

文章编号: 1000-0615(2017)08-1237-09

DOI: 10.11964/jfc.20160310317

## 厦门近岸滩涂底泥中微型真核生物的群落结构及其对双齿围沙蚕扰动的响应

欧阳俊峰, 陈思扬, 魏娜, 张沙沙,  
鄢庆枇, 林茂, 马英\*

(集美大学水产学院, 农业部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 为研究厦门近岸潮间带滩涂底泥中微型真核生物的群落结构及其对双齿围沙蚕扰动的响应, 采用PCR-DGGE技术对室内模拟沙蚕生物修复过程中微型真核生物的群落结构及动态变化进行了研究。结果显示, 集美滩涂底泥中微型真核生物主要分为后生动物(包括6个门: 颚口动物门、环节动物门、线虫动物门、节肢动物门、软体动物门和腹毛动物门), 丝足虫门, 硅藻门和囊泡虫总门(又分为纤毛虫门和甲藻门)。其中囊泡虫总门的纤毛虫门为优势类群。后生动物中的线虫门为次优势类群。*Peridinium quinquecorne*(属于囊泡虫总门中的甲藻门)是普遍存在的优势物种。DGGE图谱聚类分析表明播种双齿围沙蚕的处理组样品中微型真核生物的群落结构聚为一支, 并与未播种沙蚕的对照样品分开。研究表明, 播种双齿围沙蚕对微型真核生物群落结构造成了一定的影响。沙蚕的处理组检测到了更多的线虫动物门, 可能是因为双齿围沙蚕的活动促进了这些类群的生长。

**关键词:** 双齿围沙蚕; 滩涂沉积物; 微型真核生物; 群落结构; 生物扰动; 18S *rRNA*; PCR-DGGE

中图分类号: Q 178.1; S 932.8

文献标志码: A

沿海滩涂是一种不可再生的自然资源, 具有巨大的经济、生态和社会价值。滩涂与人类生活紧密相关, 但人类无节制的开发以及沿岸工农业污水、生活污水及养殖废水等的持续排入, 导致滩涂生态环境不断恶化, 给近岸环境和生物群落造成了很大危害, 因此对滩涂环境进行保护和修复显得十分必要。厦门湾靠近东南沿海重要的中心城市厦门, 尽管厦门城市和生活污水处理率目前已达93%以上, 且从2006年开始实行了水产养殖退出厦门海域的规定, 但其水体中N、P含量仍然较高<sup>[1]</sup>, 滩涂底泥中P、S等含量处于超标水平, Cd、Pb和Cu等重金属含量处于高风险等级<sup>[2]</sup>。

双齿围沙蚕(*Nereis succinea*)(以下简称为沙

蚕)属环节动物门(Annelida), 多毛纲(Polychaeta), 沙蚕科(Nereididae)的一种无脊椎动物, 喜栖于潮间带中区至潮下带的沙泥, 以及有淡水流入的沿海滩涂中, 是沿海潮间带生态系统中主要的类群, 是典型的沉积食性底栖动物<sup>[3]</sup>。沙蚕是生物修复技术中具有代表性的生物, 其呼吸、运动和排泄等生命活动影响周围沉积物的构造, 增加底层沉积物与表层的物质能量沟通, 改善沉积物物理化学性质<sup>[4]</sup>; 增加底质中的溶解氧, 提高底栖微生物的多样性<sup>[5-6]</sup>, 使污染物被重新分布。此外, 沙蚕的扰动作用还影响了沉积物中微生物的群落结构, 并促进底栖微生物的降解作用, 为改善底质环境提供了有利条件<sup>[7]</sup>。研究表明, 大型底栖动物的丰度显著影响了土壤

收稿日期: 2016-03-21 修回日期: 2016-09-07

资助项目: 国家自然科学基金(31272669); 海洋经济创新发展区域示范项目(14PYY050SF03); 福建省自然科学基金(2014J01131)

