

神农架大九湖亚高山泥炭湿地甲烷通量变化特征 及其与产甲烷菌群落组成的关系

刘垚垚^{1, 2, 3} 葛继稳^{1, 2, 3} 斯南雍茜^{1, 2, 3} 蒋浩^{1, 2, 3}

袁梦媛^{1, 2, 3} 冯亮^{2, 3} 张志麒⁴¹

(1. 中国地质大学盆地水文过程与湿地生态恢复学术创新基地,

湖北 武汉 430074; 2. 中国地质大学湿地演化与生态恢复湖北省重点实验室,

湖北 武汉 430074; 3. 中国地质大学生态环境研究所, 湖北 武汉 430074;

4. 神农架国家公园管理局, 湖北 神农架林区 442417)

【摘要】: 2018年12月~2019年11月, 采用涡度相关法和高通量测序技术, 以湖北省神农架大九湖亚高山泥炭湿地为研究对象, 对甲烷(CH₄)通量以及产甲烷菌群落组成进行相关研究。结果及分析表明: 大九湖泥炭湿地研究期间表现为CH₄的源, CH₄总排放量为9333.26mg·m⁻², CH₄日平均排放通量为18.50nmol·m⁻²·s⁻¹, 冬、春、夏、秋四季的CH₄平均排放通量分别为6.46、4.62、36.81、25.92nmol·m⁻²·s⁻¹, 存在明显的季节变化; 研究区产甲烷菌优势菌群为Methanoregula(66.73%)和Methanocella(21.99%); 对样本中产甲烷菌的Shannon指数进行双因素方差分析发现, 同一季节不同深度的样本中产甲烷菌多样性存在显著差异, 随着深度的增加, 产甲烷菌的多样性指数呈下降趋势; 同一深度不同季节的样本中产甲烷菌多样性存在显著差异; 夏季产甲烷菌群落组成与CH₄排放通量为强正相关关系, 春季产甲烷菌群落组成与CH₄排放通量为强负相关关系, Methanothermus与CH₄排放通量为显著正相关关系, Methanolinea与CH₄排放通量为显著负相关关系。

【关键词】: 亚高山泥炭湿地 涡度相关 甲烷通量 产甲烷菌 群落组成

【中图分类号】: X831 **【文献标识码】:** A **【文章编号】:** 1004-8227(2021)06-1418-10

甲烷(CH₄)是第二大温室气体, 在全球碳循环中的作用十分重要。自工业革命以来, 大气中的CH₄浓度增加了近3倍^[1]。在百年的尺度范围内, CH₄的全球增温潜势比CO₂高约28~32倍^[2]。大气中的CH₄来源于自然排放和人类活动, 湿地是大气中CH₄最主

作者简介: 刘垚垚(1995~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为湿地生态学. E-mail: 346748038@qq.com

葛继稳 E-mail: gejiwen2002@aliyun.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(31971490)

要的自然来源, 26%~42%的 CH₄通过湿地排入大气^[3]。

湿地被称为“地球之肾”, 是可以促进生物地球化学循环的重要生态系统^[4]。尽管湿地仅约占陆地面积的8%^[5], 但它存储了全球约15%的有机碳含量^[6]。某些环境条件下, 微生物利用储存在土壤中的碳汇, 产生 CH₄和 CO₂等排放到大气中, 导致了全球变暖。湿地同时具有 CH₄源和汇的双重功能, 在调节大气中 CH₄浓度方面起着重要作用。因此湿地 CH₄的排放引起了全球的关注。

产甲烷菌是 CH₄产生过程中必不可少的菌群, 产甲烷菌的数量、种类组成等与 CH₄通量紧密相关, 是参与湿地碳循环的重要功能菌群^[7]。在厌氧的环境下, 产甲烷菌利用有机物分解产生的 H₂、CO₂和乙酸等为原料产生 CH₄, 产甲烷菌也在此过程中获得生长所需要的碳源和能量。

神农架大九湖泥炭湿地分布着全新世前形成的泥炭沉积物, 在全球气候变化研究中具有重要的研究价值。目前已有关于神农架大九湖泥炭湿地的 CH₄排放通量以及大九湖微生物群落组成的相应研究^[8~11], 然而关于大九湖产甲烷菌以及 CH₄排放通量与产甲烷菌群落组成间关系的研究还较为少见。本研究采取梯度相关法研究了大九湖泥炭湿地 CH₄的排放规律, 运用高通量测序技术对产甲烷菌的群落组成进行研究, 探究大九湖泥炭湿地 CH₄通量排放与产甲烷菌群落组成的关系, 为今后调控湿地 CH₄的排放提供重要的参考价值。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

神农架大九湖泥炭湿地位于湖北省神农架国家公园, 是中国中部罕见的亚热带高山泥炭湿地, 总面积为 1645hm², 海拔高达 1730m, 日照时间短, 年日照量约 1000h, 日均日照量 2.7h, 气温较低, 年平均气温为 7.4℃, 年平均降水量为 1560mm, 相对湿度为 80%以上^[12]。大九湖泥炭湿地高等植物有 46 科 83 属 98 种, 主要包括泥炭藓 (*Sphagnum palustre*)、苔草 (*Carex fulvorubescens*)、紫羊茅 (*Festuca rubra*)、乳浆大戟 (*Euphorbia esula*)、地榆 (*Sanguisorba officinalis*)、大金发藓 (*Polytrichum commune*)、圆叶茅膏菜 (*Drosera rotundifolia*) 等。

