

DOI: 10.11766/trxb202205150255

赖政, 肖力婷, 赖胜, 杨慧林, 倪才英, 阳文静, 简敏菲. 稻虾种养新模式对稻田土壤肥力和微生物群落结构的影响[J]. 土壤学报, 2023, 60(6): 1788–1798.

LAI Zheng, XIAO Liting, LAI Sheng, YANG Huilin, NI Caiying, YANG Wenjing, JIAN Minfei. Effects of a New Rice-Shrimp Farming Model on Soil Fertility and Microbial Community Structure in Paddy Field[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023, 60(6): 1788–1798.

稻虾种养新模式对稻田土壤肥力和微生物群落结构的影响*

赖政^{1, 2, 3, 4}, 肖力婷², 赖胜², 杨慧林², 倪才英^{1, 3}, 阳文静^{1, 3}, 简敏菲^{1, 2, 3†}

(1. 江西师范大学地理与环境学院, 南昌 330022; 2. 江西师范大学生命科学学院, 江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室, 南昌 330022; 3. 江西师范大学鄱阳湖湿地与流域研究教育部重点实验室, 南昌 330022; 4. 佛山科学技术学院, 广东佛山 528225)

摘要: 为探究稻虾种养新模式对稻田土壤肥力和微生物群落组成的影响, 基于稻田土壤理化指标测定和 16S rDNA 扩增子高通量测序技术, 比较稻虾种养新模式 (NRS)、稻虾种养传统模式 (TRS) 和水稻单作模式 (CK) 对稻田土壤理化指标和微生物多样性和群落结构的影响。结果显示: 与 CK 和 TRS 相比, 稻虾种养新模式能显著提高土壤 pH、有机质、有效磷、速效钾含量和土壤微生物多样性和丰富度。与 CK 相比, NRS 稻田土壤细菌优势菌门中的酸杆菌门、绿弯菌门和疣微菌门相对丰度分别增加 30.89%、36.38% 和 2.16%, 变形菌门和脱硫菌门相对丰度分别降低 17.96% 和 58.59%。与 TRS 相比, NRS 稻田土壤细菌优势菌门中的脱硫菌门相对丰度增加 14.93%, 绿弯菌门、疣微菌门、变形菌门和酸杆菌门相对丰度分别降低 39.29%、37.42%、16.27% 和 6.81%。相关性分析表明, 土壤有机质、速效氮、有效磷、速效钾和 pH 是影响稻田土壤微生物群落结构的主要理化因子。以上研究表明, 稻虾种养新模式有利于提升稻田土壤肥力, 显著提高了稻田土壤微生物多样性和改善微生物群落结构; 研究结果对稻虾种养新模式的示范推广具有一定的指导意义和参考价值。

关键词: 稻虾种养; 土壤肥力; 微生物群落结构

中图分类号: S154.3 文献标志码: A

Effects of a New Rice-Shrimp Farming Model on Soil Fertility and Microbial Community Structure in Paddy Field

LAI Zheng^{1, 2, 3, 4}, XIAO Liting², LAI Sheng², YANG Huilin², NI Caiying^{1, 3}, YANG Wenjing^{1, 3}, JIAN Minfei^{1, 2, 3†}

(1. College of Geography and Environment, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China; 2. Jiangxi Provincial Key Laboratory of Protection and Utilization of Subtropical Plant Resources, College of Life Science, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China;

* 国家自然科学基金项目 (42167006、41967055)、江西省水利科学院江西省鄱阳湖水资源与环境重点实验室开放研究基金项目 (2020GPSYS03) 和江西省自然科学基金项目 (20212BAB203023) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 42167006, 41967055), the Open Research Project of Key Laboratory of Poyang Lake Water Resources and Environment of Jiangxi Province in Jiangxi Academy of Water Science and Engineering (No. 2020GPSYS03), and the Natural Science Foundation Jiangxi Province (No. 20212BAB203023)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: jianminfei0914@163.com

作者简介: 赖政 (1989—), 男, 江西赣州人, 博士研究生, 从事自然地理学、土壤微生物研究。E-mail: 519677302@qq.com

收稿日期: 2022-05-15; 收到修改稿日期: 2022-07-19; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2022-09-30

3. Key Laboratory of Poyang Lake Wetland and Watershed Research, Ministry of Education, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China; 4. Foshan University, Foshan, Guangdong 528225, China)

Abstract: 【Objective】This study was designed to explore the impact of a new rice-shrimp farming model (NRS) on soil fertility and microbial community composition in paddy field. 【Method】Three different farming treatments: new rice-shrimp farming model (NRS), traditional rice-shrimp farming model (TRS) and rice monoculture (CK) were set up, with CK as control. The paddy field physicochemical indexes and microbial diversity and community structure were determined by using the soil agrochemical analysis method and 16S rDNA amplicon high-throughput sequencing technology. 【Result】Compared with CK and TRS, NRS significantly improved the contents of soil organic matter, available K, available P and pH. NRS significantly increased the microbial diversity and species richness. A total of 32 phyla, 80 classes, 202 orders, 347 families and 491 genera of bacterial groups were detected in the paddy field of three models. The dominant bacterial phyla were Proteobacteria, Acidobacteriota, Chloroflexi, Verrucomicrobiota and Desulfobacterota. Compared with CK, NRS changed the composition of the soil microbial community. Among the bacterial dominant phyla, the relative abundances of Acidobacteria, Chloroflexi and Verrucomicrobiota were increased by 30.89%, 36.38% and 2.16%, while the relative abundance of Proteobacteria and Desulfobacteria decreased by 17.96% and 58.59%, respectively. Compared with TRS, NRS also changed the composition of the soil microbial community. Among the bacterial dominant phyla, the relative abundances of Desulfobacteria increased by 14.93%, while the relative abundance of Chloroflexi, Verrucomicrobiota, Proteobacteria and Acidobacteria decreased by 39.29%, 37.42%, 16.27% and 6.81%, respectively. Correlation analysis showed that soil organic matter, available potassium, available phosphorus, available nitrogen and pH were the main physicochemical factors affecting the structure of soil microbial community in paddy field. 【Conclusion】The new rice-shrimp farming model is conducive to improving soil fertility, significantly improving soil microbial diversity and altering microbial community structure. The results of this study have certain guiding significance and reference for the demonstration and promotion of the new rice-shrimp farming model.

