

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

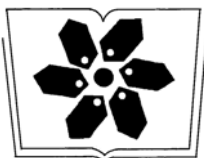
Acta Ecologica Sinica



第 33 卷 第 21 期 Vol.33 No.21 **2013**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 33 卷 第 21 期 2013 年 11 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

- 生态系统生产总值核算:概念、核算方法与案例研究..... 欧阳志云,朱春全,杨广斌,等 (6747)
- 气候变化对传染病爆发流行的影响研究进展..... 李国栋,张俊华,焦耿军,等 (6762)
- 好氧甲烷氧化菌生态学研究进展 负娟莉,王艳芬,张洪勋 (6774)
- 氮沉降强度和频率对羊草叶绿素含量的影响..... 张云海,何念鹏,张光明,等 (6786)
- 世界蜘蛛的分布格局及其多元相似性聚类分析..... 申效诚,张保石,张 锋,等 (6795)
- 风向因素对转基因抗虫棉花基因漂移效率的影响..... 朱家林,贺 娟,牛建群,等 (6803)

个体与基础生态

- 长江口及东海春季底栖硅藻、原生动物和小型底栖生物的生态特点 孟昭翠,徐奎栋 (6813)
- 长江口横沙东滩围垦潮滩内外大型底栖动物功能群研究..... 吕巍巍,马长安,余 骥,等 (6825)
- 沔阳沿岸土壤和优势植物重金属富集特征和潜在生态风险..... 杨 阳,周正朝,王欢欢,等 (6834)
- 盐分和底物对黄河三角洲区土壤有机碳分解与转化的影响..... 李 玲,仇少君,檀菲菲,等 (6844)
- 短期夜间低温胁迫对秋茄幼苗碳氮代谢及其相关酶活性的影响..... 郑春芳,刘伟成,陈少波,等 (6853)
- 32 个切花菊品种的耐低磷特性 刘 鹏,陈素梅,房伟民,等 (6863)
- 年龄和环境条件对泥蚶富集重金属镉和铜的影响..... 王召根,吴洪喜,陈肖肖,等 (6869)
- 角倍蚜虫瘿对盐肤木光合特性和总氮含量的影响..... 李 杨,杨子祥,陈晓鸣,等 (6876)
- 多噬伯克霍尔德氏菌 WS-FJ9 对草甘膦的降解特性 李冠喜,吴小芹,叶建仁 (6885)
- 金龟甲对蓖麻叶挥发物的触角电位和行为反应..... 李为争,杨 雷,申小卫,等 (6895)

种群、群落和生态系统

- 白洋淀生态系统健康评价..... 徐 菲,赵彦伟,杨志峰,等 (6904)
- 珠海鹤洲水道沿岸红树林湿地大型底栖动物群落特征 王 卉,钟 山,方展强 (6913)
- 典型森林和草地生态系统呼吸各组分间的相互关系..... 朱先进,于贵瑞,王秋凤,等 (6925)
- 抚育间伐对油松人工林下大型真菌的影响..... 陈 晓,白淑兰,刘 勇,等 (6935)
- 百山祖自然保护区植物群落 beta 多样性 谭珊珊,叶珍林,袁留斌,等 (6944)
- 土霉素对堆肥过程中酶活性和微生物群落代谢的影响..... 陈智学,谷 洁,高 华,等 (6957)

景观、区域和全球生态

- 兴安落叶松针叶解剖结构变化及其光合能力对气候变化的适应性 季子敬,全先奎,王传宽 (6967)
- 盐城海滨湿地景观演变关键土壤生态因子与阈值研究..... 张华兵,刘红玉,李玉凤,等 (6975)

半干旱区沙地芦苇对浅水位变化的生理生态响应 马赞花,张铜会,刘新平 (6984)

SWAT 模型融雪模块的改进 余文君,南卓铜,赵彦博,等 (6992)

科尔沁沙地湖泊消涨对气候变化的响应..... 常学礼,赵学勇,王 玮,等 (7002)

贝壳堤岛 3 种植被类型的土壤颗粒分形及水分生态特征..... 夏江宝,张淑勇,王荣荣,等 (7013)

三峡库区古夫河着生藻类叶绿素 a 的时空分布特征及其影响因素..... 吴述园,葛继稳,苗文杰,等 (7023)

资源与产业生态

煤炭开发对矿区植被扰动时空效应的图谱分析——以大同矿区为例..... 黄 翌,汪云甲,李效顺,等 (7035)

学术信息与动态

《中国当代生态学研究》新书推介 刘某承 (7044)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 300 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 30 * 2013-11



封面图说: 百山祖保护区森林植物群落——百山祖国家级自然保护区位于浙西南闽浙交界处,由福建武夷山向东北伸展而成,主峰海拔 1856.7m,为浙江省第二高峰。其独特的地形和水文地理环境形成了中亚热带气候区中一个特殊的区域,保存着十分丰富的植物种质资源以及国家重点保护野生动植物种,尤其是 1987 年由国际物种保护委员会列为世界最濒危的 12 种植物之一的百山祖冷杉,是第四纪冰川的孑遗植物,素有“活化石”之称。随着海拔的升高,其植被为常绿阔叶林、常绿-落叶阔叶混交林、针阔混交林、针叶林、山地矮林和山地灌草丛。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@ 163.com

DOI: 10.5846/stxb201207171013

贡娟莉, 王艳芬, 张洪勋. 好氧甲烷氧化菌生态学研究进展. 生态学报, 2013, 33(21): 6774-6785.

Yun J L, Wang Y F, Zhang H X. Ecology of aerobic methane oxidizing bacteria (methanotrophs). Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(21): 6774-6785.

好氧甲烷氧化菌生态学研究进展

贡娟莉, 王艳芬*, 张洪勋

(中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 好氧甲烷氧化菌是以甲烷为碳源和能源的细菌。好氧甲烷氧化菌在自然环境中分布广泛, 人类已从土壤、淡水和海洋沉积物、泥炭沼泽、热泉、海水和南极环境分离到甲烷氧化菌的纯培养。好氧甲烷氧化菌可分为 14 个属, 包括研究较为深入的隶属于变形菌门 Alpha 和 Gamma 纲的细菌, 以及属于疣微菌门的极端嗜热嗜酸甲烷氧化菌。最近, 好氧甲烷氧化菌还被发现存在于苔藓类植物(尤其是泥炭苔藓)共生体中, 兼性营养好氧甲烷氧化菌也被发现。通过对好氧甲烷氧化菌的分类、生理生化特征、分子生物学检测方法以及微生物生态学中的研究成果的总结与分析, 以及对甲烷氧化菌研究所面临的问题进行讨论, 以期今后进一步开展好氧甲烷氧化菌及其在碳循环中的作用研究提供参考。

关键词: 好氧甲烷氧化菌; 微生物生态; 分类学地位; 多样性; 碳循环

Ecology of aerobic methane oxidizing bacteria (methanotrophs)

YUN Juanli, WANG Yanfen*, ZHANG Hongxun

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

Abstract: Aerobic methane oxidizing bacteria (methanotrophs) are a fascinating group of bacteria that have the unique ability to grow on methane as their sole carbon and energy source. They appear to be widespread in nature and have been isolated from a number of different environments. There are now 14 recognized genera of methanotrophs belong to two phyla, Proteobacteria and thermoacidiphilic Verrucomicrobia. The former was well studied and separated into two classes, Type I and Type II methanotrophs, which belong to Alpha and Gamma Proteobacteria. Extremely thermophilic, acidophilic methanotrophs from the phylum Verrucomicrobia have been isolated, thus expanding both the taxonomic diversity and physiological range of aerobic methanotrophy.

The discovery of the facultative methanotroph *Methylocella silvestris* has changed the view that methanotrophs were obligate organism. They can cooxidize a considerable number of organic compounds and also have considerable potential in biotechnology. A wide variety of methanotrophic symbionts in and on the mosses were recently detected, and showing the global prevalence of this symbiosis. Traditional way used cultivation to enrichment or isolation to study methanotrophs in the environment. Molecular ecology techniques applied in the last few decades have greatly expanded our knowledge of methanotroph ecology. The most obvious marker for detecting methanotrophs in various environments is the 16S rRNA gene, due to the large database of sequences available. Primers and probes targeting different genera or species have been designed and used extensively in combination with polymerase chain reaction (PCR) based clone library analysis, denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) analysis, and fluorescent in situ hybridization (FISH) analysis. Several functional genes have also been used for the detection of methanotrophs in environmental samples, including *pmoA* (encoding the key subunits of particulate methane monooxygenase), *mmoX* (encoding the key subunits of soluble methane monooxygenase),

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(41271277/D010504)

收稿日期: 2012-07-17; 修订日期: 2013-04-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yfwang@ucas.ac.cn

mxrA (encoding the key subunits of methanol dehydrogenase), *nifH* (encoding the dinitrogenase reductase), and genes involved in C1 transfer pathways. To understand the active community of methanotrophs in the environment, stable isotope probing (SIP) techniques have been developed, including DNA-SIP, RNA-SIP, mRNA-SIP, and phospholipid fatty acid (PLFA)-SIP. SIP has also been combined with metagenomics to discover novel methanotrophs. Other very powerful molecular techniques have been developed in the last few years, including microautoradiography (MAR)-FISH, isotope array, Raman-FISH, nano-secondary ion mass spectrometry (NanoSIMS), and microfluidic digital PCR, these techniques can now be used in the analyses of methanotrophs. Both cultivation and cultivation independent molecular methods have been used intensively in last few decades to study the diversity, distribution, and abundance in environments of methanotrophs, such as soils, freshwater, marine sediments, acid peat bogs, hot springs, seawater and extreme environments. In the microcosm of soil, the growth and diversity of methanotrophs are also influenced by several environmental factors. This review highlights recent progress in the research of the taxonomy, of the discovery of novel aerobic methanotrophs, of the biochemistry, of the molecular techniques and the environment impacts on methanotrophs, we also emphasize deficiencies and issues need to be solved in future studies. This review will provide theoretical foundation for future methanotrophic ecology study and explain the key role methanotrophs play in carbon cycle.

