

# 中華民國第 64 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國中組 生物科

第一名

030316

線蟲土壤食物網監測模式建立與功能性調節

學校名稱： 新北市私立竹林高級中學(附設國中)

作者：  國二 張丞博	指導老師：  顏嘉怡
-------------------	------------------

關鍵詞： 線蟲動物門、土壤食物網、生態系服務

# 得獎感言

## 科學之旅

一切始於國一升國二的暑假，那時我已經在竹林生物探究社學習了一年。在家人的建議下，我決定在暑假到實驗室進行專題研究。

在社團時，我與組員們聽取學長的建議，以“線蟲”作為成果發表主題，最初也將其作為專題題材發展。然而，由於線蟲動物常應用於分子生物學等艱深領域探討衰老機制，初期並不被看好，組員也陸續退出。那時因為實驗與計畫尚未深入研究，許多人勸退我們或建議改變方向。特別是在一次發表中，因為沒有標明文獻來源的低級失誤，我們的內容被質疑來自維基百科。

第一次校外發表是新北市學生科學獎助計畫。我原本沒有想過參加，卻在未公開的情況下完成了初步的基礎實驗。指導老師極力建議我們趁早加入，除了給自己設定目標，也逼自己進階研究。加入獎助計畫後，我們如被時間追著跑一般，雖然辛苦，但若非如此，不曉得我會多麼散漫。這次的獎助計畫給了我一次體驗，也給了我見識世界的機會與時間壓力，使我成長許多。

新北學生科學獎助計畫取得小小的成功後，我仍一直尋找適合自己的題目，確定利用線蟲可以發展的方向，直到發現了以線蟲監測環境及其可延續性，並且與全球時事、永續發展等議題深有關聯。在新北市科展中，藉著一路來累積的成果，我爭取到了前往全國科展的機會。

接著，經過數月的新北全國科展培訓，我們屢次優化這個研究中所展示的理念與成果，使我意識到一個作品必須永無止盡地向上；同時，也必須不忘初心，保有對自身研究的堅持，適度堅信自己的想法，勇於提出自己的觀點。除了大膽的假設與小心的求證外，對理念保持自信，對結果抱持質疑，了解他人疑問的根源，才是正確的做法。秉持上述信念，最終我有機會在全國科展上大放異彩。

藉著這幾次的經驗，我認識到在學術研究中，一定會經過三個過程-求知、探究與實踐。這三者沒有順序之分，但皆是研究中不可缺少的要素。無論是失敗還

是成功，研究的道路都不會終止，而是無限次地回歸到求知、探究與實踐的流程中，這是在科展中的最大收穫。科展的思考必須客觀並具邏輯，一分的證據，做一分的推論。適當地與他人交流、討論並發問，也能審視自己的論點是否站得住腳。

最後，我想感謝導師，感謝他同意並默默支持我嘗試自己的理想；感謝父母無條件的支持與鼓勵；感謝新北政府教育局、專家老師以及評審們的教誨，使我獲得至今為止的成就；更必須感謝指導老師對學生的尊重與包容，尊重我對某些觀點的執著，讓我朝著目標發展，解決大大小小的困難。



監測每週土壤環境無機鹽類



植物蛋白質含量檢測，確認土壤線蟲是否提升土壤氮肥協助植物生長



第64屆全國科展在作品前拍照紀念

# 線蟲土壤食物網監測模式建立與功能性調節

## 摘要

將線蟲世代短、生物量大、分布廣泛以及多樣化的功能等優勢，用於監測並調節土壤服務與食物網功能。其中拭鏡紙搭配柏門式漏斗分離土壤線蟲的效果最佳，並建立新型線蟲土壤食物網監測模式，改善過去無法觀察土壤食物網組成問題。藉由文獻數據分析與自行採樣結果，發現線蟲功能群因土壤肥力或擾動改變，且 c-p 1 與 c-p 2 功能群線蟲的占比間高度負相關 ( $-0.6 > R > -1$ )，可深入探討各功能群間的交互作用，但成熟指數過高 ( $MI = 3.17$ ) 可能影響新模式分析。此外，初步探討將線蟲接種至土壤中，調節土壤養分與土壤食物網組成，期待未來能夠透過更長時間實驗觀察，提升線蟲對各種土壤食物網最佳的功能性調節模式，為土壤的永續發展做出更具體的貢獻。

## 壹、前言

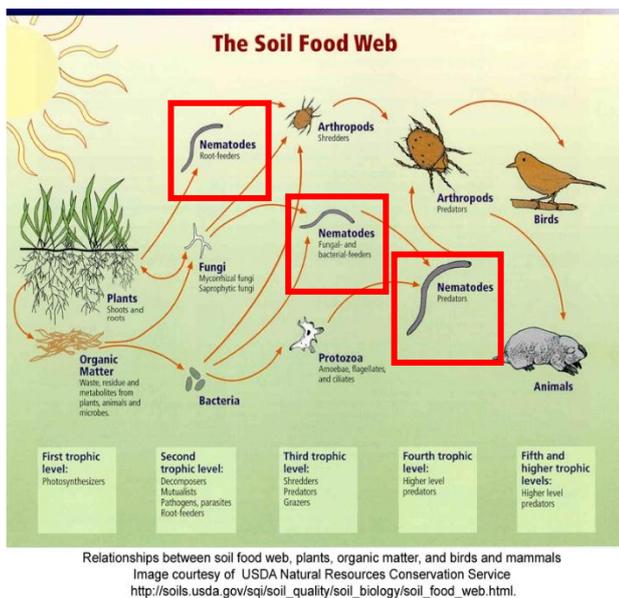
### 一、研究動機

隨著全球汙染日益嚴重，環境永續發展也是當今重要的議題，其中土地的經營尤其重要，聯合國永續發展目標 (SDGs) 中第 2 項消除飢餓 (ZERO HUNGER) 與第 15 項陸域生態 (LIFE ON LAND) (圖一) 等項目標即提倡預防沙漠化或糧食有效生產等，皆與土地的永續經營與利用有密切關聯。而土壤食物網描述了土壤中生命或族群的相互影響以



圖 (一) 聯合國永續發展目標

及複雜的能量流動，甚至藉食物網中不同族群的改變，能夠影響土壤中生物的功能與服務，並且透過觀察土壤食物網中特定營養階層的族群變化有助於了解生態變動，如生物多樣性與養分的流動等，進行土壤干擾的監測與預防，在生態中具有多個層面的意義。而本研究提出藉由生物監測與調節土壤食物網與生態系服務，能夠實現土地的永續經營與利用。



圖(二) 土壤食物網示意圖(取自美國農業部) 土壤食物網生態簡易食物網圖，線蟲扮演多種角色，圖中還未畫出雜食性線蟲。(紅框處為線蟲) 蘚苔、河川、海洋、沙漠或土壤)，線蟲有極高的潛力可用於土壤食物網監測。

線蟲為土壤中生物量大且物種豐富的微型生物，可代表土壤中的多個營養階層(圖二)，甚至可以獨立形成食物網。不同種線蟲族群分佈受環境擾動或恢復影響，線蟲可以依食性等簡單區分成幾個同功群(guild)(Ferris *et.al*, 2001)；線蟲在土壤中扮演不同的生態角色，以食性與繁殖策略等可分成多個線蟲功能群(nematode functional guild)，並探討各功能群在生態中的功能與服務。在生態系中各線蟲功能群占比變動能用於監測土壤食物網的變化，如生態的結構、養分的流失或所受的汙染，加上廣大的生活領域(如

線蟲生態指數(Nematode-based indices, NBIs)，此名詞由 Preez 在 2022 年報告中提出，概括多種以線蟲監測環境的方式。這些監測方式通常會使用同功群的變化進行生態評估。過去就曾以線蟲 c-p 指數(colonizer-persister indices)進行土壤生態的評估，但後來學者對線蟲在土壤中所扮演的角色更感興趣，因此使用線蟲功能群(Functional guild)進行土壤生態評估，並加入土壤食物網之概念(Ferris *et.al*, 2001)。但本研究發現 NBIs 皆難觀察土壤食物網的結構上的改變(Bongers & Bongers, 1998; Ferris *et.al*, 2001; Hoschitz & Kaufmann, 2004)。因此，本研究將以 NBIs 中的運算模型與指數，初步建立對土壤食物網組成進行監測的模式，實踐本實驗的預防性監測，並結合與應用過去 NBIs 中各類群的特性與概念，再簡單評估模式的可行性或缺陷等，以便於日後進行精進或改良(表一)。

表(一) 本研究欲建立模式

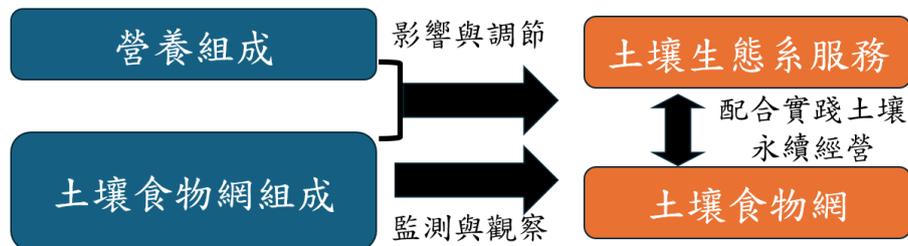
	欲建立模式	過去模式(成熟指數)
分析目的	食物網組成變化	擾動變化
原理	線蟲功能群變化	c-p群變化
分析工具	模型	指數

土壤的生態系服務非常多樣，而重要的五樣，分別為供給與生產農作物和養分、分解與回收有機化合物、淨化與緩衝水資源、供生物棲息與儲存物質以及物質的調節與循環(圖三)(Lavelle & Spain, 2002)；而以上的生態系服務皆與物質與營養的流通與利用有著密切的關連，在生物層面上更是深受土壤食物網的運作影響，因此調節土壤的養分或者土壤食物網組成，即等同於調節土壤生態系服務。不過工業革命後，土壤生態受到嚴重的影響，如 1940 年代化學肥料的大量使用後，土壤養分與食物網組成遭到極大的打擊，深深影響土壤生態系服務。



圖(三) 土壤主要生態系服務(作者繪製)

而線蟲在土壤中扮演重要的生態角色，能夠促進土壤養分與物質的循環。透過接種不同品種與不同特性的線蟲於土壤中，可實現各種土地利用目的，像利用線蟲協助土壤中的物質循環(Ferris, 2010)。而不同於過去，本研究將結合土壤食物網，以新建立之模型，配合利用線蟲功能性服務進行土壤食物網的改變與調節，防止嚴重改變土壤食物網結構的同時實踐土壤生態系服務性的調節(圖四)。



圖(四) 本研究理念(作者繪製)

但是要實現上述所說的理念，土壤線蟲的分離與樣區線蟲組成調查是重要的基礎。在顏等人 1998 年研究中，提出了常用的土壤線蟲分離方法，指出柏門氏漏斗分離法雖然回收效果不佳(等待時間過長)且只可分離活動力較高線蟲，但較其他方式而言可以分離的線蟲大小範圍較廣、死亡率較低、可輕易改良。另外，因地區的不同，土壤線蟲的組成常常有著極大的差異，因此調查樣區土壤線蟲組成有助於日後的發展。而本實驗將用兩種以柏門氏漏斗延伸的分離方式與幾種簡單過濾材質試驗分離效果，並對樣區線蟲分離與鑑定，做為日後發展的基礎。

## 二、文獻探討

### (一) 名辭定義與解釋

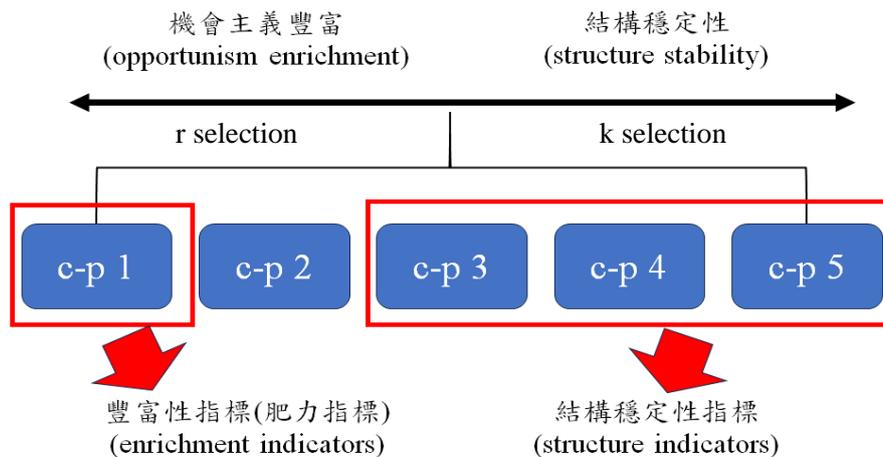
#### 1. 擾動 ( disturbance )

包括火災、疾病或人為的汙染等，使環境中生物與生態變動，破壞生物群集穩定性的生物或物理等因子。根據中度擾動假說，一般認為適度的擾動能維持並增加生物多樣性，但過高的擾動可能使生物無法承受而導致滅絕，而過低的干擾則會使優勢物種得到過度發展而限制生物多樣性。

#### 2. c-p 指數分類 ( colonizer-persister index ) ( Bongers & Bongers , 1998 ) (圖五)

此線蟲分類方式將對生態干擾或改變的反應(如污染敏感度)以及繁殖策略( r/k 選擇理論)相似的線蟲物種歸類於同一 c-p 分類，共分成 1-5 級( c-p1~c-p5 )線蟲。

- c-p 1**: 壽命短，性腺占大部分體長，繁殖力高，主要為代謝活性高的菌食性線蟲，汙染耐受性高，在資源缺乏時形成 dauer (類似於休眠) 狀態。營養豐富時群落大量成長。
- c-p 2**: 壽命短，繁殖能力高，但較低於 c-p 1。主要為菌食性或真菌食性線蟲，汙染耐受性極強，但無法形成 dauer 狀態，營養豐富時族群成長幅度較 c-p 1 低，為基礎群落。
- c-p 3**: 壽命更長，對環境干擾更敏感，主要由菌食性、真菌食性和少部分獵食性線蟲組成。
- c-p 4**: 壽命較 c-p 3 長，角質層薄，對環境干擾敏感，以獵食性、雜食性與菌食性線蟲組成。
- c-p 5**: 壽命極長，代謝能力和活動力低，子代少而角質層可滲透，對汙染與環境干擾非常敏感。由大型雜食性與獵食性線蟲組成。



圖(五) 線蟲 colonizer-persister index ( c-p ) 所表意義( 作者繪製 )

愈接近 c-p 1 之線蟲愈可表示環境資源的可用性，群集大小於養分豐富時快速成長；而愈接近 c-p 5 之線蟲則可表示環境結構穩定性，表示一生態穩定性、食物鏈複雜性等。