Key words: New rice-shrimp farming; Soil fertility; Microbial community structure

稻虾种养模式是将水稻种植与克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*, 又名小龙虾) 养殖相结合形成的生态农业模式^[1-2]。其传统模式是在稻田四周开挖环形沟、修筑田埂, 台田种水稻, 环形沟养小龙虾, 能够在稳定粮食产量的基础上, 减少农药化肥投入, 产出高品质的小龙虾^[3]。但近几年, 随着小龙虾消费需求剧增, 部分区域连片的耕地被开挖成稻虾田, 出现“不种稻”或“只种不管”的现象, “重虾轻稻”问题严重, 不仅制约了稻虾种养模式的可持续发展, 也对我国粮食安全构成威胁^[4]。近年来, 湖北、江西等稻虾主产区探索创新出无环沟稻虾种养模式, 取得较好成效^[5]。相较稻虾种养的传统模式, 这一稻虾种养新模式无需开挖环沟, 显著降低了田间改造投入, 提高了稻田种植面积, 在稻虾主产区被重点推广示范。

土壤肥力是指在无抑制植物生长的有毒物质存在的条件下, 土壤能持续为植物生长提供速效养分和水分的能力^[6-7]。有机质、土壤氮磷钾全量养分、

速效养分和 pH 是衡量土壤肥力水平的重要化学指标^[8], 因而常用于评价稻虾种养模式对土壤肥力的影响^[9]。佘国涵等^[10-11]研究发现稻虾种养模式显著提高涝渍稻田不同土层的有机碳、全氮、全磷、全钾、碱解氮、速效磷和速效钾的含量。吴本丽等^[12]也发现稻虾种养模式稻田土壤有机质、全磷、有效磷等含量高于单作稻田。土壤微生物作为评价土壤肥力的理想指示生物^[13], 其群落组成与多样性的变化能直接反映土壤肥力的变化趋势^[14], 因而也常作为评价土壤肥力变化的重要指标^[15]。细菌是土壤微生物中最大、最丰富和最活跃的类群, 因此常被作为研究土壤微生物的主要研究对象^[16]。佘国涵等^[17]研究表明稻虾种养模式提高了土壤微生物群落多样性。朱秀秀等^[18]发现稻虾种养模式改变了土壤细菌的群落组成, 提高了土壤细菌物种丰富度和多样性。王蓉等^[19]指出稻虾种养模式显著影响了细菌群落结构组成并极大提高了氨氧化微生物的丰度。在稻虾种养模式中, 养殖虾引入后, 因其爬行扰动、摄食

和排泄等活动,稻田表层生态系统的物质循环和能量流动受到相应影响,这种影响可能会体现在提高表层土壤肥力、增加微生物多样性和改变微生物群落结构上。

与稻虾种养的传统模式相比,无环沟稻虾种养新模式中小龙虾整个生长周期均在稻田中,可能对稻田土壤肥力和微生物群落组成产生更显著的影响。本研究通过测定有无环沟稻虾种养模式和水稻单作模式中的稻田土壤有机质、土壤氮磷钾全量养分和速效养分含量,同时基于 16S rDNA 扩增子高通量测序技术,对上述 3 种模式稻田土壤微生物的多样性和群落结构进行比较分析,旨在探索稻虾种养新模式对稻田土壤养分和微生物群落结构的影

响,为进一步研究稻虾种养新模式土壤肥力变化提供数据支撑,为推广稻虾种养新模式提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验场地概况

试验于 2021 年 6 至 10 月选择江西省南昌市新建区国营恒湖垦殖场(28°58'N, 116°04'E)进行,研究区属亚热带季风气候区,气候温和,雨量充沛,年平均气温 17.3℃,年均降雨量 1 609.8 mm,无霜期 279 d,生态环境良好,无任何工业污染,有利于发展绿色农业。试验田 0~20 cm 土壤理化性质主要指标含量见表 1。

表 1 试验田 0~20 cm 土壤主要理化性质

Table 1 Physicochemical properties of sample paddy soil from 0 to 20 cm in the test field

土壤 Soil	pH	有机质 SOM/ (g·kg ⁻¹)	全氮 TN/ (g·kg ⁻¹)	全磷 TP/ (g·kg ⁻¹)	全钾 TK/ (g·kg ⁻¹)	碱解氮 AN/ (mg·kg ⁻¹)	有效磷 AP/ (mg·kg ⁻¹)	速效钾 AK/ (mg·kg ⁻¹)
黄棕壤 Yellow brown soil	4.08±0.02	13.13±0.92	0.63±0.04	0.87±0.01	1.32±0.04	116.26±1.06	13.45±0.81	89.72±1.86

1.2 试验设计

供试水稻为黄华占(粤审稻 2005010),养殖对象为克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)。试验共设置 3 个种养模式处理:水稻单作对照(CK),放养克氏原螯虾的传统稻虾种养模式(试验田有环沟)(TRS),放养克氏原螯虾的稻虾种养新模式(试验田无环沟)(NRS)。每块稻田总面积为 10 亩(1 hm²=15 亩),其中包括在 TRS 试验稻田的四周开挖深 1.5 m、宽 1 m、总面积约为 600 m²的环沟(图 1)。水稻种植前,向 TRS 和 NRS 处理稻田中加水至高出田面约 10 cm,并分别加入 1 000 kg 生石灰进行稻田消毒(其中 TRS 处理生石灰主要抛洒在环沟中),以减少小龙虾养殖过程中病虫害的发生。

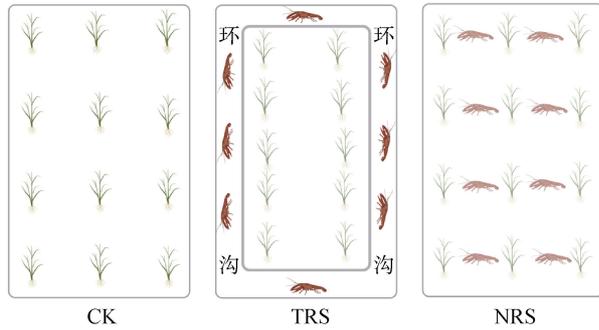
水稻种植模式为直播,每块稻田均播种 50 kg 黄华占。水稻于 2021 年 6 月完成播种,15 d 后向 TRS、NRS 试验稻田中投放克氏原螯虾苗,投放量 225 kg·hm⁻²,虾苗规格约 120 只·kg⁻¹。水稻直播后施加水稻专用复合肥(总养分≥25%,N:13%;P₂O₅:6%;K₂O:6%),其中水稻单作田(CK)和稻虾种养稻田(TRS、NRS)在水稻种植初期的施加量为 450 kg·hm⁻²,水稻分蘖期向水稻单作田(CK)追加

肥料量为 450 kg·hm⁻²。三种模式下的上一批水稻秸秆均全量还田。日投饵量以克氏原螯虾总体质量 1% 的比例投喂饲料。饲料组成:粗蛋白≥35%、粗脂肪≥5%、粗灰分≤20%、总磷≥1%、钙≤3%、粗纤维≤8%、水分≤10%。在 TRS 试验稻田中,克氏原螯虾主要分布在环沟内,少量分布在台田中。环沟内种植伊乐藻(*Elodea nuttallii*),覆盖率约为 1/3。

