

少花蒺藜草入侵对根际土壤磷细菌群落多样性的影响

高金会, 王 然, 宋 振, 郅玲玲, 付卫东, 王忠辉, 马 涛, 王 伊, 张国良*

中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081

摘要: 【目的】入侵植物少花蒺藜草在磷元素受限的贫瘠沙质土壤中能够快速生长和种群扩张, 形成单一优势群落。本文解析了少花蒺藜草在磷胁迫条件下对磷素的高效利用机制, 以期揭示其入侵机理提供理论依据。【方法】设置少花蒺藜草、冰草、狗尾草和空白对照 4 个处理, 通过高通量测序技术, 从土壤解磷微生物的角度分析各处理间土壤中解磷细菌的组成差异。【结果】少花蒺藜草入侵显著提高了土壤磷酸酶的活性和土壤解磷菌的群落多样性。PCA 与 UPGMA 聚类结果表明, 少花蒺藜草与狗尾草根际磷细菌物种组成相似性最大。LEISe 多级物种差异判别分析结果表明, 少花蒺藜草根际显著富集且与其他处理有显著性差异的解磷菌类群为 α -变形菌、链霉菌, 其在少花蒺藜草对磷的吸收中可能起较为重要的作用。变形菌门、浮霉菌门和放线菌门与少花蒺藜草根际土壤中的全磷含量呈显著正相关, 放线菌门与少花蒺藜草根际土速效磷含量有紧密联系。【结论】少花蒺藜草通过改变入侵地根际土壤的解磷菌群落结构间接影响根际土壤的磷素环境, 从而利于自身生长。**关键词:** 少花蒺藜草; 高通量测序; 根际; 解磷菌



开放科学标识码
(OSID 码)

Effects of *Cenchrus spinifex* invasion on phosphorus bacteria community diversity in rhizosphere soil

GAO Jinhui, WANG Ran, SONG Zhen, YUN Lingling, FU Weidong, WANG Zhonghui,
MA Tao, WANG Yi, ZHANG Guoliang*

*Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture,
Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China*

Abstract: 【Aim】The invasive plant *Cenchrus spinifex* can proliferate and expand its population in poor sandy soils with limited phosphorus, forming a single dominant community. Analyzing the efficient utilization mechanism of phosphorus by *C. spinifex* under phosphorus stress can provide a theoretical basis for revealing mechanism of its invasion. 【Method】Four treatments of *C. spinifex*, *Agropyron cristatum*, *Setaria viridis*, and CK (soil without plants) were established. The compositional differences of phosphorus-solubilizing bacteria in soil were analyzed from the perspective of soil phosphorus-solubilizing microorganisms using high-throughput sequencing technology. 【Result】The results showed that the invasion of *C. spinifex* significantly improved soil phosphatase activity and the community diversity of soil phosphate-solubilizing bacteria. PCA and UPGMA clustering results showed that the species composition of phosphorus-solubilizing bacteria in the rhizosphere of *C. spinifex* and *A. cristatum* was similar. The multi-level species difference discriminant analysis results showed that the phosphate-solubilizing bacteria groups were significantly enriched in the rhizosphere of *C. spinifex* and significantly different from other treatments were Alphaproteobacteria and Streptomyces, which may play important roles in the absorption of phosphorus by *C. spinifex*. Total phosphorus content in the rhizosphere soil of *C. spinifex* was significantly positively correlated with the presence of Proteobacteria, Planctomycetes, and Actinobacteria, and there was a close relationship between Actinobacteria and available phosphorus content in the rhizosphere soil of *C. spinifex*. 【Conclusion】*C. spinifex* indirectly affected the phosphorus environment of the rhizosphere soil by changing the community structure of phosphorus-solubilizing bacteria in the rhizosphere soil of the invaded soil, which is beneficial for its growth.

Key words: *Cencherus spinifex*; high-throughput sequencing; rhizosphere; osphorus-solubilizing bacteria

收稿日期 (Received): 2021-12-06 接受日期 (Accepted): 2022-03-09

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (41977203)

作者简介: 高金会, 女, 硕士研究生。研究方向: 外来入侵植物。E-mail: gjinhui0529@163.com

* 通信作者 (Author for correspondence), 张国良, E-mail: zhangguoliang@caas.cn

少花蒺藜草 *Cenchrus spinifex* Cav. 为禾本科 Poaceae 蒺藜草属 *Cenchrus* 一年生草本植物,原产北美洲及热带沿海地区(高晓萍和杨旋,2008),我国于 20 世纪 30 年代首次发现,现主要分布在辽宁、内蒙古、吉林等省(自治区)(徐军,2011)。少花蒺藜草具有高抗逆性、高繁殖力、传播途径多样和高侵染力等特点,适应能力极强,可在短时间内形成单一优势群落,降低草场生物多样性,加剧土壤沙化;其刺苞表面密被许多小刺,会对人及牲畜造成伤害,影响农牧生产(杜广明等,1995;高晓萍和杨旋,2018)。

外来入侵植物定殖成功后,迅速形成单优群落,降低本地生态系统的群落多样性(Bajwa *et al.*, 2016)。入侵植物与土壤微生物之间的互作在其定殖、扩散过程中发挥重要作用(Wardle *et al.*, 2004)。研究表明,外来入侵植物能够改变入侵地有机质、氮磷钾等养分含量(薛敬意等,2002;Wang *et al.*, 2018),同时影响土壤的微生物群落组成(祁小旭等,2019;Batten *et al.*, 2006),如糖蜜草 *Melinis minutiflora* P. Beauv. (Ribeiro *et al.*, 2017)、紫茎泽兰 *Ageratina adenophora* (Spreng.) R.M. King *et al.* H. Rob. (戴莲等,2012;于文清等,2014;Niu *et al.*, 2007)、加拿大一枝黄花 *Solidago canadensis* L. (周振荣,2010;Wang *et al.*, 2018)。研究表明,根际解钾菌数量较为丰富,且大多具有较高解钾活性,可能对其钾富集具有重要贡献(闫雅楠等,2019)。黄顶菊 *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze. 入侵后土壤中有效磷的含量降低(Huang *et al.*, 2015;Shaheen, 2015),并且可显著增加解磷细菌的数量(纪巧凤, 2014)。rep-PCR 结果显示,与万寿菊 *Tagetes erecta* L. 对比,黄顶菊显著增加了入侵地根际解有机磷细菌、解无机磷细菌的数量(宋振等,2016)。

