

紫茎泽兰入侵对土壤细菌的群落组成和多样性的影响

朱珣之^{1,2} 李 强¹ 李扬苹³ 韩洪波⁴ 马克平^{2*}

1 (江苏科技大学生物技术学院, 江苏镇江 212018)

2 (中国科学院植物研究所植被与环境变化国家重点实验室, 北京 100093)

3 (中国科学院西双版纳热带植物园热带森林生态重点实验室, 云南昆明 650223)

4 (攀枝花学院生物与化学工程学院, 四川攀枝花 617000)

摘要: 外来生物入侵可能对生物群落结构和生态系统功能产生多种影响, 但入侵植物与土壤微生物群落组成和多样性的关系尚不清楚。为了揭示外来植物紫茎泽兰(*Eupatorium adenophorum*)入侵对土壤化学性质和细菌群落组成及多样性的影响, 本研究利用第二代高通量测序技术, 比较了紫茎泽兰不同入侵程度的生境(本地植物群落、紫茎泽兰与本地植物混生群落、紫茎泽兰单优群落)土壤中细菌群落的差异。土壤化学性质分析表明, 土壤pH值、有机质、全N和全K随着紫茎泽兰的入侵而逐渐降低, 而土壤全P则在入侵程度最高的生境土壤中最高。通过测序共获得7,755个细菌OUT (operational taxonomic unit)。结果表明, 紫茎泽兰入侵对土壤的细菌多样性影响较小, ACE和Chao指数在3种不同生境间的差异不显著。细菌在紫茎泽兰与本地植物混生群落中的Shannon指数最低, 即细菌的多样性在中等入侵程度的生境最低。此外, 紫茎泽兰入侵改变了土壤细菌组成和结构, 酸杆菌门(Acidobacteria)和疣微菌门(Verrucomicrobia)的相对丰度, 从本地植物群落、混合群落到紫茎泽兰单优群落, 呈现出先增加后减少的趋势。可见, 紫茎泽兰入侵一定程度上改变了土壤微生物的多样性和群落结构, 并改变了土壤的化学性质。

关键词: 植物入侵, *Eupatorium adenophorum*, 高通量测序, 土壤细菌, 生物多样性

Eupatorium adenophorum invasion alters soil bacterial community and diversity

Xunzhi Zhu^{1,2}, Qiang Li¹, Yangping Li³, Hongbo Han⁴, Keping Ma^{2*}

1 College of Biotechnology, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang, Jiangsu 212018

2 State Key Laboratory of Vegetation and Environmental Change, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093

3 Key Laboratory of Tropical Forest Ecology, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming, Yunnan 650223

4 School of Biological and Chemical Engineering, Panzhihua University, Panzhihua, Sichuan 617000

Abstract: The invasion of alien species can affect biological community structure and ecosystem functioning, but the relationships between invasive plants and soil microbial composition and diversity are still unclear. In order to examine the effect of the invasion of an exotic plant *Eupatorium adenophorum* on soil chemical properties and microbial community structure and diversity, we compared the differences in soil microbial community of three communities with different densities of *E. adenophorum* (native plant community, *E. adenophorum* and native plant mixed community, and *E. adenophorum* dominated community) by high-throughput sequencing. Analysis of soil chemical properties showed that soil pH, organic matter, total nitrogen and total potassium decreased with increasing invasion of *E. adenophorum*. However, total phosphorus was highest in the most heavily invaded soil. The high-throughput sequencing results showed that there were 7,755 soil microbial OTUs (operational taxonomic unit) in total. The invasion of *E. adenophorum*

收稿日期: 2015-02-03; 接受日期: 2015-04-18

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(31300466; 31100410)和江苏省自然科学基金青年项目(BK20130461)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: kpma@ibcas.ac.cn

did not exert heavy impacts on soil microbial diversity. ACE index and Chao index showed no significant differences among the three different communities. However, soil microbial diversity of the mixed community of *E. adenophorum* and native plant species showed the lowest Shannon index. The relative abundances of Acidobacteria and Verrucomicrobia in the medium invaded community were the highest. In sum, the invasion of *E. adenophorum* altered the diversity and structure of soil microbial communities, and changed the soil chemical properties.