水稻成熟期(2021 年 10 月)用五点取样法采集稻田土壤,每点挑选一穴长势及有效穗数相同的水稻,连同根部土壤一道取出,采用抖土的方法获得根际土壤,五样点土壤混合。样品分两份,一份鲜土置于液氮罐保存带回实验室后用于土壤 DNA 提取;另一份自然风干,去除植物残根、小石块,研磨过 1 mm 筛后,用于测定土壤理化指标。

1.3 测定方法

1.3.1 土壤理化性质测定 参照鲍士旦^[20]的方法,采用重铬酸钾容量法测定土壤有机质(SOM)含量;采用碱解扩散法测定碱解氮(AN)含量;采用凯氏定氮法测定全氮(TN)含量;采用 H₂SO₄-HClO₄ 消煮钼锑抗比色法测定全磷(TP)含量;采用 0.5 mol·L⁻¹NaHCO₃ 浸提—比色法测定有效磷



注：CK，水稻单作对照；TRS，传统稻虾种养模式；NRS，稻虾种养新模式。下同 Note: CK, Rice monoculture model; TRS, Traditional rice-shrimp farming model; NRS, New rice-shrimp farming model. The same below

图 1 稻田不同种养模式平面示意图

Fig. 1 Plan sketch of different farming models in paddy field

(AP) 含量；采用 NaOH 熔融—火焰光度法测定全钾 (TK) 含量；采用 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸铵浸提—火焰光度法测定速效钾 (AK) 含量；采用酸度计法测定土壤 pH (土水比 1:5)。

1.3.2 土壤总 DNA 提取 采用土壤 DNA 提取试剂盒 (中国福际, 货号: DE-05514), 提取土壤样品总 DNA; 1% 琼脂糖凝胶电泳检验土壤总 DNA 的提取质量, -20°C 保存备用。

1.3.3 土壤细菌 16S rRNA 扩增和测序 以上述纯化得到的 DNA 作为模板, 对细菌 16S rRNA V3~V4 高变区进行扩增, 引物序列为 338F (5'-ACTCC TACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHV GGGTWTCTAAT-3') [21]。PCR 反应条件为: 95°C 预变性 4 min, 95°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s, 共循环 32 次; 72°C 延伸 10 min; 4°C 保存。同一样本 PCR 产物经回收、纯化后等量混样, 通过百迈客生物科技有限公司 (中国北京) 进行建库, 利用 Miseq PE250 平台 (美国 Illumina 公司) 进行测序。

1.4 数据处理

利用 Trimmomatic v0.33 对原始 DNA 序列进行过滤处理, 去除嵌合体, 得到优化序列; 使用 Usearch 软件对 Tags 在 97% 的相似度水平下进行聚类、获得分类操作单元数 (operational taxonomic units, OTUs) 2 536 个, 高质量序列数为 1 166 194 条; 使用 R 语言工具绘制主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 和线性判别效果分析 (line discriminant analysis effect size, LEfSe) 图; 通过 Pearson 相关性分析和冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 研究土壤理化因子指标与细菌群落间的相关性。使用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 不同种养模式对稻田土壤理化性质的影响

由表 2 可知, 水稻土壤理化性质对不同种养模式的响应不同。相比水稻单作模式, 2 类稻虾种养模式处理下均提高了土壤 pH、有机质、碱解氮、有效磷和速效钾含量, 但稻虾种养新模式的提升效果更为显著 ($P < 0.05$)。全氮、全磷和全钾在 3 类种养模式下均无显著性差异。

2.2 不同种养模式对稻田土壤微生物群落的 Alpha 多样性的影响

9 个样品测序共获得 1 269 382 对 Reads, 双端 Reads 质控、拼接后共产生 1 171 393 条 Clean Reads, 每个样品至少产生 39 191 条 Clean Reads。通过对 Reads 在 97.0% 的相似度水平下进行聚类, 共获得的细菌 OTU 个数为 2 536, 高质量序列条数为 1 166 194。如图 2 所示, CK 模式、TRS 模式和 NRS 模式的 OTU 个数分别为 2 307、2 325 和 2 501, 特有 OTU 个数分别为 10、7 和 115。

表 2 不同种养模式下稻田土壤理化性质

Table 2 Physicochemical properties of paddy field in different farming models

处理 Treatment	pH	有机质 SOM/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	全氮 TN/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	全磷 TP/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	全钾 TK / ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	碱解氮 AN / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	有效磷 AP / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	速效钾 AK / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
CK	4.06±0.05c	16.54±0.83c	0.65±0.03a	0.85 ±0.03a	1.41±0.03a	96.43±4.02b	17.88 ±1.36b	96.62±3.91c
TRS	4.61±0.05b	19.43±1.77b	0.61±0.06a	0.81±0.05a	1.35±0.02a	126.10±1.30a	18.68 ±1.09b	120.75±1.88b
bbNRS	5.32±0.06a	31.62±2.51a	0.64±0.06a	0.84±0.02a	1.38±0.02a	119.51±4.34a	23.36±2.08a	170.73±7.86a

注: 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。Note: Different lowercase letters mean that there are significant differences between treatments ($P < 0.05$) .

Alpha 多样性通常反映的是样品物种丰富度及物种多样性。其中, ACE 指数和 Chao1 指数用以评估群落丰富度, Shannon 指数和 Simpson 指数则衡量群落的多样性。由表 3 可知, CK 模式、TRS 模式和 NRS 模式的稻田土壤细菌 ACE 指数、Chao1 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数分别为 1 818、2 142 和 2 418, 1 852、2 164 和 2 434, 8.90、9.30 和 9.83, 0.48、0.60 和 0.76。3 类种养模式的稻田土壤细菌群落 Alpha 多样性指数和丰富度指数存在显著差异 ($P<0.05$), 且呈现出 NRS 模式>TRS 模式>CK 模式的趋势。结果表明, 与 CK 模式相比, NRS 模式和 TRS 模式均显著提升了稻田土壤细菌丰富度和多样性, 但 NRS 模式对稻田土壤细菌丰富度和多样性的提高效果更明显 ($P<0.05$, 表 3)。

