

土壤跳虫在碳循环中的作用—— ^{13}C 示踪研究

徐国良¹, 王敏^{2,3}, 张卫信², 夏汉平², 王嘉珊¹, 吴志峰^{1*}

1. 广州大学地理科学学院, 广东 广州 510006; 2. 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650; 3. 中国科学院大学, 北京 100039

摘要: 土壤动物在土壤碳库中发挥着重要的作用, 但长期以来受技术手段的限制, 其作用过程及贡献程度仍不清楚。该研究通过室内微宇宙实验, 利用稳定碳同位素标记凋落物和模式跳虫实验种 (*Folsomia Candida*) 探索了土壤动物在碳循环中的作用。试验设置了 3 个处理: 对照土壤、土壤加标记凋落物、土壤加标记凋落物和跳虫, 每处理设 4 个重复, 分别在实验开始的第 7、21、63 天进行破坏性取样。研究结果发现, 凋落物新碳可以很快进入土壤食物网。试验跳虫 $\delta^{13}\text{C}$ 原始值为 $-9.91\text{‰} \pm 0.08\text{‰}$, 经过 7 天的培养, 跳虫体内的 $\delta^{13}\text{C}$ 值达到 522.70‰ , 表明跳虫能在短时间内高效同化来自凋落物的新碳; 土壤微生物群落也显著地同化了凋落物新碳, 添加凋落物后微生物 PLFAs $\delta^{13}\text{C}$ 值极显著升高, 这种效应在试验初期尤其显著; 同时, 研究发现在添加跳虫的处理中, 微生物 $\delta^{13}\text{C}$ 比无跳虫处理的极显著升高, 反映跳虫的存在和活动对微生物有积极的能动作用, 增加微生物对凋落物新碳的同化效率。虽然 7 d 后发现凋落物新碳明显进入了土壤, 然而添加跳虫处理的土壤 $\delta^{13}\text{C}$ 显著低于没有加跳虫的, 说明跳虫的活动可能促使了更多新 C 释放出土壤, 从而降低了土壤的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。不同处理之间累计呼吸量存在显著差异, 有凋落物和跳虫存在的处理极显著高于对照处理, 表明实验处理都显著地增加了系统 CO_2 通量; 通过对 C 来源的同位素解析, 发现试验初期 (21 d) 有 85% 以上的 C 都来自凋落物新碳, 表明初期凋落物新 C 大量释放; 但随着凋落物分解的进行或跳虫活动的增强, 土壤 C 的利用效率逐步增加, 使得通量中土壤 C 的比例逐渐增加。本研究通过比较完善的控制实验明确证实, 在土壤动物和微生物的作用下, 凋落物新 C 可以很快进入碳循环, 但新 C 也很容易通过呼吸作用释放回到大气, 尤其在初期, 绝大部分排放的 CO_2 都源自新 C。土壤跳虫在食物网中的作用明显, 对土壤微生物具有显著的调控作用。

关键词: 跳虫; 同位素; 碳循环

DOI: 10.16258/j.cnki.1674-5906.2015.07.003

中图分类号: X17

文献标志码: A

文章编号: 1674-5906 (2015) 07-1103-05

引用格式: 徐国良, 王敏, 张卫信, 夏汉平, 王嘉珊, 吴志峰. 土壤跳虫在碳循环中的作用—— ^{13}C 示踪研究[J]. 生态环境学报, 2015, 24(7): 1103-1107.

XU Guoliang, WANG Min, ZHANG Weixin, XIA Hanping, WANG Jiashan, WU Zhifeng. Role of Collembola in Carbon Transformation—A ^{13}C -labelling Study [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2015, 24(7): 1103-1107.

陆地碳循环是全球关注的焦点问题之一 (Heimann et al., 2008), 而土壤是陆地生态系统最大的碳库 (Schimel, 1995; Hagedorn et al., 2001)。土壤动物是陆地生态系统物质循环和能量流动正常运行的关键环节。近年来, 有关土壤动物对土壤碳循环的物理、化学和生物过程的贡献受到越来越多关注。已有研究表明, 土壤动物在土壤有机质矿化、腐殖质形成和分解、植物营养元素转化等过程中起着不可替代的作用 (Edwards et al., 2004; Jegou et al., 2001; 张卫信等, 2007; Coleman et al., 1996; Nakamura et al., 2007; Persson, 1983; Hunt et al., 1987)。

