

DOI: 10.5846/stxb201605050863

王笑, 王帅, 滕明姣, 林小芬, 吴迪, 孙静, 焦加国, 刘满强, 胡锋. 两种代表性蚯蚓对设施菜地土壤微生物群落结构及理化性质的影响. 生态学报, 2017, 37(15): 5146-5156.

Wang X, Wang S, Teng M J, Lin X F, Wu D, Sun J, Jiao J G, Liu M Q, Hu F. Impacts of two typical earthworms on soil microbial community structure and physicochemical properties in a greenhouse vegetable field. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(15): 5146-5156.

两种代表性蚯蚓对设施菜地土壤微生物群落结构及理化性质的影响

王 笑^{1,2}, 王 帅^{1,2}, 滕明姣^{1,2}, 林小芬^{1,2}, 吴 迪^{1,2}, 孙 静^{1,2}, 焦加国^{1,2}, 刘满强^{1,2,*}, 胡 锋^{1,2}

1 南京农业大学资源与环境科学学院土壤生态实验室, 南京 210095

2 江苏省有机固体废弃物资源化协同创新中心, 南京 210014

摘要:不同生态型蚯蚓的取食偏好和生境有所差异,因此蚯蚓的生态型差异可能关乎其对土壤性质的不同影响;有关不同生态型蚯蚓对土壤性质尤其是微生物学性质影响的研究有助于了解蚯蚓生态功能的作用机制。在野外调控试验的第4年采集土壤,研究了牛粪混施和表施处理下内层种威廉腔环蚓(*Metaphire guillelmi*)和表层种赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)对设施菜地土壤微生物群落结构和主要理化性质的影响。结果表明,土壤微生物群落结构同时受到蚯蚓种类和牛粪施用方式的影响。牛粪表施时,两种蚯蚓均显著降低了菌根真菌、真菌生物量和原生动物生物量($P < 0.05$);牛粪混施时,不同蚯蚓的影响有所差异,威廉腔环蚓明显增加了菌根真菌、真菌生物量和放线菌生物量,而赤子爱胜蚓的作用不明显。此外,两种蚯蚓均提高了土壤孔隙度、团聚体稳定性和土壤 pH、矿质氮以及微生物生物量碳氮水平,但提高幅度取决于蚯蚓种类和牛粪施用方式。冗余分析表明蚯蚓影响下土壤微生物群落结构的变化与团聚体稳定性、pH、速效磷、矿质氮呈正相关,而与土壤容重呈负相关。

关键词:微生物群落;赤子爱胜蚓;威廉腔环蚓;有机物施用;土壤性质;土壤动物

Impacts of two typical earthworms on soil microbial community structure and physicochemical properties in a greenhouse vegetable field

WANG Xiao^{1,2}, WANG Shuai^{1,2}, TENG Mingjiao^{1,2}, LIN Xiaofen^{1,2}, WU Di^{1,2}, SUN Jing^{1,2}, JIAO Jianguo^{1,2}, LIU Manqiang^{1,2,*}, HU Feng^{1,2}

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

2 Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization, Nanjing 210014, China

Abstract: Earthworms are considered one of the most important soil ecosystem engineers. Earthworms play critical roles in soil functioning through their burrowing, feeding, and casting activities. There are distinct ecological strategies (i.e., food selection, ingestion, assimilation, and habitat preference) for different earthworm ecotypes. Consequently, different earthworm ecotypes would have different effects on soil properties. Understanding the impacts of different earthworms on soil microbial communities would increase our mechanistic understanding of the role of earthworms in ecosystem services. Several studies have shown that earthworms facilitate the translocation of fresh residues into soil and create suitable habitat (casts, middens and burrows) for other soil organisms. Moreover, the interaction of earthworm feeding strategies and organic amendment could profoundly modulate soil properties and microbial community structure. However, there is a knowledge gap

基金项目:国家自然科学基金项目(41171206);公益性行业科研专项(201503121);江苏省高校优势学科建设工程项目(PAPD)

收稿日期:2016-05-05; **网络出版日期:**2017-03-22

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

in this respect. In particular, few studies have been conducted under field conditions. To understand the long-term impact of earthworms and manure on soil microbial community structure, a tomato-spinach rotation experiment was initiated in 2009. Based on the soil collected during the fourth year following the set-up of the field experiment, the effects of two typical earthworms (i.e., endogeic *Metaphire guillelmi* and epigeic *Eisenia foetida*) and two manure application treatments (i.e., surface mulch and incorporation into the soil) on soil microbial community were investigated. The native endogeic species, *Metaphire guillelmi*, lives in the upper soil layers and primarily consumes soil mineral particles rich in organic matter, whereas *E. foetida*, a well-known epigeic species, resides mainly in the upper organic layers and feeds on litter materials. Our results demonstrated that soil microbial community structure was significantly affected by earthworm species and the method of manure application. With manure application at the soil surface, earthworms could significantly decrease mycorrhizal fungi, fungi biomass and protozoa biomass independent of earthworm type ($P < 0.05$). When manure was incorporated into the soil, *M. guillelmi* significantly increased mycorrhizal fungi, fungi biomass and actinomyces biomass, although the effect of *E. foetida* was not significant. Regardless of type, earthworms significantly increased soil porosity, soil aggregate stability represented by mean weight diameter and pH, soil mineral nitrogen, available phosphorus, as well as microbial biomass carbon and nitrogen content. In addition, the extent of increase depended on earthworm ecotype and the method of manure application. Redundancy analysis showed that earthworm-mediated microbial community structure was positively correlated with soil aggregate stability as expressed by mean weight diameter, pH, and available phosphorus content, whereas it was negatively correlated with soil bulk density.

Key Words: microbial community; *Eisenia foetida*; *Metaphire guillelmi*; organic amendment; soil properties; soil fauna

我国农业中化肥过量施用已经引发了公众对食品安全和环境污染等问题的担忧,这在集约化的设施蔬菜栽培中尤为突出^[1-2]。例如,大量研究结果表明长期施用化肥会降低土壤生物活性,导致土壤质量退化^[3-4]。相比之下,有机物料如畜禽粪便肥的施用不仅能够提高土壤有机质和养分水平,而且能够促进土壤生物群落的发展和生态功能的增强^[5-7]。因此,合理施用和评估畜禽粪便对土壤生态系统结构和功能的影响对于今后减少其本身的环境问题及资源化利用都具有重要价值。以往有机废弃物对土壤质量改良的研究多集中在土壤理化性质和微生物学性质上,但针对土壤动物这一土壤碎屑食物网内的重要组分却关注甚少^[8]。

