

# 不同水稻土甲烷氧化菌和产甲烷菌数量与甲烷排放量之间相关性的研究

陈中云, 闵 航\*, 陈美慈, 赵宇华

(浙江大学生命科学院生物科学系, 杭州 310029)

**摘要:** 对不施用任何肥料的浙江黄松土(发育于河流沉积物母质的水稻田土)、老黄筋泥田土(发育于第四纪红壤母质的水稻田土)、青紫泥田土(发育于滨海盐土母质的象山青紫泥水稻土)中甲烷氧化菌、产甲烷菌种群数量及甲烷排放量之间关系作了研究。结果表明, 甲烷氧化菌种群数量范围在  $10^6 \sim 10^8$  cfu/g 干土之间, 其变化在 2 个数量级范围内。产甲烷细菌种群数量变化较大, 其范围在  $10^3 \sim 10^7$  cfu/g 干土之间。水稻田土壤的甲烷排放量受到甲烷氧化菌、产甲烷菌种群数量及其活性及土壤理化性状的影响。提出了当水稻田土壤的甲烷氧化菌种群数量在  $10^8$  cfu/g 干土、产甲烷菌种群数量在  $10^5$  cfu/g 干土时, 水稻田土壤几乎没有多余的  $\text{CH}_4$  气体排放这一甲烷形成与甲烷氧化两类群微生物之间的数量关系。甲烷排放量也与土壤砂粒 ( $< 0.02\text{mm}$  的砂粒) 含量呈正相关性, 土壤砂粒含量越高, 其甲烷排放量亦高。

**关键词:** 甲烷氧化菌; 产甲烷菌; 甲烷排放量; 黄松田土; 老黄筋泥田土; 青紫泥田土

## Studies on relationships among methane emission and methane-oxidizing and methanogenic bacteria in three types of rice-field soil

CHEN Zhong-Yun, MIN Hang\*, CHEN Mei-Ci, ZHAO Yu-Hua (Department of Biological Sciences, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, 310029, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(9): 1498 ~ 1505.

**Abstract:** Three types of paddy soil were sampled from different three sites of Zhejiang Province. Huangson rice-field soil was developed from fluvo-aquic soil matrix, old Huangjin rice-field soil from the Quaternary red calay soil matrix and Qingzi rice-field soil from coastal saline soil matrix, which were not applied any fertilizer. The bigger stones and larger fiber residues of plant were removed in the soil samples. 15 kg of each soil sample was put into 13L-plastic barrel and immersed over with water. Three plastic barrels of soil were replicated for each type of soil sample, two of which were planted rice plant and another one was not planted rice plant as control.

Methane was measured using a 102G gas chromatograph with a hydrogen flame ionization detector under the following conditions: carrier: GDX-502, air: 700 ml/min;  $\text{H}_2$ : 40 ml/min;  $\text{N}_2$ : 25 ml/min, room temperature: 40 C. The appearance of the pure methane peak was at 17 sec. The pure methane gas, purchased from Beijing gases plant, was as the reference.

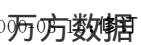
The population of MOB was measured with the anaerobic roll tube method using Hungate's anaerobic technique but the medium was aerobically prepared and kept under aerobic condition in anaerobic tube with specific isobutyl rubber stopper to prevent the escape of methane gas. Each anaerobic tube with 4.5 ml melted aerobic medium was inoculated with different dilutions of soil sample and rolled, respectively, then

**基金项目:** 国家自然科学基金(39870033)、中国科学院南京土壤研究所开放实验室(971531)和国家教育部留学回国人员基金资助项目

\* 通讯作者

收稿日期: 2000-08-30

**作者简介:** 陈中云(1963~), 男, 浙江嘉善人, 讲师。主要从事微生物学的教学和科研。



was injected with 3 ml pure methane used as substrate for methane-oxidizing bacteria and incubated at 30 C for 7 days. The amount of colonies formed in the rolled tube with methane was counted after incubation.

Medium for determination of methane-oxidizing bacteria was composed of (g/L)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.0,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  2.9,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.32,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3.0, trace element solution 10 ml and distilled water 990ml, pH 6.8. The medium was aerobically prepared and 4.5ml of medium was added to each anaerobic tube, which was stopped with a specific rubber stopper.

