

长期施肥对稻田反硝化依赖型甲烷厌氧氧化过程的影响

王娟, 吴娟, 廖育林, 鲁艳红, 聂军, 万运帆, 秦晓波

引用本文:

王娟, 吴娟, 廖育林, 等. 长期施肥对稻田反硝化依赖型甲烷厌氧氧化过程的影响[J]. [农业环境科学学报](#), 2026, 415(1): 240-250.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2025-0097>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

[围垦对滨海稻田土壤 \$N_2O\$ 还原潜力的影响](#)

汪方圆, 张耀鸿, 饶旭东, 谢晴, 贾仲君

[农业环境科学学报](#). 2020, 39(11): 2668-2674 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0533>

[温度对农田黑土氮初级转化速率的影响](#)

郎漫, 李平, 魏玮

[农业环境科学学报](#). 2021, 40(4): 815-822 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1133>

[不同水分对半干旱地区砂壤土温室气体排放的短期影响](#)

李平, 魏玮, 郎漫

[农业环境科学学报](#). 2021, 40(5): 1124-1132 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1377>

[巢湖圩区再生稻田甲烷及氧化亚氮的排放规律研究](#)

王天宇, 樊迪, 宋开付, 张广斌, 徐华, 马静

[农业环境科学学报](#). 2021, 40(8): 1829-1838 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0181>

[双氰胺减少铵态氮肥施用后潮土 \$N_2O\$ 排放的机制](#)

马兰, 李晓波, 马舒坦

[农业环境科学学报](#). 2021, 40(12): 2801-2808 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0459>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

王娟, 吴娟, 廖育林, 等. 长期施肥对稻田反硝化依赖型甲烷厌氧氧化过程的影响[J]. 农业环境科学学报, 2026, 45(1): 240–250.
WANG J, WU J, LIAO Y L, et al. Effects of long-term fertilization on denitrification-dependent anaerobic methane oxidation in paddy soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2026, 45(1): 240–250.



开放科学 OSID

长期施肥对稻田反硝化依赖型甲烷厌氧氧化过程的影响

王娟^{1,2}, 吴娟¹, 廖育林³, 鲁艳红³, 聂军³, 万运帆², 秦晓波^{2*}

(1. 青岛农业大学资源与环境学院, 山东 青岛 266109; 2. 中国农业科学院农业农村碳达峰碳中和研究中心, 农业农村部农业农村生态环境重点实验室, 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081; 3. 湖南省土壤肥料研究所, 长沙 410125)

摘要:反硝化依赖型甲烷厌氧氧化(DAMO)是联结碳氮循环的重要过程。本研究开展¹³C稳定同位素标记微宇宙培养实验, 针对长期施肥对红壤水稻土 DAMO 过程的影响进行了分析。实验设4个处理: 不施肥(CK)、氮磷钾肥(NPK)、氮钾肥加猪粪(NKM)和氮磷钾加稻草(NPKS)。结果表明: 总 DAMO 速率对长期施肥有显著响应, 其最大值(1 762.93 nmol·g⁻¹·d⁻¹, 以 CO₂ 计, 下同)和最小值(25.01 nmol·g⁻¹·d⁻¹)分别出现在 NKM 的深层土壤和 CK 的表层土壤中, 并且 NKM 的表层、中层及深层土壤的 DAMO 速率均显著高于相应土层的 NPKS 土壤($P < 0.05$), 分别高出 276%、447% 和 200%。亚硝酸盐型 DAMO(n-damo)速率从表层到深层土壤呈递增趋势, NKM 的中层土壤 n-damo 强度显著高于 NPKS(高出 755%)($P < 0.05$)。对于硝酸盐型 DAMO(Nr-damo)速率, NKM 深层土壤(702.49 nmol·g⁻¹·d⁻¹)显著高于中层土壤(38.77 nmol·g⁻¹·d⁻¹)($P < 0.05$), 而且随土层深度加深, Nr-damo 速率在 CK 中呈现递增、在 NPKS 中呈现递减的趋势。各处理 N₂O 型 DAMO(N₂O-damo)速率表现为表层最高(44.23~81.95 nmol·g⁻¹·d⁻¹), 深层次之(8.47~18.46 nmol·g⁻¹·d⁻¹), 中层最低(0.63~3.27 nmol·g⁻¹·d⁻¹)。对于表层土壤 N₂O-damo 速率, NKM 显著高于 NPKS 处理($P < 0.05$)。研究表明, 相比于长期秸秆还田, 猪粪配施化肥对红壤水稻土 DAMO 发生有更强的促进作用; 此外, 深层水稻土具有较高的 n-damo 潜力, 表层水稻土则具有较高的 N₂O-damo 潜力。

关键词:反硝化型甲烷厌氧氧化; 稻田甲烷减排; 长期施肥; 猪粪; 秸秆还田

中图分类号: X71 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2026)01-0240-11 doi:10.11654/jaes.2025-0097

Effects of long-term fertilization on denitrification-dependent anaerobic methane oxidation in paddy soils

WANG Juan^{1,2}, WU Juan¹, LIAO Yulin³, LU Yanhong³, NIE Jun³, WAN Yunfan², QIN Xiaobo^{2*}

(1. College of Resources and Environment, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 2. Agricultural Rural Carbon Peak Carbon Neutral Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Key Laboratory of Agricultural and Rural Ecological Environment, Ministry of Agriculture and Rural Affairs Institute of Agricultural Environment and Sustainable Development, CAAS, Beijing 100081, China; 3. Soils and Fertilizer Institute of Hunan Province, Changsha 410125, China)

Abstract: Denitrification-dependent anaerobic methane oxidation (DAMO) is a key process linking carbon and nitrogen cycles. A ¹³C stable isotope labeling microcosm incubation experiment was conducted to investigate the effects of long-term fertilization on DAMO processes in red paddy soils. Four treatments were established: without fertilizer (CK), chemical fertilizer (NPK; nitrogen, phosphorus, potassium), combined chemical fertilizer and pig manure (NKM), and chemical fertilizer with rice straw incorporation (NPKS). Key

收稿日期: 2025-01-27 录用日期: 2025-06-04

作者简介: 王娟(2000—), 女, 甘肃华亭人, 硕士研究生, 研究方向为农田温室气体减排机制。E-mail: 2060669121@qq.com

*通信作者: 秦晓波 E-mail: qinxiaobo@caas.cn

基金项目: 中国农业科学院绿色低碳基础科学中心项目(CAAS-CSGLCA-202301); 中国农业科学院重大任务(CAAS-ZDRW202417); 国家重点研发计划项目(2021YFD1700202-05)

Project supported: Chinese Academy of Agricultural Sciences Green Low Carbon Science Center Project (CAAS-CSGLCA-202301); Major mission projects of the Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS-ZDRW202417); National Key Research and Development Program Project (2021YFD1700202-05)

findings include: total DAMO rates responded significantly to long-term fertilization. The maximum rate ($1\ 762.93\ \text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) and minimum rate ($25.01\ \text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) were observed in the deep soil layer of NKM and the surface layer of CK, respectively. Notably, DAMO rates in the surface, middle, and deep soil layers of NKM were 276%, 447%, and 200% higher than those in corresponding NPKS layers ($P < 0.05$). Nitrite-dependent DAMO (n-damo) rates increased with soil depth. The n-damo rate in the middle layer of NKM was 755% higher than that in NPKS ($P < 0.05$). Nitrate-dependent DAMO (Nr-damo) rates in the deep soil layer of NKM ($702.49\ \text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) were significantly higher than those in the middle layer ($38.77\ \text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) ($P < 0.05$). Nr-damo rates increased with depth in CK but decreased in NPKS. 4) N_2O -dependent DAMO (N_2O -damo) rates were highest in surface soils ($44.23\text{--}81.95\ \text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), followed by deep layers ($8.47\text{--}18.46\ \text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), and lowest in middle layers ($0.63\text{--}3.27\ \text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). Surface N_2O -damo rates in NKM were significantly higher than those in NPKS ($P < 0.05$). This study demonstrates that pig manure combined with chemical fertilization (NKM) enhances DAMO activity more effectively than straw incorporation (NPKS) in red paddy soils. Additionally, deep soil layers exhibit higher n-damo potential, while surface soils show greater N_2O -damo potential.