大型土壤动物蚯蚓作为“生态系统工程师”,在维持土壤生态系统的结构和功能方面占有重要地位,加强蚯蚓生态服务功能、提高土壤过程的自调节能力正是当前发展生态循环农业所亟需的^[9]。在蚯蚓调节土壤功能过程的背后,实质上主要是蚯蚓与土壤微生物的密切联系和共同作用^[10-12],但有关联系特别是蚯蚓对微生物群落的影响格局及机制尚缺乏深入了解。涵盖各种生态系统、土壤类型及蚯蚓种类的研究基本得出的一致结论是:蚯蚓不仅通过直接取食微生物来影响微生物群落,还通过改变土壤理化性质,包括土壤孔隙度、团聚体稳定性、持水特征、土壤酸碱度、有机碳组成和矿质养分元素的有效性等间接影响土壤微生物群落。特别值得注意的是,以往的研究证实了蚯蚓影响微生物群落结构与多种因素有关,其中蚯蚓的生态(类)型差异是关键因子,但是仍关注较少^[11]。实际上,不同生态型的蚯蚓与其生境(生活的土壤层次)和食物资源偏好密切相关,并进而影响其对土壤微生物群落及生态功能的作用。例如,表层种蚯蚓的生物扰动能力低,主要生活在土壤表层,取食有机质,对氮素矿化有显著促进作用,是广泛应用的堆肥种^[13];相比之下,内层种蚯蚓主要生活在土壤内,生物扰动能力高,偏好取食富含有机质的土壤,能够很好地将有机物和土壤混合^[14],对土壤物理结构及养分循环都有显著的促进作用^[9]。有机物料表施时,接种表层种蚯蚓和深层种蚯蚓后土壤 pH 值、碳水化合物、氨基酸含量显著增加^[15];当有机物料混施入土壤时,内层种蚯蚓能促进土壤物理结构改善,提高矿质氮含量,但表层种蚯蚓作用不明显^[16]。因此,这两种蚯蚓在不同牛粪施用方式下对微生物群落结构的影响也可能会不同。虽然两类蚯蚓在国内外广泛分布,特别是对生态系统功能的影响可能不同,但是有关二者功能机制差异的研究仍较为缺乏。

了解蚯蚓对土壤微生物群落的影响将为揭示土壤生态功能机制提供重要依据。值得一提的是,现有的研究主要是室内较小时空尺度的控制实验,而土壤生物的作用受到环境条件的巨大的影响,田间较大时空尺度上的研究可以更好的反映实际自然条件下蚯蚓的真实作用,因此具备更广泛的研究意义。本研究利用野外设施蔬菜地,通过接入内层种(威廉腔环蚓 *Metaphire guillelmi*)和表层种蚯蚓(赤子爱胜蚓 *Eisenia foetida*),结合不同牛粪施用方式,探究土壤微生物群落结构的变化,为揭示蚯蚓调控土壤生态过程的机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 研究地点及实验设计

定位试验位于江苏省苏州相城区有机蔬菜种植基地,土壤质地为粘壤土,初始土壤基本性质如下:pH 5.96,有机碳 21.9 g/kg,总氮 2.65 g/kg,碱解氮 148 mg/kg 和有效磷 4.70 mg/kg。从 2009 年开始,采用番茄-菠菜轮作方式,番茄种植期为 4 月到 7 月,菠菜种植期为 10 月到 12 月。试验采用 3×2 双因素交互设计,即蚯蚓 3 水平(未接蚯蚓、接内层种威廉腔环蚓 *Metaphire guillelmi* 和接表层种赤子爱胜蚓 *Eisenia foetida*)和牛粪堆肥(常规堆制,下文简称为牛粪)施用方式 2 水平(表施和混施),并根据当地施肥水平设置了单施化肥的对照处理^[9]。因此,本试验的所有处理为:①牛粪表施;②牛粪表施+赤子爱胜蚓;③牛粪表施+威廉腔环蚓;④牛粪混施;⑤牛粪混施+赤子爱胜蚓;⑥牛粪混施+威廉腔环蚓;⑦单施化肥。其中,威廉腔环蚓是在当地农田中调查所得优势土著种,赤子爱胜蚓是常见堆肥种。每个处理 3 个重复,随机区组排列。小区面积为 1.2 m×2.4 m,每个小区与小区之间采用硅酸钙水泥板隔开,间隔 0.5 m,硅酸钙水泥板深入土壤 0.6 m,高出地面 0.2 m,防止蚯蚓逃逸及小区地表肥料的径流。根据当地的施肥水平,化肥的用量为:N 300 kg/hm²,P₂O₅ 360 kg/hm²,K₂O 260 kg/hm²,牛粪的施用量为 30 t/hm²,其基本性质:N 22.15 g/kg、P 12.10 g/kg、K 2.10 g/kg、含水量 76%。此为多年种植蔬菜的设施大棚,在该定位实验之前,由于连续施用化肥和每年夏天都进行大棚封闭的闷棚处理(大棚内温度都在 60℃ 以上),因此大棚内没有蚯蚓。此外,在实验开始后每年都调查蚯蚓,并用手捡法除去未接蚯蚓处理中的极少数蚯蚓。根据当地调查所得,威廉腔环蚓是优势土著种,未能发现表层种赤子爱胜蚓,为比较两种生态型蚯蚓作用的差异性,设定两种生态型蚯蚓的接种密度均为 60 g/m²,且于每年第一季作物播种前一周调查各小区内蚯蚓数量,如接种蚯蚓小区蚯蚓数量少于初始接种量,则补充蚯蚓数量到 60 g/m² 的密度(近 4 年每小区每年的补充量不超过初始量的 20%),不接蚯蚓的处理中手捡去除小区内全部蚯蚓。蚯蚓接种前,用米汤进行清肠处理 24 h,接入时将蚯蚓按一定的间距均匀摆放到田面上,观察蚯蚓入土情况,必要时替换活性较差的蚯蚓。田间各处理采用相同的管理措施,如滴灌和人工除草等。为保证蚯蚓的正常活动,在实验过程中不使用农药。

蚯蚓及土壤样品的采集均于 2013 年 7 月(第 4 年)蔬菜收获期进行。每个小区随机挖 0.4 m×0.6 m×0.6 m 大小的样方 3 个,手捡法调查蚯蚓的生长状况和数量,再根据面积比例求得整个小区的蚯蚓数量,用米汤将蚯蚓进行清肠 24 h 后称重,记录蚯蚓生物量。土壤样品采用 S 型取样法,每个小区选取 5 个采样点用土钻采集表层土(0—20 cm),用于土壤化学性质(4℃ 保存)的测定;此外,每个小区选取 5 个点用环刀采集田间原状土,用于土壤容重的测定。

1.2 土壤理化性质分析

采集的土壤样品分别用于测定土壤水稳性团聚体组成、pH、速效养分(氮磷)、微生物生物量碳氮和土壤微生物群落结构。

土壤容重采用环刀法测定。环刀内的土壤体积为 100 cm³,通过测定含水量求得土壤容重及孔隙度:

$$\text{容重}(\text{g}/\text{cm}^3) = \frac{(M-G) \times 100}{V \times (100+W)}$$

式中, M 为环刀及湿土重(g), G 为环刀重(g), V 为环刀容积(cm³), W 为土壤含水量(%)。

$$\text{孔隙度} = (1 - \frac{\text{容重}}{\text{密度}}) \times 100\%; \text{其中,土壤密度为 } 2.65 \text{ g}/\text{cm}^3。$$

