

文章编号: 1674-7054(2021)01-0057-06

香蕉秸秆不同还田模式对土壤微生物群落的影响

孙鹏, 刘满意, 王蓓蓓

(海南大学热带作物学院, 海口 570228)

摘要: 采用土壤室内培养的方法, 以香蕉秸秆不同还田模式为试验唯一变量因素, 设置3个处理(无秸秆还田 CK; 将香蕉秸秆覆盖到土壤表层, 作为秸秆自然还田处理 F; 将土壤与香蕉秸秆彻底混合, 作为秸秆掩埋还田处理 T), 分析香蕉秸秆不同还田模式下的微生物群落差异, 以期揭示香蕉秸秆的不同还田模式对土壤微生物的影响。结果表明: T、F 处理与 CK 处理相比, 真菌门中 Basidiomycota 相对丰度分别增加 1.3% 和 2.8%; 细菌门中 Acidobacteria 相对丰度分别增加 5.1% 和 1.1%, Actinobacteria 的相对丰度分别增加 1.9% 和 3.2%。处理间 *Fusarium* 相对丰度大小顺序为 CK>F>T。处理间细菌群落的丰富度(S_{Chao1})和多样性($H_{Shannon}$)大小顺序均为 T>F>CK, 真菌群落并无明显差异。聚类分析表明, T 处理土壤微生物群落结构与 CK 处理明显不同。主坐标分析和 OTU 数量分布结果表明, T 处理土壤微生物群落结构与 F 处理相近。本研究结果显示, T 处理增加了土壤细菌群落的丰富性与多样性, 改变了土壤微生物的群落结构, 同时提高了具有分解功能的微生物分类属的相对丰度, 并显著降低了病原菌的相对丰度。

关键词: 香蕉秸秆; 微生物群落结构; 微生物群落多样性; 微生物群落丰富度; MiSeq sequencing; 秸秆还田模式
中图分类号: S 38; S 668.1 **文献标志码:** A

引用格式: 孙鹏, 刘满意, 王蓓蓓. 香蕉秸秆不同还田模式对土壤微生物群落的影响 [J]. 热带生物学报, 2021, 12(1): 57-62. DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2021.01.008

香蕉 (*Musa spp.*) 起源于亚洲东南部, 被联合国粮农组织认定为第 4 大粮食作物^[1-2]。世界上约有 130 个种植香蕉的国家, 中国是世界上最早种植香蕉的国家之一。我国香蕉主要种植区域分布在广东、广西、海南、福建、云南和台湾^[3]。香蕉具有生长周期短和产量高等特点, 但同样伴随着大量的香蕉秸秆等农业废弃物^[4]。有研究表明, 长期的秸秆还田对土壤细菌群落的丰富度与多样性具有积极影响^[5]、能改变土壤微生物群落结构^[6]。不同秸秆还田方式也会影响土壤微生物的群落结构或群落组成, 如土壤微生物的群落结构随着还田量和沟埋深度的增加而变化^[7], 还田秸秆的新鲜程度也影响着土壤微生物群落等^[8]。香蕉秸秆含有蛋白质、纤维素、维生素和某些微量元素^[9-10], 是一种营养丰富的植物资源, 然而有关香蕉秸秆不同还田方式对土壤微生物群落影响的研究鲜见报道。土壤微生物在农业生态系统中发挥着不可替代的作用^[11], 土壤微生物群落还能影响作物的生长^[12], 同时土壤微生物也是影响土壤质量的主要因素之一。研究表明, 土壤微生物的组成改变土壤中 C 的含量^[13], 土壤微生物动态变化与土壤中 N 和 C 的含量具有相关性^[14], 而且土壤酶活性是由微生物丰度决定的^[15]。顾美英等^[16]发现, 不同秸秆还田方式对土壤微生物数量影响差异显著。不同秸秆还田方式均能提高土壤微生物活性和丰富度指数^[17]。笔者通过研究香蕉秸秆在不同模式下还田对土壤中微生物群落的影响, 旨在找出适宜的还田模式, 为香蕉秸秆还田技术提供理论依据。

收稿日期: 2020-11-17

修回日期: 2020-12-23

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0202101); 国家自然科学基金项目(41867006)

