

DOI: 10.5846/stxb201605030834

胡敏杰, 邹芳芳, 任鹏, 黄佳芳, 李冬冬, 全川. 闽江河口湿地土壤甲烷产生与氧化速率对外源氮、硫添加的响应. 生态学报, 2017, 37(1): - .
Hu Minjie^{1,2}, Zou Fangfang³, Ren Peng^{1,2}, Huang Jiafang^{1,2,4}, Li Dongdong^{1,2}, Tong C. Effects of nitrogen and sulfate additions on methane production and oxidation in the Min River estuarine marsh. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(1): - .

闽江河口湿地土壤甲烷产生与氧化速率对外源氮、硫添加的响应

胡敏杰^{1,2}, 邹芳芳³, 任鹏^{1,2}, 黄佳芳^{1,2,4}, 李冬冬^{1,2}, 全川^{1,2,4,*}

1 福建师范大学地理科学学院, 福州 350007

2 福建师范大学亚热带湿地研究中心, 福州 350007

3 福建农林大学安溪茶学院, 福州 350002

4 福建师范大学湿润亚热带生态-地理过程教育部重点实验室, 福州 350007

摘要: 通过室内培养实验, 研究了外源氮、硫添加对闽江河口湿地土壤 CH_4 产生/氧化速率以及土壤理化性质的短期影响。 NH_4Cl (N1) 和 NH_4NO_3 (N3) 处理在各培养阶段均显著促进土壤 CH_4 产生速率 ($P < 0.05$), 较对照分别提高 136.70% 和 136.55%; $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{K}_2\text{SO}_4$ (NS1) 和 $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{K}_2\text{SO}_4$ (NS3) 处理在培养第 3、6、12、15 和 18 天均显著促进了 CH_4 产生速率 ($P < 0.05$)。 KNO_3 (N2)、 K_2SO_4 (S) 处理在不同培养时间对 CH_4 产生速率影响均不显著 ($P > 0.05$); $\text{KNO}_3 + \text{K}_2\text{SO}_4$ (NS2) 处理除在第 21 天外 ($P < 0.05$), 其他时间影响均不显著 ($P > 0.05$)。 N2、N3、NS2 和 NS3 处理均显著促进了土壤 CH_4 氧化速率 ($P < 0.05$), 平均 CH_4 氧化速率较 CK 分别提高了 145.30%、142.93%、139.48% 和 112.68%。 整体而言, 不同添加处理并没有显著改变湿地土壤 CH_4 产生/氧化速率的时间变化规律, 各处理均表现为随培养时间先增加而后逐渐降低。 短期培养结束后, 土壤可溶性有机碳 (DOC)、电导率、pH 值在不同处理间均不存在显著差异 ($P > 0.05$); 土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量在 N1、N3、NS1 和 NS3 处理下, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量在 N2、N3、NS2 和 NS3 处理下, SO_4^{2-} 含量在 S、NS1、NS2 和 NS3 处理下均显著高于对照处理 ($P < 0.05$)。 相关分析显示, DOC、铵态氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) 和硝态氮 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) 是氮、硫添加处理下影响闽江河口湿地土壤 CH_4 产生/氧化速率短期变化的主要控制因素。

关键词: 产生/氧化速率; 甲烷; 氮、硫添加; 潮汐湿地; 闽江河口

Effects of nitrogen and sulfate additions on methane production and oxidation in the Min River estuarine marsh

HU Minjie^{1,2}, ZOU Fangfang³, REN Peng^{1,2}, HUANG Jiafang^{1,2,4}, LI Dongdong^{1,2}, TONG Chuan^{1,2,4,*}

1 School of Geographical Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China

2 Research Centre of Wetlands in Subtropical Region, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China

3 School of Tea, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

4 Key Laboratory of Humid Sub-tropical Eco-geographical Process of the Ministry of Education, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China

Abstract: Methane (CH_4) is a major greenhouse gas (GHG), accounting for approximately 17% of global warming, with a relative global warming potential 34 times more powerful than carbon dioxide (CO_2) on a mass basis. Wetland systems are considered to be the largest natural source of CH_4 emitted to the atmosphere, with CH_4 fluxes determined through analysis the balance of CH_4 production by methanogens under anoxic conditions, and CH_4 oxidation by methanotrophs under aerobic conditions. Human activities, such as fossil-fuel combustion and nitrogen fertilizer application, have resulted in much

基金项目: 福建省基本科研专项重点项目 (2014R1034-1); 国家自然科学基金面上基金项目 (41371127); 福建师范大学亚热带河口生物地球化学创新团队项目 (IRTL1205); 福建师范大学地理科学学院研究生创新基金项目

收稿日期: 2016-05-03; 修订日期: 2016-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: tongch@fjnu.edu.cn

higher nitrogen and sulfate loads in wetlands. Although estuarine tidal marshes are important contributors to GHG emissions, the relationships between CH_4 production, oxidation, and nitrogen and sulfate enrichment have not been thoroughly investigated in these environments. Using laboratory incubation techniques, the short-term effects of nitrogen and sulfate addition on soil CH_4 production and oxidation of the tidal *Cyperus malaccensis* wetlands of the Min River estuary were measured in July 2015, and the soil physical and chemical properties were examined following nitrogen and sulfate treatments. Under anoxic conditions, CH_4 production rates in the NH_4Cl (N1) and NH_4NO_3 (N3) treatments at different stages increased by 136.70% and 136.55%, respectively, which were significantly higher than in the control treatment ($P < 0.05$). CH_4 production rates in soils under the $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{K}_2\text{SO}_4$ (NS1) and $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{K}_2\text{SO}_4$ (NS1) treatments increased after the 3rd, 6th, 12th, 15th, and 18th days following incubation. However, there were no significant differences in the KNO_3 (N2), K_2SO_4 (S), and $\text{KNO}_3 + \text{K}_2\text{SO}_4$ (NS2) treatments compared with the control. Under aerobic conditions, CH_4 oxidation rates in the N2, N3, NS2, and NS3 treatments increased by 145.30%, 142.93%, 139.48%, and 112.68%, respectively, compared with the control, whereas CH_4 oxidation rates in the N1 and S treatments decreased by 16.54% and 20.99%, respectively, compared to the control treatment, although no significant differences were observed across the treatments. During the incubation period, daily CH_4 production and oxidation initially increased with incubation time but then decreased in different nitrogen and sulfate treatments, with the magnitudes of both CH_4 production and oxidation exhibiting similar temporal patterns across treatments. There were no significant differences in soil dissolved organic carbon (DOC), electrical conductivity, and pH among the different treatments ($P < 0.05$) following short-term incubation; however, ammonium nitrogen ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) concentrations increased significantly in the N1, N3, NS1, and NS3 treatments ($P < 0.05$); nitrate nitrogen ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) concentrations increased significantly in soils under the N2, N3, NS2, and NS3 ($P < 0.05$); and sulfate (SO_4^{2-}) concentrations increased significantly in soils under the S, NS1, NS2, and NS3 treatments ($P < 0.05$). Correlation analyses indicated that DOC, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ were the main driving factors influencing the production and oxidation of CH_4 in the Min River estuary tidal wetlands.

