

土壤微生物生物地理学研究进展

贺纪正^{1,*}, 葛 源^{1,2}

(1. 城市与区域生态国家重点实验室, 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:生物地理学是研究生物(包括种群、群落等不同层次)地理分布格局及成因的一门交叉学科。微生物生物地理学的研究长期滞后于宏生物地理学。鉴于土壤微生物在调控生物地球化学过程和维持生态系统功能方面的重要作用,对其空间分布格局及形成机制的认识具有十分重要的理论和实际意义。随着分子生物学技术的发展,对微生物多样性的认知日益深入。越来越多的证据表明,土壤微生物群落结构和多样性具有一定的时空分布格局,从而对微生物全球性随机分布的传统观点提出了挑战。对当前土壤微生物生物地理学研究的一些概念性问题,如微生物物种的定义、微生物多样性的定量测度、对微生物全球性随机分布的争论等,进行了系统评述;以微生物种-面积关系和距离-衰减关系为例对当前最新的土壤微生物生物地理学研究成果进行总结,并初步探讨了土壤微生物群落的地带性分布问题;在传统生物地理学理论的指导下,提出了一个可用于验证土壤微生物空间分布格局形成和机制维持的简单研究框架。这些对今后土壤微生物生物地理学的研究有一定借鉴和指导意义。

关键词:微生物生物地理学;微生物多样性;群落结构;种-面积关系;距离-衰减关系;理论

文章编号:1000-0933(2008)11-5571-12 中图分类号:Q15;Q938 文献标识码:A

Recent advances in soil microbial biogeography

HE Ji-Zheng^{1,*}, GE Yuan^{1,2}

1 State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2 Graduate University, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(11): 5571 ~ 5582.

Abstract: Biogeography is the cross science of biology and geography to explore the spatial distribution pattern of the organisms (population, community etc.) and the mechanisms that generate and maintain such pattern. For centuries, biologists have studied distribution patterns of plants and animals at different spatial scales. While few similar studies has been carried out for microorganisms in the past due to the limitation of techniques. Considering the significance of soil microorganisms in biogeochemical cycling processes and maintaining ecosystem function, knowledge of the spatial patterns and mechanisms involved in soil microbial distribution is fundamental to develop sound management strategies of the terrestrial ecosystems. Culture-independent molecular techniques now make it possible to explore the microbial diversity more deeply and widely than ever before. As a result, differing from the traditional understanding of the microbial cosmopolitanism, increasing evidence supports the idea that free-living soil microorganisms vary in their abundance, composition and diversity across various taxonomic and spatial scales, which makes soil microbial biogeography a hot

基金项目:中国科学院资助项目(KZCX2-YW-408, KZCX1-YW-0603);国家科技部 973 课题资助项目(2005CB121105)

收稿日期:2007-11-16; 修订日期:2008-08-29

作者简介:贺纪正(1965~),男,研究员,主要从事环境微生物分子生态学研究。

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jzhe@rcees.ac.cn

Foundation item: The project was financially supported by Chinese Academy of Sciences (Grant No. KZCX2-YW-408, KZCX1-YW-0603) and the National Basic Research Program of China (Grant No. 2005CB121105)

Received date: 2007-11-16; **Accepted date:** 2008-08-29

Biography: HE Ji-Zheng, Professor, mainly engaged in soil microbial ecology.

research topic in recent years. Here, with discussion to the conceptual frames including the microbial species concept, the quantitative estimation of microbial diversity, and the arguments for microbial cosmopolitanism, we illustrate recent progress in soil microbial biogeography by taking microbial species-area relationship and distance-decay relationship as examples, then initially explore the possible zonal distribution of the soil microbial biota, and develop a simplified theory framework which can be used to examine the mechanisms involved in the generation and maintenance of the soil microbial distribution pattern. This review illustrates significant advances in soil microbial biogeography and proposes perspectives and framework for future research.

Key Words: microbial biogeography; microbial diversity; community structure; species-area relationship; distance-decay relationship; theory

生物地理学是研究生物(包括种群、群落等不同层次)的地理分布格局及成因的科学,是生物学与地理学的交叉学科。长期以来,不同的研究者在对动物和植物空间分布格局深入观测和研究的基础上,提出许多解释这种空间分布格局形成和维持机制的假说和理论,推动了生物地理学的发展^[1,2]。相对于大型生物(动物和植物)而言,微生物(古菌、细菌及微型真核生物)生物地理学的研究十分薄弱^[3],甚至对微生物是否存在一定的地理分布格局都存在广泛争论^[4,5],许多适用于大型生物的传统生物地理学理论也未能在微生物中得到很好地验证^[6]。土壤中微生物具有高的多样性(每克土中可能包括 $10^4 \sim 10^7$ 种不同的微生物^[7,8]、个体丰度(全球微生物的数量可能超过 10^{30} 个^[9])、生物量(微生物碳量与植物碳量相等,氮量则为植物氮量的 10 倍^[9]),其在生物地化循环过程调控和生态系统功能维持方面也起到了关键作用^[10,11],对土壤微生物空间分布格局及其形成机制的认识,将有助于人们对陆地生态系统的管理和功能调控,以应对全球变暖等重大的全球性环境问题。陆地生态系统中,植物和动物都呈现明显的地带性和区域分布特征,土壤也有地带(区域)分布特点,但其中微生物是否也有地带(区域)分布特点,仍存在着广泛的争论。

微生物生物地理学研究的滞后有两方面的原因。客观上,由于微生物本身具有体型小、世代周期短、种类繁多、个体数量大等生物学特性,微生物多样性的定量化描述从来都是一个巨大的挑战^[12],遑论考查其空间分布格局及形成机制;主观上,人们总是下意识地假定微生物的地理分布格局与大型生物相比有着本质不同,即微生物呈一种全球性的随机分布^[13],从而不自觉地微生物从生物地理学研究中排除出去^[5]。分子生物学技术的发展,使人们可以打破以往微生物学研究中需要对其进行培养鉴定的限制,直接从基因水平上考查其多样性,从而使得对微生物空间分布格局及其成因的深入研究成为可能。最近的研究成果已经对人们的传统认识提出挑战,提供了微生物多样性空间分布格局在本质上与动植物相似的有关证据^[14~17]。

本文将对新兴的微生物生物地理学研究的一些概念性议题-如微生物物种的定义、微生物多样性的定量测度、关于微生物全球性随机分布的争论-进行系统评述;以微生物种-面积关系(species-area relationship)和距离-衰减关系(distance-decay relationship)为例对当前土壤微生物生物地理学的最新研究成果进行总结,并试探性地提出了土壤微生物群落的地带性分布问题;在传统生物地理学理论的指导下,本文还引入了一个可用于验证土壤微生物空间分布格局形成和机制维持的初步研究框架。

