

# 稻田土壤微生物群落对稻鳖共作模式的响应特征

肖力婷<sup>1</sup>, 杨慧林<sup>1</sup>, 赖政<sup>1,2</sup>, 赖胜<sup>1</sup>, 倪才英<sup>2</sup>, 陈晓玲<sup>2,3</sup>, 简敏菲<sup>1,2\*</sup>

(1. 江西师范大学生命科学院, 南昌 330022; 2. 江西师范大学地理与环境学院, 南昌 330022;  
3. 武汉大学测绘遥感信息工程国家重点实验室, 武汉 430079)

**摘要:** 稻鳖共作是一种绿色、高效的生态农业种养模式, 然而有关共作模式对稻田土壤微生物群落结构与功能特征的影响及其驱动因子的研究鲜有报道。为此, 该研究以水稻单作(RM)和稻鳖共作(RT)处理的稻田土壤为研究对象, 采用 Illumina 高通量测序技术分析土壤细菌和真菌群落结构的变化, 并探讨土壤理化性质和微生物群落间的相关性。结果表明: 1) 稻鳖共作模式使土壤有机质(Soil Organic Matter, SOM)、总钾(Total Potassium, TK)、碱解氮(Alkali-hydrolyzable Nitrogen, AN)、有效磷(Available Phosphorus, AP)和速效钾(Available Potassium, AK)含量显著提高了 17.82%、15.15%、13.80%、37.37%和 21.57% ( $P<0.05$ )。2) 稻鳖共作模式显著提高了土壤真菌群落的丰富度, 改变了微生物群落结构。共作使土壤细菌变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteriota)、真菌子囊菌门(Ascomycota)和罗兹菌门(Rozellomycota)相对丰度分别增加了 6.42%、1.16%、0.44%和 2.96%, 真菌担子菌门(Basidiomycota)相对丰度降低了 0.22%。3) 共线网络分析表明, 稻鳖共作增加了细菌微生物网络总节点数、边数、平均聚类数和模块化, 增强了微生物网络复杂度, 加强了群落间的联系; 共作降低了真菌微生物网络节点数, 但增加了正相互作用的微生物, 增强了微生物间的协同合作。4) 冗余分析(Redundancy Analysis, RDA)表明, 土壤有机质、全钾和速效钾含量是影响细菌群落结构变化的主要环境因子, 全钾、速效钾和有效磷含量是影响真菌群落结构变化的主要环境因子。综上, 稻鳖共作有利于提高稻田土壤肥力, 改变土壤微生物群落结构, 并提高了微生物丰富度, 使微生物群落间的联系更紧密。该研究为探究科学合理的稻田栽培模式提供了重要的科学依据。

**关键词:** 土壤; 微生物; 稻鳖共作; 群落特征

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2022.24.011

中图分类号: S154.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2022)-24-0102-08

肖力婷, 杨慧林, 赖政, 等. 稻田土壤微生物群落对稻鳖共作模式的响应特征[J]. 农业工程学报, 2022, 38(24): 102-109.

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2022.24.011 <http://www.tcsae.org>

Xiao Liting, Yang Huilin, Lai Zheng, et al. Response characteristics of soil microbial communities in paddy fields to rice-turtle integrated system[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2022, 38(24): 102-109. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2022.24.011 <http://www.tcsae.org>

## 0 引言

水稻是中国绝大多数人口的主要粮食来源<sup>[1]</sup>。近年来, 随水稻种植面积扩大, 以稻田单作为主的传统栽培模式使农药化肥和化学除草剂的使用量大幅增加, 导致农田生态系统的稳定性和持续性不断降低, 土壤环境被污染、微生物多样性和稻米品质降低等问题频发, 这是影响中国稻米品质降低的主要原因之一<sup>[2]</sup>。因此, 如何兼顾水稻的高产高质与土壤养分的有效利用, 是近几年农业科学研究的热点之一。

稻渔共作是一种将水稻养殖与水产养殖相结合的新型生态种养模式, 现已逐步成为生态农业发展的新方向<sup>[3]</sup>。其中, 稻-鳖共作是稻田综合种养中效益较好的模式之一。稻-鳖共作指鳖在稻田中与水稻共同生存, 以田

间害虫和杂草等作为部分饵料, 水稻以鳖的残饵和排泄物等作为有机肥料吸收利用的一种种养模式<sup>[4]</sup>。这种动植物共生的生态种养模式不仅增加了稻田水体营养程度, 也减少了化肥、农药的使用量, 实现了经济、生态和社会三重效益的共同提升, 达到了“养鳖稳粮、增收增效”的效果<sup>[5]</sup>。兰国俊等<sup>[6]</sup>发现, 稻鸭共作使土壤有机质和碱解氮的含量分别增加了 13.6%和 17.6%; 佘国涵等<sup>[7]</sup>发现, 稻虾共作使土壤平均颜色变化率(Average Well Color Development, AWCD)在 0~25 和 25~50 cm 土层中较水稻单作模式分别提高了 16.1%和 76.9%。

土壤微生物是农田生态系统中最重要和最活跃的成分之一, 是参与土壤养分循环、维持土壤肥力和促进作物生长的重要因子<sup>[8]</sup>。细菌和真菌是两大类关键的微生物菌群, 前者主要调节土壤有机质的分解矿化, 后者参与植物残体的分解和木质纤维素的降解等, 两者相互作用, 共同参与生态系统的养分循环, 促进植物的生长发育<sup>[9]</sup>。在稻田这个复杂的农田生态系统中, 鳖引入田间后会活动于土壤表面, 对土壤生态系统的结构和功能产生一定程度的影响, 而这种影响更直观表现在对土壤菌群的影响上。以往的研究者更注重共作模式对稻田产量和经济效益等方面的研

收稿日期: 2022-09-26 修订日期: 2022-12-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(42167006, 32260016); 江西省地质局科技研究项目(2022JXDZKJKY05)

作者简介: 肖力婷, 研究方向为土壤微生物。

Email: xiaolt014726@163.com

\*通信作者: 简敏菲, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为湿地生态学与污染生态学。Email: jianminfei0914@163.com

究<sup>[10]</sup>, 而忽略了该模式对土壤微生物群落结构与功能特征的影响。本研究以稻田土壤为研究对象, 旨在从微生物的角度揭示稻鳖共作对土壤理化性质和微生物群落的影响, 以期对稻渔共作的生态研究和发展提供一定的理论依据, 为中国绿色高产优质水稻的生产提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域概况和样品采集

