

# 空间分析方法在微生物生态学研究中的应用

王 强<sup>1</sup>, 戴九兰<sup>2,\*</sup>, 付合才<sup>1</sup>, 申天琳<sup>1</sup>, 吴大千<sup>1</sup>, 王仁卿<sup>1,2,\*</sup>

(1. 山东大学生命科学学院, 山东 济南 250100; 2. 山东大学环境研究院, 山东 济南 250100)

**摘要:** 微生物生态正在受到越来越多的关注, 对其研究也渐趋深入。然而由于微生物个体微小的特点及研究手段的限制, 多数研究还停留在探索阶段, 研究方法也在不断完善当中。近年来, 较多的研究开始探讨空间因素在微生物多样性和分布中的影响, 对空间分布的探讨有助于更好地认识生态过程, 是一种有力的研究手段。微生物空间分析方法已经成为微生物生态学领域中重要的研究方向之一, 我国空间方法在微生物生态研究中的应用还没有得到普遍的重视。从不同研究角度出发, 结合空间统计的作用, 对空间统计方法在微生物生态研究中的应用的必要性及现状做了评述。介绍了空间自相关性的检验, 方差图, Mantel 检验, Kriging 插值等方法在微生物生态研究中的应用, 并论述了微生物研究中的尺度问题。这一梳理, 对丰富微生物生态学研究中的新方法、新手段具有一定价值。

**关键词:** 微生物生态; 空间分析; 地统计; 空间自相关; 空间格局

## The application of spatial analysis methods to microbial ecology

WANG Qiang<sup>1</sup>, DAI Jiulan<sup>2,\*</sup>, FU Hecai<sup>1</sup>, SHEN Tianlin<sup>1</sup>, WU Daqian<sup>1</sup>, WANG Renqing<sup>1,2,\*</sup>

1 College of Life Science, Shandong University, Ji'nan 250100, China

2 Environment Research Institute, Shandong University, Ji'nan 250100, China

**Abstract:** Studies of microbial ecology are receiving increasing attention in the world and are developing very quickly. Nevertheless, due to the limitations of research techniques and special characteristics of microbes, most studies are only at the exploratory stage while the relative methods are also in development. In recent years, considerations of spatial factors have shown a significant trend and many researchers have focused on this area. Many studies have begun to consider the spatial influence of the distribution of microbial communities and significant results had been achieved in this area. Studies on spatial patterns of microbial community can give us a better understanding of ecological processes. However, due to subject barriers and the minuteness of microbes, at present spatial concepts are not receiving adequate attentions in China. This paper focuses on a brief review of the current situation and progress of spatial analysis, and its potential application in microbial ecology. We introduced descriptions of spatial autocorrelation in microbial ecology studies, including Moran' I and Geary's c, Mantel test and the use of variogram analysis. Kriging was referred to as a tool to predict microbial patterns and the scale of microbial studies were also discussed. This review will be helpful for understanding spatial methods and their application in microbial ecology.

**Key Words:** microbial ecology; spatial analysis; geostatistics; spatial autocorrelation; spatial pattern

空间要素是生态学研究的重要组成部分, 对空间要素的忽视很容易导致生态学研究结果和结论的不完善<sup>[1-2]</sup>; 生物地理学从空间的角度出发研究动植物地理分布格局及成因机制, 极大地深化了人们对生态系统的理解, 是一种重要的研究方法<sup>[3-4]</sup>。然而, 生物地理学的应用及发展主要是在宏观动植物的研究中实现的,

**基金项目:** 山东省环境保护重点科技资助项目 (2006007); 国家自然科学基金资助项目 (408010088); 山东省自然科学基金资助项目 (Q2008B09)

**收稿日期:** 2009-08-18; **修订日期:** 2009-11-09

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: daijiulan@sdu.edu.cn; wrq@sdu.edu.cn

作为生态学领域的新热点,微生物生态对空间因素并没有足够的重视,这是非常令人遗憾的<sup>[5-6]</sup>。空间因素的考虑不足,一方面是因为微生物个体的特殊性,由于个体微小,研究手段的限制使研究者一直对其群落无法进行较深入的研究;另一方面,由于学科的壁垒限制,使空间方法较难以得到微生物生态研究者的重视<sup>[4, 7-8]</sup>。现阶段,分子技术的进展,微观研究手段的发展,以及空间分析技术的不断成熟都在逐渐克服上述困难,空间分析手段应用于微生物生态研究领域已经成为不可遏止的趋势,并已经有了较多的应用<sup>[3, 5, 9-10]</sup>。本文从微生物生态学研究角度简述了空间研究方法的效果,对空间统计方法在微生物生态中的应用做了现状梳理,并对发展趋势进行展望。

