

食细菌线虫对土壤微生物量和微生物群落结构的影响

陈小云, 李辉信, 胡 锋*, 刘满强

(南京农业大学资源与环境学院, 南京 210095)

摘要: 线虫与微生物的相互作用研究往往是在悉生培养体系(gnotobiotic microcosm)中进行, 为了研究在自然或开放土壤条件下土壤线虫与微生物的相互作用, 作者在开放盆栽体系中接种土壤食细菌线虫(原小杆线虫, *Protorhabditis* sp), 研究在小麦不同生育期、在有和无根系作用下食细菌线虫对土壤微生物量和微生物群落结构的影响。结果表明: 接种线虫分别使 SMBC、SMBN、SMBP 提高了 26.4%、32.9%、21.8%, 这种促进作用除个别无根系土和非根际土处理外, 均达到显著性差异。根际土中的 SMBC、SMBN、SMBP > 非根际土 > 无根系土。从方差解释比例 v 来看, SMBN 受线虫的影响最大($v=24\%$)、其次是 SMBC($v=16\%$)、然后是 SMBP($v=12\%$), 线虫对 SMBC 的促进作用在根际土中最突出。接种线虫对土壤细菌、真菌和放线菌的数量有明显的影 响。在苗期的无根系土和根际土中, 接种线虫显著降低了细菌的数量、特别在根际土中尤为突出, 但在其它处理中却增加了细菌的数量。接种线虫对真菌和放线菌数量的促进作用比细菌更为明显, 接种线虫后真菌和放线菌数量的总平均值分别比未接种提高了 48.5% 和 68.2%, 而细菌数量的总平均值没有变化。细菌数量与微生物量 C 相关散点图表明二者相关性在根际土、非根际土和无根系土中均未达到显著水平; 而根际土和非根际土真菌数量与微生物量 C 具有明显的相关性, 无根系土中放线菌数量与微生物量 C 的相关性也达显著水平。

关键词: 食细菌线虫; 土壤微生物量; 微生物群落

Effect of bacterivorous nematode on soil microbial biomass and microbiocoenosis

CHEN Xiao-Yun, LI Hui-Xin, HU Feng*, LIU Man-Qiang (College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(12): 2825~2831.

Abstract: Researches on the interaction between nematodes and microbes were usually carried out in gnotobiotic microcosm, in order to know the interaction in open soil system, we inoculated bacterivorous nematode (*Protorhabditis* sp) into the open soil system with and without wheat to study the effects of bacterivorous nematodes and their interactions with roots on soil microbial biomass and microbiocoenosis at different growth stages of wheat. The results indicated that, the inoculation of bacterivorous nematodes increased the content of SMBC, SMBN and SMBP by 26.4%, 32.9% and 21.8% respectively, and the difference were obviously in most treatments except some treatments of bulk soil and soil without plant. The content of SMBC, SMBN and SMBP in rhizosphere soil were much more than that in the bulk soil and soil without plant. The influence of nematode inoculation on SMBC, SMBN and SMBP was in the sequence of SMBN > SMBC > SMBP, and the influence of nematode inoculation on SMBC was most obvious in rhizosphere soil. The inoculation of bacterivorous nematodes had significant effects on bacteria, fungi and actinomycetes number. The bacteria number significantly increased in treatments with nematodes except in rhizosphere soil at seedling stage of wheat. The influence of nematode inoculation on fungi and actinomycetes number was bigger than on bacteria number, the fungi and actinomycetes number were increased by 48.5% and 68.2% respectively. There was no significant correlation between bacteria number and SMBC content in all treatments, while

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30170183)

收稿日期: 2004-06-05; **修订日期:** 2004-09-20

作者简介: 陈小云(1974~), 女, 江苏如东人, 硕士, 主要从事土壤生态学研究. E-mail: xychen@njau.edu.cn

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: fenghu@njau.edu.cn

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (Grant No. 30170183)

Received date: 2004-06-05; **Accepted date:** 2004-09-20

Biography: CHEN Xiao-Yun, Master, mainly engaged in soil ecology. E-mail: xychen@njau.edu.cn

there were significant correlation between fungi number and SMBC content in rhizosphere soil and bulk soil and significant correlation between actinomycetes number and SMBC content in soil without plant.

Key words: bacterivorous nematode; soil microbial biomass; microbiocoenosis

文章编号:1000-0933(2004)12-2825-07 中图分类号:S154.1 文献标识码:A

线虫是土壤动物的主要功能类群之一,广泛分布于各种生境的土壤中^[1,2]。土壤中栖居的线虫以自由生活线虫占绝对优势,而土壤自由生活线虫又以食细菌线虫和食真菌线虫为主(两者统称为食微线虫 microbial-feeding nematodes),约占自由生活线虫的 80%左右^[2~4]。很多的研究表明,食微线虫与微生物之间通过竞争和取食等相互作用能改变微生物的数量和活性,进而影响 N、P 等矿质元素的矿化和植物对 N、P 等养分的吸收利用^[5~7]。然而,至今在大量的文献报道中,食微线虫的作用无论是表现为增加^[8~11]还是降低^[12,13]微生物数量,这些研究结果均是基于悉生微缩培养(gnotobiotic microcosm)系统,在接种单一微生物和线虫的简单的食物链条件下获得的。从理论上分析,食微线虫对某一种或几种微生物的取食作用会影响到整个微生物群落数量和结构的变化,但迄今为止在开放土壤条件下土壤食微线虫与微生物的相互作用尚不明了,国内外也少有涉及。为此,作者将土壤优势食细菌线虫原小杆线虫(*Protorhabditis* sp.)接种到开放的盆栽土壤系统中,研究食细菌线虫在开放土壤条件中对整个微生物群落数量和结构的影响,为揭示土壤生物相互作用的本质,丰富土壤生态学理论奠定基础。

