

## 稻鳢种养模式对土壤氨氧化微生物群落多样性和结构的影响

褚向乾, 吕卫光, 樊海丹, 白娜玲, 郑宪清, 李双喜, 张娟琴, 张海韵, 张月, 张翰林

### 引用本文:

褚向乾, 吕卫光, 樊海丹, 白娜玲, 郑宪清, 李双喜, 张娟琴, 张海韵, 张月, 张翰林. 稻鳢种养模式对土壤氨氧化微生物群落多样性和结构的影响[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(6): 1350-1359.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2023-0660>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 不同麦秸还田模式对稻田土壤微生物活性和微生物群落组成的影响

王宁, 罗佳琳, 赵亚慧, 李勇, 于建光

农业环境科学学报. 2020, 39(1): 125-133 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0956>

#### 钝化材料对农田土壤Cd形态及微生物群落的影响

兰玉书, 袁林, 杨刚, 程蓉, 石楷岐, 高本汗

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2743-2751 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0637>

#### 不同钝化机制矿物对土壤重金属的钝化效果及微生物响应

任露陆, 蔡宗平, 王固宁, 叶志钧, 张艳林, 曹美苑

农业环境科学学报. 2021, 40(7): 1470-1480 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1436>

#### 东北沼泽湿地土壤中氨氧化微生物活性和丰度研究

谢月, 梁红, 宋立全, 王清波, 付东风, 高大文

农业环境科学学报. 2018, 37(3): 546-551 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-0992>

#### 模拟水位下降与刈割对高寒湿地土壤氨氧化与反硝化微生物的影响

孙翼飞, 沈菊培, 张翠景, 孙书存, 贺纪正

农业环境科学学报. 2017, 36(11): 2356-2364 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-0589>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

褚向乾, 吕卫光, 樊海丹, 等. 稻鳝种养模式对土壤氨氧化微生物群落多样性和结构的影响[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(6): 1350-1359.

CHU X Q, LÜ W G, FAN H D, et al. Effects of the rice-eel breeding model on the diversity and structure of soil ammonia-oxidizing microbial communities[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(6): 1350-1359.



开放科学 OSID

# 稻鳝种养模式对土壤氨氧化微生物群落多样性和结构的影响

褚向乾<sup>1</sup>, 吕卫光<sup>1,2</sup>, 樊海丹<sup>1</sup>, 白娜玲<sup>1,2</sup>, 郑宪清<sup>1,2</sup>, 李双喜<sup>1,3,4</sup>, 张娟琴<sup>1,2</sup>, 张海韵<sup>1,2</sup>, 张月<sup>1,2</sup>, 张翰林<sup>1,3,4\*</sup>

(1. 上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海 201403; 2. 农业农村部东南沿海农业绿色低碳重点实验室, 上海 201403; 3. 农业农村部稻渔综合种养生态重点实验室, 上海 201403; 4. 农业农村部上海农业环境与耕地保育科学观测实验站, 上海 201403)

**摘要:**为深入了解稻鳝种养模式对土壤氮循环关键微生物的影响,本研究采用 Illumina MiSeq 高通量测序系统,分析了稻鳝种养模式下氨氧化微生物[氨氧化古菌(AOA)、氨氧化细菌(AOB)和完全氨氧化微生物(Comammox)]的群落结构和多样性,以明确该模式对土壤氨氧化微生物群落的影响机制。试验设置两个处理(常规稻田处理和稻鳝种养处理),分别在处理小区的中心区域和沟渠边缘区域取样,即:常规稻田中心区域(CCS)、常规稻田沟渠边缘区域(CMS)、稻鳝种养处理中心区域(ICS)和稻鳝种养处理沟渠边缘区域(IMS)。结果表明:与常规稻田处理相比,稻鳝种养模式显著降低了土壤pH,减少了稻田中心区域和边缘区域间有机质和总氮的含量差异,增加了土壤硝化势;相较于常规稻田处理,稻鳝种养模式显著提高了AOA、Comammox Clade-A和Comammox Clade-B的丰富度,显著降低了AOB的丰富度;同时,IMS显著提高了AOA的群落多样性,但降低了AOB的群落多样性;土壤pH、有机质和速效氮是影响氨氧化微生物的关键环境因子( $P < 0.05$ );AOA和Comammox促进了土壤硝化速率,而AOB反之;稻鳝种养模式改变了氨氧化微生物群落的结构,并增强了氨氧化微生物之间的信息交流,使其内部连接更加紧密。研究表明,稻鳝种养模式通过改变土壤环境因子,特别是土壤pH、有机质和速效氮,显著影响了土壤氨氧化微生物群落的组成、结构和多样性,增强了氨氧化微生物之间的相互作用,对土壤氮循环关键微生物产生了重要影响。

**关键词:** 稻鳝种养; 氨氧化微生物; 高通量测序; 土壤理化性质; 微生物群落

中图分类号: S154.3 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2024)06-1350-10 doi:10.11654/jaes.2023-0660

## Effects of the rice-eel breeding model on the diversity and structure of soil ammonia-oxidizing microbial communities

CHU Xiangqian<sup>1</sup>, LÜ Weiguang<sup>1,2</sup>, FAN Haidan<sup>1</sup>, BAI Naling<sup>1,2</sup>, ZHENG Xianqing<sup>1,2</sup>, LI Shuangxi<sup>1,3,4</sup>, ZHANG Juanqin<sup>1,2</sup>, ZHANG Haiyun<sup>1,2</sup>, ZHANG Yue<sup>1,2</sup>, ZHANG Hanlin<sup>1,3,4\*</sup>

(1. Eco-environmental Protection Institute of SAAS, Shanghai 201403, China; 2. Key Laboratory of Low-carbon Green Agriculture in Southeastern China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201403, China; 3. Key Laboratory of Integrated Rice-Fish Farming Ecosystem, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201403, China; 4. Agricultural Environment and Farmland Conservation Experiment Station, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201403, China)

**Abstract:** Research on the composition, structure, and diversity changes of soil ammonia-oxidizing microbial communities under the rice-

收稿日期: 2023-08-14 录用日期: 2023-10-30

作者简介: 褚向乾(1996—), 山东济南人, 硕士, 从事土壤硝化作用研究。E-mail: chuxiangqianky@163.com

\*通信作者: 张翰林 E-mail: zhanghanlinchick@163.com

基金项目: 上海市现代农业产业技术体系项目[沪农科产字(2022)第3号]; 上海市农业科学院卓越团队建设计划[沪农科卓(2022)008]

