

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2019

Vol.40 No.9

第40卷 第9期

目次

气溶胶中不同类型碳组分粒径分布特征	杜翔, 赵普生, 董群, 苏捷 (3849)
郑州市 2014~2017 年大气污染特征及气象条件影响分析	郭蒙蒙, 姜楠, 王申博, 段时光, 张瑞芹 (3856)
济南市背景区域大气 PM _{2.5} 污染特征及其对能见度的影响	别淑君, 杨凌霄, 高颖, 姜盼, 李岩岩, 杨雨蒙, 赵彤, 王文兴 (3868)
聊城市冬季 PM _{2.5} 中多环芳烃来源解析及健康风险评估	刘晓迪, 侯战方, 孟静静, 燕丽, 周贝贝, 刘子亭, 衣雅男, 李静, 魏本杰, 伏梦璇 (3875)
2001~2017 年全国气溶胶光学厚度时空分布及变化趋势	刘海知, 郭海燕, 马振峰, 徐辉, 包红军, 徐成鹏 (3886)
长三角地区吸收性气溶胶时空分布特征	赵楠, 曹梵诗, 田晴, 陈勇航, 刘琼, 黄艺伟, 王羽佳 (3898)
燃煤锅炉颗粒物化学组成排放特征	杨艳蓉, 周雪明, 秦娟娟, 谭吉华, 胡京南, 陈荣志, 段菁春, 李艳 (3908)
高速公路沿线 PM _{2.5} 中重金属污染特征	李晓宝, 廖祖文, 赵红, 彭成辉, 谭腾飞, 黄萍 (3916)
北京市道路扬尘重金属污染特征及潜在生态风险	胡月琪, 郭建辉, 张超, 王铮, 颜旭, 杨懂艳, 刘兆莹 (3924)
风蚀扬尘抑尘剂效率测试方法与应用	秦建平, 李贝贝, 杨涛, 宋博, 黄玉虎, 张春荣 (3935)
京津冀地区典型印刷企业 VOCs 排放特征及臭氧生成潜势分析	刘文文, 方莉, 郭秀锐, 聂磊, 王敏燕 (3942)
成都市典型工艺过程源挥发性有机物源成分谱	周子航, 邓也, 吴柯颖, 谭钦文, 周小玲, 宋丹林, 黄凤霞, 曾文斌 (3949)
工业园区恶臭污染源排放特征和健康风险评估	孟洁, 翟增秀, 荆博宇, 崔焕文, 王亘 (3962)
典型华北农村地区冬季 HONO 的浓度水平及来源分析	王玉征, 薛朝阳, 张成龙, 刘鹏飞, 张圆圆, 陈晖, 陈建民, 牟玉静, 刘俊峰 (3973)
不同方法制备 Co ₃ O ₄ 催化剂 CO-SCR 性能及机制	仲雪梅, 张涛, 李佳萌, 秦萱, 王亚洲, 曾洁, 张光明, 常化振 (3982)
全氟烷基物质在胶州湾海水、沉积物及生物中污染特征	崔杰文, 彭吉星, 谭志军, 翟毓秀, 郭萌萌, 李兆新, 牟海津 (3990)
江苏水源地型水库异味物质发生风险及影响因素	史鹏程, 朱广伟, 杨文斌, 许海, 朱梦圆, 邹伟, 胡林娜, 笪文怡, 季鹏飞 (4000)
城镇流域水体-沉积物中溶解性有机质的荧光特性及影响因素: 以宁波市小浞江为例	高凤, 邵美玲, 唐剑锋, 曹昌丽, 易辉 (4009)
水华对沉积物中氮的转化和去除的影响	肖琳, 杨佳怡 (4018)
沉积物有效态磷对湖库富营养化的指示及适用性	刘辉, 胡林娜, 朱梦圆, 赵林林, 许海, 邹伟, 史鹏程, 韩慧洁, 季鹏飞, 朱广伟 (4023)
汾河下游雨季硝酸盐污染源解析	汪银龙, 冯民权, 董向前 (4033)
新疆喀什三角洲地下水化学特征及演化规律	魏兴, 周金龙, 乃尉华, 曾妍妍, 范薇, 李斌 (4042)
基于多个扩增子的 DNA metabarcoding 技术探究黄海微型真核浮游植物多样性	张莉, 张远, 林佳宁, 王书平 (4052)
FG、MFG 和 MBFG 浮游植物功能群的比较: 以贵州三座水库为例	陈倩, 李秋华, 马欣洋, 熊梅君, 何应, 韩孟书 (4061)
天然含铁矿物对砷的吸附效果及机制	邵金秋, 温其谦, 阎秀兰, 申俊峰, 杨林生, 杨硕 (4072)
镁-钙羟基磷灰石吸附剂对水中 Pb ²⁺ 的去除	何豪, 朱宗强, 刘杰, 朱义年, 阎起明, 刘阳, 莫南, 玄惠灵, 魏婉莹 (4081)
2,6-二氨基蒽醌/石墨烯复合电极强化电吸附 Pb ²⁺	晋圣兆, 向阳, 张隽琦, 张凯, 吉庆华 (4091)
钙掺杂四氧化三铁回收水中磷的实验	白润英, 刘建明, 郝俊峰, 徐慧, 胡文斌, 宋蕾, 刘宇红, 李会东, 周琦善 (4098)
大型城市污水处理厂处理工艺对微塑料的去除	贾其隆, 陈浩, 赵昕, 李磊, 聂云汉, 叶建峰 (4105)
A ² /O 流量分配处理低 C/N 污水性能与微生物结构优化	荣懿, 刘小钗, 何音旋, 章武首, 金鹏康 (4113)
上向流厌氧滤池 (UAF) 处理城市生活污水的运行效能	杨忠启, 刘秀红, 李海鑫, 刘智斌, 刘润雨, 杨庆 (4121)
微氧条件下自养-异养联合反硝化工艺的电子平衡分析	张若晨, 陈川, 邵博, 王威, 徐熙俊, 任南琪 (4128)
基于反硝化除磷的低温启动与稳定运行的中试试验	张帆, 于德爽, 刘杰, 王晓霞, 宋新新, 李传举, 赵峰辉 (4136)
聚己内酯与聚羟基丁酸戊酸酯的脱氮性能对比	易成豪, 秦伟, 陈湛, 文湘华 (4143)
厌氧氨氧化颗粒污泥快速培养及其抑制动力学	唐鹏, 于德爽, 陈光辉, 张培玉, 王晓霞, 吕廷廷, 黄硕, 刘诚诚 (4152)
Ca ²⁺ 对污泥硝化活性和絮凝沉降性能的影响	张兰河, 赵倩男, 张海丰, 贾艳萍, 李正, 陈子成, 郭静波, 赵天鹏 (4160)
从剩余污泥厌氧发酵上清液中以鸟粪石形式回收磷	畅萧, 曾薇, 王保贵, 许欢欢 (4169)
信号分子联合脱氮硫杆菌对同步脱氮除硫的影响	徐金兰, 陈紫薇, 张少枫, 魏清施 (4177)
海水养殖尾水直排对河道沉积物细菌群落的影响	胡越航, 宣丽霞, 裴琼芬 (4185)
耦合短程硝化反硝化的垃圾渗滤液厌氧氨氧化处理系统构建及微生物群落分析	赵晴, 刘梦莹, 吕慧, 梁俊宇, 刁兴兴, 张鑫, 孟了 (4195)
稻秸添加对两种水稻土产甲烷古菌及细菌的影响	保琼莉, 王凤花, 保万魁, 黄益宗 (4202)
地膜覆盖对稻-油轮作农田温室气体排放的影响	陈世杰, 江长胜, 倪雪, 李晓茜, 郝庆菊 (4213)
氮肥深施及间种白三叶草对茶园 N ₂ O 排放的影响	吕天新, 伍延正, 沈健林, 陈丹, 姜文倩, 王娟, 李勇, 吴金水 (4221)
三峡库区及其下游溶解氧化亚氮 (N ₂ O) 分布和释放	程芳, 丁帅, 刘素美, 宋国栋, 张桂玲 (4230)
沉降除藻协同沉积物覆盖对藻华水体甲烷释放的影响	朱琳, 于江华, 施文卿, 易齐涛, 曹华勇, 蒲寅羽 (4238)
新建铅蓄电池集聚区对周边土壤环境的影响: 基于重金属空间特征	丁亚丽, 廖敏, 方至萍, 陈树森, 张云, 郭佳雯, 梁雨琦 (4244)
不同碳氮磷源改良剂对铅锌尾矿废弃地植被与土壤性质的影响	杨胜香, 李凤梅, 彭禧柱, 曹建兵, 高智席 (4253)
基于农产品安全的土壤重金属有效态含量限值推定方法	张云慧, 杜平, 何赢, 仲小飞, 罗会龙, 秦晓鹏, 徐刚 (4262)
缙云山不同土地利用方式下土壤植硅体碳的含量特征	罗东海, 王子芳, 陆畅, 黄容, 王富华, 李娇, 高明 (4270)
西南喀斯特土地利用变化对植物凋落物-土壤 C、N、P 化学计量特征和土壤酶活性的影响	田静, 盛茂银, 汪攀, 温培才 (4278)
调理剂+淹水措施对 Cd 污染稻田控 Cd 效果分析	彭鸥, 刘玉玲, 铁柏清, 何钟响, 杨蕊嘉, 李丹阳, 刘寿涛, 罗海艳 (4287)
海螺沟植物和积雪中有机磷酸酯的分布及来源	陈阳, 印红玲, 吴迪, 罗怡, 邓旭, 徐维新, 柳锦宝 (4295)
《环境科学》征订启事 (3923) 《环境科学》征稿简则 (3941) 信息 (4041, 4051, 4229)	