## 1 微生物生态为什么需要空间视角

在微生物生态中,空间方法之所以没有得到足够的重视有技术和历史两方面的原因。首先,空间生态分析的目标方法和微生物微小的特性不协调,研究可见动植物分布模式的方法不容易应用于微观世界下的微生物。众所周知,现实中动植物的分布既非均匀分布,也非随机分布,而是具有各自特定的格局<sup>[2]</sup>。自然界物质、能量的运行及相互作用,加上生命体的持续不断刻画,形成了多种多样的环境、生命体空间格局;不同的格局对各级生态系统的结构分析、生物多样性研究、了解种内及种间相互作用规律均有重要价值<sup>[2, 11-12]</sup>。空间分析方法研究生物体分布之格局,由此得出空间结构本身对生态指标的影响,如空间自相关性在有机体-环境交互作用中的影响、有机体分布空间结构的驱动机制及作用等,由此期望得到更趋于实际的生态过程规律<sup>[13]</sup>。宏观研究中,如动植物等具有直观可见的特点,易于度量,便于分析,因此在这些研究领域空间方法有较好的应用。微生物本身个体微小、易变异,很难在个体水平进行研究;研究水平所限,也很难分辨其实际群落结构——这些都是研究方法上的困难<sup>[14]</sup>。另外,历史上由于研究手段的限制形成了对微生物分布模式的认识不足,认为微生物所有种群都具有快速繁殖、全球分布的特点<sup>[4, 8]</sup>。一种经典表述即 Beijerinck 的:“everything is everywhere — the environment selects”<sup>[8]</sup>。简言之,如果从该观点出发,则微生物生态研究不需要考虑微生物种群的空间结构,即认为自然界中物质的、能量的、生物体的各种作用只能对微生物产生“当下的”,“实时的”作用,而不会形成历史影响,产生所谓特定格局<sup>[8]</sup>。在该观点的假设下,所有的微生物在整个地球随机分布,并认为只要环境改变,在大自然的微生物库中就会有相应的种填充进来,原有的微生物群落不会有影响。这样的认识不仅对于微生物种群构成具有空间差异性的事实有较大的障碍,而且也妨碍了对微生物群落生态及进化模式的理解<sup>[3, 8]</sup>。当前,可喜的是,随着研究手段的发展,对微生物研究的深入和细化,微生物种群与动植物一样具有地理格局分布的观点已逐渐为研究者认可,而其空间结构的深入研究也开始成为关注的热点<sup>[3, 5, 7, 14]</sup>。

Cho 等研究了绿脓杆菌(*Pseudomonas*)基因型在不同空间尺度上的差异,他们在 4 个不同大陆取样,发现在同一个大陆内,基因型相似度随距离增加而减少,而在大陆间的大尺度上却没有这种趋势,这说明了微生物种群分布在不同尺度具有不同的特征<sup>[15]</sup>。Franklin 等在 2.5cm 到 11m 的较小尺度上研究了这种相似度随距离变化的空间格局,也发现了物种相似度随距离增加而显著降低的现象<sup>[16]</sup>。自此又有若干此类“物种-距离衰退关系”的研究,并开始将环境因素的影响考虑在内。Whitaker 等对温泉内一种嗜热菌(*Sulfolobus*)的分布做了调查,发现其基因型相似度随距离显著变化,而跟环境因素的关系并不显著<sup>[17]</sup>。其他一些研究也表明,在一些环境中,相对于环境因素的限制,微生物自身的繁殖分布能力是形成空间格局的更重要因素<sup>[7]</sup>。这些研究撼动了以往“微生物分布主要受环境因素控制”的观点,认为各种自然过程对微生物群落的影响会使之形成较为稳定的群落结构,并通过对这些结构的检验提出了相应的机制假说<sup>[18]</sup>。空间和环境因素的作用揭示了不同的生态机制和过程,因此,将空间因素纳入分析是非常有必要的。

## 2 微生物生态空间分析方法的技术前提

如前所述,微生物的特点就在于一个“微”字,由于个体微小,所以难于研究个体,难于分类,更难于做主要为距离相关分析的空间研究<sup>[3, 8, 14]</sup>。现代分子手段可以用各种方法将微生物群落结构间接表征出来,在不同尺度和层次实现对其度量。如以荧光原位杂交技术对微生物个体进行原位观测,基于磷脂脂肪酸构成的微

生物群落结构刻画(PLFA、FAME),基于不同碳源利用的功能多样性刻画(BIOLOG),基于PCR的各种分子指纹图谱法对群落进行刻画(DGGE、ARDRA、进化树的构建),克隆及测序等等<sup>[4]</sup>。通过这些技术,可以间接把微生物群落的结构反映出来,甚至可以细化到种。利用这些细致的群落组成或物种信息,结合空间分析即可对微生物群落功能机理、变化规律得到更加客观深入的了解。

