

山东沿海三种海草根际真核生物群落结构及其影响因素*

于蓁, 郭祥瑞, 刘雪睿, 孙浩, 张燕英

烟台大学海洋学院, 烟台 264005

摘要: 海草床与红树林、珊瑚礁并称为地球上三大典型的近海海洋生态系统, 具有极高的生态服务功能, 被誉为“海洋之肺”。海草床具有较高的初级生产力水平, 在维持海洋生态系统的平衡与稳定方面发挥着核心作用。海草根际的真核生物对海草的生长发育至关重要, 在维持海草健康和生态系统碳、氮等营养元素循环过程中发挥重要作用。本研究利用高通量测序技术分析了山东沿海地区中国川蔓草(*Ruppia sinensis*)、鳎草(*Zostera marina*)和日本鳎草(*Zostera japonica*)根际真核生物的多样性特征、群落结构及其与环境因子的关系。结果表明, 海草根际真核生物以藻类、后生动物和原生动物为主, 优势类群为绿藻门(Chlorophyta)和环节动物门(Annelida)。海草根际真核生物群落结构与根际沉积物的总碳含量、亚硝酸盐含量、铵盐含量和沉积物粒径大小显著相关。共现性网络分析揭示, 日本鳎草根际真核生物之间的互作关系更加复杂。本研究阐明了海草根际真核生物的群落结构及其影响因素, 为进一步探讨海草床生态系统物质循环及能量流动奠定理论基础。

关键词: 中国川蔓草; 鳎草; 日本鳎草; 真核生物; 群落结构; 环境因子

Community structure of rhizosphere eukaryotic community structure and its influencing factors of three seagrass species along the coast of Shandong Province *

YU Zhen, GUO Xiangrui, LIU Xuerui, SUN Hao, ZHANG Yanying
Ocean School, Yantai University, Yantai 264005, China

Abstract: Seagrass beds, mangroves, and coral reefs are known as the three typical offshore marine ecosystems on earth. Seagrass beds, which possessing extremely high ecological service functions and are hailed as the "lungs of the ocean". Seagrasses have a relatively high level of primary productivity and play a core role in maintaining the balance and stability of the marine ecosystem. The rhizosphere eukaryote is crucial for seagrass growth and development, playing a crucial role in sustaining seagrass health and facilitating the cycling of nutrients such as carbon and nitrogen within the ecosystem. In this study, high-throughput sequencing technology was employed to investigate the community structure and diversity of eukaryote in the rhizosphere of *Ruppia sinensis*, *Zostera marina*, and *Zostera japonica* along the coastal areas of Shandong Province. The results showed that eukaryote associated with seagrasses were mainly composed of algae, metazoans, and protozoa, with Chlorophyta and Annelida being the dominant groups. The community structure of eukaryote in the seagrass's rhizosphere was significantly correlated with the total carbon content, nitrite content, ammonium content, and sediment particle size. Co-occurrence network analysis further revealed that the interactions among eukaryote in *Zostera japonica* were more complex. This study elucidates the community structure and influencing factors of eukaryote in the seagrass rhizosphere, which laying a theoretical foundation for further exploration of the nutrients cycle and energy flow in seagrass ecosystem.

Key words: *Ruppia sinensis*; *Zostera marina*; *Zostera japonica*; Eukaryote; Community structure; Environmental factors

海草是生活在海洋中的唯一一类被子植物, 其具有根、茎、叶的分化, 是海洋生态系统的重要组成部分, 主要分布在海湾、潟湖以及其他浅海区域, 形成广袤的水下草甸, 称作海草床(宋增磊, 2023)。海草床生态系统具有较高的生产力水平, 其密集的叶片和茂盛的冠层每年能够产生超过 10 吨的生物量(Turner et al, 2013, Sun et al, 2024), 为众多海洋生物提供营养和栖息地(Orth et al, 2020)。研究揭示 1 英亩的海草床能够满足多达 4 万尾鱼类和 5000 万头无脊椎动物的生存需求(Valenti et al, 2023)。此外, 海草床能够有效地减缓波浪的冲击, 捕获水中的悬浮沉积物和颗粒, 从而提高水体的透明度, 为海洋生物创造更加适宜的生活环境(Horinouchi et al, 2013)。总体而言, 海草床对维持海洋生态的健康和稳定发挥着至关重要的作用(Fourqurean et al, 2012, Wahyudi et al, 2020)。然而, 受气候变化和人类活动

的影响, 海草床生态系统出现了大面积衰退现象(Xu et al, 2021), 这削弱了海草床的生态服务功能(Xu et al, 2020)。例如, 近岸海域的富营养化现象促进了藻类和其他附生植物的过度增殖, 这些植物不仅与海草竞争光照和生存空间, 而且其生长还可能阻挡阳光到达海草, 从而对海草的生长和繁殖产生负面影响(周毅等, 2023)。

微生物是海草床的重要组成部分(Conte et al, 2021), 与海草共同构成“海草共生功能体”, 在海草萌芽、开花、结果和衰退等各个生长阶段发挥重要作用(Ugarelli et al, 2017, Cavicchioli et al, 2019, Tarquinio et al, 2019), 且海草生长与微生物的群落组成和代谢能力等密切相关(Milbrandt et al, 2008, 凌娟等, 2023)。然而, 迄今为止, 大多数海草微生物研究集中在原核微生物(Sun et al, 2024, Zhou et al, 2024), 研究揭示海草根际细菌群落组成通常受

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 41976147), 山东省自然科学基金 (ZR2024MD008)

作者简介: 于蓁(1999.11——), 女, 硕士研究生, 从事海洋微生物研究, email: yuzhen1107726@163.com

通信作者: 张燕英, email: zhyanying@163.com

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 41976147), Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2024MD008);

Corresponding author: ZHANG Yanying, email: zhyanying@163.com

海草种类和环境因子的影响。海草不同生长时期的原核微生物群落结构存在显著差异(Zhang et al, 2024), 在成熟期, 丙酸菌属(*Propionigenium*)在海草根际显著富集, 幼苗期则以脱硫球茎菌科(*Desulfobulbaceae*)为主, 而在衰退期, 硫杆菌属(*Sulfurovum*)在根际的相对丰度较高, 揭示海草的生长发育与微生物群落密切相关(孙延瑜, 2021)。而海草真核生物的研究相对较少, 海洋真核生物是海洋微食物网中的重要组成部分, 在海洋生态系统中发挥重要作用(Wang et al, 2020)。例如, 硅藻、甲藻等是海洋初级生产的主要贡献者, 并构建了生态系统的基础(Wu et al, 2020), 纤毛虫和鞭毛虫等原生动物捕食细菌和小型原生动物生存, 在生态系统能量循环中也发挥着重要作用(Leles et al, 2017)。已有研究揭示海草叶片表面的原核微生物和真核生物显著相关(Bengtsson et al, 2017), 但海草真核生物群落结构及影响因素仍未被充分阐释。

山东沿海是我国重要的海草分布区之一, 面积达4192.9公顷, 分布于威海、东营、烟台等沿海城市。主要有鳎草(*Zostera marina*)、日本鳎草(*Zostera japonica*)和红纤维虾形草(*Phyllospadix iwatensis*)等海草种类(Wan et al, 2023, 周毅等, 2023)。本研究利用高通量测序技术, 比较研究山东沿海的中国川蔓草(*Ruppia sinensis*)、日本鳎草和鳎草根际真核生物的群落组成及其影响因素。中国川蔓草广泛分布于温带和热带滨海、泻湖、盐沼地等浅水水域(Mannino et al, 2015), 具有较强的环境适应能力。日本鳎草