Key words: plant invasion, *Eupatorium adenophorum*, high throughput sequencing, soil bacteria, biodiversity

随着全球化进程的加快,越来越多的生物越过原有的生物地理屏障到达新的地区,成为外来入侵种,对当地生态系统构成威胁甚至造成危害。生物入侵不仅造成生物多样性的丧失、濒危物种的灭绝以及生态系统结构和功能的破坏,同时也使农林业生产和社会经济蒙受巨大损失(Lonsdale, 1999; Alpert *et al.*, 2000; Mack *et al.*, 2000)。随着对生物入侵问题研究的深入,外来物种对入侵地生物群落和生态系统的生态学效应成为研究热点(吴昊和丁建清, 2014)。对生物入侵过程的研究有助于进一步理解物种之间直接或间接的相互作用,进而了解群落构建机制及生态系统功能。

菊科植物紫茎泽兰(*Eupatorium adenophorum*)是我国危害最为严重的外来入侵种之一,原产于中美洲的墨西哥和哥斯达黎加一带,现广泛分布于我国西南地区,并有进一步扩张的趋势,对当地生态环境、农牧业生产和人畜健康构成了严重威胁(鲁萍等, 2005)。目前关于紫茎泽兰的研究大多集中在分布区预测、入侵机理和防除策略方面,而关于紫茎泽兰对生态系统的影响知之甚少(鲁萍等, 2005)。研究发现,紫茎泽兰的入侵程度和所在群落的植物多样性显著相关(Lu & Ma, 2005)。紫茎泽兰入侵对土壤理化性质及丛枝菌根真菌有明显影响(于文清等, 2012)。入侵地的土壤微生物在外来植物入侵过程中可能起到促进作用(Callaway *et al.*, 2004; Inderjit & Putten, 2010),其作用和机理倍受关注。紫茎泽兰入侵可以通过改变土壤微生物的群落结构和提高土壤肥力,从而形成自我促进式的入侵机制(Niu *et al.*, 2007; 牛红榜等, 2007; Li *et al.*, 2009)。但紫茎泽兰入侵对土壤细菌的影响及其反馈效应有待研究。

高通量测序技术(high-throughput sequencing)具有高通量、高灵敏度以及低运行成本等特点,已被广泛应用于土壤微生物多样性研究(Urich *et al.*,

2008; Teixeira *et al.*, 2010),是精细化研究土壤微生物群落结构的有效方法。本文采用新一代高通量测序方法,通过比较分析紫茎泽兰入侵过程中土壤细菌群落组成的差异,探索紫茎泽兰入侵的微生物生态学机制,从而为外来植物入侵的防控提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料采集

取样地点位于中国西南地区的四川省攀枝花市(101°08′–102°15′ E, 26°05′–27°21′ N)。该地处于金沙江、雅砻江交汇处,属亚热带干旱河谷气候,具有明显的干季和雨季,是紫茎泽兰入侵最为严重的地区之一。参考于文清等(2012)的方法,在具有相似的地貌与地形特征、相似的土壤起源和土壤类型,以及人畜干扰较少的常绿落叶阔叶混交林内,选择面积约100 m × 300 m,具有本地植物群落、紫茎泽兰与本地植物混生群落、紫茎泽兰单优群落构成的斑块镶嵌的入侵生境。该生境自近二、三十年来被紫茎泽兰入侵,群落的主要木本植物组成为滇青冈(*Cyclobalanopsis plaucoides*)、滇石栎(*Lithocarpus dealbatus*)、润楠(*Machilus pingii*)、爆仗杜鹃(*Rhododendron spinuliferum*)、桤木(*Alnus cremastogyne*)、油茶(*Camellia oleifera*)、构树(*Broussonetia papyrifera*)、乌药(*Lindera strychnifolia*)等。其中,紫茎泽兰盖度在紫茎泽兰单优群落中为90%以上,在紫茎泽兰与本地植物混生群落中在60%左右,在本地植物群落中小于10%。在这3个群落类型内,分别随机选取4个1 m × 1 m的小样方,样方之间的距离为15 m以上,同时毗邻群落样方间的距离大于20 m。于2014年1月,去除小样方内的地表植被和枯枝落叶,利用四分法采集4个小样方内表层0–10 cm的新鲜土壤,立即过2 mm筛以去除石子和碎根,共得到12个土壤样品,带回实验室放入–80℃冰箱保存。