The population of MPB was determined using the anaerobic roll tube method by Hungate's anaerobic operation technique. The medium used for determination of methanogens was composed of (g/L)  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1.0  $\text{MgCl}_2$  0.1,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.4, yeast extract 1.0, cystein 0.5,  $\text{HCOONa}$  5.0,  $\text{CH}_3\text{COONa}$  5.0,  $\text{CH}_3\text{OH}$  5 ml/L, soil extract solution 300 ml/L and trace element solution 10ml/L. Before the medium was used, 0.1 ml anaerobic sterilized mixed solution  $\text{Na}_2\text{S}$ (10g/kg)/ $\text{NaHCO}_3$ (50g/kg) was injected into each tube with 4.5 ml medium to decrease further redox potential of the medium and then 0.1 ml 160 000 units/ml of penicillin was added to inhibit eubacteria. After inoculation the headspace of the tube was flushed using axoxic hydrogen and injected with 3 ml anoxic  $\text{CO}_2$  with high purity. The amount of colonies formed in the rolled tube was counted after the tubes inoculated were incubated at 30 C for 10 days.

The population of MOB ranged  $10^6 \sim 10^8$  cfu/g dried soil in three type of soils. The highest average population of MOB was found in Huangsong rice-field soil in non-submerged soil samples, but that was in old Huangjin rice-field soil in submerged soils. The average population of MOB was higher in the planted rice field soils than in non-planted rice field soils, and that was higher in the planted latter rice field soils than in the planted earlier rice rice-field soils. The results, however, showed that there was no significance difference between that in the planted rice and the non-planted rice soils from each type of soil sample.

The population of MPB ranged  $10^3 \sim 10^7$  cfu/g dried soil. The largest average population of MPB was observed in Huangsong rice-field soil and the smallest one was did in old Huangjin rice-field soil. The average population of MPB was larger in the planted rice field soil than in the non-planted rice field soil, and that was larger in the soil planted earlier rice than in the soil planted latter rice. The results showed that there was a significance different between the populations of MPB in the planted rice soil and the non-planted rice soil from the three types of soil samples.

The methane flux ranged  $0 \sim 9.76 \text{ mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ . The highest methane flux was monitored in Qingzi rice-field soil and the lowest one was did in Huangsong rice-field soil. The methane flux was higher in the planted rice soil than in the non-planted rice soil and that was also higher in the planted earlier rice soil than in the planted latter rice soil. The result indicated that there was a significant difference between the methane fluxes in the planted rice soil in the and non-planted rice soil from each type of soil samples.

The populations of MOB and MPB could obviously affect the flux of the methane emitted from rice-field soil. There was no or little methane emitted from rice-field soil when MOB reached at about  $10^5$  cfu/g dried soil and MPB did about  $10^5$  cfu/g dried soil in the rice-field soil. The flux of methane emission was also closely relative to the physic-chemical properties of soil sample.

**Key words:** Huangsong rice-field soil; old Huangjin rice-field soil; Qingzi rice-field soil; methane-oxidizing

文章编号: 1000-0933(2001)09-1498-08 中图分类号: Q938.1<sup>1+</sup> 文献标识码: A

甲烷在大气中的浓度虽然极低(约为  $1.75 \mu\text{L}/\text{L}$ ),但对温室效应的相对贡献率却达到 15%,而且每年有递增 0.8%~1.0% 的趋势。估计全球水稻田排放甲烷的总量为 20~150 Tg/a,占全球甲烷排放总量的 12%<sup>[1]</sup>。而我国水稻田产量占全球的 34%,列世界各国第一位。水稻种植面积占全球种植面积的 22%,次于印度,列第二位<sup>[2]</sup>。因此,控制和减少水稻田土壤的甲烷排放量,对降低温室效应应具有十分重要的意义。

水稻土壤的甲烷排放量是甲烷的形成量减去甲烷的氧化量,因此水稻土土壤中的甲烷氧化菌和产甲烷菌种群数量及其活性直接影响稻田土壤的甲烷排放量。本文报道通过对杭州华家池黄松田土壤、金华老黄筋泥田土壤和象山青紫泥田土壤中甲烷氧化菌、产甲烷菌种群数量及其活性变化和甲烷排放的观察、研究和探讨水稻土土壤中甲烷氧化菌、产甲烷细菌对水稻田甲烷排放量的影响及其相互关系。

1 材料和方法

1.1 微生物种群计数培养基的组成

甲烷氧化菌培养基:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.0g/L,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  2.9g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.32g/L,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3.0g/L, 矿质元素溶液<sup>[3]</sup> 10mL, 蒸馏水 990mL, pH6.8。

培养基好氧配制后,分装于厌氧试管中,每支装 4.5mL,然后用异丁基橡胶塞密封,以备加入甲烷气体。

产甲烷菌培养基  $\text{HCOONa}$  5g/L,  $\text{CH}_3\text{COONa}$  5g/L,  $\text{CH}_3\text{OH}$  5g/L,  $\text{H}_2/\text{CO}_2$  (80/20 v/v, 充满试管空间),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1g/L,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.4g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.4g/L, 半胱氨酸 0.5g/L, 刃天青 0.002g/L, 矿质元素溶液 10ml, 土壤浸提液<sup>[3]</sup> 300ml, 蒸馏水 690ml, pH 7.2。