1.2 CH₄通量的测定

大九湖湿地生态系统开放式梯度相关观测系统 2015 年 7 月安装于大九湖 1 号湖附近 (31° 28' 44.45" N, 110° 00' 14.61" E, 1758m), 观测系统的探头安装在距地面 3m 处, 主要由三维超声风速仪 (CSAT-3, Li-Cor, USA)、开放式红外线 CO₂/H₂O 气体分析仪 (LI-7500, Li-Cor, USA), 开放式 CH₄ 分析仪 (LI-7700, Li-Cor, USA) 以及生物气象辅助传感器系统 (Biomet100, LI-Cor, USA) 组成。可连续测定三维风速, 超声温度, 泥炭湿地生态系统与大气间的 CO₂、H₂O、CH₄ 等通量数据和常规生物气象数据 (包括空气温度、相对湿度、降雨量、地面以下 10、20、30cm 处的土壤温度以及土壤含水量等环境因子), CR1000 数据收集器每半小时自动记录下各数据。

实际观测中, 存在仪器故障、大气稳定性等影响, 导致数据的缺失以及异常, 所以有必要对 CH₄通量数据进行剔除和插补。本研究主要剔除同期降雨数据、临界摩擦风速小于 0.15m/s 的数据和与平均值相差 4 倍标准差以上的数据。同时, 要插补缺失时期及剔除的数据, 本研究使用平均日变化法 (Mean Diurnal Variations) 和滑动窗口平均日变化法 (Gliding-window Method) 对数据进行插补。本研究选择 2018 年 12 月~2019 年 11 月的 CH₄通量数据进行分析, 并使用 Origin2018 和 Excel2016 进行数据处理和统计分析。

1.3 样本采集

样本点位共 1 个, 分布于通量观测仪器的正南方向、涡度相关监测系统主要贡献区 50m 内。于 2018 年 12 月~2019 年 11 月 1 年间 4 个季度的中旬分别进行采样, 具体采样时间为 2019 年的 1、4、7 和 10 月。使用 50ml 离心管取得土壤 0、10、30、50cm 4 个深度处的土样, 每个深度取 3 管, 将根系、石块等杂物去除, 4℃ 移动冰箱保存, 带回实验室, -80℃ 冰箱保存, 用于后续微生物组成测定。以上共采得 48 个土壤样品, 分别是 2019 年 1 月份 0cm 处(S1_0_1、S1_0_2、S1_0_3), 2019 年 1 月份 10cm 处(S1_10_1、S1_10_2、S1_10_3), 2019 年 1 月份 30cm 处(S1_30_1、S1_30_2、S1_30_3), 2019 年 1 月份 50cm 处(S1_50_1、S1_50_2、S1_50_3); 2019 年 4 月份 0cm 处(S4_0_1、S4_0_2、S4_0_3), 2019 年 4 月份 10cm 处(S4_10_1、S4_10_2、S4_10_3), 2019 年 4 月份 30cm 处(S4_30_1、S4_30_2、S4_30_3), 2019 年 4 月份 50cm 处(S4_50_1、S4_50_2、S4_50_3); 2019 年 7 月份 0cm 处(S7_0_1、S7_0_2、S7_0_3), 2019 年 7 月份 10cm 处(S7_10_1、S7_10_2、S7_10_3), 2019 年 7 月份 30cm 处(S7_30_1、S7_30_2、S7_30_3), 2019 年 7 月份 50cm 处(S7_50_1、S7_50_2、S7_50_3); 2019 年 10 月份 0cm 处(S10_0_1、S10_0_2、S10_0_3), 2019 年 10 月份 10cm 处(S10_10_1、S10_10_2、S10_10_3), 2019 年 10 月份 30cm 处(S10_30_1、S10_30_2、S10_30_3), 2019 年 10 月份 50cm 处(S10_50_1、S10_50_2、S10_50_3)。按季节和深度的分组分为 16 组, 命名为 January_0、January_10、January_30、January_50、April_0、April_10、April_30、April_50、July_0、July_10、July_30、July_50、October_0、October_10、October_30、October_50。

1.4 样本处理与数据分析

采用 OMEGASoi1DNAKit 试剂盒对 DNA 进行提取, 对提取后的 DNA 进行琼脂糖凝胶电泳检测。采用引物 MLf (5' -GGTGGTGMGGA TTCACACARTAYGCWACAGC-3'), MLr (5' -TTCATTGCRTAGTTWGGRTAGTT-3') 进行 *mcrA* 的扩增, 运用 IlluminaMiseq 测序平台进行 PCR 产物的高通量测序, 测序在上海派森诺生物科技股份有限公司完成。对获得的序列进行 OTU 归并划分, 采用 Shannon 指数、Simpson 指数、Chao1 指数和 ACE 指数等多样性指数进行 α 多样性分析。

将平均丰度前 10 个属的产甲烷菌菌群在 Excel 中筛选出来, 计算出采样日期相对应的 CH_4 日平均排放通量, 运用 R 软件对 CH_4 通量与产甲烷菌群落属水平前 10 的群落相关性进行冗余分析 (Redundancy Analysis, RDA)。

2 结果与分析

2.1 不同时间尺度的 CH_4 排放通量变化

2.1.1 CH_4 日平均排放通量变化

计算研究区 2018 年 12 月~2019 年 11 月每天 48 个时间段 CH_4 通量的平均, 分析出 CH_4 日平均通量变化特征曲线(图 1)。2018 年 12 月~2019 年 11 月 CH_4 日平均排放通量为 $18.50\text{nmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 最大排放值为 2019 年 9 月 20 日的 $88.55\text{nmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 最大吸收值为 2019 年 4 月 6 日的 $-20.97\text{nmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

