刘思琪,胡 芳,展鹏飞,等.氮输入对河口不同盐度芦苇沼泽湿地土壤 CH_4 与 CO_2 产生速率的影响 [J]. 中国环境科学, 2025,45(10):5811-5822.
Liu S Q, Hu F, Zhan P F, et al. Effects of nitrogen addition on soils production rates of CH_4 and CO_2 of estuarine *Phragmites australis* marsh under different salinity [J]. China Environmental Science, 2025,45(10):5811-5822.

氮输入对河口不同盐度芦苇沼泽湿地土壤 CH_4 与 CO_2 产生速率的影响

刘思琪[1],胡 芳[1],展鹏飞[1],黄佳芳[1,2,3],仝 川[1,2,3*] (1.福建师范大学地理学学院,福建 福州 350117；2.福建师范大学,湿润亚热带生态地理过程教育部重点实验室,福建 福州 350117；3. 福建闽江河口湿地生态系统国家定位观测研究站(国家林草局),福建 福州 350215)

摘要：采集闽江河口淡水芦苇(*Phragmites australis*)沼泽湿地土壤,添加人造海水稳定 3 个月后"构造"盐度分别为 0‰、2.5‰、11‰和 22‰的湿地土壤,以上盐度值分别位于河口区淡水、寡咸水、中咸水和多咸水沼泽湿地的盐度分区范围.室内运用微宇宙(microcosm)厌氧培养实验,并分别添加铵态氮和硝酸盐氮,以期揭示盐度在不同形态氮输入对河口感潮沼泽湿地土壤 CH_4 和 CO_2 产生速率的影响的角色.盐度、施氮形态对河口沼泽湿地土壤 BG、CBH、NAG、PHO、PEO 和 *mcrA* 的活性具有显著的影响,添加铵态氮和硝酸盐氮显著增加沼泽湿地不同盐度土壤的 CBH、NAG 和 mcrA 的活性.与对照组相比,添加铵态氮显著增加淡水、寡咸水和中咸水沼泽湿地土壤 CH_4 产生速率,分别增加 21.9%、23.6% 和 40.4%,但对多咸水土壤无显著影响;添加硝酸盐氮后淡水、寡咸水、中咸水土壤 CH_4 产生速率分别降低 16.56%、15.56% 和 19.28%,添加硝酸盐氮显著降低多咸水湿地 CH_4 产生速率 19.7%.铵态氮和硝酸盐氮输入显著增加寡咸水和中咸水土壤 CO_2 产生速率,而对淡水和多咸水土壤 CO_2 产生速率无影响. 施氮情景下,沼泽土壤 CH_4 和 CO_2 产生速率与 pH 值、土壤胞外酶活性和 *mcrA* 丰度呈显著正相关,与盐度、SOC、Cl^-和 SO_4^{2-}呈显著负相关.随机森林模型结果显示,施氮情景下,盐度、NAG、SO_4^{2-}和 pH 值对 CH_4 和 CO_2 产生速率贡献率最大.研究结果说明:氮负荷增加对于河口区不同盐度沼泽湿地土壤 CH_4 和 CO_2 产生速率的影响不同,今后在制定减缓河口区富营养化对河口沼泽湿地温室气体排放影响的对策和措施时,应考虑到盐度梯度的影响.

关键词：CH_4 产生速率；CO_2 产生速率；氮输入；盐度；沼泽湿地；河口
中图分类号：X142 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)10-5811-12

Effects of nitrogen addition on soils production rates of CH_4 and CO_2 of estuarine *Phragmites australis* marsh under different salinity.

LIU Si-qi[1], HU Fang[1], ZHAN Peng-fei[1], HUANG Jia-fang[1,2,3], TONG Chuan[1,2,3*] (1.School of Geographical Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China；2.Key Laboratory of Humid Sub-tropical Eco-geographical Process, Ministry of Education, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China；3.Wetland Ecosystem Research Station of Minjiang Estuary, National Forestry and Grassland Administration, Fuzhou 350215, China). *China Environmental Science*, 2025,45(10)：5811~5822

Abstract: In this study, we collected soil samples from the freshwater *Phragmites australis* marsh at the Minjiang River estuary and constructed wetland soils with different salinities of 0‰, 2.5‰, 11‰, and 22‰ by adding artificial seawater and stabilizing for three months. These salinity values correspond to the ranges of fresh, oligohaline, mesohaline, and polyhaline water zones in estuarine tidal wetlands, respectively. We conducted indoor microcosm anaerobic incubation experiments and meanwhile added ammonium and nitrate to determine role of salinity in the impact of nitrogen additions on CH_4 and CO_2 production in estuarine tidal marsh soils. The results showed that the salinity and nitrogen form had significant effects on the activities of BG, CBH, NAG, PHO, PEO, and *mcrA*, the addition of ammonium and nitrate significantly increased activities of CBH, NAG, and *mcrA* in the soils with different salinities. Ammonium addition significantly increased CH_4 production rates in the fresh, oligohaline, and mesohaline water marsh soils by 21.9%, 23.6%, and 40.4%, respectively, but had no significant effect on polyhaline soil. Nitrate addition decreased CH_4production rates in the fresh, oligohaline, and mesohaline soils by 16.56%、15.56% and 19.28%, respectively, although the drop were not significant (P>0.05), nitrate addition significantly reduced CH_4production rates in polyhaline soil by 19.7%. Both ammonium and nitrate addition significantly increased CO_2 production rates in oligohaline and mesohaline soil, while did not significantly change the CO_2 production rates in the fresh and polyhaline soil. Under the nitrogen addition, the production rates of CH_4 and CO_2 were significantly positively correlated with soil pH, extracellular enzyme activities, and *mcrA* abundance, and significantly negatively correlated with salinity, SOC, Cl^-, and SO_4^{2-}. The results of random forest model prediction showed that

收稿日期：2025-03-04
基金项目：国家自然科学基金资助项目(42177213);国家重点研发计划项目(2022YFC3105401);中央专项财政支持项目([350182]FJYHZB[GK]2024001)
* 责任作者, 教授, tongch@fjnu.edu.cn

under nitrogen addition scenarios, salinity, NAG, SO_4^{2-}, and pH had the greatest contribution rates to the production rates of $CH_4$and CO_2.Our results indicate that the impact of nitrogen input on CH_4 and CO_2 production rates of estuarine marsh soils varies with salinity. In future, we should consider the influence of salinity gradients when making the strategies and measures to mitigate impact of eutrophication on greenhouse gas emission.

Key words：CH_4 production rates；CO_2 production rates；nitrogen addition；salinity；marsh；estuary

甲烷(CH_4)和二氧化碳(CO_2)是导致全球气候变暖的两个关键温室气体[1].湿地贡献了全球人为和自然源 CH_4 排放总量的 41%~53%,河口和沿海湿地占全球 CH_4 年排放量的 7%~30%,成为大气 CH_4 的重要来源[2],滨海湿地年均碳积累速率高达 250~500gC/m^2[3].河口感潮湿地是一个非稳定的“转换器”,受环境的影响其功能在碳汇与碳源之间发生转变[4],揭示湿地土壤CH_4和CO_2产生速率的机制对于科学认识湿地 CH_4 和 CO_2 排放至关重要,对于缓解气候变化具有重要意义.

氮输入增加是全球滨海/河口湿地面临的一个主要的环境问题.近年来,随着人类活动的加剧,氮输入(如农业施肥、工业废水排放等)不断增加,对湿地生态系统的结构和功能产生深远影响[5].氮输入通过改变土壤 pH 值等指标,使土壤电子受体等理化条件发生变化,影响微生物活性,改变 CH_4 和 CO_2 的产生和排放[6].酶化学计量假设认为,氮限制决定了微生物对氮分解酶的分配[7-8],充足的氮为微生物生产更多碳捕获酶提供了条件[9].相关研究指出,氮添加增加了湿地土壤的 *mcrA* 丰度[10].氮输入是否提高湿地 CH_4 与 CO_2 排放,增加全球气候变暖的风险,一直受到科学界的高度关注[11-14],是全球变化以及湿地碳循环研究中亟需解决的重要科学问题之一[15-16].目前已有的 2 个 meta 分析研究表明:氮添加后会促进 CH_4 和 CO_2 的排放[17-18],但是,较多文献研究结果是氮输入抑制或不影响湿地 CH_4 排放通量[19-21].氮输入对 CH_4 和 CO_2 的影响不是协同的,Vivanco 等[6]研究发现尿素和 NH_4Cl 对土壤底物呼吸作用无明显影响,但 CH_4 通量显著增加,CH_4 对氮的响应具有复杂性和不确定性[22].

