

doi: 10.7541/2024.2024.0135

CSTR: 32229.14.SSSWXB.2024.0135

稻虾综合种养对土壤肥力及微生物群落的影响

许元钊¹ 宋庆洋² 王辉² 易建华² 毕永红³ 米武娟³ 宋高飞³

(1. 生态环境部长江流域生态环境监督管理局生态环境监测与科学研究中心, 武汉 430010; 2. 农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室, 宜昌 443003; 3. 中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072)

摘要: 为探究稻虾综合种养[Integrated rice-crayfish (*Procambarus clarkii*) culture, IRCC]对土壤肥力及微生物群落的具体影响, 研究比较了水稻单作(Traditional rice field, TRF)及综合种养年限分别为2、4、6和10年的稻田土壤理化性状、微生物多样性及其碳代谢能力。结果表明: 在IRCC模式下, 稻田土壤肥力得到提升, 土壤中总碳、总氮、硝态氮、氨态氮、亚硝态氮及速效磷含量高于TRF模式, 且土壤肥力存在空间差异, 表现为养殖环沟(Trench of rice-crayfish field, TRC)大于耕作区(Paddy of rice-crayfish field, PRC); 其中总碳、有机碳、总氮、氨态氮、亚硝态氮和总磷含量随着综合种养年限的延长而增加, 硝态氮和速效磷含量随种养年限增加先升高后下降; 不同种养年限的土壤微生物数量无显著差异, 但其微生物多样性指数随种养年限的增加而减小; 土壤中微生物对碳源的利用能力存在空间和时间差异性, 表现为PRC大于TRC, PRC中微生物碳源利用能力排序为 $AWCD_{PRC-2} > AWCD_{TRF} > AWCD_{PRC-4} > AWCD_{PRC-6} > AWCD_{PRC-10}$, TRC中微生物碳源利用能力排序为 $AWCD_{TRC-4} > AWCD_{TRC-2} > AWCD_{TRC-6} > AWCD_{TRC-10}$ 。以上研究结果表明: 短期(<4年)持续的稻虾综合种养模式可以提升稻田土壤肥力、提高微生物多样性及其碳源利用能力, 但长期的稻虾综合种养会降低土壤中的有效养分含量和微生物碳利用活性。研究结果为稻虾综合种养模式的科学管理和可持续发展提供参考依据。

关键词: 稻虾综合种养; 种养年限; 土壤肥力; 微生物群落; 碳源利用能力; 克氏原螯虾

中图分类号: S154 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2024)12-2018-11



发展种养结合循环农业, 构建形成以绿色生态为导向的农业补偿制度, 是实现我国农业绿色发展的重要内容^[1]。稻渔综合种养作为典型的复合生态农业, 可以有效利用水产品与水稻互利共生的生态优势, 充分利用土地资源、增加经济产出并改善稻田生态环境^[2,3]。稻虾综合种养即克氏原螯虾稻田养殖模式, 作为当前我国最大的稻渔综合种养模式, 在长江中下游城市得到广泛推广^[4]。稻虾综合种养模式充分利用了季节性闲置土地, 显著提高了土地利用率和稻田经济效益^[5]; 另一方面, 由于引入克氏原螯虾养殖, 其取食、排泄、打洞等活动明显改变了稻田土壤的生化循环和生态结构^[6-8]。土壤通过接纳大量排泄物、残饵等, 有效提高了土壤全量养分、速效养分和有机质含量, 且不同土层养分得到

不同程度的改变^[9-14]。因此, 稻虾综合种养有着明显的经济、生态和社会效益。但Li等^[15]认为长期稻虾综合种养模式会破坏土壤磷肥供给能力, 梁以豪等^[16]认为稻虾种养模式降低了土壤DOM的腐殖化程度和芳香性物质组成。截然不同的研究结果显示该养殖模式仍然存在着巨大的争议, 有必要开展进一步的研究。

土壤微生物作为生态系统的重要组成部分, 与土壤肥力有着密切的关系, 其物种多样性及群落结构的改变能直接反映土壤肥力的变化, 常被用作土壤肥力评价的生物指标^[17-19]。克氏原螯虾在稻田和环沟中的活动行为会影响土壤微生物种群动态变化^[5]。Zhang等^[8]的研究表明在稻虾综合种养模式下, 稻田微生物群落的结构和功能发生了改变。

收稿日期: 2024-04-02; 修订日期: 2024-07-02

基金项目: 湖北省中国科学院科技合作专项资助 [Supported by the Hubei Province Chinese Academy of Sciences Science and Technology Cooperation Special Support]

作者简介: 许元钊(1994—), 男, 硕士研究生; 研究方向为流域水生态监测与评价。E-mail: 18507193917@163.com

通信作者: 宋高飞(1985—), 女, 博士; 研究方向为水域生态学。E-mail: song@ihb.ac.cn

并且稻虾综合种养模式土壤具有更高的微生物活性与群落功能多样性^[20]。朱秀秀等^[21]研究发现长期稻虾综合种养使土壤细菌群落组成得到改变, 深层土壤细菌物种丰富度和多样性得到提高。也有研究发现稻虾共作模式使稻田土壤 *nirK* 和 *nosZ* 基因微生物的丰富度指数显著提高, 但对其多样性指数影响不显著^[22, 23]。上述研究均确认稻虾综合种养可在一定程度上改变土壤微生物群落进而影响其功能, 但具体的效应及对土壤肥力的影响则没有一致的结论, 因此, 有必要进行深入研究。

湖北省稻虾综合种养发展迅速, 2023年其总面积约60万公顷, 集中分布在位于长江中游的江汉平原地区^[24, 25]。本研究全面分析江汉平原稻虾综合种养模式下不同种养年份土壤的理化性状、微生物多样性及其碳代谢能力, 探讨稻虾综合种养不同年限对土壤理化性质和微生物群落的具体影响, 为稻虾综合种养模式的健康、可持续发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

研究区概况 研究区位于湖北省荆州市的积玉口、熊口、汉河三镇(图 1), 具体采样点位见表 1。所研究区域地处江汉平原中心地区, 属亚热带

季风气候, 年平均降水量约为1100—1300 mm, 其中4—7月约占全年降水量的70%。农业土壤类型为湖积物发育而成的潮土性水稻土。

样品的采集 试验于2018年11月在研究区选取15块田进行研究, 其中水稻单作田3块, 不同种养年限(2a、4a、6a和10a)的稻虾综合种养田各3块。水稻单作田同样视为IRCC种养年限为0的田块, 在IRCC的耕作区(PRC)和环沟(TRC)中设置采样点采集样品, 同一田块多点样本等量混合均匀后取样(图 2)。稻虾综合种养2年的耕作区及环沟样品分别标记为PRC-2和TRC-2, 其他样品同理。取耕作区样品200 g左右置于无菌密封样品袋中, 冰箱4℃保存; 另取约10 g置于无菌试管中, 液氮速冻, 带回实验室后放入-80℃冰箱备用。取环沟样品500 g左右置于无菌密封样品袋中, 冰箱4℃保存; 另取约10 g置于无菌试管中, 液氮速冻, 放入-80℃冰箱备用。具体取样方法详见文献[26]。

1.2 测定方法

理化参数测定 采用土壤水分测定仪测量土壤的含水率(Moisture content, MC), 采用电导率仪测量土壤的电导率(Conductivity, Cond), 采用玻璃电极pH仪测量土壤pH。按照《土壤农化分析》测定总氮(Total nitrogen, TN)、氨态氮(Ammoniacal nitrogen, $\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝态氮(Nitrate nitrogen, $\text{NO}_3^-\text{-N}$)

