DOI: 10.11766/trxb202105270277

王云秋,李宇虹,祝贞科,吴金水,葛体达.铁氧化物对厌氧水稻土中乙酸矿化、转化及其激发效应的影响[J].土壤学报,2022,59 (6):1683-1694.

WANG Yunqiu, LI Yuhong, ZHU Zhenke, WU Jinshui, GE Tida. The Effect of Iron Oxides on Mineralization, Transformation and Priming Effect of Acetate in Anoxic Paddy Soils[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59 (6): 1683–1694.

铁氧化物对厌氧水稻土中乙酸矿化、转化及其激发效应 的影响^{*}

王云秋^{1,2},李宇虹^{1,3†},祝贞科^{1,4},吴金水^{1,2},葛体达^{1,4}

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所,亚热带农业生态过程重点实验室,长沙 410125; 2. 中国科学院大学,北京 100049; 3. 中国科学 院长沙农业环境观测研究站,长沙 410125; 4. 宁波大学植物病毒学研究所,浙江宁波 315211)

摘 要:乙酸是甲烷产生过程的重要底物,其在水稻土中的矿化和转化过程对水稻土碳循环和固碳减排具有重要意义。在长期淹水的水稻土中,铁作为重要的变价金属元素,对乙酸的矿化和转化可能具有重要影响。通过室内培养试验,向水稻土中添加¹³C-乙酸、水铁矿和针铁矿,动态监测厌氧培养(100 d)期间 CO₂和 CH₄排放规律和土壤环境因子的变化规律,同时分析乙酸的矿化和转化特征以及 CO₂和 CH₄的激发效应,并解析不同铁氧化物在其中的作用效应。结果表明,培养结束后, 仅添加乙酸的处理中 33%和 36%的乙酸分别矿化为 CH₄和 CO₂,另外 0.12%、2%和 28%的乙酸分别形成了可溶性有机碳 (DOC)、微生物生物量碳(MBC)和土壤有机碳(SOC)。乙酸添加引起了 CO₂负激发效应和 CH₄ 正激发效应。土壤产生 CO₂和 CH₄比例因乙酸的添加由 3.46:1 变为 1.83:1。针铁矿的添加显著增加了乙酸来源的 CO₂累积排放量,但水铁矿对 乙酸来源的 CO₂累积排放量却无显著影响。水铁矿和针铁矿均显著降低了 SOC 来源的 CO₂累积排放量,加剧了乙酸引起的 CO₂负激发效应。水铁矿和针铁矿均显著降低了乙酸来源的 CH₄累积排放量,对 SOC 来源的 CH₄累积排放量无显著影响。 水铁矿和针铁矿显著增加了乙酸转化为 MBC 和 SOC 的比例。因此,乙酸在土壤中的矿化和转化行为会影响土壤原有有机 碳产生 CO₂和 CH₄;水铁矿和针铁矿结晶程度不同,对乙酸的矿化、转化及其激发效应的影响也不同。研究结果可为稻田 的固碳减排提供一定的理论依据和技术支撑。

关键词:水稻土;乙酸;甲烷;二氧化碳;铁氧化物;激发效应 **中图分类号:**X144 **文献标志码:**A

The Effect of Iron Oxides on Mineralization, Transformation and Priming Effect of Acetate in Anoxic Paddy Soils

WANG Yunqiu^{1, 2}, LI Yuhong^{1, 3†}, ZHU Zhenke^{1, 4}, WU Jinshui^{1, 2}, GE Tida^{1, 4}

(1. Key Laboratory of Subtropical Agriculture Ecology, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125,

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yuhong_li@isa.ac.cn
 作者简介: 王云秋(1990—), 女,河南南阳人,博士研究生,主要从事土壤生态学研究。E-mail: 1592596758@qq.com
 收稿日期: 2021-05-27;收到修改稿日期: 2021-10-07;网络首发日期(www.cnki.net): 2021-12-06

^{*} 国家自然科学基金项目(42007097)、长沙市自然科学基金项目(kq2014184)和湖南省自然科学基金项目(2021JJ30766)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 42007097), the Natural Science Foundation of Changsha City (No. kq2014184), and the Natural Science Foundation of Hunan Province (No. 2021JJ30766)

China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Changsha Research Station for Agricultural and Environmental Monitoring, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 4. Institute of Plant Virology, Ningbo University, Ningbo, Zhejiang 315211, China)

Abstract: [Objective] Acetate is an important substrate for methane production, and its mineralization and transformation are key to the carbon cycle, carbon sequestration, and greenhouse gas mitigation in paddy soils. In long-term flooded paddy soils, iron, an important valence-variable metal, may influence the mineralization and transformation of acetate. [Method] Therefore, 13 C-acetate, ferrihydrite and goethite were added into paddy soil and the CO₂ and CH₄ emissions were monitored. Also, the changes in paddy soil properties during anaerobic incubation (100 days) were analyzed. Additionally, we analyzed the characteristics of mineralization and transformation of acetate and its priming effect on CO₂ and CH₄ to reveal the roles of different types of iron oxides. [Result] The results showed that in the acetate treatment after incubation, 33% and 36% of acetate was mineralized to CH₄ and CO₂, respectively, while 0.12%, 2% and 28% were transformed to dissolved organic carbon (DOC), microbial biomass carbon (MBC) and soil organic carbon (SOC), respectively. Acetate caused a negative CO₂ priming effect and a positive CH₄ priming effect. The ratio of CO₂ to CH₄ sourced from soil organic carbon was changed from $3.46 \div 1$ to $1.83 \div 1$ by acetate addition. Goethite addition significantly increased acetate derived cumulative CO₂ emission, while ferrihydrite showed no significant effect. Ferrihydrite and goethite significantly decreased SOC derived CO₂ emission and strengthened the negative CO₂ priming effect of acetate. Also, ferrihydrite and goethite significantly decreased acetate derived CH₄ emission and showed no significant effect on SOC derived CH₄ emission. The proportions of acetate transformed to MBC and SOC were significantly increased in the presence of ferrihydrite and goethite. [Conclusion] The mineralization and transformation of acetate influenced CO₂ and CH₄ emission from native SOC. Ferrihydrite and goethite, different in crystallinity, have different effects on mineralization, transformation and priming effect of acetate. Thus, this study can provide theoretical and technical support for carbon sequestration and greenhouse gas mitigation in paddy soils.