Keywords: denitrifying methane anaerobic oxidation; reducing methane emissions in rice paddies; long-term fertilization; pig manure; straw residue return

近年来,甲烷(CH_4)和氧化亚氮(N_2O)等强效非二氧化碳(CO_2)温室气体浓度持续增加引起了国际社会的广泛关注,特别是“全球甲烷承诺”倡议的提出,反映了基于 $1.5\ ^\circ\text{C}$ 温控的国际广泛争论^[1]。水稻生产是 CH_4 重要的人为排放源,因此,探索稻田 CH_4 减排机制不仅有助于减缓全球变暖,而且对实现2030年联合国可持续发展目标具有重要意义^[2]。

反硝化依赖型甲烷厌氧氧化(DAMO)是重要的 CH_4 汇过程,也是链接全球碳氮循环的重要纽带^[3]。一般认为,厌氧甲烷氧化过程(AOM)均由厌氧甲烷营养型古菌(ANME)介导完成^[4], NO_3^- 依赖型DAMO过程(Nr-damo)由ANME-2d分支的念珠菌甲烷还原古菌(*M. nitroreducens*)介导的反向产甲烷机制^[5]完成,但后期研究发现,当古菌数量不断减少直至消失后,NC10门的细菌念珠菌甲基单胞菌(*M. oxyfera*)可单独驱动整个DAMO过程,这种 NO_2^- 依赖型DAMO(n-damo)的发生是内需氧型AOM过程^[6-7]。Cheng等^[8]在淡水湿地土壤的厌氧培养中发现 CH_4 可直接与 N_2O 耦合发生 N_2O 依赖型DAMO(N_2O -damo)反应,但是关于其主导菌种和代谢途径及影响因素仍处于未知状态。DAMO过程的发生受环境中硝酸盐和 CH_4 浓度的影响^[9-11],缺氧环境中的 NO_2^- 大多来源于 NO_3^- 还原,因此硝酸盐浓度对DAMO过程的发生具有重要影响^[12]。此外,氧气^[5]浓度、水体盐度^[13]和土壤有机碳含量^[14]等环境因子均可在调控DAMO发生中发挥重要作用。不同施肥措施显著影响DAMO碳源 CH_4 的产生、电子受体可获得性和氮化合物的供应水平,进而主导其特征及微生物活性和功能。不同肥料类型对DAMO有不同的刺激效应,并且也存在对DAMO底物的竞争。除了肥料类型,肥料用量也影响DAMO特征,实际上,

无机氮(NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^-)水平不仅影响DAMO微生物丰度^[15],也是控制DAMO活性和微生物群落组成的关键因素^[16];当前DAMO影响因素的研究多基于短期试验,在长期施肥影响下,对于稻田土壤理化性状表现及其对DAMO发生途径的影响机制的研究,将直接影响稻田 CH_4 多尺度调控途径的探索。

DAMO普遍存在于湿地^[17-18]、泥炭地^[19]、湖泊^[20-22]与河流^[23]等各种生态环境中。研究表明,在稻田生态系统中DAMO是最主要的AOM过程。据估算,单一亚硝酸盐驱动型DAMO(n-damo)每年便可消耗我国稻田 $0.91\ \text{Tg}\ \text{CH}_4$,相当于其年度总排放的11.2%^[24]。长期施肥通过影响稻田土壤中 CH_4 产生和无机氮等基质进而影响DAMO发生特征,受长期施肥影响,稻田DAMO首先体现在发生途径多样化。实际上,DAMO的3个主要发生途径在稻田中均有发现^[18,25-26],但在不同稻田管理措施影响下,DAMO碳源和电子受体发生变化^[27],进而引起其主导产生途径的差异。另外,稻田DAMO还存在较强的时空异质性。DAMO微生物虽已被证明更倾向于在稻田深处存在^[28],很多研究也发现DAMO速率随土层深度增加而增大^[18,29-30],但这种垂直分异规律并不一致,如在我国稻田和美国河流湿地中就发现了相反的规律,即DAMO速率和微生物活性随层深而降低^[14,31]。微生物群落结构随土层深度变化、深层土壤的缺氧条件、底物分布是DAMO垂直分异的主因^[14]。我国稻田类型众多,在长期施肥影响下,DAMO速率是否都随土壤深度增加而增大,施肥和土壤深度对DAMO的双重影响效应如何,均需深入探讨;针对稻田DAMO的时空变异性研究的欠缺也导致当前研究结果的巨大差异和不确定性。

稻田 CH_4 减排对我国温室气体清单精度提升和

农业低碳发展的作用毋庸置疑,鉴于DAMO的巨大潜力,对稻田长期管理措施的响应及多尺度调控途径的研究将有力降低我国稻田CH₄估算的不确定性。近年来,对稻田中DAMO的研究引发了广泛关注^[25-32];然而,之前研究多基于短期试验,DAMO过程对长期不同施肥条件的响应机制还不明确。因此,本研究选择农业农村部望城红壤水稻土生态环境重点野外科学观测实验站土壤为研究对象,以探究DAMO发生速率对长期不同施肥的响应,以及长期施肥下DAMO与土壤理化性状等环境要素的关系。本研究将通过探讨长期施肥下稻田DAMO发生特征,为我国低碳稻作路径提供科学支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

供试土壤于2023年10月采自湖南省长沙市望城区黄金乡(27°58'N,112°36'E),自1981年起该站作为农业农村部望城红壤水稻土生态环境重点野外科学观测实验站开展长期土壤肥力和养分监测。试验站位于中亚气候区,以湿润季风季节为特征,年平均气温17.5℃,>10℃积温为5450℃,年平均降雨量约为1300~1400mm,其中4—6月降水量约占全年的50%~60%。更详细的天气信息和实验的长期施肥量参见相关文献^[33]的描述。该地区土壤为典型的水稻土,源自中国亚热带第四纪红壤,长期种植双季稻(*Oryza sativa* L.),试验采用随机区组设计,共设4个处理:(1)不施肥(CK);(2)施氮、磷、钾化肥(NPK);(3)施氮、钾化肥加猪粪(NKM);(4)施氮、磷、钾化肥加稻草(NPKS),每处理设3个重复小区,每小区面积为66.7m²(10m×6.67m),小区之间设水泥边界,并设宽30cm的灌排水沟渠。各处理化肥、稻草和猪粪消化物的具体施用量见表1^[34],猪粪在沼气池发酵后的新鲜物质(含水量85.4%),以15t·hm⁻²分别在早稻和

晚稻施用。

1.2 土样采集

本研究选取上述4个处理表层(0~20cm)、中层(20~40cm)和深层(40~60cm)3个不同深度的稻田土壤进行DAMO培养实验,用带有刻度的管型取土器分别在12个小区内以S形走位采集土壤样品,并将相同小区的土样混合均匀贴上标签,每份样品分成两份,放入冰袋尽快送回实验室,一部分冷藏(1~4℃)用于测定土壤理化性质和培养实验,另一部分冷冻(-80℃)保存用于后续测定相关功能微生物。

1.3 土壤理化性状分析

根据《土壤农化分析》^[35]中的方法测定土壤理化性质;采用烘干法测定土壤含水量(SWC)。采用pH计法测定土壤pH,土水比1:2.5(m/v)。使用非吹扫性有机碳法(NPOC)通过TOC-V_{wp}(日本岛津)测定样品中的溶解性有机碳(DOC)。采用连续流动分析仪(AutoAnalyzer-AA3,Seal Analytical,诺德施泰特,德国)测定铵态氮(NH₄-N)、硝态氮(NO₃-N)含量。

