

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.

DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.01.013

稻虾共作对稻田水体微生物多样性和群落结构的影响

陈玲¹, 万韦韬¹, 刘兵², 徐文静², 顾泽茂^{1,3,4}

1. 华中农业大学水产学院/双水双绿研究院, 武汉 430070; 2. 监利市农业农村局, 监利 433300;
3. 长江经济带大宗水生生物产业绿色发展教育部工程研究中心, 武汉 430070; 4. 湖北洪山实验室, 武汉 430070

摘要 为探究稻虾共作对稻田水体微生物多样性和群落结构的影响, 基于 16S rDNA 扩增子高通量测序, 结合生物信息分析, 比较稻虾共作模式(RC)和水稻单作模式(RM)中水体微生物的多样性和群落结构。结果显示, RC 中水体微生物的多样性极显著高于 RM。水体微生物的群落结构在 2 种模式中差异显著, 且水体理化性质, 如总氮、亚硝酸盐氮等的含量与 2 种模式中水体微生物群落结构的差异显著关联。相比于 RM, RC 水体中放线菌门(Actinobacteria)和蓝细菌门(Cyanobacteria)的相对丰度更高, 而变形菌门(Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidetes)的相对丰度更低。放线菌目(Actinomycetales)、根瘤菌目(Rhizobiales)、聚球藻目(Synechococcales)等为 RC 主要的水体微生物标志物, 而黄杆菌目(Flavobacteriales)、 β -变形菌目(Betaproteobacteriales)、红环菌目(Rhodocyclales)等则为 CM 主要的水体微生物标志物。在稻田水体微生物群落中鉴定出 6 个基石种, 主要属于伯克氏菌科(Burkholderiaceae)、腐螺旋菌科(Saprospiraceae)和多囊菌科(Polyangiaceae)等。通过功能预测及其相对丰度比较, 发现 RC 中水体微生物的代谢通路的相对丰度高于 RM, 尤其是能量代谢通路的相对丰度极显著地高于 RM。以上研究表明, 相比于水稻单作, 稻虾共作显著提高了稻田水体微生物的多样性, 塑造了组成更健康、功能更强大的水体微生物群落, 提高了稻田生态系统的物质循环能力和能量利用效率, 有利于稻田水体净化, 并维持稻田生态系统稳定。

关键词 稻虾共作; 稻田; 水体微生物; 生物多样性; 群落结构; 功能预测

中图分类号 S 154.3; S 966.12 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)01-0141-11

微生物广泛存在于水体、土壤、空气等环境中, 其数量庞大、种类繁多, 是农业生态系统的重要生物组成部分^[1]。作为分解者, 微生物可以通过代谢作用分解化肥、农药、残饵、排泄物等物质, 也可以通过矿化作用将有机化合物直接分解为无机产物^[2-3], 驱动固氮、硝化、反硝化等多种物质循环进程^[4-5], 在促进能量流动、维持环境稳态中起关键作用^[6]。例如, 硝化细菌可以消除氨和亚硝酸盐, 减少水体毒性^[7]; 芽孢杆菌(*Bacillus*)可以将有机碳转化为 CO₂ 或黏液, 改善水体质量^[8]。除此之外, 微生物还可以合成菌体蛋白, 产生细菌素、有机酸等多种代谢物质, 影响动植物的生长性能和健康状态^[9-10]。Chiu 等^[11]和 Gómez 等^[12]发现乳酸杆菌(*Lactobacillus*)不仅可以促进凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的免

疫反应, 提高存活率, 还可以增加消化酶活性, 优化生长表现。但当生态系统失衡时, 环境中的条件致病菌可能会造成动植物的疾病, 危害其健康生长^[13-14]。因此, 微生物在很大程度上决定了农业生态系统的生产能力和生态效益, 探究农业生态系统中微生物的多样性和群落结构对农业产业健康发展具有重要意义^[15]。已有研究表明, 微生物对环境变化响应迅速, 不同的农业耕作模式和田间管理技术均是影响微生物多样性和群落结构的重要因子^[16-17]。

稻虾共作是在稻田中养殖克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*), 通过水稻和克氏原螯虾互利共生形成的生态农业模式^[18]。该模式充分利用了稻田的水土和生物等资源, 同时生产了碳水化合物和蛋白质, 极大地提高了稻田生产能力, 解决了资源约

收稿日期: 2021-11-24

基金项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”专项(2020YFD0900303); 湖北省农业科技创新中心项目(2019-620-000-001-33); 湖北洪山实验室项目(2021hszd002)

陈玲, E-mail: 974745052@qq.com

通信作者: 顾泽茂, E-mail: guzemaomail@mail.hzau.edu.cn

束和农民增收难度大的难题^[19]。相比于水稻单作,稻虾共作能够提高氮肥利用效率,增加水稻产量^[20]。Si 等^[21]研究表明,稻虾共作改善了稻田土壤结构,提高了稻田土壤微生物的多样性和相对丰度。许元钊^[22]通过对比稻虾共作模式和水稻单作模式的水体环境,发现稻虾共作增加了稻田水体营养盐的含量。然而,关于稻虾共作对稻田水体微生物多样性和群落结构方面的研究较少。水体微生物不仅直接作用于稻田有机质和系统养分转化,影响水体质量^[23],还关系到水稻和克氏原螯虾等农产品的安全生产。因此,本研究基于 16S rDNA 扩增子高通量测序技术,比较分析了稻虾共作模式和水稻单作模式中水体微生物的多样性和群落结构,旨在从微生物的角度揭示稻虾共作对生态环境的影响,补充稻虾共作理论基础,为稻虾共作模式的生态研究和进一步发展提供科学依据,同时也为开发农业微生物资源、提高稻田生态系统的资源利用率提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验地点

试验地点为华中农业大学双水双绿科研基地,该基地建于 2017 年,位于湖北省监利市新沟镇横台村(112°92'E, 30°07'N)。监利市地处江汉平原,三面环水,具有丰富的水资源和大量的湿地,属亚热带季风性气候,年平均气温约 16℃,年降雨量在 1 100~1 300 mm,适宜多种农作物生长,是“全国水稻第一县”和“中国小龙虾第一县”^[24]。2019 年该市稻虾共作面积已达 7.2 万 hm²,是全国稻虾共作面积最大的区域之一^[25]。

1.2 试验设计

本试验于 2019 年开展,设置稻虾共作模式(RC)和水稻单作模式(RM)2 种处理,每种处理 3 个重复,共 6 块试验田,各个田块平均面积约为 2.0 万 m²。2 种模式种植的水稻品种为华中农业大学供试品种“狮山 2 号”,稻作期为 6—10 月,采集水稻苗期的水体样品作为研究对象。

水稻单作模式管理:水稻移栽前(6 月 10 日)施用 1 次复合肥(N-P-K: 17-13-15),施用量约 300 kg/hm²。随后于 6 月 20 日采用移栽法种植水稻,10 月 25 日收割。水稻种植期间均采用浅水分蘖、中期晒田、后期干湿交替的水分管理方式。在水稻苗期,稻田的平均水深约为 15 cm。

