

DOI: 10.20103/j.stxb.202311022376

陈凌云, 龙永丽, 申啸天, 刘继亮, 金丽琼, 杜海峰. 祁连山青海云杉林土壤纤毛虫的分布及演替——两种计数法的比较研究. 生态学报, 2025, 45(5): 2084-2093.

Chen L Y, Long Y L, Shen X T, Liu J L, Jin L Q, Du H F. Study on soil ciliate reserves and quantitative methods in *Picea crassipes* Forest in Qilian Mountains. Acta Ecologica Sinica, 2025, 45(5): 2084-2093.

祁连山青海云杉林土壤纤毛虫的分布及演替 ——两种计数法的比较研究

陈凌云¹, 龙永丽¹, 申啸天¹, 刘继亮², 金丽琼³, 杜海峰^{4,*}

1 西北师范大学生命科学学院 微生物学研究室, 兰州 730070

2 中国科学院西北生态环境资源研究院, 临泽内陆河流域研究站, 兰州 730000

3 甘肃省分析测试中心, 兰州 730000

4 甘肃省陇南生态环境监测中心, 陇南 746000

摘要: 为了解祁连山青海云杉林土壤纤毛虫的蕴藏量以及不同土壤团聚体和土壤分层中纤毛虫原生动物的种类及丰度变化, 利用“非淹没培养皿法”、活体观察法对土样进行过筛处理: 原位土样(未过筛)、颗粒土样(直径>0.25 mm)、10 目土样(0.15 mm<直径<0.25 mm)和 100 目土样(直径<0.15 mm)。同时, 借鉴“0.1 mL 计数框-显微镜计数法”并提出了“完全培养计数法”研究方案, 旨在分析和比较完全培养计数法与 Foissner 计数法的优缺点, 探讨纤毛虫在不同土壤团聚体和不同土壤分层中的分布和演替规律。结果表明: (1) Foissner 计数法简易方便, 不受实验时间限制, 但存在系统误差且变异性较强。完全培养计数法尽可能多的“激发”包裹萌发, 可最大程度计算土壤中纤毛虫的蕴藏量, 同时又可以追踪整个培养过程中的群落变化规律。(2) 不同土层中, 10 目和 100 目土样纤毛虫丰度变化规律相似, 上层土样均逐渐减小, 下层土样先减小, 21 天时增加, 30 天时减小。不同土壤团聚体中 100 目土样纤毛虫种类和丰度均最低。(3) 上层(0—10 cm)土壤纤毛虫丰度和种类数均高于下层(10—20 cm)土壤纤毛虫的种类和丰度, 原位土样、颗粒土样、10 目土样和 100 目土样分别高 5.2 倍、3.5 倍、1.9 倍和 4.6 倍。(4) 纤毛虫群落优势种变化从低等到高等, 又过渡到低等类群。完全培养计数法在追踪群落演替过程的同时还可得出物种蕴藏量的“理论丰度峰值”, 为今后开展纤毛虫原生动物生物多样性、群落生态学的研究提供参考, 同时开展祁连山青海云杉林土壤纤毛虫的研究填补和完善了该地区土壤纤毛虫领域的空白点, 为今后研究祁连山青海云杉林和森林土壤动物的保护提供理论依据。

关键词: 祁连山; 青海云杉; 土壤纤毛虫; 定量研究; 群落演替

Study on soil ciliate reserves and quantitative methods in *Picea crassipes* Forest in Qilian Mountains

CHEN Lingyun¹, LONG Yongli¹, SHEN Xiaotian¹, LIU Jiliang², JIN Liqiong³, DU Haifeng^{4,*}

1 Laboratory of Microbiology, College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China

2 Linze Inland River Basin Research Station, Northwest Institute of Eco-Environment and Resources, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China

3 Gansu Analysis and Test Center, Lanzhou 730000, China

4 Longnan Ecological and Environmental Monitoring Centre of Gansu Province, Longnan 746000, China

Abstract: To understand the abundance of soil ciliates and the species and abundance of ciliate protozoans in different soil aggregates and stratification in *Picea crassipes* Forest in Qilian Mountains, the non-submerged petri dish method and in vivo observation method were used to screen the soil samples. In situ (unscreened), granular (diameter >0.25 mm), 10 mesh

基金项目: 国家自然科学基金项目(42067012, 42267044); 陇南市科技计划项目(2023-S·QKJ-38)

收稿日期: 2023-11-02; **网络出版日期:** 2024-11-28

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ecofeng@163.com

($0.15\text{ mm} < \text{diameter} < 0.25\text{ mm}$), and 100 mesh ($\text{diameter} < 0.15\text{ mm}$) soil samples were collected. At the same time, referring to the “0.1mL frame-microscope counting method”, the “complete culture counting method” was proposed to analyze and compare the advantages and disadvantages of complete culture counting method and Foissner counting method, and to explore the distribution and succession of ciliates in different soil aggregates and different soil stratification. The results show that: (1) Foissner counting method is simple and convenient, not limited by the experimental time, but exhibits systematic errors and strong variability. The complete culture counting method can stimulate the germination of as many cysts as possible, thereby maximizing the calculation of ciliate abundance in soil and tracking community changes throughout the entire culture process. (2) In different soil layers, the abundance of ciliates in soil samples of 10 and 100 orders was similar. The upper soil samples gradually decreased, and the lower soil samples first decreased, increased at 21d, and decreased at 30d. The species and abundance of soil ciliates in 100 orders were the lowest in different soil aggregates. (3) The abundance and species number of ciliates in the upper layer (0—10 cm) were higher than those in the lower layer (10—20 cm). In situ soil samples, granular soil samples, 10—order soil samples and 100—order soil samples were 5.2, 3.5, 1.9 and 4.6 times higher, respectively. Electrical conductivity (EC) and organic matter (SOM) were the dominant factors of soil ciliate abundance. (4) The dominant species of ciliate community changed from low to high, and then to lower groups. While tracking the process of community succession, the full culture counting method can also obtain the “theoretical peak abundance” of species reserves, which provides a reference for future studies on the biodiversity of ciliate protozoa and community ecology. Meanwhile, this study on soil ciliates in the *Picea crassipes* Forest in the Qilian Mountains has bridged and enhanced the existing knowledge gaps in the field of soil ciliate research. This study provided theoretical basis for the protection of *Picea crassipes* Forest and forest soil fauna in Qilian Mountains.

