

· 创新与探索 ·

太湖金墅港区域冬春季硅藻群落变化及其影响因素分析

景明, 陈瑜, 高昕, 李继影*

(江苏省苏州环境监测中心, 江苏 苏州 215004)

摘要:采用 Illumina 高通量测序技术研究太湖金墅港区域的硅藻群落结构及其与环境因子之间的相关性。2019年11月—2020年4月共检测到28个属的硅藻种类, 主要包括小环藻属(*Cyclotella* sp.)、菱形藻属(*Nitzschia* sp.)、直链藻属(*Aulacoseira* sp.)、波缘藻属(*Cymatopleura* sp.)、辐环藻属(*Actinocyclus* sp.)和骨条藻属(*Skeletonema* sp.)等, 还出现了海洋生境种类海链藻属(*Thalassiosira* sp.)。结果表明, 12月和3月硅藻为金墅港水域的优势种, 水温与硅藻群落数量的相关性最强。

关键词: 硅藻; 真核浮游藻类; 高通量测序; 环境因子; 太湖金墅港

中图分类号: X826

文献标志码: B

文章编号: 1006-2009(2021)04-0061-04

Analysis of Diatom Community Structure Variation and Its Influencing Factors in Winter and Spring in Jinshu Bay of Taihu Lake

JING Ming, CHEN Yu, GAO Xin, LI Ji-ying*

(Jiangsu Suzhou Environmental Monitoring Center, Suzhou, Jiangsu 215004, China)

Abstract: In this study, the community structure of diatom and its correlation with environmental factors in Jinshu Bay of Taihu Lake were studied by Illumina high-throughput sequencing technology. Diatom species of 28 genera, including *Cyclotella* sp., *Nitzschia* sp., *Aulacoseira* sp., *Cymatopleura* sp., *Actinocyclus* sp. and *Skeletonema* sp. were detected from Nov. 2019 to Apr. 2020. Besides, marine habitat species of *Thalassiosira* sp. also appeared. Results showed that diatom was dominant in Jinshu Bay in December and March. The correlation between water temperature and the number of diatom communities was significant.

Key words: Diatom; Eukaryotic planktonic algae; High-throughput sequencing; Environmental factor; Jinshu Bay of Taihu Lake

太湖是苏州、无锡等地重要的水源地, 保障其水质对饮用水安全生产有重要作用^[1]。近年来, 政府部门采取了一系列的举措^[2], 一定程度上改善了太湖水质, 同时也对太湖的生物群落结构造成一定影响^[3]。目前, 太湖存在藻类生物量较高的现象, 且不同时期优势种不同^[4]。研究显示, 水温是影响富营养化水体中藻类暴发的重要原因^[5]。冬春季硅藻、绿藻是太湖东部湖区浮游藻类的优势种, 夏季蓝藻成为优势种^[4-6], 其中硅藻在1—3月易出现水华现象^[7]。硅藻水华使整个水体呈棕褐色, 引起水体缺氧, 进而造成生态系统失衡^[8], 最终影响饮用水安全。

目前, 硅藻的检测以形态学为主^[9]。随着高

通量测序技术的发展, 给硅藻的分类带来了新的方向^[10], 常用的真核生物测序技术为18S rRNA和内转录间区(ITS)^[11]。18S rRNA在进化速率上比较保守, 因而较适用于硅藻的分类研究^[12]。太湖金墅港是苏州市重要的水源地之一, 该区域近年来受到太湖湖体营养盐高负荷影响, 硅藻水华时有发生^[13]。研究太湖金墅港水源地硅藻出现的规律及

收稿日期: 2020-07-14; 修订日期: 2021-05-12

基金项目: 江苏省环境监测科研“太湖典型水源地硅藻水华发生特征及其对水质的影响”基金资助项目(1810)

作者简介: 景明(1986—), 男, 江苏苏州人, 工程师, 硕士, 从事环境生态监测工作。

* 通信作者: 李继影 E-mail: li_jiying@qq.com

群落组成,对了解太湖水源地硅藻现状及水生态健康状况评价具有一定意义。

1 试验

1.1 样品采集与预处理

样品采自太湖金墅港水源地 (E120°23'16", N31°22'39"), 采样时间为冬季 (2019年11月26日、2019年12月29日) 和春季 (2020年2月25日、2020年3月26日、2020年4月30日), 由于疫情影响1月未能采集样品。

