

土壤生物多样性与微量气体(CO₂、CH₄、N₂O)代谢

韩兴国 王智平

(中国科学院植物研究所植被数量生态学重点实验室, 北京 100093)

摘要:土壤生物是重要的基因库,土壤生物多样性是全球生物多样性的重要组成部分。土壤生物是 C、N 地球化学过程(土壤库)的驱动者,调控微量气体代谢。在微量气体代谢中,土壤微生物具有直接的作用。真菌、CH₄ 生成菌、CH₄ 氧化菌、硝化菌以及反硝化菌等是调控微量气体代谢的关键生态功能类群。由于相对大的体积和强大的酶化学分解作用,真菌通常主导枯枝落叶的分解活动。“通气—厌气”界面是微生物群落的活跃区域,易发生微量气体代谢。“有机—无机”过渡层、水生植物根际区、土壤动物肠道系统是典型的微量气体代谢界面。土壤动物对微量气体代谢的作用通常为前期的和间接的,并且又是重要的。节肢动物(白蚁)和环节动物(蚯蚓)是分别代谢 CH₄ 和 N₂O 的两个关键性生态功能类群。在研究土壤生物多样性及其对微量气体代谢的作用方面,由于土壤生态系统的复杂性,需综合传统微生物实验技术与现代同位素技术和分子生物学技术。我国缺乏研究土壤生物多样性及其对微量气体代谢影响的实质性工作,有必要开展这方面的研究。

关键词:土壤生物多样性,CO₂,CH₄,N₂O,土壤微生物,土壤动物

中图分类号:X176,Q16 文献标识码:A 文章编号:1005-0094(2003)04-0322-11

Soil biodiversity and trace gases (CO₂ , CH₄ , N₂O) metabolism : a review

HAN Xing-Guo , WANG Zhi-Ping

Laboratory of Quantitative Vegetation Ecology , Institute of Botany , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100093

Abstract : Soil biota is an important gene library and forms a major part of global biodiversity. Soil biota drive the cycling of soil C and N biogeochemistry and influence trace gases metabolism. Soil microorganisms exercise direct effects on trace gases metabolism. Fungi , methanogens , CH₄-oxidizing bacteria , nitrifiers , and denitrifiers are the key types of communities regulating trace gases metabolism. Fungi often dominate degradation activities in litter due to their large individual body and strong enzyme chemical degradation abilities. “ Oxic-anoxic ” interfaces are active habitats for microorganisms and easily influence trace gases metabolism. “ Organic-inorganic ” layers , the rhizosphere of hydrophytes , and soil faunal intestines are the typical interfaces for trace gases metabolism. Soil fauna are pioneers for litter degradation and show indirect effects on trace gases metabolism , and these effects are very important. Arthropods (e. g. termites) and annelid (e. g. earthworms) metabolise CH₄ and N₂O , respectively. Since the soil ecosystem is complicated , it is necessary to develop an integrated technique comprising microbiology , stable isotope and molecular biology for studying soil biodiversity and its effects on trace gases metabolism. Research on soil biodiversity and its relationship to trace gases metabolism urgently needs to be developed in China.

Key words : soil biodiversity , carbon dioxide , methane , nitrous oxide , soil microorganism , soil fauna

1 引言

近十年有关生物多样性的调查与研究 ,对保护全球生物资源起到了积极的推动作用。国际生物多样性研究计划“ DIVERSITAS ”引人注目 ,代表着生物多样性科学发展的主要方向 ;在 1995 年推出的“ DIVERSITAS 计划新方案 ”中 ,规划出 5 个核心研究领域和 4 个交叉研究领域 ,把土壤和沉积物的生物多样性作为一个重要的研究领域 (赵士洞 , 1997)。英国近年 (1998 ~ 2004) 实施的“ 土壤生物多样性计划 ”(<http://www.nmw.ac.uk/soilbio/>) 又是一项引人注目的研究项目 ,目标是获得对土壤生物多样性和关键生态学过程中土壤生物的功能作用的理解 ,涉及到微量气体代谢的内容。国内对土壤生物多样性的研究和报道很少。王其兵等 (1997)、陈国孝和宋大祥 (2000)、田家怡等 (2001) 调查了土壤真菌、细菌或动物类群组成、数量或分布等 ,但都未涉及到微量气体代谢方面的研究内容。因此 ,国内外在土壤生物多样性及其对微量气体代谢作用的研究方面还处于初始阶段 ,具有很大的潜力。本文根据新近的相关报道 ,评述土壤生物多样性与微量气体(CO₂、CH₄、N₂O)代谢的关系 ,以期促进我国此领域的研究工作。

2 土壤生物多样性与 C、N 循环

2.1 土壤生物多样性

马克平 (1993) 定义生物多样性是多样化的生命实体群 (基因、细胞、种群、物种、群落乃至生态系统) 的特征。赵士洞 (1997) 认为 ,生物多样性是地球上所有生命形态的总和 ,包括生物的遗传多样性、物种多样性和生态系统多样性等 ,它们是经历了漫长的进化过程而形成的 ;生物多样性是地球生命支持系统的核心组成部分 ,通过参与地球化学过程来维持人类的生存环境。

土壤生物是指在枯枝落叶层或土壤层中度过整个或大部分生命期的生物 ,主要活动于 0 ~ 15 cm 层位。Brady & Weil (1999) 按土壤生物的生理生态功能、碳 (C) 和能量获取方式以及生物个体大小 ,把土壤生物区系划分为动物区系和微植物区系。土壤动物区系包括 (1) 大型动物 : 主要的食草、食腐动物 ,包括脊椎动物 (如鼠类)、节肢动物 (如白蚁、甲虫、蜈蚣、蜘蛛、千足虫、土鳖)、环节动物 (如蚯蚓)、软体动物 (如蜗牛) (2) 中型动物 : 主要的食

腐动物 ,例如螨、弹尾目昆虫等节肢动物 ,蠕虫等环节动物 (3) 小型动物 : 捕食者、食腐动物、食真菌动物或食细菌动物 ,包括线虫、轮形动物 (如轮虫)、原生动物 (如变形虫、纤毛虫)。土壤微植物区系包括 (1) 自养型 : 藻类 (如绿藻、黄绿藻、硅藻) (2) 异养、需氧型 : 真菌 (如酵母菌、霉菌、锈菌、蘑菇)、放线菌 (3) 自养、异养型 : 细菌 (需氧细菌、厌氧细菌)、蓝细菌 (蓝绿藻)。

土壤生物多样性是全球生物多样性的重要组成部分。虽然土壤生物多样性的一般性理论和概念框架已出现 ,但对于土壤生物对微量气体代谢的作用知之甚少 ,有必要加强这方面的研究工作。

2.2 土壤生物驱动 C、N 循环

土壤圈、生物圈以及大气圈之间通过碳 (C)、氮 (N) 等元素循环及动力学过程相互作用 ,形成有机连续体。土壤微量气体代谢是地球各圈层相互作用的重要内容。土壤生物是地球化学过程 (生物小循环) 的驱动者 ,调控微量气体代谢 (例如微量气体的生成、消耗及传输等) ,进一步在大尺度上影响大气环境及全球气候变化。

