

DOI: 10.20103/j.stxb.202312272828

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.

Chen L Y, Sun X, Shen X T, Liu J L, Jin L Q, Du H F. Ecological response of ciliate protozoa to soil agglomerates in the desert Gobi region: a case study in the central Hexi Corridor. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(18): 8434-8445.

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

陈凌云^{1,*}, 孙雪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所 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: 选择河西走廊中部戈壁土壤样品并进行过筛处理, 旨在探究荒漠生态系统中土壤纤毛虫原生动物蕴藏量以及不同粒级土壤团聚体和纤毛虫种类/类群与丰度间的相关关系, 同时分析比较完全培养计数法与 Foissner 计数法统计原生动物的效率, 探讨纤毛虫原生动物在不同土壤粒径中的分布和演替规律。结果表明: ①完全培养计数法获取的纤毛虫总丰度为 Foissner 计数法的 16.5 倍, 培养第 10 天纤毛虫总类群数为 Foissner 计数法的 2 倍; ②不同粒级土壤团聚体中纤毛虫总丰度随着土壤粒径的减小而增大, 100 目土样纤毛虫丰度是原位土样的 3.4 倍, 原位和 10 目土样获得的纤毛虫总种类/类群数均高于颗粒和 100 目土样; ③土壤 pH 和水分扰动是导致纤毛虫丰度变化的主导因素; ④在“非淹没培养皿法”过程中, 土壤纤毛虫群落呈现“低等-高等-低等”的演替规律。土壤团聚体作为土壤最重要的结构体, 对维持土壤中的微生物群落结构和酶活性有着重要的作用, 建议今后对荒漠生境土壤进行纤毛虫分类学研究时, 针对不同类群或目标种尝试进行土壤样品的过筛处理或复检日期的匹配化选择。完全培养计数法不仅能够记录“非淹没培养皿法”实验过程中各种类/类群的数量和丰度, 还可追踪土壤纤毛虫群落演替, 得出物种蕴藏量的“理论丰度峰值”, 同时分析各种类/类群与理化因子间的相关关系, 为抑纤毛虫作用“Ciliatostasis”的研究提供理论依据。

关键词: 土壤纤毛虫; 土壤团聚体; 蕴藏量; 戈壁

Ecological response of ciliate protozoa to soil agglomerates in the desert Gobi region: a case study in the central Hexi Corridor

CHEN Lingyun^{1,*}, SUN Xue¹, Shen Xiaotian¹, LIU Jiliang², JIN Liqiong³, DU Haifeng⁴

1 Laboratory of Microbiota, College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China

2 Linze Inland River Basin Research Station, Northwest Institute of Ecological and Environmental Resources, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China

3 Gansu Provincial Analysis and Testing Center, Lanzhou 730000, China

4 Longnan Ecological and Environment Monitoring Center of Gansu Province, Longnan 746000, China

Abstract: In order to explore the abundance of soil ciliates in desert ecosystems, as well as the correlation between different soil aggregates, ciliate species/groups, and abundance, we collected soil samples from the central part of the Hexi Corridor, with sieving treatment. By analyzing and comparing the efficiency of the culture counting method and the Foissner

基金项目: 国家自然科学基金 (42067012, 42267044); 甘肃省重点研发计划 (21YF5WA012); 甘肃省自然科学基金 (23JRRA688)

收稿日期: 2023-12-27; **网络出版日期:** 2024-07-12

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lychen@nwnu.edu.cn

counting method for quantifying protozoa, we also investigated the distribution and succession patterns of soil ciliates among different soil particle sizes. Results are as follows: ① The total abundance of ciliates obtained by the complete culture counting method was 16.5 times higher than that of the Foissner counting method, and the total number of ciliate taxa in the 10th day of culture was twice as high as that of the Foissner counting method; ② The total abundance of ciliates in soil aggregates of different grain sizes increased with the decrease of soil grain size. The abundance of ciliates in the 100-mesh soil sample was 3.4 times higher than that of the subsoil sample, while the abundance of ciliates in the in situ and 10-mesh soil samples increased with the decrease of soil grain size. The total number of ciliate species/taxa obtained from in situ and 10-mesh soil samples were higher than those from granular and 100-mesh soil samples; ③ The soil pH and moisture disturbance were the dominant factors in the change of ciliate abundance; ④ In the process of “non-submerged Petri dish method”, the soil ciliate community showed a low-high-low pattern. As the most important structure of soil, soil aggregates play an important role in maintaining the structure of microbial community and enzyme activity in soil. It is suggested that when ciliate taxonomic research is carried out on soil in desert habitats in the future, the sieving of soil samples or the matching of re-examination dates should be tried for different taxa or target species. The complete culture counting method can not only record the number and abundance of various classes/taxa during the “non-submerged Petri dish” experiment, but also track the soil ciliate community succession, derive the “theoretical peak abundance” of species, and analyze the correlation between various taxa/groups and physico-chemical factors, as well as the relationship between ciliates and the physical and chemical factors. At the same time, we can analyze the correlation between various species/classes and physicochemical factors, which can provide a theoretical basis for the study of “Ciliatostasis”, a ciliatostatic effect.

Key Words: Soil ciliates; soil agglomerates; reserves; desert

纤毛虫原生动动物是最复杂、最高等的单细胞真核生物,具有丰富的物种多样性及巨大的生物量,是土壤生态系统最重要的类群之一,纤毛虫在土壤微食物网的能量通道中起着承上启下的作用^[1-4]。土壤纤毛虫是团聚体中最活跃的生物因素,土壤团聚体作为土壤最重要的结构体,对维持土壤酶活性和生物群落结构有着重要的作用^[5]。土地利用方式改变后,生物的群落结构和活性与土壤团聚体的形成过程以及形成后的稳定性密切相关^[6]。同时,土壤团聚体反过来为微型生物提供不同生境以支撑更多土壤生物群落^[7]。目前,对土壤团聚体研究主要集中在土地利用方式变化、长期施肥、生物炭和秸秆还田等对土壤团聚体稳定性及有机碳分布的影响等方面^[8-10],对土壤团聚体与纤毛虫原生动动物种类/类群和丰度间的相关关系研究鲜有报道。

现阶段,针对纤毛虫生态学的研究还处于初步探索阶段,依靠传统形态学的鉴定大大低估了土壤原生动动物的多样性。近年来随着生物技术的发展,极大地促进了对原生动动物的分类、多样性、分布特征及其生态功能等的认识^[11]。目前,有关土壤原生动动物的定量研究方法主要有:直接计数法、培养计数法(Most probable number, MPN, 又称最大或然数法)和密度梯度离心—定量蛋白银法(Ludox Density Gradient Centrifugation Combined with Quantitative Protargol Staining, Ludox-QPS)^[12-14]。直接计数法结果可信度较高,但需在较短时间内完成计数过程,否则会导致包囊萌发,活体死亡或胞体分裂^[15]。同时,对于以包囊形式存在的土壤原生动动物缺乏可信性,无法获知其潜在的生产力^[12]。培养计数法则不受时间和空间限制,但要求原生动动物随机均匀的分布于土壤之中,且生长不受外界条件的阻碍,在实践过程中很难完全满足,生物量估算存在较大的系统误差^[12]。密度梯度离心—定量蛋白银法打破了时间限制且计数过程相对稳定,目前存在的主要问题为过膜过程中可能会导致部分虫体破裂丢失^[12]。上述研究方法均存在着无法突破的瓶颈,也是近年来原生动动物学领域研究的热点之一^[12-13,16]。