Key words: Paddy soil; Acetate; Methane; Carbon dioxides; Iron oxides; Priming effect

全球稻田面积约 1.65 亿公顷^[1],其中我国稻田 总面积达三千多万公顷,占我国总耕地面积的 27%^[2]。稻田作为一种人工湿地生态系统,具有固碳 的生态功能,是重要的碳汇,同时是温室气体甲烷 (CH₄)的重要排放源,贡献了全球人类活动 CH₄总 排放量的 11%^[3],因此,水稻土在全球固碳减排中 起到举足轻重的作用。水稻土碳循环是土壤物理、 化学和生物过程及肥力的物质基础,是研究碳固定 和温室气体减排的关键^[4-5]。对水稻土碳循环过程和 机理的研究有利于明确水稻土的碳汇功能和固碳潜 力,推动全球碳循环的生物地球化学理论发展。

稻田的长期淹水造成嫌气或厌氧环境,导致土 壤的物理、化学和生物性质以及固碳和碳循环相关 过程与旱地迥异^[6-8],这种情况下,碳循环过程如有 机碳的矿化或氧化过程多与其他变价元素的氧化还 原反应耦合。铁氧化物是典型红壤水稻土中含量较 高的矿物质,铁也是参与氧化还原过程的重要变价 金属元素。此外,铁氧化物在土壤中会与有机碳(如 含羧基有机物)发生吸附或共沉淀作用^[9-10],同时 铁氧化物会通过影响胞外酶活性或芬顿反应影响有 机碳的氧化和分解^[11],且这些作用与铁的氧化还原 状态和有效性相关^[12-13]。因此,铁氧化物对水稻土 碳循环或周转可能具有重要影响。土壤中铁氧化物 形态多样,包括弱晶态的无定型铁矿如水铁矿、结 晶程度较高的铁矿如针铁矿等^[14]。铁氧化物晶型不 同,比表面积不同,会导致铁的有效性、可氧化还 原潜力以及对有机碳的吸附和共沉淀作用大小都不 同,这可能会对土壤碳循环过程造成不同的影响。

厌氧条件下土壤有机碳的分解矿化过程中会因 解聚和发酵作用产生有机酸等中间产物,其中包括 乙酸,而乙酸是产 CH₄的重要底物,有研究认为乙 酸途径贡献约 80%的 CH₄,仅 10%~30%的 CH₄来 源于甲醇或氢气/二氧化碳(H₂/CO₂)等底物^[15]。乙 酸也是大多数厌氧微生物如铁还原菌、硫还原菌和 产甲烷菌等的主要碳源^[16-17]。因此,乙酸是厌氧水 稻土碳循环过程中重要的有机碳形态,了解其在水 稻土中的周转和去向及其影响因素对完善水稻土碳 循环和固碳理论具有重要意义。然而,针对乙酸的 研究多集中于 CH₄产生方面,鲜有关注其产生的 CO₂、形成的土壤碳库如可溶性有机碳(DOC)、微 生物生物量碳(MBC)和土壤有机碳(SOC)以及 引起的土壤本身有机碳矿化变化的激发效应。因此, 本文以水稻土为研究对象,利用稳定同位素标记示 踪技术,研究了水铁矿和针铁矿两种晶型不同的铁 氧化物添加下,厌氧水稻土中乙酸矿化产生 CO₂和 CH₄的特征,乙酸向土壤碳库转化的特点,及其对 土壤本身有机碳矿化的影响,并结合土壤环境因子 的变化,分析其中机理,以便为水稻土有机碳矿化 和转化机制的研究和固碳减排工作做出贡献。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试土壤为麻砂泥,采集于湖南省株洲市攸 县,该地区属中亚热带湿润季风气候,年平均气温 17.8℃,无霜期 292 d,年降水量 1 410 mm 左右。 在采样地选取 5 个点,按 S 型路线采集耕作层(0~ 20 cm)土壤,充分混匀后剔除其中可见的动植物残 体、石块等杂物,自然风干并过 2 mm 筛,储存于 阴凉干燥的储藏室备用。土壤 pH 6.66,有机碳 32.8 g·kg⁻¹,可溶性有机碳 162.8 mg·kg⁻¹,微生物生物量 碳 184.2 mg·kg⁻¹,铵态氮 124.9 mg·kg⁻¹,全铁(Fe₂O₃) 25.8 g·kg⁻¹。

1.2 铁氧化物的制备

水铁矿的制备:称取 216.24 g 的 FeCl₃·6H₂O 至 聚乙烯烧杯中,加入 2 L 超纯水,溶解后静置,再 迅速加入 200 mL 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液,在剧烈均匀 搅拌情况下用 5 mol·L⁻¹ NaOH 溶液匀速滴加,调至 pH7.0 左右停止。静置悬浊液老化 2~6 h,此时 pH 会略微下降,再次将 pH 调至 7.0,静置后倒掉上清 液,分装后离心 20 min,弃上层清液后加超纯水搅 拌均匀,然后重复离心,持续 7 次左右直至洗去多 余的 Cl⁻¹ 和碱液。将沉淀冷冻干燥,即可得到水铁 矿,过 100 目筛后(尼龙筛),密封常温储存^[18]。

针铁矿的制备:称取 13.52 g FeCl₃·6H₂O 至聚乙 烯烧杯中,加入 50 mL 超纯水,搅拌溶解。在剧烈 搅拌情况下将 90 mL 1mol·L⁻¹ NaOH 溶液快速加入 到 FeCl₃溶液中,并迅速把混合溶液稀释到 1 L;然 后将稀释的溶液在 70℃水浴中反应 60 h,取出后冷 却,倒掉上清液,得到黄褐色沉淀,再加入超纯水 洗涤,如此重复直至 pH 为中性。将沉淀冷冻干燥, 即可得到针铁矿,过 100 目筛后(尼龙筛),密封常 温储存^[18]。制得的水铁矿和针铁矿的比表面积分别 为 268 和 39 m²·g⁻¹。