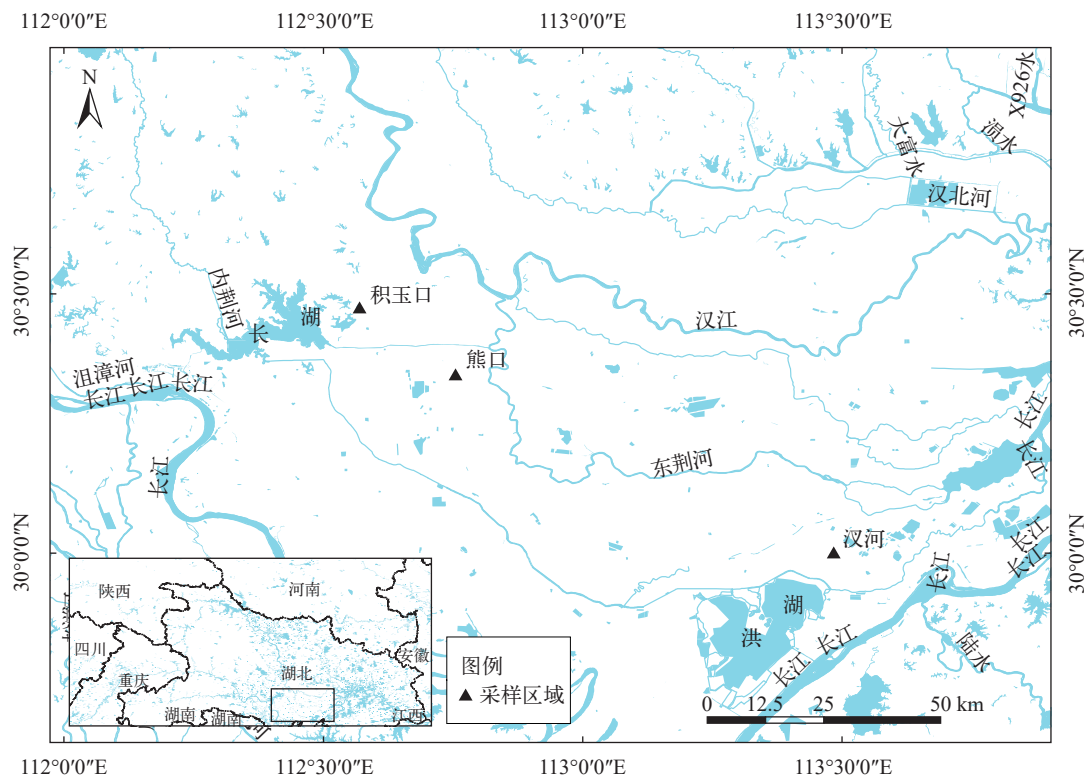


图 1 研究区域概况图

Fig. 1 Schematic overview of study area

表1 不同采样点位经纬度

种养模式及时间 Farming modes and time	经度E Longitude	纬度N Latitude
水稻单作TRF	113.4965°	29.9908°
稻虾综合种养2a IRCC-2	113.4919°	29.9945°
稻虾综合种养4a IRCC-4	113.4889°	29.9926°
稻虾综合种养6a IRCC-6	112.5809°	30.4716°
稻虾综合种养10a IRCC-10	112.5755°	30.4657°

N)、亚硝态氮(Nitrite nitrogen, NO_2^- -N)、总磷(Total phosphorus, TP)、速效磷(Rapidly available phosphorus, AP)、总碳(Total carbon, TC)和总有机碳(Total organic carbon, TOC)等^[27]。

土壤微生物检测 土壤可浸提的微生物通过DAPI进行染色,用流式细胞仪(FACS verse, BD)在360 nm激发波长和460 nm发射波长进行计数^[28]。

采用高通量测序技术(Illumina Hiseq)对土壤微生物样品群落组成进行分析, DNA提取后构建PCR扩增文库,具体步骤参考文献[8]。测序得到的序列经QIIME筛选后,用SILVA132数据库以97%为最低支持阈值对序列进行比对。

基于Biolog-ECO测试板(ECO MicroPlate, USA)进行微生物群落功能分析。具体方法见文献[26]。

1.3 数据处理与统计分析

数据采用EXCEL2016和SPSS 19.0软件进行统计分析。

通过土壤养分指标权重结合加法模型计算土壤养分综合指数(I),具体公式:

$$I = \sum F_i \times W_i$$

式中, I 代表地块养分综合指数, F_i 表示第*i*个指标评分值, W_i 表示第*i*个指标的权重。 $0 \leq I < 30$ 等级为极低, $30 \leq I < 50$ 等级为低, $50 \leq I < 75$ 等级为中, $75 \leq I < 95$ 等级为高, $95 \leq I \leq 100$ 等级为极高。

Biolog-ECO法测定微生物代谢功能多样性时,

不同时刻微生物对碳源代谢的总体利用情况用平均吸光度(Average Well Color Development, AWCD)表示,计算方法:

$$\text{AWCD} = \sum (C_i - R) / n$$

式中, C_i 为第*i*个非对照孔的吸光值, R 为对照孔的吸光值, n 为31,即培养基碳源种类数。

采用Shannon-Wiener多样性指数(H')、Pielou均匀度指数(J)、Simpson优势度指数(D)对微生物多样性进行分析评价^[26]。

经检验实验数据符合正态分布且方差齐后,利用方差分析检验不同采样点土壤理化性质及微生物AWCD之间差异;利用主成分分析对微生物群落碳利用能力进行差异显著性检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 稻虾综合种养年限对土壤肥力的影响

土壤理化性状 通过测定TRF、IRCC模式下不同种养年份PRC和TRC土壤的理化指标(表2),结果显示土壤pH在6.54—7.78,其中PRC的pH随种养年限增加而升高,除PRC-10外均低于TRC;不同种养年限TRC的pH均高于TRF。不同种养年限土壤的Cond在1.82—2.16 mS/cm,随种养年限的增加PRC、TRC的Cond逐渐升高。不同种养年限土壤的MC在30%—55%,表现为 $\text{MC}_{\text{TRC}} > \text{MC}_{\text{PRC}} > \text{MC}_{\text{TRF}}$ 。

土壤碳氮磷的含量 如图3A和3B所示,随种养年限的增加,PRC、TRC的土壤TC、TOC含量逐渐升高,在PRC-10达到最高值,分别为 (28.47 ± 0.70) 和 (20.86 ± 0.48) g/kg。PRC-2、PRC-4和TRC-2、TRC-4 TC与TRF的TC无显著差异($P > 0.05$),PRC-6、PRC-10和TRC-6、TRC-10的TC含量显著高于TRF($P < 0.05$),且TRC-6与TRC-10的TC含量无显著差异($P > 0.05$)。不同类型土壤有机碳含量表现为 $\text{TOC}_{\text{PRC}} > \text{TOC}_{\text{TRC}} > \text{TOC}_{\text{TRF}}$ ($P < 0.05$);随种养年限的