试验于江西省鹰潭市余江区锦江镇灌田村水稻研究基地进行 (E116°41', N28°37'), 该地属于亚热带湿润季风气候, 四季分明, 光照充足, 年平均降水量 1 778.8 mm, 平均日照时数 1 738.4 h, 无霜期 257 d。有关土壤基础理化性质见文献<sup>[11]</sup>。

田间试验于 2019 年 6 月开始, 采用随机田块设计, 设置水稻单作 (RM) 和稻鳖共作 (RT) 2 个处理, 各处理 3 个重复, 共 6 块稻田, 各块田面积约 1 000 m<sup>2</sup>, 田块间用田埂和围隔分离。水稻单作模式于水稻移栽前施肥一次 (6 月 6 日), 施肥量为 N 120.0 kg/hm<sup>2</sup>、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 22.0 kg/hm<sup>2</sup> 和 K<sub>2</sub>O 35.0 kg/hm<sup>2</sup>。于 6 月 15 日采用移栽法种植水稻, 水稻品种为黄华占, 株间距为 18 cm×25 cm, 于 10 月 12 日收割水稻。水稻共作模式的水分管理、肥料施用量及相关农艺技术等与水稻单作模式均相同。水稻移栽后 15 d 左右向 3 个田块各投放规格为 200 g/只的中华鳖 300 只, 每天按中华鳖质量的 3%~5% 投喂鳖饲料 (渔盛甲鱼配合饲料)。两种模式的处理在整个水稻生长期均不施农药和化学除草剂。

于 2019 年 6 月—2021 年 10 月进行田间定位试验, 每年水稻收获后的秸秆均还田, 按前一年各田块的排列进行种植。2021 年 10 月进行土壤样品的采集, 此时处于稻田成熟期, 土壤的组成、理化性质及形态特征均趋于稳定状态。各田块按照 S 型“五点取样法”和“抖落法”采集稻田根际土壤<sup>[12]</sup>, 将采集到的土壤样品充分混匀后, 冷藏带回实验室, 一部分置于 -80 °C, 用于土壤 DNA 的提取; 另一部分自然风干、研磨过筛后用于土壤理化性质的测定。

### 1.2 土壤理化性质测定

土壤有机质 (Soil Organic Matter, SOM) 测定采用重铬酸钾容量法, 全氮 (Total Nitrogen, TN) 测定采用凯氏法, 碱解氮 (Alkali-hydrolyzable Nitrogen, AN) 测定采用碱解扩散法, 全磷 (Total Phosphorus, TP) 和速效磷 (Available Phosphorus, AP) 测定采用钼锑抗比色法, 全钾 (Total potassium, TK) 和速效钾 (Available potassium, AK) 测定采用火焰光度法<sup>[13]</sup>。

### 1.3 土壤样品微生物总 DNA 提取、扩增和高通量测序

采用 Foregene 土壤基因组 DNA 提取试剂盒 (成都福

际) 提取样品基因组总 DNA, 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量后于 -20 °C 冰箱保存, 供后续试验使用。

以上述提取到的 DNA 为模板, 采用带有 barcode 的特异性引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 扩增细菌 16S rRNA 的 V3+V4 区, 利用引物 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') 扩增真菌的 ITS1 区。采用 50 μL PCR 扩增体系: DNA 模板 1 μL, 正反向引物各 1 μL (10 mM), DreamTaq™ Green PCR Master Mix (2×) 25 μL, DNA 模板 10 ng。扩增条件为: 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 共 30 个循环, 最后 72 °C 延伸 10 min<sup>[14]</sup>。1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物后, 采用 E.Z.N.A.® Gel Extraction Kit (Omega) 试剂盒进行纯化后等量混样, 由北京百迈客生物科技有限公司进行建库, 利用 Miseq PE250 平台 (美国 Illumina 公司) 进行测序。

### 1.4 数据处理

采用 Usearch 软件对 Reads 在 97% 相似度水平下聚类, 获得分类操作单元数 (Operational Taxonomic Units, OTUs); 采用 QIIME 软件生成不同分类水平上的物种丰度表, R 语言绘制物种群落结构图, 分析各水平物种组成及相对丰度; 采用 QIIME2 软件, 对样品 Alpha 多样性指数和香农指数曲线进行评估<sup>[15]</sup>; 采用 IBM SPSS Statistics 21 进行单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和最小显著差异法 (Least Significance Difference, LSD) 检验土壤理化因子和微生物 Alpha 多样性指数的差异显著性; 利用 <http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy> 网站对各分类水平上具有显著差异的关键物种进行线性判别分析 (Linear discriminant analysis Effect Size, LEfSe); 采用 R 4.2.0 的 “psych” 包对属水平上微生物群落基于 Spearman 相关性系数进行共生网络分析, Gephi 0.9.2 软件进行微生物共生网络分析的可视化绘图; 采用联川生物云平台 (<https://www.omicstudio.cn/index>) 进行土壤理化因子与微生物间的冗余分析 (Redundancy Analysis, RDA)。

## 2 结果与分析

### 2.1 稻鳖共作对土壤理化性质的影响

由表 1 可知, 稻鳖共作模式提高了稻田土壤养分含量。与水稻单作相比, 稻鳖共作的土壤有机质含量 (SOM)、总钾含量 (TK)、碱解氮含量 (AN)、有效磷含量 (AP) 和速效钾含量 (AK) 均显著高于水稻单作土壤 ( $P<0.05$ ), 分别高于单作组 17.82%、15.15%、13.80%、37.37% 和 21.57%。

表 1 不同处理土壤理化性质分析

Table 1 Analysis of soil physical and chemical properties with different treatments

处理 Treatment	SOM/(g·kg <sup>-1</sup> )	TN/(g·kg <sup>-1</sup> )	TP/(g·kg <sup>-1</sup> )	TK/(g·kg <sup>-1</sup> )	AN/(mg·kg <sup>-1</sup> )	AP/(mg·kg <sup>-1</sup> )	AK/(mg·kg <sup>-1</sup> )
水稻单作 Rice Monoculture (RM)	19.59±1.32b	0.70±0.11a	0.54±0.07a	1.65±0.09b	117.20±2.69b	26.18±3.06b	91.45±7.89b
稻鳖共作 Rice-Turtle Integrated (RT)	23.08±1.55a	1.04±0.34a	0.56±0.02a	1.90±0.03a	133.37±2.75a	35.96±3.07a	111.18±5.17a

注: SOM: 有机质; TN: 全氮; TP: 全磷; TK: 全钾; AN: 碱解氮; AP: 速效磷; AK: 速效钾。不同小写字母表示不同处理间差异显著 ( $P<0.05$ )。下同。  
Note: SOM: soil organic matter; TN: total nitrogen; TP: total phosphorus; TK: total potassium; AN: alkali-hydrolyzable nitrogen; AP: available phosphorus; AK: available potassium. Values with different lowercase letters are significantly different among different treatments at the 0.05 level. Same as below.

