

张 慧, 马连杰, 杭晓宁, 等. 不同轮作模式下稻田土壤细菌和真菌多样性变化[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(4): 804-810.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.04.013

## 不同轮作模式下稻田土壤细菌和真菌多样性变化

张 慧, 马连杰, 杭晓宁, 朱金山, 卢文才, 廖敦秀

(重庆市农业科学院农业资源与环境研究所, 重庆 401329)

**摘要:** 为探讨不同轮作模式对稻田土壤微生物的影响, 设置水稻-小麦、水稻-油菜、水稻-绿肥、水稻-冬闲 4 个处理, 于水稻收获后采集土壤样品, 提取基因组 DNA, 构建文库, 利用 Illumina Mi Seq 高通量测序技术研究土壤细菌和真菌的丰富度、多样性指数以及门和属水平上的群落结构变化。从 12 个土壤样品中共获得 24 537 个细菌 OUT 和 5 882 个真菌 OTU, 其中, 变形菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、放线菌门、芽单胞菌门为土壤优势细菌门, 子囊菌门和担子菌门为优势真菌门。从门的分类水平看, 不同轮作模式土壤中细菌和真菌群落各门类组成的比例发生改变。属水平的分析结果也表明, 不同轮作模式土壤中细菌前 20 个优势属的丰度和真菌前 10 优势属的丰度同样发生明显改变。不同轮作作物改变了土壤中有益微生物的比例, 水稻-绿肥和水稻-冬闲处理有益微生物比例高于其他处理。随着轮作作物的改变, 土壤生态系统中细菌和真菌群落的组成比例发生了变化。

**关键词:** 稻田; 轮作; 土壤细菌; 土壤真菌

**中图分类号:** S154.31

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-4440(2018)04-0804-07

## Changes of soil bacterial and fungal diversity in paddy soils under different rotation patterns

ZHANG Hui, MA Lian-jie, HANG Xiao-ning, ZHU Jin-shan, LU Wen-cai, LIAO Dun-xiu

(Institute of Agricultural Resources and Environment, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 401329)

**Abstract:** Different paddy field soils were used as materials to investigate the effects of different rotation patterns on soil microbes. A total of four treatments including rice-wheat, rice-rapeseed, rice-green manure, and paddy-free were set up. Soil samples were collected after rice harvest, genomic DNA was extracted, libraries were constructed, and high-throughput sequencing of Illumina Mi Seq was used to study the richness, diversity index, and changes in community structure at the phyla and genus levels of soil bacteria and fungi. A total of 24 537 bacterial OUTs and 5 882 fungal OTUs were obtained from 12 soil samples. Among them, Proteobacteria, Chloroflexi, Acidobacteria, Actinobacteria and Gemmatimonadetes were the dominant soil bacteria. Ascomycota and Basidiomycota conjugated bacteria were the dominant fungal phyla. From the perspective of the classification of phyla, the proportions of the composition of the bacteria and fungal communities in the soil also changed. The genus level analysis results also showed that the abundance of bacteria in the first 20 dominant genus and the abundance of fungus in the top 10 dominant

genus also changed significantly. Different rotation crops changed the proportion of beneficial microorganisms in the soil, and the proportion of beneficial microorganisms under rice-green manure and paddy-free treatments was higher than that under other treatments. As rotation crops changes, the ratio of the composition of the bacterial and fungal communities in the soil ecosystem changes.

**Key words:** paddy; crop rotation; soil bacteria; soil fungi

收稿日期: 2018-04-13

**基金项目:** 国家重点研发计划项目(2016YFD0300907); 国家自然科学基金青年项目(41401594); 重庆市科研院所绩效激励引导专项(cstc2017jxjX0002); 重庆市基本科研业务费项目(2016cstc-jbky-00516, 2016cstc-jbky-00517)

**作者简介:** 张 慧(1989-), 女, 江苏睢宁人, 硕士, 助理研究员, 主要从事土壤微生物方面的研究。(E-mail) 1501380987@qq.com

**通讯作者:** 廖敦秀, (E-mail) 664852751@qq.com

土壤微生物是微生物群落的重要成员,对土壤肥力的形成和转化起着积极作用。土壤中微生物的种类繁多,各类微生物具有不同的功能特性以及不同的遗传特性,不同的群落结构形成了土壤微生物的多样性<sup>[1]</sup>。土壤微生物的多样性构成了土壤微环境生态系统,而土壤微环境生态系统会随土壤栽培作物及环境条件不同而发生改变<sup>[2-3]</sup>。土壤微生物多样性研究方法如 DNA 重组、DNA-DNA 杂交、变性梯度凝胶电泳(DGGE)、温度梯度凝胶电泳(TGGE)等<sup>[4]</sup>无法用于详细分析土壤微生物群落结构组成方面的信息,以及不同群体的差异。第二代测序 Illumina Mi Seq 方法有效地避免了通量低、操作复杂和准确率低等缺陷<sup>[5-6]</sup>,具有操作简单、成本较低的优势,并且采用边合成边测序原理,结果可信度高。目前此方法已逐步应用于土壤微生物研究<sup>[7-9]</sup>。

