

稻田甲烷产生途径研究进展^①张广斌^{1,2}, 马静¹, 徐华^{1*}, 蔡祖聪¹

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: H₂/CO₂ 还原和乙酸(CH₃COOH)发酵是稻田CH₄产生的主要途径。C同位素示踪技术、添加CH₄产生途径抑制剂和稳定性C同位素方法是稻田CH₄产生途径的主要研究方法。本文综述了这3种研究方法及其研究结果,并指出了今后的研究重点:加强我国有关稻田CH₄产生途径的研究;对比分析3种研究方法,查明研究结果存在差异的原因;加强同位素分馏系数 $\alpha_{\text{CO}_2/\text{CH}_4}$ 和 $\alpha_{\text{ac}/\text{CH}_4}$ 以及C同位素组成 $\delta^{13}\text{CH}_4$ 和 $\delta^{13}\text{CH}_4(\text{CO}_2/\text{H}_2)$ 的研究。

关键词: 甲烷产生途径;碳同位素示踪技术;甲烷产生抑制剂;稳定性碳同位素方法;稻田

中图分类号: S131; X511

IPCC第4次评估报告指出,甲烷(CH₄)是大气中仅次于CO₂的最重要温室气体,稻田是大气CH₄的重要排放源,其排放的CH₄约占全球总排放的5%~19%^[1]。CH₄的产生是严格厌氧条件下产CH₄细菌作用于产CH₄底物的结果。在稻田生态系统中,土壤中除了内源有机质以及外源有机物之外,水稻根系分泌物、植株凋落物等也是产CH₄的前体物质。此外,部分死亡根系在长期淹水条件下被分解为低C有机物,也是产CH₄的良好中间体。土壤中各种较复杂的产CH₄基质,在微生物作用下,逐步分解为简单的有机物(简单糖类、有机酸醇等),再由这些简单的有机物生成产CH₄的直接前体物质,如CO₂和H₂、酯类、有机酸盐等小分子化合物,产CH₄细菌在严格厌氧条件下作用于这些产CH₄前体,产生CH₄^[2-3]。

稻田CH₄排放是土壤中CH₄的产生、再氧化和向大气传输这3个过程共同作用的结果。CH₄产生是CH₄排放的基础。稻田CH₄排放通量受土壤CH₄产生能力的强烈影响^[4]。系统地研究稻田CH₄产生过程不仅会对CH₄排放机理有更清晰的认识,还可为制定稻田CH₄排放减排措施提供更有价值的科学依据。本文综述了稻田CH₄产生途径的研究方法及其研究结果,并提出了今后需要加强研究的内容,旨在为相关工作者提供有价值的文献参考及研究思路。

1 产生途径

稻田土壤中CH₄主要通过H₂/CO₂还原和乙酸



(1)



(2)

根据公式(1)和(2),可推出:



(3)

Conrad^[6]研究表明,理论上,由乙酸产生的CH₄(CH_{4(ac)})占总CH₄产生量的67%,而由CO₂/H₂还原产生的CH₄(CH_{4(CO₂/H₂)})占总CH₄产生量的33%。也就是说,若只考虑H₂/CO₂及CH₃COOH对稻田产CH₄贡献(产生的总CH₄量=H₂/CO₂还原产生的CH₄量+乙酸发酵产生的CH₄量),根据反应式(3),假设H₂/CO₂对稻田产CH₄贡献率为 a ,则CH₃COOH对稻田产CH₄贡献率为 $(1-a)$,于是有: $4a + (1-a) = 2$,解得: $a = 1/3$ 。即理论上H₂/CO₂对稻田产CH₄贡献率 $f_{\text{H}_2/\text{CO}_2}$ ($f_{\text{H}_2/\text{CO}_2} = \text{H}_2/\text{CO}_2$ 还原产生的CH₄量/产生的总CH₄量 $\times 100\%$)为33%,CH₃COOH对稻田产CH₄贡献率 f_{ac} ($f_{\text{ac}} = \text{乙酸发酵产生的CH}_4\text{量/产生的总CH}_4\text{量} \times 100\%$)为67%。