土壤生物主要通过取食和代谢共栖等关系 ,驱动 C、N 循环。(1) 自养型土壤生物从 CO₂ 或碳酸盐中获取 C 素 ,这类生物主要有藻类、蓝细菌等 ;异养型土壤生物通过破碎枯枝落叶或分解有机质获取 C 素 ,氧化有机化合物获取能量 ,这类生物主要有土壤动物、真菌、放线菌和大部分细菌。取食活动促使 C、N 元素在食物网中流动。例如 ,在典型的温带森林生态系统中 ,地上植物作为初级生产者 ;线虫、环节动物、螨虫等取食植物的枯枝落叶和碎屑成为第一级消费者 ;微生物 (真菌、细菌、放线菌等) 成为第二或第三级消费者 ,其中微生物的活动涉及食物网过程的每个环节 ,占到土壤生物总代谢活动的 80% ~ 90% (Brady & Weil , 1999)。(2) 代谢共栖是土壤生物相互作用的普遍特征及重要形式。例如 ,植物传输土壤生物所需的 O₂ ;分解者消耗土壤 O₂ ,使厌氧细菌的生长成为可能 ;细菌脱铵释放 NH₄⁺ ,供应铵氧化菌的生长 ;蚯蚓掘土 ,改善土壤通气性能 ,增强微生物活性 ;微生物分解枯枝落叶 ,创造有利于节肢动物取食的生境 ;节肢动物破碎枯枝落叶 ,促进微生物及其酶作用 ,释放养分 (Waid , 1999)。有些代谢共栖具有全球影响力 ,例如需氧光合菌、化能无机营养菌、固 N 菌、反硝化菌以及

CH₄ 生成菌等 (Waid , 1997)。

3 土壤动物与微量气体代谢

与微生物相比 ,土壤动物的生物量和对枯枝落叶分解的贡献显得微小 ,因而常常被忽视 (Eijsackers & Zehnder , 1990) ,但土壤动物可能维持着较高级别的 C、N 循环 ,在土壤地球化学过程中同样发挥着重要作用。例如 ,Anderson & Ineson (1984) 认为 ,土壤动物进行的年度 N 转化等于或超过枯枝落叶的 N 输入。Conrad (1996) 归纳出土壤动物在三个方面影响微量气体代谢 ,即 (1)土壤动物直接生成微量气体 (2)基于取食关系影响代谢微量气体的微生物 (3)促进“地—气”间微量气体传输。总的说来 ,土壤动物对微量气体代谢的作用是前期的、间接的 ,但又是重要的。

3.1 土壤动物的生命活动

土壤动物的生命活动主要表现为搅动土壤和破碎枯枝落叶 ,为真菌酶化学作用提供前期条件 ;有些土壤动物肠道系统中的共生微生物群落 ,能增强微生物活性 ,促进 C、N 元素循环。大型动物破碎枯枝落叶、掘土通气 ,创造微生物繁殖的生境条件 ;中型动物调节小型动物和真菌 ,改善 C、N 循环 ;原生动物(小型动物)是土壤中最丰富的噬菌体 ,调控细菌群落并增强细菌活性 ,间接地刺激土壤有机质分解。因此 ,可以通过研究土壤动物的生物量、分布和多度等多样性特征来反映土壤动物的生命活动 ,增加对土壤微量气体代谢的理解。

3.2 土壤动物与微量气体代谢

从发表的文献看 ,白蚁和蚯蚓是最引人注目并付诸实际调查和研究的土壤动物。

3.2.1 白蚁(节肢动物)

白蚁是目前全球 CH₄ 排放清单中唯一单独估算的生物源。Sugimoto *et al.* (1998) 基于白蚁生物量的 CH₄ 排放率和排放因子 ,估算全球白蚁 CH₄ 排放量为 1.5 ~ 7.4 Tg/年(1Tg = 10¹² g) ,约占总源的 0.3% ~ 1.3%。

全世界有 2000 多种白蚁 ,主要分布在热带、亚热带的森林和草地中 ,这些地区约占全球陆地面积的 2/3 ,大部分白蚁取食腐烂木质和枯枝腐叶 (Brady & Weil , 1999)。白蚁生物量在有些森林土壤生物量中占较大比重。Martius (1994) 曾评述在亚马孙雨林和冲积平原的森林枯枝落叶分解过程中白蚁

的生物多样性及其数量特征 ;亚马孙森林的白蚁属于三科 :Kalotermitida、Rhinotermitida、Termitidae ,划分为食木、食土以及搬运枯枝落叶等类型 ;亚马孙森林的白蚁生物量约 2.0 ~ 2.5 g/m² ,占到土壤动物生物量的 8% ,在腐木生境中甚至高达 82% ;食木白蚁很可能消耗大约 10% ~ 20% 的枯枝落叶 ,相当于年枯枝落叶 C 输入的 20% ~ 29% ,其中 1.0% ~ 1.5% 的 C 可能被白蚁代谢转化为 CO₂。Lawton *et al.* (1996) 在喀麦隆森林土壤中 ,调查白蚁多样性及其 C 流 ,认为很多种类的白蚁贡献着 C 流。

白蚁筑巢是重要的土壤生物学过程 ,对土壤结构、肥力及生产力产生深刻影响 ,筑巢所用的土壤量很大 ,可达 2.4 × 10⁶ kg/hm² (Brady & Weil , 1999)。大部分白蚁筑巢穴于树上或土壤中 ,有的白蚁筑巢穴于腐木中 ;巢穴密度在雨林、低冲积森林、高冲积森林中分别可达 60 ~ 123、37 ~ 93、105 ~ 262 巢穴/hm² (Martius , 1994)。巢穴可排放大量的微量气体。通过蚁巢单一出口 ,白蚁(*Macrotermes jeanneli*)释放所有的代谢气体 ,巨大的蚁巢可排放气体 10⁵ ~ 4 × 10⁵ L/天 ,其中包括 CO₂ 800 ~ 1500 L/天和 CH₄ 0.5 ~ 1.3 L/天。一些蚁巢释放过量的 CO₂ ,可能是由于树根和其他土壤生物呼吸所致 (Darlington *et al.* , 1997)。一些研究者 (Seiler *et al.* , 1984 b ;Khalil *et al.* , 1990 ;Delmas *et al.* , 1992) 发现 ,在完整蚁巢上方的表层土壤中存在低的 CH₄/CO₂ 比率 ,可推断蚁巢生成的大部分或全部 CH₄ 被土壤微生物氧化 ,不能释放到大气中。居于白蚁肠道中食木质素的小型动物排放 CH₄ ,约 0.5 ~ 0.7 kg CH₄ · hm⁻² · a⁻¹ , CH₄/CO₂ 比率一般小于 1% (Martius , 1994)。

从文献报道看 ,有关白蚁的工作主要集中在亚马孙 (Amazon) 热带森林 ,有待于在世界其他生态系统类型中进一步观测。

3.2.2 蚯蚓(环节动物)

蚯蚓通常居于通气并潮湿的土壤生境中 ,混合动植物残体与土壤 ,掘出水分和空气流动的孔隙。Barros *et al.* (2001) 发现 ,亚马孙中心地带的草原蚯蚓 (*Pontoscolex corethrurus*)对土壤具有强大的翻动作用 ,在砍伐森林后蚯蚓快速繁殖 ,所排泄的粪便形成坚实连续的约 20 cm 厚的外壳。

