

密级:

论文编号:

中国农业科学院 学位论文

外来植物紫茎泽兰入侵的土壤微生物学机制

**Invasive Mechanism of *Ageratina adenophora* Sprengel
(Compositae): Underground Self-reinforced Capacity by
Changing Soil Biota**

硕 士 研 究 生: 牛红榜

指 导 教 师: 万方浩 研究员

申 请 学 位 类 别: 农学硕士

专 业: 生物安全

研 究 方 向: 外来生物入侵

培 养 单 位: 植物保护研究所

研究生院

提交日期 2007 年 6 月

Secrecy:

No.

Chinese Academy of Agricultural Sciences Dissertation

**Invasive Mechanism of *Ageratina adenophora* Sprengel
(Compositae): Underground Self-reinforced Capacity by
Changing Soil Biota**

Candidate: Hong-Bang Niu

Supervisor: Prof. Fang-Hao Wan

Major: Bio-Safety

Specialty: Invasive Alien Species

Chinese Academy of Agricultural Sciences

June, 2007

中国农业科学院

硕士学位论文评阅人、答辩委员会名单表

论文题目		外来植物紫茎泽兰入侵的土壤微生物学机制				
论文作者		牛红榜	专 业	生物安全	研究方向	外来生物入侵
指导教师		万方浩 研究员		培养单位（研究所）	植物保护研究所	
姓名		职称	硕（博） 导师	单 位	专 业	签 名
评 阅 人	刘杏忠	研究员	硕导 ☐ 博导 ☒	中国科学院微生物研究所	微生物学	
	孔垂华	研究员	硕导 ☐ 博导 ☒	中国科学院应用生态研究所	化学生态学	
答 辩 主 席	郭予元	院士	硕导 ☐ 博导 ☒	中国农业科学院植物保护研究所	植物保护	郭予元
答 辩 委 员	张芝利	研究员	硕导 ☐ 博导 ☒	北京市农林科学院	植物保护	张芝利
	刘杏忠	研究员	硕导 ☐ 博导 ☒	中国科学院微生物研究所	微生物学	刘杏忠
	戈峰	研究员	硕导 ☐ 博导 ☒	中国科学院动物研究所	昆虫生态学	戈峰
	宋卫宁	教授	硕导 ☐ 博导 ☒	西北农林科技大学	分子生物学	宋卫宁
			硕导 ☐ 博导 ☐			
			硕导 ☐ 博导 ☐			
			硕导 ☐ 博导 ☐			
会议记录（秘书）		郭建英 副研究员				
论文答辩时间地点		2007 年 6 月 20 日 中国农业科学院研究生院四楼会议室				

独 创 性 声 明

本人声明所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得中国农业科学院或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了谢意。

研究生签名：牛红榜

时间：2007 年 6 月 20 日

关于论文使用授权的声明

本人完全了解中国农业科学院有关保留、使用学位论文的规定，即：中国农业科学院有权保留送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。同意中国农业科学院可以用不同方式在不同媒体上发表、传播学位论文的全部或部分内容。

研究生签名：牛红榜

时间：2007 年 6 月 20 日

导师签名：王 芳 浩

时间：2007 年 6 月 20 日

基金项目及完成单位

本研究为国家重点基础研究发展计划“农林危险生物入侵机理与控制基础研究”(973计划, 2002CB111400)的部分内容。所有实验在“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”以及“农业部外来入侵生物预防与控制研究中心”完成。

摘 要

入侵植物与入侵地土壤微生物的互作关系是外来入侵植物与入侵地生境互作关系的重要内容，土壤微生物是影响外来植物入侵力和生态系统可入侵性的一个重要因素。外来植物入侵可以引起土壤微生物群落及土壤生态过程发生改变，反过来这种改变可能有利于外来植物的生长及与当地植物的竞争，这是外来植物入侵的一种新机制—土壤微生物学机制。因此，外来入侵植物对入侵地土壤养分循环和土壤微生物群落的影响不仅是入侵效应问题，更与外来植物的入侵机制联系紧密。紫茎泽兰 (*Ageratina adenophora* (Sprengel) R. King & H. Robinson (Synonym: *Eupatorium adenophorum*)) 是一种典型的恶性入侵杂草，已对许多国家和地区造成了严重的经济和生态损失。在综述国内外外来植物的入侵机理和紫茎泽兰种群扩张研究的基础上，本研究从紫茎泽兰与土壤微生物的互作关系出发，通过野外取样和温室盆栽实验，分别从紫茎泽兰入侵对土壤生态的影响、紫茎泽兰根际土壤中优势细菌的筛选鉴定及拮抗性能评价、紫茎泽兰浸提液对土壤微生物群落结构的影响和入侵地土壤微生物群落对紫茎泽兰生长、与当地植物竞争的影响等方面研究了紫茎泽兰入侵的土壤微生物学机制。主要结果如下：

1. 紫茎泽兰入侵对土壤生态的影响

通过对紫茎泽兰入侵后不同演替阶段中（重度入侵区、轻度入侵区、未入侵区和当地植物生长区）的土壤微生物群落和土壤理化性质的比较，发现紫茎泽兰入侵显著改变了入侵地的土壤微生物群落结构，在重度入侵区土壤真菌、自生固氮菌、氨氧化细菌数量均较高，分别是轻度入侵区对应菌数量的 2.2 倍、3.6 倍和 1.4 倍，是未入侵区对应菌数量的 5.8 倍、8.8 倍和 3.3 倍，是当地植物区对应菌数量的 1.7 倍、2.6 倍和 1.9 倍。同时提高了土壤中植物可直接吸收的硝态氮、铵态氮、有效磷、速效钾和有机碳含量，其中土壤硝态氮和铵态氮的含量分别为 32.5 mg.kg^{-1} 和 39.3 mg.kg^{-1} ，分别是未入侵区对应含量的 3.6 倍和 2.1 倍，是当地植物区对应含量的 2.3 倍和 1.4 倍。土壤微生物各生理功能类群的变化与土壤理化性质的变化相关显著，土壤微生物群落的变化可能导致了土壤养分水平的升高。结果表明随着紫茎泽兰的不断入侵扩张，显著改变了土壤微生物群落和土壤养分；重度入侵区丛枝菌根真菌和真菌/细菌比率显著高于其它区，这可能与紫茎泽兰形成菌根真菌共生体有关。

2. 紫茎泽兰根际土壤中优势细菌的筛选鉴定及拮抗性能评价

通过分离、筛选、鉴定紫茎泽兰根际土壤中优势细菌及其拮抗性能测定，发现紫茎泽兰根际土壤中存着丰富的芽孢杆菌和假单胞菌，其中枯草芽孢杆菌和巨大芽孢杆菌数量最多，共占鉴定细菌总数的 55.6%；这些优势细菌类群对番茄枯萎病菌和青枯病菌有不同程度的拮抗作用，以枯草芽孢杆菌 BS-5 和苏云金芽孢杆菌 BT-1 对番茄枯萎病菌的拮抗效果最为明显，其代谢产物的抑菌率分别为 85.5% 和 83.8%；优势细菌代谢液比菌体对病原菌的拮抗作用更强。结果表明紫茎泽兰根际丰富的具有强拮抗性能的细菌类群可能是紫茎泽兰不受土传病害侵扰的原因；通过这种根际有益微生物的反馈作用，紫茎泽兰直接或间接的在与当地植物竞争中处于有利地位，从而有利于其排挤当地植物。

3. 紫茎泽兰浸提液对土壤微生物群落的影响

利用紫茎泽兰根系和茎叶浸提液培育入侵地土壤微生物群落，发现紫茎泽兰根系浸提液和茎叶浸提液分别处理轻度入侵土壤 2 周和 3 周后，土壤微生物群落发生显著变化，且随着浸提液浓度的增大微生物群落结构向重度入侵靠拢，但茎叶浸提液的作用效果小于根系。试验同时测定了紫茎泽兰根系和茎叶浸提液对已分离鉴定的 8 株紫茎泽兰根际优势细菌生长的影响，发现根系和茎叶浸提液都显著地促进了细菌的生长，且随着浸提液浓度的增大促进作用增强。结果表明紫茎泽兰可以通过茎叶淋溶物和根系分泌物改变土壤微生物的群落结构，它们间可能存在营养关系或化学通信联系。

4. 入侵地土壤微生物群落对紫茎泽兰生长、竞争的影响

温室盆栽试验测定了被紫茎泽兰改变了的土壤微生物群落对紫茎泽兰生长、与当地植物竞争的影响，发现被紫茎泽兰入侵改变了的土壤微生物群落抑制了当地植物的生长，却增强了紫茎泽兰的竞争能力。重度入侵地土壤微生物群落对当地植物生长的抑制强度极显著地高于紫茎泽兰，灭菌处理使黑麦草生物量提高了 23%，佩兰提高了 93%，紫花苜蓿提高了 73%，而紫茎泽兰仅提高了 11%。与此相反，空白地土壤微生物对紫茎泽兰的抑制强度则显著地高于当地植物。当地植物区土壤微生物群落抑制了 3 种当地植物的生长，却促进了紫茎泽兰的生长。四种不同来源的土壤微生物群落都提高了紫茎泽兰相对优势度，重度入侵地土壤微生物群落提高紫茎泽兰相对优势度最为显著，比未入侵区土壤微生物群落对紫茎泽兰相对优势度的影响平均高出 24%。结果表明紫茎泽兰入侵改变了的土壤微生物群落促进了紫茎泽兰生长和竞争。

5. 总结

紫茎泽兰入侵改变了土壤微生物群落，提高土壤自生固氮菌、氨氧化细菌和真菌数量，也提高了土壤的有效磷、速效钾、硝态氮、氨态氮含量；同时其根际存在丰富的具有拮抗性能的细菌类群，可能是紫茎泽兰不受土传病害侵扰的原因；其根系和茎叶浸提液可以改变土壤微生物群落，促进根际细菌的生长；通过这些途径，紫茎泽兰获得了土壤微生物的有益反馈，为自身生长创造有利条件。这是一个自我促进（self-reinforcing）式的入侵机制：紫茎泽兰改变入侵地土壤微生物群落，创造了对自身生长有利的土壤环境。

关键词：紫茎泽兰，外来植物入侵，土壤微生物群落，入侵机制，土壤微生物反馈，促进作用，抑制作用

Abstract

The rapid expansion of invasive plants in agricultural and natural ecosystem is threatening biodiversity, productivity and ecosystem health throughout the world. Understanding the strategies used by invasive plant for rapid proliferation is one of the most important problems in ecology, because the successful invasion of particular species is neither mechanistically uniform nor predictable. Positive feedback of soil biota may facilitate exotic plant invasion which attracts increasing attention recently. *Ageratina adenophora* (Sprengel) R. King & H. Robinson (Synonym: *Eupatorium adenophorum*) is a notorious worldwide invasive weed and one of the most unwanted in China. *A. adenophora* may alter underground microbial communities, and the feedback of modified soil biota in invaded ranges may promote its invasibility. To examine this possible underground invasion mechanism, effects of *A. adenophora* invasion on soil microbial communities were analyzed, dominant rhizosphere microbes of *A. adenophora* and their antibiosis activity were identified and assessed, and plant-soil biota feedback experiments were designed to measure the effect of invasion-induced changes of soil biota on *A. adenophora* growth and competition. The main results are as follows:

1. Effects of *A. adenophora* invasion on native soil biota and soil nutrition

Soil biota and soil nutrition were analyzed in the four sites (Heavily invaded, Newly invaded, Non-invaded and Native plant), and the results showed that soil microbial community structure was clearly separated in all the four sites, and *A. adenophora* significantly increased soil fungi, azotobacteria, ammonia oxidizing bacteria and soil VAM (Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi) abundance as well as the fungi/bacteria ratio. Soil NO_3^- -N, NH_4^+ -N, available P and K content were significantly higher in heavily invaded site as compared to the newly invaded site. Soil fungi, azotobacteria and ammonia oxidizing bacteria were strongly associated with most of the measured soil nutrition characters. It indicates that *A. adenophora* changed soil microbial communities, especially the soil nutrition cycling related soil microbe groups and VAM, probably creating favorable soil environment to benefit itself.

2. Screening and identification of *A. adenophora* dominant rhizosphere microbes

Totally 25 strains of dominant rhizosphere bacteria of *A. adenophora* were isolated and identified, of which 8 strains were assessed of their antibiosis activity. The results showed that *Bacillus* and *Pseudomonas* genus were in high abundance in *A. adenophora* rhizosphere soil, of which *Bacillus subtilis* and *Bacillus megaterium* were the most abundant and consist 55.6% of the total identified bacterium. These dominant identified bacteria showed antibiosis activity to *Fusarium oxysporum* and *Ralstonia solanacearum* at different level and *Bacillus subtilis* BS-5 and *Bacillus thuringiensis* BT-1 metabolic products had the strongest inhibitory effects to *Fusarium oxysporum* with antibiosis activity 85.5% and 83.8% respectively. The abundant antagonistic bacteria around *A. adenophora* rhizosphere may help *A. adenophora* resist harmful soil-borne disease and provide a way to escape natural enemies.

3. Effects of *A. adenophora* leachates on isolated dominant bacterium

Soil biota incubation experiments were conducted by using *A. adenophora* leachates to imitate field invasion processes. The results indicate that soil microbial community was significantly changed after *A. adenophora* root and aerial part leachates treatment in 2 and 3 weeks, respectively. The newly invaded soil biota treated by 100% *A. adenophora* leachates was significantly different from the control and much closer to the heavily invaded soil. Growth of 8 strains dominant rhizosphere bacterium was promoted by *A. adenophora* leachates. Effects of *A. adenophora* leachates on soil biota were in linear with concentration of leachates and root leachates had stronger effects than aerial part leachates. *A. adenophora* can change soil microbial community through nutritional and chemical communication.

4. Feedback of invasion-induced changes of soil biota to *A. adenophora* and natives

The greenhouse experiment indicated that the soil biota in heavily invaded site had more inhibitory effects on native plant species than *A. adenophora*; and the soil biota in native plant site inhibited the growth of native plant species, but not of *A. adenophora*. In pots with soil from heavily invaded site, sterilization improved the biomass of *Lolium perenne* by 23%, of *Eupatorium fortunei* by 93%, of *Medicago sativa* by 73%, and of *A. adenophora* by 11%. Soil biota in all of the four sites increased *A. adenophora* relative dominance as compared to each of the three native plant species, where soil biota in the heavily invaded site had stronger beneficial effects on *A. adenophora* relative dominance index (24% higher on average) than soil biota in the non-invaded site. Our results suggest that *Ageratina adenophora* modified soil microbial communities to facilitate its growth and inhibit natives.

5. Summary

A. adenophora is more positively affected by the soil biota in invaded sites than resident natives, and earns its competition superiority directly or indirectly through the beneficial soil biota and antagonistic rhizosphere microbes. Once it establishes in new ranges it further alters the soil community in a way that favors itself and inhibits natives helping promote invasion. Soil biota alteration following *A. adenophora* establishment may be an important part of its invasion process, which is used as an underground self-reinforcing invasion mechanism to strengthen its invasiveness.

Keywords: *Ageratina adenophora* Sprengel; exotic plant invasion; soil biota; underground invasion mechanism; feedback of soil biota, facilitation, inhibition

目 录

第一章 绪论	1
1.1 外来植物入侵机制的研究进展	1
1.1.1 外来入侵植物的生物生态学特征	1
1.1.2 被入侵生境的可入侵性	2
1.1.2.1 物种多样性阻抗假说 (Diversity Resistent Hypothesis)	3
1.1.2.2 空余生态位假说 (Empty Niche Hypothesis)	4
1.1.2.3 生态系统干扰假说 (Ecosystem Disturbance Hypothesis)	4
1.1.3 外来入侵植物与入侵地生境的互作关系	5
1.1.3.1 天敌逃避假说 (Natural Enemies Hypothesis)	5
1.1.3.2 入侵进化假说 (Evolution of Invasiveness Hypothesis)	6
1.1.3.3 神秘武器假说 (Novel Weapons Hypothesis)	8
1.2 外来植物入侵的土壤微生物学机制研究	9
1.2.1 土壤微生物对植物生长、竞争和群落演替的作用	9
1.2.2 外来植物入侵对土壤生态过程的影响	10
1.2.2.1 外来植物入侵对土壤养分的影响	10
1.2.2.2 外来植物入侵对土壤微生物群落和功能的影响	11
1.2.2.3 外来植物入侵对土壤生态过程影响的途径	12
1.2.3 土壤微生物群落对入侵植物生长、竞争的反馈及其机制	13
1.2.4 外来植物入侵的土壤微生物学机制对入侵植物生态替代的指导意义	14
1.2.5 总结	15
1.3 土壤微生物群落结构的研究方法	16
1.3.1 土壤微生物的传统培养的研究方法	16
1.3.2 以磷脂脂肪酸 (PLFA) 为代表的生物标志物 (Biomarker) 法	17
1.4 紫茎泽兰种群入侵扩展机理研究	18
1.4.1 紫茎泽兰生物生态学特征	19
1.4.2 紫茎泽兰入侵扩张的分子机理	20
1.4.3 紫茎泽兰与本地植物的资源竞争	20
1.4.4 紫茎泽兰化感作用研究	21
1.5 本研究的总体思路、主要内容和技术路线	21
1.5.1 总体思路	22
1.5.2 研究内容和意义	22
1.5.3 技术路线	22
第二章 紫茎泽兰入侵对土壤生态的影响	24
2.1 材料与方法	24
2.1.1 研究区的自然概况	24
2.1.2 实验设计	24
2.1.3 土样的采集与保存	25
2.1.4 土样的测定与方法	25
2.1.4.1 土壤理化性质的测定	25
2.1.4.2 土壤微生物群落的磷脂脂肪酸(PLFAs)分析	25
2.1.4.3 可培养土壤微生物类群的分析	26
2.1.5 数据分析	26

2.2 结果	26
2.2.1 不同入侵区的植物群落特征	26
2.2.2 不同入侵区土壤理化性质的差异	27
2.2.3 不同入侵区土壤微生物群落结构的差异	27
2.2.4 不同入侵区可培养土壤微生物类群的差异	28
2.2.5 土壤微生物可培养类群变化与土壤理化性质变化的联系	28
2.3 讨论	32
2.4 结论	34
第三章 紫茎泽兰根际土壤中优势细菌的筛选鉴定及拮抗性能评价	35
3.1 材料与方法	35
3.1.1 紫茎泽兰根际土壤采集	35
3.1.2 土壤细菌的分离培养和优势细菌的筛选	35
3.1.3 优势细菌的脂肪酸 (PLFAs) 鉴定	36
3.1.3.1 培养基与脂肪酸提取试剂	36
3.1.3.2 脂肪酸的提取	36
3.1.3.3 脂肪酸的检测	36
3.1.4 优势细菌对土传病原菌的拮抗作用	37
3.1.4.1 供试拮抗菌和病原菌	37
3.1.4.2 对番茄枯萎病菌拮抗性能的测定	37
3.1.4.3 对青枯菌拮抗性能的测定	37
3.1.5 细菌代谢产物拮抗性能的测定	37
3.1.6 统计分析	37
3.2 结果与分析	37
3.2.1 细菌的分离与鉴定	37
3.2.2 优势芽孢杆菌的多态性聚类分析	38
3.2.3 优势细菌对番茄枯萎病菌和青枯菌的拮抗作用	40
3.3 讨论	41
3.4 结论	42
第四章 紫茎泽兰浸提液对土壤微生物群落结构的影响	43
4.1 材料与方法	43
4.1.1 紫茎泽兰根系和茎叶浸提液的制备	43
4.1.2 土壤微生物的培育	43
4.1.3 数据分析	43
4.2 结果与分析	44
4.2.1 紫茎泽兰浸提液对土壤微生物群落的影响	44
4.2.2 紫茎泽兰浸提液对细菌生长的影响	46
4.3 讨论	48
4.4 结论	49
第五章 入侵地土壤微生物群落对紫茎泽兰生长及当地植物竞争的影响	50
5.1 材料与方法	50
5.1.1 土壤和土壤微生物群落	50

5.1.2 种子	51
5.1.3 温室盆栽实验	51
5.1.4 盆栽实验收获	51
5.1.5 数据分析	52
5.2 结果与分析	52
5.2.1 入侵地土壤微生物对紫茎泽兰和当地植物生长的影响	52
5.2.2 入侵地土壤微生物对紫茎泽兰与当地植物竞争的影响	53
5.3 讨论	54
5.4 结论	55
第六章 结论与展望	56
6.1 结论	56
6.1.1 紫茎泽兰入侵对土壤生态的影响	56
6.1.2 紫茎泽兰根际土壤中优势细菌的筛选鉴定及拮抗性能评价	56
6.1.3 紫茎泽兰浸提液对土壤微生物群落的影响	56
6.1.4 入侵地土壤微生物群落对紫茎泽兰生长、竞争的影响	57
6.1.5 总结	57
6.2 本研究的创新之处	57
6.2.1 研究方法和技术	57
6.2.2 研究思路和试验设计	57
6.3 展望	58
参考文献	59
致 谢	71
作者简介	72

图 表 目 录

图 2-1. 紫茎泽兰不同入侵阶段土壤微生物主效脂肪酸含量的差异.....	29
图 2-2. 紫茎泽兰不同入侵阶段土壤微生物不同类群(A)和类群间比率(B)的差异.....	30
图 2-3. 紫茎泽兰不同入侵阶段土壤微生物群落的主成分分析(A)和判别分析(B).....	30
图 3-1. 紫茎泽兰根际土壤中 25 株鉴定优势细菌的脂肪酸聚类分析.....	39
图 4-1. 紫茎泽兰根系和茎叶浸提液处理后土壤微生物群落的主成分分析和判别分析.....	46
图 5-1. 不同的土壤微生物群落对紫茎泽兰和当地植物生长的影响.....	52
图 5-2. 不同土壤微生物群落对紫茎泽兰与当地植物竞争的影响.....	54
表 1-1. 不同土壤微生物类群与磷脂脂肪酸的对应关系.....	18
表 2-1. 4 种类型取样区的植物生长状况.....	27
表 2-2. 紫茎泽兰入侵对土壤理化性质的影响.....	31
表 2-3. 紫茎泽兰入侵对土壤微生物可培养类群的影响.....	31
表 2-4. 土壤微生物可培养类群与土壤理化性质间的相关系数.....	32
表 3-1. 紫茎泽兰根际土壤中分离的优势细菌类群及菌落形态特征.....	38
表 3-2. 紫茎泽兰根际土壤中优势土壤微生物主要脂肪酸的比较.....	40
表 3-3. 优势细菌及其代谢产物对两种土传病害病原菌的抑菌率.....	41
表 4-1. 紫茎泽兰根系和茎叶浸提液对土壤微生物脂肪酸的影响.....	45
表 4-2. 紫茎泽兰根系和茎叶浸提液对分离优势细菌生长的影响.....	47
表 5-1. 不同因子（土壤来源和灭菌）对紫茎泽兰和当地植物生长的影响.....	53
表 5-2. 不同因子（土壤来源和灭菌）对紫茎泽兰与当地植物竞争的影响.....	55

第一章 绪论

1.1 外来植物入侵机制的研究进展

生物入侵(Biological invasion)是指生物由原生存地经自然或人为的途径侵入到另一个新生境中,快速的生长繁衍,对入侵地的生物多样性、农林牧渔业生产以及人类健康造成经济损失或生态灾难的过程(Pimentel et al., 2000; 万方浩等, 2002a)。随着全球经济一体化进程的加快,使得国际、国内贸易往来越来越频繁,生物成功入侵的机率也大大增加,以至于生物入侵已成为一个世界性的生态和经济问题和人类所面临的巨大挑战(Perrings et al., 2000),成为继生境破坏之后对全球生物多样性的最大威胁,是全球变化的组成部分之一(Wilcove et al., 1998)。入侵生物的生态学也因此成为当代生态学的一个新的分支和研究热点(耿宇鹏等, 2004)。我国是外来生物入侵影响最严重的国家之一,每年仅 13 种主要有害入侵生物造成的经济损失就高达 574.3 亿元人民币(万方浩等, 2002b)。长期以来,生态学家一直在探索为什么只有少数的外来种变成了入侵种?与非入侵种相比,入侵种是否有相同的生物学、生态学特征?与非入侵地相比,被入侵的群落或生态系统是否有相似的群落结构和功能?围绕这些问题,研究人员针对不同的入侵种进行了大量的研究。

由于许多外来种对当地带来的巨大影响与危害,Elton 早在 1958 年就完成了一部系列介绍生物入侵的专著《The Ecology of Invasion by Animals and Plants》。作者在书中除列举了许多生物入侵的案例外,还提出了一些解释生物入侵的重要理论和假设,如新栖息地缺乏入侵种的天敌,生物多样性抵抗入侵等(Elton, 1958)。此后,外来生物入侵机制的研究激起了许多科学家的兴趣,试图从不同的角度解释和认识外来种的入侵。但是由于生物入侵是一个极其复杂的过程,不同入侵种的传入、种群增长、繁殖、适应新的环境、扩散和爆发都存在很大差异,给外来生物入侵机制研究带来很大困难(徐汝梅和叶万辉, 2003)。“十数定律”(tens rule)表明,到达某一地区的外来种大约只有千分之一能够成为危害性的入侵种(Williamson, 1996),因此对这些占少数却危害严重的外来生物成功入侵的机制研究已经是入侵生态学的研究重点之一(万方浩等, 2005; 徐承远等, 2001; 高增祥等, 2003)。外来物种能否入侵成功依赖于多方面的因素,研究热点主要集中在:外来物种本身的生物学特性(biological attributes)、被入侵生境的可入侵性(invasibility)或敏感性(susceptibility),以及两者的相互作用(biotic interactions with the receptive community)(Vila & Weiner, 2004)。现分别从这三个方面,以近年来国内外相关研究的权威假说为对象,对外来植物的入侵机制研究加以综述。

1.1.1 外来入侵植物的生物生态学特征

外来植物的入侵能力与其性状之间的关系是入侵生态学中的基本问题之一(Alpert et al., 2000)。成功入侵的外来植物具备哪些特殊的生物生态学特征,一直是很多生态学家研究的热点问题,对这些习性的深入研究和把握,对于直接揭示外来入侵植物的扩张机理具有非常直接和现实的意义。研究发现,大量的生物入侵往往发生在人类或自然干扰过的生境中,在这些生境中 r-对策的种群常常具有较强的入侵扩张能力(Rejmanek & Richardson, 1996; 郭水良等, 2004)。Greene

和 Johnson (1994) 发现入侵植物一般具有较短的幼苗期、繁殖期和大量易于传播且萌发较快的种子, 最终表现出较快的种群增长。通过对加州外来和本地同属多年生丛生禾草(*Festuca idahoensis* E.) 的比较, 发现外来种群生长迅速(在旱季出现前就基本完成了生长循环), 且其潜根系吸水功能较强 (Holmes & Rice, 1996)。Smith 等(1999)研究比较了地中海本地蕨藻属绿藻和同属入侵种杉叶蕨藻 (*Caulerpa taxifolia* C.) 形态和生态学的区别, 试验和野外调查都发现该入侵种群具有小片断(5-40mm 长) 分裂生殖的特性。欧洲沙丘草 (*Ammophila arenaria* L.) 则具备较本地种群较高的生态逆境忍耐性和旺盛的根茎繁殖力(Hertling & Lubke, 2000)。Radford 等(2000)比较了菊科千里光属的入侵和非入侵植物 *Senecio madagascariensis* (P.) 和 *S. lautus* (F.) 的生物生态学特性, 通过野外调查发现, 入侵种有较长的花期、种子多和幼苗较为健壮, 且在有光和无光条件下, 入侵种的幼苗发育速率都较大且存活率高, 这些表明入侵种群对特殊环境具有很好生理和形态学的适应性。赵广琦等(2005)以外来入侵植物互花米草(*Spartina alterniflora* L.) 与本地种芦苇(*Phragmites communis* T.) 为研究对象, 对它们的光合特性进行了比较, 发现互花米草的光合、气孔导度和蒸腾速率均高于芦苇, 研究还发现互花米草叶片上布满发达盐腺和气孔, 在潮间带几乎均可生长, 且具有发达的地下茎, 靠地下茎及种子繁殖。徐正浩和王一平(2004)在分析有关互花米草入侵生物生态特征时也得到了类似的结果。作为世界上生长最快的入侵性植物之一的凤眼莲 (*Eichhornia Crassipes* S.) 具备流漂、克隆生长特性, 此外它还具有广泛的环境适应性(高雷和李博, 2004)。入侵杂草空心莲子草 (*Alternanthera philoxeroides* (M.) G.) 则具有多种生态型、生物型和无性繁殖的生物学特性, 此外其抗逆能力强(如对低温和高温环境的适应性), 生长适应范围广, 可生长于海拔 0~2700m 间(马瑞燕等, 2005)。

一些入侵植物具有改变入侵地环境条件促进自身生长的特性, 如 Marler 等(1999)研究发现, 矢车菊(*Centaurea diffusa* L.) 能通过自身菌根真菌对入侵地伴生植物丛生禾草(*Festuca idahoensis* E.) 发生作用, 使后者在资源竞争中处于劣势, 类似的研究如 Davis 等(2005)发现外来植物在旱季生长后改变土壤环境, 对伴生植物的幼苗生长产生了明显的抑制作用。一般来说, 入侵植物常具备较大的叶片、在夏季开花且有较长的花期和种子能随风或节肢动物传播的生物生态和繁殖等特征(Lake & Leishman, 2004; Lloret et al., 2005)。在这方面, 近年研究热点之一的繁殖压力假说 (Propagule Pressure Hypothesis) 指出, 由于种子源有限对入侵物种是普遍现象, 外来植物在本地入侵成功的程度与外来物种的基数密切相关(Williamson, 1996; Mack et al., 2000), 因此入侵种的繁殖特性对其在新栖息地种群的建立必然有很大作用(Turnbull et al., 2000)。Baker 等(1974)针对外来入侵植物总结出了其入侵成功的生活史特征, 概括为: 既可以有性繁殖, 也有无性繁殖的能力; 从种子发育到成熟的时间短; 对环境的异质性有很强的耐受力, 尤其是对环境胁迫的适应性强。

1.1.2 被入侵生境的可入侵性

被入侵生境的可入侵性是指生态系统可被入侵的可能性, 用于全面评价特定区域或群落易遭受入侵的程度 (Mack et al., 2000), 对外来生物能否成功入侵意义重大。被入侵生境的可入侵性与入侵生物的死亡率、对入侵的干扰水平、生态系统抵抗入侵的能力以及入侵种和当地种的互动等关系密切 (Lonsdale, 1999)。通过对被入侵生境不同特征的研究, 研究人员提出了各种假说。

1.1.2.1 物种多样性阻抗假说 (Diversity Resistent Hypothesis)

关于生态系统对外来植物入侵的抵抗方面,一直以来很权威而又非常富有争议的一个观点就是物种多样性阻抗假说,它是指物种多样性高的群落要比多样性低的群落对外来物种入侵的抗性高(Elton, 1958)。这一假说在理论上的依据是,低多样性群落内部种间联系脆弱且具有相对较多的空余生态位(Crawley, 1987; Drake, 1990),即在多样性低的群落中,资源的利用率是较低的,这为外来物种间接提供了生存空间,所以这样的群落被入侵性就会较高(Crawley, 1987; Tilman et al., 1996; Hooper & Vitousek, 1998)。有关物种多样性阻抗假说,最近许多研究从多样性和入侵性着手进行了相应的探究,但类似于生态系统的输出、稳定性和其多样性关系的研究,结果出现了很多争论。在野外大面积的调查往往发现,群落多样性和可入侵性是呈正相关的,如 Robinson 等(1995)通过调查加州一年生草地外来植物情况,发现物种丰富的地区更易于被外来生物入侵。Rejmanek (1996)通过对全球范围入侵生物信息分析,发现热带地区的入侵生物在减少,这在一定程度上反映出热带地区的生物群对外来入侵生物具有较高的抗性,而其全球其它生态区却与之相反。而 Stadler 等(2000)通过分析肯尼亚西北部 20 个生态地带的本地和外来植物的分布发现,物种丰富的地区入侵生物也较多,且本地和外来入侵物种具有明显的区域效应,如多样的生物群落地带、温和的农业地区和城区是最易受入侵的,而沙漠和亚热带稀树大草原的入侵性最低,且新群落比旧群落更易于受入侵。另一方面,在人为组合因子下的区域试验中却发现多样性大的群落,其抗入侵性较高。如 Dukes (2001)比较不同多样性的草原微生物群落对外来一年生杂草黄色星蓟 (*Centaurea solstitialis* L.) 的入侵抗性,发现群落功能多样性高能明显减少该杂草的有效入侵,而物种多样性却对入侵性无明显影响,这表明不能仅仅从物种多样性尺度上总体评价一个群落的可入侵性。Naeem 等(2000)在本地物种丰富度受到调控的牧场和温室内,分别研究了多样性与外来植物屋根草 (*Crepis tectorum* L.) 入侵性的关系,发现多样性与入侵性呈现显著的负相关,并认为这主要是由于本地较高的物种多样性而增加了拥挤度,且减少了资源中可用光和营养的原因。最新的研究认为出现这种矛盾可能是由于研究的不同层次所造成的,如 Bai 等(2004)通过对内蒙古草原 24 年生态系统的稳定性和补偿效应的关系的调查,发现生态系统稳定性(负相关于群落生物量产出)随着群落内组织水平(物种到功能团到整个群落)层次的增加而增加,而群落水平上的稳定性来自于物种和功能团内部之间的补偿效应(在环境条件的波动下,某一物种或功能团生物量的下降往往能够被另一物种或功能团补偿)。

综合而论,野外大面积的调查往往不能反应出与多样性协变并能影响入侵性的外在因素的那些作用,如生殖压力、干扰和可用资源等(Levine & D'Antonio, 1999; Shea & Chesson, 2002),而区域人为设计试验的研究,在另一方面由于统一的试验控制而忽略了这些因子的作用,最终限制了我们对于野外多样性和其众多协变因子关联作用的理解。因此结合外在因子与群落多样性,研究其与入侵性的关系往往能进一步加深我们对物种多样性抵抗假说的认识,如 Davis 和 Pelsor(2001)在田间调控试验研究中,发现可用资源的波动(甚至短至1周)显著影响了物种间的竞争关系,从而直接对外来植物入侵成功与否产生很大的影响, Foster 等(2002)的研究则发现多样性高的草原更易于被外来物种入侵,这其中可用资源的作用可能比物种多样性还明显,比如 N 肥的有效增加 (Siemann & Rogers, 2003a)。

1.1.2.2 空余生态位假说 (Empty Niche Hypothesis)

区别于普通生态学中生态位的定义,空余生态位假说所指的生态位主要相对于外来入侵生物来说,它认为外来生物入侵是因为它们在入侵地利用了本地物种利用率较低,即相对富余的资源而促使其成功入侵(Elton, 1958; Mack et al., 2000)。因为传统上物种丰富的群落被认为内部资源利用比较充分,从而缺少相对空缺的生态位,因此该假说也是物种多样性抵抗假说的理论支柱之一(Levine & D'Antonio, 1999)。该假说指出生物因素(食物资源、天敌)和物理因素(如温度、湿度)决定入侵种的增长率,它们在某一特定时空点的结合决定了“生态位空间(niche space)”的一个点,而“生态位空间”随时间和空间而变化,一个物种对这些因素时空变化的反应如何决定了它的入侵力(Shea & Chesson, 2002)。

这一假说的研究主要从两个方面来加以考虑,一是外来植物自身一些相对特殊的生物生态学特征,另一方面则是入侵地生物资源的相对富余状况,如黄色星蓟(*Centaurea solstitialis* L.)在加州成为主要的一年生杂草,由于它可以利用相对较深土层(地下60cm)的水分资源,而该地区却以一年生早衰、潜根系的杂草为主(Dyer & Rice, 1999),所以较长的根系为该植物提供利用空余资源的优势。Dukes(2001)则从本地生态系统植物功能团的角度,研究了对黄色星蓟的入侵抗性,发现减少夏季土壤水分,增加功能团上的群落多样性,和种植本地与黄色星蓟同样具有较长根系的晚季一年生菊科杂草*Hemizonia congesta* (D.),能明显提高群落对黄色星蓟的抗性,且研究还发现一年生杂草要比多年生杂草对外来植物入侵抗性更为敏感。总之,对该假说的很多研究还主要停留在理论上,相关的试验还很缺乏。在该假说的试验研究中,可以考虑从原产地和入侵地相对可用资源的比较来加以评价,一方面要进一步挖掘出入侵地带可能相对空余的资源,对一些特殊资源要通过在原产地的植物群落中该资源可能被哪些其它植物利用来比较断定;至于本地空余生态位的测定,则还可以通过在本地调查一些主要资源(如光照、水分和营养)可能被入侵植物利用的相对空余度(Hierro et al., 2005)方面来考虑。

1.1.2.3 生态系统干扰假说 (Ecosystem Disturbance Hypothesis)

从入侵地生态系统的角度评判可入侵性的另一个重要的生态因子就是外来干扰。干扰假说指外来植物在入侵地带,能够适应本地生物基本不能抵抗的外界因素的干扰作用,而促进其种群入侵扩张(Baker, 1974)。这里的干扰可分为自然干扰与人为干扰,干扰往往能促使入侵地群落中形成空的生态位,降低了这些区域的土著生物群落对入侵的抵抗力,使外来种易于进入定居。根据植物种群生态策略,研究发现外来杂草种群总能压过本地杂草竞争者并度过其入侵早期胁迫的阶段(Huston & Smith, 1987)。一些研究发现,本地植物往往没有外来物种所经历过多种类型和强度干扰的经历(Mack et al., 2000),这解释了为什么本地杂草群落不能在受干扰破坏的生境中象外来物种那样定殖。Smith & Knapp (1999)在一个以C4植物为主的草原进行了15年的试验,研究群落结构和外界干扰对群落入侵性的效应,发现外界干扰(火烧或放牧)严重影响着本地和外来植物的丰富度,表明在干扰影响下的群落结构对草原的可入侵性起着重要的作用。此外,全球变化也促进了生物入侵的成功发生(Dukes & Mooney, 1999),因为从整个生物圈的角度看,全球变化会使气候带范围发生改变,这必然会改变物种与资源的分布区域,结果促进了生物入侵。但目前为止,该假说虽然一直以来得到公认,同样很少从试验中得到证明,我们或许可以通过在野外通过

生境模拟干扰，调控本地和外来杂草的丰富度来加以验证。

1.1.3 外来入侵植物与入侵地生境的互作关系

外来入侵植物与入侵地生境的互作关系是影响外来植物入侵力和生态系统可入侵性的一个重要方面，对外来植物成功入侵有着决定性作用。单纯地考虑外来植物的生物特性或入侵地生境特征都无法正确预测外来植物入侵，因为最终决定入侵成功的是外来入侵植物与入侵地生境的互作，两者“相互吻合”的综合作用是成功入侵的决定因素。

1.1.3.1 天敌逃避假说 (Natural Enemies Hypothesis)

在众多有关外来种与本地种互作的假说中，出现较早且被广泛引用的假设理论为天敌逃避假说(Darwin, 1859; Elton, 1958)。它是指外来植物在入侵地带，因逃逸了原产地专性天敌的控制，而在入侵地区又相对缺乏有效天敌的控制，最终促使其种群快速繁衍扩张。该假说隐含着两个前提：(1)外来植物在原产地的种群会受到植食动物的有效控制；(2)外来植物在入侵地受到来自植食动物的种群压力一般很小。最近有关该假说的研究，一方面主要在同一地区将本地植物的植食动物量及其对植物种群的影响，和外来同属的入侵性和非入侵性植物的植食动物量及其影响作比较。另一方面则是在入侵植物的原产地和入侵地同时进行天敌排除的试验来检验植食者对种群的影响。如在植食动物天敌方面，Daehler 和 Strong (1997)研究比较了互花米草(*Spartina alterniflora* L.)在三个不同入侵史(重度入侵、轻度入侵和原产地)地区的同属种群，通过分两个时段接虫以比较源发地天敌的控制作用，结果发现原产地种群的地上生物量几乎不受影响、轻度入侵种群受危害相对较轻(地上生物量减少 23%和 17%)，而重度入侵种群则受到严重的取食，生物量减少 70%和 88%，且在第二个时段接虫后，重度入侵地区种群存活率仅有 37%，而轻度入侵种群基本无影响。Wolfe 等(2004)则比较了由欧洲入侵北美洲两百多年的多年生叉枝蝇子草(*Silene latifolia* P.)，通过调查 86 个入侵地和源发地同属种群发现，在欧洲该杂草易于受多种广谱性天敌(如蚜虫、蜗牛、花食者)和两种专性天敌(种子取食者和黑粉菌)的控制，而这些天敌在入侵地带却很缺乏，还发现该杂草在欧洲的受天敌破坏程度要比其在入侵地高 17 倍。分别种植 20 个欧洲本地和已入侵北美的同属植物种群，还发现入侵北美的种群开花早、比源发地高 2—3 倍的繁殖力，且对原产地的天敌比较敏感(Wolfe et al., 2004)。Siemann 和 Rogers(2003c)报道了起源于亚洲的中国乌桕(*Sapium sebiferum* (L.) R.)，在入侵地美国德克萨斯州的发生情况，该植物与本地植物相比的优势表现为天敌稀少、生长快速、防卫缺乏。而在夏威夷，作为本地植物，本地的天敌中喙丽金龟(*Adoretus sinicus* B.)对入侵美国同属种群的取食明显大于对亚洲本地种群。由中南美新热带区的毛野牡丹(*Clidemia hirta* L.)在入侵地夏威夷能扩张生境至林下叶层(understory)生长，而在原产地的林下叶层种植该植物，则使用杀虫剂和杀菌剂才能维持其正常发育生长(Dewalt et al., 2004)。

