

文章编号: 1674-5566(2025)06-1345-13

DOI: 10.12024/jsou.20250404852

基于环境DNA的长江浮游硅藻和绿藻多样性与群落构建机制研究

邵 芸¹, 李 心², 杜津柘², 王 洁¹, 林豪杰¹, 闫振广¹

(1. 中国环境科学研究院 环境基准标准与风险管控全国重点实验室, 北京 100012; 2. 青岛农业大学 海洋科学与工程学院, 山东 青岛 266109)

摘 要:生物多样性及生物群落的构建机制是研究热点, 浮游植物作为水生态系统中的初级生产者, 具有重要的水生态功能, 在长江流域水平上的相关研究少见。本研究采用环境DNA宏条形码技术, 针对长江浮游硅藻及绿藻群落进行研究。结果表明: 在长江全流域共检出389个操作分类单元(OTU), 隶属于62科101属, 绿藻相对更多。在长江上游、中游和下游分别检出378、322和318个OTU。上游和下游的生物多样性相对较高, Shannon-Wiener指数中值超过2.0。Mantel检验表明, 上游群落与pH显著相关($P < 0.05$); 中游群落与总有机碳极显著相关($P < 0.01$), 与电导率显著相关($P < 0.05$); 下游群落与溶解氧、高锰酸盐指数和氟离子均极显著相关($P < 0.01$)。冗余分析表明总氮对全流域硅藻和绿藻群落的解释最强, 其次是电导率。此外, 中性模型和零模型分析表明, 群落构建主要由随机性过程主导, 群落组成呈现明显的距离衰减模式, 且从上游到下游距离衰减现象越来越显著。

关键词: 环境DNA; 硅藻; 绿藻; 生物多样性; 群落构建

中图分类号: Q 948.8

文献标志码: A

浮游植物作为水生态系统中的初级生产者, 在生态系统的物质循环、能量流动和信息传递中起着重要作用。浮游植物的生长主要受到营养、光照、水动力和捕食等方面的影响, 水环境因子的差异是造成浮游植物群落分异的重要因素^[1], 前人研究表明, 浮游植物群落易受水温^[2]、营养盐^[3]、溶解氧^[4]、pH^[5]等水环境因子的影响。由于浮游植物对环境变化响应迅速, 能及时反映水生生态系统的变化, 其经常被作为水环境质量的指示生物。

在传统的水生态监测评价中, 显微镜检是识别浮游植物的主要方法, 但耗时费力, 且需要丰富的分类学专业知识, 对鉴定人员的技术和经验依赖较高, 因此, 开发高效灵敏的水生态监测方法是近年来生物监测的重要研究内容之一。环境DNA (Environmental DNA, eDNA) 技术是近年来兴起的生物监测工具, 在水生生物监测和研

究中发挥了重要作用, 已经被证明是传统形态学调查的有效补充手段^[6-8]。通过样品采集、eDNA提取、条形码基因扩增、高通量测序、数据质控与分析等过程, 可以监测浮游植物, 且至少达到属水平^[9-10]。eDNA技术目前也存在缺点, 如条形码基因的参考数据库不足^[11]、扩增引物偏好性^[12]等, 但由于其高效、灵敏等特点, 逐渐被广泛接受并应用。

基于生态位理论的确定性因素 (环境过滤和生物相互作用) 和基于中性理论的随机性因素 (扩散限制、多样化和生态漂变等) 通常被认为是塑造生物群落的重要过程^[13-14]。多项研究基于环境eDNA技术分析了解确定性和随机性过程在藻类群落构建中的重要作用, 如扩散限制等随机性过程被认为在汀江^[15]和永定河^[16]真核微生物群落构建中起主导作用。pH、营养来源和生态系统生产力等多种因素会影响确定性和随机性过程的

收稿日期: 2025-04-23 修回日期: 2025-06-06

基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2022QD147); 国家重点研发计划(2021YFC3201005); 青岛农业大学博士启动基金(663/1122004)

作者简介: 邵 芸(1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为环境DNA。E-mail: sherin536@163.com

通信作者: 杜津柘, E-mail: djz@qau.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

相互作用^[17-18]。另外,在更大空间尺度上,区域差异可能使得确定性过程对群落的影响更大^[19]。

长江水生生物资源丰富,是我国宝贵的种质资源库。近20年来,随着人类活动加剧,长江水生生物多样性受到威胁。如源头区域的草甸和湿地生态系统退化,上游水电设施修建降低河流连通性,中下游沿江企业排污等,都可能影响水生生物群落演变^[20]。本研究利用eDNA技术,从群落组成、优势物种、多样性等方面揭示硅藻及绿藻群落的区域差异性及相关因子,解析其群落

构建机制,为长江水生态保护修复提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

综合考虑国家水环境监测断面布设以及区域特征,从长江源头区域至下游共布设89个调查点位(上游46个点位,编号为1~46;中游22个点位,编号为47~68;下游21个点位,编号为69~89)。各区域采样点信息见图1。

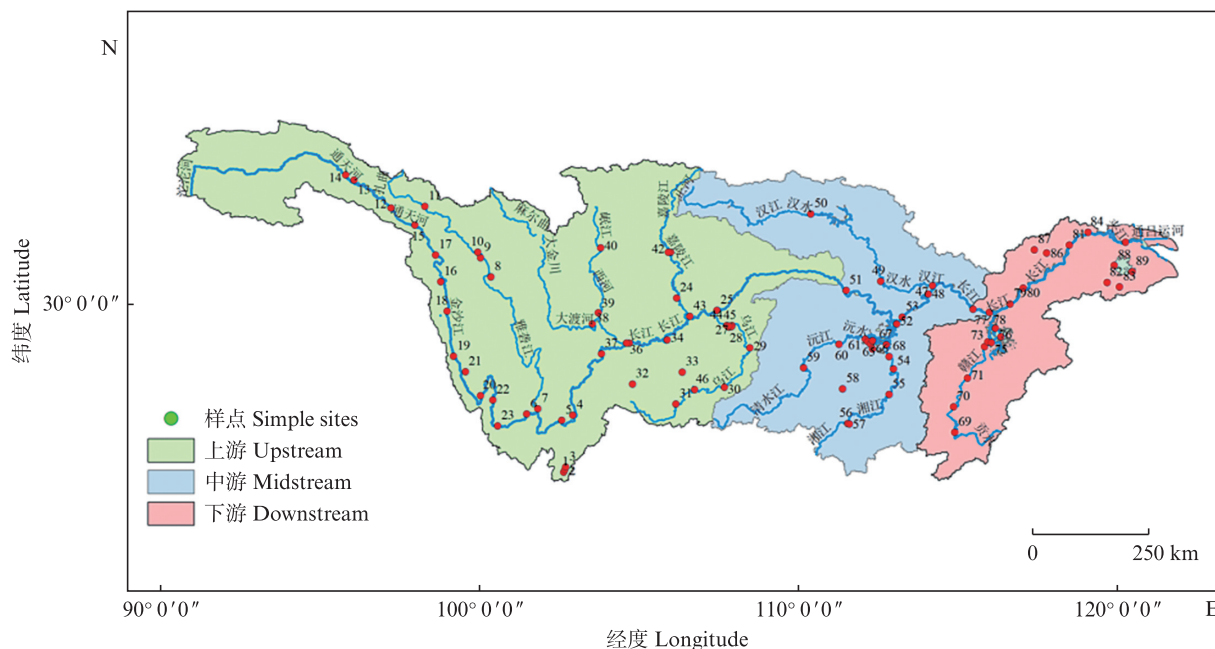


图1 长江流域调查采样点位

Fig. 1 Sampling sites of the Yangtze River

2023年3月到4月开展全流域采样。采用便携式多参数水质检测仪(哈希HQ2100,美国)对水温($T, ^\circ\text{C}$)、pH、电导率($\text{EC}, \mu\text{S}/\text{cm}$)、浊度(Turb, NTU)和溶解氧($\text{DO}, \text{mg}/\text{L}$)等5项水质参数进行现场检测。佩戴无菌手套,使用采水器在水表层下50 cm采集水样,每个点位采集3个平行的混合水样6 L。样品保存于灭菌密封的广口瓶中并冷藏保存,其中1 L用于实验室内的水质检测,剩余5 L用于eDNA过滤。在实验室内检测的水质参数包括氨氮($\text{NH}_3\text{-N}, \text{mg}/\text{L}$)、高锰酸盐指数($\text{COD}_{\text{Mn}}, \text{mg}/\text{L}$)、总氮($\text{TN}, \text{mg}/\text{L}$)、总磷($\text{TP}, \text{mg}/\text{L}$)、化学需氧量($\text{COD}_{\text{Cr}}, \text{mg}/\text{L}$)、叶绿素a($\text{Chl.a}, \text{mg}/\text{L}$)、总有机碳($\text{TOC}, \text{mg}/\text{L}$)、氟化物($\text{F}^-, \text{mg}/\text{L}$)和硝酸盐($\text{NO}_3^-, \text{mg}/\text{L}$),全部按照国家标准方法进行检验。eDNA水样使用

