

黄海冷水团及周边海域沉积物中真核微生物 地理分布及群落构建机制*

尹婷婷¹ 赵 峰^{1,2①} 孟昭翠¹ 黄平平³ 徐奎栋¹

(1. 中国科学院海洋研究所海洋生物分类与系统演化实验室 山东青岛 266071; 2. 中国科学院黄海海洋观测研究站
山东青岛 266071; 3. 德州学院生物物理研究院 山东德州 253023)

摘要 黄海冷水团作为典型的物理屏障,其内部低温高盐的稳定生境如何塑造底栖真核微生物分布格局尚不明确。基于环境 DNA (eDNA)技术,以 18S rDNA 基因为分子标记基因对渤海 2 个站位和黄海冷水团及周边 15 个站位的沉积物中真核微生物群落进行系统分析。结果表明,冷水团内外的优势类群均是双鞭毛虫门;两者的群落结构存在显著差异(ANOSIM: $R=0.576\ 3$, $P=0.001$)。与外部相比,冷水团内部群落虽然物种丰富度在数值上较低[操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)数量的中位数: 1 529 vs. 1 672],但具有更复杂的共现网络结构(边数 4 062 vs. 3 138),表明其生态系统可能更具稳定性。确定性过程(异质选择)在群落构建过程中占主导地位,其中深度对冷水团外部群落的作用更强,而温度和粒径中值则对冷水团内部群落的影响更为关键。研究结果表明黄海冷水团对沉积物中真核微生物群落具有塑造作用,显示 eDNA 技术有望成为解析海洋微型生物地理分布格局和评估生态系统结构的一种有效工具。

关键词 黄海;环境 DNA;扩增子;真核微生物多样性;冷水团;18S rDNA V4

中图分类号 P735; Q178 doi: 10.11693/hyhz20251100254

海洋真核微生物作为海洋微生物食物网的关键组分,主导生态系统结构与功能,其多样性变化影响生态格局(Finlay, 2002; Sherr *et al.*, 2002; Falkowski *et al.*, 2008; 徐奎栋, 2011; Worden *et al.*, 2015)。这类单细胞生物个体微小、生命周期短,对环境变化极为敏感,是海洋生态系统健康的重要指示类群,可提供早期预警。但传统形态学鉴定耗时费力、专业要求高且易遗漏稀有类群,限制了对底栖真核微生物多样性及其地理分布格局的认知(Azovsky *et al.*, 2016; Pagenkopp Lohan *et al.*, 2017),该瓶颈直至环境 DNA (environmental DNA, eDNA)技术的兴起才被打破。环境 DNA 技术可高效捕获稀有类群信息,提升物种检测能力并解析群落结构,为海洋生物多样性研究与生态健康评估提供关键支撑(Rees *et al.*, 2014; Dos

Santos *et al.*, 2022)。真核微生物研究常用 DNA 条形码区域包括 ITS、18S rDNA 及 28S rDNA 等(Wayne Litaker *et al.*, 2007; de Vargas *et al.*, 2015; Ruiz-de la Torre *et al.*, 2022)。其中,18S rDNA 物种覆盖率高、数据库完善,其 V4 区引物扩增序列的分辨率高于 V9 区(郭雨沛等, 2023)。eDNA 技术已在生物多样性普查、珍稀物种追踪与外来物种入侵预警获得应用,推动海洋生态监测向更精准高效发展(谷思雨等, 2024)。其在生态系统健康评估方面应用潜力显著: Zhang 等(2023)分析中国海岸带真核微生物群落,揭示人类活动对生物格局的驱动机制; Papaioannou 等(2023)证实其可识别环境胁迫对生物群落的影响,实现生态风险预警; Botta 等(2024)揭示食物网结构,为生态管理提供依据。

*国家自然科学基金项目, 42476117 号; 中国科学院青年创新促进会, 2022206 号。尹婷婷, 硕士研究生, E-mail: ytt@qdio.ac.cn

① 通信作者: 赵 峰, 博士, E-mail: fzhaof@qdio.ac.cn

收稿日期: 2025-11-11, 收修改稿日期: 2026-02-08

黄海作为一个半封闭的陆架海, 平均水深为 44 m, 其中央海槽区域水深介于 50~80 m (Xin *et al.*, 2015)。黄海冷水团(Yellow Sea cold water mass, YSCWM)是该海域最具标志性的水文特征, 其形成与季节变化紧密相关: 冬季受西伯利亚冷空气影响, 黄海底层水体广泛降温至 2~5 °C, 形成低温水体基础; 春季后上层水体逐渐升温, 底层低温水体被隔离, 在中央海槽区域形成稳定的冷水团, 夏季是其发育最成熟的时期, 秋季随上层水体降温、垂直混合加强而逐渐消散(赫崇本等, 1959)。该冷水团不仅具有低温(<10 °C)、高盐(>32‰)的核心特征, 还呈现出强稳定性、低溶解氧、高营养盐储备的环境特性, 其空间范围可覆盖黄海中央海槽及周边深水区, 形成与上层水体、周边近岸水体截然不同的生境(Zhang *et al.*, 2008; Xin *et al.*, 2015)。已有研究表明, 黄海冷水团能够长期留存历史上的冷水物种(Liu *et al.*, 2022), 且冷水团内部与外部之间, 小型及大型底栖生物群落结构存在显著差异(Liu *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2012)。然而, 针对底栖真核微生物, 其群落结构是否及如何响应冷水团这一物理屏障, 当前的认识尚不统一且存在明显缺口。早期依赖传统显微形态学观察的研究, 因无法识别小型、稀有及未培养类群, 未在微型底栖生物中发现一致的冷水团内外分布差异格局(Meng *et al.*, 2012; Gong *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2016)。而近年来有研究采用环境 RNA 技术的研究虽揭示了冷水团内外底栖真核微生物群落的显著差异, 但该技术聚焦活性类群, 难以反映群落整体特征(Huang *et al.*, 2020)。底栖真核微生物在冷水团中的分布模式与群落构建机制尚不明确, 阻碍了对该海域生态系统结构与功能的深入理解。

综上所述, 为解析黄海冷水团这一特殊生境中真核微生物分布模式和群落构建过程, 采用环境 DNA 技术, 系统研究了黄海冷水团及周边海域沉积物中真核微生物的多样性组成和物种间关系, 揭示其群落构建过程和地理分布特征, 并进一步探讨形成该格局的主要环境驱动因子。研究结果有望为解析冷水团生态过程提供新证据, 并为后续建立基于 eDNA 的监测体系、评估气候变化对底栖微生物的影响提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域与样品采集

本研究于 2015 年 8 月搭乘“东方红 2”号科学考

察船, 在黄海和渤海(32°~41°N, 117°~125°E), 共设置 17 个采样站位并成功获取沉积物样本(图 1)。依据海底温度与盐度特征, 将这些站位划分为黄海冷水团内部与外部两组(Zhang *et al.*, 2008)。每个站位采集一箱未受扰动的沉积物, 使用经灭菌的汤匙从每箱中分别刮取 3 份约 20 g 表层(0~2 cm)沉积物, 混合均匀后封装, 随即置于-20 °C 条件下冷冻保存, 待返回实验室后转移至超低温冰箱中继续贮存。

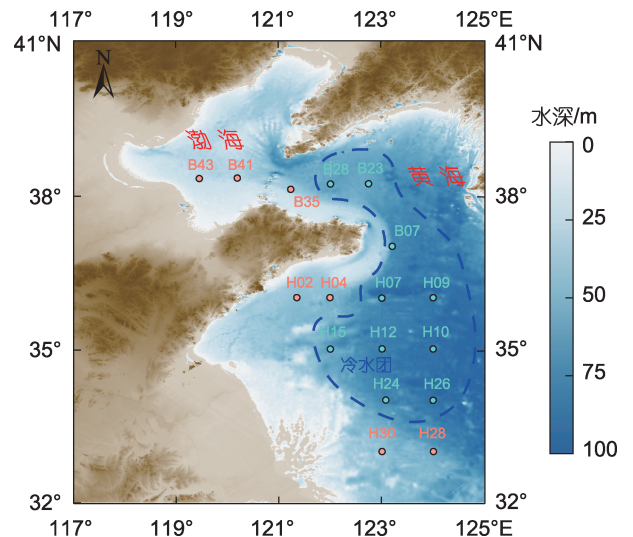


图 1 黄海冷水团及周边海域的采样站位图

Fig.1 Locations of the sampling stations in the Yellow Sea Cold Water Mass (YSCWM) and its adjacent waters

