

石膏改良剂减少苏打盐碱稻田甲烷排放的微生物学机制

周妍宏^{1,2}, 刘宏远^{1*}, 牟晓杰¹, 王辰², 王苗苗¹

1 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 黑土地保护与利用全国重点实验室, 吉林 长春

2 黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆

周妍宏, 刘宏远, 牟晓杰, 王辰, 王苗苗. 石膏改良剂减少苏打盐碱稻田甲烷排放的微生物学机制[J]. 微生物学报, 2025, 65(8): 3241-3253.

ZHOU Yanhong, LIU Hongyuan, MU Xiaojie, WANG Chen, WANG Miaomiao. Microbiological mechanisms of gypsum as an amendment to reduce methane emissions from saline-sodic paddy fields[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(8): 3241-3253.

摘要: 【目的】阐明石膏改良剂减少苏打盐碱稻田甲烷(CH₄)排放的微生物学机制与主要路径。【方法】开垦盐碱荒地作为稻田, 设置4个石膏用量处理: 0 t/hm² (CK)、15 t/hm² (G₁₅)、30 t/hm² (G₃₀)和45 t/hm² (G₄₅), 每个处理设置3次重复。在水稻扬花期, 采用静态箱法监测CH₄排放通量, 随后采集箱内耕层(0-15 cm)土壤样品, 用于宏基因组测序和土壤理化性质分析。【结果】施用石膏15-45 t/hm²能够显著减少苏打盐碱稻田CH₄排放通量, 减排幅度为85.62%-92.64%, 且随着石膏用量增加减排效果逐渐增强。施用石膏并未改变苏打盐碱稻田土壤中产甲烷菌和甲烷氧化菌的优势菌门。产甲烷菌中氢营养型相对丰度高达90%。当石膏用量达到30 t/hm²时, Type II型甲烷氧化菌相对丰度较CK处理提高了50.00%-61.54%; 随着石膏用量增加, 产甲烷菌和甲烷氧化菌的α多样性指数均增大, 且甲烷氧化菌的增幅明显高于产甲烷菌。石膏显著降低了产甲烷功能基因*torC*的相对丰度, 同时提高了甲烷氧化功能基因*pps*、*hdrD*和*rnfB*的相对丰度。CO₃²⁻和HCO₃⁻和pH是影响产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构的最主要土壤环境因子。【结论】施用石膏通过降低土壤pH正向调节产甲烷菌和甲烷氧化菌的群落结构。然而, 甲烷氧化菌群落结构对CH₄排放通量的负效应强于产甲烷菌群落结构对CH₄排放通量的正效应, 从而减少CH₄排放。该结果为苏打盐碱地农业开发的生态效应评估提供了理论依据。

关键词: 石膏改良剂; 苏打盐碱稻田; 甲烷; 微生物; 功能基因

资助项目: 中国科学院战略性先导科技专项(XDA28110400); 吉林省与中国科学院科技合作高新技术产业化专项(2023SYHZ0052)

This work was supported by the Strategic Priority Research Program of Chinese Academy of Sciences (XDA28110400) and the Special Project of High-tech Industrialization for Science and Technology Cooperation between Jilin Province and Chinese Academy of Sciences (2023SYHZ0052).

*Corresponding author. E-mail: liuhongyuan@iga.ac.cn

Received: 2024-11-28; Accepted: 2025-01-11; Published online: 2025-02-25

Microbiological mechanisms of gypsum as an amendment to reduce methane emissions from saline-sodic paddy fields

ZHOU Yanhong^{1,2}, LIU Hongyuan^{1*}, MU Xiaojie¹, WANG Chen², WANG Miaomiao¹

1 State Key Laboratory of Black Soils Conservation and Utilization, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun, Jilin, China

2 College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang, China

Abstract: [Objective] To elucidate the microbiological mechanisms and major pathways of gypsum as an amendment to reduce CH₄ emissions from saline-sodic paddy fields. [Methods] The saline-sodic wasteland was reclaimed as a paddy field, and four gypsum application treatments were set up: 0 t/hm² (CK), 15 t/hm² (G₁₅), 30 t/hm² (G₃₀), and 45 t/hm² (G₄₅), with three replications. The CH₄ emission fluxes were monitored by the closed static chamber method at the rice flowering stage, after which soil samples were collected from the tillage layer (0–15 cm) within the chamber area for metagenomic sequencing and soil physicochemical property analysis. [Results] The application of 15–45 t/hm² gypsum significantly reduced the CH₄ emission flux of saline-sodic paddy fields by 85.62%–92.64%, and the reduction amplitude increases with the increase of gypsum application rate. The dominant phyla of methanogens and methanotrophs of saline-sodic paddy soils did not change with the application of gypsum, and the relative abundance of hydrogenotrophic type of methanogens was as high as 90%. The relative abundance of Type II methanotrophs increased by 50.00%–61.54% compared with that of the CK treatment after the gypsum application reached 30 t/hm². The alpha diversity index of both methanogens and methanotrophs increased with the increase of gypsum application rate, and the increase of the former was significantly smaller than that of the latter. Gypsum significantly decreased the relative abundance of the methanogenic functional gene *torC*, and increased the relative abundance of the methane oxidation functional genes *pps*, *hdrD* and *rnfB*. CO₃²⁻+HCO₃⁻ and pH were the most important environmental factors of soil affecting the community structure of methanogens and methanotrophs. [Conclusion] The application of gypsum positively affected the community structure of methanogens and methanotrophs by reducing soil pH, but the negative effect of the community structure of methanotrophs on CH₄ emission flux outweighed the positive effect of the community structure of methanogens on CH₄ emission flux, thus reducing CH₄ emission. The results can provide a theoretical basis for the evaluation of ecological effects of agricultural development in saline-sodic land.

Keywords: gypsum as an amendment; saline-sodic paddy field; methane; microorganism; functional gene

甲烷(CH₄)是仅次于二氧化碳(CO₂)的第二大温室气体, 对全球变暖的贡献率高达 25%, 且大气中 CH₄ 浓度仍在以每年 1.1% 的速度增

长^[1]。稻田 CH₄ 排放是大气中 CH₄ 的主要来源之一, 约占农业 CH₄ 排放总量的 40%^[2], 且这一比例可能随着稻田面积的扩大而进一步增加。

我国松嫩平原西部有约 180 万 hm^2 可开发利用的苏打盐碱荒(草)地, 凭借区域丰富的过境淡水资源和“河湖连通”等大水网工程, 将苏打盐碱荒(草)地大规模开发为稻田正在被作为国家耕地扩充战略实施。在此过程中, 常采用以石膏为代表的各类改良剂实现苏打盐碱土壤的盐碱去除和性状改善, 同时也可能引起稻田 CH_4 排放的变化。已有研究证实, 在一个完整的水稻生长季, 应用 20 t/hm^2 石膏可减少苏打盐碱稻田 78.05% 的累计 CH_4 排放通量^[3]。然而, CH_4 排放通量的减幅随石膏用量的变化规律及其机制尚不明确, 仍需进一步研究。

