

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54(8):841-853; 4 August 2014
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.08.001

土壤大气甲烷氧化菌研究进展

蔡元锋, 贾仲君*

中国科学院南京土壤研究所, 土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 江苏 南京 210008

摘要:土壤微生物催化是大气中痕量甲烷(约 1.8ppmv)氧化的唯一生物途径。目前的研究表明好氧土壤中存在专性和选择性大气甲烷氧化菌 2 种类型:前者(USC α 和 USC γ)广泛分布于各种好氧旱地土壤,其甲烷氧化酶对低浓度甲烷亲和力极高,属真正的寡营养型,但至今尚未获得该种类的纯培养菌株。后者属于传统甲烷氧化菌 *Methylocystis*/*Methylosinus* 属,广泛分布于各种周期性排放高浓度甲烷的土壤环境中。该属大部分菌株含有亲和力不同的 2 套甲烷单加氧酶系统,其中的高亲和力甲烷单加氧酶使这些菌株可以在相当长的时间内(>3 个月)保持大气浓度甲烷氧化活性,但其生长和繁殖还需依赖于土壤内部阶段性产生的高浓度甲烷。本文详细阐述了 2 类大气甲烷氧化菌的发现历程及其可能的生存策略,最后系统梳理了几种关键的环境因子(土壤温度及湿度、土壤 pH、植被、土地利用及氮输入)对大气甲烷氧化菌群落结构和甲烷氧化活性的影响,提出并展望了土壤大气甲烷氧化菌研究的重要方向。

关键词:大气甲烷, 甲烷氧化菌, 好氧旱地土壤, 环境因子

中图分类号:Q938 **文章编号:**0001-6209(2014)08-0841-13

甲烷(CH₄)是一种重要的痕量温室气体,目前其大气浓度约为 1.8ppmv (part per million by volume)^[1]。对极地冰芯的研究表明大气甲烷浓度在 150 年前约为 0.6 ppmv - 0.8 ppmv,随后以 1% 的年增长率持续增长^[2]。在 1997 - 2007 年间大气甲烷浓度曾一度完全停止增长,造成这种异常的原因可能是湿地资源的减少、破损天然气管道的修复或者化石燃料等甲烷排放源的减少^[3]。然而,2007 年后大气甲烷浓度又开始恢复增长^[4]。大气甲烷浓度的变化由地表甲烷排放量和甲烷氧化量的差额决定。75% 的大气甲烷源于产甲烷菌在各种厌氧环

境条件下的代谢活动^[5]。与甲烷产生过程不同,大气甲烷氧化的主要方式(>80%)是在对流层发生的甲烷光化学氧化^[5],其余的部分主要由土壤中的甲烷氧化菌完成氧化。在通气良好的旱地土壤中,随着深度的增加,甲烷浓度一般会从 1.8ppmv 左右逐渐降低^[6-8],这不同于排放甲烷的湿地土壤,一些湿地土壤中的甲烷浓度可能会随深度加深而迅速增加到 1000ppm 以上^[9]。土壤甲烷氧化菌对大气甲烷的氧化虽然仅占全球甲烷汇的 5% - 15%^[3],但该过程是消耗大气甲烷的唯一生物汇,对保持大气甲烷浓度平衡具有重要意义,据估算,大气甲烷氧化

基金项目:科技部国际合作专项项目“大气组成变化及其影响与对策研究”(2010DFA22770);中国科学院应用微生物研究网络项目(KSCX2-EW-G-16)

* 通信作者。Tel: +86-25-86881311; Fax: +86-25-86881000; E-mail: jia@issas.ac.cn

作者简介:蔡元锋(1983-),男,山东滕州人,博士后,主要从事环境微生物研究。E-mail: yfcai@issas.ac.cn

收稿日期:2013-11-26; **修回日期:**2014-01-20

微生物缺失条件下, 甲烷浓度的增速将提高 50%^[10]。

大气甲烷氧化主要发生在排水良好的好氧旱地土壤表层, 尚未发现海洋环境中存在大气甲烷氧化过程。尽管仍未有纯培养菌株报道, 目前一般认为旱地土壤中的大气甲烷氧化菌是一类新型甲烷氧化菌, 其主要特点是以大气中的痕量甲烷为唯一或主要能量来源, 对底物的亲和力极高, 其代谢多样性的研究可能对传统微生物生理过程研究产生极大的影响。例如, 已培养的传统甲烷氧化菌均属于变形菌门 (Proteobacteria), 并以甲烷为唯一碳源和能源。近年来又在疣微菌门 (Verrucomicrobia) 中发现了 3 株嗜酸甲烷氧化菌 (pH2 - 2.5)^[11-13], 表明甲烷氧化可能是地球早期极端生命的一种表现形式。根据菌株的形态、系统进化关系以及细胞内膜堆叠方式、碳同化途径、主要磷脂酸成分等多种生理特征的差异, 传统甲烷氧化菌可分为 type I 和 type II 2 种类型, 图 1 为根据好氧甲烷氧化菌颗粒型甲烷单加氧酶 *pmoA* 基因构建的系统发育树, 从中可以看到主要的好氧甲烷氧化菌种类及其系统进化关系。传统甲烷氧化菌主要来自自然湿地、稻田等淹水环境中的有氧界面, 一半以上的甲烷在释放到大气之前就被它们氧化了^[14], 对减少甲烷排放非常关键, 但一般认为它们不参与大气甲烷的氧化。目前关于甲烷氧化菌的分类、生理及生态特征的各种综述性文献主要针对传统的甲烷氧化菌^[15-17], 大气甲烷氧化菌的系统性总结较少^[18]。本文拟对近年来大气甲烷氧化菌的重要进展进行系统性总结, 并对今后的研究方向提出一些建议。

1 大气甲烷氧化菌的发现历程

1.1 大气甲烷氧化现象的发现

1982 年, 研究人员在测定甲烷排放通量时, 发现美国弗吉尼亚州的大沼泽 (Great Dismal Swamp) 表层沉积物由淹水状态转为干旱状态后, 土壤竟然能够吸收大气甲烷, 首次报道了土壤氧化大气甲烷的现象^[19]。此后, 研究人员陆续对森林^[20]、草原^[21]、沙漠^[22]及苔原^[23]等多种土壤环境进行甲烷通量的调查, 发现通气良好的土壤氧化吸收大气甲烷是一种普遍的现象, 这些发现改变了土壤微生物氧化大气甲烷量是微不足道的观念^[24], 极大地影响

了学术界对全球甲烷循环的认识, 并促使研究人员对全球甲烷汇进行重新评估, 根据最新的估计, 大气甲烷的土壤微生物汇可占全球大气甲烷汇的 5% - 15%^[3]。

1.2 大气甲烷氧化菌生理特性的探索

尽管甲烷氧化的研究历史长达上百年, 甲烷氧化菌分离培养也有数十年的历史, 但传统甲烷氧化菌的纯培养菌株大多分离自富含甲烷的淹水厌氧环境, 对底物甲烷的亲和力较低, 无法通过氧化利用大气甲烷进行生长。因此, 在大气甲烷氧化现象发现后不久, 研究人员就开始试图从微生物生理的角度揭示其背后的机理。1992 年, 研究人员对多种表现出大气甲烷氧化能力的土壤进行甲烷氧化动力学的研究, 发现这类土壤中微生物甲烷氧化酶的表观半饱和常数 [K_m (app)] 极低, 在 30 - 51 nmol/L 之间, 远低于甲烷排放环境及纯培养的甲烷氧化菌 K_m (app) (通常大于 1 μ mol/L)^[25], 第一次报道了旱地土壤中甲烷氧化菌的独特生理特点。随后的多个研究都证实了旱地土壤甲烷氧化菌和传统可培养甲烷氧化菌 K_m (app) 值具有巨大的差异^[26-27], 表明这些旱地土壤中存在对痕量甲烷亲和力极高的未知甲烷氧化菌^[25]。

