

水稻田是温室气体甲烷(CH₄)的重要释放源之一, 水稻土中复杂的微生物驱动有机质转化为甲烷和二氧化碳, 探究参与这一过程的微生物类群, 对于理解有机质的厌氧降解、甲烷的产生过程具有重要意义。

陆雅海

水稻土中脂肪酸互营氧化的研究进展

刘鹏飞 陆雅海*

(中国农业大学 资源与环境学院 北京 100193)

摘要: 水稻田是温室气体甲烷(CH₄)的重要释放源之一, 有机质在水稻土中通过厌氧分解途径最终产生 CH₄ 和 CO₂。短链脂肪酸互营氧化是水稻土有机质降解的关键环节, 但是由于互营微生物独特的生理生态特性, 目前人们对于参与该过程的微生物群落及功能了解甚少。稳定同位素探针(SIP)技术被认为是实现环境中参与物质转化微生物种类与功能相耦合的有力工具。本文首先讨论互营过程的热力学基础和互营微生物的种间相互作用模式, 然后简要讨论了互营过程的环境影响因子, 最后详细综述稳定同位素探针技术在水稻土短链脂肪酸互营氧化过程中的相关研究。目前的研究表明: 参与水稻土脂肪酸互营氧化过程的互营细菌种类丰富、多样性高; 除已知互营细菌的作用外, 大量未培养、功能未知的细菌类型也可能参与短链脂肪酸的互营氧化; 对于互营细菌的伙伴而言, 新型产甲烷胞菌属(*Methanocella*)类型的古菌在不同脂肪酸互营降解过程中均起主要作用, 揭示了这类产甲烷古菌在水稻土厌氧产甲烷过程中的重要作用。

关键词: 水稻土, 短链脂肪酸, 互营, 稳定同位素探针

基金项目: 国家杰出青年基金项目(No. 40625003)

*通讯作者: Tel: 86-10-62731358; 信箱: yhlu@cau.edu.cn

收稿日期: 2012-10-25; 接受日期: 2012-11-21

A review of syntrophic fatty acids oxidation in anoxic paddy soil

LIU Peng-Fei LU Ya-Hai*

(College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Flooded rice field is one of major biogenic sources of greenhouse gas CH₄. Complex organic matter is degraded to CH₄ and CO₂ by the co-operation of anaerobic microorganisms of several metabolic guilds involving the syntrophic oxidation of short-chain fatty acids like propionate, butyrate and acetate. Due to the fastidious nature of cultivation, the diversity and ecology of microorganisms involved in syntrophic oxidation in natural environments like paddy soils remain largely unexplored. Stable isotope probing (SIP), which links microbial identity and function, is a powerful tool to investigate the syntrophic oxidation of fatty acids in flooded paddy soils. This article reviews the recent research progresses in the thermodynamic principles, the interspecies interactions in the syntrophic oxidation of fatty acids, and paddy soils employing SIP technology. The knowledge acquired suggests that phylogenetically diverse bacterial groups are active in the syntrophic oxidation: except classic syntrophic bacteria, organisms belonging to uncultivated phylogenetic groups are also detected, which can serve as candidate syntrophs. Among archaea, *Methanocella* is the major methanogen partner in syntrophic oxidation of different fatty acids, indicating the importance of this group in CH₄ production of paddy field soil.

Keywords: Paddy filed soil, Short chain fatty acids, Syntroph, Stable isotope probing

1 水稻土有机质厌氧降解过程

水稻是全世界最重要的粮食作物之一,为全世界 1/2 的人口提供粮食。全球水稻种植面积约有 143 百万公顷,占可用耕地的 10%。我国水稻种植面积占全球种植面积的 22%,仅次于印度,列世界第二位^[1]。水稻田作为水稻生产的基础,在发展粮食生产和保障粮食安全上有着极其重要的作用,但是水稻田同时也是温室气体 CH₄ 的重要释放源之一^[2],在加剧全球变化效应方面具有一定作用。水稻田每年的 CH₄ 排放量约占全球 CH₄ 排放总量的 10%^[3]。

水稻田 CH₄ 主要来源于稻田长期淹水条件下有机质的厌氧分解^[3]。输入稻田生态系统的有机物可分成内源和外源两类。外源有机物包括堆肥、有机废弃物等;内源有机物主要指作物光合产物输入到土壤的一部分,包括根系分泌物、根茬和秸秆残体。其中,水稻残体(秸秆、根)在淹水的水稻土中是一种主要的碳源,在 CH₄ 产生过程中起着非常重要的作用。据统计每年有 1 700–3 470 kg/ha 的有机质进入水稻田,其中水稻残体占了 65%以上^[4-5]。

稻田淹水后,有机物质的厌氧降解过程主要分为 3 个步骤,涉及 5 类功能微生物(图 1)^[6]: (I) 水

解过程: 有机物质中的大分子聚合物(如多糖、脂类、核酸等)在初级发酵菌(1)(也可称之为水解菌, 包括多种厌氧、兼性厌氧微生物)作用下被水解为单体, 单体被发酵产生有机酸、醇类、 H_2 等小分子; (II) 产酸过程: 有机酸、醇类等小分子在次级发酵菌(4)的作用下, 进一步分解为乙酸、 CO_2 、 H_2 等; 同型产乙酸菌(5)也可以利用单体、 H_2 和 CO_2 等底物产乙酸; (III) 产 CH_4 过程: 乙酸在乙酸型产甲烷古菌(3)作用下生成 CH_4 , H_2 和 CO_2 则

被氢型产甲烷古菌(2)所利用生成 CH_4 。由此可见, 整个有机质降解的过程是由多种微生物群体协作完成, 上游微生物的代谢产物成为下游微生物的底物, 形成一个复杂的食物链。次级发酵菌和产甲烷古菌在这一过程中的营养关系非常重要, 在生态学被称为“互营”, 次级发酵细菌也叫互营细菌^[6]。目前对于有机质厌氧降解过程中的脂肪酸互营氧化的研究多在纯培养水平, 而对于环境中互营微生物的生态生理和环境因子的调控研究甚少。

