

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

邵继海,陈杰锋,胡婷

(湖南农业大学 资源环境学院,长沙 410128)

摘要:长期过量施肥已导致我国大量农田土壤酸化,固氮蓝藻在酸化稻田对水稻产量和土壤微生物群落结构与功能的影响尚不清楚.通过酸化稻田小区试验,向其中接种林氏念珠藻(*Nostoc linckia*),研究了其对水稻产量、主要土壤酶活性及土壤中细菌群落结构的影响.田间小区试验结果表明,接种林氏念珠藻后,稻田土壤中铵态氮含量显著高于对照处理,水稻产量也显著高于对照.接种林氏念珠藻处理组的土壤纤维素酶、固氮酶和酸性磷酸酶活性均显著增高.土壤中酸性磷酸酶和纤维素酶与土壤中铵态氮含量呈显著正相关.高通量测序结果显示,接种林氏念珠藻改变了土壤中细菌群落组成,但是对细菌群落 α 多样性没有显著影响.蓝藻门中的优势类群 *Synechococcales* 和 *Lep-
tolyngbyales* 的相对丰度与土壤中的铵态氮呈显著负相关,放线菌门中的 *Frankiales* 和 *Solirubrobacterales* 及拟杆菌门中的 *Bacteroidales* 的相对丰度与土壤中铵态氮含量呈显著正相关.除铵态氮外,土壤中磷含量及土壤 pH 也是改变稻田土壤中细菌群落结构的主要环境因子.研究表明,向酸化稻田接种固氮蓝藻能够提高水稻产量和土壤肥力.

关键词:固氮蓝藻;稻田;土壤酶;细菌多样性

中图分类号:Q89

文献标志码:A

化学氮肥在提高农作物产量方面发挥了极大的作用.然而,长期过量使用化学氮肥已导致一系列的农业和环境问题,如农田土壤酸化、水体富营养化和温室气体的释放等^[1-4].自 20 世纪 80 年代至今,我国农田土壤酸化形势依然严峻,减少化学氮肥的使用量和提高化学氮肥的利用效率是遏制农田土壤酸化的主要措施.

固氮蓝藻是农田生态系统的重要微生物类群.研究表明,固氮蓝藻每季向稻田输入的氮素量可以达到 20~60 kg/hm²^[5].在水稻生长过程中,接种固氮蓝藻可减少近一半的化学氮肥,且使水稻增产 10%~30%^[6].固氮蓝藻在提高水稻产量和减少稻田化学氮肥使用量方面具有很大的应用潜力.尽管目前关于固氮蓝藻对农田氮素输入以及对农作物的生长和增产效应较多的研究,但向酸化农田接种固氮蓝藻后,对水稻产量及农田微生物结构与功能的影响却鲜有报道.本研究通过稻田小区试验,探讨了在酸化稻田中接种固氮蓝藻对水稻产量、土壤酶活性和土壤中细菌多样性的影响,以期在酸化稻田中固氮蓝藻的合理利用以及提高水稻产量与土壤肥力提供科学依据.

1 材料和方法

1.1 小区试验位点概况及试验设计

小区试验于 2020 年在湖南省浏阳市蕉溪镇水稻田(113°32'13.11"E,28°13'40.79"N)进行.该稻田土壤 pH 为 5.2;全氮 0.55 g/kg;铵态氮 0.05 mg/kg;总磷 0.65 g/kg;有效磷 11.63 mg/kg.试供藻种为林氏念珠藻(*Nostoc linckia* FACHB104),由中国科学院水生生物研究所提供.使用 BG-11 培养基进行藻种扩大培养,

收稿日期:2022-03-15;修回日期:2022-04-25.

基金项目:国家自然科学基金(32071647)

作者简介(通信作者):邵继海(1979—),男,湖北洪湖人,湖南农业大学教授,博士生导师,研究方向为蓝藻生理生态,
E-mail:shao@hunau.net.

培养温度为 28 °C,光照周期光暗比设置为 12L:12D,光照强度为 24 lx.待林氏念珠藻培养至对数末期,将其转入无氮 BG-11 培养基中培养 15 d,然后接种至稻田.试验分为对照(CK)和接种林氏念珠藻处理(NL).每个处理设置 3 个重复,随机排列,共设计 6 个试验小区,每个小区的大小为 4 m×5 m.NL 处理组接种经过氮饥饿的林氏念珠藻培养液,CK 处理组接种等体积的无氮 BG-11 培养基.每次接种量约为 6.6×10^{10} cells/m².从水稻插秧后第 2 d 到水稻乳熟期,每 15 d 接种 1 次.水稻品种为杂交稻天优华占.水稻插秧前一周施加基肥,施用量为尿素 166.67 kg/hm²,氯化钾 166.67 kg/hm²,过磷酸钙 291.29 kg/hm².插秧 1 月后施加追肥,追肥用量为氯化钾 100 kg/hm²,过磷酸钙 175.68 kg/hm².水分管理方式为全生育期淹水.

