

文章编号: 1674-7054(2021)02-0202-08



## 蚯蚓粪对槟榔根围土壤微生物多样性的影响

马思远<sup>1</sup>, 王海花<sup>2</sup>, 林雨彬<sup>2</sup>, 曾若菡<sup>2</sup>, 刁晓平<sup>1,3</sup>, 李 鹏<sup>1</sup>

(1. 海南师范大学生命科学学院, 海口 571158; 2. 海南大学生态与环境学院, 海口 570228;

3. 海南大学南海海洋资源利用国家重点实验室, 海口 570228)

**摘要:** 槟榔是海南省重要的支柱产业, 而槟榔黄化严重导致了槟榔产量和品质下降, 严重影响了海南省槟榔产业的发展。研究发现在槟榔根系施加蚯蚓粪对槟榔黄化具有较好的改善作用, 但蚯蚓粪改善槟榔黄化的机制尚未清楚。因此, 本研究选取海南万宁龙滚槟榔种植园为实验区, 在根系设置3种处理, 即蚯蚓粪组(TLG1)、蚯蚓粪和化肥(尿素)组(TLG2)、无任何添加的对照组(TLG3), 10个月后进行采样, 利用Illumina Miseq高通量测序动态比较分析不同处理组土壤细菌多样性变化及微生物互作网络, 揭示微生物多样性和土壤理化性质的相关性。结果表明, 施加蚯蚓粪、蚯蚓粪和化肥的处理显著增强了槟榔根围土的微生物多样性, 尤其是 *Acidothermus*、*Occallatibacter*、*Conexibacter* 在施加蚯蚓粪后显著增加 ( $P < 0.05$ ); 而 *Candidatus Solibacter* 则明显降低 ( $P < 0.01$ ), 微生物互作网络分析结果表明, 只施加蚯蚓粪的处理组中, 所占丰度在前50的物种多出了 Cyanobacteria 门的一种菌(s\_unclassified\_g\_norank\_f\_norank\_o\_Chloroplast), 施加蚯蚓粪-化肥的处理组中多出了 Patescibacteria 门的一种菌(s\_uncultured\_bacterium\_g\_norank\_f\_LWQ8)。外源添加蚯蚓粪可显著增强土壤微生物的多样性和丰度, 且显著增加了根系微生物互作网络的稳定性。此外, 速效钾等理化因子对微生物类群拥有显著的影响, 本研究结果对于进一步解析蚯蚓粪缓解槟榔黄化机制奠定了基础。

**关键词:** 槟榔黄化; 微生物组; 理化性质; 互作网络

**中图分类号:** S 141.3; S 154.31 **文献标志码:** A

**引用格式:** 马思远, 王海花, 林雨彬, 等. 蚯蚓粪对槟榔根围土壤微生物多样性的影响 [J]. 热带生物学报, 2021, 12(2): 202-209. DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2021.02.009

槟榔 (*Areca catechu* L.) 属棕榈科多年生常绿乔木, 是热带珍贵药用植物, 为四大南药之首。海南是我国槟榔的主产区, 全省槟榔种植面积约为 102 530 hm<sup>2</sup>, 产量约 255 114 t, 占全国产量的 95% 以上, 主要分布于万宁市 (18 138 hm<sup>2</sup>)、琼海市 (16 311 hm<sup>2</sup>)、琼中县 (12 447 hm<sup>2</sup>)、屯昌县 (11 092 hm<sup>2</sup>)、定安县 (8 917 hm<sup>2</sup>) 和保亭县 (6 685 hm<sup>2</sup>)<sup>[1]</sup>。目前, 海南约有 230 万农民从事槟榔种植, 槟榔已经成为海南农民重要的经济来源。海南槟榔产业年产值超过百亿元, 已经成为海南省重要的支柱产业<sup>[1]</sup>, 但在槟榔种植规模迅速扩大的同时, 槟榔黄化现象对海南省槟榔产业造成了严重的威胁。据初步调查, 海南省已有上万亩槟榔树出现了黄化现象, 导致植株挂果严重减少, 发病严重的植株会逐渐枯死, 且槟榔黄化呈现逐年加重的趋势, 给槟榔产业造成了巨大损失<sup>[2]</sup>。关于槟榔黄化的病因, 有报道认为导致槟榔黄化的原因主要包括类细菌和类菌原体<sup>[3]</sup>, 后来在海南槟榔黄化病病株的叶脉、叶鞘基部发现植原体<sup>[4]</sup>, 且也有报道认为椰心叶甲、介壳虫、棕榈长翅蜡蝉、飞虱等害虫的危害也会导致黄化的发生; 此外, 栽培不当也会导致槟榔黄化病的发生, 如使用化肥、除草剂和其他用药不当等<sup>[5]</sup>。目前, 治疗槟榔黄化尚无非常有效的防治方法, 仍采用挖出病株并烧毁, 或使用广谱性的杀菌剂等方法, 但效果均不理想。

