佟德利,贺海升,耿志席,等. 稻蟹生态种养模式下水稻根际微生物区系研究[J]. 江苏农业科学,2018,46(14):305 – 307.
doi:10.15889/j.issn.1002 – 1302.2018.14.073

稻蟹生态种养模式下水稻根际微生物区系研究

佟德利[1], 贺海升[2], 耿志席[3], 孔健健[1]
(1.沈阳师范大学生命科学学院,辽宁沈阳 110034; 2.沈阳师范大学实验教学中心,辽宁沈阳 110034;
3.北京中农嘉源生态工程技术有限公司,北京 100040)

摘要:利用选择性培养基对生态种养模式下水稻根际微生物进行分离、鉴定,分析水稻不同生育期根际微生物区系的变化。结果表明:水稻各生育期根际微生物区系差别较大;由生态种养模式下水稻根际分离纯化得到的细菌分别属于 11 个属,以欧文氏菌属(*Erwinia*)、噬胞菌属(*Cytophaga*)、动胶菌属(*Zoogloea*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)为主;放线菌的 8 个类群中,以黄色类群(*Flavus*)、烬灰类群(*Cinerogriseus*)、吸水类群(*Hygroscopicus*)为主;真菌以青霉属(*Penicillium*)、毛霉属(*Mucor*)为主。

关键词:生态种植;水稻根际;微生物区系;分离鉴定
中图分类号: S154.37　　**文献标志码**: A　　**文章编号**:1002 – 1302(2018)14 – 0305 – 03

稻蟹生态种养模式以水稻生产为主体,利用稻田的空间及便利条件,放养蟹为主体辅以青虾和少量鱼类的养殖模式[1-2]。在取得显著经济效益的同时,也改善了稻田生态环境条件[3-4]。稻渔共作可改善稻田土壤的理化性状,延长水稻生育期,增加群体各生育期生物量,提高叶面积指数和冠层叶片的面积,延缓后期功能叶片衰老,增大茎秆粗度,促进根系发育及伸长节上须根发生[5]。针对生态养殖模式下水稻的独特性质,本研究对其根际的微生物进行分离鉴定。

1　材料与方法

1.1　试验材料

供试水稻品种为辽星 1 号;供试的水产养殖对象为中华绒螯蟹。

1.2　试验设计

水稻播期在 2017 年 4 月 28 日,5 月 28 日移栽。肥床旱育,秧田期为 30 d,大田移栽密度为 1.33 万穴/667 m^2,每穴 3 株。试验采用随机区组设计,3 次重复,小区面积 40 m × 37 m。水产苗种放养量为中华绒螯蟹(蟹苗 150 只/kg)500 ~ 600 只/667 m^2,6 月 4 日放蟹苗。

从水稻移栽期开始至成熟期结束,连续取 5 个时期的土样进行微生物区系分析。

1.3　水稻根际微生物的分离、鉴定

采用文献[6]的方法对水稻根际微生物进行分离、纯化。根据文献[7 – 10]对生态种养模式下分离得到的微生物进行初步鉴定。

1.4　数据处理

参照钟文辉等的方法[11-12],根际微生物的多样性分析选用 Shannon – Wiener 多样性指数(H)、丰富度指数(S)、Pielou 均匀度指数(J)和 Simpson 优势度指数(D)讨论根际环境的微生物多样性特征。

细菌以出现概率在 15% 以上菌落的菌株为根际优势菌株,真菌、放线菌以最高稀释度平板上出现 5 个以上的菌株为优势菌株[10]。

2　结果与分析

2.1　土样理化指标

土样为黏质盐渍型水稻土。生育期内 pH 值在 7.49 ~ 8.40,呈弱碱性,其中孕穗期最低,分蘖期最高。土壤含水率在 24.01% ~ 37.07%。

2.2　水稻根际微生物的物候期变化

生态种养模式与常规种植模式下水稻各物候期根际土壤微生物数量均为细菌 > 放线菌 > 真菌,所占比例分别为 99.93%、0.05%、0.024%(表 1)。各发育期水稻根际土壤微生物均以细菌为主要类群。

