• 研究报告 •

三叶鬼针草与不同本地植物竞争对土壤微生物和土壤养分的影响

闫 静¹ 张晓亚¹ 陈 雪² 王 月¹ 张凤娟^{1*} 万方浩^{3*}¹ (河北大学生命科学学院, 河北保定 071002)² (河北师范大学汇华学院, 石家庄 050091)³ (中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 入侵植物三叶鬼针草(*Bidens pilosa*)对我国农牧业生产造成了重大的损失。本文主要研究三叶鬼针草入侵与不同本地植物竞争对土壤微生物群落结构和土壤养分的影响。利用磷脂脂肪酸方法(phospholipid fatty acids, PLFAs)测定土壤微生物群落组成, 同时测定土壤养分和酶活性, 并利用Canoco4.5软件分析了土壤微生物、土壤养分和土壤酶活性的相关性。结果表明: (1)三叶鬼针草对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、丛枝菌根真菌等土壤微生物具有较强的聚集能力, 且其根际土壤聚集的微生物类群与本地植物种类密切相关。(2)三叶鬼针草入侵显著增加了入侵地土壤的有机碳含量, 降低了铵态氮的含量; 土壤中的速效钾、速效磷和硝态氮的含量则与本地植物种类密切相关。(3)相关性分析表明, 16:00和16:1 ω 5c对铵态氮的含量影响较大, 而三叶鬼针草入侵地16:00和16:1 ω 5c的含量显著高于裸土对照, 进而推测这一状况导致了铵态氮含量的降低。(4) 15:1 anteiso A和18:1 ω 5c与速效钾的含量呈显著正相关, 而其含量在狗尾草(*Setaria viridis*)中显著高于其他处理, 三叶鬼针草与狗尾草混种处理中土壤中速效钾的含量高于其他处理。以上结果说明, 三叶鬼针草通过改变土壤微生物群落结构影响了土壤酶活性和土壤养分, 且这种改变与入侵地本地植物种类有关。

关键词: 三叶鬼针草; 本地植物; 土壤微生物; 土壤养分; 土壤酶活性

Effects of rhizosphere soil microorganisms and soil nutrients on competitiveness of *Bidens pilosa* with different native plants

Jing Yan¹, Xiaoya Zhang¹, Xue Chen², Yue Wang¹, Fengjuan Zhang^{1*}, Fanghao Wan^{3*}¹ College of Life Sciences, Hebei University, Baoding, Hebei 071002² Huihua College of Hebei Normal University, Shijiazhuang 050091³ Institute of Plant Protection (South Campus), Chinese Academy of Agricultural Sciences, State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Beijing 100193

Abstract: The invasive plant *Bidens pilosa* has caused losses to agriculture and livestock. We studied the effects of *B. pilosa* on rhizosphere soil microorganisms and soil nutrients of different native species. The soil microbial species were examined using phospholipid fatty acid (PLFA), and the concentrations of soil nutrients and the activities of soil enzyme activities were measured. Correlation analysis of soil microbial, soil nutrients, and soil enzyme activities was used in Canoco 4.5. Results showed that *B. pilosa* had a strong ability to aggregate soil microorganisms such as gram-positive bacterium (G^+), gram-negative bacterium (G^-), and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). The microbial species in the rhizosphere soil of *B. pilosa* was closely related to the native plant species. *Bidens pilosa* significantly increased the concentration of organic carbon, while decreasing the concentration of ammonium. The concentrations of available potassium, available phosphorus, and nitrate were strongly related to the native plant species. Correlation analysis showed that 16:00 and 16:1 ω 5c had a significant influence on the concentration of ammonium. The concentrations of

收稿日期: 2015-12-23; 接受日期: 2016-05-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31172000); 河北省自然科学基金项目(C2015201021; C2015201241)

* 共同通讯作者 Co-authors for correspondence. E-mail: fengjuanzhang@126.com; wanfanghaocaas@163.com

16:00 and 16:1 ω 5c in the rhizosphere soil of *B. pilosa* were significantly higher than that in the soil of the control, which may lead to the decrease of the concentration of ammonium in the rhizosphere soil of *B. pilosa*. The concentrations of 15:1 anteiso A and 18:1 ω 5c were significantly positively correlated with the concentration of available potassium, and its content were significantly greater than the other treatments in *Setaria viridis*. The concentration of available potassium in the competition treatment between *B. pilosa* and *S. viridis* was significantly higher than the other treatments. The above results show that the invasive plant *B. pilosa* affected soil enzyme activities and soil nutrients via altering microbial communities, and these changes impacted the native plant species.

Key words: *Bidens pilosa*; native plant species; soil microorganisms; soil nutrient; soil enzymy activity

外来植物的入侵可导致入侵地土壤微生物结构和功能以及土壤养分的改变(Callaway et al, 2004)。目前许多研究主要集中于入侵植物如何导致土壤微生物的变化, 以及这种变化对外来植物入侵的反馈作用(Belnap & Philips, 2001; Klironomos, 2002; Vries et al, 2012)。通过我们前期的研究获知不同入侵地对入侵植物的抵御能力不同(贾月月等, 2015), 这可能与入侵地的非生物学特性(如土壤的 pH 值和养分)和生物学特性(如入侵地植物和动物种类等)有关, 其中植物种类被认为是土壤微生物变化的重要驱动力(Bardgett et al, 2005; Cantarel et al, 2015)。我们推测入侵植物入侵地的本地植物种类与土壤微生物和土壤养分的变化密切相关。研究入侵植物与不同本地植物竞争生长过程中根际土壤微生物和土壤养分的变化, 有助于从土壤微生物的角度研究不同本地植物对入侵植物的抵御能力及相关作用机理, 也为竞争替代植物的筛选提供理论依据。