生物有机肥往往通过功能微生物的大量繁殖, 改变了土壤微生物群落结构进而对植物根系形成保护

收稿日期: 2020-11-07

修回日期: 2021-02-24

基金项目: 海南省重大科技计划项目 (ZDKJ201817)

第一作者: 马思远 (1996-), 男, 海南师范大学生命科学学院 2018 级硕士研究生. E-mail: 353083421@qq.com

通信作者: 刁晓平 (1963-), 女, 教授. 研究方向: 生态毒理学. E-mail: diaoxip@hainanu.edu.cn; 李鹏 (1985-), 男, 副教授. 研究方向: 病原生态学. E-mail: dayuleepng@163.com

和促生作用<sup>[6]</sup>,且根系分泌物介导下的植物—微生物互作关系变化对于土壤肥力、健康状况以及植物生长发育有着极其重要的作用<sup>[7]</sup>。因此,在植物生长发育过程中,根系周围的微生物类群显著影响着植物对土壤中养分、重金属的吸收和转运、作物根际微生物种群的结构等<sup>[8]</sup>;一些有害微生物也会对作物的生长产生抑制作用,影响其生长发育<sup>[9]</sup>。蚯蚓粪是蚯蚓的代谢物,在种植业上应用价值较大。蚯蚓粪本身具有速效、长效、抗病、改良土壤和抗板结作用<sup>[10]</sup>,而且其中的功能微生物还可以不断将土壤中作物难以吸收的养分转化为易吸收的形态<sup>[11]</sup>,提高养分利用率,从而提高农作物产量、改善产品品质<sup>[12]</sup>,目前蚯蚓粪已得到了广泛的应用并取得了很好的效果。

由于目前对于槟榔根系微生物组的研究报道较少,且蚯蚓粪缓解槟榔黄化的机制有待进一步解析,本研究拟通过高通量测序技术比较施用蚯蚓粪前后槟榔根围土壤微生物多样性的变化,并结合分析其与土壤理化性质的相关性分析,探究蚯蚓粪对槟榔园土壤微生物多样性以及互作网络的影响,旨在找出施加蚯蚓粪组、蚯蚓粪和化肥组与对照组的差别,揭示改善槟榔黄化现象的机制。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验设计** 研究选取万宁龙滚槟榔种植园为实验区,在根系设置蚯蚓粪、蚯蚓粪和化肥、无任何添加共 3 种处理,10 个月后进行采样,比较分析施加后 3 种处理下的土壤细菌和真菌多样性变化、微生物多样性和土壤理化性质的关联分析,并比较了 3 种处理下的微生物互作网络。蚯蚓粪来自三亚鑫苑农业科技发展有限公司。全氮、全磷和全钾含量 $\geq 5\%$ ,有益活菌 $\geq 0.2$  亿个 $\cdot\text{g}^{-1}$ ,有机质含量 $\geq 20\%$ ,pH7.0。

2019 年 1 月中旬进行蚯蚓粪以及化肥的施加,在示范地选取 3 块长势一致的槟榔种植园,槟榔树龄均为 10 a,分别对每棵槟榔树施加蚯蚓粪(10 kg)、施蚯蚓粪和化肥(10 kg)、不作任何处理的区域。在两棵相邻槟榔树中间挖 10 cm<sup>2</sup>×50 cm<sup>2</sup> 左右的方形壕沟,分别进行上述 3 种处理。施肥 10 个月 after 取样,在 3 块区域中分别划分 4 块小区域,每块小区域选取 3 棵槟榔树,取地下 10 cm 左右、施肥附近的土壤,每份样品约 500 g。不同处理的区域各取 4 份,共 12 份样品。在土样采集时均佩戴无菌手套,将采集的土壤样品迅速置于冰盒中存放,一部分样品用于土壤理化性质的分析,一部分用于土壤微生物 DNA 的提取,用于提取 DNA 的土壤样品带回实验室后立即进行 DNA 的提取。

**1.2 土壤理化性质测定** 将采集到的土壤自然晾干,按标准法测定样品的基本理化性质<sup>[13]</sup>。测量指标为: pH 值、有机质(Organic Matter, OM)、全氮(Nitrogen, N)、碱解氮(Alkali-hydrolyzable nitrogen, HN)、全磷(Phosphorus, P)、速效磷(Olsen-P, OP)、全钾(Potassium, K)、速效钾(Avail K, AK)。

**1.3 土壤微生物 DNA 提取及测序** 将采集到的土壤进行 DNA 的提取,采用德国 QIAGEN 公司的 DNeasy PowerSoil Kit 试剂盒,按说明书提取。通过超微量分光光度计(NanoDrop 1000)检测 DNA 浓度 $\geq 20$  ng $\cdot\text{mL}^{-1}$ , $OD_{260/280}$  为 1.8~2.0。即为合格。提取的 DNA 保存于-40 °C 条件下用于后续 PCR 扩增。

扩增细菌 16S rDNA 基因的引物采用 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'),并采用 Illumina Miseq 2-300 测序平台对 PCR 扩增产物进行双端测序。测序部分由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

