



## 甘肃典型高寒草原退化植物瑞香狼毒对根际土壤微生物群落的影响研究

程济南<sup>1</sup>, 金辉<sup>2,3\*</sup>, 许忠祥<sup>4</sup>, 杨晓燕<sup>2</sup>, 秦波<sup>2</sup>, 张金林<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>兰州大学草地农业生态系统国家重点实验室 草地微生物研究中心, 甘肃 兰州 730000

<sup>2</sup>中国科学院兰州化学物理研究所, 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室, 甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃 兰州 730000

<sup>3</sup>烟台中科先进材料与绿色化工产业技术研究院, 山东 烟台 264006

<sup>4</sup>江苏省南京市海关动植物与食品检测中心, 江苏 南京 210000

**摘要:**【目的】瑞香狼毒(*Stellera chamaejasme* L.)为瑞香科狼毒属(*Stellera*)多年生草本植物,是我国草地退化的标志性植物之一。本研究旨在探究甘肃高寒草原主要毒草瑞香狼毒根际微生物群落结构及其与土壤环境因子和酶活性之间关系,为治理因瑞香狼毒入侵引起的草地退化提供理论依据。

【方法】采用Illumina MiSeq高通量测序技术对甘肃不同地区高寒草原的瑞香狼毒根际土壤微生物组成及多样性进行分析,并进一步分析土壤理化性质和酶活性与微生物群落的相关性。【结果】不同地区瑞香狼毒根际土壤pH随海拔升高呈现上升趋势,土壤中大量和微量营养元素含量以及土壤酶活性的变化各异。在门水平上,子囊菌门(*Ascomycota*)、接合菌门(*Zygomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)在根际土壤真菌中占优势地位;放线菌门(*Actinobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)在根际土壤细菌中属于优势类群。海拔2964 m样地的真菌和细菌OTU (operational taxonomic unit)数量和Shannon多样性指数均高于其他4个采样点(海拔2373、2608、2733、3280 m)。RDA (redundancy analysis)分析结果显示,瑞香狼毒根际土壤微生物不同,受土壤环境因子的影响不同;相关系数表明,土壤真菌多样性与土壤钾、磷、铁、钙、钼、海拔、土壤水分、过氧化物酶呈正相关,与土壤温度、多酚氧化酶、脱氢酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶呈负相关;土壤细菌与土壤pH、钾、磷、镁、钙、土壤水分呈负相关,与多酚氧化酶、过氧化物酶、脲酶、脱氢酶、蔗

基金项目: 国家自然科学基金(31772668); 中国科学院兰州院地合作项目; 中国科学院战略性先导科技专项 A 类(XDA26020201); 烟台中科先进材料与绿色化工产业技术研究院科技创新项目(AMGCE013)

\*通信作者。Tel: +86-931-8913447; Fax: +86-931-8910979; E-mail: 金辉, comefine@licp.cas.cn, 张金林, jlzhang@lzu.edu.cn

收稿日期: 2021-02-18; 修回日期: 2021-08-22; 网络出版日期: 2021-09-09

糖酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶呈正相关。【结论】甘肃省不同地区高寒草原瑞香狼毒根际微生物群落组成和多样性差异明显, 土壤理化性质与土壤真菌具有较强的正相关关系, 而土壤酶则更多地影响着土壤细菌群落的组成和多样性。

**关键词:** 瑞香狼毒, 根际, 微生物群落结构, 土壤环境因素, 高通量测序

瑞香狼毒(*Stellera chamaejasme* L.)为瑞香科狼毒属(*Stellera*)多年生草本植物, 广泛分布于我国甘肃、青海、宁夏等省区的海拔 2300–4200 m、年均温约为 2 °C 的高山及亚高山高寒草地<sup>[1]</sup>。狼毒具有粗大的肉质根, 全株有毒, 家畜误食后容易引发呕吐、腹泻、甲状腺功能亢进等中毒反应, 情况严重更能导致家畜死亡<sup>[2]</sup>。狼毒全株中根毒性最大, 李时珍在本草纲目中描述为“狼毒根有大毒, 可杀飞鸟走兽”<sup>[3]</sup>。此外, 瑞香狼毒入侵草地后, 形成斑块状集群, 其发达的根系具有更高的土壤微生物生物量、土壤养分转化效率, 能在营养物质竞争中取得巨大优势, 加剧原有草类植被的退化<sup>[4–5]</sup>。另一方面, 瑞香狼毒由于粗大的根系导致周围土壤水分及有机质不断减少, 抑制了其他牧草的生长, 进而降低了草地载畜量, 制约了草地畜牧业的发展<sup>[6]</sup>。现今, 瑞香狼毒已成为我国北方高寒草甸退化的标志性植物之一<sup>[7]</sup>, 制约着我国西北草地的生产力以及畜牧业的发展。

目前, 瑞香狼毒中分离的双黄酮类、香豆素类等化合物在抗肿瘤<sup>[8]</sup>、抗炎<sup>[9]</sup>等方面具有良好活性, 因而瑞香狼毒的研究主要集中在其形态学、化感物质、药理活性等方面<sup>[10–11]</sup>, 对于瑞香狼毒根际微生物与土壤理化性质和酶活性相关性的研究少有报导。金辉等<sup>[12–13]</sup>对于瑞香狼毒根茎叶以及根际微生物的研究发现, 瑞香狼毒根际细菌与根内细菌虽组成相似, 但在群落结构以及细菌多样性方面存在较大差异; 周攀<sup>[14]</sup>通过宏基因组测序方法, 对瑞香狼毒根际土壤以及非根际

土壤微生物进行测序, 发现根际与非根际微生物存在较大差异; 金辉等<sup>[15]</sup>对青藏高原瑞香狼毒根际和根部细菌群落的研究发现, 土壤磷、pH、纬度、海拔和钾与根际土壤细菌群落呈正相关。但有关甘肃高寒草原瑞香狼毒根际真菌及细菌组成与土壤理化性质和酶活性之间的相关关系仍然缺乏足够认识和系统研究。

植物根系、根际微生物以及根际土壤的相互作用, 构成了一个特殊的微生态系统, 即植物根际微生态系统<sup>[16]</sup>。土壤微生物是维持土壤肥力主要组成部分之一, 根际微生物作为根际土壤区域中生存的微生物群落, 在土壤演化过程也发挥着重要作用<sup>[17]</sup>。根际土壤微生物与土壤的相关关系是探究植物生长发育、生理生化的重要途径之一, 现今已得到越来越多的重视<sup>[18]</sup>。土壤理化性质与土壤酶是影响土壤微生物群落数量、结构的主要因素之一<sup>[19]</sup>, 土壤理化性质是土壤肥力的重要指标之一<sup>[20–22]</sup>, 土壤酶是表征土壤中物质、能量代谢旺盛程度的一个重要生物指标<sup>[23]</sup>。土壤有机碳、全氮、土壤水分等与土壤微生物生物量呈显著正相关关系<sup>[24]</sup>。也有研究表明, 土壤环境因素, 例如海拔、pH、有机质、全氮、碱解氮、速效钾、有效磷含量, 与土壤微生物群落的组成结构以及多样性有关<sup>[25]</sup>。土壤酶在土壤生态系统中非常活跃, 土壤中所有的碳、氮、磷循环和养分转化过程都有土壤酶参与<sup>[26]</sup>。然而大多数对酶的研究都集中在土壤酶与单一理化特性或养分变化之间的关系上, 而没有为这种变化提供实质性

的解释<sup>[27]</sup>。现今对于土壤理化性质以及酶活性的研究，多集中在土壤性质、环境污染治理、对植物生长发育影响等方面，但其与土壤微生物群落结构的相关性方面的研究相对匮乏<sup>[28–29]</sup>。

本文采用测定微生物多样性的高通量测序技术，对甘肃不同地区高寒草原分布的瑞香狼毒根际微生物群落组成、多样性等结构特征进行了系统研究，并结合土壤理化性质和酶活性，分析瑞香狼毒根际微生态系统要素之间的相关性，揭示根际微生态系统对瑞香狼毒种群竞争和生态适应影响的内在机制。本研究可为合理有效调控草原毒草根际生态系统和制定有毒杂草科学有效的生态控制策略提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品信息

本实验选取祁连山东麓具有代表性的天然高寒草原，属亚高山和高山属寒冷湿润气候。根据瑞香狼毒的天然分布模式和种群密度设置 5 个采样地区，各样点的具体信息见表 1。每个采样点设置 3 个 10 m×10 m 样方，作为平行重复。利

用五点取样法，挖取健康的瑞香狼毒完整带土植株，用无菌毛刷收集根系 2.5 mm 范围内的土壤，即为根际土壤。采集大小相似的瑞香狼毒植株，测得地上生物量约为 3.0–4.5 g，地下生物量约为 45.0–55.0 g。将每个样方采集的 5 株根际土壤样品混匀，低温带回实验室，放入–4 °C 冰箱备用。将混匀的根际土壤样品分成 3 份，一份用于测定土壤理化性质，一份用于测定土壤酶活性，另外一份用于微生物多样性的高通量测序，每个样地样品设置 3 个重复。

### 1.2 土壤理化性质及酶活性测定

土壤 pH 值采用酸度计测定<sup>[30]</sup>；土壤含水量采用烘干法测定；土壤温度使用土壤温度计测定；采用重铬酸盐法<sup>[31]</sup>测定土壤有机质含量；采用重铬酸钾硫酸消化法<sup>[32]</sup>测定土壤全氮含量；全碳使用元素分析仪 (Vario EL/micro cube, Elementar, Hanau, Germany)测定；有效钾采用 NH<sub>4</sub>OAc 浸提-火焰光度法测定；土壤有效磷采用钼锑抗比色法<sup>[33]</sup>测定；土壤微量元素(Fe、Ca、Mo、Mg)含量采用 HF-HClO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub> 消煮，用电感耦合等离子体发射光谱法<sup>[34]</sup> (ICP-OES)测定。

表 1. 瑞香狼毒采样地信息表

Table 1. Information table of *Stellera chamaejasme* L. sampling

Serial number	Sampling location	Altitude/m	North latitude	East longitude	Average annual temperature/°C	Average annual precipitation/mm
2.3KS	Huangcheng Grassland, Sunan County	2373	37°59'47"	101°56'42"	2	260
2.6KS	Machangtan Grassland, Sunan County	2608	38°50'31"	99°53'40"	2	300
2.7KS	Mati Temple Grassland, Sunan County	2733	38°27'58"	100°24'27"	2	425
2.9KS	Zhaxi Xiulong township Grassland, Tianzhu Tibetan Autonomous County	2964	37°07'19"	102°50'08"	–2	400
3.2KS	Zhaxi Xiulong township Grassland, Tianzhu Tibetan Autonomous County	3280	37°07'18"	102°46'40"	–2	400

2.3KS: soil sample from 2373 altitudes; 2.6KS: soil sample from 2608 altitudes; 2.7KS: soil sample from 2733 altitudes; 2.9KS: soil sample from 2964 altitudes; 3.2KS: soil sample from 3280 altitudes.

