文章编号:1674-2869(2025)05-0531-08

稳定性同位素探针技术及其微生物生态学应用

余心洁,樊昊心*
武汉工程大学环境生态与生物工程学院,湖北 武汉 430205

摘 要:稳定性同位素核酸探针技术(DNA-SIP)是近20年来发展起来的一种新兴技术,结合了同位素示踪和分子生物学分类的优势,能够在环境中分离鉴定代谢活跃的功能微生物。首先介绍了DNA-SIP的基本原理,包括稳定同位素底物的选择、培养条件设定及下游分子分析方法,并讨论了高通量测序与生物信息学发展对分辨率和灵敏度提升的重要作用。在此基础上,综述了DNA-SIP在微生物生态学中的应用进展:一是在碳、氮、硫等元素生物地球化学循环中揭示了关键功能类群;二是在根际微生物生态研究中阐明了植物-微生物互作及其对养分吸收的贡献;三是在污染微生物生态学中鉴定了多种有机污染物的主要降解者。尽管DNA-SIP面临交叉喂养、同位素灵敏度差异和数据分析复杂等挑战,结合宏基因组学及单细胞拉曼光谱等新技术将进一步扩展其应用前景。DNA-SIP为解析复杂环境中微生物的功能作用提供了独特而强有力的工具,在环境科学与微生物生态学研究中展现出广阔的发展潜力。

关键词:同位素;稳定性同位素核酸探针;微生物功能
中图分类号:S154.3 **文献标识码**:A **DOI**:10.19843/j.cnki.CN42-1779/TQ.202404001

DNA-based stable isotope probing and its application in microbial ecology

YU Xinjie, *FAN Haoxin**
School of Environmental Ecology and Biological Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China

Abstract: DNA-based stable isotope probing (DNA-SIP) is an emerging technique developed over the past two decades that combines the strengths of isotope tracing and molecular biology, enabling the isolation and identification of metabolically active microorganisms in complex environments. This review first outlines the fundamental principles of DNA-SIP, including the selection of isotope-labeled substrates, cultivation conditions, and downstream molecular analysis methods, and highlights the importance of advances in high-throughput sequencing and bioinformatics for improving resolution and sensitivity. Building on this foundation, we summarized recent applications of DNA-SIP in microbial ecology: (i) revealing key functional groups involved in biogeochemical cycles of carbon, nitrogen, and sulfur; (ii) elucidating plant-microbe interactions in the rhizosphere and their contribution to nutrient acquisition; and (iii) identifying major degraders of organic pollutants in contaminated environments. Despite challenges such as cross-feeding, differential isotope incorporation, and complex data analysis, the integration of DNA-SIP with metagenomics, single-cell Raman spectroscopy, and other emerging approaches is expected to further expand its utility. Overall, DNA-SIP provides a powerful and unique tool for disentangling microbial functions in situ and holds broad prospects for advancing research in environmental science and microbial ecology.

Keywords: stable isotope; DNA-based stable isotope probing (DNA-SIP); microbial function

收稿日期:2024-04-01
基金项目:国家自然科学基金(4207039)
作者简介:余心洁,硕士研究生。Email:570371638@qq.com
***通信作者**:樊昊心,博士,副教授。Email:haoxin.fan@wit.edu.cn
引文格式:余心洁,樊昊心.稳定性同位素探针技术及其微生物生态学应用[J].武汉工程大学学报,2025,47(5):531-538.

自同位素被发现以来，同位素化合物被广泛用于生物学领域的研究。最早可以追溯至1954年的Meselson-Stahl实验[1]，研究者利用$^{15}NH_4Cl$首次在分子水平上证明了DNA的半保留复制。随后，Bassham等[2]利用放射性同位素$^{14}CO_2$阐明了植物中的碳固定过程。稳定性同位素标记与生物化学技术的结合发展出了稳定同位素探针（stable isotope probing，SIP）技术[3]。这种技术通过使用标记有稳定同位素（如^{13}C、^{15}N或^{18}O）的底物，研究追踪特定元素在微生物生物分子中的流动，通过分离和识别利用这些底物的微生物，进而了解它们的生理功能和生态作用[4]。

DNA是最具信息量的生物分类标志物，具有较高的分类分辨率和识别参与特定生化过程的广泛微生物的能力[5]。DNA-SIP技术是以DNA为目标生物分子，结合了同位素示踪和分子生物学分类的特点，不仅能在遗传分类学上鉴定各种环境中的微生物群落组成，还能确定它们在环境过程中的功能角色。这种技术可以提供复杂微生物群落的相互作用和代谢功能的大量信息，在微生物学各研究领域中的巨大潜力。本综述主要讨论了DNA-SIP的技术特点、在微生物生态学中的应用、技术挑战和发展前景。

