DOI:10.19789/j.1004-9398.2015.05.013

黄土样品重量对孢粉分析结果的影响

冯雪冰 魏明建

(首都师范大学资源环境与旅游学院,北京 100048)

摘 要

黄土地层中,下层由于年代更老,经历更长时间的腐蚀,因此要比上层孢粉损失量更大,如何在下层黄土中提取到足够量的花粉并且保证孢粉分析结果的稳定性成为研究的重点. 本文通过对黄土高原第四层黄土和第四层古土壤使用重液浮选法进行前处理,以样品重量为变量进行对比实验,应用相关性、多样性和相似性分析方法对孢粉分析结果进行研究,尝试找到最适实验样品重量. 结果显示,当样品重量为200 g和250 g时,孢粉质量浓度趋于平稳,误差较小,这一重量区间的结果可信度更高. 而物种多样性随样品重量变化的关系不明显,有待进一步实验研究. 从鉴定结果的植被组成以及所占百分比含量这方面来看,当样品重量为150 g和200 g时,实验结果更加稳定. 总的来说,样品重量在150 g~200 g这一区间时,各项孢粉分析结果更稳定、误差更小.

关键词: 重液浮选法,黄土,孢粉分析.

中图分类号: Q944.571

0 引 言

地层中取得的孢粉数据可以提供在自然环境状态下进行物种群落丰富度估算的本底值,同时还可以解释多样性变化的历史背景[1]. 孢粉数据的时间精度不及现代生态学,由于经历漫长的地质历史时期,地层中保存下来的化石孢粉知识过去古植被的缩影,加之孢粉鉴定的精度较差,很大一部分只能鉴定到科属,孢粉类型的多样性和生物多样性之间存在差距,因此定量评价过去生物多样性比较困难,但它仍然在定性研究过去生物多样性方面发挥着明显的作用[2].

孢粉鉴定精度较差的问题一直存在,而且受到不同孢粉类型之间产量、保存能力、传播能力与代表性不同,以及不同时期岩性和沉积物沉积速率不完全一致等因素的影响,在应用孢粉多样性恢复植物多样性时会与实际情况产生一定偏差[3]. 但在目前还没有更好的方法恢复古植物多样性时,孢粉分析仍是一种具有潜力的重建植物多样性的方法[4].

目前,对使用重液浮选法进行孢粉前处理这一过程定量的研究不多. 魏明建等人曾对青藏高原腹地红层样品进行对比实验,变量设计为样品重量、重液的比重、样品与重液的体积比,得到对藏北红层的粘土夹层最适的孢粉分析方法[5]. 柯曼红等人对黄土高原地区7个坡面进行黄土分析方法流程的探索,认为对于孢粉量相对较少的黄土样品要适当加大分析样品量到200 g~250 g,这样会使孢粉获得率相应提高[6]. 杜乃秋等人使用浙江省龙泉县凤阳山自然保护区的沉积物为样品,对重液浮选法中重液比重对孢粉质量浓度的影响进行了研究,发现用比重为1.8的重液时制片清洁,孢粉富集好,便于统计更大量的花粉来减小误差. 而比重为2.2的重液可减小花粉浓度的计算误差,但制片杂质较多,不便统计[7].

黄土地层中,由于下层黄土中孢粉受到更长时间的侵蚀,导致黄土地层中下层要比上层的孢粉损失量更大,通常在时间尺度较大的研究结果中可以发现地层从上到下,孢粉的获取量是逐渐减少的. 因此,如何在S4、L4地层中获取足够量的孢粉并且保证其孢粉分析结果的准确性和稳定性成为研究的重点.

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于陕西省延安市洛川县东南的国家黄

收稿日期:2014-10-09

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

土地质公园内的洛川黄土剖面. 该地一月平均气温为 -5 ~ -6.4 ℃,七月平均气温为 21.6 ~22.8 ℃,年均温为 8 ~9 ℃;年降水量 550 ~630 mm,主要集中在夏季(占 60% 左右),具明显的干湿季节,属半干旱-半湿润气候. 自然植被以落叶阔叶林为主,黄土沟壑区存在少量次生灌木.

洛川黄土剖面地处黄土高原中东部,是我国第四纪标准黄土剖面之一. 实验中所选用的样品为第四层黄土(L4)和第四层古土壤(S4),剖面总厚度为 700 cm,囊括 S3 底部 55 cm、L4 层、S4 层和 L5 上部 10 cm 四个层位.