本文以河西走廊中部张掖绿洲边缘戈壁荒漠为研究区,整合优化前人的实验方法,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的研究方案,分析和比较完全培养计数法与 Foissner 计数法统计原生动动物的效率。同时,对不同粒级土壤团聚体的纤毛虫原生动动物蕴藏量进行对比分析,旨在探讨:(1)不同计

数方法土壤纤毛虫种类/类群和丰度对比;(2)不同粒级土壤团聚体中土壤理化特征变化趋势;(3)不同粒级土壤团聚体纤毛虫蕴藏量与土壤理化特征相关关系;(4)不同粒级土壤团聚体中纤毛虫群落演替规律。本文所提出的完全培养计数法不仅能够记录“非淹没培养皿法”实验过程中各种类/类群的数量和丰度,而且在追踪土壤纤毛虫群落演替的同时,还可得出物种蕴藏量的“理论丰度峰值”,同时分析各种类/类群与理化因子间的相关关系,为抑纤毛虫作用“Ciliatostasis”的研究提供理论依据。该研究为土壤纤毛虫蕴藏量的计算、改进和优化拓展研究思路,也为今后开展纤毛虫原生动物 α 分类学、生物多样性以及群落生态学提供参考依据,并初步揭示不同粒级土壤团聚体与纤毛虫蕴藏量间的相关关系。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

甘肃省张掖市红柳园位于河西走廊中部北山山前戈壁荒漠与巴丹吉林沙漠穿过龙首山和合黎山进入到河西走廊的延伸带相邻的区域(地理坐标:39°18'20"N—39°40'40"N、100°8'32"E—100°11'35"E;平均海拔1384 m)。气候属于典型的温带大陆性干旱气候,冬季降雪和春季降雨稀少并存在明显年季变化,夏秋季降雨增多,多年平均降雨量为117.0 mm,主要集中在7—9月。年平均温度为7.6℃,年平均蒸发量高达2390 mm,干燥度为20.4^[17]。植被稀疏,以旱生和超旱生灌木、半灌木为主并呈明显的斑块或条带状分布。木本植物以红砂(*Reaumuria songarica*)和泡泡刺(*Nitraria sphaerocarpa*)为主,伴生少量黄毛头(*Kalidium cuspidatum*)、小果白刺(*Nitraria sibirica*)、中麻黄(*Ephedra intermedia*)、沙拐枣(*Calligonum* sp.)和细枝岩黄耆(*Hedysarum scoparium*)等。土壤为灰棕漠土和风沙土,土壤异质性较高,地下水位埋深为10—12 m。

1.2 样品采集和试验设计

土壤样品采集于2021年07月12日。在河西走廊中部红柳园戈壁荒漠区采用随机取样法选择3个1 m×1 m的样方,每个样方间距不小于5 m。同时,在每个样方随机设置3个重复采样点,将重复土壤样品充分混匀。每个采样点利用直径为5 cm的钢质环刀采集原位土样,采用环刀法和烘干法^[18]对土壤含水率和容重进行的测定。利用自制直径为20 cm的钢质环刀采集表层0—5 cm土壤样品,带回实验室平铺于白瓷盘中,室温风干处理后过筛分选成四份土壤:①原位土样;②直径>0.25 mm的颗粒土样(10目筛网截留土样);③直径>0.15 mm的10目土样(10目筛网过筛土样);④直径<0.15 mm的100目土样(100目筛网过筛土样)。在样品处理过程中避免土样交叉污染,将处理后土样分装至牛皮纸袋保存用于后续实验。

1.3 计数方法选择

1.3.1 改进的原生动物计数方法—“完全培养计数法”

分别准备称取原位土样、颗粒土样、10目土样和100目土样60 g,置于等直径(9 cm)的培养皿中,采用“非淹没培养皿法”(the non-flooded Petri dish method)^[19–21]将其置于恒温培养箱中在(25±1)℃下进行培养。根据Foissner的提出培养复检时间^[21],分别在第2、7、14、21、30天时进行镜检至没有新物种出现。量取土壤悬浮液^[22]总毫升数,用于换算每g土壤中纤毛虫个体数。同时,在对应的培养天数,将培养出的物种进行计数,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)。为达到精确计数目的,选择全片计数法,即:在40×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数量,并记录分类计数结果。具体操作如下:将土壤悬浮液^[22]充分摇晃均匀,取5 mL土壤悬浮液后迅速加入0.5 mL升汞中固定(重复3次),将固定好的土壤悬浮液吹打混匀后取0.1 mL于浮游生物计数框内进行全片计数,重复3次,共计9个重复。转换算出1 mL土壤悬浮液中纤毛虫数量,从而得到60 g风干土样中的纤毛虫总量。同时,取部分土壤悬浮液进行pH、电导率(EC)、含盐量(AM)的测定,土壤悬浮液理化测定使用德国STEP土壤多参数测定仪(型号:COMBI 5000)。

1.3.2 Foissner计数法^[23]

取原位土样60 g置于培养皿中,采用“非淹没培养皿法”^[19–21],置于恒温培养箱中在(25±1)℃下9 d,在

最大计数日(通常纤毛虫多样性和丰度达到最大)第 10 天时^[23],对培养的样品进行定量统计。45°倾斜静置培养皿约 5 min,取土壤悬浮液 1 mL 用 0.1 mL 升汞固定,将固定好的土壤悬浮液吹打混匀后取 0.1 mL 于浮游生物计数框内进行全片计数,重复 5 次。计数完成后对土壤悬浮液进行 pH、EC、AM 的测定,测定方法同上。

1.3.3 数据处理及分析方法

原始数据录入采用 Microsoft Excel 2020,相关性分析使用 PRIMER 7 (Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research) 软件,单因素方差分析使用 Origin 2021。纤毛虫分类系统参考 Lynn 2008^[24],定义数量最多的类群为优势类群。

2 结果

2.1 不同计数方法土壤纤毛虫丰度和类群数比较

完全培养计数法在第 2、7、14、21、30 天时分别计数,计算丰度分别为:(767±16)个/mL、(440±8)个/mL、(251±6)个/mL、(88±2)个/mL、(73±3)个/mL;单位换算后为:(664±14)个/g、(418±7)个/g、(176±4)个/g、(82±2)个/g、(71±3)个/g,总丰度计数结果为(1619±22)个/mL,单位换算后为:(1411±18)个/g。鉴定到纤毛虫 8 目,分别为腹毛目(Hypotrichida)10 种,肾形目(Colpodida)4 种,盾纤目(Scuticociliatida)3 种,散毛目(Sporadotrichida)3 种,钩刺目(Haptorida)、弹跳目(Halteria)、异毛目(Heterotrichida)各 2 种;Foissner 计数法纤毛虫丰度为(98±47)个/mL,鉴定到纤毛虫 4 目,分别为腹毛目 3 种,盾纤目、肾形目、弹跳目各 1 种。使用不同方法对土样进行培养发现 Foissner 计数法在第 10 天时纤毛虫丰度低于完全培养计数法 2、7、14 d,仅高于 21 和 30 d 丰度(图 1);完全培养计数法纤毛虫总丰度为 Foissner 计数法的 16.5 倍,纤毛虫总类群数为第 10 天 Foissner 计数法的 2 倍(表 1,图 1)。