**1.4 微生物多样性分析** 测序完成后,对有效序列进行去杂、修剪、去除嵌合体等过滤处理,得到优化序列。基于 OTU 聚类分析结果,对 OTU 进行多种多样性指数分析,以及对测序深度的检测;基于分类学信息,在各个分类水平上进行群落结构的统计分析。

## 2 结果与分析

**2.1 不同处理对土壤理化性质的影响** 由表 1 可见,与对照(TLG3)相比,施加蚯蚓粪、蚯蚓粪和化肥处理后土壤理化性质表现出明显差异,所测指标都有明显上升,均具有显著性差异( $P<0.05$ )。两个处理组相比,除施加蚯蚓粪组(TLG1)的 pH 和速效钾高于蚯蚓粪加化肥处理组(TLG2)外,其他的理化因子指标都相反,其中全氮、全磷、全钾、碱解氮和速效钾达到显著性差异。

表 1 不同处理方式下槟榔种植区土壤的理化性质

Tab. 1 Soil physical and chemical properties in the rhizosphere of arecanut plants in the arecanut plantation

土壤理化性质 Soil physical and chemical properties	蚯蚓粪 TLG1	蚯蚓粪加化肥 TLG2	对照 TLG3
pH	5.86±1.01a	5.65±0.78a	4.57±0.18b
有机质/%	2.65±0.44a	2.72±1.51a	1.69±0.53b
全氮/(g·kg <sup>-1</sup> )	1.21±0.23a	1.97±0.51b	0.79±0.19c
全磷/(g·kg <sup>-1</sup> )	0.95±0.54a	1.83±0.86b	0.47±0.08c
全钾/(g·kg <sup>-1</sup> )	1.70±1.05a	2.37±0.26b	1.08±0.18c
碱解氮/(mg·kg <sup>-1</sup> )	70.60±19.69a	101.96±39.46b	49.25±8.39c
速效磷/(mg·kg <sup>-1</sup> )	89.51±39.95a	89.70±77.20a	59.10±8.59b
速效钾/(mg·kg <sup>-1</sup> )	163.95±107.61a	134.74±59.67b	131.58±20.89b

注: 同行不同字母表示差异性显著( $P<0.05$ )。

Note: Different lowercase letters in the same line indicates significant differences among treatments at  $P<0.05$ .

## 2.2 不同处理方式下槟榔土壤细菌的多样性分析

**2.2.1 不同处理对细菌群落多样性的影响** 97% 相似水平上对土壤样品细菌群落进行 alpha 多样性指数分析, 结果(表 2)表明, 与对照组相比, 施加蚯蚓粪组和蚯蚓粪加化肥组槟榔土壤细菌的 Shannon 指数有明显升高, Simple 指数明显降低, 表明施加蚯蚓粪和蚯蚓粪加化肥处理后槟榔土壤细菌群落多样性升高, 且只施加蚯蚓粪的处理组中的细菌群落多样性高于施加蚯蚓粪和化肥的处理组。

表 2 细菌群落多样性指数

Tab. 2 Diversity index of bacterial community in the rhizosphere

处理 Treatments	OTUs	Ace	Chao1	Coverage	Shannon	Simpson
TLG1	2 924	5 106.9	5 027.0	0.977 28	6.588 7	0.007 0
TLG2	2 641	5 014.9	5 034.0	0.987 59	5.797 2	0.007 8
TLG3	2 773	5 292.8	5 308.6	0.989 37	5.772 4	0.009 2

**2.2.2 不同处理对土壤细菌类群分布的影响** 在属水平上对 OTU 进行聚类分析, 得到不同处理组的槟榔树土壤的细菌群落结构组成, 结果(图 1)表明, 在属水平上只施加蚯蚓粪的处理中, 主要的菌属为热酸菌属 (*Acidothermus*, 9.45%)、*norank\_f\_norank\_o\_Acidobacteriales*(3.84%)、不动杆菌属 (*Acidibacter*, 3.69%)、*Occallatibacter*(3.04%); 在施加蚯蚓粪加化肥的处理组中, 主要的属为热酸菌属 (*Acidothermus*, 13.84%)、*norank\_f\_norank\_o\_Acidobacteriales*(3.52%)、不动杆菌属 (*Acidibacter*, 5.18%)、*norank\_f\_Xanthobacteraceae*(4.88%); 在对照组中主要的属为: *norank\_f\_norank\_o\_Subgroup\_2*(10.99%)、*norank\_f\_norank\_o\_Acidobacteriales*(9.48%)、独活假丝酵母属 (*Candidatus Solibacter*, 5.19%)。此外还包括 *norank\_f\_norank\_o\_Acidobacteriales*、*norank\_f\_norank\_o\_Subgroup\_2*、*norank\_f\_Xanthobacteraceae*、*norank\_f\_norank\_o\_Elsterales*、*norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_norank\_p\_WPS-2*、*norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_AD3* 和 *Conexibacter* 等。

