

DOI: 10.5846/stxb201709281755

刘海,王玉书,焦玉洁,彭丽媛,郭明全,王勇,陈玉蓝,袁玲.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,2018,38(23):

Liu H, Wang Y S, Jiao Y J, Peng L Y, Guo M Q, Wang Y, Chen Y L, Yuan L. Enzyme activities and bacterial community in the rhizosphere of *Eupatorium adenophorum* under different soil conditions. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(23):

三种土壤条件下紫茎泽兰根际的酶活性及细菌群落状况

刘 海^{1,2}, 王玉书¹, 焦玉洁¹, 彭丽媛¹, 郭明全³, 王 勇³, 陈玉蓝³, 袁 玲^{1,*}

1 西南大学资源环境学院, 重庆 400716

2 贵州省农业科学院农业科技信息研究所, 贵阳 550006

3 四川省烟草公司凉山州公司, 西昌 615000

摘要:紫茎泽兰被列为我国危害最严重的外侵植物,为探索其侵入机制,以四川省凉山州的3种主要土壤—红壤、黄壤和紫色土为研究对象,比较了根际和非根际土壤(距离根系约20 cm)的酶活性及细菌群落。结果表明,尽管土壤类型不同,根际酶活性(过氧化氢酶、酸性磷酸酶、脲酶和蔗糖酶)及微生物量碳氮显著高于非根际,说明紫茎泽兰的根系生命活动促进根际微生物生长繁殖,数量增加,活性增强,有益于土壤养分供应,促进紫茎泽兰生长,提高生存竞争优势。在不同类型的土壤中,紫茎泽兰根际细菌的分类单元数和主成分方差比非根际降低或无显著变化,说明紫茎泽兰对土壤细菌群落的影响因土壤而异。3种土壤的优势菌株种类差异极大,根际20种优势细菌中仅链霉菌1(*Streptomyces* 1)为共有菌株,非根际仅有绿弯菌(*Chloroflexi* KD4-96)为共有菌株,说明紫茎泽兰能在细菌群落不同的土壤上生长,具有极强的适应性。但是,3种土壤的优势细菌均为放线菌门、变形菌门和拟杆菌门,合计占细菌总量的60.69%—78.75%;就同一种土壤而言,根际20种优势细菌中有8—11株与非根际相同。因此,土壤类型是决定细菌群落的主要因素,但因紫茎泽兰入侵而发生一定程度的变化。

关键词:紫茎泽兰;根际;酶活性;细菌;群落结构

Enzyme activities and bacterial community in the rhizosphere of *Eupatorium adenophorum* under different soil conditions

LIU Hai^{1,2}, WANG Yushu¹, JIAO Yujie¹, PENG Liyuan¹, GUO Mingquan³, WANG Yong³, CHEN Yulan³, YUAN Ling^{1,*}

1 College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China

2 Guizhou Agricultural Science and Technology Information Institute, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China

3 Liangshan Branch of Sichuan Tobacco Company, Xichang 615000, China

Abstract: *Eupatorium adenophorum* is a harmful invasive plant in China. To understand the invasion mechanisms, three soils widespread in Liangshan Prefecture, Sichuan Province, including red, yellow, and purple soils with prosperous *E. adenophorum* growth, were collected to study enzyme activities and bacterial communities in the rhizosphere and non-rhizosphere (about 20 cm from the roots). The results showed that enzyme activities such as catalase, acid phosphatase, urease, and sucrase, and microbial biomass carbon and nitrogen in the rhizosphere were significantly higher than that in the non-rhizosphere. Enhanced microbial growth and propagation resulting from *E. adenophorum* root metabolism activities could

基金项目:四川省烟草公司科技项目(201551340027159);中央高校基本科研业务费专项资金(XDJK2017D198);中央高校基本科研业务费专项资金(XDJK2017D204)

收稿日期:2017-09-28; 网络出版日期:2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lingyuanh@aliyun.com

increase the numbers of microbes and stimulate their activities, which could benefit soil nutrient supply, resulting in the prosperous growth and strong competition of *E. adenophorum* in ecosystems. In the three tested soils, bacterial taxon types and principle component variances in the rhizosphere of *E. adenophorum* decreased or changed more narrowly than that in the non-rhizosphere, indicating that the effects of *E. adenophorum* on bacterial community structures varied with different soils. There were also huge differences in predominant bacteria among the three tested soils. Only *Streptomyces*-1 was common in the top 20 predominant bacteria in the rhizosphere of the three studied soils, and *Chloroflexi* KD4-96 was common in the non-rhizosphere. This suggests that *E. adenophorum* could grow well in various soils owing to a strong adaptability to environments. However, Actinobacteria, Proteobacteria, and Bacteroidetes were dominant in all studied soils, accounting for 60.69—78.75% of the total bacteria. In each soil type, 8—11 bacterial strains in top 20 predominant bacteria were commonly present in the rhizosphere or non-rhizosphere of *E. adenophorum*, suggesting that soil types were the main factor that governed bacterial communities, which could be changed to some extent by *E. adenophorum* invasion.

Key Words: *Eupatorium adenophorum*; rhizosphere; enzyme activity; bacteria; community structure

紫茎泽兰(*Eupatorium adenophorum*)属菊科泽兰属杂草,原产中美洲。20世纪40年代从中缅边境传入我国,现已遍布云南、贵州、四川、重庆和广西等西南地区,并以每年30—60 km的速度向我国东部和北部蔓延^[1]。目前,人们采用化学、生物、人工等多种方法防除紫茎泽兰,但效果欠佳,难于有效遏制其蔓延^[2-5]。

土壤是植物生长的场所,二者之间相互作用和影响。根际土壤的理化生物学性质直接影响植物吸收水分、养分和生长发育;另一方面,根系生命活动深刻改变根际环境的物理、化学,尤其是微生物学性质。在紫茎泽兰侵入过程中,土壤自生固氮菌、氨氧化细菌和真菌数量增加,氮磷有效性提高,有益于养分吸收^[6-9]。紫茎泽兰根际还存在拮抗病原微生物的细菌群落,使其免患土传病害^[10]。因此,从土壤微生物的角度看,紫茎泽兰存在自我促进的侵入机制^[11]。但祖元刚等^[12]报道,在紫茎泽兰根际土壤中,真菌和细菌的数量显著低于喜树,其蔓延扩散不改变土壤真菌和细菌的多样性。此外,紫茎泽兰还通过根系分泌、植株残体和降雨淋溶向土壤中大量释放化感物质,如单萜类、倍半萜类、甾体类、三萜类、苯丙素类、黄酮类及各类衍生物等^[13-14]。其中,泽兰酮、香叶醛、香茅醛、香豆素、乙酸龙脑酯和樟脑等含量较高,对微生物具有选择毒性,导致土壤细菌数量减少,真菌和放线菌数量增加^[15-16]。尽管紫茎泽兰分泌的部分化感毒物含有苯、萘、菲、蒽等多环芳烃,但假单胞菌(*Pseudomonas*)、反硝化产碱菌(*Alcaligenes denitrificans*)、诺卡氏菌(*Nocardia*)、解环菌(*Cycloclasticus*)、多色节杆菌(*Arthrobacter polychromogenes*)和乙酸钙不动杆菌(*Acinetobacter calcoaceticus*)等土壤微生物能利用其中的碳、氮而使其降解,故对其生长和繁殖影响不大^[17-18]。由此可见,紫茎泽兰入侵对土壤微生物的影响十分复杂,目前尚无定论。