水稳性团聚体测定,称取 50.0g 风干土用湿筛法分成 > 2 mm、2—0.25 mm、0.25—0.053 mm 和 < 0.053 mm 共 4 个级别,用平均重量直径(MWD)来描述团聚结构的稳定性^[17]:

$$MWD = \sum_{i=1}^{n+1} \frac{R_{i-1} + R_i}{2} \times m_i$$

式中, R_i 是第 i 个筛子的孔径, $R_0=R_1$, $R_4=R_3$, n 为筛子的数量, m_i 是第 i 个筛子上颗粒百分比。

土壤 pH 使用无 CO₂水浸提(土水比 1:2.5, W:V) 电位法测定;矿质氮(铵态氮和硝态氮)采用 2 mol/L KCl 溶液浸提(土液比 1:5, W:V),连续流动分析仪(Auto Analyser AA3,德国)测定;速效磷测定使用钼蓝比色法;土壤微生物生物量碳氮(MBC, MBN)测定采用氯仿熏蒸-K₂SO₄浸提法,熏蒸与未熏蒸提取液中的有机碳、氮差值分别除以系数($K_c=0.38$, $K_N=0.54$)计算 MBC 和 MBN 含量。浸提液中的有机碳和氮分别采用有机碳分析仪(Elementar Vario EL III,德国)和凯氏定氮法测定^[17]。

1.3 土壤微生物磷脂脂肪酸(PLFA)分析

称取 2.00 g 冷冻干燥的土样,采用修正的 Bligh-Dyer 方法提取,将提取液中包含磷脂的部分用碱性甲醇分解成脂肪酸甲基酯,然后用气相色谱仪上机测定,识别和量化的磷脂脂肪酸用 MIDI 软件中的微生物校准标准来确定。用 19:0 的脂肪酸甲酯作为内部标准将代表 PLFAs 的其他峰面积转换为浓度含量。某些 PLFAs 被用来确定特定的微生物群体的存在及它们的丰富度,细菌用 i14:0, i15:0, a15:0, 15:0, i16:0, 16:1ω9, 16:1ω7t, i17:0, a17:0, 17:0, 17:1ω8, cy17:0, 18:1ω7, cy19:0 来表征,其中 i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0 属于革兰氏阳性菌,16:1ω9, 16:1ω7t, cy17:0, 18:1ω5, 18:1ω7, cy19:0 属于革兰氏阴性菌;真菌用 18:2ω6c 来表征;菌根真菌用 16:1ω5c 来表征;放线菌用 10Me16:0, 10Me17:0, 10Me18:0 来表征;原生动物用 20:2ω6c, 20:3ω6c, 20:4ω6c 来表征^[18-19]。

1.4 数据分析

数据采用平均值±标准误表示,文中显著水平均指 $P<0.05$,利用 SPSS 进行双因素方差分析、冗余分析(RDA)及主成分分析(PCA)等。将 PLFA 的特征脂肪酸含量的数据在转换成百分数之后,用 PCA 评估蚯蚓和牛粪施入方式下微生物群落结构的整体变化。收获期蚯蚓的生物量与初始接种的蚯蚓生物量比较及化肥处理与其他处理之间的比较均采用独立样本 t 检验方法分析。

2 结果与分析

2.1 蚯蚓生物量

与初始接种量相比,除牛粪混施下赤子爱胜蚓生物量下降 12%外,其他处理蚯蚓生物量均显著增加,尤其是牛粪混施下威廉腔环蚓生物量增加幅度达 47%(表 1)。

表 1 不同代表性蚯蚓在牛粪表施或混施时的生物量

Table 1 Two typical earthworms biomass as influenced by the way of cattle manure application

牛粪 Manure	蚯蚓 Earthworm	番茄播种期 Tomato sowing	番茄收获期 Tomato harvesting	P^*
表施 Manure at surface	未接蚯蚓 S	0	0	
	威廉腔环蚓 SM	172.9±0.5	199.7±5.8	0.049
	赤子爱胜蚓 SE	173.0±0.7	186.3±3.2	0.038
混施 Manure incorporated	未接蚯蚓 I	0	0	
	威廉腔环蚓 IM	173.2±0.5	258.9±4.4	0.002
	赤子爱胜蚓 IE	173.6±0.4	150.9±0.5	0.001
化肥 Fertilizer		0	0	

S:牛粪表施,SM:牛粪表施+威廉腔环蚓,SE:牛粪表施+赤子爱胜蚓,I:牛粪混施,IM:牛粪混施+威廉腔环蚓,IE:牛粪混施+赤子爱胜蚓;配对 t 检验显著水平

2.2 土壤微生物群落

2.2.1 土壤微生物生物量

蚯蚓类型显著影响土壤 MBC ($F = 50.6, P < 0.05$) 和 MBN ($F = 302.0, P < 0.05$); 牛粪施用方式也显著影响土壤 MBC ($F = 9.0, P < 0.05$) 和 MBN ($F = 32.6, P < 0.05$); 蚯蚓类型与牛粪施用方式的交互作用显著影响土壤 MBN ($F = 59.0, P < 0.05$), 但对土壤 MBC 的影响没有达到显著水平 ($F = 1.3, P > 0.05$) (表 3)。牛粪表施或混施, 在蚯蚓作用下 MBC 和 MBN 含量均升高, 并且赤子爱胜蚓对 MBC 的促进作用要比威廉腔环蚓的更大; 相比之下, 威廉腔环蚓对 MBN 的影响比赤子爱胜蚓更强, 其中牛粪表施时, 赤子爱胜蚓对 MBN 影响没有达到显著水平。与单施化肥相比, 单施牛粪处理显著提高 MBC 和 MBN, 其中混施条件下对 MBC 效果更显著, 表施条件下对 MBN 效果更显著 (图 1)。

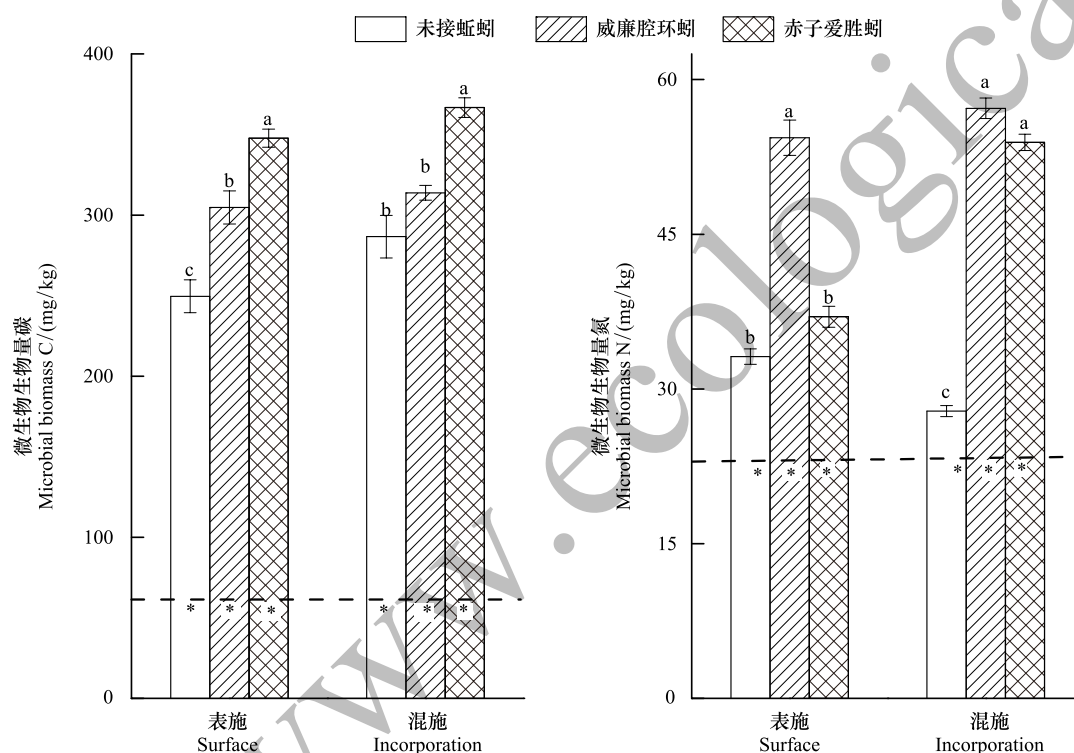


图 1 不同种类蚯蚓在牛粪表施或混施时对土壤微生物生物量碳和微生物生物量氮的影响

Fig. 1 Soil microbial biomass carbon and nitrogen contents as influenced by different types of earthworm and the way of cattle manure application

