

DOI: 10.11686/cyxb2024476

http://cyxb.magtech.com.cn

彭浩, 董宝珠, 马利娟, 等. 内蒙古典型草原和荒漠草原土壤固碳微生物组成及其固碳途径差异分析. 草业学报, 2025, 34(8): 123-131.

PENG Hao, DONG Bao-zhu, MA Li-juan, *et al.* Composition and carbon-fixation pathways of carbon-fixing microorganisms in soils of a typical steppe and desert steppe in Inner Mongolia. *Acta Prataculturae Sinica*, 2025, 34(8): 123-131.

内蒙古典型草原和荒漠草原土壤固碳微生物组成及其固碳途径差异分析

彭浩^{1,2*}, 董宝珠³, 马利娟⁴, 于晓东³, 张艺帆¹, 李晓芳¹

(1. 内蒙古财经大学资源与环境经济学院, 内蒙古呼和浩特 010070; 2. 内蒙古财经大学祖国北疆资源利用与环境保护协调发展院士专家工作站, 内蒙古呼和浩特 010070; 3. 内蒙古大学生命科学学院, 内蒙古呼和浩特 010020; 4. 内蒙古农业大学资源与环境学院, 内蒙古呼和浩特 010040)

摘要: 土壤中自养微生物可以同化大气CO₂并将碳固定于土壤中。与湿润区生态系统相比, 干旱区土壤微生物固碳的相对贡献更大。但当前碳评估模型主要研究植物固碳, 往往忽略了土壤微生物的固碳代谢, 这不利于全面了解干旱区生态系统碳汇特征。本研究以内蒙古典型草原和荒漠草原的土壤微生物为对象, 剖析了土壤中固碳微生物群落组成和固碳途径的差异。研究结果显示: 1) 两种类型草原土壤中共有14个固碳微生物类群(纲), 其中酸杆菌纲、 γ -变形菌纲和绿弯菌纲在荒漠草原土壤中的丰度显著高于典型草原; 2) 还原柠檬酸循环(rTCA)和3-羟基丙酸循环(3-HP)相对丰度在荒漠草原土壤中显著高于典型草原; 3) rTCA途径关键酶EC(1.2.7.1)和EC(1.2.7.3)、3-HP途径关键酶EC(6.4.1.2)和EC(6.4.1.3)的编码基因丰度在荒漠草原土壤中高于典型草原。显然, 内蒙古荒漠草原土壤固碳微生物(纲)、固碳途径及其编码关键酶基因丰度都高于典型草原, 由此表明荒漠草原土壤固碳微生物具有更强的大气CO₂固定潜力。

关键词: 草原土壤; 固碳微生物; 固碳途径; 宏基因组; 相对丰度

Composition and carbon-fixation pathways of carbon-fixing microorganisms in soils of a typical steppe and desert steppe in Inner Mongolia

PENG Hao^{1,2*}, DONG Bao-zhu³, MA Li-juan⁴, YU Xiao-dong³, ZHANG Yi-fan¹, LI Xiao-fang¹

1. College of Resources and Environmental Economics, Inner Mongolia University of Finance and Economics, Hohhot 010070, China; 2. Resource Utilization and Environmental Protection Coordinated Development Academician Expert Workstation in the North of China, Inner Mongolia University of Finance and Economics, Hohhot 010070, China; 3. School of Life Sciences, Inner Mongolia University, Hohhot 010020, China; 4. College of Resources and Environmental Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010040, China

Abstract: Autotrophic soil microbes can assimilate atmospheric CO₂ and fix carbon into the soil. The relative contributions of soil microorganisms to carbon fixation are greater in arid regions than in humid ecosystems. However, current carbon-fixation models mainly focus on plant functions and often neglect the roles of soil autotrophs. Therefore, such models cannot accurately predict carbon sequestration in the soil of arid ecosystems. In this study, we focused on the soil microorganisms of the typical steppe and desert steppe in Inner Mongolia, and

收稿日期: 2024-11-26; 改回日期: 2024-12-30

基金项目: 国家自然科学基金(3206140110), 教育部人文社会科学研究规划基金(20YJA790058)和内蒙古自治区直属高校基本科研业务费项目(NCYWT25063)资助。

作者简介: 彭浩(1976-), 女, 湖南湘潭人, 副教授, 博士。E-mail: pengden@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: pengden@163.com

analyzed differences in the composition and metabolic pathways of carbon-fixing microbial communities in those soils. The main results were as follows: 1) There were 14 carbon-fixing microbial groups (classes) in soils of both categories of steppe, among which Acidimicrobiia, γ -Proteobacteria, and Chloroflexi showed significantly higher abundance in the desert steppe soil than in the typical steppe soil; 2) The relative abundance of genes related to the reductive citric acid (rTCA) cycle and the 3-hydroxypropionate (3-HP) cycle was significantly higher in the desert steppe soil than in the typical steppe soil; 3) The abundance of genes encoding key enzymes in the rTCA pathway [EC (1.2.7.1) and EC (1.2.7.3)] and the 3-HP pathway [EC (6.4.1.2) and EC (6.4.1.3)] was higher in the desert steppe soil than in the typical steppe soil. Clearly, the abundance of carbon-fixing microorganism classes, carbon-fixation pathways, and genes encoding their key enzymes was higher in the desert steppe soil of Inner Mongolia than in the typical steppe soil, indicating that the desert steppe soil microorganisms have stronger potential for atmospheric CO₂ fixation.