表 1　水稻不同发育期根际土壤微生物数量

生育期	细菌 ($\times 10^7$ CFU/g)	真菌 ($\times 10^4$ CFU/g)	放线菌 ($\times 10^5$ CFU/g)
移栽期	16.90	0.88	3.29
分蘖期	39.50	1.34	5.48
孕穗期	22.50	0.50	8.07
灌浆期	32.40	1.52	6.98
成熟期	13.58	1.72	4.96

2.3　生态种养模式下水稻根际细菌区系特征及变化动态

生态种养模式下水稻根际共分离得到 276 株细菌,分别

收稿日期:2017 – 12 – 20
基金项目:国家自然科学基金青年科学基金(编号:41501200、41601314);土壤与农业可持续发展国家重点实验室开放基金(编号:Y412201450);辽宁省教育厅科学研究一般项目(编号:L201610);沈阳师范大学优秀人才支持计划;沈阳师范大学博士启动项目。
作者简介:佟德利(1983—),男,辽宁锦州人,博士,讲师,主要从事土壤化学与土壤微生物学研究。Tel:(024)86593335;E – mail:dltong@synu.edu.cn。
通信作者:孔健健,博士,副教授,主要从事土壤养分循环研究。Tel:(024)86593335;E – mail:kjjkong@163.com。

为欧文氏菌属 *Erwinia*、噬胞菌属 *Cytophaga*、动胶菌属 *Zoogloea*、假单胞菌属 *Pseudomonas* 等 11 个菌属。

由表 2 可知,各物候期分离得到的菌株数量为分蘖期 > 灌浆期 > 孕穗期 > 移栽期 > 成熟期,而各生育期分离得到菌属的数量为灌浆期(10) > 移栽期(8) = 分蘖期(8) = 成熟期(8) > 孕穗期(7)。移栽期分离得到 2 株优势菌株,为欧文氏菌属 *Erwinia*、噬胞菌属 *Cytophaga*;分蘖期分离得到 2 株优势菌株,为欧文氏菌属 *Erwinia*、芽孢杆菌属 *Bacillus*;孕穗期分离得到 4 株优势菌株,为欧文氏菌属 *Erwinia*、动胶菌属 *Zoogloea*、葡萄糖细菌属 *Gluconobacter*、芽孢杆菌属 *Bacillus*;灌浆期分离得到 3 株优势菌株,为欧文氏菌属 *Erwinia*、黄单胞菌属 *Xanthomonas*、动胶菌属 *Zoogloea*;成熟期分离得到 3 株优势菌株,为噬胞菌属 *Cytophaga*、葡萄糖细菌属 *Gluconobacter*、不动细菌属 *Acinetobacter*。

表 2　根际细菌区系

生育期	单菌落数	属及单菌落数(个)
移栽期	43	欧文氏菌属 *Erwinia*(9)、噬胞菌属 *Cytophaga*(8)、固氮细菌属 *Azotobacter*(3)、不动细菌属 *Acinetobacter*(3)、色杆菌属 *Chromobacterium*(3)、芽孢杆菌属 *Bacillus*(5)、假单胞菌属 *Pseudomonas*(6)、葡萄糖细菌属 *Gluconobacter*(6)
分蘖期	78	动胶菌属 *Zoogloea*(10)、假单胞菌属 *Pseudomonas*(10)、芽孢杆菌属 *Bacillus*(22)、欧文氏菌属 *Erwinia*(16)、黄单胞菌属 *Xanthomonas*(2)、噬胞菌属 *Cytophaga*(3)、葡萄糖细菌属 *Gluconobacter*(7)、固氮细菌属 *Azotobacter*(8)
孕穗期	52	动胶菌属 *Zoogloea*(9)、黄单胞菌属 *Xanthomonas*(3)、噬胞菌属 *Cytophaga*(4)、欧文氏菌属 *Erwinia*(14)、葡萄糖细菌属 *Gluconobacter*(9)、芽孢杆菌属 *Bacillus*(10)、色杆菌属 *Chromobacterium*(3)
灌浆期	67	欧文氏菌属 *Erwinia*(18)、葡萄糖细菌属 *Gluconobacter*(3)、固氮细菌属 *Azotobacter*(2)、黄单胞菌属 *Xanthomonas*(16)、芽孢八叠菌属 *Sporosarcina*(9)、不动细菌属 *Acinetobacter*(2)、色杆菌属 *Chromobacterium*(2)、动胶菌属 *Zoogloea*(11)、噬胞菌属 *Cytophaga*(1)、芽孢杆菌属 *Bacillus*(3)
成熟期	36	噬胞菌属 *Cytophaga*(9)、欧文氏菌属 *Erwinia*(4)、葡萄糖细菌属 *Gluconobacter*(6)、假单胞菌属 *Pseudomonas*(2)、芽孢杆菌属 *Bacillus*(3)、不动细菌属 *Acinetobacter*(8)、动胶菌属 *Zoogloea*(3)、色杆菌属 *Chromobacterium*(1)

