生态环境知识网
Eco-Environmental Knowledge Web

环境科学
ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

冠状病毒气溶胶传播及环境影响因素

李雪，蒋靖坤，王东滨，邓建国，贺克斌，郝吉明

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心
■ 出版 科学出版社

2021年7月
第42卷 第7期
Vol.42 No.7

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第 42 卷　第 7 期
2021 年 7 月 15 日

目　次

冠状病毒气溶胶传播及环境影响因素 …… 李雪, 蒋靖坤, 王东滨, 邓建国, 贺克斌, 郝吉明 (3091)
新冠肺炎疫情期间气象条件和排放变化对 $PM_{2.5}$ 的影响 …… 逯世泽, 史旭荣, 薛文博, 雷宇, 严刚 (3099)
基于网格的长三角 $PM_{2.5}$ 分布影响因素及交互效应 …… 黄小刚, 赵景波, 辛未冬 (3107)
ARIMA 时间序列分析模型在臭氧浓度中长期预报中的应用 …… 李颖若, 韩婷婷, 汪君霞, 权维俊, 何迪, 焦热光, 吴进, 郭恒, 马志强 (3118)
中国长三角背景点冬季大气棕碳污染特征及来源解析 …… 赵宇, 吴灿, 王益倩, 陈玉宝, 吕少君, 汪芳琳, 杜伟, 刘仕杰, 丁志健, 王格慧 (3127)
四川盆地 $PM_{2.5}$ 浓度时空变化特征遥感监测与影响因子分析 …… 李梦真, 张廷斌, 易桂花, 秦岩宾, 李景吉, 刘贤, 蒋杰 (3136)
河网连续动态模型构建及其在典型杀生剂时空迁移模拟中的应用 …… 邢成, 张芊芊, 蔡雅雅, 烟晓婷, 应光国 (3147)
九龙江流域河流氮输出对土地利用模式和水文状况的响应 …… 黄亚玲, 黄金良 (3156)
滇池近岸水体微塑料污染与富营养化的相关性 …… 袁海英, 侯磊, 梁启斌, 李佳琛, 任甲 (3166)
白洋淀夏季入淀区沉积物间隙水-上覆水水质特征及交换通量分析 …… 张甜娜, 周石磊, 陈召莹, 张紫薇, 孙悦, 姚波, 崔建升, 李再兴, 罗晓 (3176)
镇江市古运河和金山湖河湖上覆水体和沉积物氮及有机质分布特征及污染评价 …… 原璐彬, 邢书语, 刘鑫, 周晓红, Adelaide Angela Dadzie (3186)
洪湖国际重要湿地沉积物磷空间分布特征及释放风险 …… 刘永九, 黄素珍, 张璐, 彭雪, 张心怡, 葛芳杰, 刘碧云, 吴振斌 (3198)
苏州古城区域河道底泥的重金属污染分布及生态风险评价 …… 白冬锐, 张涛, 包峻松, 陈坦, 王洪涛, 金曦, 金军, 杨婷 (3206)
武汉集中式饮用水源地土壤重金属的时空分布特征及生态风险评价 …… 朱静, 侯耀宗, 邹书成, 曹梦华, 涂书新 (3215)
升金湖河湖交汇区地表-地下水水化学特征及成因分析 …… 崔玉环, 王杰, 刘友存, 郝泷, 高祥 (3223)
青岛市农区地下水硝态氮污染来源解析 …… 寇馨月, 丁军军, 李玉中, 毛丽丽, 李巧珍, 徐春英, 郑欠, 庄姗 (3232)
三峡库区支流浮游植物群落稳定性及其驱动因子分析 …… 何书晗, 欧阳添, 赵璐, 纪璐璐, 杨宋琪, 施军琼, 吴忠兴 (3242)
哈尔滨城市河网丰水期浮游植物群落分布特征及驱动因子 …… 路枫, 李磊, 齐青松, 陆欣鑫, 刘妍, 范亚文 (3253)
湖泊沉积物中微生物群落对天然有机质输入的响应 …… 居琪, 章奇, 曹驰程, 白雷雷, 张晖 (3263)
补给水质与社会活动对白洋淀湿地微生物的影响特征 …… 赵志瑞, 吴会清, 毕玉方, 展庆周, 吴海淼, 袁凯倪, 孟祥源, 李方红 (3272)
蓝藻衰亡过程中上覆水溶解性有机物变化特征 …… 李翔, 李致春, 汪旋, 张思远, 王慧敏, 厉荣强, 王国祥, 李启蒙 (3281)
长江下游快速城市化地区水污染特征及源解析:以秦淮河流域为例 …… 马小雪, 龚畅, 郭加汛, 王腊春, 徐蕴韵, 赵春发 (3291)
长江下游居民区降水地表径流的污染特征 …… 郭文景, 张志勇, 闻学政, 张瀚文, 王岩 (3304)
潮河流域降雨径流事件污染物输出特征 …… 包鑫, 江燕, 胡羽聪 (3316)
不透水地表粗糙度对城市面源颗粒物的累积和冲刷影响 …… 单溪环, 谢文霞, 廖云杰, 房志达, 杨晓晶, 苏静君, 赵洪涛, 李叙勇 (3328)
基于概率方法的中国居民饮水途径砷暴露健康风险评估 …… 秦宁, 刘运炜, 侯荣, 王彩云, 王贝贝, 段小丽 (3338)
蛋白类有机质在水厂各处理单元中的去除特性 …… 李梦雅, 宋钰莹, 张晓岚, 黄海鸥 (3348)
污水处理厂不同单元工艺水中重金属及其纳米颗粒的分布 …… 王杜珈, 何帅, 周小霞 (3358)
基于宏基因组技术分析 MBR 膜清洗后污泥中抗性基因 …… 杜彩丽, 李中淀, 李晓光, 张列宇, 陈素华, 黎佳茜, 李曹乐 (3366)
石化废水处理厂中耐药菌和耐药基因的分布特征与去除效能解析 …… 唐振平, 肖莎莎, 段毅, 刘迎九, 高媛媛, 吴月月, 陈怡雯, 周帅 (3375)
一段式亚硝化厌氧氨氧化 SMBBR 处理中低浓度氨氮废水 …… 吕恺, 邵贤明, 王康舟, 姚雪薇, 彭党聪, 韩芸 (3385)
外加固体缓释碳源的两段反硝化工艺脱氮性能 …… 唐义, 马邕文, 万金泉, 王艳, 叶刚 (3392)
臭氧投量对 SBR 系统污泥沉降性能及脱氮除磷的影响 …… 吕永涛, 朱传首, 张旭阳, 徐超, 潘永宝, 刘爽, 崔双科, 王磊 (3400)
间歇梯度曝气下首段延时厌氧强化好氧颗粒污泥脱氮除磷 …… 张玉君, 李冬, 王歆鑫, 张富国, 张杰 (3405)
提盐速率对序批式生物反应器性能和微生物群落结构的影响 …… 古柏铭, 金春姬, 温淳, 侯金源, 赵阳国, 高孟春 (3413)
低温驯化对自养脱氮颗粒污泥功能活性与菌群结构的影响分析 …… 钱飞跃, 刘雨馨, 王建芳, 刘文如 (3422)
矿渣基改性剂对城市污泥重金属稳定化 …… 张发文, 董明坤, 陈辰慧, 赵长民 (3430)
2000～2018 年长三角土地利用变化对农田生态系统氨排放的影响 …… 王文锦, 王卿, 朱安生, 黄凌, 顾莹, 王杨君, 王敏, 李莉 (3442)
麦秸水热炭及其改良产物对水稻产量和稻田氨挥发排放的影响 …… 韩晨, 侯朋福, 薛利红, 冯彦房, 余姗, 杨林章 (3451)
水肥管理对热带地区双季稻田 CH_4 和 N_2O 排放的影响 …… 李金秋, 邵晓辉, 缑广林, 邓艺欣, 谭诗敏, 徐文娴, 杨秋, 刘文杰, 伍延正, 孟磊, 汤水荣 (3458)
耐盐碱水稻土壤产甲烷菌群落特征及产甲烷途径 …… 杨雨虹, 贺惠, 米铁柱, 刘玥腾, 刘佳音, 张国栋, 李明月, 甄毓 (3472)
铁碳微电解填料对人工湿地温室气体排放的影响 …… 赵仲婧, 郝庆菊, 涂婷婷, 胡曼利, 张尧钰, 江长胜 (3482)
农地土壤重金属 Pb 和 Cd 有效性测定方法的筛选与评价 …… 陈莹, 刘汉燚, 刘娜, 蒋珍茂, 魏世强 (3494)
亚热带高山森林土壤典型重金属的空间分布格局及其影响因素:以云南哀牢山为例 …… 刘旭, 王训, 王定勇 (3507)
深圳市不同土类的重金属环境背景值与理化性质特征 …… 林挺, 赵述华, 郗秀平, 杨坤, 吴静雅, 朱艳, 罗飞 (3518)
同步钝化土壤 Cd 和 As 材料的筛选 …… 周嗣江, 刘针延, 熊双莲, 马烁, 黄倚豪, 雷寅, 曹梦华, 涂书新 (3527)
两种铁基材料对污染农田土壤砷、铅、镉的钝化修复 …… 袁峰, 唐先进, 吴骥子, 赵科理, 叶正钱 (3535)
青藏高原东缘冻土中有机磷酸酯的污染特征 …… 刘丽娅, 印红玲, 蹇林洁, 徐子文, 熊远明, 罗怡, 刘小雯, 徐维新 (3549)
成都平原氮磷化肥施用强度空间分布及影响因素分析 …… 刘奇鑫, 王昌全, 李冰, 赵海岚, 方红艳, 邓茜, 李启权 (3555)
土壤中溶解性有机质对不同类型堆肥的响应差异 …… 席北斗, 王燕, 檀文炳, 余红, 崔东宇, 程东会, 党秋玲 (3565)
《环境科学》征订启事(3315)　《环境科学》征稿简则(3357)　信息(3391, 3441, 3564)

Eco-Environmental Knowledge Web
环 境 科 学
Environmental Science
第42卷第7期 2021年7月
Vol.42, No.7 Jul., 2021

耐盐碱水稻土壤产甲烷菌群落特征及产甲烷途径

杨雨虹[1,2,3], 贺惠[4], 米铁柱[1,2,3], 刘玥腾[1,3], 刘佳音[5], 张国栋[6], 李明月[7], 甄毓[1,2,3]*
(1. 中国海洋大学海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266100; 2. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋生态与环境科学功能实验室, 青岛 266237; 3. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 青岛 266100; 4. 中国海洋大学海洋生命学院, 青岛 266003; 5. 青岛海水稻研究发展中心, 青岛 266041; 6. 九天智慧农业集团, 青岛 266003; 7. 山东理工大学资源与环境工程学院, 淄博 255049)

摘要: 产甲烷菌在土壤碳循环过程中发挥着关键性作用,而种植耐盐碱水稻土壤中产甲烷菌群落特征及环境影响因素尚不明确. 本研究采用实时荧光定量 PCR 和 Illumina 高通量测序技术,对青岛市稻作改良智慧农业产业示范基地中耐盐碱水稻(YC1703)、普通水稻("临稻 10 号")及荒地土壤中产甲烷菌的丰度特征、群落组成及与环境因子的关系进行了对比分析. 结果表明,种植"临稻 10 号"土壤中的产甲烷菌丰度和群落丰富度显著高于种植 YC1703 的土壤,种植 YC1703 土壤中产甲烷菌具有较高多样性. 产甲烷菌群落受水稻品种、水稻生育期和环境因子的综合影响. 两种水稻土壤中 H_2/CO_2 还原型产甲烷菌占优势,由此推测这些土壤中生成甲烷的主导途径均为 H_2/CO_2 还原途径.

