

王铭科, 马锦峰, 张艺嘉, 杜一鸣, 王燕波, 郑海峰, 尚博, 纪洋, 冯兆忠. 臭氧浓度升高对稻田土壤甲烷产生过程的影响[J]. 土壤学报, 2026.

WANG Mingke, MA Jinfeng, ZHANG Yijia, DU Yiming, WANG Yanbo, ZHENG Haifeng, SHANG Bo, JI Yang, FENG Zhaozhong. The Effect of Elevated Ozone Concentrations on Methane Production Process in Paddy Soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2026.

臭氧浓度升高对稻田土壤甲烷产生过程的影响^{*}

王铭科, 马锦峰, 张艺嘉, 杜一鸣, 王燕波, 郑海峰, 尚 博,
纪 洋[†], 冯兆忠

(农业与生态气象江苏省高校重点实验室, 南京信息工程大学生态与应用气象学院, 南京 210044)

摘 要: 近地层臭氧 (O_3) 浓度升高可以降低稻田甲烷 (CH_4) 排放, 但其对稻田土壤 CH_4 产生过程的影响机制尚不明晰。本研究以长三角地区主栽水稻品种“南粳 9108”为试验材料, 利用开顶气室 (Open Top Chamber, OTC), 设置环境大气 (NF) 和环境大气+40 nmol·mol⁻¹ O_3 (NF40) 处理。通过采集水稻典型生育期 (灌浆期和成熟期) 根际土壤, 开展微宇宙培养试验, 并同步测定水稻根系形态特征、土壤碳组分、微生物丰度及产甲烷菌群落结构, 系统分析 O_3 浓度升高对稻田土壤 CH_4 产生过程的调控机制。结果表明, 与 NF 处理相比, O_3 浓度升高抑制水稻灌浆期根系的比根长和比根面积, 提高水稻成熟期根际土壤有机碳稳定性; 同时改变根际土壤产甲烷菌群落结构, 降低乙酸营养型产甲烷菌相对丰度, 增加氢营养型产甲烷菌相对丰度。 O_3 浓度升高降低稻田根际土壤 CH_4 产生速率 38.1%~46.8%, 其中, 乙酸型途径 CH_4 产生速率降低 66.6%~68.1%, 而氢型途径 CH_4 产生速率增加 6.1%~24.7%。本研究从水稻根系性状—土壤碳稳定性—产甲烷菌群落结构的耦合角度, 系统阐明了 O_3 浓度升高对稻田根际土壤 CH_4 产生过程的调控机制, 为预测未来 O_3 污染背景下农业生态系统 CH_4 排放响应提供重要的过程依据。

关键词: 臭氧胁迫; 根际土壤; 甲烷产生; 产甲烷菌; 土壤有机碳

中图分类号: S19

文献标志码: A

The Effect of Elevated Ozone Concentrations on the Methane Production Process in Paddy Soil

WANG Mingke, MA Jinfeng, ZHANG Yijia, DU Yiming, WANG Yanbo, ZHENG Haifeng, SHANG Bo, JI Yang[†], FENG Zhaozhong

^{*} 国家自然科学基金项目(42130714, 42477124)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 42130714, 42477124)

[†] 通讯作者 Corresponding author, E-mail: jiyang@nuist.edu.cn

作者简介: 王铭科 (2000—), 男, 硕士研究生, 主要从事土壤碳氮循环与全球变化。E-mail: 202312330006@nuist.edu.cn

收稿日期: 2026-01-16; 收到修改稿日期: 2026-04-11; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2026- -

Abstract: 【Objective】Elevated near-surface ozone (O_3) concentrations have been shown to reduce methane (CH_4) emissions from rice paddies. However, the underlying mechanisms regulating soil CH_4 production remain poorly understood. Thus, this study aimed to decipher the mechanisms regulating soil CH_4 production at different rice growth stages and identify the main controlling factors. 【Method】In this study, a widely cultivated rice cultivar (Nanjing 9108) in the Yangtze River Delta was used to investigate the effects of elevated O_3 on methane production processes. An open-top chamber (OTC) system was employed to simulate elevated ozone conditions, including ambient air (NF) and ambient air supplemented with O_3 (NF40 + 40 $nmol \cdot mol^{-1} O_3$). Rhizosphere soils were collected at the typical growth stages of rice (the filling stage and the maturity stage) and subjected to microcosm incubation experiments. Root morphological traits, soil carbon components, microbial abundance, and methanogenic archaeal community composition were simultaneously analyzed to elucidate the regulatory mechanisms of O_3 on CH_4 production. 【Results】The results showed that elevated O_3 reduced specific root length (SRL) and specific root area (SRA) during the filling stage of rice, while enhancing soil organic carbon stability during the maturity stage of rice. This simultaneously altered the community composition of methanogens, characterized by an increase in the relative abundance of hydrogenotrophic methanogens and a decrease in the relative abundance of acetoclastic methanogens. O_3 elevation reduced CH_4 production rates in paddy soils by 38.1%–46.8%, with decreased acetoclastic methanogenesis rates by 66.6%–68.1%. Conversely, CH_4 production rates via hydrogenotrophic methanogenesis increased by 6.1%–24.7%. 【Conclusion】This study provides a process-based understanding of how elevated O_3 regulates methane production in rice soils through coupled changes in plant root traits, soil carbon stabilization, and methanogenic community structure, offering critical insights for predicting CH_4 emissions from agricultural ecosystems under future O_3 pollution scenarios.

Key words: Ozone stress; Rhizosphere soil; Methane production; Methanogenic archaea; Soil organic carbon

近地臭氧 (O_3) 又称“地面臭氧”或“对流层臭氧”，是存在于距离地面 0–25 km 对流层中的 O_3 ，主要是由人为活动而排放的氮氧化物 (NO_x)、挥发性有机物 (VOCs) 等前体物在夏季高温和强日照的条件下产生光化学反应而生成的二次污染物^[1]。我国近地表 O_3 浓度高值主要集中在夏季， O_3 浓度分布表现出“连片化”特征，其中华北及京津冀、长三角等地 O_3 浓度相对较高^[2]，这些地区夏季 O_3 浓度远超过对植物生长造成危害的阈值 (40.0 $nmol \cdot mol^{-1}$)^[3]；同时，我国作为水稻种植大国， O_3 浓度高值集中时期几乎与水稻关键生长期相重合，有研究表明， O_3 浓度升高对长三角地区水稻的平均产量损失为 2 479 Mt，约占实际产量的 9.2%，平均经济损失约为 10.1 亿美元^[4]。同时，随着近地层 O_3 浓度的升高，其温室效应将进一步加剧全球变暖^[5]。

甲烷 (CH_4) 是大气中仅次于 CO_2 的第二大温室气体，《温室气体公报》中显示 2024 年全球年均浓度达 1 942 $nmol \cdot mol^{-1}$ ，中国区域 CH_4 年均浓度为 2 003 $nmol \cdot mol^{-1}$ ，略高于全球均值^[6]。水稻作为世界第二大粮食作物，在所有粮食作物中其单位面积 CH_4 排放强度和单位产量排放强度均为最高^[7]。稻田 CH_4 净排放量主要是由稻田 CH_4 产生与氧化的差值决定^[8]。稻田 CH_4 产生过程作为 CH_4 排放的关键因子，其产生过程已有较多研究^[9–11]，乙酸发酵型途径与氢营养型途径主导 CH_4 产生，其中乙酸发酵型途径约占 CH_4 产生总量的 70%–90%，氢营养型途径约占 CH_4 产生总量的 10%–30%^[12–13]。

尽管 O_3 可以直接从大气扩散到土壤中，但当 O_3 与土壤表面接触后，使其作用扩散范围仅限于表层土壤的毫米级范围^[14]。然而，已有研究表明， O_3 浓度升高会显著抑制稻田 CH_4 排放 38.3%–50.6%^[15]，这可能是由于 O_3 通过加速水稻叶片衰老和脱落，引发光合作用能力