由表 3 可知,水稻根际细菌种群多样性随生育期的延长而发生变化,多样性指数以移栽期最大,孕穗期最小;均匀度指数以移栽期最大,灌浆期最小;优势度以孕穗期最大,移栽期最小。水稻根际细菌以灌浆期类群最为丰富,但均匀度指数最低,孕穗期多样性指数及丰富度最低,但类群的优势度最高。

表 3　根际细菌的多样性、丰富度、均匀度及优势度指数

生育期	*H*	*S*	*J*	*D*
移栽期	1.997 3	8	0.960 5	0.145 5
分蘖期	1.877 8	8	0.903 0	0.175 2
孕穗期	1.803 9	7	0.927 0	0.182 0
灌浆期	1.916 8	10	0.832 4	0.181 1
成熟期	1.814 3	8	0.872 5	0.160 5

2.4　生态种养模式下水稻根际放线菌区系特征及变化动态

由表 4 可知,生态种养模式下水稻根际共分离得到 76 株放线菌,对分离得到的放线菌进行分类学鉴定,属于链霉菌属,分别为黄色类群 *Flavus*、烬灰类群 *Cinerogriseus*、吸水类群 *Hygroscopicus* 等 8 个链霉菌类群。其中黄色类群占 30.26%,烬灰类群占 21.05%,吸水类群占 19.74%,灰褐类群占 11.84%,其他类群占 17.11%。各生育期分离得到的菌株数量为孕穗期 > 分蘖期 > 移栽期 > 灌浆期 = 成熟期,而各生育期分离得到的菌属数量为灌浆期(7) > 孕穗期(6) > 移栽期(5) = 分蘖期(5) > 成熟期(4)。移栽期分离得到 1 株优势菌株,为黄色类群 *Flavus*;分蘖期分离得到 2 株优势菌株,为吸水类群 *Hygroscopicus*、灰褐类群 *Griseofuscus*;孕穗期分离得到 1 株优势菌株,为黄色类群 *Flavus*;成熟期分离得到 1 株优势菌株,为烬灰类群 *Cinerogriseus*;灌浆期未分离到优势菌株。

表 4　根际链霉菌区系

生育期	单菌落数	属及单菌落数
移栽期	13	吸水类群 *Hygroscopicus*(2)、黄色类群 *Flavus*(6)、淡紫灰类群 *Lavendulae*(1)、粉红色类群 *Roseosporus*(1)、烬灰类群 *Cinerogriseus*(3)
分蘖期	18	吸水类群 *Hygroscopicus*(6)、黄色类群 *Flavus*(3)、灰褐类群 *Griseofuscus*(5)、烬灰类群 *Cinerogriseus*(3)、淡紫灰类群 *Lavendulae*(1)、
孕穗期	21	吸水类群 *Hygroscopicus*(3)、黄色类群 *Flavus*(8)、白色类群 *Albosporus*(4)、烬灰类群 *Cinerogriseus*(3)、灰褐类群 *Griseofuscus*(2)、蓝色类群 *Cyaneus*(1)
灌浆期	12	黄色类群 *Flavus*(3)、淡紫灰类群 *Lavendulae*(1)、白色类群 *Albosporus*(2)、烬灰类群 *Cinerogriseus*(2)、灰褐类群 *Griseofuscus*(2)、吸水类群 *Hygroscopicus*(1)、蓝色类群 *Cyaneus*(1)
成熟期	12	吸水类群 *Hygroscopicus*(3)、黄色类群 *Flavus*(3)、烬灰类群 *Cinerogriseus*(5)、蓝色类群 *Cyaneus*(1)

