应用生态学报 2017年5月 第28卷 第5期 http://www.cjae.net
Chinese Journal of Applied Ecology, May 2017, **28**(5): 1668-1678 DOI: 10.13287/j.1001-9332.201705.030

甘南高寒草甸土壤纤毛虫对磷酸氢二铵添加的响应

宁应之[1*] 王婷婷[1] 武维宁[1] 陈凌云[1] 杜国祯[2]
([1]西北师范大学生命科学学院, 兰州 730070; [2]兰州大学生命科学学院, 兰州 730000)

摘 要 为研究磷酸氢二铵(DAP)添加对土壤纤毛虫群落结构的影响,于2012年4月在甘南高寒草甸选取典型样地,在0~120 g·m^{-2}浓度区间内设置5个添加水平,采用"非淹没培养皿法"、活体观察法和"3级10倍环式稀释法"测定土壤纤毛虫物种数和密度,同时测定了土壤相关环境因子(含水量、pH值、总氮、总磷、有机碳).共获得土壤纤毛虫129种,隶属9纲17目31科46属.对照组的土壤纤毛虫物种数和物种多样性指数均大于施肥处理,且随着施肥量的增大,土壤纤毛虫物种数减少,物种多样性减小,但其密度随施肥量的增大而增加.对照土壤纤毛虫优势类群为刺钩目,随着施肥量的增大,土壤纤毛虫优势类群更新为肾形目.土壤纤毛虫群落结构和环境因子的冗余分析表明,总磷、土壤温度和含水量是影响甘南高寒草甸土壤纤毛虫群落分布的关键环境因子.

关键词 群落结构; 高寒草甸; 施肥; 冗余分析

Response of soil ciliate to diammonium phosphate addition in alpine meadow of southern Gansu, Northwest China.

NING Ying-zhi[1*], WANG Ting-ting[1], WU Wei-ning[1], CHEN Ling-yun[1], DU Guo-zhen[2] ([1]*College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou* 730070, *China*; [2]*College of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou* 730000, *China*).

Abstract: In typical alpine meadow of southern Gansu Province, five sampling sites by fertilizer diammonium phosphate (DAP) addition ranging from 0 g·m^{-2} to 120 g·m^{-2} were set in order to examine the response of soil ciliate communities to different concentrations of DAP. An investigation on the abundance and species richness of soil ciliates was carried out by non-flooded Petri dish, observation *in vivo* and three-level ten-fold dilution methods. Soil physicochemical factors including soil water content, pH value, contents of soil total nitrogen, total phosphorus and organic carbon at different sites were also measured. It was found that there was a total of 129 species belonging to 9 classes, 17 orders, 31 families and 46 genera. Lower species richness and diversity but higher ciliate abundance were observed in the soils with higher concentrations of DAP compared with the control. The dominant group Haptorida was substituted by Colpodida from the control to the soils with the increase of fertilizer application. The results of redundancy analysis indicated that the gradient changes of total phosphorus, soil temperature and water content were the main driving factors for the change of soil ciliate community distribution.

Key words: community structure; alpine meadow; fertilization; redundancy analysis.

土壤纤毛虫是原生动物的重要类群之一,作为土壤微型生物系统的重要组成部分,在生态系统的物质循环和能量流动中发挥着不可代替的作用[1].与其他土壤生物相比,纤毛虫具有多样性高、生产力强、遗传分化高、对外界环境的微小变化十分敏感等特点,因而土壤纤毛虫可以作为优良的指示生物来评价、监测和预报土壤质量的变化[2-3].

草地施肥作为一项维持草地生态系统养分平衡、恢复退化草地的重要措施,能迅速、便捷地补充流失土壤物质,增加牧草产量、提高牧草品质[4-6].施肥在对土壤理化性质产生影响的同时,也改变着土壤生物的群落结构[7].肥料种类及其用量的不同对土壤生物及其多样性的影响程度又存在明显差异[8].施用氮肥可以促进土壤中有效氮的积累,刺激

本文由国家自然科学基金项目(41361055,40930533)资助 This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (41361055, 40930533).
2016-09-23 Received, 2017-02-23 Accepted.
*通讯作者 Corresponding author. E-mail: skyb514@qq.com

植物生长，维持和提高土壤中的有效碳含量，但高氮量施肥对土壤中中型螨类和线虫的生存发展有不利影响[9]．施用磷肥有利于原生动物数量的增长，但高磷量土壤则不利于生物多样性的提高[10]．

甘南地处青藏高原东部边缘，是我国主要草原牧区之一，境内有草地面积272.44 万 hm^2，占甘南总面积的70.3%[11]．磷酸氢二铵是1 种含氮、磷两种营养成分的高浓度速效肥料，在甘南干旱少雨的草地，磷酸氢二铵可以作为基肥、种肥、追肥施用，满足各种植物和土壤对氮、磷元素的需求．国内外有关磷酸氢二铵对草地生态系统中地下微型生物群落影响的研究较少[12]．在甘南草原生态系统开展磷酸氢二铵的施肥试验研究，对于草地保护、土地利用和土壤质量监测有十分重要的现实意义和科学价值．鉴于此，在甘南藏族自治州卓尼县洼拉卡地区选取典型草甸草地为研究样地，设置不同磷酸氢二铵人工施加试验，调查土壤纤毛虫群落结构随磷酸氢二铵浓度增加的变化情况，旨在探讨添加磷酸氢二铵对土壤纤毛虫生长和群落组成的影响，为揭示纤毛虫群落生态学响应与土壤间的关系、评估土壤质量状态及合理施肥提供重要的科学资料．

1　研究地区与研究方法

1.1　研究区概况

研究样地位于甘肃省甘南藏族自治州卓尼县境内(34°10′—35°10′ N，102°40′—104°2′ E，图 1)．该地区属明显的高原大陆性高寒湿润区，海拔 3500 m，年平均气温 4.6 ℃，年平均降水量 620 mm，无霜期 119 d，年平均日照时数 2583.9 h，光能丰富、日照长但热量不足．主要土壤类型为亚高山草甸土．植被类型属于典型的高寒草甸植被，较典型的优势种为莎草科物种(如线叶嵩草 *Kobresia capillifolia*、矮生嵩草 *K. humilis*)、禾本科物种(如垂穗披碱草 *Elymus nutans*、波伐早熟禾 *Poa poophagorum*)、菊科物种(如瑞苓草 *Saussurea nigrescens*、大籽蒿 *Artemisia sieversiana*)及毛茛科(如小花草玉梅 *Anemone rivularis*、丝叶毛茛 *Ranunculus tanguticus*)的部分物种．

试验区设置在地势平坦开阔的草地上，坡度约为 3°．施肥只于生长季初进行，即 2011 年 5 月下旬施一次肥，所施肥料为农业化肥磷酸氢二铵 $(NH_4)_2HPO_4$．挑选多云的阴天将磷酸氢二铵颗粒均匀洒施，这样当天或次日的降雨能够保证所施肥料在短期内能溶于土壤中．施肥处理为 0、30、60、90、120 $g \cdot m^{-2}$ 共 5 个水平，分别标记为 W_0、W_1、W_2、W_3、W_4．每个水平重复 5 次，共有 25 个小区，随机分布．每区面积为 10 m×6 m，样区 4 角用木桩标记，各区间有 1 m 的间距，间距不施肥．

