

# 环境 DNA 分析大亚湾夜光藻藻华对真核浮游生物群落的影响\*

陈靖夫<sup>1,2,3</sup>, 钟瑜<sup>1,4</sup>, 王磊<sup>1,2</sup>, 郭雨沛<sup>1,2</sup>, 邱大俊<sup>1,2,3</sup>

1. 热带海洋生物资源与生态重点实验室(中国科学院南海海洋研究所), 广东 广州 510301;
2. 中国科学院大学, 北京 100049;
3. 南方海洋科学与工程广东省实验室(广州), 广东 广州 511458;
4. 中国科学院大亚湾海洋生物综合实验站, 广东 深圳 518121

**摘要:** 夜光藻是全球广泛分布的藻华种之一, 其摄食作用对浮游生物的群落结构有着重要影响。利用环境 DNA 技术和 Spearman 相关性分析, 文章研究了 2021 年 1 月中旬大亚湾夜光藻高丰度站位浮游生物的群落结构与生物相关性。结果显示, 夜光藻高丰度站位的海水盐温条件为温度 14.4~18.3 °C、盐度 32.52‰~33.14‰。夜光藻丰度较高的站位中, 卡顿藻科、海链藻科等浮游植物类群的相对丰度均值为 2.41% 和 2.23%, 明显高于其他站位的 0.75% 和 0.62%; 同时拟哲水蚤科与长腹剑水蚤科等类群的相对丰度均值为 8.22% 和 4.46%, 明显低于其他站位的 64.13% 和 11.12%。结合 Spearman 相关性分析表明, 夜光藻丰度增加可能导致其对拟哲水蚤科等类群摄食压力增加, 拟哲水蚤科类群丰度减少降低了卡顿藻科、海链藻科、原甲藻科、隐芽藻科等浮游植物类群的摄食压力, 使其生物丰度增加; 同时夜光藻摄食压力增加使得裸甲藻科、圆筛藻科等浮游植物丰度下降。因此, 夜光藻丰度增加影响了水域中真核浮游生物群落结构。综上所述, 环境 DNA 技术有助于认识夜光藻在浮游生物群落中的生态地位, 可用于浮游生物各类群之间的关系分析。

**关键词:** 大亚湾; 环境 DNA; 夜光藻; 食性; 真核浮游生物; 群落结构

中图分类号: P735.124

文献标识码: A

文章编号: 1009-5470(2022)05-0121-12

## *Noctiluca scintillans* effects on eukaryotic plankton community structure using Environmental DNA analysis in Daya Bay\*

CHEN Jingfu<sup>1,2,3</sup>, ZHONG Yu<sup>1,4</sup>, WANG Lei<sup>1,2</sup>, GUO Yupei<sup>1,2</sup>, QIU Dajun<sup>1,2,3</sup>

1. Key Laboratory of Tropical Marine Bio-Resources and Ecology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China;
2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;
3. Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Guangzhou), Guangzhou 511458, China;
4. Marine Biology Research Station at Daya Bay, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518121, China

**Abstract:** *Noctiluca scintillans* is a key blooms species and widely distributed throughout the world. Previous studies indicated that the plankton community was strongly influenced by the predation of *N. scintillans*. In this study, eukaryotic plankton community and biological correlation in the Daya Bay were analyzed using environmental DNA technology and Spearman correlate analysis in January 2021. The temperature and salinity of surface sea water were 14.4 ~ 18.3 °C and 32.52 ‰ ~ 33.14 ‰, respectively. In the stations with high *N. scintillans* abundance, the relative abundance of phytoplankton, such as Chattonellaceae and Thalassiosiraceae were 2.41 % and 2.23 %, which is significantly higher than the average values

收稿日期: 2022-01-10; 修订日期: 2022-04-05。殷波编辑

基金项目: 国家自然科学基金(41776154); 广州海洋实验室 2019 年度人才团队引进项目(GML2019ZD0405)

作者简介: 陈靖夫(1996—), 男, 硕士, 从事浮游植物研究。email: chenjingfu19@mails.ucas.ac.cn

通信作者: 邱大俊。email: djqu@scsio.ac.cn

\*感谢编辑部老师和审稿专家们对完善本论文的提供的意见和帮助; 感谢孙翠慈副研究员提供的夜光藻丰度数据。

**Received date:** 2022-01-10; **Revised date:** 2022-04-05. Editor: YIN Bo

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (41776154); Key Special Project for Introduced Talents Team of Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (GML2019ZD0405)

**Corresponding author:** QIU Dajun. email: djqu@scsio.ac.cn

of 0.75 % and 0.62 % at other stations, respectively. While the relative abundances of Paracalanidae and Oithonidae were 8.22 % and 4.46 % at high *N. scintillans* abundance stations, which is significantly lower than the average value of 64.13 % and 11.12 % at other stations, respectively. These results indicated that *N. scintillans* reduced the top-down control of Paracalanidae on phytoplankton including Chattonellaceae, Thalassiosiraceae, Prorocentraceae and Geminigeraceae which led to an increase in the abundance of some plankton species in the blooms areas. Meanwhile, Gymnodiniaceae and Stephanopyxidaceae were fed by *N. scintillans*, which directly affected the community abundance of phytoplankton. Our analysis suggests that eDNA technology provides the methodological basis for understanding the ecological niche of *N. scintillans*, which would ultimately contribute to understanding the occurrence of blooms strategies.

**Key words:** Daya Bay; environmental DNA; *Noctiluca scintillans*; feeding habits; Eukaryotic plankton; community structure

夜光藻(*Noctiluca scintillans*)隶属于横裂甲藻纲(Dinophyceae)、夜光藻目(Noctilucales), 是全球广布性藻华种之一。夜光藻根据颜色与营养方式的不同, 可分为红色异养类群和绿色兼养类群。红色夜光藻分布范围广, 从北温带至南温带都有其分布, 而绿色夜光藻只分布于阿拉伯海、孟加拉湾等热带海域(Harrison et al, 2011)。我国近海的夜光藻为红色异养类群, 也是较早报道的藻华种且爆发藻华频率较高的种类之一(华泽爱, 1994; 齐雨藻等, 2003)。根据统计, 1980—2004年南海发生的164次藻华事件, 其中由夜光藻引起的藻华次数高达44次(吴瑞贞等, 2007); 2013—2020年期间, 广东省近岸发生夜光藻藻华14次, 占藻华总数的23.9%, 位居首位, 其中最大的夜光藻藻华面积为300km<sup>2</sup>。以往有研究报道, 夜光藻已成为福建近岸海区藻华发生频率最高的种类之一(万艳, 2020)。夜光藻藻华爆发时其细胞会黏附在鱼鳃上造成鱼类窒息死亡, 进一步影响贝类、虾等水产品存活, 造成经济损失。其中2009年5月发生在福建平潭的夜光藻藻华造成大量鲍鱼、鲷鱼等水产品死亡, 直接经济损失高达500万元(郑炳锋等, 2010)。夜光藻藻华对海洋环境及周边居民的生产生活产成了极大的影响。

近20年来, 国内外学者对夜光藻开展了分类、生理生态特性、食性等一系列研究, 其中包括黑海夜光藻时空分布变化(Şentürk et al, 2020)、东京湾夜光藻食性(Nishitani et al, 2020)、大鹏湾夜光藻与环境因子的关系(Liu et al, 2006)等。夜光藻研究已经成为海洋生态学的热点之一(Gómez et al, 2007; Li et al, 2019; Nishitani et al, 2020; Piontkovski et al, 2021)。但到目前为止, 夜光藻藻华对浮游生物群落结构影响的研究仍开展很少。

环境DNA (environmental DNA, eDNA)是指不分离特定的生物体, 而从任何类型的环境样本(如土壤、水、空气等)中提取的DNA (Deiner et al, 2017)。如今已经被广泛应用于外来物种入侵、渔业资源调查以及动物食性等方面的研究, 包括通过环境DNA