培养基厌氧配制于厌氧试管中,每支 4.5ml,试管用异丁基橡胶塞密封,以备加氢气和二氧化碳气体。

固体培养基 上述培养基中加 2%的水洗琼脂<sup>[4]</sup>。

1.2 稻田土样的制备

分别采集发育于河流沉积物母质的华家池黄松田土、发育于第四纪红壤母质的金华老黄筋泥田土和发育于滨海盐土母质的象山青紫泥田土土样,它们的有关理化性状如表 1<sup>[5]</sup>。土样去除明显的碎石、有机残留物。然后称取 15kg 土样放置于 13L 塑料桶中(每种土样 3 只桶),然后加水至桶口,其中 2 只桶各种植 2 丛(每丛 2 株)水稻,1 只桶不种植水稻作对照。

表 1 黄松田土、老黄筋泥田土、青紫泥田土的主要理化性状

Table 1 The main physicochemical properties of soil samples tested

主要理化性状 Main physicochemical properties	有机质 (g/kg) Organic matter	全氮 (g/kg) Total nitrogen	C/N	全钾 (g/kg) Total potassium	全磷 (g/kg) Total phosphonium	pH*	机械组成(mm) Physical composition		
							2~0.02	0.02~0.002	<0.002
黄松田土									
HSRFS**	21.3	1.27	9.7	16.5	0.73	7.94	42.42	37.71	9.87
老黄筋泥田土									
OHJRFS**	25.7	1.49	9.7	12.0	0.36	6.32	29.85	42.44	27.75
青紫泥田土									
QZRFS**	37.3	2.19	9.9	20.0	0.52	7.61	19.49	42.80	37.71

\* pH 值由本研究利用 SPM-10A 数字酸度计测定。 \*\* HSRFS=Huangsong rice-field soil; OHJRFS=Old Huangjin rice-field soil; QZRFS=Qingzi rice-field soil

1.3 土样采取和处理

在对照桶中央或种植水稻植株中间各取 50g 左右的表层(1~7cm)土,去杂质混匀,然后称取 5g 混合土样,加入装有 45ml 的无菌生理盐水的 100ml 血清瓶中,振荡 10min,以 10 倍系列稀释法将土样悬液稀释。

1.4 培养和计数

采用滚管法测定土样中的甲烷氧化菌的种群数量,分别取  $0.5\text{ml } 10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$  的土样稀释液,接种于 3 支装有 4.5ml 已融化的  $45\sim 50\text{ }^{\circ}\text{C}$  甲烷氧化菌固体培养基中,立即滚管,然后每支试管中加入 5ml 甲烷气体,在  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温培养 7d,计数试管内菌落的数量(菌落数在  $100\sim 10$  以内试管作为计数试管);采用 MPN 法测定产甲烷菌种群的数量,取  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$  的土样稀释液 0.5ml,分别接种于 3 支装有 4.5ml 的产甲烷培养基中,然后加 0.1% $\text{Na}_2\text{S}$  和 5% $\text{NaHCO}_3$  混合液和 0.1ml 青霉素(50mg/ml),

在 30℃ 恒温培养 10d, 测试管中甲烷含量。

1.5 稻田土甲烷排放量的采集

用密封特制玻璃筒定时(24h), 定点(对照桶收集中央释放的甲烷量、种植水稻桶收集每丛水稻排放的甲烷量)收集水稻土排放的甲烷, 用注射器抽取气样, 然后用 102G 型气相层析仪氢焰检测器测气体中甲烷含量。在 4 月 1 日至 11 月 20 日期间每 7d 或 10d 采样测甲烷排放量, 然后根据甲烷排放量计算每一个土样、每一个时期内的水稻生长期甲烷排放量的平均值。

1.6 甲烷气体的气相色谱仪测定

利用 102G 型气相层析仪氢焰检测器检测甲烷含量。以 100% 纯甲烷气体作标准气体, 在 100ml 血清瓶中加入不同量的标准甲烷气体, 获得不同浓度的标准气体, 然后制作甲烷含量和峰高的标准曲线。样品中甲烷含量根据标准曲线进行计算。 $\text{CH}_4$  检测条件:  $\text{N}_2$  25ml/min,  $\text{H}_2$  60~70 ml/min, 空气 600~700 ml/min, 层析柱温 38℃, 担体 GDX-502, 出峰时间为 17s。