## 2.2 稻蟹共作对土壤微生物多样性的影响

由图 1 可知,不同处理的土壤样品 Shannon 指数随样品序列数的增加而增加,到达一定序列数时,曲线走向逐渐趋于平缓,Shannon 指数不再随测序数的增加而增加,表明测序数据量足够大,测序结果能够反映稻田土壤微生物物种的多样性。

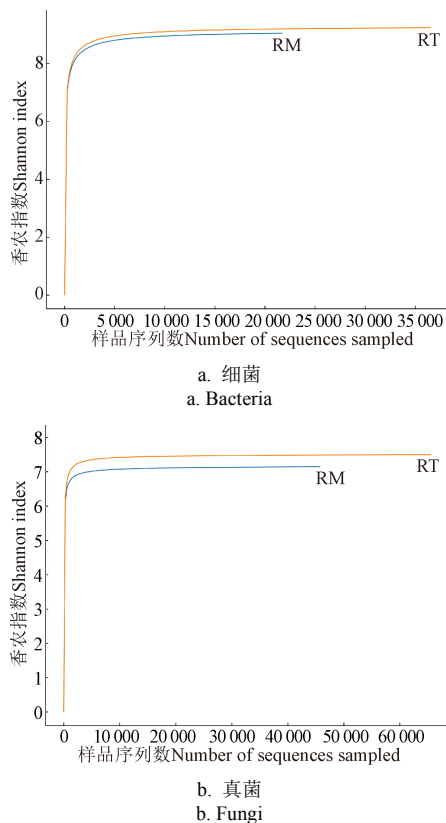


图 1 土壤细菌和真菌群落香农指数曲线  
Fig.1 Shannon index curves of soil bacteria and fungi communities

图 2 为不同处理的土壤样品 OTUs 维恩图。土壤细菌群落中,水稻单作和共作土壤共有 OTUs 为 2 037,特有 OTUs 分别为 5 和 54;真菌群落中,水稻单作和共作土壤共有 OTUs 为 981,特有 OTUs 分别为 52 和 168。不同处理的土壤微生物 Alpha 多样性指数如表 2 所示。与水稻单作相比,稻蟹共作使土壤细菌 ACE 指数、Chao 指数、Simpson 指数和 Shannon 指数分别提高了 2.53%、1.98%、1.01%和 1.76%;土壤真菌群落 ACE 指数、Chao 指数和 Shannon 指数分别提高了 7.70%、7.90%和 4.89%。其中,稻蟹共作处理的土壤真菌群落 ACE 指数和 Chao 指数显著高于单作组 ( $P<0.05$ )。

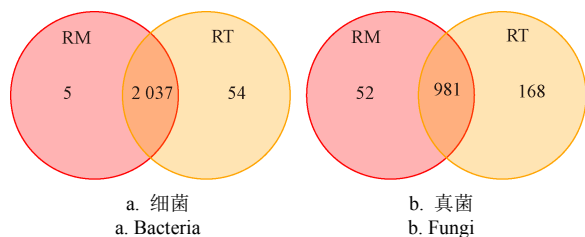


图 2 Venn diagrams of soil bacteria and fungi communities

表 2 土壤细菌和真菌群落 Alpha 多样性指数分析  
Table 2 Alpha diversity index of soil bacterial and fungi communities

基因 Gene	处理 Treatment	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	Simpson 指数 Simpson index	Shannon 指数 Shannon index
16S rRNA	RM	1923.69±38.60a	1946.89±30.72a	0.99±0.002 2a	9.10±0.45a
	RT	1972.42±46.64a	1985.50±41.16a	1.00±0.001 5a	9.26±0.25a
ITS rRNA	RM	816.96±14.99b	822.52±22.76b	0.98±0.002 2a	7.16±0.11a
	RT	879.89±18.10a	887.48±23.73a	0.98±0.016 5a	7.51±0.80a

## 2.3 稻蟹共作对土壤微生物群落结构的影响

不同种养模式的稻田土壤细菌和真菌群落门水平相对丰度居于前 10%的物种分布如图 3 所示。门水平上,细菌群落主要以变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteriota)、脱硫菌门 (Desulfobacterota)、泉古菌门 (Crenarchaeota) 和绿弯菌门 (Chloroflexi) 为主,相对丰度分别为 25.37%~31.79%、11.31%~12.47%、9.13%~12.81%、4.42%~10.88%和 5.19%~6.98%;真菌群落以子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、罗兹菌门 (Rozellomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 和被孢霉门 (Mortierellomycota) 为主,相对丰度分别为 43.19%~43.63%、17.01%~17.23%、9.34%~12.30%、3.75%~6.27%和 4.16%~5.41%。与水稻单作模式相比,共作模式的应用使土壤细菌变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteriota) 和绿弯菌门 (Chloroflexi) 相对丰度分别增加了 6.42%、1.16%和 1.79%,脱硫菌门 (Desulfobacterota) 和泉古菌门 (Crenarchaeota) 相对丰度分别降低了 3.68%和 6.46%;真菌子囊菌门 (Ascomycota) 和罗兹菌门 (Rozellomycota) 相对丰度分别增加了 0.44%和 2.96%,担子菌门 (Basidiomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 和被孢霉门 (Mortierellomycota) 相对丰度分别降低了 0.22%、2.52%和 1.26%。

不同种养模式的稻田土壤微生物群落组成存在差异,进一步通过线性判别分析 (Linear discriminant analysis Effect Size, LEfSe) 确定各分类水平上各处理组间具有显著差异的关键物种及其效益大小 (图 4)。对所有样品进行 LEfSe 分析可知,稻蟹共作模式的应用减少了稻田土壤中的差异物种 (Linear Discriminant Analysis, LDA = 3.0,  $P<0.05$ )。如图 4a 所示,细菌群落在门、纲、目、科、属水平上共发现 6 种具有显著差异的物种信息 ( $P<0.05$ )。其中,水稻单作组中有 4 个显著富集的物种,分别为 g\_unclassified\_Bacteroidetes\_vadinHA17、f\_Bacteroidetes\_vadinHA17、拟杆菌门 (Bacteroidota) 和脱硫菌纲 (Desulfobacteria);共作组中有 2 个显著富集的物种,分别为红杆菌科 (Rhodanobacteraceae) 和 f\_Oxalobacteraceae。如图 4b 所示,真菌群落在门、纲、目、科、属水平上共发现 9 种具有显著差异的物种信息 ( $P<0.05$ )。其中,水稻单作组有 6 个显著富集的物种,分别为未分类的被孢霉纲 (c\_unclassified\_Mortierellomycota)、未分类的被孢霉科 (f\_unclassified\_Mortierellomycota)、螺旋聚孢霉属 (Clonostachys)、f\_Cyphellaceae、未分类的被孢霉属 (g\_unclassified\_Mortierellomycota) 和未分类的被孢霉目