1 微生物物种定义

物种是生物多样性研究的基本单位,当进行微生物生物地理学研究时,首先面临的问题是如何定义微生物物种。传统上,物种被定义为一群相互间可产生有繁殖能力后代而与其它物种间由于生殖屏障而不能繁育后代的生物个体的集合,并根据一系列形态和表型特征的差异来认定不同的物种。然而,传统物种的概念对大多数微生物并不适用(因其为无性繁殖)^[18],单纯依据微生物的形态和表型特征进行的分类往往也带有很强的主观性(因其体型小)^[19]。随着分子生物学技术的发展,遗传物质(DNA)被用来对微生物进行分类,即微生物物种(species)是指“具有一定程度表型特征一致性,DNA-DNA 杂交率大于 70%,或 rRNA 基因序列相似性大于 97% 的一组微生物”^[19]。之所以选择 70% 的杂交率或 97% 的 rRNA 基因相似性,是因为依据此标

准进行的物种分类与形态和表型分类的结果基本一致。相对于大型生物而言,微生物的这种物种划分标准显得较为粗略。例如,按照 70% 的 DNA-DNA 杂交率标准,所有的灵长类都将归为一个物种^[20]。最近,已有研究通过对已分离培养微生物的全基因组序列比较,来探讨新的微生物分类标准^[21]。不管是根据形态和表型特征分类还是根据遗传物质相似性分类,均需要实验室培养的分离菌株。然而,土壤中可培养微生物只占其微生物总数的 0.1% ~ 1%^[7,22]。因此,在许多微生物多样性研究中,绕过对单个物种的认定,用基于 rDNA 指纹图谱的可操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)表示不同的“物种”^[14,23]。

在这里之所以特别提出物种定义问题,是因为较粗略的物种分类标准可导致观测结果产生偏差。例如,人们长期认为微生物的地理分布是一种与大型生物有着根本区别的全球性随机分布,然而这种观测结果可能是由于微生物物种划分标准过宽所致^[20]。有研究表明,当 OTU 的定义标准从 95% 的序列相似性增加到 99% 时,物种在空间上的周转率亦随之显著增加^[15],这表明生物多样性的空间格局受“物种”定义的影响,较粗略的物种划分标准会导致可观测到的微生物的空间分布格局减弱甚至消失。下表是对主要的植物、动物和微生物类群物种数的比较,微生物中已知种百分数要远小于大型动植物(表 1)。

表 1 主要的植物、动物和微生物类群物种数^[24]Table 1 Number of species of main taxonomic group of plant, animal and microorganism^[24]

生物类群 Taxonomic group	已知种数 Described	估计种数 Estimated	已知种百分数(%) Described/ Estimated
维管植物 Vascular plants	250 000	500 000	50
脊椎动物 Vertebrates	45 000	50 000	90
微生物 Microorganisms*			
原生动物 Protozoans	40 000	200 000	20
真菌 Fungi	70 000	1500 000	5
病毒 Viruses	5 000	500 000	1
藻类 Algae	40 000	10 000 000	0.4
细菌/古菌 Bacteria/ Archaea	4 000	3 000 000	0.1

*对微生物应包括哪些生物类群并无一致的看法,但通常认为应包括细菌、古菌及部分微型真核生物(如单细胞藻类及部分体长小于 500 μm 的微型真菌和原生动物)^[3] There is no universal definition of a ‘microorganism’; The term generally denotes members of the domains Bacteria and Archaea, as well as microscopic members of the domain Eukarya (for example, unicellular algae, some fungi and protists with a length of less than 500 μm)^[3]

2 微生物多样性的测度与评估

在生物地理学研究中,一个很重要的命题是对生物多样性和物种丰富度的测度和评估。只有对生物多样性的准确度量,才能正确揭示其空间分布格局,进而探讨产生这种格局的可能机制。

2.1 实际测度

与对微生物物种的定义相一致,传统上,人们往往根据形态学和表型特征认定不同的微生物,进而确定不同种类的数目。这种方法的不足之处在于只能涵盖小部分微生物,不能反映微生物多样性的全貌。

Tosvik 等最先用单链 DNA 复性动力学方法测度土壤微生物多样性^[7]。其基本原理是,某种微生物的 DNA 被加热后,双链 DNA 会解链为单链 DNA,当缓慢降低温度时,单链 DNA 又会复性,复性的速率可表征此微生物基因组的大小和复杂性;相应地,当 DNA 来自整个微生物群落时,则群落 DNA 可被看作一个大的复合基因组,复性的速率可表征群落 DNA 的大小和复杂性,进而反映微生物多样性^[7]。Tosvik 等利用这种方法对土壤和沉积物中原核生物多样性的考查表明,每克土壤和沉积物样品中可能有 3000 ~ 10000 种不同的微生物^[7,22]。

分子指纹图谱类方法,如单链构象多态性(SSCP)、梯度凝胶电泳(DGGE 和 TGGE)和末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)等,作为一类高通量的测度微生物群落结构和多样性的方法,在微生物生态学研究中得到广泛应用,以探讨不同的环境因子与微生物群落结构和多样性的关系^[14,23,25,26]。这类方法通常以 OTU 的数

目表征物种丰富度,不需对微生物进行实验室培养,但这类方法分辨率往往较低。

克隆和测序分析是当前评估微生物群落结构和多样性的最合适的技术,用于对微生物群落的精细评估。但在大多数此类研究中,克隆和测序的数目($<10^3$)往往远小于土壤微生物群落的实际个体数($>10^9$ 个/ $g_{\pm}$),因此并不能反映群落中稀有种的状况^[8]。最近,已经有从土壤、海水和酸性矿水等较为简单的环境中构建整个微生物群落文库(宏基因组文库)的成功例子,但文库的构建费用高昂,工作量很大,因此这种宏基因组学的方法并不适用于每个实验室^[27]。稳定性同位素探测技术(SIP)可用于构建一个因吸收了特定基质而在特定的环境过程中执行特定代谢功能的环境微生物的功能宏基因组文库,从而极大地减少需要筛选的克隆数量^[28]。新的高通量的测序方法,如焦磷酸测序法(pyrosequencing/454 测序仪),可大大提高测序速度,将对微生物多样性研究起到巨大的推动作用^[29]。

2.2 理论评估

从对微生物的实际测度开始,微生物生态学家就希望能够建立简单的数学模型,从而能够用较少的实测数据定量评估微生物多样性的全貌,进而对不同环境条件下的微生物多样性进行比较。