盐度作为影响河口湿地环境的一个常见胁迫因子,可通过改变湿地的理化性质和生物群落结构和功能,从而影响河口湿地的碳源汇功能[23],调控河口沼泽湿地的碳排放[24].研究表明盐胁迫对酶活性具有抑制作用,高盐度影响分子稳定性和蛋白质状态[25-27],直接抑制胞外酶活性[28].目前,河口区湿地盐度增加降低 CH_4 产生速率这一观点基本达成共识[29-31],但是盐度变化对 CO_2 产生速率的影响结果却存在差异[28-32].然而,目前河口区盐度梯度是否会调控氮输入对于河口沼泽湿地土壤CH_4和CO_2速率的影响却未见报道.为了揭示氮输入增加对不同盐度河口沼泽湿地土壤 CH_4 与 CO_2 产生速率的影响,本研究采集闽江河口淡水芦苇沼泽湿地土壤,添加不同盐度的人造海水构造出盐度不同的土壤,室内运用微宇宙(microcosm)厌氧培养实验,并结合不同形态氮素(铵态氮和硝酸盐氮)施加,以期揭示盐度在氮输入增加对河口感潮沼泽湿地土壤 CH_4 与 CO_2 产生速率的影响中的角色.研究结果有助于明晰氮输入对河口不同盐度沼泽湿地温室气体排放的影响,为河口沼泽湿地生态系统的保护和管理提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 芦苇沼泽湿地不同盐度土壤的构建

在闽江河口塔礁洲淡水芦苇沼泽湿地随机选择 4 个距离较近的样地,2022 年夏季在每个样地用土钻(直径 5cm,长度 30cm)随机采集 4 个土芯(0~10cm).实验室剔除细根等杂物并过筛,16 个土芯充分混合形成 1 个土样,然后均分为 4 份,4 份土样的理化指标如表 1 所示.各份土样放入 4 个玻璃培养瓶(150mL)中,分别添加用热带海水礁盐(Cnsic Marine Biotechnology Co., Ltd.,中国)配置的盐度分别为 0‰,5‰,18‰和 30‰的人造海水 25mL,以期构建以下 4 个盐度范围的河口湿地土壤:淡水(<0.5‰)、寡咸水(0.5‰~5‰)、中咸水(5‰~18‰)和多咸水(18~30‰)[33].加入人造海水后稳定 3 个月,期间数次使用便携式 Salt6+盐度计(Thermo Fisher Scientific,美国)测定瓶内土样的盐度直至盐度无变化,最终形成 4 个盐度分别为 0‰、2.5‰、11‰和 22‰的土样,分别记为 S1、S2、S3 和 S4.

表 1　构建前 4 份淡水芦苇沼泽湿地土壤理化特征

Table 1　pH 值 ysico-chemical properties of the freshwater *Phragmites australis* marsh soils before construction

土样	盐度	含水率	容重	pH 值	TN	TC	C:N	SOC
	(‰)	(%)	(g/cm^3)		(g/kg)	(g/kg)		(g/kg)
第 1 份	0.00±0.00	0.71±0.13	0.89±0.04	6.48±0.08	2.14±0.09	26.4±0.81	12.34±0.36	18.49±0.72
第 2 份	0.00±0.00	0.74±0.26	0.79±0.11	6.50±0.19	1.81±0.23	22.83±2.21	12.68±0.41	17.69±1.20
第 3 分	0.00±0.00	0.74±0.04	0.83±0.04	6.37±0.21	1.85±0.07	23.29±0.22	12.61±0.48	16.01±0.61
第 4 份	0.00±0.00	0.61±0.08	0.84±0.05	6.44±0.28	2.07±0.07	25.08±1.00	12.14±0.13	17.18±1.15

1.2　氮添加的微宇宙厌氧培养实验及 CH_4 和 CO_2 产生速率的测定

实验室微宇宙厌氧培养是目前最为常用的湿地 CH_4 和 CO_2 产生速率的测定方法.厌氧环境主要通过氮气置换实现,土壤样品多用鲜土[34]配置为泥浆. 本研究利用实验室微宇宙厌氧培养,并结合氮添加揭示氮负荷增加对河口沼泽湿地土壤 CH_4 和 CO_2 产生速率的影响.称取 S1、S2、S3 和 S4 四个盐度下的鲜土(25g),分别放入 150mL 玻璃培养瓶内,并按照水土体积比 1:1 比例分别加入 25mL 的去离子水、NH_4Cl 和 KNO_3 溶液,设置对照处理、铵态氮输入处理、硝酸盐氮输入处理 3 个处理.每个处理设置 4 个重复(总计 48 个培养样品).氮输入参照 Mou 等[35]和 Kim 等[36]设置为输入 100mg N/kg drysoil 的 KNO_3 和 NH_4Cl.震荡 30min 充分混合均匀后密封瓶口,使用两根注射针注入高纯氮气(N_2)排出瓶内气体,洗气过程持续 6~10min 使瓶内形成厌氧状态[32],并立即测定瓶内 CO_2 和 CH_4 浓度作为初始浓度.培养箱温度设置为 25℃,连续培养 15d,分别在第 1,3,7,15d 测定 CO_2 和 CH_4 浓度.每次抽气前将培养瓶放入震荡器 200r 震荡 30min,使瓶内 CO_2 和 CH_4 浓度均衡,抽取瓶内 5mL 气体,使用气相色谱仪(Shimadzu,GC-2010,Japan)测定 CO_2 和 CH_4 浓度,在气体采集后立即补充等量氮气保持瓶内气压平衡,根据公式(1)计算 CO_2 和 CH_4 产生速率[37]:

$$P=\frac{M}{v}\cdot\frac{\mathrm{d}c}{\mathrm{d}t}\cdot\frac{V_H}{W_s}\cdot\frac{273}{273+T} \quad (1)$$

式中:P 为 CO_2 或 CH_4 产生速率,CO_2:mg/(g·d); CH_4:μg/(g·d); M 为 CO_2 或 CH_4 的摩尔质量,CO_2:44g/mol, CH_4:16g/mol; V 是大气标准状态气体摩尔体积,22.4L/mol; dc/dt 是单位时间内气体浓度的变化率,CO_2:μL/(Ld);CH_4:mL/(Ld),且只有在回归系数 R^2>0.9 时视为有效数据;V_H 为培养瓶上部空间气体体积,L;W_S 为培养瓶内干土重[鲜土重×(1−土壤含水率)],g; T 为培养温度,ºC.

1.3　氮添加处理后土壤理化指标的测定

氮添加培养实验结束后(第 15d),采集不同氮添加处理培养瓶内的土壤样品,测定 pH 值、盐度、NO_3^-、NH_4^+、SO_4^{2-}、Cl^-、TC、TN 和 SOC 含量等指标.运用 pH 值 400 便携式土壤 pH 值计(Spectrum Technologies Inc,美国)测定土壤 pH 值;运用失重法在 105℃烘干至恒重测定土壤含水率[38];使用便携式 Salt6+盐度计(Thermo Fisher Scientific,美国)测定土壤盐度.土壤 NO_3^-和 NH_4^+浓度测定:土样用 2mol/L KCl 浸提,运用 SAN^{++}连续流动注射分析仪测定(Skalar Analytical SAN^{++},荷兰);土壤 SO_4^{2-}和 Cl^-浓度测定:水土比 1:10,170r/min 转速震荡 4h,3400r/min 的速度离心 6min 提取上清液用 0.45μm 孔径的聚醚砜水相滤头过滤, 运用 ICS-2100 型离子色谱仪(赛默飞世尔科技公司,美国)测定.全碳(TC)和全氮(TN)采用碳氮元素分析仪(Elementar Vario MAX CN,德国)测定;土壤有机碳(SOC)使用碳氮元素分析仪器(Elementar Vario MAX,德国,碳素检测限为 0.01mg)测定,测定前先用浓度为 0.5mol/L HCl 去除土壤/沉积物中的无机碳,后用蒸馏水洗至中性并风干研磨,过 0.15mm 筛.

1.4　氮添加处理后土壤酶活性的测定

氮添加培养实验结束后(第 15d),收集培养瓶内土样,测定相关的土壤胞外酶活性.土壤胞外酶活性测定参考 Saiya-Cork 等[39]的实验方法.3 种水解酶活性:β-葡萄糖苷酶(BG)、纤维素水解酶(CBH)、β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)用伞形酮(MUB)作为标示底物来测定.2 种氧化酶活性:酚氧化酶(PH 值 O)、过氧化物酶(PEO)用 L-羟苯丙氨酸(DOPA)作为标示底物来测定,最后水解酶与氧化酶分别通过荧光度进行测定.具体操作步骤:取 3g 过 0.25mm 筛的鲜土,加入 125mL 浓度为 50mmol/L 的醋酸盐缓冲液(pH 值 5.0),用磁力搅拌器搅拌 5min 使其均质

化,随后静置.移液枪吸取200μL层清液,移入96孔微孔板(Perkin Elmer, Inc 美国),按要求加完样后,测定水解酶,将微孔板置于黑暗中 20℃孵育 4h 后,加入10μL/mol L NaOH,待停止反应,使用美国 Synergy H4 多功能酶标仪(设置为 365nm 激发光谱和 450nm 荧光扫描滤片)检测荧光度,单位为 nmol/(g·h).测定氧化酶将微孔板置于黑暗中 20℃孵育 18h,使用配置 450nm 吸光度的美国 Synergy H4 多功能酶标仪来测定胞外酶活性,单位为 μmol/(g·h).

