

土壤原生动物在环境监测中的应用 *

周可新^① 许木启^{①**} 曹 宏^① 宁应之^②

(①中国科学院动物研究所 北京 100080; ②西北师范大学生命科学院 兰州 730070)

摘要: 土壤原生动物具有丰富的种类多样性和巨大的生物量, 在土壤生态系统中具有十分重要的地位。因此, 其种类和数量的变化可指示环境质量的状况及发展趋势。与其它土壤生物相比, 原生动物的一些特征使其更利于成为监测生物。土壤原生动物各类群在环境监测中的作用是不同的。有壳肉足虫和纤毛虫更适合作为土壤环境的指示生物。土壤原生动物在农田生态系统、森林生态系统等环境监测中已经有了一些应用, 但与在水体环境监测中获得广泛应用的水生原生动物相比, 土壤原生动物用于环境监测才刚刚起步。土壤原生动物分类学研究的滞后和方法学上的欠缺是阻碍其作为监测生物的瓶颈。相信随着这些问题的逐步解决, 土壤原生动物在环境监测中必将发挥越来越大的作用。

关键词: 土壤生态系统; 原生动物; 环境监测

中图分类号: Q895 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2003)01-80-05

Soil Protozoa as Monitors of the Environment

ZHOU Ke-Xin^① XU Mu-Qi^① CAO Hong^① NING Ying-Zhi^②

(① Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080;

② Department of Biology, Northwestern Normal University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Soil protozoa are an essential component of soil ecosystems because of their high biomass and considerable species diversity. Accordingly, studies of their population dynamics and community structures can provide a powerful means for monitoring changes in the environment. Several unique features favor the use of soil protozoa as bioindicators and they have been used for this purpose in agriculture and forest ecosystems. But, in comparison to freshwater protozoa which have been widely used as indicators in various freshwater ecosystems, the use of soil protozoa as monitors of the environment has just begun. The importance of different groups of soil protozoa in environmental monitoring varies. Ciliates and especially testate amoebae, whose abundance and diversity can be reliably estimated, should be preferred in environmental studies. There are also some methodological and taxonomic problems which limit the use of soil protozoa as bioindicators. When these are solved, soil protozoa will have great potential as bioindicators in the future.

Key words: Soil ecosystem; Protozoa; Environmental monitoring

土壤原生动物泛指生活在土壤中或土壤表面覆盖的凋落物中的原生动物。土壤原生动物具有丰富的种类多样性以及巨大的生物量, 它们既参与了微生物所介导的物质循环和能量转化, 也参与了动物对微生物的捕食作用, 因此在土壤生态系统中具有十分重要的地位。

原生动物土壤群落起源于淡水群落, 这一点已为原生动物学界所公认^[1,2]。在漫长的历史演化进程中, 水中的原生动物先向岸边迁移, 进入苔藓-水藓生态系统, 进而进入森林的枯枝落叶、地表植物和土壤表层

中^[3]。

* 国家自然科学基金资助项目(No. 30170159, 30270246, 39800018), 中国科学院知识创新工程重要方向项目(No. KSCX2-SW-102)和中国科学院西部创新项目(No. KSCX1-07-03-B)的部分研究内容, 获得中国科学院知识创新工程领域前沿项目和中国科学院院长择优基金资助;

** 通讯作者;

第一作者介绍 周可新, 男, 28岁, 博士研究生; 研究方向: 水生动物生态学。

收稿日期: 2002-03-21, 修回日期: 2002-11-15

由于土壤这一特定的生境,能够适应它的原生动物种类多是体小、扁平或延伸成蠕虫状,常有细长的尾部。绝大多数种类形成包囊,以渡过土壤干旱之时。土壤原生动物虽有伸缩泡,但因土壤中水分较少,故伸缩的频率低。运动方式常以爬行和蠕动为主。以吞食粘质、细菌、碎屑和其它微小动物为生^[3]。

单细胞的原生动物对外界环境的变化十分敏感,因此可以作为理想的指示生物。过去的几十年,原生动物在水体污染监测中已经得到了广泛应用。虽然近年来土壤原生动物在农田生态系统、森林生态系统的环境监测以及重金属毒性生物测试中有了一些应用,但与水体污染原生动物生物监测相比,土壤原生动物用于环境监测才刚刚起步。本文对国内外利用土壤原生动物监测环境的研究做一较为系统的总结,并探讨了在具体应用过程中存在的一些问题,旨在推动土壤原生动物在环境监测中的应用。