1.2　样本采集与处理

分别于 2012 年 4 月(春季)、7 月(夏季)、10 月(秋季)、12 月(冬季)采集土样．在上述各样点内用 15 mL 圆筒形采样器以“梅花五点法”采集 0～5 cm 土层土样，每个季节取 25 份，4 个季节共 100 份．在采样的同时测量土壤温度．土样带回实验室后分开处理，新鲜土样用于测定 pH 值和土壤含水量，剩余土样室内自然风干，用于土壤纤毛虫定性观察和定量培养．

1.3　测定项目与方法

土温利用曲管地温计(温度范围：-10～60 ℃)测定，土壤 pH 利用 TSS-851 土壤湿度酸度计(四平市电子技术研究所)测定，土壤含水量测定使用烘干法，总氮测定采用凯氏定氮法，总磷测定采用氢氧化钠碱熔-钼锑抗比色法，有机碳测定采用重铬酸钾容量法．

定性研究采用“非淹没培养皿法”[13]．鉴定方法包括活体观察和染色观察，染色技术参照 Wilbert[14] 的蛋白银染法．定量分析采用 Stout[15] 的“3 级 10 倍”环式稀释法．

1.4　数据分析

1.4.1 优势类群和罕见类群划分　通过对鉴定到的物种进行统计分析，将物种数最多的目定义为优势类群，次多的目定义为次优势类群，单种的目定义为罕见类群[16-17]．

1.4.2 物种多样性指数　根据 Gleason-Margalef 物种多样性指数公式：

$$d=\frac{S-1}{\ln N}$$

式中：S 为类群数(50 g 土样中观察到的所有物种数)；N 为个体总数[土样中纤毛虫密度×土样质量(50 g)]．d 值大小表明物种多样性的高低[18]．

1.4.3 C/P 系数　肾形纲纤毛虫(r 对策者)种类数与异毛纲、旋毛纲和瓶纤纲纤毛虫(k 对策者)种类数的比率即为 C/P 系数．C/P 系数能在一定程度上反映土壤纤毛虫所在生境环境条件的恶劣程度，在普通生境中 C/P 系数小于或等于 1，而在不可预测的极端环境中 C/P 系数大于 1[19]．

对不同施肥水平下的相关指标进行单因素方差分析，对样点-季节间的相关指标进行无重复双因子方差分析．应用 PRIMER 6 软件包对不同施肥处理

下各个样点的物种分布进行聚类分析和多维尺度分析(MDS);使用软件 Canoco 4.5 对各样点各个季节的土壤环境因子数据(各季节总氮、总磷和有机碳均用秋季数据作图)和土壤纤毛虫物种数据进行冗余分析(RDA),得到物种与环境因子间的相关性.方差分析均通过 SPSS 19.0 软件实现($\alpha = 0.05$);用 Origin 8.0 软件作图;用 Arcview GIS 9.3 作图.

2 结果与分析

2.1 不同施肥量对土壤环境因子的影响

表 1 显示,施肥对土温、土壤含水量和 pH 没有显著影响,但随着施肥量的增加,总氮、总磷、有机碳含量均发生了显著变化,因施肥只在 5 月下旬进行一次,总氮、总磷和有机碳只在秋季测定,因而只有秋季数据.总氮和有机碳含量在施肥量为 60 g · m^{-2} 时最高,当施肥量增加到 90 g · m^{-2} 时逐渐降低;总磷含量随施肥量的增加而显著增加.

2.2 不同施肥量对土壤纤毛虫群落的影响

2.2.1 纤毛虫群落组成 本研究共鉴定到 129 种纤毛虫,隶属 9 纲 17 目 31 科 46 属.其中刺钩目(Haptorida)为优势类群,有 26 种,占物种总数的 20.2%;散毛目(Sporadotrichida)25 种,占物种总数的 19.4%,为次优势类群;篮口目(Nassulida)和小胸目(Microthoracida)各 1 种,为罕见类群,占物种总数的 1.6%;常见类群有异毛目(Heterotrichida)、游仆虫目(Euplotida)、排毛目(Stichotrichida)、尾柱虫目(Urostylida)、瓶纤目(Armophorida)、肾形目(Colpodida)、篮环目(Cyrtolophosidida)、前管目(Prorodontida)、帆口目(Pleuronematida)、嗜污目(Philaslasterida)、四膜目(Tetrahymenida)、固着目(Sessilida)和戎装虫目(Chlamydodontida)等 13 类,合计占物种总数的 58.9%.

不同处理间纤毛虫群落组成存在一定差异(图 2).其中,W_0 纤毛虫群落组成最复杂,W_1、W_2、W_3 与 W_0 有一定的差异,W_4 纤毛虫群落组成最简单.在 W_0 和 W_2 中,刺钩目为优势类群;在 W_1 和 W_3 中,散毛目

表 1 各采样点环境因子

Table 1 Environmental factors in various sampling sites (mean±SE, $n=5$)

项目 Item	季节 Season	施肥量 Fertilization rate (g · m^{-2}) 0	30	60	90	120
温度 Temperature (℃)	春 Spring	3.40±0.04a	3.30±0.02b	3.10±0.04c	2.80±0.02b	3.15±0.02bc
	夏 Summer	17.30±0.20a	15.20±0.05b	13.60±0.20b	10.00±0.20b	14.02±0.20b
	秋 Autumn	9.10±0.21ab	8.70±0.04ab	7.40±0.06a	6.50±0.12b	7.93±0.03ab
	冬 Winter	2.20±0.02a	2.00±0.02b	2.00±0.03b	1.80±0.01b	2.00±0.02b
	平均 Average	8.00±3.45a	7.30±3.01a	6.53±2.63a	5.28±1.87a	6.78±2.74a
含水量 Water content (%)	春 Spring	28.54±1.80a	30.84±2.14a	30.54±1.68a	31.07±2.48a	29.26±2.76a
	夏 Summer	32.23±1.50a	34.09±1.19a	33.73±1.85a	35.62±0.36a	33.25±1.59a
	秋 Autumn	33.71±2.13a	32.78±3.01a	33.65±0.87a	31.24±2.50a	33.42±3.29a
	冬 Winter	26.88±4.66a	31.86±2.11a	28.48±2.68a	26.83±1.54a	26.72±1.24a
	平均 Average	30.34±1.58a	32.39±0.69a	31.60±1.28a	31.19±1.79a	30.66±1.63a
pH	春 Spring	6.89±0.04a	6.90±0.03a	6.84±0.03a	6.85±0.04a	6.81±0.02a
	夏 Summer	6.90±0.04ab	7.02±0.05a	6.91±0.03ab	6.91±0.05ab	6.88±0.06b
	秋 Autumn	6.85±0.05b	6.92±0.04ab	6.90±0.02ab	6.94±0.02ab	6.98±0.02a
	冬 Winter	6.97±0.00ab	6.98±0.01ab	6.98±0.01ab	6.94±0.03b	6.98±0.01a
	平均 Average	6.90±0.03a	6.96±0.03a	6.91±0.03a	6.91±0.02a	6.91±0.04a
总氮 Total nitrogen (g · kg^{-1})	春 Spring	–	–	–	–	–
	夏 Summer	–	–	–	–	–
	秋 Autumn	2.27±0.05d	2.91±0.07b	3.29±0.07a	2.81±0.02bc	2.72±0.03c
	冬 Winter	–	–	–	–	–
总磷 Total phosphorus (g · kg^{-1})	春 Spring	–	–	–	–	–
	夏 Summer	–	–	–	–	–
	秋 Autumn	0.72±0.05d	0.96±0.08c	1.24±0.02b	1.29±0.01ab	1.41±0.03a
	冬 Winter	–	–	–	–	–
有机碳 Organic carbon (g · kg^{-1})	春 Spring	–	–	–	–	–
	夏 Summer	–	–	–	–	–
	秋 Autumn	0.13±0.01c	0.17±0.01ab	0.19±0.01a	0.16±0.01ab	0.16±0.01bc
	冬 Winter	–	–	–	–	–