Key Words: production and oxidation; methane; nitrogen and sulfate addition; tidal wetlands; Min River estuary

CH_4 作为重要的温室气体,其在100年时间尺度上的增温效应是 CO_2 的34倍,自1750年以来,其浓度增加了105%,达到了 1803×10^{-9} ^[1]。研究已证实,土壤是 CH_4 最重要的“源”或“汇”^[2],源/汇功能的转换主要取决于厌氧环境下甲烷产生菌产生的 CH_4 和好氧环境下甲烷氧化菌吸收的 CH_4 间的平衡^[3],土壤环境条件的微小变化都会引起 CH_4 产生、氧化过程的显著变化。自工业革命以来,人类活动已显著改变了全球氮、硫循环^[4-5]。尤其是我国氮、硫沉降不断增强,已成为继欧美之后世界第3大氮、硫沉降区^[6-7]。探讨 CH_4 产生、氧化过程及其对外源氮、硫添加的响应,对于估算和揭示全球变化背景下生态系统 CH_4 排放及其关键机制具有重要意义。

湿地是地球陆地表面碳密度最高的生态系统, CH_4 是湿地土壤碳输出的重要途径,土壤碳循环过程的微小改变都会对 CH_4 代谢过程产生显著影响^[8]。外源氮、硫添加是影响 CH_4 代谢过程的关键因素之一^[9]。目前,关于氮输入对湿地 CH_4 代谢过程影响的研究已有很多,主要集中在水稻田、泥炭地以及河口湿地等生态系统,研究结论存在促进、抑制和影响不显著等情况^[9]。Bodelier等^[10]发现,尿素施加促进了水稻田根际土壤 CH_4 氧化;Kravchenko^[11]发现,硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)和亚硝态氮($\text{NO}_2^-\text{-N}$)添加显著抑制了北方泥炭湿地 CH_4 氧化,铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)的抑制作用不明显。姜欢欢等^[12]在黄河口滨海湿地发现, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 添加促进了碱蓬盐沼土壤 CH_4 产生, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 添加则相反。Aronson等发现^[13],在森林沼泽施加 NH_4NO_3 增加了土壤中产甲烷菌活性,从而促进 CH_4 产生。由此可知,氮输入对 CH_4 代谢过程的影响具有明显的不确定性,尤其是不同的氮输入类型、剂量以及生态系统类型间的影响差异显著。目前,关于硫添加对于湿地土壤 CH_4 排放的影响研究主要集中在

模拟 SO_4^{2-} 输入对于北方泥炭湿地和水稻田 CH_4 排放通量的影响^[5,9], 研究结果均表明 SO_4^{2-} 输入对 CH_4 排放通量具有较明显的抑制作用。这主要是因为, 与甲烷产生相同, 硫酸盐还原同样是厌氧环境下有机底物矿化的一个重要终端过程, 并且硫酸盐还原菌 (SRB) 与醋酸和 H_2 等底物的亲和力更好, 从而在底物竞争中战胜 CH_4 产生过程, 抑制 CH_4 产生^[9]。目前, 关于氮添加对湿地 CH_4 代谢过程的影响研究已较多, 但结论存在明显分歧; 而有关硫添加的影响研究主要集中在水稻田和泥炭湿地, 并且主要集中在 CH_4 产生的研究上, 对于滨海潮汐湿地及其 CH_4 氧化研究还未见报道。此外, 关于氮、硫耦合作用对天然湿地 CH_4 代谢过程的研究还鲜有报道, 相关研究对于氮、硫输入日益增加背景下 CH_4 代谢过程及其通量估算具有重要意义。

滨海河口湿地处于海陆交互地带, 是对全球变化和人类活动响应敏感的生态系统^[14]。作为陆源营养物质进入滨海的最后一道生态屏障, 河口沼泽湿地在营养物入海之前可吸纳大量的氮、硫等物质, 从而扮演着一个十分重要的缓冲带角色。近年来, 由于人类活动强度的不断提升导致沿海流域向受纳河口输出的氮、硫通量不断增加。入海河口区氮、硫负荷增强已成为改变河口/滨海湿地生态系统最重要的因素之一^[15-16], 氮、硫负荷增强对河口沼泽湿地生物地球化学循环的影响研究也成为当前全球环境研究的热点^[17-18]。闽江地处中亚热带与南亚热带过渡区, 是我国重要入海河流之一。闽江口鳔鱼滩湿地是闽江流域最大的自然湿地, 承接来自中上游排放以及潮汐携带的大量含氮、硫物质。研究土壤 CH_4 代谢过程对于这种高氮、硫, 尤其是不同形态氮、硫添加的响应, 对于认识河口湿地土壤碳氮循环过程及其对环境变化的响应具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

闽江河口鳔鱼滩湿地是福建省闽江河口湿地自然保护区内面积最大的自然湿地 ($26^{\circ}00'36''$ — $26^{\circ}03'42''$ N, $119^{\circ}34'12''$ — $119^{\circ}40'40''$ E)。该区气候属亚热带海洋性季风气候, 温暖湿润。潮汐属典型半日潮, 是典型的开放式感潮河口。土壤以滨海盐土为主^[17]。芦苇 (*Phragmites australis*)、短叶茼蒿 (*Cyperus malaccensis* var. *brevifolius*) 和蘆草 (*Scirpus triquetus*) 是该区的土著优势植物, 相互之间呈斑块状镶嵌分布。本研究在鳔鱼滩湿地西侧高潮滩短叶茼蒿湿地选择一个典型样区进行土样采集, 其基本理化性质见表 1。

表 1 闽江河口潮汐湿地土壤基本理化性质

Table 1 Physicochemical characteristics of the soils in the Min River estuary

土层 Soil layer/cm	pH	电导率 Electrical conductivity/ (mS/cm)	含水率 Moisture/%	全碳 Total carbon/ (g/kg)	可溶性有机碳 Dissolved organic carbon/ (mg/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	铵态氮 Ammonium nitrogen/ (mg/kg)	硝态氮 Nitrate nitrogen/ (mg/kg)
0—15	6.65±0.01	2.01±0.12	68.17±5.99	25.47±0.04	207.13±0.71	2.46±0.01	15.40±0.03	1.97±0.04