水质与真核、原核生物样品的采集使用直立式采水器在水面下0.5 m处取样。现场测定pH值、溶解氧、浊度及水温。采集1 L水样送至实验室测定氨氮、总氮、总磷、高锰酸盐指数等水质指标, 监测方法参考标准方法^[14]。分别采集1 L水样用于真核生物和原核生物测序, 水样在冷藏条件下运回实验室, 经0.45 μm滤膜过滤, 用PBS缓冲液将滤膜上的微生物洗脱, 最终浓缩至1 mL, 不设重复样。

1.2 DNA提取及高通量测序

按照CTAB方法提取DNA^[15], 琼脂糖凝胶电泳检测DNA浓度和纯度。取适量DNA样本作为模板进行PCR扩增, 扩增区域为18S rRNA的V4区域^[16]和16S rRNA的V4区域, 扩增引物使用带Barcode的特异引物, 分别为18S V4 - F: GCGGTA-ATTCCAGCTCCAA, 18S V4 - R: AATCCRA-GAATTTACCTCT; 16S V4 - F: GTGCCAGCMGC-CGCGGTAA, 16S V4 - R: GGACTACHVGGGT-WTCTAAT。PCR的反应条件为: 95℃ 5 min, 94℃ 60 s, 57℃ 45 s, 72℃ 60 s, 共34个循环, 最后72℃终延伸10 min, 16℃ 5 min。用质量分数为2%的琼脂糖凝胶电泳对PCR产物进行纯化 (Gene JET质粒小提试剂盒, 赛默飞世尔科技)。对纯化后目标片段进行建库 (Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns 建库试剂盒, 赛默飞世尔科技) 和上机测

序 (Ion S5XL 基因测序系统, 赛默飞世尔科技)。

1.3 数据分析

测序数据处理参考相关文献进行^[17]。测序数据采用生物信息学分析软件 QIIME (Quantitative insights into microbial ecology) 对原始数据进行数据过滤, 剔除简并碱基、低质量得分、嵌合体及短于150 bp的噪声序列。在相似度≥98%的标准上进行OTU划分, 通过NCBI数据库中的18S rRNA基因序列, 对每个OTU进行注释。样品测序的丰富度和多样性分析使用Mothur软件完成, 分析真核浮游藻类群落的α多样性指数。

2 结果与讨论

2.1 测序结果

测序得到的序列数量见表1。对序列进行随机抽样, 将所得到的OTU数量构建稀释曲线, 将OTU丰度排序与对应的OTU相对丰度作图, 得到等级聚类曲线。各样品的稀释曲线与等级聚类曲线均趋于平缓, 表明测序结果能够反映样品中所有OTU的信息。对各个样品测序的丰富度和多样性进行分析, 结果见表1。其中, Shannon - Wiener指数和Simpson指数显示测序结果分布的均匀度, 该值越大表示OTU对应的物种分配越均匀; Chao1指数和ACE指数表示样品中物种的多样性, 该值越大表示测序得到的物种数越多。由表1可知, Shannon - Wiener指数为3.125 ~ 6.620, Simpson指数为0.773 ~ 0.973, 表明测序结果各样品个体的分布较均匀, 样品间OTU分布差异性较低。Chao1指数为199.917 ~ 578.625, ACE指数为201.609 ~ 571.768, 表明测序各样品间物种的丰富度较大, 种类较多。

