

DOI: 10.5846/stxb201411102223

姜瑛, 吴越, 徐莉, 胡锋, 李辉信. 悉生培养微缩体系食细菌线虫提高土壤激素含量机制. 生态学报, 2016, 36(9): - .

Jiang Y, Wu Y, Xu L, Hu F, Li H X. The possible mechanisms underlying improvement of soil auxin content by bacterial-feeding nematodes in a gnotobiotic microcosm experiment. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(9): - .

悉生培养微缩体系食细菌线虫提高土壤激素含量机制

姜 瑛^{1,2}, 吴 越^{1,3}, 徐 莉¹, 胡 锋¹, 李辉信^{1,*}

1 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095

2 河南农业大学资源与环境学院, 郑州 450002

3 山东省土壤肥料总站, 济南 250100

摘要: 研究土壤食细菌线虫与细菌的相互作用及其生态功能是土壤生态学的核心内容之一。食细菌线虫取食细菌可以促进土壤中氮素的矿化, 提高氮素养分的供给, 改善土壤的营养条件, 从而促进植物的生长发育。土壤食细菌线虫促进植物根系生长的“养分作用机制”已得到确认, 而“激素作用机制”还存在争议。本文从供试土壤中筛选获得一株高效产 IAA 细菌和两种不同 cp 值的食细菌线虫, 通过设置简化的悉生培养系统, 对这两种土著食细菌线虫与土著产 IAA 细菌之间的相互作用, 及其对土壤中 IAA 含量变化的影响进行研究。结果表明: 两种食细菌线虫的取食均能促进细菌数量和活性的增强, 食细菌线虫与产 IAA 细菌相互作用也能显著增加土壤中 IAA 的含量; 这些促进作用受到接种食细菌线虫的种类以及培养时间的影响; 在培养第 10 天和第 20 天时, 接种 cp 值为 1 的中杆属食细菌线虫显著增加了产 IAA 细菌的数量; 在培养第 10 天和第 30 天时, 相比较接种 cp 值为 2 的头叶属食细菌线虫, 接种中杆属食细菌线虫显著提高了土壤中 IAA 的含量。

关键词: 食细菌线虫; 产激素菌; 悉生培养; 相互作用; IAA(吲哚乙酸)

The possible mechanisms underlying improvement of soil auxin content by bacterial-feeding nematodes in a gnotobiotic microcosm experiment

JIANG Ying^{1,2}, WU Yue^{1,3}, XU Li¹, HU Feng¹, LI Huixin^{1,*}

1 Soil Ecology Lab, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

2 College of Resources and Environment, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

3 Soil and Fertilizer Station of Shandong Province, Jinan 250100, China

Abstract: In recent years, the interactions between bacterial-feeding nematodes and bacteria and their ecological functions in terrestrial ecosystems have been recognized to play a crucial role in soil ecology. Many studies have found that bacterial-feeding nematodes increased soil mineralization and improved the supply of inorganic nitrogen, subsequently stimulating plant growth. The nutrient effect of the soil bacterial-feeding nematodes on root development has been investigated in a microcosm, while the auxin effect remains controversial. An indole acetic acid (IAA)-producing bacteria and two species of bacterial-feeding nematodes were isolated, screened and identified from our experimental soil. Then, a study on the effect of the interaction between aboriginal bacterial-feeding nematodes and IAA-producing bacteria on soil IAA content was implemented in a gnotobiotic microcosm experiment. In the gnotobiotic microcosm experiment, two species of aboriginal nematodes (*Cephalobus* sp. and *Mesorhabditis* sp.) grazing on bacteria stimulated both the bacterial growth and activity and increased the mineral nitrogen. The interactions between IAA-producing bacteria and bacterial-feeding nematodes significantly increased soil IAA content. This increase was influenced by bacterial-feeding nematode species and incubation

基金项目: 国家自然科学基金(30970537); 国家自然科学基金(41401274)

收稿日期: 2014-11-10; 网络出版日期: 2015- -

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: huixinli@njau.edu.cn

time. *Mesorhabditis* sp. (cp 1) significantly stimulated the growth of the IAA-producing bacteria at day 10 and day 20. However, compared with *Cephalobus* sp. (cp 2), *Mesorhabditis* sp. more significantly increased soil IAA content at day 10 and day 30.

Key Words: bacterial-feeding nematodes; IAA-producing bacteria; gnotobiotic microcosm experiment; interaction; IAA (indole acetic acid)

土壤食细菌线虫与土壤微生物之间存在密切的相互关系,土壤食细菌线虫除了自身的代谢活动作用外(如形成 pH 较高的微域环境、分泌排泄有机物),还可通过取食土壤细菌,影响微生物的数量、活性和周转从而参与土壤的生态过程^[1-8]。研究土壤食细菌线虫与细菌的相互作用及其生态功能是土壤生态学的核心研究内容之一,研究结果有助于揭示土壤生态过程及机理,丰富生态学理论。而在土壤中,食细菌线虫取食植物促生菌也一定会对其数量以及活性等造成一定的影响。

悉生培养(gnotobiotic microcosm culture)是指将供试土壤在密闭的培养系统中灭菌,然后在严格控制的无菌培养条件下引入供试目标土壤线虫和纯培养的微生物进行培养^[9]。悉生培养系统可以将复杂的生态系统简化,实现目标生物和环境的可控性,是研究土壤生物之间相互作用的有力工具。自从 Aderson 以及 Coleman 等人率先利用该系统研究食细菌线虫与微生物的相互作用,以及对土壤生态系统能量传递和养分动态的影响以来^[10-11],该领域受到了广泛关注^[9, 12-15],南京农业大学土壤生态实验室也在悉生培养系统对食细菌线虫与微生物之间的相互作用进行了大量的研究^[16-18]。