表中数值为均值±标准误差; 原位土样采集时间为 2015 年 7 月; $n=10$

1.2 土样采集与氮、硫添加

2015 年 7 月, 在闽江河口鳔鱼滩短叶茼蒿潮汐湿地采用多点混合的方法, 多点采集 0—15cm 土层土壤, 去除表层腐质层后混合在一起。将采集的土样用自封袋密封带回实验室, 自然风干后剔除根系和砂砾, 分别过 10 目和 100 目筛, 一部分用于测定土壤基本理化指标 (作为背景值), 另一部分用于培养实验。

选定的氮、硫形态为氯化铵 (NH_4Cl)、硝酸钾 (KNO_3)、硝酸铵 (NH_4NO_3)、硫酸钾 (K_2SO_4)。为了评估未来氮、硫负荷日益增强对 CH_4 通量的影响, 本研究结合国内外同类研究^[19-20]以及闽江河口区实际氮、硫沉降量 ($7.9 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 和 $8.6 \text{ g S m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$), 按照偏高标准进行氮、硫添加。其中 N 添加设置 3 个类型, 分别为 500 ($\text{NH}_4\text{Cl}:\text{N1}$), 500 ($\text{KNO}_3:\text{N2}$), 500 ($\text{NH}_4\text{NO}_3:\text{N3}$) $\mu\text{g N g}^{-1} \cdot \text{d.w.s.}$; S 添加设置 1 个类型, 500 ($\text{K}_2\text{SO}_4:\text{S}$) $\mu\text{g S g}^{-1} \cdot \text{d.w.s.}$; NS 耦合添加设置 3 个类型, 分别为 500 ($\text{NH}_4\text{Cl}+\text{K}_2\text{SO}_4:\text{NS1}$)、500 ($\text{KNO}_3+\text{K}_2\text{SO}_4:\text{NS2}$)、500 ($\text{NH}_4\text{NO}_3+\text{K}_2\text{SO}_4:\text{NS3}$) $\mu\text{g N/S g}^{-1} \cdot \text{d.w.s.}$, 氮、硫耦合添加按 1:1 配比; 另设一个对照处理组 (CK), 共计 8 个处理, 每个处理 3 个重复。

1.3 室内培养与测定

实验室厌氧培养法是目前最为普遍的 CH_4 产生速率测定方法。为使本底均质,本研究采用干土配置泥浆的方法进行培养试验。称取过 10 目筛土样 20 g 放入到 200 mL 玻璃培养瓶中,按原位土壤实际含水率(表 1)1 次分别添加不同类型含氮、硫溶液到培养瓶内(添加量见 1.2 节),使用磁力搅拌器使样品混合均匀成泥浆状,对照则添加同等容量的蒸馏水。在培养试验开始前,将上述培养瓶在培养温度下预培养 1 d。预培养结束后,将培养瓶用硅橡胶塞密封,并提前在硅橡胶塞中间打 2 个孔,插入玻璃管,1 根长度以接近泥浆表层为宜(不要插入泥浆),作为氮气(N_2)进口;另 1 根较短,稍稍插入培养瓶即可,作为 CH_4 出口和气体取样口。然后用纯 N_2 (99.99%) 通过上述 N_2 进口玻璃管对培养瓶进行冲洗 10 min 直至厌氧状态^[21],立即测定 CH_4 浓度作为其初始浓度。然后,在采样地夏季平均温度下(28.5℃)室内培养 21 d,期间每天用气密针从培养瓶顶部抽取气样(每次 2 mL 气体),每 3 天算作一个通量,共 7 个通量^[22]。每次抽气前,用力摇晃培养瓶 30 s,使瓶内 CH_4 浓度平衡。使用气相色谱(Shimadzu GC—2010, Japan)测定 CH_4 气体浓度。由于连续培养可能产生较高浓度的 CH_4 ,因此培养期间分成几个时间段进行,每 3 天算作一个阶段,每阶段结束后重新进行 N_2 冲洗。

CH_4 氧化速率测定主要采用有氧氧化的方法进行。前期操作同上述 CH_4 产生速率测定。不同的是,预培养结束后,将培养瓶用硅橡胶塞密封,随后通过长玻璃管向瓶内注入 2 mL 纯甲烷,立即测定 CH_4 浓度作为其初始浓度。在采样平均温度下(28.5℃)培养 21 d,期间每天用气密针从培养瓶顶部抽取气样(每次 2 mL 气体),每 3 天算作一个通量,共 7 个通量^[22]。每次抽气前,用力摇晃培养瓶 30 s,使瓶内 CH_4 浓度平衡。使用气相色谱(Shimadzu GC—2010, Japan)测定 CH_4 气体浓度。由于连续培养可能使培养瓶内气压失衡,因此培养期间分成几个时间段进行,每 3 天算作一个阶段,每阶段结束后重新向培养瓶内注入纯 CH_4 继续培养。

1.4 土壤理化指标测定

背景土壤指标中,土壤 pH 采用 IQ150 便携式 pH 仪(IQ Scientific Instruments, USA)测定;土温、电导率(EC)采用 2265FS 便携式电导/温度计(Spectrum Technologies Inc, USA)测定;含水率用烘干法测定。土壤全碳(TC)、全氮(TN)使用碳氮元素分析仪测定(vario MAX, 德国),无机氮经 2mol/L KCl 浸提后使用连续流动分析仪(Skalar San⁺⁺, 荷兰)测定。

整个培养期结束后,将一部分样品加去离子水至水土比 5:1, 25℃ 振荡半小时后离心,取上清液过 0.22 μm 滤膜,测定溶液中可溶性有机碳(DOC)、 SO_4^{2-} 和 Cl^- 含量,其中土壤 DOC 使用 TOC-V_{CPH} 总有机碳分析仪(Shimadzu, Japan)测定, SO_4^{2-} 和 Cl^- 使用 ICS—2100 离子色谱仪(DIONEX, USA)测定;另一部分样品则使用 KCl 浸提的方法,使用连续流动分析仪测定无机氮含量。

1.5 数据处理与分析

利用 EXCEL 2007、SPSS17.0 对数据进行分析处理,利用 Origin8.0 对数据作图。 CH_4 产生/氧化速率增长百分率是指以对照处理为基准,观察氮、硫添加处理下的 CH_4 产生/氧化速率较对照处理的增长百分比(%),百分比为正值即为正增长,反之为负增长。