关键词:产甲烷菌; 水稻; 碳循环; 土壤; H_2/CO_2 还原型
中图分类号: X172 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2021)07-3472-10 **DOI**: 10.13227/j.hjkx.202011138

Community Characteristics of Methanogens and Methanogenic Pathways in Salt-tolerant Rice Soil

YANG Yu-hong[1,2,3], HE Hui[4], MI Tie-zhu[1,2,3], LIU Yue-teng[1,3], LIU Jia-yin[5], ZHANG Guo-dong[6], LI Ming-yue[7], ZHEN Yu[1,2,3]*
(1. Key Laboratory of Marine Environment and Ecology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China; 3. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 4. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 5. Qingdao Salt and Alkali Rice Research and Development Center, Qingdao 266041, China; 6. Jiutian Wisdom Agricultural Group, Qingdao 266003, China; 7. School of Resources and Environmental Engineering, Shandong University of Technology, Zibo 255049, China)

Abstract: It is known that methanogens play a critical role in the carbon cycle in soil, while methanogen community characteristics and their environmental influencing factors in the soil planted with salt-tolerant rice remain unclear. In this study, methanogen abundance, community composition, and relationships with environmental factors in soils planted with the salt-tolerant rice (YC1703) and ordinary rice (Lindao 10) were evaluated in the rice improvement demonstration base of Qingdao Wisdom Agricultural Industry using real-time fluorescence quantitative PCR and Illumina high-throughput sequencing. The results indicated that the abundance and community richness of methanogens in Lindao 10 soil were significantly higher than those in YC1703 soil, and methanogens in YC1703 soil exhibited higher diversity. The combined effects of rice varieties, rice growth period, and environmental factors had impacts on the methanogen community. The hydrogenotrophic methanogens were dominant in the YC1703 and Lindao 10 soils; thus, we speculated that the dominant pathway of methane production in these soils was hydrogenotrophic methanogenesis.

Key words: methanogens; rice; carbon cycle; soil; hydrogenotrophic methanogenesis

甲烷是一种重要的温室气体,由其导致的温室效应是二氧化碳的28倍[1],对全球气候变化起着重要作用[2]. 除人类活动外,产甲烷菌的代谢活动是大气中甲烷的重要自然来源[3]. 产甲烷菌在自然界中广泛存在,研究者从嗜酸到嗜碱、嗜冷到嗜热、淡水环境到嗜盐环境中,都分离出了产甲烷菌[4, 5]. 产甲烷菌属于广古菌门,目前为止已发现其分属于7个目:甲烷微菌目(Methanomicrobiales)、甲烷八叠球菌目(Methanosarcinales)、甲烷胞菌目(Methanocellales)、甲烷杆菌目(Methanobacteriales)、马赛球菌目(Methanomassiliicoccales)、甲烷球菌目(Methanococcales)和甲烷火菌目(Methanopyrales)[4],包括 H_2/CO_2 还原型、乙酸发酵型和甲基营养型这3种代谢类型[6]. 在稻田[7]、湿地[8,9]、泥炭地[10]、冻土[11,12]、煤层[13]以及地下

收稿日期: 2020-11-17; **修订日期**: 2021-01-04
基金项目: 山东省博士后创新项目(201702016); 青海省科技计划项目(2020-NK-168); 青岛创业创新领军人才计划项目(18-1-2-13-2hc)
作者简介: 杨雨虹(1997~),女,硕士研究生,主要研究方向为海洋微生物生态学,E-mail:yangyuhong@stu.ouc.edu.cn
* 通信作者,E-mail:zhenyu@ouc.edu.cn

水[14]等有机质被大量分解的环境中，产甲烷菌主要通过 H_2/CO_2 还原途径和乙酸发酵途径生成甲烷，而甲基营养型途径主要发生在海洋沉积物等特定环境中[14,15].

产甲烷菌是一类厌氧微生物，稻田淹水条件创造的厌氧环境为其提供了理想的生存场所[16]. 大气中约有 1/5 的甲烷来自稻田，稻田作为甲烷的重要源库[17]，其中产甲烷菌的分布及代谢活动能够影响大气中甲烷含量. 近年来，关于水肥管理模式[18,19]和环境因子[7,20]等对稻田土壤产甲烷菌群落结构与多样性的研究已有一定基础. 水稻作为盐碱地的改良作物之一，研究者对其耐盐碱生理机制也展开了大量研究[21,22]. 目前，耐盐碱水稻的研究主要集中在水稻品种的选育及水稻对盐碱地的改良成效[23,24]等方面，而耐盐碱水稻土壤中产甲烷菌群落组成、环境影响因素以及甲烷代谢方式尚不明确.

本研究基于产甲烷菌的甲基辅酶 M 还原酶基因（*mcrA*），采用实时荧光定量 PCR（real time fluorescent quantitative PCR，qPCR）和 Illumina 高通量测序技术，结合环境因子分析，揭示种植耐盐碱水稻土壤中产甲烷菌的群落特征，以期为了解产甲烷途径及其在土壤碳循环中发挥的作用提供依据.

1　材料与方法

1.1　样品采集及处理

采样地点位于青岛市城阳区上马街道王林庄社区的稻作改良智慧农业产业示范基地，该基地建于 2018 年，此前为荒地，土壤为易板结黏土，为轻度滨海盐碱地. 耐盐碱水稻试验田供试水稻品种为“YC1703”，普通水稻试验田供试水稻品种为“临稻 10 号”，本试验均为改造后首次种植，试验田面积均为 666.67 m^2（约 1 亩）；对照土壤为试验田邻近未改造荒地. 分别在水稻移栽前（4 月）、分蘖期（6 月）、拔节期（7 月）、孕穗期（8 月）以及成熟期（9 月），采用梅花取样法采集 5 ~ 15 cm 耕作层土壤，去除植物根和石块等杂物. 按四分法将土壤样品分为两份，一份风干处理后，用于土壤理化性质的分析，另一份保存于 -80℃ 冰箱用于微生物群落特征分析，样品信息见表 1.

表 1　土壤样品信息

Table 1　Information of soil samples

样品类型	样品名称	采样月份
YC1703	ST4	4
	ST6	6
	ST7	7
	ST8	8
	ST9	9
临稻 10 号	PA4	4
	PA6	6
	PA7	7
	PA8	8
	PA9	9
对照	CK4	4
	CK6	6
	CK7	7
	CK8	8
	CK9	9

1.2　环境因子测定

将土壤用蒸馏水浸提（水土比为 2.5∶1）后，用 pH 计测定土壤 pH 值，重铬酸钾外加热法测定有机质，质量法测定水溶性盐，NaOH 熔融-钼锑抗比色法测定全磷，$NaHCO_3$ 浸提-钼锑抗比色法测定有效磷，NH_4OAc 浸提-火焰光度法测定速效钾，碱解扩散法测定碱解氮，半微量开氏定氮法测定全氮，电导率多参数测量仪测定电导率，营养盐自动分析仪测定铵盐和硝酸盐（均采用 1 $mol \cdot L^{-1}$ KCl 溶液浸提）. 以上环境因子测定的具体方法参照文献[25].

1.3　微生物基因组 DNA 提取

土壤样品自然解冻混匀后，取 0.25 g 土壤，用 Powersoil® DNA Isolation Kit 试剂盒（MOBIO，美国）提取总 DNA，操作按照说明书进行. 采用超微量紫外分光光度计（DeNovix DS-11，美国）和琼脂糖凝胶电泳检测，将质检合格的 DNA 置于 -20℃ 冰箱保存.

1.4　产甲烷菌群落特征分析

1.4.1　产甲烷菌群落丰度分析

用引物 mlas/mcrA-rev[26] 对土壤 DNA 进行 PCR 扩增，PCR 反应体系为 0.3 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 正反向引物各 1 μL，去离子水 7 μL，DNA 模板 1 μL，mix 10 μL，扩增条件为：98℃ 5 min，98℃ 30 s，60℃ 30 s，72℃ 45 s，5 个循环；98℃ 30 s，54.8℃ 30 s，72℃ 45 s，25 个循环. 采用 2% 琼脂糖凝胶电泳分离 PCR 产物，纯化目的片段. 将目的片段连接到 pMD 19-T 载体上，导入 Trans5α 感受态细胞，构建基因克隆文库，选取阳性克隆提取质粒. 以梯度稀释的质粒标准品为模板，进行 qPCR 反应. 扩增条件为：50℃ 2 min，94℃ 10 min，94℃ 15 s，55℃ 2 min，40 个循环. 每个样品进行 3 个平行试验，每组反应添加阴性对照，并添加熔解曲线检测扩增结果. 以不同浓度质粒拷贝数的对数值为横坐标，平均 Ct 值为纵坐标，绘制标准曲线. 产甲烷菌 *mcrA* 基因标准曲线的回归方程为 $y = -3.45x + 42.34$（$r = -0.995$）. 样品测定时 qPCR 反应条件与上述步骤相同，每个样品设置 3 个平行试验，同时添加阴性和阳性对照，通过标准曲线计算土壤产甲烷菌 *mcrA* 基因拷贝数.

