土食性大型土壤动物转化土壤有机碳的^{14}C示踪法应用研究进展①

单 军，季 荣*

（南京大学环境学院，污染控制与资源化国家重点实验室，南京 210093）

摘 要： 土壤有机C是维持全球C平衡过程中的重要C库，其降解和转化在地球化学循环中占有重要地位。大型土壤动物对土壤有机C的稳定性起着重要的调控作用。^{14}C示踪技术由于在测定目标化合物的转化速率和定位代谢产物和残留物分布上的优势，近年来在土壤有机C稳定性研究中得到了广泛应用。本文综述了 3 种典型土食性大型土壤动物，白蚁（Isoptera: Termitidae）、甲虫幼虫（Coleoptera: Scarabaeidae）和蚯蚓（Oligochaeta: Lumbricidae），对土壤稳态有机C降解转化的^{14}C示踪研究结果及相关的微生物作用。食土白蚁和甲虫幼虫的极端碱性（pH 10 ~ 12.5）肠道段和肠道内的特殊蛋白酶的共同作用促使这两种动物可以选择性地降解和矿化腐殖酸中的稳态多肽等组分，进一步提高腐殖酸的腐殖化程度。食土蚯蚓体内含有高活性的纤维素酶，能促进纤维素的降解。虽然木质素在蚓粪中能发生降解，蚯蚓也能降解植物树叶，但是食土蚯蚓能否降解或选择性降解稳态土壤有机C的研究还极少。大型土壤动物肠道内含有大量微生物及酶，这些微生物在土壤动物降解和腐殖化有机C的过程中所起的具体作用如何以及这些酶的来源还不是很清楚。文中总结了目前对大型土壤动物转化土壤有机C认识上的不足，并对一些优先研究方向提出了建议。

关键词： 土壤有机碳；大型土壤动物；^{14}C标记；降解；转化

中图分类号： S154.2

土壤有机 C 作为陆地生态系统最大的 C 库，在维持全球 C 平衡过程中起着非常重要的作用，关于其稳定性机制的研究一直是该领域的热点[1]，土壤生物特别是土壤动物对土壤的物理和化学性质及微生物生境有着直接的影响，因而对土壤有机 C 稳定性有着重要的调控作用[2]。土壤有机质自身结构和土壤生态系统的复杂性，决定了采用常规分析手段无法准确跟踪土壤有机 C 的降解转化过程，确定其环境归趋。因此，采用C素同位素标记技术研究土壤有机 C 的降解与转化就显得十分有必要。C 素同位素标记包括稳定性同位素（^{13}C）和放射性同位素（^{14}C）标记技术。^{13}C 标记的化合物有利于研究目标化合物的残留部分在土壤中降解转化后的化学结构及相关生物群落的信息，而 ^{14}C 标记技术适用于测定目标化合物的转化速率，准确定位其代谢产物和残留物在体系的分布，从而为化合物迁移和转化过程及其机理的研究提供了有效手段。因为测定方法上的优点，^{14}C 示踪技术已成为研究土壤有机 C 稳定性机制的重要手段。在研究土壤稳态有机 C 的降解转化时通常采用 ^{14}C 标记的模型化合物作为目标化合物。

1 土壤有机碳及其稳定性

土壤有机 C 作为不同分解阶段的有机物的混合体，依分解周期可将其分为[3]：活性或非稳态有机C、中性有机 C、稳态有机 C。其中稳态有机 C 是土壤有机 C 的主要组成部分，决定了土壤有机 C 库的长期稳定性。由于土壤有机 C 库的巨大，稳定性有机 C 库的微小变化就会对大气 CO_2 浓度引起较大变化。土壤有机 C 库的稳定性受失稳（destabilization）和增稳（stabilization）两个过程调控，其中增稳过程涉及一系列物理、化学、动物、微生物过程（如吸附、聚合、腐殖化程度升高等），其最终结果是使土壤有机 C 得到保护，难以被降解和转化；失稳则是增稳过程的逆过程[4]。

腐殖物质作为土壤有机质的主体，是土壤有机 C 中抗性最强的组成部分，代表了土壤中主要的稳态有

①基金项目：国家高技术研究发展计划（863 计划）项目（2007AA07Z307）、江苏省自然科学基金项目（BK2007148）和国家自然基金项目（20777033）资助。

* 通讯作者（Ji@nju.edu.cn）

作者简介：单军（1984—），男，山东泰安人，博士研究生，主要从事土壤有机物降解和转化机理研究。E-mail: njushanjun@sina.com

机 C 库[4]。关于腐殖物质具体的化学结构目前仍处于讨论阶段，但是，基于不同水解和氧化方法得到的腐殖物质降解产物的分析结果显示[5]，腐殖物质含有芳香族化合物、蛋白质和多糖聚合物的组分。据此，若利用 ^{14}C 标记技术对腐殖物质中的组成部分有选择性地标记，则可以方便地研究其各个特定组分在土壤中的降解转化。实验室中可采用过氧化物酶（通常为辣根过氧化物酶）诱导腐殖物质的前体化合物，包括酚类化合物、多肽、氨基酸、糖类碳水化合物等混合物的自由基聚合反应合成而得到 ^{14}C 标记腐殖物质模型化合物[6]。

2 大型土壤动物及其对土壤有机碳的稳定作用

土壤动物是指其生活中有一段时间定期在土壤中度过而且对土壤有一定影响的动物[7]，它们以土壤有机质（包括腐殖物质和非腐殖物质）或其他生物为食。按照体长不同，可将土壤动物分为小型土壤动物（体长＜200 μm）、中型土壤动物（体长 200 μm ~ 2 mm）和大型土壤动物（体长 ＞2 mm）。其中，大型土壤动物主要包括蚯蚓、蚂蚁、白蚁、甲虫幼虫和多足虫等。