在微生物群落研究中,不同的实验方法会产生不同类型的数据,如单数值变量(生物量碳、基础呼吸、硝化速率、DNA 复性时间、基于多元数据计算出的各种指数等),多元数值变量(BIOLOG 碳源利用、核酸或酶电泳条带浓度、磷脂脂肪酸丰度等),多元分类变量(核酸或酶电泳条带位置)等。尽管获得数据类型不同,然而微生物空间分析的最终研究目的一般有如下几个<sup>[18-19]</sup>:

- (1) 验证所研究对象指标是否存在显著的空间自相关性。
- (2) 确定研究对象的空间结构,并利用模型拟合以达到预测的目的。
- (3) 由空间结构提出假说,并进行验证。

下面从目标出发,结合不同数据类型及案例,对微生物生态学研究中的空间方法做一简要的论述。

### 3 空间自相关性

#### 3.1 使用自相关系数检验

空间自相关性用于度量某一变量是否存在空间依赖关系以及变量自身在较近的空间中是否有较强的关联<sup>[20]</sup>。微生物生态研究中常期望得到不同环境因子与微生物种群之间的关系,然而这些相关关系是尺度依赖的,往往受到空间自相关特性的影响,甚至可以说,如果把空间自相关性纳入考虑,有可能会颠覆原有的结果<sup>[1, 20]</sup>。生物指标的空间自相关性可能来自两个方面,其一是由于物理环境的空间自相关性而对生物体产生的相应影响;其二是生物群落本身分布可能产生的空间自相关性<sup>[20]</sup>。这两种效应较难区分,但不管是出于哪一种原因,其作为一个整体对微生物特性表现出的影响都是不可忽视的,研究者应该对其有相应的了解、刻画和分析。通过对不同尺度空间结构的刻画,也可以做出不同的生态过程推断假说。

微生物生态研究中,一元变量(如生物量碳,基础呼吸,硝化作用,及通过多元数据得出的多样性指标等)的空间自相关性可用空间自相关系数来刻画,其表征类似于一般 Pearson 相关系数,区别在 Pearson 相关系数是对两个变量的刻画,而空间自相关性则是由“一个变量”计算得出的<sup>[20]</sup>。常用的空间自相关指数有 Moran' I 和 Geary' s C<sup>[21-22]</sup>。这两个指标都可以写成标准化的交叉积统计,表征两个矩阵对应项之间的相关度,最终起到度量某一尺度空间自相关性的作用<sup>[20-22]</sup>。不仅自相关系数的计算,其他空间方法的要点也在于得到一定生态尺度内感兴趣的参数——生物或环境的均可——然后按尺度(距离)不同将关心的参数一一对应起来,并进行汇总,由此再进行尺度依存(自相关性)研究,分布模式研究等等<sup>[19]</sup>。

在计算不同距离相关指数后,可将其对样本距离作图得到相关图,通过对该图的形状、变化趋势等特征的研究也可得到较粗糙的关于空间结构的信息<sup>[12, 23]</sup>。如相关图呈单调递减趋势时,研究区域为线性梯度变化;突然降低时则表示该距离离开了某一特性中心区域,如污染、高盐分、微生物活性的突然变化等<sup>[24-25]</sup>。不过这种方法可资利用的信息较少,而且无法进行函数拟合、预测等功能,在微生物生态研究中仅作为最基本的描述指标。

上述两个指标仅可应用于单因素变量,如生物量碳、呼吸指标、分子方面的指标等。而在微生物生态研究中常需要处理表征群落结构的多元变量,如 DGGE 条带、PLFA 峰值、BIOLOG 碳源利用指数等。对多元数据空间自相关性的分析可使用标准 Mantel 检验或偏 Mantel 检验<sup>[26-27]</sup>。Mantel 检验的目标是验证所研究多元变量是否具有空间依赖性。通过将研究对象的关联程度量化(以不同距离公式度量),产生样本间两两距离矩阵  $F_1$ ,同时计算取样位置的两两距离,得到  $F_2$ <sup>[19, 27]</sup>(图 1)。通过计算两个矩阵的相关性,验证多元变量是否具有空间依赖性。该方法可以避免数据类型的限制,对数据分布类型要求不高,各种多维数据可通过计算差异矩阵应用该方法<sup>[19, 23]</sup>。

