

水稻田的甲烷释放及其生物学机理*

闵航 陈美慈 钱泽澍

(浙江农业大学环保系, 310029)

摘 要

本文报道采用土柱法和田间原位法研究淹水稻田甲烷释放特性及其微生物学机理。结果表明,早稻以分蘖盛期时甲烷释放量最大,以后逐渐减少;晚稻从分蘖开始逐渐增加,至分蘖盛期、末期时达到最大,孕穗期急剧减少,生长后期又有所回升。晚间和上午释放的甲烷量较多,中午(10:00—14:00)几乎无释放,下午又有少量释放。不同施肥区的水稻甲烷释放量明显不同,以施猪粪区为最高,次为施尿素区,不施肥区最低。但各施肥区在整个水稻不同生育期的甲烷释放趋势则完全一致,以分蘖盛、末期释放量最大。稻田释放的甲烷主要是通过植株释放,可占总释放量85%以上,行株间土壤释放量不多,田间水释放极少。产甲烷细菌附存于根表而不进入根内组织。根系土壤中产甲烷微生物类群、厌氧性纤维素分解细菌和甲烷氧化细菌及总挥发性有机酸含量都明显高于行株间土壤。

关键词 水稻田,水稻植株,甲烷释放,产甲烷细菌,甲烷氧化细菌

甲烷是大气中挥发性碳氢化合物中丰度最大的一种有机化合物。1986年全球平均浓度为1.65mg/L,且正以每年1—2%的速率递增^[1]。这无疑会对大气光化学、臭氧层和全球气候产生明显影响。¹⁴C研究表明,由生物学过程产生的甲烷可占整个地球大气中甲烷的80%左右,而其中又有33—49%是由水稻田释放的^[3,4],可见水稻田是地球甲烷的重要来源之一。因而国外近年来对水稻田甲烷释放的研究日益增多。在我国,尤其在南方地区虽有很大面积的水稻田,但对甲烷释放量的研究报道还极少。国外研究大多利用自动化检测系统对水稻田甲烷释放现象的外观数量监测^[5],对甲烷释放生物学方面的报道尚少。

本文主要报道杭州地区早、晚稻不同生育期甲烷释放的特性、日变化规律、施肥影响、甲烷释放活性部位及其微生物学机理等。

一、材料与方 法

(一) 基本情况

试验在校内水泥池内进行。水泥池面积为1.5m×1.5m。土壤为华家池小粉土,pH7.3左右。前作为冬季紫云英。早稻于5月3日栽插,品种86-17。插时施尿素(25g/池)。晚稻于7月26日栽插,品种为85-28,晚稻试验分为3个处理,即1号池不施肥(对照);2号池施用腐熟猪粪4kg;3号池施用22.5g尿素。行株间距为(17×17)cm,长期淹灌。

(二) 甲烷测定

*本研究为浙江省自然科学基金资助项目。

1. 土柱法: 选取大小和长势相同的水稻植株, 割去上部绿色部分茎秆, 用直径 5.8cm, 高 13.2cm 的取土器插入土壤取出带根系土柱或行株间不带根系的土柱, 置于 550cm³ 左右的标本瓶中用田间水淹没并密闭, 置 35℃ 培养 24 小时, 取上部气样测定甲烷。

2. 原位法: 用容量为 2600ml, 长 85cm 的玻璃罩罩于代表性植株上, 密闭, 定时采取气样测定甲烷。

甲烷测定采用上海分析仪器厂生产的 102G 型气相层析仪氢焰检测。条件为: 担体 GDX-502, 气流速 700ml/min, H₂ 40 ml/min, N₂ 20 ml/min。柱室温度 40℃, 层析柱为 2m 不锈钢柱。标准甲烷出峰时间为 17 秒, 以标准甲烷作参照定量。

(三) 微生物数量测定

1. 水解性细菌、产氢产乙酸细菌和产甲烷细菌培养基配方与配制按钱泽澍等方法^[1], 但沼气发酵液改为土壤浸出液。

2. 厌氧性纤维素分解细菌培养基 (1000 ml): 10% NaCl 10 ml; 10% MgCl₂ 10ml; 4% KH₂PO₄ 10ml; 4% K₂HPO₄ 10 ml; 微量元素液 10ml; 土壤浸出液 100ml; 可溶性纤维素 10g; 蛋白胨 1.0g; CaCO₃ 5.0g; 半胱氨酸 0.5g; 10% 酵母膏 20ml; 琼脂 18g; pH 7.2, 厌氧条件下配制。