检测到北美五大湖区生存有低密度的亚洲鲤鱼种群(Jerde et al, 2011)、对豹猫的粪便进行环境DNA的提取并分析其食性(Shehzad et al, 2012)等。因此, 应用环境DNA技术可以分析夜光藻藻华时期环境中各生物类群的相对丰度, 结合Spearman相关性分析可以明确各生物类群之间的相互关系, 从而将有助于深入理解夜光藻摄食对真核浮游生物群落结构的影响。

2021年1月在大亚湾12个调查站位进行现场调查发现夜光藻高丰度站位。本研究分析其环境因子和真核浮游生物的群落结构, 探讨了夜光藻藻华爆发初期可能的食物来源及其对真核浮游生物的群落结构的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域

大亚湾位于广东省东部红海湾与大鹏湾之间, 总面积650km<sup>2</sup>。湾内水深自北向南逐渐加深, 至中部水深10m, 湾口水深最深达20m左右, 湾内水深平均为10m。底质为粉砂和粘土; 沿岸无大河流注入, 但有季节性的小流量溪水流入湾内, 来沙量小, 年均淤积厚度小于1cm(王友绍等, 2004)。大亚湾水域以不规整的半日混合潮为主, 潮差平均在1m以内, 最大潮差在2~2.5m范围内。湾内存在顺时针且低速环流的余流, 对湾内浮游生物以及悬浮物质等的分布产生影响, 同时也造成鱼卵和鱼苗主要聚集在大亚湾西侧的大鹏湾, 其已成为广东省重要的水产养殖地与旅游风景区之一(孙振宇等, 2020)。

### 1.2 样品的采集

2021年1月中旬, 大亚湾部分海区出现高丰度夜光藻, 于1月16日对大亚湾内的12个常规调查站位进行现场采样(图1)。

环境DNA样品采集: 500mL表层水样依次通过3µm滤膜、0.2µm滤膜(Millipore Isopore, USA)分级过滤, 过滤后的滤膜分别装入1.5mL离心管中, 加入1mL的DNA裂解液放入-20℃冰箱保存(Qiu et al, 2021)。

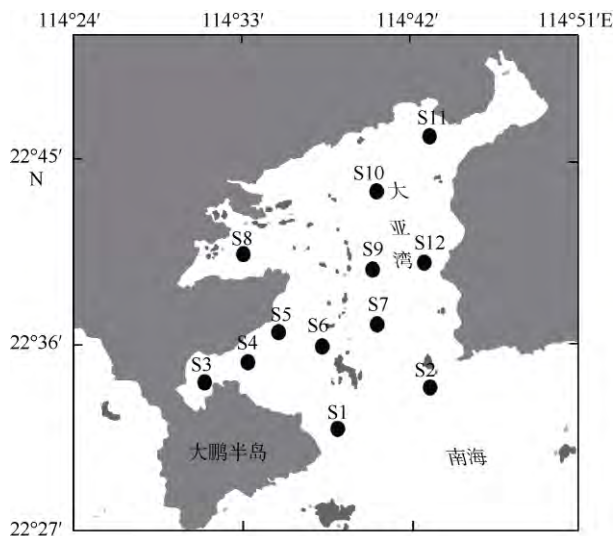


图 1 大亚湾海域样品采集站位示意图

该图基于国家测绘地理信息局标准地图服务网站下载的审图号为 GS(2019)4342 的标准地图制作

Fig. 1 Map of sampling stations in the Daya Bay

**叶绿素 *a* 样品采集:** 300mL 表层海水先后通过  $3\mu\text{m}$  以及 GF/F 滤膜(Millipore Isopore, USA)进行分级过滤, 过滤后的滤膜用锡纸包裹后, 放入液氮中保存直至分析。

**营养盐样品采集:** 200mL 的水样经过 GF/F 滤膜过滤后, 50mL 过滤后的水样装入 PC 瓶中, 置于  $-20$  冰箱保存。

**溶解氧样品采集:** 120mL 的表层海水依次用  $1\text{mL } 2.7\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化锰溶液和  $1\text{mL } 0.9\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  碱性碘化钾溶液快速固定, 摇匀静置沉淀完全后进行分析。

### 1.3 环境参数测定

调查站位水体的温度和盐度通过 YSI (Yellow Springs Instrument, USA)进行原位测定。将采集的营养盐样品解冻后摇匀, 使用注射式营养盐自动分析仪(Lachat Instrument Inc., Loveland Colorado, USA)测定水体的硝酸盐、亚硝酸盐、磷酸盐、硅酸盐浓度。溶解氧样品中加入 1:1 硫酸使沉淀溶解, 然后使用  $0.124\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的硫代硫酸钠溶液滴定, 记录硫代硫酸钠体积并计算溶解氧浓度。

### 1.4 环境 DNA 提取、PCR 扩增与高通量测序

环境 DNA 样品中加入蛋白酶 K, 放入  $56$  水浴锅中 24h; 通过 CTAB 法(Cetyltrimethylammonium Bromide)提取 DNA, 并通过 DNA 纯化试剂盒(Genstar, 中国)进行纯化, 纯化后的 DNA 溶液放入  $-20$  冰箱保存(Qiu et al, 2011)。取  $1\mu\text{L}$  的 DNA 溶液作为 PCR 扩增模板, 扩增引物采用 V9F (TCGT

CGGCAGCATCAGATGTGTATAAGAGACAGCCC TGCCHTTTGTACACAC)和 V9R (GTCTCGTGGGC TCGGAGATGTGTATAAGAGACAGCCTTCYGCAG GTTACCTAC), 扩增区域为 1380F~1510R (郭雨沛, 2021), 退火温度为  $46$ 。PCR 产物使用 StarPrep 试剂盒(Genstar, 中国)进行 DNA 回收纯化, 使用因美纳技术测序平台(PE250)进行测序。

### 1.5 高通量测序数据分析与处理

高通量测序原始数据通过 overlap 进行拼接, 并进行质控、嵌合体过滤, 获得高质量的过滤数据。拼接后的序列经过去冗余等步骤, 进而获得单碱基精确度的代表序列, 然后使用 ASVs (amplicon sequence variants)概念构建类 OTU 表(operational taxonomic units)(Blaxter et al, 2005)。通过 NCBI 数据库进行 OTUs 序列比对分析与注释。稀释曲线通过 QIIME 软件绘制。分别通过 Excel 进行物种多样性分析、SPSS 计算各类生物与环境因子相关性及各科生物间的 Spearman 相关性, 其中  $p < 0.05$ 、 $q > 0.5$  或  $< -0.5$  为强相关性, 使用 R 软件绘制相关性聚类分析热图和网络分析。

## 2 结果

### 2.1 大亚湾环境因子的空间分布

2021 年 1 月大亚湾 12 个站位表层水体环境因子的空间分布如图 2 所示, 温度为  $14.4\sim 18.3$  (图 2a), 其中 S6 站位最高, 北部沿岸站位的温度低于湾中和湾口。盐度值为  $32.52\text{‰}\sim 33.14\text{‰}$  (图 2b)冬季受到河流影响较小, 分布较为均匀。湾口站位表层水营养盐浓度高于湾内站位。

### 2.2 大亚湾冬季分粒级叶绿素 *a* 浓度的分布特征

大亚湾冬季微型 chl *a* 的浓度范围为  $0.24\sim 2.47\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (图 3a), 整体呈现沿岸高, 湾内低的趋势, 在 S8 哑铃湾附近出现 chl *a* 高值区域。微微型浮游植物叶绿素 *a* 的浓度范围为  $0.07\sim 1.73\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (图 3b), 随着湾口水域的站位的向外, 其浓度逐渐下降, 在 S1 站位达到最低值为  $0.07\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

### 2.3 样品测序质量分析

2021 年 1 月大亚湾环境 DNA 通过 18S V9 区引物进行扩增共获得 2028236 条序列, 序列经过过滤和质量控制后, 每个环境样本可用序列均在 60000 条以上(图 4)。去掉低质量序列后, 以 100%相似度进行序列划分聚类, 共获得 10944 个 OTUs。其中微型与小型等真核浮游生物(粒径  $3\mu\text{m}$ ) OTU 数目的平均数为 350 条, 超微型真核浮游生物(粒径  $0.2\mu\text{m}\sim$