土壤微生物是决定 CH_4 排放通量的主导因子。产甲烷菌和甲烷氧化菌分别通过直接影响 CH_4 的产生和氧化, 共同决定 CH_4 排放通量。产甲烷菌将无机或有机化合物在厌氧条件下发酵转化为 CH_4 , 可根据生化特征分为氢营养型产甲烷菌、乙酸营养型产甲烷菌和甲基营养型产甲烷菌^[4-5]。甲烷氧化菌以 CH_4 作为唯一碳源和能源物质, 将 CH_4 转化为 CO_2 , 可根据氧气需求分为好氧甲烷氧化菌和厌氧甲烷氧化菌^[6-7]。稻田中 CH_4 的氧化主要由好氧甲烷氧化菌控制, 产生的 CH_4 有 80%–90% 被好氧甲烷氧化菌氧化^[8]。好氧甲烷氧化菌可根据代谢途径分为 Type I 型、Type II 型和 Type X 型^[9-10]。Type I 型和 Type X 型通过单磷酸核酮糖途径代谢 CH_4 , Type II 型通过丝氨酸途径代谢 CH_4 ^[11]。Type I 型在 CH_4 浓度高且 O_2 浓度低的环境中具有优势^[12], 而 Type II 型在低 CH_4 浓度环境中表现更好^[13]。产甲烷菌和甲烷氧化菌发挥作用的本质是功能基因的表达, 功能基因通过编码蛋白质、RNA 或其他生物分子, 实现生物体内的各种生理功能^[14-15]。例如, 产甲烷菌需要利用 *mcrA* 功能基因编码甲基辅酶 M 还原酶来产生 CH_4 。可见, 参与 CH_4 产生和氧化的菌群结构和功能基因在 CH_4 排放中均具有重要作用。

土壤环境因子显著影响产甲烷菌和甲烷氧化菌以及甲烷代谢功能基因。俎千惠等^[16]发现

中国水稻土中产甲烷菌群落组成分异的主要驱动因子是土壤 pH。Yu 等^[17]发现江苏省水稻土中产甲烷菌的丰度和主要种类与土壤总碳和总氮含量相关。Yang 等^[1]发现东营市滨海盐碱土中甲烷氧化菌群落多样性最相关的因子是全氮、 NO_3^- -N 和 SO_4^{2-} 含量。Yang 等^[4]发现长沙市水稻土中甲烷氧化菌群落结构的关键影响因子是有机碳含量、硝酸盐含量和通气状况。胡翔宇等^[18]应用石膏改良重庆市稻田, 发现甲烷氧化菌 *pmoA* 基因丰度增加 0.3%–6.2%, 产甲烷菌 *mcrA* 基因丰度显著下降 2.4%–15.8%, 且丰度比 (*pmoA/mcrA*) 随着脱硫石膏用量增加而增大。可见, 影响参与 CH_4 产生和氧化的菌群结构和功能基因的主导因子具有明显的区域差异性。

本研究通过不同用量石膏改良土壤的大田试验, 结合气体通量监测和宏基因组测序, 以量化 CH_4 排放通量随石膏用量的变化规律, 明确产甲烷菌和甲烷氧化菌的群落结构及甲烷代谢功能基因的变化, 解析影响苏打盐碱稻田产甲烷菌和甲烷氧化菌的主要土壤环境因子, 进而阐明石膏改良剂减少苏打盐碱稻田 CH_4 排放的微生物学机制与主要途径, 以期对苏打盐碱地农业开发和生态农业发展提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于吉林省大安市, 经纬度范围为 $45^\circ 13' - 45^\circ 16' \text{N}$, $123^\circ 13' - 123^\circ 21' \text{E}$ 。该地区属于中温带大陆性季风气候, 年平均气温为 4.3°C , 年降水量为 413.7 mm, 年潜在蒸发量为 1 696.9 mm, 年无霜期为 137 d。土壤类型为草甸碱土, 砂粒、粉粒和黏粒含量分别为 76.80%、18.66% 和 4.54%, 根据美国农业部(United States Department of Agriculture, USDA)土壤质地分类标准, 该土壤为砂质土壤^[19]。耕层土壤(0–15 cm)的 pH 为 10.64 ± 0.04 、电导率(electrical conductivity, EC)为 $(1.20 \pm 0.29) \text{ mS}/\text{cm}$ 、碱化度为 $(34.05 \pm 1.96)\%$ 。

土壤有机质(soil organic matter, SOM)、速效氮(available nitrogen, AN)、速效磷(available phosphorus, AP)和速效钾(available potassium, AK)含量分别为 (6.64 ± 2.10) g/kg、 (16.83 ± 5.30) mg/kg、 (24.60 ± 1.45) mg/kg 和 (71.62 ± 6.60) mg/kg。

1.2 实验方案

大田试验将苏打盐碱荒地开垦为稻田, 设置4个石膏用量处理, 分别为 0 t/hm^2 (CK)、 15 t/hm^2 (G₁₅)、 30 t/hm^2 (G₃₀)和 45 t/hm^2 (G₄₅)。每个处理设置3个重复, 共12个小区, 每个小区的长度和宽度均为10 m。所用石膏购自辽宁省黑山县, 主要成分为 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (含量>79%), 其他成分包括 CaO 32.90 g/kg、 SiO_2 3.29 g/kg、 Fe_2O_3 1.97 g/kg、 P_2O_5 1.63 g/kg 等, pH为4.19, EC为3.27 mS/cm。

春季解冻前, 按照实验设计量将石膏均匀撒施于地表。解冻后, 旋耕使石膏与0–15 cm土层充分混匀。2022年5月20–25日进行水稻插秧, 品种为‘吉宏6号’, 全生育期施N为 180 kg/hm^2 、 P_2O_5 为 110 kg/hm^2 、 K_2O 为 110 kg/hm^2 , 并配套正常的病虫害防治和水肥管理措施。

1.3 样品采集与检测

CH_4 气体通过静态箱法采集, 包括1个底座、1个主箱和1个加长箱。主箱和加长箱采用一次注塑成型的PVC材料制作, 底座由0.5 mm厚的不锈钢制作。主箱规格为 $50 \text{ cm} \times 50 \text{ cm} \times 120 \text{ cm}$, 加长箱规格为 $50 \text{ cm} \times 50 \text{ cm} \times 100 \text{ cm}$, 底座规格为 $50 \text{ cm} \times 50 \text{ cm} \times 30 \text{ cm}$ 。底座和加长箱上端设有密封水槽, 采样时静态箱各部分之间用水密封。主箱内装有风扇、温度传感器、三通阀和气压平衡管, 侧面安装有电源插头和气体采样接口。

2022年8月初在12个小区内分别埋设不锈钢底座, 每个小区设1个观测点。参考覃宝利等^[20]和王祎等^[21]的研究, 于8月20日(水稻扬

花期, 此时期是水稻营养生长和生殖生长的旺盛期)采集气体和土壤样品。在12个小区内进行气体样品采集, 连续观测24 h, 每4 h采集1次气体样品, 每次罩箱时间为45 min。从密封笼罩开始采集第1个气体样品, 之后每隔15 min采集1次样品, 每个观测点共采集4个气体样品。采集气体时, 使用100 mL聚乙烯医用注射器抽取气体, 并将其置于100 mL的铝塑复合气袋。气体采集后36 h内, 在实验室使用气相色谱仪检测 CH_4 气体浓度。

在每个观测点气体采集完毕后, 立即在静态箱底座范围内, 按照S形五点取样法采集0–15 cm土壤样品。将5个样品充分混合后, 采用四分法取2份新鲜土壤样品, 去除细根等杂质。一份新鲜土样低温保存用于宏基因组测序, 另一份新鲜土样风干保存用于测定土壤理化性质。

1.4 CH_4 排放通量计算

CH_4 排放通量计算参考文献[22]。

1.5 宏基因组DNA提取和鸟枪法测序

使用基因组DNA抽提试剂盒(Omega Bio-Tek公司)提取总微生物基因组DNA。提取的DNA数量和质量分别通过荧光仪和琼脂糖凝胶电泳检测。利用Illumina TruSeq Nano DNA LT库制备试剂盒, 将提取的微生物DNA处理成插入长度为400 bp的宏基因组鸟枪测序文库。在Illumina NovaSeq平台进行测序。本研究的宏基因组测序数据已上传至NCBI数据库, 保藏号为PRJNA1198632。