Project supported: Agriculture Research System of Shanghai, China (202203); Outstanding Team Program of Shanghai Academy of Agricultural Science [Hu-Nong-Ke-Zhuo 2022(008)]

eel breeding model is needed to gain in-depth insights into the impact on key microbes involved in soil nitrogen cycling. In this study, Illumina MiSeq high-throughput sequencing was systematically employed to analyze the community structure and diversity of ammonia-oxidizing microbes [ammonia oxidizing archaea (AOA), ammonia oxidizing bacteria (AOB) and complete ammonia oxidizer (Comammox)] in the rice-eel breeding model. Two treatments were established: conventional rice field and rice-eel breeding treatments. Samples were collected from the central area and the edge of the ditch in each treatment, namely: conventional fertilization in the central area of rice fields (CCS), conventional fertilization in the ditch edge area of rice fields (CMS), rice-eel breeding model in the central area (ICS), and rice-eel breeding model in the ditch edge area (IMS). The results showed that: compared to conventional rice field treatment, the rice-eel breeding model significantly reduced soil pH and decreased the difference in soil organic matter (SOM) and soil total N (TN) contents between the central and edge areas of the rice field, and increased soil potential nitrification rate (PNR); In comparison to the conventional rice field treatment, the rice-eel breeding model markedly increased the abundance of AOA and Comammox Clade-A and Comammox Clade-B, while significantly decreasing the abundance of AOB. Meanwhile, IMS significantly enhanced the community diversity index of AOA, but reduced the community diversity index of AOB. AOA and Comammox promoted soil nitrification rates, while AOB did the opposite; Soil pH, SOM, and available nitrogen (AN) were identified as key environmental factors influencing ammonia-oxidizing microorganisms ( $P < 0.05$ ); The rice-eel breeding model altered the structure of the ammonia-oxidizing microbial community and enhanced communication among these microorganisms, resulting in a more tightly connected internal network. The rice-eel breeding model, by altering soil environmental factors, especially soil pH, SOM, and AN content, significantly influences the composition, structure, and diversity of soil ammonia-oxidizing microbial communities. It enhances interactions among ammonia-oxidizing microbes and exerts a significant impact on key microbes involved in soil nitrogen cycling.

**Keywords:** rice-eel breeding model; ammonia-oxidizing microorganism; high-throughput sequencing; soil physical and chemical property; microbial community

硝化作用是指将氨( $\text{NH}_3$ )通过氨氧化微生物氧化为亚硝酸盐( $\text{NO}_2^-$ ),并进一步氧化为硝酸盐( $\text{NO}_3^-$ )的过程<sup>[1]</sup>。硝化过程是全球氮循环过程的重要环节,在维持氮素平衡中起着关键作用<sup>[2]</sup>。长期以来,人们一直认为氨氧化过程是由氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)驱动完成的<sup>[3]</sup>。AOA通常被认为是土壤中最丰富的氨氧化微生物。然而,随着完全氨氧化微生物(Comammox)的发现,硝化作用和氨氧化微生物的研究再次成为人们关注的热点<sup>[4-5]</sup>。此后,在各种系统中均发现了Comammox,如农业土壤、森林土壤、淡水栖息地和污水处理厂<sup>[6]</sup>。研究表明,AOA、AOB和Comammox的丰度、群落多样性和结构的变化与施肥条件、土壤类型、种植作物和土壤理化因子等有关<sup>[2]</sup>。Wang等<sup>[7]</sup>在弱酸性( $5.8 < \text{pH} < 7.0$ )水稻田中发现,Comammox Clade-A的丰度随着施肥量的增加而增加,而Comammox Clade-B的丰度随施肥量的增加而减少,但Comammox Clade-A和Comammox Clade-B的丰度均小于AOA和AOB。宋亚娜等<sup>[8]</sup>研究发现,不同水稻品种对稻田土壤AOA和AOB群落结构的影响因土壤养分水平而异。因此,确定不同环境因子对AOA、AOB和Comammox的群落丰度、多样性和组成的影响对于理解氮循环和改进农业管理具有重要意义。

相较于传统水稻栽培模式,稻鱼种养模式具有高效、环保、经济价值较高等优点。已有研究发现,稻鱼

种养能有效提高土壤肥力,并能提高土壤微生物丰度和多样性。马微微等<sup>[9]</sup>通过对田间管理下的稻鱼互作的土壤营养成分进行研究,发现在收获期,全氮、全磷的含量都有显著的提高;周榆淇等<sup>[10]</sup>发现,在长期淹水条件下稻鱼种养显著提高了土壤全氮和有机质含量,并一定程度增加了微生物碳的含量;Zheng等<sup>[11]</sup>发现,稻鳝种养模式提高了土壤真菌多样性,降低了优势种比例。王蓉等<sup>[12]</sup>发现,与常规水稻种植模式相比,稻虾种养模式显著提高了土壤氨氧化微生物(AOA和AOB)丰度,显著降低了AOB的 $\alpha$ 多样性。针对稻鳝种养模式,以往研究大多关注其对土壤养分含量和真菌多样性的影响<sup>[9-11]</sup>,而对氨氧化微生物影响的研究鲜有报道,氨氧化微生物对其的响应机制尚不明确。

本研究以水稻-绿肥轮作系统为研究对象,探究稻鳝种养模式对土壤中心区域与沟渠边缘区域的理化性质和氨氧化微生物群落结构与多样性等指标的影响,揭示稻鳝种养对不同稻田区域氨氧化微生物群落的影响,为更好地理解稻鳝种养模式养分循环提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概括

试验于上海市农业科学院庄行综合实验站( $30^\circ 53' \text{N}$ ,  $121^\circ 23' \text{E}$ )的稻田种养长期定位试验小区开

展,该地年平均气温为 15.8 ℃,年平均降水量为 1 178.0 mm。土壤质地为黏壤土,种植水稻品种为花优 14,试验小区 2016 年初始土壤理化指标为:pH 7.45,有机质(SOM) 16.43 g·kg<sup>-1</sup>,总氮(TN) 1.05 g·kg<sup>-1</sup>,总磷(TP) 1.14 g·kg<sup>-1</sup>,速效氮(AN) 74.47 mg·kg<sup>-1</sup>,速效磷(AP) 34.31 mg·kg<sup>-1</sup>。

## 1.2 试验设计

本试验从 2016 年 5 月水稻季开始,每年按照同样试验条件实施。设置两个处理,即常规稻田处理和稻鳢种养处理(常规施肥加“L”形渠沟,在其中投放黄鳢)。小区为完全随机区组设计,每个处理 3 个重复,试验小区为 3 m×4 m,各小区之间使用土工膜隔离。稻鳢种养结合小区结构见图 1。分别在处理小区的中心区域和沟渠边缘区域取样:常规稻田中心区域(CCS)、常规稻田沟渠边缘区域(CMS)、稻鳢种养中心区域(ICS)和稻鳢种养沟渠边缘区域(IMS)。每个处理施肥量保持一致,施用纯氮 225 kg·hm<sup>-2</sup>,纯磷 112.5 kg·hm<sup>-2</sup>,纯钾 255 kg·hm<sup>-2</sup>,所用肥料分别为尿素(含氮量 46%)、过磷酸钙(含 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 12%)、硫酸钾(含 K<sub>2</sub>O 34%)。在稻田沟渠投放鳢鱼苗,鳢鱼苗质量 20~25 g,体长 27~31 cm,投放量 100 kg·hm<sup>-2</sup>。稻鳢种养结合小区不添加饵料,黄鳢以蚯蚓、昆虫、水生浮游动物等自然饵料为食。

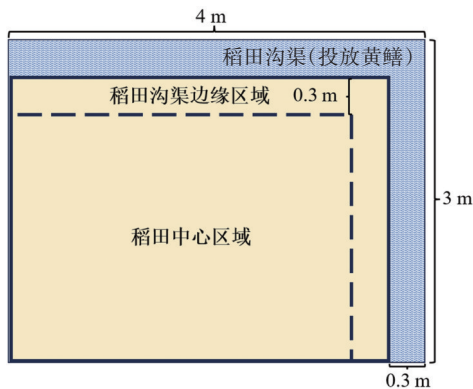


图 1 稻鳢种养结合小区结构示意图

Figure 1 Schematic diagram of the structure of rice-eel co-culture integration zone