虚线代表单施化肥处理的数值, * 表示单施化肥处理与其他处理相比微生物生物量碳、氮的变化达到显著水平

2.3.2 土壤微生物群落结构

双因素方差分析表明, 蚯蚓类型、牛粪施用方式及二者的交互作用对各特征脂肪酸含量的影响没有达到显著水平 (数据略)。与施加化肥的处理相比, 无论是否接种蚯蚓牛粪表施或混施均显著提高了土壤中各特征脂肪酸含量; 其中在不接种蚯蚓时, 牛粪表施处理比牛粪混施处理具有更高细菌生物量、菌根真菌、真菌生物量 (表 2)。牛粪表施时, 两种不同生态型蚯蚓均显著降低了土壤中菌根真菌、真菌生物量、原生动物生物量, 其中威廉腔环蚓对放线菌生物量也引起显著降低; 牛粪混施时, 两种生态型蚯蚓均增加了革兰氏阴性菌生物量, 其中威廉腔环蚓还显著增加菌根真菌、真菌生物量、放线菌生物量。

蚯蚓改变了土壤微生物群落结构, 尤其在牛粪表施时两种类型蚯蚓的影响比牛粪混施时效果更明显, 且赤子爱胜蚓在牛粪表施而威廉腔环蚓在牛粪混施时影响比较大 (图 2)。RDA 排序图的典型轴 1 和轴 2 共解释了微生物群落结构变异的 57.44% (图 3), 说明土壤微生物群落结构与环境因子之间有很强的关联性。团

聚体平均重量直径、pH、矿质氮、速效磷对微生物群落影响较大,且大多土壤微生物类群与团聚体平均重量直径、pH、速效磷呈显著正相关,与土壤容重呈显著负相关(图3)。

表 2 牛粪表施或混施时不同种类蚯蚓对各特征磷脂脂肪酸含量的影响

Table 2 Biomarker-PLFAs contents as influenced by different types of earthworm and the way of cattle manure application										
牛粪 Manure	蚯蚓 Earthworm	PLFAs 总量 Total PLFAs/ (nmol/g)	革兰氏 阳性菌 G ⁺ / (nmol/g)	革兰氏 阴性菌 G ⁻ / (nmol/g)	细菌总量 Bacteria/ (nmol/g)	菌根真菌 Mycorrhiza fungi/ (nmol/g)	真菌生物量 Fungi/ (nmol/g)	真菌/细菌 F/B	放线菌 Actinomycetes/ (nmol/g)	原生动物 Protozoa/ (nmol/g)
表施	未接蚯蚓 S	51.54±2.04a	13.30±0.35a	7.79±0.38a	22.24±0.74a	1.65±0.14b	2.66±0.18a	0.12±0.04a	5.65±0.14a	1.01±0.19a
Manure at surface	接威廉腔环蚓 SM	47.43±2.25ab	12.72±0.94ab	7.53±0.37ab	21.31±1.36ab	1.43±0.12c	2.14±0.12b	0.10±0.02a	4.68±0.30b	0.27±0.01b
	接赤子爱胜蚓 SE	49.42±2.49a	13.30±1.28a	7.32±0.43ab	21.82±1.74a	1.46±0.01c	1.85±0.13b	0.08±0.03a	5.10±0.09a	0.36±0.03b
混施	未接蚯蚓 I	41.3±2.03b	10.77±0.66bc	6.37±0.29b	18.12±0.98bc	1.28±0.11c	1.75±0.12b	0.10±0.01a	4.69±0.08b	0.34±0.01b
Manure incorporated	接威廉腔环蚓 IM	48.55±2.19a	12.61±0.28ab	8.08±0.56a	21.72±0.83a	1.73±0.09a	2.52±0.10a	0.12±0.04a	5.35±0.15a	0.36±0.02b
	接赤子爱胜蚓 IE	45.44±2.22ab	12.06±0.63ab	7.18±0.26a	20.21±0.87ab	1.14±0.04c	2.01±0.21b	0.10±0.03a	5.09±0.72b	0.34±0.06b
化肥 Fertilizer		32.10±0.67 *	9.32±0.24 *	4.92±0.04 *	15.11±0.37 *	0.45±0.21 *	0.66±0.04 *	0.04±0.04 *	3.59±0.13 *	0.00±0.00 *

S:牛粪表施,SM:牛粪表施+威廉腔环蚓,SE:牛粪表施+赤子爱胜蚓,I:牛粪混施,IM:牛粪混施+威廉腔环蚓,IE:牛粪混施+赤子爱胜蚓;G⁺:革兰氏阳性菌,G⁻:革兰氏阴性菌,F/B:真菌/细菌;不同小写字母代表土壤理化性质处理间达到显著差异;*表示单施化肥处理与其他处理相比达到显著差异水平 P<0.05

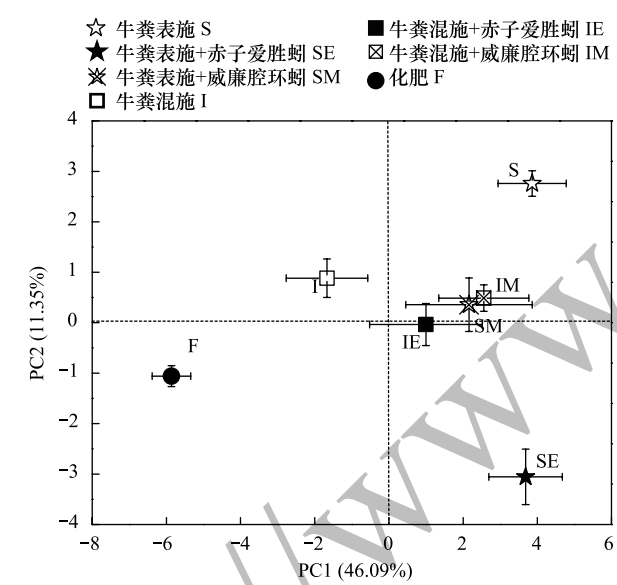


图 2 不同种类蚯蚓在牛粪表施或混施时对土壤微生物群落结构影响的主成分分析图

Fig. 2 Principal component analysis bi-plot showing soil microbial community structure influenced by different types of earthworm and the way of cattle manure application