基于多个扩增子的 DNA metabarcoding 技术探究黄海微型真核浮游植物多样性

张莉^{1,2,3}, 张远^{1*}, 林佳宁¹, 王书平¹

(1. 中国环境科学研究院河流生态保护与修复研究室, 北京 100012; 2. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 微型真核浮游植物是海洋生态系统中能量流动和物质循环的关键环节, 对维持海洋生态系统的稳定发挥着关键的作用. 本研究首次应用 DNA metabarcoding 技术探讨黄海微型真核浮游植物的物种组成及多样性, 对比分析 ITS、18S rDNA V4 和 18S rDNA V9 扩增子条件下微型真核浮游植物的群落结构及多样性水平, 并探讨了其多样性与温度、盐度的响应关系. 结果表明: ① 基于 ITS 扩增子获得的微型真核浮游植物中绿藻门所占比例较高, 而基于 18S rDNA V4 和 18S rDNA V9 扩增子获得的甲藻门相对丰度较高. ② 基于 18S rDNA V9 扩增子获得的微型真核浮游植物的 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数较 ITS 和 18S rDNA V4 扩增子更高, 而且其门、纲、目和科的数目较高. ③ 黄海微型真核浮游植物的 Shannon 指数与温度呈现出显著正相关的关系 ($P < 0.01$), 而与盐度呈现出显著负相关的关系 ($P < 0.05$). 本研究通过对比不同扩增子条件下黄海微型真核浮游植物的群落结构及丰度特征, 丰富了黄海微型真核浮游植物的认识, 可为今后该海域微型真核浮游植物的生态学研究、生物多样性监测、生物资源动态变化及持续开发生产等方面的分析提供科学依据.

关键词: 微型真核浮游植物; DNA metabarcoding; ITS; 18S rDNA V4; 18S rDNA V9; 多样性

中图分类号: X171 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)09-4052-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.201811025

Community Diversity of Eukaryotic Nano-phytoplankton in Yellow Sea Using DNA Metabarcoding Technology Based on Multiple Amplicons

ZHANG Li^{1,2,3}, ZHANG Yuan^{1*}, LIN Jia-ning¹, WANG Shu-ping¹

(1. Laboratory of Riverine Ecological Conservation and Technology, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 2. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Eukaryotic nano-phytoplankton plays an indispensable role in energy flow, material circulation, and stability maintenance of marine ecosystems. In this research, DNA metabarcoding technology was applied to elucidate the distribution features of eukaryotic nano-phytoplankton in the Yellow Sea for the first time. The community structure and diversity of eukaryotic nano-phytoplankton were compared based mainly on amplicons of internal transcribed spacer (ITS), 18S rDNA V4 and 18S rDNA V9. Analysis of the correlation between diversity and temperature/salinity was performed as well. The following results were noted. ① Higher proportions of Chlorophyta were obtained based on the ITS region compared with other two amplicons, while the relative abundance of Dinoflagellata was larger when 18S rDNA V4 and 18S rDNA V9 regions were applied. ② The abundance-based coverage estimators (ACE), Chao1, Shannon diversity, and Simpson diversity indices were significantly higher based on the amplicon of 18S rDNA V9 than those based on ITS and 18S rDNA V4. The numbers of phyla, classes, order, and families were larger when the 18S rDNA V9 region was applied. ③ Based on the amplicons of ITS, 18S rDNA V4, and 18S rDNA V9, the Shannon diversity index showed a significant positive correlation with temperature ($P < 0.01$), indicating that as the temperature increased, the diversity of the eukaryotic nano-phytoplankton increased. The tendency was opposite for salinity, however. With an increase in salinity, the Shannon diversity index decreased significantly ($P < 0.05$). This research compared the community structure and diversity of eukaryotic nano-phytoplankton under different amplicons and will provide a scientific basis for ecological studies of eukaryotic nano-phytoplankton, monitoring of biodiversity and dynamic changes of biological resources, and sustainable development.

Key words: eukaryotic nano-phytoplankton; DNA metabarcoding; ITS; 18S rDNA V4; 18S rDNA V9; biodiversity

微型真核浮游植物 (eukaryotic nano-phytoplankton) 通常指的是粒径小于 20 μm 的真核浮游植物, 其处于海洋生态系统食物链的底端^[1], 是能量流动和物质循环的关键环节^[2], 对维持海洋生态系统的稳定发挥着重要的作用^[3,4]. 其个体微小, 细胞结构简单^[5,6]; 其丰度的变化受自身生物学特性以及外界环境因素如温度、盐度等的影

响^[7], 种类和数量的变化能快速反映海洋生态系统的健康状况^[8,9]. 研究微型真核浮游植物的群落结构及多样性水平是研究海洋生态环境问题的基础,

收稿日期: 2018-11-04; 修订日期: 2019-03-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41571050)

作者简介: 张莉 (1993~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为流域水生态保护技术, E-mail: zhangli_03_18@163.com

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

对解决海洋生态环境和海洋生物资源问题具有重要的意义。

DNA metabarcoding 技术是从环境样品中提取全部生物的 DNA, 针对研究对象的 DNA 条形码区域进行特异性引物扩增, 通过高通量测序技术获得物种序列, 并结合开放数据库对物种序列进行注释的新型技术^[10]. 该技术结合 DNA barcoding 技术和高通量测序技术, 可实现物种多样性的快速检测^[11]. Zimmermann 等^[12]于 2014 年对比分析形态学方法和 DNA metabarcoding 技术研究奥德拉河和尼萨河硅藻的群落结构及多样性, 发现 DNA metabarcoding 技术能监测到更多的硅藻物种. Saunders 等^[13]应用 DNA metabarcoding 技术探讨加拿大海区浮游植物种类时, 发现该海区的入侵物种为白蒙藻科和江蓠目藻种, 证实了 DNA metabarcoding 技术在监测入侵物种方面的潜力与重要地位。

关于黄海海域微型真核浮游植物的研究多采用扩增核糖体 DNA 限制性分析技术 (ARDRA)^[14]、流式细胞术^[15]和 Utermöhl 方法^[16]等, 不难发现, 其研究技术手段存在一定的局限性, 不能全面揭示该海域微型真核浮游植物的物种组成及多样性, 因此亟需应用更为先进的技术手段探讨黄海微型真核浮游植物的分布特征. 本研究首次应用 DNA metabarcoding 技术分析黄海微型真核浮游植物群落结构及多样性, 通过丰富微型真核浮游植物的认识, 证实该技术在该海域微型真核浮游植物研究的适用性, 因此开展本研究具有重要的生态学意义与里程碑意义。

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 μm 的纱绢进行过滤, 去除颗粒较大的悬浮物; 通过 20 μm 、0.45 μm 的聚碳酸酯膜 (Millipore, USA) 过滤 (<0.03 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. 同时, 采用温盐深仪 CTD (SBE, USA) 现场测定每个点位的温度、盐度, 各点位采集数据 3 次, 取其平均值. 采

样点详见图 1.

