DOI: 10.5846/stxb201408041554

苏玉萍,薛钺,游雪静,钟燕平,顾海峰.九龙江西陂库区沉积物甲藻孢囊的分布.生态学报,2016,36(6): - . Su Y P, Cheng X, You X J, Zhong Y P, Gu H F.Research on the distribution of dinoflagellate cysts in the surface sediments of the XiPi Reservoir in the Jiulong River.Acta Ecologica Sinica,2016,36(6): - .

九龙江西陂库区沉积物甲藻孢囊的分布

苏玉萍1,2,*,薛 铖1,游雪静1,3,钟燕平1,顾海峰3

1 福建师范大学环境科学与工程学院,福州 350007

2 福建师范大学福建省污染控制与资源循环重点实验室,福州 350007

3国家海洋局第三海洋研究所,厦门 361005

摘要:孢囊在甲藻的生活史中发挥重要作用,福建省九龙江从 2009 年起,暴发多次拟多甲藻水华事件。本文采用显微镜观察和 单细胞 PCR 技术,对九龙江西陂库区 2012—2013 年不同月份沉积物中的甲藻孢囊进行种属判定,并对甲藻孢囊的分布及其影 响因素进行分析。结果表明,西陂库区沉积物中的甲藻孢囊主要为拟多甲藻属,约占 80%,其次为裸甲藻属,发现了 2009 年水 华的优势种佩式拟多甲藻(*Peridiniopsis penardii*)孢囊。库区沉积物中甲藻孢囊的丰度在(13.7±1.2)—(105.2±8.3)个/(g干重) 之间。多元相关分析结果显示甲藻孢囊的丰度与含水率呈现显著正相关性(*P*<0.05),反映了甲藻孢囊沿水流方向逐渐积累。 本研究结果填补了国内水库甲藻孢囊鉴定和萌发的研究空白,为九龙江甲藻水华的防治提供科学参考。 关键词:甲藻孢囊;沉积物;分布;九龙江

Research on the distribution of dinoflagellate cysts in the surface sediments of the XiPi Reservoir in the Jiulong River

SU Yuping^{1,2,*}, CHENG Xue¹, YOU Xuejing^{1,3}, ZHONG Yanping¹, GU Haifeng³

1 Environmental Science and Engineering College of Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China

2 Fujian Key Laboratory of Pollution Control and Resource Recycling, Fuzhou 350007, China

3 Third Institute of Oceanography, Xiamen 361005, China

Abstract: Resting cysts play a major role in the life history of dinoflagellates. *Peridiniopsis* blooms have occurred many times in the Jiulongjiang River (Fujian province) since February 2009. This study investigates the characteristics of dinoflagellate cysts found in the sediments of the Xipi Reservoir in the Jiulongjiang River during different months, from 2012 to 2013. We used microscopy and single-cell Polymerase Chain Reaction (PCR) technology to identify the species of dinoflagellate cysts in a germination experiment. The results show that *Peridiniopsis* forms the dominant genus among the dinoflagellate cysts found in these sediments, and accounts for 80% of the total population while the rest belong to the genus *Gymnodinium*. We identified the cysts of *Peridiniopsis penardii*, the dominant bloom species in 2009. We also assessed the distribution and abundance of dinoflagellate cysts and investigated the driving factors of these population characteristics. The abundances of dinoflagellate cysts in sediments during different months are between (13.7 ± 1.2) to (105.2 ± 8.3) cysts/g DW. The multiple correlation analysis demonstrated that the abundance of dinoflagellate cysts gradually increased along the direction of the river flow. These results provide new insight into freshwater dinoflagellate cyst characterization and germination in this reservoir, and provide a scientific background for efforts aimed at the prevention of dinoflagellate blooms

收稿日期:2014-08-04; 网络出版日期:2015---

基金项目:国家自然科学基金项目(41101060);福建省自然科学基金项目(2014J01154)

^{*} 通讯作者 Corresponding author.E-mail: ypsu@fjnu.edu.cn

in the Jiulongjiang River.

