



湿地微生物介导的甲烷排放机制

顾航, 肖凡书, 贺志理, 颜庆云*

中山大学环境科学与工程学院, 环境微生物组学研究中心, 广东 广州 510006

摘要: 湿地生态系统是陆地上巨大的有机碳库, 同时也是大气中甲烷(CH_4)的主要排放源。由于 CH_4 对全球的增温潜能是 CO_2 的 34 倍, 因此关于湿地 CH_4 排放在全球气候变化中有关碳汇、碳源的研究具有极其重要的意义。全球 80%–90% 的 CH_4 排放离不开微生物活动, 湿地生态系统中产 CH_4 菌和 CH_4 氧化菌的种类组成、数量及功能与 CH_4 通量密切相关, 但基于湿地生态系统中介导 CH_4 循环的功能微生物对甲烷排放通量的影响及作用机制研究相对比较分散。为更好地认识微生物介导的 CH_4 排放过程的微生物调控机制, 本文综述了湿地生态系统中参与 CH_4 循环的功能微生物, 对介导 CH_4 循环相关微生物活性的影响因子进行了回顾, 重点总结了湿地生态系统微生物介导的 CH_4 排放机制, 并对未来的相关研究方向进行了展望。由于湿地微生物介导的碳循环过程也可能决定了湿地生态系统对全球气候变暖的反馈, 因此本文也能为全球气候变化研究提供微生物方面的参考。

关键词: 湿地, 微生物, 甲烷(CH_4), 温室气体, 全球变暖

全球气候变暖已广泛为大家所关注^[1], 人类活动及自然排放的温室气体所产生的温室效应是目前公认的全球变暖的主要原因^[2-3]。 CH_4 是大气中仅次于 CO_2 的第二大温室气体, 其温室效应贡献率约为 23%^[4]。自工业革命以来, 大气中 CH_4 浓度已由 $0.72 \mu\text{mol/mol}$ (体积分数) 上升到 2012 年的 $1.82 \mu\text{mol/mol}$, 是工业革命前的近 2.5 倍^[5]。最近 20 年来, 大气中 CH_4 浓度的增加速率是 CO_2 的 100 倍^[6], 且大气甲烷浓度仍以每年 1.0%–1.2% 的速度

在递增^[7]。大气 CH_4 来源可分为人为源和自然源, 其中人为源约占三分之二, 主要包括畜牧、稻田、采煤、油气工业、垃圾填埋以及生物质燃烧等, 而湿地是 CH_4 排放最主要的自然源^[8]。

湿地被誉为“地球之肾”, 是陆地上生物多样性最丰富且生产力最高的生态系统^[9]。虽然全球湿地面积仅占陆地面积的 4%–6%^[10], 但湿地生态系统碳贮藏量占全球的 20%–30%^[11-12], 其储量约为 $770 \times 10^8 \text{ t}$, 占陆地生物圈碳素的 35%, 是全球最

基金项目: 中山大学“百人计划”(38000-18821107); 中山大学“千人计划”(38000-18821105)

*通信作者。Tel: +86-20-31561769; E-mail: yanqy6@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2017-11-05; 修回日期: 2018-01-10; 网络出版日期: 2018-01-24

大的碳库^[13]。湿地也一直被认为是大气 CO₂ 的重要碳汇^[14]，湿地植物通过光合作用固定大量的 CO₂，而呼吸作用又释放一定量的 CO₂。植物地上部分和死根残留在沉积物中形成沉积有机质，一部分有机质经微生物分解再次以 CO₂ 的形式释放到大气中，而另一部分有机碳和无机碳在湿地中积累^[15]。另一方面，由于湿地水体的厌氧环境，且拥有大量微生物，因此被固定的碳在湿地环境中会通过呼吸作用或微生物的分解作用再次释放到大气中，碳释放以 CO₂ 和 CH₄ 为主。由于湿地有机物的高储量，湿地生境是大气 CH₄ 的主要自然来源^[16]，全世界每年约有 11×10^{13} g CH₄-C 是来自湿地释放，湿地每年向大气中排放的 CH₄ 约占全球 CH₄ 排放总量的 15%–30%，占全球自然源排放总量的 75%^[17–18]，因此湿地也扮演着 CH₄ 源的角色。2016 年 170 多个国家共同签署《巴黎协定》，承诺将全球气温升高幅度控制在工业革命前的 2 °C 范围之内，因此，湿地的碳源和碳汇功能研究成为全球气候变化研究关注的焦点。

湿地生态系统向大气排放 CH₄ 取决于其中产 CH₄ 古菌和 CH₄ 氧化菌活动的平衡。在厌氧条件下，有机物经过 CH₄ 菌的发酵作用产生 CH₄；而在有氧的条件下，CH₄ 被 CH₄ 氧化菌氧化成 CO₂ 释放到大气中，近年来不同的厌氧甲烷氧化机制也不断被发现。CH₄ 的好氧化被认为是湿地系统中 CH₄ 最主要的汇，该反应可氧化湿地中产生的 50% 以上的 CH₄^[19]。产 CH₄ 菌和 CH₄ 氧化菌是介导湿地 CH₄ 循环的重要功能菌群，探索湿地生态系统中产 CH₄ 菌和 CH₄ 氧化菌的多样性和调控机制有助于深入认知湿地 CH₄ 代谢循环的微生物学机制，为最终有效调控湿地 CH₄ 代谢、减少 CH₄

排放通量提供科学依据。为此，本文对湿地生态系统微生物介导的 CH₄ 排放机制进行了综述，并就湿地生态系统影响介导 CH₄ 循环微生物的因子进行了回顾。

1 湿地产甲烷菌及其影响机制

1.1 湿地甲烷产生原理

甲烷产生是严格的厌氧过程(图 1)，有机物质一般由 3 种不同的菌群通过以下步骤进行分解：(1) 水解作用：复杂有机物质经水解发酵菌合成的水解酶作用转变成单糖类物质，并进一步发酵成脂肪酸、CO₂ 和 H₂；(2) 在产氢产乙酸菌作用下，脂肪酸氧化生成乙酸、CO₂ 和 H₂；(3) 乙酸、H₂ 和 CO₂ 分别被乙酸型和氢型产甲烷古菌利用产生甲烷^[20]。其中，同型产乙酸细菌也可将 H₂ 和 CO₂ 转变成乙酸，并由乙酸型产甲烷古菌转变成甲烷。东秀珠等^[21]在青藏高原若尔盖湿地冻土中分离到 1 株专性嗜冷产甲烷古菌 *Methanlobus psychrophilus* R15，研究表明该菌以甲醇、甲基硫化物为底物产生甲烷，即甲基化合物营养型产甲烷作用，而不是氢营养型或乙酸型产甲烷。Lang 等^[22]对白蚁肠道中富集培养的第七目产甲烷菌“*Candidatus Methanoplasma termitum*”进行基因组测序和生理实验表明，它们和专性甲基型产甲烷古菌不同点在于缺少将 CO₂ 还原为甲基辅酶 M 的完整路径，其正常生长需要通过额外添加 H₂ 以还原甲醇、甲胺、二甲胺等底物来产生甲烷，因此该菌既不是典型甲基型产甲烷古菌也不是氢型产甲烷古菌，属于两者的混合营养型。虽然以上菌种目前还没有被正式有效认可，但这将有助于进一步完善产甲烷菌的代谢途径研究。