微生物是土壤的重要组成部分,参与土壤有机质循环,养分转化,结构形成、毒物降解等物理、化学和生物学过程,与土壤健康质量密切相关^[19-21]。紫茎泽兰残体和根系分泌物进入土壤后,可能影响微生物繁殖、生长和新陈代谢,进而改变微生物数量、活性和群落结构。明确紫茎泽兰对土壤微生物的影响有益于揭示其侵入机制,为有效防除紫茎泽兰提供科学依据。四川省凉山州是紫茎泽兰入侵的重灾区,危害面积超过幅员面积的20%。试验选择当地的主要土壤—红壤,黄壤和紫色土,采用常规与高通量测序技术,研究了紫茎泽兰根际和非根际土壤(距离根系约20 cm)的酶活性和细菌群落结构。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究地点位于四川省凉山州西昌市(27°47'—28°02'N,102°10'—102°16'E),属亚热带高原印度洋季风气候,年均日照2423.1 h,年均雨量1013.1 mm,5月中旬—10月中旬的降雨量约占全年的90%,年均蒸发量1945 mm。当地的主要土壤类型为红壤、黄壤和紫色土,是凉山州紫茎泽兰分布最广和面积最大的地区之一。

1.2 样地选择及取样

每年 8 月中旬是当地紫茎泽兰生物量最大的时期。试验于 2016 年 8 月中旬进行,分别选择典型、具有代表性的红壤、黄壤和紫色土(表 1),分别在紫茎泽兰生长茂盛、形成单优种群的每种土壤上,各选择 5 个 10—15 m²的样地,在每个样地内选 5 点用抖根法采集根际土壤,并在紫茎泽兰群体外约 20 cm 处的空地选择 5 点同步采集非根际土壤,充分混匀并拣除杂物,置于冰盒,迅速带回实验室测定微生物量碳氮,剩余土样一分为二,一份风干过筛,备测土壤酶活性(过氧化氢酶、酸性磷酸酶、脲酶、蔗糖酶);另一份-20℃保存,用于细菌高通量测序。

表 1 紫茎泽兰样地的地理信息

Table 1 Geographical information of sample sites with *E. adenophorum* groups

土壤类型 Soil type	样地编号 Site No.	经纬度 Longitude and latitude	海拔/m Elevation	周围植被 Plants near <i>E. adenophorum</i> groups
红壤 Red soil	1	27°47'15"N, 102°15'33"E	1579	撂荒地
	2	27°47'18"N, 102°15'29"E	1588	
	3	27°47'15"N, 102°15'35"E	1602	
	4	27°47'14"N, 102°15'30"E	1593	
	5	27°47'16"N, 102°15'36"E	1582	
黄壤 Yellow soil	6	27°49'59"N, 102°16'13"E	1664	疏林地
	7	27°49'60"N, 102°16'14"E	1650	
	8	27°49'57"N, 102°16'15"E	1670	
	9	27°49'59"N, 102°16'11"E	1677	
	10	27°49'63"N, 102°16'12"E	1666	
紫色土 Purple soil	11	28°02'27"N, 102°10'53"E	1571	荒草地
	12	28°02'25"N, 102°10'52"E	1580	
	13	28°02'29"N, 102°10'53"E	1559	
	14	28°02'30"N, 102°10'56"E	1570	
	15	28°02'28"N, 102°10'55"E	1566	

1.3 测定方法

采用氯仿熏蒸—K₂SO₄浸提,重铬酸钾氧化法和靛酚蓝比色法分别测定土壤微生物量碳、氮^[22]。分别采用靛酚蓝比色法、3,5-二硝基水杨酸比色法、磷酸苯二钠法和高锰酸钾滴定法测定脲酶、蔗糖酶、酸性磷酸酶和过氧化氢酶活性^[17]。其中,过氧化氢酶活性用 20 min 每克土壤分解的过氧化氢(毫升)表示,脲酶、蔗糖酶及酸性磷酸酶活性则依次用 24 h 每克土壤产生的 NH₃-N、葡萄糖和酚(毫克)表示。

取-20℃保存的新鲜土样,参照 454 高通量测序方法,用 E.Z.N.A Soil DNA 试剂盒(OMEGA, USA),提取土壤基因组,纯化后用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 大小及片段完整性, NanoDrop2000 检测 DNA 纯度, TBS-380 检测 DNA 浓度。用 ABI GeneAmp[®] 9700 型 PCR 仪,扩增细菌 16S rDNA V₃—V₄区,引物为 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。PCR 反应体系:FastPfu 缓冲液 4.0 μL、dNTPs (2.5 mmol/L) 2.0 μL、引物 (5 μmol/L) 各 0.8 μL、FastPfu 聚合酶 0.4 μL、BSA 0.2 μL、模板 DNA 10 ng、补 ddH₂O 至 20 μL。PCR 扩增程序:95℃预变性 3 min;95℃变性 30 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共 28 个循环,72℃终延伸 10 min 结束。每个样品重复 3 次,将同一样品的 PCR 产物混合后用 2%琼脂糖凝胶再次电泳检测,用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒 (AXYGEN, USA) 切胶回收 PCR 产物,并用 QuantiFluor[™]-ST 蓝色荧光定量系统定量检测。基因组测序在上海美吉生物科技有限公司进行,测序平台为 454 GS-FLX (454 Life Sciences/Roche Diagnostics, CT, USA)。测序结束后,对有效序列进行去杂、修剪、去除嵌合体序列等过滤处理,得到优化序列。利用 Usearch (vsesion 7.1) 软件对优化序列进行聚类分析,根据序列 97% 的相似性形成操作分类单元 (Operational taxonomic units, OTUs),对比 GenBank (<http://ncbi.nlm.nih.gov>) 中的已知序