通信作者: 马英, E-mail: maying@jmu.edu.cn

中氨氧化细菌的多样性<sup>[8]</sup>。沙蚕的生物扰动作用也影响了多环芳烃(PAHs)的释放和分布<sup>[9]</sup>,并促进了石油降解微生物的生长<sup>[10-12]</sup>。早先曾报道过人工引入沙蚕和泥蚶(*Tegillarca granosa*)对滩涂底泥中细菌和古细菌群落结构的影响,表明细菌和古细菌均对大型底栖动物的扰动作用响应迅速,生物扰动提高了古细菌的多样性,促进了特定细菌和古细菌类群的生长<sup>[13-14]</sup>。已往的研究涉及的微生物主要是细菌,微型真核生物是滩涂生态环境中的重要组成部分,在潮间带物质循环和能量流动中发挥重要作用<sup>[15]</sup>。目前关于滩涂生态环境中微型真核生物的研究还很少。也有研究发现沙蚕洞穴孕育了独特的微型真核生物群落结构<sup>[16-17]</sup>,但沙蚕扰动对滩涂环境中整个微型真核生物群落的影响还未见报道。

自然滩涂是一个开放区域,在野外投放沙蚕进行生物修复实验,沙蚕容易被滩涂中的螃蟹、鸟类等摄食。沙蚕也可能受潮汐水流冲击或自行迁移到非实验区域。因此,本研究以厦门集美滩涂底泥为修复对象,在室内进行模拟沙蚕生物修复实验。利用PCR-DGGE技术研究集美滩涂底泥中微型真核生物的群落结构及其在沙蚕修复过程中的动态变化,为进一步研究微型真核生物在滩涂底泥及沙蚕修复过程中的作用,进而优化修复措施、完善环评指标等奠定基础。也为后续野外实验提供一些参考数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计

在福建厦门集美沿海潮间带采集表层滩涂底泥(0~12 cm),去除其中大体积物质以及肉眼可见的生物,搅拌均匀后放入12个体积为420 mm×300 mm×192 mm的养殖箱中,每箱装约25 kg底泥。将12个培养箱分成4组,每组3个重复。其中一组为空白对照,不播养沙蚕,其余3组分别播养10、20和30条沙蚕。实验所用沙蚕购自福建福清,平均体长为14.3 cm,平均体质量为1.8 g,购回的沙蚕先在海水中驯养3 d,待沙蚕的生命体征稳定后,用无菌水冲洗,去除杂物,再将沙蚕放入养殖箱中饲养。为模拟自然潮汐,每天早上8:00加入海水,晚上20:00将海水排出,海水采自集美沿海。自播养沙蚕开始至实验结束共持续7周。

### 1.2 样品采集

投放沙蚕前先采集滩涂底泥基础样品,然后于播种沙蚕后第1周(7 d)、第3周(21 d)、第5周(35 d)、第7周(49 d)分别采集滩涂底泥样品,一共采集了5次共20个底泥样品。采样时在每个养殖箱的3个不同点采集垂直底泥(相同质量),每个实验组采集到的样品混合均匀后作为一个样品(表1)。

表1 样品信息及编号

Tab. 1 Samples information and numbers

周数 weeks	对照组 control	播种沙蚕的处理组 treatment with nereid		
		10条组 10 individuals	20条组 20 individuals	30条组 30 individuals
播养前 week 0	D0	D0-10	D0-20	D0-30
第1周 week 1	D1	D1-10	D1-20	D1-30
第3周 week 3	D3	D3-10	D3-20	D3-30
第5周 week 5	D5	D5-10	D5-20	D5-30
第7周 week 7	D7	D7-10	D7-20	D7-30

### 1.3 DNA提取、PCR扩增及DGGE图谱分析

使用UltraClean Soil DNA Isolation Kit提取底泥样品总DNA。用真核生物通用引物EUK1A和EUK516R-GC<sup>[18]</sup>对所提取的DNA进行PCR扩增,扩增反应体系:2.5 μL 10×Ex Buffer, 2 μL dNTP, 引物各1 μL, E-taq聚合酶0.3 μL, 模板DNA 1 μL, 无菌超纯水补足至25 μL。PCR扩增条件:95 °C预变性5 min, 然后94 °C 30 s、53.5 °C 30 s、72 °C 1 min进行4个循环;再在92 °C 30 s、53.5 °C 30 s、72 °C 1 min条件下进行30个循环,最后72 °C延伸10 min。

DGGE电泳:PCR产物在6%凝胶中用0.5×TAE缓冲液进行电泳,变性剂梯度为25%~45%,在60 °C、60 V条件下电泳16 h。电泳后凝胶用Good View泡胶染色30 min,再用双蒸水漂洗10 min后,放入凝胶成像系统拍照记录结果。切割DGGE图谱上的主要条带进行回收,扩增纯化后送测序公司进行测序。