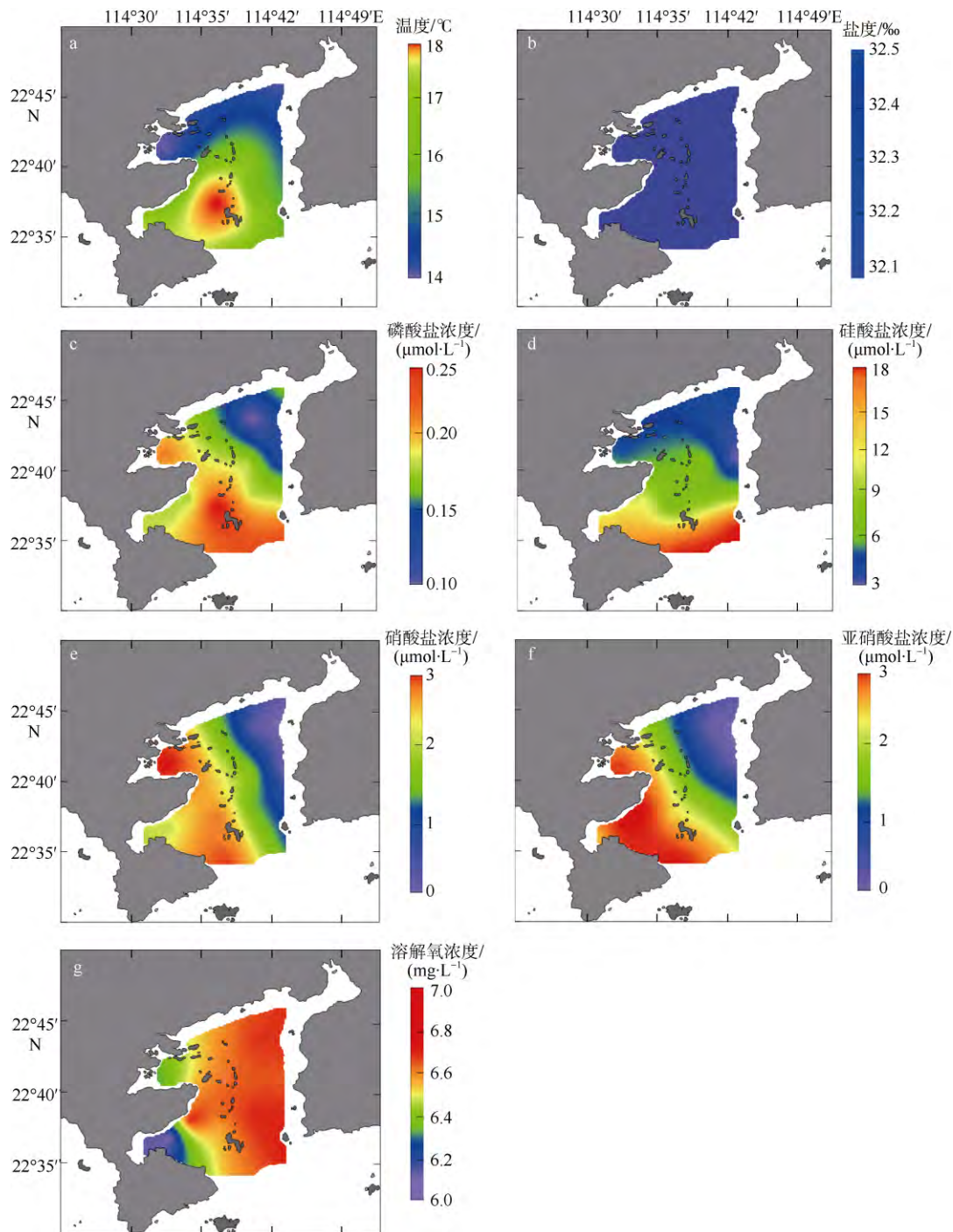


图 2 大亚湾环境因子空间分布

a. 温度; b. 盐度; c. 磷酸盐浓度; d. 硅酸盐浓度; e. 硝酸盐浓度; f. 亚硝酸盐浓度; g. 溶解氧浓度。审图号为 GS(2019)4342

Fig. 2 Distribution of physical and chemical data collected in the Daya Bay. (a) temperature; (b) salinity; (c) orthophosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ); (d) dissolved silicate ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ); (e) nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ); (f) nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ); (g) dissolved oxygen (DO)

$3\mu\text{m}$ ) OTU 数目的平均数为 572 条。基于高通量测序结果(表 1)中 OTUs 多样性对大亚湾不同站位真核浮游生物群落结构进行分析。

#### 2.4 真核浮游生物群落结构组成

大亚湾冬季环境 DNA 高通量测序结果共确定真核浮游生物 43 门 782 科, 其中浮游动物 24 门 440 科, 浮游植物 7 门 177 科。图 5 中的 other 是将平均

丰度低于 1% 的真核浮游生物类群合并。大亚湾真核浮游生物类群中节肢动物门整体占比最高(图 5), 其次为纤毛虫和脊索动物。节肢动物门中拟哲水蚤科(Paracalanidae)丰度最高, 在粒径  $3\mu\text{m}$  环境 DNA 样品中, S3 站位丰度最高, 为 81.33%。而 S9 和 S10 站位粒径  $3\mu\text{m}$  环境 DNA 样品中拟哲水蚤科丰度较低, 其中 S10 站最低, 为 3.29%。粒径  $0.2\sim 3\mu\text{m}$  环



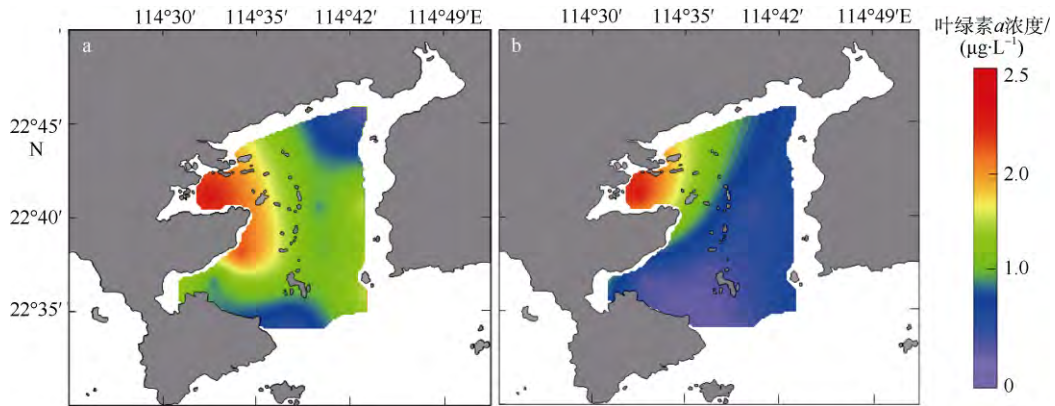


图 3 大亚湾分级叶绿素 *a* 空间分布

a. 粒径  $\geq 3\mu\text{m}$  的叶绿素 *a* 浓度; b. 粒径  $0.2\sim 3\mu\text{m}$  的叶绿素 *a* 浓度

Fig. 3 Distribution of surface water size fraction of Chl *a* data collected in the Daya Bay. (a) Chl *a* concentration with particle size  $\geq 3\mu\text{m}$ ; (b) Chl *a* concentration with particle size  $0.2\sim 3\mu\text{m}$

