

槟榔根系分泌物促生组分对连作胡椒根际微生物群落的影响

赵雅琦^{1,2,3}, 罗丽霞^{1,2,3,4}, 李志刚^{1,2,3}, 祖超^{1,2,3}, 杨建峰^{1,2,3}, 康杰^{1,2,3},
郑维全^{1,2,3}, 王灿^{1,2,3*}

1. 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南万宁 571533; 2. 农业农村部香辛饮料作物遗传资源利用重点实验室, 海南万宁 571533; 3. 海南省热带香辛饮料作物遗传改良与品质调控重点实验室, 海南万宁 571533; 4. 海南大学热带农林学院, 海南海口 570228

摘要: 连作胡椒在槟榔间作后长势恢复, 且连作障碍得以缓解, 这一现象主要与槟榔根系分泌物提高了连作胡椒土壤微生物多样性有关, 但其中起作用的具体组分及其作用机制尚不清楚。本研究在已探明的有机酸、酚酸、黄酮 3 类槟榔根系分泌物特异组分的基础上, 以添加去离子水为对照, 采用 BIOLOG 微平板法分析对比不同添加处理的土壤微生物碳源利用能力的差异, 以明确特异组分对连作胡椒根际土壤微生物群落功能多样性和群落结构的影响, 并结合 PCA 方法分析添加处理与测定指标的相关性。结果表明: 3 类特异促生组分处理的平均吸光度值 (AWCD) 在达到最大且稳定时均显著高于对照; 黄酮类、酚酸类处理的香农指数和香农均匀度指数均显著高于对照, 而有机酸类处理仅香农指数有显著差异; 对照的辛普森指数显著高于其他处理, 而黄酮类处理显著低于其他处理; 有机酸、酚酸、黄酮类和去离子水处理土壤引起 Biolog 培养板 31 种碳源变化的数量分别为 17、18、15 和 12 种, 且被 3 类特异组分处理分解的碳源主要为碳水化合物类; 随着特异组分的添加土壤微生物群落结构也发生明显变化, 黄酮类处理的变化最为明显, 其次为有机酸和酚酸类。另外, 特异组分处理对连作土培胡椒根际土壤养分含量也有一定影响。综上所述, 槟榔根系分泌物中 3 类特异促生组分的添加均大幅提升了连作土培胡椒根际土壤微生物碳利用活性, 提高了土壤群落功能多样性; 3 类特异组分处理均主要通过增加碳水化合物类利用微生物来提升多样性, 并维持群落结构稳定, 从而使胡椒根际养分状况趋好, 减轻了胡椒连作障碍的危害。

关键词: 胡椒; 槟榔; 根系分泌物; 特异组分; 微生物多样性; 群落结构

中图分类号: S154.3; S573.9 **文献标志码:** A

Effects of Specific Promoting Components from Areca Nut Root Exduates on the Rhizosphere Microbial Community of Consecutive Cropping Pepper

ZHAO Yaqi^{1,2,3}, LUO Lixia^{1,2,3,4}, LI Zhigang^{1,2,3}, ZU Chao^{1,2,3}, YANG Jianfeng^{1,2,3}, KANG Jie^{1,2,3},
ZHENG Weiquan^{1,2,3}, WANG Can^{1,2,3*}

1. Institute of Flavoured Beverages, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wanning, Hainan 571533, China; 2. Key Laboratory of Genetic Resources Utilization of Spice and Beverage Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wanning, Hainan 571533, China; 3. Hainan Provincial Key Laboratory of Genetic Improvement and Quality Regulation for Tropical Spice and Beverage Crops, Wanning, Hainan 571533, China; 4. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou, Hainan 570288, China

Abstract: After intercropping pepper with areca nut, the growth of pepper is restored and the intercropping barrier is

收稿日期 2025-01-20; 接受日期 2025-02-21
基金项目 国家重点研发计划项目 (No. 2023YFD1901403); 国家自然科学基金项目 (No. 32072671); 中国热带农业科学院国家热带农业科学中心科技创新团队项目 (No. CATASCXTD202303)。
作者简介 赵雅琦 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 热带作物栽培与生理生态。*通信作者 (Corresponding author): 王灿 (WANG Can), E-mail: wangcan_1983@catas.cn。

alleviated. This is related to the increase in soil microbial diversity by the root exudates of areca nut. However, the specific components that play a role and the effects are still unclear. Three specific components of areca nut root exudates identified were added them to the deionized water for cultivation as the control and the differences in soil microbial carbon source utilization ability among different treatment groups were analyzed using the Biolog microplate method. This was done to clarify the effects of the specific component on the functional diversity and community structure of the rhizosphere soil microorganisms of intercropped pepper and to analyze the correlation between the treatment groups and related indicators using the PCA method. The average absorbance values (AWCD) of the three specific components treatments reached the maximum and were stable significantly higher than those of the deionized water control. The Shannon index and Shannon evenness of the treatments containing flavonoids and phenolic acids were significantly higher than those of the deionized water control, while the Shannon index of the organic acid treatment was only significantly different. The Simpson dominance index of the deionized water control was significantly higher than that of other treatments, while the yellowing acid treatment was significantly lower than that of other treatments. The number of carbon sources changed in the Biolog culture plates caused by the addition of organic acids, phenolic acids, flavonoids and deionized water was 17, 18, 15 and 12 respectively, and the carbon sources decomposed by the three specific component treatments were mainly carbohydrates. With the addition of specific components, the soil microbial community structure also changed significantly. The changes in the yellowing acid treatment were the most obvious, followed by organic acids and phenolic acids, and the soil nutrient indicators also changed with the addition. In summary, the addition of the three specific components of areca nut root exudates significantly enhanced the carbon utilization activity of soil microorganisms in the rhizosphere of intercropped pepper and increased the functional diversity of the soil community. The three treatment groups mainly increased the utilization of carbon sources by microorganisms to enhance diversity and maintained the stability of the community structure, thereby improving the nutrient status of the pepper rhizosphere and alleviating the harm of pepper intercropping barrier.

