

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第5期

Vol.39 No.5

**2018**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

餐饮行业细颗粒物(PM<sub>2.5</sub>)排放测算方法:以上海市为例 ..... 王红丽, 景盛翱, 楼晟荣, 陶士康, 乔利平, 李莉, 黄成, 林立, 陈长虹 (1971)

上海夏季PM<sub>2.5</sub>中有机物的组分特征、空间分布和来源 ..... 高雅琴, 王红丽, 景盛翱, 乔利平, 李莉, 朱书慧, 楼晟荣, 陶士康, 冯加良, 李想, 陈长虹 (1978)

北京南郊区PM<sub>2.5</sub>中水溶性无机盐季节变化及来源分析 ..... 高韩钰, 魏静, 王跃思 (1987)

基于样方法的天津市春季道路扬尘PM<sub>2.5</sub>中水溶性离子特征及来源解析 ..... 赵静琦, 姬亚芹, 张蕾, 王士宝, 李越洋 (1994)

广州秋季HONO污染特征及夜间来源分析 ..... 田智林, 杨闻达, 虞小芳, 张曼曼, 张贺伟, 程丁, 程鹏, 王伯光 (2000)

基于硫氧同位素研究南京北郊夏季大气中硫酸盐来源及氧化途径 ..... 韩珣, 任杰, 陈善莉, 王瑾瑾, 沈潇雨, 魏英, 郭照冰, 朱彬 (2010)

区县尺度机动车高分辨率排放清单建立方法及应用 ..... 樊守彬, 郭津津, 李雪峰 (2015)

典型工业生物质锅炉多环芳烃排放特征 ..... 林玉君, 白莉, 王焕香, 肖文, 刘军, 向运荣, 张春林 (2023)

多时间尺度HSPF模型参数不确定性研究 ..... 庞树江, 王晓燕, 马文静 (2030)

氮氧同位素联合稳定同位素模型解析水源地氮源 ..... 金赞芳, 张文辽, 郑奇, 朱晨阳, 李非里 (2039)

白洋淀水体挥发性有机物污染特征与风险评价 ..... 高秋生, 赵永辉, 焦立新, 田自强, 杨柳, 杨苏文, 崔志丹, 郝子峰 (2048)

太湖颗粒态有机质的荧光特征及环境指示意义 ..... 吕伟伟, 姚昕, 张保华, 刘延龙, 李元鹏 (2056)

长江口滩涂表层沉积物中微塑料的分布及沉降特点 ..... 朱晓桐, 衣俊, 强丽媛, 程金平 (2067)

桂林五里峡水库丰水期溶解有机碳特征 ..... 卢晓漩, 李强, 靳振江, 彭文杰, 房君佳, 黄炳惠, 宋昂 (2075)

青藏高原多年冻土区典型植被下河流溶解性有机碳的生物可利用性 ..... 马小亮, 刘桂民, 吴晓东, 徐海燕, 叶琳琳, 张晓兰, 白炜 (2086)

城郊与城镇河流中溶解性有机质与重金属的相关性 ..... 梁梦琦, 邵美玲, 曹昌丽, 纵亚男, 唐剑锋 (2095)

溶解性有机质在岩溶水系统中的迁移转化及影响因素分析 ..... 张连凯, 刘朋雨, 覃小群, 单晓静, 刘文, 赵振华, 姚昕, 邵明玉 (2104)

三峡库区澎溪河回水区溶解态金属离子来源和时空分布特征分析 ..... 赵晓松, 蔚建军, 付莉, 姜伟, 周川, 李波, Douglas Haffner, Christopher Weisener, 张磊 (2117)

澜沧江流域沉积物间隙水-上覆水营养盐特征与交换通量分析 ..... 望雪, 程豹, 杨正健, 刘德富, 徐雅倩 (2126)

蓄水期三峡水库香溪河沉积物-水系统营养盐分布特征 ..... 苏青青, 刘德富, 纪道斌, 宋林旭, 崔玉洁, 李欣, 陈秀秀, 刘心愿 (2135)

两种水生植物对上覆水和间隙水中各形态磷的影响 ..... 杨文斌, 高顺峰, 万锐, 孙祥, 王赢 (2145)

于桥水库沉积物-水界面氮磷剖面特征及交换通量 ..... 文帅龙, 龚琬晴, 吴涛, 郑小兰, 江雪, 李鑫, 钟继承 (2154)

岷江干流表层沉积物中磷形态空间分布特征 ..... 杨耿, 秦延文, 韩超南, 马迎群, 刘志超, 杨晨晨 (2165)

农业排水沟渠硝态氮吸收动力学特征及相关性分析 ..... 李如忠, 殷齐贺, 高苏蒂, 陈广州 (2174)

不同合成条件对ZnAl-LDHs覆膜改性生物陶粒除磷效果的影响 ..... 向洋, 张翔凌, 雷雨, 方晨佳, 袁野, 姜应和, 徐舟影 (2184)

真空紫外/过二硫酸盐去除饮用水中嗅味物质 ..... 孙昕, 史路肖, 张燧, 杨煜, 唐晓 (2195)

石墨烯负载铁锰氧化物活化过一硫酸盐降解金橙G ..... 夏文君, 刘锋, 郝尚斌, 黄天寅, 王忠明, 陈家斌 (2202)

载钼或铈生物炭吸附水体中As(V)的作用机制 ..... 李锦, 祖艳群, 李刚, 孙国新 (2211)

DOM不同相对分子质量组分在无机矿物上的吸附及其对卡马西平吸附的影响实验 ..... 梁雨, 何江涛, 张思 (2219)

污水处理厂中有机磷阻燃剂的污染特征 ..... 孙佳薇, 丁炜楠, 张占恩, 王俊霞, 顾海东 (2230)

低温污水前置强化混凝 ..... 刘海龙, 任宇霞, 张忠民 (2239)

印染废水反渗透脱盐系统运行性能及膜污堵特性 ..... 谭玉琚, 张泽田, 吴乾元, 姚颖, 胡洪营, 丘培文 (2249)

生物膜CANON反应器性能的优化:从FBBR到MBBR ..... 付昆明, 李慧, 周厚田, 仇付国 (2256)

两次污泥颗粒化过程中微生物群落的动态变化 ..... 高景峰, 张丽芳, 张树军, 高永青, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲 (2265)

铝、铁、钛3种金属盐基混凝剂调理污泥的性能比较 ..... 王晓萌, 王鑫, 杨明辉, 张淑娟 (2274)

热、热碱处理对污泥溶胞和溶解性有机物的影响 ..... 代勤, 张文哲, 于潘芬, 易皓, 刘俊新, 肖本益 (2283)

曝气时间对比亚硝化颗粒污泥形成的影响 ..... 李冬, 郭跃洲, 曹美忠, 劳会妹, 李帅, 张杰 (2289)

中国城市污泥中汞含量的时空分布特征 ..... 王宁, 刘清伟, 职音, 程柳, 麻冰涓, 毛宇翔 (2296)

夏季太湖草/藻型湖区N<sub>2</sub>O生成与迁移特征及其影响因素 ..... 郑小兰, 文帅龙, 李鑫, 龚琬晴, 刘德鸿, 钟继承 (2306)

太湖藻型湖区CH<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>排放特征及其影响因素分析 ..... 贾磊, 蒲旖旎, 杨诗俊, 苏荣明珠, 秦志昊, 张弥 (2316)

内蒙古典型草原季节性冻土区土壤剖面CO<sub>2</sub>、N<sub>2</sub>O特征 ..... 李晋波, 姚楠, 李秀, 赵英, 张阿凤, 兰志龙, 范庭 (2330)

黄土高原成龄苹果园生态系统CO<sub>2</sub>通量特征 ..... 杨剑锋, 杨小妮, 王俊花, 段宇敏, 祁香宁, 张林森 (2339)

生物炭施用对紫色水稻土温室气体排放的影响 ..... 祁乐, 高明, 郭晓敏, 牛海东, 李婷, 孙涛, 曹群玲, 汤稼豪 (2351)

不同施肥处理对东北黑土温室气体排放的短期影响 ..... 李平, 郎漫, 李森, 魏玮, 李凯凯 (2360)

ITS高通量测序研究黄海微型真核浮游生物多样性及分布特征 ..... 张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 张晓娇 (2368)

不同排海方式城市尾水微生物扩散规律 ..... 郎秀璐, 宋志文, 徐爱玲, 牛成洁, 郭明月 (2380)

旅游活动对岩溶洞穴地下水中细菌群落的影响:以重庆丰都两个洞穴为例 ..... 吕现福, 贺秋芳, 王凤康, 赵瑞一, 张弘 (2389)

不同沼灌年限稻田土壤微生物群落分析 ..... 朱金山, 张慧, 马连杰, 廖敦秀, 杨星勇, 王龙昌, 王定勇 (2400)

生物炭对褐土理化特性及真菌群落结构的影响 ..... 阎海涛, 殷金玉, 丁松爽, 任天宝, 许家来, 宗浩, 高强, 刘国顺 (2412)

铅锌尾矿砂污染下的岩溶土壤微生物群落碳源代谢特征 ..... 房君佳, 李强, 刘畅, 靳振江, 梁月明, 黄炳惠, 卢晓漩, 彭文杰 (2420)

湖库沉积物好氧反硝化菌群脱氮特性及种群结构 ..... 康鹏亮, 张海涵, 黄廷林, 陈胜男, 商潘路, 冯稷, 贾克宇 (2431)

反硝化菌群的氮代谢与反硝化偶联机制 ..... 张泽宇, 王明霞, 程永毅, 周志峰 (2438)

广西西江流域土壤铅空间分布与污染评价 ..... 张云霞, 宋波, 陈同斌, 伏凤艳, 黄飞, 庞瑞, 潘惠妹 (2446)

三峡库区消落带农业活动对土壤汞变化的影响 ..... 陈秋禹, 孙松, 尹德良, 王永敏, 张成, 王定勇 (2456)

水稻不同生长时期不同组织中抗生内生菌的筛选与鉴定 ..... 王伯勋, 王学东, 段桂兰 (2464)

汞在酸性紫色水稻土的转化与水稻汞富集特征 ..... 李雨琴, 孙涛, 邓晗, 张成, 王永敏, 王定勇 (2472)

华北平原不同生产模式设施蔬菜生命周期环境影响评价 ..... 徐强, 胡克林, 李季, 韩卉, 杨合法 (2480)

基于细菌毒性测试与小鼠肺基因转录分析的PM<sub>2.5</sub>健康效应 ..... 宋鹏程, 陆书玉, 魏永杰, 陈倩倩, 罗丽娟 (2489)

中国PM<sub>2.5</sub>污染空间分布的社会经济影响因素分析 ..... 段杰雄, 翟卫欣, 程承旗, 陈波 (2498)

《环境科学》征订启事(2094) 《环境科学》征稿简则(2164) 信息(2183, 2411, 2445)

# ITS 高通量测序研究黄海微型真核浮游生物多样性及分布特征

张莉<sup>1,2,3</sup>, 林佳宁<sup>2,3</sup>, 张远<sup>2,3\*</sup>, 王书平<sup>2,3</sup>, 张晓娇<sup>2,3,4</sup>