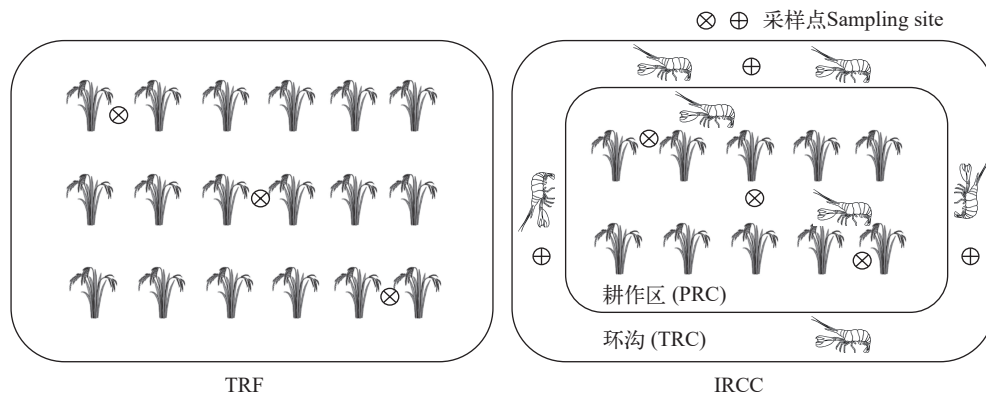


图2 采集样点示意图

Fig. 2 Schematic of sampling point

增加, PRC和TRC土壤TOC含量逐渐增加, 其中除TRC-2中土壤TOC含量低于TRF ($P<0.05$)外, 其他均高于TRF。

土壤中TN、 NH_4^+ -N和 NO_2^- -N含量随种养年限逐渐升高, 最高值分别为 (3.01±0.25) g/kg (TRC-10)、(50.79±2.12) mg/kg (TRC-6)、(0.55±0.10) mg/kg (TRC-10)(图 3C、3E和3F)。除PRC-2土壤TN含量略高于TRC-2外, 其他种养年限稻田的土壤TN、 NH_4^+ -N以及 NO_2^- -N含量表现为TRC大于PRC ($P<0.05$)。其中, PRC-2、TRC-2土壤TN和 NO_2^- -N含量与TRF无显著差异($P>0.05$), PRC-2、PRC-4、PRC-10土壤TN含量与TRC-2、TRC-4、TRC-10无显著差异($P>0.05$), PRC-2、PRC-10的 NO_2^- -N含量与TRC-2、TRC-10无显著差异($P>0.05$)。

随种养年限的增加, PRC中 NO_3^- -N含量迅速降低, TRC中 NO_3^- -N含量先增加后降低, 且PRC与TRC差异逐渐减小, 最高值出现在TRC-2 (7.75±2.54) mg/kg (图 3D)。除PRC-10外, PRC土壤中 NO_3^- -N含量均低于TRF、TRC ($P<0.05$); TRC-2、TRC-4显著高于TRF ($P<0.05$), TRC-6、TRC-10与TRF差异不显著 ($P>0.05$)。

土壤TP含量随种养年限逐渐增加, AP含量则呈现先增加后降低的趋势(图 3G和3H)。不同种养年限PRC、TRC土壤TP含量与TRF无显著差异 ($P>0.05$)。PRC-2、PRC-4和TRC-2、TRC-4、TRC-6土壤AP含量显著高于TRF($P<0.05$), PRC-6、PRC-10和TRC-10与TRF差异不显著($P>0.05$)。

土壤养分综合指数(I)随综合种养年限增加而逐渐升高, 在综合种养第0和2年为中营养状态, 在第4、第6和第10年为高营养状态(图 4)。

2.2 土壤微生物群落结构与功能

微生物群落组成 如图 5所示, 不同种养年限稻田土壤微生物数量在同一个数量级, 且经统计检验无显著差异($P>0.05$)。

根据物种比对结果, 图 6展示了丰度占前15的优势土壤微生物类群的相对丰度, 其中变形菌 Proteobacteria、酸杆菌 Acidobacteria、绿弯菌 Chloroflexi、放线菌 Actinobacteria在土壤中占绝对优势。变形菌相对丰度随种养年限的增加逐渐增加, 放线菌的相对丰度则逐渐减少。

土壤微生物的碳源利用能力及Alpha多样性

平均吸光度(AWCD)反映了土壤微生物群落对31种碳源的利用能力和代谢活性的变化。图 7显示, AWCD随微生物培养时间的延长而增加, 0—72h迅速增加, 96h后增长趋于平稳。结果表明随种养年限增加, 土壤微生物对碳源利用能力先升高后降低, PRC土壤微生物碳利用能力整体高于TRC, 具体为 $\text{AWCD}_{\text{PRC-2}}>\text{AWCD}_{\text{TRF}}>\text{AWCD}_{\text{PRC-4}}>\text{AWCD}_{\text{PRC-6}}>\text{AWCD}_{\text{PRC-10}}>\text{AWCD}_{\text{TRC-4}}>\text{AWCD}_{\text{TRC-2}}>\text{AWCD}_{\text{TRC-6}}>\text{AWCD}_{\text{TRC-10}}$ 。

表 3显示 AWCD_{72} 与 H 随种养年限的增加逐渐降低, 其中TRC-2和TRC-4的土壤微生物 AWCD_{72} 与TRF无显著差异($P>0.05$), PRC-2和PRC-4的土壤微生物优势度指数与TRF无显著差异($P>0.05$)。随种养年限的增加, AWCD_{72} 和 H 逐渐降低。

通过 AWCD_{72} 值对微生物碳利用能力进行主成分分析(图 8), 得到7个特征值 >1 的主成分, 发现不同种养年限土壤微生物群落碳利用能力差异较大。通过主成分与6大类31种碳源的 AWCD_{72} 进行相关性分析, 发现PC1载荷值高于0.5的碳源有18种, 包括6种糖类、5种羧酸类、4种氨基酸类、2种胺类和1种酚类。由此可以看出, 各样点的差异主要在于土壤微生物对糖类、羧酸类和氨基酸类等碳源的利用能力。

通过比较168h土壤样品6大类碳源C-R值, 发现PRC-2和TRC-2土壤微生物具有最高的6类碳源代谢能力, 之后随种养年限的增加土壤微生物碳代谢能力逐渐降低(图 9)。

表 2 不同种养年限土壤的理化性状(平均值±标准误, $n=3$)

Tab. 2 Physics and chemistry indices of soil for different farming times (mean±SE, $n=3$)

指标 Index	种养年限 Farming time	水稻单作TRF	稻虾综合种养 IRCC			
			2年2a	4年4a	6年8a	10年10a
pH	PRC	(7.32±0.13) ^c	(6.96±0.07) ^d	(6.54±0.06) ^c	(7.26±0.18) ^c	(7.77±0.11) ^{ab}
	TRC		(7.78±0.13) ^a	(7.77±0.16) ^{ab}	(7.62±0.10) ^{ab}	(7.55±0.16) ^b
电导率Cond (mS/cm)	PRC	(1.90±0.03) ^{cd}	(1.84±0.05) ^d	(1.82±0.01) ^d	(1.82±0.01) ^d	(2.16±0.08) ^a
	TRC		(1.90±0.02) ^{cd}	(1.95±0.05) ^c	(2.05±0.05) ^b	(2.08±0.05) ^b
含水率MC (%)	PRC	(30±2) ⁱ	(32±3) ^g	(31±1) ^h	(39±3) ^f	(42±4) ^d
	TRC		(48±3) ^c	(41±5) ^e	(53±7) ^b	(55±2) ^a

注: 同一参数不同上标字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Different superscript letters in the same parameter indicate significant differences ($P<0.05$)

3 讨论

3.1 稻虾种养年限对土壤肥力的影响

稻田养殖水产动物会改变土壤的理化性质,而土壤肥力水平是水稻产量的重要决定因素^[18]。克氏原螯虾养殖对稻田土壤环境产生了广泛且重大

的影响,养殖稻田耕作区及环沟土壤的物理和化学性质会随克氏原螯虾的养殖发生显著变化。

稻虾综合种养田相对于水稻单作田,其土壤具有更高的MC以及TC、TN、TP及TOC含量,较低的 NO_3^- -N和 NH_4^+ -N含量。随着种养年限的增加,TRC土壤中碳、氮、磷含量总体呈上升趋势。除了常