土壤多酚氧化酶活性采用没食子素比色法测定; 土壤过氧化物酶活性采用邻苯三酚比色法测定; 土壤脲酶活性采用用苯酚-次氯酸钠比色法<sup>[35]</sup>测定; 脱氢酶活性采用三苯基四氮唑氯化物 (TTC)比色法测定; 土壤蔗糖酶活性采用 3,5-二硝基水杨酸比色法<sup>[36]</sup>测定; 土壤酸性磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法测定; 土壤碱性磷酸酶活性采用对硝基苯磷酸盐法<sup>[37]</sup>测定。

### 1.3 样品总 DNA 提取与 MiSeq 测序

准确称取 1.0 g 根际土壤样品用于土壤总 DNA 提取, 使用土壤微生物 DNA 提取试剂盒 (ZR Soil Microbe DNA Kit™, Zymo Research, Orange, CA, USA)提取 DNA, 流程参见产品说明书。采用 1.5%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度。使用无菌水稀释样品至 1 ng/μL 作为基因组 DNA 模板, 对带标签序列(Barcode)的 ITS 区进行扩增。PCR 扩增采用引物 ITS1F/ITS2R (ITS1F: 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3', ITS2R: 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')<sup>[38]</sup>。PCR 反应体系为 50 μL: DNA 模板 3.0 μL, 引物各 2.0 μL, 10×PCR Buffer 5.0 μL, Taq 酶 0.4 μL (Promega, Madison, WI, USA), dNTPs 5.0 μL, ddH<sub>2</sub>O 32.6 μL。PCR 扩增条件: 94 °C 1 min; 95 °C 35 s, 55 °C 55 s, 72 °C 45 s, 35 个循环; 72 °C 10 min。细菌方面, 利用细菌 16S rRNA 的 V3-V4 可变区通用引物 341F (5'-CCTACGGGNG GCWGCAG-3')和 805R (5'-GACTACTACHVGGG TATCTAATCC-3')<sup>[39]</sup>, 扩增条件为 94 °C 3 min, 94 °C 30 s, 45 °C 20 s, 65 °C 30 s, 5 个循环, 94 °C 20 s, 5 °C 20 s, 72 °C 30 s, 20 个循环, 72 °C 5 min。通过引入 Illumina 桥式 PCR 兼容引物进

行第二轮扩增, 扩增体系: 1 mL 10 μmol/L 的 Primer F, 1 μL 10 mol/L 的 Primer R, 基因组 DNA 20 mg, 15 μL 2×Tag 酶, 加 ddH<sub>2</sub>O 补足至 30 μL。PCR 产物使用 1.5 %浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测, GeneJET (Thermo Scientific)胶回收试剂盒回收 PCR 产物。通过 NEB Next<sup>®</sup> Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina 建库试剂盒进行文库的构建, 对文库经 Qubit 定量和文库检测合格后, 使用 MiSeq 进行上机测序。

### 1.4 数据分析

根据 Barcode 序列将下机数据拆分为不同样品数据, 截去 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列; 使用 FLASH 对每个样品的 reads 进行拼接, 得到原始 Tags 数据(Raw Tags); 参照 Qiime 的 Tags 质量控制流程, 将原始 Tags 数据过滤处理得到高质量的 Tags 数据(Clean Tags); 检测嵌合体序列并去除, 得到有效数据(Effective Tags); 用 Uparse v7.0.100 软件对所有样品的全部 Effective Tags 序列进行 OTUs (operational taxonomic units)聚类 (97%的一致性)。用 Qiime 中的 BLAST 方法与 Unite\_INSDC 数据库进行物种注释分析, OTUs 的丰度初步表明样品的物种丰富度。

采用 QIIME 计算的指数, 利用软件 R 进行稀释度曲线绘制; 利用 Mothur 软件进行单个样品的 Alpha 多样性分析(Alpha Diversity), 基于 OTU 的结果, 对 Shannon 指数、Chao1 指数进行计算, 用以进行生物多样性分析。Beta Diversity 是对不同样品的微生物群落构成进行比较, 利用 Qiime (Version 1.7.0)软件, 进行样品的 Beta 多样性分析, 以此来挖掘样品之间的差异。使用 Qiime 中的 BLAST 方法与 Unite\_INSDC 数据库进行物

种注释分析, 各组样品在不同水平上的分类比较柱形图、单个样品的群落分布柱形图是使用 Qiime 软件获得的。为了分析土壤环境因子与微生物群落之间的关系, 分别以真菌群落在纲水平上、细菌群落在门水平上的相对丰度数据作为物种数据, 土壤的理化性质以及酶活性作为土壤的环境变量, 通过软件 Canoco 4.5 进行冗余分析 (redundancy analysis, RDA)。

## 2 结果和分析

### 2.1 瑞香狼毒根际土壤理化性质及酶活性

由表 2 可知, 2.3KS 和 2.6KS 样地的瑞香狼毒根际土壤 pH 呈中性偏酸, 其余采样点的土壤呈中性偏碱。土壤大量元素、微量元素的含量变化各异, 总体上, 土壤 pH、土壤含水率随着样地海拔高度增加而增加, 土壤温度则呈现下降趋

势, 土壤全氮与土壤有机质含量呈增加趋势。各样地土壤大量和微量元素含量变化趋势随海拔高度增加呈先增加后下降的趋势, 在 2.7KS 样地或 2.9KS 样地达到峰值。土壤过氧化物酶随样地海拔高度增加呈先增加后下降的趋势, 在 2.7KS 样地达到峰值, 而其他 6 种土壤酶则呈先下降后增加的趋势, 在 2.7KS 或 2.9KS 样地时达到最低值(表 3)。

### 2.2 瑞香狼毒根际土壤微生物群落丰度

各样品测序真菌样品覆盖度均在 94% 以上, 细菌样品覆盖度在 84% 以上, 且样品稀释曲线显示, 随着测序样品数目的增加, 5 个样品的 OTUs 稀释曲线趋于平缓, 表明本实验测序的数据量渐进合理, 能较全面地反映测序样品的微生物群落组成, 数据量的增多对于发现新的 OTU 数目的贡献变小(图 1)。

表 2. 不同地区瑞香狼毒根际土壤营养元素含量

Table 2. Contents of nutrient elements in rhizosphere soil of *S. chamaejasme* from different regions

Sample plot	2.3KS	2.6KS	2.7KS	2.9KS	3.2KS
pH	6.75±0.14c	6.69±0.09c	7.70±0.05a	7.35±0.05b	7.52±0.11b
SH/%	18.61±1.86c	9.65±0.71d	29.53±2.12b	39.00±0.84a	36.68±1.21a
ST/°C	11.65±1.04b	14.19±0.93a	11.42±0.17b	9.77±0.89c	8.43±0.58c
TN/(g/kg)	0.30±0.07b	0.74±0.22a	0.41±0.17b	0.73±0.02a	0.73±0.04a
SOM/(g/kg)	3.85±0.24c	5.57±0.31b	2.57±0.14c	8.85±0.31a	9.62±1.26a
H%/(g/kg)	0.65±0.05c	1.18±0.03b	0.42±0.14c	1.63±0.01a	1.77±0.16a
K/(g/kg)	16.14±0.50b	15.92±0.31b	18.93±0.35a	18.19±0.86a	15.03±0.63b
P/(mg/kg)	9.30±0.34b	7.34±0.28c	10.52±0.42a	9.41±0.30b	7.51±0.45c
Fe/(g/kg)	24.58±0.98d	34.95±0.27b	32.60±1.76c	80.55±1.19a	31.64±1.06c
Ca/(g/kg)	5.81±0.46c	3.01±0.01d	10.83±0.56b	24.56±1.47a	10.77±0.25b
Mo/(μg/kg)	33.53±0.96e	76.96±0.09c	134.63±8.05a	62.03±6.25d	96.06±4.74b
Mg/(g/kg)	10.76±0.53b	7.18±0.35d	11.78±0.29a	8.65±0.18c	8.17±0.56c

pH: pondus hydrogenii; SH: soil humidity (%); ST: soil temperature (°C); TN (g/kg): The nitrogen content per kilogram of soil; SOM (g/kg): the content of organic matter per kilogram of soil; H% (g/kg): hydrogen content per kilogram of soil; K (g/kg), P (mg/kg), Fe (g/kg), Ca (g/kg), Mo (μg/kg), Mg (g/kg): represent the content of potassium, phosphorus, iron, calcium, molybdenum, and magnesium per kilogram of soil.

表 3. 不同地区瑞香狼毒根际土壤酶活性

Table 3. Soil enzyme activities in the rhizosphere of *S. chamaejasme* from different regions

Sample plot	2.3KS	2.6KS	2.7KS	2.9KS	3.2KS
PPO/[mg/(d·g)]	24.61±0.02c	34.18±0.07a	20.94±0.03d	11.46±0.01e	27.18±0.01b
POD/[mg/(d·g)]	39.24±0.09e	52.21±0.01c	65.11±0.01a	57.84±0.01b	51.41±0.01d
UE/[μg/(d·g)]	254.24±0.14b	225.39±0.10d	169.55±0.05e	423.33±4.36a	238.69±0.09c
DHA/[μg/(d·g)]	25.78±0.03a	21.82±0.01b	20.27±0.02c	21.97±1.00b	19.46±0.04c
SC/[mg/(d·g)]	29.79±0.02b	32.33±0.02a	17.77±0.01e	24.33±0.01d	25.13±0.01c
ACP/[μmol/(d·g)]	22.80±0.01b	11.53±0.02e	16.88±0.01d	24.81±0.01a	20.46±0.01c
AKP/[μmol/(d·g)]	6.56±0.45b	9.83±0.01a	3.67±0.01d	1.26±0.04e	6.07±0.17c

PPO: polyphenol oxidase; POD: peroxidase; UE: urease; DHA: dehydrogenases; SC: invertase; ACP: acid phosphatase; AKP: alkaline phosphatase.