1 DNA-SIP工作原理

SIP可以用于挖掘未培养微生物的代谢能力，如图所示的原理（图1），SIP通过将带有稳定同位素（例如^{13}C、^{15}N或^{18}O）的底物引入培养环境，以追踪稳定同位素从底物到生物分子的流动，并识别大部分尚未培养的相关功能微生物[6]。SIP的前提是具有代谢活性的功能微生物会将较重的C、N或O源整合到细胞组分中，例如磷脂脂肪酸（phospholipid fatty acids，PLFA）[7]、DNA[3]、RNA[8]和蛋白质[9]。提取和分离这些组分并识别整合同位素的组分，即PLFA-SIP、DNA-SIP、RNA-SIP和蛋白质-SIP，然后通过辨别这些标记组分的物种或功能分类信息确定参与特定生物过程的微生物类群。Boschker等[7]通过使用高灵敏度的同位素比率质谱仪跟踪^{13}C从标记的底物到微生物PLFA的过程，首次证明了这种方法的可行性。然而，由于PLFA的局限性，无法提供环境中未知的微生物信息。Radajewski等[3]将这一概念扩展到核酸上，提出了稳定性同位素核酸探针（DNA stable isotope probing，DNA-SIP）技术，通过^{13}C标记的甲醇作为底物在森林土壤中识别出两个系统发育不同的甲醇利用细菌类群[3]。研究者又陆续开发出了RNA-SIP和蛋白质-SIP技术[8-9]。RNA-SIP、蛋白质-SIP和PLFA-SIP不依赖细胞复制，可以直接展示代谢活动与系统发育之间的联系，具有高灵敏度、短孵育时间和快速标记的特点。然而，与DNA-SIP相比它们在分类分辨率上受到了质疑[10]。因此，考虑到稳定性、分类信息丰富度以及与下游数据分析的便捷度，DNA-SIP在环境微生物学和生态学中得到了最频繁的使用。

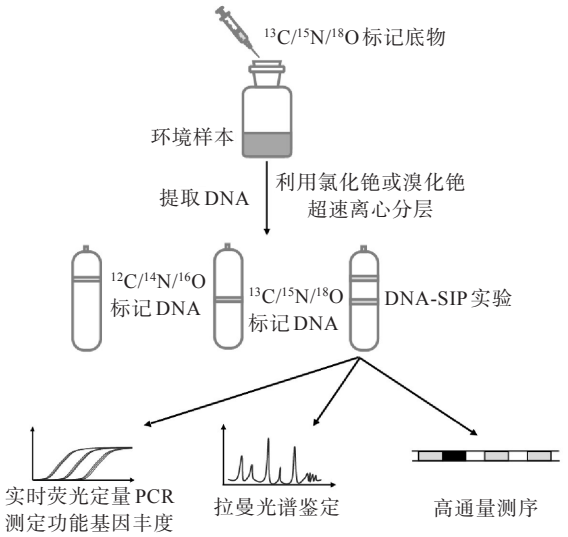

图1 DNA-SIP技术的实验步骤

Fig. 1 Experimental procedure of DNA-SIP technology

2 技术选择

2.1 稳定同位素的筛选

选择合适的同位素标记底物是DNA-SIP技术的关键环节。每个SIP实验均以培养含有重同位素标记底物的样品为基础。理论上，SIP实验能够选择标记目标生物分子DNA中的任何元素（其常见稳定同位素为^{31}P）。然而，实际操作中，DNA-SIP实验主要选用^{13}C作为标记同位素，偶尔使用^{15}N和^{18}O[11]。底物及其稳定同位素标记物的选择，直接关联到研究的代谢过程或特定微生物类群。目标微生物通过同化过程被同位素标记，但这种方法有其局限性。许多关键的微生物介导的生物地球化学过程是异化产能过程，仅涉及化合物间的电子转移，不留下生物质痕迹。因此，研究这种情况下的微生物类群只能通过由异化过程驱动的同化过程间接标记，例如，研究活跃的土壤病毒可以使用$^{18}O\text{-}H_2O$作为表征所有生物体活动的底物[12]；研究自养型氨氧化微生物则使用$^{13}C\text{-}CO_2$作为自养生物的底物[13]。此外，不同稳定同位素

在标记核酸能力上存在差异，导致不同的浮力密度（buoyant density，BD）变化。理论上，与^{13}C、^{15}N或D相比，^{18}O每标记1个原子可增加2个中子，尽管分子中的原子数量较少，但总的质量增量更大。相比之下，N相对于C、O或H在DNA中含量最少，使用^{15}N标记平均每个碱基最多可以增加3.75个中子，仅为使用^{13}C标记时质量增量的1/4。较小的质量增量表明在等密度梯度中标记的核酸相较于未标记的核酸仅能产生较小的偏移，不利于分离。因此，对于基于^{15}N的DNA-SIP，这会增加检测难度，降低^{15}N标记示踪的适用性。

