

不同施氮玉米田土壤线虫群落特征及对土壤质量的指示作用

王斌, 马冰, 沈文彤, 刘霞

(甘肃农业职业技术学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 在甘肃省玉米生产中存在长期过量施用氮肥的问题, 导致农产品品质下降、地下水污染、耕地土壤质量退化等问题, 土壤线虫作为指示生物能在一定程度上反映出土壤生态系统的质量状况。在甘肃省榆中县玉米田进行了0(CK)、5、10、15 g N/(m²·a)4个不同施氮水平的处理, 分析了各处理对土壤线虫群落的多度、属丰富度、成熟度指数、富集指数、结构指数等生态指数及复合代谢足迹的影响。采用非度量多维尺度法分析了土壤线虫的群落组成情况, 并采用置换多元方差分析检验了不同施氮处理间土壤线虫群落组成的差异。结果表明, 适量施氮使线虫的总多度、食细菌线虫和植食线虫的多度显著增加, 使食真菌线虫和杂食捕食线虫多度显著减少, 进而导致线虫群落的组成发生了显著性变化, 同时也使线虫群落的属丰富度显著降低。此外, 随着施氮水平的逐渐增加, 线虫的体型呈逐渐减小趋势, 基础指数显著升高, 结构指数、成熟度指数、复合代谢足迹显著降低, 反映出施氮后线虫群落逐渐不稳定, 施氮导致土壤食物网的连通性降低、食物链变短, 食物网分解途径由以真菌途径为主转变为以细菌途径为主, 食物网能量流动总体变慢。

关键词: 土壤线虫; 施氮; 玉米田; 群落特征; 土壤质量; 土壤食物网; 指示生物

中图分类号: S513; S147.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2022)03-0085-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2022.03.018

Indicative Effect of Soil Nematode Community Characteristics on Soil Quality in Maize Field Under Nitrogen Application

WANG Bin, MA Bing, SHEN Wentong, LIU Xia

(Gansu Agricultural Vocational and Technical College, Lanzhou Gansu 730000, China)

Abstract: In the practise of maize cultivation in Gansu province, long-term excessive application of nitrogen fertilizer causes the degradation of soil quality and some other problems. Soil nematodes, an indicator organism, can reflect the status of soil ecosystem. In this study, three nitrogen treatments (5, 10, 15 g N/(m²·a) and 0 g N/(m²·a) as control treatments (CK) were gathered from the maize planting field of Yuzhong county, Gansu province. The effects of each treatment on the ecological indexes and metabolic footprints of soil nematode community, such as abundance, richness, maturity index, enrichment index and structure index, were analyzed. The community composition of soil nematodes was investigated by non-metric multidimensional scale analysis, and the differences of community composition among different treatments were tested by Permutational multivariate analysis of variance. The results demonstrated that nitrogen application significantly increased the total abundance of nematodes, bacteria-eating nematodes and herbivorous nematodes, and significantly decreased the abundance of fungus-eating nematodes and omnivorous nematodes, leading to an obviously change in the composition of nematode community, and significantly reduced the genus richness of nematode community. In addition, with the increase of nitrogen application concentration, the body size of nematodes decreased gradually, the basal index increased significantly, and the structure index, maturity index and metabolic footprint decreased significantly. The results showed that the nematode community became unstable after nitrogen application, the connectivity of soil food web was reduced and the food chain was shortened due to fertilization, the decomposition pathway of food web was changed from fungal pathway to bacterial pathway, and the overall energy flow of food web was slowed down.