全球分布约 3000 种蚯蚓 (Brady & Weil , 1999) ,蚯蚓肠道富含微生物群落 (Contreras , 1980 ; Kristufek *et al.* , 1992 ; Pedersen & Hendriksen ,

1993),代谢微量气体。Borken *et al.* (2000) 实施了野外条件下的 120 天期间土柱实验,调查放养蚯蚓 (*Lumbricus terrestris*) 对山毛榉的对照土壤与施石灰土壤 CO₂、CH₄ 和 N₂O 排放通量的潜在影响。在开始 3~4 个星期,蚯蚓提高 CO₂ 排放量达 16%~28%,这与蚯蚓频繁地掘土、混合山毛榉枯枝落叶与土壤等活动有关;放养蚯蚓减少土壤 CH₄ 氧化率 53%,施石灰对实验期间总 CH₄ 氧化和 CH₄ 排放通量没有影响;放养蚯蚓提高对照土壤 N₂O 排放量 57%,施石灰对 N₂O 形成具有显著影响,减少 N₂O 排放量 34%。在山毛榉林和栎-山毛榉林中,蚯蚓释放的 N₂O 分别占土壤 N₂O 排放总量的 16% 和 0.25%,蚯蚓表现为某些陆地生态系统 N₂O 生成的可移动“热点”(Karsten & Drake, 1997)。因此,蚯蚓是陆地生态系统 N₂O 排放的生物源。由于这方面的工作开展较少,目前尚未能单独估算出蚯蚓对全球 N₂O 排放的贡献,有必要加强这方面的测定及估算。

3.2.3 其他土壤动物

Lawton *et al.* (1996) 在喀麦隆森林土壤中调查了线虫多样性及其 C 流:线虫平均密度为 2.04×10^6 个/m²,很多种类的线虫贡献着 C 流。Wall *et al.* (2002) 沿着一个沙丘群落演替系列,调查了地下线虫群落特征(丰度、多样性、营养结构、群落组成),发现线虫群落变化与土壤因素具相关性。原生动物也可能包含发酵和 CH₄ 生成菌而在土壤各层中释放 H₂ 或 CH₄(Fenchel & Finlay, 1992)。

摇蚊属 (*Chironomus*) 幼虫创造特定的土壤结构、取食沉积物中的细菌、输送孔道水分等,提高微生物活性。底栖动物通过营造土墩影响“沉积物—水”间的微量气体交换 (Gundersen & Joergensen, 1990)。在洪泛稻田土壤中,摇蚊属幼虫居住的管道是微生物高度活跃区,其 CH₄ 氧化率显著高于表土和亚土层,CH₄ 生成率显著高于厌氧土层;在起始 20000 μL CH₄/L 下,管道、表层土壤、亚土层的 CH₄ 氧化率平均分别为 2、0.4 和 1 mol · gdw⁻¹ · h⁻¹, CH₄ 生成与 CH₄ 氧化共存于管道可解释为微生境分异所致 (Kajan & Frenzel, 1999)。底栖动物是湿地生态系统的重要种群,仅少数文献报道过这方面的工作,对土壤微量气体代谢依旧不清楚。

4 土壤微生物与微量气体代谢

微生物是地球上仅次于昆虫的第二大类群生

物,直接贡献于微量气体代谢。微生物适应性强,通过代谢多样性和遗传适应性,在许多小生境包括其他生命类型不适宜的极端环境中得以生存和发展 (Parkinson & Coleman, 1991)。细菌是最丰富的土壤微生物群落,Torsvik *et al.* (1990) 曾应用重组 DNA 技术,检测到 1 g 土壤中包含大约 4000 个不同的细菌基因组。真菌是仅次于细菌的丰富的土壤微生物群落,由于真菌具有相对大的体积和强大的酶化学分解作用,通常主导枯枝落叶的分解活动。

4.1 关键微生物群落

有机质分解菌、CH₄ 生成菌、CH₄ 氧化菌、硝化菌以及反硝化菌等是影响土壤微量气体代谢的关键微生物生态功能类群。

4.1.1 有机质分解菌

土壤有机质分解是全球 C 循环的关键环节之一。土壤有机质分解是在复杂的微生物群落的参与下进行的,主要有真菌、水解菌、发酵细菌、合营养或互养菌、产乙酸菌以及 CH₄ 生成菌等。有机质的彻底分解将释放约 50% CO₂-C 和 50% CH₄-C 以及其他含 N 微量气体。土壤有机质分解得到广泛的调查,但较少涉及到微量气体代谢机理的研究。

4.1.2 CH₄ 氧化菌

土壤 CH₄ 氧化是在 CH₄ 氧化菌介入下的复杂生物学过程 (Hütsch *et al.*, 1993; Bender & Conrad, 1995),是影响“地—气”间 CH₄ 排放通量的重要因素。自养型硝化菌 (Jones & Morita, 1983) 和一些真菌 (Wolf & Hanson, 1979) 能氧化 CH₄。然而,专性的 CH₄ 氧化菌是革兰氏阴性菌,是甲基氧化菌中重要的生理学分支,由于它们强大的代谢 CH₄ 的能力和较短的生命周期,很可能是最重要的 CH₄ 氧化菌 (Conrad, 1995; Hanson & Hanson, 1996)。基于形态学、代谢途径和细胞膜 PLFAs (类磷脂酸) 类型,专性的 CH₄ 氧化菌可分成两种主要类型:类型 I 和类型 II。类型 I 利用 RuMP 代谢途径固定甲醛,类型 II 利用 Serine 代谢途径同化甲醛 (Hanson & Hanson, 1996)。除已知的 CH₄ 氧化菌类型 I 和类型 II 外,一些研究 (Holmes *et al.*, 1995; Roslev & Iversen, 1999; Bull *et al.*, 2000) 表明,自然界存在新的、未知的 CH₄ 氧化菌种群负责在大气 CH₄ 浓度下的 CH₄ 氧化,有待于鉴定在大气 CH₄ 浓度下的高亲和力 CH₄ 氧化菌。

4.1.3 硝化菌和反硝化菌

硝化作用和反硝化作用是土壤含 N 化合物或气体(NH_4^+ 、 NH_2OH 、 NO_3^- 、 NO_2^- 、 NO 、 N_2O 、 N_2)代谢的机理过程。土壤硝化作用是由 NH_4^+ 转化成 NO_2^- 或 NO_3^- 的生物学氧化过程,涉及到的主要有亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)(氧化 NH_4^+ 到 NO_2^-)和硝化杆菌属(*Nitrobacter*)(氧化 NO_2^- 到 NO_3^-)的微生物(Focht & Verstraete, 1977)。硝化菌能够在 2 ~ 40 °C 的生境中生存(Mosier & Schimel, 1993), *Nitrobacter* 属细菌比 *Nitrosomonas* 属细菌对低温更加敏感。在通气土壤中,添加可硝化的 N(例如 NH_3 、 NH_4^+ 、尿素、丙氨酸)能够促进 N_2O 排放,但添加 NO_3^- 并不显著影响 N_2O 排放(Minami & Fukushi, 1984)。在全球 N 循环中,N 通过生物固氮和工业固氮等途径输入土壤,N 输出主要是通过反硝化作用实现的(Tiedje, 1988)。反硝化作用可分为生物学反硝化作用和化学反硝化作用:生物学反硝化作用是 N 氧化物的同化还原,产生 N_2O 和 N_2 ,好氧细菌[假单胞菌属(*Pseudomonas*),芽孢杆菌属(*Bacillus*),副球菌属(*Paracoccus*)]合成一系列还原酶,使得这些好氧细菌在厌氧条件下能够利用更加还原态的 N 氧化物作为电子受体(Knowles, 1981)。土壤 pH、质地、有机 C、温度、 NO_3^- 含量、土壤通气状况等因素影响反硝化作用(Aulakh *et al.*, 1992)。因此,反硝化作用是决定大气微量气体 N_2O 浓度的关键过程。

