-down' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acid Research*, 1991, 19(14): 4008
- [24] 肖文华. 热启动 PCR. *国外医学 (临床生物化学与检验学分册)*, 1996, 17(2): 68. Xiao W H. Hotstart PCR (In Chinese). *Clinical Biochemistry Laboratory Medicine, Foreign Medical Sciences*, 1996, 17(2): 68
- [25] 刘俊娥, 侯鑫, 扈廷茂. 人野生型抑癌基因 PTEN的逆转录 PCR克隆及序列分析. *内蒙古大学学报 (自然科学版)*, 2004, 35(6): 668 ~ 672. Liu J E, Hou X, Hu T M. Cloning and sequencing of the human tumor suppressor gene PTEN by RT-PCR (In Chinese). *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Neimongol*, 2004, 35(6): 668 ~ 672
- [26] 张晶, 张惠文, 张成刚. 实时荧光定量 PCR及其在微生物生态学中的应用. *生态学报*, 2005, 25(6): 1 445 ~ 1 450. Zhang J, Zhang H W, Zhang C G. Real-time fluorescent quantitative PCR and its application in microbial ecology (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(6): 1 445 ~ 1 450
- [27] 黄婷婷, 曹慧, 王兴祥, 等. 一种土壤微生物总 DNA的高效提取方法. *土壤*, 2004, 36(6): 662 ~ 666. Huang T T, Cao H, Wang X X, *et al* An efficient method for DNA extraction from soil microorganism (In Chinese). *Soils*, 2004, 36(6): 662 ~ 666
- [28] Burgmann H, Pesaro M, Widmer F, *et al* A strategy for optimizing quality and quantity of DNA extracted from soil. *Journal of Microbiological Methods*, 2001, 45(1): 7 ~ 20
- [29] Rondon M R, August P R, Bettebmann A D, *et al* Cloning the soil metagenome: A strategy for accessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(6): 2 541 ~ 2 547
- [30] 沈菊培, 张丽梅, 郑袁明, 等. 土壤宏基因组学技术及其应用. *应用生态学报*, 2007, 18(1): 212 ~ 218. Shen J P, Zhang L M, Zheng Y M, *et al* Methodology and application of soil metagenomics (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(1): 212 ~ 218
- [31] Torsvik V, Øvreås L. Microbial diversity and function in soil from genes to ecosystems. *Ecology and Industrial Microbiology*, 2002, 5: 240 ~ 245
- [32] 沈萍, 范秀容, 李广武主编. *微生物学实验 (第三版)*. 北京: 高等教育出版社, 1999. 69 ~ 70. Shen P, Fan X R, Li G W. *Experimentation of Microbiology (In Chinese)*. 3rd Ed. Beijing: Higher Education Press, 1999. 69 ~ 70
- [33] 张崇邦, 黄立南, 栾天罡, 等. 寡营养细菌及其在环境科学中的应用. *应用生态学报*, 2005, 16(4): 773 ~ 777. Zhang C B, Huang L N, Luan T G, *et al* Oligotrophic bacteria and their applications in environmental sciences (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(4): 773 ~ 777
- [34] 郭斌, 吴晓磊, 钱易. 提高微生物可培养性的方法与措施. *微生物学报*, 2006, 46(3): 504 ~ 507. Guo B, Wu X L, Qian Y. Approaches for increasing the culturability of microorganisms (In Chinese). *Acta Microbiologica Sinica*, 2006, 46(3): 504 ~ 507
- [35] Handelsman J, Rondon M R, Brady S F, *et al* Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products. *Chemistry and Biology*, 1998, 5: 245 ~ 249
- [36] 杨海君, 肖启明, 刘安元. 土壤微生物多样性及其作用研究进展. *南华大学学报 (自然科学版)*, 2005, 19(4): 21 ~ 26, 31. Yang H J, Xiao Q M, Liu A Y. Soil microbial diversity and its action (In Chinese). *Journal of Nanhua University (Science and Technology)*, 2005, 19(4): 21 ~ 26, 31
- [37] 周冰焱, 蒋玮莹. 后基因组时代的功能基因组学. *国际遗传学杂志*, 2007, 30(4): 261 ~ 264, 253. Zhou B Y, Jiang W Y. Functional genomics in the post-genomic era (In Chinese). *International Journal of Genetics*, 2007, 30(4): 261 ~ 264, 253
- [38] 鲁如坤. "微域土壤学"——一个可能的土壤学的新分支. *土壤学报*, 1999, 36(2): 287 ~ 288. Lu R K. Microzone soil science—A possible new branch of soil science (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 1999, 36(2): 287 ~ 288
- [39] Zhang P J, Zheng J F, Pan G X, *et al* Changes in microbial community structure and function within particle size fractions of a paddy soil under different long-term fertilization treatments from the Tai Lake region, China. *Colloids and Surfaces B*, 2007, 58: 264 ~ 270
- [40] 杨芳, 徐秋芳. 土壤微生物多样性研究进展. *浙江林业科技*, 2002, 22(6): 39 ~ 41, 55. Yang F, Xu Q F. Advance in studies on diversity of microorganism in soil (In Chinese). *Journal of Zhejiang Forest Science & Technology*, 2002, 22(6): 39 ~ 41, 55
- [41] 中国土壤学会编. *中国土壤科学的现状与展望*. 南京: 河海大学出版社, 2007. 234 ~ 247. Soil Science Society of China. *Present and Expectation of Soil Science in China (In Chinese)*. Nanjing: Hohai University Press, 2007. 234 ~ 247
- [42] 王书锦, 胡江春, 张宪武. 新世纪中国土壤微生物学的展望. *微生物学杂志*, 2002, 22(1): 36 ~ 39. Wang S J, Hu J C, Zhang X W. Prospect of Chinese soil microbiology in the new century (In Chinese). *Journal of Microbiology*, 2002, 22(1): 36 ~ 39
- [43] 周桔, 雷霆. 土壤微生物多样性影响因素及研究方法的现状与展望. *生物多样性*, 2007, 15(3): 306 ~ 311. Zhou J, Lei T. Review and prospects on methodology and affecting factors of soil microbial diversity (In Chinese). *Biodiversity Science*,