1.4.2 Illumina 高通量测序

以基因组 DNA 为模板,使用带有测序标签 barcode 的引物 mlas/mcrA-rev 对产甲烷菌 *mcrA* 基因进行扩增. PCR 产物电泳检测合格后,将目的片段回收,采用 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 制备测序文库,文库质检合格后由上海派森诺生物科技有限公司使用 Illumina MiSeq PE300 平台进行测序. 将本研究所得的 *mcrA* 基因序列上传至 NCBI Sequence Read Archive(SRA)数据库,登录号为 PRJNA669231.

1.4.3 生物信息学分析

下机序列删除 barcode 和引物序列后,对双端序列作质量筛查,利用 FLASH(Fast Length Adjustment of Short reads, v1.2.7)软件根据重叠碱基对通过质量初筛的双端序列进行配对连接(重叠碱基长度不小于 10 bp,且不允许碱基错配). 运用 QIIME 软件(Quantitative Insights Into Microbial Ecology, v1.8.0)对序列进行过滤,去除 PCR 扩增过程中产生的嵌合体序列、测序本身产生点突变等错误序列,得到高质量序列,用于后续生物信息学分析. 通过 UCLUST 序列比对工具,对高质量序列按 89% 的序列相似度进行归并和可操作分类单元(OTU)划分[26],并选取每个 OTU 中丰度最高的序列作为该 OTU 的代表序列与 NCBI-nt 数据库进行比对,获得各样品在不同分类水平上的物种信息.

利用 QIIME 软件计算样品的 α 多样性指数,包括 Chao1 和 Shannon,评价不同样品中产甲烷菌群落丰富度和多样性情况. 采用 Origin 2019 软件绘制产甲烷菌丰度图、相对丰度图及代谢类型图,通过 QIIME 软件聚类分析反映样本间的群落差异.

1.5 环境因子对产甲烷菌群落结构的影响分析

利用 R 语言(v4.0.2)进行 BIOENV 分析,选取最优环境因子组合. 通过 Canoco5 冗余分析(redundancy analysis, RDA)探讨土壤环境因子与产甲烷菌群落结构之间的关系,并用蒙特卡洛检验进行统计学验证.

2 结果与分析

2.1 土壤理化参数分析

对土壤样品进行理化参数测定, 11 项指标如表 2 所示. 经 ANOVA 分析发现, 3 种处理下土壤 pH、有机质、铵盐、硝酸盐、碱解氮、全磷和电导率均存在显著性差异($P<0.05$),而全氮、有效磷、速效钾和水溶性盐差异不显著($P>0.05$). 总体上耐盐碱水稻的土壤 pH 明显高于另外两种处理,而电导率最低. 有机质、铵盐、碱解氮、全氮、有效磷、全磷和速效钾在水稻土壤中有较高的含量. 硝酸盐和水溶性盐可能受土地利用影响,两者含量在水稻土壤中均低于对照田.

表 2 土壤样品理化参数[1)]

Table 2 Environmental parameters of soil samples

样品类型	采集月份	样品名称	pH	有机质/%	电导率/mS·m^{-1}	铵盐/mg·kg^{-1}	硝酸盐/mg·kg^{-1}	碱解氮/mg·kg^{-1}	全氮/mg·kg^{-1}	有效磷/mg·kg^{-1}	全磷/mg·kg^{-1}	速效钾/mg·kg^{-1}	水溶性盐/g·kg^{-1}
YC1703	4	ST4	7.72	0.77	115	14.00	29.79	62.0	847	10.1	851	439	15.4
	6	ST6	8.13	0.75	92.0	16.95	1.98	87.5	794	70.0	865	636	2.7
	7	ST7	8.29	0.73	93.1	12.64	1.84	97.4	829	60.4	764	587	2.3
	8	ST8	8.22	0.79	84.6	11.48	2.70	108	722	76.4	841	670	1.7
	9	ST9	8.27	0.77	98.6	18.64	1.19	87.4	735	45.8	754	687	2.5
临稻 10 号	4	PA4	7.52	0.95	304	31.33	6.95	74.0	726	8.00	759	538	17.6
	6	PA6	7.59	1.04	372	42.17	0.82	105	841	48.1	890	587	2.6
	7	PA7	7.78	0.87	238	64.49	1.08	78.1	745	48.7	712	512	2.4
	8	PA8	7.59	0.86	266	64.41	0.86	74.1	749	82.5	725	703	1.9
	9	PA9	7.51	0.80	238	30.74	1.32	94.1	812	61.7	845	572	2.3
对照	4	CK4	7.39	0.41	306	7.28	14.61	68.4	714	16.9	370	557	11.8
	6	CK6	7.43	0.49	364	4.02	11.75	68.1	657	18.0	492	442	7.7
	7	CK7	7.54	0.45	357	5.49	15.11	45.2	735	8.10	354	484	4.0
	8	CK8	7.75	0.48	345	6.37	9.41	66.4	687	4.10	446	469	4.6
	9	CK9	7.73	0.48	398	7.21	6.83	59.4	746	7.20	324	512	4.3

1)数值为平行样检测后的平均值

2.2 产甲烷菌丰度分析

种植耐盐碱水稻、普通水稻的土壤以及对照土壤中产甲烷菌 *mcrA* 基因拷贝数分别为 4.04×10^3 ~ 1.16×10^4、1.56×10^4 ~ 2.93×10^4 和 1.20×10^3 ~ 3.18×10^3 copies·g^{-1}(图 1). 3 种处理下土壤中的产甲烷菌丰度存在显著差异($P<0.01$),产甲烷菌丰度的总趋势为:普通水稻土壤 > 耐盐碱水稻土壤 > 对照土壤. 两种稻田中产甲烷菌丰度随时间变化均

呈现先升高后降低的趋势，分蘖期(6 月)丰度最高，孕穗期(8 月)丰度最低，在成熟期(9 月)又有回升的趋势. 不同水稻生育期，两种稻田中的产甲烷菌丰度均表现出显著性变化($P<0.01$)，说明产甲烷菌丰度受水稻生育期的影响. 对照土壤产甲烷菌丰度与两种稻田相比变化幅度较小，不同月份对照土壤产甲烷菌丰度存在显著性差异($P<0.01$). 总体来说，两种水稻种植下产甲烷菌丰度变化趋势相似，并明显区别于对照土壤，因此耐盐碱水稻和普通水稻的种植对土壤产甲烷菌丰度均产生了较大影响，普通水稻更有利于产甲烷菌的生存.

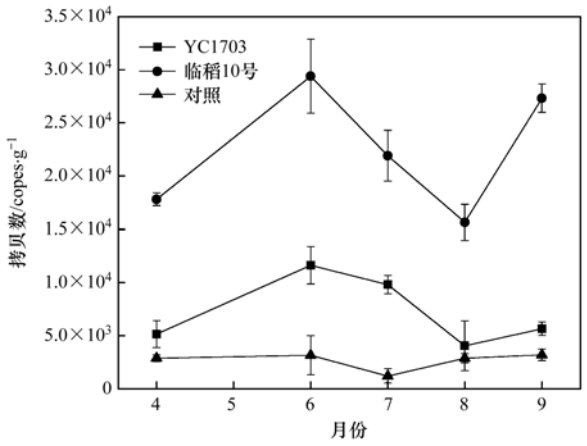


图 1　3 种处理下土壤产甲烷群落丰度随时间的变化情况

Fig. 1　Methanogen community abundance in different months

2.3　产甲烷菌群落结构分析

2.3.1　产甲烷菌群落多样性分析

采用 Illumina 高通量测序技术，对不同处理下土壤样品中产甲烷菌的群落特征进行分析. 15 个土壤样品共得到133 023条产甲烷菌序列，每个样品的序列条数介于54 481 ~ 110 932之间. 本研究共得到 302 个 OTUs，每个样品的 OTUs 介于 38 ~ 123 之间. 15 个土壤样品的覆盖度均大于 99.95%，表明测序量已足够反映样本所包含的产甲烷菌多样性. 耐盐碱水稻土壤产甲烷菌群落的丰富度和多样性最大值出现在拔节期(7 月)，普通水稻土壤的这两种指数则在分蘖期(6 月)达到峰值(表 3). 对照土壤产甲烷菌群落丰富度和多样性显著低于水稻土壤($P<0.01$)，表明水稻的种植能够改善土壤质量，有利于产甲烷菌的生存. 不同水稻生育期内，稻田土壤产甲烷菌丰富度和多样性均存在显著性差异($P<0.01$).

