



岩溶区土壤微生物驱动自养固碳过程与机制研究进展

程澳琪¹, 康卫华¹, 李为^{1*}, 余龙江^{1,2*}

¹ 华中科技大学生命科学与技术学院生物技术系, 资源生物学与生物技术研究所, 湖北 武汉 430074

² 分子生物物理教育部重点实验室, 湖北 武汉 430074

摘要: 自养微生物能够利用无机碳作为碳源合成自身营养物质, 具有很强的环境适应能力, 在富钙偏碱的岩溶区土壤的碳固定过程中扮演重要角色。本文综述了土壤微生物驱动的自养固碳过程、岩溶区土壤固碳功能微生物、自养固碳的分子机制及其产生的生态环境效应, 并提出了亟待解决的关键科学问题。为深入研究和认识岩溶区土壤生态系统自养微生物驱动的固碳过程及其机制、提高岩溶区土壤的固碳潜能、发展岩溶区生态环境的保护与修复策略、应对气候变化及人类活动引起的土壤退化风险提供参考。

关键词: 岩溶土壤, 自养微生物, 功能类群, 光能自养固碳, 化能自养固碳, 固碳机制

大气中 CO₂ 浓度持续升高, 被认为是全球气候变暖的重要原因之一, 因此, 陆地生态系统的固碳作用已经成为各国政府关注的重要议题和国际前沿热点。陆地生态系统主要通过植物的生长以及土地利用方式的改变来固定并增加碳储存^[1-3]。土壤固碳是陆地生态系统固碳的一个重要组成部分, 而自养微生物在其中扮演着重要角色^[4]。自养微生物能广泛分布于营养相对贫瘠的生态系统中, 如湖泊盆地^[5]、海洋深处^[6]和火山口^[7]等地。

陆地生态系统中的岩石圈储存有地球

上 99.9% 的碳^[2], 地壳中的碳酸盐岩储存的碳占全球碳储存量的 90%。岩溶系统是一个 CaCO₃-H₂O-CO₂ 三相动态平衡开放系统^[8], 据估计, 每年因全球碳酸盐岩溶解而吸收大气 CO₂ 的量可达 (1.10–6.08) × 10⁸ t C, 从而可能形成巨大的碳汇^[9]。岩溶区土壤由于特殊的地质环境与岩溶作用影响, 呈现出土层浅薄、高钙偏碱等特点, 因此其有机碳周转机制与其他非岩溶区土壤不同^[10-12]。据报道, 岩溶区顶级植被群落的土壤有机碳含量平均高达 66.21 g/kg^[13-14], 与其他同纬度的生态系统相比有机碳含量较高, 这可能与岩

基金项目: 国家自然科学基金 (41977260)

*通信作者: Tel: +86-27-87792432; E-mail: 李为, hulwei_009@163.com, 余龙江, yulongjiang@mail.hust.edu.cn

收稿日期: 2021-02-28; 修回日期: 2021-04-16; 网络出版日期: 2021-05-18

溶土壤高钙偏碱性的地质特征有关。而且,受岩溶作用影响,岩溶土壤中的无机碳含量一般高于非岩溶区,可提供更多的无机碳源,因此,岩溶区土壤中可能存在大量的自养微生物^[15-16]。自养微生物在土壤固碳过程中起关键作用^[4],其群落结构的改变,可能会影响土壤的固碳潜力,进而可能导致陆地生态系统土壤碳库的改变^[17-18]。

随着分子生物学技术的发展,固碳功能基因库不断完善,通过将稳定性同位素示踪技术与高通量测序、基因芯片等技术结合起来,对不同生态系统中土壤微生物与碳循环转化相关的机制进行研究,为提高土壤固碳潜能、减少土壤碳排放、实现碳中和提供新的思路和方法。目前对土壤微生物驱动的自养固碳过程及机制方面的研究较为缺乏,因此本文综述了岩溶区土壤微生物驱动的自养固碳过程、土壤固碳微生物功能群以及岩溶区土壤微生物自养固碳的分子机制及其产生的生态效应,为深入研究和认识岩溶区土壤生态系统的生物固碳机制、提高岩溶区土壤的固碳潜能、增强岩溶区土壤的生态稳定功能提供参考。

1 土壤微生物驱动的自养固碳过程

土壤为微生物提供良好的生存条件,同时微生物有助于维持土壤的生态功能^[19]。据估算土壤中微生物量碳(MBC)含量大于土壤总有机碳的80%^[20],由此可见土壤微生物的碳储量不可忽视。微生物的碳固定能力在土壤有机质的转化过程中起重要作用^[19],虽然目前对岩溶区土壤中微生物驱动的自养固碳过程研究较少,但是对不同生态系统中微生物驱动的自养固碳过程的研究一直是国内外研究的热点之一。

已有研究表明,微生物参与的碳循环代谢过程主要包括3个基本过程^[21]:(1)碳固定,无机碳(CO₂)转化成有机碳;(2)甲烷代谢,包括产甲烷与甲烷氧化过程;(3)碳降解,有机质的分解过程。参与碳固定过程的微生物主要是自养微生物,其按照能量来源不同分为光能自养微生物和化能自养微生物,分别以光和电子供体为能源,两者都能将周围环境中的无机碳转化成有机碳进行储存^[22]。自养微生物在适应不同环境过程中进化出不同的CO₂固定途径。目前,自然界中发现6种CO₂固定途径,包括卡尔文循环途径、还原性三羧酸循环途径、还原性乙酰辅酶A途径、3-羟基丙酸双循环途径、3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环途径和二羧酸/4-羟基丁酸循环途径^[22-26],此外,在异养固碳微生物中发现还存在草酰乙酸盐途径、嘧啶和嘌呤核苷酸途径^[27-28]。不同类群的固碳微生物在不同的生境下可能表达不同的固碳途径,从而其固碳能力也有差异。