Key words: Soil nematode; Nitrogen application; Corn fields; Community characteristics; Soil quality; Soil food web; Biological indicator

收稿日期: 2021-12-28

基金项目: 甘肃省高等学校创新能力提升项目(2020A-227)资助。

作者简介: 王斌(1981—), 男, 甘肃定西人, 副教授, 研究方向为植物病虫害防治。联系电话: (0)18993112322。
Email: 381864661@qq.com。

通信作者: 马冰(1990—), 女, 甘肃兰州人, 博士, 研究方向为农业生态学。联系电话: (0) 13919326688。Email: mab19@lzu.edu.cn。

土壤线虫物种繁多、数量巨大，可按其食性分为食细菌线虫、食真菌线虫、植食线虫、杂食捕食线虫等四大营养类群^[1]，食性多样化的线虫在土壤食物网中占据多个关键营养级，常作为指示生物来反映土壤生态系统的功能状况。线虫广泛存在于各类土壤环境，因此常用于评价不同干扰活动、农业措施等对土壤环境的影响^[2]。

施氮肥是增加作物产量、提高经济效益的主要农业活动之一，施氮使土壤生态系统氮素富集，土壤逐渐酸化，酸碱度的改变将引起土壤微生物群落和动物群落的组成和结构的变化。研究发现，不同水平的施氮措施会对土壤线虫群落造成有利或不利的影响，例如，施加少量的氮肥能够增加土壤线虫的多样性，当施氮超过一定的水平后线虫多样性降低^[3]。然而 Song 等^[4]开展的一项野外控制试验发现，氮添加后土壤线虫的数量无显著变化，但食细菌性线虫数量显著增加。Wei 等^[5]也同样发现施氮处理增加了食细菌线虫的数量，但同时还发现捕食线虫、杂食线虫、食真菌线虫和植食性线虫的数量显著减少。因此，土壤线虫群落对施氮处理的响应研究结果还不尽一致。

甘肃省玉米生产中存在长期过量施用氮肥的问题，导致农产品品质下降、地下水污染、耕地土壤质量退化，并对农田生态环境造成严重威胁^[6-8]，土壤线虫作为指示生物能在一定程度上反映土壤生态系统的质量状况。我们在玉米田开展不同施氮水平下线虫群落特征研究，并以线虫作为指示生物进行评价，以期为深入理解土壤线虫群落组成在施氮水平下变化规律提供数据支持，同时也为监测土壤健康状况、促进生态环境可持续发展提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验区位于兰州市榆中县境内的甘肃农业职业技术学院和平校区，地理位置北纬 36° 06'、东经 103° 84'，地处陇西黄土高原，属温带大陆性气候，四季分明。平均海拔 1 700 m，年平均气温 6.6 ℃，1 月平均气温 -7.9 ℃，7 月平均气温 19.0 ℃。年降水量 300~400 mm，主要集中在 7—9 月。主

栽农作物为马铃薯、小麦、玉米。

1.2 供试材料

供试氮肥为硝酸铵(含 N≥35%)，由中国—阿拉伯化肥有限公司生产并提供。指示玉米品种为金皇 828，由甘肃种业有限公司生产并提供。研究对象为土壤线虫。

1.3 试验方法

试验共设 4 个施氮水平处理，分别为 0、5、10、15 g N/(m²·a)，分别计作 N0(CK)、N5、N10、N15，以零施氮水平为对照。采用随机区组试验设计，5 次重复，小区面积 16 m²(4 m×4 m)，各小区之间保持 1 m 的间隔距离。分别于 2020 年 5 月 5 日、6 月 5 日、7 月 5 日、8 月 5 日按试验设计用量准确称取各小区所需氮素并兑水 2 L 用塑料喷壶地表均匀喷洒 1 次^[3]。其余管理同当地大田。

1.4 土壤样品采集

2020 年 8 月底收集土壤样品。每小区用直径 3.8 cm 的土钻取深 20 cm 土样 5 次，将 5 次取样的样土均匀混合后作为 1 个样品。混合后的样品及时放入密封塑料袋中，并于当天带回实验室，尽快进行线虫提取工作。

1.5 线虫分离和鉴定

采用改良的贝尔曼漏斗法分离提取土壤线虫^[9]。每个土样剔除石块、粗根等杂质后称取 30 g，在贝尔曼漏斗浸提 48 h 后，浸提液接入样品瓶中并加入乙醇、甘油混合液 2 mL(乙醇与甘油体积比为 17 : 3)，在 55 ℃条件下烘干水和乙醇。将提取出的线虫保存于甘油中，用光学显微镜进行计数和形态学鉴定，将其鉴定至属水平^[10]，并根据线虫食性将其分类至食细菌类、食真菌类、植食类、捕食—杂食类 4 个类型。