Key Words: dinoflagellate cysts; sediment; distribution; Jiulongjiang River

随着经济和社会发展的需要,福建省多数河流建设梯级水电站,大坝的建设使得水流变缓,氮、磷等营养 物质滞留,尤其是在作为饮用水源的水库暴发藻类水华事件[1-2]。国际上20世纪对淡水甲藻水华事件已有报 道,近年来,我国频频发生甲藻水华事件引起了人们广泛关注和众多学者的研究。国内外淡水甲藻水华事件 主要是由多甲藻目(Peridiniales)的拟多甲藻属(Peridiniopsis)以及多甲藻属(Peridinium)的甲藻引起的,其中 拟多甲藻属水华事件最为常见,影响最大[3]。甲藻是一类具有休眠细胞的藻类,其休眠细胞称为孢囊,目前 研究中所提及的"孢囊"多指休眠性孢囊。休眠性孢囊是用于应对长时间的不良环境所产生的,它由两个游 动的配子互相结合产生,经过有性繁殖后形成一个合子。休眠性孢囊在适宜的环境条件下,就会迅速启动萌 发机制,并在短时间内大量增殖,甚至形成甲藻水华^[4]。甲藻孢囊萌发为水体提供新的营养细胞,从而为甲 藻水华暴发提供"种源";而水华后期,环境条件不适宜时,又会大量形成孢囊,降低水体中营养细胞的数量。 所以,甲藻孢囊在甲藻水华的发生和消亡中具有重要作用。全球范围内均有暴发甲藻水华,但多数研究集中 在海洋、海峡或是河口地区[5-7]。郑磊等研究表明,沉积物营养盐含量对于甲藻孢囊的分布具有一定影响,大 鹏湾表层沉积物的甲藻孢囊值水平分布上更趋于分布在活性磷含量高但氮磷比值较低的沉积物中[8]:王朝 晖等人发现甲藻孢囊的种类和数量在与甲藻孢囊粒径相仿的沉积物中较多出现^[9]; Anderson 等人提出,甲藻 孢囊的分布与所研究区域的水动力条件、水文和选择性沉积条件相关^[10-11];方琦等人研究了闽江口海域表层 沉积物的甲藻孢囊分布情况,沉积物的主要类型为砂-粉砂-粘土,砂质的沉积物中几乎没有甲藻孢囊^[12];黄海 燕等通过对长江口表层沉积物进行分析,得出沉积物类型是影响甲藻孢囊分布的重要因素^[13];Posepelova研 究了温度、盐度、生产力以及近海上升流作用下的东北太平洋表层沉积物的甲藻孢囊分布,通过 CCA 分析得 出,海底沉积物温度、生产力是甲藻孢囊分布的主要影响因素[14-16]。多项研究表明,甲藻孢囊的分布是多种 因素综合影响的结果^[13,15,17,18]。

研究沉积物中甲藻孢囊的种类,有助于全面认识研究区域中浮游的甲藻,为研究甲藻水华的发生机理及 预测提供参考资料^[19]。甲藻孢囊的分布会对甲藻水华暴发的位置分布造成影响,通过对沉积物中甲藻孢囊 丰度和分布的研究,可以摸清环境条件对于甲藻孢囊的形成及空间分布的影响,有助于掌握当地环境的变化, 用于指示人类活动对环境的影响^[20-23]。近年来,福建省主要饮用水源地山仔水库、东张水库、安砂水库、山美 水库、东圳水库等均呈现不同程度富营养化趋势,九龙江北溪流域于 2009 年暴发过佩氏拟多甲藻 (*Peridiniopsis penardii*)水华。因此本研究选取九龙江西陂库区沉积物作为研究对象,研究沉积物中甲藻孢囊 的分布和丰度及影响因素,为防治九龙江甲藻水华提供科学的参考,对保障饮用水安全,实现水资源的可持续 利用具有重要的意义。

1 研究区域概况

九龙江是福建省仅次于闽江的第二大河流,发源于龙岩市王母山西南的麓孟头村,干支流流经龙岩、漳平、南靖等13县、市,由厦门港入海(图1),流域面积14741平方千米,河流干线长度285千米。九龙江分北、西、南三溪,北溪为主流,溪流全长274km,流域面积9640km²,年均流量为252立方米/秒,是所经流域的重要饮用水源,为近400万人提供生活必须的饮用水。由于北溪属于丰水带河流,水力资源丰富,是开发的重点。根据北溪流域综合规划,干流河段从上游到下游共规划十一个梯级水电站,其中西陂电站位于北溪干流河段上,华安县湖林乡西陂村上游1.1km,距华安县城约19公里,呈狭长型,为径流式开发电站,正常蓄水位125.30m,相应库容891.3万m³,总库容1640万m³。