**2.2.3 不同处理下的细菌类群显著性差异分析** 分别对蚯蚓粪组和蚯蚓粪加化肥组与对照组的细菌类群在属的水平上进行了组间差异分析。结果(图 2)表明, 在只施加蚯蚓粪与对照的比较中(图 2-a), *norank\_f\_norank\_o\_Acidobacteriales*、独活假丝酵母属 (*Candidatus Solibacter*)、*norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_AD3* 和 *Conexibacter* 达到了极显著水平, *norank\_f\_norank\_o\_Subgroup\_2* 达到了显著性水平。在施加蚯蚓粪-化肥的处理组与对照的比较中(图 2-b), 热酸菌属 (*Acidothermus*)、独活假丝酵母属 (*Candidatus Solibacter*) 和 *Conexibacter* 达到了极显著水平, *norank\_f\_norank\_o\_Subgroup\_2*、*norank\_f\_norank\_o\_Acidobacteriales* 和 *norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_AD3* 达到了显著性水平。

**2.2.4 不同处理下土壤理化性质与微生物分布的相关性分析** 结合理化性质, 在细菌门水平上对施加蚯蚓粪前后的土壤和对照组进行了 Redundancy Analysis(RDA)分析(图 3)。RDA 分析显示, 第一主轴能够

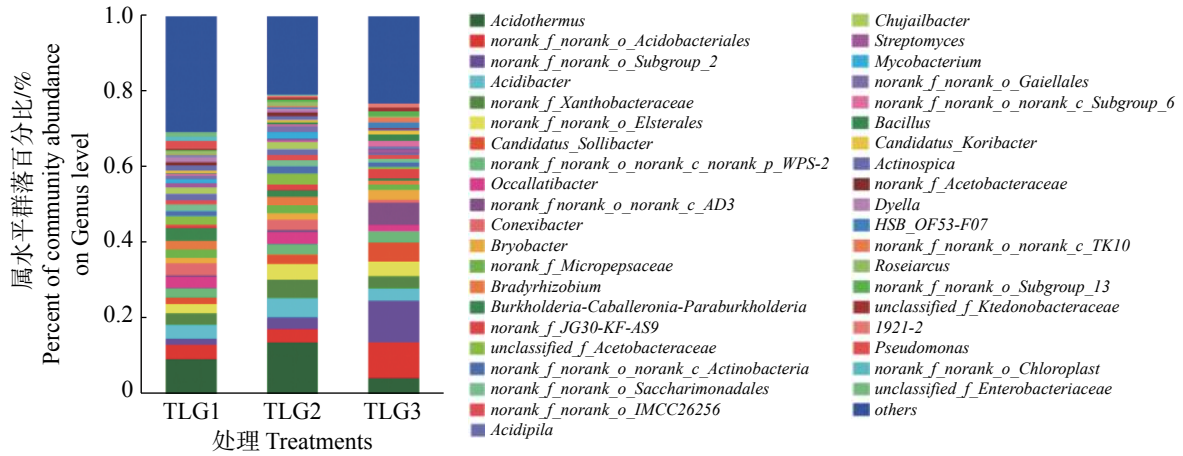


图 1 属水平下槟榔土壤细菌群落结构组成

Fig. 1 Bacterial community composition at the genus level in the rhizosphere of arecanut plants