注: 蓝色点是黄海冷水团站位(YSCWM); 橙色点是冷水团外部站位(OYSCWM)

水深、底层水温和盐度数据通过 CTD 采集获取。沉积物总氮和有机碳含量使用元素分析仪(Vario Macro/TOC Cube, Elementar Germany)进行测定, 并以有机碳含量乘以系数 1.724 计算得到总有机质含量(Laird *et al.*, 1994)。沉积物中值粒径采用粒度分析仪测定; 叶绿素 *a* 与脱镁叶绿素 *a* 含量则利用荧光光度计(Turner Designs, Trilogy, American)测定(Mantoura *et al.*, 1983)。此外, 将沉积物样品置于 60 °C 干燥箱中烘干 48 h, 以测定其含水量(Huang *et al.*, 2021)。

1.2 DNA 提取与 PCR 扩增

沉积物 DNA 的提取依照 DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen, Germany)说明书进行。从每个站位的 3 份样品中分别称取 2 g 沉积物, 进行独立提取, 以获取各站位的 DNA。使用真核微生物通用引物 TAReuk454 FWD1 [5'-CCAGCA(G/C)C(C/T)GCGGTAATTCC-3'] 和 TAReukREV3 [5'-ACTTTCGTTCTTGAT(C/T)(A/

G)A-3']扩增 18S rDNA 基因的 V4 区(Stoeck *et al.*, 2010)。PCR 反应体系为 50 μ L, 包含 1.5 μ L 模板 DNA、1 μ L 正向引物、1 μ L 反向引物、25 μ L 扩增混合液及 21.5 μ L ddH₂O。扩增程序如下: 98 °C 预变性 30 s; 随后进行 10 个循环的 98 °C 变性 30 s、57 °C 退火 45 s、72 °C 延伸 1 min; 接着进行 25 个循环的 98 °C 变性 30 s、49 °C 退火 45 s、72 °C 延伸 1 min; 最后 72 °C 终延伸 1 min, 并于 4 °C 保存。为监控实验过程中可能引入的外源污染, 设置 PCR 空白(以 ddH₂O 代替模板 DNA)。为减少误差, 每个样品设 3 次重复, 在 PCR 完成后将同一模板的 3 次重复产物等量混合后构建文库, 最终使用 Illumina Miseq 平台对合格文库进行双端测序。

1.3 数据处理和统计及分析

使用 VSEARCH 进行引物去除与质量控制, 随后通过 USEARCH 进行去噪处理, 获得扩增子变异序列 [零半径操作分类单元 (zero-radius operational taxonomic units, zOTUs)](Liu *et al.*, 2021)。利用 pr2_5.0.0 数据库对 zOTUs 进行分类注释(Guillou *et al.*, 2013), 并基于 vegan 包等量抽样到单个样品最低序列数(22 041), 以确保所有样本数据可比。最终获得真核微生物的 zOTUs 表格及相应的物种注释信息。根据 Logares 等(2014)对优势与稀有 OTUs 的定义, 优势 OTUs 指在每一站位中平均相对丰度高于 0.1% 的 OTUs, 而稀有 OTUs 则指其平均相对丰度低于 0.001%。此处相对丰度是指某一 OTU 的序列数占总序列数的比例。

数据分析在 R 语言环境中完成, 具体包括: 利用“ape”包对类群进行聚类分析; 通过“vegan”包中的 Anosim 函数对组间差异进行统计检验(Clarke *et al.*, 2006); 使用“VennDiagram”包对两组 OTU 的重叠与特有情况进行分析; 利用“geosphere”包将经纬度转换为地理距离(Karney, 2013), 并计算 Bray-Curtis 群落相异度; 最后, 采用“linkET”包对物种组与环境因子的相关性进行 Mantel 检验。

为量化不同环境因子组对真核微生物群落结构的相对贡献, 进行方差分解分析(variation partitioning analysis, VPA), 并在进行分析之前, 对 OTU 数据和环境因子数据进行 $\log(x+1)$ 转换以标准化数据分布, 并使用 VIF 进行环境因子的筛选, 移除 VIF>10 的环境因子, 以排除环境因子间的多重共线性的影响。

为探究生态过程对群落结构的影响, β 最近种系数 (β -nearest taxon index, β NTI)被用作一种基于系

统发育的群落构建机制分析方法(Stegen *et al.*, 2013)。该指标的计算以加权的 β -平均最近类群距离(β mean nearest taxon distance, β MNTD)为基础, 通过 999 次随机置换构建系统发育零模型, 并将实际观测的 β MNTD 值与零模型分布进行比较。当 $|\beta$ NTI|>2 时, 说明确定性过程主导群落构建: β NTI>2 表示同质选择(homogeneous selection), β NTI<-2 表示异质选择(heterogeneous selection); 若 $|\beta$ NTI|<2, 则反映随机性过程占主导, 具体包括 β NTI 在 -2.00~-0.95 之间为同质扩散(homogenizing dispersal), -0.95~0.95 之间为漂变(drift), 0.95~2.00 之间为扩散限制(dispersal limitation), 这些过程在群落构建中起主要作用(Chase *et al.*, 2011; Stegen *et al.*, 2015)。

1.4 共现网络分析

通过构建微生物共现网络来探究不同物种间的相互作用关系。首先对等量抽样后的 OTU 丰度数据进行预处理, 按照聚类结果, 将 OTU 表分为黄海冷水团内部和外部 2 组。采用以下标准对 zOTU 进行筛选: 在所有样本中相对丰度>0.01%, 且在超过 50% 的样本中被检测到, 以确保后续分析的可靠性。

采用“Hmisc”包中的 Spearman 秩相关方法计算所有 OTU 两两之间的关联强度, 并设置严格阈值来定义显著的共现关系: 当两个 OTU 之间的相关系数绝对值大于等于 0.6, 且经过 Benjamini-Hochberg 多重检验校正后的 P_{adj} 值小于 0.01。节点大小与物种在群落中的相对丰度成正比。对于边属性, 采用红色线表示正相关关系, 蓝色线表示负相关关系, 边的粗细与相关系数的绝对值大小成正比, 从而直观展现关联的强度。

为解析网络结构, 使用“igraph”计算了节点度、中介中心性、网络密度、平均路径长度和聚类系数等拓扑指标, 以量化网络的整体结构和关键物种。最终, 网络结果被导出为 graphml 格式, 通过 Gephi 进行可视化(Bastian *et al.*, 2009)。

为能够识别网络中具有关键功能的核心物种, 通过 Zi-Pi 分析, 通过计算每个节点的两个关键拓扑参数: 模块内连通性(Zi)和模块间连通性(Pi)。基于 Zi 和 Pi 的阈值标准($Z_i \geq 2.5$, $P_i \geq 0.62$), 将网络节点划分为 4 种不同的生态角色: 模块核心(Module hubs, $Z_i > 2.5$, $P_i < 0.62$)在所属模块内高度连接, 承担维持模块稳定的功能; 跨模块连接器(Connectors, $Z_i < 2.5$, $P_i > 0.62$)在不同模块间建立广泛连接, 促进功能群间协同; 网络核心枢纽(Network hubs, $Z_i > 2.5$, $P_i > 0.62$)在

整体网络中具有系统性影响力; 其余节点则为结构松散的外围节点(Peripherals, $Z_i < 2.5$, $P_i < 0.62$) (Cumbo *et al.*, 2014)。