S:牛粪表施,SM:牛粪表施+威廉腔环蚓,SE:牛粪表施+赤子爱胜蚓,I:牛粪混施,IM:牛粪混施+威廉腔环蚓,IE:牛粪混施+赤子爱胜蚓

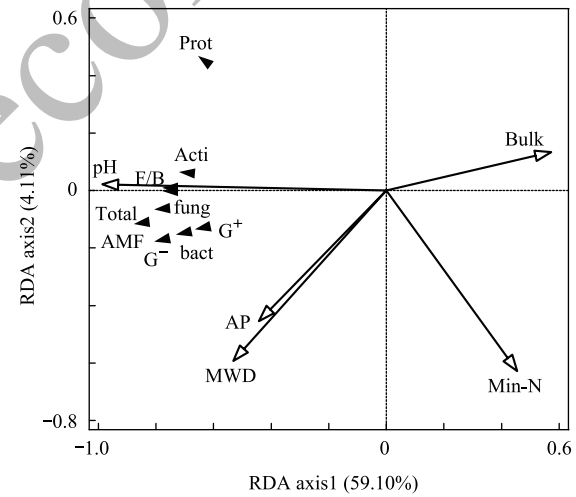


图 3 土壤微生物群落结构与土壤因子之间相关性的冗余分析排序图

Fig.3 Redundancy analysis bi-plot between soil microbial community structure and soil properties

MWD,平均重量直径;Bulk,容重;Min-N,矿质氮;AP,速效磷;Total,总微生物量;G⁺,革兰氏阳性菌生物量;G⁻,革兰氏阴性菌生物量;bact,细菌生物量;fung,真菌生物量;F/B,真菌/细菌;AMF,菌根真菌;Prot,原生动物生物量;Acti,放线菌生物量

2.3 土壤理化性质的变化

蚯蚓类型显著影响土壤团粒结构 ($F = 18.60, P < 0.05$)、矿质氮 ($F = 19.41, P < 0.05$) 和速效磷 ($F = 7.4, P < 0.05$);牛粪施用方式也显著影响土壤团粒结构 ($F = 5.66, P < 0.05$)、矿质氮 ($F = 5.80, P < 0.05$) 和速效磷 ($F = 101.4, P < 0.05$) 及土壤 pH ($F = 5.0, P < 0.05$);蚯蚓类型与牛粪施用方式的交互作用对土壤团粒结构 ($F = 8.68,$

$P<0.05$)、矿质氮 ($F=8.78, P<0.05$) 和速效磷 ($F=31.6, P<0.05$) 及土壤 pH ($F=20.5, P<0.05$) 也有显著影响 (表 3)。土壤矿质氮和速效磷含量均受到蚯蚓类型的显著影响, 并与牛粪施用方式有显著的交互作用 (表 3)。蚯蚓显著提高了土壤矿质氮含量, 其中牛粪表施时赤子爱胜蚓较威廉腔环蚓的促进作用更强 (图 4)。蚯蚓对速效磷含量的影响更依赖于其种类和牛粪施用方式, 在牛粪表施和混施时分别是赤子爱胜蚓和威廉腔环蚓的作用更强 (图 4)。单施牛粪处理土壤矿质氮含量显著低于单施化肥处理; 但牛粪显著提高了速效磷含量 (图 4)。

表 3 蚯蚓类型和牛粪施用方式对土壤理化性质的影响方差分析

Table 3 Two-way ANOVA results showing the effects of earthworms, manure placements and their interaction on soil physicochemical properties

	自由度 <i>df</i>	团粒结构 Aggregate structure	pH	矿质氮 Mineral nitrogen	速效磷 Available phosphorus	微生物 生物量碳 Microbial biomass C	微生物 生物量氮 Microbial biomass N
蚯蚓类型 Earthworm ecotype (E)	$F_{2,12}$	18.60 *	1.3	19.41 *	7.4 *	50.6 *	302.0 *
牛粪施用方式 Manure application (M)	$F_{1,12}$	5.66 *	5.0 *	5.80 *	101.4 *	9.0 *	32.6 *
交互 Interaction (M×E)	$F_{2,12}$	8.68 *	20.5 *	8.78 *	31.6 *	1.3	59.0 *
Error	12						

团粒结构用平均重量直径来表示; * $P<0.05$

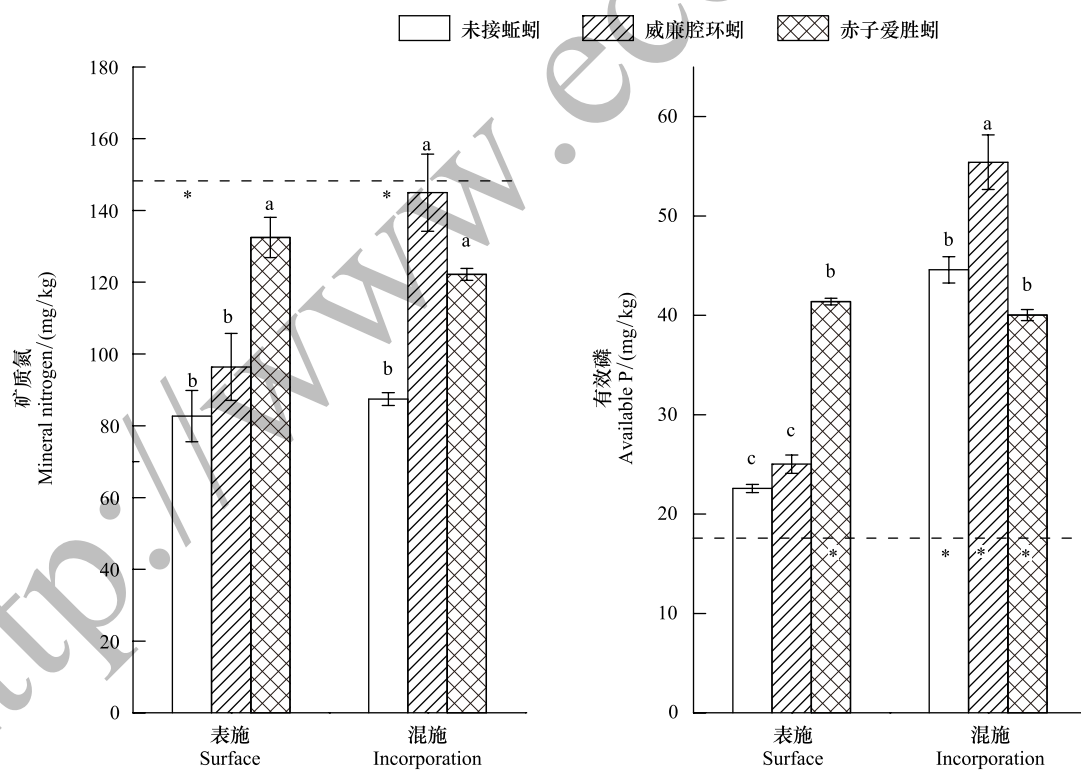


图 4 不同类型蚯蚓在牛粪表施或混施时对土壤矿质氮和有效磷含量的影响

Fig.4 Soil mineral N and available phosphorus contents as influenced by different types of earthworm and the way of cattle manure application

虚线代表单施化肥处理, * 表示单施化肥处理与其他处理相比达到显著差异水平 $P<0.05$

不同种类蚯蚓均能提高土壤 pH 和团粒结构稳定性 (表 3, 表 4), 对容重和孔隙度的影响不明显。在牛粪

表施时,威廉腔环蚓显著提高了团聚体稳定性,而赤子爱胜蚓作用不显著(表4)。在牛粪混施时,两种生态型蚯蚓均显著提高土壤 pH。不论蚯蚓的类型和牛粪施用方式,与单施化肥相比,二者均能够改善土壤性质,如提高土壤 pH、孔隙度、容重和团聚体稳定性等(表4)。

