

•生物多样性监测网络专题•

# 中国土壤微生物多样性监测的现状和思考

李香真<sup>1\*</sup> 郭良栋<sup>2</sup> 李家宝<sup>1</sup> 姚敏杰<sup>1</sup>

1 (中国科学院成都生物研究所环境与应用重点实验室, 环境微生物四川省重点实验室, 成都 610041)

2 (中国科学院微生物研究所真菌学国家重点实验室, 北京 100101)

**摘要:** 土壤微生物多样性研究是整个生态系统研究中最薄弱的环节之一。高通量测序技术和生物信息学方法的快速发展极大地促进了土壤微生物多样性监测研究的深度和广度。目前世界范围内已经开展了一些综合的微生物多样性研究计划, 如地球微生物计划。这些计划存在的主要问题是缺少动态的监测、研究方法不统一、数据整合困难等。中国土壤微生物多样性监测网(Soil Microbial Observation Network, SMON)是中国生物多样性监测与研究网络(Chinese Biodiversity Monitoring and Research Network, Sino BON)的重要组成部分, 本文中我们对该监测网的建设提出了一些思考。在监测布局上建议选择我国南北水热梯度下的森林生态系统、东西降雨梯度下的草原生态系统、典型湿地生态系统及重要农田生态系统, 同时依托现已建成的生物多样性监测网络观测点或大样地, 布设监测样点, 利用现代环境基因组学和生物信息学技术, 重点围绕土壤微生物群落和功能基因组的组成与多样性, 开展长期定点的动态监测。监测的结果将以名录、数据集或图鉴的形式发布, 包括中国典型生态系统中土壤细菌、古菌、真菌与地衣、土壤宏基因组和重要功能基因的组成和多样性等数据, 同时建设土壤生物大数据平台, 达到监测数据的储存、查询、分析、下载、成图的功能。通过土壤微生物多样性监测, 将阐明我国重要森林、草地、湿地、农田生态系统中土壤微生物组成、多样性、功能基因的时空变化特征和驱动机制, 建立土壤微生物多样性变化与生态系统功能的关系及相关的模型, 预测全球环境条件变化下土壤微生物的演变规律, 为土壤微生物多样性资源的保护和利用提供科学依据。

**关键词:** 土壤微生物群落; 多样性; 监测网; 环境基因组; 生态系统功能

## Soil microbial diversity observation in China: current situation and future consideration

Xiangzhen Li<sup>1\*</sup>, Liangdong Guo<sup>2</sup>, Jiabao Li<sup>1</sup>, Minjie Yao<sup>1</sup>

1 Key Laboratory of Environmental and Applied Microbiology, CAS; Environmental Microbiology Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041

2 State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101

**Abstract:** Soil microbial diversity has not been extensively observed due to technique limitations. With the development of the high-throughput sequencing technique and bioinformatics, much progress has been made in observations of microbial diversity. Currently, international microbiome initiatives have been founded (including the Earth Microbiome Project). However, problems in these projects include a lack of dynamic observations, differences in observational methods, and data integration. The soil microbial observation network (SMON) is an important part of the Chinese Biodiversity Monitoring and Research Network (Sino BON). The observational network initially selected field observation sites in forest ecosystems along a temperature and precipitation gradient from south to north, in grassland ecosystems along a precipitation transect from east to west, and in typical wetland and agricultural ecosystems in China. Field ecological observation stations have been established in these selected ecosystems. Key tasks for the SMON are to observe spatial and temporal dynamics of soil microbial communities and functional genes in various ecosystems, including bacteria, archaea, fungi, and lichens. Observational data will be published periodically

收稿日期: 2015-12-07; 接受日期: 2016-03-29

基金项目: 国家自然科学基金(41371268, 31400458)、中国生物多样性监测与研究网络(Sino BON)和中国科学院科学数据库项目(XXH12504-3-18)

\* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: lixz@cib.ac.cn

in the format of database, annals, and illustrated handbooks. Key methods used in the SMON are high-throughput sequencing, metagenomics, and bioinformatics. A soil biota database is currently being constructed to store observational data for public inquiry and analysis. Through the efforts of SMON, we plan to explore the driving mechanisms of spatial and temporal variations of soil microbial communities and their functional genes, and understand the relationships between microbial diversity and ecosystem function, in order to predict microbial dynamics under global environmental change scenarios, and to design strategies to protect soil microbial diversity and properly utilize microbial resources.

**Key words:** soil microbial community; diversity; monitoring network; metagenomics; ecosystem function

土壤微生物是地球上多样性最高、物种最丰富的生物类群之一,是生物地球化学过程的关键驱动者(Torsvik & Øvreås, 2002; Veresoglou et al, 2015)。每克土壤中仅微生物数量就可能有上亿,微生物物种可高达数万,包括真菌、细菌、古菌等。因此,土壤是最丰富的菌种资源库,例如产抗生素的菌株大多分离自土壤。另一方面,土壤中的微生物含有各种功能基因,是一个巨大的基因资源库,构成了土壤微生物宏基因组(soil metagenomics)。

土壤微生物多样性包括物种和基因多样性,其形成受到时间(进化)和空间(地理分布)因素的共同作用(Ohtonen et al, 1997; Lynch et al, 2004),因受到自然和人类活动的影响而面临丧失的风险(Veresoglou et al, 2015)。揭示土壤微生物的物种和基因多样性形成机制与时空分布格局等,对于深入认识地下生态系统的结构和功能以及开展微生物多样性资源的保护和利用具有重要意义。