3. 甲烷氧化菌培养基 (1000 ml): NaNO₃ 1.0 g; NH₄Cl 0.25 g; KH₂PO₄ 0.26 g; K₂HPO₄ · 3H₂O 0.74 g; MgSO₄ · 7 H₂O 1.0 g; CaCl₂ · 2H₂O 0.2g; FeSO₄ · 7 H₂O 0.004 g; EDTA 0.01g; 微量元素液 10ml; 土壤浸出液 100ml; 琼脂 18g; pH 7.2, 好氧条件下配制。

以上培养基分别装于可密封的厌氧试管中, 每管 4.5ml, 塞上异丁基胶塞, 灭菌。接种 0.5ml 土壤悬液后滚管, (其中 3 号培养基每管注入 4ml 纯甲烷), 置 35℃ 培养, 7 天后计数。

4. 水稻根系甲烷活性测定: 取根系用自来水快速冲洗干净, 移入厌氧手套箱 (Anaerobic glove box) 中用无氧 0.1% HgCl₂ 液灭菌 2 分钟, 再用无氧无菌水冲洗 4 次, 然后每瓶 (25ml 培养基 100ml 空间) 加入鲜根 1g (鲜根用灭菌剪刀剪碎并用镊子研碎加入培养基中), 用胶塞密封, 以 H₂ 置换培养瓶内上部氮气, 注入无菌无氧 CO₂ 20ml。所用培养基见参考文献 [2], 并分别加入 0.5ml 1mol/L HCOONa 和 0.5ml 25% CH₃COONa 作基质, 置 35℃ 培养 7 天测定甲烷。

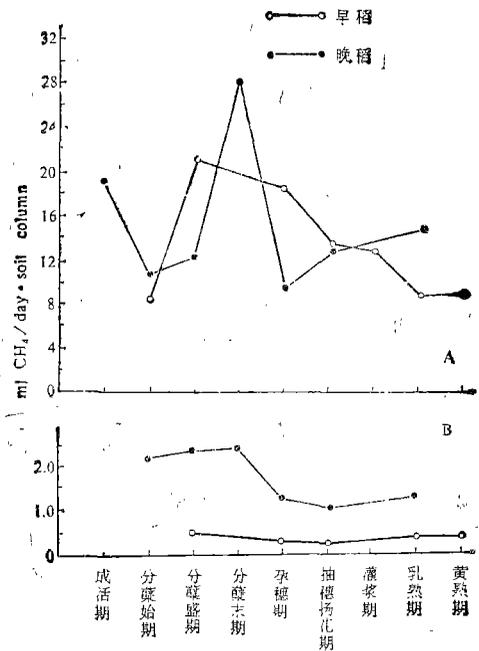
二、结果与讨论

(一) 水稻不同生育期的甲烷释放量

图 1(A) 表明, 早稻分蘖盛期甲烷释放量最大 (土柱法测定), 带茬土柱每天可释放 20.95ml 随后逐渐减少, 至黄熟期不足 10ml。晚稻在成活期因受收获、栽插及高温等影响, 甲烷释放量较高, 以后迅速下降。至分蘖始期、盛期、末期逐渐增加至最大, 每天每一带茬土柱释放 28ml 甲烷; 孕穗期急剧下降, 以后虽略有回升, 但变幅不大, 保持在 10—14 ml 左右。图 1(B) 表明, 早、晚稻不同生育期行间土柱的甲烷释放量明显低于带茬土柱, 早稻带茬土柱每天甲烷释放量不足 0.5ml, 晚稻略高但也不超过 2.5ml。尽管都较低, 但仍以分蘖盛期时的甲烷释放量最大。在水稻营养生长旺盛时期, 甲烷释放率最大, 其原因可能此时光合作用最强, 有较多的光合产物从根系分泌; 进入生殖生长阶段后, 根系分泌物减少, 甲烷释放量即大幅度降低。此特征与田间产甲烷细菌数量的变化趋势相一致。

(二) 水稻植株甲烷释放的日周期变化

晚稻原位测定结果表明, 水稻甲烷释放的日周期变化呈现一定的规律性 (表 1)。不同施肥小区、不同气候条件下, 晚间和上午有较多的甲烷释放, 而中午 (10:00—14:00) 几