表 4 不同种类蚯蚓在牛粪表施或混施时对土壤理化性质的影响

Table 4 Soil physicochemical properties as influenced by different types of earthworm and the way of cattle manure application

牛粪 Manure	蚯蚓 Earthworm	pH	孔隙度 Porosity/%	容重 Bulk density/ (g/cm ³)	团粒结构 Aggregate structure/mm
表施 Manure at surface	未接蚯蚓 S	5.55±0.02a	55.1 ±2.1abc	1.19±0.03abc	0.54±0.01bc
	威廉腔环蚓 SM	5.38±0.03a	55.2±2.2bc	1.20±0.05ab	0.80±0.04a
	赤子爱胜蚓 SE	5.48±0.04a	53.4±1.3bc	1.24±0.03ab	0.61±0.02b
混施 Manure incorporated	未接蚯蚓 I	5.26±0.02b	54.1±1.4bc	1.22±0.02ab	0.57±0.03bc
	威廉腔环蚓 IM	5.55±0.07a	56.4±1.1ab	1.16±0.02bc	0.65±0.01b
	赤子爱胜蚓 IE	5.40±0.02a	58.1±1.3a	1.11±0.02c	0.55±0.02bc
化肥 Fertilizer		4.46±0.25 *	52.3±1.1 *	1.28±0.01 *	0.46±0.01 *

S:牛粪表施, SM:牛粪表施+威廉腔环蚓, SE:牛粪表施+赤子爱胜蚓, I:牛粪混施, IM:牛粪混施+威廉腔环蚓, IE:牛粪混施+赤子爱胜蚓;团粒结构用团聚体平均重量直径表示;不同小写字母代表土壤理化性质在处理间达到显著差异; * 表示单施化肥处理与其他处理相比达到显著差异水平 $P<0.05$

3 讨论

本研究中的赤子爱胜蚓属于典型的表层种,主要取食有机物且居住在有机物内,因此接种到牛粪混施的小区内,由于生境上未能完全满足其需求,因此生物量有所下降。相比之下,牛粪表施情况下更适合赤子爱胜蚓生活;而威廉腔环蚓是典型的内层种,主要取食富含有机物的土壤,因此在牛粪混施时威廉腔环蚓的生长状况较赤子爱胜蚓更好。

3.1 不同种类蚯蚓对土壤理化性质的影响

无论牛粪表施或混施,两种生态型蚯蚓均显著地提高了土壤结构的稳定性。蚯蚓一方面通过直接作用挖穴来改变土壤团聚体结构,另一方面也可以通过间接作用,比如蚯蚓粪、取食微生物、提高土壤有机质含量等来影响土壤团聚体结构^[20]。Gilot 等也得到过类似结论,接种蚯蚓后,土壤中 > 2 mm 大团聚体含量显著增加 17.6%, < 0.053 mm 粘砂砾含量显著降低 19.7%^[21]。Blanchart 等的野外实验表明,蚯蚓 *M. anomala* 的活动形成土壤中粒径大于 50 mm 的大团聚体,而另外一种细长的蚯蚓的排泄活动主要形成 0—5 mm 的小团聚体,这表明蚯蚓种类的差异对土壤物理结构的影响也有明显不同^[22]。还有研究发现,蚯蚓粪的溶胀值和孔隙度均显著高于对照处理,分别达到 50% 和 20%^[23]。

土壤有机氮的矿化主要通过微生物来调控,蚯蚓对土壤微生物群落及活性的影响间接影响土壤中有机氮的矿化过程。蚯蚓肠道中独特的厌氧环境及可利用有机物的增加可极大地刺激反硝化细菌的生长和活性,从而大大提高土壤中矿质氮的含量^[24]。菌根真菌菌丝对土壤中磷的亲和力较强,可以吸收土壤中活性磷转化成易被植物利用的速效磷,蚯蚓可以通过影响菌根真菌从而间接影响有效磷含量^[25]。在牛粪混施时威廉腔环蚓比赤子爱胜蚓显著提高了土壤矿质氮和速效磷含量,可能是由于威廉腔环蚓食土和活动能力强,通过掘穴、取食土壤等活动显著提高土壤团粒结构,增加土壤孔隙度及促进有机物和土壤的混合,从而提高微生物生物量及活性,微生物生物量及活性的提高则可能促进了土壤中矿质氮和速效磷含量的增加。有研究表明,施加牛粪可显著提高土壤有机氮含量^[26]。在牛粪不同施用方式下,不同种类蚯蚓的作用有所差异。在牛粪表施时,赤子爱胜蚓作用显著;在牛粪混施时,威廉腔环蚓作用更为明显。可能的原因是,赤子爱胜蚓作为传统的堆肥种,偏好取食上层有机物碎屑,主要在有机物内生存,因此在牛粪表施时,更易于牛粪分解,提高土壤微生物生物量及活性,从而影响矿质氮和速效磷含量;而威廉腔环蚓偏好取食富含有机质的土壤,对土壤扰动能

力较强,生活在下层土壤中,主要通过肠道蠕动和分泌粘液来促进微生物活性,从而促进氮的矿化和植物对磷的吸收^[27]。

3.2 不同种类蚯蚓对土壤微生物群落的影响

本研究发现不同种类蚯蚓对微生物生物量碳、氮的影响不同,一方面威廉腔环蚓较赤子爱胜蚓更有效地提高微生物生物量氮生物量,说明土壤潜在有效氮的含量有较大幅度的提高,这与 Tian^[28] 的研究结果相一致。由于威廉腔环蚓的生物扰动能力强,能够通过强烈的取食、肠道研磨和生物扰动作用破坏真菌菌丝,并刺激细菌生长,从而导致微生物生物量氮的增加^[29]。另一方面,赤子爱胜蚓较威廉腔环蚓更有效地提高微生物生物量碳生物量。主要原因可能有以下几个方面:(1)威廉腔环蚓体型较大,较赤子爱胜蚓取食更多的土壤微生物,从而导致微生物生物量碳含量降低^[6];(2)威廉腔环蚓活动会分泌大量的胶粘物质,通过代谢进入土壤中,这些代谢物质可能抑制微生物繁殖^[30];(3)作为传统堆肥种,赤子爱胜蚓更有利于微生物对牛粪的利用和转化,进而提高土壤微生物生物量碳^[31]。此外,本研究还发现,相对于不接种蚯蚓的处理,赤子爱胜蚓在牛粪混施条件下更有利于微生物生物量氮的提高,可能是由于在牛粪表施时,赤子爱胜蚓取食有机物,对微生物的消耗占主导作用,而在牛粪混施时,赤子爱胜蚓体表分泌的粘液、排泄蚓粪对微生物的间接刺激作用占主导,从而更大程度上提高了微生物生物量氮。牛粪混施条件下,微生物则直接利用牛粪中的养分,从而导致微生物生物量氮高于牛粪表施处理;而表施条件下,土壤活性养分通过水分淋洗释放到土壤中,刺激细菌生物量的增加,因此微生物量氮含量较高。由于氯仿熏蒸法测定的微生物生物量包含了休眠的甚至死亡的微生物,因而磷脂脂肪酸方法测得的 PLFA 总量就更有助于了解不同生态型蚯蚓对土壤活性微生物的影响^[32,33]。除牛粪混施接种威廉腔环蚓处理 PLFA 总量明显增加外,接种蚯蚓并未引起土壤活性微生物量的显著变化,这与张宝贵等获得的结果相近^[34]。