1.2　实验设计

样品的前处理在首都师范大学孢粉实验完成,选取深度为 158 cm(记为 L4-12)、455 cm(记为 L4-112)、581 cm(记为 S4-63)三个层位的样品,每个层位的样品分别采用 100 g、150 g、200 g、250 g 的重量进行对比实验,共计 12 个样品. 每个样品中加入 1 片标准石松花粉片(18 583 粒),加入足量的浓度为 36.5% 的盐酸溶解样品中的碳酸盐类,充分反应后,加水静置,重复水洗至中性. 加入 10% 的 Na_2CO_3 溶液除去腐殖酸,沉淀 24 h 后反复水洗至中性. 分别用比重为 2.0、2.2 的重液浮选两次,取上层清液,加入 1% 的冰醋酸溶液. 孢粉完全沉淀后,取下层沉淀物,加入氢氟酸除去沉淀物中的硅质颗粒,水洗 3 ~4 次,加入 36.5% 盐酸除去氢氟酸处理过程中产生的 CaF2 沉淀、铝硅酸盐和未挥发完的 SiF4. 水洗离心 3 ~4 次后. 转移至指形管中,加入甘油封存.

孢粉鉴定在 OLYMPUS2BX51 显微镜下放大 200 或 600 倍进行,孢粉鉴定过程中同时计量标准石松花粉的数量,以此为标准计算每个样品中的孢粉浓度.

样品统计结果显示,12 个样品都有较丰富的孢粉,共鉴定 1 442 粒孢粉,分属 43 个科属.

1.3　数据分析

1.3.1　孢粉质量浓度计算

孢粉质量浓度与植物花粉的种类、产量及植物的丰度有关,受气候及沉积环境等因素影响[8]. 花粉的百分比是一个相对值,能够较好的反应花粉组合的规律,但各类花粉数量之间的相对变化,导致相对含量中每一个变量之间相互制约,而不是独立存在的,因此,花粉百分比不一定能代表植被真正的变化[9]. 针对这一问题,Davis 提出了花粉浓度的概念,即单位质量样品中所含的花粉数量[10].

本研究中采用外加花粉法计算表土孢粉浓度. 计算公式为:

$$AC(I,J)\text{(质量浓度)} = \frac{P(I,J) \times L(I)}{S(\times) \times G(I)}$$

式中,$AC(I,J)$ 为孢粉质量浓度,单位是粒 / 克,$L(I)$ 为每个样品中外加的标志花粉数;$S(I)$ 为统计中记下的外加标志花粉数,$G(I)$ 为处理的每个样品的质量.

1.3.2　多样性计算

物种多样性包括丰富度和均匀性两个方面[11],反映了生态环境的多样性及稳定性,源于动植物群落的几个多样性指数如 Shannon-Wiener 指数等也被用于化石孢粉组合[12]. Shannon-Wiener 指数用于测定概率空间的不确定性程度,它的应用是基于如果一个群落中物种分布均匀则生物多样性最大的假设,在物种分布均匀的情况下,Shannon-Wiener 指数的最大值仅依赖于物种的数量,随着物种数量的增加而增加[13]. 一般来说,Shannon-Wiener 指数越高,物种越丰富,多样性越高. 均匀度表示各孢粉类型含量分配的均匀程度,E 值越大系统越均匀,环境越稳定,均匀度是信息函数的补充[8].

Shannon-Wiener 指数计算公式为:

$$H_s = -\sum_{i=1}^{s} P_i \cdot LnP_i$$

均匀度计算公式为: $E = e^{H_s}/S$

式中,P_i 为第 i 种孢粉类型的百分数量,S 为孢粉类型的总数.

1.3.3　相似度计算

计算每个样品中出现科属植物所占百分比,以此对不同样品使用 primer 软件进行相似性分析.

2　结果与讨论

计算 12 个样品总的孢粉质量浓度,并利用样品中鉴定出的不同科属的孢粉所占的百分比数据计算均匀度(E)和 Shannon-Wiener 指数(H)[13],描绘不同样品之间相似性图.

2.1　孢粉质量浓度

对所有样品均匀度(E)、Shannon-Wiener 指数(H)、孢粉质量浓度(C)和样品重量(W)使用 primer 软件进行相关性分析(见表 1),在本次试验中孢粉质量浓度和样品重量存在一定的负相关性. 在孢粉质量浓度随重量变化图中(见图 1),这种负相关性的表现是随着样品重量的增加,孢粉质量浓度减小,

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

最后趋于平稳. S4-63 和 L4-112 层位样品在重量 100 g 和 150 g 时变幅明显,而 L4-12 层位样品在此重量间的变幅较小.