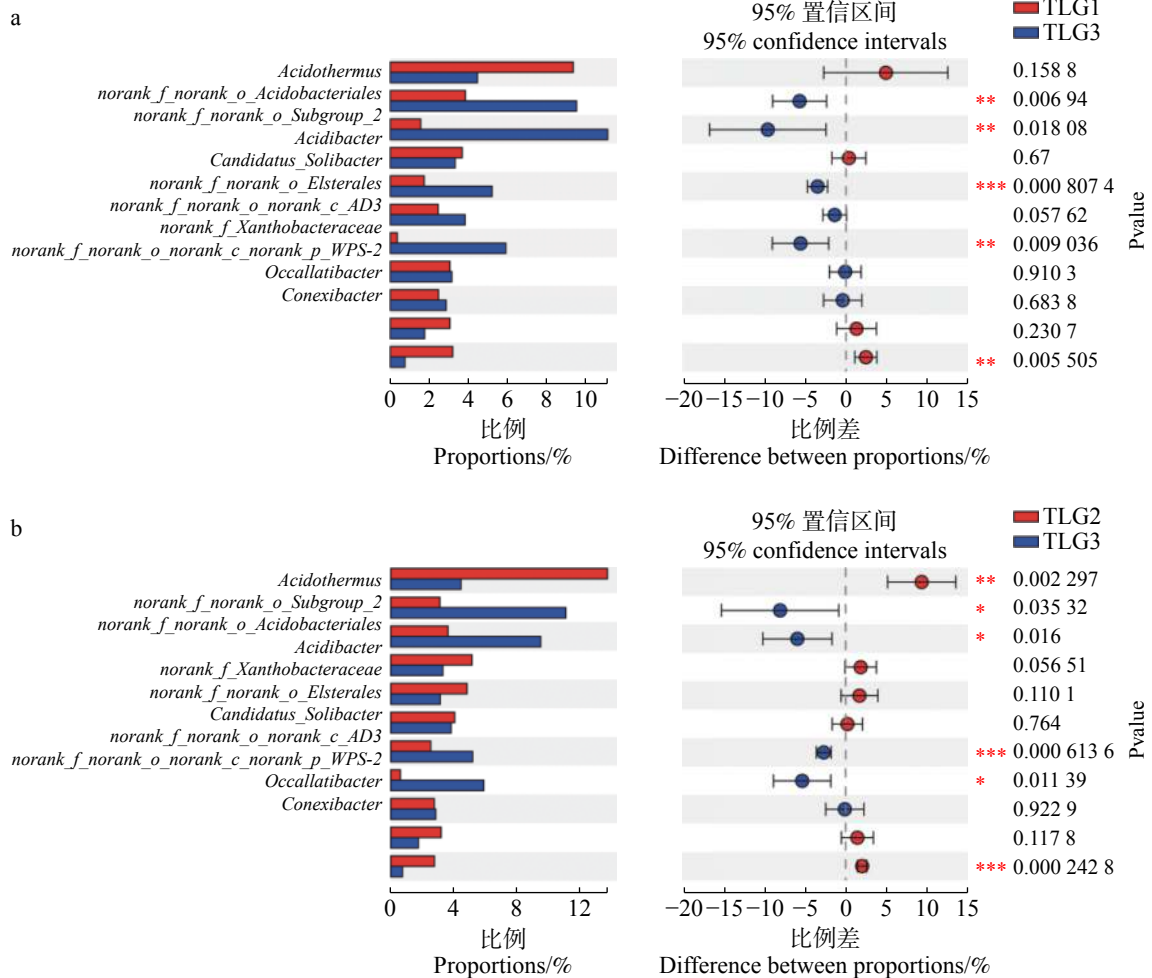


图 2 不同处理下细菌菌属与对照组差异分析

a. 施加蚯蚓粪后; b. 施加蚯蚓粪和化肥后。\*表示具有显著性差异; \*\*和\*\*\*表示具有极显著性差异。

Fig. 2 Analysis of difference in bacteria at the genus level between the treatments and the control

a. Bacterial difference between TLG1 and TLG3 at the genus level; b. Bacterial difference between TLG2 and TLG3 at the genus level. \* indicates that there are significant differences between the two treatments; \*\* and \*\*\* indicate that there are extremely significant differences in the figure.

解释所有信息的 72.21%，第二主轴能够解释 11.30%，两者累计解释所有信息的 83.51%。pH 和速效钾对物种影响程度最大，各环境因子之间均呈正相关。只施加蚯蚓粪组中，TLG1-1、TLG1-3、TLG1-4 微生物群落变化与所有环境因子之间呈正相关，TLG1-2 与全钾、速效磷呈负相关，与其余环境因子呈正相关。蚯蚓粪加化肥组中，TLG2-1、TLG2-3、TLG2-4 与所有环境因子呈正相关，TLG2-2 与所有环境因子呈负相关。对照组中所有样本微生物群落变化与所有环境因子呈负相关。变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria) 与所有环境因子呈正相关，WPS-2、酸杆菌门 (Acidobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 与所有环境因子呈负相关。其微生物群落程度表现为：酸杆菌门 (Acidobacteria) > 绿弯菌门 (Chloroflexi) > WPS-2。

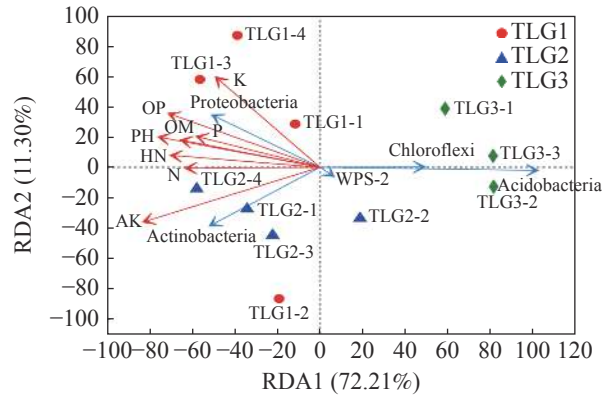


图 3 不同处理下微生物群落与土壤指标 RDA 排序图  
Fig. 3 RDA ordination diagram for microbial community and soil index of each treatment