2 结果和讨论

2.1 稻田土中甲烷氧化菌(MOB)种群数量的变化

从表 2~表 5 可见水稻田土壤中 MOB 种群数量的范围在  $10^6 \sim 10^8 \text{cfu/g}$  干土, 其变化在 2 个数量级范围之内。表明水稻田的耕作和理化因子对 MOB 影响并不显著。通过统计分析发现, 在 3 种来源于不同发育母质的非淹水稻田土<sup>①</sup> 中, 黄松田土中平均值最高; 而在淹水稻田土<sup>①</sup> 中, 老黄筋泥田土中 MOB 种群数量平均值最高。但 3 种来源于不同发育母质的水稻田土壤中 MOB 种群数量的平均值之间无显著性差异。同一种水稻田土壤, 种水稻的淹水土壤 MOB 种群数量平均数要比没有种水稻的淹水土壤 MOB 平均数高, 但两者之间也没达到显著性差异; 种晚稻的淹水土壤中的 MOB 种群数量平均数要比早稻种植期间淹水稻田土壤中的 MOB 种群数量平均数高, 但两者之间也无显著性差异。在 4 月 1 日至 4 月 27 日非淹水稻田土壤及 4 月 27 日至 5 月 3 日淹水稻田土壤的 MOB 种群数量平均数最低, 和水稻生长期的 MOB 种群数量平均数之间达到显著性的差异。从统计分析表明, 影响水稻田土壤中甲烷氧化菌的主要因素是土壤中的甲烷含量及土壤中的氧含量。水稻的种植和土壤类型对 MOB 种群数量有明显影响, 水稻的种植与否对甲烷氧化菌种群的影响差异达到了显著性水平, 但土壤类型的影响没有达到显著性差异的水平。这些结果与 Gilbert<sup>[8]</sup> 和作者以前的研究结果相一致<sup>[6,10]</sup>。

2.2 稻田土中产甲烷菌(MPB)种群数量的变化

从表 2~表 4 和表 6 可见, 水稻田土壤中 MPB 种群数量变化较大, 其范围在  $10^3 \sim 10^7 \text{cfu/g}$  干土之间。统计分析表明, 黄松田土中 MPB 种群数量平均值最高, 老黄筋泥田土中的 MPB 种群数量平均值最低, 黄松田土和老黄筋泥田土 MPB 种群数量平均数之间有显著差异, 而两者与青紫泥田土 MPB 种群数量之间均没有达到显著差异水平。同一水稻田土壤, 种植水稻的淹水稻田土的 MPB 种群数量平均数比不种水稻的稻田土的 MPB 种群数量平均数要高, 但平均数之间没有达显著性差异。但以前的工作表明水稻根际土壤中的 MPB 种群数量较非根际土壤中的要高得多<sup>[6,10]</sup>。其原因可能是种植水稻的土样采自水稻植株之间的位点土壤, 而并非是水稻根际土壤之缘故。早稻生长期稻田土的 MPB 种群数量平均数要比晚稻生长期种植期间稻田土内 MPB 种群数量平均数要大, 且两者之间呈现极显著性差异。在水稻生长期, 以分蘖期和抽穗期间的 MPB 种群数量平均值最高, 而以秧苗移植后成活期及在成熟期且桶内无淹水时的 MPB 种群数量最低, 其 MPB 种群数量平均值之间达到极显著性差异。4 月 1 日~4 月 27 日的非淹水稻田土的 MPB 种群数量平均数最低, 和淹水土壤之间有极显著性差异。这一趋势在作者以前的研究中也观察到<sup>[6,10]</sup>。表明土壤的含氧量和水稻生长对 MPB 种群数量影响极为显著, 即厌氧环境和甲烷形成基质的提供是产甲烷细菌种群发育的首要条件。而不同土壤类型及土壤温度对 MPB 种群数量有明显影响但没有厌氧环境和基质提供的影响大。

——— 万方数据 ———

① 非淹水稻田土含水量为低于饱和状态稻田土的含水量; 淹水稻田土含水量为高于饱和状态稻田土的含水量。

表 2 早稻、晚稻种植对稻田土中甲烷氧化菌、产甲烷菌、甲烷排放量的影响差异分析

Table 2 Effects of earlier rice and latter rice on methanogens, methane-oxidizing bacteria and volume of the methane emission in rice field