最近的研究进一步补充提出了外来植物逃避的天敌不仅包括植食性动物，也包括土壤病原菌。在外来植物逃避原产地土壤微生物控制的方面，Beckstead和Parker(2003)研究了由欧洲入侵美国加州沿海的沙丘海滩草(*Ammophila arenaria* L.)的源发地地下病原菌对入侵地种群的控制作用，发现没灭菌的欧洲土壤种植的入侵地植物，其生长要比灭菌情况下受到的负面影响明显要

大, 幼苗存活减少了7–13%, 种子萌发减少了12–16%, 同时根和茎的生物量也出现了明显的减少。Reinhartl等(2003)发现由美国入侵西北部欧洲的北草莓(*Prunus serotina* E.), 在美国本地其周围的土壤微生物腐霉菌(*Pythium spp.*)能有效控制该种群的大量增殖, 而在欧洲则刚好相反。Callaway等(2004)报道了源发地西欧的4个和入侵地北美的矢车菊根际土壤微生物对矢车菊的影响, 个体水平上, 灭菌地欧洲土壤培养的矢车菊生物量增加了166%, 而灭菌的北美土壤培养的矢车菊生物量却只增加了24%。在种群和根际水平上, 灭菌的欧洲土壤培养的矢车菊生物量增加了31%–900%, 而灭菌的北美土壤培养的矢车菊生物量却从24%的降低(表明土壤微生物的协同作用)到59%的增加。这些研究表明, 原产地土壤微生物对外来植物的控制作用比入侵地土壤微生物明显强。

但是, 近来有一些研究却发现本地的植食性或病菌天敌对外来植物也具有控制作用, 如Daehler和Strong(1997)发现专食性蝗虫(*Prokelisia marginata* V.)对一直很少被蝗虫取食的外来植物互花米草(*Spartina alterniflora* L.)具有显著的取食效应。Siemann和Rogers(2003b)也发现, 温室专食性蝗虫对外来植物乌桕(*Sapium sebiferum* (L.) R.)具有偏嗜性。此外一些生态学家指出即使在源发地, 那些天敌对植物的控制作用也并不一定很明显(Crawley, 1989), 而且即使天敌被成功引入某一地区, 也无法控制外来种, 如澳大利亚曾引入空心莲子草叶甲(*Agasicles hygrophila* S. & V.)与一种鳞翅目卷蛾科 *Vogtia malloi* (P.)来防治外来种空心莲子草, 该天敌在水域中取得了较好的效果, 却无法控制空心莲子草的旱生种群(Julien & Chan, 1992)。因此, 首先比较研究源发地植食性或病原菌等天敌对某个外来种群是否能有效的控制, 对于评价天敌逃逸假说是很有意义的(Parker et al., 2006)。

1.1.3.2 入侵进化假说 (Evolution of Invasiveness Hypothesis)

入侵进化假说是指外来植物通过在其入侵扩张期间的“快速进化作用”, 形成的种群会比其源发地的同属种群在密度、个体表现型上要大和长势迅速等特点(Crawley, 1987; Blossey & Notzold, 1995)。基于天敌假说的理论前提, 该假说认为外来生物由于逃逸了原产地天敌的控制而失去了自身原先对那些天敌的抗性, 这样外来植物就可能在入侵地区较低的天敌选择压力下重新分配体内资源, 从而在大小、繁殖力等表现型, 甚至在遗传上发生快速而有利于种群扩展的变化(Sakai et al., 2001; Lee, 2002; Stockwell et al., 2003; Maron et al., 2004)。近年来, 很多学者对该假说的检验和应用开展了系列研究和探讨。

Crawley (1987)研究发现, 从欧洲入侵到加州的植物中, 和源发地同属种群相比, 43%的植物变大, 28%变小, 剩余的基本不变。Thebaud和Simberloff(2001)则在扩大调查数据量的基础上, 开展了与Crawley(1987)类似的比较研究, 结果发现35%的植物变大, 29%变小。以起源于亚洲入侵美国东南部的中国乌桕(*Sapium sebiferum* L.)为对象, Siemann和Rogers(2001)发现该植物在入侵地区的种群要比其在源发地同属种群个体更大且繁殖力更强, 但种子质量较低, 且抗病性较差。Jakobs等(2004)根据快速进化假说, 指出物种在自身对天敌防卫和增强竞争力之间存在一个平衡, 研究通过调查外来入侵植物巨大一枝黄花(*Solidago gigantea* A.)的46个北美种群和45个欧洲种群, 在分析了两地带在气候和纬度无明显差异的基础上, 发现入侵种群的平均种群大小、密度和总生物量较其原产地高。Vila和Weiner(2004)从69个入侵种群在源发地与入侵地的成对比较试验

结果中发现,入侵种群比原产地种群的竞争力强,且入侵地和源发地种群混合后的繁殖率要比源发地单一一种群高,但比单一入侵种群低,故此指出入侵种群对总植物群落生物量的影响能作为衡量入侵种群竞争力的一个重要指标。Hinz & Schwarzlaender (2004)通过检索从1976到2004年的CAB数据库有关入侵植物在快速进化和天敌释放等方面文献的摘要,综合分析了39个发表和2个待发表研究中的40个植物种群后认为,入侵植物往往在入侵地带能形成了密度、繁殖力和种子库更大的种群,以及较高的重建速率。

但另一些研究却得出了与入侵进化假说相矛盾的结果。以入侵欧洲的典型植物苏格兰金雀花(*Cytisus scoparius* L.)为例,Rees 和 Paynter (1997)首次报道该植物在入侵地区的种群平均寿命延长、个体长势迅速且植株更高。而 Paynter 等(2003)系统地调查该植物在不同入侵地种群(欧洲地区 7 个地带、新西兰地区 20 个地带和澳大利亚 11 个地带),却发现了与 Rees 和 Paynter (1997)相反的结果。Buckley 等(2003)比较研究了苏格兰金雀花和荆豆(*Ulex europaeus* L.)的源发地种群和入侵地带种群,发现苏格兰金雀花的种子在入侵地带要明显偏重,但荆豆的种群在两地无显著差别。综合这些研究可见,即便是同一入侵植物也不同的结果,这可能与不同研究的调查时间、方法甚至不同群落的结构年龄有关,但这对快速进化假说却是有力的质疑,这时如果结合其它因子来综合分析快速进化假说就显得很有意义。如 Edwards 等(1998)研究发现千屈菜(*Herba Lythri salicariae* L.)种群在营养条件好的入侵地带呈现较高的繁殖力,但在营养条件差或一般的地带其繁殖力基本无差异。Leger 和 Rice (2003)发现从智利引进的罂粟(*Eschscholzia californica* C.)在没有其它植物竞争的情况下,才可能比加州本地种群更大而且繁殖力强。Pritchard (1960)通过在英国同一的园区培育来自不同地区的源发地欧洲引进北美、澳大利亚和新西兰等地的同属植物贯叶连翘(*Hypericum perforatum* S.)种群,比较其表现型的差异,发现外来种群要比本地的更加粗壮,Maron 等(2004)在华盛顿 2 年的园区试验也发现了类似的结果,但随着时间的延长,这种现象消失了,且在加州、瑞典和西班牙的试验也证实外来种群并不比本地种群表现型大或繁殖力强,甚至发现外来种群明显降低了对病菌的抵御能力。

对于入侵进化假说机理的揭示是近年来该假说的一个研究热点和难点,目前主要从快速遗传进化(Crawley, 1987)、表型可塑性和杂交等方面来加以解释。遗传分化(包括生态型分化)和表型可塑性是广布性物种适应变化、异质性生境的两种不同但并不矛盾和排斥的策略。Maron 等(2004)分别在入侵地华盛顿、加州和源发地西班牙、瑞典种植比较了入侵北美的贯叶连翘(*Hypericum perforatum* S.)个体大小、繁殖力和叶片面积,同时应用 AFLP 标记技术测定了这些种群遗传相关性,结果发现这些地区的种群存在明显的遗传差异,通过共同的园区试验发现两地种群在大小、繁殖力和叶面积方面还不存在明显差异,他们认为适应性进化可能是外来物种成功入侵的机制之一。虽然传统认为入侵生物的快速进化是由于遗传学基础上的现象(Crawley, 1987),而 Willis 等(2000)则应用来自英国和欧洲大陆入侵澳大利亚和新西兰的麝香飞廉(*Carduus nutans* L.)和毛地黄(*Digitalis purpurea* L.)在同一环境中生长比较观察,结果发现其在大小和繁殖力方面无明显差异,这从另一个角度说明植物入侵发生的改变可能是环境诱导表型可塑性的结果,而非遗传表达。此外,有研究发现杂交的后代生活能力超过双亲,具有很强的新入侵性,能明显排挤其土著种亲本。例如由外来杂草莫邪菊(*Carpobrotus edulis* L.)与土著同属植物 *C. chilensis* (L.)的杂交产生的后代是美国加州海岸广泛分布的杂草,无论在沙丘还是草地上,杂种后代的生长力

都强于土著亲本，而且杂种后代对食草动物的抵抗也明显增强(Vila & Dantonio, 1998)。Milne 和 Abbott (2000)应用叶绿体和核酸 DNA 分析，发现因为农艺目的而从美国引进英国的入侵植物彭士杜鹃花 (*Rhododendron ponticum* L.) 在形态上出现的改变，基本是由于杂交导致的。

总之，入侵进化假说目前还是主要围绕本地和源发地多种群采样并开展相应的同一园区培育为主，通过比较外来植物的在入侵地表现型的变化来加以检验(Siemann & Rogers 2003b)，在机理上可能还要对这些种群的后代进行培育，以检验潜在的遗传效应。但需要注意的问题是，在入侵地区选择园区培育，这里的环境条件是否对源发地植物有其它影响，且对揭示快速进化理论的机理（如表型可塑性）适应性存在的问题还有待于进一步探究。

1.1.3.3 神秘武器假说 (Novel Weapons Hypothesis)

神秘武器假说主要强调化感在植物入侵过程中对本地植物的抑制作用，该假设认为外来植物成功入侵是因为它们能通过分泌化感物质作用于本地植物群落(Callaway & Aschehoug 2000; Bais et al.2003)，该假说的理论基础是外来植物所分泌的化感物质，因在源发地其周围植物因为长期的协同进化作用而对它有较好的适应性，而在入侵地带则成为一种本地植物无法适应的相对新奇的物质而对本地群落发生作用。

Callaway和Aschehoug (2000)研究比较了来自欧亚大陆入侵北美的杂草矢车菊 (*Centaurea diffusa* L.) 对源发地伴生禾草和北美三种入侵地带同属禾草的抑制作用。发现矢车菊的根系分泌物对北美禾草具有显著的抑制作用，而活性炭吸附可以显著减轻这一作用，相比之下这些根系分泌物对其源发地的禾草作用却不明显。这说明矢车菊产生的化学物质是欧亚地区禾草所适应的，但北美禾草却没有适应。Vivanco等(2004)则报道了矢车菊两地土壤微生物对其入侵性的影响，相对来说欧亚土壤群落要比北美的抗入侵性强。结合生态、生理、生化信号传导和基因组方法，Bais等(2003)从矢车菊根系中分离得到了(-)-儿茶素 (Catechin)，并发现该物质在北美土壤中的浓度要比其源发地欧亚高两倍，且欧亚的植物对该物质具有较高的抗性。采用Callaway和Aschehoug (2000)类似的方法，Prati和Bossdorf (2004)检测了入侵北美的林下杂草葱芥 (*Alliaria petiolata* B.) 的化感作用，伴生植物分别为北美的 *Geum laciniatum* M.和欧洲的 *G. urbanum* L.，结果发现外来植物在入侵地对伴生草的萌发显著抑制，而对欧洲同种伴生草种子萌发并无显著的作用，而原产地的入侵植物对两地的伴生草都产生了显著的抑制作用。杨国庆(2006)研究了紫茎泽兰的主效淋溶物质对旱稻的化感作用机理，发现两个化感物质处理后，旱稻幼苗在整株形态上表现出矮小、叶片发黄、根短小肿胀、侧根缺乏；进一步的扫描电镜和石蜡切片结果表明，旱稻幼苗根尖细胞的外观和解剖结构发生了明显变化，如核膜缺失、液泡增多、高尔基体变空等。

但是，神秘武器假说很多试验还仅停留于实验室内完成，这在一定程度上是缺乏生态学意义的，而目前在野外综合环境因子开展化感在外来植物入侵中作用的研究还刚刚起步。由于野外环境复杂多变，植物化感物质的合成、释放均受环境的影响，同时化感物质也会随雨水流失、被土壤吸附、被土壤生物以及其他植物分解等，这都直接或间接地影响化感作用 (Inderjit & Nilsen, 2003c)。试验中应模拟调控化感物质的释放时间、速率及更新速率，而且还要考虑土壤微生物群落的作用，在试验操作和技术上是有一定难度的，有时还会出现一些因为方法技术上的失误所

导致的理论推测偏差, 如Blair等(2005)通过在Bais等(2003)研究的基础上, 再次检验(-)-儿茶素在野外的实际浓度及其对同一受体植物的作用, 发现与前面工作相驳的结果((-)-儿茶素田间浓度远没有1000ppm、对禾草(*Festua idaboensis* L.)的至死毒性浓度也要比原先报道高十倍。因此, 有关化感作用在植物入侵过程中的重要性还有待于进一步研究。

总之, 外来生物入侵的机理是一个非常复杂的问题, 每一种理论假说在其应用方面都存在一定的局限性, 往往只能适用于某一物种的某一阶段, 还要在考虑环境因子的基础上加以解释。因此用某一种假说来解释所有的入侵现象基本是不可能的, 因此必须首先对入侵植物特性的进行初步认识的基础上, 综合应用分析其入侵机理, 最终提出某一阶段或空间条件下的主要入侵假说。

1.2 外来植物入侵的土壤微生物学机制研究

外来植物入侵到新的生态系统, 通过与土著植物竞争各种资源, 排斥土著植物, 不断扩张, 造成生物多样性丧失; 其入侵机制和策略十分复杂且呈现多样化(Mack et al., 2000), 其中, 外来入侵植物与土壤微生物群落的互作关系越来越引起研究者的重视(Callaway et al., 2004; Klironomos, 2002)。土壤微生物群落是地下生态系统中重要的生物因子, 对生态系统的稳定性和植物生长、竞争有重要作用(Westover & Bever, 2001; Reynolds et al., 2003); 同时是土著植物和入侵植物相互作用的媒介, 其结构和功能受到外来植物入侵的影响, 并通过反馈作用影响或改变外来植物的入侵进程(Kourtev et al., 2002, 2003; Li et al., 2006)。自然生态系统理论认为: 植物与土壤中微生物群落之间普遍存在负反馈作用, 这是控制物种群落、保持生物多样性的自然调节方法。而外来入侵植物在入侵地快速生长、扩张, 造成生物多样性丧失, 这一生态过程可能与入侵地土壤微生物群落反馈存在密切关系(Augsburger & Kelly, 1984; van der Putten et al., 1993; Mills & Bever, 1998; Packer & Clay, 2000)。

入侵植物与入侵地土壤微生物的互作关系是影响外来植物入侵力和生态系统可入侵性的一个重要方面。外来入侵植物对入侵地土壤养分循环和土壤微生物群落的影响以及这种影响对外来植物入侵进程、与当地植物的竞争有怎样的反馈作用是当前备受关注的, 也是国内外的研究热点(Callaway et al., 2004b; Reinhart & Callaway, 2004)。外来植物入侵可以引起土壤微生物群落及土壤生态系统过程发生改变, 反过来这种改变可能有利于外来植物与当地植物的竞争, 使其排挤当地植物, 形成单优植物群落并快速扩张蔓延。因此, 外来入侵植物对入侵地土壤养分循环和土壤微生物群落的影响不仅是入侵效应问题, 更与外来植物的入侵机制联系紧密。

由于外来植物入侵的土壤微生物学机制是本研究的核心内容, 本节将重点对外来植物入侵对土壤生态过程的影响, 特别是对土壤微生物群落和土壤养分的影响, 以及外来入侵植物与土壤微生物的互作关系作以综述, 并探讨认识外来植物入侵的土壤微生物学机制对外来入侵植物生态修复的指导作用。

1.2.1 土壤微生物对植物生长、竞争和群落演替的作用

土壤微生物是构成土壤肥力的重要因素, 参与土壤的形成和发育, 在生态系统中组成了一个强大的动力资源库, 在植物残体降解、腐殖质形成及养分循环中扮演着十分重要的角色(许光辉

和李振高, 1991; 张福锁, 1998); 同时, 土壤微生物群落可以通过各种途径影响植物的生长、竞争, 包括促进植物养分吸收、加速土壤营养元素转化、提高抗逆性、减少病原菌侵害等方面(鲁如坤, 1998; 吴建峰和林先贵, 2003)。植物通过各种途径向土壤中排泄大量光合产物和化感物质, 调控、诱导土壤微生物群落, 并在长期进化中形成了植物与土壤微生物群落稳定的动态系统(周纪纶等, 1992; Bever et al., 1997; Bever, 2002, 2003)。由于植物与土壤微生物群落的关系可以决定植物群落的演替方向, 特别是土壤中特定微生物类群的改变可能影响植物间的竞争关系和生态位, 对生态系统的稳定性和和谐性以及对抗生态环境恶化的缓冲能力有重要作用(Reynolds et al., 2003; Deyn et al., 2004; 李博, 2001), 因此, 植物与土壤微生物的互作关系是生态学研究的重要内容之一, 对全面认识和阐述外来植物入侵扩张机制有重要意义。

1.2.2 外来植物入侵对土壤生态过程的影响

1.2.2.1 外来植物入侵对土壤养分的影响

全面评估外来入侵植物对入侵地生态系统造成的影响是入侵生态学研究的重要内容, 以往的研究多集中在对地上动植物群落的影响, 而对于生态系统地下部分的生物多样性及生态系统过程影响的研究相对较少(Ehrenfeld, 2003; Levine et al., 2003)。但随着对生态系统地下部分重要性认识的深入(贺金生等, 2004; Copley, 2000; Johnson et al., 2004; Wardle et al., 2004), 探讨外来入侵植物对入侵地土壤养分循环的影响已成为研究热点之一(Belnap & Phillips, 2001; Rice et al., 2004)。这些研究主要集中于比较外来植物与土著植物土壤的总氮、无机氮、氮矿化率和土壤有机碳的差异(Mack & D'Antonio, 2003; Hook et al., 2004; Wolf et al., 2004; Yelenik et al., 2004), 进而说明外来入侵植物对土壤养分的影响。但外来植物对土壤养分影响的研究结论有很大不一致。一些研究表明外来植物入侵增加了入侵地土壤总氮含量(Vitousek et al., 1987; Stock et al., 1995; Asner & Beatty, 1996; Yelenik et al., 2004); 另一些研究则报道外来植物减少了其入侵地土壤总氮(贺握权和黄忠良, 2004; Feller, 1983; Bhatt et al., 1994; Trent et al., 1994; Christian & Wilson, 1999); 还有一些研究发现外来植物没有改变入侵地土壤总氮(Otto et al., 1999; Porazinska et al., 2003)。外来植物入侵对土壤无机氮(铵态氮和硝态氮)的影响同样存在增加、减少或没有影响 3 种格局。有些研究表明外来植物使土壤无机氮增加(Kourtev et al., 1999, 2003; Yelenik et al., 2004), 有些研究则表明使土壤无机氮减少(Wolf et al., 2004)。另一些研究报道外来植物入侵没有改变土壤无机氮含量, 如入侵美国东海岸的芦苇, 其土壤无机氮含量与土著植物没有显著差异(Windham & Ehrenfeld, 2003)。Saggar 等(1999)研究表明外来植物入侵增加了土壤有机碳的数量; 但是 Windham 和 Lathrop(1999)发现美国新泽西州的入侵种芦苇没有改变土壤有机碳含量, 同时发现芦苇取代土著植物狐米草后, 土壤反硝化速率是入侵前的 1.6 倍(Windham & Ehrenfeld, 2003)。外来植物入侵会导致土壤氮的矿化作用(mineralization)增强(Vinton & Burke, 1995; Ehrenfeld et al., 2001), 这可能是因为入侵植物改变了土壤中与氮转化相关的微生物类群, 如外来植物燕麦(*Avena barbata* L.)和雀麦(*Bromus secalinus* L.)入侵贫瘠土壤两年后, 土壤氨氧化细菌群落发生了改变, 且氮的矿化作用和硝化作用都显著增强(Hawkes et al., 2005)。土壤理化性质也受到外来植物入侵的影响, 已有的研究主要集中在对土壤 pH、土壤持水量、黏性等的影响(Mack & D'Antonio, 2003; Hook et al., 2004; Rice et al., 2004)。陆建忠等(2005)发现入侵植物加拿大一枝黄花(*Solidago canadensis* L.)调节了土壤

pH, 增加了总碳、氮库和有机质库, 并认为这种改变有利于其入侵。

不同的入侵植物对土壤中不同养分元素的影响不同, 这可能与入侵植物自身生物特性和当地生境的养分输入有关, 如一年生入侵植物会通过自身的残体分解增加土壤养分, 而多年生入侵植物的扩张蔓延则消耗大量养分 (Asner & Beatty, 1996; Duda et al., 2003)。养分获得对入侵植物的生长、扩张有决定作用, 入侵植物对土壤养分的影响可能与其养分获得是一个相互促进的过程 (Yu et al., 2005; Hawkes et al., 2005; Li et al., 2006), 但目前的研究没有把入侵植物对土壤养分的影响与入侵植物对养分的吸收联系起来, 因此需要进一步的研究来证实入侵植物对土壤养分的影响与外来植物入侵机制的关系。值得注意的是外来入侵植物对土壤养分的影响与其对土壤微生物群落的影响同时存在于入侵的整个过程, 土壤微生物群落结构和功能的变化可以改变土壤养分循环, 促进入侵植物养分吸收。

1.2.2.2 外来植物入侵对土壤微生物群落和功能的影响

外来入侵植物一旦成功地定居并扩张, 它就会通过各种途径影响入侵地的生态系统, 而对地下土壤微生物群落和功能的影响则更深远, 可以引发生态系统深层次的变化 (Saggar et al., 1999; Belnap & Phillips, 2001; Ravit et al., 2003)。Kourtev等(2002)比较了入侵美国新泽西州的外来植物日本小檗(*Berberis thunbergii* L.)和柔枝莠竹(*Microstegium vimineum* L.)与土著越橘属植物(*Vaccinium* spp.)的根际土(rhizosphere soil)与非根际土(bulk soil)中微生物群落的结构与功能, 结果表明两种外来植物与土著种根际土和非根际土微生物群落的结构与功能之间差异显著; 把这两种入侵植物种植在没有入侵过的土壤中三个月后监测, 发现土壤微生物群落结构和功能已经改变 (Kourtev et al., 2003), 进一步证实了这一结果。Duda等(2003)发现入侵美国西部的盐生草(*Halogeton glomeratus* L.)的土壤细菌功能多样性显著高于土著植物, 同时发现鬼针草(*Bromus secalinus* L.)入侵贫瘠土壤两年后, 与氮代谢循环相关微生物群落发生了显著变化。

外来入侵植物可以通过直接或间接的途径改变入侵地的土壤微生物群落。一方面, 土壤微生物群落随地上植物群落的改变而变化, 外来入侵植物侵入到一个新的栖境后, 在适宜条件下大肆扩散蔓延, 导致当地生物多样性丧失, 这一生态演替过程必然影响土壤微生物群落 (De Deyn et al., 2004; Inderjit, 2005); 另一方面, 外来入侵植物可以通过根系分泌物、淋溶物或凋落物分解等与土壤微生物保持化学通信联系, 改变土壤微生物群落与功能 (Wolfe & Klironoms, 2005; Reinhart & Callaway, 2006)。北美矢车菊(*Centaurea diffusa*)在北美地区广泛入侵, 它的根系可以释放具有杀菌作用的化感物质 8-羟基喹啉(8-hydroxyquinoline), 引起土壤微生物群落的变化 (Vivanco et al., 2004)。葱芥(*Alliaria petiolata* L.)是成功入侵北美森林的芸苔类植物, 这类植物大多能够产生植物性硫配醮体(glucosinolate)类物质, 通过根系分泌和残体分解在土壤中不断沉积, 引起土壤微生物群落的改变; 导致植物菌根真菌(AM)群落衰落和功能崩溃 (Vaughn & Berhow, 1999)。菌根真菌是植物共生菌, 它的菌丝体可以使寄主植物获得能多的土壤营养, 对植物个体生长、种群形成、群落演替都有重要影响 (Richardson et al., 2000; Roberts & Anderson, 2001; Marler et al., 1999)。宿主植物根系中黄酮类化合物与菌根真菌的生长发育及菌根共生体的形成有密切相关, 在共生体形成前, AM 真菌孢子的萌发及菌丝生长需要一定的生长促进物质的诱导(张勇等, 2003; 董昌金和赵斌, 2003)。鉴于此, 有研究者认为入侵植物对入侵地生态系统功能和植物群落的破坏

可能是由于它对地下土壤微生物群落的破坏造成的 (Roberts & Anderson, 2001; Marler et al., 1999)。胡飞等(2002)报道, 胜红蓟产生并释放到土壤中的黄酮类物质对疮痂病菌(*Elasmovirgatum*)、炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporium*)、白粉病菌(*Oidium tetrastictum*)和烟煤病菌(*Capnodium*)等柑桔园主要病原真菌具有抑制活性。Bais 等(2003)发现, 斑点矢车菊根部分泌的儿茶酚对根部的病原菌具有抗菌活性, 能够促进斑点矢车菊的入侵。孔垂华等(2001)研究表明, 胜红蓟挥发油的主要成分胜红蓟素及其衍生物, 单萜和倍半萜类化合物对植物致病真菌抑制活性非常显著。此外, 入侵植物能够通过改变入侵地土壤系统的理化特性, 如 pH、盐分聚集等, 进而改变土壤微生物群落的结构和功能 (Duda et al., 2003)。

目前关于外来植物入侵对土壤微生物群落影响的研究多集中在某一类微生物上, 不能全面地评估外来植物入侵对土壤微生物群落的影响, 也没有与土壤养分的变化联系起来。同时由于土壤微生物群落的极为复杂性, 不同的类群所受影响还不尽相同(Belnap & Phillips, 2001), 需要把群落结构的变化和功能联系起来才能更好的反映外来入侵植物对土壤微生物群落的影响(Kourtev et al., 2002)。

1.2.2.3 外来植物入侵对土壤生态过程影响的途径

外来入侵植物通过各种途径影响土壤养分, 有些入侵植物可以固氮, 叶片营养丰富, 凋落物易分解, 增加土壤的含氮量 (Vitousek, 1987; Vitousek & Walker, 1989); 但也会降低土壤的营养水平, 这主要是由于入侵植物疯狂生长吸收养分, 而植株残体的营养贫乏或难分解, 积累盐分改变土壤 pH 值等造成的(Myster, 1993; M.D'Antonio, 1992)。入侵植物还可以增加入侵地的野火发生频率, 使氮挥发掉, 导致土壤的含氮量降低, 速效钾增加(Walker & Smith, 1997)。外来植物通过根系分泌物聚集具有特殊生理功能的微生物群落, 将土壤中难吸收的营养形态转化为植物可吸收利用的有机物(Thiébaud, 2005), 进入生态系统的物质循环(Suding et al., 2004)。一些外来入侵植物含有或分泌影响土壤微生物生长的物质, 而土壤微生物参与入侵植物的凋落物分解、根系营养吸收等土壤生态过程, 从而影响营养物质的循环(Vivanco et al., 2004)。在果园中种植入侵植物胜红蓟, 可以有效减少病害的发生(Kong et al., 2004); 这可能是因为其根系分泌物改变了土壤微生物群落, 使具有拮抗作用的微生物数量提高。

总之, 植物群落光合作用的部分产物通过各种途径进入土壤, 为土壤微生物提供丰富营养物质, 同时与土壤微生物存在化学通信关系, 形成不同的微生物区系和独特的功能(Zak et al., 2003; Johnson et al., 2004)。不同的入侵植物对土壤微生物群落及其生态过程影响采用的途径可能不尽相同, 归纳起来大致有(Iqbal et al., 2004; Yu et al., 2003; Lawrence et al., 2003): (1)植物的凋落物: 植物凋落物富含营养物质, 为土壤微生物提供能源; 由于外来植物与土著植物凋落物数量和质量的不同, 导致土壤微生物群落不同 (Saggar et al. 1999)。(2)植物根系分泌物: 不同植物根系分泌物的量和化学组成不同, 被微生物的利用程度也不同, 因而外来植物取代土著植物后改变根系对土壤的物质输入, 从而影响土壤微生物的结构和功能 (Kourtev et al. 2002)。(3)通过影响微生物的栖息地土壤理化特性, 如透气性和含水量等, 从而间接地影响土壤微生物多样性 (Duda et al., 2003)。(4)植物地上部分的淋溶物: 如紫茎泽兰的地上部分淋溶物可以改变土壤微生物群落代谢活性 (Yu et al., 2005)。(5)由入侵植物引起的大火和土壤动物群落的变化等。在所有的途径

中入侵植物根系分泌物常被用来解释外来植物的成功入侵,一方面外来植物通过根系分泌物的化感作用直接杀死伴生植物根尖细胞,进而排挤当地植物(Callaway et al., 2000);另一方面,入侵植物通过根系分泌物与土壤微生物保持高效的地下通讯,以此调控根系周围的土壤微生物群落并使其对外来植物入侵作出有利反馈(Kourtev et al., 2003)。无论是入侵植物根系分泌物直接作用,还是通过土壤微生物的间接作用,对于研究外来植物入侵机制都变得越来越重要。

1.2.3 土壤微生物群落对入侵植物生长、竞争的反馈及其机制

土壤微生物群落如何影响外来植物的生长和竞争是入侵机制研究的一个新的方向, Callaway 等(2004)和Reinhart等(2004)已经率先开展了这方面的工作,他们的研究表明入侵地土壤微生物群落能够促进外来植物入侵。随后的许多实验都表明:外来入侵植物在与本地植物群落竞争中,土壤微生物群落可能起到了重要的“桥梁”作用,通过改变了入侵地土壤微生物群落结构,破坏了本地种植物与土壤微生物之间经过长期历史形成的平衡共生关系,影响本地种的生长和种群的更新,使自身间接的获得了偏利,成功入侵扩张(Yu et al., 2005; Li et al., 2006; 陆建忠等, 2005)。

在同一植物生态群落中,丰度最高的植物,土壤微生物对它是有益反馈或是中立的;而丰度较低的植物,土壤微生物是不利反馈(Klironomos, 2002)。入侵植物通过种群竞争形成优势群落与入侵地土壤微生物群落的反馈作用有密切关系。斑点矢车菊(*Centaurea maculosa* L.)原为一种欧洲植物,现在美国西部已经成为一种广泛分布的杂草。研究人员分别将斑点矢车菊种植在灭菌和未经灭菌的欧洲和美洲土壤中进行生长比较实验。结果表明,种植在美洲灭菌土壤中的生物量是未灭菌的 148%,而种植在欧洲灭菌土壤中的生物量是未灭菌的 900%(在原产地土壤微生物群落对斑点矢车菊生长的阻碍作用要远远大于入侵地土壤微生物群落);并且通过对土壤微生物群落进行 PCR-DGGE 分析发现原产地和入侵地根系土壤中微生物群落存在很大差异(Callaway et al., 2004a)。深入分析认为可能是与躲避原产地土壤病原菌有关,后来的研究还表明这种生长的差异与形成菌根真菌及伴生植物种类有关(Callaway et al., 2000, 2004b)。

土壤病原微生物影响植物间的竞争关系(Putten et al., 1993; Brinkmana et al., 2005),入侵地土壤(与原产地土壤相比)对入侵植物生长存在有利反馈,这可能是因为入侵植物躲避了原产地土壤中的土壤病原微生物(Beckstead & Parker, 2003),这一说法与天敌逃避假说相一致(Knops et al., 1999; Hierro et al., 2005)。Reinhart 等(2003)通过实验发现,与原产地土壤相比,入侵植物美国野樱桃(*black cherry* L.)在入侵地土壤中表现出较强竞争力和生长速度,野樱桃预培养过的土壤对当地植物生长有明显抑制作用;推断专一性的共生真菌、土壤病原菌是原因所在。但并不是所有的入侵植物都是在入侵地土壤中促进生长,在原产地土壤中抑制生长。Beckstead 等(2003)关于入侵美国加州的欧洲海滨草(*Ammophila arenaria* L.)的研究表明,原产地和入侵地土壤对其生长的反馈作用相近,但在入侵地却表现出极强的入侵力;在另一入侵地南非,土壤对其入侵则表现出明显的促进作用(Knevel et al., 2004)。

外来植物与入侵地土壤中菌根真菌结合形成共生体,使寄主植物获得更多的土壤营养,增加入侵力,促进其扩张(Marler et al., 1999;). 南半球的土著欧洲海松(*Pinus pinaster* L.)根系没有或有极少外周菌根真菌,当引入共生真菌后松树根系形成了菌根共生体,增强它对土壤养分吸收,使

其大量扩张、入侵其它土壤养分较低植物群落(Rejmanek & Richardson, 1996;)。入侵地土壤中某些功能微生物群落在土壤养分循环和转化过程有重要作用(Thiébaud, 2005; Mao et al., 2005), 有利于入侵植物养分吸收和竞争。Hawkes等(2005)通过入侵植物与土著植物的生长竞争实验和监测土壤中的氨氧化菌群落(AOB)及其对营养元素 ^{15}N 吸收, 发现入侵植物燕麦(*Avena barbata* L.)和雀麦(*Bromus secalinus* L.)使土壤中氨氧化菌数量增加了一倍, 改善了土壤氮素循环, 使可利用氮含量显著上升, 促进了入侵植物对氮的吸收。入侵植物通过与土壤微生物的互作, 提升其在入侵地的竞争力, 使它们在新的生物群落中定殖和成功入侵。外来植物对土壤微生物一些生理功能类群的改变, 可能促进了土壤中难以被植物吸收物质的转化, 使入侵植物处于有利的地位。外来植物火树(*Myrica faya*)通过与固氮菌形成共生菌根, 可以轻易地入侵土壤氮水平低的植物群落, 改变氮素营养循环, 增加土壤含氮量, 因此有研究者认为外来入侵植物可能存在高效率的营养获得途径(Vitousek, 1987; Vitousek & Walker, 1989)。

土壤养分常常是陆地生态系统中限制植物生长的关键因素, 因此, 土壤肥沃或贫瘠影响植物生长和群落的物种构成(Huenneke et al., 1990; Myer, 1993), 对入侵植物的形态和生物特性也有重要影响(Stampe & Daehler, 2003)。外来入侵植物常出现在肥沃的栖息地如森林、草地和开放的灌丛地, 因为土壤肥力高有利于外来植物入侵和扩散(Grubb, 1994)。但有些入侵植物忍耐力强, 能够利用较低水平的土壤养分, 在贫瘠的土壤中生存并扩张(彭少麟, 1996)。不同的土壤养分条件和微生物群落对外来入侵植物的生长、繁殖以及竞争关系影响不同(Callaway et al., 2001; Marler et al., 1999; Suding et al., 2004); 同一土壤微生物群落对入侵植物和土著植物生长的影响也存在差异(Klein et al., 2005)。由于土壤微生物在土壤养分循环和植物养分吸收过程中的重要地位, 无论是在土壤肥沃或贫瘠的生态系统中, 土壤微生物对外来植物入侵都起着十分重要的作用, 这是因为外来入侵植物可以通过各种途径改变土壤微生物群落结构和功能, 而土壤微生物群落的改变对植物生长, 竞争, 群落演替有着深刻的影响。不同生物地理来源的土壤微生物群落对入侵植物的生长有着显著影响; 反过来讲, 入侵地土壤微生物群落因为受到入侵而改变, 这种改变是否会引起土壤微生物群落对入侵植物和当地植物生长、竞争关系、相互作用的改变? 是否促进了入侵植物的生长, 而抑制了当地植物的生长? 目前该领域研究的不足是采用的土壤微生物都是原产地和入侵地, 属于不同生物地理来源的土壤微生物。而受到外来植物入侵影响而改变的入侵地土壤微生物是否反过来也影响外来植物入侵, 至今没有报道。换言之, 外来植物是否通过改变入侵地土壤生态过程, 为进一步入侵扩张创造有利条件, 自我促进(Self-reinforcing)? 这对我们正确深入认识外来植物入侵机制尤为重要。

1.2.4 外来植物入侵的土壤微生物学机制对入侵植物生态替代的指导意义

外来植物入侵严重威胁生态多样性, 机械和化学的防治措施都难以取得理想防治效果(D'Antonio et al., 2002), 引入食草天敌的生物防治又可能增强入侵植物对伴生植物的化感作用(Pearson & Callaway, 2003; Thelen et al., 2005), 因此, 替代控制被认为是非常有潜力的防治方法。但如果替代植物选择不当就会降低防治效果或引起再次入侵(Marler et al., 1999; Kourtev et al., 2003)。在特定生境内, 由于长期的共同发展, 土壤微生物群落与植物群落形成相对协调稳定的生态关系, 因而, 在外来入侵植物的生态替代过程中, 充分考虑入侵植物—土壤微生物—替代植

物的互作关系十分必要。喜树可能通过根际分泌物破坏了紫茎泽兰根系周围的真核微生物群落, 导致在喜树和紫茎泽兰混栽体系中根际真菌的数量明显降低, 从而制约了混栽体系中紫茎泽兰的蔓延(祖元刚等, 2006)。通过种植根系发达, 分泌物丰富, 对土壤微生物有强抑制作用的当地植物, 可能会破坏入侵植物根系周围有利的微生物群落, 有效制约其生长蔓延, 从而实现对入侵植物的成功替代。

从外来入侵植物与土壤微生物群落的互作关系出发, 进行植物群落和土壤微生物群落的联合修复, 这不仅可以有效的控制入侵植物扩张, 促进生物群落的多样性, 更能促进植物群落与土壤微生物群落的生态平衡, 保持生态系统健康, 将是一个很有价值的研究方向(Wolfe & Klironoms, 2005)。在外来植物入侵地进行的植物群落-土壤微生物群落的联合生态修复中, 要充分利用土壤微生物群落对植物群落的反馈作用, 更好地实施生态替代, 应该考虑以下几点: 1)土壤微生物群落结构和功能在入侵植物的影响下发生那些变化, 有什么特征和优势群落; 在替代植物与入侵植物竞争关系中的偏利性关系如何; 2)选择具有怎样生物特性的替代植物, 与入侵地土壤微生物的互作关系如何, 有利反馈对于加速植被恢复、确保修复后的生态系统的稳定具有十分重要的作用; 3)如何在修复过程中利用入侵植物对土壤养分和微生物群落影响造成的有利因素(如养分上升、真菌增多等), 促进植物群落的修复。

土壤和土壤微生物群落类型与植被分布有极为密切的关系, 不同地域的植物群落的形成是对该地域环境土壤类型和微生物群落的适应性选择的结果(Wardle et al., 2004; David et al., 2005); 适应该环境条件的植物能够繁衍、演替, 不适应的就被淘汰(Buyer et al., 2002)。所以实施外来入侵植物生态修复要在遵循其内在规律的基础上, 根据入侵植物、替代植物、土壤及其微生物群落的互作关系, 配合实施一定程度的人工干预, 才能促进植物群落的繁衍、演替, 使整个生态系统向良性化发展并趋于稳定。