Key words: grassland soil; carbon-fixing microorganisms; carbon-fixation pathways; metagenomics; relative abundance

固碳微生物是土壤中的自养微生物,可以将大气中的CO₂同化并且把碳固定于土壤中^[1]。这类微生物一般通过以下6种途径进行碳固定,卡尔文循环(Calvin-Benson-Bassham cycle, CBB)是植物、微藻和蓝藻共有的固碳途径,其他5种固碳途径:还原柠檬酸循环(reductive citric acid cycle, rTCA)、3-羟基丙酸循环(3-hydroxypropionate cycle, 3-HP)、2-羧酸/4-羟基丁酸循环(dicarboxylate/4-hydroxybutyrate cycle, DC/4-HB)、3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环(3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate cycle, 3-HP/4-HB)和还原性乙酰辅酶A途径(reductive acetyl-CoA pathway, WLP)主要存在于细菌和古细菌中^[2]。陆地生态系统土壤自养微生物通过CO₂同化作用每年可固碳 $2 \times 10^{15} \sim 3 \times 10^{15}$ g,固碳微生物在湿地、草地和林地土壤中的CO₂固定率分别为85.1、21.9和32.9 mg C·m⁻²·d⁻¹^[3]。在青藏高原,沙漠和草原土壤CO₂固定率(29 mg·kg⁻¹·d⁻¹)明显高于草甸土壤(18 mg·kg⁻¹·d⁻¹),土壤微生物固碳量与地上植被生物量呈显著负相关^[4]。Chen等^[5]也发现土壤越贫瘠其微生物固碳潜力越大,土壤微生物CO₂固定对于干旱草原的总初级生产力贡献了18.2%。内蒙古草原荒漠化严重,近年来不同草地类型之间转换比较剧烈^[6],但是有关内蒙古不同类型草原土壤固碳微生物的研究鲜有报道。

土壤环境不同,固碳微生物的群落组成也存在较大差异。稻田土壤固碳微生物以固氮螺菌属(*Azospirillum*)和红假单胞菌属(*Rhodopseudomonas*)等化能自养菌为主^[7-8],有些农田土壤还存在大量的慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)和劳尔氏菌属(*Ralstonia*)^[9]。在高寒草甸土壤中, α -变形菌(α -Proteobacteria)是优势固碳微生物类群^[10]。然而,在半干旱沙漠土壤中除了有大量的变形菌外,主要的固碳微生物还包括放线菌(Actinobacteria)、酸杆菌(Acidobacteria)和绿弯菌(Chloroflexi)等^[11-12]。不同的固碳微生物具有不同的固碳途径,依赖不同的酶促反应。近年来,宏基因组测序技术被广泛应用于土壤微生物类群组成及其基因丰度的分析。在干旱区土壤中,*cbbL*和*cbbM*是自养微生物的重要固碳基因,编码卡尔文循环的关键酶。尽管荒漠土壤中自养微生物的丰度低于草甸土壤,但是荒漠土壤卡尔文循环更加活跃,对大气CO₂的固定能力更强^[4]。但是,在温带荒漠生物结皮中编码一氧化碳脱氢酶的基因(*coxL*)丰度远高于编码1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶(Rubisco)的*cbbL*基因丰度,表明此环境中自养微生物通过rTCA途径固定CO₂的活动更加活跃^[13]。显然,不同土壤环境中固碳微生物类群丰度、固碳途径和固碳基因的丰度也不同。

干旱区生态系统植物生长及其固碳潜力受到限制,而土壤微生物具有更强的环境适应能力^[14]。和湿润区生态系统相比,干旱区土壤微生物固碳的相对贡献更大^[4,15]。目前生物固碳主要集中在植物固碳研究,对于微生物固碳研究较少,这不利于全面了解干旱区生态系统碳汇特点。本研究以土壤自养微生物为对象,分析内蒙古典型草原和荒漠草原土壤中固碳微生物群落组成和代谢途径差异,为科学全面评估内蒙古不同类型草原土壤固碳潜力提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 研究区概况

采样区域位于内蒙古荒漠草原和典型草原,采样时间为2023年8月21—23日。荒漠草原区于乌兰察布市四子王旗(样点3,4,6)、包头市达尔罕茂明安联合旗(样点1,2)和呼和浩特市武川县(样点5)取样,典型草原区于锡林郭勒盟东乌珠穆沁旗(样点3,4,5,6)和西乌珠穆沁旗(样点1,2)取样。内蒙古荒漠草原区群落生物多样性不高,主要有小针茅(*Stipa klemenzii*)和短花针茅(*Stipa breviflora*);典型草原区群落多样性相对较高,优势物种有大针茅(*Stipa grandis*)和克氏针茅(*Stipa kryovii*)等^[16]。根据国家气象科学数据中心(<https://data.cma.cn>)的“中国地面气象观测历史数据集”,2023年,荒漠草原区降水量为210.2 mm,年平均气温2.44℃;典型草原区降水量为309.9 mm,年平均气温6.52℃。荒漠草原区土壤主要是棕钙土,典型草原区为黑钙土和栗钙土^[17]。采样点位置见表1。

1.2 土壤样品的采集和处理

在两种不同类型草原区各设置6个采样点,每个样点10 m×10 m,进行“S”形采样,用内径5 cm的土钻采集0~10 cm土层的土壤,混合均匀每个样点采集的土样。将采集后的土壤样品过2 mm筛除去植物枯落物和根系,冷冻运回实验室放入-80℃冰箱,用于土壤DNA提取和宏基因组测序。

1.3 土壤DNA提取、文库构建和宏基因组测序

本研究委托生工生物工程(上海)有限公司进行土壤DNA提取以及后续宏基因组测序。具体试验过程如下:首先进行土壤DNA的提取,然后检测DNA样品质量是否符合下游建库标准。如果DNA质量合格,从每个DNA样品中取500 ng进行文库构建。使用Hieff NGS®MaxUp II Illumina®DNA文库制备试剂盒(12200ES96, YEASEN, 中国)构建测序文库并通过NovaSeq 6000测序仪(Illumina, 美国)对文库进行双端测序。