少花蒺藜草具有化感作用,其根系及根际土壤水提液对马唐 *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. 胚根生长均表现高浓度抑制、低浓度促进作用(王坤芳等,2017),从而利于自身生长。目前,对少花蒺藜草入侵影响土壤养分的研究已有报道,如少花蒺藜草入侵可使土壤中的有机质及速效养分含量随着生长期的变化有不同程度的下降,与小叶杨 *Populus simonii* Carr. 和黄柳 *Salix gordejvii* Y. L. Chang *et al.* Skv. 相比,少花蒺藜草入侵降低了土壤有机质、速效磷含量(周立业等,2014),但对少花蒺藜草对土壤

磷元素高效吸收利用机制的研究尚未见报道。本研究采用高通量测序技术,分析了少花蒺藜草与冰草 *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn.、狗尾草 *Setaria viridis* (L.) Beauv. 根际土壤及空白对照土壤中解磷菌的组成差异以及与环境因子之间的关系,研究了少花蒺藜草入侵对根际土壤解磷菌的影响,以期揭示其入侵机制提供理论依据。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验种子 少花蒺藜草种子于种子成熟期采于辽宁省彰武县阿尔乡白音花农场,冰草、狗尾草种子购于北京金土地农业技术研究所种子销售处。挑取健康饱满的种子,用 2% NaClO 溶液消毒 10 min 后,用蒸馏水反复冲洗至澄清,室内晾干,供后续试验使用。

1.1.2 试验用土 供试土壤取自少花蒺藜草的发生地辽宁省彰武县阿尔乡白音花农场,去除杂草等杂物,去除表层 2 cm 土层,采集 2~10 cm 土壤带回实验室,过 2 mm 筛,作为后期盆栽用土。

1.2 试验设置及采样

以上述土壤为基质,将种子播于花盆(花盆大小 23 cm×18.4 cm)内,设置 4 个处理:分别种植少花蒺藜草、冰草、狗尾草和空白对照(裸土),每个处理 5 个重复。出苗后间苗处理,每盆保留 10 株健康植株,其间保持培养条件一致,室内温度 10~30 ℃,光照度 10~25 klx,湿度 30%~60%。培养 50 d 后采集土壤样本,去掉表层土壤(3 cm 左右),采用抖根法获得植物根际土壤样本。

1.3 土壤理化性质测定

参照鲍士旦(2000)测定土壤 pH(电极法)、有机质(重铬酸钾容量法)、全氮(半微量开氏法)、全磷(碳酸氢钠钼蓝法)、全钾(火焰光度法)、速效磷(碳酸氢钠法)、速效钾(联合浸提-比色法)等理化指标。土壤磷酸酶活性测定采用磷酸苯二钠比色法测定(邢培茹,2014)。

1.4 高通量测序

1.4.1 土壤 DNA 的提取 采用土壤基因组 DNA 提取试剂盒(北京, Solarbio 公司)提取土壤样品总基因组 DNA,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳及超微量紫外分光光度法检测 DNA 纯度。

1.4.2 PCR 扩增 按指定测序区域,合成带有 barcode 的特异引物,或合成带有错位碱基的融合引物。

采用 TransGen AP221-02 PCR 反应体系: TransStart Fastpfu DNA Polymerase 20 μL , DNA 模板 10 ng, 上、下游引物 ($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 0.4 μL , dNTP ($2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 2 μL , FastPfu Polymerase 0.4 μL , $5 \times \text{FastPfu}$ buffer 4 μL , 补充 ddH_2O 至 20 μL 。PCR 扩增程序: 95°C 预变性 2 min; 95°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 45 s, 30 个循环; 最后于 72°C 延伸 10 min, 4°C 保存。每个样品 3 个重复, 将同一样品的 PCR 产物混合后用 2% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测。

1.4.3 Miseq 文库构建 连接“Y”字形接头; 使用磁珠筛选去除接头自连片段; 利用 PCR 扩增进行文库模板的富集; 氢氧化钠变性, 产生单链 DNA 片段。

1.4.4 Miseq 上机测序 DNA 片段的一端与引物碱基互补, 固定在芯片上; 另一端随机与附近的另外一个引物互补, 也被固定住, 形成“桥 (bridge)”; PCR 扩增, 产生 DNA 簇; DNA 扩增子线性化成为单链; 加入改造过的 DNA 聚合酶和带有 4 种荧光标记的 dNTP, 每次循环只合成一个碱基; 用激光扫描反应板表面, 读取每条模板序列第一轮反应所聚合上去的核苷酸种类; 将“荧光基团”和“终止基团”化学切割, 恢复 3' 端黏性, 继续聚合第二个核苷酸; 统计每轮收集到的荧光信号结果, 获知模板 DNA 片段的序列。

1.5 数据分析

采用 Excel 2010 和 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析。采用单因素 (one-way ANOVA) 和 Duncan 法进行方差分析和多重比较 ($\alpha = 0.05$)。