不同于植物和动物,土壤微生物(除大型真菌与地衣外)个体微小,难以用肉眼观测到,也不能直接在野外用仪器监测,而且绝大多数微生物至今还不能被分离培养。由于手段的限制,以往的研究常把土壤微生物系统当作一个黑箱来处理,对微生物多样性的监测研究是整个生态系统研究中的薄弱环节之一。最近10年发展起来的高通量测序技术使核苷酸序列测定有了革命性的进步,为监测微生物的多样性、群落结构与环境基因组的时空变化提供了强有力的手段(Gonzalez et al, 2012)。当今常见的监测过程是把野外获得的土壤样品运送到实验室,然后对提取的DNA进行序列测定,再通过生物信息学方法对微生物类群和基因进行鉴定和分类(Liu et al, 2015)。

本文在简要分析土壤微生物多样性研究现状的基础上,对中国土壤微生物多样性监测网络(Soil

microbial Observation Network, SMON)的建设提出一些思考,包括监测点的选择、监测方法、监测结果的发布形式及监测数据的信息化等,供大家讨论。

## 1 土壤微生物多样性研究的现状

近年来,高通量测序、DNA条形码技术以及生物信息学等新方法的快速发展,为大规模、快速、准确、全面检测土壤微生物多样性提供了技术保障,已成为当前微生物多样性研究的一个热点。世界各国开展了一些土壤生物学方面的研究计划,发展了很多新的研究方法,使人们对土壤微生物的组成和功能多样性及其时空分布有了更深入的认识(Orgiazzi et al, 2015)。欧盟自2011年起资助了国际合作项目EcoFINDERS (Ecological Function and Biodiversity Indicators in European Soils),重点研究土壤微生物和动物多样性及其与地上生物多样性的关系(Lemanceau, 2011)。2011年发起的全球土壤生物多样性倡议(Global Soil Biodiversity Initiative, [www.globalsoilbiodiversity.org](http://www.globalsoilbiodiversity.org))旨在促进对土壤生物多样性及其生态服务功能的认识,为制定环境政策提供科学依据。美国科学家发起的地球微生物计划(the Earth Microbiome Project),旨在全球范围内收集20万份各种环境样品,分析其微生物组成和功能多样性,构建微生物组成和基因分布图(Gilbert et al, 2014)。近十余年来,在国家科技部、国家自然科学基金委员会、中国科学院等机构的资助下,中国的土壤生物学研究也取得了很大的成绩(Song et al, 2013; Lu et al, 2015)。如科技部启动了基础性工作专项,重点收集我国不同生态系统的微生物资源,揭示微生物多样性;2014年开始,中国科学院实施了战略性先导科技专项(B类)“土壤-微生物系统功能及其调控”,重点研究土壤微生物分布格局、微生物

过程与地上-地下生物协同调控与氮磷高效利用机理。这些研究将会极大地促进中国土壤微生物学的发展。

相对于植物和动物,土壤微生物多样性监测与研究起步相对较晚。最近十几年来,由于技术手段的进步,土壤微生物多样性和生物地理学方面的研究取得了丰硕的成果。对北美和南美大陆土壤细菌多样性的研究表明,在大尺度上土壤pH是影响细菌多样性和丰富度的最重要环境因子(Fiere & Jackson, 2006),而真菌对土壤pH的敏感性弱于细菌。在全球尺度上对土壤真菌的地理分布研究表明,气候和土壤因子是预测真菌多样性和组成的最佳参数,但不同真菌类群随着气候、土壤、植物参数变化的模式表现出了很大的差异(Tedersoo et al, 2014)。在不同的地理尺度上,土壤微生物多样性变化的关键驱动因子会有所不同,即表现出尺度依赖性。如在中国西部干旱和半干旱草原土壤中,土壤细菌多样性和组成主要受到干旱度的影响,与此同时,气候和地理距离也同时影响着细菌群落的生物地理分布模式(Wang et al, 2015)。

中国科学院下属的很多与生态、环境、农业相关的研究所均有土壤生物尤其是土壤微生物相关的专业研究人员,如长沙农业现代化研究所、南京土壤研究所、成都生物研究所、生态环境研究中心、微生物研究所、东北地理与农业生态研究所、沈阳生态研究所、城市环境研究所等。尤其在最近几年,在利用高通量测序技术研究土壤微生物多样性方面取得了很多进展,这里只介绍几个实例。在中国科学院“十二五”生物多样性监测计划的支持下,成都生物所和南京土壤研究所建立起完善的高通量测序和生物信息学平台,重点为生物多样性研究提供技术服务,先后培训了科研人员上百人。中国科学院微生物所对我国南北热量梯度下一些典型森林生态系统中真菌的组成和多样性开展了研究,揭示了真菌群落的形成机制(Gao et al, 2013, 2015)。在重点样地也开展了大型真菌的监测工作。成都生物所在内蒙古草原土壤微生物地理、土壤微生物对全球变化的响应等方面开展了研究,同时在青藏高原、贡嘎山开展了土壤微生物多样性监测工作,研究揭示了不同细菌类群对氮沉降(Yao et al, 2014)和增温的响应模式(Rui et al, 2015)。南京土壤所等单位的研究人员调查了长白山垂直带谱上土壤细菌

(Shen et al, 2013)和真菌(Shen et al, 2014)多样性的变异,发现土壤微生物多样性随海拔的变化与植物表现出不同的趋势,土壤pH也是驱动微生物多样性变异的关键因子。东北地理与农业研究所等调查了我国黑土微生物群落的地理分布,发现细菌群落组成主要受土壤pH和有机碳的影响(Liu et al, 2014),而真菌群落的变化主要受土壤有机碳的驱动(Liu et al, 2015)。这些结果为进一步系统地开展土壤微生物监测与研究打下了坚实的基础。