通常生长在潮间带及浅潮下带区域, 水温、光照、海浪波动较大, 多数海草难以适应(Short et al, 2011, Mach et al, 2014)。鳎草是一种多年生沉水草本植物, 属于鳎草科(*Zosteraceae*), 叶片线形, 根状茎匍匐生长。鳎草广泛分布于北半球温带的浅水海域, 如海湾、潟湖和河流入海口, 通常生长在水位较高的低潮至潮下区(Short et al, 2011, 徐少春, 2021), 除了在退潮时部分叶片会暴露出水面, 其他大多数时候沉浸在水中, 生存环境更为稳定。不同海草根际真核生物群落结构的相关研究, 可以作为海草床退化的早期生物指标(Azam and Malfatti, 2007, 刘鹏远等, 2019), 为后续的功能分析提供基础数据支持, 同时为海草床的健康评估和生态修复提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品收集

根据海草在黄渤海海域的分布情况, 我们在东营设置了中国川蔓草(*Ruppia sinensis*)采样点, 在威海天鹅湖设置了鳎草(*Zostera marina*)和日本鳎草(*Zostera japonica*)采样点(图1), 于2021年5月海草生长季节采集健康海草根际沉积物样品。根据海草根系, 采集深度约为20 cm, 用药匙轻刮采集黏附在根部周围的沉积物样品。每个采样位点设四个平行采样点, 彼此距离超过50米, 结果取平均值。样品采集后置于冰袋上, 运回实验室。用于DNA提取的样品, 于-80℃保存。用于沉积物理化性质分析的样品, 则保存在-20℃。

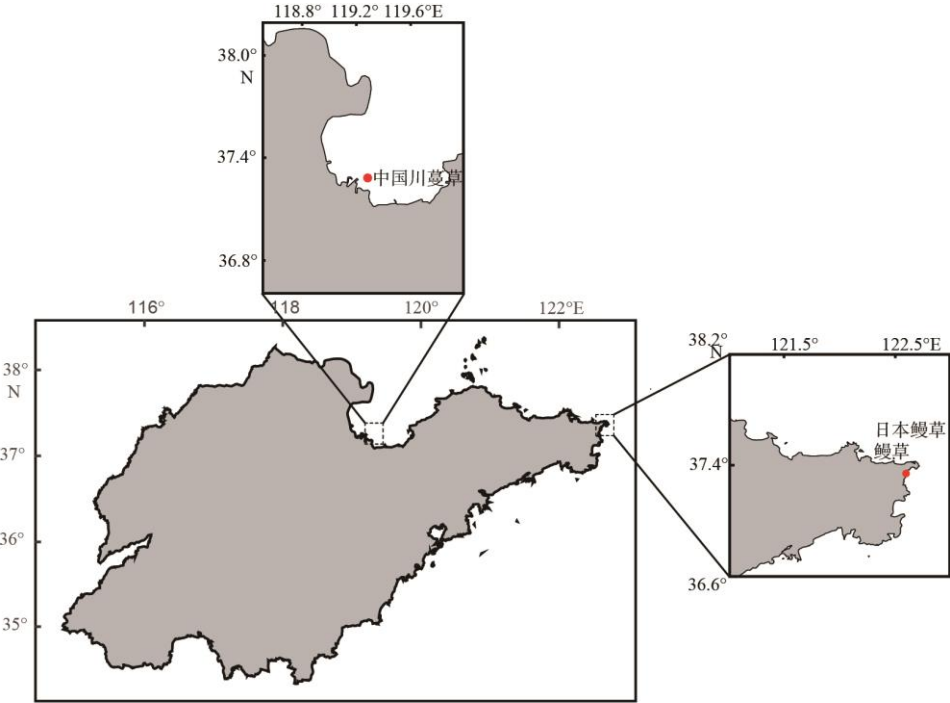


图1 样品采集位点

该图基于国家测绘地理信息局标准地图服务网站下载的审图号为GS(2019)3266的标准地图制作。图中红色圆点为采样位点

Fig. 1 Sampling site. The red dots are sampling sites.

1.2 环境参数检测

海草沉积物的理化参数测定方法参考王天雨等(王天

雨, 2023)。其中沉积物总碳、总有机碳硝酸盐、亚硝酸盐和铵盐含量采用连续流动元素分析仪测定。硫酸盐、

溴盐和氯盐含量则通过离子色谱仪测定, 沉积物样品的平均粒径、中值粒径及粒径分布范围采用激光粒度仪测定。

1.3 DNA 提取、PCR 扩增、测序

利用 E.Z.N.A.土壤 DNA 试剂盒(Omega Bio-tek, Norcross,GA,美国)进行沉积物总 DNA 抽提。DNA 的质量通过 1%的琼脂糖凝胶电泳检测, DNA 浓度和纯度利用 NanoDrop2000 分光光度计测定。采用正向引物 TAREukFWD1F (5-CCAGCASCYGC GGTAATTCC-3)和反向引物 TAREukREV3R (5-ACTTTCGTTCTTGATYRA-3), 进行 18S rDNA 的 PCR 扩增, PCR 反应体系和反应程序参照孙延瑜等(孙延瑜, 2021)。利用 Illumina Miseq 平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。

1.4 统计分析

使用 Fastp 软件对原始序列进行质量控制, 利用 FLASH 进行序列拼接, 利用 Qiime 2(v2020.2)的 DADA2 插件对高质量序列进行降噪, 最终获得降噪、无嵌合体的扩增子序列变体(Amplicon sequence variants, ASV)及其丰度表, 进行后续的统计分析。利用 Blast 工具进行序列注释, 并对序列与 nt_v20200604 数据库进行比对, 设定一致性和覆盖度阈值为 0.8。基于 ASV 丰度表, 利用 R 语言进行微生物群落多样性和组成分析, 并使用 R 语言的 boot 和 stats 包进行组间差异检验。运用了多种 R 包和 Python 脚本进

行进一步的统计分析, 包括主坐标分析(PCoA)、非参数多元方差分析(ANOSIM)、典范对应分析(CCA)、相关性分析热图、置换多元方差分析(PERMANOVA)。共现网络图分析则通过 Gephi 软件完成。

2 结果

2.1 海草根际沉积物环境因子特征

中国川蔓草、鳗草和日本鳗草根际沉积物的环境理化因子分析结果如图 2 所示。日本鳗草根际沉积物中铵盐的含量最高, 且日本鳗草根际沉积物中亚硝酸盐含量为 $2.951 \pm 0.987 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, 显著高于鳗草和中国川蔓草根际沉积物(图 2)。中国川蔓草与日本鳗草根际沉积物中氯盐、溴盐含量存在显著差异($P < 0.05$), 而鳗草沉积物中总氮含量最高, 显著高于中国川蔓草和日本鳗草根际沉积物($P < 0.05$)。三种根际沉积物中总碳含量存在显著差异($P < 0.05$)。中国川蔓草根际沉积物中总碳含量最高, 而鳗草根际沉积物中总氮含量最高, 日本鳗草根际沉积物中总有机碳的浓度较低。沉积物成分分析结果显示, 三种海草根际沉积物中粉砂含量相对较高, 且中国川蔓草根际沉积物与日本鳗草根际沉积物粉砂含量存在显著差异。沉积物粒度分析结果显示, 中国川蔓草根际沉积物和鳗草根际沉积物中平均粒径较低, 而日本鳗草根际沉积物中平均粒径最高($P < 0.05$, 图 2)。