然而不同的稻田土壤中,CO₂/H₂和CH₃COOH这两种产甲烷前体对CH₄产生的贡献率并不是固定不变的,主要取决于土壤中微生物种群的差异:有些产甲烷菌“喜欢”乙酸或乙酸盐,而有些则不然。分解复杂有机物质的菌族的不同以及不同土壤中有机物种类不同也会引起CH₄由CO₂/H₂以及乙酸或乙酸盐来源及含量差异^[7]。因此,实际研究结果与理论值往往会存在有所差异(表1)。

(CH₃COOH)发酵产生,反应式(1) [5]

①基金项目:国家自然科学基金项目(40921061, 40971154)、中国科学院知识创新重要方向项目群项目(KZCX2-YW-Q1-07)和科技部国际科技合作项目(2008DFA21330)资助。

* 通讯作者(hxu@issas.ac.cn)

作者简介:张广斌(1983—),男,湖南邵阳人,博士研究生,主要从事农田温室气体排放规律及其机理研究。E-mail: gbzhang@issas.ac.cn

表 1 稻田土壤中乙酸对产 CH₄ 的贡献率 (f_{ac})
Table 1 Contribution of acetate to CH₄ production in paddy soils

研究方法	供试土样地点	示踪剂/抑制剂/同位素分馏系数	乙酸对产 CH ₄ 的贡献率 (%)	参考文献
C 同位素示踪技术	日本	¹⁴ CH ₃ COONa、CH ₃ ¹⁴ COONa、Na ₂ ¹⁴ CO ₃	约 70	[5]
	日本	Na ₂ ¹³ CO ₃ 、 ¹³ CH ₃ COONa	5 ~ 79	[9]
	意大利	NaH ¹⁴ CO ₃ 、 ¹⁴ CH ₃ ¹⁴ COOH	30 ~ 50	[10]
	中国	NaH ¹⁴ CO ₃	65 ~ 81	[11]
	菲律宾	NaH ¹⁴ CO ₃	70 ~ 80	
	意大利	NaH ¹⁴ CO ₃	79	
	意大利	NaH ¹⁴ CO ₃ 、 ¹⁴ CH ₃ ¹⁴ COOH	>70	[12]
	意大利	NaH ¹⁴ CO ₃	70 ~ 90	[17]
CH ₄ 产生抑制剂方法	意大利	CHCl ₃	79 ~ 83	[16]
	意大利	CH ₃ F	70 ~ 90	[17]
	意大利	CH ₃ F	0 ~ 68 (top soil) 44 ~ 93 (bulk soil)	[18]
	意大利	CH ₃ F	30 ~ 70 (加秸秆) 30 ~ 50 (不加秸秆)	[19]
	中国	CH ₃ F	73 (wild rice) 65 (cultivated rice)	[20]
	稳定性 C 同位素法	日本	1.049	12 ~ 100
	意大利	1.045	7 ~ 51	[18]
		1.060	27 ~ 67	
	泰国	1.071	45 ~ 108	[21]
	美国	1.045	24 ~ 67	[22]
		1.060	51 ~ 80	
	美国	1.045	41 ~ 70	[23]
		1.060	62 ~ 81	
	意大利	1.070	30 ~ 80	[24]
	意大利	1.045	40 ~ 85	[25]
		1.073	几乎为 0	

2 研究方法

研究CH₄产生途径对CH₄生成量相对贡献的主要方法有C同位素示踪技术、甲烷产生途径抑制剂方法以及稳定性C同位素法。其中，C同位素示踪技术和添加甲烷产生途径抑制剂方法在早期研究中应用比较普遍，且测定及操作相对简单^[8]，但放射性示踪剂可能对产CH₄细菌存在一定的辐射作用，而添加的乙酸产CH₄途径抑制剂氟甲烷有可能抑制H₂/CO₂还原产CH₄^[17,24]，严格意义上讲，这两种方法所得结果并不能很好地代表田间实际状况。稳定性C同位素方法是对C自然丰度的不扰动、非破坏性测定^[9]，它既无任何辐射作用，也不需对环境中的样品添加任何物质，避免

了这种处理可能带来的偏差^[24]。然而应用稳定性C同位素方法研究稻田CH₄产生途径，尚存在一些不确定因素，如同位素分馏系数 $\alpha_{(CO_2/CH_4)}$ 和 α_{ac/CH_4} 选择以及C同位素组成 $\delta^{13}CH_4$ 和 $\delta^{13}CH_4(CO_2/H_2)$ 测定^[12,18,21-25]，有待今后进一步详细研究。