第一作者: 孙鹏(1996-), 男, 海南大学热带作物学院 2018 级硕士研究生. E-mail: 1475794950@qq.com

通信作者: 王蓓蓓(1987-), 女, 博士, 副教授. 研究方向: 土壤微生物. E-mail: 345814069@qq.com

1 材料与方法

1.1 材料 土壤采集于海南省临高县红星农场香蕉园(位于北纬 19°47'N, 东经 109°35'E, 海南岛的西北部), 采集深度为 0~20 cm。该蕉园土壤有机质含量为 2.33 g·kg⁻¹、pH7.53、碱解氮 96.48 mg·kg⁻¹、有效磷 115.42 mg·kg⁻¹、速效钾 477.05 mg·kg⁻¹。将采集后的土壤放置于海南大学试验基地(北纬 30°52'N, 东经 121°54'E)并用 1 cm 孔径的筛子筛净土壤, 将其完全混合, 随后装入 3 kg 容量的花盆中。试验所用香蕉秸秆采自于临高县红星农场香蕉园, 该蕉园种植品种为巴西蕉(*Musa nana* Lour.), 香蕉秸秆为收获期砍掉的新鲜、健康秸秆(C/N 为 29.45:1)。随后, 将秸秆运回海南大学试验基地, 将其粉碎。

1.2 试验设计 本研究在海南大学试验基地进行, 采用盆栽试验, 根据不同的秸秆还田方法, 还田量以蕉园耕作层的实际秸秆还田量计算, 分为 3 个处理(每个处理 20 次重复)。处理设计: 土壤(3 kg)+无香蕉秸秆还田作为对照(CK); 土壤(3 kg)+新鲜、粉碎香蕉秸秆(150 g), 充分混合, 作为秸秆还田掩埋处理(T); 土壤(3 kg)+新鲜、粉碎香蕉秸秆(150 g), 将香蕉秸秆覆盖到土壤上, 作为香蕉秸秆自然还田(F)。试验模拟田间灌溉环境, 人为定期浇水。

1.3 采样方法 待秸秆完全腐解后, 在花盆内 0~20 cm 深度随机采集土壤样品(每个处理 7 个重复)。将每个样品采集的重复土样充分混合。将土样过 2 mm 筛, 一部分保存在-20 °C 冰箱用于后续的 DNA 提取。

1.4 测定方法 使用 PowerSoil DNA Isolation Kits(MoBio Laboratories Inc., Carlsbad, USA)按照生产协议提取土壤 DNA, 每个处理设置 5 个重复。同时(NanoDrop 2000, thermosscientific, USA)测定 DNA 的浓度和质量(A_{260}/A_{280} 的比率)。细菌 16S rRNA(V3+V4)区域采用引物: 5'-ACTCCTACGGGA GGCAG CA-3'和 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3', 真菌 ITS1 区域采用引物: 5'-CTTGGTCATTAGA GGAA GTAA-3'和 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'。

1.5 分析方法 一个分类单元内的序列数除以该组内序列的总数就是相对丰度。在相同的深度随机对序列重新采样(16S rRNA 基因的 6 415 个基因序列和 ITS 的 4 514 个基因序列), 以标准化采样。利用 Excel 2010 基于 OUT 计算微生物门水平与属水平相对丰度。利用 MOTHUR 在处理间 OTU 丰度矩阵构建聚类分析。在 OTU 丰度矩阵的基础上计算微生物丰富度(S_{Chao1})和多样性($H_{Shannon}$), 并利用 IBM SPSS 20.0 单因素方差分析(one-way analysis of variance)。利用 MOTHUR 基于 Jaccard 相似度分析处理间微生物群落组成相似差异(PCoA), 利用 R ggplot2 软件包进行主坐标分析(PCoA)可视化。

2 结果与分析

2.1 土壤微生物群落组成 3 个处理(CK、F、T)的微生物群落(图 1)都包含相同的真菌门(Ascomycota、Basidiomycota、Chytridiomycota、Glomeromycota、Microsporidia、Zygomycota), 其中 Ascomycota 的相对丰度最高, 分别为 81.1%、54.7%、68.3%。3 个处理在细菌门水平(Acidoacteria、Actinobacteria、Bacteroidetes、candidate division WPS-1、Chloroflexi、Firmicutes、Gemmatimonadetes、Planctomycetes、Proteomcetes、Verrucomicrobia、Others)中, Acidoacteria、Actinobacteria、Proteomcetes 为优势菌种, 且相