Miseq 测序得到的 PE reads 先根据 overlap 关系进行拼接, 同时对序列质量进行质控和过滤。由于不同样本间的 reads 数不同, 因此在分析多样性和群落组成前, 先依据最低 reads 数进行标准化。区分样品后进行 OTU (operational taxonomic unit) 聚类分析和物种分类学分析, 基于 OTU 进行物种多样性指数分析。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。在上述分析的基础上, 进行一系列群落结构和系统发育等的统计学和可视化分析。使用 FLASH v 1.2.7 对下机数据进行拼接, 得到 OTUs 数据 (raw tags), 利用 Trimmomatic (v 0.33) 对 Raw Tags 质控过滤, 得到 clean tgs, 进行数据分析。基于 97% 相似度, 利用 Qiime (version 1.8.0) 在 Silva 数据库进行 OTU 物种分类

学分析和聚类分析 (uparse 聚类法)。Chao 1 指数为土壤细菌群落丰富度指标, 用以估计群落中 OTU 数目, Chao1 指数越小群落丰富度越高 (Chao, 1984), Shannon 指数为用来估算样品中细菌群落多样性指标, Shannon 值越大群落多样性越高 (Shannon, 1948)。利用 Qiime (version 1.8.0) 对 Chao1 和 Shannon 指数进行分析 Alpha 多样性, 用 *t* 检验分析 Alpha 多样性指数差异, 然后用 R 作图; 利用柱形图表示细菌群落组成; PCA 分析 (principal component analysis), 即主成分分析, 通过分析不同样本群落组成可以反映样本间的差异和距离, 可以有效地找出数据中最“主要”的元素和结构, 样本组成越相似, 在 PCA 图中的距离越近; 各样本差异物种组成通过 one-way ANOVA 单因素方差分析, 先使用 LEfSe 软件 non-parametric factorial Kruskal-Wallis (KW) sum-ranktest (非参数因子克鲁斯卡尔-沃利斯秩和检验) 检测显著丰度差异特征, 并找到与丰度有显著性差异的类群, 然后采用线性判别分析 (LDA) 来估算每个组分 (物种) 丰度对差异效果影响的大小; 通过 RDA (redundancy analysis) 分析, 可以明确植物根际解磷细菌群落与环境因子之间的关系, 利用 Canoco 软件作图。

2 结果与分析

2.1 根际土壤理化性质分析结果

试验土壤的基本理化性质: pH 8.5、全氮含量 0.016%、全磷含量 0.002%、全钾含量 2.52%、有机质含量 $5.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、有效磷含量 $7.58 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、速效钾含量 $63.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

各处理土壤理化性质指标如表 1 所示。结果显示, 不同处理的土壤 pH 均呈碱性; 3 个种植物处理的根际土壤有机质含量都显著高于空白对照, 为 $15.60 \sim 20.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 且少花蒺藜草处理显著低于狗尾草、冰草植物处理; 不同处理的速效磷含量之间表现出了显著的统计学差异, 从高到低依次为狗尾草 > 空白对照 > 冰草 > 少花蒺藜草, 少花蒺藜草处理速效磷含量显著低于其他处理; 各处理之间全磷含量的大小关系为冰草 > 狗尾草 > 少花蒺藜草 > CK, 少花蒺藜草处理与 CK 显著低于冰草与狗尾草处理, 而少花蒺藜草与 CK 之间差异不显著。磷酸酶活性从高到低依次为少花蒺藜草 > 狗尾草 > 冰草 > CK, 少花蒺藜草处理显著高于其他处理。

表 1 不同处理根际土壤理化性质
Table 1 The physical and chemical properties of different treatment

处理 Treatment	pH	全氮含量 Content of total N /%	全磷含量 Content of total P /%	全含量钾 Content of total K /%	有机质含量 Content of organic matter /(g · kg ⁻¹)	有效磷含量 Content of olsen P /(mg · kg ⁻¹)	速效钾含量 Content of availble K /(mg · kg ⁻¹)	磷酸酶含量 Content of phosphatase /(mg · g ⁻¹)
CK	8.6±0.1a	0.014±0.002c	0.004±0.001b	2.53±0.02c	5.7±0.06d	11.4±0.02b	117±7.00b	0.62±0.04d
少花蒺藜草 <i>C. spinifex</i>	8.2±0.1b	0.049±0.004a	0.005±0.001b	2.63±0.03b	15.6±0.05c	8.5±0.12d	113±6.08c	0.97±0.06a
冰草 <i>A. cristatum</i>	8.2±0.1b	0.050±0.003a	0.008±0.002a	2.66±0.04a	19.9±0.11b	8.7±0.07c	132±1.73a	0.76±0.03c
狗尾草 <i>S. viridis</i>	8.1±0.2b	0.046±0.002b	0.007±0.002a	2.61±0.03b	20.3±0.08a	13.3±0.13a	91±10.44d	0.80±0.07b

同列不同字母表示不同土壤该指标差异显著 ($P < 0.05$, LSD test)。

Different letters in the same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level.