2 结果

2.1 土壤 CH_4 产生速率

氮、硫添加对闽江河口湿地土壤 CH_4 产生速率的影响随时间变化存在差异(图 1A)。与 CK 相比, N1 和 N3 处理在各培养阶段均显著促进了土壤 CH_4 产生速率($P < 0.05$), 均值较 CK 分别提高了 136.70% 和 136.55%; NS1 和 NS3 处理在培养第 3、6、12、15 和 18 天均显著促进了 CH_4 产生速率($P < 0.05$)。N2 和 S 处理组在不同培养时间影响均不显著($P > 0.05$); NS2 处理除在第 21 天外($P < 0.05$), 其他时间影响均不显著($P > 0.05$)。

整体而言,不同添加处理并没有显著改变湿地土壤 CH_4 产生速率的时间变化趋势,不同添加处理下土壤 CH_4 产生速率均表现为随培养时间先逐渐增加而后逐渐降低的变化规律(图 1A), 高峰值均发生在培养第 12

和 15 天。不同时间尺度上,不同添加处理对 CH_4 产生速率的最大促进作用均发生在培养前 3 天,并且影响随着培养时间的增加而逐渐减小,直至无影响(图 1B)。第 9—15 天各处理对土壤 CH_4 产生速率的促进作用趋于平稳,但第 18 天 N1、N3、NS1 和 NS3 处理的促进作用又出现一个峰值,到第 21 天各处理基本无影响(图 1B)。

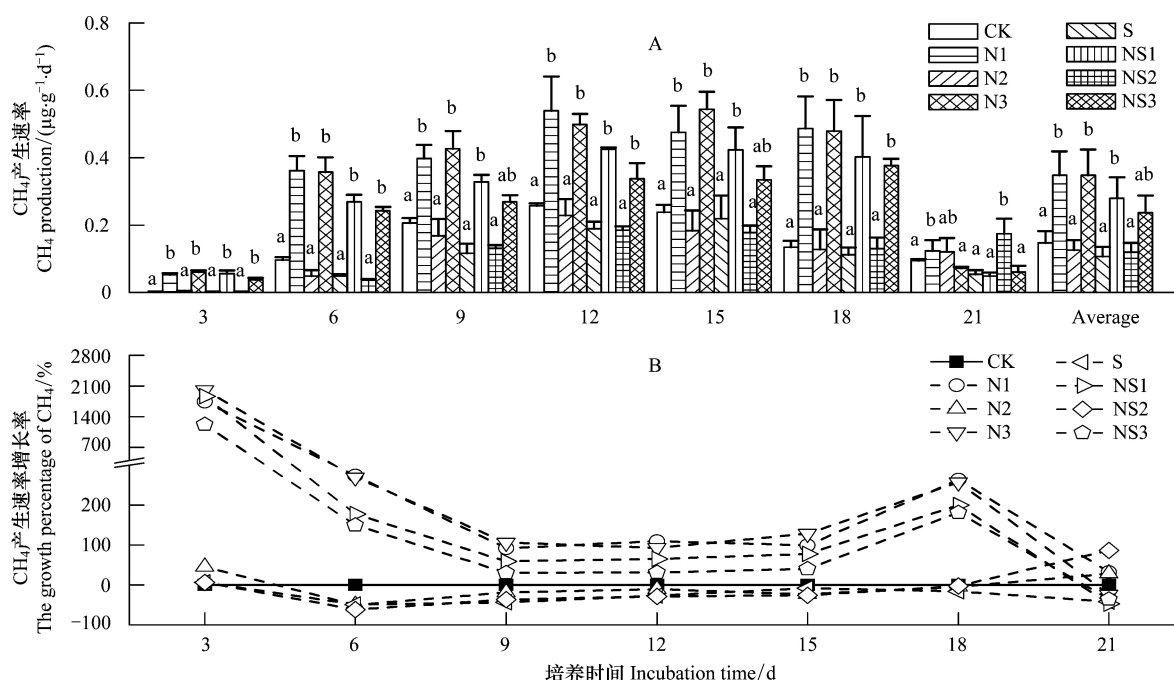


图 1 氮、硫添加对闽江河口湿地土壤 CH_4 产生速率的影响及其增长百分率

Fig.1 Effects of nitrogen and sulfate addition on CH_4 production rate and the growth percentage

2.2 土壤 CH_4 氧化速率

整个培养期间,氮、硫添加对土壤 CH_4 氧化速率的影响存在促进、抑制和影响不显著等情况(图 2A)。与 CK 相比, N2、N3、NS2 和 NS3 处理均显著促进了土壤 CH_4 氧化速率($P < 0.05$),平均 CH_4 氧化速率较 CK 分别提高了 145.30%、142.93%、139.48% 和 112.68%; N1 和 S 处理在不同培养时间对 CH_4 氧化均具有抑制作用,平均抑制率分别为 16.54% 和 20.99%,但未达到显著性水平($P > 0.05$)。NS1 处理组对 CH_4 氧化速率的影响存在促进-抑制的交替变化特征,以促进作用为主,但均未达到显著性水平($P > 0.05$)。

整体而言,不同添加处理并没有显著改变湿地土壤 CH_4 氧化速率的时间变化趋势,不同添加处理下土壤 CH_4 氧化速率均表现为随培养时间先增加而后逐渐降低的变化规律(图 2A),第 12 天后变化趋于平缓,最大值均发生在培养第 3 天。不同时间尺度上,各添加处理对 CH_4 氧化速率的影响呈多峰值的特征,低峰值出现在第 15 天,具有明显的波动变化特征(图 2B)。

2.3 湿地土壤理化性质及其与 CH_4 产生、氧化速率间的相关关系

培养实验后(图 3),土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量在 N1、N3、NS1 和 NS3 处理下, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量在 N2、N3、NS2 和 NS3 处理下, SO_4^{2-} 含量在 S、NS1、NS2 和 NS3 处理下均显著高于对照处理($P < 0.05$)。土壤 DOC、EC 和 pH 含量在不同处理间均不存在显著差异($P > 0.05$)。其中,氮、硫添加处理下土壤 pH 均低于 CK 处理,使土壤呈弱酸性。

相关分析显示(表 2),氮、硫添加处理下,河口湿地土壤 CH_4 产生速率与 DOC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量存在显著或极显著正相关关系($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。 CH_4 氧化速率与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 存在极显著正相关关系($P < 0.01$)。