与单施化肥相比,无论牛粪表施还是混施均显著增加土壤菌根真菌、真菌生物量,但混施条件下增加幅度小于表施条件。牛粪表施条件下,牛粪分解比较缓慢,有利于真菌生长;而牛粪混施条件下,牛粪和土壤接触比较充分,分解速度比较快,有利于细菌生长。两种蚯蚓在牛粪表施时均显著降低了菌根真菌、真菌生物量,这与 Koubová 的结果类似^[35]。蚯蚓偏好取食真菌,真菌菌丝通过蚯蚓消化道后被破坏,从而导致其生物量降低;也有研究认为蚯蚓在促进牛粪分解的过程中,促进氮素矿化从而更有利于细菌的繁殖,土壤中形成以细菌占主导的微生物群落结构,并导致真菌在微生物群落中的相对比例降低^[36]。本研究结果还表明,牛粪表施情况下,两种蚯蚓还显著降低原生动物生物量,可能的原因是蚯蚓肠道对原生动物产生消极影响^[37]。但也有研究表明,蚯蚓通过增加微生物特别是细菌的生物量和活性,从而有利于提高原生动物的数量和活性^[38],不同研究之间的差异可能是由多方因素造成,如蚯蚓种类及土壤类型的差异等;造成差异的另一个原因可能是由于本研究中在牛粪表施时威廉腔环蚓对活性革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌并未引起显著差异,因此并未刺激原生动物数量和活性的增加。

牛粪混施时,两种生态型蚯蚓均显著增加革兰氏阴性菌生物量,同时威廉腔环蚓还显著增加菌根真菌、真菌生物量,赤子爱胜蚓并未引起显著差异,Capowiez 和 Amossé 的研究也得出相同结果^[39,40]。早有研究表明,pH 增加能够导致微生物群落向革兰氏阴性菌增加,革兰氏阳性菌减少的方向发展^[41]。因此本研究中在牛粪混施时,两种种类蚯蚓增加了土壤 pH 从而对革兰氏阴性菌生物量有显著提高。菌根真菌生物量主要受两个方面的共同影响,一是威廉腔环蚓的生物扰动能力较强,因而在取食过程中更有利于促进土壤团聚体的形成,从而间接保护了土壤菌根真菌。另外,威廉腔环蚓体表携带或蚓穴周围有较多菌根繁殖体,且蚓粪中的激素类物质均能促进菌根侵染^[42],因而威廉腔环蚓作用下菌根真菌生物量显著提高。同时,真菌/细菌可反映土壤生态系统稳定性,本研究中两种类型蚯蚓均对真菌/细菌未引起显著差异,微生物群落结构中真菌和细菌相对含量并没有显著变化,表明微生物群落的改变可能受土壤食物链中养分资源有效性和取食微生物的高营养级土壤生物的共同影响。

冗余分析同样验证了土壤微生物群落与土壤理化性质因子在不同生态型蚯蚓结合不同施用方式牛粪处

理下的相互关系。土壤环境对土壤微生物群落具有一定的选择或环境过滤作用^[43],而土壤动物相比微生物群落在短期内对土壤生境因子的影响可以更迅速。本研究中土壤微生物群落结构的改变主要归因于蚯蚓提高了土壤 pH、团聚体稳定性及土壤孔隙度等,微生物群落结构的改变也可能进一步影响了土壤速效养分的含量。蚯蚓通过掘穴、排泄等活动影响了土壤团粒结构的形成,团粒结构的形成一定程度上保护了菌根真菌不被取食;蚯蚓肠道具有的较高湿度、稳定的 pH(趋于中性)、C/N 较低等特点被认为是最适宜微生物繁殖的生境,同时肠道粘液含有丰富的可溶性有机碳,对细菌生长和繁殖有刺激作用,从而显著提高氮的周转过程。蚯蚓一方面通过取食作用消耗真菌,另一方面蚓粪中的激素类物质又有助于菌根真菌生物量的增加。微生物生物量及活性的提高进一步加速土壤养分循环,增加土壤中有效养分含量。

4 结论

在不同牛粪施用方式下,两种类型蚯蚓均改善了土壤理化性质并改变了土壤微生物群落结构。其中,赤子爱胜蚓仅在牛粪表施下显著促进了土壤团粒结构和速效磷含量,在牛粪混施条件下作用效果不明显;而无论牛粪表施或混施,威廉腔环蚓均有利于土壤团粒结构的形成和养分有效性的提高。无论牛粪表施或混施,赤子爱胜蚓对微生物生物量碳的作用更强,而威廉腔环蚓对微生物生物量氮的作用更显著。牛粪表施条件下,两种生态型蚯蚓均显著降低了菌根真菌、真菌生物量、原生动物生物量;牛粪混施条件下,两种生态型蚯蚓均增加了革兰氏阴性菌生物量,其中威廉腔环蚓还显著增加菌根真菌、真菌生物量和放线菌生物量。总之,田间条件下不同生态型蚯蚓的生境和取食偏好不同,在土壤中的功能地位也差异明显,因此评价蚯蚓的影响特别是其生态功能作用需要结合蚯蚓的生态型信息。

参考文献 (References):

- [1] Zhao Q G, He J Z, Yan X Y, Zhang B, Zhang G L, Cai Z C. Progress in significant soil science fields of china over the last three decades: a review. *Pedosphere*, 2011, 21(1): 1-10.
- [2] 张桃林, 李忠佩, 王兴祥. 高度集约农业利用导致的土壤退化及其生态环境效应. *土壤学报*, 2006, 43(5): 843-850.
- [3] Insam H, Gómez-Brandón M, Ascher J. Manure-based biogas fermentation residues-Friend or foe of soil fertility. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 84: 1-14.
- [4] 何翠翠, 王立刚, 王迎春, 杨晓辉, 张文. 长期施肥下黑土活性有机质和碳库管理指数研究. *土壤学报*, 2015, 52(1): 194-202.
- [5] Lin Z, Zhen Z, Wu Z H, Yang J W, Zhong L Y, Hu H Q, Luo C L, Bai J, Li Y T, Zhang D Y. The impact on the soil microbial community and enzyme activity of two earthworm species during the bioremediation of pentachlorophenol-contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 301: 35-45.
- [6] Aghababaei F, Raiesi F, Hosseini A. The combined effects of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on microbial biomass and enzyme activities in a calcareous soil spiked with cadmium. *Applied Soil Ecology*, 2014, 75: 33-42.
- [7] Jusselme M D, Poly F, Lebeau T, Rouland-lefèvre C, Miambi E. Effects of earthworms on the fungal community and microbial activity in root-adhering soil of *Lantana camara* during phytoextraction of lead. *Applied Soil Ecology*, 2015, 96: 151-158.
- [8] 窦永静, 常亮, 吴东辉. 土壤动物食物网研究方法. *生态学杂志*, 2015, 34(1): 247-255.
- [9] Wu D, Liu M Q, Song X C, Jiao J G, Li H X, Hu F. Earthworm ecosystem service and dis-service in an N-enriched agroecosystem: Increase of plant production leads to no effects on yield-scaled N₂O emissions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 82: 1-8.
- [10] Hassall M, Adl S, Berg M, Griffiths B, Scheu S. Soil fauna-microbe interactions: towards a conceptual framework for research. *European Journal of Soil Biology*, 2006, 42(S1): S54-S60.
- [11] Edwards C A. *Earthworm Ecology*. 2nd ed. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, 2004.
- [12] Bertrand M, Barot S, Blouin M, Whalen J, de Oliveira T, Roger-Estrade J. Earthworm services for cropping systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, 35(2): 553-567.
- [13] 董伟华, 殷秀琴, 辛树权. 赤子爱胜蚓对不同猪粪和秸秆的分解作用. *生态学杂志*, 2012, 31(12): 3109-3115.
- [14] 邵元虎, 张卫信, 刘胜杰, 王晓丽, 傅声雷. 土壤动物多样性及其生态功能. *生态学报*, 2015, 35(20): 6614-6625.
- [15] 王斌, 李根, 陈欢, 焦加国, 刘满强, 蒋洋杨, 胡锋, 李辉信. 蚯蚓作用下土壤化学组成和性状的动态变化. *水土保持学报*, 2013, 27(3): 273-277.
- [16] De León Y S, Lugo-Pérez J, Wise D H, Jastrow J D, González-Meler M A. Aggregate formation and carbon sequestration by earthworms in soil from a temperate forest exposed to elevated atmospheric CO₂: A microcosm experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 68: 223-230.
- [17] 鲁如坤. *土壤农业化学分析方法*. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.