1.6 数据处理

宏基因组数据通过云服务平台(<https://www.genesccloud.cn/login>)进行在线分析。其他数据分析采用IBM SPSS Statistics 25.0软件, 各处理间差异通过单因素方差分析(one-way ANOVA)和多重比较(Duncan)进行分析, 设定 $P < 0.05$ 为显著水平。使用Origin 2021软件绘制 CH_4 排放通量

和功能基因相对丰度的柱状图。利用 R 语言的 plspm 包进行偏最小二乘法(partial least squares, PLS)路径分析。

2 结果与分析

2.1 甲烷排放通量

施用 15–45 t/hm²石膏显著减少了苏打盐碱稻田 CH₄ 排放通量(图 1)。G₁₅ 处理的 CH₄ 排放通量介于 0.096–0.182 mg/(m²·h), 均值为 0.129 mg/(m²·h); G₃₀ 处理的 CH₄ 排放通量介于 0.065–0.156 mg/(m²·h), 均值为 0.121 mg/(m²·h); G₄₅ 处理的 CH₄ 排放通量介于 0.055–0.087 mg/(m²·h), 均值为 0.066 mg/(m²·h); 而 CK 处理的 CH₄ 排放通量介于 0.880–0.914 mg/(m²·h), 均值高达 0.897 mg/(m²·h)。石膏处理的 CH₄ 排放通量均值显著低于对照处理, 减幅介于 85.62%–92.64%, 且随着石膏用量增加而增大, 但 G₃₀ 处理和 G₄₅ 处理的 CH₄ 排放通量之间无显著差异。

2.2 产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构

各处理产甲烷菌的前 10 位优势菌门相同,

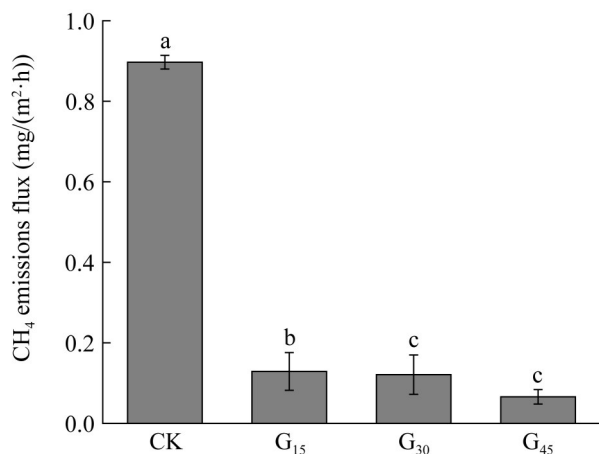


图1 不同石膏用量条件下苏打盐碱稻田CH₄排放通量。不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。
Figure 1 CH₄ emission fluxes from saline-sodic paddy fields under different gypsum application rates. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

前 3 位优势菌门均为变形菌门(62.47%–67.27%)、拟杆菌门(7.41%–16.53%)和绿弯菌门(3.98%–9.78%), 但 G₁₅ 处理的拟杆菌门相对丰度(16.53%)明显高于其他处理(7.41%–9.06%), 而绿弯菌门相对丰度(3.98%)明显低于其他处理(7.54%–9.78%) (图 2A)。根据生化特征分类, 氢营养型产甲烷菌在苏打盐碱稻田土壤中占据主导地位, 相对丰度高达 90% (图 2B)。各处理甲烷氧化菌的前 10 位优势菌门无差异, 前 3 位优势菌门均为变形菌门(59.61%–63.38%)、拟杆菌门(9.50%–20.84%)和绿弯菌门(3.77%–9.72%), 但 G₁₅ 处理的拟杆菌门相对丰度(20.84%)明显高于其他处理(9.50%–12.03%), 而绿弯菌门相对丰度(3.77%)明显低于其他处理(7.67%–9.72%) (图 2C)。根据代谢途径分类, 各处理均以 Type I 型甲烷氧化菌为主(58.00%–76.00%), 但当石膏用量达到 30 t/hm² 及以上时, Type II 型甲烷氧化菌相对丰度较 CK 处理增大 50.00%–61.54% (图 2D)。

施用石膏整体上提高了产甲烷菌和甲烷氧化菌的 α 多样性(表 1)。产甲烷菌的 Observed_species、Chao1 和 Shannon 指数均随石膏用量的增加而增大。相较于 CK 处理, G₃₀ 和 G₄₅ 处理的 Observed_species 指数分别显著提高 11.86% 和 14.67%, Chao1 指数分别显著提高 10.71% 和 12.98%, 说明施用 30–45 t/hm² 石膏可增加产甲烷菌的物种丰富度。G₄₅ 处理的 Shannon 指数较 CK 提高 4.94%, 说明施用 45 t/hm² 石膏可增加产甲烷菌的物种多样性。甲烷氧化菌的 Observed_species 指数和 Chao1 指数随石膏用量的增加而增大。相较于 CK 处理, G₃₀ 和 G₄₅ 处理的 Observed_species 指数分别显著提高 16.35% 和 20.04%, Chao1 指数分别显著提高 14.87% 和 18.33%, 说明施用 30–45 t/hm² 石膏可增加甲烷氧化菌的物种丰富度。各处理的 Shannon 指数无显著差异, 但数值随石膏用量增加呈现增大趋势。各处理甲烷氧化菌的 α 多样性指数随石膏用量增加而增大的幅度均大于产甲烷菌的相