减弱,生物量减少^[16];改变凋落物碳氮含量,分解速率以及根系代谢分泌物含量^[17-19]等连锁反应,使土壤可溶性有机碳(DOC)与微生物生物量碳(MBC)含量下降^[20]。 O_3 浓度升高还可以间接改变土壤微生物的群落组成和多样性。例如, Feng 等^[21]在一项稻田 O_3 熏蒸试验中发现, O_3 浓度升高显著降低乙酸发酵型产甲烷菌(*Methanosaeta*)的群落丰度。此外,还有研究表明, O_3 浓度升高会降低土壤不稳定有机碳储量^[17], 并且促使微生物分泌胞外酶从底物(如纤维素和木质素)中获取碳^[22], 导致土壤中的有机碳稳定性增加。目前关于 O_3 浓度升高对稻田 CH_4 排放和土壤微生物的影响已有诸多研究^[18, 23-24], 但其对稻田土壤 CH_4 产生过程的影响及其机制尚不明晰, 例如, O_3 浓度升高通过降低产甲烷菌可用底物进而降低 29.7%~40.4%的 CH_4 排放通量^[25]; 与之相反, O_3 浓度升高也可以通过降低植物残体与凋落的分解速率, 使之持续提供微生物可利用碳源, 导致受根系影响较小的非根际土壤 CH_4 排放通量增加^[26]。

为探究 O_3 浓度升高对稻田土壤 CH_4 产生过程的影响, 本研究以长三角地区主栽水稻为试验材料, 采用开顶气室(Open Top Chamber, OTC)模拟 O_3 浓度升高情景, 设置环境大气(NF)和环境大气 + 40 nmol·mol⁻¹ O_3 (NF40)处理。在水稻典型生育期采集根际土壤样品, 开展微宇宙培养试验监测 CH_4 产生速率和不同产生途径相对贡献, 并同步测定水稻根系形态特征、根际土壤碳组分、微生物基因丰度及产甲烷菌群落结构, 系统解析 O_3 浓度升高对稻田根际土壤 CH_4 产生过程的调控机制。鉴于 O_3 浓度升高对稻田土壤 CH_4 产生过程的调控机制尚不明确, 本研究提出如下研究假设: (1) O_3 浓度升高通过增加土壤有机碳稳定性, 降低稻田根际土壤产甲烷菌丰度; (2) O_3 浓度升高通过改变不同代谢途径产甲烷菌的相对丰度及其功能贡献, 进而抑制稻田土壤 CH_4 产生过程。本研究旨在从植物根系性状—土壤碳稳定性—产甲烷菌群落结构的耦合角度, 系统阐明 O_3 浓度升高对稻田根际土壤 CH_4 产生过程的调控机制, 为预测未来 O_3 污染背景下农业生态系统 CH_4 排放响应提供了重要的过程依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验区位于江苏省扬州市江都区南京信息工程大学扬州绿色农业研究与示范基地(32°25'N, 119°43'E), 属亚热带季风气候, 年均气温 16.1 °C, 年均降水量 1 777 mm, 年日照时间 2 140 h, 全年无霜期>290 d, 当地长期实行稻麦轮作, 是典型的农田生态系统^[27]。试验土壤质地为砂质壤土, 土壤 pH 7.7、全碳 12.9 g·kg⁻¹、全氮 1.7 g·kg⁻¹、有效磷 6.9 mg·kg⁻¹、速效钾 67.8 mg·kg⁻¹^[28]。

供试水稻品种为“南粳 9108”。2023 年 5 月 23 日育苗, 6 月 20 日选择长势一致的幼苗进行移栽。盆钵直径 35 cm、高度 30 cm, 每盆装土量为 10 kg, 种植 1 穴 2 株。盆栽水稻生长季水肥管理措施与张涵等^[28]一致, 同时密切监视控制病虫害发生。水稻生长季期间总降水量为 1 260 mm, 主要集中于水稻抽穗期和灌浆期。水稻生长季平均气温为 25.8 °C, 空气湿度为 85.0%, 最高气温出现在拔节期, 达到 38.0 °C^[28]。

1.2 试验设计与样品采集

通过 OTC 设施设置 2 个 O_3 浓度梯度处理, 包括 NF (环境大气)、NF40 (环境大气+40 nmol·mol⁻¹ O_3), 每个处理 3 座 OTC 重复, 共设置 6 座 OTC。其中 OTC 为高 2.3 m、直径 4.8 m 的正八面柱体, 顶部留有直径约 3.0 m 的开口。 O_3 以高纯氧(O_2)作为气源, 用 O_3 发生器(HY003, 济南创成科技有限公司)产生 O_3 , 通过鼓风机(CX-125, 上海全风实业有限公司)将混合空气送入每个 OTC 内, 最终使 OTC 内 O_3 均匀分布。使用 49i O_3 分析仪(美

国 Thermo Scientific 公司)对 OTC 内中心位置 O₃ 浓度进行实时监测与记录,根据 OTC 内 O₃ 浓度与设定目标 O₃ 浓度的差异,通过质量流量计控制供应的 O₂ 流量,来控制气室内 O₃ 的浓度。水稻生长期 NF、NF40 处理的 O₃ M10 (8:00—18:00) 平均浓度分别为 39.5、75.9 nmol·mol⁻¹ O₃^[27]。在水稻生长季(7月3日至10月20日)于每天 8:00—18:00 进行 O₃ 熏蒸,遇到雨天则关闭仪器停止通气,详情见张浩然等^[29]描述。

分别在水稻灌浆期(8月28日)和成熟期(10月20日)采集水稻根际土壤样品。将整株水稻从盆栽取出,收集附着在水稻根系上的土壤样品,将其进行混合作为根际土后装入做好标记的无菌密封袋中,每个处理 3 个生物重复。部分土壤样品保存在-20 °C 冰箱用于土壤碳组分测定及甲烷产生培养,部分土壤样品保存在-80 °C 冰箱用于土壤微生物基因丰度与群落结构的测定。

采用浸提法后利用 TOC 仪(multiN/C3100, 德国)测定根际土壤可溶性有机碳(Dissolved organic carbon, DOC)含量。采用氯仿熏蒸法与浸提法,利用 TOC 仪(multiN/C3100, Germany)测定根际土壤微生物量碳(Microbial biomass carbon, MBC)含量。采用溴化钾(KBr)压片法,利用傅里叶变换红外光谱仪(Thermo Scientific Nicolet iS5)测定根际土壤有机质官能团组成,每份称量 10.0 g 样品经晾干、研磨过 200 目筛于 60 °C 烘干,测定时称取 2.0 mg 样品与 200.0 mg KBr 充分混合研磨,压片成厚度约 1.0 mm 的透明片,放入红外光谱仪测定。采用影像扫描仪(Epson Perfection V850 Pro)测定水稻根系的比根长(Specific root length, SRL)及比根面积(Specific root area, SRA)。

1.3 土壤微宇宙培养试验

采用 Shen 等^[30]的厌氧培养方法测定根际土壤 CH₄ 产生速率。简而言之,称取 20.0 g 新鲜土放入 120 mL 培养瓶中,根据土壤含水率加入去离子无菌水,使土水质量比为 1:1。培养瓶用丁基橡胶瓶塞密封后用高纯氮气反复抽真空和冲洗 3 次,使培养瓶中达到完全厌氧状态。培养实验设置两种处理:对照处理(不添加 CH₃F)与抑制处理(在培养瓶顶部气相中注入体积分数为 2%的 CH₃F),后者用于抑制氢型甲烷产生途径,以量化不同 CH₄ 产生途径的 CH₄ 产生速率及其相对贡献^[31-32]。将培养瓶置于 25 °C 培养箱中进行培养,正式培养前先进行 7 d 预培养,每隔 2~3 d 从每个培养瓶的顶部空间采集 2.0 mL 气体样品,并立即补充 2.0 mL 高纯氮气以维持气压平衡。预培养结束后进行正式培养,每隔 5~7 d 以相同方式采集气体样品,CH₄ 浓度由安捷伦气相色谱仪(Agilent 8860, 美国)测定。

1.4 土壤微生物丰度与产甲烷菌群落组成分析

称取 0.5 g 原位根际土壤样品,按照 FastDNA® SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, 美国)说明书提取土壤总 DNA 利用 OneDrop 超微量分光光度计测定 DNA 的浓度和纯度,并将合格 DNA 样品用于后续荧光定量 PCR 和扩增子测序分析。

采用 SYBR Green 荧光染料法对样品中细菌 16S rRNA 基因和 *mcrA* 基因进行荧光定量分析。提取的土壤总 DNA 作为扩增模板。所用引物分别为:细菌 16S rRNA 基因引物 515f 和 907r^[33]; *mcrA* 基因引物 ml-F 和 ml-R^[34]。qPCR 反应体系总体积为 30 μL,包括 15 μL qPCR Mix、0.5 μL 正反向引物(10 μmol·L⁻¹)、2 μL 模板 DNA,其余体积以 ddH₂O 补足至 30 μL。各反应在八联排管中进行,每个样品设置 3 个技术重复,同时设置无模板对照以排除外源污染的影响。扩增程序为:95 °C 预变性 3 min;随后进行 40 个循环:95 °C 变性 15 s, 57 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 20 s;扩增结束后进行熔解曲线分析,以验证扩增特异性。