Keywords: pepper; areca nut; root exudate; specific components; microbial diversity; community structure

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.08.023

我国胡椒 (*Piper nigrum* L.) 主要分布在海南、云南、广东、广西等省 (区), 其中海南的胡椒种植面积和产量占全国的 90% 以上, 是海南东部农民脱贫致富的重要作物产业^[1-2]。作为多年生藤本植物, 胡椒需要攀缘在支柱上生长, 因而胡椒园开垦、支柱种植等前期投入成本大。为降低成本, 农户多在同一块地上连续种植, 长此以往导致土壤及根际微环境失衡、微生物数量及结构失调、土壤酶活性下降^[3], 植株也表现为生长缓慢, 长势弱, 易感病, 经济寿命缩短^[4]。据统计, 海南东部胡椒主产区 15 a 以上胡椒园超过 60%^[5], 由此带来的土壤连作障碍已成为影响我国胡椒产业健康可持续发展的重要威胁之一^[6]。

通过合理间作构建多样性丰富的稳定农田生态系统是解决连作障碍的有效途径之一^[4]。间作体系中, 地下部根系互作可以提高养分利用, 促进土壤微生物多样性, 吸引有益微生物在根际定殖, 抑制病原菌生长, 在这些因素的综合作用下, 作物的生长环境, 特别是根际微环境得以改善, 使植株抗性增强、营养吸收增强, 从而促进植株生长。这在旱作水稻与西瓜^[7]、洋葱与黄瓜^[8]、小麦与蚕豆^[9]、药用植物与花生^[10]等多种间作模式

中均得以证实。本研究团队前期研究发现, 间作槟榔 (*Areca catechu* L.) 后, 连作胡椒长势和产量均有一定恢复, 二者合理间作时优势明显^[11-12], 这可能与间作槟榔后, 槟榔根系分泌物的作用显著提高了胡椒根际土壤微生物多样性有关。而且前期从槟榔根系分泌物水培液中筛选出有机酸、酚酸、黄酮类 3 类具有一定促生作用的特异组分^[13-14], 但这些组分的促生机制, 特别是能否提高根际土壤微生物活性及多样性尚不清楚。因此, 本研究拟通过添加培养试验, 采用 Biolog 微平板法分析对比添加 3 类不同组分后土壤微生物碳源利用能力的差异, 以验证不同组分对土壤微生物活性及多样性的促进作用, 从而揭示槟榔根系分泌物中特异组分缓解连作胡椒的作用途径, 为进一步明确间作槟榔缓解胡椒连作障碍机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验区域为海南省万宁市兴隆镇中国热带农业科学院香料饮料研究所基地 (110°20'E, 18°74'N)。供试胡椒品种为海南主栽品种热引 1 号。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 采集连作 30 a 胡椒园基地植株冠幅内靠近胡椒根系的土壤, 置于室内风干, 作为胡椒幼苗培养土壤。将长势一致的 3 月龄胡椒幼苗 (5~6 叶) 种植于装有 900 g 连作胡椒土的花盆中, 待缓苗 1 周后, 开始进行添加试验。根据前期实际测得的间作土壤中有機酸、酚酸、黄酮等组分的实际平均浓度 (每克土壤添加 5 μg 组分) 进行添加^[13], 根据 900 g 土壤换算成添加总量, 即每种单质组分每盆添加总量为 4.5 mg。每 15 d 添加 1 次, 培养 60 d 共添加 4 次, 每次每种单质组分添加量为 1.125 mg, 即有机酸 (T_1 处理, 草酸 1.125 mg、琥珀酸 1.125 mg)、酚酸 (T_2 处理, 4-甲氧基肉桂酸 1.125 mg、香草酸 1.125 mg)、黄酮 (T_3 处理, 金合欢素 1.125 mg、橙皮苷 1.125 mg), 并以去离子水作为空白对照 (CK), 每个处理 6 个重复。培养后, 取出盆中胡椒根系, 采用抖土法收集土样。一部分置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 用于 Biolog 分析; 另一部分置于室内通风阴凉处风干, 过筛, 用于土壤基础理化性质测定。

1.2.2 土壤理化性质测定 土壤理化指标测定均采用常规方法^[15], 采用酸度计法 (土水比为 1 : 2.5, V/V) 测定 pH; 采用 KCr_2O_7 -外加热法测定土壤有机质; 采用碱解扩散法测定碱解氮; 采用钼锑抗比色法测定有效磷; 采用中性 NH_4OAc 浸提-火焰光度法测定有效钾。

1.2.3 土壤微生物群落功能多样性测定 采用 Biolog 生态微平板测定土壤微生物群落功能多样性。准确称取 10.00 g 新鲜土壤, 加入装有 90 mL 0.85% 无菌生理盐水的 250 mL 三角瓶中, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 200 r/min 振荡 30 min, 静置 30 min, 然后用 0.85% 无菌生理盐水将土壤悬浮液稀释至 1000 倍。将悬浮液接种于预热的 Biolog 生态板 (eco-plate) 碳源孔中, 每孔 150 μL , 置于恒温培养箱中 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养, 每隔 24 h 选取扫描波长为 590 nm 的数据进行分析, 培养 240 h, 至读数稳定为止。

1.3 数据处理

Biolog 微平板平均吸光度值 (average well colour development, AWCD) 表明微生物群落对不同碳源的代谢强度的差异, 是土壤微生物活性及功能多样性的一个重要指标^[15]。AWCD = $\Sigma(C_i - R)/n$ 。式中, C_i 为 31 个碳源孔每孔的吸光度值, R 为对照孔的吸光度值, n 为 31 是碳源的种类数。