1.2 土壤样品的化学分析

将上述12个土壤样品, 每份样品取100 g, 分别风干、研碎、除去石子和细根, 过2 mm筛后备用。土壤pH用电极法测定, 土壤悬浊液为土水比1:2.5(质量比); 土壤有机质采用重铬酸钾法测定; 土壤全N利用凯式定氮法; 土壤全P利用浓HClO₄和浓H₂SO₄(10 : 1, 体积比)消煮-分光光度计比色法; 土壤全K用氢氟酸-高氯酸溶液消煮、火焰光度法测定。

1.3 土壤DNA的提取和纯化

使用OMEGA公司E.Z.N.A Soil DNA试剂盒抽提土壤样品总基因组DNA。利用1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组DNA总量和完整性, 并利用DNA浓度测定仪(NanoDrop)检测DNA纯度。

1.4 细菌16S rDNA的PCR扩增

以纯化后的DNA为模板, 以细菌16S rDNA V1-3 区通用引物(27F: 5'-AGAGTTTGATCC-TGGCTCAG-3', 533R: 5'-TTACCGCGGCTGCT-GGCAC-3') PCR扩增16S rDNA的V1-3区片段。采用TransGen AP221-02 PCR反应体系: TransStart Fastpfu DNA Polymerase, 20 μL反应体系: DNA模板10 ng, 上、下游引物(5 μM)各0.4 μL, dNTP (2.5 mM) 2 μL, FastPfu Polymerase 0.4 μL, 5×FastPfu buffer 4 μL, 补充ddH₂O至20 μL。PCR扩增程序为: 95℃预变性2 min; 95℃变性30 s、55℃退火30 s, 72℃延伸45 s, 30个循环; 最后于72℃延伸10 min。全部样品按照以上实验条件进行, 每个样品3个重复, 将同一样品的PCR产物混合后用2%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.5 荧光定量

使用AxyPrepDNA凝胶回收试剂盒(AXYGEN公司)切胶回收PCR产物, Tris-HCl洗脱; 2%琼脂糖电泳检测。参照电泳初步定量结果, 将PCR产物用QuantiFluor™-ST蓝色荧光定量系统(Promega公司)进行检测定量, 之后按照每个样品的测序量要求, 进行相应比例的混合。

1.6 Miseq文库构建

样品质检合格之后, 构建测序文库, 其步骤分为: (1)连接“Y”字形接头; (2)使用磁珠筛选去除接头自连片段; (3)利用PCR扩增进行文库模板的富集; (4)氢氧化钠变性, 产生单链DNA片段。

1.7 Miseq测序

利用Illumina公司的Miseq PE300平台进行测序

(由上海美吉生物医药科技有限公司提供)。步骤如下: (1)DNA片段的一端与引物碱基互补, 固定在芯片上; (2)另一端随机与附近的另外一个引物互补, 也被固定住, 形成“桥(bridge)”; (3) PCR扩增, 产生DNA簇; (4) DNA扩增子线性化成为单链; (5)加入改造过的DNA聚合酶和带有4种荧光标记的dNTP, 每次循环只合成1个碱基; (6)用激光扫描反应板表面, 读取每条模板序列第一轮反应所聚合上去的核苷酸种类; (7)将“荧光基团”和“终止基团”化学切割, 恢复3'端粘性, 继续聚合第2个核苷酸; (8)统计每轮收集到的荧光信号结果, 获知模板DNA片段的序列。

1.8 数据分析

Miseq测序得到的PE reads首先根据overlap关系进行拼接, 同时对序列质量进行质控和过滤。由于不同样本间的reads数不同, 因此在分析多样性和群落组成前, 先依据最低reads数进行标准化。区分样品后进行OTU(operational taxonomic unit)聚类分析和物种分类学分析, 基于OTU进行物种多样性指数分析。基于分类学信息, 在各个分类水平上进行群落结构的统计分析。在上述分析的基础上, 进行一系列群落结构和系统发育等的统计学和可视化分析。

1.8.1 测序数据处理与优化

Miseq测序序列需要得到的双端序列数据首先根据PE reads之间的overlap关系, 将成对的reads拼接(merge)成一条序列, 同时对reads的质量和merge的效果进行质控过滤, 并根据序列末端的box序列校正序列方向, 然后按照barcode标签序列识别并区分样品得到有效数据。具体步骤为: (1)过滤read尾部质量值20以下的碱基, 设置50 bp的窗口, 如果窗口内的平均质量值低于20, 从窗口开始截去后端碱基, 过滤质控后50 bp以下的read; (2)根据PE reads之间的overlap关系, 将成对reads拼接成一条序列, 最小overlap长度为10 bp; (3)拼接序列的overlap区允许的最大错配比率为0.2, 筛选不符合序列; (4)检测序列末端box序列, 最小错配数为0, 将起始端包含box的序列进行反向互补, 并去除box; (5)检测序列上的barcode并区分样品, barcode错配数为0, 最大引物错配数为2。