表 1 不同培养方式纤毛虫丰度与种类数

Table 1 Ciliate abundance and number of species in different cultures

方法 Methodologies	丰度 Abundances	种类数 Number of species
完全培养计数法 Complete culture counting method	1619±22	8
Foissner 计数法 Foissner's method of counting	98±47	4

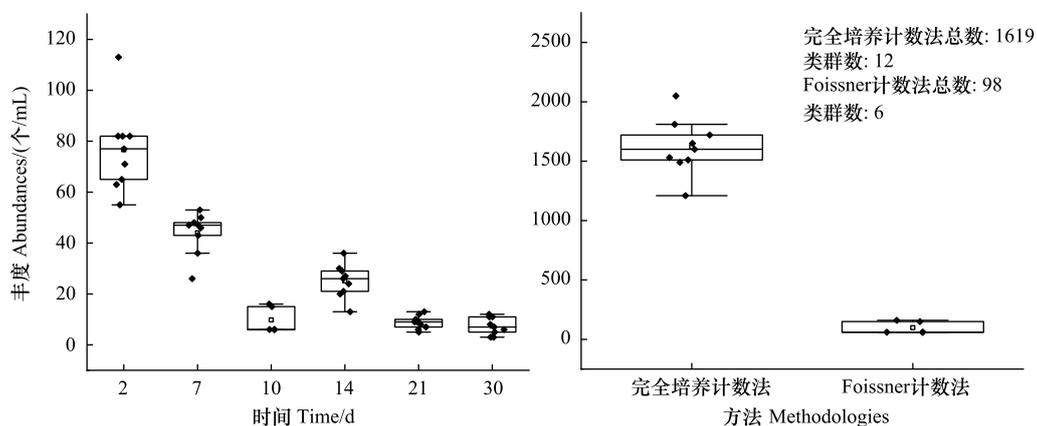


图 1 土壤纤毛虫丰度对比(均为 1 mL 纤毛虫丰度)

Fig.1 Comparison of soil ciliate abundance(All are 1 mL ciliate abundance)

2.2 不同粒径团聚体中土壤理化特征变化趋势

原位土样 pH 在第 2 天和第 30 天时最低,第 14 天时最高,第 10 天时次之,EC 和 AM 在 30 d 内变化趋势一致,第 2 天和第 10 天时最高,第 30 天时最低;颗粒土样 pH 在第 7 天时最低,第 30 天时最高,EC 和 AM 在

30 d 内变化趋势一致,第 2 天时最高,第 30 天时最低;10 目土样 pH 在第 22 天时最低,第 14 天时最高,EC 和 AM 在 30 d 内变化趋势一致,第 2 天时最高,第 30 天时最低;100 目土样 pH 在第 14 天时最低,第 2 天时最高,EC 和 AM 在 30 d 内变化趋势一致,第 2 天时最高,第 30 天时最低(图 2)。原位土样、颗粒土样、10 目土样和 100 目土样理化性质变化结果显示,在 30 d 内 4 种类型土样 EC、AM 变化趋势基本一致,均为第 2 天时最高,第 30 天时最低,pH 变化各有不同(图 2)。

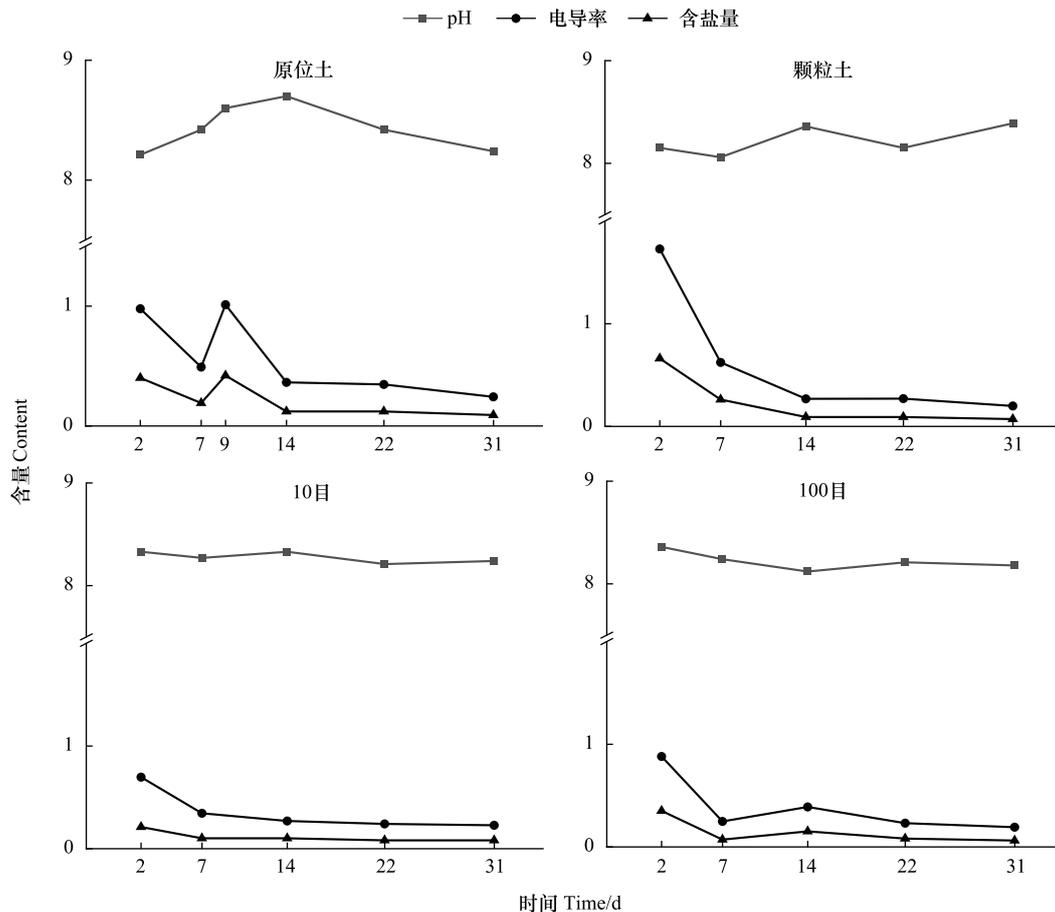


图 2 不同粒级土壤团聚体 30 天理化性质变化情况

Fig.2 Changes in physicochemical properties of soil agglomerates of different particle size for 30 days

pH: 酸碱度; EC: 电导率; AM: 含盐量

2.3 不同粒级团聚体中纤毛虫蕴藏量变化趋势

分别在培养至第 2、7、14、21、30 天利用完全培养计数法计数,原位土样纤毛虫丰度分别为:(767±16)个/mL、(440±8)个/mL、(251±6)个/mL、(88±2)个/mL、(73±3)个/mL,单位换算后为:(664±14)个/g、(418±7)个/g、(176±4)个/g、(82±2)个/g、(71±3)个/g,总丰度为(1619±22)个/mL,单位换算后为:(1411±18)个/g。鉴定到纤毛虫 8 目,分别为腹毛目 10 种,肾形目 4 种,盾纤目 3 种,散毛目 3 种,钩刺目、弹跳目、异毛目各 2 种。颗粒土样纤毛虫丰度分别为:(660±9)个/mL、(348±6)个/mL、(74±2)个/mL、(91±2)个/mL、(50±1)个/mL,单位换算后为:(528±7)个/g、(301±5)个/g、(51±1)个/g、(88±2)个/g、(50±1)个/g,总丰度为(1223±11)个/mL,单位换算后为:(1019±9)个/g。鉴定到纤毛虫 7 目,为肾形目 5 种,腹毛目、盾纤目各 4 种,异毛目 3 种,钩刺目、散毛目各 1 种。10 目土样纤毛虫丰度分别为:(256±6)个/mL、(278±7)个/mL、(396±12)个/mL、(229±9)个/mL、(9±1)个/mL,单位换算后为:(158±4)个/g、(269±7)个/g、(271±8)个/g、(221±9)个/g、(9±1)个/g,总丰度为(1168±19)个/mL,单位换算后为:(927±15)个/g。鉴定到纤毛虫 8 目,分别为