采用 PCR 对 *mcrA* 功能基因进行扩增。PCR 扩增在采用 ABI GenAmp 9700 (ABI, 美国)进行。PCR 反应采用 TransStart FastPfu DNA Polymerase 进行扩增,总反应体系为 20 μL,包括 5×FastPfu Buffer 4 μL、2.5 mmol·L⁻¹ dNTPs 2 μL、正向引物(5 μmol·L⁻¹) 0.8 μL、反向引物(5 μmol·L⁻¹) 0.8 μL、FastPfu DNA Polymerase 0.4 μL、模板 DNA 加入量为 10 ng,并以 ddH₂O 补足至 20 μL。其中,扩增引物为 mcrAF-mcrAR^[35],反应程序为:95.0 °C 预

变性 5.0 min, 随后 35 个循环: 95.0 °C 变性 30.0 s, 55.0 °C 退火 30.0 s, 72.0 °C 延伸 60.0 s, 最后 72 °C 延伸 5 min。PCR 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 使用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, 美国) 试剂盒参照说明书操作流程进行纯化。纯化后的 PCR 产物进行定量, 并按等摩尔量混合后构建测序文库, 在上海凌恩生物科技有限公司 Illumina MiSeq 平台双端测序。原始测序序列经拆样、去引物、质量控制及嵌合体去除后, 获得各样本高质量有效序列用于后续分析。

对于 *mcrA* 功能基因数据, 高质量序列经聚类获得 OTU 后, 选取代表序列使用 DIAMOND blastx 与 NCBI NR 蛋白数据库进行比对, 根据最优同源匹配结果对功能基因相关 OTU 进行功能确认及分类归属判定, 并据此构建 OTU 丰度表用于后续群落组成、多样性及差异分析^[36-37]。

1.5 数据处理

根际土壤 CH₄ 产生潜势计算公式:

$$P = \frac{dc}{dt} \times V_H / (m_S \times R \times T)$$

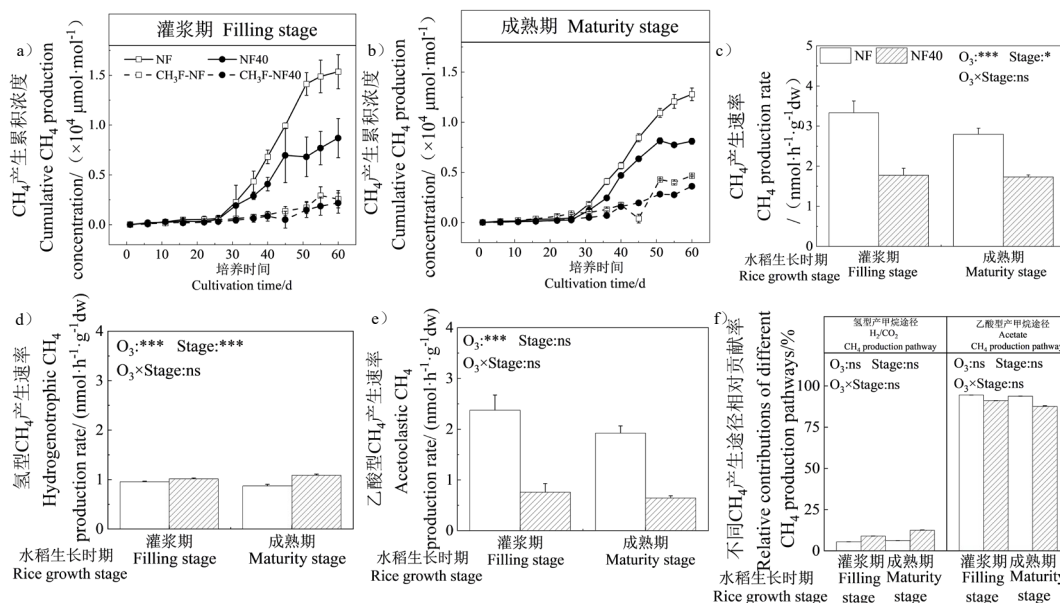
式中, P 为 CH₄ 产生速率 (nmol·h⁻¹·g⁻¹dw), dc/dc 表示单位时间内培养瓶内气体浓度变化量 (μL·L⁻¹·h⁻¹), V_H 为培养瓶顶空体积 (mL), m_S 为培养瓶内干土质量 (g), R 为气体常数 0.08206 (L·atm·K⁻¹·mol⁻¹), T 为培养箱温度 (K)。其中氢营养型 CH₄ 产生速率以加入抑制剂 CH₃F 处理速率计, 乙酸发酵型 CH₄ 产生速率则通过总速率与抑制剂处理速率之差计算得出。

采用混合线性模型分析对数据进行方差分析 (ANOVA), 事后检验采用图基分析法 (Tukey-Kramer HSD), 比较 NF 与 NF40 处理间各指标的差异 (根际土壤 CH₄ 产生速率、水稻根系形态、根际土壤碳组分、细菌/古菌 16S rRNA 及产甲烷菌 *mcrA* 基因丰度)。土壤有机碳化学稳定性及产甲烷菌群落组成差异采用 student's t-test 检验, 显著性水平采用 $P < 0.05$ 。所有数据均以 3 个重复的“平均值 ± 标准差”表示。统计分析在 JMP 10 软件 (SAS Institute, 美国) 中进行。采用 R 包 “vegan” 进行主坐标分析 (Principal coordinates analysis, PCoA) 可视化, 分析微生物群落组成差异。采用 R 包 “linkET” 进行 Mantel test 可视化, 进行植物根系形态及土壤碳组分与微生物群落的相关性分析。以上分析使用 R Studio 软件 (version 3.6.0)。使用 Origin 2024 软件绘制趋势图、柱状图以及箱型图。

2 结果

2.1 根际土壤 CH₄ 产生累积浓度及不同途径产生速率

培养 26 d 后, 相较于 NF 处理, NF40 处理均降低灌浆期和成熟期根际土壤 CH₄ 产生累积浓度 (图 1a, 图 1b)。O₃ 浓度对根际土壤 CH₄ 产生速率存在显著影响, 与 NF 相比, NF40 处理降低两个生育时期 CH₄ 产生速率 38.1%~46.8% ($P < 0.001$)。成熟期根际土壤 CH₄ 产生速率较灌浆期显著降低 2.5%~16.1% ($P < 0.05$) (图 1c)。抑制剂 CH₃F 添加后, 两个生育期根际土壤 CH₄ 产生累积浓度均降低 (图 1a, 图 1b)。O₃ 浓度对根际土壤乙酸型途径和氢型途径 CH₄ 产生速率均存在显著影响 ($P < 0.001$), 与 NF 相比, NF40 处理提高氢型途径 CH₄ 产生速率 6.1%~24.7% (图 1d), 降低乙酸型途径 CH₄ 产生速率 66.6%~68.1% (图 1e)。同时, 不同生育时期之间氢型途径 CH₄ 产生速率存在显著差异 ($P < 0.001$), 成熟期氢型途径 CH₄ 产生速率较灌浆期降低 7.6%~14.8% (图 1d), 而乙酸型途径 CH₄ 产生速率无显著差异 ($P > 0.05$) (图 1e)。O₃ 浓度未显著改变两种 CH₄ 产生途径相对贡献率 ($P > 0.05$) (图 1f)。



注: NF, 环境大气; NF40, 环境大气+40 nmol·mol⁻¹ O₃; CH₃F, 乙酸发酵型甲烷产生途径抑制剂。下同。不同小写字母表示同一时期不同处理存在显著差异, $P < 0.05$ 。ns 表示不同时期之间无显著差异, $P > 0.05$; * 表示不同时期之间存在显著差异, $P < 0.05$ 。下同。Note: NF, ambient atmosphere; NF40, ambient atmosphere + 40 nmol·mol⁻¹ O₃; CH₃F, inhibitor of the acetate-to-CH₄ pathway. The same applies below. Different lowercase letters denote significant differences between treatments at the same time point, $P < 0.05$. ns indicates no significant difference between time points, $P > 0.05$; * denotes significant differences between time points, $P < 0.05$. The same below.