依据 Sollins 等[4]的概念模型，土壤有机 C 的稳定性机制受控于 3 个因素：有机 C 自身的难降解性、有机 C 的微生物可及性、有机质之间及与无机物的分子间相互作用。土壤动物正是通过改变以上 3 个因素实现对土壤有机 C 稳定性的直接和间接调控[8]（图 1）。直接调控主要源自于土壤动物对土壤不同物质的摄入和再分配，间接调控则主要是通过“建设性（constructive）”（如传输真菌孢子）和“破坏性（destructive）”（如选择性消化微生物）方式实现对

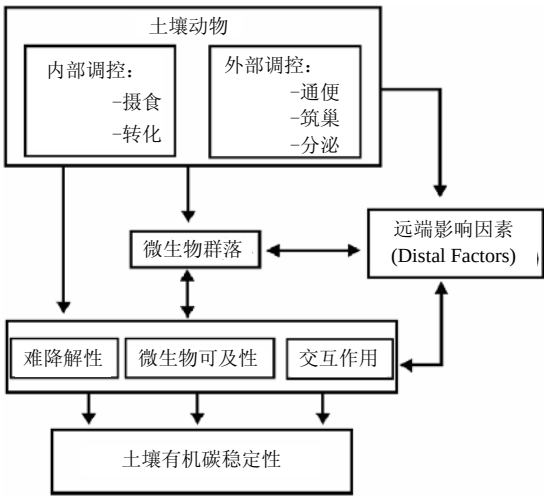


图 1 土壤动物对土壤有机 C 稳定性的直接和间接调控示意图[8]

Fig. 1 Sketch map of direct and indirect control of the stability of soil organic carbon by soil invertebrates

微生物群落的改变，除此之外，土壤动物还可以通过改变远端因素（例如形成团聚体、掘穴、改变营养物质的可及性、改变土壤的离子组成）控制微生物的活性进而影响土壤有机 C 的稳定性。

土壤动物个体的大小直接决定了其在土壤中的活动范围和影响尺度[9]，大型土壤动物对土壤有机 C 增稳和失稳的作用表现在不同的时空尺度上，以土食性蚯蚓为例，其对土壤有机 C 稳定性的影响主要表现在 4 个不同的时空水平上[10]：①有机物的摄取以及其在肠道内的运输（时间水平：h；空间范围：mm、cm）；②肠道微生物活性的提高，新鲜粪便中可利用性营养物质的释放（时间水平：天；空间范围：cm）；③未降解的有机物在老化的粪便中得到固定与保护（时间水平：周、月；空间范围：dm、m）；④土壤有机 C 在整个土壤层面的再分配和流通（时间水平：年；空间范围：m、hm^2）。

3 典型食土大型动物对土壤有机碳的降解转化

在土壤生态系统中，生物个体的大小直接决定了其对土壤各种过程的影响尺度和范围，大型土壤动物因其个体和生物量巨大，在不同的时空尺度对土壤有机 C 降解转化产生影响[10]。食土大型动物因为直接以土壤为食，所以在土壤有机 C 降解转化过程中起重要作用。由于土壤有机质含量较低，食土大型动物往往以增加摄入量补偿土壤有机质的不足，这种摄食策略强化了其对土壤有机 C 降解转化的影响。目前研究较多的土食性大型动物主要有食土白蚁、食土蚯蚓、腐食性甲虫幼虫等。食土白蚁主要分布在非洲等热带地区，而甲虫幼虫和食土蚯蚓则在热带、亚热带、温带地区都有分布，其处理土壤量见表1。

表 1 部分食土大型动物的食土量

Table 1 Soil ingestion rates of some soil-feeding macrofauna

	种类	处理土壤干重 (mg/(d·g biomass))	文献
食土白蚁	*Cubitermes exiguous*	2760	Wood[11]
蚯蚓[a]	*Lumbricus terrestris*	713	Curry 等[12]
	Aporrectodea trapezoides	2630 ~ 4190	Martin[13]
	Octolasion lacteum	1880	Scheu [14]
	Metaphire guillelmi	2500[b]	张宝贵等[15]
甲虫幼虫	*Pachnoda ephippiata*	85[c]	Lemke等[16]

注：a：*Metaphire* 属于 Oligochaeta: Megascolecidae，其他 3 种蚯蚓属于 Oligochaeta: Lumbricidae；b：培养基质充足的情况下计算得出；c：指 *P. ephippiata* 第三龄幼虫的排泄物干重，且根据平均体重为 2.54 g 计算而得。

3.1　食土白蚁对土壤稳态有机 C 的降解

白蚁属于昆虫纲等翅目（soptera），栖息在大约 75% 的陆地表面上，是热带和亚热带生态系统重要的大型土壤动物。目前已鉴定出的白蚁属中有一半以上是食土白蚁[17]，食土白蚁主要分布在非洲和南美洲热带雨林地区。目前的研究已经表明，食土白蚁的取食活动不仅可以改变土壤的结构性质，对土壤有机 C 的稳定性产生影响，而且还涉及土壤中营养元素的再分配。

3.1.1　食土白蚁对腐殖物质的选择性降解转化

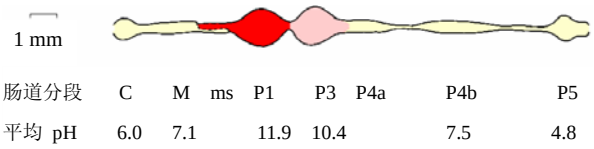
采用 ^{14}C 标记腐殖酸模型化合物（^{14}C 分别标记在腐殖酸分子的芳香环和多肽蛋白结构上），Ji 等[17]用饲养试验研究了食土白蚁（*Cubitermes orthognathus* 等）对土壤中腐殖酸的降解转化，结果表明，食土白蚁可以克服土壤腐殖物质的抗性而将其矿化，但是腐殖物质的不同组分在白蚁肠道传输过程中经历不同的过程，从化学结构上看易降解的腐殖物质组分，如多肽蛋白类能够被白蚁选择性地消化并且在相当程度上被矿化（约 30% 的多肽蛋白类被矿化），而腐殖物质中的芳香环组分仅有很小部分的矿化（仅 3% 被矿化），大部分芳香组分经白蚁肠道后从腐殖酸转化为胡敏素。