Curtis 等最先采用对数正态分布(lognormal distribution)的物种-多度曲线(species-abundance curve)(图 1),对真核微生物多样性进行理论评估,获得与用单链 DNA 复性动力学方法实测的数据相似的结果^[12]。Gans 等用几种不同的物种-多度曲线(如 zipf 分布、对数正态分布及 Log-Laplace 分布等),对用单链 DNA 复性动力学方法实测的土壤细菌多样性数据进行理论评估,表明对照(无重金属污染)土壤样本中最多可能含有 10^7 种不同的原核生物,其中大多数是稀有种^[8]。在物种-多度曲线上,物种的个体丰度(多度)位于 X 轴,具有某种个体丰度的物种的数量则位于 Y 轴,有许多文献讨论了物种数与物种个体丰度的这种对应分布,并为此种分布赋予了一定的生态意义^[12]。微生物生态学家关心的是,在物种-多度曲线中,曲线之下的面积即为总的物种多样性,因此只要能够绘出待环境中微生物群落的物种-多度曲线,就可利用曲线对微生物多样性进行评估。但想要绘出这样的物种-多度曲线,首先需要知道不同物种的个体丰度是如何分布的,这意味着群落的物种丰富度应该是已知的。这使人们陷入两难的境地:想要用物种-多度曲线评估群落物种丰富度,就要绘出物种-多度曲线,但人们并不知道群落物种丰富度,因此不能绘出物种-多度曲线,也就无法对物种丰富度做出评估^[6]。一种解决办法是,在实际的物种-多度曲线未知的情况下,可以假定一种理想的分布,如对数正态分布;研究者可以用他们自己的少量数据去拟合这一曲线,并做出外推;如果假定的理想分布与实际分布不符,可以对评估的偏差进行评价。在实际应用中,可能会由于用于拟合曲线的数据量太小而导致绘制出的分布曲线与群落的实际分布有较大偏差,从而物种-多度曲线的未观测部分依然存在较大的不确定性。

Hughes 等最早用基于概率论的 Chao1 指数比较了不同农业管理措施下草场土壤的微生物多样性^[30]。Chao1 指数法是一种用多次检测到同一物种的可能性评估多样性的方法,它并不需要预先假定一个特定的物种-多度分布。这种评估方法的思路来自动物种群生态学研究中的标记-释放-再捕法。其基本原理是,在一个较小的群落中,再次观测到某物种的可能性会更高一些,反之,在多样性高的群落中,再次观测到某物种的可能性就比较低^[30]。在实际应用中,Chao1 指数用多次观测过的物种数与只被观测过一次的物种数之比表征群落多样性的大小;通过对 Chao1 指数方差的评估,可以评估 Chao1 指数对特定环境微生物群落多样性评估的精度,并计算出 Chao1 指数的置信域,进而比较不同群落多样性是否有显著性差别。因为这种非参数评估并不预先假定一个物种-多度曲线,因此可能会低估多样性。

3 关于微生物全球性分布(cosmopolitanism)的讨论

传统上,微生物的分布格局被认为是一种全球性的随机分布(其经典的英文表述为“Everything is everywhere”^[13])。对微生物全球性分布的一种解释是微生物强大的扩散能力,并认为微生物的这种基于强大扩散能力的全球性分布,是由其内在的生物学特性所决定的^[4,13]。其一,微生物个体小,使之易于被大型动物(如鸟类和哺乳动物)携带或随大气或水流而发生被动扩散。其二,微生物个体数量巨大,进一步提高了这种被动扩散的可能性。其三,微生物可形成休眠体(如孢子),使之可抵御长距离传播过程中的极端环境条件并

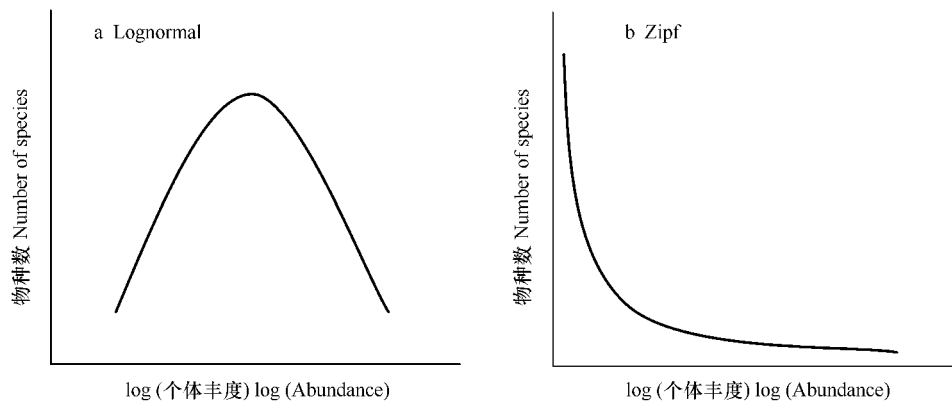


图1 物种-多度曲线示意图

Fig. 1 Schematic diagrams of species-abundance curves

曲线之下的面积即为总的物种丰富度 The total richness is the area under the species-abundance curve

(a) 对数正态型物种-多度曲线,在这种分布中,假定个体丰度较多和较少的物种均较少,而中等个体丰度的物种较多;(b) Zipf 型物种-多度曲线,在这种分布中,假定个体丰度较少的物种数最多,个体丰度较多的物种数最少,而中等个体丰度的物种数中等 (a) Lognormal species-abundance curve. This distribution assumes that a few taxa contain many individuals, a few taxa contain a few individuals and that most taxa contain moderate numbers of individuals; (b) Zipf species-abundance curve. This distribution assumes that most taxa contain a few individuals, a few taxa contain many individuals and that moderate taxa contain moderate numbers of individuals

存活下来。其四,微生物世代周期短、繁殖能力强,使之可以在到达某地后迅速恢复种群。然而,也有证据表明某些微生物因扩散限制而呈有限的地理分布,表明并不是所有微生物都有全球性扩散能力。例如,Telford等通过对不同地区硅藻的物种丰富度与环境因子(pH)之间关系的考查,来检验微生物(硅藻)会否因扩散限制而呈有限的地理分布^[17]。其理论假设为,若硅藻的分布为全球性分布,则不同地区的物种丰富度-pH关系应符合一致的规律;反之,若硅藻的扩散受到限制,则在不同地区,其物种丰富度-pH关系应表现为不同的形式。研究的结果支持第二种假设,从而表明某些微生物的确会因为扩散限制而呈有限的地理分布^[17]。对这些观察的解释是:微生物群落总的个体丰度较高并不意味着群落中每个物种的个体丰度都高,群落中绝大多数的物种可能是稀有种,这些稀有种发生被动扩散的可能性极低;此外,并不是所有的微生物都可形成休眠体,事实上大多数微生物对扩散的适应性并不为人所知,还没有关于微生物种群水平扩散格局的定量化研究;再次,对某微生物种群大小和分布范围的评估很大程度上取决于如何定义该“物种”,粗略的定义将导致过高估计其种群大小和分布范围。