三叶鬼针草(*Bidens pilosa*)为菊科鬼针草属草本植物, 原产于美洲, 由于其强烈的入侵性, 目前已广泛分布于我国, 对入侵地农、林、牧业生产和生物多样性造成严重威胁(杜凤移等, 2007)。已有研究表明, 三叶鬼针草可通过改变土壤微生物群落结构来达到成功入侵(于兴军等, 2005)。一方面, 土壤微生物的改变与入侵植物的入侵程度有关(严琦等, 2009)。如陈亮等(2011)采集了广州郊区三叶鬼针草不同入侵程度的土壤, 发现不仅土壤细菌多样性发生改变, 而且细菌的优势种群也发生了变化。另一方面, 土壤微生物的改变也与入侵地植物种类有关(Ben & Kris, 2015)。许多研究表明, 土著植物是决定其对入侵植物生态防御能力高低的重要因素(Mokany et al, 2008; Godoy et al, 2011, 2012), 入侵地本地植物种类是影响土壤微生物和土壤养分变化的重要因素, 但是到目前为止, 有关三叶鬼针草

与不同本地植物竞争生长过程中对土壤生态的影响鲜有报道。本研究拟采用野外同质园实验, 系统研究三叶鬼针草与不同本地植物竞争生长过程对土壤微生物群落结构和土壤养分的影响, 以期为揭示三叶鬼针草的入侵机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验区概况

实验地点坐落于河北省廊坊市中国农业科学院廊坊科研中试基地。土壤类型为棕色砂质粘壤土。狗尾草(*Setaria viridis*)、藜(*Chenopodium serotinum*)和草木樨(*Melilotus suaveolens*)是三叶鬼针草入侵地常见伴生种, 且3种植物属于不同的功能类型: 狗尾草属于单子叶菌根植物, 藜属于双子叶非菌根植物, 草木樨为双子叶固氮植物。

1.2 实验样地设计

样地设置了8种处理, 包括三叶鬼针草单种、狗尾草单种、藜单种、草木樨单种、三叶鬼针草与狗尾草混种、三叶鬼针草和藜混种以及三叶鬼针草和草木樨混种和裸土对照, 其中裸土对照为没有任何植物生长的样方。每种处理设置5个重复, 一共40个样方, 大小均为3 m $\times$ 2 m (长 $\times$ 宽), 间距为1 m, 以防止边缘效应。长期定位实验开始于2008年, 样方设置随机分布。每个样方中播种100粒种子, 混种中三叶鬼针草与本地植物的比例为1:1。每2周进行人工除草, 保持每样方植物种类不变。每年秋天拔除植物, 第二年靠其自身种子自然繁衍生长。经过7年生长后, 2014年8月对所有样方的植被进行调查及土样采集。由于每样方植被密度较大, 所以选择样方内具有代表性的小面积(0.5 m $\times$ 0.5 m)样方统计植物数目。植物生长情况见表1。

1.3 根际土样的采集和保存

2014年8月份采集各小区土样, 每个小区沿对

表1 不同处理样方的植物生长状况(平均值 ± 标准差)。B: 三叶鬼针草; S: 狗尾草; C: 藜; M: 草木樨。
Table 1 Plant growth in different plots (mean ± SD). B, *Bidens pilosa*; S, *Setaria viridis*; C, *Chenopodium serotinum*; M, *Melilotus suaveolens*.

处理 Treatment	植物 Plant	密度 Density (inds./m ²)	生物量 Biomass (kg/m ²)
B	B	274.00 ± 62.12	0.92±0.22
B+S	B	180.00 ± 72.04	0.48 ± 0.16
	S	56.00 ± 35.68	0.17 ± 0.05
B+C	B	148.00 ± 36.00	0.43 ± 0.11
	C	208.00 ± 9.64	0.59 ± 0.09
B+M	B	144.00 ± 36.00	0.51 ± 0.01
	M	192.00 ± 6.08	0.55 ± 0.01

角线随机采取生长状况良好的5株植物的根际土壤, 入侵植物样地内采集入侵植物根际土, 入侵植物和本地植物混种样地采集对角线上入侵植物根际土壤。清除枯枝落叶及表层土壤, 用土钻(直径3 cm)采集距地表0–15 cm处的根际土, 将同一小区的5株植物的根际土壤混合为1个土样。对照组的土壤采集也采用沿对角线随机选取5个点, 然后按照植物根际土的采集方法进行采集。将采集的土壤样品放入自封袋后进行编号立即带回实验室过2 mm筛(国家标准筛)后储存在–20℃冰箱内以备后续实验使用。将采集的土样分成2份: 1份用于测定土壤微生物磷脂脂肪酸含量; 1份用于测定土壤酶活性和土壤养分。

1.4 土壤微生物群落结构的测定和分析

土壤微生物磷脂脂肪酸的提取和分析参考Frostegård和Bååth (1996)和Kourtev等(2002)的方法。具体步骤为: 取4 g土样于50 mL离心管中, 加入20 mL 0.2 M的KOH-CH₃OH混合溶液(11.2 g KOH溶于1 LCH₃OH), 振荡提取脂类, 加入19:0甲基酯内标, 利用气相色谱(Agilent 6890N)分析各种脂肪酸的含量。GC-MS的测定条件为: 二阶程序升高柱温, 以5℃/min的速率使柱温由170℃升至260℃, 而后以40℃/min的速度升温至310℃, 维持90 s; 汽化室温度为250℃, 检测器温度为300℃; 载气为H₂ (2 mL/min), 尾吹气为N₂ (30 mL/min); 柱前压10.00 psi (1 psi = 6.895 kPa); 进样量1 μL, 分流比为100/1。磷脂脂肪酸成分分析采用美国MIDI公司生产的基于细菌细胞脂肪酸成分鉴定的Sherlock MIS