Key Words: methanotrophs; microbial ecology; taxonomy; diversity; carbon-cycle

甲烷是大气中仅次于二氧化碳的第二号温室气体。虽然大气中的甲烷的含量仅为二氧化碳的 1/27,但甲烷引起的温室效应是同等质量二氧化碳的 20—30 倍^[1]。造成甲烷浓度升高的主要成因有人为和自然两种因素^[2]。人为活动造成的甲烷排放约占总排放量的 70%左右(图 1),包括水稻种植、垃圾填埋以及生物质燃烧;自然界甲烷排放的主要来源包括自然湿地、植物以及海洋^[3]。

大气中甲烷通过数量级相近的源(Source)和汇(Sink)达到平衡,随着大气中甲烷浓度的增加,甲烷的汇也成相应比例增加,从而一定程度上削弱了甲烷源增加造成的环境气候影响,因而实际产生的甲烷量要比测得的排放量大的多^[4-5]。一直以来,甲烷汇的增长小于总甲烷源的增长,从而导致工业革命以来大气中甲烷浓度的持续稳定增长^[3]。好氧甲烷氧化菌是重要的甲烷的汇,在环境中起着甲烷生物过滤器的作用,它们能使高达 90%由产甲烷古菌所产生的甲烷在排入大气之前被氧化^[6-7]。环境中存在两类截然不同的甲烷氧化菌,好氧甲烷氧化菌(Methanotrophs)和厌氧甲烷氧化菌。

好氧甲烷氧化菌主要存在于甲烷与氧气共存的微小界面空间,包括土壤-空气、水-空气界面、植物根际以及植物内部。大量有关好氧甲烷氧化菌的研究工作显示,该类微生物能适应各种环境。人类对于好氧甲烷氧化菌的研究已较为深入,这些研究不断加深人类对全球甲烷循环的认知。本文就好氧甲烷氧化菌的生理生化及分类学特点、生态学地位以及微生物生态学研究方法进行全面的综述,以此阐明好氧甲烷氧化菌在全球碳循环中的重要作用。

1 好氧甲烷氧化菌分类及生理生化特征

1.1 好氧甲烷氧化菌分类

好氧甲烷氧化菌(Aerobic methanotrophs)是以甲烷作为唯一碳源和能源的微生物,是甲基营养细菌(Methylotrophic bacteria)的一个分支^[8]。好氧甲烷氧化菌于 1906 年首次被荷兰微生物学家 Sohngen 分离出来^[9]。1970 年 Whittenbury 等^[10]对分离和鉴定的 100 多种好氧甲烷氧化菌进行了分类,这些分类方法至今仍是鉴定好氧甲烷氧化菌强有力的依据。在 Whittenbury 等的基础上,Bowman 等采用分离方法对更多好氧甲烷氧化菌进行了保存,并进行了更加系统的分类和描述^[11-15]。

已知的好氧甲烷营养菌可分为 Type I 型和 Type II 型两类,分属于 γ -Proteobacteria 纲和 α -Proteobacteria 纲。Type I 型好氧甲烷氧化菌属于 Methylococcaceae 科,包含 *Methylobacter*, *Methylomonas*, *Methylosoma*, *Methylomicrobium*, *Methylococcus*, *Methylocaldum*, *Methylothermus*, *Methylohalobius*, *Methylosarcina* 和 *Methylosphaera*

10 个属。Type I 型好氧甲烷氧化菌中的 *Methylococcus* 和 *Methylocaldum* 也被称为 TypeX 型好氧甲烷营养菌, 是一类耐热的甲烷氧化菌, 其生理生化及系统发育学特征与其他 Type I 型甲烷氧化菌有所不同。Type II 型好氧甲烷氧化菌归属于 *Methylocystaceae* 和 *Beijerinckiaceae* 2 个科, 前者包含 *Methylocystis* 和 *Methylosinus* 属, 后者有 *Methylocapsa* 和 *Methylocella* 属。科学家获得的第 1 株兼性好氧甲烷氧化菌 *Methylocella silvestris* 为 Type II 型甲烷氧化菌。该菌除能利用甲烷外, 还能利用多碳化合物作为碳源^[16-17]。后来, 两种属于 Type I 型好氧甲烷氧化菌的丝状甲烷氧化菌 *Crenothrix polyspora*^[18] 和 *Clonothrix fusca*^[19] 被发现, 这 2 种甲烷氧化菌形成了一个独特的 Type I 型甲烷氧化菌分支。值得注意的是, *Nature* 和 *PNAS* 杂志报道了 3 株极端嗜酸嗜热 (pH 值 1.5, 65 °C) 的好氧甲烷氧化菌: *Methylokorus infernorum*^[20]、*Acidimethylosilex fumarolicum*^[21] 和 *Methyloacida kamchatkensis*^[22], 它们不属于任何一类已知的好氧甲烷氧化菌, 而是属于疣微菌门 (*Verrucomicrobia*), 研究人员将其命名为 *Methylacidiphilum* 属^[23]。图 1 是依据 16S rRNA 序列绘制的各好氧甲烷氧化菌分支之间的系统进化树。

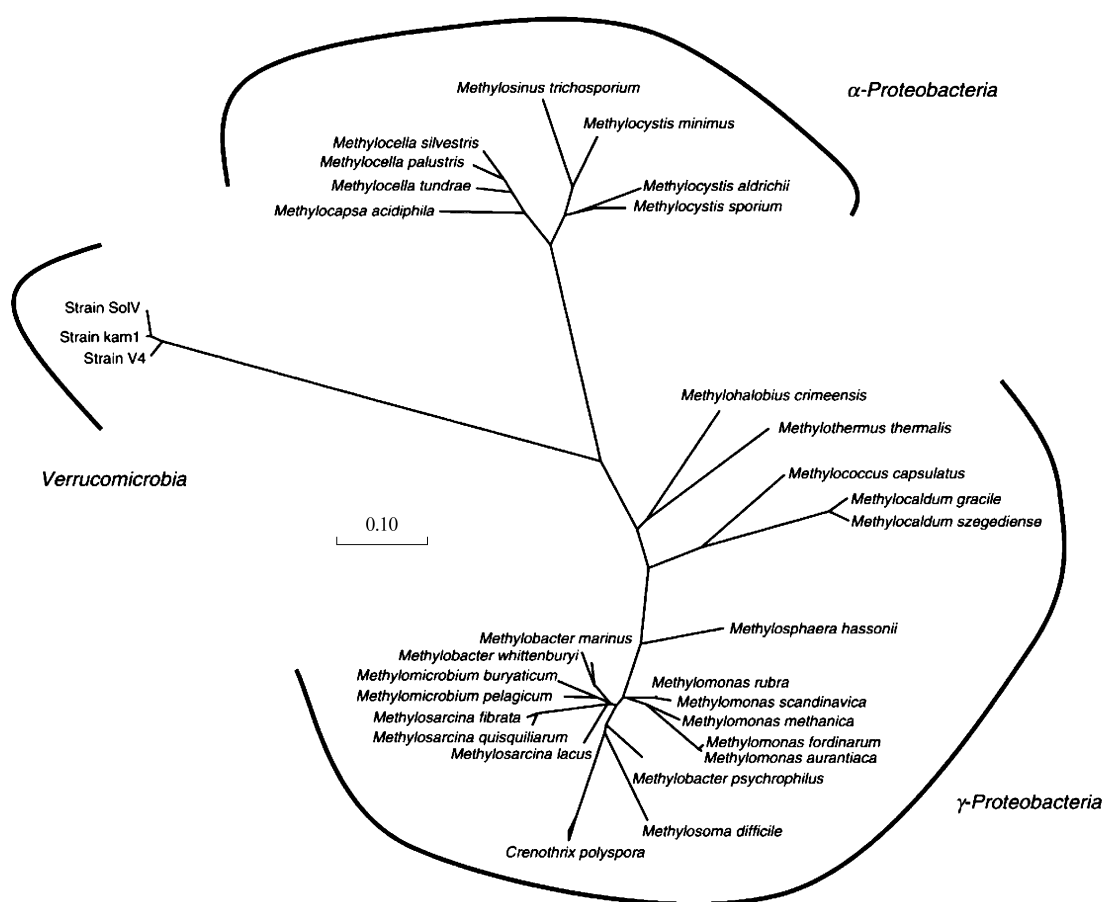


图 1 基于 16S rRNA 序列的好氧甲烷氧化菌进化树^[24]