1.3 大气甲烷氧化菌的鉴定与命名

16S rRNA 是微生物鉴定最常用的分子标记, 然而甲烷氧化菌 16S rRNA 引物的共同点是覆盖度非常有限, 因此在环境样品的研究中使用不多。甲烷氧化菌特有的甲烷单加氧酶功能基因, 其系统进化关系与甲烷氧化菌的 16S rRNA 基因基本一致^[28], 被广泛应用于甲烷氧化菌生理生态学研究。甲烷单加氧酶分为颗粒型 (particulate methane monooxygenase, pMMO) 和可溶型 (soluble methane monooxygenase, sMMO) 2 种。pMMO 是一种膜蛋白, 除了 *Methylocella* 和 *Methyloferula* 2 个属外^[29-30], 存在于其他已知的所有甲烷氧化菌, 其 β 亚基的编码基因 *pmoA* 是研究土壤大气甲烷氧化菌多样性的理想分子标记物^[31]。

1995 年, Holmes 等^[32] 设计了针对甲烷氧化菌功能基因 *pmoA* 的特异性引物, 随后在 1999 年通过¹⁴C 磷脂脂肪酸 (phospholipid fatty acid, PLFA) 同位素标记以及构建 *pmoA* 基因克隆文库的方法率先对 3 种森林土壤中的大气甲烷氧化菌进行探索, 结果表明其中的活性甲烷氧化菌 (最初以 1 个克隆子

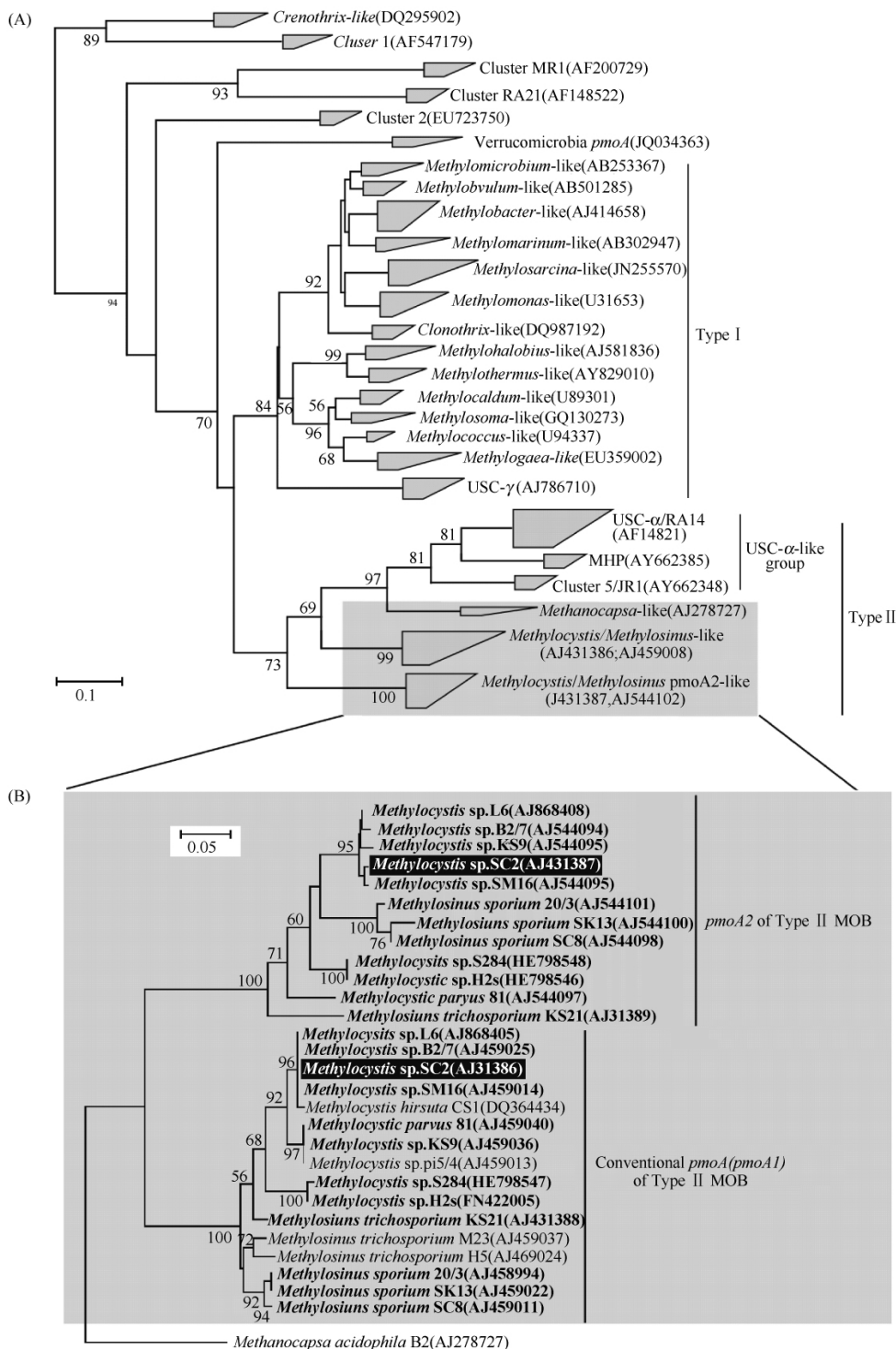


图 1. 根据好氧甲烷氧化菌颗粒型甲烷单加氧酶 *pmoA* 基因蛋白序列以邻接法构建的系统发育树

Figure 1. Neighbor-joining phylogenetic trees of aerobic methane-oxidizing bacteria based on *pmoA* protein sequences. GenBank accession numbers of representative sequences of each group (Fig. 1A) or strains (Fig. 1B) are given in parentheses. Bootstrap values (> 50%) based on 1000 replications are shown at branch nodes. *Methylocella* and *Methyloferula* belonging to type II methane-oxidizing bacteria were not shown in this figure due to lack of *pmoA* gene. A: Major lineages or groups of aerobic methane-oxidizing bacteria. Groups containing isolates are named as the respective genera and groups containing no isolates are named as the representative clones (RA14, RA21) or the environment where they initially come from (USC α : upland soil cluster α ; USC γ : upland soil cluster γ ; JR: Jasper Ridge, California; MR: forest near Marburg, Germany; MHP: Moor House peat, England). Groups of atmospheric methane-oxidizing bacteria, which are generally accepted, are shown in bigger font. B: Distribution of novel *pmoA2* gene and conventional *pmoA1* (*pmoA1*) gene in different strains of type II methane-oxidizing bacteria (*Methylосinus/Methylocystis* group) and their phylogenetic relationship. Names of strains containing both *pmoA2* and *pmoA1* are shown in bold. *Methylocystis* sp. SC2, the major strain discussed in this review, is shown in black background. *Methylocapsa acidiphila* B2 which also belonging to type II methane-oxidizing bacteria is used as outgroup. MOB: methane-oxidizing bacteria.