2.2 不同月份真核浮游藻类群落结构特征

对所得的真核生物测序结果进行注释, 真核浮游藻类的OTU数量随时间变化显著, 冬季所占比例较小, 占真核生物总OTU的20% ~ 30%, 到4月

表1 序列数量和生物多样性指数

Table 1 OTU and biodiversity index

| 时间 | 原始序列 n/个 | 高质量序列 n/个 | Shannon - Wiener 指数 | Simpson 指数 | Chao1 指数 | ACE 指数 |
|----------|----------|-----------|---------------------|------------|----------|---------|
| 2019年11月 | 76 535 | 74 457 | 6.352 | 0.972 | 292.143 | 290.773 |
| 2019年12月 | 85 078 | 80 052 | 6.620 | 0.973 | 505.462 | 505.029 |
| 2020年02月 | 85 419 | 80 127 | 5.043 | 0.920 | 399.071 | 403.130 |
| 2020年03月 | 85 143 | 80 070 | 5.283 | 0.907 | 578.625 | 571.768 |
| 2020年04月 | 83 057 | 80 129 | 3.125 | 0.773 | 199.917 | 201.609 |

真核浮游藻类占总 OTU 比例达 83.7%。这表明随着气温的上升,真核浮游藻类大量繁殖,5 个样品测序结果中的真核藻类涵盖了藻类的隐藻门、甲藻门、金藻门、硅藻门和绿藻门,共 78 个属,不同月份优势藻类不同。硅藻门在 12 月和 3 月为优势藻(占比分别为 67.3% 和 78.6%),11 月和 4 月次之(占比分别为 11.6% 和 18.7%),2 月最少(占比仅为 2.7%)。11 月和 2 月优势藻为隐藻门(分别为 29.5% 和 30.8%),4 月优势藻为甲藻门(占总真核浮游藻类的 51.5%),说明冬季末、春季初温度较低时为硅藻最优生长期。

2.3 不同月份硅藻群落结构特征

对真核浮游藻类中硅藻门进行群落结构分析,经过与 NCBI 数据库的核对后绘制物种进化树,共检测到硅藻门 2 个纲,4 目,4 科,共 28 个属(有 5 个属未分类),多于形态学方法鉴定的物种数^[4]。这表明高通量测序技术能够检测到更全面的硅藻信息,是对现有镜检方法的有效补充。基于 NCBI 数据库将硅藻门分为两个亚门^[18],分别是 Coscinodiscophytina 和 Bacillariophytina,其中 Coscinodiscophytina 亚门下仅有硅藻纲(Coscinodiscophyceae),Bacillariophytina 亚门下有硅藻纲(Bacillariophyceae)和中型硅藻纲(Mediophyceae)。上述研究测序结果得到的 2 个纲分别为硅藻纲(Bacillariophyceae)和中型硅藻纲(Mediophyceae),而形态学分类显示主要的纲为中心纲(Centriales)和羽纹纲(Pennatales),这表示高通量测序与传统形态学分类存在一定差异性,须进一步研究。在属的水平上,各月份丰度居前十的物种分别占硅藻门的 92.1%、96.5%、69.4%、89.2%、77.5%,见图 1。其中 2019 年 11 月优势属为小环藻属(*Cyclotella* sp.) 41.7% 和骨条藻属(*Skeletonema* sp.) 16.8%,12 月优势属为菱形藻属(*Nitzschia* sp.) 28.0%、小环藻属(*Cyclotella* sp.) 22.4% 和骨条藻属(*Skeletonema* sp.) 20.4%; 2020 年 2 月优势属为海链藻属(*Thalassiosira* sp.) 26.3% 和直链藻属(*Aulacoseira* sp.) 22.8%,3 月优势属为波缘藻属(*Cymatopleura* sp.) 39.0% 和辐环藻属(*Actinocyclus* sp.) 17.4%,4 月优势属为小环藻属(*Cyclotella* sp.) 31.7% 和直链藻属(*Aulacoseira* sp.) 18.8%。

已有研究显示,2012 年太湖优势属为直链藻属(*Aulacoseira* sp.),常见藻为小环藻属(*Cyclotella* sp.) 和针杆藻属(*Synedra* sp.)^[4,13]。上述研究主

要结果与已有报道相似,值得注意的是该研究发现硅藻中有海洋硅藻属出现,如海链藻属(*Thalassiosira* sp.)。这表明,“引江济太”工程对现有湖体的水生态产生了一定的影响。2019 年 8 月以后江苏持续干旱少雨,为保障湖库蓄水保水,9 月以后陆续从长江引水,入太湖水量达 1.18 亿 m³,一定程度上影响了原有的水生态组成。停止引长江水后,生态结构又会根据水质水文情况发生一定的变化。