1 土壤原生动物在环境监测中的应用

近年来,自然界越来越严重地受到多方面的污染与破坏,如森林采伐、土地利用、施肥、杀虫剂与除草剂的施放以及放射性物质的污染等。长期以来,人们对水、气污染研究的比较深入,而对土壤污染尚未给予足够的重视。并认为土壤是污染物的一个大净化器,不会直接危害人们的健康。事实恰恰相反,土壤污染超标后,土壤的生态平衡被破坏,结构与功能恶化、生物降解能力下降,致使农作物生长发育受到抑制,农产品的质量下降。同时,被农作物富集的有毒物质对人类的健康造成了潜在的威胁。因此,土壤污染的危害是不容忽视的。

栖息在土壤中的动物能对环境的细微变化做出反应,土壤原生动物也不例外。Foissner^[4]认为与其它土壤生物相比,原生动物有如下特征使之更利于成为监测生物:(1)有很大的现存量和生产力,其数量或群落结构的改变能影响土壤的形成及肥力;(2)生长速度快,与周围环境相接触的细胞膜又很薄,因此可以作为预警生物迅速地感知外部环境的微小变化;(3)与细菌等原核生物相比,作为真核生物的原生动物对环境变化的反应与后生动物更为相似;(4)不同分布区的原生动物其形态、生态和遗传分化是很低的^[5-7],因此可以在世界范围内广泛应用;(5)在一些高等生物无法生存的极端环境中,原生动物往往仍能生存甚至生存的很好;(6)许多土壤原生动物是世界性分布的,便于不同地区之间的相互比较。

土壤原生动物通常分为五类:裸肉足虫、有壳肉足

虫、鞭毛虫、纤毛虫和孢子虫。各类群在土壤监测中的作用是不同的。Foissner^[4]认为有壳肉足虫更适合作为土壤环境的指示生物,这是因为它们不仅数量、种类多,较其它土壤原生动物易于计数和识别,而且它们生活方式多样,在土壤中有明显的和深的垂直分布。纤毛虫主要分布在枯枝落叶层,因此,它们只能在有枯枝落叶层的地方(如森林)才能作为指示生物。裸肉足虫和鞭毛虫在土壤中的数量最多,被许多土壤原生动物学家认为是土壤原生动物中最重要的类群,但由于它们多个体很小、身体柔软,且常紧密吸附于土壤颗粒上,不易计数和鉴定种类,因此至少在目前的条件下还不适于作为指示生物。孢子虫全部为寄生,很少被用做指示生物。

近年来,土壤原生动物在环境监测中有如下的应用。

1.1 在农田生态系统环境监测中的应用 农药在现代农业中发挥着越来越大的作用。农药的大量施用可导致农田生态系统的敏感生物种类减少,耐污染的种类相对增多。土壤原生动物是农药污染的敏感指示生物,科学家们在应用原生动物评价土壤农药污染方面做了许多卓有成效的工作。

Wiger^[8]研究发现梨形四膜虫(*Tetrahymena pyriformis*)能在一种杀昆虫剂——高丙体六六六很大的浓度范围(8~100 mg/L)内存活,但即使很低的浓度(2.5 mg/L)也会导致纤毛虫形状改变,并能明显抑制DNA、RNA和蛋白质的合成。

Ekelund 等^[9]研究了一种杀真菌剂——葑丙吗啉对农田土壤原生动物的毒性效应。实验用葑丙吗啉的浓度为25~744 mg/L(仅相当于在农田喷洒时通常所用浓度的1%~30%),用三种土壤原生动物——尾滴虫(*Cercomonas sp.*)、肾形虫(*Colpoda sp.*)、星棘变形虫(*Acanthamoeba sp.*)作为测试对象。结果表明,对于这几种原生动物,葑丙吗啉比两种杀昆虫剂——抗蚜威(pirimicarb)和乐果(dimethoate)的毒性更强。而尾滴虫比肾形虫和星棘变形虫对葑丙吗啉更敏感。此后研究表明其它土壤鞭毛虫与尾滴虫一样或比它对葑丙吗啉更敏感^[10]。