的名字 RA14 命名)类似但不等同于 Type II 甲烷氧化菌(属于 alphaproteobacteria),在系统发育树上聚成单独的分支,而且 RA14 基因型是这些土壤中检出的唯一 *pmoA* 基因型,初步证实了之前关于大气甲烷氧化菌是新型甲烷氧化菌的猜想^[33]。随后的研究陆续发现新型甲烷氧化菌存在于不同类型的好氧土壤中^[34-37]。由于一直未能获得大气甲烷氧化菌的纯培养菌株,2003 年,Knief 等^[37]第一次以 USC α (upland soil cluster α)命名这类难培养大气甲烷氧化菌生态型。USC α 和传统的 Type II 可培养甲烷氧化菌 *Methylocapsa* 亲缘关系最近^[7],最初仅包含 RA14 类群^[33],由于与另外 2 个进化枝包括 JR1 (又名 cluster 5)和 MHP 共同形成了一个单源的进化簇,也有研究者将 RA14、JR1 和 MHP 3 个进化枝定义为 USC α -like group^[8]。在部分森林土壤中,USC α 数量可达全部甲烷氧化菌的 90% 以上^[7,38],表明该类群可能是大气甲烷氧化的主要驱动者。同时,在甲烷排放量较高的各种淹水湿地环境中并未检测到这种基因型^[37],因此,尽管不清楚其大气甲烷氧化机制,USC α 以及后来发现的 USC γ (upland soil cluster γ , 系统进化上接近 Type I 可培养甲烷氧化菌 *Methylococcaceae* 科,属于 gammaproteobacteria)^[37]等高亲和力的难培养甲烷氧化菌被认为是大气甲烷氧化菌的唯一类型。另外,土壤中可能还存在一些未知的甲烷氧化菌类群,如 Cluster 1、Clusters 2、RA21 和 MR1 等,这些类群与已知的 *pmoA* 基因的系统发育亲缘关系较远(图 1-A),由于 *pmoA* 和氨氧化菌的 *amoA* 基因具有进化上的亲缘关系,这些类群也可能是未培养的氨氧化菌,或者是具有新功能的未知微生物^[18]。需要指出的是,以上的研究结论大多源自传统的 Sanger 克隆文库测序方法。2011 年,Lüke 和 Frenzel 将 454 高通量测序方法引入到甲烷氧化菌多样性的研究中,以 *pmoA* 基因的 PCR 产物为测序对象,通过和传统的克隆文库方法比较,表明 454 高通量测序方法在种的水平上可以提供更高的多样性^[39],这对于原位条件下研究难培养大气甲烷氧化菌的遗传和代谢多样性具有重要意义。

除了基因序列分析方法,磷脂脂肪酸同位素标记技术(phospholipid fatty acid-stable isotope probing, PLFA-SIP)由于其远高于 DNA-SIP 的灵敏度,也被用于早期的大气甲烷氧化菌探索。然而,由于大

气甲烷浓度极低,数月的培养通常也很难获得足够量的¹³C 标记 PLFA。此外,PLFA 方法本身具有一定的局限性,其对微生物种类的判断主要依赖于样品 PLFA 图谱和已知的纯培养甲烷氧化菌 PLFA 图谱的比对,而纯培养甲烷氧化菌 PLFA 图谱仅在 Type I/Type II (即 gammaproteobacteria / alphaproteobacteria)这一分类水平上表现出显著差异(Type I 甲烷氧化菌主要含 14C 和 16C PLFA,而 Type II 主要含 18C PLFA),因此难以对大气甲烷氧化菌种类进行精确的鉴定。如果样品中活性甲烷氧化菌种类同时包含 Type I 和 Type II,由于 2 种类型甲烷氧化菌的 PLFA 图谱互相重叠,也会对研究结果带来较大误差^[40]。因此目前仅有少量大气甲烷浓度(1.8ppmv)的 PLFA-SIP 报道^[34,41-43],且无法获得精确的分类信息。

1.4 大气甲烷氧化菌的新发现

2005 年,研究人员发现 *Methylocystis* 属的一些甲烷氧化菌菌株在大气甲烷浓度下也可以在较长时间内保持甲烷氧化活性(> 3 个月)^[44]。另外,也有报道表明 *Methylocystis* 属的 1 个菌株 SC2 中存在新型的 *pmoA* 基因(*pmoA2*),和传统的 *pmoA* 基因(*pmoA1*)序列相似度仅为 73%^[45]。随后的研究表明 *pmoA2* 广泛存在于 Type II 甲烷氧化菌 *Methylocystis*/*Methylosinus* 属^[46](图 1-B),但当时研究人员尚未意识到 *pmoA2* 所代表的新型甲烷单加氧酶和大气甲烷氧化之间的关系。直到 2008 年,Baani 等^[47]研究了 *Methylocystis* sp. SC2 菌株及其它几株不同的甲烷单加氧酶基因缺失突变株的甲烷氧化动力学规律,发现 *pmoA1* 所代表的甲烷单加氧酶 pMMO1(即传统的甲烷单加氧酶)仅在环境甲烷浓度高于 600 ppmv 时表达,而 *pmoA2* 所代表的甲烷单加氧酶 pMMO2 呈结构性表达,不依赖周围甲烷的浓度,其 K_m (app) 值在 0.11 $\mu\text{mol/L}$,和氧化大气甲烷的旱地土壤 K_m (app) 值处于同一水平,表明 pMMO2 的表达是 *Methylocystis* sp. SC2 能够在一定时期内氧化大气甲烷的主要原因。同时,前期的研究也发现具有大气甲烷氧化能力的菌株并不能在大气甲烷浓度下生长繁殖,其活性的维持也有一定的期限,因此,pMMO2 的表达极可能是帮助甲烷氧化菌度过底物缺乏的饥饿胁迫阶段,其生长繁殖仍需依赖于厌氧环境中偶然或周期性产生的高浓度内生甲烷。这一惊人发现揭示了一种全新的甲烷氧化模式,即通

过 2 种酶的表达调控适应不同的甲烷浓度, 这种双酶系统可能是 *Methylocystis*/*Methylosinus* 属甲烷氧化菌在周期性淹水产甲烷的土壤环境中经过长期的进化获得。值得注意的是, 尽管这些发现意味着某些传统的可培养甲烷氧化菌也可能在一段时期内直接参与大气甲烷的氧化, 但这种全新的观点尚需更多原位数据的支撑。

因此, 目前的研究表明大气甲烷氧化菌可分为 2 类, 一类是在旱地好氧土壤中广泛分布的 USC α 和 USC γ 等未培养的甲烷氧化菌, 这类甲烷氧化菌对低浓度甲烷亲和力极高, 在大气甲烷浓度下能够长期生存, 可称之为专性大气甲烷氧化菌; 一类是 *Methylocystis*/*Methylosinus* 属含双甲烷单加氧酶系统

的传统甲烷氧化菌, 能够在特定条件下, 通过甲烷单加氧酶 pMMO2 氧化大气甲烷, 可称之为选择性大气甲烷氧化菌。

2 大气甲烷氧化菌的生存策略

大气甲烷氧化菌在痕量的大气甲烷浓度下维持生长和繁殖的机制目前仍不清楚, 很大程度上停留在猜想阶段。目前, 大气甲烷氧化菌生存策略的推测可分为寡营养型、依赖高浓度内生甲烷及兼性营养 3 种, 前 2 种生存策略分别对应专性和选择性大气甲烷氧化菌, 而兼性营养策略 2 类大气甲烷氧化菌均采用 (图 2)。