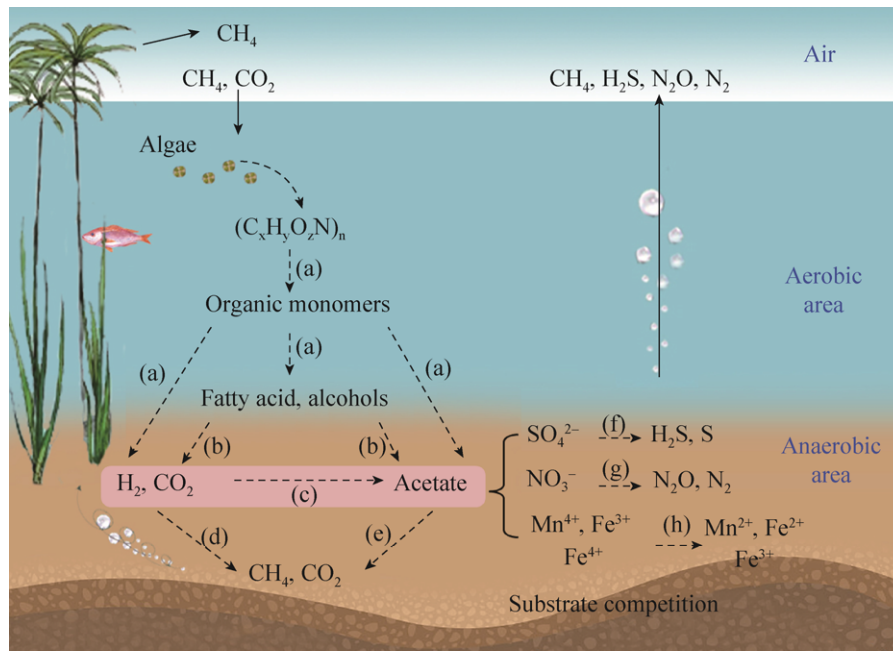


图 1. 湿地甲烷产生原理和影响机制

Figure 1. The method and impact mechanism of methane production in wetland. a: fermenting bacteria; b: syntrophic bacteria; c: homoacetogenic bacteria; d: methanogens using H_2 and CO_2 ; e: methanogens using acetate; f: sulfate-reducing bacteria; g: denitrifying bacteria; h: Fe, Mn reducing bacteria.

目前已发现的产甲烷菌属于广古菌门 (Euryarchaeota), 共由 7 个目组成, 分别为甲烷火球菌目 (Methanopyrales)、甲烷球菌目 (Methanococcales)、甲烷杆菌目 (Methanobacteriales)、甲烷微菌目 (Methanomicrobiales)、甲烷八叠球菌目 (Methanosarcinales)、甲烷胞菌目 (Methanocellales)^[23] 和 Methanoplasmatales^[24]/Methanomassiliicoccales^[25-26]。产甲烷的关键酶是甲基辅酶 M 还原酶 MCR (Methyl coenzyme M reductase), 目前广泛使用 *mcrA* 作为鉴别产甲烷菌的功能基因, Dziewit 等^[27] 设计测试了 4 种引物分别作用于产甲烷菌的标记基因 *mcrB* 和 *mcrG* (存在于所有产甲烷菌)、*mtaB* 和 *mtbA* (只存在于甲基营养型产甲烷菌), 结果表明, 基于 *mcrB* 和 *mcrG* 分子标记基因的高通量测序分辨率比 *mcrA* 高, 将 *mcrB*、*mcrG*、*mcrA* 和

16S rRNA 分子标记基因联用使得复杂的产甲烷菌获得更全面的分类多样性信息, 而 *mtaB* 和 *mtbA* 可特异性用于甲基营养型产甲烷菌的检测与分析。

不同湿地中产甲烷菌类型及产甲烷贡献率存在异质性, Söllinger 等^[28] 在 16 个欧洲北部泥炭湿地系统中发现第七目产甲烷菌 Methanomassiliicoccales 也广泛分布, Methanomassiliicoccales 是近几年在人类和动物肠道或瘤胃发现的新型产甲烷菌目, 初步的数据显示其在湿地中占总产甲烷菌的丰度较低, 因此不是湿地甲烷排放的主要贡献者。Zhang 等^[29] 在中国青藏高原若尔盖泥炭沼泽发现了一类新的嗜低温产甲烷菌 Zoige cluster I, 属于 Methanosarcinales, 占到产甲烷菌总量的 30%, 但是产甲烷能力相对较弱, 此外 Methanomicrobiales

也是该湿地主要的产甲烷菌。Horn 等^[30]对德国中东部沼泽湿地的研究发现, 该湿地不存在乙酸发酵型产甲烷菌, 产甲烷菌主要为 *Methanomicrobiales* 和 *Methanobacteriaceae* 等, 只能利用 H_2/CO_2 还原产甲烷。据报道湿地产甲烷菌主要利用 H_2/CO_2 还原产生甲烷^[31-32], 也有人认为湿地产甲烷菌主要以乙酸发酵型产甲烷菌为主, 其产生的甲烷占湿地甲烷总产生量的 67% 以上^[20]。

此外, 不同地区或相同地区不同植被下, 产甲烷菌种类和甲烷产率也存在着较大异质性, 主要是由于温度、底物、植物、pH 和硫酸盐、硝酸盐、金属等环境因子的影响。

1.2 温度对湿地产甲烷菌的影响机制

温度通过影响产甲烷菌的代谢速率和底物供应, 成为控制不同类型湿地生态系统甲烷排放的重要因子之一^[33-34]。产甲烷菌对温度变化非常敏感, 一般只能在 0–35 °C 保持相对较高的活力, 当然, 也存在极端环境的产甲烷古菌, 可分为嗜热菌(最适温度 55 °C 左右)、极端嗜热菌(最适温度高于 80 °C)、嗜冷菌(最适温度低于 0 °C)^[34]。由于酶的活性影响, 产甲烷菌存在着功能发挥的最适生长温度, 否则, 产甲烷菌活性都会受到不同程度的抑制。Hoj 等^[35]研究了温度变化对湿地生态系统产甲烷菌群落结构和多样性的影响, 结果表明, 随着温度增高, 产甲烷菌群多样性和数量增加, 与此同时甲烷产率也相应地增加; 而且温度越高, 对温度变化不敏感的产甲烷菌成为优势菌群。Yvon-Durocher 等^[36]研究了湿地在季节性温度增加下, 产甲烷菌产生更多的甲烷排放量, 并指出全球变暖将使湿地贡献更多的温室气体从而成为不可忽视的甲烷排放源。Avery 等^[37]通过添加 ^{14}C 标记底物, 发现美国北卡罗莱纳州 White Oak 河

流沉积物中甲烷产生总速率、乙酸发酵产甲烷速率和氢营养型产甲烷速率均随着培养温度升高呈指数增长, 表明 CO_2 还原和乙酸发酵产甲烷都受控于温度。但是, 也有研究认为, 温度通过影响产甲烷底物供应, 进而影响土壤产甲烷菌功能的发挥, 例如 Conrad^[38]认为低温降低了产 H_2 细菌的活性, 而间接影响产甲烷菌的甲烷产生量, Saarnio 等^[39]认为低温限制了根系分泌物的分解, 从而减少了产甲烷底物的供应, 抑制了甲烷的产生和排放。

1.3 底物对湿地产甲烷菌的影响机制

产甲烷菌能够利用的底物十分有限, 仅包括几种分子结构简单的小分子物质, 如 H_2 、 CO_2 、乙酸盐、甲酸盐、甲基化合物(甲醇、甲胺、三甲胺以及二甲基硫)等^[40]。充足的底物供应和适宜的产甲烷菌生长环境是甲烷产生的先决条件, Vizza 等^[41]在湿地沉积物中添加有机物后产甲烷量显著提高了 75%; Lin 等^[42]发现, 氢营养型产甲烷菌都存在于两种底物条件不同的沼泽湿地中, 而乙酸型产甲烷菌只存在于其中一个湿地, 证明了底物的不同可决定产甲烷菌的活性和甲烷产生途径。

1.4 植物对湿地产甲烷菌的影响机制

植物通过根系分泌物和植物残体为产甲烷菌提供底物, 从而影响甲烷产生。Galand 等^[43]对芬兰中部不同植物类型沼泽甲烷产生途径和产甲烷菌多样性的研究发现, 产甲烷菌群落差异的原因在很大程度上与植物类型有关。Malmer 等^[44]对维管束植物和泥炭藓植物进行研究表明, 维管束植物根系较非通气组织的泥炭藓植物要发达, 在土壤中分布也更深, 根系可以穿透到厌氧层, 将碳源如乙酸等输送到深部泥炭层, 这类植物生长的泥炭湿地以乙酸发酵型产甲烷菌为主或两者同时

存在。对于缺少维管束植物的泥炭湿地，由植物分泌的活性有机碳很少进入到泥炭土壤的厌氧层，仅有惰性而陈旧的泥炭可以用作产甲烷菌的底物，此类泥炭沼泽多以 H_2/CO_2 产甲烷途径产生 CH_4 ，为氢营养型产甲烷菌^[32]。因此，不同的植被类型不同的生长特征对产甲烷菌群落有着直接的影响。