测定项目① Tested type		甲烷氧化菌种群数量 Population of MOB (cfu/g dry soil)			产甲烷菌种群数量 Population of MPB (cfu/g dry soil)			甲烷排放量 Volume of the methane emission (mg/cm <sup>2</sup> . d)		
		变化范围 Variation	平均值 Average	差异显著性② Significance	变化范围 Variation	平均值 Average	差异显著性② Significance	变化范围 Variation	平均值 Average	差异显著性② Significance
黄松田土 HSRFS	早稻 E rice	3.51×10 <sup>7</sup> ~ 2.60×10 <sup>8</sup>	7.83×10 <sup>7</sup>	A	1.94×10 <sup>5</sup> ~ 5.35×10 <sup>7</sup>	1.26×10 <sup>7</sup>	B	0~5.68	1.92	A
	晚稻 L rice	5.92×10 <sup>7</sup> ~ 1.41×10 <sup>8</sup>			1.63×10 <sup>5</sup> ~ 1.70×10 <sup>7</sup>			0~1.72	0.94	
老黄筋泥田土 OHJRFS	早稻 E rice	1.41×10 <sup>7</sup> ~ 1.39×10 <sup>8</sup>	1.00×10 <sup>8</sup>	A	1.08×10 <sup>5</sup> ~ 1.77×10 <sup>7</sup>	3.61×10 <sup>6</sup>	B	0~9.76	2.74	B
	晚稻 L rice	3.87×10 <sup>7</sup> ~ 3.86×10 <sup>8</sup>			1.51×10 <sup>5</sup> ~ 7.38×10 <sup>6</sup>			0~1.03	0.49	
青紫泥田土 QZRFS	早稻 E rice	2.44×10 <sup>7</sup> ~ 2.12×10 <sup>8</sup>	1.27×10 <sup>8</sup>	A	7.55×10 <sup>4</sup> ~ 7.07×10 <sup>6</sup>	4.38×10 <sup>6</sup>	A	0~6.04	3.07	A
	晚稻 L rice	4.45×10 <sup>7</sup> ~ 3.47×10 <sup>8</sup>			5.08×10 <sup>4</sup> ~ 5.43×10 <sup>6</sup>			0~3.06	1.30	

①均为淹水土壤,② A:显著性差异, B:极显著性差异, C:无显著性差异

表 3 水稻种植对稻田土中甲烷氧化菌、产甲烷菌、甲烷排放量差异分析表

Table 3 Effect of planting rice on methanogens, methane-oxidizing bacteria and volume of the emission methane in rice field

测定项目 Tested type		甲烷氧化菌种群数量 Population of MOB (cfu/g dry soil)			产甲烷菌种群数量 Population of MPB (cfu/g dry soil)			甲烷排放量 Volume of the methane emission (mg/cm <sup>2</sup> . d)		
		变化范围 Variation	平均值 Average	差异显著性② Significance	变化范围 Variation	平均值 Average	差异显著性③ Significance	变化范围 Variation	平均值 Average	差异显著性③ Significance
黄松田土 HSRFS	淹水土不种水稻 SNPR①	3.34×10 <sup>7</sup> ~ 9.37×10 <sup>7</sup>	5.70×10 <sup>7</sup>	C	4.80×10 <sup>5</sup> ~ 1.70×10 <sup>7</sup>	4.14×10 <sup>6</sup>	C	3.34×10 <sup>-2</sup> ~ 2.46	0.71	A
	淹水土种水稻 SPR①	3.51×10 <sup>7</sup> ~ 2.60×10 <sup>8</sup>			1.63×10 <sup>5</sup> ~ 5.35×10 <sup>7</sup>			0~5.68	1.38	
老黄筋泥田土 OHJPFRS	淹水土不种水稻 SNPR①	3.27×10 <sup>7</sup> ~ 1.29×10 <sup>8</sup>	9.00×10 <sup>7</sup>	C	4.25×10 <sup>5</sup> ~ 6.05×10 <sup>6</sup>	1.60×10 <sup>6</sup>	C	1.79×10 <sup>-3</sup> ~ 2.97	1.09	A
	淹水土种水稻 SPR①	1.41×10 <sup>7</sup> ~ 3.86×10 <sup>8</sup>			1.08×10 <sup>5</sup> ~ 1.77×10 <sup>7</sup>			0~9.76	1.54	
青紫泥田土 QZRFS	淹水土不种水稻 SNPR①	1.31×10 <sup>2</sup> ~ 6.44×10 <sup>7</sup>	4.59×10 <sup>7</sup>	C	2.06×10 <sup>5</sup> ~ 6.35×10 <sup>6</sup>	1.92×10 <sup>6</sup>	C	1.37×10 <sup>-3</sup> ~ 3.73	1.22	A
	淹水土种水稻 SPR①	2.44×10 <sup>7</sup> ~ 3.47×10 <sup>8</sup>			5.08×10 <sup>4</sup> ~ 7.07×10 <sup>6</sup>			0~6.04	2.07	

①SNPR= 淹水土不种水稻 and non-planted rice; SPR= Submerged and planted rice.