1.4 DAMO速率测定

采用厌氧泥浆微宇宙培养法及¹³CH₄同位素示踪技术测定DAMO速率^[18,36]。称取约2g鲜土于12mL玻璃瓶(Labco,LABCO GmbH,UK)中,加入2mL去离子水,盖紧盖子后摇晃1min成均匀泥浆,抽真空充氩气重复3次,以确保严格厌氧状态。在25℃恒温振荡(150r·min⁻¹)培养箱中避光预培养3d,再进行抽真空充氩气操作3次。预培养结束后,将土样进行以下6个处理(每个处理设3次重复),以便区分总体DAMO、Nr-damo、n-damo和N₂O-damo:(1)Ar;(2)N₂O;(3)¹³CH₄;(4)¹³CH₄+NO₃⁻;(5)¹³CH₄+NO₂⁻和(6)¹³CH₄+N₂O。实验时,先抽出相应体积的顶空气体,再根据具体处理添加¹³CH₄200μL(相对丰度99%)或N₂O(0.32μmol·mol⁻¹)800μL,并使用高纯Ar气(>99.999%)补充差量,NO₂⁻(0.5mmol·L⁻¹)和NO₃⁻(2

表1 长期施肥试验设置(kg·hm⁻²)

Table 1 Designs of long-term fertilization experiments(kg·hm⁻²)

处理 Treatment	基肥 Base fertilizer					追肥 Top dressing
	N*	K ₂ O	P ₂ O ₅	猪粪 Pig manure	稻草 Straw	N*
CK	0	0	0	0	0	0
NPKS	75/90	120	45		2 625	75/90
NPK	75/90	120	45			75/90
NKM	75/90	120		15 000		75/90

注:N*表示氮肥施用量早晚稻不同。

Note:N* indicates that nitrogen fertilizer application rate is different in early and late rice.

mmol·L⁻¹)添加量均为1 mL。对照组添加相应体积的去离子水。所有处理在添加试剂后置于恒温振荡培养箱内25℃下充分摇晃60 s形成均匀泥浆以及气体达到气-液相平衡。分别在第7天和第14天用微量注射器抽取100 μL气体,取之前先轻摇培养瓶1~2 min,使得溶解在溶液中的气体释放到培养瓶上部气体空间,取气之后补充相应体积的Ar。将取得的气体样品注入抽真空通Ar处理后(稀释300倍)的12 mL Labco真空瓶,用气相色谱仪(Agilent 7890N, Agilent Co. Ltd, 美国)测顶空CH₄和CO₂的浓度,用Picarro气体同位素分析仪(Picarro 2201i, Picarro Co. Ltd, 美国)测定¹³C-CO₂丰度,参考Zhang等^[37]的方法(公式1和公式2)计算培养瓶气相中¹³CO₂的含量,培养瓶中总的¹³CO₂(Σ¹³CO₂)含量,包括气相和液体中的¹³CO₂含量,参考He等^[38]的方法(公式3)计算;根据玻璃瓶中¹³CO₂总产生量随时间的变化计算AOM速率。

$$^{13}\text{CO}_2\text{AT}\% = \frac{(\delta^{13}\text{C}-\text{CO}_2 + 1\ 000) \times R_{\text{PDB}}}{(\delta^{13}\text{C}-\text{CO}_2 + 1\ 000) \times R_{\text{PDB}} + 1\ 000} \times 100\% \quad (1)$$

$$^{13}\text{CO}_{2(\text{g})} = \text{CO}_2 \times ^{13}\text{CO}_2\text{AT}\%/100 \quad (2)$$

$$\Sigma^{13}\text{CO}_2 = ^{13}\text{CO}_{2(\text{g})} \left[1 + kRT \frac{V_{\text{liquid}}}{V_{\text{gas}}} \left(1 + \frac{K_z}{[\text{H}^+]} \right) \right] \quad (3)$$

式中:¹³CO₂AT%为¹³C标记的CH₄转化成为¹³C-CO₂的平均原子百分比,%;δ¹³C-CO₂为¹³C标记的CO₂丰度;R_{PDB}=0.011 237 2;CO₂为气相中CO₂的浓度,μmol·mol⁻¹;¹³CO_{2(g)}为气相中¹³CO₂的含量,mL;Σ¹³CO₂为体系中¹³CO₂的总量,mL;k为CO₂的溶解系数,R为普适气体常数;T为温度,K;V_{liquid}和V_{gas}分别为液体和气相的体积,mL;K_z为碳酸第一步离解的离解常数;[H⁺]为H⁺的摩尔浓度。

总 DAMO 速率通过¹³CH₄+NO₃⁻(处理4)培养期间的AOM速率减去¹³CH₄(处理3)培养期间的AOM速率来计算。Nr-damo、n-damo和N₂O-damo的速率计算分别为处理(4)、(5)和(6)培养期间的AOM速率分别减去处理(5)、(3)和(3)中的AOM速率^[39]。

1.5 数据处理和统计分析

所有数据通过Excel 2019进行预处理并绘制DAMO速率变化图。通过SAS PROC MIXED混合模型^[40]进行方差分析(ANOVA),采用最小显著差异(LSD 0.05)法在95%的置信水平上进行均值比较。利用SPSS 25.0对各土壤理化指标、DAMO速率进行Pearson相关性分析;并利用独立样本t检验分析不同处理

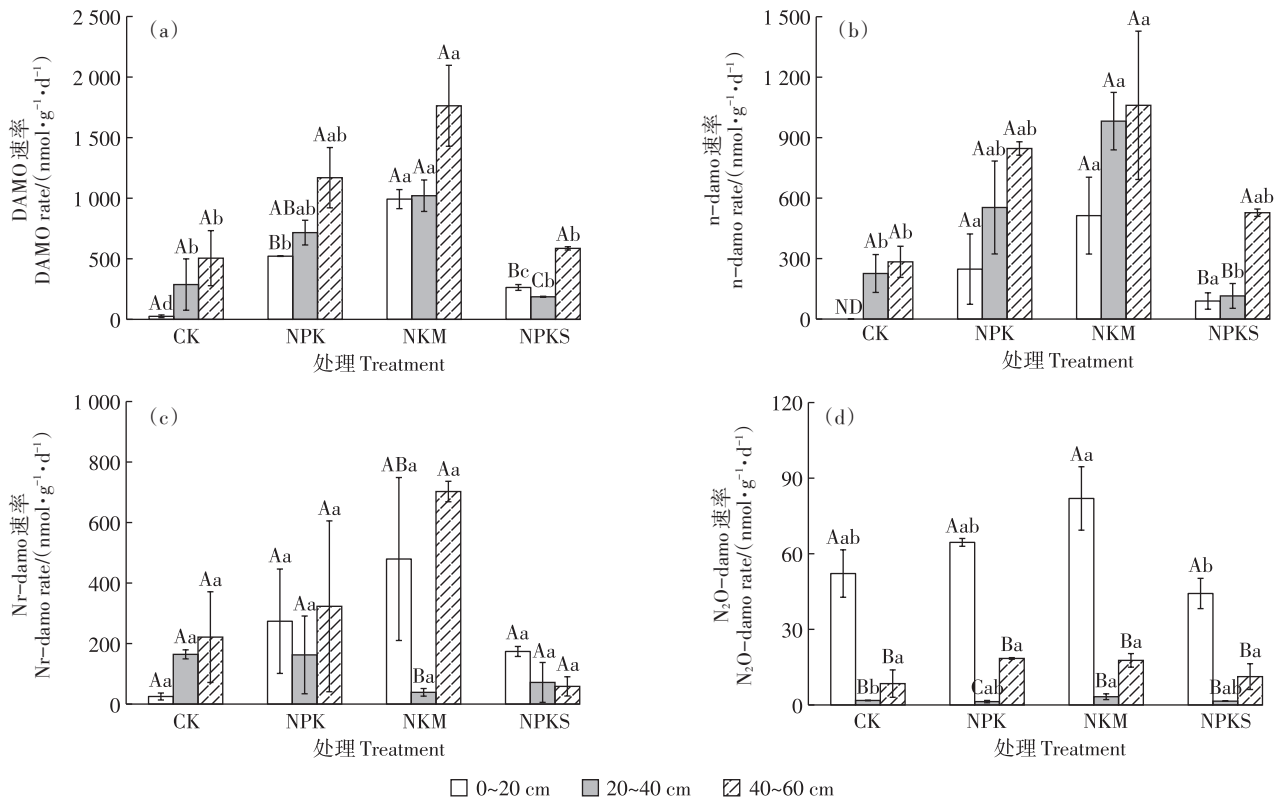
间各项指标的差异显著性。使用Origin 2021绘制各变量相关矩阵图,显著性差异水平标准为P<0.05。