2.3 不同种养模式下土壤微生物群落结构

为使视图效果最佳, 选取在门水平和纲水平相对丰度居前 10 的细菌进行作图。结果显示, 不同种

养模式的稻田土壤微生物群落组成存在差异。9 个土壤样品共检测的细菌分属于 32 门、80 纲、202 目、347 科和 491 属 (图 3)。

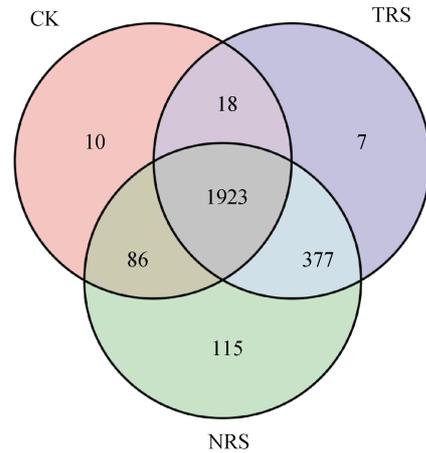


图 2 稻田土壤细菌群落的维恩图
Fig. 2 Venn diagrams of paddy field bacteria communities

表 3 不同种养模式下稻田土壤细菌群落 Alpha 多样性指数

Table 3 Bacteria alpha diversity index of paddy field in different farming models

处理 Treatment	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
CK	1 818±183c	1 852±177c	8.90±0.18c	0.48±0.06c
TRS	2 142±71b	2 164±70b	9.30±0.02b	0.60±0.01b
NRS	2 418±28a	2 434±24a	9.83±0.04a	0.76±0.03a

注: 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。Note: Different lowercase letters mean significant differences between treatments ($P<0.05$).

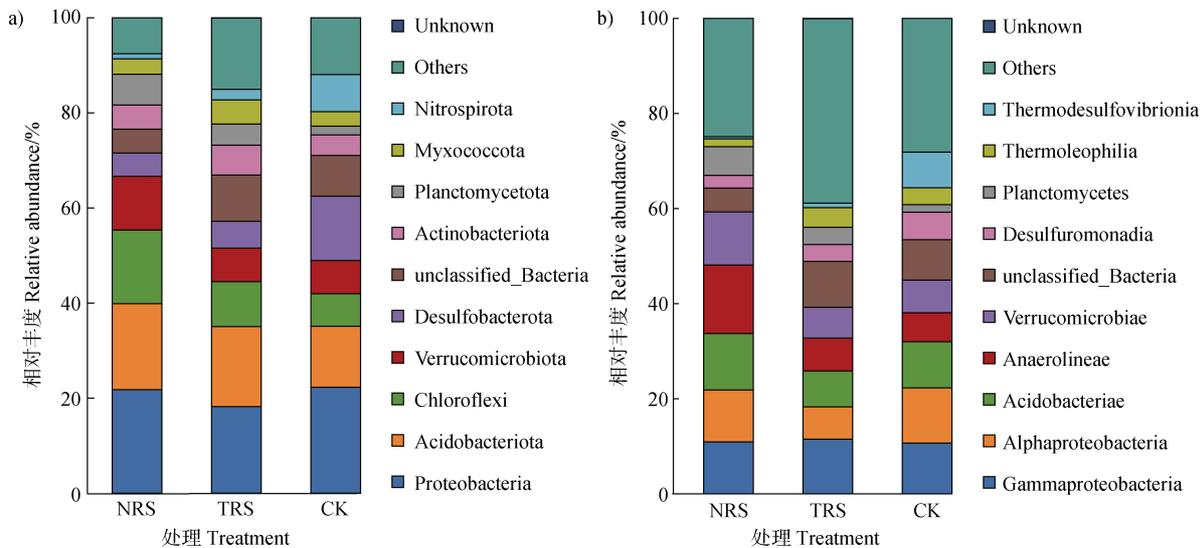


图 3 不同种养模式下稻田土壤细菌群落组成 (a: 细菌门水平; b: 细菌纲水平)

Fig. 3 Composition of soil bacterial community in paddy field under different farming models (a: phylum level; b: class level)

在门水平上, 3 类种养模式下的土壤细菌组成一致。相对丰度居前五的是变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteriota)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、疣微菌门 (Verrucomicrobiota) 和脱硫菌门 (Desulfobacterota), 相对丰度分别为 18.27%~22.27%、12.85%~18.05%、6.90%~15.50%、6.94%~11.33% 和 4.89%~13.57%。与 CK 处理比, NRS 处理和 TRS 处理的变形菌门和脱硫菌门相对丰度分别降低 17.96% 和 2.02%、58.59% 和 63.96%, 而酸杆菌门、绿弯菌门、疣微菌门则分别提高 30.89% 和 40.47%、36.38% 和 124.64%、2.16% 和 63.26% (图 3a)。

在纲水平上, 3 类种养模式下土壤细菌组成一致, 分别是 γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria)、酸杆菌纲 (Acidobacteriae)、 α -变形杆菌纲 (Alphaproteobacteria)、厌氧绳菌纲 (Anaerolineae)、疣微菌纲 (Verrucomicrobiae)、脱硫单胞菌纲 (Desulfuromonadia)、浮霉菌纲 (Planctomycetes)、嗜热油菌纲 (Thermoleophilia)、热脱硫弧菌纲 (Thermodesulfovibrionia)。相对丰度分别为 10.67%~11.51%、7.61%~11.87%、6.75%~11.60%、6.10%~14.43%、6.44%~11.19%、2.71%~5.77%、1.55%~6.00%、1.68%~4.10% 和 0.42%~7.47%。 γ -变形菌纲是所有处理组中相对丰度最高的纲。与 CK 模式比, NRS 模式和 TRS 模式的 γ -变形菌纲的相对丰度分别提高了 7.87% 和 2.34% (图 3b)。

2.4 不同种养模式下稻田土壤微生物的 Beta 多样性

通过使用 UPGMA 算法构建的层级聚类和主坐

标分析 (Principal co-ordinates analysis, PCoA) 进一步探讨不同种养模式下稻田土壤微生物群落组成的差异性, 分析结果如图 4。由图 4a 可知, 同一模式的 3 个样品群落均聚在一起, 表明样品的重复性较好。由图 4b 可知, PCoA 分析解释了细菌群落总变异的 73.82%, 其中 PC1 解释了细菌群落总变异的 57.15%, PC2 解释了细菌群落总变异的 16.67%。3 种模式的细菌群落组间差异显著 ($R^2=0.697$, $P<0.05$)。

2.5 不同种养模式下差异显著的细菌分支

进一步通过线性判别分析确定各分类学水平上具有显著差异的物种及其效益大小。如图 5 所示, 对不同模式的所有样品进行 LEfSe 分析, 当 LDA=4 时, 所有土壤样品在门、纲、目、科、属水平上共有 30 个细菌分支表现出显著差异 ($P<0.05$)。其中, CK 模式存在 13 个差异显著的细菌分支, NRS 模式存在 12 个差异显著的细菌分支, TRS 模式存在 5 个差异显著的细菌分支。CK、NRS 和 TRS 模式差异最显著的细菌分支分别为脱硫菌门、Vicinamibacteria 纲和浮霉菌门。