## 2 土壤微生物多样性研究中存在的问题

针对土壤微生物,以往的研究大多聚焦于土壤微生物组成和多样性的空间分异,而对土壤微生物组成和多样性在时间尺度上的动态变化研究较少(Shade et al, 2013)。人们观测到很多微生物介导的生物地球化学过程均显示出季节性的动态变化,如温室气体排放通量( $\text{CH}_4$ 、 $\text{N}_2\text{O}$ )(Butterbach-Bahl et al, 2013)。然而,这些过程与微生物群落组成和多样性动态变化的关系尚不清楚。在为数不多的一些有关土壤微生物群落动态变化研究中,人们利用时间序列分析和高通量测序技术发现,一些生态系统中土壤微生物群落组成和多样性也表现出明显的动态变化,动态变化的模式因不同生态系统而有差异(Rasche et al, 2011)。揭示这种动态变化的规律及其驱动机制,可以使我们深入认识微生物群落的演替规律及其对生态系统功能的影响,以揭示群落稳定性与生物多样性的关系,预测微生物群落对全球气候变化、土地利用等扰动的响应(Shade et al, 2013)。为了阐明这些科学问题,需要在不同生态系统中对土壤微生物类群和基因组进行长期、定点、动态的监测;同时结合其他生态过程监测,如生物地球化学过程、植被演替等,以便获得系统的监测数据。

最近十余年来,国际上开展了一些微生物组计划,这些计划主要研究人体肠道微生物,如美国人体微生物组计划(The NIH Human Microbiome Project),加拿大微生物组研究项目(Canadian Microbiome Initiative),以及欧盟和中国的MetaHIT项目(Metagenomics of the Human Intestinal Tract)等,尚缺乏专门针对土壤微生物组的研究计划。当前进行的微生物组计划没有能够很好地合作,研究方法也不统一,虽然各研究计划都产生了大量数据,但很难对这些数据进行整合。如利用16S rRNA基因鉴

定微生物群落组成时, 由于扩增16S rRNA基因的引物不同, 最终获得的数据差异很大。另外, 由于生物信息处理序列数据时选择的方法不同, 估算微生物物种数量时可以差2–3个数量级 (Dubilier et al, 2015)。因此, 对微生物多样性监测工作而言, 标准化的研究流程和研究方法对于数据的可比性非常重要。然而, 每种研究方法都有其局限性, 过分追求标准化也不利于创新。如用常用的16S rRNA引物515F/806R调查土壤微生物组成时, 可能会漏掉一些独特的菌群。在第三代单分子测序技术的应用中, 在对测序数据进行处理时, 进行OTUs(可操作分类单元)分类是关键的一步, 目前虽然有很多计算方法, 但没有一种方法适用于所有的情况, 所以要根据研究问题、数据情况和计算能力来选择。

对于土壤微生物多样性监测的系统研究工作很少, 可以借鉴的经验和标准方法不多。美国科学家发起的地球微生物组计划(the Earth Microbiome Project) (Gilbert et al, 2014), 目的是为了在全球尺度上收集各种生态系统中微生物群落组成和分布的数据, 分析微生物群落的分布、多样性及形成机制。项目组织者也建议了一些标准化的方法, 涉及实验室技术和数据处理流程等, 如土壤基因组DNA提取建议用Mo Bio公司生产的PowerSoil DNA isolation kit。该试剂盒采用的方法能有效地去除土壤中的PCR抑制物, 可重复性强, 但价格较高。PCR扩增16S rRNA基因建议用515F/806R, 利用Illumina公司的Miseq或Hiseq平台测序; 18S rRNA基因的扩增推荐用Euk\_1391f和EukBr (Amaral-Zettler et al, 2009); 扩增子序列的处理推荐用QIIME平台 (Caporaso et al, 2010)。该项目还对如何提供与样品对应的宏数据(metadata)也进行了一定的规范。但是, 该项目没有对野外取样过程和土壤微生物动态监测的方法提出建议。这种人为设定的标准方法和流程还存在一些问题。笔者认为, 在土壤微生物多样性监测方法的选择上, 要根据不同的研究目的制定出多套研究方案, 同时及时采用新的技术手段, 鼓励探索新的方法。

土壤微生物多样性监测将产生大量数据, 加上已经发表的数据, 数据的管理、查询和挖掘亟需建立大数据平台, 然而至今尚没有系统的土壤微生物多样性的数据集和专业数据库。如何实现微生物多样性监测数据的共享, 涉及到很多具体问题需要解

决, 如数据整合和共享方式、数据库运行支撑体系、知识产权保护问题等等。

另一方面, 为了研究一个物种的生理、生化特征及工业应用, 分离纯化功能微生物是非常重要的。至今, 环境中的大多数微生物物种还不能在实验室中被分离培养出来, 这是当前土壤微生物多样性研究中存在的一个大问题, 因此, 传统分离培养方法的改进也是土壤微生物多样性研究的重要课题。利用监测获得的数据可以得到物种的分类信息, 把要分离的物种与已分离菌种的生长条件进行比较, 通过查询已知培养基数据库(如KOMODO), 可以为分离新菌种推荐培养基和培养条件(Oberhardt et al, 2015)。而一株重要功能微生物的获得, 可以对人类社会产生巨大的影响。2015年诺贝尔奖获得者日本科学家大村智在1974年从土壤中分离到一株阿维菌素链霉菌(*Streptomyces avermitilis* NRRL 81655), 其产生的阿维菌素能够有效拮抗寄生虫病, 推动了全球寄生虫病防治(Jia, 2016)。

综上所述, 建议在国家层面上顶层设计相关重大项目, 围绕土壤微生物多样性监测、微生物资源挖掘、分离培养新技术和微生物资源大数据共享平台建设等方面重点开展研究。

### 3 中国土壤微生物多样性监测网络建设

我国不同地区气候差异显著, 生态系统自然变异和人为扰动程度各不相同, 生态系统多样性非常丰富。我国在南北热量梯度样带、东西降水梯度样带上设有很多长期生态定位监测站和样点, 如中国生态系统研究网络(CERN)在全国布设了多处生态观测站, 对生态系统的不同要素进行了长期的监测, 已经积累了大量的气候、土壤、植被、动物等方面的观测数据(Ma, 2015), 这些都为土壤微生物多样性监测提供了很好的基础。然而, 由于技术手段的限制, 土壤微生物多样性大多没有包括在监测内容之中。近10年来技术手段的突破为土壤微生物多样性监测研究提供了强有力的手段, 使得我们与国际同行处于同一起跑线上。