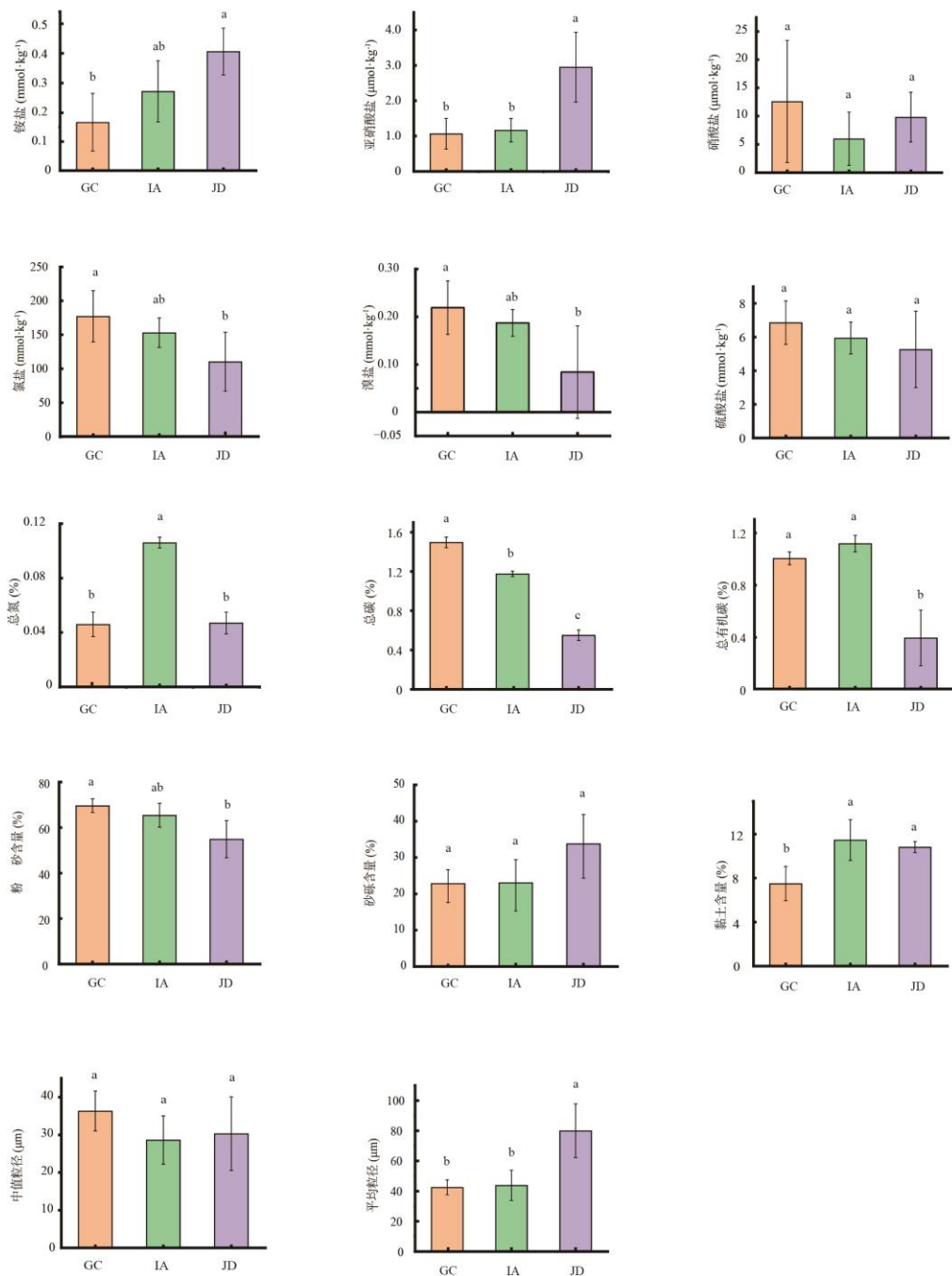


图 2 海草根际沉积物环境理化因子分析

GC: 中国川蔓草, IA: 鳎草, JD: 日本鳎草

Fig. 2 Environmental factors in seagrass rhizosphere sediment. GC: *Ruppia sinensis*, IA: *Zostera marina*, JD: *Zostera japonica*

2.2 海草根际真核生物多样性分析

基于 ASV 丰度表, 分析海草根际真核生物的丰富度和多样性, 结果显示三种海草根际沉积物中真核生物多样性差异不显著(表 1)。而主坐标分析(PCoA)结果则表明三种

表 1 海草根际真核生物 α 多样性指数分析

Tab. 1 Analysis of α diversity indices of eukaryotic microorganisms in the rhizosphere of seagrasses

多样性指数	中国川蔓草	鳎草	日本鳎草	P
Ace 指数	243.50 ± 93.61	321.50 ± 196.5	321.80 ± 138.10	0.7351
Chao 指数	235.10 ± 92.07	319.90 ± 191.90	316.90 ± 138.30	0.7351
香农指数	2.92 ± 0.8002	3.07 ± 1.18	2.15 ± 1.31	0.595
辛普森指数	0.13 ± 0.11	0.21 ± 0.19	0.41 ± 0.31	0.1988

海草根际真核生物群落结构存在显著差异(图 3), 对三种海草进行两两比较, 中国川蔓草、鳎草和日本鳎草根际沉积物微生物群落结构组间多样性均存在显著差异(ANOSIM, $P < 0.05$)。

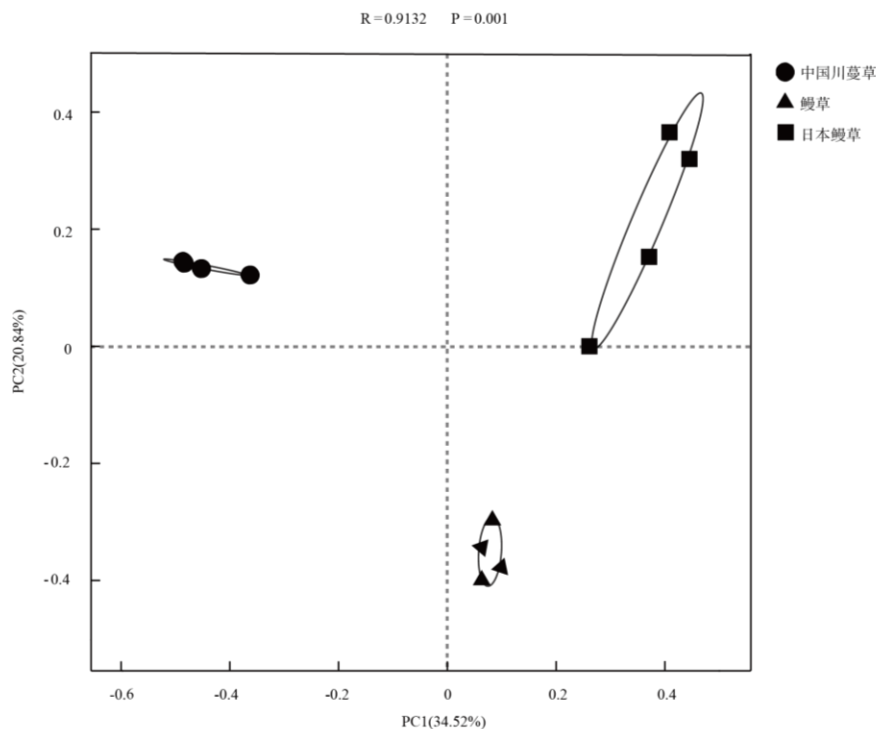


图 3 海草根际真核生物群落主坐标分析 PCoA 分析

Fig. 3 PCoA analysis of eukaryotic communities in the rhizosphere of seagrasses

2.3 海草根际真核生物群落组成

中国川蔓草、日本鳗草和鳗草根际沉积物中真核生物 18S rDNA 原始序列经过拼接和质控后共获得 843,868 条优化序列, 优化序列总碱基数 320,652,292 个, 共获得 1796 个 ASVs, 隶属于 36 门 103 纲 227 目 352 科 527 属 777 种。