2.1 碳同位素示踪技术

质子数相同而中子数不同的原子称为同位素(isotope)。同位素分为两大类：放射性同位素(radioactive isotope)和稳定性同位素(stable isotope)。自然界中C的同位素有7种(¹⁰C、¹¹C、¹²C、¹³C、¹⁴C、¹⁵C、¹⁶C)，其中¹²C、¹³C为稳定性同位素。C同位素示踪技术是指采用¹³C或¹⁴C标记化合物为示踪剂的示踪测试技术。以采用放射性¹⁴C作为示踪元素的研究较为

普遍^[5,10-12]，而以稳定性同位素¹³C作为标记元素的研究则相对较少^[9]。 CH_4 产生途径研究中常用的放射性示踪剂有 $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ 、 $^{14}\text{CH}_3\text{COOH}$ 、 $\text{CH}_3^{14}\text{COOH}$ 和 $^{14}\text{CH}_3^{14}\text{COOH}$ (2-¹⁴C乙酸)等。将放射性同位素¹⁴C标记在含C化合物如 NaHCO_3 上，使其形成 $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ 示踪剂。将这种物质作为产 CH_4 底物加入到土壤或培养基中，产 CH_4 细菌利用这一底物产生 CH_4 。这样所产生的 CH_4 其碳原子是被标记了的¹⁴C，即 $^{14}\text{CH}_4$ 。根据 $^{14}\text{CH}_4$ 占所产生的 CH_4 总量的百分比，就可以计算出 H_2/CO_2 还原对产 CH_4 的贡献率 ($f_{\text{H}_2/\text{CO}_2}$)。具体可表示为： $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3 \rightarrow ^{14}\text{CO}_2 \rightarrow ^{14}\text{CH}_4$ ， $f_{\text{H}_2/\text{CO}_2} = ^{14}\text{CH}_4/\text{CH}_4$ 总量 $\times 100\%$ 。该技术能对研究对象进行非接触式、在线实时测量，具有灵敏度高、可靠性强等优点。将¹⁴C标记在乙酸的甲基上，则通过乙酸途径生成 $^{14}\text{CH}_4$ 。同理，可以计算乙酸途径生成的 CH_4 占 CH_4 总生成量的比例。

2.2 抑制剂方法

添加 CH_4 产生途径抑制剂方法是指在厌氧培养实验过程中，通过添加选择性的 CH_4 产生途径抑制剂来研究 CH_4 两种产生途径的相对贡献率。20世纪八、九十年代较多地采用添加 CH_4 产生抑制剂研究 CH_4 产生途径。许多化学物质如氯仿(CHCl_3)、氯甲烷(CH_3Cl)、氟甲烷(CH_3F)、 H_2 、乙炔、BES(2-bromoethane-sulfonic acid)、DDT(dichloro-diphenyl-trichloroethane)、氯啉(nitrapyrin)、双氢胺(dicyanidamide)等都具有抑制 CH_4 产生的作用^[13-14]。添加氯仿作为抑制剂，能导致产 CH_4 前体乙酸和 H_2 以及产生乙酸和 H_2 的有机前体的积累。加 H_2 作为抑制剂可以识别中间代谢产物^[15]。通过与不加抑制剂的对照比较，采用质量平衡方法，可以计算出乙酸途径和 H_2/CO_2 途径产生的 CH_4 ^[16]。抑制乙酸途径产 CH_4 的氟甲烷浓度远低于抑制 H_2/CO_2 途径产 CH_4 的氟甲烷浓度，所以，可以通过添加氟甲烷并控制添加浓度选择性地抑制乙酸途径产 CH_4 过程，通过与不加氟甲烷抑制的空白对照比较，可以计算出乙酸和 H_2/CO_2 途径对 CH_4 产生率的相对贡献^[17]。

2.3 稳定性碳同位素法

¹²C和¹³C均为稳定性同位素，它们的自然丰度分别为98.89%和1.11%。通常用 R 来表示某一元素的重同位素原子丰度与轻原子丰度之比，如 $R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = 1.11/98.89$ ，用 $\delta^{13}\text{C}(\%)$ 来表示物质的同位素组成，定义为^[26]：

$$\delta^{13}\text{C}(\%) = 1000 \times (R_{\text{Sa}} - R_{\text{St}}) / R_{\text{St}} \quad (4)$$