表 3　不同类型土壤中产甲烷菌群落多样性指数

Table 3　Diversity index of methanogen community in different samples

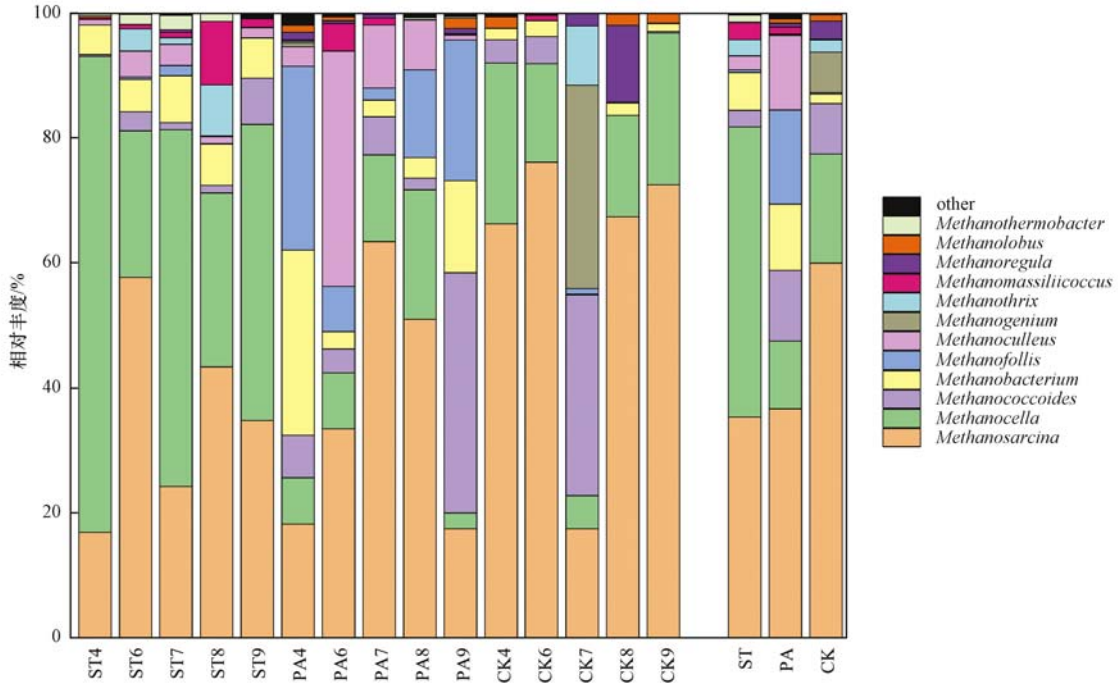
样品类型	采集月份	样品名称	序列条数	OTU 个数	Chao1 指数	Shannon 指数	覆盖率/%
YC1703	4	ST4	101 401	85	86.67	4.42	99.98
	6	ST6	86 689	101	101.00	4.05	100.00
	7	ST7	110 932	113	115.80	4.75	99.97
	8	ST8	99 491	82	93.00	4.33	99.96
	9	ST9	57 314	79	83.00	4.12	99.97
临稻 10 号	4	PA4	59 617	102	107.14	3.69	99.97
	6	PA6	60 664	123	126.00	4.61	99.98
	7	PA7	59 415	91	91.83	3.50	99.98
	8	PA8	75 182	98	101.00	4.23	99.98
	9	PA9	54 481	95	96.67	3.82	99.98
对照	4	CK4	82 656	72	74.10	3.69	99.98
	6	CK6	59 258	40	40.00	3.58	100.00
	7	CK7	88 503	43	43.50	3.32	99.99
	8	CK8	68 203	38	39.20	3.10	99.99
	9	CK9	69 217	54	54.50	3.66	99.99

2.3.2　产甲烷菌群落组成分析

本研究在属分类水平对 3 类土壤产甲烷菌群落结构进行差异分析(图 2). 水稻移栽前(4 月)，两种稻田的产甲烷优势类群不同，种植耐盐碱水稻的土壤以 *Methanocella*(76.19%)为主导菌群，种植普通水稻的土壤中 *Methanobacterium*(29.56%)和 *Methanofollis*(29.44%)最具优势，而对照土壤中含量最丰富的是 *Methanosarcina*(66.20%). 水稻移栽后，水稻根际分泌物和凋落物为产甲烷菌提供丰富的底物，增加了产甲烷菌群落物种多样性. 在整个水稻生育期内，耐盐碱水稻土壤中产甲烷菌群落主要由 *Methanocella*(23.49% ~ 76.19%)和 *Methanosarcina*(16.91% ~ 57.67%)组成. 普通水稻土壤产甲烷菌的优势类群在不同水稻生育期存在差异，*Methanosarcina* 的相对丰度随水稻生长呈现先升高后降低的趋势，于拔节期(7 月)达到最大值，其相对丰度在拔节期(7 月)和孕穗期(8 月)均占比超过 50.95%，成为主导菌群；分蘖期(6 月)以 *Methanoculleus*(37.71%)和 *Methanosarcina*(33.47%)为主；成熟期(9 月)则以 *Methanococcoides*(38.42%)和 *Methanofollis*(22.53%)为主. 与两种稻田相比，对照土壤产甲烷

菌群落结构单一,*Methanosarcina* 占绝对优势,在拔节期其相对丰度最低,而其它阶段占比均超过66.20%.

整体上,耐盐碱水稻和对照土壤中 *Methanocella*(耐盐碱水稻土壤:46.38%、对照土壤:17.51%)和 *Methanosarcina*(耐盐碱水稻土壤:35.41%、对照土壤:59.92%)占比最高. *Methanocella* 在种植耐盐碱水稻的土壤中含量显著高于另外两种处理($P < 0.01$),可能耐盐碱水稻品种对 *Methanocella* 的生存更为有利;而 *Methanosarcina* 在3种不同处理的土壤中不存在显著性差异($P > 0.05$). 普通水稻土壤产甲烷菌第一优势类群为 *Methanosarcina*(36.70%), *Methanofollis*、*Methanoculleus*、*Methanococcoides*、*Methanocella* 和 *Methanobacterium* 这5种产甲烷菌含量分布在10.60% ~ 15.02%之间.



ST 表示种植耐盐碱水稻的土壤,PA 表示种植普通水稻的土壤,CK 表示对照土壤;4、6、7、8 和9分别代表采样月份,下同

图2 属分类水平上产甲烷菌的相对丰度

Fig. 2 Relative methanogen community abundances in different samples at the genus level

迄今为止研究者只发现了两种以乙酸为底物生成甲烷的产甲烷菌,分别为 *Methanosarcina* 和 *Methanothrix*[6]. 这两种乙酸发酵型产甲烷菌中,*Methanosarcina* 在3种不同处理的土壤中大量存在,而 *Methanothrix* 仅在种植耐盐碱水稻和对照土壤中有少量发现. 甲基营养型产甲烷菌仅分布在甲烷八叠球菌目、马赛球菌目以及甲烷杆菌目中[4,6]. 本研究共发现3种甲基营养型产甲烷菌,分别是甲烷八叠球菌目下的 *Methanococcoides* 和 *Methanolobus*、马赛球菌目下的 *Methanomassiliicoccus*. *Methanococcoides* 在对照和种植普通水稻土壤中分别于拔节期(7月)和成熟期(9月)占比最高,在耐盐碱水稻土壤中不同水稻生育期内含量均低于7.42%;而 *Methanolobus* 未在耐盐碱水稻中检测到;*Methanomassiliicoccus* 只在水稻种植的土壤中有少量发现.

按照产甲烷菌的代谢类型将其进行分类发现(图3),种植耐盐碱水稻的土壤在水稻移栽前(4月)、拔节期(7月)和成熟期(9月)以 H_2/CO_2 还原型产甲烷菌为主,分别占产甲烷菌82.16%、72.57%、56.27%;而分蘖期(6月)和孕穗期(8月)兼性营养型相对丰度较高,分别占比57.67%,43.43%. 种植普通水稻的土壤在水稻移栽前(4月)、分蘖期(6月)和成熟期(9月)以 H_2/CO_2 还原型产甲烷菌为主,分别占72.82%、57.65%、42.16%;在拔节期(7月)和孕穗期(8月)兼性营养型占优势,分别占63.37%、50.96%. 对照土壤除拔节期(7月)外,兼性营养型产甲烷菌占绝对优势(66.20% ~ 76.15%),拔节期以 H_2/CO_2 还原型(40.94%)为主. 整体上产甲烷菌代谢类型在两种稻田中表现为:H_2/CO_2 还原型 > 兼性营养型 > 甲基营养型 > 乙酸发酵型,而对照土壤则为:兼性营养型 > H_2/CO_2 还原型 > 甲基营养型 > 乙酸发酵型.

2.3.3 产甲烷菌群落聚类分析

采用基于 Weighted Unifrac 距离矩阵的非加权组平均法(unweighted pair-group method with

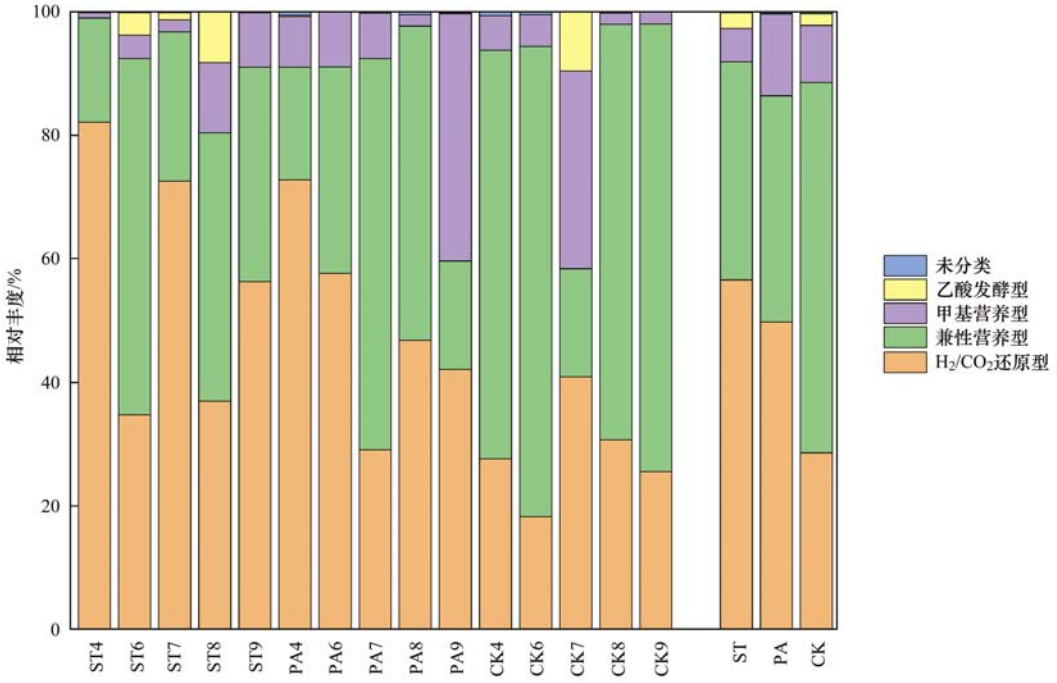


图 3　不同代谢类型产甲烷菌的相对丰度

Fig. 3　Relative methanogen abundance by metabolic types

arithmetic means, UPGMA)对 15 个土壤样品中产甲烷菌群落进行聚类分析(图 4). 结果表明, 15 个样品共分为两支,种植普通水稻的土壤在水稻移栽前(4 月)和成熟期(9 月)的两个土壤样品形成一个分支,其余 13 个样品形成一个分支. 耐盐碱水稻土壤样品聚为一簇,表明不同生育期耐盐碱水稻土壤产甲烷菌群落结构相似,且明显区别于其它两种处理,其中水稻移栽前、拔节期(7 月)以及成熟期 3 种土壤样品,均以 H_2/CO_2 还原型产甲烷菌 *Methanocella*(>47. 36%)为优势菌群聚为一支,分蘖期(6 月)和孕穗期(8 月)的土壤则以兼性营养型产甲烷菌