Ekelund^[11]发现随着土壤中葑丙吗啉的浓度从0上升到60 mg/L,50 mg风干土壤中鞭毛虫的种类由开始时的12种到最后彻底消失。而裸肉足虫和纤毛虫在葑丙吗啉60 mg/L的浓度下仍能生存。当土壤中葑丙吗啉的浓度为6.6~750 mg/L时,所有原生动物的生长都会受到抑制。而当土壤中葑丙吗啉的浓度为0.74~6.6 mg/L时,只有异养鞭毛虫的生长受到显著抑制。Eke-

lund 因此认为裸肉足虫和纤毛虫比鞭毛虫对莠丙吗啉有更高的耐受性。

Foissner^[1] 认为对于土壤原生动物而言, 杀虫剂比除草剂毒性更强, 被杀虫剂严重破坏的土壤原生动物的群落结构至少在两个月内难以完全恢复。

1.2 在森林生态系统环境监测中的应用 Petz 等^[12] 研究了一种杀真菌剂——代森锰锌(抗马铃薯晚疫病农药)和高丙体六六六对云杉林土壤生物区系的影响。实验用了两个浓度组: 0.096 g/m² 和 6 g/m²。发现代森锰锌不会对土壤原生动物产生急性致毒效应, 也不会对其绝对数量产生长期影响, 只有土壤纤毛虫的群落结构在施药 90 天后与空白对照组相比有所不同。而高丙体六六六对土壤纤毛虫有着急性致毒效应, 纤毛虫的数量和种群结构在施药 90 天后仍难以恢复。定性研究发现高丙体六六六的施用使膨大肾形虫(*Colpoda inflata*)、齿脊肾形虫(*C. steinii*)以及 *Pseudoplatyophrya nana* 的数量有了不同程度的增加, 这可能与它们是 r 对策者有关, 而原来的优势种 *Avestina ludwigi* 却消失了。Petz 的研究还发现有壳肉足虫比纤毛虫对杀虫剂的抗性更强。

森林的退化过程常伴随着土壤 pH 值的降低和植物生长所需营养物质的丧失。因此, 施加石灰和肥料就成为解决这些问题的方法而被广泛应用。许多森林生态学家和土壤动物学家对这种做法提出异议, 认为这会导致森林生态系统不可预测的长期变化^[13]。Foissner^[1] 认为在 pH < 4 的森林酸性土壤中添加石灰和肥料会使纤毛虫和有壳肉足虫的数量和种类增加。Aesch^[14,15] 用 5 年的时间研究了施用镁肥、干细菌、干真菌等对退化云杉林中土壤动物的影响。研究结果表明施用肥料使土壤的 pH 值升高了 0.9 个单位, 有壳肉足虫和纤毛虫在一些样地的数量显著减少。同时, 原生动物的群落结构也发生了改变, 表现为嗜酸性的有壳肉足虫数量减少, 而嗜中性的有壳肉足虫的种类有所增加。

1.3 在重金属毒性生物测试中的应用 膨大肾形虫和齿脊肾形虫是土壤中常见的两种纤毛虫, 被广泛用做测试生物。许多毒性实验的结果表明它们至少与其它常用的测试生物(如蚯蚓)一样对环境的变化敏感, 而且用土壤原生动物做毒性实验只需 24 小时, 比用任何多细胞生物做的测试快的多。如测种子的发芽率需 5 天, 被欧共体认可的用赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)做测试实验则需 7~14 天才能完成^[4]。

重金属污染物在环境中稳定, 可以与土壤中的矿物相结合而固定。重金属元素的累积不仅对土壤动物

产生毒害作用, 而且可以在食物链中富集, 给人类带来较大的潜在危害。因而土壤重金属污染问题的研究在国内外受到广泛关注, 成为环境科学中的重要研究课题。实践表明, 用土壤原生动物评价重金属的毒性是可行的。

Campbell 等^[16] 用齿脊肾形虫做的毒性实验的结果表明: 重金属的毒性为 Cu > Ni > Zn, 这和 Madoni 等^[17] 用活性污泥中的纤毛虫做毒性实验得出的结果 Cu > Hg > Cd > Zn 一致。Forge 等^[18] 用金属硫酸盐溶液做的毒性实验的结果为 Ni > Cu > Zn, 这与 Pratt 等^[19] 得出的结果 Cd > Cu > Zn 一致。

