

张万洋, 马天桥, 汪金平, 等. 克氏原螯虾对稻田土壤微生物多样性和碳固存的影响[J]. 华中农业大学学报, 2025, 44(3): 74-83.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2025.03.009

克氏原螯虾对稻田土壤微生物多样性和碳固存的影响

张万洋^{1,2}, 马天桥^{1,2}, 汪金平^{1,3}, 顾泽茂^{1,4}, 李小坤^{1,2}

1. 华中农业大学双水双绿研究院, 武汉, 430070; 2. 华中农业大学资源与环境学院, 武汉 430070;
3. 华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070; 4. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要 为探究稻-虾种养模式不同耕层中稻田土壤微生物多样性及碳固存的差异, 采用水稻单作和稻-虾种养模式田间对比试验, 研究不同水稻种植模式对耕层(0~20 cm)和亚耕层(20~40 cm)土壤微生物群落多样性和稳定性以及有机碳组分的影响。结果显示, 与水稻单作模式相比, 稻-虾种养模式耕层和亚耕层土壤有机碳含量分别提高了7.3%和35.8%。亚耕层土壤真菌群落多样性明显下降, Chao1指数、丰富度指数和ACE指数分别降低了6.9%、7.2%和8.7%; 而对耕层土壤微生物群落多样性无显著影响。稻-虾种养模式显著提高了耕层和亚耕层土壤细菌和真菌共现性网络的网络边数、连接度和平均度, 从而提高了其网络稳定性。可见, 稻-虾综合种养模式可显著提高亚耕层土壤有机碳积累和微生物群落稳定性, 促进了稻田土壤生物肥力的提升。

关键词 稻-虾种养模式; 土壤有机碳; 土壤微生物; 土壤生物肥力

中图分类号 S511; S966.12 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2025)03-0074-10

生物多样性的丧失和对农用化学品投入的依赖增加了人们对现代集约化农业中粮食生产稳定性下降、资源消耗高以及土壤健康和生态环境恶化的担忧^[1-3]。综合农业系统通过利用不同粮食作物种植与家禽(或水产动物)养殖之间的协同作用来应对当前的挑战, 被认为是一种可持续的农业管理策略^[4-5]。其中, 稻田综合种养模式通过水稻种植和鱼、鸭、虾和蟹等水产动物养殖相结合, 以更少的资源与环境成本实现更多样化和更稳定的粮食生产^[6-7]。这种农业种养模式已经在世界范围内实施, 特别是在我国, 稻田综合种养模式面积已超过286.3万hm², 并以每年8.4%的增速持续增长^[8]。稻田综合种养模式在粮食生产(提供丰富的碳水化合物和高质量的动物蛋白)、农用化学品投入(减少对化肥和农药的依赖)和经济收入方面的优势已有深入研究^[8]。然而, 关于稻田综合种养对稻田土壤肥力和健康的影响, 特别是土壤微生物多样性和有机碳固存的认识仍然不足。

土壤有机碳是陆地生态系统最大的碳库, 其碳储量约为大气和陆地植被碳储量的2~3倍^[9]。同时, 土壤有机碳库也是全球碳循环中最敏感的碳库,

其微小的波动都会影响一系列的生态服务功能, 如土壤肥力和粮食安全以及气候变化调节等^[10]。因此, 提高土壤有机碳固存可以缓解气候变化以及提高土壤肥力和粮食产量。土壤微生物作为驱动地球生物化学循环的关键“引擎”, 在调节土壤有机碳的形成和稳定中发挥着关键作用^[11-12]。土壤微生物不是独立存在的, 而是与维持生态系统过程的其他微生物存在大量间接或直接、积极或消极的相互作用, 相互配合完成一系列养分转化的整体^[11, 13]。土壤微生物多样性和群落结构可以有效地反映不同农田管理实践下的土壤健康状况, 可以作为土壤健康的指示和预测因子^[13]。因此, 加强土地利用方式转变对土壤微生物群落组成和稳定性的研究, 有助于更好地解析其生态服务功能以及其对土壤的生物化学循环调控的贡献。

稻-虾种养模式是我国稻田综合种养模式中最典型和发展速度最快的模式之一^[14-15]。这种种养模式具有多种优势, 如同时提供碳水化合物和优质动物蛋白, 提高农户经济收益和多种生态服务以及改善环境和提高土壤肥力等^[16]。在稻-虾种养模式中, 稻田和秸秆为虾提供了有利的生存环境和充足的食

收稿日期: 2024-09-02

基金项目: 湖北洪山实验室重大项目(2021HSZD002); 国家重点研发计划项目(2022YFD2400700)

张万洋, E-mail: wyz18@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 李小坤, E-mail: lixiaokun@mail.hzau.edu.cn

物。虾的残留物、排泄物和残留饲料同样有助于土壤养分特别是土壤有机碳的积累和循环^[17]。此外,稻-虾种养模式中特殊的田间管理和生产过程,如稻田中虾的捕食行为可以通过抑制或捕食低营养级生物(浮游生物和低营养级土壤动物)来调节土壤食物网内部的相互关系(如捕食、竞争和合作),从而影响微生物群落的结构和功能^[18-19]。目前关于稻-虾种养模式对土壤微生物群落组成和多样性以及土壤有机碳积累与分布的影响机制尚不清楚。因此,本研究通过为期6 a的定位试验,以水稻单作为对照,探究稻-虾模式对稻田土壤微生物群落多样性和有机碳固存的影响,以期对稻-虾种养模式的可持续发展提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本研究的长期定位试验田位于湖北省潜江市后湖管理区(30°39'N, 112°71'E)。该区域属于亚热带湿润季风气候,年平均气温16.1℃,年平均降雨量1200 mm。雨季集中在6—8月,土壤类型为湖泊沉积物形成的水稻土。耕层(0~20 cm)土壤pH为7.12,土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)、全氮(total nitrogen, TN)、全磷(total phosphorus, TP)和全钾(total potassium, TK)含量分别为15.32、2.41、0.44和18.96 g/kg。

1.2 试验设计

不同种养模式的田间定位试验开始于2016年。本研究选取其中2个试验处理:(1)水稻单作模式(rice monoculture model, RM)、(2)稻-虾种养模式(rice-crayfish farming model, RC),每处理3个重复($n=3$)。每个试验田面积为100 m²。水稻单作模式中水稻种植和管理措施按当地农民的常规做法,水稻于每年6月移栽和10月收获,每年11月至次年6月进行休耕(稻-闲轮作)。水稻种植密度为21万株/hm²。水稻施肥量为N 120 kg/hm², P₂O₅ 48 kg/hm²和K₂O 72 kg/hm²。稻-虾种养模式是在常规水稻单作模式的基础上进行田间工程改造形成的,具体为在水稻田四周开凿一个养殖沟(宽度为0.8 m,深度约为2.0 m),此养殖沟约占总水稻田面积的25%~30%。在稻-虾种养模式中,水稻季遵循与水稻单作模式一致的田间施肥和管理措施。在养殖季,每年2—3月投放体质量约为2.5 g/尾的克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)苗6~8万尾/hm²,且每天投