2 样品采集与分析

课题组于 2012 年 12 月, 2013 年 4 月、6 月、11 月, 使用抓斗采集西陂电站库区表层沉积物,采集断面采用 GPS 进行定位, 地理位置如图 1, 采样断面经纬位置见 表1。对沉积物的TC、TN、TP及各形态磷进行测定,并 分析沉积物中甲藻孢囊的丰度和分布。

2.1 表层沉积物样品的采集

采集获得的表层沉积物均匀混合后迅速装入自封 袋中,排气后密封,运回后4℃避光冷藏以备后期实验 分析。全过程保持黑暗、低温。每次测试分析取样前, 将表层沉积物样品再次混合均匀,以消除取样误差。沉 积物采集的同时,用德国 WTW 多功能水质分析仪测量 同断面同点位上覆水水温、溶解氧含量、pH值。

2.2 表层沉积物的含水率测定

沉积物含水率测定采用烘干法,称取沉积物样品, 放入已知重量的称量瓶内烘干后取出干燥冷却再次称 重,重复操作至恒重。沉积物样品含水率^[24]为称量瓶 与样品烘干前后重量差与样品烘干前重量之比。

2.3 表层沉积物各形态磷和沉积物碳、氮含量测定

各形态磷采用 SMT 法分级提取^[25],经处理后,用 钼锑抗分光还原光度法进行含量测定^[26],数据结果用平均值±标准偏差表示。表层沉积物碳、氮含量的测定 使用元素分析仪(德国 Elementar Vario EL III)进行测定。

2.4 甲藻孢囊丰度与分布分析

称取一定量均匀混合后的沉积物,加入一定量的蒸 馏水后经超声波细胞粉粹机(JY96-II)粉碎1 min,均匀 Table 1 Main sampling sections of Xipi Reservoir in Jiulong River 倒在100 um 孔径的筛绢上,用灭菌后的蒸馏水反复冲 洗筛上物,收集过筛后的液体均匀倒在20 µm 孔径筛绢 上,反复冲洗多次,收集筛上物,即得到甲藻孢囊富集 样品^[27]。

对甲藻孢囊形态进行判断,并进行计数统计。甲藻

孢囊的丰度分析采用显微镜镜检法,分次吸取已完成预处理的甲藻孢囊富集样品1mL置于1mL(20mm×40 mm)计数框内,利用倒置显微镜(Nikon TS100)在 10×40 倍下进行全视野计数,每个样品作 3 次平行处理。以 样品中总甲藻孢囊数除以沉积物干重计算得到该断面的表层沉积物的甲藻孢囊丰度。根据淡水甲藻孢囊图 谱以及结合孢囊萌发后营养细胞的 PCR 结果对甲藻孢囊的种属进行判定^[28]。

编号

Serial Number

X1

X2

X3

2.5 甲藻孢囊萌发实验分析

2.5.1 甲藻单个孢囊萌发

将孢囊富集样品置于倒置显微镜下观察,通过毛细吸管将周围的杂质清理后吸取单个孢囊。在显微镜 (Olympus BX51,400倍)下观察形态并保存图片。将单个孢囊吸到 96 孔培养板中,板内每个孔提前加入 300 µL Carefoot's medium^[29],放入培养箱中进行孢囊孵化,温度设置为 20℃、光照强度为 2500lx、光暗比为 12h: 12h,定期观察孢囊萌发情况。



Fig. 1 Location of XiPi Reservoir in Jiulong River

表1 九龙江西陂库区采样断面经纬位置

25°07'19.99"N 117°31'37.60"E

经度

Longitude

117°31'19.73"E

117°31′06.38″E

位置

Location

坝前 800 m

坝前 1200 m

坝前 2000 m

纬度

Latitude

25°07'29.81"N

25°07'53.38"N

2.5.2 单细胞 PCR(LSU)