1.4 其它方面的应用 Treonis 等^[20] 研究了由于大气中 CO₂ 浓度增加导致的气候变暖对土壤原生动物的影响。结果表明原生动物对环境中 CO₂ 浓度的增加是很敏感的, 表现为鞭毛虫的数量增加, 有壳肉足虫的数量显著减少。Treonis 认为这是由于土壤中食物网的改变引起的。此外, Treonis 还发现环境中 CO₂ 浓度的增加并未使植物的生物量和土壤中细菌的数量有所改变。

徐润林等^[21] 研究了垃圾渗滤液浇灌对红壤原生动物群落的影响。结果表明随着淋灌中垃圾渗滤液浓度的上升, 红壤中纤毛虫的种数呈递减趋势。而且即使是较低浓度的垃圾渗滤液也能对土壤原生动物造成较大的伤害。

2 存在的问题

土壤原生动物作为监测生物也有它的不足之处。表现为一是种类多, 鉴定困难; 二是数量大, 计数费时。此外, 在方法学上还有需要完善的地方。

沈韫芬等^[3] 认为土壤原生动物定量时常用的培养法存在以下缺点: 一是只能粗略地估计原生动物的数量, 无法把采样时活动的和形成包囊的数量区分开来; 二是不同的培养基诱导出来的土壤原生动物数量和种类往往不同, 这样就会影响可比度; 三是常会过高或过低地估计原生动物的个体丰度。

Foissner^[22] 认为用传统的培养法计数会过高地估计土壤中活动原生动物的数量, 因为在土壤中原生动物多以包囊的形式存在。Clasbey 等^[23]、Darbyshire 等^[24] 的研究表明在 2~5 cm 深的土层中呈活动状态的纤毛虫很少。

除了培养法外, 对数量的估算还有土壤加水后的悬浮法、空壳充气悬浮法和直接计数法等, 但在应用中都有局限性。

Fredslund 等^[25] 首次采用最或然数 PCR 法(Most Probable-Number-PCR)测定了土壤中一种常见鞭毛虫

Heteromita globosa 的数量，并取得了比较满意的结果。

目前已知的土壤原生动物有 1600 余种，但据估计这仅占实际种类的 20% ~ 30%^[4]。大部分土壤原生动物只是悄无声息地生活在我们的脚下，却不为人们所知。因此，分类学上的欠缺也是阻碍土壤原生动物作为监测生物的瓶颈。

3 展望

淡水原生动物作为淡水生态系统的指示生物由来已久，上世纪初就已得到广泛认可，上世纪的 50、60 年代获得很大发展，目前的工作可以说是已经到了比较完善的程度^[26]。在我国，水生原生动物在水环境的监测中得到广泛应用，已建立了用原生动物群落的结构和功能参数监测水质并预报化学品安全浓度的方法及指标体系，如 1991 年由国家技术监督局、国家环境保护局发布的《水质微型生物群落监测——PFU 法》（中华人民共和国国家标准 GB/T12990-91）。与水生原生动物相比，土壤原生动物用于环境监测才刚刚起步。在我国，这方面的工作更是凤毛麟角。相信随着人们对土壤原生动物在生态系统中重要性认识的进一步加深以及土壤原生动物研究方法的逐步完善，土壤原生动物在环境监测中必将发挥越来越大的作用。