4.2 界面与微生物群落及微量气体代谢

循环 C 和消耗 O_2 是关键性土壤生物代谢过程,两者在土壤生境中既容易有效化又容易封闭; O_2 是生物地球化学过程中最重要的反应物,由于 O_2 在土壤水中的低溶解率,消耗 O_2 易形成“通气—厌气”界面,导致几乎所有环境中的需氧过程与厌氧过程相分隔(Brune *et al.*, 2000)。“通气—厌气”界面通常是微生物群落的活跃区域,易发生微量气体的代谢活动。例如, CH_4 氧化菌和 NH_4^+ 氧化菌倾向于生长在“通气—厌气”界面中(Bédard & Knowles, 1989)。“有机—无机”过渡层、水生植物根际区、土壤动物肠道系统等是典型的微量气体代谢界面。

4.2.1 “有机—无机”过渡层

“有机—无机”过渡层通常发生在森林和湿地土壤中。森林和湿地是重要的陆地生态系统类型,在维持全球生物多样性和 C 循环方面发挥着重要

作用。我国缺乏在森林和沼泽等自然生态系统中从事微量气体代谢的实质性工作,在我国加强这方面的工作尤为重要。

森林是大气微量气体重要源汇。例如,Willison *et al.* (1995)估计英国森林具有最高的 CH_4 年吸收量,尽管森林覆盖面积仅约为耕地和牧草地的 1/5。一些研究(Priemé & Christensen, 1997 ; Saari *et al.*, 1997)表明,亚土层(约 5 ~ 15 cm)表现出最大的 CH_4 氧化能力,此层通常是富含矿质颗粒的腐殖层或富含腐殖质的矿质层,即“有机—无机”过渡层。沼泽泥炭是大气 C 库的重要源汇。例如,全球沼泽泥炭排放 CH_4 115 Tg/年,贡献着全球总 CH_4 排放量的 21% (Cicerone & Oremland, 1988 ; Prinn, 1994)。沼泽 CH_4 氧化常常发生在“泥炭层—矿质层”的过渡层,是影响“地—气”间 CH_4 排放通量的关键因素。Lidstrom & Somers (1984), Yavitt *et al.* (1988)曾报道,泥炭生成的 CH_4 在排放到大气之前,有相当一部分被氧化。

4.2.2 水生植物根际区

根际区是受植物活根系显著影响的土壤生境,通常在根系表层外约 2 mm 范围。 CH_4 氧化菌与湿地植物根系密切地共生,大气 O_2 经湿地植物(例如水稻、芦苇)的管状组织传输到土壤生物,厌氧生境中产生的 CH_4 扩散到根际区被氧化或通过植物管状组织排放到大气中(Seiler *et al.*, 1984a ; Schutz *et al.*, 1989 ; King, 1994 ; Watson *et al.*, 1997)。水稻田厌氧层生成的 CH_4 的 45% ~ 60% (Khalil *et al.*, 1998)和 80% ~ 90% (Conrad & Rothfus, 1991 ; Frenzel *et al.*, 1992)在根际区中被氧化。Brune *et al.* (2000)认为, CH_4 生成菌与 CH_4 氧化菌共存于水稻根际区,存活在各自的微生境中,但不清楚这些微生境是否存在空间联系。根际区 O_2 分压是影响 CH_4 氧化与 CH_4 生成的重要因子。VanDerGon & Neue (1996)认为,增加水稻根际区 CH_4 氧化有助于减少水稻田的 CH_4 排放通量。

植物根际区的 N 循环与 CH_4 介入的 C 循环是相联系的, NH_4^+ 氧化菌与 CH_4 氧化菌相互竞争 NH_4^+ 或 CH_4 (Brune *et al.*, 2000)。 NH_4^+ 氧化菌是严格需氧的,可能活跃在根际区需氧生境中, NH_4^+ 经硝化生成的 NO_2^- 和 NO_3^- 被植物根系同化或扩散到周围的厌氧生境中。硝化作用与反硝化作用是根际区相伴的两个过程,是 N_2O 等含 N 气体的代谢途径。

根际区中植物过程与土壤过程频繁地发生相互作用,植物根系与微生物群落形成共生体系,贡献于微量气体代谢。然而,根际区微量气体代谢的机理过程有待于进一步研究。

4.2.3 土壤动物肠道系统

微生物寄生于昆虫和其他无脊椎动物肠道是常见的现象(Cazemier *et al.* , 1997 ; Kane , 1997),共生关系促进微生物群落活性。目前仅少数节肢动物具有 CH₄ 生成的共生关系,例如白蚁、蟑螂以及千足虫等。土鳖(*Oniscus asellus* 或 *Porcellio scaber*)因食腐木,也可能生成 CH₄。蚯蚓肠道富含需氧微生物群落及其他微生物种群(Contreras , 1980 ; Kristufek *et al.* , 1992 ; Pedersen & Hendriksen , 1993)。虽然蚯蚓(*Lumbricus rubellus* 和 *Octolasion lacteum*)及其肠道物不产生 CH₄,然而,厌氧培养的蚯蚓肠道物添加 NO₃⁻ 后, N₂O 生成率高于对应的土壤处理;活蚯蚓在有氧条件下释放 N₂O (Karsten & Drake , 1997)。

土壤动物的取食活动显著地提高枯枝落叶的细菌活动,从而形成密集的粪便细菌活跃区。无脊椎动物 *Oniscus asellus* 和 *Glomeris marginata* 在取食和消化过程中,细菌得到大量繁殖,表现为其肠道物和粪便中的细菌量高于食物中的细菌;土壤动物在毫微米尺度上影响着森林枯枝落叶中的微生物群落(Ineson & Anderson , 1985)。Anderson & Bignell (1980)报道,无脊椎动物的取食活动能引起枯枝落叶和土壤中的微生物从真菌型活动向细菌型活动转变;肠道物中细菌生长是所取食的枯枝落叶中的细菌所致,而不是起因于肠道原有的共生体。

白蚁肠道系统是由前肠、中肠和后肠组成。Brune (1998)应用微传感技术证实,白蚁代谢活动维持着后肠具三维特征的 O₂ 和 H₂ 梯度。复杂的微生物群落寄生于白蚁后肠,需氧微生物群落分布在外围并不断消耗从大气中渗透来的 O₂,厌氧微生物群落存活在内层(Brune , 1998 ; Schmitt-Wagner & Brune , 1999 ; Brune *et al.* , 2000)。由于球状体表面积与体积成反比关系,随着体积的减少,与表面相关过程的重要性将提高。白蚁膨胀的后肠体积约是奶牛瘤胃的亿分之一,可估计出单位体积通过白蚁肠道上皮组织渗进的 O₂ 通量约是牛瘤胃的 500 倍(Brune , 1998)。这样能够及时输送 O₂,形成需氧与厌氧微生物共存于后肠的格局。因此,白蚁肠道