1.3 土壤培养试验

采用室内模拟培养实验,设置添加乙酸、乙酸和水铁矿、乙酸和针铁矿以及无添加对照这四个处理,每个处理3个重复。乙酸是¹³C 丰度为3 atom%的标记乙酸,以溶液形式用少量氢氧化钠调节 pH 后混入土壤,添加的碳量为 SOC 的 2%,约为 MBC 的 2 倍,即 656 mg·kg⁻¹,以此保证充足的标记碳供应且不引起土壤巨大变化。另设置一组相同处理添加未标记乙酸,作为自然丰度对照处理。水铁矿和针铁矿添加量为土壤全铁含量的 5%^[17]。具体操作如下:

风干土壤加水至淹水 3 cm,于 25℃黑暗条件下 预培养 10 d。预培养结束后,称取 20g(以干土计) 土壤与称好的水铁矿或针铁矿粉末充分混合,加入 500 mL 玻璃瓶中,加入蒸馏水至淹水 3 cm,同时混 入乙酸溶液,加盖密封,用真空泵将瓶中的顶空气 体抽出,再充入氮气,如此操作重复四次,使瓶中 形成厌氧环境,置于 25℃黑暗条件下培养 100 d, 设置 3 组重复。在培养 1、2、4、6、8、10、13、 16、20、25、30、35、40、45、50、55、65、75、 85、100 d 用 30 mL 气密型注射器进行气体采集,气 体注入真空瓶中贮存。每次采气结束后,用氮气置 换瓶中顶空气体。另设置 9 组重复,用于在 6、40、 100 d 对土壤样品进行破坏性采集。

1.4 测定指标与方法

气体的 CO₂和 CH₄浓度采用配备热传导式和火 焰离子化检测器温室气体气相色谱仪(安捷伦 7890A,美国)测定, CO₂和 CH₄的¹³C 丰度采用稳 定性同位素质谱仪(赛默飞世尔 MAT253,德国) 测定。

土壤 pH 采用 pH 计(梅特勒-托利多 FE20K, 瑞士)测定。土壤 MBC 采用氯仿熏蒸培养法^[19], 熏蒸和不熏蒸土壤的浸提液有机碳含量采用有机碳 自动分析仪(岛津 Vwp,日本)测定。不熏蒸的土 壤测定结果即为土壤 DOC。土壤硝态氮(NO₃⁻N) 和铵态氮(NH₄⁺-N)含量用流动注射仪(福斯 Fiastar 5000, 瑞典)测定。土壤用盐酸浸提,采用邻菲罗 啉-紫外分光光度法用紫外分光光度仪(岛津 UV-2450, 日本)测定 Fe²⁺含量,用盐酸羟胺还原浸 提液 Fe³⁺,用相同方法测定得到浸提液全铁含量, Fe³⁺为全铁和 Fe²⁺含量的差值^[20]。β-葡糖苷酶(BG) 和 β-乙酰葡糖胺糖苷酶(NAG)活性采用 96 微孔 酶标板荧光分析法测定^[21],过氧化物酶(PER)活 性采用紫外分光光度法测定^[22]。

1.5 数据处理与统计分析

本文所提到的 CO2 或 CH4 排放量均是以碳排放量计。

乙酸来源的 CO₂ 排放量计算公式为:

 $\mathbb{Z} \widehat{\mathbb{R}} - CO_{2(+\mathbb{Z}\overline{\mathbb{R}})} = CO_{2(+\mathbb{Z}\overline{\mathbb{R}})} \times (\operatorname{atom} % CO_{2(+\mathbb{Z}\overline{\mathbb{R}})} - \operatorname{atom} % CO_{2(\times\mathbb{Z}\overline{\mathbb{R}})})) (\operatorname{atom} % C_{(\mathbb{Z}\overline{\mathbb{R}})} - \operatorname{atom} % C_{(\times\mathbb{Z}\overline{\mathbb{R}})})) (1)$

式中,乙酸- $CO_{2(+Z_{R})}$ 为添加了乙酸的处理(包括乙酸、乙酸+水铁矿、乙酸+针铁矿)中来源于乙酸的 CO_{2} 排放量。 $CO_{2(+Z_{R})}$ 为添加乙酸处理的 CO_{2} 总排 放量。atom% $CO_{2(+Z_{R})}$ 和 atom% $CO_{2(M_{R})}$ 分别为添加 乙酸处理和对照处理的 CO_{2} 的¹³C丰度。atom% $C_{(Z_{R})}$ 和 atom% $C_{(\pm x_{1})}$ 分别为添加的标记乙酸和土壤本身 有机碳(SOC)的¹³C丰度。

SOC 来源的 CO₂排放量为:

乙酸和 SOC 来源的 CH₄ 排放量、MBC 和 DOC 含量的计算同上。乙酸来源的 SOC 为乙酸添加量与 乙酸来源 CO₂、CH₄、MBC 和 DOC 的差。

乙酸引起的 CO₂激发效应(PE) 计算公式为:

 $PE = SOC-CO_{2(+\mathbb{Z}\overline{R})} - CO_{2(\mathbb{Z}\overline{R})}$ (3)

式中, PE 为激发效应。CO_{2 (对照})是对照处理的 CO₂ 总排放量。CH₄ 的激发效应计算同式 (3)。

乙酸矿化率的计算为:

 $Min = (\ \ \mathbb{Z} \ \ \mathbb{W} - CO_{2(+\mathbb{Z} \ \ \mathbb{W})} + \ \ \mathbb{Z} \ \ \mathbb{W} - CH_{4(+\mathbb{Z} \ \ \mathbb{W})}) \ / \ \mathbb{Z} \ \ \mathbb{W} - C \times$ $100\% \qquad (4)$

式中, Min 为乙酸矿化率, 乙酸-C 为乙酸碳的添加量。运用一级动力学模型拟合乙酸矿化率, 公

式如下:

$$Min = b \times (1 - e^{-kt})$$
 (5)

$$T_{1/2} = \ln(2) / k$$
 (6)