微生物在岩溶生态系统中可参与地表岩石和矿物的风化过程^[29],其驱动的土壤固碳过程可能与其他生态系统不同^[9]。作者课题组的前期研究发现,碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)广泛存在于自然岩溶土壤和水体环境中以及典型流域(长江流域、乌江流域和珠江流域)的土壤和水体环境中^[30-32],岩溶区的表层土壤CA活性高于非岩溶区,且其与土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)含量呈一定的正相关,两者的相互作用可能对流域岩溶生态系统的碳循环产生影响^[33]。CA广泛存在于动物、植物、细菌、藻类等生物细胞中,是一种能够与锌离子结合并高效催化CO₂和HCO₃⁻相互转化(CO₂+H₂O ⇌ HCO₃⁻+H⁺)反应的酶^[34],产CA的微生物能显著促进碳酸盐岩溶

蚀^[35-37]。因此,岩溶土壤中自养固碳微生物同化的无机碳还有可能来源于碳酸酐酶诱导的碳酸盐岩溶蚀产生的 HCO_3^- ,这就增加了岩溶土壤中自养固碳微生物可利用的无机碳浓度,从而刺激其固碳能力,有利于岩溶区的固碳减排。近年来一些研究亦表明,CA 促进岩溶作用所产生的 HCO_3^- 能被藻类利用进行光合作用,将 HCO_3^- 转化为相对稳定的有机碳^[38-40]。因此,对岩溶区土壤中产 CA 微生物驱动的自养固碳过程的研究亦不容忽视。

2 岩溶区土壤固碳功能微生物

2.1 岩溶区固碳微生物的群落组成

近年来,岩溶区土壤的固碳能力得到广泛关注,固碳微生物在其中扮演了重要角色。因此,对岩溶区土壤固碳微生物群落的研究逐步受到重视。土壤中的固碳微生物包括细菌、真菌和古菌^[41-43],其中对固碳细菌的研究最为广泛。由于 *cbbL*、*cbbM* 基因分别编码卡尔文-本森循环的特征酶 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶(RuBisCO)的 I 型和 II 型的大亚基,且具有高度保守性,因此可以通过检测土壤中 *cbbL* 和 *cbbM* 功能基因的多样性以分析土壤中的固碳细菌群落^[24,44-45]。张双双等^[41]以 *cbbLR* 为固碳细菌的指示基因,比较岩溶区、混合区与非岩溶区三类区域土壤中固碳细菌的群落结构特征,发现三类区域土壤中固碳细菌均属于变形菌门和放线菌门。岩溶区具有一些丰度较高的微生物,如伯克氏菌目(*Burkholderiales*)、红假单胞菌属(*Rhodopseudomonas*)和费氏根瘤菌(*Sinorhizobium fredii* HH103)等。作者课题组^[46]利用 *cbbL* 和 *cbbM* 功能基因,对桂林会仙 3 种状

态岩溶湿地(原生湿地、自然退化湿地和人为垦殖湿地农田)土壤中的固碳细菌群落结构进行了分析,结果显示其群落结构基本相似,但部分优势菌属的相对丰度存在显著差异,如 *Thiomonas* 在原生湿地土壤中相对丰度较高, *Sulfuricaulis*、*Ferriphaselus* 等在垦后湿地土壤中相对丰度较高,而在自然退化湿地土壤中 *Bradyrhizobium* 相对丰度较高;不同状态岩溶湿地土壤中理化性质的差异改变了固碳微生物群落结构,主要的土壤影响因子有土壤有机碳(SOC)及其组分包括可溶性有机碳(DOC)、微生物量碳(MBC)和易氧化有机碳(ROC),以及土壤温度等。目前对岩溶区土壤中具有固碳功能的真菌和古菌的研究尚比较缺乏,已有研究表明丛枝菌根真菌(AMF)和氨氧化古菌在土壤的碳固定中发挥着一定作用^[42-43]。

GeoChip 功能基因芯片是近些年来发展的一种研究微生物群落的技术,该技术能够对微生物参与的代谢途径相关的功能基因及其代谢潜力等进行研究。例如, Yu 等^[47]利用 GeoChip 5.0 对 4 年来少施氮肥并且进行间作的甘蔗田的土壤微生物功能基因进行了研究,共检测到与碳固定过程相关的基因 2383 个,其中古细菌 88 个、细菌 2270 个、真菌 7 个;在施氮肥和间作 4 年后,能分离出大部分与碳固定和碳降解有关的功能基因。不过,目前尚未见有关利用 GeoChip 功能基因芯片技术研究岩溶区土壤中固碳微生物群落的报道,对于岩溶土壤中特有的固碳微生物种群的认识尚有待于进一步深入研究。

2.2 固碳功能微生物的分离及其固碳潜力

目前尚未分离培养的微生物大约占微生物种类的 99%^[48],由于许多的基因储存在尚未发现

其具体功能的未知的基因数据库中, 因此分离培养具有固碳功能的微生物仍然是优先考虑的思路^[49]。若能分离得到岩溶土壤中具有固碳功能的微生物纯培养物, 研究人员便可对其直接进行更深层次的生理生化机制研究, 为进一步认识固碳微生物在岩溶生态系统中的功能提供理论基础, 并为其在岩溶生态环境保护与修复、固碳减排中的应用提供科学依据。

目前有关岩溶区土壤中固碳功能微生物的分离及其固碳潜力方面的研究鲜见报道, 而对岩溶区水体中微藻的分离及其固碳能力的研究已有一些报道。例如, 王培等^[50]从岩溶区寨底地下河出口筛选出小球藻(*Chlorella*), 将其与非岩溶区小球藻进行了无机碳利用率的比较研究, 结果显示岩溶区筛选出的小球藻对 HCO_3^- 吸收转化成有机碳的利用率较非岩溶区小球藻高约 10%, 表明岩溶区小球藻的碳汇能力更大。程文理等^[51]从岩溶区水体中筛选得到了小球藻(*Chlorella*)和栅藻(*Scenedesmus*), 并利用气升式防贴壁藻类培养装置, 研究不同光照强度和 HCO_3^- 浓度对微藻固碳能力的影响, 结果表明高浓度 HCO_3^- 以及高光照条件下微藻培养过程形成更多难降解有机质, 具有更强的稳碳能力。但是微藻培养所需的环境条件较严格, 需要光照, 且培养面积较大, 因此, 对无需光照的化能自养微生物的分离及其固碳潜力研究有利于在更广泛的环境条件下发挥微生物的固碳功能, 对固碳减排具有重要意义^[52]。