2.2　培养时间和底物浓度的确定

DNA-SIP实验中的培养时间一方面取决于目标过程的反应速率及其同化效率。比如对于比较快的生物过程，如水分吸收，培养时间可以短至数小时[14-15]，而对于比较缓慢的生物过程，如CO_2和N_2的固定，培养可以长达几天至几周[16-17]。培养实验应该允许足够的时间使目标群落的DNA被底物中的同位素充分标记，以便能够在背景之上被检测到。研究发现，用于下游分析的^{13}C-DNA和^{15}N-DNA的最小富集率分别为20%和40%[18]。另一方面，过长的培养时间会增加实验体系中微生物群落交叉喂养的概率。微生物通过营养网络相互联系，标记的元素最终都会在整个微生物群落中传播，对于特定的研究过程，会增加非特异性的群落标记。但同时同位素标记实验中的交叉喂养也可以被用于研究底物流动模式、微生物群落时间尺度上的相互作用[19]。交叉喂养在微生物群落中广泛存在，在SIP实验中处理这个问题的典型方式是进行多时间点取样，将培养时间限制在进行标记所必需的最小时间，确定目标生物过程的特定微生物类群后，结合其他实验证据对结论进行补充[8]。

2.3　DNA-SIP下游分析技术的使用

DNA-SIP技术与其他分子生物学技术的结合使用，使得研究者能够从多个维度去探索微生物的生态功能和代谢活性[20]。DNA-SIP技术结合实时荧光定量PCR（quantitative real-time PCR，qPCR），通过设计特异性功能引物，可以选择性定量活性目标微生物[21]。Purcell等[22]利用DNA-SIP结合qPCR技术确定了测定土壤中微生物类群专一性生长的方法和步骤。Hayer等[23]利用DNA-SIP结合qPCR技术鉴定了淡水中参与营养循环的微生物，并且发现稀有微生物可能对溪流中落叶的分解起到重要作用。早期，DNA-SIP定性和定量主要是依赖于一些低分辨率的手段，如DGGE、TRFLP等指纹技术和一代的Sanger测序。近年来，DNA-SIP领域最显著的进步可能来自高通量测序技术的引入及其在使用扩增子测序研究微生物群落中的应用。随着分析技术的进步，特别是高通量测序技术的发展，DNA-SIP的分辨率和灵敏度得到了显著提升，这允许研究者即使是在低丰度的情况下也能准确地识别和定量微生物群落中的活跃成员。Eileen等[24]利用DNA-SIP技术标记了降解$^{13}CH_3Cl$的微生物群落，并用宏基因组测序分析发现了相应类群及其代谢途径。生物信息学工具和数据分析算法的发展，使得从复杂的SIP实验数据中提取有意义的生物学信息变得更加高效，其中包括改进的同位素富集分析、群落组成评估以及代谢途径的推断[25]。

3　DNA-SIP在微生物生态学研究中的应用

微生物生态学的研究关注微生物群落如何响应环境变化，以及它们如何影响生态系统的功能。传统的微生物生态学研究方法依赖于微生物的培养、分离和鉴定，费时且不能准确反映自然环境中微生物的真实状态，而且仅有少数的微生物可以在实验室培养，极大限制了微生物生态学的发展。DNA-SIP技术的出现，为微生物资源的理解和利用带来了新的可能性[6]。利用DNA-SIP技术，可以有针对性地挖掘复杂环境中微生物群落的生理代谢功能，深入理解微生物的生态行为和环境适应性。因此，DNA-SIP技术在微生物元素循环、根际微生物生态、污染物微生物降解和全球变化等科学领域中得到了广泛的应用（见表1）。

通过分析不同环境（如土壤、水体、底泥）中微生物对特定同位素标记的物质的吸收和转化，SIP技术可以揭示微生物在碳、氮、硫等生物地球化学循环中的作用[26]。Bai等[27]通过DNA-SIP技术利用$^{13}CO_2$和$Na_2{}^{13}CO_3$标记了植物叶片，研究了凋落物质量对土壤有机碳的影响，发现凋落物质量的差异塑造了主要微生物群的组成，导致了酶活性的差异。Liu等[28]利用^{13}C标记了二甲基硫丙酸（dimethylsulfoniopropionate，DMSP）的丙酸部分，成功识别了北海海水中活跃利用DMSP的关键微生物，将海噬甲基菌（*Methylophaga*）和鱼立克次体菌（*Piscirickettsiaceae*）确定为使用DMSP裂解产生的二甲基硫化物（DMS）作为碳源的关键细菌。