喂饲料(主要由当地作物副产品如大豆、玉米和油菜籽粉的混合物组成),饲料投喂量为克氏原螯虾体质量的4%~5%,每年饲料投喂量约为1500 kg/hm²。此外,克氏原螯虾养殖季的基本管理措施与当地克氏原螯虾养殖专业户基本一致。

土壤样本于2022年10月(水稻收获后)采集。在每个小区中采用五点采样法采集耕层(0~20 cm)和亚耕层(20~40 cm)土壤样品,每个小区中采集5个土芯并混合成为一个混合样。随后将土壤样品采用四分法均分为2份,一部分土壤样品进行冷冻保存,用于测定土壤微生物等相关指标;另一部分样品在自然条件下风干,去除肉眼可见的根系和石砾,然后磨碎过2 mm孔径筛,保存。

1.3 土壤理化性质分析

土壤有机碳和全氮含量直接采用元素分析仪测定^[20]。溶解性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)/氮(dissolved organic nitrogen, DON)含量采用超纯水提取(土水质量比为5:1),使用总有机碳分析仪(TOC仪)测定其C和N含量。颗粒态有机碳(particulate organic carbon, POC)和矿物结合态有机碳(mineral associated organic carbon, MAOC)采用湿筛法分离元素分析仪测定其碳氮含量^[21]。土壤pH采用电位法测定(水土质量比为1:1);土壤有效氮含量(铵态氮和硝态氮)用氯化钾(1.0 mol/L)浸提,采用流动分析仪(AA3, UK)进行铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)含量测定;土壤速效磷(Ohlsen-P: AP)含量采用碳酸氢钠(NaHCO₃, 0.5 mol/L, pH=8.5)浸提和紫外分光光度计(UV 2500, Japan)比色测定。

1.4 土壤基因测序和生物信息学分析

1) 基因测序。使用E.Z.N.A.® soil DNA Kit试剂盒(Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.)提供的提取步骤对冷冻干燥后的土壤样本进行土壤DNA提取。采用1.0%琼脂糖凝胶电泳和Nano-Drop®ND-2000分光光度计(Thermo Scientific Inc., USA)测定DNA的质量和浓度。使用细菌16S rRNA基因通用引物338F和866R对其V4高突变区进行扩增,同时使用真菌ITS通用引物ITS1F(5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')和ITS2R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')进行扩增^[22]。纯化后的产物以相同物质的量进行混合,在Illumina NovaSeq PE250平台(Illumina, San Diego, USA)测序。利用QIIME2管道对扩增子测

序的原始序列进行高质量过滤、合并和聚类,分别生成细菌和真菌的扩增子序列变异(ASV)。

2)微生物群落分析。采用R 4.1.1对土壤微生物群进行生物信息学分析。基于ASV信息,利用Mothur v1.30.1计算alpha多样性指数,包括的ASV以及Shannon、Chao1和Richness和ACE指数。使用Vegan v2.5-3软件包,通过基于欧几里得不相似性的主坐标分析(PCoA)确定样品间微生物群落的相似性和多样性。使用R软件包“ggClusterNet”进行微生物网络共现性分析^[23]。选取平均相对丰度排名前500的ASV构建共生菌网络,利用Spearman计算相关系数;网络属性(边、连通性、平均度、平均路径长度、直径、平均聚类系数、模块化、边的正相关比和负相关比)采用网络的自然连通性来衡量鲁棒性(稳定性)。

1.5 数据分析

所有数据采用Excel(2010)和SPSS(IBM 26)进行分析。采用独立双样本 t 检验方法对土壤有机碳

组分含量、土壤基础理化性质、微生物群落相对丰度、微生物多样性指标和共生网络拓扑参数等进行方差分析;采用Origin 2017绘制图表。

2 结果与分析

2.1 稻-虾种养模式对土壤有机碳积累的影响

如表1所示,稻-虾种养模式(RC)对土壤理化性质和土壤有机碳组分的影响在不同土层间呈显著差异。总体而言,稻-虾种养模式对耕层土壤理化性质和有机碳组分的影响程度显著小于亚耕层的影响。与RM相比,RC显著增加耕层土壤总有机碳(SOC)、颗粒态有机碳(POC)、土壤碳氮比(C/N)和矿物结合态有机碳氮比(MAOC/MAON),分别增加了7.3%、12.3%、5.3%和8.1%,而对其他性质无显著影响。相比耕层土壤,RC模式亚耕层土壤有机碳(SOC)和氮(TN)、颗粒态有机碳(POC)和氮(PON)、颗粒态有机碳和氮对有机碳(POC/SOC)和

表1 不同种养模式下土壤基础理化性质和土壤碳组分含量

Table 1 The soil physicochemical properties and different soil organic carbon fractions in different rice farming models

| 项目 Items | 耕层土壤(0~20 cm) Topsoil | | 亚耕层土壤(20~40 cm) Subsoil | | 方差分析 ANOVA(F) | | |
|--------------|-----------------------|---------------|-------------------------|---------------|---------------|---------|--------------|
| | 水稻单作模式 RM | 稻-虾种养模式 RC | 水稻单作模式 RM | 稻-虾种养模式 RC | 处理 T | 耕层 D | 处理×耕层 T×D |
| SOC/(g/kg) | 18.52±1.09 | 19.88±0.93* | 12.94±0.56 | 17.58±0.98** | 32.46** | 55.98** | 9.67* |
| POC/(g/kg) | 7.09±0.52 | 7.96±0.33* | 3.88±0.38 | 7.75±0.71** | 65.50** | 34.23** | 26.12** |
| MAOC/(g/kg) | 11.43±0.68 | 11.92±0.85 | 9.05±0.25 | 9.83±0.53 | 3.15 | 39.35** | 0.16 |
| (POC/SOC)/% | 38.27±1.37 | 40.08±1.94 | 29.96±1.80 | 44.03±2.26** | 54.01** | 4.08 | 32.19** |
| (MAOC/SOC)/% | 61.73±1.37 | 59.92±1.94 | 70.04±1.80 | 55.97±2.26* | 54.01** | 4.08 | 32.19** |
| TN/(g/kg) | 1.95±0.12 | 1.99±0.08 | 1.35±0.05 | 1.75±0.10** | 15.73** | 59.55** | 10.82** |
| PON/(g/kg) | 0.63±0.05 | 0.72±0.04 | 0.34±0.03 | 0.70±0.08** | 52.05** | 24.53** | 20.45** |
| MAON/(g/kg) | 1.32±0.10 | 1.27±0.09 | 1.01±0.03 | 1.04±0.06 | 0.02 | 40.57** | 0.86 |
| (PON/TN)/% | 32.39±1.81 | 36.04±2.65 | 25.31±1.40 | 40.24±3.04** | 48.35** | 1.16 | 17.79** |
| (MAON/TN)/% | 67.61±1.81 | 63.96±2.65 | 74.69±1.40 | 59.76±3.04** | 48.35** | 1.16 | 17.79** |
| SOC/TN | 9.48±0.18 | 9.98±0.13* | 9.55±0.26 | 10.05±0.01* | 26.34** | 0.49 | 0.00 |
| POC/PON | 11.21±0.03 | 11.12±0.22 | 11.31±0.41 | 11.01±0.27 | 1.53 | 0.00 | 0.41 |
| MAOC/MAON | 8.66±0.20 | 9.36±0.22* | 8.95±0.18 | 9.42±0.10* | 31.38** | 2.95 | 1.22 |
| pH | 6.60±0.33 | 6.93±0.05 | 6.94±0.08 | 7.04±0.10 | 4.53 | 5.11 | 1.24 |
| AN/(mg/kg) | 51.54±3.55 | 53.42±4.62 | 17.23±0.46 | 6.81±0.39*** | 247.94** | 940.6** | 24.34** |
| AP/(mg/kg) | 9.22±1.27 | 8.46±0.88 | 7.05±0.93 | 6.54±0.35 | 0.76 | 12.56** | 0.29 |
| DOC/AN | 2.72±0.18 | 2.86±0.27 | 9.99±0.35 | 29.85±1.12** | 890.99** | 1926** | 582.28** |
| DOC/AP | 15.37±1.69 | 18.00±0.73 | 24.67±2.90 | 31.09±1.75** | 10.79* | 82.30** | 0.99 |