Key Words: Qilian Mountains; *Picea crassipes* Forest; soil ciliate; quantitative research; community succession

森林生态系统是以乔木为主体,主要由灌木、草被、草木枯落物、林中的土壤、水面、动物、各种微生物及其非生物环境综合组成,是维持陆地良好生态环境的关键因素之一^[1]。森林土壤动物是森林土壤生态系统中的重要组成部分,在森林植被生长、微生物数量及活性等方面起着不可替代的作用^[2]。土壤动物众多成员中,土壤原生动物在数量上占绝对优势^[3],土壤原生动物作为土壤动物最重要的类群之一,具有体型微小、结构复杂、物种和功能多样性高等特征,不仅对土壤中物质循环和能量流动起着重要的作用,而且还能直接或间接地促进植物生长、控制土壤害虫^[4]。土壤纤毛虫生活在土壤颗粒水膜、土壤孔隙水以及覆盖在土壤表面的凋落物水膜生境中,是土壤原生动物中最常见且占优势的三大类群之一^[5]。土壤纤毛虫多样性特征和群落结构的变化等可作为土壤环境质量变化的重要指标之一,是一种良好的环境指示生物^[6-8]。

我国有关土壤纤毛虫研究起始于 20 世纪 80 年代中后期^[9],土壤纤毛虫的定量方法有直接计数法、密度梯度离心-定量蛋白银法(Ludox-QPS)、离心技术和定量 PCR 法等^[10]。目前常用的方法是培养计数法(又称三级十倍计数法,MPN 法)和直接计数法^[11]。冯伟松等利用直接计数法研究南极菲尔德斯半岛地区土壤原生动物丰度,发现其丰度与含水量呈显著正相关^[12];Adl 等采用直接计数法分析了不同季节、不同样点土壤原生动物数量动态和群落结构变化^[13];曹志平等利用培养计数法研究不同土壤培肥方式对原生动物丰度的影响,发现化肥对原生动物丰度表现出明显的抑制作用,而有机肥对原生动力丰度表现出明显的促进作用^[14];Darby 等利用培养计数法通过调控温度和含水量,研究气候变暖对原生动物群落变化趋势及机制^[15]。宁应之等对珞珈山森林土壤原生动物的定量方法进行了探讨,比较了直接计数法和培养计数法的优缺点,两种定量方法原生动物丰度周年变化趋势一致,但培养计数结果比直接计数结果大 100—1000 倍^[16]。综上,直接计数法优点是技术简便;不足之处是对于活动虫体少的土壤原生动物多样性研究缺乏可信性,且无法获知其潜在的生产力。培养计数法优点是该法不受时间和空间限制,无需在短时间内完成分析;不足之处在于该法要求原生动物随机均匀分布于土壤之中,且生长不受外界条件的阻碍,操作过程包裹不能被破坏。

青海云杉是祁连山森林生态系统的建群种,主要分布于中国祁连山区海拔 2400—3300 m 的阴坡、半阴坡和半阳坡^[17]。目前祁连山地区关于土壤纤毛虫的研究还处于空白状态,因此,本文通过对 Foissner 提出的纤毛虫复检日期^[18]以及 Foissner 计数法^[19],对祁连山青海云杉林土壤纤毛虫进行丰度计算,并对两种定量方法进行比较,分析两种方法的优缺点,为今后土壤纤毛虫的定量研究提供选择依据。同时,该研究以期填补祁连山土壤纤毛虫研究的空白点,为该地区土壤动物的保护和生态恢复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区介绍

青海云杉(*Picea crassifolia*)林为天然次生林且是纯林(图 1),呈斑块状或条状分布在海拔 2400—3300 m 的阴坡和半阴坡地段,土壤类型依次为高山寒漠土、亚高山灌丛草甸土、山地灰褐土、山地栗钙土、山地灰钙土^[20]。研究区位于祁连山西水保护站大野口流域(38°33′14″N、100°17′07″E),流域面积 68.06 km²,海拔 2600—4600 m,属高寒干旱半干旱气候,年均气温为 5.4 °C,年均降水量为 400 mm,年均蒸发量为 1488 mm^[21]。采样区域位于海拔 2700 m 的青海云杉林,其中青海云杉郁闭度为 0.5,优势草本植物是珠芽蓼,盖度为 78.75%。

1.2 样品采集方法

土壤样品采集于 2021 年 7 月 12 日,间隔 10 m 使用随机采样法选择 3 个样点作为平行样,在每个样点用采集铲剖开垂直剖面(图 1),分别采集上层(0—10 cm)和下层(10—20 cm)的土壤样品 5 kg 装入自封袋,共计 6 份样品带回实验室处理。在室内将土壤样品平铺于牛皮纸上,上面盖一层牛皮纸于阴凉处自然风干一个月后装入牛皮纸袋并做好标记备用。采样时同步用温度计直接测定土壤温度。



图 1 采样照片

Fig.1 Sample photograph

1.3 样品实验方法

1.3.1 样品处理及理化指标测定

将风干后的土壤一部分(25 g)直接置于 9 cm 培养皿中(原位土),使用“非淹没培养皿”法进行培养^[22],土壤团聚体包含大小不同的孔隙和土壤颗粒,将另一部分土壤样品分别过 10 目(0.25 mm)及 100 目(0.15 mm)筛网,获得颗粒土样(直径>0.25 mm 团聚体)、10 目土样(0.15 mm 团聚体<直径<0.25 mm 团聚体)、100 目土样(直径<0.15 mm 团聚体),分别置于 9 cm 培养皿(各 25 g)中培养。

土壤含水量采用烘干称重法^[23]。土壤含水量=(烘干前铝盒及土样质量-烘干后铝盒及土样质量)/(烘干前铝盒及土样质量-烘干空铝盒质量)×100%;电导率采用土壤湿度酸度计测定(土水比为 1:1.5);土壤孔隙度采用环刀法^[24];土壤有机质采用重铬酸钾容量法^[25]。