式中, b 表示乙酸的易分解碳库大小, k 为矿化速率 常数, T_{1/2}为碳库的半衰期。

所有数据用 Microsoft Excel 2019 初步整理, Origin 2018 绘图分析。用 SPSS 26 检验数据的正态 性,对各个时间点的乙酸和 SOC 来源的 CO₂和 CH₄ 累积排放量分别进行了单因素方差分析和 Tukey 多 重比较,不同指标间的相关性用皮尔森相关关系进 行检验。

2 结 果

不加乙酸的对照处理 100 d 的培养期间 CO₂ 累 积排放量为 474 mg·kg⁻¹。乙酸添加增加了 CO₂ 累 积排放量,乙酸处理的 CO₂ 总累积排放量为 670 mg·kg⁻¹。与乙酸处理相比,水铁矿的添加显著降低 了 CO₂ 总累积排放量,针铁矿的影响不显著。乙酸+ 水铁矿和乙酸+针铁矿处理的 CO₂ 总累积排放量分 别为 639 和 661 mg·kg⁻¹(图 1)。对照处理的 CH₄ 累积排放量为 137 mg·kg⁻¹,乙酸处理的 CH₄ 总累 积排放量为 455 mg·kg⁻¹,水铁矿和针铁矿均显著降 低了 CH₄ 排放量,乙酸+水铁矿和乙酸+针铁矿处 理的 CH₄ 总累积排放量分别为 432 和 430 mg·kg⁻¹ (图 1)。

通过稳定同位素标记示踪技术,将 CO₂和 CH₄ 累积排放量来源进行区分,见图 2。培养初期,乙 酸来源的 CO₂和 CH₄排放日速率较高,且在 6 d 时 达到峰值,乙酸的 CO₂和 CH₄排放主要集中于前 20 d 左右,培养后期其 CO₂和 CH₄排放量较低。 SOC 来源的 CO₂和 CH₄排放速率相对变化不大, 只在前 2 d 排放速率较高,之后相对匀速。100 d 培养结束后,SOC 来源的 CO₂和 CH₄累积排放量 高于乙酸来源的量(图 2)。在未添加乙酸的对照 中,SOC 产生 CO₂和 CH₄比例为 3.46:1,加乙 酸处理中 SOC 产生的 CO₂和 CH₄比例为 1.83:1。



注:图中小写字母不同表示第 100 天不同处理间的显著差异 (*P*<0.05, *n*=3)。AC,乙酸; ACF,乙酸+水铁矿; ACG,乙酸+ 针铁矿; Control,对照。Note: Lowercase letters in the figure represent significant differences between treatments on day 100 (*P*<0.05, *n*=3).AC, acetate; ACF, acetate+ferrihydrite; ACG, acetate+goethite.

图 1 不同处理的 CO₂和 CH₄累积排放量 Fig. 1 Cumulative CO₂ and CH₄ emissions of different treatments

仅添加乙酸的处理中,100 d 时乙酸来源的 CO₂累积排放量为240 mg·kg⁻¹,针铁矿的添加显 著增加了乙酸来源的 CO₂累积排放量至256 mg·kg⁻¹,但水铁矿却无显著影响。SOC 来源的 CO₂ 累积排放量为430 mg·kg⁻¹,水铁矿和针铁矿均显 著降低了 SOC 来源的 CO₂累积排放量(图2),降 低量分别为30和25 mg·kg⁻¹。乙酸处理中乙酸来 源的 CH₄累积排放量为220 mg·kg⁻¹,水铁矿和针 铁矿均显著降低了乙酸来源的 CH₄累积排放量, 降低量分别为4和5mg·kg⁻¹。SOC来源的CH₄累 积排放量与乙酸来源的相近,且不受水铁矿和针 铁矿影响(图2)。

一级动力学模型拟合乙酸的矿化率(CO₂+CH₄, %)显示,乙酸的易分解碳库为 69.92%,添加水铁 矿显著降低了乙酸的易分解碳库大小,而添加针铁 矿没有显著影响。乙酸分解速率为 0.11%·d⁻¹,半衰 期为 6.21 d,添加水铁矿和针铁矿显著降低了乙酸 分解速率,且增加了其分解半衰期(表 1)。



注:图中小写字母不同表示第 100 天不同处理间的显著差异 (*P*<0.05, *n*=3)。Note: Lowercase letters in the figure represent significant differences between treatments on day 100 (*P*<0.05, *n*=3).

图 2 乙酸和土壤本身有机碳(SOC)来源的 CO₂和 CH₄累积排放量 Fig. 2 Cumulative CO₂ and CH₄ emissions derived from acetate and soil organic carbon (SOC)

表1 乙酸的易分解碳库大小、分解速率和半衰期

Table 1 Labile C pool size, decomposition rate, and half-life of added acetate

| 处理 | 易分解碳库大小 | 分解速率 | 半衰期 |
|-----------|----------------------|---|-------------|
| Treatment | Labile C pool size/% | Decomposition rate/ ($\% \cdot d^{-1}$) | Half-life/d |
| AC | 69.92a | 0.11a | 6.21b |
| ACF | 65.61b | 0.10b | 6.95a |
| ACG | 70.00a | 0.10b | 7.04a |

注: 不同小写字母表示不同处理间有显著差异(P<0.05)。Note: lowercase letters represent significant differences between treatments (P<0.05).