注 Note: RM和RC分别表示水稻单作模式和稻-虾种养模式。RM和RC are the rice monoculture model and rice-crayfish farming model, respectively. SOC: 土壤有机碳 Soil organic carbon; POC: 颗粒态有机碳 Particulate organic carbon; MAOC: 矿物结合态有机碳 Mineral associated organic carbon; TN: 土壤总氮 Total nitrogen; PON: 颗粒态有机氮 Particulate organic nitrogen; MAON: 矿物结合态有机氮 Mineral associated organic nitrogen; AN: 土壤有效氮 Available nitrogen; AP 土壤速效磷 Available phosphorus; DOC: 溶解性有机碳 Dissolved organic carbon; *, ** 分别表示同一土层不同处理间差异显著 (* $P<0.05$) 或极显著 (* $P<0.01$)。下同, “*”, “***” indicates that there are significant ($P<0.05$) or very significant differences ($P<0.01$) between different treatments under the same soil layer. The same as follows.

氮(PON/TN)的贡献、碳氮比(C/N)以及活性碳氮比(DOC/AN)和碳磷(DOC/AP)比,分别增加了35.8%、29.6%、9.97%、105.8%、47.0%、59.0%、5.2%、198.8%和26.0%,矿物结合态有机碳和氮对总有机碳(MAOC/SOC)和氮(MAON/TN)的贡献以及活性氮(AN)含量分别降低了20.1%、20.0%和60.5%。方差分析结果显示,不同土层深度对土壤有机碳/氮(SOC/TN)和矿物结合态有机碳氮(MAOC/N)的影响大于不同水稻耕作方式(RM和RC),且两者存在显著的交互作用,总体上RC显著促进土壤有机碳固存。

2.2 稻-虾种养模式对土壤微生物群落组成的影响

如图1所示,各处理的稻田土壤门水平优势微生物群落组成无显著变化,但相对丰度存在差异。具体而言,无论是RM还是RC,稻田土壤的优势细菌门均分别是绿弯菌门(Chloroflexi)、变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Acti-

nobacteria)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae),其平均丰度分别占总细菌微生物丰度的38.5%、18.7%、16.5%、7.9%和5.7%。与RM相比,RC对耕层土壤优势菌门的相对丰度均无显著影响,但是显著增加了亚耕层土壤变形菌门和酸杆菌门的相对丰度,分别增加5.0%和7.6%,而降低了放线菌门和硝化螺旋菌门的相对丰度,分别降低了5.1%和4.3%。对于真菌微生物而言,其优势菌门分别为子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)和被孢菌门(Mortierellomycota),其丰度分别占总真菌微生物丰度的71.3%、20.9%、1.5%和1.3%。相比RM,RC耕层土壤担子菌门的相对丰度增加了25.9%,而子囊菌门、壶菌门和被孢菌门相对丰度分别降低了5.2%、31.8%和40.0%。对于亚耕层土壤而言,相较RM,RC显著增加了担子菌门、壶菌门和被孢菌门的相对丰度,分别增加了95.7%、148.7%和529.0%。

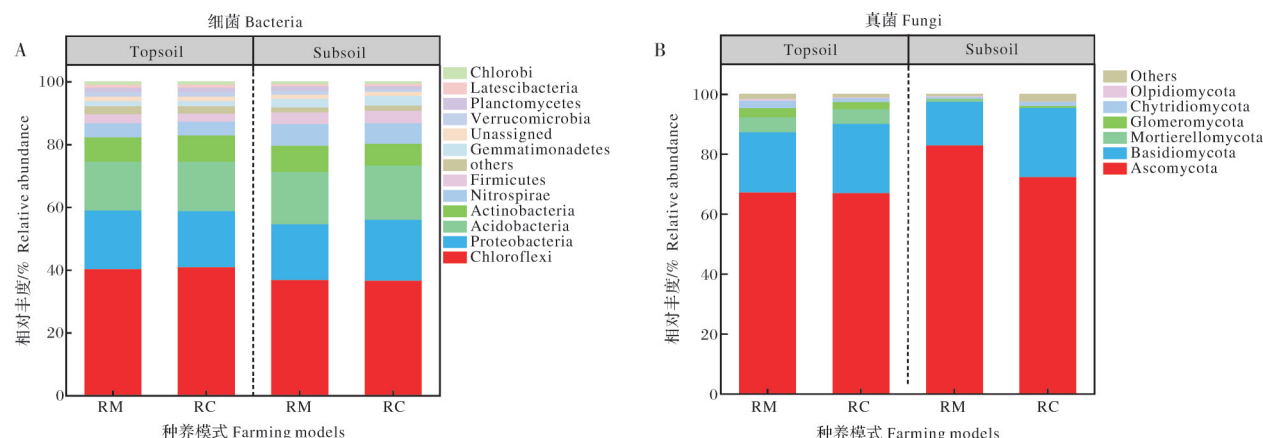


图1 不同种养模式下土壤细菌(A)和真菌(B)群落优势菌门的相对丰度

Fig. 1 The relative abundance of dominant phyla of bacterial(A) and fungal(B) communities in different rice farming models