4.5系统。根据加入内标19:0的量可以计算出土壤中微生物的PLFAs的量。通常11:0 2OH、14:0 anteiso、15:0 anteiso、16:0 anteiso、17:0 anteiso、14:0 iso、15:0iso、16:0 iso、17:0 iso表征革兰氏阳性菌(G⁺), 12:0 2OH、12:0、14:0、17:0、18:0、16:0 Nalcohol、i15:3OH、18:1 ω5c表征革兰氏阴性菌(G⁻)(Drijber et al, 2000; Hill et al, 2000), 18:1 ω9c、18:2 ω6,9c表征真菌(F)(Bååth et al, 1998), 16:1 ω5c表征丛枝菌根真菌(AMF)(Olsson & Alström, 2000), 14:1 ω5c、17:0 10-methyl表征放线菌(A), 20:4 ω6,9,12,15c表征原生生物(P)(Kourtev et al, 2002)。

1.5 土壤养分和土壤酶活性的测定

土壤有机碳测定采用K₂Cr₂O₇-H₂SO₄比色标曲法: 以每克土壤中含有机碳的mg数表示; 速效钾采用1 M中性醋酸铵(NH₄OAC)浸提, 浸提用量10 mL/g, 用火焰光度计测定, 结果以每克土壤中速效钾含有的微克数表示; 有效磷采用0.5 M NaHCO₃浸提–钼锑抗比色法, 结果以每克土壤中含有效磷的微克数(鲍士旦, 2000)表示; 土壤硝态氮和铵态氮含量采用SmartChem全自动间断化学分析仪进行测定, 结果以每克土壤中铵态氮、硝态氮含量的毫克数表示(周晓光, 2010)^①。土壤酶活性采用分光光度计比色法测定: 蔗糖酶采用3,5-二硝基水杨酸比色法, 以每克土壤中含葡萄糖的毫克数表示; 脲酶采用苯酚钠–次氯酸钠比色法, 酶活性以每克土壤中含铵态氮的毫克数表示; 酸性磷酸酶和碱性磷酸酶均采用磷酸苯二钠比色法, 土壤磷酸酶活性以1 g 土样1 h催化PNPP分解生成对硝基苯酚的(转换为Gly)微克数表示(关松荫, 1986)。

1.6 数据处理与分析

实验数据采用平均值±标准差的形式表示, 用Excel统计作图。采用SPSS19.0对各处理中PLFAs含量进行单因素方差分析, Duncan多重比较(P = 0.05)。利用SPSS19.0对各样地土壤微生物磷脂脂肪酸群落组成进行主成分分析(PCA), 计算各因子的贡献率, 利用主成分分析因子的载荷量算出各因子作用的大小, 以确定它们的权重。采用Canoco 4.5软件对土壤微生物群落、土壤养分和酶活性三者进行典范对应分析(Canoninal Correspondence Analysis, CCA), 以土壤微生物作为环境变量, 土壤理化

① 周晓光 (2010) 有机和常规蔬菜生产系统土壤可溶性氮素的分析比较. 硕士学位论文, 上海交通大学, 上海.

性质、土壤酶活性数据作为典范函数变量进行典范对应分析,确定土壤微生物与各因子之间的关系。其中箭头所处的象限表示环境因子与排序轴之间的正负相关性,箭头连线与排序轴的夹角代表着某个土壤因子与排序轴的相关性大小,夹角越小,相关性越高。

2 结果

2.1 本地植物种类对三叶鬼针草根际土壤微生物的影响

2.1.1 土壤微生物PLFAs总量的变化

三叶鬼针草入侵显著提高了入侵地土壤微生物的PFLAs总量,其中三叶鬼针草与狗尾草混种处理(B+S)中土壤微生物PLFAs总量显著高于其他两种混种处理(图1)。

图1 不同处理三叶鬼针草根际土壤微生物PLFAs总量的变化($P<0.05$)。CK: 裸土, 其他各处理的代号见表1。

Fig. 1 Change of total PLFAs from rhizosphere soils under *Bidens pilosa* individuals in different treatments ($P<0.05$). CK, Bare soil. Other treatments correspond to those in Table 1.

2.1.2 土壤微生物不同类群PLFAs量的变化

由表2可知,三叶鬼针草与狗尾草混种处理(B+S)中放线菌、格兰氏阴性菌、格兰氏阳性菌的含量和G⁻/G⁺值显著高于其他处理。三叶鬼针草单种处理(B)中革兰氏阴性菌显著高于三叶鬼针草与藜混种处理(B+C)和三叶鬼针草与草木樨混种处理(B+M)(表2)。

2.1.3 土壤微生物群落结构的主成分分析

图2a为三叶鬼针草不同处理根际土壤微生物

群落的主成分分析结果,主成分1和2的贡献率分别为52.43%和10.66%,二者的累计贡献率为63.09%。三叶鬼针草与狗尾草混种处理(B+S)的土壤微生物群落结构在主成分1的正方向,主成分2的原点附近;三叶鬼针草与藜混种处理(B+C)和三叶鬼针草与草木樨混种处理(B+M)和三叶鬼针草单种处理(B)在主成分1和主成分2的坐标原点附近,且三者有重叠,说明3种处理之间的微生物群落结构差异性不大,但它们都与三叶鬼针草和狗尾草混种处理(B+S)差异较大。载荷分析表明15:0 anteiso、17:0、18:0、17:0 10-methyl等对主成分1的贡献较大,13:0 2OH、20:0 iso和11:0 2OH对主成分2的贡献较大,结合图2a可知11:0 2OH在三叶鬼针草和藜混种处理(B+C)中占优势,体现为B+C处理相比于其他处理往主成分2的正方向移动;16:1 ω5c、15:0 anteiso、17:0、和18:0等是三叶鬼针草和狗尾草混种处理(B+S)中的优势脂肪酸,其含量显著高于其他处理,体现为B+S处理相比于其他处理往主成分1的正方向移动。