在岩溶区土壤中可能存在大量的化能自养微生物^[16], 其以 CO_2 为无机碳源, 主要通过氧化 H_2 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 NH_4^+ 及 Fe^{2+} 等还原态无机物质获得能源, 可分为严格化能自养菌和兼性化能自养菌^[27,53]。目前虽然从岩溶区土壤中分离筛选化能

自养微生物的研究鲜见报道, 但是从非岩溶区土壤中分离筛选化能自养微生物及对其进行固碳潜力方面的研究已有一些报道。例如, 王竞等^[54]利用筛选培养基, 采用置换排气法配气, 优化培养基中 H_2 、 O_2 、 CO_2 的比例, 从花园土壤中分离筛选到一株氢氧化细菌, 能够高效固定 CO_2 ; Khalifa 等^[55]以硫化亚铁(FeS)作为能量来源, 采用改良的矿物培养基从日本稻田土壤中分离得到 1 株铁氧化菌, 命名为 *Ferrigenium kumadai* gen. nov., sp. nov., 对其 16S rRNA 基因序列的分析表明, 该菌株属于披毛菌科(*Gallionellaceae*), 其在系统发育上与该家族的其他成员不同; 郭珺等^[56]利用无碳源的无机培养基从太原市东太堡污水处理厂的活性污泥、沼液、设施土壤等多种生态环境中分离筛选出生长较快的 8 株固碳菌株, 经鉴定分别隶属于假单胞菌属(*Pseudomonas*)和嗜甲基菌属(*Methylophilus Jenkins*), 将生长较快的菌株施用到土壤后, 土壤中的 RuBisCO 酶活性升高, 认为筛选出的菌株具有一定的固碳潜力。综上, 国内外学者通过对培养条件的不断优化, 从非岩溶区不同生境土壤中不断分离筛选出新的化能自养微生物, 其技术和方法可为从岩溶区土壤中分离筛选具有高效固碳潜力的化能自养微生物菌株提供借鉴和参考。

3 岩溶区土壤微生物自养固碳的分子机制

目前已报道的岩溶区土壤中的优势固碳微生物主要是通过卡尔文循环途径进行碳固定^[41], 例如, 红假单胞菌属(*Rhodopseudomonas*)能利用 H_2 、硫代硫酸钠、 H_2S 等作为电子供体, 而慢生

根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)能利用 NH_4^+ 、 NO_2^- 、 S^{2-} 、 H_2S 、 H_2 、 Fe^{2+} 等作为电子供体, 为卡尔文循环提供能量进行 CO_2 的固定^[57-58]。基因组分析显示, 卡尔文循环可分为 3 个阶段: CO_2 的固定、PGA 的还原和 1,5-二磷酸核酮糖(RuBP)的再生^[59]。第一阶段 CO_2 的固定: RuBisCO 酶催化一分子 CO_2 整合到五碳糖分子(RuBP)第二位碳原子上, 得到一种非常不稳定的中间产物, 其立即分裂为 2 mol 的 3-磷酸甘油酸(PGA); 随后第二阶段 PGA 的还原: PGA 被 NADPH 还原得到 3-磷酸丙糖; 最后第三阶段 RuBP 的再生: 3-磷酸丙糖通过一系列紧密联系的复杂生化反应生成一分子(CH_2O)和一分子 RuBP, 该循环重复运行 6 次后生成一分子葡萄糖, 为自养微生物的生长代谢提供能源。

已报道的化能自养微生物的固碳途径除了卡尔文循环以外, 还有 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸途径、厌氧乙酰辅酶 A 途径、3-羟基丙酸途径双循环途径和还原性三羧酸循环途径。目前在岩溶区土壤中这 4 种自养微生物固碳途径的研究尚鲜见报道, 但是在非岩溶区生境中已有一些发现。例如, 氨氧化古菌(AOA)主要是通过 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸(3-HP/4-HB)途径固定 CO_2 ^[60-61], 3-羟基丙酰-CoA 脱氢酶和 4-羟基丁酰-CoA 合成酶是该途径的关键酶。在产乙酸菌、硫酸盐还原菌和甲烷氧化菌等细菌中发现了厌氧乙酰辅酶 A 途径, CO_2 通过 CO 脱氢酶的催化作用被还原, 再利用乙酰-辅酶 A 固定 CO_2 , CO 脱氢酶是该途径的关键酶^[25,62-63]。3-羟基丙酸途径首次在绿弯菌(*Chloroflexus*)中被发现^[64], 该途径包含 2 个循环过程, 首先利用乙酰-CoA 的羧基化作用将碳酸氢盐固定形成乙醛酸盐, 随后乙醛酸盐和丙酰辅酶 A 歧化生成乙酰辅酶 A 和丙酮酸^[65]。还原性

三羧酸循环主要存在于少数光合紫色细菌和绿硫细菌中, CO_2 通过琥珀酰-CoA 的还原性羧化作用被固定, 该循环过程的关键酶为铁氧化还原蛋白酶、富马酸还原酶及 ATP 柠檬酸裂解酶^[66]。

目前人们对岩溶区自养微生物驱动土壤固碳的机制研究较少, 但是宏基因组学、稳定同位素探针(SIP)等分子生态学技术的快速发展为岩溶区土壤微生物自养固碳的分子机制的探索提供了新的技术手段。例如, Li 等^[16]采用 ^{13}C - NaHCO_3 作为标记底物, 通过 DNA-SIP 技术对贵阳岩溶石漠化生态系统 3 种类型(草地、森林和农业)土壤中的化能自养细菌进行了分析, 结果表明, *Ralstonia*、*Ochrobactrum*、*Brevibacterium*、*Acinetobacter* 和 *Corynebacterium* 能够利用硝酸盐或硫代硫酸盐作为电子供体进行生长, 吸收无机碳作为碳源, 同时通过 DNA-SIP 分析也鉴定出了可能的混合营养体, 通过共生网络进一步表明, 自养微生物和异养微生物可能形成共生群落来维持生态系统的功能, 揭示了化能自养菌在岩溶石漠化生态系统中具有一定的固碳作用。