用Quantity One 4.6.2软件DGGE图谱进行分析,计算每个样品中的微型真核生物多样性指数:丰富度( $S$ ), 香农指数( $H$ )和均匀度( $E$ ), 计算公式: $H = -\sum P_i \ln P_i$ , 式中,  $P_i = N_i/N$ ,  $N_i$ 表示样品上第 $i$ 个条带的吸收峰面积,  $N$ 表示样品中所有条带吸收峰的总面积。 $E = H/\ln S$ ,  $S$ 为每一条泳

道的条带数目, 即丰富度<sup>[19]</sup>。使用Quantity One 4.6.2软件中UPGMA Tree对DGGE图谱进行聚类分析。

### 1.4 测序、序列分析及系统进化树的构建

用测序获得的有效序列在NCBI上进行比对, 以同源性最高的序列为参比序列, 用Clustal 1.83对序列进行排比分析, 运用MEGA 5.0软件采用邻接法(Neighbor-joining method)构建系统发育树。序列递交到Genbank库, 序列号为KU935463-KU935490。

## 2 结果与分析

### 2.1 DGGE图谱分析

滩涂底泥微型真核生物18S *rRNA*基因的DGGE图谱显示约有28个不同的主要条带(图1)。运用Quantity One 4.6.2软件计算得到的每个泳道的多样性指数中, 香农指数 $H$ 和丰富度指数 $S$ 反

映的是样品中微生物的多样性高低, 均匀度指数 $E$ 反映的是样品中各物种丰度分布的均匀程度。从表2中可以看出, 滩涂底泥样品的DGGE图谱多样性指数较高(大部分样品的 $H>2$ ,  $E$ 值 $>0.90$ ), 说明滩涂底泥样品中微型真核生物的多样性较丰富。从整体上看, 除了空白组在第3周的 $H$ 和 $S$ 有一个较明显的低值以外, 其他组组的多样性指数差异不大。同一采样时间相比, 对照组与处理组之间没有明显的变化规律, 各处理组之间变化规律也不明显。

运用UPGMA Tree对DGGE图谱进行聚类分析, 所有样品大致分为A、B、C、D、E和F共6个分支, 分别命名为Cluster A、B、C、D、E和F(图2)。除了Cluster A由不同时期样品组成以外, 其他分支主要由同一时间采集的样品构成: Cluster B、C、D和E分别由播种沙蚕后第5周、第3周、第1周和第7周处理组样品组成, Cluster F由未播种沙蚕的样品(D0-)和播种后第1周的对