利用同位素技术进行土壤动物生态学研究作为一种原位无干扰研究方法, 使人们可以更好地了解土壤动物群落的结构与功能过程。Briones et al. (1999a) 曾利用 ^{13}C 自然丰度研究跳虫对食物的选择性, 这与传统的观察法和肠道内含物分析方法相比, 不仅省时省力, 而且重现性好。同时, 同位素技术在土壤动物功能群的划分中也起着重要的作用, 所谓功能群是指以相似的方式对某一过程产生影响的一组生物, 而土壤动物体组织的同位素丰度信息能够为我们鉴定出土壤中一系列的功能群提供非常有价值的信息 (Briones et al., 1999b)。所有这些研究都表明稳定同位素技术在土壤动物生态

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31270560; 41571247); 973 子课题 (2011CB403205); 广东省自然科学基金项目 (2014A030313532); 广州市属高校科研项目 (1201410805)

作者简介: 徐国良, 男, 博士, 副研究员, 主要从事土壤动物多样性及与环境变化关系研究。

*通信作者: 吴志峰. E-mail: gzuwzf@163.com

收稿日期: 2015-06-14

学的相关领域有着广阔应用前景。

土壤跳虫与螨类构成了中小型土壤动物的重要组成部分(陈建秀等, 2007)。它分布广泛, 从极地、阿尔卑斯苔原到沙漠和热带雨林, 都能观察到跳虫活动的踪迹; 它们的密度也相当惊人, 能达到 700 万只/m² (Rusek, 1998)。同时它们在土壤生态系统中扮演着极为重要的功能角色, 能参与土壤物质循环、提高土壤肥力、改善土壤理化特性、维持土壤生物群落, 以及在土壤质量评价、污染监测、污染土壤的生物修复等方面起重要作用(陈建秀等, 2007)。目前已有许多关于土壤跳虫对微生物和土壤养分影响的研究, 然而关于土壤跳虫对凋落物层 C 进入到土壤中的贡献程度的研究却较少(Chamberlain et al., 2006)。因此, 本研究在室内微宇宙系统中, 以土壤跳虫为研究对象, 利用稳定同位素技术手段开展实验。本研究试图验证以下假设: 土壤跳虫的存在能够调控微生物活性并在 C 循环中有积极的能动作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料与设计

试验土壤取自鼎湖山自然保护区阔叶混交林。凋落物来自于 ¹³C 标记过的荷木叶。跳虫为实验室培养种。

实验在室内微宇宙系统进行。微宇宙系统建立在塑料容器内(内径 10.5 cm, 高 12 cm), 盖子涂上适量的凡士林, 以确保微宇宙系统能够完全密封, 同时又能确保有足够的空间。称取 100 g 灭菌土放在 150 mL 的烧杯内, 该烧杯放于微宇宙系统的底部, 一个装有 20 mL 1M NaOH 的 50 mL 烧杯也放于系统内用于吸收呼出的 CO₂。实验开始后, 将 30 g 新鲜土壤和 300 mL 灭菌水混合制成土壤悬浮液, 10 mL 土壤悬浮液加入 100 g 干土中, 再用灭菌水调节土壤含水量, 维持在土壤最大持水量的 60%。根据实验最初的含水量, 每隔一周调节一次土壤含水量。称取被标记的凋落物叶 1 g 放入土壤表面(40 个微宇宙), 添加 30 只成年跳虫(20 个微宇宙)。实验一共设置了 3 个处理: (1) 对照土壤(S); (2) 土壤加标记凋落物(SL); (3) 土壤加标记凋落物和跳虫(SLC)。分别在实验开始后的第 7、21、63 天进行破坏性取样, 每次取样的微宇宙个数为 12 个, 即每个处理 4 个重复。

1.2 样品采集与前处理

用镊子从土壤表面小心地取出未被分解的凋落物叶, 于 60 °C 烘干并称量, 球磨仪磨碎, 并过 80 目筛, 用于测定 ^{δ13}C 和碳氮含量。一部分土壤用于提取土壤跳虫; 一部分土壤用于测定土壤微生物的 PLFAs, 测定 PLFAs 所剩提取液再用来测定土

壤微生物 ^{δ13}C; 剩余的土壤自然风干, 研磨过 80 目筛, 用于测定 ^{δ13}C、土壤有机碳和土壤易氧化有机碳。提取的跳虫计数后, 冷冻干燥, 用于测定 ^{δ13}C。