1 材料与方法

1.1 土壤的基本性状及杀灭线虫处理

土壤采自南京雨花台区板桥镇长江南岸冲积地的潮土(土壤质地为砂质壤土,基本性状见表 1),种植制度为稻麦轮作。土壤取样深度为 0~20cm,鲜土采集后,剔除石块、大中型土壤动物及根茬等残体,然后掰碎过 5mm 筛,混匀后置于常温下备用。

表 1 供试土壤基本性质							
Table 1 Soil properties in the experiment							
有机碳 Organic C(g/kg)	全氮 Total N (g/kg)	矿质氮 Mineral N(μg/g)	速效磷 Available P(μg/g)	速效钾 Available K(μg/g)	微生物量碳 SMBC(μg/g)	微生物量氮 SMBN(μg/g)	pH
8.20	0.72	52.55	27.55	49.50	56.72	12.16	5.88

为了尽量减少对土壤物理结构和微生物区系的破坏,本试验不采用施入杀线虫剂和高温加热的方法、而是通过低温冷冻来杀灭土壤中原有的线虫,具体步骤是:先调节土壤水分含量至田间持水量的 60%,然后在 22℃(线虫最适生长温度)下培养 7d,之后置于-26℃下冰冻 48h 杀灭土壤中的活线虫(每次少量土在塑料袋中摊开呈薄层以冷冻彻底);取出后又置于温室中培养,目的是使前一次冰冻未杀死的线虫卵孵化使之能在下一次冰冻中杀死,这样往复培养——冰冻多次,最后仍放入温室中培养 7d,采用离心浮选法和浅盘法检测土壤,直到土壤中检测不到线虫。

1.2 土壤食细菌线虫的获得及富化培养

从采样点的小麦根际土壤中分离出一种优势食细菌线虫,经鉴定为原小杆线虫(*Protorhabditis* sp.),该线虫在马铃薯蔗糖培养基上 22℃恒温培养,接种假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)作为线虫食物,反复连续进行培养,直到线虫数量满足试验需要^[14]。通过离心和体视显微镜检查获得大小基本一致的成体线虫用于接种。

1.3 试验设计

土壤食细菌线虫的接种试验在盆钵试验中进行。试验分 4 个处理即:①土壤;②土壤+线虫;③土壤+小麦;④土壤+小麦+线虫,其中每个处理 3 次重复。将低温冷冻杀灭线虫后的土壤混匀称重,每钵装鲜土 3kg(相当于烘干土 2.5kg)。按照每亩施纯氮 18kg 及 N:P:K=1:0.5:0.5 的标准,每钵土壤拌入标记(¹⁵NH₄)₂SO₄ 1.4158g, KH₂PO₄ 0.6585g 作为基肥,其中¹⁵N 的原子百分超为 17.0366%。装钵后放入温室(20℃)恒温黑暗培养 3d。第 4 天接种线虫,线虫为健壮成虫,接种量为 10 条/g 干土。线虫接种后土壤继续培养 24h 后播入已催芽的小麦种子 4 粒。待小麦出芽后移到网室中培养。1 月至 3 月之间因光照强度弱,平均每 5d 浇水 1 次,4 月之后直至收获,这段时间光照强,平均每 2d 浇水 1 次。

1.4 土壤样品采集与处理

分别在小麦的苗期、拔节期、抽穗期和成熟期采集土壤样品。采用“抖根法”采集土壤根际土(即轻轻抖动根系后仍粘附在根系上的土为根际土、余下土壤为非根际土壤)。在成熟期,由于根系布满整个盆钵,因此这个时期的土壤均作为根际土。将采集的土壤仔细挑净细根后,立即置于 4℃冰箱保存并尽快进行相关分析。无根系土即为不种小麦的对照处理,和种植小麦的处理同期取样。

1.5 分析方法

土壤微生物量 C、N 采用氯仿熏蒸-0.5 mol/L K₂SO₄ 溶液提取法^[15],其中用重铬酸钾氧化、硫酸亚铁回滴法测微生物量 C;提取液加热浓缩后加催化剂消化、开氏定氮法测得微生物量 N;微生物量 P 采用氯仿熏蒸-0.5 mol/L NaHCO₃ 溶液提取法,钼锑抗比色法测定溶液中的 P^[16]。土壤中三大菌(细菌、真菌和放线菌)的计数采用稀释平板法:细菌用牛肉膏蛋白胨培养基;真菌用马丁氏培养基;放线菌用高氏一号培养基。土壤线虫的分离采用离心浮选法:两次离心,第 1 次加水搅匀分散土壤,离心速度是 2000 r/min;第 2 次加浓蔗糖溶液(浓度 822g/L),离心速度是 500r/min^[17]。土壤线虫计数采用直接镜检法。

