

土壤原生生物的种类及功能

雷 丽¹, 王加龙¹, 张 雪¹, 李香真^{2*}, 姚敏杰^{1*}

(1. 福建农林大学 资源与环境学院土壤修复福建省高校工程研究中心, 福建 福州 350002; 2. 中国科学院成都生物研究所 环境与应用微生物重点实验室/环境微生物四川省重点实验室, 四川 成都 610041)

摘 要: 土壤原生生物是生活在土表凋落物和土壤中最原始、最简单的真核生物。原生生物的演化进程快, 种类多样, 至今尚没有统一的系统发育分类体系。种类众多的土壤原生生物拥有多样的生态功能, 在控制细菌的生长繁殖和群落组成、改变土壤营养物质的循环、调控植物生长发育及土壤污染物的净化等方面发挥着重要作用。本文从形态结构、进化过程及生态功能等几个方面, 对土壤原生生物的系统分类及其功能、地理分布和研究方法, 及其与土壤微生物、植物之间的生态关系, 对土壤环境的潜在影响等领域的研究进展进行了总结, 并对土壤原生生物研究中存在的问题进行了展望。旨在深入理解土壤原生生物类群和功能的多样性及其维持机制, 为深化土壤原生生物与微生物、植物间的相互关系研究提供依据, 为开发新的土壤和植物病害的生物防治技术提供参考。

关 键 词: 原生生物; 系统分类; 生态功能; 微生物; 植物; 相互作用

中图分类号: Q939.96 **文献标识码:** A **文章编号:** 0564-3945(2023)01-0232-13

DOI: 10.19336/j.cnki.trtb.2021122301

雷 丽, 王加龙, 张 雪, 李香真, 姚敏杰. 土壤原生生物的种类及功能 [J]. 土壤通报, 2023, 54(1): 232 - 244

LEI Li, WANG Jia-long, ZHANG Xue, LI Xiang-zhen, YAO Min-jie. Soil Protists: the Classification and Functions[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2023, 54(1): 232 - 244

土壤原生生物是生活在土表凋落物和土壤中重要的生物类群, 是除了细菌和真菌之外的第三大土壤生物区系^[1]。原生生物演化的初始状态为单细胞真核生物, 随着演化进程不断向前推进, 一部分原生生物保留了单细胞的状态, 而另一部分原生生物逐渐演化成多细胞的真核生物^[2]。在漫长的演化进程中, 历史因素和环境因素都起着重要的作用^[3], 使得原生生物在生长发育和形态特征等方面都产生了巨大分异^[4-5]。目前关于原生生物捕食功能的研究较深入^[6-8], 但关于原生生物捕食微生物的机制、物种鉴定和功能多样性等方面还需深入研究^[6]。本文总结了土壤原生生物的演化过程、分类、功能、地理分布和研究方法等内容, 对理解土壤生物多样性的产生和维持机制, 以及土壤食物网的结构及功能演替等科学问题具有重要意义。

1 原生生物的演化过程

原生生物大多数是单细胞真核生物, 但也有少数是多细胞的藻类, 无论是单细胞还是多细胞, 原

生生物都没有组织分化^[9-10]。当原生生物中的营养细胞发生分化时, 原生生物被限制在有性生殖、交替营养状态、静止或抗性阶段, 如孢囊阶段。原生生物在单细胞真核生物形成的初期就已经分化为单鞭毛生物 (Unikont) 和双鞭毛生物 (Bikont) 两大类; 前者发展出真菌、动物以及像变形虫 (Amoebozoa) 这样的单细胞真核生物; 后者发展出植物, 包括绿藻门 (Chlorophyta)、红藻纲 (Rhodophyceae) 和陆生植物, 因此真菌与动物的亲缘关系比与植物更近^[3,10]。动物是从单鞭毛的原生生物领鞭毛虫 (Choanoflagellata) 演化而来, 而植物则由双鞭毛原生生物中的双星藻目 (Zygomatales) 演化而来。原生生物中囊泡藻界 (Chromalveolata, 如褐藻) 是单鞭毛生物与双鞭毛生物的红藻共生而形成的。原生生物的进化过程迅速且复杂, 本文根据已发表的文献和物种序列在 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 中比对的结果, 总结了现已确定分类和未确定分类的原生生物 (表 1), 部分原生生物主要类群的形态如图 1。

收稿日期: 2021-12-23; 修订日期: 2022-05-25

基金项目: 国家自然科学基金 (42077206, 32071548) 和国家重点研发计划 (2018YFE0107000) 资助

作者简介: 雷 丽 (1995-), 女, 四川省泸州人, 硕士研究生, 主要从事草原土壤原生生物和微生物多样性和功能方面的研究。E-mail: leili@fafu.edu.cn

*通讯作者: E-mail: lixz@cib.ac.cn; E-mail: yaomj@fafu.edu.cn

表 1 原生动物的系统分类体系及其主要类群
Table 1 Phylogenetic system of protists and the main groups

门 Phylum	主要分类 Main Classification	重要类群或代表生物 Representative protists
Amoebozoa	Tubulinea	Arcellinida、Euamoebida、Echinamoebida
	Discosea	Pellitida、Vannellidae、Himatismenida、Dermamoebida
	Evosea	Archamoebae、Protosteliida、Fractovitteliida、Eumycetozoa、Myxogastria、Dictyostelia
Opisthokonta		Filasterea、Ichthyosporea、Choanoflagellata Nuclearia、Fonticuaceae
Stramenopiles	Bigyra	Blastocystidae、Blastocystis hominis、Bicosoecida
	Labyrinthulomycota	Slime Nets
	Chrysophyceae	
	Phaeophyceae	Laminariales、Pelvetia
	Opalinata	Opalina
	Hyphochytriomycetes	Hyphochytrium
	Oomycota	Albuginales
	Actinophryidae	Centrohelids
	Eustigmatophyceae	Eustigmatales
	Raphidophyta	Chloromonas
	Xanthophyta	Tribonema、Botrydium
	Diatoms	Bacillariophyceae
	Dictyochophyceae	Pedinellales
Alveolata	Colpodellida	Chromeraceae
	Dinoflagellates	Syndiniales
	Apicomplexa	Haemospororida、Coccidia、Plasmodium、Piroplasmida、Gregarinasina Karyorelictea、Heterotrichea、Spirotrichea、Protocruzia、Armophorea、 Litostomatea、hylopharyngea、Colpodea、Prostomatea
	Ciliophora	Plasmodiophoridae、Haplosporida、Cercomonadidae、Glissomonadida、 Thecofilosea、Thaumatomonadida、Euglyphida、Chlorarachniophyta、 Vampyrellida、Phytomyxea
Rhizaria	Cercozoa	Foraminifera、Acantharea、Polycystinea
	Retaria	
Archaeplastida	Glaucophyta	Cyanophoraceae
	Rhodophyceae	Bangiales、Florideophycidae、Cyanidiales
	Chlorophyta	Trebouxiophyceae、Mamiellophyceae
Excavate	Metamonada	Retortamonadida、Parabasalia、Oxymonadida、Malawimonas
	Discoba	Heterolobosea、Euglenida
	Euglenozoa	Euglenids、Kinetoplastea、Trypanosoma、Leishmania
	Heterolobosea	Stephanopogon、Cellular slime molds/Acrasida、Naegleria
	Parabasalia	Trichomonads
	Fornicata	Diplomonads、Giardia、Retortamonads
	Preaxostyla	Oxymonadida
	Discoba	Jakobida
Malawimonadidae	Malawimonas	

Unclassified: Flabellinia、Thecamoebidae、Cryptomycota、Stygamoeba、Archamoebae、Angulamoeba、Phalansterium、Trichosphaerium、Lobosea、Symbiotic Dinoflagellates、Kraken、Glaucocestophyceae sp., et al.