### 3. 線蟲功能群 (nematode functional guild) (Ferris, 2010)

此為結合同功群 (guild) 與生態功能群 (ecosystem functional group) 概念的分類方式，基於線蟲的非同種的線蟲可能存在很高的功能多樣性，不同物種間也可能以相同的方式利用資源或具有相同功能；而相同線蟲功能群的線蟲具有相似的生長、繁殖和代謝特徵並執行相同生態功能。線蟲功能群的分類基於食性與 c-p 分類，將線蟲鑑定至科層級並對照其 c-p 分類與食性後，即可分類線蟲的功能群。以下為五種線蟲功能群：

Pl<sub>x</sub>：植食性 (Plant feeder)；Ba<sub>x</sub>：菌食性 (Bacteria feeder)；Fu<sub>x</sub>：真菌食性 (Fungal feeder)

Ca<sub>x</sub>：獵食性 (Carnivores)；Om<sub>x</sub>：雜食性 (Omnivores)

其中 x 表示線蟲的 c-p，如某種線蟲為獵食性，且為 c-p 4，則表示 Ca<sub>4</sub>。

### 4. 線蟲生態指數 (NBIs) (Preez et al., 2022)

此為多種以線蟲評估土壤生態健康或干擾程度的指數。最早被提出的是 Bongers 等人在 1998 的成熟指度 (MI, Maturity Index)，以樣區線蟲 c-p 指數 (colonizer-persister index) 套入公式後得出，雖可簡單反映環境狀況，但一開始被認為不夠準確。此後許多研究對 MI 進行改良，如 PPI (Plant Parasite Index)、 $\Sigma$ MI ( $\Sigma$ Maturity Index)、MI 2-5 (Maturity Index 2-5)。

### 5. 成熟指數 (MI, Maturity Index) (Bongers & Bongers, 1998)

此為歷史最為悠久且最常被使用的 NBIs 模式 (Preez et al.)，主要用於衡量環境干擾，成熟指度越高，表示干擾程度越低，而成熟指度越低則表示干擾程度越高 (MI < 2 高度干擾，2 < MI < 3 表示中度干擾，MI > 3 表示低度干擾)。藉由 cp-1~cp-5 線蟲物種的占比初步運算，但尚未圖表畫，擾動的高低會影響不同 c-p 群線蟲的發展藉此造成成熟指度的提高或降低。成熟指度公式 (V=此分屬線蟲 c-p 指數，f=此分屬之數在所有線蟲隻數的占比，v(n)=第 n 屬線蟲 c-p 指數，f(n)=第 n 屬線蟲數量在採樣線蟲量中的占比)：

$$MI = \sum_{i=1}^n V(n) \times f(n)$$

### 6. 生態系功能 (ecosystem function) (Masciandaro, 2018; Ferris, 2010)

生態系或食物網中，生物間互相影響的過程，其中對人類具直接或間接正面影響的生態系功能，被稱為生態系服務 (ecosystem service)。而生態系服務深深影響人類的的生活與對環境資源的利用。

## 7. 礦化作用 ( mineralization ) ( Nie *et.al* , 2024 ; Ferris , 2010 )

土壤中將有機化合物轉化為無機化合物過程的總稱，通常將經歷極長的時間。而本研究關於礦化作用，所指的是氮 ( 或稱氮化 ) 、磷或鉀等被短期礦化以供其他生物利用的過程。

### (二) 研究動物 ( 圖六 )

線蟲為線蟲動物門 ( Nematoda ) 的總稱，至今還發展出「線蟲學 ( Nematology ) 」等研究領域，且物種豐度與多樣性極高，僅次於節肢動物門。過去線蟲由於生命週期極短且脆弱，因此其研究價值被學術界忽略，直到近代人們才利用生命週期短、食性豐富和各種獨有特質應用於各類研究，包括分子生物學、生態學與農學等。



圖 ( 六 ) 線蟲顯微鏡下形態 ( 作者拍攝，圖中線蟲皆為 *Doryliamus. sp* )

而關於線蟲的選用與實踐土地發展上，考慮了多種優勢，包括其世代極短、適應力強與環境中生物量大等，大大提升其作為監測土壤食物網的優勢；而因其物種多樣性高而導致多樣化的繁殖策略更提供多種選擇，且線蟲為土壤食物網中的關鍵物種，其生態系服務密切的影響生態系功能，加上大量的進食和礦化、排放較少量的溫室氣體與容易控制，將線蟲用於土壤的調節甚至優於蚯蚓或其他菌類。

### (三) 柏門氏漏斗分離法 ( Baermann funnel method ) ( Tintori *et.al* , 2022 ) ( 圖七 )

此為使線蟲主動從介質中分離的分離方式，主要將樣本以過濾材質包覆後置於漏斗中，並加入蒸餾水並等待 24~48 小時，利用線蟲在水中游動與重力下沉的特性將線蟲與基質分離 ( 圖七 ) 。

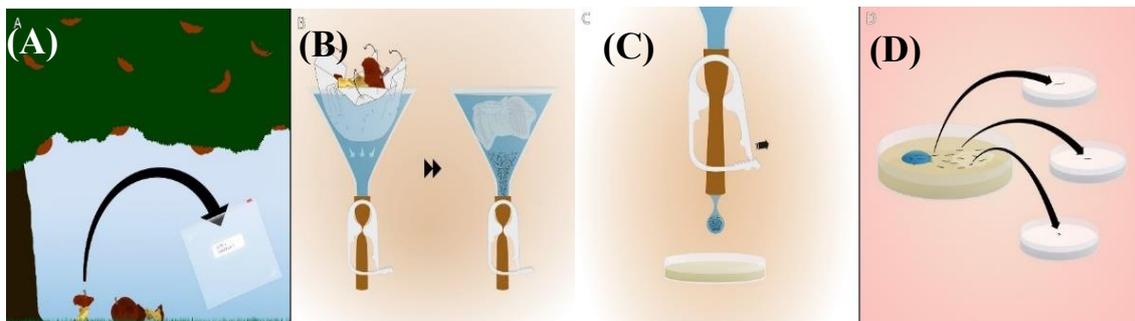


圖 ( 七 ) 柏門氏漏斗分離法示意圖 ( 取自 Tintori *et.al* , 2022 )

(A) 採集目標樣本。(B) 將樣本浸於漏斗中，待線蟲游出。(C) 取出分離後含線蟲濁液。(D) 將線蟲移至培養基。

即便此種分離方式在一次放入大量樣本時分離效果將有限，但依然是分離線蟲最主要的方式，而本研究也將對其分離材質與方法進行探討與試驗，並以此分離方式分離線蟲。

#### (四) 線蟲的在生態系中的功能與服務

線蟲在土壤中扮演多種不同的生態角色，其中最重要服務莫過於養分的引入與調節和生態多樣性的維持，而本研究將利用這兩點初步實現土壤功能性調控並探討。

##### 1. 養分的引入與調節

由於線蟲活動力強、生物量較大與超過其代謝所須的食物攝取，能夠協助土壤中的礦化作用，尤其真菌與菌食性的線蟲除了藉由大量的取食後以含氮廢物或磷酸鹽 ( Ferris , 2010 ) 等形式排除過多的無機物並供給其他生物利用，也藉由攝食行為顯著增加土壤中真菌與細菌的豐度 ( Gebremikael , 2016 ; Shi , 2023 )，使土壤中的氮、磷可用性顯著提升。

##### 2. 生態多樣性維持

獵食性與雜食性線蟲在土壤中將不斷地進食大量的線蟲，除了藉此促進土壤養分的循環，更控制土壤中線蟲族群的過量發展與調節線蟲土壤食物網中的豐度，若此種功能性服務在土壤中消失，可能使植食線蟲或其他優勢物種的過量繁衍，破壞土壤中食物網與生物多樣性的發展與維持。

#### (五) 肥料 ( 參考自台灣農業知識入口網 )

##### 1. 化學肥料 ( 無機肥料 )

為人工合成，施用後可快速溶解，進而迅速而顯著地被植物所吸收，不過也因此需要一直施用，施用不當甚至容易產生危害，造成地下水污染或土壤酸化等問題；在生態系方面，土壤中的微生物因養分快速被植物吸收而減少，若追肥順著流入水域，將破壞原有的營養平衡，創造部分微生物的生長優勢，破壞當地生態或造成優養化。目前人類所施用的化肥，其輸入的氮磷鉀含量已遠遠超標正常值，為全球環境問題一大隱憂。

##### 2. 有機肥料

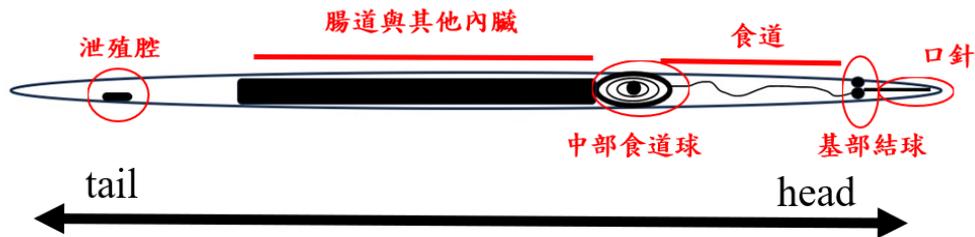
增加土壤有機質含量以改善土壤肥力，對植物也相對較健康，於土壤中的殘效性也較長，不過養分供應遠低於化學肥料。值得一提的是，過量有機肥施用將使土壤有機質含量過高，對環境造成衝擊，且施用後大部分氮磷鉀等成分須經礦化後才能被植物所利用。

##### 3. 生物肥料

相對較不穩定且難以控制的施肥方式，如利用根瘤菌類或蚯蚓等；而本研究所選用的線蟲世代短、溫室氣體排放少以及大量的土壤氮與磷礦化，若加入食物網監測模型即可更好的控制並更有效的增進土壤肥力。

### (七) 線蟲常用基本形態鑑定辨識特徵 (圖八)

重要辨識特徵包括口針 (stylet)、基部結球 ( stylet knob ) 與中部食道球 ( median bulb ) 。



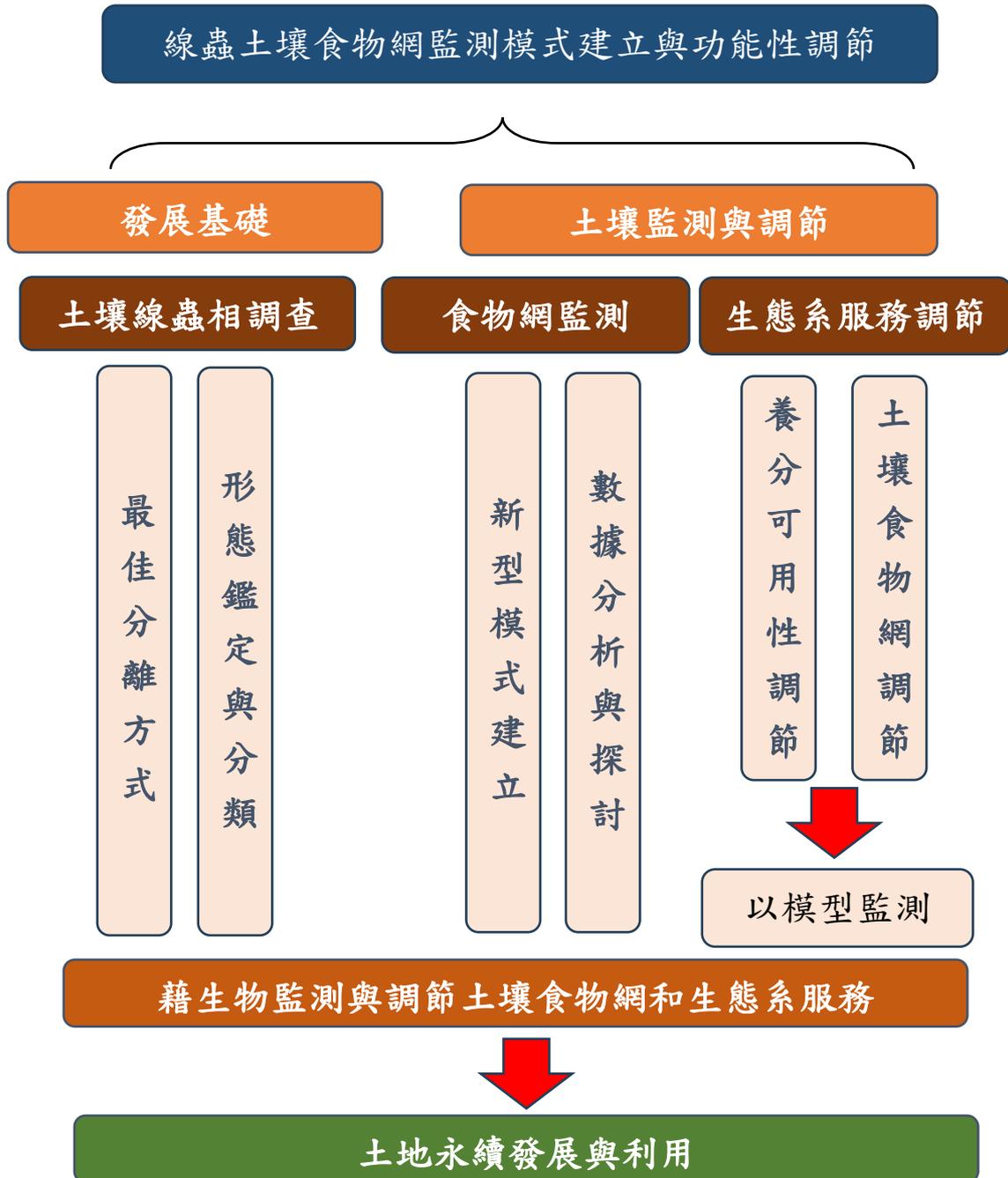
圖(八) 線蟲基礎形態鑑定特徵 (作者繪製)

- 1.口針 ( stylet ) 位於線蟲頭部，口針是否存在通常被視為形態特徵鑑定的第一步。此器官通常被線蟲用於進食、獵捕或破壞植物組織以取食。
- 2.口針基部結球 ( stylet knob ，通常簡稱 knob ) 在線蟲口針的末端，通常被植食性等具強破壞力(尤其對植物組織)的線蟲擁有。
- 3.中部食道球 ( median bulb ) 線蟲食道的中後段 ( 與腸交界 ) ，造成吸力以助於線蟲攝食。

## 貳、研究目的與問題

### 一、研究方向架構圖 (圖九)

本研究主要分成兩部分：發展基礎，進行土壤線蟲分離試驗與土壤線蟲組成調查，奠定後須發展依據；而在土壤功能監測與調節中，將於自行設計監測模型後，配合線蟲功能性服務以調控土壤食物網與生物功能組成。



圖(九) 研究方向架構圖 (作者繪製)

## 二、研究目的

### (一) 發展基礎

1. 土壤線蟲分離試驗 - 找出適用的過濾材質與分離方式。
2. 土壤線蟲相調查 - 以形態鑑定樣區出現各線蟲物種與 c-p 分類。

### (二) 土壤監測與調節

1. 土壤食物網監測
  - (1) 參考文獻建立新模型。
  - (2) 新模型探討與評估。
  - (3) 採樣與數據分析
2. 土壤生態系服務調節
  - (1) 接種線蟲調節土壤養分與土壤食物網組成。
  - (2) 進行土壤食物網監測。