2.6 不同种养模式下土壤微生物群落结构与理化因子的相关性

选取 3 种不同种养模式下稻田土壤的理化因子和土壤细菌门水平主要物种进行关联分析, 结果如图 6a 所示。土壤理化因子对细菌群落结构的解释量为 86.33%, 其中, 第一排序轴的解释变量为 56.88%, 第二排序轴的解释变异量为 29.45%。第一轴上, AN 是主要的影响因子, 相关系数为 0.67, 第二轴上,

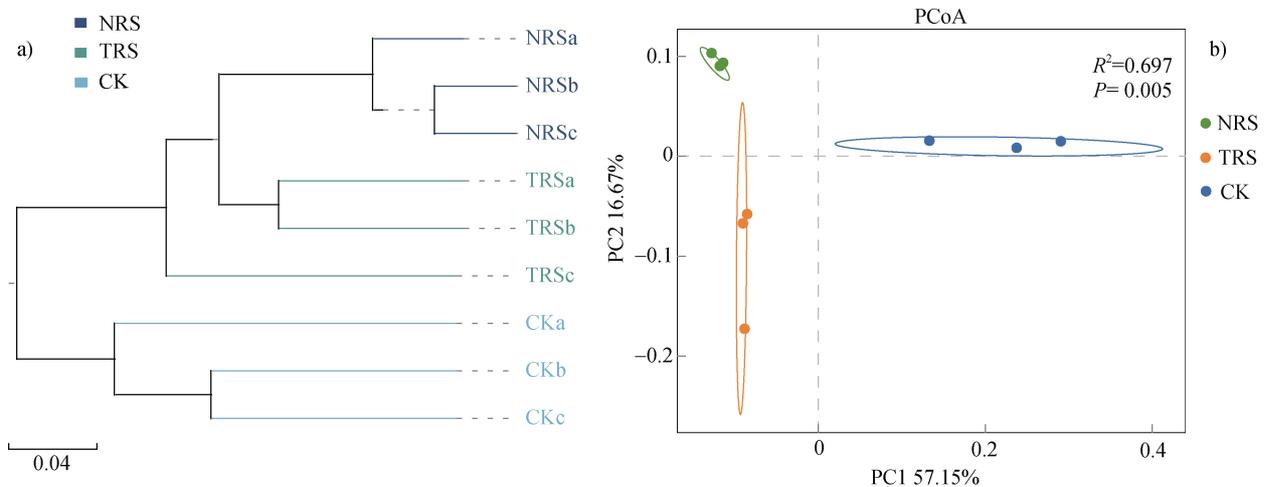
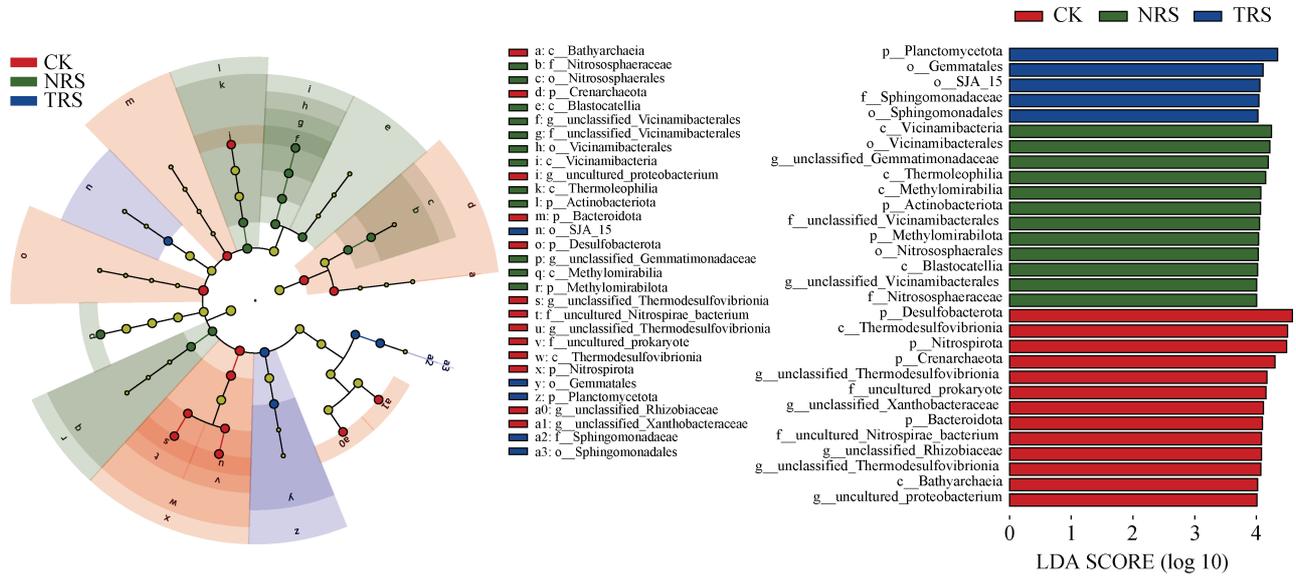


图 4 稻田土壤细菌群落结构层级聚类 (a) 和 PCoA 分析 (b)

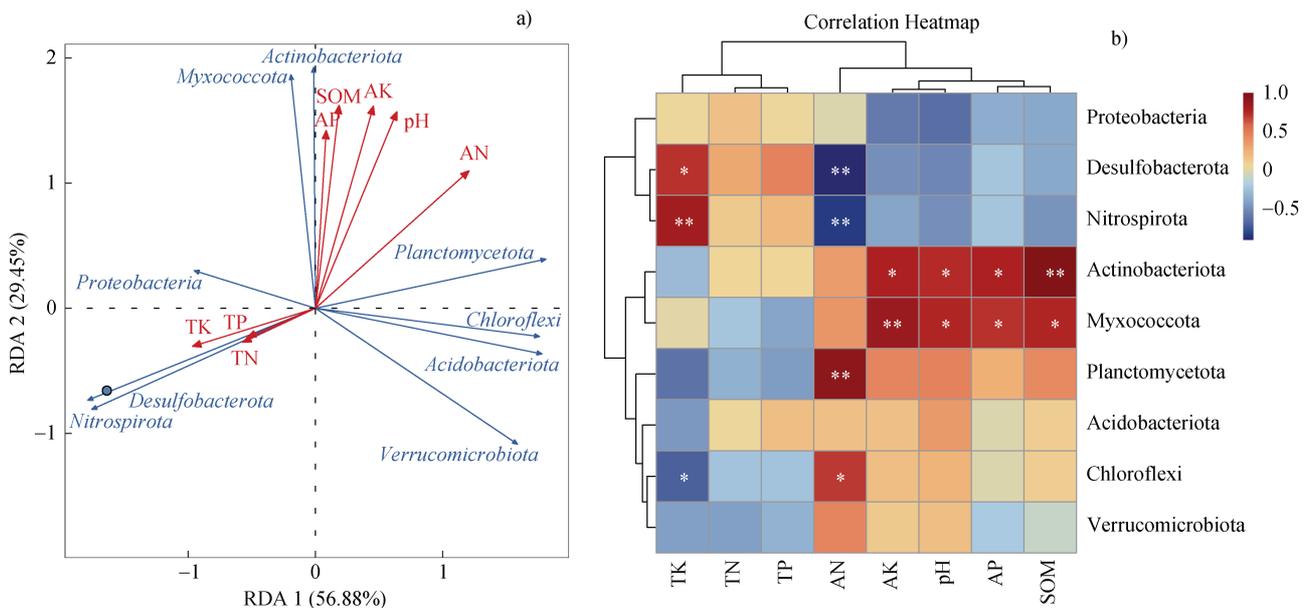
Fig. 4 Cluster analysis of soil bacterial community in paddy field by UPGMA (a) and PCoA (b) method