表 1 均匀度(*E*)、Shannon-Wiener 指数(*H*)、孢粉质量浓度(*C*)和样品重量(*W*)的相关性

项目	*E*	*H*	*C*	*W*
E	1.00	0.06	0.37	0.19
H	0.06	1.00	0.86	0.63
C	0.37	0.86	1.00	0.03*
W	0.19	0.63	0.03*	1.00

* $P<0.05$

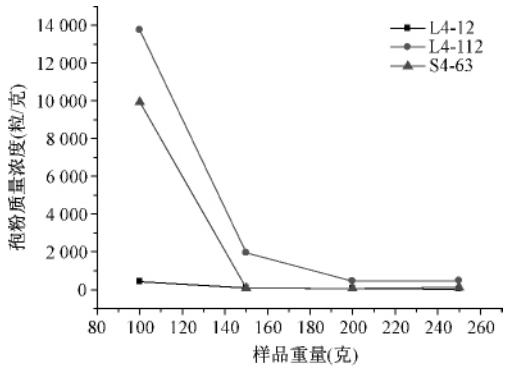


图 1 样品中孢粉质量浓度随样品重量变化情况

S4-63 和 L4-112 层位的样品在样品量为 100 g 时表现出孢粉质量浓度的一个异常高值,出现这种现象的原因可能是是由于样品量过小,实验过程中不可避免的孢粉损失的影响程度加大,导致数据结果误差较大. 当样品量为 200 g 或者 250 g 的时候,孢粉质量浓度已经平稳,误差较小,结果可信度更高.

2.2 多样性

在多样性分析中,利用每个样品中鉴定出的不同科属的孢粉所占的百分比数据,使用 primer 软件进行计算得出均匀度(E)和 Shanon-Wiener 指数(H).

S4-63 层位中,均匀度变化浮动较小,在 0.56 ~ 0.6 之间,Shanon-Wiener 指数的变化在 1.23 ~ 1.36 之间. 当重量为 150 g 时,均匀度最好;当重量为 200 g时,多样性最高.

L4-112 层位中,均匀度变化较大,在 0.53 ~ 0.61 之间,Shanon-Wiener 指数的变化十分明显,范围在 1.27 ~ 1.74 之间. 当重量为 100 g 时,均匀度最好;当重量为 150 g 时,多样性最高.

L4-12 层位中,均匀度变化也较大,在 0.51 ~ 0.6 之间,Shanon-Wiener 指数变化十分明显,范围在 1.13 ~ 1.62 之间. 当重量为 100 g 时,均匀度最好而且多样性最高.

总体来看,群落组成多样性和样品重量的直接相关性不明显. 在鉴定过程中,可以看感觉到,随着样品重量的增加,样品的杂质也随之增加,对镜下鉴定产生一定的影响,有些科属的花粉可能出现遗漏现象,导致多样性分析的结果因此出现一定误差.

表 2 同一层位不同重量样品多样性分析

样品层位	重量(g)	*E*	*H*
S4-63	100	0.56	1.23
	150	0.60	1.25
	200	0.57	1.36
	250	0.56	1.23
L4-112	100	0.61	1.45
	150	0.60	1.74
	200	0.58	1.27
	250	0.53	1.44
L4-12	100	0.60	1.62
	150	0.51	1.13
	200	0.57	1.25
	250	0.58	1.48

2.3 相似性

计算每个样品中出现科属植物所占百分比,以此对不同样品使用 primer 软件进行相似性分析.

从 S4-63 层位四个重量的样品比较中可以看到,150 g 和 250 g 的样品相似度达到 85% 以上,但重量为 200 g 的样品和其他重量样品的相似度虽然稍低,但仍大于 75%(见图 2).

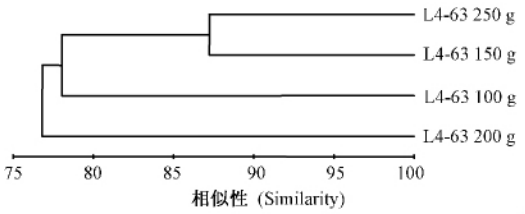


图 2 L4-63 层位不同重量样品相似性

L4-112 层位中样品重量为 100 g 和 200 g 的样品相似度较于其他样品更高,接近 80%,而重量为 250 g 样品与其他样品的相似度较低,在 65% 以上(见图 3).

L4-12 层位中样品重量为 150 g 和 250 g 的样品相似度接近 80%,而重量为 100 g 的样品与其他重量样品的相似度大幅降低,为 65%(见图 4).