2 结果

2.1 真核微生物聚类分析

通过 UPGMA 聚类分析, 总 OTUs 的结果中, 冷水团内部与外部的真核微生物群落结构存在显著差异

(ANOSIM: $R=0.576\ 3$, $P=0.001$), 大部分站位按冷水团内外聚为不同组; 然而, 外部站位 H04A/B 与 H02B 与内部站位的样品聚合(图 2a~2b)。基于优势 OTUs 的结果, 发现冷水团内部与外部的群落差异更显著(ANOSIM: $R=0.524\ 2$, $P=0.001$), 同总体的聚类结果一样; 基于稀有 OTUs 的聚类结果, 冷水团内部与外部被完全分开, 但聚类树的分支也增加了(ANOSIM: $R=0.503\ 3$, $P=0.001$)。

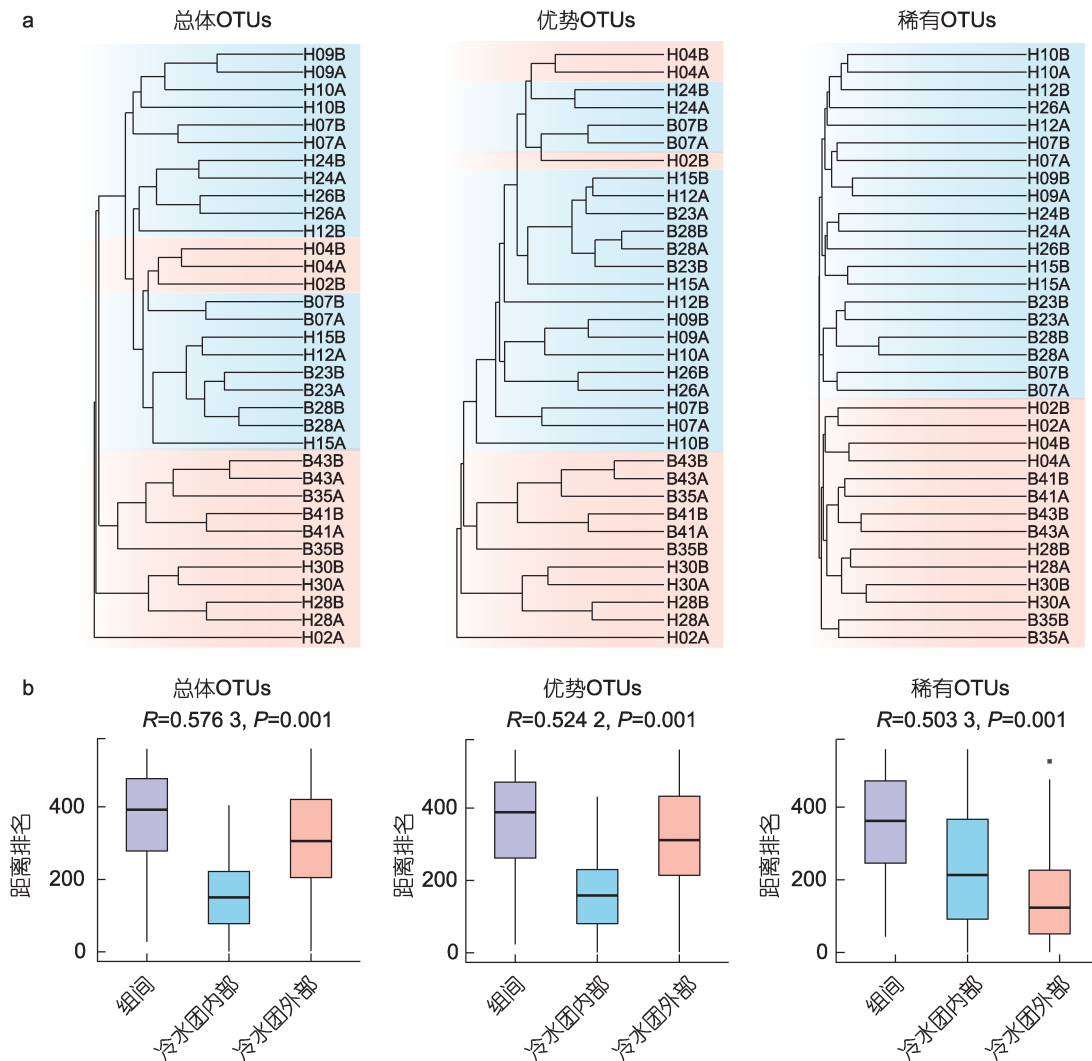


图2 基于总 OTUs、优势 OTUs 和稀有 OTUs 的 UPGMA 聚类分析(a)以及 ANOSIM 分析(b)

Fig.2 UPGMA clustering analysis (a) and ANOSIM results (b) based on total OTUs, abundant OTUs, and rare OTUs

注: 蓝色是黄海冷水团内部; 橙色是黄海冷水团外部

2.2 真核微生物 α 多样性

黄海冷水团内部表现出较低的物种丰富度均值, 以及较高的 Shannon 指数均值(表 1)。通过 Mann-Whitney U 检验发现, 黄海冷水团内部(YSCWM)与外部(OYSCWM)沉积物中真核微生物群落的 Shannon

多样性指数(中位数: 4.65 vs. 4.44; $U=31.0$, $P=0.733$)、物种丰富度(中位数: 1 529 vs. 1 672; $U=50.5$, $P=0.143$)及 Pielou 均匀度(中位数: 0.44 vs. 0.42; $U=28.0$, $P=0.526$)均不存在统计学上的显著差异($P>0.05$) (表 1, 图 3a)。

表 1 黄海冷水团(YSCWM)内部与外部(OYSCWM)的多样性指数(均值±标准差)及两地比较的 Mann-Whitney *U* 检验结果
Tab.1 Diversity indices (presented as mean ± SD) were compared between the Yellow Sea Cold Water Mass (YSCWM) and the area outside the YSCWM (OYSCWM) using the Mann-Whitney *U* test

多样性指数	冷水团内_YSCWM	冷水团外_OYSCWM	<i>U</i> 统计量	<i>P</i> 值
Shannon 指数	4.57±0.48	4.55±0.48	31.0	0.733
Richness (丰富度)	1 488±198	1 639±231	50.5	0.143
Pielou 均匀度	0.43±0.04	0.43±0.04	28.0	0.526