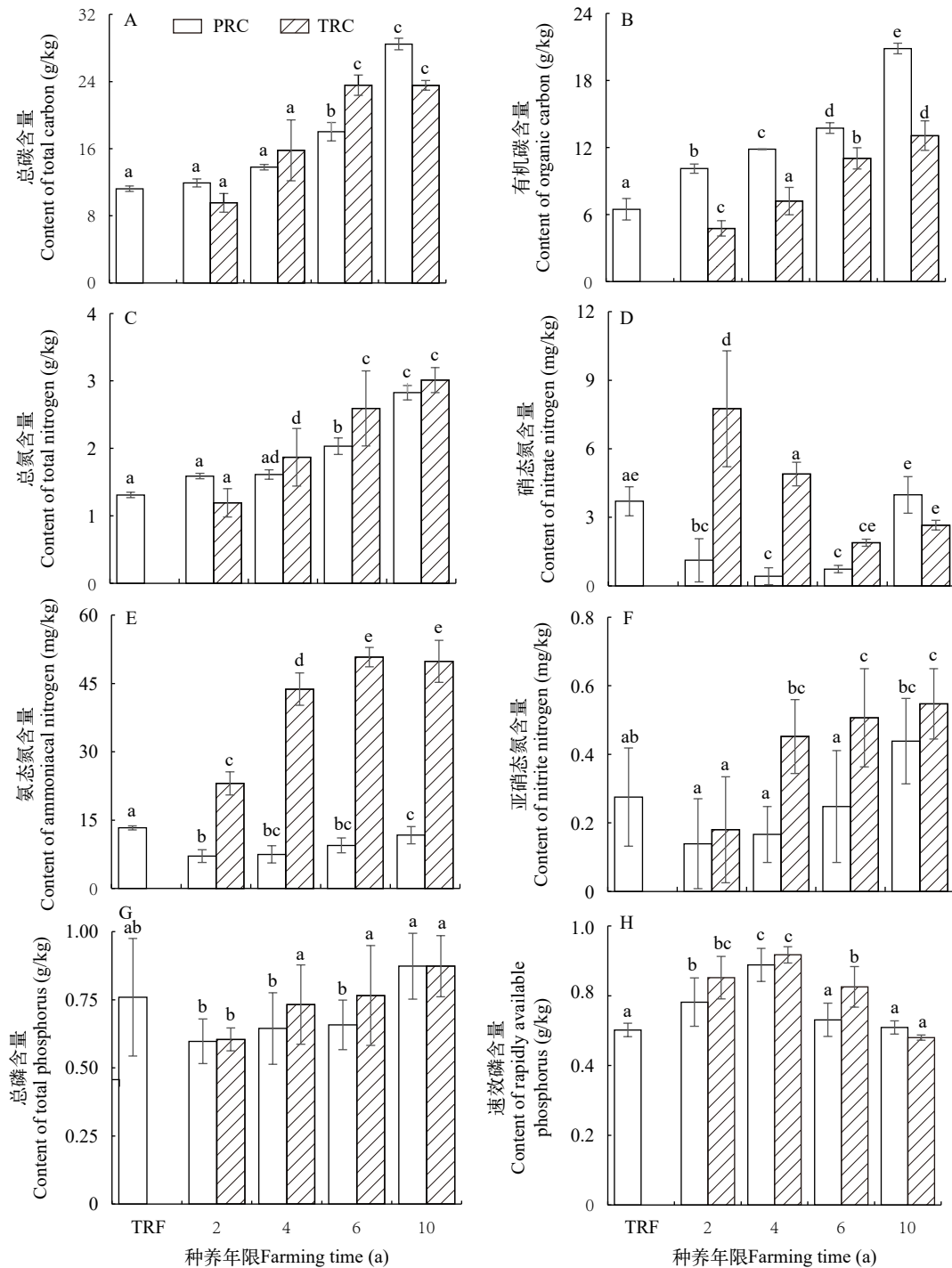


图3 不同种养年限土壤碳、氮、磷浓度

Fig. 3 The soil carbon, nitrogen, and phosphorus concentration for different farming times

不同字母表示不同种养年限或不同土壤类型差异显著, $P < 0.05$

Different letters mean significant differences in different farming times and soil types, $P < 0.05$

规施肥外, 在长期的稻虾种养模式下, 克氏原螯虾的粪便、残饵及生物碎屑等输入, 成为土壤中氮、磷等营养元素的重要补充来源^[29, 30]。与刘恩科等^[31]研究一致, 长期施肥的农田会降低土壤的代谢熵、pH和容重值, 提升土壤的MC。在IRCC中, 需在TRC抛洒石灰对稻田土壤进行消毒, 因此造成TRC土壤pH显著高于PRC。张义杰等^[32]的研究表明, 适量的生石灰处理能够减轻土壤对磷素的固定作用, 并通过化学与生物作用活化土壤中难以利用的磷素, 使其转化为可溶态, 提高磷的可利用性。而在本研究中, 土壤TP随综合种养年限的增加逐渐增加, 而AP则先增加后降低。Li等^[15]的研究支持这一发现, 在稻虾综合种养模式下, 土壤的有机质、TN、TP、铁(II)及硫化物含量和水体中的营养浓度显著提升, 但长期连续的种养可能导致有效磷含量迅速降低, 3年内增加67%, 10年后则降低78%。因此,

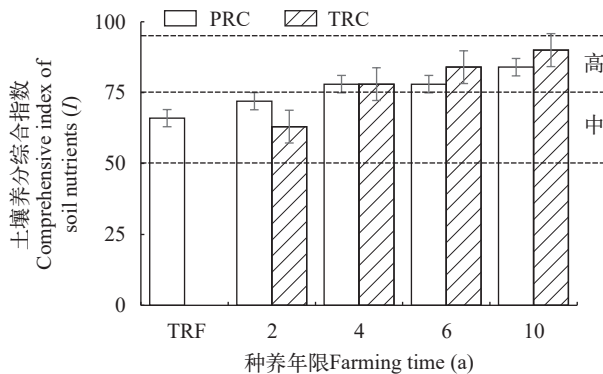


图4 不同种养年限土壤养分综合指数

Fig. 4 Comprehensive index of soil nutrients for different farming times

本研究认为在一定年限内, 稻虾综合种养模式有助于土壤肥力的维持和提升。

3.2 稻虾种养年限对土壤微生物群落结构与功能的影响

微生物在土壤养分循环与结构塑造中扮演着至关重要的角色, 其活动直接关系到土壤肥力、农作物产量及水产品的品质^[33]。长期IRCC会导致土壤微生物群落发生显著变化^[8]。本研究发现, 随着种养年限的增加, 变形菌的相对丰度逐渐增加, 放线菌具有相反的动态。在通常情况下, 变形菌和放线菌分别在厌氧和有氧的环境中分离^[34, 35]。在IRCC中长期发酵过程创造的厌氧环境似乎更有利于变形菌的增殖, 变形菌不仅是本研究第一优势类群, 也在许多稻田土壤中显示出最高的相对丰度^[36]。宋宇等^[37]的研究表明变形菌门的物种多为革兰氏阴性菌, 且多数具有固氮功能, 可增加土壤中氮素