2.2 本地植物种类对土壤养分和土壤酶活性的影响

三叶鬼针草入侵显著增强了入侵地土壤中有有机碳、速效磷和硝态氮的含量,提高了pH值并降低了铵态氮的含量(表3)。在不同的本地植物与鬼针草混种处理中,土壤中的速效钾、速效磷和硝态氮的含量与本地植物种类相关:三叶鬼针草与狗尾草混种(B+S)显著增加了土壤中速效钾和速效磷的含量并提高了土壤的pH值;三叶鬼针草与藜混种(B+C)显著降低了土壤速效钾含量,提高了土壤pH值和硝态氮含量;三叶鬼针草与草木樨混种(B+M)显著降低了速效钾含量,提高了速效磷含量(表3)。

与裸土对照相比,三叶鬼针草入侵地土壤中蔗糖酶、脲酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的活性显著提高,且在三叶鬼针草的单种处理中脲酶和碱性磷酸酶的活性显著高于三叶鬼针草与3种本地植物的混种处理,三叶鬼针草与藜混种处理中蔗糖酶和酸性磷酸酶的活性显著高于其他处理(表4)。

2.3 不同处理三叶鬼针草根际土壤微生物与土壤养分、土壤酶活性的相关性分析

图3为三叶鬼针草入侵地PLFAs与土壤养分的典范对应分析(CCA),前两个排序轴的贡献率分别为87.3%和95.6%,能够较全面地反映出PLFAs与土壤养分之间的相关性。其中速效钾和速效磷与

表2 不同处理对三叶鬼针草根际不同类群微生物PLFAs量的影响(单位 $\mu\text{g/g}$) (平均值 $\pm$ 标准差,)。A: 放线菌; AMF: 丛枝菌根真菌; F: 真菌; G⁻: 格兰氏阴性菌; G⁺: 格兰氏阳性菌; P: 放线菌; F/B: 真菌和细菌的比值; G⁻/G⁺: 革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的比值。CK: 裸土, 各处理的代号见表1。不同字母表示多重比较差异显著($P < 0.05$)

Table 2 The change of PLFAs extracted from rhizosphere soils of *Bidens pilosa* in different treatments (unit $\mu\text{g/g}$) (mean $\pm$ SD, $P < 0.05$). A, Actinomycetes; AMF, Arbuscular mycorrhizal fungi; F, Fungi; G⁻, Gram-negative bacterium; G⁺, Gram-positive bacterium; P, Actinomycetes; F/B, Ratio of fungi and bacterium; G⁻/G⁺, Ratio of gram-negative bacterium and gram-positive bacterium. CK, Bare soil. The treatments correspond to those in Table 1. The different superscripts indicate significant difference between treatments after multiplicative comparison ($P < 0.05$).

处理 Treatment	A	AMF	F	G ⁻	G ⁺	P	F/B	G ⁻ /G ⁺
CK	1.21 $\pm$ 0.04 ^c	1.48 $\pm$ 0.44 ^b	3.63 $\pm$ 0.67 ^b	4.01 $\pm$ 0.47 ^d	5.04 $\pm$ 0.67 ^d	0.37 $\pm$ 0.10 ^c	0.80 $\pm$ 0.04 ^a	0.12 $\pm$ 0.00 ^d
B	1.82 $\pm$ 0.07 ^b	14.87 $\pm$ 6.69 ^{ab}	6.28 $\pm$ 0.43 ^{ab}	6.66 $\pm$ 0.32 ^b	7.71 $\pm$ 0.44 ^b	1.19 $\pm$ 0.33 ^{ab}	0.91 $\pm$ 0.06 ^a	0.14 $\pm$ 0.00 ^b
B+S	2.29 $\pm$ 0.17 ^a	16.96 $\pm$ 4.20 ^a	8.40 $\pm$ 2.19 ^a	9.11 $\pm$ 0.32 ^a	9.73 $\pm$ 0.58 ^a	1.41 $\pm$ 0.79 ^a	0.92 $\pm$ 0.19 ^a	0.15 $\pm$ 0.00 ^a
B+C	1.70 $\pm$ 0.06 ^b	4.97 $\pm$ 1.26 ^{ab}	4.78 $\pm$ 0.05 ^{ab}	5.32 $\pm$ 0.06 ^c	7.35 $\pm$ 0.08 ^{bc}	0.54 $\pm$ 0.06 ^{bc}	0.74 $\pm$ 0.00 ^a	0.14 $\pm$ 0.00 ^b
B+M	1.73 $\pm$ 0.18 ^b	9.08 $\pm$ 4.78 ^{ab}	8.01 $\pm$ 4.00 ^a	5.65 $\pm$ 0.84 ^c	6.63 $\pm$ 0.12 ^c	1.04 $\pm$ 0.16 ^{abc}	1.38 $\pm$ 0.33 ^a	0.13 $\pm$ 0.00 ^c

表3 三叶鬼针草不同处理根际土壤的养分含量。不同字母表示多重比较差异显著($P < 0.05$)。CK: 裸土, 各处理的代号见表1。

Table 3 Change of total nutrient extracted from rhizosphere soils of *Bidens pilosa* in different treatments. The different superscripts indicate significant difference between treatments after multiplicative comparison ($P < 0.05$). CK, Bare soil. The treatments correspond to those in Table 1.