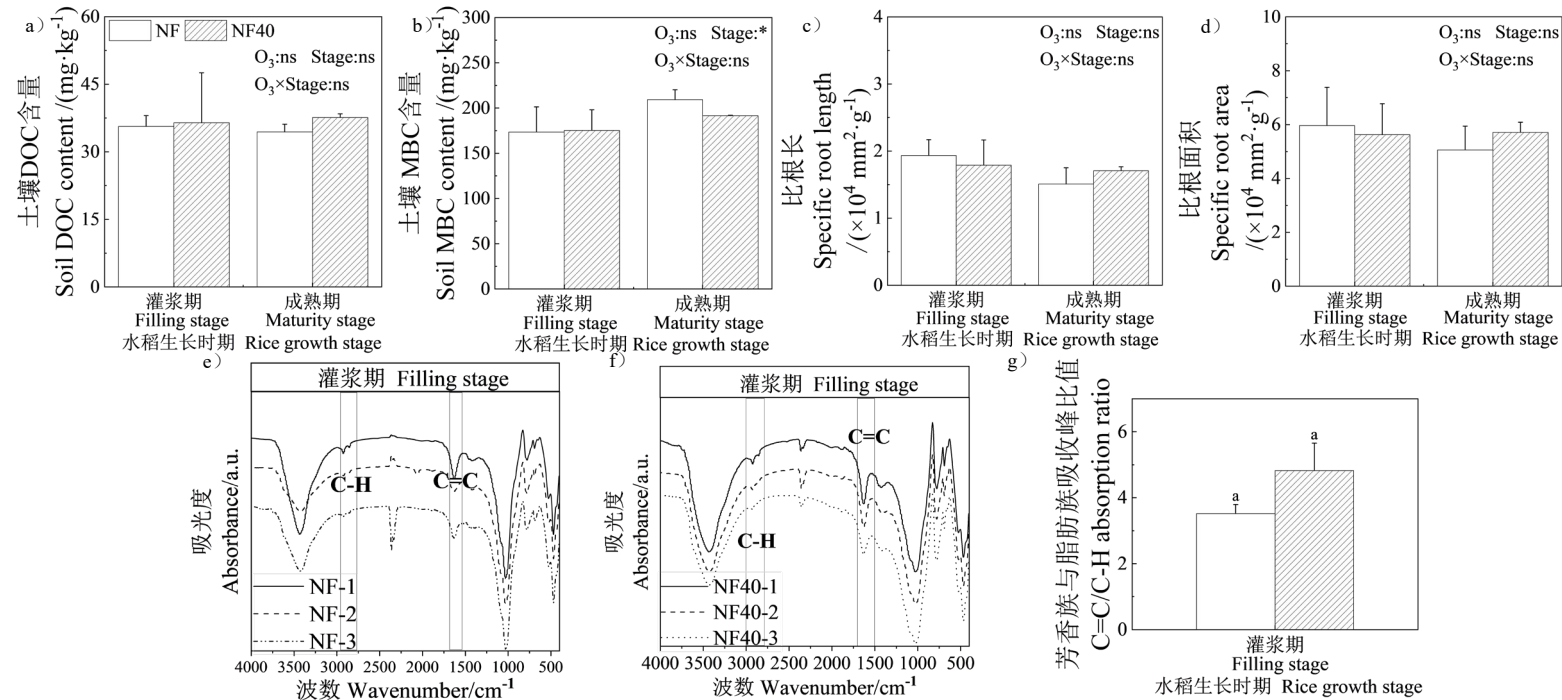
图 1 灌浆期 (a) 与成熟期 (b) 水稻根际土壤 CH₄ 产生积累浓度, CH₄ 产生速率 (c), 氢型 CH₄ 产生速率 (d), 乙酸型 CH₄ 产生速率 (e) 及不同 CH₄ 产生途径相对贡献率 (f)

Fig. 1 Cumulative CH₄ production concentrations in rice rhizosphere soil during the filling stage (a) and maturity stage (b), CH₄ production rates (c), hydrogenotrophic CH₄ production rates (d), acetoclastic CH₄ production rates (e), and relative contributions of different CH₄ production pathways (f)

2.2 根际土壤碳组分及水稻根系形态

尽管 O₃ 浓度对水稻根际土壤 DOC 和 MBC 含量无显著影响 ($P > 0.05$, 图 2a, 图 2b), 但是相较于 NF 处理, NF40 处理下水稻土壤 DOC 含量存在上升趋势 (增幅 2.3%~9.3%)。O₃ 浓度升高对土壤 MBC 含量的影响存在时期差异 ($P < 0.05$, 图 2b), 相较于 NF 处理, NF40 处理下成熟期土壤 MBC 下降 8.4% ($P > 0.05$)。尽管 O₃ 浓度对水稻根系 SRL、SRA 无显著影响 ($P > 0.05$), 但是 SRL、SRA 对 O₃ 的响应存在时期差异, 相较于 NF 处理, NF40 处理下灌浆期水稻根系 SRL、SRA 分别降低 7.5%、5.7%, 成熟期水稻根系 SRL、SRA 分别增加 13.2%、12.9% ($P > 0.05$, 图 2c)。同时, 不同生育期对根际土壤 DOC 含量、根系 SRL 和 SRA 均无显著影响 ($P > 0.05$, 图 2a, 图 2c, 图 2d), 仅对根际土壤 MBC 含量有显著影响 ($P < 0.05$), 成熟期土壤 MBC 含量较灌浆期升高 9.2%~20.6% (图 2b)。

在土壤有机碳化学稳定性以红外光谱中特征峰比值表述, 即波长 1600 cm⁻¹ 附近酰胺芳香族 (C=C) 伸缩振动峰与 2940~2800 cm⁻¹ 之间脂肪族 (C-H) 伸缩振动峰的比值 (图 2e, 图 2f), 该比值越高表明稳定性组分有机碳含量越高, 有机碳越稳定; 反之则活性组分有机碳含量越高, 有机碳越不稳定^[36]。相较于 NF 处理, NF40 处理下成熟期根际土壤有机碳稳定性有所升高, 但未达显著水平 ($P > 0.05$, 图 2g)。



注: NF-1, 2, 3: 环境大气处理的 3 个重复; NF40-1, 2, 3: 环境大气+40 $\text{nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$ O_3 处理的 3 个重复。 Note: NF-1, 2, 3: three replicates under ambient atmospheric conditions; NF40-1, 2, 3: Three replicates under ambient atmospheric conditions with +40 $\text{nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$ O_3

图 2 根际土壤 DOC (a) 和 MBC (b) 含量, 水稻根系比根长 (c) 与比根面积 (d), 灌浆期不同处理土壤有机碳的 FTIR 光谱 (e, f), 灌浆期芳香族 (C=C) 与脂肪族 (C-H) 吸收峰的比值 (g)

Fig. 2 Rhizosphere soil DOC (a) and MBC (b) contents, specific root length (SRL) (c) and specific root area (d) of rice roots, FTIR spectra of soil organic carbon (SOC) under different treatments during the filling stage (e, f), and the ratio of aromatic (C=C) to aliphatic (C-H) absorption peaks during the filling stage (g)

2.3 根际土壤微生物丰度及产甲烷菌群落结构

O₃ 浓度升高对水稻根际土壤细菌、古菌和产甲烷菌丰度均无显著影响 ($P > 0.05$) (图 3a, b, c)。不同生育期对土壤细菌丰度无显著影响 ($P > 0.05$) (图 3a)，而对土壤古菌和产甲烷菌丰度有显著影响 ($P < 0.05$) (图 3b, 图 3c)，其中成熟期土壤古菌丰度较灌浆期降低 21.8%~47.4% (图 3b)，*mcrA* 丰度降低 21.1%~22.6% (图 3b)。O₃ 浓度和生育期的交互效应对细菌丰度有显著影响 ($P < 0.05$) (图 3a)，与 NF 处理相比，NF40 处理增加根际土壤细菌丰度 3.8%~27.0%。