由表 5 可知,水稻根际放线菌的多样性指数以分蘖期最高,成熟期最低;丰富度指数以灌浆期最高,成熟期最低;均匀度指数以分蘖期最高,灌浆期最低;优势度指数以成熟期最高,灌浆期最低。

3.5　生态种养模式下水稻根际真菌区系特征及变化动态

由表 6 可知,生态种养模式下水稻根际共分离得到 37 株真菌,对分离得到的真菌进行分类学鉴定,分别属于青霉属

表 5　根际放线菌的多样性、丰富度、均匀度及优势度指数

生育期	*H*	*S*	*J*	*D*
移栽期	1.377 8	5	0.856 1	0.301 8
分蘖期	1.479 8	5	0.919 5	0.246 9
孕穗期	1.463 4	6	0.816 7	0.231 3
灌浆期	1.449 5	7	0.744 9	0.152 8
成熟期	1.265 0	4	0.912 5	0.305 6

Penicillium、毛霉属 *Mucor*、曲霉属 *Aspergillus*、木霉属 *Trichoderma*、根霉属 *Rhizopus*，分别占 40.54%、32.43%、10.81%、8.11%、8.11%。各生育期分离得到的菌株数量为成熟期 > 分蘖期 > 灌浆期 > 移栽期 > 孕穗期。分蘖期分离得到 1 株优势菌株，为青霉属 *Penicillium*；成熟期分离得到 1 株优势菌株，为毛霉属 *Mucor*，其余生育期未分离到优势菌属。

表 6　根际真菌区系

生育期	单菌落数（个）	属及单菌落数
移栽期	5	毛霉属 *Mucor*(2)、青霉属 *Penicillium*(3)
分蘖期	10	青霉属 *Penicillium*(6)、曲霉属 *Aspergillus*(3)、木霉属 *Trichoderma*(1)
孕穗期	4	青霉属 *Penicillium*(2)、毛霉属 *Mucor*(2)
灌浆期	7	毛霉属 *Mucor*(3)、青霉属 *Penicillium*(2)、木霉属 *Trichoderma*(2)
成熟期	11	青霉属 *Penicillium*(2)、曲霉属 *Aspergillus*(1)、毛霉属 *Mucor*(5)、根霉属 *Rhizopus*(3)

由表 7 可知，水稻根际真菌的多样性指数、丰富度以成熟期最高，移栽期最低；优势度指数以移栽期最高，成熟期最低；均匀度指数以孕穗期最高，分蘖期最低。

表 7　根际真菌的多样性、丰富度、均匀度及优势度指数

生育期	*H*	*S*	*J*	*D*
移栽期	0.673 0	2	0.971 0	0.520 0
分蘖期	0.898 0	3	0.817 4	0.460 0
孕穗期	0.693 2	2	1.000 0	0.500 0
灌浆期	1.079 0	3	0.982 1	0.346 9
成熟期	1.332 7	4	0.961 3	0.347 1