利用毛细吸管吸取萌发后的单个营养细胞到干净的载玻片上,加入灭菌后的蒸馏水,用干净的尖头镊子 对细胞进行物理破碎,使得孢囊内的遗传物质流出,将破碎的细胞吸出后放于 PCR 管中直接进行 PCR 扩 增^[30]。PCR 产物在 1%的琼脂糖凝胶上跑电泳,产物用 1%EB 染色,电泳结束后,将胶放在紫外灯下检测是 否有目的条带。

PCR 反应体系为 5U ExTaq 酶,250 µmol/L dNTP,1 ×PCR Buffer。大亚基先用引物(见表 2) SR1 和 LSUR2^[31]进行第一步扩增,程序为 94℃ 预变性 3 min _ 30 s,94℃变性 45 s,55℃ 退火 60 s,72℃延伸 2 min30 s,34 个循环后 72℃延伸 6 min。以第一步 PCR 产物为 模板,用引物 30 和 31 进行第二步扩增,程序为 94℃ 预 变性 3 min 30 s,94℃变性 30 s,58℃ 退火 30 s,72℃延 伸 2 min 30 s,30 个循环后 72℃延伸 6 min。

表 2 PCR 扩增的引物及其序列

Table 2	Oligonucleotide	primers	used	for	amplification	and
sequencia	ıg					

引物代码 Pr	imer Code	序列 Sequence(5'→3')
SR	1	TACCTGGTTGATCCTGCCAG
LSUI	R2	ATTCGGCAGGTGAGTTGTTAC
30		ACCCGCTGAATTTAAGCATA
31		CCTTGGTCCGTGTTTCAAGA

2.5.3 系统发育分析

将序列导入网站 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/,点击 BLAST 进行序列的比对。使用 Dnaman 5.2.2.0 软件 对测序得到的结果进行编辑,并与基因库中相关种的 LSU 序列通过 Mafft(http://mafft.cbrc.jp/alignment/ server/)进行比对。比对后生成的文件通过 Bioedit 7.0.9.1 软件进行编辑剪切再进行最大相似度(ML)及贝叶 斯(Bayesian)分析。在 ML 分析中,使用 JModelTest^[32]程序中的 AIC 功能选择最适合的分子进化模型,测试结 果选择 GTR+G 模型。使用 MEGA 5.05^[33]构建 ML 树,bootstrap 值设置为 1000。基于贝叶斯的数据矩阵的构 建是使用 MrBayes 3.1.2^[34],选择的最适合替换模型为 GTR+G。四条 MCMC 链运行 1000000 代,每 10000 代 进行一次取样。

3 实验结果与讨论

3.1 九龙江西陂库区甲藻孢囊种属

3.1.1 九龙江西陂库区甲藻孢囊的主要形态

在九龙江西陂库区的表层沉积物中发现不同形态的孢囊(图2),主要种属为拟多甲藻属(图中 a-f),所占 比例约为 80%,其他主要为裸甲藻属(图中 g-h)。

PSJL01:孢囊为球形,平均直径约为 24 µm,有较厚的细胞壁,细胞质具有色素体,呈红褐色。

PSJL02: 孢囊为椭球形, 平均直径约为 26 µm, 有细胞壁, 表面光滑, 孢囊内有多个红褐色的色素体。

PSJL03: 孢囊为卵圆形, 平均直径约为 25 μm, 有细胞壁, 细胞壁具有小横沟, 有红褐色色素体。

PSJL04: 孢囊为似菱形, 平均直径约为 30 μm, 有细胞壁, 表面较光滑, 中间有深褐色的色素体, 细胞壁具 有小横沟。

PSJL05: 孢囊为卵形, 平均直径约为 35 µm, 有细胞壁, 表面有透明的粘性物质。

PSJL06: 孢囊为球形, 平均直径约为 25 µm, 有细胞壁, 表面光滑, 孢囊内有红褐色的色素体。

TSJL01:孢囊为椭圆形,长宽为 40×45 μm,一头较尖,一头较圆,深褐色,孢囊壁明显,有小横沟,孢囊表面 覆盖着许多长 10 μm 左右的刺状突起,长短不一,刺的末端较钝。