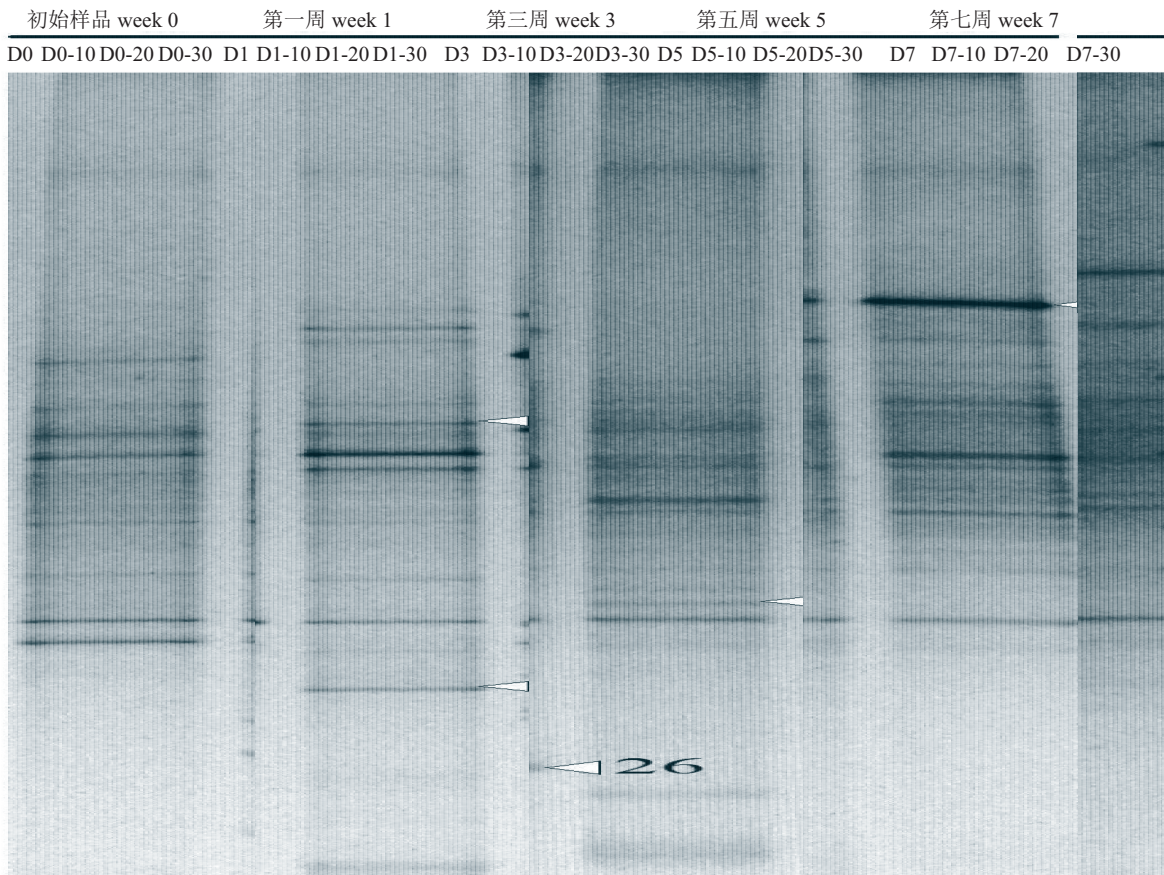


图1 集美滩涂底泥中微型真核生物18S *rRNA*基因片段的DGGE图谱

图内三角形表示回收测序条带

Fig. 1 DGGE profiles of microeukaryotic 18S *rRNA* gene fragments from mudflat sediment of Jimei intertidal zone  
Triangles indicate excised bands for sequencing

表 2 DGGE图谱多样性指数

Tab. 2 Diversity indices calculated from the DGGE banding profiles

多样性指数 diversity indices	播养前 week 0				第一周 week 1				第三周 week 3				第五周 week 5				第七周 week 7			
	D0	D0-10	D0-20	D0-30	D1	D1-10	D1-20	D1-30	D3	D3-10	D3-20	D3-30	D5	D5-10	D5-20	D5-30	D7	D7-10	D7-20	D7-30
丰富度S Richness	11	11	9	15	10	11	14	10	4	9	9	8	8	6	9	9	8	8	12	13
香农指数H Shanon Wiener	2.39	2.37	2.15	2.67	2.28	2.36	2.58	2.20	1.32	2.17	2.18	2.05	2.04	1.77	2.19	2.17	2.06	2.06	2.47	2.55
均匀度E Evenness	0.99	0.99	0.98	0.99	0.92	0.99	0.99	0.98	0.95	0.99	0.99	0.99	0.98	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99

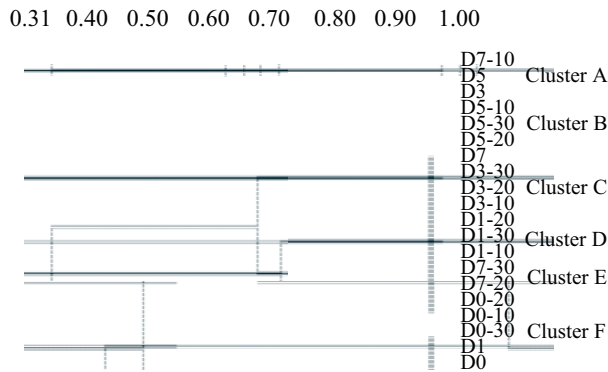


图 2 DGGE图谱聚类分析

Fig. 2 UPGMA clustering analysis of DGGE profiles

照组样品D1组成。上述聚类结果说明，底泥中微型真核生物群落结构随着采样时间的不同而不同，并且沙蚕扰动对微型真核生物群落结构也造成了一定影响，播种沙蚕前的初始样品(Cluster F)及其他时期的处理组样品(Cluster B、C、D和E)彼此分别聚为不同的类群，虽然D7-10与D3和D5聚为一支，但相似性小于40%，D7与Cluster C的相似性也小于50%。Cluster E由第7周20条组和30条组样品组成，未与第7周10条组聚为一支，可能是由于沙蚕播种密度造成的，但其他时期采集的样品中，不同密度处理组之间未见明显差别。