作物轮作对土壤物理、化学和生物学性状产生有益的影响,主要是因为土壤中碳的积累以及进入土壤中多样的植物残体<sup>[10-11]</sup>。张立成等<sup>[12]</sup>研究表明稻-稻-油菜轮作显著提高了土壤微生物丰富度指数。长期冬季种植绿肥尤其是紫云英能明显提高土壤微生物种群数量、微生物生物量碳、微生物生物量氮<sup>[13]</sup>。本研究采用高通量测序技术,对重庆市丘陵地区水稻-小麦、水稻-油菜、水稻-绿肥、水稻-冬闲4种植模式下土壤细菌、真菌多样性进行分析,以期明确4种植模式下土壤微生物的不同响应,为土壤养分循环的有效管理以及土壤资源的可持续利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验地位于重庆市垫江县沙坪镇,东经107.45°、北纬30.48°。属于亚热带湿润季风气候,四季分明,冬暖春早,初夏多雨,盛夏炎热常伏旱,秋多连绵阴雨,无霜期长,温差大,多雾少日照。年平均气温17.0℃,无霜期289 d,年平均降水量1199 mm。土壤主要性状为:pH7.09,有机质25.59 mg/kg,铵态氮5.82 mg/kg,有效磷1.98 mg/kg,速效钾195 mg/kg,缓效钾114 mg/kg。

### 1.2 试验设计

试验共设置4个处理:水稻-小麦、水稻-油菜、水稻-绿肥、水稻-冬闲轮作,分别用A、B、C、D表示。每个处理3次重复,共12个小区,小区面积30 m<sup>2</sup>

(6 m×5 m),小区间用塑料薄膜包埂,单灌单排。

### 1.3 土壤样品的采集

在水稻收获后采集土壤样品,用土钻按混合采样法采集0~20 cm土层的土壤样品,每个小区5点取样,去除土样中的动植物残体等杂质,混合均匀后,装入干净塑料袋,编号标记,放入保温箱中带回实验室。-80℃保存,用于分析土壤微生物群落结构。

### 1.4 土壤微生物总DNA的提取和测序

土壤样品送到上海派森诺生物科技股份有限公司进行Illumina Miseq高通量测序。设计细菌V3+V4引物(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'、5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')和真菌ITS1+ITS2引物(5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'、5'-GCTCGCTTCTTCATCGATGC-3'),合并引物接头,进行PCR扩增。PCR反应体系:5×Reaction buffer 5.00 μl, 5×GC buffer 5.00 μl, 2.5 mmol/L dNTPs 2.00 μl, 10 μmol/L引物各1.00 μl, DNA模板2.00 μl, 5 U/μl Taq酶0.25 μl, ddH<sub>2</sub>O 8.75 μl, 总体积25.00 μl。PCR反应条件:98℃ 2 min; 98℃ 15 s, 55℃ 30 s, 72℃ 30 s, 30个循环; 72℃ 5 min。

### 1.5 数据处理

1.5.1 原始数据处理和序列数据统计 对多个平行测序的样品,采用滑动窗口法对FASTQ格式的双端序列逐一作质量筛查。利用FLASH软件<sup>[14]</sup>,对通过质量初筛的双端序列根据重叠碱基进行配对连接。将连接后的序列识别分配入对应样品(要求Index序列完全匹配),运用QIIME软件<sup>[15]</sup>识别疑问序列。通过QIIME软件调用USEARCH检查并剔除嵌合体序列,从而获得每个样品的有效序列,得到优化序列后对其进行数据统计。

1.5.2 操作分类单元(Operational taxonomic units, OUT)分析 使用QIIME软件,调用UCLUST序列比对工具<sup>[16]</sup>,对获得的序列按97%的序列相似度进行归并和OTU划分。并选取每个OTU中丰度最高的序列作为该OTU的代表序列,进行生物信息统计分析。

1.5.3 细菌和真菌群落多样性分析 群落丰富度用Chao1指数和ACE指数表示,群落物种的多样性用Shannon指数和Simpson指数表示。对OTU丰度矩阵中的全体样品在90%的最低测序深度水平下统一进行随机抽样,用QIIME软件分别计算每个样品的4种多样性指数。