2.3 稻-虾种养模式对土壤微生物群落 α -多样性的影响

如表2所示,RC对稻田土壤细菌和真菌 α -多样性的影响在不同土层间存在显著差异。整体上,与RM相比,真菌微生物的 α -多样性对RC的响应大于细菌,亚耕层土壤的微生物 α -多样性的响应显著大于耕层土壤。与RM相比,RC对耕层土壤细菌 α -多样性指标(Shannon指数、Chao1指数、Richness丰富度指数和ACE指数)均无显著影响,而亚耕层土壤的各项指数均有不同程度地降低,其Shannon指数、Chao1指数、Richness指数和ACE指数分别降低了1.9%、3.7%、3.1%和3.6%。而对于真菌 α -多样性

指数,与RM相比,RC显著降低了耕层土壤Chao1指数、Richness指数和ACE指数,分别降低了6.9%、7.2%和8.7%,而对Shannon指数无显著影响。RC显著降低了亚耕层土壤Chao1指数、Richness指数和ACE指数,分别降低了32.5%、31.0%和32.0%,而增加了Shannon指数4.9%。总体而言,亚耕层土壤细菌和真菌 α -多样性指数均低于耕层土壤。

2.4 稻-虾种养模式对土壤微生物群落 β -多样性的影响

基于Bray-Curtis距离矩阵的主成分(PCoA)分析了土壤微生物群落 β -多样性。如图2所示,不同处理间土壤微生物群落 β -多样性存在显著差异。具体

表 2 不同种养模式下土壤微生物 α -多样性
Table 2 The soil microbials community α -diversity in different rice farming models

| 微生物类型 Types of microbials | 多样性指数 Diversity index | 耕层土壤 (0~20 cm) Topsoil | | 亚耕层土壤 (20~40 cm) Subsoil | |
|------------------------------|--------------------------|------------------------|---------------|--------------------------|---------------|
| | | 水稻单作模式 RM | 稻-虾种养模式 RC | 水稻单作模式 RM | 稻-虾种养模式 RC |
| 细菌 Bacteria | 香农指数 Shannon index | 7.73±0.01 | 7.66±0.06 | 7.32±0.04 | 7.18±0.04 |
| | Chao1 指数 Chao1 index | 5 565±96 | 5 528±304 | 5 122±214 | 4 933±128 |
| | 丰富度指数 Richness index | 4 986±85 | 4 946±239 | 4 436±136 | 4 298±42 |
| | ACE 指数 ACE index | 5 535±102 | 5 528±285 | 5 144±190 | 4 961±90 |
| 真菌 Fungi | 香农指数 Shannon index | 4.42±0.13 | 4.37±0.15 | 3.45±0.19 | 3.62±0.04 |
| | Chao1 指数 Chao1 index | 379.6±35.0 | 353.5±32.5 | 198.5±14.4 | 133.9±10.0** |
| | 丰富度指数 Richness index | 361.7±28.5 | 335.7±18.2 | 192.3±16.2 | 132.7±8.0** |
| | ACE 指数 ACE index | 375.9±33.7 | 346.4±23.9 | 196.5±14.7 | 133.6±9.2** |

而言,在耕层土壤中,RM 和 RC 土壤细菌微生物群落在 PCoA1 轴上不能明显分开,而在亚耕层土壤中 RM 和 RC 细菌群落在 PCoA1 轴上可以明显分开。此外,在耕层土壤和亚耕层土壤中的细菌群落在 PCoA1 轴和 PCoA2 轴均可以明显分开。这些结果表明,在耕层土壤中,RM 和 RC 的细菌群落结果无显著差异,而在亚耕层土壤中,两者存在显著差异;且耕层土壤和亚耕层土壤细菌群落结构均存在显著差异。在耕层土壤和亚耕层土壤中的真菌在 PCoA1 轴和 PCoA2 轴均明显分离,且耕层土壤和亚耕层土壤真菌在 PCoA1 轴和 PCoA2 轴也均明显分离,这表明,土壤细菌群落结构在 RM 和 RC 以及在耕层土壤和亚耕层土壤间均存在显著差异。

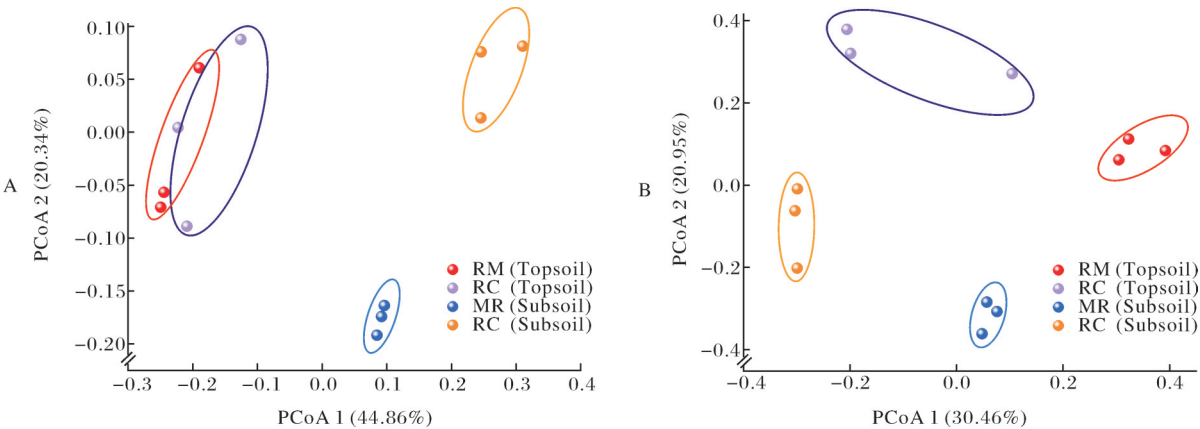


图 2 不同种养模式下土壤微生物细菌(A)和真菌(B) β -多样性
Fig. 2 The soil microbials community β -diversity in different rice farming models

2.5 稻-虾种养模式对土壤微生物群落稳定性的影响

进一步构建微生物群落共发生网络,探究稻田土壤微生物群落结构的相互作用及稳定性。结果表明,RM 和 RC 土壤微生物群落共生网络模式和网络结构特性存在显著差异(图 3 和图 4)。具体而言,与 RM 相比,RC 下耕层和亚耕层土壤细菌共生网络的网络边数、连接度和平均度提高,分别增加了 9.4%、206.3%、11.4% 和 215.0%、10.0%、213.4%,而对细菌网络模块数无显著影响(图 3 和表 3)。类

似地,与 RM 相比,RC 耕层和亚耕层土壤真菌共生网络的网络边数、连接度和平均度提高,分别增加了 6.6% 和 30.4%、11.1% 和 38.9%、8.6% 和 34.4%,而网络模块数降低了 3.2% 和 4.7%(图 4 和表 3)。同时,亚耕层土壤的细菌和真菌网络拓扑参数对 RC 的响应大于其耕层土壤。此外,根据细菌和真菌共生网络的鲁棒性发现,与 RM 相比,RC 耕层和亚耕层土壤真菌和细菌共生网络的稳定性显著降低,特别是在亚耕层土壤中降低幅度更显著(图 3 和表 3)。