GEJL01:孢囊为圆形,平均直径为 29 μm, 白色, 孢囊的非中央位置有明显的色素体, 为红褐色, 另有许多明显的小颗粒。

3.1.2 九龙江西陂库区拟多甲藻属孢囊系统发育分析

经单细胞 PCR 结果判定, a-f 这 6 种孢囊属于拟多甲藻属, 以其营养细胞的 LSU 序列进行 ML 和 BI 分析, 建立了系统发育树(图 3)。此系统发育树以 Karlodinium micrum 作为 outgroup, 按比例绘制分枝长度, 比例尺



图 2 九龙江西陂库区沉积物主要甲藻孢囊形态 Fig. 2 Main dinoflagellates cysts in the sediments of XiPi Reservoir in Jiulong River a: PSJL01, b:PSJL02, c:PSJL03, d:PSJL04, e: PSJL05, f: PSJL06, g:TSJL01, h:GEJL01 Scales: 10 µm

表示每个位点的碱基替换数。分枝上的数据是聚类的数据支撑,左侧值是 ML bootstrap,右侧为贝叶斯分析的 pp 值。

系统发育分析显示,6种形态的拟多甲藻属孢囊萌发出来的营养细胞分成了4个分支,其中 PSJL04和 PSJL05聚在一个小分支上,支持度很高,为100/1.00,序列相似度为98.40%(相差9bp),而 PSJL02和 PSJL03聚在同一个小分支上,支持度为85/0.98,序列相似度为99.37%(相差1bp)。PSJL01和 PSJL06分别聚在一个小分支上。从系统发育树分析可以判定,这6种形态的拟多甲藻孢囊至少可以分成4种拟多甲藻属孢囊。具体种的判定还需根据萌发增殖的营养细胞的板块数量及板块排列,具体分类信息有待进一步研究。

拟多甲藻属营养细胞的 LSU 序列建立的基于 ML 和 BI 分析的系统发育树上可以看出 PSJL06 与 Peridiniopsis penardii 聚在同一个大分支上^[35],支持度为 91/1.00。PSJL06 聚在 Peridiniopsis penardii NW (HM596558)、Peridiniopsis penardii SZ(HM596557)、Peridiniopsis penardii JLJ(HM596556)之间。PSJL06 与 Peridiniopsis penardii JLJ(HM596556)序列相似度为 94.57%,与 Peridiniopsis penardii SZ(HM596557)序列相似 度为 94.69%,与 Peridiniopsis penardii NW(HM596558)序列相似度为 93.81%。从 PSJL06 的孢囊和营养细胞 形态上,发现它与 Peridiniopsis penardii 的形态较为相似^[36],因此我们判定 PSJL06 为九龙江 2009 年暴发的甲 藻水华的优势种 Peridiniopsis penardii。

3.2 九龙江西陂库区甲藻孢囊的丰度与分布

3.2.1 九龙江西陂库区甲藻孢囊丰度与分布差异性分析

2012—2013年,九龙江西陂库区沉积物甲藻孢囊丰度与分布如图4所示,甲藻孢囊丰度在(13.7±1.2)—(105.2±8.3)个/(g干重)之间。通过对四个月份进行两两比较,2013年11月的甲藻孢囊丰度与2012年12月、2013年4月、6月的甲藻孢囊丰度都有显著的差异(P<0.05),而另外三个月份间的甲藻孢囊丰度没有显著差异,由于本研究未测定水体悬浮物质的沉积速率,甲藻孢囊的丰度是否有显著季节差异有待进一步的研究确定。从空间分布上看,甲藻孢囊在沿水流方向上的总体趋势是增加,最高值出现在2013年4月坝前800



图 3 拟多甲藻属营养细胞的 LSU 序列建立的基于 ML 和 BI 分析的系统发育树

Fig. 3 Phylogeny of the *Peridiniopsis* cell from LSU rDNA sequences based on maximum-likelihood (ML) and Bayesianinference (BI) analyses

米断面。2013 年 4 月份最高,2013 年 11 月最低,高值是低值的 5.6 倍。





Fig. 4 Distribution and abundance of dinoflagellate cysts in Xipi Reservoir in Jiulong River from 2012 to 2013