1.6 数据处理方法

所有数据都采用独立样本 *T* 检验进行未接种和接种线虫的处理比较,*T* 检验的显著水平选择方差齐性的结果。

2 结果与分析

2.1 接种食细菌线虫对土壤微生物量 C、N、P 的影响

表 2、3 和表 4 的结果显示,除个别无根系土和非根际土处理外,接种线虫显著提高了土壤微生物量碳(soil microbial biomass carbon, SMBC)、微生物量氮(soil microbial biomass nitrogen, SMBN)和微生物量磷(soil microbial biomass phosphorus, SMBP)的量。根据所有处理的总平均值分析表明,接种线虫使 SMBC、SMBN、SMBP 分别提高了 26.4%、32.9%、21.8%。

表 2 接种食细菌线虫对土壤微生物量 C 的影响

Table 2 Effects of bacterivorous nematodes on SMBC at different growth stages of wheat

处理 Treatments		微生物量 C Microbial biomass carbon (μg/gDW)							
		苗期 Seedling		拔节期 Jointing		抽穗期 Heading		成熟期 Ripening	
		-Nem ^a	+Nem	-Nem	+Nem	-Nem	+Nem	-Nem	+Nem
土壤 Soil	无根系土 Soil without plant	41.35±1.50	41.93 ^{ns} ±4.32	41.97±1.26	51.35 ^{***} ±1.62	25.88±4.21	37.41 [*] ±4.25	35.65±3.93	23.52 [*] ±3.97
土壤+小麦 Soil with wheat	非根际土 Bulk soil	54.38±1.46	80.87 ^{***} ±3.00	51.37±1.20	56.80 ^{**} ±0.29	44.17±3.24	50.60 [*] ±1.42	ND ^b	ND
	根际土 Rhizosphere soil	74.23±2.70	116.93 ^{***} ±2.72	72.87±6.56	96.54 ^{**} ±1.64	71.75±1.95	79.82 ^{**} ±0.91	27.37±3.79	48.18 ^{***} ±0.58
	R/S	1.37 ⁺⁺	1.44 ⁺⁺	1.10 ^{ns}	1.41 ⁺⁺	1.63 ⁺	1.58 ⁺⁺	ND	ND

a: -Nem 未接种线虫 Without nematode; +Nem 接种线虫 With nematode; b: ND 无数据,因成熟期根系在土壤密集分布,已经无法分离出非根际土 ND expresses no date, because in the ripening stage, it is different to separate rhizosphere and bulk soil; * * *, * *, * 和 ns 分别表示接种线虫处理与未接种线虫处理存在显著差异水平是 $P\leq 0.001, 0.01, 0.05$ 和 $P>0.05$ Express significantly difference between with and without nematode treatments at $P\leq 0.001, 0.01, 0.05$ and $P>0.05$ respectively; ++, +, ns 指根际效应(根际土/非根际土比值与 1 比较)的显著水平分别是 $P\leq 0.01, 0.05$ 及 $P>0.05$ Express significantly difference between rhizosphere and bulk soil at $P\leq 0.01, 0.05$ and $P>0.05$ respectively;下同 the same below

表 3 接种食细菌线虫对土壤微生物量 N 的影响

Table 3 Effects of bacterivorous nematodes on SMBN at different growth stages of wheat

处理 Treatments		微生物量 N Microbial biomass N(μg/gDW)							
		苗期 Seedling		拔节期 Jointing		抽穗期 Heading		成熟期 Ripening	
		-Nem	+Nem	-Nem	+Nem	-Nem	+Nem	-Nem	+Nem
土壤 Soil	无根系土	3.73±0.63	5.93 ^{**} ±0.66	7.75±0.31	12.08 ^{***} ±0.21	5.03±1.43	7.87 ^{ns} ±1.50	6.23±1.20	6.23 ^{ns} ±0.28
土壤+小麦 Soil with wheat	非根际土	4.83±0.68	5.95 ^{ns} ±0.68	6.88±0.18	6.09 ^{ns} ±0.85	5.66±0.83	11.21 [*] ±2.26	ND	ND
	根际土	14.57±1.97	10.08 [*] ±1.02	10.60±1.25	11.74 ^{ns} ±1.17	7.51±0.97	18.42 ^{***} ±2.03	7.03±1.21	10.54 [*] ±1.02
	R/S	3.07 ⁺	1.71 ⁺	1.37 ⁺	1.54 ⁺	1.33 ⁺	1.68 ^{ns}	ND	ND

表 5 的总方差分析表明,根系、线虫和季节对 SMBC、SMBN、SMBP 的影响都达到了极显著水平。其中根系的影响最大,对 SMBC、SMBN、SMBP 的方差解释比例(*v*)分别达到 51%、46%和 30%。这主要是由于根系向土壤输送大量有机碳为微生物提供必要的能源和碳源^[18,19]。SMBC、SMBN、SMBP 的递增顺序是:无根系土<非根际土<根际土。根际与非根际土的 R/S 比值也都大于 1,并且多数达到显著水平(表 2~表 4)。与试验初始相比,无根系土的 SMBC 和 SMBN 都下降了,显示出土壤碳的缺乏。