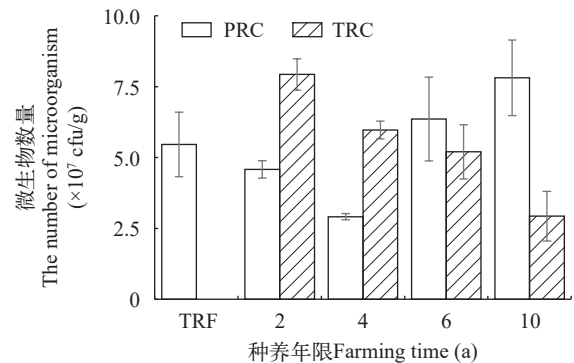


图5 不同种养年限土壤中微生物数量变化

Fig. 5 The changes of microbial quantity in soil for different farming times

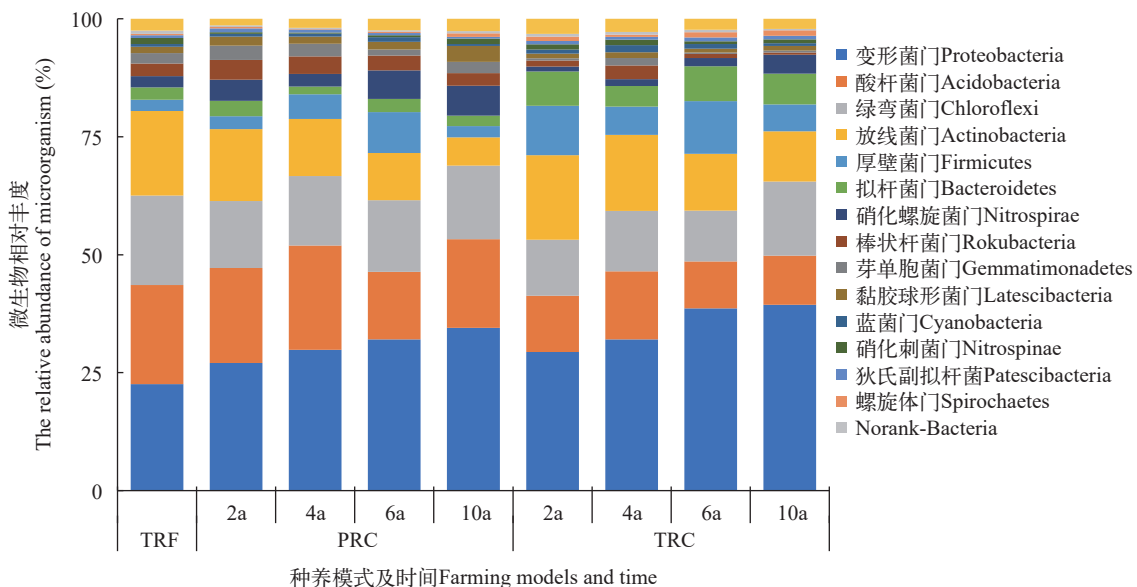


图6 不同种养年限土壤微生物的相对丰度

Fig. 6 The proportions of soil microbial community for different farming times

含量。而土壤中高比例的变形菌门有利于维持土壤肥力并促进植物生长^[38]。大多数放线菌能利用半纤维素,有效降解稻草秸秆^[39]。在IRCC土壤中,随着种养年限的增加,环境变化导致放线菌门的相对丰度下降,这将不利于放线菌对稻草的有效分解。因此,在IRCC模式下,由于种养年限的增加引起的环境变化直接导致了土壤微生物相对丰度变化。

维持高水平的微生物多样性对于提升生态服务功能及地下生态系统的结构和功能至关重要^[40-42]。研究表明,适度的IRCC种养年限能够提升土壤微生物多样性,而长期的IRCC则会导致多样性降低。IRCC模式下长期淹水和养殖活动造成了土壤的潜育化和污染,进而破坏了土壤微生物的结构并改变了其多样性。Zhang等^[8]的研究表明,IRCC模式相当于对土壤微生物施加持续干扰,且干扰程

度随种养年限的增加而增加,表现为早期竞争导致的多样性下降,中期保持较高多样性,而后期随着分类群的简化多样性降低。由此推断,适当种养年限的IRCC具有最高的土壤微生物多样性,可较好地保障生态系统的结构和功能。

微生物碳利用效率在调节土壤碳流动中扮演着关键角色,对土壤有机碳储量具有决定性影响^[43]。而土壤有机碳通过影响土壤的化学、物理和生物特性,在改善土壤质量和提高作物产量方面发挥着重要作用^[44-46]。Biolog-ECO结果显示,较短种养年限下土壤微生物对碳源的利用能力较强,而较长种养年限降低了微生物多样性及其对碳源的利用能力。这表明,在较短时间的IRCC模式下,土壤微生物的代谢活性得到了刺激,这可能是淹水增加了土壤水溶性有机碳含量,进而刺激了土壤微生物的活性。与已有研究一致,不同种养年限土壤微生物对碳源利用主成分起分异作用的碳源为糖类和酸类^[19]。糖类是微生物的重要营养来源之一,微生物较高的糖类利用能力,说明其较高的活性可带来较高的微生物数量和代谢能力,为改善土壤质量、提高作物产量奠定基础。淹水会导致土壤中酸类的大量累积,其不仅抑制水稻根系的发育、影响水稻的生长,还会被微生物作为有效的碳源转化为CH₄等温室气体^[47-49]。本研究表明,适当种养年限的IRCC土壤微生物能够快速代谢土壤中累积的酸类,这不仅有利于水稻的生长,也有助于降低温室气体的排放量。因此,适度年限的IRCC土壤微生物具有较高碳源的利用能力。

4 结论

稻虾综合种养提高了稻田土壤营养含量,导致土壤营养物质大量积累。土壤中碳、氮、磷含量随着种养年限增加总体呈上升趋势,土壤养分综合指数从中营养至高营养状态。随种养年限的增加,土壤微生物多样性指数逐渐降低,其对碳源的利用能力先上升后降低。此外,不同种养年限的土壤微生物对聚合物类、糖类、羧酸类和氨基酸类

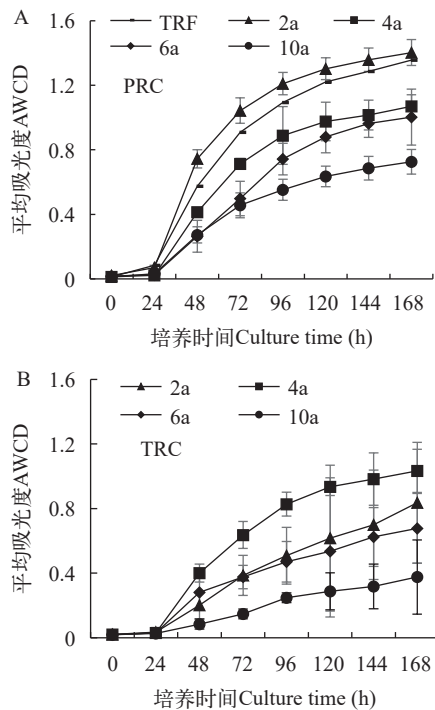


图7 不同种养年限土壤微生物对碳源利用能力

Fig. 7 The utilization capacity of soil microorganisms to carbon source for different farming times

表3 不同种养年限土壤微生物72h AWCD及功能多样性指标

Tab. 3 AWCD and functional diversity indices of soil microbial community in 72h for different farming times

指标Index	TRF	PRC-2	PRC-4	PRC-6	PRC-10	TRC-2	TRC-4	TRC-6	TRC-10
AWCD ₇₂	0.643 ^c	1.044 ^a	0.910 ^b	0.458 ^d	0.315 ^e	0.645 ^c	0.646 ^c	0.300 ^c	0.138 ^f
H'	3.147 ^b	3.169 ^a	3.184 ^a	3.030 ^c	2.760 ^f	2.955 ^c	2.981 ^d	2.766 ^f	2.586 ^e
D	0.048 ^f	0.047 ^f	0.047 ^f	0.077 ^e	0.058 ^e	0.062 ^d	0.059 ^e	0.079 ^b	0.094 ^a
J	0.751 ^b	0.793 ^a	0.805 ^a	0.562 ^e	0.714 ^e	0.711 ^c	0.680 ^d	0.530 ^f	0.531 ^f