列,得到 OTUs 的分类学信息^[23]。

1.4 数据处理

试验数据用 Excel 2007 和 SPSS 19.0 软件进行计算和统计分析,采用配对 *t* 检验法对根际和非根际土之间的微生物量碳、氮含量进行差异性检验 ($P < 0.05$)。利用 16S rDNA 序列数计算细菌群落丰富度^[24]。

$$\text{丰富度指数: } R = N_i / N$$

式中, N 为序列总数, N_i 为细菌 i 的 16S rDNA 读数。

2 结果与分析

2.1 土壤酶活性

由表 2 可知,在紫茎泽兰根际,土壤酶活性显著高于非根际(黄壤和紫色土的过氧化氢酶,以及紫色土的脲酶除外,其增幅未达显著水平),依次增加 2.74%—62.84% (过氧化氢酶)、7.66%—439.68% (磷酸酶)、2.69%—92.73% (脲酶) 和 89.18%—562.68% (蔗糖酶)。

表 2 紫茎泽兰根际和非根际土壤的酶活性

Table 2 Enzyme activities in the rhizosphere and non-rhizosphere of *E. adenophorum*

土壤 Soils		过氧化氢酶 Catalase/ (mg/(g · 20 min))	酸性磷酸酶 Acid phosphatase / (mg/(g · 24h))	脲酶 Urease/ (mg/(g · 24h))	蔗糖酶 Sucrase mg/ (g · 24h)
红壤	根际 Rhizosphere	0.298±0.022 *	5.99±0.14 *	1.41±0.26 *	36.21±4.96 *
Red soil	非根际 Non-rhizosphere	0.183±0.023	1.11±0.11	0.73±0.09	5.46±0.28
黄壤	根际 Rhizosphere	0.310±0.014	5.31±0.20 *	1.42±0.22 *	30.85±5.18 *
Yellow soil	非根际 Non-rhizosphere	0.296±0.021	4.93±0.16	1.07±0.19	16.31±2.70
紫色土	根际 Rhizosphere	0.337±0.011	5.52±0.19 *	1.49±0.18	27.02±4.38 *
Purple soil	非根际 Non-rhizosphere	0.328±0.028	4.73±0.16	1.45±0.21	4.28±0.25

表中数据为平均值±标准差 (n=5)。* 表示根际与非根际间差异达到 5% 显著水平 (*t* 检验)

2.2 土壤微生物量

配对 *t* 检验表明,在紫茎泽兰根际,微生物量碳氮显著高于非根际(红壤微生物量氮除外,其增幅未达显著水平),微生物量碳分别高于非根际 39.60% (红壤)、47.47% (黄壤) 和 26.71% (紫色土);微生物量氮分别高于非根际 18.51% (红壤)、48.13% (黄壤) 和 59.77% (紫色土) (图 1)。

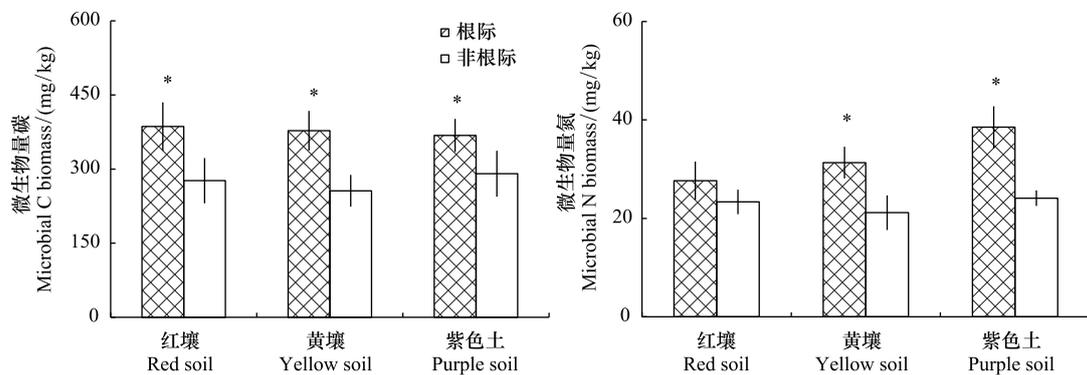


图 1 紫茎泽兰土壤中的微生物量碳、氮

Fig.1 Microbial biomass carbon and nitrogen in soil with *E. adenophorum*

* 表示根际与非根际间差异达到 5% 显著水平, *t* 检验

2.3 土壤细菌

2.3.1 序列数和分类单元数

由表 3 可见,454 高通量测序从 3 种土壤中获得 21284—39974 条 16S rDNA 序列,分别代表 820—1222 个

分类单元。配对 t 检验表明,红壤非根际序列数显著高于根际,紫色土根际序列数显著高于非根际,而黄壤根际与非根际相似;红壤根际细菌分类单元数显著低于非根际,黄壤和紫色土根际与非根际相似。

表 3 紫茎泽兰根际和非根际 16S rDNA 序列数和分类单元数

Table 3 Number of 16S rDNA sequences and operational taxonomic units in rhizosphere and non-rhizosphere soil of *E. adenophorum*

土壤 Soils		序列数 Number of sequences	分类单元 Operational taxonomic units
红壤 Red soil	根际 Rhizosphere	21284±290	820±45
	非根际 Non-rhizosphere	39974±729 *	1222±74 *
黄壤 Yellow soil	根际 Rhizosphere	30654±483	1188±44
	非根际 Non-rhizosphere	29650±832	1187±85
紫色土 Purple soil	根际 Rhizosphere	32455±766 *	1199±84
	非根际 Non-rhizosphere	27610±592	1129±41

表中数据为平均值±标准差($n=5$); * 表示根际与非根际间差异达到 5% 显著水平(t 检验)

2.3.2 主成分分析

图 2 是土壤细菌群落的主成分变异情况。其中, PC1 和 PC2 分别表示土壤细菌群落 41.37% 和 34.47% 的变异度。在红壤和黄壤中,根际细菌群落的主成分方差和在 PC 轴上的得分系数与非根际差异显著,其坐标点处于不同位置,相距较远;而紫色土则相反,根际细菌群落的主成分方差和在 PC 轴上的得分系数与非根际无显著差异,其坐标点相距较近。

2.3.3 细菌门类

由图 3 可见,在紫茎泽兰根际和非根际,细菌种群归属于放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和蓝藻门(Cyanobacteria)等 16 个门类。其中,放线菌门、变形菌门和拟杆菌门合占总量的 60.69%—78.75%。