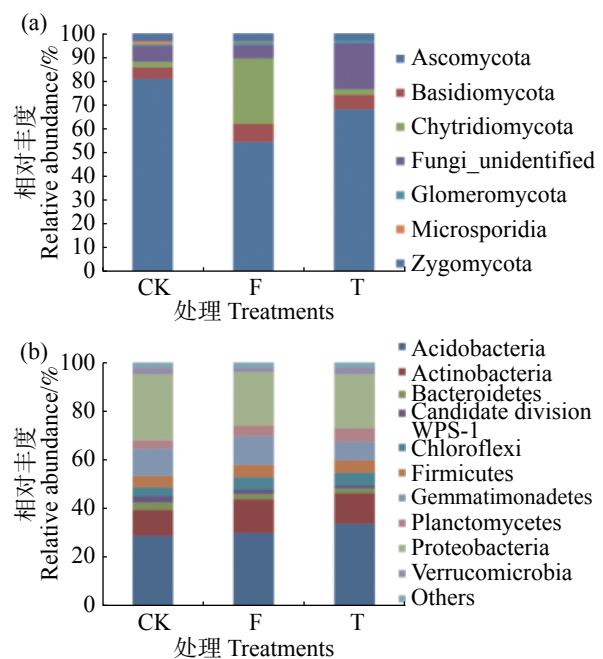


图 1 不同处理间土壤真菌门(a)与细菌门(b)的相对丰度
Fig. 1 Relative phylum-level abundance of fungi (a) and bacteria (b) between treatments

对丰度均大于 10%。图 2 是相对丰度大于 1% 的微生物分类属, 真菌属水平分析结果表明, T、F、CK 处理的 *Fusarium* 相对丰度分别为 2.6%、14.3%、15.5%。在细菌最丰富的分类属中, 各处理中 GP6 为优势菌种, 且相对丰度均大于 18%。

2.2 土壤微生物群落的丰富度与多样性 单因素方差分析 (ANOVA) 结果 (表 1) 表明, 不同秸秆还田处理间细菌群落丰富度 (Chao1) 和多样性 (Shannon) 存在显著差异。与无香蕉秸秆还田处理 (CK) 相比, 掩埋还田处理 (T) 的土壤微生物群落的丰富度和多样性最显著。与香蕉秸秆自然还田处理 (F) 相比, 掩埋还田处理 (T) 的土壤微生物群落的丰富度更高, 但不同处理间真菌群落丰富度和多样性差异不显著。

2.3 土壤微生物群落结构 聚类分析结果 (图 3) 表明, 15 个土壤样品的微生物群落群落结构明显分为 3 组, 分别为 3 个香蕉秸秆还田处理。利用主坐标分析 (图 4) 不同香蕉秸秆还田处理对土壤微生物群落的影响。从图 4-a 可知, 真菌群落的前两个主坐标解释了各样本的 34.37% 的变化。第 1 主坐标 (PCoA1) T 和 F 处理的真菌群落与 CK 处理分离良好, 第 2 个主坐标 (PCoA2) 结果表明, 3 个处理之间明显分离。细菌群落的前两个主坐标解释了各样本的 35.99% 的变化, 且 3 个处理间的群落分离效果与真菌群落的分离效果相似 (图 4-b)。土壤真菌与细菌 OTU 分布结果 (图 5) 表明: CK、F、T 处理