目前, 将 SIP 技术与多种分析技术如纳米二次离子质谱技术(NanoSIMS)、透射电子显微镜(TEM)成像技术等手段相结合, 能够直接研究微生物单细胞水平的代谢功能, 对于深入研究微生物驱动的土壤碳循环机制意义重大。例如, Tournay 等^[67]从草地和花园土壤中富集到一株氨氧化古菌 *Nitrososphaera viennensis*, 为了验证该菌能够利用丙酮酸中的 C 元素来合成自身的细胞组织, 他们用含有 ^{13}C -丙酮酸的培养基培养 *N. viennensis*, 然后运用 NanoSIMS 技术对培养后的菌液样品进行分析, 发现大约有 10% 的 C 元素来自 ^{13}C -丙酮酸, 其余的 C 主要来自 *Nitrososphaera viennensis*

对碳酸氢盐的固定, 该技术为研究氨氧化古菌的生理代谢机制提供了新的思路。Ploug 实验室^[68-69]将同位素标记技术与 NanoSIMS 和 TEM 成像技术相结合, 分析海洋中的碳氮循环时发现了丝状蓝藻 *Nodularia spumigena* 和 *Aphanizomenon* sp. 的重要性, 同时结合微传感器技术测定它们在单细胞水平的氮固定和碳固定速率, 发现在光照下两者的单个细胞的净 C:N 固定率分别为 8.0 ± 0.8 和 7.3 ± 3.4 。虽然目前这些技术手段在岩溶区土壤微生物驱动的自养固碳机制研究中的应用尚未见报道, 但它们在其它领域研究中的成功运用亦为深入研究岩溶区土壤微生物自养固碳的分子机制提供了借鉴和参考。

4 岩溶区土壤微生物自养固碳的生态环境意义

全球岩溶面积占陆地生态系统的 15%^[70], 我国岩溶面积占全球岩溶总面积的 15.6%^[71], 岩溶碳汇量可能达到 $3.7 \times 10^7 \text{ t C/a}$ ^[72]。在岩溶区土壤中具有 CO_2 同化功能的微生物主要包括自养微生物和异养微生物, 由于两者的固碳机制不同, 前者固定 CO_2 的能力一般大于后者^[73-74], 且自养微生物在岩溶区土壤中广泛存在^[16]。相比于异养微生物, 自养微生物不需要利用土壤中已有的有机碳, 新输入的“碳”能够增加土壤的碳储存, 可能会对整个岩溶区土壤的固碳机制有重要影响。此外, 由于微生物的自养固碳过程, 有机物降解过程中相对惰性的碳可能转化为更难降解的形式, 并可以长期储存在土壤中, 提高土壤的固碳潜能。因此, 自养微生物可能是岩溶区土壤生物固碳的重要贡献者。加强对岩溶区自养微生物的

基础及应用研究, 有利于提升岩溶区土壤的固碳潜能。

近年来以土地退化为主要特征的岩溶环境问题日益严峻, 而岩溶自然生态系统受到人为干扰后会发生退化, 土壤有机碳含量会相对下降, 对土壤的固碳能力产生影响^[71,75]。基于此, 研究岩溶区土壤固碳功能微生物及其驱动的自养固碳分子机制以及产生的生态效应, 对于提高岩溶区土壤的固碳潜能、保护和恢复土壤功能, 应对气候变化及人类活动引起的土壤退化风险具有重要意义。

5 结语与展望

自养微生物是岩溶区土壤固碳的重要驱动因素, 为科学认识岩溶土壤生态系统的固碳潜力奠定了一定基础。目前有关岩溶区土壤微生物驱动的自养固碳的生物地球化学过程和分子生态学机制尚不清楚, 一些关键科学问题亟待开展广泛深入的研究以作出科学的解释, 例如: 岩溶土壤生态系统中微生物驱动的土壤固碳过程是否为自养微生物与异养微生物共同参与的结果, 还是自养微生物是这一过程的主导者? 真菌和古菌在岩溶土壤中的固碳潜力有多大? 不同自养固碳途径对环境变化的响应有何不同? 自养固碳的贡献有多大, 固定下来的有机碳有多少可转化为岩溶土壤中难降解的惰性有机碳? 另一方面, 基于固碳功能基因分析岩溶土壤环境中自养固碳微生物的多样性及碳同化机制的研究尚有待深入, 尤其是采用基因组、转录组、蛋白组及代谢组等组学联合分析, 探索可能存在的新的碳同化机制亟待加强。通过对不同岩溶生境中固碳

微生物培养条件的不断优化,能够分离得到更多未知的固碳微生物的纯菌株,为固碳微生物的理论及应用研究提供更加丰富的菌种资源。而且,随着合成生物学的快速发展,基于对固碳微生物的固碳途径及其分子机制的深入研究和认识,人为改造菌株,从而提高自养固碳微生物的固碳效率,为固碳减排、实现碳中和提供新的途径和菌种资源。