在根际和非根际之间,细菌门类的丰富度因土壤类型和细菌门类不同而异。从前 3 种优势门类看,红壤的优势细菌依次为放线菌门、拟杆菌门和变形菌门,根际放线菌门的丰富度与非根际相似,变形菌门根际低于非根际,但拟杆菌门则相反;黄壤的优势细菌依次为放线菌门、变形菌门和绿弯菌门,根际放线菌门的丰富度与非根际相似,变形菌门根际低于非根际,但绿弯菌门显著高于非根际;紫色土根际的优势细菌依次为变形菌门、拟杆菌门和放线菌门,非根际的则是变形菌门、拟杆菌门和酸杆菌门,其中变形菌门显著高于拟杆菌门,且二者非根际的丰富度均高于根际。

2.3.4 优势类群

由表 4 可见,在紫茎泽兰根际和非根际土壤中,前 20 种优势细菌的丰富度合计占细菌总量的 17.40%—36.57%。在不同土壤之间,20 种优势细菌中仅链霉菌 1 (*Streptomyces* 1) 为紫茎泽兰根际的共有细菌,绿弯菌 (*Chloroflexi* KD4-96) 为非根际共有细菌。在红壤中,紫茎泽兰根际和非根际有 11 种相同的细菌,它们是黄杆菌 1 (*Flavobacterium* 1)、黄杆菌 2 (*Flavobacterium* 2)、黄杆菌 3 (*Flavobacterium* 3)、慢生根瘤菌 (*Bradyrhizobium*)、芽生球菌 (*Blastococcus*)、节杆菌 (*Arthrobacter*)、链霉菌 1、不可培养鞘脂单胞菌 (uncultured *Kaistobacte* sp.)、不可培养红色杆菌 (uncultured *Solirubrobacterales*)、不可培养间孢囊菌 (uncultured *Intrasporangiaceae*) 和小单孢菌 2 (*Micromonosporaceae* 2)。其中,黄杆菌 1、黄杆菌 3、黄杆菌 2、不可培养鞘脂单胞菌、芽生球菌和不可培养间孢囊菌在根际的丰富度依次高于非根际 6.24、4.48、4.41、1.43、1.38 和 1.11 倍;

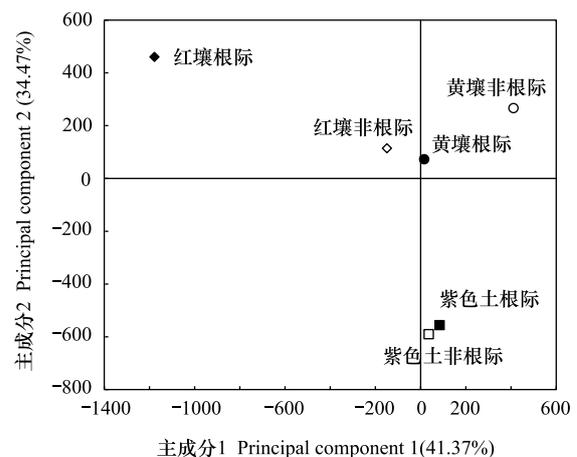


图 2 土壤细菌群落的主成分变异

Fig.2 Principal components variation of soil bacterial community

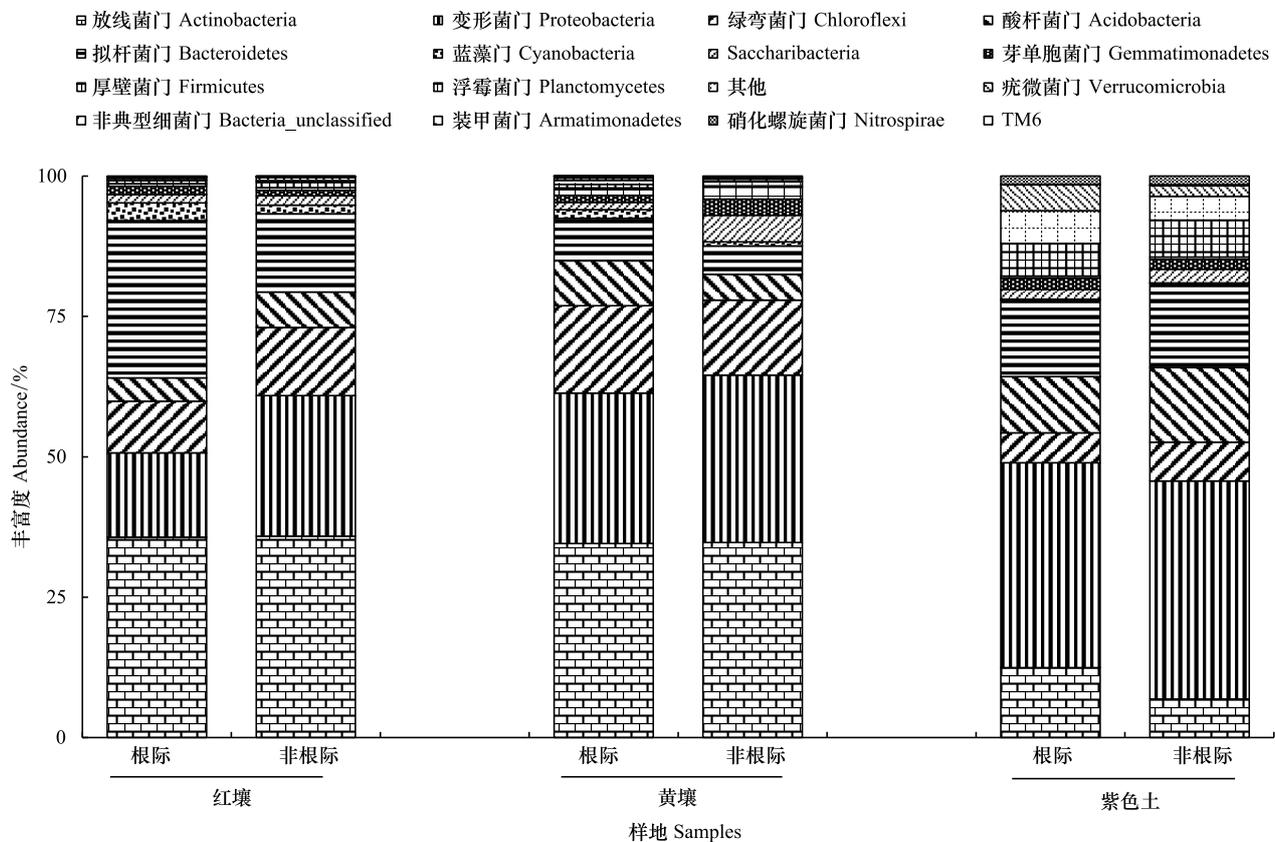


图3 紫茎泽兰根际和非根际土壤中的细菌门类及丰富度

Fig.3 Bacterial phyla and abundances in rhizosphere and non-rhizosphere soil of *E. adenophorum*