白蚁对土壤有机质中的多糖组分转化也有影响。对白蚁冢（termite mound）和其周围土壤腐殖物质分布的调查表明，蚁冢中土壤有机质的聚合度比周围土壤要高，并且伴随着腐殖酸与富里酸比值（HA/FA）的升高[18]。虽然白蚁的肠道传输提高了土壤中多糖组分的含量，但蚁冢上层土壤有机质中的多糖组分仍可被食土白蚁所消耗[18]。

食土白蚁虽然能够选择性地消化腐殖质中的不同组分，但它们摄取食物时并没有特异性的选择。食土白蚁肠道内除了矿物质和腐殖颗粒外，还含有植物组织的碎片、真菌的菌丝和大量的微生物[19]，表明非腐殖物质也可能被食土白蚁消化。应用 ^{14}C 标记技术，Ji 和 Brune[20]研究了*C. orthognathus* 对纤维素、肽聚糖、蛋白质和细菌细胞的降解和吸收，结果揭示食土白蚁不仅可以消化被固化于腐殖酸中的有机物，而且能够降解和矿化植物和细菌细胞的结构性多糖及其他微生物细胞有机物，并利用它们作为自身生长的 C 源和能源。

3.1.2　肠道传输（gut passage）和肠道微生物

食土白蚁的肠道被喻为是世界上最小的生物反应器[21]。与其他食源性白蚁相比，食土白蚁具有肠道长、肠道分段多、沿肠道纵向 pH 变化显著等特征。微 pH 电极测量显示[21]，pH 在白蚁后肠前部急剧上升，在 P1 区达到目前天然环境中发现的最大 pH 值（pH＞12），而后逐渐下降（图 2）。腐殖物质被食土白蚁摄取后，在其肠道内传输的过程中，分别经历化学（碱水解）和生物 (发酵、厌氧呼吸和矿化）降解过程，腐殖酸模型化合物的芳香组分在肠道内向胡敏素的转化、残留有机质溶解度的降低、以及抗性组分在食土白蚁粪便中的蓄积表明，肠道传输过程极大地增强腐殖化过程[22]。后肠的极端碱性和肠内的氧气分压大小是提高有机质腐殖化程度的关键[23]，有机质经肠道传输后，未被消化的残留有机物得以固化，将长期影响到残留有机物的其他分解者可用性。



C 代表嗉囊；M 代表中肠；ms 代表混合部分；
P1～P5 代表后肠不同的分隔段[24]

图 2　食土白蚁（工蚁）肠道示意图

Fig. 2　Gut morphology of a soil-feeding worker termite

对 *C. orthognathus* 肠道蛋白酶活性的研究表明[24]，食土白蚁对腐殖物质多肽组分的选择性消化和矿化是其肠道极端碱性环境和肠道内蛋白酶共同作用的结果，并且白蚁肠道蛋白酶活性比较特殊，具有对碱稳定和耐受高浓度腐殖酸的特点。

许多研究者认为肠道微生物在食土大型动物的消化过程中也起到了重要的作用，食土白蚁肠道微生物种类繁多，在不同的肠道物理化学环境中具有不同的微生物活性[25]。对肠道内细菌群落 16S rRNA 基因的 T-RFLP（基因末端限制性片断长度多态性分析）分析表明 *C. orthognathus* 的后肠中栖息有显著不同的细菌群落，白蚁肠道内含有不同于土壤中的特殊微生物[26]。迄今为止，仅有为数不多的微生物从白蚁肠道中得到分离和鉴定[27]，白蚁体内的大部分微生物尚未被培养。虽然有证据表明，食土白蚁对多肽的消化可能与微生物有关[28]，但是微生物在其肠道中的分布及其对土壤有机 C 的降解作用仍不清楚，还有待于进一步的研究。

3.2　金龟子幼虫对土壤稳态有机 C 的降解转化

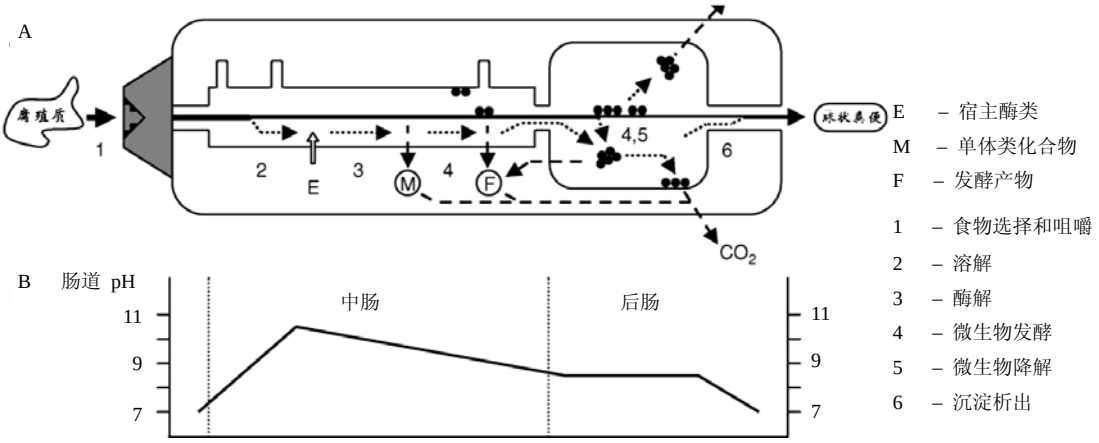
金龟子科(Scarabaeidae)甲虫是鞘翅目(Coleoptera)昆虫中较大的类群，广泛分布于不同的生态系统中。甲虫的食性复杂，主要包括粪食、腐食和植食型甲虫[29]，其粪食型种类及大部分腐食和植食型种类的幼虫