(1. 辽宁大学环境学院, 沈阳 110036; 2. 中国环境科学研究院, 环境基准与风险评估国家重点实验室, 北京 100012; 3. 中国环境科学研究院流域水生态保护技术研究所, 北京 100012; 4. 大连海洋大学水产与生命学院, 大连 116023)

**摘要:** 微型真核浮游生物是海洋生物群落的重要组成部分, 对维持海洋生态系统的稳定发挥着重要的作用. 本研究对黄海水环境样品的标记基因 ITS 进行 Illumina 高通量测序, 探讨了黄海微型真核浮游生物多样性和群落结构特征, 并分析了其与环境因子之间的关系. 结果表明: ① 基于标记基因 ITS 的高通量测序技术可获得较丰富的真菌、浮游植物、浮游动物种类, 其中真菌 OTUs > 浮游植物 OTUs > 浮游动物 OTUs, 真菌 reads 数 > 浮游动物 reads 数 > 浮游植物 reads 数. ② 不同水域微型浮游生物的物种丰度及多样性程度不同, Ace 指数及 Chao1 指数表现为南黄海 > 北黄海 > 东海北部 > 冷水团, Simpson 指数及 Shannon-Wiener 指数表现为东海北部 > 北黄海 > 南黄海 > 冷水团, 冷水团水域的物种丰度及多样性最低. ③ 随着温度的升高, 真菌、浮游植物、浮游动物 reads 数、OTUs 均呈现出上升的趋势; 随着盐度的增加, 真菌的 reads 数、OTUs 升高, 而浮游植物、浮游动物的 reads 数、OTUs 下降, 其中浮游植物的 reads 数、OTUs 显著下降 ( $P < 0.05$ ); 在北纬  $30^{\circ} \sim 40^{\circ}$  范围内, 随着纬度的升高, 真菌、浮游动物的 Shannon-Wiener 指数上升, 而浮游植物 Shannon-Wiener 指数下降; 与海岸线的距离越大, 真菌、浮游植物、浮游动物 Shannon-Wiener 指数越低. 本研究首次以 ITS 为扩增子高通量测序研究海洋微型真核浮游生物, 丰富了微型真核浮游生物的认识, 揭示了高通量测序技术在该海域研究的可行性, 为其他海域微型真核浮游生物的研究提供了借鉴.

**关键词:** 黄海; 微型浮游生物; 高通量测序技术; 内转录间隔区 (ITS); 多样性

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)05-2368-12 DOI: 10.13227/j.hjlx.201710055

## Eukaryotic Micro-plankton Community Diversity and Characteristics of Regional Distribution in the Yellow Sea by ITS High-throughput Sequencing

ZHANG Li<sup>1,2,3</sup>, LIN Jia-ning<sup>2,3</sup>, ZHANG Yuan<sup>2,3\*</sup>, WANG Shu-ping<sup>2,3</sup>, ZHANG Xiao-jiao<sup>2,3,4</sup>

(1. College of Environmental Sciences, Liaoning University, Shenyang 110036, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 3. Laboratory of Riverine Ecological Conservation and Technology, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 4. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

**Abstract:** Eukaryotic micro-plankton plays a key role in the marine biotic community and in maintaining the stability of the marine ecosystem. In order to determine the diversity and characteristics of eukaryotic micro-plankton in the Yellow Sea, Illumina high-throughput sequencing, based on gene markers of ITS, was conducted. An analysis of the relationship between community structure and environmental factors was conducted as well. The results are summarized in the following. ① Various of species of fungi, phytoplankton, and zooplankton were obtained by high-throughput sequencing technology; for OTUs, the order is fungi > phytoplankton > zooplankton, and for reads, the order is fungi > zooplankton > phytoplankton. ② In different waters, species abundance and diversity differed from each other. The Ace index and Chao1 index demonstrated an ordering of southern Yellow Sea > northern Yellow Sea > northern East Sea > Cold Water Mass; however, for the Simpson index and Shannon-Wiener index, the tendency followed the order of northern East Sea > northern Yellow Sea > southern Yellow Sea > Cold Water Mass. Species abundance and diversity in the Cold Water Mass were lowest. ③ The reads and OTUs of fungi, phytoplankton, and zooplankton increased as temperature rose. The reads and OTUs of fungi increased as salinity increased, while there was an opposite trend for phytoplankton and zooplankton. Latitude was another significant factor. In the range of  $30^{\circ}$  to  $40^{\circ}$  north latitude, the Shannon-Wiener index for fungi and zooplankton indicated an increasing tendency with an increase in latitude, while the Shannon-Wiener index for phytoplankton showed an opposite trend. With a greater distance from the coast, the Shannon-Wiener index of fungi, phytoplankton and zooplankton was lower. This is the first study that amplifies the use ITS in the research of marine eukaryotic micro-plankton, giving an enriched understanding of eukaryotic micro-

收稿日期: 2017-10-10; 修订日期: 2017-11-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(41571050)

作者简介: 张莉(1993~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水生生物学, E-mail: zhangli\_03\_18@163.com

\* 通信作者, E-mail: zhangyuan@craes.org.cn

plankton. The feasibility of applying high-throughput sequencing technology in the sea is proven, and this will provide a reference for other researchers.

**Key words:** Yellow Sea; micro-plankton; high-throughput sequencing technology; internal transcribed space(ITS); diversity

微型浮游生物通常指的是粒径小于 20  $\mu\text{m}$  的浮游生物<sup>[1]</sup>, 是能量流动和物质循环的重要环节<sup>[2,3]</sup>, 在海洋生态系统中占有重要的地位. 近年来, 黄海面临着严重的营养盐污染问题, 以氮为例, 每年有 11  $\text{Gmol}\cdot\text{a}^{-1}$  的氮在水体中积累, 使得氮浓度升高 0.6  $\mu\text{mol}\cdot(\text{L}\cdot\text{a})^{-1}$ <sup>[4]</sup>. 另外, 富营养化导致该海域多次暴发浒苔绿潮<sup>[5-7]</sup>、赤潮<sup>[8,9]</sup>、水母<sup>[10,11]</sup>等灾害. 微型真核浮游生物是微型食物链的基础, 分析微型真核浮游生物的群落结构对探讨这些灾害的生态影响具有重要的意义<sup>[12,13]</sup>. 关于该海域微型浮游生物的研究多采用流式细胞仪技术<sup>[14,15]</sup>, 主要偏向于聚球藻、原绿球藻、异养细菌等的研究, 但该技术所能揭示的浮游生物类群较少, 难以区分种属.

高通量测序技术由于其通量高, 可以发现更多新的物种, 在生物多样性研究中应用广泛<sup>[16-20]</sup>. Malviya 等<sup>[18]</sup>通过高通量测序的办法, 分析了全球范围内不同粒径硅藻的分布特征, 同时对比高通量测序方法与显微镜方法所得到的物种, 发现高通量测序方法得到的物种数要远高于显微镜的方法, 而且发现了更多新的种类. 王靖淇等<sup>[19]</sup>通过对比光学显微镜与高通量测序所得到的辽河真核浮游藻类, 发现后者检测到许多显微镜未观察到的类群, 如轮藻门、隐藻门、定鞭藻门等. Mueller 等<sup>[20]</sup>采用高通量测序技术分析亚马逊热带雨林不同土地利用类型的生境中土壤真菌的群落结构, 发现土地利用类型显著影响土壤真菌群落结构, 而这种影响与植物群落结构有很大的关联性.

目前运用高通量测序技术研究浮游生物群落的标记性基因主要包括核糖体基因 (ribosomal DNA, rDNA)、二磷酸核酮糖羧化酶大亚基基因 (rbcL) 和细胞色素 C 氧化酶第 1 亚基基因 (cox1). 其中核糖体基因中的内转录间隔区 (internal transcribed space, ITS), 由于其进化速度快, 具有特异性, 在不同物种间表现有明显差异性, 广泛应用于浮游植物<sup>[21,22]</sup>、真菌<sup>[23,24]</sup>、浮游动物<sup>[25,26]</sup>等的研究. Geml 等<sup>[24]</sup>以 ITS 为扩增子, 分析了欧洲西部海岸沙丘地带土壤真菌的群落结构, 并探讨了其丰富度及 OTUs 与土壤 pH 之间的关系, 发现随着土壤 pH 的升高, 真菌的丰富度及 OTUs 呈现出下降的趋势.

李玉龙等<sup>[26]</sup>结合 18S 及 ITS, 对辽东湾水域霞水母进行了物种甄别, 发现该海域的霞水母样品为白色霞水母, 并对比 18S 和 ITS 两个基因片段在种内和种间的平均遗传距离, 发现 ITS 基因片段更适合属内种间水平的进化研究. Zhao 等<sup>[27]</sup>以 ITS 为扩增子, 通过高通量测序发现 2007 ~ 2013 年黄海暴发浒苔绿潮时, 海域上的漂浮浒苔形成了独特的生态型, 其与潮间带浒苔具有种间差异性.

本研究以 ITS 为扩增片段, 应用高通量测序技术, 揭示黄海微型真核浮游生物的群落结构及多样性, 分析其空间分布特征及与环境因子, 如: 温度、盐度、纬度、海岸线的距离等的关系, 以期为进一步探讨微型真核浮游生物在海洋生态系统中的功能提供理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

2016 年 8 月于黄海及杭州湾以东海域布置 32 个采样点位, 分布于北黄海 (A-1、A-2、A-3、A-4、A-5、A-6)、冷水团 (B-1、B-2、B-3、B-4、B-5)、南黄海 (C-1、C-2、C-3、C-4、C-5、C-6、C-7、C-8、C-9) 和东海北部 (D-1、D-2、D-3、D-4、D-5、D-6、D-7、D-8、D-9、D-10、D-11、D-12). 每个点位各采集表层 (0 ~ 2 m) 海水 3 次, 每次采集 4 L, 混合后取 3 L 用于后续操作. 使用孔径为 200  $\mu\text{m}$  的纱绢进行过滤, 去除颗粒较大的悬浮物; 通过 20  $\mu\text{m}$  的聚碳酸酯膜 (Millipore, USA) 过滤 ( $P < 0.03 \text{ MPa}$ ), 2 h 内完成. 将过滤好的膜置于无菌冻存管中, 液氮保存, 干冰运输. 采样点详见图 1.

### 1.2 DNA 的提取与纯化

将冻存管中的滤膜转移至 2 mL 无菌离心管中, 通过 DNA 裂解液裂解、蛋白酶 K 酶解、FastPrep-5G 破碎仪 (MP Biomedicals, USA) 破碎等方法破碎样品, 依据 Yuan 等<sup>[28]</sup>采取的方法提取、纯化样品中的 DNA. 使用 Nano Drop 2000 (Thermo Fisher Scientific, USA) 检测 DNA 样品的浓度, 并通过 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性.