2.4 环境因子与硅藻群落结构的相关性分析

采用 Canoco 5.0 对硅藻群落组成与常规理化因子(水温、pH 值、浊度和溶解氧)及营养元素(氨氮、总磷、总氮、高锰酸盐指数)进行相关性分析,DCA 结果显示第一轴的梯度长度均 < 3,故采用冗余分析(RDA)。硅藻群落结构变化与常规理化因子相关性结果显示,水温与溶解氧存在显著相关性,温度与浊度、溶解氧直接呈负相关;硅藻群落结构变化与营养元素相关性分析结果显示,营养元素氮磷存在相关性,且总氮、总磷与氨氮呈负相关。上述分析中前两轴的特征值分别为 0.506 2 和 0.238 9,共解释了 74.51% 多样性差异。

将不同环境因子与硅藻 OTU 数量进行分析,结果显示,水温对硅藻存在显著的影响。已有研究显示,硅藻的最佳生长温度为 12.5 °C,而蓝藻的最佳生长温度为 19.5 °C^[5],暖春对硅藻水华的影响显著^[6]。上述研究中 2020 年 2 月存在硅藻生物量的低值,这主要是由于 2 月份持续两天气温较高(最高为 24 °C),是蓝藻的最佳生长温度,蓝藻生长迅速而硅藻数量下降。硅藻生长过程中消耗一定的营养元素,随着硅藻的生长各营养元素有所下降。当氮磷质量浓度高于硅藻生长限制值(总氮 > 1.00 mg/L,总磷 > 0.025 mg/L)后,氮磷质量浓度与硅藻生物量的相关性并不是很显著^[6]。上述研究中,氮磷质量浓度始终高于硅藻的限制生长临界值,故研究区域水体存在硅藻水华暴发的风险,特别是冬季湖体水位较低营养盐达到高值时具有较大的风险。

2.5 硅藻与蓝藻相互影响分析

同时对原核生物进行测序,单独将其中的蓝藻门原核生物与硅藻门、金藻门、甲藻门、隐藻门等真核生物测得的 OTU 数量做堆积面积比例,见图 2。由图 2 可见,蓝藻与硅藻的生长存在演替现象,当温度较低时硅藻生长优于蓝藻,当温度升高时蓝藻即成为优势种。由此可知,冬、春季硅藻处于相对