1.5 氮添加处理后土壤 *mcrA* 丰度的测定

氮添加培养实验结束后(第 15d),收集培养瓶内土壤样品,使用土壤 DNA 提取试剂盒(天根生化科技,北京)对土壤样品进行 DNA 提取,选取产甲烷菌的 *mcrA* 功能基因进行实时荧光定量PCR分析,反应在定量 PCR 仪(iCycler iQ5BioRad,美国)上进行.实时 PCR 检测的前后引物分别为:F−*mcrA*(5′−GGTG−GTGTMGGDTTCACMCARTA−3′) 和 R−*mcrA*(5′−CGTTCATBGCGTAGTTVGGRTAGT−3′)[40].反应体系为 18μL,包括前后引物(10(μL)各 0.5μL, 2×Taq MasterMix 10μL,水 7μL.将质粒标准品从 10^1~10^5 进行 10 倍梯度稀释,每个梯度取 2uL 模板建立标准曲线,标准曲线方程 R^2=0.99.测试过程委托北京奥维森基因科技有限公司完成.

1.6 数据分析

文中 Pearson 相关分析、方差分析和线性回归分析等统计分析均采用 SPSS 26.0 软件完成.首先检验数据的正态分布和方差齐次性,不符合正态分布的数据需进行置换而后再分析.运用 Origin 8.0、R 语言对数据进行作图和计算.土壤理化性质、碳氮含量、酶活性、微生物丰度和土壤 CH_4 与 CO_2 产生速率指标的图和表中数值均以平均值(Mean)±标准差(Standard deviation)表示.

2 结果与分析

2.1 氮添加对淡水—多咸水沼泽湿地土壤胞外酶活性、*mcrA* 丰度的影响

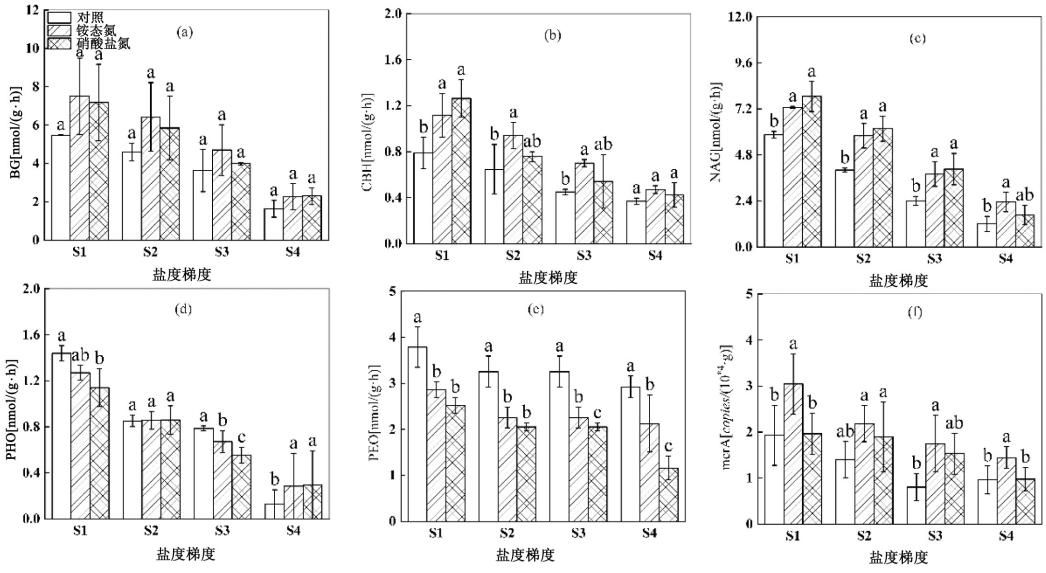


图 1 氮输入对淡水—多咸水沼泽湿地土壤胞外酶活性、*mcrA* 丰度的影响

Fig.1 Effects of nitrogen addition on extracellular enzyme activities and abundance of *mcrA* of the estuarine freshwater−polysaline marsh soils. Different lowercase letters above the columns indicate significant differences between treatments within the same salinity (P<0.05)

不同的小写英文字母表示同一盐度下的不同处理之间显著性差异,P<0.05,下图相同

添加铵态氮、硝酸盐氮对各盐度土壤 BG 活性影响均不显著.添加铵态氮显著增加淡水、寡咸水和中咸水土壤 CBH 活性,淡水、寡咸水、中咸水的对照组 CBH 活性分别为(5.48±0.02),(4.6±0.46),(3.63±1.11)nmol/(g·h),添加铵态氮 CBH 活性分别增加 41.9%、45.8%、55.9%,然而对多咸水湿地土壤无影响.添加硝酸盐氮显著增加淡水土壤 CBH 的活性,淡水的对照组 CBH 活性为(7.17±2.00),添加硝酸盐

氮 CBH 活性增加 60.9%,对寡咸水、中咸水和多咸水均无影响.添加铵态氮显著增加淡水到多咸水土壤 NAG 的活性,淡水到多咸水的对照组活性分别为(7.28±0.06),(5.8±0.64),(3.8±0.64) 和 (1.2±0.39)nmol/(g·h),添加铵态氮后分别增加 24.5%、44.4%、57.7%、94.3%. 添加硝酸盐氮增加淡水、寡咸水 NAG 的活性,淡水、寡咸水的对照组 NAG 活性分别为(7.28±0.06)和(5.8±0.64) nmol/(g·h),添加硝酸盐氮增加 7.8%、6.5%,对多咸水无影响.添加铵态氮分别增加和降低了寡咸水和中咸水土壤 PHO 活性,寡咸水和中咸水的对照组 PHO 活性分别为(0.67±0.09),(0.13±0.02)nmol/(g·h), 添加铵态氮分别降低和增加 49.3%和 17.1%.添加硝酸盐氮分别降低和增加淡水和多咸水土壤 PHO 活性,淡水和多咸水的对照组 PHO 活性分别为(1.14±0.16)和(0.3±0.02) nmol/(g·h),添加硝酸盐氮 PHO 活性分别降低 26.1%和增加 133.8%.铵态氮和硝酸盐氮输入均显著降低淡水至多咸水土壤 PEO 活性,淡水至多咸水的对照组 PEO 活性分别为 (2.86±0.17),(2.26±0.22),(2.13±0.62) 和 (1.86±0.19) nmol/(g·h),添加铵态氮分别降低 32.5%、44.1%、37.4%、25.6%;添加硝酸盐氮分别降低 50.2%、58.3%、197.9%、125.9%(图 1).

淡水、中咸水和多咸水土壤对照组 *mcrA* 活性分别为 (3.05±0.66),(2.19±0.39),(0.96±0.3)*copis**10^4/g,添加铵态氮分别显著增加 57.8%、117.3%和 50.6%;硝酸盐氮的输入对土壤 *mcrA* 丰度无显著影响.土壤盐度、施氮形态及其交互作用对河口芦苇沼泽湿地土壤胞外酶活性和甲烷产生功能基因 *mcrA* 丰度影响的双因子方差分析结果表明:盐度、施氮形态对河口沼泽湿地土壤 BG、CBH、NAG、PHO、PEO 和 *mcrA* 的活性具有显著的影响;淡水土壤 CBH、PHO 和 PEO 活性最高(表 2).

表 2　盐度、施氮形态及其交互作用对土壤胞外酶活性、*mcrA* 丰度影响的双因素方差分析

Table 2　Two-way ANOVA on the effects of salinity, nitrogen addition forms, and their interaction on soil extracellular enzyme activity and *mcrA* abundance

因素	BG [nmol/(g·h)]		CBH [nmol/(g·h)]		NAG [nmol/(g·h)]	
	F	*P*	*F*	*P*	*F*	*P*
盐度	32.52	<0.001	52.17	<0.001	226.95	<0.001
氮形态	5.45	<0.01	14.93	<0.001	44.02	<0.001
盐度*氮形态	0.39	0.88	2.70	<0.05	2.34	0.052
因素	PHO [nmol/(g·h)]		PEO [nmol/(g·h)]		*mcrA* [copis×10^4/g]	
	F	*P*	*F*	*P*	*F*	*P*
盐度	362.89	<0.001	73.27	<0.001	14.05	<0.001
氮形态	5.44	<0.01	85.86	<0.001	11.95	<0.001
盐度*氮形态	7.90	<0.001	2.39	<0.05	0.99	0.45

2.2　氮添加对淡水—多咸水沼泽湿地土壤 CH_4 与 CO_2 产生速率的影响

添加铵态氮显著增加淡水、寡咸水和中咸水土壤 CH_4 产生速率,淡水、寡咸水和中咸水的对照组土壤 CH_4 产生速率分别为(4.2±0.36), (3.59±0.30), (2.74±0.35)ng/(g·d),添加铵态氮 CH_4 产生速率分别增加 21.9%、23.6%、40.4%,多咸水对照组土壤 CH_4 产生速率为(2.55±0.26)ng/(g·d),添加铵态氮对多咸水土壤 CH_4 产生速率无影响.添加硝酸盐氮后淡水、寡咸水和中咸水土壤 CH_4 产生速率分别下降 16.56%、15.56%和 19.28%,但变化不显著(P>0.05);添加硝酸盐氮处理显著降低多咸水土壤 CH_4 产生速率 19.7%(图 2).