接种线虫同样表现出对 SMBC、SMBN、SMBP 的极显著促进作用,从方差解释比例 *v* 来看,SMBN 受线虫的影响最大(*v*=24%),其次是 SMBC(*v*=16%),然后是 SMBP(*v*=12%)。在根系影响不同的土壤中,线虫对 SMBC、SMBN 和 SMBP 的影响不完全一致。例如线虫对 SMBC 的促进作用在根际土中最突出,都达到 $P\leq 0.01$ 显著水平;而无根系土中线虫的影响在前期不显著,后期时还明显降低了 SMBC。线虫对微生物量的影响在不同生育期内也有所不同。但总的来说,根系和时间没有掩盖线虫对

微生物量的显著刺激作用。

表 4 接种食细菌线虫对土壤微生物量 P 的影响

处理 Treatments		微生物量 P Microbial biomass P(μg/gDW)							
		苗期 Seedling		拔节期 Jointing		抽穗期 Heading		成熟期 Ripening	
		—Nem	+Nem	—Nem	+Nem	—Nem	+Nem	—Nem	+Nem
土壤 Soil	无根系土	1.80±0.18	3.60**±0.61	5.19±0.22	8.45**±1.16	3.80±1.16	6.08*±0.29	11.26±0.46	7.60***±0.22
土壤+小麦	非根际土	2.75±0.12	3.43 ^{ns} ±0.74	5.97±0.27	4.99 ^{ns} ±0.55	2.80±0.33	5.49*±1.34	ND	ND
Soil with	根际土	7.64±0.53	6.18*±0.54	6.69±0.78	7.52 ^{ns} ±1.02	5.81±1.38	10.92**±0.72	7.14±0.61	9.15**±0.27
wheat	R/S	2.79 ⁺⁺	1.89 ^{ns}	1.12 ^{ns}	1.51 ^{ns}	2.06 ⁺	2.09 ^{ns}	ND	ND

SMBC、SMBN、SMBP 都表现出极显著的时间波动,但它们各自的时间波动趋势不相同(表 2~表 4),SMBC 和 SMBN 在试验结束时都降至起始水平之下,而 SMBP 则增加了,表明试验期间 P 最终表现出微生物的固定,而 C、N 则进一步矿化了。

表 5 微生物量 C、N、P 方差分析结果

Table 5 Results of a three-way ANOVA showing the effects of bacterivorous nematodes, roots and period on SMBC, SMBN and SMBP										
变异来源 Variation source	df	微生物量 C SMBC	P	微生物量 N SMBN	P	微生物量 P SMBP	P	C/N	P	
主效应 Main effect										
线虫 Nematode (N)	1	2455.27 ^a	***	85.60	***	15.26	***	1.16	ns	
根系 Root (R)	2	8048.85	***	167.65	***	38.27	***	29.83	***	
时间 Time (T)	3	3368.87	***	25.18	***	36.83	***	70.25	***	
交互效应 Interactive effect										
N×R	2	706.64	***	1.38	N.S.	2.81	**	12.42	***	
N×T	3	270.83	***	37.96	***	13.43	***	17.67	***	
R×T	5	744.37	***	19.64	***	12.58	***	10.53	***	
N×R×T	5	210.27	***	23.13	***	9.51	***	18.49	***	
残差 Residual	44	8.95		1.30		0.52		0.82		

a 均方值 Mean squares; ***、**、* 和 ns 分别代表显著水平 $P\leq 0.001$ 、 0.01 、 0.05 和 $P>0.05$ Express significant difference at $P\leq 0.001$, 0.01 , 0.05 and $P>0.05$ respectively

2.2 接种食细菌线虫对土壤微生物群落结构的影响

通过稀释平板法测定可培养的细菌、真菌和放线菌形成的菌落数(colony forming units,CFU),可以了解土壤微生物群落组成。表 6 的数据表明,接种食细菌线虫在苗期无根系土和根际土中显著降低了土壤细菌数量,但其它处理中却显著提高了土壤细菌的数量;表 7 结果显示,除无根系土细菌数量在抽穗期无明显差异、在成熟期显著降低以及根际土细菌数量在抽穗期显著降低外,接种食细菌线虫显著增加了土壤真菌的数量;表 8 结果也同样表明,除无根系土在成熟期、非根际土在抽穗期、根际土在拔节期放线菌数量无显著差异外,接种食细菌线虫显著提高了土壤放线菌的数量。表 9 方差分析表明,线虫、根系及时间的主效应和所有交互效应都达到极显著水平,反映了微生物群落组成对外部影响的敏感性。

表 6 接种食细菌线虫对土壤细菌数量的影响

处理 Treatments		细菌数量 Bacteria number (10 ⁶ CFU/gDW)							
		苗期 Seedling		拔节期 Jointing		抽穗期 Heading		成熟期 Ripening	
		—Nem	+Nem	—Nem	+Nem	—Nem	+Nem	—Nem	+Nem
土壤 Soil	无根系土	2.53±0.84	0.48*±0.27	3.09±0.05	4.18***±0.20	2.31±0.46	3.64**±0.15	0.96±0.37	2.50*±0.13
土壤+小麦	非根际土	0.63±0.09	4.52***±0.36	2.79±0.17	3.38 ^{ns} ±0.37	2.91±0.26	4.43*±0.72	—	—
Soil with	根际土	21.81±2.29	6.96***±0.33	6.09±0.13	7.81***±0.20	5.59±0.60	9.59***±0.33	1.71±0.20	2.98*±0.50
wheat	R/S	34.41 ⁺⁺	1.55 ⁺	2.19 ⁺⁺	2.33 ⁺	1.93 ⁺	2.20 ⁺	—	—

