

淹水培养过程中水稻土细菌丰度与群落结构变化

阚靖博¹ 李丽娜² 曲东^{2*} 王保莉^{1*}

1 (西北农林科技大学生命科学学院, 陕西杨凌 712100)

2 (西北农林科技大学资源环境学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 水稻土是非常复杂又典型的生态系统, 分析淹水培养过程中水稻土细菌的丰度和群落结构变化规律, 可以客观反映水稻土中细菌群落结构信息, 为深入探讨水稻土细菌微生物对稻田的影响和在生态系统中的作用(营养元素转换、重金属还原与抑制甲烷生成过程等)提供实验基础与理论依据。作者采用淹水非种植水稻土微环境模式系统, 提取水稻土淹水培养1 h和1、5、10、20、30、40、60 d后的微生物总DNA, 利用Real-time PCR和PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis)技术检测了淹水培养过程中细菌丰度与群落结构的变化。结果表明: 淹水水稻土中细菌的丰度在1 d时最大, 并在40 d到达第二个峰值, 说明淹水过程改变了细菌的丰度。基于16S rRNA基因V3区的DGGE图谱分析显示, 淹水过程中细菌的群落结构发生了演替性变化: r-策略生存的细菌仅存在于淹水初期; k-策略生存的细菌存在于淹水后期; r-和k-策略共生存的细菌存在于整个淹水过程中, 淹水后期k-策略的细菌占据优势。淹水培养过程中优势种群多样性指数大体呈现先上升后减小的趋势。主成分分析(PCA)将淹水处理过程分成几类不同的生境, 反映出中、后期细菌群落结构较为稳定; 测序结果表明, 32个优势条带所代表的细菌分别属于厚壁菌门、绿弯菌门、拟杆菌门、变形菌门和酸杆菌门, 且与来自不同地域的水稻土、其他类型土壤、活性污泥以及湖泊沉积物等生态系统的细菌关系密切。

关键词: 淹水水稻土, 细菌, 16S rRNA, 丰度, 群落结构, r-/k-策略, 演替

Changes in bacterial abundance and community structure associated with flooding in paddy soil

Jingbo Kan¹, Lina Li², Dong Qu^{2*}, Baoli Wang^{1*}

1 College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100

2 College of Resources and Environment, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100

Abstract: Paddy soil is a complex and typical ecosystem. Investigating changes to paddy soil bacterial communities during flooding can provide a theoretical basis for further exploring bacterial effects on and functions in ecosystems, e.g. nutrient transformations, the suppression of methanogenesis and bioremediation of heavy metal pollution. In this study, bacterial genomic DNA was analyzed from 8 paddy soil samples with flooding periods of 1 h, 1 d, 5 d, 10 d, 20 d, 30 d, 40 d and 60 d, respectively. 16S rRNA gene-based real-time PCR and PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) were used to study abundance and community structure during different flooding periods. The highest bacterial abundance was observed at 1 d with the second highest value at 40 d, indicating that bacterial abundance fluctuated over the flooding period. Succession of bacterial community structure was observed along the entire flooding period: r-strategists were only present in the early flooding stage; k-strategists emerged and were dominant in the late flooding stage; r-k-strategists symbiotic organisms were present in the entire flooding period. The diversity of the bacterial community during the flooding period rose initially and then tended to drop as succession took place. Principal Components Analysis based on digitized DGGE patterns indicated that the changes to bacterial commu-

收稿日期: 2014-03-14; 接受日期: 2014-05-16

基金项目: 国家自然科学基金(41171204)

* 共同通讯作者 Co-authors for correspondence. E-mail: dongqu@nwsuaf.edu.cn; wbl@nwsuaf.edu.cn

nity structure slowed during the mid- to late flooding stages. Sequencing results showed that Firmicutes, Chloroflexi, Bacteroidetes, Proteobacteria and Acidobacteria, which have close phylogenetic relationships with the groups from paddy soils and other soils of different regions, activated sludge systems and lake sediments, were the dominant habitants of the study site.

Key words: flooding paddy soil, bacteria, 16S rRNA, abundance, community structure, r-/k- strategy, succession

水稻土是非常复杂的环境, 诸如有机物降解、化学反应和气候条件等理化过程与外界因素都会对其造成影响(Rizzo *et al.*, 2013), 而耕作、淹水时间和排水方式等多年不同的田间管理也会导致水稻土中的金属离子、无机物和营养物质发生改变(Katoh *et al.*, 2003)。

近年来, 作为典型陆地生态系统的水稻土被广泛用作生物地球化学和微生物学的研究(Chen *et al.*, 2010), 水稻土微生物群落结构也因此成为水稻土性质的关注热点。研究发现, 原位水稻土中的氧化还原条件会直接影响到其中的细菌群落的数量与组成, 尤其对数量的影响更为明显(Cerli *et al.*, 2013)。如长期施肥会影响水稻土中的微生物群落, 尤其是其中的 γ -变形菌门(Wu *et al.*, 2011)。在水稻土灌溉过程中, 甲烷营养型细菌和产甲烷细菌的数量是一个动态变化的过程, 它们共同影响着甲烷通量(Lee *et al.*, 2014)。地杆菌科微生物有助于水稻土中的铁还原过程(Yi *et al.*, 2013)。利用T-RFLP方法研究原位厌氧水稻土中的铁还原细菌群落结构的结果表明, 除了地杆菌外, 厚壁菌门中例如芽孢杆菌、梭菌等也对水稻土的铁还原做出了重要贡献(Li *et al.*, 2011)。