## 1.3 土壤理化性质测定方法

于 2020 年 4 月水稻种植之前采集土壤样本。采用 S 型采样方法,每个采样区域(CCS、CMS、ICS、IMS)采集 5 个土壤样本(0~20 cm),并将其合并为一个样本。混合后的土壤样品储存在塑料袋中,立即带回实验室。清除土样中的碎石、植物和动物残骸。部分土

样风干后进行筛选(孔径 2 mm),测定理化性质,另一部分样品储存在-80 ℃冰箱中,待进行 DNA 提取和高通量测定。

土壤 pH 使用电位法测定(水土比为 2.5:1);土壤 SOM 使用重铬酸钾氧化法测定;土壤 TN 使用凯氏定氮法测定;土壤 TP 使用硫酸-高氯酸消化法测定;土壤 AN 使用 NaCl 直接提取法测定;土壤 AP 使用分光光度计法测定;土壤硝化势(PNR)使用氨氧化快速检测法测定<sup>[13]</sup>。

## 1.4 土壤样品的 DNA 提取及高通量测序

使用 Omega E.Z.N.A.<sup>®</sup> 土壤 DNA 试剂盒(D5625-02)按照说明提取土壤 DNA。AOB-*amoA*、AOA-*amoA*、Comammox Clade-A 和 Comammox Clade-B 的引物对分别为 *amoA*1F/*amoA*2R、ArchamoAF/Arch-*amoA*R、*comaA*-244F/*comaA*-659R 和 *comaB*-244F\_A/*comaB*-659R\_A<sup>[13]</sup>。PCR 反应体系为 25 μL,其中包括 2 μL 稀释 5 倍的 DNA 模板和 23 μL 反应液。反应液的组成如下:SYBR Premix Ex Taq(2×):12.5 μL;ROX Reference; Dye II (50×):0.5 μL;前向引物 1 μL;反向引物 1 μL;超纯水 8 μL。扩增条件为:在 98 ℃下初始变性 30 s,然后在 98 ℃变性 27 个循环 15 s,在 58 ℃/55 ℃/52 ℃(AOB/AOA/Comammox Clade-A/Comammox Clade-B)退火 30 s,在 72 ℃下延伸 30 s/30 s/45 s/45 s(AOB/AOA/Comammox Clade-A/Comammox Clade-B),最后在 72 ℃延伸 7 min。使用 Nano-Drop ND-1000 UV-Vis 分光光度计检测 PCR 产物的数量和质量。扩增成功后,将 PCR 产物送至派森诺生物(上海)进行 mesiq 平台高通量测序分析。

首先根据 PE reads 之间的 overlap 关系,将成对的 reads 拼接为一条序列,同时对 reads 的质量和 merge 的效果进行质控过滤,有效序列可依据序列首位两端的 barcode 和引物序列来区分样品得到,将序列方向进行校正,得到优化数据。通过对序列分类处理,进行 Operational Taxonomic Units(OTU)分组。在 97% 的相似性水平下对 OTU 进行生物信息统计分析。使用 Usearch7.1 软件平台,按照 97% 的相似性将非重复序列(不包括单一序列)进行 OTU 聚类。在聚类过程中,排除嵌合体,从而得到代表每个 OTU 的序列。基于 OTU 的分类,进行 α 多样性和 β 多样性的分析。使用贝叶斯算法分析 97% 相似性水平下的 OTU 代表序列,以获取每个 OTU 的物种分类信息。在不同的分类水平(包括域、界、门、纲、目、科、属和种)下统计样本的群落组成。



## 1.5 数据处理

使用SPSS 26.0进行Tukey HSD检验单因素方差分析(ANOVA),确定各处理理化性质之间的差异显著性。采用Mothur(版本v.1.30.1)基于OTU计算AOA *amoA*、AOB *amoA*、Comammox Clade-A和Comammox Clade-B的丰富度和多样性指数;使用Origin 2020的Correlation Plot插件进行Pearson相关性分析;使用QIIME2计算Bray-Curtis距离矩阵,使用Origin 2020的Redundancy Analysis插件进行 $\beta$ 多样性分析;使用R构建相关性矩阵( $|r|>0.6$ 和 $P<0.001$ ),使用Gephi软件绘制氨氧化微生物的共现网络图。

## 2 结果与分析

### 2.1 稻鳢种养对土壤理化性质的影响

各处理土壤理化性质如表1所示。各处理水稻土壤pH的范围在7.68~7.97之间,呈弱碱性,IMS和ICS的pH显著低于CCS和CMS( $P<0.05$ ),说明黄鳢的活动可降低试验小区土壤pH。CCS与CMS之间的SOM和TN含量存在显著差异,而ICS与IMS之间无显著差异,说明黄鳢可以平衡土壤区域间的养分含量,使土壤养分更加均匀。稻鳢种养模式的AN、TP和AP含量相较于常规稻田处理无显著差异。稻鳢种养模式相比常规稻田处理显著提高了土壤PNR,加速了土壤氮循环速率。

### 2.2 稻鳢种养对土壤氨氧化微生物 $\alpha$ 多样性的影响

稻鳢种养对土壤氨氧化微生物 $\alpha$ 多样性的影响如图2所示,氨氧化微生物丰富度使用Chao1和Observed\_species指数表示,多样性使用Shannon和Simpson指数表示。与常规稻田处理相比,稻鳢种养模式显著增加了AOA、Comammox Clade-A和Comammox Clade-B的丰富度( $P<0.05$ ),显著降低了AOB的丰富度( $P<0.05$ ),ICS和IMS之间的氨氧化微生物丰富度无显著差异。与常规稻田处理相比,IMS显著

提升了AOA的多样性( $P<0.05$ ),显著降低了AOB的多样性( $P<0.05$ )。各处理间Comammox Clade-A和Comammox Clade-B的群落多样性无显著性差异。

土壤理化性质与氨氧化微生物Chao1和Shannon指数的相关性分析如图3所示。pH与AOA、Comammox Clade-A的Chao1指数呈显著负相关( $P<0.05$ ),SOM与AOB的Chao1和Shannon指数呈显著负相关( $P<0.05$ ),与Comammox Clade-A和Comammox Clade-B的Chao1指数则呈显著正相关( $P<0.05$ )。AN与AOB的Chao1指数呈显著负相关( $P<0.05$ )。PNR与AOA的Chao1和Shannon指数、Comammox Clade-A和Comammox Clade-B的Chao1指数呈显著正相关( $P<0.05$ ),与AOB的Chao1和Shannon指数呈显著负相关( $P<0.05$ )。

### 2.3 稻鳢种养对土壤氨氧化微生物群落结构的影响

土壤氨氧化微生物的主成分分析和各处理之间群落差异P值分别如图4和表2所示。AOA、AOB、Comammox Clade-A和Comammox Clade-B的PCo1的解释量分别为65.2%、36.5%、50.2%和35.9%,PCo1和PCo2的总解释量分别为87.6%、68.6%、71.5%和56.4%。CMS和CCS的氨氧化微生物群落结构相似,无显著区分,但IMS和ICS除Comammox Clade-A群落结构相似外,AOA、AOB和Comammox Clade-B的群落结构均有显著差异( $P<0.05$ )。同时,与常规稻田处理相比,稻鳢种养结合处理的AOA、AOB、Comammox Clade-A和Comammox Clade-B的群落结构均有差异( $P<0.05$ )。