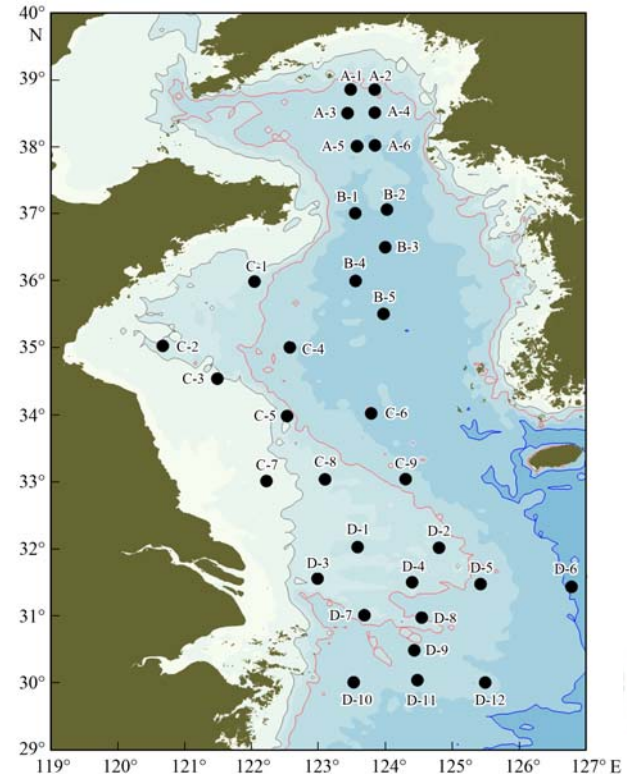


图1 黄海采样点分布示意

Fig. 1 Location of sampling sites in the Yellow Sea

1.2 DNA 的提取、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^[17]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、Illumina 测序

以每个样品的 DNA 原液 (50 ng) 为模板, 分别对 ITS 区、18S rDNA V4 区和 18S rDNA V9 区进行扩增, 所采用的引物均为真核生物通用引物, 其中 ITS 区的引物序列为 F: 5'-GTGAATCATCGARTC-3', R: 5'-TCCTCCGCTTATTGAT-3'^[18]; 18S rDNA V4 区的引物序列为 F: 5'-GGCAAGTCTGCTGCC-3', R: 5'-ACGGTATCTRATCRTC-3'^[19]; 18S rDNA V9 区的引物序列为 1380F: 5'-CCCTGCCHTTTGTACACAC-3', 1510R: 5'-CCTTCYGCAGGTTACCTAC-3'^[20]. 上述引物由 GENEWIZ 公司合成。

PCR 反应条件为: 96℃ 预变性 3 min; 96℃ 变性 30 s, 50℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 90 s, 共 35 个循环; 72℃ 延伸 7 min; 4℃ 保存. PCR 产物的纯化、浓度检测参考文献^[21]. 分别对 ITS、18S rDNA V4 和 18S rDNA V9 构建高通量文库并进行 Illumina 测序

(苏州金唯智生物科技有限公司)。

1.4 数据处理

(1) 数据质量控制 使用 QIIME (quantitative insights into microbial ecology) 软件对 ITS、18S rDNA V4 和 18S rDNA V9 的原始序列进行过滤。根据测序质量文件, 设置引物错配容错为 3, 去除 8 个以上连续相同的碱基, 设定保留长度范围进行筛选。通过拼接 (保证至少有 20bp 的重叠区)、去引物、去接头序列、去长度小于 200bp 的序列、去嵌合体序列 (chimera sequence)、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。

(2) OTUs 聚类 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), 将其应用于后续的分析过程。

(3) OTUs 物种信息注释 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^[22], 作为该 OTUs 的物种注释信息。由于引物具有高通用性, 注释为古细菌、有胚植物、真菌、浮游动物等 OTUs 序列在本研究中被舍弃。

(4) 利用 Mothur 软件计算 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数。通过条形图分析基于不同扩增子微型真核浮游植物在门、纲、目和科分类水平上的群落分布状况, 箱体图探讨在不同的扩增子条件下微型真核浮游植物的多样性及丰度特征。应用散点图分析温度、盐度对微型真核浮游植物多样性的影响。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 基于多个扩增子黄海微型真核浮游植物的群落结构特征

基于不同的扩增子, 对比分析在门、纲、目和科分类阶元上黄海微型真核浮游植物的物种组成 (图 2)。本研究发现, 在不同的扩增子条件下, 黄海微型真核浮游植物的群落结构组成差异性较大。在门分类阶元上 [图 2(a)], 以 ITS 为扩增子获得的微型真核浮游植物以绿藻门 (Chlorophyta) 和定鞭藻门 (Haptophyta) 为主, 占总丰度的比例分别为 77% 和 20%; 以 18S rDNA V4 为扩增子获得微型真核浮游植物主要包括甲藻门 (Dinoflagellata)、异鞭藻门 (Heterokontophyta) 和定鞭藻门 (Haptophyta) 等, 其中甲藻门 (Dinoflagellata) 所占比例最大, 为

65%, 其次为异鞭藻门 (Heterokontophyta, 10%); 以 18S rDNA V9 为扩增子获得的微型真核浮游植物主要为甲藻门 (Dinoflagellata, 60%)、绿藻门 (Chlorophyta, 15%)、异鞭藻门 (Heterokontophyta, 10%) 和定鞭藻门 (Haptophyta, 7%)。

在纲分类阶元上 [图 2(b)], 以 ITS 为扩增子获得的微型真核浮游植物相对丰度较高的纲为绿枝藻纲 (Prasinophyceae)、定鞭藻纲 (Haptophyceae)、Mamiellophyceae 和绿藻纲 (Chlorophyceae), 所占比例分别为 60%、19%、10% 和 6%; 以 18S rDNA V4 为扩增子得到的微型真核浮游植物丰度所占比例较高的纲为甲藻纲 (Dinophyceae, 75%)、真眼点藻纲 (Eustigmatophyceae, 11%) 和定鞭藻纲 (Haptophyceae, 6%); 以 18S rDNA V9 为扩增子获得的微型真核浮游植物主要纲为甲藻纲 (Dinophyceae)、绿枝藻纲 (Prasinophyceae)、真眼点藻纲 (Eustigmatophyceae)、Clade_VII 和定鞭藻纲 (Haptophyceae), 所占比例分别为 61%、8%、7%、6% 和 6%。

在目分类阶元上 [图 2(c)], 基于 ITS 扩增子获得的微型真核浮游植物相对丰度较高的目为 Pyramimonadales、等鞭金藻目 (Isochrysidales)、四胞藻目 (Tetrasporales)、Mamiellales 和绿球藻目 (Chlorococcales) 等, 所占比例分别为 13%、20%、18%、18% 和 7%; 基于 18S rDNA V4 扩增子获得的微型真核浮游植物主要包括寄生藻目 (Syndiniales, 31%)、膝沟藻目 (Gonyaulacales, 23%)、真眼点藻目 (Eustigmatales, 13%)、裸甲藻目 (Gymnodiniales, 8%) 和 Suessiales (7%) 等; 基于 18S rDNA V9 扩增子获得的微型真核浮游植物主要包括寄生藻目 (Syndiniales, 24%)、多甲藻目 (Peridinales, 11%)、裸甲藻目 (Gymnodiniales, 11%)、真眼点藻目 (Eustigmatales, 9%)、Pseudoscurfieldiales (9%) 和鳍藻目 (Dinophysiales, 6%) 等。

在科分类阶元上 [图 2(d)], 基于 ITS 扩增子获得的微型真核浮游植物主要包括等鞭金藻科 (Isochrysidaceae)、四胞藻科 (Tetrasporaceae)、Mamiellaceae 和金色藻科 (Chrysochromulinaceae) 等, 所占比例分别为 22%、20%、19% 和 11%; 基于 18S rDNA V4 扩增子获得的微型真核浮游植物相对丰度较高的科为膝沟藻科 (Gonyaulaceae, 27%)、Syndiniales_Group_I (24%)、Suessiaceae (8%)、裸甲藻科 (Gymnodiniaceae, 7%)、鳍藻科 (Dinophysaceae, 5%) 和定鞭金藻科 (Prymnesiaceae, 4%) 等; 基于 18S rDNA V9 扩增子获得的微型真核浮游植物相对丰度较高的为