注: 同一参数不同上标字母表示差异显著($P < 0.05$)

Note: Different superscript letters in the same parameter indicate significant differences ($P < 0.05$)

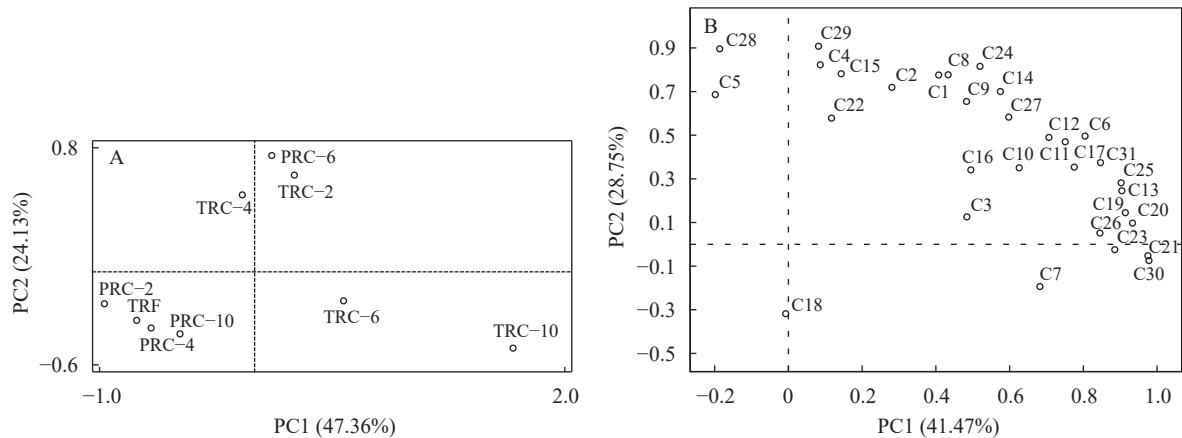


图 8 72h 各类碳源利用水平主成分分析

Fig. 8 Principal component analysis of the utilization level of various carbon-sources at 72h

A. 不同综合种养年限土壤样品主成分得分; B. 各类碳源在第一, 第二主成分的载荷分布。C1—C31 分别为 β -甲基-D-葡萄糖苷、D-半乳糖酸- γ -内酯、L-精氨酸、丙酮酸甲酯、D-木糖、D-半乳糖醛酸、L-天门冬酰胺、吐温40、i-赤藓糖醇、2-羟基苯甲酸、L-苯基丙氨酸、吐温80、D-甘露醇、4-羟基苯甲酸、L-丝氨酸、 α -环式糊精、N-乙酰-D-葡萄糖胺、 γ -羟基丁酸、L-苏氨酸、肝糖、D-葡萄糖胺酸、衣康酸、甘氨酸-L-谷氨酸、D-纤维二糖、 α -D-葡萄糖-1-磷酸、 α -丁酮酸、苯乙胺、 α -D-乳糖、D, L- α -磷酸甘油、D-苹果酸和腐胺

A. Scores of different samples for different farming times; B. Loadings of each carbon-source on the PC1 and PC2. C1. β -Methyl-D-Glucoside; C2. D-Galactonic Acid Lactone; C3. L-Arginine; C4. Pyruvic Acid Methyl Ester; C5. D-Xylose; C6. D-Galacturonic Acid; C7. L-Asparagine; C8. Tween 40; C9. i-Erythritol; C10. 2-Hydroxybenzoic Acid; C11. L-Phenylalanine; C12. Tween 80; C13. D-Mannitol; C14. 4-Hydroxybenzoic Acid; C15. L-Serine; C16. α -Cyclodextrin; C17. N-Acetyl-D-Glucosamine; C18. γ -Hydroxybutyric Acid; C19. L-Threonine; C20. Glycogen; C21. D-Glucosaminic Acid; C22. Itaconic Acid; C23. Glycyl-L-Glutamic Acid; C24. D-Cellobiose; C25. α -D-Glucose-1-Phosphate; C26. α -Ketobutyric Acid; C27. Phenylethylamine; C28. α -D-Lactose; C29. D, L- α -Glycerol Phosphate; C30. D-Malic Acid; C31. Putrescine

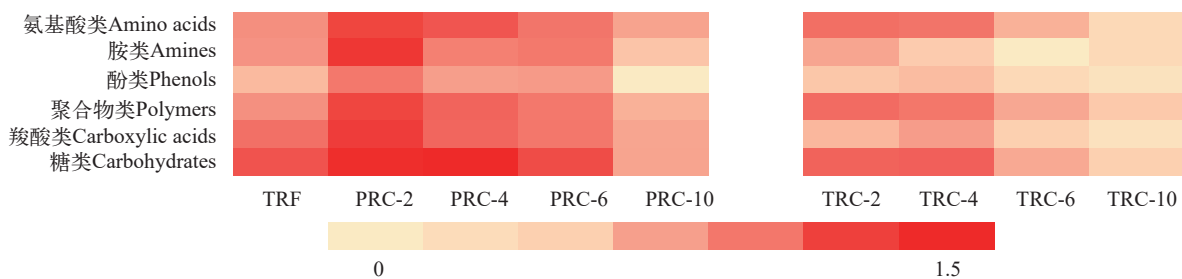


图 9 不同种养年限土壤微生物群落利用6类碳源的热图

Fig. 9 The heatmap of soil microbial community utilizing 6 types of carbon sources for different farming times

等碳源的利用能力存在差异。建议稻虾综合种养4年后, 进行一定时间的休耕、单一作物轮作或复种轮作, 从而实现稻虾综合种养模式生态系统的健康、可持续发展。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Tan S H, Liu Q, Zhang Q Y. Study on the ecological-economic effects of rice-aquatic coculture land use pattern: The case of rice-crayfish coculture in Hubei Province [J]. *Journal of Natural Resources*, 2021, **36**(12): 3131-3143. [谭淑豪, 刘青, 张清勇. 稻田综合种养土地利用的生态—经济效果——以湖北省稻虾共作为例 [J]. *自然资源学报*, 2021, **36**(12): 3131-3143.]
- [2] Chen X, Tang J J. Utilization of biodiversity in agriculture: today and tomorrow [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, **21**(1): 54-60. [陈欣, 唐建军. 农业系统中生物多样性利用的研究现状与未来思考 [J]. *中国生态农业学报*, 2013, **21**(1): 54-60.]
- [3] Huang L Q, Xu J C, Fan Z Y *et al.* Food composition of rice field eels and predation intensity on crayfish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, **47**(6): 982-988. [黄路全, 徐聚臣, 范泽宇, 等. 稻虾田黄鳝的食物组成及其对克氏原螯虾捕食强度研究 [J]. *水生生物学报*, 2023, **47**(6): 982-988.]
- [4] Liu K W. Microclimate characteristic, heat and water balance of integrated rice-crayfish farming in winter and spring in Jiangnan Plain [D]. Jingzhou: Yangtze University, 2023: 1-3. [刘凯文. 江汉平原稻虾种养农田冬春季