总的来说,当样品重量大于 150 g 时,样品中所出现的孢粉种类所占百分比更加稳定. 由于实验过程中在重液浮选这一步骤中,为了保证样品和重液

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

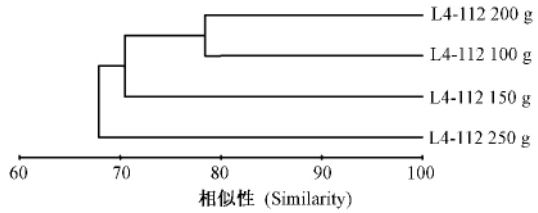


图 3　L4-112 层位不同重量样品相似性

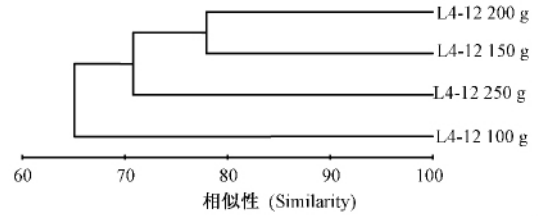


图 4　L4-12 层位不同重量样品相似性

的充分反应,100 g 的样品使用 1 个离心管,150 g 和 200 g 的样品使用 2 个离心管,250 g 的样品使用 3 个离心管,从这个角度来看,150 g 样品的重液和样品比例相较其它重量样品更高,因此 150 g 的样品稳定性更好一些,可信度更高,虽然仍然存在一定的误差,但对主要的物种结构组成影响较小.

3　结　论

本文对我国黄土高原第四层黄土和第四层古土壤中不同样品重量对孢粉分析结果的影响进行实验和讨论. 在三个层位 12 个样品的鉴定结果来看,所有样品的获得率是足够的,主要考察在孢粉数据分析过程中的不同样品重量的稳定性.

在进行孢粉质量浓度分析中,重量为 100 g 的样品孢粉质量浓度和其他重量样品相比值异常偏大,波动明显,误差较大,建议不要选择此重量;样品重量为 150 g 时,属于过渡阶段,已接近平稳,但仍存在一定的波动;样品重量为 200 g 和 250 g 时,孢粉质量浓度趋于平稳,误差较小,这一重量区间的结果可信度更高.

在多样性分析中,均匀度的变化不大,样品重量对此影响不大;但是多样性的变化幅度较大,没有发现样品重量的变化和多样性之间的联系,目前认为出现这一现象的原因可能是随着样品重量的增加,杂质的量也在增多,增加的鉴定的难度,有些科属的花粉可能因此而遗漏,最终导致多样性的结果的误差.

对不同样品重量之间进行相似性分析,所有样品中,样品重量为 100 g 和 250 g 的样品与其他样品的相似度都有小于 70% 的情况出现,而当样品重量为 150 g 和 200 g 时,样品之间的相似度都大于 70%,由于 150 g 的样品重液和样品比例最高,提取的孢粉组合更加完成而且鉴定出的科属植物所占百分比结果更加稳定.

从孢粉质量浓度、多样性和鉴定出的孢粉类型所占百分比的结果来看,在使用重液浮选法对黄土高原第四层黄土和第四层古土壤进行孢粉分析时,建议选择样品重量为 150 g ~ 200 g 之间,这一重量区间的各项结果更稳定、误差更小.

附录 1　三个层位不同重量样品孢粉质量浓度

样品层位	样品重量(g)	孢粉质量浓度(粒/克)
S4-63	100	9 941. 9
	150	74. 45
	200	55. 75
	250	127. 43
L4-L12	100	13 751. 42
	150	1 946. 79
	200	449. 09
	250	470. 77
L4-L2	100	419. 98
	150	86. 08
	200	54. 66
	250	20. 57

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

附录 2 三个层位不同重量样品不同科属孢粉所占百分比

样品层位	S4-63				L4-112				L4-12			
样品重量(g)	100	150	200	250	100	150	200	250	100	150	200	250
草本	0.93	0.94	0.88	0.94	0.91	0.86	0.93	0.90	0.89	0.95	0.95	0.90
木本	0.05	0.02	0.09	0.06	0.08	0.07	0.06	0.05	0.04	0.04	0.02	0.07
蒿属(菊科)	0.61	0.58	0.59	0.61	0.54	0.48	0.59	0.65	0.47	0.61	0.53	0.55
菊科	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
荨麻科	0.21	0.21	0.22	0.19	0.16	0.24	0.21	0.11	0.26	0.27	0.32	0.21
禾本科	0.02	0.04	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.00	0.02	0.02	0.05	0.01
藜科	0.08	0.10	0.05	0.12	0.20	0.11	0.13	0.12	0.14	0.06	0.06	0.12
毛茛科	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.01
唐松草属(毛茛科)	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01
栎属(壳斗科)	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
臭椿属(苦木科)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
榆属(榆科)	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
松属(松科)	0.02	0.02	0.07	0.04	0.03	0.03	0.03	0.02	0.00	0.01	0.01	0.02
绣线菊属(蔷薇科)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
蔷薇科	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.00	0.01	0.00	0.01
鹅耳枥属(桦木科)	0.00	0.00	0.01	0.00	0.02	0.01	0.02	0.02	0.00	0.01	0.00	0.04
榛属(桦木科)	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
桦木属(桦木科)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
桑科	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.01
唇形科	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01
玄参科	0.00	0.02	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

参 考 文 献

[1] Odgaard B V. Fossil pollen as a record of past biodiversity [J]. Journal of Biogeography, 1999;26(1):7 – 17.