1.8.2 OTU聚类与分类学分析

OTU是通过免培养手段研究环境中的微生物

物种结构时,根据系统发育标识分子序列同源性定义的分类学单位。通常将16S rRNA基因同源性97%作为定义细菌“种”的标准。

为了得到每个OTU对应的物种分类信息,采用RDP classifier贝叶斯算法对97%相似水平的OTU代表序列进行分类学分析,并在各个分类水平统计每个样品的群落组成。比对分类使用SILVA数据库(Quast *et al.*, 2013)。此外,分类学数据库中会出现一些谱系中间等级没有科学名称,以norank作为标记。分类学比对后根据置信度阈值的筛选,会有某些分类谱系在某一分类级别分值较低,在统计时以unclassified标记。

从SILVA rDNA数据库中获得的Ref SSU(small subunit)数据库能够提供近乎全长16S rDNA参考序列。从全长的16S rDNA序列中切割出高变区序列,形成本研究中用于16S rDNA注释高变区数据库。数据库的物种分类信息来源于Entrezgenomes、RDP、SILVA、EMBL等数据库。每个样品中被注释的标签序列按照界、门、纲、目、科、属、种进行等级分类统计。

1.8.3 多样性分析与稀疏曲线

通过对单个样品中物种多样性的分析(α 多样性)可以反映细菌群落的丰度和多样性(Kemp & Aller, 2004),包括Chao值(<http://www.mothur.org/wiki/Chao>)、ACE值(<http://www.mothur.org/wiki/Ace>)、Shannon以及Simpson指数等一系列统计学分析(Keylock, 2005; Schloss *et al.*, 2011),估计环境群落的物种丰度和多样性。利用mothur v.1.35.1软件(<http://www.mothur.org/>)计算样品的 α 多样性值。

稀疏曲线(rarefaction curve)(Katherine *et al.*, 2013)是从样本中随机抽取一定数量的个体,统计

这些个体所代表的物种数目,并以个体数与物种数来构建曲线。它可以来说明样本的测序数据量是否合理。采用对序列进行随机抽样的方法,以抽到的序列数与它们所能代表OTU的数目构建曲线,当曲线趋向平坦时,说明测序数据基本覆盖了样品中的物种。因此,通过稀疏度分析可得出样品的测序深度。本研究使用97%相似度的OTU,利用mothur做rarefaction分析,利用R语言工具(版本2.11.1)做出稀疏曲线。

2 结果

2.1 土壤化学性质

土壤养分的化学分析显示(表1),本地植物群落、紫茎泽兰与本地植物混生群落和紫茎泽兰单优群落的土壤pH平均呈酸性,且随着入侵程度的增加而降低,土壤全N、土壤有机质和全K的平均值都随入侵程度的增加而逐渐降低。但是全P在紫茎泽兰单优群落中最高,达到5,659 mg/kg;在紫茎泽兰与本地植物混生群落中最低,为747 mg/kg;而在本地植物群落中的平均值介于上述两者之间,为1,257 mg/kg。

2.2 高通量序列生物信息学分析

对12个样品进行高通量测序,共产生200.76 Mb干净数据,经过拼接和过滤处理后,获得16S rDNA标签序列,并根据97%的序列相似性划为不同的OTU。通过测序共获得7,755个细菌OTU。本地植物土壤的细菌群落数最高,4个样品平均含3,146个OTU;本地植物与紫茎泽兰土壤的混生群落次之,为2,951个OTU;紫茎泽兰单优群落最低,平均只有2,855个OTU。

2.3 细菌多样性

样品的 α 多样性分析显示(图1),本地植物群落

表1 各样地的土壤化学性质比较。其中样品符号E、D和R分别表示本地植物群落、紫茎泽兰与本地植物混生群落和紫茎泽兰单优群落;图中数字表示平均值 $\pm$ 标准误;不同字母表示不同土壤该指标差异显著($P < 0.05$, LSD test)

Table 1 The chemical properties of soil in different sites. E, D, R represent samples from native plant community, *Eupatorium adenophorum* and native plant mixed community, and *E. adenophorum* dominated community. Values (mean $\pm$ SE) followed by different letters in the same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level.