注：由内至外依次为门、纲、目、科、属，小圆圈大小代表该分类水平下该物种相对丰度大小；无显著差异物种标记为黄色，有显著差异物种以着色标记。Note: From the inside to the outside, it is phylum, class, order, family, and genus. The size of the small circle represents the relative abundance of the species under the classification level. Species with no significant differences are marked in yellow, and species with significant differences are marked with coloring.

图 5 稻田土壤细菌群落 LEfSe 分析

Fig. 5 LEfSe analysis of soil bacterial communities in paddy field



注：SOM：有机质；AN：碱解氮；AP：有效磷；AK：速效钾；TN：全氮；TP：全磷；TK：全钾。Note: SOM: soil organic matter. AN: Alkali-hydrolyzable N. AP: Available P. AK: Available K. TN: Total N. TP: Total P. TK: Total K.

图 6 理化因子与土壤微生物群落组成（门水平）RDA 分析（a）和相关性分析（b）

Fig. 6 RDA analysis (a) and Spearman correlation analysis (b) of physicochemical factors and soil microbial communities (phylum level)

SOM、AK、pH、AP 和 AN 是主要的影响因子，相
关系数分别 0.90、0.90、0.87、0.79 和 0.61。综上，

SOM、AK、pH、AP 和 AN 是影响稻田土壤细菌群
落结构的主要理化因子。

基于 RDA 分析结果,为进一步优选出对土壤理化因子具有响应作用的细菌,利用 Pearson 相关性分析探究土壤细菌群落门水平优势物种与土壤理化因子的关系(图 6b)。土壤细菌群落中,放线菌门相对丰度与 AP、AK 含量和 pH 呈显著正相关($P<0.05$),与 SOM 含量呈极显著正相关($P<0.01$)。黏菌门相对丰度与 SOM、AP 含量和 pH 呈显著正相关($P<0.05$),与 AK 含量呈极显著正相关($P<0.01$)。浮霉菌门相对丰度与 AN 含量呈极显著正相关($P<0.01$)。绿弯菌门相对丰度与 AN 含量呈显著正相关($P<0.05$),而与 TK 含量呈显著负相关($P<0.05$)。脱硫菌门、硝化螺旋菌门相对丰度则与之刚好相反,与 TK 含量分别呈显著正相关($P<0.05$)和极显著正相关($P<0.01$),而与 AN 含量均呈极显著负相关($P<0.01$, 图 6)。

3 讨 论

3.1 稻虾种养新模式对稻田土壤肥力的影响

土壤是水稻生长的主要载体,其肥力水平对水稻正常生长发育有重要影响,同时稻田种养模式也会影响土壤的理化性质^[4]。本研究中 NRS 模式稻田化肥用量仅为 CK 模式化肥用量的 50%,但却较好地保持和提升了稻田土壤的肥力,这可能是由于饲料投喂和小龙虾排泄粪便等进入土壤,有效补充和提高了土壤 SOM、氮磷钾全量养分和速效养分的含量。NRS 模式土壤 SOM、AP、AK 含量和 pH 均显著高于 TRS 模式,而 AN、TN、TK 和 TP 含量无显著差异。在稻虾种养模式中,需通过抛洒石灰对稻田土壤进行消毒,而 TRS 模式中的石灰主要抛洒在稻田的环沟中,从而造成 NRS 模式稻田土壤 pH 显著高于 TRS 模式。土壤 pH 升高,微生物代谢增强,土壤理化性质和含氧量得到改善,加快了秸秆等的分解,土壤 SOM 含量因而得到提高。张义杰等^[22]研究发现,林下土壤经适量的生石灰处理,其有效磷含量显著提高,与本研究结果一致。主要原因可能是抛洒生石灰减弱了土壤对磷素的固定作用,促进解磷微生物增殖来活化土壤中难利用的磷素,使其转化为溶解态磷,提高了有效磷的含量。施用石灰有利于促进根系生长,发达的根系能吸收深层土壤中的钾素,加快矿物钾转化为速效钾,从而提升

土壤速效钾含量^[23],这可能是造成 NRS 模式的速效钾含量显著高于 TRS 模式的原因。基于此,本研究认为稻虾种养新模式更有利于土壤肥力的保持和提升。

3.2 稻虾种养新模式对土壤微生物多样性的影响

土壤微生物参与物质循环和调控,与土壤肥力和作物生产关系极为密切^[24]。土壤微生物多样性越丰富,则表示土壤肥力越好,越适合植物生长^[25]。本研究通过比较 CK 模式、TRS 模式和 NRS 模式三者之间稻田土壤细菌的多样性,结果发现 NRS 模式 OTU 个数高于 TRS 模式和 CK 模式,特有 OTU 个数 115 个,显著高于 TRS 模式(7 个)和 CK 模式(10 个)。本研究还发现,NRS 模式能显著提高土壤细菌群落微生物多样性和丰富度($P<0.05$)。已有研究发现,稻虾种养模式会显著提高稻田水体细菌^[26]、稻田土壤中反硝化细菌^[27]、氨氧化细菌^[19]等微生物的相对丰度。NRS 模式稻田土壤细菌多样性显著高于 TRS 模式的原因可能有两个方面原因:一是在 NRS 模式中克氏原螯虾的整个生长周期都在稻田中,克氏原螯虾通过掘穴、觅食等更为频繁的生物扰动改变营养物质以及氧气供应,增加好氧细菌的种类和数量;二是相比 TRS 模式在环沟中抛洒生石灰,NRS 模式生石灰抛洒在稻田中,NRS 模式土壤 pH 显著高于 TRS 模式,有利于增加土壤速效养分含量,改善土壤细菌群落结构,增加土壤细菌的多样性。