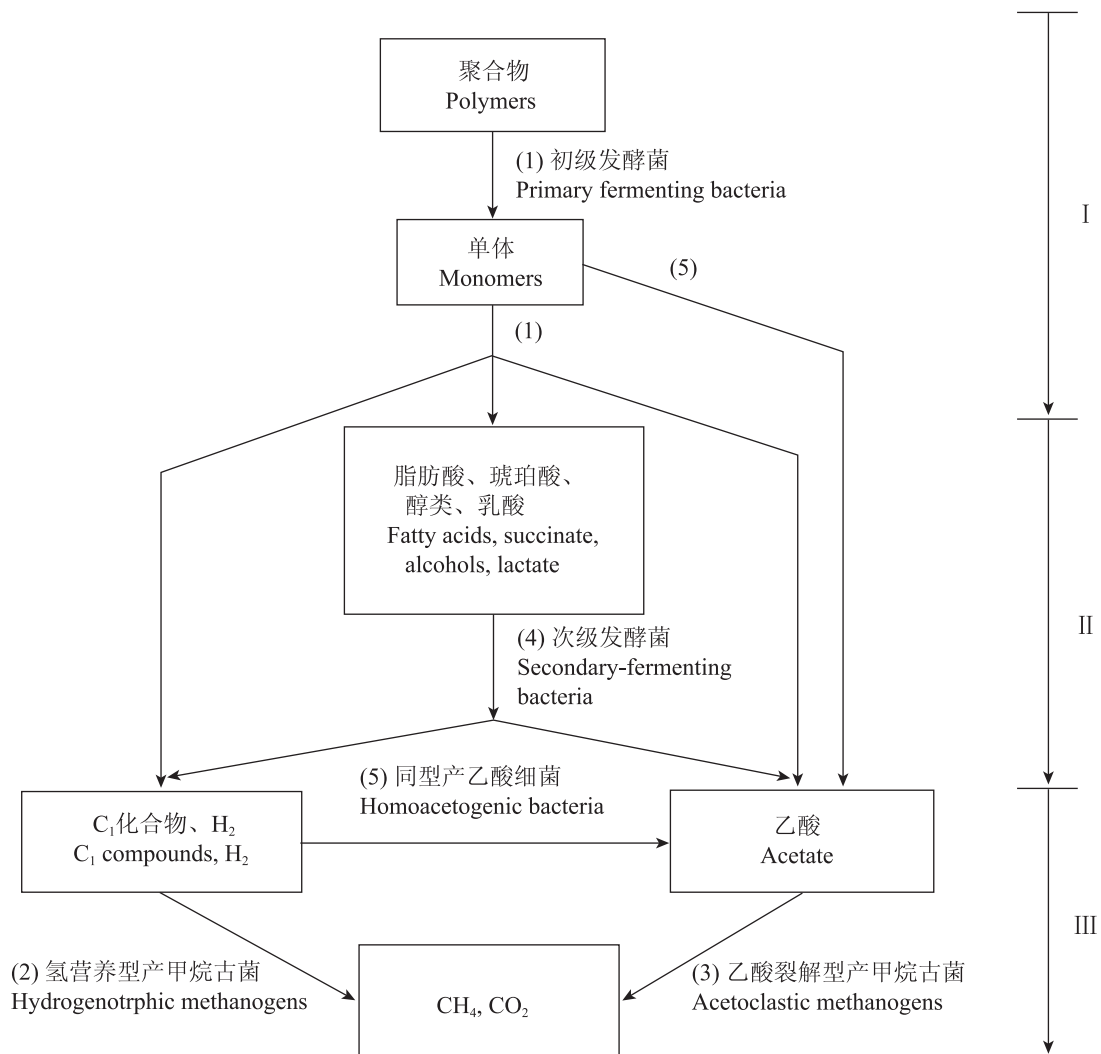


图 1 有机物厌氧降解过程^[6]

Fig. 1 Anoxic degradation of organic matters^[6]

2 脂肪酸互营氧化的热力学基础

在淹水稻田土壤中,有机质初级发酵产生的中间产物包括脂肪酸、琥珀酸、乳酸和醇类等。其中短链脂肪酸主要包括丁酸、异丁酸、丙酸、乙酸等。在厌氧水稻土中,乙酸积累最高,浓度最高可达 20 mmol/L 以上,其次是丙酸和丁酸,最高浓度可达 3 mmol/L,它们是水稻田有机质厌氧降解的主要中间产物^[7]。在有机质厌氧降解产 CH₄ 过程中,脂肪酸的互营氧化通常是限速步骤,它的氧化过程对于有机质降解产 CH₄ 过程的速率和效率有显著影响^[8]。因此,脂肪酸互营氧化是稻田有机质厌氧降解过程的关键环节。

在标准状态下(25 °C),脂肪酸厌氧氧化成乙酸、H₂ 和 CO₂ 是吸热过程(表 1),因此在热力学上不能自发进行^[6]。但是在氢分压足够低的条件下,这一过程可变成放热反应。在厌氧环境中,由于缺乏氧气、硝酸盐、硫酸盐、氧化铁锰等外源电子受体,CO₂ 是唯一的末端电子受体,氢营养型产甲烷古菌可以利用 H₂ 将 CO₂ 还原成 CH₄,从而降低氢分压,拉动脂肪酸氧化反应的发生^[6]。以丙酸互营氧化为例,在标准条件下丙酸氧化产

生 H₂ 和乙酸的吉布斯自由能变化为+76 kJ/mol,但是在 H₂ 压力降低到 1 Pa 左右时,其吉布斯自由能变化变为-21 kJ/mol,该反应由吸热反应变成放热而能自发进行^[6]。而在此氢分压下,产 CH₄ 过程的吉布斯自由能变化约为-20 kJ/mol。因此,脂肪酸互营氧化受到严格的热力学限制。假设不可逆的 ATP 合成需要最少 70 kJ/mol ATP 的能量,那么上述微生物从中获得的能量仅为 1/4 个 ATP^[9]。在大多数厌氧环境中,互营细菌氧化每摩尔丙酸获得的能量仅为-3--21 kJ^[10-12]。如此少的能量产出要求微生物通过合作来高效的利用能量,任何一方不能缺少其伙伴微生物而独立完成代谢活动。这一共生合作的现象就是微生物的“互营”。可以说,互营协作微生物群体是有机物质厌氧降解过程中非常重要的一个群体,互营协作关系是普遍的最重要的一类营养方式。

3 互营微生物的种间相互作用

“互营”是一种特殊的共生关系。两种不同代谢类型的微生物迫于能量限制而紧密合作,使得分解代谢反应释放出的较少的能量得到最大限度的利用,因此参与脂肪酸互营氧化的微生物之

表 1 短链脂肪酸互营氧化能量变化^[17]
Table 1 Energetics of syntrophic growth on propionate, butyrate and acetate^[17]

反应 Reaction	$\Delta G^{0'}$ (kJ/mol)	$\Delta G'$ (kJ/mol)
产氢细菌 Proton-reducing bacteria		
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{CO}_2 + 3\text{H}_2$	+72	-21
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+48	-22
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2$	+94.9	-15
产甲烷古菌 Methanogens		
$4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	-131	-15
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CO}_2 + \text{CH}_4$	-36	-36

注: 反应方程式中的 H₂、CH₄ 和 CO₂ 皆为气态, H₂O 为液态. 吉布斯自由变化的单位为 kJ/mol. $\Delta G^{0'}$: pH 7.0 时的吉布斯自由能变; $\Delta G'$: H₂ 压力为 1 Pa, CH₄ 和 CO₂ 分压为 10⁴ Pa 时的吉布斯自由能化, 其余组分的浓度定为 10 mmol/L.