O₃ 浓度升高对于产甲烷菌群落 α 多样性无显著影响(图 3d)。与 NF 处理相比，NF40 处理显著提高了 *Methanocorpusculum*、*Methanospirillum*、*Methanoculleus*、*Methanofollis* 相对丰度 (图 3e, $P < 0.05$)，降低了 *Methanobacterium*，*Methanosarcina*，*Methanoregula* 和 *Candidatus Methanogranum* 相对丰度 ($P > 0.05$)。按照代谢类型对成功注释到属水平的产甲烷菌进行分类发现，与 NF 处理相比，NF40 处理降低了乙酸发酵型产甲烷菌相对占比 (图 3f, $P > 0.05$)，增加了氢营养型产甲烷菌相对占比，但均无显著性差异 (图 3f, $P > 0.05$)。

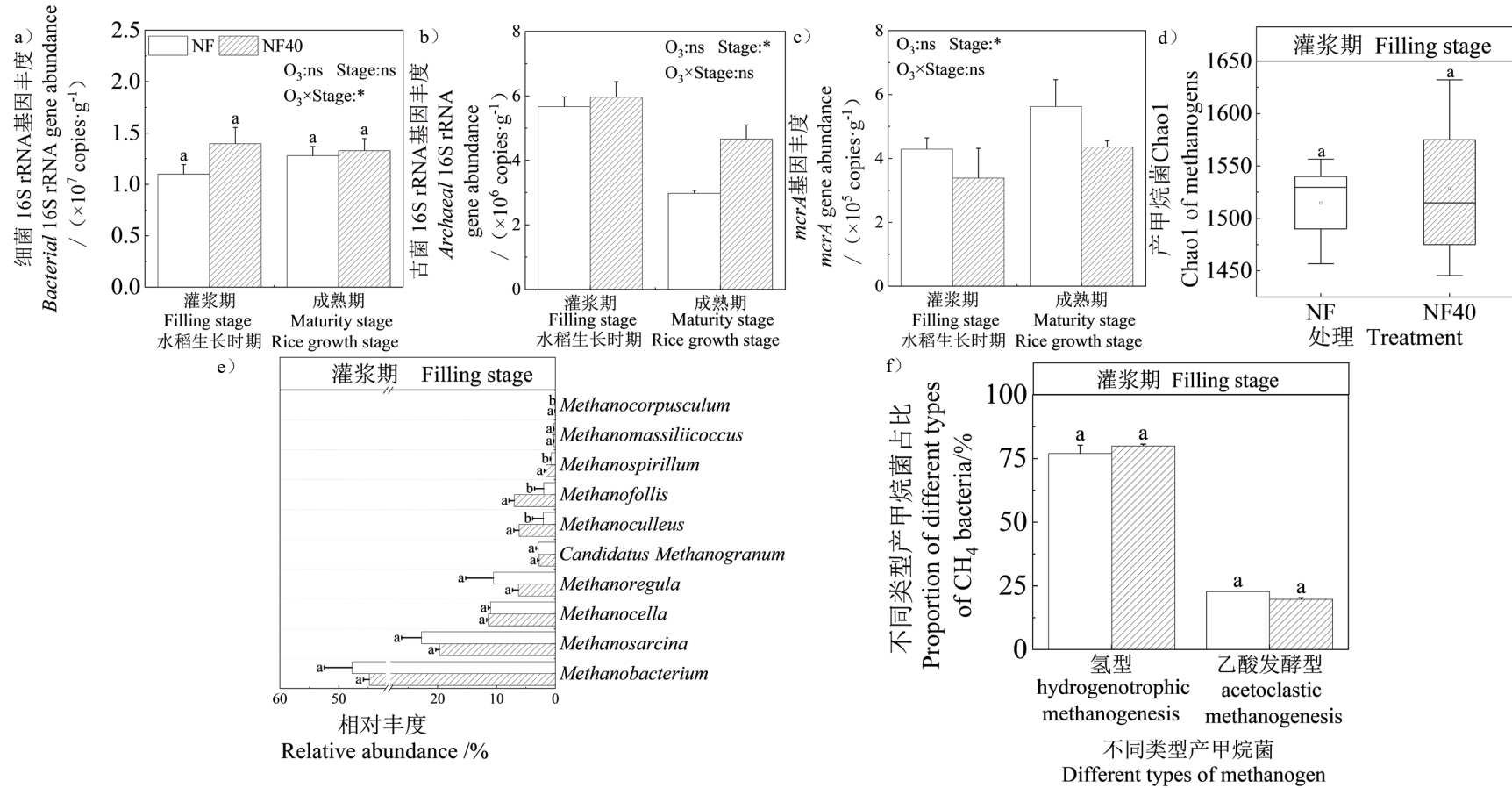


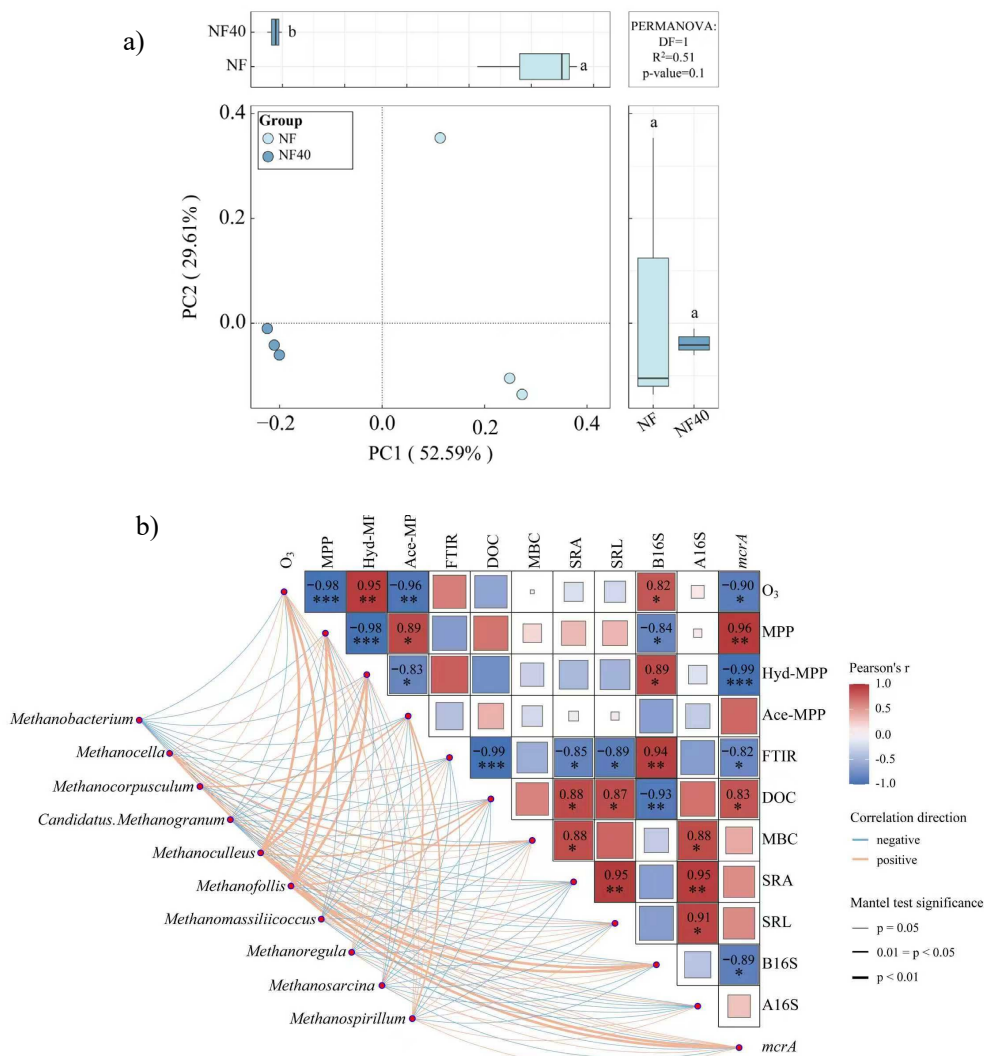
图3 根际土壤细菌 16S rRNA (a), 古菌 16S rRNA (b), *mcrA* (c) 基因拷贝数, 产甲烷菌 Chao1 指数 (d) 及群落组成 (e) 及不同类群产甲烷菌相对丰度 (f)

Fig. 3 Gene copy numbers of bacterial 16S rRNA (a), archaeal 16S rRNA (b), and *mcrA* (c) genes, Chao1 index (d) and community composition (e) of methanogens, and relative abundance of different types of methanogens (f) in the rhizosphere soil