另一对微生物全球性分布的解释是,由于其较低的灭绝率和分化率而限制了地方性物种的产生。支持低灭绝率观点的依据是:微生物大的种群数量降低了随机性灭绝性事件发生的可能性;微生物可形成抵御不良环境的休眠体,从而降低了灾难性环境之后地方性灭绝的可能性^[13]。然而,正如前面谈到的,群落中绝大多数的物种可能是稀有种,并且人们并不知道究竟有多少种微生物可形成休眠体。一项将微生物多样性的实际测度与理论评估相结合的研究表明,重金属污染可造成99.9%的多样性丧失,其中绝大多数为稀有种^[8]。支持低分化率观点的依据是,缺乏明显的可阻止地方性分化发生的物理屏障(如地理分隔)^[4]。然而,Cho和Tiedje对来自4个大陆10个样点的土壤样品中*Pseudomonas*分离菌株的分析表明,在不同的样点和大陆间并没有重合的基因型,表明不同样点间显著的地方性分化^[31]。Whitaker等对5个地理分隔的样点中*Sulfolobus*分离株的系统发育分析表明,系统发育树上不同的进化分枝与5个地理区域相对应,表明同一取样区域的微生物具有同样的进化史而不同区域的微生物其进化史不同^[32]。以上研究清楚表明微生物种群的地方性分化的确存在,从而削弱了微生物的地方性分化普遍较低这一假设的可信度。另一可能改变物种分化率的机制是水平基因转移,但事实上其作用是两面的,既可通过基因交换造成物种差异性减小(减小分化率),又可作为新基因的来源而促进新物种的产生(增加物种分化率)^[33,34]。并且,相对于大型生物而言,微生物较短的世代

周期增加了其通过变异产生新物种的机率。

4 微生物空间分布格局

与传统的微生物全球性随机分布观点不同,现在有越来越多的证据表明土壤微生物群落组成、个体丰度或多样性随某种环境变量而在空间上呈某种规律性分布。这些环境变量包括植被^[25,35]、空间距离^[31]、土壤 pH^[23,36]等。在对微生物空间分布格局实际观测的基础上,一些研究者试图用简单的数学模型描述微生物的这种非随机分布。这些模型包括种-面积关系和距离-衰减关系。

4.1 种-面积关系

种-面积关系,即物种丰富度随取样面积的增加而增大,是生态学中研究最多的物种分布格局之一^[1]。其可表示为 $S = cA^z$, 其中 S 为物种丰富度, A 为面积, c 为经验常数, z 为曲线的斜率, 随不同的生境类别、分类群或空间尺度而变化, 可用来描述物种在不同空间尺度上聚集的速度(图 2)。经验证据表明, 连续生境中动植物的 z 值大小通常为 0.1 ~ 0.2, 而岛屿生境则高一些(0.2 ~ 0.39)^[6]。同植物和动物相比, 有关微生物种-面积关系的研究很少, 直到最近, 才在不同生境(连续生境、不连续生境和岛屿生境)中观测到微生物的这一分布格局^[14~16]。在这些不多的微生物种-面积关系研究中, 大多数报导了较低的 z 值(一般 $z < 0.1$)^[15], 尽管也有研究观测到同大型生物一致的较高 z 值(在岛屿生境中)^[14]; 同时, z 值随研究对象体型的增大而增加^[1,15]。

在微生物种-面积关系研究中, 主要的挑战在于如何在不能完全取样的情况下正确评估某一面积内微生物物种数。在未获有关微生物物种-多度分布的准确图谱之前, 依靠观测的物种数对种-面积关系的评估仍可能存在偏差。如果大尺度下真实的物种数高于大的面积范围内小面积取样的观测值, 则观测到的种-面积关系斜率 z 值会低于实际的斜率^[16]。

4.2 距离-衰减关系

距离-衰减关系是考察群落在不同空间尺度下的周转, 即不同样点的群落组成相似性如何随样点间地理距离的变化而变化(β -多样性变化)。一种传统的假定认为, 微生物的分布是各种随机因素(如风、水、动物载体及其它)综合作用的结果, 从而导致其基本的随机空间分布, 及随后的种群在非随机的空间生态位上的增长^[13]。因此, 一个可预测的结果是在相似的生境中存在相似的微生物群落, 而不同的生境中则存在着不同的微生物群落。验证这一假设的方法之一是考查不同样点的群落组成相似性如何随样点间地理距离的变化而变化^[31]。尽管普遍认为大型生物的群落组成随样本间距离的增加而衰减, 对于微生物群落的周转率则知之甚少^[16]。Cho 和 Tiedje 最先考查了自由生活细菌群落的遗传相似性与地理距离之间的关系^[31]。他们从 4 个大陆的 10 个取样点采集土壤样品, 用 BOX-PCR 基因指纹技术考查了 *Pseudomonas* 基因型的空间分布, 发现在区域尺度下 *Pseudomonas* 分离菌株的遗传相似性与地理距离负相关, 但在更大尺度下并非如此。Whitaker 等对 *Sulfolobus* 分离株的全球性研究也表明, *Sulfolobus* 的遗传相似性随地理距离的增加而减小^[32]。最近, 这一方法被用于评估种-面积关系^[15,16], 但可能会低估种-面积关系的斜率^[15], 表明在这一领域还需要更进一步的理论研究。

5 土壤微生物群落的地理分布

生物地理学研究的任务之一是生物群落的地理区划, 即将生物的地理分布格局和范围在地图上标注出来。在陆地生态系统中, 植物和动物都呈现明显的地带性和区域分布特征, 土壤也有地带(区域)分布特点, 但对土壤微生物是否也有地带(区域)分布特点, 仍存在争论。如果能够像动植物那样, 将土壤微生物的分布在地图上标注出来, 这将是一个重大的研究突破, 对深刻认识土壤微生物的空间分布规律, 以及对微生物资源的保护、开发、利用都有重要意义。

在这里之所以提出土壤微生物的地带性分布问题, 是基于以下认识。其一, 土壤微生物与地上大型生物之间具有紧密的生态联系, 地上生物常可对土壤微生物群落产生影响, 反之亦然^[25,35,37]。如有研究表明, 根际微生物群落多样性动态与地上植物群落多样性动态一致^[38]。Firer 等对从北美到南美土壤细菌多样性的空间变异研究表明, 土壤细菌群落的多样性和物种丰富度随地上生态系统类型的变化而变化, 这暗示了大尺度