1.2 样品采集及测定

土壤样品于水稻成熟期采集,在各试验小区采集至少 5 个点的 0~20 cm 耕作层土壤,混匀,挑出植物残体后,采用 4 分法装袋.一部分新鲜土样装于封口袋放于 -80 °C 超低温冰箱储存,用于分析土壤微生物分子多样性;一部分新鲜土壤装于封口袋放于 4 °C 冷藏,用于分析土壤酶活性.另一部分样品储存于自封袋内并转移至实验室自然风干,碾磨过筛后测定其基本理化性质.

土壤 pH 采用电位法测定^[7];土壤中有有机质、铵态氮、硝态氮、总磷、有效磷、阳离子交换量参考文献[7].土壤中脲酶采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定;酸性磷酸酶采用对硝基苯比色法测定;土壤纤维素酶采用蒽酮硫酸比色法测定.上述酶活性具体测定方法参照文献[8].土壤固氮酶活性采用乙炔还原法测定^[9-10].水稻成熟后,采用 5 点取样法收割水稻穗.将谷粒样品置于室外阳光下晒干,称质量,测定其产量.

1.3 高通量测序

选用土壤 DNA 提取试剂盒(天根)提取土壤样品总 DNA,使用 16S rDNA 通用引物 515F(5'-GTGC-CAGCMGCCGCGG-3')和 806R(5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')扩增细菌 16S rRNA 基因的 V4~V5 区^[11].PCR 热循环方案设置为:95 °C 预变性 5 min,然后进入 25 个循环扩增阶段,每个循环包括变性 95 °C 30 s,退火 54 °C 30 s,延伸 72 °C 30 s,最后于 72 °C 保温 5 min.PCR 扩增在 ABI GeneAmp PCR System 9700(Applied Biosystems,CA,USA)上进行.使用 2%(质量分数)的琼脂糖凝胶对 PCR 产物进行电泳检测,并使用 AxyPrep DNA 凝胶提取试剂盒(Axygen Biosciences,Union City,CA,USA)进一步纯化.使用 QuantiFluor™-ST(PromegaUSA)对纯化的扩增子进行定量,上海美吉生物医药科技有限公司的 Illumina MiSeq 平台上进行高通量测序.

1.4 数据统计分析

试验数据用 SPSS 13.1 进行统计分析,处理组和对照组的两两比较采用 *t* 检验, $p < 0.05$ 时表示差异显著.采用皮尔森(pearson)相关性分析来研究土壤酶活性与土壤理化性质,以及细菌相对丰度与土壤理化性质的相关性.

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质与水稻产量

由表 1 可以看出,接种林氏念珠藻显著提高了土壤中铵态氮的含量,与对照组相比,其铵态氮含量提高了 27.0%.林氏念珠藻对土壤 pH,有机质,硝态氮,阳离子交换量影响不显著.接种林氏念珠藻处理组土壤中速效磷平均值大于对照组,但统计分析结果显示其差异未达到显著性水平.由图 1 可知,接种林氏念珠藻能显著增加水稻的产量,增幅为 33.7%.

表 1 不同处理的土壤理化特征

Tab. 1 Physicochemical properties of soil in different treatments

| 组别 | pH | 有机质质量分数/ (g · kg ⁻¹) | 铵态氮质量分数/ (mg · kg ⁻¹) | 硝态氮质量分数/ (mg · kg ⁻¹) | 阳离子交换量/ (cmol(+) · kg ⁻¹) | 总磷质量分数/ (g · kg ⁻¹) | 速效磷质量分数/ (mg · kg ⁻¹) |
|----|-----------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--|------------------------------------|--------------------------------------|
| CK | 5.37±0.10 | 23.27±1.05 | 6.01±0.64 | 2.50±0.05 | 10.33±0.97 | 0.76±0.06 | 17.77±6.38 |
| NL | 5.22±0.08 | 21.56±0.66 | 7.63±0.46 * | 2.45±0.28 | 9.79±0.53 | 0.68±0.02 | 22.67±10.77 |

注:* 表示 $p < 0.05$, *t* 检验,下同.