## 參、研究設備及器材

名稱	備註	名稱	備註
複式顯微鏡	Motic BA210	玻璃漏斗	直徑 90mm
Wifi CMOS 彩色相機	Moticam X <sup>2</sup>	橡皮管	3 X 4.6mm
Cat eye 三眼實體顯微鏡		保鮮夾	作為橡皮管夾
UPMOST UPG309 影像擷取器	購自瑞光儀器	脫脂紗布	購自東和衛生材料
電子秤		圓形培養皿	6mm, 9mm
PASCO PS-2230 測定儀	pH 值測定	拭鏡紙	KIMWIPES
Nichipet 微量吸取器	100~1000 $\mu$ L 10~100 $\mu$ L 1~10 $\mu$ L 0.5~10 $\mu$ L	甲醛	30%(體積百分比濃度)
園藝通用靚土	78.6%、全氮 0.6%、 全氧化鉀 0.7%	花卉用培養土	有機質 68.3%、全氮 1%、全磷 0.8%、全氧 化鉀 0.9%
土壤多功能檢測儀	購自矽新科技		

## 肆、研究過程或方法

### 一、線蟲採樣方式與樣區標記(圖十,圖十一)

1.本實驗將分別於3個樣點進行採樣,且每次採樣深度範圍為1~5公分。其中選擇校園步道(A樣區)與休耕菜田(B樣區)時的考慮為穩定且方便採樣的人為樣區,而山中土地(C樣區)的考慮為人為介入較低的自然樣區。

2.每次採樣後以夾鏈袋包裝並帶回實驗室進行分析。



圖(十) 土壤採集樣區標記 (擷自 Google Map)

● 為 A 樣區, ● 為 B 樣區, ● 為 C 樣區



圖(十一) 土壤採集樣區表示 (作者拍攝)

(A) A 樣區, 校園內步道。(B) B 樣區, 為休耕菜田。(C) C 樣區, 為山中土地。

表 (二) 樣區平均土壤無機氮磷鉀

	校園步道	休耕菜田	山間土地
土壤無機氮	1 mg/kg	-	1 mg/kg
土壤無機磷	0.5 mg/kg	-	0.5 mg/kg
土壤無機鉀	2 mg/kg	-	3.5 mg/kg

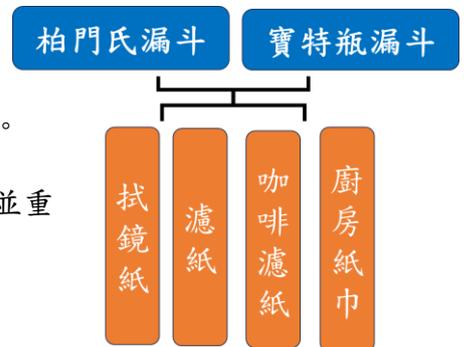
## 二、土壤線蟲分離試驗(圖十二,圖十三)

### (一)分離方式與過濾材質試驗

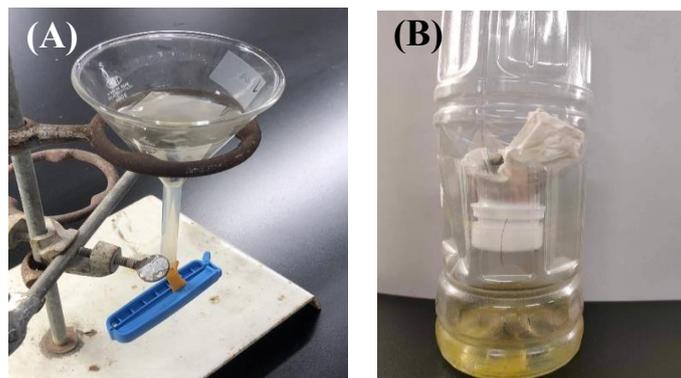
鑒於各地或各研究柏門氏漏斗使用過濾材質不一,本實驗將考量前人所使用過與經濟性等條件選用四種不同過濾材質,並配合兩種以柏門氏分離法為基礎設計的分離漏斗,進行分離試驗。

#### 【實驗步驟】

- 1.以柏門氏漏斗作為原型,設計二種分離漏斗,分別為自製簡易柏門氏漏斗與自製寶特瓶式漏斗。
- 2.將採樣後的土壤(本實驗一律採用 A 點校園內步道)攪拌均勻後,取 10g 以濾器以四種過濾材質,(分別為 1 號濾紙、咖啡濾紙、拭鏡紙 kimwipe 與廚房紙巾),分成兩組並分別加入上述的兩種分離漏斗中。包覆,投入漏斗後,加入 100 mL 的蒸餾水,並等待 24 小時。
- 3.待結束後,打開橡皮管夾或瓶蓋,使液體直接流入培養皿中。
- 4.清算培養皿內線蟲,將已計算之線蟲移至第二個培養皿中,並重複檢查。
- 5.每次採樣進行一重複,共進行三重複。
- 6.將結果以 t-test (t 檢定)探討同分離材質間的差異。



圖(十二) 土壤線蟲分離試驗示意圖(作者繪製)



圖(十三) 分離漏斗(作者拍攝)

(A)自製柏門氏漏斗(橡皮管夾以保鮮夾代替), (B)自製寶特瓶式漏斗。

### (二)各材質線蟲回收能力試驗

即便上個實驗驗證自製柏門氏漏斗可分離線蟲,但不清楚土壤中所有線蟲是否皆成功被此方法分離,因此設計此實驗以驗證自製柏門氏漏斗的實際分離能力。

### 【實驗步驟】

- 1.將採集後的土壤放入烘箱，以乾熱滅菌法(170°C，1hr)確保土中沒有線蟲。
- 2.取 10g 土壤，加入 20 隻體長為 0.8~1.2 mm 間活動中線蟲(初步鑑定為 *Doryliamus* sp.)。
- 3.淘汰上個實驗種分離效果最差的過濾台植，以剩下的三種過濾材質包覆後，以分離效果較佳的分離方式加入 100ml 的蒸餾水，等待 24 小時。
- 4.清點分離後線蟲數量。
- 5.進行三重複，並以 ANOVA 單因子變因數分析探討個材質間差異

## 三、土壤線蟲分布初調查

### (一)線蟲採樣與分離

本實驗先行對樣區的線蟲採集與分離進行測試。本實驗於多個時間點進行 A (校園步道)、B (休耕菜田) 樣區採樣與鑑定。

### 【實驗步驟】

1. 本實驗先行於 A、B 二樣區進行多次採集。
- 2.將每次採樣後的土壤攪拌均勻後，取 10 g，以柏門式漏斗分離法分離 24 小時。
- 3.待結束後，打開橡皮管夾或瓶蓋，使液體直接流入培養皿中。
- 4.清算培養皿內線蟲，將已計算之線蟲移至第二個培養皿中，並重複檢查。

### (二)線蟲鑑定與類群占比探討

線蟲將因氣候、地質等環境因子，其數量或分布占比等可能受影響，而本實驗於多個時間點進行 A、B 樣區採樣與鑑定，並探討其物種或 c-p 類群占比的變化。第一次、二次採樣探討長期變化，觀察較長期變化狀況，而後的採樣每 10 天採樣一次，觀察短期。

### 【實驗步驟】

- 1.將上個實驗中所採集的線蟲，以微量吸管置於懸浮玻片。
- 2.滴入 1 $\mu$ L，30%的甲醛，並等待 5 分鐘。
- 3.至於光學顯微鏡下，以數位相機擷取重點型態辨識特徵。

4. 使用 Key to Families (and Subfamilies) of Plant and Soil Nematodes 與 Interactive Diagnostic Key to Plant Parasitic, Freelifving and Predaceous Nematodes 的檢索表進行比對與鑑定，並在比對特徵描述後進行調整。

5. 以 c-p 與食性一覽表 (Cesarz, 2015) 作為依據分類食性與 c-p 並進行探討，並另外查詢 Nemaplex 中該屬線蟲食性，若不同，則以後者為準。

#### 四、土壤食物網監測

##### (一) 新型模式建立

參考文獻設並設計新型線蟲土壤食物網監測模式之模型。

##### 【實驗步驟】

1. 據 Bongers 與 Bongers 1998 年以及 Ferris 等人 2001 年的設定、推論與學說設計 5 種指數。
2. 將各指數堆疊組成結構式立體模模型表示線蟲於土壤中的組成架構。
3. 設計功能類群(層級)，並再次以 Bongers 與 Bongers 1998 年以及 Ferris 等人 2001 年的設定、推論與學說分類各指數與不同層級，以用於分析。
4. 因為植食性線蟲對於擾動的反應通常與非寄生性線蟲不同 (Ferris *et.al* , 2001)，因此不納入模型考慮。

##### (二) 新型模式探討與評估

本實驗將代入過去文獻採樣結果並做為參考進行對比。

##### 【實驗步驟】

1. 本實驗參考 Ettema 與 Bongers 於 1993 研究中記錄所採的線蟲數量與其 c-p 分類和食性。
2. 代入所設計之模型計算，並用於探討線蟲功能群變化與模式可行性。

##### (三) 採樣與數據分析

本實驗將考慮相對人為與自然 (A 校園步道與 C 山間土地) 的環境進行線蟲採集，並代入個人採樣結果並進行探討。

##### 【實驗步驟】

1. 本實驗於樣區土壤採樣。其中樣區選擇 A (校園步道)、C 樣區(山間土地)，分別代表人為土地與自然土地。
2. 以柏門氏漏斗分離法分離，並用前述實驗方式鑑定線蟲，並查詢所在 c-p 類群。

3.代入所建立之模型計算。

## 五、土壤生態系服務調節

通過預備實驗對園藝用靚土與花卉培養土進行線蟲分離，發現園藝用靚土中有少量的線蟲，而花卉培養土則缺少線蟲的存在。因此設計以接種線蟲的方式調節園藝用靚土的養分可用性與花卉培養土的食物網組成，並以新建立模型監測土壤食物網。

### (一) 養分調節

將線蟲接種於盆栽土壤後，觀察土壤養分可用性的改變，並以本研究建立模式監測土壤食物網。

#### 【實驗步驟】

- 1.於野外進行線蟲採集與分離。
- 2.實驗組每週將線蟲以微量滴管接種至 100g 的園藝用靚土中，而對照組不特別處理。
- 3.每周以便攜式土壤多功能檢測器檢測土壤氮磷鉀含量、濕度、導電度與 pH 值等，並保持土壤濕度。
- 4.分別於第三週與第六週取 50 g 土壤分離線蟲並代入本研究建立模型。
- 5.相同流程進行三重複。

### (二) 食物網組成調節

通過預備實驗發現花卉培養土中缺乏線蟲，因此想將不同線蟲接種於盆栽土壤後，觀察土壤線蟲族群大小的變化，增加並改變土壤食物網組成，並以本研究建立模式監測土壤食物網監測。

#### 【實驗步驟】

- 1.於野外進行線蟲採集與分離。
- 2.實驗組每週將線蟲以微量滴管接種至 100g 的花卉土壤中，而對照組不特別處理。
- 3.每週以便攜式土壤多功能檢測器檢測土壤氮磷鉀含量、濕度、導電度與 pH 值等，並保持土壤濕度。
- 4.分別於第三週與第六週取 50 g 土壤分離線蟲並代入本研究建立模型。
- 5.相同流程進行三重複。

## 六、數據分析方式

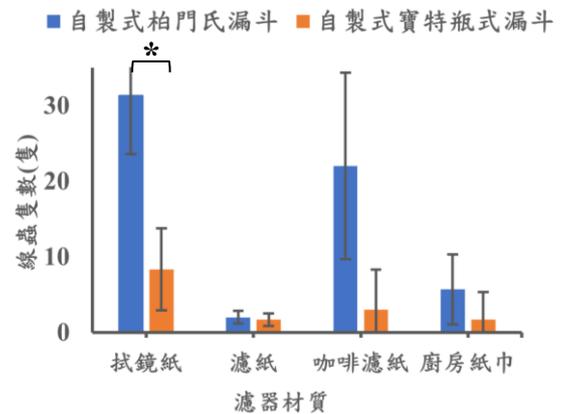
以回歸分析、T 檢定(t-test)、單因子獨立變異數分析 ( One-way ANOVA ) 與相關係數 ( correlation coefficient  $r$  )，分析數據，其中  $p < 0.05$  為顯著差異， $p < 0.01$  為極顯著差異， $-1 < R < -0.6$  為高度負相關。

## 伍、研究結果

### 一、土壤線蟲分離試驗

#### (一)適用分離方式與分離材質(圖十四)

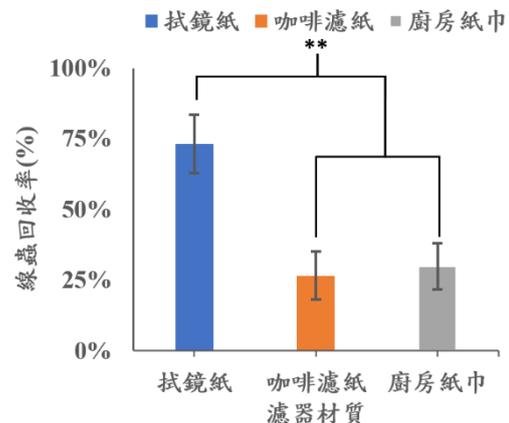
以不同過濾材質與分離方式分離樣區線蟲，結果如圖。在自製式伯門氏漏斗中拭鏡紙、濾紙、咖啡濾紙、廚房紙巾的分離結果。三重複平均隻數分別為 31 隻、2 隻、18 隻、6 隻。而寶特瓶式漏斗則為 8 隻、1 隻、3 隻、1 隻。



圖(十四) 相異過濾材質與分離方式下分離效果 (\*顯著差異,  $p < 0.05$ ) (作者繪製)

#### (二)各過分離質線蟲回收能力試驗(圖十五)

接續上一個實驗的結果，以自製式柏門氏漏斗配上三種過濾材質(拭鏡紙、咖啡濾紙、廚房紙巾)測試漏斗是否真正具回收能力;結果顯示三重複平均結果，拭鏡紙、咖啡濾紙、廚房紙巾)，20 隻線蟲的回收率分別為 73%、27%、30%。

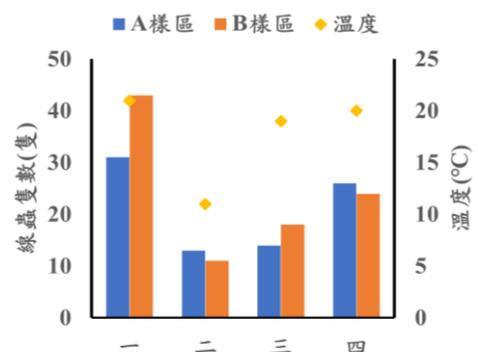


圖(十五) 各分離材質線蟲回收率試驗結果 (\*\*極顯著差異,  $p < 0.01$ ) (作者繪製)