1.5.4 细菌和真菌群落结构分析 使用 QIIME 软件,获取各样品在门和属水平上的组成和丰度分布表,比较 4 个处理细菌和真菌的分布情况。

## 2 结果

### 2.1 不同轮作模式下稻田土壤细菌和真菌 16S rDNA 和 18S rDNA 基因序列

水稻-小麦(A)、水稻-油菜(B)、水稻-绿肥(C)、水稻-冬闲(D)轮作处理中所获得的细菌有效序列分别有 47 291、46 038、48 497、49 216 条,真菌有效序列分别有 46 449、48 585、47 785、53 175 条。97% 相似性归并后, A、B、C、D 处理分别获得 5 886、6 201、5 957、6 493 个细菌 OUT, 1 470、1 414、1 363、1 635 个真菌 OUT。生物分类统计分析结果见表 1。

表 1 不同轮作模式下稻田土壤细菌和真菌的生物分类统计

Table 1 The biological classification statistics of bacteria and fungi in paddy soils under different rotation patterns

处理	细菌					真菌				
	门	纲	目	科	属	门	纲	目	科	属
A	34	99	131	196	246	11	22	59	95	134
B	37	103	139	210	273	11	24	59	95	129
C	36	96	135	209	276	10	22	57	91	121
D	36	102	143	213	277	10	21	60	95	138

A: 水稻-小麦轮作; B: 水稻-油菜轮作; C: 水稻-绿肥轮作; D: 水稻-冬闲轮作。

### 2.2 不同轮作模式下土壤细菌和真菌群落的丰富度和多样性

Chao 指数和 ACE 指数可估计群落中实际存在的物种数,一般而言,Chao 或 ACE 指数越大,群落

表 2 不同轮作模式稻田土壤细菌和真菌群落丰富度和多样性指数

Table 2 OTUs' abundance and diversity of paddy fields bacteria and fungi under different rotation patterns

处理	细菌(V3+V4)区				真菌(ITS1+ITS2)区			
	Simpson 指数	Chao 指数	ACE 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	Chao 指数	ACE 指数	Shannon 指数
A	0.998 8a	3 710a	3 758a	10.88a	0.960 7a	810a	816 a	6.52ab
B	0.998 8a	3 891a	4 040a	10.85a	0.967 9a	822a	819a	6.67ab
C	0.998 5a	4 312a	4 418a	10.91a	0.939 5a	792a	781a	5.95a
D	0.998 7a	4 118a	4 316a	10.93a	0.970 4a	962a	959a	6.88b

各处理见表 1 注。同一列中不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

### 2.3 不同轮作模式下土壤细菌和真菌的门水平群落结构

门水平下 4 个轮作处理的细菌和真菌群落结构(图 1)显示,丰度大于 1% 的细菌门类有 11 门,其中

的丰富度越高。由表 2 可知,相较于 B、C、D 处理, A 处理土壤细菌 Chao 指数分别减少了 4.88%、16.23%、11.00%, ACE 指数分别减少了 7.50%、17.56%、14.85%;相较于 C、D 处理, B 处理土壤细菌 Chao 指数分别减少了 10.82%、5.83%, ACE 指数分别减少了 9.36%、6.83%; C 处理土壤细菌 Chao 指数和 ACE 指数相对于 D 处理分别增加了 4.50% 和 2.31%。相对于 B、D 处理, A 处理土壤真菌 Chao 指数分别减少了 1.48%、0.37%, ACE 指数分别减少了 18.77%、17.53%;相对于 C 处理, A 处理土壤真菌 Chao 指数和 ACE 指数分别增加了 2.22% 和 4.29%。B 处理土壤真菌 Chao 指数和 ACE 指数相对于 C 处理分别增加了 3.65% 和 4.64%, 相对于 D 处理分别减少了 17.03% 和 17.10%。C 处理土壤真菌 Chao 指数和 ACE 指数相对于 D 处理分别减少了 21.47% 和 22.80%。结果表明土壤细菌和真菌群落物种丰富度的变化因轮作作物的不同而有明显差异,种植绿肥作物可增加土壤细菌群落物种丰富度,减少真菌群落物种丰富度。