Fig.1 16S rRNA gene phylogeny of the aerobic methane oxidizing bacteria

Type I 和 Type II 型好氧甲烷氧化菌除系统发育学有各自特点外, 在形态学上也具明显差异, Type I 型甲烷氧化菌具有成束的分布于细胞质内的胞质内膜 (图 2a), 而 Type II 型甲烷氧化菌一般只含有紧贴外壁的胞质内膜 (图 2b)^[24]。

1.2 好氧甲烷氧化菌生理生化特征

环境中由好氧甲烷氧化菌推动的甲烷氧化主要过程为: 好氧甲烷氧化菌首先利用自身携带的甲烷单加氧酶 (Methane monooxygenase, MMO) 催化甲烷氧化为甲醇, 甲醇接着被甲醇脱氢酶催化氧化生成甲醛。最后, 好氧甲烷氧化菌通过丝氨酸途径 (Serine pathway) 或单磷酸核酮糖途径 (RuMP pathway) 将甲醛转化为细胞

物质^[25]。

好氧甲烷氧化菌中存在 2 种甲烷单加氧酶:一种是与细胞膜结合,含铜、铁离子的颗粒性甲烷单加氧酶(Particulate methane monooxygenase, pMMO),存在于除 *Methylocella*^[26] 及 *Methyloferula*^[27] 以外的所有已发现的好氧甲烷氧化菌中;另一种是分泌在周质空间中的可溶性甲烷单加氧酶(Soluble methane monooxygenase, sMMO),存在于部分甲烷氧化菌中。由于 MMO 是甲烷氧化菌的功能酶系,且几乎所有好氧甲烷氧化菌都含有 pMMO,因此利用 MMO(尤其是 *pmoA*, 编码 pMMO 的一段基因)作为生物标记物进行好氧甲烷氧化菌生态学研究已广为采用。部分好氧甲烷氧化菌,如所有 Type II 型甲烷氧化菌、Type I 型甲烷氧化菌的 *Methylomonas*、*Methylobacter* 和 *Methylococcus* 属,除有氧化甲烷能力外,还有固氮能力。因此,利用 *nifH* 基因也可对该类好氧甲烷氧化菌进行分子生态学研究^[28]。对于 MMO 的应用研究主要集中在两方面:一是通过基因突变等手段,对好氧甲烷氧化菌编码 MMO 等蛋白的基因进行改造,从而满足不同工业催化的需要,例如提高 MMO 的活性、改变 MMO 的底物范围、提高其对金属离子的耐受性等;二是通过代谢工程手段,向好氧甲烷氧化菌内部引入外源基因,利用甲烷氧化菌为载体生产高附加值的工业产品,如表达生产蛋白等生物产品^[29]。

2 好氧甲烷氧化菌分子生态学研究方法

传统方法是利用 NMS 及 ANMS 等无机盐培养基对好氧甲烷氧化菌进行富集培养或者菌株分离^[10]。分子微生物生态学方法的出现及应用极大扩展了人类对甲烷氧化菌的认知范围。

最常用的好氧甲烷氧化菌的分子标记物是 16S rRNA 基因,该项应用主要基于大量的 16S rRNA 基因数据库。针对好氧甲烷氧化菌各属或菌株的特异性引物和探针已有大量报道,这些引物与以 PCR 技术为基础的克隆文库(Clone library)、变形梯度凝胶电泳(DGGE)、荧光原位杂交(FISH)等分析技术相结合,在环境微生物生态研究中发挥重要作用^[30]。但也会由于引物特异性不足,而造成非特异性扩增,因此在以 16S rRNA 基因为对象研究环境中好氧甲烷氧化菌时需考虑到这一因素。除了 16S rRNA 基因之外,功能基因也是研究环境中好氧甲烷氧化菌的强有力工具,这些功能基因包括 *mmoX*、*pmoA*、*mxoF* 及 *nifH*^[28]。

DGGE 和末端限制多态性研究(T-RFLP)为对比大量环境样品中甲烷氧化菌多样性差异提供了快速、灵敏的技术。许多针对这 2 种方法设计的 16S rRNA 基因和功能基因引物为研究环境中好氧甲烷氧化菌多样性提供了强有力的工具^[30]。另外一种研究环境中甲烷氧化菌的高通量方法是生物芯片技术,尽管生物芯片最初是作为基因组表达分析的研究工具,但基因诊断芯片已成功开发并已应用于环境中好氧甲烷氧化菌的检测^[31]。为了定量环境中好氧甲烷氧化菌的数量,可培养方法(最大释然法,即 MPN 法)和不依赖培养的分子生物学方法(Real-time PCR 和 FISH)均被使用^[30]。这 2 种方法各有利弊,MPN 技术依赖于特定培养基中甲烷氧化菌的生长情况,具有很大的偏好性;分子生物学技术虽不需培养,但很大程度上取决于环境样品的类型和质量好坏。为了检测研究环境样品中活跃的甲烷氧化菌群,稳定同位素探针技术(SIP)应运而生。这项应用技术包括 DNA-SIP^[32]、RNA-SIP^[33]、磷脂脂肪酸(PLFA)-SIP^[34]以及最新使用的 mRNA-SIP^[35]。除此外,SIP 技术也和宏基因组学相结合用于发现新的好氧甲烷氧化菌^[36]。除了以上常用的分子生态学研究方法外,其他研究工具也逐渐被引入环境好氧甲烷氧化菌的研究,例如显微镜放射自显影(MAR)-FISH^[37-38]、同位

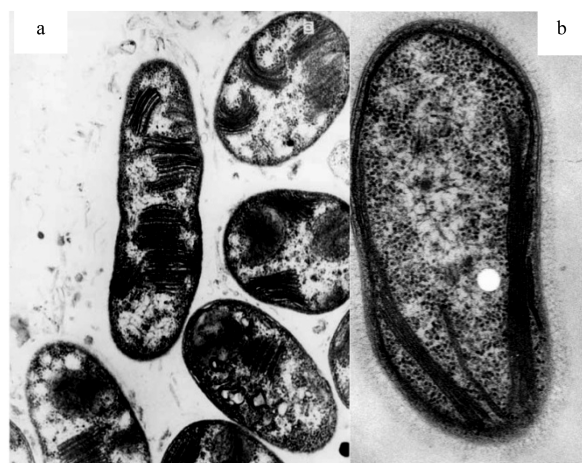


图2 Type I 型好氧甲烷氧化菌代表菌 *Methylomonas methanica* 电镜照片(a); Type II 型好氧甲烷氧化菌代表菌 *Methylosinus trichosporium* 电镜照片(b)^[24]

Fig.2 Electron micrograph of a cross-section of a typical Type I methanotroph *Methylomonas methanica* (a); Electron micrograph of a cross-section of a typical Type II methanotroph *Methylosinus trichosporium* (b)^[24]

素芯片^[39]、Raman-FISH^[40]、纳米二次离子质谱(NanoSIMS)^[41]和微流体数字 PCR^[42]。这些技术检出限更高、可同时检测多个样品且能直接给出所测定菌株或菌群的功能特征。

3 好氧甲烷氧化菌的生态学研究

过去几十年中,培养及不依赖培养的分子生态学方法已经被广泛用于各种环境中好氧甲烷氧化菌的多样性、分布及丰度研究,如稻田、垃圾填埋场、淡水和淡水沉积物、海水、山地土壤以及极端环境。

稻田是大气甲烷的主要来源之一,全球人口激增导致大米需求增加,故而稻田甲烷排放量呈增加趋势。研究表明稻田中好氧甲烷氧化菌多样性较高^[43],包括 *Methylomonas*、*Methylobacter*、*Methylomicrobium*、*Methylococcus*、*Methylocaldum*、*Methylocystis* 和 *Methylosinus* 属。有关稻田中何种好氧甲烷氧化菌占据优势,各地研究结果并不一致。陆雅海等经研究发现,水稻根部对 Type I 型好氧甲烷氧化菌具有选择性,且水稻根部比根际土壤中 Type I 型好氧甲烷氧化菌更为丰富^[44]。另有报道认为水稻根系对 Type I 型好氧甲烷氧化菌的偏好不受水稻物种的影响。除 *Methylocaldum* 属的好氧甲烷氧化菌多在热带地区被发现外,稻田中的好氧甲烷氧化菌在全球范围内并没有明显的地域性特征。研究者认为 Type I 型好氧甲烷氧化菌成为水稻根际优势菌群的原因在于其能适应较广的 O_2/CH_4 范围。再者,水稻根系的 O_2 浓度非常不稳定,不适宜 Type II 型好氧甲烷氧化菌的生长^[45]。与以上结果相反,Luke 等人通过 T-RFLP 和基因诊断芯片技术对 18 种不同水稻品种进行研究,发现这些水稻根系中以 Type II 和 TypeX 型好氧甲烷氧化菌为主,并显示出极大的多样性,该研究小组还指出水稻根部的好氧甲烷氧化菌群落组成受水稻基因型影响很大^[46]。郑勇等^[47]研究发现 Type II 型甲烷氧化菌在长期施肥的水稻土壤中占优势,定量 PCR 结果发现所有处理中 Type II 型甲烷氧化菌的数量是 Type I 型好氧甲烷氧化菌的 1.88 至 3.32 倍。不同施肥处理对甲烷氧化菌的菌群组成有所影响。长期施氮磷钾和秸秆的处理(NPK+C)、施氮肥和钾肥(NK)处理的稻田土壤中 Type II 型甲烷氧化菌的数量明显比对照高,表明长期施肥对 Type II 型甲烷氧化菌的生长有促进作用。稻田中甲烷氧化菌的分布和丰度受很多因素的影响,如氧气的可用性及水稻的生长时期等因素^[48]。在稻田土壤中,高氧气、低甲烷的环境利于 Type I 型好氧甲烷氧化菌的生长,反之则利于 Type II 型甲烷氧化菌的生长^[49]。Shrestha 等研究发现,无论施肥与否,在水稻各个生长阶段,根际土壤中好氧甲烷氧化菌以 Type II 型为主,而水稻根部则以 Type I 型为主^[50]。