2 原生动物的系统发育分类

由于研究方法和技术手段的限制, 不同时期原生动物的系统发育分类有所不同。Bütschli 等 (1880-1890) 的经典分类方案基于运动器官, 将原生生物分为肉足亚目 (Sarcodina)、孢子体亚目 (Sporozoa)、鞭毛虫亚目 (Mastigophora) 和纤毛虫亚目 (Infusoria) 四类^[1]。Levine 等 (1980) 根据电子显微镜数据, 如形态大小、泡状核 (Vesicular

Nucleus) 数量、生殖方式、进化特征 (包含亚细胞器特化或者与取食、运动、渗透调节和繁殖相关的细胞器) 等提出了新的分类体系^[12], 主要为: 鞭毛虫门 (Sarcomastigophora)、盘蜷动物门 (Labyrinthomorpha)、顶复门 (Apicomplexa)、微孢子虫 (Microspora)、囊孢子虫 (Ascetospora)、粘虫 (Myxozoa)、纤毛虫 (Ciliphora), 但该分类方案只涉及亚目以及一些有代表性的属。随着新技

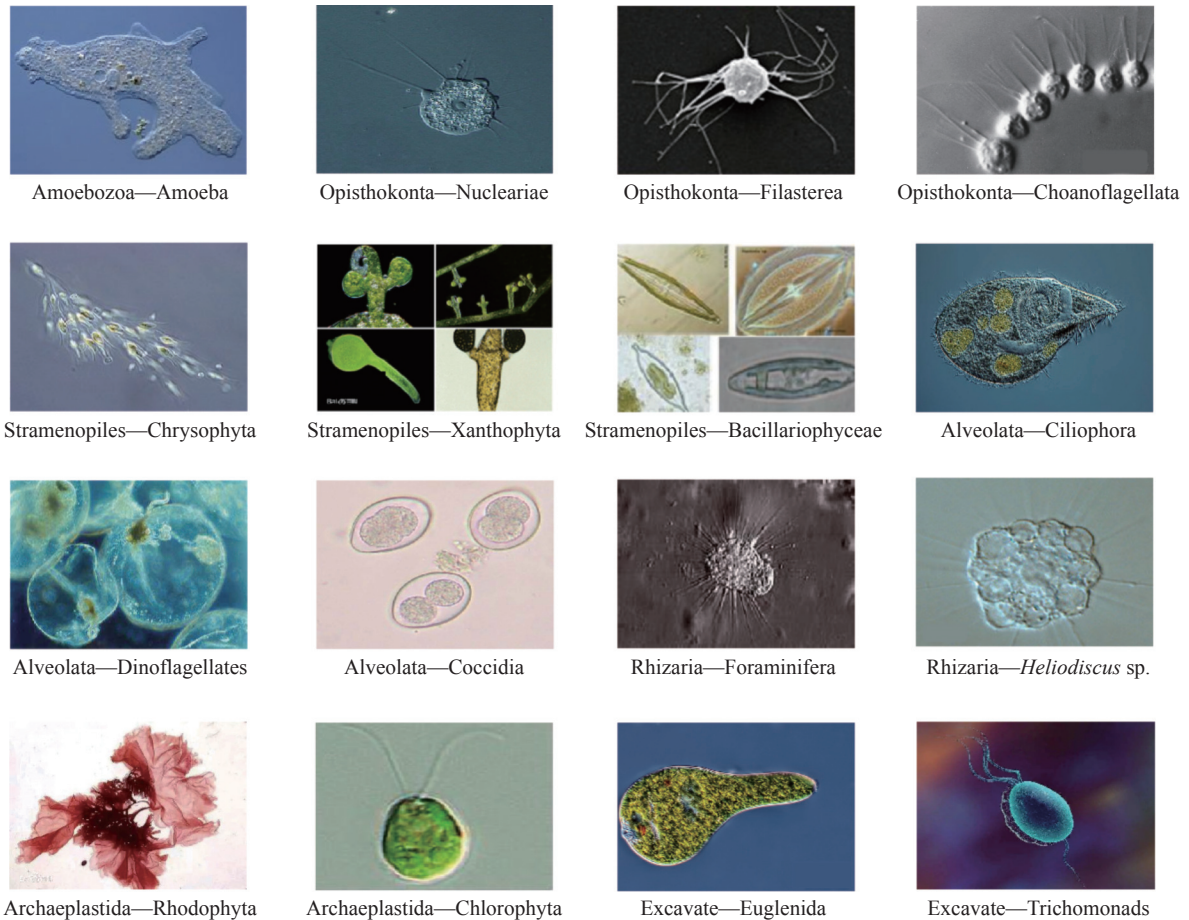


图 1 部分原生物类群的形态(图片来自网络)
Fig.1 Morphology of some protists

术和方法的出现, Levrine 等人的分类也不断地被修改。Adl 等(2005)根据分子系统发育学和结构特征将原生物重新划分为六类^[2], 包括: 后鞭毛生物群(Opisthokonta)、泛植物类群(Archaeplastida)、古虫群(Excavata)、囊泡藻群(Chromalveolata)、有孔虫群(Rhizaria)和变形虫群(Amoebzoa)。

后鞭毛生物群(Opisthokonta), 如 Mesomycetozoa、Choanomonada、Metazoa 等, 该生物群共同的特征是有鞭毛。泛植物类群(Archaeplastida), 又称为原始色素体生物, 包含了许多单细胞的藻类, 如灰色藻门(Glaucophyta)、红藻(Rhodophyceae)、绿藻(Chloroplastida)等, 呈单细胞结构或由细胞成串排列组成藻丝状结构(无分支), 没有鞭毛, 不能运动。古虫群(Excavata), 包括了许多自由生存或共生的原生物以及一些重要的人体寄生虫, 如眼虫门(Euglenozoa)、雅各巴虫(Jakobida)、副基虫(Parabasalia)、Fornicata 等, 前两类有线粒体, 后两类无线粒体, 该生物群大多寄生或共生在动物体

内。囊泡藻群(Chromalveolata), 如不等鞭毛门(Stramenopiles)、定鞭藻门(Haptophyta)、囊泡虫(Alveolata)和隐藻门(Cryptophyta)等, 它们是自养生物, 含有鞭毛和叶绿素, 类囊体通常成对出现。有孔虫群(Rhizaria), 如丝足虫(Cercozoa)、放射虫(Radiolaria)、Foraminifera 等, 尾足呈丝状, 可分支, 有伪足。变形虫群(Amoebzoa)是目前研究最多的一大类群, 包括 Tubulinea、Flabellinea、Stereomyxida 等。变形虫群是原生物中的超级群, 单细胞结构, 可以任意改变体形, 能在全身各处伸出不分支的伪足, 以便于运动和摄食。除了以上被暂定分类的原生物以外, 还有很多原生物物种仍然有待分类, 而有些原生物的演化分支已经延伸到了植物界和动物界。早期对原生物基于形态结构描述的分类体系中原生物分类界限模糊。2012 年 Adl 等人发现了这一系列问题并在原有的分类体系基础上, 依据系统发育学和原生物结构重新进行了分类^[3], 即后鞭毛生物(Opisthokonta)、原始色素体生物(Archaeplastida)、古虫群