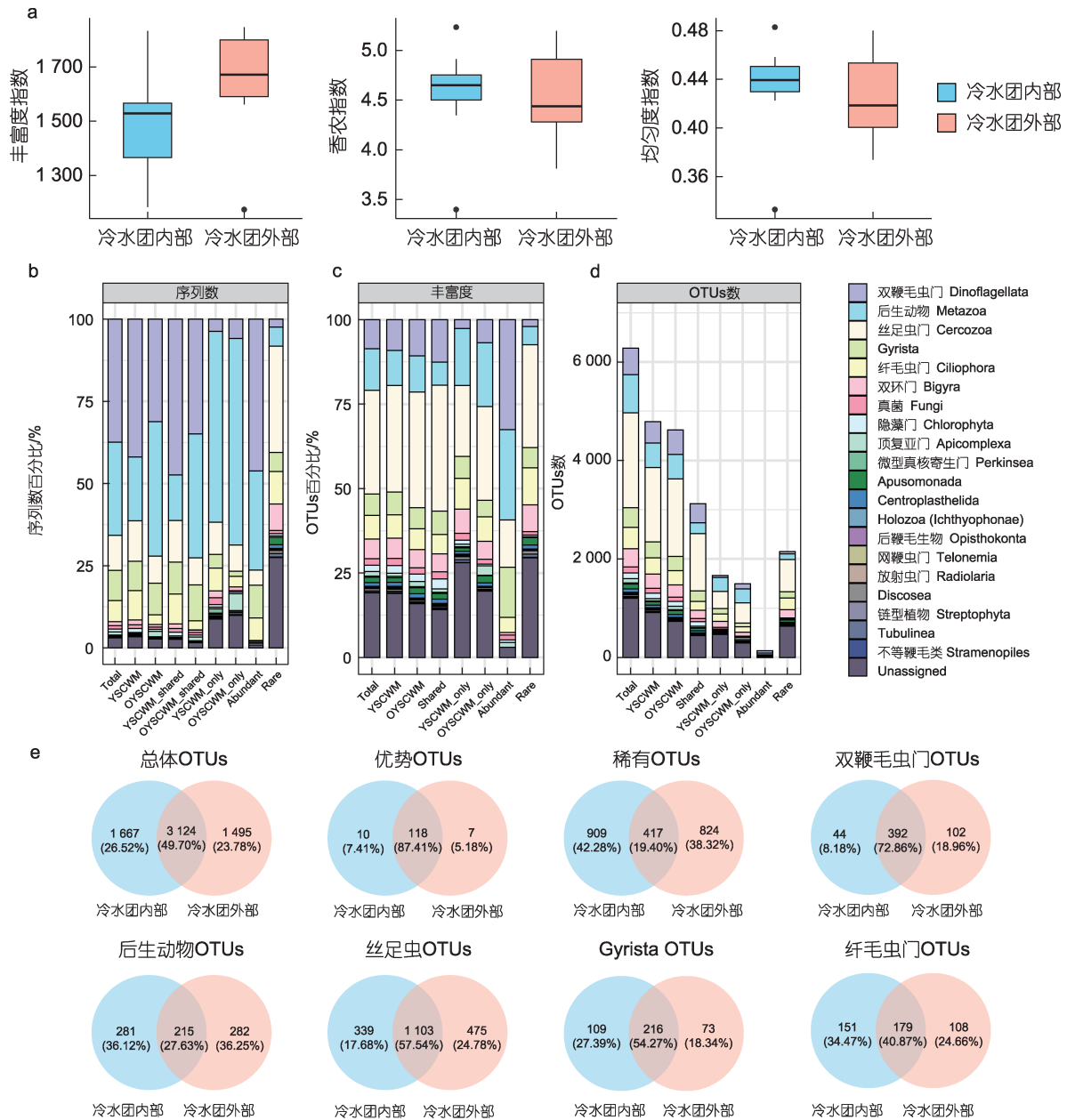


图 3 黄海冷水团内部(YSCWM)与外部(OYSCWM)的 α 多样性(a)、不同门的序列数百分比(b)、OTUs 百分比(c)和 OTUs 数(d)以及微生物群落的独有及共有 OTUs 分布(e)

Fig.3 α -diversity (a), the percentage of sequence counts at the phylum level (b), percentage of OTU counts (c), number of OTUs (d), and the distribution of unique and shared OTUs within the microbial communities (e) between YSCWM and OYSCWM

注: b~d 横坐标中, Total: 总体 OTUs; YSCWM: 黄海冷水团内部; OYSCWM: 黄海冷水团外部; YSCWM_shared: 黄海冷水团内部共有 OTUs; OYSCWM_shared: 黄海冷水团外部共有 OTUs; YSCWM_only: 黄海冷水团内部特有 OTUs; OYSCWM_only: 黄海冷水团外部特有 OTUs; Abundant: 优势 OTUs; Rare: 稀有 OTUs

2.3 真核微生物的群落组成

双鞭毛虫门(Dinoflagellata)相对丰度最高(37.45%),为绝对优势类群;后生动物(Metazoa)次之,占比28.31%;随后依次为丝足虫门(Cercozoa, 10.62%)、Gyrista(9.26%)及纤毛虫门(Ciliophora, 6.40%);真菌(Fungi)相对丰度较低,仅为1.01%,其余类群相对丰度均不足1%。对比冷水团内部与外部的群落组成差异发现,两者优势类群构成存在明显分异:冷水团内部仍以双鞭毛虫门相对丰度占比最高(41.88%),其次为后生动物(19.46%),随后依次为丝足虫门(12.28%)、Gyrista(8.98%)和纤毛虫门(8.86%),真菌相对丰度为1.2%,其余类群占比均小于2%;而冷水团外部则以后生动物为优势类群,占比高达40.93%,双鞭毛虫门居次位(31.14%),后续依次为Gyrista(9.65%)、丝足虫门(8.27%)和纤毛虫门(2.89%),真菌相对丰度仅为0.75%,其余类群占比均不足1%(图3b)。

从各类群物种数所占百分比来看,丝足虫门占比最高(30.67%),其后依次为后生动物(12.38%)、双鞭毛虫门(8.56%)、纤毛虫门(6.97%)及Gyrista(6.33%),真菌占总体物种种类百分比比较低,仅为1.93%。进一步对比冷水团内部与外部的物种种类百分比差异可见,两者核心类群的种类占比格局具有一致性,但存在细微分异:冷水团内部仍以丝足虫门占比最高(31.57%),其次为后生动物(10.35%),随后依次为双鞭毛虫门(9.10%)、纤毛虫门(6.89%)和Gyrista(6.78%),真菌占比为2.09%;冷水团外部同样以丝足虫门占比最高(34.17%),后生动物次之(10.76%),后续依次为双鞭毛虫门(10.70%)、纤毛虫门(6.21%)和Gyrista(6.26%),真菌占比为1.88%,同样物种种类占比较低(图3c)。

进一步分析冷水团内外共有及特有 OTUs 比例,显示整体上黄海冷水团内部独有的 OTUs 占比(26.52%)高于冷水团外部独有的占比(23.78%)。从不同生物类群来看,Gyrista(398个OTUs)中冷水团内部独有的 OTUs 占比(27.29%)高于外部(18.34%);纤毛虫门(438个OTUs)同样表现为内部独有 OTUs 占比(34.47%)高于外部(24.66%)。与之相反,双鞭毛虫门(538个OTUs)的冷水团内部独有 OTUs 占比(8.18%)低于外部(18.96%);丝足虫门(1 927个OTUs)也呈现内部独有 OTUs 占比(17.68%)低于外部(24.78%)的趋势。后生动物(778个OTUs)的冷水团内部与外部独有 OTUs 占比则较为接近,分别为36.12%与36.25%

(图3d~3e)。

2.4 真核微生物分布与地理距离的关系

对黄海冷水团内部和外部进行距离衰减分析,发现黄海冷水团内部的整体群落随着距离的增加,群落间的相似性也随之减少($R=0.105\ 7$, $P<0.001$)。基于相对丰度前五类群的距离衰减分析,显示丝足虫门($R=0.462\ 1$, $P<0.001$)和Gyrista($R=0.234\ 9$, $P<0.001$)有显著的距离衰减趋势,双鞭毛虫门($R=0.044\ 7$, $P=0.001\ 97$)和后生动物($R=0.022\ 9$, $P=0.020\ 78$)有较显著的距离衰减趋势,纤毛虫门($R=0.012\ 2$, $P=0.069\ 1$)没有显著的距离衰减趋势(图4a)。

黄海冷水团外部较内部显示出更强的距离衰减关系。黄海冷水团外部的整体群落,有显著的距离衰减趋势($R=0.448\ 7$, $P<0.001$)。基于前五类优势类群 OTUs 的距离衰减分析,均存在极显著的距离衰减趋势($R=0.150\ 0\sim0.399\ 8$, $P<0.001$)。

2.5 真核微生物群落构建机制及与环境因子相关性分析

通过 β NTI分析发现黄海冷水团内部(75.56%)和外部(71.42%)两组均是异质选择(heterogeneous selection)占主导,其中冷水团内部的占比较外部略高;而扩散限制(dispersal limitation)和漂变(drift)的占比较少,其中冷水团外部(14.29%)的漂变过程占比高于内部(8.89%)(图4a)。

通过 Mantel 检验分析真核微生物与环境因子的相关性,发现整体的真核微生物群落主要与深度显著相关($R=0.271\ 2$, $0.001<P<0.01$),经度($R=0.345\ 7$, $0.01<P<0.05$)、温度($R=0.335\ 0$, $0.01<P<0.05$)和盐度($R=0.264\ 0$, $0.01<P<0.05$)次之;单独看黄海冷水团内部的真核微生物,深度同样与之显著相关($R=0.539\ 9$, $P=0.001$),而经度($R=0.388\ 9$, $0.01<P<0.05$)与盐度($R=0.320\ 1$, $0.01<P<0.05$)较显著相关;单独看黄海冷水团外部的真核微生物仅与纬度($R=0.856\ 4$, $0.001<P<0.01$)显著相关(表2)。