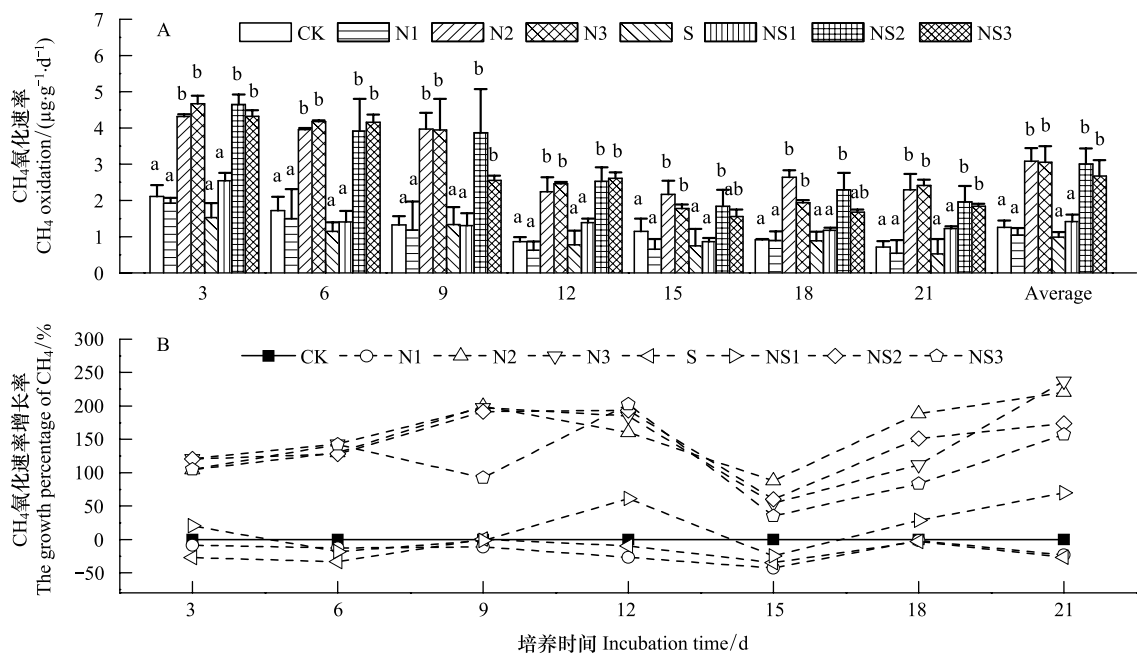


图2 氮、硫添加对闽江河口湿地土壤 CH₄氧化速率的影响及其增长百分率

Fig.2 Effects of nitrogen and sulfate addition on CH₄ oxidation rate and the growth percentage

表2 河口湿地土壤 CH₄产生/氧化速率与土壤理化性质间的相关关系

Table 2 Pearson correlation coefficients for production and oxidation rates of CH ₄ and soil parameters						
速率 Rates	可溶性有机碳 Dissolved organic carbon	铵态氮 Ammonium nitrogen	硝态氮 Nitrate nitrogen	硫酸盐 Sulfate	pH	电导率 Electrical conductivity
CH ₄ 产生速率 CH ₄ production rate	0.621 **	0.574 *	0.219	-0.467	-0.308	-0.293
CH ₄ 氧化速率 CH ₄ oxidation rate	0.396	0.135	0.609 **	0.258	-0.179	0.246

* 和 ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上显著相关

3 讨论

3.1 氮、硫添加对河口湿地土壤 CH₄产生速率的影响

本研究中,各形态的氮、硫添加处理对湿地土壤 CH₄产生速率的影响不尽一致,但基本表现为 NH₄⁺-N 添加促进了 CH₄产生 ($P<0.05$), NO₃⁻-N 和 SO₄²⁻ 添加对 CH₄产生存在抑制或基本无影响 ($P>0.05$), NS 耦合添加的影响主要受氮形态的控制(图 1,表 2)。厌氧条件下, NH₄⁺-N 对土壤 CH₄产生的促进作用是因为 NH₄⁺-N 是甲烷产生菌的主要氮源, NH₄⁺-N 的添加为甲烷产生菌提供了足够的氮底物,增强了甲烷产生菌的丰度与活性^[23],从而促进了 CH₄产生速率。此外,相对于 NO₃⁻-N 而言,微生物吸收和利用 NH₄⁺-N 所需消耗的能量较少^[24],因此土壤微生物会优先选择吸收 NH₄⁺-N,进而刺激微生物活性。单一的 NO₃⁻-N 添加对 CH₄产生的抑制作用已经达成共识^[25],这主要是因为一方面 NO₃⁻-N 反硝化过程中的产物对甲烷产生菌活性具有直接抑制作用^[25];另一方面与 NO₃⁻ 结合的阳离子对甲烷产生菌活性也具有明显的抑制作用^[26];此外,以 NO₃⁻-N 为主的氮添加增加了土壤中的 NO₃⁻ 浓度,在硝化-反硝化进程中生成的 NO₂ 对甲烷产生菌产生的毒害作用也抑制了 CH₄的产生^[27]。但本研究中,与 CK 相比, NO₃⁻-N 添加并未显著降低土壤 CH₄产生速率,这可能是由氮的添加量、河口湿地土壤特殊的理化性质等造成的,具体机理还有待进一步探讨。