在门水平上, 中国川蔓草根际沉积物优势类群为绿藻门(Chlorophyta, 33.26%)、腹毛动物门(Gastrotricha, 15.68%)、丝足虫门(Cercozoa, 11.46%)、定鞭藻门(Haptista, 6.82%)和节肢动物门(Bacillariophyta, 6.27%)(图 4A), 鳗草根际沉积物优势类群为环节动物门(Annelida, 25.52%)、线虫动物门(Nematoda, 19.05%)、绿藻门(Chlorophyta, 14.45%)、硅藻门(Bacillariophyta, 9.11%)(图 4A), 日本鳗草根际沉积物优势类群为环节动物门(Annelida, 52.99%)、节肢动物门(Arthropoda, 18.11%)、线虫动物门(Nematoda, 6.86%)、硅藻门(Bacillariophyta, 4.94%)(图 4A)。

在属水平, 中国川蔓草根际沉积物优势类群为 *Lepidodermella* 属, *Heterocapsa* 属, *Neomysis* 属, *Pavlova* 属, *Heterolepidoderma* 属, 鳗草根际沉积物优势属为 *Chone* 属, *Daptonema* 属, 石莼属(*Ulva*), *Lysilla* 属, *Amphicorina* 属。而日本鳗草根际沉积物优势属为 *Cirriformia* 属,

Cytheromorpha 属, *Selenidium* 属, 石莼属(*Ulva*), *Daptonema* 属(图 4B)。

在门水平对三种海草根际真核生物群落进行组间差异分析, 结果如图 4C 所示, 环节动物在鳗草与日本鳗草根际中存在明显差异($P < 0.05$), 其相对丰度分别为 52.99%和 25.52%, 而绿藻门在中国川蔓草、日本鳗草和鳗草根际沉积物中存在显著差异, 其相对丰度分别为 33.26%、14.45%、4.15%。腹毛动物门和定鞭藻门在中国川蔓草根际沉积物中相对丰度最高, 其相对丰度为 15.68%和 6.82%。在日本鳗草根际沉积物中, 顶复门和红藻门的相对丰度最高, 分别为 2.57%和 4.33%; 而在鳗草根际沉积物中, 两者的相对丰度分别为 2.34%和 1.17%。在属水平对三种海草根际真核生物群落进行组间差异分析(图 4D), *Lepidodermella* 属, *Pavlova* 属和 *Microchloropsis* 属在中国川蔓草根际沉积物中的相对丰度显著高于日本鳗草和鳗草, 而 *Daptonema* 属, 石莼属(*Ulva*), *Eurytemora* 属和齿状藻属(*Odontella*) 在鳗草根际沉积物中的相对丰度显著高于中国川蔓草和日本鳗草, *Cirriformia* 属、*Cytheromorpha* 属和 *Selenidium* 属在日本鳗草根际沉积物中显著富集。

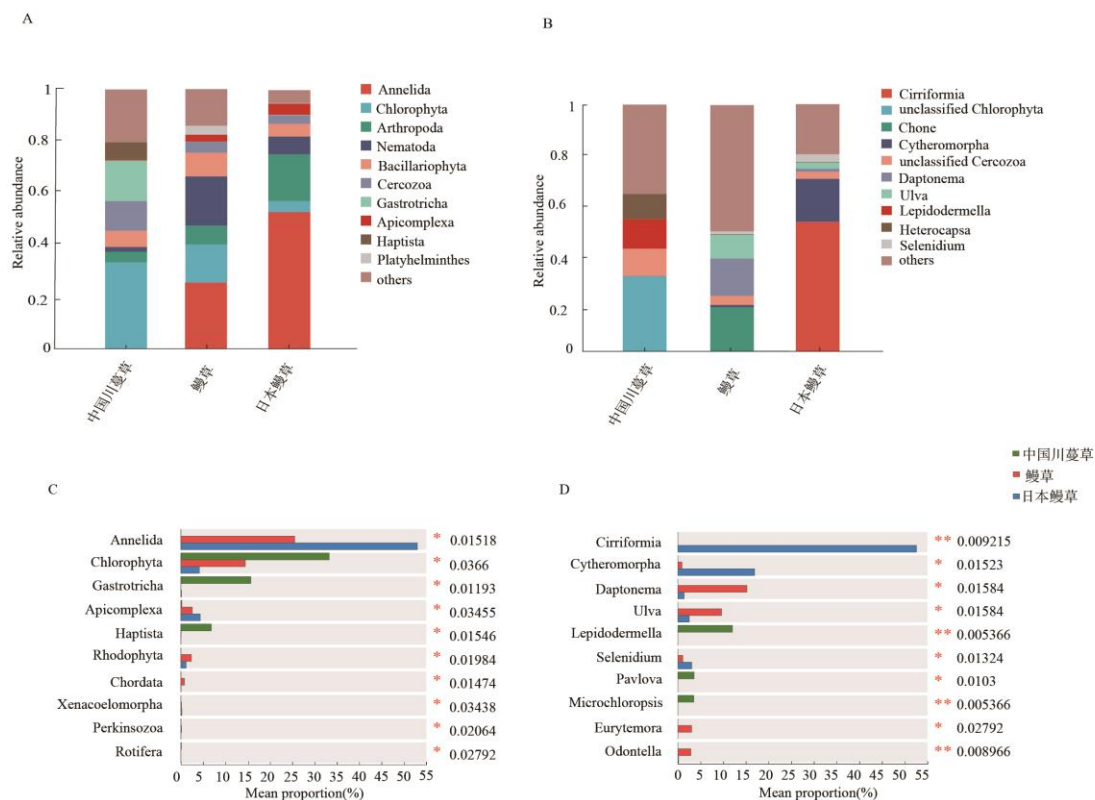


图 4 中国川蔓草、 鳗草和日本鳗草根际沉积物真核生物群落结构及主要类群的相对丰度组间差异分析

(A) 门水平的群落组成, (B) 属水平的群落组成, (C) 门水平的组间差异分析, (D) 属水平的组间差异分析

Fig. 4 Analysis of eukaryotic community composition and relative abundance of major groups in rhizosphere sediments of *Ruppia sinensis*, *Zostera marina* and *Zostera japonica*. A, community composition at phyla level, B, community composition at genus level, C, Inter-group difference analysis at the phylum level, D, Inter-group difference analysis at the genus level

2.4 海草根际真核生物生态网络分析

分别选取中国川蔓草、 日本鳗草和鳗草样品中总丰度前 100 的 ASV, 进行斯皮尔曼(Spearman)秩相关分析并筛选相关系数 $|p| > 0.6$, 且显著水平 $P < 0.05$ 的数据构建相关性网络, 结果显示中国川蔓草样本和鳗草样本海草微生物类