2.4 根际土壤产甲烷菌群落结构与环境因素的相关性

由图 4a 可知,不同 O_3 浓度处理下,根际土壤产甲烷菌群落分布有较为明显的离散性 ($R^2=0.5137$)。其中,群落组成在 PCo1 (52.6%) 的分布上存在显著差异 ($P<0.05$),而群落组成在 PCo2 (29.6%) 的分布上无显著差异 ($P>0.05$)。图 4b 相关性分析结果显示,根际土壤 CH_4 产生速率与 O_3 浓度呈极显著负相关 ($P<0.001$);与根际土壤细菌丰度呈显著负相关 ($P<0.05$);与 *mcrA* 基因数量呈极显著正相关 ($P<0.01$),与乙酸型 CH_4 产生速率呈显著正相关 ($P<0.05$)。根际土壤乙酸发酵型 CH_4 产生速率与 O_3 浓度呈极显著负相关 ($P<0.01$);与氢型 CH_4 产生速率呈显著负相关 ($P<0.05$)。根际土壤氢营养型 CH_4 产生速率与 O_3 浓度呈极显著正相关 ($P<0.01$);与细菌丰度呈显著正相关 ($P<0.05$);与 *mcrA* 基因数量呈显著负相关 ($P<0.05$)。根际土壤 *mcrA* 丰度与 O_3 浓度、土壤有机碳稳定性以及细菌丰度呈显著负相关 ($P<0.05$),与土壤 DOC 含量呈显著正相关 ($P<0.05$)。土壤有机碳稳定性与水稻根系 SRL、SRA 呈极显著负相关 ($P<0.01$);与土壤 DOC 呈极显著负相关 ($P<0.01$)。水稻土壤 DOC 与水稻根系 SRL、SRA 呈显著正相关 ($P<0.05$)。水稻土壤 MBC 含量与水稻根系 SRA 呈显著正相关 ($P<0.05$);与古菌 16S rRNA 基因数量呈极显著正相关 ($P<0.01$)。

Mantel 检验分析显示氢营养型 CH_4 产生速率与氢营养型产甲烷菌 *Methanoculleus* 相对丰度呈显著正相关 ($P<0.05$);与氢营养型产甲烷菌 *Methanospirillum* 相对丰度呈极显著正相关 ($P<0.01$)。氢营养型产甲烷菌 *Methanocella* 与土壤 MBC 含量呈显著正相关 ($P<0.05$)。乙酸发酵型 CH_4 产生途径与乙酸发酵型产甲烷菌 *Methanosarcina* 呈显著正相关 ($P<0.05$)。



注：曼特尔检验中的线条颜色与粗细分别代表微生物群落结构与环境变量之间的相关性 r 和 P 值，皮尔逊相关性分析中正方形大小和颜色深浅代表环境变量之间的相关性 r ，正方形中*表示 $0.01 < P \leq 0.05$ ，**表示 $0.001 < P \leq 0.01$ ，***表示 $P \leq 0.001$ ；MPP: CH₄ 产生速率；Hyd-MPP: 氢营养型 CH₄ 产生速率；Ace-MPP: 乙酸发酵型 CH₄ 产生速率；B16S: 细菌 16S rRNA 基因拷贝数；A16S: 古菌 16S rRNA 基因拷贝数。Note: In the Mantel test, line colour and thickness represent the correlation coefficient r and P -value, respectively, between microbial community structure and environmental variables. In the Pearson correlation analysis, square size and colour intensity denote the correlation coefficient r between environmental variables. An asterisk (*) within squares indicates $0.01 < P \leq 0.05$, double asterisks (**) denote $0.001 < P \leq 0.01$, and triple asterisks (***) signify $P \leq 0.001$. MPP: CH₄ production rate; Hyd-MPP: hydrogenotrophic methanogens CH₄ production rate; Ace-MPP: acetoclastic methanogens CH₄ production rate; B16S: bacterial 16S rRNA gene copy numbers; A16S: archaeal 16S rRNA gene copy numbers.

图 4 根际土壤产甲烷菌群落主坐标分析 (a) 及曼特尔检验和皮尔逊相关性分析 (b)

Fig. 4 Principal coordinates analysis of the methanogenic community (a) and Mantel test and Pearson correlation analysis (b) in the rhizosphere soil

3 讨论

3.1 O₃ 浓度升高对水稻根系及根际土壤碳组分的影响

O₃ 浓度升高通过抑制水稻叶片光合效率, 减少光合产物向根系的分配, 同时引发根系细胞氧化应激^[38], 抑制细根伸长与分化, 最终导致灌浆期水稻根系 SRL 和 SRA 的降低 (图 2c, d), 进而改变土壤碳输入。本研究发现 O₃ 浓度升高下两个生育时期土壤 DOC 含量与灌浆期土壤 MBC 含量有上升趋势 ($P > 0.05$, 图 2a, 图 2b), 这与 Changey 等^[39]在麦田土壤与 Mörsky 等^[40]在泥炭地生态系统中研究结果相似。本团队近期研究也发现, O₃ 浓度升高处理显著增加了稻田表层非根际土壤中 DOC 与 MBC 含量^[41]。这可能是由于 O₃ 加速根系 DOC 的释放^[42]以及 O₃ 浓度升高加速叶片早衰, 使凋落物输入量增多^[43], 从而可能促使土壤 DOC 与 MBC 含量升高。本研究中, 成熟期土壤 MBC 含量呈现下降趋势 ($P > 0.05$, 图 2b), 这与 Bhatia 等^[25]在稻田土壤中的研究一致, O₃ 浓度升高显著降低土壤 DOC 与 MBC 含量, 这可能是由于臭氧浓度升高降低了植物向地下分配碳源^[16], 导致根际 DOC 含量下降, 由于微生物生长通常受碳源限制, 因此 MBC 含量随之减少^[20]。

本研究发现, 臭氧浓度升高降低灌浆期水稻根系 SRL 和 SRA, 增加成熟期水稻根系 SRL 和 SRA (图 2c, 图 2d)。Kou 等^[44]研究发现, 臭氧浓度升高降低水稻比根长与比根面积, 由于根系 SRL 和 SRA 的降低, 使水稻根系与土壤接触面减少, 根际碳输入的空间分布更集中^[45], 促进局部有机碳的累积与稳定化, 从而促使灌浆期土壤有机碳稳定性增强 (图 2g)。与之相反, Qiu 等^[46]研究发现 O₃ 浓度升高促使大豆增加比根长, 促使根系快速周转并改变共生真菌群落结构, 从而促使原有有机碳及新输入有机碳的快速分解, 从而降低土壤有机碳稳定性。同时, 水稻根系 SRL 和 SRA 降低虽然减少根系分泌物的总输入量, 但是 O₃ 胁迫诱导的根系分泌物组分中难降解大分子碳占比升高^[18], 由此可能导致土壤有机碳稳定性增强 (图 2g), 因此灌浆期水稻土壤有机碳稳定性与水稻根系 SRL 和 SRA 均呈显著负相关 (图 4b, $P < 0.05$)。

3.2 O₃ 浓度升高对根际土壤产甲烷菌群落结构的影响

针对本研究假设 (1) O₃ 浓度升高通过增加土壤有机碳稳定性来抑制稻田土壤产甲烷菌相对丰度, 试验结果显示 O₃ 浓度升高降低了乙酸发酵型产甲烷菌相对丰度, 增加了氢营养型产甲烷菌相对丰度 (图 3f), 这与 Feng 等^[21]在稻田土壤中的研究结果一致, 这种差异可能与两类产甲烷菌底物供应的响应机制不同有关^[12-13]。乙酸发酵型产甲烷菌的响应模式可能为: 植物在响应 O₃ 胁迫时会增加难分解有机物质分泌^[20], 导致根际土壤有机碳稳定性升高 (图 3f, $P > 0.05$), 从而降低土壤中易分解碳组分的比例, 减少了乙酸型产甲烷菌的底物供应, 进而导致其相对丰度降低 (图 3f, $P > 0.05$)。氢营养型产甲烷菌的响应模式可能为: 在 O₃ 胁迫下, 水稻根系分泌物组分发生改变和外源有机碳输入增加, 进而增加土壤中难降解碳源含量, 由于这些难降解碳源优先被土壤细菌分解利用^[47], 从而驱动土壤细菌大量增殖 (图 3a), 而土壤细菌作为 MBC 的主要贡献类群, 占比可达 60%~70%^[48], 其通过水解和发酵作用, 将大分子有机碳分解为小分子产物, 同时释放大量的 H₂ 和 CO₂^[49], 为氢营养型产甲烷菌提供了充足的底物^[9], 从而在功能类群水平上提高了氢营养型产甲烷菌的整体相对占比 (图 3f)。然而, 在该类群内部, 不同菌属对底物的波动响应存在差异, 在氢营养型产甲烷菌底物大量增加时, *Methanobacterium* 的表达活性增长较慢^[48], 因此其相对丰度降低, 同时为其他氢营养型产甲烷菌提供更多生长位点^[49]。因此, O₃ 浓度升高条件下 *Methanobacterium* 相对丰度降低, 而 *Methanocorpusculum*, *Methanospirillum*, *Methanofollis*, *Methanoculleus* 相对丰度显著升高 (图 3e, $P < 0.05$), 最终表现为氢营养型产甲烷菌相对丰度增加 (图 3f, $P > 0.05$)。