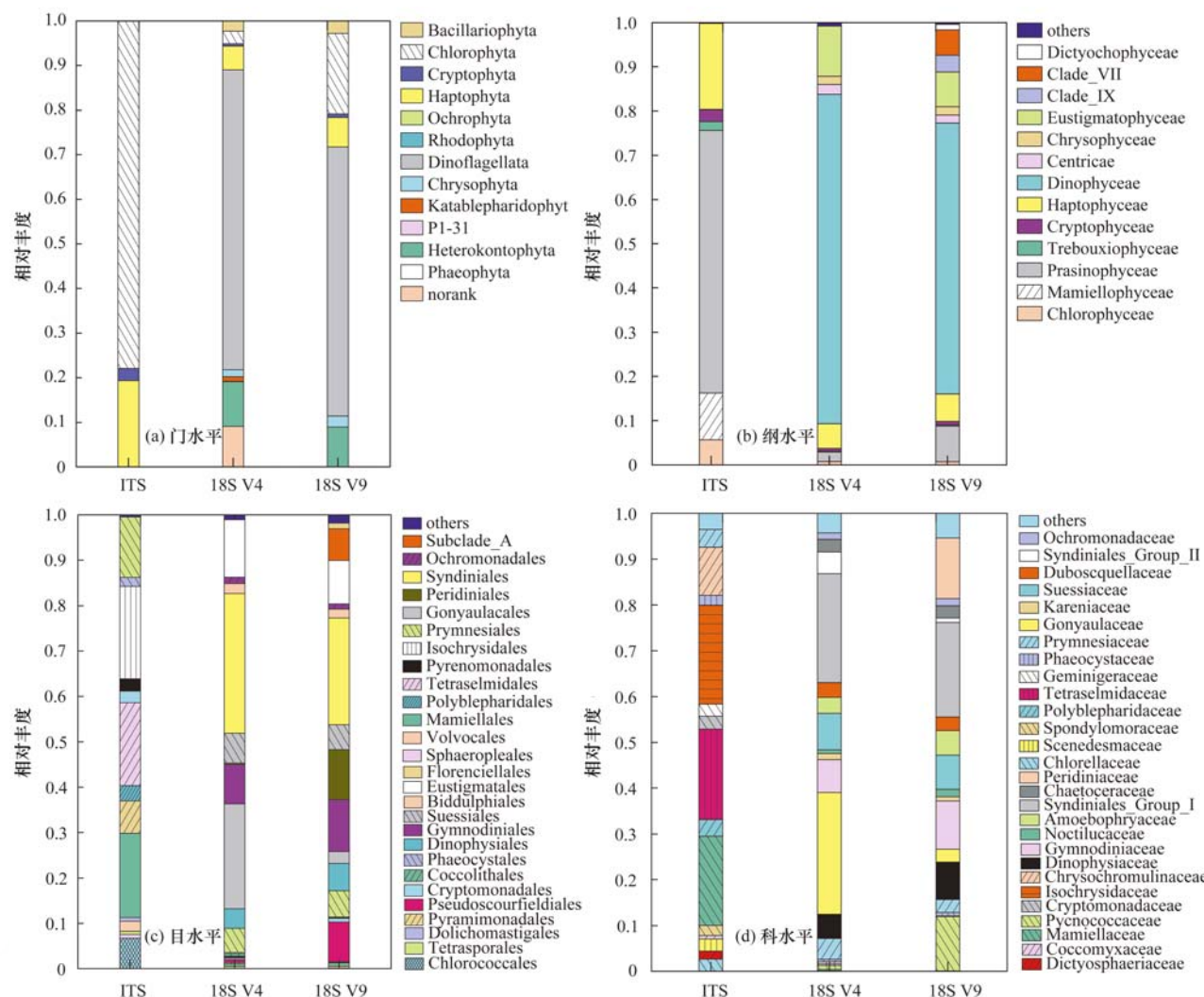


图2 基于 ITS、18S rDNA V4 和 18S rDNA V9 扩增子微型真核浮游植物在门、纲、目和科分类阶元的相对丰度状况

Fig. 2 Proportions of eukaryotic nano-phytoplankton at phylum, class, order, and family level based on amplicons of ITS, 18S rDNA V4, and 18S rDNA V9

Syndiniales _ Group _ I (21%)、多甲藻科 (Peridiniaceae, 13%)、Pycnococcaceae (12%)、裸甲藻科 (Gymnodiniaceae, 11%)、鳍藻科 (Dinophysiaceae, 8%)、Suessiaceae (7%)、阿米巴藻科 (Amoebophryaceae, 5%) 和定鞭金藻科 (Prymnesiaceae, 3%) 等。

2.2 基于多个扩增子黄海微型真核浮游植物的多样性特征

基于 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数, 探讨在不同的扩增子条件下微型真核浮游植物的多样性特征. 本研究结果表明 (图 3 和图 4), 基于 18S rDNA V9 扩增子获得的微型真核浮游植物的 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数均显著高于 ITS 和 18S rDNA V4 扩增子获得的微型真核浮游植物的多样性指数 ($P < 0.05$). 另外, 本研究发现点位 D-1 和 D-7 的 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数均显著高于其他点位, 点位 A-3 的上述指数均

显著低于其他点位。

2.3 不同水域黄海微型真核浮游植物的丰度特征

由图 5 可以发现, 基于不同扩增子黄海各水域微型真核浮游植物的丰度存在差异性. 基于 ITS 扩增子, 微型真核浮游植物的 Reads 数呈现出北黄海 > 冷水团 > 东海北部 > 南黄海的趋势, OTUs 则表现为东海北部 > 南黄海 > 北黄海 > 冷水团的变化. 不难发现, 北黄海微型真核浮游植物的 Reads 数最高, 但 OTUs 数目较低; 而东海北部水域则相反, OTUs 数目较为丰富, 但 Reads 数较低. 以 18S rDNA V4 为扩增子, 黄海微型真核浮游植物 Reads 数在不同水域间呈现的变化趋势为北黄海 > 南黄海 > 东海北部 > 冷水团, 而 OTUs 则为南黄海 > 东海北部 > 冷水团 > 北黄海. 以 18S rDNA V9 为扩增子, 不同水域间微型真核浮游植物的 Reads 数和 OTUs 则呈现出与 18S rDNA V4 扩增子较为一致的变化趋势。

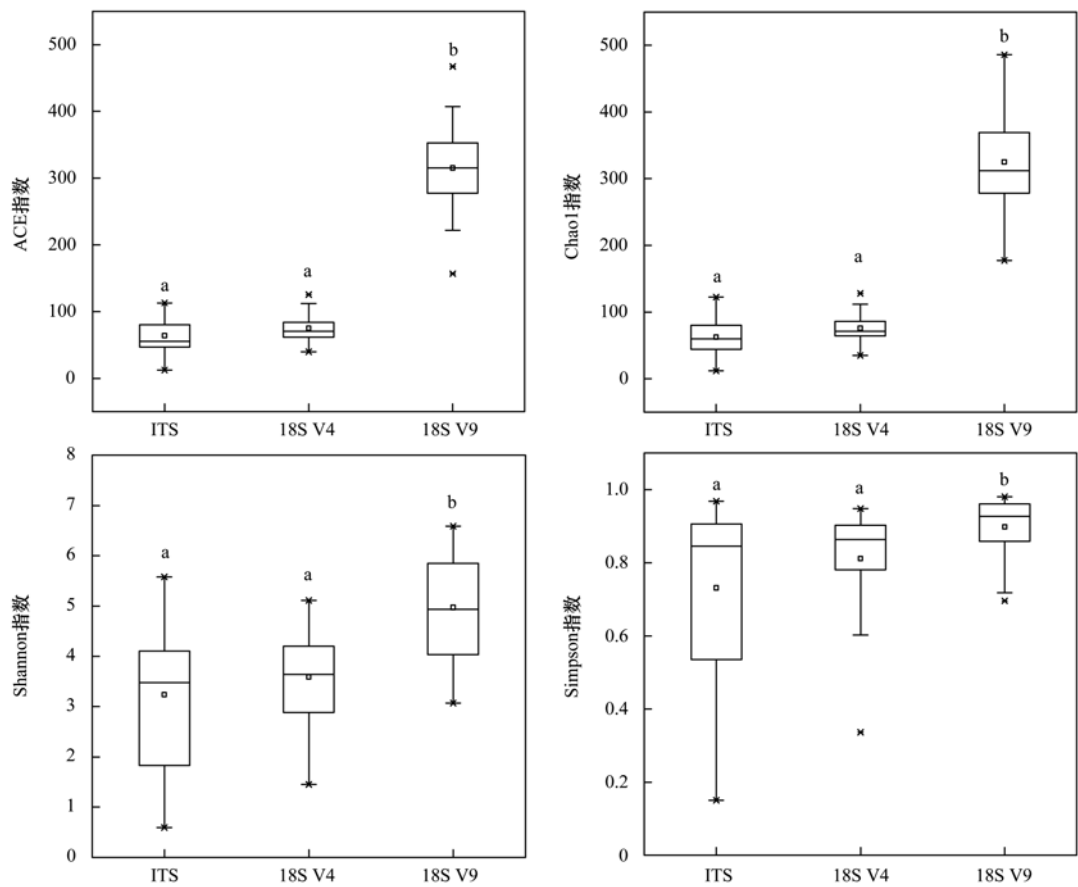


图3 基于 ITS、18S rDNA V4 和 18S rDNA V9 扩增子 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数的变化
Fig. 3 Variation of ACE, Chao1, Shannon, and Simpson indices based on amplicons of ITS, 18S rDNA V4, and 18S rDNA V9