1.6 数据分析

数据分析前，将所有样品中的线虫数量转换为 100 g 干土中所含的数量。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)统计分析各采样点线虫群落的多度、丰富度、成熟度指数(MI)、富集指数(EI)、结构指数(SI)等生态指数及代谢足迹，采用非度量多维尺度分析(Nonmetric Multidimensional Scaling, NMDS)分析土壤线虫的群落组成情况，并采用置换多元方差分析(PERMANOVA)检验不同处理间群落

表1 不同施氮处理的土壤线虫多度、属丰富度

处理	线虫数量(条/100 g 干土)					属丰富度 /属
	总多度	食细菌线虫	食真菌线虫	植食线虫	杂食捕食线虫	
NO(CK)	1 088.81±35.35 b	282.29±23.03 b	375.33±20.39 a	213.28±28.28 b	217.91±18.07 a	30.60±0.47 a
N5	1 219.64±43.51 ab	441.23±46.05 a	318.00±34.21 ab	274.79±21.67 ab	185.62±12.48 a	29.60±0.62 a
N10	1 360.93±82.09 a	565.40±37.11 a	287.15±54.64 ab	378.90±37.20 ab	129.47±15.80 b	27.00±0.29 b
N15	1 318.08±88.89 ab	596.21±67.07 a	226.91±37.06 b	417.50±87.95 a	77.45±15.04 c	23.60±0.47 c

组成的差异。所有统计分析用 R 4.0.3 软件完成。

2 结果与分析

2.1 不同施氮处理对线虫群落多度、丰富度和群落组成的影响

从表 1 可以看出, 与对照相比, 不同水平的施氮处理对土壤线虫总多度和各营养类群线虫的多度有显著的影响, 随施氮水平的提高呈先增后减趋势, 在 N10 处理下达到最高值(每 100 g 干土中平均有线虫 1 360.93 条), 且线虫的总多度较对照显著增加, 在 N15 处理下线虫总多度有所降低(每 100 g 干土中平均有线虫 1 318.08 条), 这主要是由食细菌线虫和植食线虫的显著增加引起的。但施氮使食真菌线虫和杂食捕食线虫显著减少。此外, 施氮使线虫群落的属丰富度显著降低, 由对照组平均属丰富度为 30.60 属, 最低降为 N15 处理下的 23.60 属。

由 NMDS 排序结果(图1)显示, 线虫群落组成越相似, 点之间的距离在图中越近, 对照与 N5 处理距离较近, N10 处理与 N15 处理距离较近。进一步对排序结果进行置换多元方差分析表明, 对照与 N10 处理、N15 处理的线虫群落组成有显著性差异(表2)。

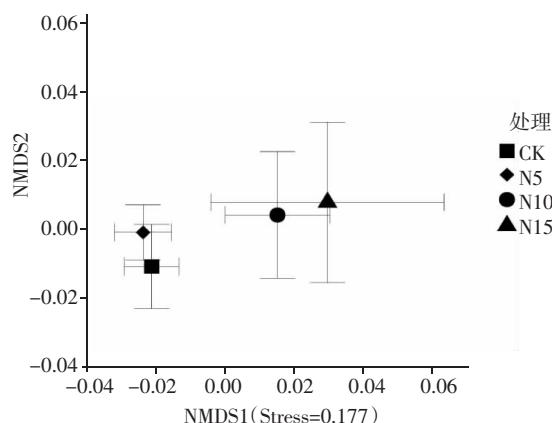


图1 不同施氮处理下线虫群落的组成

表2 不同施氮处理间线虫群落组成的置换多元方差分析

处理	R ²	p-value	Sig
总量	0.25	0.003	**
CK/N5	0.13	0.279	
CK/N10	0.24	0.009	**
CK/N15	0.32	0.008	**
N5/N10	0.16	0.088	
N5/N15	0.15	0.111	
N10/N15	0.08	0.795	