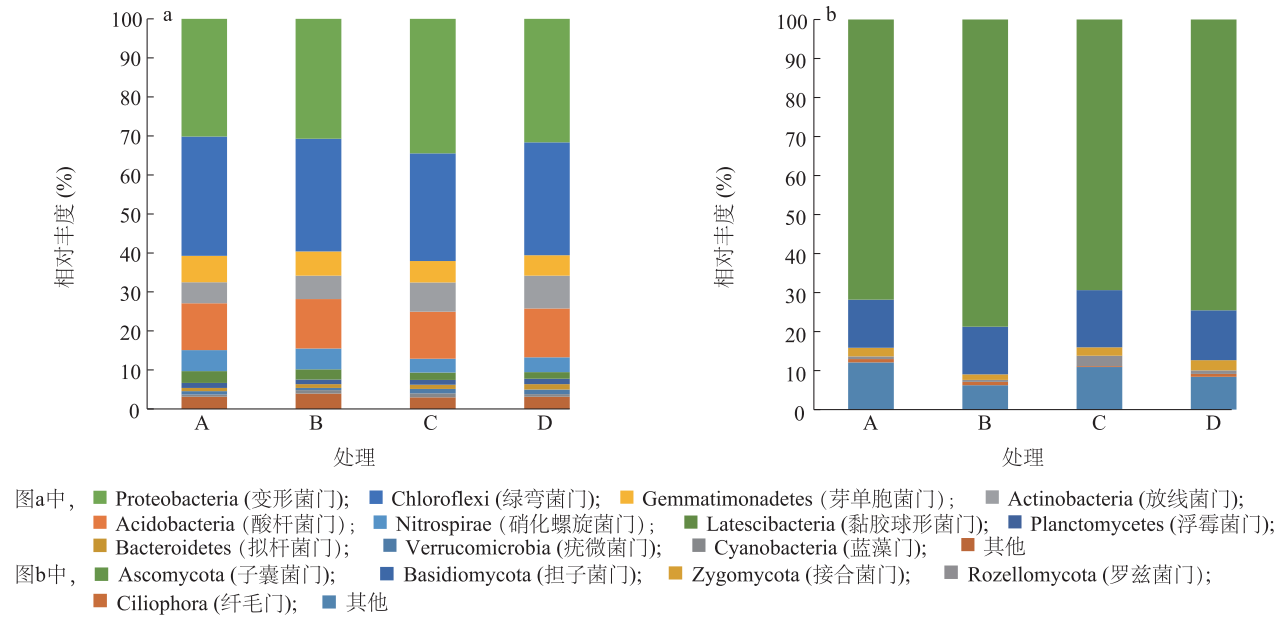
Simpson 指数和 Shannon 指数可反映群落物种多样性。由表 2 可知,4 个处理土壤细菌 Simpson 指数和 Shannon 指数没有明显差异。A 处理土壤真菌 Shannon 指数相对于 B、D 处理分别减少了 2.30% 和 5.52%, 相对于 C 处理增加了 8.70%; B 处理土壤真菌 Shannon 指数相对于 C 处理增加了 10.79%, 相对于 D 处理减少了 3.15%; C 处理与 D 处理的土壤真菌 Shannon 指数差异显著。可见,土壤细菌和真菌群落物种多样性没有因轮作作物的不同而有明显差异,种植绿肥作物能够降低真菌群落物种多样性。

变形菌门 Proteobacteria 丰度 30.17%~34.47%, 绿弯菌门 Chloronexi 27.6%~30.57%, 酸杆菌门 Acidobacteria 12.02%~12.69%, 放线菌门 Actinobacteria 5.38%~8.39%, 芽单胞菌门 Gemmatimonadetes

5.23%~6.27%,这5个门的细菌丰度均在5%以上,共计达84.51%~87.12%。硝化螺旋菌门 Nitrospirae、黏胶球形菌门 Latescibacteria、浮霉菌门 Planctomycetes、拟杆菌门 Bacteroidetes、疣微菌门 Vermicomicrobia、蓝藻门 Cyanobacteria 这几个门的细菌丰度相对较小。分析各门细菌所占比例发现,不同轮作处理土壤中细菌群落组成发生明显变化(图1)。与D处理相比,Gemmatimonadetes、Nitrospirae、Latescibacteria在A、B处理中的比例明显增加,Cyanobacteria在B、C处理中的比例增加;而Actinobacteria、Bacteroidetes、Vermicomicrobia在A、B处理中的比例减少,Planctomycetes在B处理中的比例减少;Bacteroidetes在C处理中的比例减少。