垃圾填埋场是重要的甲烷排放源,填埋场中由有机物降解每年排放的甲烷约有 36—73 Tg^[51],占全球甲烷排放总量的 6%—12%。这些甲烷主要靠填埋点土壤覆盖层中的好氧甲烷氧化菌降解^[52-53]。由好氧甲烷氧化菌进行的甲烷氧化变化较大,根据研究地点的不同,从 10%至 100%不等^[54]。经研究发现其中的好氧甲烷氧化菌包括 *Methylobacter*、*Methylosarcina*、*Methylomicrobium*、*Methylocystis* 和 *Methylosinus* 属,并以 *Methylobacter* 和 *Methylocystis* 属为主,分子生物学方法则显示其多样性更大^[55]。Cebron 等^[56]与 Chen 等^[57]分别利用稳定同位素培养方法(DNA-SIP)和 mRNA 的方法,结合分子生态学分析了 Roscommon 垃圾填埋场覆盖层中活性好氧甲烷氧化菌菌群的 16S rRNA 基因及功能基因(*pmoA*,*mmoX*),前者发现在该处微酸土壤环境中,Type I 型的 *Methylobacter* 和 *Methylomonas* 属,Type II 型的 *Methylocella*、*Methylocapsa* 和 *Methylocystis* 属好氧甲烷氧化菌都在甲烷氧化过程中起重要作用。Chen 等研究发现 Type I 型 *Methylobacter*、*Methylosarcina* 和 *Methylomonas* 属,Type II 型 *Methylocella* 和 *Methylocystis* 属好氧甲烷氧化菌都在甲烷氧化过程中起重要作用。这两个研究结果互相支撑,相互补充,证明了 DNA-SIP 和 mRNA 都是研究环境中活性好氧甲烷氧化菌菌群的有力工具。Yang 等^[58]研究了不同剂量铵态氮对垃圾填埋场表层土壤好氧甲烷氧化菌群落组成的影响,发现 NH_4^+ 不同剂量显著影响 Type II/Type I 型甲烷氧化菌的比例,在每公斤干重土壤施加 100 mg NH_4^+ 时,该比值达到最小,说明 NH_4^+ 的施加对 Type II 型好氧甲烷氧化菌有抑制作用,对 Type I 型甲烷氧化菌的生长有促进作用。该研究指出适当施加铵态氮对减少垃圾填埋场的甲烷排放有显著作用。

淡水和淡水沉积物是大气甲烷的又一重要来源,该类环境中好氧甲烷氧化菌主要以 Type I 型甲烷氧化菌中的 *Methylomonas*、*Methylobacter*、*Methylosarcina*、*Methylococcus* 和 *Methylosoma* 属为主。在对华盛顿湖沉积物的研究中发现,Type I 型比 Type II 型好氧甲烷氧化菌多 1—2 个数量级^[59]。另外,在康士坦茨湖中,Type I 型

甲烷氧化菌占 *pmoA* 的克隆文库序列的 90%^[60]。Dumont 等利用 DNA-SIP 和 mRNA-SIP 相结合的方法,发现在 Stechlin 湖中也以 Type I 型甲烷氧化菌为主要菌群^[35]。张洪勋等通过对我国两处淡水沼泽湿地研究发现:我国青藏高原若尔盖永冻土湿地中好氧甲烷氧化菌仅有 *Methylobacter* 属和 *Methylocystis* 两个属,且以 Type I 型甲烷氧化菌为优势菌群,不同植被覆盖的泥炭沼泽中好氧甲烷氧化菌数量有所不同^[61-62];对我国东北地区松嫩平原向海湿地中好氧甲烷氧化菌多样性进行研究,发现向海湿地好氧甲烷氧化菌多样性与淡水湖泊相似,较若尔盖高寒湿地种类多,但仍以 Type I 型甲烷氧化菌的 *Methylobacter* 属为优势菌群^[63]。研究的两个湿地中均有与 *Methylococcus* 属甲烷氧化菌相似度较高的新的甲烷氧化菌存在。另外,这 2 个湿地中 *Methylobacter* 属的甲烷氧化菌亲缘关系相近,表明我国自然湿地中甲烷氧化菌具有地域性特点。

对海水和海洋沉积物中甲烷氧化菌的研究相对较少,虽然从海水中分离到了 *Methylomonas* 和 *Methylomicrobium* 属的甲烷氧化菌,但分子生态学方面的研究却证明不可培养的好氧甲烷氧化菌 *Methylococcaceae* 科的甲烷氧化菌在海洋水体中占主导地位^[64]。还有研究发现 OPU1, OPU3 和 Group X 是深海中占主导地位的好氧甲烷氧化菌,其中 OPU1 和 OPU3 菌群在墨西哥湾和 Santa Monica 海湾具有生长优势,且其在甲烷溪流的数量比非甲烷溪流中多 50 多倍,Group X 则在加利福尼亚海岸中占优势,其生长不受甲烷溪流的影响^[65]。在黑海浅海中发现了好氧甲烷氧化菌,Type I 和 II 型好氧甲烷氧化菌各占细菌总数的 2.5%,在深海中参与甲烷氧化的菌群则主要是 ANME-1 和 ANME-2 厌氧甲烷氧化菌^[66]。

山地和森林是大气甲烷主要的汇,这些环境中的好氧甲烷氧化菌对大气甲烷有很高的亲和力,并以 Type II 型的 *Methylocystis* 属,山地土壤菌群 α (USC α) 和 γ (USC γ) 的甲烷氧化菌为主。Kolb 等^[67]发现“USC α ”型甲烷氧化菌是酸性森林土壤中的主要菌群,而“Cluster I”则在中性森林土壤中占优势,研究者认为这两种甲烷氧化菌能适应低甲烷浓度环境主要是由于其细胞特异性的甲烷氧化能力。Horz 等^[68]在加利福尼亚山地土壤中发现 3 个不同的甲烷氧化菌分支,这些分支与已报道的 RA14 或 VB5FH-A 种群类似,这些甲烷氧化菌菌群是典型的大气甲烷氧化菌群,其对气候变暖的响应程度与 Type II 型甲烷氧化菌不同。Mohanty 等^[69]研究发现,森林中的甲烷氧化菌以 Type II 型的 *Methylocystis* 属为主,且有 Type I 型的 *Methylomicrobium* 和 *Methylosarcina* 属甲烷氧化菌存在。Menyailo 等^[70]对西伯利亚森林中不同树种的土壤中好氧甲烷氧化菌的菌群组成及丰度进行了调查,发现该地土壤中以 USC α 为主要甲烷氧化菌群,树种的不同并不会影响甲烷氧化菌的菌群组成,但会影响土壤甲烷氧化速率,造成这一结果的原因可能是树种的不同会影响甲烷氧化菌的单个细胞活性,但并不会影响其周围土壤中甲烷氧化菌的种类,这一过程是通过控制土壤中氮循环完成的。有研究者推测,USC α 和 USC γ 为不可培养的可在大气低浓度甲烷下生长的甲烷氧化菌。另一种解释则认为在高山和森林中的好氧甲烷氧化菌以木质素降解产物甲醇作为能源和碳源。直到近期,Baani 和 Liesack^[71]发现在 *Methylocystis* sp. SC2 中存在一种特殊的 pMMO 酶,该酶对甲烷的亲和力不同,由此可解释为什么 *Methylocystis* 属的甲烷氧化菌能在山地和森林,以及其他环境中普遍存在。

极端环境中的好氧甲烷氧化菌研究一直备受关注。从酸性泥炭沼泽土壤和酸性森林土壤中分离出的属于 *Methylocella* 和 *Methylocapsa* 属的好氧甲烷氧化菌^[72-73];从嗜盐和嗜碱环境中分离到的属于 *Methylomicrobium* 属和 *Methylohalobius* 的好氧甲烷氧化菌^[74-75];从永冻土地区分离出的嗜冷甲烷氧化菌 *Methylobacter psychrophilus*、*Methylosphaera hansonii* 和 *Methylomonas scandinavica*^[13, 76],这些 Type I 型甲烷氧化菌生长于低温环境中(5—15 °C)并且 G+C 含量较低;以及从热泉中分离的嗜热甲烷氧化菌 *Methylococcus capsulatus* Bath^[10]、*Methylocaldum* spp.^[77-78] 和 *Methylothermus thermalis*^[79]。最为引人瞩目的是从世界不同区域火分离的疣微菌门(Verrucomicobia)的 3 株极端嗜热嗜酸甲烷氧化菌^[20-22],这些好氧甲烷氧化菌细胞内含有与其他菌株不同的 *pmoA* 基因,表明它们对碳的代谢和吸收可能有另外的途径。对于疣微菌门好氧甲烷氧化菌物理化学特征及分类学地位,Op den Camp 等人给予了详细的综述^[23]。人类对极端环境中好氧甲烷氧化菌的探索有待进一步深入,相信将来还会有更多极端环境中的好氧甲烷氧化菌被发现。