A. 带茬土柱; B. 行间土柱

图 1 早稻和晚稻不同生育期的甲烷释放量

Fig. 1 The amounts of methane of released during different growth stages of early and late rice

表 1 水稻植株甲烷释放的日周期变化

Table 1 Day-night change of the amount of methane released by rice plant (ml CH₄/hill)

小区 Plot	气候 Climate	日 周 期 时 间 Day-night time					总释放量 Total methane released
		18:00—22:00	22:00—6:00	6:00—10:00	10:00—14:00	14:00—18:00	
不施肥区	阴雨 晴	9.84	47.17	31.86	-4.70	19.82	103.90
		38.19	77.56	38.50	7.87	18.98	181.10
施猪粪区	阴雨 晴	62.34	58.54	104.71	-10.25	6.15	221.49
		118.54	72.54	36.22	-4.46	8.66	231.50
施尿素区	阴雨 晴	27.07	35.14	36.50	4.28	32.36	135.35
		50.79	56.80	40.95	8.58	32.84	189.46

无释放,甚至还有减少的情况出现,下午又有少量释放。晚间所测放的甲烷可占全天释放量的 50% 以上。中午略有减少的原因可能是甲烷氧化菌的旺盛代谢,消耗了已形成的部分甲烷。

(三) 不同施肥种类的水稻植株的甲烷释放量

用田间原位法对不同施肥区晚稻甲烷释放量的测定表明,不同肥料种类对水稻甲烷释放量的影响很大。由图 2 可见,施猪粪区或尿素区的水稻植株甲烷释放量明显高于不施肥区,施猪粪区又明显高于施尿素区。按 7 次所测的释放量总和计,施猪粪区和施尿素

区分别比不施肥区高 94.84% 和 24.15%，施猪粪区又比施尿素区高 56.94%。显然施用有机肥比施用无机肥更能促进甲烷的形成和释放。

(四) 水稻植株和田间甲烷释放的活性部位

对水稻植株各部位和田间土壤、田间水的甲烷释放活性测定的结果表明(表 2)，上部绿色植株、淹水的白色茎秆部分、田间水的甲烷释放活性很低，但水稻植株的根茬根系在与土壤密切结合未扰动时，显示出甲烷释放的最大活性，分开后两者的活性明显降低。这

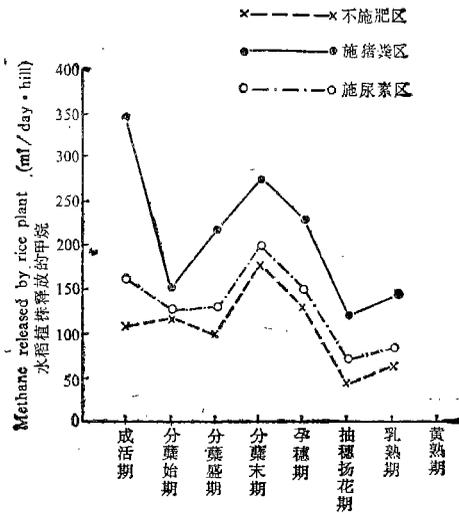


图 2 不同施肥区晚稻植株的甲烷释放量

Fig. 2 The amounts of methane released by late rice with application of different fertilizers

表 2 水稻植株和行间土壤的甲烷释放活性

Table 2 The activities of methane release by rice plant and interrow soil (ml CH₄/hill or soil column/day)

活性部位 Activity part	孕穗期 Booting stage	抽穗期 Heading stage	乳熟期 Milk ripening stage	黄熟期 Yellow ripening stage	平均 Average
有根茬土柱	18.68	13.22	13.56	9.88	13.84
有根茬无土	5.36	5.44	4.86	4.21	4.97
无根茬根间土	0.70	0.36	0.15	0.30	0.38
无根茬行间土	0.32	0.29	0.44	0.41	0.37
根系	0.39	0.11	0.60	0.54	0.56
水下白色茎秆	0.006	0.018	0.142	0.025	0.048
上部绿色植株	0.024	0.087	0.144	0.091	0.087
田间水	0.012	0.032	0.004	0.005	0.013