3.3 稻虾种养新模式对土壤微生物群落结构的影响

土壤肥力不仅与微生物的多样性有关,也与其群落组成和结构相关^[28]。本研究发现,稻虾种养新模式和水稻单作模式的稻田土壤细菌群落结构具有显著差异。稻虾种养新模式的变形菌门和脱硫菌门相对丰度分别降低了 17.96%和 58.59%,而酸杆菌门和绿弯菌门的相对丰度则比水稻单作模式高出 30.89%和 36.38%。变形菌门作为第一优势菌门,在很多稻田土壤具有最高的相对丰度。其大多为革兰氏阴性菌,其中许多细菌负责固氮,可增加土壤中的氮素营养^[29]。Chaudhry 等^[30]的研究表明,土壤中高比例的变形菌门,有利于土壤肥力的保持甚至植物生长。RDA 分析显示稻田土壤变形菌门与 AN 含量成反比,这与变形菌为氮含量较少的土壤提供固

氮能力的特点一致^[31]。研究人员在海洋、淡水、陆地和工程生态系统中发现大量脱硫菌门细菌,其表现出广泛的盐度、pH和温度适应性^[32],在全球C、S和养分循环中发挥重要作用^[33]。脱硫菌门细菌作为一种严格厌氧菌,表现出对缺氧条件的偏好^[34]。稻虾种养新模式中由于小龙虾挖掘、觅食等活动,提高了土壤的透气性,增加根际土壤氧气供应,这可能是造成稻虾种养新模式稻田土壤脱硫菌门低于水稻单作模式的原因。酸杆菌门数量与变形菌门相当,是土壤细菌最重要的成员之一,其对植物残体降解起到重要的作用^[35]。绿弯菌门广泛分布在生物圈各种环境中,是C、N、S等元素的生物地球化学循环的重要参与者^[36]。理鹏等^[37]研究发现,AP对绿弯菌门和酸杆菌门有正相关作用。本研究中,稻虾种养新模式显著增加了土壤AP含量,从而引起绿弯菌门和酸杆菌门相对丰度的增加。

4 结论

稻虾种养新模式与TRS模式相比,能显著提高稻田土壤pH和SOM、AK、AP的含量,AN、TN、TP和TK则无显著性差异,表明稻虾种养新模式显著提升了稻田土壤肥力;扩增子测序表明,稻虾种养新模式显著提高了土壤细菌群落微生物丰富度和多样性,改变了微生物群落结构。3种不同种养模式的细菌群落组间差异显著,脱硫菌门、Vicinamibacteria纲和浮霉菌门分别为CK、NRS和TRS模式中差异最显著的细菌分支。相关性分析表明,pH、SOM、AK、AP和AN是影响稻田土壤细菌群落组成的主要理化因子。稻虾共作新模式能够提升稻田土壤肥力和微生物多样性、改善稻田土壤微生物群落结构,推广稻虾共作新模式对促进农业绿色可持续发展具有重要意义。

参考文献 (References)

- [1] Cao C G, Cai M L. Ecological agriculture model and technology of paddy planting and raising[M]. Beijing: Science Press, 2017. [曹湊贵, 蔡明历. 稻田种养生态农业模式与技术[M]. 北京: 科学出版社, 2017.]
- [2] Cai C, Li G, Zhu J Q, et al. Effects of rice-crawfish rotation on soil physicochemical properties in Jiangnan Plain[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, 56(1): 217—226. [蔡晨, 李谷, 朱建强, 等. 稻虾轮作模式下江汉平原土壤理化性状特征研究[J]. *土壤学报*, 2019, 56(1): 217—226.]
- [3] Xiao F, Chen X, Cheng Y X. Model and case of integrated rice-fishing cultivation [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2019. [肖放, 陈欣, 成永旭. 稻渔综合种养技术模式与案例[M]. 北京: 中国农业出版社, 2019.]
- [4] Xu H, Zhao Y Y, Sun D Y, et al. Progress in integrated rice-crayfish farming system[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2022, 24(2): 160—168. [许辉, 赵阳阳, 孙东岳, 等. 稻虾共作模式研究进展[J]. *中国农业科技导报*, 2022, 24(2): 160—168.]
- [5] National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China crayfish industry development report (2021) [J]. *China Fisheries*, 2021(7): 27—33. [全国水产技术推广总站、中国水产学会. 中国小龙虾产业发展报告(2021)[J]. *中国水产*, 2021(7): 27—33.]
- [6] Zhang J Z, Li Y Z, Li Y, et al. Advances in the indicator system and evaluation approaches of soil health[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(6): 603—616. [张江周, 李奕赞, 李颖, 等. 土壤健康指标体系与评价方法研究进展[J]. *土壤学报*, 2022, 59(6): 603—616.]
- [7] Xiong S G, Lü Y Z, Cheng C Y. Soil fertility and its evaluation methods[J]. *Journal of China Agricultural University*, 1997, 2(S2): 21—24. [熊顺贵, 吕贻忠, 成春彦. 土壤肥力概念与肥力评判方法[J]. *中国农业大学学报*, 1997, 2(S2): 21—24.]
- [8] Li X Z, Luo Y M, Hou D Y. The indicators, framework and procedures for soil health: A critical review[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(6): 617—624. [李焯楨, 骆永明, 侯德义. 土壤健康评估指标、框架及程序研究进展[J]. *土壤学报*, 2022, 59(6): 617—624.]
- [9] Li W B, Liu S J, Ye X X, et al. Effects of the co-culture of rice and aquatic animals on soil eco-system: A review[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2021, 37(10): 1292—1300. [李文博, 刘少君, 叶新新, 等. 稻田综合种养模式对土壤生态系统的影响研究进展[J]. *生态与农村环境学报*, 2021, 37(10): 1292—1300.]
- [10] Si G H, Peng C L, Yuan J F, et al. Changes in soil microbial community composition and organic carbon fractions in an integrated rice-crayfish farming system in subtropical China[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 2856.
- [11] Si G H, Peng C L, Xu X Y, et al. Effect of integrated rice-crayfish farming system on soil physico-chemical properties in waterlogged paddy soils[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2017, 25(1): 61—68. [倡国涵, 彭成林, 徐祥玉, 等. 稻虾共作模式对涝渍稻田土壤理化性状的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2017, 25(1): 61—68.]
- [12] Wu B L, Chen G S, Zhao H M, et al. Effects of the

