

黎慧玲, 徐轶肖, 吴森, 等. 北部湾首次记录到的大规模夜光藻赤潮期间浮游植物与细菌群落分析[J]. 海洋学报, 2023, 45(5): 39–52, doi:10.12284/hyxb2023064

Li Huiling, Xu Yixiao, Wu Miao, et al. Analysis of phytoplankton and bacterial community during the first recorded massive *Noctiluca scintillans* bloom in the Beibu Gulf, China[J]. Haiyang Xuebao, 2023, 45(5): 39–52, doi:10.12284/hyxb2023064

北部湾首次记录到的大规模夜光藻赤潮 期间浮游植物与细菌群落分析

黎慧玲^{1,2}, 徐轶肖^{1,2*}, 吴森^{1,2}, 蓝文陆³, 谢欢达^{1,2}, 黄鹤⁴

(1. 南宁师范大学 北部湾环境演变与资源利用教育部重点实验室, 广西南宁 530001; 2. 南宁师范大学 广西北部湾智慧海洋牧场工程研究中心, 广西南宁 530001; 3. 广西壮族自治区海洋环境监测中心站 北部湾海洋生态环境广西野外科学观测研究站, 广西北海 536000; 4. 北部湾大学 广西北部湾海洋环境变化与灾害研究重点实验室, 广西钦州 535011)

摘要: 北部湾位于南海西北部, 最近 30 年赤潮暴发频率、持续时间和范围正经历显著增长。为了了解北部湾大规模夜光藻赤潮期间的浮游植物和细菌群落特征, 于 2021 年 2 月 21 日在涠洲岛西部首次大规模夜光藻暴发海域采集海水样品, 对环境因子、浮游植物和细菌群落进行了研究。结果表明: 该海域水质符合一类海水水质标准, 主要为绝对 P 限制状态, 结合近年来其他研究指出的非赤潮期间, 涠洲岛邻近及北部湾中部海域为贫营养及主要为 P 限制, 可推断本次夜光藻赤潮属于一次非富营养化下发生的赤潮。海水中共鉴定出浮游植物 2 门 5 属 5 种, 其中夜光藻 (*Noctiluca scintillans*) 为绝对优势种, 其细胞密度为 $2.00 \times 10^3 \sim 3.75 \times 10^3$ cells/L。结合现场水色, 可确定本次赤潮生物为红色异养型夜光藻。系统发育和遗传距离分析则表明本次赤潮原因种属于我国沿海常见的夜光藻株系。对海水样品细菌 16S rRNA 基因 V3–V4 区高通量测序发现海水细菌群落操作分类单元 (OTU) 数量为 294~414, 以 α -变形菌纲 (Alphaproteobacteria) 和 γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria) 为优势菌群; 细菌群落结构受 COD、DO、DIN、 PO_4^{3-} -P、N/P 多种环境因子的影响, 其中 COD 为主要影响因子。研究结果可为明确北部湾大规模夜光藻赤潮期间的环境特征、微生物组成及海洋生态保护提供科学依据。

关键词: 夜光藻赤潮; 浮游植物; 细菌群落; 环境因子; 北部湾

中图分类号: P735; Q178.53

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2023)05-0039-14

1 引言

夜光藻 (*Noctiluca scintillans*) 隶属于甲藻门 (Dinophyta)、横裂甲藻纲 (Dinophyceae)、夜光藻目 (Noctilucales)、夜光藻科 (Noctiluceae)、夜光藻属 (*Noctiluca*)。根据颜色和营养模式的不同可将其分为红色异养型和绿色混合营养型两类, 前者的分布范围很

广, 从北部到南部的温带水域都有分布, 而后者主要生长在热带水域, 如阿拉伯海和孟加拉湾^[1]。夜光藻是世界上最常见的赤潮生物, 因红色型夜光藻在受到潮汐或海浪的干扰时可产生生物荧光, 形成“蓝眼泪”现象而广为人知^[2]。当水体中夜光藻细胞密度超过 $3.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^4$ cells/L 时, 认为引发赤潮^[3]。我国深受夜光藻赤潮影响, 自 1933 年在浙江沿海首次报道

收稿日期: 2022-08-06; 修订日期: 2022-12-02。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41976155); 广西自然科学基金项目 (2020GXNSFDA297001); 北部湾大学海洋科学广西一流学科 (DRA003); 北部湾环境演变与资源利用教育部重点实验室研究生创新基金项目 (NNNU-KLGIP-Z2201)。

作者简介: 黎慧玲 (1997—), 女, 广西壮族自治区阳朔县人, 研究方向为区域环境演变与风险评价。E-mail: 1174558015@qq.com

* 通信作者: 徐轶肖, 女, 研究员, 主要从事海洋有毒有害微藻与海产品安全研究。E-mail: xuyixiao_77@163.com

该藻赤潮以来^[4],渤海、黄海、东海、南海等地陆续有该赤潮发生的报道^[1]。迄今,中国近海暴发的夜光藻赤潮均属于红色异养型^[5]。虽然夜光藻无毒,但它的爆发性增殖易造成水体缺氧并向周围环境释放高浓度的氨而导致大量鱼类和无脊椎动物死亡,同时由于其能捕食鱼类和桡足类的卵和幼虫,以及食物网中的小型浮游植物,易引起生态系统失衡^[1,6]。

北部湾位于南海西北部,是一个天然的半封闭浅水海湾,具有热带亚热带海洋性气候。自2008年《广西北部湾经济区发展规划》和2009年《广西北部湾经济区重点产业园区布局规划》等政策实施以来,广西北部湾经济区的工业和旅游业发展迅速,海洋生态环境问题也日益突出^[7]。其中,北部湾有害赤潮的暴发频率、持续时间和范围过去30年来均显著增加^[8-9];赤潮原因种亦发生了明显的演变,从2000年之前的蓝藻门铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)转变为2001-2010年期间的蓝藻、甲藻和硅藻共存,再到2011-2019年的球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)^[8]。然而,2021年2月14日在北部湾海域首次暴发了面积高达6400 km²的大规模夜光藻赤潮, HY-1C/1D 卫星海岸带成像仪图像显示赤潮持续了4 d,集中暴发区位于涠洲岛西南部海域(20.4°~21.3°N, 107.9°~108.8°E),距离涠洲岛约31 km,夜光藻密度为3.2×10⁵ cells/L,目前本次赤潮未报道对近岸生产生活产生破坏的情况^[10-12]。

浮游植物和细菌在夜光藻赤潮暴发过程中扮演着重要的作用,可提供所需的食物来源、参与赤潮消亡和生物化学地球循环等过程^[13-14]。环境因子如温度、营养盐和水流则是夜光藻种群数量变化的主要影响因素,其在不同水域具有各自的特点^[15-16]。目前,全球对有害藻华期间浮游植物和细菌群落及环境因子特征进行了大量研究,但在北部湾海域的相关研究仍非常有限。直到最近,因球形棕囊藻赤潮在北部湾反复暴发,人们才开始关注与该地区球形棕囊藻赤潮暴发密切相关的海洋微生物和浮游植物群落^[17-18]。2021年2月暴发的特大规模夜光藻赤潮是北部湾海域新近发生的突出的海洋环境问题,对暴发期间的环境因素、浮游植物和细菌群落特点,以及它们与过去球形棕囊藻赤潮的区别仍不清楚。因此,为了解此次大规模赤潮暴发期间的环境因子状况、夜光藻种类归属及浮游植物和细菌群落特征,我们在夜光藻暴发时的涠洲岛西部海域,采集现场海水样品,对水体中的环境因子、浮游植物组成、夜光藻的ITS序列及细菌群落的16S rRNA基因序列进行了研究,结果可为

明确北部湾大规模夜光藻赤潮暴发期间的环境特征、微生物组成及海洋生态保护提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 采样站位

HY-1C/1D 卫星海岸带成像仪图像显示2021年2月14日在北部湾海域首次暴发了面积高达6400 km²的大规模夜光藻赤潮,集中暴发区位于涠洲岛西南部海域^[10,12]。2月21日我们在涠洲岛西部、西南部和西北部现场调研的时候,仍发现大量粉色水体,因此2月21日在涠洲岛上述海域的6个站位分别采集了海水样品,对环境因子、浮游植物(1000 mL)和细菌群落(500 mL)进行分析(图1)。现场观察到水体呈粉红色(图2),结合海水样品的显微镜观察,可确定该赤潮原因种为红色异养型夜光藻。

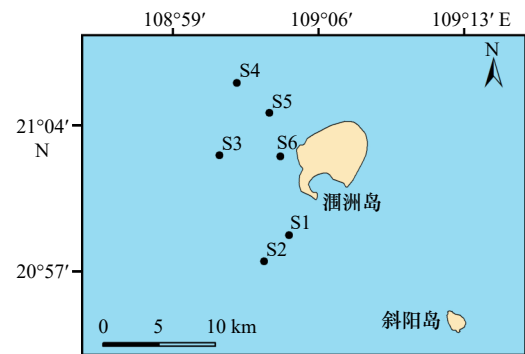


图1 采样站位

Fig. 1 The location of sampling stations



图2 涠洲岛西部海域夜光藻赤潮现场图

Fig. 2 The *Noctiluca scintillans* bloom in the western waters of Weizhou Island

2.2 环境因子测定

调查项目包括 pH、盐度、化学需氧量(COD)、溶解氧(DO)浓度、亚硝酸盐(NO₂-N)浓度、硝酸盐(NO₃-N)浓度、氨盐(NH₄⁺-N)浓度、活性磷酸盐(PO₄³⁻-