2.2 系统发育分析

将DGGE图谱上的主要条带切胶回收，共得到28条序列，序列在NCBI上通过BLAST比对，并运用Clustal 1.83和MEGA 5.0软件构建系统进化树(图3)。系统进化分析结果表明，微型真核生物群落大致可分为4大类群：后生动物(Metazoa)，丝足虫门(Cercozoa)，硅藻门(Bacillariophyta)和囊泡虫总门(Alveolata)。其中囊泡虫总门是优势类群，约占所测序列数量的43%。后生动物主要包

括线虫动物门(Nematoda)、节肢动物门(Arthropoda)、软体动物门(Mollusca)、腹毛动物门(Gastrotricha)、环节动物门(Annelida)、扁形动物门(Platyhelminthes)和颚口动物门(Gnathostomulida)等6个门，它们总共也占所测序列数量的43%。结合DGGE图谱分析，band 17在所有样品中均有出现，且较明亮，说明band 17可能是集美滩涂底泥微型真核生物群落中普遍存在的优势类群。测序结果表明band 17与甲藻门(Pyrrophyta)多甲藻属的*Peridinium quinquecorne*亲缘性最高(相似性99%)。*P. quinquecorne*是一种在富营养化浅水海域生活、兼营浮游和附着的种类，容易引起赤潮，是水体富营养化的指示生物<sup>[20]</sup>。band 12、13、14、15和18也出现在大多数样品中，是次优势类群。band 14与硅藻门的极小海链藻(*Thalassiosira minima*)最相似(99%)，*T. minima*属于高盐高营养环境的指示生物<sup>[21]</sup>；band 15与扁形动物门的*Gyatrix* sp.相似性最高(99%)，*Gyatrix* sp.在全球范围的海水、半咸水和淡水水域内广泛分布<sup>[22]</sup>；与band 18相似性最高的是线虫动物门的*Neochromadora* BHMM-2005(相似性95%)；band 12和band 13分别属于纤毛虫门(Ciliophora)和硅藻门未知属真核生物，与它们最相似的序列相似性均低于90%。不同采样时期、不同样品中微型真核生物群落结构均有所不同。一些条带在某一时期的样品中频繁出现，如band 3多出现在播种沙蚕前的初始样品中，而band 5多出现于第7周样品中，band 10主要出现在初始样品和第1周样品中。band 3与囊泡虫总门纤毛虫门的*Euplotes rariseta*最相似，相似性为99%；与band 5相似度较高的序列属于囊泡虫门隐核虫属的*Cryptocaryon irritans* (AF351579, 97%)，是一种寄生于咸鱼类体内的致病性纤毛虫<sup>[23]</sup>；band 10与囊泡虫总门纤毛虫门的束状全列虫(*Holosticha diademata*)