通过实验室人工分离培养的微生物数量仅占估计数量的1–5%, 而自然界中其余95–99%的类群仍然未被分离和认识(Rappé & Giovannoni, 2003)。PCR-DGGE技术除了结果可靠、重现性好外, 还可实现对未培养细菌种群的检测。V3区是细菌16S rRNA基因上的高变区, 在细菌间具有特异性。淹水水稻土已经成为研究土壤微生物生态的模式系统(Lüdemann *et al.*, 2000), 分析淹水水稻土中细菌丰度与群落结构的变化对于揭示水稻土微生物在生态系统中的作用有重要意义。已经有意大利学者对水稻土在淹水培养过程中细菌的群落结构动态进行了分析(Noll *et al.*, 2005)。国外研究主要集中在特定生化过程的功能微生物上, 如Fe(III)还原作用、产甲烷作用和固氮作用等(Lüdemann *et al.*, 2000; Li *et*

al., 2011; Reim *et al.*, 2012; Shu *et al.*, 2012)。目前国内有关水稻土中细菌群落结构的实验较少, 而针对淹水培养条件下水稻土中细菌水平上群落结构的分析更是鲜有报道。因此, 有必要采用分子生态学手段了解淹水水稻土中细菌丰度与群落结构。考虑到稻田土壤长期处于淹水状态, 本实验采用淹水厌氧培养方法进行模拟, 并利用基于16S rRNA基因的实时定量PCR(Real-time PCR)与PCR-DGGE分子生态学技术对水稻土中细菌微生物丰度和群落结构进行分析, 以求更真实地反映水稻土中细菌群落结构信息, 为深入探讨水稻土细菌微生物对稻田的影响及其在生态系统中的作用提供实验与理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土样

水稻土于2010年1月采自四川省成都市邛崃县回龙镇柏杨村水稻收获后的稻田。采集0–20 cm耕层土壤, 捡去其中的植物残体, 自然风干后磨细, 过1 mm土壤筛, 贮存备用。土壤有机质含量为48.9 g/kg, 全铁含量为34.2 g/kg, pH值为7.34。

1.2 实验方案

实验设置8个不同淹水时间处理, 分别为淹水培养1 h、1 d、5 d、10 d、20 d、30 d、40 d和60 d。称取3.000 g土样若干份, 置于灭菌后的10 mL血清瓶中, 分别加入无菌去离子水3 mL, 保持水土比为1:1。加橡胶盖, 充氮除氧, 用铝盖密封后置于30℃恒温培养箱中避光培养。到达培养时间后将土壤泥浆样品置于–20℃保存, 每个处理取出3份作为重复。

1.3 土壤微生物总DNA提取

将泥浆样品解冻后, 采用OMEGA soil DNA kit提取土壤微生物总DNA。具体步骤见试剂盒说明书。

1.4 基于细菌的16S rRNA基因的丰度分析

Real-time PCR体系为: TaKaRa SYBR *Primix Ex Taq*TM II 12.5 μ L, Com1(5'-CAGCAGCCGCGGT AATAC-3') 和 Com2(5'-CCGTCAATTCCTTTGAG TTT-3')(Zhou *et al.*, 2007)引物各1 μ L, 土壤微生物

总DNA 1 μL , 补加ddH₂O至25 μL 。反应条件: 95℃预变性180 s, 94℃变性20 s, 50℃退火40 s, 72℃延伸40 s; 40个循环。扩增片段长度为407 bp。以含有细菌16S rRNA基因的重组pGEM[®]-T 载体为标准质粒。计算出标准质粒的拷贝数, 按10倍浓度梯度稀释, 以 10^{-1} – 10^{-8} 浓度梯度的标准质粒为模板进行荧光定量PCR扩增。标准质粒拷贝数的对数值作为纵坐标, 不同浓度质粒的Ct值作为横坐标, 建立标准曲线。扩增效率E = 118.6%, 相关系数R² = 0.987。

1.5 细菌16S rRNA基因V3片段的PCR扩增

采用巢式PCR策略对细菌的16S rRNA基因V3区进行扩增, 制备适合DGGE分析的PCR产物。第一轮反应体系为: TaKaRa Premix Taq[®] DNA聚合酶12.5 μL , 341F(5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3')和534R(5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')引物各0.5 μL , 土壤微生物总DNA 0.5 μL , 补加ddH₂O至25 μL , 扩增片段长度为195 bp。第二轮反应中, 对第一轮的PCR产物稀释10倍并以其为模板, 体系为: TaKaRa Premix Taq[®] DNA聚合酶12.5 μL , GC-341F(CGCCCCGCCGCGCGGGCGGGCGGGGCGGGGCACGGGGGGACTCCTACGGGAGGCAGCAG)和534R(Liu *et al.*, 2010)引物各0.5 μL , 模板0.5 μL , 补加ddH₂O至25 μL , 扩增片段长度为238 bp。两轮PCR反应条件为: 94℃预变性5 min, 94℃变性30 s, 55℃退火40 s, 72℃延伸40 s; 30个循环。