群的节点数量、 边数量较为相似(图 5A、 B), 而日本鳗草样品中的边数量较中国川蔓草样本和鳗草高(图 5C), 说明日本鳗草样品之间的互作关系更加复杂(图 5)。三种样品的正相关关系(分别为 80.85%、 95.96%和 87.42%)均高于负相关关系(分别为 19.15%、 4.04%和 12.58%)。

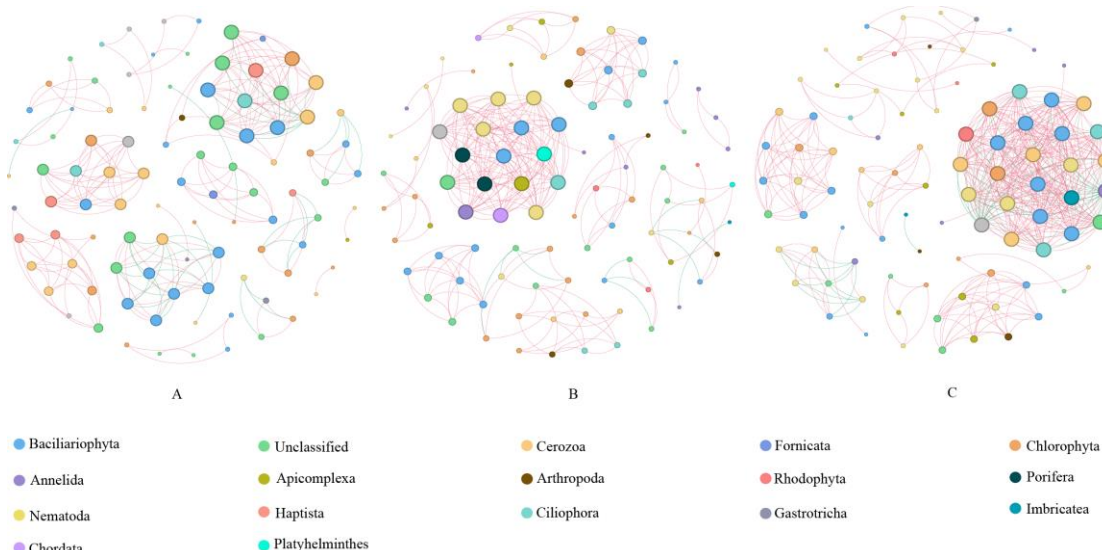


图 5 三种海草根际真核生物群落在 ASV 水平上的共现性网络图

(A) 中国川蔓草, (B) 鳗草, (C) 日本鳗草, 红色线表示正相关关系, 绿色线表示负相关关系

Fig. 5 Co-occurrence network diagram of eukaryotic community of different seagrass at ASV level. (A) *Ruppia sinensis*, (B) *Zostera marina*, (C) *Zostera japonica*, the red line indicates a positive correlation, and the green line indicates a negative correlation

2.5 海草根际真核生物群落结构与环境因子间的关系

采用典范对应分析(CCA)探究环境因子对海草根际真

核生物群落结构的影响, 结果显示, 环境因子可以解释 36.04%的真核生物群落的变化(图 6A)。海草根际沉积物中

铵盐含量、亚硝酸盐含量、硝酸盐含量、溴盐含量、平均粒径、黏土含量影响海草根际真核生物群落组成。6个因子在轴 CCA1、CCA2 上的解释度分别为 19.90%和 16.14%。总碳含量对鳎草样本的影响最大,而日本鳎草样本与环境因子中亚硝酸盐含量、铵盐含量和粒径大小有着密切联系。通过曼特检验分析主要真核生物类群与环境因子之间的相关性,结果显示,在中国川蔓草样本中,主要真核生物类群与环境因子无相关性(图 6B),铵盐、亚硝酸盐、硝酸盐与总氮,硫酸盐与氯盐显著正相关,总有机碳

与溴盐显著负相关。在鳎草样本中,线虫动物门(Nematoda)与氯盐显著相关(图 6C),铵盐与黏土含量、硫酸盐与氯盐、溴盐显著正相关,中值粒径、粒径与总碳显著负相关,而在日本鳎草样本中,环节动物门(Annelida)与铵盐显著正相关、节肢动物门(Arthropoda)与氯盐、硫酸盐显著正相关,线虫动物门与总碳含量显著正相关,氯盐与硫酸盐、溴盐,硫酸盐与溴盐显著正相关,总碳与中值粒径、粒径显著负相关(图 6D, $p < 0.05$)。

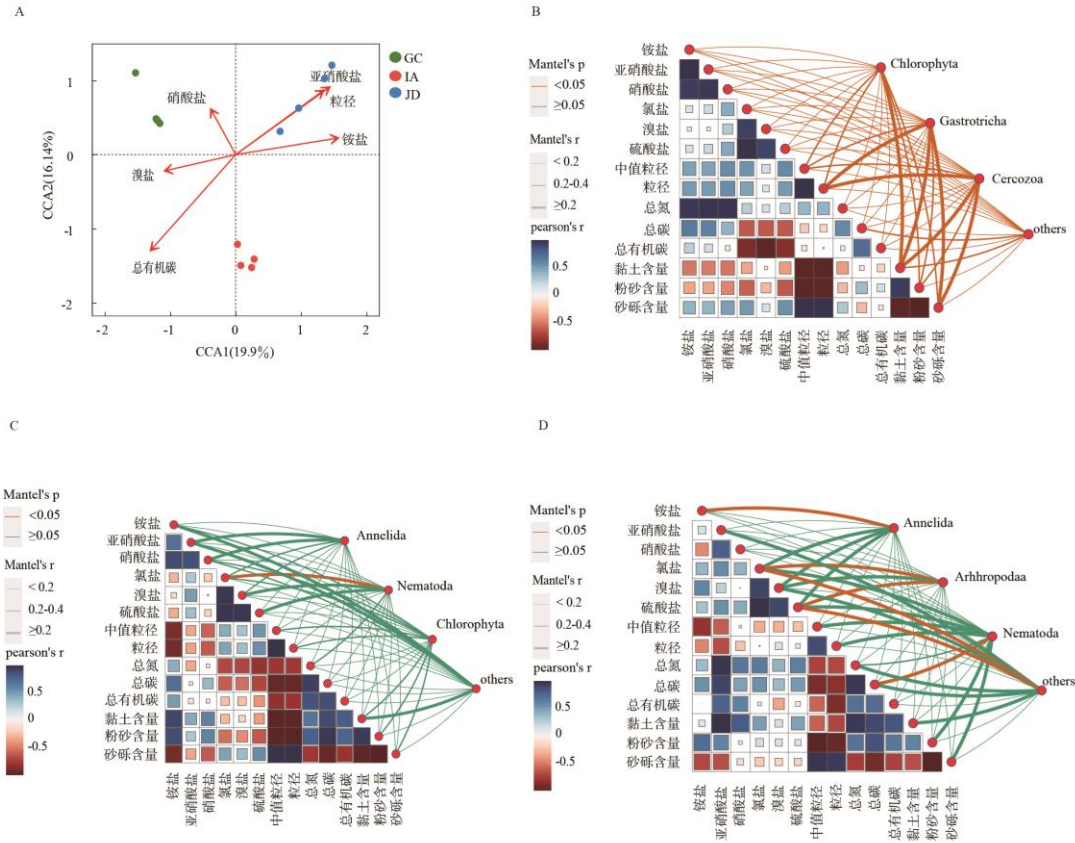


图 6 海草根际真核生物群落与环境因子之间的关系

(A) 海草根际真核生物与环境因子的 CCA 分析, (B)、(C)、(D) 分别为中国川蔓草、鳎草和日本鳎草主要真核生物类群与环境因子的相关性分析, 颜色变化表示 p 相关程度大小, 线条粗细表示 r 相关系数大小