2007, 15(3): 306 ~ 311

- [44] 黄进勇, 李春霞. 土壤微生物多样性的主要影响因子及其效应. 河南科技大学学报(农学版), 2004, 24(4): 10 ~ 13.
Huang J Y, Li C X. Main factors of soil microbial diversity and

their effect on cropland (In Chinese). Journal of Henan University of Science and Technology (Agricultural Science), 2004, 24(4): 10 ~ 13

SCIENTIFIC CONNOTATION AND ECOLOGICAL SERVICE FUNCTION OF SOIL MICROBIAL DIVERSITY

Lin Xiangui^{1,2†} Hu Junli^{1,2}

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(2 Joint Open Laboratory of Soil and the Environment, Institute of Soil Science and Hongkong Baptist University, Nanjing 210008, China)

Abstract Soil microbial diversity is an indicator of species and genes of microbes in the soil ecosystem and their competitive interactions with the environment. The current study in this field is focused mainly on species diversity, genetic diversity, structural diversity and functional diversity. Although the study on soil microbial diversity as a global topic has been carried on for ten remaining years, it has displayed features like huge variety of objects, magnitude of contents, broadness in level and novelty in method. However, molecular biological technologies lead and reflect progresses of the research and development of soil microbial ecology. Nowadays, how to improve soil microorganism culturing methods, how to intensify analysis and application of soil metagenomics, how to link soil microbial diversity with service function, and how to expose effect of microhabitat structure on soil microbial diversity, are the four key scientific issues. The basic value of the ecological service functions of soil microbial diversity, of course, lies in decomposing organic matter, recycling nutrients and regulating ecological safety. The study of soil microbial diversity in the years to come should center on its relationship with biological processes and ecological service functions, and establishment of an index system and a methodological system for the study on soil microbial diversity, and elucidation of biological processes of the effect of human activities on soil microbial diversity and its ecological service functions.

Key words Soil microbial diversity; Molecular biological technology; Soil biological process; Ecological service function