2.2 土壤酶活性

由图 2 可以看出,接种林氏念珠藻处理组的土壤固氮酶、酸性磷酸酶和纤维素酶的活性均显著增强,与对照相比,分别增加了 40.3%,50.8%和 90.9%。土壤脲酶活性分析结果显示,接种林氏念珠藻对该酶的活性没有显著影响。

2.3 土壤酶活性与土壤理化性质的相关性分析

由表 2 可知,土壤中酸性磷酸酶与铵态氮的相关系数为 0.82,呈显著正相关。纤维素酶与 pH 的相关系数为 -0.82,呈显著负相关。纤维素酶与铵态氮的相关系数为 0.96,呈极显著正相关。固氮酶活性与有机质的相关系数为 -0.83,呈显著负相关。

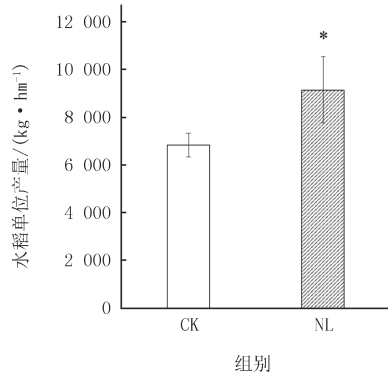


图1 接种林氏念珠藻对水稻产量的影响

Fig.1 Effects of *N. linckia* inoculation on rice grain yield

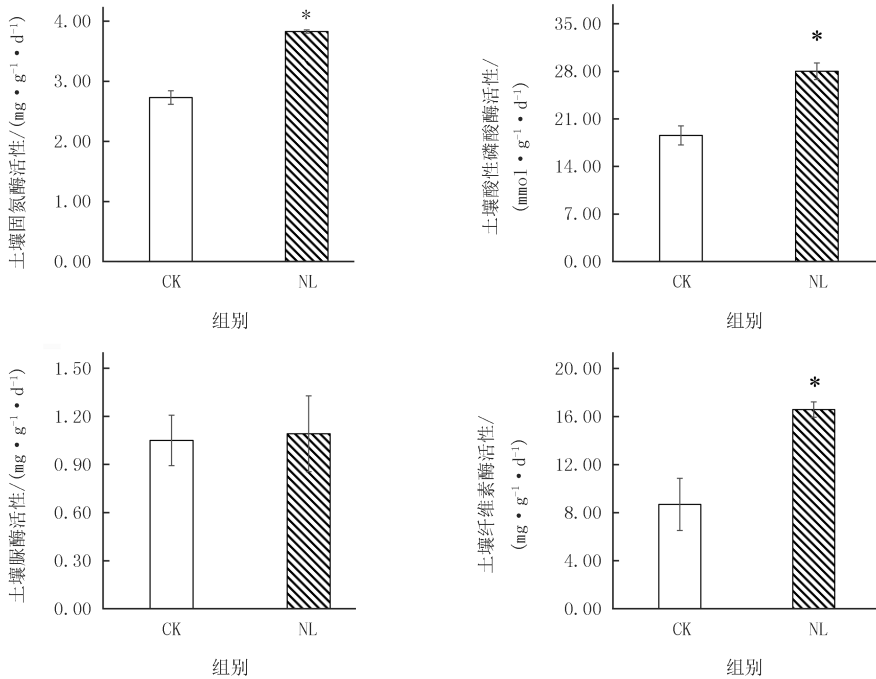


图2 接种林氏念珠藻对土壤酶活性的影响

Fig.2 Effects of *N. linckia* inoculation on the activities of soil enzymes

表 2 土壤酶活性与土壤理化性质的皮尔森相关性分析

Tab. 2 Pearson Correlation analysis between soil enzymes and soil physicochemical properties

| 酶 | pH | 铵态氮 | 硝态氮 | 总氮 | 速效磷 | 总磷 | 有机质 |
|-------|----------|-----------|--------|-------|-------|--------|----------|
| 酸性磷酸酶 | -0.663 | 0.082 * | -0.09 | 0.767 | 0.253 | -0.603 | -0.747 |
| 脲酶 | 0.072 | -0.087 | 0.355 | 0.03 | 0.005 | 0.03 | -0.105 |
| 纤维素酶 | -0.822 * | 0.959 * * | -0.079 | 0.707 | 0.442 | -0.615 | -0.534 |
| 固氮酶 | -0.579 | 0.800 | -0.184 | 0.808 | 0.253 | -0.740 | -0.830 * |