式中， R_{Sa} 为待测样品中C元素的重同位素丰度之比 $^{13}\text{C}_{\text{Sa}}/^{12}\text{C}_{\text{Sa}}$ ； R_{St} 为国际通用C同位素分析标准物的重轻

同位素丰度之比 $^{13}\text{C}_{\text{St}}/^{12}\text{C}_{\text{St}}$ ，通常采用美国南卡罗来纳州白垩纪皮狄组拟箭石化石(Peedee Belemnite, 简称PDB)中¹³C与¹²C的比值。

应用稳定性C同位素方法测定稻田土壤 CO_2/H_2 和 CH_3COOH 对产 CH_4 的相对贡献率始于20世纪90年代^[9]，它假设产 CH_4 总量等于 $\text{CH}_{4(\text{ac})}$ 与 $\text{CH}_{4(\text{CO}_2/\text{H}_2)}$ 之和，用 f_{ac} 来表示 $\text{CH}_{4(\text{ac})}$ 占总 CH_4 量的百分率，可得^[9,22,27]：

$$f_{\text{ac}} = \text{CH}_{4(\text{ac})} / (\text{CH}_{4(\text{CO}_2/\text{H}_2)} + \text{CH}_{4(\text{ac})}) \times 100\% \quad (5)$$

通过乙酸途径和 H_2/CO_2 途径的C分馏程度不同，因此，由乙酸产生的 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{ac})}$)值不同于由 H_2/CO_2 产生的 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{CO}_2/\text{H}_2)}$)值。Sugimoto和Wada^[9]估计 $\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{ac})}$ 值为-43‰~-30‰，而 $\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{CO}_2/\text{H}_2)}$ 值估计为-77‰~-60‰。但是在不同环境和土壤条件下，同一产 CH_4 途径生成的 CH_4 ，其 $\delta^{13}\text{C}$ 也可能有较大的变化范围。根据同位素质量守恒规律，有^[22]：

$$\delta^{13}\text{CH}_4 = \delta^{13}\text{CH}_{4(\text{ac})} \times f_{\text{ac}} + \delta^{13}\text{CH}_{4(\text{CO}_2/\text{H}_2)} \times (1 - f_{\text{ac}}) \quad (6)$$

以往研究结果表明， $\delta^{13}\text{CH}_4$ 可以通过3种途径获得：土壤厌氧培养产生的 $\delta^{13}\text{CH}_4$ ^[9,18,22-25]；孔隙水的 $\delta^{13}\text{CH}_4$ ^[22]；土壤经扰动、搅拌后气泡释放的 $\delta^{13}\text{CH}_4$ ^[21]。

$\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{ac})}$ 可以通过两种途径获得：根据乙酸的甲基碳产 CH_4 ，假定 $\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{ac})}$ 为一固定值^[21-23]或变化在一定范围内^[9]；由土壤溶液中乙酸的 $\delta^{13}\text{C}_{(\text{acetate})}$ 推算出来^[18,24-25]：

$$\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{ac})} = \delta^{13}\text{C}_{(\text{acetate})} + \alpha_{\text{ac}/\text{CH}_4} \quad (7)$$

式中， $\alpha_{\text{ac}/\text{CH}_4}$ 为乙酸生成 CH_4 过程中的同位素分馏系数，一般取 $\alpha_{\text{ac}/\text{CH}_4} = -21\%$ ^[28]。

$\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{CO}_2/\text{H}_2)}$ 可由土壤厌氧培养产生的 $\delta^{13}\text{CO}_2$ ^[9,18,24-25]、孔隙水的 $\delta^{13}\text{CO}_2$ ^[23]或土壤经扰动、搅拌后气泡释放的 $\delta^{13}\text{CO}_2$ ^[21]等推算出来：

$$\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{CO}_2/\text{H}_2)} = (\delta^{13}\text{CO}_2 + 1000) / \alpha_{\text{CO}_2/\text{CH}_4} - 1000 \quad (8)$$

式中， $\alpha_{\text{CO}_2/\text{CH}_4}$ 为 CO_2/H_2 还原产生 CH_4 过程中的同位素分馏系数，一般为1.025~1.083，通常采用 $\alpha_{\text{CO}_2/\text{CH}_4} = 1.045$ ^[25]。