1.2.5 总结

外来植物成功入侵不是其自身某一特性决定的, 而是其生物特性与新生境生态因子综合作用的结果。具有不同生物特性的外来植物入侵到不同的生态系统, 由于限制性资源的不同, 所以就存在各种不同的入侵机制。虽然国内外研究人员关于外来生物入侵提出了各种假说, 但外来生物与本地生态系统的关系是十分复杂的, 现有的各种假说在解释外来生物入侵方面仍表现出局限性(徐承远等, 2001)。化感作用和逃避天敌使入侵植物获得竞争优势(Callaway et al., 2004; Levine et al., 2003), 但竞争优势的获得是多方面的。释放化感物质可以直接作用于当地植物, 也可能通过改变新生境的土壤微生物种群, 促进自身或影响伴生植物对营养、水分的吸收, 获得竞争优势(Bever, 2003; Inderjit, 2005); 而且入侵植物逃避的天敌也包括土壤病原微生物。外来植物在入侵过程中与土著群落发生相互作用, 促使生态系统中植物群落的动态演替, 进而影响土壤微生物群落结构和多样性(Bais et al., 2003; Wardle et al., 2004; Haubensak & Parker, 2004); 同时, 土壤微生物群落结构和功能的变化也影响外来植物入侵进程。因此, 外来入侵植物与入侵地土壤微生物群落的互作关系在一定程度上代表了外来入侵植物与入侵地生境的互作关系, 对外来植物成功入侵有着十分重要的作用。已有的研究表明土壤微生物的有利反馈促进了入侵植物在入侵地的生长和扩张(Callaway et al., 2004), 但是这种土壤微生物有利反馈的途径目前并不甚清楚, 土壤微

生物可能活化了土壤营养,加速了入侵植物的养分吸收(Hawkes et al., 2005);或是入侵植物与入侵地土壤微生物形成了菌根真菌(Marler et al., 1999; Roberts & Anderson, 2001);也可能是入侵植物根际微生物的驱避病原菌作用使其逃避了土壤病原菌的侵扰。

综上所述,要全面认识外来植物的入侵的土壤微生物学机制,不仅要对外来植物原产地和入侵地土壤微生物群落进行研究,比较其对入侵植物和土著植物生长、竞争的影响;而且要研究在入侵地被入侵植物改变了的土壤微生物对入侵植物和土著植物生长、竞争的影响。目前,前者的研究主要集中在土壤微生物中的一些特殊群落(土壤病原微生物、植物共生真菌和与土壤营养元素循环相关的功能微生物)上,通过对特定土壤微生物类群与植物入侵关系的研究,确定那些土壤微生物群落抑制或促进植物入侵。而对后者的研究目前相对较少,而且关于上述机制的探讨多是建立在推断的基础上,缺少有力的土壤微生物与外来植物、土著植物偏利关系的实验证据。土壤微生物的效应往往具有长期性,其损伤可能是不易恢复的,入侵种改变土壤微生物群落结构对自然生态系统是非常广泛而严重的土壤污染,这可能是农业或自然生态系统的外来种治理和自然植被恢复重建的一个巨大障碍。目前所采用的机械、化学和生物防治等片面的治理措施都难以取得理想的效果,而通过人为促成手段修复土壤生态可能才是实现对它们的有效管理的关键。

1.3 土壤微生物群落结构的研究方法

由于土壤微生物种类繁多、数量巨大,加上其微小的个体,长期以来给定量和定性的描述土壤微生物群落结构带来很大的困难。但土壤微生物多样性和群落结构对我们深入探索生态系统功能意义重大,因此,它的研究方法一直深受关注;除了传统的培养方法外,近些年来又有了新的研究手段。例如, Knight 等(1997)利用 Biolog 方法分析系统分析了不同 pH 和重金属污染下土壤细菌群落功能多样性的变化; Kourtev 等(2002)应用磷脂脂肪酸法(PLFA)比较了两种入侵杂草对土壤微生物群落的影响;分子生物学的方法(如 PCR-DGGE, PCR-RFLP, PCR-SSCP 等)也越来越多的被采用(Parkinson, 1997; 马万里, 2004)。总结起来,大致可分为 4 类:土壤微生物传统培养的研究方法、以 PLFA 为代表的生物标志物法、不同底物碳源代谢 Biolog 法和以 PCR 为基础的 16SrDNA 分析方法。本节主要对传统培养的研究方法和以 PLFA 为代表的生物标志物法作以综述。

1.3.1 土壤微生物的传统培养的研究方法

传统的研究土壤微生物的方法是将微生物从土壤中分离,培养和鉴定,然后对菌落进行计数,以此测定土壤微生物的群落结构。这种方法方便简单,而且可以使用选择性培养基对某一类微生物进行培养分析,在分离具有一定功能的特殊目标微生物时是非常有用的,对于衡量小群体多样性方面也不失为一种快速有效的方法(章家恩等, 2004),因此至今仍具有广泛的应用。但由于这种方法人为限定了一些培养条件,无法全面反映微生物生长的自然条件,一方面常常造成某些微生物的富集生长,而另一些微生物缺失;另一方面,绝大部分土壤微生物无法用现有的分离方法进行人工培养,因此在使用领域和反映出的信息量上表现出很大局限性(蔡燕飞等, 2002; 张洪勋等, 2003)。

1.3.2 以磷脂脂肪酸 (PLFA) 为代表的生物标志物 (Biomarker) 法

使用生物标志物(biomarker)来描述土壤微生物的群落结构组成是最常用的方法之一, 这种生物标志物是微生物细胞的生化组成成分或是其细胞外分泌产物 (王曙光和侯彦林, 2004)。当测定土壤中这些化合物时, 首先使用一种合适的提取剂直接将其从土壤中提取出来, 然后对提取物进行纯化后用合适的仪器加以定量测定 (蔡燕飞等, 2002; Klamera & Bååth, 2004)。用特征物质表征微生物群落的组成, 这种方法描述土壤微生物的群落结构组成的优点是既不需要把微生物的细胞从环境样中分离, 同时又能克服由于对微生物培养而导致不同微生物种群可能会发生选择性生长所造成的麻烦 (张汉波等, 2003; Leckie, 2005)。

磷脂脂肪酸 (phospholipid fatty acid, PLFA) 图谱分析是生物标志物法的典型代表, 在土壤微生物群落动态分析上的应用十分广泛 (王曙光和侯彦林, 2004; 章家恩等, 2004)。一方面是因为磷脂脂肪酸是构成微生物细胞膜的主要成分, 约占细胞干重的 5%, 在细胞死亡时, 细胞膜很快被降解, 磷脂脂肪酸被迅速代谢掉, 它只在活细胞中存在; 另一个方面, 磷脂脂肪酸具有属的特异性, 不同的微生物类群其磷脂脂肪酸含量和组成不同, 且特定的脂肪酸可以代表不同的微生物类群 (见表 1-1), 因此十分适合作为生物标志物, 用于微生物群落的动态监测 (蔡燕飞等, 2002; Leckie, 2005)。磷脂脂肪酸谱图分析法首先将磷脂脂肪酸提取出来, 然后用气相色谱分析, 得出 PLFA 谱图; 群落的微生物结构发生变化通过谱图的变化得到快速有效的监测。Yao (2000) 等应用 PLFAs 分析了 8 个不同肥力水平和种植历史的中国红壤的微生物群落结构, 发现 PLFAs 总量与土壤有机 C、总 N、微生物量 C 和基础呼吸呈显著正相关, 种植历史和植被类型对土壤微生物群落结构有很大影响。蔡燕飞等 (2005) 利用 PLFAs 研究生态有机肥对番茄青枯病的抑制及土壤微生物的影响, 结果表明能够通过脂肪酸的研究调查微生物群落结构的变化, 施用生态有机肥可显著改善连作地微生物群落组成, 调整土壤微生物群落组成之间的比例, 提高微生物群落结构和组成的丰富度与均匀度。Schmidt 等 (2002) 采用 PLFA 方法测定了土壤施用真菌和细菌杀菌剂对土壤微生物的影响。Kelly 等 (1999) 用 PLFA 方法发现了 Zn 污染土壤中指示菌根真菌和放线菌的 PLFA 相对含量下降, 微生物群落结构发生了变化。Lei 等 (2000) 用此法检测堆肥过程中接种微生物和调节 PH 值对微生物群落结构的影响, 发现在出现温度高峰前接种微生物对堆肥为生物群落结构没什么影响, 但过程温度和起始 PH 调节影响显著。Maire 等 (1999) 用 PLFA 方法观察了 Swiss Jura 山区草原有机质循环对生物多样性的影响, 认为微生物功能多样性同观察到的结构多样性是相应的, PLFA 丰富度显示了生化功能的多样性和微生物种类的多样性。总之, PLFA 法由于自身包含信息量大, 越来越多被用来分析土壤微生物群落结构, 更多的研究例子见表 1-1 参考文献。

总之, 传统的土壤微生物研究方法将微生物从环境中分离, 培养和鉴定, 方便且实用; 但大多数自然环境中的微生物由于难于培养, 存在不足。而现代微生物群落分析技术和方法弥补了传统方法的不足, 避开了分离培养的过程而直接探讨自然界中微生物的种群结构, 能够使我们从基因或分子水平上研究环境中的土壤微生物多样性及种群情况等。但必须承认, 土壤微生物群落组成极其复杂, 目前所应用的任何方法都有各自的优缺点。不同研究方法的综合使用, 可以在一定程度上相互弥补不足, 信息相互补充, 使我们对土壤微生物群落的认识不断深入, 逐渐打开了这

个“黑匣子”。

表 1-1. 不同土壤微生物类群与磷脂脂肪酸的对应关系

Table 1-1. Phospholipid fatty acids used in analysis of different soil microbial groups

土壤微生物 Organisms	磷脂脂肪酸 PLFAs	参考文献 References
G(-)细菌	10:0 3OH, 12:0, 12:0 2OH, 12:0 3OH, 14:0, 15:0, 16:1 ω 7c, 15:0i 3OH, 15:0 3OH, 17:0cy, 17:0, 16:1 2OH, 18:1 ω 7c, 18:1 ω 5c, 11Me 18:1 ω 7c, 19:0cy	Drijber et al., 2000; Hill et al., 2000; Waldrop et al., 2000; Zelles, 1999
G(+)-细菌	12:0i, 12:0a, 13:0i, 13:0a, 14:0i, 14:0a, 15:0i, 15:0a, 16:0i, 16:0a, 17:0i, 17:0a	Drijber et al., 2000; Hill et al., 2000; Waldrop et al., 2000; Zelles, 1999
好氧微生物 Aerobe	16:1 ω 7c, 18:1 ω 7c	Vestal & White, 1989
厌氧微生物 Anaerobe	19:0cy	Vestal & White, 1989
硫酸盐还原菌 SO ₄ ²⁻ -reducers	16:0 10Me	Waldrop et al. 2000
丛枝菌根真菌 VAM fungi *	16:1 ω 5c	Olsson & Alström, 2000
真菌 Fungi	18:3 ω 6,9,12c, 18:2 ω 6,9c, 18:1 ω 9c	Bååth et al., 1998; Frostegård & Bååth, 1996
放线菌类 Actinomycetes	16:0 10Me, 18:0 10Me	Frostegård et al., 1993b; Kourtev et al., 2002
原生生物 Protists	20:4 ω 6,9,12,15c	Frostegård et al., 1993b; Kourtev et al., 2002
真菌/细菌 Fungi/Bacteria	18:2 ω 6,9c+18:1 ω 9c/15:0i+15:0a+15:0+16:0i+16:1 ω 7c+17:0i+17:0a+17:0+18:1 ω 7c+19:0cy	Bardgett et al.,1996; Grayston et al., 2001
G(-)/G(+)	16:1 ω 7c+17:1 ω 8c+19:cy/14:0i+15:0i+15:0a+16:0i+17:0i+17:0a	Kourtev et al. 2002; Yao et al., 2000

* VAM: Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, 丛枝菌根真菌。

1.4 紫茎泽兰种群入侵扩展机理研究

紫茎泽兰 (*Ageratina adenophora* (Sprengel) R. King & H. Robinson (Synonym: *Eupatorium adenophorum*)) 是一种世界入侵性恶性杂草，为菊科多年丛生型半灌木草本植物，原产于中美洲的墨西哥和哥斯达黎加，作为一种有害的外来物种，它现已在夏威夷、澳大利亚、新西兰、泰国等地爆发式繁衍，广泛分布在世界热带、亚热带 30 多个国家和地区(王进军, 2005)。此物种大约于 20 世纪 40 年代从中缅边境通过自然扩散传入我国云南省，约经半个世纪的扩散，现已在我国的云南、贵州、四川、广西、西藏、台湾等 4 省 2 区广泛分布和危害，并仍以每年大约 60km 的速度随西南风向东和向北传播蔓延(向业勋, 1991; Peng et al., 1998)。它入侵后可迅速侵占大片的农田、果园、稀疏林地、草地、路边和间隙空地。一旦定植，由于其发达的地下根茎和大量的子实形成，很难将其清除，给当地的农、林、畜牧业生产造成了严重的经济损失和生态环境的“绿色灾难”。仅云南省 1997 年紫茎泽兰生长面积就已达 24.8 万 Km²，每年给我国畜牧业带来的经济损失就达数千万元。因此深入揭示紫茎泽兰入侵扩展机制，对于最终能否成功完成对其控制、治理具有非常直接和深远的意义，同时紫茎泽兰作为一个成功的入侵种，兼备了许多入侵杂草所具有的显著特征，对其入侵机制和扩散机制的研究有助于其它有害入侵植物的研究，丰富和发展入

侵生态学理论, 推动我国外来入侵植物学研究的进步(鲁萍等, 2005)。现对国内外紫茎泽兰入侵扩展机制研究进展等方面进行阐述。

1.4.1 紫茎泽兰生物生态学特征

近年来, 许多学者从天敌因素、适应能力、竞争能力和繁殖能力、土著种适应性、自然平衡、生态位空余、干扰产生空隙等角度去阐明紫茎泽兰的入侵机制(Manchester & Bullock, 2000)。首先在繁殖策略方面, 紫茎泽兰能产生大量随风飘移的种子四处蔓延以维持和扩大其种群。它结实力很强, 每株可结种子3-4.5万粒, 多的可达10万粒。瘦果细小, 顶端具冠毛, 随风飘移散落, 极易在裸地和稀疏植被的生境中定植生长(刘伦辉等, 1989)。研究发现其种子的冠毛不仅传播种子, 而且能使种子有效地附着在一些陡峭的山坡、裸露的岩石缝隙、墙缝等上面不被雨水冲走。萌发的幼苗在一定的光照条件下便得以补充, 定居后其耐荫耐干旱清薄的能力大大增强(刘伦辉等, 1989)。沈有信和刘文耀(2004)通过对其种子入土有效深度萌发与人为耕作及自然光照条件关系的研究发现, 在非农业用地内, 紫茎泽兰的种子绝大部分分布在土壤表面或由于放牧活动而分布在2 cm以内的土层保持数量巨大的土壤种子库。紫茎泽兰具有长久性土壤种子库(沈有信和刘文耀, 2004), 所以它的种子能在土壤中等待萌发时机, 在新的种子季节到来时仍然保持活力。有长久性土壤种子库的植物在适应多变的生境和不良的生长条件方面具有优越性, 即使植物的种子在某个年份因为自然灾害或人为因素而减产甚至无种子产生时, 植物种群也不会受到灭绝的威胁(Thompson & Grime, 1979), 而这对于紫茎泽兰来说, 无疑为它未来的入侵提供了源源不断的后备力量, 即使短时间被消灭, 一旦条件适宜, 土壤种子库中的种子又会快速建立新的种群。

紫茎泽兰的繁殖方式众多, 除种子之外, 还可以用根、茎进行无性繁殖, 茎和分枝有须状气生根, 具有萌发根芽的能力, 入土便能繁殖成新植株(向业勋, 1991)。Cook (1985)发现, 水生植物的分布区在原产地与入侵地存在很大差别, 水生植物的分布在入侵地所受到的阻力要远远小于原产地, 无性繁殖能力很可能是最主要的原因。而紫茎泽兰脱离了原产地的天敌, 在新的入侵地入侵成功并迅速扩散, 很可能与无性繁殖能力有关。

紫茎泽兰对环境的环境适应性方面, 研究发现紫茎泽兰成株性喜温暖、湿润的环境, 适应能力极强, 在年平均温度高于10℃、相对湿度高于68%、绝对最低温度不低于-11.5℃、最高气温35℃以下, 最冷月平均温度大于6℃的气候条件下均可生长(刘伦辉等, 1989; Yadav, 1985)。Liu和Sang (2003)研究发现紫茎泽兰体内对高温的抗氧化系统一定时间内最高可以承受35-40℃。据对云南省垂直分布带的调查发现, 紫茎泽兰可适应于热带直至温带的宽气候下发生和生长, 其中以亚热带气候区域生长最为茂盛, 在澳大利亚亦分布于热带至温带(南纬25-35°)。从世界范围来看, 最北分布区在北纬37°的西班牙, 最南达南纬35°的南非和澳大利亚(Kluge, 1991)。另外, 紫茎泽兰种子的萌发虽严格需光, 但其幼苗却很耐阴, 这有利于它侵入其它植物群落。作为C₃类植物, 它对光照的适宜范围比较宽, 光补偿点低, 仅为700Lx, 而光合速率相对较高, 最大净光合速率能达到 $23\text{mgCO}_2\cdot\text{dm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, 且在一年的较长时间都能维持这样的较高水平, 同时该杂草生长发育的最佳光照条件以全光照的50-80%最好, 但营养体生长可以忍受90%的遮光(刘文耀, 1988), 这些都是紫茎泽兰能侵占疏林、草场和经济林地, 排斥其他植物而成为优势种群的重要生物学基础。我国长江流域以南地区处于这一纬度范围, 属紫茎泽兰的适生区。根据目前的扩散

速度推测，再经半个世纪，紫茎泽兰可能入侵整个长江以南各省区（强胜，1998）。

1.4.2 紫茎泽兰入侵扩张的分子机理

紫茎泽兰分布范围较广，生境条件多样，因此，从分子生态学的角度对不同侵入地区及不同生态环境中的紫茎泽兰进行遗传多样性分析，探索其遗传变异规律，开展紫茎泽兰分子生态适应机制的研究，对于解释紫茎泽兰的入侵机制有积极意义。紫茎泽兰作为一种入侵性极强的外来物种，目前其入侵原因尚不明了，从遗传学角度揭示其根源已经成为生物学界关注的热点。桂富荣（2006）利用RFLP技术从核DNA和叶绿体DNA角度研究了紫茎泽兰种群的遗传多样性和种群结构，发现紫茎泽兰的地缘性分布较为明显，地理区位接近的种群遗传相似性较大；结合紫茎泽兰的生物生态学特性及分布地的环境因子分析表明，紫茎泽兰在中国的传播扩散主要以风力传播种子为主，其次为随流水传播，并推测紫茎泽兰的入侵路线。黄文坤（2007）利用AFLP分子标记技术从核DNA水平研究了紫茎泽兰种群的遗传多样性和遗传结构，以揭示紫茎泽兰入侵过程中种群的遗传变异及地理格局，发现紫茎泽兰具有丰富的遗传多样性，其中云南省的遗传多样性水平最高，其次为四川、贵州、广西，最低的为重庆；紫茎泽兰在不同的环境条件下形成了一定程度的遗传分化，种群内个体之间的变异是紫茎泽兰产生遗传分化的主要来源。UPGMA聚类分析表明，62个地理种群可以分为四类，遗传多样性分布具有明显的地缘性关系，海拔是影响紫茎泽兰遗传多样性的主要地理气候因子。段惠等(2005)对24个地区的紫茎泽兰种群的基因组DNA多态性进行了检测，并通过UPGMA聚类方法对结果进行了分析，结果表明：（1）紫茎泽兰遗传多样性丰富，具有广泛的生态适应性；（2）紫茎泽兰入侵时间长的云南省遗传多样性较高，入侵时间短的新入侵地区的遗传多样性则相对较低。

1.4.3 紫茎泽兰与本地植物的资源竞争

紫茎泽兰对土壤养分的吸收性强，能极大地耗损土壤肥力。研究表明紫茎泽兰入侵210天后，土壤中的速效氮、速效磷、速效钾分别下降56%-95%，46%-53%和6%-33%，从而使土壤肥力大幅下降，导致土壤严重退化。据分析测定，紫茎泽兰植株干重的氮、磷、钾含量分别为0.308%、2.216%和1.204%。在发生较重的生境上，每亩生物量达3254kg，消耗的氮、磷、钾分别达10.0、72.1和39.2kg。另外，紫茎泽兰对土壤可耕性的破坏也较为严重（刘伦辉等，1989）。而且它茎基部常木质化，茎枝基部特别是靠近地面的茎部能生出须根，萌发出根芽，入土便可产生新植株，这使其在竞争并拓展生存空间中处于有利地位（向业勋，1991）。这些生理性相对优势使其对周围的植物构成了重要的威胁，在与当地植物竞争中占据优势并排挤当地植物。蒋智林(2007)采用野外生态学的实验方法，建立了不同密度下紫茎泽兰与当地植物单种与混种种群小区，定量分析其生长速率和竞争能力，结果表明紫茎泽兰与当地植物之间呈现很强的竞争作用，其单株生物量、相对产量和竞争平衡指数均显著高于当地植物对应指标，且随着种群密度的增大，上述关系愈加明显。

1.4.4 紫茎泽兰化感作用研究

近年来,很多国内外学者从紫茎泽兰化感作用的角度揭示其入侵的机理,并开展了系列研究。Tripathi 等(1981)研究发现,紫茎泽兰根分泌的化感物质,能明显降低周围生长的三叶草(*Trifolium repens* L.)和酸模(*Rumex nepalensis* S.)种群数量。Yadav 和Tripathi (1985)的研究结果表明,紫茎泽兰的沸水浸提液对小麦种子发芽时间、根长和叶片发育均具有明显的抑制作用。Angiras 等(1988)研究了紫茎泽兰对几种杂草的化感作用,结果表明,紫茎泽兰叶的5%水提取液和根的乙醚提取液对陆稻、黑麦草、白三叶、和玉米等植物种子的萌发和幼苗生长抑制率可达63.09-100%。Baruah等(1994)研究发现,紫茎泽兰的氯仿提取物对葱、萝卜和黄瓜具有较强的化感作用,同时鉴定出了其有效化感物质的4种主要成分。Rajbanshi 和Inubushi (1998)从制肥的角度评估了紫茎泽兰和马樱丹(*Lantana camara*)的化感作用,结果发现在完成制肥过程后紫茎泽兰对白菜发芽仍有较强的抑制作用。Navaz等(2003)则研究了紫茎泽兰的水提取物对水稻和黎豆的化感作用,发现其幼苗叶片提取液的抑制作用较强。和爱军等(1990)发现紫茎泽兰的水浸提液不妨碍其本身的萌发和生长,但对小麦、玉米、和云南松等种子的胚根及胚芽的生长有不同程度的抑制作用。宋启示等(2000)研究发现,紫茎泽兰地上部分的石油醚、乙醇和水提取物,在2%的相对浓度下,对豌豆(*Pisum ativum* L.)萌发分别产生100%、40%和50%的抑制。Yang等(2006)测定了紫茎泽兰淋溶物对旱稻的发芽率、干物质、根系酶活等的影响,发现紫茎泽兰主效化感物质泽兰二酮和羟基泽兰酮可以使旱稻根尖细胞发生病变,表层细胞大量脱落。目前这些研究还基本集中于不同途径化感物质对不同受体植物的室内生测,在有效化感成分鉴定和深层次作用等方面还很缺乏。

紫茎泽兰入侵扩张的因素除了上述之外,还有一些诸如其气候的快速适应性、逆境的较强缓冲性和人类活动趋强的干扰性都是诱导其迅速扩展的重要因素(高贤明等, 2003)。但目前还没有关于土壤微生物的有益反馈促进紫茎泽兰入侵的报道,且缺少紫茎泽兰对土壤微生物群落、土壤养分影响的相关研究。从目前国内外关于其它入侵植物如矢车菊、薇甘菊等的一些研究结果来看,紫茎泽兰的快速入侵扩张也可能是通过土壤微生物的有益反馈实现的:紫茎泽兰通过根系分泌物或茎叶浸提液等途径改变了入侵地的土壤微生物群落结构和功能,使其根系周围形成了有益的微生物群落,进而加速了土壤养分循环,增强了紫茎泽兰的养分竞争力,扩张排挤当地伴生植物,导致其入侵后发展成为单种优势群落。

1.5 本研究的总体思路、主要内容和路线

在外来植物与本地植物的竞争中,土壤微生物在可能起到了重要的“桥梁”的作用,外来植物可能通过改变入侵地土壤微生物群落结构与功能促进自身生长或阻碍当地植物的生长和更新(Yu et al., 2005; Li et al., 2006)。在自然生态系统中,土壤与植物之间普遍存在负反馈作用,这是控制物种群落、保持生物多样性的自然调节方法(Klironomos, 2002)。外来植物在入侵地土壤中快速生长、扩张,造成生物多样性丧失,这一生态过程可能与入侵地土壤微生物的反馈存有密切关系,且已有研究表明土壤微生物反馈对外来植物入侵成功有重要促进作用(Reinhart et al., 2003; Callaway et al., 2004)。紫茎泽兰是否通过改变了入侵地土壤微生物群落结构,破坏了本地种

植物与土壤微生物之间经过长期形成的平衡共生关系,影响本地植物的生长和种群的更新,促进自身生长和竞争?从土壤微生物与紫茎泽兰互作关系的角度研究紫茎泽兰的入侵机制能够有效回答上述问题。

1.5.1 总体思路

立足于前人研究结果,本研究提出了一个紫茎泽兰自我加强(Self-reinforcing)式的入侵机制:紫茎泽兰入侵改变了土壤养分循环和土壤微生物群落,这种土壤微生物和土壤养分的变化反过来又促进了紫茎泽兰的生长,增强了其竞争力。为证实该土壤微生物学入侵机制,本研究以紫茎泽兰-土壤微生物-当地植物的互作关系为研究主线,开展系列研究,全面考察紫茎泽兰入侵、扩张的土壤微生物学机制。就试验设计而言,首先要明确紫茎泽兰入侵对土壤养分、土壤微生物群落结构和功能的影响,探索造成这种影响的可能途径;其次要明确这种影响反过来对紫茎泽兰生长、竞争的反馈作用;最后综合起来阐述紫茎泽兰入侵的土壤微生物学机制。

1.5.2 研究内容和意义

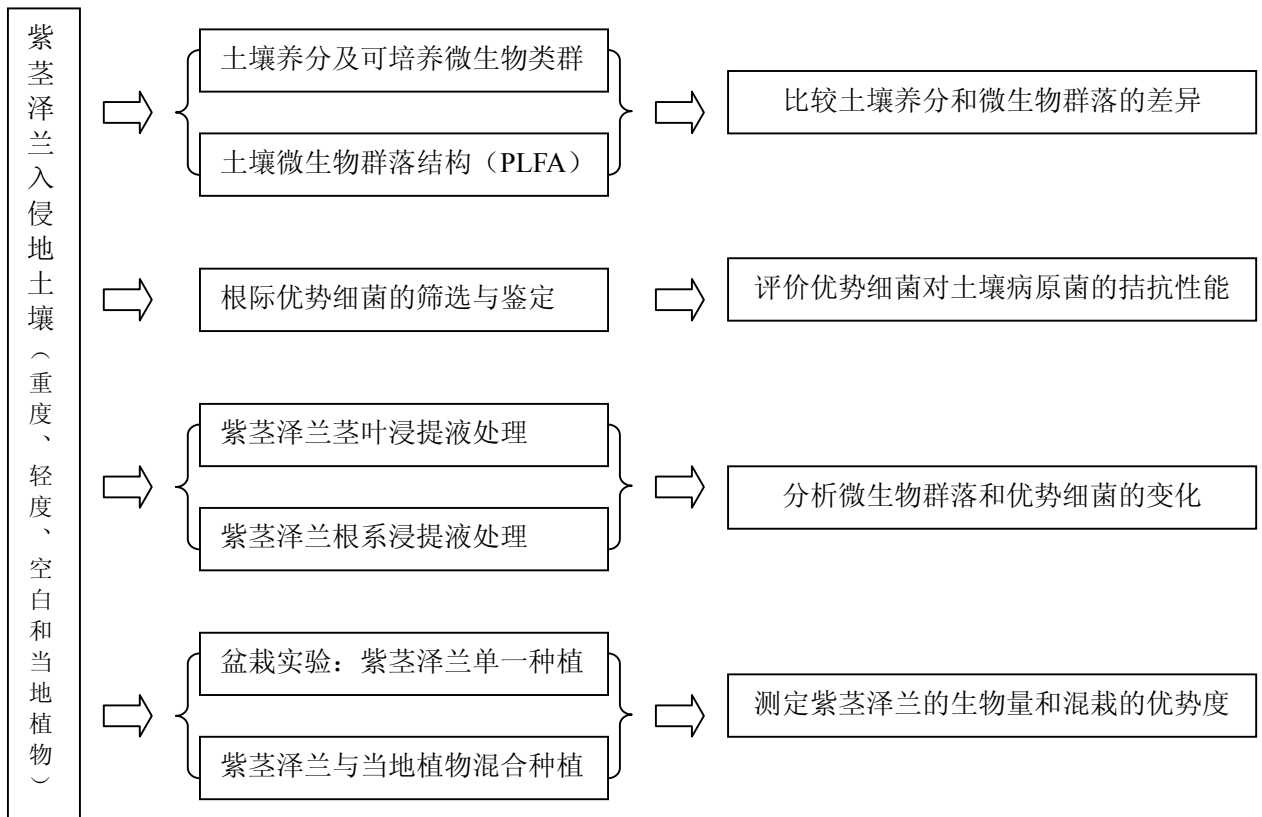
研究的主要内容包括以下四个部分:

- 1)紫茎泽兰入侵对土壤生态(土壤养分、土壤微生物群落)的影响;
- 2)紫茎泽兰根际土壤中优势细菌的筛选鉴定和对病原菌的拮抗性能评价;
- 3)紫茎泽兰根系和茎叶浸提液对土壤微生物群落和优势细菌生长的影响;
- 4)被紫茎泽兰入侵改变了的土壤微生物群落对紫茎泽兰生长、竞争的反馈作用。

紫茎泽兰与土壤微生物群落的互作关系是影响其入侵力和当地生态系统可入侵性的一个重要方面,一方面紫茎泽兰入侵会引起土壤生物群落结构改变,另一方面,这种改变很可能有利于紫茎泽兰的生长及与当地植物的竞争,从而加剧其扩张蔓延。因此,紫茎泽兰对入侵地土壤微生物群落和土壤养分的影响不仅是入侵效应问题,更与其入侵机制联系紧密。对这一科学问题的研究将丰富外来植物入侵的土壤微生物学机制,特别是外来植物自我促进(self-reinforcing)的入侵机制,加深我们对外来植物入侵成功的理解,同时也将为外来入侵植物的控制管理及生态修复提供理论依据。

1.5.3 技术路线

结合紫茎泽兰在我国西南地区的入侵现状,根据紫茎泽兰和当地植物地上群落的演替特征,在野外选取合适的采样区,分为重度入侵区、轻度入侵区、空白地和当地植物生长区,并采集各区土壤,通过分析比较,明确紫茎泽兰入侵对土壤养分、土壤微生物群落结构的影响。同时,分离培养紫茎泽兰根际优势土壤微生物,鉴定并测定其对土壤病原菌的拮抗性能。在此基础上,通过添加紫茎泽兰浸提液分析微生物群落和优势细菌的变化,探索紫茎泽兰改变土壤微生物群落的可能途径。最后,通过温室盆栽实验,明确重度入侵区、轻度入侵区、空白地和当地植物生长区土壤微生物群落对紫茎泽兰生长、竞争的影响。技术路线图示如下:



第二章 紫茎泽兰入侵对土壤生态的影响

外来入侵生物对入侵地生态系统的结构、功能及生态环境产生严重的干扰与危害，并对全球的农业和自然生态系统的生产力和生态系统健康构成了严重的威胁，成为全球变化的一个重要组成部分(Dukes & Mooney, 1999)。评价外来植物入侵对其入侵地生物多样性与生态系统功能的影响是入侵生态学研究热点之一(D'Antonio & Kark, 2002; 陆建忠等, 2005)。外来入侵植物到达新的环境之后，在适宜的环境条件下，大量繁殖扩散，并通过各种途径给当地生态系统结构与功能造成极大的影响，而对土壤生态产生的影响更深远(Kourtev et al., 2002; Wolfe & Klironoms, 2005; Reinhart & Callaway, 2004)。土壤微生物是土壤生态系统中极其重要和最为活跃的生物因子，直接参与植物凋落物分解、养分循环、根系养分吸收等土壤生态系统过程，对植物生长、竞争以及生态系统功能和稳定性有着重要影响(De Deyn et al., 2004)。

本章以紫茎泽兰入侵地的土壤为切入点，采用磷脂脂肪酸(PLFAs)和传统培养相结合的方法，通过比较紫茎泽兰群落演替不同阶段下的土壤微生物群落和土壤理化性质的差异，说明紫茎泽兰入侵对土壤微生物群落及其理化性质的影响；并深入分析土壤微生物群落变化与土壤养分变化间的内在联系；不仅为全面地评估紫茎泽兰入侵对生态系统的影响提供实验证据，而且对于探索外来植物入侵的土壤微生物学机制有着重要指导意义。

2.1 材料与方法

2.1.1 研究区的自然概况

研究区位于云南玉溪澄江县麒麟村外4km处的山谷地带(N: 24°42' 14.2" -15.5" , E: 102°52' 48.6" -48.9"), 常绿落叶阔叶混交林下, 海拔1993-2016m, 属亚热带高原季风气候, 干湿季节分明, 5月中旬至10月中旬为雨季, 10月下旬至次年5月上旬为旱季, 年均气温16.5℃, 年均降雨量952mm。土壤类型为红壤, 土质较紧实, 质地较粘。具有相同的地貌、地形特征和土壤起源; 人畜干扰较少, 面积约5km² (2km×2.5km), 地势相对平坦, 生境差异较小。紫茎泽兰生长呈现出明显的从中心向边缘地带辐射分布, 出现不同的紫茎泽兰群落演替阶段, 有的区域已形成紫茎泽兰单优种群, 有的区域是紫茎泽兰和当地植物共同竞争生长, 也有当地植物占绝对优势的区域和几乎无植物生长的裸露地区。

2.1.2 实验设计

在研究区内根据紫茎泽兰和当地植物群落竞争演替的不同阶段, 以及紫茎泽兰盖度和大致入侵时间的不同, 划分为重度入侵区(I型)、轻度入侵区(II型)、未入侵区(III型)和当地植物区(IV型)。重度入侵区, 紫茎泽兰为优势种群, 盖度大于60%, 入侵年龄在10年以上; 轻度入侵区, 紫茎泽兰与当地植物处于竞争生长, 紫茎泽兰盖度在10%-30%, 入侵年龄在3年左右, 当地植物盖度在30%-50%。未入侵区在紫茎泽兰轻度入侵区周围, 紫茎泽兰和当地植物有零星幼苗生长, 无成株生长, 无明显优势植物种群, 且单种植物盖度均小于0.2%, 地表植物总盖度小于5%; 当地植物样区没有紫茎泽兰生长, 当地植物混合生长(当地植物是指除紫茎泽兰外的其它植

物), 且单种植物的盖度均小于 1%, 地表植物总盖度大于 40%。在以上 4 种类型样区内所采集土样分别记为紫茎泽兰重度入侵 (Heavily Invaded)、轻度入侵 (Newly Invaded)、未入侵 (Non-invaded) 和当地植物 (Native Plant), 这是因为我们要比较在紫茎泽兰和当地植物地上群落竞争演替的同时, 与之相对应的地下土壤微生物群落和土壤理化性质的变化 (见表 2-1)。

2.1.3 土样的采集与保存

2005年8月在研究区内按照上述4种样区的选区标准, 分别在不同样区各选取5个抽样点, 每个样点大小均为8m×8m, 样点间距离大于10m, 光照等微生境和土壤质地基本相同。清除地面植物和凋落物, 用土钻 (直径3cm) 沿对角线随机钻洞取0-15cm层的土样, 每个样点钻16个洞混合为一个土样。取土样时避免阳光照射, 去除石块、植物根系和土壤动物等, 置于聚乙烯袋中, 立即带回实验室过2mm筛。将过筛后的土样分为三份: 第一份用于土壤理化性质测定, 约500g, 室温保存; 第二份用于土壤微生物群落结构分析, 约20g, -70℃保存; 第三份用于可培养土壤微生物类群分析, 约50g, 放于4℃冰箱中保存, 并在2周内完成微生物类群的数量测定。

2.1.4 土样的测定与方法

2.1.4.1 土壤理化性质的测定

土壤pH用电极法 (WTW pH 340) 测定, 土壤悬浊液为水土比1: 2.5 (质量比); 土壤有机碳用重铬酸钾法测定; 土壤全氮采用凯氏定氮法测定; 土壤硝态氮和铵态氮用2M KCl (土液比1: 4) 浸提, 用流动分析仪 (Zellweger Analytical, Milwaukee, WI) 测定; 土壤全磷和有效磷采用钼锑抗比色法测定 (Olsen & Sommers, 1982); 土壤全钾和速效钾用火焰光度法测定; 土壤含水量和田间持水量的测定采用常规的烘干称重和风干称重的方法。

2.1.4.2 土壤微生物群落的磷脂脂肪酸(PLFAs)分析

土壤微生物群落结构的分析采用磷脂脂肪酸 (PLFAs: phospholipids fatty acids) 技术, PLFAs的提取过程和分析方法参考Frostegård (1993) 和Kourtev (2002)。操作步骤为: 将20ml的0.2M的KOH甲醇溶液和4g的新鲜土样加到50ml的离心试管中, 混合均匀, 在37℃下温育1h (脂肪酸释放, 并甲脂化, 样品10min涡悬一次)。加入3ml 1.0M的醋酸溶液中和pH值, 充分摇匀。加10ml正己烷, 使PLFAs转到有机相中, 1000rpm离心15min后, 将上层正己烷转到干净试管中, 在N₂气流下 (氮吹) 挥发掉溶剂。将PLFAs溶解在1ml的1:1 (v/v) 的正己烷: 甲基丁基醚溶液中, 作GC-MS分析。

GC-MS测试采用的是美国Agilent6890N型, 包括全自动进样装置、石英毛细管柱及氢火焰离子化检测器; 在下述色谱条件下平行分析脂肪酸甲酯混合物标样和待检样本: 二阶程序升高柱温, 170℃起始, 5℃/min升至260℃, 而后40℃/min升温至310℃, 维持90s; 汽化室温度250℃、检测器温度300℃; 载气为氢气(2ml/min)、尾吹气为氮气(30ml/min); 柱前压10.00 psi(1psi=6.895kPa); 进样量1μl, 进样分流比100:1。PLFAs的鉴定采用美国MIDI公司(MIDI, Newark, Delaware, USA)开发的基于细菌细胞脂肪酸成分鉴定的Sherlock MIS4.5系统 (Sherlock Microbial Identification

System)。

2.1.4.3 可培养土壤微生物类群的分析

土壤细菌、真菌、放线菌数量分别采用牛肉膏蛋白胨培养基、马丁氏培养基和改良高氏1号培养基培养, 自生固氮菌用Ashby无氮培养基选择性培养, 平板计数法测定; 反硝化细菌、氨氧化细菌和纤维素分解菌采用最大或然计数法(MPN)法测定(赵斌和何绍江, 2003)。每种样区有5个重复的土壤样品, 每一个土样在涂平板时, 5个重复/稀释梯度。

2.1.5 数据分析

土壤微生物脂肪酸数据选取含量大于0.5%的脂肪酸种类先作单因子方差分析(One-way ANOVA), 然后作主成分分析(Principal components analysis)和判别分析分析(Discriminant analysis)。土壤养分和可培养土壤微生物类群数据先作单因子方差分析(Fisher's LSD test), 再对两组数据作相关分析(Pearson 2-tailed test)。所有数据分析均采用软件SPSS12.0(SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA)。

2.2 结果

2.2.1 不同入侵区的植物群落特征

在重度入侵区草本植物层中, 紫茎泽兰种群的平均盖度为67.2%, 占草本植物层总盖度的95.6%, 是单优种群(见表2-1); 在轻度入侵区草本植物层中, 紫茎泽兰种群的平均盖度为20.3%, 占草本植物层总盖度的30.7%, 种群优势不明显; 而在未入侵区, 地表裸露程度高, 草本植物层总盖度仅为1.4%, 只有零星的紫茎泽兰幼苗生长。紫茎泽兰密度和株高在重度入侵区、轻度入侵区和未入侵区有明显差异, 具体为重度入侵区>轻度入侵区>未入侵区。在当地植物区, 植物混生生长, 密度较大, 占有绝对优势, 没有紫茎泽兰生长且没有单种优势植物。研究区内主要植物为马唐(*Digitaria chinensis* Hornem)、狗尾草(*Setaria plicata* Lam.)、中华蕨叶(*Sinopteris albofusca* Ching)、悬钩子(*Rubus aculeatiflorus* Hagata)、蒿(*Artemisia annua* L.)、野燕麦(*Helictotrichon delavayi* Henri.)、风轮(*Clinopodium confine* Hance)、繁缕草(*Stellaria chinensis* Regel)、土荆芥(*Chenopodium ambrosioides* L.)。

表2-1. 4种类型取样区的植物生长状况

Table 2-1. Plant growth status in the four sampling sites

	样区类型 Site type	当地植物盖度 Coverage of native plants (%)	紫茎泽兰盖度 Coverage of <i>A. adenophora</i> (%)	密度Density (No. of plants/m ²)	株高 Palnt height (m)
I	重度入侵区 Heavily invaded area	3.1	67.2	21.6	1.16
II	轻度入侵区 Newly invaded area	45.8	20.3	13.2	0.37
III	未入侵区 Non-invaded area	1.3	0.1	0.14	0.2
IV	当地植物区 Native plant area	52.5	0	32.5*	0.22*

*:样区IV中的密度和高度是指当地植物的数据。These two figures represented the density and height of native plants.