稻虾共作模式管理:水源、肥料施用、水分管理

以及水稻相关的农艺技术等均与水稻单作模式相同。在水稻苗期,台田的平均水深约为 15 cm,环沟的平均水深约为 130 cm。该模式中养殖的克氏原螯虾主要为上一年成虾及越冬虾苗,养殖期间投喂克氏原螯虾专用配合饲料(蛋白质含量 32%)。在稻虾共作期间,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*)、空心莲子草(*Alternanthera philoxeroides*)等水生植物,覆盖率约为 30%~40%。

1.3 样品采集

2019 年 7 月 1 日(水稻苗期),采用五点法采集水体样品,样点为各个田块四周(距离邻近田埂约 1 m)及稻田中心(图 1)。样品采集过程中全程佩戴一次性无菌手套及口罩防止污染,并对所用工具(剪刀、镊子、离心管等)进行事前高温灭菌。采集装置为 500 mL 洁净聚乙烯瓶,并用采样点水样进行预先润洗。各个点位采集水样 2 L,共计 10 L,混合均匀后用作后续实验测定和分析。

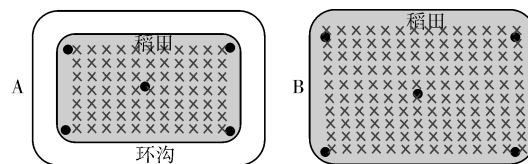


图 1 稻虾共作模式(A)和水稻单作模式(B)的示意图和采样点设置

Fig.1 Schematic illustration and sample stations in the rice-crayfish integrated system(A) and rice monoculture system(B)

1.4 水体理化性质测定

测定的水体理化性质包括水温(water temperature, WT)、溶氧(dissolved oxygen, DO)、pH、总氮(total nitrogen, TN)、总磷(total phosphorus, TP)、氨氮(NH₄⁺-N)和亚硝酸盐氮(NO₂⁻-N)。使用 YSI Professional Plus 便携式水质分析仪现场测定 WT、DO 和 pH。取混匀后的水样 500 mL 用于 TN、TP、NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 测定,具体测定方法参见文献^[26]: TN 使用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(GB 11894—1989)测定; TP 使用钼酸铵紫外分光光度法(GB 11893—1989)测定; NH₄⁺-N 利用纳氏试剂紫外分光光度法(HJ 535—2009)进行测定; NO₂⁻-N 使用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法(GB 7493—1987)测定。

1.5 水体微生物富集及总 DNA 提取

静置水样,随后用大孔径的滤膜预过滤减少杂质。利用循环水式真空泵富集水体微生物,滤膜孔

径为 0.22 μm , 抽滤体积为 500 mL, 每个试验田设置 3 个技术重复, 各模式分别采集 9 张滤膜 (3 个试验田 $\times$ 3 个技术重复)。抽滤完成后, 立即将滤膜取下放入 10 mL 的无菌离心管内, 并置于干冰中保存、运输, 到实验室后立即转入 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存至 DNA 提取。

提取 DNA 时, 将各个富集水体微生物的滤膜分别剪碎, 使用 QIAamp DNA stool mini kit (Qia-gen, New York, USA) 提取, 具体操作方法见试剂盒说明书。通过 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量, 并使用 Nano-Drop 2000 测定 DNA 的纯度和浓度。

1.6 PCR 扩增及高通量测序

运用正向引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAG-GCAGCAG-3') 和反向引物 806R (5'-GGAC-TACHVGGGTWTCTAAT-3') 对细菌 16S rDNA 基因的 V3-V4 高变区进行扩增^[27]。PCR 扩增体系为 20 μL , 包括 4 μL 的 $5 \times$ FastPfu Buffer, 2 μL 的 2.5 mmol/L dNTPs, 正向引物 (5 $\mu\text{mol/L}$) 0.8 μL 和反向引物 (5 $\mu\text{mol/L}$) 0.8 μL , 0.4 μL 的 FastPfu Polymerase, 0.4 μL 的 BSA, 总 DNA 10 ng, 补无 RNA 酶的 ddH₂O 至 20 μL 。PCR 扩增程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 然后 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 27 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 共计 27 个循环, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳, 使用胶回收试剂盒 (Omega, USA) 纯化回收 PCR 产物, 使用 Nano-Drop 2000 测定 DNA 的纯度和浓度。PCR 产物送往上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序, 基于 Illumina Miseq PE300 测序平台进行双末端测序。

1.7 数据处理

得到的双末端序列数据经 FastQC^[28] 去除错配和低质量序列并通过标准质量控制后, 使用 FLASH^[29] 对 16S rDNA 扩增子数据进行双末端序列拼接。使用 Uparse^[30] 对非重复序列按照 97% 相似性进行 OTU (operational taxonomic unit) 聚类, 在聚类过程中去除嵌合体, 得到 OTU 的代表序列, 在 Silva v132.0 数据库^[31] 中注释序列信息, 由 RDP classifier^[32] 进行物种分类。根据样本的最低序列数量, 使用 Qiime^[33] 对 OTU 丰度进行均一化处理 (序列数大于 20 的均保留)。在 Qiime 中对每个样本进行稀释曲线分析, 发现序列深度已满足分析要求, 后续的分析均使用均一化的数据进行。

通过 Mothur^[34] 计算样品的 Alpha (α) 多样性指数, 并使用 Student's *t*-test^[35] 检验差异的显著性。使用 R 软件^[36] 中的 Vegan 程序包进行群落相似性分析, 本研究中使用非度量多维尺度 (non-metric multidimensional scaling, NMDS) 结合相似性分析 (analysis of similarities, ANOSIM), 基于 Bray-curtis 算法得到不同样本间差异距离矩阵。基于 β 多样性分析结果进行线性回归分析 (linear regression), 计算水体理化性质与水体微生物群落结构之间的相关性。使用 Python 软件^[37] 进行线性判别效应量分析 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe)^[38], 计算了在 2 种模式中起主要作用且相对丰度差异显著 ($P < 0.05$) 的微生物, 也即水体微生物标志物 (biomarker), LDA 阈值设定为 4.0, 多组比较策略为 all-against-all。使用 R 软件中的程序包 igraph^[39] 绘制水体微生物共现性网络, 将网络中 degree 值排名 1% 的 OTU 物种定为基石种 (key-stone)^[17]。基于 16S rDNA 的测序数据, 使用 PICRUSt2 (phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states)^[40] 对水体微生物群落的基因进行功能预测, 并在 KEGG (kyoto encyclopedia of genes and genomes) 数据库^[41] 进行注释统计。

2 结果与分析

2.1 水体微生物的测序结果和 α 多样性指数

在 RC 和 RM 中获得的水体微生物原始序列共计 562 127 条, 序列平均长度为 416.97 bp, 共测得碱基数 329 095 596 个, 按 97% 的相似度对所有非重复序列进行 OTU 聚类, 共得到 3 516 个 OTUs。将所有得到的原始序列按照最小样本数进行抽平 (保留序列数总和 > 20 的 OTU), 剩余序列共 360 090 条, 平均每个样本包含序列 20 005 条, 聚类后共得到 717 个 OTUs; 其中, RC 的水体微生物包含 98 个独有 OTUs, RM 的水体微生物包含 33 个独有 OTUs, 在 2 种模式间共享的水体微生物共有 586 个 OTUs (图 2A)。在 OTU 水平上, 使用抽平后的序列数与各个样品对应的 Shannon 多样性指数构建稀释曲线 (图 2B), 发现各稀释曲线均趋于平坦, 表明在此测序深度下获得的序列数据量足够反映水体中的微生物信息。