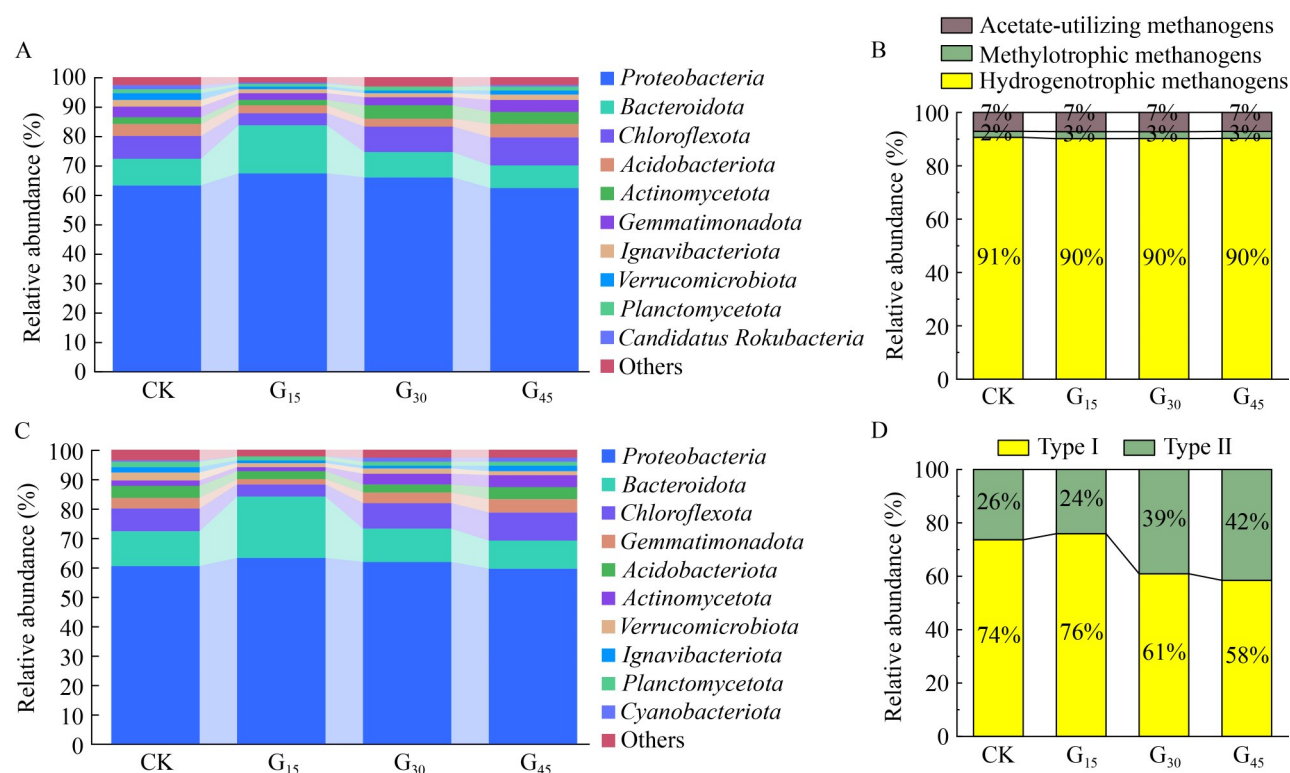


图2 不同石膏用量条件下苏打盐碱稻田土壤产甲烷菌和甲烷氧化菌门水平物种相对丰度。A: 门水平前10位产甲烷菌相对丰度; B: 不同类型产甲烷菌相对丰度; C: 门水平前10位甲烷氧化菌相对丰度; D: 不同类型甲烷氧化菌相对丰度。

Figure 2 Relative abundance of methanogens and methanotrophs at the phylum level of saline-sodic paddy soils under different gypsum application rates. A: Relative abundance of the top ten methanogens at the phylum level; B: Relative abundance of different types of methanogens; C: Relative abundance of the top ten methanotrophs at the phylum level; D: Relative abundance of different types of methanotrophs.

应指数, 说明甲烷氧化菌比产甲烷菌对石膏更加敏感。

利用基于 Bray-Curtis 距离的非度量多维尺度(nonmetric multidimensional scaling, NMDS)排序, 分析不同石膏用量条件下的产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构差异(图 3)。NMDS 分析的压力值(stress)小于 0.10, 说明该结果具有很好的解释意义。相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)结果表明, 除了 G₃₀ 和 G₄₅ 处理之间产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构相似性较高之外, 其他各组处理之间产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构均存在显著差异。

2.3 甲烷代谢功能基因

2.3.1 产甲烷途径

石膏改变了苏打盐碱稻田土壤中产甲烷功能基因 *acs*、*torA* 和 *torC* 的相对丰度(图 4)。*acs* 基因参与编码乙酰辅酶 A 合成酶, *torA* 基因和 *torC* 基因参与编码三甲胺-N-氧化物还原酶。尽管统计检验中显著差异较少出现, 但 *acs* 基因和 *torA* 基因的相对丰度均随石膏用量的增加表现出先减小后增大的趋势。G₄₅ 处理的 *acs* 基因相对丰度较 G₁₅ 处理高 6.12%, G₁₅ 处理的 *torA* 基因相对丰度较 CK 低 16.69%, G₃₀ 处理的 *torA* 基因相对丰度较 G₁₅ 处理高 15.51%。*torC* 基因

表1 不同石膏用量条件下苏打盐碱稻田土壤产甲烷菌和甲烷氧化菌 α 多样性指数

Table 1 Alpha diversity index of methanogens and methanotrophs of saline-sodic paddy soils under different gypsum application rates

Microorganism type	Treatments	Observed species	Chao1 index	Shannon index
Methanogens	CK	1 720b	2 029.74b	4.96b
	G ₁₅	1 780b	2 114.14b	5.04ab
	G ₃₀	1 924a	2 247.20a	5.07ab
	G ₄₅	1 973a	2 293.25a	5.20a
Methanotrophs	CK	2 934b	3 458.10b	5.27a
	G ₁₅	3 125b	3 722.83ab	5.37a
	G ₃₀	3 414a	3 972.17a	5.94a
	G ₄₅	3 522a	4 091.84a	5.97a

对于每种微生物类型，同列不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Different lowercase letters in the same column indicate significant differences for each microorganism type ($P<0.05$).

的相对丰度随石膏用量的增加表现为显著的减小趋势，在石膏用量达到 30 t/hm²后趋于平稳。G₁₅、G₃₀ 和 G₄₅ 处理的 *torC* 基因相对丰度分别

较 CK 低 21.37%、39.10% 和 42.19%。

2.3.2 甲烷氧化途径

施用石膏同时提高了苏打盐碱稻田土壤中好氧和厌氧甲烷氧化功能基因的相对丰度(图 5)。在好氧氧化功能基因中相对丰度显著提高的包括 *pps* 和 *glyA* 基因。G₃₀ 和 G₄₅ 处理的 *pps* 基因相对丰度分别较 CK 显著提高 15.21% 和 16.73%，G₁₅ 处理的 *glyA* 基因相对丰度较 CK 显著提高 9.36%。*pps* 基因参与编码丙酮酸磷酸双激酶，*glyA* 基因参与编码甘氨酸羟甲基转移酶，两者共同参与丝氨酸循环。由此推测，丝氨酸循环是苏打盐碱稻田 CH₄ 好氧氧化过程的主要途径。在厌氧氧化功能基因中，相对丰度显著提高的包括 *hdrD*、*rnfB*、*fpoB*、*rnfE* 和 *narB* 基因。*hdrD* 基因参与编码杂二硫键还原酶；*rnfB* 基因和 *rnfE* 基因分别参与编码 Na⁺-转运铁氧还蛋白和 NAD⁺氧化还原酶；*fpoB* 基因参与编码 F₄₂₀H₂ 脱氢酶；*narB* 基因参与编码亚硝酸盐还原酶。G₃₀ 和 G₄₅ 处理的 *hdrD* 基因相对丰度分别较 CK 显著提高 8.21% 和 9.21%，G₄₅ 处理的 *rnfB* 基因相对丰度较 CK 显著提高 13.46%，G₁₅ 处理的

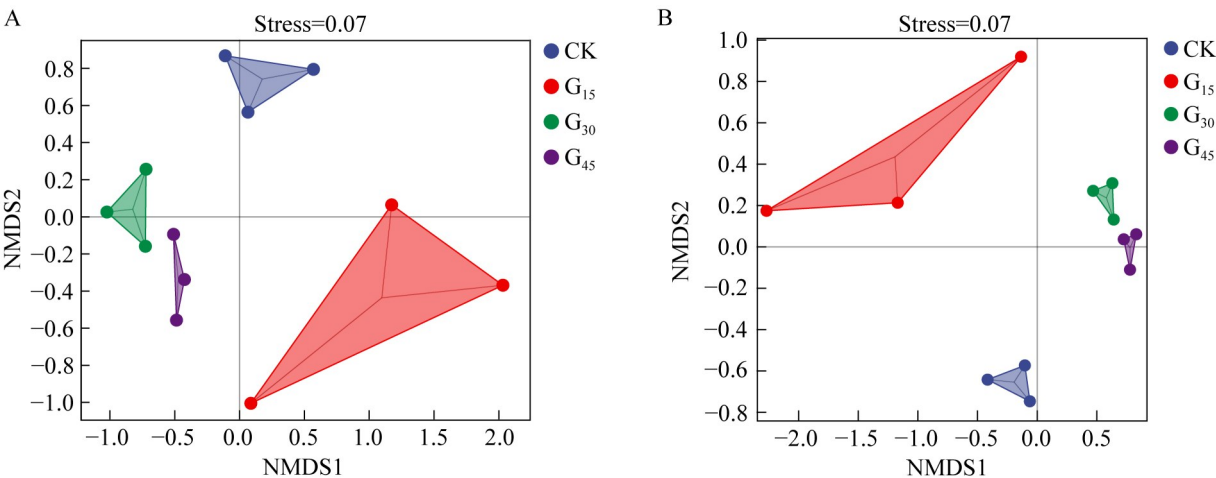


图3 不同石膏用量条件下苏打盐碱稻田土壤产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构的NMDS分析。A：产甲烷菌群落结构的NMDS分析；B：甲烷氧化菌群落结构的NMDS分析。

Figure 3 NMDS analysis of the community structure of methanogens and methanotrophs of saline-sodic paddy soils under different gypsum application rates. A: NMDS analysis of the community structure of methanogens; B: NMDS analysis of the community structure of methanotrophs.