2.2 厌氧水稻土乙酸的激发效应

乙酸添加引起的 CO₂ 累积激发效应在培养前 8 d 是正激发效应,之后转变为负激发效应,且强度 越来越大。乙酸+水铁矿处理的 CO₂激发效应前 8 d 也处于正激发阶段,且数值与乙酸处理类似,之后 进入负激发阶段数值显著小于乙酸处理,即其负 激发效应强度大于乙酸处理。乙酸+针铁矿处理在 培养初期的 CO₂ 正激发效应小于乙酸处理,进入 负激发效应阶段,其负激发效应强度大于乙酸处理 (图 3)。三个处理的 CH₄ 累积激发效应均达到 90 mg·kg⁻¹以上,且没有显著 差异 (图 3)。

2.3 乙酸的转化和分配比例特征

100 d 培养结束后,乙酸处理中 36%和 33%的 乙酸分别矿化为 CO₂和 CH₄,余下乙酸转化为土壤 碳库,其中 0.12%形成了 DOC, 1.99%形成了 MBC, 27.63%形成了 SOC。水铁矿和针铁矿添加显著降低 了乙酸矿化为 CH₄ 的比例,显著增加了转化为 MBC 和 SOC 的比例。针铁矿的添加还显著增加了 CO₂ 所占比例。水铁矿和针铁矿分别增加和降低了乙酸 转化为 DOC 的比例,然而统计上差异不显著。乙酸 +针铁矿处理的乙酸转化为 DOC、MBC 和 SOC 的 比例均小于乙酸+水铁矿处理(图 4)。

2.4 土壤理化和生物因子特征及其与乙酸矿化和 转化的关系

乙酸添加初期会提高土壤 DOC 含量,培养 6 d 时,三个乙酸添加处理显示出较对照处理偏高的土 壤 DOC 含量,只是乙酸和乙酸+针铁矿与对照处理 的差异统计上不显著。四个处理的土壤 DOC 含量随 时间逐渐降低,且四个处理间的显著差异逐渐消失。 三个加乙酸处理的土壤 pH 没有显著差异,但均显 著高于对照处理。三个加乙酸处理的土壤 MBC 含 量较对照处理偏高,但是第 6 天和第 40 天的数据统 计上差异不显著。培养期间土壤 NH₄+含量在四个处 理间无显著差异(图 5)。



注:图中小写字母不同表示第 100 天不同处理间的显著差异 (*P*<0.05, *n*=3)。Note: Lowercase letters in the figure represent significant differences between treatments on day 100 (*P*<0.05, *n*=3).

图 3 不同处理中乙酸引起的 CO₂和 CH₄累积激发效应 Fig. 3 Cumulative CO₂ and CH₄ priming effect of acetate in different treatments



注:图中小写字母不同表示同一指标不同处理间的显著差异(P<0.05, n=3)。Note: Lowercase letters in the figure represent significant differences between treatments (P<0.05, n=3).

图 4 培养 100 d 后乙酸碳矿化或转化为 CO2、CH4、MBC、DOC 和 SOC 的比例

Fig. 4 The percentages of acetate being mineralized or transformed to CO2, CH4, MBC, DOC and SOC at the end of the 100-day incubation



注:图中小写字母不同表示同一时间不同处理间的显著差异(*P*<0.05, *n*=3),未标注即表示无显著差异。Note: Lowercase letters in the figure represent significant differences between treatments (*P*<0.05, *n*=3). Unlabeled means there are no significant differences.

图 5 培养 6、40、100 d 不同处理土壤 DOC、MBC、NH₄⁺-N 含量和 pH Fig. 5 Soil DOC, MBC, NH₄⁻-N contents and pH of different treatments on days 6, 40 and 100

土壤经淹水(非厌氧)预培养 10 d 后土壤 Fe^{2+} 含量为 3.06 mg·kg⁻¹, 厌氧培养 6 d 时三个加乙酸处 理和对照处理的土壤 Fe^{2+} 含量均高于这一初始值,

但差异不显著,三个加乙酸处理的土壤 Fe²⁺含量均 高于对照。乙酸和乙酸+针铁矿处理的土壤 Fe²⁺含量 随时间逐渐降低,乙酸+水铁矿处理的土壤 Fe²⁺含量 变化不大,且在 40 d 和 100 d 高于其他处理。培养 期间各处理土壤 Fe³⁺含量极低(接近于 0),只是 6 d 时数据偏高,这可能是实验操作问题导致误差较大 (图 6)。

培养期间各处理土壤 BG 和 NAG 活性呈现先升 高后下降的趋势,土壤 PER 活性呈现逐渐降低的趋势 (图 7)。土壤 BG 活性在各处理间无显著差异。四个 处理间土壤 NAG 活性的差异也不大,只是 100 d 时土 壤 NAG 活性表现为乙酸+针铁矿≥乙酸+水铁矿= 乙酸≥对照。土壤 PER 活性在 6 d 时各处理间无显著 差异,在40d表现为乙酸+水铁矿≥乙酸+针铁矿= 乙酸≥对照,100d为乙酸+水铁矿≥对照=乙酸+针 铁矿≥乙酸。总之,与乙酸处理相比,加水铁矿的土 壤PER活性偏高,加针铁矿的土壤NAG活性偏高。

将乙酸来源的 $CO_2 和 CH_4$ 的累积排放量、土壤 DOC、MBC、SOC 含量与各土壤性质指标进行相关 关系分析,发现土壤 DOC、MBC、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 含量、 pH 和 PER 活性与乙酸来源 CO_2 、 CH_4 、DOC、MBC、 SOC 含量均呈显著相关关系。乙酸来源 CO_2 和 CH_4 与土壤 NAG 活性呈显著正相关关系(表 2)。





图 6 培养 6、40、100 d 不同处理土壤 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 含量 Fig. 6 Soil Fe^{2+} and Fe^{3+} contents of different treatments on days 6, 40 and 100



注:图中小写字母不同表示同一时间不同处理间的显著差异(*P*<0.05, *n*=3),未标注即表示无显著差异。Note: Lowercase letters in the figure represent significant differences between treatments (*P*<0.05, *n*=3). Unlabeled means there are no significant differences.