注: * 表示 $p < 0.05$, ** 表示 $p < 0.01$,下同。

2.4 土壤中细菌群落多样性分析

高通量测序的结果显示,该稻田土壤中的优势细菌主要分布于变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteria)、浮霉菌门(Planctomycetes),这 5 个菌门的相对丰度占比之和高达 73.19%~74.89%(图 3),其中变形菌门占比最高,为 22.89%~23.10%。其次为

放线菌门和绿弯菌门,分别占比 13.53%~17.22% 和 12.42%~21.72%。从各类群相对丰度的平均值来看,接种林氏念珠藻后,放线菌门、拟杆菌门(Bacteroidetes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)的相对丰度均有所增加,而绿弯菌门和浮霉菌门相对丰度均有所降低。统计分析的结果显示,在上述主要的微生物类群中,仅放线菌门的相对丰度在接种林氏念珠藻处理和对照之间存在显著性差异。

为了揭示土壤中细菌群落结构变化与主要环境因子的关系,将相对丰度前 10 位的细菌类群(门水平)与土壤中总氮、铵态氮、硝态氮、总磷、效磷、有机质含量和 pH 等 7 个环境因子做皮尔森相关性分析(表 3)。结果显示,放线菌与浮霉菌的相对丰度分别与土壤中的总磷、速效磷含量呈显著负相关;疣微菌和蓝藻的相对丰度均与土壤中的铵态氮呈显著负相关;拟杆菌的相对丰度与土壤的氨氮呈显著正相关,与土壤 pH 值呈显著负相关。其余 5 个主要细菌类群与上述 7 个环境因子均无显著相关性。

为了进一步了解细菌群落结构与主要环境因子的关系,在上述相关性分析的基础上,从目分类水平将放线菌门、疣微菌门、蓝藻门、拟杆菌门中的主要类群与土壤的 pH、铵态氮、总磷进行了皮尔森相关性分析(附表 2),结果显示疣微菌门中的 Chthoniobacterales,蓝藻门中的色球藻目(Synechococcales)和细鞘丝藻目(Leptolyngbyales)与 pH 呈显著正相关,而拟杆菌门中的拟杆菌目(Bacteroidales)和 Kryptoniales 与 pH 呈显著负相关。色球藻目和细鞘丝藻目与土壤中铵态氮含量呈显著负相关,而放线菌门中的弗兰克氏菌目(Frankiales),Solirubrobacterales 和拟杆菌门中的拟杆菌目与铵态氮含量呈显著正相关。疣微菌门中的 Pedosphaerales 与土壤中总磷含量呈显著正相关。

表 4 显示了不同处理条件下稻田土壤中细菌群落的 α 多样性指数的变化情。各处理组高通量测序覆盖率均大于 95%,说明测序结果比较可靠,能够有效反映样本中细菌群落的多样性。除 Coverage 指标外,接种林氏念珠藻处理的 α 多样性指数值均略高于对照组。然而,统计分析的结果显示,这两组处理的各多样性指数均不存在显著差异。

3 讨 论

固氮蓝藻可以通过生物固氮和光合作用向农田输入铵态氮和有机碳,提高土壤肥力,促进农作物生长^[10-11]。此外,有研究表明,一些固氮蓝藻还能合成植物促长激素,促进作物生长和提高作物产量^[12]。本研究结果显示,在酸化稻田接种固氮蓝藻可以有效地提高水稻产量。研究结果显示,接种林氏念珠藻可以显著提高土壤中固氮酶的活性和铵态氮的含量,基于这些结果推测氮素输入是该固氮蓝藻提高水稻产量的作用方式之一。磷酸酶能活化土壤中的非生物有效态磷元素,使其变为作物可以吸收的有效态磷,进而促进作物生长^[13]。接种林氏念珠藻后,土壤中酸性磷酸酶活性显著升高,但是土壤中有效磷的含量与对照相比无显著差异,其原因可能是稻田中的微生物和水稻吸收了更多的有效磷。据此推测,提高磷元素的可获取性也可能是接种林氏念珠藻提高水稻产量的另一原因。文献^[14]研究了稻田新纪录固氮蓝藻类珠藻对水稻生长、产量及稻田土壤理化特性的影响,在大田试验条件下,接种类珠藻可以使水稻增产 25.1%,但是对土壤理化特性无显著影响;本研究结果显示,接种林氏念珠藻使水稻增产 33.7%,土壤中的铵态氮含量显著高于对照处理。本研究所用的土壤为酸性土壤,土壤酸化能抑制作物对氮素养分和无机阳离子的吸收,降低作物产量^[15],这些因素导致本田间试验水稻产量较低。