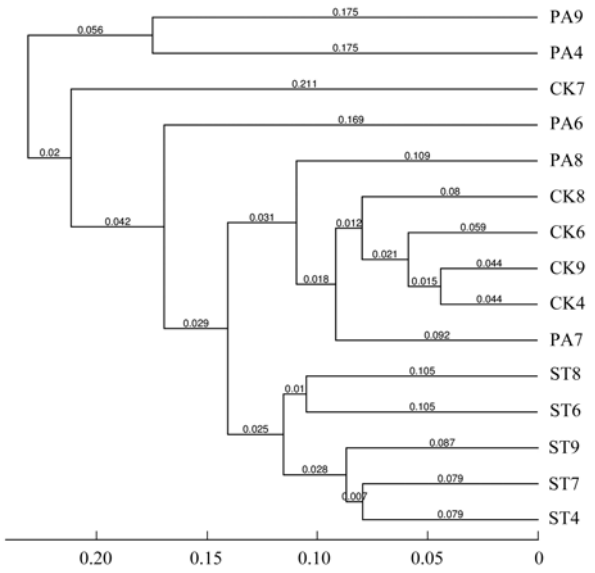


图 4　产甲烷菌群落结构聚类分析

Fig. 4　Cluster analysis of methanogen community

Methanosarcina(>43. 43%)为优势聚为一支. 对照土壤除拔节期(7 月)外均与普通水稻土壤拔节期、孕穗期的土壤样品聚为一支,以上 6 个土壤样本均以兼性营养型的 *Methanosarcina*(>50. 96%)作为产甲烷菌的优势菌群.

2. 4　产甲烷菌群落结构与环境因子的相关性分析

BIOENV 分析发现,有机质、铵盐、有效磷和电导率对种植耐盐碱水稻的土壤产甲烷菌群落结构影响较大; pH、有机质、铵盐和有效磷对种植普通水稻的土壤产甲烷菌群落结构影响较大; 硝酸盐、碱解氮和速效钾对照土壤产甲烷菌群落结构影响较大. 在属分类水平上分别对 3 种不同处理土壤中的产甲烷菌群落与上述最优环境因子组合进行 RDA 分析.

耐盐碱水稻土壤 RDA[图 5(a)]表明第一与第二排序轴的累计解释量为 98. 16%,在水稻移栽前(4 月)、拔节期(7 月)及成熟期(9 月), *Methanocella*、*Methanolobus*、*Methanoregula* 和 *Methanofollis* 与电导率呈正相关; 有机质、有效磷和铵盐与分蘖期(6 月)和孕穗期(8 月)两种土壤样品中的其它产甲烷菌均呈现正相关关系. 蒙特卡洛置换检验显示上述 4 个环境因子对耐盐碱水稻土壤产甲烷菌群落结构不存在显著影响($P>0.05$). 普通水稻土壤 RDA[图 5(b)]表明第一与第二排序轴的累计解释量为 84. 04%,只有分蘖期、拔节期和孕穗期土壤中的 *Methanosarcina*、*Methanoculleus*、*Methanocella* 和 *Methanomassiliicoccus* 与有机质、pH、有效磷及铵盐呈正相关. 蒙特卡洛置换检验显示上述 4 个环境因

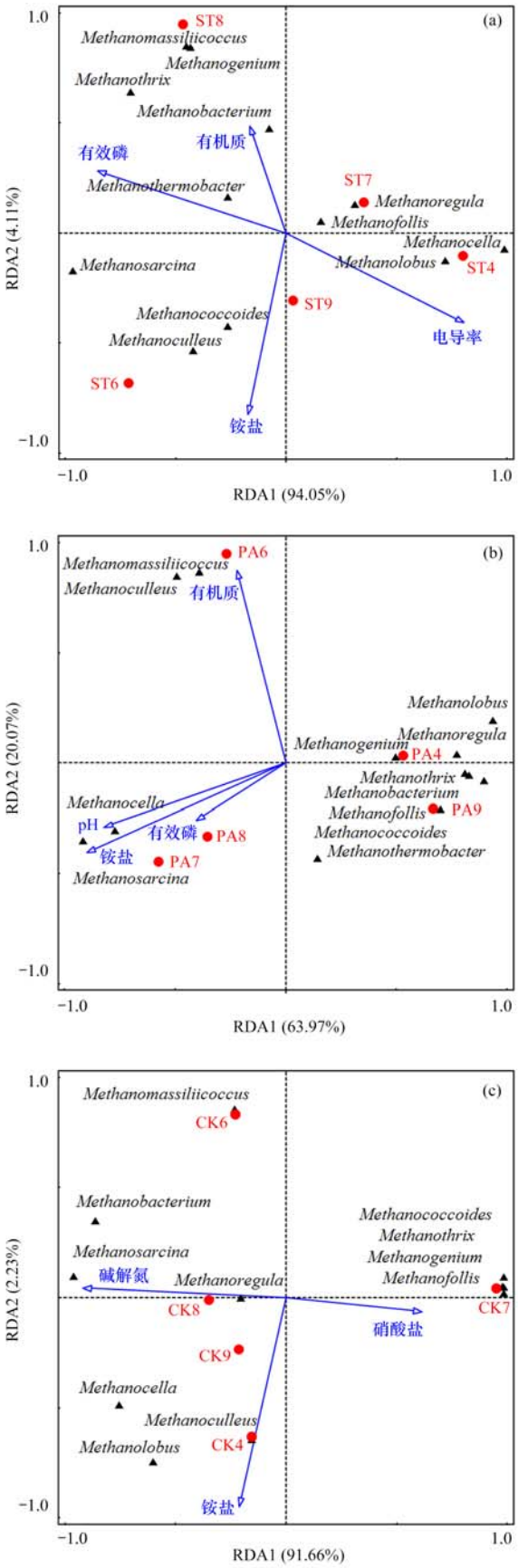


图 5 产甲烷菌群落与环境因子的 RDA 分析

Fig. 5 Redundancy analysis of methanogen community and environmental parameters

子对普通水稻土壤产甲烷菌群落结构也不存在显著影响($P>0.05$). 对照土壤 RDA[图 5(c)]表明,第一与第二排序轴的累计解释量为 93.89%,在拔节期 *Methanococcoides*、*Methanogenium*、*Methanothrix* 和 *Methanofollis* 与硝酸盐呈明显正相关,而其它阶段土壤中 *Methanosarcina*、*Methanocella* 和 *Methanobacterium* 等与碱解氮、铵盐呈正相关. 蒙特卡洛置换检验显示上述 3 个环境因子对对照土壤产甲烷菌群落结构影响不显著($P>0.05$). 由此表明在 3 种处理下土壤产甲烷菌群落分布均受到多种环境因素综合影响.

3 讨论

3.1 产甲烷菌丰度分析

种植耐盐碱水稻的土壤中产甲烷菌平均丰度为 7.25×10^3 copies·g^{-1},种植普通水稻的土壤为 2.24×10^4 copies·g^{-1},对照土壤则为 2.66×10^3 copies·g^{-1}. 本研究两种稻田中的产甲烷菌丰度明显低于之前的相关研究[20,27,28],可能与水稻种植年限有关[29]. 微生物丰度受土地利用、植株生长阶段的影响[30,31],本研究发现水稻种植和水稻生育期对土壤中产甲烷菌丰度产生了明显影响. 水稻移栽后,除水稻植物残基和土壤有机质外,易降解化合物通过水稻根系释放到土壤中[31],为产甲烷菌的生存提供了新的条件. 两种稻田中的产甲烷菌丰度在分蘖期(6 月)均显著高于其它生长阶段($P<0.01$),这与李大明等[32]的研究结果相同. 有研究还发现,甲烷在水稻分蘖期排放量最高[33,34],甲烷排放量与产甲烷菌丰度呈正相关关系[35]. 因此推测分蘖期水稻根系分泌物和脱落物为产甲烷菌提供了更充足的底物来源. 本研究两种稻田中的产甲烷菌丰度从分蘖期(6 月)到孕穗期(8 月)逐渐降低,推测可能存在种内竞争,而孕穗期降雨量(588 mm)的迅速增加为产甲烷菌提供了理想的厌氧环境,因此其丰度在成熟期(9 月)又呈现回升趋势. 有研究发现产甲烷菌丰度随植被演替发生变化[36],而葛会敏[37]通过对不同水稻品种根际土壤产甲烷菌进行比较,发现不同水稻品种对产甲烷菌丰度有显著影响. 本研究普通水稻土壤产甲烷菌丰度显著高于耐盐碱水稻土壤($P<0.01$),因此土壤微生物丰度可能受作物品种差异影响.

此外,本研究还发现耐盐碱水稻土壤和对照土壤中的环境因子对产甲烷菌丰度均不存在显著影响($P>0.05$),普通水稻土壤中碱解氮($r=0.950$, $P<0.05$)和全氮($r=0.909$, $P<0.05$)与产甲烷菌群落丰度显著正相关,推测氮素可能通过促进水稻生长间接影响产甲烷菌丰度. 综上,土壤产甲烷菌丰度可能受

作物品种、作物生长发育和环境因子的综合影响.

3.2　水稻土壤中产甲烷菌代谢类型分析

本研究结果表明,耐盐碱水稻土壤中产甲烷菌的优势类群为 *Methanocella* 和 *Methanosarcina*,与之前稻田土壤产甲烷菌的研究结果一致[7,20,38]. 耐盐碱水稻土壤 *Methanocella* 和 *Methanosarcina* 总体占比超过 81.78%,表明耐盐碱水稻可能对产甲烷菌有驯化、选择作用,更适合于以上两种产甲烷菌的生长. 其中 *Methanocella* 属于 H_2/CO_2 还原型产甲烷菌[4],*Methanosarcina* 底物代谢灵活,可利用氢气、甲醇、甲胺和乙酸生长,是一种兼性营养型产甲烷菌[6]. 本研究中,以上两种产甲烷菌丰度随水稻的生长处于动态变化之中,表现为此消彼长. 皮尔逊相关分析发现两者存在显著负相关关系($r = -0.959$, $P < 0.05$),猜测两种产甲烷菌可能存在生态位重叠,竞争共同的底物氢气.