系统可能既是 CH₄ 生成菌,又是 CH₄ 氧化菌的活动场所。

土壤动物肠道系统贡献于微量气体代谢,但在学术界还未引起足够的重视,有必要加强此方面的研究。

5 土壤生物多样性及其微量气体代谢研究的现代技术

人类对土壤生物多样性的认识是初步的。自然界中仅有极少数微生物物种得到鉴定,细菌、真菌及病毒的已知种仅约占估计种的 5%、10% 和 4% (Hawksworth , 1991),能够在实验室培养的微生物物种则更少,至多为 1% (Amann *et al.* , 1995)。在研究土壤生物多样性及其功能中,传统的微生物实验方法已不能满足需要,现代同位素技术和分子生物学技术为其提供了强有力的工具。

5.1 同位素技术

随着 1927 ~ 1932 年间同位素的发现(Lockhart , 1980),同位素技术作为一种研究手段很快得到发展。大部分稳定同位素研究基于两个基本概念:(1)天然的和人工的物理、化学和生物过程分馏同位素,导致各种有机和无机物质在不同的介质和过程中具有不同的同位素组成,同位素能记录生物地球化学过程及其变化;(2)同位素能用作天然的或人工的示踪物,去追踪诸如生命体和生态系统等复杂介质中有机分子的行为(Lichtfouse , 2000)。涉及到 C、N 生物学合成、转化及消耗的所有代谢过程,通常都可以通过测定自然 C、N 同位素丰度或添加同位素示踪物来研究。

5.1.1 自然丰度测定

自然界 C 同位素相对丰度是 98.89% ¹²C 和 1.11% ¹³C 及 ¹⁴C(仅占 C 总量的 10⁻¹²),N 同位素相对丰度是 99.64% ¹⁴N 和 0.36% ¹⁵N。通过测定自然 C、N 同位素丰度的变化,可推断微量气体代谢的一些特征。

Schmidt *et al.* (1997)测定并比较小麦和小麦-三叶草系统中植物芽与蚯蚓¹⁵N 和¹³C 的自然丰度,证明豆科植物的 δ¹⁵N 能影响土壤无脊椎动物(蚯蚓)的¹⁵N 丰度。应用 C、N 同位素技术,Briones *et al.* (2001)调查蚯蚓食性与生境及土地利用变化的关系;Tayasu *et al.* (2002)测定并比较了白蚁与食物来源及其生境的关系。显著的同位素丰度变化发

生在 CH₄ 氧化过程中,CH₄ 氧化菌喜欢消耗轻同位素(¹²C),余下的未被氧化的 CH₄ 相对富含重同位素(¹³C)(Liptay *et al.*, 1998)。通过测定 CH₄ 氧化过程中自然¹³C 丰度的变化,可推断 CH₄ 的氧化特征。例如,Sugimoto *et al.* (1998)通过测定 CH₄ 中 C 同位素组成,估算了蚁巢的 CH₄ 氧化。

5.1.2 同位素标记示踪

¹³C 为稳定同位素,¹⁴C 是放射性同位素,仅作为示踪功能。¹³C 与¹⁴C 在本质上没有区别,学者们根据各自的实验条件或偏好选择¹³C 或¹⁴C。由于¹⁴C 分析的高有效性和灵敏性,过去的工作多数采用¹⁴C 作为示踪物。然而,由于人工添加¹⁴C 实验的高成本 and 安全性问题限制了它们在野外研究中的应用(Swinnen *et al.*, 1995 a, b)。近年来,¹³C 分析技术得到很大发展。Lichtfouse (2000)认为,稳定同位素标记物最终可能取代放射性同位素标记物而应用于生物地球化学过程的研究中。

根际区是微生物的活跃区域,根际沉积是根际区 C 流的重要代谢活动。在评价土壤 C 分配与转化方面,分开和定量土壤总呼吸中根际呼吸与土壤有机质分解是重要的研究内容。目前,仅少数工作(Cheng *et al.*, 1993; Swinnen, 1994; Rouhier *et al.*, 1996; Kuzyakov *et al.*, 1999; Kuzyakov & Domanski, 2002)实质性地涉及到分开根呼吸与根际微生物呼吸,但这些工作都是基于同位素技术进行的。因此,同位素示踪技术在不扰动土壤的情况下,可以很方便地研究根际微生物呼吸的一些机理性问题。

5.2 分子生物学技术

在研究土壤生物多样性中,分子生物学技术主要应用于微生物部分(包括土壤动物肠道中的微生物),鲜见直接用于土壤动物的报道。研究微生物的传统方法是将微生物从自然环境中取样分离、实验室培养和鉴定,进行形态、生理以及生化等特征分析。现代分子生物学技术避免实验室培养,从自然环境中取样分析遗传物质(Prosser, 2002)。例如,发展分子生物学技术可有效地研究土壤线虫的种类、多样性、分布异质性以及群落结构等,同样也可研究菌根或真菌的多样性。因此,现代分子生物学技术可突破传统微生物培养的限制,提供研究微生物种群及功能的强有力工具。

16S rRNA 基因测序是重要的分子生物学技术,已广泛应用于微生物多样性的研究中(Heuer *et*

al., 1997)。16S rRNA 基因测序主要基于已建立的微生物 16S rRNA 基因序列数据库,用于确定细菌的系统发育关系,使序列探针识别未知菌成为可能。Kostanjšek *et al.* (2002)应用 16S rDNA 方法,测定土鳖(*Porcellio scaber*)肠道系统中微生物的遗传多样性,表明与后肠道角质层相关的微生物区系呈现出高度的多样性。Harry *et al.* (2001)应用 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 分子标记物,调查比较不同白蚁巢穴与对照土壤、不同巢穴间微生物群落的相似性。Marschner *et al.* (2002)应用 16S rDNA 的 PCR-DGGE 方法,检验白羽扇豆(*Lu-pinus albus*)根际区细菌群落结构。Murrell *et al.* (1998)应用聚合酶链反应方法研究了 CH₄ 氧化菌的生态学特征。

分子生物学技术能确定非培养状态下未知的生命体(Amann *et al.*, 1995)。研究未知生命体的一种方法是在处理与对照样品中比较 16S rRNA 序列,应用诸如克隆库(Holmes *et al.*, 1995)和 DGGE(Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)(Ferris *et al.*, 1996)等群落分析技术。Schimel & Gullledge (1998)认为,研究微生物种群与生态系统动力学的关系,需综合应用分子生物学技术与生物地球化学方法。由于分子水平同位素技术的迅速发展,特别是气相色谱与燃烧炉、同位素率质谱仪(IRMS)联用,使得近 20 年来在很复杂的介质中进行单个成分在微量水平上的分析成为可能(Lichtfouse, 2000)。细胞膜 PLFAs 是重要的生物标志物。基于 PLFAs 特征可区分革兰氏阴性与阳性菌、放线菌、真菌,检测群落组成的变化(Bardgett *et al.*, 1996)。在检测土壤微生物种群方面,同位素标记示踪 + PLFAs 分析技术是特别有效的方法。Roslev & Iversen (1999),Bull *et al.* (2000)分别用放射性同位素(¹⁴C)和稳定同位素(¹³C)进行标记示踪,并结合分子生物学技术(PLFAs 分析),在实验室条件下检测了 CH₄ 氧化菌种群及生理学特征等。