(o\_unclassified\_Mortierellomycota)，共作组中有 3 个显著富集的物种，分别为锤舌菌纲 (Leotiomyces)、f\_Herpotrichiellaceae 和 o\_Thelebolales。

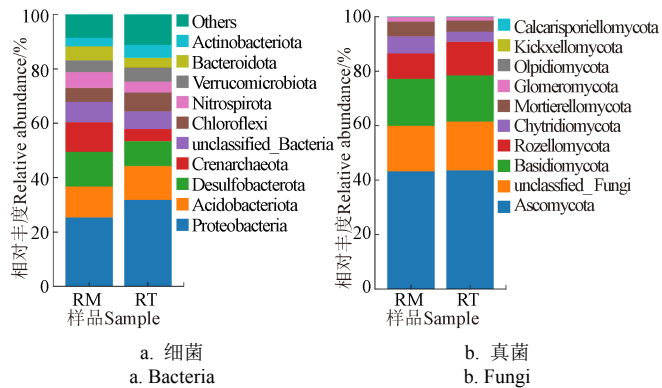


图 3 土壤样品细菌和真菌群落门水平相对丰度

Fig.3 Relative abundance of bacterial and fungi communities in soil samples at the phylum level

## 2.4 稻鳖共作对土壤微生物网络共发生的影响

进一步通过构建共生网络分析来探索稻田土壤微生物群落间的相互关系，水稻单作和共作土壤中的细菌和真菌群落都形成了各自独特的微生物网络。细菌共生网络中，水稻单作土壤包含 126 个节点和 3 738 条边，其中正相关 55.03%，负相关 44.97%，平均聚类数为 0.995，模块化 3.069，平均连通度 59.333 (图 5a)；稻鳖共作土壤包含 141 个节点和 3 973 条边，其中正相关 53.64%，负相关 46.36%，平均聚类数为 0.996，模块化 3.591，平均连通度 55.844 (图 5b)。表明稻鳖共作增加了土壤细菌群落间的网络复杂度，加强了细菌群落间的联系。真菌共生网络中，水稻单作包含 72 个节点和 841 条边，其中正相关 56.72%，负相关 43.28%，平均聚类数 0.985，模块化 3.49，平均连通度 23.361 (图 5c)；稻鳖共作土壤包含 69 个节点和 968 条边，其中正相关 69.94%，负相关 30.06%，平均聚类数 0.988，模块化 0.843，平均连通度 28.058 (图 5d)。表明稻鳖共作减小了土壤真菌群落规模大小，但使群落间的联系更加紧密，且使正相互作用的微生物增加。

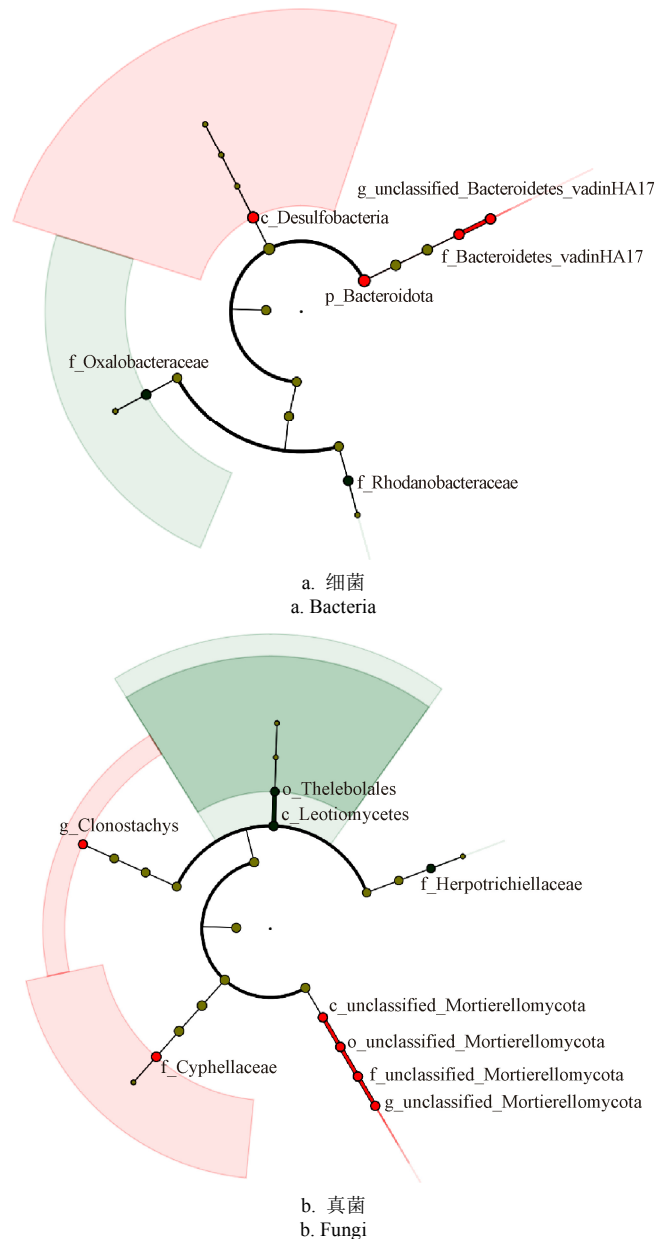
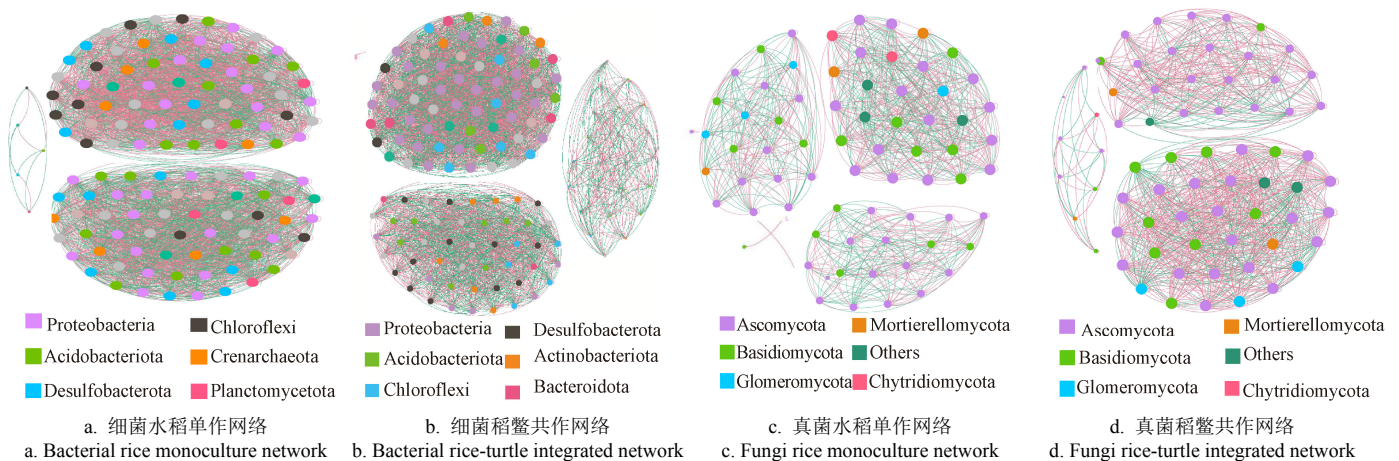