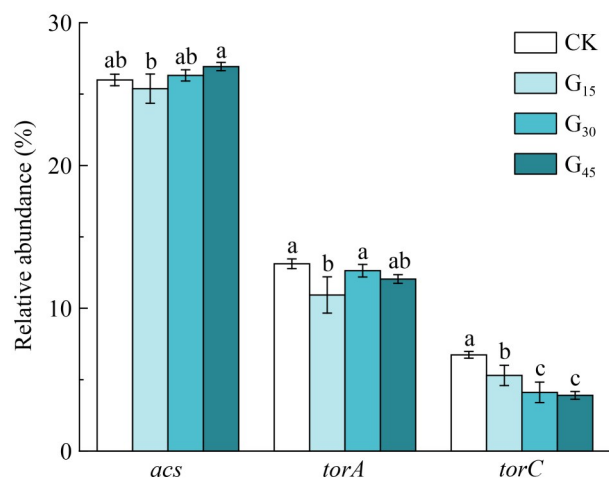


图4 不同石膏用量条件下苏打盐碱稻田土壤产甲烷功能基因的相对丰度。不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

Figure 4 Relative abundance of methanogenic functional genes in saline-sodic paddy soils under different gypsum application rates. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

fpoB、*narB* 和 *rnfE* 基因相对丰度分别较 CK 显著提高 7.80%、3.01% 和 9.21%。

2.4 影响甲烷产生和氧化的土壤环境因子

以土壤环境因子为一个矩阵,分别与门水平产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构进行 Mantel test,分析产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构与土壤环境因子之间的相关性。Mantel's r 的绝对值越高,两矩阵相关性越强;Mantel's r 的绝对值越低,相关性越弱。结果显示, $\text{CO}_3^{2-}+\text{HCO}_3^-$ 、ENa 和 pH 是显著影响产甲烷菌群落结构的土壤环境因子, Mantel's r 值分别为 0.36、0.32 和 0.21 (图 6A)。 $\text{CO}_3^{2-}+\text{HCO}_3^-$ 和 pH 是显著影响甲烷氧化菌群落结构的土壤环境因子, Mantel's r 分别为 0.39 和 0.21 (图 6B)。在石膏改良苏打盐碱稻田土壤的情况下, $\text{CO}_3^{2-}+\text{HCO}_3^-$ 和 pH 是影响产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构的共同土壤环境因子。

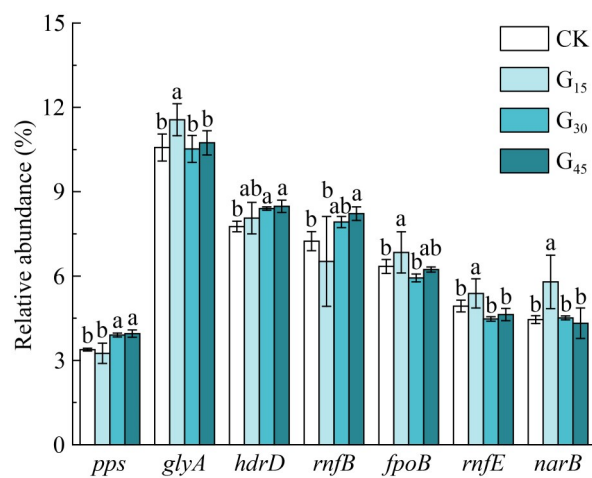


图5 不同石膏用量条件下苏打盐碱稻田土壤甲烷氧化功能基因的相对丰度。不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

Figure 5 Relative abundance of methane oxidation functional genes of saline-sodic paddy soils under different gypsum application rates. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

2.5 石膏改良剂影响甲烷排放通量的主要路径

基于 Mantel test 结果,筛选出与产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构均具有较强相关性的 $\text{CO}_3^{2-}+\text{HCO}_3^-$ 和 pH 进行 PLS 路径分析,揭示石膏改良剂影响苏打盐碱稻田 CH_4 排放通量的主要路径和作用强度(图 7)。模型拟合优度指数 (goodness of fit index, GFI) 为 0.83,表明模型拟合良好。施用石膏对土壤 pH 和 $\text{CO}_3^{2-}+\text{HCO}_3^-$ 含量具有显著负效应。pH 对产甲烷菌群落结构具有显著负效应,对产甲烷功能基因、甲烷氧化菌群落结构和甲烷氧化功能基因均表现出较强的负效应。 $\text{CO}_3^{2-}+\text{HCO}_3^-$ 含量对产甲烷功能基因和甲烷氧化功能基因具有较强的正效应。产甲烷菌群落结构对 CH_4 排放通量具有显著正效应(路径系数为 1.20),而甲烷氧化菌群落结构对 CH_4 排放通量具有显著负效应(路径系数为 -1.49),且前者正效应小于后者负效应。产甲烷功能基因和甲烷氧化功能基因对 CH_4 排放通量均无明显作用。