虽然分子生物学技术具有强大的生命力,但分析微生物群落中的活体依旧面临挑战。因此,分子生物学技术需结合传统生物学方法来研究原位土壤生物及其对微量气体代谢的作用。

6 展望与建议

综上所述,土壤生物是微量气体(CO₂、CH₄、

N₂O)代谢的调控者,土壤生物多样性与微量气体代谢密切相关。目前,土壤生物多样性远未被理解,涉及到微量气体代谢的研究具有很大潜力。我们认为可以从下面几点加强本领域的研究工作：

1)土壤生物是生物地球化学循环(生物小循环)的驱动者。如果不从研究土壤生物入手,就不可能理解土壤生物地球化学过程,也就不可能理解微量气体代谢的一些机理过程和数量特征。土壤生物过程在小尺度上调控微量气体代谢,在大尺度上影响大气环境及全球气候。基于小尺度的微观实验,反映大尺度(全球)的环境问题。测定土壤生物对微量气体代谢的作用,模型化土壤生物多样性对大气环境及全球气候变化的影响。

2)“通气—厌气”界面是微生物群落的活跃区域,易发生微量气体代谢。“有机—无机”过渡层、水生植物根际区、土壤动物肠道系统是典型的微量气体代谢界面。界面中微量气体代谢的机理过程依旧不清楚,对界面的微量气体代谢进行研究,有望获得新的发现。

3)目前,土壤动物对微量气体代谢作用的研究薄弱,对于土壤动物与微生物的相互作用知之甚少。因此,需加强研究土壤动物对微量气体代谢的作用。

4)由于土壤生态系统的复杂性,传统的微生物实验技术很难深入研究土壤生物地球化学过程,有必要应用和发展同位素技术和现代分子生物学技术。

5)我国幅员辽阔,土壤生物高度多样化,有必要加强土壤生物驱动下的微量气体代谢的研究。可以从(i)“中国土壤生物多样性与生态系统功能的关系”或(ii)“中国土壤生物多样性与C循环”入手,增加对土壤生物在微量气体代谢中作用的理解。

参考文献

Amann R. I., Ludwig W. and Schleifer K. H. 1995. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, **59**: 143 – 169.

Anderson J. M. and Bignell D. E. 1980. Bacteria in the food, gut contents and faeces of the litter-feeding millipede *Glomeris marginata*. *Soil Biology and Biochemistry*, **12**: 251 – 254.

Anderson J. M. and Ineson P. 1984. Interactions between micro-organisms and soil invertebrates in nutrient flux pathways of ecosystems. In: Anderson J. M., Rayner A. D. M.

and Walton D. W. H. (eds.), *Invertebrate-Microbial Interactions*. Cambridge University Press, Cambridge, 59 – 88.

Aulakh M. S., Doran J. W. and Mosier A. R. 1992. Soil denitrification-significance, measurement, and effects of management. *Advances in Soil Science*, **18**: 1 – 57.

Bardgett R. D., Hobbs P. J. and Frostegård Å. 1996. Changes in soil fungal-bacterial biomass ratios following reductions in the intensity of management of an upland grassland. *Biology and Fertility of Soils*, **22**: 261 – 264.

Barros E., Curmi P., Hallaire V., Chauvel A. and Lavelle P. 2001. The role of macrofauna in the transformation and reversibility of soil structure of an oxisol in the process of forest to pasture conversion. *Geoderma*, **100**: 193 – 213.

Bédard C. and Knowles R. 1989. Physiology, biochemistry, and specific inhibitors of CH₄, NH₄⁺, and CO oxidation by methanotrophs and nitrifiers. *Microbiological Reviews*, **53**: 68 – 84.

Bender M. and Conrad R. 1995. Effect of CH₄ concentrations and soil conditions on the induction of CH₄ oxidation activity. *Soil Biology and Biochemistry*, **27**: 1517 – 1527.

Borken W., Grundel S. and Beese F. 2000. Potential contribution of *Lumbricus terrestris* L. to carbon dioxide, methane and nitrous oxide fluxes from a forest soil. *Biology and Fertility of Soils*, **32**: 142 – 148.

Brady N. C. and Weil R. R. 1999. *The Nature and Properties of Soils* (12th edn.). Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 404 – 445.

Briones M. J. I., Bol R., Sleep D., Allen D. and Sampedro L. 2001. Spatio-temporal variation of stable isotope ratios in earthworms under grassland and maize cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry*, **33**: 1673 – 1682.

Brune A. 1998. Termite guts: the worlds smallest bioreactors. *Trends in Biotechnology*, **16**: 16 – 21.

Brune A., Frenzel P. and Cypionka H. 2000. Life at the oxic-anoxic interface: microbial activities and adaptations. *FEMS Microbiology Reviews*, **24**: 691 – 710.

Bull I. D., Parekh N. R., Hall G. H., Ineson P. and Evershed R. P. 2000. Detection and classification of atmospheric methane oxidizing bacteria in soil. *Nature*, **405**: 175 – 178.

Cazemier A. E., Hackstein J. H. P., OpdenCamp H. J. M., Rosenberg J. and VanderDrift C. 1997. Bacteria in the intestinal tract of different species of arthropods. *Microbial Ecology*, **33**: 189 – 197.

Chen G-X (陈国孝) and Song D-X (宋大祥). 2000. A study on soil animal fauna from warm-temperate zone in Xiaolongmen forest areas, Beijing. *Chinese Biodiversity*(生物多样性), **8**: 88 – 94. (in Chinese)

Cheng W. X., Coleman D. C., Carrol C. R. and Hoffman C. A. 1993. *In situ* measurement of root respiration and soluble C concentrations in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, **25**: 1189 – 1196.

Cicerone R. J. and Oremland R. S. 1988. Biogeochemical aspects of atmospheric methane. *Global Biogeochemistry Cycles*, **2**: 299 – 327.

Conrad R. and Rothfus F. 1991. Methane oxidation in the soil surface layer of a flooded rice field and the effect of ammonium. *Biology and Fertility of Soils*, **12**: 28 – 32.

Conrad R. 1995. Soil microbial processes involved in production and consumption of atmospheric trace gases. *Advances in Microbial Ecology*, **14**: 207 – 250.

Conrad R. 1996. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H₂, CO, CH₄, OCS, N₂O, and NO). *Microbiological Reviews*, **60**: 609 – 640.

Contreras E. 1980. Studies on the intestinal actinomycete flora of *Eisenia lucens* (Annelida, Oligochaeta). *Pedobiologia*, **20**: 411 – 416.

Darlington J. P. E. C., Zimmerman P. R., Greenberg J., Westberg G. and Bakwin P. 1997. Production of metabolic gases by nests of the termite *Macrotermes jeanneli* in Kenya. *Journal of Tropical Ecology*, **13**: 491 – 510.

Delmas R. A., Servant J., Tathy J. P., Cros B. and Labat M. 1992. Sources and sinks of methane and carbon dioxide exchanges in mountain forest in equatorial Africa. *Journal of Geophysical Research*, **97**: 6169 – 6179.