研究期间 CH_4 主要为排放形式, CH_4 吸收仅 11d, 分别在 2018 年 12 月、2019 年 1、2、3、4 月。余下 354d 均为 CH_4 排放。2018 年 12 月至 2019 年 11 月 CH_4 排放通量的日际变化规律较明显: 2018 年 12 月逐渐下降, 2019 年 4 月开始逐渐增长, 2019 年 9 月又开始逐渐下降。

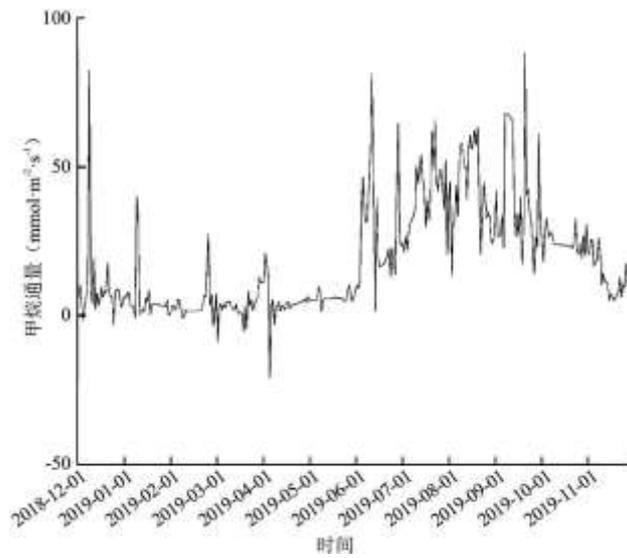


图 1 大九湖泥炭湿地 CH₄ 通量日平均变化

2. 1. 2CH₄ 月平均排放通量变化

计算研究区 2018 年 12 月至 2019 年 11 月每月所有时间段 CH₄ 通量的平均，分析出 12 个月的 CH₄ 通量月平均变化柱形图(图 2)。2018 年 12 月至 2019 年 11 月的月平均通量分别为 9.45、5.85、3.83、3.09、4.71、6.05、28.09、39.41、42.64、40.40、24.76、12.65nmol · m⁻² · s⁻¹，全部为 CH₄ 的排放。由图可知，CH₄ 月通量表现出明显的月际变化特征：从 2018 年 12 月开始逐渐下降，到 2019 年 3 月达到最低值 3.09nmol · m⁻² · s⁻¹，随后逐渐增加，2019 年 8 月达到最高值 42.64nmol · m⁻² · s⁻¹，随后逐渐下降到 11 月底。

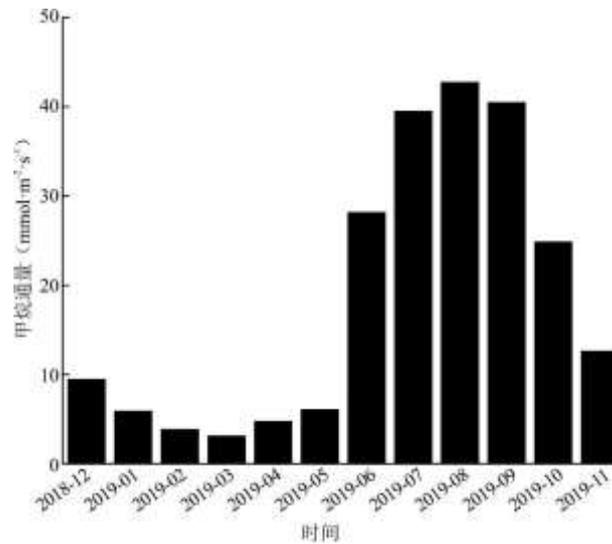


图 2 大九湖泥炭湿地 CH₄ 通量月平均变化

2. 1. 3CH₄ 季度平均排放通量变化

计算研究区每季度所有时间段 CH₄ 通量的平均, 得出 CH₄ 季度平均排放通量值。研究期间冬季、春季、夏季、秋季的平均通量分别为 6.46、4.62、36.81、25.92 nmol · m⁻² · s⁻¹, 全部为 CH₄ 的排放, CH₄ 排放通量大小为夏季>秋季>冬季>春季。

2.1. 4CH₄ 年排放通量动态变化

计算并统计出研究区 CH₄ 年排放动态变化(表 1)。研究期间 CH₄ 年累计排放量为 9333.26 mg · m⁻², CH₄ 日平均排放通量为 18.50 nmol · m⁻² · s⁻¹, 全年总体为 CH₄ 排放源。全年各月份 CH₄ 排放通量均不相同, 2019 年 8 月份 CH₄ 月排放通量最高。全年 4 个季度 CH₄ 排放通量差异明显, 夏季 CH₄ 排放通量最高。