Note: H₂, CH₄ and CO₂ are all in the gaseous state, and H₂O in liquid state. $\Delta G^{0'}$ is expressed in kJ/mol and calculated for pH=7.0. $\Delta G'$ is calculated at H₂ 1 Pa, CH₄ and CO₂ at 10⁴ Pa. All other compounds are calculated at 10 mmol/L.

间存在非常紧密的相互作用^[13]。互营细菌和 H₂ 消耗菌之间互营关系的建立、相互作用方式及机制一直是研究关注的焦点。互营过程中的微生物相互作用通常包括种间的物质传递、电子传递和直接的相互接触与信号传递,当然也可能存在其它未知的作用方式。

很多研究认为 H₂ 和甲酸是互营氧化过程中的电子载体^[14-17]。互营体系通过 H₂ 和甲酸的传递克服能量障碍,互营细菌和氢气消耗菌之间形成团聚体,维持很短的种间距离以保证高效的脂肪酸转化^[18-20]。关于 H₂ 和甲酸在不同类型脂肪酸互营降解体系中所起的作用,东秀珠^[21] (1997)已经进行了非常全面的总结。但对于 H₂ 和甲酸在互营氧化中的相对重要性一直存在争议。首先,在互营体系中 H₂ 和甲酸的浓度都很低,因此很难直接测定哪种物质是主要的电子载体。其次,很多产甲烷古菌及硫还原细菌能够同时利用氢气和甲酸,并且许多互营细菌能够实现 H₂ 和甲酸的相互转化,这些对直接阐明 H₂ 和甲酸在互营过程中的相对重要性造成了技术障碍。从理化性质分析, H₂ 和甲酸作为电子载体具有相似的氧化还原电位,但是在水溶性和扩散率上却相差很大。甲酸的溶解度远高于 H₂,因此能够在产生菌和消耗菌之间形成更显著的浓度差,这种浓度差甲酸可比 H₂ 高 1 000 倍。而 H₂ 在水中的扩散速率是甲酸的 30 倍。根据 Fick 定律($F=A \cdot D \cdot C/d$),微生物之间的物质传递速率(F)由产生菌的表面积(A)、分子扩散常数(D)、微生物之间的距离(d)和浓度差(C)决定。由于 H₂ 和甲酸在水溶性和扩散率的差异,我们可以推测甲酸在较长距离的传递中可能起主要作用,而氢气可能更有利于短距离的传递^[22]。

除 H₂ 和甲酸外,互营细菌产生的乙酸能够被乙酸型产甲烷古菌所利用。乙酸的移除能够对脂肪酸和苯甲酸盐的互营氧化产生很大影响。对于

一些特殊物质的互营降解如异戊酸,因为有三个分子的乙酸产生,而只有一分子的氢气产生,因此乙酸移除的影响更加明显。很多报道表明,乙酸的累积会抑制脂肪酸的互营氧化^[23-24],而增加乙酸型产甲烷菌消耗互营氧化过程中产生的乙酸能够显著加快脂肪酸的互营氧化^[25]。

最近的研究表明互营氧化过程中存在直接的电子传递^[26-30]。这种直接的电子传递可通过互营微生物的鞭毛、菌毛或分泌的细胞色素完成,也可由具有导电特性的物质完成。Reguera 等^[31] (2005)发现 *Geobacter sulfurreducens* 产生的菌毛具有很强的导电性,能够作为纳米导线实现细菌细胞表面和铁矿物之间的电子传递,并且预测这种导电能力能够进行细胞和细胞之间的电子传递。Summers 等^[26] (2010)发现,参与乙醇互营氧化的两株 *Geobacter* 菌(*Geobacter metallireducens* 和 *G. sulfurreducens*) 在实验培养条件下形成具有导电性的团聚体,并且它们之间的电子传递是通过 *G. sulfurreducens* 产生的具有导电性的细胞色素 C 完成。Morita 等^[27] (2011)在研究厌氧产 CH₄ 反应器中团聚体内的电子传递机制时发现,这些团聚体具有很强的导电性。团聚体内的微生物组成中, *Geobacter* 占细菌总量的 25%,而乙酸型产甲烷古菌 *Methanosaeta concillii* 占古菌总量的 90%。*Geobacter* 能够部分解释团聚体的导电性,而乙酸型产甲烷菌占主导解释了为什么这些团聚体对 H₂ 和甲酸的转化能力很低。这些实验证据首次证明产 CH₄ 团聚体具有导电性,并且表明在一些产 CH₄ 生态系统直接的电子传递可能是一种重要的机制^[27]。GAC (颗粒活化态碳)的添加能够促进反应器的 CH₄ 产生,但是 GAC 对产 CH₄ 促进的机制尚不明确。Liu 等^[28] (2012)的结果表明, GAC 能够促进互营产 CH₄ 体系的直接电子传递,并且相对于微生物之间通过菌毛接触或细胞色素 C 形成的直接电子传递, GAC 由于其强导电性

能够为互营产 CH_4 体系提供更好的电子传递。在自然生态系统中存在大量导电性矿物,如赤铁矿和磁铁矿等。Kato 等^[29] (2011)发现,水稻土中添加(半)导体铁氧化物(赤铁矿和磁铁矿)能够创建一种特殊的种间相互联系,并且能够促进 CH_4 的产生。克隆文库结果分析表明铁氧化物的加入能够刺激 *Geobacter* 的生长,而产 CH_4 抑制剂的添加能够抑制 CH_4 的产生和 *Geobacter* 的生长。因此,这些结果暗示,在水稻土中 *Geobacter* 能够与产甲烷古菌形成互营关系,并且种间的电子传递可以通过导电性矿物完成。Kato 等^[30] (2012)利用实验室共培养体系证明了导电性纳米铁颗粒(赤铁矿和磁铁矿)能够实现 *G. sulfurreducens* 和 *Thiobacillus denitrificans* 之间的电子传递,完成乙酸氧化和硝酸盐还原的耦合,进一步证明了导电性矿物能够作为互营体系中的电子传递体。

在脂肪酸互营降解体系微生物相互作用机制的研究中,日本研究小组发现一株丙酸互营氧化细菌(*Pelotomaculum thermopropionicum*)通过鞭毛与一株氢型产甲烷古菌(*Methanothermobacter thermautotrophicus*)形成直接接触^[19-20]。这种鞭毛直接接触能够显著加快产 CH_4 菌的启动速度、提高产 CH_4 相关基因的表达水平^[32]。这些研究结果说明互营细菌和产甲烷古菌通过直接的接触进行了信号的传递,实现代谢的协同^[32]。然而,在所有测试的互营配对中,只有一组存在这种现象,因此这种通过直接接触实现信号传递的相互作用方式其普遍性和在水稻土脂肪酸互营降解过程是否存在还有待进一步研究。不仅如此,互营微生物之间还存在基因的水平转移^[33],同时这种相互作用能够实现协同进化,提高互营转化的效率^[34]。