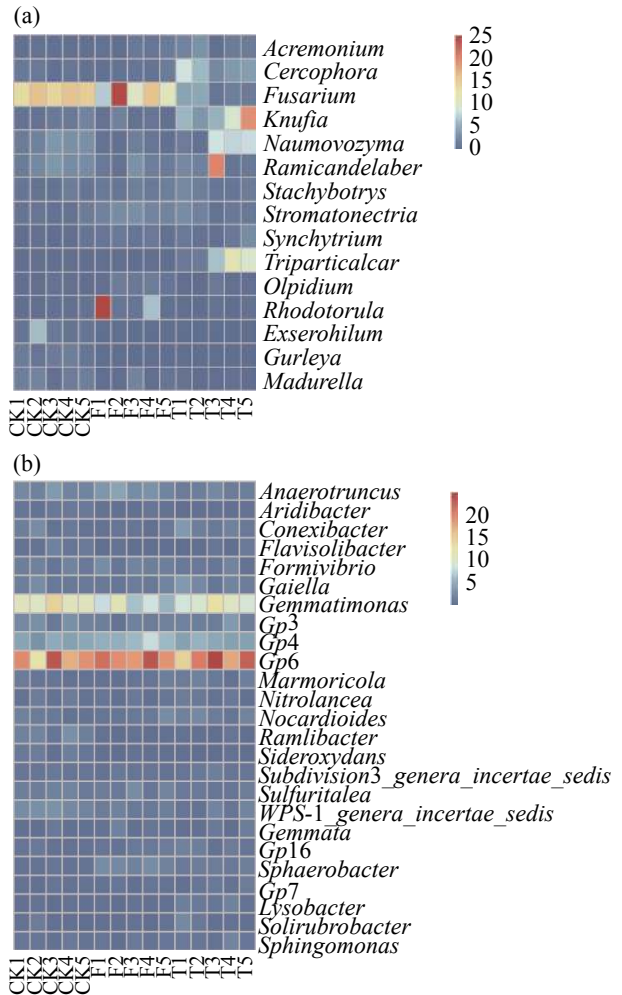


图 2 不同处理间土壤真菌分类属 (a) 与细菌分类属 (b) 的相对丰度 (>1%)

Fig. 2 Relative genus-level abundance (>1%) of soil fungi (a) and bacteria (b) between treatments

表 1 不同处理间土壤微生物群落丰富度与多样性

Tab. 1 Soil microbial community richness and diversity between treatments

处理 Treatments	群落丰富度 Community richness		群落多样性 Community diversity		
	Chao1	ACE	Shannon	Invsimpson	
16S rRNA	CK	3 832.78±116.90c	3 865.18±92.21c	6.54±0.18b	220.55±91.28a
	F	3 999.52±153.05b	4 035.82±113.97b	6.70±0.03a	267.79±26.92a
	T	4 393.32±78.78a	4 480.35±32.31a	6.76±0.07a	266.50±37.83a
ITS	CK	839.97±60.92ab	839.77±57.59ab	4.40±0.24a	29.21±5.72a
	F	799.36±38.18b	795.57±36.08b	4.26±0.33a	21.29±7.69a
	T	924.46±116.94a	931.55±96.38a	4.21±0.24a	21.55±8.53a

注: 不同字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Notes: Values followed by different letters mean significant difference between treatments ($P < 0.05$).