1.4 宏基因组测序数据分析、基因组装、基因功能及物种注释

对下机后测序数据依次进行如下分析:首先去除低质量序列和短序列(Fastp 0.36),所得高质量序列进行后续分析。将质控后的序列进行拼接组装(Megahit 3.13),然后预测这些组装后获得的contigs的开放阅读框(Prodigal 2.60),将DNA序列长度超过100 bp的基因作为候选基因集。将所得基因集去冗余后分析各个基因的丰度。通过DIAMOND将基因集氨基酸序列与NCBI蛋白数据库(NCBI non-redundant protein sequences)进行同源分析,获得功能注释和同源物种信息。以NCBI微生物分类数据库为基础,分析基因的物种分类注释信息,然后在界(kingdom)、门(phylum)、纲(class)、目(order)、科(family)、属(genus)、种(species)不同分类学水平上统计物种的相对丰度。

1.5 数据分析

在宏基因组物种分类注释数据集中(taxonomy),本研究从“纲”分类数据中查找土壤固碳微生物及其物种相对丰度。使用Excel 2019对不同采样点固碳微生物的相对丰度进行分析,计算同一草原类型不同采样点固碳微生物相对丰度平均值,并通过单因素方差分析来判断不同数据间的差异显著性。对相对丰度存在显著差异的固碳微生物(纲)进行深入分析,从“种”分类水平上分析相对丰度前10的固碳微生物。在KEGG pathway数据集中分析固碳途径的相对丰度,用上述同样方法计算其平均相对丰度并分析不同数据间的差异显著性。根据固碳途径中酶的KEGG同源基因(KEGG orthology, KO)编号分析该酶编码基因的相对丰度,用上述同样方法计算其平均相对丰度并分析不同数据间的差异显著性。

表1 采样点位置信息

Table 1 Locations of sampling points

采样点 Sampling points	荒漠草原 Desert steppe	典型草原 Typical steppe
1	110°36'34.4" E, 41°52'18.1" N	117°41'16.5" E, 44°54'17.2" N
2	111°5'16.4" E, 41°47'8.5" N	118°34'32.1" E, 45°5'26.9" N
3	111°37'0.5" E, 41°41'58.4" N	117°29'7.9" E, 45°30'57.5" N
4	111°52'44.3" E, 41°52'18.1" N	118°29'0.9" E, 45°47'13.1" N
5	110°50'5.7" E, 41°20'5.5" N	119°10'24.6" E, 46°9'55.3" N
6	112°10'40.5" E, 42°26'17.1" N	119°37'35.3" E, 45°47'34.4" N

2 结果与分析

2.1 荒漠草原和典型草原土壤固碳微生物相对丰度

对典型草原和荒漠草原土壤微生物宏基因组进行测序分析,共检测到的固碳微生物包括3个古细菌纲和11个细菌纲(表2)。在固碳古细菌中,亚硝化球菌纲(Nitrososphaeria)的相对丰度明显大于另外两类古细菌,而且该类古细菌在荒漠草原土壤中丰度更高。但是,无论是典型草原还是荒漠草原,土壤中固碳古细菌的相对丰度都低于细菌。 α -变形菌纲是最主要的固碳细菌,其丰度高于其他细菌类群,但在两种类型草原土壤中该类固碳细菌的丰度并没有显著差异。相反,相对丰度较低的酸微菌纲(Acidimicrobiia)、 γ -变形菌纲(γ -Proteobacteria)和绿弯菌纲在荒漠草原土壤中显著高于典型草原($P < 0.05$)。这3类固碳细菌之间的丰度也存在明显的差异,两类草原土壤中均为酸微菌纲 $>$ γ -变形菌纲 $>$ 绿弯菌纲。上述结果表明,内蒙古不同类型草原土壤中固碳微生物种类(纲)相似,但是不同类群固碳微生物的相对丰度在两种草原土壤中存在显著差异。

2.2 两类草原土壤固碳微生物优势种对比分析

为了进一步明确两类草原土壤中固碳微生物的组成差异,本研究分析了上述3类具有显著差异的细菌(纲)优势种(图1)。在酸微菌纲中, *Acidimicrobiia_bacterium* 是最主要的固碳细菌,其相对丰度占酸微菌纲的59.01%(典型草原)和67.12%(荒漠草原);其次是 *Acidimicrobiales_bacterium*。在典型草原和荒漠草原土壤中,相对丰度居前10位的固碳酸微菌种组成相同,但是相对丰度大小略有不同。在 γ -变形菌纲中,前10位的固碳细菌相对丰度之和占该细菌纲的60%左右,低于酸微菌纲和绿弯菌纲的优势固碳菌,后者超过90%。优势菌种组成也不同,荒漠草原的 *Chromatiales_bacterium_USCg_Taylor* 替代了典型草原的 *Steroidobacter_agaridevorans*。但不论是典型草原还是荒漠草原, γ -Proteobacteria_bacterium 都是丰度最高的固碳 γ -变形菌。与酸微菌纲类似,绿弯菌纲前10位优势菌种组成在两种草原土壤中是一致的。*Chloroflexi_bacterium* 和 *Kouleothrix_sp.* 是相对丰度较高的两种固碳绿弯菌,其相对丰度之和占该纲70%左右。总之,两种草原土壤中优势固碳细菌菌种组成相似,而且其相对丰度大小排列顺序也较一致;在3类固碳细菌中,都有一个突出的优势菌种,其相对丰度明显大于其他菌种。

2.3 两种类型草原土壤固碳途径差异分析

土壤固碳微生物主要通过6个途径同化CO₂并将其转化为土壤有机碳。基于宏基因组测序数据和KEGG数据库代谢途径注释分析,图2为不同草原类型6种固碳途径相对丰度比较结果。除了还原性乙酰辅酶A通路,存

表2 典型草原和荒漠草原土壤固碳微生物(纲)相对丰度

Table 2 Relative abundance of carbon-fixing microorganisms (class) in soils of typical steppe and desert steppe (%)