(Excavata)、新 SAR 超群、变形虫群 (Amoebozoa) 五类。根据以上四个时期原生动物的

形态结构特征和分子系统发育学, 我们总结了原生生物系统发育分类体系之间的关系 (图 2)。

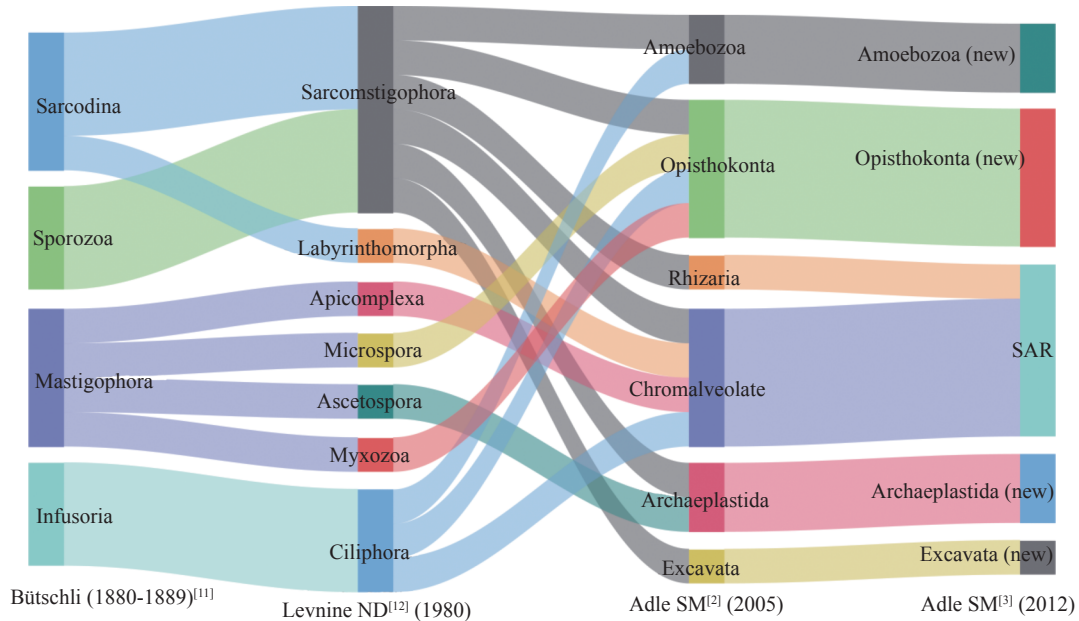


图 2 原生生物不同系统发育分类体系之间的关系

Fig.2 Relationship between different phylogenetic classification of protists

3 土壤原生动物的营养类型

3.1 土壤原生动物的吞噬功能

土壤中有很多异养型原生生物, 通过摄食偏好性可以分为食细菌型、食真菌型、杂食型^[7]。杂食型原生生物可摄食细菌和一些真核生物, 如藻类 (如绿藻 (Chlorophyceae))、真菌 (如酵母 (Yeast)) 以及微小的后生动物 (如鞭毛虫 (Flagellates))^[13]。吞噬型原生生物 (食细菌型、食真菌型、杂食型) 能够根据猎物和自身条件, 如通过判断猎物表型、识别猎物分泌的挥发性化合物、破坏猎物细胞结构和特化自身摄食器官等, 采取合适的掠食策略摄食并吸收猎物的营养物质供自身生长。

土壤中食细菌型的原生生物种类繁多, 代表类群有古虫群 (Excavata) 中的眼虫门 (Euglenozoa); 变形虫 (Amoebozoa) 中的管涌足虫 (Tubulinea) 和网柄虫 (Dictyostelia); 囊泡虫 (Alveolata) 中的纤毛虫 (Ciliophora)^[10]。每种原生生物在土壤中摄食猎物时都有不同的偏好, 部分归因于细菌形态 (细胞大小) 和结构 (如革兰氏阴性细菌和革兰氏阳性细菌) 的不同; 另外, 细菌进化过程中产生了逃避原生生物攻击的策略, 即细菌在生长、群落形成、逃逸过程中产生和运输的有毒化合物不同^[14], 以及原

生生物对细菌产生的化学防御化合物的敏感性不同^[15-16], 也会造成土壤原生动物的摄食偏好。土壤原生生物可以通过直接感知细菌的表型判断猎物的形态等特征, 从而完成相应的捕食行为, 例如原生生物 Amoebae 能够使用膜结合受体通过细胞与细胞的接触来区分猎物, 随后进行摄食^[17]。土壤原生生物也可以以间接方式捕食猎物, 如特定的细菌会产生特异的挥发性有机物质 (如萜烯类化合物), 这些挥发性物质在疏松多孔的土壤中进行长距离的扩散, 诱导原生生物沿挥发性有机物到达细菌所在位置, 并完成捕食^[18-19]。土壤原生生物不同的摄食方式对被捕食者的种群动态有直接影响^[20]。

长期以来, 人们一直认为土壤中原生生物的主要猎物是细菌, 因为这种模式在土壤微食物网中广泛存在^[21]。然而, 越来越多的证据表明, 原生生物对真菌的捕食也很重要^[22]。食真菌型原生生物 Grossglockneriidae, 是纤毛虫的一个独特类群, 因为其高度特化的口腔含一种用于分解和吸收菌丝、孢子的触手, 因此不能摄入原核细胞, 只能以真菌作为唯一的食物来源^[22]。还有研究表明, 原生生物 *Acanthamoeba castellanii* 可以摄食无菌丝的酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 和 *Coprinopsis cinerea*, 但

不能摄食有菌丝的真菌 *Neurospora crassa*^[6], 推测 *N. crassa* 可能受到菌丝的机械保护, 而原生生物又没有特定的适应机制来分解菌丝, 所以原生生物可以摄食却不能消化吸收 *N. crassa* 的营养物质, 从而不能供自身生长繁殖, 最终使得 *N. crassa* 能够躲避被捕食^[23]。原生生物 *Orciraptor agilis* 和 *Viridiraptor invadens* 也摄食真菌, 这两个物种均有鞭毛, 可以在土壤环境中自由运动。*O. agilis* 和 *V. invadens* 在与藻类细胞的接触区形成独特的、富含纤维状肌动蛋白 (F-actin) 的结构, 该结构可穿透藻类细胞壁从而捕食藻类^[24]。

杂食型原生生物一般有伪足, 对于不同的食物其摄食行为是不一样的。摄食藻类食物时, 用伪足先刺穿细胞壁, 再进行摄食; 摄食细菌时, 杂食型原生生物与食细菌型原生生物的摄食策略一致, 都是直接摄食。有孔虫类 (Rhizaria) 中的许多原生生物属于杂食型原生生物, 如, *Euglypha* (有孔虫类) 能在以大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 为唯一碳源的培养基中生长^[25]; *Vampyrellida* (有孔虫类) 能附着在藻类细胞上, 其表面的伪足除了能增大附着面积外, 还能穿透藻类 (如鞘藻目 *Oedogoniales*) 的细胞壁, 并吸收细胞内的营养物质^[26], 直至完全吞噬细胞; 另外, *Vampyrellida* 还能直接通过其取食器官吞噬真菌的分生孢子^[27]。

3.2 土壤原生生物的非吞噬功能

土壤中原生生物还有很多非吞噬功能型, 如光营养型、腐生型、寄生型等营养类型 (表 2)。土壤中存在许多光营养型原生生物 (如 *Bacillariophyta*、

Chrysophyceae、*Xanthophyceae*)。研究表明, *Mesomycetozoa*、*Gregarinasina* 和 *Phytomyxea* 与生物结皮的形成有关, 参与土壤系统的碳输入^[28]; 在富含碳的泥炭地土壤中, *Archerella flavum* 和 *Amphitrema wrightianum* 可与苔藓、蓝细菌形成苔藓圈固定 CO₂, 对碳输入有显著贡献^[29]。在比较潮湿的季节, 在特定的基质表面 (富含有机质或盐含量较高), 发现有特定种类的腐生型原生生物黏液霉菌 (*Dictyostelia*), 这些物种能分泌胞外酶消化木屑碎片、树皮、纤维素和粪便等^[30]。另一种重要的腐生型原生生物是壶菌门 (*Chytridiomycota*), 其成员主要通过分泌酶来分解利用花粉、几丁质、角蛋白和纤维素等^[31]。寄生型原生生物的种类繁多, 如疫霉菌 (*Phytophthora*), 能够使马铃薯发生严重病害; 水霉目真菌 (*Saprolegniales*), 在土壤中能寄生在豆科作物根系, 引起根腐病, 危害植物健康, 在水体中能寄生在鱼类体内, 引起鱼的水霉病^[32-33]; 棘阿米巴 (*Acanthamoeba*), 可以寄生在人类细胞内, 引起角膜炎和肉芽肿性阿米巴脑炎 (*Granulomatous amoebic encephalitis*), 角膜炎是由 *Acanthamoeba* 寄生并破坏眼部组织引起的, 而肉芽肿性阿米巴脑炎是 *Acanthamoeba* 寄生于神经细胞形成感染性肉芽肿引起的^[34]。