通过 VPA 分析,黄海冷水团内部微生物群落结构主要受到物理因素(纬度、温度和粒径中值)影响(13.47%),其次是化学因素(pH, 2.67%);冷水团外部的群落也主要受到物理因素的影响(深度和温度, 13.47%),其次是化学因素(盐度和总氮, 6.93%)。对比两组发现,冷水团外部相比冷水团内部更容易受到物理因素和化学因素的影响(图4)。

2.6 真核微生物的共现网络

通过黄海真核微生物共现网络的结果,发现冷水

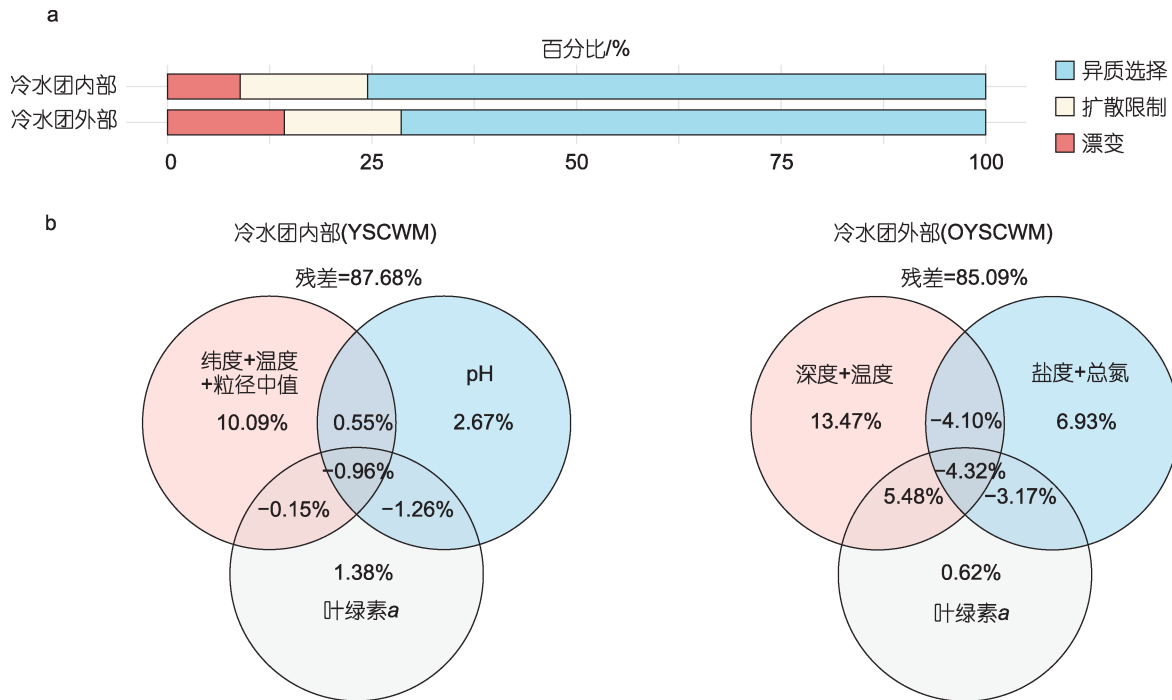


图4 黄海冷水团内部和外部的群落组装机理(β NTI)(a)、黄海冷水团内部和外部的 VPA 分析(b)

Fig.4 Community assembly processes (β NTI) for YSCWM and OYSCWM (a), and variance partitioning analysis (VPA) of microeukaryotic communities in YSCWM and OYSCWM (b)

表2 基于总 OTUs 与环境因子的 Mantel 检验

Tab.2 Mantel test analysis of the relationship between total OTUs and environmental factors

环境因子	相关系数 (R)	显著性 (P)	相关性强度 分级	显著性水平 分级
经度	0.345 7	0.014	0.2~0.6	0.01~0.05
纬度	0.144 2	0.084	<0.2	≥ 0.05
深度	0.271 2	0.008	0.2~0.6	<0.01
温度	0.335 0	0.017	0.2~0.6	0.01~0.05
盐度	0.264 0	0.018	0.2~0.6	0.01~0.05
叶绿素 a	0.005 9	0.432	<0.2	≥ 0.05
pH	-0.106 6	0.764	<0.2	≥ 0.05
粒径中值	-0.001 4	0.46	<0.2	≥ 0.05
总氮	0.056 7	0.319	<0.2	≥ 0.05
总有机质	0.099 9	0.201	<0.2	≥ 0.05

团内部网络呈现出更高的复杂性,其边与节点数分别为 4 062 与 485,相较于外部网络的 3 138 条边与 484 个节点更为密集(图 5a)。与此同时,2 个网络均以正相关边为主导,而冷水团内部正相关边的比例(67.82%)亦显著高于外部(58.32%)(表 3)。在物种组成方面,冷水团内、外虽在优势类群构成上相似,但其相对丰度分布存在明显差异(图 5b)。具体而言,冷水团内部以双鞭毛虫门为最优势类群,占总体比例的 50.59%,后生动物次之,为 12.51%;而在冷水团外部,双鞭毛虫门

虽仍居首位,其相对丰度(39.08%)却低于内部,而后生动物比例则显著高于内部(36.40%)。

从节点度分布来看,冷水团内部以丝足虫门占比最高(36.39%),双鞭毛虫门次之(16.81%);冷水团外部,双鞭毛虫门节点度占比最大(33.09%),丝足虫门则略低(25.95%)。值得注意的是,尽管后生动物在相对丰度上占有较高比例,其在两个网络中的节点度占比却普遍偏低(图 5b)。进一步分析后生动物与其他类群的关联性,在冷水团内部网络中,后生动物与丝足虫门的相关性最强(32.37%),且以正相关为主;其次为双鞭毛虫门(19.38%)。而在外部网络中,后生动物则与双鞭毛虫门关联最为密切(31.66%),但负相关比例较高;与丝足虫门的关联性次之(26.64%)(图 5c)。

通过 Zi-Pi 分析识别网络中的关键类群,结果显示在冷水团内部共现网络中,关键类群以双鞭毛虫门为主,丝足虫门次之(图 5d)。其中,Module hubs 类占 1.20%,包括双鞭毛虫门中的甲藻纲(2 OTUs)、丝足虫门中的鞘缕虫纲(1 OTU)以及 Sagenista (2 OTUs);Connectors 类则占 30.10%,包括双鞭毛虫门(42 OTUs)、丝足虫门(35 OTUs)、Gyrista (22 OTUs)、后生动物(16 OTUs)及纤毛虫门(6 OTUs)。而在冷水团外部网络中,关键类群仍以双鞭毛虫门为首,Gyrista