是典型的大型土壤动物。腐食型和植食型种类中的腐殖食性幼虫（humivorous larvae）能够以土壤腐殖质为食，是土壤有机质的积极消化者，其取食活动不但影响土壤有机 C 的固化和转化[8]，还影响土壤中可利用 P 的含量[30]。

3.2.1 金龟子幼虫对腐殖物质的降解转化 甲虫腐殖食性幼虫的消化道与食土白蚁的非常相似，也具有高度分化的肠道结构，含有极端碱性区（位于中肠），并且后肠中还栖息着大量能够降解纤维素和半纤维素的微生物[31]。

利用金龟科的 *Pachnoda ephippiata* 幼虫作为代表，Li 和 Brune[32]采用 ^{14}C 标记方法研究了腐殖食性甲虫幼虫对腐殖酸不同组分的降解情况，结果表明 *P. ephippiata* 幼虫具备从土壤腐殖质中提取营养物质的能力。与食土白蚁相似，*P. ephippiata* 幼虫也能够选择性地消化腐殖酸模型化合物中的多肽、结构多糖类组分。应用 ^{14}C 标记法研究还表明，*P. ephippiata* 幼虫能降解微生物细菌和真菌的细胞及它们的结构性组分（几丁质和肽聚糖）、细菌蛋白质及纤维素。与植物纤维相比，微生物和腐殖物质内的含 N 有机组分是 *P. ephippiata* 更重要的食物来源[33]。对 *P. ephippiata* 幼虫中肠蛋白酶活性进行表征和部分纯化后，发现中肠的碱性环境和肠内能耐受高浓度腐殖酸和对碱稳定的蛋白酶共同促使了 *P. ephippiata* 幼虫对土壤腐殖物质中含 N 有机组分的降解[34]。

3.2.2 肠道传输和肠道微生物 土壤有机质在金龟子幼虫肠道内的传输是一个非常复杂的过程（图 3）。甲虫幼虫的肠道主要包括两部分：极端碱性管状的中肠和高度分化的后肠，中肠是消化酶分泌和可溶性营养被吸收的主要部位[35]，因此消化过程主要发生在中肠。对于腐殖食性的甲虫幼虫，有机质在碱性中肠得到增溶和酶解[36]，生成的单体化合物被肠壁吸收，或蓄积在中肠内接受进一步的微生物降解[16]。Li[36]应用 ^{14}C 同位素标记技术证明，天然大分子化合物蛋白质、肽聚糖、几丁质无论处于自由态或结合到腐殖酸上都能被 *P. ephippiata* 幼虫的肠道内溶物水解并释放出小分子化合物。随着肠道的传输，这此小分子化合物的浓度降低，而氨氮的浓度显著增加。用 MPN 法（most probable number, 最大或然计数法）测得结果表明，氨基酸发酵菌是 *P. ephippiata* 幼虫的后肠中微生物的重要部分，同时 ^{14}C 标记氨基酸被转化成乙酸和丙酸[37]。



实线和点线分别代表不溶性和可溶性物质的肠道传输路线，虚线代表营养物质的同化和矿化

图 3 腐殖食性金龟子幼虫肠道消化过程示意简图（A）及其肠道 pH 变化（B）[33]

Fig. 3 Synoptic scheme of the digestive process in humivorous scarabaeid beetle larvae (A), and an axial pH profile of the intestinal contents (B)

土壤有机质在 *P. ephippiata* 幼虫中肠和后肠中经历溶解、水解、降解和再聚合等腐殖化过程，使土壤有机质在经过肠道传输后，其组成中天然易降解成分被吸收，而多酚类抗性组分则在粪便中得到重新分配，从而提高了土壤有机 C 的稳定性[32]。

P. ephippiata 幼虫的肠道是一个具有独特物理化学性质的微环境，其内栖息着大量的微生物群落[31]。虽然消化过程主要发生在中肠，但后肠中微生物数量通常要比中肠高 10～100 倍[16]，表明微生物对有机质的降解主要发生在后肠。*P. ephippiata* 幼虫后肠中除了氨基酸发酵菌可以将氨基酸转化成乙酸和丙酸外[37]，Fe(III) 还原被认为是后肠微生物参与有机质降解的主要过程[38]，但是，*P. ephippiata* 幼虫肠道内不同微生物种类的功能，以及微生物过程对腐殖物质降解

的贡献还不清楚。

3.3 蚯蚓对土壤有机 C 的降解转化

蚯蚓广泛存在于除沙漠和极地以外的陆地生态系统中，是土壤中生物量最大的“生态系统工程师”，其活动的“蚓圈”（drilosphere）对土壤过程产生重要影响[39]。通过吞食大量土壤、有机质和植物残落物，蚯蚓参与有机物的分解、营养物质的矿化与释放、土壤团聚体构建与维持[40]。依据蚯蚓食性的不同，可将其分为[41]：①腐食性蚯蚓（detritivores），主要以地表的植物残体和动物粪便为食。通常又将腐食性蚯蚓分为表栖类（epigeic）和深栖类（anecic）两种生态类型；②土食性蚯蚓（geophages），主要以深层土和死亡的根系为食，其重要生态类型为内栖类（endogeic）。

蚯蚓对土壤有机 C 的作用，因蚯蚓自身及有机 C 的种类而异[42]。蚯蚓生态类型和食性的不同决定了其消化能力的不同，进而对土壤有机 C 降解转化的影响也就不同。与腐食性蚯蚓相比，土食性蚯蚓每天能吞食相当于自重 5～30 倍的土壤，留下大量蚓粪堆积在土表或者土壤内部，每经过几年的时间，上表层的土壤就可全部被土食性蚯蚓吞食一遍[10,39]。不同生态类型蚯蚓体内消化酶活性研究表明[43]，赤子爱胜蚓（*Eisenia fetida*，表栖类）肠道内纤维素酶活性远远高于威廉腔蚓（*Metaphire guillelmi*，深栖类），而蛋白酶和酸性及碱性磷酸酶活性显著低于威廉腔蚓；同时，蚯蚓对土壤有机 C 的作用随有机质含量不同而有差异。