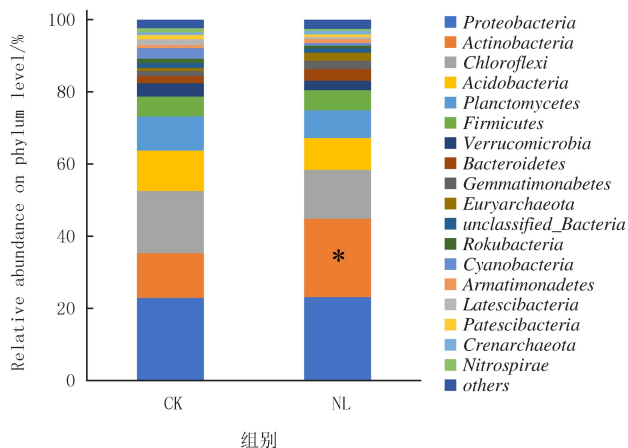


图3 接种林氏念珠藻对稻田土壤中细菌门水平相对丰度的影响

Fig.3 Effects of *N. linckia* inoculation on the relative abundance of bacteria in paddy soil at phylum level

表 3 土壤中主要细菌类群相对丰度与土壤理化性质的皮尔森相关性分析

Tab. 3 Pearson correlation analysis between relative abundances of the main bacteria at phylum level and soil physicochemical properties

| 类群 | pH | 铵态氮 | 总氮 | 总磷 | 速效磷 | 有机质 | 硝态氮 |
|------------------|----------|----------|--------|----------|----------|--------|--------|
| Proteobacteria | -0.090 | 0.055 | -0.452 | -0.227 | 0.474 | 0.594 | -0.257 |
| Actinobacteria | -0.516 | 0.772 | 0.776 | -0.841 * | 0.443 | -0.099 | -0.638 |
| Chloroflexi | 0.591 | -0.668 | -0.146 | 0.614 | -0.637 | -0.405 | 0.626 |
| Acidobacteria | 0.255 | -0.467 | -0.416 | 0.767 | -0.400 | -0.159 | 0.775 |
| Planctomycetes | 0.560 | -0.677 | -0.042 | 0.728 | -0.829 * | -0.359 | 0.406 |
| Firmicutes | 0.388 | -0.096 | 0.117 | -0.701 | 0.213 | -0.173 | -0.319 |
| Verrucomicrobia | 0.753 | -0.868 * | -0.305 | 0.733 | -0.856 * | -0.365 | 0.401 |
| Bacteroidetes | -0.863 * | 0.853 * | 0.164 | -0.450 | 0.695 | 0.447 | -0.458 |
| Gemmatimonadetes | -0.579 | 0.778 | 0.690 | -0.603 | 0.228 | -0.466 | -0.418 |
| Cyanobacteria | 0.738 | -0.838 * | -0.454 | 0.478 | -0.480 | 0.147 | 0.147 |

表 4 接种林氏念珠藻对土壤中细菌 α 多样性指数的影响Tab. 4 Effects of *N. linckia* inoculation on the α -diversity of bacterial community in paddy soil

| 组别 | Sobs | Shannon | Ace | Chao | Simpson | Coverage/% |
|----|-----------------|-----------|-----------------|-----------------|------------------|------------|
| CK | 4 275.67±189.99 | 7.11±0.13 | 5 874.91±180.38 | 5 810.77±134.54 | 0.002 46±0.000 5 | 96.12 |
| NL | 4 464.33±52.28 | 7.12±0.03 | 6 271.97±118.97 | 6 177.88±134.74 | 0.002 74±0.000 7 | 95.75 |