- [18] Gebert J, Gröngroft A, Schlöter M, Gättinger A. Community structure in a methanotroph biofilter as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Fems Microbiology Letters*, 2004, 240(1): 61-68.
- [19] Russ L, Chamberlain P M. The fat that matters: Soil food web analysis using fatty acids and their carbon stable isotope signature. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(11): 1898-1910.
- [20] Spurgeon D J, Keith A M, Schmidt O, Lammertsma D R, Faber J H. Land-use and land-management change: relationships with earthworm and fungi communities and soil structural properties. *BMC Ecology*, 2013, 13: 46-46.
- [21] Gilot C. Effects of a tropical geophagous earthworm, *M. anomala* (Megascolecidae), on soil characteristics and production of a yam crop in Ivory Coast. *Soil Biology and Biochemistry*, 1997, 29(3/4): 353-359.
- [22] Blanchart E, Lavelle P, Braudeau E, Le Bissonnais Y, Valentin C. Regulation of soil structure by geophagous earthworm activities in humid savannas of Côte d'Ivoire. *Soil Biology and Biochemistry*, 1997, 29(3/4): 431-439.
- [23] Larink O, Werner D, Langmaack M, Schrader S. Regeneration of compacted soil aggregates by earthworm activity. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 33(5): 395-401.
- [24] Araujo Y, Luizão F J, Barros E. Effect of earthworm addition on soil nitrogen availability, microbial biomass and litter decomposition in mesocosms. *Biology and Fertility of Soils*, 2003, 39(3): 146-152.
- [25] Le Bayon R C, Binet F. Earthworms change the distribution and availability of phosphorous in organic substrates. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(2): 235-246.
- [26] 宋震震, 李絮花, 李娟, 林治安, 赵秉强. 有机肥和化肥长期施用对土壤活性有机氮组分及酶活性的影响. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(3): 525-533.
- [27] Le Couteulx A, Wolf C, Hallaire V, Pérès G. Burrowing and casting activities of three endogeic earthworm species affected by organic matter location. *Pedobiologia*, 2015, 58(2/3): 97-103.
- [28] Tian G, Kang B T, Brussaard L. Effect of mulch quality on earthworm activity and nutrient supply in the humid tropics. *Soil Biology and Biochemistry*, 1997, 29(3/4): 369-373.
- [29] Groffman P M, Fahey T J, Fisk M C, Yavitt J B, Sherman R E, Bohlen P J, Maerz J C. Earthworms increase soil microbial biomass carrying capacity and nitrogen retention in northern hardwood forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 87: 51-58.
- [30] 陈旭飞, 张池, 戴军, 郭彦彪, 刘婷. 赤子爱胜蚓和毛利远盲蚓对添加造纸污泥土壤的化学和生物学特征的影响. *生态学报*, 2014, 34(5): 1114-1125.
- [31] 陶军, 张树杰, 焦加国, 李沙, 刘满强, 胡锋, 李辉信. 蚯蚓对秸秆还田土壤细菌生理菌群数量和酶活性的影响. *生态学报*, 2010, 30(5): 1306-1311.
- [32] Dempsey M A, Fisk M C, Yavitt J B, Fahey T J, Balser T C. Exotic earthworms alter soil microbial community composition and function. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 67: 263-270.
- [33] Strickland M S, Rousk J. Considering fungal: bacterial dominance in soils-Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(9): 1385-1395.
- [34] 张宝贵, 李贵桐, 申天寿. 威廉环毛蚯蚓对土壤微生物量及活性的影响. *生态学报*, 2000, 20(1): 168-172.
- [35] Koubová A, Chroňáková A, Pižl V, Sánchez-Monedero M A, Elhottová D. The effects of earthworms *Eisenia* spp. on microbial community are habitat dependent. *European Journal of Soil Biology*, 2015, 68: 42-55.
- [36] Ngo P T, Rumpel C, Doan T T, Jouquet P. The effect of earthworms on carbon storage and soil organic matter composition in tropical soil amended with compost and vermicompost. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 50: 214-220.
- [37] Cai H J, Zarda B, Mattison G R, Schönholzer F, Hahn D. Fate of Protozoa transiting the digestive tract of the earthworm *Lumbricus terrestris* L. *Pedobiologia*, 2002, 46(2): 161-175.
- [38] Tiunov A V, Scheu S. Microbial respiration, biomass, biovolume and nutrient status in burrow walls of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae). *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 31(14): 2039-2048.
- [39] Capowiez Y, Bottinelli N, Jouquet P. Quantitative estimates of burrow construction and destruction, by Anecic and Endogeic earthworms in repacked soil cores. *Applied Soil Ecology*, 2014, 74: 46-50.
- [40] Amossé J, Bettarel Y, Bouvier C, Bouvier T, Duc T T, Thu D T, Jouquet P. The flows of nitrogen, bacteria and viruses from the soil to water compartments are influenced by earthworm activity and organic fertilization (compost vs. vermicompost). *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 66: 197-203.
- [41] Gómez-Brandón M, Aira M, Lores M, Domínguez J. Epigeic earthworms exert a bottleneck effect on microbial communities through gut associated processes. *PLoS One*, 2011, 6(9): e24786.
- [42] Li H, Wang C, Li X L, Dan X. Inoculating maize fields with earthworms (*Aporrectodea trapezoides*) and an arbuscular mycorrhizal fungus (*Rhizophagus intraradices*) improves mycorrhizal community structure and increases plant nutrient uptake. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49(8): 1167-1178.
- [43] Caro G, Hartmann C, Decaëns T, Barot S, Mora P, Mathieu J. Impact of soil engineering by two contrasting species of earthworms on their dispersal rates. *Applied Soil Ecology*, 2014, 84: 223-230.