而小单孢菌 2、节杆菌、不可培养红色杆菌、慢生根瘤菌和链霉菌在根际的丰富度则不同程度地低于非根际。在黄壤中,紫茎泽兰根际和非根际有 8 种相同的细菌,分别为慢生根瘤菌、链霉菌 1、节杆菌、不可培养鞘脂单胞菌、不可培养生丝微菌(uncultured Hyphomicrobiaceae)、绿弯菌、不可培养间孢囊菌和类诺卡氏菌 1 (*Marmoricola* 1)。其中,慢生根瘤菌、链霉菌 1、不可培养生丝微菌和不可培养鞘脂单胞菌在根际的丰富度分别高非根际 3.46、1.76、1.58 和 1.30 倍;而绿弯菌、不可培养间孢囊菌、类诺卡氏菌 1 和节杆菌在根际的丰富度显著低于非根际。在紫色土中,紫茎泽兰根际与非根际有 10 种相同细菌,依次为不可培养噬纤维菌(uncultured Cytophagaceae)、不可培养待鉴定菌 *Latescibacteria*、变形菌(Proteobacteria)、不可培养浮霉菌(uncultured Planctomycetes)、绿弯菌、不可培养产碱菌(uncultured Alcaligenaceae)、黄杆菌 2、丛毛单胞菌(Comamonadaceae)、黄杆菌(*Flavobacterium enshiense* DK69)和黄杆菌 3。其中,变形菌和不可培养浮霉菌在根际的丰富度分别高于非根际 1.45—1.05 倍;但是,不可培养噬纤维菌和不可培养待鉴定菌 *Latescibacteria* 在根际和非根际的丰富度无显著差异,其余菌属(种)的丰富度根际低于非根际。

3 讨论

土壤酶催化土壤生物化学反应,与土壤养分转化供应密切相关^[17]。脲酶水解尿素,提高土壤氮素的生物有效性;蔗糖酶参与蔗糖降解,关系到土壤有机质矿化;磷酸酶催化有机磷水解,供植物吸收;过氧化氢酶促进过氧化氢分解,涉及到土壤解毒过程^[25]。尽管土壤类型不同,但在紫茎泽兰根际土壤中,上述土壤酶的活性显著高于非根际,类似李会娜等和戴莲等的研究结果^[26-27],说明在紫茎泽兰根际,有机质转化活跃,氮磷有效性较高,有益于增加土壤养分供应,促进植物生长,提高紫茎泽兰生存竞争能力。此外,紫茎泽兰根际的微生物量碳氮显著高于非根际,意味着紫茎泽兰根系生命活动促进微生物生长繁殖,数量增加,活性增强,

表 4 在紫茎泽兰根际与非根际土壤中, 前 20 种优势细菌的组成与丰富度
Table 4 Compositions and abundances of top 20 predominant bacteria in rhizosphere and non-rhizosphere soil of *E. adenophorum*

根际 Rhizosphere	红壤 Red soil			黄壤 Yellow soil			紫色土 Purple soil				
	非根际 Non-rhizosphere	根际 Rhizosphere	非根际 Non-rhizosphere	非根际 Non-rhizosphere	根际 Rhizosphere	非根际 Non-rhizosphere	非根际 Non-rhizosphere	根际 Rhizosphere	非根际 Non-rhizosphere		
菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance		
黄杆菌 1 <i>Flavobacterium</i> 1	8.61±0.91	慢生根瘤菌 <i>Bradyrhizobium</i>	3.02±0.50	慢生根瘤菌 <i>Bradyrhizobium</i>	4.01±0.80	节杆菌 <i>Arthrobacter</i>	3.67±0.74	不可培养脱硫脱硫 弧菌 Uncultured <i>Desulfonitro</i> sp.	2.23±0.69	不可培养噬纤维菌 Uncultured Cytophagaceae	1.41±0.39
黄杆菌 2 <i>Flavobacterium</i> 2	4.54±0.37	链霉菌 1 <i>Streptomyces</i> 1	2.44±0.59	链霉菌 1 <i>Streptomyces</i> 1	2.41±0.56	类诺卡氏菌 2 <i>Marmaricola</i> 2	2.01±0.48	不可培养噬纤维菌 Uncultured Cytophagaceae	1.45±0.40	不可培养待鉴定菌 Uncultured Latescibacteria	1.41±0.31
黄杆菌 3 <i>Flavobacterium</i> 3	3.90±0.59	节杆菌 <i>Arthrobacter</i>	1.53±0.24	节杆菌 <i>Arthrobacter</i>	1.29±0.26	类诺卡氏菌 1 <i>Marmaricola</i> 1	1.50±0.40	不可培养待鉴定菌 Uncultured Latescibacteria	1.43±0.21	黄杆菌 2 <i>Flavobacterium</i> 2	1.38±0.27
慢生根瘤菌 <i>Bradyrhizobium</i>	1.98±0.37	黄杆菌 1 <i>Flavobacterium</i> 1	1.38±0.47	不可培养丙酸杆菌 Uncultured <i>Nocardioides</i>	1.25±0.23	列契瓦尼而氏菌 <i>Lechevalieria</i> <i>aerocolonigenes</i>	1.47±0.36	变形菌 Proteobacteria	1.07±0.14	不可培养亚硝化单 胞菌 1 Uncultured Nitrosomonadaceae 1	1.34±0.15
黄杆菌 4 <i>Flavobacterium</i> 4	1.44±0.32	不可培养红色杆菌 Uncultured Solirubrobacterales	1.16±0.32	小单胞菌 2 Micromonosporaceae 2	1.10±0.24	链霉菌 1 <i>Streptomyces</i> 1	1.37±0.41	不可培养浮霉菌 Uncultured Planctomycetes	0.96±0.15	不可培养亚硝化单 胞菌 4 Uncultured Nitrosomonadaceae 4	1.26±0.22
芽生球菌 <i>Blastococcus</i>	1.34±0.15	不可培养中间普氏 菌 Uncultured <i>Prevotella</i>	1.06±0.29	不可培养鞘脂单 胞菌 Uncultured <i>Kaistobacter</i> sp.	0.96±0.20	丙酸杆菌 1 <i>Nocardioides</i> <i>terrigena</i> 1	1.27±0.30	链霉菌 1 <i>Streptomyces</i> 1	0.84±0.20	黄杆菌 5 <i>Flavobacterium</i> 5	1.13±0.11
节杆菌 <i>Arthrobacter</i>	1.29±0.17	不可培养噬纤维 菌 Uncultured Cytophagaceae	1.03±0.26	不可培养红色杆菌 Uncultured Solirubrobacterales	0.96±0.18	慢生根瘤菌 <i>Bradyrhizobium</i>	1.16±0.13	不可培养酸杆菌 Uncultured <i>Acidobacterium</i>	0.84±0.14	丛毛单胞菌 Comamonadaceae	1.03±0.10
链霉菌 1 <i>Streptomyces</i> 1	1.29±0.18	黄杆菌 2 <i>Flavobacterium</i> 2	1.03±0.09	不可培养生丝微菌 Uncultured Hyphomicrobiales	0.93±0.22	不可培养亚硝化单 胞菌 1 Uncultured Nitrosomonadaceae 1	1.07±0.16	绿弯菌 Chloroflexi KD4-96	0.75±0.08	黄杆菌 DK69 <i>Flavobacterium</i> <i>ensitense</i> DK69	1.01±0.14