图 7 培养 6、40、100 d 土壤 β-葡糖苷酶(BG)、β-乙酰葡糖胺糖苷酶(NAG)和过氧化物酶(PER)活性 Fig. 7 Soil β-1, 4-glucosidase (BG), β-1, 4-N-acetylglucosaminidase (NAG) and peroxidase (PER) activities on days 6, 40 and 100

表 2 乙酸来源的 CO_2 、 CH_4 累积排放量、DOC、MBC、SOC 含量与土壤理化和酶学指标的相关性

 Table 2
 Pearson correlation analysis between acetate derived cumulative CO2 and CH4 emissions, DOC, MBC and SOC contents and soil physicochemical and enzymatic properties

| 指标 | DOC | MBC | E_{2}^{2+} | Fe ³⁺ | NH4 ⁺ -N | рН | BG | NAG | PER |
|--------------------------|----------|----------|--------------|------------------|---------------------|----------|--------|---------|----------|
| Parameter | | | ге | | | | | | |
| 乙酸-DOC | 0.968** | 0.857** | 0.626** | 0.678** | 0.062 | -0.620** | 0.007 | -0.074 | 0.863** |
| Acetate-DOC | | | | | | | | | |
| 乙酸-MBC | 0.812** | 0.920** | 0.575** | 0.593** | 0.134 | -0.776** | -0.214 | -0.286 | 0.781** |
| Acetate-MBC | | | | | | | | | |
| 乙酸-SOC | 0.776** | 0.917** | 0.592** | 0.664** | -0.204 | -0.883** | -0.318 | -0.431* | 0.788** |
| Acetate-SOC | | | | | | | | | |
| 乙酸-CO ₂ | -0.769** | -0.923** | -0.581** | -0.692** | 0.209 | 0.879** | 0.311 | 0.437* | -0.784** |
| Acetate-CO ₂ | | | | | | | | | |
| 乙酸-CH4 | -0.784** | -0.896** | -0.600** | -0.599** | 0.147 | 0.861** | 0.309 | 0.393* | -0.786** |
| Acetate- CH ₄ | | | | | | | | | |

注:表中*和**分别表示相关关系显著水平达到 P<0.05 和 P<0.01。Note: * and ** in the table represent significant correlations between parameters with levels of P<0.05 and P<0.01, respectively.

3 讨 论

3.1 厌氧水稻土中乙酸的矿化和转化及其激发 效应

水稻土的淹水管理方式会造成嫌气或厌氧的环 境,这种情况下土壤有机碳的分解不彻底,会产生 乙酸等中间产物,而乙酸是产甲烷的重要底物。CH4 产生包括乙酸营养型、甲基营养型、氢营养型三种 途径,分别以乙酸、甲醇/甲胺、H₂/CO₂为底物^[23]。 乙酸通常可以贡献 80% CH4产生量^[15],其他底物可 以贡献 10%~30%^[23-24]。本研究仅添加乙酸的处理 中,经过100d的厌氧培养,33%的乙酸转化为CH4, 而 36%的乙酸转化为 CO₂ (图 4)。乙酸营养型的产 甲烷公式为 $CH_3COOH \rightarrow CO_2 + CH_4$,即产生的 CO_2 和 CH₄比例为 1:1, 说明本研究 3%的乙酸矿化出 的 CO₂不是因产甲烷过程。研究显示乙酸也是大多 数厌氧微生物如铁还原菌、硫还原菌等的主要碳源, 造成了其他途径如铁还原、硫还原产生的 CO₂^[16-17]。 Xu 等^[25]以每天添加乙酸的方式连续添加 10 d, 乙酸 的总添加量为1512 mg·kg⁻¹, 10 d 厌氧培养后乙酸 的矿化率(CO₂+CH₄)不到 20%,而本研究仅添加 了一次乙酸, 添加量较 Xu 等^[25]低, 为 656 mg·kg⁻¹,

但 10 d 时的矿化率较 Xu 等^[25]高,为 52%,说明乙 酸进入土壤的频次和单次添加量会影响其矿化率, 也可能是土壤中微生物群落结构和活性有所不同, 造成对乙酸利用上的差异,影响乙酸矿化率。矿化 后余下的乙酸则转化为土壤活性碳库如 DOC 和 MBC(本研究中这部分只占 2%左右),或转化为稳 定碳库(本文中的 SOC,不到 30%)。Xu 等^[25]研究 中乙酸矿化率偏低,更多地保留在土壤稳定碳库中。 乙酸转化的 SOC 可能一部分是由于加入的乙酸直 接与土壤矿物稳定结合从而作为 SOC 保留下来,而 更大部分可能是乙酸经过微生物利用和转化作用产 生的代谢产物或死亡残体再经过多次微生物周转而 形成的。当然,在这多次微生物利用和周转过程中, 也形成了某些易分解且易溶解的 DOC,一些乙酸或 其次级代谢产物被同化在活性碳库 MBC 中。

SOC 来源的 CO₂和 CH₄比例为 1.83:1,高于 乙酸来源的比例,说明土壤中不同碳源在厌氧条件 下的微生物利用和分解矿化情况不同。土壤中的乙 酸主要是被产甲烷菌利用,用于产甲烷,其他有机 碳多被其他微生物群落利用和分解,产生更多的 CO₂,因此,本研究中 SOC 来源的 CO₂远高于 SOC 来源的 CH₄,亦高于乙酸来源的 CO₂(图 2)。SOC 产生的 CH₄也不仅限于乙酸营养型,还包括上述其 他途径。乙酸添加刺激了产甲烷菌的活性,导致产 甲烷菌对 SOC 的利用增加。有研究显示,乙酸添 加会增加甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)的丰 度^[25],甲烷八叠球菌属的产甲烷代谢途径包括乙酸 和氢营养途径,氢营养途径会对 CO₂有所消耗^[26], 因此乙酸添加不仅导致 CH₄的正激发效应,还引起 了 CO₂的负激发效应(图 3),在未添加乙酸的对照 中,土壤产生 CO₂和 CH₄比例为 3.46:1,远高于 加乙酸处理中 SOC 产生的 1.83:1,也佐证了这一 点。此外,乙酸作为简单有机碳化合物,其他厌氧 微生物对其的偏好利用也是导致土壤微生物对 SOC 利用的减少从而引起 CO₂负激发效应的原因之一。