同行不同字母表示差异显著($P<0.05$) Different letters in the same row meant significant difference at 0.05 level. 下同 The same below.

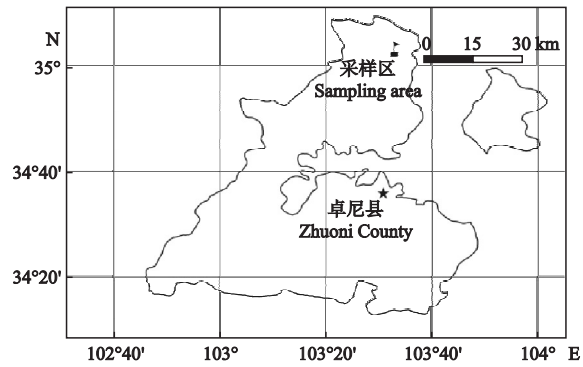


图 1　研究区地理位置

Fig.1　Location of study area.

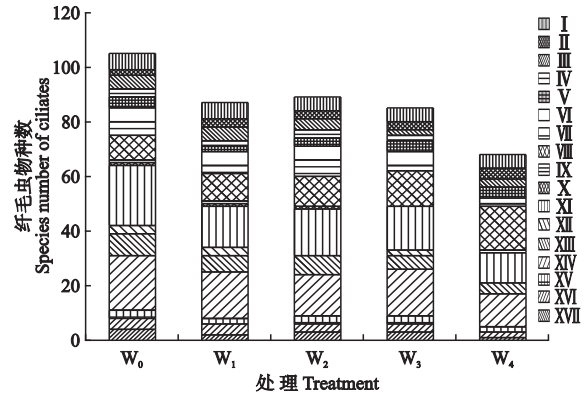


图 2　各样点土壤纤毛虫群落组成

Fig.2　Community composition of soil ciliates in various sampling sites.

W_0: 0 g $(NH_4)_2HPO_4 \cdot m^{-2}$; W_1: 30 g $(NH_4)_2HPO_4 \cdot m^{-2}$; W_2: 60 g $(NH_4)_2HPO_4 \cdot m^{-2}$; W_3: 90 g $(NH_4)_2HPO_4 \cdot m^{-2}$; W_4: 120 g $(NH_4)_2HPO_4 \cdot m^{-2}$. 下同 The same below. Ⅰ: 戎装虫目 Chlamydodontida; Ⅱ: 固着目 Sessilida; Ⅲ: 四膜目 Tetrahymenida; Ⅳ: 嗜污目 Philaslasterida; Ⅴ: 帆口目 Pleuronematida; Ⅵ: 前管目 Prorodontida; Ⅶ: 蓝环目 Cyrtolophosidida; Ⅷ: 肾形目 Colpodida; Ⅸ: 小胸目 Microthoracida; Ⅹ: 蓝口目 Nassulida; Ⅺ: 刺钩目 Haptorida; Ⅻ: 瓶纤目 Armophorida; ⅩⅢ: 尾柱虫目 Urostylida; ⅩⅣ: 散毛目 Sporadotrichida; ⅩⅤ: 排毛目 Stichotrichida; ⅩⅥ: 游仆虫目 Euplotida; ⅩⅦ: 异毛目 Heterotrichida.

为优势类群;在 W_4 中,肾形目为优势类群.

W_0、W_1、W_2、W_3、W_4 各样点 r 对策者(肾形目和篮环目)与 k 对策者(异毛目、游仆虫目、排毛目、散毛目、尾柱虫目和瓶纤目)的比值分别为 0.3333、0.3824、0.5484、0.4545、0.8095,总体呈升高的趋势.说明施肥使得肾形虫类相对数量增加,多膜类纤毛虫相对数量减少.

2.2.2 优势种　将各季度、各处理组中出现频次相对较高的物种作为优势种.肾形虫属(*Colpoda*)的种类如小肾形虫(*Colpoda minima*)、盘状肾形虫(*Colpoda patella*)、齿脊肾形虫(*Colpoda steini*)和土壤肾形虫(*Colpoda edaphoni*)在大部分处理中成为优势种,其中小肾形虫在 4 个季节的各个处理中均为优势种;亮刀口虫(*Spathidium lucidum*)在春季和秋季的 4 个处理(W_0、W_2、W_3、W_4)、夏季的 1 个处理(W_4)以及冬季的 3 个处理(W_2、W_3、W_4)中均为优势种.可见,肾形虫属的一些种类和亮刀口虫所适应的环境范围较为广泛.

从各个处理组的优势种来看,对照 W_0 的优势种为:旋口虫属 1 种(*Spirostomum* sp.)、活动恩氏虫(*Engelmanniella mobilis*)、叶绿尖毛虫(*Oxytricha chlorelligera*)、卡锐尼片尾虫(*Urosoma karini*)和小肾形虫;W_1 的优势种为:透明赭虫(*Blepharisma hyalinum*)、小肾形虫、土壤肾形虫、苔藓膜袋虫(*Cyclidium muscicola*)和非游斜管虫(*Chilodonella aplanata*);W_2 的优势种为:小肾形虫;W_3 的优势种为:矛状尖毛虫(*Oxytricha lanceolata*)、盘状肾形虫和小肾形虫;W_4 的优势种为:亮刀口虫、僧帽肾形虫(*Colpoda cucullus*)、盘状肾形虫、小肾形虫和豆形肾形虫(*Colpoda colpidiopsis*).