由此可见,互营微生物之间存在着多种相互作用,对于互营相互作用的形成、方式和机制的阐明对于研究水稻土脂肪酸互营氧化过程具有

重要意义。

4 环境因子对于互营氧化过程的影响

微观上互营体系中微生物之间通过相互作用,以群落的方式实现物质的降解和自身的存活和生长,在其生境内,互营氧化过程会受到许多环境因子的影响,这些因子主要包括底物类型、温度、种间距离、盐度等^[35]。

不同种类的有机质对于互营降解过程存在显著影响。不同类型的有机质基因组不同,厌氧降解途径存在差异,中间产物的种类和数量也存在较大差异,进而影响参与互营氧化的微生物群落结构和活性。而一些有机质本身对于微生物的生长存在抑制作用,对厌氧互营氧化过程带来负面影响。在水稻土生态系统中,进入水稻土的主要有机质是作物残体^[4-5]。水稻植物残体由秸秆和根茬组成,水稻秸秆主要包括纤维素(32%–37%)、半纤维素(29%–37%)、木质素(5%–15%)和一些无机组分诸如硅等^[10,36],而水稻的根系残体与秸秆相比则含有更多不易降解的组分如木质素和较低的非结构性碳水化合物等^[37]。Lu 等^[38] (2003)通过室内实验研究了 ^{13}C 标记的水稻秸秆与根残体的降解速率,发现水稻秸秆的降解速度明显高于根残体的降解速度。而 Peng 等^[39] (2008)和 Rui 等^[7] (2009)发现参与水稻根和秸秆降解的产 CH_4 细菌和古菌群落存在显著差异。而在厌氧生物反应器中脂肪类物质是重要的物料组成部分,其中含有的长链脂肪酸(16C–18C)由于具有很强的毒性,对于脂肪酸互营氧化过程会产生强烈的抑制作用^[40-41]。长链脂肪酸对于乙酸、丙酸和丁酸的互营氧化均存在抑制作用,且对于乙酸转化的抑制作用最强^[42-43]。不同类型的长链脂肪酸对于脂肪酸互营氧化的抑制作用也存在差异,饱和脂肪酸虽然能够被快速降解,但是与含碳相同的饱和脂肪酸相比,其毒性更强^[42]。不仅如此,复杂

有机质降解产生的中间产物也会对互营降解产生影响, 乙酸是互营氧化的主要产物, 乙酸的累积对于有机质的降解会形成反馈抑制作用, 而乙酸的移除能够降低互营降解的热力学障碍, 促进互营氧化的发生^[9]。丁酸对于厌氧生物反应器中的丙酸互营氧化虽然没有明显影响, 但是对于纯培养条件下的丙酸互营氧化产 CH_4 体系的生长却存在显著抑制作用^[24]。所以, 有机质厌氧降解的关键环节—互营氧化过程, 受到环境有机质类型以及降解产物的调节和控制。

影响互营氧化的另一个极为重要的环境因子是温度^[10,44]。首先, 温度对互营氧化发生的难易程度能够产生很大的影响。从热力学角度分析, 由 Van't Hoff 化学平衡我们可以看到 H_2 的产生在温度较高时更易进行, 而不利于产甲烷菌氢消耗的进行; 而当温度降低时, 则正好相反。但是, 由于当温度提高时, 扩散系数也随之增加并且扩散梯度也更大, 因此高温更有利于互营氧化的发生。以乙酸互营氧化为例, 根据 Van't Hoff 方程可计算出温度每升高 $1\text{ }^\circ\text{C}$, 吉布斯自由能变化将下降 0.589 kJ/mol , 因此, 在高温条件下更有利于乙酸互营氧化的发生, 而乙酸互养氧化现象最早正是在高温条件下发现的^[45]。不仅如此, 温度还对互营微生物群落结构和功能产生深刻影响。在不同温度下, 参与水稻土厌氧有机质降解的细菌群落结构存在显著差异^[7,46]。而对产甲烷古菌而言, 在低温和中温条件下, 产甲烷古菌类型更加丰富, 水稻土中产 CH_4 主要通过乙酸型产甲烷为主, 而高温条件下氢型产甲烷菌占绝对优势, 并且在不同水稻土中均存在类似现象^[47], CH_4 主要通过氢型产甲烷途径产生^[39,46,48]。在高温条件下, 产甲烷古菌群落结构和稳定同位素分馏分析均表明乙酸裂解型产 CH_4 并没有发生, 但是乙酸在此条件下却发生了转化, 表明在该温度下水稻土中乙酸主要通过互营氧化发生降解^[46]。

由于互营降解非常依赖于代谢产物的转移, 群落菌株之间的聚合和排列显得特别重要, 生产菌和消费菌的距离影响了脂肪酸的有效转化速率^[25]。根据 Fick 定律, 氢产生菌和氢消耗菌之间的距离越短, 能够形成的 H_2 或甲酸浓度差越大, 越有利于互营氧化。UASB (上流厌氧污泥床) 反应器之所以能高效地产生 CH_4 是因为含有高密度生物量的颗粒污泥。产 CH_4 污泥颗粒的破碎使丙酸降解的速度降低 90% ^[18]。用透析膜分隔乙醇氧化菌和氢消耗细菌导致了培养物的倍增时间从 7 h 增加到 11 h ; 而在降解丙酸和丁酸的互营培养物中通过增加生物量而缩短细胞间的距离并增加了 CH_4 的生成率^[21]。另外, 不同底物的互营氧化过程, 由于其受到的热力学限制不同, 互营微生物之间形成的种间距离和参与形成团聚结构的微生物比例也存在差异^[19-20]。由此可见, 互营微生物之间的种间距离对于互营降解过程有着重要影响, 维持良好的空间结构能够促进互营氧化^[49]。

在厌氧生物反应器中, 反应底料存在高氮含量的物质, 如蛋白质和尿素等。这些物质在厌氧发酵过程中会产生大量的铵, 而铵在一定条件下能够形成氨(自由态氨, NH_3)。氨的形成会改变细胞内的 pH, 增加细胞的维持能, 抑制特定酶的活性, 因此对厌氧互营氧化存在非常显著的影响。氨由于能够自由穿过细胞膜, 导致细胞内离子失衡, 因而被认为是抑制厌氧生物反应器有机质降解的主要原因。生物反应器中参与有机质厌氧降解的微生物对于氨的敏感度也不一, 其中以产甲烷古菌最为敏感, 尤其是乙酸型产甲烷古菌^[50]。此外, 由于铵对于乙酸型产甲烷古菌的抑制作用, 乙酸互营细菌能够与乙酸型产甲烷古菌竞争底物, 成为乙酸转化的主要参与者。Schnürer 等^[51] (1999) 发现, 增加铵或者钾离子的浓度, 提高了乙酸互营氧化的比例。增加铵的浓度导致乙酸型产甲烷的比例下降, 氢型产甲烷比例增加^[52], 因