Eijackers H. and Zehnder A. J. B. 1990. Litter decomposition: a Russian Matriochka doll. *Biogeochemistry*, **11**: 153 – 174.

Fenchel T. and Finlay B. J. 1992. Production of methane and hydrogen by anaerobic ciliates containing symbiotic methanogens. *Archives of Microbiology*, **157**: 475 – 480.

Ferris M. J., Muyzer G. and Ward D. M. 1996. Denaturing gradient gel electrophoresis profiles of 16S rRNA-defined populations inhabiting a hot spring microbial mat community. *Applied and Environmental Microbiology*, **62**: 340 – 346.

Focht D. D. and Verstraete W. 1977. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. *Advances in Microbial Ecology*, **1**: 135 – 214.

Frenzel P., Rothfuss B. F. and Conrad R. 1992. Oxygen profiles and methane turnover in flooded rice microcosm. *Biology and Fertility of Soils*, **14**: 84 – 89.

Gundersen J. K. and Joergensen B. B. 1990. Microstructure of diffusive boundary layers and the oxygen uptake of the sea floor. *Nature*, **345**: 604 – 607.

Hanson R. S. and Hanson T. E. 1996. Methanotrophic bacteria. *Microbiological Reviews*, **60**: 439 – 471.

Harry M., Jusseaume N., Gambier B. and Garnier-Sillam E. 2001. Use of RAPD markers for the study of microbial community similarity from termite mounds and tropical soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **33**: 417 – 427.

Hawksworth D. L. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, **95**: 641 – 655.

Heuer H., Krsek M., Baker P., Smalla K. and Wellington E. M. H. 1997. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of gene coding 16S rRNA and gel electrophoresis separation in denaturing gradients. *Applied and Environmental Microbiology*, **63**: 3233 – 3241.

Holmes A. J., Owens N. J. P. and Murrell J. C. 1995. Detection of novel marine methanotrophs using phylogenetic and functional gene probes after methane enrichment. *Microbiology*, **141**: 1947 – 1955.

Hütsch B. W., Webster C. P. and Powlson D. S. 1993. Long-term effects of nitrogen fertilization on methane oxidation in soil of the Broadbalk wheat experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, **25**: 1307 – 1315.

Ineson P. and Anderson J. M. 1985. Aerobically isolated bacteria associated with the gut and faeces of the litter feeding macroarthropods *Oniscus asellus* and *Glomeris marginata*. *Soil Biology and Biochemistry*, **17**: 843 – 849.

Jones R. D. and Morita R. Y. 1983. Methane oxidation by *Nitrosococcus oceanus* and *Nitrosomonas europaea*. *Applied and Environmental Microbiology*, **45**: 401 – 410.

Kajan R. and Frenzel P. 1999. The effect of chironomid larvae on production, oxidation and fluxes of methane in a flooded rice soil. *FEMS Microbiology Ecology*, **28**: 121 – 129.

Kane M. D. 1997. Microbial fermentation in insect guts. In: Mackie R. I. and White B. A. (eds.), *Gas-trointestinal Microbiology*, Vol. 1. Chapman and Hall, New York, 231 – 265.

Karsten G. R. and Drake H. L. 1997. Denitrifying bacteria in the earthworm gastrointestinal tract and *in vivo* emission of nitrous oxide (N₂O) by earthworms. *Applied and Environmental Microbiology*, **63**: 1878 – 1882.

Khalil M. A. K., Rasmussen R. A., French J. R. J. and Holt J. A. 1990. The influence of termites on atmospheric trace gases: CH₄, CO₂, CHCl₃, N₂O, CO, H₂, and light hydrocarbons. *Journal of Geophysical Research*, **95**: 3619 – 3634.

Khalil M. A. K., Rasmussen R. A. and Shearer M. J. 1998. Effects of production and oxidation processes on methane emissions from rice fields. *Journal of Geophysical Research*, **103**: 25233 – 25239.

King G. M. 1994. Associations of methanotrophs with the roots and rhizomes of aquatic vegetation. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**: 3220 – 3227.

Knowles R. 1981. Denitrification. In: Clark F. E. and Rosswall T. (eds.), *Terrestrial Nitrogen Cycles. Processes, Ecosystem Strategies and Management Impacts*. *Ecological Bulletin* (Stockholm), **33**: 315 – 330.

Kostanjšek R., Štrus J. and Avguštin G. 2002. Genetic diversity of bacteria associated with the hindgut of the terrestrial crustacean *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda). *FEMS Microbiology Ecology*, **40**: 171 – 179.

Kristufek V., Ravasz K. and Pizl V. 1992. Changes in densities of bacteria and microfungi during gut transit in *Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa* (Oligochaeta: Lumbricidae). *Soil Biology and Biochemistry*, **24**: 1499 – 1500.

Kuzyakov Y., Kretschmar A. and Stahr K. 1999. Contribution of *Lolium perenne* rhizodeposition to carbon turnover of pasture soil. *Plant and Soil*, **213**: 127 – 136.