表 1 大九湖泥炭湿地 2019 年全年不同时间尺度 CH₄ 排放量动态变化

季度	月份	CH ₄ 日平均排放通量 (nmol · m ⁻² · s ⁻¹)		CH ₄ 月累计排放量 (mg · m ⁻²)	CH ₄ 季度累计排放量 (mg · m ⁻²)	占全年排放总量比例 (%)	
冬	2018.12	9.45	6.46	404.97	803.92	4.34	8.61
	2019.01	5.85		250.70		2.69	
	2019.02	3.83		148.25		1.59	
春	2019.03	3.09	4.62	132.42	587.02	1.42	6.29
	2019.04	4.71		195.33		2.09	
	2019.05	6.05		259.27		2.78	
夏	2019.06	28.09	36.81	1164.95	4681.16	12.48	50.16
	2019.07	39.41		1688.90		18.10	
	2019.08	42.64		1827.31		19.58	
秋	2019.09	40.40	25.92	1675.47	3261.16	17.95	34.94
	2019.10	24.76		1061.07		11.37	
	2019.11	12.65		524.62		5.62	
均值		18.50	18.50	777.77	2333.32	-	-
合计				9333.26	9333.26	100	100

2.2 产甲烷菌群落组成

2.2.1 产甲烷菌的 α 多样性

通过 mcrA 扩增子测序后进行序列归并和 OTU 划分, 48 个土壤样品共获得 97% 相似水平 OTU 代表序列 3991 个。对上述 OTU 代表序列进行分类学分析, 并计算样品微生物多样性指数(Shannon 和 Simpson) 及丰富度指数(ACE 和 Chao1)。

由箱线图 3 可知，随着采样深度的增加，产甲烷菌的多样性指数呈下降趋势。

运用 R 软件对 16 组样本中产甲烷菌的 Shannon 指数进行双因素方差分析发现，同一季节不同深度的样本之间产甲烷菌群落物种多样性存在显著差异 ($p=8.63 \times 10^{-13}$)；同一深度不同季节的样本之间产甲烷菌群落物种多样性存在显著差异 ($p=1.81 \times 10^{-10}$)。

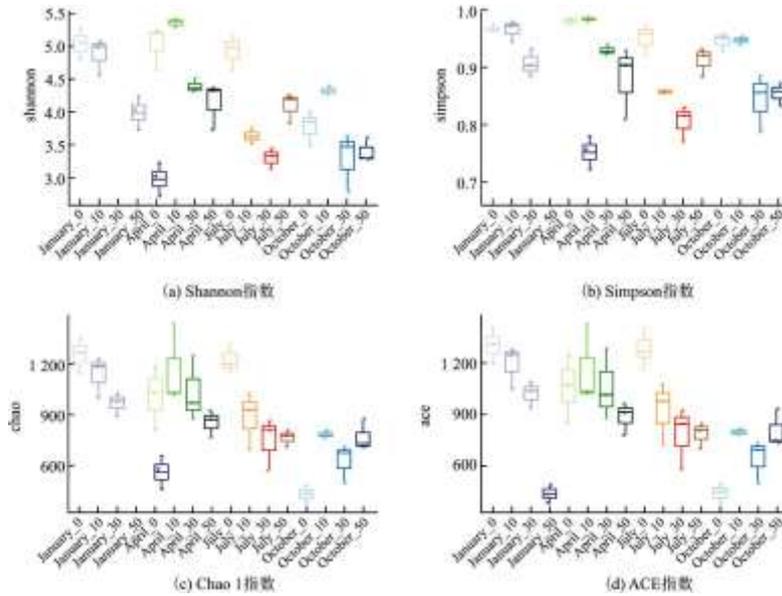


图 3 产甲烷菌群落的 Shannon 指数 (a)、Simpson 指数 (b)、Chao1 指数 (c) 及 ACE 指数 (d) 箱线图

2.2.2 产甲烷菌的群落结构

在门水平上，样本中鉴别出的产甲烷菌都隶属于 Euryarchaeota (广古菌门)。在属水平上，不同季节和不同深度样本土壤中的主要产甲烷菌类群为 Methanoregula、Methanocella、Methanobacterium、Methanosarcina、Methanotherix、Methanomassiliicoccus、Methanolinea、Methanofollis、Methanothermus、Methanohalophilus 等。相对丰度大于 1% 的为 Methanoregula (66.73%)、Methanocella (21.99%)、Methanobacterium (4.66%)、Methanosarcina (2.57%)、Methanotherix (1.17%)、Methanomassiliicoccus (1.00%)，其中优势属为 Methanoregula 和 Methanocella (图 4)。

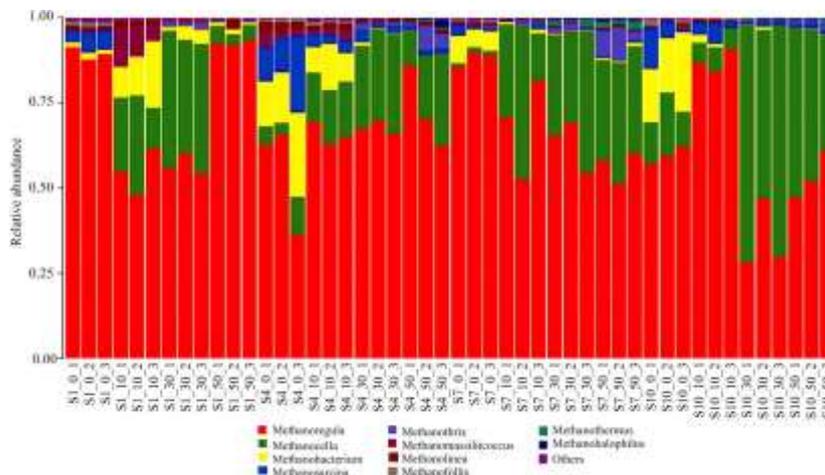


图 4 属水平上产甲烷菌群落组成及丰度

2.3 产甲烷菌群落组成与 CH₄ 通量的关系

为探究产甲烷菌群落组成与 CH₄ 通量的相关性，将 16 组样本中产甲烷菌群落属水平丰度前 10 的群落与采样当天的 CH₄ 日平均排放通量进行 RDA (Redundancy Analysis) 分析，结果见图 5 及表 2。