测序结果表明,4个处理真菌优势门类为子囊

菌门 Ascomycota、担子菌门 Basidiomycota、接合菌门 Zygomycota、Rozellomycota、Ciliophora(图1)。其中,优势菌群为子囊菌门和担子菌门,这2种真菌在A、B、C、D个处理中分别占真菌群落的84.12%、90.94%、84.03%和87.34%。与D处理相比,A处理中Ascomycota和Basidiomycota分别减少3.79%和3.95%;B处理中Ascomycota增加5.6%,Basidiomycota减少4.67%;C处理中Ascomycota减少6.93%,Basidiomycota增加14.57%。说明随着轮作作物的改变,土壤生态系统中细菌和真菌群落各门类组成的比例发生明显变化。本研究中采集的土壤样品为典型的水旱轮作模式下的稻田土壤,可能由于灌水的作用,使土壤微生物中真菌和细菌的变化不明显。



各处理见表1注。

图1 不同轮作模式稻田土壤中细菌(a)和真菌(b)的门水平分布

Fig.1 Phylum distribution of bacteria (a) and fungi (b) in paddy soils under different rotation patterns

2.4 不同轮作模式下土壤细菌和真菌的属水平群落结构

A、B、C、D 轮作处理分别有细菌 246、273、276、277 属,真菌 134、129、121、138 属。细菌前20个优势属丰度之和为51.08%~54.59%,真菌前10优势属丰度之和为48.8%~55.27%。从属的角度分析发现,不同轮作土壤中细菌和真菌群落的组成比例同样发生明显改变(表3)。其中不可培养的 uncultured Anaerolineaceae、unidentified

Chloroflexi、不可培养的芽单胞菌 uncultured Gemmatimonadaceae、Anaeromyxobacter、Pseudomonas, uncultured Chloroflexi、Haliangium、uncultured Chloroflexi 7个属均出现在4个处理细菌的前20优势属中(丰度>2%),但丰度上发生了变化。其中变化较大的 Pseudomonas,在D处理中为第3优势属(5.54%),在C处理中降至第4优势属(3.88%),在A处理中降至第6优势属(2.49%),在B处理中仅占0.43%。



表 3 不同轮作模式下稻田土壤中细菌和真菌优势属分布

Table 3 The dominant genus distribution of bacteria and fungi in paddy soils under different rotation patterns