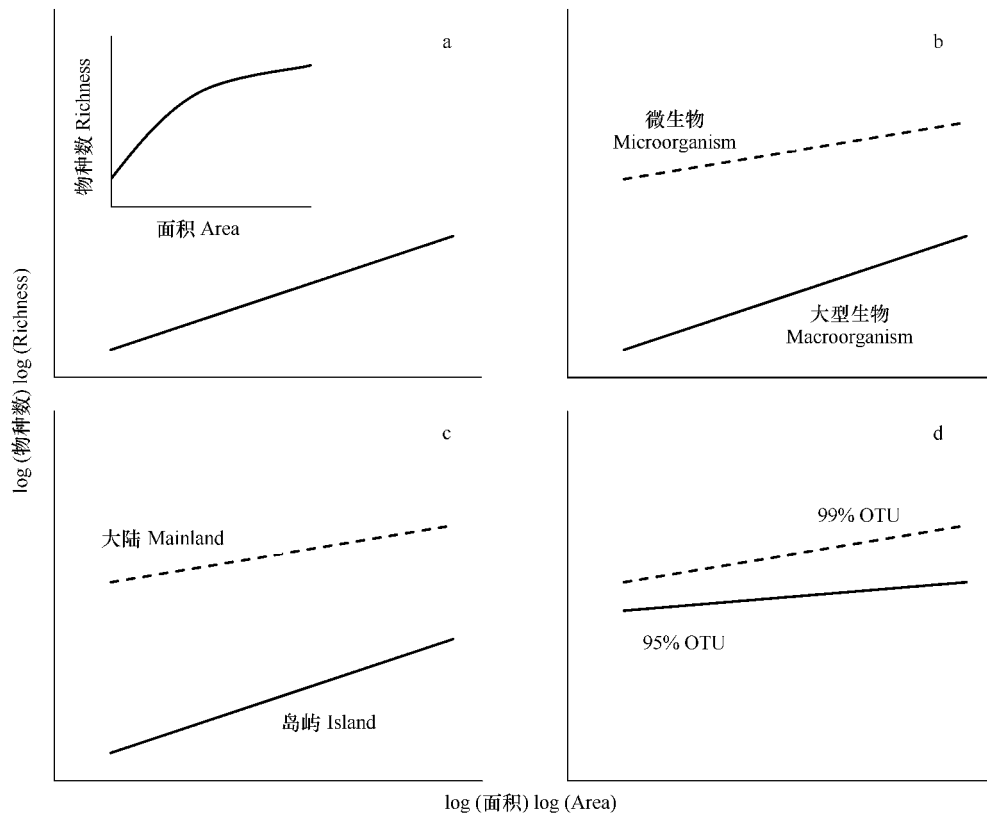


图2 种-面积关系

Fig. 2 The power law species-area relationship

公式 $S = cA^z$ (或 $\log S = \log C + z\log A$) 表示种与面积关系,其中 S 为物种丰富度, A 为面积, c 为经验常数, z 为曲线的斜率,可用来描述物种在不同空间尺度上聚集的速率;(a)指数型种-面积关系和对数转换后种-面积关系示意图;(b)微生物和大型生物种-面积关系比较,在某一取样点,微生物物种丰富度要大于大型生物,但微生物物种丰富度在空间上的聚集(或周转)速率要小于大型生物;(c)大陆和岛屿生境微生物种-面积关系比较,大陆的物种丰富度要大于岛屿,但其在空间上的聚集(或周转)速率要小于岛屿生境;(d)不同物种分辨率微生物种-面积关系比较,当 OTU 的定义标准从 95% 的序列相似性增加到 99% 时,种-面积关系的斜率亦随之增加

$S = cA^z$ (or $\log S = \log C + z\log A$), which S is species richness, A is area, c is empirical constant, and z is the slope of the line. Slope describes how quickly local assemblages of species differentiate over space; (a) Schematic diagrams of power and logarithmic model of species-area relationship; (b) Comparison of species-area relationships between microorganism and macroorganism; Local richness of microorganism is higher than that of macroorganism, while the turnover rate of microbial richness is lower than that of macroorganism; (c) Comparison of species-area relationships in mainland and island; Local richness of microorganism in mainland is higher than that in island, while the turnover rate of microbial richness in mainland is lower than that in island; (d) Comparison of species-area relationships in different species resolutions; The slope of the species-area relationship z increased with increasing taxonomic resolution that OTU was defined from 95% sequence similarity to 99% sequence similarity

下土壤细菌群落与地上生物群落间的对应关系^[32]。正因为土壤微生物群落与地上生物群落之间紧密的生态联系,既然地上生物群落呈现明显的地带性和区域分布特征,那么土壤微生物群落也可能呈地带性分布。其二,作为具有高度异质性的介质,土壤为生活于其中的不同微生物提供了各种适宜的栖息地和丰富的资源,支撑了高的土壤微生物多样性和各种不同的微生物群落,并与微生物相互作用而形成高度复杂的自组织的土壤-微生物体系^[39],因此既然土壤有地带性分布的特点,那么生活于其中并与之紧密联系的微生物也可能呈地带性分布。有证据表明:土壤类型是土壤微生物群落组成和群落物种丰富度的决定性因子^[40]。其三,如前文中提到的,已有一些特定的微生物种群因地理分隔和扩散限制而呈现有限的地理分布或地方性分化的例子^[31,32],尽管这与将整个微生物群落的分布在地图上标出的目标仍相距甚远,但至少说明对于某些特定的土壤微生物群落而言,地带(区域)性分布特征的确存在。

6 一个简单的研究框架

尽管越来越多的证据表明土壤微生物群落的组成、多样性和个体丰度受某些环境因子影响,并表现出一定的空间分布格局(如种-面积关系和距离-衰减关系)^[14-16]。但在很大程度上,这些证据只排除了土壤微生物随机分布的假说,人们对驱动土壤微生物群落空间分布格局的内在机制并不清楚^[3]。而事实上,这方面的知识也许更为重要。因为只有这样,相关的研究才有可能从对现象的描述发展到揭示现象的本质,从而指导人们对生态系统的管理和功能调控^[3,6]。在传统生物地理学研究中,已发展了相关的理论用于解释大型生物空间分布格局的形成机制,如特别强调历史进化因素(如距离分隔、物理屏障、扩散历史和过去的环境异质性等)和当代环境因子(如光照、降水、温度、土壤 pH 和营养状况等)的相对作用^[2,4]。有鉴于此,在探讨土壤微生物群落的空间分布格局的形成和维持机制时,一个很自然的研究思路就是同时考查历史进化因素和当代环境因子对维持当前的微生物空间分布格局的相对贡献,并通过一定的多元统计技术定量表征其相对贡献的大小。这为土壤微生物生物地理学研究提供了一个简单但十分有用的研究框架,可用以检验四个理论假设。假设 1 认为土壤微生物在空间上是随机分布的,在这种情况下微生物群落组成和多样性变化不受这两类因素的影响(图 3a);假设 2 认为土壤微生物群落变化只反映了当代环境因子的变化,这表明不同的环境异质性维持了不同的土壤微生物群落组成和多样性,因为微生物强大的扩散能力,过去的进化和生态事件的影响被迅速从微生物群落中抹去(图 3b);假设 3 认为土壤微生物群落变化只是历史的进化因素的迟滞影响,这些历史的偶然事件的影响造成了土壤微生物群落组成和多样性的差异,并且这种差异一直持续到现在(图 3c);假设 4 认为,同大型生物相似,土壤微生物群落组成和多样性的变化是当代的环境因子和过去的历史事件共同作用的结果(图 3d)^[3]。