1.6 PCR产物的变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析

采用Bio-Rad公司的Dcode[™]基因突变分析仪对PCR产物进行DGGE分析。使用梯度混合仪制备变性剂浓度为40–60%(100%浓度的变性剂含7 M的尿素和40%的去离子甲酰胺)的8%聚丙烯酰胺凝胶, 胶的浓度从上到下依次递增。在常温下静置1 h使胶完全凝固, 将胶放入电泳槽中加样, 每个点样孔上样量为6×Loading Buffer的PCR产物20 μL (6×Loading Buffer的PCR产物)。电泳条件为: 先在50 V电压下电泳1 h, 然后在80 V电压下电泳9 h, 电泳槽温度保持在60℃。采用银染方法染色后, 进行图像采集。本实验设置重复2次。

1.7 切胶回收测序

将DGGE图谱上的优势条带分别切割后置于1.5 mL离心管中, 先用ddH₂O冲洗干净, 再加入40 μL ddH₂O放入4℃冰箱中过夜溶解, 分别取3 μL 上清液作为模板, 以341F/534R为引物进行PCR扩增。

将PCR产物切胶回收纯化后与pMD19-T连接, 并转化进入大肠杆菌JM109感受态细胞。将阳性克隆接入5 mL LB液体培养基中, 37℃摇床220 r/min过夜培养。将菌液送往上海生工生物工程技术有限公司测序。

1.8 数据处理

用Quantity One v4.62软件分析DGGE图谱, 计算多样性指数(王英等, 2007), 包括:

Margalef物种丰富度指数: $d_{\text{Ma}} = (S-1)/\ln N$, 其中S为样品的条带数, N代表所有峰的总面积;

Shannon-Wiener指数: $H' = -\sum P_i \ln P_i$, $P_i = N_i/N$, N_i 代表单一条带的峰面积, N代表所有峰的总面积, P_i 为特定条带亮度相对于所有条带亮度的比率;

均匀度指数: $E = H'/\ln S$ (Hill *et al.*, 2003);

Simpson指数: $D_s = 1/\sum P_i^2$;

群落相似度指数: $C_{ij} = 2L_{ij}/(L_i + L_j)$, 其中 L_{ij} 为样品i和样品j上位置相同的条带数, L_i 为样品i上的条带数, L_j 为样品j上的条带数。

采用Fast UniFrac (Goecks *et al.*, 2010)进行基于进化树的环境微生物构成的主成分分析(PCA)。

1.9 系统发育树的构建

根据不同淹水培养时间水稻土样品的PCR-DGGE图谱, 对优势条带进行切胶回收。对所得到的32条序列进行测定, 在GenBank中进行比对, 选取相似性大于97%的序列作为参比序列, 根据Neighbour-joining法及K2模型, 利用MEGA5.1软件构建系统发育树。

2 结果

2.1 不同淹水时期水稻土细菌丰度分析

应用Real-time PCR技术获得的细菌16S rRNA基因拷贝数结果如图1所示。由图可看出: (1)水稻土淹水过程中每克风干土细菌16S rRNA基因拷贝数在 4.897×10^8 – 2.291×10^9 之间; (2)淹水培养1 d时丰度达到峰值; (3)淹水培养40 d时达到第二个峰值, 但比前一峰值小。方差分析表明, 各个淹水培养处理样品之间具有显著性差异($P < 0.05$)。

2.2 不同淹水时期水稻土细菌DGGE分析

2.2.1 DGGE图谱分析

淹水培养过程中, 不同时期土样中细菌16S rRNA基因V3区的PCR产物DGGE图谱如图2所示, 泳道1–8分别代表淹水处理1 h、1 d、5 d、10 d、

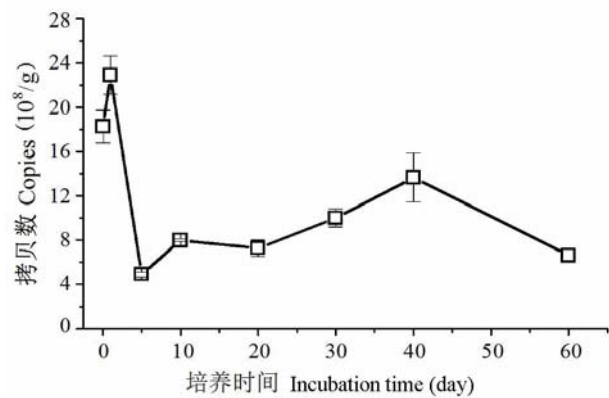


图1 淹水培养过程中水稻土细菌丰度
Fig. 1 The abundance of bacteria at different flooding time

20 d、30 d、40 d和60 d的样品。不同条带代表样品中不同细菌16S rRNA基因V3区片段, 每个泳道中条带的亮度反映出细菌相对生物量的多少。从DGGE图谱可看出, 水稻土细菌微生物的群落结构随着淹水时间的改变发生了明显的变化, 表明各处理分离出了数目不等的条带, 且各个条带的亮度和迁移率都有所不同。按其特征主要分为3类:

(1)共同条带。如条带5、6、10、13、27等, 但亮度有所不同。条带5、6在各处理中亮度都较高; 条带13在1 h–5 d处理中亮度逐渐增高, 并在5 d时达到最大, 而在10–60 d处理中则有所减弱; 条带10在1 h处理中亮度最高, 而随着培养时间的延长呈下降趋势; 条带27在1 d处理中亮度快速减弱, 但随着培养时间的增加而逐渐增强。

(2)仅存在于某些处理中的条带。如条带8存在于10 d、20 d处理中; 条带14存在于1 h和20–60 d处理中。

(3)存在于特定时期的条带。如条带1、3、29在5 d处理中开始出现; 条带7、14在20 d处理中开始出

现; 条带2只在1 d处理中出现。
由此可见, 在淹水培养的不同时期, 水稻土中细菌微生物群落结构存在演替变化, 这种变化体现在两个方面: (1)有些微生物持续存在, 而在数量上有增减; (2)有些微生物在不同的时期出现。

2.2.2 多样性指数分析

根据电泳图谱中每个条带的信息, 对样品中的丰富度指数(d_{Ma})、Shannon指数(H')、均匀度指数(E)和Simpson指数(D_s)进行了综合分析, 结果如表1所示。各样品细菌的多样性指数均有所不同。可以看出, 各指数大体上均有一个先增大后减小的趋势, 表明不同淹水时间对水稻土细菌多样性有影响。

在DGGE图谱中, 由不同处理间共有条带数目的多少计算出的相似性指数(C_{ij}) (表2)可以反映不同样品之间细菌群落的相似性。从表2可以看出, 随着淹水时间的增加, 各处理间细菌群落相似性指数也发生了改变, 但基本呈现先减小后增大的趋势, 如1 h与1 d的 C_{ij} 值大于1 d与5 d的 C_{ij} 值, 而1 d与5 d的 C_{ij} 值小于5 d与10 d的 C_{ij} 值。5 d的 C_{ij} 值均较大, 说明淹水初期土壤中的细菌群落结构变化较快, 中后期变化趋于缓慢。

2.2.3 主成分分析(PCA)

通过系统发育分析获得8个淹水培养时间中细菌16S rRNA基因V3区的序列进化关系, 然后进行UniFrac主成分分析, 比较不同淹水培养时间中细菌群落结构的组成差异。图3为UniFrac主成分关联分析散点图, 反映了多元变量之间的内在联系, 距离远近反映了处理间的相似性。两个排序轴共同解释了处理分布变化的77.47%, 说明第一和第二排序轴构建的分布图能够较充分地反映出各处理中微生物构成的相似度情况。由图3可看出, 淹水培养初期水稻土处理(1 h、1 d和5 d)彼此间距离较远, 且与其

表1 水稻土淹水培养不同时期细菌群落的多样性指数
Table 1 Diversity indices of bacterial community in different flooding periods of a paddy soil

淹水时间 Flooding time	丰富度指数 Margalef index (d_{Ma})	Shannon指数 Shannon-Wiener index (H')	均匀度指数 Evenness index (E)	Simpson指数 Simpson index (D_s)
1 h	3.954	2.991	0.941	0.948
1 d	3.655	2.962	0.932	0.945
5 d	5.102	3.304	0.945	0.965
10 d	5.371	3.368	0.955	0.965
20 d	5.316	3.379	0.950	0.966
30 d	5.657	3.382	0.959	0.965
40 d	5.328	3.261	0.917	0.963
60 d	4.914	3.228	0.931	0.963

表2 水稻土淹水培养不同时期细菌群落的相似性指数(%)
Table 2 Similarity index (%) of bacterial community in different flooding periods of a paddy soil

淹水时间 Flooding time	1 h	1 d	5 d	10 d	20 d	30 d	40 d	60 d
1 h	100							
1 d	79.167	100						
5 d	70.175	70.175	100					
10 d	67.857	62.069	92.537	100				
20 d	61.017	57.627	85.294	89.855	100			
30 d	62.069	58.621	86.567	91.177	95.652	100		
40 d	61.017	57.627	85.294	86.957	91.429	95.652	100	
60 d	57.143	57.143	83.087	84.849	86.567	90.909	95.522	100