Zheng等[29]利用$NaH^{13}CO_3$标记物进行DNA-SIP实验，发现完全氨氧化硝化螺旋菌（Comammox *Nitrospira*）在25个污水处理厂中普遍存在，并在污水处理氨氧化中占据主导地位。类似地，Pan等[30]利用DNA-SIP技术通过$Na_2{}^{13}CO_3$标记发现氨氧化细菌在污水处理厂的氨氧化过程中占主导地位。氮的同位素也被广泛地应用于DNA-SIP的实验中。Morando等[31]利用^{15}N标记的铵和硝酸证明了异养分支SAR11、古生菌海洋类群II（*Archaeal Marine* Group II）和原绿球藻（*Prochlorococcus*）是环境中硝酸盐的主要利用者。Martin等[32]利用^{15}N-甲胺结合宏基因组学，发现α-变形杆菌（*Alphaproteobacteria*）和γ-变形杆菌（*Gammaproteobacteria*）通过γ-谷酰胺-甲胺途径实现对甲胺的利用。Oris等[33]通过$NaH^{13}CO_3$和$Na^{15}NO_3$的双重标记发现了两类参与海洋中可溶性蛋白质循环的微生物群落。在土壤中，Liu等[34]利用DNA-SIP技术通过$K^{15}NO_3$和$(^{15}NH_4)_2SO_4$标记发现土壤中大部分无机氮同化仅有真菌和细菌中的部分活性微生物类群参与。

通过分析作物根际土壤中的微生物群落，DNA-SIP有助于理解微生物如何影响植物健康、生长以及营养吸收，为可持续农业提供科学依据。Wang等[35]利用DNA-SIP技术通过$^{13}CO_2$研究了不同CO_2浓度对温室番茄土壤系统中参与根源碳吸收的微生物的影响，发现升高CO_2浓度显著影响了利用$^{13}CO_2$的微生物生物量和微生物群落结构。Prudence等[36]利用DNA-SIP技术通过$^{13}CO_2$研究了小麦根际中能够利用根际沉积碳的微生物，发现链霉菌科（*Streptomycetaceae*）和伯克霍尔德雷科（*Burkholderiaceae*）对小麦发育具有重要的作用。Li等[37]通过DNA-SIP技术利用$^{15}NH_4NO_3$和$NH_4{}^{15}NO_3$研究了CO_2浓度升高和土壤温度升高对黄瓜土壤氮素转化和微生物群落的影响，结果

表1 DNA-SIP技术在微生物生态学中的应用实例

Table 1 Applications of DNA-SIP technology in microbial ecology

应用领域	标记底物	研究系统	下游分子学技术	参考文献
微生物元素循环	$^{13}CO_2$、$Na_2{}^{13}CO_3$	林地	–	[27]
	^{13}C-葡萄糖、$H_2{}^{18}O$	黄松土壤	16S rRNA基因测序	[38]
	^{13}C-DMSP	海水	凝胶电泳、16S rRNA基因测序、宏基因组测序	[28]
	^{13}C-木糖、^{13}C-氨基酸、^{13}C-香草醇、^{13}C-纤维素、^{13}C-棕榈酸	农田、林地、废弃农田土壤	16S rRNA基因测序	[39]
	^{15}N-甲胺	海水	16S rRNA基因测序、鸟枪式宏基因组测序	[32]
	$NaH^{13}CO_3$	活性污泥	16S rRNA基因测序、Comammox *amoA*基因测序	[29]
	$Na_2{}^{13}CO_3$	活性污泥	qPCR、16S rRNA基因测序	[30]
	$^{15}NH3$、$H^{15}NO3$	海水	16S rRNA基因测序	[31]
	$NaH^{13}CO_3$、$Na^{15}NO_3$	海水	qPCR、16S rRNA基因测序	[33]
	$K^{15}NO_3$、$(^{15}NH_4)_2SO_4$	农田	qPCR、16S rRNA基因测序	[34]
根际微生物生态	$^{13}CO_2$	农田	磷脂脂肪酸分析	[35]
	$^{13}CO_2$	农田	凝胶电泳、qPCR、16S rRNA基因测序	[36]
	$^{13}CO_2$、$Na_2{}^{13}CO_3$	农田	16S rRNA基因测序、宏基因组测序	[40]
	$^{15}NH_4NO_3$、$NH_4{}^{15}NO_3$	农田	qPCR、16S rRNA基因测序	[37]
污染微生物降解	$^{13}CO_2$	壤质砂土	qPCR、16S rRNA基因测序	[41]
	$NaH^{13}CO3$	矿区土壤	16S rRNA基因测序、鸟枪式宏基因组测序	[42]
	^{13}C-苯并[a]芘	油田土壤	qPCR、16S rRNA基因测序、代谢组学	[43]
	^{13}C-PCB77	农田	qPCR、16S rRNA基因测序、宏基因组测序	[44]
	^{13}C-PCB9	沙地	16S rRNA基因测序	[45]
	^{13}C-菲、$^{13}CO_2$	林地	qPCR、16S rRNA基因测序	[46]
	^{13}C-乐果	农田	qPCR、16S rRNA基因测序	[47]