土壤微生物多样性监测网(SMON)是中国生物多样性监测与研究网络(Sino BON)的一部分(Ma, 2015)。通过土壤微生物多样性监测工作, 将获得地下微生物系统的数据, 加深对地下生态系统结构和功能的理解, 促进整个生态学科的发展。下面将对

我国土壤微生物多样性监测研究和监测网建设,包括监测样点、监测内容和规范监测方法等提出一些初步的思考。

### 3.1 土壤微生物多样性监测的科学目标

土壤微生物监测网主要依托现代高通量测序技术、生物信息学技术,以及传统的微生物学方法对我国重要生态系统中微生物的多样性、功能基因及其参与的生态过程进行监测和研究,以揭示土壤微生物多样性的时空分布格局、动态演替和形成机制(图1)。具体科学目标如下:

(1)监测我国重要生态系统中(草地、森林、湿地、农田等)土壤微生物及典型森林系统中的大型真菌和地衣组成、多样性的时空分布格局,发布系列监测数据集。

(2)解析土壤微生物多样性变化的影响因素,阐明土壤微生物群落的演替规律,揭示土壤微生物多样性丧失的机制,建立相关预测模型。

(3)监测典型生态系统中土壤基因组的组成和多样性,揭示土壤微生物与植物、其他生态学过程的关系及其在环境变化条件下的耦合机制。

(4)建立土壤微生物大数据平台,整合土壤微生物

物监测的数据,为利用土壤微生物资源服务。

### 3.2 土壤微生物多样性监测网的总体设计

在土壤微生物监测网建设的早期阶段,建议选择我国南北热量梯度下森林生态系统和东西水分梯度下典型草原生态系统及典型湿地生态系统,同时依托现有的生物多样性监测网络的观测点或大样地,布设监测样点20–30个,进行土壤微生物多样性方面的长期监测。这些监测点要求在不同领域已经开展了一些工作,生态系统代表性强、基础资料齐全、软硬件条件均能得到保障。随着监测工作的展开,还可以进一步增加或调整监测样地的布设,如增加农业生态系统的监测点。

### 3.3 监测的主要内容、方法和指标

#### 3.3.1 监测内容

将围绕土壤微生物的群落组成、多样性及土壤基因组的组成与多样性、重点森林生态系统中的大型真菌和地衣,在典型森林、草地、湿地、农业生态系统中开展定点长期监测(表1)。微生物组成主要包括土壤中不同微生物(细菌、古菌、真菌)在门、纲、目、科、属水平上的构成和多样性。在条件成熟时,也可以开展土壤中病毒的监测。土壤基因组

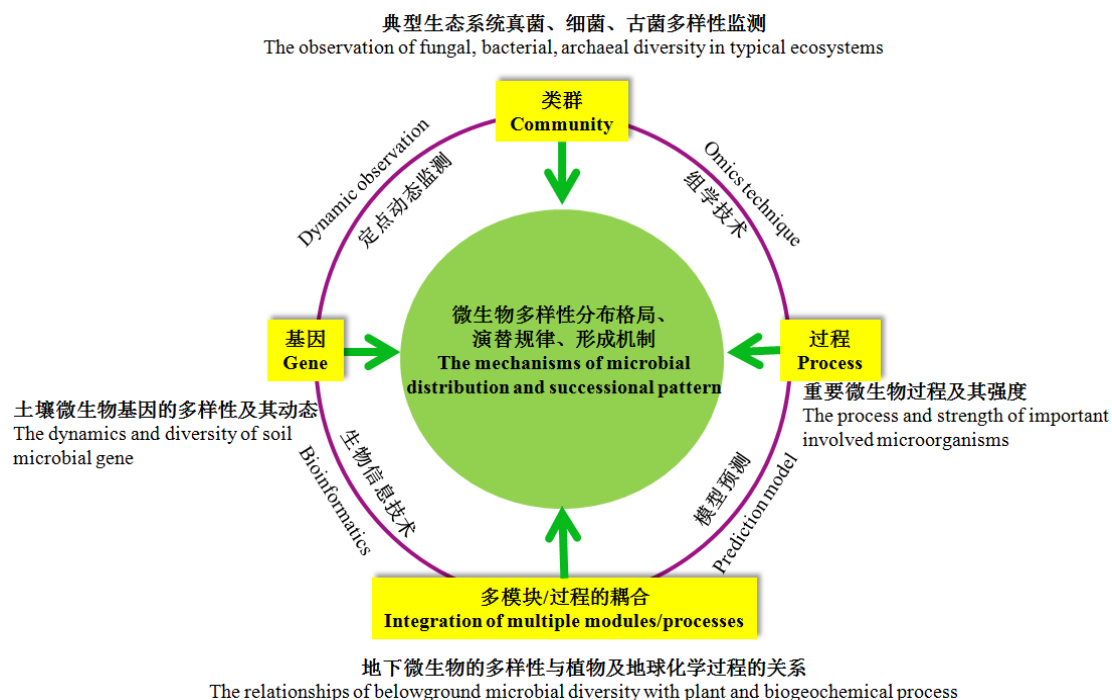


图1 土壤微生物多样性监测和研究的总体思路

Fig. 1 General scientific goals and outline of soil microbial observation network

表1 土壤微生物多样性监测的主要内容、方法和指标  
Table 1 Observation items, approaches and main aims of soil microbial diversity