1.3.2 Foissner 计数法

使用“非淹没培养皿”法培养到 10 天(计数最大日)时^[19],45°倾斜静置培养皿约 5 min,从培养皿中吸取土壤悬浮液约 1 mL,用 0.1 mL 升汞固定,然后将固定后的液体摇晃吹打混匀后用移液枪取 0.1 mL 于浮游生物计数框上,计数方法参照国标《水质、浮游植物的测定、0.1 mL 计数框—显微镜计数法》(HJ 1216—2021),为达到计数精确性,选择全片计数法,即:在 40×物镜下,逐一观察浮游生物计数框中全部 100 个小方格,分类计数每个小方格内所有纤毛虫原生动动物,并记录分类计数结果,重复 5 次。

1.3.3 完全培养计数法

根据 Foissner 提出的土壤纤毛虫培养复检时间^[18],参考 Foissner 计数法^[19],分别在第 2、7、14、21、30、35 天对培养出的纤毛虫进行计数。计数时将土壤悬浮液摇晃吹打混匀,然后取 5 mL 液体加入 0.5 mL 升汞固定液(重复三次),将固定后的土壤悬浮液用移液枪取 0.1 mL 于浮游生物计数框(同 1.3.2,参照国标《水质、浮游植物的测定、0.1 mL 计数框—显微镜计数法》(HJ 1216—2021))上,全片计数,重复三次,共计计数九次。

1.4 数据处理方法

定义出现丰度最大的目为优势目。数据简单处理用 Excel 2019,使用 Origin 2023b 做丰度、种类的箱型图、折线图以及纤毛虫群落百分比堆积图,SPSS 25 进行皮尔逊(Pearson)分析。

2 结果与分析

2.1 不同定量方法土壤纤毛虫多样性和丰度变化

由图 2 可知,根据 Foissner 计数法,上层原位土纤毛虫总丰度为 1014.0 个/mL,变异系数为 6.26%。纤毛虫隶属于 7 目(8 种),分别为异毛目、腹毛目、肾形目、弹跳目等;下层原位土纤毛虫总丰度为 664 个/mL,变异系数为 18.63%。纤毛虫隶属于 6 目(6 种),分别为异毛目、弹跳目、肾形目、排毛目等。根据完全培养计数法,上层原位土中纤毛虫总丰度为 17663.33 个/mL,变异系数为 1.04%。纤毛虫隶属于 7 目(35 种),分别为肾形目、腹毛目、钩刺目、异毛目等;下层原位土纤毛虫总丰度为 3228.9 个/mL,变异系数为 1.46%。纤毛虫隶属于 6 目(23 种),分别为肾形目、异毛目、腹毛目、盾纤目等。总体来看,完全培养计数法纤毛虫丰度计算结果明显大于 Foissner 计数法,完全培养计数法是 Foissner 计数法的 18 倍(上层)和 5 倍(下层);两种方法上层种类均隶属于 7 目,下层均为 6 目。

2.2 不同土壤团聚体纤毛虫多样性和丰度变化

根据完全培养计数法,对总丰度作图(图 3)。上层颗粒土样纤毛虫总丰度为 11174.0 个/mL,纤毛虫有 9 目(27 种);上层 10 目土样纤毛虫总丰度为 10464.7 个/mL,纤毛虫有 5 目(21 种);上层 100 目土样纤毛虫总丰度为 3374.7 个/mL,纤毛虫有 8 目(23 种);下层颗粒土样纤毛虫总丰度为 3113.0 个/mL,纤毛虫有 6 目(18 种);下层 10 目土样纤毛虫总丰度为 5580.2 个/mL,纤毛虫有 7 目(21 种);下层 100 目纤毛虫总丰度为 729.3 个/mL,纤毛虫有 4 目(10 种)。上层中颗粒土样纤毛虫丰度、种类数均最高,100 目土样最低;而下层则是

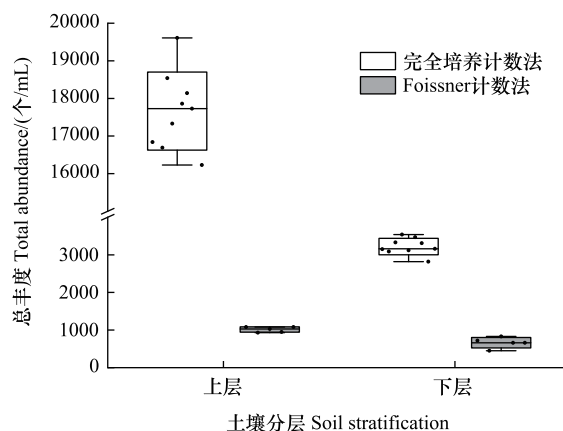


图 2 不同定量方法纤毛虫丰度箱型图

Fig.2 Ciliate abundance box patterns with different quantitative methods

10 目土样纤毛虫丰度和种类数均最高,100 目土样最低。

对 35 天 6 次计数结果分别分析(图 4),均在第 2 天时纤毛虫的丰度达到最高,除上层 100 目土样,其他样点均在 30 天时纤毛虫的丰度最低。上层 10 目和 100 目的土壤纤毛虫丰度变化规律相同,均是逐渐降低。下层 10 目和 100 目的土样纤毛虫丰度变化规律也相同,先是逐渐降低,在 21 天时增高,30 天时降低,然后 35 天又增加。颗粒土样纤毛虫丰度变化规律则与它们都不相同,上层颗粒土样在第 7 天的时候减小,在 14 天增大,然后第 21、30 天减小,在 35 天时则又增大;下层颗粒土样纤毛虫丰度变化规律则是先逐渐降低,在 35 天时纤毛虫丰度增大。总体来说,每一层除颗粒土样变化规律不同,两个土层的 10 目和 100 目土样变化规律一致。对于土壤纤毛虫种类,在第 2 天时种类均相同(腹毛目和肾形目);在第 7 天时,除上层的颗粒土样(钩刺目、腹毛目和肾形目)和下层 100 目土样(腹毛目)外,其余样点种类与第 2 天相同,而在第 14、21、30 和 35 天时纤毛虫种类各不相同。上层不同团聚体土样均在 21 天时纤毛虫种类数最高,在第 2 天纤毛虫种类数最低。下层的颗粒土样和 100 目土样在 31 天时纤毛虫种类数最高,在第 30 天纤毛虫种类数最低,10 目则是在 21 天时种类数最高,在第 2、7、30 天时纤毛虫种类数最低。