3.3 O₃ 浓度升高对根际土壤 CH₄ 产生过程的影响

本研究假设 (2) O₃ 浓度升高通过降低不同途径产甲烷菌相对丰度来抑制根际土壤 CH₄ 产生过程, 试验结果显示 O₃ 浓度升高抑制乙酸发酵型途径 CH₄ 产生速率及产甲烷菌相对丰度, 促进氢营养型 CH₄ 产生速率及产甲烷菌相对丰度, 这与 Mörsky 等^[40]在泥炭地生态系统中的研究一致。这种产生速率的途径分化, 可能是地下部微生物群落对 O₃ 胁迫诱导的碳源有效性变化的直接功能响应。在 O₃ 浓度升高条件下, 由于氢营养型产甲烷菌相对丰度 (*Methanoculleus*, *Methanofollis*, *Methanospirillum*, *Methanocorpusculum*) 的显著增加 (图 3e, $P < 0.05$), 这直接促进了根际土壤氢营养型 CH₄ 产生, 最终增加了氢营养型 CH₄ 产生速率 (图 1d)。如上所述, 这主要得益于发酵型细菌对难降解有机碳的分解, 为氢营养型产甲烷菌提供了持续的 H₂ 和 CO₂ 底物^[47, 49]。

同时, O₃ 浓度升高降低乙酸发酵型产甲烷菌相对丰度 (*Methanosarcina*), 最终抑制了乙酸发酵型 CH₄ 产生速率 (图 1e)。如上所述, 这可能是因为 O₃ 降低了灌浆期水稻根系的 SRL 和 SRA (图 2c, 图 2d), 导致易降解的根系分泌物输入减少^[18]。乙酸底物的匮乏直接成为限制乙酸发酵型 CH₄ 产生速率的关键因素^[12-13]。此外, O₃ 浓度升高导致的根系受损也可能改变了根际的氧化还原电位 (Eh) 或泌氧 (ROL) 能力^[50], 这种微环境的改变可能进一步抑制了对环境极其敏感的乙酸型产甲烷菌的活性^[12-13]。

值得注意的是, 尽管 O₃ 胁迫促使氢营养型产甲烷途径表现出补偿效应, 间接升高了其相对贡献率 (图 1f), 但这种补偿作用并不足以弥补乙酸发酵型产甲烷途径相对贡献率的降低, 乙酸发酵型甲烷产生途径与氢营养型甲烷产生途径以 2: 1 的比例主导 CH₄ 产生^[12-13], 由于氢营养型甲烷产生过程的能量转化效率和反应速率均低于乙酸发酵型产甲烷过程^[12-13]。因此, 乙酸发酵型 CH₄ 产生速率的剧烈下降, 最终主导了水稻土壤整体 CH₄ 产生速率的显著降低 (图 1c), 最终导致 O₃ 浓度升高使稻田 CH₄ 排放通量显著降低^[18]。O₃ 浓度升高虽然在客观上表现出缓解稻田 CH₄ 排放的效应, 但并非建立在良性生态循环的基础上, 而是源于植物光合碳分配受阻^[16]、根系发育不良^[44]以及土壤碳库有效性下降^[43]的应激反应。这揭示了未来大气 O₃ 污染加剧背景下, 农田生态系统碳循环功能受损的潜在风险。

4 结 论

O₃ 浓度升高下水稻根系 SRL 和 SRA 及根际土壤有机碳稳定性是影响水稻根际土壤 CH₄ 产生的主要因素。相较于 NF 处理, NF40 处理通过抑制水稻根系 SRL 和 SRA, 促进根际土壤有机碳稳定性, 进而改变根际土壤产甲烷菌的功能和群落结构, 乙酸发酵型产甲烷菌相对丰度降低, 氢营养型产甲烷菌相对丰度增加, 最终导致根际土壤 CH₄ 产生速率降低 38.1%~46.8%, 其中乙酸发酵型 CH₄ 产生速率降低 66.6%~68.1%, 氢营养型 CH₄ 产生速率增加 6.1%~24.7%。以上结果揭示了水稻根际土壤 CH₄ 产生过程对 O₃ 浓度升高的复杂响应机制, 然而水稻根系分泌物作为 O₃ 浓度升高间接影响稻田 CH₄ 排放的关键因子, 其组分变化尚不明晰。未来研究应进一步探讨 O₃ 浓度升高条件下根系分泌物的组分变化及其对稻田 CH₄ 排放过程的调控机制。

参考文献 (Reference)

- [1] Feng Z Z, Li P, Yuan X Y, et al. Progress in ecological and environmental effects of ground-level O₃ in China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(5): 1530-1541. [冯兆忠, 李品, 袁相洋, 等. 我国地表臭氧生态环境效应研究进展[J]. 生态学报, 2018, 38(5): 1530-1541.]
- [2] Zhang H, Mei Y Z, Wu Y Z, et al. Spatial-temporal variation of near-surface ozone concentration and distribution characteristics of urban agglomerations in China: Also on the effectiveness of ozone pollution prevention and control since the “Thirteenth Five-Year Plan” period[J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2023, 32(12): 2649-2660. [张欢, 梅煜臻, 吴瑛祖, 等. 中国近地表臭氧浓度的时空变化及其城市群分布特征——兼论“十三五”以来我国臭氧污染防治成效[J]. 长江流域资源与环境, 2023, 32(12): 2649-2660.]
- [3] Sicard P, Anav A, De Marco A, et al. Projected global ground-level ozone impacts on vegetation under different emission and climate scenarios[J]. Atmospheric Chemistry and Physics, 2017, 17(19): 12177-12196.
- [4] Ren X Y. Regional assessment of pollution's impact on winter wheat and rice yields in China[D]. Nanjing: Nanjing University of Information Science and Technology, 2021. [任晓毓. 臭氧污染对我国冬小麦和水稻产量影响的区域评估[D]. 南京: 南京信息工程大学, 2021.]
- [5] Liu W, Hegglin M I, Checa-Garcia R, et al. Stratospheric ozone depletion and tropospheric ozone increases drive Southern Ocean interior warming[J]. Nature Climate Change, 2022, 12(4): 365-372.
- [6] WMO. Greenhouse Gas Bulletin[J]. WMO Greenhouse Gas Bulletin-No. 21. 2025. <https://wmo.int/publication-series/wmo-greenhouse-gas-bulletin-no-21>.
- [7] Qian H Y, Zhu X C, Huang S, et al. Greenhouse gas emissions and mitigation in rice agriculture[J]. Nature Reviews Earth & Environment, 2023, 4(10): 716-732.
- [8] Jiang Y, Guan D H, Zhang W J. The effect of rice plant traits on methane emissions from paddy fields: A review[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(2): 175-181. [江瑜, 管大海, 张卫建. 水稻植株特性对稻田甲烷排放的影响及其机制的研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(2): 175-181.]
- [9] Lang K, Schuldes J, Klingl A, et al. New mode of energy metabolism in the seventh order of methanogens as revealed by comparative genome analysis of “*Candidatus Methanoplasma termitum*”[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, 81(4): 1338-1352.
- [10] D' Silva T C, Isha A, Chandra R, et al. Enhancing methane production in anaerobic digestion through hydrogen assisted pathways—A state-of-the-art review[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2021, 151: 111536.
- [11] Lyu Z, Shao N N, Akinyemi T, et al. Methanogenesis[J]. Current Biology, 2018, 28(13): R727-R732.
- [12] Li X, Bei Q C, Rabiei Nematabad M, et al. Time-shifted expression of acetoclastic and methylotrophic methanogenesis by a single *Methanosarcina* genomospecies predominates the methanogen dynamics in Philippine rice field soil[J]. Microbiome, 2024, 12(1): 39.
- [13] Ji Y, Liu P F, Conrad R. Change of the pathway of methane production with progressing anoxic incubation of paddy soil[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2018, 121: 177-184.
- [14] Toet S, Subke J A, D'Haese D, et al. A new stable isotope approach identifies the fate of ozone in plant–soil systems[J]. New Phytologist, 2009, 182(1): 85-90.
- [15] Zhong X, Shang B, Han S Y, et al. Elevated ozone mitigates warming-induced N₂O and NO emissions in an intensified wheat field[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2026, 397: 110046.
- [16] Xu Y S, Tang J L, Xia J X, et al. Joint ozone pollution and climate warming reduce yield but enhance grain protein content in a resistant wheat variety[J]. Global Change Biology, 2025, 31(7): e70351.
- [17] Gu X, Wang T Z, Li C H. Elevated ozone decreases the multifunctionality of belowground ecosystems[J]. Global Change Biology, 2023, 29(3): 890-908.
- [18] Agathokleous E, Feng Z Z, Oksanen E, et al. Ozone affects plant, insect, and soil microbial communities: A threat to terrestrial