3.2.2 九龙江西陂库区甲藻孢囊丰度影响因素分析

为研究甲藻孢囊的丰度环境影响因素,使用"SPSS 17.0"软件对甲藻孢囊与表层沉积物样品的 TP、IP、OP、Fe/Al-P、Ca-P、TN、TC、含水率以及上覆水的水温、pH、溶解氧等进行双变量相关性分析。结果表明(见表3):含水率与甲藻孢囊丰度呈现显著的相关性(P<0.05),相关系数为0.629。当含水率高时甲藻孢囊的丰度

表3 2012—2013年九龙江西陂库区甲藻孢囊丰度与环境因子相关分析	e 3 Correlation analysis of abundance of dinoflagellate cysts in surface sediments and the environment factors in Xipi Reservoir from
	Table

		Table 3 Corre	lation analysis	of abundance of	dinoflagellate cysts	s in surface s	ediments and	1 the environ	nent factors in Xip	oi Reservoir fre	om 2012 to 2013	
变量 Variable	TP 心磷 Total Phosphorus	IP 无机磷 Inorganic phosphorus	OP 有机磷 Organic phosphorus	Fe/Al-P 铁铝结合磷 Iron/aluminum -binding phosphorus	Ca-P 钙结合磷 Calcium-binding phosphorus	TN 总氮 Total Nitrogen	TC 总碳 Total carbon	含水率 Moisture content	上覆水温 Overlying water temperature	上覆水 pH Overlying water pH	上覆水 DO Dissolved oxygen in Overlying water	甲藻孢囊丰度 Abundance of dinoflagellate cysts
dIL	-	(**)	(**)	(**)	(*)	(*)	I	1	1	I	1	I
IP	0.977	1	(*)	(**)	I	(*)	I	I	I		I	I
0P	0.760	0.648	1	(*)	(**)	(**)	I	I	(*)	I	I	I
Fe/Al-P	0.966	0.965	0.615	1	I	(*)	I	I	I	I	I	I
Ca-P	0.588	0.505	0.824	0.474	1	I	I	I	(*)	I	I	I
NL	0.703	0.577	0.690	0.662	0.568	1	I	I	I	I	I	I
TC	-0.068	-0.159	-0.183	-0.030	-0.313	0.431	1	I	I	I	I	I
含水率	0.154	0.129	0.133	0.179	-0.040	0.029	-0.123	1	I	I	I	(*)
上覆水温	-0.401	-0.364	-0.590	-0.302	-0.588	-0.365	0.363	-0.535	1	I	(*)	I
上覆水 PH	-0.144	-0.047	-0.276	-0.143	-0.114	-0.170	-0.205	-0.236	-0.131	1	I	I
上覆水 D0	-0.044	-0.152	0.494	-0.228	0.348	0.184	-0254	0.147	-0.592	0.223	1	I
甲藻孢囊 丰度	0.431	0.462	0.197	0.384	0.125	0.059	-0.214	0.629	-0.368	-0.107	0.030	1
¥(**)	ē示 P<0.01,	为极显著相关:	(*) 表示 P<0.	.05.为显著相关。								

http://www.ecologica.cn

高。研究表明,该区域表层沉积物平均粒径在4µm—10µm之间,大部分为粉砂质粘壤土,当沉积物中粉粒含量较高且砂粒含量低时,该区域的甲藻孢囊丰度会高于其他区域,而表层沉积物的含水率也是沉积物粒径的一个反映,沉积物颗粒物越小,颗粒的比表面积越大,能够吸附的水量越大,沉积物含水率较高。本研究结果表明,孢囊分布与沉积物含水率呈现显著相关,也反映了沉积物粒径与孢囊的分布的关系。如果表层沉积物断面主要以细颗粒为主,此处水流速度较慢,有利于孢囊沉降,反映了甲藻孢囊的分布沿水流方向上的积累趋势。

4 结论

本研究采用显微观察和单细胞 PCR 技术,对九龙江西陂库区 2012—2013 年不同月份沉积物中的甲藻孢囊进行种属判定,结果表明,库区沉积物中的甲藻孢囊主要种属是拟多甲藻属,约占 80%的比例,其次为裸甲藻属,并发现了 2009 年水华优势种佩式拟多甲藻(Peridiniopsis penardii)孢囊。