由图 5 可知，第一排序轴解释了 83.37%，第二排序轴解释了 8.89%。夏季产甲烷菌群落组成与 CH₄ 排放通量为强正相关关系，春季产甲烷菌群落组成与 CH₄ 排放通量为强负相关关系。Methanothermus、Methanotherix、Methanocella 与 CH₄ 通量为正相关关系，其中 Methanothermus 与 CH₄ 通量的正相关性最强；Methanoregula、Methanobacterium、Methanosarcina、Methanomassiliicoccus、Methanolinea、Methanofollis、Methanospirillum 与 CH₄ 通量为负相关关系，其中 Methanolinea 与 CH₄ 通量负相关性最强。

由表 2 可知，属水平丰度前十的产甲烷菌群落中，Methanothermus 与 CH₄ 排放通量为显著正相关关系，Methanolinea 与 CH₄ 排放通量为显著负相关关系。

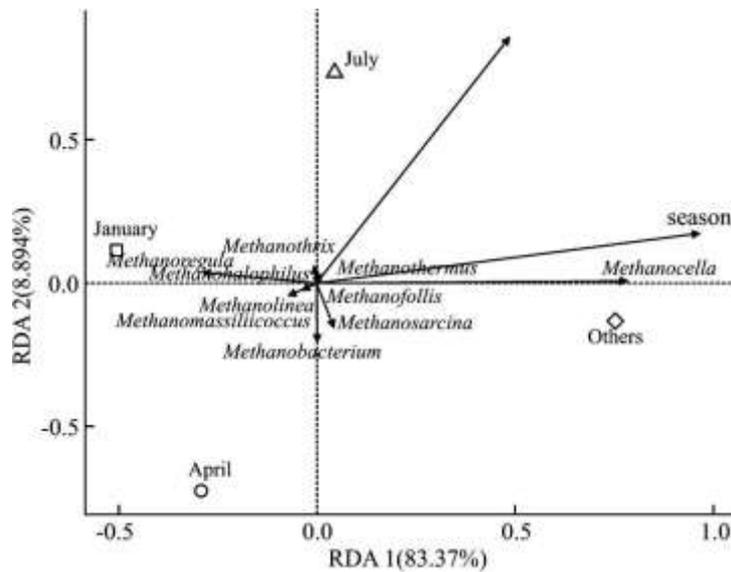


图 5 产甲烷菌群落与 CH₄ 通量间的冗余分析

表 2 属水平丰度前十产甲烷菌群落与 CH₄ 通量相关性指数

产甲烷菌群落(属)	p 值	Pearson 相关系数
Methanoregula	0.890175946	-0.03755487
Methanocella	0.413064009	0.219945967
Methanobacterium	0.358029651	-0.246186977
Methanosarcina	0.298009427	-0.27753458

Methanotrix	0.29288789	0.280374057
Methanomassiliicoccus	0.186510599	-0.348036097
Methanolinea	0.024012572	-0.560199176
Methanofollis	0.420576243	-0.216513039
Methanothermus	0.019750249	0.575189343
Methanospirillum	0.332062107	-0.259346179

3 讨论

3.1 湿地 CH₄ 排放通量特征

3.1.1 不同湿地 CH₄ 排放通量的差异

本研究对大九湖泥炭湿地的 CH₄ 通量进行了一年的观测, 结果表明, 研究期间大九湖泥炭湿地总排放量为 9333.26mg·m⁻², 为 CH₄ 的排放源, 这与李艳元^[9]、李永福^[10]之前在大九湖泥炭湿地的 CH₄ 通量研究一致。

将国内外不同湿地的 CH₄ 通量进行对比, 得到表 3。本研究中 CH₄ 的日平均排放通量为 18.50nmol·m⁻²·s⁻¹, 低于三江平原毛果苔草湿地(非冰冻期 193.58nmol·m⁻²·s⁻¹, 冰冻期 29.34nmol·m⁻²·s⁻¹)的 CH₄ 平均排放通量^[13]; 低于扎龙芦苇湿地(133.20nmol·m⁻²·s⁻¹)的 CH₄ 平均排放通量^[14]; 低于杭州湾互花米草湿地(27.59nmol·m⁻²·s⁻¹)的 CH₄ 平均排放通量, 高于杭州湾芦苇湿地(12.53nmol·m⁻²·s⁻¹)、海三棱蔗草湿地(3.78nmol·m⁻²·s⁻¹)、裸滩湿地(-1.18nmol·m⁻²·s⁻¹)的 CH₄ 平均排放通量^[15]; 高于辽河口碱蓬湿地(0.48nmol·m⁻²·s⁻¹)的 CH₄ 平均排放通量^[16], 这说明不同类型湿地的 CH₄ 平均排放通量不同。

加拿大北部泥炭沼泽湿地的 CH₄ 平均排放通量为 80.00nmol·m⁻²·s⁻¹^[17]; 闽江河口短叶茳苳沼泽湿地的 CH₄ 平均排放通量为 28.30nmol·m⁻²·s⁻¹^[18]; 若尔盖高原淹水沼泽湿地洼地 2013 年生长季和 2014 年生长季的 CH₄ 平均排放通量分别为 175.69 和 47.57nmol·m⁻²·s⁻¹^[19], 均高于本研究中 CH₄ 的平均排放通量, 这说明相同类型湿地的 CH₄ 平均排放通量也存在差异。