续表

红壤 Red soil			黄壤 Yellow soil			紫色土 Purple soil			
根际 Rhizosphere		非根际 Non-rhizosphere	根际 Rhizosphere		非根际 Non-rhizosphere	根际 Rhizosphere		非根际 Non-rhizosphere	
菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance
地中海拟无枝菌 Acidobacterium <i>Anycolatopsis mediterranei</i>	1.26±0.05	绿弯菌 Chloroflexi KD4-96	0.99±0.21	不可培养间胞囊菌 Uncultured Intrasporangiaceae	0.92±0.15	不可培养鞘脂杆 菌 2 Uncultured Sphingobacteriales 2	0.72±0.11	绿弯菌 Chloroflexi KD4-96	0.97±0.17
不可培养鞘脂单 胞菌 Uncultured <i>Kaistobacte</i> sp.	1.20±0.17	小单胞菌 2 Micromonosporaceae	0.99±0.10	芽生球菌 <i>Blastococcus</i>	0.90±0.07	β -变形菌 Beta Proteobacteria	0.70±0.23	黄杆菌 3 <i>Flavobacterium</i> 3	0.93±0.13
鞘藻 <i>Microcoleus</i> sp.	1.14±0.08	类诺卡氏菌 1 <i>Marmoricola</i> 1	0.97±0.19	绿弯菌 Chloroflexi KD4-96	0.86±0.21	不可培养产碱菌 Uncultured Alcaligenaceae	0.70±0.14	不可培养亚硝化单 胞菌 5 Uncultured Nitrosomonadaceae 5	0.88±0.06
不可培养地杆菌 Uncultured <i>Terrabacter</i>	1.10±0.19	芽生球菌 <i>Blastococcus</i>	0.97±0.17	不可培养红游动菌 Uncultured <i>Rhodoplans</i>	0.77±0.13	黄杆菌 2 <i>Flavobacterium</i> 2	0.69±0.14	不可培养亚硝化单 胞菌 6 Uncultured Nitrosomonadaceae 6	0.88±0.08
黄杆菌 5 <i>Flavobacterium</i> 5	1.02±0.08	黄杆菌 3 <i>Flavobacterium</i> 3	0.87±0.13	不可培养产碱菌 Uncultured Anaerolineaceae 1	0.75±0.14	假单胞菌 2 <i>Pseudomonas</i> 2	0.66±0.13	不可培养产碱菌 Uncultured Alcaligenaceae	0.87±0.15
小单胞菌 1 Micromonosporaceae	0.99±0.14	不可培养鞘脂单 胞菌 Uncultured <i>Kaistobacter</i> sp.	0.84±0.24	绿屈挠菌 Kallotenuales	0.74±0.17	不可培养黄色单 胞菌 Uncultured Xanthomonadales	0.65±0.09	不可培养浮霉菌 Uncultured Planctomycetes	0.87±0.22
酸杆菌 1 <i>Blastocatella</i> 1	0.96±0.02	不可培养间胞囊菌 Uncultured Intrasporangiaceae	0.81±0.22	不可培养中间普 氏菌 Uncultured <i>Prenotella</i>	0.65±0.14	新鞘脂菌 <i>Novosphingobium</i>	0.62±0.12	不可培养亚硝化单 胞菌 7 Uncultured Nitrosomonadaceae 7	0.80±0.18
不可培养红色杆菌 Uncultured Solirubrobacterales	0.96±0.14	不可培养产碱菌 Uncultured Anaerolineaceae 1	0.81±0.17	不可培养亚硝化单 胞菌 2 Uncultured Nitrosomonadaceae 2	0.65±0.12	丛毛单胞菌 Comamonadaceae	0.62±0.15	变形菌 Proteobacteria	0.74±0.21

续表

红壤 Red soil			黄壤 Yellow soil			紫色土 Purple soil		
根际 Rhizosphere		非根际 Non-rhizosphere	根际 Rhizosphere		非根际 Non-rhizosphere	根际 Rhizosphere		非根际 Non-rhizosphere
菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)	丰富度/% Abundance	菌属(种) Genera (species)
不可培养间胞囊菌 Uncultured Intrasporangiataceae	0.90±0.11	不可培养间胞囊菌 Uncultured Intrasporangiataceae	0.63±0.21	不可培养酸杆菌 Uncultured Acidimicrobiales	0.62±0.20	黄杆菌 DK69 <i>Flavobacterium</i> <i>enshiense</i> DK69	0.62±0.07	沙雷氏菌 <i>Serratia</i>
微球菌 <i>Micrococcus</i>	0.90±0.20	不可培养生丝微菌 Uncultured Hyphomicrobiales	0.62±0.18	不可培养酸杆菌 Uncultured Acetobacteraceae	0.60±0.12	黄杆菌 3 <i>Flavobacterium</i> 3	0.62±0.09	不可培养黏球菌 2 Uncultured Myxococcales 2
小单胞菌 2 Micromonosporaceae	0.89±0.16	不可培养丙酸杆菌 Uncultured <i>Nocardioles</i>	0.58±0.16	不可培养生丝微菌 Uncultured Hyphomicrobiales	0.59±0.13	不可培养亚硝化单胞菌 3 Uncultured Nitrosomonadaceae 3	0.62±0.16	酸杆菌 2 <i>Blastocatella</i> 2
链霉菌 2 <i>Streptomyces</i> 2	0.87±0.18	不可培养多囊菌 Uncultured Polyangiataceae	0.57±0.09	生丝微菌 Hyphomicrobiales	0.59±0.09	疣微菌 <i>Verrucomicrobia</i>	0.60±0.11	不可培养厌氧菌 Uncultured Anaerolineaceae 1
Σ	36.57		21.54		22.31		17.4	19.82