### 二、土壤線蟲分布初調查(圖十六)

#### (一)線蟲採樣與分離

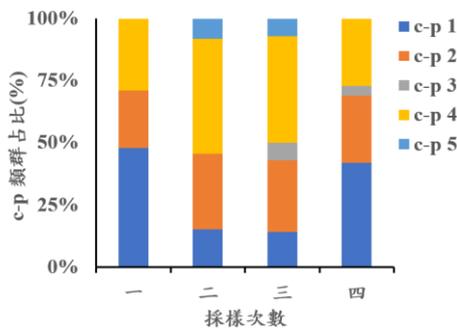
本實驗共四次於不同時間點在 A、B (校園內步道與休耕菜田) 樣區採樣，其中第一次和第二次採樣探討長期變化(50 日)，而之後的採樣每 10 天採樣一次。分別為，其線蟲隻數分別為 A 樣區：31、13、14、26 隻，B 樣區：43、18、11、24 隻。



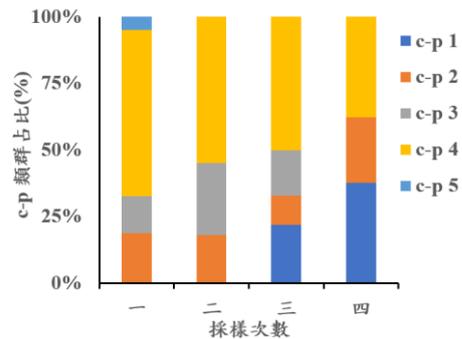
圖(十六) 各採樣次數線蟲隻數 (作者繪製)

## (二)線蟲鑑定與類群占比探討 (圖十七, 圖十八)

在上個實驗的鑑定結果中, 鑑定後所 c-p 占比的變化, 如圖所示, 不同時間, 物種的類群占比皆會改變, 但中又以 c-p 2 較穩定, c-p 1 變化最大。



圖(十七) 校園步道線蟲 c-p 占比變化(作者繪製)



圖(十八) 鳩更菜田線蟲 c-p 占比變化(作者繪製)

## 三、土壤功能監測

### (一)模式設計 (圖十九, 圖二十)

搭配 c-p 指數與食性, 設計了一套指數與一組監測模型, 組合成為新的模式, 將此模式稱為線蟲土壤架構監測 (Nematode soil Architecture Monitoring, NSM), 其組成為用線蟲土壤架構監測指數 (Nematode soil Architecture Monitoring Index, NSMI) 用階層排列而成的模型: 線蟲土壤架構監測指數金字塔 (Nematode soil Architecture Monitoring Pyramid, NSMP), 其中額外分類各指數所屬的「架構層」。

本模式所使用新創名詞:

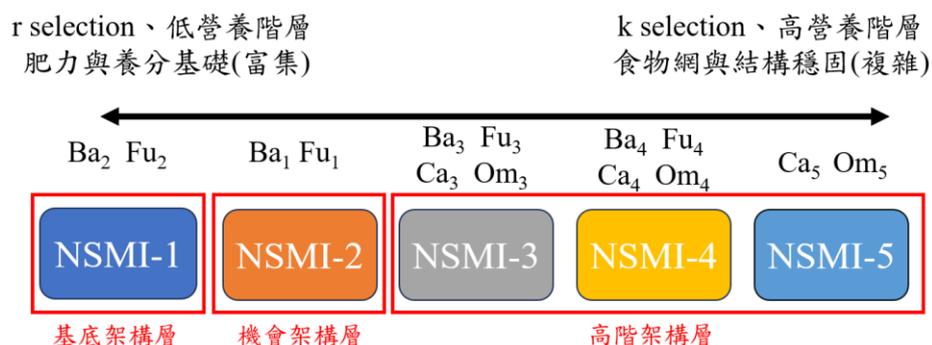
線蟲土壤架構監測 (Nematode soil Architecture Monitoring, NSM): 由 NSMI 指數和 NSMP 模型等多種功能與圖表所組成, 用以監測土壤架構的模式。

線蟲土壤架構監測指數 (Nematode soil Architecture Monitoring Index, NSMI): 模型組成指數。

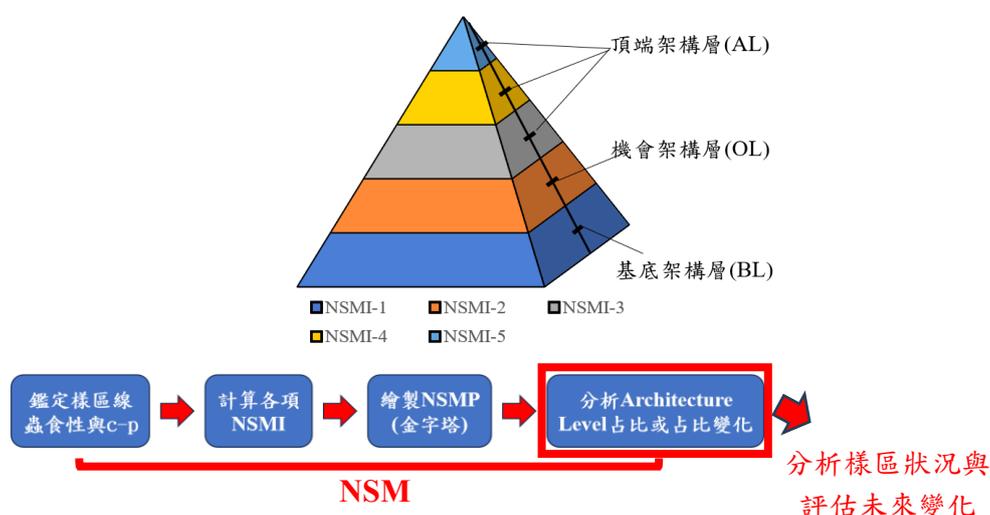
線蟲土壤架構監測指數金字塔 (Nematode soil Architecture Monitoring Pyramid, NSMP): 用於分析土壤組成架構與多種指標的分析模型。

Architecture Level: 架構層級, 建立在模型上的層級分類, 每個層級都向上影響上方層級, 其從下到上依序為: 基底架構層、機會架構層與頂端架構層。此設計將利於一次觀察三種生活方式不同的線蟲群集大小變化。

另外, 以金字塔的厚度表示相對線蟲隻數, 用以輔助評估。但礙於設計軟體上的窒礙難行, 尚未應用於本研究中



圖(十九) 各 NSMI 利用 c-p 與食性和功能類群分類示意圖 (作者繪製)  
本研究之分析方式(模型)，以四種指數組成。圖中標上各指數所利用 c-p 類  
群大致食性組成



圖(二十) NSMP 模型概念示意圖與 NSM 模式進行流程示意圖 (作者繪製)

各 NSMI 所表意義 (Ba=菌食性、Fu=真菌食性、Pl=植食性、Ca=獵食性、Om=雜食性)：

NSMI-1 : c-p 2 ，菌食性與真菌食性組成運算。公式：

$$NSMI-1 = \frac{c-p 2 \text{ 隻數} - Pl \text{ 隻數}}{\text{樣區線蟲隻數} - Pl \text{ 隻數}} \times 100\%$$

NSMI-2 : c-p 1 ，菌食性與真菌食性所組成運算。公式：

$$NSMI-2 = \frac{c-p 1 \text{ 隻數} - Pl \text{ 隻數}}{\text{樣區線蟲隻數} - Pl \text{ 隻數}} \times 100\%$$

NSMI-3 : c-p 3 ，菌食性、真菌食性、植食性、獵食性與雜食性組成運算。公式：

$$NSMI-3 = \frac{c-p 3 \text{ 隻數} - Pl \text{ 隻數}}{\text{樣區線蟲隻數} - Pl \text{ 隻數}} \times 100\%$$

NSMI-4 : c-p 4 ，獵食性與雜食性所組成。公式：

$$NSMI-4 = \frac{c-p\ 4\ 隻數 - Pl\ 隻數}{樣區線蟲隻數 - Pl\ 隻數} \times 100\%$$

NSMI-5 : c-p 5 ，獵食性與雜食性所組成。公式：

$$NSMI-5 = \frac{c-p\ 5\ 隻數 - Pl\ 隻數}{樣區線蟲隻數 - Pl\ 隻數} \times 100\%$$

各架構層所表意義：

基底架構層 ( Basal Level , BL ) : 由 NSMI-1 組成，模型的基礎，能夠生存於環境汙染或干擾高的環境，族群的變動通常不大。此架構層的縮小影響其上方層級，也顯示一地受到極強干擾或資源匱乏。

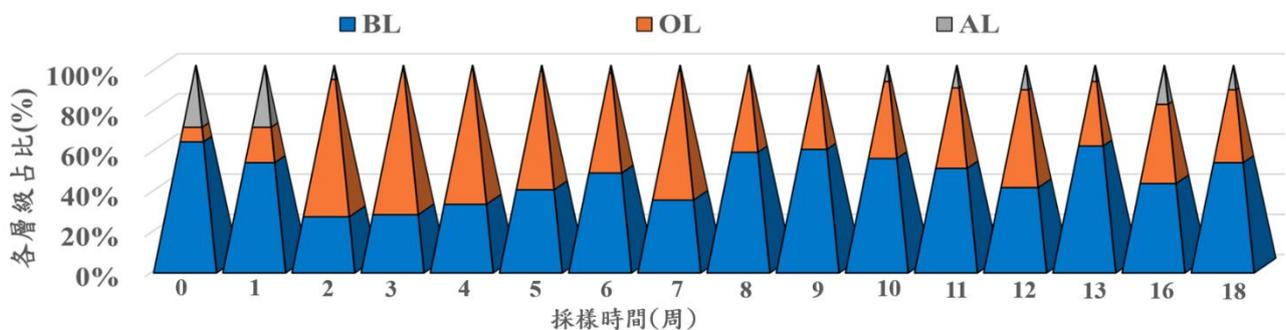
機會架構層 ( Opportunity Level , OL ) : 由 NSMI-2 組成在土壤可用資源增加時，能夠爆炸性的成長，而在環境資源缺乏時，進入休眠期或者族群銳減，架構層的縮小可能影響其上方層級並代表環境資源的減少。

頂端架構層 ( Apex Level , AL ) : 由 NSMI-3、NSMI-4 與 NSMI-5 組成，層級受下方層級影響，在環境變動或受干擾，時可能最先受到影響，而環境資源缺乏則最後受到影響。

設計理念：利用各線蟲功能群的占比變化，也就是了解線蟲因環境擾動而發生的族群改變狀況，以了解目前環境中所發生的變化。

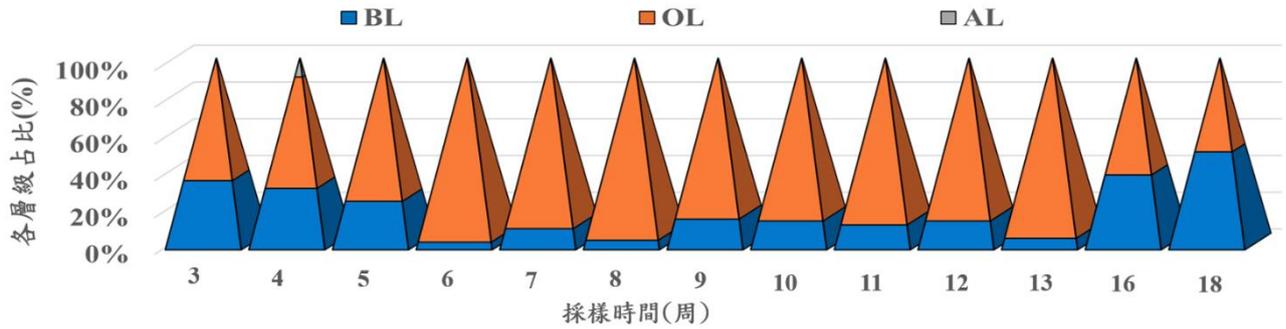
#### 四、新型模式探討與評估

圖 ( 二十一 ) 為分析文獻數據中將一土壤樣區進行粉狀牛糞施肥後，第 0~18 週內各架構層級占比變化圖 ( BL 為基底架構層，OL 為機會架構層，AL 為頂端架構層 )。



圖(二十一) 樣區經牛糞施肥後初期線蟲各架構層占比變化(原始數據源自 Ettema & Bongers, 1993, 表二) (BL 為基底架構層，OL 為機會架構層，AL 為頂端架構層)。(作者繪製)

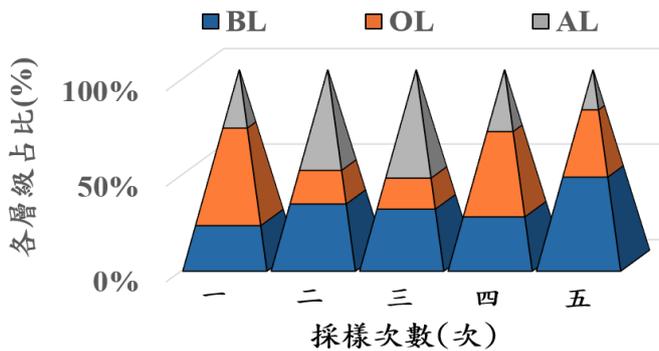
圖(二十二)析文獻數據中為一土壤樣區進行燻蒸處理後，3~18週內線蟲個架結構層級占比變化圖。(BL為基底架構層，OL為機會架構層，AL為頂端架構層)。



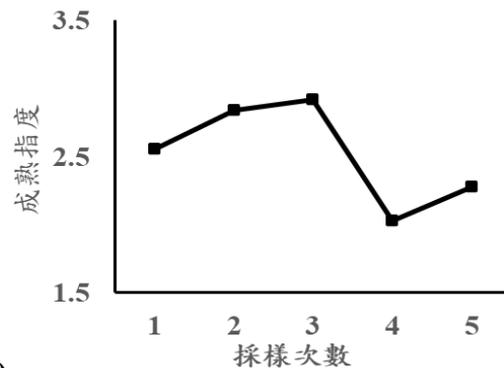
圖(二十二) 樣區經燻蒸後初期線蟲各架構層占比變化(原始數據源自 Ettema & Bongers, 1993, 表三)  
(BL為基底架構層，OL為機會架構層，AL為頂端架構層)。(作者繪製)

### 五、個人採樣數據代入模型

下圖為A樣區(校園步道)的五次的採樣結果與其成熟指數變化，其中OL不穩定變化壓迫AL。(MI<2 高度干擾，2<MI<3 表示中度干擾，MI>3 表示低度干擾)