4 苔藓-好氧甲烷氧化菌共生体

很长一段时间内,人们认为只有厌氧甲烷氧化菌能够与其他生物形成共生体系,如厌氧甲烷氧化菌和硫

还原细菌或硝酸还原菌共生。最新研究发现,好氧甲烷氧化菌也能与环境中的其他生物形成共生体系。Kip 与同事研究发现,泥炭苔藓可与好氧甲烷氧化菌共生,合作进行甲烷氧化(图 3)^[80]。

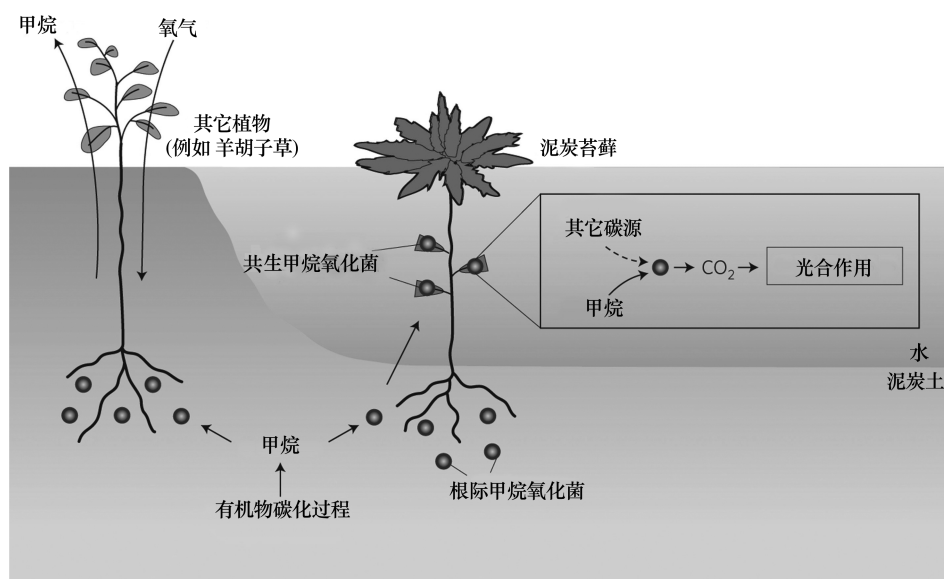


图 3 泥炭沼泽中泥炭苔藓-甲烷氧化菌共生甲烷氧化途径示意图^[80]

Fig.3 Methane oxidation by methanotrophs in a peat bog. *Sphagnum* mosses form symbioses with methane-consuming bacteria in *Sphagnum*-dominated peat bogs^[80]

稳定同位素标记实验证实了泥炭苔藓所同化的 35% 的 CO_2 是通过甲烷氧化产生。这种共生体系的形成对于好氧甲烷氧化菌和苔藓来说是互利的(图 3):水下的泥炭苔藓由于缺乏气孔不能从大气得到足够的 CO_2 进行光合作用,于是好氧甲烷氧化菌的代谢产物 CO_2 就成为其绝佳的 CO_2 来源。与此同时,水下泥炭苔藓中的好氧甲烷氧化菌也可利用泥炭苔藓光合作用产生的 O_2 完成甲烷氧化过程。Kip 等人还指出,在温度升高时,该共生体系能更好的减少甲烷排放。当从土壤中去掉泥炭苔藓时,土壤的甲烷排放量升至原来的 4 倍,表明泥炭苔藓-好氧甲烷氧化菌共生体系比游离生长的甲烷氧化菌在甲烷氧化过程中起更重要的作用^[80-81]。

通过进一步研究,Kip 等人从泥炭苔藓中分离出了多株嗜酸性甲烷氧化菌,所获多数菌株属于 Type II 型好氧甲烷氧化菌^[82]。另外,他们还在荷兰及巴塔哥尼亚泥炭苔藓中发现 *Methylobacter* 和 *Methylocystis* 分布最为广泛^[82-83]。Liebner 等人^[84]通过研究证实,苔藓-甲烷氧化菌共生氧化甲烷的现象不仅存在于泥炭苔藓和低 pH 值的泥炭沼泽中,还存在于褐藓与永冻土中。该研究同样通过稳定同位素方法研究了西伯利亚冻土水体中的褐藓-好氧甲烷氧化菌共生体系,发现该体系氧化甲烷能力在淹水条件下增强,且在光照条件下是一个纯的甲烷汇,当去掉光照时,土壤就变成了强大的甲烷排放源。该研究还估测,褐藓-好氧甲烷氧化菌共生作用使得北极多边形苔原冻土甲烷排放总量至少减少了 5%,鉴于褐藓在永冻土淡水区域广泛生长,苔藓-甲烷氧化菌共生作用可能是该地区淡水环境主要的甲烷氧化途径。

5 环境对好氧甲烷氧化菌的影响

影响甲烷氧化菌的环境因素可归为化学因素和生物因素两大类。化学因素主要包括氧气,水分状况,含氮化合物及重金属等;生物因素主要有竞争和捕食。目前研究主要集中在化学因素方面。水位和氧气会影响好氧甲烷氧化菌的活性,尤其是在泥炭沼泽湿地和稻田中。有研究证明长期排水会影响土壤中甲烷氧化菌的群落组成,不同形式的土地利用显著影响甲烷氧化菌的群落组成与活性^[85]。一方面,水位升高会降低土壤氧气浓度,从而导致甲烷氧化菌可用氧气量减少;另一方面,排水会增加土壤氧气含量从而促进甲烷氧化菌生长。

铵盐的沉积或施加对好氧甲烷氧化造成的影响存在很大争议^[86]。Mosier 等^[87]首次报道草地土壤在施

加氮肥后抑制了其对甲烷的吸收,但垃圾填埋场施加氮肥后却促进了甲烷的氧化。Bodelier 等^[88]研究发现, NH_4^+ 可以促进水稻根际甲烷的氧化作用。由此可看出氮肥的影响在很大程度上依赖于环境中氮的存在形态。

生物因素也会影响环境中好氧甲烷氧化菌对甲烷的氧化,如捕食。Murase 和 Frenze^[89]做了一项有趣的研究,发现原生动物对甲烷氧化菌的捕食行为,他们从稻田中分离出了以好氧甲烷氧化菌为食的原生动物。Murase 等人还发现原生动物偏好捕食特定的甲烷氧化菌(如 *Methylobacter*),这可能是由于捕食这类甲烷氧化菌后能最快速有效的进行自身的同化作用^[90]。Moon 等将含有蚯蚓的水稻土作为垃圾填埋场的覆盖层能有效减少垃圾填埋场的甲烷排放,并且发现覆盖层土壤中的细菌及甲烷氧化菌主要来源于水稻土及蚯蚓排泄物,Type I (主要为 *Methylocaldum*) 和 Type II (主要为 *Methylocystis*) 型甲烷氧化菌都在甲烷氧化过程中起重要作用^[91]。近期研究还表明在土壤中加入蚯蚓后能显著增加好氧甲烷氧化菌的多样性和数量^[92]。

放牧对甲烷氧化菌有一定影响。周小奇等对我国青藏高原草甸土壤研究发现,放牧显著影响土壤中好氧甲烷氧化菌的群落组成^[93]。郑勇等研究发现,放牧增加了好氧甲烷氧化菌的数量,从而促进了土壤的甲烷氧化能力^[94]。

6 问题与展望

人类对好氧甲烷氧化菌及其在减少大气甲烷排放的作用研究历经数十载,逐渐阐明了其在大气碳循环中的重要作用,但研究过程中仍涉及到几个重要问题仍值得深思,有待进一步研究^[24]。

(1) 好氧甲烷氧化菌多样性及分布在微生物世界内究竟是怎样? 过去几年中不断有新的甲烷氧化菌菌株分离出来,如丝状甲烷氧化菌 *Crenothrix* 以及嗜酸嗜低温的疣微菌门(Verrucomicrobia)好氧甲烷氧化菌的发现。这些新的发现令人不禁想到,环境中或许还存在更多未知的、新的好氧甲烷氧化菌有待发现。另外,是否存在一类“大气好氧甲烷氧化菌”? 是否有好氧甲烷氧化古菌的存在? 所有这些问题的解决都将取决于新的分离技术的出现。

(2) 不同种类的好氧甲烷氧化菌菌群之间是怎样相互竞争最基本的生存物质,如氧气和氮素? 随着新近发明的可测定单个细胞的 Raman 荧光原位杂交及纳米二次离子质谱(NanoSIMS)技术的问世,相信这一问题也会迎刃而解。

(3) 兼性甲烷氧化菌是否只存在于 *Methylocella* 属,如果不是,那么还有哪些? 它们何时以及怎样从异养型微生物转换为甲烷营养型的? 作为兼性营养的好氧甲烷氧化有哪些生长优势? 比较基因组学和蛋白质组学在定义代谢途径及兼性营养的基因调控机制方面具有重要作用,这些研究的应用将为以上问题的解决带来可能。

References:

- [1] IPCC. Climate Change 2007: The physical science basis. Summary for policymakers. Contribution of Working Group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Paris: Summary for Policymakers formally approved at the 10th Session of Working Group I of the IPCC.
- [2] Blake D R, Rowland F S. Continuing worldwide increase in tropospheric methane, 1978 to 1987. *Science*, 1988, 239(4844): 1129-1131.
- [3] Conrad R. The global methane cycle: recent advances in understanding the microbial processes involved. *Environmental Microbiology Reports*, 2009, 1(5): 285-292.
- [4] Frenzel P. Plant-associated methane oxidation in rice fields and wetlands // Bernhard S, ed. *Advances in Microbial Ecology*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publisher, 2000: 85-114.
- [5] Reeburgh W S. Global methane biogeochemistry. *Treatise on Geochemistry*, 2003, 4: 65-89.
- [6] Roslev P, King G M. Regulation of methane oxidation in a freshwater wetland by water table changes and anoxia. *FEMS Microbiology Ecology*, 1996, 19(2): 105-115.
- [7] Le Mer J, Roger P. Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: a review. *European Journal of Soil Biology*, 2001, 37(1): 25-50.