土壤微生物的 AWCD 值反映土壤微生物的总体活性, 而多样性指数则反映微生物群落功能的多样性。利用培养 192 h 的每孔吸光度值计算香农指数 (Shannon index, H)、香农均匀度指数 (Shannon evenness, E) 和辛普森指数 (Simpson index, D) 等多样性指数, 计算公式:

$$H = -\sum(p_i \times \ln p_i)$$

$$D = 1 - \sum \frac{n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

$$E = \frac{H}{\ln S}$$

式中, p_i 为第 i 孔相对吸光度值与其相对吸光度值总和的比值, 即 $p_i = (C_i - R) / \Sigma(C_i - R)$; N 为板上每 32 个孔相对吸光度值的总和即 $\Sigma(C_i - R)$, S 为颜色变化的孔的数目, 即 $C_i - R > 0$ 的孔的数目。

采用单因素方差分析不同添加处理之间相关指标的显著性差异, 并做多重比较。以达到稳定的 192 h 每孔吸光度值用于主成分分析 (PCA)。利用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析和主成分分析。

2 结果与分析

2.1 添加特异组分对连作土培胡椒根际土壤理化性质的影响

由表 1 可知, 与去离子水处理 (CK) 相比, 添加特异组分的胡椒根际土壤 pH 呈显著上升趋势, 添加有机酸 (T_1)、酚酸 (T_2) 和黄酮类 (T_3) 处理的土壤 pH 分别上升 0.10、0.10 和 0.17 个单位, 其中黄酮类处理与 CK 差异显著, 表明添加黄酮类物质显著提高了土壤 pH。有机质含量则呈显著下降的趋势, 与 CK 相比, T_1 、 T_2 和 T_3 处理的有机质含量分别减少 0.71、0.88、1.46 g/kg, 表明添加特异组分有促进土壤有机质分解的趋势。不同处理的土壤碱解氮含量无显著差异, 而土壤有效磷、有效钾含量呈下降趋势, 有效钾尤为明显。

2.2 特异组分对连作土培胡椒根际土壤微生物群落功能多样性的影响

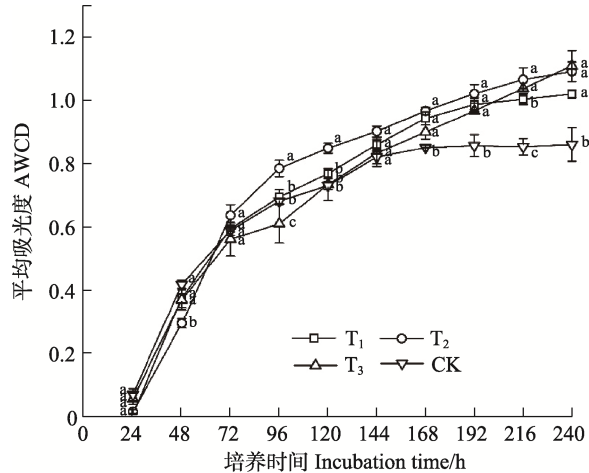
2.2.1 胡椒根际土壤微生物群落对碳源利用能力分析 AWCD 是表征土壤微生物群落碳源利用能力的关键指标, 其数值变化可直接反映碳代谢总体活性水平^[16]。通过测定不同培养时间下添加特异组分土壤的 AWCD 值, 分析不同处理间土壤碳源利用活性的差异 (图 1)。结果表明, 添

表 1 特异组分对胡椒连作土壤基础理化性质的影响

Tab. 1 Effect of specific components on the basic physical and chemical properties of continuous pepper cropping soil

处理 Treatment	pH	有机质 Organic matter/(g·kg ⁻¹)	碱解氮 Available N/(mg·kg ⁻¹)	有效磷 Available P/(mg·kg ⁻¹)	有效钾 Available P/(mg·kg ⁻¹)
T ₁	6.10±0.05 ^{ab}	20.62±0.25 ^{ab}	68.00±0.45 ^a	194.15±0.27 ^a	51.31±0.40 ^c
T ₂	6.10±0.00 ^{ab}	20.45±0.28 ^{ab}	69.82±0.48 ^a	187.02±2.10 ^{bc}	41.52±0.45 ^d
T ₃	6.17±0.03 ^a	19.87±0.06 ^b	70.19±1.86 ^a	181.85±0.78 ^c	61.48±1.44 ^b
CK	6.00±0.00 ^b	21.33±0.47 ^a	68.21±1.15 ^a	192.47±2.97 ^{ab}	67.98±0.97 ^a

注：同列不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。
Notes: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).



不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。
Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).
图 1 添加特异组分对连作胡椒土壤 AWCD 值的影响
Fig. 1 Effect of specific components on AWCD of continuous pepper cropping soil

加后 0~24 h 阶段，属于培育增殖初期，该阶段 AWCD 变化不明显；24~120 h 阶段，AWCD 增加速率最快；在 120~192 h 阶段，AWCD 增加速率逐渐趋缓，且在 192 h 后趋于稳定。达到稳定期后不同处理的 AWCD 值存在一定差异，3 个添加处理总体均显著高于 CK，表明添加槟榔根系分泌物中特异组分提升了连作土培下胡椒根际土壤微生物整体活性，其中黄酮类（T₃）处理的土壤微生物活性最高。

2.2.2 多样性指数分析 采用培养 192 h 的平板微孔吸光度值，计算添加不同特异组分后连作土培胡椒根际土壤中微生物群落功能多样性指数及均匀度。结果表明，与 CK 相比，添加特异组分处理的土壤香农指数、香农均匀度指数均显著提高，有机酸（T₁）、酚酸（T₂）、黄酮类（T₃）处理的香农指数分别上升 6.5%、8.7%和 9.3%，香农均匀度指数分别上升 3.8%、7.5%和 5.8%，而辛普森指数则分别下降 4.4%、4.5%和 10.4%。

CK 的辛普森指数显著高于添加处理，而黄酮类处理的辛普森指数也显著低于其他添加处理（表 2）。

表 2 添加特异组分对连作胡椒土壤中微生物多样性指数的影响

Tab. 2 Effect of specific components on microbial diversity index of continuous pepper cropping soil