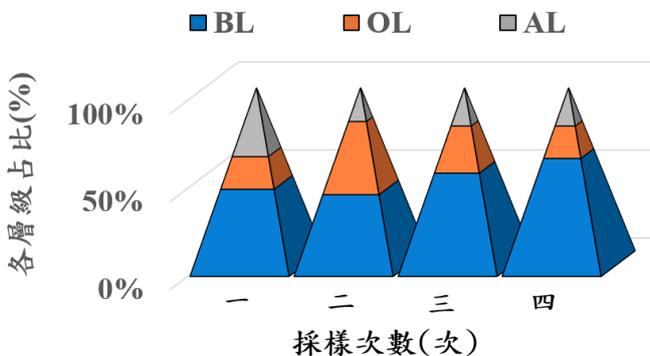


圖(二十三) 人為樣區線蟲各架構層占比變化(作者繪製)  
(BL為基底架構層，OL為機會架構層，AL為頂端架構層)。

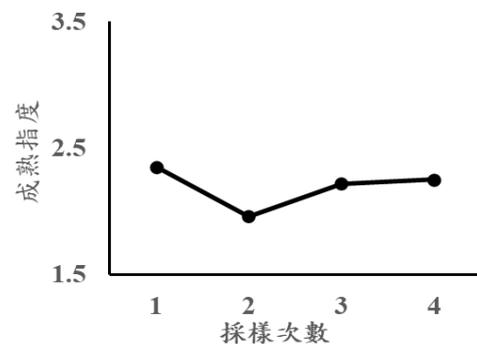


圖(二十四) A樣區成熟指數變化  
(作者繪製)

下圖為C(山間土地)樣區的四次採樣結果與其成熟指數變化，因非人為樣區，物種發展與多樣性受到的限制較小。(MI<2 高度干擾，2<MI<3 表示中度干擾，MI>3 表示低度干擾)



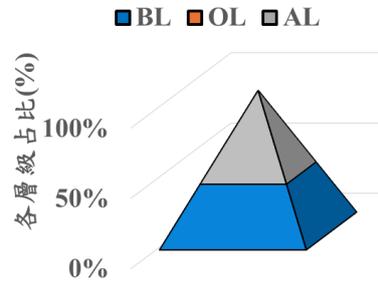
圖(二十五) 自然樣區線蟲各架構層占比變化(作者繪製)  
(BL為基底架構層，OL為機會架構層，AL為頂端架構層)。



圖(二十六) C樣區成熟指數變化  
(作者繪製)

## 六、土壤生態系服務調節探討-預備實驗

在此預備實驗中針對園藝用親土與花卉培養土中的線蟲進行分離並分析其食物網。其中結果中僅在園藝用親土中發現線蟲，而圖(二十七)為食物網的分析結果。(MI<2 高度干擾，2<MI<3 表示中度干擾，MI>3 表示低度干擾)

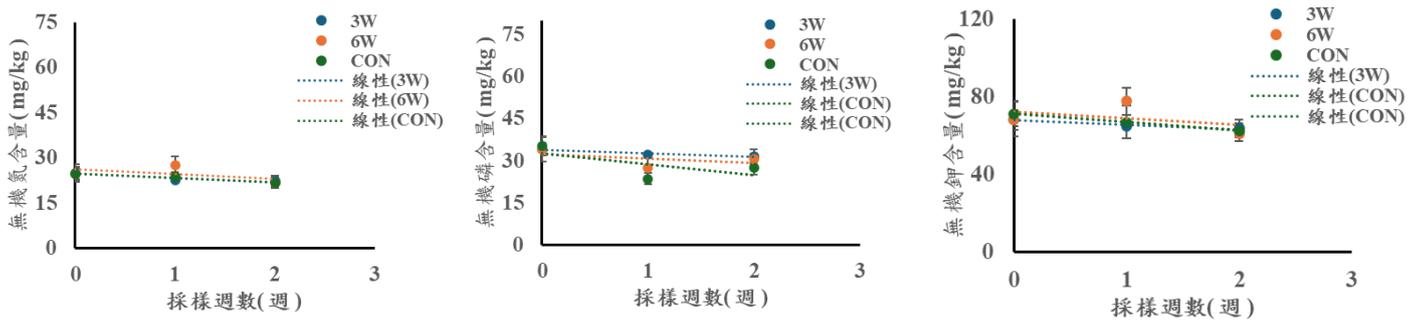


圖(二十七) 園藝用親土線蟲個架結構層占比 (成熟指度 = 3.17) (作者繪製)

(BL 為基底架構層，OL 為機會架構層，AL 為頂端架構層)。

## 七、土壤養分調節 (圖二十八)

下圖為目前用土壤多功能檢測儀檢測親土氮磷鉀含量變化結果。實驗尚未完成，將於未來接種線蟲後觀察氮磷鉀的變化，並於第三週與第六週監測土壤食物網。

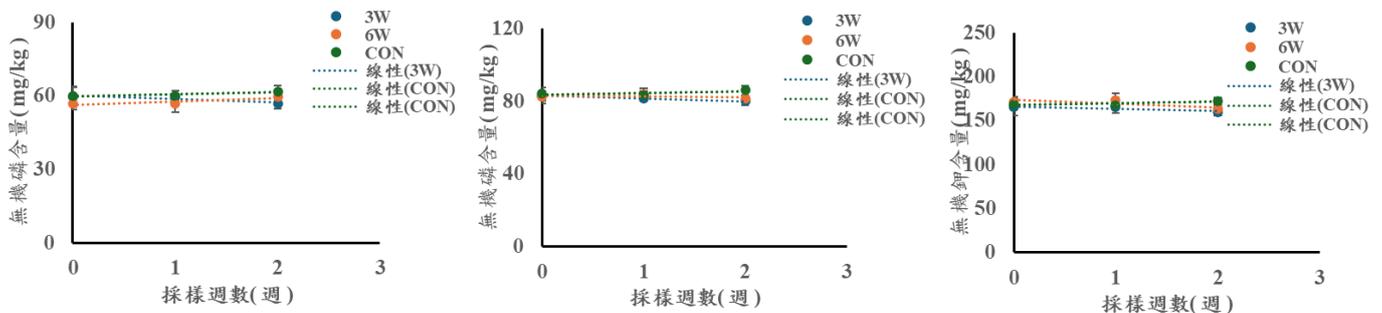


圖(二十八) 園藝用親土氮磷鉀含量變化 (n=3) (作者繪製)

3W=預計第三週進行食物網分析組，6W=預計第六週進行食物網分析組，CON=對照組(無處理)

## 八、食物網組成調節 (圖二十九)

下圖為用土壤多功能檢測儀檢測目前花卉培養土氮磷鉀含量變化結果。實驗尚未完成實驗尚未完成，將於未來接種線蟲後觀察與監測土壤食物網。



圖(二十九) 園藝用親土氮磷鉀含量變化 (n=3) (作者繪製)

3W=預計第三週進行食物網分析組，6W=預計第六週進行食物網分析組，CON=對照組(無處理)

## 陸、討論

### 一、土壤線蟲分離試驗

以不同過濾材質與分離方式分離樣區線蟲，從圖(十四)中可以得知，自製柏門氏漏斗分離隻數比自製寶特瓶式漏斗高，推測原因為柏門式漏斗構造較簡單，而寶特瓶式漏斗則因為瓶身的孔洞、瓶蓋的凹槽等位置可能殘留線蟲；由於每重複非同日採集，因此天氣狀況與環境因子將不同，進而對實驗結果中的標準差造成影響，不過拭鏡紙仍是四種材質中分離效果最佳且相對穩定的分離材質。

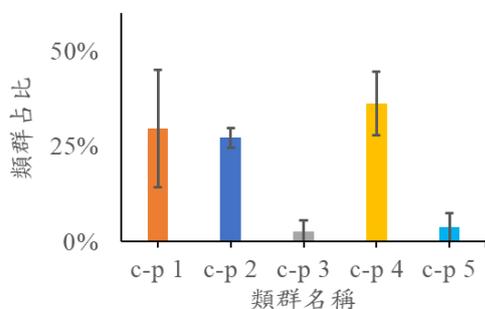
另外，從圖(十五)中可以得知，自製柏門氏漏斗的回收率，其標準差相近，其中以拭鏡紙回收效果最佳，其成功分離率最高。不過本實驗僅用 10 g 的土與 20 隻線蟲，日後可以更多土壤與線蟲的方式，以將其還原至最接近真實分離之狀況並探討。

### 三、土壤線蟲相調查

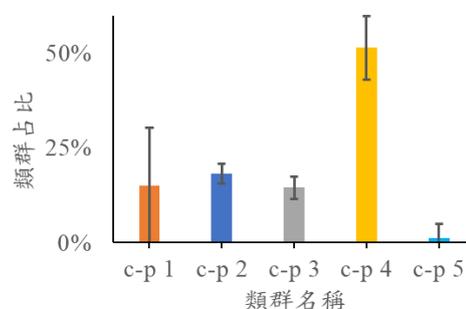
從圖(十六)可以得知，線蟲總數將隨不同日期之溫度等環境因子而變化。線蟲可能因溫度降低，而在溫度驟降後幾天中族群量縮減或活動力下降(難以被分離)。

### 四、土壤線蟲分布之探討(圖三十，圖三十一)

從圖可以得知，群落變化以 c-p 2 相對穩定，c-p 1 則隨著日期不同有著顯著的變化，而 c-p 5 則是時有時無的出現，以上狀況已幾乎符合 Bongers 或 Ferris 等人對於 c-p 指數與類群的假設與論點。但是，結果中較無法解釋的，c-p 3 與 c-p 4 作為 k 策略線蟲，族群的繁衍與死亡短期內變化並應該要相對穩定。猜測其占比減少原因可能為 c-p 1 的快速成長或 c-p 2 的些微成長，壓縮 c-p 3 與 c-p 4 的占比。



圖(三十) A 樣區類群占比 (作者繪製)  
其中個類群占比占比為圖(十五)中四次採樣平均值



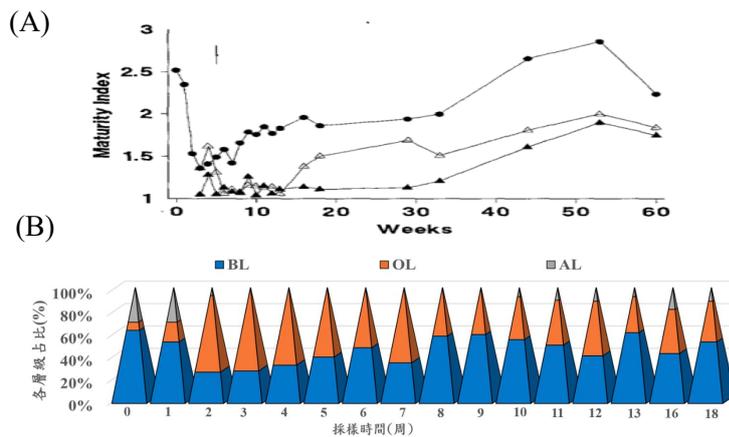
圖(三十一) B 樣區類群占比 (作者繪製)  
其中個類群占比占比為圖(十六)中四次採樣平均值

## 五、模式建立

本研究使用了一種新的模式，用於統整樣區出現的線蟲功能群，但不討論植食性線蟲的方式呈現，以此種方式運算隻依據為 Bongers 在多篇報告中提出的論點，他表示植食性隻線蟲對於環境干擾，所做出的反應往往異於其他食性。另外，此模型以立體金字塔圖的形式呈現，並將 c-p 2 歸類於基底架構層，安排在模型的最底端，顯現生態架構之組成。計畫在未來設計以各階層寬細表示族群實際隻數，以彌補原本在模型中無法加入實際線蟲隻數的問題。

## 五、新型模式探討與評估 (表三)

本研究代入了文獻 (Ettema & Bongers, 1993) 的初始數據。其中，使用此模型的優勢，在於可顯著觀察族群架構組成上的變化。在原始報告中的數據，以 MI 變化折線圖分析，雖然可以直接了解干擾與成熟度的變化，但難以觀察線蟲功能群組成的改變 (如圖三十二, A)；另外，在代入文獻中經燻蒸處理 (圖二十二) 的土壤採樣結果時，土壤肥力沒有顯著增加，機會架構層卻爆發性的增加，因此推測過高的擾動可能阻礙模式的運作。



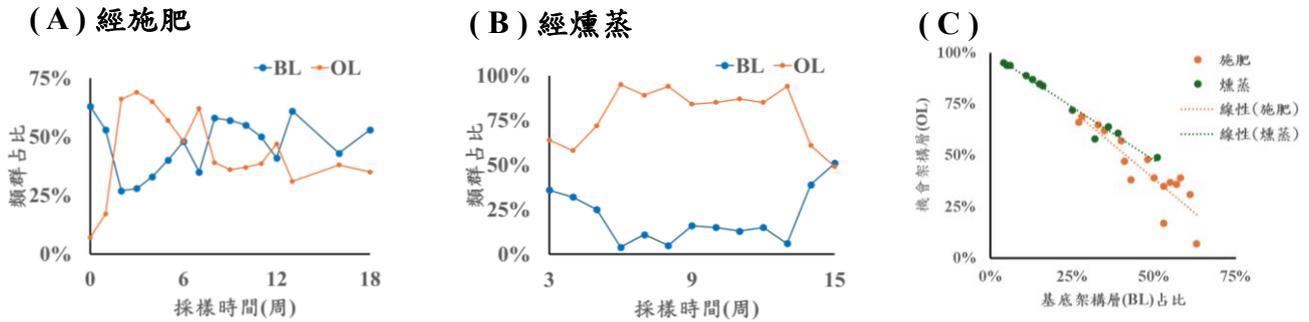
圖(三十二) 不同分析方式分析粉狀牛糞施肥後線蟲群落變化

(A) MI 變化折線圖 (圓點為施肥狀況，空心三角形為無處理狀況、實心三角形為薰蒸狀況) (取自 Ettema & Bongers, 1993)，(B) 施肥後線蟲層級變化 (作者繪製)。

表 (三) 新建立模式與過去模式差異 (作者繪製)

分析方向	優勢	劣勢	參考資料
連續性土壤食物網組成 (功能群) 變化	可預測結構變化並擴展功能	需要長期採樣且分析在過高或過低的擾動下受影響	本研究
環境擾動變化	通常具加權	通常無法觀察土壤食物網組成變化並預測	如 Bongers, 1998 Ferris <i>et.al</i> , 2001 等

另外，在文獻採樣結果的分析(圖二十一與二十二)中，BL與OL皆呈高度負相關( $-1 < r < -0.6$ )，應證 c-p2 與 c-p1 組成的食性通常相同，可在未來深入探討原因與各線蟲功能群間互動關係。



圖(三十三)土壤各種處理下變化下 AL 與 BL 類群占比變化 (作者繪製)