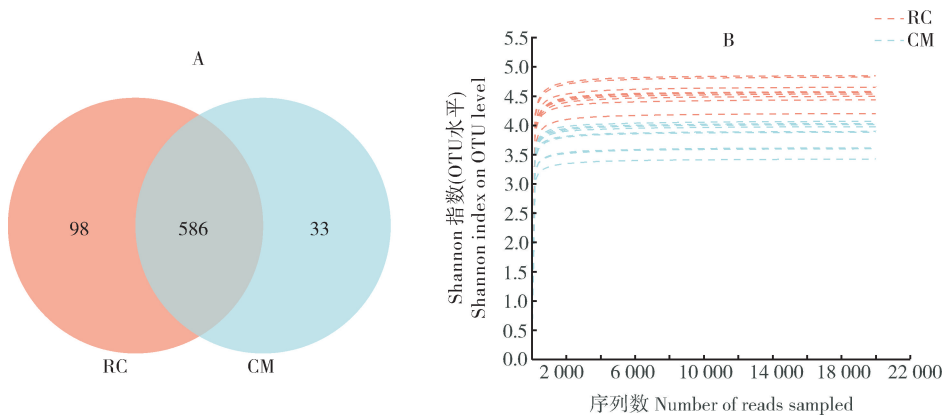


图 2 稻虾共作模式和水稻单作模式中水体微生物的韦恩图和稀释曲线(OTU 水平)

Fig.2 Venn diagram(A) and rarefaction curves(B) of water microbiome in the rice-crayfish integrated system and rice monoculture system(on OTU level)

微生物的物种丰富度、多样性、均匀度和覆盖度可以分别由 α 多样性指数中的 Sobs、Shannon、Simpson 和 Coverage 指数反映,各指数的数值越大,分别代表物种丰富度、多样性、均匀度和覆盖度越高。由表 1 可知,水体微生物的 Sobs、Shannon、

Simpson 和 Coverage 指数在 RC 中依次为 536.00、4.57、0.058 和 0.995,在 RM 中依次为 426.33、3.83、0.033 和 0.995;经检验,RC 中水体微生物的 Sobs、Shannon 和 Simpson 指数均极显著($P<0.001$)高于 RM。

表 1 稻虾共作模式和水稻单作模式中水体微生物群落的 α 多样性指数

Table 1 Alpha diversity indices of water microbiome in the rice-crayfish integrated system and rice monoculture system

模式 System	Sobs 指数 Sobs index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	Coverage 指数 Coverage index
RC	536.00 $\pm$ 22.42***	4.57 $\pm$ 0.20***	0.058 $\pm$ 0.017***	0.995 $\pm$ 0.000
RM	426.33 $\pm$ 28.56***	3.83 $\pm$ 0.23***	0.033 $\pm$ 0.008***	0.995 $\pm$ 0.000

注:同列数据后 *** 表示两种模式间差异极显著($P<0.001$)。Note: Values followed by *** in a row indicates extremely significant difference between the two systems($P<0.001$).

2.2 水体微生物的群落组成

分别在门水平和属水平对 RC 和 RM 的水体微生物群落组成进行分析,将相对丰度占比小于 0.01% 的微生物类群归于其他(others)。在门水平上(图 3A),RC 的水体微生物群落主要由变形菌门(Proteobacteria,38.00%)、放线菌门(Actinobacteria,27.87%)、蓝细菌门(Cyanobacteria,18.80%)和拟杆菌门(Bacteroidetes,8.10%)组成;RM 的水体微生物群落主要由变形菌门(42.50%)、放线菌门(26.30%)、拟杆菌门(19.09%)和蓝细菌门(8.61%)组成。在属水平上(图 3B),RC 的水体微生物群落主要由聚球藻属(*Synechococcus*,12.81%)、unclassified_f__Comamonadaceae(12.63%)、放线菌目(Actinomycetales)中的 norank_f__ACK-M1(12.54%)、酸微菌目(Acidimicrobiales)中的 norank_f__C111(6.17%)、norank_o__Rhizobiales(4.96%)等组成;RM 的水体微生物群落主要由 unclassified_f__Comamonadaceae(15.50%)、*Candidatus_Aquiluna*(9.26%)、多核杆菌属(*Polynucle-*

obacter,6.60%)、聚球藻属(5.85%)、红环菌科(Rhodocyclaceae)中的 C39 属(5.83%)等组成。

2.3 水体微生物的群落相似性

对 2 种模式的水体微生物群落进行聚类分析,可以看出,来自同一模式的样本聚在一起,RC 与 RM 的样品处于不同的分支,表明样品有很好的重复性,且 RC 与 RM 的水体微生物群落结构不同(图 4A)。除此之外,在 NMDS 分析图(图 4B)中,RC 与 RM 中的水体微生物样品主要沿轴 1 分开,没有重叠且距离较远,也进一步表明 RC 和 RM 的水体微生物群落结构差异极显著($P<0.001$)。

2.4 水体微生物群落结构与水体理化性质的相关性

将水体微生物的群落结构分别与各项水体理化性质 WT、pH、DO、TN、TP、 $\text{NH}_4^+\text{-H}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-H}$ 进行线性回归分析,结果显示与水体微生物群落结构相关性最大的水体理化性质是 TN($R^2=0.916\ 9$, $P<0.001$),其次是 $\text{NO}_2^-\text{-H}$ ($R^2=0.813\ 6$, $P<0.001$),总体的相关性顺序为 $\text{TN}>\text{NO}_2^-\text{-H}>\text{pH}>\text{NH}_4^+\text{-H}>\text{DO}>\text{TP}>\text{WT}$ (图 5)。