Mantel 检验的基本目标及步骤如图 1 所示,所得统计值  $R_m$ ,  $Z_m$  表征的是整体空间相关程度。在实际应

用中又有若干延伸,如 Mantel 相关图的使用,可对不同尺度下自相关性的变化进行刻画。该方法主要思想是首先按不同尺度(距离)将研究对象分组,然后对各组分别进行 Mantel 检验,最后将得到的统计值标准化,并对分组的不同尺度作图<sup>[26]</sup>。这是一种和空间自相关指数图非常类似的一种方法,差别只在于其可用于多元数据的处理,且一般认为该方法较普通 Mantel 检验可发现更加精细的结构。

Lilleskov 等使用 Mantel 相关图研究小尺度上菌根真菌(EMF)群落,结果表明该方法与传统的 Mantel 检验及对不同斑块大小的方差图分析有较大差异,并发现了后面两种方法未能发现的显著空间结构<sup>[28]</sup>。同样是研究真菌空间分布的工作,偏 Mantel 分析也有应用,研究时间、空间的双重作用<sup>[29]</sup>。偏 Mantel 分析通过 3 个距离矩阵(群落、空间、时间)间的偏相关分析,可以确定在控制时间因素的作用下,空间因素单独对群落相似性的影响,并通过置换检验验证结果的显著性。但 Legendre 曾指出,这种分析方法的结果解释是比较困难的<sup>[23]</sup>。

### 3.2 空间自相关性的描述及可视化

对不同尺度及方向的空间自相关性描述在本质上等价于对空间结构的描述,一般有两种方法。一为使用相关图或方差图;另一方法为使用以空间指标作为限制因子的聚类分析或排序分析。相关图即以上文所述 Moran' I 及 Geary's C 对空间距离作图,或 Mantel 统计量对距离的相关图。在实际的应用中,方差图更加常见。

方差图为任意两个取样点间所研究变量的差异或变异对距离的函数,是一种验证采样点之间空间相关性的有效方法。此类研究的流程一般为分析距离及所研究变量的关系——作图形成经验方差图——以不同函数建模形成理论方差图——进行优度检验——以理论方差图进行变量预测<sup>[18,20]</sup>。

建立经验方差图时,对样本变异的度量常用半方差来表示( $\hat{\gamma}$ )<sup>[18,30]</sup>。

$$\hat{\gamma}(d) = \frac{1}{2n_d} \sum_{i=1}^{n_d} [y_{x_i+d} - y_{(x_i)}]^2$$

式中, $\hat{\gamma}$  表示从经验拟合的估计值, $y$  为所研究变量,如生物量,呼吸,多样性指数等; $d$  是两个采样点间的距离, $n_d$  为间距是  $d$  的所有样本对数。半方差为所研究变量  $y$  增量( $y_{(x_i)+d} - y_{(x_i)}$ ) 的变异之半。半方差对距离作图所得即半方差图<sup>[31]</sup>。但据 Bachamier 等最新研究,该图称为方差图更合适。因为虽然  $\hat{\gamma}(d)$  包含  $y$  增量的一半变异,但同时含特定距离  $d$  类别下包含变量的全部方差<sup>[30]</sup>。当然这只是称谓的差异,没有本质区别,对研究也没有影响,本文统称为方差图。

图 2 为一个典型的方差图。黑点代表经验图,线条则为模型拟合。方差图有 3 种基本模式:nugget 不变型,增长型,及增长至基台型。每一种模式都代表不同的空间分布状态,如梯度变化、斑块嵌套等等<sup>[18,20]</sup>。各项参数意义如下:

Nugget(块金值) 为模型不可解释的方差,由于测量误差或小于最小取样距离的空间变异导致。

Range(变程) 半方差达到此即不再增长的距离,超过此距离样本丧失空间自相关性。

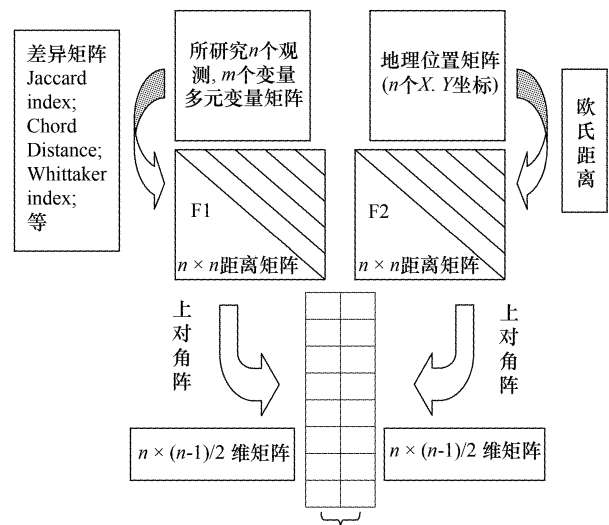


图 1 Mantel 检验流程示意图

Fig. 1 Schematic outline of the Mantel test

注:多维数据经计算差异系数(相似系数)得到差异矩阵  $F_1$ , 位置参数经计算得到两两间实际距离矩阵  $F_2$ , 各取上对角阵, 计算相关性等。通过置换检验显著性, 引自 Alain 等<sup>[19]</sup>。Jaccard、Chord、Whittaker 等差异系数的详细计算参见 Legendre<sup>[23]</sup>