1.5 pH 对湿地产甲烷菌的影响机制

大多数产甲烷菌最适 pH 为 6.0–8.0，其在 pH 极端环境下仍存在较高的多样性，不同 pH 环境影响产甲烷菌的代谢途径。Kotsyurbenko 等^[45]在西伯利亚泥炭湿地的研究发现，当 pH 从 4.8 降到 3.8 时，产甲烷菌由乙酸型代谢途径转变为氢营养型，且物种丰富度显著降低，这表明产甲烷菌对 pH 的变化相当敏感；Gorres 等^[46]在丹麦沼泽湿地土壤中发现，pH 3.2–4.4 环境下未测到产甲烷菌，在 pH 3.9–4.6 土壤中检测到的产甲烷菌为氢营养型，而 pH 5.0–5.3 土壤中的产甲烷菌同时包括氢营养型和乙酸型，这说明产甲烷菌一方面对外界 pH 变化具有较强的敏感性，另一方面其对特定生境也具有一定的适应能力。

1.6 硫酸盐、硝酸盐、金属还原过程对湿地产甲烷菌的影响机制

湿地生态系统中，厌氧条件下微生物介导的还原过程还包括硫酸盐、硝酸盐、亚硝酸盐、金属还原等，它们与产甲烷菌都参与有机物的代谢过程，研究表明，湿地中产甲烷古菌丰度与硫酸盐、硝酸盐、金属还原相关微生物呈现负相关，主要是因为这些微生物通常与产甲烷古菌竞争利用乙酸、 H_2 等底物，从而抑制产甲烷菌的生长^[47]。

(1) 硫酸盐还原：Olsson 等^[8]对硫酸盐含量丰富的辽河三角洲海滨湿地研究发现，当硫酸盐浓度 >

$18 \times 10^{-6} \mu\text{g/g}$ 时明显抑制 CH_4 产生；Vizza 等^[41]在反应器中分别于潮汐盐水湿地和淡水湿地的沉积物中添加等量有机碳，结果潮汐湿地沉积物中产生的甲烷比淡水湿地少，主要是因为潮汐湿地中丰富的硫酸盐还原菌显著抑制了产甲烷菌的活性；(2) 硝酸盐、亚硝酸盐还原：Kim 等^[48]研究发现，增加湿地沉积物中硝酸盐含量后， CH_4 产生量显著下降，同时 *nirS* 基因拷贝数逐渐增加，说明该湿地中反硝化菌在与产甲烷菌竞争底物的过程中占优势；(3) Mn(IV)、Fe(III)还原：He 等在美国 California 的湿地中发现随着沉积物深度增加 Mn(II)、Fe(II)增加，产甲烷关键基因 *mcrA* 与调控金属还原酶的 *mtrB/pioB* 基因的丰富度呈负相关，Roden 等^[49]研究表明 Fe 还原菌比产甲烷古菌对乙酸具有更高的亲和力和竞争力。也有许多研究发现，在一些环境中甲烷产生的途径是以非竞争性机制为主，通过以非竞争性底物甲胺、三甲胺、甲醇和甲硫氨酸等作为碳源产生 CH_4 ，其他菌不能利用此类化合物^[21,28]。因此，此类条件下甲烷产生不仅包括竞争性底物乙酸发酵和 H_2/CO_2 还原途径，还包括非竞争性底物的氧化还原途径。

综上所述，目前有关天然湿地产甲烷菌种类、鉴定和分布多样性的研究已经比较广泛，但是对于决定产甲烷菌优势菌群和产生途径的作用机制尚不明确，有待深入研究。天然湿地产甲烷菌的甲烷产生量受到上述影响因子的限制时，是否与产甲烷菌群落结构或数量有关，也是目前值得研究的问题。

2 湿地甲烷氧化的微生物学原理

CH_4 的生物氧化主要可分为两大类型(图 2)：一类是在有氧条件下由微生物利用氧气作为电子

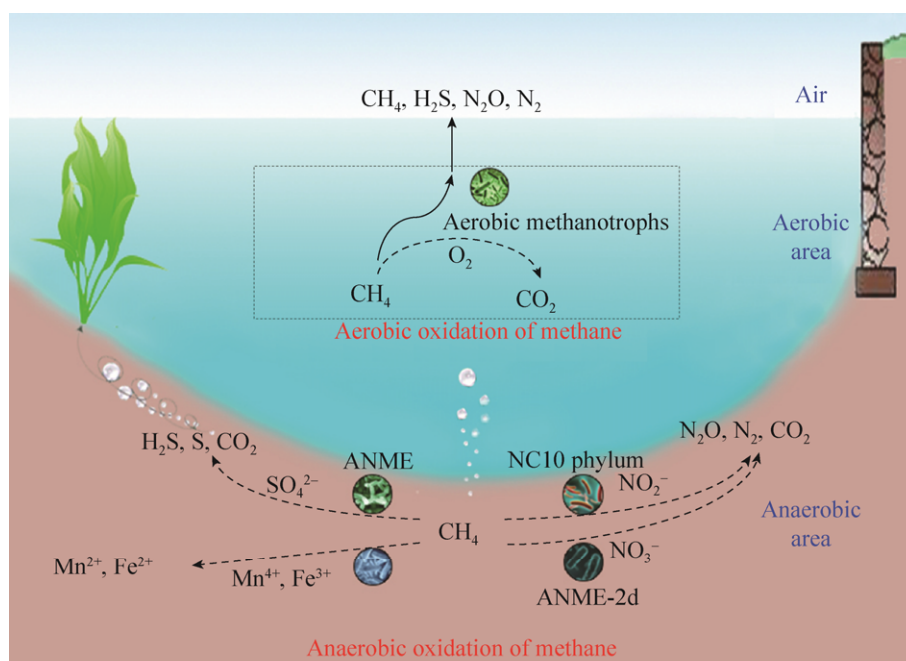


图 2. 甲烷氧化原理

Figure 2. The theory of methane oxidation. Including the aerobic oxidation of methane in shallow water level, and the anaerobic oxidation of methane in deep water level.

受体将 CH_4 氧化, CH_4 的好氧化被认为是湿地系统中 CH_4 最主要的汇, 该反应可氧化湿地土壤中产生的 50% 以上的 CH_4 ^[19]。另一类是在厌氧条件下由微生物利用除氧气外的其他电子受体(如 SO_4^{2-} 等)将 CH_4 氧化。好氧甲烷氧化菌和厌氧甲烷氧化菌广泛分布在不同环境, 它们能将 CH_4 彻底氧化成 CO_2 和水, 是生态系统 CH_4 排放的天然消减器。

甲烷氧化菌的特征酶是甲烷单加氧酶 (Methane monooxygenase, MMO), 甲烷氧化菌通过 MMO 的作用下将甲烷氧化为有机酸等中间产物, 并最终转化为 CO_2 ^[50]。MMO 有 2 种不同的类型: 颗粒状或膜结合甲烷单加氧酶 (Particulate methane monooxygenase, pMMO) 和可溶性甲烷单加氧酶 (Soluble methane monooxygenase, sMMO), 虽然它们在细胞内具有相似的功能, 但这 2 种酶

的基因或结构都不相同, 几乎所有的甲烷氧化菌都能合成 pMMO, 但只有少数甲烷氧化菌属能产生 sMMO^[51]。因此, 编码 pMMO 蛋白 β 亚基的 *pmoA* 基因被广泛应用于检测甲烷氧化菌群, 但也有例外, *Methylocella* 和 *Methyloferula* 不能合成 pMMO, 还应选择编码 sMMO 的 α 亚基的 *mmoX* 基因来检测环境中的这两类甲烷氧化菌^[52]。

2.1 甲烷好氧化

甲烷好氧化菌目前发现主要由变形细菌门 (Proteobacteria) 和疣微菌门 (Verrucomicrobia) 组成。根据细胞的内膜结构、磷脂脂肪酸成分和碳同化途径等可将甲烷氧化菌分成 3 大类: 第 1 类是 I 型菌和 X 型菌, 属于 γ 变形菌纲。第 2 类是 II 型菌, 属于 α 变形菌纲^[53]。I 型菌具有扁平型的细胞内膜, 附着颗粒型甲烷单加氧酶 pMMO, 在细胞内膜上利用 5-磷酸核酮糖同化途径 (RuMP)