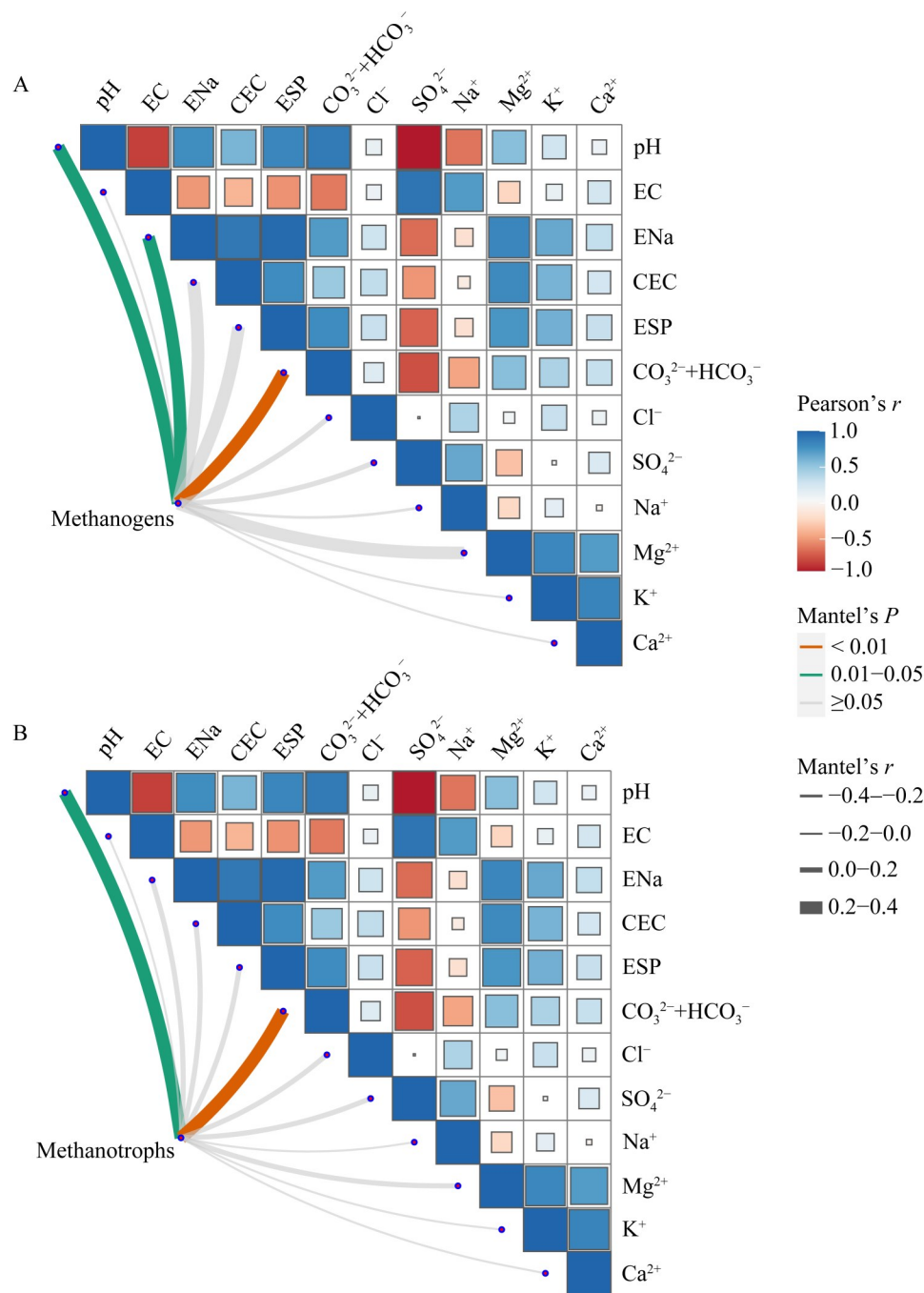


图6 苏打盐碱稻田土壤产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构与土壤环境因子的Mantel test结果。A: 产甲烷菌群落结构与土壤环境因子的Mantel test结果；B: 甲烷氧化菌群落结构与土壤环境因子的Mantel test结果。

Figure 6 Mantel test results between the community structure of methanogens and methanotrophs and soil environmental factors of saline-sodic paddy soils. A: Mantel test results between the community structure of methanogens and soil environmental factors; B: Mantel test results between the community structure of methanotrophs and soil environmental factors.

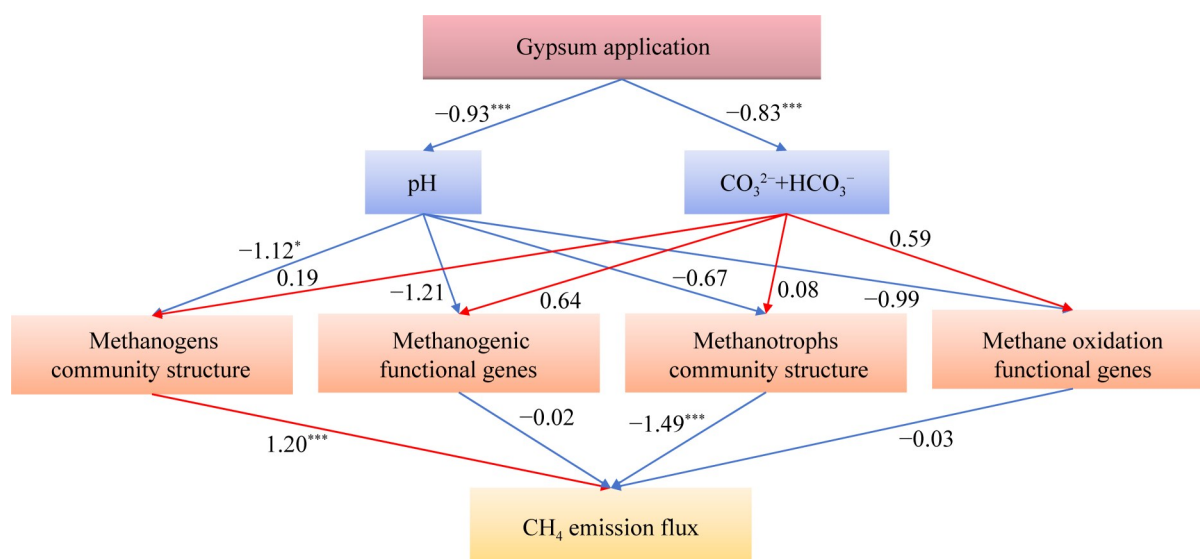


图7 石膏改良剂影响苏打盐碱稻田CH₄排放通量的PLS路径分析。箭头旁边的数字表示路径系数。红线表示正向影响，蓝线表示负向影响。显著性水平用*表示 $P<0.05$ ，***表示 $P<0.001$ 。

Figure 7 PLS path analysis of gypsum as an amendment on affecting CH₄ emission flux in saline-sodic paddy fields. The numbers next to the arrows represent the path coefficients. The red lines indicate positive effects, and the blue lines indicate negative effects. The significance level was expressed by * $P<0.05$, and *** $P<0.001$.

3 讨论

3.1 石膏改变甲烷代谢微生物群落结构的机制

产甲烷菌和甲烷氧化菌通过复杂的生物化学过程，共同影响CH₄的产生和氧化。本研究中施用30–45 t/hm²石膏有助于产甲烷菌的生长繁殖，这可能是由于石膏的施用降低了土壤盐碱度，改善了土壤的理化性质。首先，石膏虽不直接创造厌氧环境，但其施用可能改善土壤的透气性和保水性，使得土壤中的某些区域更容易形成厌氧微环境。这对于产甲烷菌来说是至关重要，因为它们是专性厌氧菌，只能在完全缺氧的环境中生存和繁殖^[23]。其次，石膏的施用为产甲烷菌提供了适宜的底物，盐碱地的改良可能促进土壤中有有机物质的分解和转化，为产甲烷菌提供更多的底物(如乙酸、氢气等)^[24]。最后，石膏调节了苏打盐碱稻田土壤的pH，使其更接近于产甲烷菌生长的最适pH范围。尽管

产甲烷菌对pH的适应性较强，但在适宜的pH条件下，其生长和繁殖速度会更快^[25]。

施用30–45 t/hm²石膏可显著提高甲烷氧化菌的物种数目，但对甲烷氧化菌的物种丰富度影响较小。甲烷氧化菌物种数目的增加主要是因为石膏改善了土壤的结构和通气性，为甲烷氧化菌提供了更好的生存和繁殖环境。然而，由于物种间的竞争关系以及土壤环境的复杂性等因素的限制，石膏改良剂对甲烷氧化菌的物种丰富度影响较小。

尽管本研究中产甲烷菌和甲烷氧化菌的物种数目和丰富度均有所提高，但CH₄排放量仍显著降低。这种现象的原因是随着石膏用量的增加，产甲烷菌与甲烷氧化菌的比值呈现下降趋势。这意味着甲烷氧化菌的生长繁殖速度大于产甲烷菌的生长繁殖速度。这可能是因为石膏减少了产甲烷菌的底物供应，但同时也促进了某些有机物的氧化过程，为甲烷氧化菌提供了更多的底物。

3.2 石膏影响甲烷代谢功能基因的机制

甲烷代谢功能基因在稻田 CH_4 排放中起着至关重要的作用。功能基因通过调控产甲烷菌和甲烷氧化菌的特定生化过程, 影响 CH_4 的产生和氧化, 进而决定稻田 CH_4 的排放量。本研究中, 产甲烷功能基因 *acs*、*torA* 和 *torC* 的相对丰度显著降低, 说明石膏的施用抑制了苏打盐碱稻田土壤产甲烷功能基因的表达, 从而降低了 CH_4 排放。这主要是由于石膏对稻田土壤环境及微生物群落结构产生了影响, 进而抑制了产甲烷菌的活性及其功能基因的表达^[26]。本研究中, 甲烷氧化功能基因 *pps*、*glyA*、*hdrD*、*rnfB*、*fpoB*、*rnfE* 和 *narB* 的相对丰度显著提高, 说明石膏能够增强苏打盐碱稻田土壤中甲烷氧化功能基因的表达, 从而减少 CH_4 排放。这可能是由于石膏显著改变了土壤的物理结构, 促进了土壤团粒结构的形成, 改善了土壤的通气性和孔隙度, 使得氧气更容易扩散到土壤深层, 进而促进了甲烷氧化菌的生长和活性^[27]。然而, 即使某些基因具有较高的相对丰度, 但由于环境条件的限制或微生物的适应策略, 这些基因可能并未被表达; 或者即使某个基因在基因组中具有高丰度, 但由于转录调控、转录后调控等多种因素的影响, 其表达丰度也可能很低甚至为零。因此, 在今后的研究中, 应结合转录组测序技术以进一步确定实际发挥作用的功能基因, 从而深入理解土壤微生物群落的功能特性及其对环境变化的响应机制。