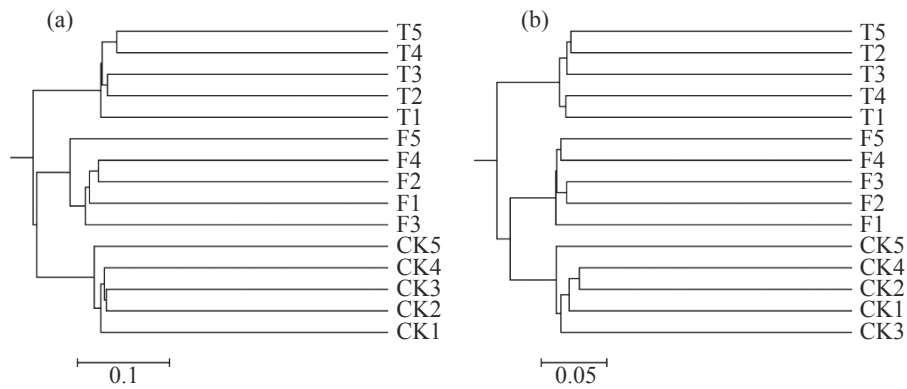


图3 不同处理间微生物群落聚类分析结果

Fig. 3 Cluster analysis of microbial communities between treatments

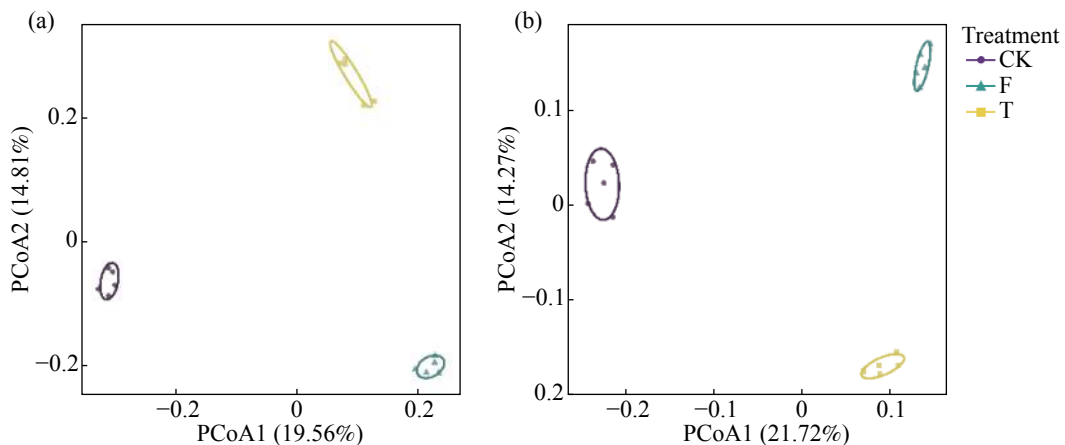


图4 不同处理间群落微生物主坐标分析

Fig. 4 Principal coordinate analysis of microbial communities between treatments

真菌独有 OTU 数量与细菌独有 OTU 数量分别为 580、685、548 和 429、792、387。CK 与 F、T 处理真菌共有 OTU 数量和细菌共有 OTU 数量分别为 187、185 和 429、265，F 与 T 真菌和细菌共有 OTU 数量分别为 230、744。

3 讨论

秸秆还田作为一种农业管理策略，对土壤微生物活性有积极的影响^[18]。在本研究中，不同香蕉秸秆还田管理对土壤微生物群落组成和结构有显著差异。3 个处理中，Ascomycota 为优势真菌门，CK、F、T 处理的 Basidiomycota 的相对丰度分别为

4.7%、7.5%、6%。Basidiomycota 在自然界中起着主要分解纤维素的作用^[19]，因此，香蕉秸秆还田为 Basidiomycota 在土壤中提供了有益环境，使其相对丰度增高。T 处理 Fungi_Unidentified 的相对丰度分别比 CK 和 F 增高了 12.8% 和 13.7%，可能由于 T 处理香蕉秸秆的分解比 F 更彻底，造成分解产物方面的差异从而影响 Unidentified_Fungi 的相对丰度^[20]。在细菌门分类中，以 Acidobacteria 和 Proteobacteria (图 1-b) 为优势菌，同时与 CK 相比，2 种秸秆还田处理均能使 Acidobacteria 的相对丰度增加，这与 CHEN 等人^[21]的研究结果一致。与 CK 相比，F 和 T 处理土壤中 Actinobacteria 的相对丰度分别增加了

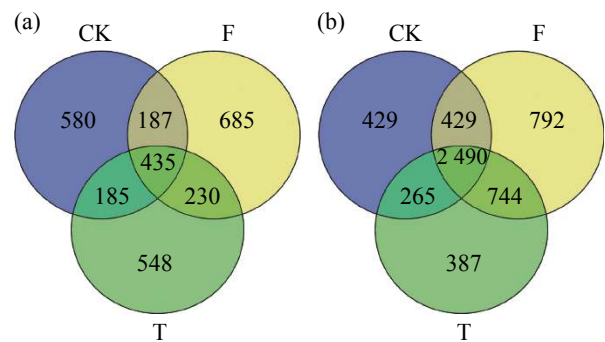


图5 不同处理间土壤真菌 (a) 与细菌 (b) OTU 分类 Venn 图

Fig. 5 Venn diagram of soil fungal (a) and bacterial (b) OTUs between treatments

3.2% 和 1.9%, *Actinobacteria* 是一种非常重要的分解者^[22], 这也解释了秸秆还田处理可使其相对丰度增高的原因, 同时, 一些放线菌同样对土壤病原真菌起到拮抗作用^[23]。本研究中, 真菌分类属结果表明(图 2-a), T 处理的 *Fusarium* 相对丰度最低为 2.6%, 最高为 CK(15.5%), 而 F 处理的 *Fusarium* 相对丰度与 CK 处理相比并无明显降低, 这一结果说明, 香蕉秸秆掩埋处理可能起到了降低病原菌的作用, 并且对土壤健康有积极影响, 但香蕉秸秆掩埋处理使土壤中 *Fusarium* 相对丰度降低的理论依据还需要进一步研究。