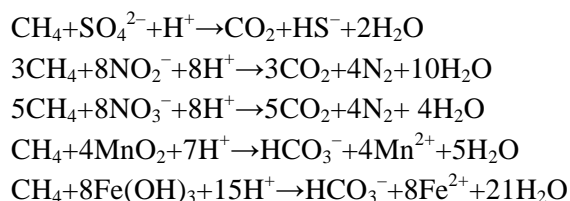
进行甲烷的氧化；II型菌除了 *Methylocella* 以外，不具备完整的细胞内膜，附着可溶性甲烷单加氧酶 sMMO，在细胞内膜及周质空间利用丝氨酸同化途径实现甲烷氧化^[54-55]；有研究发现 I 型氧化菌主要分布在湿地植物的根际和表层土，而 II 型菌则在下层无氧区域占优势^[56-57]，不少研究也表明 II 型菌更能适应低氧环境^[58]。第 3 类即疣微菌门，主要来自于嗜热嗜酸的极端环境中，研究发现其不形成细胞内膜，利用颗粒型甲烷单加氧酶 pMMO 先将 CH₄ 转化成 CO₂，再利用卡尔文循环同化 CO₂^[59-61]。

2.2 甲烷厌氧氧化

甲烷厌氧氧化 (Anaerobic oxidation of methane, AOM) 是在厌氧条件下由微生物利用除氧气外的其他电子受体(如 SO₄²⁻等)将甲烷氧化的过程。这也是目前研究的热点，有研究认为该过程是一种被忽视的甲烷汇，Segarra 等^[62]在淡水湿地研究中发现厌氧甲烷氧化可减少 50% 以上的 CH₄ 排放。目前已知的厌氧甲烷氧化过程主要有 3 类。第 1 类是硫酸盐型厌氧甲烷氧化(Sulphate-dependent anaerobic methane oxidation, SAMO)：1999 年，DeLong 团队^[63]首次发现古菌催化了海底沉积物的厌氧甲烷氧化，并采用次级离子质谱技术(SIMS)证实该厌氧甲烷氧化过程是在甲烷氧化古菌(Anaerobic methanotrophic archaea, ANME)和硫酸盐还原菌的协同驱动下以 SO₄²⁻为电子受体完成的^[64]，2012 年，Milucka 发现 ANME-2 具备独立完成硫酸盐还原和甲烷氧化两个过程的能力^[65]。第 2 类是反硝化型厌氧甲烷氧化(Denitrification dependent anaerobic methane oxidation, DAMO)：2006 年，Raghoebarsing 等^[66]利用同位素示踪试验证实 CH₄ 的氧化可耦合亚硝

酸盐的还原，此生物过程被称之为亚硝酸盐还原型甲烷厌氧氧化，2008 年，Ettwing 等^[67]发现在该厌氧氧化体系中不存在古菌时，DAMO 速率并没有下降，并发现亚硝酸盐还原型甲烷厌氧氧化过程的主导微生物是 NC10 细菌门的 *Candidatus Methyloirabilis oxyfera*，进一步的基因组分析和实验证明 *M. oxyfera* 通过内部供氧途径从而能够在厌氧环境中不依靠光合作用就能产生分子 O₂，从而实现厌氧甲烷氧化^[68-70]，然而有研究发现高浓度的 NO₂⁻对 *M. oxyfera* 有毒性作用^[71]；2009 年，Hu 等^[72]在高浓度硝酸盐培养体系中，NC10 菌群与古菌混合培养对 NO₃⁻的还原率是只含 NC10 菌群的 30 倍，由此得出硝酸盐还原型甲烷氧化途径，且主要是由古菌主导的，随后 Haroon 等^[73]证实了古菌 ANME-2d 能够利用 NO₃⁻作为最终电子受体独自实现整个 AOM 过程。第 3 类是金属元素还原型甲烷厌氧氧化途径(M-DAMO)：2009 年，Beal 等^[74]在湖泊沉积物中发现微生物利用 Mn⁴⁺和 Fe³⁺作为电子受体厌氧氧化 CH₄，随后，Fu 等^[75]将 DAMO 菌和 *Shewanella oneidensis* MR-1 菌富集培养，发现铁矿减少 42%–88%，同位素实验证实 DAMO 细菌和 *S. oneidensis* MR-1 菌耦合的铁还原过程 ¹³CH₄ 反应生成了 ¹³CO₂，目前以铁锰氧化物作为电子受体的 AOM 代谢机制尚不清楚，是 AOM 菌或者铁锰还原菌独立完成 M-DAMO 过程，还是两种微生物协同共生一起完成该过程仍需验证。除了上述 3 种外，2017 年，Valenzuela 等^[16]在排除硫酸盐、硝酸盐、亚硝酸盐和金属还原的情况下，利用同位素实验表明甲烷厌氧氧化菌耦合自然有机物腐殖质的还原，并通过 16S rRNA 测序证明了厌氧甲烷氧化菌是耦合自然有机物还原的主要微生物。

以上厌氧甲烷氧化反应可以用化学方程式表述为:



2.3 NH_4^+ -N 及 NO_3^- -N 对湿地甲烷氧化的影响机制

由于硝化细菌氧化 NH_4^+ 时和甲烷氧化菌氧化 CH_4 时竞争甲烷单加氧酶(Methane monooxygenase, MMO)上的活性位点, 从而抑制 CH_4 的氧化作用^[76], 较高浓度的 NH_4^+ 可通过增加硝化细菌数量而抑制甲烷氧化菌的生长及活性, 从而抑制 CH_4 氧化。Hütsch 等^[77]证实了 NH_4^+ 存在的条件下其立即被氨氧化单加氧酶和甲烷单氧酶氧化, 直到 NH_4^+ 被消耗殆尽, CH_4 氧化才得以开始。牟晓杰等^[78]通过人为输入 NH_4NO_3 研究其对闽江河口短叶茳芰湿地 CH_4 排放通量的短期影响, 结果表明, 与对照处理相比, 低氮和高氮两种处理分别使湿地 CH_4 排放通量改变了 -44.35%–1057.35% 和 7.15%–667.37%。Scheutz 等^[79]研究表明高浓度的 NH_4^+ (14 mg NH_4^+ /kg) 明显地抑制 CH_4 的氧化作用。Adamsen 等^[80]在土壤培养实验中发现硝酸根抑制土壤 CH_4 氧化。 NH_4^+ 氧化过程中产生的 NO_2^- 、 NO_3^- 及与 NO_3^- 结合的阳离子都对甲烷氧化菌具有直接的毒害作用, 从而抑制 CH_4 氧化^[71,81–82]。综上所述, NH_4^+ 对土壤中 CH_4 氧化的抑制作用可归结为由 NH_4^+ 和 CH_4 对甲烷单加氧酶的竞争以及 NH_4^+ 氧化生成的 NO_2^- 的毒性。

3 影响湿地 CH_4 总排放的环境因素

3.1 水文条件

湿地水位的高低决定了湿地的氧气环境, 主

要是因为其影响湿地的氧气含量与植物的通气组织, 进而影响 CH_4 的排放。Henneberg 等^[83]研究表明, 高水位时湿地比低水位释放更多甲烷, 且在低水位时种植植物比未种植植物释放更多甲烷; 沙晨燕等^[84]采用静态箱法研究美国俄亥俄州哥伦布市 Olentangy 河湿地研究中心的 4 种不同类人工湿地的甲烷排放量, 结果发现深水区比起交错区的 CH_4 排放量更高; Mander 等^[85]对水平潜流人工湿地的温室气体排放随水位变化进行了 3 年研究, 结果显示水位越高甲烷排放通量越大。因此, 湿地的水位是决定湿地成为甲烷汇还是甲烷源的重要因素之一。