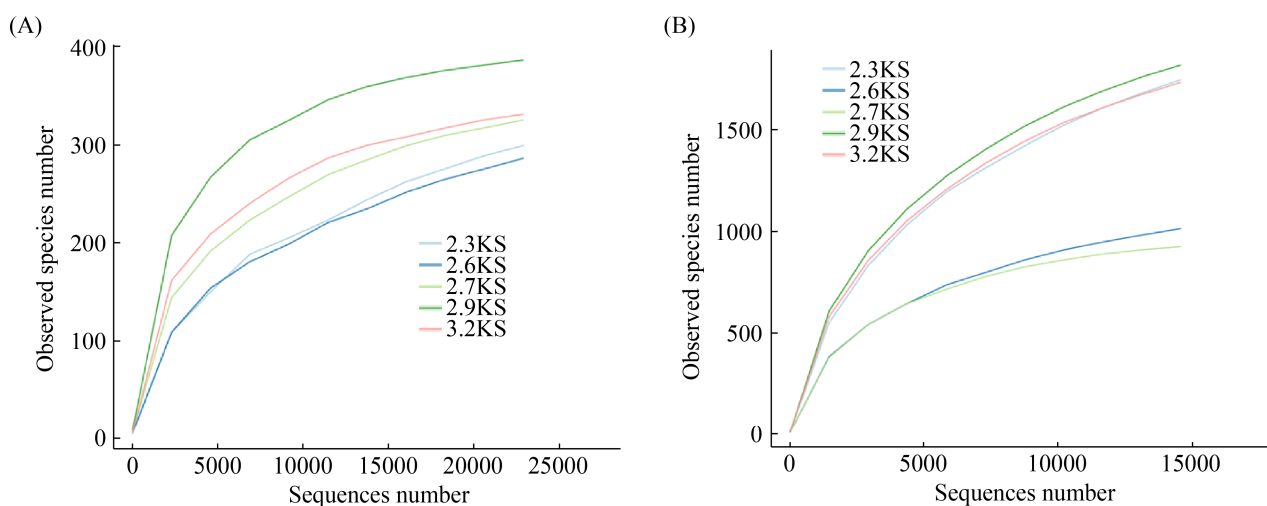


图 1. 瑞香狼毒根际土壤真菌(A)及细菌(B) OTU 稀疏度曲线

Figure 1. OTU sparsity curve of rhizosphere soil fungi (A) and bacterial (B) of *Stellera chamaejasme* L..

### 2.3 瑞香狼毒根际土壤微生物组成和多样性

不同地区瑞香狼毒根际土壤真菌在门水平上的物种组成结果显示, 5 个样地的根际土壤样品中共获得 5 个门的真菌, 其中子囊菌门 (*Ascomycota*)、接合菌门 (*Zygomycota*) 和担子菌门 (*Basidiomycota*) 分别占真菌总序列数的 62.3%、17.8% 和 16.6%, 是根际土壤的优势真菌类群 (图 2-A)。不同采样地的真菌群落分布有着比较明显的差异, 其中 2.3KS、2.6KS、2.7KS 和 2.9KS 样地土样皆以子囊菌门真菌为主, 而 3.2KS 样地

则以接合菌门真菌为主要菌群。在纲水平上, 共注释到了 22 个纲的真菌, 其中散囊菌纲 (*Eurotiomycetes*)、锤舌菌纲 (*Leotiomycetes*)、接合菌门 (*Zygomycota Incertae sedis*)、粪壳菌纲 (*Sordariomycetes*)、伞菌纲 (*Agaricomycetes*) 的相对丰度分别为 20.5%、19.3%、17.8%、12.8% 以及 11.0%, 相对丰度之和超过 73% (图 2-B)。

瑞香狼毒根际土壤细菌在门水平上共检测到 34 门的细菌, 其中放线菌门 (*Actinobacteria*) (37.4%)、变形菌门 (*Proteobacteria*) (24.7%)、酸

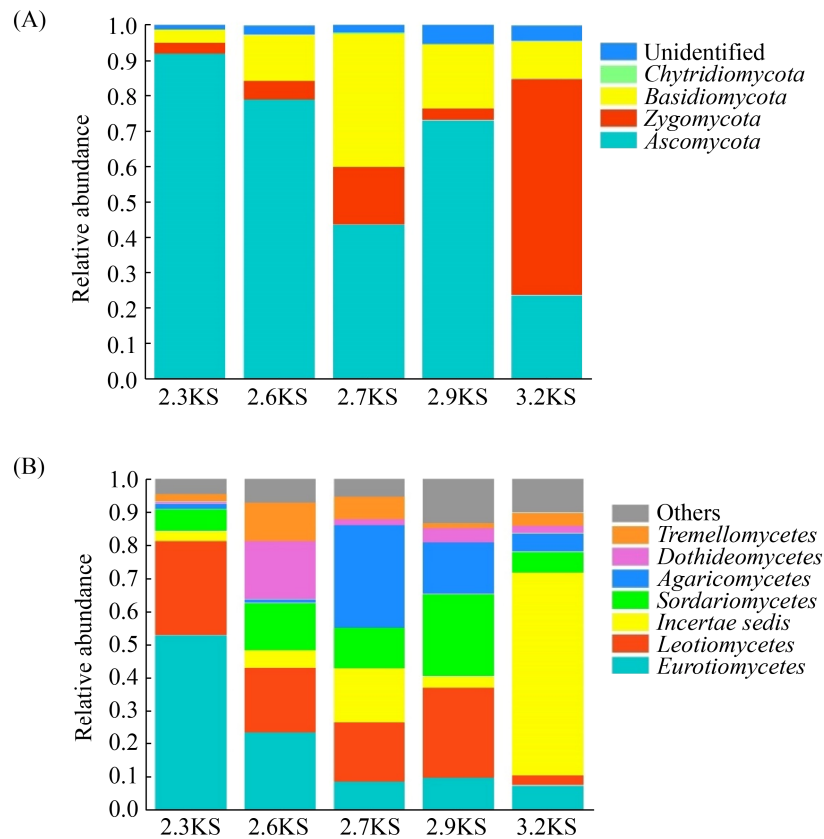


图 2. 根际土壤真菌门水平(A)及纲水平(B)组成

Figure 2. Rhizosphere soil fungi phyla level (A) and class level (B) composition.

杆菌门(*Acidobacteria*) (10.7%)为优势菌群, 占总丰度和的 72.8% (图 3-A)。2.6KS、2.7KS 和 3.2KS 样地均以放线菌门为主, 而 2.3KS 和 2.9KS 样地以变形菌门为主。在纲水平上共注释得到 112 个纲的细菌, 其中油菌纲(*Thermoleophilia*) (19.6%)、放线菌纲(*Actinobacteria*) (13.6%)、变形菌纲(*Alphaproteobacteria*) (12.9%)、鞘脂杆菌纲(*Sphingobacteriia*) (7.4%)为主要类群, 相对丰度之和超过 54% (图 3-B)。

以 OTU 水平对 5 个采样地瑞香狼毒根际土壤真菌群落进行主坐标分析, 绘制成 PCoA 图, 如图 4-A 所示。真菌群落主坐标 PCoA1 与 PCoA2 分别达到 42.52%与 25.76%。2.3KS 与

2.9KS 样地在图中相距较近, 2.6KS 与 2.7KS 样地的距离较近, 距离较近表明真菌群落结构相似; 而 3.2KS 样地与其余 4 个样地在图中相距较远, 因而其真菌群落结构与其余 4 个样地的差异较大。对根际土壤细菌群落的主坐标分析发现, 细菌群落主坐标成分 PCoA1 与 PCoA2 分别达到 49.44%与 24.68%。2.3KS 与 2.9KS 细菌菌群在图中相聚较近并在同一象限内, 它们与 3.2KS 在图中距离也较为接近, 表明细菌群落结构相似。此外, 2.6KS 和 2.7KS 样地相互之间的距离均较远, 它们与其余 3 个样地之间的距离也较远, 表明细菌群落结构组成差异较大 (图 4-B)。

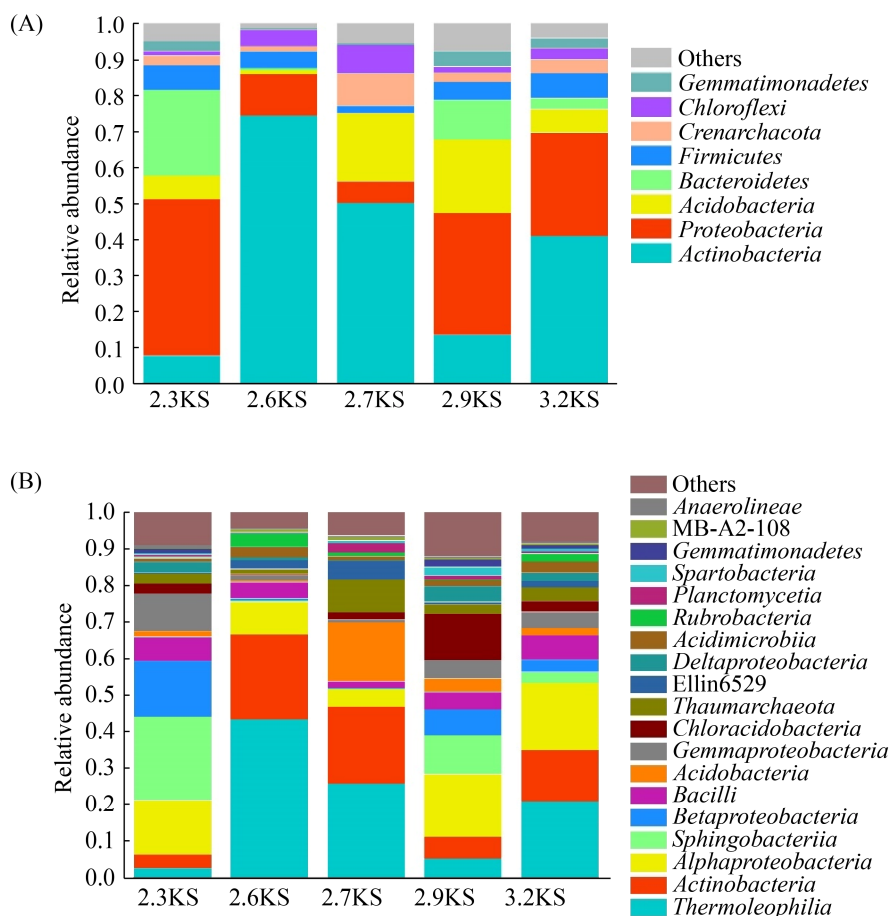


图 3. 根际土壤细菌门水平(A)及纲水平(B)组成

Figure 3. Rhizosphere soil bacterial phyla level (A) and class level (B) composition.