2.2.3 广布种和特有种　21 种纤毛虫在所有样点都有出现,为广布种,占纤毛虫物种总数的 16.3%,分别为游仆虫属 1 种(*Euplotes* sp.1)、活动恩氏虫、似织毛虫(*Histriculus similis*)、穴居斯道克虫(*Sterkiella cavicola*)、近缘殖口虫(*Gonostomum affine*)、尾瘦尾虫(*Uroleptus caudatus*)、浮雕刀口虫(*Spathidium scalpriforme*)、亮刀口虫、尾刀口虫(*Spathidium caudatum*)、刀刀口虫(*Spathidium spathula*)、卑怯管叶虫(*Trachelophyllum pusillum*)、齿脊肾形虫、小肾形虫、土壤肾形虫、背沟肾形虫(*Colpoda henneguyi*)、简裸口虫(*Holophrya simplex*)、瓜形膜袋虫(*Cyclidium citrullus*)、闪瞬目虫(*Glaucoma scintillans*)、杯形钟虫(*Vorticella cupifera*)、点钟虫(*Vorticella picta*)和帽斜管虫(*Chilodonella capucina*).对照中特有种有 3 种,占纤毛虫物种总数的 2.3%,分别为旋口虫属 1 种、陆生拟裸口虫(*Pseudoholophrya terricola*)和长颈虫属 1 种(*Dileptus* sp.).施肥处理中特有种有 24 种,占纤毛虫物种总数的 18.6%.分别为澳洲管膜虫(*Cyrtohymena australis*)、水藓宽口虫(*Steinia sphagnicola*)、尖锐片尾虫(*Urosoma acuminata*)、阔柱片尾虫(*Urosoma macrostyla*)、有尾片尾虫(*Urosoma caudata*)、丛林尾全列虫(*Caudiholosticha sylvatica*)、斜口虫属 1 种(*Enchelys* sp.)、扩展刀口虫(*Spathidium extensum*)、刀口虫属 1 种(*Spathidium* sp.1)、双板虫属 1 种(*Bilamellophrya* sp.)、盘状肾形虫、似肾形虫(*Colpoda simulans*)、豆形肾形虫、肾形

虫属 1 种(*Colpoda* sp.2)、肾形虫属 1 种(*Colpoda* sp. 3)、齿脊拟肾形虫(*Paracolpoda steini*)、贪食匙口虫(*Platyophrya vorax*)、沟裸口虫(*Holophrya sulcata*)、前管虫属 1 种(*Prorodon* sp.1)、椭圆嗜腐虫(*Sathrophilus ovatus*)、钟形钟虫(*Vorticella campanula*)、八钟虫(*Vorticella octava*)和僧帽斜管虫(*Chilodonella cucullulus*).

2.2.4 物种分布　通过统计各样点 4 个季节的土壤纤毛虫分布情况(表 2),得出 W_0 物种最为丰富,有 105 种,占物种总数的 81.0%;W_1、W_2 和 W_3 分别有 87、89 和 85 种,分别占物种总数的 67.4%、69.0%和 64.3%;W_4 纤毛虫物种最少,有 68 种,占物种总数的 52.7%.回归分析表明,随着施肥量的增加各样点纤毛虫物种数呈下降趋势,回归方程为 $\hat{y} = -0.253x + 102.00$ ($R^2 = 0.83$, $P < 0.05$).

图 3 显示,在 70%相似性水平上各样点被分为 3 个组,W_0 与 W_2 为 1 组,W_1 与 W_3 为 1 组,W_4 独立成为 1 组.ANOSIM 分析显示,不同施肥样点的土壤纤毛虫分布存在显著差异($R^2 = 0.59$, $P = 0.001$).表明 W_0 和 W_2 物种分布相似,而与 W_1 和 W_3 相异,W_4 与其他处理差异性较大.说明施肥量太高可能会影响纤毛虫物种的分布.

表 2　各采样点土壤纤毛虫分布

Table 2　Distribution of soil ciliates in various sampling sites

物种 Species	春季 Spring					夏季 Summer					秋季 Autumn					冬季 Winter				
	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4
透明赭虫 *Blepharisma hyalinum*	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0
单核赭虫 *Blepharisma steini*	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1
侧走赭虫 *Blepharisma lateritium*	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
旋口虫属 1 种 *Spirostomum* sp.	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
粘游仆虫 *Euplotes muscicola*	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
苔藓游仆虫 *Euplotes muscorum*	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0
游仆虫属 1 种 *Euplotes* sp.1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
游仆虫属 1 种 *Euplotes* sp.2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
活动恩氏虫 *Engelmanniella mobilis*	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0
瓦拉虫属 1 种 *Wallackia* sp.	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
角毛虫属 1 种 *Keronopsis* sp.	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
大弹跳虫 *Halteria grandinella*	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
澳洲管膜虫 *Cyrtohymena australis*	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
苔藓管膜虫 *Cyrtohymena muscorum*	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0
犬牙管膜虫 *Cyrtohymena candens*	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0
似织毛虫 *Histriculus similis*	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
野生假膜虫 *Notohymena selvatica*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
小尖毛虫 *Oxytricha minor*	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0
颗粒尖毛虫 *Oxytricha granulifera*	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
膜口尖毛虫 *Oxytricha hymenostoma*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
矛状尖毛虫 *Oxytricha lanceolata*	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0
长颗粒尖毛虫 *Oxytricha longigranulosa*	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
叶绿尖毛虫 *Oxytricha chlorelligera*	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
尖毛虫属 1 种 *Oxytricha* sp.	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
苔藓斯道克虫 *Sterkiella histriomuscorum*	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
穴居斯道克虫 *Sterkiella cavicola*	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
四核斯道克虫 *Sterkiella quadrinucleatus*	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
斯道克虫属 1 种 *Sterkiella* sp.	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1
水藓宽口虫 *Steinia sphagnicola*	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
尖锐片尾虫 *Urosoma acuminata*	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
阔柱片尾虫 *Urosoma macrostyla*	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
有尾片尾虫 *Urosoma caudata*	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
卡锐尼片尾虫 *Urosoma karini*	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0
刚强殖口虫 *Gonostomum strenuum*	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
近缘殖口虫 *Gonostomum affine*	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0
殖口虫属 1 种 *Gonostomum* sp.	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1
丛林尾全列虫 *Caudiholosticha sylvatica*	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