3.2 植物

植物作为湿地 CH_4 产生底物的重要提供者影响湿地系统的碳吸收、排放过程。其提供的底物类型包括植株凋落物、根的分泌物与脱落物 3 种形式, 底物的丰富度直接决定了微生物和土壤酶功能的发挥。Kankaala 等^[86]对某芦苇型湿地进行 3 年的跟踪研究表明, 随着季节的不同, CH_4 的排放与植被生物量密切相关, 夏季时, 较高的植被生物量影响到 CH_4 的排放, 因为植物由于根部腐烂和分泌物所产生的有机物质对产 CH_4 菌来说可作为营养基质。另外, 植被既可以加速也可以减缓甲烷的释放, 湿地植物提供“通气组织”将 O_2 传输至植物根际, 促进微氧环境甲烷的氧化作用, 另一方面植物组织又可以避开有氧土层将厌氧环境产生的甲烷直接转运到大气^[87], 有研究报道湿地土壤中大部分甲烷(50%–90%)是通过植物传输到大气中的^[88]。不同植物种类所组成的不同湿地类型 CH_4 排放通量方面存在着较大差别, 对于传输能力较差的植物, 植物体将 O_2 传输到根围的输入量较少, 从而减弱根围和根茎部分甲烷氧化菌

对于 CH_4 的氧化, 使得 CH_4 排放通量增加, 而通气组织较强的植物如维管植物因其可为 CH_4 排放提供通道, 此类湿地甲烷排放量较大, 因此 Bubier 等^[89]认为湿地中某些维管植物的存在对高的甲烷排放通量具有指示作用。

3.3 温度

温度在 CH_4 产生和排放中起着非常重要的作用, 温度变化直接影响微生物的活动^[90]。相对较高的夏季温度不仅能够提高产 CH_4 菌的活动能力, 而且由于快速的氧气消耗影响到氧化菌的活动能力, 因此温度升高可提高 CH_4 排放量^[33]。Siciliano 等^[90]对加拿大某山谷泥炭地研究发现, 25 °C 相比 15 °C 时 CH_4 排放浓度增加了 133%, 且微生物产甲烷菌群显著增加; Hoj 等^[35]对挪威高纬度北极泥沼地研究也发现, 随着温度的增加产甲烷古菌的多样性和丰度会增加, 导致甲烷产生速率的明显增加。但是也有研究认为目前所有有关环境变量对甲烷产生和氧化速率的研究只局限于短期的影响, 不同时空条件下也会出现不同的结果, 例如 Metje 等^[91]对西伯利亚冻原泥沼研究表明, 产甲烷古菌种群结构在较宽泛的温度波动范围内维持不变。

3.4 湿地类型

不同类型湿地生态系统中 CH_4 排放量存在着差异。在若尔盖高原湿地生长季节, CH_4 排放有较大的空间变异, 湖滨湿地 CH_4 平均排放量为 11.95 $\text{mg}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$, 其次为宽谷湿地, CH_4 排放量为 2.12 $\text{mg}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$; 河岸湿地表现为 CH_4 吸收, 其吸收量为 0.007 $\text{mg}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ ^[92]。在爱沙尼亚的两种不同类型的废水处理微型人工湿地, 即水平式潜流人工湿地(HSSF)和垂直式潜流人工湿地(VSSF)中, CH_4 的排放量分别为 $\text{CH}_4\text{-C}$ 31–12100 $\mu\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ 和

$\text{CH}_4\text{-C}$ 950–5750 $\mu\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ ^[93]。在德国西南部的研究发现湖滨湿地 CH_4 排放是宽谷湿地的 5.5 倍^[94]。这些差异可能是由于环境因子的空间异质性, 例如沉积物结构、大型植被分布、营养物质供给和土壤供养程度等^[95]。

4 总结和展望

湿地生态系统对于水生和陆地生态系统均具有非常重要的意义, 在维护区域生态平衡和保护生物多样性等方面具有不可或缺的作用。在本团队之前参与的研究中, 应用 GeoChip 了解了河口湿地碳循环基因及微生物群落, 甲烷代谢、碳的降解和固定过程构成了湿地碳循环的关键过程^[96]; 另一方面, 针对气候变暖的研究发现厌氧环境中产甲烷菌对气候变暖的反馈为 *mcrA* 基因增加, 好氧环境中甲烷氧化菌 *pmoA* 也增加的动态演替过程^[97]。产甲烷菌的产甲烷菌全球变暖使湿地 CH_4 排放对全球气候变暖的贡献不容忽视, 为揭示不同环境中 CH_4 产生、氧化过程, 探讨起关键作用的微生物种类和生理生态功能, 所开展的相关研究发现了一系列新型产 CH_4 古菌和 CH_4 氧化菌, 在揭示其特殊的生态机制中也取得了一些重要进展。这些创新性成果的发现得益于微生物研究方法和技术的不断发展和更新, 但未来还需要在以下研究方向深入探究。

(1) 湿地中 CH_4 产生和氧化微生物适应环境变化(如气候变暖、底物输入)的机理研究及其在 N、S、金属等循环中参与氧化还原的微生物间的相互作用;

(2) 湿地中产 CH_4 菌和 CH_4 氧化菌群落的时空异质性及其在不同时空尺度 CH_4 排放通量的贡献;

(3) 甲烷产生和氧化微生物的新型菌群、代谢途径和甲烷排放调控。能常规分离培养的微生物种类不足实际总量的 1%，这暗示环境中可能仍存在大量未知的 CH₄ 产生和氧化微生物。新型微生物种类极有可能拥有新的代谢途径，包括全新的甲烷产生和氧化途径以及微生物种间相互作用关系。

参考文献

- [1] Katyal AK. Climate change: Social, economic, and environmental sustainability. *Environmental Forensics*, 2009, 10(3): 177–182.
- [2] Yuan ZJ, Qian YK, Qi JD, Wu JJ. The potential impacts of warmer-continent-related lower-layer equatorial westerly wind on tropical cyclone initiation. *Advances in Atmospheric Sciences*, 2012, 29(2): 333–343.
- [3] Duxbury JM, Harper LA, Mosier AR. Contributions of agroecosystems to global climate change//Rolston DE. Agricultural Ecosystem Effects on Trace Gases and Global Climate Change. Wisconsin, DC: ASA Special Publication, 1993: 1–18.
- [4] Bhatia A, Pathak H, Jain N, Singh PK, Singh AK. Global warming potential of manure amended soils under rice-wheat system in the Indo-Gangetic plains. *Atmospheric Environment*, 2005, 39(37): 6976–6984.
- [5] IPCC. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Cambridge: Cambridge University Press, 2014.
- [6] Shindell DT, Faluvegi G, Koch DM, Schmidt GA, Unger N, Bauer SE. Improved attribution of climate forcing to emissions. *Science*, 2009, 326(5953): 716–718.
- [7] Conrad R. The global methane cycle: recent advances in understanding the microbial processes involved. *Environmental Microbiology Reports*, 2009, 1(5): 285–292.
- [8] Olsson L, Ye S, Yu X, Wei M, Krauss KW, Brix H. Factors influencing CO₂ and CH₄ emissions from coastal wetlands in the Liaohe Delta, Northeast China. *Biogeosciences*, 2015, 12(16): 4965–4977.
- [9] Meng WQ, Wu ZL, Wang ZL. Control factors and critical conditions between carbon sinking and sourcing of wetland ecosystem. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(8/9): 1359–1366. (in Chinese)
孟伟庆, 吴绽蕾, 王中良. 湿地生态系统碳汇与碳源过程的控制因子和临界条件. *生态环境学报*, 2011, 20(8/9): 1359–1366.
- [10] Mitra S, Wassmann R, Vlek PLG. An appraisal of global wetland area and its organic carbon stock. *Current Science*, 2005, 88(1): 25–35.
- [11] Mitsch WJ, Gosselink JG. The value of wetlands: importance of scale and landscape setting. *Ecological Economics*, 2000, 35(1): 25–33.
- [12] Whiting GJ, Chanton JP. Greenhouse carbon balance of wetlands: methane emission versus carbon sequestration. *Tellus B: Chemical and Physical Meteorology*, 2001, 53(5): 521–528.
- [13] Duan XN, Wang XK, Yin T, Chen L. Advance in the studies on carbon sequestration potential of wetland ecosystem. *Ecology and Environment*, 2006, 15(5): 1091–1095. (in Chinese)
段晓男, 王效科, 尹弢, 陈琳. 湿地生态系统固碳潜力研究进展. *生态环境学报*, 2006, 15(5): 1091–1095.
- [14] Kayranli B, Scholz M, Mustafa A, Hedmark Å. Carbon storage and fluxes within freshwater wetlands: a critical review. *Wetlands*, 2009, 30(1): 111–124.
- [15] Friborg T, Soegaard H, Christensen TR, Lloyd CR, Panikov NS. Siberian wetlands: Where a sink is a source. *Geophysical Research Letters*, 2003, 30(21): 2129–2133.
- [16] Valenzuela EI, Prieto-Davó A, López-Lozano NE, Hernández-Eligio A, Vega-Alvarado L, Juárez K, García-González AS, López MG, Cervantes FJ. Anaerobic methane oxidation driven by microbial reduction of natural organic matter in a tropical wetland. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, 83(11): e00645–17.
- [17] Matthews E, Fung I. Methane emission from natural wetlands: global distribution, area, and environmental characteristics of sources. *Global Biogeochemical Cycles*, 1987, 1(1): 61–86.
- [18] Song CC. Advance in the studies on methane emission from wetlands. *Ecology and Environment*, 2004, 13(1): 69–73. (in Chinese)
宋长春. 湿地生态系统甲烷排放研究进展. *生态环境学报*, 2004, 13(1): 69–73.
- [19] Thauer RK. Functionalization of methane in anaerobic microorganisms. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2010, 49(38): 6712–6713.
- [20] Conrad R. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments. *FEMS Microbiology Ecology*, 1999, 28(3): 193–202.