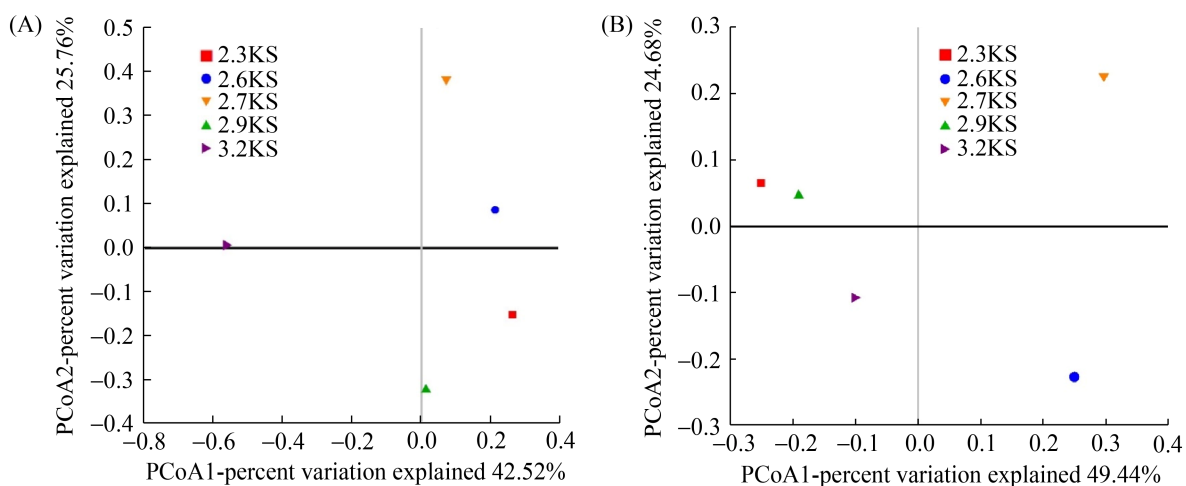


图 4. 瑞香狼毒根际土壤真菌(A)及细菌(B)群落主坐标分析

Figure 4. Principal coordinate analysis of rhizosphere soil fungi (A) and bacterial (B) communities of *Stellera chamaejasme* L..



5 个采样地瑞香狼毒根际微生物 Alpha 多样性分析结果见表 4。根际土壤真菌的 Shannon 多样性指数的变化趋势为: 2.9KS > 2.7KS > 2.6KS > 3.2KS > 2.3KS, 随海拔高度增加呈先增加后下降趋势, 2.9KS 样地 Shannon 指数最高, 2.3KS 样地 Shannon 指数最低。Chao1 指数的变化趋势为: 2.3KS > 2.9KS > 2.6KS > 3.2KS > 2.7KS, 总体上表现为随海拔高度增加呈波浪状变化趋势, 2.3KS 样地 Chao1 指数最高, 2.7KS 样地 Chao1 指数最低。根际土壤细菌的 Shannon 多样性分析结果表明, 2.9KS > 3.2KS > 2.3KS > 2.6KS > 2.7KS, 总体上呈波浪状变化趋势, 2.9KS 样地细菌 Shannon 指数最高, 而在 2.7KS 样地 Shannon 指数最低; Chao1 指数分析结果为: 2.3KS > 2.9KS > 3.2KS > 2.6KS > 2.7KS, 表现为随海拔高度增加呈波浪状变化趋势, 2.3KS 样地 Chao1 指数最高, 2.7KS 样地 Chao1 指数最低, 变化趋势与真菌结果相似。综合上述结果发现, 2.9KS 样地的真菌及细菌菌群丰富度及多样性均为最高。

#### 2.4 瑞香狼毒根际土壤微生物群落聚类分析

根据根际土壤微生物在属水平的物种注释

及丰度信息, 选取丰度排名前 35 的属及其在每个样品中的丰度信息绘制热图, 并从分类信息和样品间差异 2 个层面进行聚类。结果显示, 不同样地瑞香狼毒根际土壤真菌群落之间存在差异, *Capronia* 和 *Cadophora* 属的真菌在 2.3KS 样地占优势, 外瓶柄霉属 (*Exophiala*) 和葡萄穗霉 (*Stachybotrys*) 属的真菌在 2.6KS 样地居于主要类群, 硬皮马勃属 (*Scleroderma*)、湿伞属 (*Hygrocybe*)、假裸囊菌属 (*Pseudogymnoascus*)、腐质霉属 (*Humicola*)、青霉属 (*Penicillium*) 和 *Tetracladium* 属在 2.7KS 样地相对富集, 2.9KS 样地中, 裂褶菌属 (*Schizophyllum*)、蛇形虫草属 (*Ophiocordyceps*)、栓菌属 (*Trametes*)、盖孔菌属 (*Funalia*)、鬼伞属 (*Coprinus*)、蜡孔菌属 (*Ceriporia*)、蛇孢日规壳属 (*Ophiognomonia*)、多孔菌属 (*Irpex*)、丝盖伞属 (*Inocybe*)、丝膜菌属 (*Cortinarius*) 等 19 个属的真菌均有较高的富集度, 3.2KS 样地中, 被孢霉属 (*Mortierella*)、轮枝孢属 (*Verticillium*)、油瓶霉属 (*Lecythophora*)、蜜环菌属 (*Armillaria*) 和地丝霉属 (*Geomyces*) 真菌占优势地位相对富集(图 5-A)。

表 4. 根际土壤微生物 Alpha 多样性分析表

Table 4. Analysis of alpha diversity of rhizosphere soil microorganisms

Sample plot		2.3KS	2.6KS	2.7KS	2.9KS	3.2KS
Fungi	Effective tags	69879±695b	96426±948a	57402±1146c	24290±397e	38715±553d
	OTU (97%)	299±5c	286±9c	325±8b	386±3a	331±6b
	Shannon (97%)	3.35±0.01e	4.03±0.02c	4.66±0.03b	5.60±0.03a	3.96±0.01d
	Chao1 (97%)	425.56±6.01a	379.12±26.29b	361.74±6.30b	394.00±27.67a	365.20±1.18b
	Coverage (%)	96.55±0.76a	96.59±1.30a	96.53±0.59a	94.34±1.41b	97.14±0.37a
Bacterial	Effective tags	54166±382a	36394±1180c	17314±790d	41378±1754c	51045±2022b
	OTU (97%)	1747±177a	1013±103b	925±92b	1818±188a	1734±169a
	Shannon (97%)	8.81±0.35a	7.79±0.36b	7.53±0.29b	9.16±0.38a	8.99±0.37a
	Chao1 (97%)	2330.36±404.07a	1241.76±180.29b	961.62±106.90b	2229.90±354.69a	2170.34±285.14a
	Coverage (%)	88.69±4.39a	88.77±3.24a	84.20±2.83a	85.32±4.02a	86.28±3.91a

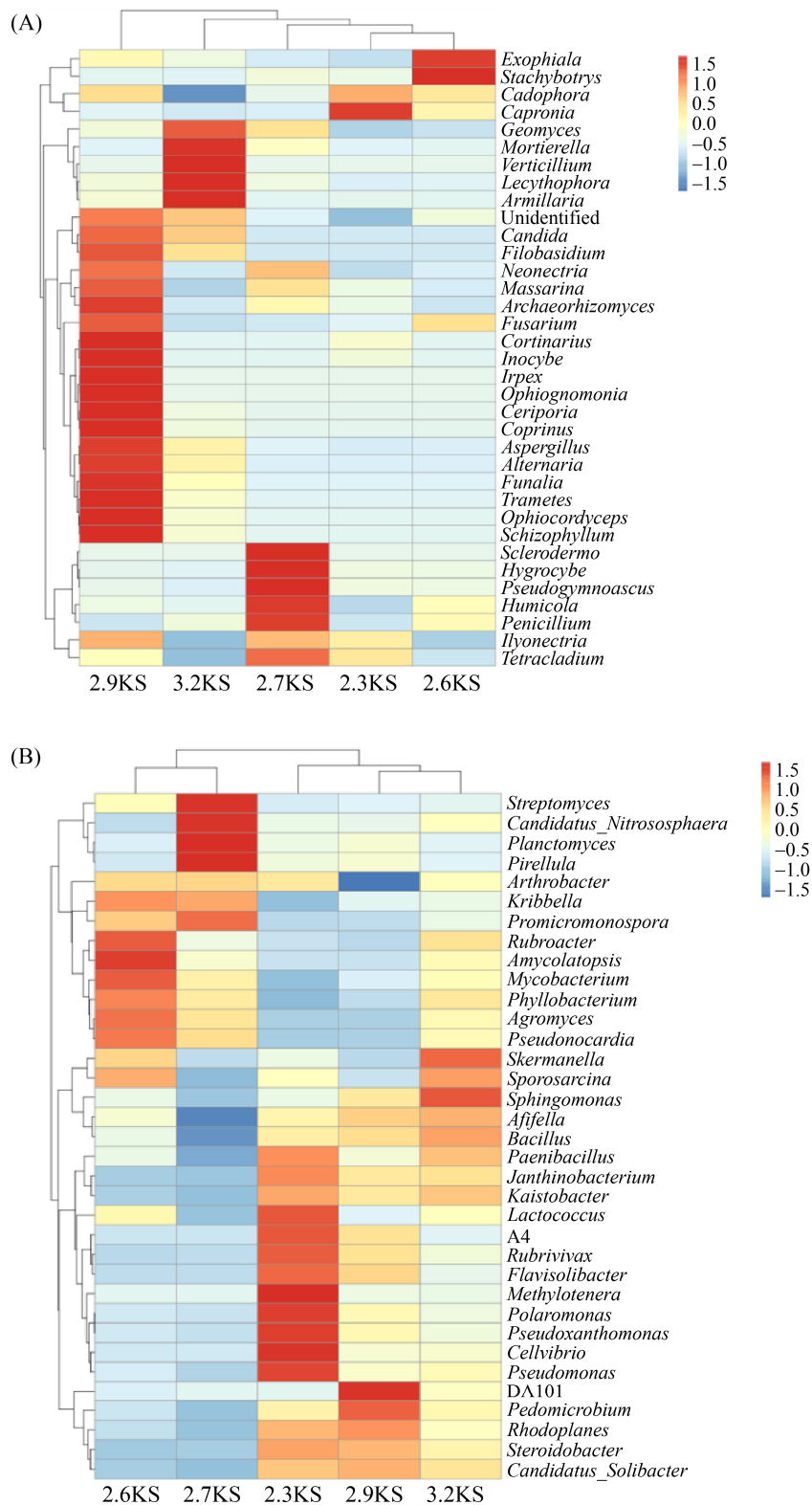


图 5. 根际土壤真菌(A)及细菌(B)物种丰度聚类图

Figure 5. Cluster map of the abundance of rhizosphere soil fungi (A) and bacterial (B).