**2.2.5 不同处理下物种间的相关性** 为了分析物种与物种之间的相关性，在门的水平上对样本丰度前 50 的种进行单因素网络分析 (图 4)。对照组中分类水平总丰度前 50 的物种中 (图 4-c)，主要的门为

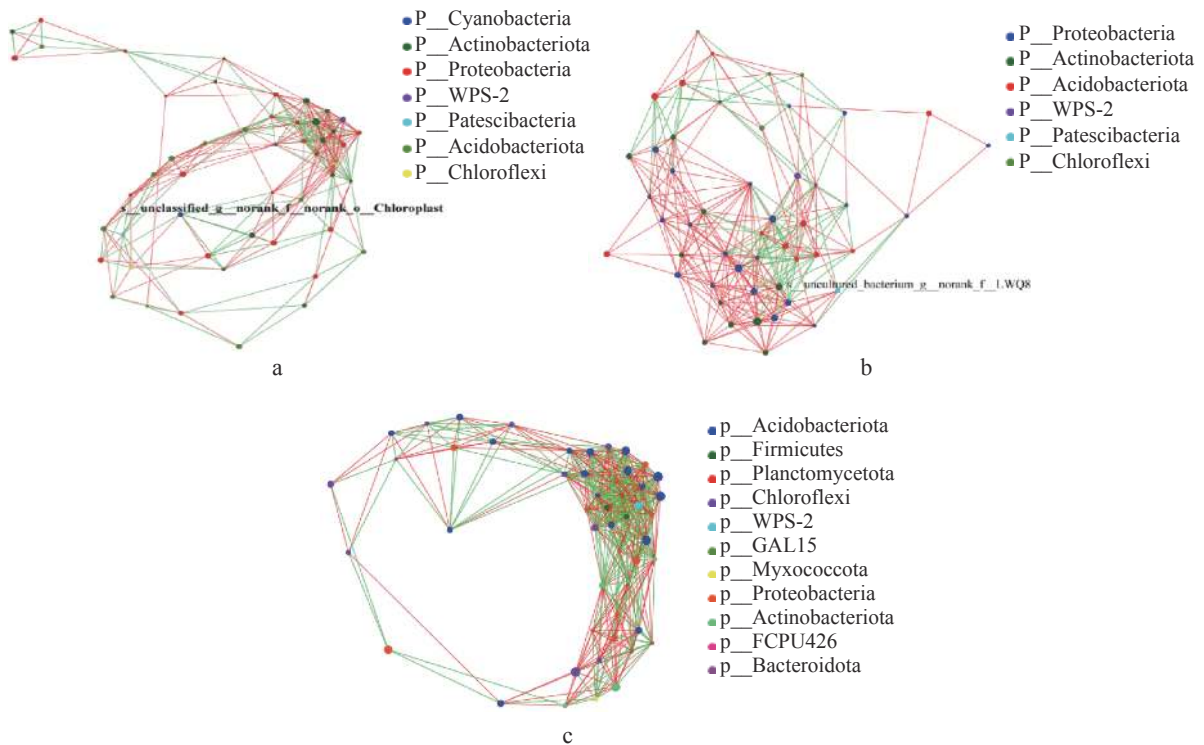


图 4 不同处理下单因素网络分析

a. 施加蚯蚓粪组; b. 施加蚯蚓粪加化肥组; c. 对照组。图中节点的大小表示物种丰度大小，不同颜色表示不同的物种；连线的颜色表示正负相关性，红色表示正相关，绿色表示负相关；线的粗细表示相关性系数的大小，线越粗，表示物种之间的相关性越高；线越多，表示该物种与其他物种之间的联系越密切。

Fig. 4 Monofactor network analysis of different treatments

a. Monofactor network analysis of TLG1; b. Monofactor network analysis of TLG2; c. Monofactor network analysis of TLG3. The size of nodes in the graph indicates the species richness, and different colors indicate different species; the color of lines indicates positive and negative correlation, red indicates positive correlation, and green indicates negative correlation; the thickness of lines indicates the size of correlation coefficient; the thicker the line, the higher the correlation between the species; the more the lines, the closer the relationship between a species and other species.

Acidobacteriota(17)、Firmicutes(3)、Planctomycetota(1)、Chloroflexi(9)、WPS-2(1)、GAL15(3)、Myxococcota(1)、Proteobacteria(10)、Actinobacteriota(6)、FCPU426(1)和 Bacteroidota(1);在只施加蚯蚓粪的处理组中(图 4-a),主要的门为 Cyanobacteria(1)、Actinobacteriota(14)、Proteobacteria(19)、WPS-2(2)、Patescibacteria(1)、Acidobacteriota(11)和 Chloroflexi(2);在施加蚯蚓粪和化肥的处理组中(图 4-b),主要的门为 Proteobacteria(20)、Actinobacteriota(11)、Acidobacteriota(11)、WPS-2(2)、Patescibacteria(1)和 Chloroflexi(5)。可以看出前 50 丰度的物种在门水平上处理组相对于对照组少了 Firmicutes、Planctomycetota、GAL15、Myxococcota、FCPU426 和 Bacteroidota 所包含的菌种。只施加蚯蚓粪的处理组中多出了 Cyanobacteria 门的一种菌(s\_unclassified\_g\_norank\_f\_norank\_o\_Chloroplast),丰度前 50 的物种有 8 种与其有相关性,其中大多数为负相关。施加蚯蚓粪-化肥的处理组中多出了 Patescibacteria 门的一种菌(s\_uncultured\_bacterium\_g\_norank\_f\_LWQ8),丰度前 50 的物种有 8 种与其有相关性,其中大多数为正相关。