在 CH₄ 的排放中, 湿地植被有着很重要的作用, 可以提供底物、传输 CH₄ 和氧气等。虽然苔藓泥炭沼泽湿地中的有机物含量较高, 但主要是木质素难分解物, 产 CH₄ 底物不足, 产 CH₄ 能力较弱^[20]; 研究表明, 维管植物和水体可以排放湿地中的 CH₄, 维管植物中的通气组织排放 CH₄ 的速率是水体排放 CH₄ 的 10000 倍^[21], 泥炭藓不含有通气组织, CH₄ 无法通过泥炭藓排放, 故排放 CH₄ 的能力很弱。

表 3 神农架大九湖泥炭湿地 CH₄ 排放通量与其他湿地的比较

研究地点	湿地类型	CH ₄ 排放通量平均值 (nmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	参考文献
三江平原	毛果苔草湿地	193.58 (非冰冻期)	13
		29.34 (冰冻期)	
扎龙自然保护区	芦苇湿地	133.20	14

杭州湾	滨海湿地	27.59(互花米草湿地)	15
		12.53(芦苇湿地)	
		3.78(海三棱藨草湿地)	
		-1.18(裸滩湿地)	
辽河口	碱蓬湿地	0.48	16
加拿大北部	泥炭沼泽湿地	80.00	17
闽江河口	短叶茳茅沼泽湿地	28.30	18
若尔盖高原	淹水沼泽湿地洼地	175.69(2013)	19
		47.57(2014)	
神农架大九湖	苔藓泥炭沼泽湿地	18.50	本研究

3.1.2 湿地 CH₄ 排放通量的季节变化

本研究中不同季节 CH₄ 排放通量大小为：夏季>秋季>冬季>春季，与黄璞祎^[22]对扎龙芦苇湿地以及丁维新等^[23]对沼泽湿地的研究得出的季节变化规律一致。许多研究表明，CH₄ 排放通量的季节变化明显，多数湿地的 CH₄ 排放通量表现为夏季较其它季节高。隆宝滩沼泽湿地 3 个不同区域的 CH₄ 通量都有显著的季节变化差异，CH₄ 通量峰值都出现在夏季^[24]；牛翠云等^[25]研究发现，白洋淀芦苇型水陆交错带湿地 CH₄ 排放通量的最大值出现在夏季；许鑫王豪等^[26]的研究表明，苏北潮滩中 CH₄ 通量季节变化最大值在夏季。这一现象可能是由于夏季温度较高，产甲烷菌的活性增强，同时夏季是泥炭藓生长期，光合作用更加活跃，为土壤提供更多有机物，促进了 CH₄ 的产生。

3.2 湿地产甲烷菌群落组成特征

3.2.1 湿地产甲烷菌的优势菌群

本研究在神农架大九湖泥炭湿地土壤中检测到产甲烷菌的优势属为 Methanoregula 和 Methanocella, 分别属于甲烷微菌目 (Methanomicrobiales) 和甲烷胞菌目 (Methanocellales), 研究发现这一类产甲烷菌只能利用 H₂/CO₂ 还原产生 CH₄^[27], 与先前研究表明的苔藓泥炭沼泽中 CH₄ 产生的主要途径为 H₂/CO₂ 还原相一致^[28]。

研究表明，湿地的类型不同，湿地中产甲烷菌的优势菌群也不尽相同。Utsumi 等^[29]研究发现，森林沼泽中产甲烷菌的优势菌群为 Methanosarcinaceae, Methanomicrobiales, Methanosaetaceae; Jeanedy 等^[30]的研究表明，亚马逊湿地土壤中产甲烷菌的主要类群为 Methanosarcinales, 包括 Methanosarcina 和 Methanosaeta 两个优势属；在国内，石国强等^[31]发现浑河底泥中 Methanosarcina 为优势菌群；余晨兴等^[32]的研究表明，闽江口芦苇湿地 0~30cm 土壤中产甲烷菌的优势菌属为 Methanolinea 和 Methanoregula。这可能是由于湿地的类型不同，生态环境各异，湿地中的植被类型也不相同，因此产甲烷菌可利用的底物以及可利用的产 CH₄ 途径不相同，导致不同类型湿地中产甲烷菌优势菌群的不同。

Horn 等^[27]研究发现德国中东部泥炭沼泽中产甲烷菌类群主要为 Methanomicrobiales 和 Methanobacteriaceae 等；Narihiro 等^[33]在对日本泥炭藓湿地研究时发现 Methanoregula 是土壤中优势的产甲烷类群；Yavitt 等^[34]的研究表明，北美 5 个苔藓泥炭

沼泽中产甲烷菌的优势菌群为 *Methanosphaerula*。这说明即使是相同的湿地类型，产甲烷菌的优势菌群也存在差异，这可能与温度、底物、水位、pH 和硫酸盐含量等环境因子有关，需进一步研究。

3.2.2 湿地产甲烷菌的群落多样性

本研究表明，随着季节的变化，产甲烷菌的多样性存在差异。徐思^[35]研究发现，西湖沉积物中不同季节的产甲烷菌群落结构存在着差异性，冬季产甲烷菌群落结构和多样性高于夏季。季节不同，土壤的温度、pH 值、湿度、有机和无机养量等均存在一定差异，这些因素的改变均会对微生物群落组成结构产生影响^[36]。