在稻鳢种养模式下,土壤各氨氧化微生物共现网络和拓扑结构如图5和表3所示。结果显示,相比于常规水稻种植模式,稻鳢种养模式提高了氨氧化微生物群落稳定性,其中AOB尤为明显。稻鳢种养模式的氨氧化微生物网络节点数高于常规水稻模式(表3)。稻鳢种养模式的AOB、Comammox Clade-A和

表1 稻鳢种养对土壤理化性质的影响

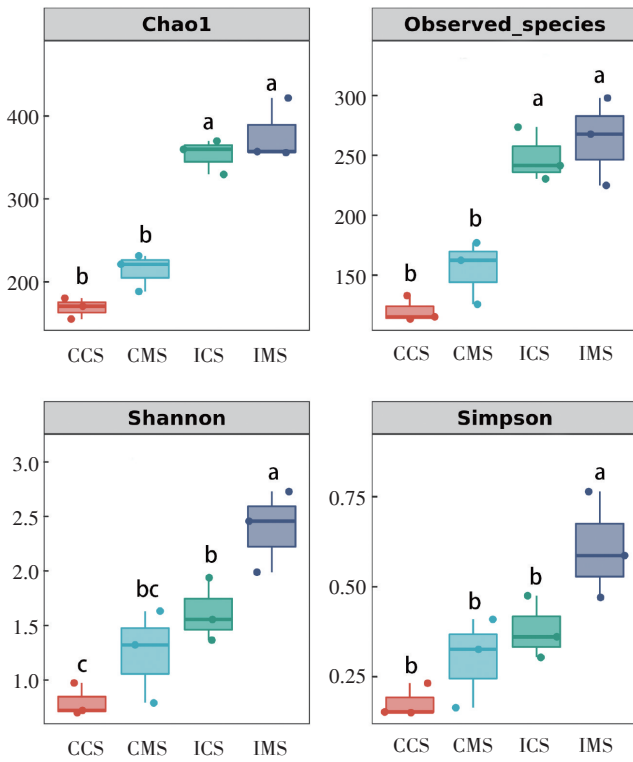
Table 1 Effects of rice-eel aquaculture on soil physicochemical properties

处理 Treatment	pH	有机质 Organic matter/ ( $g \cdot kg^{-1}$ )	全氮 Total N/ ( $g \cdot kg^{-1}$ )	速效氮 Available N/ ( $mg \cdot kg^{-1}$ )	全磷 Total P/ ( $g \cdot kg^{-1}$ )	速效磷 Available P/ ( $mg \cdot kg^{-1}$ )	硝化势 Potential nitrification rates/ ( $\mu g \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ )
CCS	7.89±0.06a	16.58±0.26b	1.01±0.14b	63.54±3.94a	1.16±0.16a	36.60±1.28a	0.66±0.05b
CMS	7.97±0.05a	17.45±0.28a	1.24±0.16a	64.75±3.26a	1.28±0.12a	37.57±3.35a	0.69±0.04b
ICS	7.68±0.08b	17.77±0.36a	1.33±0.21a	66.96±1.45a	1.29±0.17a	37.15±2.35a	0.81±0.06a
IMS	7.68±0.07b	17.52±0.51a	1.36±0.12a	68.13±1.57a	1.34±0.14a	38.95±4.10a	0.82±0.05a

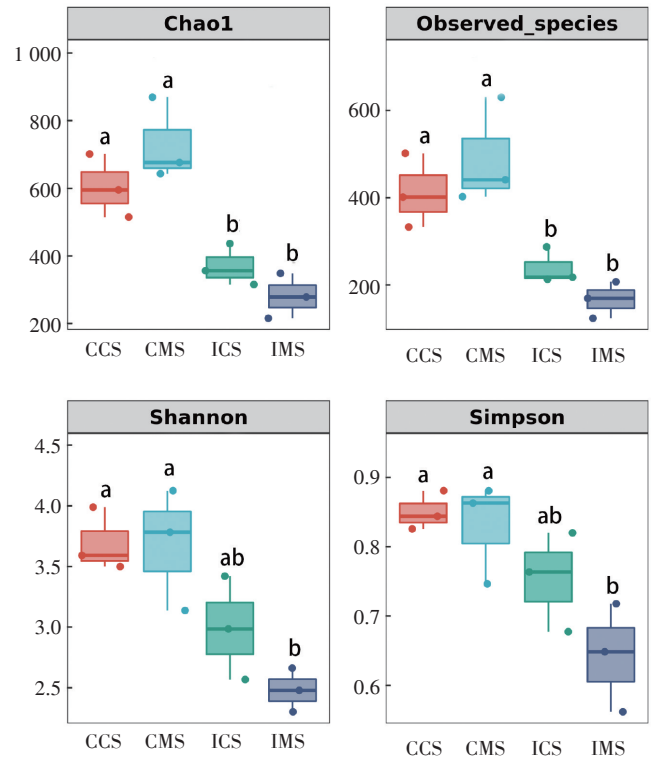
注:同列不同字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。下同。

Note: Different letters in the same column indicate significant difference among treatments at 0.05 level. The same below.