样品 Sample	pH	全N Total N (%)	有机质 Organic matter (%)	全P Total P (mg/kg)	全K Total K (%)
E	6.03 $\pm$ 0.19 ^a	0.337 $\pm$ 0.131 ^a	7.93 $\pm$ 3.06 ^a	1,256.75 $\pm$ 249.93 ^a	1.76 $\pm$ 0.08 ^a
D	5.67 $\pm$ 0.26 ^{ac}	0.256 $\pm$ 0.026 ^a	6.58 $\pm$ 0.86 ^a	747.00 $\pm$ 24.76 ^a	1.42 $\pm$ 0.13 ^b
R	5.18 $\pm$ 0.10 ^{bc}	0.250 $\pm$ 0.069 ^a	5.25 $\pm$ 1.60 ^a	5,659.00 $\pm$ 615.13 ^b	0.62 $\pm$ 0.08 ^c

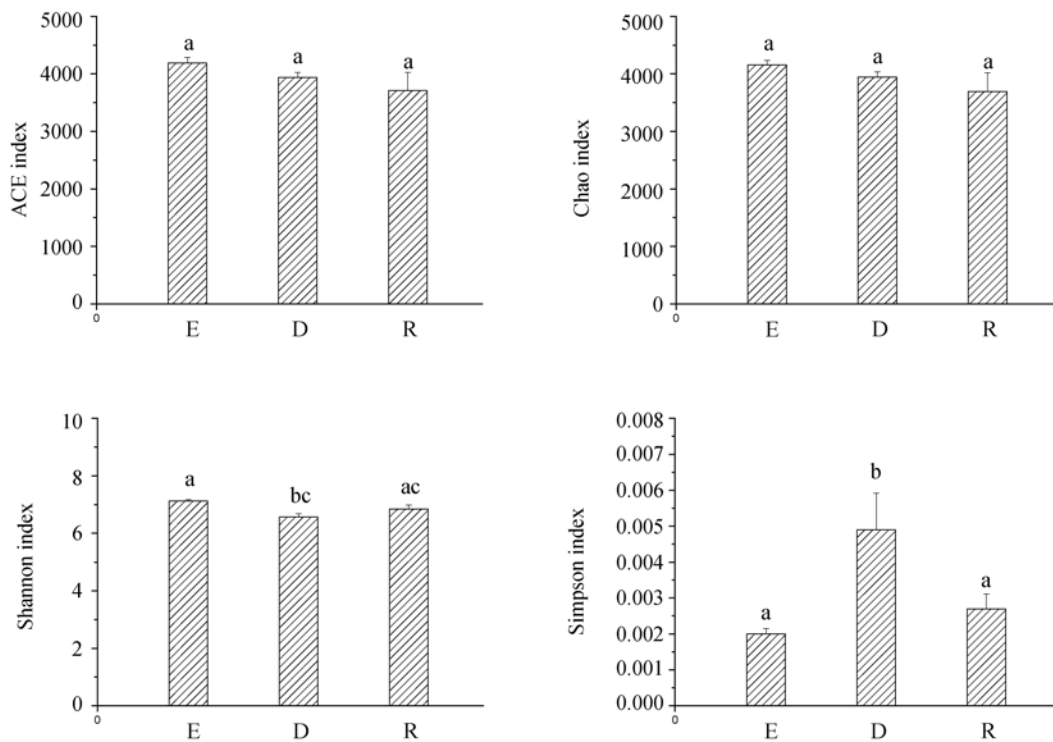


图1 样品在遗传距离0.03下的 α 丰富度。其中样品符号的字母E、D和R分别表示本地植物群落、紫茎泽兰与本地植物混生群落和紫茎泽兰单优群落。

Fig. 1 Alpha diversity for different samples obtained at genetic distances of 0.03. The letters E, D, R represent samples from native plant community, *Eupatorium adenophorum* and native plants mixed habitat, and *E. adenophorum* dominated habitat.