- [21] Zhang GS, Jiang N, Liu XL, Dong XZ. Methanogenesis from methanol at low temperatures by a novel psychrophilic methanogen, “*Methanolobus psychrophilus*” sp. nov., prevalent in Zoige wetland of the Tibetan Plateau. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(19): 6114–6120.
- [22] Lang K, Schuldes J, Klingl A, Poehlein A, Daniel R, Brunea A. New mode of energy metabolism in the seventh order of methanogens as revealed by comparative genome analysis of “*Candidatus methanoplasma termitum*”. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(4): 1338–1352.
- [23] Sakai S, Takaki Y, Shimamura S, Sekine M, Tajima T, Kosugi H, Ichikawa N, Tasumi E, T Hiraki A, Shimizu A, Kato Y, Nishiko R, Mori K, Fujita N, Imachi H, Takai K. Genome sequence of a mesophilic hydrogenotrophic methanogen *Methanocella paludicola*, the first cultivated representative of the order Methanocellales. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22898.
- [24] Borrel G, O’Toole PW, Harris HMB, Peyret P, Brugère JF, Gribaldo S. Phylogenomic data support a seventh order of methylophilic methanogens and provide insights into the evolution of methanogenesis. *Genome Biology and Evolution*, 2013, 5(10): 1769–1780.
- [25] Borrel G, Parisot N, Harris HMB, Peyretailade E, Gaci N, Tottey W, Bardot O, Raymann K, Gribaldo S, Peyret P, O’Toole PW, Brugère JF. Comparative genomics highlights the unique biology of *Methanomassiliicoccales*, a *Thermoplasmatales*-related seventh order of methanogenic archaea that encodes pyrrolysine. *BMC Genomics*, 2014, 15: 679.
- [26] Mihajlovski A, Alric M, Brugère JF. A putative new order of methanogenic archaea inhabiting the human gut, as revealed by molecular analyses of the *mcrA* gene. *Research in Microbiology*, 2008, 159(7/8): 516–521.
- [27] Dziejewit L, Pyzik A, Romaniuk K, Sobczak A, Szczesny P, Lipinski L, Bartosik D, Drewniak L. Novel molecular markers for the detection of methanogens and phylogenetic analyses of methanogenic communities. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 694.
- [28] Söllinger A, Schwab C, Weinmaier T, Loy A, Tveit AT, Schleper C, Urich T. Phylogenetic and genomic analysis of *Methanomassiliicoccales* in wetlands and animal intestinal tracts reveals clade-specific habitat preferences. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, 92(1): fiv149.
- [29] Zhang GS, Tian JQ, Jiang N, Guo XP, Wang YF, Dong XZ. Methanogen community in Zoige wetland of Tibetan Plateau and phenotypic characterization of a dominant uncultured methanogen cluster ZC-I. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(7): 1850–1860.
- [30] Horn MA, Matthies C, Küsel K, Schramm A, Drake HL. Hydrogenotrophic methanogenesis by moderately acid-tolerant methanogens of a methane-emitting acidic peat. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(1): 74–83.
- [31] Chasar LS, Chanton JP, Glaser PH, Siegel DI, Rivers JS. Radiocarbon and stable carbon isotopic evidence for transport and transformation of dissolved organic carbon, dissolved inorganic carbon, and CH₄ in a northern minnesota peatland. *Global Biogeochemical Cycles*, 2000, 14(4): 1095–1108.
- [32] Nakagawa F, Yoshida N, Nojiri Y, Makarov VN. Production of methane from alasses in eastern Siberia: implications from its ¹⁴C and stable isotopic compositions. *Global Biogeochemical Cycles*, 2002, 16(3): 1041.
- [33] Ding WX, Cai ZC, Wang DX. Preliminary budget of methane emissions from natural wetlands in China. *Atmospheric Environment*, 2004, 38(5): 751–759.
- [34] Wu XL, Chin KJ, Conrad R. Effect of temperature stress on structure and function of the methanogenic archaeal community in a rice field soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, 39(3): 211–218.
- [35] Høj L, Olsen RA, Torsvik VL. Effects of temperature on the diversity and community structure of known methanogenic groups and other archaea in high Arctic peat. *The ISME Journal*, 2008, 2(1): 37–48.
- [36] Yvon-Durocher G, Allen AP, Bastviken D, Conrad R, Gudasz C, St-Pierre A, Thanh-Duc N, del Giorgio PA. Methane fluxes show consistent temperature dependence across microbial to ecosystem scales. *Nature*, 2014, 507(7493): 488–491.
- [37] Avery GB, Shannon RD, White JR, Martens CS, Alperin MJ. Controls on methane production in a tidal freshwater estuary and a peatland: methane production via acetate fermentation and CO₂ reduction. *Biogeochemistry*, 2003, 62(1): 19–37.
- [38] Conrad R, Schütz H, Babel M. Temperature limitation of hydrogen turnover and methanogenesis in anoxic paddy soil. *FEMS Microbiology Letters*, 1987, 45(5): 281–289.
- [39] Saarnio S, Alm J, Martikainen PJ, Silvola J. Effects of raised CO₂ on potential CH₄ production and oxidation in, and CH₄ emission from, a boreal mire. *Journal of Ecology*, 1998, 86(2): 261–268.
- [40] Le Mer J, Roger P. Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: A review. *European Journal of Soil Biology*, 2001, 37(1): 25–50.