### 3 讨 论

施加蚯蚓粪可以提高土壤 pH,有效抑制土壤的酸化;且槟榔种植区的土壤有机质、全氮、全磷、全钾、碱解氮、速效磷和速效钾的含量均有明显增加。土壤有机质是土壤养分的重要组成部分<sup>[14]</sup>,能够改善土壤的物理和理化性质<sup>[15]</sup>,同时也是各种植物生长的营养来源<sup>[16]</sup>。施加蚯蚓粪后土壤中有机质含量有明显升高,表明其土壤得到了改善。

97% 相似水平上对土壤样品细菌群落进行 alpha 多样性指数分析,结果表明,施加蚯蚓粪后其微生物多样性升高,这与周东兴等<sup>[17]</sup>的研究结果一致,周东兴等人通过研究施加蚯蚓粪对温室黑土酶活性以及细菌多样性的影响,证明蚯蚓粪的施加提高了土壤的细菌多样性。施加蚯蚓粪及蚯蚓粪-尿素的处理均对土壤微生物的多样性造成了显著的影响,如独活假丝酵母属(*Candidatus Solibacter*)和 *Conexibacter* 出现了显著性差异,其中独活假丝酵母属(*Candidatus Solibacter*)已有报道表明其为分解有机质、利用碳源的菌属,与土壤有机质含量呈正相关关系<sup>[18]</sup>。通过土壤理化性质和微生物在细菌门水平上分布的 RDA 分析,结果表明,理化因子之间速效钾的含量达到显著性差异,同时 N、P、K 的含量都有所增高。这与王英男等<sup>[19]</sup>研究蚯蚓粪可以提高土壤营养物质 N、P、K 含量是一致的。

通过单因素网络分析施加蚯蚓粪和施加蚯蚓粪和化肥后的土壤。只施加蚯蚓粪的处理组中多出了 Cyanobacteria 门的一种菌(s\_unclassified\_g\_norank\_f\_norank\_o\_Chloroplast),施加蚯蚓粪-化肥的处理组中多出了 Patescibacteria 门的一种菌(s\_uncultured\_bacterium\_g\_norank\_f\_LWQ8)。这两种未命名的菌种对槟榔黄化也许有一定影响。

蚯蚓粪在促进作物生长、提高产量、改善土壤肥力和抑制植物病害等方面均有重要作用<sup>[20]</sup>。钱春桃等<sup>[21]</sup>将蚯蚓粪肥均匀撒施在松花菜地里,发现可以有效降低连作地土壤水溶性盐总量(EC),缓解土壤酸化,提高土壤速效碳氮钾的含量;张峰等人<sup>[22]</sup>发现蚯蚓粪肥极显著提高土壤 NaOH-Po 含量和酸性磷酸酶活性,有效促进 NaOH-Po 活化的同时提高微生物对磷的贮存能力,提高磷肥利用率。因此,研究表明蚯蚓粪对改善土壤肥力以及保证作物健康生长具有重要的作用。本研究通过高通量测序技术对外源施加蚯蚓粪对槟榔种植区的土壤微生物多样性进行了比较分析,结果表明,施加蚯蚓粪可显著提升土壤养分,改善土壤状况,增强微生物之间的多样性。此结果为深入解析蚯蚓粪对槟榔黄化的缓解机制奠定基础。

### 参考文献:

- [1] 张中润,高燕,黄伟坚,等.海南槟榔病虫害种类及其防控[J].热带农业科学,2019,39(7):62-67.
- [2] 王华,冯焕德,王登峰.基于 SWOT 分析的海南省槟榔产业发展思考[J].南方农业,2019,13(22):63-65.
- [3] 金开璇,孙福生,陈慕容,等.槟榔黄化病的病原的研究初报[J].林业科学,1995(6):556-558+560.
- [4] 罗大全,陈慕容,叶沙冰,等.海南槟榔黄化病的病原鉴定研究[J].热带作物学报,2001(2):43-46.
- [5] 阳小勇,郝慧华.槟榔黄化病的测土配方与树干高压注射生态防治方法——以定安县水竹村为例[J].现代化农业,

2019(4): 16 – 18.