4个土样的ACE平均值为4,190, 本地植物与紫茎泽兰混生群落平均值为3,939, 而紫茎泽兰单优群落的平均值为3,711。3种不同群落土壤的细菌多样性Chao指数平均值分别为4,157(本地植物群落)、3,941(混生群落)、3,693(紫茎泽兰单优群落)。多重比较的结果显示, 这两个指数在3种生境间差异均不显著(图1)。从平均数可以看出, 紫茎泽兰密度越大的地方, 土壤细菌物种丰富度越小。

由图1可见, 本地植物群落的Shannon指数最高, 平均为7.12; 混生群落的Shannon指数最低, 平均为6.57; 紫茎泽兰单优群落居中, 平均为6.85。对Simpson指数而言, 本地群落最低, 均值为0.002; 混生群落最高, 均值为0.005; 紫茎泽兰单优群落居中, 均值为0.003。可见, 以这两种多样性指数计算的结果相似, 均为本地植物群落土壤的细菌多样性最高, 混生群落土壤细菌多样性最低, 而紫茎泽兰单优群落土壤细菌多样性在二者之间(图1)。

样品稀疏曲线(图2)显示, 12条曲线还未达到平

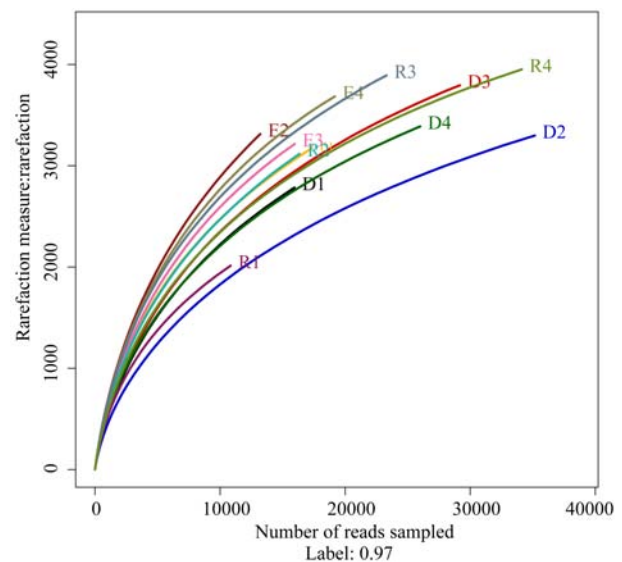
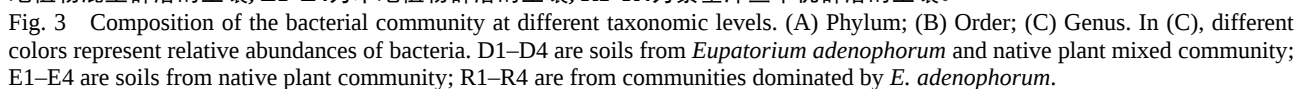


图2 样品在遗传距离0.03下的稀疏曲线

Fig. 2 The rarefaction of different samples obtained at the genetic distances of 0.03



台期, 表明即使通过高通量测序技术, 还有大量的土壤细菌没有测出。

2.4 菌群结构和组成分析

图3A显示, 12个土壤样品都具有丰富的物种, 在门的水平归类的细菌均达到了80%以上。其中, 数量最多的5个门, 即酸杆菌门、蛋白菌门、放线菌门、绿弯菌门和浮霉菌门共计占60%以上。12个样品中所测到的门的数量相似, 但不同门所占的比例不同。尤其是紫茎泽兰与本地植物混生群落的土壤中, 酸杆菌门和疣微菌门的相对比例比本地植物群落和紫茎泽兰单优群落都要高。

图3B显示了比例最高的5个目: 浮霉菌目、根瘤菌目、酸杆菌目、Chthoniobacterales和纤维杆菌目。其中, 酸杆菌目在紫茎泽兰与本地植物的混生群落土壤中, 以及紫茎泽兰单优群落土壤中的相对比例显著高于本地植物土壤。类似的还有纤维杆菌目, 其在紫茎泽兰入侵的土壤中的相对比例均高于本地植物土壤。

取前100个OTU, 作出属水平的12个样品的“热图”(heatmap, 图3C)。该图详细给出了12个样品中的细菌属的丰度信息, 其中uncultured和unclassified占的比例最大。从中可以看出, *Candidatus*、*Entotheonella*、小月菌属(*Microlunatus*)和*Rhodobium*均随紫茎泽兰入侵程度增加而递减。也就是说, 紫茎泽兰的入侵使得某些种类的细菌数量减少。