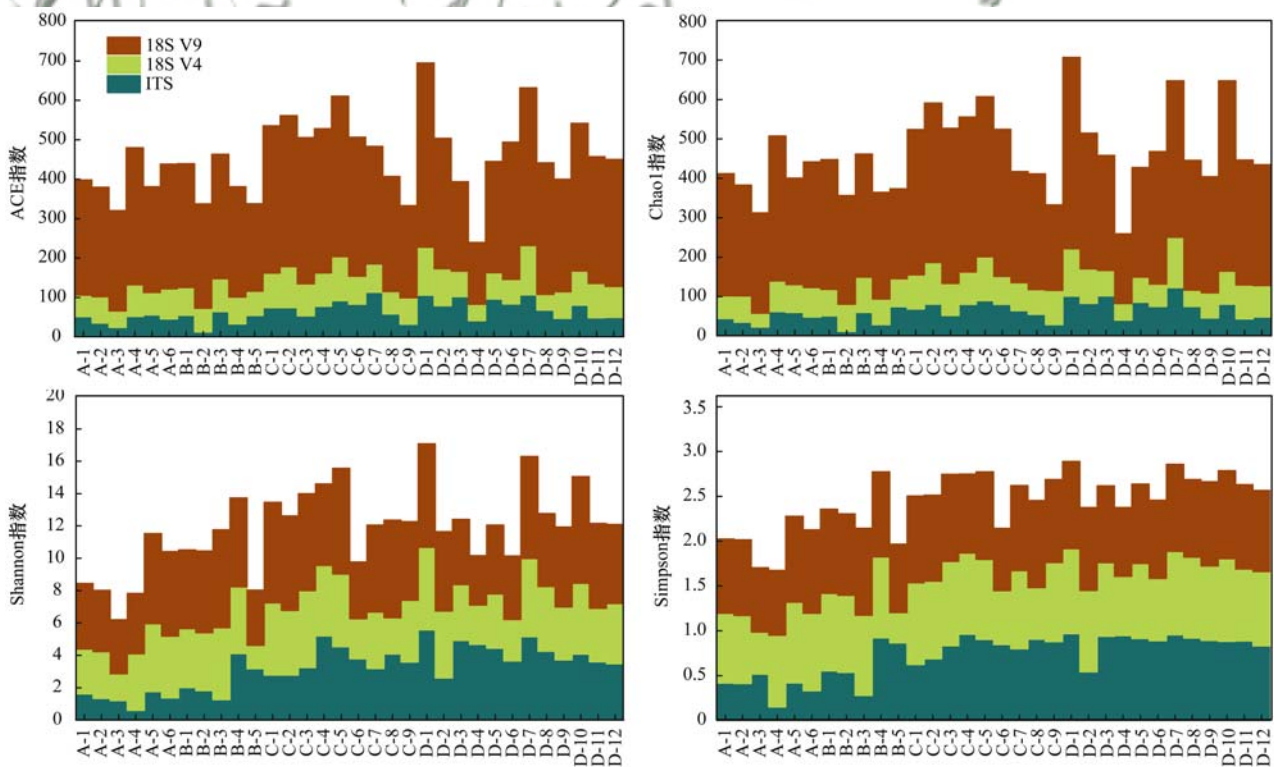
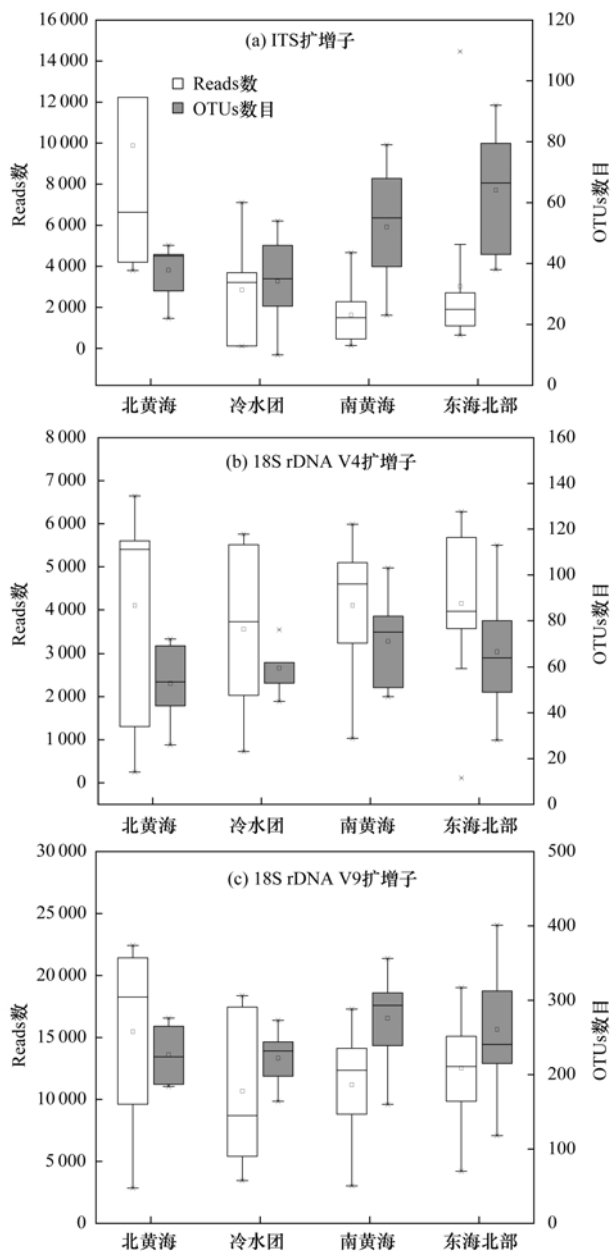


图4 基于 ITS、18S rDNA V4 和 18S rDNA V9 扩增子各点位 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数的变化
Fig. 4 Variation of ACE, Chao1, Shannon, and Simpson indices based on amplicons of ITS, 18S rDNA V4, and 18S rDNA V9 at different sampling sites



红色箱体表示 Reads 数, 蓝色箱体表示 OTUs 数目

图5 黄海不同水域微型真核浮游植物的丰度特征

Fig. 5 Richness features of eukaryotic nano-phytoplankton in different waters of the Yellow Sea

2.4 黄海微型真核浮游植物多样性与温度、盐度的响应关系

本研究发现(表1和图6),随着温度的升高,基于不同扩增子获得的微型真核浮游植物 Shannon

指数均呈现出显著上升的趋势($P < 0.01$),说明微型真核浮游植物的 Shannon 指数与温度显著正相关.随着盐度的升高,微型真核浮游植物的 Shannon 指数均显著下降($P < 0.05$),说明微型真核浮游植物的多样性与盐度显著负相关.

3 讨论

3.1 基于多个扩增子黄海微型真核浮游植物的群落结构及多样性特征

研究发现,基于不同扩增子获得的微型真核浮游植物群落结构差异性较大,基于 ITS 获得的微型真核浮游植物以绿藻门和定鞭藻门为主,而基于 18S rDNA V4 和 18S rDNA V9 扩增子获得的微型真核浮游植物以甲藻门和异鞭藻门为主.张宛宛^[23]在研究太湖真核浮游植物群落结构时发现,基于 ITS 区扩增得到的真核浮游植物主要门类为绿藻门和隐藻门,比例高达真核浮游植物的 99%,与本研究结果具有一致性.Piredda 等^[24]基于 18S rDNA V4 和 18S rDNA V9 扩增子对比分析地中海原生生物的物种组成,发现在不同的扩增子条件下,甲藻门 Reads 数占总 Reads 数的比例不同,该比例基于 18S rDNA V4 扩增子为 56%,而在 18S rDNA V9 扩增子条件下为 34%,而且在不同的季节其比例也存在差异性.王靖淇等^[25]应用 18S rDNA V9 扩增子探讨了渤海海域真核浮游藻类的物种组成及多样性,发现该海域真核浮游藻类的优势类群为甲藻门,丰度比例高达 46.62%.

本研究同时探讨了在不同的扩增子条件下,黄海微型真核浮游植物的物种丰度及多样性,发现基于 18S rDNA V9 扩增子获得的微型真核浮游植物的 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数均显著高于 ITS 和 18S rDNA V4 扩增子($P < 0.05$),说明基于 18S rDNA V9 扩增子获得的微型真核浮游植物的物种丰度及多样性最高,而且其门、纲、目和科的数目较其他两个扩增子高.Piredda 等^[24]等在对比 18S rDNA V4 和 18S rDNA V9 扩增子条件下原生生物的多样性时,同样发现 18S rDNA V9 扩增子获得的物种丰度较高.