Sill(基台值) 模型所能解释的最大方差,大体等于所有样本的变异。

得到了经验方差图后,可根据需要拟合理论方差图,这样做的目的一般有三:① 发现规律,② 预测,③ 估计有价值的参数<sup>[2, 20]</sup>。

常用的拟合函数有常数、线性、指数、高斯及球形函数。可进行多次拟合观察后择优选。若观察不到明显优劣,则可通过检验各自的拟合优度来确定最合适的函数。拟合之后则可确定相关参数,进而量化确定空间结构,或将不同参数结合其他变量比较分析<sup>[20, 31]</sup>。当然,所有上述分析之前,同任何统计分析一样,应有探索分析阶段,以便对数据结构有初步的认识,去除异常值等等<sup>[19]</sup>。

方差图可以考察数据的空间相关性、空间结构,也可以进行拟合预测,是一种非常有用的方法,但也只适合分析单因素变量。微生物生态研究中,特别是针对群落的考察,大多数时候产生的是多元变量,只能分析单因素变量显然不够。针对这种情况,可使用主成分分析(PCA)或通过计算“相对差异值”等数据压缩方法得到中间变量,再使用方差图进行分析。如 Saetre 等使用 PLFA 方法表征微生物群落多样性,在分析其空间结构前首先使用 PCA 压缩数据,然后分析得到的主成分,并发现不同位置的不同相关尺度<sup>[32]</sup>。Franklin 等采用扩增片段长度多态性(AFLP)分子指纹方法刻画微生物群落特征,并经过由此计算得出的相对差异值,实现使用“准方差图”分析空间结构的目的<sup>[16]</sup>。

此类研究的核心为使用各种数据压缩方法从多维数据中发现可以刻画样本特征的单个数值,并将之纳入分析。关于相对差异值及差异矩阵的计算可参考 Legendre 等 Numerical ecology<sup>[23]</sup>。

#### 4 结合空间结构对数据进行预测及矫正

克里金/克里格法应用的目的是通过理论方差图来拟合预测采样区中未知点的数值,是一种根据经验进行局部未知部分的推算,指一系列估算过程中使用的最小方差回归计算方法<sup>[33]</sup>。该方法又可分点估计与面估计两种<sup>[34]</sup>,对刻画微生物及相关环境因子的空间分布结构,确定有预测作用的微生物种群有重要作用。

在当前研究中,主要目标有发现微生物分布模式,通过插值的方法而估计未知点的值,或作出相应指标的分布图。Becker 等研究了小尺度下土壤细菌活性、种群结构与重金属污染之间的关系,发现微生物活性及重金属含量均有较强空间相关性,并从空间角度发现重金属对微生物的抑制作用<sup>[35]</sup>。Philippot 等近期研究了微生物功能空间异质性与群落空间差异之间的关系,其选择不同放牧类型区域硝化菌群为研究对象,在 39.6m × 14.4m 的尺度内选取 60 个点,测定其硝化功能参数及相应功能菌群结构(图 3)<sup>[36]</sup>,发现群落在 6—16m 的尺度上具有空间结构,土壤性质对功能参数及特定功能基因有显著影响,但对整个功能菌群大小影响不大<sup>[36]</sup>。拟合值可以通过图表现出来,具有更直观的解释效果,如 Philippot 对采样区全碳含量的插值估计(图 3)。