- [41] Vizza C, West WE, Jones SE, Hart JA, Lamberti GA. Regulators of coastal wetland methane production and responses to simulated global change. *Biogeosciences*, 2017, 14(2): 431–446.
- [42] Lin YX, Liu DY, Ding WX, Kang H, Freeman C, Yuan JJ, Xiang J. Substrate sources regulate spatial variation of metabolically active methanogens from two contrasting freshwater wetlands. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(24): 10779–10791.
- [43] Galand PE, Fritze H, Conrad R, Yrjala K. Pathways for methanogenesis and diversity of methanogenic archaea in three boreal peatland ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(4): 2195–2198.
- [44] Malmer N, Svensson BM, Wallén B. Interactions between *Sphagnum* mosses and field layer vascular plants in the development of peat-forming systems. *Folia Geobotanica Et Phytotaxonomica*, 1994, 29(4): 483–496.
- [45] Kotsyurbenko OR, Friedrich MW, Simankova MV, Nozhevnikova AN, Golyshin PN, Timmis KN, Conrad R. Shift from acetoclastic to H₂-dependent methanogenesis in a west Siberian peat bog at low pH values and isolation of an acidophilic *Methanobacterium* strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(7): 2344–2348.
- [46] Görres CM, Conrad R, Petersen SO. Effect of soil properties and hydrology on Archaeal community composition in three temperate grasslands on peat. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 85(2): 227–240.
- [47] He SM, Malfatti SA, McFarland JW, Anderson FE, Pati A, Huntemann M, Tremblay J, Glavina del Rio T, Waldrop MP, Windham-Myers L, Tringe SG. Patterns in wetland microbial community composition and functional gene repertoire associated with methane emissions. *mBio*, 2015, 6(3): e00066–15.
- [48] Kim SY, Veraart AJ, Meima-Franke M, Bodelier PLE. Combined effects of carbon, nitrogen and phosphorus on CH₄ production and denitrification in wetland sediments. *Geoderma*, 2015, 259–260: 354–361.
- [49] Roden EE, Wetzel RG. Competition between Fe(III)-reducing and methanogenic bacteria for acetate in iron-rich freshwater sediments. *Microbial Ecology*, 2003, 45(3): 252–258.
- [50] Knief C. Diversity and habitat preferences of cultivated and uncultivated aerobic methanotrophic bacteria evaluated based on *pmoA* as molecular marker. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1346.
- [51] Murrell JC, Gilbert B, McDonald IR. Molecular biology and regulation of methane monooxygenase. *Archives of Microbiology*, 2000, 173(5/6): 325–332.
- [52] Horz HP, Yimga MT, Liesack W. Detection of methanotroph diversity on roots of submerged rice plants by molecular retrieval of *pmoA*, *mmoX*, *mxoF*, and 16S rRNA and ribosomal DNA, including *pmoA*-based terminal restriction fragment length polymorphism profiling. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(9): 4177–4185.
- [53] Cai CY, He ZF, Hu BL. Progresses in the classification and mechanism of methane-oxidizing bacteria. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences)*, 2016, 42(3): 273–281. (in Chinese)
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. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2016, 42(3): 273–281.
- [54] McDonald IR, Bodrossy L, Chen Y, Murrell JC. Molecular ecology techniques for the study of aerobic methanotrophs. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(5): 1305–1315.
- [55] Semrau JD, DiSpirito AA, Yoon S. Methanotrophs and copper. *FEMS Microbiology Reviews*, 2010, 34(4): 496–531.
- [56] Zhang JC, Xu YQ, Lu YH. Microbial mechanisms of methane production and oxidation in terrestrial ecosystems. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(20): 6592–6603. (in Chinese)
张坚超, 徐镡钦, 陆雅海. 陆地生态系统甲烷产生和氧化过程的微生物机理. 生态学报, 2015, 35(20): 6592–6603.
- [57] Ma K, Qiu QF, Lu YH. Microbial mechanism for rice variety control on methane emission from rice field soil. *Global Change Biology*, 2010, 16(11): 3085–3095.
- [58] Macalady JL, McMillan AMS, Dickens AF, Tyler SC, Scow KM. Population dynamics of type I and II methanotrophic bacteria in rice soils. *Environmental Microbiology*, 2002, 4(3): 148–157.
- [59] Dunfield PF, Yuryev A, Senin P, Smirnova AV, Stott MB, Hou SB, Ly B, Saw JH, Zhou ZM, Ren Y, Wang JM, Mountain BW, Crowe MA, Weatherby TM, Bodelier PLE, Liesack W, Feng L, Wang L, Alam M. Methane oxidation by an extremely acidophilic bacterium of the phylum Verrucomicrobia. *Nature*, 2007, 450(7171): 879–882.
- [60] Pol A, Heijmans K, Harhangi HR, Tedesco D, Jetten MSM, Op den Camp HJM. Methanotrophy below pH 1 by a new Verrucomicrobia species. *Nature*, 2007, 450(7171): 874–878.
- [61] Islam T, Jensen S, Reigstad LJ, Larsen Ø, Birkeland NK. Methane oxidation at 55°C and pH 2 by a thermoacidophilic bacterium belonging to the *Verrucomicrobia* phylum.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(1): 300–304.
- [62] Segarra KEA, Schubotz F, Samarkin V, Yoshinaga MY, Hinrichs KU, Joye SB. High rates of anaerobic methane oxidation in freshwater wetlands reduce potential atmospheric methane emissions. *Nature Communications*, 2015, 6: 7477.
- [63] Hinrichs KU, Hayes JM, Sylva SP, Brewer PG, DeLong EF. Methane-consuming archaeobacteria in marine sediments. *Nature*, 1999, 398(6730): 802–805.
- [64] Orphan VJ, House CH, Hinrichs KU, McKeegan KD, DeLong EF. Methane-consuming archaea revealed by directly coupled isotopic and phylogenetic analysis. *Science*, 2001, 293(5529): 484–487.
- [65] Milucka J, Ferdelman TG, Polerecky L, Franzke D, Wegener G, Schmid M, Lieberwirth I, Wagner M, Widdel F, Kuypers MMM. Zero-valent sulphur is a key intermediate in marine methane oxidation. *Nature*, 2012, 491(7425): 541–546.
- [66] Raghoebarsing AA, Pol A, van de Pas-Schoonen KT, Smolders AJP, Ettwig KF, Rijpstra WIC, Schouten S, Damsté JSS, Op den Camp HJM, Jetten MSM, Strous M. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. *Nature*, 2006, 440(7086): 918–921.
- [67] Ettwig KF, Shima S, van de Pas-Schoonen KT, Kahnt J, Medema MH, op den Camp HJM, Jetten MSM, Strous M. Denitrifying bacteria anaerobically oxidize methane in the absence of *Archaea*. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 3164–3173.
- [68] Ettwig KF, van Alen T, van de Pas-Schoonen KT, Jetten MSM, Strous M. Enrichment and molecular detection of denitrifying methanotrophic bacteria of the NC10 phylum. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(11): 3656–3662.
- [69] Ettwig KF, Butler MK, Le Paslier D, Pelletier E, Mangenot S, Kuypers MMM, Schreiber F, Dutilh BE, Zedelius J, de Beer D, Gloerich J, Wessels HJCT, van Alen T, Luesken F, Wu ML, van de Pas-Schoonen KT, den Camp HJMO, Janssen-Megens EM, Francoijs KJ, Stunnenberg H, Weissenbach J, Jetten MSM, Strous M. Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature*, 2010, 464(7288): 543–548.
- [70] Wu ML, Ettwig KF, Jetten MSM, Strous M, Keltjens JT, van Niftrik L. A new intra-aerobic metabolism in the nitrite-dependent anaerobic methane-oxidizing bacterium *Candidatus 'Methylomirabilis oxyfera'*. *Biochemical Society Transactions*, 2011, 39(1): 243–248.
- [71] Hu SH, Zeng RJ, Keller J, Lant PA, Yuan ZG. Effect of nitrate and nitrite on the selection of microorganisms in the denitrifying anaerobic methane oxidation process. *Environmental Microbiology Reports*, 2011, 3(3): 315–319.
- [72] Hu SH, Zeng RJ, Burow LC, Lant P, Keller J, Yuan ZG. Enrichment of denitrifying anaerobic methane oxidizing microorganisms. *Environmental Microbiology Reports*, 2009, 1(5): 377–384.
- [73] Haroon MF, Hu SH, Shi Y, Imelfort M, Keller J, Hugenholtz P, Yuan ZG, Tyson GW. Anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction in a novel archaeal lineage. *Nature*, 2013, 500(7464): 567–570.
- [74] Beal EJ, House CH, Orphan VJ. Manganese- and iron-dependent marine methane oxidation. *Science*, 2009, 325(5937): 184–187.
- [75] Fu L, Li SW, Ding ZW, Ding J, Lu YZ, Zeng RJ. Iron reduction in the DAMO/Shewanella oneidensis MR-1 coculture system and the fate of Fe(II). *Water Research*, 2016, 88: 808–815.
- [76] Bowman JP, Sly LI, Stackebrandt E. The phylogenetic position of the family *Methylococcaceae*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1995, 45(1): 182–185.
- [77] Hütsch BW. Methane oxidation in arable soil as inhibited by ammonium, nitrite, and organic manure with respect to soil pH. *Biology & Fertility of Soils*, 1998, 28(1): 27–35.
- [78] Mou XJ, Liu XT, Tong C, Sun ZG. Short-term effects of exogenous nitrogen on CH₄ and N₂O effluxes from *Cyperus malaccensis* marsh in the Min River estuary. *Environmental Science*, 2012, 33(7): 2482–2489. (in Chinese)
牟晓杰, 刘兴土, 仝川, 孙志高. 闽江河口短叶茳芩湿地 CH₄ 和 N₂O 排放对氮输入的短期响应. *环境科学*, 2012, 33(7): 2482–2489.
- [79] Scheutz C, Kjeldsen P. Environmental factors influencing attenuation of methane and hydrochlorofluorocarbons in landfill cover soils. *Journal of Environmental Quality*, 2004, 33(1): 72–79.
- [80] Adamsen APS, King GM. Methane consumption in temperate and subarctic forest soils: rates, vertical zonation, and responses to water and nitrogen. *Applied & Environmental Microbiology*, 1993, 59(2): 485–490.
- [81] King GM, Schnell S. Ammonium and nitrite inhibition of methane oxidation by *Methylobacter albus* BG8 and *Methylosinus trichosporium* OB3b at low methane concentrations. *Applied & Environmental Microbiology*, 1994, 60(10): 3508–3513.
- [82] Reay DS, Nedwell DB. Methane oxidation in temperate soils: effects of inorganic N. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004,