将 $\delta^{13}\text{CH}_4$ 、 $\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{ac})}$ 和 $\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{CO}_2/\text{H}_2)}$ 代入(8)式即可求出乙酸对 CH_4 产生的贡献率 f_{ac} 。

3 研究结果

近几十年来，国外已将这3种方法成功运用到稻田 CH_4 产生途径研究中，取得了一系列的观测结果(表1)。由于稻田土壤中 CH_4 的产生受诸多因素影响，因此，不同时期、不同方法以及不同条件下所得 CH_4 产

生途径相对贡献率差异较大(表1)。

Takai等^[5]利用 $^{14}\text{CH}_3\text{COONa}$ 、 $\text{CH}_3^{14}\text{COONa}$ 和 $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$ 3种放射性示踪剂分大田和实验室研究日本稻田淹水土壤,结果表明大约30%的 CH_4 由 H_2/CO_2 还原产生,大约70%的 CH_4 由乙酸发酵产生,与理论值几乎一致。Huang和Conrad^[11]利用 $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ 作为放射性示踪剂,对比研究了中国、菲律宾和意大利3处稻田土壤的 CH_4 产生途径,结果发现 f_{ac} 值比较接近,都在70%左右。已有的结果表明,采用 ^{14}C 方法测定的 H_2/CO_2 和乙酸途径对 CH_4 生成量的相对贡献率因土壤类型、水稻生长阶段、淹水时间而有较大的变化^[11-12]。Sugimoto和Wada^[9]利用 $\text{Na}_2^{13}\text{CO}_3$ 和 $^{13}\text{CH}_3\text{COONa}$ 两种稳定性示踪剂,室内培养日本稻田土壤11周。结果表明,培养1~5周, f_{ac} 值平均都小于30%,而6~11周则大于70%。

Chin和Conrad^[16]用氯仿作抑制剂,分别在15℃和30℃条件下培养意大利水稻土泥浆,结果表明 f_{ac} 值为79%~83%。Conrad和Klose^[17]采用氟甲烷抑制法,研究发现培养初期 f_{ac} 值总大于90%,30天后减小到70%~75%,随后保持相对稳定直到培养末期。Krüger^[18]采用氟甲烷抑制方法,研究在整个水稻生长期表层(0~4 cm)和亚表层(4~10 cm)土壤 H_2/CO_2 和乙酸途径对 CH_4 产生量的相对贡献,得出表层土壤所产生的 CH_4 主要由 H_2/CO_2 还原而来,而亚表层土壤主要由乙酸途径产生。Penning等^[19]研究意大利稻田土壤的 CH_4 产生途径,结果表明,加秸秆的 f_{ac} 值在培养初期为30%~40%,随后逐渐增大到60%~70%;而不加秸秆的 f_{ac} 值在培养初期为45%~50%,随后逐渐减小至30%左右。可能的原因是:培养初期 CH_4 的产生主要源于土壤有机质的分解,此时有机质分解形成的乙酸量少,使得 CH_4 主要以 H_2/CO_2 还原产生为主, f_{ac} 值相对偏小。若加入秸秆,随着其逐渐分解形成丰富的产 CH_4 前体:乙酸,则 CH_4 逐渐以乙酸发酵产生为主, f_{ac} 值逐渐增大;反之,随着土壤有机质的逐渐消耗,导致土壤中乙酸含量逐渐降低, f_{ac} 值则逐渐减小。Conrad等^[20]用氟甲烷作为抑制剂,研究了中国海南两种稻田土壤的 CH_4 产生途径,结果发现它们的 f_{ac} 值比较接近,均在70%左右。

Sugimoto和Wada^[9]通过培养日本稻田土壤11周,应用稳定性C同位素法测定其 CH_4 产生途径。培养1周后, f_{ac} 值小于12%,2~3周时突然增大为65%~100%,4~11周则减小为16%~40%。这可能是由于:培养1周后土壤有机质形成的乙酸量较少,此时 CH_4 主要以 H_2/CO_2 还原产生为主, f_{ac} 值相对较小。随着土壤有机