### 1.3 PCR 扩增及 Illumina 测序

以每个样品的 DNA 原液 (50 ng) 为模板, 对 ITS 区进行 PCR 扩增, 采用的引物为真核生物通用

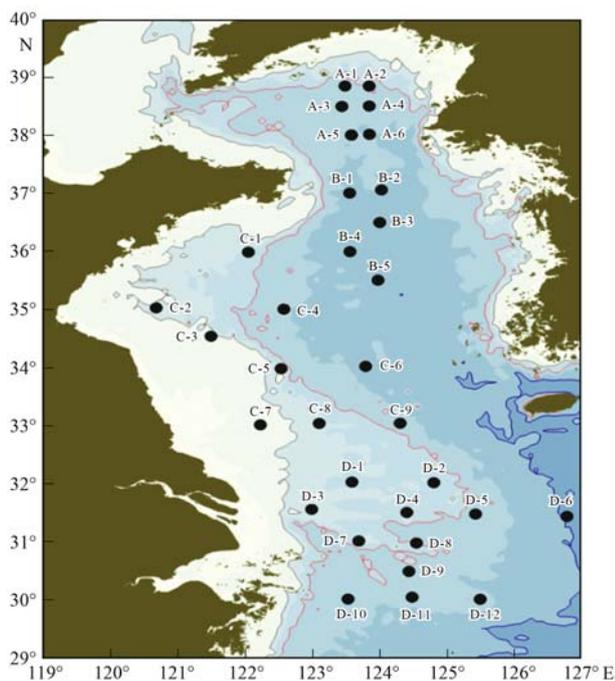


图 1 黄海采样点分布示意

Fig. 1 Location of sampling sites in the Yellow Sea

引物, F: 5'-GTGAATCATCGARTC-3', R: 5'-TCCTC CGCTTATTGAT-3', 引物由 GENEWIZ 公司设计合成. PCR 反应条件为: 96°C 预变性 3 min; 96°C 变性 30 s, 50°C 退火 30 s, 72°C 延伸 90 s, 共 35 个循环; 72°C 延伸 7 min; 4°C 保存. PCR 产物的纯化、浓度检测参考文献[23]. 针对 ITS 进行高通量文库构建并进行 Illumina 测序(苏州金唯智生物科技有限公司).

#### 1.4 数据处理

ITS 序列分析: 使用 QIIME (quantitative insights into microbial ecology) 软件对 ITS 原始序列过滤, 通过拼接、去引物、去接头、去嵌合体、剔除含有 N 及低质量得分的序列等方法, 得到高质量的序列. 为了减少测序深度造成的误差, 在每个样本中随机抽取 37765 条高质量序列进行后续的分析. 应用软件 VSEARCH 1.9.6 对高质量序列在 97% 的相似性水平上进行聚类, 产生可操作性分类单元 (operational taxonomic units, OTUs). 以每个 OTUs 中最长的序列作为代表性序列, 通过 BLAST 在 NCBI 数据库中查找同源序列, 将最相近且可信度达到 80% 以上序列的种属信息<sup>[29]</sup>, 作为该 OTUs 的物种注释信息.

利用 Mothur 软件构建稀释性曲线, 并计算 Ace 指数、Chao1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数. 通过条形图分析门、纲、目水平上各点位的群落分布

状况. 为分析微型浮游生物的空间分布特征, 将微型真核浮游生物划分为 3 个类群(真菌、浮游植物、浮游动物), 并研究其在北黄海、冷水团、南黄海、东海北部的群落结构. 通过散点图分析环境因子(温度、盐度、纬度、与海岸线的距离)对微型真核浮游生物群落结构的影响. 其中条形图、箱体图在软件 Origin 8.0 中进行. 散点图、Spearman 相关性分析在软件 SPSS 19.0 中完成.

## 2 结果与分析

### 2.1 测序数据分析

本次测序共获得 4511086 条原始序列, 对原始序列进行质量优化. 对优化序列进行随机抽样, 每个样本随机抽取 37765 条高质量序列, 以抽到的序列数与它们所能代表 OTUs 的数目构建稀释性曲线. 各样本 OTUs 数目随测序数量的增加趋于平缓, 说明测序深度已足够反映样本中 OTUs 的数量. 所有序列在 97% 的相似性水平上对其进行聚类, 共获得 1 035 个 OTUs. 通过 BLAST 对 OTUs 的代表性序列进行物种注释, 注释到科水平的 OTUs 数目占所有 OTUs 数目的 69.18%, 属水平的 OTUs 数目占 65.99%.

### 2.2 微型真核浮游生物群落结构特征

本次采样共获得微型浮游生物 23 门 53 纲 118 目 187 科 296 属, 将注释后的 OTUs 分别在门、纲、目水平上进行分析(图 2), 可以看出在不同的分类水平上, 各采样点浮游生物的群落结构存在差异. 在门这一分类阶元上[图 2(a)], 不同点位的浮游生物种类不同, 而且浮游生物各门的相对丰度也存在差异. 例如, 点位 A-1 中子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)和绿藻门(Chlorophyta)的 reads 数较多, 点位 B-3 的子囊菌门(Ascomycota)、定鞭金藻门(Haptophyta)及刺胞动物门(Cnidaria) reads 数较丰富, 而点位 C-7 中子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)及刺胞动物门(Cnidaria)的 reads 数所占比例较大. 总体看来, 各采样点均有不同比例的子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)及刺胞动物门(Cnidaria)的分布. 在纲分类阶元上[图 2(b)], 各点位浮游生物的分布也存在较大的差异性. 例如, 点位 A-4 中绿枝藻纲(Prasinophyceae)的 reads 数占该点位所有 reads 数的 70% 以上, 而点位 B-4 中酵母菌纲(Saccharomycetes)及点位 D-1 和 D-7 中伞菌纲(Agaricomycetes)的 reads 均达到其点位

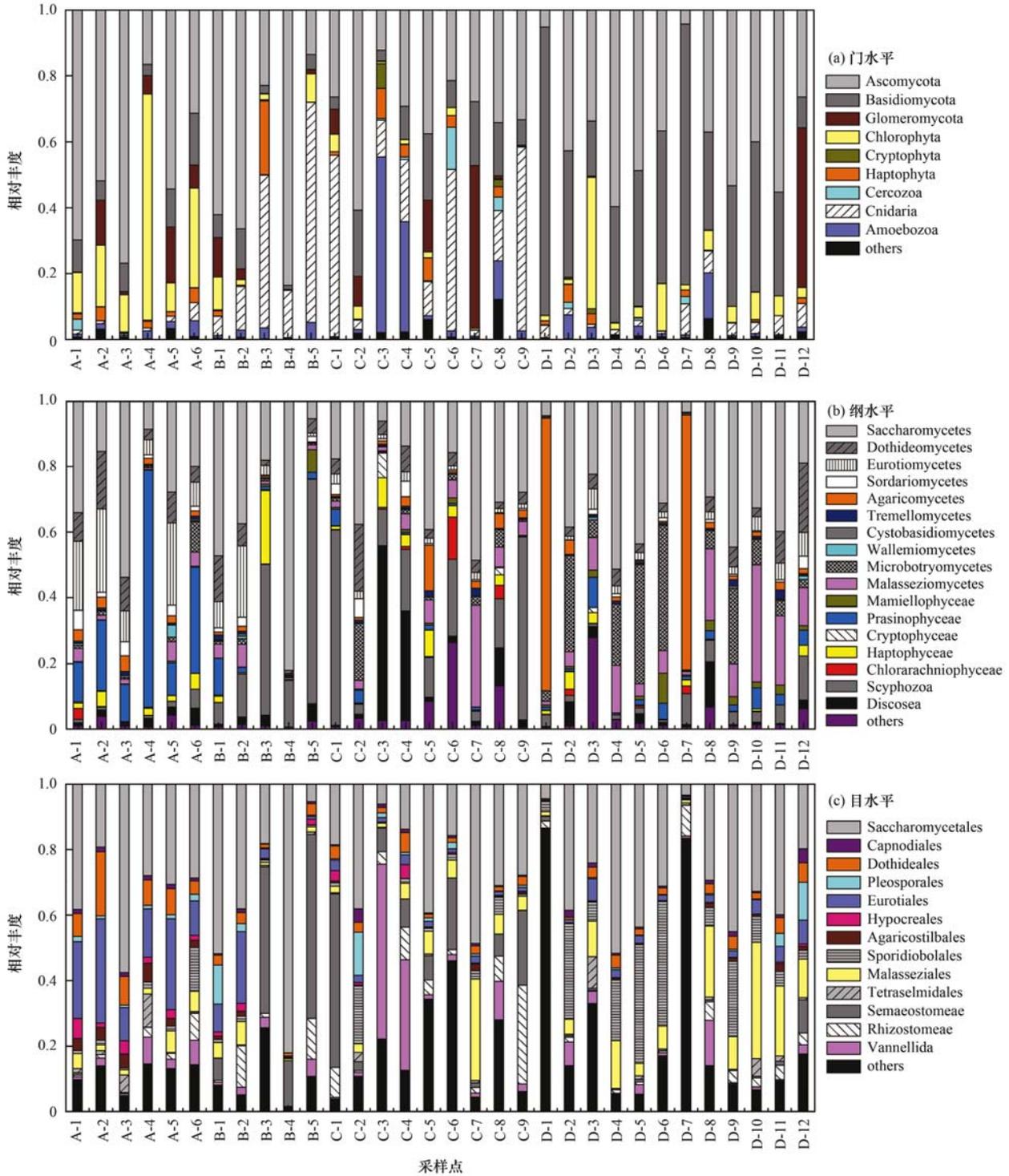


图 2 黄海各采样点微型真核浮游生物在门、纲、目水平上的分布情况

Fig. 2 Proportion of micro-plankton in sampling sites in the Yellow Sea at phylum, class and order levels

reads 数的 80% 以上. 在目分类阶元上[图 2(c)], 不同点位相对丰度较高的浮游生物是不同的, 而且同一目水平的浮游生物在不同点位相对丰度也存在差异性. 例如, 旗口水母目(Semaeostomeae) reads 数在点位 B-5 中占该点位所有 reads 数的 50% 左右, 而在点位 D-12 中仅占到 10%; 四片藻目

(Tetraselmiales) reads 数在点位 D-3 中占 5% 左右, 而在点位 C-3 中占到 50%.

另外, 本研究中发现各点位可以被注释的 OTUs 与不能被注释的 OTUs 在 reads 数上存在着较大的差异(图 3). 其中, 点位 B-2 与点位 C-8 不能被注释 OTUs 的 reads 数达到了 30 000 条, 点位 C-4

为20 000条, 点位 B-3、C-3、C-5、D-5 均达到了10 000条, 其余点位不能注释 OTUs 的 reads 数相对

较低. 另外, 点位 A-3、A-5、B-4、B-5、D-12 中可以被注释 OTUs 的 reads 数均在35 000条以上.