2.2 根际土壤解磷菌 OTU 分类学分析结果

通过对 20 个样本高通量测序,经拼接和过滤处理后,以 97% 的序列相似性作为阈值进行 OTU 划分,共产生 20499 个根际土壤解磷菌 OTU (图 1)。其中 4 个处理中共有的解磷菌 OTU 为 1519 个,仅占所有总数的 7.41%,不同处理之间解磷细菌存在较大差异。少花蒺藜草处理的解磷菌 OTU 总数最高,为 9289 个;CK 次之,为 9239 个;冰草处理的 OTU 总数最低,为 8621 个。各处理中 CK 特有的解磷菌 OTU 最高,且显著高于种植植物的处理,为 5819 个;少花蒺藜草在种植植物处理中所特有的解磷菌 OTU 数目最高,为 1919 个。另外,在 3 个种植植物的处理中,少花蒺藜草与 CK 共有的解磷菌 OTU 数目最高,为 2747 个;狗尾草处理次之,为 2319 个;冰草处理数目最低,为 2172 个。

2.3 根际土壤解磷菌 Alpha 多样性分析结果

2.3.1 Shannon 多样性分析 由图 2 可知,CK 的 Shannon 指数最高,少花蒺藜草处理在 3 个种植植物的处理中 Shannon 指数值最高,冰草处理次之,狗尾草处理最低。表明少花蒺藜草根际土壤解磷细菌的群落多样性显著高于其他植物处理的根际土壤 ($P < 0.05$)。

2.3.2 Chao1 指数 Chao1 指数箱型图结果如图 3 所示,其趋势与 Shannon 指数值相似,CK 的 Chao1 指数值最低,3 种植物样本中少花蒺藜草处理的 Chao1 指数值最高,冰草处理次之,狗尾草处理指数值最低。表明在不同种植植物的处理中,少花蒺藜草处理的根际土壤具有最低的细菌群落多样性。

2.4 细菌群落组成分析结果

将样本结果与数据库进行对比分析,统计在各个分类水平下的解磷菌群落组成, others 为占比较低、不足 1% 的物种,将未得到生物学注释的物种归为 unidentified。

对 4 种处理的土壤样品序列进行分析,选取在门水平上丰度前 5 名的物种,绘制物种相对丰度柱形累积图。由图 4 可知,各土壤样品的细菌组成基本相似但比例有所不同,各处理中的优势菌门为变形菌门 Proteobacteria、放线菌门 Actinobacteria、厚壁菌门 Firmicutes、浮霉菌门 Planctomycetes,个别菌群所占的比例在不同处理之间有不同程度的差异。3 种植物处理的处理中根际土壤变形菌门所占的比例明显高于 CK,而少花蒺藜草处理的变形菌门所占比例在 3 个处理中最高;厚壁菌门和浮霉菌门在各样本中所占的比例未表现出明显变化。

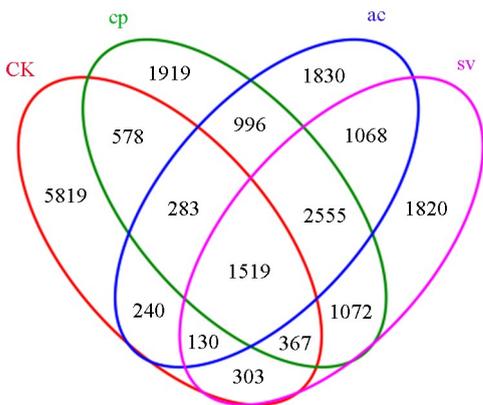


图 1 细菌 OTUs 分布维恩图

Fig.1 Venn graph of bacteria OTUs distribution

CK: 空白土壤; cp: 少花蒺藜草; ac: 冰草; sv: 狗尾草。

CK: Soil without plants; cp: *C. spinifex*;

ac: *A. cristatum*; sv: *S. viridis*.

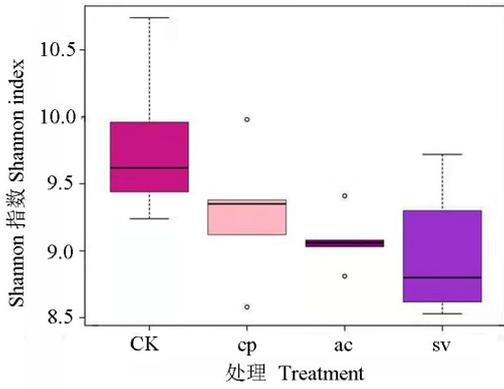


图 2 不同处理之间 Shannon 指数箱型图

Fig.2 Shannon index box between different treatments

CK:空白土壤;cp:少花蒺藜草;ac:冰草;sv:狗尾草。
CK: Soil without plants; cp: *C. spinifex*;
ac: *A. cristatum*; sv: *S. viridis*.

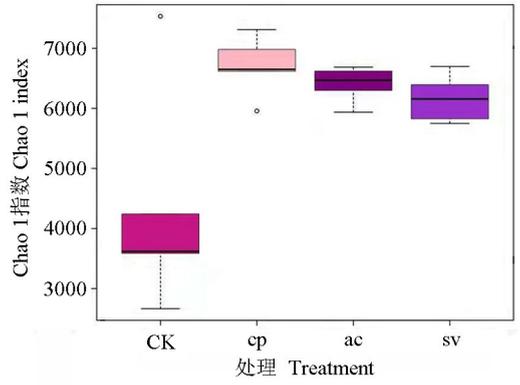


图 3 不同处理之间 Chao1 指数箱型图

Fig.3 Chao1 index box between different treatments

CK:空白土壤;cp:少花蒺藜草;ac:冰草;sv:狗尾草。
CK: Soil without plants; cp: *C. spinifex*;
ac: *A. cristatum*; sv: *S. viridis*.