- 36(12): 2059–2065.
- [83] Henneberg A, Brix H, Sorrell BK. The interactive effect of *Juncus effusus* and water table position on mesocosm methanogenesis and methane emissions. *Plant and Soil*, 2016, 400(1/2): 45–54.
- [84] Sha CY, Tan J, Wang Q, Wang M. Methane and carbon dioxide emissions from different types of riparian wetland. *Ecology and Environmental Sciences*, 2015, 24(7): 1182–1190. (in Chinese)
沙晨燕, 谭娟, 王卿, 王敏. 不同类型河滨湿地甲烷和二氧化碳排放初步研究. *生态环境学报*, 2015, 24(7): 1182–1190.
- [85] Mander Ü, Maddison M, Soosaar K, Koger H, Teemusk A, Truu J, Well R, Sebilo M. The impact of a pulsing water table on wastewater purification and greenhouse gas emission in a horizontal subsurface flow constructed wetland. *Ecological Engineering*, 2015, 80: 69–78.
- [86] Kankaala P, Ojala A, Käki T. Temporal and spatial variation in methane emissions from a flooded transgression shore of a boreal lake. *Biogeochemistry*, 2004, 68(3): 297–311.
- [87] Kwon MJ, Beulig F, Ilie I, Wildner M, Küsel K, Merbold L, Mahecha MD, Zimov N, Zimov SA, Heimann M, Schuur EAG, Kostka JE, Kolle O, Hilke I, Göckede M. Plants, microorganisms, and soil temperatures contribute to a decrease in methane fluxes on a drained Arctic floodplain. *Global Change Biology*, 2017, 23(6): 2396–2412.
- [88] Hao QJ, Wang YS, Jiang CS, Wang CK, Wang MX. A review on methane emission from wetlands. *Chinese Journal of Ecology*, 2005, 24(2): 170–175. (in Chinese)
郝庆菊, 王跃思, 江长胜, 王长科, 王明星. 湿地甲烷排放研究若干问题的探讨. *生态学杂志*, 2005, 24(2): 170–175.
- [89] Bubier JL. The relationship of vegetation to methane emission and hydrochemical gradients in northern peatlands. *The Journal of Ecology*, 1995, 83(3): 403–420.
- [90] Wang XY, Siciliano S, Helgason B, Bedard-Haughn A. Responses of a mountain peatland to increasing temperature: A microcosm study of greenhouse gas emissions and microbial community dynamics. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 110: 22–33.
- [91] Metje M, Frenzel P. Methanogenesis and methanogenic pathways in a peat from subarctic permafrost. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(4): 954–964.
- [92] Chen H, Gao YH, Yao SP, Wu N, Wang YF, Luo P, Tian JQ. Spatiotemporal variation of methane emissions from alpine wetlands in Zoige Plateau. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(7): 3425–3437. (in Chinese)
陈槐, 高永恒, 姚守平, 吴宁, 王艳芬, 罗鹏, 田建卿. 若尔盖高原湿地甲烷排放的时空异质性. *生态学报*, 2008, 28(7): 3425–3437.
- [93] Mander U, Teiter S, Augustin J. Emission of greenhouse gases from constructed wetlands for wastewater treatment and from riparian buffer zones. *Water Science and Technology*, 2005, 52(10/11): 167–176.
- [94] Sommer M, Fiedler S. Methane emissions from wetland soils in Southwest-Germany//Broll G, Merbach W, Pfeiffer EM. Wetlands in Central Europe. Berlin, Heidelberg: Springer, 2002: 177–196.
- [95] Herbst M, Friberg T, Schelde K, Jensen R, Ringgaard R, Vasquez V, Thomsen AG, Soegaard H. Climate and site management as driving factors for the atmospheric greenhouse gas exchange of a restored wetland. *Biogeosciences*, 2013, 10(1): 39–52.
- [96] Wang Y, Zhang R, He ZL, van Nostrand JD, Zheng Q, Zhou JZ, Jiao NZ. Functional gene diversity and metabolic potential of the microbial community in an estuary-shelf environment. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1153.
- [97] Xue K, Yuan MM, Shi ZJ, Qin YJ, Deng Y, Cheng L, Wu LY, He ZL, Van Nostrand JD, Bracho R, Natali S, Schuur EAG, Luo CW, Konstantinidis KT, Wang Q, Cole JR, Tiedje JM, Luo YQ, Zhou JZ. Tundra soil carbon is vulnerable to rapid microbial decomposition under climate warming. *Nature Climate Change*, 2016, 6(6): 595–600.

Microbial driven methane emission mechanisms in wetland ecosystems

Hang Gu, Fanshu Xiao, Zhili He, Qingyun Yan*

Environmental Microbiomics Research Center, School of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

Abstract: Wetland is one of the largest carbon sink among all terrestrial ecosystems, and regarded as the main emission source of methane (CH₄) in the atmosphere. As CH₄ has 34 times warming potential of carbon dioxide (CO₂) per mole, it is of great importance to study the contribution of wetland as carbon sink or carbon source to global climate change. Totally, 80% to 90% of CH₄ emissions come from microbial activity, and CH₄ flux in wetland is closely related to microbial composition, abundance and function of methanogens and methanotrophs. However, the studies on the effects and mechanisms of the functional microorganisms that control CH₄ cycling in wetland ecosystem is relatively decentralized. To better understand the microbial regulation mechanism of CH₄ emission process, we provide an overview of microbial community associated to CH₄ cycling, the factors influencing the microbial methane emission activity, and the microbial methane emission mechanisms in wetland ecosystem. Besides, we indicate further research needs on microbial-driven CH₄ emission and their potential response to climate change.

Keywords: wetland, microorganism, methane (CH₄), greenhouse gas, global warming

(本文责编: 李磊)

Supported by the Hundred Talents Program (38000-18821107) and the Thousand Talents Program (38000-18821105) by Sun Yat-sen University

*Corresponding author. Tel: +86-20-31561769; E-mail: yanqy6@mail.sysu.edu.cn

Received: 5 November 2017; Revised: 10 January 2018; Published online: 24 January 2018



颜庆云, 博士, 中山大学教授、博士生导师。2009年于中国科学院水生生物研究所获得博士学位; 2012年入选中国科学院青年创新促进会(第二批); 2013–2015年在美国环境基因组学研究所(IEG)从事博士后研究; 2016年以“百人计划”急需青年杰出人才引进到中山大学。现任中国原生动物学会理事、中国生态学会微生物专业委员会委员、副秘书长。主要从事微生物生态学及环境微生物组学研究, 在水环境微生物群落构建机制及其对环境变化的响应, 以及鱼类肠道微生物形成、维持机制及生态系统功方面能取得了一系列成果。已在 *Nature Communications*, *Environmental Microbiology*, *Molecular Ecology*, *mBio* 等专业刊物发表论文 38 篇, 主持国家自然科学基金、中国科学院和中山大学人才项目等课题 12 项。