2.2 不同施氮处理对线虫体型大小的影响

从图 2 可以看出, 随着施氮水平的逐渐增加, 线虫的体型大小呈逐渐减小趋势。与对照相比, N15 处理使线虫的体型显著减小, 平均体型由对照的 4.14 μg 降至 N15 处理的 2.15 μg 。

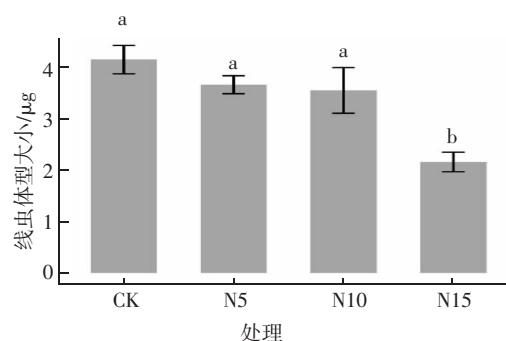


图2 不同施肥处理下线虫的体型大小

2.3 土壤食物网区系分析和线虫群落复合代谢足迹

从表 3 可以看出, 与对照相比, 不同水平的施氮处理使线虫群落的成熟度指数显著降低, 而对植物寄生类成熟度没有显著影响。施氮处理使线虫的结构指数显著降低, 基础指数明显升高, 对富集指数没有显著影响。N5、N10、N15 处理下的通路比值均大于 0.5, 分别为 0.58、0.67、0.72, 且均与对照(通路比值为 0.43)有显著性差异。N15 处理下土壤线虫复合代谢足迹较其余处理均显著降低。

表3 不同施氮处理的土壤线虫生态指数

处理	成熟度指数	植物寄生成熟度	通路比值	基础指数	富集指数	结构指数	复合代谢足迹
N0(CK)	2.84±0.06 a	3.07±0.09 a	0.43±0.03 b	11.80±0.63 b	53.15±4.12 a	86.13±0.93 a	710.17±35.39 a
N5	2.58±0.44 b	3.01±0.08 a	0.58±0.05 a	17.65±1.70 a	50.12±5.61 a	78.43±1.75 b	655.06±18.06 a
N10	2.56±0.04 bc	3.19±0.10 a	0.67±0.05 a	16.31±1.56 ab	59.42±2.30 a	78.47±2.37 b	667.57±40.73 a
N15	2.40±0.06 c	3.08±0.12 a	0.72±0.04 a	20.75±1.71 a	49.19±5.28 a	73.80±1.54 b	483.33±25.17 b

3 结论与讨论

在甘肃省榆中县在玉米田进行了0 (CK)、5、10、15 g N/(m²·a)4个不同施氮水平的处理, 通过分析了各处理对土壤线虫群落的多度、属丰富度、成熟度指数、富集指数、结构指数等生态指数及复合代谢足迹的影响, 采用非度量多维尺度分析方法探究了土壤线虫的群落组成情况, 并采用置换多元方差分析检验了不同施氮处理间土壤线虫群落组成的差异。结果表明, 适量施氮使线虫的总多度、食细菌线虫和植食线虫的多度显著增加, 使食真菌线虫和杂食捕食线虫的多度显著减少, 进而导致线虫群落的组成发生了显著性变化, 同时也使线虫群落的属丰富度显著降低。此外, 随着施氮水平的逐渐增加, 线虫的体型大小呈逐渐减小趋势, 基础指数显著升高, 结构指数、成熟度指数、复合代谢足迹显著降低, 反映出施氮后线虫群落逐渐不稳定, 施氮导致土壤食物网的连通性降低、食物链变短, 食物网分解途径由以真菌途径为主转变为以细菌途径为主, 食物网能量流动总体变慢。