P)浓度、叶绿素 *a*(Chl *a*)浓度、总氮(TN)浓度、总磷(TP)浓度。样品的采集、运输、贮存及分析均严格参照《海洋监测规范》(GB/T 17378-2007)^[19]进行, 具体分析方法为: pH、盐度、DO浓度分别采用pH计、盐度计、碘量法进行现场测定, COD、PO₄³⁻-P浓度、Chl *a*浓度的分析方法分别为碱性高锰酸钾法、磷钼蓝分光光度法、分光光度法; NO₂⁻-N浓度、NO₃⁻-N浓度、NH₄⁺-N浓度测定分别采用萘乙二胺分光光度法、镉柱还原法、次溴酸盐氧化法; TN浓度和TP浓度测定采用过硫酸钾氧化法。

采用富营养化指数法(*E*)对海水水质进行分析评价, 计算公式如下:

$$E = \frac{\text{化学需氧量} \times \text{无机氮} \times \text{活性磷酸盐}}{4500} \times 10^6, \quad (1)$$

式中, *E*为富营养化指数, *E*值越大, 富营养化越严重; 无机氮(DIN)浓度为NO₂⁻-N、NO₃⁻-N、NH₄⁺-N三者浓度之和, 单位均为mg/L。根据《近岸海域环境监测规范》(HJ 442-2008)^[20], 参照*E*值可将海水水质营养状况分成5类: 当*E*<1时, 海水处于贫营养化; 当*E*≥1时, 海水达到富营养化, 其中1≤*E*<2为轻度富营养化, 2≤*E*<5为中度富营养化, 5≤*E*<15为重富营养化, *E*≥15为严重度富营养化。

浮游植物在生长过程中需要吸收一定比例的生源要素, 以DIN浓度为1 μmol/L(0.014 mg/L), PO₄³⁻-P浓度为0.1 μmol/L(0.003 1 mg/L), SiO₃²⁻-Si浓度为2 μmol/L(0.056 mg/L)作为最低阈值, 当海水中的某种营养盐浓度低于相应的最低阈值时, 表明该种营养盐为绝对限制因子^[21-22]; 而当海水中的某种营养盐含量高于最低阈值时, 则根据Justić等^[23]建立的浮游植物对不同营养盐吸收的化学计量关系(摩尔比)评估其潜在限制情况: (a)潜在N限制, N/P<10、Si/N>1; (b)潜在P限制, N/P>22、Si/P>22; (c)潜在Si限制, Si/P<10、Si/N<1。

2.3 浮游植物群落结构分析

对S1和S3站位的1 000 mL海水样品, 加入鲁哥试剂进行固定, 浓缩至10 mL, 然后在显微镜(Olympus BX-50, Olympus)下观察并对浮游植物计数。因夜光藻细胞个体较大, 取1 mL浓缩液进行计数; 其余藻类计数体积为0.3 mL。

2.4 DNA提取、克隆和测序

将水样于8 000×g下离心5 min, 倒掉上清液后收集样品, 应用BioFastSpin植物基因组DNA提取试剂盒(杭州博日科技有限公司)提取DNA作为后续夜光藻ITS特征片段PCR扩增的模板。扩增ITS的引物

序列为: 18SnocIF(5'-GTCGTAACAAGGTTTCCGTA-GGTG-3')和28SnocIR(5'-GAATGATCCTTCCGCAG-GTT-3')^[24]。PCR反应条件为: 94℃预变性5 min; 然后95℃变性15 s, 56℃退火30 s, 72℃延伸80 s, 35个循环后, 72℃延伸10 min。将PCR纯化产物克隆到质粒载体上, 用1%的琼脂糖凝胶电泳检测克隆产物, 并将PCR阳性克隆产物送至广州擎科生物技术有限公司进行Sanger测序。

将测序结果提交至美国国家生物技术信息中心(NCBI), 获得各序列的登录号(ON872655-ON872660), 并在NCBI对这6条序列进行BLAST检索, 下载与物种同源性较高的序列。运用MEGA-X v10.1.8软件中最大似然法(Maximum Likelihood, ML)构建夜光藻系统发育树并基于p-distance模型计算序列间遗传距离。建树时使用MEGA-X v10.1.8软件中的Models功能选择最佳替代模型K2+I, 通过自展分析检验分支置信度, 进行1 000次随机重复取样。

2.5 高通量分析

2.5.1 PCR扩增与高通量测序

把S1-S6站位的500 mL海水于13 500×g下离心10 min, 弃上清液, 采用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)方法对样品提取细菌基因组DNA, 以稀释后的基因组DNA为模板, 选用带有Barcode的特异引物、高效高保真酶、New England Biolabs公司的Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer和通用引物341F(5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3')和806R(5'-GGAC-TACHVGGGTWTCTAAT-3')对细菌16S rRNA基因V3-V4区进行PCR扩增。PCR产物经1%的琼脂糖凝胶电泳检测后, 等量混匀, 对目的带使用TIAN-GEN纯化试剂盒(北京天根生化科技有限公司)进行纯化回收。在Illumina Novaseq测序平台, 通过双末端测序(Paired-End)的方法, 采用TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit建库试剂盒进行文库构建, 将构建好的文库经过Qubit和Q-PCR定量检测合格后, 通过NovaseqPE250上机测序。

2.5.2 测序数据分析

对高通量下机数据进行拼接和质量控制, 再进行嵌合体过滤, 从而获得用于后续分析的有效序列。利用Uparse软件对有效序列以97%的一致性聚类成操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTUs), 筛选出现频数最高的序列作为OTUs的代表序列, 并使用Mothur方法与SILVA132数据库进行物种注释分析(设定阈值为0.8~1.0), 以获得各个分类学信息并

在各分类水平上统计各样本的群落组成。使用 Qiime 软件 (Version 1.7.0) 计算 Observed-species、香农指数 (Shannon)、辛普森指数 (Simpson)、Chao1、ACE、覆盖率指数 (Coverage)、PD 指数, R 软件 (Version 2.15.3) 绘制稀释曲线。基于 Weighted Unifrac 距离矩阵的 UPGMA 聚类树分析不同样品之间细菌群落组成的相似性。关于环境因子关联分析, 利用 Spearman 相关性分析和 Mantel test 分析研究环境因子与物种之间, 环境因子与物种丰富度 (α 多样性) 之间的相关性; 利用典范对应分析 (CCA) 研究菌群与环境因子的关系, 解析影响菌群分布的重要环境驱动因子; 并通过方差分解分析 (VPA), 研究各环境因子对微生物群落分布的解释量, 明确造成微生物群落分布差异的各环境因子贡献度大小。最后, 通过 PICRUST2 软件对菌群的 KEGG 代谢通路进行功能预测分析。

3 结果

3.1 环境因子

参考《海水水质标准》(GB 3097-1997)^[25], 涠洲岛西部海域海水 pH、DO 浓度、COD、DIN 浓度、 PO_4^{3-} -P 浓度均符合一类海水水质标准, 即 pH 为 7.8~8.5, DO 浓度 >6 mg/L, COD \leq 2 mg/L, DIN 浓度 \leq 0.2 mg/L, PO_4^{3-} -P 浓度 \leq 0.015 mg/L。富营养化指数变化范围为 0.009~0.140, 均小于 1, 表明研究区域属于贫营养化状态。S1-S6 站位的 DIN 浓度均高于 0.014 mg/L, 不存在绝对 N 限制; 但除了 S1 站外, 其余 S2-S6 站位的 PO_4^{3-} -P 浓度均低于 0.003 1 mg/L, 处于绝对 P 限制。S1 站位 N/P 摩尔比为 39.5, 虽然本研究未测量硅酸盐浓度, 但由于 N/P 大于潜在 P 限制标准 (N/P > 22, Si/P >

22)^[23], S1 站位很可能存在潜在 P 限制。因此, 本次采样时夜光藻赤潮发生海域主要为绝对 P 限制。

3.2 浮游植物群落结构

3.2.1 浮游植物组成与密度

在北部湾特大规模夜光藻赤潮期间从涠洲岛西部海域 S1 和 S3 站位鉴定出浮游植物 2 门 5 属 5 种 (表 2), 具体有甲藻门的夜光藻属夜光藻、扁甲藻属钟扁甲藻 (*Pyrophacus horologicum*)、角藻属叉角藻 (*Ceratium furca*) 和硅藻门的盒形藻属异角盒形藻 (*Biddulphia heteroceros*)、海线藻属菱形海线藻 (*Thalassionema nitzschioides*)。其中, S1 和 S3 站位夜光藻的细胞密度分别为 2.00×10^3 cells/L 和 3.75×10^3 cells/L, 根据夜光藻赤潮基准密度 ($3.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^4$ cells/L), 可判断 S3 站位海域已发生夜光藻赤潮。夜光藻在海水浮游植物群落中的占比最高, 在 S1 和 S3 站位分别达 68%、75%, 可见该藻为绝对优势种。

3.2.2 夜光藻系统发育树分析

S1-S6 6 个站位海水样品的 PCR 扩增产物在 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测中均出现一条明亮条带, ITS 产物序列长度为 646~647 bp。这 6 条夜光藻序列平均保守位点 636 个, 可变位点 11 个, 简约信息位点 2 个, 单态位点 9 个, A、T、G、C 碱基的平均含量分别为 24.0%、31.0%、25.0%、20.0%, 其中 A+T 的含量 (55.0%) 大于 G+C 的含量 (45.0%)。用于构建最大似然法系统发育树的 16 株夜光藻 ITS 序列平均保守位点 599 个, 可变位点 49 个, 简约信息位点 31 个, 单态位点 18 个, 转换/颠换比为 1.4, A、T、G、C 碱基的平均含量分别为 23.2%、31.8%、25.0%、20.0%, 其中 A+T 的含量 (55.0%) 大于 G+C 的含量 (45.0%)。