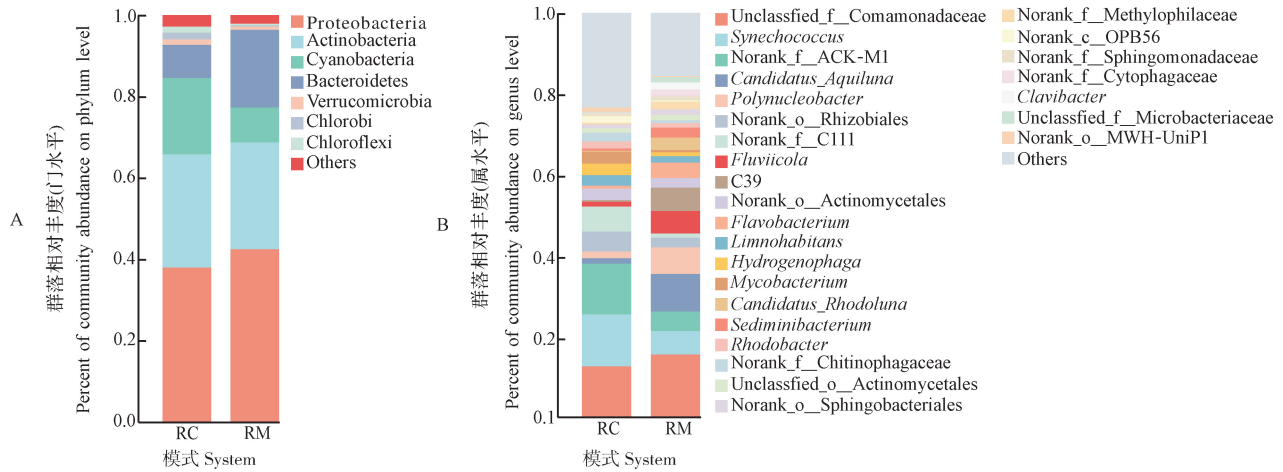
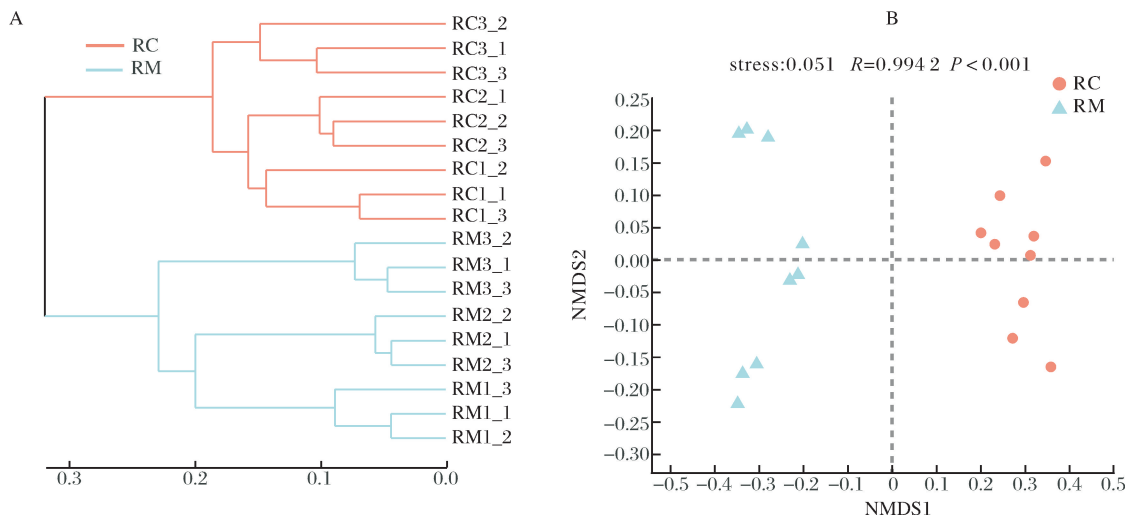


图 3 稻虾共作模式和水稻单作模式中水体微生物的群落组成

Fig.3 Compositions of water microbiome in the rice-crayfish integrated system and rice monoculture system



stress 用来检验 NMDS 分析结果的优劣; R 值代表解释群落的变异程度。Stress is used to test the results of NMDS analysis; R refers to the explained fraction of total variation in the water microbiome.

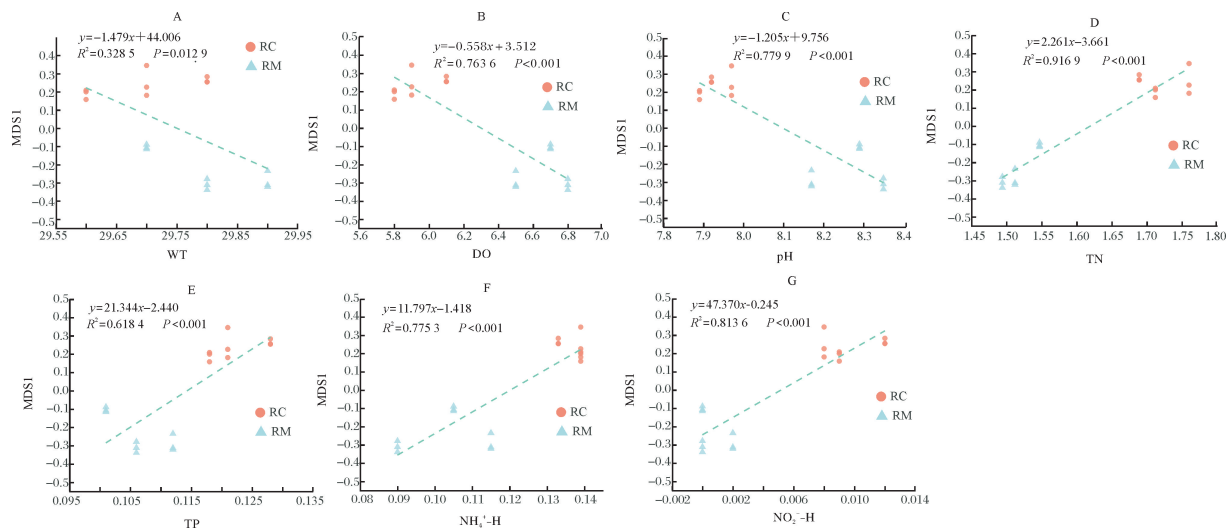
图 4 稻虾共作模式和水稻单作模式中水体微生物群落聚类分析树(A)和 NMDS 分析图(B)

Fig.4 Cluster analysis tree(A) and NMDS analysis diagram(B) of water microbiome in the rice-crayfish integrated system and rice monoculture system

2.5 2 种模式的水体微生物标志物

分别计算 RC 和 RM 的水体微生物标志物, 并将其在系统发育树上的位置进行标记。结果显示(图 6), RC 的水体微生物标志物共有 17 个类群, 分别为蓝细菌门、聚球藻亚纲(Synechococophycidae)、放线菌目中的 ACK-M1 科及其中的未分类属、聚球藻目(Synechococales)、聚球藻科(Synechococcaceae)、聚球藻属、酸微菌纲(Acidimicrobiia)、酸微菌目和其中的 C111 科及其中的未分类属、 α 变形菌门(Alphaproteobacteria)、根瘤菌目(Rhizobiales)及其中的未分类科和未分

类属、分枝杆菌科(Mycobacteriaceae)和分枝杆菌属(*Mycobacterium*); RM 中水体微生物的标志物共有 16 个类群, 分别为微杆菌科(Microbacteriaceae)、拟杆菌门、黄杆菌目(Flavobacteriales)、黄杆菌纲(Flavobacteriia)、*Candidatus_Aquiluna*、 β 变形菌目(Betaproteobacteriales)、红环菌目(Rhodocyclales)、红环菌科和其中的 C39 属、多核杆菌属、草酸杆菌科(Oxalobacteraceae)、Cryomorphaceae 和其中的 *Fluvicola*、黄杆菌科(Flavobacteriaceae)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)和 *Candidatus_Rhodoluna*。



决定系数 R^2 代表变异可以被回归线解释的比例。Determination coefficient (R^2) represents the proportion of variation explained by the regression line.