添加铵态氮显著增加寡咸水和中咸水土壤 CO_2 产生速率,寡咸水和中咸水的对照组土壤 CO_2 产生速率分别为(15.18±2.87),(14.65±2.38)μg/(g·d),添加铵态氮 CO_2 产生速率分别增加 19.4%和 13.1%,淡水和多咸水对照组土壤 CO_2 产生速率分别为(17.65±1.92)和(12.33±1.59)μg/(g·d),添加铵态氮对淡水和多咸水土壤 CO_2 产生速率无影响;添加硝酸盐氮显著增加寡咸水和中咸水土壤 CO_2 产生速率,分别增加 37.3%和 19.9%,然而对淡水和多咸土壤 CO_2 产生速率无影响.(图 2).

土壤盐度、施氮形态及其交互作用对河口芦苇沼泽湿地土壤 CH_4 和 CO_2 产生速率影响的双因子方差分析结果表明:土壤盐度、施氮形态以及两者的交互作用均对土壤 CH_4 和 CO_2 产生速率产生显著的影响;添加氮对 CO_2 产生速率具有显著影响,然而土壤

盐度以及盐度和施氮形态的其交互作用对于土壤 CO_2 产生速率无显著的影响(表 3).

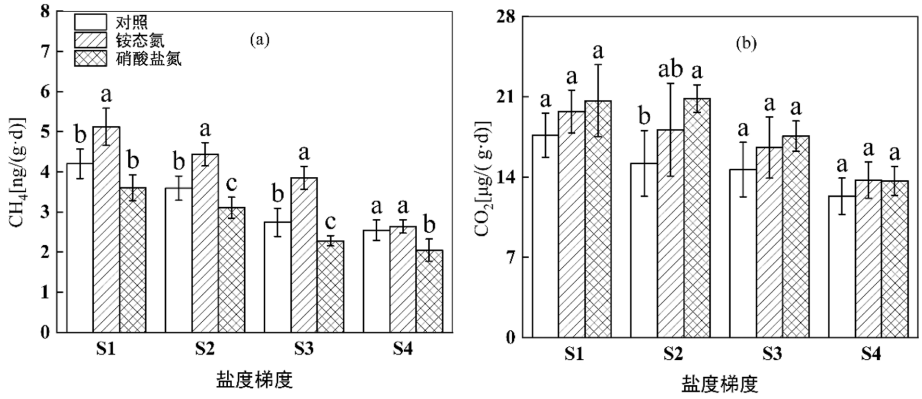


图 2 氮输入对淡水−多咸水梯度沼泽湿地土壤 CH_4 和 CO_2 产生速率的影响

Fig.2 Effects of additions of nitrate and ammonium on production rates of soil CH_4 and CO_2 of the estuarine freshwater−polysaline marsh soils. Different lowercase letters above the columns indicate significant differences between treatments within the same salinity ($p < 0.05$)

表 3 盐度、施氮形态及其交互作用对 CH_4 与 CO_2 产生速率影响的双因素方差分析

Table 3 Two−way ANOVA on the effects of salinity, nitrogen addition forms, and their interaction on CH_4 and CO_2 production rates

因素	CH_4[ng/(g·d)]		CO_2[μg/(g·d)]	
Factors	*F*	*P*	*F*	*P*
盐度	92.66	**<0.001**	15.68	**<0.001**
氮形态	70.55	**<0.001**	8.02	**<0.001**
盐度*氮形态	3.00	**<0.05**	0.62	0.71

2.3 氮添加情景下 CH_4 与 CO_2 产生速率与土壤因子的相关关系

氮输入增加情景下芦苇沼泽湿地土壤 SO_4^{2-}、NH_4^+含量对土壤 CH_4 产生潜力的贡献度最高,分别解释 16.60%、15.00%的土壤 CH_4 产生速率的变化,其次是 Cl^{-1}、pH 值、PHO 及 PEO 分别解释 13.20%、13.10%、11.00%和 9.90%的土壤 CH_4 产生速率的变化. NAG、盐度对沼泽湿地土壤 CO_2 产生潜力的贡献度最高,分别解释 14.00%、13.80%和 10.70%的土壤 CH_4 产生速率的变化,其次是 PHO、BG 和 TN,分别解释 10.70%、8.80%和 7.10%的土壤 CH_4 产生速率的变化(图 3).

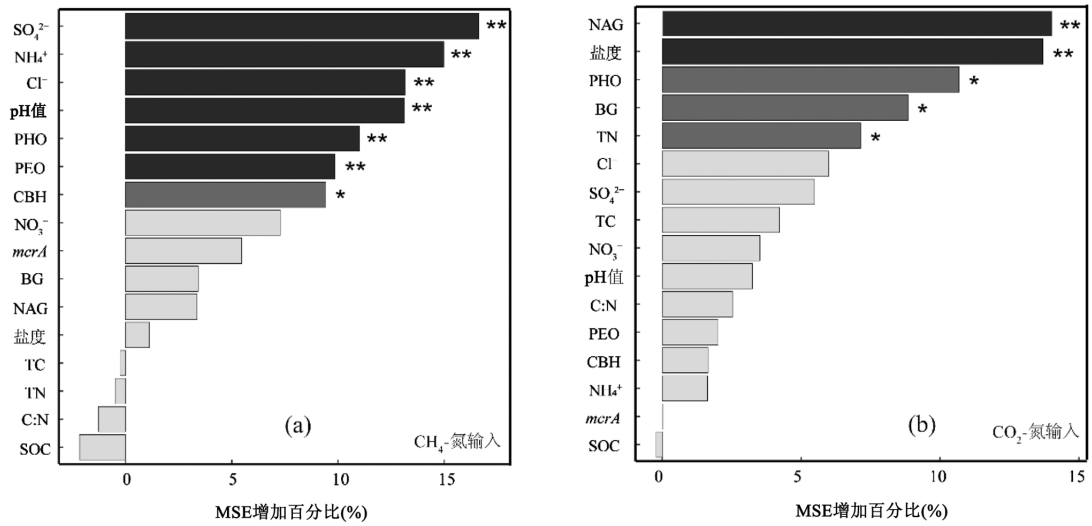


图 3 氮添加情景下河口沼泽土壤 CH_4 和 CO_2 产生潜力影响因子的相对重要性的随机森林分析结果

Fig.3 Results of random forest analysis of the relative importance of factors influencing CH_4 and CO_2 production rates in estuarine marsh soils under nitrogen inputs

*表示 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$

土壤 CH_4 和 CO_2 产生速率与环境因子和生物因子之间的相关关系如图 4 所示.施加铵态氮组(图 4(a)),CO_2 产生速率与 PH 值、BG、CBH、NAG 和 PHO 呈显著正相关,与 EC、SOC、Cl^-和 SO_4^{2-}呈负相关;CH_4 产生速率与 pH 值、BG、CBH、NAG、PHO 和 *mcrA* 呈显著正相关,与 EC、TC、Cl^-、SO_4^{2-}呈显著负相关. 施加硝酸盐氮组(图 4(b)),CO_2 产生速率与 pH 值、NO_3^-、BG、CBH、NAG 和 PHO 呈显著正相关,与 Cl^-、EC 和 SO_4^{2-}呈显著负相关;CH_4 产生速率与 pH 值、NO_3^-、BG、NAG、PHO 和 *mcrA* 呈显著正相关,与 EC、Cl^-、SO_4^{2-}呈显著负相关.