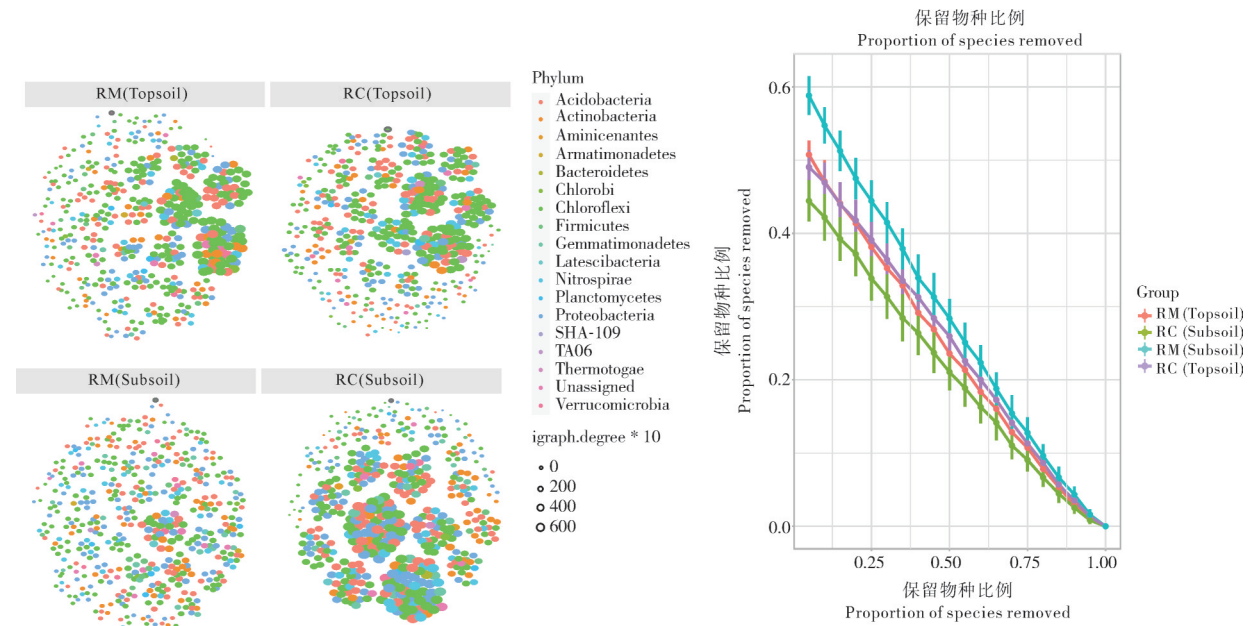


图 3 不同种养模式下土壤细菌群落共发生网络和网络结构鲁棒性

Fig. 3 The soil bacterial microbes community co-occurrence networks and the robustness of networks in different rice farming models

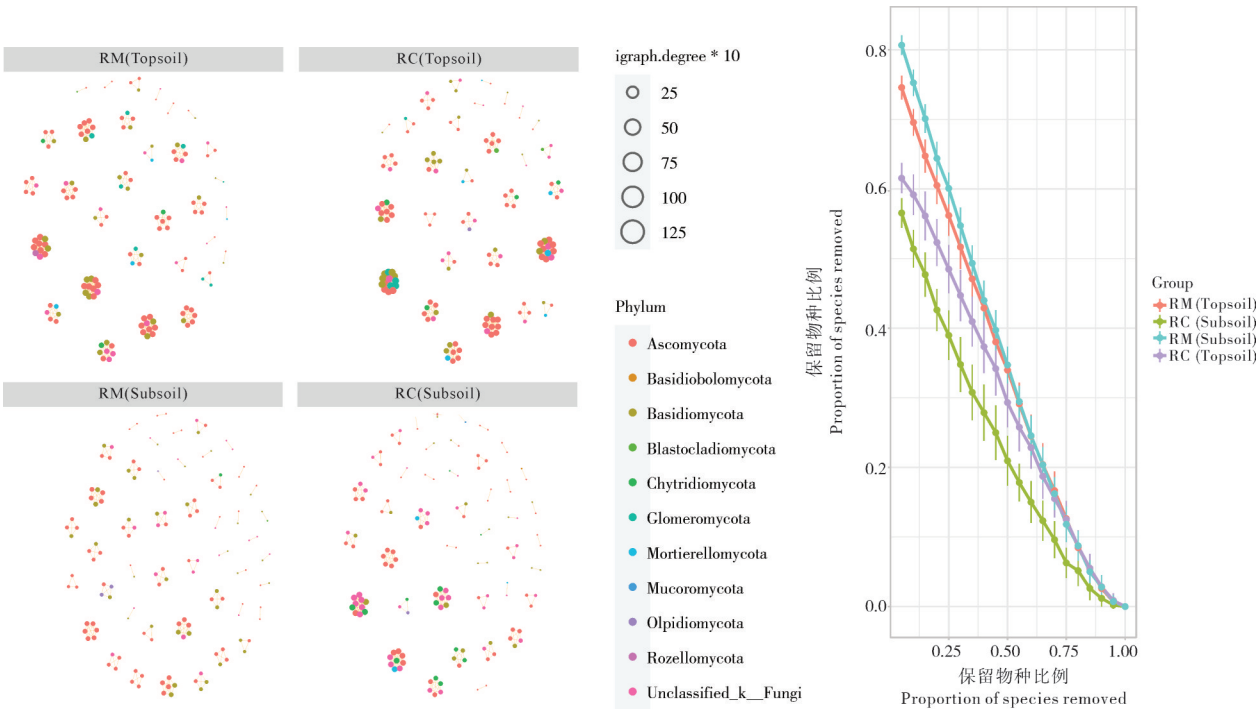


图 4 不同种养模式下土壤真菌群落共发生网络和网络结构鲁棒性

Fig. 4 The soil fungal microbes community co-occurrence networks and the robustness of networks in different rice farming models

2.6 土壤理化性质与微生物多样性的相关性

通过mantel检验进一步分析了土壤理化性质与微生物群落多样性的相关性(图5)。结果显示,在耕层土壤(0~20 cm)中细菌群落多样性主要受溶解性有机碳(DOC)含量影响,而真菌群落多样性主要受

土壤有效磷含量(AP)和矿物结合态氮(MAON)含量影响。在亚耕层土壤(20~40 cm)中,细菌群落多样性主要受DOC含量影响,真菌群落多样性主要受土壤有机碳/氮(SOC/TN)及其碳氮组分(POC/N和MAOC/N)含量影响。整体上,土壤理化性质对