最新的研究已开始探讨历史进化因素和当代环境因子在微生物空间分布格局形成过程中的相对作用。一个对淡水湖泊中硅藻分布格局的全球性研究发现,历史进化因素对当前物种丰富度地理分布格局的贡献远大于当代环境因子,表明距离分隔、扩散和迁移历史等因素在大尺度硅藻群落空间分布格局形成过程中的重要作用^[42]。一个小尺度下对土壤 *Burkholderia ambifaria* 菌种内遗传多样性的研究表明, *Burkholderia ambifaria* 菌的基因组相似性同时受到空间距离和环境异质性的影响,但这两类因素各自的贡献率均不到 2%^[43]。最近的一项对区域尺度(1000 km)下土壤细菌多样性变化的探索性研究表明,在区域尺度下,历史进化因素(以地理分隔的不同取样点和土壤剖面层次代表)可解释 60.3% 的土壤细菌多样性变化;而在局地尺度(如在一个长期生态定位试验站内)下,某些当代的环境扰动(如有机肥和磷肥的施用)也可引起微生物多样性的变化,并可解释 5.5% 的土壤细菌多样性变化,但后者所引起的变化依然在整体的历史进化因素的控制之下^[44]。研究结果支持上面提到的第 4 种假说,即土壤微生物群落的空间分布格局是历史进化事件和当代环境因子共同作用的结果;尤为重要的是,研究结果清楚地表明历史进化因素和当代环境因子对微生物空间分布格局的影响具有尺度依赖性,即在较大空间尺度下历史及进化过程的主导作用下,当代环境因子也在小空间尺度下不断地对土壤微生物空间分布格局进行细部改造。上述研究结果不同于微生物的全球性扩散能力造成其全球性分布的假说,表明与大型生物相似,可能有一些内在的机制调节着微生物的地理分布。

7 总结与展望

本文从微生物的地理学空间分布等方面探讨了微生物生物地理学发展的概况、瓶颈和当前的动向,从概念、多样性测量、理论数学模型方面阐述了微生物地理分布描述与测定方面的问题,并引入一个可用于验证土壤微生物空间分布格局形成和机制维持的初步研究框架。

不同于传统的微生物全球性随机分布的认识,越来越多的证据表明微生物的空间分布格局在本质上同大型生物相似。分布格局量上的差异可能是由于对微生物和大型生物采用不同的物种分类标准,以及由于不完全取样而造成的对微生物多样性的过低估计所致。一些研究已开始尝试揭示微生物空间分布规律及其下隐藏的内在机制,总体上这方面的研究还处于初步阶段。在最近执行的“973”课题中,试图通过对几个长期定位农业生态试验站的联网研究,综合分析土壤细菌群落多样性的区域分布特征和主要控制因子。用 DGGE 技

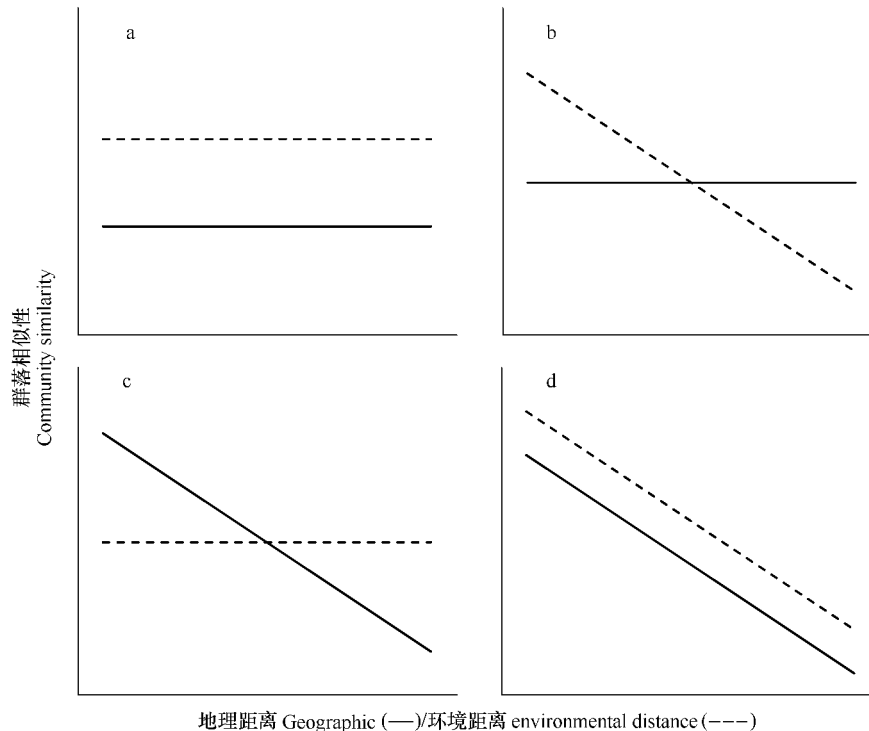


图3 关于土壤微生物空间分布格局形成和维持机制的四种理论假设^[3]

Fig. 3 Four alternative hypotheses about the mechanisms which generate and maintain the current spatial distribution of soil microbial community^[3]

(a) 土壤微生物的空间分布不受历史进化因素和当代环境因子的影响,因而表现为随机分布格局,其群落相似性既不随地理距离(表征历史进化因素)变化,也不随环境距离(表征当代环境因子)变化;(b) 土壤微生物的空间分布只受当代环境因子的影响,其群落相似性随环境距离增大而减小,但不随地理距离变化;(c) 土壤微生物的空间分布只受历史进化因素的影响,其群落相似性随地理距离增大而减小,但不随环境距离变化;(d) 土壤微生物的空间分布同时受历史进化因素和当代环境因子的影响,其群落相似性同时随地理距离和环境距离的增大而减小 (a) Soil microbial community can not be distinguished by historical and evolutionary factor as well as contemporary environmental factor, and show as random spatial distribution. Community similarity is constant over geographic distance (to represent the variation of historical and evolutionary factor) and environmental distance (to represent the variation of contemporary environmental factor); (b) The dissimilarity of microbial community merely reflects the influence of contemporary environmental variation; (c) The dissimilarity of microbial community is merely due to the lingering effects of past evolutionary and ecological events; (d) The dissimilarity of microbial community reflects the influences of both past events and contemporary environmental variations