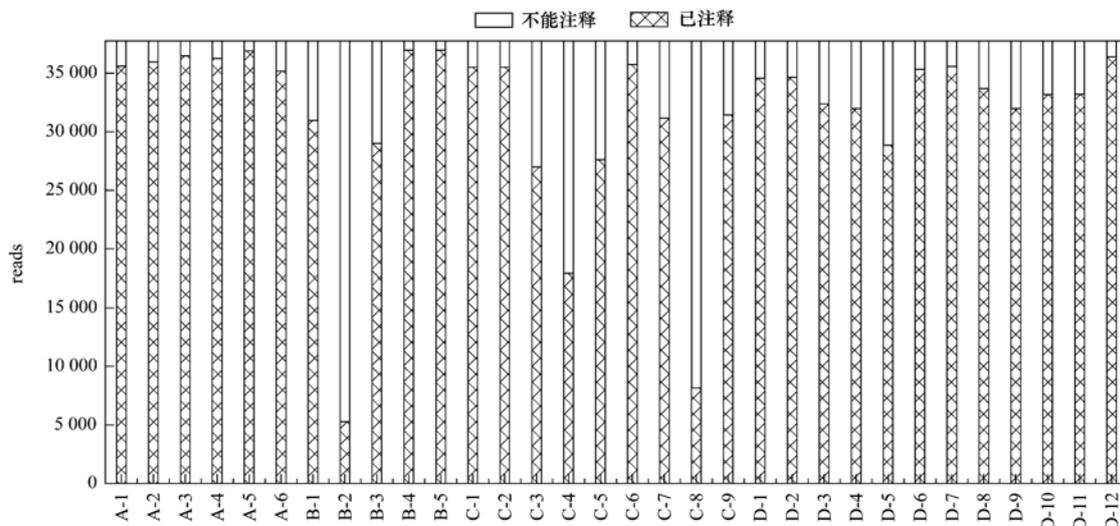


图3 各点位已注释与不能注释 OTUs 的 reads 数比较

Fig. 3 Comparison of reads between annotated OTUs and unannotated OTUs at the sampling sites

## 2.3 微型真核浮游生物空间分布特征分析

### 2.3.1 微型真核浮游生物主要属的空间分布特征

本研究中微型浮游生物主要类群为真菌、浮游植物、浮游动物, 对这3个类群的主要属(丰度较高的前10个属)进行分析(图4), 可以看出不同水域主要属的分布存在差异性.

真菌不同属在北黄海、冷水团、南黄海、东海北部的分布如图4(a)所示, 德巴利酵母属(*Debaryomyces*, 79.76%)、曲霉属(*Aspergillus*, 63.09%)、*Hortaea*(44.06%)在北黄海的分布比例较大; 酵母菌属(*Saccharomyces*)在冷水团水域的比例高达86.01%; 假丝酵母属(*Candida*, 41.65%)、红酵母属(*Rhodotorula*, 80.83%)、娄德酵母属(*Lodderomyces*, 76.64%)、马拉色氏霉菌属(*Malassezia*, 67.95%)、胶膜菌属(*Tulasnella*, 93.25%)、*Yamadazyma*(51.76%)主要分布在东海北部.

浮游植物不同属在北黄海、冷水团、南黄海、东海北部的分布如图4(b)所示, 塔胞藻属(*Pyramimonas*)在北黄海的分布比例较大, 为39.43%; 等鞭金藻属(*Isochrysis*)主要存在于冷水团水域, 所占比例为47.53%; 金色藻属(*Chrysochromulina*, 45.90%)、定鞭金藻属(*Prymnesium*, 62.99%)、蓝隐藻属(*Chroomonas*, 68.36%)、*Teleaulax*(66.23%)在南黄海的比例较大; 四片藻属(*Tetraselmis*, 54.22%)、*Mantoniella*(68.73%)、*Cymbomonas*(80.51%)、索囊藻属

(*Choricystis*, 99.83%)主要分布于东海北部.

浮游动物不同属在北黄海、冷水团、南黄海、东海北部的分布如图4(c)所示, *Creolimax*主要分布于北黄海, 所占比例高达99.62%; 霞水母属(*Cyanea*)主要存在于冷水团水域, 所占比例为48.50%; 根口水母属(*Rhizostoma*, 46.70%)、*Vannella*(56.51%)、侧花海葵属(*Anthopleura*, 99.96%)、*Lotharella*(62.70%)、*Platyamoeba*(52.00%)、*Nausithoe*(66.82%)、侧腕水母(*Pleurobrachia*, 73.63%)在南黄海的分布比例较高; 哲水蚤属(*Calanus*)在东海北部的比例较大, 为57.23%.

### 2.3.2 不同水域微型真核浮游生物丰度及多样性变化特征

由图5可以看出, 表征物种丰度的Ace指数及Chao1指数在4个水域中的变化趋势基本一致, 表现为南黄海 > 北黄海 > 东海北部 > 冷水团, 可以看出南黄海的物种丰度相对较高, 而冷水团水域的物种丰度相对较低, 另外这两个指数在南黄海的范围最大. Simpson指数及Shannon-Wiener指数均反映了群落的多样性变化, 这两个指数在东海北部水域均高于其他3个水域, 呈现出东海北部 > 北黄海 > 南黄海 > 冷水团的变化趋势, 其中冷水团水域微型浮游生物群落多样性水平最低.

## 2.4 环境因子对微型真核浮游生物群落的影响

### 2.4.1 温度

相关性分析表明(表1和图6), 真菌、浮游

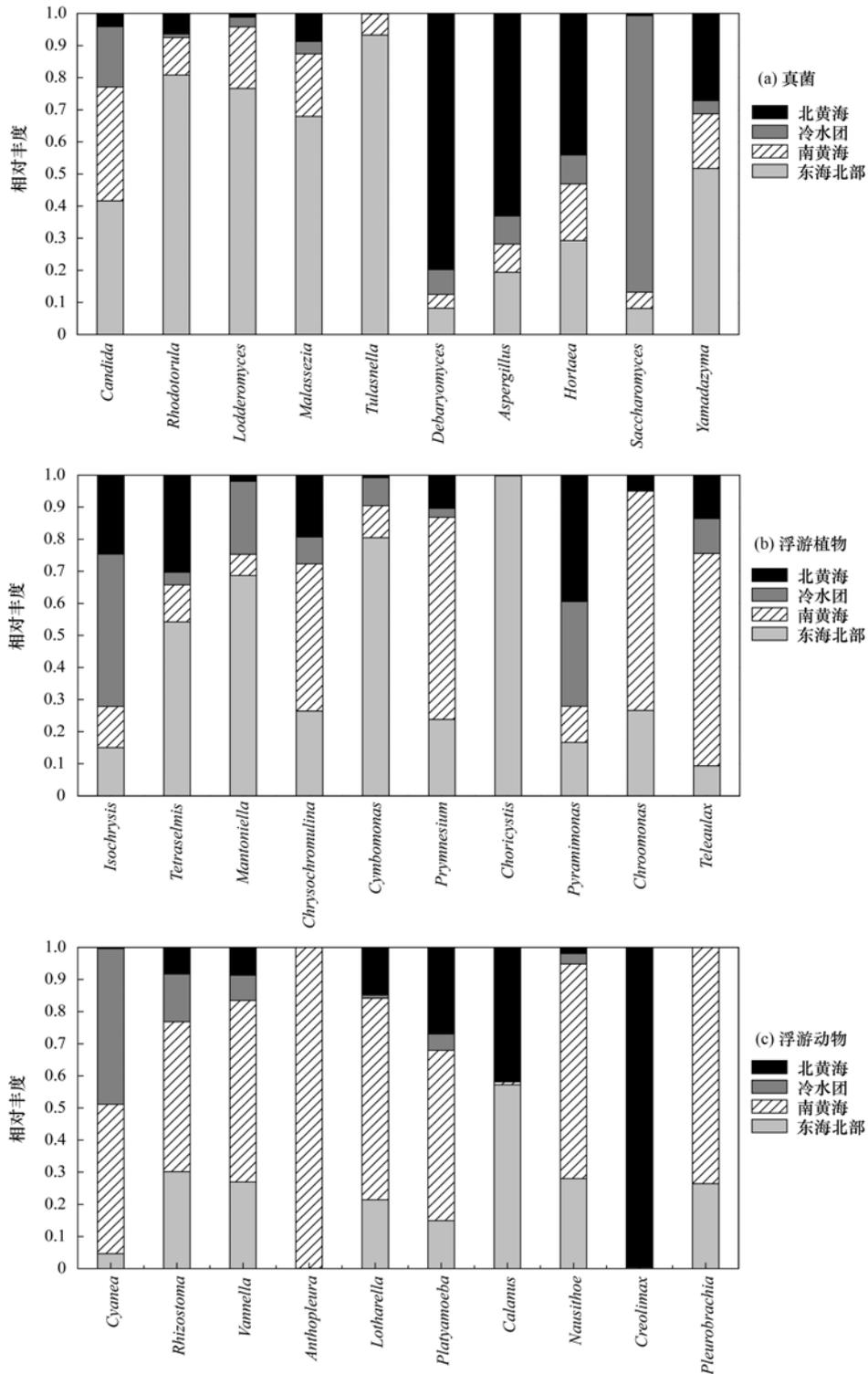


图 4 微型浮游生物不同类群主要属在北黄海、冷水团、南黄海、东海北部的分布特征

Fig. 4 Characteristics of main genera of different groups in the northern Yellow Sea, Cold Water Mass, southern Yellow Sea, and northern East Sea

植物、浮游动物的 reads 数与温度都表现出了正相关,说明在 20 ~ 34℃ 范围内,随着温度的升高,真菌、浮游植物、浮游动物的 reads 数均呈现出增加的趋势.此外,随着温度的上升,真

菌、浮游植物、浮游动物的 OTUs 也呈现出上升的变化趋势.

### 2.4.2 盐度

分别将真菌、浮游植物、浮游动物的 reads 数

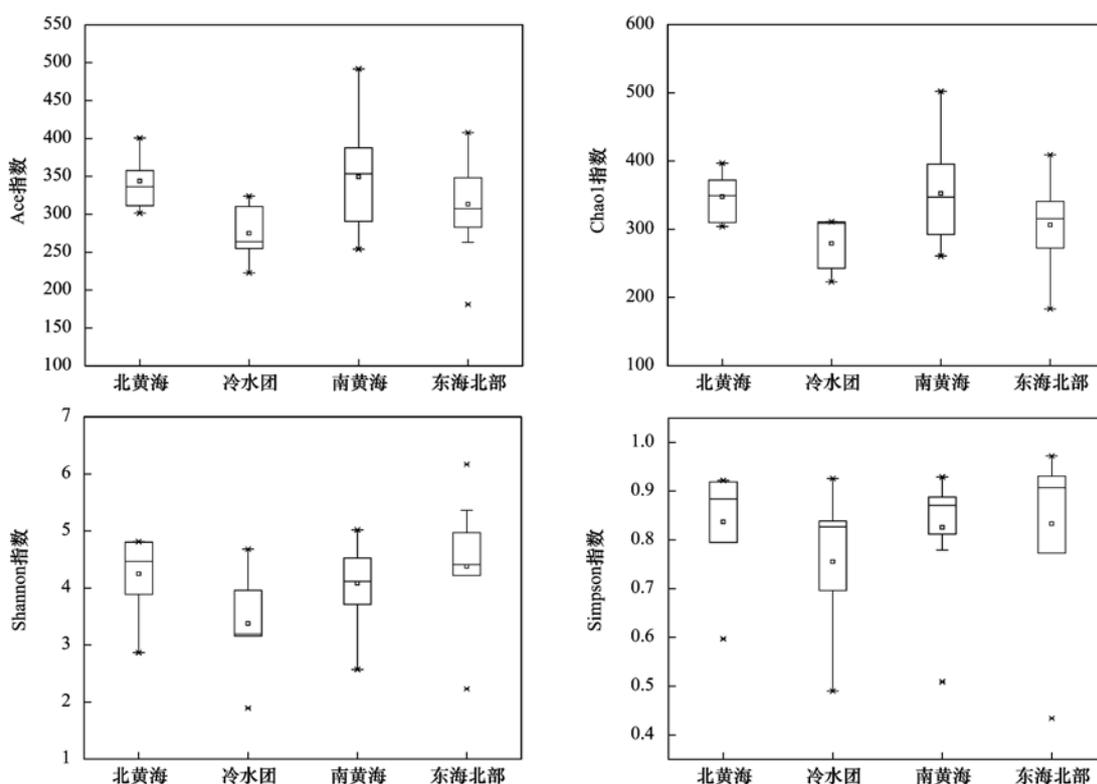


图5 不同水域物种丰度及多样性指数变化

Fig. 5 Variation of species abundance and diversity index in different waters

表1 真菌、浮游植物、浮游动物 reads 数及 OTUs 与温度、盐度的相关性<sup>1)</sup>

Table 1 Correlation between reads and OTUs of fungi, phytoplankton, and zooplankton and temperature and salinity

项目	Reads 数			OTUs		
	真菌	浮游植物	浮游动物	真菌	浮游植物	浮游动物
温度	0.209	0.037	0.205	0.193	0.297	0.074
盐度	0.134	-0.535 **	-0.043	0.207	-0.364 *	-0.120

1) \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$

及 OTUs 与盐度进行相关性分析(表 1 和图 7), 结果表明浮游植物、浮游动物的 reads 数均随着盐度的增加而下降, 其中浮游植物的 reads 数显著下降 ( $P < 0.01$ ), 而真菌的 reads 数则随着盐度的增加而上升. 真菌的 reads 数、OTUs 对盐度变化的响应趋势相同, 浮游植物和浮游动物亦然.