3.3.1　食土蚯蚓对纤维素和木质素的降解　　土食性蚯蚓 *Octolasion lacteum*（内栖类）在不同土壤中对 ^{14}C 标记的纤维素和木质素矿化的研究表明，蚯蚓对纤维素和木质素降解的影响分为两个阶段：降解初期的促进作用以及降解后期的抑制作用，但蚯蚓对纤维素降解的促进作用要明显高于木质素[44-45]。纤维素酶是降解纤维素的关键，蚯蚓体内含有大量的活性酶。目前已经从蚯蚓的肠壁提取物中检测到了纤维素酶的活性，但是这些酶是源于蚯蚓自身还是由肠道微生物产生还不清楚[41]。蚯蚓对木质素降解的影响则是间接的。木质素作为腐殖质形成的重要前体物，含有大量稳定性极强的芳香环结构，被认为只有在好氧条件下才能被放线菌和真菌的过氧化物酶所氧化降解[46]。研究表明[47]，蚓粪存在情况下，木质素的降解率较原土高，对蚓粪中的微生物的分析表明，蚓粪中的微生物经过一段时间的演替后，降解木质素的真菌逐渐成为优势种，在经过了 90 天的延滞期后，木质素得以降解。同时，蚯蚓能够提高土壤中降解木质素的酚氧化酶的活性也已被研究所证明[48]。内栖类蚯蚓 *O. lacteum* 对 ^{14}C 标记的山毛榉叶片在土壤中矿化的抑制作用高于深栖类蚯蚓 *Lumbricus castaneus* [49]，主要原因可能是内栖类蚯蚓要取食大量的土壤，在经过蚯蚓的肠道传输后，土壤中的有机物会因为同土壤中矿物形成有机-矿物复合体而受到保护。

3.3.2　蚯蚓–微生物交互作用和肠道传输对土壤有机C的影响　　蚯蚓能够加速土壤有机C的矿化，促进难分解物质的降解，与其同微生物之间的交互作用密不可分。在微生物参与的情况下，蚯蚓能明显地促进土壤有机质和植物残落物中C、N的循环和转化[50]。蚯蚓对微生物影响的具体机制目前还不清楚，关于微生物总量经蚯蚓取食后增多还是减少，相关研究分歧较大，但多数研究认为蚯蚓的取食提高了微生物的活性[51-53]，蚯蚓的肠道传输在降低微生物代谢活动的同时实际上提高了其潜在活性。经过蚯蚓取食，活性微生物的量大大增加，并且微生物群落趋于“年轻化”[51]。另外，有研究者认为微生物活性与蚯蚓间的关系除了单一的营养联系，还应包括某种催化机制，这种催化机制类似于激发效应[54]。微生物活性的提高促进了有机质的降解，又利于蚯蚓对土壤有机质的取食，蚯蚓和微生物之间的交互作用共同促进了土壤有机质的降解转化。

与食土白蚁和金龟子幼虫具有碱性肠道不同，蚯蚓的肠道相对简单，其肠道环境是中性的[10]，有关内栖蚓 *L. terrestris* 的研究表明蚯蚓很可能不具备土著的肠道微生物群落[55]。土壤有机质在蚯蚓的肠道传输过程中，仅有少量的植物凋落物和有机物被消化和同化，大部分有机质会以蚓粪的形式再次进入土壤。蚓粪作为土壤中的重要“微域（microsite）”，其内无论是微生物丰度还是微生物活性都要高于周围土壤，并且蚓粪中的微生物群落组成也不同于周围土壤[45]，尽管这种差异不如食土白蚁和金龟子幼虫情况下的那么大[55]。新鲜蚓粪中微生物的数量和活性较高，表明肠道传输提高了营养物质的可利用性。但是，在老化的蚓粪中无论是微生物的生物量还是有机 C 的分解速率都比较低[56]。经蚯蚓的肠道传输后，土壤原团聚体结构会遭到破坏，团聚体内有机质进一步混合于土壤基质当中，同时蚓粪中也会形成新的团聚体，这都将对土壤有机 C 的长期稳定性产生影响，有研究认为[57]蚓粪中大团聚体内微团聚体的形成很可能是导致土壤有机 C 长期固化的主要原因。与蚯蚓的肠道传输相关的肠道关联过程[58]（gut associated processes，GAPs）提高了土壤有机 C 的迁移可能，而蚓粪相关过程[59]（cast associated processes，CAPs）则可能导致有机 C 在蚓粪中的长期固化。蚯蚓对土壤有机 C 稳定性的长

期影响不仅取决于上述两种过程中哪个占优势，同时还受蚯蚓种类、气候变化、时空尺度、土壤利用措施等因素的影响[42]。

3.4 3 种典型食土大型土壤动物对土壤有机 C 稳定性的贡献机制比较

综上所述，^{14}C 示踪法在研究大型土壤动物降解、转化有机 C 中充分发挥了优势。研究表明，大型土壤动物的肠道传输过程及肠道微生物在稳态土壤有机 C 的转化过程中发挥着至关重要的作用。土壤动物肠道环境和肠道微生物群落的差异决定了动物对稳态土壤有机 C 降解、转化贡献机制的不同。表 2 列出了 3 种典型食土大型土壤动物（白蚁、甲虫幼虫和蚯蚓）的肠道环境和肠道微生物以及对土壤有机 C 转化上的异同点。

表 2 3 种典型食土大型土壤动物对土壤有机 C 稳定性的贡献机制比较

Table 2 Comparison of contribution mechanisms of three soil-feeding macrofauna to soil organic carbon stabilization