Fig. 6 The relationship between rhizosphere eukaryotic microbial communities of seagrass and environmental factors. (A) CCA analysis of seagrass rhizosphere eukaryotic microorganisms and environmental factors; (B), (C), and (D) are the correlation coefficients between the environmental factors and abundant eukaryotic species in the rhizosphere of *Ruppia sinensis*, *Zostera marina* and *Zostera japonica*. The color change represents the magnitude of p correlation, and the line thickness represents the magnitude of r correlation

3 讨论

在海洋生态系统中, 真核生物扮演着至关重要的角色, 包括生产者、分解者和消费者, 对维持海洋生态系统健康和稳定起着重要作用, 并在全球海洋的生物地球化学循环中发挥着核心功能(Fulton et al, 2012, Worden et al, 2015, Oikonomou et al, 2015)。海草根际真核生物多样性和群落结构受到海草种类、生态功能等多种因素的影响。已有研究揭示, 海草根际原核微生物的核心物种具有一致性, 但不同海域或相同海域不同海草物种根际原核微生物群落结构存在差异, 主要是由于海草根分泌物不同和环境因子的差异导致的(Cucio et al, 2016, 孙延瑜等, 2021)。本研究中, 三种海草根际真核生物群落多样性指数无显著差异,

然而群落结构存在显著性差异, 三种海草根际优势真核生物类群显著不同, 且这些优势类群的丰度也存在显著差异, 如在中国川蔓草根际沉积物中, *Pavlova* 属和 *Microchloropsis* 属其相对丰度明显高于日本鳎草和鳎草, 而 *Selenidium* 属和 *Cirriformia* 属在日本鳎草根际沉积物中显著的富集。*Pavlova* 属和 *Microchloropsis* 属为单细胞藻类, 能够进行光合作用, 是海洋食物网中重要的初级生产者, 还是许多海洋动物的食物来源, 对食物网和食物链的贡献的能量和营养供应扮演着关键的角色 (Cattolico and Goer, 1990)。*Selenidium* 属与 *Cirriformia* 属之间存在寄生关系, *Selenidium* 属在日本鳎草根际沉积物中的显著富集可能会改变宿主 *Cirriformia* 属的行为和生态位, 进而影响海草生

态系统中的食物网和能量流动(Schrével et al, 2016 , Rueckert and Horák, 2017)。因此, 海草根际真核生物群落结构与海草种类之间的关系更为复杂, 海草根际真核生物群落结构不仅受到海草自身代谢塑造, 还受到真核生物之间复杂的相互作用关系和海草生存环境的影响。

海草根际真核生物的群落结构与环境因子的紧密联系使其成为生态环境改变的敏感指示器, 能够反映出环境变化的早期信号(薛翌 等, 2023)。本研究揭示了海草根际真核生物群落结构与根际沉积物中铵盐含量、亚硝酸盐含量、平均粒径和总有机碳含量显著相关。氮元素是藻类生长的必需元素, 也是真核生物细胞构成的重要物质基础。Paterson 等人的研究指出, 在海洋潮间带表层沉积物中, 光合自养生物如硅藻与铵的浓度密切相关(Paterson et al, 2001)。由于藻类对环境氮存在竞争, 导致根际沉积物中的藻类组成随氮浓度变化而发生改变。(Michalski et al, 2021, 刘鹏远, 2022), 进而影响不同海草根际微生物群落结构的差异。本研究发现, 日本鳗草根际沉积物中铵盐和亚硝酸盐的浓度显著高于其他两种海草, 表明该区域氮循环较为活跃, 铵盐和亚硝酸盐浓度升高可能促进了藻类多样性的增加(Liu et al, 2020)。相比之下, 中国川蔓草根际沉积物中铵盐含量较低, 表明其根际能够有效吸收铵盐作为氮源(Larkum et al, 2006)。环节动物门对铵盐具有依赖性, 它们通过摄取含铵盐的沉积物来获取营养, 在日本鳗草样品中, 环节动物门与铵盐之间存在显著正相关性, 表明环节动物门的分布和丰度可能受到沉积物中铵盐浓度的影响(张晓珂 等, 2018)。海草根际真核生物群落还会受到沉积物中氧气供应的影响, 在日本鳗草生长环境中, 潮间带的沙质或粉砂质土壤中较大的沉积物粒径有利于海草根部的氧气的供应(刘鹏远 等, 2019), 海草根部分可释放大量可溶解碳并能捕获表层水体中有机物颗粒, 而中国川蔓草和鳗草根系发达, 使得海草床沉积物中富含碳元素。因此其根际沉积物中碳含量和总有机碳含量显著高于日本鳗草(Sarkar et al, 2016 , Sardans et al, 2017, 于培, 2017 , Bartoszek, 2023)。这些结果表明, 海草根际真核生物群落结构差异不仅与海草种类有关, 还受到环境因子的影响。

海草根际真核生物在海草床生态系统中营养流动和元素循环中有重要作用, 进而影响海草生态系统的稳定性和

功能。日本鳗草中线虫动物门与总碳含量显著正相关, 表明线虫在海草生态系统中作为碳循环关键参与者的角色, 它们通过摄食微生物和有机碎屑, 将有机碳转化为无机碳, 进而影响食物网结构和碳流动, 这一过程对于维持生态系统的稳定性和功能至关重要(Schratzberger and Ingels, 2018)。此外, 已有研究揭示线虫动物门的神经系统中, 氯离子通道在神经信号传递中扮演着重要角色, 在鳗草样本中, 线虫动物门与氯盐含量显著正相关, 谷氨酸门控氯离子通道(GluCl)在调节线虫的神经活动中起到关键作用(Trombetta et al, 2020)。因此, 海草根际真核生物群落的结构和功能与环境因子紧密相关, 海草根际真核生物在海草床生态系统中有有机物的矿化、营养流动和元素循环中起到关键作用, 这些真核生物的活动影响着海草生态系统的稳定性和功能。尽管本研究揭示了海草根际真核生物群落与环境因子之间的联系, 但仍存在一些局限性。由于样本数量有限, 可能无法全面反映海草种类的微生物特征。此外, 研究主要关注了微生物群落的结构与环境因子的相关性, 而对于微生物功能的直接验证尚需进一步实验支持。未来的研究可以结合长期监测数据和功能验证实验, 进一步探讨微生物群落的动态变化及其对生态系统功能的具体贡献。

4 结论

本研究对山东近海三种海草中国川蔓草、日本鳗草和鳗草沉积物的真核群落进行研究, 共获得 1796 个 ASVs, 隶属 36 门 103 纲 227 目 352 科 527 属。三种海草根际真核生物群落存在显著差异, 其中, 绿藻门和腹毛动物门是中国川蔓草根际主要真核生物类群, 环节动物和节肢动物是日本鳗草根际真核生物的优势类群, 而环节动物门和线虫动物门在鳗草根际的丰度较高。与中国川蔓草和鳗草相比, 日本鳗草根际沉积物中真核生物之间的互作关系更加复杂。铵盐、亚硝酸盐、溴盐和沉积物粒径是影响海草根际真核生物群落结构变化的主要驱动因子。研究结果有助于理解真核生物在海草根际的分布特征及对海草生态系统的影响, 对进一步保护和修复海草床提供理论依据。然而, 本研究也存在样本量有限和研究区域的局限性。未来的研究需要扩大样本量并扩展研究区域, 以进一步验证本研究的发现。