3.2 不同水域微型真核浮游植物的丰度特征

本研究结果表明,以 ITS 为扩增子获得的微型真核浮游植物 Reads 数在不同水域间呈现出北黄海 > 冷水团 > 东海北部 > 南黄海的趋势,OTUs 则表现为东海北部 > 南黄海 > 北黄海 > 冷水团的变化;以 18S rDNA V4 及 18S rDNA V9 为扩增子,黄海微型真核浮游植物的 Reads 数均呈现出北黄海 > 南黄海 > 东海北部 > 冷水团的变化特点,而 OTUs 则为

表1 微型真核浮游植物 Shannon 指数与温度、盐度的相关性分析¹⁾

Table 1 Correlation of Shannon index of eukaryotic nano-phytoplankton with temperature and salinity

项目	Shannon 指数		
	ITS 扩增子	18S V4 扩增子	18S V9 扩增子
温度	0.599 **	0.460 **	0.495 **
盐度	-0.379 *	-0.378 *	-0.391 *

1) * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$

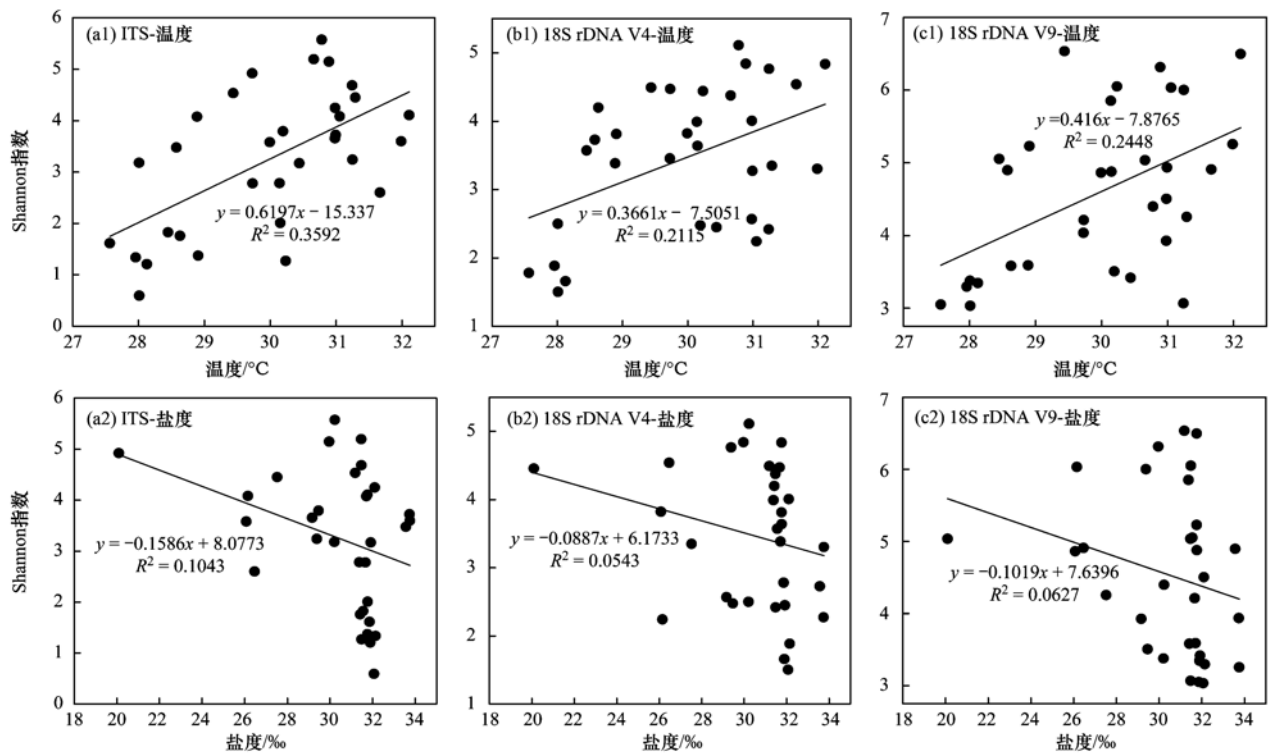


图6 黄海微型真核浮游植物 Shannon 指数与温度、盐度的关系

Fig. 6 Relationship of Shannon index of eukaryotic nano-phytoplankton and temperature and salinity

南黄海 > 东海北部 > 冷水团 > 北黄海。可以看出, 基于不同的扩增子北黄海微型真核浮游植物的 Reads 数均高于其他 3 个水域, 但其 OTUs 数目较低, 而东海北部及南黄海水域 OTUs 数目较高。这可能与海水温度^[26]和营养盐浓度^[27]等有关。随着温度的升高, 微型真核浮游植物的丰度及多样性呈现出增大的趋势。南黄海及东海北部水域水温高于北黄海及冷水团水域, 较高的水温为微型真核浮游植物的增殖提供了必要条件, 因此其 OTUs 数目较高。由于长江淡水的流入, 南黄海及东海北部水域营养盐较为丰富^[28,29], 这为微型真核浮游植物的生长提供了丰富的营养来源, 促进了微型真核浮游植物的繁殖, 因此 OTUs 数目较为丰富。北黄海及冷水团水域由于冷水团内部环流的扰动作用, 表层营养盐较为匮乏^[30], 浓度较低, 导致微型真核浮游植物的丰度较低。

3.3 黄海微型真核浮游植物多样性与温度、盐度的响应关系

海水温度是最直接影响微型真核浮游植物生存的关键因素, 它通过影响微型真核浮游植物体内酶的活性从而影响其代谢等生命活动^[31]。本研究探讨了黄海微型真核浮游植物 Shannon 多样性与温度的响应关系, 结果发现基于不同扩增子获得的微型真核浮游植物多样性均与温度呈现出显著正相关的关系, 说明随着温度的升高, 微型真核浮游植物的

多样性水平增大。郑白雯^[26]在研究北部湾北部海域浮游植物群落多样性与环境因子关系时, 发现温度对群落的多样性、丰富度和均匀度均具有显著的正影响($P < 0.05$), 证明随着温度的升高, 群落的稳定性增强。

盐度对微型真核浮游植物的影响主要表现在细胞渗透压的改变, 从而间接影响微型真核浮游植物细胞对营养盐的吸收速率^[32]、生命活动和季节分布等^[33]。本研究发现随着盐度的增大, 黄海微型真核浮游植物的 Shannon 多样性指数显著下降($P < 0.05$)。张莉等^[34]发现随着盐度的升高, 黄海微型真核浮游植物的 OTUs 及 Reads 均呈现出显著下降的趋势($P < 0.05$)。屈佩^[15]指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。郑白雯^[26]在探讨北部湾海域浮游植物群落多样性与盐度的关系时, 同样指出盐度是影响该海域群落多样性的重要环境因子, 而在夏季盐度对群落均匀度及丰富度具有显著的正影响($P < 0.01$)。

4 结论

(1) 基于 ITS 扩增子获得的微型真核浮游植物中绿藻门所占比例较高, 而基于 18S rDNA V4 和 18S rDNA V9 扩增子获得的甲藻门相对丰度较高。

(2) 基于 18S rDNA V9 扩增子获得的微型真核浮游植物的 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数

较 ITS 和 18S rDNA V4 扩增子更高, 而且其门、纲、目和科的数目较高。

(3) 黄海微型真核浮游植物的 Shannon 多样性指数与温度呈现出显著正相关的关系 ($P < 0.01$), 而与盐度呈现出显著负相关的关系 ($P < 0.05$)。