参 考 文 献

- [1] Jansson JK, Hofmockel KS. Soil microbiomes and climate change. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(1): 35–46.
- [2] Falkowski P, Scholes RJ, Boyle E, Canadell J, Canfield D, Elser J, Gruber N, Hibbard K, Höglberg P, Linder S, Mackenzie FT, Moore III B, Pedersen T, Rosenthal Y, Seitzinger S, Smetacek V, Steffen W. The global carbon cycle: A test of our knowledge of earth as a system. *Science*, 2000, 290(5490): 291–296.
- [3] Houghton RA, Hackler JL. Emissions of carbon from forestry and land-use change in tropical Asia. *Global Change Biology*, 1999, 5(4): 481–492.
- [4] Miltner A, Kopinke FD, Kindler R, Selesi D, Hartmann A, Kästner M. Non-phototrophic CO₂ fixation by soil microorganisms. *Plant and Soil*, 2005, 269(1/2): 193–203.
- [5] Elsaied H, Naganuma T. Phylogenetic diversity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large-subunit genes from deep-sea microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(4): 1751–1765.
- [6] Xu HH, Tabita FR. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase gene expression and diversity of Lake Erie planktonic microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(6): 1913–1921.
- [7] Nanba K, King GM, Dunfield K. Analysis of facultative lithotroph distribution and diversity on volcanic deposits by use of the large subunit of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(4): 2245–2253.
- [8] 袁道先, 刘再华, 等. 碳循环与岩溶地质环境. 北京: 科学出版社, 2003.
- [9] Yuan DX. The carbon cycle in karst. *Zeitschrift für Geomorphologie Neue Folge*, 1997, 108(Suppl-Bd): 91–402.
- [10] Chen XB, He XY, Hu YJ, Su YR. Characteristics and mechanisms of soil organic carbon accumulation and stability in typical Karst ecosystems. *Research of Agricultural Modernization*, 2018, 39(6): 907–915. (in Chinese)
陈香碧, 何寻阳, 胡亚军, 苏以荣. 喀斯特典型生态系统土壤有机碳积累特征与稳定机制. 农业现代化研究, 2018, 39(6): 907–915.
- [11] Cao JH, Yuan DX, Pan GX. Some soil features in Karst ecosystem. *Advance in Earth Sciences*, 2003, 18(1): 37–44. (in Chinese)
曹建华, 袁道先, 潘根兴. 岩溶生态系统中的土壤. 地球科学进展, 2003, 18(1): 37–44.
- [12] Li JY, Wang HF, Fan TZ. Weathering crust of carbonate rocks and process of Karst earth formation. *Carsologica Sinica*, 1991, 10(1): 29–38. (in Chinese)
李景阳, 王朝富, 樊廷章. 试论碳酸盐岩风化壳与喀斯特成土作用. 中国岩溶, 1991, 10(1): 29–38.
- [13] 郑华. 典型喀斯特非连续性土壤有机碳密度的估算. 中国科学院研究生院博士学位论文, 2012.
- [14] Tang GY, Wu JS, Su YR, Zheng H, Li K. Content and density characteristics of soil organic carbon in typical landscapes of subtropical region. *Environmental Science*, 2009, 30(7): 2047–2052. (in Chinese)
唐国勇, 吴金水, 苏以荣, 郑华, 李昆. 亚热带典型景观单元土壤有机碳含量和密度特征. 环境科学, 2009, 30(7): 2047–2052.
- [15] Huang QH, Cai YL. Assessment of Karst rocky desertification using the radial basis function network model and GIS technique: a case study of Guizhou Province, China. *Environmental Geology*, 2006, 49(8): 1173–1179.
- [16] Li BQ, Li Z, Sun XX, Wang Q, Xiao EZ, Sun WM. DNA-SIP reveals the diversity of chemolithoautotrophic bacteria inhabiting three different soil types in typical Karst rocky desertification ecosystems in southwest China. *Microbial Ecology*, 2018, 76(4): 976–990.
- [17] Smith P. Carbon sequestration in croplands: the potential in Europe and the global context. *European Journal of Agronomy*, 2004, 20(3): 229–236.
- [18] Han B, Wang XK, Ouyang ZY. Saturation levels and carbon sequestration potentials of soil carbon pools in farmland ecosystems of China. *Rural Eco-Environment*, 2005, 21(4): 6–11. (in Chinese)
韩冰, 王效科, 欧阳志云. 中国农田生态系统土壤碳库的饱和水平及其固碳潜力. 农村生态环境, 2005, 21(4): 6–11.