九龙江西陂库区 2012-2013 年不同月份沉积物中甲藻孢囊丰度在(13.7±1.2)—(105.2±8.3)个/(g干重)之间,多元相关分析结果表明,甲藻孢囊丰度与含水率呈现显著的正相关性(P<0.05),当含水率高时,甲藻孢囊的丰度高。从空间分布上看,甲藻孢囊的分布沿水流方向逐渐积累。

致谢:感谢厦门大学生态与环境学院陈能汪教授、研究生吴杰忠和陈朱虹在野外采样工作中给予的支持与 帮助。

参考文献(References):

- [1] 赵孟绪,韩博平.汤溪水库蓝藻水华发生的影响因子分析.生态学报,2005,25(7):1554-1560.
- [2] 张敏,蔡庆华,王岚,徐耀阳,孔令惠,谭路.三峡水库香溪河库湾蓝藻水华生消过程初步研究.湿地科学,2009,7(3):230-236.
- [3] 张琪, 缪荣丽, 刘国祥, 胡征宇. 淡水甲藻水华研究综述. 水生生物学报, 2012, 36(2): 352-360.
- [4] Kazumi M, Yasuwo F. Technical guide for modern Dinoflagellate Cyst study. Tokyo: Japan Society for the Promotion of Science, 2000.
- [5] Blanco E P, Lewis J, Aldridge J. The germination characteristics of Alexandrium minutum (Dinophyceae), a toxic dinoflagellate from the Fal estuary (UK). Harmful Algae, 2009, 8(3): 518-522.
- [6] Shin H H, Yoon Y Y, Kim Y O, Matsuoka K. Dinoflagellate Cysts in surface sediments from southern coast of Korea. Estuaries and Coasts, 2011, 34(4): 712-725.
- [7] Tobin E D, Horner R A. Germination characteristics of Alexandrium catenella cysts from surface sediments in Quartermaster Harbor, Puget Sound, Washington, USA. Harmful Algae, 2011, 10(2): 216-223.
- [8] 郑磊,齐雨藻.南海大鹏湾甲藻孢囊分布研究.热带亚热带植物学报,1997,5(3):10-15.
- [9] 王朝晖, Matsuoka K, 齐雨藻, 辜小莲. 大亚湾澳头海域表层沉积物中甲藻孢囊的垂直分布. 海洋环境科学, 2003, 22(4): 5-8.
- [10] Anderson D M, Fukuyo Y, Matsuoka K. Cyst methodologies // Hallegraeff G M, Anderson D M, Cembella A D, eds. Manual on Harmful Marine Microalgae. UNESCO, Paris, 1995.
- [11] Stéphanie G, Suzanne R, Michel S. Spatial distribution and viability of *Alexandrium tamarense* resting cysts in surface sediments from the St. Lawrence Estuary, Eastern Canada. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2013, 121-122: 20-32.
- [12] 方琦, 蓝东兆, 顾海峰, 李超. 闽江口海域表层沉积物中甲藻休眠孢囊的初步研究. 海洋通报, 2004, 23(6): 21-25.
- [13] 黄海燕, 陆斗定, 夏平, 王红霞. 2006-2007 年冬季长江口海域甲藻孢囊的分布及其与环境的关系. 生态学报, 2010, 30(20): 5569-5576.
- [14] Pospelova V, de Vernal A, Pedersen T F. Distribution of *dinoflagellate* cysts in surface sediments from the northeastern Pacific Ocean (43-25°N) in relation to sea-surface temperature, salinity, productivity and coastal upwelling. Marine Micropaleontology, 2008, 68(1/2): 21-48.
- [15] Candel M S, Radi T, de Vernal A, Bujalesky G. Distribution of *dinoflagellate* cysts and other aquatic palynomorphs in surface sediments from the Beagle Channel, Southern Argentina. Marine Micropaleontology, 2012, 96-97: 1-12.
- [16] Shin H H, Lim D, Park S Y, Heo S, Kim S Y. Distribution of *dinoflagellate* cysts in Yellow Sea sediments. Acta Oceanologica Sinica, 2013, 32 (9): 91-98.
- [17] Natsuike M, Nagai S, Matsuno K, Saito R, Tsukazaki C, Yamaguchi A, Imai I. Abundance and distribution of toxic Alexandrium tamarense resting cysts in the sediments of the Chukchi Sea and the eastern Bering Sea. Harmful Algae, 2013, 27: 52-59.