2.2.2 不同入侵区土壤理化性质的差异

土壤理化性质分析显示，在重度入侵区土壤有机碳、硝态氮、铵态氮、有效磷、速效钾含量均显著高于其它样区（表2-2），其中土壤硝态氮和铵态氮的含量分别为32.5 mg.kg⁻¹和39.3 mg.kg⁻¹，分别是未入侵区对应含量的3.6倍和2.1倍，是当地植物区对应含量的2.3倍和1.4倍；但土壤总钾含量显著低于轻度入侵区和未入侵区。当地植物区土壤硝态氮、总磷、有效磷、总钾含量与轻度入侵区没有显著差异，但土壤有机碳、总氮、速效钾含量显著高于轻度入侵区。未入侵区土壤有机碳、硝态氮、有效磷、速效钾含量显著低于轻度入侵区，但土壤pH、有机碳、总氮、速效钾、总钾含量与当地植物区没有显著差异。土壤含水量和田间持水量在4种样区间差异不显著。

2.2.3 不同入侵区土壤微生物群落结构的差异

含量大于0.5%的土壤微生物脂肪酸有32种，其中24种脂肪酸在4种不同入侵阶段的群落中存在显著差异（见图2-1）。主成分分析和判别分析分析结果显示，4种不同入侵阶段群落下的土壤微生物群落结构存在明显差异，大致分成4个大的类群（图2-3）。其中，轻度入侵区和未入侵区的土样有交叉，说明其土壤微生物群落差异较小；而与重度入侵区和当地植物区土壤微生物群落差异较大。

由于不同土壤微生物类群与磷脂脂肪酸存在对应关系（见表1-1），因此可以根据磷脂脂肪酸的差异比较不同类土壤微生物的差异。结果表明，4种样区土壤微生物的不同功能类群也存在显著差异（见图2-2），紫茎泽兰入侵降低了土壤放线菌（Actinomycetes）和真菌（Fungi）数量，但土壤需氧细菌（Aerobe）和厌氧细菌（Anaerobe）随着紫茎泽兰入侵强度的增加而数量显著增加。紫茎泽兰入侵显著提高了土壤丛枝菌根真菌（VAM）的数量，其中重度入侵区土壤丛枝菌根真菌含量是空白土壤的2.5倍。紫茎泽兰入侵对土壤硫酸盐还原菌（SO₄²⁻-reducer）和土壤原生生物（Protists）含量没有显著影响。真菌/细菌比率随紫茎泽兰入侵强度增加而上升，相反，

Gram(-)/Gram(+)随紫茎泽兰入侵强度增加而下降。

2.2.4 不同入侵区可培养土壤微生物类群的差异

结果显示，在重度入侵区土壤真菌、自生固氮菌、氨氧化细菌数量均较高，分别是轻度入侵区对应菌数量的2.2倍、3.6倍和1.4倍，未入侵区对应菌数量的5.8倍、8.8倍和3.3倍，是当地植物区对应菌数量的1.7倍、2.6倍和1.9倍（表2-3）。轻度入侵区和当地植物区细菌数量显著高于重度入侵区和未入侵区；当地植物区和重度入侵区放线菌数量显著降低轻度入侵区和未入侵区。4种不同入侵阶段样区内反硝化细菌数量都存在显著差异，数量从大到小依次为当地植物区、未入侵区、轻度入侵区和重度入侵区，但纤维分解菌数量没有显著差异。

2.2.5 土壤微生物可培养类群变化与土壤理化性质变化的联系

土壤微生物群落在土壤养分循环和转化过程中起着非常重要的作用，紫茎泽兰可能通过改变土壤微生物群落，进而提高土壤可吸收养分水平。为了深入分析土壤微生物群落变化与土壤理化性质变化之间可能存在的内在关系，对土壤微生物各生理类群与土壤理化性质进行了相关分析。结果表明，土壤细菌、放线菌数量与土壤养分含量密切程度较差，真菌与土壤中植物可直接利用的养分含量密切程度较高（表2-4）。从不同生理功能细菌类群看，土壤自生固氮菌、氨氧化细菌与土壤pH存在极显著负相关性，与土壤有机碳、硝态氮、铵态氮、总磷、有效磷、速效钾存在显著或极显著正相关性。反硝化细菌数量与硝态氮、铵态氮、速效钾存在显著或极显著负相关性，纤维分解菌与所测定的土壤理化性质相关不显著。

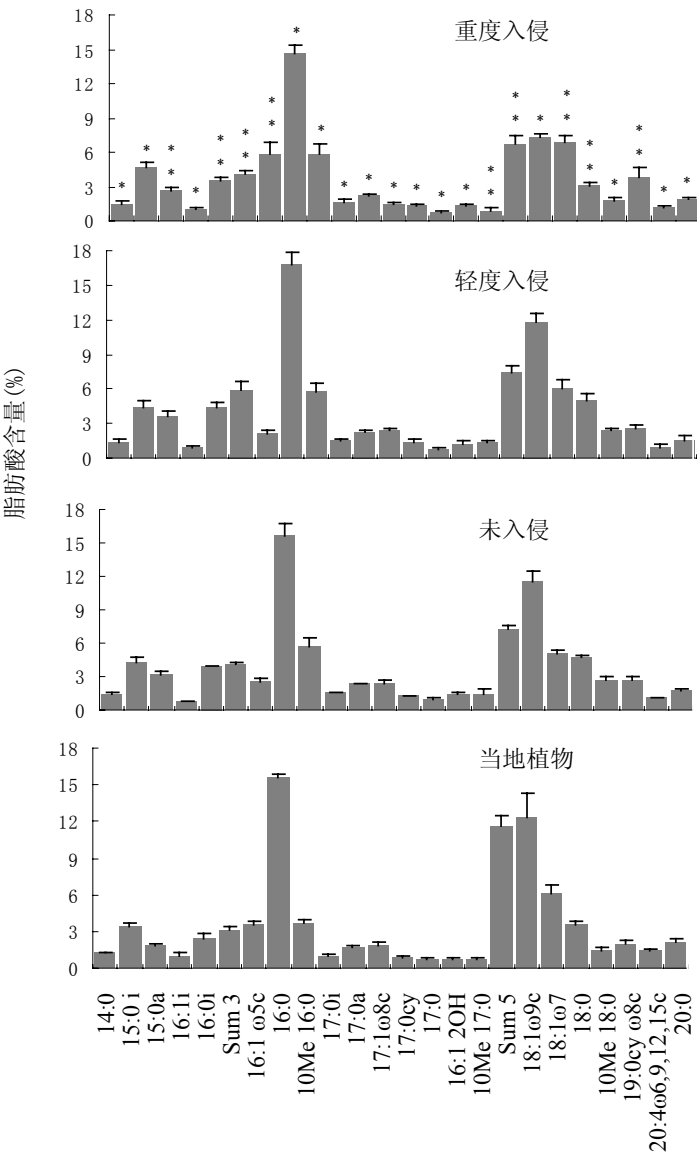


图 2-1. 紫茎泽兰不同入侵阶段土壤微生物主效脂肪酸含量的差异(Means±SD). Sum 3 = 16:1ω7c + 15:0i 2OH; Sum 5 = 18:2ω6,9c + 18:0a. *, 在 5%水平上差异显著; **, 在 1%水平上差异显著(Fisher's LSD test).

Fig. 2-1. Presence and proportion of major PLFAs of the soil collected from the four sites. (Means±SD). Sum 3 = 16:1ω7c + 15:0i 2OH; Sum 5 = 18:2ω6,9c + 18:0a. *, $P<0.05$; **, $P<0.01$ (Fisher's LSD test).

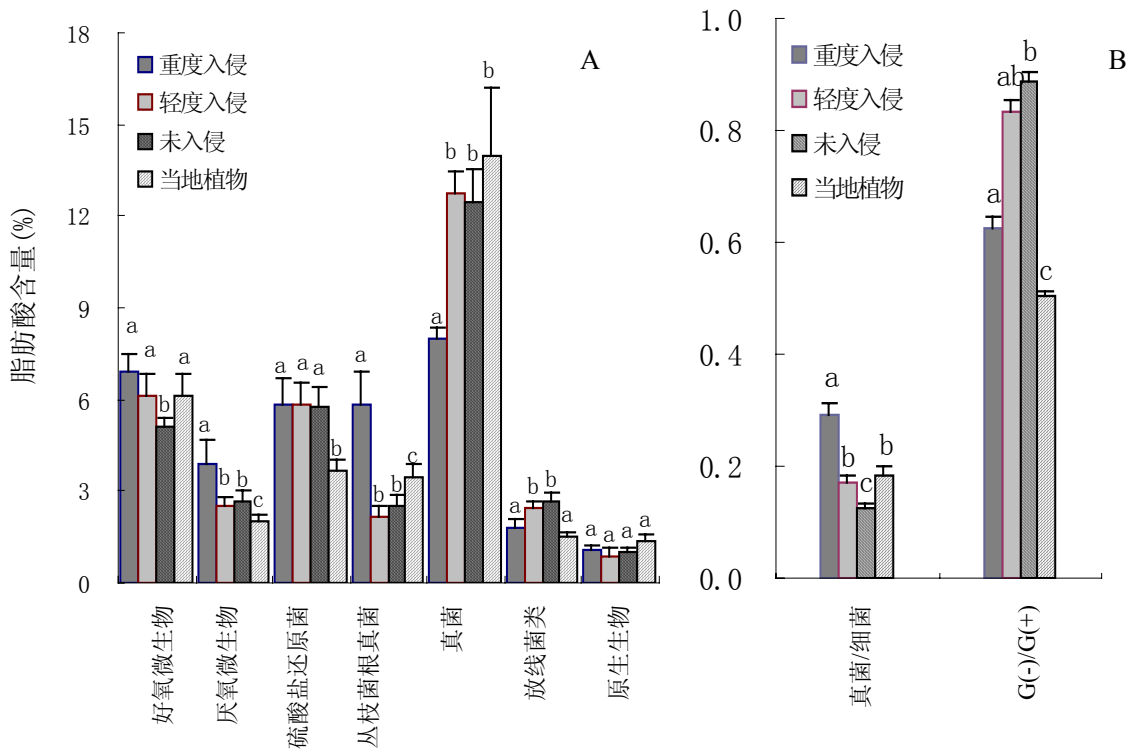


图 2-2. 紫茎泽兰不同入侵阶段土壤微生物不同类群(A)和类群间比率(B)的差异 (Means±SD)
不同小写字母表示在 5%水平上差异显著(Fisher's LSD test).

Fig. 2-2. (A) The class of fatty acids and (B) changes in the main ratio indexes of fatty acids in the four sites. (Means±SD). Different letters represent significant differences from Fisher's LSD at 0.05 level following ANOVA.

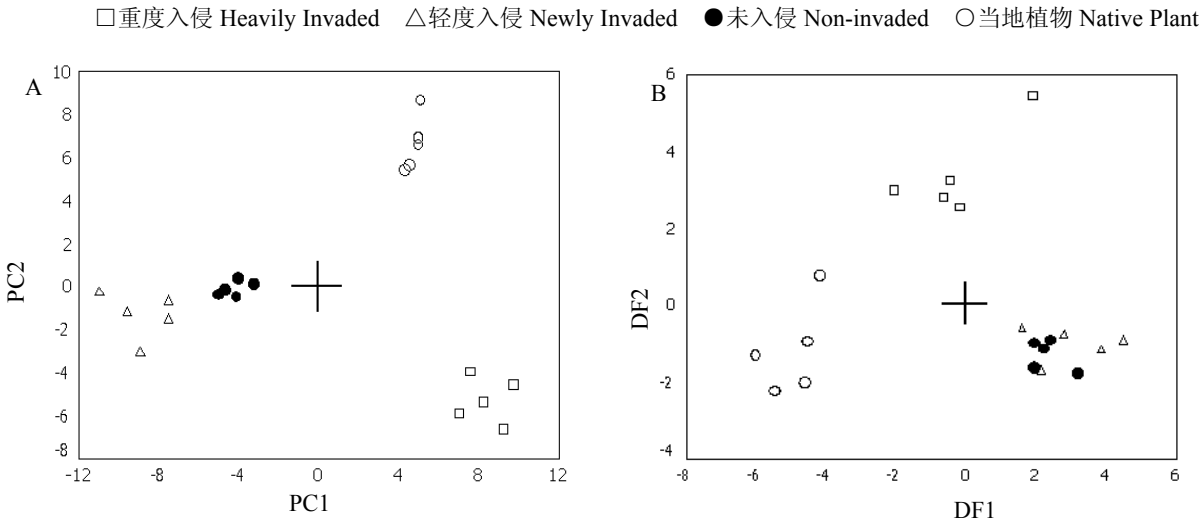


图 2-3. 紫茎泽兰不同入侵阶段土壤微生物群落的主成分分析(A)和判别分析(B). 交叉线表示原点(0,0).
Fig. 2-3. Plots of soil microbial community structure from four sites by the principal components and discriminant analyses. PC indicates, a principle component; DF indicates, a discriminant function. Cross signs indicate the (0,0) point.

表2-2. 紫茎泽兰入侵对土壤理化性质的影响

Table 2-2. Effects of *Ageratina adenophora* invasion on soil chemical and physical properties

土壤性质 Soil property	pH值 pH value	有机碳g.kg ⁻¹ Organic C	总氮g.kg ⁻¹ Total N	硝态氮mg.kg ⁻¹ NO ₃ ⁻ -N	铵态氮mg.kg ⁻¹ NH ₄ ⁺ -N	总磷g.kg ⁻¹ Total P	有效磷mg.kg ⁻¹ Available P	总钾g.kg ⁻¹ Total K	速效钾mg.kg ⁻¹ Available K	含水量% Water content	田间持水量% Water holding capacity
重度入侵 Heavily invaded	5.8±0.4b	62.7±7.7a	4.7±0.4a	32.5±4.8a	39.3±3.2a	0.6±0.07a	4.7±0.3a	3.6±0.4b	39.6±2.8a	24.6±2.1a	18.4±1.8a
轻度入侵 Newly invaded	6.0±0.1b	51.4±4.9b	4.5±0.4a	13.7±1.0b	21.3±1.8c	0.6±0.03a	2.2±0.1b	4.2±0.3a	21.7±1.1b	23.1±2.4a	16.8±1.0a
未入侵 Non-invaded	6.6±0.3a	47.8±3.4bc	4.2±0.6b	9.1±0.9c	18.7±2.7c	0.6±0.02a	1.4±0.08c	4.1±0.5a	19.4±3.0c	24.9±1.6a	17.2±1.3a
当地植物 Native plants	6.4±0.5a	43.1±4.5c	4.4±0.4b	14.4±2.1b	28.1±3.1b	0.6±0.05a	2.2±0.2b	3.8±0.3ab	18.1±2.9c	25.3±1.1a	17.7±1.5a

注：表中数值为平均值±标准差，同一列中不同字母表示在5%水平上差异显著（Fisher’s LSD test）。Note: Values are mean±SD. Different letters in the same column indicate that means are significantly different at P<0.05 (Fisher’s LSD test).

表 2-3. 紫茎泽兰入侵对土壤微生物可培养类群的影响（个/克土）

Table 2-3. Effects of *Ageratina adenophora* invasion on the quantity of cultivable soil microbe groups(CFU/g)

土壤微生物类群 Soil microorganism	细菌(×10 ⁷) Bacterium	真菌(×10 ⁴) Fungus	放线菌(×10 ⁶) Actinomycetes	自生固氮菌(×10 ⁵) Azotobacteria	反硝化细菌(×10 ²) Denitrifying bacteria	氨氧化细菌(×10 ⁴) Ammonia oxidizing bacteria	纤维分解菌(×10 ³) Cellulose-decomposing bacteria
重度入侵 Heavily invaded	7.3±1.46b	14.6±2.34a	1.2±0.37c	39.6±7.08a	2.6±0.72d	10.2±1.63a	4.6±1.52a
轻度入侵 Newly invaded	15.1±3.58a	6.5±1.47b	2.8±0.23a	10.9±1.34b	4.1±0.42c	7.4±1.33b	4.1±1.62a
未入侵 Non-invaded	1.2±0.09c	2.5±0.42c	1.7±0.36b	4.5±1.71c	7.1±0.81b	3.1±0.55c	3.5±1.28a
当地植物 Native plant	12.4±1.63a	8.5±1.62b	1.4±0.33c	15.3±3.43b	14.4±2.48a	5.3±1.64b	3.8±1.06a

注：表中数值为平均值±标准差，同一列中不同字母表示彼此在5%水平上差异显著（Fisher’s LSD test）。Note: Values are mean±SD. Different letters in the same column indicate that means are significantly different at P<0.05 (Fisher’s LSD test).

表2-4. 土壤微生物可培养类群与土壤理化性质间的相关系数

Table 2-4. Correlation coefficient between cultivable soil microbe groups and soil physical and chemical factors

土壤性质 Soil properties	细菌 Bacterium	真菌 Fungus	放线菌 Actinomycetes	自生固氮菌 Azotobacteria	反硝化细菌 DNB	氨氧化细菌 AOB	纤维分解菌 CDB
pH 值 pH value	-0.326	-0.695**	-0.012	-0.593**	0.387	-0.633**	0.063
有机碳 Organic C	0.136	0.744**	-0.233	0.677**	-0.196	0.504*	-0.146
总氮 Total N	-0.107	0.316	-0.200	0.401	0.281	0.376	0.227
硝态氮 NO ₃ ⁻ -N	-0.155	0.703**	-0.414	0.881**	-0.519*	0.634*	0.131
铵态氮 NH ₄ ⁺ -N	0.347	0.872**	-0.193	0.814**	-0.781**	0.720**	0.007
总磷 Total P	-0.392	0.464*	-0.524*	0.392	0.053	0.480*	0.076
有效磷 Available P	-0.150	0.863**	-0.380	0.860**	-0.282	0.778**	-0.058
总钾 Total K	0.290	0.328	0.311	0.288	-0.371	0.052	0.308
速效钾 Available K	-0.025	0.814**	-0.096	0.883**	-0.660**	0.738**	0.096
含水量 Water content	-0.082	0.217	-0.156	0.374	0.173	0.347	0.342
田间持水量 Water holding capacity	-0.510*	0.100	-0.369	0.303	-0.120	0.398	-0.164

Pearson相关分析，*和**分别表示在0.05和0.01水平上相关显著（双侧检验）。DNB：反硝化细菌；AOB：氨氧化细菌；CDB：纤维分解菌。Pearson correlation analysis. * and ** indicate the correlation is significant at 0.05 and 0.01 level (2-tailed). DNB: Denitrifying bacteria; AOB: Ammonia oxidizing bacteria; CDB: Cellulose-decomposing bacteria.

2.3 讨论

本研究表明，紫茎泽兰的入侵改变了土壤中微生物群落结构，提高了土壤的有效磷、速效钾、硝态氮、氨态氮；同时提高了土壤自生固氮菌、氨氧化细菌和真菌的数量。土壤微生物群落的变化可能加快了土壤养分循环，导致了土壤养分的上升。紫茎泽兰在入侵地的疯狂生长，由于自身的植株体构建消耗了大量的土壤养分，本该导致土壤的贫瘠化。但本研究却发现紫茎泽兰入侵提高了土壤中硝态氮、铵态氮、有效磷、速效钾的含量，它们都是植物可以直接吸收利用的土壤养分，这可能是由于土壤微生物的改变造成的，因为研究同时发现紫茎泽兰入侵提高了土壤自生固氮菌和氨氧化细菌数量。紫茎泽兰可能通过提高土壤中具有一定生理功能微生物的类群，进而增强土壤养分循环，提高了植物可以直接吸收利用的土壤养分含量。紫茎泽兰在入侵地通过改变土壤微生物群落，活化土壤养分；土壤养分水平的提高应该都可被紫茎泽兰和当地植物利用，但由于紫茎泽兰和当地植物的繁殖特性与利用速度不同，因此土壤养分的提高可能对紫茎泽兰生长和竞争更有利，我们将在后面的研究中（第五章）重点讨论这一问题。

随着对生态系统地下部分重要性认识的深入，越来越多的研究人员开始重视了解外来植物入侵对土壤生物多样性及生态系统过程的影响（Callaway et al., 2004）。外来入侵植物可以通过

直接或间接的途径改变入侵地的土壤微生物群落 (Reinhart & Callaway, 2006)。一方面外来入侵植物侵入到一个新的栖境后, 在适宜条件下大肆扩散蔓延 (Marler et al., 1999), 而土壤微生物群落随地上植物群落的改变而变化, 这一生态演替过程必然影响土壤微生物群落 (Andre et al., 2000); 另一方面, 外来入侵植物可以通过根系分泌物等释放化感物质进入土壤, 改变土壤微生物群落区系与功能 (Bais et al., 2004; Reinhart & Callaway, 2006)。如矢车菊 (*Centaurea diffusa* L.) 在美国西部地区广泛入侵, 危害严重, 它的根系可以释放具有抗菌活性的化感物质8-羟基喹啉 (8-hydroxyquinoline), 引起土壤微生物群落的变化 (Callaway et al., 2004; Vivanco et al., 2004)。葱芥 (*Alliaria petiolata* (Beib. Cavara and Grande)) 是成功入侵北美森林的芸苔类植物, 这类植物大多能够产生植物性硫配醣体 (glucosinolate) 类物质排入土壤, 并在土壤中不断沉积, 导致土壤微生物群落的改变和土壤丛枝菌根真菌数量的减少, 最终导致当地植物群落的退化 (Vaughn & Berhow, 1999; Roberts & Anderson, 2001)。

本研究发现真菌/细菌比率随紫茎泽兰入侵强度增加而上升, 相反, Gram(-)/Gram(+)随紫茎泽兰入侵强度增加而下降。真菌/细菌比率常被认为是土壤有机质水平高低的表征 (Bardgett et al., 1996; Frostegård & Bååth, 1996), 而G(-)/G(+)比率被认为是土壤贫瘠程度的表征 (Borga et al., 1994; Kourtev et al., 2003)。这一结果与我们养分的测定结果是一致的, 再次验证了土壤微生物群落改变引起土壤养分循环变化的结论。土壤真菌由于菌丝体粗大并成网状物, 常具有与植物根系专一性结合的特殊功能 (Marler et al., 1999)。有研究认为外来植物与入侵地菌根真菌结合形成共生体, 使寄主植物获得能多的土壤营养, 增加入侵力 (Callaway et al., 2004; Richardson et al., 2000; Reynolds et al., 2003)。外来植物对土壤微生物一些生理功能类群的变化, 可能促进了土壤中难以被植物吸收物质的转化, 使入侵植物处于有利的地位 (Hawkes et al., 2005; van der Heijden et al., 1998)。外来入侵植物可能存在高效率的营养获得途径, 如外来植物火树 (*Myrica faya* Ait.) 可以通过与固氮菌形成共生菌根, 轻易地入侵土壤氮水平低的群落 (Vitousek, 1987; Vitousek & Walker, 1989)。本研究中, 在紫茎泽兰入侵区真菌、自生固氮菌、氨氧化细菌数量都显著高于未入侵区, 这是否暗示着紫茎泽兰存在以土壤微生物为桥梁的高效养分转化、获得机制, 仍需要进一步的深入研究。目前有关外来入侵植物与土壤微生物群落互作, 特别是与菌根真菌、功能微生物类群的互作已成为研究的热点, 并提出了入侵成功的土壤微生物正反馈假说 (Klironomos, 2002; Wolfe & Klironomos, 2005; Reinhart & Callaway, 2006), 可能会为我们深入认识外来植物入侵机制开辟新的道路。

已有的关于外来植物对入侵地土壤养分影响的研究主要集中在比较外来植物与当地植物土壤的总氮、无机氮 (铵态氮和硝态氮)、氮矿化率和土壤有机碳的变化 (陆建忠等, 2005; 陈慧丽等, 2005)。但研究结论不一致, 存在增加、减少或没有影响三种格局 (Saggar et al., 1999; Windham & Lathrop, 1999; Windham & Ehrenfeld, 2003), 这可能是因为不同的入侵植物具有不同的生物学特征造成的, 如一年生和多年生入侵植物对土壤养分的影响就不同。在本研究中发现, 紫茎泽兰入侵显著提高了土壤有机碳、硝态氮、铵态氮、有效磷和速效钾含量, 对总氮、总磷含量没有显著影响, 降低了总钾含量。土壤养分常常是陆地生态系统中限制植物生长的关键因素, 探讨外来植物是否影响其入侵地土壤养分循环对全面评估外来植物造成的自然生态影响有重要指导作用 (Windham, 2001; Levine et al., 2003)。

土壤微生物对外来植物成功入侵有重要作用(Wolfe & Klironoms, 2005; Reinhart & Callaway, 2006)。外来植物通过改变入侵地土壤微生物群落,破坏了当地植物与土壤微生物之间经过长期历史形成的平衡共生关系,影响本地种的生长和种群的更新,使自身间接的获得了偏利(Yu et al., 2005)。土壤肥沃或贫瘠影响植物生长和群落的物种构成(Huenneke et al., 1990; Myster, 1993);植物外来种常出现在肥沃的栖息地如森林、草地和开放的灌丛地,因为土壤肥力高有利于外来植物入侵和扩散(Grubb,1994)。紫茎泽兰在入侵过程中改变了土壤微生物群落,提高了土壤肥力,而土壤微生物肥力的改变也必然会对紫茎泽兰的进一步入侵做出反馈。所以,紫茎泽兰对入侵地土壤生态过程的影响不仅是入侵效应问题,它与紫茎泽兰的入侵机制联系紧密。本研究发现紫茎泽兰入侵改变了土壤微生物群落结构和提高各细菌生理功能类群数量,而功能性土壤微生物类群的变化可以影响土壤养分循环和植物间的竞争关系,进而促进紫茎泽兰的竞争、扩张。这一结果能够部分解释为什么紫茎泽兰在野外生长、扩张迅速、排挤当地植物和耐贫瘠等现象,但要回答这种影响产生的途径仍需要对紫茎泽兰根系分泌物中的特定化感物质的作用进行深入研究,特别是对土壤微生物功能类群(如菌根真菌、自生固氮菌、氨氧化细菌等)的调控作用。

2.4 结论

通过对紫茎泽兰入侵后不同演替阶段植物群落下的土壤微生物群落和土壤理化性质的比较,发现紫茎泽兰入侵改变了入侵地的土壤微生物群落结构,显著地提高了土壤自生固氮菌、氨氧化细菌和真菌等各细菌生理功能类群;同时,也显著地提高了土壤的硝态氮、铵态氮、有效磷、速效钾和有机碳含量,降低了土壤pH;土壤微生物各生理功能类群的变化与土壤理化性质的变化相关显著。结果表明,紫茎泽兰在入侵地成功定植后,可能通过改变土壤微生物群落,特别是增加了与土壤养分代谢密切相关的土壤微生物生理功能类群数量,提高了土壤中植物可直接利用的养分水平;改变土壤微生物群落是紫茎泽兰入侵扩张对生态系统影响的重要部分。本章不仅为紫茎泽兰入侵后果的评估提供实验证据,而且为其成功入侵的土壤微生物学机制探索提供思路。

第三章 紫茎泽兰根际土壤中优势细菌的筛选鉴定及拮抗性能评价

在上一章中我们已经明确了紫茎泽兰入侵对土壤微生物群落和土壤养分的影响,本章以紫茎泽兰根际微生物为研究对象,旨在明确紫茎泽兰根际优势微生物的类群和功能,深入揭示其土壤微生物学入侵机制。

关于为什么外来植物能够成功入侵,国内外研究人员从不同的角度提出了各种假说(徐承远等, 2001),其中,天敌逃避假说(Natural Enemy Hypothesis)被广泛的引用来说明外来植物的入侵现象,提出入侵植物的成功入侵是因为入侵植物逃避了原产地的天敌,从而发挥了其潜在的竞争优势(Ehrenfeld et al., 2001; Wolfe, 2002; Levine et al., 2003)。入侵植物原产地的土壤病原菌等微生物成分作为天敌的一部分,已得到关注,并被越来越多的实验证实(彭少麟和向言词, 1999; Callaway et al., 2004; 陆建忠等, 2005; 陈慧丽等, 2005)。外来入侵植物可以通过根系分泌物等各种途径改变入侵地土壤微生物群落结构和功能,进而使自身获得竞争优势,有学者由此提出了外来植物入侵成功的土壤微生物正反馈假说(Klironomos, 2002; Kourtev et al., 2002; Wolfe et al., 2005; Li et al., 2006)。但是这种土壤微生物正反馈的途径目前并不甚清楚,土壤微生物可能活化了土壤营养,加速了入侵植物的养分吸收(Hawkes et al., 2005);或是入侵植物与入侵地土壤微生物形成了菌根真菌(Marler et al., 1999; Roberts & Anderson, 2001);也可能是入侵植物根际微生物的驱避病原菌作用使其逃避了土壤病原菌的侵扰。

明确紫茎泽兰根际土壤微生物群落结构和功能对于探索其入侵的土壤微生物学机制尤为重要。我们在以往野外实验的研究中发现该植物在入侵地很少有病害发生的,土传病害更是没有见过。推测是因为其根际土壤中具有丰富的病原微生物拮抗细菌,使其逃避了土壤病原菌的侵扰,这可能是其获得土壤微生物正反馈的重要途径之一。本章通过对紫茎泽兰根际土壤优势细菌类群及其对土传病原菌拮抗作用的研究,探讨根际微生物在紫茎泽兰入侵过程中的作用,并为紫茎泽兰的生态替代和修复提供理论依据。

3.1 材料与方法

3.1.1 紫茎泽兰根际土壤采集

2006年5月在云南玉溪澄江县麒麟村外4km处的山谷地带(N: 24°42'14.2"-15.5", E: 102°52'48.6"-48.9")常绿落叶阔叶混交林下采集紫茎泽兰根际土壤。该区域海拔1993-2016m,属亚热带高原季风气候,干湿季节分明,土壤类型为红壤,土质较粘。紫茎泽兰入侵在10年以上,地表紫茎泽兰群落覆盖度占草本植物层总盖度90%以上,是单优植物种群。拔出紫茎泽兰植株,轻轻抖动后,用清洁毛刷取紫茎泽兰根表1mm土层,共10份土样,每份约100g,置于聚乙烯袋中,立即带回实验室过2mm筛,4℃保存备用。

3.1.2 土壤细菌的分离培养和优势细菌的筛选

将采集的土样 10g 加入装有 90ml 无菌水的三角瓶中（内装玻璃珠若干），摇床震荡 20min，然后进行 5 次 10 倍系列稀释。吸取稀释液 100 μ l，在 NA 培养基平板上涂布均匀，每稀释度 5 次重复，于 28℃ 下培养 2d 后视菌落生长情况，开始挑选单菌落进行分离培养，并每隔 24h 检查一次菌落生长情况，挑选单菌落分离培养，直到没有新的菌落出现。将分离到的细菌单菌落进行生理指标测定和采用苯酚品红染色法镜检观察，根据细菌菌体形态形状和生理特性对分离到细菌分类，菌株数量超过分离细菌总数 5% 的细菌为优势细菌。

3.1.3 优势细菌的脂肪酸（PLFAs）鉴定

细菌的鉴定采用美国 MIDI 公司（MIDI, Newark, Delaware, USA）开发的基于细菌细胞脂肪酸成分鉴定系统（Sherlock MIS4.5（Microbial Identification System）。细菌的磷脂脂肪酸提取步骤如下：

3.1.3.1 培养基与脂肪酸提取试剂

TSBA 培养基：30g 胰蛋白胍大豆肉汤(Tryptic soy broth, TSB)+15 g 琼脂+1L 水（TSB 购于 Fisher 公司）

皂化试剂：氢氧化钠 45g+甲醇 150ml+水 150ml

甲基化试剂：6N 盐酸 325ml+甲醇 275ml

萃取试剂：正己烷 200ml+甲基叔丁基乙醚 200ml

洗涤试剂：氢氧化钠 10.8g+水 900ml。

以上培养基和试剂的配制方法由美国 MIDI 公司（MIDI, Newark, Delaware, USA）提供（<http://www.midi-inc.com>）。

3.1.3.2 脂肪酸的提取

- 1) 细菌培养条件：TSBA 平板培养基，四线划线法，培养温度 28 $\pm$ 1℃，培养时间 24 $\pm$ 2h；
- 2) 获菌：用接种环挑取 3-5 环（约 40mg 湿重）的菌落置入一个干净、干燥的有螺旋盖的试管中（最佳的获菌区域为第 3 区）；
- 3) 皂化：加入 1.0 $\pm$ 0.1mL 皂化试剂，拧紧盖子，振荡 5-10sec，放入 95-100℃ 的沸水中 5min，室温冷却，振荡 5-10sec，再水浴 25min，室温冷却；
- 4) 甲基化：开盖加入 2.0 $\pm$ 0.1mL 甲基化试剂，拧紧盖子，振荡 5-10sec，80 $\pm$ 1℃ 水浴 10min，移开且快速用流动自来水冷却至室温；
- 5) 萃取：加入 1.25 $\pm$ 0.1mL 的萃取试剂，拧紧盖子，温和混合旋转 10min，打开管盖，利用干净的移液管取出每个样本的下层水相部份；
- 6) 基本洗涤：加入 3.0 $\pm$ 0.2mL 洗涤试剂，拧紧盖子，温和混合旋转 5min，打开管盖，利用干净的移液管移出约 2/3 体积的上层有机相到干净的气相色谱检体小瓶，用于气相检测。

3.1.3.3 脂肪酸的检测

气相色谱系统采用的是美国 Agilent 6890N 型，包括全自动进样装置、石英毛细管柱及氢火焰离子化检测器；分析软件应用美国 MIDI 公司开发的基于细菌细胞脂肪酸成分鉴定细菌的软件

Sherlock MIS4.5 (Microbial Identification System) 和 LGS4.5 (Library Generation Software)。在上述色谱条件下平行分析脂肪酸甲酯混合物标样和待检样本：二阶程序升高柱温，170℃起始，5℃/min升至260℃，而后40℃/min升温至310℃，维持90S；汽化室温度250℃、检测器温度300℃；载气为氢气(2ml/min)、尾吹气为氮气(30ml/min)；柱前压10.00 psi(1psi=6.895kPa)；进样量1μl，进样分流比100:1。

3.1.4 优势细菌对土传病原菌的拮抗作用

3.1.4.1 供试拮抗菌和病原菌

拮抗细菌为筛选分离到的优势菌株，将拮抗细菌在NA培养基斜面上活化后分别移入50mlNA培养液中，180r/min，28℃下培养12h后得到拮抗菌液，含菌量在波长590nm下OD值为0.4-0.5。供试病原菌由福建省农业科学院生物技术中心提供：番茄枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)，属半知菌亚门真菌；青枯菌(*Ralstonia solanacearum*)，青枯假单胞菌，属细菌。番茄枯萎病菌和青枯菌是世界范围的危害严重的土传病害，病原菌可在土中生活时间长（郭坚华和孙平华，1997；祝元甲，2004）。

3.1.4.2 对番茄枯萎病菌拮抗性能的测定

在PDA平板中央放置滤纸片(Φ=7mm)，吸取拮抗细菌培养液5μl于滤纸片上，呈对角线放置4个病原番茄枯萎病菌真菌丝块(Φ=7mm)，设无拮抗细菌处理为对照，每处理重复5次。28℃培养，待对照真菌长满平板后测定抑菌圈，计算抑菌率（刘卹洲等, 2003；姜英华等, 2005）。

3.1.4.3 对青枯菌拮抗性能的测定

吸取青枯菌培养液0.1ml均匀涂布于NA平板上，放置30min，待表面干燥后呈对角线移入4个直径为7mm滤纸片，分别吸取5μl拮抗细菌培养液接于滤纸片上，每处理重复5次。28℃培养48h后测定抑菌带，计算抑菌率（刘卹洲等, 2003；姜英华等, 2005）。

3.1.5 细菌代谢产物拮抗性能的测定

将上述优势细菌培养液离心后取上清，经细菌过滤器（直径0.45μm）除去菌体即为代谢产物。测定方法同1.4。

3.1.6 统计分析

优势细菌及其代谢产物对病原菌抑菌率的数据分析采用单因子方差分析（One-way ANOVA: Fisher's LSD test），所用软件为SPSS12.0（SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA）。

3.2 结果与分析

3.2.1 细菌的分离与鉴定

从 10 份紫茎泽兰根际土中共分离获得 327 株细菌, 根据细菌形态和生理特征确定优势细菌 25 株 (表 3-1)。经磷脂脂肪酸鉴定, 25 株优势细菌均为芽孢杆菌和假单胞菌, 属于 7 个细菌类群, 分别是枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*)、解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)、地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)、苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*)、短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*) 和恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*), 其中枯草芽孢杆菌和巨大芽孢杆菌数量最多, 共占鉴定细菌总数的 55.6%。

表 3-1. 紫茎泽兰根际土壤中分离的优势细菌类群及菌落形态特征

Table 3-1. Groups and characteristics of dominant bacteria isolated from *A. adenophora* rhizosphere soil

细菌类别 Microbe groups	菌株数 Strains	乳糖 Lactose	纤维糖 Inositol	甘露醇 Mannitol	山梨醇 Sorbitol	甜醇 Dulcitol	革兰氏 Gram(+)/(-)	菌落形态特征 Characteristics
枯草芽孢杆菌 (<i>B. subtilis</i>)	9	+	-	+	-	+	+	菌体不规则, 灰白色, 有褶皱, 边缘波纹状, 菌体杆状
巨大芽孢杆菌 (<i>B. megaterium</i>)	5	-	+	-	-	-	+	菌体无光泽, 灰白色, 边缘波纹状, 菌体短杆状
解淀粉芽孢杆菌 (<i>B. amyloliquefaciens</i>)	4	+	+	+	+	+	+	菌体有光泽, 稍有隆起, 灰白色, 呈流质, 菌体杆状
地衣芽孢杆菌 (<i>B. licheniformis</i>)	3	+	-	-	+	-	+	菌体透明, 乳白色, 有光泽, 边缘不规则, 有粘性
苏云金芽孢杆菌 (<i>B. thuringiensis</i>)	2	-	-	-	-	+	+	菌体不规则, 波纹状, 不平整, 色暗
短小芽孢杆菌 (<i>B. pumilus</i>)	1	-	+	+	-	-	+	菌体平整, 光滑, 粘性高, 有光泽
恶臭假单胞菌 (<i>P. putida</i>)	1	+	+	-	+	-	-	菌体圆滑, 有光泽, 菌体短杆状

注: 所有细菌脂肪酸鉴定的匹配度均在 0.8 以上。Note: Similarity index of PLFAs identification for all bacteria strains is above 0.8.