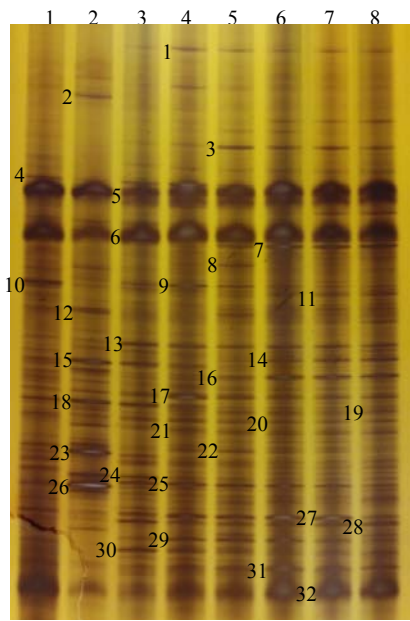


图2 水稻土淹水培养不同时期细菌群落DGGE图谱。泳道1–8分别代表淹水处理的1 h、1 d、5 d、10 d、20 d、30 d、40 d和60 d。
Fig. 2 DGGE profiles of bacterial community in different flooding time of paddy soil. Lane 1–8 showed the samples of flooding time of 1 h, 1 d, 5 d, 10 d, 20 d, 30 d, 40 d and 60 d, respectively.

他处理差异较大,而中、后期的处理(10 d–60 d)则相对靠近,反映出其中细菌群落结构较为相似。图3进一步说明淹水培养时间对水稻土中细菌的群落结构造成了一定的影响。

2.3 优势条带的系统进化分析

从系统发育树(图4)可以看出,32条条带分别属于厚壁菌门、绿弯菌门、拟杆菌门、变形菌门和酸杆菌门。

结合图2还可以看出,在淹水培养过程中,水稻土中主要的微生物为厚壁菌门细菌,数量远高于其他细菌,并且主要由芽孢杆菌属(*Bacillus*)与梭菌

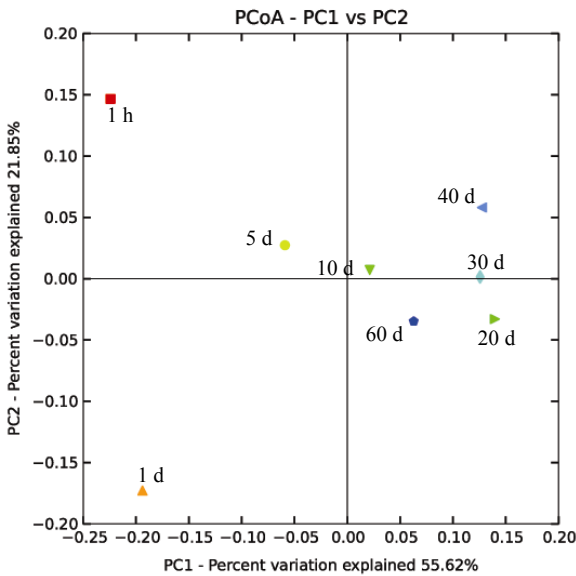


图3 用UniFrac构建的不同淹水阶段的主成分关联分析散点图
Fig. 3 Scatter plot of PCA analysis by UniFrac

属(*Clostridium*)组成;且在种类数目上随着培养时间的增加呈现先增加后减少的趋势,在5 d时达到最大。绿弯菌门细菌在各时间处理中的种类数目大致保持恒定;变形菌门细菌群落有一个先减小后增加最后恒定的趋势;拟杆菌门细菌仅存在于10 d与20 d处理中,且数目很少;酸杆菌门的种类数目随着培养时间的延长有一个增加的趋势,在1 d处理时开始出现,并在20 d处理后保持恒定。

3 讨论

厌氧水稻土中细菌群落的丰度变化与土壤的厌氧环境、营养条件有着密切的关系。从Real-time PCR的结果可以看出,在淹水培养初期细菌的丰度相对较高,并在1 d时达到了峰值,可能是因为本实验土壤采用风干处理,并且经过磨碎、过筛步骤,