3.3 甲烷排放减少的微生物学机制与主要途径

石膏改良剂能够改变苏打盐碱稻田土壤的环境因子, 而土壤环境因子的改变对稻田产甲烷菌和甲烷氧化菌的影响是复杂而多方面的。已有研究表明, 土壤温度^[28]、有机质含量^[29]和 pH ^[30]等是影响稻田产甲烷菌和甲烷氧化菌的主要土壤环境因子。本研究中, $\text{CO}_3^{2-}+\text{HCO}_3^-$ 是影响产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构的最主要因

子, pH 次之。这可能是因为产甲烷菌对 pH 的变化非常敏感, 而甲烷氧化菌对 pH 的适应性相对较广, 但也在一定范围内表现出最佳活性。甲烷氧化菌通常在中性或微碱性环境中高效工作, 但过高或过低的 pH 都会影响其活性^[31]。 $\text{CO}_3^{2-}+\text{HCO}_3^-$ 在稻田生态系统中起到重要的缓冲作用, 帮助维持系统的 pH 稳定。这对于产甲烷菌和甲烷氧化菌至关重要, 稳定的 pH 是它们正常生长和代谢的必要条件^[32]。因此, 从甲烷代谢微生物群落结构和功能角度出发, 石膏改良剂通过改变苏打盐碱稻田土壤中 $\text{CO}_3^{2-}+\text{HCO}_3^-$ 含量和 pH , 间接影响产甲烷菌和甲烷氧化菌的生长繁殖, 从而影响苏打盐碱稻田 CH_4 排放。

4 结论

石膏改良剂能够显著减少苏打盐碱稻田 CH_4 排放通量, 且减幅随石膏用量增加而增大。施用石膏不改变苏打盐碱稻田土壤中产甲烷菌和甲烷氧化菌的优势菌门, 但随着石膏用量增加, 两者的 α 多样性指数均增大, 且产甲烷菌的增幅明显小于甲烷氧化菌; 石膏用量达到 30 t/hm^2 时, Type II型甲烷氧化菌的相对丰度显著增加。石膏显著降低了产甲烷功能基因 *torC* 的相对丰度, 同时提高了甲烷氧化功能基因 *pps*、*hdrD* 和 *rnfB* 相对丰度。 $\text{CO}_3^{2-}+\text{HCO}_3^-$ 是影响产甲烷菌和甲烷氧化菌群落结构的最主要土壤环境因子, 产甲烷菌群落结构同时受 pH 影响较大。施用石膏通过降低土壤 pH , 正向调节产甲烷菌和甲烷氧化菌的群落结构, 但甲烷氧化菌群落结构对 CH_4 排放通量的负效应强于产甲烷菌群落结构对 CH_4 排放通量的正效应, 最终表现为石膏减少苏打盐碱稻田 CH_4 排放通量。本研究结果可为苏打盐碱地农业开发的生态效应评估提供理论依据。

作者贡献声明

周妍宏: 方案设计、数据管理、形式分析、实验操作、有效性验证、可视化、论文撰写和

修改；刘宏远：方案设计、项目管理、监督指导、审查和编辑写作；牟晓杰：方案设计、实验指导；王辰：形式分析、可视化；王苗苗：实验操作、提供材料。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] YANG C, CHEN YT, ZHANG Q, QIE XH, CHEN JX, CHE YJ, LV DT, XU XY, GAO YX, WANG ZY, SUN J. Mechanism of microbial regulation on methane metabolism in saline-alkali soils based on metagenomics analysis[J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 345: 118771.
- [2] 李志慧, 王艺霏, 邓祥征. 东北黑土地区稻田甲烷排放时空演变及排放潜力分析[J]. *生态学报*, 2024, 44(9): 3814-3829.
LI ZH, WANG YF, DENG XZ. Spatiotemporal evolution and potential prediction of methane emission from paddy fields in the black soil region of Northeast China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2024, 44(9): 3814-3829 (in Chinese).
- [3] CUI H, ZHU H, ZHANG FM, WANG XY, HOU SN, FENG WD. Soil amendments reduce CH₄ and CO₂ but increase N₂O and NH₃ emissions in saline-alkali paddy fields[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 924: 171673.
- [4] YANG YL, SHEN LD, ZHAO X, SHAN J, WANG SW, ZHOU W, LIU JQ, LIU X, TIAN MH, YANG WT, JIN JH, WU HS. Long-term incorporation of wheat straw changes the methane oxidation potential, abundance and community composition of methanotrophs in a paddy ecosystem[J]. *Applied Soil Ecology*, 2022, 173: 104384.
- [5] 李煜珊, 李耀明, 欧阳志云. 产甲烷微生物研究概况[J]. *环境科学*, 2014, 35(5): 2025-2030.
LI YS, LI YM, OUYANG ZY. A research overview of methanogens[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(5): 2025-2030 (in Chinese).
- [6] 蔡朝阳, 何鹏飞, 胡宝兰. 甲烷氧化菌分类及代谢途径研究进展[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2016, 42(3): 273-281.
CAI CY, HE ZF, HU BL. Progresses in the classification and mechanism of methane-oxidizing bacteria[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2016, 42(3): 273-281 (in Chinese).
- [7] 张坚超, 徐懿钦, 陆雅海. 陆地生态系统甲烷产生和氧化过程的微生物机理[J]. *生态学报*, 2015, 35(20): 6592-6603.
ZHANG JC, XU YQ, LU YH. Microbial mechanisms of methane production and oxidation in terrestrial ecosystems[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(20): 6592-6603 (in Chinese).
- [8] FRENZEL P, ROTHFUSS F, CONRAD R. Oxygen profiles and methane turnover in a flooded rice microcosm[J]. *Biology & Fertility of Soils*, 1992, 14(2): 84-89.
- [9] OREMLAND RS, CULBERTSON CW. Importance of methane-oxidizing bacteria in the methane budget as revealed by the use of a specific inhibitor[J]. *Nature*, 1992, 356: 421-423.
- [10] RICKE P, ERKEL C, KUBE M, REINHARDT R, LIESACK W. Comparative analysis of the conventional and novel *pmo* (particulate methane monooxygenase) operons from *Methylocystis* strain SC2[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(5): 3055-3063.
- [11] WATANABE T, KIMURA M, ASAKAWA S. Distinct members of a stable methanogenic archaeal community transcribe *mcrA* genes under flooded and drained conditions in Japanese paddy field soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2009, 41(2): 276-285.
- [12] MACALADY JL, MCMILLAN AMS, DICKENS AF, TYLER SC, SCOW KM. Population dynamics of type I and II methanotrophic bacteria in rice soils[J]. *Environmental Microbiology*, 2002, 4(3): 148-157.
- [13] MA K, QIU QF, LU YH. Microbial mechanism for rice variety control on methane emission from rice field soil[J]. *Global Change Biology*, 2010, 16(11): 3085-3095.
- [14] KNIEF C. Diversity and habitat preferences of cultivated and uncultivated aerobic methanotrophic bacteria evaluated based on *pmoA* as molecular marker[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1346.
- [15] 贡娟莉, 王艳芬, 张洪勋. 好氧甲烷氧化菌生态学研究进展[J]. *生态学报*, 2013, 33(21): 6774-6785.
YUN JL, WANG YF, ZHANG HX. Ecology of aerobic methane oxidizing bacteria (methanotrophs)[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(21): 6774-6785 (in Chinese).
- [16] 俎千惠, 王保战, 郑燕, 贾仲君, 林先贵, 冯有智. 我国 8 个典型水稻土中产甲烷古菌群落组成的空间分异特征[J]. *微生物学报*, 2014, 54(12): 1397-1405.
ZU QH, WANG BZ, ZHENG Y, JIA ZJ, LIN XG, FENG YZ. Spatial shifts in methanogenic archaeal community composition in eight Chinese paddy soils[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2014, 54(12): 1397-1405 (in Chinese).
- [17] YU HY, ZHANG XC, MENG XT, LUO D, LIU XH, ZHANG GB, ZHU CW, LI YY, YU YX, YAO HY. Methanogenic and methanotrophic communities determine lower CH₄ fluxes in a subtropical paddy field under long-term elevated CO₂[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 904: 166904.
- [18] 胡翔宇, 向秋洁, 木志坚. 脱硫石膏对稻田 CH₄ 释放及其功能微生物种群的影响[J]. *环境科学*, 2018, 39(8): 3894-3900.
HU XY, XIANG QJ, MU ZJ. Effects of gypsum on CH₄ emission and functional microbial communities in paddy soil[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(8): 3894-3900 (in Chinese).