2 结果与分析

2.1 不同土层深度及施肥处理对DAMO速率的影响

稻田不同施肥类型对DAMO过程有重要影响,而且在土壤深度中的表现有较大差异。本研究的DAMO、n-damo、Nr-damo和N₂O-damo速率如图1a~图1d所示。总体而言,相同处理的总DAMO速率在深层土壤中(505.13~1 762.93 nmol·g⁻¹·d⁻¹)高于表层土壤(25.01~992.59 nmol·g⁻¹·d⁻¹)和 中层土壤(186.31~1 020.63 nmol·g⁻¹·d⁻¹)(图1a),总DAMO速率的最大值和最小值分别出现在NKM处理的深层土壤和CK处理的表层土壤中。NKM处理的表层、中层和深层土壤的DAMO速率均显著高于相同土层NPKS处理(P<0.05),分别高出276%、447%和200%。n-damo速率与土壤深度密切相关,从表层到深层各土壤n-damo速率呈递增趋势(图1b);在CK处理的表层土壤中未检测出n-damo速率,CK处理的中层(226.03 nmol·g⁻¹·d⁻¹)和深层(283.81 nmol·g⁻¹·d⁻¹)土壤的n-damo速率均显著低于NKM处理(中层981.86 nmol·g⁻¹·d⁻¹和深层1 060.44 nmol·g⁻¹·d⁻¹),NKM处理中层土壤的n-damo速率显著高出NPKS处理755%(P<0.05)。NKM处理的深层土壤的Nr-damo速率(702.49 nmol·g⁻¹·d⁻¹)显著高于中层(38.77 nmol·g⁻¹·d⁻¹)土壤(P<0.05),但与其表层土壤差异并不显著(P>0.05);而随土层加深Nr-damo速率在CK处理中呈现递增、在NPKS处理中呈现递减的趋势,可见Nr-damo速率在不同处理与土层中变化不同,但这种变化未达到显著水平(P>0.05)(图1c)。各施肥处理土壤的N₂O-damo速率在各土层均表现为表层最高(44.23~81.95 nmol·g⁻¹·d⁻¹),深层次之(8.47~18.46 nmol·g⁻¹·d⁻¹),中层最低(0.63~3.27 nmol·g⁻¹·d⁻¹)(图1d)。

综上所述,在表层土壤中,NKM处理的DAMO速率显著高于CK、NPK和NPKS土壤(图1a);NKM处理的N₂O-damo速率显著高于NPKS土壤(P<0.05)(图1d),但各处理的n-damo和Nr-damo速率在表层土壤中变化不显著(P>0.05)(图1b、图1c)。中层土壤的DAMO和n-damo速率均表现为NKM处理显著高于CK处理和NPKS处理(P<0.05)(图1a、图1b);N₂O-damo速率表现为NKM处理显著高于CK处理,与其他处理相比变化不显著(P>0.05)(图1d)。深层土壤中NKM处理的DAMO速率显著高于CK和NPKS处



大写字母表示同一土壤处理不同深度间差异显著($P < 0.05$),小写字母表示同一深度不同土壤处理差异显著($P < 0.05$)。ND:未检测到数据。Uppercase letters indicate significant ($P < 0.05$) differences among different depths for the same soil treatment, and lowercase letters indicate significant ($P < 0.05$) differences among different soil treatments at the same depth. ND: No data detected.

图1 DAMO速率变化

Figure 1 DAMO rate change characteristics

理($P < 0.05$) (图1a); NKM处理的n-damo速率显著高于CK处理,但与NPK及NPKS处理没有显著性变化($P > 0.05$) (图1b);各处理的Nr-damo和 N_2O -damo速率在深层土壤中变化不显著($P > 0.05$) (图1c、图1d)。

2.2 土壤理化性状对DAMO过程的影响

长期施肥使土壤各项理化指标(除pH外)均随土层深度的增加而呈下降趋势(表2)。对于DOC含量,从CK处理的深层土壤到NPKS处理的表层土壤,其范围为 $82.76 \sim 296.33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。而 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和SOC的最高值都出现在NKM处理中,NPKS处理贡献了最低值。不同的是 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量,其在NPKS处理中含量较高,而在CK处理中含量最低。相比之下,各处理土壤样品的pH值随着土壤深度的增加而增加;NPKS处理的表层土壤pH值最低(5.41),而NKM处理在深层土壤pH值最大(6.51)。

此外,考虑众多环境因子绘制了DAMO速率与环境要素的相关矩阵。从图2可以看出,DAMO速率和Nr-damo速率均与土壤pH值呈现显著正相关($P < 0.05$); N_2O -damo速率与土壤中SOC和 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量呈

现极显著正相关($P < 0.000 01$),并与DOC含量呈现显著正相关($P < 0.05$),但与 $\delta^{13}\text{C}\text{O}_2$ 和 $^{13}\text{C}\text{O}_2\text{AT}\%$ 呈现显著负相关($P < 0.01$)。除此之外,n-damo速率虽然与环境因子未表现出明显的相关性,但与DAMO速率呈现极显著正相关($P < 0.000 01$)。

3 讨论

3.1 DAMO速率对长期不同施肥处理的响应

本研究发现相比于其他陆地淡水生态系统,在长期施肥下,稻田总DAMO速率呈现较高的水平。总DAMO速率变化范围为 $25.01 \sim 1762.93 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,最大值远高于长江口沉积物中DAMO速率($0.07 \sim 0.28 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)^[41]和黄河三角洲中心的盐渍土中DAMO速率($0.55 \sim 3.8 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)^[24];最大值也高于夏季潮间带沼泽沉积物DAMO总活性的平均速率($40.5 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)^[42]。NKM处理的各层土壤中的DAMO速率均高于相同土层的NPKS处理($P < 0.05$) (图1a),可见NKM处理相较于NPKS处理具有更高的 CH_4 氧化潜力,这与Qin等^[33]在望城站点田间实验中发现的