进一步分析表明,接种线虫对真菌和放线菌数量的促进作用比对细菌更为明显,接种线虫后真菌和放线菌数量的总平均值分别比未接种提高了 48.5%和 68.2%;而细菌数量的总平均值没有变化,这主要是由于接种线虫处理在苗期无根系土和根际土中细菌数量大幅度下降抵消了线虫对细菌的增殖部分。方差分析也进一步表明,线虫超过根系和时间因素而成为控制真菌和放线菌数量变化的最重要因素(方差贡献 v 分别为 42.5%和 23.9%)。线虫对真菌和放线菌所表现出的显著促进作用还可从细菌、真菌和放线菌数量与微生物量 C 的相关性得到进一步证实。细菌数量与微生物量 C 相关散点图表明二者相关性在根际土、非根际土和无根系土中均未达到显著水平(根际土中 $r=0.258$,非根际土中 $r=0.382$,无根系土中 $r=0.322$);而根际土和非根际土真菌数量与微生物量 C 具有明显的相关性(根际土中 $r=0.833$ ***,非根际土中 $r=0.806$ ***,无根系土中 $r=0.163$),无

根系土中放线菌数量与微生物量 C 的相关性也达显著水平(根际土中 $r=0.306$,非根际土中 $r=0.430$,无根系土中 $r=0.576^{**}$)。

表 7 接种食细菌线虫对土壤真菌数量的影响
Table 7 Effects bacterivorous of nematodes on fungi CFUs

处理 Treatments		真菌数量 Fungi number(10^3 CFU/gDW)							
		苗期 Seedling		拔节期 Jointing		抽穗期 Heading		成熟期 Ripening	
		—Nem	+Nem	—Nem	+Nem	—Nem	+Nem	—Nem	+Nem
土壤 Soil	无根系土	2.14±0.26	3.57 ^{**} ±0.22	3.67±0.57	5.40 ^{**} ±0.31	2.67±0.47	3.58 ^{ns} ±0.49	8.23±0.55	3.74 ^{**} ±1.17
土壤+小麦	非根际土	4.02±0.95	9.43 ^{**} ±1.20	2.17±0.47	4.52 ^{**} ±0.33	2.73±0.99	6.12 [*] ±1.43	—	—
Soil with	根际土	2.71±0.62	6.51 ^{**} ±0.29	2.50±0.38	6.03 ^{**} ±0.62	4.91±1.10	2.26 [*] ±0.63	0.72±0.11	2.08 ^{**} ±0.16
wheat	R/S	0.71 ^{ns}	0.70 ⁺	1.23 ^{ns}	1.35 ^{ns}	2.09 ^{ns}	0.38 ⁺	—	—

表 8 接种食细菌线虫对土壤放线菌数量的影响
Table 8 Effects of bacterivorous nematodes on actinomycetes CFUs

处理 Treatments		放线菌数量 Actinomycetes number(10^6 CFU g ⁻¹ DW)							
		苗期 Seedling		拔节期 Jointing		抽穗期 Heading		成熟期 Ripening	
		—Nem	+Nem	—Nem	+Nem	—Nem	+Nem	—Nem	+Nem
土壤 Soil	无根系土	0.89±0.06	1.21 ^{**} ±0.08	2.66±0.36	3.76 [*] ±0.48	1.17±0.55	3.19 ^{**} ±0.28	0.72±0.23	0.75 ^{ns} ±0.19
土壤+小麦	非根际土	1.18±0.18	1.79 [*] ±0.21	3.72±0.96	1.35 [*] ±0.09	5.33±2.64	9.39 ^{ns} ±2.19	—	—
Soil with	根际土	3.37±0.11	6.46 ^{**} ±0.46	1.24±0.06	1.14 ^{ns} ±0.04	2.60±0.79	5.25 ^{**} ±0.49	1.04±0.09	6.12 ^{**} ±0.55
wheat	R/S	2.91 ⁺	3.65 ⁺⁺	0.35 ⁺⁺	0.85 ^{ns}	0.70 ^{ns}	0.57 ⁺	—	—

微生物量 C/N 比可以表达有关微生物群落结构方面的信息,因为一般认为真菌的 C/N 比要大于细菌。相关分析表明,微生物量 C/N 比与真菌数量在根际土中显著相关(相关系数 $r=0.904^{***}$);微生物量 C/N 比与细菌数量表现出负相关的趋势,但未达到显著水平;而微生物量 C/N 比与放线菌数量在非根际土中达到了极显著负相关($r=-0.763^{***}$),上述结果表明微生物量 C/N 比与微生物群落组成有必然的联系。Lovel 等^[20]提出,土壤微生物量的差异与微生物群落结构相联系,特别是与细菌和真菌的相对比例有关。本研究中,微生物量 C/N 比与 SMBC 呈极显著正相关($r=0.493^{***}$, $P=0.000$, $n=66$),而与 SMBN、SMBP 分别呈极显著负相关(r 分别是 -0.423^{***} 、 -0.573^{***} , $P=0.000$, $n=66$)。