腹毛目 7 种,盾纤目 4 种、肾形目、钩刺目各 2 种,弹跳目、散毛目和前口目各 1 种。100 目土样纤毛虫丰度分别为:(93±3)个/mL、(0)个/mL、(313±7)个/mL、(44±2)个/mL、(27±1)个/mL,单位换算后为:(70±2)个/g、(0)个/g、(214±4)个/g、(42±2)个/g、(28±1)个/g,总丰度为(477±7)个/mL,单位换算后为:(354±4)个/g。鉴定到纤毛虫 7 目,为腹毛目 6 种,盾纤目 4 种,钩刺目、散毛目各 2 种,肾形目、异毛目各 1 种。土壤纤毛虫总丰度为原位土样>颗粒土样>10 目土样>100 目土样,总类群数为原位土样=10 目土样>颗粒土样=100 目土样(表 2,图 3)。

表 2 不同粒级土壤团聚体纤毛虫丰度

Table 2 Abundance of ciliates in soil agglomerates at different grain levels

	原位土样 Subsoil	颗粒土样 Granular soil	10 目土样 10 mesh soil	100 目土样 100 mesh soil
丰度 Abundances/(个/mL)	1619±22	1223±11	1168±19	477±7
丰度 Abundances/(个/g)	1411±18	1019±9	927±15	354±4
种类数 Number of species	8	7	8	7

不同粒径土壤纤毛虫数量变化情况,原位土样和颗粒土样变化趋势基本一致,10 目土样和 100 目土样变化趋势各有波动。原位土样的纤毛虫数量在第 2 天时最多,随天数变化数量逐渐减少,在第 30 天时数量最少(图 4);颗粒土样的纤毛虫数量亦是在第 2 天时最多,在第 30 天时数量最少,但在第 22 天时纤毛虫数量略大于第 14 天(图 4);10 目土样的纤毛虫数量在第 14 天时最多,在第 30 天时最少(图 4);100 目土样的纤毛虫数量在第 14 天时最多,在第 7 天时最少(图 4)。

2.4 不同粒级团聚体培养过程中土壤纤毛虫群落组成演变

原位土样、颗粒土样、10 目土样和 100 目土样的优势类群和次优势类群均为盾纤目和腹毛目(图 5)。原位土样在第 2、7、10、14、21、30 天的优势类群分别为盾纤目、盾纤目、腹毛目、弹跳目、腹毛目和异毛目;颗粒土样优势类群为在第 2、14 天为盾纤目,第 7、21 天为腹毛目,第 30 天为异毛目;10 目土样除第 7 天优势类群为腹毛目,第 2、14、21、30 天优势类群均为盾纤目;100 目土样第 7 天时为发现纤毛虫物种,第 2 天和 30 天优势类群为盾纤目,第 14 天和 21 天优势类群为腹毛目(图 5,6)。

3 讨论

3.1 不同计数方法对土壤纤毛虫种类/类群及丰度的影响

Foissner 计数法在第 10 天时的纤毛虫丰度低于完全培养计数法第 2、7、14 天仅高于第 21 天和 30 天丰度(图 1);完全培养计数法纤毛虫总丰度为 Foissner 计数法的 16.5 倍,类群数为 Foissner 计数法第 10 天的 2 倍(图 1)。土壤生境中,纤毛虫大多呈休眠状态并以包囊形式“存活”,现生种仅存在于潮湿土壤生境中且活动虫所占极小比例^[25],而土壤纤毛虫的生存又依赖于水环境,除了受到外界环境胁迫形成包囊外,在长期进化与适应过程中未受到环境胁迫时,还可形成自发性包囊^[13]。而 Foissner 计数法对包囊的水分扰动较为“温和”,且仅在最大计数日(第 10 天)进行直接计数。宁应之等^[13]研究发现,水分扰动是影响纤毛虫数量的主

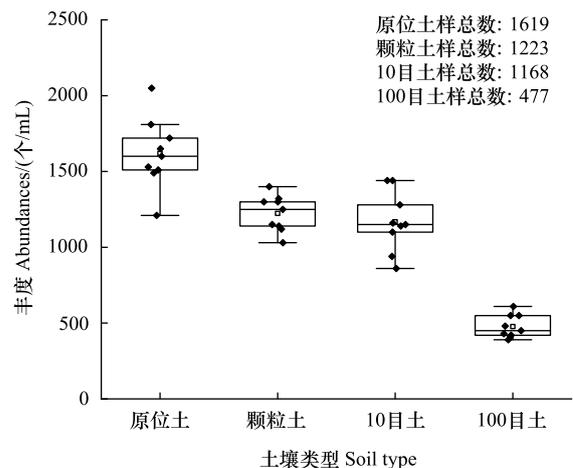


图 3 不同粒级土壤团聚体纤毛虫总丰度对比(均为 1 mL 纤毛虫丰度)

Fig. 3 Comparison of the total abundance of ciliates in soil agglomerates at different grain levels (All are 1 mL ciliate abundance)

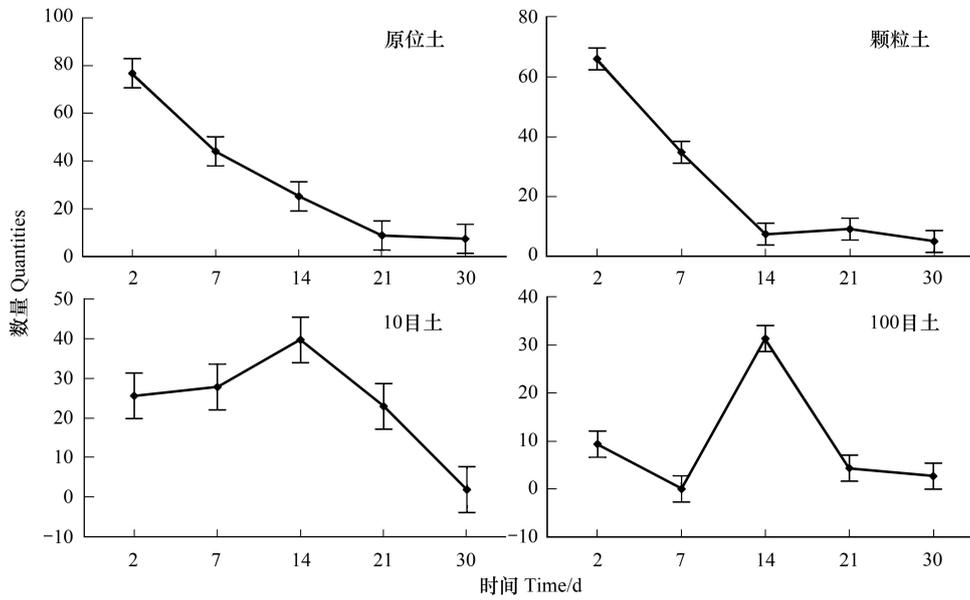


图 4 不同粒级土壤团聚体 30 d 内纤毛虫数量变化情况

Fig.4 Changes in the number of ciliates in soil agglomerates of different grain classes over 30 days