固碳微生物分类(纲) Carbon-fixing microorganisms (class)	典型草原 Typical steppe	荒漠草原 Desert steppe
古细菌 Archaea		
亚硝化球菌纲 Nitrososphaeria	0.389±0.203	0.571±0.284
热原体纲 Thermoplasmata	0.003±0.000	0.003±0.001
深古菌纲 Candidatus_Bathyarchaeota	0.003±0.002	0.003±0.001
热变形菌纲 Thermoprotei	n. d.	n. d.
古丸菌纲 Archaeoglobi	n. d.	n. d.
洛基古菌纲 Lokiarchaeia	n. d.	n. d.
细菌 Bacteria		
α -变形菌纲 α -Proteobacteria	13.837±3.349	10.524±2.115
酸微菌纲 Acidimicrobiia	1.050±0.301*	1.397±0.184*
芽单胞菌纲 Gemmatimonadetes	0.728±0.170	1.174±0.477
γ -变形菌纲 γ -Proteobacteria	0.557±0.167*	0.906±0.335*
蓝藻纲 Cyanophyceae	0.254±0.065	0.370±0.246
厌氧绳菌纲 Anaerolineae	0.250±0.144	0.373±0.100
硝化螺旋菌纲 Nitrospiria	0.165±0.104	0.270±0.096
绿弯菌纲 Chloroflexi	0.080±0.028*	0.129±0.030*
迷踪菌纲 Unclassified_Elusimicrobia	0.007±0.003	0.008±0.002
ζ -变形菌纲 ζ -Proteobacteria	0.001±0.001	0.001±0.000
绿菌纲 Chlorobiia	0.001±0.000	0.001±0.000
脱硫杆菌纲 Desulfurobacteriia	n. d.	n. d.
弯曲杆菌纲 Campylobacteria	n. d.	n. d.
热脱硫杆菌纲 Thermodesulfovibrionia	n. d.	n. d.
δ -变形菌纲 δ -Proteobacteria (SAR324)	n. d.	n. d.
放线菌纲 Actinobacteria	n. d.	n. d.
螺旋体纲 Leptospirae	n. d.	n. d.

注:数据均为平均值±标准差。*表示0.05水平上差异显著,n. d.表示未检出。

Note: The data present as mean ± standard deviation. * indicates significant difference at the 0.05 level, n. d. stands for not detected.

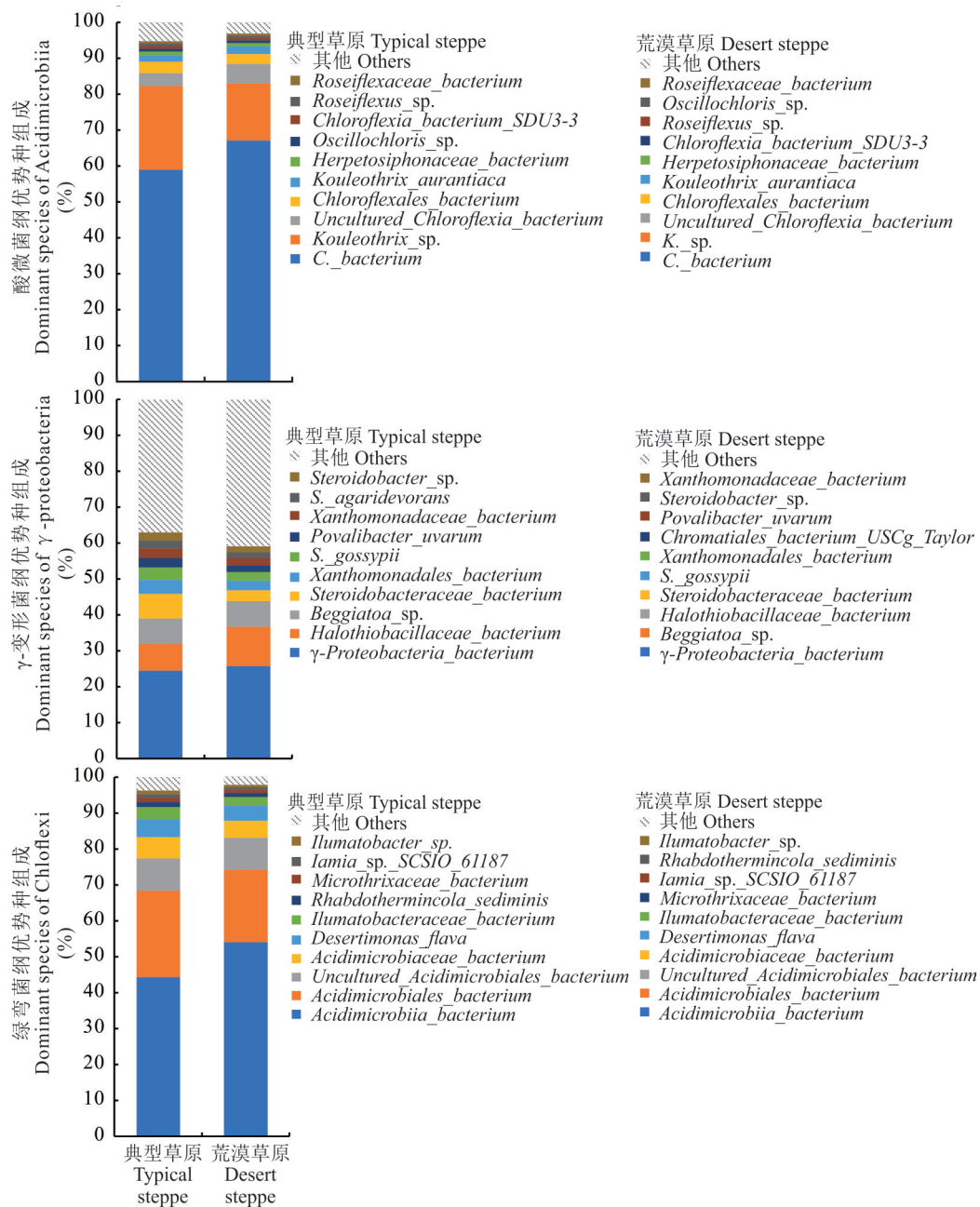


图 1 典型草原和荒漠草原土壤固碳微生物优势种相对丰度变化

Fig. 1 Relative abundance of dominant species of carbon-fixing microorganisms in soils of typical steppe and desert steppe