微生物	排序	水稻-小麦轮作(A)		水稻-油菜轮作(B)		水稻-绿肥轮作(C)		水稻-冬闲轮作(D)	
		属	丰度(%)	属	丰度(%)	属	丰度(%)	属	丰度(%)
细菌	1	uncultured Anaerolineaceae	11.14	uncultured Anaerolineaceae	10.67	uncultured Anaerolineaceae	9.08	uncultured Anaerolineaceae	10.84
	2	unidentified Chloroflexi	5.51	unidentified Chloroflexi	5.73	unidentified Chloroflexi	5.91	<i>Pseudomonas</i>	5.54
	3	uncultured Gemmatimonadaceae	5.01	uncultured Gemmatimonadaceae	4.47	<i>Anaeromyxobacter</i>	3.89	unidentified Chloroflexi	4.74
	4	<i>Anaeromyxobacter</i>	4.00	<i>Anaeromyxobacter</i>	4.16	<i>Pseudomonas</i>	3.88	uncultured Gemmatimonadaceae	3.23
	5	uncultured Chloroflexi	2.84	uncultured Chloroflexi	2.69	uncultured Gemmatimonadaceae	3.84	<i>Anaeromyxobacter</i>	3.14
	6	<i>Pseudomonas</i>	2.49	<i>Haliangium</i>	2.18	uncultured Chloroflexi	3.53	uncultured Chloroflexi	2.58
	7	uncultured Chloroflexi	2.39	uncultured Chloroflexi	2.07	<i>Haliangium</i>	2.37	<i>Haliangium</i>	2.07
	8	<i>Haliangium</i>	2.14	uncultured Nitrospirales	1.87	uncultured Subgroup	2.01	uncultured Chloroflexi	2.03
	9	uncultured Nitrospirales	1.88	uncultured Nitrosomonadaceae	1.80	<i>Sideroxydans</i>	1.93	uncultured Subgroup	1.87
	10	<i>Sideroxydans</i>	1.86	uncultured Subgroup	1.80	unidentified Subgroup	1.85	unidentified Chloroflexi	1.83
	11	uncultured Latescibacteri	1.80	unidentified Subgroup	1.61	uncultured Chloroflexi	1.79	unidentified Subgroup	1.73
	12	unidentified Chloroflexi	1.77	unidentified Chloroflexi	1.56	<i>Stenotrophomonas</i>	1.62	uncultured Nitrosomonadaceae	1.70
	13	uncultured Subgroup	1.76	<i>Thioalkalispira</i>	1.48	<i>Geobacter</i>	1.61	<i>Roseiflexus</i>	1.51
	14	unidentified Subgroup	1.69	unidentified Deltaproteobacteria	1.46	<i>Roseiflexus</i>	1.56	unidentified Deltaproteobacteria	1.28
	15	unidentified Deltaproteobacteria	1.50	<i>Sideroxydans</i>	1.44	uncultured Nitrospirales	1.30	<i>Gemmatimonas</i>	1.27
	16	uncultured Nitrosomonadaceae	1.47	uncultured Latescibacteri	1.37	uncultured Nitrosomonadaceae	1.29	<i>Sideroxydans</i>	1.22
	17	<i>Roseiflexus</i>	1.48	<i>Roseiflexus</i>	1.31	unidentified Chloroflexi	1.23	<i>Anaerolinea</i>	1.22
	18	<i>Thioalkalispira</i>	1.39	<i>Geobacter</i>	1.15	<i>Gemmatimonas</i>	1.18	<i>Candidatus Solibacter</i>	1.22
	19	<i>Anaerolinea</i>	1.33	uncultured Xanthobacteraceae	1.14	uncultured Latescibacteri	1.05	uncultured Nitrospirales	1.15
	20	<i>Candidatus Solibacter</i>	1.14	uncultured Nitrospiraceae	1.12	<i>Thioalkalispira</i>	0.83	uncultured Latescibacteri	1.07
真菌	1	<i>Talaromyces</i>	12.53	<i>Talaromyces</i>	11.58	<i>Harzia</i>	9.36	<i>Talaromyces</i>	13.51
	2	<i>Dendroclathra</i>	7.13	<i>Podospora</i>	8.93	<i>Talaromyces</i>	6.94	<i>Zopfiella</i>	6.41
	3	<i>Podospora</i>	5.10	<i>Zopfiella</i>	7.74	<i>Zopfiella</i>	6.61	unidentified Sordariomycetes	6.10
	4	unidentified Sordariomycetes	4.48	unidentified Pyrenomataceae	5.19	<i>Trechispora</i>	6.48	<i>Dendroclathra</i>	5.92
	5	unidentified Ascomycota	3.90	unidentified Ascomycota	4.94	unidentified Hypocreales	5.40	unidentified Ascomycota	3.7
	6	unidentified Cordycipitaceae	3.73	unidentified Sordariomycetes	4.13	unidentified Sordariales	3.98	<i>Acremonium</i>	3.69
	7	<i>Zopfiella</i>	3.53	<i>Dendroclathra</i>	4.06	unidentified Sordariomycetes	3.83	<i>Cryptococcus</i>	2.65
	8	<i>Cryptococcus</i>	3.10	unidentified Sordariales	2.94	<i>Dendroclathra</i>	3.80	<i>Penicillium</i>	2.47
	9	<i>Chaetomium</i>	2.92	<i>Cryptococcus</i>	2.89	<i>Podospora</i>	2.99	unidentified Sordariales	2.42
	10	unidentified Pyrenomataceae	2.39	<i>Chaetomium</i>	2.88	unidentified Pyrenomataceae	2.41	<i>Podospora</i>	2.39

在真菌中,4个处理中共有的属有5个:*Talaromyces*、*Zopfiella*、*Dendroclathra*、*Podospora*、unidentified Sordariomycetes。其中丰度变化较大的有:*Talaromyces*,在A处理中为第1优势属(12.53%),B和C处理中也为第1优势属(11.58%、13.51%),在D处理中降至第2属(6.94%);unidentified Ascomycota,为A、B、D 3个处理的第5属(3.90%、4.49%、3.70%),但未出现在C处理的前10属中。除此之外,*Harzia*为C处理第1优势属(9.36%),unidentified Hypocreales为C处理的第5优势属(5.40%),*Trechispora*为C处理的第4优势属(6.48%),这3个菌属均未出现在A、B、D处理的前10属中。由此可见,不同轮作作物改变了土壤细菌和真菌属水平的群落结构,优势属及其丰度均发生了变化,且真菌的变化较大。

2.5 不同轮作模式下土壤有益微生物的变化

土壤有益微生物包括拮抗微生物、生理类群微生物等<sup>[17]</sup>,其对植物的积极作用主要有抑制病原菌、参与养分循环以及分泌植物生长调节剂等<sup>[18-19]</sup>(表4)。作物对土传病害的抗性与拮抗微生物密切相关,