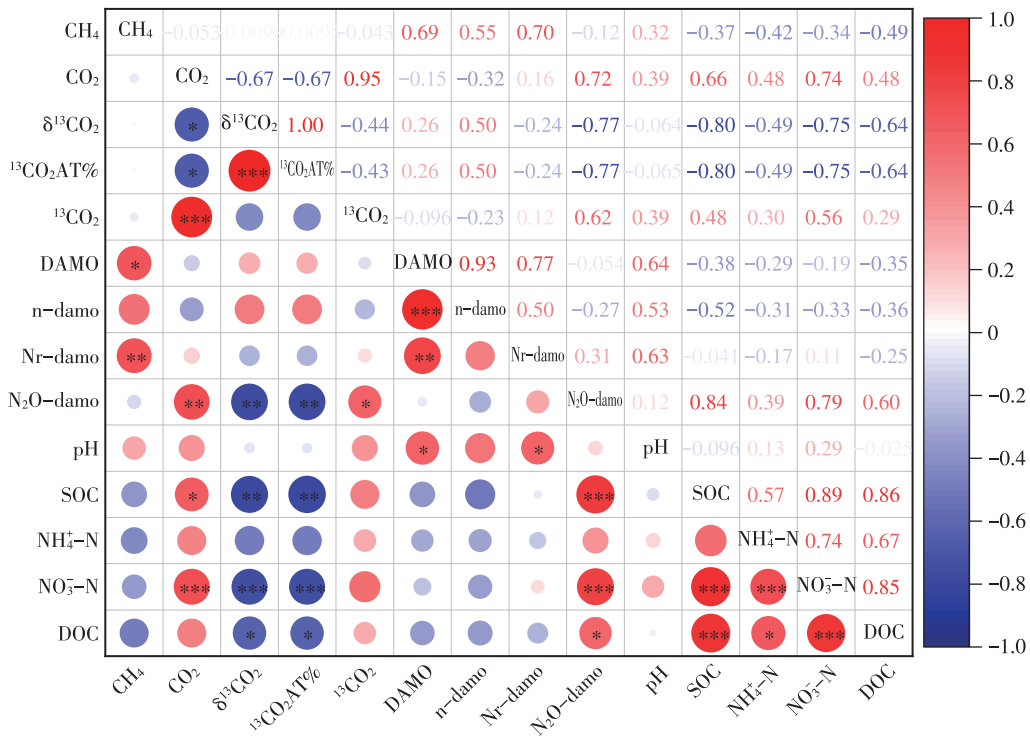
表2 土壤理化性状

Table 2 Physicochemical characteristics of the soil

处理 Treatment	深度 Depth/cm	可溶性有机碳 DOC/(mg·kg ⁻¹)	NO ₃ -N/(mg·kg ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N/(mg·kg ⁻¹)	有机碳 SOC/(g·kg ⁻¹)	pH
CK	0~20	241.00±7.62Ba	32.89±6.37Ca	2.07±0.23Aa	22.96±0.68Aa	5.60±0.25Aa
	20~40	136.67±16.06Bb	19.51±4.59Bab	1.39±0.27Aab	8.73±0.99Ab	6.17±0.10ABa
	40~60	82.76±13.94Ac	7.55±1.88Ab	0.78±0.27Ab	7.50±0.43Ab	6.34±0.32Aa
NPK	0~20	225.13±4.98Ba	59.84±8.42Ba	2.93±0.72Aa	17.82±2.23Ba	5.45±0.08Ac
	20~40	141.32±9.43Bb	21.93±2.91ABb	2.56±0.61Aa	11.32±1.54Ab	6.05±0.08Bb
	40~60	91.16±10.99Ac	5.79±0.82ABb	1.39±0.46Aa	7.76±0.15Ab	6.43±0.14Aa
NKM	0~20	289.67±13.17Aa	97.08±1.07Aa	2.57±0.23Aa	24.34±0.20Aa	5.58±0.11Ab
	20~40	262.55±31.44Aa	30.50±2.35Ab	2.00±0.49Aab	10.71±0.94Ab	6.40±0.03Aa
	40~60	84.74±23.73Ab	5.23±1.06ABc	1.13±0.25Ab	7.54±0.20Ac	6.51±0.06Aa
NPKS	0~20	296.33±6.68Aa	92.89±2.38Aa	3.18±0.68Aa	24.03±0.45Aa	5.41±0.05Ab
	20~40	209.41±6.67Ab	17.69±2.51Bb	2.13±0.64Aa	12.35±2.27Ab	5.94±0.10Ba
	40~60	111.86±12.93Ac	2.14±0.26Bc	1.95±0.69Aa	6.87±0.28Ac	6.04±0.11Aa

注:数据表示为平均值±标准误;不同小写字母表示同一施肥处理不同深度土壤间差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示同一深度不同施肥处理土壤间差异显著($P<0.05$)。

Note: Data are expressed as mean±standard error; Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$) among soil depths within the same fertilization treatment, whereas different uppercase letters denote significant differences ($P<0.05$) among fertilization treatments at the same soil depth.



* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.0001$.

图中蓝色表示负相关,红色表示正相关,颜色越深相关性越强。

Blue indicates negative correlation, red indicates positive correlation, and the darker the color, the stronger the correlation.

图2 DAMO及影响因素相关矩阵

Figure 2 Correlation matrix between DAMO rate and influential factors

NKM处理CH₄排放量低于NPKS处理的结果相一致,表明长期使用猪粪相较于秸秆还田更能促进稻田CH₄减排。

本研究 n-damo 速率变化范围为 0~1 060.44 nmol·g⁻¹·d⁻¹(图 1b),最大值高于先前稻田土壤(0.2~8.91 nmol·g⁻¹·d⁻¹)^[32,43-44]、天然淡水湿地(0.2~14.5

$\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)^[9,45]中报道的 n-damo 活性范围;这是因为化肥投入和秸秆还田引起的无机氮含量变化是影响潜在 n-damo 活性和 *M. oxyfera* 类细菌丰度的关键因素^[25];Shen 等^[32]也发现在稻田种植模式中,其淹水缺氧条件为 n-damo 细菌提供了合适的栖息地,长期施用富氮肥料会进一步促使稻田成为 n-damo 细菌的适宜栖息地。Hu 等^[18]发现深层土壤潜在 n-damo 速率远高于表层土壤,这与深层中发现的较高丰度的 *M. oxyfera* 细菌有关,并且稻田土壤的潜在 n-damo 速率在 20~30 cm 深度处低于检测限度;本研究也在 NPKS 处理的深层土壤中发现 n-damo 速率显著高于表层和深层土壤,CK 处理的表层土壤 n-damo 速率检测值低于检测限度。本研究 Nr-damo 速率变化范围是 25.01~702.49 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (图 1c),除 NPKS 处理的深层土壤外,其他处理(CK、NPK、NKM)深层土壤的 Nr-damo 速率均出现高于表层或中层土壤的现象;Wang 等^[46]认为由于硝酸盐具有电负性,不容易被土壤胶体吸附,会随降雨淋溶到更深的土层中,故 DAMO 过程主要发生在深度缺氧的土壤中。本研究 Nr-damo 的速率在 NPK 和 NKM 处理中均呈现深层最高、表层次之、中层最低,这可能是由于深层土壤处于严格厌氧环境,产甲烷菌活性高,促进 Nr-damo 反应发生,有研究发现土壤中的古菌对长期施肥的生长响应在深层更强^[27]。表层土壤直接接触化肥,硝酸盐含量较高,但氧气渗透抑制了产甲烷菌活性致使甲烷生成量较低,表层土壤还易受干湿交替、温度变化和微生物活动不稳定等因素影响,限制了 Nr-damo 速率^[47]。中层土壤处于硝酸盐淋溶的过渡区,硝酸盐可能被上层和深层的植物吸收或反硝化利用;另外,中层 CH_4 可能向上扩散至表层或向下至深层,导致本土层 CH_4 含量不足;有实验表明土壤中硝酸盐与 CH_4 共存时能协同促进 DAMO 发生^[48],但本研究中层土壤可能因 CH_4 扩散受限或硝酸盐分布不均导致两者无法有效结合;因此 NPK 和 NKM 处理深层土壤因底物充足和严格厌氧环境成为 Nr-damo 热点区域,而中层受限于资源匮乏和竞争速率最低。本研究 Nr-damo 的速率在 CK 处理中随土壤深度增加而增大,而在 NPKS 处理中变化与之相反,这可能是由于 CK 处理土壤虽然没有外源氮肥的加持,但是由于植物残体、根系分泌和有机质分解等会随降雨淋溶到深层土壤中;NPKS 处理的 Nr-damo 速率最高值出现在表层土壤可能与稻草的施用有关,稻草作为外源有机碳主要堆积在表层土壤中,表层土壤因氧气渗透性较好(如稻草覆盖

下的微氧环境)硝化速率更高^[49],形成的硝酸盐可为 Nr-damo 反应提供充足的电子受体;另外,ANME-2d 古菌丰度和群落组成仅受土层影响显著,在表层土壤丰度最高^[47],而深层土壤因 SOC 渗透受限,碳源供应不足导致 Nr-damo 速率较低。 N_2O 的加入有利于电子传递和 ATP 的产生,这一过程很有可能是未知的甲烷氧化菌在 N_2O 存在下产生了内部氧气^[8];本研究的 N_2O -damo 速率变化范围为 0.63~81.95 $\text{nmol} \text{CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (图 1d),表层土壤中的 N_2O -damo 速率高于中层和深层土壤,这可能是由于随着土层深度加深,这种能利用 N_2O 的未知好氧甲烷营养型微生物活性降低所致;针对 CH_4 耦合 N_2O 发生的甲烷厌氧氧化过程,其反应机理和相关微生物仍需进一步探究。