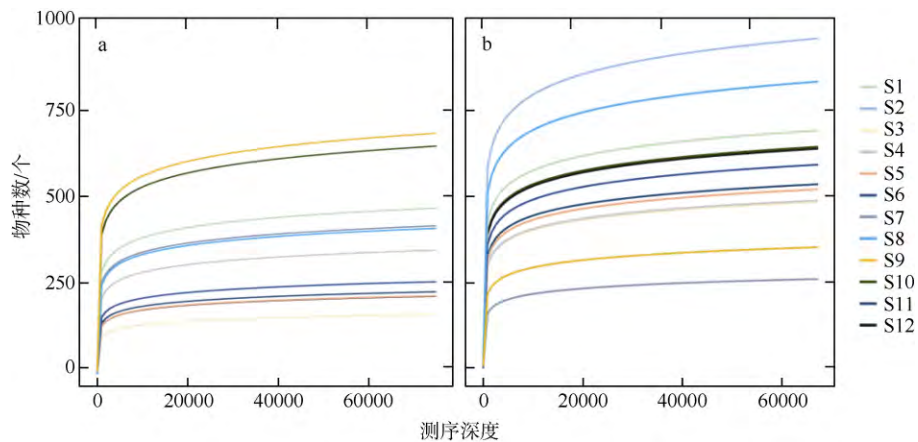


图 4 大亚湾各站位(S1~S12)环境 DNA 样品扩增真核生物的稀释曲线图

a. 为粒径  $\geq 3\mu\text{m}$  环境 DNA 样品; b. 为粒径  $0.2\sim 3\mu\text{m}$  环境 DNA 样品

Fig. 4 Rarefaction curves of eDNA sampling of eukaryotes in the Daya Bay. (a) size  $\geq 3\mu\text{m}$ ; (b) size is  $0.2\sim 3\mu\text{m}$

表 1 大亚湾浮游生物群落高通量测序结果

Tab. 1 Summary of the high-throughput sequencing reads of eDNA in the Daya Bay

站位	原始序列数	有效序列数	有效比	OTUs 数
S1 $\geq 3\mu\text{m}$	85852	83035	96.72	451
S1-pico	86846	82146	94.59	662
S2 $\geq 3\mu\text{m}$	86414	83728	96.89	252
S2-pico	80261	76850	95.75	930
S3 $\geq 3\mu\text{m}$	87818	84321	96.02	164
S3-pico	85984	82880	96.39	464
S4 $\geq 3\mu\text{m}$	82743	79504	96.09	340
S4-pico	85679	82797	96.64	474
S5 $\geq 3\mu\text{m}$	87153	84519	96.98	212
S5-pico	87939	84033	95.56	509
S6 $\geq 3\mu\text{m}$	83419	80163	96.10	251
S6-pico	85651	82202	95.97	582
S7 $\geq 3\mu\text{m}$	86571	83124	96.02	398
S7-pico	82757	80002	96.67	253

续表

站点	原始序列数	有效序列数	有效比	OTUs 数
S8 3μm	80444	77315	96.11	397
S8-pico	81353	76092	93.53	799
S9 3μm	80922	77302	95.53	638
S9-pico	81500	78682	96.54	345
S10 3μm.	87029	83148	95.54	618
S10-pico	82076	77528	94.46	619
S11 3μm	82660	79646	96.35	223
S11-pico	85237	81181	95.24	527
S12 3μm	85806	82684	96.36	212
S12-pico	86122	81857	95.05	624

注: 3μm 表示粒径 3μm 的浮游生物类群; pico 表示粒径 0.2~3μm 的浮游生物类群

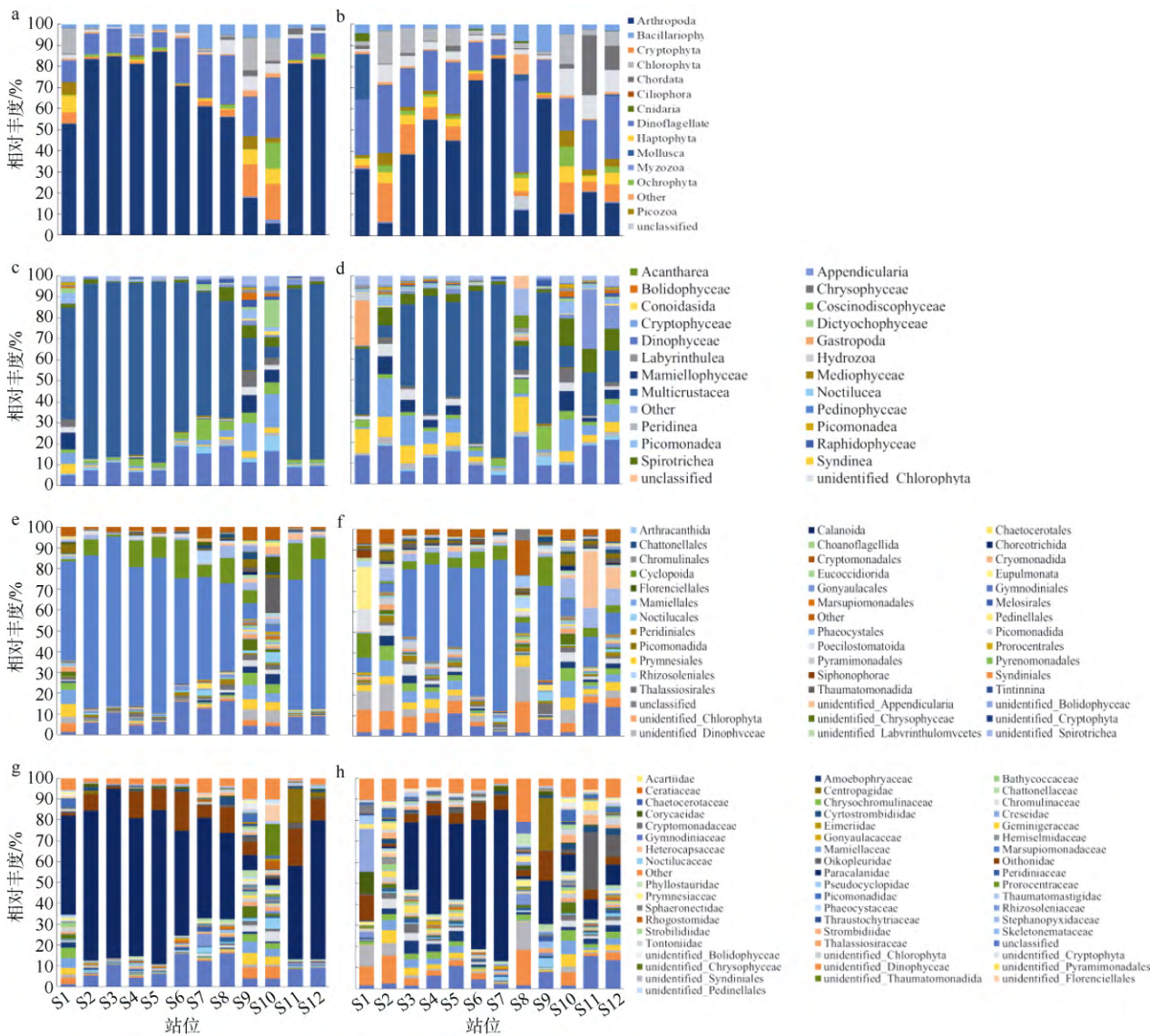


图 5 真核浮游生物群落丰度图

a、c、e、g 为粒径 3μm 环境 DNA 样品中真核浮游生物在不同分类阶元丰度图; b、d、f、h 为粒径 0.2~3μm 环境 DNA 样品中真核浮游生物在不同分类阶元丰度图。a、b 为真核生物; c、d 为纲水平; e、f 为目水平; g、h 为科水平

Fig. 5 The relative abundance of eukaryotes at different taxonomic levels. (a, c, e, g) showing eukaryotes relative abundance (eukaryote, class, order, family) in 3 μm sizes eDNA samples, respectively; (b, d, f, h) showing eukaryotes relative abundance (eukaryote, class, order, family) in 0.2 ~ 3 μm sizes eDNA samples, respectively



境 DNA 样品中, S7 站位拟哲水蚤科丰度最高, 为 72.12%, S10 站位丰度最低, 为 0.57%。真核浮游植物中, 甲藻的丰度最高(图 6a), 依次为硅藻、隐藻、绿藻、定鞭藻等。粒径  $\geq 3\mu\text{m}$  环境 DNA 样品中, S8