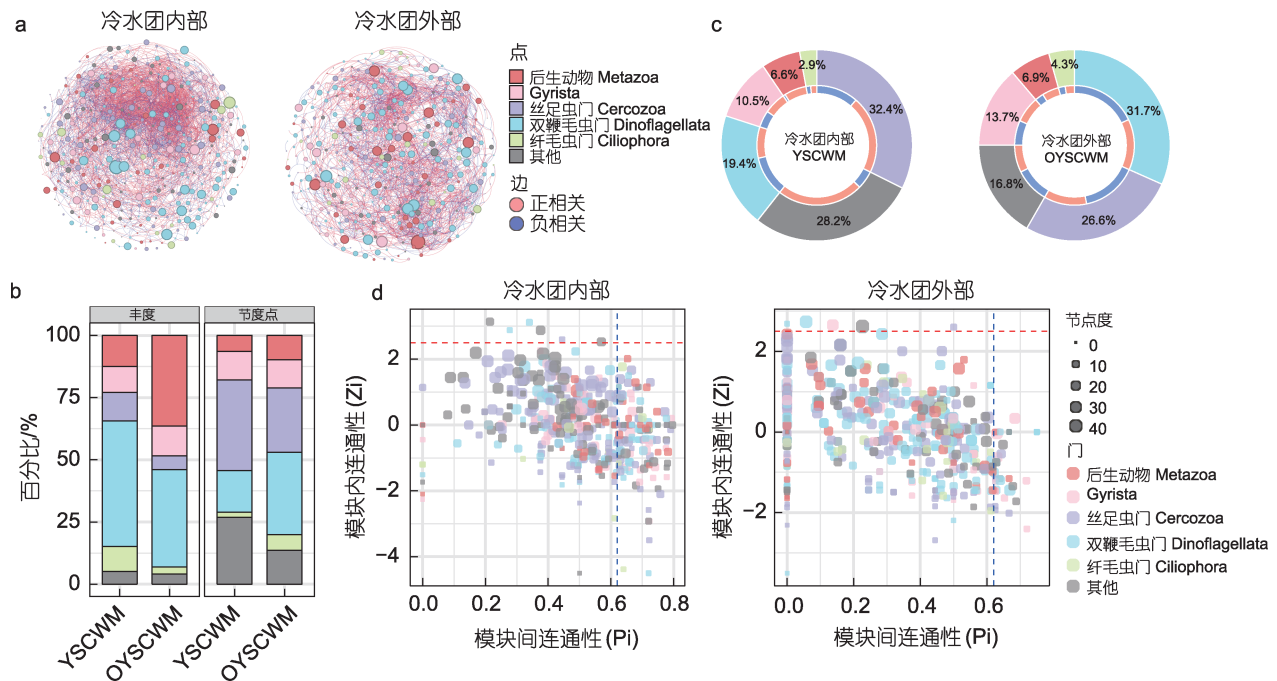


图5 基于环境 DNA 的真核微生物共现网络(a)、共现网络群落组成(b)、共现网络中后生动物与其他类群边的比例(c)以及共现网络的 Zi-Pi 分析(d)

Fig.5 Microeukaryotic co-occurrence network inferred from environmental DNA (eDNA); network visualization of the co-occurrence patterns (a); community composition within the co-occurrence network (b); proportion of connections between Metazoa and other taxonomic groups in the network (c); and Zi-Pi plot analysis of network nodes (d)

表3 基于环境 DNA 的真核微生物共现网络的基本参数

Tab.3 Basic topological parameters of the environmental DNA (eDNA) - microeukaryotic co-occurrence network

Group	节点	边	平均度	图密度	模块化	平均聚类系数	平均路径长度	正相关	负相关
YSCWM	485	4 062	16.751	0.035	1.018	0.399	3.408	67.82%	32.18%
OYSCWM	484	3 138	12.967	0.027	2.782	0.468	4.392	58.32%	41.68%

次之。其中, Module hubs 占 1.00%, 包括双鞭毛虫门中的甲藻纲与共甲藻纲各 1 个 OTU; Connectors 类仅占 7.40%, 包含双鞭毛虫门(12 OTUs)、丝足虫门(8 OTUs)、Gyrista (6 OTUs)、后生动物(4 OTUs)及纤毛虫门(1 OTU)。

3 讨论

本研究基于环境 DNA 系统分析了黄海冷水团及周边海域沉积物中真核微生物的多样性组成和物种间关系, 揭示其群落构建过程、地理分布特征及其环境驱动机制。研究结果揭示了冷水团内外真核微生物群落结构的显著差异以及环境选择在群落构建中的主导作用。

环境 DNA 技术, 与前人环境 RNA 对同一海域(采样时间、航次与前人研究一致)研究结果形成互补。本研究结果发现冷水团内外真核微生物 α 多样

性的均匀度(Pielou)和香农指数(Shannon)均无显著差异, 这一结论与前人一致(Huang *et al*, 2020)。但群落优势类群存在显著不同, 本研究显示双鞭毛虫门在群落中相对丰度较高, 可能以休眠孢囊或不活跃状态存在; 而前人基于环境 RNA 研究揭示的硅藻占主导地位, 显示研究区域真核微生物群落的瞬时代谢活性。冷水团内部稀有 OTUs 占比达 42.26%, 高于前人基于环境 RNA 研究得出的 37%。环境 DNA 与环境 RNA 技术为审视真核微生物群落提供了不同视角: 前者检获的物种不仅包含活跃个体, 还囊括休眠细胞、孢囊及近期死亡生物释放的遗传物质(Epp *et al*, 2012; Furlan *et al*, 2016), 更适用于解析群落地理分布格局; 后者则更能代表实时活跃的生物, 精准反映群落实时代谢状态(Pawlowski *et al*, 2018)。已有研究证实双鞭毛虫门为混合营养型生物, 兼具光合作用与摄食其他微生物的能力(Jeong *et al*, 2010, 2017), 这种营养灵活

性使其在冷水团营养相对受限的环境中具备竞争优势,且部分种类可形成休眠孢囊应对不良环境(Tang *et al*, 2021),而这类休眠或不活跃状态的类群在环境 RNA 中较难被检获。就稀有 OTUs 差异而言,该结果提示环境 DNA 在检测低活跃度、休眠或偶发类群方面的较高敏感性,这类类群通常对生物地理分布格局具有重要指示意义。

针对黄海冷水团内外群落结构,基于总 OTUs、优势 OTUs 和稀有 OTUs 的 ANOSIM 分析均表明冷水团内部与外部真核微生物群落存在显著差异($R=0.576\ 3\sim0.503\ 3$, $P=0.001$)。这一结果与前期对黄海冷水团底栖生物的研究一致。该研究通过聚类分析和相似性检验,发现黄海冷水团内外的底栖线虫群落在种类组成和结构上存在显著差异(Liu *et al*, 2007)。这可能表明冷水团不仅影响了小型底栖生物群落,也同样影响了微型生物的分布格局。本研究中冷水团外部站位 H04A/B 与 H02B 表现出与冷水团内部相似的群落结构,这是因为这两处紧邻冷水团,可能受到冷水团的影响。

黄海冷水团内部是一个特殊的生境。通过共现网络分析也证实了这个结果,研究发现黄海冷水团内部的共现网络更为复杂(边数: 4 062 vs. 外部 3 138),正相关比例更高(67.82% vs. 外部 58.32%)。基于生态学“复杂性决定稳定性”的核心理论可知(Yuan *et al*, 2021),黄海冷水团内部的稳定性更高。而冷水团外部可能是淡水向海水过渡过程中高胁迫导致网络复杂度下降,削弱生态网络的稳定性(Li *et al*, 2023)。后生动物在冷水团外部的共现网络的相对丰度(36.40%)显著高于内部(12.51%)。在共现网络中,后生动物具有高相对丰度但低节点度的特点,表明其在网络中的连接性较弱。值得注意的是,后生动物在冷水团内部与总氮和总有机质显著相关。除此之外,还发现黄海冷水团内部网络中,Connectors 的比例(30.10%)远高于外部(7.40%),其中双鞭毛虫门(特别是甲藻纲)和丝足虫门占核心地位。Connectors 能够缓冲外界干扰,从而维系整个网络模块。由此可知,黄海冷水团作为特殊屏障,为冷水团内部的微生物群落形成的复杂、稳定的协作网络提供外在环境。

群落构建机制研究结果显示,异质选择在冷水团内部和外部均占主导地位,表明确定性过程在黄海真核微生物群落构建中起着关键作用。这一发现与许多海洋微生物群落的结论一致(Li *et al*, 2024; Liu *et al*, 2024)。但其中冷水团外部(14.29%)的漂变过程占比