在本研究中, 施氮使线虫的总多度、食细菌线虫和植食线虫的多度显著增加, 使食真菌线虫和杂食捕食线虫的多度显著减少, 这与 Wei 等^[5]在内蒙古草原的研究结果部分一致, 他们发现氮添加使食细菌线虫数量增多, 而捕食杂食线虫、食真菌线虫以及植食线虫的数量减少。同样, Murray 等^[11]在更早时也发现食细菌线虫随氮浓度增加而增多, 而食真菌、植食和杂食捕食线虫随之减少。然而, 上述结果与 Song 等^[4]研究完全相反, 他们发现施氮导致食细菌线虫减少, 杂食捕食性线虫、食真菌线虫反而增多, 这可能是由于不同实验所施用的氮肥浓度不同导致的。本研究中, 施氮引起食细菌线虫和植食线虫多度的增长, 可能由于增加了它们的食物资源, 通过自下而上作用调控了线虫的数量。已有研究发现, 施氮能

增加细菌丰度^[12], 增加植物生产力^[13]。施氮使食真菌线虫和杂食捕食线虫的多度显著减少, 可能是由于氮添加导致的土壤 pH 降低, 而这两类线虫对环境变化十分敏感, 施氮引起的土壤 pH 降低导致其数量下降^[14]。

施肥处理对不同营养类群线虫的影响不同, 施氮引起食细菌线虫和植食线虫多度的增长, 使食真菌线虫和杂食捕食线虫的多度显著减少, 进而导致了线虫群落组成的变化。本研究中, 不施氮与施氮水平为 10 g N/(m²·a)的处理、施氮水平为 15 g N/(m²·a)处理的线虫群落组成有显著性差异。此外, 施氮对土壤理化性质、微生物群落可能造成的一系列影响, 使线虫的生境和资源发生变化, 进而导致群落组成和多样性的变化。我们发现施氮使线虫群落的属丰富度显著降低, 这与闫俊^[15]在青藏高原开展的研究结果相似。然而, 程建伟等^[3]发现低水平施氮增加土壤动物的多样性, 当施氮水平大于 10 g N/(m²·a)时多样性降低。

随着施氮浓度逐渐增加, 线虫的体型逐渐减小, 与对照[施氮水平为 0 g N/(m²·a)]相比, 施氮水平为 15 g N/(m²·a)的处理使线虫的体型显著减小, 线虫平均体型由对照的 4.14 μg 降低至施氮水平为 15 g N/(m²·a)下的 2.15 μg。可能是由于施肥引起土壤线虫群落组成发生变化, 即食细菌线虫增多、杂食捕食线虫减少。一般而言, 食细菌线虫体型较小, 而杂食捕食线虫体型较大^[16], 小体型线虫的增多、大体型线虫的减少导致线虫群落的平均体型变小。

与本研究结果不同的是, 前人研究发现线虫体型大小与资源紧密相关, 不论施化肥或有机肥, 都显著增加了线虫群落的平均体型大小^[17]。也有类似的研究发现在稻麦轮作农田中, 施肥使线虫平均体型增大^[18]。闫俊^[15]在青藏高原的施肥试验中有与本研究相似的结果, 他发现高寒地区的线虫体型大小变化受不同施肥方式的影响, 在施用磷肥和

氮磷混施情况下，其体型变化无显著差异，在施用氮肥达到一定的程度后其体型大小显著减小。

土壤线虫因其种类多、数量大，在食物网多个营养剂均占据重要位置，因此利用土壤线虫的指示作用来对土壤食物网进行区系分析，具有一定的可靠性^[16]。基础指数可以指示土壤食物网的抵抗力，本研究中施氮处理使基础指数显著升高，说明土壤食物网抵抗力增加。结构指数可以代表食物网的结构，即食物链的长短和食物网的连通性，本研究中施氮使线虫的结构指数显著降低，说明施肥可能导致食物网的连通性降低、食物链变短。此外，与不施氮相比，不同浓度的施氮处理使线虫群落的成熟度指数显著降低，说明线虫群落逐渐不稳定，出现退化。