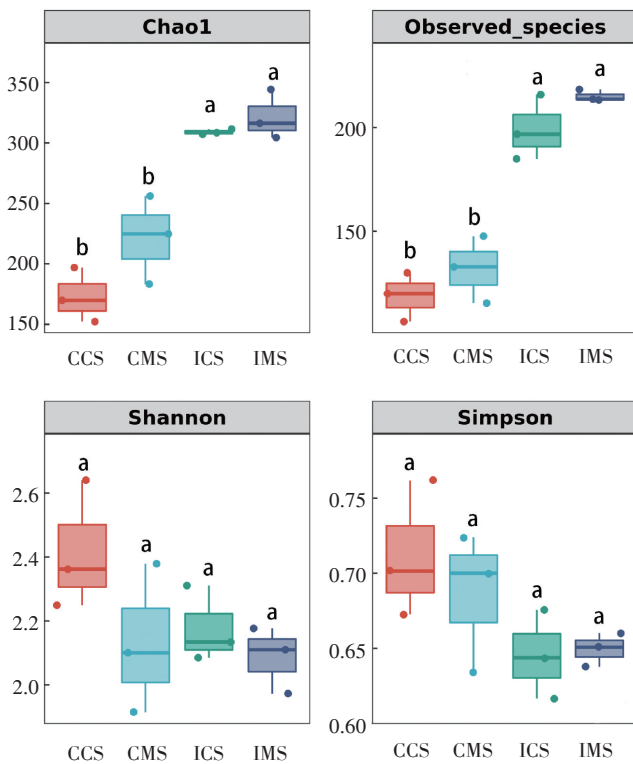
(a)AOA



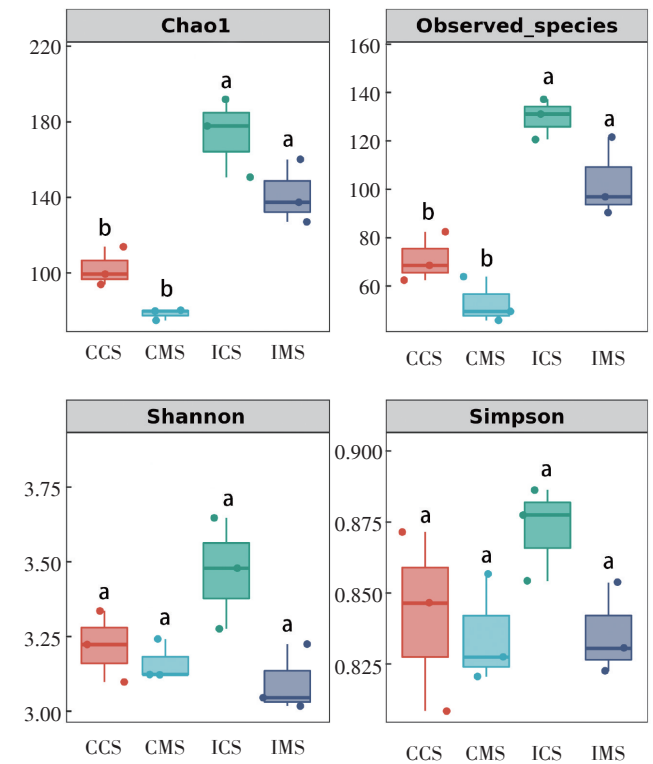
(b)AOB



(c)Comammox Clade-A



(d)Comammox Clade-B

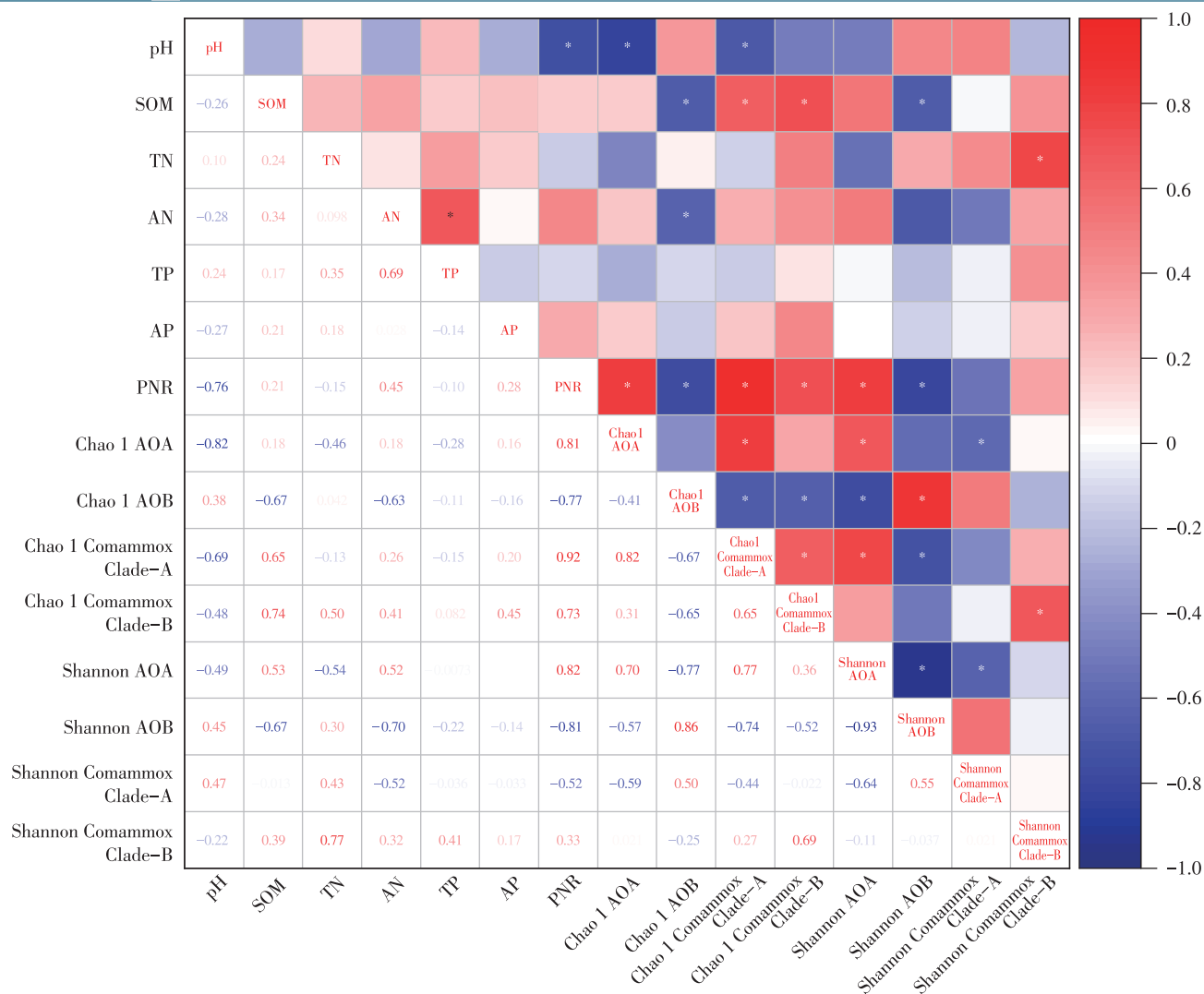


横坐标表示不同处理,纵坐标表示多样性指数;不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

The horizontal axis represents different treatments, while the vertical axis represents the diversity index; Different lowercase letters indicate significant difference among treatments at 0.05 level.

图2 土壤氨氧化微生物α多样性分析

Figure 2 α diversity analysis of soil ammonia-oxidizing microbial



红色表示正相关,蓝色表示负相关,\* $P<0.05$ 。

Red indicates positive correlation, while blue indicates negative correlation, \* $P<0.05$ .

图3 土壤理化性质与氨氧化微生物 Chao1 和 Shannon 指数的相关性分析

Figure 3 Correlation analysis between soil physicochemical properties and ammonia-oxidizing microbial Chao1 and Shannon index

Comammox Clade-B 的网络边数高于常规水稻模式,但 AOA 的边数低于常规水稻模式。稻鳢种养模式提高了 AOA、Comammox Clade-A 和 Comammox Clade-B 的网络模块化度,但降低了 AOB 的模块化度。

### 3 讨论

稻鳢种养可改善土壤理化环境,减少化肥投入,增加产量和经济效益<sup>[14-15]</sup>。一般情况下,由于黄鳢活动范围有限,在稻田土壤边缘区域活动较强,对稻田整体影响不均匀,有可能导致土壤养分在区域间产生差异<sup>[16]</sup>。因此,本文旨在研究稻鳢种养模式下,黄鳢的生理活动对沟渠边缘和中心区域的土壤理化性质和氨氧化微生物群落的影响,为阐明稻鳢种养模式的

养分供给特征提供科学支撑。

本研究结果表明,在土壤呈弱碱性(pH 为 7.68~7.97)的情况下,相较于常规稻田,稻鳢种养模式土壤中 pH 显著下降,土壤有机质和全氮分布更加均匀,土壤硝化势显著增加,土壤全磷、速效氮和速效磷的含量无显著变化,这与袁泉等<sup>[17]</sup>的研究结果相似,结果表明在稻鳢模式下,黄鳢的生理活动会加速土壤养分的释放,并且黄鳢的体液和排泄物等物质可改善土壤理化环境。值得注意的是,稻鳢种养模式的中心区域和边缘区域在土壤理化性质方面没有显著差异。