与李会娜等的研究结果相似^[28],但不同于 Sun 等的报道^[29]。土壤酶来源于有机肥、动物、植物和微生物等,其中微生物是土壤酶的重要来源之一^[30-31]。因此,在本项研究中,紫茎泽兰根际微生物量提高,可增加酶分泌量,增强土壤酶活性。

红壤根际的 16S rDNA 分类单元数显著低于非根际,黄壤和紫色土的根际与非根际相似;主成分分析表明,在红壤和黄壤根际土壤中,细菌群落的主成分方差和在 PC 轴上的得分系数与非根际差异显著,其坐标点处于不同位置,而紫色土根际和非根际则相反。说明紫茎泽兰对根际细菌种群数量和结构的影响因土壤类型不同而异,对红壤和黄壤细菌群落结构的影响较大,但对紫色土的影响较小。众所周知,土壤类型不同,微生物种群结构也不一样^[32]。微生物种类不同,对各类化学物质如抗菌素、重金属等的敏感性和抗性也存在显著差异^[33-34]。例如,水稻细菌性条斑病菌^[35]、枯草杆菌^[36]对链霉素敏感,但交替单胞菌^[37]、酪酸梭菌^[38]的敏感性较差;贫营养细菌^[39]、费氏弧菌^[40]对重金属敏感,但弗兰克氏菌^[41]、慢生根瘤菌^[42]的敏感性差。紫茎泽兰根系分泌的化感物质内含苯、萘、菲、蒽等多环芳烃等结构,故对根际细菌群落结构的影响表现出土壤类型间的差异和多样性,由此解释了前人有关报道不尽相同的原因^[8, 10, 15],深入研究紫茎泽兰侵入与不同土壤细菌群落演变的生理生态学意义很有必要。此外,尽管红壤、黄壤和紫色土的细菌群落不同,但紫茎泽兰表现出极强的适应性,均可旺盛生长,排除其他植物,形成单优种群。

在不同类型土壤之间,优势菌株的群落结构的差异极大。在根际的 20 种优势细菌中,仅链霉菌 1 (*Streptomyces* 1) 相同,在非根际只有绿弯菌(*Chloroflexi* KD4-96)为共有菌株,意味着紫茎泽兰具有极强的适应性,能在细菌群落结构不同的土壤上生长。但就同一种土壤而言,紫茎泽兰根际和非根际细菌的优势门类均为放线菌、变形菌和拟杆菌,合计占总量的 60.69%—78.75%;在前 20 种优势细菌中,根际和非根际之间有 8—11 株相同,也表现出较高的相似性。说明土壤可能是决定根际微生物种群的重要因素,但因紫茎泽兰根系生命活动而发生不同程度地变化。此外,放线菌门、变形菌门和拟杆菌门中,很多微生物参与土壤有机质矿化,具有分解纤维素、半纤维素、蛋白质和木质素等功能^[43],加之当地气候属于温暖湿润的亚热带气候,这可能是供试红壤、黄壤和紫色土有机质含量较低的重要原因之一。

总之,在紫茎泽兰根际,土壤酶活性及微生物量碳氮含量显著高于非根际;紫茎泽兰能在细菌群落结构不同的土壤上生长,表现出极强的适应性,对根际细菌群落结构的影响因土壤类型不同而异;土壤是决定细菌群落的主要因素,但紫茎泽兰侵入会导致其发生一定程度的变化。

参考文献 (References):

- [1] 徐海根, 强胜. 中国外来入侵生物. 北京: 科学出版社, 2011.
- [2] Jiang M X, Zhan A B, Guo H, Wan F H. Research and management of biological invasions in China: future perspectives//Wan F B, Jiang M X, Zhan A B, eds. *Biological Invasions and Its Management in China*. Singapore: Springer, 2017: 239-247.
- [3] Wang C, Lin H L, Feng Q S, Jin C Y, Cao A C, He L. A new strategy for the prevention and control of *Eupatorium adenophorum* under climate change in China. *Sustainability*, 2017, 9(11): 2037.
- [4] 朱先洲. 入侵植物紫茎泽兰资源化利用研究进展. *湖北农业科学*, 2012, 51(14): 2905-2907, 2917-2917.
- [5] 李霞霞, 张钦弟, 朱珣之. 近十年入侵植物紫茎泽兰研究进展. *草业科学*, 2017, 34(2): 283-292.
- [6] Zhu X Z, Li Y P, Feng Y L, Ma K P. Response of soil bacterial communities to secondary compounds released from *Eupatorium adenophorum*. *Biological Invasions*, 2017, 19(5): 1471-1481.
- [7] Zhou P, Tang T X, Zhao P, Chen J W. Soil microbes and successful invasions of an exotic weed *Eupatorium adenophorum* L. *Pakistan Journal of Botany*, 2016, 48(2): 753-762.
- [8] 牛红榜, 刘万学, 万方浩. 紫茎泽兰 (*Ageratina adenophora*) 入侵对土壤微生物群落和理化性质的影响. *生态学报*, 2007, 27(7): 3051-3060.
- [9] 于文清, 刘万学, 桂富荣, 刘文志, 万方浩, 张利莉. 外来植物紫茎泽兰入侵对土壤理化性质及丛枝菌根真菌 (AMF) 群落的影响. *生态学报*, 2012, 32(22): 7027-7035.
- [10] 牛红榜, 刘万学, 万方浩, 刘波. 紫茎泽兰根际土壤中优势细菌的筛选鉴定及拮抗性评价. *应用生态学报*, 2007, 18(12): 2795-2800.
- [11] 万方浩, 刘万学, 郭建英, 强胜, 李保平, 王进军, 杨国庆, 牛红榜, 桂富荣, 黄文坤, 蒋智林, 王文琪. 外来植物紫茎泽兰的入侵机理与控制策略研究进展. *中国科学: 生命科学*, 2011, 41(1): 13-21.
- [12] 祖元刚, 高崇洋, 王文杰, 杨逢建, 刘英, 王敏, 赵阳国. 喜树替代紫茎泽兰过程中根际微生物群落特征. *中国科学 C 辑 生命科学*,