从表 2 数据可以看出 CK 处理表层土壤中的 NO_3^- -N 含量显著低于 NPK、NKM 和 NPKS 处理的表层土壤,CK 处理中层土壤的 NO_3^- -N 含量显著低于 NKM 处理中层土壤。而同一土层深度各处理土壤的 NH_4^+ -N 含量没有显著性变化,其原因可能:(1)稻田土壤 NH_4^+ -N 含量较低,显著低于 NO_3^- -N,特别是深层次土层,大部分 NH_4^+ -N 都转化为 NO_3^- -N,因此容易产生在统计学意义上差异不显著的情况;(2)DAMO 在水平和垂直分异上的空间差异与长期施肥效应的相互抵消,之前单点研究的结果可能存在较大的不确定性,基质的空间不均匀分布将直接决定 DAMO 速率的时空异质性。本研究是第一次针对连续 43 年长期试验土壤的 DAMO 速率及其影响因素进行分析,由于全球范围内对稻田 DAMO 时空异质性的研究还极为欠缺,后续我们将继续取样并作系列分析,深入探讨其驱动机制。

3.2 长期施肥下土壤理化性状与 DAMO 速率的关系

本研究的土壤各项理化指标(除 pH 外)均随土层深度的增加而呈下降趋势(表 2),植物残体和根系分泌物主要集中在表层,经过微生物分解后形成的腐殖质成为有机质的来源;养分(氮、磷、钾)被表层土壤中植物根系及微生物吸收并固定在生物体内,生物死亡后再次被分解释放;但随着土层加深微生物活动受到抑制,致使有机质含量下降^[50],深层土壤中微生物群落以厌氧菌(如产甲烷菌等)为主,比较单一,因此物质循环速率较低。本研究 CK 处理表层土壤的 SOC 和 DOC 含量高于 NPK 的表层土壤,这可能是由于施加化肥后提高了土壤养分的有效性,同时刺激了微生物细菌的代谢活性,加速有机质分解速率,导致 SOC 矿化为 CO_2 的效率增加、净积累量减少;而 CK 处理因

养分受限对微生物活性刺激较小, SOC的分解速率较低, 从而净积累量更多。另外, 长期施用化肥会加剧土壤酸化进程^[51], 破坏有机质与矿物结合、增加SOC的微生物可利用性; 并且土壤酸化后, DOC的溶解度可能升高, 会通过地表径流等方式流失; 相反CK处理表层土壤DOC因pH较高, 与矿物表面的吸附作用更强, 保存更加稳定。本研究 NO_3^- -N和SOC的最高值都出现在NKM处理土壤中, 在NPKS处理土壤中呈现最低值, 这是因为NKM处理通过有机-无机肥配施, 既增强了土壤酶活性(如硝酸还原酶)促进硝化作用, 又有猪粪这种有机肥提供碳源, 优化了碳氮循环的微生物耦合^[52], 从而促进了 NO_3^- -N和SOC的协同积累; 稻草的高碳氮比(C/N)会导致微生物分解时需从土壤中吸收氮素^[53], 暂时减少硝化作用的底物(NH_4^+)从而抑制 NO_3^- -N生成, 另外, 稻草分解产生的酚酸等次生代谢物能够抑制硝化菌和腐殖化过程^[54], 降低 NO_3^- -N生成和SOC稳定性。

DAMO发生过程受许多人为和环境因素的影响, 例如农业管理引起的土壤理化性质的变化等^[44]。本研究的相关分析结果表明(图2), 在众多环境因子中, DAMO速率和Nr-damo速率均与土壤pH值呈现显著正相关($P < 0.05$), 这是因为DAMO过程和Nr-damo过程的发生是由*M. nitroreducens*古菌与*M. oxyfera*细菌介导的, 而土壤pH值会影响微生物群落结构及活性^[55], 本研究NKM处理的深层土壤pH值(6.51)最高, 并且DAMO速率和Nr-damo速率在此处达到最大值, 可见DAMO和Nr-damo相关菌群更偏好弱酸或中性环境。本研究中DAMO和Nr-damo速率与 NO_3^- -N和 NO_2^- -N没有显著相关性, 这可能与土壤生物地球化学过程的复杂性有关, 长期施用化肥导致土壤中硝酸盐含量长期处于较高水平^[56], DAMO功能菌(如NC10门细菌)可能已经适应高底物环境, 其活性不再受硝酸盐含量的线性驱动, 而是趋于饱和状态。 NO_2^- -N是硝化与反硝化过程的中间产物, 其含量受pH、氧气条件和微生物活性影响剧烈^[57], 在长期施肥土壤中, NO_2^- -N可能快速转化为 N_2 或 N_2O , 导致其含量与DAMO速率无法形成稳定关联。在NKM或NPKS处理中, 外源有机碳(如猪粪或秸秆)的输入改变了土壤微生物群落结构^[58], 可能促进异养反硝化菌的活性, 与DAMO菌竞争 NO_3^- -N, 削弱其与DAMO速率的相关性。长期施用化肥可能导致土壤酸化^[51], 抑制自养硝化作用(减少 NO_3^- -N生成), 同时影响DAMO菌的酶活性(如最适pH值为6~8), 此时, pH可能成为

比氮素含量更关键的限制因子。除此之外, n-damo速率虽然与环境因子未表现出明显的相关性, 但与DAMO速率呈现极显著正相关($P < 0.000\ 01$), 这是由于DAMO过程的 NO_3^- 电子受体可以通过反硝化作用还原为 NO_2^- , 然后产生的 NO_2^- 可以被*M. oxyfera*细菌用于甲烷的氧化进而发生n-damo过程, 可见DAMO过程与n-damo过程的发生可能密切相关。虽然目前介导 N_2O -damo发生的甲烷氧化菌仍然未知, 但本研究结果表明, N_2O -damo过程的发生受各个施肥处理的土壤中SOC、 NO_3^- -N和DOC等因素控制。

除此之外, Shi等^[59]发现泥炭地中DAMO的发生可能受 NO_3^- 的施用量及其渗透到缺氧层的深度控制; 本研究NPK、NKM和NPKS处理中施用肥料促进作物生长, 导致更多的作物秸秆输入, 进而增加土壤有机碳含量和氮水平, 为稻田 CH_4 耦合 N_2O 发生AOM过程提供条件。本研究还发现, DAMO速率和Nr-damo速率均与 CH_4 含量呈现显著正相关(图2); 这是因为相比表层土壤, 深层土壤中氧气含量相对较低, CH_4 含量较高, 这有助于维持较高的DAMO细菌和古菌活性, 从而更好地驱动DAMO过程发生^[60]。

水稻土属于人工淡水湿地的一种, 其DAMO发生速率、类型及其对农业管理措施(施肥、水分管理及耕作制度)^[61]和气候、土壤等要素的响应机制, 特别是在长期施肥影响下的表现有其自身特征。研究表明在稻田的可持续管理中, 相比其他施肥方法应优先考虑长期施用畜禽粪便, 将有助于减少 CH_4 的排放量并产生较高的AOM速率^[62], 这与本研究结果一致。我国水稻土种植类型和管理措施多样且复杂, DAMO发生机制及其碳氮协同减控技术的挖掘需要进一步探讨; 后续我们将开展相关分子生物学实验, 用更多的微生物数据来分析本研究中参与DAMO的微生物群落(包括*M. nitroreducens*古菌与*M. oxyfera*细菌)及功能基因(例如*pmoA*和*mcrA*), 并结合土壤理化性质(pH、Eh)、碳氮比(C/N)数据解析DAMO速率的主控因子, 更好地阐明微生物类群与各环境因子及DAMO过程的相互作用机制。