参考文献 References

- 凌娟, 梁童茵, 岳维忠, 2023. 热带海草泰来草沉积物真菌的群落结构、功能与分子生态网络研究[J]. 热带海洋学报, 42(5): 64-75. LING JUAN, LIANG TONGYIN, YUE WEIZHONG, 2023. Community structure, function, and molecular ecological network of fungi in the tropical seagrass *Thalassia hemprichii* sediment[J]. Journal Of Tropical Oceanography, 42(5): 64-75 (in Chinese with English abstract).
- 刘鹏远, 张海坤, 陈琳, 2019. 黄渤海海草分布区日本鳗草根际微生物群落结构特征及其功能分析[J]. 微生物学报, 59(8): 1484-1499. LIU PENG YUAN, ZHANG HAIKUN, CHEN LIN, 2019. Rhizosphere microbial community structure and function of *Zostera japonica* in the distribution area of seagrass beds in the Yellow Sea and Bohai Sea[J]. Acta Microbiologica Sinica, 59(8): 1484-1499 (in Chinese with English abstract).
- 刘鹏远, 2022. 黄渤海日本鳗草沉积物三域微生物的分布特征、生态功能及驱动因素[D]. 烟台: 中国科学院大学(中国科学院烟台海岸带研究所). LIU PENG YUAN, 2022. Studies on the microorganisms of three domains associated with seagrass (*Zostera japonica*) meadows: distributions, ecological functions, and environmental drivers[D]. Yantai: University of Chinese Academy of Sciences(Yantai Institute of Coastal Zone Research), (in Chinese with English abstract).
- 宋增磊, 2023. 微生物在黄河三角洲互花米草与日本鳗草生态竞争中的作用及机制分析[D]. 烟台: 中国科学院大学(中国科学院烟台

- 海岸带研究所). SONG ZENGLEI, 2023. Analysis of the roles and mechanisms of microorganisms in the ecological competition between *Spartina alterniflora* and *Zostera japonica* in the Yellow River Delta[D]. Yantai: University of Chinese Academy of Sciences(Yantai Institute of Coastal Zone Research), (in Chinese with English abstract).
- 孙延瑜, 宋增磊, 刘鹏远, 2021. 威海天鹅湖大叶藻(*Zostera marina*)与日本鳗草(*Zostera japonica*) 根际微生物群落结构及其驱动机制[J]. 微生物学报, 61(9): 2675–2692. SUN YANYU, SONG ZENGLEI, LIU PENGYUAN, 2021. Rhizosphere microbial community structure and driving mechanism of *Zostera marina* and *Zostera japonica* in Swan Lake, Weihai[J]. Acta Microbiologica Sinica, 61(9): 2675–2692 (in Chinese with English abstract).
- 孙延瑜, 2021. 威海泻湖海草床共附生微生物群落结构特征及疏入过程[D]. 烟台: 中国科学院大学(中国科学院烟台海岸带研究所). SUN YANYU, 2021. Characteristics of microbial community structure and sulfur invasion processes in the seagrass bed of Weihai Lagoon[D]. Yantai: University of Chinese Academy of Sciences(Yantai Institute of Coastal Zone Research), (in Chinese with English abstract).
- 王天雨, 2023. 山东东部沿海两种海草根际微生物群落结构及潜在功能[D]. 烟台: 烟台大学. WANG TIANYU, 2023. Rhizosphere microbial community structure and potential function of two species of seagrass in the eastern coast of Shandong Province[D]. Yantai: Yan Tai University, (in Chinese with English abstract).
- 徐少春, 2021. 黄渤海鳗草(*Zostera marina*)种群特征及生态修复研究[D]. 青岛: 中国科学院大学(中国科学院海洋研究所). XU SHAOCHUN, 2021. Population characteristics and ecological restoration of the seagrass *Zostera marina* L. in the Yellow Sea and Bohai Sea[D]. Qingdao: University of Chinese Academy of Sciences(Institute of Oceanology), (in Chinese with English abstract).
- 薛翌, 王兰, 孟华旦尚, 2023. 色林错表层水体真核微生物多样性和群落分布格局[J]. 冰川冻土, 45(5): 1652–1666. XUE ZHAO, WANG LAN, MENG HUADANSHANG, 2023. Diversity and community distribution pattern of eukaryotic microbes in surface water of Selin Co[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2023, 45(5): 1652–1666 (in Chinese with English abstract).
- 于培, 2017. 鳗草对沉积物微生物群落的影响及其氮代谢的初步研究[D]. 威海: 山东大学(威海). YU PEI, 2017. The influence of *Zostera marina* on the microbial communities and the preliminary study of nitrogen metabolism[D]. Weihai: Shan Dong University(Weihai), (in Chinese with English abstract).
- 张晓珂, 梁文举, 李琪, 2018. 我国土壤线虫生态学研究进展和展望[J]. 生物多样性, 26(10): 1060–1073. ZHANG XIAOKE, LAING WENJU, LI QI, 2018. Recent progress and future directions of soil nematode ecology in China[J]. Biodiversity Science, 26(10): 1060–1073 (in Chinese with English abstract).
- 周毅, 江志坚, 邱广龙, 2023. 中国海藻资源分布现状、退化原因与保护对策[J]. 海洋与湖沼, 54(5): 1248–1257. ZHOU YI, JIANG ZHIJIAN, QIU GUANGLONG, 2023. Distribution status, degradation reasons and protection countermeasures of seagrass resources in China[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 54(5): 1248–1257 (in Chinese with English abstract).
- AZAM F, MALFATTI F, 2007. Microbial structuring of marine ecosystems[J]. Nat Rev Microbiol, 5(10): 782–791.
- BARTOSZEK L, 2023. The effect of natural organic matter (NOM) on the distribution and resources of mobile phosphorus in the bottom sediments of small retention reservoirs[J]. Aquatic Sciences, 85(4): 107.
- BENGTSOON M M, BÜHLER A, BRAUER A, et al, 2017. *Eelgrass* Leaf surface microbiomes are locally variable and highly correlated with epibiotic eukaryotes[J]. Frontiers in Microbiology, 8: 1312.
- CAVICCHIOLI R, RIPPLE W J, TIMMIS K N, et al, 2019. Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change[J]. Nature Reviews Microbiology, 17(9): 569–586.
- CONTE C, ROTINI A, MANFRA L, et al, 2021. The Seagrass Holobiont: What We Know and What We Still Need to Disclose for Its Possible Use as an Ecological Indicator[J]. Water, 13(4): 406.
- CUCIO C, ENGELEN A H, COSTA R, et al, 2016. Rhizosphere microbiomes of European seagrasses are selected by the plant, but are not species specific[J]. Frontiers in Microbiology, 7(7): 440.
- FOURQUREAN J W, DUARTE C M, KENNEDY H, et al, 2012. Seagrass ecosystems as a globally significant carbon stock[J]. Nature Geoscience, 5(7): 505–509.
- FULTON J M, ARTHUR M A, FREEMAN K H, 2012. Black Sea nitrogen cycling and the preservation of phytoplankton $\delta^{15}\text{N}$ signals during the Holocene[J]. Global biogeochemical cycles, 26: GB2030.
- CATTOLICO R A, GOËR S L D. 1990. Analysis of chloroplast evolution and phylogeny: A Molecular Approach[C]//GREEN J C, LEADBEATER B S C, DIVER W L. The Chromophyte Algae: Problems and Perspectives. Oxford University Press: 85–100.
- HORINOUCHE M, MIZUNO N, JO Y, et al, 2013. Habitat preference rather than predation risk determines the distribution patterns of filefish *Rudarius ercodes* in and around seagrass habitats[J]. Marine Ecology Progress Series, 488: 255–266.
- LARKUM A W D, ORTH R J, DUARTE C M, et al, 2006. Seagrasses: biology, ecology and conservation[J]. Phycologia, 45(5): 5.
- LELES S G, MITRA A, FLYNN K J, et al, 2017. Oceanic protists with different forms of acquired phototrophy display contrasting biogeographies and abundance[J]. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences, 284(1860): 20170664.
- LIU LEMIAN, WANG SHANSHAN, CHEN JIANFENG, 2020. Hysteretic response of microbial eukaryotic communities to gradually decreased nutrient concentrations in eutrophic water[J]. Microbial Ecology, 79(4): 815–822.
- MACH M E, WYLLIE-ECHEVERRIA S, CHAN K M A, 2014. Ecological effect of a nonnative seagrass spreading in the Northeast Pacific: A review of *Zostera japonica*[J]. Ocean & Coastal Management, 102: 375–382.
- MANNINO A M, MENÉNDEZ M, OBRADOR B, et al, 2015. The genus *Ruppia* L. (*Ruppiaceae*) in the Mediterranean region: An overview[J]. Aquatic Botany, 124: 1–9.
- MILBRANDT E C, GREENAWALT-BOSWELL J, SOKOLOFF P D, et al, 2008. Short-term indicators of seagrass transplant stress in response to sediment bacterial community disruption[J]. Botanica Marina, 51(2): 103–111.
- MICHALSKI R, PECYNA-UTYLSKA P, KERNERT J, 2021. Determination of ammonium and biogenic amines by ion chromatography. A review[J]. Journal of Chromatography A, 1651: 462319.
- OIKONOMOU A, FILKER S, BREINER H W, et al, 2015. Protistan diversity in a permanently stratified meromictic lake (Lake Alutsee, SW Germany)[J]. Environmental Microbiology, 17(6): 2144–2157.
- ORTH R J, LEFCHECK J S, MCGLATHERY K S, et al, 2020. Restoration of seagrass habitat leads to rapid recovery of coastal ecosystem services[J]. Science Advances, 6(41): eabc6434.
- PATERSON D M, HAGERTHEY S E, STUDIES E, 2001. Microphytobenthos in contrasting coastal ecosystems: Biology and dynamics[M]// K Reise (ed.), Ecological Comparisons of Sedimentary shores, Ecological studies, Berlin: Springer-Verlag. 105–125.
- RUECKERT S, HORÁK A, 2017. Archigregarines of the English Channel revisited: New molecular data on Selenidium species including early described and new species and the uncertainties of phylogenetic relationships[J]. PLoS One, 12(11): e0187430.
- SARDANS J, BARTRONS M, MARGALEF O, et al, 2017. Plant invasion is associated with higher plant-soil nutrient concentrations in nutrient-poor environments[J]. Global Change Biology, 23(3): 1282–1291.
- SARKAR A, CHAKRABORTY P, NATH B N, 2016. Distribution and nature of sedimentary organic matter in a tropical estuary: An indicator of human intervention on environment[J]. Marine Pollution Bulletin, 102(1): 176–186.
- SCHRATZBERGER M, INGELS J, 2018. Meiofauna matters: The roles of meiofauna in benthic ecosystems[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 502: 12–25.
- SCHRÉVEL J, VALIGUROVÁ A, PRENSIER G, et al, 2016. Ultrastructure of selenidium pendula, the type species of *Archigregarines*, and phylogenetic relations to other marine Apicomplexa[J]. Protist, 167(4): 339–368.
- SHORT F T, POLIDORO B, LIVINGSTONE S R, et al, 2011. Extinction risk assessment of the world's seagrass species[J]. Biological Conservation, 144(7): 1961–1971.
- SUN HAO, WANG TIANYU, LIU SHUAI, et al, 2024. Novel insights into the rhizosphere and seawater microbiome of *Zostera marina* in diverse mariculture zones[J]. Microbiome, 12(1): 27.
- TARQUINIO F, HYNDEN G A, LAVEROCK B, et al, 2019. The seagrass holobiont: understanding seagrass-bacteria interactions and their role in seagrass ecosystem functioning[J]. FEMS Microbiology Letters, 366(6): fuz057.
- TROMBETTA T, VIDUSSI F, ROQUES C, et al, 2020. Marine microbial