土壤酶的活性受土壤理化性质的影响。有研究表明,微生物磷酸酶活性与环境中氮素营养水平直接相关^[16]。根据本文皮尔森相关性分析结果,土壤中铵态氮含量与酸性磷酸酶呈显著正相关。接种林氏念珠藻后,土壤固氮酶活性升高,铵态氮含量增加,氮素营养水平的升高刺激土壤微生物磷酸酶的活性。纤维素酶活性是评价土壤肥力的重要指标^[17],纤维素分解菌与固氮微生物之间存在较为普遍的碳氮互惠关系^[18],接种林氏念珠藻增强了土壤中纤维素酶的活性,再次从酶活性的角度证明固氮蓝藻与纤维素分解菌之间存在互惠的关系,该结果也从纤维素酶活性的角度表明接种林氏念珠藻能够提高土壤肥力。尽管有文献报道固氮蓝藻可以通过光合作用向农田输入有机碳^[11],然而本试验结束后,接种林氏念珠藻处理组土壤中有机质含量与对照相比无显著差异。其原因可能是接种固氮蓝藻后微生物分解代谢有机质的活性增强,有机物分解速度增加,抵消了固氮蓝藻光合作用向土壤输入的有机质。而土壤有机质与固氮酶活性呈显著负相关也间接证明了这一点。

土壤中变形菌门、酸杆菌门、浮霉菌门、放线菌门和绿弯菌门的丰度往往较高^[19],本研究结果显示,这 5 个细菌类群的相对丰度之和超过总细菌类群的 70%。这也进一步肯定了这些微生物是稻田土壤的主要细菌类群。如图 3 所示,接种林氏念珠藻后,土壤中放线菌门的相对丰度显著高于对照。放线菌是农田土壤中的重要微生物类群,这类微生物具有强大的有机物分解能力,一些种类还具有生防和固氮的活性^[20-21]。属分类水平的分析结果显示,接种林氏念珠藻处理组土壤中诺卡氏菌属(*Nocardioide*)、酸热菌属(*Acidothermus*)及一个未鉴定到属的盖勒氏菌目(*Gaiellales*)放线菌的相对丰度显著高于对照。诺卡氏菌和酸热菌对纤维素、木质素及多种有机污染物具有较强的降解能力^[22-23]。该类微生物丰度的增加可以提高稻田土壤有机碳的周转,这也可能是接种林氏念珠藻处理组土壤中纤维素分解酶活性高于对照的原因。

土壤中微生物的群落组成与环境因子息息相关。土壤中氮、磷、有机质含量及土壤 pH 对土壤微生物群落结构有显著的影响^[24]。皮尔森相关性分析结果显示,蓝藻门的相对丰度均与土壤中的铵态氮呈显著负相关,而拟杆菌门和放线菌门中的一些种类的相对丰度与土壤中铵态氮呈显著正相关。尽管接种的林氏念珠藻在分类系统中属于念珠藻科(*Nostocaceae*),本研究在科分类水平的群落组成分析结果显示,念珠藻科的类群在蓝藻门中所占的相对比例比较低,占比均不到 10%,其中的优势类群为色球藻科(*Synechococcaceae*)、微囊藻科(*Microcystaceae*)和细鞘丝藻亚科(*Leptolyngbyaceae*)。本研究中生物多样性样品的采集时间为水稻成熟期,距离最近的一次林氏念珠藻接种时间已有一个多月,林氏念珠藻种群在稻田中的衰退可能是导致念珠藻科蓝藻相对丰度较低的原因。蓝藻分布与环境因子的关系复杂,不同生境存在着不同模式。以色球藻科蓝藻为例,SILAMBARASAN 等^[25]研究结果显示,海洋中色球藻科蓝藻的丰度与水体营养盐,如铵态氮、

硝态氮、磷酸盐等的含量呈负相关,而 FRADE 等^[26] 研究结果则显示大堡礁周围海水中的色球藻科蓝藻的丰度与水体营养盐呈正相关。本研究结果则显示稻田色球藻科蓝藻与土壤中铵态氮含量呈负相关,也正是因为色球藻目和细鞘丝藻目这些优势蓝藻类群的相对丰度与土壤中铵态氮含量呈负相关,从而出现蓝藻门的相对丰度与土壤中铵态氮呈负相关的现象。本研究接种林氏念珠藻后,土壤中绿弯菌门和浮霉菌门相对丰度均有所降低,但相关性分析结果显示,这两类微生物的相对丰度变化与本研究测定的 7 个环境因子均无显著相关性。土壤中微生物群落结构的演替除了与环境因子相关外,还与微生物之间的相互作用相关^[27]。对本研究中主要细菌类群相对丰度之间的相关性进行了分析,结果表明绿弯菌与酸杆菌、浮霉菌、疣微菌呈显著正相关,与拟杆菌呈显著负相关。浮霉菌与疣微菌呈显著正相关。目前国内外关于微生物之间的相互作用与群落演替关系的认识还非常有限,关于稻田接种林氏念珠藻引起微生物群落结构改变的驱动因子还有待进一步研究。