表 1 北部湾大规模夜光藻赤潮期间涠洲岛西部海域环境因子

Table 1 Environmental factors in the western part of Weizhou Island during the the massive *Noctiluca scintillans* bloom in the Beibu Gulf

监测站位	pH	盐度	COD/ (mg·L ⁻¹)	DO浓度/ (mg·L ⁻¹)	DIN浓度/ (mg·L ⁻¹)	PO_4^{3-} -P浓度/ (mg·L ⁻¹)	Chl a浓度/ (μ g·L ⁻¹)	TN浓度/ (mg·L ⁻¹)	TP浓度/ (mg·L ⁻¹)	富营养化指数	N/P
S1	8.21	31.1	0.72	8.04	0.125	0.007	<0.5	0.398	0.014	0.140	39.5
S2	8.24	31.2	0.69	8.10	0.064	0.003	<0.5	0.376	0.014	0.029	47.2
S3	8.23	31.1	0.67	8.19	0.039	0.002	1.1	0.327	0.019	0.012	43.2
S4	8.24	31.3	0.60	8.27	0.036	0.002	0.8	0.293	0.016	0.010	39.9
S5	8.21	31.3	0.44	7.84	0.046	0.002	1.7	0.222	0.009	0.009	50.9
S6	8.20	31.2	0.33	7.70	0.057	0.003	<0.5	0.243	0.009	0.013	42.1
均值	8.22	31.20	0.58	8.02	0.06	0.003	0.7	0.310	0.014	0.036	44.3

注: “<”表示数据未检出, 其后数据为检出限; <0.5的样品均值以0.25计算。

表2 浮游植物组成及密度

Table 2 Phytoplankton composition and density

优势种	细胞密度/(cells·L ⁻¹)	
	S1站位	S3站位
夜光藻 <i>Noctiluca scintillans</i>	2.00×10 ³	3.75×10 ³
钟扁甲藻 <i>Pyrophacus horologicum</i>	0	4.17×10 ²
叉角藻 <i>Ceratium furca</i>	4.76×10 ²	0
异角盒形藻 <i>Biddulphia heteroceros</i>	4.76×10 ²	0
菱形海线藻 <i>Thalassionema nitzschioides</i>	0	8.33×10 ²
合计	2.95×10 ³	5.00×10 ³

以米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi*) 为外类群, 构建 ITS 序列系统发育树 (图 3), 发现本次大规模夜光藻赤潮 6 个站位的夜光藻株 BGERL73–BGERL78 与黄海夜光藻株 (KR606969、KR607063)、东海夜光藻株 (KR607085)、南海夜光藻株 (KR606953、KR606934、香港株 GQ380592) 聚在一大分支上, 自展值为 69; 而阿拉伯海夜光藻 (KU055475、KU055476) 与美国 NS3 株夜光藻 (KR607077、KR607075) 汇聚成一大分支, 自展值为 90。遗传距离计算发现: 北部湾涠洲岛 6 株夜光藻 ITS 序列之间的遗传距离为 0.003~0.011, 与亲缘关系较近的我国沿海夜光藻株遗传距离为 0.000~0.011, 明显小于与亲缘关系较远的阿拉伯海和美国夜光藻株遗传距离 0.043~0.058。

3.3 细菌群落结构与多样性

3.3.1 细菌群落组成

S1–S6 6 个站位海水样品共获得了 782 460 条有效序列, 平均每个样品的有效序列数为 130 410 条, 有效序列的平均长度为 412 bp。对海水样品在 97% 相似度水平上进行 OTU 聚类, 共获得 595 个 OTU; 6 个样品共有 OTU 数为 170 个, S1–S6 站位特有 OTU 数分别为 19、25、20、26、27、53 (图 4a); 单个样品 OTU 数量为 294~414, 其中 S6 站位的 OTU 数量最多, S1 站位的 OTU 数量最少。利用高通量测序所获得的 OTU 数量构建稀释曲线 (图 4b), 发现随着序列数目的增加, 稀释曲线趋于平坦, 说明现有的测序数据量足够大, 可反映样品的细菌多样性信息。

6 个样品所注释出的细菌 OTU 隶属于 21 门 38 纲 72 目 117 科 176 属 97 种。其中 3 个门、5 个纲和 9 个属中的 OTU 相对丰度超过 1%。门水平上的细菌群落组成相对丰度见图 5a, 结果显示所有站位中相对丰度最高的均为变形菌门 (Proteobacteria), 平均相对丰度高达 92.80%, 在细菌群落中占主要优势; 其次是拟杆菌门 (Bacteroidetes)、蓝细菌门 (Cyanobacteria), 平均相对丰度分别为 3.95%、1.89%; 接着是广古菌门 (Euryarchaeota)、厚壁菌门 (Firmicutes), 平均相对丰度分别为 0.66%、0.46%; 其他的如放线菌门 (Actinobacteria)、疣微菌门 (Verrucomicrobia)、软壁菌门 (Tenericutes)、Marinimicrobia_SAR406_clade、纤维菌

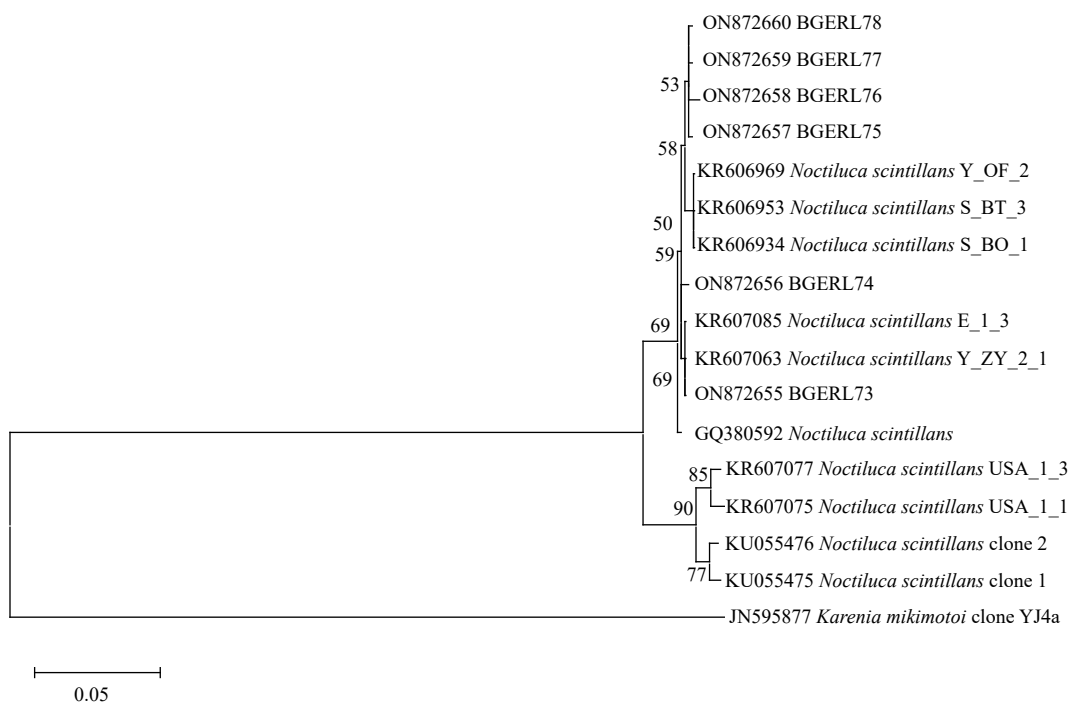


图3 应用最大似然法构建的夜光藻 ITS 序列系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of *Noctiluca scintillans* using maximum likelihood method based on ITS sequence

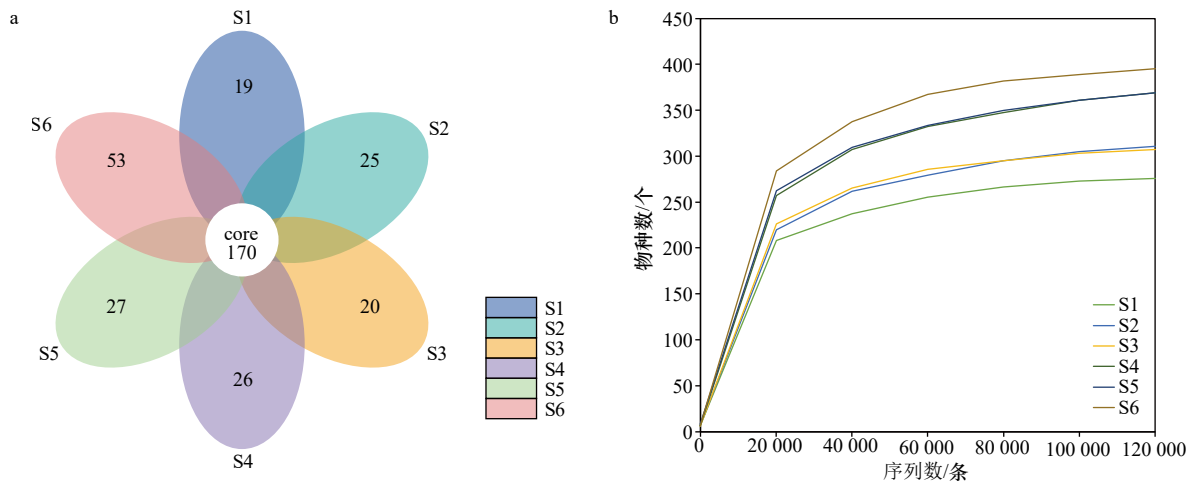


图4 海水样品 OTU 花瓣图(a)和稀释曲线(b)