- integrated rice-crayfish mode on soil fertility in Chaohu Lake region[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2018, 45 (1): 96—100. [吴本丽, 陈贵生, 赵慧敏, 等. 巢湖地区稻虾共作模式对稻田土壤肥力的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2018, 45 (1): 96—100.]
- [13] Fuhrman J A. Microbial community structure and its functional implications[J]. Nature, 2009, 459 (7244): 193—199.
- [14] Hermans S M, Buckley H L, Case B S, et al. Using soil bacterial communities to predict physico-chemical variables and soil quality[J]. Microbiome, 2020, 8 (1): 79.
- [15] Hill G T, Mitkowski N A, Aldrich-Wolfe L, et al. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities[J]. Applied Soil Ecology, 2000, 15 (1): 25—36.
- [16] Acosta-Martínez V, Dowd S, Sun Y, et al. Tag-encoded pyrosequencing analysis of bacterial diversity in a single soil type as affected by management and land use[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40 (11): 2762—2770.
- [17] Si G H, Peng C L, Xu X Y, et al. Effects of rice-crayfish integrated mode on soil microbial functional diversity and fertility in waterlogged paddy field[J]. Soils, 2016, 48 (3): 503—509. [佘国涵, 彭成林, 徐祥玉, 等. 稻-虾共作模式对涝渍稻田土壤微生物群落多样性及土壤肥力的影响[J]. 土壤, 2016, 48 (3): 503—509.]
- [18] Zhu X X, Peng C L, Si G H, et al. Effect of rice-crayfish integrated system on soil bacterial community structure and diversity in paddy field[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2021, 52 (5): 1121—1128. [朱秀秀, 彭成林, 佘国涵, 等. 稻虾共作模式对稻田土壤细菌群落结构与多样性的影响[J]. 土壤通报, 2021, 52 (5): 1121—1128.]
- [19] Wang R, Zhu J, Jin T, et al. Characteristics of ammonia oxidation microbial abundance and community structure in paddy soils of rice-crayfish symbiosis farming system[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2019, 25 (11): 1887—1899. [王蓉, 朱杰, 金涛, 等. 稻虾共作模式下稻田土壤氨氧化微生物丰度和群落结构的特征[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25 (11): 1887—1899.]
- [20] Bao S D. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000. [鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.]
- [21] Dennis K L, Wang Y W, Blatner N R, et al. Adenomatous polyps are driven by microbe-instigated focal inflammation and are controlled by IL-10-producing T cells[J]. Cancer Research, 2013, 73 (19): 5905—5913.
- [22] Zhang Y J, Xu J, Lu R C, et al. Modification of quicklime on acid soil under forest and their effect on the growth of *Panax notoginseng*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2022, 33 (4): 972—980. [张义杰, 徐杰, 陆仁窗, 等. 生石灰对林下酸化土壤的调控作用及三七生长的影响[J]. 应用生态学报, 2022, 33 (4): 972—980.]
- [23] Zhang L H, Su G X, Deng X H, et al. Effects of modifier application on nutrient contents of acid tobacco soil[J]. Chinese Tobacco Science, 2020, 41 (5): 20—27. [张龙辉, 粟戈璇, 邓小华, 等. 改良剂施用对酸性植烟土壤养分的影响效应[J]. 中国烟草科学, 2020, 41 (5): 20—27.]
- [24] Si S C, Wu Y C, Li Y, et al. The Current research progress and prospects of cultivated and grassland soil health—A review[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59 (6): 626—641. [司绍诚, 吴宇澄, 李远, 等. 耕地和草地土壤健康研究进展与展望[J]. 土壤学报, 2022, 59 (6): 626—641.]
- [25] Wang S G, Lin X G. Effect of mycorrhiza on bioremediation of polluted soil[J]. Rural Eco-Environment, 2001, 17 (1): 56—59. [王曙光, 林先贵. 菌根在污染土壤生物修复中的作用[J]. 农村生态环境, 2001, 17 (1): 56—59.]
- [26] Chen L, Wan W T, Liu B, et al. Effects of rice-crayfish integrated system on microbial diversity and community structure in paddy water[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2022, 41 (1): 141—151. [陈玲, 万韦韬, 刘兵, 等. 稻虾共作对稻田水体微生物多样性和群落结构的影响[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41 (1): 141—151.]
- [27] Zhu J, Liu H, Wu B K, et al. Effects of integrated rice-crayfish farming system on community structure and diversity of *nirK* denitrification microbe in paddy soils[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26 (9): 1324—1332. [朱杰, 刘海, 吴邦魁, 等. 稻虾共作对稻田土壤 *nirK* 反硝化微生物群落结构和多样性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26 (9): 1324—1332.]
- [28] Wang F G, Song L, Feng Y, et al. Characteristics of soil microbiology in different planting-life orchard acid soils[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2011, 42 (1): 46—50. [王富国, 宋琳, 冯艳, 等. 不同种植年限酸化果园土壤微生物学性状的研究[J]. 土壤通报, 2011, 42 (1): 46—50.]
- [29] Song Y, Wang P, Wei Y P. Effects of different co-cultivation patterns of rice field on soil bacterial communities structure[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2020, 29 (2): 216—223. [宋宇, 王鹏, 韦月平. 不同稻田共作模式对土壤细菌群落结构的影响[J]. 西北农业学报, 2020, 29 (2): 216—223.]
- [30] Chaudhry V, Rehman A, Mishra A, et al. Changes in bacterial community structure of agricultural land due to long-term organic and chemical amendments[J]. Microbial Ecology, 2012, 64 (2): 450—460.
- [31] Wang P, Chen B, Zhang H. High throughput sequencing analysis of bacterial communities in soils of a typical Poyang Lake wetland[J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37 (5): 1650—1658. [王鹏, 陈波, 张华. 基于高通量测序的鄱阳湖典型湿地土壤细菌群落特征分析[J]. 生态学报, 2017, 37 (5): 1650—1658.]

- [32] Muyzer G, Stams A J M. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6 (6): 441—454.
- [33] Langwig M V, de Anda V, Dombrowski N, et al. Large-scale protein level comparison of Deltaproteobacteria reveals cohesive metabolic groups[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16 (1): 307—320.
- [34] Murphy C L, Biggerstaff J, Eichhorn A, et al. Genomic characterization of three novel Desulfobacterota classes expand the metabolic and phylogenetic diversity of the phylum[J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23 (8): 4326—4343.
- [35] Wang G H, Liu J J, Yu Z H, et al. Research progress of acidobacteria ecology in soils[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2016, 32 (2): 14—20. [王光华, 刘俊杰, 于镇华, 等. 土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展[J]. *生物技术通报*, 2016, 32 (2): 14—20.]
- [36] Xian W D, Zhang O, Li W J. Research status and prospect on bacterial phylum *Chloroflexi*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60 (9): 1801—1820. [鲜文东, 张潇橦, 李文均. 绿弯菌的研究现状及展望[J]. *微生物学报*, 2020, 60 (9): 1801—1820.]
- [37] Li P, Wu J Q, Sha C Y, et al. Effects of manure and organic fertilizer application on soil microbial community diversity in paddy fields[J]. *Environmental Science*, 2020, 41 (9): 4262—4272. [理鹏, 吴建强, 沙晨燕, 等. 粪肥和有机肥施用对稻田土壤微生物群落多样性影响[J]. *环境科学*, 2020, 41 (9): 4262—4272.]

(责任编辑: 卢 萍)