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] Ward B A, Dutkiewicz S, Jahn O, *et al.* A size-structured food-web model for the global ocean [J]. *Limnology and Oceanography*, 2012, **57**(6): 1877-1891.
- [3] Tilstone G H, Figueiras F G, Fermín E G, *et al.* Significance of nanophytoplankton photosynthesis and primary production in a coastal upwelling system (Ría de Vigo, NW Spain) [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1999, **183**: 13-27.
- [4] Falkowski P G, Laws E A, Barber R T, *et al.* Phytoplankton and their role in primary, new, and export production [A]. In: Fasham M J R (Ed.). *Ocean Biogeochemistry: The Role of the Ocean Carbon Cycle in Global Change* [M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2003. 99-121.
- [5] Tarran G A, Bruun J T. Nanoplankton and picoplankton in the Western English Channel: abundance and seasonality from 2007-2013 [J]. *Progress in Oceanography*, 2015, **137**: 446-455.
- [6] González-García C, Forja J, González-Cabrera M C, *et al.* Annual variations of total and fractionated chlorophyll and phytoplankton groups in the Gulf of Cadiz [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **613-614**: 1551-1565.
- [7] McKie-Krisberg Z M, Sanders R W. Phagotrophy by the picoeukaryotic green alga *Micromonas*: implications for Arctic Oceans [J]. *The ISME Journal*, 2014, **8**(10): 1953-1961.
- [8] Vault D, Eikrem W, Viprey M, *et al.* The diversity of small eukaryotic phytoplankton ($< 3 \mu\text{m}$) in marine ecosystems [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2008, **32**(5): 795-820.
- [9] Lima-Mendez G, Faust K, Henry N, *et al.* Determinants of community structure in the global plankton interactome [J]. *Science*, 2015, **348**(6237): 1262073.
- [10] Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, *et al.* Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding [J]. *Molecular Ecology*, 2012, **21**(8): 2045-2050.
- [11] Thomsen P F, Willerslev E. Environmental DNA-an emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity [J]. *Biological Conservation*, 2015, **183**: 4-18.
- [12] Zimmermann J, Glöckner G, Jahn R, *et al.* Metabarcoding vs. morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2015, **15**(3): 526-542.
- [13] Saunders G W. A DNA barcode examination of the red algal family Dumontiaceae in Canadian waters reveals substantial cryptic species diversity. 1. The foliose *Dilsea-Neodilsea* complex and *Weeksia* [J]. *Botany*, 2008, **86**(7): 773-789.
- [14] 江雪娇. 北黄海微型浮游植物的丰度及微型真核浮游生物分子多样性研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
- [15] Jiang X J. Analysis of picoplankton abundance and study of genetic diversity of microeukaryotes in the north Yellow Sea [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009.
- [16] 屈佩. 南黄海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.
- [17] 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.
- [18] 吕未晓, 栾青杉, 彭亮, 等. 2014 年夏黄海浮游植物群落及其对物理过程的响应 [J]. *海洋科学进展*, 2016, **34**(1): 70-84.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] Ma Z C, Fu W J, Liu G L, *et al.* High-level pullulan production by *Aureobasidium pullulans* var. *melanogenium* P16 isolated from mangrove system [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, **98**(11): 4865-4873.
- [22] Han Z, Deng M, Yuan A, *et al.* Vertical variation of a black soil's properties in response to freeze-thaw cycles and its links to shift of microbial community structure [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **625**: 106-113.
- [23] Amaral-Zettler L A, McClimment E A, Ducklow H W, *et al.* Correction: a method for studying protistan diversity using massively parallel sequencing of V9 hypervariable regions of small-subunit ribosomal RNA genes [J]. *PLoS One*, 2009, **4**(7): e6372.
- [24] Bellemain E, Davey M L, Kausrud H, *et al.* Fungal palaeodiversity revealed using high-throughput metabarcoding of ancient DNA from arctic permafrost [J]. *Environmental Microbiology*, 2013, **15**(4): 1176-1189.
- [25] 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**: 2068-2077.
- [26] 张宛宛. 基于 DNA 宏条形码技术的浮游植物群落多样性监测研究 [D]. 南京: 南京大学, 2017.
- [27] Zhang W W. Study on biodiversity monitoring of phytoplankton community based on DNA barcoding technology [D]. Nanjing: Nanjing University, 2017.
- [28] Piredda R, Tomasino M P, D'Erchia A M, *et al.* Diversity and temporal patterns of planktonic protist assemblages at a Mediterranean Long Term Ecological Research site [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2017, **93**(1): fiw200.
- [29] 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.
- [30] 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.
- [31] 郑白雯. 北部湾北部浮游生物生态学研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2014.
- [32] Zheng B W. Ecological studies on plankton in northern Beibu Gulf [D]. Xiamen: Xiamen University, 2014.
- [33] 叶然, 刘莲, 王琼, 等. 春季浙北海域浮游植物群落的空间分布 [J]. *中国环境科学*, 2017, **37**(4): 1492-1504.
- [34] Ye R, Liu L, Wang Q, *et al.* Biogeography of spring phytoplankton community in the coastal waters of northern Zhejiang [J]. *China Environmental Science*, 2017, **37**(4): 1492-1504.
- [35] 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.
- [36] 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.
- [29] 叶然, 刘艳云, 崔永平, 等. 东海营养盐结构的时空分布及其对浮游植物的限制[J]. 海洋与湖沼, 2015, **46**(2): 311-320.
- Ye R, Liu Y Y, Cui Y P, *et al.* Temporal and spatial distributions of nutrient structure and limitation on phytoplankton in the East China Sea [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, **46**(2): 311-320.
- [30] 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.
- [31] Etheridge S M, Roesler C S. Effects of temperature, irradiance, and salinity on photosynthesis, growth rates, total toxicity, and toxin composition for *Alexandrium fundyense* isolates from the Gulf of Maine and Bay of Fundy [J]. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 2005, **52** (19-21): 2491-2500.
- [32] Pilkaitytė R, Schoor A, Schubert H. Response of phytoplankton communities to salinity changes-a mesocosm approach [J]. Hydrobiologia, 2004, **513**(1-3): 27-38.
- [33] 朱明, 张学成, 茅云翔, 等. 温度、盐度及光照强度对海链藻 (*Thalassiosira* sp.) 生长的影响[J]. 海洋科学, 2003, **27** (12): 58-61.
- Zhu M, Zhang X C, Mao Y X, *et al.* Effect of temperature, salinity and illumination on the growth of *Thalassiosira* sp. [J]. Marine Sciences, 2003, **27**(12): 58-61.
- [34] 张莉, 林佳宁, 张远, 等. 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[J]. 环境科学, 2018, **39**(5): 2368-2379.
- Zhang L, Lin J N, Zhang Y, *et al.* Eukaryotic micro-plankton community diversity and characteristics of regional distribution in the Yellow Sea by ITS high-throughput sequencing [J]. Environmental Science, 2018, **39**(5): 2368-2379.