- [19] Song CQ, Wu JS, Lu YH, Shen QR, He JZ, Huang QY, Jia ZJ, Leng SY, Zhu YG. Advances of soil microbiology in the last decade in China. *Advances in Earth Science*, 2013, 28(10): 1087–1105. (in Chinese)
宋长青, 吴金水, 陆雅海, 沈其荣, 贺纪正, 黄巧云, 贾仲君, 冷疏影, 朱永官. 中国土壤微生物学研究 10 年回顾. *地球科学进展*, 2013, 28(10): 1087–1105.
- [20] Liang C, Balser TC. Microbial production of recalcitrant organic matter in global soils: implications for productivity and climate policy. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(1): 75.
- [21] Liu YY, Wang S, Li SZ, Deng Y. Advances in molecular ecology on microbial functional genes of carbon cycle. *Microbiology China*, 2017, 44(7): 1676–1689. (in Chinese)
刘洋洋, 王尚, 厉舒祯, 邓晔. 基于功能基因的微生物碳循环分子生态学研究进展. *微生物学通报*, 2017, 44(7): 1676–1689.
- [22] Hügler M, Sievert SM. Beyond the Calvin cycle: autotrophic carbon fixation in the ocean. *Annual Review of Marine Science*, 2011, 3: 261–289.
- [23] Yuan HZ, Qin HL, Liu SL, Tong CL, Ge TD, Wei WX, Wu JS. Abundance and composition of CO₂ fixating bacteria in relation to long-term fertilization of paddy soils. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(1): 183–189. (in Chinese)
袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 童成立, 葛体达, 魏文学, 吴金水. 长期施肥对稻田土壤固碳功能菌群结构和数量的影响. *生态学报*, 2012, 32(1): 183–189.
- [24] Berg IA. Ecological aspects of the distribution of different autotrophic CO₂ fixation pathways. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(6): 1925–1936.
- [25] Jeoung JH, Goetzl S, Hennig SE, Fessler J, Wörmann C, Dendra J, Dobbek H. The extended reductive acetyl-CoA pathway: ATPases in metal cluster maturation and reductive activation. *Biological Chemistry*, 2014, 395(5): 545–558.
- [26] Thauer RK. Microbiology: a fifth pathway of carbon fixation. *Science*, 2007, 318(5857): 1732–1733.
- [27] Yuan HC, Qin HL, Liu SL, Nie SA, Wei WX, Wu JS. Advances in research of molecular ecology of carbon fixation microorganism. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(14): 2951–2958. (in Chinese)
袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 聂三安, 魏文学, 吴金水. 固碳微生物分子生态学研究. *中国农业科学*, 2011, 44(14): 2951–2958.
- [28] Krebs HA. Carbon dioxide assimilation in heterotrophic organisms. *Nature*, 1941, 147: 560–563.
- [29] Lian B. Microbial roles in the *Genesis* of soil from carbonate rock weathering. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 2010, 29(1): 52–56. (in Chinese)
连宾. 碳酸盐岩风化成土过程中的微生物作用. *矿物岩石地球化学通报*, 2010, 29(1): 52–56.
- [30] Li W, Yu LJ, Yuan DX, Wu Y, Zeng XD. A study of the activity and ecological significance of carbonic anhydrase from soil and its microbes from different karst ecosystems of Southwest China. *Plant and Soil*, 2005, 272: 133–141.
- [31] Pan WZ, Nzung'a SO, Li W, Huang QB, Shen TM, Wang CW, Qin XQ, Yu LJ. The ecological importance and influence of land use on carbonic anhydrase activity of waters in the upstream section of the Wujiang River Basin. *Journal of Resources and Ecology*, 2015, 6(4): 230–236.
- [32] Nzung'a SO, Pan WZ, Shen TM, Li W, Qin XQ, Wang CW, Zhang LK, Yu LJ. Comparative study of carbonic anhydrase activity in waters among different geological eco-environments of Yangtze River basin and its ecological significance. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, 66: 173–181.
- [33] Pan WZ, Nzung'a SO, Shen TM, Li W, Wang CW, Yu LJ. Soil carbonic anhydrase activity, soil organic carbon and their relationships in different geological eco-environments of the Changjiang River basin. *Carsologica Sinica*, 2016, 35(2): 173–178. (in Chinese)
潘伟志, Sila Onesmus Nzung'a, 申泰铭, 李为, 王晨玮, 余龙江. 长江流域不同地质生态环境土壤碳酸酐酶活性、有机碳含量及其相关性. *中国岩溶*, 2016, 35(2): 173–178.
- [34] Smith KS, Jakubzik C, Whittam TS, Ferry JG. Carbonic anhydrase is an ancient enzyme widespread in prokaryotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96(26): 15184–15189.
- [35] Li W, Yu LJ, He QF, Wu Y, Yuan DX, Cao JH. Effects of microbes and their carbonic anhydrase on Ca²⁺ and Mg²⁺ migration in column-built leached soil-limestone karst systems. *Applied Soil Ecology*, 2004, 29(3): 274–281.
- [36] Li W, Zhou PP, Jia LP, Yu LJ, Li XL, Zhu M. Limestone dissolution induced by fungal mycelia, acidic materials, and carbonic anhydrase from fungi. *Mycopathologia*, 2009, 167(1): 37–46.
- [37] Wang CW, Li W, Shen TM, Cheng WL, Yan Z, Yu LJ. Influence of soil bacteria and carbonic anhydrase on karstification intensity and regulatory factors in a typical Karst area. *Geoderma*, 2018, 313: 17–24.
- [38] Liu ZH, Dreybrodt W. Significance of the carbon sink produced by H₂O-carbonate-CO₂-aquatic phototroph interaction on land. *Science Bulletin*, 2015, 60(2): 182–191.