续表 2
Table 2　Continued

物种 Species	春季 Spring					夏季 Summer					秋季 Autumn					冬季 Winter				
	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4
绿全列虫 *Holosticha viridis*	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0
丛林全列虫 *Holosticha sylvatica*	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
全列虫属 1 种 *Holosticha* sp.1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1
全列虫属 1 种 *Holosticha* sp.2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
尾瘦尾虫 *Uroleptus caudatus*	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
差异瘦尾虫 *Uroleptus dispar*	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
苔藓瘦尾虫 *Uroleptus muscorum*	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
大尾柱虫 *Urostyla grandis*	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
细长扭头虫 *Metopus hasei*	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0
如意扭头虫 *Metopus es*	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
驼扭头虫 *Metopus gibbus*	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
柱纤口虫 *Chaenea teres*	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
简单斜口虫 *Enchelys simplex*	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
斜口虫属 1 种 *Enchelys* sp.	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
陆生拟裸口虫 *Pseudoholophrya terricola*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
苔叶虫属 1 种 *Bryophyllum* sp.	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
苔藓刀口虫 *Spathidium muscicola*	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
浮雕刀口虫 *Spathidium scalpriforme*	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0
亮刀口虫 *Spathidium lucidum*	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1
尾刀口虫 *Spathidium caudatum*	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0
刀刀口虫 *Spathidium spathula*	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0		0	1	0	1	1	1
长刀口虫 *Spathidium procerum*	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
扩展刀口虫 *Spathidium extensum*	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
长尾刀口虫 *Spathidium longicaudatum*	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0
棍刀口虫 *Spathidium claviforme*	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
刀口虫属 1 种 *Spathidium* sp.1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
刀口虫属 1 种 *Spathidium* sp.2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0
念珠长颈虫 *Dileptus monilatus*	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
裂口长颈虫 *Dileptus amphileptoides*	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
高山长颈虫 *Dileptus alpinus*	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
明显长颈虫 *Dileptus conspicuous*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
长颈虫属 1 种 *Dileptus* sp.	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
双板虫属 1 种 *Bilamellophrya* sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
长核斜齿虫 *Enchelyodon longinucleatus*	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
卑怯管叶虫 *Trachelophyllum pusillum*	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
智利管叶虫 *Trachelophyllum chilense*	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
扭曲管叶虫 *Trachelophyllum sigmoides*	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
俏篮口虫 *Nassula gracilis*	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
钝单镰虫 *Drepanomonas obtusa*	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
齿脊肾形虫 *Colpoda steini*	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1
僧帽肾形虫 *Colpoda cucullus*	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
盘状肾形虫 *Colpoda patella*	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1
膨胀肾形虫 *Colpoda inflata*	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
小肾形虫 *Colpoda minima*	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
似肾形虫 *Colpoda simulans*	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1
肾形肾形虫 *Colpoda reniformis*	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
土壤肾形虫 *Colpoda edaphoni*	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
豆形肾形虫 *Colpoda colpidiopsis*	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
背沟肾形虫 *Colpoda henneguyi*	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1
东方肾形虫 *Colpoda orientalis*	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
肾形虫属 1 种 *Colpoda* sp.1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
肾形虫属 1 种 *Colpoda* sp.2	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0
肾形虫属 1 种 *Colpoda* sp.3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0

续表 2
Table 2 Continued

物种 Species	春季 Spring					夏季 Summer					秋季 Autumn					冬季 Winter				
	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4	W_0	W_1	W_2	W_3	W_4
肾形虫属 1 种 *Colpoda* sp.4	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
肾形虫属 1 种 *Colpoda* sp.5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
长篮环虫 *Cyrtolophosis elongata*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
大篮环虫 *Cyrtolophosis major*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
篮环虫属 1 种 *Cyrtolophosis* sp.	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
丛林拟篮环虫 *Pseudocyrtolophosis alpestris*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
大口匙口虫 *Platyophrya macrostoma*	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
贪食匙口虫 *Platyophrya vorax*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
沟裸口虫 *Holophrya sulcata*	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
简裸口虫 *Holophrya simplex*	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1
腔裸口虫 *Holophrya atra*	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
多变斜板虫 *Plagiocampa mutabilis*	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0
圆柱前管虫 *Prorodon teres*	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
前管虫属 1 种 *Prorodon* sp.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
前管虫属 1 种 *Prorodon* sp.2	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
瓜形膜袋虫 *Cyclidium citrullus*	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1
苔藓膜袋虫 *Cyclidium muscicola*	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
长圆膜袋虫 *Cyclidium oblongum*	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
瞬目膜袋虫 *Cyclidium glaucoma*	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0
苔藓嗜腐虫 *Sathrophilus muscorum*	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
椭圆嗜腐虫 *Sathrophilus ovatus*	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
纺锤康纤虫 *Cohnilemebus fusiformis*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
蝶形康纤虫 *Cohnilemebus vexillarius*	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
闪瞬目虫 *Glaucoma scintillans*	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
肾形瞬目虫 *Glaucoma reniformis*	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
大口瞬目虫 *Glaucoma macrostoma*	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
吻四膜虫 *Tetrahymena rostrata*	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
梨形四膜虫 *Tetrahymena pyriformis*	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
钟形钟虫 *Vorticella campanula*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
杯形钟虫 *Vorticella cupifera*	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
点钟虫 *Vorticella picta*	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1
八钟虫 *Vorticella octava*	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
僧帽斜管虫 *Chilodonella cucullulus*	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
帽斜管虫 *Chilodonella capucina*	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0
非游斜管虫 *Chilodonella aplanata*	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1
钩刺斜管虫 *Chilodonella uncinata*	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0
巴维利亚斜管虫 *Chilodonella bavariensis*	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
斜管虫属 1 种 *Chilodonella* sp.	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0
伪拟斜管虫属 1 种 *Pseudochilodonopsis* sp.	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1
共计 Total	48	42	40	35	38	56	38	35	35	32	42	41	38	37	33	54	39	38	31	29

“1”表示有分布，“0”表示无分布 Presence indicated by ‘1’, and absence indicated by ‘0’.

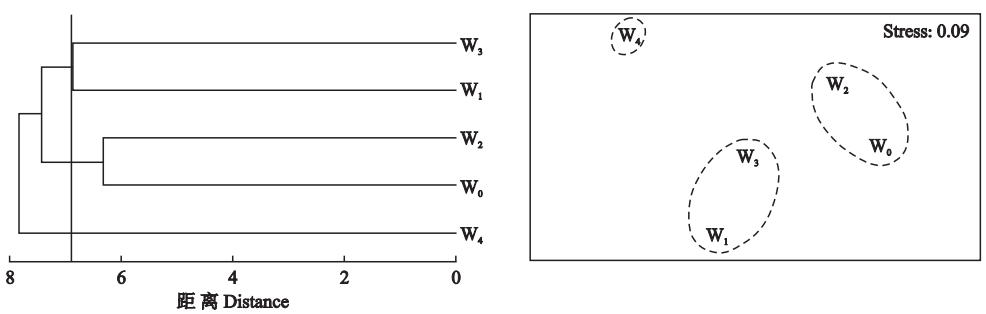


图 3 各采样点土壤纤毛虫物种分布的 Cluster 和多维尺度 MDS 分析

Fig.3 Cluster and MDS analysis on species distribution of soil ciliates in various sampling sites.

2.3　不同施肥量对土壤纤毛虫物种数、密度和Gleason-Margalef物种多样性指数的影响

不同施肥处理土壤纤毛虫物种数和密度有所不同(图4).春、夏、冬3个季节,W_0物种数显著高于W_1、W_2、W_3和W_4;秋季,W_0和W_1物种数无显著差异,但二者显著高于W_2、W_3和W_4.密度分布与物种数不同,春、秋、冬3个季节,W_4密度(春:59;秋:99;冬:54)显著高于W_3(春:48;秋:87;冬:33)、W_2(春:32;秋:38;冬:22)、W_1(春:17;秋:34;冬:12)和W_0(春:11;秋:16;冬:10);夏季,W_3(158)密度显著高于W_4(143)、W_2(98)、W_1(42)和W_0(42).表明施肥降低了纤毛虫物种数,但施肥有益于纤毛虫密度的提高;随着施肥量的增加,纤毛虫物种数逐渐减少,密度逐渐增加.