在于光合生物中的卡尔文循环的相对丰度均低于其余 4 个固碳途径。卡尔文循环常常被认为是自养微生物吸收 CO₂ 最重要的途径^[3,18],但是在内蒙古草原土壤环境中该固碳途径占比明显低于大多数其他原核生物固碳途径。还原柠檬酸循环途径占比最高,表明该固碳途径是两类草原土壤中自养微生物的主要固碳方式,而且该途径在荒漠草原土壤中的相对丰度显著高于典型草原(P<0.05)。类似于 rTCA 循环,两种类型草原土壤中 3-羟基丙酸循环相对丰度也存在相同的变化趋势,这表明荒漠草原土壤具有更强的微生物固碳潜力。

2.4 两种草原土壤还原柠檬酸循环和 3-羟基丙酸循环代谢途径及其酶编码基因相对丰度的差异分析

不同植被区土壤微生物碳同化量与固碳微生物的代谢途径及其参与固碳途径酶编码基因的变化密切相关。典型草原 9 种酶编码基因的相对丰度低于荒漠草原(浅绿色方框,图 3A),3 种高于荒漠草原(浅红色方框)。“*”标识的方框[EC(1.2.7.1),EC(1.2.7.3)和 EC(2.3.3.8)]表示 rTCA 循环的关键酶,它们依次是丙酮酸:铁氧化还原蛋白氧化还原酶(pyruvate: ferredoxin oxidoreductase)、铁氧化还原蛋白氧化还原酶(2-oxoglutarate: ferredoxin

oxidoreductase)和柠檬酸裂解酶(citrate lyase)。在荒漠草原土壤中,前两个关键酶基因的相对丰度高于典型草原。此外,EC(4.2.1.3)(乌头酸水合酶aconitate hydratase)和EC(4.1.1.31)(磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶phosphoenolpyruvate carboxylase)基因相对丰度在两种草原间存在显著差异,前者荒漠草原较高,后者典型草原较高。3-HP途径的酶基因相对丰度变化:13种酶基因被检测到并加以注释,其中8种酶的编码基因在典型草原土壤中的相对丰度高于荒漠草原,5种酶呈相反变化,其中EC(6.4.1.2)酶基因相对丰度呈显著性改变(图3B)。丙酰辅酶A羧化酶(propionyl-CoA carboxylase, EC6.4.1.3)是3-HP的另外一个关键酶,这两种关键酶基因的丰度在荒漠草原土壤中都高于典型草原。由此可见,荒漠草原土壤rTCA和3-HP途径的主要固碳关键酶基因丰度都相对较高,表明这两类固碳途径在荒漠土壤环境中更加活跃。

3 讨论

微生物固碳过程是指微生物吸收无机碳并将其转化为生物量的过程,这一过程是自然界无机碳转化为有机碳并进入生物圈的重要步骤^[19]。Garritano等^[20]通过分析目前已知的52515个微生物基因组发现其中1007个基因组具有固碳途径,这些基因组分别属于6个古细菌纲和19个细菌纲。在上述的25个固碳微生物类群(纲)中,本研究在内蒙典型草原和荒漠草原土壤中发现了其中的14种,包括3个古细菌纲和11个细菌纲。不同土壤环境中固碳微生物的碳同化能力具有明显差异,这是由微生物的种群组成及其数量差异造成的^[21]。干旱条件会改变土壤细菌群落结构,绿弯菌门和 α -变形菌门相对丰度会增加,而酸杆菌门和疣微菌门(Verrucomicrobia)的丰度会减少^[22]。高静等^[10]发现 α -变形菌门是青藏高原高寒草甸土壤优势固碳微生物。半干旱沙漠土壤中的优势固碳微生物类群不同于前者,它们主要包括放线菌、变形菌、绿弯菌和酸杆菌^[11]。在本研究中,发现酸微菌纲、 γ -变形菌纲和绿弯菌纲在荒漠草原土壤中的丰度显著高于典型草原(表2),它们分别属于放线菌门、变形菌门和绿弯菌门。进一步分析发现*Acidimicrobiia_bacterium*、 *γ -Proteobacteria_bacterium*和*Chloroflexi_bacterium*分别是上述3个类群微生物的优势种,其相对丰度远超同类(纲)微生物中的其他固碳菌(图1)。放线菌和变形菌分布广泛,能适应各种环境,放线菌在养分贫瘠的土壤中适应性更强^[23]。相比其他类群的固碳微生物,酸微菌纲、 γ -变形菌纲和绿弯菌纲更能适应内蒙古荒漠草原土壤环境。

土壤环境不同,自养微生物固定CO₂的代谢途径也存在较大差异^[7,11,24]。由于各种CO₂固定途径的能量需求不同,微生物可以根据ATP需求选择相应的固碳途径^[25-26]。在农田和草地土壤中,CBB途径关键酶编码基因的丰度显著高于其他固碳途径^[27-28],而毛乌素沙地土壤微生物调控rTCA循环的基因丰度最高^[11,29-30]。rTCA是存在于绿硫细菌和少数光合紫色细菌中的一种重要的CO₂固定途径^[31],rTCA循环固定CO₂消耗的能量较低^[26],这促使干旱草原土壤自养微生物更加倾向选择这一途径进行固碳。Hall等^[32]研究发现变形菌纲(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和酸杆菌门等微生物类群均具有rTCA途径。Gao等^[33]揭示了在酸微菌纲中存在rTCA通路。自然界中发现的3-HP途径就是在绿弯菌*C. aurantiacus*中被阐明的^[34]。除了3-HP途径外,绿弯菌还利用卡尔文循环以及还原性乙酰辅酶A途径进行二氧化碳固定^[35]。由此可见,内蒙古荒漠草原土壤rTCA和3-HP丰度较高可能是由于酸微菌纲、 γ -变形菌纲和绿弯菌纲更倾向于利用这两种固碳途径,而rTCA的低能耗更加有利于酸微菌纲和 γ -变形菌纲在荒漠土壤中生长繁殖。