表 3 不同种养模式下土壤微生物共发生网络拓扑特性
Table 3 The topological properties of soil microbials community co-occurrence networks in different rice farming models

| 类型 Types | 项目 Items | 耕层土壤(0~20 cm) Topsoil | | 亚耕层土壤(20~40 cm) Subsoil | |
|----------------|--------------------|--------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|
| | | 水稻单作 模式 RM | 稻-虾种 养模式 RC | 水稻单作 模式 RM | 稻-虾种 养模式 RC |
| | | | | | |
| 细菌 Bacteria | 网络边数 Edges | 4 367 | 4 776 | 2 473 | 7 576 |
| | 连接度 Connectance | 0.035 | 0.039 | 0.020 | 0.063 |
| | 平均度 Average | 17.57 | 19.33 | 9.89 | 30.99 |
| | 模块数 Modularity | 0.867 | 0.884 | 0.950 | 0.847 |
| 真菌 Fungi | 网络边数 Edges | 382 | 409 | 184 | 240 |
| | 连接度 Connectance | 0.036 | 0.040 | 0.018 | 0.025 |
| | 平均度 Average | 5.23 | 5.72 | 2.59 | 3.48 |
| | 模块数 Modularity | 0.920 | 0.891 | 0.956 | 0.911 |

亚耕层土壤微生物群落多样性的影响大于耕层土壤;同时,细菌群落多样性受土壤理化性质的影响小于真菌群落多样性。

3 讨 论

3.1 稻-虾种养模式对土壤有机碳积累和分布的影响

本研究结果表明,与RM相比,RC显著提高了稻田土壤有机碳、全氮和其他土壤肥力指标,特别是在亚耕层模式中增加效果更显著,表明具有深度依赖效应(表 1)。这与已有的研究结果基本一致,RC可以直接改变土壤物理结构从而影响其理化性状指标^[24]。原因可能是:(1)外源有机物质的大量投入,增加了土壤各种养分来源,从而增加了土壤碳和氮的积累^[25]。在稻-虾种养模式中,除了常规水稻单作模式中的化肥等养分投入外,还存在其他养分投入,如虾饲料、残体和排泄物等,这些外源投入品中含有大量的碳、氮和磷等养分^[26],从而增加了稻田土壤养分来源,最终使 RC 模式土壤有机碳和氮含量显著高于 RM。类似的研究也表明,在常规施肥的基础上添加有机肥(粪肥)可以显著提高土壤中的碳氮和其他化学养分^[27]。(2)RC 减少了碳和氮损失,可以间接提

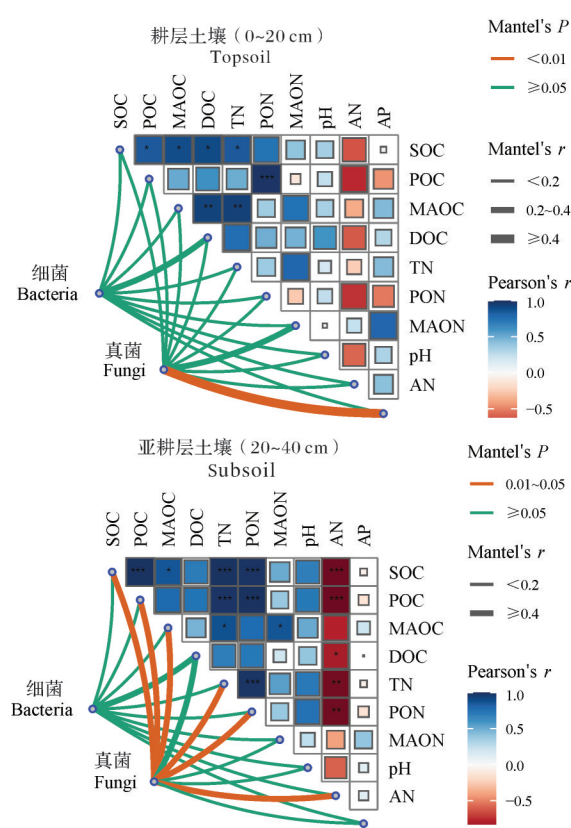


图 5 土壤理化性质与微生物多样性的 Mantel test 分析
Fig. 5 Mantel test of soil physicochemical properties and microbials community diversity

高土壤养分含量。通常,土壤碳和氮养分主要以气体和径流损失为主,RC 的高灌溉要求和长期的淹水状况会导致土壤长期处于厌氧环境、不利于氧化亚氮的产生^[28],从而减少了土壤氮的损失。虽然稻田土壤厌氧环境可以增加产甲烷菌的活性从而促进稻田甲烷的产生,但是由于稻田在养殖期长期处于高水位,从而延长了甲烷的排放通道,甲烷在传输途中逐步被氧化,减少了甲烷的实际排放量^[29]。因此,与 RM 相比,RC 可以减少碳和氮的气体损失,从而增加土壤有机碳和氮的含量。有趣的是,我们发现,RC 对稻田土壤有机碳和氮的影响在亚耕层中效果更显著(表 1),这可能与克氏原螯虾的生物扰动有关。例如,克氏原螯虾的掘洞和踩踏行为会增加表层土壤和深层土壤的物质交换,使表层碳和其他养分进入更深层的土壤,从而导致 RC 亚耕层土壤中的有机碳和氮含量显著高于 RM,这一现象与农田生产中深耕和翻耕措施增加亚耕层土壤有机碳积累特征基本一致^[30]。此外,RC 长期的淹水环境会导致部分活性养分随着渗漏水进入深层土壤,这也可能是 RC 亚耕层

土壤的有机碳和氮含量显著高于RM的重要原因之一,雪水融化会增加表层土壤溶解性有机碳和其他养分的淋溶,从而增强深层土壤有机碳固存^[31],这也进一步证实了我们的观点。然而,我们也发现RC导致土壤速效养分(速效氮和速效磷)含量较RM降低(表1),这可能与稻田养分的径流损失有关。克氏原螯虾养殖期稻田养殖水频繁的外排导致土壤中活性养分(速效氮和速效磷等)以径流损失,从而降低了土壤中的速效养分含量。