- [39] Xie TX, Wu YY. The biokarst system and its carbon sinks in response to pH changes: a simulation experiment with microalgae. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 2017, 18(3): 827–843.
- [40] Yan Z, Shen TM, Li W, Cheng WL, Wang XY, Zhu M, Yu QW, Xiao YT, Yu LJ. Contribution of microalgae to carbon sequestration in a natural Karst wetland aquatic ecosystem: an *in situ* mesocosm study. *Science of the Total Environment*, 2021, 768: 144387.
- [41] Zhang SS, Jin ZJ, Jia YH, Li Q. Community structure of CO₂-fixing soil bacteria from different land use types in Karst areas. *Environmental Science*, 2019, 40(1): 412–420. (in Chinese)
张双双, 靳振江, 贾远航, 李强. 岩溶地区不同土地利用方式土壤固碳细菌群落结构特征. *环境科学*, 2019, 40(1): 412–420.
- [42] Jia ZJ, Conrad R. Bacteria rather than Archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(7): 1658–1671.
- [43] Wang Y, Wu JP, Hong YG. Microbial nitrification coupled to the hemoautotrophic carbon fixation in the deep ocean. *Chinese Journal of Nature*, 2016, 38(2): 109–115. (in Chinese)
王燕, 吴佳鹏, 洪义国. 深海微生物硝化作用驱动的化能自养固碳过程与机制研究进展. *自然杂志*, 2016, 38(2): 109–115.
- [44] Kovaleva OL, Tourova TP, Muyzer G, Kolganova TV, Sorokin DY. Diversity of RuBisCO and ATP citrate lyase genes in soda lake sediments. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 75(1): 37–47.
- [45] Liu JF, Mbadinga SM, Sun XB, Yang GC, Yang SZ, Gu JD, Mu BZ. Microbial communities responsible for fixation of CO₂ revealed by using mcrA, cbbM, cbbL, fthfs, fefe-hydrogenase genes as molecular biomarkers in petroleum reservoirs of different temperatures. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, 114: 164–175.
- [46] Wang XY, Li W, Xiao YT, Cheng AQ, Shen TM, Zhu M, Yu LJ. Abundance and diversity of carbon-fixing bacterial communities in karst wetland soil ecosystems. *Catena*, 2021 (Accepted).
- [47] Yu LL, Luo SS, Xu X, Gou YG, Wang JW. The soil carbon cycle determined by GeoChip 5.0 in sugarcane and soybean intercropping systems with reduced nitrogen input in South China. *Applied Soil Ecology*, 2020, 155: 103653.
- [48] D'Onofrio A, Crawford JM, Stewart EJ, Witt K, Gavrish E, Epstein S, Clardy J, Lewis K. Siderophores from neighboring organisms promote the growth of uncultured bacteria. *Chemistry & Biology*, 2010, 17(3): 254–264.
- [49] Xing L, Zhao SG, Zheng N, Li SL, Wang JQ. Advance in isolation and culture techniques of uncultured microbes: a review. *Microbiology China*, 2017, 44(12): 3053–3066. (in Chinese)
邢磊, 赵圣国, 郑楠, 李松励, 王加启. 未培养微生物分离培养技术研究进展. *微生物学通报*, 2017, 44(12): 3053–3066.
- [50] Wang P, Hu QJ, Cao JH, Li L. Experimental study on utilization efficiency of Ca²⁺ and HCO₃⁻ in Karst water by *Nostoc. Guihaia*, 2014, 34(6): 799–805. (in Chinese)
王培, 胡清菁, 曹建华, 李亮. 念珠藻对岩溶水中 Ca²⁺、HCO₃⁻ 利用效率实验研究. *广西植物*, 2014, 34(6): 799–805.
- [51] Cheng WL, Shen TM, Li W, Yan Z, Yu LJ. A simulation study of the influence of illumination on carbon sequestration capacity of aquatic microalgae from karst area. *16th International Symposium on Microbial Ecology, Montreal, Canada*, 2016: 59.
- [52] Zhou JT, Wang J, Yang FL. A review of carbon dioxide fixation by microorganisms. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 1999(1): 1–9. (in Chinese)
周集体, 王竞, 杨凤林. 微生物固定 CO₂ 的研究进展. *环境科学进展*, 1999(1): 1–9.
- [53] Berg IA, Ramos-Vera WH, Petri A, Huber H, Fuchs G. Study of the distribution of autotrophic CO₂ fixation cycles in Crenarchaeota. *Microbiology*, 2010, 156(1): 256–269.
- [54] Wang J, Zhou JT, Zhang JJ, Zhang AL, Zhang JS. Screening and culture conditions of hydrogen oxidizing bacteria. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2000, 6(3): 271–275. (in Chinese)
王竞, 周集体, 张晶晶, 张爱丽, 张劲松. 固定 CO₂ 氢细菌的筛选及其培养条件优化. *应用与环境生物学报*, 2000, 6(3): 271–275.
- [55] Khalifa A, Nakasuji Y, Saka N, Honjo H, Asakawa S, Watanabe T. *Ferrigenium kumadai* gen. nov., sp. nov., a microaerophilic iron-oxidizing bacterium isolated from a paddy field soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2018, 68(8): 2587–2592.
- [56] Guo J, Fan FF, Wang LG, Wu AL, Zheng J. Isolation, identification of carbon-fixing bacteria and determination of their carbon-fixing abilities. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35(1): 90–97. (in Chinese)
郭珺, 樊芳芳, 王立革, 武爱莲, 郑军. 固碳微生物菌株的分离鉴定及其固碳能力测定. *生物技术通报*, 2019, 35(1): 90–97.
- [57] Buchanan RE. 伯杰细菌鉴定手册. 第 8 版. 北京: 科学出版社, 1974.

- [58] Qian MM, Xiao YL, Peng WT, Cao H. Diversities of autotrophic CO₂-fixing microbes in no-tillage paddy soils. *China Environmental Science*, 2015, 35(12): 3754–3761. (in Chinese)
钱明媚, 肖永良, 彭文涛, 曹慧. 免耕水稻土固定 CO₂ 自养微生物多样性. *中国环境科学*, 2015, 35(12): 3754–3761.
- [59] Tabita FR. Microbial ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase: a different perspective. *Photosynthesis Research*, 1999, 60(1): 1–28.
- [60] Walker CB, de la Torre JR, Klotz MG, Urakawa H, Pinel N, Arp DJ, Brochier-Armanet C, Chain PSG, Chan PP, Gollabgir A, Hemp J, Hugler M, Karr EA, Konneke M, Shin M, Lawton TJ, Lowe T, Martens-Habben W, Sayavedra-Soto LA, Lang D, Sievert SM, Rosenzweig AC, Manning G, Stahl DA. *Nitrosopumilus maritimus* genome reveals unique mechanisms for nitrification and autotrophy in globally distributed marine crenarchaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(19): 8818–8823.
- [61] Tetu SG, Breakwell K, Elbourne LDH, Holmes AJ, Gillings MR, Paulsen IT. Life in the dark: metagenomic evidence that a microbial slime community is driven by inorganic nitrogen metabolism. *International Society for Microbial Ecology Journal*, 2013, 7(6): 1227–1236.
- [62] Thauer RK. Microbiology: a fifth pathway of carbon fixation. *Science*, 2007, 318(5857): 1732–1733.
- [63] Becerra A, Rivas M, García-Ferris C, Lazcano A, Peretó J. A phylogenetic approach to the early evolution of autotrophy: the case of the reverse TCA and the reductive acetyl-CoA pathways. *International Microbiology*, 2014, 17(2): 91–97.
- [64] Holo H. *Chloroflexus aurantiacus* secretes 3-hydroxypropionate, a possible intermediate in the assimilation of CO₂ and acetate. *Archives of Microbiology*, 1989, 151(3): 252–256.
- [65] Herter S, Busch A, Fuchs G. L-malyl-coenzyme A lyase/β-methylmalyl-coenzyme A lyase from *Chloroflexus aurantiacus*, a bifunctional enzyme involved in autotrophic CO₂ fixation. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(21): 5999–6006.
- [66] Hügler M, Huber H, Molyneaux SJ, Vetriani C, Sievert SM. Autotrophic CO₂ fixation via the reductive tricarboxylic acid cycle in different lineages within the Phylum Aquificae: evidence for two ways of citrate cleavage. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(1): 81–92.
- [67] Tourna M, Stieglmeier M, Spang A, Konneke M, Schintlmeister A, Urich T, Engel M, Schlöter M, Wagner M, Richter A, Schleper C. *Nitrososphaera viennensis*, an ammonia oxidizing archaeon from soil. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(20): 8420–8425.
- [68] Ploug H, Adam B, Musat N, Kalvelage T, Lavik G, Wolf-Gladrow D, Kuypers MMM. Carbon, nitrogen and O₂ fluxes associated with the cyanobacterium *Nodularia spumigena* in the Baltic Sea. *International Society for Microbial Ecology Journal*, 2011, 5(9): 1549–1558.
- [69] Ploug H, Musat N, Adam B, Moraru CL, Lavik G, Vagner T, Bergman B, Kuypers MMM. Carbon and nitrogen fluxes associated with the cyanobacterium *Aphanizomenon* sp. in the Baltic Sea. *International Society for Microbial Ecology Journal*, 2010, 4(9): 1215–1223.
- [70] Yuan DX. Modern karstology and global change study. *Earth Science Frontiers*, 1997, 4(1/2): 17–25.
- [71] 李大通. 中国可溶岩类型图说明书. 北京: 地图出版社, 1985.
- [72] Jiang ZC, Qin XQ, Cao JH, Jiang XZ, He SY, Luo WQ. Calculation of atmospheric CO₂ sink formed in Karst progresses of the Karst divided regions in China. *Carsologica Sinica*, 2011, 30(4): 363–367. (in Chinese)
蒋忠诚, 覃小群, 曹建华, 蒋小珍, 何师意, 罗为群. 中国岩溶作用产生的大气 CO₂ 碳汇的分区计算. *中国岩溶*, 2011, 30(4): 363–367.
- [73] Cheng LH, Zhang L, Chen HL, Gao CJ. Advances on CO₂ fixation by microalgae. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2005, 21(2): 177–181. (in Chinese)
程丽华, 张林, 陈欢林, 高从堦. 微藻固定 CO₂ 研究进展. *生物工程学报*, 2005, 21(2): 177–181.
- [74] Hu JJ, Wang L, Li YL, Fu XH, Le YQ, Xu DS, Lu B, Yu JG. Breeding, optimization and community structure analysis of non-photosynthetic CO₂ assimilation microbial flora. *Environmental Science*, 2009, 30(8): 2438–2444. (in Chinese)
胡佳俊, 王磊, 李艳丽, 付小花, 乐毅全, 徐殿胜, 陆兵, 于建国. 非光合 CO₂ 同化微生物菌群的选育/优化及其群落结构分析. *环境科学*, 2009, 30(8): 2438–2444.
- [75] Wei YW, Su YR, Chen XB, He XY. Responses of soil properties to ecosystem degradation in Karst region of northwest Guangxi, China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(5): 1308–1314. (in Chinese)
魏亚伟, 苏以荣, 陈香碧, 何寻阳. 桂西北喀斯特土壤对生态系统退化的响应. *应用生态学报*, 2010, 21(5): 1308–1314.