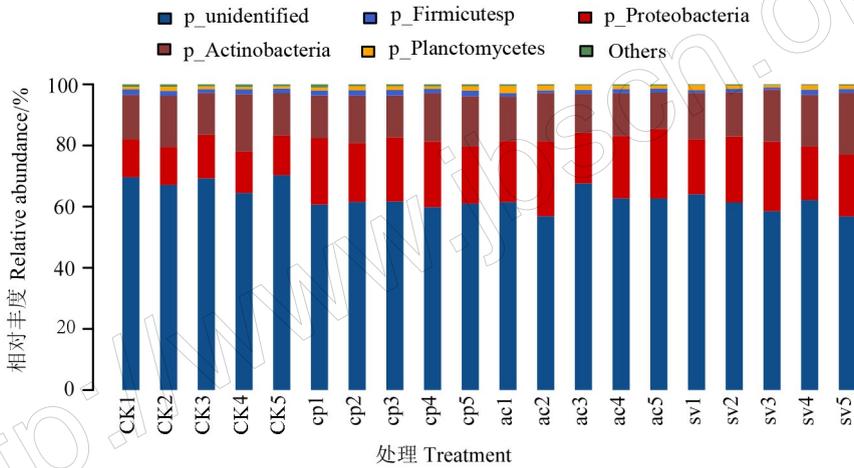


图 4 不同样本细菌在门分类水平的相对丰度

Fig.4 Relative abundance of bacteria from different samples at phylum level

CK:空白土壤;cp:少花蒺藜草;ac:冰草;sv:狗尾草。
CK: Soil without plants; cp: *C. spinifex*; ac: *A. cristatum*; sv: *S. viridis*.

2.5 不同处理物种组成相似性和样本聚类树分析结果

2.5.1 PCA 分析 主成分分析 (PCA) 结果显示 (图 5), 种植植物的处理位于 PC1 正半轴, 而 CK 位于 PC1 负半轴, 说明种植植物处理给土壤微生物组成带来了较大变化; 少花蒺藜草与狗尾草处理位于 PC2 的正半轴且距离非常接近, 而冰草处理位于 PC2 的负半轴, 说明少花蒺藜草与狗尾草处理微生物群落结构相似值最高, 与冰草处理相似性较低。

2.5.2 UPGMA 聚类树 基于 Bray-Curtis 算法, 将 20 组样品做出相应的 UPGMA 聚类树, 聚类树中的样品越靠近, 其枝长越短, 则说明 2 组样品之间的物种组成越相似。从图 6 可知, 少花蒺藜草处理与狗尾草处理最为靠近且枝长较短, 二者聚为一类,

冰草次之, 而 CK 位于另一个分枝且枝长较长, 说明少花蒺藜草处理与狗尾草处理的根际土壤解磷菌组成具有较高的相似性, 而冰草与这二者存在一定的相似性, CK 与另外三者物种组成相似性最低, 与主成分分析结果一致。

2.6 LEfSe 多级物种差异判别分析结果

通过 LEfSe 分析 (图 7), 得到在少花蒺藜草处理中显著富集且与其他处理有显著性差异的 5 个解磷菌类群, 进一步分析得到, 它们分别是 α -变形菌纲 Alphaproteobacteria、海洋链霉菌 *Streptomyces*_sp_ZFG47、链霉菌目 Streptomycetales、链霉菌科 Streptomycetaceae、链霉菌属 *Streptomyces*。这说明 α -变形菌、链霉菌在少花蒺藜草对于磷的吸收中可能起较为重要的作用。

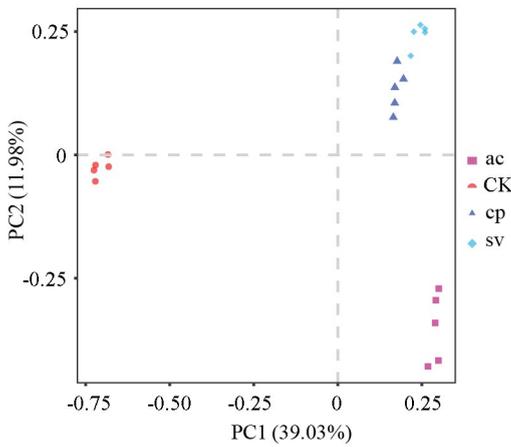


图 5 20 个土壤样品微生物 PCA 分析

Fig.5 PCA analysis of bacteria in 20 soil samples

CK: 空白土壤; cp: 少花蒺藜草; ac: 冰草; sv: 狗尾草。
 CK: Soil without plants; cp: *C. spinifex*;
 ac: *A. cristatum*; sv: *S. viridis*.

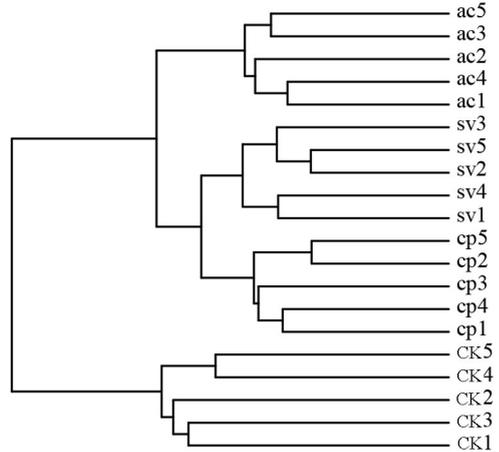


图 6 基于 Unweighted unifrac 距离矩阵的 UPGMA 聚类树

Fig.6 UPGMA based on Unweighted unifrac distance matrix

CK: 空白土壤; cp: 少花蒺藜草; ac: 冰草; sv: 狗尾草。
 CK: Soil without plants; cp: *C. spinifex*;
 ac: *A. cristatum*; sv: *S. viridis*.