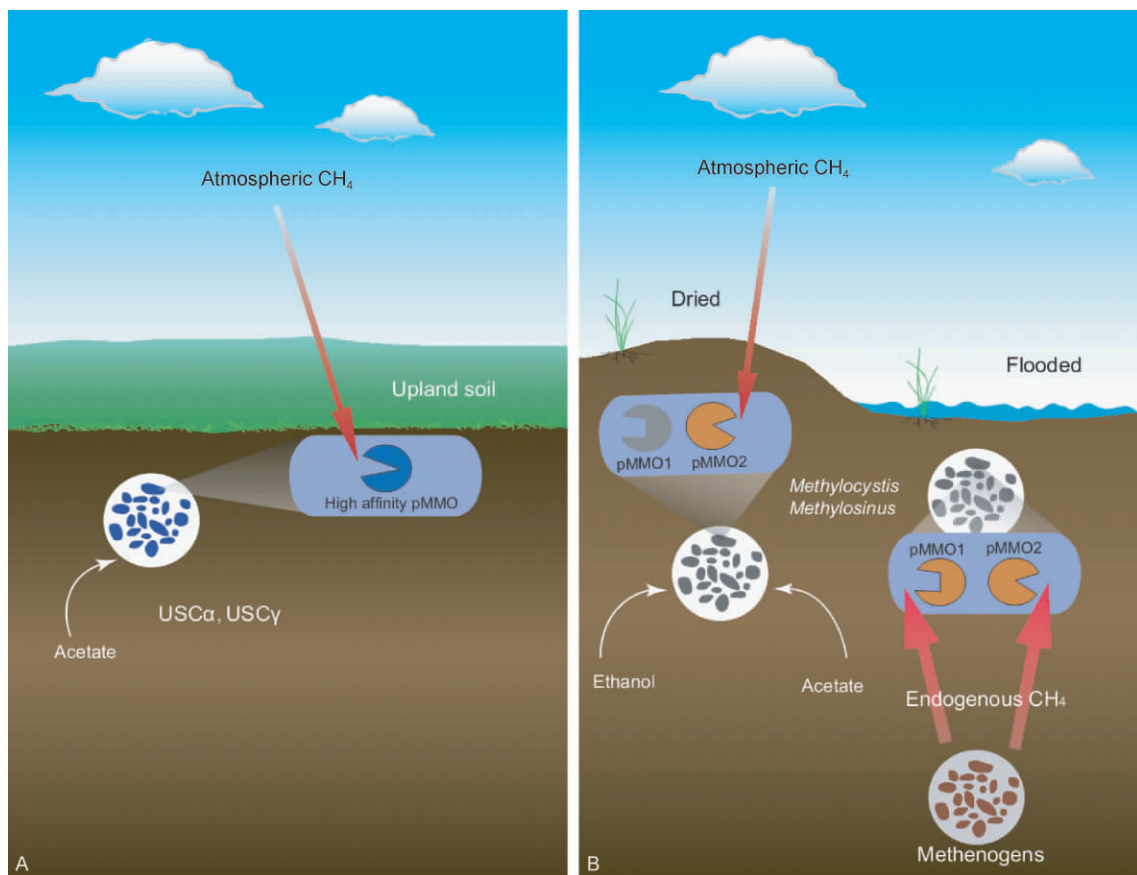


图 2. 大气甲烷氧化菌生存策略卡通图

Figure 2. Cartoon diagram of living strategies of atmospheric methane oxidizing bacteria. A: Living strategies of obligate atmospheric methane oxidizing bacteria in aerobic upland soils. B: Living strategies of alternative atmospheric methane oxidizing bacteria in soils under dried and flooded conditions. Facultative strategy has been marked by small white arrows in this figure.

2.1 寡营养型

高亲和力的专性大气甲烷氧化菌极可能采取这种策略, 将大气甲烷作为唯一的碳源和能源 (图 2-

A)。这是大气甲烷氧化菌和传统的可培养甲烷氧化菌在生理特征上的最大差异。生活在甲烷释放源附近的传统甲烷氧化菌依靠土壤内部释放的高浓度

甲烷完全可以满足生存需求。而专性大气甲烷氧化菌由于长期处于低浓度甲烷环境,不得不进化出高亲和力的甲烷氧化酶以维持生长和繁殖。已有学者从理论上尝试证明这种生存策略的可能性。例如, Kolb 等^[7]通过计算大气甲烷浓度下(1.8 ppmv)森林土壤中 USC α 和 Cluster 1 特异生态型的细胞甲烷氧化速率(分别为 540×10^{-18} mol/cell/h 和 800×10^{-18} mol/cell/h),并和估算的细胞维持活性所需最低能量时的甲烷氧化速率(40×10^{-18} mol/cell/h)比较,发现两者差距在 10 倍以上,从理论上推测大气甲烷氧化菌可以从大气痕量甲烷中获得足够的能量用于生长繁殖。然而, Degelmann 等^[48]认为 Kolb 等高估了细胞甲烷氧化速率,他们对 2 个森林土壤样品的计算表明 USC α 的细胞甲烷氧化速率在 1×10^{-18} mol/cell/h 到 14×10^{-18} mol/cell/h 之间,低于细胞活性维持的理论值,他们认为 USC α 需要额外的碳源或能源才能满足生长需求。因此, USC α 等寡营养生态型的生存策略尚需更多理论和实验数据支撑。

2.2 依赖高浓度内生甲烷

选择性大气甲烷氧化菌 (*Methylocystis*/*Methylosinus* 属)采取这种生存策略(图 2-B)。它们含有的双甲烷单加氧酶系统使得这类微生物能够适应甲烷浓度剧烈变异的土壤环境,这种能力能够使它们维持相对稳定的种群数量,并由此保持在这类环境中对其他可培养甲烷氧化菌的竞争优势。其他的传统甲烷氧化菌由于仅含有一种低亲和力甲烷单加氧酶,因此很难在这类环境中长期占据优势。因此,这类甲烷氧化菌不但广泛分布于各种周期性淹水的湿地土壤中,在许多旱地土壤中也大量存在^[18],因为许多旱地土壤可能由于含水量的变化(如降雨、洪水等)在某段时间内短期淹水而成为甲烷排放源^[49]。这类甲烷氧化菌可能在高浓度甲烷排放期间完成生长繁殖并通过储备大量高分子聚合物(如聚羟基丁酸酯)来协助它们在大气甲烷浓度下维持甲烷氧化活性^[18]。

2.3 兼性营养

这种策略指利用甲烷以外的其他有机物补充碳源和能源(图 2)。虽然甲烷氧化菌曾被认为是专性甲基营养菌,仅能利用甲烷、甲醇及少数几种 C1 化合物,但到目前为止,已确定传统甲烷氧化菌 *Methylocella*、*Methylocapsa* 及 *Methylocystis* 3 个属(均

属于 Type II 甲烷氧化菌)的多个菌株属兼性营养甲烷氧化菌,能够利用醋酸盐、乙醇及其他多种有机酸^[50],尚未发现 Type I 甲烷氧化菌具有这种能力。最近, DNA 和 RNA-SIP 方法的结合证实了 USC α 大气甲烷氧化菌也可以利用醋酸盐^[38],但为期 3 周的培养并未使 USC α 数量增加。因此,目前的研究仅仅表明某些甲烷氧化菌包括 USC α 能够利用其他多碳化合物,而且这种能力也并非大气甲烷氧化菌所独有,因此在大气甲烷氧化菌生长繁殖过程中是否主要依赖这些化合物补充碳源及能源仍不清楚,还需要更加直接和定量的数据。

综上所述,自然环境中的大气甲烷氧化菌,特别是 USC α 等难培养生态型的生存策略仍不清楚,未来仍需更多的原位研究来阐释大气甲烷氧化菌的生理生态学特征。

3 环境因素对大气甲烷氧化菌分布及活性的影响

地球长期的自然历史演变过程形成了环境条件差别巨大的各种生态系统,这些生态系统的土壤大气甲烷氧化能力差异显著,由大到小依次为热带及温带森林(年平均通量: -4.79 ± 0.61 kg/ha/yr)、温带草原(-3.20 ± 0.42 kg/ha/yr)、沙漠及半荒漠(-2.06 ± 0.35 kg/ha/yr)、寒带森林(-1.94 ± 3.93 kg/ha/yr)和热带稀树草原(-0.80 ± 0.51 kg/ha/yr)^[51]。此外,尽管部分人为干扰的旱地土壤也具有大气甲烷氧化能力,但这种能力似乎随着干扰强度增大而降低甚至消失^[52-53]。然而,对大气甲烷氧化菌的研究远远滞后于对甲烷通量的研究,特别在生态系统尺度上的大气甲烷氧化菌地理分异规律鲜有报道。迄今为止,大量研究仅围绕单一环境因素对大气甲烷氧化菌生理生态过程的影响。这些环境因素可分为 2 种类型:一是自然因素,如土壤温度和湿度、土壤 pH 值、植被等,二是人类活动因素,如土地利用、施肥等。

3.1 自然因素

3.1.1 土壤温度和湿度:甲烷氧化菌生长的温度耐受范围具有显著差异^[15,54],最适温度通常在 25℃ 左右^[55],但可在较大的温度范围内保持稳定的活性。如 Castro 等^[56]原位观测美国马萨诸塞州森林土壤大气甲烷吸收率长达 6 年,发现在 -5°C 到 10°C 之