图 4 细菌和真菌群落差异物种线性判别分析 (LDA)

Fig.4 Bacterial and fungi communities biomarkers based on Linear Discriminant Analysis (LDA)



注：红色线表示正相关；绿色线表示负相关。

Note: The red line indicates a positive correlation; the green line indicates a negative correlation.

图 5 土壤样品细菌和真菌群落微生物共生网络模式

Fig.5 Model diagram of bacterial and fungi communities co-occurrence network in soil samples

## 2.5 土壤微生物群落与环境因子间的相互关系

利用冗余分析 (RDA) 进一步探究土壤理化性质对微生物群落组成的影响。如图 6a 所示, 细菌群落中前两轴特征值占总排序轴特征值的 92.93%, 第一和第二轴 (RDA1 和 RDA2) 分别占 81.03% 和 11.90%, SOM、TK 和 AK 含量对土壤细菌群落结构影响较大, 其中绿弯菌门 (Chloroflexi)、放线菌门 (Actinobacteriota)、变形菌门 (Proteobacteria) 和疣微菌门 (Verrucomicrobiota) 与土壤养分含量呈正相关, 拟杆菌门 (Bacteroidota) 相对丰度与土壤 AP、SOM 和 TK 含量呈显著负相关 ( $P < 0.05$ )。如图 6b 所示, 真菌群落中前两轴特征值占总排序轴特征值的 78.30%, 第一和第二轴 (RDA1 和 RDA2) 分别占 56.48% 和 21.82%, TK、AP 和 AK 含量对土壤真菌群落结构影响较大, 其中壶菌门 (Chytridiomycota) 相对丰度与土壤养分含量均呈负相关, 子囊菌门 (Ascomycota) 相对丰度与土壤 AK 和 AP 含量正相关性较强。

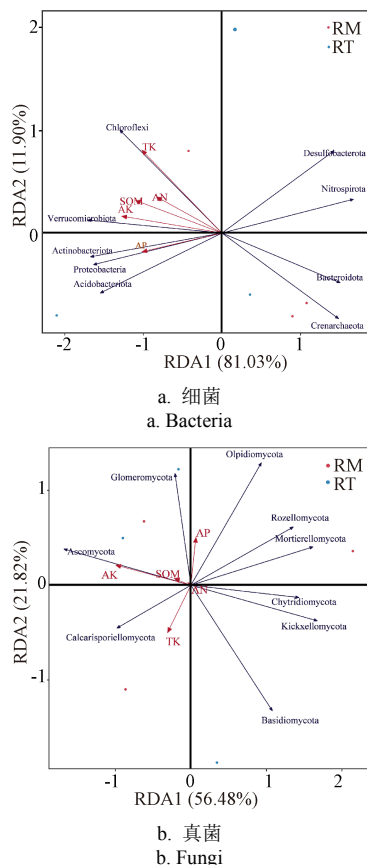


图 6 细菌和真菌群落结构与环境变量的冗余分析

Fig.6 RDA analysis of bacterial and fungi communities structure and environmental variables

## 3 讨论

### 3.1 稻鳖共作对土壤理化性质的影响

土壤养分是土壤肥力的物质基础和评价土壤质量的关键指标, 也是作物生长所需营养物质的重要来源<sup>[16]</sup>。有机质作为衡量土壤养分有效性和营养程度的重要因子, 保肥保水、改良土壤结构和活化钾磷等营养元素是其主要作用<sup>[17]</sup>。本研究表明, 稻鳖共作显著提高了土壤有机质含量 ( $P < 0.05$ ), 这与张军等<sup>[18]</sup>的研究结果一致。

原因主要包括: 1) 稻鳖共作过程中鳖粪便的排入可作为土壤有机肥料, 提升土壤肥力; 2) 稻田中的杂草和枯枝败叶等在鳖的踩踏过程中会腐化, 而稻田长期被水浸没, 减缓了有机物的分解速率, 使大量有机质累积<sup>[19]</sup>。作物生长过程中, 土壤中氮、磷、钾等营养元素的稳定供应也是保证作物正常生长发育的前提<sup>[20]</sup>。朱秀秀等<sup>[21]</sup>发现, 稻鳖共作模式提高了土壤全氮、全磷、速效钾和硝态氮的含量, 本研究结果与其相似。稻鳖共生过程中, 投放于田间的鳖会进行摄食、踩踏爬行及翻土等活动, 促进了土壤与外界的气体交换, 土壤透气性增加, 进一步加速了杂草和秸秆等的腐解速率而释放出养分; 同时鳖的排泄物会残留在土壤表面, 其富含一定的微生物和速效养分, 在促进土壤微生物活动的同时加速了土壤养分的活化<sup>[22]</sup>, 进一步提高了土壤有效养分的含量。本研究样地土壤 pH 值在 3.91~3.97 之间, 属于酸性土壤。研究发现, 酸性土壤中矿物养分的释放会受到抑制, 导致植物缺乏某些营养元素, 不利于根系对养分的吸收利用<sup>[23]</sup>, 因此可以考虑在生产中通过施用石灰和生理碱性肥料等方式来合理调节土壤的 pH 值, 使之维持在有利于土壤养分释放的范围, 促进植物的吸收利用。