(A) 經施肥 ( $R: -0.89$ )，(B) 經燻蒸 ( $R: -0.98$ )，(C) 各處理 OL 與 BL 線性關係。

## 六、採樣與數據分析

本實驗於樣區進行採集與分離，並初步代入模型。結果中，A 樣區可視的主要占比變化為機會層，但其實因為被壓縮僅只有頂端層的占比，證明基底層族群也在成長，但不如機會層占比那般不穩定，這符合過去關於線蟲各 c-p 類群特性的敘述，在資源沒有大量增加的狀況下，機會層不穩定變化，而基底層作為主要由菌食性與真菌食性組成的線蟲，則可能跟著緩慢成長，推測樣區架構狀況穩定，但相較於前人研究顯示的數據，基底層之占比略顯不足，養分並不富集。C 樣區分析結果與前人數據代入的圖形較為接近，推測是因為其為非人為環境，受人為物種多樣性的限制較小。另外，未來對於以二名法與學名歸類線蟲的方式應該減少，而是以功能群等在生態中具相同功能與生活方式的分類方法以方便模式的使用。

## 七、土壤功能性調控探討-預備實驗

分別對園藝用靚土與花卉培養土進行線蟲分離，結果中僅在靚土中成功分離線蟲，推論雖兩種土壤含養方式皆以有機肥的形式出現，不過相較於培養土的養菇木屑，靚土所組成之泥炭土更符合線蟲之生態棲位要求(顏等人，1998)。而針對圖(二十六)的食物網架構，可發現肥力極高的靚土卻缺乏 OL 的出現，推論人為環境中的干擾過低而助長優勢線蟲物種的發展，使後期物種(以本研究為例如 *Doryliamus* .sp) 取代先鋒物種，也再次驗證了個人數據帶入中對校園步道等人為環境生物多樣性低所做出的假設。

## 八、土壤功能性調控探討

目前在養分與土壤食物網調節的實驗中尚未取得實質性的結果，預期在三周內取得土壤食物網的變化數據。不過線蟲的碳氮比 ( $C:N = 8\sim 12$ ) 通常高於其食物 ( $C:N = 4\sim 8$ )

(Anderson, 1983), 因此其涉入的氮高於自身生理所需。Ferris 在 1998 的報告中所測量的單一菌食性線蟲一日最低氮礦化量為  $0.0012 \mu\text{g}$  ( $0.0012 \mu\text{g-N nematode}^{-1} \text{d}^{-1}$ ), 而假設環境食物無限供應且沒有環境負載力問題, 菌食線蟲平均最短世代為  $d$  天, 並在此時間內產下的子代中有  $S$  隻線蟲與親代生長背景相同(存活  $d$  日且具繁殖能力), 則線蟲最低氮礦化能力可能如下, 而目前沒有磷與鉀礦化相關資料:( $Nem$ =起始線蟲數量,  $N$ =總礦化量,  $n$ =世代數。以上公式尚未考慮線蟲乾重與氮周轉率等細節, 將於日後深入探討)

$$N = \sum_{i=1}^n 0.0012 \times Nem \times S^{(n-1)} d$$

## 柒、結論

- 一、以簡單的方式採樣與分離線蟲, 發現以拭鏡紙與柏門式漏斗分離線蟲效果最佳。
- 二、建立易於分析土壤線蟲功能群組成的模式, 其中功能群的變化能反映土壤狀況並探討。
- 三、發現擾動的高低 ( $MI > 3$  或  $MI < 1$ ) 可能影響新型模式的分析。
- 四、提出土壤中 c-p 1 與 c-p 2 功能群的線蟲占比可能呈負相關。
- 四、初步實驗以線蟲監測與調節土壤生態系功能和食物網功能, 。

## 捌、未來展望

希望未來能夠在更長期的實驗中實踐以線蟲監測並調節土壤食物網的方式, 並探討如何更快速的利用線蟲的生態系服務調節土壤與更快速地分析土壤食物網, 以及改善模式的分析在擾動過高或過低造成影響的問題, 或者探討模式適用成熟指度範圍與誤差。

另外, 更深入的研究與探討各線蟲功能群在土壤中的交互作用關係, 可以更好的掌控並了解各線蟲族群在環境中的變動, 並且有利於未來模式的改良; 而針對生物在土壤中的服務與資源利用, 更深入的對線蟲分類以解決線蟲鑑定上的窒礙難行, 減少線蟲在土壤食物網中以族群與物種分類的使用, 而是以攝食機制或代謝能力等相近的線蟲歸類, 並結合本研究之理念, 使土壤生態系服務與食物網功能被永續且有效的維護與利用。

## 玖、參考資料文獻

### 一、期刊、報告、論文、書籍

- (一)李彥廷(2012)。分離鑑定食真菌性線蟲並評估其生物防治潛力(學士論文)。台灣博碩士論文加值系統。
- (二)林宏澤(2019)。線蟲捕捉菌中高保守性但具可塑性之獵物感受訊息傳遞系統。國立台灣大學基因體與系統生物學學系。
- (三)何姿穎(2012)。台灣中部土壤線蟲豐度與多樣性的海拔分布。國立成功大學生命科學系。
- (四)吳秀珍(2009)。線蟲作為河川污染生物指標之模式建立。國立中興大學植物病理學系。
- (五)曾建仁(2007)。海獸胃線蟲之海藻糖生成酶活性與低溫相關性研究。國立臺灣大學。
- (六)陳殿義(2000)。植物外寄生性線蟲之演化及分類。植物病理學會刊.9 79~92
- (七)陳佩臻(2004)。種子傳播性植物線蟲病害。植物重要防疫檢疫病害診斷鑑定技術研習會專刊(三) 97-104
- (八)蔡東纂(2003)。植物寄生性線蟲之鑑定與病害診斷。植物重要防疫檢疫病害診斷鑑定技術研習會專刊(二) 116~124
- (九)顏志恆、李明達、陳殿義、林俊義、蔡東纂(1998)。土壤植物寄生性線蟲分離方法之優劣比較。植物學會會刊.40 153~162
- Anderson, R. V., Gould, W. D., Woods, L. E., Cambardella, C., Ingham, R. E., & Coleman, D. C. (1983). Organic and inorganic nitrogenous losses by microbivorous nematodes in soil. *Oikos*, 75-80.
- (十) Asiedu, O., Kwoseh, C. K., Melakeberhan, H., & Adjei-Gyapong, T. (2019). Nematode distribution in cultivated and undisturbed soils of Guinea Savannah and Semi-deciduous Forest zones of Ghana. *Geoscience Frontiers*, 10(2), 381-387.
- (十一) Austin, E., Semmens, K., Parsons, C., & Treonis, A. (2009). Granite rock outcrops: an extreme environment for soil nematodes?. *Journal of nematology*, 41(1), 84.
- (十二) Bogale, M., Baniya, A., & DiGennaro, P. (2020). Nematode Identification Techniques and Recent Advances. *Plants (Basel, Switzerland)*, 9(10), 1260.
- (十三) Bongers, T., & Bongers, M. (1998). Functional diversity of nematodes. *Applied soil ecology*, 10(3), 239-251.
- (十四) Bongers, T., & Ferris, H. (1999). Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends in Ecology & Evolution*, 14(6), 224-228.
- (十五) Bongers, T., van der Meulen, H., & Korthals, G. (1997). Inverse relationship between the nematode maturity index and plant parasite index under enriched nutrient conditions. *Applied Soil Ecology*, 6(2), 195-199.

- (十六) Carta, L. K., & Li, S. (2018). Improved 18S small subunit rDNA primers for problematic nematode amplification. *Journal of Nematology*, 50(4), 533-542.
- (十七) Cesarz, S., Eva Schulz, A., Beugnon, R., & Eisenhauer, N. (2019). Testing soil nematode extraction efficiency using different variations of the Baermann-funnel method. *Soil organisms*, 91(2), 61–72.
- (十八) Cesarz, S., Reich, P. B., Scheu, S., Ruess, L., Schaefer, M., & Eisenhauer, N. (2015). Nematode functional guilds, not trophic groups, reflect shifts in soil food webs and processes in response to interacting global change factors. *Pedobiologia*, 58(1), 23-32.
- (十九) De Goede, R. G. M., Georgieva, S. S., Verschoor, B. C., & Kamerman, J. W. (1993). Changes in nematode community structure in a primary succession of blown-out areas in a drift sand landscape. *Fundamental and applied nematology*, 16(6), 501-513.
- (二十) Dujardin, F. (1845). Histoire Naturelle des Helminthes ou Vers Intestinaux.
- (二十一) Du Preez, G., Daneel, M., De Goede, R., Du Toit, M. J., Ferris, H., Fourie, H., ... & Schmidt, J. H. (2022). Nematode-based indices in soil ecology: Application, utility, and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 169, 108640.
- (二十二) Ettema, C. H., & Bongers, T. (1993). Characterization of nematode colonization and succession in disturbed soil using the Maturity Index. *Biology and Fertility of Soils*, 16, 79-85.
- (二十三) Ferris, H., Lau, S., & Venette, R. (1995). Population energetics of bacterial-feeding nematodes: respiration and metabolic rates based on CO<sub>2</sub> production. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(3), 319-330.
- (二十四) Ferris, H. V. R. C., Venette, R. C., Van Der Meulen, H. R., & Lau, S. S. (1998). Nitrogen mineralization by bacterial-feeding nematodes: verification and measurement. *Plant and Soil*, 203, 159-171.
- (二十五) Ferris, H., Bongers, T., & de Goede, R. G. (2001). A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied soil ecology*, 18(1), 13-29.
- (二十六) Ferris H. (2010). Contribution of nematodes to the structure and function of the soil food web. *Journal of nematology*, 42(1), 63–67.
- (二十七) Fu, S., Ferris, H., Brown, D., & Plant, R. (2005). 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*, 37(11), 1979-1987.
- (二十八) Gebremikael, M. T., Steel, H., Buchan, D., Bert, W., & De Neve, S. (2016). Nematodes enhance plant growth and nutrient uptake under C and N-rich conditions. *Scientific reports*, 6, 32862.
- (二十九) Hoschitz, M., & Kaufmann, R. (2004). Soil nematode communities of Alpine summits—site differentiation and microclimatic influences. *Pedobiologia*, 48(4), 313-320.
- (三十) Hyvönen, R., & Persson, T. (1990). Effects of acidification and liming on feeding groups of nematodes in coniferous forest soils. *Biology and Fertility of Soils*, 9, 205-210.

- (三十一) Jongman, R. H. G., Bunce, R. G. H., Metzger, M. J., Múcher, C. A., Howard, D. C., & Mateus, V. L. (2006). Objectives and applications of a statistical environmental stratification of Europe. *Landscape Ecology*, *21*, 409-419.
- (三十二) Kang, Y., Zheng, S., Wan, T., Wang, L., Yang, Q., & Zhang, J. (2023). Nematode as a biomonitoring model for evaluating ecological risks of heavy metals in sediments from an urban river. *Ecological Indicators*, *147*, 110013.
- (三十三) Khan, Z., & Kim, Y. H. (2007). A review on the role of predatory soil nematodes in the biological control of plant parasitic nematodes. *Applied soil ecology*, *35*(2), 370-379.
- (三十四) Lavelle, P., & Spain, A. (2002). *Soil ecology*. Springer Science & Business Media.
- (三十五) Lewis, E. E., Grewal, P. S., & Sardanelli, S. (2001). Interactions between the *Steinernema feltiae*–*Xenorhabdus bovienii* insect pathogen complex and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Biological Control*, *21*(1), 55-62.
- (三十六) Masciandaro, G., Macci, C., Peruzzi, E., & Doni, S. (2018). Soil carbon in the world: ecosystem services linked to soil carbon in forest and agricultural soils. In *The future of soil carbon* (pp. 1-38). Academic Press.
- (三十七) McSorley, R., & Frederick, J. J. (2004). Effect of extraction method on perceived composition of the soil nematode community. *Applied Soil Ecology*, *27*(1), 55-63.
- (三十八) Nie, X., Shi, Y., Wang, L., Abudurehman, W., Yang, J., & Lin, C. (2024). Study on the mechanism of magnesium calcium alloys/mineralized collagen composites mediating macrophage polarization to promote bone repair. *Heliyon*, *10*(9),
- (三十九) Obed Asiedu et al.(2019) ◦ Nematode distribution in cultivated and undisturbed soils of Guinea ◦ Savannah and Semi-deciduous Forest zones of GhanaGeoscience Frontiers Volume 10,Issue 2,381-387 ◦
- (四十) Rishan, S. T., Kline, R. J., & Rahman, M. S. (2023). Applications of environmental DNA (eDNA) to detect subterranean and aquatic invasive species: A critical review on the challenges and limitations of eDNA metabarcoding. *Environmental Advances*, 100370.
- (四十一) Schmidt, J. H., Hallmann, J., & Finckh, M. R. (2020). Bacterivorous nematodes correlate with soil fertility and improved crop production in an organic minimum tillage system. *Sustainability*, *12*(17), 6730.
- (四十二) Seesao, Y., Gay, M., Merlin, S., Viscogliosi, E., Aliouat-Denis, C. M., & Audebert, C. (2017). A review of methods for nematode identification. *Journal of Microbiological Methods*, *138*, 37-49.
- (四十三) Shi, G., Luan, L., Zhu, G., Zeng, Z., Zheng, J., Shi, Y., ... & Jiang, Y. (2023). Interaction between nematodes and bacteria enhances soil carbon sequestration under organic material amendments. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1155088.
- (四十四) Tintori, S. C., Sloat, S. A., & Rockman, M. V. (2022). Rapid isolation of wild nematodes by Baermann funnel. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (179), e63287.

- (四十五) Treonis, A. M., Unangst, S. K., Kepler, R. M., Buyer, J. S., Cavigelli, M. A., Mirsky, S. B., & Maul, J. E. (2018). Characterization of soil nematode communities in three cropping systems through morphological and DNA metabarcoding approaches. *Scientific reports*, 8(1), 2004.
- (四十六) Tsai, B. Y., & Yeh, H. L. (1995). Effect of *Steinernema carpocapsae* Weiser on the Infectivity of *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann) Filipjev & Schuurmans Stekhoven and *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. *植物病理學會刊*, 4(3), 106-110.
- (四十七) Yeates, G. W., Bongers, T., De Goede, R. G., Freckman, D. W., & Georgieva, S. (1993). Feeding habits in soil nematode families and genera—an outline for soil ecologists. *Journal of nematology*, 25(3), 315.
- (四十八) Yeates, G. W., & Bongers, T. (1999). Nematode diversity in agroecosystems. In *Invertebrate biodiversity as bioindicators of sustainable landscapes* (pp. 113-135). Elsevier.