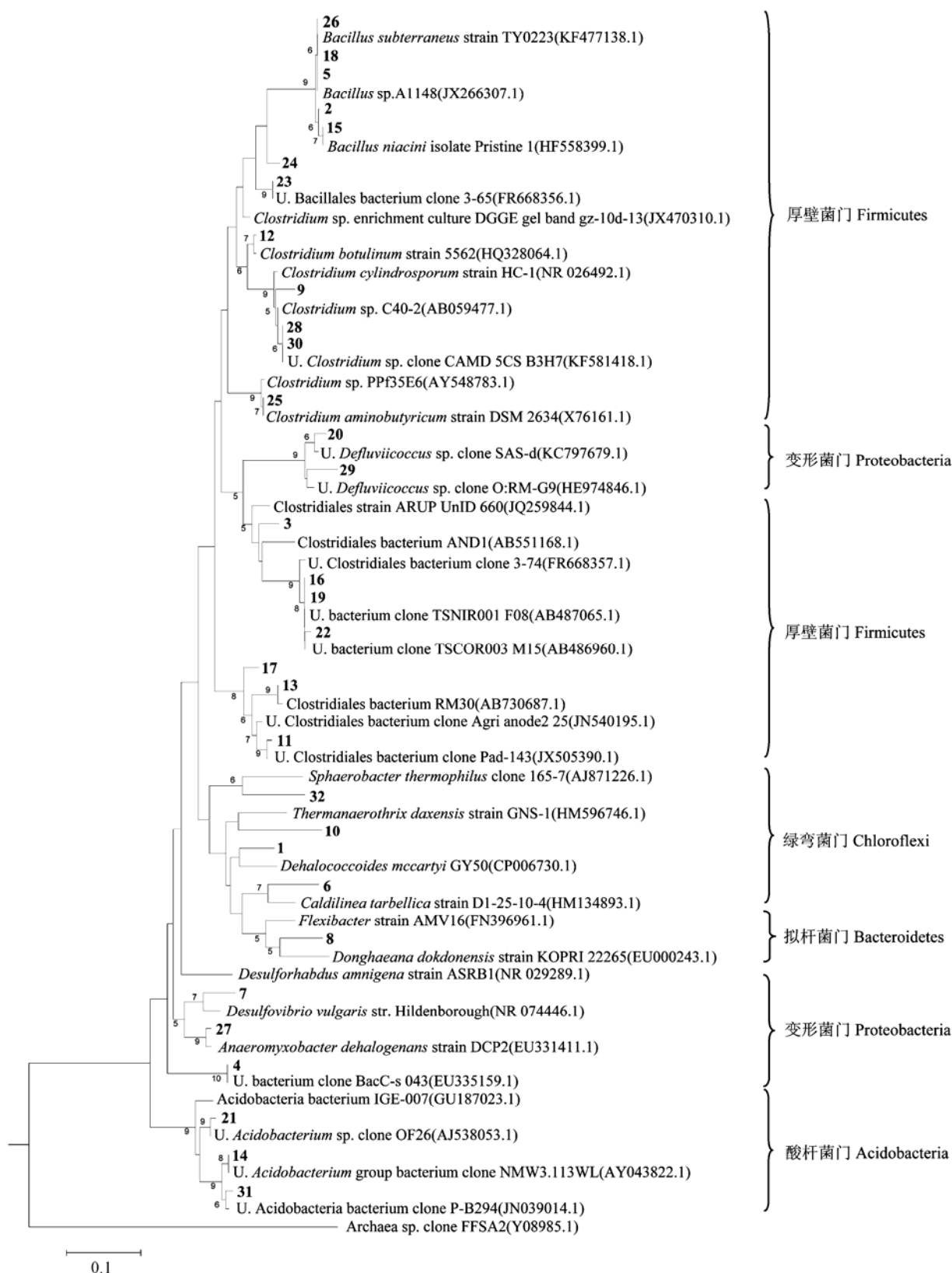


图4 基于16S rRNA基因V3区的序列构建的细菌系统发育树。黑体字表示本文获得的优势条带编号, 刻度尺表示10%序列估计偏差; U. 代表uncultured。

Fig. 4 Phylogenetic tree constructed with neighbor-joining methods based on 16S rRNA V3 gene sequences. Boldface type indicates bands number obtained in this study. The scale bar represents 10% estimated sequence divergence. U. stands for uncultured.

使其充分混匀,土壤的理化性质得到了改善,有利于微生物的生长;还有可能是由于干土效应导致土壤中更多的养分浸出(Gordon *et al.*, 2008),促进了微生物的繁殖。淹水培养1 d后细菌丰度急速下降,并在5 d时达到最低值,可能是因为氧的缺乏导致好氧微生物的数量减少,到5 d时开始产生兼性或厌氧微生物。从DGGE图谱中也可看出,1 d与5 d处理间差别很大,例如条带2、12和23等在5 d处理中很少或未出现,而在1 d处理中数量很多,其代表的细菌可能属于好氧菌或兼性好氧菌;而条带30等在1 d处理中很少,在5 d处理中数量明显增大,其代表的细菌可能属于厌氧菌或兼性厌氧菌。随后微生物丰度又呈现上升趋势,并在淹水培养40 d时再次达到峰值。

不同淹水时间对水稻土细菌群落结构也产生了一定影响。对意大利水稻土淹水培养过程中细菌群落结构的研究结果显示:淹水培养1 h到2 d间细菌群落结构动态演替最为显著,在2–21 d间显著性降低,而21 d后群落结构几乎处于稳定状态(Noll *et al.*, 2013)。本实验室前期研究结果表明,梭菌、地杆菌、芽孢杆菌的群落结构在水稻土淹水培养20 d后均趋于稳定(拓晓骅等, 2012; 王保莉等, 2013)。从相似性指数(表2)可以看出,本实验中淹水处理1 h–5 d各处理间相似性最小,5 d–20 d相似性增大,20 d后各处理间相似性最大,与预期结果一致。PCR-DGGE实验中共得到32条细菌序列,从优势条带的变化可以看出,淹水培养过程中细菌微生物发生了明显的演替,这种演替变化也可用r-k生存策略(Charlesworth, 1971)进行解释:即培养初期养分充足,采用r-策略(机会主义者,如条带2)的细菌微生物能够利用营养物质快速增长繁殖,成为优势菌种;而随着有限营养的消耗,采用k-策略(保守主义者,如条带1和29)的细菌微生物逐渐取代了r-策略物种,成为后期的优势菌种;而条带13和27在8个淹水时间点中都存在,但是灰度(数量)有所改变,即在总样品中的比例有增减,可能代表r-和k-策略共存的细菌,也能反映出淹水过程中群落结构的变化。PCA分析显示出培养初期(1 h、1 d)处理间差异很大,而中、后期(10–60 d)处理间相似性较高,也表明了细菌微生物群落结构的演替关系。