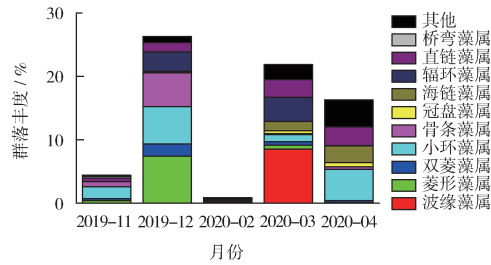


图 1 硅藻门群落结构特征

Fig. 1 Structure characters of diatom community

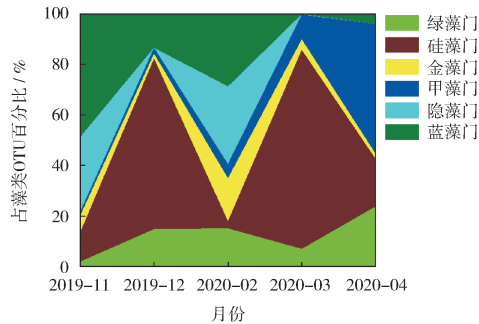


图 2 不同藻类占测序总数的百分比

Fig. 2 Percentage of different algae in total number of sequencing algae

优势,当出现温度较高的异常天气时蓝藻会成为优势种。已有研究也显示,夏季蓝藻是太湖的优势种^[19-20]。

3 结语

对太湖金墅港区域样品真核浮游藻类进行高通量测序,发现 2019 年 12 月和 2020 年 3 月硅藻为金墅港水域的优势种群。硅藻门群落结构分析结果表明,小环藻属 (*Cyclotella* sp.)、菱形藻属 (*Nitzschia* sp.)、直链藻属 (*Aulacoseira* sp.)、波缘藻属 (*Cymatopleura* sp.)、辐环藻属 (*Actinocyclus* sp.)和骨条藻属 (*Skeletonema* sp.)在不同月份为优势属,同时还有海洋硅藻海链藻属 (*Thalassiosira* sp.)存在。硅藻与蓝藻存在显著的演替现象,且冬、春季水温低于 12.5 °C 时硅藻占优势,当水温升高达到蓝藻最适宜生长温度 (19.5 °C) 时蓝藻占优势。该研究为研究太湖金墅港区域硅藻提供了新思路,且发现了“引江济太”工程对太湖水生态的一些影响,可持续跟踪,揭示其影响大小及规律。

[参考文献]

[1] 廖蕾,张晓赞,李继影,等. 苏州太湖主要异味物质空间分布

规律及防治对策研究[J]. 环境科学与管理,2019,44(8): 100-103.

[2] 高怡,毛新伟,徐卫东.“引江济太”工程对太湖及周边地区的影响分析[J]. 水文,2006,26(1):92-94.

[3] 周杰,任小龙,杨金艳,等. 望虞河引江济太工程的水生态环境影响[J]. 科技资讯,2017(11):142,144.

[4] 刘霞,陆晓华,陈宇炜. 太湖浮游硅藻时空演化与环境因子的关系[J]. 环境科学学报,2012,32(4):821-827.

[5] 谭啸,孔繁翔,于洋,等. 升温过程对藻类复苏和群落演替的影响[J]. 中国环境科学,2009,29(6):578-582.

[6] 朱广伟,金颖薇,任杰,等. 太湖流域水库型水源地硅藻水华发生特征及对策分析[J]. 湖泊科学,2016,28(1):9-21.

[7] 王敏,张智,郭蔚华,等. 嘉陵江出口段硅藻水华发生规律[J]. 环境科学研究,2011,24(2):191-198.

[8] 於阳. 水动力条件对硅藻生长及空间分布的影响研究[D]. 重庆:重庆大学,2016.

[9] 毛成贵,花卫华,袁广旺,等. 秦山岛周边海域春季浮游植物群落结构特征[J]. 环境监控与预警,2020,12(2):17-23.

[10] 薛银刚,蒋聪,耿金菊,等. 基于 qPCR 和 16S rDNA 高通量测序研究蓝藻暴发期间太湖竺山湾水体浮游细菌群落[J]. 环境监控与预警,2017,9(3):19-23.

[11] ZHANG Y, LIN X, LI T, et al. High throughput sequencing of 18S rRNA and its gene to characterize a *Proocentrum shikokuense* (Dinophyceae) bloom[J]. Harmful Algae,2020,94:1-11.

[12] 施军琼,张明,杨燕君,等. 基于高通量测序探讨大宁河不同水华期真核浮游生物群落组成[J]. 西南大学学报(自然科学版),2020,42(2):1-7.

[13] 李钦钦,邓建才,胡维平,等. 太湖金墅湾水源地浮游植物群落结构及其与环境因子的关系[J]. 应用生态学报,2010,21(7):1844-1850.

[14] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 4 版. 北京:中国环境科学出版社,2002:88-284.

[15] TSAI Y L, OLSON B H. Rapid method for direct extraction of DNA from soil and sediments[J]. Applied & Environmental Microbiology,1991,57(4):1070-1074.

[16] CHEUNG M K, AU C H, CHU K H, et al. Composition and genetic diversity of picoeukaryotes in subtropical coastal waters as revealed by 454 pyrosequencing[J]. The ISME Journal,2010,4(8):1053-1059.

[17] 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.

[18] 刘清香,王婷,许旭明,等. 汉江中下游硅藻群落时空分布及其影响因素研究[J]. 北京大学学报(自然科学版),2018,54(4):848-856.

[19] 朱文昌,陆敏,石浚哲. 梅梁湖水体浮游植物与环境因子的关系[J]. 环境监测管理与技术,2010,22(3):27-30.

[20] 丁建清,张军毅. YSI6600 传感器在太湖蓝藻预警工作中的应用[J]. 环境监测管理与技术,2011,23(1):67-70.