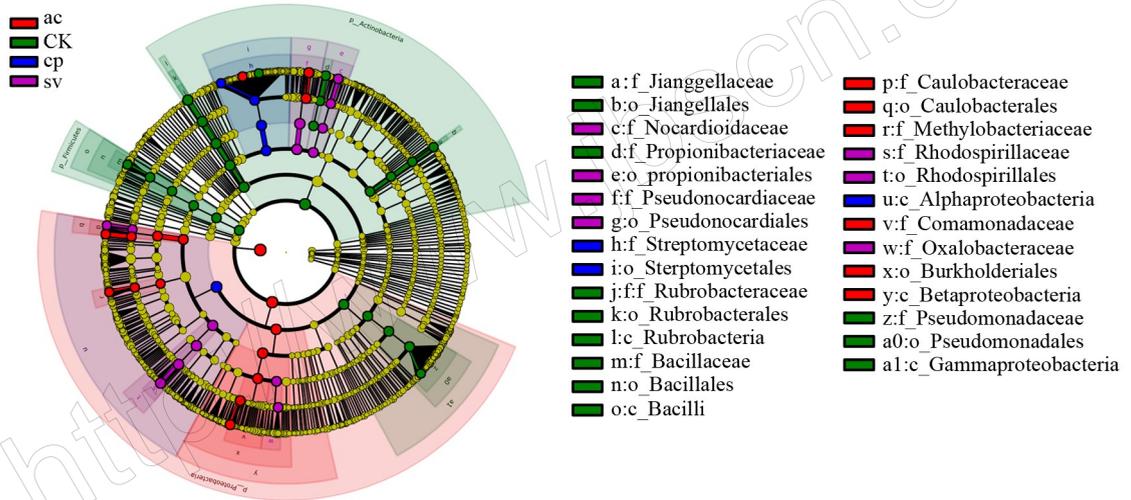


图 7 LefSe 多级物种层级树图

Fig.7 LefSe hierarchical tree of species

CK: 空白土壤; cp: 少花蒺藜草; ac: 冰草; sv: 狗尾草。
 CK: Soil without plants; cp: *C. spinifex*; ac: *A. cristatum*; sv: *S. viridis*.

2.7 环境因子关联性分析结果

通过 RDA 分析明确植物根际解磷细菌群落与土壤因子之间的关系(图 8)。放线菌门落在速效磷箭头的正方向上,说明土壤中速效磷含量越高,放线菌门的丰富度越高;浮霉菌门、蓝细菌 Cyanobacteria 落在速效磷箭头的反方向上,说明土壤中速效磷含量越高,2 种细菌的丰富度越低;后壁菌门与速效磷几乎垂直,相关性较低。变形菌门落在全氮、全钾、有机质箭头的正方向上,说明土壤中全氮、全钾、有机质的含量越高,变形菌门的丰富度越高。

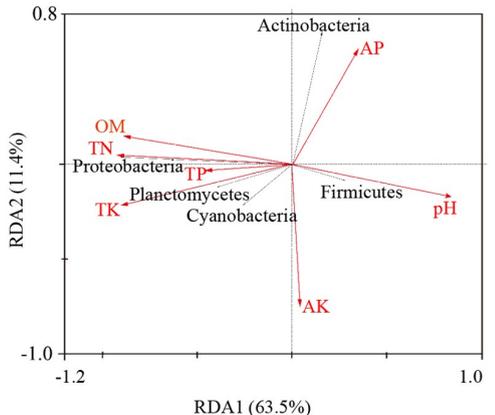


图 8 土壤样品中门水平下的细菌丰度和土壤因子的冗余分析

Fig.8 Redundancy analysis (RDA) of abundant bacteria phyla and soil properties of soil samples

由表2可以得出,第一排序轴揭示了各处理样本中63.5%的变异,第二排序轴揭示了样本中11.4%的变异,前2个排序轴一共解释了74.9%的样本总变异。第一排序轴与pH、有机质、全氮、全

钾有较强的相关性(相关系数分别为0.7691、-0.8159、-0.8487、-0.8279),第二轴与速效磷、速效钾有较强的相关性(相关系数分别为0.448、-0.5445)。

表2 冗余分析结果

Table 2 Summary of the results of redundancy analysis

排序轴 Axis	特征值 Characteristic value	种-环境相关系数 Species-environment correlation	种累积百分比变化率 Cumulation percentage variance of species data/%	种-环境累积百分比变化率 Cumulative percentage variance of species-environment relation/%
第1轴 Axis 1	0.635	0.912	63.5	84.2
第2轴 Axis 2	0.114	0.718	74.9	99.3
第3轴 Axis 3	0.004	0.821	75.3	99.8
第4轴 Axis 4	0.001	0.385	75.4	100.0

3 讨论

外来入侵植物定殖成功后,会在入侵地迅速形成单一优势群落,破坏当地生物群落结构,使本地物种生物多样性大大降低,并且影响入侵地的土壤理化性质和微生物群落结构与功能,使其更适合自己的生长发育而不利于本地植物的生长(Wang *et al.*, 2018)。本试验中,少花蒺藜草根际土壤有效磷含量远低于空白对照土壤和本地植物(冰草、狗尾草)土壤,可能由于少花蒺藜草对磷的吸收能力强,导致土壤中磷含量过低,从而对周围植物的生长产生不利影响。刘红梅等(2012)研究发现,黄顶菊入侵后土壤中的速效磷含量低于本地对照植物处理,与本研究结果类似。而杨国庆等(2014)研究表明,入侵植物紫茎泽兰入侵地相比周围未入侵地的有效磷含量显著提高,这可能与不同入侵植物对磷的利用方式不同有关。

越来越多的研究表明,外来入侵植物对入侵地土壤微生物群落的改变是其能够成功入侵的重要原因之一(Bowen *et al.*, 2017; Niu *et al.*, 2007; Reinhart & Callaway, 2006)。外来植物从原生地传播扩散到入侵地后,会进行大量的繁殖扩散,与本地植物竞争生存空间、水分光照等条件,入侵植物通过改变入侵地土壤理化性质与微生物的群落组成来影响抑制本地植物的生长与扩散,通过破坏本地植物与土壤微生物之间的相互关系,间接有利于自身群落的生长。在这个过程中,土壤微生物群起到了重要的“桥梁”作用(Batten *et al.*, 2006; Kourtev *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2006)。本研究中,根际土壤解磷菌 OTU 分类学及 Alpha 多样性分析结果表明,少花蒺藜草处理具有最高的 OTU 总数,所特有