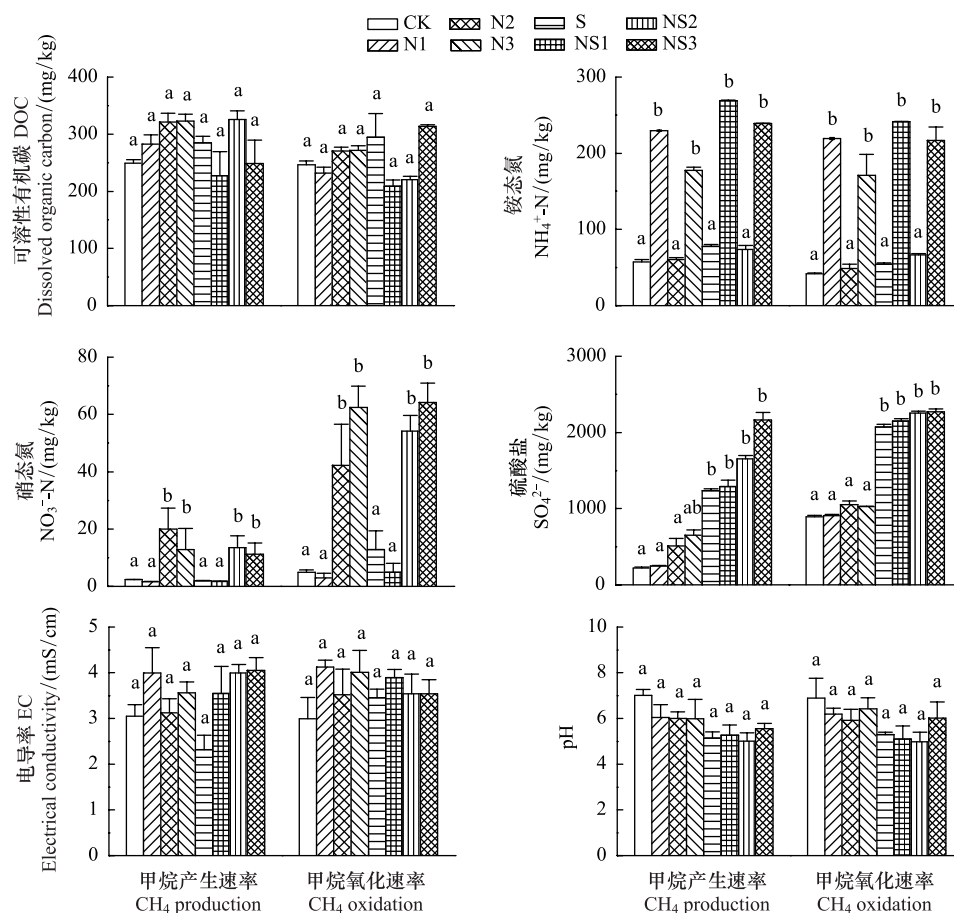


图3 氮、硫添加对河口湿地土壤理化性质的影响

Fig.3 Soil physical and chemical properties after different nitrogen and sulfate treatments

P, 甲烷产生速率 CH₄ production; O, 甲烷氧化速率 CH₄ oxidation; DOC, 可溶性有机碳 dissolved organic carbon; NH₄⁺-N, 铵态氮 ammonium nitrogen; NO₃⁻-N, 硝态氮 nitrate nitrogen; SO₄²⁻, 硫酸盐 sulfate; EC, 电导率 electrical conductivity. 图中数值为均值±标准误差 (n=3)

SO₄²⁻对湿地土壤 CH₄产生的影响主要受硫酸盐还原作用强度和土壤酸碱度调控。在富含 SO₄²⁻的潮汐湿地土壤中,SRB 与甲烷产生菌共存,竞争并共同使用着相同的底物(醋酸和 H₂/CO₂)^[28];但由于 SRB 与醋酸和 H₂等底物的亲和力更好,硫酸盐的还原作用往往比甲烷的生成更具优势,这就导致对醋酸发酵和 CO₂氢还原这两种 CH₄产生途径具有明显的抑制作用^[29]。但本研究中,SO₄²⁻对河口潮滩湿地 CH₄排放通量虽表现为抑制作用,但未达到显著性水平 (P>0.05),这主要是因为闽江河口湿地硫酸盐浓度已接近或达到饱和状态^[30],少量添加的 SO₄²⁻在短时间内对硫酸盐还原过程的影响有限;还可能与河口湿地甲烷产生底物种类的多样性有关,比如甲醇、三甲胺和甲硫氨酸等非竞争性底物不易被 SRB 利用,而易被甲烷产生菌利用^[9,30]。NS 耦合添加对河口潮滩湿地 CH₄排放通量的影响 (P<0.05) 是上述因子综合作用的结果,并且氮添加所引起的微生物活性的增强对甲烷产生的促进作用抵消或减弱了硫酸盐还原的抑制作用^[29]。此外,甲烷产生菌可以忍受的 pH 范围为 5.5—9.0^[23],本研究中 SO₄²⁻虽然降低了土壤 pH,但并未超过甲烷产生菌可以忍受的范围(图 3)所以对 CH₄产生影响不显著。此外,本研究中,河口湿地土壤 CH₄产生速率与 DOC 存在极显著正相关关系 (P<0.01)。Smith 和 Lewis^[31]也认为,DOC 含量可以决定 40% 的 CH₄产生量。湿地土壤中 CH₄的产生是甲烷产生菌在厌氧条件下作用于产甲烷底物的结果,有机底物是甲烷产生菌唯一的碳源和能量来源,有机碳的多寡也决定了土壤微生物和酶的活性以及功能的发挥^[32],从而控制 CH₄产生量的高低。

时间动态上,湿地土壤 CH₄产生速率表现为随培养时间先升高后降低,最后趋于稳定。这主要是因为外

源氮添加后,显著增强了湿地土壤氮的有效性,激活了产甲烷菌的活性,进而加快了土壤 CH_4 产生速率,而后随着产甲烷底物的消耗,剩余的底物不足以供产甲烷菌使用,导致 CH_4 产生速率逐渐降低。此外,由于本研究使用的是干土配置泥浆的方法进行培养,土壤微生物活性和碳氮循环关键过程对氮、硫添加的响应需要一个过程,存在时滞效应。

3.2 氮、硫添加对湿地土壤 CH_4 氧化速率的影响

本研究中,各形态的氮、硫添加处理对湿地土壤 CH_4 氧化速率的影响不尽一致,但基本表现为 NO_3^- -N 添加促进了 CH_4 氧化 ($P < 0.05$), NH_4^+ -N 添加抑制了 CH_4 氧化 ($P > 0.05$), SO_4^{2-} 添加对 CH_4 氧化基本无影响 ($P > 0.05$)。有氧条件下, NH_4^+ -N 对 CH_4 氧化的抑制作用在多种土壤类型中都得到证实^[33]。King 和 Schnell^[34] 发现,外源添加 $10 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 的 NH_4Cl 使土壤氧化能力下降了 20%。目前,关于 NH_4^+ -N 对 CH_4 氧化的抑制作用主要是从甲烷单氧酶对底物 NH_3 和 CH_4 的竞争方面进行解释的^[35],因为土壤甲烷氧化菌和氨氧化菌都具有单氧酶,并且氨氧化菌的单氧酶 (AMO) 和甲烷氧化菌的单氧酶 (pMMO) 在生物生理方面具有较高一致性, NH_4^+ -N 添加后增强了氨氧化菌的活性,通过与甲烷单氧酶的竞争,减少了 CH_4 的氧化。此外, NH_4Cl 添加引起的生理盐胁迫、铝毒效应和土壤酸化等也是影响土壤 CH_4 氧化的重要因素^[36-37]。如 Shukla 等^[37] 认为, NH_4^+ 对 CH_4 氧化的抑制作用在一定程度上可以解释为是非特异性离子或盐的影响,阳离子的添加引起的土壤铵的生理盐胁迫和离子交换可能引起土壤 CH_4 氧化的下降。Nyerges 和 Stein^[38] 认为, NH_4^+ 在硝化过程中生成的羟胺和 NO_2^- 等中间产物能有效地、持续地抑制甲烷氧化菌活性。另有一种解释则认为,外源盐 (如 NH_4Cl) 添加到土壤由于要固定土壤水,降低了土壤水势,从而减少土壤对甲烷氧化菌的供水量,造成甲烷氧化菌出现生理性缺水,使其活性降低,进而抑制了甲烷的氧化^[39]。