站位甲藻的相对丰度最高, 占 22.84%; S5 站位甲藻丰度相对较低, 为 7.24%; 粒径  $0.2\sim 3\mu\text{m}$  的环境 DNA 样品中, 甲藻相对丰度 S8 站位最高, 为 36.68%, S7 站位最低, 为 7.42%。

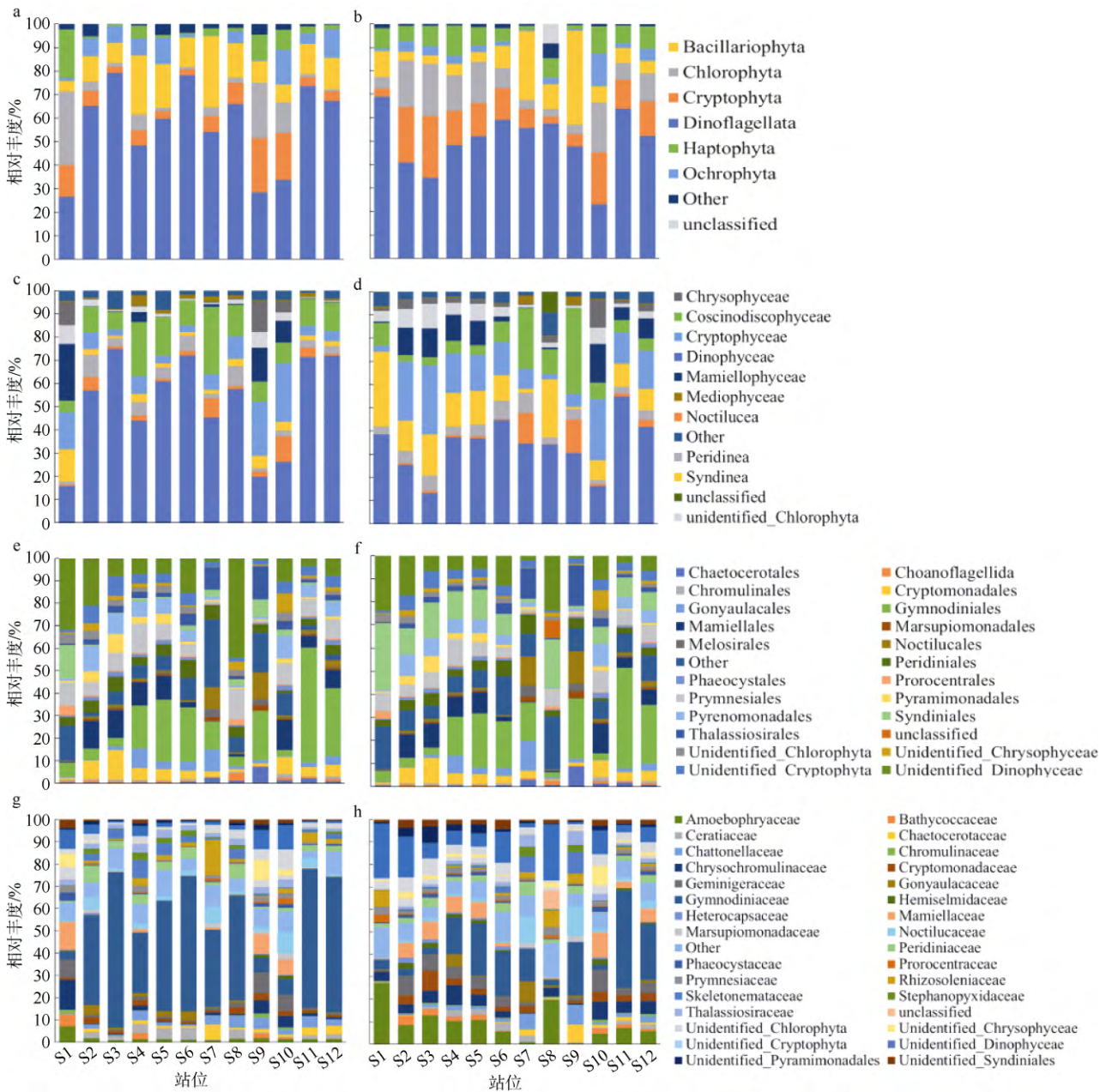


图 6 浮游植物群落丰度图

a、c、e、g 为环境 DNA 中粒径  $\geq 3\mu\text{m}$  真核浮游植物在不同分类阶元的丰度图; b、d、f、h 为环境 DNA 中粒径  $0.2\sim 3\mu\text{m}$  真核浮游植物在不同分类阶元的丰度图。a、b 为真核生物; c、d 为纲水平; e、f 为目水平; g、h 为科水平

Fig. 6 Relative abundance of phytoplankton at different taxonomic levels. (a, c, e, g) showing the phytoplankton relative abundance (eukaryote, class, order, family) in  $\geq 3\mu\text{m}$  sizes eDNA samples, respectively; (b, d, f, h) showing the phytoplankton relative abundance (eukaryote, class, order, family) in  $0.2\sim 3\mu\text{m}$  sizes eDNA samples, respectively

大亚湾内 S7、S9 和 S10 站夜光藻镜检的丰度分别为  $5.73\times 10^3$  个 $\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $4.51\times 10^3$  个 $\cdot\text{L}^{-1}$  和  $2.89\times 10^3$  个 $\cdot\text{L}^{-1}$ 。高通量测序得到 3 个站位夜光藻相对丰度均值为 3.31%，远高于湾内其他站位的平均相对丰度

0.43%。其中 S9 和 S10 两个站位隐藻中隐芽藻科 (Geminigeraceae)、未定名科 (unidentified\_Cryptophyta)、绿藻中 Mamiellaceae 科、甲藻中原甲藻科 (Prorocentraceae)、硅藻中海链藻科

(Thalassiosiraceae)、定鞭藻中 Chrysochromulinaceae 科和卡顿藻科(Chattonellaceae)等类群的相对丰度高于其他站位。如卡顿藻科在大亚湾丰度均值为 0.99%，但在夜光藻丰度高的 S10 站位高达 5.60%。而夜光藻相对丰度较高的站位中裸甲藻科(Gymnodiniaceae)、拟哲水蚤科、大眼水蚤科(Corycaeidae)、Pseudocyclopidae 科和长腹剑水蚤科(Oithonidae)的相对丰度低于其他站位。如长腹剑水蚤科在大亚湾丰度均值为 11.6%左右，但在夜光藻

丰度高的 S10 站位点只有 0.57%，远低于平均水平。

## 2.5 大亚湾夜光藻高丰度站位浮游生物之间关系

大亚湾海域真核浮游生物科水平之间进行了 Spearman 相关性分析并绘制网络关系图，图 7 中呈现了 54 个节点和 490 条关系线。网络图中的节点呈现环境中的不同生物类群，连线及其粗细分别代表各类群之间的联系及强弱程度。分析表明夜光藻与海链藻科(Thalassiosirales)、卡顿藻科、角毛藻科(Chatocerotaceae)、原甲藻科等关系紧密。同时