调控固碳途径各部分生化反应的酶是影响该途径固碳效率的关键因子^[36]。乙酰-CoA还原羧化反应是

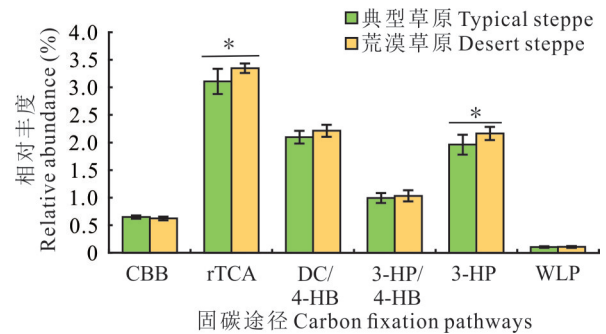


图2 典型草原和荒漠草原土壤不同固碳途径的相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of different carbon-fixing pathways in soils of typical steppe and desert steppe

*: $P < 0.05$; CBB: 卡尔文循环 Calvin-Benson-Bassham cycle; rTCA: 还原柠檬酸循环 Reductive citric acid cycle; DC/4-HB: 2-羧酸/4-羟基丁酸循环 Dicarboxylate/4-hydroxybutyrate cycle; 3-HP/4-HB: 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环 3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate cycle; 3-HP: 3-羟基丙酸循环 3-hydroxypropionate cycle; WLP: 还原性乙酰辅酶A途径 Reductive acetyl-CoA pathway.

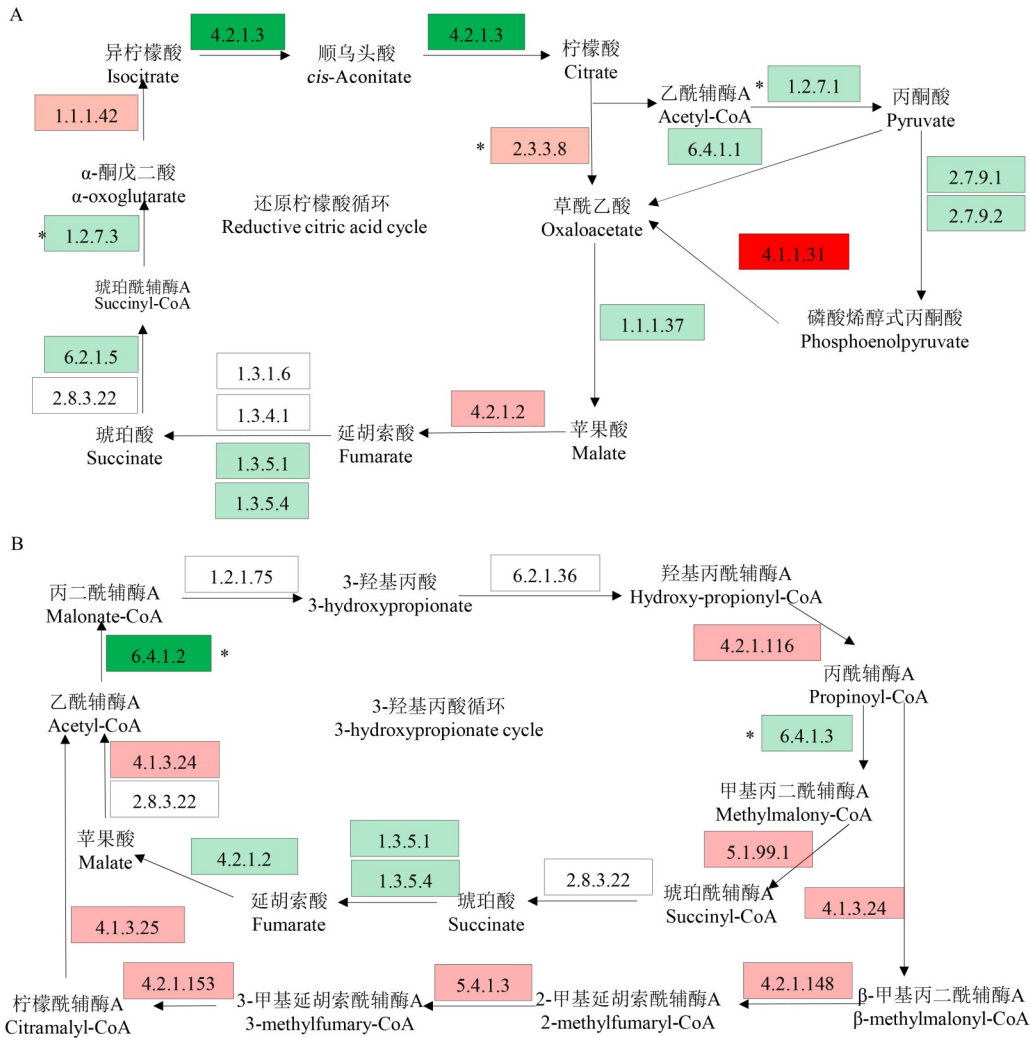


图 3 两类草原土壤中调控还原柠檬酸循环和 3-羟基丙酸循环的酶编码基因相对丰度的变化

Fig. 3 Comparing the relative abundances of enzyme coding genes regulating reductive citric acid cycle (rTCA) and 3-hydroxypropionate cycle (3-HP) in two types of grassland soils