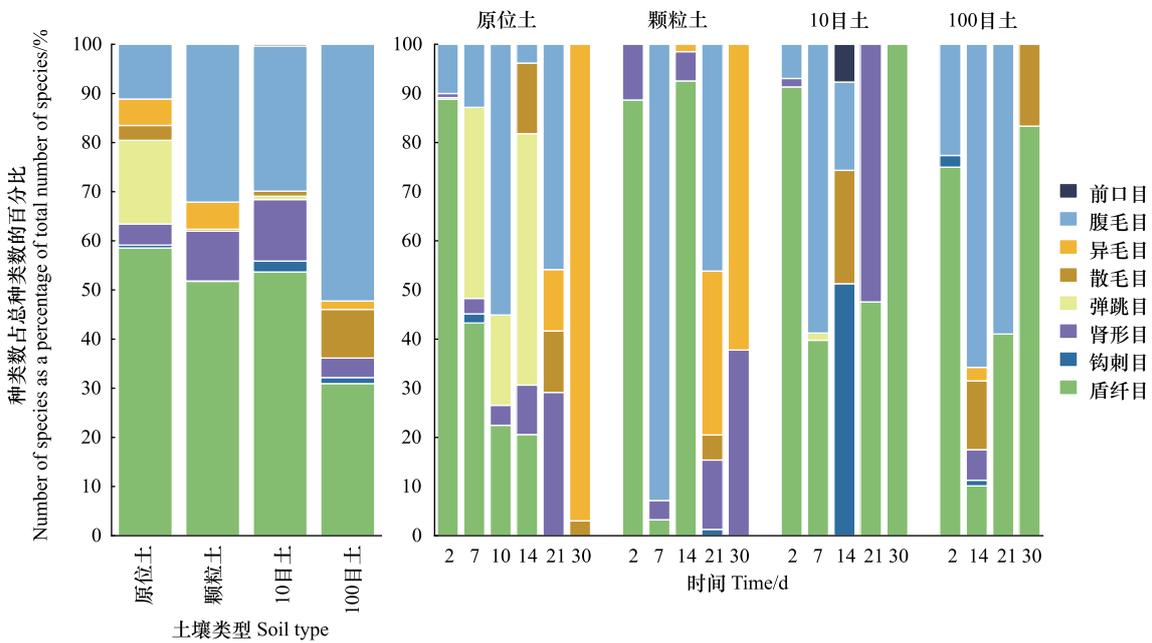


图 5 不同粒级土壤团聚体纤毛虫类群组成

Fig.5 Composition of ciliate taxa in soil agglomerates at different grain levels

要因素之一,这也从侧面印证了完全培养计数法得出的结果,即利用“非淹没培养皿”法对土壤微环境的“刺激”加剧了土壤理化的交替更迭,使得抑纤毛虫作用“Ciliatostasis”的调控和物质循环频繁发生。据 Foissner 推测^[26],在土壤生境中有超过 50%的原生动物以包裹的形式存在且未被描述。本研究利用完全培养计数法对非淹没培养的土壤在一个月内进行多次水分扰动,不断刺激土壤微环境,促使纤毛虫最大可能脱包裹萌发。因此,利用完全培养计数法较 Foissner 计数法可获得更多的种类/类群数和更高的丰度。

研究区位于河西走廊中部张掖临泽荒漠戈壁区,目前,国内外对荒漠生境土壤纤毛虫研究较少,

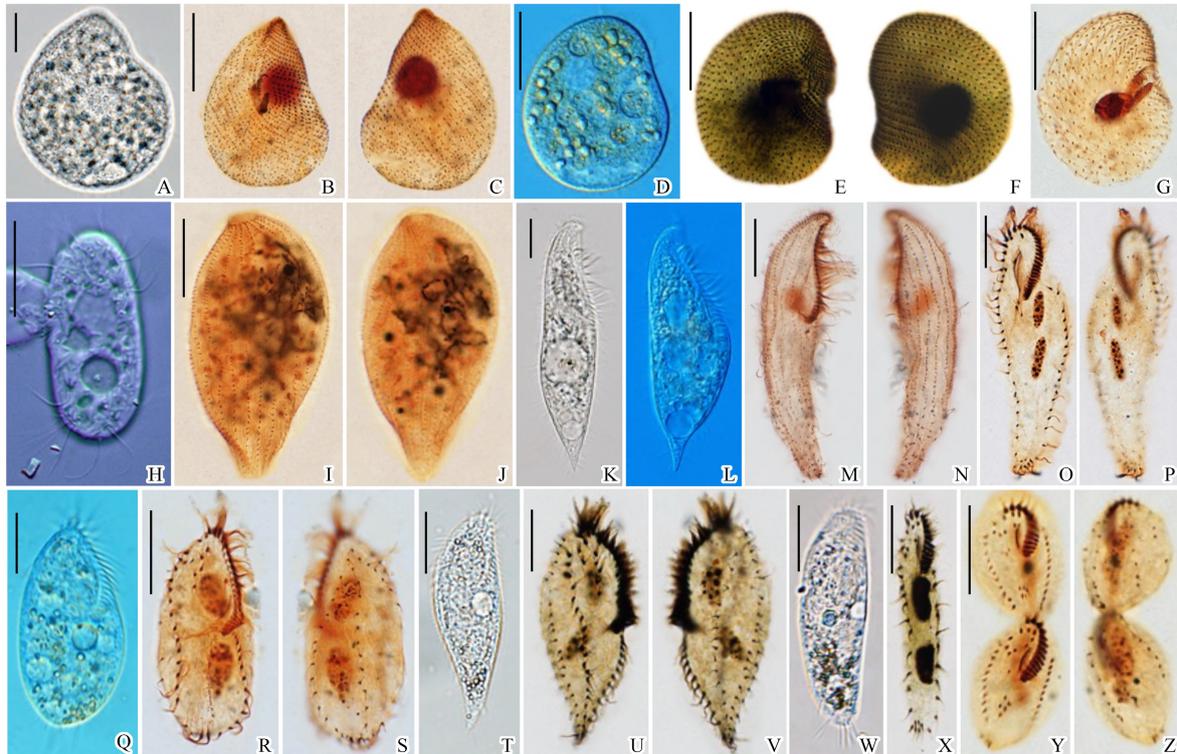


图 6 30 d 内土壤纤毛虫活体和蛋白银染色显微照片

Fig.6 Micrographs of live soil ciliates and after protargol staining in 30 days

A—C, 膨胀肾形虫 *Colpoda inflata*.; D—G 僧帽肾形虫 *Colpoda cucullus*; H, 柔叶虫属一种 *Sathrophilus* sp.; I, J, 拟前管虫属一种 *Pseudoprorodon* sp.; K—N, 透明赭纤虫 *Blepharisma hyalinum*.; O, P, 拟片尾虫一种 *Urosomoida* sp.; Q—S, 殖口虫一种 *Gonostomum* sp.1; T—V, 殖口虫一种 *Gonostomum* sp.2; W—Z, 颗粒拟片尾虫 *Urosomoida granulifera*); 比例尺:20 μm