#### 2.4.3 纬度

相关性分析结果表明(表 2 和图 8), 在北纬  $30^\circ \sim 40^\circ$  范围内, 随着纬度的升高, 真菌、浮游动物的 Shannon-Wiener 指数均呈现出上升的趋势, 而浮游植物的 Shannon-Wiener 指数显著下降 ( $P < 0.01$ ).

#### 2.4.4 与海岸线的距离

分别将真菌、浮游植物、浮游动物的 Shannon-

Wiener 指数与距海岸线的距离进行相关性分析(表 2 和图 9), 发现该 3 个类群的 Shannon-Wiener 指数均随着与海岸线距离的增加而下降, 其中浮游植物 Shannon-Wiener 指数显著下降 ( $P < 0.05$ ).

表2 真菌、浮游植物、浮游动物 Shannon-Wiener 指数与纬度、与海岸线距离的相关性<sup>1)</sup>

Table 2 Correlation between Shannon-Wiener index of fungi, phytoplankton, and zooplankton and latitude and distance from the coast

项目	Shannon-Wiener 指数		
	真菌	浮游植物	浮游动物
纬度	0.146	-0.485 **	0.154
与海岸线的距离	-0.145	-0.403 *	-0.239

1) \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$

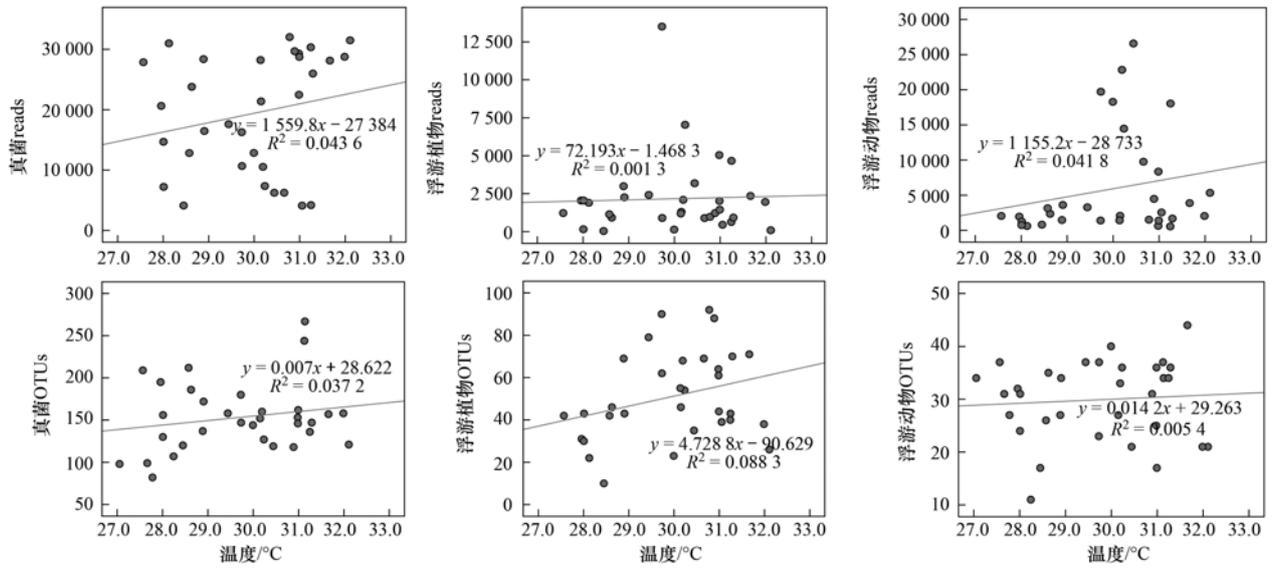


图6 真菌、浮游植物、浮游动物 reads 数及 OTUs 与温度的相关性

Fig. 6 Correlation between temperature and reads and OTUs of fungi, phytoplankton, and zooplankton

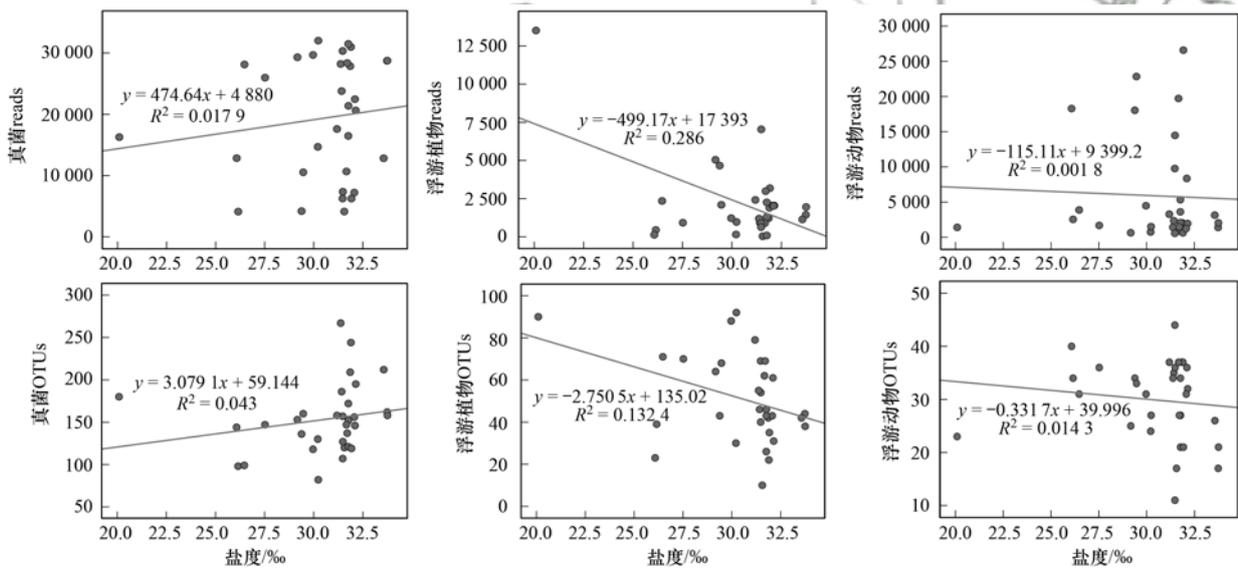


图7 真菌、浮游植物、浮游动物 reads 数及 OTUs 与盐度的相关性

Fig. 7 Correlation between salinity and reads and OTUs of fungi, phytoplankton, and zooplankton

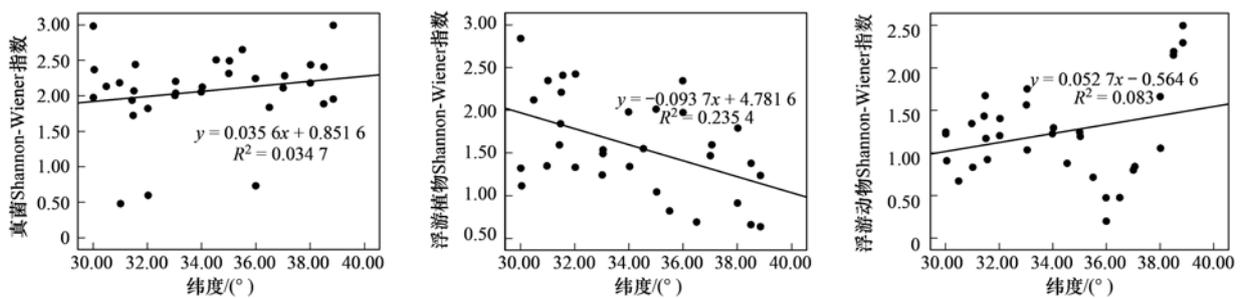


图8 真菌、浮游植物、浮游动物多样性指数与纬度的关系

Fig. 8 Relationships between Shannon-Wiener index of fungi, phytoplankton, and zooplankton and latitude

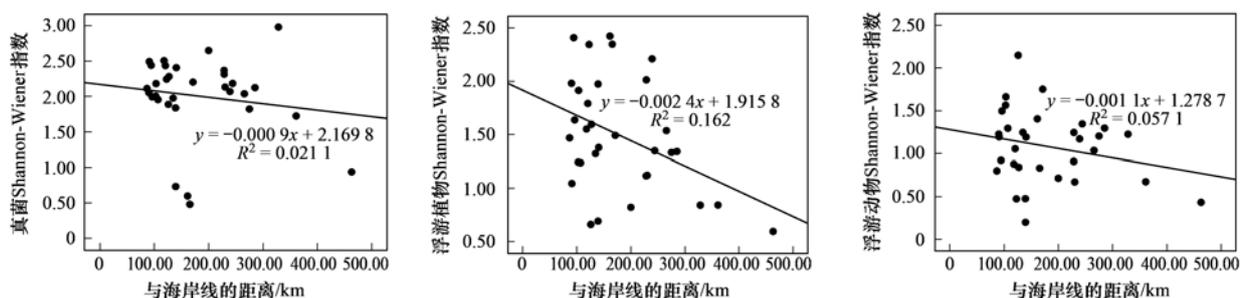


图9 真菌、浮游植物、浮游动物多样性指数与海岸线距离的关系

Fig. 9 Relationships between Shannon-Wiener index of fungi, phytoplankton, and zooplankton and distance from the coast