处理 Treatment	香农指数 <i>H</i>	香农均匀度指数 <i>E</i>	辛普森指数 <i>D</i>
T ₁	2.745±0.019 ^a	0.806±0.015 ^{ab}	0.952±0.002 ^b
T ₂	2.812±0.031 ^a	0.838±0.002 ^a	0.951±0.008 ^b
T ₃	2.828±0.062 ^a	0.823±0.018 ^a	0.892±0.009 ^c
CK	2.566±0.080 ^b	0.775±0.004 ^b	0.996±0.004 ^a

注：同列不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。
Notes: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

2.2.3 土壤微生物利用不同碳源的差异 ECO 板上存在 31 种底物碳源^[17]。由图 2 和表 3 可知，添加处理培养土壤后，有 22 种底物能够被添加处理的土壤微生物利用，且被利用情况有差异。根据被利用情况，可分为 4 类：第Ⅰ类为仅能被 1 种添加处理土壤微生物利用，主要为 β-甲基 D-葡萄糖苷等 4 种底物，碳源类型为碳水化合物和羧酸类，涉及 T₁ 和 T₂ 处理，二者利用底物数量均为 2 种；第Ⅱ类能被 2 种添加处理土壤微生物利用，主要包括 α-D-乳糖等 5 种底物，碳源类型为碳水化合物、羧酸类和胺类，主要涉及 T₁、T₂、T₃ 和 CK，其利用底物的数量分别为 3 种、3 种、3 种和 1 种；第Ⅲ类能被 3 种添加处理土壤微生物利用，主要为 D-甘露醇等 4 种底物，涉及碳水化合物、氨基酸类和多聚物类碳源，涉及 T₁、T₂、T₃ 和 CK，其利用底物的数量分别为 3 种、4 种、3 种和 2 种；第Ⅳ类则能被 4 种添加处理土壤微生物利用，包括 L-精氨酸等 9 种底物，涉及氨基酸类、羧酸类、多聚物类、酚酸类和胺类碳源，涉及 T₁、T₂、T₃ 和 CK，其利用底物的数量均为 4

种。求和可知, T_1 、 T_2 、 T_3 和 CK 能够利用底物数量分别为 17 种、18 种、15 种和 12 种。

因此, CK 可利用底物数量最少, 表明在未添加其他外来碳源条件下, 该连作土培胡椒根际土壤可利用碳源微生物的数量相对较少; 通过对比各处理的碳源利用能力发现, CK 对羧酸类碳源

D-苹果酸和氨基酸类碳源 L-丝氨酸 2 种底物的利用能力高于其他添加处理, 而且 CK 利用氨基酸类碳源 L-精氨酸、L-天冬酰胺酸、多聚糖类吐温 80、 α -环式糊精、羧酸类碳源丙酮酸甲酯、 r -羟基丁酸、胺类碳源腐胺等 7 种底物能力也相对较强 (图 2, 表 3)。

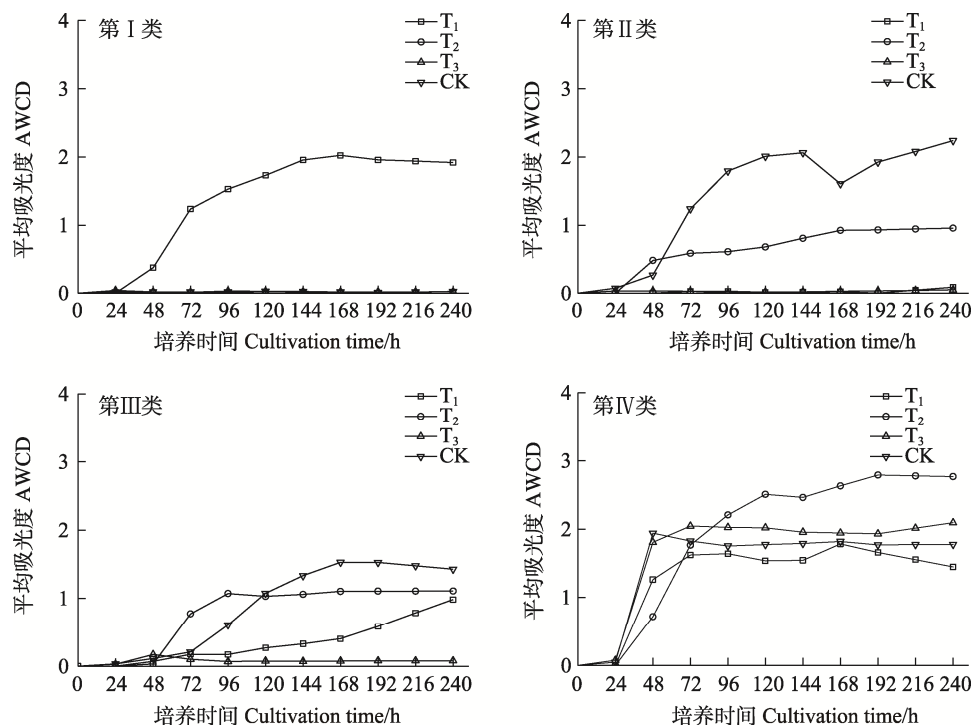


图 2 不同添加处理土壤利用碳源底物分类

Fig. 2 Classification of carbon source substrates for soil utilization with different addition treatments

2.3 31 种不同碳源与根际土壤理化性质的主成分分析

主成分分析 (PCA) 直观地反映了不同添加处理、根际土壤理化性质与 31 种不同碳源利用微生物之间的关系。如图 3 所示, 第 1 主成分和第 2 主成分分别解释了数据中总变异的 40.25% 和 34.69%, 二者共同解释了全部方差的 74.94%。由于微生物利用底物碳源能力不同, 不同添加处理诱导胡椒根际土壤微生物群落结构发生了变化, 因而不同样品分布在不同象限。其中, CK 位于第 1 象限, 添加有机酸 (T_1) 处理位于第 2 象限, 添加黄酮 (T_3) 处理位于第 3 象限, 添加酚酸 (T_2) 处理位于第 4 象限。从土壤理化性质来看, 除土壤有效镁对处理样品微生物群落和添加处理无显著影响外, 其他土壤理化性质均有显著影响, 但其影响程度有差异。土壤全氮、有机质和有效钙与 CK 的微生物群落变化呈正相关, 而与黄酮处