3.2.2 优势芽孢杆菌的多态性聚类分析

利用美国 MIDI 公司 LGS4.5 (Library Generation Software) 软件对鉴定的 25 株优势细菌的脂肪酸进行聚类分析, 得到系统树图 (Dendrogram) 并进行分类 (图 3-1)。细菌间的欧氏距离 (Euclidian Distance) 的大小表示细菌种群亲缘关系的远近。当 $\lambda=6$ 时, 25 株细菌分成 5 个大的类群, 相同的细菌在同一类群; 但枯草芽孢杆菌分为 2 个类群, 其中 BS-2 和 BS-8 为一个类群, 与恶臭假单胞菌关系较近, 同属于一个类群, BS-1、BS-3、BS-4、BS-5、BS-6、BS-7 和 BS-9 为一个类群, 与解淀粉芽孢杆菌、短小芽孢杆菌关系较近, 同属于一个类群。

7 种细菌的平均脂肪酸种类和优势脂肪酸的平均含量也存在差异 (表 3-2)。1) 平均脂肪酸种

类：苏云金芽孢杆菌最多，有24种，巨大芽孢杆菌最少，有14种；2）优势脂肪酸的平均含量：7种细菌的优势脂肪酸为15:0 ANTEISO、15:0 ISO和17:0 ANTEISO，是特征性色谱峰，但含量有较大差异；优势脂肪酸所占比列短小芽孢杆菌最大，为79.3%，苏云金芽孢杆菌最小，为54.7%。

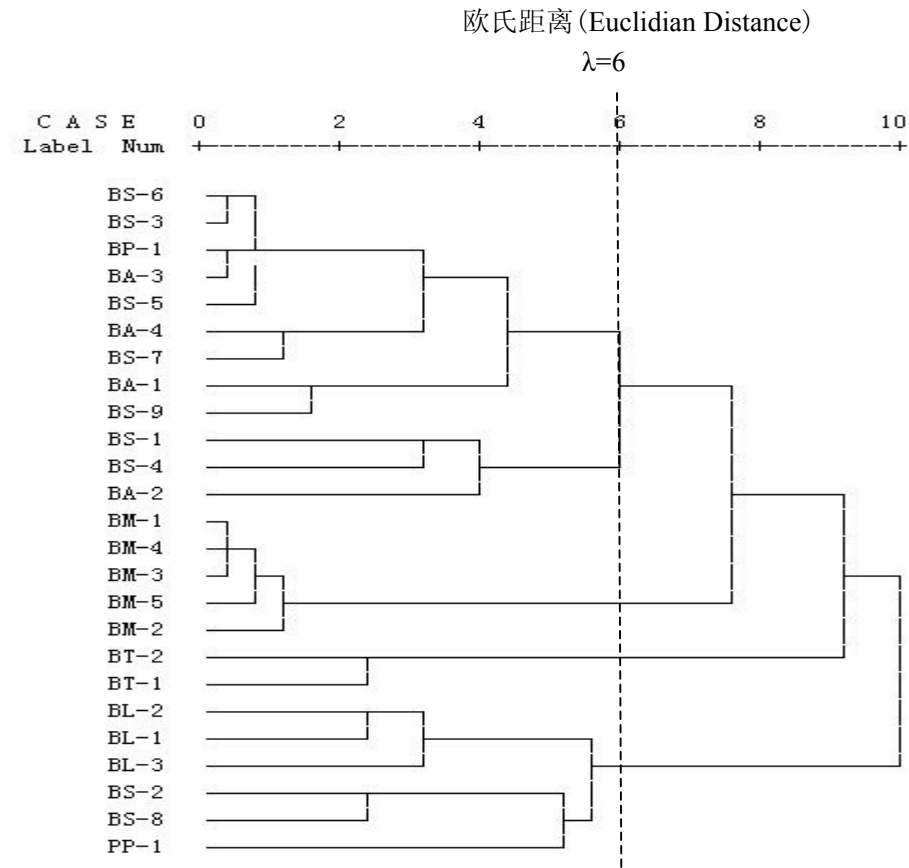


图 3-1. 紫茎泽兰根际土壤中 25 株鉴定优势细菌的脂肪酸聚类分析

Fig. 3-1. Cluster analysis for 25 strains of identified dominant rhizosphere bacteria of *A. adenophora* based on fatty acids

BS: 枯草芽孢杆菌, BM: 巨大芽孢杆菌, BA: 解淀粉芽孢杆菌, BL: 地衣芽孢杆菌, BT: 苏云金芽孢杆菌, BP: 短小芽孢杆菌, PP: 恶臭假单胞菌。1、2、3...为菌株编号。
BS: *B. subtilis*; BM: *B. megaterium*; BA: *B. amyloliquefaciens*; BL: *B. licheniformis*; BT: *B. thuringiensis*; BP: *B. pumilus*; PP: *P. putida*. 1,2,3...stands for strain No.

表3-2. 紫茎泽兰根际土壤中优势土壤微生物主要脂肪酸的比较

Table 3-2. Fatty acids characteristics of identified dominant rhizosphere bacteria of *A. adenophora*

脂肪酸 Fatty acids	平均脂肪酸种类 Average kinds of fatty acids	主要脂肪酸平均含量(%) Average percentage of plentiful fatty acids (%)		
		15:0 ANTEISO	15:0 ISO	17:0 ANTEISO
枯草芽孢杆菌 (<i>B. subtilis</i>)	20	38.81	23.95	13.86
巨大芽孢杆菌 (<i>B. megaterium</i>)	14	33.52	42.81	2.15
解淀粉芽孢杆菌 (<i>B. amyloliquefaciens</i>)	19	34.59	30.25	9.30
地衣芽孢杆菌 (<i>B. licheniformis</i>)	16	30.28	28.67	10.38
苏云金芽孢杆菌 (<i>B. thuringiensis</i>)	24	13.82	39.60	1.31
短小芽孢杆菌 (<i>B. pumilus</i>)	15	34.40	40.88	3.01
恶臭假单胞菌 (<i>P. putida</i>)	19	29.64	23.82	15.28

3.2.3 优势细菌对番茄枯萎病菌和青枯菌的拮抗作用

根据优势细菌的聚类分析结果,从5大类群中选取枯草芽孢杆菌2株(BS-5, BS-8)、巨大芽孢杆菌1株(BM-1)、解淀粉芽孢杆菌1株(BA-1)、地衣芽孢杆菌1株(BL-3)、苏云金芽孢杆菌1株(BT-1)、短小芽孢杆菌1株(BP-1)和恶臭假单胞菌1株(PP-1)进行病原菌拮抗性测定。

8株优势细菌的菌体和代谢产物对两种病原菌的抑菌率测定结果见表3-3。所有菌株对两种病原菌的都存在不同程度拮抗作用,地衣芽孢杆菌BL-3菌体对番茄枯萎病菌的抑菌率最低,为46.3%,而枯草芽孢杆菌BS-5代谢产物对番茄枯萎病菌的抑菌率最高,为85.5%。枯草芽孢杆菌BS-5和苏云金芽孢杆菌BT-1对番茄枯萎病菌的拮抗作用显著高于其它菌株,其代谢产物的抑菌率分别为85.5%和83.8%;而巨大芽孢杆菌BM-1和恶臭假单胞菌PP-1对青枯菌的拮抗作用显著高于其它菌株,其代谢产物的抑菌率均为82.3%。对于同一细菌的不同形式(菌体或代谢产物)而言,除少数菌株(如枯草芽孢杆菌BS-8)不存在显著差异外,其它菌株都是代谢产物的抑菌率显著高于菌体,其中地衣芽孢杆菌BL-3代谢产物比菌体对番茄枯萎病菌的抑菌率高出最多,为23.9%。虽然BS-5和BS-8均为枯草芽孢杆菌,但它们的菌体或代谢产物对番茄枯萎病菌和青枯菌的抑菌率都存在显著差异,这说明同一细菌的拮抗作用会因菌株不同而有所差异。

表 3-3. 优势细菌及其代谢产物对两种土传病害病原菌的抑菌率(%)

Table 3-3. Inhibitory effects of dominant bacteria and their metabolic products on soil-borne diseases(%)

拮抗菌株 Antagonistic bacteria	番茄枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i>		青枯菌 <i>Ralstonia solanacearum</i>	
	菌体 Bacteria	代谢产物 Metabolic products	菌体 Bacteria	代谢产物 Metabolic products
枯草芽孢杆菌 BS-5 <i>B. subtilis</i> BS-5	78.5±6.2Ab	85.5±4.9Aa	51.2±6.6Db	74.1±5.6Ba
枯草芽孢杆菌 BS-8 <i>B. subtilis</i> BS-8	70.2±5.6Ba	75.1±7.3Ba	58.6±6.4Ca	58.5±8.3Da
巨大芽孢杆菌 BM-1 <i>B. megaterium</i> BM-1	67.6±4.3Ba	65.9±8.4Ca	74.7±5.6Ab	82.7±5.6Aa
解淀粉芽孢杆菌 BA-1 <i>B. amyloliquefaciens</i> BA-1	53.2±5.7Ca	56.3±10.5Da	70.3±3.5ABb	77.3±4.4Ba
地衣芽孢杆菌 BL-3 <i>B. licheniformis</i> BL-3	46.3±4.2Db	70.2±8.2BCa	66.2±6.0Bb	75.5±7.2Ba
苏云金芽孢杆菌 BT-1 <i>B. thuringiensis</i> BT-1	75.5±6.8Ab	83.8±7.6Aa	61.0±10.8BCa	65.4±4.6Ca
短小芽孢杆菌 BP-1 <i>B. pumilus</i> BP-1	50.7±5.6CDa	51.2±4.3Da	50.6±7.3Db	58.0±6.1Da
恶臭假单胞菌 PP-1 <i>P. putida</i> PP-1	67.1±5.4Ba	72.7±10.3Ba	70.2±6.2ABb	82.3±8.5Aa

注：数值表示平均值±标准差。大写字母表示不同拮抗细菌对同一病原菌的抑菌率比较；小写字母表示同一拮抗细菌的不同形式（菌体和代谢产物）对病原菌的抑菌率比较。不同字母表示彼此在 5%水平上差异显著（Fisher's LSD test）。Note: Means ± SD. Different capitals indicate significant difference among antagonistic bacteria strains; and different small letters indicate significant differences among antagonistic bacteria and its metabolic products. Different letters in the same column indicate that means are significantly different at P<0.05 (Fisher's LSD test).

3.3 讨论

在前面的研究中，我们发现紫茎泽兰能够改变入侵地土壤微生物群落结构，特别是提高了与土壤养分转化相关的微生物数量，进而提高了土壤养分水平，认为土壤微生物群落的变化可能有利于紫茎泽兰的入侵。本研究补充了紫茎泽兰根际优势细菌拮抗性能的实验，发现紫茎泽兰根际存在丰富的具有拮抗作用的微生物类群，这可能使紫茎泽兰具有了逃避土壤病原菌侵染的能力，有力地支持了上述结论。

土壤中微生物菌群复杂，有益和有害微生物共存，二者比例的失调，势必引起植物病害；拮抗微生物是植物抵御病害的重要手段，根际细菌是植物根系防御病原物侵染的第一道防线（曹煜成等, 2005; 程洪斌等, 2006）。枯草芽孢杆菌、苏云金芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、短小芽孢杆菌和假单胞菌通过成功定殖至植物根际，同病原菌竞争植物周围的营养、分泌抗菌物质抑制病原菌生长，同时诱导植物防御系统抵御病原菌入侵（杨海君等, 2004; 程洪斌等, 2006; 刘波, 2006）。本研究发现，紫茎泽兰根际细菌对病原微生物有较强的拮抗作用，而且其代谢产物的拮抗性能和抑菌率更高，说明抗菌物质的产生是紫茎泽兰根际优势细菌的重要拮抗机理。植物根际中的微生物由于与宿主植物之间的相互依赖的关系，致使不同植物根际的微生物群落具有很高的特异性；根际丰富的拮抗微生物组成为外来入侵植物逃避土壤病原菌侵扰提供了帮助，紫茎泽兰的扩散和

蔓延可能依赖于其特有的根际细菌群落。

外来入侵植物在营养物吸收、改变周围生境等方面远远强于当地植物，这也是多数外来植物入侵成功的重要原因（Kourtev et al., 2002; Reinhart & Callaway, 2006）。紫茎泽兰入侵改变了土壤微生物群落组成，提高了土壤养分，其成功入侵可能是通过改变土壤微生物群落结构和功能来实现的。本研究表明：紫茎泽兰根际土壤中含有十分丰富的芽孢杆菌和假单胞菌，其中主要的类群为枯草芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌和解淀粉芽孢杆菌；它们都是土壤病原微生物生防菌，对番茄枯萎病菌和青枯菌有很好的抑菌效果，增强了土壤抑制土传病原菌的能力，这可能是紫茎泽兰很少受到病害侵扰的原因，也是其逃避天敌的重要手段。通过这种根际有益微生物的反馈作用，紫茎泽兰直接或间接的在与当地植物竞争中处于有利地位。有益微生物的反馈作用除了对病原微生物的生防作用外，也包括对土壤养分的活化作用（刘波, 2006）；紫茎泽兰入侵地土壤中可被植物吸收的养分水平较高（Yu et al., 2005），优势细菌芽孢杆菌的大量存在可能是原因之一。

入侵植物通过根系分泌物与土壤微生物保持高效的地下通讯，以此调控根系周围的土壤微生物群落（Bais ; 2004 ; De Deyn, 2004）。研究发现在果园中种植入侵植物胜红蓟，其根系分泌物具有改良土壤的作用，可以有效减少病害的发（Kong et al., 2004）；我们认为这可能是因为入侵植物改变了土壤微生物群落，使具有拮抗作用的微生物数量提高。替代控制被认为是有效的防治入侵植物的方法，但如果替代植物选择不当就会降低防治效果或引起再次入侵（Wolfe & Klironoms, 2005; Marler ET AL., 1999; Kourtev et al, 2003）。有研究表明喜树可能通过根际分泌物破坏了紫茎泽兰根系周围的真核微生物群落，导致在喜树和紫茎泽兰混栽体系中根际真菌的数量明显降低，从而制约了混栽体系中紫茎泽兰植株的过度蔓延（祖元刚等, 2006）。通过种植根系发达，分泌物丰富，对土壤微生物有强抑制作用的当地植物，可能会破坏紫茎泽兰根系周围有利的微生物群落，有效制约其蔓延，从而实现对紫茎泽兰的成功替代。

3.4 结论

本研究在以往的研究基础上，以入侵植物根际土壤微生物为切入点，通过筛选、鉴定优势细菌类群，首次从优势细菌对土壤病原菌拮抗作用的角度阐述紫茎泽兰的入侵机制，对全面认识外来植物入侵的土壤微生物正反馈机制有重要意义。研究证实了紫茎泽兰根际存在丰富的具有拮抗性能的细菌类群，认为这可能是其能够逃避土壤病原菌等天敌的原因。

第四章 紫茎泽兰浸提液对土壤微生物群落结构的影响

在我们前面的研究中发现紫茎泽兰入侵改变了土壤微生物群落结构和各细菌生理功能类群，但不能有效回答这种改变产生的原因和途径。外来入侵植物可以通过根系分泌物、淋溶物、凋落物等与土壤微生物保持化学通信和营养联系，改变土壤微生物群落(Kourtev et al., 2002; Wolfe and Klironoms, 2005; Reinhart and Callaway, 2006)。紫茎泽兰也可能是通过根系分泌物和茎叶淋溶物来改变土壤微生物群落的。本章用紫茎泽兰根系和茎叶浸提液培育土壤微生物，并测定土壤微生物群落的变化，在一定程度上模拟了紫茎泽兰野外入侵对土壤微生物群落的影响。本研究的目的旨在探索紫茎泽兰改变土壤微生物群落的可能途径，从化感作用中淋溶途径的角度，对紫茎泽兰浸提液的化感潜力进行评价。这些研究结果将为紫茎泽兰深层次的土壤微生物的化感作用如主效化感成分的研究提供了直接的试验证据。

4.1 材料与方法

4.1.1 紫茎泽兰根系和茎叶浸提液的制备

2006年5月在云南省昆明市云南农业大学后山采获紫茎泽兰成株，用清水冲洗植株且剪断分为茎叶和根系两部分，运至实验室保存备用。分别取100g紫茎泽兰根系和茎叶，用无菌去离子水冲洗三次，在超净台上剪成1—2cm段，然后分别加1L无菌去离子水浸提24h。后经3层定性滤纸过滤得水提液，再将水提液用微孔滤膜(0.45 μm)过滤，以此为母液。母液浓度为100%，取部分分别稀释成10%和1%，对照为无菌去离子水(浓度为0%)，置入4℃冰箱内保存，用于土壤微生物的孵化培养实验。

4.1.2 土壤微生物的培育

紫茎泽兰重度和轻度入侵土壤同2.1.1，各取500g放入无菌发酵瓶中(10×10×6cm)，分别加入100ml的100%、10%、1%和0%紫茎泽兰根系和茎叶浸提液，放置28℃恒温培养箱培养，光照12h。每个处理重复5次。考虑到水分挥发和微生物养分消耗的原因，每隔1天补充一定量的对应浸提液以保持土壤含水量。根系浸提液处理的土壤样品，2周后利用PLFA法测定其微生物群落结构；茎叶浸提液处理的土壤样品，3周后测定土壤微生物群落结构。

已分离鉴定的紫茎泽兰根际优势细菌8株同表3.1.1。分别将10ml的100%、10%、1%和0%紫茎泽兰根系和茎叶浸提液加入细菌NA培养液，接菌1ml，放入180r/min摇床，28℃下培养12h后利用紫外分光光度计在波长590nm下测定细菌培养液OD值。OD值的大小表示细菌数量的多少，每个处理重复5次。

4.1.3 数据分析

考虑到加入的紫茎泽兰浸提液可能含有植物源的脂肪酸(Klamera & Bååth, 2004; Leckie, 2005)，土壤微生物脂肪酸数据选取大于1%的脂肪酸进行分析，先作单因子方差分析(One-way ANOVA)，然后作主成分分析(Principal components analysis)和判别分析分析(Discriminant

analysis)。由于本研究的目的是明确紫茎泽兰浸提液对土壤微生物群落的影响，因此不再对不同处理间各种脂肪酸量的差异做比较分析。不同处理对土壤优势细菌及其代谢产物对病原菌抑菌率的数据分析采用单因子方差分析（One-way ANOVA: Fisher's LSD test）。所有数据分析均采用软件SPSS12.0（SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA）。

4.2 结果与分析

4.2.1 紫茎泽兰浸提液对土壤微生物群落的影响

含量大于 1% 的土壤微生物脂肪酸共有 17 种，其中除 10Me 16:0 外的 16 种脂肪酸在紫茎泽兰浸提液不同浓度处理间都存在显著差异（见表 4-1）。主成分分析和判别分析表明，用紫茎泽兰根系浸提液处理轻度入侵土壤 2 周后，微生物群落发生变化，且随着浓度的增加群落结构向重度入侵靠拢（见图 1A 和 B）。用紫茎泽兰茎叶浸提液处理轻度入侵土壤 3 周后，微生物群落发生变化，且随着浓度的增加群落结构变化越明显（见图 1C 和 D）。虽然紫茎泽兰根系浸提液和茎叶浸提液的作用大致相同，但整体来看，紫茎泽兰茎叶浸提液作用效果小于根系浸提液。

表4-1. 紫茎泽兰根系和茎叶浸提液对土壤微生物脂肪酸的影响

Table 4-1. Effects of *A. adenophora* root and aerial parts leachates on soil microbial PLFAs

PLFAs	Control(H ₂ O)	1%RLT	10%RLT	100%RLT	1%ALT	10%ALT	100%ALT
14:0 ^{**}	1.448±0.292	1.352±0.301	1.434±0.157	2.214±0.096	1.035±0.154	1.942±0.099	1.768±0.095
15:0 i [*]	4.754±0.414	4.424±0.550	4.338±0.391	3.356±0.291	3.984±0.287	4.404±0.478	3.884±0.171
15:0a ^{***}	2.638±0.297	3.604±0.416	3.180±0.248	1.906±0.116	1.934±0.251	1.354±0.233	1.882±0.483
Sum 3 ^{**}	4.028±0.411	5.844±0.869	4.144±0.158	3.072±0.311	4.751±0.504	5.102±0.472	5.072±0.381
16:1 ω5c [*]	2.808±1.112	2.158±0.327	2.492±0.387	3.401±0.379	3.108±0.294	2.724±0.219	2.955±0.182
16:0 [*]	17.602±1.227	16.792±1.010	17.594±1.173	14.710±0.652	18.571±0.864	17.624±0.760	15.537±1.067
10Me 16:0	1.405±0.104	1.652±0.151	1.508±0.124	1.437±0.213	1.571±0.142	1.382±0.225	1.648±0.204
17:0i [*]	3.113±0.137	3.087±0.150	3.820±0.311	3.762±0.056	3.813±0.206	2.982±0.167	3.417±0.182
17:0a ^{**}	2.138±0.156	2.264±0.170	2.364±0.205	1.766±0.112	1.508±0.142	2.448±0.318	2.380±0.132
17:0cy ^{***}	5.290±0.457	5.791±0.625	5.363±0.382	4.522±0.761	7.940±0.334	6.647±0.403	5.416±0.528
Sum 5 ^{***}	8.395±0.581	12.513±1.120	7.241±0.521	9.007±0.635	10.134±0.827	7.735±0.651	10.760±0.705
18:1ω9c ^{***}	6.392±0.357	7.097±0.508	4.906±0.162	3.901±0.176	5.505±0.477	4.926±0.601	4.792±0.325
18:1ω7 [*]	6.071±0.524	7.575±0.316	6.239±0.604	5.680±0.481	5.838±0.377	5.712±0.356	6.546±0.416
18:0 [*]	1.776±0.376	2.462±0.184	2.654±0.306	1.484±0.194	2.182±0.166	2.838±0.152	2.275±0.136
19:0cy ω8c ^{**}	2.866±0.583	2.542±0.291	2.668±0.339	2.020±0.179	1.113±0.086	1.227±0.072	1.195±0.052
20:4ω6,9,12,15c [*]	1.510±0.132	1.878±0.274	1.532±0.139	1.360±0.222	1.942±0.141	1.510±0.426	1.670±0.172
20:0	2.391±0.105	2.884±0.143	2.652±0.152	2.391±0.130	2.280±0.146	2.344±0.108	2.196±0.127

注：数值表示平均值±标准差。RLT：不同浓度根系浸提液；ALT：不同浓度茎叶浸提液。*， $P<0.05$ ；**， $P<0.01$ ；***， $P<0.001$ (Fisher's LSD test). Note: Values are means±SD. Sum

3 = 16:1ω7c + 15:0i 2OH; Sum 5 = 18:2ω6,9c + 18:0a. RLT, Root leachates treatments; ALT, Aerial parts leachates treatments.

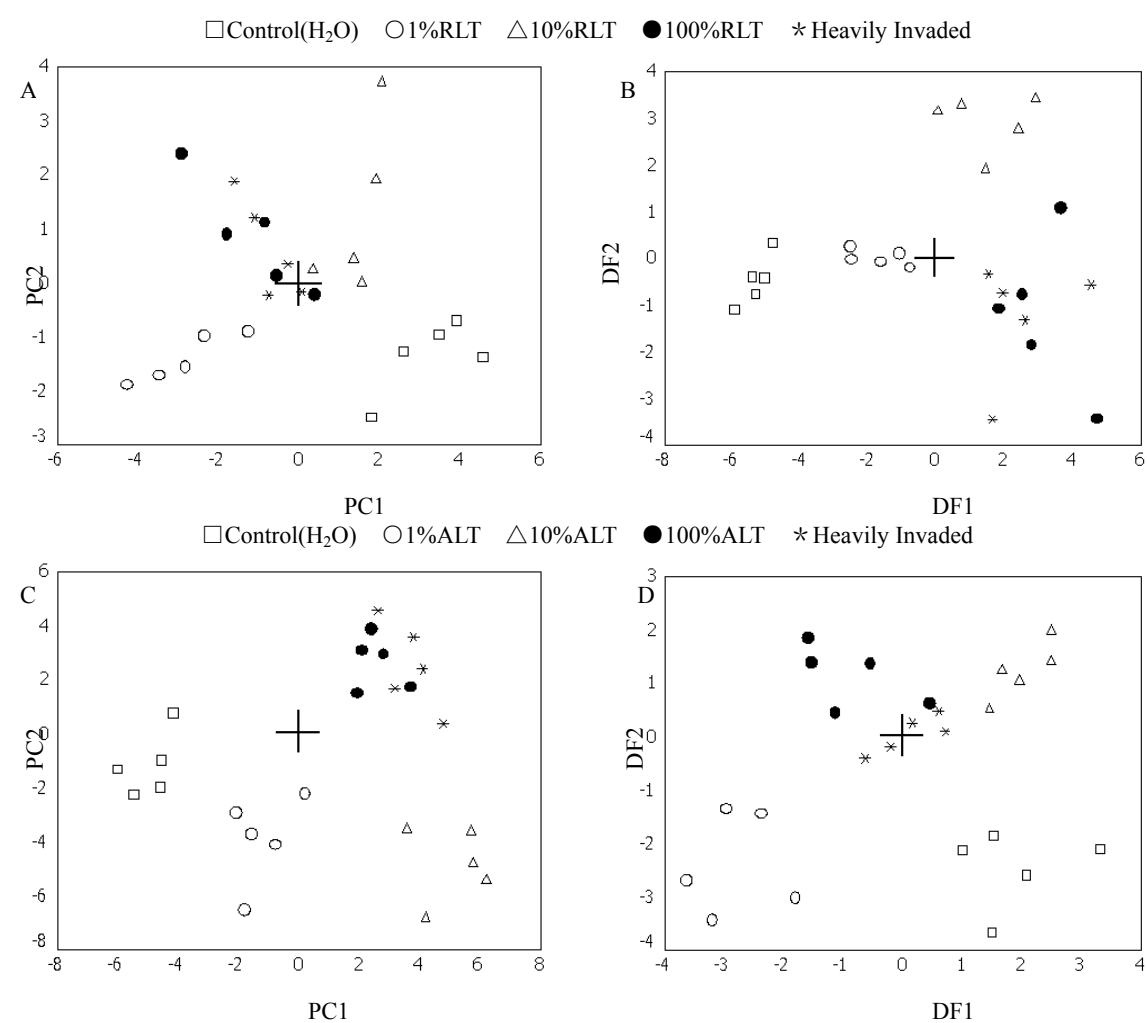


图 4-1. 紫茎泽兰根系和茎叶浸提液处理后土壤微生物群落的主成分分析和判别分析
(A)和(B)为不同浓度根系浸提液(RLT)处理的土壤微生物群落变化; (C) 和 (D)为不同浓度茎叶浸提液(ALT)处理后的土壤微生物群落变化。交叉线表示原点(0,0)。

Fig. 4-1. Plots of newly invaded soil samples cultivated by *Ageratina adenophora* leachates and heavily invaded samples. Plots (A) and (B) are for different concentrations of root leachates treatments (RLT); (C) and (D) for different concentrations of aerial parts leachates treatments (ALT). Cross signs indicate the (0,0) point.

4.2.2 紫茎泽兰浸提液对细菌生长的影响

试验同时测定了紫茎泽兰根系和茎叶浸提液对已分离鉴定的 8 株紫茎泽兰根际优势细菌生长的影响（表 4-2），发现根系和茎叶浸提液虽然对不同细菌的促进作用大小不同，但都显著地促进了细菌的生长，且随着浸提液浓度的增大促进作用增强。其中，100%紫茎泽兰根系浸提液对解淀粉芽孢杆菌 BA-1 和短小芽孢杆菌 BP-1 的促进作用最强，分别是对照的 3.7 倍和 2.8 倍；100%紫茎泽兰茎叶浸提液对解淀粉芽孢杆菌 BA-1 和苏云金芽孢杆菌 BT-1 的促进作用最强，分别是对照的 4.7 倍和 2.6 倍。

表 4-2. 紫茎泽兰根系和茎叶浸提液对分离优势细菌生长的影响(OD 值)

Table 4-2. Effects of *Ageratina adenophora* leachates on growth of isolated dominant bacterium (OD)

分离细菌菌株 Antagonistic bacteria	根系浸提液				茎叶浸提液			
	0%	1%	10%	100%	0%	1%	10%	100%
枯草芽孢杆菌 BS-5 <i>B. subtilis</i> BS-5	0.24±0.03a	0.38±0.07b	0.41±0.04b	0.64±0.06d	0.24±0.02a	0.37±0.05b	0.52±0.03c	0.58±0.07cd
枯草芽孢杆菌 BS-8 <i>B. subtilis</i> BS-8	0.27±0.04bc	0.33±0.03d	0.57±0.06f	0.62±0.06f	0.18±0.03a	0.23±0.02b	0.29±0.04cd	0.41±0.04e
巨大芽孢杆菌 BM-1 <i>B. megaterium</i> BM-1	0.35±0.06a	0.40±0.05ab	0.47±0.02bc	0.88±0.13e	0.35±0.07a	0.42±0.06ab	0.47±0.07bc	0.68±0.08d
解淀粉芽孢杆菌 BA-1 <i>B. amyloliquefaciens</i> BA-1	0.19±0.03a	0.37±0.03c	0.45±0.04c	0.70±0.05d	0.17±0.01a	0.29±0.03b	0.37±0.06c	0.80±0.05e
地衣芽孢杆菌 BL-3 <i>B. licheniformis</i> BL-3	0.28±0.05a	0.30±0.03a	0.53±0.09c	0.61±0.07c	0.28±0.03a	0.46±0.08b	0.50±0.05bc	0.62±0.06d
苏云金芽孢杆菌 BT-1 <i>B. thuringiensis</i> BT-1	0.20±0.01a	0.31±0.04b	0.44±0.05cd	0.51±0.09de	0.22±0.02a	0.37±0.06bc	0.42±0.04c	0.57±0.08e
短小芽孢杆菌 BP-1 <i>B. pumilus</i> BP-1	0.33±0.04a	0.43±0.04b	0.58±0.06d	0.91±0.16f	0.31±0.04a	0.47±0.05bc	0.52±0.06cd	0.67±0.09e
恶臭假单胞菌 PP-1 <i>P. putida</i> PP-1	0.26±0.03b	0.35±0.06c	0.42±0.04c	0.51±0.07d	0.16±0.02a	0.23±0.05b	0.38±0.03c	0.41±0.05c

注：数值表示平均值±标准误。不同小写字母表示同一行数据在 5%水平上差异显著(Fisher’s LSD test)。Note: Means ± SE. Different letters in the same row indicate that means are significantly different at P<0. 05 (Fisher’s LSD test).

4.3 讨论

利用紫茎泽兰根系和茎叶浸提液孵化培育入侵地土壤微生物群落,在一定程度上模拟了紫茎泽兰野外入侵对土壤微生物群落的影响,发现紫茎泽兰根系浸提液和茎叶浸提液分别处理轻度入侵土壤 2 周和 3 周后,土壤微生物群落发生显著变化,且随着浸提液浓度的增大微生物群落结构向重度入侵靠拢,但茎叶浸提液的作用效果小于根系。结果表明紫茎泽兰可能是通过茎叶淋溶物和根系分泌物改变土壤微生物的,它们间存在营养关系或化学通信联系。试验同时测定了紫茎泽兰根系和茎叶浸提液对已分离鉴定的 8 株紫茎泽兰根际优势细菌生长的影响,发现根系和茎叶浸提液都显著地促进了细菌的生长,且随着浸提液浓度的增大促进作用增强。紫茎泽兰浸提液对紫茎泽兰根际优势细菌生长有显著促进作用,原因可能有两个:一方面是营养作用,浸提液中含有大量的细菌生长所需要的养分;另一方面是化感作用,浸提液中含有某些化感物质,刺激了根际细菌的生长繁殖。其中,紫茎泽兰浸提液对解淀粉芽孢杆菌 BA-1 生长的促进作用最强,可能是因为解淀粉芽孢杆菌对紫茎泽兰浸提液的化感作用非常敏感。

植物光合作用的部分产物通过各种途径进入土壤,为土壤微生物提供丰富营养物质,同时与土壤微生物存在化学通信关系,形成不同的微生物区系和独特的功能(Zak et al., 2003; Johnson et al., 2004)。外来植物入侵到新的生态系统后,可抑制或促进土壤微生物的活动,扰乱原有的土著群落与土壤微生物的平衡关系(Ehrenfeld et al., 2001; Vranjic et al., 2000)。外来入侵植物对土壤及其微生物影响产生的途径大致有(Iqbal et al., 2004; Yu et al., 2003; Lawrence & Samways, 2003): (1)植物的凋落物。植物凋落物富含营养物质,为土壤微生物提供能源;由于外来植物与土著植物凋落物数量和质量的不同,导致土壤微生物群落不同(Saggar et al. 1999)。(2)植物根系分泌物。不同植物根系分泌物的量和化学组成不同,被微生物的利用程度也不同,因而外来植物取代土著植物后改变根系对土壤的物质输入,从而影响土壤微生物的结构和功能(Kourtev et al. 2002)。(3)通过影响微生物的栖息地土壤理化特性,如透气性和含水量等;从而间接地影响土壤微生物多样性。(4)植物地上部分的淋溶物。外来植物特殊的地上部分淋溶物可以改变土壤微生物群落结构(Yu et al., 2005)。(5)由入侵植物引起的大火和土壤动物群落的变化等。此外,入侵植物能够通过改变入侵地土壤系统的理化特性,如 Ph、盐分聚集等,进而改变土壤微生物群落的结构和功能(Duda et al., 2003)。

近年来,从化感作用的角度揭示外来植物入侵机理的研究,即神秘武器假说(Novel Weapons Hypothesis)(Callaway & Aschehoug, 2000; Bais et al., 2003)成为了一个研究热点,许多研究也表明化感作用是导致外来植物成功入侵的重要因素(Abdul-Wahab & Rice, 1967; El-Ghareeb, 1991; Vaughn & Berhow, 1999; Ridenour & Callaway, 2001)。植物化感作用(Allelopathy)由 Molisch 在 1937 年首先提出,定义为:所有植物(含微生物)之间通过分泌生物化学物质而发生的相互作用,这种相互作用包括有害和有益两个方面。Vivanco 等(2004)则报道了矢车菊两地土壤微生物对其入侵性的影响,相对来说欧亚土壤群落要比北美的抗入侵性强。结合生态、生理、生化信号传导和基因组方法,Bais 等(2003)从矢车菊根系中分离得到了(-)-儿茶素,并发现该物质在北美土壤中的浓度要比其源发地欧亚高两倍,且欧亚的植物对该物质具有较高的抗性。采用 Callaway 和 Aschehoug (2000)类似的方法,Prati 和 Bossdorf (2004)检测了入侵北美的林下杂草葱芥(Alliaria

petiolata B.) 的化感作用, 伴生植物分别为北美的 *Geum laciniatum* M. 和欧洲的 *G. urbanum* L., 结果发现外来植物在入侵地对伴生草的萌发显著抑制, 而对欧洲同种伴生草种子萌发并无显著的作用, 而源发地的入侵植物对两地的伴生草都产生了显著的抑制作用。但是关于外来植物对土壤微生物群落的化感作用较少, 建立植物化感物质与土壤微生物群落的联系对深入理解外来植物的入侵机制十分重要。

入侵植物通过根系分泌物与土壤微生物保持高效的地下通讯, 以此调控根系周围的土壤微生物群落(Bais et al., 2004; De Deyn et al., 2004)。化感物质必须是经自然途径进入环境的化学物质, 这是植物化感作用研究区别于植物化学生态学其它研究领域的重要特征。因此, 化感研究的方法上首先要注意的问题就是化感物质是否在自然途径下进入环境(孔垂华, 1998)。在野外条件下, 植物化感物质进入周围环境主要从挥发、雨雾淋溶、根部分泌和残株或凋落物分解四条途径(Inderjit & Callaway, 2003), 而雨雾作为自然过程中一个常规的生态因子, 使得某一植物的化感作用研究首先从淋溶角度加以研究, 显得比较直观和准确(孔垂华, 1998)。但区别于根系化感作用途径中的活体分泌的研究方法, 淋溶化感作用的研究目前还主要采用植株地上部分的试剂提取法, 这主要由于在试验方法上, 目前还很难模拟并得到自然状况下植株活体的淋溶物, 且在化感作用物的定量上也难以统一所致。因此在植物淋溶途径化感作用的研究中, 紧密结合自然状况下的生态学意义并体现于具体的试验方法上就显得非常重要。

4.4 结论

紫茎泽兰可以通过根系分泌物或茎叶淋溶物改变土壤微生物群落, 虽然不同的入侵植物改变土壤微生物群落采用的主要途径可能不相同, 但根系分泌物和淋溶物则是普遍存在的途径。本研究证实紫茎泽兰根系浸提液和茎叶浸提液分别处理轻度入侵土壤 2 周和 3 周后, 土壤微生物群落发生显著变化, 这可能两方面原因造成的: 一方面是营养作用, 浸提液中含有大量的细菌生长所需要的养分; 另一方面, 是化感作用, 浸提液中含有某些化感物质, 刺激了根际细菌的生长繁殖。本研究结果对深入探索土壤中化感物质的转化和紫茎泽兰对土壤微生物群落的调控提供了依据。

第五章 入侵地土壤微生物群落对紫茎泽兰生长及当地植物竞争的影响

外来入侵植物可以改变入侵地土壤微生物群落,反过来,入侵地土壤微生物群落的变化又会对入侵植物的生长、与当地植物的竞争产生反馈作用。有研究证实外来植物成功入侵与土壤微生物关系密切,一方面外来入侵植物通过各种途径改变根系周围土壤微生物,提高土壤养分,增强养分吸收,提高对土传病原菌的抵抗性能,进而使自身获得竞争优势;另一方面外来植物通过改变入侵地土壤微生物群落,破坏了当地植物与土壤微生物之间经过长期历史形成的平衡共生关系,影响本地种的生长和种群的更新,使自身间接的获得了偏利(Yu et al., 2005; Hawkes et al., 2005)。陆建忠等(2005)发现入侵植物加拿大一枝黄花(*Solidago canadensis* L.)调节了土壤pH,增加了总碳、氮库和有机质库,并认为这种改变可能有利于其进一步入侵。薇甘菊(*Mikania micrantha* H.B.K)入侵改变了土壤微生物群落结构和功能,并提高了土壤养分,这种土壤生态的变化可能对其生长有力(Li et al., 2006)。因此,有学者由此提出了外来植物入侵成功的土壤微生物正反馈假说(Klironomos, 2002; Kourtev et al., 2002)。外来入侵植物与入侵地土壤微生物群落的互作关系是影响外来植物入侵力和生态系统可入侵性的一个重要方面(Wolfe & Klironomos, 2005)。外来植物入侵引起土壤生物多样性和生态系统过程发生改变(Kourtev et al., 2002; Kourtev et al., 2003; van der Heijden et al., 1998),而这种改变很可能有利于外来植物在与当地植物的竞争中占据优势,从而加剧外来植物的扩散扩张(Hawkes et al., 2005; Ehrenfeld et al., 2001; Levine et al., 2003)。因此,研究入侵地土壤微生物群落对外来入侵植物生长、与当地植物竞争的影响对于探索外来植物入侵的土壤微生物学机制尤为重要。

前文研究表明,紫茎泽兰在入侵地成功定植后,改变了土壤微生物群落,特别是增加了与土壤养分代谢密切相关的土壤微生物生理功能类群数量,提高了土壤中植物可直接利用的养分水平;这些改变是否创造了对紫茎泽兰生长、竞争有利的土壤环境,促进了紫茎泽兰快速入侵扩张?本研究以紫茎泽兰-土壤微生物-当地植物的互作关系为切入点,研究紫茎泽兰入侵改变了的土壤微生物群落对紫茎泽兰及当地植物生长的影响,其结果对于深入理解紫茎泽兰的自我加强(self-reinforcing)式的土壤微生物学机制有重要作用,也对认识入侵植物的土壤微生物学入侵机制有启迪作用。

5.1 材料与方法

5.1.1 土壤和土壤微生物群落

紫茎泽兰重度入侵区土壤、轻度入侵区土壤、未入侵区土壤和当地植物生长区土壤分别采自紫茎泽兰重度入侵区、轻度入侵区、未入侵区和当地植物生长区,该4种取样区的选定同2.1.2。研究区位于云南玉溪澄江县麒麟村外4km处的山谷地带(N: 24°42'14.2"-15.5", E: 102°52'48.6"-48.9"),常绿落叶阔叶混交林下,海拔1993-2016m,属亚热带高原季风气候,干湿季节分明,5月中旬至10月中旬为雨季,10月下旬至次年5月上旬为旱季,年均气温16.5℃,年均降雨量952mm。土壤类型为红壤,土质较紧实,质地较粘。具有相同的地貌、地形特征和土壤起源;

人畜干扰较少，面积约5km²（2km×2.5km）。紫茎泽兰生长呈现出明显的从中心向边缘地带辐射蔓延分布，出现不同的紫茎泽兰群落演替阶段，有的区域已形成紫茎泽兰单优种群，有的区域是紫茎泽兰和当地植物共同竞争生长，也有当地植物占绝对优势的区域和几乎无植物生长的裸露地区域。

关于紫茎泽兰重度入侵区、轻度入侵区、未入侵区和当地植物生长区的土壤养分、土壤微生物群落及可培养土壤微生物类群的差异在第二章我们已经做了详细分析，这里不在赘述。我们的研究目的是把土壤养分和微生物的差异与它们对紫茎泽兰生长、竞争的影响联系起来。

5.1.2 种子

根据研究区内当地主要伴生植物的种类，我们选定了在研究区较常见的黑麦草（*Lolium perenne* L.），佩兰（*Eupatorium fortunei* Tuccz）和紫花苜蓿（*Medicago sativa* L.）作为伴生植物，它们分别代表了三种植物类群，黑麦草是禾本科草本植物，佩兰是菊科植物，紫花苜蓿为豆科牧草植物。紫茎泽兰的种子采自野外研究区，黑麦草、佩兰、紫花苜蓿的种子购买自北京鑫农丰农业技术研究所。

5.1.3 温室盆栽实验

紫茎泽兰重度入侵区土壤、轻度入侵区土壤、未入侵区土壤和当地植物生长区土壤过0.5cm筛去除植物残体和石块后运至云南农业大学植物保护学院温室(4样区的选择标准见第二章)。分别将一半的紫茎泽兰重度入侵区土壤、轻度入侵区土壤、未入侵区土壤和当地植物生长区土壤用高压灭菌锅灭菌三次（每天一次，121.1℃，20min）。灭菌土壤和未灭菌土壤分别混入一定量的砂（土砂比为4:1），增强土壤透气性。土壤等量分装入17×17×22cm(高×下直径×上直径)培养钵，将种子用6%次氯酸钠杀菌后，播种于培养钵。盆栽实验共分为56个处理组合，分别是4种土壤（重度入侵区土壤、轻度入侵区土壤、未入侵区土壤和当地植物生长区土壤）、灭菌和未灭菌、四种植物的单一种植和紫茎泽兰与另一伴生植物的混合种植， $56=4\times 2\times (4+3)$ ，每个处理组合6次重复。种子播种30d后间苗至6株/钵（单一种植的为6株/植物，混合种植的为3株/植物），隔两天浇无菌水一次保持土壤湿度在20%左右。在实验过程中，所有的工具都严格灭菌，防治微生物交叉污染；温室温度保持在27±5.3℃，用430W高压钠光灯补充光照。

5.1.4 盆栽实验收获

盆栽植物生长16周后，拔出植株整体，自来水冲洗干净，用烘箱80℃烘干至恒重后测定生物量。混合种植的两种植物分开测定生物量，计算紫茎泽兰的相对优势度(%)，用紫茎泽兰的相对优势度来表示紫茎泽兰的竞争力。公式如下（Myers & Bazely, 2003）：

$$\text{紫茎泽兰相对优势度}(\%) = \frac{\text{紫茎泽兰生物量}}{\text{两种植物总生物量}} \times 100\%$$

5.1.5 数据分析

数据分析采用双因子方差分析 (Two-way ANOVAs), 分析土壤来源和灭菌对紫茎泽兰生物量和相对优势度的影响。所用软件为SPSS12.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA)。

5.2 结果与分析

5.2.1 入侵地土壤微生物对紫茎泽兰和当地植物生长的影响

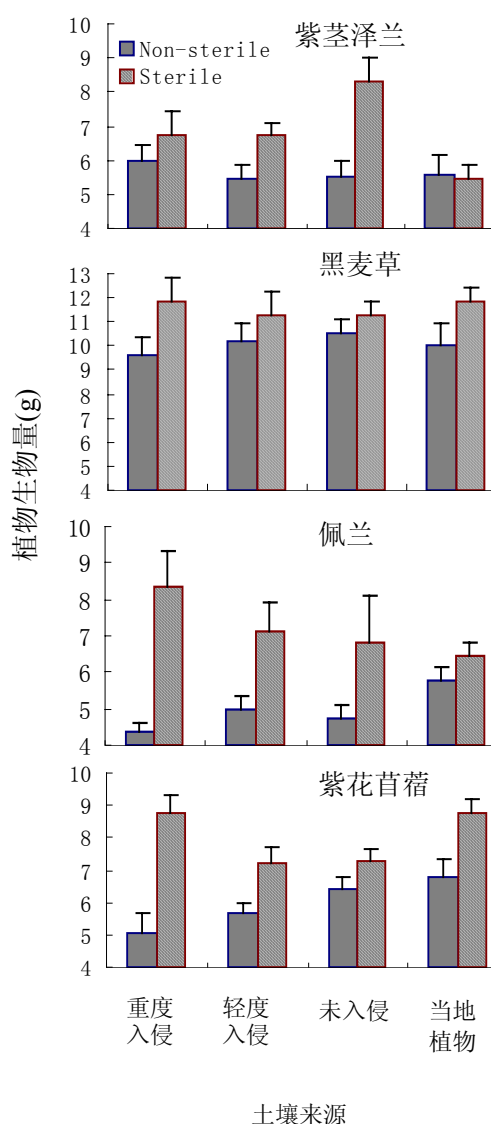


图 5-1. 不同的土壤微生物群落对紫茎泽兰和当地植物生长的影响(Means $\pm$ SD)

Fig. 5-1. Comparison of the effect of soil biota on the biomass of *Ageratina adenophora* and three native plant species in soils from the four sites (Means $\pm$ SD).