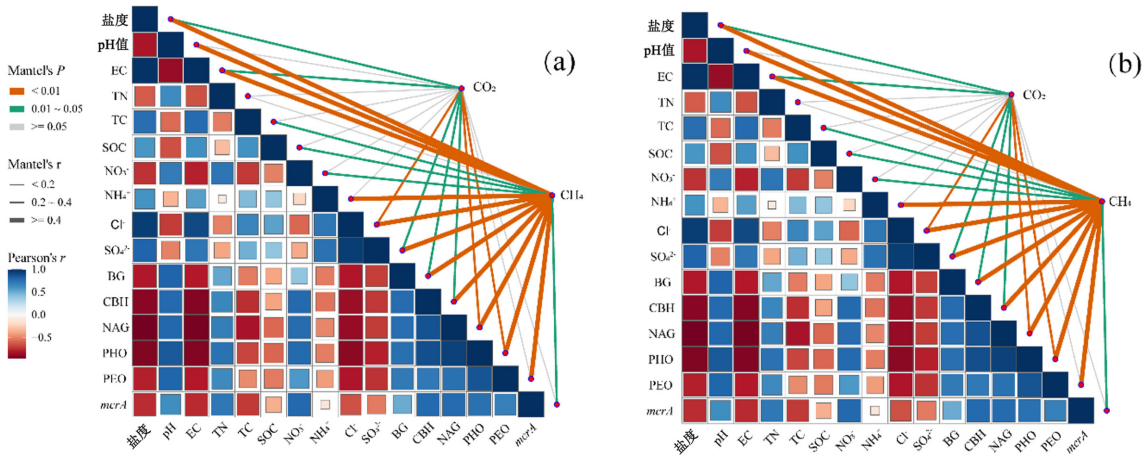
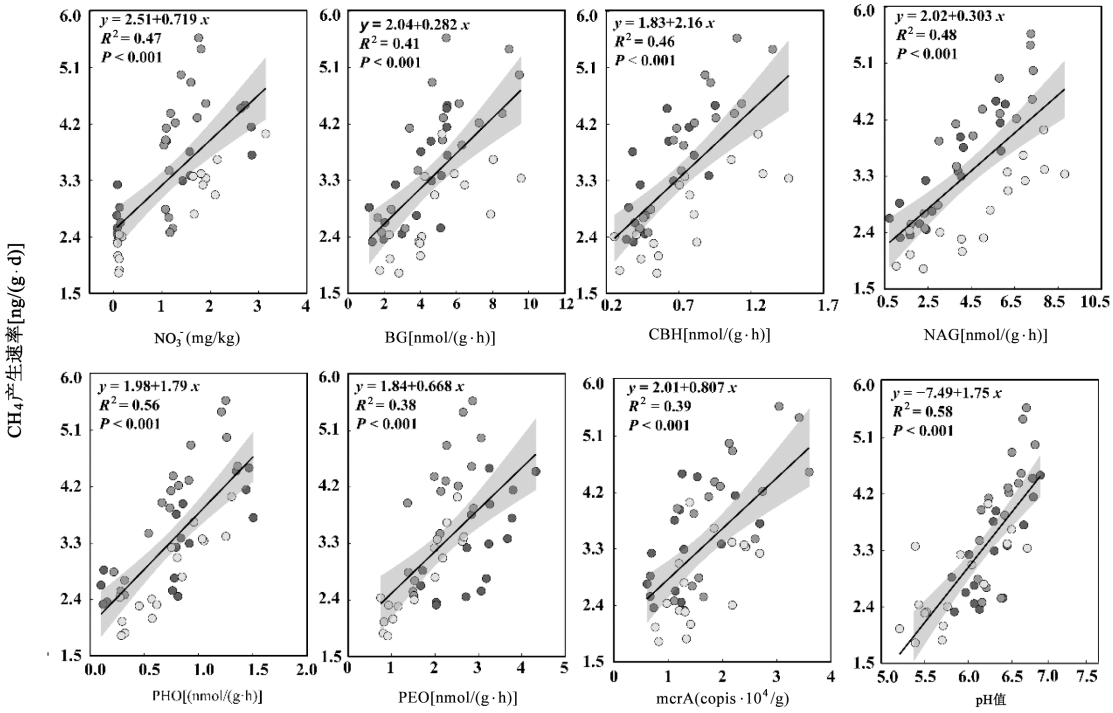


图 4　施氮情景下河口沼泽土壤 CH_4 和 CO_2 产生速率与影响因子的相关性

Fig.4　Correlation of between CH_4 and CO_2 production rates and impact factors of estuarine marsh soils under nitrogen application scenarios

氮添加情景下沼泽湿地土壤甲烷产生速率与土壤理化指标以及微生物因子的线性拟合关系见图 5 和图 6.土壤 CH_4 产生速率与 NO_3^-、Cl^-、BG、CBH、NAG、PHO、PEO、*mcrA*、pH 值及 TN 呈显著正相关关系;与 NH_4^+、SO_4^{2-}、EC 和盐度呈显著负相关关系.土壤 CO_2 产生速率与 NO_3^-、NAG、PHO、*mcrA* 呈显著正相关关系;与 NH_4^+、Cl^-、SO_4^{2-}、EC 及盐度呈现显著负相关关系.



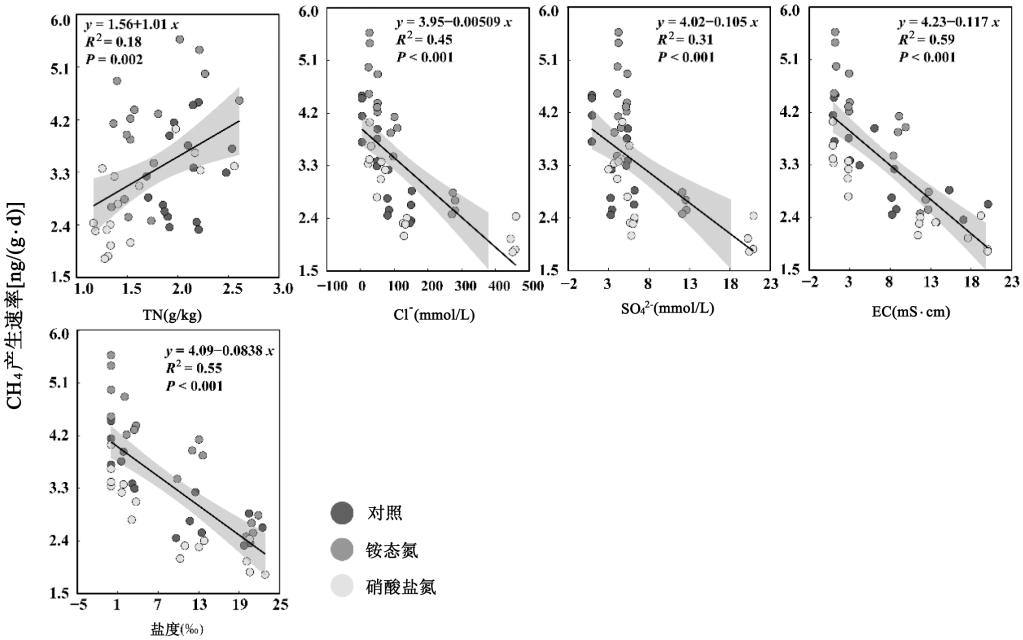


图 5 氮输入情景土壤 CH_4 产生速率与主要影响因子的相关线性回归拟合图

Fig.5 Linear regression of soil CH_4 production rates with major impact factors for the nitrogen addition