Gleason-Margalef物种多样性指数各处理的变化与物种数的变化规律基本一致.春、夏、秋、冬4个季节,W_0物种多样性指数(春:7.45;夏:7.14;秋:6.19;冬:8.59)显著高于W_1(春:6.05;夏:4.78;秋:5.32;冬:6.00)、W_2(春:5.31;夏:4.02;秋:4.85;冬:5.23)、W_3(春:4.32;夏:3.74;秋:4.25;冬:4.08)和W_4(春:4.61;夏:3.45;秋:3.71;冬:3.52).表明随着施肥量的增加物种多样性逐渐降低.

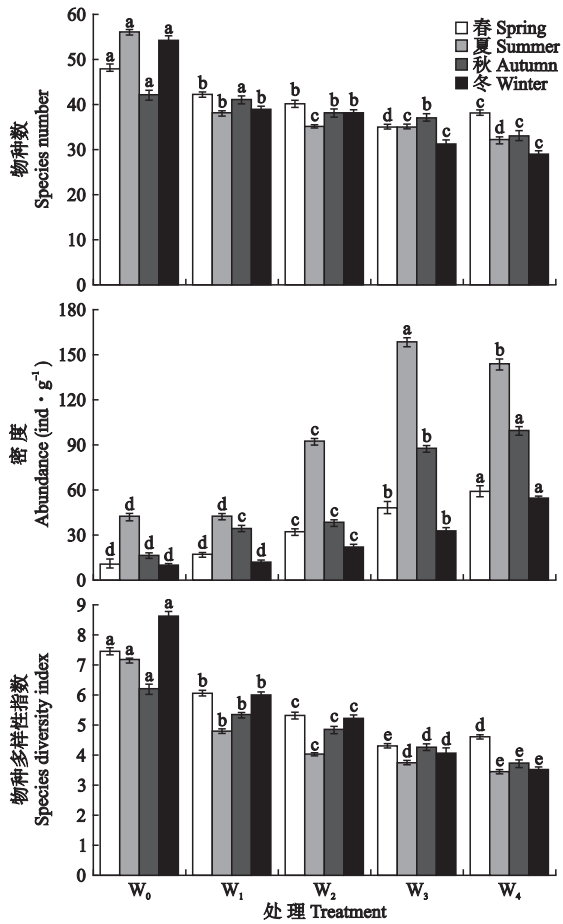


图4　各采样点物种数、密度和物种多样性指数

Fig.4　Species number, density and species diversity index in various sampling sites.

对物种数、密度及物种多样性指数进行处理季节间的无重复双因子方差分析.结果显示:土壤纤毛虫物种数各处理之间差异显著,季节间差异不显著;密度各处理之间差异显著,季节间差异显著;物种多样性指数各处理之间差异显著,季节间差异不显著.土壤纤毛虫密度具有显著的季节变化,各处理组密度为:夏季>秋季>春季>冬季.

2.4　土壤环境因子对不同施肥量土壤纤毛虫的影响

对物种和环境因子进行分析时,为确定选择线性模型还是单峰模型,先对物种数据进行非约束性排序分析-去趋势对应分析(DCA),确定排序轴的最大长度,如果4个轴中梯度最大值超过4,则选择单峰模型比较合适;如果小于3,则线性模型比较合适;如果介于3~4之间,则两种模型均可[20].物种DCA分析显示,最大梯度值为0.377,远小于3,因此选择冗余分析(RDA)进行约束性排序.通过蒙特卡罗置换检验(Monte Carlo permutation test)对5个环境因子进行预选,以找到显著影响群落的环境因子(表3),然后通过手动选择得到RDA二维排序图(图5),图中1~5为随施肥量的增加夏季各样点,6~10为春季各样点,以此类推.第1和第2排序轴的特征值分别为0.894、0.02,累积贡献率达91.4%,表明这2个轴在某种程度上能反映环境因子对土壤纤毛虫分布格局影响的大部分信息(表4).总磷、温度和含水量对RDA各轴的贡献率存在差异,其中总磷与第1排序轴呈正相关($r=0.761$),与第2排序轴呈负相关($r=-0.426$);温度与第1排序轴呈正相关($r=0.571$),与第2排序轴也呈正相关($r=0.560$);含水量与第1排序轴呈正相关($r=0.456$),与第2

表3　RDA前选择环境变量解释

Table 3　Explained scale of RDA before selection of environment variables

环境因子 Environmental factor	RDA简化模型下的排列值 Ordination value of RDA simplified model	
	F	*P*
总磷 Total phosphorus	23.20	0.002
温度 Temperature	8.70	0.010
含水量 Water content	4.61	0.046
总氮 Total nitrogen	1.75	0.214
有机碳 Organic carbon	1.66	0.230
pH	0.15	0.776

表 4 环境变量与排序轴的相关系数

Table 4 Correlation coefficients of environmental variables with axes

环境因子 Environmental factor	轴 1 Axis 1	轴 2 Axis 2
总磷 Total phosphorus	0.7611	−0.4257
温度 Temperature	0.5713	0.5595
含水量 Water content	0.4560	0.3259
物种与环境因子的相关性 Species-environment correlation	0.965	0.702
累计百分比 Cumulative percentage	89.4	91.4

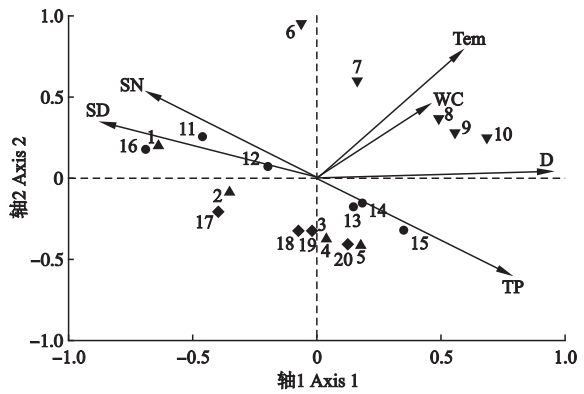


图 5 物种-环境相互关系的 RDA 排序图

Fig.5 RDA diagram of species-environment relationships.

Tem：温度 Temperature；WC：含水量 Water content；TP：总磷 Total phosphorus；D：密度 Density；SN：物种数 Species number；SD：物种多样性 Species diversity. 1～20：样点编号 Number of sampling sites；1～5：随施肥量的增加春季各样点 Sampling site with the addition of fertilizer in spring；6～10：随施肥量的增加夏季各样点 Sampling site with the addition of fertilizer in summer；11～15：随施肥量的增加秋季各样点 Sampling site with the addition of fertilizer in autumn；16～20：随施肥量的增加冬季各样点 Sampling site with the addition of fertilizer in winter.

排序轴也呈正相关($r = 0.326$). RDA 分析表明，总磷、土壤温度和含水量是影响土壤纤毛虫群落分布的关键因子.