②A:显著性差异 B:极显著性差异 C:无显著性差异

表 4 淹水对稻田土中甲烷氧化菌、产甲烷菌、甲烷排放量差异分析表

Table 4 Effect of submerging on methanogens, methane-oxidizing bacteria and volume of the methane emission in rice field

测定项目 <sup>①</sup> Tested type		甲烷氧化菌种群数量 Population of MOB (cfu/g dry soil)			产甲烷菌种群数量 Population of MPB (cfu/g dry soil)			甲烷排放量 Volume of the methane emission (mg/cm <sup>2</sup> . d)		
		变化范围 Variation	平均值 Average	差异显著性 <sup>②</sup> Significance	变化范围 Variation	平均值 Average	差异显著性 <sup>③</sup> Significance	变化范围 Variation	平均值 Average	差异显著性 <sup>③</sup> Significance
黄松田土 HSRFS	非淹水稻	9.88×10 <sup>6</sup> ~	1.55×10 <sup>7</sup>	C	1.83×10 <sup>4</sup> ~	3.94×10 <sup>4</sup>	B	0	0	B
	田土 NS <sup>③</sup>	3.42×10 <sup>7</sup>			5.92×10 <sup>4</sup>			3.34 × 10 <sup>-2</sup> ~ 2.46		
	不种水稻 的淹水土 SPR <sup>①</sup>	3.34×10 <sup>7</sup> ~ 9.37×10 <sup>7</sup>			4.80×10 <sup>5</sup> ~ 1.70×10 <sup>7</sup>					
老黄筋 泥田土 OHJPRFS	非淹水稻	1.90×10 <sup>6</sup> ~	3.57×10 <sup>6</sup>	A	8.34×10 <sup>3</sup> ~	9.71×10 <sup>3</sup>	B	0	0	B
	田土 NS	5.35×10 <sup>6</sup>			1.15×10 <sup>4</sup>			1.79 × 10 <sup>-3</sup> ~ 2.97		
	不种水稻 的淹水土 SPR	3.27×10 <sup>7</sup> ~ 1.29×10 <sup>8</sup>			4.25×10 <sup>5</sup> ~ 6.05×10 <sup>6</sup>					
青紫泥田土 QZRFS	非淹水稻	3.58×10 <sup>6</sup> ~	6.38×10 <sup>6</sup>	A	2.37×10 <sup>3</sup> ~	4.62×10 <sup>3</sup>	B	0	0	B
	田土 NS	1.33×10 <sup>7</sup>			7.52×10 <sup>3</sup>			1.37 × 10 <sup>-3</sup> ~ 3.73		
	不种水稻 的淹水土 SPRa	1.33×10 <sup>7</sup> ~ 6.44×10 <sup>7</sup>			2.06×10 <sup>5</sup> ~ 6.35×10 <sup>6</sup>					

①NS=Non-submerged; SPR= Submerged and nom-planted rice. ② A;显著性差异 B;极显著性差异 C;无显著性差异

表 5 不同稻田土中甲烷氧化菌种群数量(cfu/g 干土)差异分析

Table 5 Effect of different type of soil on population of methane-oxidizing bacteria (cfu/g dry soil)

土样 Soil sample	非淹水稻田土 (4/1~4/27) Non-submerged		不种水稻淹水稻田土 (4/28~11/20) Submerged and non-planted rice		种早稻淹水稻田土 (4/28~7/22) Submerged and planted earlier rice		种晚稻淹水稻田土 (7/22~11/20) Submerged and planted latter rice		种水稻淹水稻田土 (4/28~11/20) Submerged and planted rice	
	平均值 Av	差异显著性* Si	平均值 Av	差异显著性* Si	平均值 Av	差异显著性* Si	平均值 Av	差异显著性* Si	平均值 Av	差异显著性* Si
黄松田土 HSRFS	1.55×10 <sup>7</sup>	a	5.70×10 <sup>7</sup>	a	7.83×10 <sup>7</sup>	b	1.05×10 <sup>8</sup>	b	9.56×10 <sup>7</sup>	a
老黄筋泥田土 OHJRFS	3.57×10 <sup>6</sup>	b	9.00×10 <sup>7</sup>	a	1.00×10 <sup>8</sup>	ab	2.01×10 <sup>8</sup>	a	1.17×10 <sup>7</sup>	a
青紫泥田土 QZRFS	6.38×10 <sup>6</sup>	b	4.59×10 <sup>7</sup>	a	1.27×10 <sup>8</sup>	a	2.38×10 <sup>8</sup>	a	9.32×10 <sup>7</sup>	a

\* a 和 a,b 和 b,c 和 c 之间无显著差异;a 与 b 之间有显著差异。Av = average, Si = significance.