表明CO_2浓度和土壤温度升高提高了土壤总氮的初级转化速率，加速了土壤氮素循环，保证了植物对氮素的需求，这一发现为温室蔬菜栽培的可持续发展提供了新的途径。

DNA-SIP是微生物污染物降解领域最为有效的研究手段之一[48]。DNA-SIP可以帮助识别特定的污染物降解微生物，为生物修复提供目标菌群[49]。Lemmel等[46]通过DNA-SIP技术利用^{13}C-菲研究了10种不同多环芳烃污染水平的土壤中微生物对菲的降解的影响，发现分枝杆菌（*Mycobacterium*）是主导菲降解活性的优势物种。Lian等[47]通过DNA-SIP技术鉴定出3种有机磷农药乐果的降解菌：拉姆利杆菌（*Ramlibacter*）、节杆菌（*Arthrobacter*）和红球菌（*Rhodococcus*）。Zhang等[43]利用^{13}C-苯并[a]芘鉴定了石油污染土壤中8株苯并[a]芘降解菌，并结合代谢组学发现，黑麦草根际分泌物能调节黑麦草不同生长阶段的根际微生物群落促进苯并[a]芘的就地降解。Jiang等[45]在DNA-SIP技术的帮助下发现黑麦草根分解增加了活性PCB9（2，5′-二氯联苯）降解微生物的丰度，促进了土壤中有机污染物的生物降解。

4　DNA-SIP技术进展及面临的挑战

DNA-SIP技术在深度和广度上都有一定程度的发展。DNA-SIP和宏基因组相结合可以将目的微生物的鉴定分辨率从物种分类扩展到具体功能代谢水平[50]。Li等[11]利用DNA-SIP与靶向宏基因组相结合，建立了以重建产生标记蛋白质的微生物的宏基因组组装基因组的方法，用于追踪从$^{13}CO_2$到玉米、小麦和拟南芥根际群落的碳流，并利用此方法验证了XoxF型甲醇脱氢酶在根际代谢同化甲醇的假说。Eileen等[24]用DNA-SIP标记了降解$^{13}CH_3Cl$的微生物群落，并用宏基因组测序分析研究了相应类群及其代谢途径。采用DNA-SIP与拉曼光谱相结合可以直接揭示单个微生物的代谢活性[50]。Weber等[51]证明了DNA-SIP结合拉曼光谱技术可以在单细胞水平上研究细菌在确定或复杂的^{13}C-有机碳源上的生长差异。DNA-SIP结合纳米离子探针同样也可以在单细胞水平上识别同位素标记的微生物，然而，因为其成本高昂，吞吐量低，依赖于只有少数实验室拥有的设备，其应用仍然受限[52]。

DNA-SIP在应用过程中也存在一些挑战。除微生物群落的交叉喂养会导致结果的解释复杂化[6]外，不同微生物对标记底物的摄取和代谢速率不同也会影响DNA-SIP的灵敏度和准确性；高GC含量的微生物的核酸浮力密度会增加，接近^{13}C标记的低GC含量微生物的核酸密度，这会使得两者的分离鉴定变得更困难；核酸中氮的比例小于碳的比例，这导致了^{15}N同位素的灵敏性不如^{13}C同位素[53]。DNA-SIP生成的数据复杂，需要高度专业的生物信息学工具和技术进行分析[54-55]。随着高通量测序和生物信息学分析技术的发展，DNA-SIP技术的应用越来越广泛，能够提供更加深入和精细的微生物生态学洞察。此外，开发新的标记底物和改进密度梯度离心技术也是当前的研究热点，旨在提高DNA-SIP的灵敏度和适用范围[39]。

综上所述，DNA-SIP技术是一种强大的工具，在研究各种微生物群落的活性方面显示出巨大的前景，对于理解微生物在环境中的作用和相互作用提供了独特的视角。DNA-SIP技术有着能在原位标记、高灵敏度、高精确性以及安全可靠的优点，在微生物学研究中有着广泛的应用，同时也面临着同位素扩散、代谢活性变异以及分析高技术要求等挑战。但随着技术及分析方法的不断进步，其在环境科学和微生物生态学领域的应用将持续扩大。

参考文献

[1] MESELSON M，STAHL F W. The replication of DNA in Escherichia coli [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America，1958，44(7)：671-682.

[2] BASSHAM J A，BENSON A A，KAY L D，et al. The path of carbon in photosynthesis. xxi. the cyclic regeneration of carbon dioxide acceptor1 [J]. Journal of the American Chemical Society，1954，76(7)：1760-1770.

[3] RADAJEWSKI S，INESON P，PAREKH N R，et al. Stable-isotope probing as a tool in microbial ecology [J]. Nature，2000，403(6770)：646-649.

[4] ADRIAN L，MARCO-URREA E. Isotopes in geobiochemistry：tracing metabolic pathways in microorganisms of environmental relevance with stable isotopes [J]. Current Opinion in Biotechnology，2016，41：19-25.