本研究表明随着土壤深度的增加，产甲烷菌的多样性降低。余晨兴等^[37]在研究互花米草沼泽湿地产甲烷菌的多样性时发现，土壤深层产甲烷菌的多样性高于浅层；余晨兴等^[32]的研究表明，闽江口芦苇湿地土壤中，10~20cm 土层中产甲烷菌多样性高于土壤表层(0~10cm)和 20~30cm 土层。土壤的温度、pH 值、湿度等土壤理化性质会对微生物的群落组成产生影响，自然湿地中不同深度土壤的产甲烷菌群落结构的时空变化，可能与不同土层之间土壤理化性质的差异相关^[37]。

3.3 产甲烷菌群落组成与 CH₄ 通量的相关性

有关研究表明，CH₄ 的产生和排放与产甲烷菌群落紧密相关^[7]。李小飞等^[38]研究发现，产甲烷菌的群落组成对 CH₄ 排放有着重要的影响，缺氧引起河口环境因子变化，对 CH₄ 的代谢循环和微生物群落组成产生影响，进而影响到 CH₄ 的排放。本研究结果发现，夏季产甲烷菌群落组成与 CH₄ 排放通量为强正相关关系，春季产甲烷菌群落组成与 CH₄ 排放通量为强负相关关系。温度影响着湿地中产甲烷菌的代谢速度、底物和群落结构，大多数产甲烷菌的最适生存温度为 35℃~40℃^[39]，因此可能是由于夏季温度适合产甲烷菌生存，所以夏季的 CH₄ 排放通量最高，并为正相关关系。

4 结论

2018 年 12 月~2019 年 11 月期间，大九湖泥炭湿地整体表现为 CH₄ 的源，CH₄ 总排放量为 9333.26mg·m⁻²，CH₄ 日平均排放通量为 18.50nmol·m⁻²·s⁻¹，冬、春、夏、秋四季的 CH₄ 平均排放通量分别为 6.46、4.62、36.81、25.92nmol·m⁻²·s⁻¹，存在明显的季节变化；研究区产甲烷菌优势菌群为 *Methanoregula*(66.73%) 和 *Methanocella*(21.99%)；对样本中产甲烷菌的 Shannon 指数进行双因素方差分析发现，同一季节不同深度的样本中产甲烷菌多样性存在显著差异，随着深度的增加，产甲烷菌的多样性指数呈下降趋势；同一深度不同季节的样本中产甲烷菌多样性存在显著差异；夏季产甲烷菌群落组成与 CH₄ 排放通量为强正相关关系，春季产甲烷菌群落组成与 CH₄ 排放通量为强负相关关系，*Methanothermus* 与 CH₄ 排放通量为显著正相关关系，*Methanolinea* 与 CH₄ 排放通量为显著负相关关系。

参考文献:

[1]BOUSQUET P, CIAIS P, MILLER J B, et al. Contribution of anthropogenic and natural sources to atmospheric methane variability [J]. *Nature*, 2006, 443 (7110):439-443.

[2]SWART N C, GILLE S T, FYFE J C, et al. Recent southern ocean warming and freshening driven by greenhouse gas emissions and ozone depletion [J]. *Nature Geoscience*, 2018, 11(11):836-841.

[3]MITSCH W J, GOSSSELINK J G. The value of wetlands:importance of scale and landscape setting [J]. *Ecological Economics*, 2000, 35(1):25-33.

-
- [4] NEORI A, AGAMI M. The functioning of rhizosphere biota in wetlands—a review [J]. *Wetlands*, 2017, 37(4):615–633.
- [5] DAVIDSON N C, FLUET-CHOUINARD E, FINLAYSON C M. Global extent and distribution of wetlands: Trends and issues [J]. *Marine and Freshwater Research*, 2018, 69(4):620–627.
- [6] ZHOU L, ZHOU G S, Jia Q Y. Annual cycle of CO₂ exchange over a reed (*Phragmites australis*) wetland in Northeast China [J]. *Aquatic Botany*, 2009, 91(2):91–98.
- [7] 顾航, 肖凡书, 贺志理, 等. 湿地微生物介导的甲烷排放机制[J]. *微生物学报*, 2018, 58(4):618–632.
- [8] 刘乔, 王红梅, 龚林锋, 等. 湖北神农架大九湖泥炭地泥炭藓共生细菌群落分析[J]. *第四纪研究*, 2013, 33(1):79–87.
- [9] 李艳元, 葛继稳, 彭凤姣, 等. 神农架大九湖泥炭湿地 CH₄ 通量特征及其影响因子[J]. *地球科学*, 2017, 42(5):832–842.
- [10] 李永福, 葛继稳, 翁闻畅, 等. 神农架大九湖泥炭湿地二氧化碳和甲烷排放化学计量比研究[J]. *安全与环境工程*, 2019, 26(4):21–28.
- [11] ALFADHEL I, GE J W, SINAN Y X, et al. Methane flux and its environmental impact factors in Dajiuhu Wetland of Shennongjia [J]. *Wuhan University Journal of Natural Sciences*, 2019, 24(5):455–460.
- [12] 周文昌, 史玉虎, 崔鸿侠, 等. 神农架大九湖湿地保护与管理对策[J]. *湿地科学与管理*, 2017, 13(2):34–37.
- [13] 王毅勇, 赵志春, 宋长春. 三江平原毛果苔草湿地 CH₄ 排放研究[J]. *湿地科学*. 2005, 3(1):37–41.
- [14] 黄璞祎, 于洪贤, 柴龙会, 等. 扎龙芦苇湿地生长季的甲烷排放通量[J]. *应用生态学报*, 2011, 22(5):1219–1224.
- [15] 王蒙, 吴明, 邵学新, 等. 杭州湾滨海湿地 CH₄ 排放通量的研究[J]. *土壤*, 2014, 46(6):1003–1009.
- [16] 王慧, 赵化德, 张世宇, 等. 碱蓬湿地 CH₄ 排放通量及影响因素研究[J]. *海洋环境科学*, 2012, 31(2):173–175.
- [17] LONG K D, FLANAGAN L B, CAI T. Diurnal and seasonal variation in methane emissions in a northern Canadian peatland measured by eddy covariance [J]. *Global Change Biology*, 2010, 16(9):2420–2435.
- [18] 曾从盛, 王维奇, 张林海, 等. 闽江河口短叶茳茅潮汐湿地甲烷排放通量[J]. *应用生态学报*, 2010, 21(2):500–504.
- [19] 崔丽娟, 周文昌, 王义飞, 等. 若尔盖高原季节性淹水沼泽两个生长季甲烷排放通量[J]. *应用与环境生物学报*, 2017, 23(6):1067–1073.
- [20] CHASAR L S, CHANTON J P, GLASER P H, et al. Radiocarbon and stable carbon isotopic evidence for transport and transformation of dissolved organic carbon, dissolved inorganic carbon, and CH₄ in a northern Minnesota peatland [J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2000, 14(4):1095–1108.
- [21] CHANTON J P, MARTENS C S, KELLEY C A, et al. Methane transport mechanisms and isotopic fractionation in emergent