间, 大气甲烷吸收率随温度升高而增加, 但当温度处于 10℃ 到 20℃ (观测土壤的最高温) 之间时, 大气甲烷吸收率保持不变, 与温度没有显著相关性。此外, 通过对牧场草地土壤 4 个季度甲烷通量和大气甲烷氧化菌群落结构的整合分析发现, 温度和大气甲烷氧化速率正相关, 但对大气甲烷氧化菌群落的季节变化没有影响^[8]。因此, 尽管许多文献报道了温度与大气甲烷氧化速率之间的正相关关系^[57-58], 但综合来看, 自然条件下温度对大气甲烷氧化菌生理生态过程的影响机制仍需进一步研究。

土壤湿度可以从 2 个方面影响土壤对大气甲烷的氧化吸收量: 一是影响甲烷及氧气在土壤中的扩散速率; 二是直接影响土壤微生物的数量与活性。土壤对大气甲烷的氧化存在一个最适湿度范围, 大约在 20% - 35% (W/W) 之间, 过低的土壤湿度 (<5%) 会抑制甲烷氧化菌的生理活性, 而当土壤水分含量过高时, 又会通过占据土壤孔隙而阻塞甲烷及氧气在土壤中的扩散通道^[56,58]。因此, 对于极度干旱的沙漠土壤来说, 降水的增加会增加其大气甲烷氧化吸收量^[6], 而对于一些含水量适中的森林土壤来说, 降水量的增加反倒不利于其对大气甲烷的氧化吸收^[59]。

3.1.2 土壤 pH: 根据 Aronson 等^[3] 的最新统计, 在不同生态系统土壤中大气甲烷氧化速率似乎随着 pH 的升高而增加。然而也有研究表明, 温带森林土壤 pH 对大气甲烷氧化的直接影响并不明显, 其中的可能原因是, 大气甲烷氧化发生的土壤 pH 值跨度较大, 从 pH > 3.5 到 pH < 8.0, 而且这些土壤的甲烷氧化活性在同一数量级 (1kg/ha/yr-40kg/ha/yr)^[51]。土壤 pH 的影响可能更多地体现在对大气甲烷氧化菌群落的选择上, 长期的自然选择使各种 pH 的土壤形成了稳定的大气甲烷氧化菌群落结构, 如 USC α 在酸性土壤中出现频率较高, 而 USC γ 序列在 pH 6.0 以上的中性土壤出现的频率远高于酸性土壤^[18], 稳定的大气甲烷氧化菌群落结构使 pH 值跨度很大的各种土壤都可以具有相当的大气甲烷氧化能力。然而, pH 值和大气甲烷吸收速率之间的相关性仍然缺乏理论基础, 仍需更多的原位监测数据和大气甲烷氧化菌纯菌株的分离培养研究。

3.1.3 植被: 许多研究发现不同植被类型的土壤大气甲烷吸收速率不同。如针叶林的大气甲烷吸收率常常低于落叶林^[60], 这可能是由于针叶树释放的有

毒化合物 (如单萜类) 通过抑制 MMO 酶活性抑制了大气甲烷的氧化^[61]。然而, 大气甲烷氧化的数据整合分析表明, 落叶阔叶林, 常绿阔叶林, 针叶林、灌木等多种植被类型土壤之间大气甲烷吸收量的平均值虽然不同, 但并没有显著性差异^[3]。另外, 针叶林和落叶林土壤中的甲烷氧化菌群落结构虽然有所不同, 如 *Methylocystis*、*Methylococcus*、Cluster 1、Cluster 2 等基因型更多的出现在落叶林土壤中, 但数量上最大的优势基因型 USC α 在 2 类土壤中的检出频率并无显著性差异^[18]。因此, 相关文献中观察到的大气甲烷氧化速率的差异也可能源于植被类型之外其他环境因子的差异, 如湿度等地理气候因子^[62]。

3.2 人类活动因素

虽然自然环境因素可以通过影响大气甲烷氧化菌的数量、群落结构以及生理状态等方式在一定程度上影响土壤对大气甲烷的氧化吸收, 然而, 人类活动对土壤原有状态的干扰可能会使长期自然进化形成的微生物区系发生根本改变, 对土壤大气甲烷氧化能力的影响也远大于自然因素。图 3 展示了人类活动 (土地利用变化和氮肥施用) 对土壤大气甲烷氧化菌群种及生理活性的影响模式。

3.2.1 土地利用: 人为干扰下的土地利用方式多种多样, 如原生林改造为人工林或农田, 草原放牧, 退耕还林等。已有的大量研究表明, 旱地好氧土壤在自然状态下大气甲烷氧化能力最强, 当受到人类活动干扰后, 其大气甲烷氧化能力显著降低甚至完全消失^[53,63]。然而, 当农场或牧场通过自然或生态恢复并排除人类活动干扰后, 大气甲烷氧化能力又会恢复, 尽管这一过程耗时至少数十年^[64]。

大气甲烷氧化菌群数量的减少可能是人类干扰土壤大气甲烷氧化能力降低的主要原因^[65]。如巴西某地的亚热带森林转变为农场后, 土壤大气甲烷氧化能力完全消失, 与之对应的是, 土壤中寡营养型甲烷氧化菌 USC α 的比例从 89.2% 降至 6.5% 以下, 其他富营养型甲烷氧化菌比例却大大增加^[66]。在泰国热带旱地土壤中也发现了类似的现象, 原生林和人工林土壤大气甲烷氧化能力均大于农田土壤, 并且 *pmoA* 基因的 DGGE 图谱也表明原生林和人工林土壤甲烷氧化菌具有类似的群落结构, 但与农田土壤具有显著差异, 特别是 USC α 基因型仅在 2 种森林土壤中发现^[52]。反之, 在人工造林 20 年后,

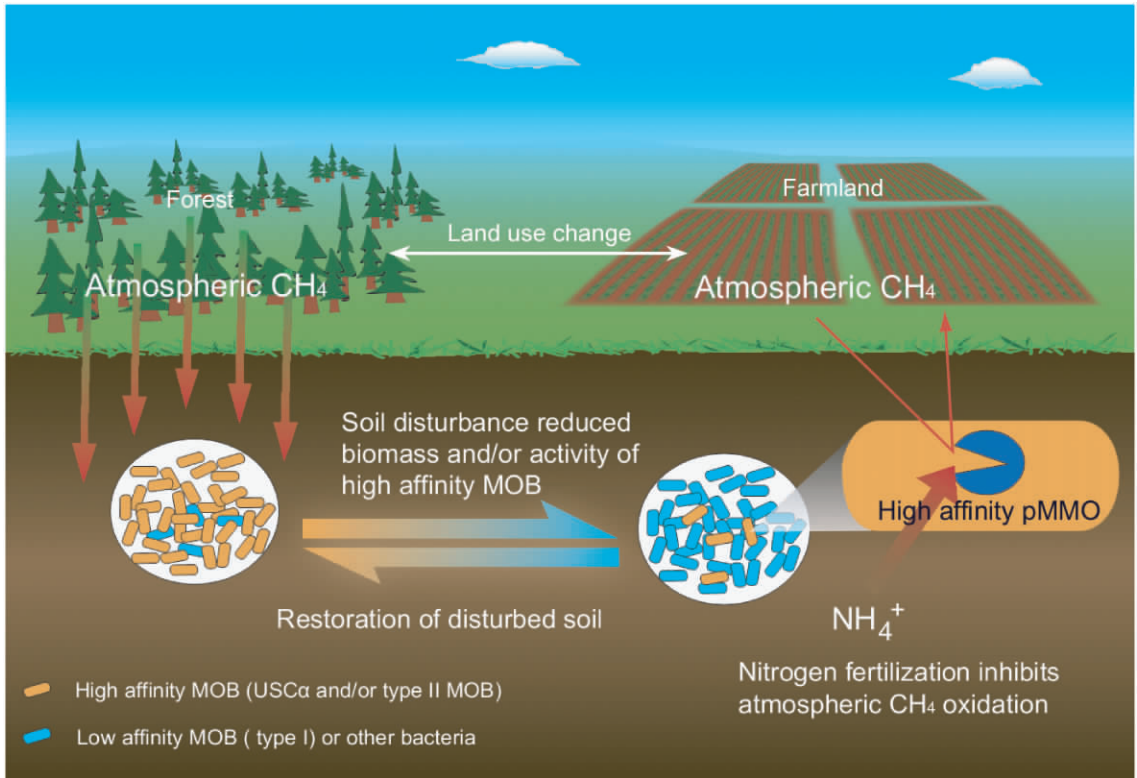


图 3. 土地利用变化和氮肥的施用对土壤中大气甲烷氧化菌种群及活性影响的卡通图

Figure 3. Cartoon diagram of effects of land-use change and nitrogen fertilization on biomass and activity of atmospheric methane oxidizing bacteria.