表 9 细菌、真菌和放线菌的方差分析结果

Table 9 Results of a three-way ANOVA showing the effects of bacterivorous nematodes, roots and time on the number of bacteria, fungi and actinomycetes

变异来源 Variation source	df	细菌 Bacteria	<i>p</i>	真菌 Fungi	<i>p</i>	放线菌 Actinomycetes	<i>p</i>
主效应 Main effect							
线虫 Nematode (N)	1	0.355	***	0.622	***	0.584	***
根系 Root (R)	2	1.688	***	0.130	***	0.482	***
时间 Time (T)	3	0.550	***	0.077	***	0.413	***
交互效应 Interactive effect							
N×R	2	0.330	***	0.107	***	0.093	***
N×T	3	0.233	***	0.078	***	0.189	***
R×T	5	0.319	***	0.297	***	0.564	***
N×R×T	5	0.325	***	0.147	***	0.109	***
残差 Residual	44	0.007		0.007		0.009	

3 讨论

根据现有文献,推测线虫提高微生物量的原因可能是:(1)线虫对细菌的取食不但没有减少细菌的数量,反而刺激了细菌的增殖^[6,10,21];(2)线虫减少细菌数量,同时缓解了细菌在资源上对真菌或放线菌的竞争压力,使真菌或放线菌获得潜在的生长优势,其生物量增加补偿了细菌生物量的减少^[22,23]。本研究显示食细菌线虫既刺激了细菌的增殖,又刺激了真菌和放线菌的生长,因此导致了微生物量 C、N、P 的大幅度增加。

线虫对微生物量的效应因根系和生育期而有所差异,可能是温度、根系生长、土壤养分及线虫和细菌的相对密度对微生物群落综合作用的结果。例如苗期根际土线虫使 SMBN、SMBP 显著下降而 SMBC 显著增加,一方面可能因为此时温度低、小麦根际产物少导致细菌生长受限,不能及时补偿被线虫取食的细菌数量;另一方面,线虫向根际土的迁移也会造成对细菌的过度取食^[21],抑制细菌而引发真菌生长加速(ramify)。对于无根系土来说,成熟期 SMBC、SMBP 的同时下降则意味着在碳源受限条件下,微生物的生长无法补偿线虫对细菌的捕食量,这与 Couteaux 和 Bottner^[24]所报道的原生动物的作用机理相似。

因此,线虫对土壤微生物量的作用受到线虫、细菌、微生物群落结构以及能被细菌利用的有效资源等诸因素的影响,微生物量增加、不变或减少都是这些因素相互作用达到平衡的结果^[21]。本研究中食细菌线虫能够明显增加土壤微生物量 C、N、P。这与 Bardgett^[25]等的研究结果基本一致,他们在两种土壤上接种线虫,并设立了加羊粪处理,分别在第 30d、60d 和 90d 采样,结果表明,线虫使微生物量 C 增加达 32% (包括所有处理的平均值比较)。Hu 等^[26]在较为复杂的红壤生物群落的野外研究中,发现食细菌线虫数量与细菌生物量基本呈正相关关系,但也有相反的报道^[27]。

有关食细菌线虫对细菌数量影响的报道仍很不一致^[10,28]。Anderson 等^[12]发现在加糖和氮基质的土壤微系统中,线虫使细菌数量减少了 1/2 或 1/3;Ingham 等^[10]的试验表明,无论是否添加几丁质,食细菌线虫均增加了细菌数量。在近期的报道中,Sundin 等^[11]发现食细菌线虫增加细菌数量;而 Bardgett 等^[25]发现线虫对细菌数量(也用平板法)没有影响;采用与本研究同一种线虫和假单胞杆菌作为材料,在 40d 悉生培养条件下,胡锋等^[6]发现线虫增加细菌数量最高幅度达 185%。产生上述分歧的原因除了试验条件(如是否单种无菌培养等)外,线虫种类和线虫密度是重要原因^[10]。线虫密度对微生物种群的效应(抑制或刺激)具有非常重要的作用(即所谓密度调节 density-dependent regulation)。在线虫和其它食微动物如原生动物、线蚓、弹尾虫中都发现了明显的密度调节效应^[29~31]。在本研究中,苗期接种线虫使无根系土、根际土的细菌数量下降可能主要是由线虫与细菌的相对密度引起的:无根系土细菌增殖慢,在线虫的取食下细菌增殖速度低于线虫取食速度;种植小麦后,线虫向根系的主动迁移造成了根际土线虫相对密度过高,细菌增殖速度也低于线虫取食速度。

本研究还发现食细菌线虫对真菌和放线菌数量的促进作用比对细菌更为明显,这种现象可能是由于速生型的细菌和慢生型的真菌存在较激烈的资源竞争^[32],而食细菌线虫对细菌的捕食(减弱细菌对资源的竞争)给真菌(或放线菌)提供了生长的竞争优势^[20]。本研究基本支持 Wardle 和 Yeats^[23]的研究结果:他们在为期 1a 的调查研究中发现,食细菌线虫的数量与细菌生物量仅微弱相关,却趋向与真菌生物量有更强烈的相关关系。