图 5 水体微生物群落结构与水体理化性质(A~G)的相关性

Fig.5 Correlation of water microbiome structure and water physico-chemical factors (A-G) in paddy fields

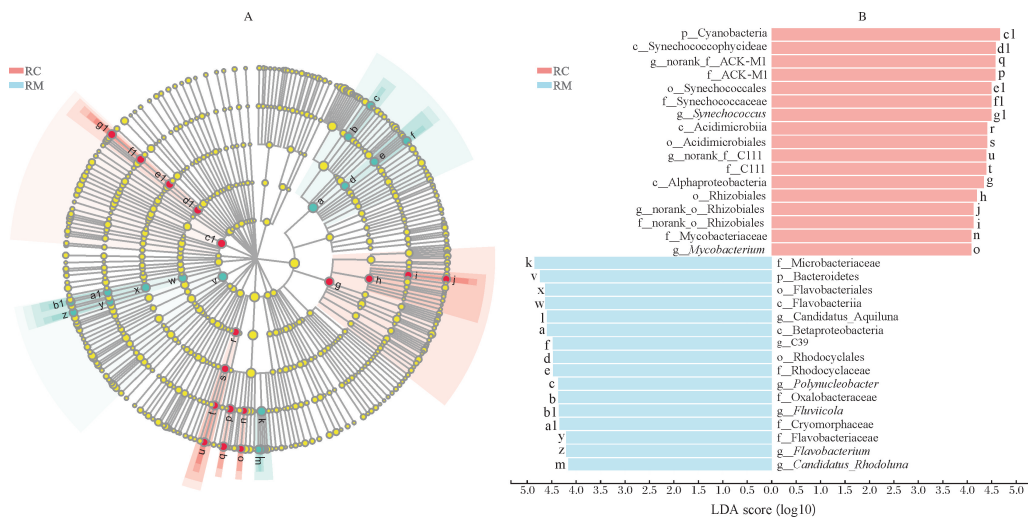


图 6 水体微生物的差异效应判别分析进化分支图(A)和柱状图(B)

Fig.6 Histogram(A) and cladogram(B) based on LEfSe analysis of water microbiome in paddy fields

2.6 水体微生物群落的基石种

根据微生物的相对丰度构建共现性网络(图 7),并在水体微生物群落中共鉴定出 6 个基石种(表 2),其中 OTU2835 属于玫瑰弯菌目(Roseiflexales), OTU3856 和 OTU2511 分别属于 Bacteroidetes 中的 VC2_1_Bac22 和腐螺旋菌科(Saprospiraceae), OTU1174 和 OTU4092 属于伯克氏菌科(Burkholderiaceae), OTU6474 属于多囊菌科(Polyangiaceae)。

2.7 水体微生物的功能预测

对水体微生物群落进行功能预测,得到代谢通

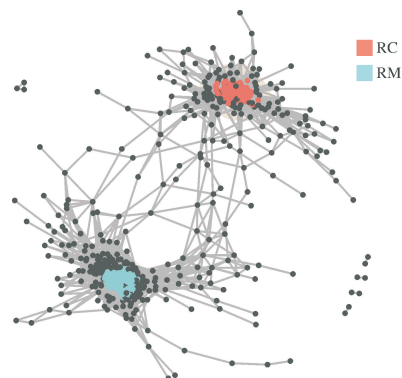


图 7 稻田水体微生物的共现性网络

Fig.7 The co-occurrence network of water microbiome in paddy fields

路在 1 级和 2 级水平上的相对丰度(表 3)。整体来看,稻田生态系统中水体微生物群落的代谢通路主要集中在碳水化合物代谢。在 1 级水平上,RC 中水体微生物群落的代谢通路的相对丰度略高于

RM,但并无显著性差异;在 2 级水平上,相比于 RM,RC 中水体微生物群落的碳水化合物代谢、氨基酸代谢、能量代谢、辅酶因子和维生素代谢、异源物质的生物降解和代谢、脂类代谢、其他氨基酸代谢、

表 2 稻田水体微生物群落中的基石种

Table 2 Keystone taxa on water microbiome in paddy fields

OTU 编号 OTU ID	门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	连接度 Degree
OTU2835	Chloroflexi	Chloroflexi	Roseiflexales	Norank	205
OTU3856	Bacteroidetes	VC2_1_Bac22	Norank	Norank	201
OTU1174	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	199
OTU4092	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	197
OTU2511	Bacteroidetes	Saprospirae	Saprospirales	Saprospiraceae	196
OTU6474	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	Polyangiaceae	196

表 3 水体微生物的 KEGG 数据库代谢通路丰度

Table 3 Abundance of metabolism pathways in KEGG database of water microbiome in paddy fields

代谢通路 KEGG pathway of metabolism		相对丰度 Relative abundance	
		RC	RM
1 级通路 Pathway level 1	代谢 Metabolism	390 210.25	382 207.10
	碳水化合物代谢 Carbohydrate metabolism	41 882.40	40 693.75
	氨基酸代谢 Amino acid metabolism	40 053.59	39 937.16
	能量代谢 Energy metabolism	24 475.68 * * *	22 783.99 * * *
	辅酶因子和维生素代谢 Metabolism of cofactors and vitamins	21 498.50	21 085.63
	核苷酸代谢 Nucleotide metabolism	11 478.91	11 615.73
	异源物质的生物降解和代谢 Xenobiotics biodegradation and metabolism	11 716.74	10 872.98
2 级通路 Pathway level 2	脂类代谢 Lipid metabolism	11 489.32	10 739.7
	其他氨基酸代谢 Metabolism of other amino acids	7 899.25	7 609.67
	其他次级代谢产物的生物合成 Biosynthesis of other secondary metabolites	7 213.65	7 117.37
	多酮类化合物和萜类化合物代谢 Metabolism of terpenoids and polyketides	6 089.26	5 640.23
	糖的生物合成和代谢 Glycan biosynthesis and metabolism	5 531.05 *	5 833.37 *

注:相对丰度表示 CPM(count per million)均值;同行数据后 * 表示差异显著($P < 0.05$), * * * 表示差异极显著($P < 0.001$)。

Notes:Relative abundance was given on average value of CPM(count per million);values followed by * in a row indicate significant difference ($P < 0.05$); * * * indicates extremely significant difference($P < 0.001$).