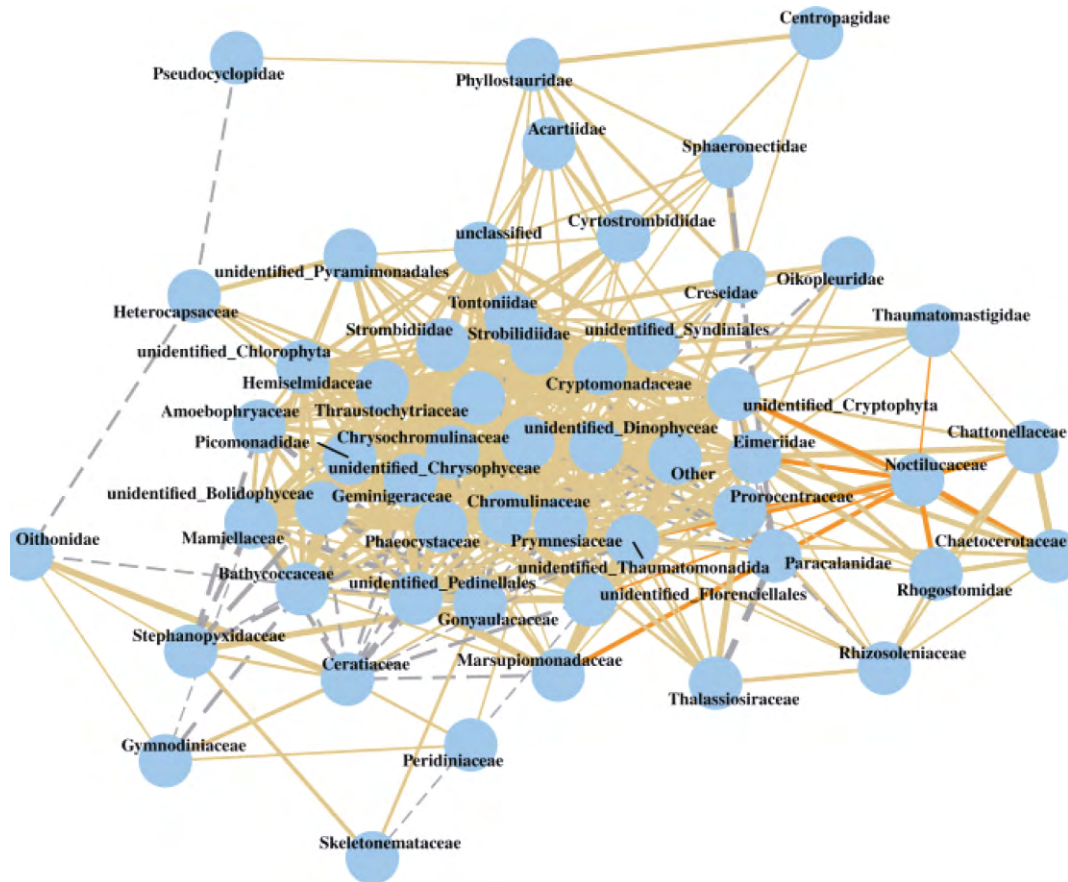


图 7 浮游生物群落网络关系图

黄色实线表示正相关关系，橙色实线表示与夜光藻呈正相关关系，灰色虚线表示负相关关系，线的粗细代表关系的强弱程度

Fig. 7 Network of plankton community. Yellow solid line means positive correlation; Orange solid line means positive correlation to *N. scintillans*; Grey dotted line means negative correlation; thickness of the line represents the strength of the relationship

哲水蚤科与根管藻科(Rhizosoleniaceae)、原甲藻科、海链藻科等类群之间呈显著的负相关关系。这可能与摄食或竞争等种间关系相关。而色金藻科、定鞭金藻科(Prymnesiaceae)、棕囊藻科(Phaeocystaceae)等 13 类浮游植物关系结构紧密，表明其间相互作用强，生物关系复杂。

## 2.6 真核浮游生物与环境因子的关系

对大亚湾海域真核浮游生物(科)的相对丰度与理化因子使用 Spearman 进行了相关性聚类分析，

绘制出真核浮游生物与环境因子的相关性聚类分析热图(图 8)。聚类分析热图表明，硅酸盐、磷酸盐等与一些浮游生物类群的组成和分布呈现一定的相关关系。如夜光藻与磷酸盐、硅酸盐呈负相关关系，而与溶解氧呈正相关关系。同时卡顿藻科、角毛藻科、原甲藻科等都与硅酸盐和磷酸盐呈负相关，与溶解氧呈正相关。表明夜光藻与其生物相关性紧密的生物类群对相同理化因子存在相似的适应选择。



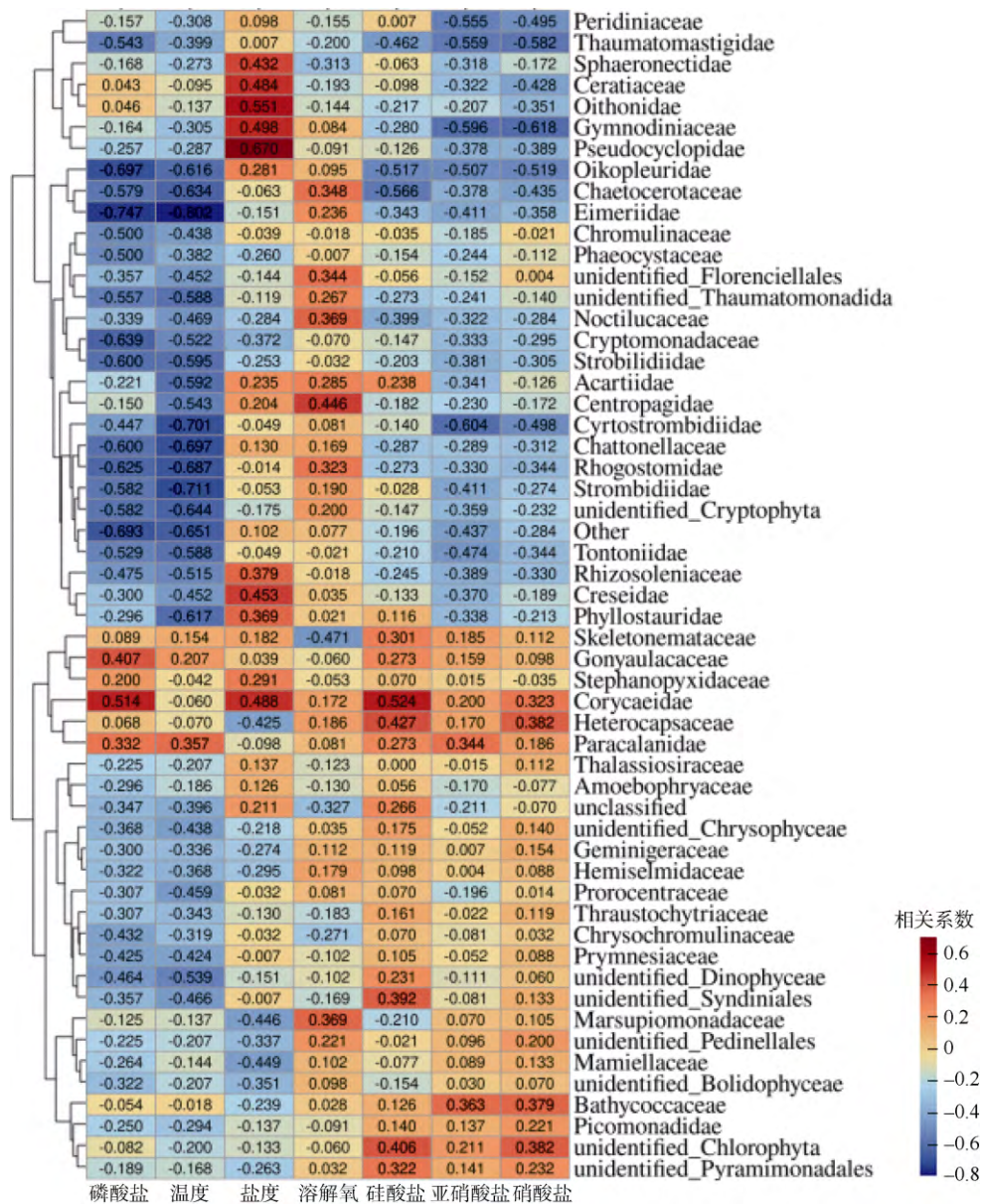


图 8 真核浮游生物与环境因子的相关性聚类分析热图

Fig. 8 Correlation cluster analysis between the eukaryotes and physical and chemical factors

### 3 讨论

#### 3.1 夜光藻藻华发生与环境因子之间的关系

2021年1月大亚湾区域表层水体温度为16~17℃，盐度是32.1‰~32.5‰，与过去大亚湾夜光藻藻华期间报道的温度和盐度相一致(Liu et al, 2006)。过去研究报道认为硅藻的大量繁殖，伴随着夜光藻大量增殖与藻华发生(孙东等, 2010)，并导致磷酸盐等营养盐浓度降低(朱艾嘉等, 2008, 2009)，这与本研究中大亚湾夜光藻丰度与磷酸盐、硅酸盐浓度呈负相关关系相对应。同时，小型与微型浮游植物叶绿素a在S9和S10出现了低值的舌型区域，可能是由