土壤微生物对紫茎泽兰和 3 种当地植物生长影响的盆栽试验比较分析结果见图 5-1 和表 5-1。重度入侵地土壤微生物群落对当地植物生长的抑制强度极显著地高于紫茎泽兰, 灭菌处理使黑麦

草生物量提高了 23%，佩兰提高了 93%，紫花苜蓿提高了 73%，而紫茎泽兰仅提高了 11%。轻度入侵地土壤微生物群落对紫茎泽兰和当地植物的影响与重度入侵地相似，但作用强度不及重度入侵地。与此相反，空白地土壤微生物对紫茎泽兰的抑制强度则显著地高于当地植物，灭菌处理使黑麦草生物量提高了 8%，佩兰提高了 15%，紫花苜蓿提高了 10%，而紫茎泽兰提高了 53%。当地植物区土壤微生物群落抑制了 3 种当地植物的生长，却促进了紫茎泽兰的生长。

表 5-1. 不同因子（土壤来源和灭菌）对紫茎泽兰和当地植物生长的影响

Table 5-1. Summary of ANOVA of effects of soil origin (heavily invaded, newly invaded, non-invaded and native plant), sterilization (sterile vs non-sterile) and plant biomass.

植物 Plant	Source of variation	d.f.	MS	F
紫茎泽兰	S1	3	4.077	14.856 ***
	S2	1	16.217	59.089 ***
	S1×S2	3	4.428	16.135 ***
黑麦草	S1	3	0.161	NS
	S2	1	26.344	43.438 ***
	S1×S2	3	1.301	NS
佩兰	S1	3	3.868	18.417 ***
	S2	1	49.776	236.989 ***
	S1×S2	3	4.476	21.309 ***
紫花苜蓿	S1	3	0.620	NS
	S2	1	58.853	125.971 ***
	S1×S2	3	5.626	12.043 ***
Error		72		

注：因子 S1：土壤来源；S2：灭菌处理。Note: S1, Soil origin; S2, Sterilization. *, $P < 0.05$;

, $P < 0.01$; *, $P < 0.001$.

5.2.2 入侵地土壤微生物对紫茎泽兰与当地植物竞争的影响

土壤微生物对紫茎泽兰与 3 种当地植物竞争影响的比较分析结果见图 5-2 和表 5-2。四种不同来源土壤微生物群落都提高了紫茎泽兰相对优势度，其中，重度入侵地土壤微生物群落提高紫茎泽兰相对优势度最为显著，与黑麦草混种时紫茎泽兰相对优势度提高 26%，与佩兰混种时提高 29%，与紫花苜蓿混种时提高 31%。紫茎泽兰相对优势度在同一土壤中会因为与不同的当地植物混种而不同，但整体而言，重度入侵地土壤微生物群落对紫茎泽兰相对优势度的增强作用高于轻度入侵地和当地植物生长区土壤微生物群落。空白地土壤微生物群落对紫茎泽兰相对优势度的增强作用最小，与黑麦草混种时紫茎泽兰相对优势度提高 3%，与佩兰混种时提高 2%，与紫花苜蓿混种时提高 10%。重度入侵地土壤微生物群落比空白地土壤微生物群落对紫茎泽兰相对优势度的影响平均高出 24%。

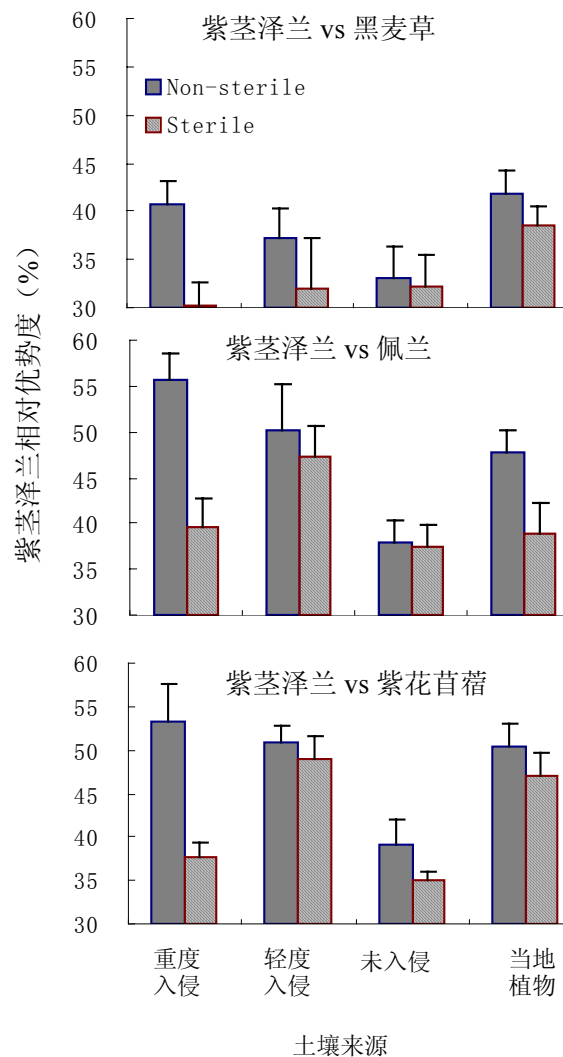


图 5-2. 不同土壤微生物群落对紫茎泽兰与当地植物竞争的影响 (Means $\pm$ SD)

Fig. 5-2. Effect of soil biota on *Ageratina adenophora* relative dominance index (RDI) grown with three native plant species in soils from the four sites (Means $\pm$ SD).

5.3 讨论

在前面的研究中（第二章）我们详细分析了紫茎泽兰入侵对土壤养分和土壤微生物群落的研究，本章的研究目的是把土壤养分和微生物的差异与它们对紫茎泽兰生长、竞争的影响联系起来。温室盆栽试验测定了被紫茎泽兰改变了的土壤微生物群落对紫茎泽兰生长、与当地植物竞争的影响，发现被紫茎泽兰入侵改变了的土壤微生物群落抑制了当地植物的生长，却增强了紫茎泽兰的竞争能力。重度入侵地土壤微生物群落对当地植物生长的抑制强度极显著地高于紫茎泽兰，与此相反，空白地土壤微生物对紫茎泽兰的抑制强度则显著地高于当地植物。当地植物区土壤微生物群落抑制了 3 种当地植物的生长，却促进了紫茎泽兰的生长。四种不同来源土壤微生物群落都提

高了紫茎泽兰相对优势度，重度入侵地土壤微生物群落提高紫茎泽兰相对优势度最为显著，比空白地土壤微生物群落对紫茎泽兰相对优势度的影响平均高出 24%。结果表明紫茎泽兰的入侵改变了土壤微生物群落促进了紫茎泽兰生长和竞争。

表 5-2. 不同因子（土壤来源和灭菌）对紫茎泽兰与当地植物竞争的影响

Table 5-2. Summary of ANOVA of effects of soil origin (heavily invaded, newly invaded, non-invaded and native plant), sterilization (sterile vs non-sterile) and their interaction on *Ageratina adenophora* relative dominance index (RDI).

植物 Plant	Source of variation	d.f.	MS	F
紫茎泽兰 vs 黑麦草	S1	3	0.017	16.446 ***
	S2	1	0.008	8.289 ***
	S1 × S2	3	0.004	NS
紫茎泽兰 vs 佩兰	S1	3	0.009	8.672 **
	S2	1	0.017	16.776 ***
	S1 × S2	3	0.005	7.389 *
紫茎泽兰 vs 紫花苜蓿	S1	3	0.001	NS
	S2	1	0.006	5.826 **
	S1 × S2	3	0.002	2.898 *
	Error	72		

注：因子 S1：土壤来源；S2：灭菌处理。Note: S1, Soil origin; S2, Sterilization. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$;

***, $P < 0.001$.

许多研究表明土壤微生物对外来植物成功入侵有重要作用，因为土壤微生物群落对生态系统的稳定性和植物生长、竞争有重要作用；同时是土著植物和入侵植物相互作用的媒介，其结构和功能受到外来植物入侵的影响，并通过反馈作用影响或改变外来植物的入侵进程（Wolfe & Klironoms, 2005; Reinhart & Callaway, 2006; Callaway et al., 2004）。紫茎泽兰入侵改变了土壤微生物群落，我们的研究表明这种改变对紫茎泽兰生长竞争有促进作用。在同一植物生态群落中，丰度最高的植物，土壤微生物对它是有益反馈或是中立的；而丰度较低的植物，土壤微生物是不利反馈(Klironoms, 2002)。紫茎泽兰在入侵地快速生长、扩张，形成单优群落，可能与入侵地土壤微生物群落反馈存在密切关系；我们的研究结果为这一猜想提供了有力支持。

菌根真菌是植物共生菌，它的菌丝体可以使寄主植物获得能多的土壤营养，对植物个体生长和群落演替都有重要影响。入侵植物火树(*Myrica faya*)通过固氮共生菌根，可以轻易地入侵土壤氮水平低的群落(Vitousek, 1987; Vitousek et al., 1989)。紫茎泽兰入侵提高了土壤中的真菌数量（特别是VAM），我们认为紫茎泽兰可能通过形成菌根真菌，促进了自身养分吸收，增强了入侵力。同时，在我们的研究发现，紫茎泽兰入侵后的土壤对当地植物生长有较大的抑制作用，这可能是由于土壤中残留的化感物质的原因。

5.4 结论

通过设计土壤微生物对紫茎泽兰和当地植物的反馈试验，证实了被紫茎泽兰入侵改变了的土壤微生物群落对紫茎泽兰生长竞争有促进作用。以往的这方面的研究土壤微生物群落来源是原产地和入侵地，属于不同生物地理来源的土壤微生物，本研究所用的土壤微生物是被外来植物入侵改变了的微生物群落，对于揭示入侵植物自我促进(self-reinforcing)式的土壤微生物学入侵机制，具有十分新颖的意义。

第六章 结论与展望

6.1 结论

6.1.1 紫茎泽兰入侵对土壤生态的影响

通过对紫茎泽兰入侵后不同演替阶段植物群落下(重度入侵区、轻度入侵区、空白地和当地植物生长区)的土壤微生物群落和土壤理化性质的比较,发现紫茎泽兰入侵显著改变了入侵地的土壤微生物群落的整体结构,在重度入侵区土壤真菌、自生固氮菌、氨氧化细菌数量均较高,分别是轻度入侵区对应菌数量的 2.2 倍、3.6 倍和 1.4 倍,未入侵区对应菌数量的 5.8 倍、8.8 倍和 3.3 倍,是当地植物区对应菌数量的 1.7 倍、2.6 倍和 1.9 倍。同时提高了土壤中植物可直接吸收的硝态氮、铵态氮、有效磷、速效钾和有机碳含量,降低了土壤pH,其中土壤硝态氮和铵态氮的含量分别为 32.5 mg.kg^{-1} 和 39.3 mg.kg^{-1} ,分别是未入侵区对应含量的 3.6 倍和 2.1 倍,是当地植物区对应含量的 2.3 倍和 1.4 倍。土壤微生物各生理功能类群的变化与土壤理化性质的变化相关显著,土壤微生物群落的变化可能导致了土壤养分水平的升高。结果表明随着紫茎泽兰的不断入侵扩张,显著改变了土壤微生物群落和土壤养分;重度入侵区丛枝菌根真菌和真菌/细菌比率显著高于其它区,这可能与紫茎泽兰形成菌根真菌共生体有关。

6.1.2 紫茎泽兰根际土壤中优势细菌的筛选鉴定及拮抗性能评价

通过分离、筛选、鉴定紫茎泽兰根际土壤中优势细菌及其拮抗性能测定,发现紫茎泽兰根际土壤中存在着丰富的芽孢杆菌和假单胞菌,其中枯草芽孢杆菌和巨大芽孢杆菌数量最多,共占鉴定细菌总数的 55.6%;这些优势细菌类群对番茄枯萎病菌和青枯病菌有不同程度的拮抗作用,以枯草芽孢杆菌 BS-5 和苏云金芽孢杆菌 BT-1 对番茄枯萎病菌的拮抗效果最为明显,其代谢产物的抑菌率分别为 85.5%和 83.8%;优势细菌代谢液比菌体对病原菌的拮抗作用更强。结果表明紫茎泽兰根际丰富的具有强拮抗性能的细菌类群可能是紫茎泽兰不受土传病害侵扰的原因;通过这种根际有益微生物的反馈作用,紫茎泽兰直接或间接的在与当地植物竞争中处于有利地位,从而有利于其排挤当地植物,迅速扩张蔓延。

6.1.3 紫茎泽兰浸提液对土壤微生物群落的影响

利用紫茎泽兰根系和茎叶浸提液孵化培育入侵地土壤微生物群落,发现紫茎泽兰根系浸提液和茎叶浸提液分别处理轻度入侵土壤 2 周和 3 周后,土壤微生物群落发生显著变化,且随着浸提液浓度的增大微生物群落结构向重度入侵靠拢,但茎叶浸提液的作用效果小于根系。试验同时测定了紫茎泽兰根系和茎叶浸提液对已分离鉴定的 8 株紫茎泽兰根际优势细菌生长的影响,发现根系和茎叶浸提液都显著地促进了细菌的生长,且随着浸提液浓度的增大促进作用增强。结果表明紫茎泽兰可能是通过茎叶淋溶物和根系分泌物改变土壤微生物的,它们间存在营养关系或化学通信联系。

6.1.4 入侵地土壤微生物群落对紫茎泽兰生长、竞争的影响

温室盆栽试验测定了被紫茎泽兰改变了的土壤微生物群落对紫茎泽兰生长、与当地植物竞争的影响,发现被紫茎泽兰入侵改变了的土壤微生物群落抑制了当地植物的生长,却增强了紫茎泽兰的竞争能力。重度入侵地土壤微生物群落对当地植物生长的抑制强度极显著地高于紫茎泽兰,灭菌处理使黑麦草生物量提高了 23%,佩兰提高了 93%,紫花苜蓿提高了 73%,而紫茎泽兰仅提高了 11%。与此相反,空白地土壤微生物对紫茎泽兰的抑制强度则显著地高于当地植物。当地植物区土壤微生物群落抑制了 3 种当地植物的生长,却促进了紫茎泽兰的生长。四种不同来源土壤微生物群落都提高了紫茎泽兰相对优势度,重度入侵地土壤微生物群落提高紫茎泽兰相对优势度最为显著,比空白地土壤微生物群落对紫茎泽兰相对优势度的影响平均高出 24%。结果表明紫茎泽兰的入侵改变了的土壤微生物群落促进了紫茎泽兰生长和竞争。

6.1.5 总结

紫茎泽兰入侵改变了土壤微生物群落,提高土壤自生固氮菌、氨氧化细菌和真菌数量,也提高了土壤的有效磷、速效钾、硝态氮、氨态氮含量;同时其根际存在丰富的具有拮抗性能的细菌类群,可能是紫茎泽兰不受土传病害侵扰的原因;其根系和茎叶浸提液可以改变土壤微生物群落,促进根际细菌的生长;通过这些途径,紫茎泽兰获得了土壤微生物的有益反馈,为自身生长创造有利条件。这种改变入侵地土壤微生物群落,创造了对自身生长有利的土壤环境的策略一个自我促进(self-reinforcing)式的入侵机制。

6.2 本研究的创新之处

6.2.1 研究方法和技术

分别采用了传统的分离培养方法和磷脂脂肪酸(PLFA)法研究了紫茎泽兰入侵对土壤微生物群落、不同微生物类群的影响及其根际优势微生物的种类和拮抗性能,较全面的评价了紫茎泽兰入侵对土壤生态的影响,并对土壤微生物不同类群和土壤养分变化作了相关分析,认为紫茎泽兰对土壤微生物的影响可能是导致入侵地土壤中植物可直接吸收的养分水平高的原因,这对揭示紫茎泽兰入侵的土壤微生物学机制提供了重要启示,为最终证实土壤微生物有益反馈促进紫茎泽兰入侵扩张奠定了重要基础。

6.2.2 研究思路和试验设计

紫茎泽兰入侵改变了土壤微生物群落,这种改变可能有利于其生长和竞争,从而加剧紫茎泽兰的进一步入侵和扩散蔓延。因此,紫茎泽兰入侵对土壤微生物群落的影响不仅是入侵效应问题,更与其入侵机制联系紧密。本研究通过紫茎泽兰-土壤微生物互作反馈的试验设计,把紫茎泽兰对土壤微生物的影响与土壤微生物对紫茎泽兰的反馈联系起来,分别从土壤微生物群落整体和紫茎泽兰根际细菌拮抗功能的角度说明了紫茎泽兰的入侵机制,其中从紫茎泽兰根际优势细菌对土壤病原菌拮抗作用的角度阐述紫茎泽兰的入侵机制具有很新颖的意义。

6.3 展望

立足于本研究的结果和同行研究的相关结论，提出以下几点展望：

1) 本研究发现紫茎泽兰可以改变土壤微生物群落，进而提高土壤养分水平，促进自身生长，增强竞争力。对于其它外来入侵植物而言，是否也存在这种现象仍需要对其它入侵植物与土壤微生物的互作关系加以研究证实，这对认识整个外来植物入侵的土壤微生物学机制有积极意义。

2) 土壤微生物群落的改变促进紫茎泽兰生长和竞争，但其深入的机制目前仍不甚清楚，土壤微生物可能活化了土壤营养，加速了入侵植物的养分吸收；或是入侵植物与入侵地土壤微生物形成了菌根真菌；也可能是入侵植物根际微生物的驱避病原菌作用使其逃避了土壤病原菌的侵扰。进一步的研究需要把紫茎泽兰对土壤微生物群落的改变与土壤养分转化、紫茎泽兰养分吸收联系起来，才能对上述机制提供有力的试验证据。

3) 紫茎泽兰入侵对土壤生态的影响在某些方面存在有利的一面，如提高了土壤中植物可直接吸收的养分，也提高了细菌生理群落（自生固氮菌和氨氧化细菌），这是紫茎泽兰在土壤中留下的“遗产”。在实施生态修复过程中，考虑土壤微生物对紫茎泽兰和替代植物的反馈关系可以取得更好的效果；同时，如何利用紫茎泽兰入侵对土壤生态影响中的有利一面提高生态替代质量也是一个非常有价值的研究方向。

4) 开展地上和地下部分综合的入侵机制研究是全面理解外来植物入侵的关键。外来植物成功入侵并不取决于某一因素，是各种因素相互作用的综合结果。改变入侵地土壤微生物群落可能是紫茎泽兰快速扩张和成功入侵的原因之一，但在野外植物群落中，往往各种因素同时存在，紫茎泽兰地上部分的化感作用同时存在，如何综合起来多种因素来考察入侵机制是个值得探讨的问题。

参考文献

1. Abdul-Wahab A.S., Rice E.L., Plant inhibition by Johnson grass and its possible significance in old-field succession. *Bull. Torrey Bot. Club.* 1967, 94: 486-497.
2. Alpert P., Bone E., Holzapfel C., Invasiveness, invisibility and the role of environmental stress in the spread of nonnative plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 2000, 3: 52-66.
3. Angiras N.N., Singh S.D., Singh C.M., Allelopathic effects of weeds on germination and seedling growth of maize and soybean. *Indian Journal of Weed Science* 1988, 20(2): 82-87.
4. Asner G.P., Beatty S.W., Effects of an African grass invasion on Hawaiian shrubland nitrogen biogeochemistry. *Plant and Soil* 1996, 186: 205-211.
5. Augspurger C.K., Kelly C.K., Pathogen mortality of tropical tree seedlings: experimental studies of the effects of dispersal distance, seedling density, and light conditions. *Oecologia* 1984, 61: 211-217.
6. Bååth E., Diaz-Raviña M., Frostegård Å., Campbell C.D., Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community. *Applied Environment Microbiology* 1998, 64: 238-245.
7. Bai Y. F., Han X. G., Wu J.G., Chen Z.Z., Li L.H., Ecosystem stability and compensatory effects in the Inner Mongolia grassland. *Nature* 2004, 431: 181-184.
8. Bais H.P., Park S.W., Weir T.L., Callaway R.M., Vivanco J.M., How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science* 2004, 9(1): 26-32.
9. Bais H.P., Vepachedu R., Gilroy S., Callaway R.M., Vivanco J.M., Allelopathy and exotic plants invasion: from molecules and genes to species interactions. *Science* 2003, 301: 1377-1380.
10. Baker H.G., The evolution of weeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1974, 5: 1-24.
11. Bardgett R.D., Hobbs P.J., Frostegård Å., Changes in soil fungal:bacterial ratios following reductions in the intensity of management of an upland grassland. *Biology Fertilizer and Soils* 1996, 22: 261-264.
12. Baruah N.C., Sarma J.C., Sarma S., Sharma R.P., Seed germination and growth inhibitory cadinenes from *Eupatorium adenophorum* Spreng. *Journal of Chemical Ecology* 1994, 20 (8): 1885-1892.
13. Beckstead J., Parker I.M., Invasiveness of *Ammophila arenaria*: release from soil-borne pathogens? *Ecology* 2003, 84(11): 2824-2831.
14. Belnap J., Phillips S.L., Soil biota in an ungrazed grassland: response to annual grass (*Bromus tectorum*) invasion. *Ecology Applications* 2001, 11: 1261-1275.
15. Bever J.D., Negative feedback within a mutualism: host-specific growth of mycorrhizal fungi reduces plant benefit. *Proceeding of Royal Society London B* 2002, 269: 2595-2601.
16. Bever J.D., Soil community feedback and the coexistence of competitors: conceptual frameworks and empirical tests. *New Phytologist* 2003, 157: 465-473.
17. Bever J.D., Westover K.M., Antonovics J., Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of the feedback approach. *Journal of Ecology* 1997, 85: 561-573.
18. Bhatt Y.D., Rawat Y.S., Singh S.P., Changes in ecosystem functioning after replacement of forest by *Lantana* shrubland in Kumaun Himalaya. *Journal of Vegetation Science* 1994, 5: 67-70.
19. Blair A.C., Hanson B.D., Brunk G.R., Marrs R.A., Westra P., Nissen S.J., Hufbauer R.A., New techniques and findings in the study of a candidate allelochemical implicated in invasion success. *Ecology Letters* 2005, 8: 1039-1047.
20. Blossey B., Nötzold R., Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: a hypothesis. *Journal of Ecology* 1995, 83: 887-889.
21. Borga P., Nilsson M., Tunlid A., Bacterial communities in peat in relation to botanical composition as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology and Biochemistry* 1994, 7: 841-848.
22. Brinkmana E.P., Troelstrab S.R., Putten W.H., Soil feedback effects to the foredune grass

- Ammophila arenaria* by endoparasitic root-feeding nematodes and whole soil communities. *Soil Biology and Biochemistry* 2005, 32:1-11.
23. Buckley Y.M., Downey P.S., Fowler V., Hill R., Memmot J., Norambuena H., Pitcairn M., Shaw R., Sheppard A.W., Winks C., Wittenberg R., Rees M., Are invasives bigger? A global study of seed size variation in two invasive shrubs. *Ecology* 2003, 84: 1434-1440.
 24. Buyer J.S., Roberts D.P., Russek-Cohen E., Soil and plant effects on microbial community structure. *Canadian Journal of Microbiology* 2002, 48(11): 955-964.
 25. Callaway R.M., Thelen G.C., Rodriguez A., Soil biota and exotic plant invasion. *Nature* 2004, 427: 731-733.
 26. Callaway R.M., Aschehoug E.T., Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* 2000, 290: 521-523.
 27. Callaway R.M., Thelen G., Rodriguez A., Holben W.E., Release from inhibitory soil biota in Europe and positive plant-soil feedbacks in North America promote invasion. *Nature* 2004, 427: 731-733.
 28. Christian J.M., Wilson S.D., Long-term ecosystem impacts of an introduced grass in the northern Great Plains. *Ecology* 1999, 80: 2397-2407.
 29. Cook C.D.K., Range extension of aquatic vascular plant species. *Journal of Aquatic Plant Management* 1985, 23: 1-6.
 30. Copley J., Ecology goes underground. *Nature* 2000, 406: 452-454.
 31. Crawley M.J., Insect herbivores and plant population dynamics. *Annual Review of Entomology* 1989, 34: 531-564.
 32. Crawley M.J., What makes a community invisable? In: Gray A.J., Crawley M.J., Edwards P.J., (eds.). *Colonization, succession and stability*. Oxford, UK: Blackwell Scientific. 1987, 429-453.
 33. D'Antonio C.M., Kark S., Impacts and extent of biotic invasions in terrestrial ecosystems. *Trends of Ecology Evolution* 2002, 17: 202-204.
 34. Daehler C.C., Strong D.R., Reduced herbivore resistance in introduced smooth cordgrass (*Spartina alterniflora*) after a century of herbivore-free growth. *Oecologia* 1997, 110(1): 99-108.
 35. Darwin C., *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*. London: John Murray, 1859, 75.
 36. David C., Coleman, Whitman W.B., Linking species richness, biodiversity and ecosystem function in soil systems. *Ecology* 2005, 268: 21-32.
 37. Davis M.A., Pelsor M., Experimental support for a resource-based mechanistic model of invisibility. *Ecology Letters* 2001, 4: 421-428.
 38. Davis M.A., Bier L., Bushelle E., Diegel C., Johnson A., Kujala B., Non-indigenous grasses impede woody succession. *Plant Ecology* 2005, 178: 249-264.
 39. De Deyn G.B., Raaijmakers C.E., van der Putten W.H., Plant community development is affected by nutrients and soil biota. *Journal of Ecology* 2004, 92: 824-834.
 40. Dewalt S.J., Denslow J.S., Ickes K., Natural-enemy release facilitates habitat expansion of the invasive tropical shrub *Clidemia hirta*. *Ecology* 2004, 85(2): 471-483.
 41. Deyn G.B.D., Raaijmakers C.E., Putten W.H., Plant community development is affected by nutrients and soil biota. *Journal of Ecology* 2004, 92: 824-834.
 42. Drake J.A., The mechanics of community assembly and succession. *Journal of Theoretical Biology* 1990, 147: 213-233.
 43. Drijber R.A., Doran J.W., Parkhurst A.M., Lyond D.J., Changes in soil microbial community structure with tillage under long-term wheat-fallow management. *Soil Biology and Biochemistry* 2000, 32: 1419-1430.
 44. Duda J.J., Freeman D.C., Emlen J.M., Belnap J., Kitchen S.G., Zak J.C., Sobek E., Tracy M., Montante J., Differences in native soil ecology associated with invasion of the exotic annual chenopod, *Halogeton glomeratus*. *Biology and Fertility of Soils* 2003, 38: 72-77.

45. Dukes J.S., Biodiversity and invasibility in grassland microcosms. *Oecologia* 2001, 126:563–568.
46. Dukes J.S., Mooney H.A., Does global change increase the success of biological invaders? *Trends in Ecology & Evolution* 1999, 14(4): 135-139.
47. Dukes J.S., Mooney H.A., Does global change increase the success of biological invaders? *Trends in Ecology and Evolution* 1999, 14(4): 135-139.
48. Dyer A.R., Rice K.J., Effect of competition on resource availability and growth of a California bunchgrass. *Ecology* 1999, 80: 2697-2710.
49. Edwards K.R., Adams M.S., Kvít J., Differences between European native and American invasive populations of *Lythrum salicaria*. *Journal of Vegetation Science* 1998, 9: 267-280.
50. Ehrenfeld J.G., Kourtev P., Huang W., Changes in soil functions following invasions of exotic understory plants in deciduous forests. *Ecoogical Application* 2001, 11: 1287-1300.
51. El-Ghareeb R.M., Suppression of annuals by *Tribulus terrestris* in an abandoned field in the sandy desert of Kuwait. *Journal of Vegetation Science* 1991, 2: 147-154.
52. Elton C.S., *The Ecology of Invasions by Animals and Plants*. London: Metheun, 1958.
53. Feller M.C., Effects of an exotic conifer (*Pinus radiata*) plantation on forest nutrient cycling in southeastern Australia. *Forest Ecology and Management*, 1983,7: 77–102.
54. Foster B.L., Smith V.H., Dickson L., Hilderbrand T., Invasibility and compositional stability in a grass land community: relationships to diversity and extrinsic factors. *Oikos* 2002, 99: 300-307.
55. Frostegård Å., Bååth E., Tunlid A., Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology and Biochemistry*. 1993a, 25: 723-730.
56. 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 Environment Microbiology* 1993b, 59: 3605-3617.
57. Grayston S.J., Griffith G.S., Mawdsley J.L., Campbell C.D., Bardgett R.D., Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* 2001, 33: 533-551.
58. Greene D.E., Johnson E.A., Estimating the mean annual seed production of trees. *Ecology* 1994, 75: 642-647.
59. Grubb P J. Root competition in soil of different fertility: A paradox resolved? *Phytocoenologia*, 1994, 24(10): 495~505.
60. Haubensak K.A., Parker I.M., Soil changes accompanying invasion of the exotic shrub *Cytisus scoparius* in glacial outwash prairies of western Washington [USA]. *Plant Ecology* 2004, 175: 71-79.
61. Hertling U.M., Lubke R.A., Assessing the potential for biological invasion - the case of *Ammophila arenaria* in South Africa. *South African Journal of Science* 2000, 96(9-10): 520-527.
62. Hierro J.L., Maron J.L., Callaway R.M., A biogeographical approach to plant invasions: the importance of studying exotics in their introduced and native range. *Journal of Ecology* 2005, 93: 5-15.
63. Hierro J.L., Callaway R.M., Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and Soil* 2003, 256: 29-39.
64. Hierro J.L., Maron J.L., Callaway R.M., A biogeographic approach to plant invasions: the importance of studying exotics in their introduced and native range. *Journal of Ecology* 2005, 93: 5-15.
65. Hill G.T., Mitkowski N.A., Aldrich-Wolfe L., Emele L.R., Jurkonie D.D., Ficke A., Maldonado-Ramirez, Lynch S.T., Nelson E.B., Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology* 2000, 15: 25-36.
66. Hinz H.L., Schwarzaender M., Comparing invasive plants from their native and exotic range: What can we learn for biological control? *Weed Technology* 2004, 18(5): 1533-1541.
67. Holmes T.H., Rice K.J., Patterns of growth and soil-water utilization in some exotic annuals and

- native perennial bunchgrasses of California. *Annals of Botany* 1996, 78: 233-243.
68. Hook P.B., Olson B.E., Wraith J.M., Effects of the invasive forb *Centaurea maculosa* on grassland carbon and nitrogen pools in Montana, USA. *Ecosystems*, 2004, 7: 686-694.
69. Hooper D.U., Vitousek P.M., Effects of plant composition and diversity on nutrient cycling. *Ecological Monographs* 1998, 68: 121-149.
70. Huenneke L., Hamburg S.P., Koide R., Effects of soil resources on plant invasion and community structure in Californian serpentine grassland. *Ecology* 1990, 71(2): 478-491.
71. Huston M., Smith T., Plant succession: life history and competition. *The American Naturalist* 1987, 130: 168-198.
72. Inderjit, Callaway R.M., Experimental designs for the study of allelopathy. *Plant and soil* 2003, 256: 1-11.
73. Inderjit, Nilsen E.T., Bioassays and field studies for allelopathy in terrestrial plants: progress and problems. *Critical Reviews in Plant Sciences* 2003, 22(3): 221-238.
74. Inderjit, Soil microorganisms: An important determinant of allelopathic activity. *Plant and Soil*. 2005, 274:227-236
75. Iqbal Z., Furubayashi A., Fujii Y., Allelopathic effect of leaf debris, leaf aqueous extract and rhizosphere soil of *Ophiopogon japonicus* Ker-Gawler on the growth of plants. *Weed Biology and Management* 2004, 4:43-48.
76. Jakobs G., Weber E., Edwards P. J., Introduced plants of the invasive *Solidago gigantea* (Asteraceae) are larger and grow dense than conspecifics in the native range. *Diversity and Distributions* 2004, 10: 11-19.
77. Johnson D., Vandenkoornhuyse P.J., Leake J.R., Gilbert L., Booth R.E., Grime J.P., Young J.P., Plant communities affect arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community composition in grassland microcosms. *New Phytologist* 2004, 161:503-515.
78. Julien M.H., Chan R.R., Biological control of alligator weed— unsuccessful attempts to control terrestrial growth using the flea beetle *Disonycha argentinensis*. *Entomophaga* 1992, 37 (2): 215-221.
79. Kelly J J, Haeggbloom M, Tate R L. Soil biology and Biochemistry, 1999,31: 1455-1465.
80. Klamera M., Bååth E., Estimation of conversion factors for fungal biomass determination in compost using ergosterol and PLFA 18:2v6,9. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36: 57-65.
81. Klein D.A., Paschke M.W., Heskett T.L., Comparative fungal responses in managed plant communities infested by spotted (*Centaurea maculosa* Lam.) and diffuse (*C. diffusa* Lam.) knapweed. *Applied Soil Ecology* 2005, 253: 165-173.
82. Klironomos J.N., Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature* 2002, 417: 67-70.
83. Kluge R.L., Biological control of Crofton weed, *Ageratina adenophora* (Asteraceae), in South Africa. *Agricultural Ecosystems Environment* 1991, 37: 187-191.
84. Knevel I., Menting F., Hertling U.M., Putten W.H., Release from native root herbivores and biotic resistance by soil pathogens in a new habitat both affect the alien *Ammophila arenaria* in South Africa. *Oecologia* 2004, 141:502-510.
85. Knight B.P., Grath S.P.M., Chaudri A.M., Biomass carbon measurements and substrate utilization patterns of microbial populations from soils amended with cadmium, copper, or zinc. *Applied Environment Microbial* 1997, 63(1):39-43.
86. Knops J.M.H., Tilman D., Haddad N.M., Naeem S., Mitchell C.E., Haarstad J., Ritchie M.E., Howe K.M., Reich P.B., Siemann E., Groth J., Effects of Plant species richness on invasion dynamics, disease outbreaks, insect abundances and diversity. *Ecology Letters* 1999, 2:286-293.
87. Kong C.H., Hu F., Liang W.J., Peng W., Jiang Y., Allelopathic potential of *Ageratum conyzoides* at various growth stages in different habitats. *Allelopathy Journal* 2004, 13(2): 233-240.
88. Kourtev P S, Ehrenfeld J G, Häggblom M. Experimental analysis of the effect of exotic and native plant species on the structure and function of soil microbial communities. *Soil Biology and*

- Biochemistry 2003, 35: 895-905.
89. Kourtev P.S., Ehrenfeld J.G., Häggelom M., Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology* 2002, 83(11): 3152-3166.
 90. Kourtev P.S., Huang W.Z., Ehrenfeld J.G., Differences in earthworm densities and nitrogen dynamics in soils under exotic and native plant species. *Biological Invasions* 1999, 1: 237-245.
 91. Lake J.C., Leishman M.R., Invasion success of exotic in natural ecosystems: the role of disturbance, plant attributes and freedom from herbivores. *Biological Conservation* 2004, 117: 215-226.
 92. Lawrence J.M., Samways M.J., Litter breakdown by the Seychelles giant millipede and the conservation of soil process on Cousine Island, Seychelles. *Biological Conservation* 2003, 113: 125-132.
 93. Leckie S.E., Methods of microbial community profiling and their application to forest soils. *Forest Ecology and Management* 2005, 220: 88-106.
 94. Lee C.E., Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology and Evolution* 2002, 17: 386-391.
 95. Leger E.A., Rice K.J., Invasive California poppies (*Eschscholzia californica* Cham.) grow larger than native individuals under reduced competition. *Ecology Letters* 2003, 6: 257-264.
 96. Lei F., Vandergheynst J.S. *Process Biochemistry* 2000, 35: 923-929.
 97. Leishman M.R., Thomson V.P., Experimental evidence for the effects of additional water, nutrients and physical disturbance on invasive plants in low fertility Hawkesbury Sandstone soils, Sydney, Australia. *Journal of Ecology* 2005, 93: 38-49.
 98. Levine J.M., Vila M., D'Antonio C.M., Dukes J.S., Grigulis K., Lavorel S., Mechanisms underlying the impacts of exotic plant invasion. *The Royal Society*. 2003, 270: 775-781.
 99. Levine J.M., D'Antonio C.M., Elton revisited: a review of evidence linking diversity and invasibility. *Oikos* 1999, 87: 15-26.
 100. Levine J.M., D'Antonio C.M., Elton revisited: a review of evidence linking diversity and invasibility. *Oikos* 1999, 87: 15-26.
 101. Li W.H., Zhang C.B., Jiang H.B., Changes in soil microbial community associated with invasion of the exotic weed, *Mikania micrantha* H.B.K. *Plant and Soil*, 2006, 281: 309-324.
 102. Lloret F., Medail F., Brundu G., Camarda I., Moragues E., Rita J., Lambdon P., Hulme P., Species attributes and invasion success by alien plants on Mediterranean islands. *Journal of Ecology* 2005, 93: 512-520.
 103. Lonsdale W.M., Global patterns of plants invasions and the concept of invisibility. *Ecology* 1999, 80: 1522-1536.
 104. M.D'Antonio C., Biological invasion by exotic grasses, the grass-fire cycle, and global change. *Annual Review of Ecosystem*. 1992, 23: 63-87.
 105. Mack M.C., D'Antonio C.M. Exotic grasses alter controls over soil nitrogen dynamics in a Hawaiian woodland. *Ecological Applications* 2003, 13: 154-166.
 106. Mack R.N., Simberloff D., Lonsdale W.M., Evans H., Clout M., Bazzaz F.A., Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* 2000, 10: 689-710.
 107. Maire N., Borcard D., Laczko E., *Soil biology and Biochemistry* 1999, 31: 1281-1293.
 108. Manchester S.J., Bullock J.M., The impacts of non-native species on UK biodiversity and the effectiveness of control. *Journal of Applied Ecology* 2000, 37: 845-864.
 109. Mao J., Yang L.Z., Shi Y.M., Hu J., Piao Z., Mei L.J., Yin S.X., Crude extract of *Astragalus mongholicus* root inhibits crop seed germination and soil nitrifying activity. *Soil Biology and Biochemistry* 2005, 156: 1-8.
 110. Marler M.J., Zabinski C.A., Callaway R.M., Mycorrhizae indirectly enhance competitive effects of an invasive forb on a native bunchgrass. *Ecology* 1999, 80(4): 1180-1186.