[5] UHLÍK O，JECNÁ K，LEIGH M B，et al. DNA-based stable isotope probing：a link between community structure and function [J]. Science of the Total Environment，2009，407(12)：3611-3619.

[6] DUMONT M G，MURRELL J C. Stable isotope

probing-linking microbial identity to function [J]. Nature Reviews Microbiology, 2005, 3(6): 499-504.

[7] BOSCHKER H T S, NOLD S C, WELLSBURY P, et al. Direct linking of microbial populations to specific biogeochemical processes by ^{13}C-labelling of biomarkers [J]. Nature, 1998, 392(6678): 801-805.

[8] MCDONALD I R, RADAJEWSKI S, MURRELL J C. Stable isotope probing of nucleic acids in methanotrophs and methylotrophs: a review [J]. Organic Geochemistry, 2005, 36(5): 779-787.

[9] SEIFERT J, TAUBERT M, JEHMLICH N, et al. Protein-based stable isotope probing (protein-SIP) in functional metaproteomics [J]. Mass Spectrometry Reviews, 2012, 31(6): 683-697.

[10] LUEDERS T, DUMONT M G, BRADFORD L, et al. RNA-stable isotope probing: from carbon flow within key microbiota to targeted transcriptomes [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2016, 41: 83-89.

[11] LI Z, YAO Q M, GUO X, et al. Genome-resolved proteomic stable isotope probing of soil microbial communities using $^{13}CO_2$ and ^{13}C-methanol [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2706.

[12] TRUBL G, KIMBREL J A, LIQUET-GONZALEZ J, et al. Active virus-host interactions at sub-freezing temperatures in Arctic peat soil [J]. Microbiome, 2021, 9(1): 208.

[13] LIU H Y, HU H W, HUANG X, et al. Canonical ammonia oxidizers, rather than comammox Nitrospira, dominated autotrophic nitrification during the mineralization of organic substances in two paddy soils [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 156: 108192.

[14] BERRY D, MADER E, LEE T K, et al. Tracking heavy water (D_2O) incorporation for identifying and sorting active microbial cells [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(2): E194-E203.

[15] BLAZEWICZ S J, SCHWARTZ E, FIRESTONE M K. Growth and death of bacteria and fungi underlie rainfall-induced carbon dioxide pulses from seasonally dried soil [J]. Ecology, 2014, 95(5): 1162-1172.

[16] LIU B L, HOU L J, ZHENG Y L, et al. Dark carbon fixation in intertidal sediments: controlling factors and driving microorganisms [J]. Water Research, 2022, 216: 118381.

[17] HARTER J, KRAUSE H M, SCHUETTLER S, et al. Linking N_2O emissions from biochar-amended soil to the structure and function of the N-cycling microbial community[J]. The ISME Journal, 2014, 8 (3): 660-674.

[18] GEORG C, MINGRELIA E, RACHEL C, et al. Technical considerations for the use of ^{15}N-DNA stable-isotope probing for functional microbial activity in soils [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry : RCM, 2005, 19(11): 1424-1428.

[19] DERITO C M, PUMPHREY G M, MADSEN E L. Use of field-based stable isotope probing to identify adapted populations and track carbon flow through a phenol-degrading soil microbial community [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71 (12): 7858-7865.

[20] MARTIN V B, NICO J, MARTIN T, et al. Insights from quantitative metaproteomics and protein-stable isotope probing into microbial ecology [J]. The ISME Journal, 2013, 7(10): 1877-1885.

[21] 邹文萱,沈菊培,张丽梅,等. 定量稳定性同位素探针技术及其在微生物生态学研究中的应用[J]. 应用生态学报, 2021, 32(7): 2615-2622.

[22] PURCELL A M, DIJKSTRA P, FINLEY B, et al. Quantitative stable isotope probing with H218O to measure taxon - specific microbial growth [J]. Soil Science Society of America, 2020, 84(5): 1503-1518.

[23] HAYER M, SCHWARTZ E, MARKS J C, et al. Identification of growing bacteria during litter decomposition in freshwater through $H_2{}^{18}O$ quantitative stable isotope probing [J]. Environmental Microbiology Reports, 2016, 8(6): 975-982.

[24] EILEEN K, SARANYA K, SONJA W, et al. A putatively new family of alphaproteobacterial chloromethane degraders from a deciduous forest soil revealed by stable isotope probing and metagenomics [J]. Environmental Microbiome, 2022, 17(1): 24.

[25] WOLF-RAINER A. Applications and impacts of stable isotope probing for analysis of microbial interactions [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(11): 4817-4828.

[26] DONG W, YANG Q, GEORGE T S, et al. Investigating bacterial coupled assimilation of fertilizer-nitrogen and crop residue-carbon in upland soils by DNA-qSIP [J]. Science of the Total Environment, 2022, 845: 157279.