	速效钾 Available K	有机碳 Organic carbon	pH	速效磷 Available P	硝态氮 Nitrate N	铵态氮 Ammonium N
CK	221.67 $\pm$ 8.62 ^a	6.7.0 $\pm$ 0.07 ^c	7.94 $\pm$ 0.01 ^c	1.13 $\pm$ 0.18 ^c	21.72 $\pm$ 1.96 ^c	71.50 $\pm$ 1.54 ^a
B	201.33 $\pm$ 4.93 ^b	10.34 $\pm$ 0.3 ^a	8.26 $\pm$ 0.04 ^a	1.77 $\pm$ 0.09 ^b	23.65 $\pm$ 2.01 ^{ab}	66.07 $\pm$ 0.71 ^{bc}
B+S	221.67 $\pm$ 0.58 ^a	9.46 $\pm$ 0.53 ^b	8.09 $\pm$ 0.06 ^b	2.52 $\pm$ 0.10 ^a	21.51 $\pm$ 1.19 ^c	66.41 $\pm$ 2.68 ^b
B+C	205.00 $\pm$ 1.73 ^b	9.75 $\pm$ 0.24 ^b	8.07 $\pm$ 0.02 ^b	1.73 $\pm$ 0.06 ^b	25.05 $\pm$ 0.73 ^a	63.93 $\pm$ 1.53 ^c
B+M	198.00 $\pm$ 2.65 ^b	9.29 $\pm$ 0.09 ^b	7.97 $\pm$ 0.09 ^c	2.48 $\pm$ 0.28 ^a	20.85 $\pm$ 0.71 ^c	64.45 $\pm$ 2.13 ^c

图2 三叶鬼针草不同处理根际土壤微生物群落PLFA的主成分分析及载荷因子贡献。各处理的代号见表1。
Fig. 2 Principle components analysis (PCA) of PLFA profiles from rhizosphere soil microbial communities and loadings factors of PLFA contributing to soil microbial communities ordination pattern of the different treatments of *Bidens pilosa*. The treatments correspond to those in Table 1.

第二排序轴的正相关性较高,表明第二排序轴从上到下微生物对速效钾和速效磷的吸收利用逐渐减弱。15:1 anteiso A和18:1 ω5c与代表速效钾箭头的连线距离最近,说明15:1 anteiso A和18:1 ω5c与速效钾的相互影响较大。铵态氮与第一排序轴的负相关性较高,16:00和16:1 ω5c与铵态氮的箭头距离很近,说明16:00和16:1 ω5c对铵态氮的含量影响较大。

图4为三叶鬼针草入侵地PLFAs与土壤酶活性的典范对应分析(CCA),前两个排序轴的贡献率分

别为85.9%和97.2%,能够较全面地反映PLFAs与土壤酶活性之间的相关性。蔗糖酶、脲酶与第一和第二排序轴均呈负相关,酸性磷酸酶和碱性磷酸酶与第一排序轴呈负相关,与第二排序轴呈正相关。其中16:00、18:0 2OH与酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的箭头距离很近,说明16:00、18:0 2OH对磷酸酶活性影响较大,而16:00、20:4 ω6,9,12,15c对蔗糖酶、脲酶的活性影响较大。16:1 ω5c与蔗糖酶、脲酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶均呈显著正相关。

表4 三叶鬼针草不同处理根际土壤酶的活性。不同字母表示多重比较差异显著($P < 0.05$)。CK: 裸土,各处理的代号见表1。
Table 4 Enzyme activity extracted from rhizosphere soils of *Bidens pilosa* in different treatments. The different superscripts indicate significant difference between treatments after multiplicative comparison ($P < 0.05$). CK, Bare soil. The treatments correspond to those in Table 1.

处理 Treatment	蔗糖酶 Invertase	脲酶 Urease	酸性磷酸酶 Acid phosphatase	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase
CK	42.74±0.15 ^d	10.99±0.49 ^e	64.41±0.87 ^d	23.04±0.55 ^d
B	66.13±3.78 ^{bc}	18.46±0.14 ^a	100.63±1.41 ^b	74.05±1.03 ^a
B+S	61.83±0.65 ^c	12.68±0.57 ^d	103.00±1.87 ^b	66.9±4.65 ^b
B+C	73.33±5.52 ^a	16.02±0.22 ^c	108.67±1.51 ^a	66.32±1.02 ^b
B+M	69.77±3.88 ^{ab}	16.92±0.09 ^b	96.89±0.62 ^c	59.50±3.03 ^c

图3 三叶鬼针草入侵地PLFAs与土壤养分的典范对应分析(CCA)二维排序
Fig. 3 Canonical correspondence analysis (CCA) ordination of the relationship of PLFAs and soil nutrients in *Bidens pilosa* invasion region

3 讨论

3.1 三叶鬼针草对土壤微生物群落结构的影响

多数研究表明,外来植物入侵后直接或间接地影响入侵地的土壤微生物群落结构。一方面是因为地上植物群落的改变必然会引起地下土壤微生物群落的变化,另一方面,外来植物可以释放化感物质,改变入侵地土壤微生物的群落结构组成和功能(Kourtev et al, 2002; Vries et al, 2012),增强自身的竞争能力。Reinhart和Callaway (2004)研究发现真菌菌群可以调节和反馈地上不同种植物间的竞争和生长,特别是AMF在入侵植物的竞争反馈中起着重要的作用(Wagg et al, 2011a, b)。聚集的菌根真菌与入侵植物互惠共生,发生改变的AMF通过影响入侵植物与土著植物的竞争关系增强入侵种的竞争能力(Weidenhamer & Callaway, 2010; Zhang et al, 2010)。肖博等(2014)的研究结果表明,紫茎泽兰(*Ageratina adenophora*)改变了入侵生境的土壤微生物群落结构,增加了土壤中真菌和AMF含量,从而形成对植物生长的正反馈。本研究中三叶鬼针草根际土壤聚集的微生物种类和含量不同:在三叶鬼针

图4 三叶鬼针草入侵地PLFAs与土壤酶活性典范对应分析(CCA)二维排序,ALP,碱性磷酸酶;ACP,酸性磷酸酶。

Fig. 4 Canonical correspondence analysis (CCA) ordination of the relationship of PLFAs and soil enzyme activities in *Bidens pilosa* invasion region. ALP, Alkaline phosphatase; ACP, Acid phosphatase.