有研究表明不同植被覆盖下产甲烷菌群落结构有所差异[39,40],而同一植物不同品种类型也是影响根际微生物群落结构的重要因子[41]. 本研究中不同水稻品种对产甲烷菌群落结构存在影响,与 Conrad 等[42]的发现相同,种植普通水稻的土壤优势产甲烷菌类群较种植耐盐碱水稻的土壤更为多样,包括 *Methanosarcina*、*Methanofollis*、*Methanococcoides* 以及 *Methanoculleus* 等,与以往研究有较大差异[43,44],可能与地理位置有关,有研究表明不同地理位置下气候条件差异也是产甲烷菌群落结构变化的重要因素[45,46]. 产甲烷菌优势种随水稻生长发育而改变已有报道[47],本研究在普通水稻土壤中也有相同发现,H_2/CO_2 还原型产甲烷菌 *Methanofollis*、*Methanobacterium* 在水稻移栽前占优势; H_2/CO_2 还原型 *Methanoculleus* 在分蘖期占优势; 兼性营养型 *Methanosarcina* 在拔节期和孕穗期占优势; 而甲基营养型 *Methanococcoides* 和 H_2/CO_2 还原型 *Methanofollis* 在成熟期占优势.

根据产甲烷菌的群落结构可以推测稻田中的产甲烷代谢途径. Watanabe 等[48]的研究发现,日本安城和福冈稻田土壤中优势产甲烷菌包括 Methanomicrobiales (H_2/CO_2 还原型)、Methanosarcinaceae 和 Methanosaetaceae,推测该区域的产甲烷途径主要为 H_2/CO_2 还原型和乙酸发酵型; Xu 等[49]采用稳定同位素探测技术发现江苏省某稻田以 H_2/CO_2 还原型 Methanobacteriaceae 为主,说明该地产甲烷菌主要通过 H_2/CO_2 还原途径生成甲烷; Hernández 等[50]的研究发现 Methanobacteriaceae 和 Methanosarcinaceae 是黑龙江三江平原淹水稻田中的优势产甲烷菌,Methanosarcinaceae 底物代谢灵活,因此推测 3 种产甲烷代谢途径在该稻田中均有可能发生. 本研究中,耐盐碱水稻土壤包括 H_2/CO_2 还原型、兼性营养型、甲基营养性和乙酸发酵型 4 种代谢类型的产甲烷菌,整个水稻生育期内以 H_2/CO_2 还原型产甲烷菌 *Methanocella* 最具优势; 而普通水稻土壤包括 H_2/CO_2 还原型、兼性营养型和甲基营养性这 3 种代谢类型的产甲烷菌, 整体上 *Methanofollis*、*Methanoculleus*、*Methanocella* 和 *Methanobacterium* 等 H_2/CO_2 还原型产甲烷菌占优势地位. 由此推断产甲烷菌在本研究耐盐碱水稻土壤和普通水稻土壤中主导的代谢途径均为 H_2/CO_2 还原途径.

3.3　产甲烷菌群落结构变化的影响因素

研究表明水稻生育期对土壤微生物群落结构有明显影响[51],本研究同样发现耐盐碱水稻土壤中 *Methanosarcina*、*Methanocella*、*Methanobacterium* 和 *Methanoculleus* 在不同水稻生育期内差异显著($P < 0.05$), 普通水稻土壤中 *Methanosarcina*、*Methanocella*、*Methanofollis* 和 *Methanoregula* 在不同水稻生育期也有显著性差异($P < 0.05$),表明产甲烷菌群落结构会随水稻生长发育发生变化.

袁婧[44]对稻田的研究发现碳氮比是影响产甲烷菌群落结构的最重要因子,还有研究表明 pH、纬度及 C/N 等也是影响产甲烷菌群落组成的重要环境因子[17,52],硝酸盐可以通过抑制产甲烷菌代谢底物氢气、乙酸等的生成进而缓解甲烷的释放[7],此外产甲烷菌对温度较为敏感,能够敏感响应温度变化[53]. 本研究发现,耐盐碱水稻土壤、普通水稻土壤和对照土壤产甲烷菌群落的环境影响因子存在一定差异. 单一的环境因子对产甲烷菌群落结构不存在显著影响,表明稻田土壤产甲烷菌群落结构和分布可能受多种环境因子的综合影响.

4　结论

(1)产甲烷菌群落丰度:种植普通水稻的土壤 > 种植耐盐碱水稻的土壤 > 对照土壤,产甲烷菌在稻田土壤中的丰富度、多样性均显著高于对照土壤($P < 0.05$),水稻的种植促进了产甲烷菌的生长.

(2)水稻品种、水稻生育期、环境因子共同影响土壤产甲烷菌的丰度及其群落组成.

(3)整个水稻生育期内,种植耐盐碱水稻的土壤和种植普通水稻的土壤均以 H_2/CO_2 还原型产甲烷菌占优势地位,而对照土壤兼性营养型产甲烷菌占绝对优势. 由此推测产甲烷菌在耐盐碱水稻土壤和普通水稻土壤中主导的产甲烷途径均为 H_2/CO_2 还原型,对照土壤则为兼性营养型.

参考文献：

[1] 蔡朝阳，何崭飞，胡宝兰. 甲烷氧化菌分类及代谢途径研究进展[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版)，2016，**42**(3)：273-281.
Cai C Y，He Z F，Hu B L. Progresses in the classification and mechanism of methane-oxidizing bacteria[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences)，2016，**42**(3)：273-281.

[2] Lelieveld J，Crutzen P J，Brühl C. Climate effects of atmospheric methane[J]. Chemosphere，1993，**26**(1-4)：739-768.

[3] 张佩，王晓锋，袁兴中. 中国淡水生态系统甲烷排放基本特征及研究进展[J]. 中国环境科学，2020，**40**(8)：3567-3579.
Zhang P，Wang X F，Yuan X Z. General characteristics and research progress of methane emissions from freshwater ecosystems in China[J]. China Environmental Science，2020，**40**(8)：3567-3579.

[4] Buan N R. Methanogens：pushing the boundaries of biology[J]. Emerging Topics in Life Sciences，2018，**2**(4)：629-646.

[5] 李思琦，臧昆鹏，宋伦. 湿地甲烷代谢微生物产甲烷菌和甲烷氧化菌的研究进展[J]. 海洋环境科学，2020，**39**(3)：488-496.
Li S Q，Zang K P，Song L. Review on methanogens and methanotrophs metabolised by methane in wetland[J]. Marine Environmental Science，2020，**39**(3)：488-496.

[6] Liu Y C，Whitman W B. Metabolic，phylogenetic，and ecological diversity of the methanogenic archaea[J]. Annals of the New York Academy of Sciences，2008，**1125**(1)：171-189.

[7] Bao Q L，Huang Y Z，Wang F H，*et al*. Effect of nitrogen fertilizer and/or rice straw amendment on methanogenic archaeal communities and methane production from a rice paddy soil[J]. Applied Microbiology and Biotechnology，2016，**100**(13)：5989-5998.

[8] 佘晨兴，仝川，王维奇. 互花米草沼泽湿地产甲烷古菌的多样性及垂向分布[J]. 环境科学学报，2014，**34**(1)：186-193.
She C X，Tong C，Wang W Q. Vertical distribution and diversity of methanogenic archaea in estuarine marsh dominated by *Spartina alterniflora*[J]. Acta Scientiae Circumstantiae，2014，**34**(1)：186-193.

[9] Fu L，Song T Z，Lu Y H. Snapshot of methanogen sensitivity to temperature in Zoige wetland from Tibetan plateau[J]. Frontiers in Microbiology，2015，**6**，doi：10.3389/fmicb.2015.00131.

[10] McCalley C K，Woodcroft B J，Hodgkins S B，*et al*. Methane dynamics regulated by microbial community response to permafrost thaw[J]. Nature，2014，**514**(7523)：478-481.

[11] 王艳发，魏士平，崔鸿鹏，等. 祁连山冻土区土壤活动层与冻土层中甲烷代谢微生物群落结构特征[J]. 应用与环境生物学报，2016，**22**(4)：592-598.
Wang Y F，Wei S P，Cui H P，*et al*. Methane metabolic microbial community structure in the active layer and the permafrost layer of the Qilian permafrost，China[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology，2016，**22**(4)：592-598.

[12] Winkel M，Mitzscherling J，Overduin P P，*et al*. Anaerobic methanotrophic communities thrive in deep submarine permafrost [J]. Scientific Reports，2018，**8**(1)，doi：10.1038/s41598-018-19505-9.

[13] Gründger F，Jiménez N，Thielemann T，*et al*. Microbial methane formation in deep aquifers of a coal-bearing sedimentary basin，Germany[J]. Frontiers in Microbiology，2015，**6**，doi：10.3389/fmicb.2015.00200.

[14] Abdallah M B，Karray F，Kallel N，*et al*. Abundance and diversity of prokaryotes in ephemeral hypersaline lake Chott El Jerid using Illumina Miseq sequencing，DGGE and qPCR assays [J]. Extremophiles，2018，**22**(5)：811-823.

[15] Le Mer J，Roger P. Production，oxidation，emission and consumption of methane by soils：a review[J]. European Journal of Soil Biology，2001，**37**(1)：25-50.

[16] Conrad R，Erkel C，Liesack W. Rice Cluster I methanogens，an important group of *Archaea* producing greenhouse gas in soil[J]. Current Opinion in Biotechnology，2006，**17**(3)：262-267.

[17] 刘少文，殷敏，褚光，等. 长江中下游稻区不同水旱轮作模式和氮肥水平对稻田 CH_4 排放的影响[J]. 中国农业科学，2019，**52**(14)：2484-2499.
Liu S W，Yin M，Chu G，*et al*. Effects of various paddy-upland crop rotations and nitrogen fertilizer levels on CH_4 emission in the middle and lower reaches of the Yangtze River[J]. Scientia Agricultura Sinica，2019，**52**(14)：2484-2499.