LEADFLUID(BT103S)调速型蠕动泵和 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜在8 h内完成过滤,每个点位过滤同样体积的纯净水作为eDNA阴性对照。每个水样过滤前,将过滤设备用5%次氯酸钠消毒,并用无菌水冲洗,防止交叉污染。过滤完成后,用无菌镊子将滤膜折叠放入5 mL无菌冻存管中,立即置于液氮保存至DNA提取。

1.2 环境DNA提取及PCR扩增

使用DNeasy PowerWater Sterivex Kit(Qiagen,德国)试剂盒并参照使用说明书提取滤膜eDNA。在提取过程中,设置一个阴性对照,不加入样本,使用相同试剂和操作流程进行处理。提取的eDNA经质检合格后,利用真核生物18S V9区引物^[21-22](正向引物1380F: 5'-TCCCTGCCHTTTGTACACAC-3',反向引物

1510R: 5'-CCTTCYGCAGGTTACCTAC-3') 扩增 cDNA^[21,23]。PCR 反应体系: 37 μL ddH₂O, 5 μL 2 \times Taq Master Mix (Dye Plus), 1 μL 10 $\mu\text{mol/L}$ 1380F, 1 μL 10 $\mu\text{mol/L}$ 1510R, 2 μL 模板 DNA。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s、55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 共循环 35 次, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。采用 GeneRead Size Selection Kit (Qiagen) 纯化 PCR 产物, 将纯化产物在 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存直至使用。在 PCR 扩增中, 每批反应设置一个扩增阴性对照, 不加入模板 DNA。

1.3 高通量测序数据获取与分析

将上述 DNA 样本进行高通量测序, 按照 ALFA-SEQ DNA Library Prep Kit 标准流程进行建库操作, 利用 NanoDrop 和 QSEP400 高通量核酸蛋白分析系统对文库质量进行评价, 利用 Illumina NovaSeq 6000 平台对文库进行测序。测序得到的原始图像数据文件经碱基识别 (Base calling) 分析转化为原始测序序列 (Raw reads), 结果以 FASTA 文件格式保存。测序得到的 reads 首先通过 Fastp 软件 (v0.12.4)^[24] 进行质控, 去除接头, 并过滤掉低质量的 reads, 包括长度小于 100 bp 的 reads、N 碱基超过 5 的 reads、碱基平均质量值低于 20 的 reads。用 FastQC 软件 (v0.11.9)^[25] 对 reads 的质量进行评测。然后用 USEARCH 软件 (v11.0.667)^[26] 对过滤后的双端 reads 进行拼接, 并去除引物以及测序错误超过 1% 的序列, 拼接序列的长度确保在扩增产物指定长度范围内。过滤后, 将所有样本的拼接序列进行合并, 通过 OTU 聚类计算代表序列。所有阴性对照样本与试验样本的流程相同, 剔除仅在对照中出现的 OTU 以排除背景污染。使用 VSEARCH 软件 (v2.15.2)^[27] 对合并序列进行去重, 并去除丰度低于 6 的序列。然后将拼接序列按照 98% 相似度进行聚类, 并采用 uchime3 算法去除嵌合体序列, 得到最终 OTU 序列集。将合并样本的拼接序列与 OTU 序列集比对, 得到最终 OTU 表。利用 PR2 数据库^[28] 对 OTU 进行注释, 过滤掉比对长度低于 90% 且相似度低于 80% 的序列, 并根据相似度 98%、95%、90%、85% 的 4 个阈值依次注释为种、属、科、目、纲 5 个分类水平。

对注释得到的物种数据进行清洗, 剔除非浮游植物的 OTU 数据, 并在中国生物志库

(<https://species. sciencereading. cn/biology/v/biologicalIndex/122.html>) 中逐一按照拉丁名查询比对, 仅保留在长江流域历史调查中有记载的种/属。除硅藻门与绿藻门外的其他类群丰度较低, 本研究不考虑。

1.4 数据分析

用 ArcGIS 10.8 绘制样点图, 所有数据分析均使用 R 4.4.2。使用 Origin 绘制水质因子数据图, 用 *t* 检验分析数据的组间差异。采用相关性分析和 Mantel 检验评估区域环境对群落组成的影响。使用 vegan 包进行丰富度和多样性指数计算、Mantel 检验和 RDA 分析等, RDA 分析中, 对所有环境因子进行方差膨胀因子 (Variance Inflation Factor, VIF) 检验, 剔除 VIF 值大于 10 的变量以排除高度共线性影响。使用 VennDiagram 包进行韦恩图绘制。

基于中性群落模型 (Neutral community model, NCM)^[31] 探究群落构建过程。该模型假设群落由生态功能等效的物种组成, 群落结构主要受随机漂变与扩散驱动, 预测元群落中发生频率和相对物种丰度之间的关系。拟合优度 (R^2) 越高, 表示中性过程越重要; 用参数 N_m 估计群落间的物种扩散强度。采用基于零模型的 β 最近分类单元指数 (βNTI) 联合 Raup-Crick 距离 (RC) 进一步分析群落构建机制。当 $|\beta\text{NTI}| > 2$ 时, 认为选择性过程显著; 当 $|\beta\text{NTI}| < 2$ 且 $\text{RC} > 0.95$ 、 $\text{RC} < -0.95$ 或 $|\text{RC}| \leq 0.95$ 时, 分别归因于扩散限制、均质扩散或生态漂变等过程^[32]。采用距离衰减模型分析群落的生物地理模式。使用 geosphere 包根据经纬度坐标计算两两坐标点之间的 Euclidean 距离。使用 vegan 包计算样点的 bray-curtis 距离, 并分析地理距离与样点距离之间的线性相关关系。