呼出的 CO₂ 用 20 mL 1 M NaOH 吸收, 破坏性取样后, 先用 5 mL 饱和的 BaCl₂ 溶液沉淀, 再用 0.5 M 盐酸滴定, 根据滴定的盐酸量来计算呼出的 CO₂ 速率(用 mg·hr⁻¹ 表示)。将生成的 BaCO₃ 沉淀转移至 50 mL 离心管中, 加入适量去离子水, 手工摇动, 并在 2 500 rpm 下离心 2 min, 弃去上层液体, 此过程反复多次, 直到上层液体 pH 达到中性(6.8~7.0), 之后将沉淀物于 80 °C 烘 48 h (Sven et al., 2007), 用于测定 CO₂ 的 ^{δ13}C。

1.3 指标测定

跳虫用干漏斗法提取并保存在酒精(90%)中, 在体视显微镜下统计其数量。土壤水分含量在 105 °C 下烘 24 h 测定; 土壤 pH 值用校正后的 pH 计测定; 土壤有机碳采用重铬酸钾氧化-外加热法测定; 易氧化有机碳(ROC)利用 333 mmol·L⁻¹ 高锰酸钾氧化法测(Blair et al., 1995, 1997)。凋落物全碳的测定方法同土壤全碳的测定方法; 凋落物全氮经凯式消解后靛酚蓝比色法测定。微生物提取流程主要参照 Bossiod et al. (1998) 的方法; 土壤微生物多样性用磷脂脂肪酸法分析。所有样品的 ^{δ13}C 均用 IsoPrime 100 稳定性同位素比值仪测定。

1.4 统计分析

统计分析采用 SPSS 16.0 软件处理, 图表用 Origin 8.0 和 Excel 2013 完成。所有的数据都进行了方差齐性检验, 显著性水平以 $P < 0.05$ 表示, 方差分析的显著差异用 LSD 多重比较。跳虫 ^{δ13}C 值采用单因素方差分析。重复测量的变量(土壤 ^{δ13}C, PLFAs 的 ^{δ13}C, CO₂ 速率, CO₂ ^{δ13}C)采用重复测量方差分析。

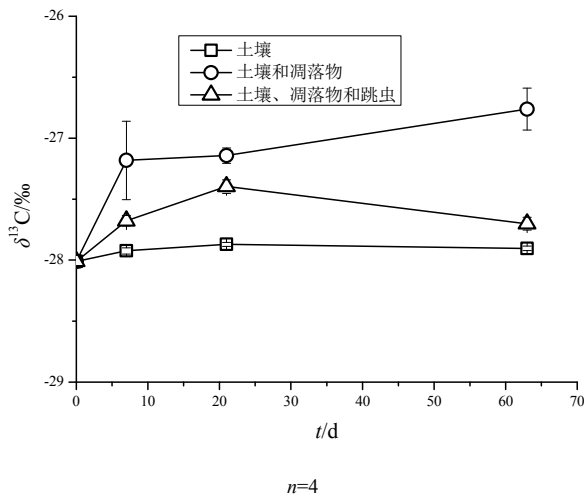
2 结果与分析

2.1 土壤碳同位素丰度变化

不同微宇宙系统的土壤 ^{δ13}C 有显著差异 ($F=30.885$, $P < 0.01$, 图 1), SL 和 SLC 处理中土壤 ^{δ13}C 都比对照(S)处理显著升高, 表明凋落物新碳明显进入了土壤。同时, SLC 系统土壤 ^{δ13}C 比 SL 显著降低, 可能是因为跳虫的活动, 能够促使更多的新 C 释放出土壤, 因而降低了土壤的 ^{δ13}C 值。

2.2 跳虫和土壤微生物 ¹³C 丰度的变化

跳虫体内的 ^{δ13}C 的变化反映了其同化新碳的情况。试验所添加的跳虫 ^{δ13}C 原始值为 -9.91‰ ± 0.08‰, 经过 7 d 的培养, 跳虫体内的 ^{δ13}C 极显著增加, 达到了 522.70‰ (图 2A), 这表明跳虫能在短时间内高效地同化来自凋落物的新碳。之前的一些研究也得到了类似的结果, Deniro et al. (1978)

图 1 不同处理土壤 $\delta^{13}\text{C}$ 随时间的变化Fig 1 Bulk $\delta^{13}\text{C}$ values of soil in microcosms of soil; soil and litter; soil, litter and Collembola