选择相对丰度排名前 35 的细菌属, 绘制瑞香狼毒根际土壤细菌聚类分析热图。结果显示, 在 2.3KS 样地中, 假单胞菌属(*Pseudomonas*)、纤维弧菌属(*Cellvibrio*)、假黄单胞菌(*Pseudoxanthomonas*)、极地单胞菌属(*Polaromonas*)和 *Methylotenera* 等 8 个属的细菌占优势; 在 2.6KS 样地中, *Amycolatopsils*、*Rubroacter* 和分支杆菌属(*Mycobacterium*)细菌居于优势地位, 在 2.7KS 样地中, 链霉菌属(*Streptomyces*)、亚硝化球菌(*Nitrososphaera*)、小梨形菌属(*Pirellula*)、浮霉菌状菌属(*Planctomyces*)和原小单孢菌属(*Promicromonospora*)的细菌较多, 在 2.9KS 样地中, DA101 属和土微菌属(*Pedomicrobium*)属于优势类群, 在 3.2KS 样地中, 鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和 *Skermanella* 属的细菌占优势(图 5-B)。

## 2.5 土壤微生物与土壤特征的相关性

根据 DCA 分析结果, 真菌 LGA=0.73 < 3, 细菌 LGA=0.83 < 3, 本研究采用线性模型的 RDA 分析。结果表明, 第一、第二排序轴累计解释率分别为 43.4%以及 28.7%, 累计解释率为 72.1% (表 5)。因此第一、第二排序轴能较好地反映出真菌群落与土壤理化性质、酶活性之间的相关性。经蒙特卡洛检验,  $P < 0.05$ , 表明环境因子与根际土壤真菌存在线性关系。由图 6-A、表 6 可知,

对于真菌群落来说, 物种排序轴与环境因子排序轴第一排序轴与第二排序轴之间的相关系数为 1, 表明两轴平行, 因此 RDA 排序能较好地解释物种与环境的关系。子囊菌门的古根菌纲、担子菌门的伞菌纲与 P、Fe、K、Ca、pH、SH 箭头方向一致呈正相关, 与土壤蔗糖酶(SC)、土壤碱性磷酸酶(AKP)、土壤多酚氧化酶(PPO)箭头方向相反呈负相关; 子囊菌门的锤舌菌纲与土壤脱氢酶(DHA)箭头方向一致呈正相关, 与 pH、SH、Altitude、Mo 箭头相反呈负相关; 此外, 子囊菌门的散囊菌纲与 ST、土壤蔗糖酶(SC)箭头一致呈正相关, 与 K、P、Fe、Ca、SH、pH、Mo、Altitude 箭头方向相反呈负相关。总体上, 由表 6 可知, K 与土壤真菌相关系数最高, 系数值为 0.907, 其次为 pH (0.904), 其余金属元素含量均与土壤真菌群落结构有显著正相关。此外, 土壤真菌与 PPO 相关系数最低, 系数值为-0.919, 除 ACP 与 UE 显示正相关性之外, 其余酶均表现为显著负相关。海拔和土壤湿度与真菌群落结构呈负相关关系, 土壤温度则表现为正相关关系。土壤 TN、SOM 和 H%与土壤真菌群落结构无显著影响 ( $P > 0.05$ )。5 个样地瑞香狼毒根际土壤真菌群落的大部分类群与土壤理化性质箭头方向一致呈正相关, 主要分布在第一、第四象限, 表明土壤理化性质对土壤真菌影响较大。

表 5. RDA 排序轴特征值及解释比例  
Table 5. Eigenvalues and explanation percentage of RDA axes

RDA axes	Fungi				Bacteria			
	AX1	AX2	AX3	AX4	AX1	AX2	AX3	AX4
Eigenvalues	0.434	0.287	0.188	0.090	0.688	0.252	0.043	0.017
Species-environment correlations	1	1	1	1	1	1	1	1
Cumulative percentage variance of species data	43.4	72.1	91.0	100.0	68.8	94.0	98.3	100.0

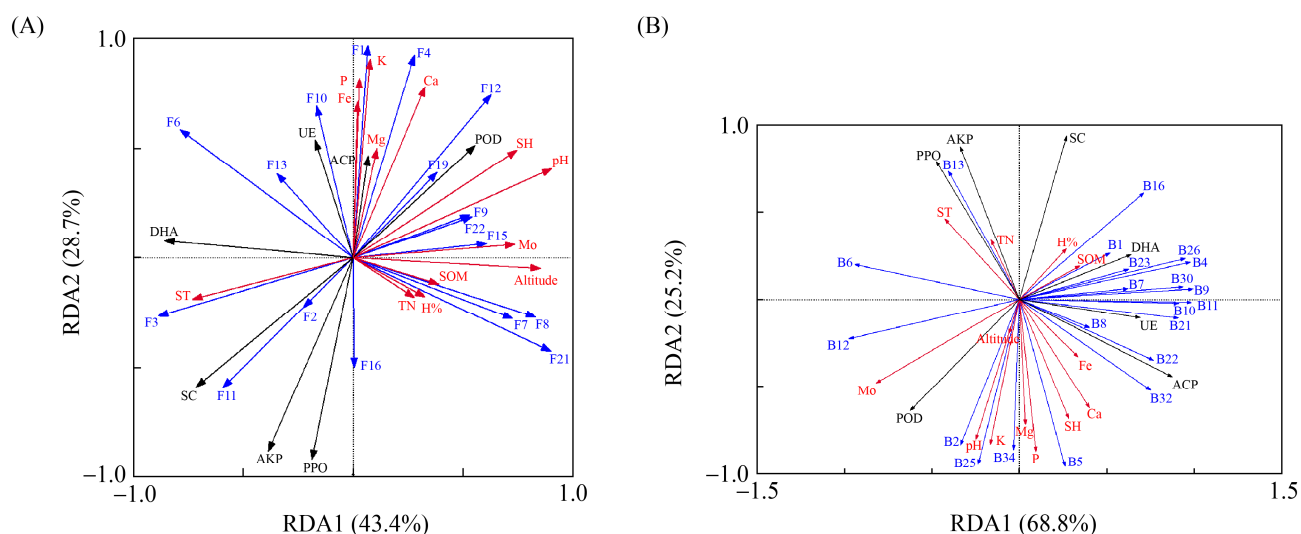


图 6. 土壤微生物群落特征与土壤环境因子的相关性 RDA 分析

Figure 6. RDA analysis of the correlation between soil fungal community characteristics and soil environmental factors. A: F1: *Archaeorhizomycetes*; F2: *Dothideomycetes*; F3: *Eurotiomycetes*; F4: *Unclassified-Other*; F6: *Leotiomyces*; F7: *Orbiliomycetes*; F8: *Pezizomycetes*; F9: *Saccharomycetes*; F10: *Sordariomycetes*; F11: unidentified; F12: *Agaricomycetes*; F13: *Exobasidiomycetes*; F15: *Microbotryomycetes*; F16: *Tremellomycetes*; F19: *Glomeromycetes*; F21: *Unclassified-Other*; F22: unidentified. B: B1: *Unclassified-Other*; B2: *Crenarchaeota*; B4: *Bacteria-Other*; B5: *Acidobacteria*; B6: *Actinobacteria*; B7: *Armatimonadetes*; B8: *BRC1*; B9: *Bacteroidetes*; B10: *Chlamydiae*; B11: *Chlorobi*; B12: *Chloroflexi*; B13: *Cyanobacteria*; B16: *Firmicutes*; B21: *Gemmatimonadetes*; B22: *Nitrospirae*; B23: *OD1*; B25: *Planctomycetes*; B26: *Proteobacteria*; B30: *TM7*; B32: *Verrucomicrobia*; B34: *WS3*. The red arrow and the blue arrow represent the relative position of soil physical and chemical properties and enzyme activity on the horizontal plane, the angle between the arrow and the sort axis is different, the correlation strength is also different, the smaller the angle, the greater the correlation. The longer the length of the arrow, the greater the effect of the environmental factor; The black arrow represents the species distribution at the class level, and the longer the arrow, the greater the impact of the species in the sample.

根际土壤细菌与土壤环境因子相关性的 RDA 分析结果表明, 第一排序轴的解释率为 68.8%, 第二排序轴的解释率为 25.2%, 累计解释率有 94.0%, 表明土壤细菌与土壤理化性质、酶活性之间的相关性较大。蒙特卡洛检验表明,  $P < 0.05$ , 表明环境因子与根际土壤细菌存在线性关系。图 6-B 与表 6 说明排序能较好地解释物种与环境的的关系。酸杆菌门、泉古菌门、浮霉菌门、WS3 与 pH、K、Mg、P 箭头方向一致呈正相关,

与土壤蔗糖酶(SC)、土壤碱性磷酸酶(AKP)、土壤多酚氧化酶(PPO)箭头方向相反呈负相关。放线菌门、绿弯菌门与 Mo 箭头方向一致呈正相关, 与土壤酸性磷酸酶(ACP)箭头方向相反呈负相关。厚壁菌门与土壤蔗糖酶(SC)箭头方向一致呈正相关, 而与 pH、Mo、K 箭头相反呈负相关。蓝细菌门与土壤碱性磷酸酶(AKP)、土壤多酚氧化酶(PPO)箭头一致呈正相关, 与 SH、Ca、P、Mg 呈负相关。总体上, 表 6 中, SC 相关系数最

表 6. 环境因子与前两个排序轴之间的相关系数  
Table 6. Correlation coefficients of water environmental factors and the first two axes of RDA

Impact factor	Fungi		Bacteria	
	SPEC AX1	SPEC AX2	SPEC AX1	SPEC AX2
SPEC AX1 1			1	
SPEC AX2 0		1	0	1
ENVI AX1 1**		0	1**	0
ENVI AX2 0		1**	0	1**
pH	0.904**	0.407	-0.248	-0.803**
TN	0.279	-0.181	-0.162	0.339
SOM	0.390	-0.120	0.345	0.192
H%	0.328	-0.178	0.269	0.290
K	0.078	0.907**	-0.167	-0.833**
P	0.030	0.820**	0.094	-0.873**
Fe	0.020	0.711**	0.336	-0.331
Ca	0.328	0.780**	0.401	-0.624**
Mo	0.736**	0.060	-0.820**	-0.481*
Mg	0.069	0.466*	0.035	-0.718**
Altitude	0.852**	-0.048	-0.060	-0.199
SH	0.746**	0.492*	0.282	-0.685**
ST	-0.731**	-0.188	-0.427	0.461*
PPO	-0.188	-0.919**	-0.476*	0.791**
POD	0.556**	0.514*	-0.624**	-0.639**
UE	-0.173	0.537*	0.691**	-0.106
DHA	-0.858**	0.078	0.639**	0.256
SC	-0.714**	-0.588**	0.270	0.937**
ACP	0.109	0.500*	0.874**	-0.445*
AKP	-0.387	-0.882**	-0.339	0.876**

SPEC AX1: zooplankton species ordination AX1; SPEC AX2: zooplankton species ordination AX2; ENVI AX1: environmental ordination AX1; ENVI AX2: environmental ordination AX2. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .

高(0.937), P 相关系数最低(-0.873)。酶与土壤细菌群落有较强的正相关关系, K、P、Ca、Mo、Mg 则与土壤细菌群落有较强的负相关关系。土壤湿度与真菌群落结构呈负相关关系, 土壤温度则表现为正相关关系。海拔高度、TN、SOM、H%、Fe 与土壤细菌群落结构无显著影响( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

瑞香狼毒根际土壤样品真菌及细菌物种组成丰富, 不同高寒草地瑞香狼毒根际土壤真菌及细菌群落结构存在一定的差异。本研究中子囊菌门在 2.3KS、2.6KS、2.7KS 以及 2.9KS 四个样地的真菌类群中均占优势地位, 接合菌门在 3.2KS 样地为优势类群。子囊菌门<sup>[40-41]</sup>是土壤中丰富度最高的真菌, 在偏碱与偏酸性的土壤中均能大量生存。Jin 等<sup>[12]</sup>对甘肃岷县瑞香狼毒根际土壤真菌的研究结果显示, 主要真菌门为子囊菌门, 这与本研究结果一致。然而, 周攀等<sup>[24]</sup>在对青海省祁连县瑞香狼毒根际土壤微生物的研究发现, 该地的根际土壤真菌主要菌门为接合菌门, 子囊菌门次之, 这与本研究 3.2KS 样地结果相似。本文 Beta 多样性分析显示, 各样地瑞香狼毒根际土壤真菌群落差异性都较大, 表明土壤真菌具有丰富的多样性, 不同地方的土壤中存在各自的优势真菌群, 瑞香狼毒根际土壤真菌群落结构受到自身生长地点土壤的影响。在细菌方面, 本研究中主要优势菌群为放线菌门, 其次为变形菌门与酸杆菌门。5 个样地中 2.6KS、2.7KS、3.2KS 三个样地中放线菌门为主要优势菌群, 2.3KS 与 2.9KS 样地为中变形菌门为主要优势细菌菌群, 这与前人研究结果相似<sup>[15,42-43]</sup>, 表明变形菌门与放线菌门是土壤主要的优势菌门。Jin 等<sup>[13]</sup>对甘肃榆中县萃英山瑞香狼毒根际土壤细菌的研究结果表明, 主要优势细菌门为变形菌门, 这与本研究中 2.3KS 与 2.9KS 样地一致。根际土壤为植物与外界环境物质循环的主要场所, 微生物作为土壤与植物联系的重要参与者, 受到土壤环境因子与植物的共同影响<sup>[44]</sup>。因此, 不同地区的气候及土壤

环境造就了瑞香狼毒根际土壤微生物组成的多样性。

前期学者研究表明, 土壤微生物多样性以及群落组成结构受土壤理化性质的显著影响<sup>[45]</sup>。本研究中, 瑞香狼毒的生长地区在偏酸与偏碱的地方均有生长, RDA 分析结果显示, 土壤理化性质对于根际真菌组成均有较大的相关性。瑞香狼毒根际土壤真菌多样性与土壤 K、P、Fe、Ca、SH 等呈正相关, 而根际土壤细菌则于 pH、K、P、Mg、Ca 等呈负相关。瑞香狼毒根际土壤 pH 对于真菌子囊菌门的古根菌纲、担子菌门的伞菌纲呈正相关, 图 6-B 显示 pH 对于细菌酸杆菌门、泉古菌门等也呈正相关, 这与 Jin 等<sup>[46]</sup>对青海瑞香狼毒根际土壤理化性质的研究结果相似。本研究中瑞香狼毒根际土壤中各大量元素与微量元素的含量随样地海拔高度的升高大致上呈现增加的趋势, Alpha 多样性分析显示各样地瑞香狼毒根际土壤微生物的多样性随样地海拔增加而增加, 表明瑞香狼毒根际土壤营养元素与土壤微生物的丰富度以及多样性之间呈正相关关系。这与郑诗樟等<sup>[47]</sup>对于丘陵红壤不同人工林型土壤微生物类群的研究结果相似。另外, 瑞香狼毒根际细菌变形菌门与土壤 P 在 RDA 图中箭头夹角小于 90°, 表明 P 与变形菌门呈正相关, 这与 Jin 等<sup>[15]</sup>的研究结果相反, 这可能是土壤样地的不同导致的。现今, 对于瑞香狼毒根际土壤微生物与土壤理化性质相关性的研究鲜有报道, 土壤理化性质对其入侵机制的影响还未可知, 需要更深入、系统的研究。另一方面, 土壤理化性质中元素含量也伴随着土壤酶活性在一定程度上有所增加<sup>[48]</sup>。因此, 对于瑞香狼毒根际土壤理化性质因子与土壤各个酶活性之间存在的内在联系需

要更进一步的探究。

土壤酶是生态系统物质循环以及能量转化过程中重要的参与者<sup>[49]</sup>。本研究中, 总体上土壤酶与细菌的相关性大于真菌。相较于其余样地, 根际土壤微生物多样性及丰富度最高的 2.9KS 样地有最低的多酚氧化酶和碱性磷酸酶以及最高含量的脲酶和酸性磷酸酶。RDA 分析结果显示, 不同真菌及细菌类群与各土壤酶之间相关性不同, 其中多酚氧化酶与瑞香狼毒根际土壤微生物群落结构呈较强负相关。微生物组成多样性及丰富度最高的 2.9KS 样地, 多酚氧化酶活性最低(表 3)。瑞香狼毒根际土壤中的多酚氧化酶活性不足以完全降解植物残体中由木质素转化的酚类、芳香族类等化合物<sup>[50-51]</sup>, 无法形成土壤物质循环。这或许是导致瑞香狼毒入侵、土壤退化的因素之一。本研究中瑞香狼毒根际土壤中脲酶活性仅与土壤细菌呈正相关, 且与土壤全氮呈负相关, 这与前人研究结果相反<sup>[52]</sup>, 表明瑞香狼毒的入侵可能改变了对于土壤氮的利用方式以及效率。此外, 瑞香狼毒根际土壤酸性磷酸酶与土壤细菌群落呈正相关, 而碱性磷酸酶对土壤真菌和细菌呈显著负相关性。这与王毅<sup>[53]</sup>对与若尔盖沙化草地酸性磷酸酶的研究和郝玉兰等<sup>[54]</sup>对自然土壤中碱性磷酸酶活性状况的研究不同。表明瑞香狼毒的入侵, 会改变原有土壤微生物与土壤酶活性之间的相关性。

## 4 结论

甘肃省不同高寒草地瑞香狼毒根际土壤 pH 随海拔高度升高而由偏酸性改变为偏碱性。5 个样地瑞香狼毒根际土壤大量元素和微量元素含量变化趋势随海拔高度增加呈先增加后下降的

趋势, 在 2.7KS 样地或 2.9KS 样地达到峰值。土壤酶除过氧化物酶(POD)外, 其他 6 种土壤酶则呈先下降后增加的趋势, 在 2.7KS 或 2.9KS 样地时达到最低值。不同样地之间比较发现, 2.9KS 样地瑞香狼毒根际土壤微生物多样性高于其余 4 个样地。子囊菌门(*Ascomycota*)、接合菌门(*Zygomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)是瑞香狼毒根际土壤中主要的真菌类群, 放线菌门(*Actinobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)是主要的细菌类群。通过 RDA 分析及其相关系数发现, 瑞香狼毒根际土壤单个真菌或细菌受土壤理化性质和酶的影响各异; 总体上, 根际土壤真菌与土壤 pH、钾、磷、铁、钙、铜、土壤水分呈正相关, 与土壤多酚氧化酶、过氧化物酶、脱氢酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶呈负相关; 根际土壤细菌与多酚氧化酶、过氧化物酶、脲酶、脱氢酶、蔗糖酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶呈正相关, 与土壤 pH、钾、磷、镁、钙、土壤水分呈负相关。总之, 土壤理化性质对于瑞香狼毒根际土壤微生物真菌的影响较大, 土壤酶活性对于瑞香狼毒根际土壤细菌的群落组成结构影响较大。