3　讨论与结论

试验发现，根际细菌的数量在整个生育期内发生较大波动，从移栽期到成熟期表现出升—降—升—降的趋势。水稻移栽后，由于要适应新的环境，水稻利用周围营养物质的能力较弱，细菌因此获得较多的营养，同时，此时放养河蟹，河蟹粪便、剩余饵料的腐熟也提供一部分营养元素，细菌数量从而急剧上升。到达分蘖期，由于水稻扎根吸收大量的营养元素，进而与微生物竞争，可能导致细菌数量的减少。从孕穗期到灌浆期，水稻生长基本完成，根系对微生物的竞争减少，细菌数量有所上升，成熟期水稻根系衰老，土壤中可利用营养元素数量下降，导致细菌数量达到最小。放线菌数量变化在灌浆期之前与细菌基本一致，但灌浆期后，放线菌数量呈上升趋势，这与成熟期稻田的淹水状态有关。真菌的数量在整个生育期内变化不明显。这种根际微生物与植物生长发育呈一定相关性的现象在其他文献中也有报道[13-14]。

植物根际微生物区系及优势种随植物种类的不同而不同[15-16]。试验结果表明，生态种养经营模式下水稻根际优势细菌为欧文氏菌属、噬胞菌属、假单胞菌属、芽孢杆菌属、黄单胞菌属、动胶菌属、葡萄糖细菌属、不动细菌属；优势链霉菌类群为黄色类群、吸水类群、灰褐类群、烬灰类群；根际优势真菌为青霉属和毛霉属。水稻根际微生物的数量、群落结构、优势种群和多样性及其变化受耕作制度、土壤层次、植被、土壤肥力、气候变化以及土壤类型等诸多因素的影响。越来越多的研究结果表明，土壤微生物在养分持续供给、肥料管理措施、有害生物综合防治及土壤保持中起着举足轻重的作用[6,17-18]。

参考文献：

[1]陈飞星，张增杰. 稻田养蟹模式的生态经济分析[J]. 应用生态学报，2002，13(3)：323-326.

[2]王　新，梁仁禄，李培军. 我国北方水田区稻-萍-蟹共生模式效益的研究[J]. 农业环境保护，2002，21(1)：41-44.

[3]陈昌齐，刘方贵. 稻田养鱼高效实用技术[M]. 北京：中国农业出社，1999.

[4]杨　勇，张洪程，胡小军，等. 稻渔(蟹)共作系统中水稻安全优质高效栽培的研究Ⅰ. 不同稻作方式的特性与应用[J]. 江苏农业科学，2004(2)：7-9.

[5]杨　勇，张洪程，胡小军，等. 稻渔共作水稻生育特点及产量形成研究[J]. 中国农业科学，2004，37(10)：1451-1457.

[6]中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京：科学出版社，1985：40-72.

[7]许光辉，郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京：农业出版社，1986：110-130.

[8]东秀珠，蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京：科学出版社，2001：729-759.

[9]魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海：上海科学技术出版社，1979：129-135.

[10]阎逊初. 放线菌的分类与鉴定[M]. 北京：科学出版社，1992：296-1047.

[11]钟文辉，蔡祖聪. 土壤微生物多样性研究方法[J]. 应用生态学报，2004，15(5)：899-904.

[12]郭正刚，王根绪，沈禹颖，等. 青藏高原北部多年冻土区草地植物多样性[J]. 生态学报，2004，24(1)：149-155.

[13]汪　华，杨京平，徐　伟，等. 分次施氮对水稻根际土壤微生物生态效应的影响[J]. 水土保持学报，2006，20(4)：123-126.

[14]廖　敏，谢晓梅，吴良欢. 水稻覆膜旱作对稻田土壤微生物生态质量的影响[J]. 中国水稻科学，2002，16(3)：243-246.

[15]Torsvik V，Øvreås L. Microbial diversity and function in soil：from genes to ecosystems[J]. Current Opinion in Microbiology，2002，5(3)：240-245.

[16]姚槐应，何振立，黄昌勇. 不同土地利用方式对红壤微生物多样性的影响[J]. 水土保持学报，2003，17(2)：51-54.

[17]王　健，刁治民，张　静，等. 土壤微生物在促进植物生长方面的作用与发展前景[J]. 青海草业，2006，15(4)：20-26.

[18]高　明，周保同，魏朝富，等. 不同耕作方式对稻田土壤动物、微生物及酶活性的影响研究[J]. 应用生态学报，2004，15(7)：1177-1181.