巴西一处农场土壤的大气甲烷氧化能力和甲烷氧化菌优势种都恢复到自然林水平^[66]。在新西兰,将牧场恢复为森林后,也发现大气甲烷氧化能力迅速增长,在这一过程中,甲烷氧化菌群落结构的转变先于甲烷氧化能力的恢复,表明甲烷氧化菌在大气甲烷氧化过程中发挥了主导作用^[64]。推测以上现象的原因,可能是人类的耕作行为改变了原有微生物在土壤中的分布状况,大气甲烷氧化菌可能由于无法适应剧烈变化的土壤微环境而逐渐减少甚至消失;当人类干扰排除后,稳定的土壤微环境及大气甲烷浓度条件又促使 USC α 等高亲和力甲烷氧化菌种群数量的逐步恢复。

3.2.2 氮输入:氮对旱地好氧土壤大气甲烷氧化的影响比其它环境因子更复杂,导致相关研究结论极不一致。氮肥用量及种类的差异均可能对土壤大气甲烷氧化造成影响^[67-68]。低浓度氮肥施用通常刺激旱地土壤对大气甲烷的吸收,而高浓度氮肥则抑制大气甲烷氧化,大量数据的整合分析表明氮肥施用对土壤大气甲烷吸收造成抑制的阈值约为 100 kg N/ha/yr^[67]。并且,和原始的未受影响的土壤相比,

当氮肥施用增加时,高氮本底值土壤会显示出更强的甲烷氧化抑制效应^[67]。氮肥的种类和氮肥的用量相比应该是较次要的因素,因为不同形态的氮会在微生物的作用下迅速转化,如土壤中通常存在大量的脲酶,进入土壤的尿素会被很快转化成氨^[69],因此施肥一段时间后氮素组成可能已完全不同于实际施用的氮肥类型。

高浓度氮的输入可以通过抑制大气甲烷氧化菌的生长或通过抑制其甲烷氧化酶活性来影响大气甲烷的吸收。Type II 甲烷氧化菌(包含多种高亲和力种类)对氮输入的反应不同于 Type I 甲烷氧化菌^[70],氮输入会刺激 Type I 甲烷氧化菌许多种类的大量生长,却抑制 Type II 甲烷氧化菌的生长^[71],长期的原位施肥实验证实,这种抑制效应可以使高亲和力 Type II 甲烷氧化菌细胞数量减少 70% 以上^[72],因此,长期的氮肥输入会从根本上改变农业土壤中甲烷氧化菌的群落结构,并由此使农业土壤大气甲烷吸收能力大大降低甚至完全消失。此外,对 *Methylocystis* sp. 菌株 SC2 最新的研究表明,高浓度 (30 mmol/L) NH $_4^+$ 会显著抑制其高亲和力甲烷

氧化酶 pMMO2 的表达, 而低浓度 (10 mmol/L) NH_4^+ 则不存在这种抑制效应^[73]。铵态氮由于在分子结构和甲烷非常相似, 也可以和甲烷单加氧酶结合, 对甲烷氧化有竞争性抑制作用^[74], 在大气甲烷氧化菌所处的低浓度大气甲烷环境里, 高浓度铵态氮的这种抑制效应会更加显著。氨氧化过程中产生的羟胺和亚硝酸盐也会对甲烷氧化菌产生毒害作用而抑制甲烷氧化^[75]。此外, 氨氧化细菌也可能和甲烷氧化菌竞争土壤微生境中的氧以及其他生长因子^[76], 因为两者在氧化底物的种类、细胞内膜结构以及生态位等多个方面均具有很高的相似性^[77]。

4 研究展望

土壤大气甲烷氧化研究表明我们对自然环境中微生物代谢多样性的了解仍是冰山之一角。例如, 基于分子生态学的技术表明难培养的大气甲烷氧化菌主要由 USC α 和 USC γ 组成; 纯培养研究则表明 *Methylocystis* 属的甲烷氧化菌也可能参与了大气甲烷氧化。然而, 由于迄今尚未获得专性大气甲烷氧化菌的纯培养, 已有的大多数研究仍处于一种定性描述和推测阶段, 未来需要在培养基设计、培养条件优化以及分离富集策略等方面开展大量研究。同时, 随着新一代高通量测序技术及土壤活体单细胞高通量筛选技术的不断发展, 也为研究土壤大气甲烷氧化菌的生理生态过程提供了可能, 未来的重要研究方向包括: (1) 不同尺度下好氧旱地土壤中大气甲烷氧化菌的地理分异规律。由于大部分大气甲烷氧化菌研究来自于森林土壤, 其它旱地土壤大气甲烷氧化菌的群落结构及其动力学过程报道较少, 应在不同地理尺度下开展其生理生态学研究。特别是结合新一代高通量测序技术的遗传多样性和稳定性同位素示踪的代谢多样性分析手段。另外, 借助新的不依赖 PCR 扩增的方法 (如宏转录组方法), 可在一定程度排除 PCR 扩增的偏好性, 获得更加客观而全面的结果。(2) 大气甲烷氧化菌的生存策略。利用高通量单细胞筛选技术和稳定性同位素示踪技术, 开展难培养大气甲烷氧化菌生理和基因组学研究, 结合原位动态观测手段, 长期示踪大气甲烷氧化菌数量、土壤中甲烷以及其他可能被大气甲烷氧化菌利用的多碳化合物的含量变化规律, 可能为阐释大气甲烷氧化菌生存策略提供重要依据。(3) 借助

多元统计方法, 综合分析典型土壤中环境因子对大气甲烷氧化菌多样性及活性的影响规律, 推测不同生态系统大气甲烷氧化菌种类及活性的决定性环境因子, 可能为进一步认识大气甲烷氧化菌的生理生态和生态进化机制提供重要线索。

参考文献

- [1] Denman KL, Brasseur G, Chidthaisong A, Ciais P, Cox PM, Dickinson RE, Hauglustaine D, Heinze C, Holland E, Jacob D, Lohmann U, Ramachandran S, da Silva Dias PL, Wofsy SC, Zhang X. Couplings between changes in the climate system and biogeochemistry, In Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M, Miller HL. *Climate Change 2007: the Physical Science Basis*. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2007: 499-587.
- [2] Cicerone RJ, Oremland RS. Biogeochemical aspects of atmospheric methane. *Global Biogeochemical Cycles*, 1988, 2(4): 299-327.
- [3] Aronson E, Allison S, Helliker BR. Environmental impacts on the diversity of methane-cycling microbes and their resultant function. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 225.
- [4] Rigby M, Prinn RG, Fraser PJ, Simmonds PG, Langenfelds R, Huang J, Cunnold DM, Steele LP, Krummel PB, Weiss RF. Renewed growth of atmospheric methane. *Geophysical Research Letters*, 2008, 35(22).
- [5] Conrad R. The global methane cycle: recent advances in understanding the microbial processes involved. *Environmental Microbiology Reports*, 2009, 1(5): 285-292.
- [6] Angel R, Conrad R. In situ measurement of methane fluxes and analysis of transcribed particulate methane monooxygenase in desert soils. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(10): 2598-2610.
- [7] Kolb S, Knief C, Dunfield PF, 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.
- [8] Shrestha PM, Kammann C, Lenhart K, Dam B, Liesack W. Linking activity, composition and seasonal dynamics of atmospheric methane oxidizers in a meadow soil. *The ISME Journal*, 2012, 6(6): 1115-1126.
- [9] Nauer P, Dam B, Liesack W, Zeyer J, Schroth M. Activity and diversity of methane-oxidizing bacteria in glacier forefields on siliceous and calcareous bedrock.