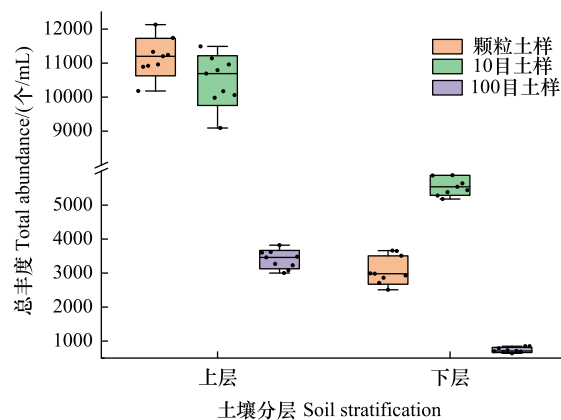


图 3 不同土壤团聚体纤毛虫丰度箱型图

Fig.3 Box pattern of abundance of ciliates in different soil aggregates

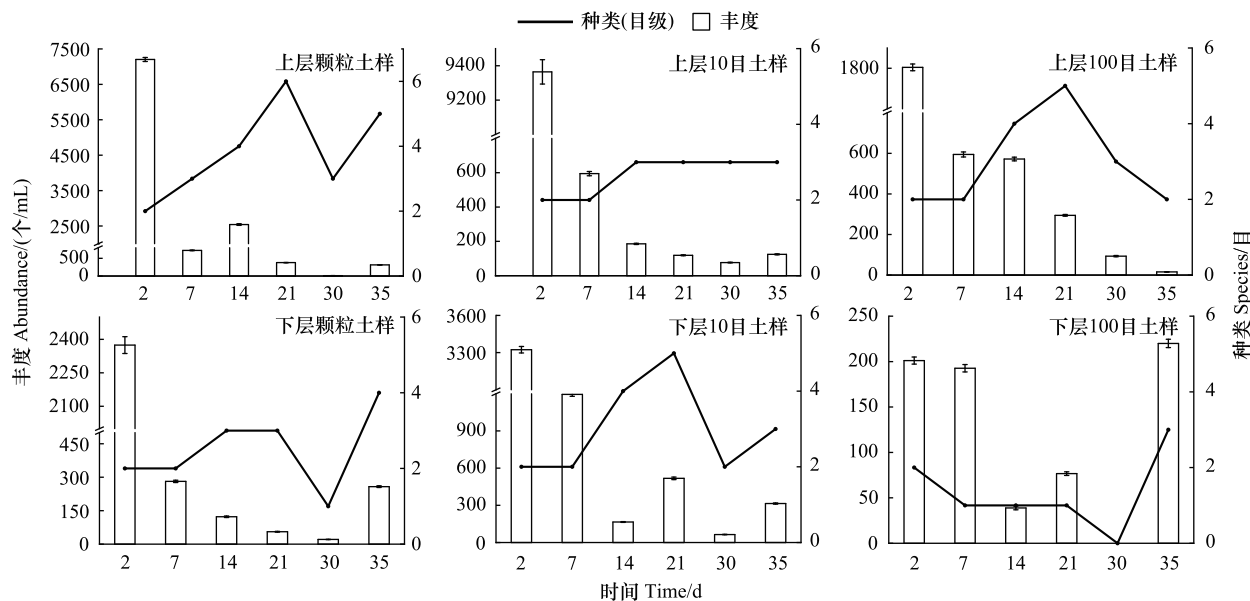


图 4 不同土壤团聚体纤毛虫丰度柱状图、种类(目级)折线图

Fig.4 Histogram of abundance of ciliates in different soil aggregates and line chart of species (order level)

2.3 不同土壤分层土壤纤毛虫多样性和丰度变化

根据完全培养计数法,上层原位土纤毛虫隶属于 7 目(35 种),总丰度为 16852.4 个/mL;下层原位土纤毛虫隶属于 6 目(23 种),总丰度为 3228.9 个/mL。对 35 天 6 次计数结果做图(图 5),上层原位土第 2 天时纤毛虫丰度最高,21 天时最低,种类数则在第 2 天时最小(4 种),在 14 天是最大(9 种)。下层原位土在第 14 天计数时纤毛虫丰度最高,在 30 天时最低,种类数在第 30 天计数时最高 5 目(5 种),在 2、7、14 天计数时种类数

最低,只有 2 目(3 种)。总之,随着计数的天数增加,上层和下层土壤纤毛虫丰度变化规律相似(图 5),均在第 2 天时达到纤毛虫丰度最大值。对于纤毛虫种类(图 5),上层纤毛虫在 14 天是达到最大值 6 目(9 种),第 2 天时为最小值 2 目(4 种);下层纤毛虫在 30 天是达到最大值 5 目(5 种),第 2、7、14 天时为最小值 2 目(3 种)。上层纤毛虫种类和丰度均大于下层土样。

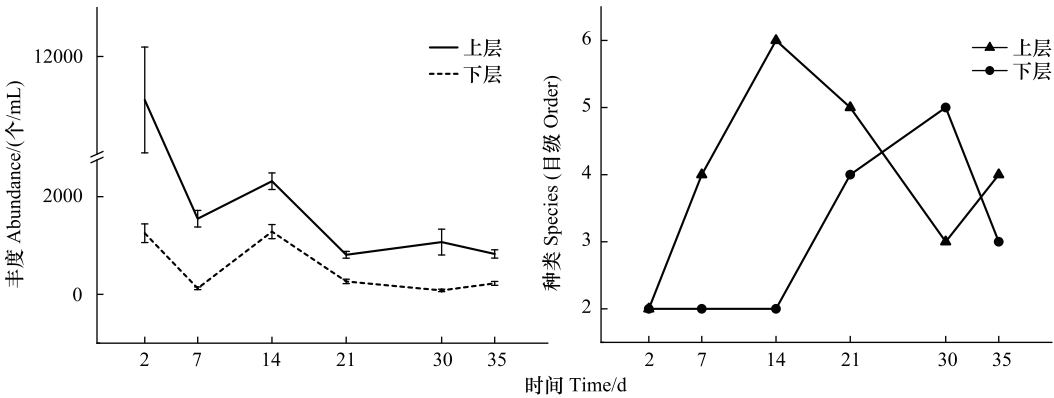


图 5 不同土层完全培养计数法土壤纤毛虫丰度、种类折线图

Fig.5 Line chart of soil ciliate abundance,species by complete culture counting method in different soil layers