本研究中, 香蕉秸秆还田方式土壤细菌群落丰富度和多样性存在显著差异, 其中, T 处理细菌群落的丰富度最高, 并且 T 和 F 的多样性均与 CK 存在显著差异。细菌群落的变化是多种复杂因素共同作用的结果^[24-25], 而本研究中秸秆还田方式为唯一的因素。但各处理的真菌群落丰富度和多样性并无差异, 说明香蕉秸秆还田对细菌群落丰富度和多样性的影响远高于真菌。基于 OTU 组成的聚类分析、主坐标分析、OTU 数量分布结果均显示, T 处理的土壤微生物群落结构与 F 处理相近且与 CK 处理明显不同。并且, 无论是在第 1 主坐标还是第 2 主坐标上, 秸秆掩埋处理均显著与对照分开。因此, 相比于表面覆盖, 香蕉秸秆的掩埋处理(T)更容易改变土壤微生物群落结构。

本研究结果表明, 相比于香蕉秸秆不还田处理(CK)和香蕉秸秆自然还田处理(F), 香蕉秸秆掩埋还田处理(T)对土壤微生物群落具有更积极的影响。香蕉秸秆还田为某些具有分解功能的微生物提供了有益的土壤环境, 并且香蕉秸秆掩埋还田处理(T)降低了土壤中 *Fusarium* 的相对丰度, 提高了细菌群落多样性与丰富度。因此, 在本研究条件下, 香蕉秸秆掩埋还田处理(T)为适宜、安全的秸秆还田方式。

参考文献:

- [1] 李玉萍, 方佳. 中国香蕉产业现状与发展对策研究[J]. 中国农学通报, 2008, 24(8): 443 - 447.
- [2] 张汉荣, 刘长全, 朱建荣. 我国香蕉科技研究的几点思考与建议[J]. 热带农业科学, 2006, 26(6): 55 - 58.
- [3] 雷武逵. 香蕉产业升级配套技术及对策研究[J]. 广西农业科学, 2008, 39(3): 397 - 400.
- [4] 熊月林, 崔运花. 香蕉纤维的研究现状及其开发应用前景[J]. 纺织学报, 2007, 28(9): 122 - 124.
- [5] YANG L, TAN L L, ZHANG F H, et al. Duration of continuous cropping with straw return affects the composition and structure of soil bacterial communities in cotton fields [J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2018, 64(3): 167 - 181.
- [6] ZHAO S C, LI K J, ZHOU W, et al. Changes in soil microbial community, enzyme activities and organic matter fractions under long-term straw return in north-central China [J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2016, 216: 82 - 88.
- [7] YANG H S, MENG Y, FENG J X, et al. Direct and indirect effects of long-term ditch-buried straw return on soil bacterial community in a rice-wheat rotation system [J]. *Land Degradation & Development*, 2020, 31(7): 851 - 867.
- [8] SU Y, LV J L, YU M, et al. Long-term decomposed straw return positively affects the soil microbial community [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 128(1): 138 - 150.
- [9] 朱晓闯, 张喜瑞, 李粤, 等. 我国香蕉秸秆回收利用现状研究[J]. 价值工程, 2011, 30(34): 273 - 274.
- [10] 郑侃, 张喜瑞, 梁栋, 等. 香蕉茎秆机械化处理利用的现状与分析[J]. 农机化研究, 2014(3): 239 - 241.
- [11] BENDER S F, WAGG C, VAN D H MGA. An Underground revolution: Biodiversity and soil ecological engineering for agricultural sustainability [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2016, 31(6): 440 - 452.
- [12] LAU J A, LENNON J T. Evolutionary ecology of plant-microbe interactions: soil microbial structure alters selection on plant traits [J]. *New Phytologist*, 2011, 192(1): 215 - 224.
- [13] ZHAO F Z, REN C J, ZHANG L, et al. Changes in soil microbial community are linked to soil carbon fractions after afforestation [J]. *European Journal of Soil Science*, 2018, 69(2): 370 - 379.
- [14] CHENG J R, ZHANG W, ZHONG Z K, et al. Differential responses of soil microbial biomass, diversity, and compositions to altitudinal gradients depend on plant and soil characteristics [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 610-611: 750.
- [15] DELGADO-BAQUERIZO M, GRINYER J, REICH P B, et al. Relative importance of soil properties and microbial community for soil functionality: insights from a microbial swap experiment [J]. *Functional Ecology*, 2016, 30(11): 1862 - 1873.
- [16] 顾美英, 唐光木, 葛春辉, 等. 不同秸秆还田方式对和田风沙土土壤微生物多样性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2016, 24(4): 489 - 498.
- [17] BALOTA E L, FILHO A C, ANDRADE D S, et al. Long-term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization in a Brazilian Oxisol [J]. *Soil & Tillage Research*, 2004, 77(2): 137 - 145.