在研究动物体内同位素组成和食物同位素组成时发现，两者之间的碳同位素比值相差非常小。Endlweber et al. (2009) 也证明跳虫体内的 ^{13}C 来源于它的食物。这说明，跳虫体内的 $\delta^{13}\text{C}$ 丰度与其食物环境直接相关，而且跳虫可以高效地反映环境 C 同位素丰度的变化。

不同处理之间，土壤微生物 PLFAs $\delta^{13}\text{C}$ 存在极显著差异 ($F=28.043$, $P<0.01$, 图 2B)。包含凋落物的处理比对照处理微生物 PLFAs $\delta^{13}\text{C}$ 显著为高，这表明凋落物新碳显著被同化进入了土壤微生物群落，而且初期这种效应尤其显著，表明微生物对凋落物新碳的偏好。另外，添加跳虫的 SLC 处理比无跳虫的 SL 处理 $\delta^{13}\text{C}$ 显著为高，反映了跳虫的存在和活动可以极显著地激发微生物作用，增加微生

物对凋落物新碳的同化。许多研究认为，跳虫对于 C、N 的矿化是通过影响微生物结构、真菌龄级、基质条件等产生作用 (Seastedt, 1984; Teuben, 1991; Satoshi et al., 2008)。在以往的研究中，一般也认为跳虫种 *F. candida* 并不直接取食凋落物叶，而是主要以真菌为食，也即通过取食微生物进而间接同化凋落物新碳，它们的存在与活动可以通过调控微生物实现对新 C 输入的影响。

2.3 CO_2 通量的响应

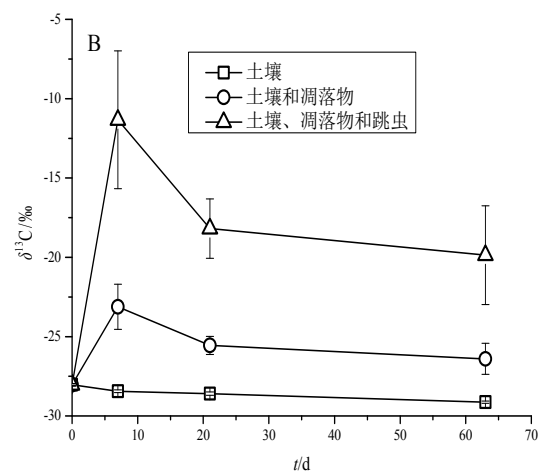
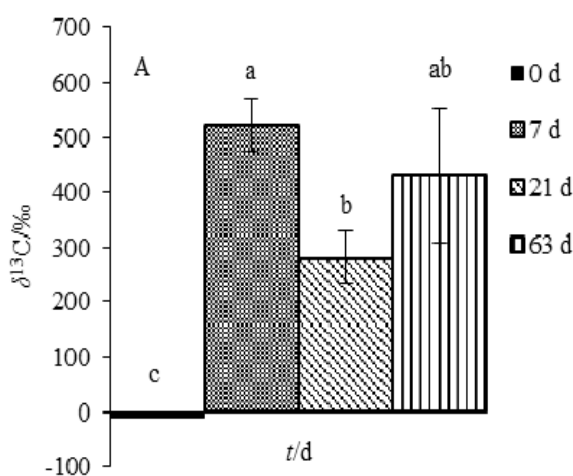
不同处理之间累计呼吸量有显著差异 ($F=96.859$, $P<0.001$, 表 1)。有凋落物和跳虫存在的处理极显著高于对照处理，表明凋落物和跳虫的添加显著地增加了系统 CO_2 通量。虽然整体上 SL 和 SLC 处理之间没有显著差异，然而试验 21 d，跳虫个体数量开始显著增加后，SLC 处理排放的 CO_2 开始高于 SL 处理。

表 1 不同微宇宙系统累积 CO_2 通量Table 1 Cumulative CO_2 respired from microcosms over the 63-d experimental period

处理	累计呼吸量 (mg C- CO_2)
土壤	86.0(10.5) b
土壤和凋落物	181.0(13.4) a
土壤、凋落物和跳虫	199.1(12.9) a

显示值为平均值 (标准差) ($n=4$)，不同小写字母表示有显著差异 ($P<0.05$)

通过对 C 来源的解析，发现试验初期，几乎所有的 C 都来自凋落物 (表 2)；21 d 后，来自土壤的 C 开始增加；两个月后，系统排放的 C 过半来自土壤。表明初期微生物明显偏好凋落物新 C，但随着凋落物分解的进行或跳虫活动的增加，微生物逐渐更多地利用土壤中的老 C。