从空间角度研究微生物群落结构比较重要的一个问题就是采样问题,特别是在微生物生态研究中,由于无法像动植物研究中定位特定研究对象的位置,采样策

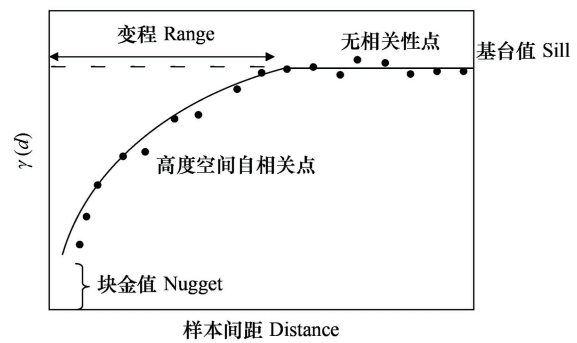


图 2 方差示意图

Fig. 2 Schematic diagram of variograms

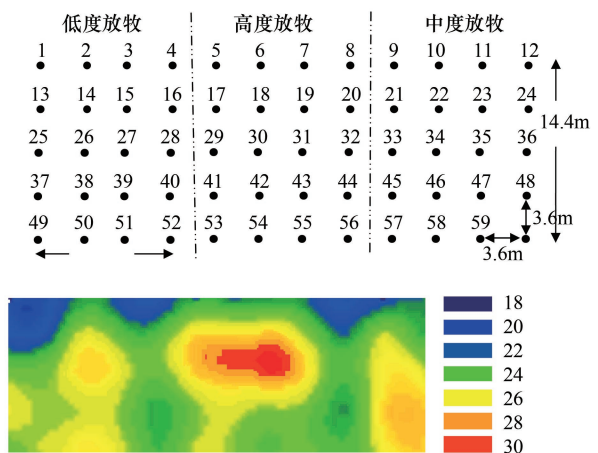


图 3 采样布局及样本全碳含量的 kriging 插值效果图,引自 Philippot 等<sup>[36]</sup>

Fig. 3 Sampling strategy and Kriging map of total organic carbon, cited from Philippot<sup>[36]</sup>



略从某种程度上决定了所研究问题能达到的深度。从另外一个角度说,所研究问题也对采样策略提出了特定的要求,不同的研究目的所需的采样分布及样品数量都有差异<sup>[2, 33]</sup>。

研究空间结构本身可以是目的,也可以是手段或中间步骤。如果需要考察的是环境因素与微生物指标的关系,需要考虑或者剔除其中的空间要素,并将发现的空间结构纳入常规的回归分析中;在这种情况下,可先进行回归获得变量残差,然后利用上述类似方法对所得残差进行空间结构考察,获得空间方面的信息并加以利用<sup>[19]</sup>。若对微生物分布有一定预设,也可将实际数据与模型函数拟合,并进行显著性检验,以达到验证假说的目的。

## 5 尺度问题

不管研究角度如何切入,尺度问题都是空间研究中的关键问题<sup>[37]</sup>,在微生物空间生态研究中也必须受到高度的重视。近期的研究在不同尺度上都有涉及,从研究微生物个体分布的微观研究到跨越大陆的大尺度研究均有实现<sup>[3, 7]</sup>。研究的尺度与采样的尺度有其准则,但最终是由所关注的问题决定的,很多情况下需要在多个不同尺度进行研究<sup>[16, 37]</sup>。

当前大部分工作是在研究区域进行随机取样,这样做有其不完善的方面。随机取样的前提是研究区域内的微生物分布趋于匀质化,而这一点在实际中往往是无法实现的。不考虑空间结构的最大缺陷即无法发现空间自相关因素的影响,因而难以对所研究生态现象作出客观的评价,这在针对生态过程的研究中是应予尽量避免的<sup>[18]</sup>。在检验特定生态因子的作用,或检验某些假说时,最好在不同尺度采取足够的样品,以便在分析中将空间因素剥离出来。从理论角度,最为严谨的方法是通过预实验对空间结构有初步的了解,然后再进行细致的实验<sup>[7, 16]</sup>。然而实际研究中由于财力人力及时间的限制,往往难于实现。虽然如此,当考虑空间作用时还是应该尽量满足研究需要。简言之,根据研究需要,在采样时应保持采样样本之间的距离足够的远,而重复之内距离足够的近,并满足一定的采样量。如果采样间距小于所研究生态因子的作用区域,可能会发现非常强烈的空间自相关性,从而检测不出作用关系;而如果跨度太大,则容易遗漏或忽略生态系统内部的结构及功能关系,这都是应该注意避免的<sup>[1, 5, 7]</sup>。