其他次级代谢产物的生物合成以及多酮类化合物和萜类化合物代谢的丰度更高,尤其是能量代谢的丰度极显著($P < 0.001$)高于 RM。

3 讨 论

农业生态系统作为全球最重要的生态系统之一,由非生物因子(如水体、土壤)和生物因子(如大型生物、微生物)组成^[42]。其中,水体微生物的多样性和群落结构会直接影响整个系统的生产能力和生态效益^[43]。本研究以水稻单作模式为对照,发现稻虾共作改变了稻田水体微生物的群落结构,并极显著地增加了其多样性、丰富度和均匀度。类似地,已有诸多研究表明,稻虾共作显著提高了稻田土壤中硝化细菌、氨氧化细菌和古菌的相对丰度^[21,44-46]。Yachi 等^[47]提出的保险假说(insurance hypothesis)认为,较高的生物多样性更能保证生态系统的功能冗余,从而维持生态系统的稳定。基于此,本研究认

为稻虾共作优化了稻田的微生态环境,有利于提升稻田生态系统的稳定性。经分析,稻虾共作影响稻田水体微生物多样性和群落结构的原因可能有以下 3 点:(1)克氏原螯虾肠道中含有大量微生物^[48],可以随着排泄物进入水体环境,从而增加稻田水体微生物的多样性,并影响其群落结构;(2)克氏原螯虾的爬行、掘洞等生命活动对表层土壤均具有搅动作用,会显著影响土壤与水环境中的物质交换^[49],因此,稻虾共作模式下土壤中的微生物更容易进入水体中,从而影响水体微生物的多样性和群落结构;(3)克氏原螯虾的排泄物和残饵提升了水体中营养物质的含量,改变了稻田水体理化性质,而水体理化性质是影响水体微生物群落结构的重要因素^[50],因此,稻虾共作模式中水体微生物的多样性和群落结构随之发生改变。在本研究中,水体总氮和亚硝酸盐氮的含量是影响水体微生物群落结构的主要环境因子。

生态系统的物质循环能力和能量流动效率不仅与微生物的多样性有关,也与其物种组成和相对丰度相关^[51]。在门水平上,稻虾共作模式和水稻单作模式的水体微生物群落组成相似,均以变形菌门、放线菌门、蓝细菌门和拟杆菌门为主,这与黄锦等^[52]和赵翔刚等^[53]关于稻田生态系统中水体微生物群落结构的研究结果基本一致。但从微生物的相对丰度和更低分类水平上的群落组成来看,2种模式的水体微生物群落结构差异显著。稻虾共作模式水体中的放线菌门和蓝细菌门的相对丰度相比于水稻单作模式更高,且放线菌目、根瘤菌目、聚球藻目等均被鉴定为稻虾共作模式的水体微生物标志物,而黄杆菌目则被鉴定为水稻单作模式的水体微生物标志物。Henning等^[54]研究表明,放线菌门与有机质降解和纤维素利用相关,在生态系统的碳循环中起重要作用;蓝细菌门是生态系统中碳循环的主要参与者和初级生产力的主要贡献者,可以参与氮的固定与修复,提升稻田肥力^[55-56];根瘤菌目被证实可以参与生态系统中氮的修复^[57];而黄杆菌目包含多种条件致病菌,如柱状黄杆菌(*Flavobacterium cloum-nare*)会危害草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、鳊(*Siniperca chuatsi*)、斑点叉尾鲴(*Ictalurus punctatus*)等多种淡水鱼的健康养殖^[58]。由此可以推测,稻虾共作模式下的水体微生物群落组成更加健康,对碳、氮等营养物质的固定及利用能力更强,合理施用放线菌目、聚球藻目、根瘤菌目等微生物有利于进一步提高稻田生态系统的能量利用率,优化稻田生态环境^[59]。除此之外,基石种被证实微生物群落中起关键作用,移除基石种将会导致微生物的群落组成和功能产生巨大变化^[60]。本研究在稻田水体微生物群落中鉴定出6个基石种,其中2个属于伯克氏菌科,表明伯克氏菌科在稻田水体微生物群落中占居重要地位,对维持水体微生物群落的结构与功能起关键作用,是未来管理稻田水体微生物群落的重要目标。但是,由于各种限制因素的制约,目前成功分离培养的微生物仅占自然界总微生物的0.1%~10%,农业生态系统中的微生物资源有待进一步开发利用^[61]。

微生物在环境中的作用是通过群落功能来实现的,其承担的新陈代谢(metabolism)功能对养分循环和水体净化起着十分重要的作用^[62]。在生态系统退化和气候变化的时代,优化农业生态系统中微生物的群落结构、提高微生物的代谢功能已成为全球农业的重要发展方向^[63]。本研究通过功能预测,

发现稻虾共作模式中水体微生物群落的碳水化合物、能量、异源物质等多种代谢能力均优于水稻单作模式,说明稻虾共作加速了稻田水体中无机盐的转化和有机物的降解,促进了稻田生态系统中的物质循环和能量流动,改善了稻田的生态环境。因此,相比于水稻单作,稻虾共作在减少化肥使用的情况下仍然可以保证水稻的产量和品质^[64]。易芙蓉等^[65]的研究结果也表明,稻虾共作提高了稻田水体的自净能力。综上所述,本研究认为稻虾共作优化了稻田的微生态环境,提升了稻田生态系统的稳定性和能量利用率,发展稻虾共作模式对水稻种植业和水产养殖业的绿色可持续发展具有重要意义。

致谢 感谢监利市人民政府和华中农业大学双水双绿科研基地相关人员对本研究的大力支持!

参考文献 References

- [1] BARDGETT R D, VAN DER PUTTEN W H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning[J]. *Nature*, 2014, 515 (7528): 505-511.
- [2] 崔中利, 李顺鹏. 化学农药的微生物降解及其机制[J]. *江苏环境科技*, 1998, 11(3): 1-5. CUI Z L, LI S P. Microbial degradation of chemical pesticides and its mechanism[J]. *Jiangsu environmental science and technology*, 1998, 11(3): 1-5 (in Chinese).
- [3] YAMAMURA S, AMACHI S. Microbiology of inorganic arsenic: from metabolism to bioremediation[J]. *Journal of bioscience & bioengineering*, 2014, 118(1): 1-9.
- [4] PRAKASAM T, LOEHR R C. Microbial nitrification and denitrification in concentrated wastes[J]. *Water research*, 1972, 6 (7): 859-869.
- [5] KEIBLINGER K M, HALL E K, WOLFGANG W, et al. The effect of resource quantity and resource stoichiometry on microbial carbon-use efficiency[J]. *Fems microbiology ecology*, 2010, 3: 430-440.
- [6] SMITH S E, READ D J. Mycorrhizal symbiosis[J]. *Quarterly review of biology*, 2008, 3(3): 273-281.
- [7] 周洋. 硝化细菌理化性质及应用基础研究[D]. 青岛: 青岛理工大学, 2009. ZHOU Y. Study on the physical and chemical properties and basic application of nitrifying bacteria[D]. Qingdao: Qingdao Technological University, 2009 (in Chinese with English abstract).
- [8] CHAUHAN A, SINGH R. Probiotics in aquaculture: a promising emerging alternative approach[J]. *Symbiosis*, 2019, 77(2): 99-113.
- [9] BANERJEE G, RAY A K. The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries[J]. *Research in veterinary science*, 2017, 115: 66-77.
- [10] GATESOUE F J. The use of probiotics in aquaculture[J]. *Aq-*