通过对DGGE优势条带进行测序得知,这些条带序列所对应的同源性最高的微生物分别属于厚

壁菌门、绿弯菌门、拟杆菌门、变形菌门和酸杆菌门。经过系统发育分析,这些微生物与来自原位水稻土、淹水培养水稻土、其他类型土壤、活性污泥以及湖泊沉积物等生态系统的细菌序列有很高的相似性,说明它们在土壤环境中广泛存在。从系统进化树(图4)可以看出,淹水培养过程中厚壁菌门微生物占据最大比例,主要包括芽孢杆菌与梭菌,可能由于它们能产生芽孢,适应性与繁殖力较强,能耐受风干研磨以及淹水过程所产生的环境压力。梭菌与芽孢杆菌对水稻土的铁还原过程有重要贡献,另外还有多种细菌具有还原重金属的环保意义(Sar *et al.*, 2013),由此可以看出淹水水稻土中细菌微生物的重金属还原是一个重要的生态过程。变形菌门中的厌氧粘细菌属(*Anaeromyxobacter*)也具有重金属还原功能(Kudo *et al.*, 2013), *Desulforhabdus*和*Desulfovibrio*具有硫酸盐还原特性(Higashioka *et al.*, 2013; Ji *et al.*, 2013), *Dechlorococcus*是一种营养物去除细菌(Silva *et al.*, 2012)。有关绿弯菌门微生物功能特性的报道较少,可能与亚硝酸盐氧化作用有关(Sorokin *et al.*, 2012)。酸杆菌门微生物在土壤中广泛存在,但是其新陈代谢功能以及在生态环境中的作用尚不明确,但是因为它在土壤中的含量非常丰富,因此被认为是生态系统中重要的贡献者(Eichorst *et al.*, 2007)。拟杆菌门细菌在淹水培养水稻土优势细菌中种类最少,在土壤中的作用机制报道较少,但已经在土壤微生物群落研究中被频繁发现。可见,细菌微生物可能对水稻土的理化性质、生态学特征有着重要影响,对淹水培养水稻土中细菌群落结构的研究对微生物学、生态学的发展以及环境污染修复等方面具有重要意义。

参考文献

- Cerli C, Liu Q, Hanke A, Kaiser K, Kalbitz K (2013) Lignin decomposition and microbial community in paddy soils: effects of alternating redox conditions. In: *General Assembly Conference Abstracts* (ed. Reichart GJ), Vol. 15, p. 13896. European Geosciences Union, Vienna.
- Charlesworth B (1971) Selection in density-regulated populations. *Ecology*, **52**, 469–474.
- Chen X, Zhang LM, Shen JP, Xu Z, He JZ (2010) Soil type determines the abundance and community structure of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in flooded paddy soils. *Journal of Soils and Sediments*, **10**, 1510–1516.
- Eichorst SA, Breznak JA, Schmidt TM (2007) Isolation and characterization of soil bacteria that define *Terriglobus* gen. nov., in the phylum Acidobacteria. *Applied and Environ-*