而更加有利于乙酸互营氧化的发生。因此铵对于互营氧化过程有着重要影响,尤其是在厌氧生物反应器系统中。

此外,在厌氧生物反应器中流速^[53]及在稻田生态系统中由于干湿交替造成氧化还原电位的变化^[54]都会对互营氧化的微生物群落结构和功能产生影响。目前对于影响水稻土互营氧化过程的环境因子和影响机制的研究还较少,进一步深入研究将有助于我们提高对互营氧化过程的理解和调控。

5 水稻土互营氧化过程的关键菌群

由于参与脂肪酸互营氧化的微生物比较难以被分离培养^[6]。同时,由于缺乏相关的功能基因可用于分子生态学研究,并且参与脂肪酸互营降解的微生物种类在系统发育上存在较大差异,所以对于脂肪酸互营降解微生物的生理生态研究一直存在较大方法障碍^[55-56]。稳定同位素探针技术是一种新兴的分子生态学方法,通过向环境中添加同位素标记,以 16S rRNA 基因(DNA-SIP)、16S rRNA (RNA-SIP)或功能基因(mRNA-SIP)作为分子标记,结合定量(如 Real-time PCR)、克隆测序、T-RFLP(末端限制内切酶片段长度多态性)和 DGGE(变性凝胶梯度电泳)等技术,能够实现环境中参与物质转化关键微生物种类和功能的耦合分析^[57-59]。SIP 技术的运用极大推动了水稻土生态系统中互营氧化产 CH₄ 过程的研究,揭示了参与水稻土脂肪酸互营氧化活跃的细菌和古菌群落及其对环境因子如温度的响应。

5.1 丙酸互营氧化

在水稻土中,有机质厌氧降解产生的中间代谢产物中,乙酸积累浓度最高,其次是丙酸和丁酸。Glissmann 和 Conrad^[11](2000)研究了水稻秸秆降解过程中间代谢产物对 CH₄ 排放的贡献率,结果得出乙酸对 CH₄ 排放的贡献达到 48.2%–83.5%,

是最重要的中间产物,而丙酸对产 CH₄ 的贡献达到 18.2%–17.7%。研究表明丙酸主要是葡萄糖降解的产物^[12],当 CH₄ 排放被抑制时,丙酸显著积累;而当氢气浓度升高时,丙酸瞬间积累。从热力学角度分析氢气浓度的升高上会导致丙酸互营氧化受到抑制,表明互营细菌参与了之前丙酸的降解^[10]。Glissmann 等^[60](2001)将水稻秸秆从 25 °C 厌氧培养的水稻土中分离出来,在磷酸盐缓冲液中单独培养,并分别定位了在水稻秸秆和土体中发生的主要反应,结果表明多糖水解和发酵主要发生于秸秆残体上,而丙酸互营降解和产 CH₄ 主要发生于土体中,但具体微生物群落的变化及调控因子未做详细研究。

2004 年,Lueders 等^[55]首次使用 ¹³C 标记研究了意大利水稻土中的丙酸互营氧化微生物,通过用 ¹³C 丙酸作为底物,对丙酸氧化活跃微生物的 16S rRNA 进行了标记,发现在细菌群落中典型的互营丙酸氧化细菌 *Syntrophobacter* spp.、*Smithella* spp.和 *Pelotomaculum* spp.显著同化了标记的 C-13;而 *Methanobacterium*、*Methanosarcina* spp.和 *Methanocellales* 是显著同化 C-13 的古菌,初步揭示了在其培养条件下参与丙酸互营紧密相关的活跃细菌与产甲烷古菌^[55]。与此同时也证明了 SIP 技术在研究脂肪酸互营降解过程中能够发挥巨大作用,为互养丙酸氧化菌的研究提供了新的思路。

温度是影响水稻土有机质厌氧降解的重要环境因子^[36],但是温度对于水稻土丙酸互营氧化微生物的影响却没有相关报道。Gan 等^[61]通过 DNA-SIP 研究了温度对于中国杭州水稻土互营丙酸氧化过程的影响,同时揭示了在不同温度条件下、不同时间阶段参与互营丙酸氧化的活跃微生物类型。相关研究结果表明,较高温度(30 °C)明显促进了丙酸互养氧化和 CH₄ 产生速率。在 30 °C 条件下,参与丙酸互营氧化的细菌种类和

丰度都明显高于 15 °C 处理, 古菌群落也有相同趋势。 *Syntrophobacter* spp.、*Pelotomaculum* spp. 和 *Smithella* spp. 在 30 °C 条件下被显著标记, 并且 *Smithella* spp. 和 *Syntrophomonas* spp. 的活性在培养后期显著增加。在 15 °C 条件下同样存在丙酸的互营氧化过程。 *Syntrophobacter* spp. 和 *Pelotomaculum* spp. 在该温度下被标记, 但是 *Pelotomaculum* spp. 的活性在低温处理中显著低于中温处理。非常有趣的是, 除了以上微生物类群外, *Geobacter* spp. 和其它一些厌氧微生物如 *Rhodocyclaceae*、*Acidobacteria*、*Actinobacteria*、和 *Thermomicrobia* 也在培养的过程中同化了 C-13 标记物。这些微生物类型在以往的研究中并没有发现具有丙酸互营氧化的能力, 因此对于这些微生物在丙酸互营氧化过程中所起的作用还有待进一步研究。参与丙酸互营降解的古菌群落在两个温度条件下也存在很大差异, 30 °C 条件下活跃产甲烷古菌主要是乙酸型产甲烷古菌 *Methanosaetaceae* 和氢型产甲烷古菌 *Methanomicrobiales* 和 *Methanocellales*, 而 15 °C 处理中, *Methanomicrobiales*、*Methanocellales* 和 *Methanosarcinaceae* 是主要的产甲烷古菌类型, 而 *Methanosarcinaceae* 的丰度有所下降。

5.2 丁酸互营氧化

丁酸也是水稻田中的主要有机酸之一^[7,62]。Zou 等^[63] (2003) 通过对日本 Kanagi 水稻土中的一种丁酸互营细菌(菌株 TB-6)进行计数、分离和鉴定研究, 第一次报到了水稻土中的丁酸互营氧化细菌。系统发育分析表明该丁酸互营氧化菌属于 *Syntrophomonas*。同时, 在添加抑制剂 BES (2-Bromoethanesulphonate) 之后, 由于下游的产甲烷过程受到抑制, 氢气逐步累积, 丁酸的降解也受到抑制, 丁酸在水稻土中开始累积, 以上结果表明在原位水稻土中可能存在丁酸互营氧化过程。但是对于原位条件下的丁酸氧化过程和具