术考查了取自 3 个不同站点的 212 个土壤样品(单独或结合施用无机氮、磷、钾肥及有机肥)的细菌群落多样性特征,并用多元回归树分析(Multivariate regression trees,一种限制性聚类技术)对造成土壤细菌群落多样性变化的主要控制因子进行认定。本理论假设是,若土壤细菌群落多样性变化主要由地理分隔等影响大尺度过程的因子(以不同的试验站代表)控制并表现为一定的区域分布特征,则在多元回归树上,这 212 个土壤样品应首先根据不同的取样站点被分离开来;反之,若土壤细菌群落多样性变化主要由局部的环境扰动(以不同的施肥处理代表)控制而并不呈一定的区域分布特征,则土壤样品应首先根据不同的施肥处理被分离开来。研究结果表明:历史进化(以地理上分隔的不同取样点或土壤类型、土壤剖面层次来表征)是驱动大尺度下土壤细菌多样性变化的主控因子,其对土壤细菌多样性变化的贡献约为 60%;当代环境扰动(以不同的取样时间和施肥处理来表征)也可造成局部土壤细菌多样性变化,其对土壤细菌多样性变化的贡献约为 20%;另有约 20% 的贡献来自于该研究尚未考察到的因子(图 4)。研究结果支持第 1 种假设,即土壤细菌群落多样性的确主要受区域因子的影响而表现为一定的区域分布特征^[44]。这些结果发表于《The ISME Journal》上。

在土壤微生物生物地理学研究中,以下 3 个方面的内容尤其值得关注。

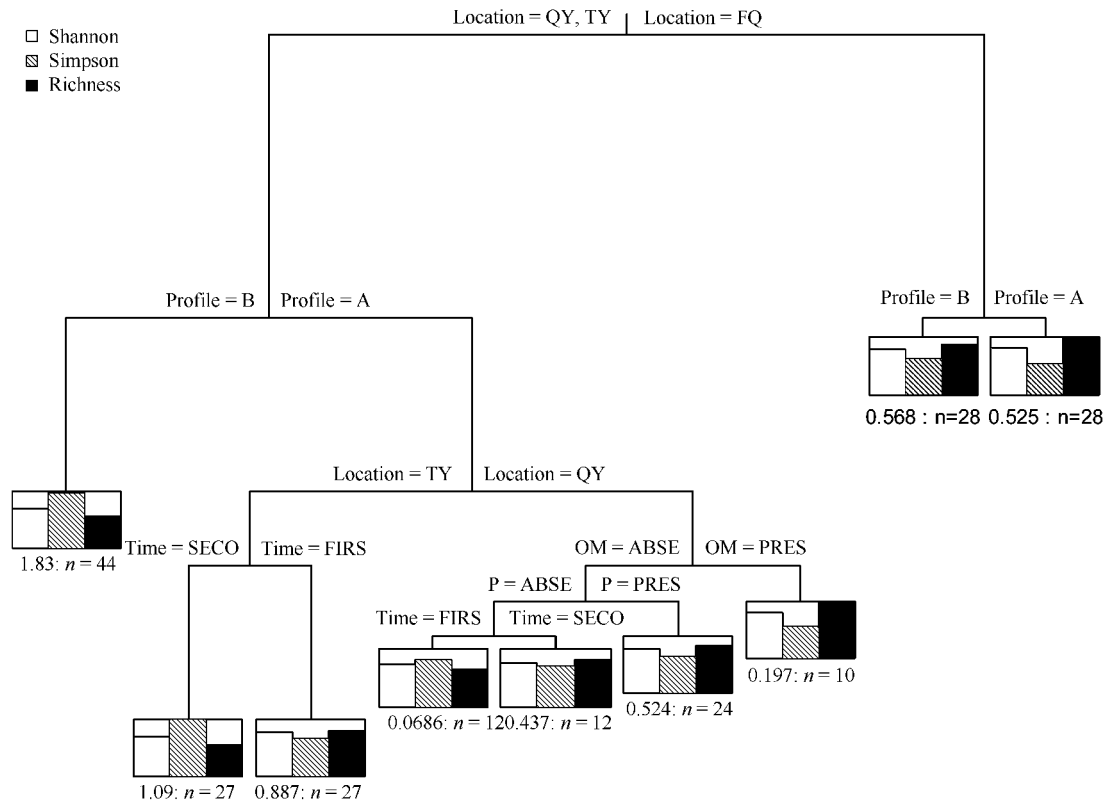


图4 多元回归树图

Fig. 4 Multivariate regression tree

土壤样品的细菌多样性特征(香农指数、辛普森指数、物种丰富度)根据不同的环境变量(取样地点、取样土层、取样时间、施肥处理)被分离开来,并显示为柱状图 soil bacterial diversity estimates (Shannon index, Simpson index and Richness) separated by different environmental variables (sampling locations, sampling profile, sampling times and fertilization treatments); Barplots show the multivariate means of diversity estimates at each node Location: 取样地点 Sampling location; Profile: 取样土层 Sampling profile; Time: 取样时间 Sampling time; P: 磷肥 Phosphorus; OM: 有机肥 Organic manure; FQ: 封丘 Fengqiu; QY: 祁阳 Qiyang; TY: 桃源 Taoyuan; A: A 层(0 ~ 20cm) Profile A (0 ~ 20cm); B: B 层(20 ~ 40cm) Profile B (20 ~ 40cm); FIRS: 第1次取样 First sampling; SECO: 第2次取样 Second sampling; ABSE: 不施用 Absent; PRES: 施用 Present; n: 样品数 Number of samples

(1) 土壤微生物区系和空间分异规律。包括以下问题:微生物群落的地带性分布是否存在? 如果存在,微生物群落的空间分异规律(包括水平地带性和垂直地带性)究竟如何? 是否存在一个(或几个)可以指示微生物群落的空间分异的环境变量? 这些变量是什么? 是否可以像动植物一样,对微生物的分布进行地理定位?

(2) 土壤微生物生物地理格局的形成和维持机制。迁移、扩散、分化、灭绝等历史过程和当代的环境异质性和环境扰动对当前土壤微生物生物地理格局的形成和维持机制究竟如何? 对这些机制的认识将帮助人们更好的预测微生物群落结构和多样性对各种环境变化(如全球气候变化、土地利用方式改变和各种人为扰动等)的可能响应,进而制定更有效的管理措施和对策。

(3) 土壤微生物群落结构与功能之间的关系(不同土壤微生物区系对生态系统过程与功能的影响)。包括以下问题:微生物群落结构变化如何对生态系统过程及功能产生影响? 如何量化描述这些影响? 造成不同生态系统功能和过程差异的主要的微生物类群(如参与碳氮生物地球化学循环的功能类群)是什么? 多大程度的微生物多样性变化可引起生态系统过程及功能的显著变化?