4 土壤原生生物的生态功能

4.1 土壤原生生物影响植物的生长发育

土壤原生生物的捕食作用可加速植物根际的物质循环和能量流动^[35-37]。植物通过根系分泌物给土壤

表 2 土壤原生生物的营养类型
Table 2 The trophic groups of protists

营养类型 Trophic Group	原生生物代表 Representative Protists	功能 Function
Heterotrophs	Bacterivorous Euglenozoa、Tubulinea、Dictyostelia等	控制并改变土壤微生物的生长和群落组成; 直接影响植物根际营养成分的吸收和植物根部的激素水平, 最终影响植物生长; 通过改变土壤根系微生物群落组成间接促进植物养分的吸收
	Fungivorous <i>Cryptodiffugia operculata</i> 、 <i>Cercomona</i> 、 <i>Ciliophora</i> (<i>Grossglockneriidae</i> 、 <i>Colpoda steinii</i> 、 <i>Tetrahymena pyriformis</i> 、 <i>Metopus palaeformis</i> 等)	控制并改变土壤微生物的生长和群落组成; <i>C. steinii</i> 具有裂解病原真菌大丽花轮枝孢 (<i>Verticillium dahlia</i>) 菌丝的功能, 从而达到生物防治的作用; 通过生物转化进行砷解毒 (<i>T. pyriformis</i>); 作为土壤物理化学性质变化的指示者 (<i>M. palaeformis</i>); 通过改变根系微生物群落组成促进植物吸收养分 (<i>A. castellanii</i>)
	Omnivorous Rhizaria	指示土壤理化性质的变化 (<i>Vampyrellida</i>); 控制土壤微生物的生长和群落组成 (<i>Euglyphida</i>)
Autotrophs Saprotrophs	<i>Bacillariophyta</i> 、 <i>Chrysophyceae</i> 、 <i>Trebouxiophyceae</i> <i>Opisthokonta</i> 、 <i>Dictyostelia</i> 、 <i>Chytridiomycota</i>	增加土壤有机碳输入 参与土壤中有有机物质的降解, 在碳氮循环和养分转化过程中发挥着重要作用
Parasites	<i>Apicomplexa</i> 、 <i>Phytophthora</i> 、 <i>Saprolegniales</i>	感染动物, 致使动物患病; 使土豆植株发生严重病害; 使植物根系发生腐烂

中的微生物提供营养物质, 使土壤根际微生物的活性和生物量大大提升^[38]。原生生物通过不同的摄食偏好捕食土壤中的各种根际细菌^[39], 引起根际微生物群落组成的变化, 或者通过排泄释放出捕食根际微生物所吸收的矿质元素进而影响植物生长^[40-41]。因此, 根系分泌物、根际微生物、原生生物之间形成了一条物质与能量流动链, 有助于植物地上、地下部的生长发育。

原生生物可以通过影响植物根际营养物质的吸收和激素水平来影响植物的生长。有研究表明, 当根际周围碳源(如有机质)充足时, 与对照处理相比, 原生生物的存在可以使植物的氮素吸收率显著增加 18%, 还可以使植物的侧根数量和长度增加 3.9 和 5.2 倍, 根分支增多 4.6 倍^[42], 同时还能通过捕食关系将细菌从根系分泌物中固定的营养物质释放供给植物吸收; 另外, 土壤原生生物虽然不能直接产生改变植物表型的物质(如植物生长素, IAA), 但是可以通过捕食释放出细菌产生激素需要的前体物质, 刺激细菌产生激素, 从而促进植物根系的生长。

原生生物的捕食活动对植物有利有弊。如革兰氏阴性菌—荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*), 是重要的植物益生菌, 可以直接或通过对根系病原菌的影响间接促进作物的生长^[43], 也可以诱导系统性植物抗性以及产生针对病原性真菌的抗生素保护植物健康, 如 2,4-二乙酰基间苯三酚(PAPG)、吩嗪(PCA)、藤黄绿脓菌素(PLT)等^[44]。但有实验表明, 棘阿米巴(*Acanthamoeba castellanii*)捕食 *P. fluorescens*^[45], 使得土壤健康状况下降, 植物生物量降低。

4.2 原生生物是土壤质量的指示者

原生生物是土壤环境和质量变化的指示者。土壤中原生生物的丰度和类群主要受土壤湿度、温度、养分状态、土地利用方式等因素的影响。在干旱和食物不足条件下, 原生生物可形成孢囊, 孢囊可以为原生生物提供生存资源, 进而保证原生生物在极端条件下生存^[30]。在适宜的温度、水、pH 以及食物等条件下, 原生生物可被激活从而去孢囊化, 重新回到活跃状态。原生生物生长快、拥有脆弱的细胞膜^[46]、较窄的生态位宽度^[47]以及较强的环境敏感性^[48], 因此, 原生生物比其它真核生物和细菌对环境变化的响应更快, 常作为土壤质量变化早期的预警

信号和生物指示者^[49]。近年来随着对原生生物研究的深入, 关于原生生物作为生物指示者的工作越来越多。

原生生物与土壤理化参数(如, 水分含量、pH、O₂、CO₂等)相关。土壤中原生生物的多样性受土壤有效水分含量的影响较大, 因此可以根据土壤有效水分含量, 粗略地估算土壤原生生物多样性的^[49]。多数原生生物可以在相对较宽的 pH 值(3.5~9.5)范围内生存, 在该范围内, 土壤原生生物的丰度一般随着土壤 pH 值升高而增加, 如土壤中巨大肉足虫(Vampyrellida)在 pH 值为 7.0 时绝对丰度最大^[50]。原生生物对土壤中 O₂、CO₂ 的含量也比较敏感, 纤毛虫(*Metopus palaeformis*)是最典型的厌氧土壤环境栖息类群, 在厌氧状态下, 其生长状况最佳, 种群数量最大, 但随着土壤中氧气含量的增加, 其密度会降低, 因此纤毛虫通常被当做土壤氧气状况的指示生物^[51]。当环境中的 CO₂ 浓度增加时, 土壤中鞭毛虫(Flagellates)的密度呈现增加的趋势, 变形虫(Amoebozoa)的密度呈现显著降低的趋势^[35]。

土壤原生生物由于其个体简单、易于培养、繁殖速度快、分布不受地域限制、对极端环境适应性强且能够在很短的时间做出响应, 是重金属和农药污染物毒性诊断的理想模式生物^[52]。重金属污染可以导致土壤原生生物物种多样性、群落组成和结构发生变化。马正学等(2002)发现, 在铅锌矿采矿废物污染土壤中, 原生生物群落物种多样性显著下降, 在鉴定到的 66 种原生生物中, 对照土壤中有 65 种, 而污染土壤中只有 4 种, 可能是由于铅锌矿采矿废物污染, 导致土壤原生生物群落中大量不耐铅锌污染的物种消亡, 只留下少数耐铅锌污染的种类, 其中腐生原生生物波豆虫(*Bodoputrinus*)和梅氏扁豆虫(*Phacodinium metchnicoffi*)被认为是铅锌类污染土壤的指示物种^[53]。Forge 等(1993)研究污染土壤(含 Ni、Cu 或 Zn 等重金属)时发现, 污染土壤中原生生物纤毛虫(*Colpoda steinii*)的数量受到严重抑制且对不同重金属污染的敏感度不同, 抑制强度顺序依次为 Ni > Cu > Zn^[54]。土壤原生生物除了可作为土壤重金属污染的指示剂外, 还可以作为土壤解毒模式生物, 例如原生生物梨形四膜虫(*Tetrahymena pyriformis*), 该物种对砷有较强的耐受力, 能使无机砷甲基化, 其代谢途径是土壤和水体环境中将砷进行生物转化最重要的解毒途径^[55-56]。

4.3 土壤原生生物在生物防治中的应用

原生生物在生物防治方面有着重要作用 (图 3)。在多孔疏松的土壤环境中, 细菌通过挥发性化合物与原生生物发生复杂的“化学战争”^[57], 细菌产生的有机挥发性化合物, 化学成分不同, 包括烯烃、酮、

硫化物和萜烯^[58]。原生生物能够通过细菌特有的挥发性化合物 (萜烯) 提高活性从而识别猎物^[59], 即特定的挥发物可用于激活土壤原生生物捕食土传病原菌从而达到生物防治的效果。