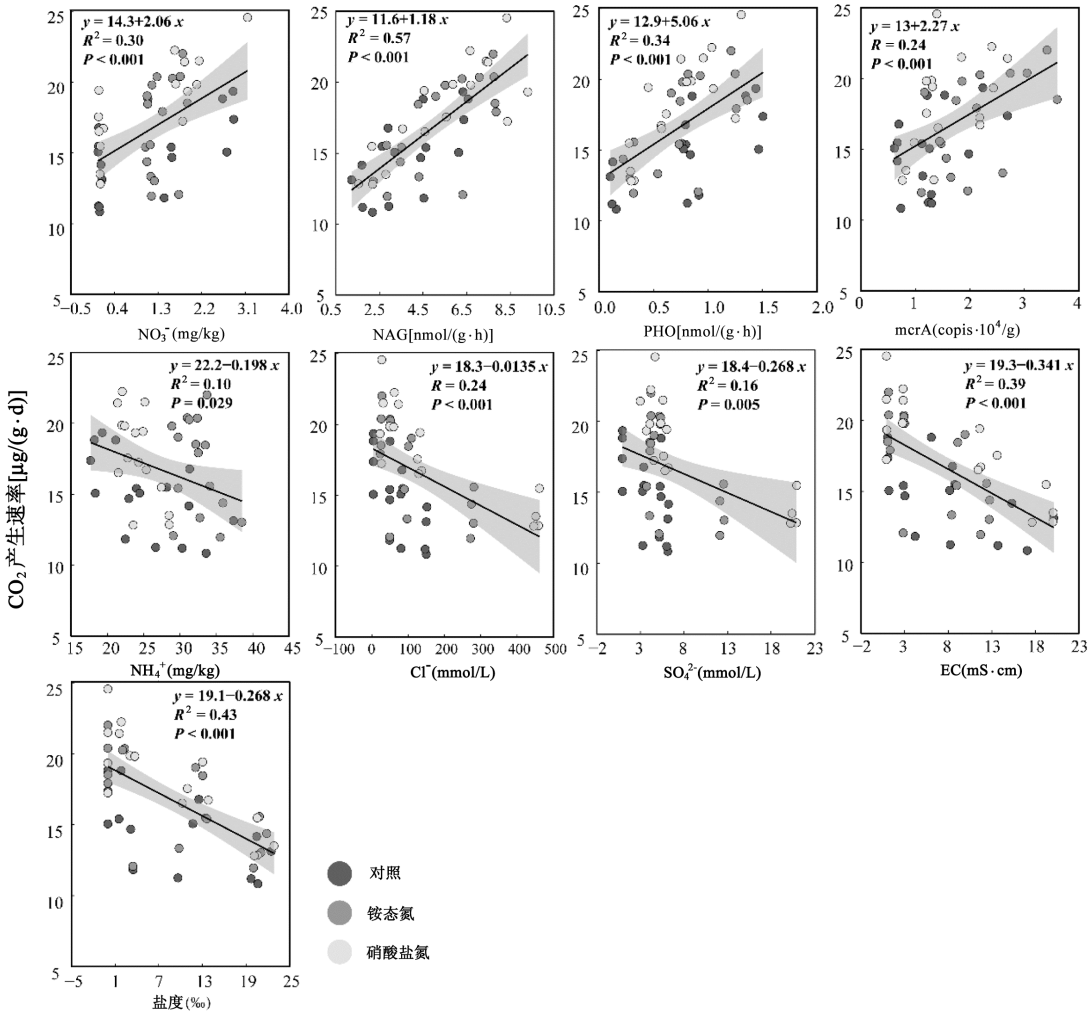


图 6 氮输入情景下土壤 CO_2 产生速率与主要影响因子的相关线性回归拟合图

Fig.6 Linear regression of soil CO_2 production rates with major impact factors for the nitrogen addition

3　讨论

3.1　氮负荷增加对不同盐度沼泽湿地土壤胞外酶活性和 *mcrA* 丰度的影响

土壤胞外酶活性在湿地生态系统物质循环中扮演着重要角色[41],受土壤物理、化学和生物性质的调控,对全球变化的响应显著[42].土壤胞外酶活性受可利用态碳氮计量比调控,微生物为维持自身元素比的稳定性,会根据土壤可利用态底物化学计量比分配代谢过程中的养分和能量,从而改变土壤酶的计量关系[43-44].本研究发现,施加铵态氮与硝酸盐氮后,土壤中 BG、CBH 与 NAG 活性均上升,PHO 和 PEO 活性下降,说明氮输入后,充足的氮输入能够增强微生物对碳资源的利用率,提高碳获取酶土壤胞外酶的合成和分泌与土壤的养分状态[45],同时也降低了微生物获取营养的总能量消耗.Jian 等[46]利用 65 篇研究氮添加对酶活性的影响的文章进行 meta 分析,结果表明氮添加通常会促进水解酶活性,尤其是 BG 与 CBH 在施氮后显著增加,这与本研究的结果一致.并且,由于微生物生产氧化酶所需能量高于水解酶,氮添加后促进水解酶分泌的同时也会抑制氧化酶的产生[47],导致 PHO 和 PEO 活性下降.本研究发现,氮添加后,土壤酶活性与 TC 和 SOC 均呈负相关关系(图 4),说明土壤碳底物含量与酶活性之间的相互影响关系,碳可利用性高通常会促进微生物生物量的增加,通常碳分解酶会随着微生物可利用碳底物的减少而降低[28].土壤 pH 值是控制微生物主要影响因素之一[48],本研究中土壤酶活性与土壤 pH 值呈现正相关关系(图 4),说明氮添加导致土壤 pH 值发生变化,造成微生物丰度与群落结构会发生显著变化.同时,本研究发现,铵态氮对 BG、CBH 活性的促进作用均高于硝酸盐氮,可能是因为铵态氮更易被微生物直接利用,减少氮获取的能量成本,氮添加后减少微生物对有机氮降解的依赖,使其更多分泌水解酶用于碳降解.此外,本研究中土壤酶活性与土壤盐度呈现负相关关系(图 4),土壤 5 种胞外酶活性在寡、中及多咸水中活性均下降,说明在不受其他环境因子调控时,盐度是影响酶活性的主导因素.Dang 等[26]的研究也表明,盐胁迫对酶活性具有抑制作用,高盐度可以通过影响分子稳定性和蛋白质状态,直接抑制胞外酶活性[48].

本研究发现,施加铵态氮后各盐度湿地土壤 *mcrA* 丰度显著增加,本研究结果与 Yin[10]研究结果一致.氮添加增加了湿地土壤 *mcrA* 丰度,碳/氮含量是影响产甲烷菌的关键因素.本研究中 *mcrA* 丰度与 TN、TC 呈现出相关关系(图 4),说明底物对于微生物起关键作用,底物的消耗直接反应产甲烷菌活性;本研究中 *mcrA* 丰度与土壤 pH 值呈现正相关关系(图 4),可推测是由于施加铵态氮后导致土壤 pH 值增加至产甲烷菌适宜生长范围.一般认为硝酸盐氮作为微生物代谢过程中的电子受体,硝酸盐氧化分解有机质发生在甲烷产生之前,因此通过降低底物可利用性,以及中间产物(如亚硝酸盐)毒害甲烷产生菌[49-50],可能降低产甲烷菌丰度.研究中施加硝酸盐氮未显著影响湿地土壤 *mcrA* 丰度,这一结果的原因尚不清晰.本研究发现,随着盐度增加,不同氮处理下的 *mcrA* 丰度均降低,这与其他研究结果一致,湿地土壤产甲烷菌受到盐度的直接影响[51].Vallcro 等[43]认为,盐度的增大可能影响厌氧发酵过程中电子受体的供应,导致产甲烷菌可利用底物发生变化从而影响其群落结构.根据本研究结果(图 4), *mcrA* 丰度与 EC 呈现出显著的相关性,表明湿地土壤盐度仍然是一个影响湿地产甲烷菌群落结构和数量的重要环境因子.

3.2　氮负荷增加对河口沼泽湿地土壤 CH_4 和 CO_2 产生的影响

不同形态氮输入对湿地土壤 CH_4 速率产生的影响不同[22].本研究发现,添加铵态氮显著增加淡水、寡咸水和中咸水土壤 CH_4 产生速率,以及寡咸水和中咸水土壤 CO_2 产生速率;而添加硝酸盐氮降低淡水至多咸水土壤 CH_4 产生速率,增加寡咸水和中咸水土壤 CO_2 产生速率.氮添加可以通过影响土壤理化性质,如土壤 pH 值和 TN 含量,以及微生物多样性和微生物功能基因的丰度等[32],因而对土壤 CH_4 和 CO_2 速率产生影响.铵态氮输入增加氮的可利用性,改变植被的构成和提高其生产力,促进有机质的输入[52],激发效应促进微生物活性,进而加速土壤有机碳的分解过程[53],刺激整个碳循环过程以及促进 CH_4 与 CO_2 产生.Zhao 等[54]研究发现:滨海沼泽湿地 CH_4 和 CO_2 的排放通量分别受到土壤碳水分解酶活性以及产甲烷菌的主要影响,Tollefson 等[55]也研究证明了微生物对湿地 CH_4 排放量的贡献率达 85%.

在本研究中添加铵态氮增加 CBH、NAG 和 *mcrA* 活性,且 CH_4 和 CO_2 产生速率与 CBH、NAG 和 *mcrA* 丰度呈正相关关系,说明碳循环相关胞外酶活性的增加促进碳的分解[56],增加土壤 CH_4 和 CO_2 产生速率.Yuan 等[57]研究外来植物入侵滨海湿地后 CH_4 产生速率的增加与 *mcrA* 基因的增加同步;以及 Kim 等[37]研究表明氮输入后 *mcrA* 丰度的增长是导致裸滩(45%)和碱蓬沼泽(3500%)的 CH_4 排放量显著增加的主要原因之一,说明氮限制条件下,氮输入可以促进 *mcrA* 的活性与 CH_4 产生速率.

一般认为:硝酸盐氮输入对湿地土壤 CH_4 产生速率具有抑制作用[19-21].本研究中,添加硝酸盐氮后淡水、寡咸水、中咸水土壤 CH_4 产生速率分别降低 16.56%、15.56% 和 19.28%,添加硝酸盐氮后多咸水湿地 CH_4 产生速率显著降低 19.7%.在本研究中,氮输入后土壤 CH_4 与土壤 pH 值呈显著正相关,说明 pH 值可能影响湿地植物对于氮素的吸收、甲烷产生底物的供给[58]以及土壤微生物群落结构[59-60],进而调控土壤 CH_4 产生速率.本研究中,添加硝酸盐氮土壤 NO_3^- 与 CO_2 的产生速率呈显著性正相关,说明硝酸盐氮添加后 NO_3^- 浓度增加,反硝化和硝酸盐还原过程增强,促进了有机质厌氧分解并产生 CO_2.