Fig. 4 Petals figure (a) and dilution curves (b) of OTUs for seawater samples

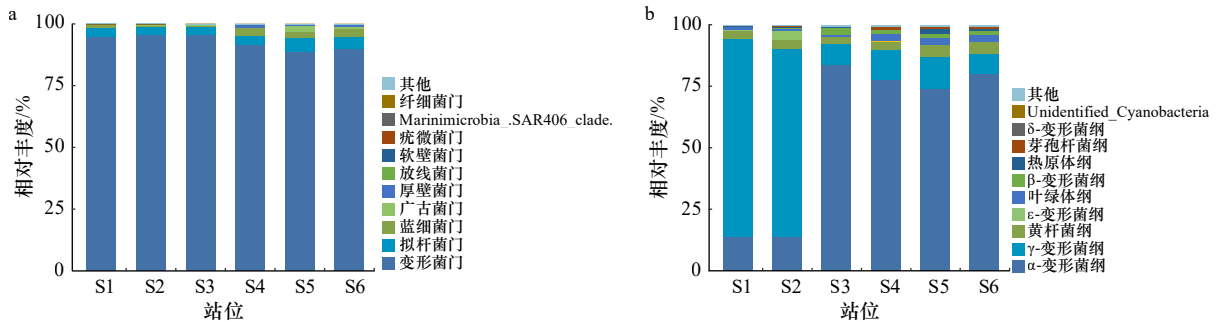


图5 门(a)、纲(b)水平上的细菌群落相对丰度

Fig. 5 Relative abundance of bacteria community at the phylum (a) and class (b) level

门(Gracilibacteria)相对丰度较低。

在纲水平上, α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)是研究区域中具有优势的纲, 平均相对丰度分别为 57.29%、33.26%; 其次是黄杆菌纲(Flavobacteriia)、叶绿体纲(Chloroplast)和 β -变形菌纲(Betaproteobacteria), 平均相对丰度依次为 3.86%、1.78%、1.43%(图 5b)。特别地, 位于涠洲岛西南侧的 S1、S2 站位以 γ -变形菌纲为优势纲, 而西侧的 S3 站位和西北侧的 S4-S6 站位以 α -变形杆菌纲为优势纲。

3.3.2 细菌群落 α 多样性分析

各站位海水样品中的细菌群落丰度和多样性指数见表 3。覆盖率指数可反映样品库的覆盖率, 数值越大越能代表样本的真实情况; 所有采样点文库的覆盖率指数均达到 100.00%, 说明高通量数据对样本能完全覆盖。Shannon 指数和 Simpson 指数用来表征细菌群落多样性, 指数值越大, 物种多样性越高; 两者由大到小分别为 S5、S6、S4、S2、S3、S1 和 S5、S4、S6、S1、S2、S3。Chao1 指数和 ACE 指数用来反映细菌群落丰富度, 指数值越大, 物种丰富度越高; 两者由

大到小分别为 S6、S5、S4、S2、S3、S1 和 S6、S5、S4、S2、S1、S3。PD 指数用来反映群落内物种的亲缘关系, 指数值越大, 亲缘关系越复杂, 进化距离越远; 其排序由大到小为 S4、S6、S5、S3、S2、S1。因此, 西北侧 S4-S6 站位的细菌 Alpha 多样性大于西南侧 S1、S2 站位, 而西侧 S3 站位与 S1、S2 站位相似。

3.3.3 细菌群落 β 多样性分析

为了更清晰地看到各样点间细菌群落组成的相似性, 基于 Weighted Unifrac 距离矩阵构建 UPGMA 聚类树进行等级聚类分析(图 6)。样品聚在一起表示样品之间物种组成差异小、相似性大、亲缘关系近。本文 6 个采样站位在门水平上分成了 2 大分支, 其中 S1 和 S2、S3 和 S4、S5 和 S6 样品间相似性较高, 分别聚成一小支; S3 和 S4、S5 和 S6 进而形成姊妹枝。S1 和 S2 样品与其余 4 个样品(S3-S6)关系较远, 样品间细菌组成差异较大。

3.3.4 环境因子关联分析

对环境因子与细菌群落 Alpha 多样性指数进行 Spearman 分析, 发现 COD、DO 浓度、DIN 浓度、 PO_4^{3-} -P 浓度 4 种环境因子与多样性指数呈现负相关, N/P 则

表 3 各站位 OTUs 数量和 Alpha 多样性指数
Table 3 OTUs number and Alpha diversity related indices at stations S1-S6

站位	有效序列	OTU	Shannon	Simpson	Chao 1	ACE	Coverage/%	PD
S1	121 338	294	4.008	0.867	310.081	318.118	100.00	26.544
S2	129 860	329	4.136	0.856	319.895	324.875	100.00	28.339
S3	132 140	322	4.028	0.846	318.000	317.332	100.00	37.902
S4	129 906	379	4.498	0.883	367.882	373.329	100.00	45.817
S5	135 346	378	4.829	0.915	380.750	385.921	100.00	43.080
S6	133 870	414	4.588	0.881	417.000	415.785	100.00	45.073
均值	130 410	353	4.348	0.875	352.268	355.893	100.00	37.793

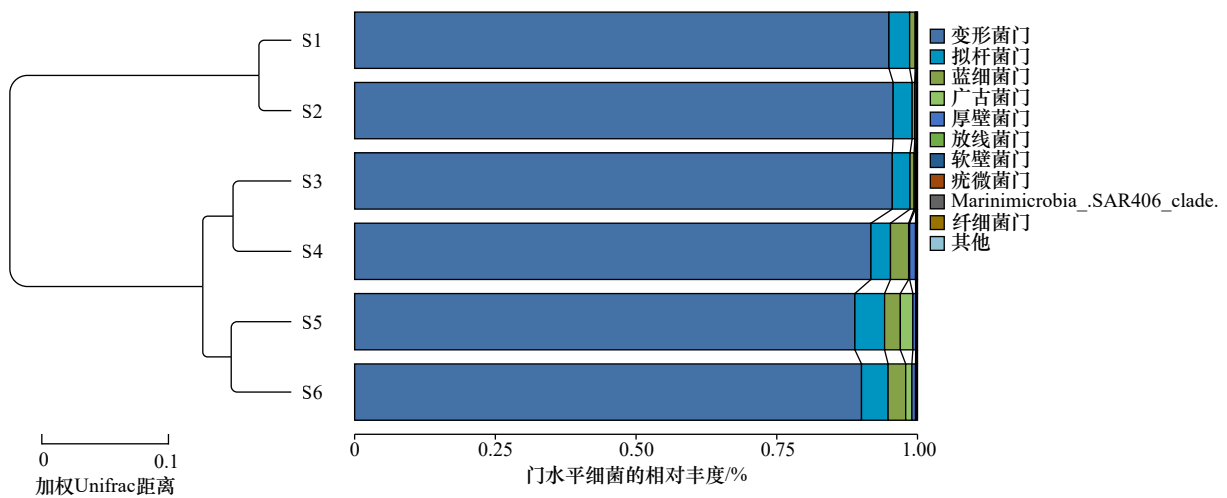


图 6 基于 Weighted Unifrac 距离矩阵的 UPGMA 聚类树

Fig. 6 UPGMA clustering tree based on Weighted Unifrac distance matrix

与多样性指数呈正相关; 其中, COD 与 Shannon、Chao1、ACE 指数呈显著负相关 ($p < 0.05$), 与 Observed-species 指数呈极显著负相关 ($p < 0.01$) (图 7a)。

在门水平上筛选出相对丰度前 20 名细菌门与环境因子进行 Spearman 相关性分析 (图 7b), COD 与广古菌门 (Euryarchaeota)、Marinimicrobia_SAR406_clade、奇古菌门 (Thaumarchaeota)、Woesearchaeota_DHVEG.6 呈显著负相关 ($p < 0.05$), 与放线菌门 (Actinobacteria) 则呈极显著负相关 ($p < 0.01$)。DO 浓度与奇古菌门 (Thaumarchaeot) 呈显著负相关。DIN 浓度与疣微菌门 (Verrucomicrobia)、浮霉菌门 (Planctomycetes) 呈显著负相关。PO₄³⁻-P 浓度与疣微菌门 (Verrucomicrobia) 呈显著负相关。

Mantel test 分析显示环境因子 DIN+PO₄³⁻-P 与细菌各科的丰度呈显著正相关 ($r = 0.47, p < 0.05$), 与 OTU 的丰度则呈极显著正相关 ($r = 0.52, p < 0.01$), 但与其他界、门等分类层次的丰度均没有显著相关性。在门分类水平上进行 CCA 分析研究菌群分布与环境因子

之间的关系 (图 8a), 发现 CCA1 和 CCA2 可分别解释 72.4% 和 22.8%, COD 对细菌群落分布影响最大, 其次为 DO 浓度和 N/P, 而 DIN 浓度、PO₄³⁻-P 浓度对其影响最小, 其中, COD 与 S1-S3 样品细菌群落分布正相关, 而与 S4-S6 样品的细菌群落分布呈负相关。DIN 浓度、PO₄³⁻-P 浓度、COD、DO 浓度相互之间均呈正相关关系 (夹角为锐角), 而 DIN 浓度、PO₄³⁻-P 浓度、COD、DO 浓度与 N/P 均呈负相关关系 (夹角为钝角)。