- [18] Radmacher W, Tyszka J, Mangerud G. Distribution and biostratigraphical significance of Heterosphaeridium bellii sp. nov. and other Late Cretaceous dinoflagellate cysts from the southwestern Barents Sea. Review of Palaeobotany and Palynology, 2014, 201: 29-40.
- [19] 石雅君,刘东艳,邵红兵,邸宝平,董志军,王玉珏.北黄海表层沉积物中甲藻孢囊的分布特征.海洋通报,2011,30(3):320-327.
- [20] 孙爱梅. 福建近岸海域甲藻孢囊及环境变化记录[D]. 厦门: 厦门大学, 2006.
- [21] 汤宏波,胡圣,胡征宇,况琪军,刘国祥.武汉东湖甲藻水华与环境因子的关系.湖泊科学,2007,19(6):632-636.
- [22] S Y, Moon C H, Cho H J, Lim D I. Dinoflagellate Cysts in Coastal Sediments as Indicators of Eutrophication: A Case of Gwangyang Bay, South Sea of Korea. Estuaries and Coasts, 2009, 32(6): 1225-1233.
- [23] Triki H Z, Daly-Yahia O K, Malouche D, Komiha Y, Deidun A, Brahim M, Laabir M. Distribution of resting cysts of the potentially toxic dinoflagellate *Alexandrium pseudogonyaulax* in recently-deposited sediment within Bizerte Lagoon (Mediterranean coast, Tunisia). Marine Pollution Bulletin, 2014, 84(1/2): 172-181.
- [24] 全国农业技术推广服务中心. 土壤分析技术规范 (第二版). 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [25] 金相灿, 庞燕, 王圣瑞, 周小宁. 长江中下游浅水湖沉积物磷形态及其分布特征研究. 农业环境科学学报, 2008, 27(1): 279-285.
- [26] Ruban V, López-Sánchez J F, Pardo P, Rauret G, Muntau H, Quevauviller P. Harmonized protocol and certified reference material for the determination of extractable contents of phosphorus in freshwater sediments: A synthesis of recent works. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, 2001, 370(2/3): 224-248.
- [27] Matsuoka K, Fukuyo Y. Technical guide for modern dinoflagellate cyst study. Tokyo: Japan Society for the Promotion of Science, 2000.
- [28] Mertens K N, Rengefors K, Moestrup Ø, Ellegaard M. A review of recent freshwater *dinoflagellate* cysts: taxonomy, phylogeny, ecology and palaeocology. Phycologia, 2012, 51(6): 612-619.
- [29] Holt J R, Pfiester L A. A survey of auxotrophy in five freshwater dinoflagellates (Pyrrhophyta). Journal of Phycology, 1981, 17(4): 415-416.
- [30] Gu H F, Zeng N, Xie Z X, Wang D Z, Wang W G, Yang W D. Morphology, phylogeny, and toxicity of Atama complex (Dinophyceae) from the Chukchi Sea. Polar Biology, 2013, 36(3): 427-436.
- [31] Takano Y, Horiguchi T. Acquiring scanning electron microscopical, light microscopical and multiple gene sequence data from a single *dinoflagellate* cell. Journal of Phycology, 2005, 42(1): 251-256.
- [32] Posada D. jModeltest: Phylogenetic model averaging. Molecular Biology and Evolution, 2008, 25(7): 1253-1256.
- [33] Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. Mega5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [34] Ronquist F, Huelsenbeck J P. Mrbayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 2003, 19(12): 1572-1574.
- [35] 张晓东,顾海峰,罗肇河,孙军.佩氏拟多甲藻及其硅藻共生体的分析.海洋湖沼通报,2013,(1):97-104.
- [36] 张琪, 刘国祥, 胡征宇. 中国淡水拟多甲藻属研究. 水生生物学报, 2012, 36(4): 751-764.