### 3.2 稻鳖共作对土壤微生物的影响

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分, 是促进土壤养分循环与能量流动的重要因子<sup>[24]</sup>。在稻田这个复杂的生态系统中, 水稻栽培方式的改变会影响土壤微生物的多样性及群落结构。邓时铭等<sup>[25]</sup>发现, 稻鳅共养提高了土壤微生物丰富度; 陈玲等<sup>[26]</sup>发现, 稻虾共作提高了土壤细菌群落多样性。本研究中, 共作模式的土壤微生物群落 Alpha 多样性指数均高于单作土壤, 表明稻鳖共作提高了土壤微生物群落的丰富度和多样性, 这与邓时铭和陈玲等的研究结果一致。中华鳖活动于田间, 其觅食和翻耕等活动促进了土壤团聚体的形成, 增强了土壤透气性, 有利于微生物的生长繁殖, 进而提高了微生物的丰度和多样性。另外, 鳖肠道中含有的大量微生物会通过排泄过程进入到土壤环境中, 与土壤中的微生物相互作用, 进一步改变了微生物的多样性和群落结构。

变形菌门、酸杆菌门和绿弯菌门等为土壤细菌优势菌门。本研究中, 共作使土壤变形菌门、酸杆菌门和绿弯菌门相对丰度分别增加了 6.42%、1.16% 和 1.79%。变形菌门是一种嗜营养菌, 可分解有机物和促进植物的生长发育<sup>[27]</sup>, 共作组中较高的有机质含量为其提供了充足的代谢底物, 促进了其生长繁殖, 有利于丰度的增加; 酸杆菌门作为一类可分解某些难降解的碳源和植物残体多聚物的寡营养菌群<sup>[28]</sup>, 相对丰度在土壤养分含量高的共作组中反而表现出较高趋势, 这可能与共作组中较低的土壤 pH 值促进了酸杆菌的生长繁殖, 使其相对丰度增加, 有益于促进土壤中现有碳源的分解相关; 绿弯菌门可依靠光合作用适应环境的变化, 因此稻鳖共作有利于植物光合作用的进行, 促进稻田的生长发育。另外, 拟杆菌门作为水稻单作土壤中的关键菌群, 相对丰度在共作处理中显著降低, 这与本研究物种相对丰度结果是一

致的。研究表明, 拟杆菌门相对丰度与土壤盐分含量相关<sup>[29]</sup>, 因此共作组中其相对丰度的降低可能与该研究地土壤盐分含量有关, 对于这一结果的分析需进一步深入研究。真菌门水平上, 子囊菌门、担子菌门和罗兹菌门为主要的真菌门类, 这与廖咏梅等<sup>[30]</sup>的研究结果相似。子囊菌门以腐生菌为主, 喜好透气性好的土壤环境, 有较强的有机质降解能力<sup>[31]</sup>, 是土壤养分循环的主要驱动力。本研究中, 稻蟹共作使子囊菌门和罗兹菌门的相对丰度分别增加了 0.44% 和 2.96%, 而担子菌门相对丰度降低了 0.22%。与水稻单作相比, 稻蟹共作对土壤的扰动程度更大, 较强的土壤透气性为子囊菌和罗兹菌门的生长发育提供了更适宜的生存环境, 有利于其利用降解的植物残体等促进菌群的快速生长繁殖; 而担子菌门的相对丰度却呈相反的变化趋势, 这可能与共生后的土壤环境改变相关。

网络共线分析是评价微生物相互作用的有效工具, 广泛应用于构建不同生境下的微生物共生网络, 其拓扑特性是评价微生物群落稳定性和多样性的良好指标<sup>[32]</sup>。本研究发现, 土壤细菌网络节点数、连接度和平均连通度均高于真菌群落, 表明细菌网络比真菌网络更复杂, 细菌在稻田土壤微生物相互作用过程中更占优势, 这与 Li 等<sup>[33]</sup>的观点一致。细菌共生网络中, 共作模式下的网络节点数、连接数和平均度均大于单作土壤, 表明共作增强了土壤细菌网络规模和微生物间的相互作用, 这可能是由于共作的土壤细菌群落间形成了特殊的共生体, 群落稳定性和抗胁迫能力增强<sup>[34]</sup>, 进一步加强了其在共生模式下的生存能力。真菌共生网络中, 共作处理降低了网络规模大小, 但增强了微生物群落间的正相关关系, 微生物间的联系更复杂, 表明共作模式显著增强了土壤真菌群落间的协同合作关系, 这有利于土壤养分的有效利用。

## 4 结 论

通过研究稻蟹共作模式对稻田土壤养分和微生物群落结构的影响, 有以下主要发现:

1) 稻蟹共作模式有利于提升土壤肥力。与水稻单作相比, 稻蟹共作使土壤有机质、总钾、碱解氮、有效磷和速效钾含量等指标分别显著提高了 17.82%、15.15%、13.80%、37.37% 和 21.57%。

2) 稻蟹共作有利于提高土壤真菌群落微生物丰富度。与水稻单作相比, 稻蟹共作使真菌群落 ACE 指数和 Chao 指数分别显著提高了 7.70% 和 7.90% ( $P < 0.05$ )。

3) 变形菌门、酸杆菌门和脱硫菌门为细菌优势菌门, 子囊菌门、担子菌门和罗兹菌门为真菌优势菌门。稻蟹共作增加了变形菌门、酸杆菌门、子囊菌门和罗兹菌门的相对丰度, 降低了担子菌门和脱硫菌门的相对丰度。