	肠道环境	肠道微生物	对稳态有机 C 的转化
相同点	食土白蚁和甲虫幼虫肠道都具有显著的分隔，且肠道环境为碱性[21,60]，含有耐碱和耐腐殖质酸蛋白酶[24,34]。	食土白蚁和甲虫幼虫肠道内均栖息有各自肠道的土著微生物[26,31]。蚯蚓肠道内也具有能降解纤维素的微生物[41]。	三者对土壤有机 C 稳定性的贡献均表现在不同的时空尺度上，且受环境因素影响。食土白蚁和蚯蚓形成团聚体提高土壤有机 C 的稳定性[10]。食土白蚁和甲虫幼虫均能选择性矿化腐殖物质的多肽组分及植物和微生物细胞组成部分[20,33]。
不同点	食土白蚁和甲虫幼虫的极端碱性区位置不同，碱性程度有差异[21,60]。蚯蚓肠道环境相对简单，不具备明显的分隔，并且肠道环境为中性[10]，含有高活性的纤维素酶和酚氧化酶[41,61]。	白蚁肠道已分离出的微生物大部分具有降解碳水化合物的能力[21]。甲虫幼虫肠道内多数为能够降解纤维素和半纤维素的微生物[31]。蚯蚓肠道内很可能不具备土著的肠道微生物群落[55]。	蚯蚓对纤维素降解明显[44]。蚓粪中有机 C 的转化在蚓粪形成初期较快，在后期木质素转化增加。蚯蚓是否选择性矿化腐殖物质的多肽组分以及是否利用微生物细胞生长还有待于进一步研究。

4 问题与展望

深入研究大型土壤动物对土壤有机 C 的降解和转化机理，特别是有关土壤稳态有机 C 的调控机制，对于揭示土壤有机 C 的生物稳定性机制具有重要意义，是实现土壤有机 C 的正确管理和正确应对全球变化的重要前提之一。目前的研究虽然已经取得了一定的进展，但是关于土壤大型动物对土壤有机 C 稳定性影响的土壤生物化学过程仍有一些关键过程和机理亟待阐明，包括：

(1) 食土白蚁和甲虫幼虫对腐殖物质多肽组分的选择性矿化，表观上促进了土壤稳态有机 C 的降解，实际上是腐殖物质难降解部分（芳环组分）的积累。蚯蚓作为重要的大型土壤动物，其对土壤稳态有机 C 的降解，以及是否也能选择性矿化腐殖物质的不同组分还不清楚。

(2) 土壤有机 C 中的活性 C 库的转化对土壤 C 循环及全球 C 平衡有着重要的影响。有关大型土壤动物对活性 C 库的稳定和降解程度如何，目前研究主要集中于植物或其组成纤维素和半纤维素，对其他活性 C 库受大型土壤动物降解和转化的研究极少。

(3) 大型土壤动物的肠道微生物在土壤稳态有机 C 的选择性消化和腐殖化过程中发挥着重要作用。由于大部分肠道微生物不能用常规方法培养，因此，绝大部分微生物在肠道内的分布及其在降解有机质过程中的作用尚不明了。

(4) 土壤有机质的生物转化涉及到各种酶的参与，虽然在大型土壤动物的肠道内发现有多种与有机质降解有关的酶，但是这些酶是由动物自身分泌的还是由肠道内的微生物产生的，目前还不是很清楚。

采用 ^{14}C 标记技术，今后应该可以优先研究以下方向：

(1) 大型土壤动物，特加是生物量巨大的蚯蚓，对土壤中各种存在形式和化学组成的稳态有机 C 的转化和降解，对土壤中的微生物 C 的利用和稳定化作用。

(2) 在多种时空及环境因素条件下，大型土壤动物对土壤有机 C 的稳定性影响。

(3) 结合经典微生物学方法和现代分子生物学技术，研究大型土壤动物与微生物在有机 C 降解中的交互作用，以及降解各种土壤有机 C 组分的微生物群落结构和相关酶学

(4) 全球气候变化下，大型土壤动物提高土壤 C 库和大气 C 库之间通量交换的机制、土壤动物影响土壤有机 C 稳定性的机制对全球变化的响应，以及模型化和预测这种响应。

参考文献：

[1] Fontaine S, Barot S, Barre P, Bdioui N, Mary B, Rumpel C. Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. Nature, 2007, 450: 277−281

[2] Brussaard L, Juma NG. Organisms and humus in soils // Piccolo A. Humic Substances in Terrestrial Ecosystems. Amsterda: Elsevier, 1996: 329−359

[3] van Lützow M, Kögel-Knabner I, Ekschmitt K, Matzner E, Guggenberger G, Marschner B, Flessa H. Stabilization of organic matter in temperate soils: Mechanisms and their relevance under different soil conditions: A review. European Journal of Soil Science, 2006, 57: 426−445

[4] Sollins P, Homann P, Caldwell BA. Stabilization and destabilization of soil organic matter: Mechanisms and controls. Geoderma, 1996, 74: 65−105

[5] Saiz-Jimenez C. The chemical structure of humic substances: Recent advances // Piccolo A . Humic Substances in Terrestrial Ecosystems. Amsterdam: Elsevier, 1996: 1−44

[6] Kappler A, Ji R, Brune A. Synthesis and characterization of specifically ^{14}C-labeled humic model compounds for feeding trials with soil-feeding termites. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32: 1271−1280

[7] 尹文英. 中国土壤动物. 北京: 科学出版社, 2000: 1−2

[8] Wolters V. Invertebrate control of soil organic matter stability. Biology and Fertility of Soils, 2000, 31: 1−19

[9] 刘满强, 陈小云, 郭菊花, 李辉信, 胡锋. 土壤生物对土壤有机碳稳定性的影响. 地球科学进展, 2007, 22(2): 152−158

[10] Lavelle P, Bignell D, Lepage M, Wolters V, Roger P, Ineson P, Heal OW, Dhillion S. Soil function in a changing world: The role of invertebrate ecosystem engineers. European Journal of Soil Biology, 1997, 33: 159−193

[11] Wood TG. Food and feeding habits of termites // Brian MV. Production Ecology of Ants and Termites. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1978: 55−80

[12] Curry JP, Byrne D, Boyle K. The earthworm population of a winter cereal field and its effects on soil and nitrogen turnover. Biology and Fertility of Soils, 1995, 19: 166−172