监测内容 Observation items	监测方法 Approaches	主要指标 Main aims
监测点的基本生态、地理信息数据 采集 Ecological and geographic information collection	野外直接测量、数据收集等 Field observation, data collection	地理坐标、气候参数(温度、降雨等)、植被组成、生物量、 土地利用类型等 Geographic coordinate, climate parameters (temperature, precipitation), plant composition and biomass, land use types
土壤微生物的群落组成和多样性(真 菌、细菌、古菌等) Soil microbial community composition and diversity (fungi, bacteria, archaea)	高通量测序(Hiseq、Miseq)、生物信 息学分析 High-throughput sequencing (Hiseq, Miseq), bioinformatics analysis	鉴定出微生物的系统组成和多样性 Revealing soil microbial community composition and diversity
土壤基因组的组成和多样性 Soil genomic composition and diversity	高通量测序(Hiseq)、定量PCR High-throughput sequencing, quantitative PCR	鉴定出土壤微生物群落的功能基因组组成和多样性 Revealing soil microbial functional gene composition and diversity
重点森林样地大型真菌监测 Observation of macrofungi in typical forest ecosystems	野外样线调查、形态观察、生理特 征检测等 Field study, morphology observation, physiology study	完成重点森林样地的大型真菌组成和多样性调查及生理生 态特征描述 Revealing soil macrofungal composition, diversity and physiological characteristics
土壤微生物过程监测 Observation of microbial processes	野外直接测定 Field measurement	重点监测与温室气体排放、养分循环相关的过程 Revealing the processes related to greenhouse gas flux and nutrient cycling
土壤微生物的分离、纯化和生理鉴定 Isolation, purification and characteristics of soil microorganisms	微生物分离培养技术 Microbial isolation and culturing techniques	分离纯化鉴定重要的微生物菌种资源 Isolating and identifying important microorganisms

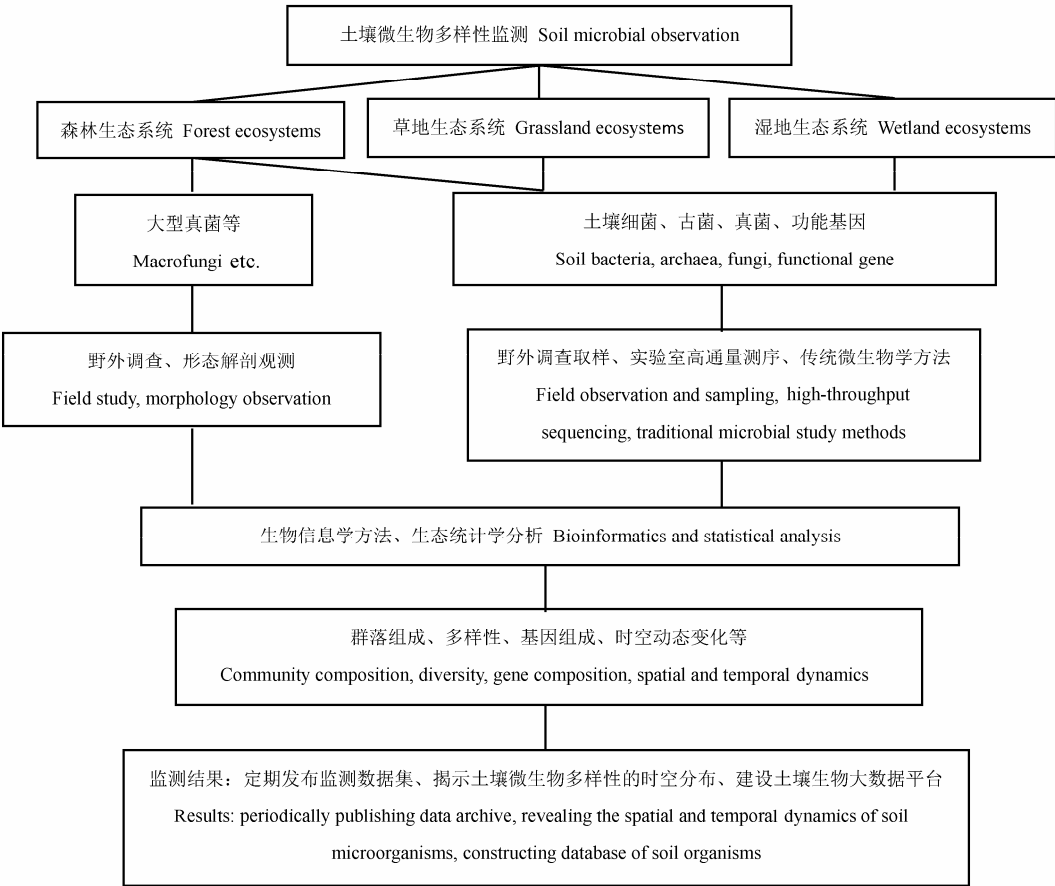


图2 土壤微生物多样性监测的技术路线  
Fig. 2 General technique route used in the soil microbial observation network

的组成主要包括土壤中与物质代谢和养分循环相关的功能基因,如参与碳、氮、磷循环的基因,以及参与这些过程的功能微生物的多样性,这部分工作可以与土壤监测工作结合进行。大型真菌是菌物中形成大型子实体的真菌,即广义上的蘑菇,主要属于担子菌亚门,少数属于子囊菌亚门,将在部分重点森林系统中进行监测。

### 3.3.2 监测方法

基本的技术路线包括野外样地选择、定点定期取样(一年2–3次);在实验室中,将现代高通量测序技术和传统微生物分离技术结合起来,对我国主要生态系统中微生物的多样性进行监测。大型真菌主要利用野外调查、形态观测和DNA条形码方法(图3)。在利用DNA条形码方法鉴定微生物的技术流程中,每个步骤都有可能引起很大的变异,如取样、DNA提取、测序方法及数据处理方法等。所以土壤微生物多样性的监测一定要有一个规范化的技术流程,要根据研究的问题、数据情况和硬件能力来制定研究方法。我们对宏数据的收集和研究方法的规范化提出了建议(表1,附录1)。目前,我们已经建立起实验室操作的规范流程,与国际上土壤微生物群落鉴定的标准基本一致,这也为将来进行全球尺度下土壤微生物数据的比对提供了极大便利。在监测的具体操作过程中,不同监测点的样品将统一在规定的实验室进行测定,操作的规范流程相对容易控制。但是,也要注意现有方法的改进和新方法、新技术的应用。