3 讨 论

3.1 施肥对土壤环境的影响

施肥是维持草地生态系统养分平衡、恢复退化草地的主要途径.长期施肥会改变土壤系统中物质的循环过程，增强土壤氮、磷、钾养分供应，而合理施肥是实现土壤养分平衡、保障草地生态系统功能可持续利用的关键[21]. 本研究中，在施肥量为 60 g·kg^{-1}时总氮和有机碳含量最高，当施肥量增加到 90 g·kg^{-1}时开始降低.土壤中的总氮主要为有效氮，即铵态氮和硝态氮，在施肥量过高的情况下更多氮素会通过硝化作用与反硝化作用转化为气态氮(N_2O)排出，从而使能被植物利用的有效氮含量降低[22].总磷含量随施肥量的增加呈升高趋势，这是因为土壤对磷具有极强的固定吸附能力[23]，能够有效减少磷素的损失.与对照相比，施肥处理在一定程度上提高了土壤养分，养分在土壤中的积累，使其有机碳、总氮含量增加，土壤营养状况得到改善.从维持高寒草甸生态系统功能及维持较高的土壤纤毛虫多样性方面考虑，60 g·m^{-2}施肥量可作为高寒草甸最佳施肥水平，而高施肥量 90 g·m^{-2}可视为影响高寒草甸生态系统结构与功能及土壤养分的临界值.

3.2 施肥对纤毛虫群落的影响

本研究共鉴定出 129 种土壤纤毛虫，隶属于 9 纲 17 目 31 科 46 属.其中施肥量最高的样点纤毛虫种类数最少，且物种多样性较低，表明纤毛虫群落结构受到了较大破坏.施用化肥虽然增加了养分投入，但也会破坏土壤团聚体、改变土壤溶液渗透压，使土壤微生物的生命活动减弱[24].细菌、鞭毛虫和肉足虫等物种数的减少无疑会影响到部分对食物有选择性的纤毛虫的食物来源[25].群落结构的复杂性和各种群数量的大小，一方面受到环境因子的影响，另一方面也决定于生物群落对于环境的适应能力[26].在各处理中，除散毛目和刺钩目两类分布广、适应性强的纤毛虫类群外，其他常见类群和稀有类群的种类组成变化较大.因为有些种类的纤毛虫(亮刀口虫、僧帽肾形虫、盘状肾形虫、小肾形虫和豆形肾形虫等)在 pH 较低、含水量较低和人为添加化肥的环境中具有较高耐受性，长时期内能产生适应成为耐污种类，从而形成优势类群[27].孙宏飞等[28]研究也显示，自然群落中那些对污染物及其浓度敏感度不高的耐污类群因适应了污染环境条件，不但能继续生存，反而能大量繁殖呈现出优势.而有些类群的(散毛目和刺钩目等)纤毛虫多为食细菌者或肉食者，因此对环境的要求较为苛刻[29].纤毛虫密度随施肥量逐渐增加而物种数逐渐降低，这是 Gleason-Margalef物种多样性指数呈降低趋势的直接原因.

3.3 纤毛虫密度的季节动态

甘南高寒草甸土壤纤毛虫密度具有显著的季节变化.土温和降水引起的土壤温湿度变化是导致原生动物种群产生季节差异的主要因素[30].地表温度在 14.3～24.3 ℃，是土壤动物生存最适宜的温度范围[31].甘南草原冬季寒冷且漫长，进入夏季后气候变暖，雨量增加，土壤湿度增加(表 1)，土壤动物繁殖能力增强.本研究中，与其他 3 个季节相比，夏季土壤温度和含水量为 4 个季节中最高，这与冯伟松等[32]、宁应之等[33]的研究结果一致.另外，夏季土壤

温度和湿度的变化还可以影响植物的生理和群落结构[34],从而影响土壤原生动物的资源可得性和微生境[35].RDA 分析也表明,土温和含水量与夏季土壤纤毛虫群落结构的相关性较强.

4 结　论

本研究表明,在甘肃甘南高寒草甸施用高浓度磷酸氢二铵不利于土壤纤毛虫物种多样性的提高,但有益于土壤纤毛虫密度的增加.人工施肥能够发挥改善生物栖息地的作用,但制约土壤纤毛虫群落结构变化的主要环境因素是总磷、含水量和土壤温度.从维持高寒草甸生态系统功能方面考虑,60 $g \cdot m^{-2}$施肥量可作为高寒草甸最佳施肥水平.由于本试验是短期试验,所以施肥对土壤纤毛虫群落结构的长期作用有待于进一步研究.

致　谢　英国自然历史博物馆 Alan Warren 研究员为本文的英文摘要进行了润色,中国海洋大学海洋生命学院许恒龙教授在数据统计分析和论文写作方面给予了诸多指导.特此致谢.

参考文献

[1] Finlay BJ, Corliss JO, Esteban G, *et al*. Biodiversity at the microbial level: The number of free-living ciliates in the biosphere. *The Quarterly Review of Biology*, 1996, **71**: 221-237

[2] Puigagut J, Salvadó H, García D, *et al*. Comparison of microfauna communities in full scale subsurface flow constructed wetlands used as secondary and tertiary treatment. *Water Research*, 2007, **41**: 1645-1652

[3] Ning Y-Z (宁应之), Wang J (王　娟), Liu N (刘娜), *et al*. Species diversity of soil ciliates in scenic spots and historic sites of Maijishan, Tianshui, Gansu. *Zoological Research* (动物学研究), 2007, **28**(4): 367-373 (in Chinese)

[4] Clark CM, Cleland EE, Collins SL, *et al*. Environmental and plant community determinants of species loss following nitrogen enrichment. *Ecology Letters*, 2007, **10**: 596-607

[5] Craine JM, Jackson RD. Plant nitrogen and phosphorus limitation in 98 North American grassland soils. *Plant and Soil*, 2010, **334**: 73-84

[6] Bai YF, Wu JG, Clark CM, *et al*. Tradeoffs and thresholds in the effects of nitrogen addition on biodiversity and ecosystem functioning: Evidence from Inner Mongolia Grasslands. *Global Change Biology*, 2010, **16**: 358-372

[7] Bi M-L (毕明丽), Yu W-T (宇万太), Jiang Z-S (姜子绍), *et al*. Effects of fertilization and soil management on microbial biomass and community. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2010, **30**(1): 32-42 (in Chinese)

[8] Zhu X-Y (朱新玉), Dong Z-X (董志新), Kuang F-H (况福虹), *et al*. Effects of fertilization regimes on soil faunal communities in cropland of purple soil, China. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2013, **33**(2): 464-474 (in Chinese)

[9] Zhu X-Y (朱新玉), Zhu B (朱　波). Effect of different fertilization regimes on the main groups of soil fauna in cropland of purple soil. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2015, **48**(5): 911-920 (in Chinese)

[10] Zhu Q-G (朱强根), Zhu A-N (朱安宁), Zhang J-B (张佳宝), *et al*. Effects of long-term fertilization on cropland soil meso-micro arthropods in Huang-Huai-Hai Plain of China. *Chinese Journal of Ecology* (生态学杂志), 2010, **29**(1): 69-74 (in Chinese)