前期研究通过悉生以及原位富化等试验发现食细菌线虫的取食改变了番茄、小麦以及水稻根际微生物群落结构的同时,使得土壤中生长素(Indole acetic acid, IAA)含量显著增加^[19-22],因此我们推测食细菌线虫可能是通过刺激土壤中一些植物促生菌分泌大量的激素以及类激素物质从而提高土壤中生长素 IAA 的含量^[4]。但是目前还没有直接的证据表明土著食细菌线虫对土著产 IAA 细菌的促进作用。

依据线虫在生活史策略连续谱(*r*-对策到 *K*-对策)中的位置,可将其划分为五个不同的 cp (colonizer-persister) 类群^[23]。其中 cp 值越低,线虫产卵量越多,世代时间越短,因此不同 cp 值线虫在生态系统中的作用存在差异。本文就采用简单较易控制条件的悉生培养系统,对比研究两种不同 cp 值(cp1 和 cp2)的土著食细菌线虫与土著产 IAA 细菌的相互作用,为进一步明确土壤食细菌线虫取食细菌所产生的激素效应提供切实可靠的依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 供试土壤

采自江苏省南京市雨花台区板桥镇长江南岸冲积地的灰潮土,美国制土壤质地分类为砂质壤土。采集表层 0—20cm 的土样,采回新鲜土样之后,剔除土壤中肉眼可见的根茬等残体和蚯蚓等大中型土壤动物以及小石块等,风干并且过 2mm 筛,备用。土壤的基本性状如表 1 所示。

表 1 供试土壤基本性质

Table 1 Soil basic properties in the experiment

有机碳 Organic C/ (g/kg)	全氮 Total N/ (g/kg)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (mg/kg)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/ (mg/kg)	矿质氮 Mineral N/ (mg/kg)	pH(H ₂ O)
9.20	0.89	6.84	2.39	9.23	6.32

1.1.2 供试线虫

两种土著优势食细菌线虫: 头叶属 (*Cephalobus* sp.) (cp2), 中杆属 (*Mesorhabditis* sp.) (cp1), 均筛自供试土壤, 保存在 22℃ 恒温培养箱中。

1.1.3 供试菌株

两种土著细菌: 产 IAA 细菌解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* (GenBank accession number JX424611) 和对照不产 IAA 的细菌贪噬菌 *Variovorax* sp. (GenBank accession number JX424612), 均筛自供试土壤, 保存在 4℃ 冰箱中。

1.1.4 培养基

线虫培养基 (Nematode growth media, NGM): 2.5 g 蛋白胨, 3g NaCl 和 17g 琼脂溶于 1L 蒸馏水中, 高压灭菌, 加入已通过无菌滤膜的 1mL 1M CaCl_2 , 1mL 1M MgSO_4 , 1mL 5mg/mL 胆固醇和 25mL 1M KHPO_4 。

LB 培养基: 蛋白胨 10g, 酵母提取物 5g, 氯化钠 10g, 琼脂 20g, 蒸馏水 1000mL, 调节 pH 7.0—7.2, 121℃ 灭菌 20 分钟。

1.2 细菌与线虫的预培养

1.2.1 细菌培养

将冰箱中预先准备好的解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* (B) 和贪噬菌 *Variovorax* sp. (V) 的菌悬液接种到 NGM 液体培养基内, 28℃ 培养 2 天, 5000 g 离心 5 min, 收集离心管底部菌体, 用无菌水反复洗涤离心三次后重新悬浮于无菌水中, 制成约 10^7 cfu mL^{-1} 的菌悬液, 待用。

1.2.2 线虫的富化培养

采用单种培养法, 将两种供试线虫头叶属 *Cephalobus* sp. (C) 或中杆属 *Mesorhabditis* sp. (M) 分别接种到长有单一解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* (B) 或者贪噬菌 *Variovorax* sp. (V) 的 NGM 固体培养基上, 采用处理中的组合——对应, 于 22℃ 富化培养。当线虫培养至达到实验所需的数量时采用浅盘法^[24]分离, 分离得到的线虫放置于灭菌的离心管中, 离心去上清液, 用无菌水重复清洗 5—6 次, 待用。

1.3 试验设计

1.3.1 处理设置

本试验采用悉生培养法, 为了尽可能少地破坏土壤的理化性质, 采用⁶⁰Co- γ 射线灭菌 (25kGy) (江苏省农业科学研究院辐照中心进行灭菌)。

本试验共设置七个处理, 每个处理设置 3 次重复:

- 1、灭菌土 (CK)
- 2、灭菌土+产 IAA 菌解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* (B)
- 3、灭菌土+B+头叶属食细菌线虫 *Cephalobus* sp. (BC)
- 4、灭菌土+B+中杆属食细菌线虫 *Mesorhabditis* sp. (BM)
- 5、灭菌土+对照菌贪噬菌 *Variovorax* sp. (V)
- 6、灭菌土+V+头叶属食细菌线虫 *Cephalobus* sp. (VC)
- 7、灭菌土+V+中杆属食细菌线虫 *Mesorhabditis* sp. (VM)