以往的研究发现,Comammox 在土壤中的数量比 AOA 和 AOB 更多,在酸性和碱性土壤中都占据优势<sup>[18]</sup>。但在本研究中,AOA 的丰富度显著高于其他氨

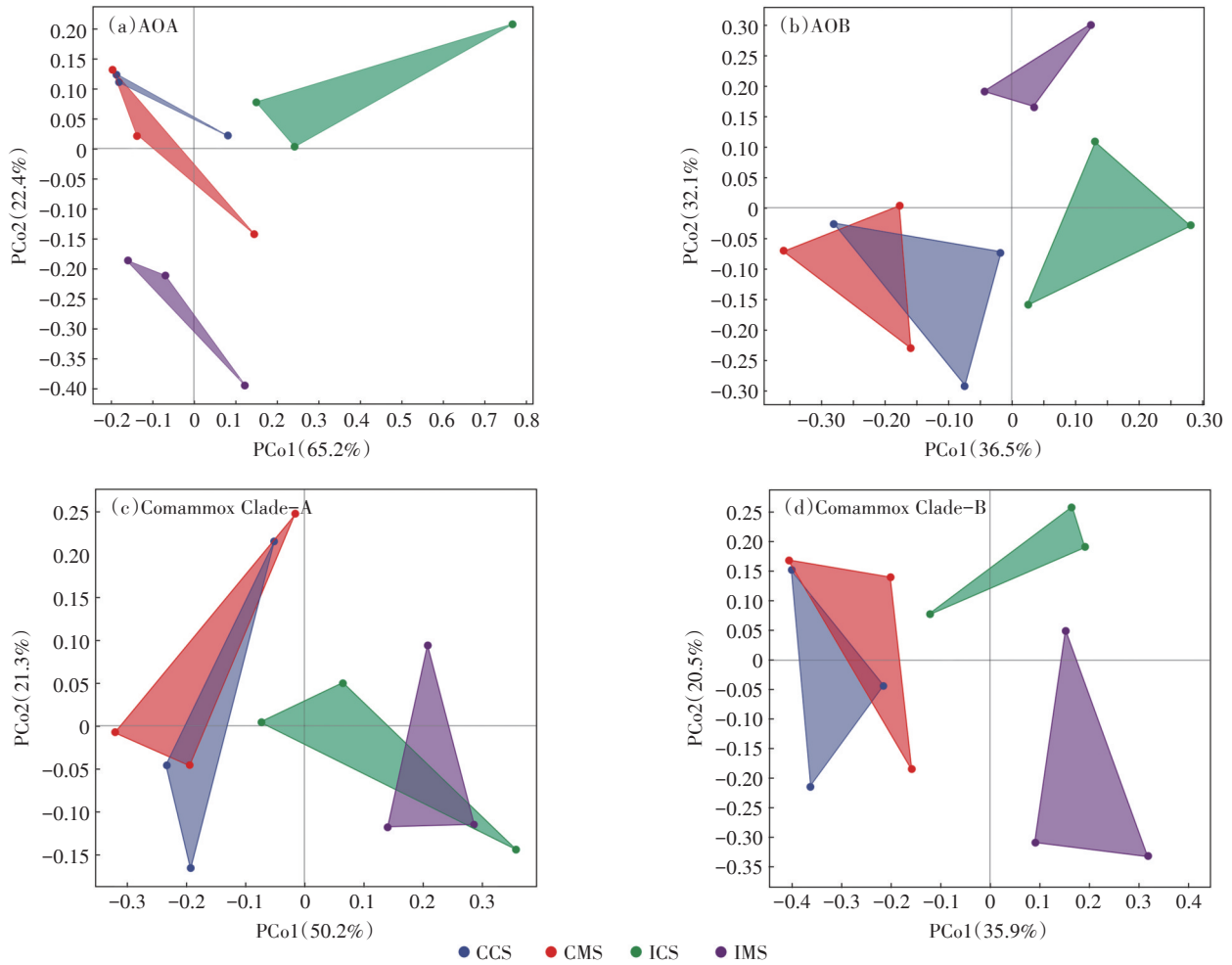


图4 土壤氨氧化微生物主坐标分析

Figure 4 Principal coordinate analysis of soil ammonia-oxidizing microbes

表2 各处理之间群落差异P值(PerMANOVA)

Table 2 P-values for community differences among various treatments(PerMANOVA)

项目 Item	IMS	CCS	CMS	
CCS	AOA	0.017		
	AOB	0.016		
	Comammox Clade-A	0.021		
	Comammox Clade-B	0.025		
CMS	AOA	0.010	0.293	
	AOB	0.005	0.896	
	Comammox Clade-A	0.012	0.819	
	Comammox Clade-B	0.011	0.594	
ICS	AOA	0.001	0.011	0.589
	AOB	0.032	0.008	0.812
	Comammox Clade-A	0.462	0.015	0.533
	Comammox Clade-B	0.022	0.007	0.617

氧化微生物。因为本试验长期处在淹水状态,土壤含氧量较低,而AOA更适应在低氧环境中生存<sup>[19]</sup>。在本研究中,相较于常规稻田处理,稻鳢种养模式提高了AOA、Comammox Clade-A和Comammox Clade-B的丰富度,降低了AOB的丰富度,需要注意的是,这种影响在中心区域和边缘区域之间没有显著差异。稻鳢种养模式的中心区域相比于常规稻田处理提高了AOA的群落多样性,降低了AOB的群落多样性。虽然水稻土壤长期处于淹水状态,但黄鳢的活动会增加土壤的通气性,而氨氧化微生物属于好氧菌,所以其活动一定程度上促进了氨氧化微生物的生长<sup>[20]</sup>。基因组分析发现,AOB存在着一段Rh型铵转运蛋白(Rh-type ammonium transporter)基因,相比于AOA中发现的MEP型铵转运蛋白(MEP-type ammonia transporters),Rh型铵转运蛋白对铵的亲合力较低<sup>[21]</sup>。而在本研究中,稻鳢种养模式并没有显著提高土壤速效氮含