[11] Zhou J-J (周九菊). Strategy of building Gannan state-level ecological function conservation area. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine* (畜牧兽医杂志), 2011, **30**(6): 49-52 (in Chinese)

[12] Romero IC, Jacobson ME, Fuhrman JA, *et al*. Long-termnitrogen and phosphorus fertilization effects on N_2 fixation rates and *nifH* gene community patterns in mangrove sediments. *Marine Ecology*, 2012, **33**: 117-127

[13] Foissner W. Estimating the species richness of soil protozoa using the 'non-flooded petridish method'// Lee JJ, Soldo AT, eds. Protocols in Protozoology. Lawrence, KS: Allen Press, 1992: 10.1-10.2

[14] Wilbert N. An improved technique of protargol impregnation for ciliates. *Mikrokosmos*, 1975, **64**: 171-179

[15] Stout JD. An estimation of microfaunal populations in soils and forest litter. *Journal of Soil Science*, 1962, **13**: 314-320

[16] Ning Y-Z (宁应之), Shen Y-F (沈韫芬). Soil protozoa in typical zones of China. Ⅰ. Faunal characteristics and distribution of species. *Acta Zoologica Sinica* (动物学报), 1998, **44**(1): 5-10 (in Chinese)

[17] Ning Y-Z (宁应之), Du H-F (杜海峰), Zou T (邹涛), *et al*. Toxic effects of ent-kaurane diterpenoids on soil ciliate communities. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2011, **31**(1): 183-194 (in Chinese)

[18] Shen Y-F (沈韫芬), Gu M-R (顾曼如), Gong X-J (龚循矩), *et al*. Modern Biomonitoring Techniques using Freshwater Microbiota. Beijing: China Architecture & Building Press, 1990 (in Chinese)

[19] Foissner W, Berger H, Xu K, *et al*. A huge, undescribed soil ciliate (Protozoa: Ciliophora) diversity in natural forest stands of Central Europe. *Biodiversity and Conservation*, 2005, **14**: 617-701

[20] Lepš J, Šmilauer P. Multivariate Analysis of Ecological Data using CANOCO. Cambridge: Cambridge university Press, 2003

[21] Zhao Z-P (赵佐平), Tong Y-A (同延安), Liu F (刘芬), *et al*. Effects of different long-term fertilization patterns on Fuji apple yield, quality, and soil fertility on Weibei Dryland, Shaanxi Province of Northwest China. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2013, **24**(11): 3091-3098 (in Chinese)

[22] Yi Q (易 琼), Huang X (黄 旭), Zhang M (张 木), *et al*. Effects of nitrogen application rate and sources on yield of lettuce and nitrous oxide emission in vegetable soil. *Journal of Agro-Environment Science* (农业环境科学学报), 2016, **35**(10): 2019-2025 (in Chinese)

[23] An D (安 迪), Yang L (杨 令), Wang G-D (王冠达), *et al*. Mechanisms of phosphorus fixation in soils and efficient utilization of phosphate fertilizer. *Chemical Industry and Engineering Progress* (化工进展), 2013, **32**(8): 1967-1973 (in Chinese)

[24] Yu W-T (宇万太), Jiang Z-S (姜子绍), Zhou Y (周 烨), *et al*. Effect of different land use patterns on soil microbial biomass carbon and its turnover rate in an aquic soil. *Chinese Journal of Ecology* (生态学杂志), 2008, **27**(8): 1302-1306 (in Chinese)

[25] Qi S (齐 莎), Zhao X-R (赵小蓉), Zheng H-X (郑海霞), *et al*. Changes of soil biodiversity in Inner Mongolia steppe after 5 years of N and P fertilizer applications. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2010, **30**(20): 5518-5526 (in Chinese)

[26] Lin Y-H (林英华), Yang X-Y (杨学云), Zhang F-D (张夫道), *et al*. Variation of soil fauna under different fertilizer treatments in loess soil croplands, Shaanxi Province. *Biodiversity Science* (生物多样性), 2005, **13**(3): 188-196 (in Chinese)

[27] Yang Z-C (杨再超), Wang Z-H (王智慧), Zhang Z-H (张朝晖). Protozoa communities in moss crust in gold mine area of southwest Guizhou and their relations with environmental factors. *Chinese Journal of Ecology* (生态学杂志), 2009, **28**(8): 1525-1530 (in Chinese)

[28] Sun H-F (孙宏飞), Ma Z-X (马正学), Ning Y-Z (宁应之), *et al*. Ecological effects of soil pollution by leather waste water on soil protozoa. *Journal of Gansu Sciences* (甘肃科学学报), 2007, **19**(1): 82-84 (in Chinese)

[29] Ning Y-Z (宁应之), Wang H-J (王红军), Yu J-H (禹娟红), *et al*. Response of the soil ciliate community to ecological restoration in Huajialing, Dingxi, Gansu. *Zoological Research* (动物学研究), 2011, **32**(2): 223-231 (in Chinese)

[30] Yang X-D (杨效东), Tang J-W (唐建维). Soil arthropod communities in different successional tropical secondary forests in Xishuangbanna, SW China. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2004, **15**(6): 988-994 (in Chinese)

[31] Xu G-L (徐国良), Zhou G-Y (周国逸), Mo J-M (莫江明), *et al*. The responses of soil fauna composition to forest restoration in Heshan. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2005, **25**(7): 1670-1677 (in Chinese)

[32] Feng W-S (冯伟松), Yu Y-H (余育和). Ecological studies on the soil protozoans of the Feildes Peninsula, Antarctica. *Acta Hydrobiologica Sinica* (水生生物学报), 2000, **24**(6): 610-615 (in Chinese)

[33] Ning Y-Z (宁应之), Su C (苏 芸), Wang H-J (王红军), *et al*. Community characteristics of ciliates in the plateau swamp wetlands of Gannan, Gansu Province in summer. *Journal of Northwest Normal University* (西北师范大学学报), 2013, **49**(3): 81-86 (in Chinese)

[34] Kardol P, Cregger MA, Campany CE, *et al*. Soil ecosystem functioning under climate change: Plant species and community effects. *Ecology*, 2010, **91**: 767-781

[35] Griffiths RI, Whiteley AS, O'Donnell AG, *et al*. Influence of depth and sampling time on bacterial community structure in an upland grassland soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, **43**: 35-43

作者简介 宁应之, 男, 1963 年生, 博士, 教授. 主要从事土壤原生动物分类学、生态学与物种多样性研究. E-mail: skyb514@qq.com

责任编辑 肖 红

宁应之, 王婷婷, 武维宁, 等. 甘南高寒草甸土壤纤毛虫对磷酸氢二铵添加的响应. 应用生态学报, 2017, **28**(5): 1668-1678
Ning Y-Z, Wang T-T, Wu W-N, *et al*. Response of soil ciliate to diammonium phosphate addition in alpine meadow of southern Gansu, Northwest China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, **28**(5): 1668-1678 (in Chinese)