不同土层间土壤理化指标如表 1 所示,对纤毛虫物种丰度和环境因子进行皮尔逊分析(表 1),土壤纤毛虫物种丰度和土壤有机质、电导率呈极显著正相关($P<0.01$; $r=0.96$),与土壤含水量呈显著正相关($P<0.05$; $r=0.83$)。推测影响土壤纤毛虫丰度的主要理化因子是土壤有机质和电导率,其次是土壤含水量

表 1 祁连山青海云杉林不同土层土壤理化指标及与物种丰度的皮尔逊相关分析

Table 1 Pearson correlation analysis of soil physicochemical indexes and species abundance in different soil layers of *Picea crassipes* Forest in Qilian Mountains

土壤理化 Soil physicochemical	土层 Soil layer (含量 Content)		与物种丰度的相关性 Correlation with species abundance	
	上层 Superstratum	下层 Substratum	相关系数 Coefficient of association(<i>r</i>)	<i>P</i>
ST/℃	13.03±1.59	11.13±1.18	0.58	0.226
WC/%	29.58±2.02	20.15±3.59	0.83 *	0.039
OM/(g/kg)	116.80±1.95	103.27±1.93	0.96 **	0.003
EC/(mS/m)	22.60±0.36	20.70±0.01	0.96 **	0.003
TP/%	78.02±10.12	76.03±6.70	0.07	0.896

* 在 0.05 级别(双尾),相关性显著; ** 在 0.01 级别(双尾),相关性显著;ST:温度 Soil temperature; WC:含水量 Water content; OM:有机质 Organic matter; EC:电导率 Specific conductance; TP:孔隙度 Total porosity

2.4 土壤纤毛虫的群落演替过程

对不同土层不同分目的土壤纤毛虫做物种分布柱状百分比图(图 6),不同土壤团聚体土壤纤毛虫优势种不同。上层原位土第 2、7 天的优势种为肾形目,14 天的优势种为腹毛目,21 天优势种为异毛目,30 天的优势种又变为肾形目,35 天的优势种则为盾纤目;上层颗粒土样第 2、7 天的优势种为肾形目,14 天的优势种为盾纤目,而在 21 天时优势种为异毛目,30 天的优势种为肾形目,35 天的优势种则为盾纤目;上层 10 目土中第 2 天的优势种为肾形目,7 天的优势种为腹毛目,14、21 天的优势种为异毛目,30、35 天的优势种又变为肾形目;上层 100 目土中 2 天的优势种为肾形目,7 天的优势种为腹毛目,14 天的优势种为吸管虫目,而在 21 天时优势种为异毛目,30、35 天的优势种又变为异毛目。

下层物种所占百分比如图 6 所示,下层原位土 2 天的优势种为肾形目,7 天的优势种为腹毛目,14 天的优

势种为吸管虫目,而在 21、30 天时优势种又为异毛目,35 天的优势种则为盾纤目;下层颗粒土样第 2 天的优势种为肾形目,7、14 天的优势种为腹毛目,而在 21、30 天时优势种又为肾形目,35 天的优势种则为盾纤目;下层 10 目土中纤毛虫 2、7 天的优势种为肾形目,14 天的优势种为腹毛目,而在 21、30 天时优势种为异毛目,35 天的优势种则为盾纤目;下层 100 目土中纤毛虫 2 天的优势种为肾形目,7、14 天的优势种为腹毛目,21 天的优势种为异毛目,而在 30 天时无纤毛虫存在,35 天的优势种则为异毛目。