盐度是调控滨海湿地生态系统土壤氮循环过程的关键因素,土壤盐碱化可以通过影响氮循环微生物的群落结构和功能[61],或改变非生物因素[62],从而影响土壤氮循环过程.本研究发现,添加硝酸盐氮降低淡水、寡咸水和中咸水土壤 CH_4 产生速率,但不显著,而在多咸水情景下显著降低土壤 CH_4 产生速率.仝川等[22]认为氮输入可以通过多种影响机制,如微生物氮素供给、离子毒害和胁迫等来影响 CH_4 代谢微生物.因此,在淡水、寡咸水和中咸水情景下,硝酸盐氮的添加可能对微生物群落结构影响较小,或微生物群落具有一定的适应性,使得 CH_4 产生菌的活性未受到显著抑制,而在多咸水土壤,硝酸盐氮输入则更能减少甲烷产生底物的可利用性[63];并且在多咸水土壤中,高盐环境可能导致土壤氧化还原条件更加复杂,硝酸盐氮的添加可能通过改变氧化还原电位,抑制 CH_4 的产生[64].Neubauer 等[28]研究得出高盐度可以通过影响分子稳定性和蛋白质状态,硝酸盐氮输入则直接抑制 PHO 和 PEO 活性,从而导致土壤 CO_2 产生速率降低.

4 结论

4.1 氮添加对多咸水沼泽湿地土壤 CH_4 产生速率的影响与对淡水、寡咸水和中咸水沼泽湿地的影响不同.铵态氮添加显著增加淡水、寡咸水和中咸水沼泽湿地土壤 CH_4 产生速率,然而对多咸水沼泽湿地土壤 CH_4 产生速率无影响.硝酸盐氮添加后淡水、寡咸水和中咸水湿地土壤 CH_4 产生速率有所下降,但变化不显著,硝酸盐氮添加显著降低多咸水湿地土壤 CH_4 产生速率.铵态氮和硝酸盐氮添加均显著增加寡咸水和中咸水沼泽湿地土壤 CO_2 产生速率,而对淡水和多咸水沼泽湿地无显著影响.

4.2 铵态氮和硝酸盐氮添加显著增加不同盐度沼泽湿地土壤的 BG、CBH 和 NAG 的活性.

4.3 氮添加情景下, SO_4^{2-}、NH_4^+含量对土壤 CH_4 产生速率的贡献度最高, NAG、盐度对沼泽湿地土壤 CO_2 产生速率的贡献度最高.添加铵态氮情景下,CO_2 产生速率与 pH 值、BG、CBH、NAG 和 PH 值 O 呈显著正相关,与 EC、SOC、Cl^-和 SO_4^{2-}呈负相关; CH_4 产生速率与 pH 值、BG、CBH、NAG、PHO 和 *mcrA* 呈显著正相关,与 EC、TC、Cl^-、SO_4^{2-} 呈显著负相关. 添加硝酸盐氮情景下, CO_2 产生速率与 pH 值、NO_3^-、BG、CBH、NAG 和 PHO 呈显著正相关,与 Cl^-、EC 和 SO_4^{2-}呈显著负相关; CH_4 产生速率与 pH 值、NO_3^-、BG、NAG、PHO 和 *mcrA* 呈显著正相关,与 EC、Cl^-、SO_4^{2-}呈显著负相关.

参考文献:

[1] IIPCC, 2022. Climate change 2022: Mitigation of climate change [R]. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA.

[2] Segarra K E A, Comerford C, Slaughter J, et al. Impact of electron acceptor availability on the anaerobic oxidation of methane in coastal freshwater and brackish wetland sediments [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2013,115:15-30.

[3] 肖 颖,杨继松.辽河口滨海湿地土壤有机碳矿化及其与盐分的关系 [J]. 生态学杂志, 2015,34(10):2792-2798.
Xiao Y, Yang J S. Soil organic carbon mineralization and its relation with salinity in coastal wetland of Liaohe estuary [J]. Chinese Journal of Ecology, 2013,115:15-30.

[4] Bouillon S, Borges A V, Casta eda-moyae, et al. Mangrove production and carbon sinks: A revision of global budget estimates [J]. Global Biogeochemical Cycles, 2008,22:1-12.

[5] Huang Y, Ciais P, Luo Y, et al. Trade off of CO_2 and CH_4 emissions from global peatlands under water-table drawdown [J]. Nature

Climate Change, 2021,11(7):618−622.

[6] Vivanco L A, Irvine I C, Martiny J B. Nonlinear responses in salt marsh functioning to increased nitrogen addition [J]. Ecology, 2015,96(4):936−947.

[7] Hu Y, Zheng Q, Noll L, et al. Direct measurement of the in situ decomposition of microbial-derived soil organic matter [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2020,141:107660.

[8] Zhou M, Butterbach-Bahl K, Vereecken H, et al. A meta-analysis of soil salinization effects on nitrogen pools, cycles and fluxes in coastal ecosystems [J]. Global change biology, 2017,23(3):1338−1352.

[9] Wen X, Chen X, Jing X, et al. A meta−analysis of soil extracellular enzyme activities in response to global change [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018,123:21−32.

[10] Yin Z, Yu X, Zou Y, et al. Nitrogen addition effects on wetland soils depend on environmental factors and nitrogen addition methods: A meta−analysis [J]. Water, 2022,14(11):1748.

[11] Hu M J, Wilson B J, Sun Z G, et al.Effects of the addition of nitrogen and sulfate on CH_4 and CO_2 emissions, soil, and pore water chemistry in a high marsh of the Min River Estuary in southeastern China [J]. Science of the Total Environment, 2017,579:292−304.

[12] Kim J, Chaudhary D R, Kang H. Nitrogen addition differently alters GHGs production and soil microbial community of tidal salt marsh soil depending on the types of halophyte [J]. Applied Soil Ecology, 2020,150:103440.

[13] Larmola T, Leppänen S M, Tuittila E S, et al. Methanotrophy induces nitrogen fixation during peatland development [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014,111(2):734−739.

[14] Lucía V, Irvine Irina C, Martiny Jennifer B H.Nonlinear responses in salt marsh functioning to increased nitrogen addition [J]. Ecology, 2015,96(4):936−947.

[15] Bodelier P L E, Laanbroek H J. Nitrogen as a regulatory factor of methane oxidation in soils and sediments [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004,47(3):265−277.

[16] Liu L L, Greaver T L. A review of nitrogen enrichment effects on three biogenic GHGs: the CO_2 sink may be largely offset by stimulated N_2O and CH_4 emission [J]. Ecology Letters, 2009,12(10):1103−1117.

[17] Deng L, Huang C, Kim D G, et al. Soil GHG fluxes are altered by N deposition: New data indicate lower N stimulation of the N_2O flux and greater stimulation of the calculated C pools [J]. Global Change Biology, 2020,26(4):2613−2629.

[18] Wu J, Cheng X, Xing W, et al. Soil−atmosphere exchange of CH_4 in response to nitrogen addition in diverse upland and wetland ecosystems: A meta−analysis [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2022, 164:108467.

[19] Dong H, Yao Z, Zheng X, et al. Effect of ammonium−based, non−sulfate fertilizers on CH_4 emissions from a paddy field with a typical Chinese water management regime [J]. Atmospheric Environment, 2011,45(5):1095−1101.

[20] Yao Z, Zheng X, Dong H, et al. A 3−year record of N_2O and CH_4 emissions from a sandy loam paddy during rice seasons as affected by different nitrogen application rates [J]. Agriculture, ecosystems & environment, 2012,152:1−9.

[21] Morris J, Ye R Z, Silva L C R, et al. Nitrogen fertilization had no effect on CH_4 and N_2O emissions in rice planted in rewetted peatlands [J]. Soil Science Society of America Journal, 2017,81:224−232.

[22] 仝　川,罗　敏,谭　季.湿地甲烷代谢对氮输入响应的复杂性及其机制分析 [J]. 生态学报, 2024,44(4):1324−1335.
Tong C, Luo M, Tan J. Complexity of effects of nitrogen input on methane metabolism in wetlands and mechanism analysis [J]. Acta Ecologica Sinica, 2024,44(4):1324−1335.

[23] 曾志华,杨民和,佘晨兴,等.闽江河口区淡水和中盐水潮汐沼泽湿地土壤产甲烷菌多样性 [J]. 生态学报, 2014,34(10):2674−2681.
Zeng Z H, Yang M H, Yu X C, et al. Diversity of methanogen communities in tidal freshwater and brackish marsh soil in the Min River estuary [J]. Acta Ecologica Sinica, 2014,34(10):2674−2681.

[24] 王　纯,刘兴土,仝　川,等.水盐梯度对闽江河口湿地土壤有机碳组分的影响 [J]. 中国环境科学, 2017,37(10):3919−3928.
Wang C, Liu X S, Tong C, et al. Effects of hydrologic and salinity gradients on soil organic carbon composition in Min River Estuarine wetland [J]. China Environmental Science, 2017,37(10):3919−3928.