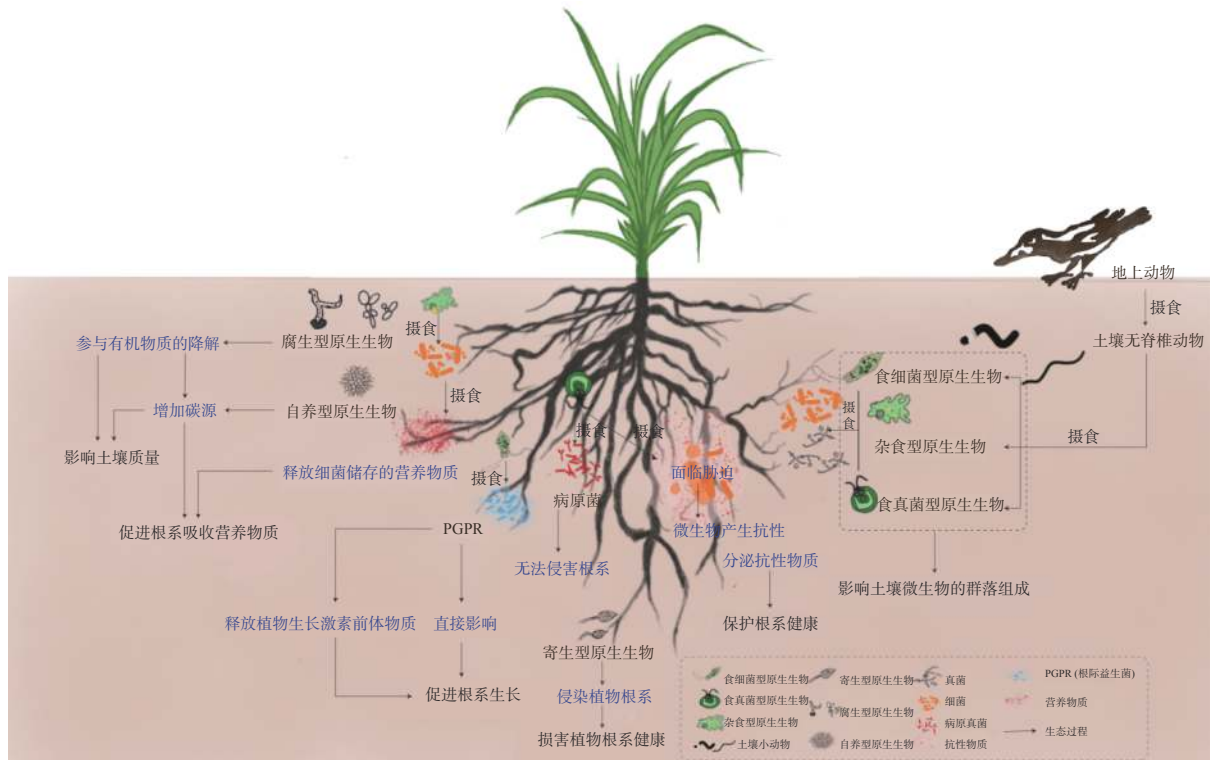


图 3 原生生物营养类型及其生态功能

Fig.3 The protists trophic groups and their ecological functions

当土壤中存在原生生物时, 加入植物致病细菌 (*Bacillus aerius*), 不能影响马铃薯的正常生长, 而土壤中不存在原生生物的对照组中的马铃薯植株却在短时间内发病枯萎^[60], 这是因为土壤中原生生物的捕食作用抑制了病原菌 (*B. aorideae*) 侵染马铃薯植株, 从而保护了植株健康生长。纤毛虫 (*Ciliophora*) 可减少棉籽受到枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 的侵染^[61]; 土壤中齿脊肾形虫 (*Colpoda steinii*) 和僧帽肾形虫 (*Cucullus*) 可裂解大丽花轮枝孢 (*Verticillium dahliae*) 病原菌菌丝或使它的孢子、菌核不发芽^[46]; 土壤中快速生长的纤毛虫 (*Grossglockneriidae*) 可使 12 种病原真菌快速死亡^[22]。

5 土壤原生生物的地理分布

原生生物是陆地环境中生物群落的重要组成部分^[10], 然而, 很多原生生物还没有被描述和鉴定, 关

于土壤原生生物的空间地理分布模式的研究相对较少, 分子生物学技术的快速发展推动了土壤原生生物地理分布模式和驱动机制的研究^[62]。早期的生物地理学研究表明, 原生生物是无处不在的^[11], 近几年在大的空间地理尺度上利用 18S rRNA 基因进行高通量测序的研究表明, 原生生物物种的存在是受到环境条件限制的, 如阿米巴虫 *Nebela vas* 广泛存在于潮湿、酸性的陆地栖息地中, 北极地区却没有该物种^[63-64]。一般认为, 与动植物一样, 原生生物也会表现出纬度分布模式, 不同原生生物类群可能会表现出不同的模式, 对于驱动这些模式形成的规律还需要深入研究。有研究表明, 土壤原生生物的生物地理模式与微生物的生物地理模式一致^[65], 即群落相似性呈距离衰减模式^[57]。土壤水分可利用性是预测大的地理尺度原生生物群落差异显著的最佳环境因子, 如在极度干旱地区土壤中, 南极洲 (Antarctica) 和莫哈韦

沙漠 (Mojave Desert) 有着相似的原生生物群落; 潮湿地的秘鲁 (Peru) 土壤和波多黎各 (Puerto Rico) 土壤之间有相似的原生生物群落^[57]。土壤中有孔虫类 (以 *Euglyphida* 为例) 的丰富度在低纬度呈单峰模式, 温度和土壤 TC/TN 影响 *Euglyphida* 的纬度分布模式, 温度与 *Euglyphida* 的丰富度呈显著正相关; 土壤 TC/TN 与 *Euglyphida* 的丰富度呈显著负相关, 土壤 TC/TN 与有机质的周转速率有关, 进而影响 *Euglyphida* 的营养利用^[62]。

土壤原生生物在海拔梯度上呈现规律性分布, 有随着海拔升高而降低的模式, 也有类群表现出单峰模式。变形虫 (*Testate amoebae*) 多样性随海拔降低而降低, 凋落层的 pH 是解释海拔梯度下变形虫群落差异显著的环境因子, 解释度为 12.3 %^[66]; 也有研究表明, 土壤中有壳变形虫多样性随海拔 (1000 ~ 3000 m) 增加呈现单峰模式, 在中海拔 (2000 m) 时多样性最高, 而中海拔凋落物层的凋落物量是最高的, 与有壳变形虫多样性随海拔变化模式一致, 因此 pH 和有机质含量是影响土壤原生生物海拔分布模式的主要环境因子^[67]。土壤原生动物的地理分布具有较强的区域性, 关于全球空间地理尺度上土壤原生动物的多样性和群落组成, 以及空间分布模式和驱动机制还有待深入研究^[1]。

6 原生生物研究方法进展

土壤中原生生物的个数通常为每克土 $10^4 \sim 10^7$ 个^[68], 体型大小跨度较大 (最小的在 μm 级, 最大的在 cm 级)^[69], 原生生物的基因组 (用 C 值衡量, C 值: 单倍体基因组的 DNA 总量) 大小相差 300 倍^[70]。尽管原生生物也是生物地球化学循环的重要组成部分, 但与土壤细菌和真菌相比, 土壤原生生物受到的关注相对较少^[69], 主要是由于研究方法上的限制。目前常用的研究原生生物的方法有两种: 直接观察法及分子生物学方法。

(1) 直接观察法: 用显微镜观察识别原生生物, 再运用形态学专业知识鉴定。直接观察法是我们了解土壤原生生物的基础, 该方法能观察样品中原生生物的数量和形态^[6], 例如电镜下的马氏虫属 (*Mayorella*), 身体前半部有锥形伪足; 纤毛虫类的 *Grossglockneriida*, 有许多微小的、高度复杂的饲管; 后鞭毛生物 *Circinella*, 全身非常细长, 容易与土壤线虫混淆^[71]。但直接观察方法繁琐、耗时, 使得

利用直接观察法描述土壤原生生物比较困难, 主要体现在: ①土壤颗粒不透明, 影响对大多数原生生物的显微镜观察和鉴定, 因此, 容易低估原生生物的多样性^[72]; ②需要具有原生生物分类学专业知识的研究人员, 才能利用原生生物外形结构等特征对所观察到的原生生物进行鉴定分类^[67]。

(2) 分子方法: 提取土壤原生生物的核酸, 利用分子生物学方法鉴定, 如扩增子高通量测序、宏基因组和宏转录组测序等^[58,73-74]。由于分子鉴定具有高效、准确、通量大等优点, 已经被广泛应用于原生生物多样性研究中, 如, Batesd 等 (2012) 利用扩增子高通量测序, 研究了大的空间地理尺度下土壤原生生物多样性, 发现除了已知在土壤中占主导地位的丝足虫门 (*Cercozoa*) 和纤毛动物门 (*Ciliophora*) 外, 顶复门 (*Apicomplexa*) 和甲藻科 (*Dinophyceae*) 也有较高的相对丰度^[68]。有研究利用宏基因组测序, 在干旱土壤中检测到了光自养型原生生物 (如原始色素体生物类的 *Chlorophyceae*、*Ulvophyceae*、*Pyramimonadales* 等), 这些光自养的原生生物参与土壤结皮的形成, 是干旱土壤的初级生产者, 与光合作用有关, 能增加土壤碳输入^[75]。利用宏转录组技术, 在酸性矿山排水中检测到大量活跃的后鞭毛生物类原生生物 *Tremellales*, 其体内有编码糖苷酶的基因, *Tremellales* 能分解木质素、纤维素和其它葡聚糖等有机物, 为其它异养生物提供能量来源^[76]。尽管原生生物研究中分子生物学方法已被广泛应用, 但也存在缺点: ①扩增子测序只能检测相对丰度, 不能提供绝对丰度的信息, 另外, 所用的引物具有偏好性, 覆盖不全^[57]; ②宏基因组和宏转录组测序费用较高, 分析复杂^[73]; ③缺乏完整的外生生物分子序列比对数据库, 大量原生生物在种属水平上缺乏 SSU rRNA 参考序列^[68]。