草和藜混种处理(B+C)中11:0 2OH为优势脂肪酸,而在三叶鬼针草和狗尾草混种处理(B+S)中15:0 anteiso、17:0、18:0等为优势脂肪酸,说明不同的植物与三叶鬼针草混种对土壤微生物产生的影响不同,且其优势菌群不同。三叶鬼针草对一些类群微生物的聚集能力较强。i15:0、17:0 anteiso、18:1 ω9c、16:1 ω5c等是三叶鬼针草入侵样地中的优势脂肪酸,其中15:0 iso、17:0 anteiso属于革兰氏阳性菌,18:1 ω9c属于真菌,16:1 ω5c属于AMF,主要聚集的是细菌和真菌,与肖博等(2014)的研究结果一致。这一结果暗示三叶鬼针草通过改变入侵地土壤微生物群落的结构,聚集有利于自身生长的微生物群落,以提高自身的竞争能力。

3.2 三叶鬼针草对土壤养分和土壤酶活性的影响

土壤酶在土壤养分的转化过程中起着非常重要的作用,是微生物代谢分泌的活性物质,催化土壤生态系统中生物化学过程,能准确地反映土壤的生态功能(Holmgren et al, 1997; 张天瑞等, 2010)。外来植物的入侵通过改变土壤微生物群落结构来影响土壤养分循环(Ehrenfeld et al, 2005; Bannert et al, 2011)。马杰等(2011)对黄顶菊(*Flaveria bidentis*)的替代竞争的研究发现,黄顶菊入侵显著提高了其

入侵地蔗糖酶、脲酶、磷酸酶的活性。Li等(2006)研究发现, 微甘菊(*Mikania micrantha*)入侵可显著提高脲酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的活性。本研究表明三叶鬼针草入侵地土壤中蔗糖酶、脲酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的活性显著提高, 且在三叶鬼针草的单种处理中脲酶和碱性磷酸酶的活性显著高于三叶鬼针草与3种本地植物的混种处理, 三叶鬼针草与藜混种处理中蔗糖酶和酸性磷酸酶的活性显著高于其他处理, 与上述结果一致。

研究表明,许多外来植物通过改变新生境的土壤养分循环增加自身的竞争能力,实现成功入侵,如入侵植物土荆芥(*Chenopodium ambrosioides*)(阿的鲁骥等, 2015)和火炬树(*Rhus typhina*)(侯玉平等, 2015)等均是通过对改变其入侵地的土壤养分循环,从而为自身生长提供有利条件。本研究发 现三叶鬼针草显著提高了土壤有机碳、速效磷和硝态氮的含量,提高了土壤pH值,与何兵等(2013)对三叶鬼针草的研究结论一致。越来越多的研究表明植物种类和植物性状可以影响植物与土壤微生物的互作关系(Moreau et al, 2015)和土壤的养分循环(Hooper & Vitousek, 1998)。植物种类在一定空间范围内决定土壤生物学过程,土壤的反硝化速率与植物的相对生长速率密切相关,硝化速率与根的特征(特定的根长、根中氮的含量和植物吸收铵态氮的速率)密切相关(Hooper & Vitousek, 1998)。不同的本地植物对土壤养分的影响不同,三叶鬼针草与狗尾草混种显著增加了土壤中速效钾的含量,而三叶鬼针草与藜混种以及三叶鬼针草与草木樨混种显著降低了土壤中速效钾的含量。这一结果暗示土壤酶活性的改变必将引起土壤养分的变化,且这种改变与入侵地本地植物的种类有关。三叶鬼针草具有生长速度快和养分吸收能力强的特性(Huenneke et al, 1990; Grubb, 1994),本研究中发现三叶鬼针草显著降低了土壤铵态氮的含量,与Kourtev等(1999)研究美国新泽西州外来植物日本小檗(*Berberis thunbergii*)和柔枝莠竹(*Microstegium vimineum*)的结果一致,但与Yelenik等(2004)发现外来植物金环相思树(*Acacia saligna*)显著增加了土壤无机氮的含量的结果不一致。相关性分析表明16:00和16:1 ω5c对铵态氮的含量影响较大,且三叶鬼针草入侵地16:00和16:1 ω5c的含量显著高于裸土对照,进而推测16:00和16:1 ω5c含量的提高与三叶鬼针草入侵地铵态氮含量的

降低密切相关。目前对于入侵植物能否增加土壤铵态氮的含量的相关研究有待于进一步开展。

综上,外来入侵植物三叶鬼针草的入侵通过改变土壤微生物群落结构影响了土壤酶活性和土壤养分,创造了对自身竞争有利的土壤环境,且这种改变与入侵地本地植物的种类密切相关。