Foissner^[20]在2002年对非洲纳米比亚和埃托沙国家公园的荒漠生境进行研究,共鉴定出365种,其中1个新目、1个新亚目、3个新科、34新属和亚属以及上百个新物种记录,同时纤毛虫丰度低且形态极为特殊,这与本研究结果一致。Darby等^[27]通过调控土壤的温度和含水量,研究气候变暖对原生动物种群结构变化趋势的影响及机制,发现荒漠生境的环境变化影响土壤纤毛虫群落结构进而影响纤毛虫丰度;Schwarz和Frenzel^[28]研究了氧气、水分、土壤孔隙等对原生动物种群数量的影响,表明缺氧界面在非淹没培养下土壤纤毛虫多样性的重要性。同时,Foissner提出原生动物种群丰度与含水量相关^[29],这亦与本文结果一致,水分扰动是影响纤毛虫数量的主要因素之一。土壤水分不仅给原生物创造了摄食和生存的良好环境,而且还是原生物完成生长繁殖和能量物质转换的重要载体媒介。

3.2 土壤理化特征在各粒级团聚体中变化特征

土壤团聚体是土壤养分赋存与转化的重要场所,不同粒级土壤团聚体组成比例会直接影响土壤养分的供应效率^[30]。合适的团聚体组成比例有利于形成稳定的土壤结构,降低土壤侵蚀风险,提升土壤肥力^[31]。研究发现,30 d内原位土样、颗粒土样、10目土样和100目土样的EC、AM变化趋势基本一致,EC可间接反映土壤养分或盐分含量,随着对土壤微生境的多次水分扰动,稀释效应致使电导率逐渐降低或增加减缓^[32-33],同时pH在综合干扰下也出现波动。徐进等人^[34]研究发现土壤pH升高,会使其表面负电荷量增加,对磷酸根离子具有静电排斥作用,而低pH条件下, H^+ 可使矿物表面基团质子化,从而有利于磷的吸附。 H^+ 质量浓度越大,其吸附能力就越强,所以pH越小,吸收强度越大。另外,适当提高土壤pH可以提高土壤供磷能力。也有研究表明^[35-37],土壤P的来源相对固定,其含量主要受土壤母质、土壤形成、耕作和施肥的影响。研究区P含量低于全国土壤平均水平^[38],同时,作为一种沉积性的矿物,磷素在土壤中的迁移率较低,因此受团聚体粒级

的影响较小^[39-40]。因此,推测影响 pH 变化的主要原因不是土壤团聚体的组成比例,而是土壤内部环境对土壤纤毛虫群落演替响应的结果。宁应之等^[13]对珙珈山森林土壤原生动物的研究表明 pH 是影响土壤纤毛虫蕴藏量的主要的因子之一,pH 越趋于中性,纤毛虫丰度越大,这与本研究结果一致。

3.3 土壤纤毛虫在各粒级土壤团聚体中分布特征

土壤团聚体作为土壤最重要的结构体,对维持土壤中的微型生物群落结构和酶活性有着重要的作用^[5]。微型生物的群落结构和活性与土壤团聚体的形成过程以及形成后的稳定性密切相关^[6]。粒径较小的粉粒和黏粒胶结形成粒径较大的蜂窝状团聚体,团聚体表面凹凸不平,附着大量黏粒,从而形成更大团聚体^[41]。Edwards 等^[42]认为团聚体形成的本质是黏粒通过多价金属阳离子的连接而吸附极性有机分子的过程(黏粒或羟基聚合物表面和有机聚合物配位基团之间的多价阳离子桥键合),即有机无机的复合过程。土壤颗粒表面粗糙可为微型生物提供较为稳定的附着位点,增加了团聚体构造性能^[43-44]。研究发现土样中纤毛虫蕴藏量最多的为颗粒土样,10 目土样次之,蕴藏量最少的是 100 目土样。土壤团聚体直径越大,表面越粗糙,为细菌等微生物提供的附着位点越多,从而为土壤纤毛虫提供了更为充足的食物,这与 Bronick、张维俊等人的研究一致^[43-44]。同时,大团聚体是由微团聚体通过胶结物质胶结而成,而微团聚体中的黏粒和粉粒是土壤生源物质富集的主要贡献者^[45-46]。不同粒级土壤团聚体的分布、大小和组成不同,影响了团聚体内部空气和养分的分布,也因此为土壤微型生物提供了独特多样的栖息环境^[47],导致土壤团聚体微生物的分布有较大的差异^[48-50]。土壤中的微型生物之间会形成一个复杂的网络共存或产生拮抗^[51],不同的团聚体栖息着不同的微型生物群落,从而出现不同的微生物生态网络^[51-54],导致不同粒级土壤团聚体中土壤纤毛虫种类/类群不同。本研究中,土壤纤毛虫种类/类群数为原位土样和 10 目土样最多,颗粒土样和 100 目土样次之。土壤团聚体作为微型生物的“孵化器”,提供了抵御捕食的避难所,微型生物可以通过改变土壤环境来改善他们的栖息地^[55]。而且,不同粒级土壤团聚体的组分和孔隙对微型生物群落具有选择性^[56-57],由于团聚体的保护和选择作用,导致土壤微型生物在不同粒级土壤团聚体中的差异。本研究中 10 目土样是原位土样的内集,粒径较小的粉粒和黏粒胶结形成粒径较大的蜂窝状团聚体^[41],团聚体表面凹凸不平,为土壤纤毛虫提供了更为适宜的生存环境。微食物网内部各类纤毛虫处于共存状态,但 100 目土样的土壤颗粒较小,一定程度上限制了土壤内部空气和养分的分布^[47],表面又较为细密,无法为微型生物提供稳定的附着位点,导致纤毛虫食物不足,最不宜土壤纤毛虫的生存。土壤是地球上生物多样性最丰富的生境^[58-59],土壤团聚体为土壤纤毛虫提供不同的生境以支撑更多土壤生物群落,几乎所有的地下生态学过程都与土壤动物有关,其中,由于土壤原生动物一般没有保护性的细胞壁,对外部的细微变化相比于其他微型生物更为敏感,这使得其对外部变化作出的响应也更快。土壤原生动物的群落结构、丰度以及多样性的改变能够为自然的或人类活动干扰造成的环境的改变作出相应的指示。因此,土壤原生动物在指示土壤肥力和环境质量方面也有着巨大的潜能^[60-61]。在未来需进一步探明原生生物作为指示生物的作用并构建利用原生生物进行土壤健康和污染风险评估的方法和标准,为土壤健康和生态系统管理提供服务。

3.4 不同粒级土壤团聚体纤毛虫群落演替及影响因素

原位土样、颗粒土样、10 目土样和 100 目土样的优势类群和次优势类群均为盾纤目和腹毛目。在培养的第 2 天,原位土样、颗粒土样、10 目土样、100 目土样的优势类群均为盾纤目。其间第 7、14、21 天优势类群经历盾纤目、弹跳目、腹毛目的变化,培养至第 30 天时,原位土样和颗粒土样的优势类群为异毛目外,而 10 目土样和 100 目土样的优势类群为盾纤目。在培养过程中,优势类群的变化呈现“低等-高等-低等”的演替规律。本研究中,在培养过程中除了定时添加水分使培养皿保持非淹没状态并未添加其他营养物质,因此土壤纤毛虫的食物主要以细菌和真菌为主,而细菌、真菌和原生动物又会形成微型生物生态网络^[29,51-52,54]。随着土壤中营养物的分解与消耗,细菌和真菌可利用物质逐渐减少,生长受到抑制,进而导致纤毛虫减少,推测这也是第 30 天时纤毛虫优势类群转化为低等类群同时数量呈下降趋势的主要原因。