[18] Watanabe T，Hosen Y，Agbisit R，*et al*. Changes in community structure of methanogenic archaea brought about by water-saving practice in paddy field soil[J]. Soil Biology and Biochemistry，2013，**58**：235-243.

[19] Fan D J，Liu T Q，Sheng F，*et al*. Nitrogen deep placement mitigates methane emissions by regulating methanogens and methanotrophs in no-tillage paddy fields[J]. Biology and Fertility of Soils，2020，**56**(5)：711-727.

[20] Ma K，Conrad R，Lu Y H. Responses of methanogen *mcrA* genes and their transcripts to an alternate dry/wet cycle of paddy field soil[J]. Applied and Environmental Microbiology，2012，**78**(2)：445-454.

[21] 云雪雪，陈雨生. 国际盐碱地开发动态及其对我国的启示[J]. 国土与自然资源研究，2020，(1)：84-87.
Yun X X，Chen Y S. A international development of saline-alkali land and its enlightenment to China[J]. Territory & Natural Resources Study，2020，(1)：84-87.

[22] 姚栋萍，吴俊，胡忠孝，等. 水稻耐盐碱的生理机制及育种策略[J]. 杂交水稻，2019，**34**(4)：1-7.
Yao D P，Wu J，Hu Z X，*et al*. Physiological mechanism and breeding strategy of rice saline-alkaline tolerance[J]. Hybrid Rice，2019，**34**(4)：1-7.

[23] 王旭明，赵夏夏，陈景阳，等. 盐胁迫下海水稻抗逆生理响应分析[J]. 中国生态农业学报，2019，**27**(5)：747-756.
Wang X M，Zhao X X，Chen J Y，*et al*. Physiological adversity resistance of sea rice to salinity stress[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture，2019，**27**(5)：747-756.

[24] 王昊. 耐盐碱水稻品种筛选及遗传分析[D]. 哈尔滨：东北林业大学，2019.
Wang H. Screening of saline alkaline tolerant varieties of rice (*Oyza sativa* L.) and genetic analysis[D]. Harbin：Northeast Forestry University，2019.

[25] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. (第三版). 北京：中国农业出版社，2000.

[26] Steinberg L M，Regan J M. Phylogenetic comparison of the methanogenic communities from an acidic，oligotrophic fen and an anaerobic digester treating municipal wastewater sludge[J]. Applied and Environmental Microbiology，2008，**74**(21)：6663-6671.

[27] 许静. 稻田甲烷排放的微生物群落结构组成及活性初步研究[D]. 合肥：安徽农业大学，2012.
Xu J. Structure and activity of soil microbial communities associated with methane emission in rice fields[D]. Hefei：Anhui Agricultural University，2012.

[28] Reim A，Hernández M，Klose M，*et al*. Response of

methanogenic microbial communities to desiccation stress in flooded and rain-fed paddy soil from Thailand[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, **8**, doi: 10.3389/fmicb.2017.00785.

[29] 刘亚龙. 水稻土微生物群落结构及功能随植稻年限的变化：滩涂围垦稻田时间序列的案例研究[D]. 南京：南京农业大学, 2014.
Liu Y L. Changes in soil microbial community structure and fucntioning of paddy soil with rice cultivation length: a case study of a chronosequence rice paddies derived from tidal marsh[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.

[30] Lammel D R, Nüsslein K, Tsai S M, *et al*. Land use, soil and litter chemistry drive bacterial community structures in samples of the rainforest and Cerrado (Brazilian Savannah) biomes in southern Amazonia[J]. European Journal of Soil Biology, 2015, **66**: 32-39.

[31] Pump J, Conrad R. Rice biomass production and carbon cycling in $^{13}CO_2$ pulse-labeled microcosms with different soils under submerged conditions[J]. Plant and Soil, 2014, **384**(1-2): 213-229.

[32] 李大明, 成艳红, 刘满强, 等. 双季稻田甲烷排放与土壤产甲烷菌群落结构和数量关系研究[J]. 农业环境科学学报, 2013, **32**(4): 866-873.
Li D M, Cheng Y H, Liu M Q, *et al*. Relationship between methane emission and the community structure and abundance of methanogens under double rice cropping system[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2013, **32**(4): 866-873.

[33] 周文涛, 戈家敏, 王勃然, 等. 不同水稻品种甲烷排放与土壤酶的关系[J]. 农业环境科学学报, 2020, **39**(11): 2675-2682.
Zhou W T, Ge J M, Wang B R, *et al*. Relationship between methane emissions and soil enzymes of different rice varieties [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2020, **39**(11): 2675-2682.

[34] 孙会峰, 周胜, 陈桂发, 等. 水稻品种对稻田 CH_4 和 N_2O 排放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2015, **34**(8): 1595-1602.
Sun H F, Zhou S, Chen G F, *et al*. Effects of rice cultivars on CH_4 and N_2O emissions from rice fields[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2015, **34**(8): 1595-1602.

[35] Cai F, Feng Z J, Zhu L Z. Effects of biochar on CH_4 emission with straw application on paddy soil[J]. Journal of Soils and Sediments, 2018, **18**(2): 599-609.

[36] Zeleke J, Sheng Q, Wang J G, *et al*. Effects of *Spartina alterniflora* invasion on the communities of methanogens and sulfate-reducing bacteria in estuarine marsh sediments [J]. Frontiers in Microbiology, 2013, **4**, doi: 10.3389/fmicb.2013.00243.

[37] 葛会敏. 稻田甲烷排放水稻品种间差异及机理[D]. 扬州：扬州大学, 2016.
Ge H M. Methane emission from paddy field in different rice cultivars and its possible mechanisms[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2016.

[38] Yuan Q, Huang X Z, Rui J P, *et al*. Methane production from rice straw carbon in five different methanogenic rice soils: rates, quantities and microbial communities[J]. Acta Geochimica, 2020, **39**(2): 181-191.

[39] Vigneron A, Cruaud P, Bhiry N, *et al*. Microbial community structure and methane cycling potential along a thermokarst pond-peatland continuum[J]. Microorganisms, 2019, **7**(11), doi: 10.3390/microorganisms7110486.

[40] Liebner S, Ganzert L, Kiss A, *et al*. Shifts in methanogenic community composition and methane fluxes along the degradation of discontinuous permafrost[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, **6**, doi: 10.3389/fmicb.2015.00356.

[41] 汪娅婷, 付丽娜, 姬广海, 等. 基于高通量测序技术研究云南玉米根际微生物群落多样性[J]. 江西农业大学学报, 2019, **41**(3): 491-500.
Wang Y T, Fu L N, Ji G H, *et al*. A Study of the microbial community diversity of corn rhizosphere in Yunnan province based on high-throughput sequencing technique[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2019, **41**(3): 491-500.

[42] Conrad R, Klose M, Noll M, *et al*. Soil type links microbial colonization of rice roots to methane emission[J]. Global Change Biology, 2008, **14**(3): 657-669.

[43] 王妙莹, 许旭萍, 王维奇, 等. 炉渣与生物炭施加对稻田土壤产甲烷菌群落结构的影响[J]. 生态学报, 2018, **38**(8): 2816-2828.
Wang M Y, Xu X P, Wang W Q, *et al*. Effects of slag and biochar amendments on methanogenic community structures in paddy fields[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, **38**(8): 2816-2828.

[44] 袁婧. 有机肥对稻田甲烷排放的影响及其机理研究[D]. 上海：上海交通大学, 2018.
Yuan J. On the methane emission mechanism in rice soil[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2018.

[45] Martí M, Juottonen H, Robroek B J M, *et al*. Nitrogen and methanogen community composition within and among three *Sphagnum* dominated peatlands in Scandinavia[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, **81**: 204-211.

[46] Cheema S, Zeyer J, Henneberger R. Methanotrophic and methanogenic communities in Swiss alpine fens dominated by *Carex rostrata* and *Eriophorum angustifolium*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, **81**(17): 5832-5844.

[47] Pan X F, Li H, Zhao L X, *et al*. Response of syntrophic bacterial and methanogenic archaeal communities in paddy soil to soil type and phenological period of rice growth[J]. Journal of Cleaner Production, 2021, **278**, doi: 10.1016/j.jclepro.2020.123418.

[48] Watanabe T, Kimura M, Asakawa S. Community structure of methanogenic archaea in paddy field soil under double cropping (rice-wheat)[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, **38**(6): 1264-1274.

[49] Xu J B, Jia Z J, Lin X G, *et al*. DNA-based stable isotope probing identifies formate-metabolizing methanogenic archaea in paddy soil[J]. Microbiological Research, 2017, **202**: 36-42.

[50] Hernández M, Conrad R, Klose M, *et al*. Structure and function of methanogenic microbial communities in soils from flooded rice and upland soybean fields from Sanjiang plain, NE China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, **105**: 81-91.

[51] Breidenbach B, Pump J, Dumont M G. Microbial community structure in the rhizosphere of rice plants[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, **6**, doi: 10.3389/fmicb.2015.01537.

[52] 俎千惠, 王保战, 郑燕, 等. 我国 8 个典型水稻土中产甲烷古菌群落组成的空间分异特征[J]. 微生物学报, 2014, **54**(12): 1397-1405.
Zu Q H, Wang B Z, Zheng Y, *et al*. Spatial shifts in methanogenic archaeal community composition in eight Chinese paddy soils[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2014, **54**(12): 1397-1405.

[53] Peng J J, Wegner C E, Bei Q C, *et al*. Metatranscriptomics reveals a differential temperature effect on the structural and functional organization of the anaerobic food web in rice field soil [J]. Microbiome, 2018, **6**(1), doi: 10.1186/s40168-018-0546-9.