原生生物常用真核生物的引物进行扩增测序, 如利用 EUK20f/EUK302r + 3 对 18S rRNA 的 V1-V3 高变区进行扩增^[77], 能检测到变形虫 (*Amoebozoa*)、纤毛虫 (*Ciliophora*)、鞭毛虫 (*Flagellate*) 等^[78], 但该方法会低估原生生物的物种多样性^[79]。为了获得原生生物某单一类群完整的物种多样性, 不同的原生生物类群需要不同的专一引物^[77], 如, 变形虫 (*Amoebozoa*) 用 P-FLA-F/P-FLA-R 引物进行扩增^[80]; 丝足虫 (*Cercozoa*) 用 25F/1256R 进行扩增^[81]; 纤毛虫 (*Ciliates*) 用 CilF-GC/CilDGGE-r 进行扩增^[82]。

传统的直接观察法研究了部分原生生物类群，并对这些类群的形态特征进行了粗略的描述^[9]，分子生物学方法可以鉴定更多的原生生物物种及其功能^[68,83]，将两种方法有效结合起来，可以为研究原生生物在土壤食物网中的作用提供有利的手段。

7 展望

原生生物在土壤中种类繁多，对土壤生态功能的维持发挥着重要作用。然而，相对于土壤中的其它生物类群，对原生生物的研究较少，很多工作还处于起步阶段。将来的研究建议重点在以下方面开展。

(1) 建立与改进与生态功能相关的原生生物鉴定、分离和培养技术。近年来，随着分子测序技术的发展，加深了人们对土壤中原生生物多样性及空间分布规律的认识。但高通量测序方法只能提供类群相对丰度不能提供绝对丰度，缺少精确的原生生物分类信息的数据库，实验中存在引物偏好性，使得全面解读土壤中原生生物的群落组成和功能成为难点。针对原生生物类群多、遗传多样性高、系统分类复杂、分离筛选困难、形态学鉴定困难和难以找到能够覆盖较大分类范围引物对等特点，未来的研究中需要针对不同的原生生物分类群设计专一性强、覆盖面广、偏差小的引物和改良分子生物学方法，同时加强宏基因组学和宏转录组学的应用。结合流式细胞仪、人工智能等技术，建立和健全高通量的土壤原生生物分离、鉴定研究体系。

(2) 深入研究土壤原生生物系统分类、形态与生态功能的联系。随着分子生物学技术的发展及对土壤原生生物研究的深入，越来越多的土壤原生生物被发现却无法归在现有的分类体系中，而由于对土壤原生生物物种水平上的研究重视不够，使许多在已知分类体系的土壤原生生物缺乏具体的形态学描述。将土壤原生生物的形态与功能、系统发育耦合起来进行综合分类，对于获得稳定的土壤原生生物分类框架至关重要，稳定的分类框架对全面了解土壤原生生物的生态作用必不可少，因此需要结合现代分子生物学技术与传统形态学鉴定方法，进一步完善土壤原生生物分类框架。

(3) 深入研究土壤原生生物群落多样性维持及构建的机制。土壤原生生物类群众多、体型变化大（单位跨度从微米到厘米）、营养类型多样（包含

自养型和异养型），因此，描述土壤中原生生物复杂的物种和功能多样性本身就是一个巨大的挑战。目前在群落和生态系统水平上对原生生物的研究较少，因此在群落和生态系统水平上进行原生生物的群落结构与功能研究是一个重点。为了揭示土壤原生生物在土壤中的群落特征和生态作用，需要结合高通量测序等分子技术手段，在不同尺度上进行定点、长期的监测，解析不同土壤环境中原生生物的多样性及群落结构，阐明土壤原生生物对气候、土壤、植被、农业措施等变化的响应模式，比较原生生物对环境变化响应模式与其它生物群落的异同，最终揭示原生生物群落构建及多样性维持的机制。

(4) 揭示土壤原生生物与其它土壤生物的相互作用与机制。土壤原生生物在微食物网中占据捕食者与被捕食者的生态位，控制着土壤微生物和微动物的生长繁殖和群落组成。但是目前对土壤原生生物的研究多限于以一种或少数土壤原生生物为模型，关于原生生物和其它土壤生物相互作用的直接证据较少。对土壤原生生物群落如何与土壤微生物或微动物之间相互作用及机制缺乏全面的了解，这种互作关系对土壤原生生物和土壤生物多样性或功能的影响，以及土壤原生生物和土壤生物应对这种互作关系的响应模式了解不深；这种互作关系对土壤健康和植物健康的影响及作用机制尚不明确。基于分子生物学技术、形态学鉴定方法，结合新型成像技术（如 NanoSIMS）或基于 X 射线的光谱或断层扫描方法，有助于准确定位土壤原生生物和土壤生物之间的相互关系，描述互作关系的作用途径及全面解读土壤原生生物在微食物网中发挥的作用。

(5) 建立原生生物组数据库。目前，仅有 500 余种原生生物进行了全基因组测序，主要集中在囊泡虫（Alveolata）类。随着测序技术的发展和海量数据的积累，确定原生生物组数据库是非常必要的。近年来我国开展的“万种原生生物基因组计划”，目的就是绘制原生生物基因组图谱，建立大规模的原生生物遗传资源数据库。因此，原生生物组数据库的建立需要各领域大量的原生生物学研究的数据，并需要对土壤原生生物长期、动态、定点的监测，以获得具有代表性的众多原生生物物种数据，建立基于形态学、遗传学及生态学信息的数据库，确立原生生物的系统分类与功能特征之间的关系，从而为研究原生生物在土壤保护、土壤肥力维持、土传

病害生物防治等方面的应用提供支持。

(6) 加强原生物在生态及农业中的应用研究。原生物在土壤环境监测与治理、土壤健康指示以及农业生物防治上的作用不可小觑。应加强应用技术研究, 如原生物培养和扩繁技术、产品形式与技术标准、应用方式以及产品的风险评估等, 形成相对完善的应用与开发流程, 进一步发展土壤原生物在生态与农业上的应用。开发快速高效的分子检测方法、简单直接的观测鉴定方法、及基于功能特征的鉴定方法等, 都有助于原生物在土壤环境监测与土壤健康指示方面的应用。

(7) 建立土壤原生物资源库。随着研究的深入, 土壤原生物的应用价值将会更多地被挖掘。目前已经建立了动植物资源库、浮游植物资源库、病毒资源库等, 原生物资源库非常少见, 因此开展土壤原生物资源库的建立以及功能性原生物的筛选、鉴定与保存等工作很有必要, 是原生物物种和基因资源研究和应用技术开发的基础。

参考文献:

- [1] Geisen S, Mitchell E A D, Adl S, et al. Soil protists: a fertile frontier in soil biology research[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2018, 42(3): 293 – 323.
- [2] Adl S M, Simpson A, Andersen R A, et al. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists[J]. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2005, 52(5): 399 – 451.
- [3] Adl S M, Simpson A, Lane C E, et al. The revised classification of eukaryotes[J]. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2012, 59(5): 429 – 514.
- [4] Bonkowski M. Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited[J]. *New Phytologist*, 2004, 162(3): 617 – 631.
- [5] Pawlowski J. The new micro-kingdoms of eukaryotes[J]. *BioMed Central Biology*, 2013, 11(1): 40 – 42.
- [6] Geisen S, Bonkowski M. Methodological advances to study the diversity of soil protists and their functioning in soil food webs[J]. *Applied Soil Ecology*, 2018, 123: 328 – 333.
- [7] Xiong W, Jousset A, Guo S, et al. Soil protist communities form a dynamic hub in the soil microbiome[J]. *The ISME Journal*, 2017, 12(2): 634 – 638.
- [8] Geisen S, Koller R, Hünninghaus M, et al. The soil food web revisited: diverse and widespread mycophagous soil protists[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 94: 10 – 18.
- [9] Stefan G, Cornelia B, Jörg R, et al. Soil water availability strongly alters the community composition of soil protists[J]. *Pedobiologia-Journal of Soil Ecology*, 2014, 57: 205 – 213.
- [10] Adl S M, Coleman D C. Dynamics of soil protozoa using a direct count method[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2005, 42(2): 168 – 171.
- [11] Bütschli O. Protozoa. Abt. I (1880-1882) Sarkodina und Sporozoa. Abt. II (1883-1887) Mastigophora. Abt. III (1887-1889) Infusoria und System der Radiolaria. In: Bronn H G. (ed.), *Klassen und Ordnung des Thier-Reichs*. Vol. 1, C. F. Winter, Leipzig. 1 – 616, 617 – 1097, 1098 – 2035.
- [12] Levine N D, Corliss J O, Cox F E G, et al. A newly revised classification of the protozoa[J]. *Society of Protozoologists*, 1980, 27(1): 37 – 58.
- [13] Hess S. Hunting for agile prey: trophic specialisation in leptophryid amoebae (Vampyrellida, Rhizaria) revealed by two novel predators of planktonic algae[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2017, 93(9): fix104.
- [14] Schuz-Bohm K, Geisen S, Wubs E R J, et al. The prey's scent-volatile organic compound mediated interactions between soil bacteria and their protist predators[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11: 817 – 820.
- [15] Jousset A. Ecological and evolutive implications of bacterial defences against predators[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(8): 1830 – 1843.
- [16] Glucksman E, Bell Thomas, Griffiths R I, et al. Closely related protist strains have different grazing impacts on natural bacterial communities[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(12): 3105 – 3113.
- [17] Brown R, Bass H, Coombs J. Carbohydrate binding proteins involved in phagocytosis by *Acanthamoeba*[J]. *Nature*, 1975, 254: 434 – 435.
- [18] Hünninghaus M, Koller R, Kramer S, et al. Changes in bacterial community composition and soil respiration indicate rapid successions of protist grazers during mineralization of maize crop residues[J]. *Pedobiologia-Journal of Soil Ecology*, 2017, 62: 1 – 8.
- [19] Schulz-Bohm K, Zweers H, Boer W D, et al. A fragrant neighborhood: volatile mediated bacterial interactions in soil[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1212 – 1222.
- [20] Pedersen A L, Winding A, Altenburger A, et al. Protozoan growth rates on secondary-metabolite-producing *Pseudomonas* spp. correlate with high-level protozoan taxonomy[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2011, 316(1): 16 – 22.
- [21] Trap J, Bonkowski M, Plassard C, et al. Ecological importance of soil bacterivores for ecosystem functions[J]. *Plant Soil*, 2016, 398(1 – 2): 1 – 24.
- [22] Petz W, Foissner W, Adam H, et al. Culture, food selection and growth rate in the mycophagous ciliate *Grossglockneria acuta* Foissner, 1980: First evidence of autochthonous soil ciliate[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, 17(6): 871 – 875.
- [23] Allen P G, Dawidowicz E A. Phagocytosis in *Acanthamoeba*: I. A mannose receptor is responsible for the binding and phagocytosis of yeast[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 1990, 145(3): 508 – 513.

- [24] Busch A, Hess S. The cytoskeleton architecture of algivorous protoplast feeders (Viridiraptoridae, Rhizaria) indicates actin-guided perforation of prey cell walls[J]. *Protist*, 2017, 168(1): 12 – 31.
- [25] Amacker N, Mitchell E A D, Ferrari B J D, et al. Development of a new ecotoxicological assay using the Testate Amoeba *Euglypha rotunda*(Rhizaria; Euglyphida) and assessment of the impact of the herbicide S-metolachlor[J]. *Chemosphere*, 2018, 201: 351 – 360.
- [26] Sebastian H, Andreas S. The Vampyrellid amoebae(Vampyrellida, Rhizaria)[J]. *Protist*, 2022, 173(1): 125854.
- [27] Sebastian H, Nicole S, Michael M. et al. Shedding light on vampires: the phylogeny of Vampyrellid Amoebozoa revisited[J]. *Plos One*, 2012, 7(2): e31165.
- [28] Seppey C V W, Singer D, Dumack K, et al. Distribution patterns of soil microbial eukaryotes suggests widespread algivory by phagotrophic protists as an alternative pathway for nutrient cycling[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 112: 68 – 76.
- [29] Jassey V, Signarbieux C, Hättenschwiler S, et al. An unexpected role for mixotrophs in the response of peatland carbon cycling to climate warming[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 16931.
- [30] Adl S M, Gupta V S. Protists in soil ecology and forest nutrient cycling[J]. *Canadian Journal of Forest Research*, 2006, 36(7): 1805 – 1817.
- [31] Adl S M. The ecology of soil decomposition[M]. The united states of america: center for agriculture and bioscience international. 2003, 268-368.
- [32] Benhamou N, Rey P, Picard K, et al. Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction between the mycoparasite *pythium oligandrum* and soilborne plant pathogens[J]. *Phytopathology*, 1999, 89(6): 506 – 517.
- [33] Phillips A J, Anderson V L, Robertson E J, et al. New insights into animal pathogenic oomycetes[J]. *Trends in Microbiology*, 2008, 16(1): 13 – 19.
- [34] Garate M, Cao Z, Bateman E, et al. Cloning and characterization of a novel mannose-binding protein of *acanthamoeba*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(28): 29849 – 29856.
- [35] Treonis A M, Lussenhop J F. Rapid response of soil protozoa to elevated CO₂[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1997, 25(1): 60 – 62.
- [36] Anderson R O, Griffin K L. Abundances of protozoa in soil of laboratory grown wheat plants cultivated under low and high atmospheric CO₂ concentrations[J]. *Protistology*, 2001, 2(2): 76 – 84.
- [37] Rønn R, Gavito M, Larsen J, et al. Response of free-living soil protozoa and microorganisms to elevated atmospheric CO₂ and presence of mycorrhiza[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(7): 923 – 932.
- [38] 刘京伟, 李香真, 姚敏杰. 植物根际微生物群落构建的研究进展[J]. *微生物学报*, 2021, 61(2): 231 – 248.
- [39] Bonkowski M, Brandt F. Do soil protozoa enhance plant growth by hormonal effects?[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(11): 1709 – 1715.
- [40] Kreuzer K, Adamczyk J, Iijima M, et al. Grazing of a common species of soil protozoa (*Acanthamoeba castellanii*) affects rhizosphere bacterial community composition and root architecture of rice(*Oryza sativa* L.) [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(7): 1665 – 1672.
- [41] Mao X F, Hu F, Griffiths B, et al. Bacterial-feeding nematodes enhance root growth of tomato seedlings[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(7): 1615 – 1622.
- [42] Clarholm M. Interactions of bacteria, protozoa and plants leading to mineralization of soil nitrogen[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, 17(2): 181 – 187.
- [43] Frans A, De Leij, Josephine E, et al. Effect of 2, 4-diacetylphloroglucinol-producing and non-producing strains of *Pseudomonas fluorescens* on root development of pea seedlings in three different soil types and its effect on nodulation by *Rhizobium*[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 35(2): 114 – 121.
- [44] 吴 琼, 王东凯, 王 雷, 等. 荧光假单胞菌抗生性代谢产物的研究进展[J]. *黑龙江科学*, 2017, 8(2): 58 – 59.
- [45] Zeybek Z, Binay A R. Growth ability of Gram negative bacteria in free-living amoebae[J]. *Experimental Parasitology*, 2014, 145: S121 – S126.
- [46] Foissner W. Soil protozoa as bioindicators: pros and cons, methods, diversity, representative examples[J]. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 1999, 94: 95 – 112.
- [47] Wu W, Lu H P, Sastri A, et al. Contrasting the relative importance of species sorting and dispersal limitation in shaping marine bacterial versus protist communities[J]. *The ISME Journal*, 2017, 12(2): 485 – 494.
- [48] Foster R C, Dormaar J F. Bacteria-grazing amoebae in situ in the rhizosphere[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1991, 11(2): 83 – 87.
- [49] Finlay B J, Black H I J, Brown S, et al. Estimating the growth potential of the soil protozoan community[J]. *Protist*, 2000, 151(1): 69 – 80.
- [50] 艾山·阿布都热依木, 古丽布斯坦, 夏扎丹木. 土壤原生动物的作用[J]. *新疆师范大学学报*, 2010, 29(2): 84 – 87.
- [51] Finlay B J, Fenchel T. An anaerobic protozoan, with symbiotic methanogens, living in municipal landfill material[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1991, 8(2): 169 – 179.
- [52] Popov A V, Vinokhodov D O, Rutto M V. Practical application of galvanotaxis of ciliated protozoan cells to automation of acute toxicity assay[J]. *Russian Journal of General Chemistry*, 2015, 84(13): 2489 – 2498.
- [53] 马正学, 龚大洁, 宁应之, 等. 铅锌矿采废废物污染对土壤原生动物的影响[J]. *甘肃科学学报*, 2002, (03): 53 – 57.
- [54] Forge T A, Berrow M L, Darbyshire J F, et al. Protozoan bioassays of soil amended with sewage sludge and heavy metals, using the common soil ciliate *Colpoda steinii*[J]. *Biology and Fertility of*