理的微生物变化呈负相关; 土壤有效钾和有效磷与有机酸处理的微生物群落变化呈正相关, 而与酚酸处理的微生物群落变化呈负相关; 土壤 pH、全钾、全磷和碱解氮与黄酮处理微生物群落变化呈正相关, 与 CK 的微生物群落变化呈负相关。

3 讨论

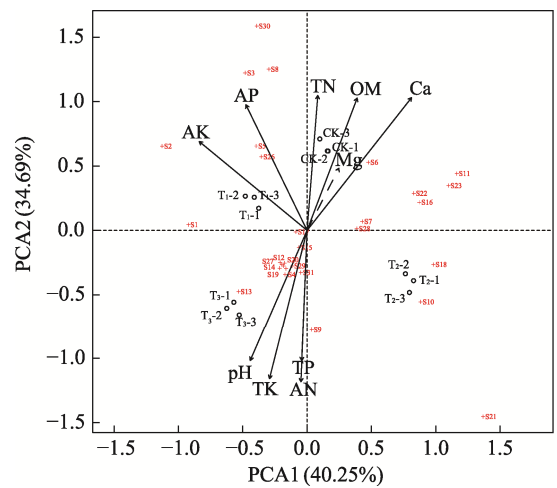
胡椒长期单一连作会导致土壤微生物多样性下降, 群落结构趋于单一^[18], 这可能与连作作物长期向土壤中分泌自身根系分泌物, 造成土壤或根际中碳源输入过于单一有关^[19]。增加土壤中碳源的输入, 如长期施用有机肥^[20]、开展轮作^[21]或者间作^[16]等措施均能有效提高土壤微生物多样性。本课题组在前期添加槟榔根系分泌物全提取液的预试验中发现, 与去离子水对照相比, 添加处理的胡椒幼苗长势更好, 且土壤微生物多样性也显著增加 (尚未发表)。而本研究部分槟

表 3 不同特异组分添加处理对 ECO 板上不同碳源的利用情况

Tab. 3 Utilization of different carbon sources on ECO board by the soils from different adding treatments

碳源 Carbon source	底物 Substrate	I	II	III	IV
碳水化合物	β-甲基 D-葡萄糖苷	T ₁			
	D-半乳糖 γ 内酯	T ₂			
	D-纤维二糖	T ₁			
	α-D-乳糖		T ₂ , T ₁		
	I-赤藻糖醇		T ₂ , T ₃		
	D-甘露醇			T ₃ , T ₂ , T ₁	
	D-葡萄糖胺		T ₃ , T ₁		
	D-苹果酸		CK, T ₃		
	衣康酸	T ₂			
	丙酮酸甲酯				T ₁ , T ₂ , CK, T ₃
羧酸类	r-羟基丁酸				T ₃ , T ₁ , CK, T ₂
	L-丝氨酸			CK, T ₂ , T ₁	
	甘氨酸-L-谷氨酸			T ₂ , T ₃ , T ₁	
	L-精氨酸				T ₃ , CK, T ₁ , T ₂
	L-天冬酰胺酸				T ₃ , CK, T ₁ , T ₂
氨基酸类	L-苯基丙氨酸				T ₂ , T ₃ , T ₁ , CK
	腐胺				T ₂ , T ₃ , CK, T ₁
	N-乙酰基-D-葡萄糖胺		T ₁ , T ₂		
	α-环式糊精			T ₃ , T ₂ , CK	
多聚物类	吐温 40				T ₃ , T ₁ , T ₂ , CK
	吐温 80				T ₃ , CK, T ₂ , T ₁
酚酸类胺类	4-羟基苯甲酸				T ₁ , T ₃ , T ₂ , CK

注：按照吸光度值排序。
Notes: Sort by absorbance value.



S1~S31 为 31 种不同碳源; OM: 有机质; TN: 全氮;
TK: 全钾; TP: 全磷; AN: 速效氮; AK: 有效钾;
AP: 有效磷; Ca: 有效钙; Mg: 有效镁。
S1~S31 are 31 different carbon sources; OM: Organic matter;
TN: Total nitrogen; TK: Total potassium; TP: Total phosphorus;
AN: Available nitrogen; AK: Available potassium; AP: Available
phosphorus; Ca: Available calcium; Mg: Available magnesium.

图 3 31 种不同碳源与土壤理化性质的主成分分析

Fig. 3 PCA of 31 different carbon sources and soil physical and chemical properties

椰根系分泌物的特有组分也能引起土壤微生物整体活性和多样性指数增加,如培养 192 h 后达到稳定的 AWCD、香农指数等指标均显著高于对照。这些结果进一步证实了前期研究结果,表明槟榔根系分泌物差异组分促进了更多碳源利用微生物的生长,因而这些物质是提高胡椒连作土壤微生物多样性的重要作用物质。

明确根系分泌物对自身或周边植物根际及土壤微环境的影响,对于解析根际微环境形成、揭示根系-微生物-土壤互作具有重要意义,这一研究方向已成为相关研究领域的热点之一。早期研究发现,用拟南芥根系分泌物不同组分培养土壤微生物,发现糖类、糖醇类、氨基酸类和酚酸类等不同组分对土壤微生物群落产生不同的影响^[22];LI 等^[23]研究发现,药用植物白术根系分泌物的挥发物可以吸引有益微生物在与其间作的花生根际定殖,从而提高花生根系抵抗病原菌的能力。本研究中,在 22 种可被微生物利用的碳源中,添加有机酸、酚酸、黄酮类和去离子水处理土壤引起