HUANJING KEXUE

Environmental Science (monthly)

Vol. 42 No. 7

Jul. 15, 2021

CONTENTS

Transmission of Coronavirus via Aerosols and Influence of Environmental Conditions on Its Transmission ····· LI Xue, JIANG Jing-kun, WANG Dong-bin, *et al.* (3091)

Impacts of Meteorology and Emission Variations on $PM_{2.5}$ Concentration Throughout the Country During the 2020 Epidemic Period ····· LU Shi-ze, SHI Xu-rong, XUE Wen-bo, *et al.* (3099)

Factors and Their Interaction Effects on the Distribution of $PM_{2.5}$ in the Yangtze River Delta Based on Grids ····· HUANG Xiao-gang, ZHAO Jing-bo, XIN Wei-dong (3107)

Application of ARIMA Model for Mid- and Long-term Forecasting of Ozone Concentration ····· LI Ying-ruo, HAN Ting-ting, WANG Jun-xia, *et al.* (3118)

Pollution Characteristics and Sources of Wintertime Atmospheric Brown Carbon at a Background Site of the Yangtze River Delta Region in China ····· ZHAO Yu, WU Can, WANG Yi-qian, *et al.* (3127)

Spatio-temporal Variation Characteristics Monitored by Remotely Sensed Technique of $PM_{2.5}$ Concentration and Its Influencing Factor Analysis in Sichuan Basin, China ····· LI Meng-zhen, ZHANG Ting-bin, YI Gui-hua, *et al.* (3136)

Construction of Continuous Dynamic Model for River Networks and Its Application in Simulation of Spatiotemporal Migration of Typical Biocides ····· XING Cheng, ZHANG Qian-qian, CAI Ya-ya, *et al.* (3147)

Response of Riverine Nitrogen Exports to Land Use Pattern and Hydrological Regime in the Jiulong River Watershed ····· HUANG Ya-ling, HUANG Jin-liang (3156)

Correlation Between Microplastics Pollution and Eutrophication in the Near Shore Waters of Dianchi Lake ····· YUAN Hai-ying, HOU Lei, LIANG Qi-bin, *et al.* (3166)

Analysis of Water Quality and Exchange Flux of Interstitial Water-Overlying Water in Sediments of Baiyangdian Entrance Area in Summer ····· ZHANG Tian-na, ZHOU Shi-lei, CHEN Zhao-ying, *et al.* (3176)

Distribution Characteristics and Pollution Evaluation of Nitrogen and Organic Matter in Overlying Water and Sediment of Guyun River and Jinshan Lake in Zhenjiang City ····· YUAN Lu-bin, XING Shu-yu, LIU Xin, *et al.* (3186)

Spatial Distribution Characteristics of Phosphorus Fractions and Release Risk in Sediments of Honghu International Importance Wetland ····· LIU Yong-jiu, HUANG Su-zhen, ZHANG Lu, *et al.* (3198)

Pollution Distribution and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in River Sediments from the Ancient Town of Suzhou ····· BAI Dong-rui, ZHANG Tao, BAO Jun-song, *et al.* (3206)

Spatio-temporal Distribution Characteristic and Risk Assessment of Heavy Metals in Soils Around Centralized Drinking Water Sources in Wuhan ····· ZHU Jing, HOU Yao-zong, ZOU Shu-cheng, *et al.* (3215)

Hydro-chemical Characteristics and Ion Origin Analysis of Surface Groundwater at the Shengjin Lake and Yangtze River Interface ····· CUI Yu-huan, WANG Jie, LIU You-cun, *et al.* (3223)

Identifying the Sources of Groudwater NO_3^--N in Agricultural Region of Qingdao ····· KOU Xin-yue, DING Jun-jun, LI Yu-zhong, *et al.* (3232)

Analysis of Phytoplankton Community Stability and Influencing Factors in a Tributary of the Three Gorges Reservoir ····· HE Shu-han, OUYANG Tian, ZHAO Lu, *et al.* (3242)

Distribution Characteristics and Influencing Factors of Phytoplankton Community in Harbin Urban River Network During Wet Season ····· LU Feng, LI Lei, QI Qing-song, *et al.* (3253)

Response of Microbial Community to Natural Organic Matter Input in Lake Sediments ····· JU Qi, ZHANG Qi, CAO Chi-cheng, *et al.* (3263)

Effects of Water Supply Quality and Social Activity on the Microbial Community in Baiyangdian Wetland ····· ZHAO Zhi-rui, WU Hui-qing, BI Yu-fang, *et al.* (3272)

Characteristics of Dissolved Organic Matter in Overlying Water During Algal Bloom Decay ····· LI Xiang, LI Zhi-chun, WANG Xuan, *et al.* (3281)

Water Pollution Characteristics and Source Apportionment in Rapid Urbanization Region of the Lower Yangtze River: Considering the Qinhuai River Catchment ····· MA Xiao-xue, GONG Chang, GUO Jia-xun, *et al.* (3291)

Contamination Characteristics of Surface Runoff in Densely Populated Areas in Downstream Yangtze River, China ····· GUO Wen-jing, ZHANG Zhi-yong, WEN Xue-zheng, *et al.* (3304)

Characteristics of Pollutant Dynamics Under Rainfall-Runoff Events in the Chaohe River Watershed ····· BAO Xin, JIANG Yan, HU Yu-cong (3316)

Influence of Impervious Surface Roughness on Accumulation and Erosion of Urban Non-Point Source Particles ····· SHAN Xi-huan, XIE Wen-xia, LIAO Yun-jie, *et al.* (3328)

Probabilistic Risk Assessment of Arsenic Exposure Through Drinking Water Intake in Chinese Residents ····· QIN Ning, LIU Yun-wei, HOU Rong, *et al.* (3338)

Removal Behavior of Protein-like Dissolved Organic Matter During Different Water Treatment Processes in Full-Scale Drinking Water Treatment Plants ····· LI Meng-ya, SONG Yu-ying, ZHANG Xiao-lan, *et al.* (3348)

Distribution of Heavy Metals and Their Corresponding Nanoparticles in Different Treatment Unit Processes in the Sewage Treatment Plant ····· WANG Du-jia, HE Shuai, ZHOU Xiao-xia (3358)

Metagenomic Analysis of Resistance Genes in Membrane Cleaning Sludge ····· DU Cai-li, LI Zhong-hong, LI Xiao-guang, *et al.* (3366)

Distribution and Removal of Antibiotic-Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes in Petrochemical Wastewater Treatment Plants ····· TANG Zhen-ping, XIAO Sha-sha, DUAN Yi, *et al.* (3375)

Treatment of Medium Ammonium Wastewater by Single-stage Partial Nitritation-ANAMMOX SMBBR ····· LÜ Kai, SHAO Xian-ming, WANG Kang-zhou, *et al.* (3385)

Two-Stage Denitrification Process Performance with Solid Slow-Release Carbon Source ····· TANG Yi, MA Yong-wen, WAN Jin-quan, *et al.* (3392)

Effect of Ozone Dosage on Sludge Settleability and Biological Nutrient Removal in SBR System ····· LÜ Yong-tao, ZHU Chuan-shou, ZHANG Xu-yang, *et al.* (3400)

First Extended Anaerobic Phase Enhanced Nitrogen and Phosphorus Removal by Aerobic Granular Sludge Under Intermittent Gradient Aeration ····· ZHANG Yu-jun, LI Dong, WANG Xin-xin, *et al.* (3405)

Effect of Rate of Salinity Increase on the Performance and Microbial Community Structure of Sequencing Batch Reactors ····· GU Bai-ming, JIN Chun-ji, WEN Chun, *et al.* (3413)

Effects of Cold Acclimation on the Activity of Autotrophic Nitrogen Removal in Granular Sludge and Its Bacterial Population Structure ····· QIAN Fei-yue, LIU Yu-xin, WANG Jian-fang, *et al.* (3422)

Stabilization of Heavy Metals in Municipal Sludge Using a Slag-Based Modifying Agent ····· ZHANG Fa-wen, DONG Ming-kun, CHEN Chen-hui, *et al.* (3430)

Role of Land Use Changes on Ammonia Emissions from Agricultural Ecosystems in the Yangtze River Delta Region from 2000 to 2018 ····· WANG Wen-jin, WANG Qing, ZHU An-sheng, *et al.* (3442)

Effects of Wheat Straw Hydrochar and Its Modified Product on Rice Yield and Ammonia Volatilization from Paddy Fields ····· HAN Chen, HOU Peng-fu, XUE Li-hong, *et al.* (3451)

Effects of Water and Fertilization Management on CH_4 and N_2O Emissions in Double-rice Paddy Fields in Tropical Regions ····· LI Jin-qiu, SHAO Xiao-hui, GOU Guang-lin, *et al.* (3458)

Community Characteristics of Methanogens and Methanogenic Pathways in Salt-tolerant Rice Soil ····· YANG Yu-hong, HE Hui, MI Tie-zhu, *et al.* (3472)

Effect of Ferric-carbon Micro-electrolysis on Greenhouse Gas Emissions from Constructed Wetlands ····· ZHAO Zhong-jing, HAO Qing-ju, TU Ting-ting, *et al.* (3482)

Screening and Evaluation of Methods for Determining Available Lead (Pb) and Cadmium (Cd) in Farmland Soil ····· CHEN Ying, LIU Han-yi, LIU Na, *et al.* (3494)

Spatial Distribution Trends and Influencing Factors of Typical Heavy Metals in Subtropical Alpine Forest Soils: A Case Study from Ailao Mountain in Yunnan Province ····· LIU Xu, WANG Xun, WANG Ding-yong (3507)

Environmental Background Values of Heavy Metals and Physicochemical Properties in Different Soils in Shenzhen ····· LIN Ting, ZHAO Shu-hua, XI Xiu-ping, *et al.* (3518)

Screening of Amendments for Simultaneous Cd and As Immobilization in Soil ····· ZHOU Si-jiang, LIU Zhen-yan, XIONG Shuang-lian, *et al.* (3527)

Simultaneous Immobilization of Arsenic, Lead, and Cadmium in Paddy Soils Using Two Iron-based Materials ····· YUAN Feng, TANG Xian-jin, WU Ji-zi, *et al.* (3535)

Pollution Characteristics of Organophosphate Esters in Frozen Soil on the Eastern Edge of Qinghai-Tibet Plateau ····· LIU Li-ya, YIN Hong-ling, JIAN Lin-jie, *et al.* (3549)

Analysis of Spatial Distribution and Influencing Factors of Nitrogen and Phosphorus Fertilizer Application Intensity in Chengdu Plain ····· LIU Qi-xin, WANG Chang-quan, LI Bing, *et al.* (3555)

Different Responses of Soil Dissolved Organic Matter to Different Types of Compost ····· XI Bei-dou, WANG Yan, TAN Wen-bing, *et al.* (3565)