- 小气候特征与水热平衡研究 [D]. 荆州: 长江大学, 2023: 1-3.]
- [5] 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. [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.]
- [6] Chen B H, Liu W, Lei X N. The importance of substrate improvement in aquaculture [J]. *Fishery Guide to Be Rich*, 2010(3): 37-38. [陈柏慧, 刘伟, 雷晓宁. 底质改良在水产养殖中的重要性 [J]. 渔业致富指南, 2010(3): 37-38.]
- [7] Angeler D G, Sánchez-Carrillo S, García G, *et al.* The influence of *Procambarus clarkii* (Cambaridae, Decapoda) on water quality and sediment characteristics in a Spanish floodplain wetland [J]. *Hydrobiologia*, 2001, **464**(1): 89-98.
- [8] Zhang C M, Mi W J, Xu Y Z, *et al.* Long-term integrated rice-crayfish culture disrupts the microbial communities in paddy soil [J]. *Aquaculture Reports*, 2023(29): 101515.
- [9] Guan Q Z, Cheng Y X, Li C, *et al.* Changes of soil organic carbon and relationships with soil properties in rice-crayfish coculture system [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2019, **31**(1): 113-120. [管勤壮, 成永旭, 李聪, 等. 稻虾共作对土壤有机碳的影响及其与土壤性状的关系 [J]. 浙江农业学报, 2019, **31**(1): 113-120.]
- [10] Wu B L, Chen G S, Zhao H M, *et al.* Effects of the integrated rice-crayfish mode on soil fertility in Chaohu Lake region [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2018, **45**(1): 96-100. [吴本丽, 陈贵生, 赵慧敏, 等. 巢湖地区稻虾共作模式对稻田土壤肥力的影响 [J]. 安徽农业大学学报, 2018, **45**(1): 96-100.]
- [11] Chen W M, Hao H J, Liao Z J, *et al.* Effects of ecological mode of rice-shrimp cultivation on local environment and safety of agricultural products [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2019(4): 64-69. [陈万明, 郝慧娟, 廖中建, 等. 稻虾养殖生态模式对产地环境及农产品质量安全风险的影响 [J]. 湖南农业科学, 2019(4): 64-69.]
- [12] Yu J X, Li W, Liu J S, *et al.* Effects of integrated rice-crayfish co-culture on soil fertility and metal element content [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, **45**(3): 453-461. [喻记新, 李为, 刘家寿, 等. 稻虾综合种养对稻田土壤肥力和金属元素含量的影响 [J]. 水产学报, 2021, **45**(3): 453-461.]
- [13] 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.
- [14] 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. [佘国涵, 彭成林, 徐祥玉, 等. 稻虾共作模式对涝渍稻田土壤理化性状的影响 [J]. 中国生态农业学报, 2017, **25**(1): 61-68.]
- [15] Li Q M, Lei X, Xu L J, *et al.* Influence of consecutive integrated rice-crayfish culture on phosphorus fertility of paddy soils [J]. *Land Degradation & Development*, 2018, **29**(10): 3413-3422.
- [16] Liang Y H, Ni C Y, Liu X X, *et al.* Spectral characteristics of soil dissolved organic matter in different rice crayfish cultivation modes [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2023, **31**(4): 543-557. [梁以豪, 倪才英, 刘星星, 等. 不同稻虾种养模式土壤溶解性有机质光谱特征 [J]. 中国生态农业学报 (中英文), 2023, **31**(4): 543-557.]
- [17] Acosta-Martínez V, Dowd S, Sun Y, *et al.* Tag-encoded pyrosequencing analysis of bacterial diversity in a single soil type as affected by management and land use [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, **40**(11): 2762-2770.
- [18] Liang Y G, Kuang W, Kuang N, *et al.* The research progress, existing problem and countermeasure of raising crayfish in paddy fields [J]. *Crop Research*, 2023, **37**(4): 425-434. [梁玉刚, 匡炜, 旷娜, 等. 稻田养小龙虾的研究进展、存在问题及对策建议 [J]. 作物研究, 2023, **37**(4): 425-434.]
- [19] Lu Y H. Recent development of soil microbiology and future perspectives [J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2015, **30**(Z1): 106-114. [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.]
- [20] Si G H, Peng C L, Xu X Y, *et al.* Effects of rice-crayfish integrated mode on soil microbial functional diversity and fertility in waterlogged paddy field [J]. *Soils*, 2016, **48**(3): 503-509. [佘国涵, 彭成林, 徐祥玉, 等. 稻-虾共作模式对涝渍稻田土壤微生物群落多样性及土壤肥力的影响 [J]. 土壤, 2016, **48**(3): 503-509.]
- [21] Zhu X X, Peng C L, Si G H, *et al.* Effect of rice-crayfish integrated system on soil bacterial community structure and diversity in paddy field [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2021, **52**(5): 1121-1128. [朱秀秀, 彭成林, 佘国涵, 等. 稻虾共作模式对稻田土壤细菌群落结构与多样性的影响 [J]. 土壤通报, 2021, **52**(5): 1121-1128.]
- [22] Zhu J, Liu H, WU B K, *et al.* Effects of integrated rice-crayfish farming system on community structure and diversity of *nirK* denitrification microbe in paddy soils [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2018, **26**(9): 1324-1332. [朱杰, 刘海, 吴邦魁, 等. 稻虾共作对稻田土壤 *nirK* 反硝化微生物群落结构和多样性的影响 [J]. 中国生态农业学报, 2018, **26**(9): 1324-1332.]
- [23] Wang R, Gong S F, Jin T, *et al.* Effects of rice-crayfish farming system on *nosZ* gene number, diversity and community structure of denitrifying bacteria in paddy soil [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, **47**(4): 246-251. [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.]
- [24] Yu X J, Hao X J, Dang Z Q, *et al.* Report on the development of rice and fishery integrated breeding industry in China (2022) [J]. *China Fisheries*, 2023(8): 19-26. [于秀娟, 郝向举, 党子乔, 等. 中国稻渔综合种养产业发展报告(2022) [J]. 中国水产, 2023(8): 19-26.]
- [25] 湖北省农业事业发展中心, 湖北省水产技术推广总站关于印发2024年渔业主推技术指南的通知. (2024-02-24) [2024-06-26]. https://hbnysy.hubei.gov.cn/zfxgk/zc/qtzdgkwj/202402/t20240227_5098589.shtml.
- [26] Xu Y Z. A preliminary study on the effects of *Procambarus clarkii* aquaculture on paddy field ecosystem [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2020: 41-53. [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: 41-53.]
- [27] Bao S D. Soil and Agrochemical Analysis [M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000. [鲍士旦. 土壤农化分析 [M](3版). 北京: 中国农业出版社, 2000.]
- [28] Zhao Y, Li F M, Wang H Y, *et al.* The relationship between microbial diversity and water purification capacity in aerobic/anaerobic subsurface flow constructed wetland [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2011, 31(11): 2423-2431. [赵艳, 李锋民, 王昊云, 等. 好氧/厌氧潜流湿地微生物多样性与净化能力的关系 [J]. 环境科学学报, 2011, 31(11): 2423-2431.]
- [29] Wang Y B, Yue B, Xu Z R. Progress in the study of nitrogen and phosphorus balance in pond culture system [J]. *Feed Industry*, 2005, 26(18): 49-51. [王彦波, 岳斌, 许梓荣. 池塘养殖系统氮、磷收支研究进展 [J]. 饲料工业, 2005, 26(18): 49-51.]
- [30] Li L, Liang K Q, Li B, *et al.* Comparison of water quality indicators and environmental organisms in pond and rice-fish culture of *Odontobutis obscura* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2024, 48(4): 625-633. [李礼, 梁克勤, 李波, 等. 沙塘鳢池塘和稻田养殖水质指标和环境生物的比较 [J]. 水生生物学报, 2024, 48(4): 625-633.]
- [31] Liu E K, Zhao B Q, Li X Y, *et al.* Biological properties and enzymatic activity of arable soils affected by long-term different fertilization systems [J]. *Journal of Plant Ecology*, 2008, 32(1): 176-182. [刘恩科, 赵秉强, 李秀英, 等. 长期施肥对土壤微生物量及土壤酶活性的影响 [J]. 植物生态学报, 2008, 32(1): 176-182.]
- [32] Zhang Y J, Xu J, Lu R C, *et al.* Modification of quicklime on acid soil under forest and their effect on the growth of *Panax notoginseng* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2022, 33(4): 972-980. [张义杰, 徐杰, 陆仁窗, 等. 生石灰对林下酸化土壤的调控作用及三七生长的影响 [J]. 应用生态学报, 2022, 33(4): 972-980.]
- [33] Wang Z., Han M., Li E., *et al.* Distribution of antibiotic resistance genes in an agriculturally disturbed lake in China: Their links with microbial communities, antibiotics, and water quality [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020(393): 122426.
- [34] Francioli D, Cid G, Kanukollu S, *et al.* Flooding causes dramatic compositional shifts and depletion of putative beneficial bacteria on the spring wheat microbiota [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021(12): 773116.
- [35] Nelson M C, Morrison M, Yu Z T. A meta-analysis of the microbial diversity observed in anaerobic digesters [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(4): 3730-3739. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.119>.
- [36] Lai Z, Xiao L T, Lai S, *et al.* Effects of a new rice-shrimp farming model on soil fertility and microbial community structure in paddy field [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60(6): 1788-1798. [赖政, 肖力婷, 赖胜, 等. 稻虾种养新模式对稻田土壤肥力和微生物群落结构的影响 [J]. 土壤学报, 2023, 60(6): 1788-1798.]
- [37] Song Y, Wang P, Wei Y P. Effects of different co-cultivation patterns of rice field on soil bacterial communities structure [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2020, 29(2): 216-223. [宋宇, 王鹏, 韦月平. 不同稻田共作模式对土壤细菌群落结构的影响 [J]. 西北农业学报, 2020, 29(2): 216-223.]
- [38] Chaudhry V, Rehman A, Mishra A, *et al.* Changes in bacterial community structure of agricultural land due to long-term organic and chemical amendments [J]. *Microbial Ecology*, 2012, 64(2): 450-460.
- [39] van der Bom F, Nunes I, Raymond N S, *et al.* Long-term fertilisation form, level and duration affect the diversity, structure and functioning of soil microbial communities in the field [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2018(122): 91-103.
- [40] Naeem S, Duffy J E, Zavaleta E. The functions of biological diversity in an age of extinction [J]. *Science*, 2012, 336(6087): 1401-1406.
- [41] Panke-Buisse K, Poole A C, Goodrich J K, *et al.* Selection on soil microbiomes reveals reproducible impacts on plant function [J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(4): 980-989.
- [42] Li H H, Mi W J, Zhao C Y, *et al.* Characteristics of phytoplankton community and their influencing factors in Xiangyang Hanjiang national wetland park [J]. *Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition)*, 2023, 51(5): 115-122. [李红海, 米武娟, 赵重宇, 等. 襄阳汉江国家湿地公园浮游植物群落结构特征及其影响因素 [J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2023, 51(5): 115-122.]
- [43] Domeignoz-Horta L A, Pold G, Liu X J A, *et al.* Microbial diversity drives carbon use efficiency in a model soil [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 3684.
- [44] Kundu S, Bhattacharyya R, Prakash V, *et al.* Carbon sequestration and relationship between carbon addition and storage under rainfed soybean-wheat rotation in a sandy loam soil of the Indian Himalayas [J]. *Soil & Tillage Research*, 2007, 92(1/2): 87-95.
- [45] Liu Y Z, Chen A Q, Guo J W, *et al.* Review on the effects