- Biogeosciences Discussions*, 2012, 9 (1) : 1259-1298.
- [10] Duxbury JM. The significance of agricultural sources of greenhouse gases. *Fertilizer Research*, 1994, 38 (2) : 151-163.
- [11] Dunfield PF, Yuryev A, Senin P, Smirnova AV, Stott MB, Hou S, Ly B, Saw JH, Zhou Z, Ren Y, Wang J, Mountain BW, Crowe MA, Weatherby TM, Bodelier PLE, Liesack W, Feng L, Wang L, Alam M. Methane oxidation by an extremely acidophilic bacterium of the phylum Verrucomicrobia. *Nature*, 2007, 450 (7171) : 879-882.
- [12] Islam T, Jensen S, Reigstad LJ, Larsen O, 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*, 2008, 105 (1) : 300-304.
- [13] Pol A, Heijmans K, Harhangi HR, Tedesco D, Jetten MSM, Op den Camp HJM. Methanotrophy below pH 1 by a new Verrucomicrobia species. *Nature*, 2007, 450 (7171) : 874-878.
- [14] Kvenvolden KA, Rogers BW. Gaia's breath — global methane exhalations. *Marine and Petroleum Geology*, 2005, 22 (4) : 579-590.
- [15] Bowman J. The methanotrophs — the families Methylococcaceae and Methylocystaceae. *Prokaryotes*, 2006, 5 : 266-289.
- [16] Chowdhury TR, Dick RP. Ecology of aerobic methanotrophs in controlling methane fluxes from wetlands. *Applied Soil Ecology*, 2013, 65 : 8-22.
- [17] Ho A, Kerckhof F-M, Luke C, Reim A, Krause S, Boon N, Bodelier PLE. Conceptualizing functional traits and ecological characteristics of methane-oxidizing bacteria as life strategies. *Environmental Microbiology Reports*, 2013, 5 (3) : 335-345.
- [18] Kolb S. The quest for atmospheric methane oxidizers in forest soils. *Environmental Microbiology Reports*, 2009, 1 (5) : 336-346.
- [19] Harriss RC, Sebacher DI. Methane flux in the Great Dismal Swamp. *Nature*, 1982, 297 : 673-674.
- [20] Keller M, Goreau T, Wofsy S, Kaplan W, McElroy M. Production of nitrous oxide and consumption of methane by forest soils. *Geophysical Research Letters*, 1983, 10 (12) : 1156-1159.
- [21] 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.
- [22] Strieg R, McConnaughey T, Thorstenson D, Weeks E, Woodward J. Consumption of atmospheric methane by desert soils. *Nature*, 1992, 357 (6374) : 145-147.
- [23] Whalen S, Reeburgh W. Consumption of atmospheric methane by tundra soils. *Nature*, 1990, 346 : 160-162.
- [24] Ehhalt D, Heidt L. Vertical profiles of CH₄ in the troposphere and stratosphere. *Journal of Geophysical Research*, 1973, 78 (24) : 5265-5271.
- [25] Bender M, Conrad R. Kinetics of CH₄ oxidation in oxic soils exposed to ambient air or high CH₄ mixing ratios. *FEMS Microbiology Letters*, 1992, 101 (4) : 261-269.
- [26] Benstead J, King GM. Response of methanotrophic activity in forest soil to methane availability. *FEMS Microbiology Ecology*, 1997, 23 (4) : 333-340.
- [27] Conrad R. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H₂, CO, CH₄, OCS, N₂O, and NO). *Microbiological Reviews*, 1996, 60 (4) : 609-640.
- [28] Kolb S, Knief C, Stubner S, Conrad R. Quantitative detection of methanotrophs in soil by novel pmoA-targeted real-time PCR assays. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69 (5) : 2423-2429.
- [29] Dedysh SN, Liesack W, Khmelenina VN, Suzina NE, Trotsenko YA, Semrau JD, Bares AM, Panikov NS, Tiedje JM. *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.
- [30] Vorobev AV, Baani M, Doronina NV, Brady AL, Liesack W, Dunfield PF, Dedysh SN. *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.
- [31] McDonald IR, Bodrossy L, Chen Y, Murrell JC. Molecular ecology techniques for the study of aerobic methanotrophs. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74 (5) : 1305-1315.
- [32] Holmes AJ, Costello A, Lidstrom ME, Murrell JC. Evidence that participate methane monooxygenase and ammonia monooxygenase may be evolutionarily related. *FEMS Microbiology Letters*, 1995, 132 (3) : 203-208.
- [33] Holmes AJ, Roslev P, McDonald IR, Iversen N, Henriksen K, Murrell JC. Characterization of methanotrophic bacterial populations in soils showing atmospheric methane uptake. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65 (8) : 3312-3318.

- [34] Bull ID, Parekh NR, Hall GH, Ineson P, Evershed RP. Detection and classification of atmospheric methane oxidizing bacteria in soil. *Nature*, 2000, 405 (6783): 175-178.
- [35] Henckel T, Jäckel U, Schnell S, Conrad R. Molecular analyses of novel methanotrophic communities in forest soil that oxidize atmospheric methane. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66 (5): 1801-1808.
- [36] Jensen S, Holmes A, Olsen R, Murrell J. Detection of methane oxidizing bacteria in forest soil by monooxygenase PCR amplification. *Microbial Ecology*, 2000, 39 (4): 282-289.
- [37] Knief C, Lipski A, Dunfield PF. Diversity and activity of methanotrophic bacteria in different upland soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69 (11): 6703-6714.
- [38] Pratscher J, Dumont MG, Conrad R. Assimilation of acetate by the putative atmospheric methane oxidizers belonging to the USC α clade. *Environmental Microbiology*, 2011, 13 (10): 2692-2701.
- [39] Lüke C, Frenzel P. Potential of *pmoA* amplicon pyrosequencing for methanotroph diversity studies. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77 (17): 6305-6309.
- [40] Bodelier PL, Gillisen M-JB, Hordijk K, Damsté JSS, Rijpstra WIC, Geenevasen JA, Dunfield PF. A reanalysis of phospholipid fatty acids as ecological biomarkers for methanotrophic bacteria. *The ISME Journal*, 2009, 3 (5): 606-617.
- [41] Maxfield P, Brennand E, Powlson D, Evershed R. Impact of land management practices on high-affinity methanotrophic bacterial populations: evidence from long-term sites at Rothamsted. *European Journal of Soil Science*, 2011, 62 (1): 56-68.
- [42] Maxfield PJ, Hornibrook ER, Evershed RP. Substantial high-affinity methanotroph populations in Andisols effect high rates of atmospheric methane oxidation. *Environmental Microbiology Reports*, 2009, 1 (5): 450-456.
- [43] Maxfield PJ, Hornibrook ERC, Evershed RP. Estimating high-affinity methanotrophic bacterial biomass, growth, and turnover in soil by phospholipid fatty acid ^{13}C labeling. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72 (6): 3901-3907.
- [44] Knief C, Dunfield PF. Response and adaptation of different methanotrophic bacteria to low methane mixing ratios. *Environmental Microbiology*, 2005, 7 (9): 1307-1317.
- [45] Dunfield PF, Yimga MT, Dedysh SN, Berger U, Liesack W, Heyer J. Isolation of a *Methylocystis* strain containing a novel *pmoA*-like gene. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, 41 (1): 17-26.
- [46] Yimga MT, Dunfield PF, Ricke P, Heyer J, Liesack W. Wide distribution of a novel *pmoA*-like gene copy among type II methanotrophs, and its expression in *Methylocystis* strain SC2. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69 (9): 5593-5602.
- [47] Baani M, Liesack W. 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*, 2008, 105 (29): 10203-10208.
- [48] Degelmann DM, Borken W, Drake HL, Kolb S. Different atmospheric methane-oxidizing communities in European beech and Norway spruce soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76 (10): 3228-3235.
- [49] Adamsen A, King G. Methane consumption in temperate and subarctic forest soils: rates, vertical zonation, and responses to water and nitrogen. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59 (2): 485-490.
- [50] Semrau JD, DiSpirito AA, Vuilleumier S. Facultative methanotrophy: false leads, true results, and suggestions for future research. *FEMS Microbiology Letters*, 2011, 323 (1): 1-12.
- [51] Dalal RC, Allen DE. TURNER REVIEW No. 18. Greenhouse gas fluxes from natural ecosystems. *Australian Journal of Botany*, 2008, 56 (5): 369-407.
- [52] Knief C, Vanitchung S, Harvey NW, Conrad R, Dunfield PF, Chidthaisong A. Diversity of methanotrophic bacteria in tropical upland soils under different land uses. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71 (7): 3826-3831.
- [53] Ojima D, Valentine D, Mosier A, Parton W, Schimel D. Effect of land use change on methane oxidation in temperate forest and grassland soils. *Chemosphere*, 1993, 26 (1): 675-685.
- [54] Trotsenko YA, Khmelenina VN. Aerobic methanotrophic bacteria of cold ecosystems. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 53 (1): 15-26.
- [55] Hanson R, Hanson T. Methanotrophic bacteria. *Microbiological Reviews*, 1996, 60 (2): 439-471.
- [56] Castro MS, Steudler PA, Melillo JM, Aber JD, Bowden RD. Factors controlling atmospheric methane consumption by temperate forest soils. *Global Biogeochemical Cycles*, 1995, 9 (1): 1-10.