[25] Chambers L G, Osborne T Z, Reddy K R. Effect of salinity−altering pulsing events on soil organic carbon loss along an intertidal wetland gradient: a laboratory experiment [J]. Biogeochemistry, 2013,115:363−383.

[26] Dang C, Morrissey E M, Neubauer S C, et al. Novel microbial community composition and carbon biogeochemistry emerge over time following saltwater intrusion in wetlands [J]. Global change biology, 2019,25(2):549−561.

[27] Servais S, Kominoski J S, Charles S P, et al. Saltwater intrusion and soil carbon loss: Testing effects of salinity and phosphorus loading on microbial functions in experimental freshwater wetlands [J]. Geoderma, 2019,337:1291−1300.

[28] Neubauer S C, Franklin R B, Berrier D J. Saltwater intrusion into tidal freshwater marshes alters the biogeochemical processing of organic carbon [J]. Biogeosciences, 2013,10(12):8171−8183.

[29] Baldwin D S, Rees G N, Mitchell A M, et al. The short−term effects of salinization on anaerobic nutrient cycling and microbial community structure in sediment from a freshwater wetland [J]. Wetlands, 2006, 26:455–464.

[30] Vizza C, West W E, Jones S E, et al. Regulators of coastal wetland methane production and responses to simulated global change [J]. Biogeosciences, 2017,14(2):431−446.

[31] Minick K J, Mitra B, Noormets A, et al. Saltwater reduces potential CO_2 and CH_4 production in peat soils from a coastal freshwater forested wetland [J]. Biogeosciences, 2019,16(23):4671−4686.

[32] Marton J M, Herbert E R, Craft C B. Effects of salinity on denitrification and greenhouse gas production from laboratory−incubated tidal forest soils [J]. Wetlands, 2012,32:347−357.

[33] Odum W E. Comparative ecology of tidal freshwater and salt marshes [J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 1988,19:147−176.

[34] Bergman I, Klarqvist M, Nilsson M. Seasonal variation in rates of methane production from peat of various botanical origins: Effects of temperature and substrate quality [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2000,33(3):181−189.

[35] Mou X, Liu X, Sun Z, et al. Short−term effect of exogenous nitrogen

on N_2O fluxes from native and invaded tidal marshes in the Min River Estuary, China [J]. Wetlands, 2019,39:139−148.

[36] Kim J, Chaudhary D R, Kang H. Nitrogen addition differently alters GHGs production and soil microbial community of tidal salt marsh soil depending on the types of halophyte [J]. Applied Soil Ecology, 2020,150:103440.

[37] Wassmann R, Neue H U, Bueno C, et al. Methane production capacities of different rice soils derived from inherent and exogenous substrates [J].Plant and Soil, 1998,203(2):227−237.

[38] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法 [M]. 北京:中国农业科技出版社, 2000:269−290.
Lu R K.Methods of Soil and Agro−Chemical Analysis [M]. China Agricultural Science and Technology Press, 2000:269−290.

[39] Saiya−Cork K R, Sinsabaugh R L, Zak D R, et al. The effects of long−term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an Acer saccharum forest soil [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(9):1309−1315.

[40] Steinberg L M, Regan J M. *mcrA* −targeted real−time quantitative PCR method to examine methanogen communities [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009,75(13):4435−4442.

[41] Wallenstein M D, Burns R G. Ecology of extracellular enzyme activities and organic matter degradation in soil: A complex community- driven process [J]. Methods of soil enzymology, 2011,9:35−55.

[42] Burns R G, DeForest J L, Marxsen J, et al. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013,58:216−234.

[43] Vallcro M V G, Pol L W H, Lettinga G, et al. Effect of NaCl on thermophilic (55℃) methanol degradation in sulfate reducing granular sludge reactors [J]. Water Research, 2003,37(10):2269−2280.

[44] Soong J L, Marañon−Jimenez S, Cotrufo M F, et al. Soil microbial CNP and respiration responses to organic matter and nutrient additions: evidence from a tropical soil incubation [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018,122:141−149.

[45] Hobbie J E, Hobbie E A. Microbes in nature are limited by carbon and energy: the starving−survival lifestyle in soil and consequences for estimating microbial rates [J]. Front Microbiol, 2013,12(4):324.

[46] Jian S, Li J, Chen J I, et al. Soil extracellular enzyme activities [J]. soil carbon and nitrogen storage, 2016,101:32−43.

[47] Shackle V J, Freeman C, Reynolds B. Carbon supply and the regulation of enzyme activity in constructed wetlands [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000,32(13):1935−1940.

[48] Yang S, Xu Z, Wang R, et al. Variations in soil microbial community composition and enzymatic activities in response to increased N deposition and precipitation in Inner Mongolian grassland [J]. Applied Soil Ecology, 2017,119:275−285.

[49] Nan Q, Fang C, Cheng L, et al. Elevation of NO_3^-−N from biochar amendment facilitates mitigating paddy CH_4 emission stably over seven years [J]. Environmental Pollution, 2022,295:118707.

[50] Ni Y, Zheng Y, Hou L, et al. Microbial dynamics and activity of denitrifying anaerobic methane oxidizers in China's estuarine and coastal wetlands [J]. Science of The Total Environment, 2022,806:150425.

[51] 展鹏飞,黄佳芳,佘晨兴,等.脉冲式盐水及 Fe(Ⅲ)施加对河口感潮淡水湿地土壤产甲烷菌和硫酸盐还原菌群落结构和数量的影响 [J]. 环境科学学报, 2020.40(7):2599−2610.
Zhan P F, Huang J F, Yu C X, et al. Effects of saltwater and Fe(Ⅲ) pulses on community structure and abundance of methanogens and sulfate−reducing bacteria in tidal freshwater marsh of the Min River estuary [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2020,40(7):2599−2610.

[52] Tao B, Song C, Guo Y.Short−term effects of nitrogen additions and increased temperature on wetland soil respiration, Sanjiang Plain, China [J]. Wetlands, 2013,33(4):727−736.

[53] 白军红,刘 玥,赵庆庆,等.水盐变化对滨海湿地土壤有机碳累积与碳排放的影响综述 [J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2022, 58(3):447−457.
Bai J H, Liu Y, Zhao Q Q, et al. Soil organic carbon accumulation and decomposition in coastal wetlands in the changing water and salinity conditions: a review [J]. Beijing Normal University, 2022,58(3):447−457.

[54] Zhao Q, Bai J, Zhang G, et al. Effects of water and salinity regulation measures on soil carbon sequestration in coastal wetlands of the Yellow River Delta [J]. Geoderma, 2018,319:219−229.

[55] Tollefson J. Scientists raise alarm over'dangerously fast' growth in atmospH 值 eric methane [J]. Nature, 2022.

[56] Du Y, Guo P, Liu J, et al. Different types of nitrogen deposition show variable effects on the soil carbon cycle process of temperate forests [J]. Global change biology, 2014,20(10):3222−3228.

[57] Yuan J, Liu D, Ji Y, et al. *Spartina alterniflora* invasion drastically increases methane production potential by shifting methanogenesis from hydrogenotrophic to methylotrophic pathway in a coastal marsh [J]. Journal of Ecology, 2019,107(5):2436−2450.

[58] Ye R Z, Jin Q S, Bohannan B, et al. pH controls over anaerobic carbon mineralization, the efficiency of methane production, and methanogenic pathways in peatlands across an ombrotrophic− minerotrophic gradient [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012,54:36−47.

[59] Söderberg K H, Baath E. The influence of nitrogen fertilisation on bacterial activity in the rhizosphere of barley [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004,36(1):195−198.

[60] Kotsyurbenko O R, Friedrich M W, Simankova M V, et al.Shift from acetoclastic to H_2−dependent methanogenesis in a West Siberian peat bog at low ph values and isolation of an acidophilic *Methanobacterium* strain [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007,73(7):2344−2348.

[61] Bernhard A E, Dwyer C, Idrizi A, et al. Long−term impacts of disturbance on nitrogen−cycling bacteria in a New England salt marsh [J]. Frontiers in Microbiology, 2015,6:46.

[62] Teixeira C, Magalhães C, Joye S B, et al. The role of salinity in shaping dissolved inorganic nitrogen and N_2O dynamics in estuarine sediment–water interface [J]. Marine pollution bulletin, 2013,66(1/2): 225−229.

[63] Reay D S, Nedwell D B. Methane oxidation in temperate soils: effects of inorganic N [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004,36(12):2059−2065.

[64] Paul L E, Bodelier, Hendrikus J, et al. Nitrogen as a regulatory factor of methane oxidation in soils and sediments [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004,47:265−277.

作者简介：刘思琪(2001−),女,江西九江人,福建师范大学硕士研究生,主要从事河口湿地生物地球化学循环的研究.964801187@qq.com.