References:

- [1] Drakare S, Lennon J J, Hillebrand H. The imprint of the geographical, evolutionary and ecological context on species-area relationships. *Ecology Letters*, 2006, 9(2): 215 — 227.
- [2] Mittelbach G G, Schemske D W, Cornell H V, *et al.* Evolution and the latitudinal diversity gradient: speciation, extinction and biogeography. *Ecology Letters*, 2007, 10(4): 315 — 331.
- [3] Martiny J B H, Bohannan B J M, Brown J H, *et al.* Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(2): 102 — 112.
- [4] Finlay B J. Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science*, 2002, 296(5570): 1061 — 1063.
- [5] Dolan J R. Microbial biogeography? *Journal of Biogeography*, 2006, 33(2): 199 — 200.
- [6] Prosser J I, Bohannan B J M, Curtis T P, *et al.* The role of ecological theory in microbial ecology. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5(5): 384 — 392.
- [7] Torsvik V, Goksøyr J, Daae F L. High diversity in DNA of soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 1990, 56(3): 782 — 787.
- [8] Gans J, Wolinsky M, Dunbar J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. *Science*, 2005, 309(5739): 1387 — 1390.
- [9] Whitman W B, Coleman D C, Wiebe W J. Prokaryotes: The unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(12): 6578 — 6583.
- [10] Bell T, Newman J A, Silverman B W, *et al.* The contribution of species richness and composition to bacterial services. *Nature*, 2005, 436(7054): 1157 — 1160.
- [11] Madsen E L. Identifying microorganisms responsible for ecologically significant biogeochemical processes. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(5): 439 — 446.
- [12] Curtis T P, Sloan W T, Scannell J W. Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(16): 10494 — 10499.
- [13] O'Malley M A. The nineteenth century roots of 'everything is everywhere'. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5(8): 647 — 651.
- [14] Bell T, Ager D, Song J-I, *et al.* Larger islands house more bacterial taxa. *Science*, 2005, 308(5730): 1884.
- [15] Horner-Devine M C, Lage M, Hughes J B, *et al.* A taxa-area relationship for bacteria. *Nature*, 2004, 432(7018): 750 — 753.
- [16] Green J L, Holmes A J, Westoby M, *et al.* Spatial scaling of microbial eukaryote diversity. *Nature*, 2004, 432(7018): 747 — 750.
- [17] Telford R J, Vandvik V, Birks H J B. Dispersal limitations matter for microbial morphospecies. *Science*, 2006, 312(5776): 1015.
- [18] Gevers D, Cohan F M, Lawrence J G, *et al.* Re-evaluating prokaryotic species. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(9): 733 — 739.
- [19] Vandamme P, Pot B, Gillis M, *et al.* Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiological Reviews*, 1996, 60(2): 407 — 438.
- [20] Staley J T. Biodiversity: are microbial species threatened? *Current Opinion in Biotechnology*, 1997, 8(3): 340 — 345.
- [21] Konstantinidis K T, Tiedje J M. Genomic insights that advance the species definition for prokaryotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(7): 2567 — 2572.
- [22] Torsvik V, Daae F L, Sandaa R-A, *et al.* Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. *Journal of Biotechnology*, 1998, 64(1): 53 — 62.
- [23] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(3): 626 — 631.
- [24] Groombridge B. *Global biodiversity: status of the earth's living resources*. London: Chapman & Hall, 1992. 19.
- [25] He J Z, Xu Z H, Hughes J. Analyses of soil fungal communities in adjacent natural forest and hoop pine plantation ecosystems of subtropical Australia using molecular approaches based on 18S rRNA genes. *FEMS Microbiology Letters*, 2005, 247(1): 91 — 100.
- [26] Ge Y, Zhang J B, Zhang L M, *et al.* Long-term fertilization regimes affect bacterial community structure and diversity of an agricultural soil in northern China. *Journal of Soils and Sediments*, 2008, 8(1): 43 — 50.
- [27] Shen J P, Zhang L M, Zheng Y M, *et al.* Methodology and application of soil metagenomics. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(1): 212 — 218.
- [28] Ge Y, He J Z, Zheng Y M, *et al.* Stable isotope probing and its applications in microbial ecology. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(5): 1574 — 1582.
- [29] Roesch L F W, Fulthorpe R R, Riva A, *et al.* Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *The ISME Journal*, 2007, 1(4):

283—290.

- [30] Hughes J B, Hellmann J J, Ricketts T H, *et al.* Counting the uncountable: statistical approaches to estimating microbial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(10): 4399—4406.
- [31] Cho J-C, Tiedje J M. Biogeography and degree of endemism of fluorescent *Pseudomonas* strains in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(12): 5448—5456.
- [32] Whitaker R J, Grogan D W, Taylor J W. Geographic barriers isolate endemic populations of hyperthermophilic archaea. *Science*, 2003, 301(5635): 976—978.
- [33] Gogarten J P, Townsend J P. Horizontal gene transfer, genome innovation and evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(9): 679—687.
- [34] Ochman H, Lerat E, Daubin V. Examining bacterial species under the specter of gene transfer and exchange. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(suppl. 1): 6595—6599.
- [35] He J Z, Xu Z H, Hughes J. Molecular bacterial diversity of a forest soil under residue management regimes in subtropical Australia. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, 55(1): 38—47.
- [36] He J Z, Shen J P, Zhang L M, *et al.* Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(9): 2364—2374.
- [37] Wardle D A, Bardgett R D, Klironomos J N, *et al.* Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 2004, 304(5677): 1629—1633.
- [38] Kowalchuk G A, Buma D S, de Boer W, *et al.* Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soil-borne microorganisms. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, 81(1-4): 509—520.
- [39] Young I M, Crawford J W. Interactions and self-organization in the soil-microbe complex. *Science*, 2004, 304(5677): 1634—1637.
- [40] Girvan M S, Bullimore J, Pretty J N, *et al.* Soil type is the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in arable soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(3): 1800—1809.
- [41] Qian H, White P S, Song J-S. Effects of regional VS. ecological factors on plant species richness: an intercontinental analysis. *Ecology*, 2007, 88(6): 1440—1453.
- [42] Vyverman W, Verleyen E, Sabbe K, *et al.* Historical processes constrain patterns in global diatom diversity. *Ecology*, 2007, 88(8): 1924—1928.
- [43] Ramette A, Tiedje J M. Multiscale responses of microbial life to spatial distance and environmental heterogeneity in a patchy ecosystem. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(8): 2761—2766.
- [44] Ge Y, He J Z, Zhu Y G, *et al.* Differences in soil bacterial diversity: driven by contemporary disturbances or historical contingencies? *The ISME Journal*, 2008, 2(3): 254—264.

参考文献:

- [27] 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.
- [28] 葛源, 贺纪正, 郑袁明, 等. 稳定性同位素探测技术在微生物生态学研究中的应用. *生态学报*, 2006, 26(5): 1574—1582.