4 结论

- (1) 相比于长期秸秆还田, 猪粪配施化肥对红壤水稻土DAMO的发生更有促进作用。
- (2) 深层水稻土具有较高的DAMO和n-damo潜力, 表层水稻土具有较高的 N_2O -damo潜力。
- (3) 本研究中土壤pH值为DAMO速率和Nr-da-

mo 速率的主控因子, N₂O-damo 过程的发生受各个施肥处理的土壤中 SOC、NO₃-N 和 DOC 等因素控制。

参考文献:

- [1] IPCC. Global warming of 1.5 °C[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2018.
- [2] 秦晓波, 王金明, 王斌, 等. 稻田甲烷排放现状、减排技术和低碳生产战略路径[J]. 气候变化研究进展, 2023, 19(5):541-558. QIN X B, WANG J M, WANG B, et al. Current status of methane emissions from rice paddies, abatement technologies and strategic pathways for low-carbon production[J]. *Progress in Climate Change Research*, 2023, 19(5):541-558.
- [3] WANG J Q, CAI C Y, LI Y F, et al. Denitrifying anaerobic methane oxidation: a previously overlooked methane sink in intertidal zone[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(1):203-212.
- [4] RAGHOEBARSING A A, POL A, VAN DE PAS-SCHOONEN K T, et al. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification[J]. *Nature*, 2006, 440(7086):918-921.
- [5] HAROON M F, HU S H, SHI Y, et al. Anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction in a novel archaeal lineage[J]. *Nature*, 2013, 500(7464):567-570.
- [6] ETTWIG K F, VAN ALEN T, VAN DE PAS-SCHOONEN K T, et al. Enrichment and molecular detection of denitrifying methanotrophic bacteria of the NC10 phylum[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(11):3656-3662.
- [7] ETTWIG K F, SHIMA S, VAN DE PAS-SCHOONEN K T, et al. Denitrifying bacteria anaerobically oxidize methane in the absence of Archaea[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11):3164-3173.
- [8] CHENG C, SHEN X X, XIE H J, et al. Coupled methane and nitrous oxide biotransformation in freshwater wetland sediment microcosms[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 648:916-922.
- [9] XIE F, MA A Z, ZHOU H C, et al. Niche differentiation of denitrifying anaerobic methane oxidizing bacteria and archaea leads to effective methane filtration in a Tibetan alpine wetland[J]. *Environment International*, 2020, 140:105764.
- [10] SHEN L D, TIAN M H, CHENG H X, et al. Different responses of nitrite- and nitrate-dependent anaerobic methanotrophs to increasing nitrogen loading in a freshwater reservoir[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263:114623.
- [11] SHEN L D, OUYANG L, ZHU Y Z, et al. Active pathways of anaerobic methane oxidation across contrasting riverbeds[J]. *The ISME Journal*, 2019, 13(3):752-766.
- [12] HU S H, ZENG R J, KELLER J, et al. Effect of nitrate and nitrite on the selection of microorganisms in the denitrifying anaerobic methane oxidation process[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2011, 3(3):315-319.
- [13] CHEN J, ZHOU Z C, GU J D. Occurrence and diversity of nitrite-dependent anaerobic methane oxidation bacteria in the sediments of the South China Sea revealed by amplification of both 16S rRNA and *pmoA* genes[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(12):5685-5696.
- [14] WANG Y, ZHU G B, HARHANGI H R, et al. Co-occurrence and distribution of nitrite-dependent anaerobic ammonium and methane-oxidizing bacteria in a paddy soil[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2012, 336(2):79-88.
- [15] WANG J Q, SHEN L D, HE Z F, et al. Spatial and temporal distribution of nitrite-dependent anaerobic methane-oxidizing bacteria in an intertidal zone of the East China Sea[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(21):8007-8014.
- [16] CHENG H X, YANG Y L, SHEN L D, et al. Spatial variations of activity and community structure of nitrite-dependent anaerobic methanotrophs in river sediment[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 851:158288.
- [17] ZHU G B, ZHOU L L, WANG Y, et al. Biogeographical distribution of denitrifying anaerobic methane oxidizing bacteria in Chinese wetland ecosystems[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2015, 7(1):128-138.
- [18] HU B L, SHEN L D, LIAN X, et al. Evidence for nitrite-dependent anaerobic methane oxidation as a previously overlooked microbial methane sink in wetlands[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(12):4495-4500.
- [19] ZHU B L, VAN DIJK G, FRITZ C, et al. Anaerobic oxidization of methane in a minerotrophic peatland: enrichment of nitrite-dependent methane-oxidizing bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(24):8657-8665.
- [20] DEUTZMANN J S, STIEF P, BRANDES J, et al. Anaerobic methane oxidation coupled to denitrification is the dominant methane sink in a deep lake[J]. *PNAS*, 2014, 111(51):18273-18278.
- [21] DEUTZMANN J S, SCHINK B. Anaerobic oxidation of methane in sediments of Lake Constance, an oligotrophic freshwater lake[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(13):4429-4436.
- [22] GRAF J S, MAYR M J, MARCHANT H K, et al. Bloom of a denitrifying methanotroph, '*Candidatus* Methyloirabilis limnetica', in a deep stratified lake[J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(7):2598-2614.
- [23] SHEN L D, LIU S, ZHU Q, et al. Distribution and diversity of nitrite-dependent anaerobic methane-oxidizing bacteria in the sediments of the Qiantang River[J]. *Microbial Ecology*, 2014, 67(2):341-349.
- [24] WANG Z H, LI J Y, XU X Y, et al. Denitrifying anaerobic methane oxidation and mechanisms influencing it in Yellow River Delta coastal wetland soil, China[J]. *Chemosphere*, 2022, 298:134345.
- [25] YANG Y L, SHEN L D, BAI Y N, et al. Response of potential activity, abundance and community composition of nitrite-dependent anaerobic methanotrophs to long-term fertilization in paddy soils[J]. *Environmental Microbiology*, 2022, 24(11):5005-5018.
- [26] YANG Y L, SHEN L D, ZHAO X, et al. Long-term fertilization enhances the activity of anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction and associated microbial abundance in paddy soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2023, 185:109130.
- [27] 沈李东, 胡宝兰, 郑平. 甲烷厌氧氧化微生物的研究进展[J]. 土壤学报, 2011, 48(3):619-628. SHEN L D, HU B L, ZHENG P.