- [19] Soil Science Division Staff. Soil Survey Manual[M]. Washington: United States Department of Agriculture, 2017: 120-125.
- [20] 覃宝利, 韩光明, 吴雷明, 张家宏, 王守红, 朱凌宇, 毕建花, 寇祥明, 葛恒来, 陈选青, 唐金玉. 稻-虾共作模式下水体和土壤细菌群落特征研究[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2024, 45(2): 29-41.
QIN BL, HAN GM, WU LM, ZHANG JH, WANG SH, ZHU LY, BI JH, KOU XM, GE HL, CHEN XQ, TANG JY. Characteristics of bacterial communities in water and soil under rice-crayfish co-cropping pattern[J]. Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition), 2024, 45(2): 29-41 (in Chinese).
- [21] 王祎, 杨文浩, 毛艳玲, 周碧青, 聂三安, 邢世和. 水稻生育期对不同施肥条件下黄泥田土壤无机氮及细菌群落的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2019, 25(6): 1352-1358.
WANG Y, YANG WH, MAO YL, ZHOU BQ, NIE SA, XING SH. Effect of the phenological stage of rice growth on soil-soluble inorganic nitrogen and bacterial communities in a yellow clayey soil under different fertilization patterns[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2019, 25(6): 1352-1358 (in Chinese).
- [22] 安素帮. 松嫩平原西部盐碱芦苇湿地植被光合特征与温室气体排放研究[D]. 长春: 中国科学院大学(中国科学院东北地理与农业生态研究所)博士学位论文, 2020.
AN SB. Study on photosynthetic characteristics and greenhouse gas emission of saline-alkali reed wetland in the west of Songnen Plain[D]. Changchun: Doctoral Dissertation of Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, 2020 (in Chinese).
- [23] 杨正宇, 李宗明, 李言言, 沈健林, 吴金水. 连续 11 年不同秸秆还田量下稻田甲烷增排效应变化研究[J/OL]. [2025-01-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.p.20240718.1641.004.html>.
YANG ZY, LI ZM, LI YY, SHEN JL, WU JS. Variation of the increased CH₄ emissions in paddy fields with straw incorporation across 11 consecutive years[J/OL]. [2025-01-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.p.20240718.1641.004.html> (in Chinese).
- [24] 田茂辉, 沈李东, 苏维词. 大气 CO₂ 浓度升高对稻田 CH₄ 排放及相关微生物过程影响研究进展[J]. 应用生态学报, 2024, 35(8): 2267-2281.
TIAN MH, SHEN LD, SU WC. Research progress on the effects of elevated atmospheric CO₂ concentration on CH₄ emission and related microbial processes in paddy fields[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2024, 35(8): 2267-2281 (in Chinese).
- [25] 刘晓帆, 刘梦冉, 邱潮鑫, 孙艳敏, 郭红甫, 王淑利, 马盼盼, 丁会纳. 植物甲烷排放及其产生机制的研究进展[J/OL]. [2025-01-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1148.Q.20240611.1742.012.html>.
LIU XF, LIU MR, QIU CX, SUN YM, GUO HF, WANG SL, MA PP, DING HN. Methane emissions from plants and production mechanism: a review[J/OL]. [2025-01-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1148.Q.20240611.1742.012.html> (in Chinese).
- [26] 胡翔宇. 含硫工业副产物对黄壤性水稻土微生物多样性的影响[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2018.
HU XY. Effect of sulfur-containing industrial by-products on microbial diversity in yellow paddy soil[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2018 (in Chinese).
- [27] 刘少文, 殷敏, 褚光, 徐春梅, 王丹英, 章秀福, 陈松. 长江中下游稻区不同水旱轮作模式和氮肥水平对稻田 CH₄ 排放的影响[J]. 中国农业科学, 2019, 52(14): 2484-2499.
LIU SW, YIN M, CHU G, XU CM, WANG DY, ZHANG XF, CHEN S. Effects of various paddy-upland crop rotations and nitrogen fertilizer levels on CH₄ emission in the middle and lower reaches of the Yangtze River[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2019, 52(14): 2484-2499 (in Chinese).
- [28] 吴限. 温度对稻田土壤甲烷排放的影响及其微生物机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2023.
WU X. Effect of temperature on methane emission from paddy soil and its microbial mechanism[D]. Wuhan: Doctoral Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [29] 陈佳, 赵璐峰, 戴然欣, 章涛杰, 唐建军, 胡亮亮, 陈欣. 稻鱼共生系统的土壤产甲烷和甲烷氧化微生物群落[J]. 生态学杂志, 2023, 42(12): 2961-2971.
CHEN J, ZHAO LF, DAI RX, ZHANG TJ, TANG JJ, HU LL, CHEN X. Soil microbial communities of methanogens and methanotrophs in the rice-fish coculture ecosystem[J]. Chinese Journal of Ecology, 2023, 42(12): 2961-2971 (in Chinese).
- [30] 艾佳, 吕杨, 李彦澄, 钟雄, 李江. 特殊环境中甲烷氧化菌的研究进展[J]. 应用生态学报, 2021, 32(4): 1509-1517.
AI J, LYU Y, LI YC, ZHONG X, LI J. Methanotrophs bacteria in special environment: a review[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2021, 32(4): 1509-1517 (in Chinese).
- [31] 许科伟, 刘海峰, 顾磊, 郑旭莹, 贾仲君, 陈晟. 典型油气藏区域环境因素差异对甲烷氧化菌丰度与群落结构分布的影响[J]. 微生物学报, 2024, 64(6): 1992-2007.
XU KW, LIU HF, GU L, ZHENG XY, JIA ZJ, CHEN S. Effects of environmental factors on the abundance and distribution of methane-oxidizing bacteria in typical oil and gas reservoirs[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(6): 1992-2007 (in Chinese).
- [32] 余雪洋. 辽河三角洲不同植被类型湿地呼吸通量和甲烷释放通量研究[D]. 青岛: 青岛大学硕士学位论文, 2014.
YU XY. Study on respiratory flux and methane emission fluxes of wetlands with different vegetation types in Liaohe Delta[D]. Qingdao: Master's Thesis of Qingdao University, 2014 (in Chinese).