### 3 讨论

#### 3.1 基于 ITS 区分析微型真核浮游生物群落结构的可行性

本研究基于 ITS 区探讨黄海微型浮游生物的群落结构,发现其主要包括 3 个类群:真菌、浮游植物、浮游动物,其中真菌的 reads 数高达 619 594 条,OTUs 高达 4 899 个;浮游植物 reads 数为 69 489 条,OTUs 为 1 635 个;浮游动物 reads 数为 188 378 条,OTUs 为 956 个。可以看出,真菌的 reads 数和 OTUs 均显著高于浮游植物、浮游动物,真菌 reads 数 > 浮游动物 reads 数 > 浮游植物 reads 数,真菌 OTUs > 浮游植物 OTUs > 浮游动物 OTUs。Bellemain 等<sup>[23]</sup>首次通过大规模扩增 ITS 区并结合高通量测序技术研究了西伯利亚地区 16 000 ~ 32 000 放射性碳年永久冻土沉积物中真菌的多样性,发现 OTUs 中高达 75.4% 的真菌属于子囊菌门,同时检测到许多寄生真菌、水生真菌、内生真菌等,拓展了人们关于真菌多样性的认识。Zhang 等<sup>[30]</sup>首次在 ITS 区扩增的基础上,采用 454 焦磷酸测序技术探讨了北极地区寄生于 4 种维管束植物茎部和叶部的内生真菌多样性,提出气候以及与宿主有关的因素均会影响真菌的群落结构。本研究首次采用扩增 ITS 区的方法,应用高通量测序技术对黄海真菌的多样性进行了分析。与以往基于 ITS 区扩增得到的真菌相比,本研究所得真菌种类丰富,以子囊菌门、担子菌门、球囊菌门、接合菌门为主,少量壶菌门。

本研究还获得较丰富的浮游动物种类。在属这一门类上,霞水母属 (*Cyanea*)、哲水蚤属 (*Calanus*) 的丰度较高。霞水母属广泛分布于海洋中,其生长过程中分泌毒素并粘结网具,造成海洋渔业资源的枯竭<sup>[31]</sup>,我国近海暴发的多次大型灾害性水母事件均以该属为主。水母暴发改变了海洋生物群落结构和生态系统的能量传递方式<sup>[32]</sup>,严

重影响了海洋渔业生产,使得作业渔场范围缩小,甚至无法正常生产<sup>[33]</sup>。本研究发现霞水母属在冷水团水域、南黄海的分布比例较高,这与左涛等<sup>[34]</sup>在 2015 年 5 月采用拖网方式获得的霞水母属的分布区域不同,其研究表明霞水母属主要位于胶州湾以东的东海。本研究首次从环境 DNA 的角度,选取特异性强、种间差异性大的 ITS 作为扩增子,所获得的霞水母属的分布范围大于以往报道<sup>[34-36]</sup>。哲水蚤属为我国近海及日本沿岸海浮游动物的优势种之一,本研究中哲水蚤属在东海北部占优势,这与孙鲁峰等<sup>[37]</sup>研究得到的分布区域相一致。长江冲淡水加上黄海暖流的作用使得该海域浮游生物量丰富,种类繁多<sup>[38]</sup>。与真菌、浮游动物比较而言,本研究获得的浮游植物 reads 数较低,以等鞭金藻属、四片藻属为主,补充了以往通过显微镜方法观察到的浮游植物种类<sup>[39,40]</sup>。柳丽华<sup>[40]</sup>采用显微镜的方法,分析了黄海春季、秋季浮游植物的种类组成和分布特点,发现浮游植物以硅藻、甲藻为主,多为沿岸性广温、广盐性种类;秋季浮游植物数量明显高于春季,季节更替明显。研究发现,黄、东海丰度较高的甲藻门在本研究中并未检测出,这可能是由于引物具有偏好性,需要进一步探究。

#### 3.2 不同水域微型真核浮游生物多样性特征

研究发现,不同水域的浮游生物在物种丰度及多样性上均存在着较大的差异,物种丰度上呈现出南黄海 > 北黄海 > 东海北部 > 冷水团的变化,而在多样性上 4 个水域的变化为东海北部 > 北黄海 > 南黄海 > 冷水团。可以看出,冷水团水域的物种丰度和多样性最低。苏纪兰等<sup>[41]</sup>曾指出黄海冷水团盛行时,在垂直方向上存在双环流结构,跃层以上为中心上升、边缘下降的弱环流,跃层以下为中心下降、边缘上升的强环流。由于冷水团内部环流的扰动作用,使得次表层至底层的营养盐丰富,而表层营养盐浓度较低,这可能是导致表层物种丰度和多

样性出现低值的重要原因。

吕末晓等<sup>[39]</sup>2014年8月在该海域进行采样研究时发现,在长江口以东123°E附近海域的表层水体中,浮游植物的物种丰富度及多样性程度均显著高于其他海域。2015年5月左涛等<sup>[34]</sup>针对该海域多次发生的水母暴发事件,对其种类数量进行了研究,提出5月大型水母的分布具有地理区域性,黄海中部的生物量最高。与本研究的浮游生物多样性及丰度较高区域具有一致性。

### 3.3 环境因子对微型浮游生物分布的影响

本研究主要探讨了温度、盐度、纬度、与海岸线的距离这4个环境因子对微型浮游生物空间分布及物种丰度、多样性的影响。温度、盐度是调控微型浮游生物分布的重要环境因子<sup>[42]</sup>。研究发现,随着温度的升高,真菌、浮游植物、浮游动物 reads 数均呈现出上升的趋势,这与屈佩<sup>[14]</sup>在研究南黄海秋季微微型浮游生物对温度的响应得到的结论相同。随着盐度的增加,真菌的 reads 数、OTUs 表现出上升的趋势,而浮游植物、浮游动物的 reads 数、OTUs 下降。崔世开等<sup>[43]</sup>在研究夏季北极黄河站附近的王湾海域浮游植物群落对盐度的响应关系时,发现低稀释率的盐度促进浮游植物的生长,而屈佩<sup>[14]</sup>提出不同的季节浮游植物对盐度的响应不同,秋季浮游植物的物种丰度随着盐度的升高而下降。李洁<sup>[44]</sup>以自养微型鞭毛虫和异养微型鞭毛虫为例,探讨分析了其丰度和生物量与盐度之间的关系,提出不同月份两者之间的关系不同,2013年6月表层自养微型鞭毛虫与异养微型鞭毛虫的丰度和生物量均与盐度呈显著负相关关系,而在8月自养微型鞭毛虫与异养微型鞭毛虫的丰度和生物量均与盐度无显著相关关系。李灼等<sup>[45]</sup>通过分析南海北部微型浮游动物的群落结构及与环境因子之间的关系,发现盐度是影响微型浮游动物丰度的一个重要因素,而且不同物种对盐度的响应关系不同,如简单伪曳尾虫的丰度随着盐度的升高而减小,而放射虫的丰度随着盐度的升高而增加。有关真菌丰度和多样性与盐度之间关系的研究尚未见报道,需要进一步探讨两者之间的关系。

本研究分析了真菌、浮游植物、浮游动物3个类群的 Shannon-Wiener 指数与纬度的关系,发现在北纬30°~40°范围内,该3个类群 Shannon-Wiener 指数与纬度的关系存在差异性,真菌、浮游动物多样性指数随纬度的升高均呈现上升的趋势,而浮游植物多样性指数呈现下降的趋势。Malviya 等<sup>[18]</sup>以

10°为间隔,将采样点的纬度范围0°~60°划分为6段,并分析了硅藻多样性指数随纬度升高的变化趋势,发现随着纬度的升高,硅藻多样性指数呈现下降的趋势。与海岸线的距离是影响微型浮游生物丰度及多样性的另一重要因素。Malviya 等<sup>[18]</sup>认为硅藻的多样性程度与距海岸线的距离有着重要关系,随着距离的增大,多样性水平降低。本研究中同样发现微型浮游生物多样性的变化受与海岸线的距离这一因素的影响,而且真菌、浮游植物、浮游动物的多样性均随着与海岸线距离的增大而降低。

## 4 结论

(1)基于 ITS 的高通量测序技术可获得较丰富的真菌、浮游植物、浮游动物种类数,其中真菌 reads 数 > 浮游动物 reads 数 > 浮游植物 reads 数,真菌 OTUs > 浮游植物 OTUs > 浮游动物 OTUs。

(2)不同水域微型浮游生物的物种丰度及多样性程度不同,Ace 指数及 Chao1 指数表现为南黄海 > 北黄海 > 东海北部 > 冷水团,Simpson 指数及 Shannon-Wiener 指数表现为东海北部 > 北黄海 > 南黄海 > 冷水团,冷水团水域的物种丰度及多样性最低。

(3)随着温度的升高,真菌、浮游植物、浮游动物 reads 数、OTUs 均呈现出上升的趋势;随着盐度的增加,真菌、浮游动物的 reads 数、OTUs 升高,而浮游植物的 reads 数、OTUs 显著下降;在北纬30°~40°范围内,随着纬度的升高,真菌、浮游动物 Shannon-Wiener 指数上升,浮游植物 Shannon-Wiener 指数下降;与海岸线的距离越大,真菌、浮游植物、浮游动物 Shannon-Wiener 指数越低。

### 参考文献:

- [1] Sieburth J M, Smetacek V, Lenz J, *et al.* Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions [J]. *Limnology and Oceanography*, 1978, **23**(6): 1256-1263.
- [2] Falkowski P G, Fenchel T, Delong E F. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles [J]. *Science*, 2008, **320**(5879): 1034-1039.
- [3] DeLong E F. The microbial ocean from genomes to biomes [J]. *Nature*, 2009, **459**(7244): 200-206.
- [4] 赵晨英,臧家业,刘军,等. 黄渤海氮磷营养盐的分布、收支与生态环境效应 [J]. *中国环境科学*, 2016, **36**(7): 2115-2127.  
Zhao C Y, Zang J Y, Liu J, *et al.* Distribution and budget of nitrogen and phosphorus and their influence on the ecosystem in the Bohai Sea and Yellow Sea [J]. *China Environmental Science*, 2016, **36**(7): 2115-2127.
- [5] Liu X Q, Wang Z L, Zhang X L. A review of the green tides in