VPA 分析中, 第一类环境因子 env1 表征 COD 和 DO 浓度, 第二类环境因子 env2 表征 DIN 浓度、PO₄³⁻-P 浓度和 N/P。结果显示, env1 和 env2 共有解释量为 91.57%, 两者的单独解释量分别为 8.43% 和 0%, 这两类环境因子的不可解释量为 0% (图 8b)。

3.3.5 细菌群落功能预测

使用 PICRUST2 软件对细菌群落功能进行预测分析, 发现一级功能共包含 6 类生物代谢通路: 新陈代谢、遗传信息处理、环境信息处理、细胞过程、有机系统和人类疾病, 其中, 新陈代谢和遗传信息处理相

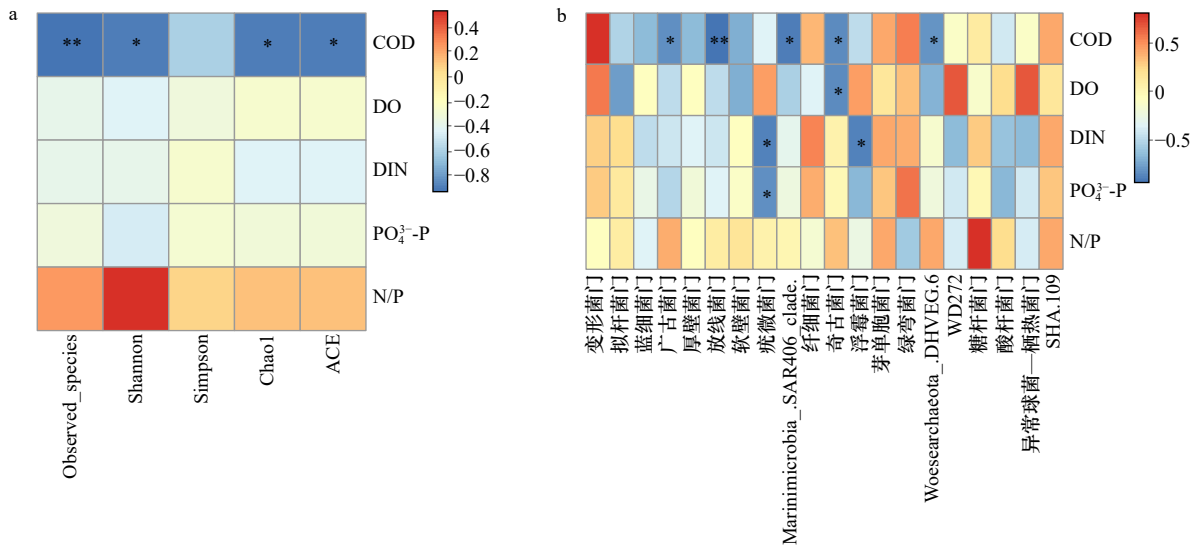


图 7 环境因子与 Alpha 多样性指数(a)、门水平细菌群落(b)之间的 Spearman 相关性

Fig. 7 Spearman correlation between environmental factors and Alpha diversity index (a) and phylum level bacterial community (b)

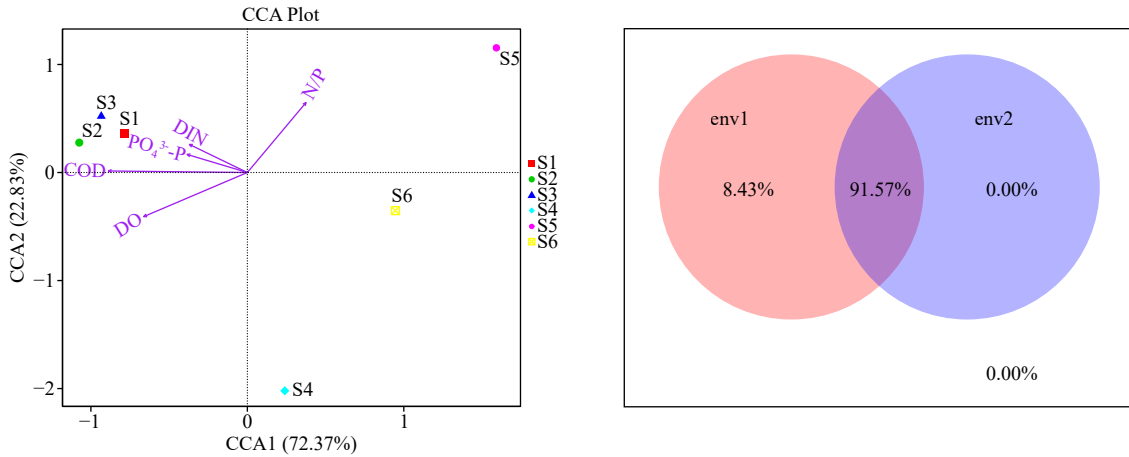


图 8 门水平 CCA 分析图(a)和 VPA 结果图(b)

Fig. 8 CCA analysis at phylum level (a) and VPA analysis (b)

对丰度较高，它们是细菌群落的主要功能组成。S3-S6 站位比 S1-S2 站位的新陈代谢、遗传信息处理和有机系统功能基因相对丰度大，而环境信息处理、细胞过程和人类疾病相对丰度小。

细菌群落二级功能主要由核苷酸代谢、氨基酸代谢、辅助因子和维生素的代谢、翻译、其他氨基酸代谢等 37 个子功能组成。平均相对丰度在 5% 以上的子功能有：核苷酸代谢 (7.48%)、氨基酸代谢 (7.34%)、辅助因子和维生素的代谢 (6.97%)、翻译 (5.92%)、其他氨基酸代谢 (5.64%)、复制和修复 (5.54%)、膜转运 (5.26%)、碳水化合物代谢 (5.23%)。选择相对丰度前 30 的子功能绘制热图(图 9)，发现 S1 和 S2、S3 和 S4、S5 和 S6 分别聚成一小支，表明 S1 和 S2、S3 和 S4、S5 和 S6 样品间功能组成相似性较高；S1 和 S2、S5 和 S6 进而形成姊妹枝。

S3 和 S4 样品与其余 4 个样品(S1、S2、S5、S6)功能组成差异较大。总的来说，涠洲岛西南侧 S1、S2 站位的各子功能相对丰度较高，相对丰度从高到低依次为 S2、S1、S6、S5、S4、S3。

4 讨论

4.1 环境因子

浮游植物的生长繁殖和赤潮的暴发与营养盐密切相关，但目前夜光藻赤潮与营养盐的关系尚无定论。有学者认为夜光藻赤潮暴发是海水富营养化的结果，富营养化为浮游植物的生长和繁殖提供丰富的营养物质，大量繁殖的饵料藻类为夜光藻赤潮的暴发提供物质条件^[26-27]。根据《海水水质标准》和富营养化指数结果可知，本次赤潮采样期间涠洲岛西部海域符合一类海水水质标准属于贫营养状态，且多为绝

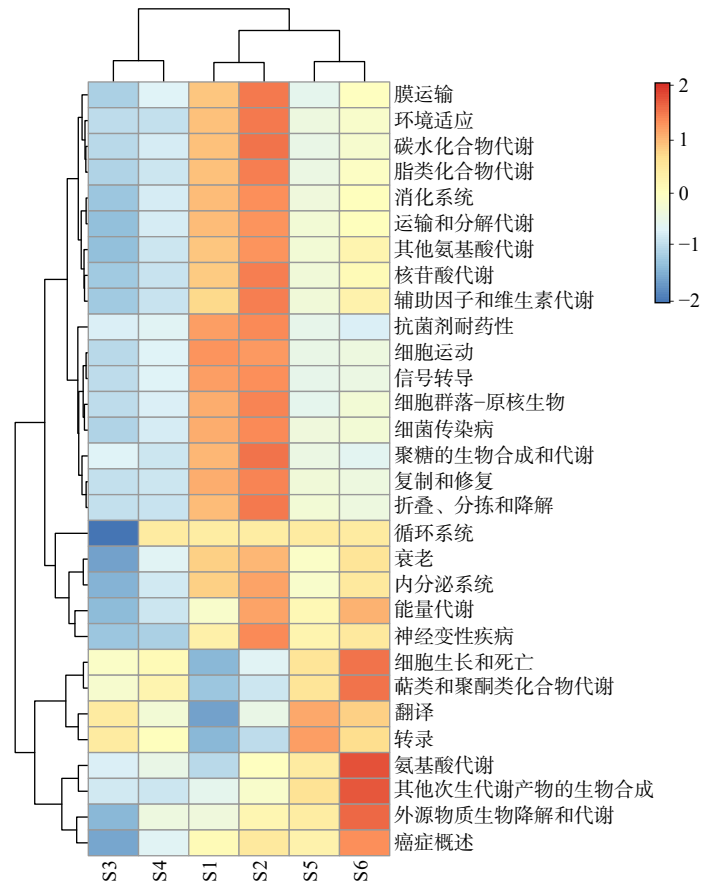


图9 S1-S6站细菌群落子功能丰度热图

Fig. 9 Heat map of bacterial community subfunctional abundance at stations S1-S6

对P限制。因此,尽管未对本次夜光藻赤潮进行营养盐全程跟踪(从14日暴发到21日消亡),但结合近年来其他学者指出的非赤潮期间,涠洲岛邻近及北部湾中部海域为贫营养及主要为P限制^[28-29],可推断本次北部湾特大规模夜光藻赤潮的发生与海水富营养化无明显关系,属于一次非富营养化下发生的赤潮。研究表明,红色异养型夜光藻常出现在营养盐较为缺乏的海域^[1],我国沿海夜光藻大量繁殖也不依赖于高营养盐环境,在富营养化严重的长江口夜光藻赤潮暴发次数并不多,相对而言福建平潭岛海域富营养化状况并不严重,却频繁发生该类赤潮^[30]。