1.3.2 试验步骤

将装有 80 克无菌供试土壤的 100mL 小烧杯按处理接种细菌, 接种量为 10^6 cfu 每克干土, 于 28℃ 预培养 2 天后再按处理分别均匀接入对应的两种食细菌线虫悬液, 使每克干土中接入的线虫数达到大约 30 条, 然后补充土壤含水量到田间持水量的 60%, 即实际含水量为 24.8% 左右, 此含水量条件使得食细菌线虫对细菌的促进作用达到最强。用无菌封口膜封住小烧杯口, 22℃ 下恒温培养, 分别于接种食细菌线虫后的第 10、20 和 30 天破坏性采样, 采样时每个处理取 3 个重复测定相应指标。

1.4 测定指标与方法

1.4.1 土壤含水量

烘干称重法,在 105℃ 条件下烘干 8 小时。差值法计算含水量。

1.4.2 线虫分离与计数

采用浅盘法对线虫进行分离,称取 10g 土样,加入浅盘中,在室温下分离 48 小时之后,用两个 500 目的网筛收集线虫悬液到划有网格的小皿中,在体视显微镜下对线虫进行计数。

1.4.3 土壤中细菌数量的计数

采用稀释涂布平板法用 LB 固体培养基培养细菌并计数。

准确称取待测土样 5.00g,放入装有 45mL 无菌水并放有小玻璃珠的 150mL 三角瓶中,置摇床上振荡 30 分钟,使微生物细胞分散,静置 20—30 秒,即成 10^{-1} 稀释液;连续稀释,制成 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 等一系列稀释菌液。选择 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 这 3 个稀释梯度待涂布。采用涂布平板法,先将 LB 固体培养基高温灭菌,取出稍凉后倒入灭菌平板中,待凝固后编号,然后用无菌吸管吸取 0.1 mL 含菌土壤稀释液对号接种在相应稀释梯度编号的平板上(每个编号设 3 个重复),再用无菌的涂布器将菌液在平板上涂抹均匀,将涂抹好的平板平放于桌上 20—30 分钟,使菌液渗透入培养基内,之后将平板倒转,在 28 °C 恒温培养箱中培养 48 小时后计数。

1.4.4 土壤基础呼吸

准确称取待测土样 15.00g,放入 250mL 玻璃瓶中,塞紧橡胶塞防止漏气,密闭培养 6 小时后用注射器采集气体样品,用气相色谱仪 7890A GC system (Agilent Technologies, USA) 中的 FID 检测器来测定二氧化碳的释放通量。工作条件:柱温为 60℃,检测器温度为 300℃, H_2 流量为 40mL/min,空气流量为 300mL/min, FID 检测器的载气为 N_2 (2mL/min),色谱柱为 APPQ-6FT 填充柱。计算公式如下:

$$F = \frac{VM}{m} \frac{P}{R(273 + T)} \frac{\Delta C}{\Delta t} \times 24$$

式中, F 为气体排放通量 ($\mu g \text{ CO}_2\text{-C } 24^{-1} \text{ h } g^{-1} \text{ dry soil}$), V 为玻璃瓶体积 (L), M 为气体的摩尔质量 (g/mol), m 为土壤质量 (g), P 为大气压力,通常视为标准大气压 (atm), R 为普适气体常数 ($0.08206 \text{ L atm mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T 为玻璃瓶内的平均气温 (°C), $\Delta C/\Delta t$ 为气体的排放速率 ($\mu L \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$)。

1.4.5 土壤激素测定

称取土壤样品 10 g 到 100 mL 离心管,加入 80% (V/V) 丙酮水溶液 50 mL,在冰浴条件下超声提取 30 分钟,4000rpm 离心 10 分钟,将上清液转入旋转蒸发器内,减压浓缩 (40℃),将丙酮蒸发完全(即没有冷凝液下滴),用 0.1mol/L 盐酸调 pH 值为 2.8—3.0,再用乙酸乙酯萃取 3 次,合并有机相,减压浓缩 (40℃) 蒸干,用 5 mL 色谱纯甲醇溶解后,过 0.45 μm 有机相滤膜,滤液保存在棕色小瓶中,用高效液相色谱 (HPLC) 测定。

色谱条件:流动相甲醇:水:醋酸 = 50:45:5;检测波长 254 nm;流速 0.7 mL/min;进样量 20 μL ;色谱柱 C_{18} (uBondapak, 10u, 300 * 3.9mm)。

1.5 数据统计方法

数据统计采用 SPSS16.0 统计软件,用 Duncan 法分析不同处理间的平均值差异 ($P < 0.05$),用三因素方差 (Three-Way ANOVA) 分析在整个培养时间 (Time) (10、20 和 30 天) 内两种接种细菌 (Bacteria) (产 IAA 细菌和对照菌) 以及两种食细菌线虫 (Nematode) 对细菌数量和活性 (处理 B、BC、BM、V、VC、VM) 以及土壤 IAA 含量 (处理 CK、B、BC、BM、V、VC、VM) 的影响;作图采用 OriginPro 8.0 作图软件。