111. Maron J.L., Vila M., Bommarco R., Elmendorf S., Berrdaley P., Rapid evolution of an invasive plant. *Ecological Monographs* 2004, 74(2): 261-280.
112. Mills K.E., Bever J.D., Maintenance of diversity within plant communities: soil pathogens as agents of negative feedback. *Ecology* 1998, 79: 1595-1601.
113. Milne R.I., Abbott R.J., Origin and evolution of invasive naturalized material of *Rhododendron ponticum* L. in the British Isles. *Molecular Ecology* 2000, 9: 541-556.
114. Motavalli P.P., Kremer R.J., Fang M., Means N.E., Impact of Genetically Modified Crops and Their Management on Soil Microbially mediated plant nutrient transformations. *Journal of Environmental Quality* 2004, 33(3):816-825.
115. Myster R.W., Tree invasion and establishment in old fields at Hutcheson Memorial Forest. *Botany. Revolution* 1993, 4: 252-272.
116. Naeem S., Knops J.M.H., Tilman D., Howe K.M., Kennedy T., Gale S., Plant diversity increases resistance to invasion in the absence of covarying extrinsic factors. *Oikos* 2000, 91: 97-108.
117. Navaz M., George S., Geethakumari V.L., Influence of eupatorium (*Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson) leachates on germination and seedling growth of rice and cowpea. *Allelopathy Journal* 2003, 11 (2): 235-240.
118. Olsen S.R., Sommers L.E., Phosphorus. In: Page A.L., Miller R.H., Keeney D.R., eds. *Methods of Soil Analysis, Part 2*. 1982. 403-430.
119. Olsson S., Alström S., Characterization of bacteria in soils under barley monoculture and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry* 2000, 32: 1443-1451.
120. Otto S., Groffman P.M., Findlay S.E.G., Arreola A.E., Invasive plant species and microbial processes in a tidal freshwater marsh. *Journal of Environmental Quality* 1999, 28:1252-1257.
121. Parkinson M.A.M.D., Changes in structure, organic matter and microbial activity in pine forest soil following the introduction of *Dendrobaena octaetra*(*Oligochaeta Lumbricidae*). *Soil Biology and Biochemistry* 1997, 29(3-4): 537-540.
122. Packer A., Clay K., Soil pathogens and spatial patterns of seedling mortality in a temperate tree. *Nature* 2000, 404: 278-281.
123. Parker J.D., Burkepile D.E., Hay M.E., Opposing effects of native and exotic herbivores on plant invasions. *Science* 2006, 311(10): 1459-1461.
124. Paynter Q., Downey P.O., Sheppard A.W., Age structure and growth of the woody legume weed *Cytisus scoparius* in native and exotic habitats: implications for control. *Journal of Applied Ecology* 2003, 40: 470-480.
125. Pearson D E, Callaway R M. Indirect effects of host-specific biological control agents. *Trends in Ecology and Evolution* 2003, 18(9): 456-461.
126. Peng C.I., Chung K.F., Leu W.P., Notes on three newly naturalized plants (Asteraceae) in Taiwan. *Taiwania* 1998, 43(4): 320-329.
127. Perrings C., Williamson M., Cheltenham S.D., *The Economics of Biological Invasions*. UK, Edward Elgar 2000, 145-151.
128. Pimentel D., Lach L., Zuniga R., Morrison D., Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. *BioScience* 2000, 50: 53-65.
129. Porazinska D.L., Bardgett R.D., Blaauw M.B., Hunt H.W., Parsons A.N., Seastedt T.R., Wall D.H., Relationships at the aboveground-belowground interface: plants, soil biota and soil processes. *Ecological Monographs* 2003, 73: 377-395.
130. Prati D., Bossdorf O., Allelopathic inhibition of germination by *Alliaria petiolata*. *American Journal of Botany* 2004, 91(2): 285-288.
131. Pritchard T., Race formation in weedy species with special reference to *Euphorbia Cyparissias* L. & *Hypericum perforatum* L. In: Harper J.L., (eds.). *The Biology of Weeds: a Symposium of the British Ecological Society*. Oxford: Blackwell, 1960, 61-66.
132. Putten W.H. van der, Dijk C.V., Peters B.A.M., Plant-specific soil-borne diseases contribute to succession in foredune vegetation. *Nature* 1993, 362: 53-56.

133. Radford I.J., Cousens R.D., Invasiveness and comparative life-history traits of exotic and indigenous *Senecio* species in Australia. *Oecologia* 2000, 125(4): 531-542.
134. Rajbanshi S.S., Inubushi K., Chemical and biochemical changes during laboratory-scale composting of allelopathic plant leaves (*Eupatorium adenophorum* and *Lantana camara*). *Biology of Fertilizer and Soils* 1998, 26: 66-71.
135. Ravit B., Ehrenfeld J.G., Haggbloom M. A comparison of sediment microbial communities associated with *Phragmites australis* and *Spartina alterniflora* in two brackish wetlands of New Jersey. *Estuaries* 2003, 26: 465-474.
136. Rees M., Paynter Q., Biological control of Scotch broom: Modelling the determinants of abundance and the potential impact of introduced insect herbivores. *Journal of Applied Ecology* 1997, 34: 1203-1221.
137. Reinhart K.O., Callaway R.M., Soil biota and invasive plants. *New Phytologist* 2006, 170:445-457.
138. Reinhart K.O., Packer A., Putten W.H.V., Clay K., Plant-soil biota interactions and spatial distribution of black cherry in its native and invasive ranges. *Ecology Letters* 2003, 6: 1046-1050.
139. Rejmanek M., Richardson D.M., What attributes make some plant species more invasive? *Ecology* 1996, 77(6): 1655-1661.
140. Reynolds H.L., Packer A., Bever J.D., Clay K., Plant-microbe-soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics. *Ecology* 2003, 84: 2281-2291.
141. Rice S.K., Westerman B., Federici R., Impacts of the exotic, nitrogen-fixing black locust (*Robinia pseudoacacia*) on nitrogen-cycling in a pine-oak ecosystem. *Plant Ecology* 2004, 174: 97-107.
142. Richardson D.M., Allsopp N., D'Antonio C.M., Plant invasions—the role of mutualisms. *Biology Revision Cambridge Philosophy Society* 2000, 75: 65-93.
143. Ridenour W.M., Callaway R.M., The relative importance of allelopathy in interference: the effects of an invasive weed on a native bunchgrass. *Oecologia* 2001, 126: 444-450.
144. Roberts K.J., Anderson R.C., Effects of garlic mustard (*Alliaria petiolata* (Beib. Cavara and Grande)) extracts on plants and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. *American Midland Nature* 2001, 146: 146-152.
145. Robinson G.R., Quinn J.F., Stanton M.L., Invasibility of experimental habitat islands in a California winter annual grassland. *Ecology* 1995, 76: 786-794.
146. Saggar S., McIntosh P.D., Hedley C.B., Changes in soil microbial biomass, metabolic quotient and organic matter turnover under *Hieracium* (*H. pilosella* L.). *Biology of Fertilizer and Soils* 1999, 30: 232-238.
147. Sakai A.K., Allendorf F.W., Holt J.S., Lodge D.M., Molofsky J., With K.A., The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 2001, 32: 305-332.
148. Schmidt I.K., Ruess L., Bååth E., Soil biology and Biochemistry. 2002, 32: 709-720.
149. Shea K., Chesson P., Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution* 2002, 17: 170-176.
150. Siemann E., Rogers W.E., Changes in light and nitrogen availability under pioneer trees may indirectly facilitate tree invasions of grasslands. *Journal of Ecology* 2003a, 91: 923-931.
151. Siemann E., Rogers W.E., Genetic differences in growth of an invasive tree species. *Ecology letters* 2001, 4: 514-518.
152. Siemann E., Rogers W.E., Herbivory, disease, recruitment limitation, and success of alien and native tree species. *Ecology* 2003b, 84: 1489-1505.
153. Siemann E., Rogers W.E., Increased competitive ability of an invasive tree may be limited by an invasive beetle. *Ecological Applications* 2003c, 13(6): 1503-1507.
154. Smith C., Walters L.J., Fragmentation as a strategy for *Caulerpa* species: fates of fragments and implications for management of an invasive weed. *Marine Ecology* 1999, 20(3-4): 307-319.
155. Smith M.D., Knapp A.K., Exotic plant species in a C4-dominated grassland: invasibility, disturbance, and community structure. *Oecologia* 1999, 120: 605-612

156. Stadler J., Trefflich A., Klotz S., Brandl R., Exotic plant species invade diversity hot spots: the alien flora of northwestern Kenya. *Ecography* 2000, 23: 169-176
157. Stampe E.D., Daehler C.C., Mycorrhizal species identity affects plant community structure and invasion: A microcosm study. *Oikos* 2003, 100: 362-372.
158. Stock W.D., Wienand K.T., Baker A.C., Impacts of invading N₂-fixing *Acacia* species on patterns of nutrient cycling in two Cape ecosystems—evidence from soil incubation studies and ¹⁵N natural abundance values. *Oecologia*, 1995, 101: 375-382.
159. Stockwell C.A., Hendry A.P., Kinnison M.T., Contemporary evolution meets conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution* 2003, 18: 94-101.
160. Suding K.N., LeJeune K.D., Seastedt T.R., Competitive impacts and response of an invasive weed: dependencies on nitrogen and phosphorus availability. *Oecologia* 2004, 141: 526-535.
161. Thebaud C., Simberloff D., Are Plants Really Larger in Their Introduced Ranges? *The American Naturalist* 2001, 157: 231-236.
162. Thelen G.C., Vivanco J.M., Newingham B., Good W., Bais H.P., Landres P., Caesar A., Callaway R. M., Insect herbivory stimulates allelopathic exudation by an invasive plant and suppression of natives. *Ecology Letters* 2005, 8: 209-217.
163. Thiébaud G., Does competition for phosphate supply explain the invasion pattern of *Elodea* species? *Water Research* 2005, 39(14): 3385-3393.
164. Thompson K., Grime J.P., Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. *Journal of Ecology* 1979, 67: 893-921.
165. Tilman D., Wedin D., Knops J., Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature* 1996, 379: 718-720.
166. Trent J.D., Young J.A., Blank R.R., Potential role of soil microorganisms in medusahead invasion. In: *Proceedings of Ecology and Management of Annual Rangelands* (eds Monsen SB, Kitchen SG), 1994, pp. 140-142. Report Number INT-GTR 313, USDA Forestry Service, Intermountain Research Station, Ogden, Utah, USA.
167. Tripathi R.S., Singh R.S., Rai J.P.N., Allelopathic potential of *Eupatorium adenophorum*: A dominant ruderal weed of Meghalaya India. *Proceeding of National Science Academic Part B Biological Science* 1981, 47(3): 458-465.
168. Turnbull L.A., Crawley M.J., Rees M., Are plant populations seed-limited? A review of seed sowing experiments. *Oikos* 2000, 88: 225-238.
169. Putten W.H. van der, Interactions of plants, soil pathogens and their antagonists in natural ecosystems. In *Biotic interactions in plant-pathogen associations*. Jeger M J and Spence N J. 2001, pp. 285-305. CAB International, New York, USA.
170. Putten W.H. van der, Dijk C.V., Peters A.M., Host-specific soil-borne diseases contribute to succession in foredune vegetation. *Nature* 1993, 362: 53-56.
171. Vaughn S.F., Berhow M.A., Allelochemicals isolated from tissues of the invasive weed garlic mustard (*Alliaria petiolata*). *Journal of Chemical Ecology* 1999, 25: 2495-2504.
172. Vestal J.R., White D.C., Lipid analysis in microbial ecology. *BioScience* 1989, 39: 535-541.
173. Vila M., D'antonio C.M., Hybrid vigor for clonal growth in *Carpobrotus* (Aizoaceae) in coastal California. *Ecological Applications* 1998, 8(4): 1196-1205.
174. Vila M., Weiner J., Are invasive plant species better competitors than native plant species? – evidence from pair-wise experiments. *Oikos* 2004, 105: 229-238.
175. Vinton M.A., Burke I.C., Interactions between individual plant species and soil nutrient status in shortgrass steppe. *Ecology* 1995, 76: 1116-1133.
176. Vitousek P.M., Wlaker L.R., Biological invasion by *Myrica Faya* in Hawaii: plant demography, nitrogen fixation, ecosystem effects. *Ecological Monography* 1989, 59(3): 247-265.
177. Vitousek P.M., Biological invasion by *Myrica Faya* alters ecosystem development in Hawaii. *Science* 1987, 238: 802-804.
178. Vivanco J.M., Bais H.P., Stermitz F.R., Thelen G.C., Callaway R.M., Biogeographical variation in

- community response to root allelochemistry: novel weapons and exotic invasion. *Ecology Letters* 2004, 7: 285-292.
179. Vivanco J.M., Dual role for an allelochemical: ($\pm$)-catechin from *Centaurea maculosa* root exudates regulates conspecific seedling establishment. *Journal of Chemical Ecology* 2005, 93: 1126-1135.
180. Vranjic J.A., Woods M.J., Barnard J., Soil-mediated effects on germination and seedling growth of coastal wattle (*Acacia sophorae*) by the environmental weed, bitou bush (*Chrysanthemoides monilifera* ssp. *rotundata*). *Austral Ecology* 2000, 25:445-453.
181. Waldrop M.P., Balser T.C., Firestone M.K., Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biology and Biochemistry* 2000, 32: 1837-1846.
182. Walker L.R., Smith S.M., Impacts of invasive plants on community and ecosystem properties. A assessment and management of plant invasions 1997, 35: 59-85.
183. Wardle D.A., Bardgett R.D., Klironomos J.N., Setälä H., Ecological Linkages Between Aboveground and Belowground Biota. *Science* 2004, 304:1629-1633.
184. Wardle D.A., Nilsson M.C., Gallet C., Zackrisson O., An ecosystem level perspective of allelopathy. *Biological Reviews* 1998, 73: 305-319.
185. Westover K.M., Bever J.D., Mechanisms of plant species coexistence: complementary roles of rhizosphere bacteria and root fungal pathogens. *Ecology* 2001, 82: 3285-3294.
186. Wilcove D.S., Rothstein D., Dubow J., Quantifying threats to imperiled species in the United States. *Bioscience* 1998, 48(8): 607-615.
187. Williamson M., Biological Invasions. London, Chapman & Hall, 1996, 425-427.
188. Willis A.J., Memmott J., Forrester R.I., Is there evidence for the post-invasion evolution of increased size among invasive plant species? *Ecology Letters* 2000, 3: 275-283.
189. Windham L., Ehrenfeld J.G., Net impact of a plant invasion on nitrogen-cycling processes within a brackish tidal marsh. *Ecological Applications* 2003, 13: 883-896.
190. Windham L., Lathrop R.G., Effects of *Phragmites australis* (common reed) invasion on aboveground biomass and soil properties in brackish tidal marsh of the Mullica River, New Jersey. *Estuaries* 1999, 22: 927-935.
191. Wolf J.J., Beatty S.W., Seastedt T.R., Soil characteristics of Rocky Mountain National Park grasslands invaded by *Melilotus officinalis* and *M. alba*. *Journal of Biogeography*, 2004, 31: 415-424.
192. Wolfe B.E., Klironomos J.N., Breaking new ground: soil communities and exotic plant invasion. *BioScience*, 2005, 55: 477-493.
193. Wolfe L. M., Elzinga J.A., Biere A., Increased susceptibility to enemies following introduction in the invasive plant *Silene latifolia*. *Ecology Letters* 2004, 7: 813-820.
194. Yadav A.S., Tripathi R.S., Effect of soil moisture and sowing density on population growth of *Eupatorium adenophorum* and *Eupatorium riparium*. *Plant Soil* 1985, 88 (3): 441-447.
195. Yang G.Q., Wan F.H., Liu W.X., Zhang X.W., Physiological effects of allelochemicals from leachates of *Ageratina adenophora* (Spreng.) on rice seedlings. *Allelopathy* 2006, 18(12): 237-246.
196. Yao H., He Z., Wilson M.J., Campbell C.D., Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use. *Microbial Ecology* 2000, 40: 223-237.
197. Yelenik S.G., Stock W.D., Richardson D.M., Ecosystem level impacts of invasive *Acacia saligna* in the South African fynbos. *Restoration Ecology* 2004, 12, 44-51.
198. Yu J.Q., Ye S.F., Zhang M.F., Hu W.H., Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*), and allelochemicals on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. *Biochemical Systematics and Ecology* 2003, 31: 129-139.
199. Yu X.J., Yu D., Lu Z.J., Ma K.P., A new mechanism of invader success: Exotic plant inhibits natural vegetation restoration by changing soil microbe community. *Chinese Science Bulletin* 2005, 50 (11): 1105-1112.

200. Zak D.R., Holmes W.E., White D.C., Peacock A.D., Tilman D., Plant diversity ,soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links? *Ecolgy* 2003, 84: 2042-2050.
201. Zelles L., Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolisaccharides in the characterisation of microbial communities: A review. *Biology of Fertilizer and Soils* 1999, 29: 111-129.
202. 蔡燕飞, 廖宗文, 土壤微生物生态学研究方法进展. *土壤与环境* 2002, 11(2): 167-171.
203. 曹煜成, 李卓佳, 文国梁, 陈永青, 吴灶和, 芽孢杆菌胞外产物的研究进展. *湛江海洋大学学报* 2005, 125(16): 97-100.
204. 程洪斌, 刘晓桥, 陈红漫, 枯草芽孢杆菌防治植物真菌病害研究进展. *上海农业学报* 2006 , 22(1): 109-112.
205. 董昌金, 赵斌..影响丛枝菌根真菌孢子萌发的几种因素研究. *植物营养与肥料学报* 2003, 9(4):489-494.
206. 段惠, 强胜, 苏秀红, 吴海荣, 朱云枝, 刘琳莉, 用AFLP技术分析紫茎泽兰的遗传多样性. *生态学报* 2005, 25(8): 2109-2114.
207. 高雷, 李博, 入侵植物凤眼莲研究现状及存在的问题. *植物生态学报* 2004, 28(6): 735-745.
208. 高贤明, 王玉兰, 余力, 外来入侵物种紫茎泽兰的生物生态学特征与防治途径. *中国植物学会七十周年年会论文摘要汇编* 2003, 55.
209. 高增祥, 季荣, 徐汝梅, 谢宝瑜, 李典谟, 外来种入侵的过程、机理和预测. *生态学报* 2003, 23(3): 559-570.
210. 耿宇鹏, 张文驹, 李博, 陈家宽, 表型可塑性与外来植物的入侵能力. *生物多样性* 2004, 12(4): 447-455.
211. 桂富荣, 紫茎泽兰的遗传多样性及其种群结构分析. *中国农业科学院博士学位论文* 2006.
212. 郭坚华, 孙平华, 植物细菌性青枯病的生物防治机制和途径. *中国生物防治* 1997, 13(1): 42-45.
213. 郭水良, 方芳, 黄华, 强胜, 外来入侵植物北美车前繁殖及光合生理生态学研究. *植物生态学报* 2004, 28(6): 787-793.
214. 和爱军, 刘伦辉, 紫茎泽兰的水提物对几种植物发芽的影响. *杂草科学* 1990, 4(4): 35-38.
215. 贺金生, 王政权, 方精云, 全球变化下的地下生态学: 问题与展望. *科学通报* 2004, 49: 1226-1233.
216. 贺握权, 黄忠良, 外来物种对鼎湖山自然保护区的入侵及其影响. *广东林业科技* 2004, 20: 42-45.
217. 胡飞, 孔垂华, 胜红蓟化感作用研究I. 水溶物的化感作用及其化感物质分离鉴定. *应用生态学报* 1997, 8(3): 304-308.
218. 黄文坤, 紫茎泽兰群体遗传变异分析及化感作用相关基因的克隆. *湖南农业大学博士学位论文* 2007.
219. 姜英华, 胡白石, 刘凤权, 植物土传病原菌拮抗细菌的筛选与鉴定. *中国生物防治* 2005, 21(4): 260-264.
220. 蒋智林, 入侵杂草紫茎泽兰与非入侵草本植物的竞争关系及其生理生态机理. *中国农业科学院博士学位论文* 2007.
221. 孔垂华, 胡飞, 植物化感(相生相克)作用及其应用. 北京: 中国农业出版社, 2001, 165.
222. 孔垂华, 徐涛, 胡飞, 黄寿山, 环境胁迫下植物的化感作用及其诱导机制. *生态学报* 2000, 20(5): 849-85.
223. 徐承远, 张文驹, 卢宝荣, 陈家宽, 生物入侵机制研究进展. *生物多样性* 2001, 9(4):430-438.
224. 孔垂华, 植物化感作用研究中应注意的问题. *应用生态学报* 1998, 9(3): 332-336.
225. 李博, 植物竞争—作物与杂草相互作用的实验研究. 北京: 高等教育出版社, 2001, 19-64.

226. 刘波, 芽孢杆菌文献研究(第一版). 广州: 广东旅游出版社, 2006, 40-82.
227. 刘伦辉, 刘文耀, 郑征, 荆桂芬, 紫茎泽兰个体生物生态学特性研究. 生态学报 1989, 9(1): 66-70.
228. 刘文耀, 紫茎泽兰的光合作用特征及其生态学意义. 云南植物研究 1988, 10(2): 175-181.
229. 刘卹洲, 陈志谊, 刘永锋, 拮抗细菌防治茄果蔬菜常见病害的效果. 江苏农业科学 2003, 19(2): 96-99.
230. 鲁萍, 桑卫国, 马克平, 外来入侵种紫茎泽兰研究进展与展望. 植物生态学报 2005, 29(6): 1029-1037.
231. 鲁如坤, 土壤-植物营养学. 北京: 化工工业出版社, 1998, 61.
232. 陆建忠, 裘伟, 陈家宽, 入侵种加拿大一枝黄花对土壤特性的影响. 生物多样性 2005, 13(4): 347-356.
233. 马瑞燕, 王韧, 喜旱莲子草在中国的入侵机理及其生物防治. 应用与环境生物学报 2005, 11(2): 246-250.
234. 马万里, 土壤微生物多样性研究的新方法. 土壤学报 2004, 41(1): 103-107.
235. 彭少麟, 向言词, 植物外来种入侵及其对生态系统的影响. 生态学报 1999, 19(4): 560-568.
236. 强胜, 世界恶性杂草—紫茎泽兰研究的历史及现状. 武汉植物学研究 1998, 16(4): 366-372.
237. 强胜, 用AFLP技术分析紫茎泽兰的遗传多样性. 南京农业大学学报 2004, 27: 62.
238. 沈有信, 刘文耀, 紫茎泽兰种子库持久性研究. 植物生态学报 2004, 28: 768-772.
239. 宋启示, 付昀, 唐建维, 冯志立, 杨崇仁, 紫茎泽兰的化学互感潜力. 植物生态学报 2000, 24(3): 362-365.
240. 万方浩, 郭建英, 王德辉, 中国外来入侵生物的危害与管理对策. 生物多样性 2002a, 10 (1): 119-125.
241. 万方浩, 郭建英, 王德辉, 中国外来入侵生物的现状、管理对策及风险分析体系. 见: 王德辉, Jeffrey A M主编. 生物多样性与外来入侵物种管理国际研讨会论文集. 北京: 中国环境科学出版社, 2002b, 77-102.
242. 万方浩, 郑小波, 郭建英主编. 重要农林外来入侵物种的生物学与控制. 北京: 科学出版社, 2005.
243. 万方浩, 郭建英, 王德辉, 中国外来生物入侵的现状及其外来入侵生物的研究与管理对策. 生物多样性, 2002c, 10(1): 119-125.
244. 王进军, 紫茎泽兰. 见: 万方浩, 郑小波, 郭建英主编. 重要农林外来入侵物种的生物学与控制. 北京: 科学出版社, 2005, 651-661.
245. 王朋, 梁文举, 孔垂华, 姜勇, 张茂新, 张朝贤, 外来杂草入侵的化学机制. 应用生态学报 2004, 15(4): 707-711.
246. 王曙光, 候彦林, 磷脂脂肪酸方法在土壤微生物分析中的应用. 微生物通报 2004, 31(1): 114-117.
247. 吴建峰, 林先贵, 土壤微生物在促进植物生长方面的作用. 土壤 2003, 1: 18-21.
248. 向业勋, 紫茎泽兰的分布、危害及防除意见. 杂草科学 1991, 5(4): 10-11.
249. 徐承远, 张文驹, 卢宝荣, 陈家宽, 生物入侵机制研究进展. 生物多样性 2001, 9(4): 430-43.
250. 徐汝梅, 叶万辉, 生物入侵—理论与实践. 北京: 科学出版社, 2003, 1-9.
251. 徐正浩, 王一平, 外来入侵植物成灾的机制及防除对策. 生态学杂志 2004, 23(3): 124-127.
252. 许光辉, 李振高, 微生物生态学. 南京: 东南大学出版社, 1991, 127-128.
253. 杨国庆, 紫茎泽兰淋溶主效化感物质的分离鉴定及其对旱稻幼苗的作用机理. 中国农业科学院博士学位论文 2006.
254. 杨海君, 谭周进, 肖启明, 何可佳, 假单胞菌的生物防治作用研究. 中国生态农业学报 2004,

- 12(3): 158-161.
255. 于兴军, 于丹, 马克平, 不同生境条件下紫茎泽兰化感作用的变化与入侵力关系的研究. 植物生态学报 2004, 28(6): 773-780.
256. 张福锁, 土壤微生物与植物营养. 北京: 中国农业出版社, 1998:68-79.
257. 张汉波, 段唱群, 屈良鹄, 非培养方法在土壤微生物生态学研究中的应用 应用生态学报 2003, 22(5): 131-136.
258. 张洪勋, 王晓谊, 齐鸿雁, 微生物生态学研究方法. 生态学报 2003, 22(5): 988-995.
259. 张勇, 曾明, 熊丙全, 丛枝菌根体生物学技术在现代农业体系中的生态意义. 应用生态学报 2003, 14(4): 613-617.
260. 章家恩, 蔡燕飞, 高爱霞, 朱丽霞, 土壤微生物多样性实验研究方法概述. 生态学报 2004, 36(4): 346-350.
261. 赵斌, 何绍江, 微生物学实验. 北京: 科学出版社, 2003, 69-75.
262. 赵广琦, 张利权, 梁霞, 芦苇与入侵植物互花米草的光合特性比较. 生态学报 2005, 25(7): 1605-1611.
263. 周纪纶, 郑师章, 杨持, 植物种群生态学. 北京: 高等教育出版社, 1992:128-267.
264. 祝元甲, 番茄枯萎病和青枯病的识别与防治. 青海农林科技 2004, 3: 73-74.

致 谢

本研究是于2004年9月至2007年6月期间在中国农业科学院植物保护研究所外来入侵生物预防与控制研究中心(CMIAS)完成的。回首在研究生院和实验室学习和研究的日日夜夜,点滴在心。试验失败时的苦苦思索,恩师的谆谆教导;论文发表时的欢欣喜悦,父母的牵挂慈爱;能够顺利的完成该论文,要感谢的人真的很多,谨以此文表达我的深深谢意。

在论文顺利付梓之际,首先向我的导师万方浩研究员表以最诚挚的敬意,感谢导师给了我宝贵的学习机会,及这三年在科研和生活上对我的无私指导和关怀。在试验研究过程中,从论文的选题、实验的设计、数据的分析直到论文的撰写完成无不倾注了导师的智慧、心血和期盼;同时导师给予了我充分的自我发挥的空间和各种锻炼机会,鼓舞我不断攀登。三年来,导师渊博的学识、精辟敏锐的科学思维、诲人不倦的待人作风、严谨求是的治学态度使我敬佩不已、受益终生,并将时刻激励和鞭策着我以后在做人和科研等方面的成长。感谢师母杨晓玲老师在生活中给予了慈母般的关怀,我愿在今后的工作和学习中加倍努力,不断进取,以不负导师和师母的教导和期望。

衷心感谢刘万学副研究员在论文的研究思路方面给予的指教和生活上给予的帮助。同时要感谢本研究室谢明副研究员、郭建英副研究员、张桂芬副研究员、沈文君助理研究员、王瑞助理研究员和邱卫亮老师三年来在生活和论文试验等方面的帮助,致以深深的谢意。论文中土壤微生物群落结构分析和优势细菌分离鉴定方面得到了福建省农业科学院刘波研究员、朱育菁博士、蓝江玲博士、中科院微生物所刘杏忠研究员、白逢彦博士、王启明博士的帮助,在此表示由衷的感谢。

感谢研究生院学生工作处于子荣处长,杨建玲老师在生活和学习方面的帮助。感谢巴基斯坦Imtiaz Ali Khan博士和研究生院外教杨真真女士在英文论文写作方面的帮助,感谢美国蒙拿大大学Ragan M Callaway教授在研究思路上的交流。感谢云南农业大学董保新、徐卫建、李燕山同学在野外取样中的帮助。感谢同研究室的师兄桂富荣、杨国庆博士和学姐张炬红博士三年来给予我在多方面的关心和照顾。此外本研究室的众多同学:黄文坤、崔旭红、蒋智林、吕志创、王雅男、应飞、李丽、李新、兰亚红、郭义、许三军、李东超、严盈、严崎、钟艮平、张义波、周志湘、戴莲;本科实习生:梁志刚、吴霞、尹跃溪,在和他们的日常交流和讨论中让我受益匪浅,在此对他们的帮助表示感谢。要感谢的人还有很多,他们有我的老师、同学和朋友,谢谢你们的鼓励,不能一一提及还望见谅。

最后,特别感谢我的父母和妹妹,是他们这些年来默默无声的爱、理解、支持和鼓励,给予了我莫大的动力和信心,让我顺利完成了学业。祝福所有关心、帮助和参与了本论文工作的人!

牛红榜 于北京
2007年6月

作者简历

牛红榜，男，1982年生，籍贯河南南阳。2000年9月至2004年7月就读于河南农业大学植物保护学院，植株保护专业，获学士学位。2004年9月至2007年7月就读于中国农业科学院植物保护研究所，生物安全专业，攻读硕士学位，导师：万方浩研究员。

本研究相关发表和在审的论文：

- 1、Niu Hong-Bang, Liu Wan-Xue, Wan Fang-Hao, Liu Bo, An invasive aster (*Ageratina adenophora*) invades and dominates forest understories in China: altered soil microbial communities facilitate the invader and inhibit natives. *Plant and Soil* 2007, 294: 73-85.
- 2、牛红榜，刘万学，万方浩，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* 2007, 27 (7): 1-11.
- 3、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能评价. *应用生态学报* 审稿中.
- 4、Niu Hong-Bang, Liu Wan-Xue, Wan Fang-Hao, Effects of *Ageratina adenophora* leachates on soil microbial communities. 拟投稿.
- 5、牛红榜，刘万学，万方浩，外来植物入侵的土壤微生物学机制研究进展. 拟投稿.

附 文

An invasive aster (*Ageratina adenophora*) invades and dominates forest understories in China: altered soil microbial communities facilitate the invader and inhibit natives

Hong-bang Niu · Wan-xue Liu · Fang-hao Wan · Bo Liu

Received: 6 December 2006 / Accepted: 20 February 2007 / Published online: 30 March 2007
© Springer Science+Business Media B.V. 2007

Abstract Exotic plant invasion may alter underground microbial communities, and invasion-induced changes of soil biota may also affect the interaction between invasive plants and resident native species. Increasing evidence suggests that feedback of soil biota to invasive and native plants leads to successful exotic plant invasion. To examine this possible underlying invasion mechanism, soil microbial communities were studied where *Ageratina adenophora* was invading a native forest community. The plant–soil biota feedback experiments were designed to assess the effect of invasion-induced changes of soil biota on plant growth, and interactions between *A. adenophora* and three native plant species. Soil analysis showed that nitrate nitrogen (NO_3^- -N), ammonium nitrogen (NH_4^+ -N), and available P and K content were significantly higher in a

heavily invaded site than in a newly invaded site. The structure of the soil microbial community was clearly different in all four sites. *Ageratina adenophora* invasion strongly increased the abundance of soil VAM (vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi) and the fungi/bacteria ratio. A greenhouse experiment indicated that the soil biota in the heavily invaded site had a greater inhibitory effect on native plant species than on *A. adenophora* and that soil biota in the native plant site inhibited the growth of native plant species, but not of *A. adenophora*. Soil biota in all four sites increased *A. adenophora* relative dominance compared with each of the three native plant species and soil biota in the heavily invaded site had greater beneficial effects on *A. adenophora* relative dominance index (20% higher on average) than soil biota in the non-invaded site. Our results suggest that *A. adenophora* is more positively affected by the soil community associated with native communities than are resident natives, and once the invader becomes established it further alters the soil community in a way that favors itself and inhibits natives, helping to promote the invasion. Soil biota alteration after *A. adenophora* establishment may be an important part of its invasion process to facilitate itself and inhibit native plants.

H.-b. Niu · W.-x. Liu · F.-h. Wan
The State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, P.R. China

H.-b. Niu · W.-x. Liu · F.-h. Wan (✉)
Center for Management of Invasive Alien Species, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, P.R. China
e-mail: wanfangh@public3.bta.net.cn

B. Liu
Biotechnology Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, P.R. China

Keywords *Ageratina adenophora* · Feedback of soil biota · Exotic plant invasion ·

Facilitation · Mutualisms · Underground invasion mechanism

Introduction

Rapid expansion of invasive plants in agricultural and natural ecosystems is threatening biodiversity, productivity, and ecosystem health throughout the world. Understanding the strategies used by invasive plant for rapid proliferation is one of the most important problems in ecology, because successful invasion by particular species is not mechanistically uniform (Mack et al. 2000). Because plant–soil biota interactions affect invasion success and can mediate the effects of invasive plants on ecosystems, increasing attention is being devoted to below-ground invasion mechanisms.

Negative soil biota feedback is common in natural ecological systems and maintains plant diversity (Augsburger and Kelly 1984; van der Putten et al. 1993; Mills and Bever, 1998; Packer and Clay 2000); positive soil feedback may facilitate plant invasion leading to a reduction in plant diversity (Vitousek et al. 1987; Callaway et al. 2001; Klironomos 2002). The interactions between plants and the soil microbial community can therefore explain the relative abundance of plant species within a community (De Deyn et al. 2004), and the interactions between plants and associated soil biota can result in dynamic feedback. The direction of soil biota feedback can be positive, neutral, or negative, and depends on the balance between negative effects of accumulating soilborne pathogens, herbivores, and parasites (Brown and Gange 1989; van der Putten 2001; Packer and Clay 2002) and the positive effects of accumulating mycorrhizal fungi, nitrogen-fixing bacteria, and other beneficial soil organisms (Allen and Allen 1984; Garbaye 1994; Horiuchi et al. 2005). These feedbacks occur when plants change the components of the soil microbial community and affect plant establishment, growth, competition, and community succession (Westover and Bever 2001; Reynolds et al. 2003).

Plant invaders have been known to change soil microbial communities (Kourtev et al. 2002, 2003;

Li et al. 2006) and soil nutritional cycling (Kourtev et al. 1998), and plant–soil biota interactions have been found to differ in native and non-native ranges (Duda et al. 2003; Callaway et al. 2004a). Reinhart et al. (2003) found that black cherry (*Prunus serotina* Ehrh) was negatively affected by soil pathogens (*Pythium* spp.) in its native range, but was facilitated by soil biota in its non-native range. A switch from negative to positive plant–soil feedback occurred when *Centaurea maculosa* L. moved from its native range to an exotic range. Sterilization of soils collected from the native range of *C. maculosa* caused an average 166% increase in its total biomass whereas sterilization of soils collected from its non-native range only increased its growth by an average of 24% (Callaway et al. 2004b). Results from other studies also provide support for an underground invasion view that invasive plants suffer fewer negative effects and experience more beneficial mutualism in their exotic ranges than in their native ranges (Beckstead and Parker 2003; Knevel et al. 2004; Reinhart et al. 2005). As a result, positive plant–soil feedback, thought to arise from the accumulation of beneficial soil microbe groups, has been proposed as an important factor contributing to plant invasiveness (Callaway et al. 2004b; Reinhart and Callaway 2004).

Previous studies on feedback loops between soil biota and invasive plants were based on the invasive and native range sources of the microbes (Callaway et al. 2001, 2004a; Hierro et al. 2005). Invasive plants may alter soil biota in a new habitat in ways which lead to either positive or negative plant–soil biota feedback effects, however. There have been few studies of whether changes of soil microbial communities after invasive plant establishment affect the interactions between invader and native plants, and the answer to this question could improve our understanding of the below-ground mechanisms of plant invasion. There is, therefore, an urgent need to measure soil biota alteration caused by invasive plants and the feedback of modified soil biota to invasive and native plants.

Ageratina adenophora Sprengel (Synonym: *Eupatorium adenophora*) (Asteraceae), originally found in Mexico and Costa Rica, is a notorious

worldwide invasive weed (Qiang 1998). It has invaded many countries and regions, where it has threatened the health and biodiversity of native forests, rangelands, and farmlands. First introduced to Yunnan Province in China in the nineteen-forties, it has intensively colonized southwest China and is spreading rapidly eastward and northward (Sun et al. 2004). An extremely rapidly growing perennial shrub, *A. adenophora* survives and proliferates under harsh conditions. When it invades a new habitat it can cause degeneration of native plant communities in the new habitat into an *A. adenophora* monoculture (Wang 2005). Previous studies have mainly addressed questions about the biological characteristics and allelopathy of *A. adenophora* to explain its successful invasion (Yang et al. 2006) and little is known about the effects of *A. adenophora* invasion on soil microbial communities. It is logical to hypothesize that *A. adenophora* alters soil microbial communities to benefit itself and inhibit the growth of native plant species; this would explain the different growth, dominance, and spread of *A. adenophora* and native plants.

The objective of this research work was to determine:

1. the types of effect *A. adenophora* has on soil microbial communities and characteristics; and
2. the mechanisms, directions, and intensity of feedback of modified soil biota to *A. adenophora* and to native plants.

Our objectives were to explore the soil microbiological mechanism behind *A. adenophora* invasion, and whether short-term or long-term dominance of a site by *A. adenophora* creates soil conditions which favor itself and suppress native plant species.

Materials and methods

Study area

The study area was located in the evergreen, broad-leaved-deciduous mixed forests in the southwest of Yunnan Province, China

(N:24°42'14.2"–15.5",E:102°52'48.6"–48.9"), with average elevation 2,000 m (1993–2016 m). The mean annual precipitation and temperature in the area are 952 mm and 16.5°C, respectively, and the area is characterized by a subtropical hot and arid valley climate with pronounced wet and dry seasons. The area is composed of mixed forests dominated by *Machilus pingii* L., *Cyclobalanopsis plauroides* L., *Lithocarpus dealbatus* L., *Alnus cremastogyne* L. and *Broussonetia papyrifera* L. The reasons we chose this area for our study were:

1. the area has experienced substantial turnover of communities which were once dominated by native plant communities and has been dominated by *A. adenophora* in the past 30 years; and
2. the expansion of *A. adenophora* in the area has obviously started from center to fringe with different displacement intensity.

Soil samples

Four sites were selected in the study area and classified by *A. adenophora* cover (Table 1). Site I was dominated by *A. adenophora*, Site II was dominated by a mixture of *A. adenophora* and native plants, Site III was non-invaded by *A. adenophora* and some native plant species were present, and Site IV was dominated by native plant species. The difference between the non-invaded site and native site was the coverage by native plant species—the non-invaded site was bare ground mostly lacking both native and non-native vegetation whereas in the native plant site native plant species dominated and non-native plant vegetation was absent. *A. adenophora* cover was more than 60% in the heavily invaded site and between 10 and 30% in the newly invaded site. The density and height of *A. adenophora* in the heavily invaded site were much higher than in the newly invaded site. We named the soil samples after *A. adenophora* invasion intensity, because we wanted to show differences between soil from the three invaded sites and the site occupied by native plant species. The four kinds of soil sample are hereafter referred to as heavily

Table 1 Description of the four sampling sites in the forest of Yunnan Province, China (N: 24°42'14.2"–15.5", E: 102°52'48.6"–48.9") in August 2005

Site	Name	Cover of native plants (%)	Cover of <i>A. adenophora</i> (%)	Density (individuals m ⁻²)	Height (m)
I	Heavily invaded	3.1	67.2	21.6	1.16
II	Newly invaded	45.8	20.3	13.2	0.37
III	Non-invaded	1.3	0	0	0
IV	Native plant	52.5	0	0	0

Note: Cover is estimated by the proportion of pin touches of plants. The data were for *A. adenophora* density and height

invaded, newly invaded, non-invaded, and native plant.