可能是由于未扰动的有茬土柱保持了良好的产甲烷环境，同时其具有丰富的有机物可作甲烷形成基质。

对根系不同部位和不同处理的产甲烷活性比较表明, 靠近根基部分的根系产甲烷活性明显高于根尖部分, 且产甲烷细菌粘附于根表而不进入根表内组织, 表面灭菌后产甲烷活性极低。

水稻田甲烷主要是在水稻根系土壤区域形成并由植株释放。早稻期间植株释放的甲烷可占田间总释放量的 82.47%, 行株间释放的仅占 17.53%。晚稻植株释放的甲烷占 70.9—89.0%。此结果与 Schütz 等^[6]认为可占 90% 以上的看法相一致。

(五) 水稻植株间及根间的土壤微生物

在早稻分蘖期测定根间土、行间土和根系的各类产甲烷微生物、厌氧性纤维分解细菌及甲烷氧化菌的数量结果表明(表 3), 水稻根间土中的厌氧性水解细菌、产甲烷细菌数量要比行间土中高 2—3 个数量级, 产氢产乙酸细菌和厌氧性纤维分解菌数量也较行间土中高, 但不如前两种细菌那样差异明显。根系上靠近根基部分的各种产甲烷微生物数量也高于根尖部分。甲烷氧化菌数量是从另一个角度表明甲烷形成量大小的指标。测定表明, 根间土中的甲烷氧化菌数量高于行间土中的 7 倍左右, 与两者甲烷释放量的差异相一致。水稻根间土壤中的总挥发性有机酸量也较行间土中的为高。

表 3 水稻土壤和根系各类微生物的数量差异

Table 3 The differences of population of microbes in paddy soil and rice root system (bacteria/gdry soil or dry root)

土壤或根系 Soil or root system	厌氧性水解细菌 Anaerobic fermentative bacteria	产氢产乙酸细菌 Hydrogen-prod- ucing acetogenic bacteria	产甲烷细菌 Methanogenic bacteria	厌氧纤维分解菌 Anaerobic celluloclastic bacteria	甲烷氧化细菌 Methaneoxidizing bacteria
根间土	4.31×10^{10}	1.08×10^6	1.50×10^5	4.84×10^8	1.03×10^8
行间土	4.92×10^8	9.19×10^5	3.93×10^5	2.95×10^5	1.50×10^7
根系 (0—6 cm)	1.35×10^9	3.10×10^6	2.55×10^5	—	—
根系 (6—12 cm)	4.4×10^9	1.86×10^6	1.48×10^5	—	—

参 考 文 献

1. 周玉昆、周敏, 1990: 全球气温变化的影响因素分析及对策研究。大气环境, 第 5 卷 3 期, 42—46 页。
2. 钱泽澍、闵航, 1986: 沼气发酵微生物学。浙江科学技术出版社, 213—262 页。
3. Cicerone, R. J. and Shetter, J. D., 1981: Sources of atmospheric methane: Measurements in rice paddies and a discussion. Journal of Geophysical Research. 88: 11022—11024.
4. Ehhalt, D. H. and Schmidt, U., 1978: Sources and sinks of atmospheric methane. Pure and applied Geophysics. 116: 452—464.
5. Seiler, W. et al., 1984: Methane emission from rice paddies. Journal of Atmospheric Chemistry. 1: 241—268.
6. Schutz, H. et al., 1989: Processes involved in formation and emission of methane in rice paddies. Biochemistry. 7: 33—53.

RELEASE OF METHANE IN PADDY SOIL AND ITS BIOLOGICAL MECHANISM

Min Hang, Chen Meici and Qiang Zesu

(Zhejiang Agricultural University, 310029)

Summary

The characteristics and biological mechanism of methane release in paddy soil were studied by the soil column and in situ field methods. The results obtained showed that the amounts of methane released were the highest during full-tillering stage of both early and late rice; the amount of methane released was higher during night and morning and lower during afternoon; fertilizers could stimulate the release of methane in paddy soil and the methane release of organic manure plot was more than that of urea plot; the active part of methane formation was the root system which was undisturbed and combined closely with soil; more than 80% of methane was released by rice plants; methanogenic bacteria adhered to surface of roots. The result also showed that the amounts of methanogenic bacteria, anaerobic celluloclastic and methane-oxidizing bacteria as well as TVFA were higher in rhizosphere soil were than in non-rhizosphere soil.

Key words Rice field, Rice plant, Methane release, Methanogenic bacteria, Methane-oxidizing bacteria