参 考 文 献

- [1] Foissner W. Soil protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and testateans, bioindicators, and guide to the literature. *Progress in Protistology*, 1987, **2**:69 ~ 212.
- [2] Stout J D. The protozoan fauna of a seasonally inundated soil under grassland. *Soil Biol Biolchem*, 1984, **16**:121 ~ 125.
- [3] 沈韫芬, 刘江, 宋碧玉等. 原生动物. 见: 尹文英等著. 中国亚热带土壤动物. 北京: 科学出版社, 1992. 97 ~ 156.
- [4] Foissner W. Soil protozoa as bioindicators: pros and cons, methods, diversity, representative examples. *Agric Ecosyst Environ*, 1999, **74**:95 ~ 112.
- [5] Bowers N, Pratt J R, Beeson D, et al. Comparative evaluation of soil toxicity using lettuce seeds and soil ciliates. *Environ Toxicol Chem*, 1997, **16**:207 ~ 213.
- [6] Wanner M, Nahring J M, Fischer R. Molecular identification of clones of testate amoebae using single nuclei for PCR amplification. *Europ J Protistol*, 1997, **33**:192 ~ 199.
- [7] Xu Z, Bowers N, Pratt J R. Variations in morphology, ecology, and toxicological responses of *Colpoda inflata* (Stokes) collected from five biogeographic realms. *Europ J Protistol*, 1997, **33**:136 ~ 144.
- [8] Wiger R. Variability of lindane toxicity in *Tetrahymena pyriformis* with special reference to liposomal lindane and the surfactant tween 80. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1985, **35**:452 ~ 459.
- [9] Ekelund F, Ronn R, Christensen S. The effect of three different pesticides on soil protozoan activity. *Pesticide Science*, 1994, **42**:71 ~ 78.
- [10] Ekelund F, Christensen S. Heterotrophic flagellates in soil, and their potential as bioindicators. In: *Protistological Actualities, Proceedings of the Second European Congress of Protistology*. France: Clermont-Ferrand, 1996. 179 ~ 184.
- [11] Ekelund F. The impact of fungicide fenpropimorph (Corbel) on bacterivorous and fungivorous protozoa in soil. *Journal of Applied Ecology*, 1999, **36**:233 ~ 243.
- [12] Petz W, Foissner W. The effects of mancozeb and lindane on the soil microfauna of a spruce forest: a field study using a completely randomized block design. *Biol Fertil Soils*, 1989, **7**:225 ~ 231.
- [13] Funke W. Wirbellose Tiere als Bioindikatoren in Waldern. *VDI Berichte*, 1987, **609**:133 ~ 176.
- [14] Aescht E, Foissner W. Effects of organically enriched magnesite fertilizers on the soil ciliates of a spruce forest. *Pedobiologia*, 1993, **37**: 321 ~ 335.
- [15] Aescht E, Foissner W. Effects of organically enriched magnesite fertilizers on the testate amoebae of a spruce forest. *Eur J Soil Biol*, 1994, **30**: 79 ~ 92.
- [16] Campbell C D, Warren A, Cameron C M, et al. Direct toxicity assessment of two soils amended with sewage sludge contaminated with heavy metals using a protozoan (*Colpoda steinii*) bioassay. *Chemosphere*, 1997, **34**:501 ~ 514.
- [17] Madoni P, Esteban G, Gorbi G. Acute toxicity of cadmium, copper, mercury, and zinc to ciliates from activated sludge plants. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1992, **49**:900 ~ 905.
- [18] Forge T A, Berrow M L, Derbyshire J F, et al. Protozoan bioassays of soil amended with sewage sludge and heavy metals, using the common soil ciliate *Colpoda steinii*. *Biol Fertil Soils*, 1993, **16**:282 ~ 286.
- [19] Pratt J R, Mochan D, Xu Z. Rapid toxicity estimation using soil ciliates: sensitivity and bioavailability. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1997, **58**:387 ~ 393.
- [20] Treonis A M, Lussenhop J F. Rapid response of soil protozoa to elevated CO₂. *Biol Fertil Soils*, 1997, **25**:60 ~ 62.
- [21] 徐润林, 莫燕. 垃圾渗滤液浇灌对红壤原生动物群落的影响. *应用与环境生物学报*, 2001, **7**(1):41 ~ 44.
- [22] Foissner W. Soil protozoa as bioindicators in ecosystems under human influence. In: Derbyshire J F ed. *Soil Protozoa*. England: CAB International Wallingford Oxon, 1994. 147 ~

- 193.
- [23] Glasbey C A, Horgan G W, Darbyshire J F. Image analysis and three-dimensional modelling of pores in soil aggregates. *Journal of Soil Science*, 1991, **42**:479 ~ 486.
- [24] Darbyshire J F, Griffiths B S, Davidson M S, et al. Ciliate distribution amongst soil aggregates. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol*, 1989, **26**:47 ~ 56.
- [25] Fredslund L, Ekelund F, Jacobsen C S, et al. Development and application of a Most-Probable-Number-PCR assay to quantify flagellate population in soil samples. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**(4):1 613 ~ 1 618.
- [26] Curds C R. Protozoa in the Water Industry. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.