质逐渐分解产生丰富的乙酸,则 CH_4 产生逐渐由乙酸发酵而来, f_{ac} 值逐渐增大。随着土壤中乙酸被大量消耗, f_{ac} 值又逐渐减小。Tyler等^[22]研究了美国稻田土壤的 CH_4 产生途径,取同位素分馏系数 $\alpha_{(\text{CO}_2/\text{CH}_4)}$ 为1.045和1.060,计算乙酸对产 CH_4 的贡献率 f_{ac} ,结果分别为24%~67%和51%~80%。Bilek等^[23]通过田间试验观测了两种水稻品种(Mars和Lemont)的 CH_4 产生途径,取同位素分馏系数 $\alpha_{(\text{CO}_2/\text{CH}_4)}$ 为1.045和1.060时,Mars的 f_{ac} 值分别为48%~70%和67%~81%,Lemont的 f_{ac} 值分别为41%~62%和62%~76%。Krüger等^[18]通过室内培养意大利稻田土壤测定其 CH_4 产生途径,结果发现,取同位素分馏系数 $\alpha_{(\text{CO}_2/\text{CH}_4)}$ 为1.045和1.060时,表层(0~4 cm)土壤的 f_{ac} 值变幅比较大,分别为7%~51%和27%~67%,而亚表层(4~10 cm)土壤的 f_{ac} 值相对比较稳定,分别在20%和50%左右。

采用不同的方法测定乙酸途径和 H_2/CO_2 途径对 CH_4 生成量的相对贡献及随时间的变化有一定的差异。Sugimoto和Wada^[9]利用稳定性C同位素示踪技术和稳定性C同位素法,对比研究了日本稻田土壤的 CH_4 产生途径,结果发现这两种方法所得 f_{ac} 值的大小和变化趋势存在较大差异(表2)。Conrad等^[24]比较研究了添加 CH_4 产生抑制剂氟甲烷、放射性示踪剂 $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ 、稳定性C同位素法测定的 f_{ac} 值随时间的变化关系。结果发现,根据这3种方法得到的 f_{ac} 值随时间的变化趋势很相似,在培养前10天 f_{ac} 值逐渐增大,10天后开始减小,但是在绝对数值上相差较大。

表2 稳定性同位素示踪技术和稳定性C同位素法测定的 f_{ac} ^[9]

Table 2 Results of f_{ac} measured by the stable carbon isotope tracer technique and stable carbon isotope measurement

培养时间(周)	$f_{\text{ac}}^{\text{①}}$ (%)	$f_{\text{ac}}^{\text{②}}$ (%)
0~1(1)	5	<12
1~2(2)	67	65~100
2~3(3)	18	92~100
3~4(4)	25	20~28
4~5(5)	32	16~20
5~10(6~11)	70~79	35~40

注:①为稳定性同位素示踪技术测定的 f_{ac} ;②为稳定性C同位素法测定的 f_{ac} 。

4 研究展望

我国是稻米生产大国,稻田 CH_4 排放量较大。近20年来我国科学家对稻田 CH_4 排放通量^[29-31]、影响因素^[32-34]、总量估算^[35-38]及减控措施^[39-40]等方面进行了大量研究,但这些研究很少涉及 CH_4 排放的过程机理,

如CH₄的产生途径等。因此,今后很有必要加强这方面的研究。

采用不同研究方法获得的CH₄产生途径相对贡献率及其变化规律存在较大差异^[9, 18, 24],但导致差异的原因尚不清楚,目前尚不能判断哪一种方法测定的结果更能反映实际情况。因此,有必要进一步对比分析3种研究方法,查明研究结果存在差异的原因,深入探讨采用哪一种方法测定稻田CH₄产生途径更能反映实际情况,保证研究结果的准确性。

在应用稳定性C同位素方法研究稻田CH₄产生途径时,同位素分馏系数 $\alpha_{\text{CO}_2/\text{CH}_4}$ 和 $\alpha_{\text{ac}/\text{CH}_4}$ 常取一固定值,没有考虑到它们可能会受环境因素的影响,这势必会影响研究结果的准确性^[18-24];此外, $\delta^{13}\text{CH}_4$ 和 $\delta^{13}\text{CH}_4(\text{CO}_2/\text{H}_2)$ 均可通过3种途径获得^[12, 18, 21-25],选用何种途径获得 $\delta^{13}\text{CH}_4$ 和 $\delta^{13}\text{CH}_4(\text{CO}_2/\text{H}_2)$ 最能代表田间实际情况还不是很明确,有待今后进一步详细研究。

参考文献:

- [1] IPCC. Climate change 2007: Couplings between changes in the climate system and biogeochemistry[R/OL]. [2009-3-12]. <http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/wg1/ar4-wg1-chapter7.pdf>
- [2] 王明星. 中国稻田甲烷排放. 北京: 科学出版社, 2001: 154
- [3] Conrad R. Microbial ecology of methanogens and methanotrophs. *Advances in Agronomy*, 2007, 96: 1-63
- [4] 徐华, 蔡祖聪, 八木一行. 水稻土甲烷产生、氧化和排放过程的相互影响—以水分历史处理为例. *土壤*, 2006, 38(6): 671-675
- [5] Takai Y. The mechanism of methane formation in flooded paddy soil. *Soil Science and Plant Nutrition*, 1970, 15(4): 238-244
- [6] Conrad R. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments. *FEMS Microbiology Ecology*, 1999, 28(3): 193-202
- [7] 王明星, 李金, 郑循华. 稻田甲烷排放及产生、转化、输送机理. *大气科学*, 1998, 22(4): 600-612
- [8] Conrad R. Quantification of methanogenic pathways using stable carbon isotopic signatures: A review and a proposal. *Organic Geochemistry*, 2005, 36 (5): 739-752
- [9] Sugimoto A, Wada E. Carbon isotopic composition of bacterial methane in a soil incubation experiment: Contributions of acetate and CO₂/H₂. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1993, 57(16): 4015-4027
- [10] Schütz H, Seiler W, Conrad R. Processes involved in formation and emission of methane in rice paddies. *Biogeochemistry*, 1989, 7(1): 33-53
- [11] Yao H, Conrad R. Electron balance during steady-state production of CH₄ and CO₂ in anoxic rice soil. *European Journal of Soil Science*, 2000, 51(3): 369-378
- [12] Krüger M, Frenzel P, Conrad R. Microbial processes influencing methane emission from rice fields. *Global Change Biology*, 2001, 7(1): 49-63
- [13] 王步军, 过益先. 稻田甲烷排放研究的进展与成果. *作物杂志*, 1996, 6: 3-6
- [14] 张竹青, 李义纯. 稻田甲烷排放控制方法的研究进展. *山西农业大学学报*, 2004, 24(1): 89-92
- [15] Rothfuss F, Conrad R. Thermodynamics of methanogenic intermediary metabolism in littoral sediment of Lake Constance. *FEMS Microbiology Ecology*, 1993, 12(4): 265-276
- [16] Chin KJ, Conrad R. Intermediary metabolism in methanogenic paddy soil and the influence of temperature. *FEMS Microbiology Ecology*, 1995, 18(2): 85-102
- [17] Conrad R, Klose M. How specific is the inhibition by methyl fluoride of acetoclastic methanogenesis in anoxic rice field soil? *FEMS Microbiology Ecology*, 1999, 30(1): 47-56
- [18] Krüger M, Eller G, Conrad R, Frenzel P. Seasonal variation in pathways of CH₄ production and in CH₄ oxidation in rice fields determined by stable carbon isotopes and specific inhibitors. *Global Change Biology*, 2002, 8(3): 265-280
- [19] Penning H, Conrad R. Quantification of carbon flow from stable isotope fractionation in rice field soils with different organic matter content. *Organic Geochemistry*, 2007, 38 (12): 2058-2069
- [20] Conrad R, Klose M, Claus P. Activity and composition of the methanogenic archaeal community in soil vegetated with wild versus cultivated rice. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(7): 1390-1395
- [21] Nakagawa F, Yoshida N, Sugimoto A, Wada E, Yoshioka T, Uwda S, Vajansorn P. Stable isotope and radiocarbon compositions of methane emitted from tropical rice paddies and swamps in Southern Thailand. *Biogeochemistry*, 2002, 61(1): 1-19
- [22] Tyler SC, Bilek RS, Sass RL, Fisher FM. Methane oxidation and pathways of production in a Texas paddy field deduced from measurements of flux, $\delta^{13}\text{C}$, and δD of CH₄. *Global Biogeochemical Cycles*, 1997, 11(3): 323-348
- [23] Bilek RS, Tyler SC, Sass RL, Fisher FM. Differences in CH₄ oxidation and pathways of production between rice cultivars deduced from measurements of CH₄ flux and $\delta^{13}\text{C}$ of CH₄ and CO₂. *Global Biogeochemical Cycles*, 1999, 13(4): 1029-1044
- [24] Conrad R, Klose M, Claus P. Pathway of CH₄ formation in anoxic