- food web networks during phytoplankton bloom and non-bloom periods: warming favors smaller organism interactions and intensifies trophic cascade[J]. *Frontiers in Microbiology*, 11: 502336.
- TURNER T R, JAMES E K, POOLE P S, 2013. The plant microbiome[J]. *Genome Biology*, 14: 1-10.
- UGARELLI K, CHAKRABARTI S, LAAS P, et al, 2017. The seagrass holobiont and its microbiome[J]. *Microorganisms*, 5(4): 81.
- VALENTI J L, GROTHUES T M, ABLE K W, 2023. Subtidal fish habitat in a temperate lagoonal estuary: comparison of salt Marsh Creeks, Sand, and Seagrass[J]. *Estuaries and Coasts*, 46(1): 246–264.
- WAHYUDI A J, RAHMAWATI S, IRAWAN A, et al, 2020. Assessing carbon stock and sequestration of the tropical seagrass meadows in Indonesia[J]. *Ocean Science Journal*, 55(1): 85–97.
- WAN DONGJIE, 2023. Research progress on degradation factors and restoration technologies of seagrass beds[J]. *OAJRC Environmental Science*, 4(1): 40-44.
- WANG YAPING, LI GUIHAO, FEI SHI, et al, 2020. Taxonomic diversity of Pico-/Nanoeukaryotes is related to dissolved oxygen and productivity, but Functional Composition Is Shaped by Limiting Nutrients in Eutrophic Coastal Oceans[J]. *Frontiers in Microbiology*, 11: 601037.
- 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.
- WU PENGFEI, LI DONGXU, KONG LINGFEI, et al, 2020. The diversity and biogeography of microeukaryotes in the euphotic zone of the northwestern Pacific Ocean[J]. *Science of the Total Environment*, 698: 134289.
- XU SHAOCHUN, QIAO YONGLIANG, XU SHUAI, et al, 2021. Diversity, distribution and conservation of seagrass in coastal waters of the Liaodong Peninsula, North Yellow Sea, northern China: Implications for seagrass conservation[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 167: 112261.
- XU SHAOCHUN, XU SHUAI, ZHOU YI, et al, 2020. Sonar and in situ surveys of eelgrass distribution, reproductive effort, and sexual recruitment contribution in a eutrophic bay with intensive human activities: Implication for seagrass conservation[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 161: 111706.
- ZHANG XIA, WU YUNCHAO, LIU SONGLIN, et al, 2024. Plant growth and development of tropical seagrass determined rhizodeposition and its related microbial community[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 199: 115940.
- ZHOU WEIGUO, LINGJUAN, SHEN XIAOMEI, et al, 2024. Inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria improves seagrass *Thalassia hemprichii* photosynthesis performance and shifts rhizosphere microbiome[J]. *Marine Environmental Research*, 193: 106260.