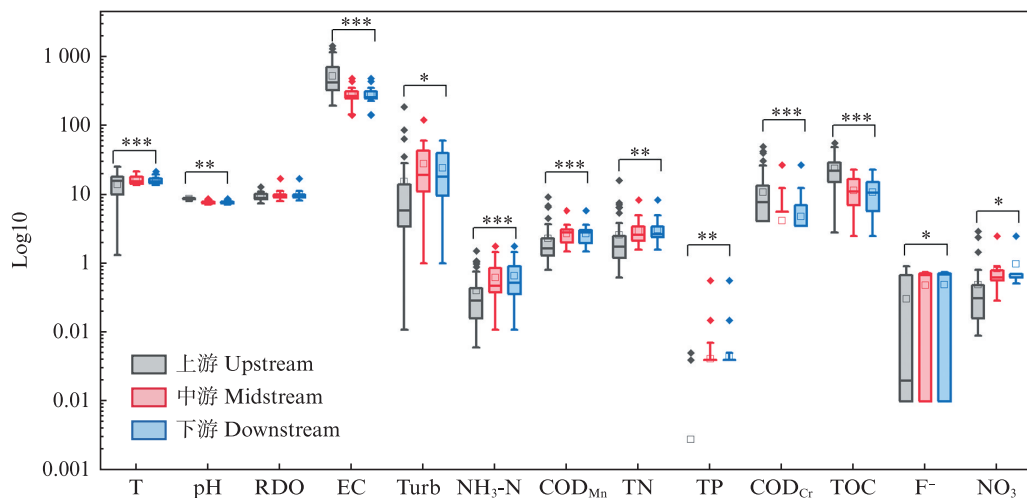
2 结果

2.1 长江水质区域差异

测定的长江上、中、下游水质参数结果见图 2。上游的温度、电导率、浊度、 COD_{Mn} 、总氮、 COD_{Cr} 、硝酸盐数值变化区间均比中下游更大。温度、电导率、氨氮、 COD_{Mn} 、 COD_{Cr} 、pH、总氮 ($P < 0.01$) 以及 TOC ($P < 0.001$) 差异均极显著, 浊度、F 和硝酸盐也差异显著 ($P < 0.05$)。由上游到下游, 温度、溶解氧、氨氮浓度逐渐递增; pH、 COD_{Cr} 和 TOC 含量递减; 电导率和叶绿素 a 浓度先减后增,

浊度、总氮、总磷、氟离子和硝酸盐浓度先增后减。综上,长江水质的区域差异性显著,这为生

物群落的环境分异性提供了基础。



中心的横线代表平均值。*, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$ 。

The horizontal line in the center represents the average value. *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$.

图2 长江流域水质参数对比

Fig. 2 Comparison of water quality factors in the Yangtze River

2.2 浮游硅藻和绿藻群落组成特征

在长江流域共检出389个浮游硅藻和绿藻OTU(图3),隶属于62科101属,其中,绿藻门检出57属,硅藻门检出44属。基于OTU检测结果进行分析,结果表明上游硅藻和绿藻丰度整体较高,少部分点位超过150;中下游点位的丰度全部低于150。在长江上、中、下游两种藻类之间均没有明显丰度差异。在上、中、下游分别检出378、322和318个OTU,其中,268个OTU同时在上、中、下游被检出,上游与中游、上游与下游分别共同检出313个和315个OTU。有18个OTU仅出现于上游;8个OTU仅出现于中游,分别属于绿藻门的类球藻属(*Nautococcus*)和衣藻属(*Chlamydomonas*),以及硅藻门的平板藻属(*Tabellaria*)和桥弯藻属(*Cymbella*);2个OTU仅出现于下游,分别属于绿藻门的小球藻属(*Chlorella*)和硅藻门的渐窄盘杆藻属(*Plagiotropis*)。

长江上游共检出68种优势藻,其中66种为硅藻,2种为绿藻;中游共检出28种优势藻,其中13种为硅藻,15种为绿藻;下游检出16种,其中9种为硅藻,7种为绿藻。上游和下游的优势度范围接近,中游的绒毛平板藻优势度极高,达0.434。变异直链藻、绒毛平板藻、梅尼小环藻、舟形藻及微细针杆藻在全流域的优势地位明显。

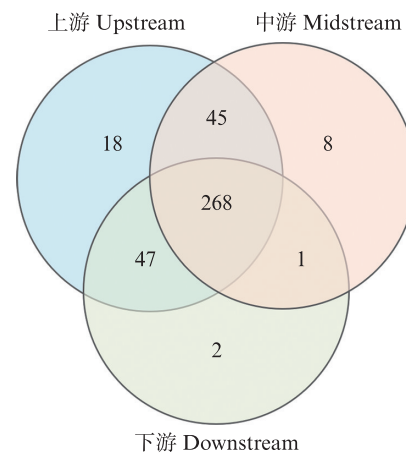


图3 长江浮游硅藻和绿藻OTU在上中下游的数量分布

Fig. 3 The amounts of OTUs of planktonic Bacillariophyta and Chlorophyta across upstream, midstream and downstream of the Yangtze River

对优势藻的功能类群分析表明:上游第一大优势物种变异直链藻属于 T_b 类功能类群,偏好水流湍急的水体,可耐受浊度较高、高度缺乏光照的环境。梅尼小环藻属于C类功能类群,多生存于富营养化水体中,可耐受少光、缺碳的环境。舟形藻属和桥弯藻属属于MP类群,喜好扰动频繁的浊水态无机型水域。中下游的优势种针杆藻属常存在于富营养化浊水水域,对营养缺乏较敏感。下游优势种脆杆藻属属于P类群,常生活于富营养化变温层,可耐受低光照和碳缺乏环境。

表 1 长江各区域优势物种信息
Tab. 1 Information of dominant species in each region of the Yangtze River

区域 Regions	优势种属(优势度) Dominant genus or species (Dominance Index)
上游 Upstream	变异直链藻 <i>Melosira varians</i> (0.101)、四鞭藻属 <i>Carteria</i> (0.097)、绒毛平板藻 <i>Tabellaria flocculosa</i> (0.093)、梅尼小环藻 <i>Cyclotella meneghiniana</i> (0.041)、三斑点舟形藻 <i>Navicula tripunctata</i> (0.032)、柄卵形藻 <i>Cocconeis pediculus</i> (0.030)、泉生菱形藻 <i>Nitzschia fonticola</i> (0.028)、心形四片藻 <i>Tetraselmis cordiformis</i> (0.024)
中游 Midstream	绒毛平板藻 <i>Tabellaria flocculosa</i> (0.434)、近缘桥弯藻 <i>Cymbella affinis</i> (0.202)、心形四片藻 <i>Tetraselmis cordiformis</i> (0.168)、星状空星藻 <i>Coelastrum astroideum</i> (0.163)、布鲁克曼舟形藻 <i>Navicula brockmannii</i> (0.126)、衣藻属 <i>Chlamydomonas</i> (0.104)、异楔藻属 <i>Heterocladus</i> (0.101)、波状原礁膜 <i>Protonemata undulata</i> (0.100)、披针锚藻 <i>Ankistrodesmus lanceolatus</i> (0.096)、葡萄藻属 <i>Botryococcus</i> (0.067)、桥弯藻属 sp.1 <i>Cymbella</i> sp.1 (0.059)、桥弯藻属 sp.2 <i>Cymbella</i> sp.2 (0.058)、条纹小环藻 <i>Cyclotella striata</i> (0.056)、羽状尾孢藻 <i>Uroglena pennata</i> (0.054)、利比亚双眉藻 <i>Amphora libyca</i> (0.051)、嗜酸衣藻 <i>Chlamydomonas acidophila</i> (0.050)、卵形藻属 <i>Cocconeis</i> (0.045)、柏诺林针杆藻 <i>Synedra berolinensis</i> (0.042)、四鞭藻属 <i>Carteria</i> (0.035)、类球藻属 <i>Chlorella</i> (0.033)、柄卵形藻 <i>Cocconeis pediculus</i> (0.031)、塔胞藻属 <i>Pyramimonas</i> (0.031)、小型平藻 <i>Planophila parvula</i> (0.029)、微细针杆藻 <i>Fragilaria tenuissima</i> (0.027)、杜氏藻属 <i>Dunaliella</i> (0.025)、细端菱形藻 <i>Nitzschia acicularis</i> (0.025)、衣藻属 <i>Chlamydomonas</i> (0.022)、葡萄藻 <i>Botryococcus</i> (0.021)
下游 Downstream	微细针杆藻 <i>Fragilaria tenuissima</i> (0.171)、透镜壳衣藻 <i>Chlamydomonas lenticularis</i> (0.134)、衣藻属 <i>Chlamydomonas</i> (0.124)、梅尼小环藻 <i>Cyclotella meneghiniana</i> (0.111)、变异直链藻 <i>Melosira varians</i> (0.070)、四鞭藻属 <i>Carteria</i> (0.067)、渐窄盘杆藻属 <i>Luticola</i> (0.062)、脆杆藻属 <i>Fragilaria</i> (0.059)、心形四片藻 <i>Tetraselmis cordiformis</i> (0.052)、卵形藻属 <i>Cocconeis</i> (0.050)、绒毛平板藻 <i>Tabellaria flocculosa</i> (0.043)、星状空星藻 <i>Coelastrum astroideum</i> (0.034)、网球藻属 <i>Dictyosphaerium</i> (0.033)、海链藻属 <i>Thalassiosira</i> (0.029)、盘藻属 <i>Gonium</i> (0.024)、谷皮菱形藻 <i>Nitzschia palea</i> (0.023)