主成分分析结果(图4)显示, 2个主因子PC1和PC2的特征值之和达到总方差的79.35%, 其中PC1因子的特征值达到总方差的62.51%。本地植物群落的土壤细菌样品能很好地聚集在一起, 说明4个样品间土壤细菌组成相近。对于本地植物与紫茎泽兰混生群落以及紫茎泽兰单优群落, 虽然它们各自的4个样本也能很好地聚集在一起, 但彼此之间还是相距较远, 这说明不论入侵程度如何, 紫茎泽兰都改变了入侵地土壤细菌群落, 并且改变的方向有所不同。总之, PCA分析很好地显示了紫茎泽兰入侵给当地土壤细菌群落带来的影响。

3 讨论

紫茎泽兰的入侵能够部分改变入侵地土壤的细菌多样性。ACE和Chao指数随着紫茎泽兰的入侵程度增加并无显著变化; 而Shannon指数为本地植物群落土壤最高, 混生群落土壤细菌多样性最低,

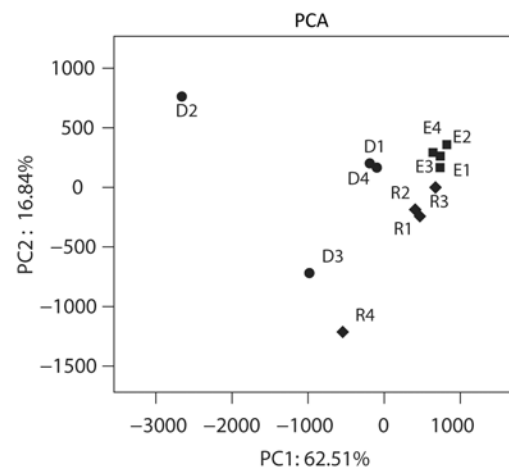


图4 基于OTU数据的不同土壤细菌群落的主成分分析

Fig. 4 Principal Component Analysis (PCA) of all microbial communities base on OTU data

而紫茎泽兰单优群落土壤在二者之间。Simpson指数则与Shannon指数刚好相反。本研究的结果暗示着紫茎泽兰入侵后期, 即在紫茎泽兰取代本地植物形成单优群落后, 土壤细菌的群落结构表现出一定的恢复趋势。

在门水平上, 酸杆菌门和疣微菌门的相对丰度, 从本地植物群落、混合群落到紫茎泽兰单优群落, 呈现出先升高后降低的趋势; 而放线菌门、拟杆菌门和芽单胞菌门的相对丰度则显示出先降低后升高的趋势(图3A)。已有研究表明, 酸杆菌门是新近基于分子生态学研究划分的新细菌类群, 广泛存在于自然界各种环境中, 约占土壤细菌类群的5~46%, 可能是健康土壤的指示菌(Ellis et al., 2003); 放线菌门多是土壤正常菌群。从PCA分析结果也可看到, 紫茎泽兰的单优群落比混合群落距离本地群落更近(图4), 这表明单优群落与本地植物群落的土壤细菌群落结构更相似。总之, 紫茎泽兰入侵破坏了土壤细菌组成和结构, 使某些细菌种类减少。主成分分析(PCA)能够很好地反映细菌组成和结构的变化。此外, 土壤化学性质分析表明, 土壤pH、有机质、全N、全K均随着紫茎泽兰的入侵而逐渐降低, 推测土壤细菌群落结构与紫茎泽兰入侵后土壤理化性质变化有关。

相对于传统的手段, 高通量测序技术大大拓展了微生物的研究范围。以往的研究大多集中在考察某类特定微生物对外来入侵的响应, 如于文清等

(2012)研究了紫茎泽兰入侵对丛枝菌根真菌(AMF)群落的影响,发现入侵降低了本地植物AMF的侵染率。Niu等(2007)利用传统的培养基法,发现在紫茎泽兰重度入侵区的土壤真菌、自生固氮菌、氨氧化细菌的数量均较高。Yu等(2005)利用微生物Biolog实验考察了紫茎泽兰重度入侵和轻度入侵地的土壤微生物的代谢特征,结果显示两个样地的土壤微生物群落存在显著差异,证实了植物入侵对土壤微生物的影响。