不同小写字母表示差异显著 ($P<0.01$)

图 2 不同时间土壤跳虫 (A) 和土壤微生物 (B) 同位素丰度 ($n=4$)Fig. 2 The bulk $\delta^{13}\text{C}$ values of Collembola (A) and soil microbes (B). Values with the different letter are significantly different ($P<0.01$) ($n=4$)

表2 CO₂中的C来自凋落物(f_{litter})和土壤(f_{soil})的比率
Table 2 The proportion of litter- and soil-derived CO₂

f	f_{litter}			f_{soil}			
	培养天数	7	21	63	7	21	63
处理	土壤和凋落物	1.05	0.88	0.41	0	0.12	0.59
	土壤、凋落物和跳虫	1.03	0.85	0.35	0	0.15	0.65

显示值为平均值 ($n=4$)

3 结论

通过¹³C同位素标记示踪技术,分析了凋落物新C在跳虫和微生物作用下的循环过程。研究证实,凋落物新C可以很快被土壤食物网同化,而且土壤微生物对新鲜凋落物具有明显的偏好。虽然如此,新C也很容易通过呼吸作用释放回到大气中,尤其在初期,绝大部分排放的C都源自凋落物。土壤跳虫在食物网中的作用明显。它们可以短时间内间接同化大量的外源新C;同时跳虫对土壤微生物具有显著的功能性调控作用,在跳虫活动的激发作用下可以显著提高土壤微生物对新C的同化效率。

参考文献:

- BLAIR G J, LEFROY R D B, LISLE L. 1995. Soil Carbon Fractions Based on their Degree of Oxidation, and the Development of a Carbon Management Index for Agricultural Systems [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 46(7): 1459-1466.
- BLAIR G J, SINGH B P, LEFOY R D B, et al. 1997. Development and use of a carbon management index to monitor changes in soil C pool size and turnover rate[C]//In: Cadisch G, Giller KE (ed.): Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition. CAB International, Wallingford, UK, 273-281.
- BOSSIOD A, SCOW K. M. 1998. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns [J]. Microbial Ecology, 35(3-4): 265-278.
- BRIONES M J I, INESON P, SLEEP D. 1999a. Use of $\delta^{13}\text{C}$ to determine food selection in collembola species [J]. Soil Biology and Biochemistry, 31(6): 937-940.
- BRIONES M J I, BOL R., SLEEP D, et al. 1999b. A dynamic study of earthworm feeding ecology using stable isotopes [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 13(13): 1300-1304.
- CHAMBERLAIN P M, MCNAMARA N P, CHAPLOW J, et al. 2006. Translocation of surface litter carbon into soil by Collembola [J]. Soil Biology and Biochemistry, 38(9): 2655-2664.
- COLEMAN D C, CROSSLEY JR D A. 1996. Fundamentals of Soil Ecology [M]. Academic Press, New York.
- DENIRO M J, EPSTEIN S. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 42(5): 495-506.
- EDWARDS C A. 2004. (Ed.) Earthworm Ecology (2nd Edition) [M]. CRC Press, Boca Raton.
- ENDLWEBER K, RUESS L, SCHEU S. 2009. Collembola switch diet in presence of plant roots thereby functioning as herbivores [J]. Soil Biology and Biochemistry, 41(6): 1151-1154.
- HAGEDORN F, MAURER S, EGLI P, et al. 2001. Carbon sequestration in forest soils: effects of soil type, atmospheric CO₂ enrichment, and N deposition [J]. European Journal of Soil Science, 52(4): 619-628.
- HEIMANN M, REICHSTEIN M. 2008. Terrestrial ecosystem carbon dynamics and climate feedbacks [J]. Nature, 451(7176): 289-292.
- HUNT H W, COLEMAN D C, INGHAM E R, et al. 1987. The detrital food web in a shortgrass prairie [J]. Biology and Fertility of Soils, 3(1): 57-68.
- JEGOU D, SCHRADER S, DIESTEL H, et al. 2001. Morphological, physical and biochemical characteristics of burrow walls formed by earthworms [J]. Applied Soil Ecology, 17(2): 165-174.
- NAKAMURA A, CATTERALL C P, HOUSE A P N, et al. 2007. The use of ants and other soil and litter arthropods as bio-indicators of the impacts of rainforest clearing and subsequent land use [J]. Journal of Insect Conservation, 11(2): 177-186.
- PERSSON T. 1983. Influence of soil animals on nitrogen mineralization in a northern Scots pine forest [C]//In: P. Lebrun, H.M. Andre, A. De Medts, C. Gregoire-Wibo and G. Wauthy, (Eds) New Trends in Soil Biology, pp: 117-126.
- RUSEK J. 1998. Biodiversity of Collembola and their functional role in the ecosystem [J]. Biodiversity and Conservation, 7(9): 1207-1219.
- SATOSHI K, NOBUHIRO K. 2008. Collembolans feeding on soil affect carbon and nitrogen mineralization by their influence on microbial and nematode activities [J]. Biology and Fertility of Soils, 44(3): 435-442.
- SCHIMMEL D S. 1995. Terrestrial ecosystems and the carbon cycle [J]. Global Change Biology, 1(1): 77-91.
- SEASTEDT T R. 1984. The role of microarthropods in decomposition and mineralization processes [J]. Annu Rev Entomol, 29: 25-46.
- SVEN M, REINHARD L, ELLEN K, STEFAN S, et al. 2007. Use of stable isotopes (¹³C) for studying the mobilization of old soil organic carbon by endogeic earthworms (Lumbricidae) [J]. European Journal of Soil Biology, 43: S201-S208.
- TEUBEN A. 1991. Nutrient availability and interactions between soil arthropods and microorganisms during decomposition of coniferous litter: a mesocosm study [J]. Biology and Fertility of Soils, 10(4): 256-266.
- 陈建秀, 麻智春, 严海娟, 张峰. 2007. 跳虫在土壤生态系统中的作用[J]. 生物多样性, 15(2): 154-161.
- 张卫信, 陈迪马, 赵灿灿. 2007. 蚯蚓在生态系统中的作用[J]. 生物多样性, 15(2): 142-153.