有氧条件下, NO_3^- -N 对土壤 CH_4 氧化速率的促进作用可能是由于硝化菌同样可以氧化消耗 CH_4 , NO_3^- -N 添加促进了硝化菌的生长,增加了硝化菌的规模和活性,从而促进了土壤对于 CH_4 的消耗^[40]。甲烷氧化菌被认为具有相对较高的氮需求,它每吸收消化 1 摩尔碳,就需要吸收 0.25 摩尔氮^[41], NO_3^- -N 的施加可使甲烷氧化菌细胞生长的 N 限制被解除,进而使甲烷氧化菌群落的活性增加^[3]。此外, NO_x 的增加促进了 CH_4 的光化学氧化,也会降低了大气 CH_4 浓度^[42]。 SO_4^{2-} 添加对 CH_4 氧化基本无影响,这主要是因为闽江河口湿地硫酸盐浓度已接近或达到饱和状态^[30],少量添加的 SO_4^{2-} 在短时间内对 CH_4 氧化的影响有限。此外,土壤 pH 可通过影响微生物生物量和活性控制 CH_4 氧化^[43],但本研究中 SO_4^{2-} 添加并未显著影响土壤 pH (图 3)。NS2、NS3 添加对湿地 CH_4 氧化的促进影响 ($P < 0.05$) 是上述因子综合作用的结果,并且结合单一形态氮、硫添加影响结果可知 (图 2),氮的影响是主要控制因素。时间动态上,湿地土壤 CH_4 氧化速率在不同处理下均表现为随培养时间先升高后降低,最后都趋于稳定。主要是因为外源氮添加后,显著增强了湿地土壤氮的有效性,激活了微生物的活性,进而加快了土壤 CH_4 氧化速率,而后随着底物的消耗,剩余的底物不足以供微生物使用,导致 CH_4 氧化速率逐渐降低。值得强调的是,湿地土壤 CH_4 循环中不仅发生好氧氧化,也存在厌氧氧化^[44],但 CH_4 氧化主要发生在水土交界面和植物根际区,以好氧氧化为主,并且好氧氧化速率远较厌氧氧化速率快得多^[45]。本实验主要研究占主导地位的 CH_4 好氧氧化,关于厌氧环境下 CH_4 氧化速率对氮、硫添加的响应是本研究正在开展的一个重要方向,相关研究可弥补单一好氧环境下研究结果的不确定性。

4 结论

(1) 在 CH_4 产生方面, NH_4^+ -N 添加促进了河口湿地 CH_4 产生 ($P < 0.05$), NO_3^- -N 和 SO_4^{2-} 添加对 CH_4 产生存在抑制或基本无影响 ($P > 0.05$)。在 CH_4 氧化方面, NO_3^- -N 添加促进了 CH_4 氧化 ($P < 0.05$), NH_4^+ -N 添加抑制了 CH_4 氧化 ($P > 0.05$), SO_4^{2-} 添加对 CH_4 氧化基本无响应 ($P > 0.05$)。NS 耦合添加对 CH_4 产生/氧化的影响主要受氮形态的控制。

(2) 整体而言,不同添加处理并没有显著改变湿地土壤 CH_4 产生/氧化速率的时间动态,不同处理均表现

为随培养时间先增加而后逐渐降低。

(3)短期培养结束后,土壤 DOC、EC 和 pH 含量在不同处理间均不存在显著差异($P>0.05$);土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量在含 NH_4^+ 处理下, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量在含 NO_3^- 处理下, SO_4^{2-} 含量在含 SO_4^{2-} 处理下均显著高于对照处理($P<0.05$)。相关分析显示,DOC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 是氮、硫添加处理下影响闽江河口湿地土壤 CH_4 产生/氧化速率的主要影响因素。

参考文献 (References):

- [1] IPCC. Climate change: The physical science basis. Cambridge, New York: Cambridge University Press, 2013.
- [2] Hergoualc'h K A, Verchot L V. Changes in soil CH_4 fluxes from the conversion of tropical peat swamp forests: a meta-analysis. Journal of Integrative Environmental Sciences, 2012, 9(2): 93-101.
- [3] Bodelier P L E, Laanbroek H J. Nitrogen as a regulatory factor of methane oxidation in soils and sediments. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 47(3): 265-277.
- [4] Gundale M J, From F, Bach L H, Nordin A. Anthropogenic nitrogen deposition in boreal forests has a minor impact on the global carbon cycle. Global Change Biology, 2014, 20(1): 276-286.
- [5] Gauci V, Dise N B, Howell G, Jenkins M E. Suppression of rice methane emission by sulfate deposition in simulated acid rain. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 2008, 113(G3): G00A07.
- [6] Liu X J, Zhang Y, Han W X, Tang A H, Shen J L, Cui Z L, Vitousek P, Erismann J W, Goulding K, Christie P, Fangmeier A, Zhang F S. Enhanced nitrogen deposition over China. Nature, 2013, 494(7438): 459-462.
- [7] 肖胜生, 胡建民, 贺月玲, 汪邦稳, 彭琴. 森林土壤呼吸对氮硫沉降的响应及机制. 生态学杂志, 2014, 33(2): 495-501.
- [8] Bridgman S D, Cadillo-Quiroz H, Keller J K, Zhuang Q L. Methane emissions from wetlands: biogeochemical, microbial, and modeling perspectives from local to global scales. Global Change Biology, 2013, 19(5): 1325-1346.
- [9] Eriksson T, ÖQUIST M G, Nilsson M B. Production and oxidation of methane in a boreal mire after a decade of increased temperature and nitrogen and sulfur deposition. Global Change Biology, 2010, 16(7): 2130-2144.
- [10] Bodelier P L E, Roslev P, Henckel T, Frenzel P. Stimulation by ammonium-based fertilizers of methane oxidation in soil around rice roots. Nature, 2000, 403(6768): 421-424.
- [11] Kravchenko I K. Methane oxidation in boreal peat soils treated with various nitrogen compounds. Plant and Soil, 2002, 242(1): 157-162.
- [12] 姜欢欢, 孙志高, 王玲玲, 孙万龙, 孙文广, 宋红丽. 黄河口潮滩湿地土壤甲烷产生潜力及其对有机物和氮输入响应的初步研究. 湿地科学, 2012, 10(4): 451-458.
- [13] Aronson E L, Dubinsky E A, Helliker B R. Effects of nitrogen addition on soil microbial diversity and methane cycling capacity depend on drainage conditions in a pine forest soil. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 62: 119-128.
- [14] Lunau M, Voss M, Erickson M, Dziallas C, Casciotti K, Ducklow H. Excess nitrate loads to coastal waters reduces nitrate removal efficiency: mechanism and implications for coastal eutrophication. Environmental Microbiology, 2013, 15(5): 1492-1504.
- [15] Bukaveckas P A, Isenberg W N. Loading, transformation, and retention of nitrogen and phosphorus in the tidal freshwater James River (Virginia). Estuaries and Coasts, 2013, 36(6): 1219-1236.
- [16] Richards C M, Pallud C. Kinetics of sulfate reduction and sulfide precipitation rates in sediments of a bar-built estuary (Pescadero, California). Water research, 2016, 94: 86-102.
- [17] Mou X J, Liu X T, Tong C, Sun Z G. Responses of CH_4 emissions to nitrogen addition and *Spartina alterniflora* invasion in Minjiang River estuary, southeast of China. Chinese Geographical Science, 2014, 24(5): 562-574.
- [18] Thang N M, Brüchert V, Formolo M, Wegener G, Ginters L, Jørgensen B B, Ferdelman T G. The impact of sediment and carbon fluxes on the biogeochemistry of methane and sulfur in littoral Baltic Sea sediments (Himmerfjärden, Sweden). Estuaries and Coasts, 2013, 36(1): 98-115.
- [19] 高伟, 郭怀成, 后希康. 中国大陆市域人类活动净氮输入量(NANI)评估. 北京大学学报:自然科学版, 2014, 50(5): 951-959.
- [20] Gauci V, Dise N B, Howell G, Jenkins M E. Suppression of rice methane emission by sulfate deposition in simulated acid rain. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 2008, 113(G3): G00A07.
- [21] Marton J M, Herbert E R, Craft C B. Effects of salinity on denitrification and greenhouse gas production from laboratory-incubated tidal forest soils. Wetlands, 2012, 32(2): 347-357.
- [22] Praeg N, Wagner A O, Illmer P. Effects of fertilisation, temperature and water content on microbial properties and methane production and methane oxidation in subalpine soils. European Journal of Soil Biology, 2014, 65: 96-106.