4) 稻蟹共作改变了土壤微生物间的相互作用模式。共作增加了土壤细菌群落的网络规模和群落联系, 减小了真菌群落的规模大小, 但加强了群落间的协同合作。

## 参 考 文 献

- [1] 吴雅欣, 金涛, 史琛, 等. 江苏省稻田种养产业化开发空间优选与分区引导策略[J]. 农业工程学报, 2022, 38(8): 255-262.
- [2] Wu Yaxin, Jin Tao, Shi Chen, et al. Spatial optimization and zoning guidance strategy of rice-aquatic coculture system in Jiangsu Province, China[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2022, 38(8): 255-262. (in Chinese with English abstract).
- [3] 车阳, 程爽, 田晋钰, 等. 不同稻田综合种养模式下水稻产量形成特点及其稻米品质和经济效益差异[J]. 作物学报, 2021, 47(10): 1953-1965.
- [4] Che Yang, Cheng Shuang, Tian Jinyu, et al. Characteristics and differences of rice yield, quality, and economic benefits under different modes of comprehensive planting-breeding in paddy fields[J]. Acta Agronomica Sinica, 2021, 47(10): 1953-1965. (in Chinese with English abstract)
- [5] 刘路广, 吴瑕, 关洪林, 等. 虾稻共作灌溉定额确定方法研究[J]. 农业工程学报, 2019, 35(15): 71-76.
- [6] Liu Luguang, Wu Xia, Guan Honglin, et al. Determination method of irrigation quota of crayfish-rice culture[J]. Transactions of the Chinese society of agricultural engineering (Transactions of the CSAE), 2019, 35(15): 71-76. (in Chinese with English abstract)
- [7] Sun G, Sun M, Du L, et al. Ecological rice-cropping systems mitigate global warming - A meta-analysis[J]. Science of the Total Environment. 2021, 789: 147900.
- [8] Arunrat N, Sansupa C, Kongsurakan P, et al. Soil microbial diversity and community composition in rice-fish co-culture and rice monoculture farming system[J]. Biology (Basel). 2022, 11(8): 1242.
- [9] 兰国俊, 胡雪峰, 程畅, 等. 稻鸭共生对土壤养分和水稻病虫害防控的影响[J]. 土壤学报, 2021, 58(5): 1299-1310.
- [10] Lan Guojun, Hu Xuefeng, Cheng Chang, et al. Effects of raising duck in paddy field on soil nutrients and rice pests and diseases control[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(5): 1299-1310. (in Chinese with English abstract)
- [11] 倡国涵, 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.
- [12] Si Guohan, Peng Chenglin, Xu Xiangyu, 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. (in Chinese with English abstract)
- [13] 贾鹏丽, 冯海艳, 李淼. 东北黑土区不同土地利用方式下农田土壤微生物多样性[J]. 农业工程学报, 2020, 36(20): 171-178.
- [14] Jia Pengli, Feng Haiyan, Li Miao. Soil microbial diversity of black soil under different land use patterns in northeast China[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2020, 36(20): 171-178. (in Chinese with English abstract)
- [15] Diaz-López M, Siles J A, Ros C, et al. The effects of ozone treatments on the agro-physiological parameters of tomato plants and the soil microbial community[J]. Science of the Total Environment, 2022, 812: 151429.
- [16] Zhang J, Hu L L, Ren W Z, et al. Rice-soft shell turtle

- coculture effects on yield and its environment[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2016, 224: 116-122.
- [11] 王琳宇. 适宜稻虾和稻鳖共作的水稻品种筛选及肥料用量研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2021.
- Wang Linyu. Screening of Rice Varieties Suitable for Rice Shrimp and Rice Crab Co-cropping and Study on Fertilizer Dosage[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2021. (in Chinese with English abstract)
- [12] Ren J H, Liu X L, Yang W P, et al. Rhizosphere soil properties, microbial community, and enzyme activities: Short-term responses to partial substitution of chemical fertilizer with organic manure[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 299: 1136501.
- [13] 王祥润, 张朋月, 沈玉君, 等. 连续施用酸化粪水对土壤养分淋溶及重金属累积的影响[J]. *农业工程学报*, 2022, 38(7): 245-256.
- Wang Xiangrun, Zhang Pengyue, Shen Yujun, et al. Effects of manure acidification on the soil nutrient leaching and accumulation of heavy metals in the continuous administration[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2022, 38(7): 245-256. (in Chinese with English abstract).
- [14] Zhang P W, Li H, Zhao W P, et al. Dynamic analysis of physicochemical characteristics and microbial communities of *Aspergillus*-type douchi during fermentation[J]. *Food Research International*. 2022, 153: 110932.
- [15] Liao M, Fang Z P, Liang Y Q, et al. Effects of supplying silicon nutrient on utilization rate of nitrogen and phosphorus nutrients by rice and its soil ecological mechanism in a hybrid rice double-cropping system[J]. *Journal of Zhejiang University Science B*, 2020, 21(6): 474-484.
- [16] Li W J, Jiang L M, Zhang Y, et al. Structure and driving factors of the soil microbial community associated with *Alhagi sparsifolia* in an arid desert[J]. *PLoS One*, 2021, 16(7): e0254065.
- [17] Cen R, Feng W Y, Yang F, et al. Effect mechanism of biochar application on soil structure and organic matter in semi-arid areas[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 286: 1121981.
- [18] 张军, 刘菁, 陈长青. 有机稻鸭共作对土壤理化性状和细菌群落空间分布的影响[J]. *生态学杂志*, 2020, 39(3): 822-829.
- Zhang Jun, Liu Jing, Chen Changqing. Effects of organic rice-duck farming on soil physicochemical properties and spatial distribution of bacterial community[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2020, 39(3): 822-829. (in Chinese with English abstract)
- [19] 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(1): 2856.
- [20] 管方圆, 刘琛, 傅庆林, 等. 添加秸秆对水稻产量和土壤碳氮及微生物群落的影响[J]. *农业工程学报*, 2022, 38(2): 223-230.
- Guan Fangyuan, Liu Chen, Fu Qinglin, et al. Effects of straw addition on rice yield, soil carbon, nitrogen, and microbial community[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2022, 38(2): 223-230. (in Chinese with English abstract)
- [21] 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.
- Zhu Xiuxiu, Peng Chenglin, Si Guohan, 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. (in Chinese with English abstract)
- [22] Zhao Z, Chu C B, Zhou D P, et al. Soil bacterial community composition in rice-fish integrated farming systems with different planting years[J]. *Scientific Reports*. 2021, 11(1): 10855.
- [23] Wang Z J, Pan X, Kuang S P, et al. Amelioration of coastal salt-affected soils with biochar, acid modified biochar and wood vinegar: Enhanced nutrient availability and bacterial community modulation[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2022, 19(12): 7282.
- [24] Xue P F, Liu X W, Zhao L Q, et al. Integrating high-throughput sequencing and metabolomics to investigate the stereoselective responses of soil microorganisms to chiral fungicide cis-epoxiconazole[J]. *Chemosphere*, 2022, 300: 134198.
- [25] 邓时铭, 何志刚, 邹利, 等. 稻鳅共作模式对土壤营养、酶活性及微生物多样性的影响[J]. *江苏农业科学*, 2021, 49(17): 216-220.
- Deng Shiming, He Zhigang, Zou Li, et al. Effects of rice loach co-cultivation model on soil nutrition, enzyme activity and microbial diversity[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2021, 49(17): 216-220. (in Chinese with English abstract)
- [26] 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.
- Chen Ling, Wan Weitao, Liu Bing, 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. (in Chinese with English abstract)
- [27] 刘俊, 张世文, 宋桂芳, 等. 复垦土壤细菌群落结构及其与土壤肥力的关系[J]. *农业工程学报*, 2021, 37(21): 124-133.
- Liu Jun, Zhang Shiwen, Song Guifang, et al. Bacterial community structure of reclaimed soil and its relationship with soil fertility[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2021, 37(21): 124-133. (in Chinese with English abstract)
- [28] Lauber C L, Strickland M S, Bradford M A, et al. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2407-2415.
- [29] 张晓丽, 张宏媛, 卢闯, 等. 河套灌区不同秋浇年限对土壤细菌群落的影响[J]. *中国农业科学*, 2019, 52(19): 3380-3392.
- Zhang Xiaoli, Zhang Hongyuan, Lu Chuang, et al. Effects of the different autumn irrigation years on soil bacterial community in Hetao irrigation district[J]. *Scientia*