4 结 论

向酸化稻田接种林氏念珠藻能显著增加土壤中铵态氮的含量并提高水稻产量。林氏念珠藻能提高土壤中放线菌的相对丰度,并增强土壤中固氮酶、磷酸酶和纤维素酶的活性。

参 考 文 献

- [1] ZHU Q C, LIU X J, HAO T X, et al. Cropland acidification increases risk of yield losses and food insecurity in China[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 256: 113145.
- [2] GUO J H, LIU X J, ZHANG Y, et al. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. *Science*, 2010, 327(5968): 1008-1010.
- [3] DUAN P P, FAN C H, ZHANG Q Q, et al. Overdose fertilization induced ammonia-oxidizing Archaea producing nitrous oxide in intensive vegetable fields[J]. *The Science of the Total Environment*, 2019, 650: 1787-1794.
- [4] 柳萌, 何斌, 赵鹏, 等. 生物炭吸附聚谷氨酸对豫南酸性农田作物生长的影响[J]. *河南农业大学学报*, 2021, 55(6): 1134-1141.
LIU M, HE B, ZHAO P, et al. Effects of biochar adsorption polyglutamic acid on crop growth in acidic farmland in southern Henan[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2021, 55(6): 1134-1141.
- [5] ABINANDAN S, SUBASHCHANDRABOSE S R, VENKATESWARLU K, et al. Soil microalgae and cyanobacteria: the biotechnological potential in the maintenance of soil fertility and health[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2019, 39(8): 981-998.
- [6] 沈银武, 黎尚豪. 固氮蓝藻培养和应用的结果与展望[J]. *水生生物学报*, 1993, 17(4): 357-364.
SHEN Y W, LI S H. Cultivation and application of the nitrogen-fixing blue-green algae: results and prospects[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1993, 17(4): 357-364.
- [7] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [8] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1986.
- [9] PATRA A K, ABBADIE L, CLAYS-JOSSERAND A, et al. Effects of management regime and plant species on the enzyme activity and genetic structure of N-fixing, denitrifying and nitrifying bacterial communities in grassland soils[J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(6): 1005-1016.
- [10] 卢韩杨, 潘文静, 马晓洁, 等. 城市景观水体中固氮微生物多样性及固氮活性检测[J]. *水生生物学报*, 2019, 43(5): 1139-1146.
LU H Y, PAN W J, MA X J, et al. The diversity of diazotroph and the activity of nitrogen fixation in urban landscape water[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, 43(5): 1139-1146.
- [11] BATES S T, BERG-LYONS D, CAPORASO J G, et al. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil[J]. *The ISME Journal*, 2011, 5(5): 908-917.
- [12] GHEDA S F, AHMED D A. Improved soil characteristics and wheat germination as influenced by inoculation of *Nostoc kihlmani* and *Anabaena cylindrica*[J]. *Rendiconti Lincei*, 2015, 26(2): 121-131.
- [13] JOHNSTON A E, POULTON P R. Phosphorus in agriculture: a review of results from 175 years of research at rothamsted, UK[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2019, 48(5): 1133-1144.
- [14] HU T, CHEN A W, JIANG Y X, et al. Application of a newly recorded diazotrophic cyanobacterium in acidified and Cd contaminated paddy soil: promotes rice yield and decreases Cd accumulation[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 814: 152630.
- [15] 崔红标, 田超, 周静, 等. 纳米羟基磷灰石对重金属污染土壤 Cu/Cd 形态分布及土壤酶活性影响[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(5): 874-880.
CUI H B, TIAN C, ZHOU J, et al. The effects of nano-scale hydroxyapatite on the speciation of Cu and Cd and enzymatic activities in soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(5): 874-880.
- [16] WANG S Y, XIAO J, WAN L L, et al. Mutual dependence of nitrogen and phosphorus as key nutrient elements: one facilitates *Dolicho-*