参考文献

- ADe LJ, He B, Wang CT, Hu L, Zi HB (2015) Effects of *Chenopodium ambrosioides* on soil enzyme activity, micro-organism quantity and soil nutrient content of three cultivated pastures of rhizosphere soil in northwestern Sichuan. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 28, 815–821. (in Chinese with English abstract) [阿的鲁骥, 何兵, 王长庭, 胡雷, 字洪标 (2015) 入侵植物土荆芥对川西北高寒草甸3种培育牧草根际土壤酶活性、微生物数量及土壤养分的影响. *西南农业学报*, 28, 815–821.]
- Bååth E, Díaz-Raviña M, Frostegård A, Campbell CD (1998) Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 238–245.
- Bannert A, Kleinedam K, Wissing L, Mueller-Niggemann C, Vogelsang V, Welzl G, Cao ZH, Schlöter M (2011) Changes in diversity and functional gene abundances of microbial communities involved in nitrogen fixation, nitrification, and denitrification in a tidal wetland versus paddy soils cultivated for different time periods. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 6109–6116.
- Bao SD (2000) *Soil Assay on Properties of Agro Chemistry*, 3rd edn, pp. 207–237. China Agriculture Press, Beijing. (in Chinese) [鲍士旦 (2000) 土壤农化分析(第3版), 207–237页. 中国农业出版社, 北京.]
- Bardgett RD, Bowman WD, Kaufmann R, Schmidt SK (2005) A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 20, 634–641.
- Belnap J, Philips SL (2001) Soil biota in an ungrazed grassland: response to annual grass (*Bromus tectorum*) invasion. *Ecological Applications*, 11, 1261–1275.
- Ben G, Kris F (2015) Impacts of alien plant invasion on native plant communities are mediated by functional identity of resident species, not resource availability. *Oikos*, 124, 298–306.
- Callaway RM, Thelen GC, Rodriguez A, Holben WE (2004) Soil biota and exotic plant invasion. *Nature*, 427, 731–733.
- Cantarel AAM, Pommier T, Desclos-Theveniau M, Diquélou S, Dumont M, Grassein F, Kastl E-M, Grigulis K, Láiné P, Lavorel S, Lemauiel-Lavanant S, Personeni E, Schlöter M, Poly F (2015) Using plant traits to explain plant-microbe relationships involved in nitrogen acquisition. *Ecology*, 96, 788–799.
- Chen L, Li HN, Yang MH, Wan FH (2011) Influence of invasion of *Mikania micrantha* and *Bidens pilosa* to the bacterial community in the root soils. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27(8), 63–68. (in Chinese with English abstract) [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.]
- Drijber RA, Doran JW, Parkhurst AM, Lyon DJ (2000) Changes in soil microbial community structure with tillage under long-term wheat-fallow management. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 1419–1430.
- Du FY, Zhang MM, Ma DW (2007) Preliminary study on the allelopathic effects of *Bidens pilosa*. *China Plant Protection*, 27(9), 8–11. (in Chinese with English abstract) [杜凤移, 张苗苗, 马丹炜 (2007) 三叶鬼针草化感作用的初步研究. *中国植保导刊*, 27(9), 8–11.]
- Ehrenfeld JG, Ravit B, Elgersma K (2005) Feedbacks in the plant-soil system. *Annual Review of Environment and Resource*, 30, 75–115.
- Frostegård Å, Bååth E (1996) The use of phospholipids fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 22, 59–65.
- Godoy O, Valladares F, Castro-Díez P (2011) Multispecies comparison reveals that invasive and native plants differ in their traits but not in their plasticity. *Functional Ecology*, 25, 1248–1259.
- Godoy O, Valladares F, Castro-Díez P (2012) The relative importance for plant invasiveness of trait means, and their plasticity and integration in a multivariate framework. *New Phytologist*, 195, 912–922.
- Grubb PJ (1994) Root competition in soil of different fertility: A paradox resolved? *Phytocoenologia*, 24, 495–505.
- Guan SY (1986) *Soil Enzyme and Its Research Methods*, pp. 274–339. Agriculture Press, Beijing. (in Chinese) [关松荫 (1986) 土壤酶及其研究方法, 274–339页. 农业出版社, 北京.]
- He B, Li RY, Luo MY, Wei HM, Zhang H, Ma DW (2013) Effects of *Bidens pilosa* of invasive plant on soil ecological system at different developmental stages. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 26, 1953–1956. (in Chinese with English abstract) [何兵, 李睿玉, 罗曼元, 魏豪梅, 张红, 马丹炜 (2013) 入侵植物三叶鬼针草不同发育期对土壤生态系统的影响. *西南农业学报*, 26, 1953–1956.]
- Hill GT, Mitkowski NA, Aldrich-Wolfe L, Emele LR, Jurkonie DD, Ficke A, Maldonado-Ramirez S, Lynch ST, Nelson EB (2000) Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology*, 15, 25–36.
- Holmgren M, Scheffer M, Huston MA (1997) The interplay of facilitation and competition in plant communities. *Ecology*, 78, 1966–1975.
- Hooper DU, Vitousek PM (1998) Effects of plant composition and diversity on nutrient cycling. *Ecological Monographs*, 68, 121–149.
- Hou YP, Liu L, Chu H, Ma SJ, Zhao D, Liang RR (2015) Ef-