Kuzyakov Y. and Domanski G. 2002. Model for rhizodeposition

- and CO_2 efflux from planted soil and its validation by ^{14}C pulse labelling of ryegrass. *Plant and Soil*, **239**: 87 – 102.
- Lawton J. H., Bignell D. E., Bloemers G. F., Eggleton P. and Hodda M. E. 1996. Carbon flux and diversity of nematodes and termites in Cameroon forest soils. *Biodiversity and Conservation*, **5**: 261 – 273.
- Lichtfouse E. 2000. Compound-specific isotope analysis: application to archaeology, biomedical sciences, biosynthesis, environment, extraterrestrial chemistry, food science, forensic science, humic substances, microbiology, organic geochemistry, soil science and sport. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **14**: 1337 – 1344.
- Lidstrom M. E. and Somers L. 1984. Seasonal study of methane oxidation in Lake Washington. *Applied and Environmental Microbiology*, **47**: 1255 – 1260.
- Liptay K., Chanton J., Czepiel P. and Mosher B. 1998. Use of stable isotopes to determine methane oxidation in landfill cover soils. *Journal of Geophysical Research—Atmospheres*, **103** (D7): 8243 – 8250.
- Lockhart I. M. 1980. Stable isotope—separation and application. In: Elvidge J. A. and Jones J. R. (eds.), *Isotopes: Essential Chemistry and Applications*. The Chemical Society Burlington House. London W1V 0BN, 1 – 31.
- Ma K-P (马克平). 1993. On the concept of biodiversity. *Chinese Biodiversity* (生物多样性), **1**: 20 – 22. (in Chinese)
- Marschner P., Neumann G., Kania A., Weiskopf L. and Lieberei R. 2002. Spatial and temporal dynamics of the microbial community structure in the rhizosphere of cluster roots of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant and Soil*, **246**: 167 – 174.
- Martius C. 1994. Diversity and ecology of termites in Amazonian forests. *Pedobiologia*, **38**: 407 – 428.
- Minami K. and Fukushima S. 1984. Methods for measuring N_2O flux from water surface and N_2O dissolved in water from agricultural land. *Soil Science and Plant Nutrition*, **30**: 495 – 502.
- Mosier A. R. and Schimel D. S. 1993. Nitrification and denitrification. In: *Nitrogen Isotope Techniques*. Academic Press, New York. 181 – 208.
- Murrell J. C., McDonald I. R. and Bourne D. G. 1998. Molecular methods for the study of methanotroph ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, **27**: 103 – 114.
- Parkinson D. and Coleman D. C. 1991. Microbial communities, activity, and biomass. *Agriculture Ecosystem and Environment*, **34**: 3 – 33.
- Pedersen J. C. and Hendriksen N. B. 1993. Effect of passage through the intestinal tract of detritivore earthworms (*Lumbricus* spp.) on the number of selected Gram-negative and total bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, **16**: 227 – 232.
- Priemé A. and Christensen S. 1997. Seasonal and spatial variation of methane oxidation in a Danish spruce forest. *Soil Biology and Biochemistry*, **29**: 1165 – 1172.
- Prinn R. G. 1994. The interactive atmosphere-global atmospheric-biospheric chemistry. *Ambio*, **23**: 50 – 61.
- Prosser J. I. 2002. Molecular and functional diversity in soil micro-organisms. *Plant and Soil*, **244**: 9 – 17.
- Roslev P. and Iversen N. 1999. Radioactive fingerprinting of microorganisms that oxidize atmospheric methane in different soils. *Applied and Environmental Microbiology*, **65**: 4064 – 4070.
- Rouhier H., Billes G., Billes L. and Bottner P. 1996. Carbon fluxes in the rhizosphere of sweet chestnut seedlings (*Castanea sativa*) grown under 2 atmospheric CO_2 concentrations - ^{14}C partitioning after pulse labelling. *Plant and Soil*, **180**: 101 – 111.
- Saari A., Martikainen P. J., Ferm A., Ruuskanen J., DeBoer W., Troelstra S. R. and Laanbroek H. J. 1997. Methane oxidation in soil profiles of Dutch and Finnish coniferous forests with different soil texture and atmospheric nitrogen deposition. *Soil Biology and Biochemistry*, **29**: 1625 – 1632.
- Schimel J. P. and Gullledge J. 1998. Microbial community structure and global trace gases. *Global Change Biology*, **4**: 745 – 758.
- Schmidt O., Scrimgeour C. M. and Handley L. L. 1997. Natural Abundance of ^{15}N and ^{13}C in earthworms from a wheat and a wheat-clover field. *Soil Biology and Biochemistry*, **29**: 1301 – 1308.
- Schmitt-Wagner D. and Brune A. 1999. Hydrogen profiles and localization of methanogenic activities in the highly compartmentalized hindgut of soil-feeding higher termites (*Cubitermes* spp.). *Applied and Environmental Microbiology*, **65**: 4490 – 4496.
- Schutz H., Seiler W. and Conrad R. 1989. Processes involved in formation and emission of methane in rice paddies. *Biogeochemistry*, **7**: 33 – 53.
- Seiler W., Holzapfel-Pschorn A., Conrad R. and Scharffe D. 1984 a. Methane emission from rice paddies. *Journal of Atmospheric Chemistry*, **1**: 242 – 268.
- Seiler W., Conrad R. and Scharffe D. 1984 b. Field studies of methane emission from termites nests into the atmosphere and measurements of methane uptake by tropical soil. *Journal of Atmospheric Chemistry*, **1**: 171 – 186.
- Sugimoto A., Inoue T., Kirtibutr N. and Abe T. 1998. Methane oxidation by termite mounds estimated by the carbon isotopic composition of methane. *Global Biogeochemical Cycles*, **12**: 595 – 605.
- Swinnen J. 1994. Evaluation of the use of a model rhizodeposition technique to separate root and microbial respiration in soil. *Plant and Soil*, **165**: 89 – 101.
- Swinnen J., vanVeen J. A. and Merckx R. 1995 a. Carbon fluxes in the rhizosphere of winter wheat and spring barley with conventional vs integrated farming. *Soil Biology and Biochemistry*, **27**: 811 – 820.
- Swinnen J., VanVeen J. A. and Merckx R. 1995 b. Root decay and turnover of rhizodeposits in field-grown winter wheat and spring barley estimated by ^{14}C pulse-labelling. *Soil Biology and Biochemistry*, **27**: 211 – 217.

Tayasu I., Hyodo F., Abe T., Inoue T. and Spain A. V. 2002. Nitrogen and carbon stable isotope ratios in the sympatric Australian termites, *Amitermes laurensis* and *Drepanotermes rubriceps* (Isoptera: Termitidae) in relation to their feeding habits and the quality of their food materials. *Soil Biology and Biochemistry*, **34**: 297 – 301.

Tian J-Y (田家怡), Pan H-J (潘怀剑) and Fu R-S (傅荣恕). 2001. Study on soil animal diversity in the Yellow River Delta. *Biodiversity Science*(生物多样性), **9**: 228 – 236. (in Chinese)

Tiedje J. M. 1988. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In: Zehnder A. J. B. (ed.), *Biology of Anaerobic Micro-organisms*. Wiley, New York, 179 – 243.

Torsvik V., Goksoeyr J. and Daae F. L. 1990. High diversity in DNA of soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **56**: 782 – 787.

VanDerGon H. A. C. D. and Neue H. U. 1996. Oxidation of methane in the rhizosphere of rice plants. *Biology and Fertility of Soils*, **22**: 359 – 366.

Waid J. S. 1997. Metabiotic interactions in plant litter systems. In: Cadisch, G., Giller, K. E. (eds.), *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition*. CAB International, Wallingford, 145 – 153.

Waid J. S. 1999. Does soil biodiversity depend upon metabiotic activity and influences? *Applied Soil Ecology*, **13**: 151 – 158.

Wall J. W., Skene K. R. and Neilson R. 2002. Nematode community and trophic structure along a sand dune succession. *Biology and Fertility of Soils*, **35**: 293 – 301.

Wang Q-B (王其兵), He J-S (贺金生) and Chen W-L (陈伟烈). 1997. Preliminary studies on the soil microorganisms of degraded ecosystem in the Changjiang River Sanxia region. *Chinese Biodiversity* (生物多样性), **5**: 241 – 245. (in Chinese)

Watson A., Stephen K., Nedwell D. B. and Arah J. R. M. 1997. Oxidation of methane in peat: kinetics of CH₄ and O₂ removal and the role of roots. *Soil Biology and Biochemistry*, **29**: 1257 – 1267.

Willison T. W., Goulding K. W. T and Powlson D. S. 1995. Effect of land-use change and methane mixing ratio on methane uptake from United Kingdom soil. *Global Change Biology*, **1**: 209 – 212.

Wolf H. J. and Hanson R. S. 1979. Isolation and characterization of methane-utilizing yeasts. *Journal of General Microbiology*, **114**: 187 – 194.

Yavitt J. B., Lang G. E. and Downey M. D. 1988. Potential methane production and methane oxidation rates in peatland ecosystems of the Appalachian Mountains, the Unites States. *Global Biogeochemical Cycles*, **2**: 253 – 268.

Zhao S-D (赵士洞). 1997. Definition, contents and essential issues of biodiversity science—Brief introduction to implementation plan of DIVERSITAS. *Chinese Biodiversity* (生物多样性), **5**: 1 – 4. (in Chinese)

(责任编辑:孙大川)