3.2 稻-虾种养模式对土壤微生物群落多样性和稳定性的影响

RC对稻田土壤微生物群落组成结构无显著影响,但是显著改变了土壤特别是亚耕层土壤中微生物优势菌群的相对丰度(图1)。本研究结果表明,RC显著增加了亚耕层土壤变形菌门和酸杆菌门的相对丰度,这可能与亚耕层土壤环境变化有关(图5)。通常认为,变形菌门和酸杆菌门均是贫营养型的细菌,具有快速吸收和利用底物营养的能力,主要生活在营养贫乏的土壤环境中^[32]。RC模式由于养分径流损失导致了亚耕层土壤中有效养分失衡,从而刺激了土壤中变形菌门和酸杆菌门微生物的快速繁殖和生长,从而导致RC亚耕层土壤中的变形菌门和酸杆菌门微生物的相对丰度显著高于RM。本研究中RC模式下亚耕层土壤中有效氮和速效磷含量显著降低以及较高的速效碳氮比和碳磷比(表1)也证实这一推论。此外,土壤中的放线菌和硝化螺旋菌主要参与植物残体的降解和土壤有效氮的转化^[33],在本研究中RC模式下放线菌门和硝化螺旋菌门的相对丰度显著降低(图1),这表明,RC模式降低了土壤中植物残体的分解能力和有机碳的矿化。这可能是由于RC长期淹水造成的厌氧环境抑制了放线菌的活性,从而导致亚耕层土壤中放线菌和硝化螺旋菌门相对丰度降低。这一结果也进一步证实了RC亚耕层土壤中有效氮含量低于RM(表1)。对于真菌微生物,担子菌门、壶菌门和被孢菌门在土壤微生物中主要负责有机碳的生物降解^[34]。在本研究中,RC显著提高了亚耕层土壤担子菌门、壶菌门和被孢菌门的相对丰度。这表明RC促进亚耕层土壤总有机碳生物周转。RC对稻田耕层土壤细菌和真菌 α -多样性无显著影响,而降低了亚耕层土壤细菌和真菌的丰富度(表2)。这主要可能与克氏原螯虾的捕食行为有关。例如,在冬季克氏原螯虾主要在底层土壤活动,此时克氏原螯虾主要以土壤中微型

动物及部分浮游生物为食,这种自上而下的互动效应可能会沿着食物链传播,从而导致低营养级微生物多样性和丰富度降低^[26]。RC模式使用抗生素等药品会对土壤微生物产生不利影响^[35]。因此,与RM相比,RC降低了耕层土壤中细菌和真菌的丰富度。然而,本研究发现,耕层土壤的细菌和真菌微生物 α -多样性在RM和RC间变化不显著(表2),这可能与RC的田间管理措施有关,如长期的稻田淹水使土壤微生物均质化,这种混合效应可能导致微生物的多样性和丰富度变化不显著。此外,耕层土壤的活性养分的变化不显著,说明微生物的能量和营养来源受限,从而也有可能降低其微生物多样性和丰富度无显著变化。在RM和RC稻田土壤微生物共生网络模式存在显著差异(图4和表3)。这种差异主要体现在与RM相比,RC降低了共生网络的复杂性和稳定性(表3)。原因在于稻-虾种养模式特殊的田间管理措施和异质性有机物的添加降低了土壤真菌和细菌的丰富与多样性,导致微生物群落抵御外界胁迫的可能性和能力降低,这势必会降低土壤微生物的稳定性。

稻-虾种养模式可以促进稻田土壤有机碳积累。与水稻单作模式相比,稻-虾种养模式显著提高了稻田土壤有机碳、颗粒态有机碳和矿物结合态有机碳含量,特别是在亚耕层土壤中增加效果更显著。此外,稻-虾种养模式对耕层土壤微生物群落组成、多样性和稳定性均无显著影响,而提高了亚耕层土壤真菌群落多样性及其网络稳定性。

参考文献 References

- [1] BROOKER R W, GEORGE T S, HOMULLE Z, et al. Facilitation and biodiversity - ecomodel function relationships in crop production models and their role in sustainable farming [J]. *Journal of ecology*, 2021, 109(5): 2054-2067.
- [2] CHANG Q, ZHANG C Y, CHIEN H, et al. Impact of outsourcing agricultural production on the frequency and intensity of agrochemical inputs: evidence from a field survey of 1211 farmers in major food-producing areas in China [J]. *Environment, development and sustainability*, 2024, 26(4): 9577-9602.
- [3] 李奕赞, 张江周, 贾吉玉, 等. 农田土壤生态系统多功能性研究进展 [J]. *土壤学报*, 2022, 59(5): 1177-1189. LI Y Z, ZHANG J Z, JIA J Y, et al. Research progresses on farmland soil ecomodel multifunctionality [J]. *Acta pedologica sinica*, 2022, 59(5): 1177-1189 (in Chinese with English abstract).
- [4] HUANG X L, SHI B Y, WANG S, et al. Mitigating environmental impacts of milk production via integrated maize silage