## 6 结语及展望

以上是对基于空间方法的微生物分析一个挂一漏万的陈述,主要侧重于对空间结构的考察,即狭义的空间分析。从广义上讲,考察空间效应的方法还有很多:如微生物种-面积关系,或距离-衰减关系的研究,此类生态视角的微生物研究即为直接针对尺度效应展开的,是对不同距离微生物差异性的探索,也是空间研究的一类<sup>[4]</sup>。另外将空间因素转换为分类变量因素进行考察也有实践,如葛源等将不同施肥类型的地块作为空间因子纳入分析,发现了较显著的空间影响<sup>[38]</sup>。另外,基于空间距离矩阵特征值分解的空间分析刚刚兴起,也可以用于微生物群落结构分析,是一种非常有力的分析方法,可用于区分空间和环境分别对微生物群落的影响<sup>[39]</sup>。总之,广义的空间研究是非常宽泛的,可以包容较多的方法,研究者可根据自己研究目的进行选择。在实验设计阶段即考虑到空间作用的影响,由此对采样区尺度,样本间距等关键参数有一个清晰的把握,尽量避免采样策略缺陷。分析数据要根据研究目的、待检验的假说采取适当的分析方法。本文仅从空间结构分析的角度对研究方法等进行梳理,论证了该视角的必要性及实行原则,以期对微生物生态研究起到推动作用。最后强调这样一点:空间分析只为人们提供了描述现象的手段,不管得到插值图还是经验方程,都是对现象的描述,空间本身与微生物群落特征没有因果关系,要分析现象及其背后的生态过程还必须要考虑具体的环境因素。当然,还是要有意识的使用空间分析手段,因为对不同空间尺度变化现象及规律的刻画,有助于对生态系统理解及解释。随着研究的深入,微生物生态势必与植被、动物及其他分支生态学科联系起来;作为地球上多样性最丰富的生物群,对其分布的空间考察定会对更好了解生态系统作用机制有积极推动作用。在后续的研究中,不同于平面的动植物空间分布研究,对微生物的空间研究仅仅在二维展开是不够的,因为微生物的分布不论在任何环境下都是立体的,是一个复杂的系统<sup>[10]</sup>,二维空间分析在微生物生态研究中仅仅是一个开始。总之,随着技术的发展,方法的成熟,对微生物生态的研究也一定会更加深入——但无论如何都离不开对

空间的考虑。

## Reference:

- [ 1 ] Kühn I. Incorporating spatial autocorrelation may invert observed patterns. *Diversity and Distributions*, 2007, 13 (1):66-69.
- [ 2 ] Legendre P, Fortin M J. Spatial pattern and ecological analysis. *Plant Ecology*, 1989, 80 (2):107-138.
- [ 3 ] Martiny J B H, Bohannan B J M, Brown J H, Colwell R K, Fuhrman J A, Green J L, Horner-Devine M C, Kane M, Krumins J A, Kuske C R, Morin P J, Naeem S, Ovreas L, Reysenbach A-L, Smith V H, Staley J T. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4 (2):102-112.
- [ 4 ] He J Z, Ge Y. Recent advances in soil microbial biogeography. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28 (11):5571-5582.
- [ 5 ] 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.
- [ 6 ] Ritz K, McNicol J W, Nunan N, Grayston S, Millard P, Atkinson D, Golotte A, Habeshaw D, Boag B, Clegg C D, Griffiths B S, Wheatley R E, Glover L A, McCaig A E, Prosser J I. Spatial structure in soil chemical and microbiological properties in an upland grassland. *FEMS Microbial Ecology*, 2004, 49 (2):191-205.
- [ 7 ] Green J, Bohannan B J M. Spatial scaling of microbial biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution (Personal Edition)*, 2006, 21 (9):501-507.
- [ 8 ] O'Malley M A. The nineteenth century roots of 'everything is everywhere'. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5 (8):647-651.
- [ 9 ] Dumont M, Jérôme H, Alain R, Jean Jacques G. Towards functional molecular fingerprints. *Environmental Microbiolog*, 2009, 11 (7):1717-1727.
- [ 10 ] Young I M, Crawford J W. Interactions and Self-Organization in the Soil-Microbe Complex. *Science*, 2004, 304 (5677):1634-1637.
- [ 11 ] Liebholt A M, Gurevitch. Integrating the statistical analysis of spatial data in ecology. *Ecography*, 2002, 25 (5):553-557.
- [ 12 ] Perry J, Liebholt A, Rosenber M, Dungan J, Miriti M, Jakomulska A, Citron-Pousty S. Illustrations and guidelines for selecting statistical methods for quantifying spatial pattern in ecological data. *Ecography*, 2002, 25 (5):578-600.
- [ 13 ] Keitt T, Bjoernstad O, Dixon P, Citron-Pousty S. Accounting for spatial pattern when modeling organism-environment interactions. *Ecography*, 2002, 25 (5):616-625.
- [ 14 ] Fierer N, Bradford M A, Jackson R B. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 2007, 88 (6):1354-1364.
- [ 15 ] Cho J C, Tiedje J M. Biogeography and Degree of Endemicity of Fluorescent *Pseudomonas* Strains in Soil. *Applied Environmental Microbiology*, 2000, 66 (12):5448-5456.
- [ 16 ] Franklin R B, Mills A L. Multi-scale variation in spatial heterogeneity for microbial community structure in an eastern Virginia agricultural field. *FEMS Microbial Ecology*, 2003, 44 (3):335-346.
- [ 17 ] Whitaker R J, Grogan D W, Taylor J W. Geographic Barriers Isolate Endemic Populations of Hyperthermophilic Archaea. *Science*, 2003, 301 (8):976-978.
- [ 18 ] Franklin R B, Mills A L. The Spatial Distribution of Microbes in the Environment. The Netherlands, Springer, 2007: 34-35, 42-44, 55.
- [ 19 ] Zuur A F, Ieno E N, Smith G M. Analysing Ecological Data. United States of America Springer, 2007: 347-355.
- [ 20 ] Fortin M J, Dale M R T. Spatial Analysis: a guide for ecologist. United Kingdom. Cambridge University Press, 2005: 3-6, 123-124, 135-138.
- [ 21 ] Moran P A. Notes on continuous stochastic phenomena. *Biometrika*, 1950, 37: 17-23.
- [ 22 ] Geary R C. The contiguity ratio and statistical mapping. *Incorporated Statistician*, 1954, 5: 115-145.
- [ 23 ] Legendre P, Legendre L. Numerical Ecology. Netherlands. Elsevier, 1998: 255-294, 718-732.
- [ 24 ] Cliff A D, Ord J K. Spatial Processes Models and Applications. London, Pion Ltd, 1981: p118-122
- [ 25 ] Sokal R R. Testing Statistical Significance of Geographic Variation Patterns. *Systematic Zoology*, 1979, 28 (2):227-232.
- [ 26 ] Oden N L, Sokal R R. Directional autocorrelation: an extension of spatial correlograms in two directions. *Systematic Zoology*, 1986, 35, 608-617.
- [ 27 ] Mantel N. The Detection of Disease Clustering and a Generalized Regression Approach. *Cancer Research*, 1967, 27 (2\_Part\_1):209-220.
- [ 28 ] Lilleskov E A, Thomas D B, Thomas R H, Taylor D, Paul G. Detection of forest stand-level spatial structure in ectomycorrhizal fungal communities. *FEMS Microbial Ecology*, 2004, 49 (2):319-332.
- [ 29 ] Izzo A, Josephine A, Thomas D B. Detection of plot-level changes in ectomycorrhizal communities across years in an old-growth mixed-conifer forest. *New Phytologist*, 2005, 166 (2):619-630.
- [ 30 ] Bachmaier M, Backes M. Variogram or semivariogram? Understanding the variances in a variogram. *Precision Agriculture*, 2008, 9 (3):173-175.
- [ 31 ] Li H B, Wang Z Q, Wang Q C. Theory and methodology of spatial heterogeneity quantification. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1998, 9 (6): 651-657.