- rice field soil and rice roots determined by ^{13}C -stable isotope fractionation. *Chemosphere*, 2002, 47(8): 797-806
- [25] Fey A, Claus P, Conrad R. Temporal change of ^{13}C -isotope signatures and methanogenic pathways in rice field soil incubated anoxically at different temperatures. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2004, 68(2): 293-306
- [26] 郑永飞, 陈江峰. 稳定同位素地球化学. 北京: 科学出版社, 2000: 4
- [27] Hayes JM. Factors controlling ^{13}C contents of sedimentary organic compounds: Principles and evidence. *Marine Geology*, 1993, 113(1/2): 111-125
- [28] Gelwicks JT, Risatti JB, Hayes JM. Carbon isotope effects associated with acetoclastic methanogenesis. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(2): 467-472
- [29] Wang MX, Shangguan XJ. CH_4 emission from various rice fields in P.R. China. *Theoretical and Applied Climatology*, 1996, 55(1/4): 129-138
- [30] Cai ZC, Tsuruta H, Rong XM, Xu H, Yuan ZP. CH_4 emissions from rice paddies managed according to farmer's practice in Hunan, China. *Biogeochemistry*, 2001, 56(1): 75-91
- [31] 马秀梅, 朱波, 杜泽林, 郑循华. 冬水田休闲期温室气体排放通量的研究. *农业环境科学学报*, 2005, 24(6): 1199-1202
- [32] 李香兰, 徐华, 曹金留, 蔡祖聪, 八木一行. 水分管理对水稻生长期 CH_4 排放的影响. *土壤*, 2007, 39(2): 238-242
- [33] Cai ZC, Shan YH, Xu H. Effects of nitrogen fertilization on CH_4 emissions from rice fields. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2007, 53(4): 353-361
- [34] Ma J, Xu H, Yagi K, Cai ZC. Methane emission from paddy soils as affected by wheat straw returning mode. *Plant and Soil*, 2008, 313(1/2): 167-174
- [35] 蔡祖聪. 中国稻田甲烷排放研究进展. *土壤*, 1999, 31(5): 266-269
- [36] Yan XY, Cai ZC, Ohara T, Akimoto H. Methane emission from rice fields in mainland china: Amount and seasonal spatial distribution. *Journal of Geophysical Research*, 2003, 108: 4505
- [37] 黄耀, 张稳, 郑循华, 韩圣慧, 于永强. 基于模型和 GIS 技术的中国稻田甲烷排放估计. *生态学报*, 2006, 26(4): 980-988
- [38] 王平, 黄耀, 张稳. 1995—2005 年中国稻田甲烷排放估算. *气候变化研究进展*, 2009, 5(5): 291-297
- [39] Cai ZC, Tsuruta H, Gao M, Xu H, Wei CF. Options for mitigating methane emission from a permanently flooded rice field. *Global Change Biology*, 2003, 9(1): 37-45
- [40] 黄耀. 中国的温室气体排放、减缓措施与对策. *第四纪研究*, 2006, 26(5): 722-732

Advances on Methanogenic Pathways in Rice Fields

ZHANG Guang-bin^{1,2}, MA Jing¹, XU Hua¹, CAI Zu-cong¹

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China;

2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: H_2/CO_2 reduction and CH_3COOH fermentation are the two major pathways of methanogenesis in rice fields. Carbon isotope tracer technique, the use of specific inhibitors to block methanogenesis and stable carbon isotope ratio measurement has been used to quantify the partitioning of methanogenic pathways. The paper summarized the three approaches and the corresponding results. The research emphases in the future are to investigate the methanogenic pathways in rice fields in China, to comparatively analyze the three approaches and find out the cause of the difference in the results, and to investigate carbon isotope fractionation factors ($\alpha_{\text{CO}_2/\text{CH}_4}$ and $\alpha_{\text{ac}/\text{CH}_4}$) and stable carbon isotope compositions of CH_4 ($\delta^{13}\text{CH}_4$ and $\delta^{13}\text{CH}_4(\text{CO}_2/\text{H}_2)$).

Key words: Methanogenic pathways, Carbon isotope tracer technique, Methanogenesis inhibitor, Stable carbon isotope ratio measurement, Rice field