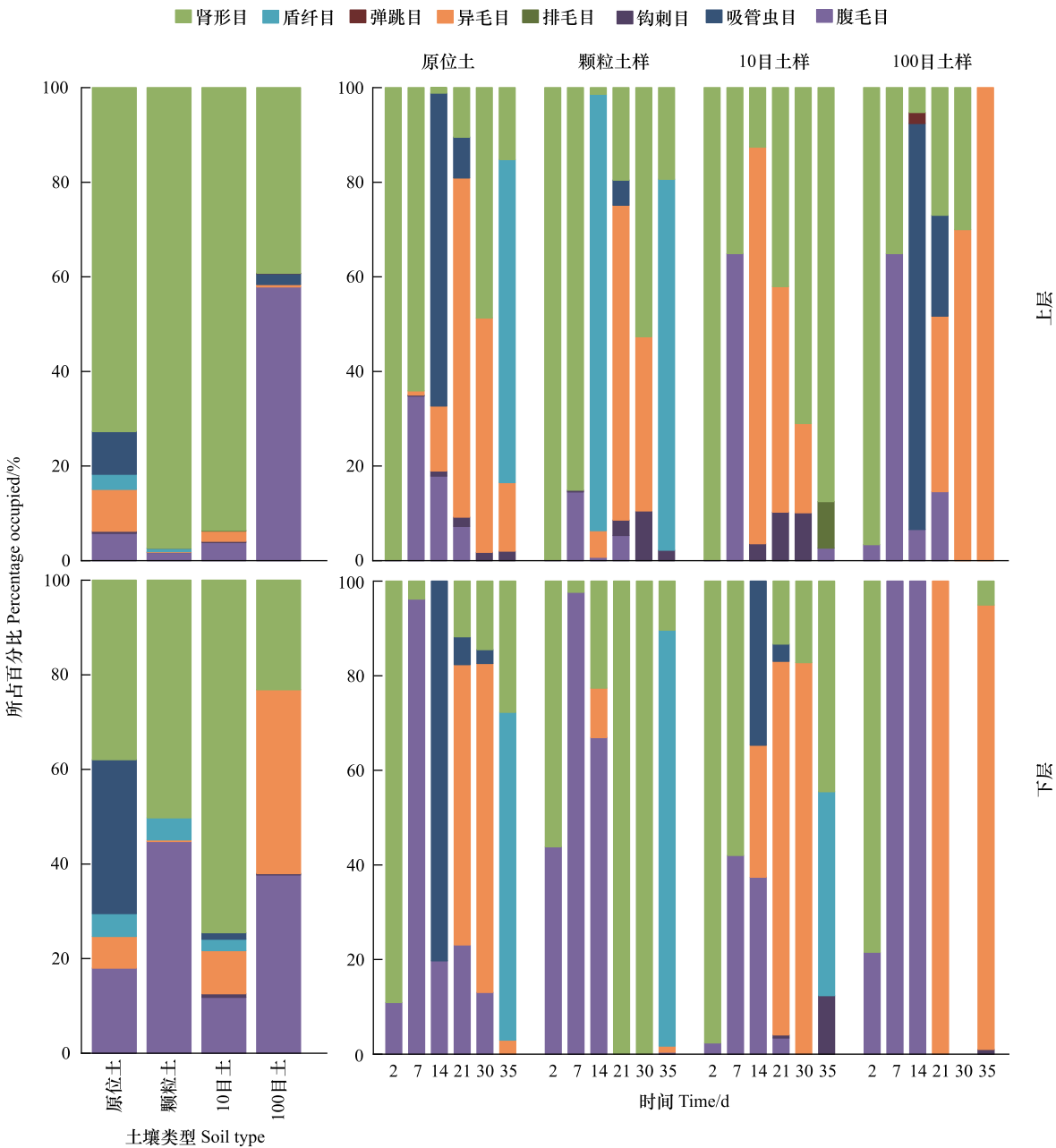


图 6 不同土样纤毛虫物种分布柱状百分比图

Fig.6 Histogram of percentage distribution of different soil ciliate species

3 讨论

3.1 不同定量方法对土壤纤毛虫多样性和丰度的影响

根据计数结果可知,Foissner 计数法的结果明显小于完全培养计数法(图 2),上层土壤中,完全培养计数

法纤毛虫丰度是 Foissner 计数法的 18 倍,下层土壤中则是 5 倍。两种计数方法土壤纤毛虫种类在目级水平相同,种级水平相差较大(上层 4.4 倍,下层 3.8 倍)。表明土壤纤毛虫绝大多数以包裹的形式存在于土壤之中,遇见合适的环境时则会萌发,也间接说明目前已知土壤纤毛虫的数量只是一个预估数字,还有许多以包裹形体存在的未被计算,这一现象在宁应之等的研究中已经被证实^[16]。Foissner 计数法可以简单的估算出某一土壤中的纤毛虫种类,并能估算纤毛虫丰度^[19],而完全培养计数法得到的土壤纤毛虫丰度及种类数比 Foissner 计数法更多,一方面是由于 Foissner 计数法只计数了培养过程中纤毛虫丰度可能最高的一天(第 10 天计数),而完全培养计数法为 6 天计数的总丰度;另一方面据 Foissner 推测,调查样本中物种的真实数量很可能比实验室环境中培养出来的要高得多^[26]。而“非淹培养皿法”虽然不能使所有土壤纤毛虫物种萌发^[27],但经过多次土壤水分扰动,尽量多的使土壤中的包裹全部萌发,且到目前为止,没有更好的培养方法所代替^[28]。Foissner 计数法优点是操作简单方便,不受时间的限制,且能估算纤毛虫的种类数;缺点是存在系统误差,变异性较强。完全培养计数法的优点是操作简单,长期培养尽可能多的使土壤中纤毛虫包裹萌发,且在培养多次检查的过程中,不断加水改变了土壤的理化性质,“刺激”了纤毛虫生存的环境,促使包裹萌发,可较好的估算出土壤中纤毛虫的蕴藏量,且纤毛虫种级水平增多;缺点是该方法具有周期性,不能中断。

3.2 不同团聚体对土壤纤毛虫多样性和丰度的影响

土壤微生物群落结构受 0.05—5.0 mm 团聚体含量的显著影响^[29],对于上层来说,颗粒土样中纤毛虫丰度和种类数均最高,100 目土样最低;下层土样,10 目中纤毛虫丰度和种类数均最高,100 目土样最低。总之,100 目土壤纤毛虫的丰度和种类数均不高。土壤纤毛虫是生活在土壤颗粒水膜中、土壤孔隙水中及覆盖在土壤表面的凋落物水膜中最复杂、最高等的真核生物^[30]。土壤孔隙是容纳水分和空气的空间,也是植物根系伸展和土壤动物、及微生物活动的地方,土壤中孔隙的数量及质量,影响到土壤、水、气、热等诸因素^[31],荣慧等研究表明不同大小孔径筛网改变团聚体的大小分布,团聚体大小分布对土壤孔隙连通性有极显著的影响^[32]。因此 100 目土壤中纤毛虫的物种数和丰度均最小,推测原因可能有两个,一是 100 目土壤孔隙小而不适于大多数土壤纤毛虫的生存;二是土壤中纤毛虫包裹大多数附着于土壤团聚体表面,而在土壤中直接存在的较少,因此 100 目土壤中本来纤毛虫包裹的种类数和丰度较少,培养之后的纤毛虫也少于其他目土壤。

土壤团聚体是土壤养分发生转化的重要场所,不同粒径土壤团聚体组成比直接影响土壤养分的供应效率^[33]。不同目土样均在 2 天时土壤丰度最大,这一天的优势种均为前庭亚纲,不同目之间无差异性。上层与下层,10 目和 100 目土样的丰度变化规律相似,颗粒土样与其不同,间接说明土壤纤毛虫包裹主要附着于土壤团聚体表面,这与 Erktan 等的研究一致^[34]。不同大小分布的团聚体是土壤团聚体在外部和内部因素影响下发生团聚和破碎过程形成的,团聚体大小分布的变化会改变土壤孔隙结构,影响各种土壤物理、化学和生物学过程^[31],因而过 10 目和 100 目筛的土样在纤毛虫的生长过程中,土壤理化性质发生了改变,而土壤自身的理化指标不变,因此他们虽然在数量和种类上不同,但是变化趋势一致。土壤团聚体的变化影响土壤动物和土壤微生物活动^[35],上层颗粒土样属于大团聚体(直径>0.25 mm)^[36],所以上层颗粒土样纤毛虫丰度、种类和变化趋势与 10 目土样和 100 目土样均不同。