## 参 考 文 献

- [1] Zhang YH, Volis S, Sun H. Chloroplast phylogeny and phylogeography of *Stellera chamaejasme* on the Qinghai-Tibet Plateau and in adjacent regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2010, 57(3): 1162–1172.
- [2] You YF, Ma QC, Guo YZ, Kong YZ, Shi FY, Wu CC, Zhao BY. Hazard status and control countermeasures of poisonous weeds in natural grasslands of Inner Mongolia. *Progress in Veterinary Medicine*, 2018, 39(4): 105–110. (in Chinese)  
尤延飞, 马青成, 郭亚洲, 孔叶子, 史芳芸, 吴晨晨, 赵宝玉. 内蒙古天然草地毒草危害状况与防控对策. *动物医学进展*, 2018, 39(4): 105–110.
- [3] Huang ZJ, Zhou SQ. An important poisonous plant in the grass-chamaejasmin. *Journal of Sichuan Grassland*, 1993(4): 24–27. (in Chinese)  
黄祖杰, 周淑清. 草地重要有毒植物——狼毒. *四川草原*, 1993(4): 24–27.
- [4] Bao GS, Wang YQ, Song ML, Wang HS, Yin YL, Liu SC, Yang YW, Yang M. Effects of *Stellera chamaejasme* patches on the surrounding grassland community and on soil physical-chemical properties in degraded grasslands susceptible to *S. chamaejasme* invasion. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(3): 51–61. (in Chinese)  
鲍根生, 王玉琴, 宋梅玲, 王宏生, 尹亚丽, 刘生财, 杨有武, 杨铭. 狼毒斑块对狼毒型退化草地植被和土壤理化性质影响的研究. *草业学报*, 2019, 28(3): 51–61.
- [5] Liu YM, Zhao F, He W, Wang L, Li JZ, Liu JH. Spatial heterogeneity of soil fungal diversity in area with presence of *Stellera chamaejasme* on the degraded alpine meadow. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(1): 249–258. (in Chinese)  
刘咏梅, 赵樊, 何玮, 王雷, 李京忠, 刘建红. 退化高寒草甸狼毒发生区土壤真菌多样性的空间变异. *应用生态学报*, 2020, 31(1): 249–258.
- [6] Wu GL, Wei YH. Occurrence and control measure on *Stellera chamaejasme* in Qinghai grassland. *Science and Technology of Qinghai Agriculture and Forestry*, 2006(2): 63–64. (in Chinese)  
吴国林, 魏有海. 青海草地毒草狼毒的发生及防治对策. *青海农林科技*, 2006(2): 63–64.
- [7] Wang FS, He YT, Shi PL, Niu B, Zhang XZ, Xu XL. *Stellera chamaejasme* as an indicator for alpine meadow degradation on the Tibetan Plateau. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2016, 22(4): 567–572. (in Chinese)  
王福山, 何永涛, 石培礼, 牛犇, 张宪洲, 徐兴良. 狼毒对西藏高原高寒草甸退化的指示作用. *应用与环境生物学报*, 2016, 22(4): 567–572.
- [8] Qian SM, Li M. Chamaejasmine induces apoptosis in HeLa cells through the PI3K/Akt signaling pathway. *Anti-Cancer Drugs*, 2017, 28(1): 40–50.
- [9] Kim M, Lee HJ, Randy A, Yun JH, Oh SR, Nho CW. *Stellera chamaejasme* and its constituents induce cutaneous wound healing and anti-inflammatory activities. *Scientific Reports*, 2017, 7: 42490.

- [10] Li XQ, Rahman K, Zhu JY, Zhang H. Chemical constituents and pharmacological activities of *Stellera chamaejasme*. *Current Pharmaceutical Design*, 2018, 24(24): 2825–2838.
- [11] Li XH, Xiang X, Tang XP, Jiang HC, Duan G, Chang H. Progress on *Stellera chamaejasme*. *Progress in Veterinary Medicine*, 2019, 40(4): 96–99. (in Chinese)  
李晓惠, 项勋, 唐晓萍, 江华超, 段纲, 常华. 瑞香狼毒研究进展. *动物医学进展*, 2019, 40(4): 96–99.
- [12] Jin H, Yang XY, Lu DX, Li CJ, Yan ZQ, Li XZ, Zeng LM, Qin B. Phylogenetic diversity and tissue specificity of fungal endophytes associated with the pharmaceutical plant, *Stellera chamaejasme* L. revealed by a cultivation-independent approach. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2015, 108(4): 835–850.
- [13] Jin H, Yang XY, Yan ZQ, Liu Q, Li XZ, Chen JX, Zhang DH, Zeng LM, Qin B. Characterization of rhizosphere and endophytic bacterial communities from leaves, stems and roots of medicinal *Stellera chamaejasme* L.. *Systematic and Applied Microbiology*, 2014, 37(5): 376–385.
- [14] 周攀. 瑞香狼毒对根际微生物群落的影响及在干旱胁迫下狼毒蛋白表达谱的变化. 西北大学硕士学位论文, 2015.
- [15] Jin H, Yang XY, Liu RT, Yan ZQ, Li XD, Li XZ, Su AX, Zhao YH, Qin B. Bacterial community structure associated with the rhizosphere soils and roots of *Stellera chamaejasme* L. along a Tibetan elevation gradient. *Annals of Microbiology*, 2018, 68(5): 273–286.
- [16] Wu LK, Lin XM, Lin WX. Advances and perspective in research on plant-soil-microbe interactions mediated by root exudates. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2014, 38(3): 298–310. (in Chinese)  
吴林坤, 林向民, 林文雄. 根系分泌物介导下植物-土壤-微生物互作关系研究进展与展望. *植物生态学报*, 2014, 38(3): 298–310.
- [17] Legay N, Baxendale C, Grigulis K, Krainer U, Kastl E, Schloter M, Bardgett RD, Arnoldi C, Bahn M, Dumont M, Poly F, Pommier T, Clément JC, Lavorel S. Contribution of above- and below-ground plant traits to the structure and function of grassland soil microbial communities. *Annals of Botany*, 2014, 114(5): 1011–1021.
- [18] Liu JW, Li XZ, Yao MJ. Research progress on assembly of plant rhizosphere microbial community. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(2): 231–248. (in Chinese)  
刘京伟, 李香真, 姚敏杰. 植物根际微生物群落构建的研究进展. *微生物学报*, 2021, 61(2): 231–248.
- [19] 余悦. 黄河三角洲原生演替中土壤微生物多样性及其与土壤理化性质关系. 山东大学博士学位论文, 2012.
- [20] Yan GH, Zhu B, Zhao WB, Chi GY, Chen X. Distribution characteristics of soil iron in estuary wetland under fossil oil pollution. *Chinese Journal of Ecology*, 2020, 39(11): 3808–3816. (in Chinese)  
燕国辉, 朱彬, 赵文斌, 迟光宇, 陈欣. 石油污染条件下河口湿地土壤铁的分布特征. *生态学杂志*, 2020, 39(11): 3808–3816.
- [21] Shi X, Wang DY, Li YF, Jin K, Guo Z. Soil geochemical characteristics of elements Mn, Mo in western Jilin Province. *Global Geology*, 2010, 29(2): 256–261. (in Chinese)  
施宪, 王冬艳, 李月芬, 靳克, 郭珍. 吉林西部锰、钼元素土壤地球化学特征. *世界地质*, 2010, 29(2): 256–261.
- [22] Zhang Y, Liu CJ. Research Progress of Soil Trace Elements. *Gansu Science and Technology*, 2009, 25(20): 90–92. (in Chinese)  
张昱, 刘春瑾. 土壤微量元素研究进展. *甘肃科技*, 2009, 25(20): 90–92.
- [23] Liu HF, Han HW, Wang Q, Zhuang HM, Wang H. Effect of vegetables-tomato rotation on soil microbial diversity, enzyme activity and physicochemical properties of vegetables in greenhouse. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(1): 167–182. (in Chinese)  
刘会芳, 韩宏伟, 王强, 庄红梅, 王浩. 不同蔬菜与番茄轮作对设施土壤微生物多样性、酶活性及土壤理化性质的影响. *微生物学报*, 2021, 61(1): 167–182.
- [24] Wu JH, Wang LX, Zhang JH, Zhuo Y, Wu SN, Wang FG, Xu ZC, Qi Y, Wen L. Response of soil properties and microbial biomass to different grazing intensities in temperate typical steppe. *Acta Agrestia Sinica*, 2018, 26(4): 832–840. (in Chinese)  
邬嘉华, 王立新, 张景慧, 卓义, 武胜男, 王凤歌, 徐智超, 祁瑜, 温璐. 温带典型草原土壤理化性质及微生物量对放牧强度的响应. *草地学报*, 2018, 26(4): 832–840.
- [25] Batista ÉR, Carneiro JJ, Araújo Pinto F, dos Santos JV, Carneiro MAC. Environmental drivers of shifts on microbial traits in sites disturbed by a large-scale tailing dam collapse. *Science of the Total Environment*, 2020, 738: 139453.
- [26] Jian SY, Li JW, Chen J, Wang GS, Mayes MA, Dzantor KE, Hui DF, Luo YQ. Soil extracellular enzyme activities, soil carbon and nitrogen storage under nitrogen fertilization: a meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 101: 32–43.



- [27] Yan SJ, Li BY, Gao DX, Fu SY, Lu YF, Xu MP, Ren CJ, Han XH. Response of ecoenzymatic stoichiometry to soil physicochemical properties after afforestation on loess hilly region. *Eurasian Soil Science*, 2020, 53(11): 1669–1675.
- [28] Dong Y, Han JY, Zhang JC, Zhang QH, Sun C, Zhou Y. Research progress and prospect of physicochemical properties of medicinal plant *Paeonia lactiflora* soil. *Tillage and Cultivation*, 2020, 40(3): 19–22. (in Chinese)  
董燕, 韩见宇, 张家春, 张清海, 孙超, 周颖. 药用植物芍药土壤理化性质研究进展及展望. 耕作与栽培, 2020, 40(3): 19–22.
- [29] Lu Q, Li DQ. Research progress on soil enzymes and their functioning as ecosystem indicators. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2020, 48(18): 14–17. (in Chinese)  
陆琴, 李冬琴. 土壤酶及其生态指示作用研究进展. 安徽农业科学, 2020, 48(18): 14–17.
- [30] Chen FW, Li W. Comparison of measuring method of soil pH, water content and organic matter content. *Yunnan Chemical Technology*, 2020, 47(8): 4–6. (in Chinese)  
陈富伟, 李伟. 土壤酸碱度、含水量和有机质测量方法对比. 云南化工, 2020, 47(8): 4–6.
- [31] 李淑红, 赵仕沛. 改进的重铬酸盐法测定土壤有机质含量. 河南农业, 2020(5): 57–58.
- [32] 武琳慧. 乌梁素海湿地微生物群落结构及其空间异质性研究. 内蒙古大学博士学位论文, 2014.
- [33] 纪垚. 七星河湿地微生物群落结构与环境因子响应研究. 哈尔滨师范大学硕士学位论文, 2017.
- [34] Dong LX, Cheng QP, Gu J, Zhou MJ. Determination of 34 trace elements in soil by microwave digestion-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *China Inspection Body & Laboratory*, 2020, 28(4): 33–35, 51. (in Chinese)  
董俐香, 成庆平, 顾桔, 周美姣. 微波消解-电感耦合等离子体发射光谱法在测定土壤中 34 种微量元素的应用研究. 中国检验检疫, 2020, 28(4): 33–35, 51.
- [35] Wang YG, Liu JJ, Liu YX, Ma L. Effective factors of urease activities in soil by using the phenol-sodium hypochlorite colorimetric method. *Chinese Journal of Soil Science*, 2019, 50(5): 1166–1170. (in Chinese)  
王玉功, 刘婧晶, 刘貽熙, 马亮. 苯酚-次氯酸钠比色法测定土壤脲酶活性影响因素的研究. 土壤通报, 2019, 50(5): 1166–1170.
- [36] Yao JX, Lin H, Lin XS, Luo HL, Lin ZX. Effect of *Pennisetum* sp. on soil microbial quantity and enzyme activity. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2019(3): 40–45. (in Chinese)  
姚俊新, 林辉, 林兴生, 罗海凌, 林占焯. 巨菌草种植对土壤微生物数量及酶活性的影响. 黑龙江农业科学, 2019(3): 40–45.
- [37] Liu D, Deng Q, Shi XR, Yuan ZY. Responses of phosphatase activity in rhizosphere and non-rhizosphere soils to simulated precipitation changes in planted *Robinia pseudoacacia* forest on the loess plateau. *Research of Soil and Water Conservation*, 2020, 27(1): 95–103. (in Chinese)  
刘迪, 邓强, 时新荣, 袁志友. 黄土高原刺槐人工林根际和非根际土壤磷酸酶活性对模拟降水变化的响应. 水土保持研究, 2020, 27(1): 95–103.
- [38] Li JJ, Xu YB. Effects of continuous cropping years of lily on soil microbial diversities under greenhouse cultivation. *Chinese Journal of Soil Science*, 2020, 51(2): 343–351. (in Chinese)  
李晶晶, 续勇波. 连作年限对设施百合土壤微生物多样性的影响. 土壤通报, 2020, 51(2): 343–351.
- [39] Wei F, Fan R, Passey T, Hu XP, Xu XM. Identification of candidate soil microbes responsible for small-scale heterogeneity in strawberry plant vigour. *Journal of Integrative Agriculture*, 2016, 15(9): 2049–2058.
- [40] Yu L, Nicolaisen M, Larsen J, Ravnkov S. Molecular characterization of root-associated fungal communities in relation to health status of *Pisum sativum* using barcoded pyrosequencing. *Plant and Soil*, 2012, 357(1/2): 395–405.
- [41] Wang YY, Guo DF. Fungal diversity of saline alkali soil in Yellow River Delta. *Northern Horticulture*, 2016(18): 185–189. (in Chinese)  
王艳云, 郭笃发. 黄河三角洲盐碱地土壤真菌多样性. 北方园艺, 2016(18): 185–189.
- [42] Jin H, Guo HR, Yang XY, Xin AY, Liu HY, Qin B. Effect of allelochemicals, soil enzyme activity and environmental factors from *Stellera chamaejasme* L. on rhizosphere bacterial communities in the northern Tibetan Plateau. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2020: 1–14.
- [43] He YH, Zhou GY, Wang SJ, Li H. Fungal diversity in *Cunninghamia lanceolata* plantation soil. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(10): 2725–2736. (in Chinese)  
何苑隼, 周国英, 王圣洁, 李河. 杉木人工林土壤真菌遗传多样性. 生态学报, 2014, 34(10): 2725–2736.
- [44] Yang XR, Lai XH, OREN A, Jiao ZW, Zhang XF. Bacterial diversity in rhizosphere soil of wild morels in Zhaosu County. *Journal of Microbiology*, 2020, 40(4): 24–33. (in Chinese)