[13] Martin NA. The interaction between organic matter in soil and the burrowing activity of three species of earthworms (Oligochaeta: Lumbricidae). Pedobiologia, 1982, 24: 185−190

[14] Scheu S. The role of substrate feeding earthworms (Lumbricidae) for bioturbation in a beechwood soil. Oecologia, 1987, 72: 192−196

[15] 张宝贵, 李贵桐, 申天寿. 威廉环毛蚯蚓对土壤微生物量及活性的影响. 生态学报, 2000, 20: 168−172

[16] Lemke T, Stingl U, Egert M, Friedrich MW, Brune A. Physicochemical conditions and microbial activities in the highly alkaline gut of the humus-feeding larva of *Pachnoda ephippiata* (Coleoptera: Scarabaeidae). Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69: 6650–6658

[17] Ji R, Kappler A, Brune A. Transformation and mineralization of synthetic ^{14}C-labeled humic model compounds by soil-feeding termites. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32: 1281−1291

[18] Garnier-Sillam E, Harry M. Distribution of humic compounds in mounds of some soil-feeding termite species of tropical rain forests: Its influence on soil structure stability. Insectes Sociaux, 1995, 42: 167−185

[19] Sleaford F, Bignell DE, Eggleton P. A pilot analysis of gut contents in termites from the Mbalmayo Forest reserve. Cameroon. Ecological entomology, 1996, 21: 279−288

[20] Ji R, Brune A. Transformation and mineralization of ^{14}C-labeled cellulose, peptidoglycan, and protein by soil-feeding termite *Cubitermes orthognathus*. Biology and Fertility of Soils, 2001, 33: 166−174

[21] Brune A. Termite guts: The world's smallest bioreactors. Trends in Biotechnology, 1998, 16:16−21

[22] Brauman A. Effect of gut transit and mound deposit on soil organic matter transformations in the soil feeding termite: A review. European Journal of Soil Biology, 2000, 36: 117−125

[23] Kappler A, Brune A. Influence of gut alkalinity and oxygen status on mobilization and size-class distribution of humic acids in the hindgut of soil-feeding termites. Applied Soil Ecology, 1999, 13: 219−229

[24] Ji R, Brune A. Digestion of peptidic residues in humic substances by an alkali-stable and humic-acid-tolerant proteolytic activity in the gut of soil-feeding termites. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37: 1648−1655

[25] Schmitt-Wagner D, Friedrich M, Wagner B, Brune A. Phylogenetic diversity, abundance, and axial distribution of bacteria in the intestinal tract of two soil-feeding termites (*Cubitermes* spp.). Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69: 6007–6017

[26] Schmitt-Wagner D, Friedrich M, Wagner B, Brune A. Axial dynamics, stability, and interspecies similarity of bacterial community structure in the highly compartmentalized gut of soil-feeding termites (*Cubitermes* spp.). Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69: 6018−6024

[27] Boga HI, Ji R, Ludwig W, Brune A. *Sporotalea propionica* gen. nov. sp.nov., a hydrogen-oxidizing, oxygen-reducing, propionigenic firmicute from the intestinal tract of a soil-feeding termite. Archives of Microbiology, 2007, 187: 15−27

[28] Bauer S, Tholen A, Overmann J, Brune A. Characterization of

abundance and diversity of lactic acid bacteria in the hindgut of wood-and soil-feeding termites by molecular and culture-dependent techniques. Archives of Microbiology, 2000, 173: 126−137

[29] 印红, 任国栋. 腐食性金龟甲成虫口器形态学研究. 昆虫分类学报, 2005, 27(2): 103−110

[30] Li XZ, Ji R, Schaffer A, Brune A. Mobilization of soil phosphorus during passage through the gut of larvae of *Pachnolda ephippiata* (Coleoptera: Scarabaeidae). Plant and Soil, 2006, 288: 263−270

[31] Egert M, Wagner B, Lemke T. Microbial community structure in midgut and hindgut of the humus-feeding larva of *Pachnoda ephippiata* (Coleoptera: Scarabaeidae). Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69: 6659–6668

[32] Li XZ, Brune A. Selective digestion of the peptide and polysaccharide components of synthetic humic acids by the humivorous larva of *Pachnoda ephippiata* (Coleoptera: Scarabaeidae). Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37: 1476−1483

[33] Li XZ, Brune A. Digestion of microbial biomass, structural polysaccharides, and protein by the humivorous larvae of *Pachnoda ephippiata* (Coleoptera: Scarabaeidae). Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37: 107−116

[34] Zhang H, Brune A. Characterization and partial purification of proteinases from the highly alkaline midgut of the humivorous larvae of *Pachnoda ephippiata* (Coleoptera: Scarabaeidae). Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36: 435−442

[35] Terra WR, Ferreira C. Insect digestive enzymes: Properties, compartmentalization and function. Comparative Biochemistry and Physiology, 1994, 109: 1–62

[36] Li XZ, Brune A. Transformation and mineralization of soil organic nitrogen by the humivorous larva of *Pachnoda ephippiata* (Coleoptera: Scarabaeidae). Plant and Soil, 2007, 301: 233−244

[37] Andert J, Geissinger O, Brune A. Peptidic soil components are a major dietary resource for the humivorous larvae of *Pachnoda* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae). Journal of Insect Physiology, 2008, 54: 105−113

[38] Li XZ. Transformation and mineralization of organic matter by humivorous larva of *Pachnoda ephippiata* (Coleoptera: Scarabaeidae) (Doctoral thesis). Hartung-Gorre Verlag: Konstanz University Konstanz, 2004: 95−108

[39] Edward CA. Earthworm Ecology. Boca Raton: St.Lucie Press, 2004: 146−147

[40] Jongmans AG, Pulleman M, Balabane M. Soil structure and characteristics of organic matter in two orchards differing in earthworm activity. Applied Soil Ecology, 2003, 24: 219−232

[41] Curry JP, Schmidt O. The feeding ecology of earthworms: A review. Pedobiologia, 2007, 50: 463−477