土壤纤毛虫作为荒漠生态系统中不可缺少的一部分,在细菌、微生物与更上级者的食物链中扮演中间者

身份,具有承上启下的作用,亦在生物地球化学循环的过程中起着决定性的作用,同时,荒漠地区的特殊生境与气候强烈影响着土壤纤毛虫的群落结构,进而直接影响荒漠生境地上—地下微食物网,最终,将直接或间接地对土壤碳循环和全球气候变化产生深远影响^[62]。现阶段,针对纤毛虫生态学的研究还处于初步探索阶段,过去 10 年研究表明,依靠传统形态学的鉴定大大低估了土壤原生动物的多样性^[11]。近年来随着生物技术的发展,极大地促进了对原生动物的分类、多样性、分布特征及其生态功能等的认识^[63-64]。本研究建议使用本方法增加对不同生态系统的纤毛虫进行生态学研究,同时建议今后对荒漠生境土壤进行纤毛虫生态学研究时,针对不同类群或目标种尝试进行土壤样品的过筛处理或复检日期的匹配化选择,这将对未来进一步开展人类活动和气候变化对荒漠生态系统生物多样性保育功能及其生物多样性维持机制提供研究基础。

4 结论

(1) 完全培养计数法获得的土壤纤毛虫总丰度计算结果为 Foissner 计数法的 16.5 倍,总种类/类群数为 Foissner 计数法的 2 倍;

(2) 不同粒级土壤团聚体中纤毛虫总丰度为:原位土样>颗粒土样>10 目土样>100 目土样,总种类/类群数为:原位土样=10 目土样>颗粒土样=100 目土样;

(3) 土壤水分扰动和 pH 是导致土壤纤毛虫丰度变化的主导因素;

(4) 在“非淹没培养皿法”过程中,研究区土壤纤毛虫群落呈现“低等-高等-低等”的演替规律,为今后开展纤毛虫原生动动物 α 分类学、生物多样性以及群落生态学的研究提供参考依据。

参考文献 (References):

- [1] 宁应之,沈韞芬. 中国典型地带土壤原生动动物: I. 区系特征和物种分布. 动物学报, 1998, 44(1): 5-10.
- [2] 宁应之,沈韞芬. 中国典型地带土壤原生动动物: II. 生态学研究. 动物学报, 1998, 44(3): 271-276.
- [3] 宋雪英,宋玉芳,孙铁珩,张薇,周启星. 土壤原生动动物对环境污染的生物指示作用. 应用生态学报, 2004, 15(10): 1979-1982.
- [4] 宁应之,万贯红,杨元罡,武维宁,周小燕,王一峰,刘娜,程晓,陈凌云. 甘肃省徽县不同退耕还林模式下土壤纤毛虫群落特征. 生态学杂志, 2019, 38(6): 1697-1706.
- [5] 王进,刘子琦,鲍恩俣,张国,李渊,孙建. 喀斯特石漠化区林草恢复对土壤团聚体及其有机碳含量的影响. 水土保持学报, 2019, 33(6): 249-256.
- [6] 李娜,韩晓增,尤孟阳,许玉芝. 土壤团聚体与微生物相互作用研究. 生态环境学报, 2013, 22(9): 1625-1632.
- [7] Yang C, Liu N, Zhang Y J. Soil aggregates regulate the impact of soil bacterial and fungal communities on soil respiration. Geoderma, 2019, 337: 444-452.
- [8] 陈海,朱大运,陈游. 石漠化地区土地利用方式对土壤团聚体稳定性及有机碳的影响. 中国岩溶, 2021, 40(2): 346-354.
- [9] Cao S, Zhou Y Z, Zhou Y Y, Zhou X, Zhou W J. Soil organic carbon and soil aggregate stability associated with aggregate fractions in a chronosequence of citrus orchards plantations. Journal of Environmental Management, 2021, 293: 112847.
- [10] 邓华,高明,龙翼,赖佳鑫,王莹燕,王子芳. 生物炭和秸秆还田对紫色土旱坡地土壤团聚体与有机碳的影响. 环境科学, 2021, 42(11): 5481-5490.
- [11] Bardgett R D, Wardle D A. Aboveground-belowground linkages: biotic interactions, ecosystem processes, and global change. Oxford: Oxford University Press, 2010.
- [12] 赵峰,徐奎栋. 土壤原生动动物研究方法. 生态学杂志, 2010, 29(5): 1028-1034.
- [13] 宁应之,沈韞芬. 珞珈山森林土壤原生动动物生态学研究及土壤原生动动物定量方法探讨. 动物学研究, 1996, 17(3): 225-232.
- [14] 王苗勋,许媛. 甲醛与戊二醛固定剂对基于 Ludox-QPS 染色方法的研究结果对比. 华东师范大学学报:自然科学版, 2022(3): 82-89.
- [15] Foissner W. Soil protozoa as bioindicators: pros and cons, methods, diversity, representative examples. Agriculture, Ecosystems & Environment, 1999, 74(1/2/3): 95-112.
- [16] 陈旭森,徐奎栋. 深海原生动动物多样性研究进展. 海洋科学, 2014, 38(10): 119-126.
- [17] 刘继亮,李锋瑞. 干旱区绿洲扩张方式对土壤生物优势类群及功能的影响. 生物多样性, 2018, 26(10): 1116-1126.
- [18] 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.
- [19] Foissner W. Ecology and taxonomy of the Hypotrichida of some Austrian soils. Archiv für Protistenkunde, 1982, 126: 19143.