Role of Collembola in Carbon Transformation——A ^{13}C -labelling Study

XU Guoliang¹, WANG Min^{2,3}, ZHANG Weixin², XIA Hanping², WANG Jiashan¹, WU Zhifeng^{1*}

1. School of Geographical Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China;

2. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;

3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

Abstract: Terrestrial carbon cycle is one of the key issues in the world. Soil fauna play essential roles in soil ecosystem which is the largest terrestrial carbon sink. However, both the contributions of soil fauna to carbon transformation and the underlying mechanisms are still unclear. The isotope technology provided an useful method to quantify the key processes in soil food web and material cycling. In this study, ^{13}C -labeled leaf litter was used to investigate the effect of the Collembola (*Folsomia Candida*) on carbon transformation in laboratory microcosms. Three treatments were set up: (1) soil (control, S), (2) soil and labeled litter (SL), and (3) soil, labeled litter and Collembola (SLC). Each treatment has four replicates. These microcosms were destructively sampled on day 7, 21, 63 after the experiment initiation. The results showed that litter-derived C was incorporated into soil biota rapidly. The original $\delta^{13}\text{C}$ values of Collembola was $-9.91\text{‰}\pm 0.08\text{‰}$, and it reached 522.70‰ after 7 days of incubation indicating that Collembola could efficiently assimilate this newly introduced litter-derived C. Similarly, the $\delta^{13}\text{C}$ values in PLFAs increased significantly, especially at the initial experimental stage. In addition, the presence of Collembola significantly promoted the PLFAs $\delta^{13}\text{C}$ suggesting that Collembola could accelerate the microbial assimilation of litter carbon. Unexpectedly, treatment SLC exhibited significantly lower $\delta^{13}\text{C}$ values than treatment SL. This may indicate that the presence of Collembola stimulated the release of newly metabolized litter C. Both of the treatments stimulated CO_2 flux significantly. By C isotope analysis, over 85% of the mineralized C derived from litter at the initiation state (21 days), demonstrating that new C from fresh litter tended to release back to atmosphere with active soil biota. Thereafter, the contribution of soil-derived C to the CO_2 emission increased. This study proved that new C from litter could participate in soil C cycling rapidly, especially in systems with active soil biota. While, the newly introduced litter C was also readily to be respired as CO_2 . In spite of the small size, Collembola had a priming effect on microbes in the litter-soil environment and, thus, contributed to the functioning of soil food web.

Key words: collembola; stable isotope; carbon transformation