CONTENTS

Size Distributions of Different Carbonaceous Components in Ambient Aerosols	DU Xiang, ZHAO Pu-sheng, DONG Qun, <i>et al.</i> (3849)
Analysis of Air Pollution Characteristics and Meteorological Conditions in Zhengzhou from 2014 to 2017	GUO Meng-meng, JIANG Nan, WANG Shen-bo, <i>et al.</i> (3856)
Characteristics of Atmospheric PM _{2.5} Pollution and Its Influence on Visibility in Background Areas of Ji'nan	BIE Shu-jun, YANG Ling-xiao, GAO Ying, <i>et al.</i> (3868)
Source Analysis and Health Risk Assessment of PAHs in PM _{2.5} During Winter in Liaohe City	LIU Xiao-di, HOU Zhan-fang, MENG Jing-jing, <i>et al.</i> (3875)
Temporal-Spatial Characteristics and Variability in Aerosol Optical Depth over China During 2001-2017	LIU Hai-zhi, GUO Hai-yan, MA Zhen-feng, <i>et al.</i> (3886)
Spatial-Temporal Distribution of Absorptive Aerosols in the Yangtze River Delta	ZHAO Nan, CAO Fan-shi, TIAN Qing, <i>et al.</i> (3898)
Emission Characteristics of Chemical Composition of Particulate Matter from Coal-fired Boilers	YANG Yan-rong, ZHOU Xue-ming, QIN Juan-juan, <i>et al.</i> (3908)
Pollution Characteristics of Heavy Metals in PM _{2.5} Near Highway	LI Xiao-bao, LIAO Zu-wen, ZHAO Hong, <i>et al.</i> (3916)
Pollution Characteristics and Potential Ecological Risks of Heavy Metals in Road Dust in Beijing	HU Yue-qi, GUO Jian-hui, ZHANG Chao, <i>et al.</i> (3924)
Application of Test Method for Dust Suppression Efficiency of Wind Erosion Dust Suppressant	QIN Jian-ping, LI Bei-bei, YANG Tao, <i>et al.</i> (3935)
Emission Characteristics and Ozone Formation Potential of VOCs in Printing Enterprises in Beijing-Tianjin-Hebei	LIU Wen-wen, FANG Li, GUO Xiu-rui, <i>et al.</i> (3942)
Source Profiles of VOCs Associated with Typical Industrial Processes in Chengdu	ZHOU Zi-hang, DENG Ye, WU Ke-ying, <i>et al.</i> (3949)
Characterization and Health Risk Assessment of Exposure to Odorous Pollutants Emitted from Industrial Odor Sources	MENG Jie, ZHAI Zeng-xiu, JING Bo-yu, <i>et al.</i> (3962)
Analysis of HONO Concentration and Source in Typical Rural Area of North China	WANG Yu-zheng, XUE Chao-yang, ZHANG Cheng-long, <i>et al.</i> (3973)
CO-SCR Performance and Mechanism over Co ₃ O ₄ Catalysts	ZHONG Xue-mei, ZHANG Tao, LI Jia-yin, <i>et al.</i> (3982)
Pollution Characteristics of Perfluorinated Alkyl Substances (PFASs) in Seawater, Sediments, and Biological Samples from Jiaozhou Bay, China	 CUI Wen-jie, PENG Ji-xing, TAN Zhi-jun, <i>et al.</i> (3990)
Occurrence and Influencing Factors of Odorous Compounds in Reservoirs Used as Drinking Water Resources in Jiangsu Province	 SHI Peng-cheng, ZHU Guang-wei, YANG Wen-bin, <i>et al.</i> (4000)
Fluorescence Characteristics and Influencing Factors of Dissolved Organic Matter (DOM) in Water and Sediment of Urban Watershed: A Case Study of Xiaojia River in Ningbo City	 GAO Feng, SHAO Mei-ling, TANG Jian-feng, <i>et al.</i> (4009)
Water Bloom Modified Sediment Nitrogen Transformation and Removal	 XIAO Lin, YANG Jia-yi (4018)
Applicability of Bioavailable Phosphorus in Sediments to Indicating Trophic Levels of Lakes and Reservoirs	LIU Hui, HU Lin-na, ZHU Meng-yuan, <i>et al.</i> (4023)
Analysis of Nitrate Pollution Sources in the Rainy Season of the Lower Fenhe River	WANG Yin-long, FENG Min-quan, DONG Xiang-qian (4033)
Hydrochemical Characteristics and Evolution of Groundwater in the Kashgar Delta Area in Xinjiang	WEI Xing, ZHOU Jin-long, NAI Wei-hua, <i>et al.</i> (4042)
Community Diversity of Eukaryotic Nano-phytoplankton in Yellow Sea Using DNA Metabarcoding Technology Based on Multiple Amplicons	 ZHANG Li, ZHANG Yuan, LIN Jia-ning, <i>et al.</i> (4052)
Comparison of Functional Groups of Phytoplankton in FG, MFG, and MBFG; Taking Three Reservoirs as an Example in Guizhou Plateau	CHEN Qian, LI Qiu-hua, MA Xin-yang, <i>et al.</i> (4061)
Adsorption and Mechanism of Arsenic by Natural Iron-containing Minerals	SHAO Jin-qiu, WEN Qi-qian, YAN Xiu-lan, <i>et al.</i> (4072)
Removal of Pb ²⁺ from Aqueous Solution by Magnesium-Calcium Hydroxyapatite Adsorbent	HE Hao, ZHU Zong-qiang, LIU Jie, <i>et al.</i> (4081)
Intensified Electrosorption of Pb ²⁺ by 2,6-diaminoanthraquinone/Graphene Composite Electrode	JIN Sheng-yao, XIANG Yang, ZHANG Jun-yu, <i>et al.</i> (4091)
Experiment on Recovery of Phosphorus from Aqueous Solution by Calcium Doped Fe ₃ O ₄	BAI Run-ying, LIU Jian-ming, HAO Jian-feng, <i>et al.</i> (4098)
Removal of Microplastics by Different Treatment Processes in Shanghai Large Municipal Wastewater Treatment Plants	JIA Qi-long, CHEN Hao, ZHAO Xin, <i>et al.</i> (4105)
Enhanced Nutrient Removal and Microbial Community Structure in a Step-feed A ² /O Process Treating Low-C/N Municipal Wastewater	RONG Yi, LIU Xiao-chai, HE Yin-xuan, <i>et al.</i> (4113)
Performances Analysis of an Upflow Anaerobic Filter for Domestic Sewage Treatment	YANG Zhong-qi, LIU Xiu-hong, LI Hai-xin, <i>et al.</i> (4121)
Electron Equilibrium Analysis of Integrated Autotrophic and Heterotrophic Denitrification Process Under Micro-aerobic Conditions	ZHANG Ruo-chen, CHEN Chuan, SHAO Bo, <i>et al.</i> (4128)
Pilot Study on Start-up and Stable Operation at Low Temperature Based on Denitrifying Phosphorus Removal	ZHANG Fan, YU De-shuang, LIU Jie, <i>et al.</i> (4136)
Comparison of Polycaprolactone and Poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate for Nitrogen Removal	YI Cheng-hao, QIN Wei, CHEN Zhan, <i>et al.</i> (4143)
Rapid Cultivation of Anaerobic Ammonium Oxidation Granular Sludge and Inhibition Kinetics of Granular Sludge	TANG Peng, YU De-shuang, CHEN Guang-hui, <i>et al.</i> (4152)
Effect of Ca ²⁺ on the Nitrification Activity and the Flocculation and Sedimentation Performances of the Activated Sludge	ZHANG Lan-he, ZHAO Qian-nan, ZHANG Hai-feng, <i>et al.</i> (4160)
Recovery of Phosphorus in the Form of Struvite from the Anaerobic Fermentation Supernatant of Excess Sludge	CHANG Xiao, ZENG Wei, WANG Bao-gui, <i>et al.</i> (4169)
Effect of Signal Molecule Combined with <i>Thiobacillus denitrificans</i> on Simultaneous Removal of Nitrogen and Sulfur	XU Jin-lan, CHEN Zi-wei, ZHANG Shao-feng, <i>et al.</i> (4177)
Bacterial Community Composition in Channel Sediment in Response to Mariculture Wastewater Drainage	HU Yue-hang, XUAN Li-xia, QIU Qiong-fen (4185)
Setup and Microbial Community Analysis of ANAMMOX System for Landfill Leachate Treatment Coupling Partial Nitrification-Denitrification Process	 ZHAO Qing, LIU Meng-ying, LÜ Hui, <i>et al.</i> (4195)
Effects of Rice Straw Addition on Methanogenic Archaea and Bacteria in Two Paddy Soils	BAO Qiong-li, WANG Feng-hua, BAO Wan-kui, <i>et al.</i> (4202)
Effect of Plastic Film Mulching on Greenhouse Gas Emissions from Rice-Rapeseed Rotation in Cropland	CHEN Shi-jie, JIANG Chang-sheng, NI Xue, <i>et al.</i> (4213)
N ₂ O Emissions from a Tea Field with Deep Application of Nitrogen Fertilizer and Intercropping with White Clover	LÜ Tian-xin, WU Yan-zheng, SHEN Jian-lin, <i>et al.</i> (4221)
Distribution and Emission of Nitrous Oxide (N ₂ O) in Three Gorges Reservoir and Downstream River	CHENG Fang, DING Shuai, LIU Su-mei, <i>et al.</i> (4230)
Synergy of Algal Sedimentation and Sediment Capping for Methane Emission Control in Bloom Waters	ZHU Lin, YU Jiang-hua, SHI Wen-qing, <i>et al.</i> (4238)
Impact of Newly Build Lead-Acid Battery Agglomeration Area on the Surrounding Soil Environment: A Study Based on the Spatial Characteristics of Heavy Metals	 DING Ya-li, LIAO Min, FANG Zhi-ping, <i>et al.</i> (4244)
Effects of Amendments with Different C/N/P Ratios on Plant and Soil Properties of a Pb-Zn Mine Tailings	YANG Sheng-xiang, LI Feng-mei, PENG Xi-zhu, <i>et al.</i> (4253)
Derivation of the Thresholds of Available Concentrations of Heavy Metals in Soil Based on Agricultural Product Safety	ZHANG Yun-hui, DU Ping, HE Ying, <i>et al.</i> (4262)
Content of Soil Phytolith-Occcluded Organic Carbon in Different Land Use Patterns at Jinyun Mountain	LUO Dong-hai, WANG Zi-fang, LU Chang, <i>et al.</i> (4270)
Influence of Land Use Change on Litter and Soil C, N, P Stoichiometric Characteristics and Soil Enzyme Activity in Karst Ecosystem, Southwest China	 TIAN Jing, SHENG Mao-yin, WANG Pan, <i>et al.</i> (4278)
Effect of Conditioning Agent Combined with Flooding Measures on Absorption and Accumulation of Cadmium in Rice	PENG Ou, LIU Yu-ling, TIE Bai-qing, <i>et al.</i> (4287)
Distribution and Sources of OPEs in Plants and Snow in Hailuoguo	CHEN Yang, YIN Hong-ling, WU Di, <i>et al.</i> (4295)