3.3 不同土壤分层对土壤纤毛虫多样性和丰度的影响

土壤分层对研究一个区域植被特征、生态结构等特征有重要作用^[37]。上层土壤纤毛虫丰度和种类数均高于下层土壤纤毛虫的丰度和种类数,根据皮尔逊分析结果(表 1),土壤纤毛虫的丰度主要和电导率、有机质呈极显著正相关,与含水量呈显著正相关。研究表明,水是原生动物最重要的生态因子^[30]。纤毛虫的生长发育离不开水,邹涛等研究发现,纤毛虫丰度与土温之间无显著相关性,与含水量呈显著正相关^[38]。在本研究中上层土壤含水量、电导率高于 10—20 cm 层(表 1),皮尔逊相关分析表明,纤毛虫丰度与土壤含水量呈显著正相关,与土壤电导率呈极显著正相关(表 1),所以上层土壤纤毛虫丰度和种类均高于下层。森林土壤有机质主要来源于植物凋落物,经由微生物分解和复杂的物理化学转化过程,稳定存在于土壤中^[39],上层凋落物量明显高于下层,皮尔逊分析表明土壤有机质与土壤纤毛虫丰度呈极显著正相关,有机质的影响是纤毛虫群

落稳定性的主要因素,这也是上层土壤纤毛虫丰度和种类均高于下层的主要原因。这与宁应之等研究结果一致,土壤有机质是影响纤毛虫群落稳定性的主要因素,含水量的影响较为明显^[40]。也进一步证实纤毛虫群落可以反映其生长和繁殖的环境的状况,故可利用其进行环境效应参数评价、监测和环境状况预报。

3.4 土壤纤毛虫的群落演替过程

在培养的第2天时,每个样点的优势种均为肾形目,而腹毛目则会在7、14天成为优势种,21天的优势种主要是异毛目,30天的优势种主要是肾形目和异毛目,35天优势种则主要是盾纤目。土样培养过程中纤毛虫优势类群变化趋势为“低等-高等-低等”。本实验培养纤毛虫过程中除定时添加水分使培养皿保持“非淹没”状态外并没有额外添加其他营养物,土壤纤毛虫在土壤细菌、真菌与更高级的食物链中扮演中间者身份,具有承上启下的作用^[41]。Jentschke等研究指出,土壤纤毛虫的食性特点是以细菌、真菌为主^[42],陈素芳等研究表明细菌及真菌等分解者可以利用死亡有机物等通过土壤生态系统将这些能量与营养转化为自身生物量,而这些分解者又被小型动物、原生动物及线虫等摄食^[11]。因此实验过程中土壤纤毛虫的食物主要是土壤中的细菌和真菌。细菌和真菌主要以土壤中的各种物质为自己的营养物。随着土壤中营养物的分解与消耗,以及纤毛虫的捕食作用,细菌和真菌的可利用物质逐渐减少,它们的生长受到抑制。Ekelund研究表明土壤纤毛虫可以显著影响土壤微生物,反过来土壤微生物也显著影响土壤纤毛虫^[43],当细菌真菌的生长受到抑制时,以细菌和真菌为食的纤毛虫也逐渐减少,因此21天后纤毛虫群落优势种开始逐步转化为低等类群。同样的,群落的主要种类丰度也呈逐渐下降的趋势。

4 结论

(1) Foissner 计数法简易方便,不受时间限制,而完全培养计数法尽可能多的使土壤中包裹萌发,可更好的计算土壤中纤毛虫的丰度,纤毛虫在种级水平种类大于 Foissner 计数法;

(2) 不同大小土壤团聚体土壤纤毛虫群落不同,微团聚体(<0.15 mm)土壤纤毛虫丰度、种类均最小;

(3) 上层土壤纤毛虫丰度和种类数均高于下层土壤纤毛虫的丰度和种类数;

(4) 纤毛虫培养过程中优势群落变化趋势为“低等-高等-低等”。

参考文献(References):

- [1] 王超,徐润林. 鼎湖山不同森林类型土壤纤毛虫群落比较研究. 土壤,2017,49(4): 725-732.
- [2] 潘菲,张燕林,黄彩凤,周垂帆. 森林土壤动物生态功能研究进展. 世界林业研究,2020,33(2): 37-42.
- [3] 尹文英. 中国土壤动物. 北京: 科学出版社,2000.
- [4] 徐润林,孙逸湘. 大鹏半岛土壤纤毛虫的群落特点. 应用生态学报,2000,11(3): 428-430.
- [5] Foissner W. Soil Protozoa: fundamental problems, ecological significance, ciliates and testaceans, guide to the literature. Progress in Protistology, 1987,2: 69-212.
- [6] Xu Y,Stoeck T,Forster D, Ma Z H,Zhang L Q,Fan X P. Environmental status assessment using biological traits analyses and functional diversity indices of benthic ciliate communities. Marine Pollution Bulletin,2018,131: 646-654.
- [7] 李琦路,宁应之. 土壤生态环境中纤毛虫的研究与应用. 西北师范大学学报: 自然科学版,2008,44(3): 82-87.
- [8] 马正学,申海香,宁应之,王娟,马尚盛. 甘肃小陇山桃花沟森林公园土壤纤毛虫的群落特征. 生态学杂志,2008,27(2): 208-212.
- [9] 崔振东. 长白山北坡针阔混交林土壤原生动物的生态分布. 生态学杂志,1986,27(2): 1-5.
- [10] 赵峰,徐奎栋. 土壤原生动物研究方法. 生态学杂志,2010,29(5): 1028-1034.
- [11] 陈素芳,徐润林. 土壤原生动物的研究进展. 中山大学学报: 自然科学版,2003,42(S1): 187-194.
- [12] 冯伟松,余育和. 南极菲尔德斯半岛地区土壤原生动物生态学研究. 水生生物学报,2000,24(6): 610-615.
- [13] Adl S M,Coleman D C. Dynamics of soil protozoa using a direct count method. Biology and Fertility of Soils,2005,42(2): 168-171.
- [14] 曹志平,陈国康,张凯,吴文良. 不同土壤施肥措施对华北高产农田原生动物丰度的影响. 生态学报,2005,25(11): 2992-2996.
- [15] Darby B J,Housman D C,Zaki A M,Shamout Y,Adl S M,Belnap J,Neher D A. Effects of altered temperature and precipitation on desert protozoa associated with biological soil crusts. The Journal of Eukaryotic Microbiology,2006,53(6): 507-514.
- [16] 宁应之,沈韞芬. 珞珈山森林土壤原生动物生态学研究及土壤原生动物定量方法探讨. 动物学研究,1996,17(3): 225-232.