2.3 浮游硅藻及绿藻丰度和多样性

物种丰富度(Chao 1 和 ACE)和多样性(Shannon-Wiener、Simpson 和 Pielou 指数)计算结果显示,上游硅藻和绿藻丰度较高,中游与下游丰度接近;上游和下游的生物多样性相对较高,Shannon-Wiener 指数中值超过 2.0,中游的 Shannon-Wiener 指数接近 2.0。另外,Goods coverage 指数多数接近 1,说明测序深度较好,数据代表性良好(图 4)。

2.4 浮游硅藻和绿藻群落的环境相关性

通过 Mantel 检验探究长江各区域浮游硅藻和绿藻群落与环境因子间相关性,结果见图 5。上游群落与 pH 显著相关($P<0.05$);中游群落与 TOC 极显著相关($P<0.01$),与电导率显著相关;下游群落与 DO、COD_{Mn} 和 F 均极显著相关($P<0.01$)。尽管显著性较强,但相关系数较低,表明水体理化因子对群落的解释有限(图 4a-4c)。

RDA 分析表明,总氮对群落的解释最强($R^2=0.42, P=0.001$),其次是电导率($R^2=0.30, P=0.001$)和 pH($R^2=0.24, P=0.001$),除此之外,TOC、温度、浊度、COD_{Cr} 和 *Chl.a* 都有不同程度的解释作用(图 4d)。

2.5 群落构建机制

中性群落模型的拟合结果(图 6a)表明:长江上游($R^2=0.533$)、中游($R^2=0.239$)和下游($R^2=0.379$)的群落构建过程均由随机过程主导($R^2>0.2$)。随机过程在上游有较高的解释率(53.3%)和扩散强度($Nm=679$),说明物种定殖随机性高。

基于 β NTI 的零模型量化了随机性和确定性过程对群落组装的相对贡献。据 β NTI 和 RC 指数的综合判断(图 6b),长江全流域及局部区域的硅藻和绿藻群落构建均受随机性过程主导(77%~95%),其中扩散限制解释率为 34%~62%,无主导过程(漂变、多样化、弱扩散、弱选择等)解释率为 19%~57%,而环境选择(包括同质选择和异质选择)的作用占 9%~23%(图 6b)。

群落的 Bray-Curtis 相似性与地理坐标之间 Euclidean 距离的线性分析表明,上、中、下游都存在明显的距离衰减模式,即群落相似性均随地理距离的增加而显著衰减(图 6c),且从上游到下游,距离衰减现象逐渐加重,下游衰减趋势最强烈($R^2=0.2449, P<0.001$),上游最弱($R^2=0.006, P<0.05$)。

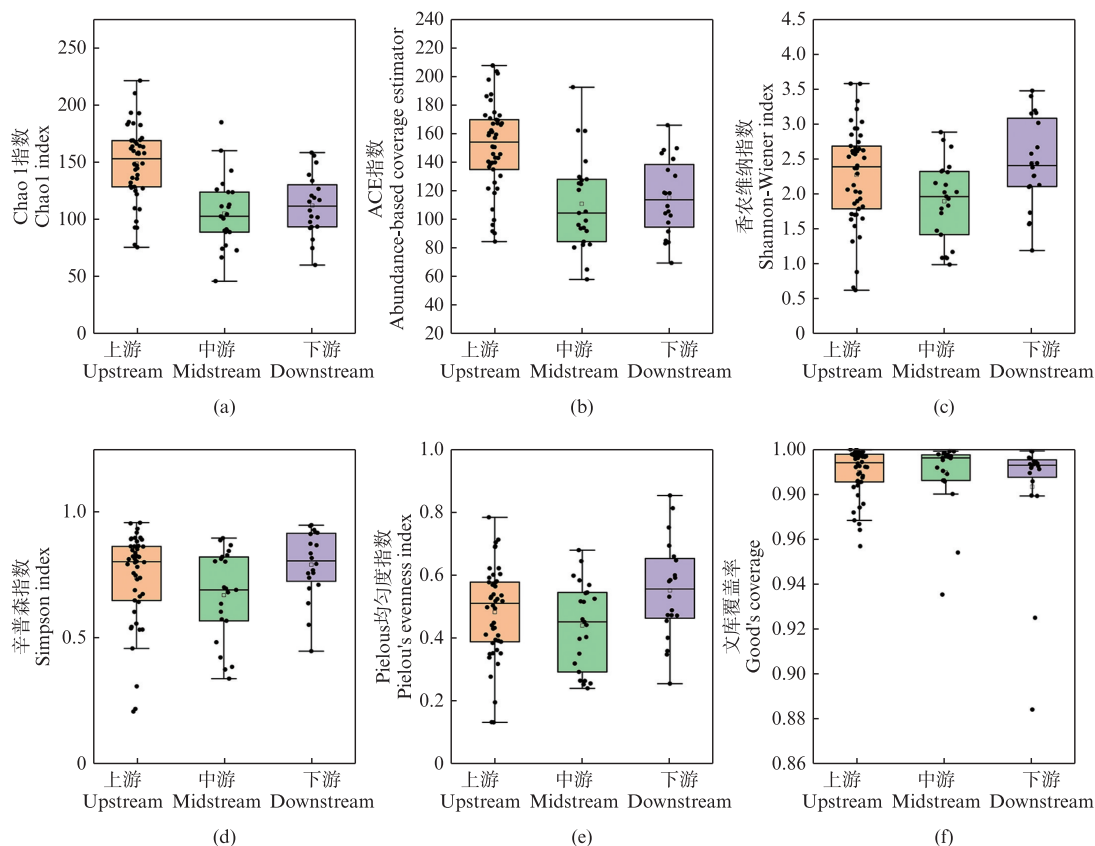


图4 长江浮游硅藻及绿藻丰度和多样性

Fig. 4 Abundance and diversity of planktonic *Bacillariophyta* and *Chlorophyta* in the Yangtze River