*Pseudomonas*、*Streptomyces*、*Bacillus*、*Actinoplanes*、*Catenulispora*、*Lysobacter*等可以通过产生抗生素类物质或植物生长素等方式对植物病原菌产生拮抗作用。B处理的拮抗微生物总数较其他处理显著减少。生理类群微生物参与土壤碳氮循环,直接影响土壤肥力。例如细菌中的固氮菌 *Roseiflexus*、*Gemmatimonas*、*Bradyrhizobium*、*Rhizobium*、*Mesorhizobium*、*Devosia*、*Dongia*,硝化和亚硝化细菌 *Nitrobacter*、*Nitrospira*、*Nitrosomonadaceae*,解钾菌 *Sphingomonas*,纤维素分解菌 *Cellulomonas*等。真菌中的球囊菌 Glomeromycota 即丛枝菌根(*Arbuscular mycorrhizae*, AM)能与地球上90%的植株建立良好的共生关系<sup>[20]</sup>,该菌在A处理中丰度为0.45%,与A处理相比在B、C、D 3个处理中分别降低了0.11%、0.23%、0.04%。由表4可以看出,不同轮作作物改变了土壤中有益微生物的比例,4个处理中有益微生物的比例分别为16.01%、13.75%、19.28%、19.70%,以水稻-绿肥、水稻-冬闲处理有益微生物比例较高。

表4 不同轮作模式稻田土壤中有益细菌和真菌变化

Table 4 The change of beneficial bacteria and fungi in paddy soils under different rotation patterns

分类	属	功能描述	丰度(%)			
			A 处理	B 处理	C 处理	D 处理
细菌 Bacteria	<i>Pseudomonas</i> 假单胞菌	产生植物生长激素,抑菌	2.49	0.43	3.88	5.54
	Nitrosomonadaceae	亚硝化	1.47	1.80	1.29	1.70
	<i>Roseiflexus</i> 嗜热光合细菌	固氮	1.48	1.31	1.56	1.51
	<i>Gemmatimonas</i> 芽单胞菌属	固氮	1.11	1.07	1.18	1.27
	<i>Stenotrophomonas</i> 寡养单胞菌	降解甲基对硫磷	1.13	0.27	1.62	0.77
	<i>Nitrobacter</i> 硝酸菌属	硝化	0.59	0.71	0.94	0.64
	<i>Nitrospira</i> 硝化螺菌属	硝化	0.64	0.64	0.49	0.55
	<i>Sphingomonas</i> 鞘氨醇单胞菌属	解钾	0.32	0.33	0.47	0.43
	<i>Thiobacillus</i> 硫化细菌	给植物提供硫酸态硫素	0.36	0.40	0.32	0.36
	<i>Streptomyces</i> 链霉菌属	产生抗生素	0.30	0.18	0.20	0.23
	<i>Bradyrhizobium</i> 短根瘤菌属	共生固氮	0.12	0.14	0.21	0.15
	<i>Actinoplanes</i> 游动放线菌属	产生多种抗生素	0.08	0.09	0.17	0.17
	<i>Bacillus</i> 芽孢杆菌属	PGPR	0.08	0.15	0.10	0.11
	<i>Rhizobium</i> 根瘤菌	固氮	0.07	0.06	0.13	0.06
	<i>Mesorhizobium</i> 中生根瘤菌	固氮	0.06	0.06	0.09	0.09
	<i>Devosia</i>	共生固氮	0.07	0.04	0.08	0.08
	<i>Lysobacter</i> 溶杆菌属	拮抗多种植物病原菌	0.03	0.06	0.10	0.04
	<i>Dongia</i>	固氮	0.02	0.03	0.05	0.02
	<i>Catenulispora</i>	产抗生素	0.01	—	0.01	—
	<i>Cellulomonas</i> 纤维单胞菌	分解纤维素	—	—	0.01	—
真菌 Fungi	<i>Chaetomium</i> 毛壳霉属	降解纤维素	2.92	2.88	2.66	2.16
	<i>Penicillium</i> 青霉属	降解纤维素	1.71	2.32	1.29	2.47
	<i>Trichoderma</i> 木霉属	降解纤维素	0.50	0.44	2.21	0.94
	Glomeromycota 球囊菌	形成菌根结构	0.45	0.34	0.22	0.41

各处理见表1注。

### 3 讨论

4 个不同轮作模式处理的土壤细菌丰富度和细菌有效序列数虽差别不大,但种群结构发生了较大改变。主要细菌和真菌门类虽大致一致,但优势门类丰度发生改变。在细菌属水平上,前 20 个优势属仅 7 属为共有菌属,且各属丰度上发生了变化,其中变化较大的为 *Pseudomonas*。在真菌属水平上,前 10 个优势属共有菌属为 5 个,且各属丰度上发生了变化,其中变化较大的有 *Talaromyces*、*Harzia*、unidentified *Hypocreales*、*Trechispora*。土壤中一些有益的细菌和真菌,特别是生理类群微生物和拮抗微生物也发生很大变化,水稻-绿肥、水稻-冬闲轮作处理有益微生物丰度较其他处理高。土壤微生物的这些变化归因于不同作物的差异,尤其是作物根系分泌物的差异。根系分泌物是植物与根际微生物相互作用的中间媒介,不同作物的根系分泌物数量和种类各不相同,对微生物的代谢、生长发育和多样性都有影响<sup>[21]</sup>。