\*\* HSRFS= Huangsong rice-field soil; OHJRFS=Old Huangjin rice-field soil; QZRFS=Qingzi rice-field soil.

2.3 水稻田土甲烷排放量变化

从表 2~表 4 及表 7 可见,稻田土壤甲烷排放量变化范围很大,从 0~9.76 mg/(cm<sup>2</sup>·d)。统计分析表明,青紫泥田土甲烷排放量每天平均排放量要比老黄筋泥田土和黄松田土要高,青紫泥田土和黄松田土的甲烷每天平均排放量之间达到显著性差异。同一稻田土,种植水稻后的淹水土比不种水稻淹水土土壤的甲烷每天

表 6 不同稻田土壤中产甲烷细菌种群数量(cfu/g 干土)差异分析

Table 6 Effect of different type of soils on methanogens (cfu/g dry soil)										
土样 Soil sample	非淹水稻田土 (4/1~4/27) Non-submerged		不种水稻淹水稻田土 (4/28~11/20) Submerged and non-planted rice		种早稻淹水稻田土 (4/28~7/22) Submerged and planted earlier rice		种晚稻淹水稻田土 (7/22~11/20) Submerged and planted latter rice		种水稻淹水稻田土 (4/28~11/20) Submerged and planted rice	
	平均值	差异显著性*	平均值	差异显著性*	平均值	差异显著性*	平均值	差异显著性*	平均值	差异显著性*
	Av	Si	Av	Si	Av	Si	Av	Si	Av	Si
黄松田土 HSRFS <sup>a*</sup>	3.94×10 <sup>4</sup>	a	4.14×10 <sup>6</sup>	a	1.26×10 <sup>7</sup>	a	7.22×10 <sup>6</sup>	a	8.57×10 <sup>6</sup>	a
老黄筋泥田土 OHJRF <sup>a*</sup>	9.71×10 <sup>3</sup>	ab	1.60×10 <sup>6</sup>	a	3.61×10 <sup>6</sup>	b	4.50×10 <sup>5</sup>	c	1.54×10 <sup>6</sup>	b
青紫泥田土 QZRFS <sup>a*</sup>	4.62×10 <sup>3</sup>	b	1.92×10 <sup>6</sup>	a	4.38×10 <sup>6</sup>	b	1.52×10 <sup>6</sup>	b	2.17×10 <sup>6</sup>	b

\* a 和 a、b 和 b、c 和 c 之间无显著差异;a 与 b、b 与 c 之间有显著差异;a 与 c 之间有极显著性差异;Av = average, Si = significance

表 7 不同稻田土壤的甲烷排放通量(mg/(cm<sup>2</sup>·d))差异性分析表

Table 7 Effect of different type of soil on volume of the methane emission (mg/(cm <sup>2</sup> ·d))										
土样 Soil sample	非淹水稻田土 (4/1~4/27) Non-submerged		不种水稻淹水稻田土 (4/28~11/20) Submerged and non-planted rice		种早稻淹水稻田土 (4/28~7/22) Submerged and planted earlier rice		种晚稻淹水稻田土 (7/22~11/20) Submerged and planted latter rice		种水稻淹水稻田土 (4/28~11/20) Submerged and planted rice	
	平均值	差异显著性*	平均值	差异显著性*	平均值	差异显著性*	平均值	差异显著性*	平均值	差异显著性*
	Av	Si	Av	Si	Av	Si	Av	Si	Av	Si
黄松田土 HSRFS	0	a	0.71	b	1.92	c	0.94	ab	1.38	b
老黄筋泥田土 OHJRF <sup>a*</sup>	0	a	1.09	ab	2.74	ab	0.49	b	1.54	b
青紫泥田土 QZRFS	0	a	1.22	a	3.07	a	1.30	a	2.07	a

\* a 和 a、b 和 b、c 和 c 之间无显著差异;a 与 b、b 与 c 之间有显著差异;a 与 c 之间有极显著性差异;Av = average, Si = significance

平均排放量要高得多,二者之间达到显著性差异。早稻生长期间淹水稻田土甲烷每天平均排放量要比晚稻生长期间淹水稻田土甲烷每天平均排放量要高,二者之间有显著性差异或极显著性差异。在水稻不同生长期间,以早稻抽穗期甲烷每天平均排放量最高,和其它早稻生长期间排放量相比有显著或极显著性差异。而晚稻则以分蘖盛期甲烷每天平均排放量最高,与晚稻生长其他期间的甲烷每天平均排放量有显著或极显著性差异。早稻成活期的甲烷每天平均排放量在早稻各生长期中最低,而晚稻则是成熟期间的甲烷每天平均排放量最低,这与早、晚稻生长期间温度变化趋势一致。