- fects of exotic plant *Rhus typhina* invasion on soil properties in different forest types. *Acta Ecologica Sinica*, 35, 5324–5330. (in Chinese with English abstract) [侯玉平, 柳林, 初航, 马淑杰, 赵丹, 梁荣荣 (2015) 外来植物火炬树入侵对不同林型土壤性质的影响. *生态学报*, 35, 5324–5330.]
- Huenneke L, Hamburg SP, Koide R (1990) Effects of soil resources on plant invasion and community structure in Californian serpentine grassland. *Ecology*, 71, 478–491.
- Jia YY, Zhang XY, Yan J, Yin JL, Zhang FJ (2015) Effect of three Asteraceae invasive plants on soil fertility of invaded domain. *Journal of Hebei University*, 35, 494–502. (in Chinese with English abstract) [贾月月, 张晓亚, 闫静, 殷吉林, 张凤娟 (2015) 3种入侵菊科植物对入侵域土壤肥力的影响. *河北大学学报*, 35, 494–502.]
- Klironomos JN (2002) Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature*, 417, 67–70.
- Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Häggelom M (2002) Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology*, 83, 3152–3166.
- Kourtev PS, Huang WZ, Ehrenfeld JG (1999) Differences in earthworm densities and nitrogen dynamics in soils under exotic and native plant species. *Biological Invasions*, 1, 237–245.
- Li WH, Zhang CB, Jiang HB, Xin GR, Yang ZY (2006) Changes in soil microbial community associated with invasion of the exotic weed, *Mikania micrantha* H.B.K. *Plant and Soil*, 281, 309–324.
- Ma J, Huangfu CH, Yi J, Yang DL (2011) Effects of four replacement plants on nutrient and enzymatic activities of soil invaded by *Flaveria bidentis*. *Ecology and Environmental Sciences*, 20, 805–812. (in Chinese with English abstract) [马杰, 皇甫超河, 易津, 杨殿林 (2011) 4种替代植物对黄顶菊入侵土壤养分和酶活性的影响. *生态环境学报*, 20, 805–812.]
- Mokany K, Ash J, Roxburgh S (2008) Functional identity is more important than diversity in influencing ecosystem processes in a temperate native grassland. *Journal of Ecology*, 96, 884–893.
- Moreau D, Pivato B, Bru D, Busset H, Deau F, Faivre C, Matejcek A, Strbik F, Philippot L, Mougel C (2015) Plant traits related to nitrogen uptake influence plant-microbe competition. *Ecology*, 96, 2300–2310.
- Niu HB, Liu WX, Wan FH (2007) Invasive effects of *Ageratina adenophora* Sprengel (Asteraceae) on soil microbial community and physical and chemical properties. *Acta Ecologica Sinica*, 27, 3051–3060. (in Chinese with English abstract) [牛红榜, 刘万学, 万方浩 (2007) 紫茎泽兰入侵对土壤微生物群落和理化性质的影响. *生态学报*, 27, 3051–3060.]
- Olsson S and Alström S (2000) Characterisation of bacteria in soils under barley monoculture and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 1443–1451.
- Reinhart KO, Callaway RM (2004) Soil biota facilitate exotic *Acer* invasions in Europe and North America. *Ecological Applications*, 14, 1737–1745.
- Vries FT, Manning P, Tallwin JRB, Mortimer SR, Pilgrim ES, Harrison KA, Hobbs PJ, Quirk H, Shipley B, Cornelissen JHC, Kattge J, Bardgett RD (2012) Abiotic drivers and plant traits explain landscape-scale patterns in soil microbial communities. *Ecology Letters*, 15, 1230–1239.
- Wagg C, Jansa J, Schmid B, van der Heijden MGA (2011b) Belowground biodiversity effects of plant support aboveground productivity. *Ecology Letters*, 14, 1001–1009.
- Wagg C, Jansa J, Stadler M, Schmid B, van der Heijden MGA (2011a) Mycorrhizal fungal identity and diversity relaxes plant-plant competition. *Ecology*, 92, 1303–1313.
- Weidenhamer JD, Callaway RM (2010) Direct and indirect effects of invasive plants on soil chemistry and ecosystem function. *Journal of Chemical Ecology*, 36, 59–69.
- Xiao B, Zhou W, Liu WX, Jiang ZL, Wan FH (2014) Feedback of *Ageratina adenophora* soil microbe on *A. adenophora* and native plants. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16, 151–158. (in Chinese with English abstract) [肖博, 周文, 刘万学, 蒋智霖, 万方浩 (2014) 紫茎泽兰入侵地土壤微生物对紫茎泽兰和本地植物的反馈. *中国农业科技导报*, 16, 151–158.]
- Yan Q, Liu WX, Li HN, Wan FH (2009) Effects of *Ageratina adenophora*-invaded soil and its extract on upland rice *Oryza sativa* seed germination and seedling growth. *Chinese Journal of Ecology*, 28, 879–883. (in Chinese with English abstract) [严琦, 刘万学, 李会娜, 万方浩 (2009) 紫茎泽兰不同入侵程度的土壤及其提取物对旱稻生长的影响. *生态学杂志*, 28, 879–883.]
- Yelenik SG, Stock WD, Richardson DM (2004) Ecosystem level impacts of invasive *Acacia saligna* in South African fynbos. *Restoration Ecology*, 12, 44–51.
- Yu XJ, Yu D, Lu ZJ, Ma KP (2005) A possible plant invasive mechanism: the invasive species affected the growth of native species by changing microbial communities in his invasive range. *Chinese Science Bulletin*, 50, 896–903. (in Chinese) [于兴军, 于丹, 卢志军, 马克平 (2005) 一个可能的植物入侵机制: 入侵种通过改变入侵地土壤微生物群落影响本地种的生长. *科学通报*, 50, 896–903.]
- Zhang Q, Yang RY, Tang JJ, Yang HS, Hu SJ, Chen X (2010) Positive feedback between mycorrhizal fungi and plants influences plant invasion success and resistance to invasion. *PLoS ONE*, 5, e12380.]
- Zhang TR, Huangfu CH, Bai XM, Yang DL, Li G, Lai X, Zhao JN (2010) Effect of *Flaveria bidentis* invasion on soil nutrient contents and enzyme activities. *Chinese Journal of Ecology*, 29, 1353–1358. (in Chinese with English abstract) [张天瑞, 皇甫超河, 白小明, 杨殿林, 李刚, 赖欣, 赵建宁 (2010) 黄顶菊入侵对土壤养分和酶活性的影响. *生态学杂志*, 29, 1353–1358.]

(责任编辑: 丁建清 责任编辑: 时意专)