3 讨论

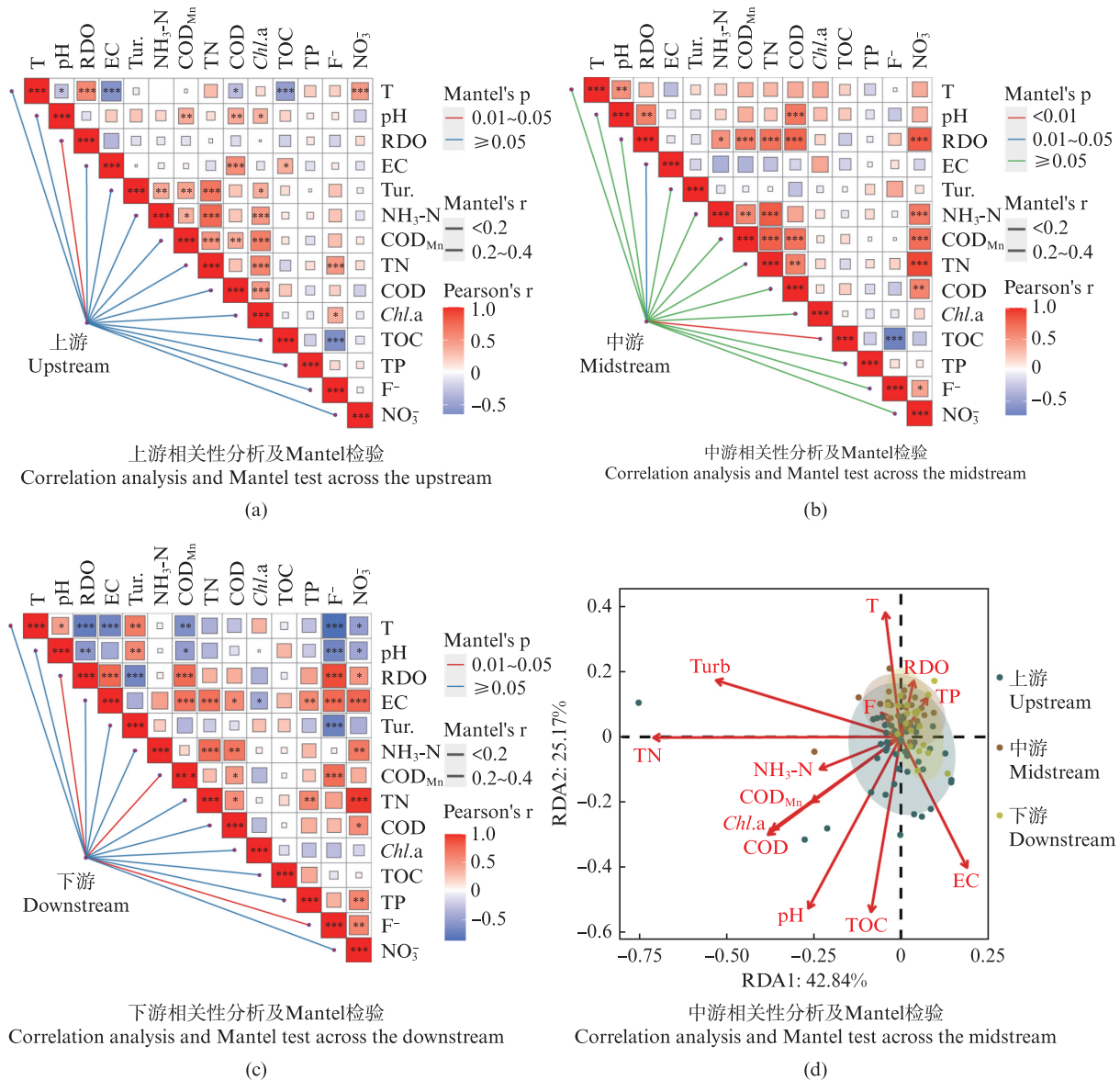
3.1 长江流域硅藻和绿藻群落特征及优势种属

本研究表明,长江上游的浮游硅藻和绿藻 OTU 丰度略高于中下游,硅藻和绿藻之间无明显相对优势。硅藻在河流中的广泛分布与其丰富的种类以及对环境较强的耐受能力有关,如本研究中,舟形藻属在上、中、下游均有优势物种,生态位较宽^[30]。另外,上游的人为干扰较少,物种丰富度更高,但下游的多样性高于上游,推测与区域温度、营养条件及水文等条件有关^[31-32],长江源头的低水温可能限制了浮游植物多样性^[33]。水力截流也被认为与浮游植物有重要关系,下游地势平坦、流速缓慢,为藻类生存提供了更加适宜的环境条件,藻类更容易聚集^[34-35]。但本研究仅在春季进行采样,未考虑季节动态,结果具有一定的时间局限性。

3.2 硅藻和绿藻与环境因子和地理空间的相关性

本研究表明,总氮是与藻类群落相关性最强

的环境因子,电导率、pH、TOC、温度、浊度、 COD_{Cr} 也有不同程度的相关性。氮是浮游植物合成氨基酸、核酸及光合作用色素的必需元素,是初级生产力的重要限制因子之一^[36]。在低氮条件下,群落通常处于“氮限制”状态,藻类生长受抑,常表现为低生物量、低优势度、高多样性;而当氮浓度升高至一定阈值后,系统进入“氮富集”阶段,可显著提升藻类总量,以及诱导部分类群占据主导地位^[37],可能导致群落趋于单一化,表现为低多样性、高优势度的结构特征^[38]。长江水体的氮元素主要来自农业面源污染以及城市生活污水和工业废水排放^[39-40],之前对长江干流藻类的研究也凸显了硅藻与总氮的重要关系^[30],也有研究表明,总氮和水力停留时间是浮游植物生物量的最佳预测因子^[41-42]。另外,湖泊中浮游植物群落生物量和多样性通常受到营养物质及其相对占比的限制^[43-44],但生物群落与环境因子之间的反馈机制复杂,难以简单对应到单个因子。

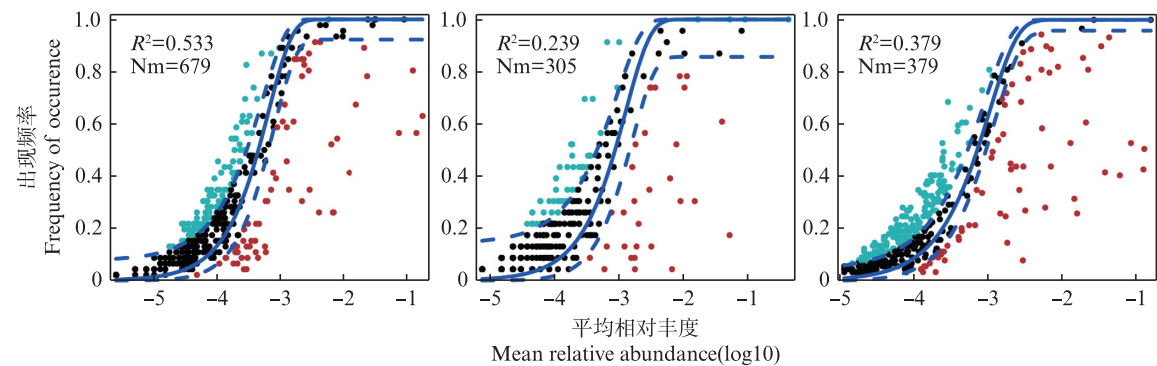


(a), (b) 和 (c) 分别为上游、中游和下游的相关性分析及Mantel检验。(d) 为全流域环境因子与群落的RDA分析。*, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$.

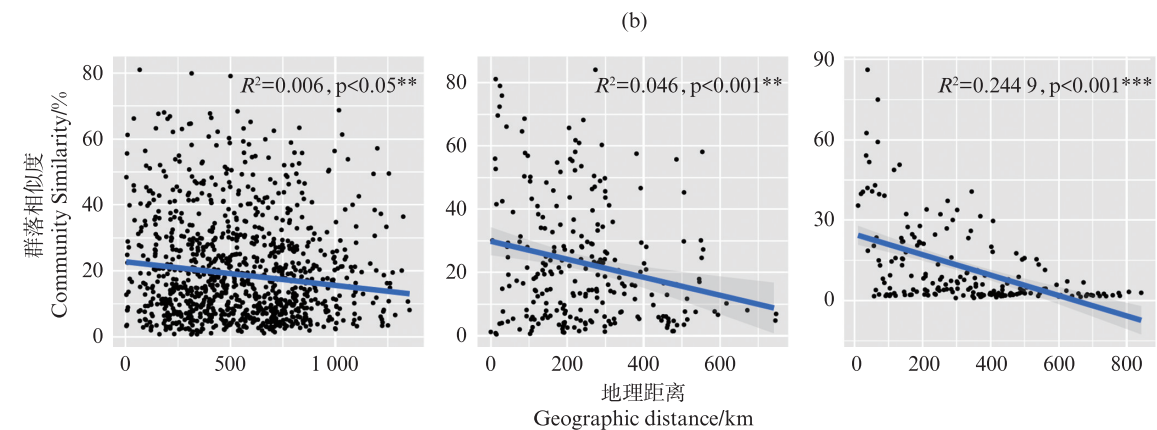
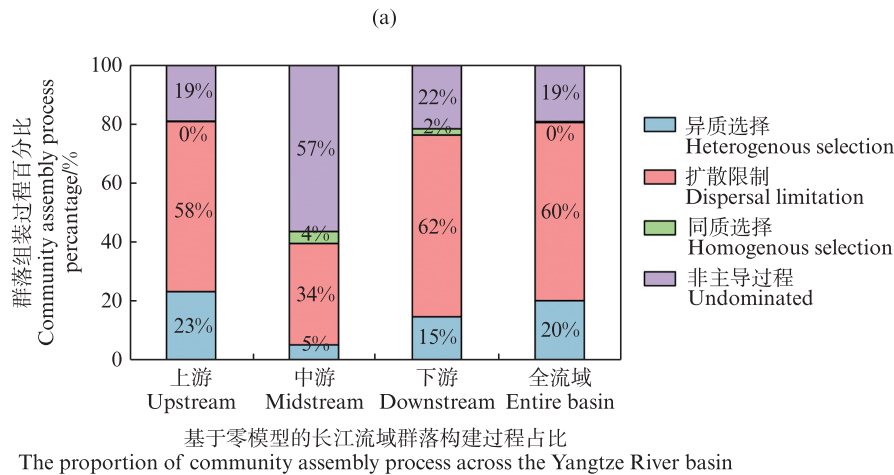
(a), (b) and (c) are correlation analysis and Mantel test in the upstream, midstream and downstream. (d) is RDA analysis of environmental factors and communities in the whole basin. *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$.