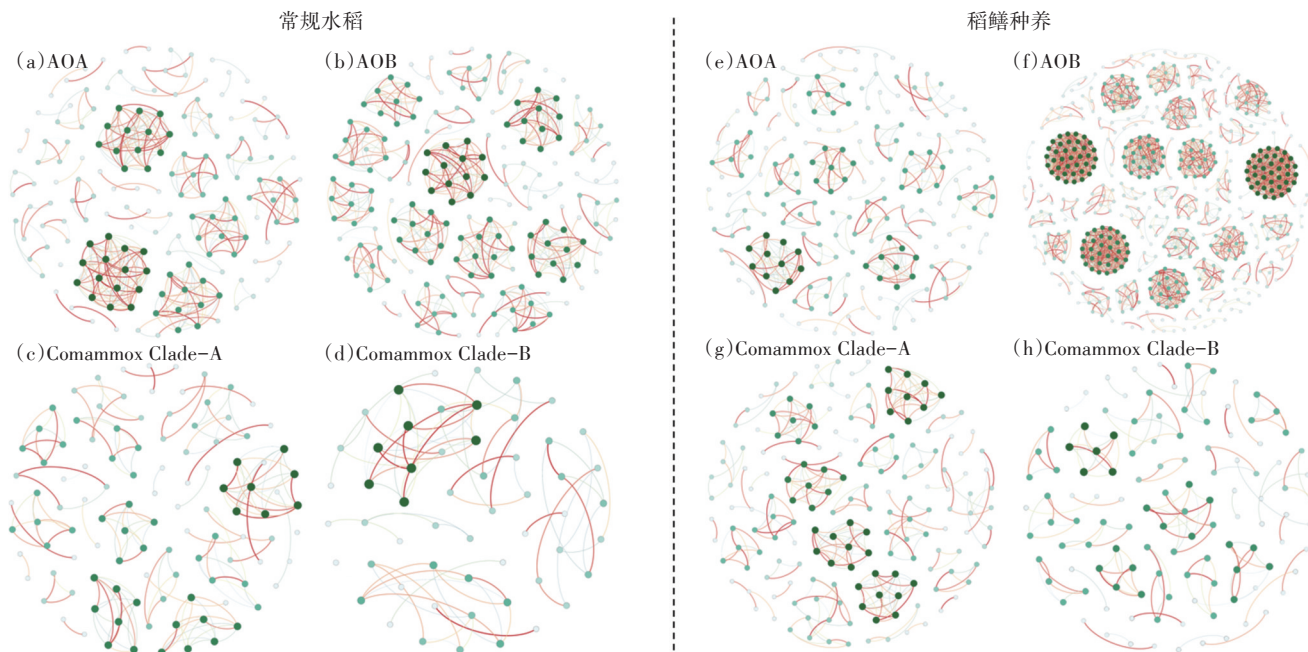


图5 土壤氨氧化微生物共现网络图

Figure 5 Co-occurrence network of soil ammonia-oxidizing microorganisms

表3 土壤氨氧化微生物拓扑结构

Table 3 Topological structures of soil ammoxidation microorganisms

氨氧化微生物 Ammonia-oxidizing microorganism	节点 Number of nodes		边数 Number of edges		模块化度 Modularity	
	常规 水稻	稻鳢 种养	常规 水稻	稻鳢 种养	常规 水稻	稻鳢 种养
	AOA	163	206	414	348	0.867
AOB	188	551	535	3 526	0.925	0.890
Comammox Clade-A	109	169	174	299	0.919	0.934
Comammox Clade-B	55	117	80	139	0.836	0.951

量,故一定程度上影响了AOB的丰富度和多样性。

土壤理化性质和生物相互作用是塑造各种生态系统中微生物群落的主要因素。土壤理化性质对氨氧化微生物的群落丰度和多样性的变化有着直接或间接的影响<sup>[22-23]</sup>。土壤pH是氨氧化微生物群落的重要驱动因素,影响土壤养分的含量和有效性以及微生物的生长和活性<sup>[24]</sup>。本研究中土壤pH的范围在7.68~7.97,与AOA和Comammox Clade-A的Chao1指数呈显著负相关。这与氨氧化微生物对pH的响应机制有关,AOA和Comammox依靠对钾的吸收,产生反向膜电位,从而在酸性土壤中维持体内pH平衡,表现出对pH的耐受性<sup>[25]</sup>。土壤速效氮含量也是影响氨氧化微生物丰度的重要环境因子,一般认为,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N是

氨氧化微生物代谢的直接底物<sup>[26]</sup>。Kits等<sup>[27]</sup>的研究表明,Comammox的氨半饱和常数( $K_m(NH_3)$ ) $\approx 63$  nmol, AOA的 $K_m(NH_3)$  $\approx 0.13$   $\mu$ mol, AOB的 $K_m(NH_3)$  $\approx 0.14$ ~1.90 mmol。AOB的 $K_m(NH_3)$ 更大,表明其对氨氮的耐受性较高,因此通常AOB的丰度与NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量呈正相关,这与以往的研究结论一致<sup>[28]</sup>。本研究未测定土壤NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量,但由于稻田长期淹水,导致土壤中的NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N在土壤速效氮含量中占比较高,所以速效氮含量在一定程度上反映出土壤NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量,因此在相关性分析中,速效氮与AOB的Chao1指数呈显著正相关,与AOA和Comammox的Chao1指数呈负相关。土壤的硝化作用是将土壤中的氮素转化为硝酸盐的过程,其中土壤硝化势是衡量这个过程的重要指标。而氨氧化微生物群落的多样性是影响土壤硝化势的重要因素<sup>[28]</sup>。在本研究中,AOA和Comammox的群落多样性与土壤硝化势呈显著正相关,而AOB的群落多样性与土壤硝化势呈显著负相关。这表明AOA和Comammox能够促进土壤的硝化速率,而AOB则可能抑制了土壤的硝化速率。这是由于与AOB相比,AOA和Comammox更适宜在缺氧的环境中生存,从而对土壤硝化势有促进作用<sup>[29]</sup>。

氨氧化微生物的 $\beta$ 多样性和共现网络是研究氨氧化微生物群落结构重要的工具和方法,能够揭示氨氧化微生物群落的组成差异和相互作用模式<sup>[30-31]</sup>。

本研究中,与常规稻田处理相比,稻鳢种养模式显著改变了氨氧化微生物群落结构,并且在稻田中心区域和沟渠边缘区域均加强了氨氧化微生物网络的模块化度。模块化度是微生物网络分析中常用的一种度量指标。通常情况下,模块化度越高,说明微生物网络内部关联越紧密,发育程度越完善<sup>[32-33]</sup>。稻鳢种养模式增加了氨氧化微生物群落的信息和能量交流,使其拥有更紧密的内部连接,这可能是因为黄鳢的活动加速了土壤中养分的释放和通气状况,从而直接或间接改变了氨氧化微生物群落和网络结构。

本研究为理解稻鳢种养结合对土壤氨氧化微生物群落的影响提供了理论依据,未来需要进一步研究不同农业管理措施对土壤氨氧化微生物群落的影响机制及不同氨氧化微生物之间的关系,为优化农业管理提供科学依据。

#### 4 结论

(1)与常规稻田处理相比,稻鳢种养模式显著降低了土壤pH,减小了中心区域和边缘区域之间的有机质与总氮含量差异,使土壤养分分布更加均匀,并增加了土壤硝化势,促进了土壤氮循环。

(2)与常规稻田处理相比,稻鳢种养模式显著提高了AOA、Comammox Clade-A和Comammox Clade-B的丰富度,显著降低了AOB的丰富度;同时,显著提高了边缘区域AOA的群落多样性,但降低了边缘区域AOB的群落多样性;