- uaculture, 1999, 180(1/2): 147-165.
- [11] CHIU C H, GUU Y K, LIU C H, et al. Immune responses and gene expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, induced by *Lactobacillus plantarum* [J]. Fish shellfish immunology, 2007, 23(2): 364-377.
- [12] GÓMEZ R, GEOVANNY D, SHEN M A. Influence of probiotics on the growth and digestive enzyme activity of white pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Journal of Ocean University of China, 2008, 7(2): 215-218.
- [13] VAN DER HEIJDEN M G A, BARDGETT R D, VAN STRAALLEN N M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems [J]. Ecology letters, 2008, 11(3): 296-310.
- [14] FOX B K, TAMARU C S, HOLLYER J, et al. A Preliminary study of microbial water quality related to food safety in recirculating aquaponic fish and vegetable production systems [J]. Food safety and technology, 2012, 51: 1-11.
- [15] AHMAD I, KHAN M, AQIL F, et al. Microbial applications in agriculture and the environment: a broad perspective [J/OL]. Microbes and microbial technology, 2011: 1-27 [2021-11-24]. http://doi.org/10.1007/978-1-4419-7931-5_1.
- [16] SULLAM K E, ESSINGER S D, LOZUPONE C A, et al. Environmental and ecological factors that shape the gut bacterial communities of fish: a meta-analysis [J]. Molecular ecology, 2012, 21(13): 3363-3378.
- [17] HARTMAN K, VAN DER HEIJDEN M G A, WITTWER R A, et al. Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming [J/OL]. Microbiome, 2018, 6(1): 14 [2021-11-24]. <http://doi.org/10.1186/s40168-017-0389-9>.
- [18] 陈松文, 江洋, 汪金平, 等. 湖北省稻虾模式发展现状与对策分析 [J]. 华中农业大学学报, 2020, 39(2): 1-7. CHEN S W, JIANG Y, WANG J P, et al. Situation and countermeasures of integrated rice-crayfish farming in Hubei Province [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2020, 39(2): 1-7 (in Chinese with English abstract).
- [19] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产协会. 2020 中国小龙虾产业发展报告 [J]. 中国水产, 2020(7): 8-17. Fisheries Administration of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. 2020 China crayfish industry development report [J]. China aquatic products, 2020(7): 8-17 (in Chinese).
- [20] 彭成林, 袁家富, 贾平安, 等. 长期稻虾共作模式对不同施氮量下直播水稻产量和氮肥利用效率的影响 [J]. 河南农业科学, 2020, 49(4): 15-21. PENG C L, YUAN J F, JIA P A, et al. Effects of long-term integrated rice-crayfish model on yield and nitrogen use efficiency of direct-seeding rice under different nitrogen application rates [J]. Journal of Henan agricultural sciences, 2020, 49(4): 15-21 (in Chinese with English abstract).
- [21] 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/OL]. Scientific reports, 2017, 7(1): 2856 [2021-11-24]. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-02984-7>.
- [22] 许元钊. 克氏原螯虾养殖对稻田生态系统影响的初步研究 [D]. 大连: 大连海洋大学, 2020. XU Y Z. A preliminary study on the effects of *Procambarus clarkii* aquaculture on paddy field ecosystem [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2020 (in Chinese with English abstract).
- [23] WAGNER M, LOY A, NOGUEIRA R, et al. Microbial community composition and function in wastewater treatment plants [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2002, 81(1): 665-680.
- [24] 湖北农业信息网. 湖北监利县稻虾连作面积达 3.33 万 hm^2 [J]. 南方农业, 2017, 11(16): 55. Hubei Agricultural Information Network. The area of rice-crayfish integrated system in Jianli County, Hubei Province has reached 33300 hm^2 [J]. South China agriculture, 2017, 11(16): 55 (in Chinese).
- [25] 余开, 赵永锋, 宋迁红. 乡村振兴背景下稻虾产业发展探析——以湖北省监利县为例 [J]. 湖北农业科学, 2021, 60(4): 27-30. YU K, ZHAO Y F, SONG Q H. Research on development of rice-crayfish industry under the background of rural vitalization: a case study of Jianli County [J]. Hubei agricultural sciences, 2021, 60(4): 27-30 (in Chinese with English abstract).
- [26] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水与废水分析处理方法 [M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 223-281. The State Environmental Protection Administration The Water and Wastewater Monitoring Analysis Method Editorial Board. Water and wastewater monitoring analysis method [M]. 4th ed. Beijing: China Environmental Science Press, 2002: 223-281 (in Chinese).
- [27] XU N, TAN G, WANG H, et al. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure [J]. European journal of soil biology, 2016, 74: 1-8.
- [28] BROWN J W, PIRRUNG M, McCUE L A. FQC dashboard: integrates FASTQC results into a web-based, interactive, and extensible FASTQ quality control tool [J]. Bioinformatics, 2017, 33(19): 3137-3139.
- [29] MAGOË T, SALZBERG S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [30] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. Nature methods, 2013, 10(10): 996-998.
- [31] QUAST C, PRUESSE E, YILMAZ P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools [J]. Nucleic acids research, 2013, 41: D590-D596.
- [32] COLE J R, TIEDGE J M. History and impact of RDP: a legacy from Carl Woese to microbiology [J]. RNA biology, 2014, 11(3): 239-243.
- [33] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nature methods, 2010, 7(5): 335-336.
- [34] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, et al. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-