参考文献

- Alpert P, Bone E, Holzappel C (2000) Invasiveness, invasibility and the role of environmental stress in the spread of non-native plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **3**, 52–66.
- Amato KR, Yeoman CJ, Kent A, Righini N, Carbonero F, Estrada A, Gaskins HR, Stumpf RM, Yildirim S, Torralba M, Gillis M, Wilson BA, Nelson KE, White BA, Leigh SR (2013) Habitat degradation impacts black howler monkey (*Alouatta pigra*) gastrointestinal microbiomes. *The ISME Journal*, **7**, 1344–1353.
- Callaway RM, Thelen GC, Rodriguez A, Holben WE (2004) Soil biota and exotic plant invasion. *Nature*, **427**, 731–733.
- Ellis RJ, Morgan P, Weightman AJ, Fry JC (2003) Cultivation-dependent and -independent approaches for determining bacterial diversity in heavy-metal contaminated soil. *Applied and Environmental Microbiology*, **69**, 3223–3230.
- Inderjit, van der Putten WH (2010) Impacts of soil microbial communities on exotic plant invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, **25**, 512–519.
- Kemp PF, Aller JY (2004) Bacterial diversity in aquatic and other environments: what 16S rDNA libraries can tell us. *FEMS Microbiology Ecology*, **47**, 161–177.
- Keylock CJ (2005) Simpson diversity and the Shannon-Wiener index as special cases of a generalized entropy. *Oikos*, **109**, 203–207.
- Li HN (李会娜), Liu WX (刘万学), Dai L (戴莲), Wan FH (万方浩), Cao YY (曹远银) (2009) Invasive impacts of *Ageratina adenophora* (Asteraceae) on the changes of microbial community structure, enzyme activity and fertility in soil ecosystem. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), **42**, 3964–3971. (in Chinese with English abstract)
- Lonsdale WM (1999) Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology*, **80**, 1522–1536.
- Lu P (鲁萍), Sang WG (桑卫国), Ma KP (马克平) (2005) Progress and prospects in research of an exotic invasive species, *Eupatorium adenophorum*. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), **29**, 1029–1037. (in Chinese with English abstract)
- Lu ZJ, Ma KP (2005) Scale dependent relationships between native plant diversity and the invasion of croftonweed (*Eupatorium adenophorum*) in southwest China. *Weed Science*, **53**, 600–604.
- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM (2000) Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, **10**, 689–710.
- Niu HB (牛红榜), Liu WX (刘万学), Wan FH (万方浩) (2007) Invasive effects of *Ageratina adenophora* Sprengel (Asteraceae) on soil microbial community and physical and chemical properties. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **27**, 3051–3060. (in Chinese with English abstract)
- Niu HB, Liu WX, Wan FH, Liu B (2007) An invasive aster (*Ageratina adenophora*) invades and dominates forest understories in China: altered soil microbial communities facilitate the invader and inhibit natives. *Plant and Soil*, **294**, 73–85.
- Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, **41**, 590–596.
- Schloss PD, Gevers D, Westcott SL (2011) Reducing the effects of PCR amplification and sequencing artifacts on 16S rRNA-based studies. *PLoS ONE*, **6**, e27310.
- Teixeira LCRS, Peixoto RS, Cury JC, Sul WJ, Pellizari VH, Tiedje J, Rosado AS (2010) Bacterial diversity in rhizosphere soil from Antarctic vascular plants of Admiralty Bay, maritime Antarctica. *The ISME Journal*, **4**, 989–1001.
- Urich T, Lanzen A, Qi J, Huson DH, Schleper C, Schuster SC (2008) Simultaneous assessment of soil microbial community structure and function through analysis of the meta-transcriptome. *PLoS ONE*, **3**, e2527.
- Wu H (吴昊), Ding JQ (丁建清) (2014) Recent progress in invasion ecology. *Chinese Science Bulletin* (科学通报), **59**, 438–448. (in Chinese with English abstract)
- Yu WQ (于文清), Liu WX (刘万学), Gui FR (桂富荣), Liu WZ (刘文志), Wan FH (万方浩), Zhang LL (张利莉) (2012) Invasion of exotic *Ageratina adenophora* Sprengel. alters soil physical and chemical characteristics and arbuscular mycorrhizal fungus community. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **32**, 7027–7035. (in Chinese with English abstract)
- Yu XJ, Yu D, Lu ZJ, Ma KP (2005) A new mechanism of invader success: exotic plant inhibits natural vegetation restoration by changing soil microbe community. *Chinese Science Bulletin*, **50**, 1105–1112.

(责任编辑: 东秀珠 责任编辑: 时意专)