变化的碳源数目分别为 17 种、18 种、15 种和 12 种，说明添加特异组分确实吸引了更多的碳源利用微生物在胡椒根际生长；而且能够被添加有机酸、酚酸、黄酮类处理土壤单独或共同体利用的碳源有 10 种，主要有碳水化合物、羧酸类、氨基酸和胺类物质，其数量分别为 7 种、1 种、1 种和 1 种。说明碳水化合物类碳源利用微生物远多于其他碳源利用微生物，即 3 类特异组分吸引了更多碳水化合物利用微生物在胡椒根际中生长。

本研究中添加去离子水处理中可培养的碳水化合物类利用微生物数目为 0，表明连作土培胡椒根际土壤中该类微生物数量相对较少，这与课题组前期研究结果^[24]一致。已有研究表明，碳水化合物属于微生物易代谢底物，在土壤中被微生物利用最为广泛^[25-26]，这类微生物种群的衰退标志着土壤微生物多样性的整体下降。研究发现休耕土壤中碳水化合物利用微生物显著增加^[27]，并通过大量分解枯枝落叶等有机物中的纤维素、木质素等高分子有机物，加速有机质分解并释放养分，从而提高土壤生产力^[28]。本研究中 3 类槟榔根系分泌物特异组分均吸引了更多的碳水化合物类碳源利用微生物在胡椒幼苗根际土壤生长，而且添加组分处理的土壤有机质含量较对照也有下降趋势，黄酮类添加处理甚至达到了显著水平，表明添加特异组分不仅提高了根际土壤中微生物多样性，还加速了土壤有机质分解，从而改善了因连作带来土壤微环境失衡的不利影响。

PCA 分析结果也验证了槟榔根系分泌物不同特异组分对胡椒根际土壤微生物和土壤养分的影响，且不同组分的影响有差异。特异组分诱导胡椒根际土壤微生物群落结构发生了明显变化，其中黄酮类组分诱导下的群落结构变化最为显著，其次为有机酸和酚酸类。已有研究报道黄酮类物质招募有益微生物作用显著^[29-31]，而且这些微生物促进了土壤养分循环，对土壤养分含量有较大的提升作用^[31-33]，与本研究结果一致；有机酸不仅可以吸引特定微生物定殖^[34-35]，还可以活化土壤难溶性养分^[35-37]，因此本研究中有有效磷和有效钾与有机酸类组分添加微生物密切相关；BADRI 等^[38]将拟南芥根系分泌物不同组分用于土壤微生物培养，发现酚酸类影响的微生物类群数目最多，与酚酸类为众多非优势菌群提供了碳源有关，表明酚酸类有助于提升微生物多样性，稳定群落结构，但与养分循环等过程相关性不大，与本研究

中的 PCA 结果基本一致。

尽管添加差异组分引起了根际中不同碳源利用微生物活性的变化，但添加的碳源和添加后吸引的微生物可利用碳源类型并不是对应关系，如添加有机酸、酚酸、黄酮类组分吸引的更多是碳水化合物类利用微生物在根际生长。这可能与 2 个原因有关，一是差异组分在添加后被分解，形成更多的次生代谢物^[39]，而这些次生代谢物的碳源类型可能发生了变化；二是与 Biolog 生态板中相对有限的碳源种类和数量有关，因而不能全面反映所有碳源利用微生物的变化情况。因此，下一步需采用分辨率更高的代谢组和高通量测序技术来解析差异组分与根际微生物种群变化的相互关系，为深入了解槟榔根系分泌物改善胡椒根际微环境的作用机制提供更为精准和详细的解析。

4 结论

本研究采用 Biolog 微平板法研究了添加槟榔根系分泌物特异组分后连作胡椒土壤中微生物功能多样性和群落结构的变化，并采用 PCA 方法分析了添加处理与相关指标的相关性。结果发现，与对照（去离子水处理）相比，添加特异组分的连作胡椒土壤微生物群落功能多样性均有显著增加，群落结构也发生明显变化，其中黄酮类处理的变化最为明显，其次为有机酸和酚酸类。进一步分析发现，3 类特异组分的添加处理均主要通过增加碳水化合物类碳源利用微生物来提升微生物整体多样性，土壤养分指标也随之发生变化。因此，本研究验证了前期假设，即间作条件下，槟榔特异根系分泌物能够吸引更多微生物在连作胡椒根际土壤中定殖，提升根际微生物多样性，维持群落结构，并引起连作土培下胡椒根际养分状况趋好，从而减轻了胡椒连作障碍的危害。

参考文献

- [1] 王辉, 王灿, 杨建峰, 祖超, 李志刚, 郭华松, 鱼欢. 海南主要热带经济林复合栽培发展现状与构建[J]. 中国热带农业, 2016(6): 8-14.
WANG H, WANG C, YANG J F, ZU C, LI Z G, WU H S, YU H. Development status and construction of compound cultivation of main tropical economic forests in Hainan[J]. China Tropical Agriculture, 2016(6): 8-14. (in Chinese)
- [2] 郭华松, 杨建峰, 王灿. 胡椒优势区域布局[M]. 北京: 中