- Progress in study on microorganisms responsible for anaerobic oxidation of methane[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2011, 48(3): 619–628.
- [28] DING J, FU L, DING Z W, et al. Environmental evaluation of coexistence of denitrifying anaerobic methane-oxidizing archaea and bacteria in a paddy field[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(1):439–446.
- [29] VALENTINE D L, REEBURGH W S, BLANTON D C. A culture apparatus for maintaining H₂ at sub-nanomolar concentrations[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2000, 39(3):243–251.
- [30] MORAN J J, BEAL E J, VRENTAS J M, et al. Methyl sulfides as intermediates in the anaerobic oxidation of methane[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(1):162–173.
- [31] BHATTACHARJEE A S, MOTLAGH A M, JETTEN M S M, et al. Methane dependent denitrification – from ecosystem to laboratory-scale enrichment for engineering applications[J]. *Water Research*, 2016, 99:244–252.
- [32] SHEN L D, LIU S, HUANG Q, et al. Evidence for the cooccurrence of nitrite-dependent anaerobic ammonium and methane oxidation processes in a flooded paddy field[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(24):7611–7619.
- [33] QIN X B, LU Y H, WAN Y F, et al. Rice straw application improves yield marginally and increases carbon footprint of double cropping paddy rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Field Crops Research*, 2023, 291: 108796.
- [34] 秦晓波, 李玉娥, 刘克樱, 等. 不同施肥处理稻田甲烷和氧化亚氮排放特征[J]. 农业工程学报, 2006, 22(7): 143–148. QIN X B, LI Y E, LIU K Y, et al. Methane and nitrous oxide emission from paddy field under different fertilization treatments[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2006, 22(7): 143–148.
- [35] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000:30–34. BAO S D. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2000:30–34.
- [36] TIAN M H, SHEN L D, LIU X, et al. Response of nitrite-dependent anaerobic methanotrophs to elevated atmospheric CO₂ concentration in paddy fields[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 801: 149785.
- [37] ZHANG Y L, HOU W, CHI M J, et al. Simulating the effects of soil temperature and soil moisture on CO₂ and CH₄ emissions in rice straw-enriched paddy soil[J]. *CATENA*, 2020, 194:104677.
- [38] HE Z F, WANG J Q, HU J J, et al. Improved PCR primers to amplify 16S rRNA genes from NC10 bacteria[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(11):5099–5108.
- [39] ZHENG Y L, HOU L J, CHEN F Y, et al. Denitrifying anaerobic methane oxidation in intertidal marsh soils: occurrence and environmental significance[J]. *Geoderma*, 2020, 357: 113943.
- [40] LUGINBUHL R, SCHLOTZHAUER S, PARKER C. SAS / STAT procedure guide for personal computers[M]. North Carolina: Statistical Analysis System Institute, 1999.
- [41] LI X F, LAI D Y F, GAO D Z. Anaerobic oxidation of methane with denitrification in sediments of a subtropical estuary: rates, controlling factors and environmental implications[J]. *Journal of Environmental Management*, 2020, 273:111151.
- [42] CHEN F Y, ZHENG Y L, HOU L J, et al. Denitrifying anaerobic methane oxidation in marsh sediments of Chongming eastern intertidal flat[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 150:110681.
- [43] BAI Y N, YANG W T, ZHU H L, et al. Positive response of nitrite-dependent anaerobic methane oxidation to both gradual and abrupt increases of atmospheric CO₂ concentration in paddy soils[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2023, 343:108291.
- [44] SHEN L D, LIU J Q, YANG Y L, et al. Activity, abundance and community composition of nitrite-dependent methanotrophs in response to fertilization in paddy soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 166:103987.
- [45] SHEN L D, HUANG Q, HE Z F, et al. Vertical distribution of nitrite-dependent anaerobic methane-oxidising bacteria in natural freshwater wetland soils[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(1):349–357.
- [46] WANG J Q, YAO X W, JIA Z J, et al. Nitrogen input promotes denitrifying methanotrophs' abundance and contribution to methane emission reduction in coastal wetland and paddy soil[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 302:119090.
- [47] YANG Y L, SHEN L D, GENG C Y, et al. Activity of anaerobic methane oxidation driven by different electron acceptors and the relative microbiome in paddy fields across various rice growth periods and soil layers[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2024, 60(8): 1073–1084.
- [48] 刘妍妍, 龙焰, 尹华, 等. 硝酸盐对矿化垃圾中兼/厌氧甲烷氧化的影响[J]. 环境科学, 2013, 34(11):4349–4355. LIU Y Y, LONG Y, YIN H, et al. Effects of nitrate on anoxic / anaerobic oxidation of methane in the aged refuse[J]. *Environmental Science*, 2013, 34(11): 4349–4355.
- [49] 郭婧航. 紫云英、稻草及其配施对土壤氮素转化影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019:1–2. GUO J H. Effects of *Zoysia japonica*, rice straw and their mixtures on soil nitrogen transformation[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019:1–2.
- [50] 王荣新, 车宗玺. 祁连山青海云杉林土壤理化指标空间变异性分析[J]. 甘肃林业科技, 2012, 37(1):6–12. WANG R X, CHE Z X. The spatial variation analysis on physical and chemical indicators of *Picea crassifolia* in Qilian Mountains[J]. *Journal of Gansu Forestry Science and Technology*, 2012, 37(1):6–12.
- [51] 冀建华, 吕真真, 刘淑珍, 等. 长期施用化肥对南方稻田土壤酸化和盐基离子损失的影响[J]. 中国农业科学, 2024, 57(13):2599–2611. JI J H, LÜ Z Z, LIU S Z, et al. Long-term application of chemical fertilizers induces soil acidification and soil exchangeable base cation loss on paddy in southern China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2024, 57(13):2599–2611.
- [52] 丁维婷, 武雪萍, 张继宗, 等. 长期有机无机配施对暗棕壤土壤酶活性及春麦产量品质的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2020(6):1–8. DING W T, WU X P, ZHANG J Z, et al. Effects of long-term organic-inorganic combined application on enzyme activity of dark brown soil and yield, quality of spring wheat[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in*

- China, 2020(6):1-8.
- [53] 沈飞, 李汉广, 钟斌, 等. 碳氮比对稻草和猪粪生物处理及厌氧消化的影响[J]. 环境科学学报, 2017, 37(11):4212-4219. SHEN F, LI H G, ZHONG B, et al. Effects of carbon to nitrogen ratio on biological pretreatment and anaerobic digestion of rice straw and pig manure[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2017, 37(11):4212-4219.
- [54] 彭宇, 朱林, 袁飞, 等. 不同 C/N 物料腐解过程中两种酚酸量的动态变化[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2004, 30(6):555-557. PENG Y, ZHU L, YUAN F, et al. Dynamic changes of two phenolic acids during decay of different C/N materials[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2004, 30(6):555-557.
- [55] 王智慧, 蒋先军. 紫色土中微生物群落结构及功能特征对土壤 pH 的差异响应[J]. 环境科学, 2022, 43(7):3876-3883. WANG Z H, JIANG X J. Contrasting responses of the microbial community structure and functional traits to soil pH in purple soils[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(7):3876-3883.
- [56] 张慧霞, 周怀平, 杨振兴, 等. 长期施肥对旱地土壤剖面硝态氮分布和累积的影响[J]. 山西农业科学, 2014, 42(5):465-469. ZHANG H X, ZHOU H P, YANG Z X, et al. Effect of long-term fertilization to distribution and accumulation of NO_3^- -N in dryland soil [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2014, 42(5):465-469.
- [57] 戴沈艳. 酸性森林土壤亚硝态氮转化及其主要影响因素[D]. 南京: 南京师范大学, 2018: 4-9. DAI S Y. Nitrosative nitrogen transformation in acidic forest soil and its main influencing factors[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2018:4-9.
- [58] 秦碧蓉. 外源有机碳添加下双季稻田质量、碳氮转化特征及其微生物调控途径[D]. 贵阳: 贵州大学, 2024: 62-64. QIN B R. Characteristics of quality, carbon and nitrogen transformation and microbial regulation in a double-season rice field under exogenous organic carbon addition[D]. Guiyang: Guizhou University, 2024: 62-64.
- [59] SHI Y, WANG Z Q, HE C G, et al. Using ^{13}C isotopes to explore denitrification-dependent anaerobic methane oxidation in a paddy-peatland[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7:40848.
- [60] 周蓉, 祝贵兵, 周磊榴, 等. 稻田土壤反硝化厌氧甲烷氧化菌的时空分布与群落结构分析[J]. 环境科学学报, 2015, 35(3):729-737. ZHOU R, ZHU G B, ZHOU L L, et al. Spatial-temporal distribution and community structure analysis of nitrite-dependent anaerobic methane-oxidizing bacteria in paddy soil[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, 35(3):729-737.
- [61] 沈李东, 金靖昊, 刘心. 内陆湿地与水体甲烷厌氧氧化功能微生物研究进展[J]. 生态学报, 2022, 42(9):3842-3855. SHEN L D, JIN J H, LIU X. Research progress on anaerobic methanotrophs in inland wetlands and freshwater aquatic systems[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(9):3842-3855.
- [62] FAN L C, DIPPOLD M A, GE T D, et al. Anaerobic oxidation of methane in paddy soil: role of electron acceptors and fertilization in mitigating CH_4 fluxes[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 141: 107685.

(责任编辑: 宋潇)