- Soils*, 1993, 16: 282 – 286.
- [55] Xi X Y, Zhang Y Y, Yang J, et al. Rapid biotransformation of arsenic by a model protozoan *Tetrahymena thermophila*[J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159(4): 837 – 840.
- [56] Zhang Y Y, Yang J, Yin X X, et al. Arsenate toxicity and stress responses in the freshwater ciliate *Tetrahymena pyriformis*[J]. *European journal of protistology*, 2012, 48(3): 227 – 236.
- [57] Carvalhais L C, Dennis P G, Tyson G W, et al. Application of metatranscriptomics to soil environments[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2012, 91(2): 246 – 251.
- [58] Schmidt R, Cordovez V, Boer W D, et al. Volatile affairs in microbial interactions[J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(11): 2329 – 2335.
- [59] Kai M, Hausteim M, Molina F, et al. Bacterial volatiles and their action potential[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 81(6): 1001 – 1012.
- [60] Foissner W. Soil protozoa fundamental problems: ecological significance, bioindicators, and guide to the literature[J]. *Progress in Protistology*, 1987, 2: 69 – 212.
- [61] Nikolyuk V. Some aspects of the study of soil protozoa[J]. *Acta protozoologica*, 1969, 7: 99 – 109.
- [62] Lara E, Roussel-Delif L, Fournier B, et al. Soil microorganisms behave like macroscopic organisms: patterns in the global distribution of soil euglyphid testate amoebae[J]. *Journal of Biogeography*, 2015, 43(3): 520 – 532.
- [63] Foissner W. Biogeography and dispersal of micro-organisms: a review emphasizing protists[J]. *Acta Protozoologica*, 2006, 45(2): 111 – 136.
- [64] Smith H G, Wilkinson D M. Not all free-living microorganisms have cosmopolitan distributions-the case of *Nebela*(Apodera) was *Certes*(Protozoa: Amoebozoa: Arcellinida)[J]. *Journal of Biogeography*, 2010, 34(10): 1822 – 1831.
- [65] Green J L, Holmes A J, Westoby M, et al. Spatial scaling of microbial eukaryote diversity[J]. *Nature*, 2004, 432(7018): 747 – 750.
- [66] Heger T J, Derungs N, Theurillat J P, et al. Testate amoebae like it hot: species richness decreases along a subalpine-alpine altitudinal gradient in both natural *Calluna vulgaris* litter and transplanted *Minuartia sedoides* cushions[J]. *Microbial Ecology*, 2015, 71(3): 725 – 734.
- [67] Krashevskaya V, Bonkowski M, Maraun M, et al. Testate amoebae(protista) of an elevational gradient in the tropical mountain rain forest of Ecuador[J]. *Pedobiologia*, 2007, 51(4): 319 – 331.
- [68] Bates S T, Clemente J C, Flores G E, et al. Global biogeography of highly diverse protistan communities in soil[J]. *The ISME Journal*, 2012, 7(3): 652 – 659.
- [69] Gregory T R. Macroevolution, hierarchy theory, and the C-value enigma[J]. *Paleobiology*, 2004, 30(2): 179 – 202.
- [70] Geisen S, Mitchell E A D, Wilkinson D M, et al. Soil protistology rebooted: 30 fundamental questions to start with[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 111: 94 – 103.
- [71] Foissner W. Soil protozoa as bioindicators: Pros and cons, methods, diversity, representative examples[J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 1999, 74(1): 95 – 112.
- [72] Berthold A, Palzenberger M. Comparison between direct counts of active soil ciliates(Protozoa) and most probable number estimates obtained by Singh's dilution culture method[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1995, 19(4): 348 – 356.
- [73] Fierer N, Leff J W, Adams B J, et al. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109(52): 21390 – 21395.
- [74] Ulrich T, Lanzén A, Qi J, et al. Simultaneous assessment of soil microbial community structure and function through analysis of the meta-transcriptome[J]. *PLoS ONE*, 2008, 3(6): e2527.
- [75] Oliverio A M, Geisen S, Delgado-Baquerizo M, et al. The global-scale distributions of soil protists and their contributions to belowground systems[J]. *Science Advances*, 2020, 6(4): eaax8787.
- [76] Plewniak F, Crognale S, Bruneel O, et al. Metatranscriptomic outlook on green and brown food webs in acid mine drainage[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2021, 13(5): 606 – 615.
- [77] Arjen de Groot G, Laros I, Geisen S. Molecular identification of soil eukaryotes and focused approaches targeting protist and faunal groups using high-throughput metabarcoding[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2016, 1399: 125 – 140.
- [78] Geisen S, Laros I, Vizcaino A, et al. Not all are free-living: high-throughput DNA metabarcoding reveals a diverse community of protists parasitizing soil metazoans[J]. *Molecular Ecology*, 2015, 24(17): 4556 – 4569.
- [79] Tang C Q, Leasi F, Obertegger U, et al. The widely used small subunit 18S rDNA molecule greatly underestimates true diversity in biodiversity surveys of the meiofauna[J]. *Proceedings of the National Academy of Science*, 2012, 109(40): 16208 – 16212.
- [80] Tsvetkova N, Schild M, Panaiotov S, et al. The identification of free-living environmental isolates of amoebae from Bulgaria[J]. *Parasitol Research*, 2004, 92(5): 405 – 413.
- [81] Bass D, Cavalier-Smith T. Phylum-specific environmental DNA analysis reveals remarkably high global biodiversity of Cercozoa(Protozoa)[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54: 2393 – 2404.
- [82] Jousset A, Lara E, Nikolausz M, et al. Application of the denaturing gradient gel electrophoresis(DGGE) technique as an efficient diagnostic tool for ciliate communities in soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(5): 1221 – 1225.
- [83] Kosakyan A, Goma F, Mitchell E A, et al. Using DNA-barcoding for sorting out protist species complexes: a case study of the *Nebela tinctoria-collaris-bohemica* group(Amoebzoa; Arcellinida, Hyalospheniidae)[J]. *European journal of protistology*, 2013, 49(2): 222 – 237.

Soil Protists: the Classification and Functions

LEI Li¹, WANG Jia-long¹, ZHANG Xue¹, LI Xiang-zhen^{2*}, YAO Min-jie^{1*}

(1. *Engineering Research Center of Soil Remediation of Fujian Province University, College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China*; 2. *Key Laboratory of Environmental and Applied Microbiology, Sichuan Key Laboratory of Environmental Microbiology, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China*)

Abstract: Soil protists are the most primitive and simple eukaryotes living in litter and soil. The evolution of protists is fast and the species are diverse. So far, there is no unified phylogenetic classification system. A wide variety of soil protists have diverse ecological functions. Protists play important roles in controlling the growth and reproduction of bacteria and its community composition, changing soil nutrients cycling, regulating plant growth and controlling pollutant transformation. This review summarized the evolutionary process, phylogenetic classification and functions, the geographical distribution and research methods of protists, the relationships among protists, soil microorganisms and plants, and the potential impact of protists on the environment. It aims to deeply understand the generation and maintenance mechanism of soil protist biodiversity, and the interactions among protists, microorganisms and plants, and develop new biological control measures for soil and vegetation diseases.

Key words: Protists; Phylogenetic Classification; Ecological Function; Microorganism; Plant; Interactions

[责任编辑: 刘轶飞]