OTU 在种植植物处理中的数量也最高;且在种植植物的各处理中,少花蒺藜草的 Shannon 指数、Chao1 指数高于其他处理。这说明相比于其他植物,少花蒺藜草入侵后提高了根际土壤解磷菌群落丰富度,降低了根际解磷菌的群落多样性。

相比于空白对照处理,种植植物处理都使根际土壤解磷菌群落结构组成发生了不同程度的变化。PCA 与 UPGMA 聚类结果表明,各处理之间少花蒺藜草处理与狗尾草处理具有最大的物种组成相似性。LEfSe 分析发现,少花蒺藜草处理中显著富集且有显著性差异的 5 个解磷菌类群,其中 α -变形菌与链霉菌(尤其是链霉菌)在少花蒺藜草入侵过程中可能起着较为重要的作用。有研究发现,外来植物薇甘菊 *Mikania micrantha* Kunth 和三叶鬼针草 *Bidens pilosa* L. 入侵后,入侵地土壤微生物群落的优势菌群与 α -变形菌纲具有很近的亲缘关系(陈亮等, 2011);入侵植物紫茎泽兰在红壤、黄壤和紫色土 3 种土壤条件下的根际微生物优势菌属都有链霉菌(刘海等, 2018)。在放线菌中起解磷作用的主要是链霉菌(李阜棣和胡正嘉, 2000), Farhat *et al.* (2015) 对链霉菌属细菌解磷机制研究表明,链霉菌属菌株主要的解磷机制是葡萄糖酸的分泌。环境因子关联分析结果显示,放线菌门与土壤中速效磷含量具有相关关系,变形菌门与土壤中全氮、全钾、有机质具有正相关关系。胡静(2015)也发现变形菌门和浮霉菌门与大针茅 *Stipa grandis* P.A. Smirn. 根际土壤磷含量显著相关。植物根际微生物的群落结构除了受到土壤理化性质的影响,植物根系的分泌物,如有机酸、磷酸酶、化感物质等也会影响其群落的分布及结构;微生物群落反过来也会影响这些

因素,二者是相辅相成的关系。所以少花蒺藜草根际解磷菌群落结构的独特性也说明了少花蒺藜草在根系分泌物方面可能存在其独特性。

4 结论

与对照植物相比,少花蒺藜草入侵显著降低了土壤速效磷和全磷含量,显著提高了土壤解磷菌的活性和土壤解磷菌的群落多样性。在各处理中种植少花蒺藜草的根际土壤具有最高的 OTU 总数,所特有 OTU 数在种植植物处理中的数量也最高;且在种植植物的各处理中,少花蒺藜草的 Shannon 指数、Chao1 指数高于其他处理。

与空白对照相比,种植植物处理都使根际土壤解磷菌群落结构组成发生了不同程度的变化。PCA 与 UPGMA 聚类结果表明,少花蒺藜草处理的根际土壤解磷菌与狗尾草处理具有最大物种组成相似性。LEfSe 多级物种差异判别分析结果表明,少花蒺藜草处理中显著富集且与其他处理有显著性差异的解磷菌类群为 α -变形菌、链霉菌,其在少花蒺藜草对于磷的吸收中可能起较为重要的作用。变形菌门、浮霉菌门和放线菌与少花蒺藜草根际土壤中的全磷含量呈显著正相关,放线菌与少花蒺藜草根际土速效磷含量有紧密联系。少花蒺藜草通过改变入侵地根际土壤的解磷菌群落结构间接影响根际土壤的磷素环境,从而利于自身的生长。

参考文献

鲍士旦, 2000. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社.

陈亮, 李会娜, 杨民和, 万方浩, 2011. 入侵植物薇甘菊和三叶鬼针草对土壤细菌群落的影响. 中国农学通报, 27(8): 63-68.

戴莲, 李会娜, 蒋智林, 万方浩, 刘万学, 2012. 外来植物紫茎泽兰入侵对根际土壤有益功能细菌群、酶活性和肥力的影响. 生态环境学报, 21(2): 237-242.

杜广明, 曹凤芹, 刘文斌, 郝凤国, 刘宝泉, 1995. 辽宁省草场的少花蒺藜草及其危害. 中国草地, 4(3): 71-73.

高晓萍, 杨旋, 2008. 疏花蒺藜在阜新的分布、危害及防控措施. 植物检疫, 4(1): 64-65.

胡静, 2015. 放牧对典型草原优势植物大针茅根际土壤养分和根际微生物的影响. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院.

纪巧凤, 2014. 黄顶菊入侵对根际土壤主要功能细菌多样性的影响. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院.

李阜棣, 胡正嘉, 2000. 微生物学. 5 版. 北京: 中国农业出

版社.

刘海, 王玉书, 焦玉洁, 彭丽媛, 郭明全, 王勇, 陈玉蓝, 袁玲, 2018. 三种土壤条件下紫茎泽兰根际的酶活性及细菌群落状况. 生态学报, 38(23): 8455-8465.

刘红梅, 皇甫超河, 常瑞恒, 杨殿林, 2012. 2 种替代植物对黄顶菊入侵土壤养分及酶活性的影响. 杂草科学, 30(2): 24-28.

祁小旭, 张思宇, 林峰, 张玲玲, 杨殿林, 皇甫超河, 王慧, 2019. 黄顶菊对不同入侵地植物群落及土壤微生物群落的影响. 生态学报, 39(22): 8472-8482.