Research progress in the process and mechanisms of autotrophic carbon sequestration driven by soil microorganisms in karst areas

Aoqi Cheng¹, Weihua Kang¹, Wei Li^{1*}, Longjiang Yu^{1,2*}

¹ Institute of Resource Biology and Biotechnology, Department of Biotechnology, College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, Hubei Province, China

² Key Laboratory of Molecular Biophysics, Ministry of Education, Wuhan 430074, Hubei Province, China

Abstract: Autotrophic microorganisms can use inorganic carbon as a carbon source to synthesize their own nutrients, which have strong environmental adaptability and play an important role in the carbon fixation of the soil in the karst area rich in calcium and alkali. This review focuses on the process of autotrophic carbon fixation driven by soil microorganisms, the carbon fixing functional microorganisms in karst soils, and the molecular mechanisms of soil microbial autotrophic carbon fixation and their eco-environmental effects in karst area. The key scientific problems to be solved are also proposed. It provides a reference for further study and understanding the carbon sequestration process and its mechanisms driven by autotrophic microorganisms in the soil ecosystem of karst areas, improving the carbon sequestration potential of soil in karst areas, developing the protection and restoration strategies of karst ecological environment, and coping with the risk of soil degradation caused by climate change and human activities.

Keywords: karst soils, autotrophic microorganisms, functional groups, photosynthetic CO₂ fixation, non-photosynthetic CO₂ fixation, carbon fixation mechanisms

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (41977260)

*Corresponding authors. Tel: +86-27-87792432; E-mail: Wei Li, hulwei_009@163.com; Longjiang Yu, yulongjiang@mail.hust.edu.cn

Received: 28 February 2021; Revised: 16 April 2021; Published online: 18 May 2021

李为, 博士, 华中科技大学生命科学与技术学院副教授, 中国地质学会岩溶地质专业委员会委员, 自然资源部岩溶生态系统与石漠化治理重点实验室学术委员会委员。先后主持多项国家自然科学基金、中国地质调查局地质调查工作项目子课题, 在微生物及碳酸酐酶对岩溶碳汇的促进作用及其机制、微生物及碳酸酐酶的生物矿化作用及其机理等方面取得较系统的研究成果。已在 *Science of the Total Environment*、*Geoderma*、*Journal of Hydrology*、*Plant and Soil*、*Applied Soil Ecology*、*Bioresource Technology*、*Chemical Engineering Journal*、*Biochemical Engineering Journal*、*Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 等学术期刊以第一作者或通讯作者发表 SCI 论文 10 余篇, 授权专利 7 项, 获省科技进步一等奖 1 项, 作为副主编出版生物技术与生物工程系列 iCourse 教材 1 部。

余龙江, 华中科技大学二级教授, 华中学者领军岗, 国家突出贡献专家, 享受国务院津贴专家, 国家“万人计划”入选者, 教育部新世纪优秀人才, 湖北省突出贡献专家, 湖北省首届新世纪高层次人才。长期从事资源生物学与生物技术与应用, 并围绕生物岩溶作用及生态系统保护等方面开展研究。先后承担多项国家自然科学基金、多项 863 及国家科技支撑计划课题, 湖北省重点基金和多项湖北省重大科技专项, 以及系列科技成果转化项目。以第一作者或通讯作者发表 SCI 论文 130 篇, 主编教材和著作 8 部, 获发明专利授权 70 余项, 系列成果实现工业化应用, 经济社会效益和环保效益显著, 主持的科技项目曾获湖北省科技进步一等奖和日内瓦国际发明展览会金奖等。