[2] Paulay G. Biodiversity on oceanic islands: its origin and extinction1 [J]. American Zoologist, 1994;34(1):134 – 144.

[3] Smol J P. Problems associated with the use of "species diversity" in paleolimnological studies [J]. Quaternary Research, 1981,15(2):209 – 212.

[4] Seppä H, Bennett K D. Quaternary pollen analysis: recent progress in palaeoecology and palaeoclimatology [J]. Progress in Physical Geography, 2003;27(4):548 – 579.

[5] 魏明建,伊海生,陈淑娥. 青藏高原腹地红层孢粉分析的有效方法 [J]. 第四纪研究, 2001(1):84.

[6] 柯曼红. 黄土孢粉分析方法的研究 [J]. 植物学报, 1994(2):144 – 147.

[7] 杜乃秋,陈因硕. 重液浮选对花粉浓度计算的影响 [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 1990(10):794 – 798.

[8] 童国榜. 扎赉诺尔晚第四纪孢粉植物群的生态类型探讨 [J]. 地理学报, 1997:72 – 79.

[9] 潘韬,吴绍洪,戴尔阜,等. 云南亚热带南部表土孢粉组合与植被间的定量关系 [J]. 生态学报, 2008;12(12):6060 – 6069.

[10] Davis M. A method for determination of absolute pollen frequency [M]. Handbook of paleontological techniques Freeman, San Francisco. 1965:674 – 686.

[11] 肖霞云,沈吉,王苏民,等. 鹤庆深钻孢粉记录揭示的 2.78 Ma 以来植物多样性演化及其与古环境的关系 [M]. 科学通报, 2008(19):2324 – 2334.

[12] Moore P. The influence of prehistoric cultures upon the initiation and spread of blanket bog in upland Wales. 1973.

[13] Shannon C E. A mathematical theory of communication [J]. ACM SIGMOBILE Mobile Computing and Communications Review, 2001,5(1):3 – 55.

(下转第 67 页)

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

A New Record Plant of *Cypripedium*（Orchidaceae）from Wuling Mountain National Nature Reserve

Miao Xuepeng[1]　Zheng Tianxiong[1]　Wu Hongan[2]　Hu Dong[1]　Li Xuedong[1*]

（1. College of Life Science of Capital Normal Unniversity　100048；2. The First Vocational School of Yanqing　102100）

Abstract

In 1995，College of life science，Capital Normal University discovered a new record plant of *Cypripedium* in the margin of *Larix principis-rupprechtii* forest of Wuling Mountain National Reserve where at the junction of Xinglong County of Hebei province and Miyun County of Beijing. This plant is recognized as *Cypripedium henryi* after referring to the literature，which is a new record in Beijing and Hebei province.

Key words: *Cypripedium henryi*，new record，Beijing，Hebei province.

（上接第 64 页）

Effects of Weight to the Pollen Analysis Results in the Loess Samples

Feng Xuebing　Wei Mingjian

（College of Resource Environment and Tourism，Capital Normal University，Beijing　100048）

Abstract

In loess strata，the lower loss more pollen than upper，how to extract a sufficient amount of pollen in the underlying loess and ensure the stability of the pollen analysis results is a focus of research. In this paper，sampling in paleosol period of S4 and loss period of L4 and dealing with the samples with Heavy liquid flotation process. Comparative experiments was conducted between four different sample weights，study the pollen analysis results by using relativity，diversity and similarity analysis method，try to find the optimum experimental sample weight. The results showed that when the sample weight of 200g and 250g，pollen concentration is more steady，the error is small，the results of this weight range is higher reliable. The relationship between species diversity along with the sample weight is not obvious，needs more study in future. In respects of vegetation composition and the percentage content of the identification results，when the sample weight of 150g and 200g，results of this experiment are more stable. Overall，when the sample weight is at the range of 150g－200g，the pollen analysis results are more stable and less error.

Key words: heavy liquid floating，loess，pollen analysis.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net