2 结果与分析

2.1 土壤中食细菌线虫数量的变化特征

由表 2 可知,在所有添加食细菌线虫的处理中,食细菌线虫都能够得到很好的生存和繁殖,线虫数量先升

高,到第 20 天的时候达到最大值,为初始线虫的 2.17—3.12 倍,到第 30 天时线虫数量有所降低,但依然能达到初始线虫的 1.61—1.89 倍。添加产激素菌 *Bacillus amyloliquefaciens* 和中杆属食细菌线虫 *Mesorhabditis* sp. 的处理(BM)线虫数在培养时期内均高于添加产激素菌 *Bacillus amyloliquefaciens* 和头叶属食细菌线虫 *Cephalobus* sp. 的处理(BC),但是差异均没有达到显著。而在培养第 10 天和第 20 天的时候添加对照菌 *Variovorax* sp. 和头叶属食细菌线虫 *Cephalobus* sp. 的处理(VC)线虫数量显著高于添加对照菌 *Variovorax* sp. 和中杆属食细菌线虫 *Mesorhabditis* sp. 的处理(VM)。显然,在 BM 和 VC 的处理中,线虫存活较好,这可能与食细菌线虫的取食偏好有关。

2.2 食细菌线虫对产 IAA 细菌数量和活性的影响

方差分析结果表明:接种不同种的细菌(Bacteria)对细菌数量和活性并没有显著的影响,而接种不同种的线虫(Nematode)和培养时间(Time)均显著地($P < 0.05$)影响了细菌的数量和活性,但是它们三者之间并不存在显著的交互作用(表 3)。

接种不同种的食细菌线虫对产 IAA 细菌以及对对照菌数量和活性的影响如图 1、图 2 所示。在整个培养期内,所有处理的细菌数量(图 1)和活性(图 2)均表现出先升高后降低的趋势,土壤中接种两种食细菌线虫的处理(BC,BM,VC,VM)的细菌数量和活性均高于单独接种产 IAA 细菌(B)和对照不产 IAA 菌(V)的处理。不同食细菌线虫和细菌在不同培养期对细菌数量和活性的影响之间存在差异,由图 1 可知,在第 10 天和第 20 天,BM 处理的细菌数量均显著高于单接产 IAA 菌的 B 处理,BC 处理虽然也高于 B 处理,但并不显著。而第 10 天和第 30 天,VC 处理的细菌数量均显著高于单接对照菌的 V 处理,VM 处理虽然也高于 V 处理,但是也没有达到显著水平;由图 2 可知,虽然接种食细菌线虫均提高了两种细菌的活性,但是在三次采样以及相对应的处理之间并没有达到显著水平,只有在第 10 天的时候,VC 处理的细菌活性最高,显著高于单独接种产 IAA 菌的处理 B。

表 3 在整个培养期(10, 20, 30 天)内,接种细菌和线虫对土壤 IAA 含量,细菌数量及基础呼吸的方差分析(Three-Way ANOVA)。

Table 3 F-values and error mean squares from three-way ANOVA on the effects of bacteria (with or without inoculated *Bacillus amyloliquefaciens* or *Variovorax* sp.) and nematodes (with or without added bacterial-feeding nematodes *Cephalobus* sp. or *Mesorhabditis* sp.) on soil IAA content, soil bacteria number (BN) and basal respiration (BR) during the incubation time (day 10, 20 and 30 after seedling establishment)

变异来源 Source of variation	df	F 值 F-value IAA 含量 IAA content	df	F 值 F-value 细菌数量 BN Bacteria number	F 值 F-value 基础呼吸 BR Basal respiration
细菌 Bacteria (B)	2	2381.97 *	1	0.24 NS	1.71 NS
线虫 Nematode (N)	2	17.84 *	2	12.60 *	3.89 *
培养时间 Time (T)	2	104.79 *	2	32.64 *	5.01 *
B × N	2	20.07 *	2	3.21 NS	0.31 NS
B × T	4	55.19 *	2	0.29 NS	0.09 NS
N × T	4	0.66 NS	4	0.75 NS	0.23 NS
B × N × T	4	1.30 NS	4	0.32 NS	0.10 NS
误差均方 Error mean squares	42	0.00	36	2.76	4.75

* 显著性差异检验 Test significant at the 5% level ($P < 0.05$); NS: 无显著性差异检验 test non-significant at the 5% level.

表 2 土壤中食细菌线虫数量(条/克干土)的动态变化

Table 2 Dynamic of bacterial-feeding nematodes in soil Values are the mean number of nematodes ± standard deviation (SD) (n=3)

处理 Treatments	线虫数量(条/克干土) The number of nematodes (individuals g ⁻¹ dry soil)		
	10 (day)	20 (day)	30 (day)
BC	41.75±7.57b	72.71±12.77b	48.44±4.26a
BM	48.09±12.35b	83.76±5.19ab	51.99±6.84a
VC	67.76±11.25a	99.51±7.22a	56.70±10.84a
VM	41.16±3.86b	64.98±13.89b	50.83±5.12a

同一列内字母不同表示有显著性差异($P < 0.05$)

BC:灭菌土+产 IAA 菌解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* +头叶属食细菌线虫 *Cephalobus* sp.

BM:灭菌土+产 IAA 菌解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* +中杆属食细菌线虫 *Mesorhabditis* sp.

VC:灭菌土+对照菌贪噬菌 *Variovorax* sp. +头叶属食细菌线虫 *Cephalobus* sp.

VM:灭菌土+对照菌贪噬菌 *Variovorax* sp. +中杆属食细菌线虫 *Mesorhabditis* sp.