体参与的微生物种类没有进一步研究。

Liu 等^[64] (2011) 利用 DNA-SIP 对中国杭州水稻土进行了研究。添加的 ¹³C 丁酸的降解伴随着 ¹³CH₄ 和 ¹³CO₂ 的产生, 表明在实验条件下水稻土中存在丁酸互营氧化。T-RFLP 和克隆文库结果显示, 经过 14 d 和 21 d 的厌氧培养之后, 典型的丁酸互营氧化细菌 *Syntrophomonadaceae* 在两个时间阶段均被显著标记了, *Syntrophomonadaceae* 是水稻丁酸互营氧化的活跃微生物。与此同时, *Planctomycetes* 和 *Chloroflexi* 类型的细菌在培养过程被显著标记。 *Planctomycetes* 和 *Chloroflexi* 类型的细菌被标记出乎意料之外。之前研究发现属于 *Chloroflexi* 的细菌如 *Anaerolineae* 能够在厌氧条件下降解多种糖类, 并且在氢型产甲烷菌存在时生长更好, 暗示这些类型的菌有可能参与互营氧化。 *Planctomycetes* 和 *Chloroflexi* 也有可能通过同化丁酸互营氧化的中间产物被 C-13 标记, 但是它们被标记的具体机制以及这些类型的细菌能否进行丁酸互营氧化, 目前的实验结果尚不能证明。对于古菌而言, *Methanosarcinaceae* 和 *Methanocellales* 是参与丁酸降解的主要产甲烷菌。在丁酸互营氧化过程中, *Methanocellales* 消耗丁酸氧化产生的 H₂, 而 *Methanosarcinaceae* 主要利用该过程产生的乙酸。

5.3 乙酸互营氧化

在水稻土中, 乙酸是大分子有机物质厌氧降解的重要中间产物。乙酸的降解可以通过乙酸裂解产 CH₄ 或乙酸互营氧化完成。虽然对于乙酸互营细菌纯培养的研究为我们提供了许多信息, 但是乙酸互营氧化过程的自然生境及其特点并不清楚^[65]。一般认为在高温或高铵浓度下, 乙酸互营较易发生。在厌氧水稻土中乙酸的互营氧化过程是否存在, 参与乙酸互营氧化的微生物种类有哪些, 直到最近才有相关研究报道。

Liu 等^[66] (2010) 研究了高温 (50 °C) 条件下意

大利水稻土的乙酸厌氧降解过程。在没有外源乙酸添加的情况下, $^{13}\text{CH}_4$ 和 $^{13}\text{CO}_2$ 自然丰度表明 CH_4 的产生主要来自氢型产甲烷过程, 暗示在这种条件下主要发生了乙酸的互营降解。而在外源添加 ^{13}C 乙酸之后, 乙酸互营降解和乙酸裂解型产 CH_4 过程同时发生, 并且部分 ^{13}C 标记的乙酸转化为了丙酸。通过 RNA-SIP、T-RFLP 和克隆文库的构建发现, *Thermacetogenium*、*Symbiobacterium* 和 *Thermoanaerobacteriaceae* 被显著标记了, 这些微生物类型在乙酸的互营降解中可能起主要作用。而 *Methanocellales* 是主要的产甲烷古菌, 表明 *Methanocellales* 主要参与了乙酸互营氧化过程。*Methanosarcina* 随着培养的进行逐渐增加, 说明意大利水稻土中高温条件乙酸裂解产 CH_4 途径也存在。Rui 等^[67] (2011)同时关注了高温和常温条件下水稻土的乙酸转化过程。对中国杭州水稻土在 25 °C 和 50 °C 厌氧培养之后的样品进行分析发现, [2- ^{13}C]乙酸的加入导致了 25 °C 样品中的 $^{13}\text{CH}_4$ 比例迅速上升, 但 $^{13}\text{CO}_2$ 几乎没有变化。50 °C 时, $^{13}\text{CH}_4$ 和 $^{13}\text{CO}_2$ 比例都显著增加, 因此, 25 °C 时乙酸通过乙酸裂解途径转化为 CH_4 和 CO_2 , 而 50 °C 时乙酸则通过乙酸互营氧化产生 CH_4 和 CO_2 。25 °C, 其产甲烷古菌群落以乙酸裂解型的 *Methanosarcina* 为主, 50 °C 条件下检测到的几乎所有的古菌 16S rRNA 基因都属于氢型产甲烷菌 *Methanocellales*。DNA-SIP 结果表明, 在 50 °C, *Thermacetogenium* 属和未分离培养的 *Thermoanaerobacteriaceae* 是乙酸互营氧化过程中活跃细菌类型。

综上所述, 水稻土中参与丙酸、丁酸和乙酸互营氧化的微生物种类非常丰富, 温度对于丙酸互营氧化微生物活性及其群落组成存在显著影响。参与脂肪酸互营氧化的微生物除典型已知的互营细菌外, 大量未培养或功能尚不确定的微生物类型也同化了脂肪酸分解产生的碳, 这些微生物

类型在水稻土脂肪酸互营降解过程所起的作用尚不清楚。而新型产甲烷古菌(*Methanocellales*)在不同的脂肪酸降解过程中均存在, 是主要的产甲烷古菌类型。

6 小结与展望

水稻残体等有机质的厌氧降解过程在地球碳循环中起着重要作用。有机质厌氧降解中的中间产物(如脂肪酸)必须通过互营氧化过程才能最终产生 CH_4 和 CO_2 。通过运用最新的分子生态学技术, 相关研究揭示了参与水稻土脂肪酸类中间代谢物互营氧化的活跃微生物种类。许多典型的互营细菌在水稻土脂肪酸互营氧化过程中非常活跃。同时有许多未分离培养或功能未知的细菌类群明显参与脂肪酸的转化过程, 它们在脂肪酸转化过程中的功能有待进一步研究。同时, 在不同类型的脂肪酸互营氧化过程都发现, 新型产甲烷古菌 *Methanocellales* 是关键的古菌类型。这些发现揭示了参与水稻土脂肪酸互营氧化过程的微生物群落及其功能, 为水稻土厌氧碳循环的研究提供了新的线索。与此同时, 新的分子生态学技术在不断更新和发展, SIP 技术与宏基因组的结合^[68], 高通量测序和环境芯片技术^[69-70]、NanoSIMS (高分辨率二级离子质谱)和 STXM (扫描透射 X 光显微镜)^[71]在环境微生物研究的中运用, 为我们阐明水稻土脂肪酸的互营氧化过程、解析参与互营氧化的微生物群落及功能、理解互营氧化过程中的微生物相互作用机制提供了新的方法和思路。

参考文献

- [1] Wang MX, Li J. CH_4 emission and oxidation in Chinese rice paddies[J]. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2002, 64(1/2): 43-55.
- [2] IPCC. 2007: Summary for policymakers[A]//