- [8] Hanson R S, Hanson T E. Methanotrophic bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1996, 60(2): 439-71.
- [9] Söhngen N L. Über Bakterien welche methan kohlenstoffnahrung energiequelle gebrauchen. *Zentrabl Bakteriell Parasitenkd Infektionskr*, 1906, 15: 513-517.
- [10] Whittenbury R, Phillips K C, Wilkinson J F. Enrichment, isolation and some properties of methane-utilizing bacteria. *Journal of General Microbiology*, 1970, 61(2): 205-218.
- [11] Bowman J P. The methanotrophs-the families Methylococcaceae and Methylocystaceae. *Prokaryotes*, 2006, 5: 266-289.
- [12] Bowman J P. The methanotrophs- the families Methylococcaceae and Methylocystaceae // Dworkin D M, ed. *The Prokaryotes*. New York: Springer, 1999: 1953-1966.
- [13] Bowman J P, McCammon S A, Skerratt J H. *Methylosphaera hansonii* gen. nov., sp. nov., a psychrophilic, group I methanotroph from Antarctic marine-salinity, meromictic lakes. *Microbiology*, 1997, 143(4): 1451-1459.
- [14] Bowman J P, Sly L I, Nichols P D, Hayward A C. Revised taxonomy of the Methanotrophs: Description of *Methylobacter* gen. nov., Emendation of *Methylococcus*, Validation of *Methylosinus* and *Methylocystis* Species, and a proposal that the family Methylococcaceae includes only the group-I Methanotrophs. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1993, 43(4): 735-753.
- [15] Bowman J P, Sly L I, Stackebrandt E. The phylogenetic position of the family Methylococcaceae. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1995, 45(1): 182-185.
- [16] Dedysh S N, Knief C, Dunfield P F. Methylocella species are facultatively methanotrophic. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(13): 4665-4670.
- [17] Theisen A R, Ali M H, Radajewski S, Dumont M G, Dunfield P F, McDonald I R, Dedysh S N, Miguez C B, Murrell J C. Regulation of methane oxidation in the facultative methanotroph *Methylocella silvestris* BL2. *Molecular Microbiology*, 2005, 58(3): 682-692.
- [18] Stoecker K, Bendinger B, Sch ning B, Nielsen P H, Nielsen J L, Baranyi C, Toenshoff E R, Daims H, Wagner M. Cohn's *Crenothrix* is a filamentous methane oxidizer with an unusual methane monooxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(7): 2363-2367.
- [19] Kulichevskaya I S, Ivanova A O, Belova S E, Baulina O I, Bodelier P L E, Rijpstra W I C, Sinninghe Damsté J S, Zavarzin G A, Dedysh S N. *Schlesneria paludicola* gen. nov., sp. nov., the first acidophilic member of the order *Planctomycetales*, from *Sphagnum*-dominated boreal wetlands. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57(11): 2680-2687.
- [20] Dunfield P F, Yuryev A, Senin P, Smirnova A V, Stott M B, Hou S B, Ly B, Saw J H, Zhou Z M, Ren Y, Wang J M, Mountain B W, Crowe M A, Weatherby T M, Bodelier P L E, Liesack W, Feng L, Wang L, Alam M. Methane oxidation by an extremely acidophilic bacterium of the phylum Verrucomicrobia. *Nature*, 2007, 450(7171): 879-82.
- [21] Pol A, Heijmans K, Harhangi H R, Tedesco D, Jetten M S, Op den Camp H J M. Methanotrophy below pH 1 by a new Verrucomicrobia species. *Nature*, 2007, 450(7171): 874-878.
- [22] Islam T, Jensen S, Reigstad L J, Larsen Ø, Birkeland N K. Methane oxidation at 55°C and pH 2 by a thermoacidophilic bacterium belonging to the *Verrucomicrobia* phylum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(1): 300-304.
- [23] Op den Camp H J M, Islam T, Stott M B, Harhangi H R, Hynes A, Schouten S, Jetten M S M, Birkeland N K, Pol A, Dunfield P F. Environmental, genomic and taxonomic perspectives on methanotrophic *Verrucomicrobia*. *Environmental Microbiology Reports*, 2009, 1(5): 293-306.
- [24] Murrell J C. The aerobic methane oxidizing bacteria (Methanotrophs) // Timmis K N, ed. *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. Berlin Heidelberg: Springer, 2010: 1954-1963.
- [25] Mancinelli R L. The regulation of methane oxidation in soil. *Annual Review of Microbiology*, 1995, 49(1): 581-605.
- [26] Dedysh S N, Liesack W, Khmelenina V N, Suzina N E, Trotsenko Y A, Semrau J D, Bares A M, Panikov N S, Tiedje J M. *Methylocella palustris* gen. nov., sp nov., a new methane-oxidizing acidophilic bacterium from peat bogs, representing a novel subtype of serine-pathway methanotrophs. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, 50(3): 955-969.
- [27] Vorobev A V, Baani M, Doronina N V, Brady A L, Liesack W, Dunfield P F, Dedysh S N. *Methyloferula stellata* gen. nov., sp nov., an acidophilic, obligately methanotrophic bacterium that possesses only a soluble methane monooxygenase. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, 61(10): 2456-2463.
- [28] Trotsenko Y A, Murrell J C. Metabolic aspects of aerobic obligate methanotrophy// Laskin A I, Gadd G M, Sariaslani S, eds. *Advances in Applied Microbiology*. New York: Academic Press, 2008: 183-229.
- [29] Han B, Su T, Li X, Xing X H. Research progresses of methanotrophs and methane monooxygenases. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2008, 24(9): 1511-1519.
- [30] McDonald I R, Bodrossy L, Chen Y, Murrell J C. Molecular ecology techniques for the study of aerobic methanotrophs. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(5): 1305.
- [31] Bodrossy L, Stralis-Pavese N, Murrell J C, Radajewski S, Weilharter A, Sessitsch A. Development and validation of a diagnostic microbial mi-