监测网需要制定统一的取样方法。首先确定好监测样地,作好标记。取样时,沿着固定样线,每隔5 m取一个0–10 cm层土壤样品,共取20个土钻样品(土钻直径5 cm),混合为一个点的样品;每个监测点最少取10个重复。样品首先冷冻干燥,通过邮寄的方式运送到实验室。对于重点样品,可以按土壤层次0–10 cm、10–30 cm、30–60 cm取样。

对每一个样地的取样,要同时记录该点的地理坐标、气候、植被、土壤特征及土地利用类型等信息。同时在实验室,要对土壤的一些基本性状进行测定,如pH和有机C、N、P、无机N、土壤质地等,以分析土壤微生物多样性与环境因子的关系。如果样品含有特殊的功能微生物,如抗生素产生菌、特殊代谢产物产生菌等,有必要进一步进行菌种分离工作,研究其基因和代谢特征。

### 3.4 监测网的组织方式

土壤微生物监测不同于动物、植物监测,除了大型真菌可以在野外观测外,土壤微生物的鉴定主要在实验室内进行。因此,需要建立一个由专业人员组成的工作组,制定、发布和实施统一的土壤微生物多样性监测方案和技术流程。合作人员主要包括参与监测的野外台站和大样地的研究人员,负责野外调查取样工作,样品将统一邮寄至指定的实验室进行鉴定和生物信息学分析。

### 3.5 监测网的主要产出

#### 3.5.1 发布数据集

每年初,发布前一年度的监测数据,监测和发布的内容示范见附录1。数据集主要包括以下几个方面:

(1)监测样点土壤细菌、古菌和真菌的种群组成和多样性数据,包括各样点微生物在门、纲、目、科、属水平上的组成。

(2)监测样点的土壤基因组成和多样性数据,主要包括与养分循环相关的功能基因组成和丰度。

(3)主要森林样地大型真菌的组成和多样性,包括真菌的形态特征和图片资料。

(4)发布新分离的菌种目录及其生理特性数据。

(5)经过数年监测,发布中国典型生态系统中土壤细菌、真菌、古菌、大型真菌、地衣、土壤宏基因组和重要功能基因的组成和多样性等数据,以名录、数据集或图鉴的形式发布。

#### 3.5.2 研究成果

通过土壤微生物多样性监测,将主要探讨以下科学问题:

(1)阐明我国典型森林、草地、湿地、农田系统中土壤微生物组成、多样性的时空分布格局,绘制微生物多样性分布图。

(2)阐明自然变异和人为扰动对土壤微生物组成和多样性及其时空分布的影响,明确土壤微生物时空分布的驱动机制。

(3)通过调查典型系统中土壤微生物功能基因的组成和多样性,揭示土壤微生物多样性变化与生态系统功能的关系。

(4)通过解析土壤微生物多样性变化的影响因素,阐明土壤微生物群落的演替规律,并建立相关预测模型,提出保护土壤微生物多样性的对策。

(5)开发利用微生物多样性资源,获得一批具有



应用价值的微生物菌种资源。

### 3.5.3 土壤生物大数据平台建设

我们将利用获得的数据以及文献发表的数据, 对现有数据进行整合, 建设土壤生物大数据平台, 土壤微生物监测网是大数据平台的一个重要组成部分。利用土壤生物大数据平台, 可以达到监测数据的储存、查询、分析、下载、成图的功能。最终目的是利用已获得的数据构建模型, 预测环境条件变化下土壤微生物的演变规律, 为土壤微生物多样性资源的保护和利用提供科学基础。