A: 调控还原柠檬酸循环的酶编码基因相对丰度变化; B: 调控 3-羟基丙酸循环的酶编码基因相对丰度变化; 方框内编号表示固碳途径的调控酶, 红色方框表示酶编码基因的相对丰度典型草原显著高于荒漠草原 ($P < 0.05$), 浅红色方框表示酶编码基因的相对丰度典型草原高于荒漠草原, 但无显著性差异 ($P > 0.05$); 绿色方框表示酶编码基因的相对丰度典型草原显著低于荒漠草原 ($P < 0.05$), 浅绿色方框表示酶编码基因的相对丰度典型草原低于荒漠草原, 但无显著性差异 ($P > 0.05$); 白色方框代表在本次宏基因组测序分析中未注释到该酶的编码基因; * 表示还原柠檬酸循环或者 3-羟基丙酸循环的关键酶。A: Comparing the relative abundance of enzyme coding genes regulating the reductive citric acid cycle (rTCA); B: Comparing the relative abundance of enzyme coding genes regulating the 3-hydroxypropionate cycle (3-HP). The number inside the box indicates the regulatory enzyme of the carbon sequestration pathway, and the red boxes indicate that the relative abundance of enzyme coding genes is significantly higher in typical steppe than in desert steppe ($P < 0.05$). The light red boxes indicate that the relative abundance of enzyme coding genes is higher in typical steppe than in desert steppe, but there is no significant difference ($P > 0.05$). The green boxes indicate that the relative abundance of enzyme coding genes is significantly lower in typical steppe than in desert steppe ($P < 0.05$), while the light green boxes indicates that the relative abundance of enzyme coding genes is lower in typical steppe than in desert steppe, but there is no significant difference ($P > 0.05$). The white boxes indicate the genes encoding the enzyme that was not annotated in metagenomic sequencing analysis. "*" marks the key enzyme of rTCA or 3-HP.

rTCA 循环的关键步骤, 该反应受 EC(1.2.7.1) 和 EC(1.2.7.3) 两个关键酶调控。图 3A 显示内蒙古荒漠草原土壤中这两个关键酶基因丰度高于典型草原, 这使得 rTCA 循环在该类型土壤环境中具有更高的效率。另外, rTCA 中间体生成是该循环顺利进行的一个重要步骤, 这是靠磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 EC(4.1.1.31) 通过羧化反应实现的。Huang 等^[24] 研究发现黄土高原土壤 EC(4.1.1.31) 编码基因丰度与微生物碳同化量呈显著负相关。结果显示荒漠草原土壤 EC(4.1.1.31) 显著低于典型草原, 这再次表明荒漠草原土壤微生物具有更强的 rTCA 固

碳能力。在黄土高原不同植被区土壤中,3-HP循环的编码酶基因丰度与微生物碳同化量呈显著正相关,如EC(6.4.1.2)^[20]。图3B结果表明荒漠草原土壤EC(6.4.1.2)基因丰度显著高于典型草原,由此推测该类型土壤中固碳微生物通过3-HP途径进行CO₂固定的能力强于典型草原。

4 结论

土壤自养微生物类群组成、固碳途径选择及其编码关键酶基因的数量都会影响土壤固碳能力。在本研究中,通过土壤宏基因组测序分析发现,内蒙古荒漠草原3类土壤固碳微生物(纲)、rTCA和3-HP固碳途径及其部分编码关键酶基因丰度都显著高于典型草原,由此表明荒漠草原土壤固碳微生物具有更强的大气CO₂固定的潜力。

参考文献 References:

- [1] Jiang P, Xiao L Q, Wan X, *et al.* Research progress on microbial carbon sequestration in soil: a review. *Eurasian Soil Science*, 2022, 55(10): 1395–1404.
- [2] Kroth P G. The biodiversity of carbon assimilation. *Journal of Plant Physiology*, 2015, 172: 76–81.
- [3] Lynn T M, Ge T, Yuan H Z, *et al.* Soil carbon-fixation rates and associated bacterial diversity and abundance in three natural ecosystems. *Microbial Ecology*, 2017, 73(3): 645–657.
- [4] Zhao K, Kong W D, Wang F, *et al.* Desert and steppe soils exhibit lower autotrophic microbial abundance but higher atmospheric CO₂ fixation capacity than meadow soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 127(1): 230–238.
- [5] Chen H, Wang F, Kong W D, *et al.* Soil microbial CO₂ fixation plays a significant role in terrestrial carbon sink in a dryland ecosystem: A four-year small-scale field-plot observation on the Tibetan Plateau. *Science of the Total Environment*, 2021, 761: 143282.
- [6] Yang Z G, Zhang J G, Li J R, *et al.* Spatiotemporal dynamic variation of temperate grassland classes in Inner Mongolia in the last 20 years. *Acta Prataculturae Sinica*, 2023, 32(9): 1–16.
杨志贵, 张建国, 李锦荣, 等. 内蒙古温性草原草地类型近20年时空动态变化研究. *草业学报*, 2023, 32(9): 1–16.
- [7] Yuan H Z, Ge T, Chen C Y, *et al.* Significant role for microbial autotrophy in the sequestration of soil carbon. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(7): 2328–2336.
- [8] Sarfraz H, Zhang M, Zhu X X, *et al.* Significance of Fe(II) and environmental factors on carbon-fixing bacterial community in two paddy soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 182: 109456.
- [9] Wu X H, Ge T, Yuan H Z, *et al.* Changes in bacterial CO₂ fixation with depth in agricultural soils. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98: 2309–2319.
- [10] Gao J, Muhammmad S, Yue L Y, *et al.* Changes in CO₂-fixing microbial community characteristics with elevation and season in alpine meadow soils on the northern Tibetan Plateau. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(11): 3816–3824.
高静, Said Muhammmad, 岳琳艳, 等. 藏北高原草甸土壤固碳微生物群落特征随海拔和季节的变化. *生态学报*, 2018, 38(11): 3816–3824.
- [11] Liu Z, Sun Y F, Zhang Y Q, *et al.* Metagenomic and ¹³C tracing evidence for autotrophic atmospheric carbon absorption in a semiarid desert. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 125: 156–166.
- [12] Mi Y, Guo R, Wang Y, *et al.* Responses of soil bacterial and fungal communities to precipitation in the desert steppe ecosystem of Ningxia. *Acta Prataculturae Sinica*, 2023, 32(11): 81–92.
米扬, 郭蓉, 王媛, 等. 宁夏荒漠草原土壤细菌与真菌群落对降水变化的响应. *草业学报*, 2023, 32(11): 81–92.
- [13] Li J Y, Jin X Y, Zhang X C, *et al.* Comparative metagenomics of two distinct biological soil crusts in the Tengger Desert, China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 140: 107637.
- [14] Okyay T O, Nguyen H N, Castro S L, *et al.* CO₂ sequestration by ureolytic microbial consortia through microbially-induced calcite precipitation. *Science of the Total Environment*, 2016, 572(1): 671–680.
- [15] Belnap J. The world at your feet: Desert biological soil crusts. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2003, 1(5): 181–189.
- [16] Ma W H, Han M, Lin X, *et al.* Carbon storage in vegetation of grasslands in Inner Mongolia. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2006, 20(3): 192–195.
马文红, 韩梅, 林鑫, 等. 内蒙古温带草地植被的碳储量. *干旱区资源与环境*, 2006, 20(3): 192–195.
- [17] Bai Y F, Wu J G, Xing Q, *et al.* Primary production and rain use efficiency across a precipitation gradient on the Mongolia