- croarray for methanotrophs. *Environmental Microbiology*, 2003, 5(7): 566-582.
- [32] Radajewski S, Ineson P, Parekh N R, Murrell J C. Stable-isotope probing as a tool in microbial ecology. *Nature*, 2000, 403(6770): 646-649.
- [33] Manefield M, Whiteley A S, Griffiths R I, Bailey M J. RNA stable isotope probing, a novel means of linking microbial community function to phylogeny. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(11): 5367-5373.
- [34] Bull I D, Parekh N R, Hall G H, Ineson P, Evershed R P. Detection and classification of atmospheric methane oxidizing bacteria in soil. *Nature*, 2000, 405(6783): 175-178.
- [35] Dumont M G, Pommerenke B, Casper P, Conrad R. DNA-, rRNA- and mRNA-based stable isotope probing of aerobic methanotrophs in lake sediment. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(5): 1153-1167.
- [36] Chen Y, Dumont M G, Neufeld J D, Bodrossy L, Stralis - Pavese N, McNamara N P, Ostle N, Briones M J I, Murrell J C. Revealing the uncultivated majority: combining DNA stable - isotope probing, multiple displacement amplification and metagenomic analyses of uncultivated *Methylocystis* in acidic peatlands. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(10): 2609-2622.
- [37] Lee N, Nielsen P H, Andreasen K H, Juretschko S, Nielsen J L, Schleifer K H, Wagner M. Combination of fluorescent in situ hybridization and microautoradiography-a new tool for structure-function analyses in microbial ecology. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(3): 1289-1297.
- [38] Ouverney C C, Fuhrman J A. Combined microautoradiography-16S rRNA probe technique for determination of radioisotope uptake by specific microbial cell types in situ. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(4): 1746-1752.
- [39] Adamczyk J, Hesselsoe M, Iversen N, Horn M, Lehner A, Nielsen P H, Schlöter M, Roslev P, Wagner M. The isotope array, a new tool that employs substrate-mediated labeling of rRNA for determination of microbial community structure and function. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(11): 6875-6887.
- [40] Huang W E, Stoecker K, Griffiths R, Newbold L, Daims H, Whiteley A S, Wagner M. Raman - FISH: combining stable - isotope Raman spectroscopy and fluorescence *in situ* hybridization for the single cell analysis of identity and function. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(8): 1878-1889.
- [41] Li T L, Wu T D, Mazéas L, Toffin L, Guerquin - Kern J L, Leblon G, Bouchez T. Simultaneous analysis of microbial identity and function using NanoSIMS. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(3): 580-588.
- [42] Hashsham S A, Gulari E, Tiedje J M. Microfluidic systems being adapted for microbial, molecular biological analyses. *Microbe-American Society for Microbiology*, 2007, 2(11): 531-536.
- [43] Hoffmann T, Horz H P, Kemnitz D, Conrad R. Diversity of the particulate methane monooxygenase gene in methanotrophic samples from different rice field soils in China and the Philippines. *Systematic and Applied Microbiology*, 2002, 25(2): 267-274.
- [44] Wu L Q, Ma K, Lu Y H. Rice roots select for type I methanotrophs in rice field soil. *Systematic and Applied Microbiology*, 2009, 32(6): 421-428.
- [45] Lüke C, Krause S, Cavigliolo S, Greppi D, Lupotto E, Frenzel P. Biogeography of wetland rice methanotrophs. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(4): 862-872.
- [46] Lüke C, Bodrossy L, Lupotto E, Frenzel P. Methanotrophic bacteria associated to rice roots: the cultivar effect assessed by T-RFLP and microarray analysis. *Environmental Microbiology Reports*, 2011, 3(5): 518-525.
- [47] Zheng Y, Zhang L M, Zheng Y M, Di H J, He J Z. Abundance and community composition of methanotrophs in a Chinese paddy soil under long-term fertilization practices. *Journal of Soils and Sediments*, 2008, 8(6): 406-414.
- [48] Eller G, Stubner S, Frenzel P. Group-specific 16S rRNA targeted probes for the detection of type I and type II methanotrophs by fluorescence in situ hybridisation. *FEMS Microbiology Letters*, 2001, 198(2): 91-97.
- [49] Graham D W, Chaudhary J A, Hanson R S, Arnold R G. Factors affecting competition between Type I and Type II methanotrophs in two-organism, continuous-flow reactors. *Microbial Ecology*, 1993, 25(1): 1-17.
- [50] Shrestha M, Shrestha P M, Frenzel P, Conrad R. Effect of nitrogen fertilization on methane oxidation, abundance, community structure, and gene expression of methanotrophs in the rice rhizosphere. *ISME Journal*, 2010, 4(12): 1545-1556.
- [51] Howeling S, Kaminski T, Dentener F, Lelieveld J, Heimann M. Inverse modeling of methane sources and sinks using the adjoint of a global transport model. *Journal of Geophysical Research*, 1999, 104(D21): 26137-26160.
- [52] Whalen S C, Reeburgh W S, Sandbeck K A. Rapid methane oxidation in a landfill cover soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 1990, 56(11): 3405-3411.
- [53] Jones H A, Nedwell D B. Methane emission and methane oxidation in landfill cover soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 1993, 102(3/4): 185-195.
- [54] Hilger H, Humer M. Biotic landfill cover treatments for mitigating methane emissions. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2003, 84(1/2): 71-84.

- [55] Chen Y, Murrell J C. Ecology of aerobic methanotrophs and their role in methane cycling // Timmis K N, ed. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. Berlin Heidelberg: Springer, 2010: 3067-3076.
- [56] Cébron A, Bodrossy L, Chen Y, Singer A C, Thompson I P, Prosser J I, Murrell J C. Identity of active methanotrophs in landfill cover soil as revealed by DNA-stable isotope probing. FEMS Microbiology Ecology, 2007, 62(1): 12-23.
- [57] Chen Y, Dumont M G, Cébron A, Murrell J C. Identification of active methanotrophs in a landfill cover soil through detection of expression of 16S rRNA and functional genes. Environmental Microbiology, 2007, 9(11): 2855-2869.
- [58] Yang N, Lü F, He P J, Shao L M. Response of methanotrophs and methane oxidation on ammonium application in landfill soils. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 92(5): 1073-1082.
- [59] Costello A M, Auman A J, Macalady J L, Scow K M, Lidstrom M E. Estimation of methanotroph abundance in a freshwater lake sediment. Environmental Microbiology, 2002, 4(8): 443-450.
- [60] Rahalkar M, Schink B. Comparison of aerobic methanotrophic communities in littoral and profundal sediments of Lake Constance by a molecular approach. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(13): 4389-4394.
- [61] Yun J L, Zhuang G Q, Ma A Z, Guo H G, Wang Y F, Zhang H X. Community structure, abundance, and activity of methanotrophs in the Zoige Wetland of the Tibetan Plateau. Microbial Ecology, 2012, 63(4): 835-843.
- [62] Yun J L, Ma A Z, Li Y M, Zhuang G Q, Wang Y F, Zhang H X. Diversity of methanotrophs in Zoige wetland soils under both anaerobic and aerobic conditions. Journal of Environmental Sciences, 2010, 22(8): 1232-1238.
- [63] Yun J L, Yu Z S, Li K, Zhang H X. Diversity, abundance and vertical distribution of methane-oxidizing bacteria (methanotrophs) in the sediments of the Xianghai wetland, Songnen Plain, Northeast China. Journal of Soils and Sediments, 2013, 13(1): 242-252.
- [64] Wasmund K, Kurtböke D I, Burns K A, Bourne D G. Microbial diversity in sediments associated with a shallow methane seep in the tropical Timor Sea of Australia reveals a novel aerobic methanotroph diversity. FEMS Microbiology Ecology, 2009, 68(2): 142-151.
- [65] Tavormina P L, Ussler W, Joye S B, Harrison B K, Orphan V J. Distributions of putative aerobic methanotrophs in diverse pelagic marine environments. The ISME Journal, 2010, 4(5): 700-710.
- [66] Durisch-Kaiser E, Klauser L, Wehrli B, Schubert C. Evidence of intense archaeal and bacterial methanotrophic activity in the Black Sea water column. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(12): 8099-8106.
- [67] Kolb S, Knief C, Dunfield P F, Conrad R. Abundance and activity of uncultured methanotrophic bacteria involved in the consumption of atmospheric methane in two forest soils. Environmental Microbiology, 2005, 7(8): 1150-1161.
- [68] Horz H P, Rich V, Avrahami S, Bohannon B J M. Methane-oxidizing bacteria in a California upland grassland soil: Diversity and response to simulated global change. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(5): 2642-2652.
- [69] Mohanty S R, Bodelier P L E, Floris V, Conrad R. Differential effects of nitrogenous fertilizers on methane-consuming microbes in rice field and forest soils. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(2): 1346-1354.
- [70] Menyailo O V, Abraham W R, Conrad R. Tree species affect atmospheric CH₄ oxidation without altering community composition of soil methanotrophs. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(1): 101-107.
- [71] Baani M, Liesack W L. Two isozymes of particulate methane monooxygenase with different methane oxidation kinetics are found in *Methylocystis* sp. Strain SC2. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(29): 10203-10208.
- [72] Dedysh S N, Khmelenina V N, Suzina N E, Trotsenko Y A, Semrau J D, Liesack W, Tiedje J M. *Methylocapsa acidiphila* gen. nov., sp. nov., a novel methane-oxidizing and dinitrogen-fixing acidophilic bacterium from *Sphagnum* bog. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, 52(1): 251-261.
- [73] Dunfield P F, Khmelenina V N, Suzina N E, Trotsenko Y A, Dedysh S N. *Methylocella silvestris* sp. nov., a novel methanotroph isolated from an acidic forest cambisol. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2003, 53(5): 1231-1239.
- [74] Trotsenko Y A, Khmelenina V N. Biology of extremophilic and extremotolerant methanotrophs. Archives of Microbiology, 2002, 177(2): 123-131.
- [75] Heyer J, Berger U, Hardt M, Dunfield P F. *Methylohalobius crimeensis* gen. nov., sp. nov., a moderately halophilic, methanotrophic bacterium isolated from hypersaline lakes of Crimea. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005, 55(5): 1817-1826.
- [76] Omel'Chenko M V, Vasil'Eva L V, Zavarzin G A, Savel'Eva N D, Lysenko A M, Mityushina L L, Khmelenina V N, Trotsenko Y A. A novel psychrophilic methanotroph of the genus *Methylobacter*. Microbiology, 1996, 65(3): 339-343.
- [77] Bodrossy L, Holmes E M, Holmes A J, Kovács K L, Murrell J C. Analysis of 16S rRNA and methane monooxygenase gene sequences reveals a novel group of thermotolerant and thermophilic methanotrophs, *Methylocaldum* gen. nov. Archives of Microbiology, 1997, 168(6): 493-503.
- [78] Bodrossy L, Kovács K L, McDonald I R, Murrell J C. A novel thermophilic methane-oxidising γ -*Proteobacterium*. FEMS Microbiology Letters, 1999, 170(2): 335-341.
- [79] Tsubota J, Eshinimaev B T, Khmelenina V N, Trotsenko Y A. *Methylothermus thermalis* gen. nov., sp. nov., a novel moderately thermophilic ob-