2.3 食细菌线虫与产 IAA 细菌相互作用对土壤中 IAA 含量的影响

方差分析结果表明:接种两种不同的细菌 (Bacteria)、两种不同的食细菌线虫 (Nematode) 以及整个培养时间 (Time) 均显著影响了土壤中 IAA 的含量,同时,细菌和食细菌线虫二者之间的交互、细菌和培养时间二者之间的交互显著影响土壤中 IAA 的含量 (表 3)。

接种不同种的食细菌线虫与产 IAA 细菌和对照菌相互作用对土壤中 IAA 含量的影响如图 3 所示,灭菌土本身 (CK) 的 IAA 含量并不高,且在整个培养过程中变化不大,并且在接种不产 IAA 的对照菌的处理中,不管是否接种食细菌线虫,对土壤中 IAA 的含量均没有显著的影响。对比对照处理以及接种对照菌的各个处理,接种产 IAA 细菌的处理不管是否接种食细菌线虫,均显著增加了土壤中的 IAA 含量。相对于单独接种产 IAA 细菌的处理 B 来说,接种两种食细菌线虫均提高了土壤中 IAA 的含量,而两种不同的食细菌线虫对产 IAA 细菌产 IAA 量的影响也有差异,在第 10 天时,与 B 处理相比,BM 处理显著提高了 IAA 的含量,BC 处理虽然也提高了 IAA 含量,但是差异并没有达到显著;到第 20 天时,BM 和 BC 处理的 IAA 含量均显著高于 B 处理的,但是 BM 和 BC 处理之间的差异并不显著;到第 30 天时,BM 和 BC 处理的 IAA 含量均显著高于 B 处理的同时,BM 处理的土壤 IAA 含量也要显著高于 BC 处理。

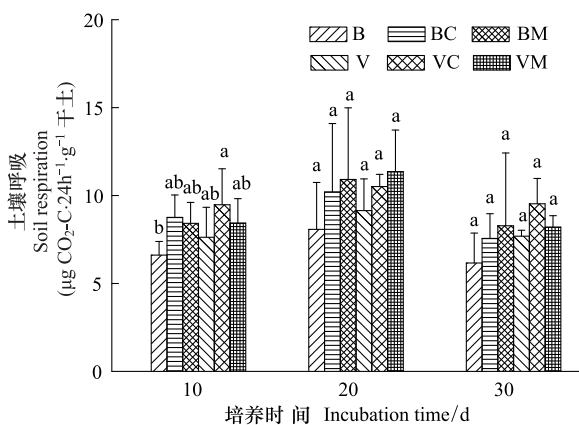


图 2 食细菌线虫对土壤呼吸的影响

Fig. 2 Effect of bacteria-feeding nematodes on soil respiration during the incubation time. Error bars represent standard deviation. For each incubation time, significant differences ($P < 0.05$, $n=3$) are indicated by different letters.

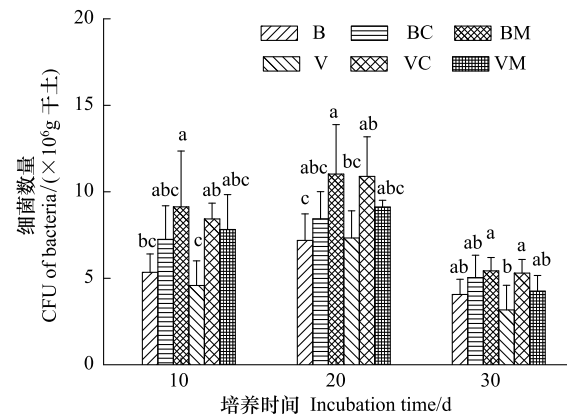


图 3 食细菌线虫对土壤细菌数量的影响

Fig. 3 Effects of bacteria-feeding nematodes on the number of bacteria during the incubation time. Error bars represent standard deviation. For each incubation time, significant differences ($P < 0.05$, $n=3$) are indicated by different letters.

B: 灭菌土 + 产 IAA 菌解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens*; BC: 灭菌土 + 产 IAA 菌解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* + 头叶属食细菌线虫 *Cephalobus* sp.; BM: 灭菌土 + 产 IAA 菌解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* + 中杆属食细菌线虫 *Mesorhabditis* sp.; V: 灭菌土 + 对照菌贪噬菌 *Variovorax* sp.; VC: 灭菌土 + 对照菌贪噬菌 *Variovorax* sp. + 头叶属食细菌线虫 *Cephalobus* sp.; VM: 灭菌土 + 对照菌贪噬菌 *Variovorax* sp. + 中杆属食细菌线虫 *Mesorhabditis* sp.; CFU (colony-forming units)

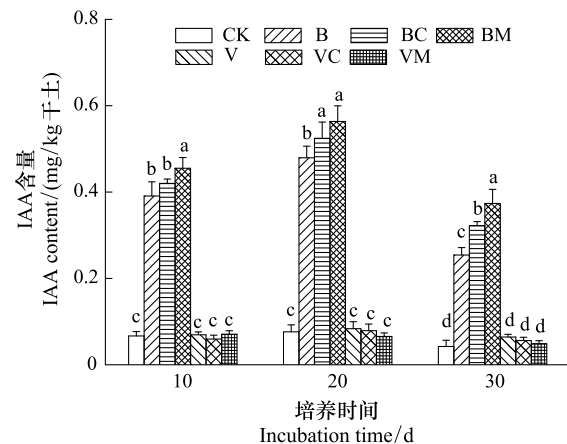


图 4 食细菌线虫对土壤 IAA 含量的影响

Fig. 4 Effects of bacterial-feeding nematodes on soil IAA content during the incubation time. Error bars represent standard deviation. For each incubation time, significant differences ($P < 0.05$, $n=3$) are indicated by different letters