3.2 不同铁氧化物对厌氧水稻土乙酸的矿化和转 化的影响

铁是重要的电子受体,会与 CH4 产生过程竞争 电子供体,如乙酸和 H2^[16-17, 27], 异养铁还原菌对乙 酸的竞争力会因铁氧化物的添加而提高,从而降低 产甲烷菌对乙酸的利用以及乙酸来源 CH4 排放量 (图 2)。已有报道发现,水铁矿添加会导致如甲烷 杆菌属(Methanobacterium)、甲烷胞菌属 (Methanocella)和甲烷八叠球菌属(Methanosarcina) 等产甲烷细菌和产甲烷古菌有所减少^[26,28]。此外, 还有报道发现某些产甲烷菌可以通过氧化 H2 还原 铁氧化物^[29-30],因而降低产 CH₄量。本研究中铁氧 化物的添加只影响了乙酸来源的 CH₄产量,未影响 SOC 来源的 CH4 产量和乙酸的 CH4 激发效应(图 2, 图 3)。水铁矿和针铁矿结晶程度和比表面积等有很 大差异,但是本研究中两者对乙酸的 CH₄ 累积排放 量的影响程度一致,而对乙酸的 CO2 累积排放量的 影响不同(图2)。

针铁矿的添加增加了乙酸来源 CO₂ 累积排放量 (图 2),铁还原为微生物呼吸和 CO₂产生过程提供 电子供体,铁氧化物的添加会刺激铁还原菌的生长 和活性,从而提高对乙酸的利用^[17, 27, 31],而微生物 对乙酸的偏好利用加剧了乙酸引起的负激发效应 (图 3)。与针铁矿不同,水铁矿对乙酸来源 CO₂排 放量的影响不显著。这可能由于水铁矿晶型较弱, 比表面积大,对乙酸及其某些次级代谢产物的吸附 和共沉淀作用强,起到限制乙酸矿化和 CO₂排放的 作用,而这一负作用与刺激铁还原菌等正作用相抵 消,呈现出不显著的影响。而且,相较于针铁矿增加 了乙酸向 MBC 和 SOC 转化的比例。Xu 等^[25]的厌氧 研究发现,添加水铁矿降低了土壤孔隙水中的乙酸, 也认为这主要因为水铁矿刺激了微生物对乙酸的同 化利用。Jones 和 Edwards^[32]添加¹⁴C-葡萄糖的有氧 实验也发现加水铁矿增加了葡萄糖向 MBC 的转化。

各处理土壤 DOC 含量在培养初期虽有差异,但 是培养期间差距逐渐缩小至无显著差异, 这期间土 壤通过微生物矿化和土壤矿物吸附等过程将土壤 DOC 含量调节至较平衡状态,这可能与土壤 pH、 CEC 等条件有关,最终加水铁矿和针铁矿的处理乙 酸来源 DOC 含量只分别较乙酸处理略高和略低。表 2显示了土壤 NAG 和 PER 活性等与乙酸来源 CO₂、 CH₄、DOC、MBC、SOC含量的显著相关关系,然 而,土壤 NH⁺含量和 BG 活性与乙酸的矿化和转化 无相关关系。刘琪等^[33]也发现长期淹水土壤 NAG 和 PER 活性与土壤有机碳矿化具有显著相关关系, 而 BG 活性则无关。说明 NAG 和 PER 两种酶在嫌 气和厌氧条件下有机碳矿化和转化中的重要作用。 本研究中使用紫外分光光度法测定的过氧化物酶 活性实际上也包含了非生物氧化活动,水铁矿的添 加增加了 PER 活性,这可能与芬顿反应有关^[34-35]。 图 5b 显示三个加乙酸的处理 pH 偏高,可能与铁还 原等过程有关,这会增加 CO2 在土壤溶液中的溶解 度,且可能形成 FeCO₃,使检测到的顶空气体中的 CO2浓度被低估^[17, 25]。

4 结 论

铁氧化物显著影响了水稻土中乙酸的矿化、转 化和激发效应,且结晶程度不同的铁氧化物的影响 有差异。针铁矿的添加显著增加了乙酸的 CO₂排放 量,水铁矿对此却无显著影响。水铁矿和针铁矿均 显著降低了乙酸的 CH₄排放量,增加了乙酸转化为 MBC 和 SOC 的比例。乙酸添加引起了 CO₂负累积 激发效应和 CH₄ 正累积激发效应。水铁矿和针铁矿 均显著降低了 SOC 的 CO₂累积排放量,加剧了乙酸 引起的 CO₂负激发效应,而对 SOC 的 CH₄累积排 放量无显著影响。

致 谢 感谢中国科学院亚热带农业生态研究所 公共技术服务中心对本研究提供的技术支持。

参考文献(References)

- [1] Atere C T, Ge T D, Zhu Z K, et al. Assimilate allocation by rice and carbon stabilisation in soil: Effect of water management and phosphorus fertilisation[J]. Plant and Soil, 2019, 445 (1/2): 153–167.
- [2] The National Bureau of Statistics. China statistical yearbook[M]. Beijing: China Statistics Press, 2019. [国 家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京:中国统计出版社, 2019.]
- [3] IPCC. Working group I contribution to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change[C]//Stocker T F, Qin D, Plattner G K, et al. Climate change 2013: The physical science basis. Cambridge, New York: Cambridge University Press, 2013: 1535.
- [4] Cheng W G, Yagi K, Xu H, et al. Influence of elevated concentrations of atmospheric CO₂ on CH₄ and CO₂ entrapped in rice-paddy soil[J]. Chemical Geology, 2005, 218 (1/2): 15–24.
- Johnston S G, Burton E D, Aaso T, et al. Sulfur, iron and carbon cycling following hydrological restoration of acidic freshwater wetlands[J]. Chemical Geology, 2014, 371: 9-26.
- [6] Huang S, Rui W Y, Peng X X, et al. Responses of soil organic carbon content and fractions to land-use conversion from paddy field to upland[J]. Environmental Science, 2009, 30(4): 1146—1151. [黄山, 芮雯奕, 彭现宪,等. 稻田转变为旱地下土壤有机碳含量及其组分的变化特征[J]. 环境科学, 2009, 30(4): 1146—1151.]
- [7] Jiang J B, Zhu Z K, Lin S, et al. Mineralization of goethite-adsorbed and -encapsulated organic carbon and its priming effect in paddy soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(6): 1530—1539. [江家彬, 祝贞科, 林森,等. 针铁矿吸附态和包裹态有机碳在稻田土壤 中的矿化及其激发效应[J]. 土壤学报, 2021, 58(6): 1530—1539.]
- Li W J, Huang Q H, Li D M, et al. Differences in organic carbon accumulation between reddish paddy and upland soils under long-term fertilization[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2021, 27(3): 544—552. [李 文军,黄庆海,李大明,等. 长期施肥红壤性稻田和旱 地土壤有机碳积累差异[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(3): 544—552.]
- [9] Mayes M A, Heal K R, Brandt C C, et al. Relation between soil order and sorption of dissolved organic carbon in temperate subsoils[J]. Soil Science Society of America Journal, 2012, 76 (3): 1027–1037.
- [10] Dippold M, Biryukov M, Kuzyakov Y. Sorption affects amino acid pathways in soil : Implications from position-specific labeling of alanine[J]. Soil Biology and

Biochemistry, 2014, 72: 180-192.