- [23] 王德宣, 丁维新, 王毅勇. 若尔盖高原与三江平原沼泽湿地 CH_4 排放差异的主要环境影响因素. 湿地科学, 2003, 1(1): 63-67.
- [24] 王春阳, 周建斌, 董燕婕, 陈兴丽, 李婧. 黄土区六种植物凋落物与不同形态氮素对土壤微生物量碳氮含量的影响. 生态学报, 2010, 30(24): 7092-7100.
- [25] Patra A K, Yu Z T. Combinations of nitrate, saponin, and sulfate additively reduce methane production by rumen cultures *in vitro* while not adversely affecting feed digestion, fermentation or microbial communities. Bioresource Technology, 2014, 155: 129-135.
- [26] Whalen S C, Reeburgh W S. Methane oxidation, production, and emission at contrasting sites in a boreal bog. Geomicrobiology Journal, 2000, 17(3): 237-251.
- [27] Chan A S K, Parkin T B. Methane oxidation and production activity in soils from natural and agricultural ecosystems. Journal of Environmental Quality, 2001, 30(6): 1896-1903.
- [28] Nedwell D B, Embley T M, Purdy K J. Sulphate reduction, methanogenesis and phylogenetics of the sulphate reducing bacterial communities along an estuarine gradient. Aquatic Microbial Ecology, 2004, 37(3): 209-217.
- [29] Eriksson T, Öquist M G, Nilsson M B. Effects of decadal deposition of nitrogen and sulfur, and increased temperature, on methane emissions from a boreal peat land. Journal of Geophysical Research, 2010, 115(G4): G04036.
- [30] 仝川, 柳铮铮, 曾从盛, 钟春棋, 黄佳芳. 模拟 SO_4^{2-} 沉降对河口潮汐湿地甲烷排放通量的影响. 中国环境科学, 2010, 30(3): 302-308.
- [31] Smith L K, Lewis W M, Jr. Seasonality of methane emissions from five lakes and associated wetlands of the Colorado Rockies. Global Biogeochemical Cycles, 1992, 6(4): 323-338.
- [32] 胡敏杰, 仝川, 邹芳芳. 氮输入对土壤甲烷产生、氧化和传输过程的影响及其机制. 草业学报, 2015, 24(6): 204-212.
- [33] Zhu G B, Jetten M S M, Kuskch P, Ettwig K F, Yin C Q. Potential roles of anaerobic ammonium and methane oxidation in the nitrogen cycle of wetland ecosystems. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 86(4): 1043-1055.
- [34] King G M, Schnell S. Effects of ammonium and non-ammonium salt additions on methane oxidation by *Methylosinus trichosporium* OB3b and Maine forest soils. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(1): 253-257.
- [35] Crill P M, Martikainen P J, Nykänen H, Silvola J. Temperature and N fertilization effects on methane oxidation in a drained peatland soil. Soil Biology and Biochemistry, 1994, 26(10): 1331-1339.
- [36] Shukla P N, Pandey K D, Mishra V K. Environmental determinants of soil methane oxidation and methanotrophs. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2013, 43(18): 1945-2011.
- [37] Tamai N, Takenaka C, Ishizuka S. Water-soluble Al inhibits methane oxidation at atmospheric concentration levels in Japanese forest soil. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(7): 1730-1736.
- [38] Nyerges G, Stein L Y. Ammonia cometabolism and product inhibition vary considerably among species of methanotrophic bacteria. FEMS Microbiology Letters, 2009, 297(1): 131-136.
- [39] 丁维新, 蔡祖聪. 氮肥对土壤氧化大气甲烷影响的机制. 农村生态环境, 2001, 17(3): 30-34.
- [40] Reay D S, Nedwell D B. Methane oxidation in temperate soils: effects of inorganic N. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(12): 2059-2065.
- [41] Shiraishi K, Oku M, Uchida D, Yurimoto H, Sakai Y. Regulation of nitrate and methylamine metabolism by multiple nitrogen sources in the methylotrophic yeast *Candida boidinii*. FEMS Yeast Research, 2015, 15(7), DOI: 10.1093/femsyr/fov084.
- [42] Boucher O, Friedlingstein P, Collins B, Shine K P. The indirect global warming potential and global temperature change potential due to methane oxidation. Environmental Research Letters, 2009, 4(4): 549-567.
- [43] Tate K R. Soil methane oxidation and land-use change-from process to mitigation. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 80: 260-272.
- [44] 吕镇梅, 闵航, 陈中云, 吕琴. 水稻田土壤甲烷厌氧氧化在整个甲烷氧化中的贡献率. 环境科学, 2005, 26(4): 13-17.
- [45] Zigah P K, Oswald K, Brand A, Dinkel C, Wehrli B, Schubert C J. Methane oxidation pathways and associated methanotrophic communities in the water column of a tropical lake. Limnology and Oceanography, 2015, 60(2): 553-572.