[27] BAI X J, ZHAI G Q, WANG B R, et al. Litter quality controls the contribution of microbial carbon to main microbial groups and soil organic carbon during its decomposition [J]. Biology and Fertility of Soils, 2024, 60(2): 167-181.

[28] LIU J L, XUE C X, WANG J Y, et al. Oceanospirillales containing the DMSP lyase DddD are key

utilisers of carbon from DMSP in coastal seawater [J]. Microbiome, 2022, 10(1): 110.

[29] MAOSHENG Z, ZHICHAO T, ZIMIN C, et al. Ubiquitous occurrence and functional dominance of comammox Nitrospira in full-scale wastewater treatment plants [J]. Water Research, 2023, 236: 119931.

[30] PAN K L, GAO J F, LI H Y, et al. Ammonia-oxidizing bacteria dominate ammonia oxidation in a full-scale wastewater treatment plant revealed by DNA-based stable isotope probing [J]. Bioresource Technology, 2018, 256: 152−159.

[31] MORANDO M, CAPONE D G. Intraclade heterogeneity in nitrogen utilization by marine prokaryotes revealed using stable isotope probing coupled with tag sequencing (Tag-SIP) [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1932.

[32] MARTIN T, CAROLINA G, M ALEXANDRA H, et al. Methylamine as a nitrogen source for microorganisms from a coastal marine environment [J]. Environmental Microbiology, 2017, 19 (6): 2246−2257.

[33] ORSI W D, SMITH J M, LIU S, et al. Diverse, uncultivated bacteria and archaea underlying the cycling of dissolved protein in the ocean [J]. The ISME Journal, 2016, 10(9): 2158−2173.

[34] LIU R, HAN C, KANG Y, et al. Active microbial taxa preferentially assimilate inorganic nitrogen in acidic upland soils using a ^{15}N-DNA-SIP approach [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2024, 188: 109226.

[35] WANG H H, WANG J, GE C, et al. Fungi dominated the incorporation of ^{13}C-CO_2 into microbial biomass in tomato rhizosphere soil under different CO_2 concentrations [J]. Microorganisms, 2021, 9 (10): 16.

[36] PRUDENCE S M, NEWITT J T, WORSLEY S F, et al. Soil, senescence and exudate utilisation: characterisation of the Paragon var. spring bread wheat root microbiome [J]. Environmental Microbiome, 2021, 16(1): 12.

[37] LI D, ZHANG J, GRUDA N S, et al. The regulation of gross nitrogen transformation rates in greenhouse soil cultivated with cucumber plants under elevated atmospheric [CO_2] and increased soil temperature [J]. Geoderma, 2023, 439: 116680.

[38] MAU R L, LIU C M, AZIZ M, et al. Linking soil bacterial biodiversity and soil carbon stability [J]. The ISME Journal, 2015, 9(6): 1477−1480.

[39] BARNETT S E, YOUNGBLUT N D, BUCKLEY D H. Bacterial community dynamics explain carbon mineralization and assimilation in soils of different land-use history [J]. Environmental Microbiology, 2022, 24(11): 5230−5247.

[40] PENGFA L, JIA L, MUHAMMAD S, et al. Reduced chemodiversity suppresses rhizosphere microbiome functioning in the mono-cropped agroecosystems [J]. Microbiome, 2022, 10(1): 108.

[41] HU L F, TAN X Y, LU L L, et al. DNA-SIP delineates unique microbial communities in the rhizosphere of the hyperaccumulator Sedum alfredii which are beneficial to Cd phytoextraction [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2024, 272: 116016.

[42] ZHANG M, LI Z, HÄGGBLOM M M, et al. Characterization of nitrate-dependent as(iii) -oxidizing communities in arsenic-contaminated soil and investigation of their metabolic potentials by the combination of DNA-stable isotope probing and metagenomics [J]. Environmental Science and Technology, 2020, 54(12): 7366−7377.

[43] ZHANG X, LI J B, ZHANG D Y, et al. Unveiling the novel role of ryegrass rhizospheric metabolites in benzo[a]pyrene biodegradation [J]. Environment International, 2023, 180: 108215.

[44] XU Y F, TENG Y, WANG X M, et al. Endogenous biohydrogen from a rhizobium-legume association drives microbial biodegradation of polychlorinated biphenyl in contaminated soil [J]. Environment International, 2023, 176: 107962.

[45] JIANG L F, ZHANG D Y, SONG M K, et al. The positive role of root decomposition on the bioremediation of organic pollutants contaminated soil: a case study using PCB-9 as a model compound [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2022, 171: 108726.

[46] LEMMEL F, MAUNOURY-DANGER F, LEYVAL C, et al. DNA stable isotope probing reveals contrasted activity and phenanthrene-degrading bacteria identity in a gradient of anthropized soils [J]. FEMS Microbiol Ecol, 2019, 95(12): fiz181.