微生物的数量和种类容易受不同种植模式的影响。而种植模式的不同导致冬季作物对土壤养分的影响以及根际分泌物和植物残体对土壤微生物的影响不同,土壤中微生物数量与多样性也就表现不同。一方面,由于冬季作物的根际效应,土壤中微生物的数量和种类发生变化;另一方面,由于冬季种植作物的不同,在土壤中残留的秸秆也就不同,水稻栽培过程中土壤的有机质成分就有所不同,这就影响了不同种植模式下稻田土壤的微生物数量和种群结构。可见,选用适当的种植模式能有效地改善土壤中微生物的活性以及有益微生物所占比例。

#### 参考文献:

- [1] AIVET S, YANG C H, BUERKERT A, et al. Cereal/legume rotation effects on rhizosphere bacterial community structure in west African soils [J]. *Biology & Fertility of Soils*, 2003, 37(2): 73-82.
- [2] 刘杰. 连作及轮作土壤微生物菌群对黄瓜生长的影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2015.
- [3] 姚钦. 黑土区轮作方式下土壤微生物多样性研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学, 2012.
- [4] 谭益民, 何苑峰, 郭文平. 基于分子技术的土壤微生物多样性研究进展[J]. *中南林业科技大学学报(自然科学版)*, 2014, 34(10): 1-9.
- [5] SCHIRMER M, IJAZ U Z, D'AMORE R, et al. Insight into biases and sequencing errors for amplicon sequencing with the Illumina MiSeq platform [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(6): e37.
- [6] WILLIAS S T, FOSTER P G, LITTLEWOOD D T. The complete mitochondrial genome of a turbinid vetigastropod from MiSeq Illumina sequencing of genomic DNA and steps towards a resolved gastropod phylogeny[J]. *Gene*, 2014, 533(1): 38-47.
- [7] 赵帆, 赵密珍, 王钰, 等. 不同连作年限草莓根际细菌和真菌多样性变化[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(6): 1377-1386.
- [8] 张国青, 赵盼, 董彦旭, 等. 高通量测序分析环保肥料增效剂对马铃薯根际土壤真菌多样性变化影响[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(11): 2644-2651.
- [9] 张东艳, 赵建, 杨水平, 等. 川明参轮作对烟地土壤微生物群落结构的影响[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(24): 4556-4563.
- [10] MOORE J M, SUSANNE K, TABATABAIA M A. Soil microbial biomass carbon and nitrogen as affected by cropping systems [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, 31(3/4): 200-210.
- [11] SONG M H, XY X L, HU Q W, et al. Interactions of plant species mediated plant competition for inorganic nitrogen with soil microorganisms in an alpine meadow [J]. *Plant and Soil*, 2007, 297(1/2): 127-137.
- [12] 张立成, 邵继海, 林毅青, 等. 稻-稻-油菜轮作对土壤微生物活性和多样性的影响[J]. *生态环境学报*, 2017, 26(2): 204-210.
- [13] 杨曾平, 高菊生, 郑圣先, 等. 长期冬种绿肥对红壤性水稻土微生物特性及酶活性的影响[J]. *土壤*, 2011, 43(4): 576-583.
- [14] MAGOC T, SALZBERG S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [15] 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.
- [16] EDGAR R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(19): 2460-2461.
- [17] 乔蓬蕾, 吴凤芝, 周新刚. 连作对作物根际土壤微生物菌群及酶活性影响[J]. *沈阳农业大学学报*, 2013, 44(5): 524-530.
- [18] LAKSHMANAN V, SELVARAJ G, BAIS H P. Functional soil microbiome: belowground solutions to an aboveground problem[J]. *Plant Physiology*, 2014, 166(2): 689-700.
- [19] BERENDSEN R L, PIETERSE C M, BAKKER P A. The rhizosphere microbiome and plant health[J]. *Trends in Plant Science*, 2012, 17(8): 478-486.
- [20] PENNISI E. The secret life of fungi[J]. *Science*, 2004, 304(11): 1620-1622.
- [21] 周文杰, 吕德国, 秦嗣军. 植物与根际微生物相互作用关系研究进展[J]. *吉林农业大学学报*, 2016, 38(3): 253-260.

(责任编辑:张震林)