图5 长江浮游硅藻和绿藻与环境因子的相关性分析

Fig. 5 Correlation analysis of planktonic *Bacillariophyta* and *Chlorophyta* in the Yangtze River and environmental factors



上游、中游和下游的中性群落模型拟合结果。蓝色和红色的点分别代表出现频率高于和低于NCM预测的OTU，虚线表示模型预测值(实线)周围的95%置信区间。 R^2 表示模型的拟合度，Nm表示区域物种库规模和迁移率的乘积。
Neutral community model fitting results across upstream, midstream and downstream of the Yangtze River. OTUs that occur more and less frequently than predicted by the NCM are shown in blue and red, respectively. Dashed lines represent 95% confidence intervals around the model prediction (solid line). The R^2 value indicates the model's fit and m indicates the estimated migration rate, Nm represents the product of regional species bank size and mobility.



上游、中游和下游真核浮游植物群落距离衰减分析，*， $P \leq 0.05$ ，**， $P \leq 0.01$ ，***， $P \leq 0.001$ 。
Distance attenuation analysis of eukaryotic phytoplankton communities across upstream, midstream and downstream, *, $P \leq 0.05$, **, $P \leq 0.01$, ***, $P \leq 0.001$.

图6 长江浮游硅藻和绿藻群落构建机制与距离衰减效应
Fig. 6 The mechanism of community construction and distance attenuation effect of planktonic diatoms and green algae in the Yangtze River

3.3 浮游硅藻和绿藻群落构建过程
中性模型和零模型均表明长江浮游植物群落构建主要受随机过程驱动，但强度稍有差异。零模型进一步显示扩散限制和无主导过程是主

要生态过程。中性模型假设所有 OTU 在生态功能上具有等价性,而藻类之间在光合机制、营养获取和耐逆性等方面存在显著差异^[45-46],因此中性模型对群落组装过程的解释存在一定局限。前人研究^[47-48]表明,随机性和确定性生态过程表现出尺度依赖性,在局部尺度上,群落构建主要由确定性过程驱动,特别是同质选择。而在更大空间尺度上,扩散限制会发挥更大作用^[49]。对南海大陆架沉积物中微生物群落的研究表明,相邻点位的群落组成差异主要受同质选择的影响,而相距较远的点位之间的群落差异主要受扩散限制的影响^[50]。中小尺度河湖则主要由环境选择作用主导^[51-52]。尽管 RDA 分析表明环境因子解释了相当部分的群落分布特征,但在零模型中环境过滤的作用非常微弱。以往对长江流域硅藻群落组装机制的研究表明,纯环境因子解释的变异比例高于纯空间因子解释的变异比例,但大部分总变异仍未得到解释^[21]。大型河流高度的环境异质性、复杂的水文条件和多样化的生物相互作用导致各种生态过程的影响更加均衡,不易出现单一过程主导群落构建的现象,因此体现为无主导过程(包括弱扩散、弱选择、漂变、多样化等)占比较高^[53-54]。长江水体流速高、水体交换频繁、外源扰动多样,导致物种扩散的随机性增强,从而削弱了环境因子的筛选作用。

与前人对长江浮游和底栖硅藻的研究呈现出显著的距离衰减模式^[21]类似,本研究表明长江浮游硅藻和绿藻群落表现出明显的地理空间差异,且下游的距离衰减比中上游更加强烈。大尺度河流中,生物群落构建的随机性和确定性过程之间的平衡主要由水文动力学等因素调节^[51,55]。河流流量的减少和水文连通性的降低可能会对浮游植物的运动造成物理障碍,从而导致更大的区域分化^[56]。长江下游连通性较好,但本研究表明下游的距离衰减现象反而更加强烈,这可能与人类活动增强、排污强度区域差异大等因素有关。未来的研究可采用更精细的空间尺度分析和长时间序列监测数据,构建耦合水文地理等多要素的生态模型,以更准确地揭示群落构建过程。

3.4 环境 DNA 技术用于河流浮游植物调查的潜力

传统上对浮游植物调查主要采取镜检方式,

2016 年至 2017 年,长江下游的 4 次传统调查检出浮游植物 178 属,其中硅藻门最多,绿藻门其次^[57],同期长江干流的 4 次调查共发现浮游植物 53 属,也是硅藻和绿藻占优^[58]。综上,硅藻和绿藻是长江浮游植物的优势类群^[37],其广泛分布体现了良好的环境适应性^[59]。整体而言,本研究的 eDNA 检测结果^[60]与传统鉴定结果吻合较好,且检出藻类更丰富,体现了高通量测序技术用于藻类监测的潜力。但本研究中 eDNA 技术对除硅藻和绿藻之外的其他类群检出较少,这可能体现了长江浮游植物类群的特点,如明显高丰度物种的优势可能掩盖了其他分类群^[61-62],参考数据库中的序列覆盖不足也可能导致 OTU 注释偏差,因此建立本地数据库至关重要。此外,通用引物在大尺度流域中存在明显局限性,未来可考虑优化引物适用性或采用多引物联合扩增策略,以提高覆盖度^[63]。

4 结论

本研究利用 eDNA 技术在全流域水平对长江浮游硅藻和绿藻的多样性特征和群落构建机制进行了研究,共检出 62 科 101 属 389 个硅藻和绿藻 OTU,其分布体现出一定的区域差异性,多样性排序为下游>上游>中游。上游群落与 pH 显著相关,中游群落与 TOC 和电导率显著相关,下游群落与 DO、COD_{Mn} 和 F 显著相关;整体上,总氮在较大程度上解释了硅藻和绿藻群落分布特征。群落构建过程主要由扩散限制等随机性过程主导,且群落分布体现出明显的距离衰减效应。eDNA 可作为生物监测的有力工具,未来 eDNA 检测策略的进一步优化可提升刻画长江水生生物群落特征的精准性。

作者声明本文无利益冲突。

参考文献:

- [1] NASELLI-FLORES L. Morphological analysis of phytoplankton as a tool to assess ecological state of aquatic ecosystems: the case of Lake Arancio, Sicily, Italy[J]. *Inland Waters*, 2014, 4(1): 15-26.
- [2] ZHAO Q H, VAN DEN BRINK P J, XU C, et al. Relationships of temperature and biodiversity with stability of natural aquatic food webs [J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 3507.
- [3] MCCARTHY J J, GOLDMAN J C. Nitrogenous