- supported software for describing and comparing microbial communities[J]. Applied and environmental microbiology, 2009, 75(23): 7537-7541.
- [35] WINTER J D. Using the Student's t-test with extremely small sample sizes[J/OL]. Practical assessment research & evaluation, 2013, 18(10): 12 [2021-11-24]. <https://doi.org/10.7275/e4r6-dj05/>.
- [36] R Core Team. A language and environment for statistical computing[J]. Computing, 2015, 1: 12-21.
- [37] SANNER M F. Python: a programming language for software integration and development[J]. Journal of molecular graphics & modelling, 1999, 17(1): 57-61.
- [38] SEGATA N, IZARD J, WALDRON L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J/OL]. Genome biology, 2011, 12(6): R60 [2021-11-24]. <http://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r60>.
- [39] CSARDI G, NEPUSZ T. The igraph software package for complex network research[J]. Interjournal complex systems, 2006, 1695: 1-9.
- [40] LANGILLE M, ZANEVELD J, CAPORASO J G, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences[J]. Nature biotechnology, 2013, 31(9): 814-821.
- [41] OGATA H, GOTO S, SATO K, et al. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. Nucleic acids research, 1999, 27(1): 29-34.
- [42] FAUST K, RAES J. Microbial interactions: from networks to models[J]. Nature reviews microbiology, 2012, 10: 538-550.
- [43] NAEEM S, DUFFY J E, ZAVALETA E. The functions of biological diversity in an age of extinction[J]. Science, 2012, 336(6087): 1401-1406.
- [44] 王蓉, 龚世飞, 金涛, 等. 稻虾共作对稻田土壤反硝化细菌 *nosZ* 基因数量、多样性及群落结构的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(4): 246-251. WANG R, GONG S F, JIN T, et al. Effects of rice-crayfish integrated system on the number, diversity and community structure of denitrifying bacteria *nosZ* gene in paddy soil[J]. Jiangsu agricultural sciences, 2019, 47(4): 246-251 (in Chinese).
- [45] 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. 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 (in Chinese with English abstract).
- [46] 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. 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 (in Chinese with English abstract).
- [47] YACHI, SHIGEO, LOREAU, et al. Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis[J]. PNAS, 1999, 96(4): 1463-1468.
- [48] SHUI Y, GUAN Z B, LIU G F, et al. Gut microbiota of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* in integrated crayfish-rice cultivation model[J/OL]. AMB express, 2020, 10(1): 5 [2021-11-24]. <http://doi.org/10.1186/s13568-019-0944-9>.
- [49] DALEO P, IRIBARNE O. The burrowing crab *Neohelice granulata* affects the root strategies of the cordgrass *Spartina densiflora* in SW Atlantic salt marshes[J]. Journal of experimental marine biology & ecology, 2009, 373(1): 66-71.
- [50] JIAN G J, SHEN Y F. Development of the microbial communities in lakedonghu in relation to water quality[J]. Environmental monitoring & assessment, 2007, 127(1/2/3): 227-236.
- [51] LIU J, MENG Z, LIU X, et al. Microbial assembly, interaction, functioning, activity and diversification: a review derived from community compositional data[J]. Marine life science & technology, 2019, 1(1): 112-128.
- [52] 黄锦, 成永旭, 王海峰, 等. 不同施肥模式下的稻-克氏原螯虾田块水体菌群初探[J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(4): 516-525. HUANG J, CHENG Y X, WANG H F, et al. A preliminary study on the water bacteria or rice-crayfish co-culture paddy field in different fertilization modes[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2020, 29(4): 516-525 (in Chinese with English abstract).
- [53] 赵翔刚, 罗衡, 刘其根, 等. 稻田养殖沙塘鳢对稻田水体及底泥微生物群落结构及多样性的影响[J]. 淡水渔业, 2017(4): 8-14. ZHAO X G, LUO H, LIU Q G, et al. Influence of the cultured *Odontobutis obscurus* to the microbial community structure and diversity in rice-fish system[J]. Freshwater fisheries, 2017(4): 8-14 (in Chinese with English abstract).
- [54] HENNING S, YANG J, SHAO P, et al. Health benefit of vegetable/fruit juice-based diet: role of microbiome[J/OL]. Scientific reports, 2017, 7(1): 2167 [2021-11-24]. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-02200-6>.
- [55] BETTER A, HOLLAND H D, WWANG P L, et al. Dating the rise of atmospheric oxygen[J/OL]. Nature, 2004, 427(6970): 117 [2021-11-24]. <http://doi.org/10.1038/nature02260>.
- [56] GRANT I F, ROGER P A, WATANABE I. Effect of grazer regulation and algal inoculation on photodependent nitrogen fixation in a wetland rice field[J]. Biology & fertility of soils, 1985, 1(2): 61-72.
- [57] STACEY G. Biology of the nitrogen cycle[M]. Amsterdam: Elsevier, 2007: 147-163.
- [58] DARWISH A M, ISMAIEL A A. Genetic diversity of *Flavobacterium columnare* examined by restriction fragment length polymorphism and sequencing of the 16S ribosomal RNA gene and the 16S-23S rDNA spacer[J]. Molecular & cellular probes, 2005, 19(4): 267-274.
- [59] JOHANSSON J F, PAUL L R, FINLAY R D. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture [J]. Fems microbiology ecology, 2010, 48(1): 1-13.
- [60] BAMERJEE S, SCHLAEPPI K, VAN DER HEIJDEN M G A.

- Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning[J]. *Nature reviews microbiology*, 2018, 16(9): 567-576.
- [61] ALAM K. Strategies for natural products discovery from uncultured microorganisms[J/OL]. *Molecules*, 2021, 26(10): 2977 [2021-11-24]. <https://doi.org/10.3390/molecules26102977>.
- [62] TANENTZAP A J, FITCH A, ORLAND C, et al. Chemical and microbial diversity covary in fresh water to influence ecosystem functioning[J]. *PNAS*, 2019, 116(49): 24689-24695.
- [63] TOJU H, PEAY K G, YAMAMICHI M, et al. Core microbiomes for sustainable agroecosystems[J]. *Nature plants*, 2018, 4: 247-258.
- [64] 李文博, 刘少君, 叶新新, 等. 稻虾共作对水稻氮素累积及稻米品质的影响[J]. *生态与农村环境学报*, 2021, 37(5): 661-667. LI W B, LIU S J, YE X X, et al. Effects of the integrated rice-crayfish farming on nitrogen accumulation and quality of rice[J]. *Journal of ecology and rural environment*, 2021, 37(5): 661-667 (in Chinese with English abstract).
- [65] 易芙蓉, 林玮诗, 张鸣宇, 等. 稻虾共作对稻田水体环境的影响[J]. *作物研究*, 2019, 33(5): 362-365, 373. YI F R, LIN W S, ZHANG M Y, et al. Effects of rice-shrimp co-cultivation on water environment in paddy fields[J]. *Crop research*, 2019, 33(5): 362-365, 373 (in Chinese with English abstract).

Effects of rice-crayfish integrated system on microbial diversity and community structure in paddy water

CHEN Ling¹, WAN Weitao¹, LIU Bing², XU Wenjing², GU Zemao^{1,3,4}

1. College of Fisheries/Shuangshui Shuanglü Institute, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Jianli Agricultural and Rural Bureau, Jianli 433300, China;

3. Engineering Research Center of Green Development for Conventional Aquatic Biological Industry in the Yangtze River Economic Belt, Ministry of Education, Wuhan 430070, China;

4. Hubei Hongshan Laboratory, Wuhan 430070, China

Abstract Rice-crayfish integrated system (RC) is a high-efficiency ecological agricultural system which combines the rice planting and crayfish culturing. In order to explore the impact of RC on the microbiome of paddy water, the water microbial diversity and community structure of RC and rice monoculture system (RM) were determined by using 16S rDNA amplicon high-throughput sequencing. The results showed that RC significantly improved the microbial diversity. The microbial community structure of paddy water was significantly different between RC and RM, which could be attributed to water physicochemical factors, such as total nitrogen and nitrite nitrogen. The relative abundance of Actinobacteria and Cyanobacteria in RC was significantly higher than that in RM, while the relative abundance of Proteobacteria and Bacteroidetes in RC was lower than that in RM. Actinomycetales, Rhizobiales, and Synechococcales are the main biomarkers of water microbiome in RC, while Flavobacteriales, Betaproteobacteriales, and Rhodocyclales are the main biomarkers in RM. Six keystone taxa were identified from the water microbiome in the paddy fields, which mainly belong to Burkholderiaceae, Saprospiraceae and Polyangiaceae. Furthermore, through functional prediction and relative abundance comparison, we found that the metabolic capacity of water microbiome in RC was significantly higher than that in RM, especially the relative abundance of energy metabolism pathway was significantly higher than that in RM. In conclusion, RC formed a better water microbiome with high diversity, stable structure, and strong function and improved the material circulation and energy utilization rate of paddy ecosystem. Those results provide a basis for the utilization of microbial resource in rice-crayfish integrated system.

Keywords rice-crayfish integrated system; paddy field; water microbiome; biodiversity; community structure; functional prediction

(责任编辑: 边书京)