宋振, 纪巧凤, 付卫东, 张瑞海, 张婷, 晏静, 张国良, 2016. 黄顶菊入侵对土壤中主要功能细菌的影响. 应用生态学报, 27(8): 2636-2644.

王坤芳, 王文成, 雷虹, 姚凤军, 彭爽, 2017. 少花蒺藜草的化感作用及其化感物质成分分析. 现代畜牧兽医(9): 13-20.

邢培茹, 郑粉莉, 王彬, 2014. 典型黑土区坡耕地土壤碱性磷酸酶和有机质空间分布研究. 水土保持研究, 21(1): 39-42.

徐军, 2011. 外来入侵植物——少花蒺藜草的分布与生物学特性研究. 博士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学.

薛敬意, 唐建维, 沙丽清, 孟盈, 黄建国, 郭贤明, 刀建红, 段文贵, 段文勇, 2002. 黄竹侵入对热带林地土壤养分的影响. 东北林业大学学报, 4(5): 27-31.

闫雅楠, 叶小齐, 吴明, 闫明, 张昕丽, 2019. 入侵植物加拿大一枝黄花根际解磷菌多样性及解钾活性. 植物生态学报, 43(6): 543-556.

杨国庆, 郭娇, 桂富荣, 2014. 紫茎泽兰的化感物质对土壤有效磷含量和巨大芽孢杆菌生长的影响. 江苏农业科学, 42(12): 137-140.

于文清, 万方浩, 何新华, 刘文志, 刘万学, 张利莉, 2014. 土壤微生物增强了外来植物紫茎泽兰对本地植物种的竞争力(英文). 生物安全学报, 23(3): 156-164.

周立业, 张玉霞, 杨秀梅, 田迅, 姜健, 2014. 科尔沁沙地典型人工固沙林群落中少花蒺藜草入侵地土壤特性. 草地学报, 22(6): 1381-1384.

周振荣, 2010. 外来入侵植物加拿大一枝黄花对根际土壤微环境的影响研究. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学.

BAJWA A A, CHAGIRATH B S, FAROOQ M, SHABBIRA, ADKINS S W, 2016. What do we really know about alien plant invasion? A review of the invasion mechanism of one of the world's worst weeds. *Planta*, 244(1): 39-57.

BATTEN K M, SCOW K M, DAVIES K F, HARRISON S P, 2006. Two invasive plants alter soil microbial community composition in serpentine grasslands. *Biological Invasions*, 8(2): 217-230.

- BOWEN J L, KEARNS P J, BYRNES J, WIGGINTON S, ALLEN W J, GREENWOOD M T, KHANG Y J, CRONIN J T, MEYERSON L A, 2017. Lineage overwhelms environmental conditions in determining rhizosphere bacterial community structure in a cosmopolitan invasive plant. *Nature Communications*, 8. DOI:10.1038/s41467-017-00626-0.
- CHAO A, 1984. Nonparametric estimation of the number of classes in apopulation. *Scandinavian Journal of Statistics*, 11: 265-270.
- FARHAT M B, BOUKHRIS I, CHOUAYEKH H, 2015. Mineral phosphate solubilization by *Streptomyces* sp. CTM396 involves the excretion of gluconic acid and is stimulated by humic acids. *FEMS Microbiology Letters*, 362(5): 1-8.
- HUANG F C, LI H, CHEN X, LIU H M, YANG D L, 2015. The effects of exotic weed *Flaveria bidentis* with different invasion stages on soil bacterial community structures. *African Journal of Biotechnology*, 14: 2636-2643.
- KOURTEV P S, EHRENFELD J G, HAGGBLOM M, 2002. Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology*, 83(11): 3152-3166.
- LI W H, ZHANG C B, JIANG H B, XIN G R, YANG Z Y, 2006. Changes in soil microbial community associated with invasion of the exotic weed, *Mikania micrantha* H. B. K. *Plant and Soil*, 281(1/2): 309-324.
- NIU H B, LIU W X, WAN F H, LIU B, 2007. An invasive aster (*Ageratina adenophora*) invades and dominates forest understories in China: altered soil microbial communities facilitate the invader and inhibit natives. *Plant and Soil*, 294(1/2): 73-85.
- REINHART K O, CALLAWAY R M, 2006. Soil biota and invasive plants. *New Phytologist*, 170(3): 445-457.
- RIBEIRO P C D, MENENDEZ E, DA SILVA D L, BONIECK D, RAMIREZ-BAHENA M H, RESENDE-STOIANOFF M, PEIX A, VELAZQUEZ E, MATEOS P F, SCOTTI M R, 2017. Invasion of the Brazilian campo rupestre by the exotic grass *Melinis minutiflora* is driven by the high soil N availability and changes in the N cycle. *Science of the Total Environment*, 577: 202-211.
- SHAHEEN N, YIN L, GU Y, ERIC R, XIE Q Q, WEI Y, 2015. Separation of isorhamnetin 3-sulphate and astragalins from *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze using macroporous resin and followed by high-speed countercurrent chromatography. *Journal of Separation Science*, 38: 1933-1941.
- SHANNON C E, 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, 27(4): 623-656.
- WANG C, ZHOU J, LIU J, JIANG K, XIAO H G, DU D L, 2018. Responses of the soil fungal communities to the co-invasion of two invasive species with different cover classes. *Plant Biology*, 20(1): 151-159.
- WARDLE D A, BARDGETT R D, KLIRONOMOS J N, SETALA H, VAN DER PUTTEN W H, WALL D H, 2004. Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304: 1629-1633.
- XIN L, SUN M, ZHANG H, XUN G, 2016. Use of mulberry-oybean intercropping in salt-alkali soil impacts the diversity of the soil bacterial community. *Microbial Biotechnology*, 9(3): 293-304.

(责任编辑:郭莹)