## 二、網站

- (一) Nematode world。2023年12月，取自 <https://nematode.unl.edu/index.html>
- (二) UNL Nematology Lab。Interactive Diagnostic Key to Plant Parasitic, Freelifving and Predaceous Nematodes。2024年1月，取自 <https://nematode.unl.edu/key/nemakey.htm>
- (三) Nemaplex。2024年2月，取自 <http://nemaplex.ucdavis.edu>
- (四) 化學、有機質、微生物肥料，怎麼選？摸透肥料的個性，對症下料。台灣農業知識入口網。2024年五月，取自 [https://kmweb.moa.gov.tw/theme\\_data.php?theme=news&sub\\_theme=variety&id=55556](https://kmweb.moa.gov.tw/theme_data.php?theme=news&sub_theme=variety&id=55556)

## 【評語】 030316

1. 研究主題：本研究利用線蟲生態指數作為土壤生態的指標，建立線蟲土壤食物網監測模式，探討其在調節土壤養分與食物網功能中的應用。結果顯示，線蟲功能群的變化能反映土壤狀況，並在一定程度上調節土壤生態系服務。
2. 創意、學術或實用價值：本研究主題符合環保議題，土壤中小型動物之生態角色，長期受到關注。學生系統性地建立線蟲土壤食物網監測模式，提出利用線蟲功能群來調節土壤養分和生態系服務的概念。此研究結果對於土壤生態學的理论基礎和實際應用具有一定價值。並深入探討土壤中小型動物的生態角色和生物間的互動模式，具有新意和價值。
3. 科學方法之適切性：此研究設計流程完整，結合多種實驗設計，包括土壤線蟲分離、土壤樣區調查和數據分析。整體實驗設計合理，能夠支持研究結論。報告中對不同情況下線蟲功能群的變化進行詳細的統計分析。以下有幾點建議：1) 研究中的不同架構層線蟲交互作用模式需要進一步延伸證實，由於基本比例為 100%，

因此當某種線蟲增加時，另一種必然減少。但本研究中所看到的交互差異只源於不同時間所進行的採樣分析，並未給予介入性變因，或觀察到環境變因，因此難評斷所看到的差異為交互作用的結果。可以考慮進行實驗，例如在土壤中增加特定架構層的線蟲數量，然後在一段時間後觀察架構層比例是否改變；2) 利用線蟲生態指數作為生態的指標的方法與其他現有土壤環境指標之間是否有其相容性或不可替代性，可以進行比較；3) 在偵測污染或是對抗污染的能力在本研究著墨不多，未來可持續發展；4) 在線蟲的估算目前全為人力，可以考慮影像輔助判讀工具，提升計畫的技術層次。

4. 展示及表達能力：報告設計與結構清晰，圖表呈現良好且解釋充分，尤其是將圖放置於報告單頁右半，左半維結果文字敘述，容易閱讀。在報告中摘要部分建議可以強化其研究所得，目前版本在研究重點與發現較不突出。

## 作品簡報

線蟲土壤食物網監測模式建立

與功能性調節

# 摘要

為了永續利用土壤生態系服務，本研究使用文獻分析法，建構模式分析線蟲功能群間交互作用與族群改變，評估土壤之生態系服務。探討架構層間交互關係，發現土壤線蟲食物網內豐富的交互作用與優勢取代，使線蟲於特定世代能顯著提升土壤無機氮 (37%)，本模式可監測土壤線蟲食物網組成，並調節土壤，為實踐土壤的永續利用提出了新的可能。

# 前言

土壤提供多樣的生態系服務 (圖一) (Lavelle & Spain, 2002)，影響人類與生態系。因此土地的永續利用格外重要，關乎聯合國永續發展目標 (SDGs) 中的消除飢餓、陸域生態等，如何有效監測與健康調節土壤也是需要重視的議題。而線蟲世代短、生物量大、對環境變化敏感且分布廣泛，並扮演多種生態角色，能用於監測和調節土壤食物網組成與功能。



圖(一) 土壤生態系服務 (作者繪製)

# 研究器材與方法

## 一、研究器材

解剖顯微鏡、複式顯微鏡、數位相機、培養皿、土壤多功能檢測儀、園藝用靚土、花卉培養土。



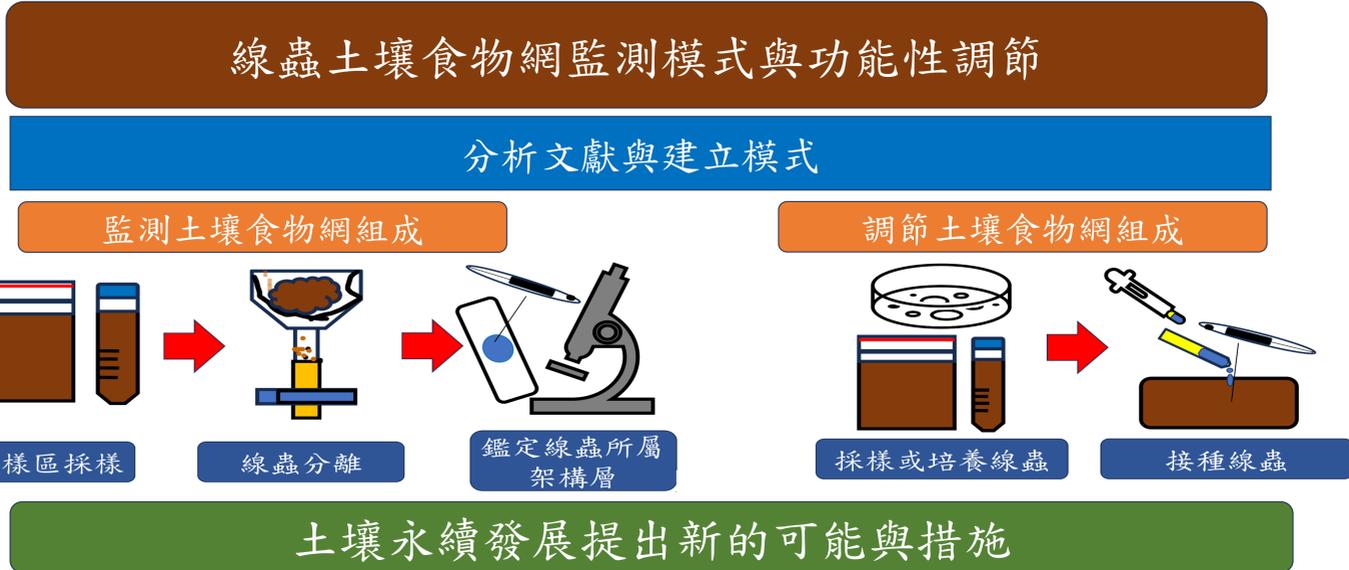
圖(二) 土壤採集樣區 (作者拍攝)

(A) 校園步道 (B) 休耕菜田 (C) 山間荒地

表(一) 土壤組成資訊

園藝通用靚土	花卉用培養土
泥炭土、有機質78.6%、全氮0.6%、全氧化鉀0.7%	菇木屑土、有機質68.3%、全氮1%、全磷0.8%、全氧化鉀0.9%

## 二、實驗架構與理念(圖三)



圖(三) 研究架構與理念(作者繪製)

# 研究結果

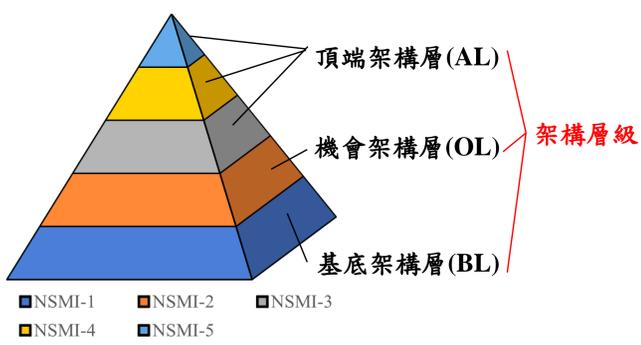
## 一、新模式建立(表二、圖四、五)

表(二) 研究背景與理念-線蟲功能群之概念參考來源與分類(作者繪製)

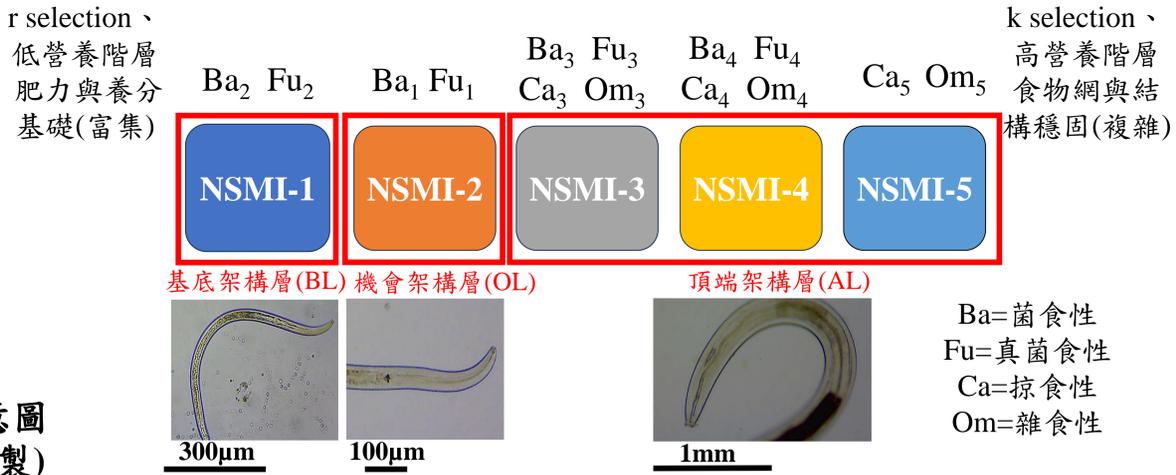
架構層	NSMI (c-p)	功能群	物種科名(種數) (-表無資料)
基底架構層	NSMI-1 (c-p 2)	Ba2	Rhabditidae (482) Cephalobidae (319) Plectidae (165)
		Fu2	Aphelenchidae (26) Aphelenchoidiae (-)
		Ba1	Bunonematidae (53) Mohysteridae (301)
機會架構層	NSMI-2 (c-p 1)	Fu1	-
頂端架構層	NSMI-3 (c-p 3)	Ba3	Diplopeltidae (142) Odontoliamidae (-) Prismatoliamida (-) Teratocephalidae (24)

架構層	NSMI (c-p)	功能群	物種科名(種數) (-表無資料)
頂端架構層	NSMI-3 (c-p 3)	Fu3	-
		Ca3	-
		Om3	-
	NSMI-4 (c-p 4)	Ba4	Aliamidae (-)
		Fu4	Leptonchidae (115)
NSMI-5 (c-p 5)	Ca4	Mononchidae (125)	
	Om4	Doryliamoides (-) Qudsianematidae (419)	
	Ca5	Discoiamidae (-)	

概念參考基準: Bongers 和 Bongers 於 1998 的線蟲生活型態概述



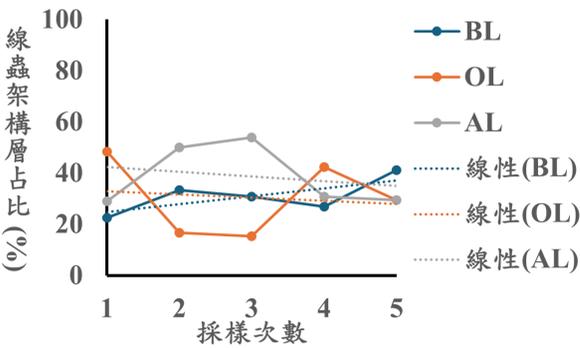
圖(四) 線蟲土壤架構監測金字塔(NSMP)示意圖與線蟲土壤架構監測(NSM)運作流程(作者繪製)



圖(五) 線蟲土壤架構監測指數示意圖與實際線蟲形態(作者拍攝與繪製)

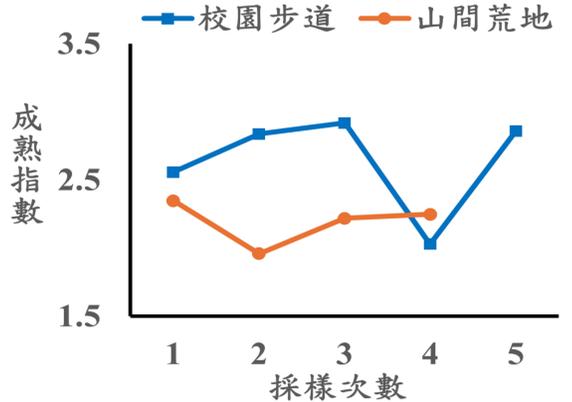
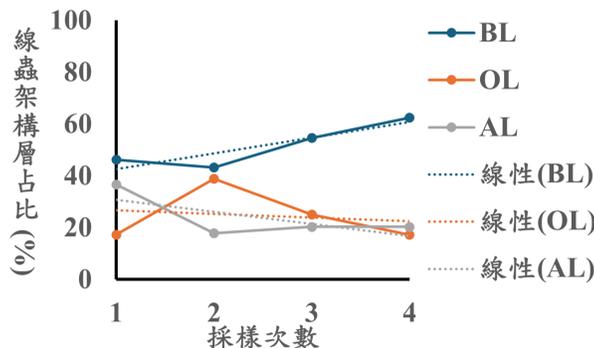
二、模式實際應用分析(圖六、七)

(A) 校園步道



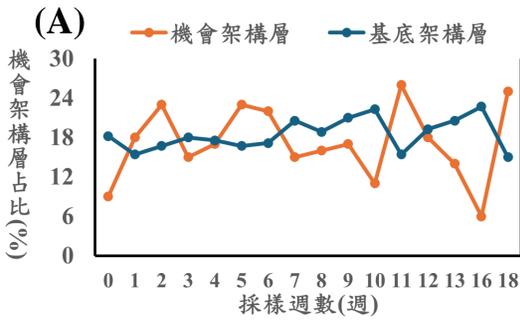
圖(六) 實際採樣土壤線蟲結果帶入新模式土壤各架構占比變化(作者繪製)

(B) 山間荒地

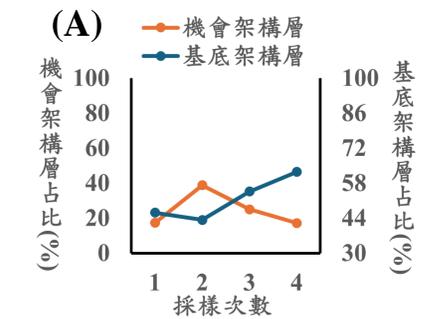
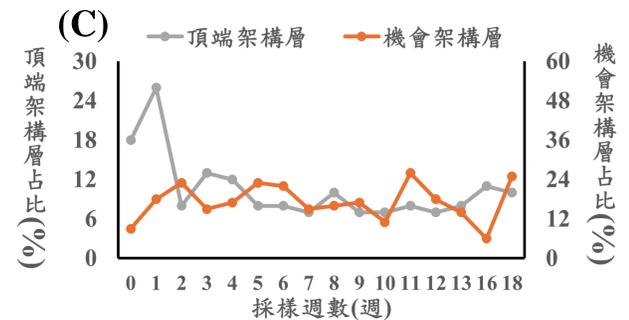
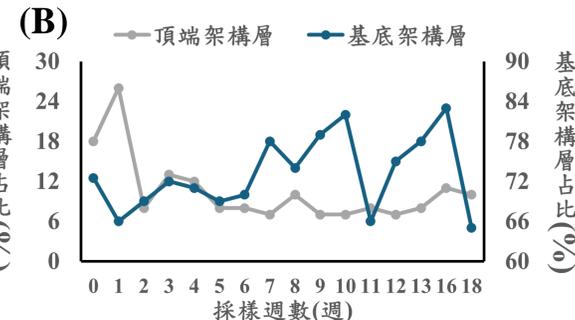