高于内部(8.89%),外部环境中随机过程的相对贡献有所增加。此外,黄海冷水团内部和外部的真核微生物群落的差异性均随着地理距离的增加而增加。类似现象在潮间带沉积物中的微真核生物中也得到证实(Zhang *et al*, 2018)。环境因素通常具有空间组织特性,这可能导致群落相似性呈现距离衰减关系(Hanson *et al*, 2012)。进一步分析显示,黄海冷水团外部真核微生物群落的距离衰减趋势显著强于内部($R=0.448\ 7$ vs. $0.105\ 7$, $P<0.001$),这一结果暗示冷水团外部区域的环境异质性更高,该区域真核微生物群落受到了更强的扩散限制影响。

多种统计方法进一步确定了显著影响黄海冷水团内外真核微生物群落结构的环境因子。整体上,真核微生物群落主要与深度显著相关,在前人的研究中,水深已被证实是塑造真核微生物组成的关键因素(Gong *et al*, 2015; Pasulka *et al*, 2016; Hyams-Kaphzan *et al*, 2018)。而冷水团内部和外部类群对环境因子的响应模式不同。通过 VPA 对不同环境因子的贡献进行量化,发现冷水团内部群落主要受温度和粒径中值的影响;而在冷水团外部,深度则成为更重要的影响因素。

4 结论

本研究通过环境 DNA 技术系统阐释了黄海冷水团及周边海域沉积物中真核微生物的多样性组成和物种间关系,揭示其群落构建过程、地理分布特征及其环境驱动机制。研究发现冷水团内外的真核微生物群落存在显著的差异;冷水团影响着真核微生物的群落结构,更复杂且稳定的共现网络,表明冷水团内部是一个结构更稳定的生态系统;异质选择在群落构建过程中占主导,其中深度在冷水团外部作用更强,而温度和粒径中值在内部更重要。

本研究通过环境 DNA 解析黄海冷水团及周边海域沉积物真核微生物多样性与群落构建,既深化了对黄海冷水团生态过程的理解,也显示了 eDNA 技术有望成为解析海洋微型生物地理格局和评估生态系统结构的一种有效工具。研究结果可为海洋生态保护管理提供具体依据,例如:黄海冷水团可作为监测气候变暖对底栖微型生物影响的敏感区,用于早期预警底栖生态变化;环境 DNA 技术可纳入底栖生态常规监测,补充传统调查手段。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参 考 文 献

- 谷思雨, 陈凯, 金小伟, 等, 2024. 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, 48(8): 1443-1458.
- 徐奎栋, 2011. 海洋微型底栖生物的多样性与地理分布[J]. 生物多样性, 19(6): 661-675.
- 郭雨沛, 黄良民, 钟瑜, 等, 2023. 核糖体小亚基 V4 和 V9 区引物扩增东亚湾真核浮游生物的比较研究[J]. 生态科学, 42(1): 242-251.
- 赫崇本, 汪圆祥, 雷宗友, 等, 1959. 黄海冷水团的形成及其性质的初步探讨[J]. 海洋与湖沼, (1): 11-15.
- AZOVSKY A I, TIKHONENKOV D V, MAZEI Y A, 2016. An estimation of the global diversity and distribution of the smallest eukaryotes: Biogeography of marine benthic heterotrophic flagellates [J]. Protist, 167(5): 411-424.
- BASTIAN M, HEYMANN S, JACOMY M, 2009. Gephi: An open source software for exploring and manipulating networks [J]. Proceedings of the International AAAI Conference on Web and Social Media, 3(1): 361-362.
- BOTTA C, BUZZANCA D, CHIARINI E, *et al*, 2024. Microbial contamination pathways in a poultry abattoir provided clues on the distribution and persistence of *Arcobacter* spp. [J]. Applied and Environmental Microbiology, 90(5): e00296-24.
- CHASE J M, KRAFT N J B, SMITH K G, *et al*, 2011. Using null models to disentangle variation in community dissimilarity from variation in α -diversity [J]. Ecosphere, 2(2): 1-11.
- CLARKE K R, GORLEY R N, 2006. PRIMER v6: User manual/tutorial [R]. Plymouth: PRIMER-E.
- CUMBO F, PACI P, SANTONI D, *et al*, 2014. GIANT: A cytoscape plugin for modular networks [J]. PLoS One, 9(10): e105001.
- DE VARGAS C, AUDIC S, HENRY N, *et al*, 2015. Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean [J]. Science, 348(6237): 1261605.
- DOS SANTOS A L, 2022. Phytoplankton diversity and ecology through the lens of high throughput sequencing technologies [M]. RIBEIRO C G, ONG D, GARCZAREK L, *et al*. // CLEMESON L A, ERIKSEN R S, WILLIS A. Advances in Phytoplankton Ecology: Applications of Emerging Technologies. Amsterdam: Elsevier: 353-413. <https://hal.science/hal-04733503v1>.
- EPP L S, BOESSENKOOL S, BELLEMAIN E P, *et al*, 2012. New environmental metabarcodes for analysing soil DNA: Potential for studying past and present ecosystems [J]. Molecular Ecology, 21(8): 1821-1833.
- FALKOWSKI P G, FENCHEL T, DELONG E F, 2008. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles [J]. Science, 320(5879): 1034-1039.
- FINLAY B J, 2002. Global dispersal of free-living microbial eukaryote species [J]. Science, 296(5570): 1061-1063.
- FURLAN E M, GLEESON D, HARDY C M, *et al*, 2016. A framework for estimating the sensitivity of eDNA surveys [J]. Molecular Ecology Resources, 16(3): 641-654.
- GONG J, SHI F, MA B, *et al*, 2015. Depth shapes α - and β -diversities of microbial eukaryotes in surficial sediments of coastal ecosystems [J]. Environmental Microbiology, 17(10): 3722-3737.
- GUILLOU L, BACHAR D, AUDIC S, *et al*, 2013. The protist ribosomal reference database (PR²): A catalog of unicellular eukaryote Small Sub-Unit rRNA sequences with curated taxonomy [J]. Nucleic Acids Research, 41(D1): D597-D604.
- HANSON C A, FUHRMAN J A, HORNER-DEVINE M C, *et al*, 2012. Beyond biogeographic patterns: Processes shaping the microbial landscape [J]. Nature Reviews Microbiology, 10(7): 497-506.
- HUANG P P, ZHAO F, XU K D, 2021. Complementary DNA sequencing (cDNA): An effective approach for assessing the diversity and distribution of marine benthic ciliates along hydrographic gradients [J]. Journal of Oceanology and Limnology, 39(1): 208-222.
- HUANG P P, ZHAO F, XU K D, *et al*, 2020. Are marine benthic microeukaryotes different from macrobenthos in terms of regional geographical distribution? New insights revealed by RNA metabarcoding [J]. Continental Shelf Research, 209: 104255.
- HYAMS-KAPHZAN O, LUBINEVSKY H, CROUVI O, *et al*, 2018. Live and dead deep-sea benthic foraminiferal macrofauna of the Levantine basin (SE Mediterranean) and their ecological characteristics [J]. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 136: 72-83.
- JEONG H J, KIM J S, LEE K H, *et al*, 2017. Differential interactions between the nematocyst-bearing mixotrophic dinoflagellate *Paragymnodinium shiwhaense* and common heterotrophic protists and copepods: Killer or prey [J]. Harmful Algae, 62: 37-51.
- JEONG H J, YOO Y D, KIM J S, *et al*, 2010. Growth, feeding and ecological roles of the mixotrophic and heterotrophic dinoflagellates in marine planktonic food webs [J]. Ocean Science Journal, 45(2): 65-91.
- KARNEY C F F, 2013. Algorithms for geodesics [J]. Journal of Geodesy, 87(1): 43-55.
- LAIRD D A, YEN P Y, KOSKINEN W C, *et al*, 1994. Sorption of atrazine on soil clay components [J]. Environmental Science & Technology, 28(6): 1054-1061.
- LI C C, JIN L, ZHANG C, *et al*, 2023. Destabilized microbial networks with distinct performances of abundant and rare biospheres in maintaining networks under increasing salinity stress [J]. iMeta, 2(1): e79.
- LI L Z, ZHAO F, FILKER S, *et al*, 2024. Microeukaryotes have unexpected importance in cold seep food webs through predation and parasitism [J]. Progress in Oceanography, 222: 103216.
- LIU J W, QIAO Y L, XIN Y, *et al*, 2022. Seasonal succession and temperature response pattern of a microbial community in the Yellow Sea Cold Water Mass [J]. Applied and Environmental Microbiology, 88(17): e01169-22.
- LIU Y X, QIN Y, CHEN T, *et al*, 2021. A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data [J]. Protein & Cell, 12(5): 315-330.
- LIU X S, ZHANG Z N, HUANG Y, 2007. Sublittoral meiofauna