- ligate methanotroph from a hot spring in Japan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(5): 1877-1884.
- [80] Kip N, Van Winden J F, Pan Y, Bodrossy L, Reichart G J, Smolders A J P, Jetten M S M, Damsté J S S, Op den Camp H J M. Global prevalence of methane oxidation by symbiotic bacteria in peat-moss ecosystems. *Nature Geoscience*, 2010, 3(9): 617-621.
- [81] Chen Y, Murrell J C. Geomicrobiology: Methanotrophs in moss. *Nature Geoscience*, 2010, 3(9): 595-596.
- [82] Kip N, Ouyang W J, van Winden J, Raghoebarsing A, van Niftrik L, Pol A, Pan Y, Bodrossy L, van Donselaar E G, Reichart G J, Jetten M S M, Damsté J S S, and den Camp H J M O. Detection, Isolation, and characterization of acidophilic methanotrophs from *Sphagnum* Mosses. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(16): 5643-5654.
- [83] Kip N, Fritz C, Langelaan E S, Pan Y, Bodrossy L, Pancotto V, Jetten M S M, Smolders A J P, Op den Camp H J M. Methanotrophic activity and diversity in different *Sphagnum magellanicum* dominated habitats in the southernmost peat bogs of Patagonia. *Biogeosciences*, 2012, 9(1): 47-55.
- [84] Liebner S, Zeyer J, Wagner D, Schubert C, Pfeiffer E M, Knoblauch C. Methane oxidation associated with submerged brown mosses reduces methane emissions from Siberian polygonal tundra. *Journal of Ecology*, 2011, 99(4): 914-922.
- [85] Knief C, Dunfield P F. Response and adaptation of different methanotrophic bacteria to low methane mixing ratios. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(9): 1307-1317.
- [86] Bodelier P L E, Laanbroek H J. Nitrogen as a regulatory factor of methane oxidation in soils and sediments. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 47(3): 265-277.
- [87] Mosier A, Schimel D, Valentine D, Bronson K, Parton W. Methane and nitrous oxide fluxes in native, fertilized and cultivated grasslands. *Nature*, 1991, 350(6316): 330-332.
- [88] Bodelier P L E, Roslev P, Henckel T, Frenzel P. Stimulation by ammonium-based fertilizers of methane oxidation in soil around rice roots. *Nature*, 2000, 403(6768): 421-424.
- [89] Murase J, Frenzel P. A methane-driven microbial food web in a wetland rice soil. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(12): 3025-3034.
- [90] Murase J, Hordijk K, Tayasu I, Bodelier P L E. Strain-specific incorporation of methanotrophic biomass into eukaryotic grazers in a rice field soil revealed by PLFA-SIP. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 75(2): 284-290.
- [91] Moon L E, Lee S Y, Lee S H, Ryu H W, Cho K S. Earthworm cast as a promising filter bed material and its methanotrophic contribution to methane removal. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 176(1/3): 131-138.
- [92] Kim T G, Moon K E, Lee E H, Choi S A, Cho K S. Assessing effects of earthworm cast on methanotrophic community in a soil biocover by concurrent use of microarray and quantitative real-time PCR. *Applied Soil Ecology*, 2011, 50: 52-55.
- [93] Zhou X Q, Wang Y F, Huang X Z, Hao Y B, Tian J Q, Wang J Z. Effects of grazing by sheep on the structure of methane-oxidizing bacterial community of steppe soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(1): 258-261.
- [94] Zheng Y, Yang W, Sun X, Wang S P, Rui Y C, Luo C Y, Guo L D. Methanotrophic community structure and activity under warming and grazing of alpine meadow on the Tibetan Plateau. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 93(5): 2193-2203.

参考文献:

- [29] 韩冰, 苏涛, 李信, 邢新会. 甲烷氧化菌及甲烷单加氧酶的研究进展. *生物工程学报*, 2008, 24(9): 1511-1519.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.33, No.21 Nov., 2013 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Gross ecosystem product: theory framework and case study OUYANG Zhiyun, ZHU Chunquan, YANG Guangbin, et al (6747)
- Advances in impacts of climate change on infectious diseases outbreak LI Guodong, ZHANG Junhua, JIAO Gengjun, et al (6762)
- Ecology of aerobic methane oxidizing bacteria (methanotrophs) YUN Juanli, WANG Yanfen, ZHANG Hongxun (6774)
- Nitrogen deposition and *Leymus chinensis* leaf chlorophyll content in Inner Mongolian grassland
..... ZHANG Yunhai, HE Nianpeng, ZHANG Guangming, et al (6786)
- Worldwide distribution and multivariate similarity clustering analysis of spiders
..... SHEN Xiaocheng, ZHANG Baoshi, ZHANG Feng, et al (6795)
- The influence of wind direction on pollen-mediated gene flow in transgenic insect-resistant cotton
..... ZHU Jialin, HE Juan, NIU Jianqun, et al (6803)

Autecology & Fundamentals

- Ecological characteristics of benthic diatoms, protozoa and meiobenthos in the sediments of the Changjiang Estuary and East China
Sea in spring MENG Zhaoxui, XU Kuidong (6813)
- Macrobenthic functional groups at the reclamation and natural tidal flats of Hengsha East Shoal, the Estuary of Changjiang River
..... LV Weiwei, MA Chang'an, YU Ji, et al (6825)
- Enrichment and ecological risk of heavy metal in soils and dominant plants in the riparian of the Fenghe River
..... YANG Yang, ZHOU Zhengchao, WANG Huanhuan, et al (6834)
- Effects of salinity and exogenous substrates on the decomposition and transformation of soil organic carbon in the Yellow River
Delta LI Ling, QIU Shaojun, TAN Feifei, et al (6844)
- Effects of short-term dark chilling on leaves carbon and nitrogen metabolism and involved activities of enzymes in mangrove *Kandelia
obovata* seedling ZHENG Chunfang, LIU Weicheng, CHEN Shaobo, et al (6853)
- Preliminary evaluation on tolerance to phosphorous deficiency of 32 cultivars of cut chrysanthemum
..... LIU Peng, CHEN Sumei, FANG Weimin, et al (6863)
- Effects of age and environmental conditions on accumulation of heavy-metals Cd and Cu in *Tegillarca granosa*
..... WANG Zhaogen, WU Hongxi, CHEN Xiaoxiao, et al (6869)
- Effects of Chinese gallnut on photosynthetic characteristics and total nitrogen content of *Rhus chinensis*
..... LI Yang, YANG Zixiang, CHEN Xiaoming, et al (6876)
- The characterization of glyphosate degradation by *Burkholderia multivorans* WS-FJ9 LI Guanxi, WU Xiaoqin, YE Jianren (6885)
- Electroantennographic and behavioural responses of scarab beetles to *Ricinus communis* leaf volatiles
..... LI Weizheng, YANG Lei, SHEN Xiaowei, et al (6895)

Population, Community and Ecosystem

- Ecosystem health assessment in Baiyangdian Lake XU Fei, ZHAO Yanwei, YANG Zhifeng, et al (6904)
- Characteristics of macrobenthic communities in mangrove wetlands along the waterways of North Hezhou, Zhuhai, South China
..... WANG Hui, ZHONG Shan, FANG Zhanqiang (6913)
- The interaction between components of ecosystem respiration in typical forest and grassland ecosystems
..... ZHU Xianjin, YU Guirui, WANG Qiufeng, et al (6925)
- Effects of thinning on macro fungi and their relationship with litter decomposition in *Pinus tabulaeformis* plantations
..... CHEN Xiao, BAI Shulan, LIU Yong, et al (6935)

- Beta diversity of plant communities in Baishanzu Nature Reserve TAN Shanshan, YE Zhenlin, YUAN Liubin, et al (6944)
- Effect of Oxytetracycline (OTC) on the activities of enzyme and microbial community metabolic profiles in composting
 CHEN Zhixue, GU Jie, GAO Hua, et al (6957)

Landscape, Regional and Global Ecology

- Variations in leaf anatomy of *Larix gmelinii* reflect adaptation of its photosynthetic capacity to climate changes
 JI Zijing, QUAN Xiankui, WANG Chuankuan (6967)
- The studying of key ecological factors and threshold of landscape evolution in Yancheng Coastal wetland
 ZHANG Huabing, LIU Hongyu, LI Yufeng, et al (6975)
- Eco-physiological response of *Phragmites communis* to water table changes in the Horqin Sand Land
 MA Yunhua, ZHANG Tonghui, LIU Xinping (6984)
- Improvement of snowmelt implementation in the SWAT hydrologic model ... YU Wenjun, NAN Zhuotong, ZHAO Yanbo, et al (6992)
- Responses of lake fluctuation to climate change in Horqin Sandy Land
 CHANG Xueli, ZHAO Xueyong, WANG Wei, et al (7002)
- Water ecology and fractal characteristics of soil particle size distribution of three typical vegetations in Shell Island
 XIA Jiangbao, ZHANG Shuyong, WANG Rongrong, et al (7013)
- Spatio-temporal distribution of epilithic algal chlorophyll a in relation to the physico-chemical factors of Gufu River in Three Gorges Reservoir WU Shuyuan, GE Jiwen, MIAO Wenjie, et al (7023)

Resource and Industrial Ecology

- Graphic analysis of spatio-temporal effect for vegetation disturbance caused by coal mining: a case of Datong Coal Mine Area
 HUANG Yi, WANG Yunjia, LI Xiaoshun, et al (7035)

《生态学报》2014 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 余新晓

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 33 卷 第 21 期 (2013 年 11 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 21 (November, 2013)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel: (010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail: journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel: (010)64034563 E-mail: journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add: P.O.Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元