- nutrition of marine phytoplankton in nutrient-depleted waters[J]. *Science*, 1979, 203(4381): 670-672.
- [4] DHAR J, BAGHEL R S. Role of dissolved oxygen on the plankton dynamics in spatio-temporal domain [J]. *Modeling Earth Systems and Environment*, 2016, 2(1): 6.
- [5] SIEGFRIED C A, BLOOMFIELD J A, SUTHERLAND J W. Acidity status and phytoplankton species richness, standing crop, and community composition in Adirondack, New York, U. S. A. lakes [J]. *Hydrobiologia*, 1989, 175(1): 13-32.
- [6] CHEN J Y, WANG S P, YAN Z G, et al. eDNA of zooplankton reveals the ecological community thresholds for key environmental factors in the Baiyangdian Lake aquatic ecosystem[J]. *Environmental Sciences Europe*, 2023, 35(1): 56.
- [7] DJURHUUS A, PITZ K, SAWAYA N A, et al. Evaluation of marine zooplankton community structure through environmental DNA metabarcoding [J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2018, 16(4): 209-221.
- [8] QIAN M M, WANG Z Y, ZHOU Q, et al. Environmental DNA unveiling the fish community structure and diversity features in the Yangtze River basin [J]. *Environmental Research*, 2023, 239: 117198.
- [9] 母亚雯, 杨江华, 张丽娟, 等. 浮游藻类环境DNA宏条形码监测引物的比较与验证[J]. *中国环境监测*, 2024, 40(2): 167-176.
- MU Y W, YANG J H, ZHANG L J, et al. Comprehensive comparison and validation of eDNA metabarcoding primers for phytoplankton biomonitoring [J]. *Environmental Monitoring in China*, 2024, 40(2): 167-176.
- [10] YAN Z G, ZHU X M, ZHANG S W, et al. Environmental DNA sequencing reveals the regional difference in diversity and community assembly mechanisms of eukaryotic plankton in coastal waters[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1132925.
- [11] YAO Y, CHEN J Y, GONG X L, et al. Species delimitation and cryptic diversity in *Rheotanytarsus* Thienemann & Bause, 1913 (Diptera: Chironomidae) based on DNA barcoding[J]. *Insects*, 2025, 16(4): 370.
- [12] 谷思雨, 陈凯, 金小伟, 等. 水生生物环境DNA监测技术的发展、应用与标准化[J]. *水生生物学报*, 2024, 48(8): 1443-1458.
- GU S Y, CHEN K, JIN X W, et al. Development, applications, and standardization of environmental DNA monitoring technology for aquatic organisms [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2024, 48(8): 1443-1458.
- [13] 牛克昌, 刘怿宁, 沈泽昊, 等. 群落构建的中性理论和生态位理论[J]. *生物多样性*, 2009, 17(6): 579-593.
- NIU K C, LIU Y N, SHEN Z H, et al. Community assembly: the relative importance of neutral theory and niche theory [J]. *Biodiversity Science*, 2009, 17(6): 579-593.
- [14] ZHOU J, NING D. Stochastic community assembly: Does it matter in microbial ecology? [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2017, 81(4): e00002-17.
- [15] CHEN W D, REN K X, ISABWE A, et al. Stochastic processes shape microeukaryotic community assembly in a subtropical river across wet and dry seasons [J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 138.
- [16] WANG S P, GU S S, ZHANG Y Q, et al. Microeukaryotic plankton community dynamics under ecological water replenishment: Insights from eDNA metabarcoding [J]. *Environmental Science and Ecotechnology*, 2024, 20: 100409.
- [17] CHASE J M. Stochastic community assembly causes higher biodiversity in more productive environments [J]. *Science*, 2010, 328(5984): 1388-1391.
- [18] ZHOU J Z, DENG Y, ZHANG P, et al. Stochasticity, succession, and environmental perturbations in a fluidic ecosystem [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(9): E836-E845.
- [19] STEGEN J C, LIN X J, KONOPKA A E, et al. Stochastic and deterministic assembly processes in subsurface microbial communities [J]. *International Society for Microbial Ecology*, 2012, 6(9): 1653-1664.
- [20] WANG J W, LIU Q X, ZHAO X F, et al. Molecular biogeography of planktonic and benthic diatoms in the Yangtze River [J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 153.
- [21] BRADLEY I M, PINTO A J, GUEST J S. Design and evaluation of illumina MiSeq-compatible, 18S rRNA gene-specific primers for improved characterization of mixed phototrophic communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(19): 5878-5891.
- [22] AMARAL-ZETTLER L A, MCCLIMENT E A, DUCKLOW H W, et al. 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.
- [23] XUE Y Y, CHEN H H, YANG J R, et al. Distinct patterns and processes of abundant and rare eukaryotic plankton communities following a reservoir cyanobacterial bloom [J]. *International Society for Microbial Ecology*, 2018, 12(9): 2263-2277.
- [24] ANDREWS S, FASTQC. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor [J]. *Babraham Bioinformatics*, 2014.

- [25] EDGAR R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26 (19): 2460-2461.
- [26] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [27] ROGNES T, FLOURI T, NICHOLS B, et al. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics [J]. *PeerJ*, 2016, 4: e2584.
- [28] GUILLOU L, BACHAR D, AUDIC S, et al. The Protist Ribosomal Reference database (PR2): a catalog of unicellular eukaryote Small Sub-Unit rRNA sequences with curated taxonomy [J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(D1): D597-D604.
- [29] SLOAN W T, LUNN M, WOODCOCK S, et al. Quantifying the roles of immigration and chance in shaping prokaryote community structure [J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(4): 732-740.
- [30] 胡愈炘, 曹亮, 屈仁超, 等. 长江流域着生藻类群落结构的格局及其生态评价[J]. *环境科学*, 2022, 43 (8): 3998-4007.
- HU Y X, CAO L, QU R C, et al. Community composition and assessment of the aquatic ecosystem of periphytic algae in the Yangtze River Basin [J]. *Environmental Science*, 2022, 43(8): 3998-4007.
- [31] RHEE G Y, GOTHAM I J. The effect of environmental factors on phytoplankton growth: temperature and the interactions of temperature with nutrient limitation [J]. *Limnology and Oceanography*, 1981, 26(4): 635-648.
- [32] AGAWIN N S R, DUARTE C M, AGUSTÍ S. Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production [J]. *Limnology and Oceanography*, 2000, 45(3): 591-600.
- [33] CANALE R P, VOGEL A H. Effects of temperature on phytoplankton growth [J]. *Journal of the Environmental Engineering Division*, 1974, 100(1): 231-241.
- [34] RANGEL L M, SILVA L H S, ROSA P, et al. Phytoplankton biomass is mainly controlled by hydrology and phosphorus concentrations in tropical hydroelectric reservoirs [J]. *Hydrobiologia*, 2012, 693(1): 13-28.
- [35] HAMBRIGHT K D, ZOHARY T. Phytoplankton species diversity control through competitive exclusion and physical disturbances [J]. *Limnology and Oceanography*, 2000, 45(1): 110-122.
- [36] MCCLUNEY K E, POFF N L, PALMER M A, et al. Riverine macrosystems ecology: sensitivity, resistance, and resilience of whole river basins with human alterations [J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2014, 12 (1): 48-58.
- [37] 张静, 胡愈炘, 胡圣, 等. 长江流域浮游植物群落的环境驱动及生态评价 [J]. *环境科学*, 2023, 44(4): 2072-2082.
- ZHANG J, HU Y X, HU S, et al. Environmental driving factors and assessment on the aquatic ecosystem of periphytic algae of six inflow rivers in Yangtze River Basin [J]. *Environmental Science*, 2023, 44(4): 2072-2082.
- [38] POXLEITNER M, TROMMER G, LORENZ P, et al. The effect of increased nitrogen load on phytoplankton in a phosphorus-limited lake [J]. *Freshwater Biology*, 2016, 61(11): 1966-1980.
- [39] 陈露, 李纯厚, 魏小岚, 等. 南沙海域夏季氮磷添加模拟实验中浮游植物群落的变化 [J]. *南方水产科学*, 2015, 11(5): 56-66.
- CHEN L, LI C H, WEI X L, et al. Influence of nitrogen and phosphorus enrichment on phytoplankton community structure in Nansha area in summer [J]. *South China Fisheries Science*, 2015, 11(5): 56-66.
- [40] CHEN X J, STOKAL M, KROEZE C, et al. Seasonality in river export of nitrogen: A modelling approach for the Yangtze River [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 671: 1282-1292.
- [41] XU H, CHEN Z Y, FINLAYSON B, et al. Assessing dissolved inorganic nitrogen flux in the Yangtze River, China: Sources and scenarios [J]. *Global and Planetary Change*, 2013, 106: 84-89.
- [42] ZHANG J, GUO Q J, WANG Z T, et al. Phytoplankton dominates the suspended particulate nitrogen source in the Yangtze River [J]. *Journal of Hydrology*, 2022, 615: 128607.
- [43] HOUGH R A, THOMPSON JR R L. The influence of a dissolved inorganic nitrogen gradient on phytoplankton community dynamics in a chain of lakes [J]. *Hydrobiologia*, 1996, 319(3): 225-235.
- [44] BERGSTRÖM A K. The use of TN: TP and DIN: TP ratios as indicators for phytoplankton nutrient limitation in oligotrophic lakes affected by N deposition [J]. *Aquatic Sciences*, 2010, 72(3): 277-281.
- [45] LIPS S, LARRAS F, SCHMITT-JANSEN M. Community metabolomics provides insights into mechanisms of pollution-induced community tolerance of periphyton [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 10: 824: 153777.
- [46] KAUR M, SAINI K C, OJAH H, et al. Abiotic stress in algae: response, signaling and transgenic approaches [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2022, 34(4): 1843-1869.
- [47] GU Z Q, LIU K S, PEDERSEN M W, et al. Community assembly processes underlying the temporal dynamics of glacial stream and lake bacterial communities [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 761: 143178.
- [48] PEARMAN J K, THOMSON-LAING G, THOMPSON L, et al. Human access and deterministic processes play a