- ecosystems and biodiversity[J]. Science Advances, 2020, 6(33): eabc1176.
- [19] Grantz D A, Gunn S, Vu H B. O₃ impacts on plant development: A meta-analysis of root/shoot allocation and growth[J]. Plant, Cell & Environment, 2006, 29(7): 1193-1209.
- [20] Zheng H F, Vesterdal L, Agathokleous E, et al. Ozone strengthens the *ex vivo* but weakens the *in vivo* pathway of the microbial carbon pump in poplar plantations[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2024, 198: 109559.
- [21] Feng Y Z, Lin X G, Yu Y C, et al. Elevated ground-level O₃ negatively influences paddy methanogenic archaeal community[J]. Scientific Reports, 2013, 3: 3193.
- [22] Liu C H, Ma J Y, Qu T T, et al. Extracellular enzyme activity and stoichiometry reveal nutrient dynamics during microbially-mediated plant residue transformation[J]. Forests, 2023, 14(1): 34.
- [23] Huang Y Z, Zhong M. Influence of elevated ozone concentration on methanotrophic bacterial communities in soil under field condition[J]. Atmospheric Environment, 2015, 108: 59-66.
- [24] Wang P, Marsh E L, Ainsworth E A, et al. Shifts in microbial communities in soil, rhizosphere and roots of two major crop systems under elevated CO₂ and O₃[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 15019.
- [25] Bhatia A, Ghosh A, Kumar V, et al. Effect of elevated tropospheric ozone on methane and nitrous oxide emission from rice soil in north India[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2011, 144(1): 21-28.
- [26] McCrady J K, Andersen C P. The effect of ozone on below-ground carbon allocation in wheat[J]. Environmental Pollution, 2000, 107(3): 465-472.
- [27] Shang B, Tian T T, Mo Y T, et al. Combined application of organic and inorganic fertilizers sustained rice yields and N accumulation and decreased soil-canopy system NH₃ emission[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2025, 377: 109260.
- [28] Zhang H, Tian T T, Shang B, et al. Effects of elevated ozone on the photosynthesis of different rice cultivars under different fertilization measures[J]. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(13): 5583-5595. [张涵, 田彤彤, 尚博, 等. 不同施肥措施臭氧浓度升高对不同水稻品种光合特性的影响[J]. 生态学报, 2024, 44(13): 5583-5595.]
- [29] Zhang H R, Shi Y, Liu Y Y, et al. Effects of ozone pollution and ethylenediurea spraying on the rhizospheric bacterial community of wheat plant[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61(6): 1694-1702. [张浩然, 施羽, 刘园园, 等. 臭氧污染和亚乙基二脲喷施对小麦根际细菌群落的影响[J]. 土壤学报, 2024, 61(6): 1694-1702.]
- [30] Shen W Y, Ji Y, Jia Z J, et al. Historical water regime determines the methanogenic pathway response to the current soil: Water ratio[J]. Soil and Tillage Research, 2024, 239: 106032.
- [31] Melillo J M, Frey S D, DeAngelis K M, et al. Long-term pattern and magnitude of soil carbon feedback to the climate system in a warming world[J]. Science, 2017, 358(6359): 101-105.
- [32] Conrad R, Klose M. How specific is the inhibition by methyl fluoride of acetoclastic methanogenesis in anoxic rice field soil?[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1999, 30(1): 47-56.
- [33] Turner S, Pryer K M, Miao V P, et al. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis[J]. The Journal of Eukaryotic Microbiology, 1999, 46(4): 327-338.
- [34] Luton P E, Wayne J M, Sharp R J, et al. The mcrA gene as an alternative to 16S rRNA in the phylogenetic analysis of methanogen populations in landfill[J]. Microbiology, 2002, 148(11): 3521-3530.
- [35] Springer E, Sachs M S, Woese C R, et al. Partial gene sequences for the A subunit of methyl-coenzyme M reductase (*mcrI*) as a phylogenetic tool for the family Methanosarcinaceae[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1995, 45(3): 554-559.
- [36] Buchfink B, Xie C, Huson D H. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND[J]. Nature Methods, 2015, 12(1): 59-60.
- [37] Sayers E W, Beck J, Bolton E E, et al. Database resources of the National Center for Biotechnology Information[J]. Nucleic Acids Research, 2024, 52(D1): D33-D43.
- [38] Zheng F X, Wang X K, Hou P Q, et al. Influences of elevated ozone on growth and C, N, S allocations of rice[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(6): 1479-1486. [郑飞翔, 王效科, 侯培强, 等. 臭氧胁迫对水稻生长以及 C、N、S 元素分配的影响[J]. 生

态学报, 2011, 31(6): 1479-1486.]

- [39] Changey F, Bagard M, Souleymane M, et al. Cascading effects of elevated ozone on wheat rhizosphere microbial communities depend on temperature and cultivar sensitivity[J]. Environmental Pollution, 2018, 242: 113-125.
- [40] Mörsky S K, Haapala J K, Rinnan R, et al. Long-term ozone effects on vegetation, microbial community and methane dynamics of boreal peatland microcosms in open-field conditions[J]. Global Change Biology, 2008, 14(8): 1891-1903.
- [41] Ma J F, Zhang Y J, Ji Y, et al. Combined effects of elevated ozone and warming on methanogenesis in paddy soil across depths[J]. Plant and Soil, 2026, 520(1): 993-1012.
- [42] Chen Z, Wang X K, Feng Z Z, et al. Effects of elevated ambient ozone on ecosystem below-ground processes[J]. Chinese Journal of Ecology, 2007, 26(1): 121-125. [陈展, 王效科, 冯兆忠, 等. 臭氧对生态系统地下过程的影响[J]. 生态学杂志, 2007, 26(1): 121-125.]
- [43] Uddling J, Karlsson P E, Glorvigen A, et al. Ozone impairs autumnal resorption of nitrogen from birch (*Betula pendula*) leaves, causing an increase in whole-tree nitrogen loss through litter fall[J]. Tree Physiology, 2006, 26(1): 113-120.
- [44] Kou T J, Lai L K, Lam S K, et al. Increased carbon loss via root respiration and impaired root morphology under free-air ozone enrichment adversely affect rice (*Oryza sativa* L.) production[J]. Experimental Agriculture, 2019, 55(3): 500-508.
- [45] Srivastava R K, Yetgin A. An overall review on influence of root architecture on soil carbon sequestration potential[J]. Theoretical and Experimental Plant Physiology, 2024, 36(2): 165-178.
- [46] Qiu Y P, Guo L J, Xu X Y, et al. Warming and elevated ozone induce tradeoffs between fine roots and mycorrhizal fungi and stimulate organic carbon decomposition[J]. Science Advances, 2021, 7(28): eabe9256.
- [47] Conrad R. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1999, 28(3): 193-202.
- [48] Szuhaj M, Kakuk B, Wirth R, et al. Regulation of the methanogenesis pathways by hydrogen at transcriptomic level in time[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(20): 6315-6324.
- [49] Lu D X, Li M, Nie E Q, et al. Microbial volatile organic compounds produced during the anaerobic digestion process can serve as potential indicators of microbial community stability[J]. Water Research, 2025, 277: 123286.
- [50] Colmer T D. Long-distance transport of gases in plants: A perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots[J]. Plant, Cell & Environment, 2003, 26(1): 17-36.

(责任编辑: 卢 萍)