- Solomon S, Qin D, Manning M, et al. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change[C]. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press, 2007.
- [3] Conrad R. The global methane cycle: recent advances in understanding the microbial processes involved[J]. Environmental Microbiology Reports, 2009, 1(5): 285–292.
- [4] Lu YH, Watanabe A, Kimura M. Input and distribution of photosynthesized carbon in a flooded rice soil[J]. Global Biogeochemical Cycles, 2002, 16(4): 1085–1093.
- [5] Kimura M, Murase J, Lu YH. Carbon cycling in rice field ecosystems in the context of input, decomposition and translocation of organic materials and the fates of their end products (CO₂ and CH₄)[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(9): 1399–1416.
- [6] Schink B. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1997, 61(2): 262–280.
- [7] Rui JP, Peng JJ, Lu YH. Succession of bacterial populations during plant residue decomposition in rice field soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(14): 4879–4886.
- [8] McInerney MJ, Struchtemeyer CG, Sieber J, et al. Physiology, ecology, phylogeny, and genomics of microorganisms capable of syntrophic metabolism[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2008, 1125(1): 58–72.
- [9] Schink B, Stams AJM. Syntrophism among Prokaryotes[M] // Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E, eds. The Prokaryotes. New York: Springer, 2006: 309–335.
- [10] Chin K, Conrad R. Intermediary metabolism in methanogenic paddy soil and the influence of temperature[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1995, 18(2): 85–102.
- [11] Glissmann K, Conrad R. Fermentation pattern of methanogenic degradation of rice straw in anoxic paddy soil[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2000, 31(2): 117–126.
- [12] Krylova NI, Janssen PH, Conrad R. Turnover of propionate in methanogenic paddy soil[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1997, 23(2): 107–117.
- [13] Kato S, Watanabe K. Ecological and evolutionary interactions in syntrophic methanogenic consortia[J]. Microbes and Environments, 2010, 25(3): 145–151.
- [14] Bryant M, Wolin EA, Wolin MJ, et al. *Methanobacillus omelianskii*, a symbiotic association of two species of bacteria[J]. Archiv für Microbiologie, 1967, 59(1): 20–31.
- [15] Thiele JH, Zeikus JG. Control of interspecies electron flow during anaerobic digestion: significance of formate transfer versus hydrogen transfer during syntrophic methanogenesis in flocs[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54(1): 20–29.
- [16] Stams AJM, De Bok FAM, Plugge CM, et al. Exocellular electron transfer in anaerobic microbial communities[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(3): 371–382.
- [17] Stams AJM, Plugge CM. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea[J]. Nature Reviews Microbiology, 2009, 7(8): 568–577.
- [18] Grotenhuis JT, Smit M, Plugge CM, et al. Bacteriological composition and structure of granular sludge adapted to different substrates[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57(7): 1942–1949.
- [19] Ishii S, Kosaka T, Hori K, et al. Coaggregation facilitates interspecies hydrogen transfer between *Pelotomaculum thermopropionicum* and *Methanothermobacter thermoautotrophicus*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(12): 7838–7845.
- [20] Ishii SI, Hotta Y, Watanabe K, et al. Simulating the contribution of coaggregation to interspecies hydrogen fluxes in syntrophic methanogenic consortia[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(7): 5093–5096.
- [21] 东秀珠. 甲酸盐和分子氢在丙酸和丁酸互营降解

- 中的作用[J]. 微生物学通报, 1997, 24(1): 51–56.
- [22] de Bok FAM, Plugge CM, Stams AJM. Interspecies electron transfer in methanogenic propionate degrading consortia[J]. Water Research, 2004, 38(6): 1368–1375.
- [23] Ahring BK, Westermann P. Product inhibition of butyrate metabolism by acetate and hydrogen in a thermophilic coculture[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54(10): 2393–2397.
- [24] Van Lier JB, Grolle KC, Frijters CT, et al. Effects of acetate, propionate, and butyrate on the thermophilic anaerobic degradation of propionate by methanogenic sludge and defined cultures[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(4): 1003–1011.
- [25] Dong XZ, Plugge CM, Stams AJM. Anaerobic degradation of propionate by a mesophilic acetogenic bacterium in coculture and triculture with different methanogens[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60(8): 2834–2838.
- [26] Summers ZM, Fogarty HE, Leang C, et al. Direct exchange of electrons within aggregates of an evolved syntrophic coculture of anaerobic bacteria[J]. Science, 2010, 330(6009): 1413–1415.
- [27] Morita M, Malvankar NS, Franks AE, et al. Potential for direct interspecies electron transfer in methanogenic wastewater digester aggregates[J]. mBio, 2011, 2(4): e00159–e00111.
- [28] Liu FH, Rotaru AE, Shrestha PM, et al. Promoting direct interspecies electron transfer with activated carbon[J]. Energy and Environmental Science, 2012, 5(10): 8982–8989.
- [29] Kato S, Hashimoto K, Watanabe K. Methanogenesis facilitated by electric syntrophy via (semi) conductive iron-oxide minerals[J]. Environmental Microbiology, 2011, 14(7): 1646–1654.
- [30] Kato S, Hashimoto K, Watanabe K. Microbial interspecies electron transfer via electric currents through conductive minerals[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(25): 10042–10046.
- [31] Reguera G, McCarthy KD, Mehta T, et al. Extracellular electron transfer via microbial nanowires[J]. Nature, 2005, 435(7045): 1098–1101.
- [32] Shimoyama T, Kato S, Ishii SI, et al. Flagellum mediates symbiosis[J]. Science, 2009, 323(5921): 1574.
- [33] Scholten JC, Culley DE, Brockman FJ, et al. Evolution of the syntrophic interaction between *Desulfovibrio vulgaris* and *Methanosarcina barkeri*: involvement of an ancient horizontal gene transfer[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2007, 352(1): 48–54.
- [34] Hillesland KL, Stahl DA. Rapid evolution of stability and productivity at the origin of a microbial mutualism[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(5): 2124–2129.
- [35] Conrad R. Control of microbial methane production in wetland rice fields[J]. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2002, 64(1/2): 59–69.
- [36] Watanabe A, Katoh K, Kimura M. Effect of rice straw application on CH₄ emission from paddy fields. II. Contribution of organic constituents in rice straw[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 1993, 39(4): 707–712.
- [37] Puget P, Drinkwater LE. Short-term dynamics of root- and shoot-derived carbon from a leguminous green manure[J]. Soil Science Society of America Journal, 2001, 65(3): 771–779.
- [38] Lu YH, Watanabe A, Kimura M. Carbon dynamics of rhizodeposits, root- and shoot-residues in a rice soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35(9): 1223–1230.
- [39] Peng JJ, Lü Z, Rui J et al. Dynamics of the methanogenic archaeal community during plant residue decomposition in an anoxic rice field soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(9): 2894–2901.
- [40] Hatamoto M, Imachi H, Yashiro Y, et al. Diversity of anaerobic microorganisms involved in long-chain fatty acid degradation in methanogenic sludges as revealed by RNA-based stable isotope probing[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(13): 4119–4127.
- [41] Palatsi J, Illa J, Prenafeta-Boldú FX, et al.