- [11] Li Y H, Shahbaz M, Zhu Z K, et al. Oxygen availability determines key regulators in soil organic carbon mineralisation in paddy soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 153: 108106.
- Li Y C, Yu S, Strong J, et al. Are the biogeochemical cycles of carbon, nitrogen, sulfur, and phosphorus driven by the "Fe^{III}-Fe^{II} redox wheel" in dynamic redox environments?[J]. Journal of Soils and Sediments, 2012, 12 (5): 683—693.
- [13] Wang Y Y, Wang H, He J S, et al. Iron-mediated soil carbon response to water-table decline in an alpine wetland[J]. Nature Communications, 2017, 8: 15972.
- [14] Cornell R M, Schwertmann U. The iron oxides: Structure, properties, reactions, occurrences, and uses[M].
 2nd ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. 2003.
- [15] Chin K J, Conrad R. Intermediary metabolism in methanogenic paddy soil and the influence of temperature[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1995, 18
 (2) : 85-102.
- [16] Chidthaisong A, Conrad R. Turnover of glucose and acetate coupled to reduction of nitrate, ferric iron and sulfate and to methanogenesis in anoxic rice field soil[J].
 FEMS Microbiology Ecology, 2000, 31 (1): 73-86.
- [17] Hori T, Müller A, Igarashi Y, et al. Identification of iron-reducing microorganisms in anoxic rice paddy soil by ¹³C-acetate probing[J]. The ISME Journal, 2010, 4
 (2) : 267–278.
- Schwertmann U, Cornell R M. Iron oxides in the laboratory: Preparation and characterization[M]. 2nd ed.
 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
 2000.
- [19] Wu J, Joergensen R G, Pommerening B, et al. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction—An automated procedure[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1990, 22 (8): 1167—1169.
- [20] Tamura H , Goto K , Yotsuyanagi T , et al. Spectrophotometric determination of iron (II) with 1, 10-phenanthroline in the presence of large amounts of iron (III) [J]. Talanta, 1974, 21 (4) : 314-318.
- [21] Saiya-Cork K R, Sinsabaugh R L, Zak D R. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2002, 34 (9): 1309–1315.
- [22] German D P, Weintraub M N, Grandy A S, et al. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2011, 43 (7): 1387–1397.
- [23] Palmer J R, Reeve J N. Methanogen genes and the molecular biology of methane biosynthesis[M]//Brock/

Springer Series in Contemporary Bioscience. New York, NY: Springer New York, 1993: 13-35.

- [24] Conrad R. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1999, 28 (3): 193-202.
- [25] Xu J X, Li X M, Sun G X, et al. Fate of labile organic carbon in paddy soil is regulated by microbial ferric iron reduction[J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53 (15): 8533-8542.
- [26] Cai W W, Liu W Z, Yang C X, et al. Biocathodic methanogenic community in an integrated anaerobic digestion and microbial electrolysis system for enhancement of methane production from waste sludge[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2016, 4(9): 4913-4921.
- [27] Zhang T J, Tang J, Zhuang L, et al. Effects of different iron oxides on methane emission in paddy soil as related to drying /wetting cycles[J]. Environmental Science, 2014, 35 (3): 901—907. [张天娇,汤佳,庄莉,等. 干湿交替条件下不同晶型铁氧化物对水稻土甲烷排放 的影响[J]. 环境科学, 2014, 35 (3): 901—907.]
- [28] XuJX, YiXY, LiXM, et al. Effects of iron oxides in paddy soils on methanogens communities[J]. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(9): 3115—3120. [徐健 鑫, 扆幸运, 李晓明, 等. 水稻土中铁氧化物对产甲烷 古菌群落结构的影响[J]. 生态学报, 2020, 40(9): 3115—3120.]
- [29] Zhang J, Dong H L, Liu D, et al. Microbial reduction of Fe (III) in illite-smectite minerals by methanogen

Methanosarcina mazei[J]. Chemical Geology, 2012, 292/293: 35-44.

- [30] Yamada C, Kato S, Kimura S, et al. Reduction of Fe(III) oxides by phylogenetically and physiologically diverse thermophilic methanogens[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2014, 89 (3): 637–645.
- [31] Kato S, Nakamura R, Kai F, et al. Respiratory interactions of soil bacteria with (semi) conductive iron-oxide minerals[J]. Environmental Microbiology, 2010, 12 (12): 3114-3123.
- Jones D L, Edwards A C. Influence of sorption on the biological utilization of two simple carbon substrates[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1998, 30 (14): 1895–1902.
- [33] Liu Q, Li Y H, Li Z, et al. Characteristics of paddy soil organic carbon mineralization and influencing factors under different water conditions and microbial biomass levels[J]. Environmental Science, 2021, 42(5): 2440—2448. [刘琪,李宇虹,李哲,等. 水稻土有机碳 矿化及其影响因子在不同水分条件和微生物生物量水 平下的差异[J]. 环境科学, 2021, 42(5): 2440—2448.]
- [34] Du H Y, Chen C M, Yu G H, et al. An iron-dependent burst of hydroxyl radicals stimulates straw decomposition and CO₂ emission from soil hotspots: Consequences of Fenton or Fenton-like reactions[J]. Geoderma, 2020, 375: 114512.
- [35] Merino C, Kuzyakov Y, Godoy K, et al. Iron-reducing bacteria decompose lignin by electron transfer from soil organic matter[J]. Science of the Total Environment, 2021, 761: 143194.

(责任编辑:卢 萍)

59 卷