- [20] 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.
- [21] Foissner W, Berger H. Terrestrial ciliates (Protista, Ciliophora) from Australia and some other parts of the world. Series Monographiae Ciliophorae, 2021, 5.
- [22] 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.
- [23] Foissner W, Berger H, Xu K, 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.
- [24] Lynn D. The ciliated protozoa: characterization, classification, and guide to the literature. Springer Science & Business Media, 2008: 339-440.
- [25] 赵峰. 盐碱地和近海沉积物中真核微生物多样性及与环境的关系. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2013.
- [26] Foissner W. Biogeography and dispersal of micro-organisms; a review emphasizing protists. *Acta Protozoologica*, 2006, 45: 111-136.
- [27] Darby B J, Housman D C, Zaki A M, Shanout Y, Adl S M, Belnap J, Neher D A. Effects of altered temperature and precipitation on desert *Protozoa* associated with biological soil crusts. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2006, 53(6): 507-514.
- [28] Schwarz M V J, Frenzel P. Population dynamics and ecology of ciliates (*Protozoa, Ciliophora*) in an anoxic rice field soil. *Biology and Fertility of Soils*, 2003, 38(4): 245-252.
- [29] Foissner W. Soil protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and testaceans, bioindicators and guide to the literature. *Progress in Protistology*, 1987, 2: 69-212.
- [30] 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.
- [31] Wiesmeier M, Steffens M, Mueller C W, Kölbl A, Reszkowska A, Peth S, Horn R, Kögel-Knabner I. Aggregate stability and physical protection of soil organic carbon in semi-arid steppe soils. *European Journal of Soil Science*, 2012, 63(1): 22-31.
- [32] 张一清, 王文娥, 胡明宇, 凌刚, 胡笑涛, 彭雄彪. 容重及含水率对土壤电导率的影响研究. 干旱地区农业研究, 2022, 40(3): 162-169.
- [33] 孙宇瑞. 土壤含水率和盐分对土壤电导率的影响. 中国农业大学学报, 2000, 5(4): 39-41.
- [34] 徐进, 徐力刚, 龚然, 丁克强. 鄱阳湖沉积物中磷吸附释放特性及影响因素研究. 生态环境学报, 2014, 23(4): 630-635.
- [35] Xu C Y, Pu L J, Li J G, Zhu M. Effect of reclamation on C, N, and P stoichiometry in soil and soil aggregates of a coastal wetland in Eastern China. *Journal of Soils and Sediments*, 2019, 19(3): 1215-1225.
- [36] 毛霞丽, 邱志腾, 张爽, 沈倩, 章明奎. 不同母质发育土壤团聚体分布对外源输入秸秆的响应及其与有机碳矿化的关系. 环境科学, 2020, 41(6): 2842-2851.
- [37] 王传杰, 王齐齐, 徐虎, 高洪军, 朱平, 徐明岗, 张文菊. 长期施肥下农田土壤-有机质-微生物的碳氮磷化学计量学特征. 生态学报, 2018, 38(11): 3848-3858.
- [38] 孙雪, 龙永丽, 刘乐, 刘继亮, 金丽琼, 杜海峰, 陈凌云. 河西走廊中段荒漠绿洲土壤生态化学计量特征. 环境科学, 2023, 44(6): 3353-3363.
- [39] 宋莉群, 王义东, 李冬初, 张会民, 姜翼来, 窦渤凯, 尚云涛, 王中良. 长期退耕对红壤团聚体碳氮磷生态化学计量特征的影响. 生态学杂志, 2019, 38(6): 1707-1715.
- [40] 李玮, 郑子成, 李廷轩. 不同植茶年限土壤团聚体碳氮磷生态化学计量学特征. 应用生态学报, 2015, 26(1): 9-16.
- [41] 吕汉强, 胡发龙, 于爱忠, 苏向向, 王玉珑, 殷文, 柴强. 荒漠绿洲区不同绿肥还田方式下玉米农田土壤团聚体微结构特征. 中国生态农业学报: 中英文, 2022, 30(6): 952-964.
- [42] Edwards A P, Bremner J M. Dispersion of soil particles by sonic vibration. *Journal of Soil Science*, 1967, 18(1): 47-63.
- [43] Bronick C, Lal R. Manuring and rotation effects on soil organic carbon concentration for different aggregate size fractions on two soils in northeastern Ohio, USA. *Soil and Tillage Research*, 2005, 81(2): 239-252.
- [44] 张维俊, 李双异, 徐英德, 刘旭, 安婷婷, 朱平, 彭畅, 汪景宽. 土壤孔隙结构与土壤微环境和有机碳周转关系的研究进展. 水土保持学报, 2019, 33(4): 1-9.
- [45] Six J, Bossuyt H, Degryze S, Denef K. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research*, 2004, 79(1): 7-31.
- [46] Six J, Paustian K. Aggregate-associated soil organic matter as an ecosystem property and a measurement tool. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 68: A4-A9.
- [47] Trivedi P, Delgado-Baquerizo M, Jeffries T C, Trivedi C, Anderson I C, Lai K T, McNee M, Flower K, Pal Singh B, Minkey D, Singh B K. Soil aggregation and associated microbial communities modify the impact of agricultural management on carbon content. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(8): 3070-3086.
- [48] 赵美纯, 李鑫, 王月, 赵汉丞, 赵冬雪, 王盼盼, 孙广玉. 东北黑土旱田改稻田对土壤团聚体微生物群落功能多样性的影响. 核农学报,

2020, 34(12): 2831-2838.

- [49] 朱孟涛, 刘秀霞, 王佳盟, 刘志伟, 郑聚锋, 卞荣军, 王良梅, 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.
- [50] Bach E, Williams R J, Hargreaves S, Yang F, Hofmockel K. Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 118: 217-226.
- [51] Coyte K Z, Schluter J, Foster K R. The ecology of the microbiome: networks, competition, and stability. *Science*, 2015, 350(6261): 663-666.
- [52] Liao H, Zhang Y C, Wang K, Hao X L, Chen W L, Huang Q Y. Complexity of bacterial and fungal network increases with soil aggregate size in an agricultural Inceptisol. *Applied Soil Ecology*, 2020, 154:103640.
- [53] Lin Y X, Ye G P, Ding W X, Hu H W, Zheng Y, Fan J B, Wan S, Duan C J, He J Z. Niche differentiation of comammox *Nitrospira* and canonical ammonia oxidizers in soil aggregate fractions following 27-year fertilizations. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2020, 304:107147.
- [54] Zheng W, Zhao Z Y, Gong Q L, Zhai B N, Li Z Y. Responses of fungal-bacterial community and network to organic inputs vary among different spatial habitats in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 125: 54-63.
- [55] Rillig M C, Muller L A H, Lehmann A. Soil aggregates as massively concurrent evolutionary incubators. *The ISME Journal*, 2017, 11(9): 1943-1948.
- [56] Liu Y, Wang P, Crowley D, Liu X, Chen J, Li L, Zheng J, Zhang X, Zheng J, Pan G. Methanogenic abundance and changes in community structure along a rice soil chronosequence from East China. *European Journal of Soil Science*, 2016, 67(4): 443-455.
- [57] Liu Y, Dong Y, Wang P, Hussain Q, Ge T, Wang J. Distribution of methane production and methanogenic archaeal community structure across soil particle size fractions along a rice chronosequence. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2019, 74(3): 235-246.
- [58] Decaëns T. Macroecological patterns in soil communities. *Global Ecology and Biogeography*, 2010, 19(3): 287-302.
- [59] Powell J R, Craven D, Eisenhauer N. Recent trends and future strategies in soil ecological research—Integrative approaches at Pedobiologia. *Pedobiologia*, 2014, 57(1): 1-3.
- [60] 高云超, 朱文珊, 陈文新. 土壤原生动动物群落及其生态功能. 生态学杂志, 2000, 19(1): 59-65.
- [61] 周可新, 许木启, 曹宏, 宁应之. 土壤原生动动物在环境监测中的应用. 动物学杂志, 2003, 38(1): 80-84.
- [62] Adl S M, Habura A, Eglit Y. Amplification primers of SSU rDNA for soil protists. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 69: 328-342.
- [63] Adl S M, Simpson A G B, Farmer M A, Andersen R A, Anderson O R, Barta J R, Bowser S S, Brugerolle G, Fensome R A, Fredericq S, James T Y, Karpov S, Kugrens P, Krug J, Lane C E, Lewis L A, Lodge J, Lynn D H, Mann D G, McCourt R M, Mendoza L, Moestrup O, Mozley-Stanridge S E, Nerad T A, Shearer C A, Smirnov A V, Spiegel F W, Taylor M F J R. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2005, 52(5): 399-451.
- [64] Adl S M, Simpson A G B, Lane C E, Lukeš J, Bass D, Bowser S S, Brown M W, Burki F, Dunthorn M, Hampl V, Heiss A, Hoppenrath M, Lara E, le Gall L, Lynn D H, McManus H, Mitchell E A D, Mozley-Stanridge S E, Parfrey L W, Pawlowski J, Rueckert S, Shadwick L, Schoch C L, Smirnov A, Spiegel F W. The revised classification of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2012, 59(5): 429-514.