[47] LIAN L N, XING Y, ZHANG D Y, et al. Comparative analysis of DNA-SIP and magnetic-nanoparticle mediated isolation (MMI) on unraveling dimethoate degraders [J]. Frontiers of Environmental Science & Engineering, 2023, 18(1): 5.

[48] CUPPLES A M. Contaminant-degrading microorganisms identified using stable isotope probing [J]. Chemical Engineering & Technology, 2016, 39(9): 1593−1603.

[49] JIANG B, JIN N F, XING Y, et al. Unraveling uncultivable pesticide degraders via stable isotope probing (SIP) [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2018, 38(7): 1-24.
[50] WANG Y, HUANG W E, CUI L, et al. Single cell stable isotope probing in microbiology using Raman microspectroscopy [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2016, 41: 34-42.
[51] WEBER F, ZALIZNYAK T, EDGCOMB V P, et al. Using stable isotope probing and raman microspectroscopy to measure growth rates of heterotrophic bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2021, 87(22): 0146021.
[52] 辛雨菡,崔丽.单细胞稳定同位素标记技术在固氮微生物中的应用研究[J].微生物学报, 2020, 60(9): 1772-1783.
[53] NEUFELD J D, DUMONT M G, VOHRA J, et al. Methodological Considerations for the use of stable isotope probing in microbial ecology [J]. Microbial Ecology, 2006, 53(3): 435-442.
[54] 贾仲君.稳定性同位素核酸探针技术DNA-SIP原理与应用[J].微生物学报, 2011, 51(12):1585-1594.
[55] COYOTZI S, PRATSCHER J, MURRELL J C, et al. Targeted metagenomics of active microbial populations with stable-isotope probing [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2016, 41: 1-8.

本文编辑:张 瑞

☆

(上接第501页)

参考文献

[1] 常玉, 王品琪, 周倩, 等. 羟乙基化双酚A共聚改性PET的合成与表征[J]. 合成技术及应用, 2018, 33(1): 21-27.
[2] 吴叶群, 张泽蓉, 叶东, 等. 超声辅助合成对硝基苯甲酸乙酯[J]. 化学与生物工程, 2022, 39(10): 33-37.
[3] 邓威, 罗根祥, 刘四运, 等. 新戊二醇与己二酸聚酯化反应动力学研究[J]. 抚顺石油学院学报, 2000, 20(2): 23-26.
[4] 陈叮琳. 一种端羧基超支化聚酯阻垢剂的合成及其阻垢性能研究[J]. 化学与生物工程, 2021, 38(7): 61-64.
[5] 徐颖珺, 尹红, 袁慎峰, 等. 羟乙基化双酚A的合成与应用[J]. 化工中间体, 2008(6): 7-9, 12.
[6] 郭德明, 敬新柯, 吴嘉宁, 等. 一种新型阻燃抗熔滴共聚酯的合成及表征[J]. 高分子学报, 2012, 43(9): 1042-1046.
[7] FLORY P J. Kinetics of condensation polymerization; the reaction of ethylene glycol with succinic acid [J]. Journal of the American Chemical Society, 1937, 59(3): 466-470.
[8] FLORY P J. Kinetics of polyesterification: a study of the effects of molecular weight and viscosity on reaction rate [J]. Journal of the American Chemical Society, 1939, 61(12): 3334-3340.
[9] 张旭霞, 汪少朋, 杨立英. PTA直接酯化过程动力学的研究[J]. 合成纤维工业, 2003, 26(6): 15-17.
[10] HU G H, WANG W. Should the removal of water be taken into account in the analysis of kinetic data of polyesterification reactions? [J]. Polymer Bulletin, 1992, 28(3): 351-354.
[11] 何仁文. 直接酯化聚酯装置反应器的设计原理研究[J]. 合成纤维工业, 1981, 4(3): 6-14, 5.
[12] 张宁, 陈刚, 梅军, 等. 间苯二甲酸/新戊二醇酯化动力学[J]. 热固性树脂, 2017, 32(6): 31-34.
[13] 顾涛, 卜小海, 王润东, 等. 数值方法探究不饱和聚酯树脂酯化反应动力学[J]. 广东化工, 2022, 49(23): 18-20, 23.
[14] LIN C C, HSIEH K H. The kinetics of polyesterification. I. Adipic acid and ethylene glycol [J]. Journal of Applied Polymer Science, 1977, 21(10): 2711-2719.
[15] LIN C C, YU P C. The kinetics of polyesterification. II. Succinic acid and ethylene glycol [J]. Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition, 1978, 16(5): 1005-1016.
[16] 潘祖仁. 高分子化学[M]. 5版. 北京: 化学工业出版社, 2011.
[17] 陈礼科, 奚桢浩, 孙文君, 等. 低分子量聚己二酸乙二醇酯制备过程中的酯化反应动力学[J]. 化学反应工程与工艺, 2013, 29(6): 519-525, 548.

本文编辑:张 瑞