本研究采用稀释平板法测定可培养细菌、真菌和放线菌的菌落数(CFU)来了解微生物群落结构的变化。这一方法具有很多局限性^[25,33~36],如:(1)很多微生物是与动植物共生而不能培养;(2)各种微生物,如细菌对养分都有选择性,单一培养基上培养效率很低(<1%);(3)不能辨别细菌、真菌、放线菌的种群结构的变化;(4)土壤分散效率及对菌落的计数误差。虽然经常受到指责,但该方法仍常见于文献^[25,37~40]。Grayston 等^[41]研究不同地点的 3 种高地草地(未改良、半改良及改良)微生物群落结构的时间动态,探讨各种变异因素在决定微生物群落结构上的重要性(地点、改良程度及时间)。虽然有条件采用了 PLFA 及 Biolog(r)技术,但他们仍用稀释平板法测定了细菌、真菌及假单胞菌的数量,其结果含义与 PLFA 及 Biolog(r)方法所得结果较为一致。Taylor 等^[36]对几种测定微生物数量方法进行比较(显微镜直接计数、稀释平板法、DNA 提取及诱导呼吸测定微生物量 C),结果表明这些方法之间都表现出强烈的正相关(相关系数>0.95)。最近,Griffiths 等^[42]在土壤微宇宙实验中,研究线虫和原生动物对微生物群落结构的影响,选用了代谢(PLFA)、生理(CLPP)、基因(PCR)3 种方法,结果发现在取食压力下,微生物群落结构明显转变。在新技术与方法的支持下,土壤动物对微生物群落结构的影响将成为研究热点。

References:

- [1] Clarholm M. Interactions of bacteria, protozoa and plants leading to mineralization of soil nitrogen. *Soil Biol. Biochem.*, 1985, **17**: 181~187.
- [2] Sohlenius B. Abundance, biomass and contribution to energy flow by soil nematodes in terrestrial ecosystems. *Oikos*, 1980, **34**: 186~194.
- [3] Sohlenius B, Boström S, Sandor A. Carbon and nitrogen budgets of nematodes in arable soil. *Biology and Fertility of Soil*, 1988, **6**: 1~8.
- [4] Griffiths B S. The role of bacterial feeding nematodes and protozoa in rhizosphere nutrient cycling. *Aspects of Applied Biology*, 1989, **22**: 141~145.
- [5] Bardgett R D, Chan K F. Experimental evidence that soil fauna enhance nutrient mineralization and plant nutrient uptake in montane grassland ecosystems. *Soil Biol. Biochem.*, 1999, **31**: 1007~1014.
- [6] Hu F, Li H X, Xie L Q, et al. Interactions of bacterivorous nematode and bacteria and their effects on mineralization-immobilization of nitrogen and phosphorus. *Acta Ecologica Sinica*, 1999, **19**(6): 914~920.
- [7] Li H X, Hu F. Effect of bacterial-feeding nematode inoculation on wheat growth and N and P uptake. *Pedosphere*, 2001, **11**: 57~62.
- [8] Abrams B I, Mitchell M J. Role of nematode-bacterial interactions in heterotrophic systems with emphasis on sewage sludge decomposition. *Oikos*, 1980, **35**: 404~410.
- [9] Anderson R V, Coleman D C, Cole C V, et al. Effect of the nematodes *Acrobeloides* sp. and *Mesodilogaster lheritieri* on substrate utilization and nitrogen and phosphorus mineralization in soil. *Ecology*, 1981, **62**: 549~555.
- [10] Ingham R E, Trofymow J A, Ingham E R, et al. Interactions of bacteria, fungi and their nematode grazers: effects on nutrient cycling and plant growth. *Ecological Monographs*, 1985, **55**: 119~140.
- [11] Sundin P, Valeur A, Olsson S, et al. Interactions between bacteria-feeding nematodes and bacteria in the rape rhizosphere: effects on root exudation and distribution of bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 1990, **73**: 13~22.
- [12] Anderson R V, Coleman D C, Cole C V, et al. The use of soil microcosms in evaluation bacteriophagic nematode responses to other organisms and effects on nutrient cycling. *International Journal of Environmental Studies*, 1979, **13**: 175~182.