于夜光藻丰度上升，对光合藻类的摄食压力增加，从而导致叶绿素a浓度降低。

#### 3.2 夜光藻的食性分析

夜光藻具有广泛的食物来源，浮游植物通常被认为是其在自然水体中主要的食物来源(Hallegraeff et al, 2019)。过去的研究通过显微镜观察发现大鹏湾夜光藻主要以甲藻为食(陈汉辉等, 1991)。然而在坎塔布海岸中部的浅海水域，73%的夜光藻液泡中检测到桡足类动物的卵，表明桡足类动物的卵是夜光藻的重要食物来源之一(Quevedo et al, 1999)。香港的牛尾海夜光藻藻华与硅藻藻华发生的时间相一致，表明夜光藻对硅藻有营养依赖(Zhang et al,

2017)。高通量测序发现东京湾夜光藻非选择性地摄食原甲藻科、裸甲藻科、硅藻中的圆筛藻科以及桡足类的纺锤水蚤科等类群(Nishitani et al, 2020)。

本研究结果推测大亚湾夜光藻可能摄食不同浮游植物与浮游动物类群, 其中浮游植物有角毛藻科、裸甲藻科等; 浮游动物有长腹剑水蚤科、拟哲水蚤科、哲水蚤目 Pseudocyclopidae 科、大眼水蚤科等, 夜光藻单细胞食性的分析结果内包含以上类群(数据未发表), 确定了该分析方法的有效性。在夜光藻藻华站位 S9 和 S10, 这些类群的相对丰度远低于其他站位; 其中大眼水蚤科在藻华站位相对丰度为 0.25%, 而在其他站位相对丰度均值为 1.03%。我们的数据分析结果推测夜光藻可能直接摄食长腹剑水蚤科和大眼水蚤科等种类个体、卵、组织、细胞碎片等; 同时, 夜光藻大量繁殖也可能压缩了该类浮游动物的生态位, 导致夜光藻藻华站位两者的丰度远低于大亚湾其他站位; 这与夜光藻摄食其他桡足类及其卵的报道相一致(Quevedo et al, 1999)。裸甲藻在 S9 和 S10 的平均相对丰度为 4.74%, 远低于大亚湾其他站位的 11.54%, 这可能是由于夜光藻对裸甲藻等的摄食作用引起。此外, 夜光藻还可能存在间接摄食的情况, 如寄生性甲藻阿米巴藻(Amoebophryaceae)在 S9 和 S10 站位丰度下降, 而阿米巴藻广泛寄生于纤毛虫、硅藻、甲藻特别是裸甲藻中(Coats, 1999), 这些宿主可能被夜光藻摄食, 从而导致阿米巴藻减少。已有文献报道根管藻是夜光藻主要的摄食类群之一(Enomoto, 1956), 本研究相关性分析结果中夜光藻和根管藻呈现弱正相关关系, 可能是由于根管藻在大亚湾内相对丰度较高, 夜光藻的摄食并未导致其丰度明显的下降。过去的研究报告大亚湾冬季浮游动物以拟哲水蚤科和长腹剑水蚤科为优势类群(马婕, 2019; Song et al, 2021), 浮游植物以根管藻科和原甲藻科为优势类群(Ma et al, 2014; Zhang et al, 2021)。其结果与本研究通过环境 DNA 技术测定的大亚湾浮游生物优势类群的结果相近, 表明环境 DNA 在分析生物多样性方面具有很大潜力。

本文检测出夜光藻环境中的真核浮游生物类群

的相对丰度以及与夜光藻之间的相关性, 仅是划分出夜光藻大致摄食范围, 夜光藻具体的摄食对象还需要对夜光藻单细胞分析等后续验证。

### 3.3 夜光藻摄食作用对浮游生物群落结构的影响

相关性分析表明拟哲水蚤科与卡顿藻科、海链藻科、原甲藻科、隐芽藻科等呈负相关关系(图 8)。低丰度的拟哲水蚤对其摄食对象的摄食压力低, 从而使得卡顿藻科、海链藻科、原甲藻科、隐芽藻科等浮游植物类群丰度升高。

研究也发现 S7 站夜光藻相对丰度高, 但是该站裸甲藻和拟哲水蚤相对丰度分别为 12.74% 和 60.67%, 高于平均水平。可能是由于大亚湾冬季表层存在顺时针余流(孙振宇等, 2020), 将 S9 和 S10 站位发生的夜光藻刚带入 S7 站点, 其生态影响还未显现。

总之, 夜光藻通过摄食圆筛藻科、裸甲藻科等直接影响浮游植物群落结构; 同时, 夜光藻通过摄食拟哲水蚤科、长腹剑水蚤科等浮游动物, 进而对隐芽藻科、海链藻科等不同类群产生间接影响; 此双重途径对大亚湾水域的浮游生物的群落结构产生影响。

## 4 结论

结合环境 DNA 技术和 Spearman 相关性分析, 研究大亚湾夜光藻与真核浮游生物不同类群之间的关系, 结果表明夜光藻对裸甲藻科、长腹剑水蚤科、拟哲水蚤科都具有一定的摄食压力。该研究结果与过去其他方法分析夜光藻在自然环境下食性结果相吻合, 证明此分析方法分析夜光藻食性有效可行。

夜光藻相对丰度与磷酸盐、硅酸盐呈负相关, 与溶解氧呈正相关性; 夜光藻相对丰度高的站位微型 chl *a* 出现低值。

夜光藻对拟哲水蚤科和长腹剑水蚤科的摄食压力降低将对卡顿藻科、海链藻科、原甲藻科、隐芽藻科等产生的下行效应, 从而导致这些类群浮游植物丰度的增加; 夜光藻直接摄食圆筛藻科和裸甲藻科等浮游植物使其丰度降低。因此, 夜光藻通过直接摄食和间接影响的方式对区域中浮游生物群落结构产生影响。

## 参考文献 References

陈汉辉, 杞桑. 1991. 夜光藻摄食和营养繁殖的昼夜节律[J]. 暨南大学学报, 12(3): 104–111. CHEN HANHUI, QI SANG, 1991. The feeding and vegetative reproduction diurnal rhythms of *Noctiluca scintillans*[J]. Journal of Jinan

University, 12(3): 104–111 (in Chinese with English abstract). 郭雨沛, 2021. 大亚湾真核浮游植物基因多样性的季节变化及其扩增引物的比较分析[D]. 北京: 中国科学院大学. GUO YUPEI, 2021. Seasonal variation of eukaryotic phytoplankton