2.4 稻田土壤中甲烷氧化菌和产甲烷菌种群数量与甲烷排放量之间相互关系

通过对表 2~表 4 分析比较可见,水稻田土壤的甲烷排放量受到水稻田土壤中甲烷氧化菌及其活性、产甲烷菌及其活性、土壤理化性状、土壤温度等影响。当水稻田土壤中 MPB 种群数量低于 104cfu/g 干土时,水稻田土中几乎无甲烷排放。土壤中甲烷氧化菌不仅氧化消耗了几乎所有土壤中产甲烷细菌所产的甲



烷。当土壤中 MPB 种群数量在  $10^5\text{cfu/g}$  干土左右和 MOB 种群数量在  $10^8\text{cfu/g}$  干土左右时,水稻田土壤的甲烷排放量很低甚至难以检测到。当土壤中 MPB 种群数量大于  $10^5\text{cfu/g}$  干土时,稻田土中可有多余甲烷排放。

对照表 1 和表 7,可见水田土壤  $\text{CH}_4$  排放量与土壤中直径 $<0.02\text{mm}$  砂粒的含量之间也呈显著正相关性。在本系列研究中对不同土壤质地和机械组成对土壤甲烷氧化活性影响的研究时,也观察到甲烷氧化活性与直径在  $2\sim0.02\text{mm}$  的土壤颗粒含量呈正相关,而与直径 $<0.002\text{mm}$  的土壤颗粒含量呈负相关。这可能是尽管黄松田土( $<0.02\text{mm}$  的颗粒占  $57.58\%$ )中 MPB 种群数量平均数比青紫泥田土中的 MPB 种群数量要大,但土壤甲烷氧化活性比青紫泥田土( $<0.02\text{mm}$  的颗粒占  $80.51\%$ )的高得多,从而导致了黄松田土的甲烷排放量比青紫泥田土的甲烷排放量要低。Sass 等<sup>[7]</sup>提出了土壤甲烷排放量与土壤含砂粒量之间的相关方程, $Y=10.40+0.718X$ ,式中  $Y$  为  $\text{CH}_4$  排放通量( $\text{g}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ ), $X$  为砂粒含量( $\%$ )。表 2 表明土壤温度对 MOB 种群数量影响不明显,但对 MPB 种群数量和甲烷排放量却有明显影响。稻田土中的含氧量(含水量)及甲烷含量是影响稻田土中 MOB 种群数量的主要因素;而影响稻田土中 MPB 种群数量的主要因素有土壤含水量(厌氧环境)、水稻生长及土壤温度等。可见水稻田土壤中甲烷排放量受到 MPB 和 MOB 种群数量及其活性、土壤理化性状和土壤温度等影响。

参考文献

[ 1 ] Watson R T, *et al.* IPCC. Climate Change. In:WHO/UNEP. eds. *The Supplementary Report to the IPCC Scientific Assessment*. 1992.

[ 2 ] 闵航,等.我国不同地区稻田甲烷排放量及控制措施研究. *农业环境保护*,1998,**17**(1):1~7.

[ 3 ] 钱泽澍,闵航,编著.沼气发酵微生物学.杭州:浙江科学技术出版社,1986.

[ 4 ] 赵树杰,汤蕴玉,邵启蔚.一株甲烷氧化菌的分离和某些特性. *微生物学报*,1981,**21**(3):271~277.

[ 5 ] 浙江省土壤普查办公室编.浙江土壤.杭州:浙江科学技术出版社,1994.103~376.

[ 6 ] Min Hang, *et al.* Methanogens in paddy rice soil. *Nutrient Cycling in Agro-Ecosystems*,1997,**49**:143~148.

[ 7 ] Sass R L, *et al.* Methane from irrigated rice cultivation. *Current Topics in Wetland Biogeochemistry*,1996,**2**:24~39.

[ 8 ] Gilbert B and Frenzel P. Rice roots and  $\text{CH}_4$  oxidation; the activity of bacteria, their distribution and the microenvironment. *Soil Biol. Biochem.*, 1998,**30**(14): 1903~1916.

[ 9 ] Hanso RS and Hanson T E. Methantrophic Bacteria. *Microbiological Reviews.*, 1996,**60**(2):439~471.

[ 10 ] Min Hang and Chen MeiCi. Effect of Land use history on methane emission and methanogenic flora in flooded soils. *Pedosphere*, 1996,**6**(1): 73~80.