- planting and dairy cow breeding system: a case study in China [J/OL]. *Journal of cleaner production*, 2021, 309: 127343 [2024-09-02]. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127343>.
- [5] 管卫兵, 刘凯, 石伟, 等. 稻渔综合种养的科学范式[J]. *生态学报*, 2020, 40(16): 5451-5464. GUAN W B, LIU K, SHI W, et al. Scientific paradigm of integrated farming of rice and fish [J]. *Acta ecologica sinica*, 2020, 40(16): 5451-5464 (in Chinese with English abstract).
- [6] SUN G, SUN M, DU L S, et al. Ecological rice-cropping systems mitigate global warming: a Meta-analysis [J/OL]. *Science of the total environment*, 2021, 789: 147900 [2024-09-02]. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147900>.
- [7] 胡亮亮, 唐建军, 张剑, 等. 稻-鱼系统的发展与未来思考[J]. *中国生态农业学报*, 2015, 23(3): 268-275. HU L L, TANG J J, ZHANG J, et al. Development of rice-fish system: today and tomorrow [J]. *Chinese journal of eco-agriculture*, 2015, 23(3): 268-275 (in Chinese with English abstract).
- [8] CUI J L, LIU H B, WANG H Y, et al. Rice-animal co-culture systems benefit global sustainable intensification [J/OL]. *Earth's future*, 2023, 11(2): e2022EF002984 [2024-09-02]. <https://doi.org/10.1029/2022EF002984>.
- [9] LEHMANN J, KLEBER M. The contentious nature of soil organic matter [J]. *Nature*, 2015, 528(7580): 60-68.
- [10] LAL R. Digging deeper: a holistic perspective of factors affecting soil organic carbon sequestration in agroecosystems [J]. *Global change biology*, 2018, 24(8): 3285-3301.
- [11] 陆雅海. 土壤微生物学研究现状与展望[J]. *中国科学院院刊*, 2015, 30(Z1): 106-114 LU Y H. Recent development of soil microbiology and future perspectives [J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2015, 30(Z1): 106-114 (in Chinese with English abstract).
- [12] FALKOWSKI P G, FENCHEL T, DELONG E F. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles [J]. *Science*, 2008, 320(5879): 1034-1039.
- [13] VAN DER HEIJDEN M G A, BARDGETT R D, VAN STRAALEN 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] JIANG Y, CAO C G. Crayfish-rice integrated system of production: an agriculture success story in China: a review [J/OL]. *Agronomy for sustainable development*, 2021, 41(5): 68 [2024-09-02]. <https://doi.org/10.1007/s13593-021-00724-w>.
- [15] 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).
- [16] 曹凑贵, 江洋, 汪金平, 等. 稻虾共作模式的“双刃性”及可持续发展策略[J]. *中国生态农业学报*, 2017, 25(9): 1245-1253. CAO C G, JIANG Y, WANG J P, et al. “Dual character” of rice-crayfish culture and strategies for its sustainable development [J]. *Chinese journal of eco-agriculture*, 2017, 25(9): 1245-1253 (in Chinese with English abstract).
- [17] 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 [2024-09-02]. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02984-7>.
- [18] THAKUR M P, GEISEN S. Trophic regulations of the soil microbiome [J]. *Trends in microbiology*, 2019, 27(9): 771-780.
- [19] ATKINSON C L, HALVORSON H M, KUEHN K A, et al. Filter-feeders have differential bottom-up impacts on green and brown food webs [J]. *Oecologia*, 2021, 195(1): 187-198.
- [20] 黄昌勇. 土壤学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. HUANG C Y. *Soil science* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese).
- [21] CAMBARDELLA C A, ELLIOTT E T. Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence [J]. *Soil Science Society of America journal*, 1992, 56(3): 777-783.
- [22] LOGUE J B, STEDMON C A, KELLERMAN A M, et al. Experimental insights into the importance of aquatic bacterial community composition to the degradation of dissolved organic matter [J]. *The ISME journal*, 2015, 10(3): 533-545.
- [23] WEN T, XIE P H, YANG S D, et al. ggClusterNet: an R package for microbiome network analysis and modularity-based multiple network layouts [J/OL]. *iMeta*, 2022, 1: e32 [2024-09-02]. <https://doi.org/10.1002/imt2.32>.
- [24] 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(中英文)*, 2017, 25(1): 61-68. 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 (in Chinese with English abstract).
- [25] FENG X H, QIN S Q, ZHANG D Y, et al. Nitrogen input enhances microbial carbon use efficiency by altering plant-microbe-mineral interactions [J]. *Global change biology*, 2022, 28(16): 4845-4860.
- [26] FENG J, PAN R, HU H W, et al. Effects of integrated rice-crayfish farming on soil biodiversity and functions [J]. *Science bulletin*, 2023, 68(20): 2311-2315.
- [27] 李胜君, 胡荷, 李刚, 等. 化肥减量与有机物料添加对华北潮土微生物氮循环功能基因丰度和氮转化遗传潜力的影响[J]. *环境科学*, 2022, 43(10): 4735-4744. LI S J, HU H, LI G, et al. Impacts of co-application of chemical fertilizer reduction and organic material amendment on fluvo-aquic soil microbial n-cycling functional gene abundances and n-converting genetic potentials in Northern China [J]. *Environmental science*, 2022, 43(10): 4735-4744 (in Chinese with English abstract).
- [28] 冯洁, 张克强, 陈思, 等. 土壤 N₂O 吸收和消耗机制及研究进展[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(11): 2084-2089. FENG

- J, ZHANG K Q, CHEN S, et al. Mechanism of N_2O uptake and consumption by soil: a review[J]. Journal of agro-environment science, 2014, 33(11): 2084-2089 (in Chinese with English abstract).
- [29] 王强盛. 稻田种养结合循环农业温室气体排放的调控与机制[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(5): 633-642. WANG Q S. Regulation and mechanism of greenhouse gas emissions of circular agriculture ecosystem of planting and breeding in paddy [J]. Chinese journal of eco-agriculture, 2018, 26(5): 633-642 (in Chinese with English abstract).
- [30] 杨佳宇, 谷思玉, 李宇航, 等. 深翻-旋耕轮耕与有机肥配施对黑土农田土壤物理性质的影响[J]. 土壤通报, 2021, 52(6): 1290-1298. YANG J Y, GU S Y, LI Y H, et al. Effects of deep ploughing-rotary tillage combined with organic fertilizer on black soil physical properties[J]. Chinese journal of soil science, 2021, 52(6): 1290-1298 (in Chinese with English abstract).
- [31] DENG M F, LI P, LIU W X, et al. Deepened snow cover increases grassland soil carbon stocks by incorporating carbon inputs into deep soil layers[J]. Global change biology, 2023, 29(16): 4686-4696.
- [32] SPAIN A M, KRUMHOLZ L R, ELSHAHED M S. Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria [J]. The ISME journal, 2009, 3(8): 992-1000.
- [33] ZECCHIN S, MUELLER R C, SEIFERT J, et al. Rice paddy nitrospirae carry and express genes related to sulfate respiration: proposal of the new genus "candidatus sulfobium" [J/OL]. Applied and environmental microbiology, 2018, 84(5): e02224-17 [2024-09-02]. <https://doi.org/10.1128/AEM.02224-1>.
- [34] 王诗慧, 常顺利, 李鑫, 等. 天山林区土壤真菌多样性及其群落结构[J]. 生态学报, 2021, 41(1): 124-134. WANG S H, CHANG S L, LI X, et al. Soil fungal diversity and its community structure in Tianshan Forest [J]. Acta ecologica sinica, 2021, 41(1): 124-134 (in Chinese with English abstract).
- [35] VAROL M, SÜNBÜL M R. Organochlorine pesticide, antibiotic and heavy metal residues in mussel, crayfish and fish species from a reservoir on the Euphrates River, Turkey[J]. Environmental pollution, 2017, 230: 311-319.

Effects of crayfish on microbial diversity and carbon sequestration in paddy soil

ZHANG Wanyang^{1,2}, MA Tianqiao^{1,2}, WANG Jinping^{1,3}, GU Zemao^{1,4}, LI Xiaokun^{1,2}

1. Shuangshui Shuangliu Institute, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

3. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

4. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract A field-based comparative experiment between rice monoculture (RM) and rice-crayfish-farming models (RC) was conducted to study the effects of introducing crayfish (*Procambarus clarkii*) into paddy fields on the microbial diversity and the carbon sequestration in soil. The impacts of different rice cultivation models on the diversity and stability of microbial community, and the fractions of organic carbon in the topsoil (0-20 cm) and subsoil (20-40 cm) were investigated. The results showed that the content of organic carbon in topsoil under the RC was 7.3% higher than that under RM, with a significant increase of 35.8% in the content of organic carbon in subsoil. The diversity of fungal community in the subsoil significantly decreased, with a decrease in the index of Chao1, Richness, and ACE indexes of 6.9%, 7.2%, and 8.7%, respectively, while there was no significant effect on the diversity of microbial community in the topsoil. The RC significantly enhanced the network size, connectivity, and average degree of co-occurrence networks for bacteria and fungi in both topsoil and subsoil, thereby improving the stability of network. It is indicated that the RC significantly increases the accumulation of organic carbon and the stability of microbial community in subsoil, promoting the biological fertility in paddy soil.

Keywords rice-crayfish farming models (RC); organic carbon in soil; microbes in soil; biological fertility in soil

(责任编辑: 张志钰)