- gene diversity using two primers amplification for 18S rDNA V4 and V9 regions in Daya Bay[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences (in Chinese with English abstract).
- 华泽爱, 1994. 赤潮灾害[M]. 北京: 海洋出版社: 10–12. HUA ZEAI, 1994. Red tide[M]. Beijing: Ocean Press: 10–12 (in Chinese).
- 马婕, 2019. 大亚湾浮游动物主要功能群的摄食及其对环境变化的响应[D]. 上海: 上海海洋大学. MA JIE, 2019. Feeding of the main functional groups of zooplankton in Daya Bay and its response to environmental changes[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University (in Chinese with English abstract).
- 齐雨藻, 邹景忠, 梁松, 等, 2003. 中国沿海赤潮[M]. 北京: 科学出版社: 208–220 (in Chinese).
- 孙东, 赵冬至, 文世勇, 等, 2010. 夜光藻赤潮与环境因子关系的模糊分析[J]. 海洋环境科学, 29(1): 70–75. SUNDONG, ZHAO DONGZHI, WEN SHIYONG, et al, 2010. Fuzzy analysis on relationship between *Noctiluca scintillans* blooms and environmental factors[J]. Marine Environmental Science, 29(1): 70–75 (in Chinese with English abstract).
- 孙振宇, 陈照章, 杨龙奇, 等, 2020. 大亚湾及周边海区潮流和余流的季节变化特征[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 59(2): 278–286. SUN ZHENYU, CHEN ZHAOZHANG, YANG LONGQI, et al, 2020. Seasonal variation of the tidal current and residual current in the Daya Bay and its surrounding area[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 59(2): 278–286 (in Chinese with English abstract).
- 万艳, 2020. 适宜平潭海域夜光藻赤潮发生的水温和气象条件统计分析[J]. 海洋预报, 37(6): 65–73. WAN YAN, 2020. Statistical analysis of water temperature and meteorological conditions favorable for the occurrence of *Noctiluca scintillans* red tide in Pingtan sea area[J]. Marine Forecasts, 37(6): 65–73 (in Chinese with English abstract).
- 王友绍, 王肇鼎, 黄良民, 2004. 近 20 年来大亚湾生态环境的变化及其发展趋势[J]. 热带海洋学报, 23(5): 85–95. WANG YOUSHAO, WANG ZHAODING, HUANG LIANGMIN, 2004. Environment changes and trends in Daya Bay in recent 20 years[J]. Journal of Tropical Oceanography, 23(5): 85–95 (in Chinese with English abstract).
- 吴瑞贞, 林端, 马毅, 2007. 南海夜光藻赤潮概况及其对水文气象的适应条件[J]. 台湾海峡, 26(4): 590–595. WU RUIZHEN, LIN DUAN, MA YI, 2007. Survey and adapted hydro-meteorological conditions of *Noctiluca scintillans* red tides in South China Sea[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 26(4): 590–595 (in Chinese with English abstract).
- 郑炳锋, 刘炜明, 2010. 福州近海海域赤潮灾害及预警管理[J]. 中国水产, (5): 17–19 (in Chinese).
- 朱艾嘉, 黄良民, 许战洲, 2008. 氮、磷对大亚湾大鹏澳海区浮游植物群落的影响: . 叶绿素 *a* 与初级生产力[J]. 热带海洋学报, 27(1): 38–45. ZHU AIJIA, HUANG LIANGMIN, XU ZHANZHOU, 2008. Impacts of nitrogen and phosphorus on phytoplankton community structure in Dapeng'ao area of Daya Bay: I. Chlorophyll *a* and primary productivity[J]. Journal of Tropical Oceanography, 27(1): 38–45 (in Chinese with English abstract).
- 朱艾嘉, 黄良民, 林秋艳, 等, 2009. 氮、磷对大亚湾大鹏澳海区浮游植物群落的影响: . 种类组成[J]. 热带海洋学报, 28(6): 103–111. ZHU AIJIA, HUANG LIANGMIN, LIN QIUYAN, et al, 2009. Influence of nitrogen and phosphorus on phytoplankton community structure in the Dapeng'ao Bay, Daya Bay: II. Species composition[J]. Journal of Tropical Oceanography, 28(6): 103–111 (in Chinese with English abstract).
- BLAXTER M, MANN J, CHAPMAN T, et al, 2005. Defining operational taxonomic units using DNA barcode data[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences, 360(1462): 1935–1943.
- COATS D W, 1999. Parasitic life styles of marine dinoflagellates[J]. The Journal of Eukaryotic Microbiology, 46(4): 402–409.
- DEINER K, BIK H M, MÄCHLER E, et al, 2017. Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities[J]. Molecular Ecology, 26(21): 5872–5895.
- ENOMOTO Y, 1956. On the occurrence and the food of *Noctiluca scintillans* (MACARTNEY) in the waters adjacent to the west coast of Kyushu, with special reference to the possibility of the damage caused to the fish eggs by that plankton[J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 22(2): 82–88.
- GÓMEZ F, SOUSSI S, 2007. The distribution and life cycle of the dinoflagellate *Spatulodinium pseudonocitluca* (Dinophyceae, Noctiluciales) in the northeastern English Channel[J]. Comptes Rendus Biologies, 330(3): 231–236.
- HALLEGRAEFF G M, ALBINSSON M E, DOWDNEY J, et al, 2019. Prey preference, environmental tolerances and ichthyotoxicity by the red-tide dinoflagellate *Noctiluca scintillans* cultured from Tasmanian waters[J]. Journal of Plankton Research, 41(4): 407–418.
- HARRISON P J, FURUYA K, GLIBERT P M, et al, 2011. Geographical distribution of red and green *Noctiluca scintillans*[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 29(4): 807–831.
- JERDE C L, MAHON A R, CHADDERTON W L, et al, 2011. “Sight-unseen” detection of rare aquatic species using environmental DNA[J]. Conservation Letters, 4(2): 150–157.
- LI LI, LÜ SONGHUI, CEN JINGYI, 2019. Spatio-temporal variations of Harmful algal blooms along the coast of Guangdong, Southern China during 1980–2016[J]. Journal of Oceanology and Limnology, 37(2): 535–551.
- LIU XUEJUN, WONG C K, 2006. Seasonal and spatial dynamics of *Noctiluca scintillans* in a semi-enclosed bay in the northeastern part of Hong Kong[J]. Botanica Marina, 49(2): 145–150.
- MA YAN'E, KE ZHIXIN, HUANG LIANGMIN, et al, 2014. Identification of human-induced perturbations in Daya Bay, China: Evidence from plankton size structure[J]. Continental Shelf Research, 72: 10–20.



- NISHITANI G, SHIROMOTO M, SATO-OKOSHI W, et al, 2020. Molecular approach for analysis of *in situ* feeding by the dinoflagellate *Noctiluca scintillans*[J]. Harmful Algae, 99: 101928.
- PIONTKOVSKI S A, SERIKOVA I M, EVSTIGNEEV V P, et al, 2021. Seasonal blooms of the dinoflagellate algae *Noctiluca scintillans*: Regional and global scale aspects[J]. Regional Studies in Marine Science, 44: 101771.
- QIU DAJUN, HUANG LIANGMIN, LIU SHENG, et al, 2011. Nuclear, mitochondrial and plastid gene phylogenies of *Dinophysis miles* (Dinophyceae): Evidence of variable types of chloroplasts[J]. PLoS One, 6(12): e29398.
- QIU DAJUN, HUANG LIANGMIN, ZHUANG YUNYUN, et al, 2021. Dinoflagellate-targeted PCR reveals highly abundant and diverse communities of parasitic dinoflagellates in and near Zhubi Reef, South China Sea[J]. Coral Reefs, 40(6): 1931–1939.
- QUEVEDO M, GONZALEZ-QUIROS R, ANADON R, 1999. Evidence of heavy predation by *Noctiluca scintillans* on *Acartia clausi* (Copepoda) eggs off the central Cantabrian coast (NW Spain)[J]. Oceanologica Acta, 22(1): 127–131.
- ŞENTÜRK Y, ESENSOY F B, AYTAN Ü, 2020. Seasonal and spatial distribution of *Noctiluroid dinoflagellates* (Noctilucales, Dinophyceae) in the Southeastern Black Sea[J]. Regional Studies in Marine Science, 40: 101511.
- SHEHZAD W, RIAZ T, NAWAZ M A, et al, 2012. Carnivore diet analysis based on next-generation sequencing: application to the leopard cat (*Prionailurus bengalensis*) in Pakistan[J]. Molecular Ecology, 21(8): 1951–1965.
- SONG XINGYU, LI YAO, XIANG CHENHUI, et al, 2021. Nitrogen and phosphorus enrichments alter the dynamics of the plankton community in Daya Bay, northern South China Sea: results of mesocosm studies[J]. Marine and Freshwater Research, 72(11): 1632–1642.
- ZHANG LING, XIONG LANLAN, LI JINLONG, et al, 2021. Long-term changes of nutrients and biocenoses indicating the anthropogenic influences on ecosystem in Jiaozhou Bay and Daya Bay, China[J]. Marine Pollution Bulletin, 168: 112406.
- ZHANG SHUWEN, HARRISON P J, SONG SHUQUN, et al, 2017. Population dynamics of *Noctiluca scintillans* during a bloom in a semi-enclosed bay in Hong Kong[J]. Marine Pollution Bulletin, 121(1–2): 238–248.