(3)土壤pH、有机质和速效氮是影响土壤氨氧化微生物群落的关键环境因子;AOA和Comammox群落促进了土壤硝化势,而AOB抑制了土壤硝化势。

(4)共现网络分析显示稻鳢种养模式显著改变了氨氧化微生物群落结构,加强了氨氧化微生物群落之间的信息交流,拥有更紧密的内部连接。

#### 参考文献:

- [1] BEECKMAN F, MOTTE H, BEECKMAN T. Nitrification in agricultural soils: impact, actors, and mitigation[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2018, 50: 166-173.
- [2] 黄容,高明,王莹燕,等.紫色土N<sub>2</sub>O排放及氨氧化微生物群落结构对玉米秸秆与化肥减量配施的响应[J]. *环境科学*, 2019, 40(1): 401-411. HUANG R, GAO M, WANG Y Y, et al. Response of the soil N<sub>2</sub>O emission and ammonia-oxidizing microorganism community to the maize straw return with reducing fertilizer in purple soil[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(1): 401-411.
- [3] KÖNNEKE M, BERNHARD A E, DE LA TORRE J R, et al. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon[J]. *Nature*, 2005, 437(7058): 543-546.
- [4] VAN KESSEL M A H J, SPETH D R, ALBERTSEN M, et al. Complete nitrification by a single microorganism[J]. *Nature*, 2015, 528(7583): 555-559.
- [5] DAIMS H, LEBEDEVA E V, PJEVAC P, et al. Complete nitrification by nitrospira bacteria[J]. *Nature*, 2015, 528(7583): 504-509.
- [6] WANG Y, MA L, MAO Y, et al. Comammox in drinking water systems [J]. *Water Research*, 2017, 116: 332-341.
- [7] WANG J, WANG J, RHODES G, et al. Adaptive responses of comammox nitrospira and canonical ammonia oxidizers to long-term fertilizations: implications for the relative contributions of different ammonia oxidizers to soil nitrogen cycling[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 668: 224-233.
- [8] 宋亚娜,林智敏,林捷.不同品种水稻土壤氨氧化细菌和氨氧化古菌群落结构组成[J]. *中国生态农业学报*, 2009, 17(6): 1211-1215. SONG Y N, LIN Z M, LIN J. Composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea communities in paddy soils of different rice cultivars[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, 17(6): 1211-1215.
- [9] 马微微,陈灿,黄璜,等.垄作稻鱼鸡共生对稻田土壤养分含量及水稻产量的影响[J]. *河南农业科学*, 2021, 50(8): 9-17. MA W W, CHEN C, HUANG H, et al. Effect of rice-fish-chicken symbiosis on paddy soil nutrient and rice yield under ridge cultivation[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2021, 50(8): 9-17.
- [10] 周榆淇,邹冬生,王安崇,等.长期淹水条件下稻鱼复合种养对土壤养分和酶活性的影响[J]. *农业现代化研究*, 2022, 43(5): 911-920. ZHOU Y Q, ZOU D S, WANG A D, et al. Effects of rice-fish integrated farming on soil nutrients and enzyme activities under long-term flooding[J]. *Research of Agricultural Modernization*, 2022, 43(5): 911-920.
- [11] ZHENG X, SONG K, LI S, et al. Effects of long-term integrated agri-aquaculture on the soil fungal community structure and function in vegetable fields[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 10813.
- [12] 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.
- [13] CHU X Q, BAI N L, ZHENG X Q, et al. Effects of straw returning combined with earthworm addition on nitrification and ammonia oxidizers in paddy soil[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1069554.
- [14] 王强盛,黄丕生,甄若宏,等.稻鸭共作对稻田营养生态及稻米品质的影响[J]. *应用生态学报*, 2004, 15(4): 639-645. WANG Q S, HUANG P S, ZHEN R H, et al. Effect of rice-duck mutualism on nutrition ecology of paddy field and rice quality[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(4): 639-645.
- [15] 王强盛,王晓莹,杭玉浩,等.稻田综合种养结合模式及生态效应[J]. *中国农学通报*, 2019, 35(8): 46-51. WANG Q S, WANG X Y, HANG Y H, et al. Combination modes and ecological effects of planting-breeding ecosystem in rice field[J]. *Chinese Agricultural Science*

- Bulletin*, 2019, 35(8):46-51.
- [16] LI W, HE Z, WU L, et al. Impacts of co-culture of rice and aquatic animals on rice yield and quality: a meta-analysis of field trials[J]. *Field Crops Research*, 2022, 280:108468.
- [17] 袁泉, 吕巍巍, 黄伟伟, 等. 稻-鳝综合种养氮肥减量效应研究[J]. *江西农业学报*, 2021, 33(6):43-48. YUAN Q, LÜ W W, HUANG W W, et al. Study on effect of reducing nitrogen fertilizer on rice-eel co-culture model[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2021, 33(6):43-48.
- [18] HU J, ZHAO Y, YAO X, et al. Dominance of comammox nitrospira in soil nitrification[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 780:146558.
- [19] BOUSKILL N J, EVEILLARD D, CHIEN D, et al. Environmental factors determining ammonia-oxidizing organism distribution and diversity in marine environments[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(3):714-729.
- [20] FANG S, NAN H, LV D, et al. Effects of sulfoxafloer on greenhouse vegetable soil N<sub>2</sub>O emissions and its microbial driving mechanism[J]. *Chemosphere*, 2021, 267:129248.
- [21] LI C, HE Z Y, HU H W, et al. Niche specialization of comammox nitrospira in terrestrial ecosystems: oligotrophic or copiotrophic?[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2023, 53(2):161-176.
- [22] YANG F, CHEN Q, ZHANG Q, et al. Keystone species affect the relationship between soil microbial diversity and ecosystem function under land use change in subtropical China[J]. *Functional Ecology*, 2021, 35(5):1159-1170.
- [23] PALIT K, RATH S, CHATTERJEE S, et al. Microbial diversity and ecological interactions of microorganisms in the mangrove ecosystem: threats, vulnerability, and adaptations[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29(22):32467-32512.
- [24] ZHOU Z, YU M, DING G, et al. Effects of *Hedysarum leguminosus* plants on soil bacterial communities in the Mu Us Desert, northwest China[J]. *Ecology and Evolution*, 2020, 10(20):11423-11439.
- [25] XU S, WANG B, LI Y, et al. Ubiquity, diversity, and activity of comammox nitrospira in agricultural soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 706:135684.
- [26] CHEN M, HUANG Y, WANG C, et al. The conversion of organic nitrogen by functional bacteria determines the end-result of ammonia in compost[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 299:122599.
- [27] KITS K D, SEDLACEK C J, LEBEDEVA E V, et al. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle[J]. *Nature*, 2017, 549(7671):269-272.
- [28] 朱飞, 李文波, 田磊, 等. 土地利用类型对土壤氨氧化微生物丰度和群落结构的影响[J]. *山东农业科学*, 2023, 55(9):79-86. ZHU F, LI W B, TIAN L, et al. Effects of land use types on abundance and community structure of soil ammonia-oxidizing microorganisms[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2023, 55(9):79-86.
- [29] MENG C, WU M, YANG L, et al. Rational utilization of urease and nitrification inhibitors improve the ammonia-oxidizing bacteria community, nitrogen use efficiency and peanut growth[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2023, 69(14):2938-2955.
- [30] ZHAO Y, HU J, YANG W, et al. The long-term effects of using nitrite and urea on the enrichment of comammox bacteria[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 755:142580.
- [31] CAO X, ZHAO D, XU H, et al. Heterogeneity of interactions of microbial communities in regions of Taihu Lake with different nutrient loadings: a network analysis[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8:8890.
- [32] YE Z, LI J, WANG J, et al. Diversity and co-occurrence network modularization of bacterial communities determine soil fertility and crop yields in arid fertigation agroecosystems[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2021, 57(6):809-824.
- [33] MEDRIANO C A, CHAN A, DE SOTTO R, et al. Different types of land use influence soil physiochemical properties, the abundance of nitrifying bacteria, and microbial interactions in tropical urban soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 869:161722.

(责任编辑:李丹)