- with particular reference to nematodes in the southern Yellow Sea, China [J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 71(3/4): 616-628.
- LIU W Y, ZHAO F, LI X, *et al*, 2024. Enhanced nutrient supply promotes mutualistic interactions between cyanobacteria and bacteria in oligotrophic ocean [J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 291(2027): 20240788.
- LOGARES R, AUDIC S, BASS D, *et al*, 2014. Patterns of rare and abundant marine microbial eukaryotes [J]. *Current Biology*, 24(8): 813-821.
- MANTOURA R F C, LLEWELLYN C A, 1983. The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reverse-phase high-performance liquid chromatography [J]. *Analytica Chimica Acta*, 151: 297-314.
- MENG Z C, XU K D, DAI R H, *et al*, 2012. Ciliate community structure, diversity and trophic role in offshore sediments from the Yellow Sea [J]. *European Journal of Protistology*, 48(1): 73-84.
- PAGENKOPP LOHAN K M, FLEISCHER R C, TORCHIN M E, *et al*, 2017. Protistan biogeography: A snapshot across a major shipping corridor spanning two oceans [J]. *Protist*, 168(2): 183-196.
- PAPAIOANNOU C, GELADAKIS G, KOMMATA V, *et al*, 2023. Insights in pharmaceutical pollution: The prospective role of eDNA metabarcoding [J]. *Toxics*, 11(11): 903.
- PASULKA A L, LEVIN L A, STEELE J A, *et al*, 2016. Microbial eukaryotic distributions and diversity patterns in a deep-sea methane seep ecosystem [J]. *Environmental Microbiology*, 18(9): 3022-3043.
- PAWLOWSKI J, KELLY-QUINN M, ALTERMATT F, *et al*, 2018. The future of biotic indices in the ecogenomic era: Integrating (e)DNA metabarcoding in biological assessment of aquatic ecosystems [J]. *Science of the Total Environment*, 637/638: 1295-1310.
- REES H C, MADDISON B C, MIDDLEDITCH D J, *et al*, 2014. REVIEW: The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool in ecology [J]. *Journal of Applied Ecology*, 51(5): 1450-1459.
- RUIZ-DE LA TORRE M, NÚÑEZ RESENDIZ M L, DRECKMANN K M, *et al*, 2022. *Biecheleriopsis adriatica* (Dinophyceae: Suessiaceae): The first record from the Eastern Pacific Ocean [J]. *Botanica Marina*, 65(5): 371-378.
- SHERR E B, SHERR B F, 2002. Significance of predation by protists in aquatic microbial food webs [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81(1/2/3/4): 293-308.
- STEGEN J C, LIN X J, FREDRICKSON J K, *et al*, 2013. Quantifying community assembly processes and identifying features that impose them [J]. *The ISME Journal*, 7(11): 2069-2079.
- STEGEN J C, LIN X J, FREDRICKSON J K, *et al*, 2015. Estimating and mapping ecological processes influencing microbial community assembly [J]. *Frontiers in Microbiology*, 6: 370.
- STOECK T, BASS D, NEBEL M, *et al*, 2010. Multiple marker parallel tag environmental DNA sequencing reveals a highly complex eukaryotic community in marine anoxic water [J]. *Molecular Ecology*, 19(S1): 21-31.
- TANG Y Z, GU H F, WANG Z H, *et al*, 2021. Exploration of resting cysts (stages) and their relevance for possibly HABs-causing species in China [J]. *Harmful Algae*, 107: 102050.
- WAYNE LITAKER R, VANDERSEA M W, KIBLER S R, *et al*, 2007. Recognizing dinoflagellate species using ITS rDNA sequences [J]. *Journal of Phycology*, 43(2): 344-355.
- WORDEN A Z, FOLLOWS M J, GIOVANNONI S J, *et al*, 2015. Rethinking the marine carbon cycle: Factoring in the multifarious lifestyles of microbes [J]. *Science*, 347(6223): 1257594.
- XIN M, MA D Y, WANG B D, 2015. Chemicohydrographic characteristics of the Yellow Sea Cold Water Mass [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 34(6): 5-11.
- YUAN M M, GUO X, WU L W, *et al*, 2021. Climate warming enhances microbial network complexity and stability [J]. *Nature Climate Change*, 11(4): 343-348.
- ZHANG Z, LI J, LI H J, *et al*, 2023. Environmental DNA metabarcoding reveals the influence of human activities on microeukaryotic plankton along the Chinese coastline [J]. *Water Research*, 233: 119730.
- ZHANG W J, PAN Y B, YANG J, *et al*, 2018. The diversity and biogeography of abundant and rare intertidal marine microeukaryotes explained by environment and dispersal limitation [J]. *Environmental Microbiology*, 20(2): 462-476.
- ZHANG J L, XU F S, LIU R Y, 2012. Community structure changes of macrobenthos in the South Yellow Sea [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 30(2): 248-255.
- ZHANG S W, WANG Q Y, LÜ Y, *et al*, 2008. Observation of the seasonal evolution of the Yellow Sea Cold Water Mass in 1996-1998 [J]. *Continental Shelf Research*, 28(3): 442-457.
- ZHOU B L, XU K D, 2016. Spatiotemporal variation in community structure of marine benthic ciliates in the Yellow Sea during and after macroalgal and giant jellyfish blooms [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 34(4): 629-641.

MICROEUKARYOTIC GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION AND COMMUNITY ASSEMBLY PROCESSES IN THE SEDIMENTS OF THE YELLOW SEA COLD WATER MASS AND ITS ADJACENT AREAS

YIN Ting-Ting¹, ZHAO Feng^{1,2}, MENG Zhao-Cui¹, HUANG Ping-Ping³, XU Kui-Dong¹

(1. *Laboratory of Marine Organism Taxonomy and Phylogeny, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China*; 2. *Yellow Sea Marine Observation and Research Station, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China*;

3. *Institute of Biophysics, Dezhou University, Dezhou 253023, China*)

Abstract The Yellow Sea Cold Water Mass (YSCWM), acting as a distinct physical barrier, forms a stable, low-temperature, high-salinity environment; however, the mechanisms by which it influences the distribution patterns of benthic microeukaryotes and the associated environmental drivers remain poorly understood. In this study, we systematically characterized microeukaryotic communities in sediment samples collected from two stations in the Bohai Sea and fifteen stations located within and surrounding the YSCWM, using environmental DNA (eDNA) sequencing with the 18S rDNA gene as the molecular marker. The results show that Dinoflagellata constituted the dominant taxonomic group both within and outside the YSCWM; however, the microeukaryotic community structures of the two regions differed significantly (ANOSIM: $R=0.576$ 3, $P=0.001$). Compared with regions outside the YSCWM, communities within the YSCWM exhibited lower species richness (median: 1 529 vs. 1 672) but displayed a more complex co-occurrence network structure (4 062 vs. 3 138 edges), suggesting greater potential ecosystem stability. Deterministic processes, particularly heterogeneous selection, predominantly govern community assembly, in which water depth exerts a stronger influence on communities outside the OYSCWM communities, whereas temperature and median sediment grain size play more critical roles in shaping communities within the YSCWM. These findings demonstrate that the YSCWM plays a critical role in structuring sedimentary microeukaryote communities and highlights environmental DNA (eDNA) technology as an effective approach for elucidating marine microbial biogeographic patterns and evaluating ecosystem structure.

Key words Yellow Sea; environmental DNA; amplicon sequencing; microeukaryotic diversity; cold water mass; 18S rDNA V4 region