- 杨晓绒, 赖晓辉, 吾尔恩·阿合别尔迪, 焦子伟, 张相锋. 昭苏县野生羊肚菌根际土壤细菌多样性研究. 微生物学杂志, 2020, 40(4): 24–33.
- [45] Wei P, An SZ, Dong YQ, Sun ZJ, Bieerdawulieti·XHY, Li C. A high-throughput sequencing evaluation of bacterial diversity and community structure of the desert soil in the Junggar Basin. *Acta Prataculturae Sinica*, 2020, 29(5): 182–190. (in Chinese)  
魏鹏, 安沙舟, 董乙强, 孙宗玖, 别尔达吾列提·希哈依, 李超. 基于高通量测序的准噶尔盆地荒漠土壤细菌多样性及群落结构特征. 草业学报, 2020, 29(5): 182–190.
- [46] Li M, Yan W. Effects of altitude on rhizosphere fungal community structure of *Pinus tabulaeformis* in Wula Mountain, China. *Mycosystema*, 2019, 38(11): 1992–2006. (in Chinese)  
李敏, 闫伟. 海拔对乌拉山油松根围真菌群落结构的影响. 菌物学报, 2019, 38(11): 1992–2006.
- [47] Zheng SZ, Xiao QL, Wu WD, He YQ. Relationship among microbial groups, enzyme activity and physico-chemical properties under different artificial forestry in hilly red soil. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2008, 16(1): 57–61. (in Chinese)  
郑诗樟, 肖青亮, 吴蔚东, 何圆球. 丘陵红壤不同人工林型土壤微生物类群、酶活性与土壤理化性状关系的研究. 中国生态农业学报, 2008, 16(1): 57–61.
- [48] 郭静. 原始红松林土壤微生物多样性与土壤理化性质、酶活性的关系. 东北林业大学硕士学位论文, 2015.
- [49] Wan ZM, Song CC. Advance on response of soil enzyme activity to ecological environment. *Chinese Journal of Soil Science*, 2009, 40(4): 951–956. (in Chinese)  
万忠梅, 宋长春. 土壤酶活性对生态环境的响应研究进展. 土壤通报, 2009, 40(4): 951–956.
- [50] Ma Y, Zhang JY, Wong MH. Microbial activity during composting of anthracene-contaminated soil. *Chemosphere*, 2003, 52(9): 1505–1513.
- [51] Ding KQ, Luo YM, Liu SL, Li ZG. Preliminary study on the remediation of phenanthrene contaminated soil by ryegrass. *Soils*, 2002, 34(4): 233–236. (in Chinese)  
丁克强, 骆永明, 刘世亮, 李振高. 黑麦草对菲污染土壤修复的初步研究. 土壤, 2002, 34(4): 233–236.
- [52] Yang ZD, Cai LQ, Zhang RZ, Li AZ. Soil enzymatic activities under different tillages practices in dryland. *Chinese Journal of Soil Science*, 2008, 39(3): 514–517. (in Chinese)  
杨招弟, 蔡立群, 张仁陟, 李爱宗. 不同耕作方式对旱地土壤酶活性的影响. 土壤通报, 2008, 39(3): 514–517.
- [53] Wang Y, Liu BY, Liu M, Sun J, Zeng T. Synergistic and inhibitory effects of soil enzymes along desertified gradients of the Zoige alpine meadow. *Pratacultural Science*, 2019, 36(4): 939–951. (in Chinese)  
王毅, 刘碧颖, 刘苗, 孙建, 曾涛. 若尔盖地区沙化草地土壤酶协同和抑制效应. 草业科学, 2019, 36(4): 939–951.
- [54] Hao YL, Zhang R, Sun XF. Study on activity of alkali phosphatase in natural soil. *Science and Technology of Qinghai Agriculture and Forestry*, 2003(2): 13–14. (in Chinese)  
郝玉兰, 张荣, 孙小凤. 自然土壤中碱性磷酸酶活性状况研究. 青海农林科技, 2003(2): 13–14.

# Effects of degraded plant *Stellera chamaejasme* L. on the rhizosphere soil microbial communities in typical alpine grassland, Gansu Province

Jinan Cheng<sup>1</sup>, Hui Jin<sup>2,3\*</sup>, Zhongxiang Xu<sup>4</sup>, Xiaoyan Yang<sup>2</sup>, Bo Qin<sup>2</sup>, Jinlin Zhang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Center of Grassland Microbiome, State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

<sup>2</sup> Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources of Chinese Academy of Sciences, Key Laboratory for Natural Medicines of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

<sup>3</sup> Yantai Zhongke Research Institute of Advanced Materials and Green Chemical Engineering, Yantai 264006, Shandong Province, China

<sup>4</sup> Animal, Plant & Food Inspection Center of Nanjing Customs, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China

**Abstract:** [Objective] *Stellera chamaejasme* L., a perennial herb of *Stellera*, is one of symbolic plants of grassland degradation in China. The purpose of this study was to explore the microbial community structure in the rhizosphere of *Stellera chamaejasme* L. and its relationship with soil environmental factors and enzyme activity in Gansu alpine steppe, so as to provide a theoretical basis for controlling grassland degradation caused by *Stellera chamaejasme* L. invasion. [Methods] The Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology was used to analyze the composition and diversity of rhizosphere soil microbes of *Stellera chamaejasme* L. in various regions of Gansu, and further analyze the relationship between soil physical and chemical properties, enzyme activities and microbial communities. [Results] The results indicated that the pH value of the rhizosphere soil of *Stellera chamaejasme* L. in different areas increased with altitude, showing an upward trend. The content of macro and micronutrient elements in the soil, and the changes of soil enzyme activities were different. At the phylum level, *Ascomycota*, *Zygomycota* and *Basidiomycota* are dominant in rhizosphere soil fungi. *Actinobacteria*, *Proteobacteria* and *Acidobacteria* belong to the dominant groups in rhizosphere soil bacteria. The numbers of fungi and bacteria OTU (Operational taxonomic unit) and Shannon diversity index of altitude 2964 m are higher than the other four sample points (altitude 2373 m, 2608 m, 2733 m, 3280 m). Redundancy analysis showed that the soil microbes in the rhizosphere of *S. chamaejasme* are different and are affected differently by soil environmental factors. The correlation coefficient showed that the diversity of soil fungi is positively correlated with soil potassium, phosphorus, iron, calcium, molybdenum, altitude, soil moisture, and peroxidase, as well as soil temperature, polyphenol oxidase, dehydrogenase, invertase, and alkaline phosphatase is negatively correlated. Soil bacteria are negatively correlated with soil pH, potassium, phosphorus, magnesium, calcium, and soil moisture, and positively correlated with polyphenol oxidase, peroxidase, urease, dehydrogenase, invertase, acid phosphatase, and alkaline phosphatase. [Conclusion] The composition and diversity of the rhizosphere microbial community of *S. chamaejasme* in the alpine grasslands of Gansu Province are obviously different. In addition, the physical and chemical properties of soil have a strong positive correlation with soil fungi, and the soil enzymes have more influence on the composition and diversity of soil bacterial communities.

**Keywords:** *Stellera chamaejasme* L., rhizosphere, microbial community structure, soil environmental factors, high-throughput sequencing

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31772668), by the Project of Chinese Academy of Sciences of Lanzhou Academy Local Cooperation, by the Chinese Academy of Sciences Strategic Priority Science and Technology Special Program Class A (XDA26020201) and by the Science and Technology Innovation Project of Yantai Zhongke Advanced Materials and Green Chemical Industry Technology Research Institute (AMGCE013)

\*Corresponding authors. Tel: +86-931-8913447; Fax: +86-931-8910979; E-mail: Hui Jin, comefine@licp.cas.cn, Jinlin Zhang, jlzhang@lzu.edu.cn

Received: 18 February 2021; Revised: 22 August 2021; Published online: 9 September 2021