- [13] Woods L E, Cole C V, Elliott E T, *et al.* Nitrogen transformations in soil as affected by bacterial-microfauna interactions. *Soil Biol. Biochem.*, 1982, **14**: 93~98.
- [14] Li H X, Chen X Y, HU F. Isolation and enrichment culturing of a soil bacterial-feeding nematode. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2002, **25**(2): 71~74.
- [15] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.*, 1987, **19**: 703~707.
- [16] Lu R K, ed. *Method of analysis in soil and agrochemistry*. Beijing: Chinese Agriculture Science and Technology Press, 2000.
- [17] Mao X F, Li H X, Chen X Y, *et al.* Extraction efficiency of soil nematodes by different methods. *Chinese Journal of Ecology*, 2004, **23**(3): 149~151.
- [18] Cheng W, Zhang Q, Coleman D C, *et al.* Is available carbon limiting microbial respiration in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.*, 1996, **28**: 1283~1288.
- [19] Newman E I. The rhizosphere: carbon sources and microbial populations. In: Fitter A H. ed. *Ecological Interactions in Soil*. Oxford: The British Ecological Society, 1985. 107~121.
- [20] Lovel R D, Jarvis S C, Bardgett R D. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: effects of management changes. *Soil Biol. Biochem.*, 1995, **27**: 969~975.
- [21] Griffiths B S, Bardgett R D. Interactions between micro-feeding invertebrates and soil microorganisms. In: Van Elsas, *et al.*, eds. *Modern soil microbiology*. Marcel Dekker, New York, 1997. 165~182.
- [22] Coleman D C, Reid C P P, Cole C V. Biological strategies of nutrient cycling in soil systems. *Advances in Ecological Research*, 1983, **13**: 1~55.
- [23] Wardle D A, Yeates G W. The dual importance of competition and predation as regulatory forces in terrestrial ecosystems: evidence from decomposer food-webs. *Oecologia*, 1993, **93**: 303~306.
- [24] Couteaux M M, Bottner P. Biological interactions between fauna and the microbial community in soils. In: Ritz, K. *et al.* ed. *Beyond the biomass: Composition and functional analysis of soil microbial communities*. John Wiley & Sons, Baffins Lane, Chichester, UK. 1994.
- [25] Bardgett R D, Keiller S, Cook R, *et al.* Dynamic interactions between soil animals and microorganisms in upland grassland soils amended with sheep dung: A microcosm experiment. *Soil Biol. Biochem.*, 1998, **30**: 531~539.
- [26] Hu F, Li H X, Wu S M. Differentiation of soil fauna population in conventional tillage and no-tillage red soil ecosystems. *Pedosphere*, 1997, **7**: 339~348.
- [27] Yeates G W, Saggat S, Daly B K. Soil microbial C, N, P, and microfaunal populations under *Pinus radiata* and grazed pasture land-use systems. *Pedobiologia*, 1997, **41**: 549~565.
- [28] Mikola J, Setälä H. No evidence of trophic cascades in an experimental microbial-based soil food webs. *Ecology*, 1998, **79**: 153~164.
- [29] Hedlund K, Augustsson A. Effects of Enchytraeid grazing on fungal growth and respiration. *Soil Biol. Biochem.*, 1995, **27**: 905~909.
- [30] Sonnemann I, Dogan H, Klein A, *et al.* Response of soil microflora to changes in nematode abundance- evidence for large scale effects in grassland soil. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 1999, **162**: 385~391.
- [31] Bakony G, Posta K, Kiss I, *et al.* Density-dependent regulation of arbuscular mycorrhiza by collembola. *Soil Biol. Biochem.*, 2002, **34**: 661~664.
- [32] Turner S M, Newman E I, Campbell R. Microbial population of ryegrass root surface: influence of nitrogen and phosphorus supply. *Soil Biol. Biochem.*, 1985, **17**: 711~715.
- [33] Bakken L R. Separation and purification of bacteria from soil. *Applied Environmental Microbiology*, 1985, **49**: 1482~1487.
- [34] Balestra G M, Misaghi I J. Increasing the efficiency of the plate counting method for estimating bacterial diversity. *Journal of Microbiological Method*, 1997, **30**: 111~117.
- [35] Roper M M, Opjel-Keller K M. Soil microflora as bioindicators of soil health. In: Pankhurst C. *et al.* eds. *Biological indicators of soil health*. CAB International, 1997. 157~177.
- [36] Taylor J P, Wilson B, Mills M S, *et al.* Comparing of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. *Soil Biol. Biochem.*, 2002, **34**: 387~401.
- [37] Kshattriya S, Sharma G D, Mishra R R. Enzyme activities related to litter decomposition in forest of different age and altitude in Northern East India. *Soil Biol. Biochem.*, 1992, **24**: 265~270.
- [38] Badalucco L, Kuikman P J, Nannipieri P. Protease and deaminase activities in wheat rhizosphere and their relation to bacterial and protozoa populations. *Biology & Fertility of Soils*, 1996, **23**: 99~104.
- [39] Winding A, Ronn R, Hendriksen N B. Bacteria and protozoa in soil microhabitats as affected by earthworms. *Biology & Fertility of Soils*, 1997, **24**: 133~140.
- [40] Grayston S J, Wang S, Campbell C D, *et al.* Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.*, 1998, **30**: 369~378.
- [41] Grayston S J, Griffith G S, Mawdsley J L, *et al.* Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biol. Biochem.*, 2001, **33**: 533~551.
- [42] Griffiths B S, Bonkowski M, Dobson G, *et al.* Changes in soil microbial community structure in the presence of microbial-feeding nematodes and protozoa. *Pedobiologia*, 1999, **43**: 297~304.

参考文献:

- [6] 胡锋, 李辉信, 武心齐, 等. 土壤食细菌线虫与细菌的相互作用及其对 N、P 矿化-生物固定的影响及机理. *生态学报*, 1999, **19**(6): 179~185.
- [14] 李辉信, 陈小云, 胡锋. 土壤食细菌线虫的分离和富集培养方法. *南京农业大学学报*, 2002, **25**(2): 71~74.
- [16] 鲁如坤主编. *土壤农业化学分析方法*. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [17] 毛小芳, 李辉信, 陈小云, 等. 土壤线虫三种分离方法效率比较. *生态学杂志*, 2004, **23**(3): 149~151.