- 2006, 36(5): 459-467.
- [13] Zhu X Z, Li Y P, Feng Y L, Ma K P. Response of soil bacterial communities to secondary compounds released from *Eupatorium adenophorum* [J]. *Biological Invasions*, 2017, 19(5): 1471-1481.
- [14] Dong L M, Zhang M, Xu Q L, Zhang Q, Luo B, Luo Q W, Liu W B, Tan J W. Two new thymol derivatives from the roots of *Ageratina adenophora*. *Molecules*, 2017, 22(4): 592.
- [15] 朱珣之, 李强, 李扬苹, 韩洪波, 马克平. 紫茎泽兰入侵对土壤细菌的群落组成和多样性的影响. *生物多样性*, 2015, 23(5): 665-672.
- [16] Li Y P, Feng Y L, Kang Z L, Zheng Y L, Zhang J L, Chen Y J. Changes in soil microbial communities due to biological invasions can reduce allelopathic effects. *Journal of Applied Ecology*, 2017, 54(5): 1281-1290.
- [17] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 中国农业出版社, 1986.
- [18] Lim Y W, Kim B K, Kim C, Jung H S, Kim B S, Lee J H, Chun J. Assessment of soil fungal communities using pyrosequencing. *The Journal of Microbiology*, 2010, 48(3): 284-289.
- [19] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: A review. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29(2): 111-129.
- [20] 罗希茜, 郝晓晖, 陈涛, 邓婵娟, 吴金水, 胡荣桂. 长期不同施肥对稻田土壤微生物群落功能多样性的影响. *生态学报*, 2009, 29(2): 740-748.
- [21] 陈丹梅, 段玉琪, 杨宇虹, 晋艳, 黄建国, 袁玲. 长期施肥对植烟土壤养分及微生物群落结构的影响. *中国农业科学*, 2014, 47(17): 3424-3433.
- [22] Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E. Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(11): 3605-3617.
- [23] Schloss P D, Westcott S L, Ryabin T, Hall J R, Hartmann M, Hollister E B, Lesniewski R A, Oakley B B, Parks D H, Robinson C J, Sahl J W, Stres B, Thallinger G G, Van Horn D J, Weber C F. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7537-7541.
- [24] Herlemann D P R, Lundin D, Labrenz M, Jürgens K, Zheng Z L, Aspeborg H, Andersson A F. Metagenomic *de novo* assembly of an aquatic representative of the verrucomicrobial class *spartobacteria*. *mBio*, 2013, 4(3): e00569-12.
- [25] 周礼恺. 土壤酶学. 北京: 科学出版社, 1987.
- [26] 李会娜, 刘万学, 万方浩. 杀真菌剂对入侵植物紫茎泽兰与伴生植物生长的反馈作用. *中国农业科学*, 2011, 44(11): 2269-2275.
- [27] 戴莲, 李会娜, 蒋智林, 万方浩, 刘万学. 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*, 2012, 21(2): 237-242.
- [28] 李会娜, 刘万学, 万方浩. 紫茎泽兰和黄顶菊入侵对土壤微生物群落结构和早稻生长的影响. *中国生态农业学报*, 2011, 19(6): 1365-1371.
- [29] Sun X, Gao C, Guo L D. Changes in soil microbial community and enzyme activity along an exotic plant *Eupatorium adenophorum* invasion in a Chinese secondary forest. *Chinese Science Bulletin*, 2013, 58(33): 4101-4108.
- [30] Dick R P. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health//Pankhurst C, Doube B, Gupta V, eds. *Biological Indicators of Soil Health*. New York: CAB International, 1997, 9: 121-156.
- [31] Alkorta I, Aizpurua A, Riga P, Albizu I, Amézaga I, Garbisu C. Soil enzyme activities as biological indicators of soil health. *Reviews on Environmental Health*, 2003, 18(1): 65-73.
- [32] 郝余祥. 土壤微生物. 北京: 科学出版社, 1982.
- [33] 王金花, 朱鲁生, 王军, 谢慧. 4种典型抗生素对土壤微生物呼吸的影响. *农业环境科学学报*, 2011, 30(11): 2232-2236.
- [34] 滕应, 黄昌勇, 骆永明, 李振高. 重金属复合污染下红壤微生物活性及其群落结构的变化. *土壤学报*, 2005, 42(5): 819-828.
- [35] Pan X Y, Xu S, Wu J, Luo J Y, Duan Y B, Wang J X, Zhang F, Zhou M G. Screening and characterization of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains with resistance to pheazine-1-carboxylic acid. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2018, 145: 8-14.
- [36] 童克忠, 李明凤. 枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)链霉素座位的自发突变. *微生物学报*, 1965, 11(4): 544-553.
- [37] Hennon G M M, Morris J J, Haley S T, Zinser E R, Durrant A R, Entwistle E, Dokland T, Dyhrman S T. The impact of elevated CO₂ on *Prochlorococcus* and microbial interactions with 'helper' bacterium *Alteromonas*. *The ISME Journal*, 2018, 12: 520-531.
- [38] 傅思武, 邝欣, 王棣, 吴勇杰, 陆俭, 吕存女, 孟筱琦. 酪酸梭菌-婴儿型双歧杆菌二联益生菌制剂的初步研制. *兰州医学院学报*, 2000, 26(4): 13-15.
- [39] Wyszowska J, Boros-Lajsner E, Borowik A, Kucharski J, Baćmaga M, Tomkiel M. Changes in the microbiological and biochemical properties of soil contaminated with zinc. *Journal of Elementology*, 2017, 22(2): 437-451.
- [40] 陈继红, 王富生, 舒易强, 杜丛伟. 发光细菌法在水质综合毒性在线检测中的应用. *环境工程学报*, 2013, 7(10): 4144-4148.
- [41] 何新华, 陈力耕, 胡西琴, 郭长禄. 杨梅根瘤 *Frankia* 菌对重金属的抗性. *水土保持学报*, 2003, 17(3): 127-129, 143-143.
- [42] 梁建强, 段晓丹, 崔广玲, 唐静, 朱闻斐, 韦革宏. 西北地区金属尾矿地根瘤菌的重金属抗性及其系统发育研究. *农业环境科学学报*, 2009, 28(6): 1120-1126.
- [43] 聂阳意, 王海华, 李晓杰, 任寅榜, 金昌善, 徐自坤, 吕茂奎, 谢锦升. 武夷山低海拔和高海拔森林土壤有机碳的矿化特征. *应用生态学报*, 2018, 29(3): 748-756.