IAA: 吲哚乙酸 indole acetic acid

3 讨论

本文通过悉生培养系统,探讨了两种不同 cp 值的食细菌线虫对产 IAA 细菌的数量、活性、分泌 IAA 的能

力等的影响。通过研究我们发现,接种食细菌线虫的所有处理之间的线虫数虽然存在差异,但是它们在整个培养时期内的线虫数均高于初始接种的 30 条每克干土的数量,而所有处理在整个培养期内,不管有没有接种食细菌线虫,细菌的数量均高于初始接种的 10^6 CFU 每克干土,这可能是由于本实验所用的供试材料均是筛自供试土壤,土著的细菌和线虫都很适应原土中的环境,在原土中都具有良好的生存和定殖能力,并且筛选的产 IAA 细菌和对照不产 IAA 的细菌都可以被这两种食细菌线虫取食并且影响到线虫的繁殖。而在 BM 和 VC 处理中的食细菌线虫数量要多于其他处理,这可能与食细菌线虫的取食偏好性有关^[7, 25], Djigal 等^[26] 也通过悉生培养实验发现四种不同的细菌对食细菌线虫 *Zeldia punctata* 繁殖能力的影响不同,这与本实验得到了相同的结果,肖海峰在对模式线虫 *Caenorhabditis elegans* 研究后提出,线虫的繁殖率与其取食的偏好性是相关的^[27]。

食细菌线虫的取食活动对细菌的数量和活性都会造成一定的影响,本实验研究发现,接种两种不同的食细菌线虫均可以增加细菌的数量,然而,有研究表明,线虫的过度取食也会造成细菌数量的减少,而线虫的过度取食会掩盖其对细菌数量的促进作用^[9, 28-29],食细菌线虫与细菌的数量之间存在着一种动态平衡的关系,因此本实验中细菌的数量也随着培养时间的延长存在着明显的上下波动的趋势。

相对于细菌数量来说,细菌活性的测定更能反映食细菌线虫的取食对细菌的真实影响^[30],并且在大量的研究中,线虫对细菌活性(及 CO_2 的释放强度)的影响相比细菌数量更加具备一致的趋势。在研究食细菌线虫对细菌活性的影响时,我们不得不考虑的问题是,食细菌线虫与细菌一样也有呼吸,那么这个呼吸的量是否会影响我们对结果的分析呢? 研究发现,食细菌线虫的生物量较少,通常还要少于原生动物,因此其对土壤呼吸的贡献率通常只有 1% 甚至更少^[31]。在本实验中,接种食细菌线虫提高了细菌的活性,这与以往大量的研究结果是一致的^[32-35]。食细菌线虫对细菌数量和活性的促进作用可能是因为以下几个方面:线虫的取食过程分泌出了可供细菌利用的养分,线虫摄食的细菌在线虫的肠道中获得了某些营养物质,被排出后反而加快了生长,并且线虫能将细菌的数量控制在相对较低但是已经足够的水平,减少了基质的限制作用,使得细菌能够保持在对数生长期的高活性水平,同时线虫也具有较强的移动能力,可以将细菌传播到细菌本身很难迅速到达的营养物质丰富的地方^[36-38]。同时我们发现,接种不同生活史策略(cp 值)的食细菌线虫对不同种细菌的数量和活性的影响不同,这与 Djigal 2004 年的研究结果是一致的^[26],他的研究表明相比较 *A. nanus* 和 *C. pseudoparvus* 这两种线虫, *Z. punctata* 对微生物的数量及活性的影响均较弱。研究发现,线虫对细菌的影响会因线虫的种类、代谢速率和繁殖速率的不同而不同^[3, 23, 39-40],不同生活史策略的线虫对细菌生长也有不同的影响^[41]。同时,食细菌线虫与细菌之间的相互作用也随着细菌种类的不同而不同^[29, 34, 42-44]。

而食细菌线虫在促进了细菌的增殖以及活性的过程中,也影响到了细菌代谢产物的种类和数量,在本实验中,接种食细菌线虫增加了产 IAA 细菌的数量,促进了产 IAA 细菌的活性,同时我们发现,土壤中的 IAA 含量也得到了显著的增加,目前还没有报道称食细菌线虫本身能够分泌生长素 IAA,而通过研究发现接种对照不产 IAA 菌和食细菌线虫相互作用对土壤中的 IAA 含量没有任何影响,我们更加肯定了食细菌线虫本身是不能够分泌 IAA 的,因此我们认为土壤中 IAA 含量的增加是由于土壤中产 IAA 细菌数量和活性增强的结果。有报道称,食细菌线虫比细菌的移动能力更强,这种移动能力可以促进植物促生菌在根际的定殖,而食细菌线虫的取食促进了植物促生菌的增殖和活性,并在这个过程中刺激了细菌代谢物的增多,比如一些有利于根系生长的激素类物质^[45-46],本实验结果也显示,接种食细菌线虫与产 IAA 细菌相互作用显著增加了土壤中 IAA 的含量,并且不同种食细菌线虫对 IAA 含量影响的验证结果也均达到了显著水平。由此,我们可以得出,土壤食细菌线虫是通过提高土壤中产 IAA 细菌的数量和活性,刺激其产生更多代谢产物,从而提高土壤中激素含量的。