- major role in structuring planktonic and sedimentary bacterial and eukaryotic communities in lakes[J]. *PeerJ*, 2022, 10: e14378.
- [49] NIÑO-GARCÍA J P, RUIZ-GONZÁLEZ C, DEL GIORGIO P A. Interactions between hydrology and water chemistry shape bacterioplankton biogeography across boreal freshwater networks [J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(7): 1755-1766.
- [50] LIU H L, LIN G M, GAO D, et al. Geographic scale influences the interactivities between determinism and stochasticity in the assembly of sedimentary microbial communities on the South China Sea shelf[J]. *Microbial Ecology*, 2023, 85(1): 121-136.
- [51] ISABWE A, YANG J R, WANG Y M, et al. Community assembly processes underlying phytoplankton and bacterioplankton across a hydrologic change in a human-impacted river [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 630: 658-667.
- [52] JIN L, CHEN H H, XUE Y Y, et al. The scale-dependence of spatial distribution of reservoir plankton communities in subtropical and tropical China [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 845: 157179.
- [53] LU Q F, LIU X J, QIU X M, et al. Changes and drivers of zooplankton diversity patterns in the middle reach of Yangtze River floodplain lakes, China [J]. *Ecology and Evolution*, 2021, 11(24): 17885-17900.
- [54] YAO L, WU J M, LIU S Z, et al. Distinct drivers of bacterial community assembly processes in riverine islands in the middle and lower reaches of the Yangtze River [J]. *Microbiology Spectrum*, 2024, 12(8): e0081824.
- [55] DIDASKALOU E A, TRIMBOS K B, STEWART K A. Environmental DNA [J]. *Current Biology*, 2022, 32(22): R1250-R1252.
- [56] SEGATA N, IZARD J, WALDRON L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation [J]. *Genome Biology*, 2011, 12(6): R60.
- [57] 杨潇. 长江干流浮游植物群落结构和功能群特征及其与环境因子的关系[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
- YANG X. Characteristics of phytoplankton community structure and functional groups and the relationships with environmental factors in the mainstream of the Yangtze River [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2021.
- [58] 沈蓉蓉. 长江下游干流浮游植物分布格局及其与环境因子相关性[D]. 上海: 上海师范大学, 2019.
- SHEN R R. Distribution pattern of phytoplankton in the lower reaches of the Yangtze River and its correlation with environmental factors [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2019.
- [59] 赵娜, 杨刚, 吴祖立, 等. 环境DNA技术发展及其在长江流域水生生态学领域的应用研究进展 [J]. *海洋渔业*, 2024, 46(1): 119-128.
- ZHAO N, YANG G, WU Z L, et al. Research progress of environmental DNA technology and its application in ecology of the Yangtze River basin [J]. *Marine Fisheries*, 2024, 46(1): 119-128.
- [60] 李晨虹, 凌岚馨, 谭娟, 等. 环境DNA技术在水生生物监测中的挑战、突破和发展前景 [J]. *上海海洋大学学报*, 2023, 32(3): 564-574.
- LI Chenhong, LING Lanxing, TAN Juan. Challenge, breakthrough and future perspectives of environmental DNA technology in monitoring aquatic organisms [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2023, 32(3): 564-574.
- [61] LOHAN K M P, CAMPBELL T L, GUO J C, et al. Intact vs. Homogenized subsampling: testing impacts of pre-extraction processing of multi-species samples on invasive species detection [J]. *Management of Biological Invasions*, 2019, 10(2): 324-341.
- [62] ZHAN A B, HULÁK M, SYLVESTER F, et al. High sensitivity of 454 pyrosequencing for detection of rare species in aquatic communities [J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2013, 4(6): 558-565.
- [63] PENG Y Y, WU C F, MA G B, et al. Insight into diversity change, variability and co-occurrence patterns of phytoplankton assemblage in headwater streams: a study of the Xijiang River basin, South China [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1417651.

Research on the diversity and community assembly mechanisms of diatoms and green algae in the Yangtze River based on environmental DNA

SHAO Yun¹, LI Xin², DU Jinzhe², WANG Jie¹, LIN Haojie¹, YAN Zhenguang¹

(1. *State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China*; 2. *School of Marine Science and Engineering, Qingdao Agriculture University, Qingdao 266109, Shandong, China*)

Abstract: Biodiversity and the mechanisms of community assembly are research hotspots. Phytoplankton, as primary producers in aquatic ecosystems, have important aquatic ecological functions, and there are few related studies at the level of the Yangtze River basin. In this study, we used environmental DNA macro-barcoding technology to investigate the community composition and construction mechanism of phytoplanktonic diatoms and green algae in the Yangtze River during the dry season. The results showed that a total of 389 operational taxonomic units (OTUs) belonging to 62 families and 101 genera were detected in the whole Yangtze River basin, with more green algae. A total of 378, 322 and 318 OTUs were detected in the upstream, midstream and downstream of the Yangtze River, respectively, and the species diversity in the lower and upper reaches of the Yangtze River was relatively high, with the median value of the Shannon-Wiener index exceeding 2.0. Mantel's test showed that the upper reaches of the Yangtze River were significantly correlated with pH ($P < 0.05$); the middle reaches of the Yangtze River were highly significant correlated with total organic carbon ($P < 0.01$), and the middle reaches of the Yangtze River were significantly correlated with electrical conductivity ($P < 0.05$). downstream diatom communities were highly significantly correlated with dissolved oxygen, permanganate index and fluoride ion ($P < 0.01$). Redundancy analyses indicated that total nitrogen was the strongest explanation for diatom communities throughout the watershed, followed by conductivity. In addition, neutral and null model analyses indicated that community construction of diatoms and green algae in the Yangtze River was mainly dominated by stochastic processes; the community composition showed an obvious distance decay pattern, and the distance decay phenomenon was increasingly significant from upstream to downstream.

Key words: environmental DNA; diatom; green algae; biodiversity; community assembly