除了营养盐,赤潮的发生还受水文气象(盐度、温度、风速)和生物(浮游动植物)等多种因素的影响。夜光藻的最佳生长盐度范围为28~36,具体海域有所差异,例如日本海域在盐度34.9~35.5时暴发了夜光藻赤潮^[16],而我国大鹏湾夜光藻赤潮暴发时,盐度为29.0~33.3^[31]。本次北部湾暴发大规模夜光藻赤潮时的盐度为31.1~31.3,说明该盐度适宜该海域夜光藻的生长繁殖。他人研究表明夜光藻最佳生长温度为10~22℃^[32],据气象数据^[33],本次北部湾夜光藻

赤潮暴发期间(2月14-21日)气温为16~24℃,亦适宜其大量繁殖;而Fu等^[12]基于多卫星观测和热红外遥感数据对2021年2月14日北部湾夜光藻赤潮暴发海域与周围正常海域的海水表层温度进行比较分析,发现赤潮海域与正常海域之间存在异常升温,最大温差达2.5℃,从而推断海温异常可能是本次大规模夜光藻赤潮暴发的重要原因。此外,据气象资料2月14-21日北部湾海域风速多为2~3级^[33],低风速条件利于夜光藻赤潮的形成^[34-35]。之前大鹏湾夜光藻赤潮期间,Chl *a*浓度与夜光藻密度呈负相关,且当夜光藻细胞密度大于10³ cells/L时,Chl *a*浓度几乎均小于5 μg/L^[31];国外也存在类似结果,如在马尔马拉海东北部的伊兹米特海湾发现夜光藻细胞丰度与叶绿素Chl *a*浓度呈负相关^[36]。本研究夜光藻赤潮期间Chl *a*浓度也很低(0.25~1.7 μg/L),与上述结果相一致,表明夜光藻赤潮暴发时其对海域其他浮游植物具有明显的摄食压力。

4.2 浮游植物群落结构

从S1、S3站位共鉴定出3种甲藻(夜光藻、钟扁甲藻、叉角藻)和2种硅藻(异角盒形藻、菱形海线

藻),其中夜光藻为优势种,其他浮游植物细胞密度低且种类较少。这主要是由于红色异养型夜光藻生存和繁殖过程中需要吞噬其他浮游植物和菌类等,因此该藻暴发时往往会伴随着其他浮游植物种类的减少,使得海域浮游植物群落结构趋于单一化,进而很可能破坏海洋生态系统的平衡^[32,37]。尽管2021年2月17日HY-1C/1D海岸带成像仪图像显示赤潮已经消失^[10],但2月21日本文现场采样时仍然观察到粉红色海面且监测出S3站位夜光藻细胞密度(3.75×10^3 cells/L)超过该藻赤潮暴发基准密度,由此推断出本文调查时很可能已进入本次赤潮的消亡阶段。2008–2011年在北部湾一些海域(钦州湾、涠洲岛)曾出现过小规模夜光藻赤潮/增殖事件,最大面积仅为1.2 km²^[8],但是面积高达6 400 km²的夜光藻赤潮在北部湾尚属首次报道^[10]。

夜光藻常通过 LSU rDNA、SSU rDNA、ITS 序列构建系统发育树,分析种类株系组成和系统发育情况^[24,38]。其中,ITS 序列相较于 SSU rDNA 序列、LSU rDNA 序列变异大,尤其在种间序列差异明显,可反映种间甚至不同地理株系之间的差异。本研究构建的 ITS 序列系统发育树拓扑结构与 Pan 等^[24]的结果相似,聚成两大分支且有良好的自展值,其中北部湾夜光藻株与我国沿海夜光藻株的亲缘关系较近,而与地理位置较远的美国和阿拉伯海株亲缘关系较远。本文分析所用的 16 株夜光藻 ITS 序列的种内遗传距离为 0~0.058,不仅与前人研究的不同海域夜光藻种内遗传距离(0~0.056)相似^[24,39],也与其他甲藻 ITS 序列的种内遗传距离(0~0.066)接近,但明显小于甲藻种间遗传距离(0.134~0.216)^[40–41]。因此,通过系统发育和遗传距离分析可确认本次特大规模赤潮生物与源自我国海域的夜光藻株序列差异小,亲缘关系近,属于我国沿海常见的夜光藻株系。

4.3 细菌群落结构及功能

海洋细菌的含量和群落结构与赤潮藻的生长、组成和生理状态之间联系密切^[42]。利用分子生物学技术研究赤潮期间的细菌群落时,虽然赤潮原因种和研究海域不同,但海水细菌多以变形菌门、拟杆菌门和放线菌门为主。本研究中,在北部湾海域特大规模夜光藻赤潮消亡阶段,海水细菌群落中变形菌门占主要优势(平均相对丰度为 92.80%),其次是拟杆菌门(3.95%);在纲水平上, α -变形菌纲(57.29%)和 γ -变形菌纲(33.26%)为优势菌群。在香港海域含有夜光藻的海水中发现细菌群落也以变形菌门(主要为 α -变形菌纲和 γ -变形菌纲)为主,其次是拟杆菌门^[43],与本文

结果类似。而使用焦磷酸测序对深圳东冲海域夜光藻赤潮海水细菌群落研究时发现, α -变形菌纲、 γ -变形菌纲、黄杆菌纲在该赤潮暴发初期占主导地位,后期(即消亡期)则以黄杆菌纲、 γ -变形菌纲和放线菌门为主要优势菌群^[44],这与本次夜光藻赤潮消亡阶段的菌群组成有所不同。分析可能与两个海域理化环境及采用技术手段不同有关,本文使用的 Illumina 测序技术与焦磷酸测序技术在分析微生物群落多样性及物种组成时可能导致差异^[45]。在深圳大鹏湾海域尖刺斯氏藻(*Scrippsiella acuminata*,即 *Scrippsiella trochoidea*)赤潮期间细菌群落以变形菌门为主^[46],厦门海域中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)和红色赤潮藻(*Akashiwo sanguinea*)共同引发的赤潮事件中,优势菌群亦为 γ -变形菌纲和 α -变形菌纲^[47]。而北部湾海域球形棕囊藻赤潮期间,细菌种类最多的是变形菌门和拟杆菌门^[48],优势菌群依次为 α -变形菌纲(28.5%)、 γ -变形菌纲(18.7%)、拟杆菌纲(6.2%)^[17]。

环境因子(营养盐、水温和 DO 等)是影响海水细菌群落分布的关键因素^[49]。本研究中,DIN 浓度、 PO_4^{3-} -P 浓度、N/P 与细菌群落 Alpha 多样性指数、不同细菌门以及不同站位之间存在正/负相关。COD 是衡量水体中有机物含量的重要指标^[50],能够影响细菌群落多样性与群落结构组成,该值与细菌群落多样性以及放线菌门、广古菌门、Marinimicrobia_SAR406_clade、奇古菌门、Woesearchaeota_DHVEG.6 呈显著负相关性。本研究 CCA 分析发现,COD、DO 浓度、DIN 浓度、 PO_4^{3-} -P 浓度、N/P 对细菌群落分布影响达 95.2%,分析其余 4.8% 可能源自其他环境因子或环境外力,如动植物的扰动和有机污染物的影响等^[51]。上述环境因子中,COD 对细菌群落分布影响最大,其次为 DO 浓度和 N/P,而 DIN 浓度、 PO_4^{3-} -P 浓度对其影响最小。而深圳东冲夜光藻赤潮期间的海水细菌群落组成和分布主要受温度、 NO_3^- 浓度、 NH_4^+ 浓度、 PO_4^{3-} 浓度和 TOC 浓度的影响^[44],北部湾棕囊藻赤潮期间,温度、 PO_4^{3-} 浓度、TOC 浓度则是影响球形棕囊藻衰亡阶段细菌群落的主要环境因子^[48]。本文研究结果与上述两者之间存在明显差异,分析与赤潮暴发时的具体海域环境及赤潮优势生物不同有关。

目前,利用高通量技术对赤潮期间海水微生物群落结构和多样性研究较多,而对其功能研究较少^[43]。基因芯片(GeoChip)分析表明,深圳东冲夜光藻赤潮期间的海水细菌群落具有 C、P、Fe、N、S 代谢功能基因^[44],而通过 PICRUSt 对链状亚历山大藻赤潮期间菌群的 KEGG 代谢通路功能预测发现主要包括细胞

增殖、辅助因子和维生素代谢、聚糖生物合成、氨基酸代谢、碳水化合物代谢、硫代谢、脂类代谢和环境适应等功能,但不同赤潮发生阶段细菌群落主要功能上存在差异^[52]。本研究也采用 PICRUSt 对菌群的 KEGG 代谢通路功能进行预测,发现一级功能主要为新陈代谢和遗传信息处理,二级功能主要为核苷酸代谢、氨基酸代谢、辅助因子和维生素的代谢,其涵盖了细菌的基本生命活动,亦证实了细菌群落参与了赤潮期间海域生态系统的物质和能量循环。空间上,本研究发现涠洲岛西南侧站位的各子功能相对丰度较高,其原因有待进一步研究。