- the Yellow Sea, China [J]. *Marine Environmental Research*, 2016, **119**: 189-196.
- [6] Zhou M J, Liu D Y, Anderson D M, *et al.* Introduction to the special issue on green tides in the Yellow Sea [J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2015, **163**: 3-8.
- [7] Li Y, Song W, Xiao J, *et al.* Tempo-spatial distribution and species diversity of green algae micro-propagules in the Yellow Sea during the large-scale green tide development [J]. *Harmful Algae*, 2014, **39**: 40-47.
- [8] Du X J, Shao F J, Wu S Y, *et al.* Complex network modeling for mechanisms of red tide occurrence: a case study in Bohai Sea and North Yellow Sea of China [J]. *Ecological Modelling*, 2017, **361**: 41-48.
- [9] 刘录三, 李子成, 周娟, 等. 长江口及其邻近海域赤潮时空分布研究 [J]. *环境科学*, 2011, **32**(9): 2497-2504.  
Liu L S, Li Z C, Zhou J, *et al.* Temporal and spatial distribution of red tide in Yangtze River Estuary and adjacent waters [J]. *Environmental Science*, 2011, **32**(9): 2497-2504.
- [10] 丁峰元, 程家骅. 东海区夏、秋季大型水母分布区渔业资源特征分析 [J]. *海洋渔业*, 2005, **27**: 120-128.  
Ding F Y, Cheng J H. The analysis on fish stock characteristics in the distribution areas of large jellyfish during summer and autumn in the East China Sea region [J]. *Marine Fisheries*, 2005, **27**(2): 120-128.
- [11] Wei H, Deng L J, Wang Y H, *et al.* Giant jellyfish *Nemopilema nomurai* gathering in the Yellow Sea—a numerical study [J]. *Journal of Marine Systems*, 2015, **144**: 107-116.
- [12] Lovejoy C, Massana R, Pedrós-Alió C. Diversity and distribution of marine microbial eukaryotes in the Arctic Ocean and adjacent seas [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(5): 3085-3095.
- [13] Lovejoy C, Vincent W F, Bonilla S, *et al.* Distribution, phylogeny, and growth of cold-adapted picoprasinophytes in Arctic seas [J]. *Journal of Phycology*, 2007, **43**(1): 78-89.
- [14] 屈佩. 南黄海微微型浮游生物时空分布及主要影响因素研究——基于流式细胞技术 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.  
Qu P. The distribution of picoplankton communities in the southern Yellow Sea-The investigation basing on flow cytometry [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [15] 赵苑. 黄海和东海微微型浮游生物分布研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.  
Zhao Y. Spatial and temporal distribution of picoplankton in Yellow Sea and East China Sea [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010.
- [16] Liu L M, Yang J, Lv H, *et al.* Phytoplankton communities exhibit a stronger response to environmental changes than bacterioplankton in three subtropical reservoirs [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49**(18): 10850-10858.
- [17] Yu Z, Yang J, Liu L M, *et al.* Bacterioplankton community shifts associated with epipelagic and mesopelagic waters in the Southern Ocean [J]. *Scientific Reports*, 2015, **5**: 12897.
- [18] Malviya S, Scalco E, Audic S, *et al.* Insights into global diatom distribution and diversity in the world's ocean [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, **113**(11): E1516-E1525.
- [19] 王靖淇, 王书平, 张远, 等. 高通量测序技术研究辽河真核浮游藻类的群落结构特征 [J]. *环境科学*, 2017, **38**(4): 1403-1413.  
Wang J Q, Wang S P, Zhang Y, *et al.* Community structure characteristics of eukaryotic planktonic algae in Liaohe River through high-throughput sequencing [J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(4): 1403-1413.
- [20] Mueller R C, Paula F S, Mirza B S, *et al.* Links between plant and fungal communities across a deforestation chronosequence in the Amazon rainforest [J]. *The ISME Journal*, 2014, **8**(7): 1548-1550.
- [21] Saunders G W, Kucera H. An evaluation of *rbcL*, *tufA*, *UPA*, *LSU* and *ITS* as DNA barcode markers for the marine green macroalgae [J]. *Cryptogamic Algologie*, 2010, **31**(4): 487-528.
- [22] Duan W J, Guo L X, Sun D, *et al.* Morphological and molecular characterization of free-floating and attached green macroalgae *Ulva* spp. in the Yellow Sea of China [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2012, **24**(1): 97-108.
- [23] Bellemain E, Davey M L, Kauserud H, *et al.* Fungal palaeodiversity revealed using high-throughput metabarcoding of ancient DNA from arctic permafrost [J]. *Environmental Microbiology*, 2013, **15**(4): 1176-1189.
- [24] Geml J, Gravendeel B, van der Gaag K J, *et al.* The contribution of DNA metabarcoding to fungal conservation: diversity assessment, habitat partitioning and mapping red-listed fungi in protected coastal *Salix repens* communities in the Netherlands [J]. *PLoS One*, 2014, **9**(6): e99852.
- [25] Li R F, Yu H H, Yang Y, *et al.* Combined proteomics and transcriptomics identifies sting-related toxins of jellyfish *Cyanea nozakii* [J]. *Journal of Proteomics*, 2016, **148**: 57-64.
- [26] 李玉龙, 董婧, 王彬, 等. 基于 18S 和 ITS-5.8S rDNA 基因序列的白色霞水母 (*Cyanea nozakii*) 的分子鉴定与检测 [J]. *海洋与湖沼*, 2016, **47**(1): 158-165.  
Li Y L, Dong J, Wang B, *et al.* Molecular identification and detection of *Cyanea nozakii* by partial sequencing of 18S rDNA and ITS-5.8S [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2016, **47**(1): 158-165.
- [27] Zhao J, Jiang P, Qin S, *et al.* Genetic analyses of floating *Ulva prolifera* in the Yellow Sea suggest a unique ecotype [J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2015, **163**: 96-102.
- [28] Yuan J, Li M Z, Lin S J. An improved DNA extraction method for efficient and quantitative recovery of phytoplankton diversity in natural assemblages [J]. *PLoS One*, 2015, **10**(7): e0133060.
- [29] Liu L M, Yang J, Yu Z, *et al.* The biogeography of abundant and rare bacterioplankton in the lakes and reservoirs of China [J]. *The ISME Journal*, 2015, **9**(9): 2068-2077.
- [30] Zhang T, Yao Y F. Endophytic fungal communities associated with vascular plants in the high Arctic zone are highly diverse and host-plant specific [J]. *PLoS One*, 2015, **10**(6): e0130051.
- [31] Jiang H, Cheng H Q, Xu H G, *et al.* Trophic controls of jellyfish blooms and links with fisheries in the East China Sea [J]. *Ecological Modelling*, 2008, **212**(3-4): 492-503.
- [32] Shi Y Q, Sun S, Zhang G T, *et al.* Distribution pattern of zooplankton functional groups in the Yellow Sea in June: a possible cause for geographical separation of giant jellyfish species [J]. *Hydrobiologia*, 2015, **754**(1): 43-58.
- [33] Sun S, Zhang F, Li C L, *et al.* Breeding places, population

- dynamics, and distribution of the giant jellyfish *Nemopilema nomurai* (Scyphozoa: Rhizostomeae) in the Yellow Sea and the East China Sea[J]. *Hydrobiologia*, 2015, **754**(1): 59-74.
- [34] 左涛, 王俊, 吴强, 等. 2015 年 5 月黄海及东海北部大型水母分布及生物量估算[J]. *海洋与湖沼*, 2016, **47**(1): 195-204.
- Zuo T, Wang J, Wu Q, *et al.* Spatial distribution and biomass of large jellyfish in the Yellow Sea and northern part of the East China Sea in May 2015[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2016, **47**(1): 195-204.
- [35] 孙松, 于志刚, 李超伦, 等. 黄、东海水母暴发机理及其生态环境效应研究进展[J]. *海洋与湖沼*, 2012, **43**(3): 401-405.
- Sun S, Yu Z G, Li C L, *et al.* Progress in the jellyfish bloom research in the Yellow Sea and East China Sea[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2012, **43**(3): 401-405.
- [36] 丁军军. 黄东海微小型浮游动物群落结构与分布及水母发生的影响[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2012.
- Ding J J. Community structure and distribution of Nano-and microzooplankton in relation to jellyfish occurrence in the Yellow Sea and East China Sea[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2012.
- [37] 孙鲁峰, 柯昶, 徐兆礼, 等. 上升流和水团对浙江中部近海浮游动物生态类群分布的影响[J]. *生态学报*, 2013, **33**(6): 1811-1821.
- Sun L F, Ke X, Xu Z L, *et al.* The influence of upwelling and water mass on the ecological group distribution of zooplankton in Zhejiang coastal waters[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, **33**(6): 1811-1821.
- [38] 衣晓燕. 黄渤海中华哲水蚤现场食物的分子生物学分析方法及应用[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- Yi X Y. Molecular analysis method and its application for the detection of *in situ* diet information of *Calanus sinicus* in Bohai Sea and Yellow Sea, China[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [39] 吕末晓, 栾青杉, 彭亮, 等. 2014 年夏黄海浮游植物群集及其对物理过程的响应[J]. *海洋科学进展*, 2016, **34**(1): 70-84.
- Lv M X, Luan Q S, Peng L, *et al.* Assemblages of phytoplankton in the Yellow Sea in response to the physical processes during the summer of 2014[J]. *Advances in Marine Science*, 2016, **34**(1): 70-84.
- [40] 柳丽华. 黄海及长江口毗邻海域浮游植物群落结构和多样性分析[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- Liu L H. The community structure and diversity analysis of phytoplankton in the Yellow Sea and the Chang Jiang Estuary waters[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2007.
- [41] 苏纪兰, 黄大吉. 黄海冷水团的环流结构[J]. *海洋与湖沼增刊*, 1995, **26**(5): 1-7.
- Su J L, Huang D J. On the current field associated with the Yellow Sea Cold Water Mass[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica Supplement*, 1995, **26**(5): 1-7.
- [42] Jochem F J. Photo-and heterotrophic pico-and nanoplankton in the Mississippi River plume: distribution and grazing activity[J]. *Journal of Plankton Research*, 2003, **25**(10): 1201-1214.
- [43] 崔世开, 何剑锋, 何培民, 等. 北极王湾海域浮游植物对光照和盐度变化的适应性研究[J]. *极地研究*, 2014, **26**(2): 230-237.
- Cui S K, He J F, He P M, *et al.* Adaptation of phytoplankton communities to light and salinity variation in Kongsfjorden (Spitsbergen), Arctic[J]. *Chinese Journal of Polar Research*, 2014, **26**(2): 230-237.
- [44] 李洁. 黄东海夏秋季微小型浮游动物群落结构变动及与沙海蜇旺发的关系[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2016.
- Li J. Community structure and dynamics of Nano-and microzooplankton in relation to mass occurrence of giant jellyfish in the Yellow Sea and East China Sea in summer and autumn[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2016.
- [45] 李灼, 孙军, 刘海娇, 等. 夏季南海北部微型浮游动物群落[J]. *海洋学报*, 2016, **38**(4): 31-42.
- Li Z, Sun J, Liu H J, *et al.* Microzooplankton communities in the northern South China Sea in summer[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2016, **38**(4): 31-42.