- Long-chain fatty acids inhibition and adaptation process in anaerobic thermophilic digestion: batch tests, microbial community structure and mathematical modelling[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(7): 2243–2251.
- [42] Shin H, Kim SH, Le CY, et al. Inhibitory effects of long-chain fatty acids on VFA degradation and beta-oxidation[J]. *Water Science and Technology*, 2003, 47(10): 139–146.
- [43] Mykhaylov O, Roy JM, Jing N, et al. Influence of C₁₈ long chain fatty acids on butyrate degradation by a mixed culture[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2005, 80(2): 169–175.
- [44] Fey A, Conrad R. Effect of temperature on the rate limiting step in the methanogenic degradation pathway in rice field soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(1): 1–8.
- [45] Barker HA. On the biochemistry of the methane fermentation[J]. *Archives of Microbiology*, 1936, 7(1/5): 404–419.
- [46] Noll M, Klose M, Conrad R. Effect of temperature change on the composition of the bacterial and archaeal community potentially involved in the turnover of acetate and propionate in methanogenic rice field soil[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 73(2): 215–225.
- [47] Wu XL, Friedrich MW, Conrad R. Diversity and ubiquity of thermophilic methanogenic archaea in temperate anoxic soils[J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(3): 394–404.
- [48] Fey A, Chin KJ, Conrad R. Thermophilic methanogens in rice field soil[J]. *Environmental Microbiology*, 2001, 3(5): 295–303.
- [49] Kim HJ, Boedicker JQ, Choi JW, et al. Defined spatial structure stabilizes a synthetic multispecies bacterial community[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(47): 18188–18193.
- [50] Chen Y, Cheng JJ, Creamer KS. Inhibition of anaerobic digestion process: a review[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(10): 4044–4064.
- [51] Schnürer A, Zellner G, Svensson BH. Mesophilic syntrophic acetate oxidation during methane formation in biogas reactors[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1999, 29(3): 249–261.
- [52] Angenent LT, Sung S, Raskin L. Methanogenic population dynamics during startup of a full-scale anaerobic sequencing batch reactor treating swine waste[J]. *Water Research*, 2002, 36(18): 4648–4654.
- [53] Tang YQ, Shigematsu T, Morimura S, et al. Effect of dilution rate on the microbial structure of a mesophilic butyrate-degrading methanogenic community during continuous cultivation[J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2007, 75(2): 451–465.
- [54] Liesack W, Schnell S, Revsbech NP. Microbiology of flooded rice paddies[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, 24(5): 625–645.
- [55] Lueders T, Pommerenke B, Friedrich MW. Stable-isotope probing of microorganisms thriving at thermodynamic limits: syntrophic propionate oxidation in flooded soil[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(10): 5778–5786.
- [56] Hatamoto M, Imachi H, Yashiro Y, et al. Detection of active butyrate-degrading microorganisms in methanogenic sludges by RNA-based stable isotope probing[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(11): 3610–3614.
- [57] Radajewski S, Ineson P, Parekh NR, et al. Stable-isotope probing as a tool in microbial ecology[J]. *Nature*, 2000, 403(6770): 646–649.
- [58] Dumont MG, Murrell JC. Stable isotope probing-linking microbial identity to function[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(6): 499–504.
- [59] 贾仲君. 稳定性同位素核酸探针技术 DNA-SIP 原理与应用[J]. *微生物学报*, 2011, 51(12): 1585–1594.
- [60] Glissmann K, Weber S, Conrad R. Localization of processes involved in methanogenic degradation of rice straw in anoxic paddy soil[J]. *Environmental Microbiology*, 2001, 3(8): 502–511.
- [61] Gan Y, Qiu Q, Liu P et al. Syntrophic oxidation of propionate in rice field soil at 15 and 30 °C under methanogenic conditions[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(14):

- 4923–4932.
- [62] Kimura M, Minoda T, Murase J. Water-soluble organic materials in paddy soil ecosystem[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 1993, 39(4): 713–724.
- [63] Zou BZ, Takeda K, Tonouchi A et al. Characteristics of an anaerobic, syntrophic, butyrate-degrading bacterium in paddy
- [64] Zou BZ, Takeda K, Tonouchi A, et al. Characteristics of an anaerobic, syntrophic, butyrate-degrading bacterium in paddy field soil[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2003, 67(10): 2059–2067.
- [65] Liu P, Qiu Q, Lu Y. *Syntrophomonadaceae*-affiliated species as active butyrate-utilizing syntrophs in paddy field soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(11): 3884–3887.
- [66] Hattori S. Syntrophic acetate-oxidizing microbes in methanogenic environments[J]. Microbes and Environments, 2008, 23(2): 118–127.
- [67] Liu FH, Conrad R. *Thermoanaerobacteriaceae* oxidize acetate in methanogenic rice field soil at 50 °C[J]. Environmental Microbiology, 2010, 12(8): 2341–2354.
- [68] Rui JP, Qiu QF, Lu YH. Syntrophic acetate oxidation under thermophilic methanogenic condition in Chinese paddy field soil[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2011, 77(2): 264–273.
- [69] Chen Y, Murrell JC. When metagenomics meets stable-isotope probing: progress and perspectives[J]. Trends in Microbiology, 2010, 18(4): 157–163.
- [70] He ZL, Gentry TJ, Schadt CW, et al. GeoChip: a comprehensive microarray for investigating biogeochemical, ecological and environmental processes[J]. The ISME Journal, 2007, 1(1): 67–77.
- [71] Quince C, Lanzén A, Curtis TP, et al. Accurate determination of microbial diversity from 454 pyrosequencing data[J]. Nature Methods, 2009, 6(9): 639–641.
- [72] Behrens S, Kappler A, Obst M. Linking environmental processes to the in situ functioning of microorganisms by high-resolution secondary ion mass spectrometry (NanoSIMS) and scanning transmission X-ray microscopy (STXM)[J]. Environmental Microbiology, 2012, 14(11): 2851–2869.

编辑部公告

《微生物学通报》英文刊名

《微生物学通报》之前使用的英文刊名“Microbiology”因在国际上有重名，造成了本刊在被国内外作者引用以及国外数据库收录时英文刊名的混乱，这大大影响了本刊在国际上的传播，也不利于对我刊引用数据的统计。经本届编委会讨论，以及主办单位批准，本刊英文刊名自2010年起变更为“**Microbiology China**”，请各位作者、读者和数据库引用时注意使用。