- 国农业出版社, 2016: 216-226.
- WU H S, YANG J F, WANG C. The dominant regional layout of pepper[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2016: 216-226. (in Chinese)
- [3] 李威, 程智慧, 孟焕文, 周静, 梁静, 刘雪娇. 轮作不同蔬菜对大棚番茄连作基质中微生物与酶及后茬番茄的影响[J]. 园艺学报. 2012, 39(1): 73-80.
- LI W, CHENG Z H, MENG H W, ZHOU J, LIANG J, LIU X J. Effect of rotating different vegetables on micro-biomass and enzyme in tomato continuous cropped substrate and afterculture tomato under plastic tunnel cultivation[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2012, 39(1): 73-80. (in Chinese)
- [4] 侯慧, 董坤, 杨智仙, 董艳, 汤利, 郑毅. 连作障碍发生机理研究进展[J]. 土壤. 2016, 48(6): 1068-1076.
- HOU H, DONG K, YANG Z X, DONG Y, TANG L, ZHENG Y. Advance in mechanism of continuous cropping obstacle[J]. Soils, 2016, 48(6): 1068-1076. (in Chinese)
- [5] 李志刚, 王灿, 祖超, 鱼欢, 郑维全, 邬华松, 杨建峰. 胡椒连作障碍机理研究进展及调控技术探讨[J]. 中国热带农业, 2017(4): 74-77.
- LI Z G, WANG C, ZU C, YU H, ZHENG W Q, WU H S, YANG J F. Research progress on mechanism of pepper continuous cropping obstacles and discussion on regulation techniques[J]. China Tropical Agriculture, 2017(4): 74-77. (in Chinese)
- [6] 李志刚, 刘爱勤, 祖超, 杨建峰, 郑维全, 鱼欢, 邬华松. 不同种植年限胡椒园土壤理化性质及微生物生态特征研究初报[J]. 热带作物学报, 2012, 33(7): 1245-1249.
- LI Z G, LIU A Q, ZU C, YANG J F, ZHENG W Q, YU H, WU H S. Soil physicochemical properties and microbial dynamics in the fields with the different aging black pepper[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2012, 33(7): 1245-1249. (in Chinese)
- [7] 苏世鸣, 任丽轩, 霍振华, 杨兴明, 黄启为, 徐阳春, 周俊, 沈其荣. 西瓜与旱作水稻间作改善西瓜连作障碍及对土壤微生物区系的影响[J]. 中国农业科学, 2008(3): 704-712.
- SU S M, REN L X, HUO Z H, YANG X M, HUANG Q W, XU Y C, ZHOU J, SHEN Q R. Effects of intercropping watermelon with rain fed rice on *Fusarium* wilt and the microflora in the rhizosphere soil[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008(3): 704-712. (in Chinese)
- [8] 杨阳, 刘守伟, 潘凯, 吴凤芝. 分蘖洋葱根系分泌物对黄瓜幼苗生长及根际土壤微生物的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(4): 1109-1117.
- YANG Y, LIU S W, PAN K, WU F Z. Effects of Chinese onion's root exudates on cucumber seedlings growth and rhizosphere soil microorganisms[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, 24(4): 1109-1117. (in Chinese)
- [9] DAI C, CHEN Y, WANG X, LI P. Effects of intercropping of peanut with the medicinal plant *Atractylodes lancea* on soil microecology and peanut yield in subtropical China[J]. Agroforestry Systems, 2013, 87(2): 417-426.
- [10] LI X G, DE BOER W, ZHANG Y N, DING C F, ZHANG T L, WANG X X. Suppression of soil-borne *Fusarium* pathogens of peanut by intercropping with the medicinal herb *Atractylodes lancea*[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2018(116): 120-130.
- [11] 王灿, 杨建峰, 祖超, 李志刚, 鱼欢, 邬华松. 胡椒园间作槟榔对胡椒产量及养分利用的影响[J]. 热带作物学报, 2015, 36(7): 1191-1196.
- WANG C, YANG J F, ZU C, LI Z G, YU H, WU H S. Effect of black pepper-arecanut intercropping on black pepper yield and nutrients utilization[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2015, 36(7): 1191-1196. (in Chinese)
- [12] 杨建峰, 祖超, 李志刚, 王灿, 鱼欢, 邬华松, 谭乐和. 胡椒园间作槟榔优势及适宜种植密度研究[J]. 热带作物学报, 2014, 35(11): 2129-2133.
- YANG J F, ZU C, LI Z G, WANG C, YU H, WU H S, TAN L H. Advantage of the areca intercropping in pepper garden and the suitable planting density[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2014, 35(11): 2129-2133. (in Chinese)
- [13] 罗丽霞. 槟榔根系分泌物缓解胡椒连作障碍的化感物质筛选鉴定及验证[D]. 海口: 海南大学, 2021.
- LUO L X. Screening, identification and verification of allelochemicals used in betel nut root exudates to relieve pepper continuous cropping obstacles[D]. Haikou: Hainan University, 2021. (in Chinese)
- [14] 王灿, 赵严, 罗丽霞, 李志刚, 杨建峰, 祖超, 鱼欢, 邬华松, 郑维全. 植物根系分泌物收集方法的比较研究——以槟榔为例[J]. 热带农业科学, 2020, 40(10): 21-29.
- WANG C, ZHAO Y, LUO L X, LI Z G, YANG J F, ZU C, YU H, WU H S, ZHENG W Q. Comparative study on collection methods of plant root exudates: take betel nut as an example[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2020, 40(10): 21-29. (in Chinese)
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- BAO S D. Soil agrochemical analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000. (in Chinese)
- [16] JULIET P M, LYNNE B, RANDERSON P F. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation procles-a critique[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 42(1): 1-14.
- [17] DOMEIGNOZ-HORTA L A, CAPPELLI S L, SHRESTHA R, GERIN S, LOHILA A K, HEINONSALO J, NELSON D B, KAHMEN A, DUAN P, SEBAG D, VERRECCHIA E, LAINE A. Plant diversity drives positive microbial associa-