### 参考文献

- Amaral-Zettler LA, McCliment EA, Ducklow HW, Huse SM (2009) A method for studying protistan diversity using massively parallel sequencing of V9 hypervariable regions of small-subunit ribosomal RNA genes. *PLoS ONE*, 4, e6372.
- Butterbach-Bahl K, Baggs EM, Dannenmann M, Kiese R, Zechmeister-Boltenstern S (2013) Nitrous oxide emissions from soils: how well do we understand the processes and their controls? *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 368. doi: 10.1098/rstb.2013.0122
- Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Pena AG, Goodrich JK, Gordon JI, Huttley GA, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone CA, McDonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters WA, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7, 335–336.
- Dubilier N, McFall-Ngai M, Zhao LP (2015) Create a global microbiome effort. *Nature*, 526, 631–641.
- Fierer N, Jackson RB (2006) The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 103, 626–631.
- Gao C, Shi NN, Liu YX, Peay KG, Zheng Y, Ding Q, Mi XC, Ma KP, Wubet T, Buscot F, Guo LD (2013) Host plant genus-level diversity is the best predictor of ectomycorrhizal fungal diversity in a Chinese subtropical forest. *Molecular Ecology*, 22, 3403–3414.
- Gao C, Zhang Y, Shi NN, Zheng Y, Chen L, Wubet T, Bruehlheide H, Both S, Buscot F, Ding Q, Erfmeier A, Kühn P, Nadrowski K, Scholten T, Guo LD (2015) Community assembly of ectomycorrhizal fungi along a subtropical secondary forest succession. *New Phytologist*, 205, 771–785.
- Gilbert JA, Jansson JK, Knight R (2014) The Earth Microbiome project: successes and aspirations. *BMC Biology*, 12, 69. doi: 10.1186/s12915-014-0069-1.
- Gonzalez A, King A, Robeson II MS, Song S, Shade A, Metcalf JL, Knight R (2012) Characterizing microbial communities through space and time. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 431–436.
- Jia ZJ (2016) 2015 Nobel Prize and soil microbiology—culture-dependent study warrants more attention. *Acta Pedologica Sinica*, 53, 12–15. (in Chinese with English abstract) [贾仲君 (2016) 2015年诺贝尔生理学或医学奖的启示——土壤微生物分离培养推动了寄生虫病防治. *土壤学报*, 53, 12–15.]
- Lemanceau P (2011) EcoFINDERS: characterizing biodiversity and soil functioning in Europe. 23 partners from 10 European countries and China. *Biofutur*, 326, 56–58.
- Liu C, Li JB, Rui JP, An JX, Li XZ (2015) The applications of the 16S rRNA gene in microbial ecology: current situation and problems. *Acta Ecologica Sinica*, 35, 1–9. (in Chinese with English abstract) [刘驰, 李家宝, 芮俊鹏, 安家兴, 李香真 (2015) 16S rRNA 基因在微生物生态学中的应用: 现状和问题. *生态学报*, 35, 1–9.]
- Liu JJ, Sui YY, Yu ZH, Shi Y, Chu HY, Jin J, Liu XB, Wang GH (2014) High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, 70, 113–122.
- Liu JJ, Sui YY, Yu ZH, Shi Y, Chu HY, Jin J, Liu XB, Wang GH (2015) Soil carbon content drives the biogeographical distribution of fungal communities in the black soil zone of northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, 83, 29–39.
- Lu YH, Fu SL, Chu HY, Yang YF, Liu ZF (2015) Recent advances in global change and soil biology. *Science Foundation in China*, 29(1), 19–24. (in Chinese with English abstract) [陆雅海, 傅声雷, 褚海燕, 杨云锋, 刘占锋 (2015) 全球变化背景下的土壤生物学研究进展. *中国科学基金*, 29(1), 19–24.]
- Lynch JM, Benedetti A, Insam H, Nuti MP, Smalla K, Torsvik V, Nannipieri P (2004) Microbial diversity in soil: ecological theories, the contribution of molecular techniques and the impact of transgenic plants and transgenic microorganisms. *Biology and Fertility of Soils*, 40, 363–385.
- Ma KP (2015) Biodiversity monitoring in China: from CForBio to Sino BON. *Biodiversity Science*, 23, 1–2. [马克平 (2015) 中国生物多样性监测网络建设: 从CForBio到Sino BON. *生物多样性*, 23, 1–2.]
- Oberhardt MA, Zarecki R, Gronow S, Lang E, Klenk H, Gophna U, Ruppert E (2015) Harnessing the landscape of microbial culture media to predict new organism-media pairings. *Nature Communications*, 6, 8493.
- Ohtonen R, Aikio S, Väre H (1997) Ecological theories in soil biology. *Soil Biology and Biochemistry*, 29, 1613–1619.
- Orgiazzi A, Dunbar MB, Panagos P, de Groot GA, Lemanceau P (2015) Soil biodiversity and DNA barcodes: opportunities and challenges. *Soil Biology and Biochemistry*, 80, 244–250.
- Rasche F, Knapp D, Kaiser C, Koranda M, Kitzler B, Zechmeister-Boltenstern S, Richter A, Sessitsch A (2011) Seasonality and resource availability control bacterial and



- archaeal communities in soils of a temperate beech forest. *ISME Journal*, 5, 389–402.
- Rui JP, Li JB, Wang SP, An JX, Liu W-T, Lin QY, Yang YF, He ZL, Li XZ (2015) Responses of bacterial communities to simulated climate changes in alpine meadow soil of Qinghai-Tibet Plateau. *Applied and Environmental Microbiology*, 81, 6070–6077.
- Shade A, Caporaso JG, Handelsman J, Knight R, Fierer N (2013) A meta-analysis of changes in bacterial and archaeal communities with time. *ISME Journal*, 7, 1493–1506.
- Shen CC, Liang WJ, Shi Y, Lin XG, Zhang HY, Wu X, Xie G, Chain P, Grogan P, Chu HY (2014) Contrasting elevational diversity patterns between eukaryotic soil microbes and plants. *Ecology*, 95, 3190–3202.
- Shen CC, Xiong JB, Zhang HY, Feng YZ, Lin XG, Li XY, Liang WJ, Chu HY (2013) Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain. *Soil Biology and Biochemistry*, 57, 204–211.
- Song CQ, Wu JS, Lu YH, Shen QR, He JZ, Huang QY, Jia ZJ, Leng SY, Zhu YG (2013) Advances of soil microbiology in the last decade in China. *Advances in Earth Science*, 28, 1087–1105. (in Chinese with English abstract) [宋长青, 吴金水, 陆雅海, 沈其荣, 贺纪正, 黄巧云, 贾仲君, 冷疏影, 朱永官 (2013) 中国土壤微生物学研究十年回顾. *地球科学进展*, 28, 1087–1105.]
- Tedersoo L, Bahram M, Põlme S, Kõljalg U, Yorou NS, Wijesundera R, Ruiz LV, Vasco-Palacios AM, Thu PQ, Suija A, Smith ME, Sharp C, Saluveer E, Saitta A, Rosas M, Riit T, Ratkowsky D, Pritsch K, Põldmaa K, Piepenbring M, Phosri C, Peterson M, Parts K, Pärtel K, Otsing E, Nouhra E, Njouonkou AL, Nilsson RH, Morgado LN, Mayor J, May TW, Majuakim L, Lodge DJ, Lee SS, Larsson K, Kohout P, Hosaka K, Hiiesalu I, Henkel TW, Harend H, Guo LD, Greslebin A, Grelet G, Geml J, Gates G, Dunstan W, Dunk C, Drenkhan R, Dearnaley J, Kesel AD, Dang T, Chen X, Buegger F, Brearley FQ, Bonito G, Anslan S, Abell S, Abarenkov K (2014) Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 346, 1256688.
- Torsvik V, Øvreås L (2002) Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 5, 240–245.
- Veresoglou SD, Halley JM, Rillig MC (2015) Extinction risk of soil biota. *Nature Communications*, 6, 8862.
- Wang XB, Van Nostrand JD, Deng Y, Lu XT, Wang C, Zhou JJ, Han XG (2015) Scale-dependent effects of climate and geographic distance on bacterial diversity patterns across northern China's grasslands. *FEMS Microbiology Ecology*, 91. doi: 10.1093/femsec/fiv133.
- Yao MJ, Rui JP, Li JB, Dai YM, Bai YF, Heděnc P, Wang JM, Zhang SH, Pei KQ, Liu C, Wang YF, He ZL, Frouz J, Li XZ (2014) Rate-specific responses of prokaryotic diversity and structure to nitrogen deposition in the *Leymus chinensis* steppe. *Soil Biology and Biochemistry*, 79, 81–90.