## CONTENTS

Estimation of Fine Particle (PM <sub>2.5</sub> ) Emission Inventory from Cooking: Case Study for Shanghai	WANG Hong-li, JING Sheng-ao, LOU Sheng-rong, <i>et al.</i> (1971)
Chemical Characterization, Spatial Distribution, and Source Identification of Organic Matter in PM <sub>2.5</sub> in summertime Shanghai, China	GAO Ya-qin, WANG Hong-li, JING Sheng-ao, <i>et al.</i> (1978)
Seasonal Variation and Source Analysis of Water-soluble Inorganic Salts in PM <sub>2.5</sub> in the Southern Suburbs of Beijing	GAO Han-yu, WEI Jing, WANG Yue-si (1987)
Characteristics and Source Apportionment of Water-soluble Inorganic Ions in Road Dust PM <sub>2.5</sub> During Spring in Tianjin Using the Quadrat Sampling Method	ZHAO Jing-qi, JI Ya-qin, ZHANG Lei, <i>et al.</i> (1994)
HONO Pollution Characteristics and Nighttime Sources During Autumn in Guangzhou, China	TIAN Zhi-lin, YANG Wen-da, YU Xiao-fang, <i>et al.</i> (2000)
Sulfur Sources and Oxidation Pathways in Summer Aerosols from Nanjing Northern Suburbs Using S and O Isotopes	HAN Xun, REN Jie, CHEN Shan-li, <i>et al.</i> (2010)
Methods for Determining and Applications of High-Resolution Vehicle Emission Inventory at County Scale	FAN Shou-bin, GUO Jin-jin, LI Xue-feng (2015)
Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Emitted from Typical Industrial Biomass Boilers	LIN Yu-jun, BAI Li, WANG Huan-xiang, <i>et al.</i> (2023)
Research of Parameter Uncertainty for the HSPF Model Under Different Temporal Scales	PANG Shu-jiang, WANG Xiao-yan, MA Wen-jing (2030)
Contribution of Nitrogen Sources in Water Sources by Combining Nitrogen and Oxygen Isotopes and SIAR	JIN Zan-fang, ZHANG Wen-liao, ZHENG Qi, <i>et al.</i> (2039)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Volatile Organic Compounds in Baiyangdian Lake	GAO Qiu-sheng, ZHAO Yong-hui, JIAO Li-xin, <i>et al.</i> (2048)
Fluorescent Characteristics and Environmental Significance of Particulate Organic Matter in Lake Taihu, China	LÜ Wei-wei, YAO Xin, ZHANG Bao-hua, <i>et al.</i> (2056)
Distribution and Settlement of Microplastics in the Surface Sediment of Yangtze Estuary	ZHU Xiao-tong, YI Jun, QIANG Li-yuan, <i>et al.</i> (2067)
Water Chemistry and Characteristics of Dissolved Organic Carbon During the Wet Season in Wulixia Reservoir, SW China	LU Xiao-xuan, LI Qiang, JIN Zhen-jiang, <i>et al.</i> (2075)
Bioavailability of Dissolved Organic Carbon in Rivers for Typical Vegetation Types in the Permafrost Regions on the Qinghai-Tibet Plateau	MA Xiao-liang, LIU Gui-min, WU Xiao-dong, <i>et al.</i> (2086)
Characteristics of Dissolved Organic Matter (DOM) and Relationship with Dissolved Heavy Metals in a Peri-urban and an Urban River	LIANG Meng-qi, SHAO Mei-ling, CAO Chang-li, <i>et al.</i> (2095)
Migration and Transformation of Dissolved Organic Matter in Karst Water Systems and an Analysis of Their Influencing Factors	ZHANG Lian-kai, LIU Peng-yu, QIN Xiao-qun, <i>et al.</i> (2104)
Source and Distribution of Dissolved Metal Ions in the Backwater Area of Pengxi River in Three Gorges Reservoir	ZHAO Xiao-song, YU Jian-jun, FU Li, <i>et al.</i> (2117)
Differences in Diffusive Fluxes of Nutrients from Sediment Between the Natural River Areas and Reservoirs in the Lancang River Basin	WANG Xue, CHENG Bao, YANG Zheng-jian, <i>et al.</i> (2126)
Nutrient Distribution Characteristics of the Sediment-water System in the Xiangxi River During the Impoundment of TGR	SU Qing-qing, LIU De-fu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2135)
Effects of Submerged Macrophytes on Different Phosphorus Fractions in Overlying Water and Interstitial Water	YANG Wen-bin, GAO Shun-feng, WAN Rui, <i>et al.</i> (2145)
Distribution Characteristics and Fluxes of Nitrogen and Phosphorus at the Sediment-water Interface of Yuqiao Reservoir	WEN Shuai-long, GONG Wan-qing, WU Tao, <i>et al.</i> (2154)
Distribution of Phosphorus Fractions in Surface Sediments of Minjiang Mainstreams	YANG Geng, QIN Yan-wen, HAN Chao-nan, <i>et al.</i> (2165)
Nitrate Uptake Kinetics and Correlation Analysis in an Agricultural Drainage Ditch	LI Ru-zhong, YIN Qi-he, GAO Su-di, <i>et al.</i> (2174)
Influencing Factors for Phosphorus Removal by Modified Bio-ceramic Substrates Coated with ZnAl-LDHs Synthesized by Different Modification Conditions	XIANG Yang, ZHANG Xiang-ling, LEI Yu, <i>et al.</i> (2184)
Removal of Odorants in Drinking Water Using VUV/Persulfate	SUN Xin, SHI Lu-xiao, ZHANG Yi, <i>et al.</i> (2195)
Degradation of OG with Peroxymonosulfate Activated by a MnFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -graphene Hybrid	XIA Wen-jun, LIU Feng, HAO Shang-bin, <i>et al.</i> (2202)
Mechanism of As(V) Removal from Water by Lanthanum and Cerium Modified Biochars	LI Jin, ZU Yan-qun, LI Gang, <i>et al.</i> (2211)
Adsorption of Dissolved Organic Matter with Different Relative Molecular Masses on Inorganic Minerals and Its Influence on Carbamazepine Adsorption Behavior	LIANG Yu, HE Jiang-tao, ZHANG Si (2219)
Pollution Characteristics of Organophosphorus Flame Retardants in a Wastewater Treatment Plant	SUN Jia-wei, DING Wei-nan, ZHANG Zhan-en, <i>et al.</i> (2230)
Enhanced Coagulation as a Pretreatment for Low Temperature Wastewater	LIU Hai-long, REN Yu-xia, ZHANG Zhong-min (2239)
Operating Characteristics and Fouling Characteristics of a RO Membrane System for Desalination of Dyeing Wastewater	TAN Yu-jun, ZHANG Ze-tian, WU Qian-yuan, <i>et al.</i> (2249)
Optimization of the Nitrogen Removal Performance on the CANON Process in a Biofilm Reactor: From FBBR to MBBR	FU Kun-ming, LI Hui, ZHOU Hou-tian, <i>et al.</i> (2256)
Microbial Community Dynamics During Two Sludge Granulation Processes	GAO Jing-feng, ZHANG Li-fang, ZHANG Shu-jun, <i>et al.</i> (2265)
Sludge Conditioning Performance of Polyaluminum, Polyferric, and Titanium Xerogel Coagulants	WANG Xiao-meng, WANG Xin, YANG Ming-hui, <i>et al.</i> (2274)
Effects of Heat and Heat-alkaline Treatments on Disintegration and Dissolved Organic Matter in Sludge	DAI Qin, ZHANG Wen-zhe, YU Pan-fen, <i>et al.</i> (2283)
Effect of Different Ratios of Anaerobic Time and Aeration Time on the Formation of Partial Nitrification Granules	LI Dong, GUO Yue-zhou, CAO Mei-zhong, <i>et al.</i> (2289)
Spatial and Temporal Variation of Mercury in Municipal Sewage Sludge in China	WANG Ning, LIU Qing-wei, ZHI Yin, <i>et al.</i> (2296)
Characteristics of N <sub>2</sub> O Release and Influencing Factors in Grass-type and Algae-type Zones of Taihu Lake During Summer	ZHENG Xiao-lan, WEN Shuai-long, LI Xin, <i>et al.</i> (2306)
Analysis of Greenhouse Gas Emission Characteristics and Their Influencing Factors in the Algae Zone of Lake Taihu	JIA Lei, PU Yi-ni, YANG Shi-jun, <i>et al.</i> (2316)
Dynamics of CO <sub>2</sub> and N <sub>2</sub> O in Seasonal Frozen Soil Profiles for a Typical Steppe in Inner Mongolia	LI Jin-bo, YAO Nan, LI Xiu, <i>et al.</i> (2330)
Characteristics of CO <sub>2</sub> Flux in a Mature Apple ( <i>Malus domestica</i> ) Orchard Ecosystem on the Loess Plateau	YANG Jian-feng, YANG Xiao-ni, WANG Jun-hua, <i>et al.</i> (2339)
Effects of Biochar Application Rates on Greenhouse Gas Emissions in the Purple Paddy Soil	QI Le, GAO Ming, GUO Xiao-min, <i>et al.</i> (2351)
Short-Term Effects of Different Fertilization Treatments on Greenhouse Gas Emissions from Northeast Black Soil	LI Ping, LANG Man, LI Miao, <i>et al.</i> (2360)
Eukaryotic Micro-plankton Community Diversity and Characteristics of Regional Distribution in the Yellow Sea by ITS High-throughput Sequencing	ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (2368)
Influence of Different Patterns of Discharge on Microbial Diffusion in Municipal Treated Wastewater	LANG Xiu-lu, SONG Zhi-wen, XU Ai-ling, <i>et al.</i> (2380)
Impact of Tourism on Bacterial Communities of Karst Underground River: A Case Study from Two Caves in Fengdu, Chongqing	LÜ Xian-fu, HE Qiu-fang, WANG Feng-kang, <i>et al.</i> (2389)
Diversity of the Microbial Community in Rice Paddy Soil with Biogas Slurry Irrigation Analyzed by Illumina Sequencing Technology	ZHU Jin-shan, ZHANG Hui, MA Lian-jie, <i>et al.</i> (2400)
Effect of Biochar Amendment on Physicochemical Properties and Fungal Community Structures of Cinnamon Soil	YAN Hai-tao, YIN Quan-yu, DING Song-shuang, <i>et al.</i> (2412)
Carbon Metabolism Characteristics of the Karst Soil Microbial Community for Pb-Zn Mine Tailings	FANG Jun-jia, LI Qiang, LIU Chang, <i>et al.</i> (2420)
Denitrification Characteristics and Community Structure of Aerobic Denitrifiers from Lake and Reservoir Sediments	KANG Peng-liang, ZHANG Hai-han, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (2431)
Investigation of the Coupling Mechanism Between Naphthalene Degradation and Denitrification of a Naphthalene Degraded Bacterial Consortium Under Denitrification	ZHANG Ze-yu, WANG Ming-xia, CHENG Yong-yi, <i>et al.</i> (2438)
Spatial Distribution Study and Pollution Assessment of Pb in Soils in the Xijiang River Drainage of Guangxi	ZHANG Yun-xia, SONG Bo, CHEN Tong-bin, <i>et al.</i> (2446)
Effects of Agricultural Activities on Soil Mercury Changes in the Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir	CHEN Qiu-yu, SUN Song, YIN De-liang, <i>et al.</i> (2456)
Screening and Identification of Arsenic-resistant Endophytic Bacteria from Different Rice Tissues ( <i>Oryza sativa</i> L.) in Different Growth Stages	WANG Bo-xun, WANG Xue-dong, DUAN Gui-lan (2464)
Characteristics of Mercury Transformation in Soil and Accumulation in Rice Plants in an Acidic Purple Paddy Soil Area	LI Yu-qin, SUN Tao, DENG Han, <i>et al.</i> (2472)
Life Cycle Environmental Impact Assessment on Different Modes of Greenhouse Vegetable Production in the North China Plain	XU Qiang, HU Ke-lin, LI Ji, <i>et al.</i> (2480)
Health Effects of PM <sub>2.5</sub> Based on Bacterial Toxicity Test and Transcriptional Analysis in Lungs of Mice	SONG Peng-cheng, LU Shu-yu, WEI Yong-jie, <i>et al.</i> (2489)
Socio-economic Factors Influencing the Spatial Distribution of PM <sub>2.5</sub> Concentrations in China: An Exploratory Analysis	DUAN Jie-xiong, ZHAI Wei-xin, CHENG Cheng-qi, <i>et al.</i> (2498)