- Agricultura Sinica, 2019, 52(19): 3380-3392. (in Chinese with English abstract)
- [30] 廖咏梅, 黄元腾吉, 韩宁宁, 等. 稻鸭共育模式下水稻根际土壤真菌和细菌种群多样性分析[J]. 南方农业学报, 2019, 50(1): 59-67.
- Liao Yongmei, Huang Yuantengji, Han Ningning, et al. Analysis of population diversity of fungi and bacteria in rice rhizosphere soil under rice-duck farming model[J]. Journal of Southern Agriculture, 2019, 50(1): 59-67. (in Chinese with English abstract)
- [31] Yang Y, Cheng H, Dou Y X, et al. Plant and soil traits driving soil fungal community due to tree plantation on the Loess Plateau[J]. Science of the Total Environment, 2020, 708: 1345602.
- [32] Zhang B, Zhang J, Liu Y, et al. Co-occurrence patterns of soybean rhizosphere microbiome at a continental scale[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 118: 178-186.
- [33] Li P F, Liu M, Ma X Y, et al. Responses of microbial communities to a gradient of pig manure amendment in red paddy soils[J]. Science of the Total Environment, 2019, 705: 135884.
- [34] 胡志娥, 肖谋良, 丁济娜, 等. 长期覆膜条件下农田土壤微生物群落的响应特征[J]. 环境科学, 2022, 43(10): 4745-4754.
- Hu Zhi'e, Xiao Mouliang, Ding Jina, et al. Response characteristics of soil microbial community under long-term film mulching[J]. Environmental Science, 2022, 43(10): 4745-4754. (in Chinese with English abstract)

## Response characteristics of soil microbial communities in paddy fields to rice-turtle integrated system

Xiao Liting<sup>1</sup>, Yang Huilin<sup>1</sup>, Lai Zheng<sup>1,2</sup>, Lai Sheng<sup>1</sup>, Ni Caiying<sup>2</sup>, Chen Xiaoling<sup>2,3</sup>, Jian Minfei<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Life Science, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China; 2. College of Geography and Environment, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China; 3. State Key Laboratory of Information Engineering in Surveying, Mapping and Remote Sensing, Wuhan University, Wuhan 430079, China)

**Abstract:** Rice-turtle integrated system refers to a green, efficient and ecological breeding technology in modern agriculture. In the multiple species coexistence system, the turtles take the field pests and weeds as the food, while the rice absorbs the residues and excrement as the organic fertilizers in the paddy fields. Among them, the soil microorganisms can greatly contribute to the biodiversity of ecosystem functions and nutrient cycling in agroecosystems. However, only a few studies were focused on the effects of rice-turtle mixed cropping on the soil microbial community structure and functional characteristics, together with the driving factors. In this study, a systematic analysis was implemented to determine the response characteristics of soil bacterial-fungal community structure and diversity to the rice cultivation system using Illumina high-throughput sequencing. The correlation analysis was also obtained between soil physical/chemical properties and microbial community structure. The results showed that: 1) The Rice-Turtle Integrated system (RT) was beneficial to promote the soil nutrient contents and fertility. Specifically, the contents of Soil Organic Matter (SOM), Total Potassium (TK), Alkali-hydrolyzed Nitrogen (AN), Available Phosphorus (AP), and Available Potassium (AK) in the soil significantly increased by 17.82%, 15.15%, 13.80%, 37.37%, and 21.57% under the RT ( $P < 0.05$ ), compared with the Rice Monoculture system (RM). 2) The soil microbial richness and diversity were improved to change the microbial community structure in the RT. In the soil bacterial community, the Abundance-based coverage estimators (ACE), Chao1, Simpson, and Shannon indexes increased by 2.53%, 1.98%, 1.01%, and 1.76%, respectively. In the fungal community, the ACE, Chao1, and Shannon indexes increased by 7.70%, 7.90%, and 4.89%, respectively. At the same time, the relative abundance of Proteobacteria, Acidobacteriota, Chloroflexi, Ascomycota, and Rozellomycota increased by 6.42%, 1.16%, 1.79%, 0.44%, and 2.96%, respectively. By contrast, the abundance of Desulfobacterota, Crenarchaeota, Basidiomycota, Chytridiomycota, and Mortierellomycota decreased by 3.68%, 6.46%, 0.22%, 2.52%, and 1.26%, respectively. 3) Microbial molecular ecological networks were used to intuitively demonstrate the complex ecological interactions among microorganisms and their responses to environmental changes. The topological structure, modularity, and network composition were then selected to better reflect the relationship between the microbial community and the niche functions. The network analysis showed that the co-cropping system was strengthened the relationship between communities, leading to the high complexity of microbial network with the total number of nodes and edges, the average clustering number, as well as the modularity of bacterial microbial network. Nevertheless, the number of nodes decreased in the fungal microbial network, whereas there was an increase in the number of edges and positive interacting microorganisms, indicating the enhanced collaboration among microorganisms. 4) The redundancy analysis showed that the different soil physical and chemical properties posed the different effects on the dominant genera of microbial communities. The contents of SOM, TK, and AK were the main environmental factors on the bacterial community structure, whereas, the TK, AK, and AP contents were dominated the fungi community. In conclusion, the rice-turtle integrated system can be expected to enhance the soil fertility, the soil microbial community, the microbial richness, and the closer relationship between microbial communities. This finding can also provide an important scientific basis to explore the reasonable cultivation mode in paddy fields.

**Keywords:** soils; microbiome; rice-turtle integrated system; community characteristics