- [17] 牛赟,成彩霞,赵维俊,敬文茂. 祁连山大野口流域青海云杉林水文特征与生态因子关系研究. 中南林业科技大学学报,2017,37(1): 62-68.
- [18] Foissner W, Berger H. Terrestrial ciliates (Protista, Ciliophora) from Australia and some other parts of the world. Series Monographiae Ciliophorae, 2021, 5.
- [19] Foissner W, Berger H, Xu K D, Zechmeister-Boltenstern S. A huge, undescribed soil ciliate (Protozoa: Ciliophora) diversity in natural forest stands of central Europe. Biodiversity & Conservation, 2005, 14(3): 617-701.
- [20] 刘贤德,赵维俊,张学龙,敬文茂,范莉梅. 祁连山排露沟流域青海云杉林土壤养分和 pH 变化特征. 干旱区研究,2013,30(6): 1013-1020.
- [21] 李效雄,刘贤德,赵维俊. 祁连山大野口流域青海云杉种群结构和空间分布格局. 干旱区地理,2012,35(6): 960-967.
- [22] Foissner W, Agatha S, Berger H. Soil ciliates (Protozoa, Ciliophora) from Namibia (Southwest Africa), with emphasis on two contrasting environments, the Etosha region and the Namib Desert. Austria: Biologiezentrum der Oberösterreichischen Landesmuseums, 2002.
- [23] 李广文,王永洁,罗金明,王治良. 融冻时期扎龙湿地土壤含水量变化研究. 高师理科学刊,2009,29(6): 71-74.
- [24] 袁久坤,周英. 利用取土钻改进环刀法准确测定土壤容重和孔隙度. 中国园艺文摘,2014,30(3): 25-26.
- [25] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2000.
- [26] Foissner W. Biogeography and Dispersal of Microorganisms. Acta Protozoologica, 2006, 45: 111-136.
- [27] Foissner W. Soil ciliates (Protozoa: Ciliophora) from evergreen rain forests of Australia, South America and Costa Rica: diversity and description of new species. Biology and Fertility of Soils, 1997, 25(4): 317-339.
- [28] Foissner W. Estimating the species richness of soil protozoa using the "non-flooded petri dish method". Protocols in protozoology, 1992: B101-102.
- [29] 朱孟涛,刘秀霞,王佳盟,刘志伟,郑聚锋,卞荣军,王艮梅,张旭辉,李恋卿,潘根兴. 生物质炭对水稻土团聚体微生物多样性的影响. 生态学报,2020,40(5): 1505-1516.
- [30] 沈韞芬. 原生动物学. 北京: 科学出版社, 1999.
- [31] Kravchenko A N, Guber A K. Soil pores and their contributions to soil carbon processes. Geoderma, 2017, 287: 31-39.
- [32] 荣慧,房焕,张中彬,蒋瑀霁,赵旭,单军,周虎. 团聚体大小分布对孔隙结构和土壤有机碳矿化的影响. 土壤学报,2022,59(02): 476-485.
- [33] Zou C M, Li Y, Huang W, Zhao G K, Pu G R, Su J E, Coyne M S, Chen Y, Wang L C, Hu X D, Jin Y. Rotation and manure amendment increase soil macro-aggregates and associated carbon and nitrogen stocks in flue-cured tobacco production. Geoderma, 2018, 325: 49-58.
- [34] Erktan A, Or D, Scheu S. The physical structure of soil: Determinant and consequence of trophic interactions. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 148: 107876.
- [35] 刘艳,马茂华,吴胜军,冉义国,王小晓,黄平. 干湿交替下土壤团聚体稳定性研究进展与展望. 土壤,2018,50(5): 853-865.
- [36] Tisdall J M, Oades J M. Organic matter and water-stable aggregates in soils. Journal of Soil Science, 1982, 33(2): 141-163.
- [37] 曾泽群,雷泽勇,魏晓婷. 基于水分变化的沙地樟子松人工林土壤分层特征. 干旱区资源与环境,2017,31(12): 161-165.
- [38] 邹涛,申海香,宁应之,马正学. 甘肃小陇山麻沿林区土壤纤毛虫群落特征. 动物学杂志,2009,44(6): 64-73.
- [39] Lehmann J, Kleber M. The contentious nature of soil organic matter. Nature, 2015, 528(7580): 60-68.
- [40] 宁应之,王芳国,杜海峰,王红军. 甘南高原沼泽湿地秋季纤毛虫物种多样性及其与环境因子的关系. 生态学杂志,2013,32(3): 634-640.
- [41] 陈凌云,孙雪,申啸天,刘继亮,金丽琼,杜海峰. 纤毛虫原生动物对戈壁土壤团聚体变化的生态响应——以河西走廊中部为例. 生态学报,2024,44(18): 8434-8445.
- [42] Jentschke G, Bonkowski M, Godbold D L, Scheu S. Soil protozoa and forest tree growth: non-nutritional effects and interaction with mycorrhizae. Biology and Fertility of Soils, 1995, 20(4): 263-269.
- [43] Ekelund F, Rønn R, Christensen S. Distribution with depth of protozoa, bacteria and fungi in soil profiles from three Danish forest sites. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33(4/5): 475-481.