- Plateau. *Ecology*, 2008, 89(8): 2140–2153.
- [18] Chen X J, Wu X H, Jian Y, *et al.* Carbon dioxide assimilation potential, functional gene amount and RubisCO activity of autotrophic microorganisms in agricultural soils. *Environmental Science*, 2014, 35(3): 1144–1150.
陈晓娟, 吴小红, 简燕, 等. 农田土壤自养微生物碳同化潜力及其功能基因数量、关键酶活性分析. *环境科学*, 2014, 35(3): 1144–1150.
- [19] Liu Y Y, Wang S, Li S Z, *et al.* Advances in molecular ecology on microbial functional genes of carbon cycle. *Microbiology China*, 2017, 44(7): 1676–1689.
刘洋洋, 王尚, 厉舒祯, 等. 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.
- [20] Garritano A N, Song W, Thomas T. Carbon fixation pathways across the bacterial and archaeal tree of life. *PNAS Nexus*, 2022, 1(5): 1–12.
- [21] Correa S S, Schultz J, Lauersen K J, *et al.* Natural carbon fixation and advances in synthetic engineering for redesigning and creating new fixation pathways. *Journal of Advanced Research*, 2023, 47(Suppl C): 75–92.
- [22] Maestre F T, Delgado-Baquerizo M, Jeffries T C, *et al.* Increasing aridity reduces soil microbial diversity and abundance in global drylands. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(51): 15684–15689.
- [23] Wiseschart A, Mhuantong W, Tangphatsornruang S, *et al.* Shotgun metagenomic sequencing from Manao-Pee cave, Thailand, reveals insight into the microbial community structure and its metabolic potential. *BMC Microbiology*, 2019, 19(1): 144.
- [24] Huang Q, Huang Y, Wang B, *et al.* Metabolic pathways of CO₂ fixing microorganisms determined C-fixation rates in grassland soils along the precipitation gradient. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 172: 108764.
- [25] Bar-Even A, Noor E, Milo R. A survey of carbon fixation pathways through a quantitative lens. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(6): 2325–2342.
- [26] Claassens N J, Sousa D Z, Dos Santos V A P M, *et al.* Harnessing the power of microbial autotrophy. *Natural Reviews Microbiology*, 2016, 14(11): 692–706.
- [27] Long X E, Yao H Y, Wang J, *et al.* Community structure and soil pH determine chemoautotrophic carbon dioxide fixation in drained paddy soils. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(12): 7152–7160.
- [28] Nowak M E, Beulig F, von Fischer J, *et al.* Autotrophic fixation of geogenic CO₂ by microorganisms contributes to soil organic matter formation and alters isotope signatures in a wetland mofette. *Biogeosciences*, 2015, 12(3): 7169–7183.
- [29] Liu Z. Microbial pathways of atmospheric carbon dioxide fixation in soils in the Mu Us Desert. Beijing: Beijing Forestry University, 2019.
刘振. 毛乌素沙地土壤固定大气二氧化碳的微生物途径. 北京: 北京林业大学, 2019.
- [30] Sun Y Q. Community structure of microorganisms in lichen crusts and its function on carbon sequestration in the Mu Us Desert. Beijing: Beijing Forestry University, 2019.
孙永琦. 毛乌素沙地地衣结皮层微生物的群落结构及其固碳功能. 北京: 北京林业大学, 2019.
- [31] Evans M C, Buchanan B B, Arnon D I. A new ferredoxin-dependent carbon reduction cycle in a photosynthetic bacterium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1966, 55(4): 928–934.
- [32] Hall J R, Mitchell K R, Jackson-Weaver O, *et al.* Molecular characterization of the diversity and distribution of a thermal spring microbial community by using rRNA and metabolic genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(15): 4910–4922.
- [33] Gao L, Liu L, Lv A P, *et al.* Reversed oxidative TCA (roTCA) for carbon fixation by an Acidimicrobiia strain from a saline lake. *The ISME Journal*, 2024, 18(1), doi:https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae147.
- [34] Zarzycki J, Brecht V, Müller M, *et al.* Identifying the missing steps of the autotrophic 3-hydroxypropionate CO₂ fixation cycle in *Chloroflexus aurantiacus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(50): 21317–21322.
- [35] Rao M P N, Luo Z H, Dong Z Y, *et al.* Metagenomic analysis further extends the role of Chloroflexi in fundamental biogeochemical cycles. *Environmental Research*, 2022, 209(Suppl C): 112888.
- [36] Atomi H. Microbial enzymes involved in carbon dioxide fixation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2002, 94(6): 497–505.