4 小结

食细菌线虫的繁殖能力因其取食细菌种类的不同而不同,cp1 的中杆属食细菌线虫与产 IAA 细菌的组合

更能促进线虫数量的增殖;两种食细菌线虫的取食均能促进细菌数量和活性的增强,食细菌线虫与产 IAA 细菌相互作用也均能显著增加土壤中 IAA 的含量,对照菌处理则对 IAA 含量没有影响。这些促进作用也都随着接种细菌和食细菌线虫种类以及培养时间的变化而变化,接种 cp1 的中杆属食细菌线虫比 cp2 的头叶属食细菌线虫更能有效地促进产 IAA 细菌的数量、活性从而提高土壤中 IAA 的含量,这可能与中杆属食细菌线虫 cp 值低,产卵量多,周转速率更快,同时也与食细菌线虫的取食偏好性有关。

参考文献 (References):

- [1] Bouwman L A, Bloem J, van den Boogert P H J F, Bremer F, Hoenderboom G H J, de Ruiter P C. Short-term and long-term effects of bacterivorous nematodes and nematophagous fungi on carbon and nitrogen mineralization in microcosms. *Biology and Fertility of Soils*, 1994, 17 (4): 249-256.
- [2] Alpeij J, Bonkowski M, Scheu S. Protozoa, Nematoda and Lumbricidae in the rhizosphere of *Hordelymus europaeus* (Poaceae): faunal interactions, response of microorganisms and effects on plant growth. *Oecologia*, 1996, 106(1): 111-126.
- [3] Ferris H, Venette R C, Van Der Meulen H R, Lau S S. Nitrogen mineralization by bacterial-feeding nematodes: verification and measurement. *Plant and Soil*, 1998, 203(2): 159-171.
- [4] Bonkowski M, Cheng W X, Griffiths B S, Alpeij J, Scheu S. Microbial-faunal interactions in the rhizosphere and effects on plant growth1. *European Journal of Soil Biology*, 2000, 36(3/4): 135-147.
- [5] Chen J, Ferris H. Growth and nitrogen mineralization of selected fungi and fungal-feeding nematodes on sand amended with organic matter. *Plant and Soil*, 2000, 218(1/2): 91-101.
- [6] Savin M C, Görres J H, Neher D A, Amador J A. Uncoupling of carbon and nitrogen mineralization: role of microbivorous nematodes. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(11): 1463-1472.
- [7] Salinas K A, Edenborn S L, Sextstone A J, Kotcon J B. Bacterial preferences of the bacterivorous soil nematode *Cephalobus brevicauda* (Cephalobidae): Effect of bacterial type and size. *Pedobiologia*, 2007, 51(1): 55-64.
- [8] Dos Santos G A P, Derycke S, Fonsêca-Genevois V G, Coelho L C B B, Correia M T S, Moens T. Differential effects of food availability on population growth and fitness of three species of estuarine, bacterial-feeding nematodes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2008, 355(1): 27-40.
- [9] Ingham R E, Trofymow J A, Ingham E R, Coleman D C. Interactions of bacteria, fungi, and their nematode grazers: effects on nutrient cycling and plant growth. *Ecological Monographs*, 1985, 55(1): 119-140.
- [10] Anderson R V, Elliott E T, McClellan J F, Coleman D C, Cole C V, Hunt H W. Trophic interactions in soils as they affect energy and nutrient dynamics. III. Biotic interactions of bacteria, amoebae, and nematodes. *Microbial Ecology*, 1977, 4(4): 361-371.
- [11] Coleman D C, Cole C V, Hunt H W, Klein D A. Trophic interactions in soils as they affect energy and nutrient dynamics. I. Introduction. *Microbial Ecology*, 1977, 4(4): 345-349.
- [12] Abrams B I, Mitchell M J. Role of nematode-bacterial interactions in heterotrophic systems with emphasis on sewage sludge decomposition. *Oikos*, 1980, 35(3): 404-410.
- [13] Anderson R V, Coleman D C, Cole C V, Elliott E T. Effect of the nematodes *Acrobeloides* sp. and *Mesodiplogaster lheritieri* on substrate utilization and nitrogen and phosphorous mineralization in soil. *Ecology*, 1981, 62(3): 549-555.
- [14] Anderson R V, Coleman D C, Cole C V, Elliott E T, McClellan J F. The use of soil microcosms in evaluating bacteriophagic nematode responses to other organisms and effects on nutrient cycling. *International Journal of Environmental Studies*, 1979, 13(2): 175-182.
- [15] Sundin P, Valeur A, Olsson S, Odham G. Interactions between bacteria-feeding nematodes and bacteria in the rape rhizosphere: effects on root exudation and distribution of bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 1990, 6(1): 13-22.
- [16] 毛小芳, 胡锋, 陈小云, 李辉信. 不同土壤水分条件下华美新小杆线虫对枯草芽孢杆菌数量、活性及土壤氮素矿化的影响. *应用生态学报*, 2007, 18(2): 405-410.
- [17] 陈小云, 胡锋, 李辉信, 毛小芳. 不同悉生培养条件下食细菌线虫对细菌种群的影响. *应用生态学报*, 2003, 14(9): 1585-1587.
- [18] 毛小芳, 李辉信, 龙梅, 胡锋. 不同食细菌线虫取食密度下线虫对细菌数量、活性及土壤氮素矿化的影响. *应用生态学报*, 2005, 16(6): 1112-1116.
- [19] Cheng Y H, Jiang Y, Griffiths B S, Li D M, Hu F, Li H X. Stimulatory effects of bacterial-feeding nematodes on plant growth vary with nematode species. *Nematology*, 2011, 13(3): 369-372.
- [20] Mao X F, Hu F, Griffiths B, Chen X Y, Liu M Q, Li H X. Do bacterial-feeding nematodes stimulate root proliferation through hormonal effects?.

- Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(7): 1816-1819.
- [21] Mao X F, Hu F, Griffiths B, Li H X. Bacterial-feeding nematodes enhance root growth of tomato seedlings. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(7): 1615-1622.
- [22] Jiang Y, Wu Y, Xu W S, Cheng Y H, Chen J D, Xu L, Hu F, Li H X. IAA-producing bacteria and bacterial-feeding nematodes promote *Arabidopsis thaliana* root growth in natural soil. European Journal of Soil Biology, 2012, 52: 20-26.
- [23] Bongers T. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. Oecologia, 1990, 83(1): 14-19.
- [24] Goodfriend W L, Olsen M W, Frye R J. Soil microfloral and microfaunal response to *Salicornia bigelovii* planting density and soil residue amendment. Plant and Soil, 2000, 223(1/2): 23-32.
- [25] Newsham K K, Rolf J, Pearce D A, Strachan R J. Differing preferences of Antarctic soil nematodes for microbial prey. European Journal of Soil Biology, 2004, 40(1): 1-8.
- [26] Djigal D, Sy M, Brauman A, Diop T A, Mountport D, Chotte J L, Villenave C. Interactions between *Zeldia punctata* (Cephalobidae) and bacteria in the presence or absence of maize plants. Plant and Soil, 2004, 262(1/2): 33-44.
- [27] 肖海峰, 焦加国, 胡锋, 李辉信. 食细菌线虫 *Caenorhabditis elegans* 的取食偏好性. 生态学报, 2010, 30(24): 7101-7105.
- [28] Griffiths B S, Ritz K, Wheatley R E. Nematodes as indicators of enhanced microbiological activity in a Scottish organic farming system. Soil Use and Management, 1994, 10(1): 20-24.
- [29] Venette R C, Ferris H. Influence of bacterial type and density on population growth of bacterial-feeding nematodes. Soil Biology and Biochemistry, 1998, 30(7): 949-960.
- [30] Djigal D, Brauman A, Diop T A, Chotte J L, Villenave C. Influence of bacterial-feeding nematodes (Cephalobidae) on soil microbial communities during maize growth. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(2): 323-331.
- [31] Sohlenius B. Abundance, biomass and contribution to energy flow by soil nematodes in terrestrial ecosystems. Oikos, 1980, 34(2): 186-194.
- [32] 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.
- [33] Woods L E, Cole C V, Elliott E T, Anderson R V, Coleman D C. Nitrogen transformations in soil as affected by bacterial-microfaunal interactions. Soil Biology and Biochemistry, 1982, 14(2): 93-98.
- [34] Fu S L, Ferris H, Brown D, Plant R. Does the positive feedback effect of nematodes on the biomass and activity of their bacteria prey vary with nematode species and population size?. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(11): 1979-1987.
- [35] Mikola J, Setälä H. Productivity and trophic-level biomasses in a microbial-based soil food web. Oikos, 1998, 82(1): 158-168.
- [36] 胡锋, 李辉信, 谢涟琪, 吴珊眉. 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): 914-920.
- [37] Griffiths B S, Bardgett R D. Interactions between microbe-feeding invertebrates and soil microorganisms// van Elsas J D, Trevors J T, Wellington E M H, eds. Modern Soil Microbiology. New York: CRC Press, 1997: 165-182.
- [38] Mamilov A S, Bykov B A, Zvyagintsev D G, Dilly O M. Predation on fungal and bacterial biomass in a soddy-podzolic soil amended with starch, wheat straw and alfalfa meal. Applied Soil Ecology, 2001, 16(2): 131-139.
- [39] Ferris H, Venette R C, Lau S S. Population energetics of bacterial-feeding nematodes: carbon and nitrogen budgets. Soil Biology and Biochemistry, 1997, 29(8): 1183-1194.
- [40] Blanc C, Sy M, Djigal D, Brauman A, Normand P, Villenave C. Nutrition on bacteria by bacterial-feeding nematodes and consequences on the structure of soil bacterial community. European Journal of Soil Biology, 2006, 42(S1): S70-S78.
- [41] Mikola J, Setälä H. Relating species diversity to ecosystem functioning: mechanistic backgrounds and experimental approach with a decomposer food web. Oikos, 1998, 83(1): 180-194.
- [42] Ferris H, Venette R C, Scow K M. Soil management to enhance bacterivore and fungivore nematode populations and their nitrogen mineralisation function. Applied Soil Ecology, 2004, 25(1): 19-35.
- [43] Marschner P, Yang C H, Lieberei R, Crowley D E. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. Soil Biology & Biochemistry, 2001, 33(11): 1437-1445.
- [44] Grewal P S. Influence of bacteria and temperature on the reproduction of *caenorhabditis elegans* (Nematoda: Rhabditidae) infesting mushrooms (*Agaricus Bispor Us*). Nematologica, 1991, 37(1/4): 72-82.
- [45] Knox O G G, Killham K, Artz R R E, Mullins C, Wilson M. Effect of nematodes on rhizosphere colonization by seed-applied bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(8): 4666.
- [46] Knox O G G, Killham K, Mullins C E, Wilson M J. Nematode-enhanced microbial colonization of the wheat rhizosphere. FEMS Microbiology Letters, 2003, 225(2): 227-233.