- [6] 孙建, 刘苗, 李立军, 等. 不同施肥处理对土壤理化性质的影响[J]. *华北农学报*, 2010, 25(4): 221 – 225.
- [7] NICO E, STEFAN S, ALEXANDRE J, et al. Bacterial Diversity Stabilizes Community Productivity [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(3): e34517.
- [8] 李勇, 黄小芳, 丁万隆. 根系分泌物及其对植物根际土壤微生态环境的影响[J]. *华北农学报*, 2008, 23(增刊): 182 – 186.
- [9] 朱丽霞, 章家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述[J]. *生态环境*, 2003, 12(1): 102 – 105.
- [10] XIA G L, BI J, ZHANG P, et al. Effect of a new bio-organic fertilizer on tomato growth and soil activity quality [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2007, 38(3): 519 – 522.
- [11] NI Z H, MA G R. Effect of bioactivated organo- inorgano- mixed fertilizer on growth of cabbage and soil biological activity [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2002, 33(3): 212 – 215.
- [12] HAN X L, ZHANG N W, JIA J F. Effects of biological organic-inorganic compound fertilizer on yield, quality of tomato and soil [J]. *Soils and Fertilizers*, 2005(3): 50 – 53.
- [13] 刘光崧. 土壤理化分析与剖面描述[M]. 中国标准出版社, 1996.
- [14] 尚白军, 郑博文, 周智彬, 等. 克拉玛依市玛依湖区土壤有机质空间异质性分析[J]. *华南农业大学学报*, 2021, 42(1): 72 – 81.
- [15] 曹智, 闵庆文, 刘某承, 等. 基于生态系统服务的生态承载力: 概念、内涵与评估模型及应用[J]. *自然资源学报*, 2015, 30(1): 1 – 11.
- [16] 陈春燕, 杜兴瑞, 李晓莉, 等. 基于 GIS 的九寨沟县域土壤养分空间变异特征[J]. *湖北农业科学*, 2015, 54(21): 5277 – 5280.
- [17] 周东兴, 宁玉翠, 徐明明, 等. 蚯蚓粪对温室黑土土壤酶活性及细菌多样性的影响[J]. *土壤通报*, 2014, 45(4): 835 – 840.
- [18] 杜思瑶, 于森, 刘芳华, 等. 设施种植模式对土壤细菌多样性及群落结构的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2017, 25(11): 1615 – 1625.
- [19] 王英男, 冉心怡, 刘燧, 等. 蚯蚓粪肥研究现状[J]. *乡村科技*, 2020(11): 39 – 40.
- [20] 范延夏. 蚯蚓粪有机肥的应用[N]. *山东科技报*, 2020-07-24(4).
- [21] 钱春桃, 聂小凤. 一种利用蚯蚓粪肥作基肥促进松花菜生长的方法: CN105580617A[P]. 2016-05-18.
- [22] 张峰, 王荣萍, 梁嘉伟, 等. 蚯蚓粪肥输入促进水稻土有机磷矿化的机制研究[J]. *生态环境学报*, 2019(3): 506 – 513.

## Effects of Earthworm Castings on the Microbial Diversity in the Rhizosphere of Arecanut Plants

MA Siyuan<sup>1</sup>, WANG Haihua<sup>2</sup>, LIN Yubin<sup>2</sup>, ZENG Ruohan<sup>2</sup>, DIAO Xiaoping<sup>1,3</sup>, LI Peng<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, Hainan Normal University, Haikou, Hainan 571158, China; 2. College of Ecology and Environment, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 3. State Key Laboratory of Marine Resource Utilization in South China Sea, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

**Abstract:** Areca nut is an important pillar industry in Hainan Province, and arecanut yellow leaf disease occurring seriously in Hainan has led to the decline of areca nut yield and quality, and seriously affects the development of areca nut industry in Hainan Province. It was found that earthworm castings as vermicompost could reduce yellowing of arecanut leaves when applied to the rhizosphere, but its mechanism in reducing leaf yellowing resulting from arecanut leaf yellow disease was not clear. Therefore, an experiment was made at a Longgun arecanut plantation in Wanning County, Hainan Province by using earthworm castings as manure to observe the microbial diversity in the rhizosphere of arecanut plants in the arecanut plantation. Three treatments were arranged: earthworm castings (TLG1), earthworm castings + chemical fertilizer (urea) (TLG2) and the blank control (TLG3). After 10 months of treatment, samples were collected from the rhizosphere in the arecanut plantation to analyze the dynamic changes of soil bacterial diversity and microbial interaction network

in different treatments by using Illumina Miseq high-throughput sequencing to reveal the correlation between microbial diversity and soil physical and chemical properties. The results showed that the treatments with the earthworm castings and the earthworm manure + urea increased significantly the microbial diversity in the rhizosphere of the arecanut plants, as compared with the control. The treatments of the earthworm castings and the earthworm castings + urea increased significantly *Acidotherrmus*, *Occalatiabacter* and *Conexibater* at the genus level in the rhizosphere ( $P < 0.05$ ), and reduced significantly *Candidatus Solibacter* ( $P < 0.05$ ). The microbial interaction network analysis showed that a special bacteria (s\_unclassified\_G\_norank\_F\_norank\_O\_Chloroplast), belonging to the phylum Cyanobacteria, and a species of bacteria (S\_uncultured\_bacterium\_G\_norank\_F\_LWQ8), belonging to the phylum Patescibacteria, were found in the top 50 abundant species in the treatments with the earthworm castings and the earthworm castings + urea, respectively. This experiment showed that exogenous earthworm castings could significantly enhance the diversity and abundance of soil microorganisms in the rhizosphere of arecanut plants in the arecanut plantation, and significantly increase the stability of microbial interaction network in the rhizosphere. Moreover, the available potassium and other physical and chemical factors had a significant impact on microbial groups. The results of this experiment might provide some reference for further understanding of the mechanism of the earthworm castings in reducing leaf yellowing resulting from the yellow leaf disease.

**Keywords:** arecanut leaf yellow disease; microbiome; physicochemical properties; interaction network

(责任编辑: 罗启香 责任编辑: 钟云芳)