- [32] Saetre P, Bååth E. Spatial variation and patterns of soil microbial community structure in a mixed spruce-birch stand. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32 (7):909-917.
- [33] Goovaerts P. Geostatistical tools for characterizing the spatial variability of microbiological and physico-chemical soil properties. *Biology and Fertility of Soils*, 1998, 27 (4):315-334.
- [34] Robertson G P. Geostatistics in Ecology: Interpolating With Known Variance. *Ecology*, 1987, 68 (3):744-748.
- [35] Becker J, Parkin T, Nakatsu C, Wilbur J, Konopka A. Bacterial Activity, Community Structure, and Centimeter-Scale Spatial Heterogeneity in Contaminated Soil. *Microbial Ecology*, 2006, 51 (2):220-231.
- [36] Philippot L, Jiri C, Nicolas P A S, Dominique C, Alicia C, David B, Dominique A, Fabrice M L, Miloslav . Mapping field-scale spatial patterns of size and activity of the denitrifier community. *Environmental Microbiology*, 2009, 11 (6):1518-1526.
- [37] Wu J, Jones K B, Li H, Loucks O L. *Scaling and Uncertainty Analysis in Ecology*. Netherlands, Springer, 2006: 5-16
- [38] Ge Y, He J Z, Zhu Y G, Zhang J B, Xu Z, Zhang L M, Zheng Y M. Differences in soil bacterial diversity: driven by contemporary disturbances or historical contingencies?. *The ISME Journal*, 2008, 2 (3):254-264.
- [39] Borcard D, Legendre P. All-scale spatial analysis of ecological data by means of principal coordinates of neighbour matrices. *Ecological Modelling*, 2002, 153 (1/2):51-68.

#### 参考文献:

- [4] 贺纪正,葛源. 土壤微生物生物地理学研究进展. *生态学报*, 2008, 28(11): 5571-5582.
- [31] 李哈尔滨,王政权,王庆成. 空间异质性定量研究理论与方法. *应用生态学报*, 1998, 9(6): 651-657.