通路比值能反映出土壤食物网的分解途径是以较快速的细菌途径（通路比值 >0.5 ）还是较缓慢的真菌途径（通路比值 <0.5 ）。在本研究中，施氮水平为5、10、15 g N/(m²·a)时各处理的通路比值均大于0.5（分别为0.58、0.67、0.72），且均与对照[施氮水平为0 g N/(m²·a)]的通路比值有显著性差异，说明未施氮的土壤中食物网分解途径以真菌途径为主，而施氮以后土壤食物网分解途径转变为以细菌途径为主，且随着施氮水平的增加，细菌途径的占比越重。复合代谢足迹的估算基于线虫生长发育的生物量碳和新陈代谢的呼吸碳，用以指代土壤食物网的能量流动情况^[16]。本研究中，施氮处理使土壤线虫代谢足迹呈现降低趋势，施氮水平为15 g N/(m²·a)的处理较其余处理均显著降低，说明施氮后土壤食物网能量流动总体变慢。

参考文献：

- [1] FERRIS H, BONGERS T, RGMD GOEDE. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept[J]. *Applied Soil Ecology*, 2001, 18(1): 13–29.
- [2] 陈云峰, 韩雪梅, 李钰飞, 等. 线虫区系分析指示土壤食物网结构和功能研究进展[J]. 生态学报, 2014, 34(5): 1072–1084.
- [3] 程建伟, 郝百惠, 刘新民, 等. 氮添加对内蒙古典型草原土壤动物的影响[J]. 草业科学, 2018, 35(5): 1254–1265.
- [4] SONG M, LI X, JING S, et al. Responses of soil nematodes to water and nitrogen additions in an old-field grassland[J]. *Applied Soil Ecology*, 2016(102): 53–60.
- [5] WEI C, ZHENG H, QI L, et al. Nitrogen addition regulates soil nematode community composition through ammonium suppression[J]. *Plos One*, 2012, 7(8): 343–384.
- [6] 孙建好, 李伟绮, 赵建华. 高台县小麦及玉米施肥现状调查与评价[J]. 甘肃农业科技, 2019(6): 51–56.
- [7] 吴科生, 车宗贤, 张久东, 等. 有机无机复混肥在河西绿洲灌区玉米生产中的应用效果初报[J]. 甘肃农业科技, 2020(7): 15–18.
- [8] 向茂红, 车月英, 包国举. 高台县饲粮兼用型玉米氮磷钾适宜施肥量研究[J]. 甘肃农业科技, 2021, 52(7): 4–9.
- [9] 常虹, 畚嵩罕, 刘亚红, 等. 短花针茅荒漠草原不同放牧强度土壤线虫群落研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2020, 41(3): 28–34; 41.
- [10] 吴纪华. 中国淡水和土壤线虫的研究[D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 1999.
- [11] MURRAY P J, COOK R, CURRIE A F, et al. Interactions between fertilizer addition, plants and the soil environment: Implications for soil faunal structure and diversity[J]. *Applied Soil Ecology*, 2006, 33(2): 207.
- [12] ZENG J, LIU X, et al. Nitrogen fertilization directly affects soil bacterial diversity and indirectly affects bacterial community composition[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016(92): 41–49.
- [13] FRASER L H, PITHER J, et al. Worldwide evidence of a unimodal relationship between productivity and plant species richness[J]. *Science*, 2015, 7(17): 302–305.
- [14] 田沐雨, 于春甲, 汪景宽, 等. 氮添加对草地生态系统土壤pH、磷含量和磷酸酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2020, 31(9): 2985–2992.
- [15] 闫俊. 青藏高原东部高寒草甸土壤线虫群落对施肥的响应研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2017.
- [16] FERRIS H. Form and function: metabolic footprints of nematodes in the soil food web[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2010, 46(2): 97–104.
- [17] LIU T, WHALEN J K, SHEN Q, et al. Increase in soil nematode abundance due to fertilization was consistent across moisture regimes in a paddy rice upland wheat system[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016(72): 21–26.
- [18] LIU T, GUO R, RAN W, et al. Body size is a sensitive trait-based indicator of soil nematode community response to fertilization in rice and wheat agroecosystems[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015(88): 275–281.