macrophytes of an Alaskan tundra lake [J]. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 1992, 97 (D15) :16681-16688.

[22]黄璞祎. 扎龙湿地 CO₂ 和 CH₄ 通量研究[D]. 东北林业大学, 2010.

[23]丁维新, 蔡祖聪. 沼泽甲烷排放及其主要影响因素[J]. *地理科学*, 2002, 22 (5) :619-625.

[24]何方杰, 韩辉邦, 马学谦, 等. 隆宝滩沼泽湿地不同区域的甲烷通量特征及影响因素[J]. *生态环境学报*, 2019, 28 (4) :803-811.

[25]牛翠云, 王树涛, 郭艳杰, 等. 白洋淀芦苇型水陆交错带湿地 CH₄ 和 CO₂ 的排放特征[J]. *江苏农业科学*, 2018, 46 (15) :209-213.

[26]许鑫王豪, 邹欣庆, 刘晶茹. 苏北潮滩温室气体排放的时空变化及影响因素[J]. *环境科学*, 2016, 37 (6) :2383-2392.

[27]HORN M A, MATTHIES C, KUSEL K, et al. Hydrogenotrophic methanogenesis by moderately acid-tolerant methanogens of a methane-emitting acidic peat [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69 (1) :74-83.

[28]刘德燕, 丁维新. 天然湿地土壤产甲烷菌及其影响因子研究进展[J]. *地理科学*, 2011, 31 (2) :136-142.

[29]UTSUMI M, BELOVA S E, KING G M, et al. Phylogenetic comparison of methanogen diversity in different wetland soils [J]. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 2003, 49 (2) :75-83.

[30]PAZINATO J M, PAULO E N, MENDES L W, et al. Molecular characterization of the archaeal community in an Amazonian wetland soil and culture-dependent isolation of methanogenic archaea [J]. *Diversity*, 2010, 2 (7) :1026-1047.

[31]石国强, 彭剑峰, 宋永会, 等. 浑河底泥产甲烷古菌多样性空间分布特征[J]. *环境科学学报*, 2016, 36 (5) :1766-1773.

[32]余晨兴, 仝川. 闽江口芦苇沼泽湿地土壤产甲烷菌群落结构的垂直分布[J]. *生态学报*, 2012, 32 (17) :5299-5308.

[33]NARIHIRO T, HORI T, NAGATA O, et al. The impact of aridification and vegetation type on changes in the community structure of methane-cycling microorganisms in Japanese wetland soils [J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2011, 75 (9) :1727-1734.

[34]YAVITT J B, YASHIRO E, CADILLO-QUIROZ H, et al. Methanogen diversity and community composition in peatlands of the central to northern Appalachian Mountain region, North America [J]. *Biogeochemistry*, 2012, 109 (1-3) :117-131.

[35]徐思. 杭州西湖沉积物中产甲烷菌群落结构和多样性研究 [D]. 武汉理工大学, 2015.

[36]BLAZ S, TJASA D, LEVIN P, et al. Influence of temperature and soil water content on bacterial, archaeal and denitrifying microbial communities in drained fen grassland soil microcosms [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2008, 66 (1) :110-122.

[37]余晨兴, 仝川, 王维奇. 互花米草沼泽湿地产甲烷古菌的多样性及垂向分布 [J]. *环境科学学报*, 2014, 34 (1) :186-193.

[38]李小飞, 侯立军, 刘敏. 长江口沉积物甲烷产生潜力与产甲烷菌群落特征 [J]. 环境科学学报, 2019, 39(5):1682-1690.

[39]CONRAD R. Microbial Ecology of methanogens andmethanotrophs [J]. Advances in Agronomy, 2007, 96(7):1-63.