圖(七) 採樣區成熟指數(作者繪製)

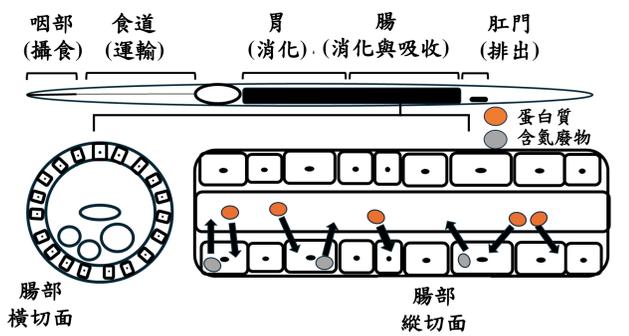
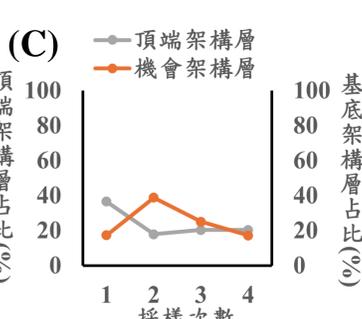
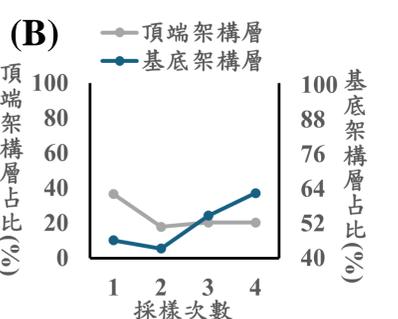
三、線蟲各架構層間交互作用探討(圖八、九)



圖(八) 無處理土壤線蟲各架構層占比交互變化關係(作者繪製)

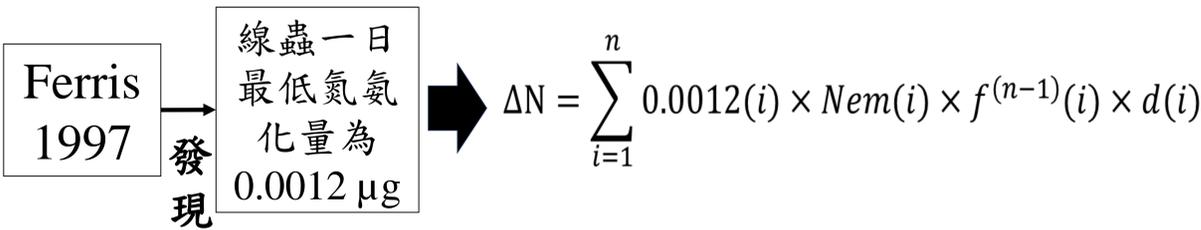


圖(九) 山中荒地土壤構線蟲層占比交互變化關係(作者繪製)

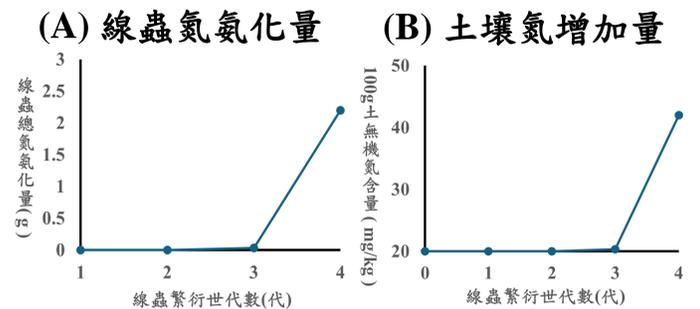


圖(十) 線蟲氮氮化機制圖(作者繪製)

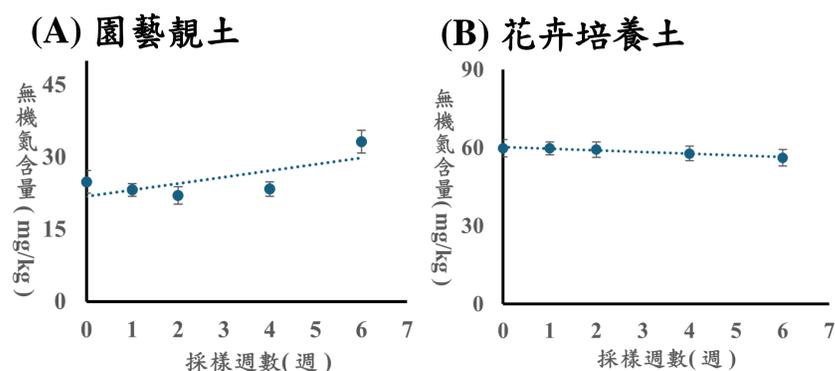
四、土壤養分調節(圖十~十五)



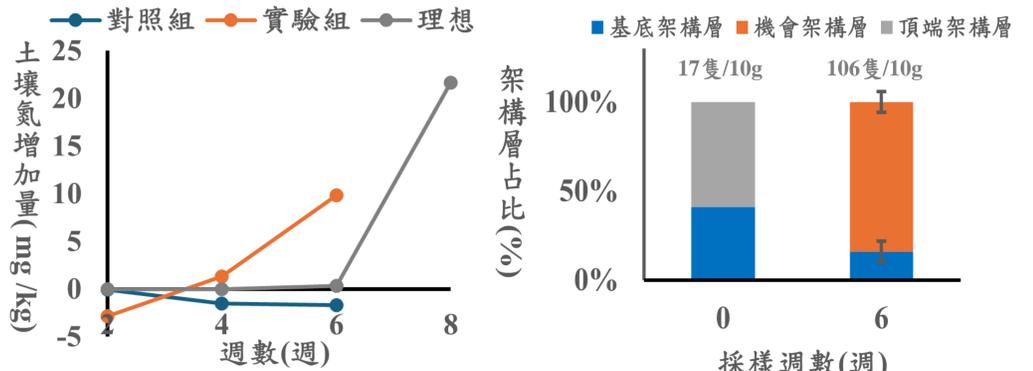
圖(十一) 理想線蟲最低氮氮化量計算公式(作者繪製與設計)  
 $\Delta N$ =理想線蟲最低氮氮化量(μg);  $d$ =單一物種線蟲最短世代(天)  
 $f$ =親代產下子代隻數;  $Nem$ =起始線蟲數量;  $n$ =世代數量



圖(十二) 理想線蟲最低氮氮化量與預計成效(生理數值採用優勢種Panagrolaimidae)(作者繪製)



圖(十三) 園藝靚土與花卉培養土無機氮含量變化(n=6)(作者繪製)



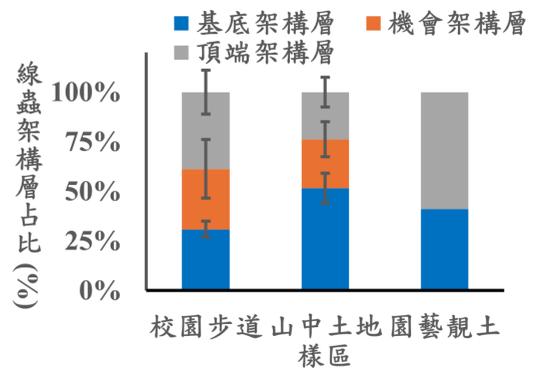
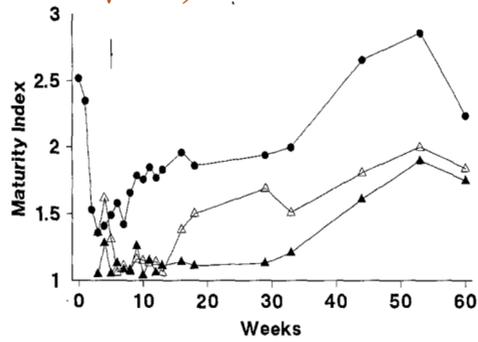
圖(十四) 土壤理想與實際氮增加量(作者繪製)

圖(十五) 園藝靚土線蟲架構層占比變化(作者繪製)

# 研究討論

## 一、新模式建立與實際應用(圖十六、十七)

此模式可藉觀察食物網結構與線蟲功能群變化，評估土壤狀況，但在過高 ( $MI < 2$ ) 或過低 ( $MI > 3$ ) 的擾動下可能影響模式分析。



圖(十六) 成熟指數分析結果 (取自 Ettema & Bongers, 1990)

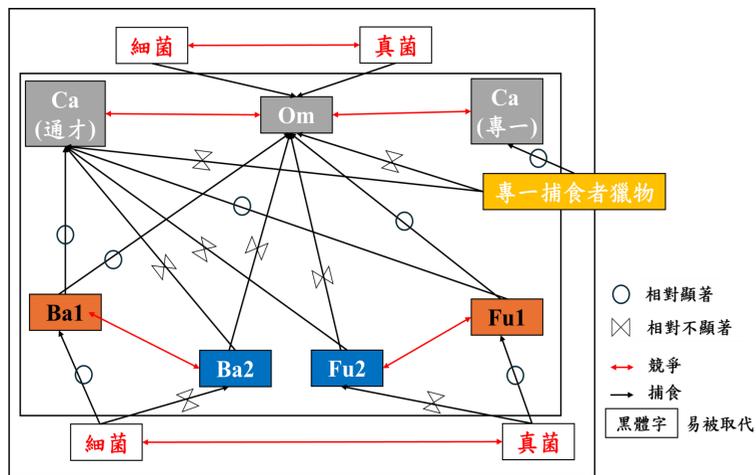
圖(十七) 個樣區與土壤線蟲架構層占比比較(作者繪製)

表(三) 前人研究使用模式與本研究建立模式比較

參考文獻	模式	優點	缺點
本研究	土壤線蟲架構層	可得知樣區生態系服務指標變化與土壤食物網組成改變	可能受環境擾動影響分析
Ettema & Bongers, 1990	成熟指數(MI)	結果(環境擾動)直關且發展悠久	對擾動定義不明確且無法觀察土壤食物網組成變化

## 二、線蟲各架構層間交互作用探討

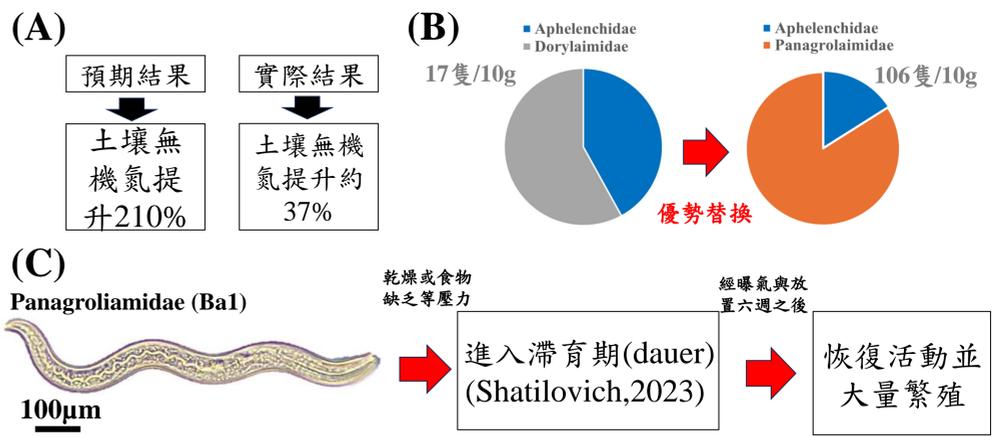
顯示線蟲食物網中有豐富而密切的交互作用關係，在短期的採樣結果中也具相同趨勢(圖十八)。



圖(十八) 土壤線蟲食物網交互關係 (作者繪製)

## 三、線蟲土壤養分調節探討(圖十九)

線蟲的氮氮化能力有相對顯著的發展，推測原因為線蟲的滯育期、大量繁殖和優勢取代。



圖(十九) 線蟲土壤調節成效探討(作者繪製與拍攝)

(A) 預期結果與實際結果差異。(B) 第0週與第6週線蟲物種優勢變化。(C) 線蟲優勢取代原因推測

表(四) 本研究與當代土壤調節方式比較

利用	施用時間	優點	缺點	參考文獻
微生物(如硝化菌)	20~30 天一次	汙染低	需要翻土施用(為耗氧菌)	(楊, 2009)
無機(化學)肥	視植物生長期約 2~3 個月一次	作用快速	不當施用易造成土壤貧瘠或優養化, 且肥效短	
線蟲	理想狀況下, 單次進行食物網調節即可達永久效果	針對土壤食物網進行改善, 實踐土地轉型	尚未被實際運用且食物網可控能力尚需評估	本研究

# 研究結論

建立以觀察土壤線蟲功能群組成、交互作用與群集大小，分析土壤食物網組成的模式，但過高的成熟指數 ( $MI > 3$ ) 下可能影響模式分析。初步觀察線蟲架構層間的交互作用，顯示線蟲食物網內即有著豐富的共存機制與交互作用關係，並且在短時間 (4週) 內即可觀察到相同趨勢。最後觀察了線蟲土壤食物網組成與土壤養分調節關聯性，發現線蟲在族群發展的特定時段氮化較多的氮，並使100g的土壤無機氮在6週內提升約37%，但僅達預測結果的約18%，推測線蟲可能因族群優勢的交替。

# 未來展望

- 一、在更長期的實驗中探討並實踐以線蟲監測並調節土壤食物網的方式。
- 二、深入的研究與探討各線蟲功能群在土壤中的交互作用關係與對線蟲功能上的分類。
- 三、建立標準化流程，實際協助農業與生態保育方面，預測與大範圍投放線蟲提升土地生產力或土壤生態維持。
- 四、結合特定物種繁殖策略差異，並實際接種線蟲至土壤進行調節。

# 參考資料

1. 楊 (2009). 興大農業用肥觀念與技術專輯 第 69 期
2. Bongers, T., & Bongers, M. (1998). *Applied soil ecology*, 10(3), 239-251.
3. Du Preez, et al. (2022). *Soil Biology and Biochemistry*, 169, 108640.
4. Ettema, C. H., et al. (1993). *Biology and Fertility of Soils*, 16, 79-85.
5. Ferris, H. et al. (1998). *Plant and Soil*, 203, 159-171.
6. Ferris, H., et al. (2001). *Applied soil ecology*, 18(1), 13-29.
7. Ferris H. (2010). *Journal of nematology*, 42(1), 63-67.
8. Lavelle, P., & Spain, A. (2002). *Soil ecology*. Springer Science & Business Media.
9. Schmidt, J. H., et al. (2020). *Sustainability*, 12(17), 6730.
10. Shatilovich, A., et al. (2023). *PLoS genetics*, 19(7), e1010798.