The non-invaded and newly invaded sites were adjacent to each other, with the heavily invaded and native plant sites approximately 2 km away. The four sites had similar physiognomy, topography, and soil type and there was little or no evidence of disturbance by livestock or humans. The primary native plant species in these sites were *Setaria plicata* Lam., *Digitaria chinensis* Hornem, *Eupatorium fortunei* Tuccz, *Stellaria chinensis* Regel, *Lolium perenne* L., *Rubus aculeatiflorus* Hagata, *Medicago sativa* L., *Artemisia annua* L., *Clinopodium confine* Hance, and *Chenopodium ambrosioides* L.

Soil samples were collected in August 2005. Five composite soil samples were taken from each site. Each sample was composed of 16 soil cores of 3.5 cm diameter and 10 cm depth. Samples were collected randomly from 8 m × 8 m plots. The soils were sieved (2 mm mesh), transferred to plastic bags, and immediately cooled for transportation to the laboratory. Each sample was split into two subsamples. One, for general chemical analysis, was stored at 4°C. The other, for soil microbial community measurement (profiles of phospholipid fatty acids were used), was freeze dried and stored at -80°C for later analysis of fatty acids.

Soil characteristics

pH, soil organic carbon, total N, available nitrate nitrogen (NO₃⁻-N) and ammonium nitrogen (NH₄⁺-N), total P, available P, total K, and available K were measured for all the soil samples. pH was measured by use of a glass electrode (WTW pH 340), soil organic carbon was

determined by the potassium dichromate method, and total N was quantified by use of the Kjeldahl method. Soil mineral N was extracted with 2 mol L⁻¹ KCl, and concentrations of NO₃⁻-N and NH₄⁺-N in the KCl extracts were determined by use of a Lachat Quick Chem II flow-injection analyzer (Zellwegger Analytical, Milwaukee, WI, USA). Total P and available P were quantified using the colorimetric Mo-blue-method (Olsen and Sommers 1982). Total K was determined after digestion with hydrofluoric-perchloric acid, and available K was extracted with 1 mol L⁻¹ ammonium acetate; both were determined by use of the burnt-luminosity method (Bao 2000). Soil water content and water-holding capacity were measured by weight loss after drying overnight at 105°C and air drying, respectively.

Microbial community structure

The structure of microbial communities in soil samples were studied by analysis of profiles of phospholipid fatty acids (PLFA). The method was adapted from White et al. (1979) and Frostegård et al. (1993a). The procedure was based on extraction of "signature" lipid biomarkers from the cell membrane and wall of microorganisms, and lipids in the concentrated extract were separated on silicic acid columns. The polar lipids were then subjected to saponification and methylation by the MIDI procedure (MIDI, Newark, Delaware, USA). Individual fatty acid methyl esters were identified and quantified by use of the MIDI Sherlock microbial identification system. Results for individual fatty acids were expressed as a percentage of the total amount of fatty acids found in a given sample. A total of 76 PLFAs were identified in the different soil sam-

ples and fatty acids present in proportions >0.5% were used in the analyses. Some fatty acids listed in Table 2 were found in large amounts in specific groups of microorganisms and therefore had diagnostic meaning.

Greenhouse experiment

The greenhouse experiment was conducted to test the effect of soil biota from four sites on the growth of *A. adenophora* and three native plant species. Soil collected from the four sites described above was sieved using a 0.5-cm mesh to remove roots and stones, sealed in polypropylene bags, and then transported to a greenhouse in Yunnan Agricultural University. One half of the soils were autoclaved three times for 20 min at 121.1°C on three successive days to kill microbes. Sterilized or non-sterilized soil was mixed then with sand (4:1, w/w) to fill pots 17 × 17 × 22 cm³ (L × D × H) with soil containing 20% (w/w) moisture.

Ageratina adenophora seeds were collected in the experimental field and seeds of *Lolium perenne* L., *Eupatorium fortunei* Tuccz, and *Medicago sativa* L. (species are indicated hereafter solely with generic names) were purchased. The latter three species were chosen because they were common species in the grassland surrounding the original field site and were representatives of three groups (forb, *L. perenne*; feverfew, *E. fortunei*; leguminous, *M. sativa*). Before sowing, the seeds were surface-sterilized with 6% sodium hypochlorite to avoid microbial contamination of the inoculated substrates. Seeds were planted evenly in pots and watered. Fifty-six treatment combinations were designed: four kinds of soil origin (heavily invaded, newly invaded, non-invaded and native plant), sterilized or non-sterilized, and monoculture (*A. adenophora*, *L. perenne*, *E. fortunei* and *M. sativa*) or mixtures (two-species mixtures: *A. adenophora* and *L. perenne*, *A. adenophora* and *E. fortunei* and *A. adenophora* and *M. sativa*).

The seedlings were thinned to six plants per pot (six individuals per species in the monocultures and three individuals per species in the mixtures) 30 days after the sowing. The density was determined according to the original field

investigation. Pots were watered every two days with sterilized water until water-holding capacity was reached. All tools and materials coming into contact with non-sterile soil were sterilized to minimize the risk of cross contamination. Throughout the plant growing period greenhouse temperatures were maintained at 27 ± 5.3°C and supplementary light was supplied by 430 W high-pressure sodium bulbs. Plants were harvested after 16 weeks of growth and plant materials were washed with tap water, dried at 80°C for 72 h, and weighed. In pots with mixed species the two plant species were separated and *A. adenophora* dominance was estimated by using the relative dominance index (RDI) proposed by Myers and Bazely (2003):

$$A.adenophora\ RDI = \frac{A.adenophora\ biomass}{Total\ biomass\ of\ two\ species} \times 100\%$$

Statistical analysis

All data were analyzed using SPSS for Windows (SPSS, 10.0). The data were analyzed using both multivariate (to detect patterns) and univariate (to detect significant differences between individual variables) methods. Statistical significance was defined as $P < 0.05$, unless otherwise noted in the text.

Soil chemical and physical properties and the individual microbial variables (PLFAs with proportions >0.5%) were studied using one-way ANOVA with different sites as a single factor. For PLFAs two multivariate techniques were used to analyze the data. First, principal components (PC) analysis was applied separately to PLFA proportions, including all the variables in each case. Stepwise discriminant analysis (DA) was also used as a supplement to PCA. Two-way ANOVA was used to analyze the effect of factors (soil origin, sterilization, and their interaction) on plant growth and competition and the effects of soil origin (heavily invaded, newly invaded, non-invaded, and native plant), sterilization (sterile

Table 2 Fatty acids used for analysis of the structure of microbial communities in soil collected from the forest of Yunnan Province, China, N:24°42'14.2"-15.5", E:102°52'48.6"-48.9")

Organism	Diagnostic fatty acids	Refs.
Gram(-)	10:0 3OH, 12:0, 12:0 2OH, 12:0 3OH, 14:0, 15:0, 16:1 ω 7c, 15:0i 3OH, 15:0 3OH, 17:0cy, 17:0, 16:1 2OH, 18:1 ω 7c, 18:1 ω 5c, 11Me 18:1 ω 7c, 19:0cy	Drijber et al. (2000); Hill et al. (2000); Waldrop et al. (2000); Zelles (1999)
Gram(+)	12:0i, 12:0a, 13:0i, 13:0a, 14:0i, 14:0a, 15:0i, 15:0a, 16:0i, 16:0a, 17:0i, 17:0a	Drijber et al. (2000); Hill et al. (2000); Waldrop et al. (2000); Zelles (1999)
Aerobe	16:1 ω 7c, 18:1 ω 7c	Vestal and White (1989)
Anaerobe	19:0cy	Vestal and White (1989)
SO ₄ ⁻	16:0 10Me	Waldrop et al. (2000)
reducers		
VAM fungi	16:1 ω 5c	Olsson and Alström (2000)
Fungi	18:3 ω 6,9,12c, 18:2 ω 6,9c, 18:1 ω 9c	Bååth et al. (1998); Frostegård and Bååth (1996)
Acti. ^a	16:0 10Me, 18:0 10Me	Frostegård et al. (1993b); Kourtev et al. (2002)
Protists	20:4 ω 6,9,12,15c	Frostegård et al. (1993b); Kourtev et al. (2002)
Fungi/Bact	18:2 ω 6,9c + 18:1 ω 9c/ 15:0i + 15:0a + 15:0 + 16:0i + 16:1 ω 7c + 17:0i + 17:0a + 17:0 + 18:1 ω 7c + 19:0cy	Bardgett et al. (1996); Grayston et al. (2001)
Gram(-)/	16:1 ω 7c + 17:1 ω 8c + 19:cy/14:0i + 15:0i + 15:0a + 16:0i + 17:0i + 17:0a	Kourtev et al. (2002); Yao et al. (2000)
Gram(+)		

^a VAM: Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Acti.: Actinomycetes

and non-sterile) and their interaction on plant biomass and *A. adenophora* RDI were summarized.

Results

Soil chemical and physical properties

All soil chemical characteristics except total P varied substantially in the four soils (Table 3). Soil pH decreased as *A. adenophora* invasion intensity increased and was lower in invaded sites (heavily invaded and newly invaded) than in non-invaded and native plant sites. Both organic C content and total N content increased in invaded sites, and total K content was lowest in the heavily invaded site. NO_3^- -N, NH_4^+ -N, available P and available K concentrations were significantly ($P < 0.01$) higher in the heavily invaded site; the NO_3^- -N concentration was 2.3 times that in the native plant site. Soil water content and water-holding capacity in the four sites did not differ.

PLFA profiles of soil samples

Thirty-two individual PLFAs were present in the four sites in proportions $>0.5\%$ and all of the soil samples studied were dominated by bacterial fatty acids. One-way ANOVA for the individual PLFA variables tested showed that abundances of 24 PLFAs were significantly different in the four

soils studied (Fig. 1). These PLFAs were mainly saturated, unsaturated, methyl-branched, and cyclopropane fatty acids. PLFA profiles were used to indicate the presence of different groups of soil microorganism. Diagnostic fatty acids (Table 2) were used to classify different microbe groups, and the ratios of fungal to bacterial (fungi/bact.) and gram(–) to gram(+) bacterial content (gram(–)/gram(+)) were calculated (Figs. 2A and 2B).

Ageratina adenophora invasion resulted in reduced actinomycete and fungal communities in the heavily invaded site compared with the non-invaded site (Fig. 2A) but aerobic and anaerobic bacteria increased linearly with *A. adenophora* invasion intensity. *A. adenophora* invasion strongly increased the abundance of VAM (vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi), which was 1.5 times higher in the heavily invaded site than in the non-invaded site. The content of sulfate-reducers was not influenced by *A. adenophora* invasion and protist content was no different among the four sites studied. The fungi/bacteria ratio, an indicator of soil organic matter (Bardgett et al. 1996; Frostegård and Bååth 1996), increased linearly with *A. adenophora* invasion intensity (Fig. 2B). In contrast, the gram(–)/gram(+) ratio, which decreased linearly with *A. adenophora* invasion intensity, might indicate a shift of the soil from oligotrophic to copiotrophic conditions (Borga et al. 1994; Kourtev et al. 2003).

Table 3 Chemical and physical properties of soil collected from the four sites in the forest of Yunnan Province, China (N:24°42'14.2"–15.5", E:102°52'48.6"–48.9") in August 2005

Soil properties	Unit	Heavily invaded	Newly invaded	Non-invaded	Native plant
pH	1	5.8 ± 0.4b	6.0 ± 0.1b	6.6 ± 0.3a	6.4 ± 0.5a
Organic C	g kg ⁻¹	62.7 ± 7.7a	51.4 ± 4.9b	47.8 ± 3.4bc	43.1 ± 4.5c
Total N	g kg ⁻¹	4.7 ± 0.4a	4.5 ± 0.4a	4.2 ± 0.6b	4.4 ± 0.4b
NO_3^- -N	mg kg ⁻¹	32.5 ± 4.8a	13.7 ± 1.0b	9.14 ± 0.9c	14.44 ± 2.1b
NH_4^+ -N	mg kg ⁻¹	39.3 ± 3.2a	21.3 ± 1.8c	18.7 ± 2.7c	28.1 ± 3.1b
Total P	g kg ⁻¹	0.6 ± 0.07a	0.6 ± 0.03a	0.6 ± 0.02a	0.6 ± 0.05a
Available P	mg kg ⁻¹	4.7 ± 0.3a	2.2 ± 0.1b	1.4 ± 0.08c	2.2 ± 0.2b
Total K	g kg ⁻¹	3.6 ± 0.4b	4.2 ± 0.3a	4.1 ± 0.5a	3.8 ± 0.3ab
Available K	mg kg ⁻¹	39.6 ± 2.8a	21.7 ± 1.1b	19.4 ± 3.0c	18.1 ± 2.9c
Water content	%	24.6 ± 2.1a	23.1 ± 2.4a	24.9 ± 1.6a	25.3 ± 1.1a
Water-holding capacity	%	18.4 ± 1.8a	16.8 ± 1.0a	17.2 ± 1.3a	17.7 ± 1.5a

Values are means ± SD. Different letters indicate significant differences between means within a row in Fisher's LSD test at the 0.05 level after ANOVA

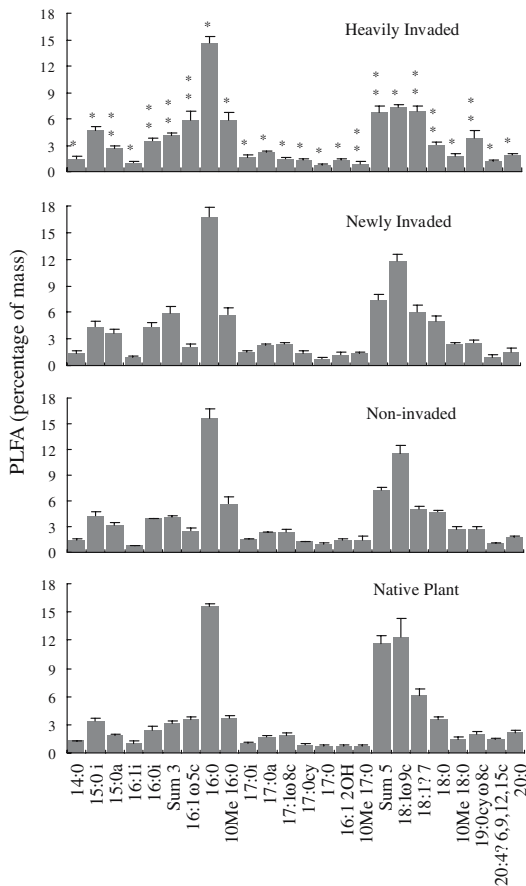


Fig. 1 Presence and proportion of major phospholipid fatty acids (PLFAs) in soil collected from the four sites in the forest of Yunnan Province, China (N:24°42'14.2"–15.5", E:102°52'48.6"–48.9") in August 2005 (means $\pm$ SD). Sum 3 = 16:1 ω 7c + 15:0i 2OH; Sum 5 = 18:2 ω 6,9c + 18:0a. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$

PC analysis of the fatty acid data clearly separated the four sampling sites on the basis of variation of the data (Fig. 3A, PC1 = 46.4%, PC2 = 20.3%). Stepwise DA analysis of PLFA profiles further separated all four kinds of soil and confirmed PC analysis (Fig. 3B, DF1 = 71.5%, DF2 = 22.3%).

Soil biota experiment

In this experiment the effects of soil microorganisms on the growth of *A. adenophora* and three native plant species that coexist with *A. adenophora* were compared. In pots with soil from the heavily invaded site, sterilization improved the

biomass of *L. perenne* by 23%, of *E. fortunei* by 93%, of *M. sativa* by 73%, and of *A. adenophora* by 11% (Fig. 4). Results were similar for soil from the newly invaded site but the effect was less. In pots with soil from the non-invaded site, sterilization improved the biomass of *L. perenne* by 8%, of *E. fortunei* by 15%, of *M. sativa* by 10%, and of *A. adenophora* by 53%, so soil biota in the native plant site inhibited growth of native plant species but promoted growth of *A. adenophora*.

The effect of soil biota on the *A. adenophora* relative dominance index (RDI) was the same for all four sites. Soil biota in the four sites increased *A. adenophora* RDI compared with values for the three native plant species (Fig. 5). In the heavily invaded site soil biota improved *A. adenophora* RDI by 26% when grown with *L. perenne*, 29% when grown with *E. fortunei*, and 31% when grown with *M. sativa*. Soil biota in the non-invaded site increased *A. adenophora* RDI by 3% when grown with *L. perenne*, 2% when grown with *E. fortunei*, and 10% when grown with *M. sativa*. Overall, the factors soil origin and sterilization had significant effects on the performance of *A. adenophora* and the native plant species. The effect of soil origin on total biomass of *L. perenne* and *M. sativa* in monoculture and on *A. adenophora* RDI in the mixture of *A. adenophora* and *M. sativa* was not observed, however. Interactive effects of soil origin and sterilization on *L. perenne* monoculture and on the *A. adenophora* and *L. perenne* mixture were also not significant (Table 4).

Discussion

These results clearly indicate that soil characteristics and soil biota changed after *A. adenophora* invasion. Especially noticeable was the increase in available nutrients (N, P, and K) and soil mutualists (VAM and fungi). Soil biota from the heavily invaded site had a stronger inhibitory effect on the growth of native plant species than on that of *A. adenophora* and enhanced the ability *A. adenophora* to compete in a mixed community. Soil biota in the heavily invaded site had greater beneficial effects on *A. adenophora* RDI (20% higher on average) than soil biota in

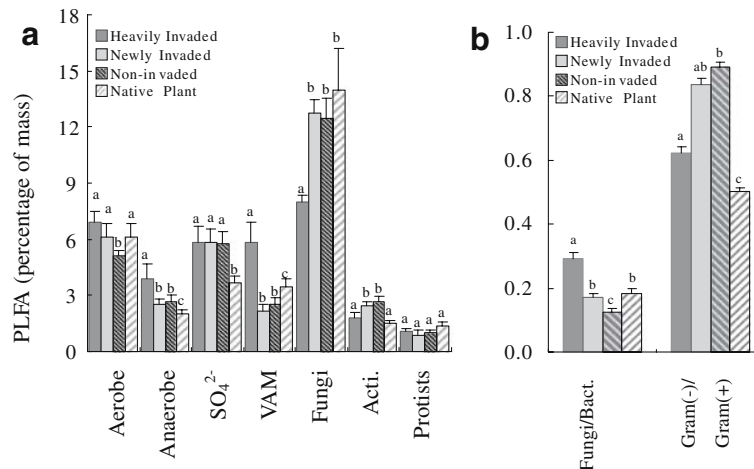
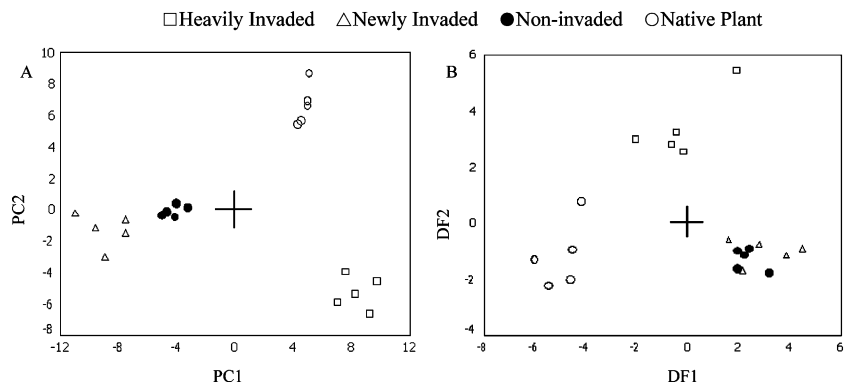


Fig. 2 (a) Class of fatty acids and (b) changes in the main ratio indexes of fatty acids in the four sites in the forest of Yunnan Province, China (N:24°42'14.2"–15.5", E:102°52'48.6"–48.9") in August 2005 (means $\pm$ SD). SO₄²⁻, sulfate-

reducers; VAM, vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi; Acti., Actinomycetes. Different letters represent significant differences in Fisher's LSD test at the 0.05 level after ANOVA

Fig. 3 Plots of microbial community structure of soil from the four sites by principal components and discriminant analysis. PC indicates a principle component, DF indicates a discriminant function, and cross symbols indicate the (0,0) points



the non-invaded site. The alteration of soil microbial communities caused by *A. adenophora* invasion facilitated *A. adenophora* growth and competition and inhibited native plant species.

Ageratina adenophora growth and proliferation caused great loss of soil nutrition in the heavily invaded site. Despite this reduction, plant-available soil nutrients were still present in high abundance in the heavily invaded site. Because the invasion-induced soil biota changes could be translated into altered soil nutrition budgets (Kourtev et al. 1998; Hawkes et al. 2005), we argue that the long-term dominance by *A. adenophora* and its resulting soil biota changes are likely to be responsible for the increase of available N, P, and K in the heavily invaded site, although a direct relationship between altered soil biota and an

increase in available nutrients was not observed in this study. Soil biota in the heavily invaded site had a stronger inhibitory effect on native plants than on *A. adenophora* whereas soil biota from the non-invaded site had stronger inhibitory effects on *A. adenophora* growth than on that of native plants. This opposite effect might be attributed to the shift of soil biota caused by *A. adenophora* invasion. In the native-plant site the native plants experienced negative effects of the soil biota whereas *A. adenophora* did not. For the native plants, host-specific soil patterns probably accumulated in their soils; the soil biota legacy left by native plants had no negative effect on *A. adenophora*.

Interactions between *A. adenophora* and the soil biota from different sites were more complicated than predicted by the enemy release

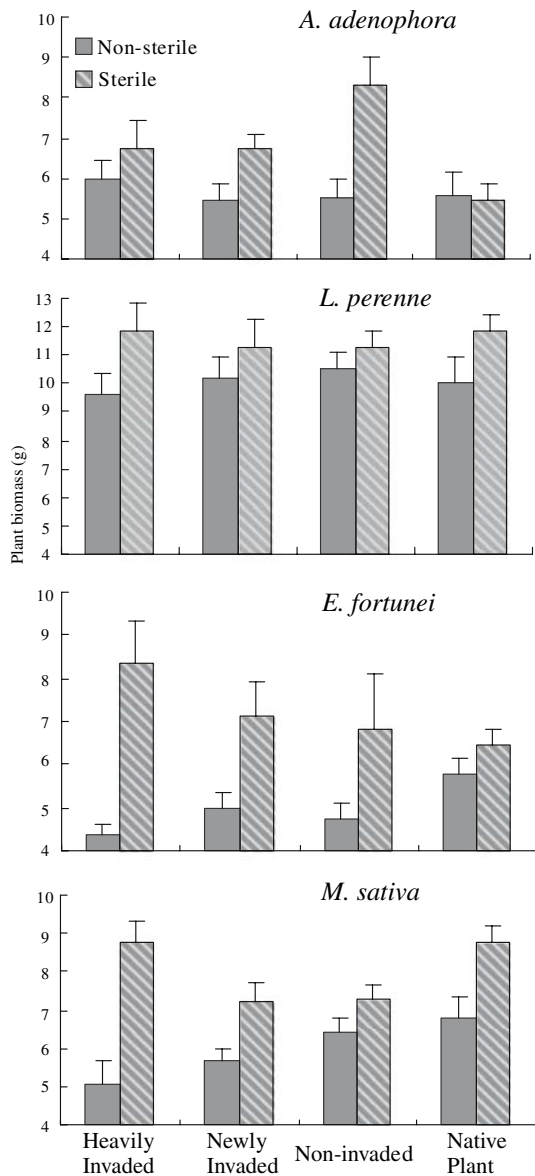


Fig. 4 Comparison of the effect of soil biota on the biomass of *Ageratina adenophora* and three native plant species in soil from the four sites (means $\pm$ SD)

hypothesis (Mitchell and Power 2003; Dewalt et al. 2004). For example, *A. adenophora* seemed to experience inhibitory soil biota in the non-invaded and invaded sites. But the positive effect of soil biota on *A. adenophora* relative dominance in the four sites suggests that soil biota in this area enhanced *A. adenophora* competitive ability that may lead to its displacement of native plant species and rapid proliferation. Possible relation-

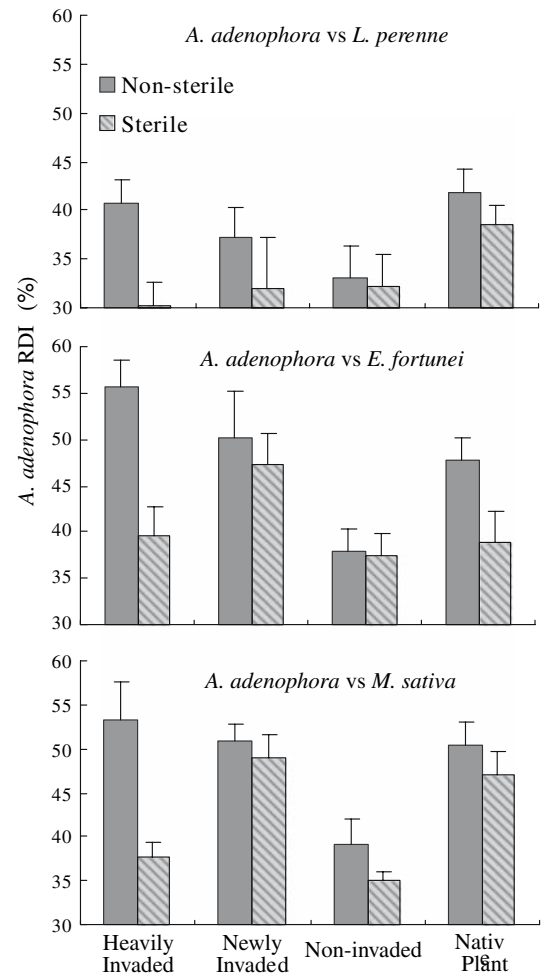


Fig. 5 Effect of soil biota on the relative dominance index (RDI) of *A. adenophora* grown with three native plant species in soils from the four sites (means $\pm$ SD)

ships among exotic plant invasion, soil biota alteration, and soil biota feedback to invasive and native plants needs further study and more discussion (Wolfe and Klironomos 2005; Reinhart and Callaway 2006). Here, a reciprocal triangle relationship is proposed on the basis of these results. The invasive plants altered soil microbial communities in invaded habitat, but the modified soil biota and their resulting effects on plant–soil interaction processes facilitated exotic plants and inhibited native plants; in this way the exotic plants received below-ground benefits in consolidating their territory.

The net effect of the soil microbial communities on plant growth, and not the isolated effect of

Table 4 Summary of ANOVA of the effects on plant biomass and on *A. adenophora* relative dominance index (RDI) of soil origin (heavily invaded, newly invaded, non-invaded, and native plant), sterilization (sterile or non-sterile), and their interaction

Plant	Effect	d.f.	MS	F
<i>A. adenophora</i>	S1	3	4.077	14.856***
	S2	1	16.217	59.089***
	S1 × S2	3	4.428	16.135***
<i>L. perenne</i>	S1	3	0.161	NS
	S2	1	26.344	43.438***
	S1 × S2	3	1.301	NS
<i>E. fortunei</i>	S1	3	3.868	18.417***
	S2	1	49.776	236.989***
	S1 × S2	3	4.476	21.309***
<i>M. sativa</i>	S1	3	0.620	NS
	S2	1	58.853	125.971***
	S1 × S2	3	5.626	12.043***
	Error	72		
<i>A.adenophora</i> and <i>L. perenne</i>	S1	3	0.017	16.446***
	S2	1	0.008	8.289***
	S1 × S2	3	0.004	NS
<i>A.adenophora</i> and <i>E. fortunei</i>	S1	3	0.009	8.672**
	S2	1	0.017	16.776***
	S1 × S2	3	0.005	7.389*
<i>A.adenophora</i> and <i>M. sativa</i>	S1	3	0.001	NS
	S2	1	0.006	5.826**
	S1 × S2	3	0.002	2.898*
	Error	72		

Note: S1, soil origin; S2, sterilization. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$

specific microbial groups, was measured in this study. Different soil biota feedback to *A. adenophora* and native plants observed in this study might, however, be attributed to plant-specific mycorrhizal fungi (because of their having different effects on *A. adenophora* and native plants), nitrogen-fixing bacteria, and other beneficial soil organisms. Our results partly support the view that soil mutualists are important in successful invasion (Richardson et al. 2000; Roberts and Anderson, 2001; Marler et al. 1999), because mycorrhizal fungi were most abundant in the heavily invaded site. Because the identity of the mycorrhizal fungi species and, more importantly, their ecological function, were unknown, further studies are needed.

Previous studies have indicated that biogeographical variation of soil biota between invasive and native ranges and their feedback to

plants are important to the invasiveness of exotic plants (Reinhart and Callaway 2004; Hawkes et al. 2005). This study found that invasion-induced soil biota changes facilitated the re-invasion and dominance of *A. adenophora* and might be used to suppress the establishment of native plants in the invaded area, which adds new understanding to exotic plant invasion. We believe the ability to manipulate soil organisms to their own advantage in the invaders' adopted habitat is also important to successful invasion by exotic plants. In other words, the invasion-induced changes of soil biota are an important aspect of the invasiveness of exotic plants which are used by invaders to favor themselves.

In summary, our study indicated that invasion by *A. adenophora* altered soil chemistry and soil biota in the invaded sites and created conditions that favor *A. adenophora* and inhibit native plant species. We coupled the soil biota modification after invasive plant establishment with the interaction between the invader and native residents and the results suggested that the invasion-induced changes of soil biota may be a below-ground self-reinforced invasion mechanism used by *A. adenophora* in new habitat to facilitate itself and suppress native plants. Although the plant–soil biota feedback experiments used in this study are regarded as an ideal method for assessing plant–soil biota interactions (Bever et al. 1997; Bever 2002, 2003), they do not preclude the importance of other factors, for example soil nutrition and litter dynamics and the production of allelopathic compounds (Vaughn and Berhow 1999; Callaway and Aschehoug 2000; Suding et al. 2004; Vivanco et al. 2004) which can also affect plant–soil biota interactions.

Acknowledgements We thank Dr Li Yan-shan, Yunnan Agricultural University, for assistance with measurement of soil characteristics and our colleague Jiang Zhi-lin for finding experimental sites and for field work. We also thank Dr Jiang Ling-Huo and Dr Imtiaz Khan, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, for reviewing this manuscript. This study was funded by the National Basic Research and Development Programme, China. (2002CB111400) and International Science and Technology Cooperation Programme (2005DFA31090).

References

- Allen EB, Allen MF (1984) Competition between plants of different successional stages: mycorrhizae as regulators. *Can J Bot* 62:2625–2629
- Augspurger CK, Kelly CK (1984) Pathogen mortality of tropical tree seedlings: experimental studies of the effects of dispersal distance, seedling density, and light conditions. *Oecologia* 61:211–217
- Bååth E, Diaz-Raviña M, Frostegård Å, Campbell CD (1998) Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community. *Appl Environ Microb* 64:238–245
- Bao SD (2000) Soil and agricultural chemistry analysis. Chinese Agricultural Press, Beijing, pp 100–109
- Bardgett RD, Hobbs PJ, Frostegård Å (1996) Changes in soil fungal:bacterial ratios following reductions in the intensity of management of an upland grassland. *Biol Fertil Soils* 22:261–264
- Beckstead J, Parker IM (2003) Invasiveness of *Ammophila arenaria*: release from soil-borne pathogens? *Ecology* 84:2824–2831
- Bever JD (2002) Negative feedback within a mutualism: host-specific growth of mycorrhizal fungi reduces plant benefit. *Pro R Soc Lond B* 269:2595–2601
- Bever JD (2003) Soil community feedback and the coexistence of competitors: conceptual frameworks and empirical tests. *New Phytol* 157:465–473
- Bever JD, Westover KM, Antonovics J (1997) Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of the feedback approach. *J Ecol* 85:561–573
- Borga P, Nilsson M, Tunlid A (1994) Bacterial communities in peat in relation to botanical composition as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biol Biochem* 7:841–848
- Brown VK, Gange AC (1989) Herbivory by soil-dwelling insects depresses plant species richness. *Funct Ecol* 3:667–671
- Callaway RM, Aschehoug ET (2000) Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* 290:521–523
- Callaway RM, Newingham B, Zabinski CA, Mahall BE (2001) Compensatory growth and competitive ability of an invasive weed are enhanced by soil fungi and native neighbors. *Ecol Lett* 4:429–433
- Callaway RM, Thelen GC, Barth S, Ramsey PW, Gannon JE (2004a) Soil fungi alter interactions between the invader *Centaurea maculosa* and north American natives. *Ecology* 85:1062–1071
- Callaway RM, Thelen GC, Rodriguez A, Holben WE (2004b) Soil biota and exotic plant invasion. *Nature* 427:731–733
- De Deyn GB, Raaijmakers CE, Van Der Putten WH (2004) Plant community development is affected by nutrients and soil biota. *J Ecol* 92:824–834
- Dewalt SJ, Denslow JS, Ickes K (2004) Natural-enemy release facilitates habitat expansion of the invasive tropical shrub *Clidemia hirta*. *Ecology* 85:471–483
- Drijber RA, Doran JW, Parkhurst AM, Lyond DJ (2000) Changes in soil microbial community structure with tillage under long-term wheat-fallow management. *Soil Biol Biochem* 32:1419–1430
- Duda JJ, Freeman DC, Emlen JM, Belnap J, Kitchen SG, Zak JC, Sobek E, Tracy M, Montante J (2003) Difference in native soil ecology associated with invasion of exotic annual chenopod, *Halogeton glomeratus*. *Biol Fertil Soils* 38:72–77
- Frostegård Å, Bååth E (1996) The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biol Fertil Soils* 22:59–65
- Frostegård Å, Bååth E, Tunlid A 1993a Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biol Biochem* 25:723–730
- Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E 1993b Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. *Appl Environ Microb* 59:3605–3617
- Garbaye J (1994) Tansley review no. 76 helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol* 128:197–210
- Grayston SJ, Griffith GS, Mawdsley JL, Campbell C D, Bardgett RD (2001) Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biol Biochem* 33:533–551
- Hawkes CV, Wren IF, Herman DJ, Firestone MK (2005) Plant invasion alters nitrogen cycling by modifying the soil nitrifying community. *Ecol Lett* 8:976–985
- Hierro JL, Maron JL, Callaway RM (2005) A biogeographical approach to plant invasions: the importance of studying exotics in their introduced and native range. *J Ecol* 93:5–15
- Hill GT, Mitkowski NA, Aldrich-Wolfe L, Emele LR, Jurkonie DD, Ficke A, Maldonado-Ramirez, Lynch ST, Nelson EB (2000) Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Appl Soil Ecol* 15:25–36
- Horiuchi J, Prithiviraj B, Kimball BA, Vivanco JM (2005) Soil nematodes mediate positive interactions between legume plants and *Rhizobium* bacteria. *Planta* 222:848–857
- Klironomos JN (2002) Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature* 417:67–70
- Knevel IC, Lans T, Menting FBJ, Hertling UM, van der Putten WH (2004). Release from native root herbivores and biotic resistance by soil pathogens in a new habitat both affect the alien *Ammophila arenaria* in South Africa. *Oecologia* 141:502–510
- Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Häggblom M (2003) Experimental analysis of the effect of exotic and native plant species on the structure and function of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem* 35:895–905
- Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Häggblom M (2002) Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology* 83:3152–3166
- Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Huang WZ (1998) Effects of exotic plant species on soil properties in hardwood forests of New Jersey. *Water Air Soil Poll* 105:493–501
- 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 Soil 281:309–324
- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M, Bazzaz FA (2000) Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. Ecol Appl 10:689–710
- Marler MJ, Zabinski CA, Callaway RM (1999) Mycorrhizae indirectly enhance competitive effects of an invasive forb on a native bunchgrass. Ecology 80:1180–1186
- Mills KE, Bever JD (1998) Maintenance of diversity within plant communities: soil pathogens as agents of negative feedback. Ecology 79:1595–1601
- Mitchell CE, Power AG (2003) Release of invasive plants from fungal and viral pathogens. Nature 421:625–627
- Myers J H, Bazely R (2003) Appendix-Some tools for studying plant populations. In Ecology and control of introduced plants. Cambridge University Press, pp 255
- Olsen S R, Sommers L E (1982) Phosphorus. In: Page AL, Miller RH, Keeney DR (eds) Methods of soil analysis, Part 2. Am Soc Agron, Soil Sci. Soc. Am, Madison, Wisconsin, pp 403–430
- Olsson S, Alström S (2000) Characterization of bacteria in soils under barley monoculture and crop rotation. Soil Biol Biochem 32:1443–1451
- Packer A, Clay K (2000) Soil pathogens and spatial patterns of seedling mortality in a temperate tree. Nature 404:278–281
- Packer A, Clay K (2002) Soil pathogens and *Prunus serotina* seedlings and sapling growth near conspecific trees. Ecology 84:108–119
- Qiang S (1998) The history and status of the study on Crofton weed (*Eupatorium* Spreng.): A worst worldwide weed. J Wuhan Botl Res 16(4):366–372
- Reinhart KO, Callaway RM (2004) Soil biota facilitate exotic *Acer* invasions in Europe and north America. Ecol Appl 14:1737–1745
- Reinhart KO, Callaway RM (2006) Soil biota and invasive plants. New Phytol 170:445–457
- Reinhart KO, Packer A, van der Putten WH, Clay K (2003) plant–soil biota interactions and spatial distribution of black cherry in its native and invasive ranges. Ecol Lett 6:1046–1050
- Reinhart KO, Royo AA, van der Patten WH, Clay K (2005) Soil feedback and pathogen activity in *Prunus serotina* throughout its native range. J Ecol 93:890–898
- Reynolds HL, Packer A, Bever JD, Clay K (2003) Plant–microbe–soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics. Ecology 84:2281–2291
- Richardson DM, Allsopp N, D'Antonio CM, Milton SJ, Rejmanek M (2000) Plant invasions—the role of mutualisms. Biol Rev Camb Philos Soc 75:65–93
- Roberts KJ, Anderson RC (2001) Effect of garlic mustard (*Alliaria petiolata*) extracts on plants and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. Am Midl Nat 146:146–152
- Suding KN, LeJeune KD, Seastedt TR (2004) Competitive impacts and responses of an invasive weed: dependencies on nitrogen and phosphorus availability. Oecologia 141:526–535
- Sun XY, Lu ZH, Sang WG (2004) Review on studies of *Eupatorium adenophorum*—an important invasive species in China. J Fore Res 15:319–322
- van der Putten WH (2001) Interactions of plants, soil pathogens and their antagonists in natural ecosystems. In: Jeger MJ, Spence NJ (eds) Biotic interactions in plant–pathogen associations. CAB International, New York, USA, pp 285–305
- van der Putten WH, Dijk CV, Peters AM (1993) Host-specific soil-borne diseases contribute to succession in foredune vegetation. Nature 362:53–56
- Vaughn SF, Berhow MA (1999) Allelochemicals isolated from tissues of the invasive weed garlic mustard (*Alliaria petiolata*). J Chem Ecol 25:2495–2504
- Vestal JR, White DC (1989) Lipid analysis in microbial ecology. BioScience 39:535–541
- Vitousek PM, Walker LR, Whiteaker LD, Mueller-Dombois D, Matson PA (1987) Biological invasion by *Myrica faya* alters ecosystem development in Hawaii. Science 238:802–804
- Vivanco JM, Bais HP, Stermitz FR, Thelen GC, Callaway RM (2004) Biogeographical variation in community response to root allelochemistry: novel weapons and exotic invasion. Ecol. Lett. 285–292
- Waldrop MP, Balser TC, Firestone MK (2000) Linking microbial community composition to function in a tropical soil. Soil Biol Biochem 32:1837–1846
- Wang JJ (2005) *Ageratina adenophora* (Spreng.). In: Wan FH, Zheng XB, Guo JY (eds) Biology and management of invasive alien species in agriculture and forestry. Science Press, Beijing, pp 651–661
- Westover KM, Bever JD (2001) Mechanisms of plant species coexistence: complementary roles of rhizosphere bacteria and root fungal pathogens. Ecology 82:3285–3294
- White DC, Davis WM, Nickels JS, King JD, Bobbie RJ (1979) Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate. Oecologia 40:51–62
- Wolfe BE, Klironoms JN (2005) Breaking new ground: soil communities and exotic plant invasion. BioScience 55:477–493
- Yang GQ, Wan FH, Liu WX, Zhang XW (2006) Physiological effects of allelochemicals from leachates of *Ageratina adenophora* (Spreng.) on rice seedlings. Allelopathy J 18:237–246
- Yao H, He Z, Wilson MJ, Campbell CD (2000) Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use. Microbial Ecol 40:223–237
- Zelles L (1999) Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities: a review. Biol Fertil Soils 29:111–129