- tions in the rhizosphere enhancing carbon use efficiency in agricultural soils[J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 8065.
- [18] LI Z G, ZU C, WANG C, YANG J F, YU H, WU H S. Different responses of rhizosphere and non-rhizosphere soil microbial communities to consecutive *Piper nigrum* L. monoculture[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 35825.
- [19] 宋秀丽, 黄瑞龙, 柯彩杰, 黄蔚, 章武, 陶波. 不同种植方式对连作土壤细菌群落结构和多样性的影响[J]. *生态环境学报*, 2022, 31(3): 487-496.
- SONG X L, HUANG R L, KE C J, HUANG W, ZHANG W, TAO B. Effects of different cropping systems on bacterial community structure and diversity in continuous cropping soil[J]. *Ecology and Environmental Science*, 2022, 31(3): 487-496. (in Chinese)
- [20] 王静, 王磊, 张爱君, 张辉, 张永春. 长期增施有机肥对土壤不同组分有机磷含量及微生物丰度的影响[J]. *生态与农村环境学报*, 2020, 36(9): 1161-1168.
- WANG J, WANG L, ZHANG A J, ZHANG H, ZHANG Y C. Effect of long-term organic fertilization on the content of soil organic phosphorus fractions and abundance of soil microorganism[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2020, 36(9): 1161-1168. (in Chinese)
- [21] ZHANG K, MALTAIS-LANDRY G, LIAO H. How soil biota regulate C cycling and soil C pools in diversified crop rotations[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 156: 108219.
- [22] ZHALNINA K, LOUIE K B, HAO Z, MANSOORI N, DA ROCHA U N, SHI S, CHO H, KARAOZ U, LOQUÉ D, BOWEN B P, FIRESTONE M K, NORTHERN T R, BRODIE E L. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 4(3): 470-480.
- [23] LI X G, YANG Z, ZHANG Y N, YU L, DING C F, LIAO Y, DAI C C, WANG X X. *Atractylodes lancea* volatiles induce physiological responses in neighboring peanut plant during intercropping[J]. *Plant and Soil*, 2020, 453(1/2): 409-422.
- [24] 王灿, 李志刚, 杨建峰, 祖超, 郑维全, 郭华松, 鱼欢. 胡椒连作对土壤微生物群落功能多样性与群落结构的影响[J]. *热带作物学报*, 2017, 38(7): 1235-1242.
- WANG C, LI Z G, YANG J F, ZU C, ZHENG W Q, WU H S, YU H. Effects of consecutive monoculture of *Piper nigrum* L. on soil microbial functional diversity and community structure[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2017, 38(7): 1235-1242. (in Chinese)
- [25] BRACKIN R, ROBINSON N, LAKSHMANAN P, SCHMIDT S. Microbial function in adjacent subtropical forest and agricultural soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 68-77.
- [26] NIVELLE E, VERZEAUX J, HABBIB H, KUZYAKOV Y, DECOCQ G, ROGER D, LACOUX J, DUCLERCQ J, SPICHER F, NAVA-SAUCEDO J, CATTEROU M, DUBOIS F, TETU T. Functional response of soil microbial communities to tillage, cover crops and nitrogen fertilization[J]. *Applied Soil Ecology*, 2016, 108: 147-155.
- [27] NAUTIYAL C S, CHAUHAN P S, BHATIA C R. Changes in soil physico-chemical properties and microbial functional diversity due to 14 years of conversion of grassland to organic agriculture in semi-arid agroecosystem[J]. *Soil and Tillage Research*, 2010, 109(2): 55-60.
- [28] LORENZ K, PRESTON C M, KRUMREI S, FEGER K. Decomposition of needle/leaf litter from Scots pine, black cherry, common oak and European beech at a conurbation forest site[J]. *European Journal of Forest Research*, 2004, 123(3): 177-188.
- [29] SHAH A, SMITH D L. Flavonoids in agriculture: chemistry and roles in, biotic and abiotic stress responses, and microbial associations[J]. *Agronomy*, 2020, 10(8): 1209.
- [30] KUMAR R, SWAPNIL P, MEENA M, SELPAIR S, YADAV B G. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): approaches to alleviate abiotic stresses for enhancement of growth and development of medicinal plants[J]. *Sustainability*, 2022, 14(23): 15514.
- [31] BAG S, MONDAL A, MAJUMDER A, MONDAL S K, BANIK A. Flavonoid mediated selective cross-talk between plants and beneficial soil microbiome[J]. *Phytochemistry Reviews*, 2022, 21(5): 1739-1760.
- [32] XIONG C, LI X, WANG X, WANG J, LAMBERS H, VANCE C P, SHEN J, CHENG L. Flavonoids are involved in phosphorus-deficiency-induced cluster-root formation in white lupin[J]. *Annals of Botany*, 2022, 129(1): 101-112.
- [33] KUMAR G A, KUMAR S, BHARDWAJ R, SWAPNIL P, MEENA M, SETH C S, YADAV A. Recent advancements in multifaceted roles of flavonoids in plant-rhizomicrobiome interactions[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 14: 14.
- [34] LV J X, XIAO J X, GUO Z P, DONG K, DONG Y. Nitrogen supply and intercropping control of *Fusarium* wilt in faba bean depend on organic acids exuded from the roots[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 9589.
- [35] CHANG D N, SONG Y R, LIANG H, LIU R, CAI C, LV S L, LIAO Y L, NIE J, DUAN T Y, CAO W D. Planting Chinese milk vetch with phosphate-solubilizing bacteria inoculation enhances phosphorus turnover by altering the structure of the phoD-harboring bacteria community[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2024, 123: 103678.
- [36] AN R, YU R, XING Y, ZHANG J, BAO X, LAMBERS H,

- LI L. Enhanced phosphorus-fertilizer-use efficiency and sustainable phosphorus management with intercropping[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2023, 43(5): 57.
- [37] ZHAO Y, ZHANG M, LIU Z, YANG F. Migration and transformation of soil phosphorus by organic acids: a global meta-analysis[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2024, 24(2): 589-602.
- [38] BADRI D V, CHAPARRO J M, ZHANG R, SHEN Q, VIVANCO J M. Application of natural blends of phytochemicals derived from the root exudates of *Arabidopsis* to the soil reveal that phenolic-related compounds predominantly modulate the soil microbiome[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(7): 4502-4512.
- [39] 李孝刚, 张桃林, 王兴祥. 花生连作土壤障碍机制研究进展[J]. *土壤*, 2015, 47(2): 266-271.
- LI X G, ZHANG T L, WANG X X. Advances in mechanism of peanut continuous cropping obstacle[J]. *Soils*, 2015, 47(2): 266-271. (in Chinese)