- of climate warming and management strategies on grassland community [J]. *Journal of Henan Normal University* (Natural Science Edition), 2023, **51**(1): 130-137. [刘银占, 陈安群, 郭京伟, 等. 气候变暖与管理方式对草地群落影响研究综述 [J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2023, **51**(1): 130-137.]
- [46] Ji L, Ge Q L, Xie F, *et al.* Treatment of rural domestic sewage using microalga mediated by titanate nano materials [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, **47**(7): 1087-1095. [吉莉, 葛岐利, 谢飞, 等. 钛酸盐纳米材料介导下微藻净化生活污水的效应 [J]. 水生生物学报, 2023, **47**(7): 1087-1095.]
- [47] Rao D N, Mikkelsen D S. Effect of rice straw additions on production of organic acids in a flooded soil [J]. *Plant and Soil*, 1977, **47**(2): 303-311.
- [48] Jones D L, Darrah P R. Role of root-derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere [J]. *Plant and Soil*, 1994(166): 247-257.
- [49] Shao J H, Chen J F, Hu T. Effects of *Nostoc linckia* on rice grain yield and the structure and functions of Bacterial community in acidified paddy soil [J]. *Journal of Henan Normal University* (Natural Science Edition), 2022, **50**(6): 22-28. [邵继海, 陈杰锋, 胡婷. 林氏念珠藻对酸化稻田水稻产量和土壤细菌群落结构与功能的影响 [J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2022, **50**(6): 22-28.]

INTEGRATED RICE-CRAYFISH FARMING ON SOIL FERTILITY AND MICROBIAL COMMUNITY

XU Yuan-Zhao¹, SONG Qing-Yang², WANG Hui², YI Jian-Hua², BI Yong-Hong³, MI Wu-Juan³ and SONG Gao-Fei³

(1. *Changjiang Basin Ecology and Environment Monitoring and Scientific Research Center, Changjiang Basin Ecology and Environment Administration, Ministry of Ecology and Environment, Wuhan 430010, China*; 2. *National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Yichang 443003, China*; 3. *State Key Laboratory of Fresh Water Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China*)

Abstract: To investigate the effects of the IRCC on soil fertility and microorganisms, we compared the effects of different farming time (0 years-Traditional monoculture rice field, TRF; 2 years; 4 years; 6 years; 10 years) on the physicochemical properties, microbial diversity, and carbon metabolism capacity of the soil. The results showed that the IRCC increased the fertility of paddy soil, with higher levels of TC, TN, NO₃⁻-N, NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, and AP compared to TRF. In IRCC fields, the nutrient content was higher in TRC than that in PRC. Additionally, the content of TC, TOC, TN, NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, and TP increased with longer farming time, while NO₃⁻-N and AP increased and then decreased over time. With extended farming time, no significant differences were observed in soil microbial quantity, but the microbial diversity indices gradually decreased. In PRC, the soil microbes showed a higher ability to utilize carbon sources than compared to TRC, with the order being AWCD_{PRC-1}>AWCD_{TRF}>AWCD_{PRC-4}>AWCD_{PRC-6}>AWCD_{PRC-10} and AWCD_{TRC-4}>AWCD_{TRC-2}>AWCD_{TRC-6}>AWCD_{TRC-10}. The results indicate that the IRCC mode, with an appropriate farming time, is beneficial for improving paddy soil fertility, enhancing microbial diversity, and increasing carbon utilization capacity. However, long-term IRCC farming (beyond 4 years) has adverse effects on soil fertility and microbial carbon utilization activity. These findings provide a reference for achieving the healthy and sustainable development of ecosystem in the IRCC mode.

Key words: Integrated rice-crayfish culture; Farming time; Soil fertility; Microbial community; Carbon utilization capacity; *Procambarus clarkia*