- [18] MBUTHIA L W, ACOSTA-MARTÍNEZ V, DEBRUYN J, et al. Long term tillage, cover crop, and fertilization effects on microbial community structure, activity: Implications for soil quality [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 89: 24 – 34.
- [19] DANIEL J Y, JOHN R, LU F C. Evidence for cleavage of lignin by a brown rot basidiomycete [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(7): 1844 – 9.
- [20] QI Y Z, ZHEN W C, LI H Y. Allelopathy of decomposed maize straw products on three soil-born diseases of wheat and the analysis by GC-MS [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2015, 14(1): 88 – 97.
- [21] CHEN Z M, WANG H Y, LIU X W, et al. Changes in soil microbial community and organic carbon fractions under short-term straw return in a rice–wheat cropping system [J]. *Soil & Tillage Research*, 2017, 165: 121 – 127.
- [22] ABDULLA H M, EL-SHATOURY S A. Actinomycetes in rice straw decomposition [J]. *Waste Management*, 2007, 27(6): 850 – 853.
- [23] ZAITLIN B, TURKINGTON K, PARKINSON D, et al. Effects of tillage and inorganic fertilizers on culturable soil actinomycete communities and inhibition of fungi by specific actinomycetes [J]. *Applied Soil Ecology*, 2004, 26(1): 60 – 62.
- [24] GARBEVA P, VAN VEEN J A, VAN ELSAS J D. Microbial diversity in soil: Selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2004, 42(1): 243 – 270.
- [25] SUDINI H, LILES M R, ARIAS C R, et al. Exploring soil bacterial communities in different peanut-cropping sequences using multiple molecular approaches [J]. *Phytopathology*, 2011, 101(7): 819 – 827.

Effects of Fresh Harvested Banana Foliage on the Soil Microbial Community Structures

SUN Peng, LIU Manyi, WANG Beibei

(College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Soil samples collected from a banana plantation in Hongxing Farm, Lingao, Hainan, were potted, and fresh harvested foliage (leaves and pseudostems) collected from the banana plantation were grounded and returned to the potted soil for indoor culture to analyze the difference of soil microbial communities in the potted soil for revelation of the effects of soil returning of the fresh harvested foliage on soil microorganism. Three treatments were arranged: soil without banana foliage (control, CK); soil mulched with banana foliage (F); soil mixed with banana foliage (T). The results showed that the relative abundance of fungal phylum Basidiomycota in the T and F treatments increased by 1.3% and 2.8%, respectively, as compared with the CK, while the relative abundance of bacterial phylum Acidobacteria increased by 5.1% and 1.1%, respectively, and that of Actinobacteria increased by 1.9%, 3.2%, respectively. The relative abundance of *Fusarium* between treatments was in the order of CK>F>T. The bacterial community richness (S_{Chao1}) and diversity (H_{Shannon}) between the treatments were in the order of T>F>CK, and no difference was observed in fungal communities between the treatments. Cluster analysis showed that the structure of soil microbial community in the treatment T was significantly different from that of CK. Principal coordinate analysis and OTU distribution showed that the structure of soil microbial community in the treatment T was similar to that in the treatment F. It is concluded that the treatment T increased the richness and diversity of soil bacterial community, changed the structure of soil microbial community, improved the relative abundance of microorganisms that have a decomposition function, and significantly reduced the relative abundance of pathogen *Fusarium*.

Keywords: banana foliage; microbial community structure; microbial community diversity; microbial community richness; MiSeq sequencing; soil-returning methods

(责任编辑:潘学峰)