- spermum flos-aquae to overcome the limitations of the other[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(10):5653-5661.
- [17] 刘旭辉,覃珊,覃勇荣,等.不同植被对石漠化地区土壤纤维素分解酶活性的影响[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(18):335-340.
LIU X H, QIN S, QIN Y R, et al. Influences of different vegetations on soil cellulolytic enzyme activity in Karst rocky desertification areas [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(18):335-340.
- [18] 肖剑英,张磊,谢德体,等.长期免耕稻田的土壤微生物与肥力关系研究[J]. *西南农业大学学报*, 2002, 24(1):82-85.
XIAO J Y, ZHANG L, XIE D T, et al. Study on the relationship between soil microbes and soil fertility in paddy fields of long-term no-tillage and ridge culture [J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 2002, 24(1):82-85.
- [19] ZHENG J F, CHEN J H, PAN G X, et al. Biochar decreased microbial metabolic quotient and shifted community composition four years after a single incorporation in a slightly acid rice paddy from southwest China [J]. *The Science of the Total Environment*, 2016, 571:206-217.
- [20] HAMDI C, AROUS F, JAOUANI A. Actinobacteria: A promising source of enzymes involved in lignocellulosic biomass conversion [J]. *Advances in Biotechnology & Microbiology*, 2019, 13(5):555874.
- [21] SATHYA A, VIJAYABHARATHI R, GOPALAKRISHNAN S. Plant growth-promoting actinobacteria: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes [J]. *3 Biotech*, 2017, 7(2):102.
- [22] 刘东波,李凤敏,陈珊.纤维素诺卡氏菌降解玉米秸秆和玉米芯的研究[J]. *东北师大学报(自然科学版)*, 2001, 33(1):60-63.
LIU D B, LI F M, CHEN S. Study on *Nocardia cellulans* HD-86 decomposing cornstalk and corncob [J]. *Journal of Northeast Normal University (Natural Science Edition)*, 2001, 33(1):60-63.
- [23] 白雪,李运杰,孟冬冬,等.解纤维素热酸菌来源的耐热磷酸酶的酶学性质与应用[J]. *生物加工过程*, 2021, 19(2):123-129.
BAI X, LI Y J, MENG D D, et al. Characterization and application of thermostable sugar phosphatase from *Acidothermus cellulolyticus* [J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2021, 19(2):123-129.
- [24] XUE P P, CARRILLO Y, PINO V, et al. Soil properties drive microbial community structure in a large scale transect in south eastern Australia [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1):11725.
- [25] SILAMBARASAN G, RAMANATHAN T, KATHIRESAN K. Effect of physico-chemical factors on distribution of marine cyanobacterial species in Kurusadai Island [J]. *International Journal of Current Research*, 2012, 4(10):32-35.
- [26] FRADE P R, GLASL B, MATTHEWS S A, et al. Spatial patterns of microbial communities across surface waters of the Great Barrier Reef [J]. *Communications Biology*, 2020, 3(1):442.
- [27] DJURHUUS A, CLOSEK C J, KELLY R P, et al. Environmental DNA reveals seasonal shifts and potential interactions in a marine community [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1):254.

Effects of *Nostoc linckia* on rice grain yield and the structure and functions of bacterial community in acidified paddy soil

Shao Jihai, Chen Jiefeng, Hu Ting

(College of Resources and Environment, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: Long-term excessive fertilization caused acidification of massive agricultural soils in China. The effects of diazotrophic cyanobacteria on rice grain yield and the structure and functions of bacterial community in acidified paddy soil remain unknown. The effects of *Nostoc linckia* inoculation on rice grain yield, activities of the main soil enzymes, and the structure of bacterial community in acidic paddy soil were investigated through field plot experiment. The results showed that the content of NH_4^+ -N in paddy soil and rice grain yield in the *N. linckia* inoculation treatment were significantly higher than those of the control. The activities of cellulose, nitrogenase and phosphatase were significantly higher than those of the control. The activities of acidic phosphatase and cellulose were positively correlated with the content of NH_4^+ -N in soil. The results of high-throughput sequencing revealed that *N. linckia* inoculation changed the structure of bacterial community but did not affect bacterial α -diversity. The relative abundances of *Synechococcales* and *Leptolyngbyales*, the main groups in *Cyanobacteria*, were negatively correlated with the content of NH_4^+ -N in soil, while the *Bacteroidales* in *Bacteroidetes*, *Frankiales* and *Solirubrobacterales* in *Actinobacteria* were positively correlated with the content of NH_4^+ -N. Besides NH_4^+ -N content, the content of phosphorus in soil and soil pH were also the main environmental factors affecting bacterial community in paddy soil. The results presented in this study indicate that application of diazotrophic cyanobacteria could promote rice grain yield and improve soil fertility.

Keywords: diazotrophic cyanobacteria; paddy field; soil enzymes; bacterial diversity

[责任编辑 刘洋 杨浦]