(责任编辑: 贺纪正 责任编辑: 时意专)

## 附录 Supplementary Material

### 附录1 土壤微生物多样性监测网发布数据的内容和建议的监测方法

Appendix 1 Example datasets collected in the soil microbial observation network

<http://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2015345-1.pdf>

李香真, 郭良栋, 李家宝, 姚敏杰. 中国土壤微生物多样性监测的现状和思考. 生物多样性, 2016, **24** (11): 1240–1248.  
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2015345>

#### 附录1 土壤微生物多样性监测网发布数据的内容和建议的监测方法

##### Appendix 1 Example datasets collected in the soil microbial observation network

监测内容	监测方法
样点名称	
样品采集人	
采样时间	
采样土壤深度(cm)	
样地的地理坐标(纬度)	GPS
地理坐标(经度)	GPS
海拔 (m)	GPS
年均温度 (°C)	收集
年均降雨量 (mm)	收集
生态系统类型	
植物盖度(%)	样方调查
植物丰富度	样方调查
优势植物种	样方调查
植物生物量 (kg/ ha)	样方调查
土壤pH	pH计(water)
土壤电导率(μs/cm)	电导率仪(water)
土壤砂粒含量 (2-0.02 mm)	吸管法
土壤粉粒 (0.02-0.002毫米)	吸管法
土壤粘粒 (<0.002毫米)	吸管法
土壤全磷TP (g/Kg dry soil)	电感耦合等离子体发射光谱仪
土壤全碳TOC (%)	元素分析仪
土壤全氮TN (%)	元素分析仪
土壤NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N (mg/kg dry soil)	靛酚蓝比色法
土壤微生物量碳Cmic (mg/kg dry soil)	熏蒸培养法
土壤微生物量氮Nm (mg/kg dry soil)	熏蒸培养法
土壤细菌丰度 (copies/g dry soil ×10 <sup>9</sup> )	定量PCR
土壤古菌丰度 (copies/g dry soil ×10 <sup>7</sup> )	定量PCR
土壤真菌丰度 (copies/g dry soil ×10 <sup>7</sup> )	定量PCR
.....其他性状(可以自己定义)	
高通量测序方法	
仪器类型 (Miseq、NexSeq 500、Hiseq、454 GS Flx+、PacBio等)	
PCR扩增使用的引物	
PCR扩增条件描述	
数据处理使用的软件平台	QIIME、MG Rast
多样性指数 (细菌、古菌、真菌分别计算)	
Shannon index	QIIME
Chao1 estimation	QIIME
Observed species (OTUs)	QIIME
细菌组成(门、纲、目、科、属的构成(占总量的%))	高通量测序、生物信息学分析
土壤细菌在门水平上的构成(phylum, %)	利用RDP分类系统进行分类
Acidobacteria	
Actinobacteria	
Aquificae	

监测内容	监测方法
Armatimonadetes Bacteroidetes BRC1 Caldiserica Chlamydiae Chlorobi Chloroflexi Chrysiogenetes Cyanobacteria/Chloroplast Deferribacteres Deinococcus-Thermus Dictyoglomi Elusimicrobia Fibrobacteres Firmicutes Fusobacteria Gemmatimonadetes Lentisphaerae Nitrospira OD1 OP11 Planctomycetes Proteobacteria Spirochaetes SR1 Synergistetes Tenericutes Thermodesulfobacteria Thermotogae TM7 Verrucomicrobia WS3 细菌在纲水平上的构成class (%) ..... 细菌在目水平上的构成order (%) ..... 细菌在科水平上的构成family (%) ..... 细菌在属水平上的构成genus (%) ..... 细菌在OTU水平上(种)的构成 (%) 土壤古菌在门水平上的构成phylum (%) Euryarchaeota Crenarchaeota Nanoarchaeota Korarchaeota 古菌在纲水平上的构成class (%) ..... 古菌在目水平上的构成order (%) ..... 古菌在科水平上的构成family (%)	高通量测序、生物信息学分析 利用RDP分类系统



监测内容	监测方法
Dormancy and Sporulation	
Fatty Acids, Lipids, and Isoprenoids	
Iron acquisition and metabolism	
Membrane Transport	
Metabolism of Aromatic Compounds	
Miscellaneous	
Motility and Chemotaxis	
Nitrogen Metabolism	
Nucleosides and Nucleotides	
Phages, Prophages, Transposable elements, Plasmids	
Phosphorus Metabolism	
Photosynthesis	
Potassium metabolism	
Protein Metabolism	
RNA Metabolism	
Regulation and Cell signaling	
Respiration	
Secondary Metabolism	
Stress Response	
Sulfur Metabolism	
Virulence, Disease and Defense	
纯菌种分离	
菌种名	
分离样品的来源地	
分离方法	
Barcoding信息	
底物利用谱	全自动微生物鉴定系统(Biolog)
代谢产物分析	高压液相色谱、色质联机
应用推荐	