5 结论

(1) 北部湾大规模夜光藻赤潮期间,海域水质状况符合国家一类海水水质标准;富营养化指数均小

于 1,呈贫营养化状态;主要为绝对 P 限制。本次赤潮的发生与海水富营养化无明显关系,属于一次非富营养化下发生的赤潮。

(2) 赤潮原因种为红色异养型夜光藻,其与源自我国海域的夜光藻株序列差异小,应属于我国沿海常见的夜光藻株系。赤潮期间海域浮游植物多样性低,以夜光藻为优势种。

(3) 赤潮期间海水细菌 OTU 数量为 294~414,以变形菌门的 α -变形菌纲和 γ -变形菌纲为优势菌群;细菌群落结构受 COD、DO 浓度、DIN 浓度、 PO_4^{3-} -P 浓度、N/P 多种环境因子的影响,其中 COD 是主要影响因素。

致谢: 非常感谢广西科学院陈默副研究员拍摄夜光藻赤潮现场图,并允许本文使用。

参考文献:

- [1] Harrison P J, Furuya K, Glibert P M, et al. Geographical distribution of red and green *Noctiluca scintillans*[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2011, 29(4): 807–831.
- [2] Tsai S F, Wu Luying, Chou Wenchen, et al. The dynamics of a dominant dinoflagellate, *Noctiluca scintillans*, in the subtropical coastal waters of the Matsu archipelago[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, 127: 553–558.
- [3] 中华人民共和国国家海洋局. HY/T 069–2005, 赤潮监测技术规程[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
State Oceanic Administration of the People's Republic of China. HY/T 069-2005, Technical specification for red tide monitoring[S]. Beijing: Standards Press of China, 2005.
- [4] 周名江, 朱明远, 张经. 中国赤潮的发生趋势和研究进展[J]. *生命科学*, 2001, 13(2): 54–59, 53.
Zhou Mingjiang, Zhu Mingyuan, Zhang Jing. Status of harmful algal blooms and related research activities in China[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2001, 13(2): 54–59, 53.
- [5] Zhang Shuwen, Xia Xiaomin, Ke Ying, et al. Population dynamics and interactions of *Noctiluca scintillans* and *Mesodinium rubrum* during their successive blooms in a subtropical coastal water[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 755: 142349.
- [6] Guo Hao, Liu Xiaoxu, Ding Dewen, et al. The economic cost of red tides in China from 2008–2012[J]. *PICES Scientific Report*, 2014(47): 27–34.
- [7] Lao Qibin, Su Qizhong, Liu Guoqiang, et al. Spatial distribution of and historical changes in heavy metals in the surface seawater and sediments of the Beibu Gulf, China[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 146: 427–434.
- [8] Xu Yixiao, Zhang Teng, Zhou Jin. Historical occurrence of algal blooms in the northern Beibu Gulf of China and implications for future trends[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 451.
- [9] 罗金福, 李天深, 蓝文陆. 北部湾海域赤潮演变趋势及防控思路[J]. *环境保护*, 2016, 44(20): 40–42.
Luo Jinfu, Li Tianshen, Lan Wenlu. Evolution trend and prevention strategy of algae bloom in the Beibu Gulf[J]. *Environmental Protection*, 2016, 44(20): 40–42.
- [10] 科学网. 海洋一号C/D卫星发现北部湾夜光藻赤潮[EB/OL]. (2021–02–19)[2022–10–24]. <https://news.sciencenet.cn/htmlnews/2021/2/453258.shtm>.
ScienceNet. *Noctiluca scintillans* bloom was detected in the Beibu Gulf by HY-1C/1D[EB/OL]. (2021–02–19)[2022–10–24]. <https://news.sciencenet.cn/htmlnews/2021/2/453258.shtm>.
- [11] 中国自然资源报. 自然资源部南海局开展突发赤潮应急监测[EB/OL]. (2021–02–24)[2022–10–24]. https://m.thepaper.cn/baijiahao_11444325.
China Natural Resources News. The South China Sea Bureau of the Ministry of Natural Resources of China carried out emergency monitoring of sudden red tide[EB/OL]. (2021–02–24)[2022–10–24]. https://m.thepaper.cn/baijiahao_11444325.
- [12] Fu Shaoqiong, Lou Xiulin, Yang Jingsong, et al. Multi-satellite observation of a harmful algal bloom in the Beibu Gulf, South China Sea[C]//Proceedings of 2021 Photonics & Electromagnetics Research Symposium (PIERS). Hangzhou: IEEE, 2021: 2329–2335.
- [13] Wang Weicheng, Sun Song, Sun Xiaoxia, et al. Seasonal phenology of the heterotrophic dinoflagellate *Noctiluca scintillans* (Macartney)

- in Jiaozhou Bay and adjacent coastal Yellow Sea, China[J]. *Journal of Oceanology and Limnology*, 2018, 36(4): 1280–1293.
- [14] Chen Yao, Zhang Yao, Jiao Nianzhi. Responses of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria to algal blooms in the East China Sea[J]. *Hydrobiologia*, 2011, 661(1): 435–443.
- [15] Song Juntong, Bi Hongsheng, Cai Zhonghua, et al. Early warning of *Noctiluca scintillans* blooms using *in-situ* plankton imaging system: an example from Dapeng Bay, P. R. China[J]. *Ecological Indicators*, 2020, 112: 106123.
- [16] Miyaguchi H, Fujiki T, Kikuchi T, et al. Relationship between the bloom of *Noctiluca scintillans* and environmental factors in the coastal waters of Sagami Bay, Japan[J]. *Journal of Plankton Research*, 2006, 28(3): 313–324.
- [17] Gibson K, Song Huiyin, Chen Nansheng. Metabarcoding analysis of microbiome dynamics during a *Phaeocystis globosa* bloom in the Beibu Gulf, China[J]. *Harmful Algae*, 2022, 114: 102217.
- [18] Wang Jinxiu, Kong Fanzhou, Geng Huixia, et al. CHEMTAX analysis of phytoplankton assemblages revealed potential indicators for blooms of haptophyte *Phaeocystis globosa*[J]. *Ecological Indicators*, 2021, 131: 108177.
- [19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB 17378–2007, 海洋监测规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. GB 17378–2007, The specification for marine monitoring[S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [20] 中华人民共和国环境保护部. HJ 442–2008, 近岸海域环境监测规范[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009.
- Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. HJ 442–2008, Specification for offshore environmental monitoring[S]. Beijing: China Environmental Press, 2009.
- [21] Nelson D M, Brzezinski M A. Kinetics of silicic acid uptake by natural diatom assemblages in two Gulf Stream warm-core rings[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1990, 62(3): 283–292.
- [22] Dortch Q, Whitledge T E. Does nitrogen or silicon limit phytoplankton production in the Mississippi River plume and nearby regions?[J]. *Continental Shelf Research*, 1992, 12(11): 1293–1309.
- [23] Justić D, Rabalais N N, Turner R E, et al. Changes in nutrient structure of river-dominated coastal waters: stoichiometric nutrient balance and its consequences[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 1995, 40(3): 339–356.
- [24] Pan Yongbo, Wang Lu, Zhang Wenjing, et al. Genetic analysis of *Noctiluca scintillans* populations indicates low latitudinal differentiation in China but high China–America differences[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2016, 477: 31–39.
- [25] 国家环境保护局. GB 3097–1997, 海水水质标准[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2004.
- National Environmental Protection Agency. GB 3097–1997, Marine water quality standard[S]. Beijing: China Environmental Press, 2004.
- [26] Mohamed Z A, Mesaad I. First report on *Noctiluca scintillans* blooms in the Red Sea off the coasts of Saudi Arabia: consequences of eutrophication[J]. *Oceanologia*, 2007, 49(3): 337–351.
- [27] Chang K H, Amano A, Miller T W, et al. Pollution study in Manila Bay: eutrophication and its impact on plankton community[M]//Obayashi Y, Isobe T, Subramanian A, et al. Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry-Environmental Research in Asia. Tokyo: Terrapub, 2009: 261–267.
- [28] 李萍, 郭钊, 莫海连, 等. 广西近岸海域营养盐时空分布及潜在性富营养化程度评价[J]. 海洋湖沼通报, 2018(3): 148–156.
- Li Ping, Guo Zhao, Mo Hailian, et al. Temporal and spatial distribution of Guangxi inshore nutrients and evaluation of its potential eutrophication[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2018(3): 148–156.
- [29] 韩丽君, 郑新庆, 蓝文陆, 等. 近10年涠洲岛周边海域表层海水营养盐含量变化特征[J]. 应用海洋学学报, 2015, 34(1): 65–72.
- Han Lijun, Zheng Xinqing, Lan Wenlu, et al. Variations of nutrients concentration in surface seawater in adjacent area of Weizhou Island in recent 10 years[J]. *Journal of Applied Oceanography*, 2015, 34(1): 65–72.
- [30] 杨幸幸, 杨颖, 许彩燕, 等. 福建和浙江海域夜光藻赤潮2009—2019年的变化及主要环境因子分析[C]//第三届海洋开发与管理学术年会论文集. 北京: 海洋出版社, 2019: 76–83.
- Yang Xingxing, Yang Ying, Xu Caiyan, et al. Changes and main environmental factors of *Noctiluca scintillans* blooms in Fujian and Zhejiang waters from 2009–2019[C]// Proceedings of the 3rd Annual Conference on Ocean Development and Management. Beijing: China Ocean Press, 2019: 76–83.
- [31] Huang Changjiang, Qi Yuzao. The abundance cycle and influence factors on red tide phenomena of *Noctiluca scintillans* (Dinophyceae) in Dapeng Bay, the South China Sea[J]. *Journal of Plankton Research*, 1997, 19(3): 303–318.
- [32] 于美波, 朱文博, 王君霞, 等. 日照市近岸夜光藻生消特征及其与水温和营养盐的关联[J]. 海洋湖沼通报, 2022, 44(3): 65–70.
- Yu Meibo, Zhu Wenbo, Wang Junxia, et al. Generation and elimination characteristics of *Noctiluca scintillans* inhabiting Rizhao near coast and their associations with seawater temperature and nutrients[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2022, 44(3): 65–70.
- [33] 天气网. 涠洲岛2021年2月份历史天气[EB/OL]. <https://lishi.tianqi.com/weizhoudao/202102.html>.
- www.tianqi.com. Weizhou Island in February 2021 historical weather[EB/OL]. <https://lishi.tianqi.com/weizhoudao/202102.html>
- [34] Kopuz U, Feyzioğlu A M, Valente A. An unusual red-tide event of *Noctiluca scintillans* (Macartney) in the Southeastern Black Sea[J].

- Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2014, 14(1): 261–268.
- [35] 尹翠玲, 张秋丰, 邹涛, 等. 渤海湾天津近岸海域夜光藻赤潮生消过程初探[J]. 海洋湖沼通报, 2013(2): 99–104.
Yin Cuiling, Zhang Qiufeng, Zou Tao, et al. Analysis for *Noctiluca scintillans* red tide in Bohai bay[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2013(2): 99–104.
- [36] Isinibilir M, Kideys A E, Tarkan A N, et al. Annual cycle of zooplankton abundance and species composition in Izmit Bay (the northeastern Marmara Sea)[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2008, 78(4): 739–747.
- [37] Baliarsingh S K, Lotliker A A, Trainer V L, et al. Environmental dynamics of red *Noctiluca scintillans* bloom in tropical coastal waters[J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, 111(1/2): 277–286.
- [38] Valiadi M, de Rond T, Amorim A, et al. Molecular and biochemical basis for the loss of bioluminescence in the dinoflagellate *Noctiluca scintillans* along the west coast of the U. S. A.[J]. *Limnology and Oceanography*, 2019, 64(6): 2709–2724.
- [39] Wang Lu, Lin Xin, Goes J I, et al. Phylogenetic analyses of three genes of *Pedinomonas noctilucae*, the green endosymbiont of the marine dinoflagellate *Noctiluca scintillans*, reveal its affiliation to the order Marsupiomonadales (Chlorophyta, Pedinophyceae) under the reinstated name *Protoeuglena noctilucae*[J]. *Protist*, 2016, 167(2): 205–216.
- [40] Wang Lu, Zhuang Yunyun, Zhang Huan, et al. DNA barcoding species in *Alexandrium tamarense* complex using ITS and proposing designation of five species[J]. *Harmful Algae*, 2014, 31: 100–113.
- [41] Litaker R W, Vandersea M W, Kibler S R, et al. Recognizing dinoflagellate species using ITS rDNA sequences[J]. *Journal of Phycology*, 2007, 43(2): 344–355.
- [42] 丁玉, 宋秀贤, 曹西华, 等. 不同类型改性粘土去除米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)后絮体中细菌变化特点[J]. 海洋科学, 2021, 45(7): 46–56.
Ding Yu, Song Xiuxian, Cao Xihua, et al. Variation of bacteria in flocs after removal of *Karenia mikimotoi* by different types of modified clay[J]. *Marine Sciences*, 2021, 45(7): 46–56.
- [43] Xia Xiaomin, Leung S K, Cheung S, et al. Rare bacteria in seawater are dominant in the bacterial assemblage associated with the bloom-forming dinoflagellate *Noctiluca scintillans*[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 711: 135107.
- [44] Zhou Jin, Lao Yongmin, Song Junting, et al. Temporal heterogeneity of microbial communities and metabolic activities during a natural algal bloom[J]. *Water Research*, 2020, 183: 116020.
- [45] 王勋功, 李迎, 甄毓, 等. 基于454和Illumina高通量测序平台对长江口邻近海域沉积物微生物群落的比较分析[J]. 海洋环境科学, 2018, 37(5): 766–772,791.
Wang Xungong, Li Ying, Zhen Yu, et al. Comparative analysis of microbial community in the sediments from the adjacent area of Yangtze Estuary by 454 pyrosequencing and Illumina sequencing[J]. *Marine Environmental Science*, 2018, 37(5): 766–772,791.
- [46] 常虹, 王博, 姚蜜蜜, 等. 深圳大鹏湾海域锥状斯氏藻赤潮期间细菌群落结构变化研究[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(10): 1801–1807.
Chang Hong, Wang Bo, Yao Mimi, et al. Structural dynamic of bacterial community associated with a *Scrippsiella trochoidea* bloom in Dapeng Bay of shenzhen[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2014, 14(10): 1801–1807.
- [47] 李祎, 杨彩云, 李东, 等. 厦门海域2011年中肋骨条藻和血红哈卡藻赤潮期间细菌群落结构变化[J]. 微生物学报, 2012, 52(10): 1268–1281.
Li Yi, Yang Caiyun, Li Dong, et al. Dynamics of bacterial community during the bloom caused by *Skeletonema costatum* and *Akashiwo sanguinea* in Xiamen sea area[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2012, 52(10): 1268–1281.
- [48] Li Nan, Zhao Huaxian, Jiang Gonglingxia, et al. Phylogenetic responses of marine free-living bacterial community to *Phaeocystis globosa* bloom in Beibu Gulf, China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1624.
- [49] Lu H P, Yeh Y C, Shiah F K, et al. Evolutionary constraints on species diversity in marine bacterioplankton communities[J]. *The ISME Journal*, 2019, 13(4): 1032–1041.
- [50] 王加鹏, 崔正国, 周强, 等. 人工湿地净化海水养殖外排水效果与微生物群落分析[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(6): 1–9.
Wang Jiapeng, Cui Zhengguo, Zhou Qiang, et al. Removal effect of mariculture wastewater and analysis of microbial communities in constructed wetlands[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(6): 1–9.
- [51] 赵旺, 黄星美, 邓正华, 等. 夏季美济礁潟湖养殖区海水细菌多样性及其与环境因子的相关性[J]. 中国水产科学, 2022, 29(5): 720–731.
Zhao Wang, Huang Xingmei, Deng Zhenghua, et al. Analysis of bacterial diversity and correlation with environmental factors in the aquaculture area of Mischief Reef Lagoon in summer[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, 29(5): 720–731.
- [52] Zhou Jin, Richlen M L, Sehein T R, et al. Microbial community structure and associations during a marine dinoflagellate bloom[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1201.

Analysis of phytoplankton and bacterial community during the first recorded massive *Noctiluca scintillans* bloom in the Beibu Gulf, China

Li Huiling^{1,2}, Xu Yixiao^{1,2}, Wu Miao^{1,2}, Lan Wenlu³, Xie Huanda^{1,2}, Huang Hu⁴

(1. Key Laboratory of Environment Change and Resources Use in Beibu Gulf, Ministry of Education, Nanning Normal University, Nanning 530001, China; 2. Guangxi Beibu Gulf Intelligent Marine Ranching Engineering Research Center, Nanning Normal University, Nanning 530001, China; 3. Beibu Gulf Marine Ecological Environment Field Observation and Research Station of Guangxi, Marine Environmental Monitoring Center of Guangxi, Beihai 536000, China; 4. Guangxi Key Laboratory of Marine Environmental Change and Disaster in Beibu Gulf, Beibu Gulf University, Qinzhou 535011, China)

Abstract: Beibu Gulf is located in the northwestern part of the South China Sea and is experiencing a significant increase in the frequency, duration and extent of harmful algal blooms (HABs) outbreaks in the last 30 years. To characterize phytoplankton and bacterial communities during the massive *Noctiluca scintillans* bloom in the Beibu Gulf, seawater samples were collected from the area of a massive *N. scintillans* outbreak west from Weizhou Island on February 21, 2021, and environmental factors, along with phytoplankton and bacterial communities were analyzed. The results showed that the sea water quality of this area met the standards of Chinese Class I seawater quality, mainly in the absolute phosphate limit state. In recent years, other studies reported low nutrient content and limited phosphorus in waters adjacent to Weizhou Island and in the central part of Beibu Gulf during the non-harmful algal bloom (HAB) period. Therefore, *N. scintillans* bloom investigated in this study belonged to a non-eutrophication HAB event. Two phyla, five genera, and five species of phytoplankton were identified in seawater, among which *N. scintillans* was the absolute dominant species, with a cell density of 2.00×10^3 – 3.75×10^3 cells/L. The red discoloration of the sea water was caused by the red heterotrophic *N. scintillans*. Both phylogenetic and genetic distance analyses demonstrated that the causative *N. scintillans* in the Beibu Gulf was similar to *N. scintillans* along the coast of China. High-throughput sequencing of the V3–V4 region of the 16S rRNA gene in seawater samples revealed that the number of OTUs (operational taxonomic units) in bacterial community ranged from 294 to 414, with Alphaproteobacteria and Gammaproteobacteria as the dominant groups. The bacterial community structure was affected by various environmental factors, including COD, DO, DIN, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$, and N/P, among which COD was predominant. This research provides new insights into the environmental characteristics and microbial composition of sea water during a massive *N. scintillans* bloom and will aid bloom management in the Beibu Gulf.

Key words: *Noctiluca scintillans* bloom; phytoplankton; bacterial community; environmental factors; Beibu Gulf