- mental Microbiology, **73**, 2708–2717.
- Goecks J, Nekrutenko A, Taylor J (2010) Galaxy: a comprehensive approach for supporting accessible, reproducible, and transparent computational research in the life sciences. *Genome Biology*, **11**, R86.
- Gordon H, Haygarth PM, Bardgett RD (2008) Drying and re-wetting effects on soil microbial community composition and nutrient leaching. *Soil Biology and Biochemistry*, **40**, 302–311.
- Higashioka Y, Kojima H, Watanabe M, Fukui M (2013) *Desulfatitalea tepidiphila* gen. nov., sp. nov., a sulfate-reducing bacterium isolated from tidal flat sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **63**, 761–765.
- Hill TC, Walsh KA, Harris JA (2003) Using ecological diversity measures with bacterial communities. *FEMS Microbiol Ecol*, **43**, 1–11.
- Ji B, Gimenez G, Barbe V, Vacherie B, Rouy Z, Amrani A, Fardeau ML, Bertin P, Alazard D, Leroy S, Talla E, Ollivier B, Dolla A, Pradel N (2013) Complete genome sequence of the piezophilic, mesophilic, sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio hydrothermalis* AM13T. *Genome Announcements*, **1**(1), e00226.
- Kato H, Iwata A, Shaku I, Nakajima Y, Matsuya K, Kimura M (2003) Impact of water percolation on nutrient leaching from an irrigated paddy field in Japan. *Soil Use and Management*, **19**, 298–304.
- Kudo K, Yamaguchi N, Makino T, Ohtsuka T, Kimura K, Dong DT, Amachi S (2013) Release of arsenic from soil by a novel dissimilatory arsenate-reducing bacterium, *Anaeromyxobacter* sp. strain PSR-1. *Applied and Environmental Microbiology*, **79**, 4635–4642.
- Lee HJ, Kim SY, Kim PJ, Madsen EL, Jeon CO (2014) Methane emission and dynamics of methanotrophic and methanogenic communities in a flooded rice field ecosystem. *FEMS Microbiology Ecology*, **88**, 195–212.
- Li HJ, Peng JJ, Weber KA, Zhu YG (2011) Phylogenetic diversity of Fe (III)-reducing microorganisms in rice paddy soil: enrichment cultures with different short-chain fatty acids as electron donors. *Journal of Soils and Sediments*, **11**, 1234–1242.
- Liu L, Peng YK, Zheng XH, Xiao L, Yang LY (2010) Vertical structure of bacterial and archaeal communities within the sediment of a eutrophic lake as revealed by culture-independent methods. *Journal of Freshwater Ecology*, **25**, 565–573.
- Lüdemann H, Arth I, Liesack W (2000) Spatial changes in the bacterial community structure along a vertical oxygen gradient in flooded paddy soil cores. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**, 754–762.
- Noll M, Matthies D, Frenzel P, Derakshani M, Liesack W (2005) Succession of bacterial community structure and diversity in a paddy soil oxygen gradient. *Environmental Microbiology*, **7**, 382–395.
- Rappé MS, Giovannoni SJ (2003) The uncultured microbial majority. *Annual Reviews in Microbiology*, **57**, 369–394.
- Reim A, Lüke C, Krause S, Pratscher J, Frenzel P (2012) One millimetre makes the difference: high-resolution analysis of methane-oxidizing bacteria and their specific activity at the oxic-anoxic interface in a flooded paddy soil. *The ISME Journal*, **6**, 2128–2139.
- Rizzo A, Boano F, Revelli R, Ridolfi L (2013) Role of water flow in modeling methane emissions from flooded paddy soils. *Advances in Water Resources*, **52**, 261–274.
- Sar P, Kazy SK, Paul D, Sarkar A (2013) Metal bioremediation by thermophilic microorganisms. In: *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology* (ed. Satyanarayana T, Littlechild J, Kawarabayasi Y), pp. 171–201. Springer, the Netherlands.
- Shu W, Pablo GP, Jun Y, Danfeng H (2012). Abundance and diversity of nitrogen-fixing bacteria in rhizosphere and bulk paddy soil under different duration of organic management. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **28**, 493–503.
- Silva AF, Carvalho G, Oehmen A, Lousada-Ferreira M, van Nieuwenhuijzen A, Reis MA, Crespo MTB (2012) Microbial population analysis of nutrient removal-related organisms in membrane bioreactors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **93**, 2171–2180.
- Sorokin DY, Lucker S, Vejmekova D, Kostrikina NA, Kleerebezem R, Rijpstra WIC, Damsté JSS, Paslier DL, Muyzer G, Wagner M, Van Loosdrecht MCM, Daims H (2012) Nitrification expanded: discovery, physiology and genomics of a nitrite-oxidizing bacterium from the phylum Chloroflexi. *The ISME Journal*, **6**, 2245–2256.
- Tuo XH (拓晓骅), Zhu H (朱辉), Wang BL (王保莉), Qu D (曲东) (2012) Changing characteristics of Geobacteraceae community structure in paddy soil during flooding incubation. *Journal of Agro-Environment Science* (农业环境科学学报), **31**, 1165–1171. (in Chinese with English abstract)
- Wang BL (王保莉), Huang S (黄森), Liu H (刘浩), Qu D (曲东) (2013) Characteristics of *Bacillus* communities in flooded paddy soil. *Journal of Agro-Environment Science* (农业环境科学学报), **32**, 1021–1027. (in Chinese with English abstract)
- Wang Y (王英), Teng QH (滕齐辉), Cui ZL (崔中利), Sun B (孙波), Cao H (曹慧), Hu F (胡锋) (2007) Diversity and spatial distribution of bacteria in non-tillage paddy fields. *Acta Pedologica Sinica* (土壤学报), **44**, 137–143. (in Chinese with English abstract)
- Wu MN, Qin HL, Chen Z, Wu JS, Wei WX (2011) Effect of long-term fertilization on bacterial composition in rice paddy soil. *Biology and Fertility of Soils*, **47**, 397–405.
- Yi WJ, You JH, Zhu C, Wang BL, Qu D (2013) Diversity, dynamic and abundance of Geobacteraceae species in paddy soil following slurry incubation. *European Journal of Soil Biology*, **56**, 11–18.
- Zhou W, Kageyama K, Li F, Yuasa A (2007) Monitoring of microbiological water quality by real-time PCR. *Environmental Technology*, **28**, 545–553.

(责任编辑: 贺纪正 责任编辑: 时意专)