[42] 张卫信, 陈迪马, 赵灿灿. 蚯蚓在生态系统中的作用. 生物多样性, 2007, 15(2): 142−153

[43] 张宝贵, 李贵桐, 孙钊. 两种生态类型蚯蚓几种消化酶活性比较研究. 生态学报, 2001, 21(6): 976−981

[44] Scheu S. Cellulose and lignin decomposition in soils from different ecosystems on limestone as affected by earthworm processing. Pedobiologia, 1993, 37: 167−177

[45] Marhan S. Effects of earthworms on stabilisation and mobilisation of soil organic matter (Doctoral thesis). Darmstadt: Darmstadt University, 2004: 88−92

[46] Brune A, Miambi E, Breznak JA. Roles of oxygen and the intestinal microflora in the metabolism of lignin-derived phenylpropanoids and other monoaromatic compounds by termites. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61: 2688−2695

[47] Scheu S. Decomposition of lignin in soil microcompartments − A methodical study with 3 different C-14-labeled lignin substrates. Biology and Fertility of Soils, 1992, 13: 160−164

[48] Bityutskii NP, Lapshina IN, Lukina EI. Role of earthworms in mineralization of organic nitrogen compounds in soil. European Journal of Soil Science, 2005, 38(1): 73−82

[49] Scheu S, Wolters V. Influence of fragmentation and bioturbation on the decomposition of ^{14}C-labelled beech leaf litter. Soil Biology and Biochemistry, 1991, 23: 1029−1034

[50] Araujo Y, Luizao FJ, Barros E. Effect of earthworm addition on soil nitrogen availability, microbial biomass and litter decomposition in mesocosms. Biology and Fertility of Soils, 2004, 39: 146−152

[51] 张宝贵, 李贵桐, 申天寿. 威廉环毛蚯蚓对土壤微生物量及活性的影响. 生态学报, 2000, 20: 168−172

[52] Zhang BG, Li GT, Shen TS, Wang JK, Sun Z. Changes in microbial biomass C, N, and P and enzyme activities in soil incubated with the earthworms *Metaphire guillelmi* or *Eisenia fetida*. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32: 2055–2062

[53] Scheu S, Schlitt N, Tiunov AV, Newington JE, Jones TH. Effects of the presence and community composition of earthworms on microbial community functioning. Oecologia, 2002, 133: 254–260

[54] Binet F, Fayolle L, Pussard M. Significance of earthworms in stimulating soil microbial activity. Biology and Fertility of Soils, 1998, 27: 79–84

[55] Egert M, Marhan S, Wagner B, Scheu S, Friedrich MW. Molecular profiling of 16S rRNA genes reveals diet-related differences of microbial communities in soil, gut, and casts of *Lumbricus terrestris* L. (Oligochaeta : Lumbricidae). FEMS

Microbiology Ecology, 2004, 48: 187−197

[56] Tiunov AV, Scheu S. Microbial biomass, biovolume and respiration in *Lumbricus terrestris* L. cast material of different age. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32: 265−275

[57] Heleen B, Johan S, Paul F. Protection of soil carbon by microaggregates within earthworm casts. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37: 251–258

[58] Devliegher W, Verstraete W. The effect of *Lumbricus terrestris* on soil in relation to plant growth - Effects of nutrient-enrichment processes (NEP) and gut-associated processes (GAP). Soil Biology and Biochemistry, 1997, 29: 341−346

[59] Tiunov AV, Scheu S. Microbial respiration, biomass, biovolume and nutrient status in burrow walls of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae). Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31: 2039−2048

[60] Biggs DR, McGregor PG. Gut pH and amylase and protease activity in larvae of the New Zealand grass grub (*Costelytra zealandica*; Coleoptera: Scarabaeidae) as a basis for selecting inhibitors. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 1996, 26: 69–75

[61] Hartenstein R. Soil macroinvertebrates, aldehyde oxidase, catalase, cellulase and peroxidase. Soil Biology and Biochemistry, 1982, 14: 387−391

Transformation of Soil Organic Carbon by Soil-Feeding Macrofauna Using ^{14}C Isotope Tracer Technique: A Review

SHAN Jun,　JI Rong

(*State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing* 210093, *China*)

Abstract: Soil organic carbon (SOC) is an important pool of global carbon, and SOC transformation controls the global biogeochemical cycle of carbon. Soil macrofauna, due to their large biomass and abundant biodiversity, play an important role in regulating stability of SOC through their feeding activity in soil. Because of its facility in determination of transformation rate and localization of transformation products, ^{14}C isotope tracer technique has been proved to be an effective approach for studies on the stability of SOC. This review focused on the transformation of SOC by three typical soil-feeding macrofauna, termite (Isoptera: Termitidae), rose beetle larva (Coleoptera: Scarabaeidae) and earthworm (Oligochaeta: Lumbricidae), using ^{14}C isotope tracer technique. The microbial activities related to the transformation processes are also discussed. Soil-feeding termites and humus-feeding scarabaeid beetle larvae can selectively mineralize and degrade the peptidic component of humic acids in soil through combined functions of special proteolytic activities and extreme alkalinity (pH 10-12.5) of gut compartments in their intestinal tracts, and, as a result, enhance the humification of the humic acids. High cellulase activities present in the guts of geophagic earthworm make earthworms able to degrade cellulose. Lignin degradation occurs in worm cast and earthworms also feed on litter and leaves, however, little is known about whether earthworms can mineralize or selectively degrade the recalcitrant pool of SOC. Significantly high microbial and enzymatic activities are present in the guts of macrofauna, however, it is yet unclear to which extent the gut microorganisms contribute to the degradation and humification of SOC by the soil animals and from where the enzymes originate. Several gaps in knowledge about the impact of soil-feeding macrofauna on the biogeochemical processes of SOC have been identified and a number of research priorities have been suggested.

Key words: Soil organic carbon (SOC), Geophagic soil macrofauna, ^{14}C-labelling, Degradation, Transformation