- [57] Butterbach-Bahl K, Papen H. Four years continuous record of CH₄-exchange between the atmosphere and untreated and limed soil of a N-saturated spruce and beech forest ecosystem in Germany. *Plant and Soil*, 2002, 240 (1) : 77-90.
- [58] Van den Pol-van Dasselaar A, Van Beusichem M, Oenema O. Effects of soil moisture content and temperature on methane uptake by grasslands on sandy soils. *Plant and Soil*, 1998, 204 (2) : 213-222.
- [59] Blankinship JC, Brown JR, Dijkstra P, Allwright MC, Hungate BA. Response of terrestrial CH₄ uptake to interactive changes in precipitation and temperature along a climatic gradient. *Ecosystems*, 2010, 13 (8) : 1157-1170.
- [60] Borken W, Xu YJ, Beese F. Conversion of hardwood forests to spruce and pine plantations strongly reduced soil methane sink in Germany. *Global Change Biology*, 2003, 9 (6) : 956-966.
- [61] Maurer D, Kolb S, Haumaier L, Borken W. Inhibition of atmospheric methane oxidation by monoterpenes in Norway spruce and European beech soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40 (12) : 3014-3020.
- [62] West A, Brooks P, Fisk M, Smith L, Holland E, Jaeger III C, Babcock S, Lai R, Schmidt S. Landscape patterns of CH₄ fluxes in an alpine tundra ecosystem. *Biogeochemistry*, 1999, 45 (3) : 243-264.
- [63] Levine UY, Teal TK, Robertson GP, Schmidt TM. Agriculture's impact on microbial diversity and associated fluxes of carbon dioxide and methane. *The ISME Journal*, 2011, 5 (10) : 1683-1691.
- [64] Nazaries L, Tate KR, Ross DJ, Singh J, Dando J, Saggarr S, Baggs EM, Millard P, Murrell JC, Singh BK. Response of methanotrophic communities to afforestation and reforestation in New Zealand. *The ISME Journal*, 2011, 5 (11) : 1832-1836.
- [65] Menyailo O, Hungate BA, Abraham WR, Conrad R. Changing land use reduces soil CH₄ uptake by altering biomass and activity but not composition of high-affinity methanotrophs. *Global Change Biology*, 2008, 14 (10) : 2405-2419.
- [66] Dörr N, Glaser B, Kolb S. Methanotrophic communities in Brazilian ferralsols from naturally forested, afforested, and agricultural sites. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76 (4) : 1307-1310.
- [67] Aronson EL, Helliker BR. Methane flux in non-wetland soils in response to nitrogen addition: a meta-analysis. *Ecology*, 2010, 91 (11) : 3242-3251.
- [68] 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.
- [69] Di H, Cameron K. Nitrate leaching in temperate agroecosystems: sources, factors and mitigating strategies. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2002, 64 (3) : 237-256.
- [70] Nyerges G, Stein LY. Ammonia cometabolism and product inhibition vary considerably among species of methanotrophic bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 2009, 297 (1) : 131-136.
- [71] Mohanty SR, Bodelier PLE, 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.
- [72] Maxfield P, Hornibrook E, Evershed R. Acute impact of agriculture on high-affinity methanotrophic bacterial populations. *Environmental Microbiology*, 2008, 10 (7) : 1917-1924.
- [73] Dam B, Dam S, Kim Y, Liesack W. Ammonium induces differential expression of methane and nitrogen metabolism-related genes in *Methylocystis* sp. strain SC2. *Environmental Microbiology*, 2013. DOI: 10.1111/1462-2920.12367.
- [74] Gullledge J, Schimel JP. Low-concentration kinetics of atmospheric CH₄ oxidation in soil and mechanism of NH₄⁺ inhibition. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64 (11) : 4291-4298.
- [75] Schnell S, King GM. Mechanistic analysis of ammonium inhibition of atmospheric methane consumption in forest soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60 (10) : 3514-3521.
- [76] Ding W, Cai Z. Mechanisms of nitrogen fertilizer suppressing atmospheric methane oxidation by methanotrophs in soils. *Rural Eco-Environment*, 2001, 17 (3) : 30-34. (in Chinese)
丁维新, 蔡祖聪. 氮肥对土壤氧化大气甲烷影响的机制. *农村生态环境*, 2001, 17 (3) : 30-34.
- [77] Jia Z, Cai Z. Methane consumption in relation to ammonia oxidation in paddy soils. *Rural Eco-Environment*, 2003, 19 (4) : 40-44. (in Chinese)
贾仲君, 蔡祖聪. 稻田甲烷氧化与铵氧化关系研究进展. *农村生态环境*, 2003, 19 (4) : 40-44.

Research progress of atmospheric methane oxidizers in soil

Yuanfeng Cai, Zhongjun Jia*

State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Abstract: Microbial oxidation in soil is the only biological sink for atmospheric methane (about 1.8 ppmv). Two groups of atmospheric methane oxidizing bacteria are existed in aerobic soils: obligate and alternative atmospheric methane oxidizing bacteria. The former, such as upland soil cluster α (USC α) and upland soil cluster γ (USC γ), are widely distributed in a variety of aerobic upland soils, and their particulate methane monooxygenase (pMMO) have very high affinity for methane in low concentration. Bacteria in this group are probably genuine oligotrophs. However, so far, there is still no cultivated strain of this group. The latter (*Methylocystis*/*Methylosinus*) belongs to traditional methane-oxidizing bacteria, and are widely distributed in soil environments with periodic high methane emission. Most strains of these two genera are known to possess two pMMO isozymes with low and high affinity to methane respectively, and these strains can keep atmospheric methane oxidizing activity for relative long periods (> 3 months) relying on the high affinity pMMO (pMMO2). However, the growth and reproduction of bacteria in this group are still dependent on endogenous high-concentration methane which is periodically produced within the soils. We reviewed the research progress of these two groups of atmospheric methane-oxidizing bacteria, their possible living strategies, and the effects of several key environmental factors (e. g. soil temperature and moisture, soil pH, vegetation, land use, nitrogen input) on their community composition and methane oxidizing activity. Several important research directions of atmospheric methane oxidizing bacteria have also been proposed.

Keywords: atmospheric methane, methane-oxidizing bacteria, aerobic upland soil, environmental factor

(本文责编:王晋芳)

Supported by the International Science Cooperation and Communication Program of China (2010DFA22770) and by the Research Network for Applied Microbiology of the Chinese Academy of Sciences (KSCX2-EW-G-16)

* Corresponding author. Tel: +86-25-86881311; Fax: +86-25-86881000; E-mail: jia@issas.ac.cn

Received: 26 November 2013 / Revised: 20 January 2014