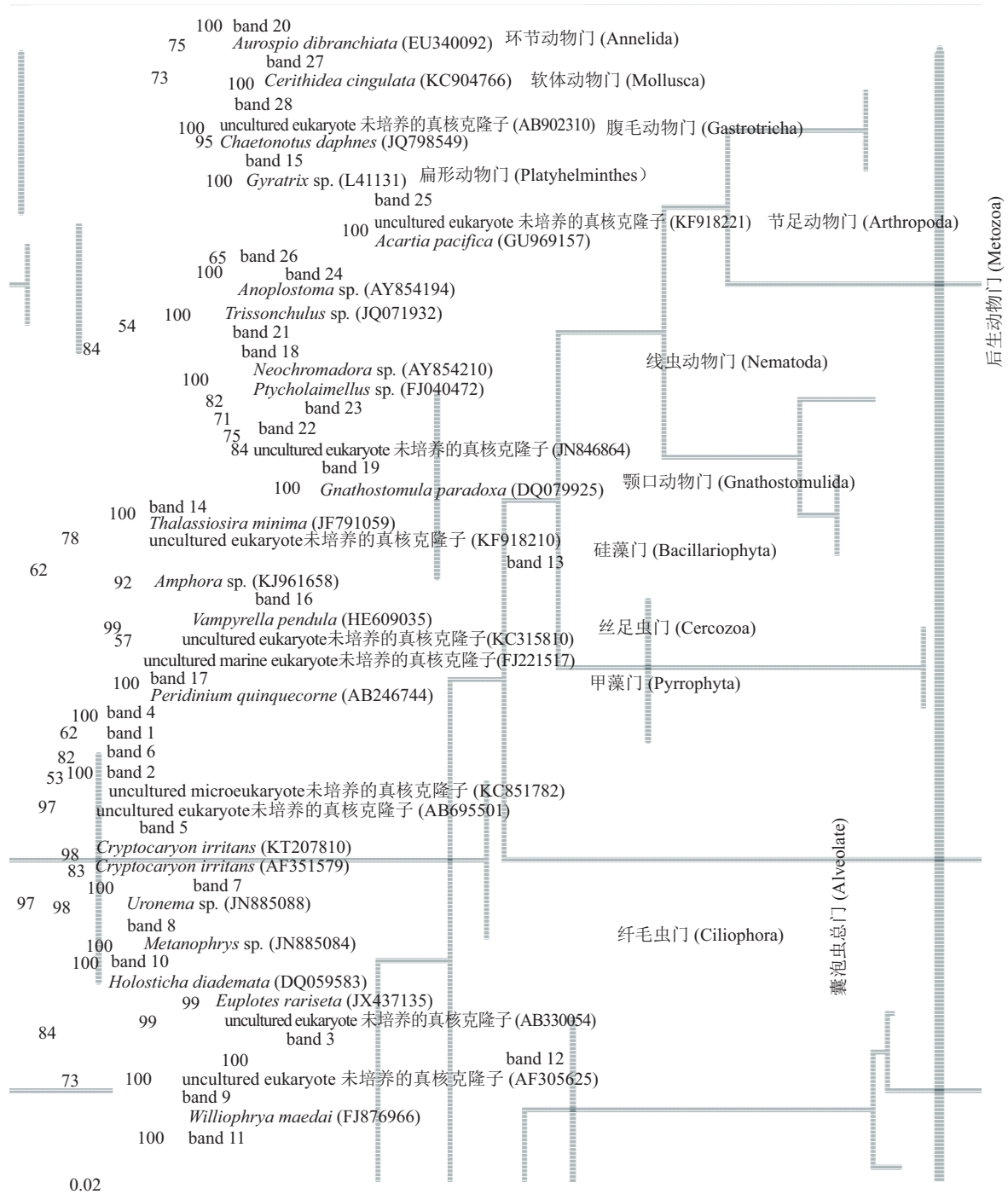


图 3 集美滩涂底泥中微型真核生物18S rDNA序列系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on 18S rDNA sequences in Jimei intertidal mudflats

相似性最高(相似性99%),束状全列虫主要以细菌、有机碎屑为食<sup>[24]</sup>,在降低环境富营养化方面有一定意义。此外,一些条带(band 19、20、21、22、23、24、25、26、27和28)虽然不是优势条带,但是在播种沙蚕的处理组中出现较多,这些条带分别属于后生动物的线虫动物门(band 21、22、23、24和26)、顎口动物门(band 19)、环

节动物门(band 20)、节肢动物门(band 25)、软体动物门(band 27)和腹毛动物门(band 28),沙蚕的扰动可能促进了这些后生动物的生长。其他出现频率较少的条带band 1、2、3、4、6、7、8、9和11均属于囊泡虫总门纤毛虫门的真核生物,band 16与属于丝足虫门的*Vampyrella pendula*相似性最高(相似性86%),主要以藻类为食<sup>[25]</sup>。

### 3 讨论

本实验使用PCR-DGGE技术研究了厦门集美滩涂底泥中微型真核生物的群落结构及其在沙蚕修复过程中的动态变化。结果显示,集美滩涂底泥中微型真核生物包括后生动物的6个门:颚口动物门、环节动物门、线虫动物门、节肢动物门、软体动物门和腹毛动物门,以及丝足虫门、硅藻门和囊泡虫总门(又分为甲藻门和纤毛虫门)。其中囊泡虫总门的纤毛虫门为优势类群。后生动物为次优势类群,后生动物中以线虫动物门为主。一种与水体富营养化有关、常引发赤潮的*P. quinquecorne* (属于囊泡虫总门甲藻门)是普遍存在的优势物种。桡足类、介形虫等节肢动物是沉积物中常见的类群,但在本实验底泥中检测到的桡足类真核生物很少(band 25),且未检测到介形虫。这一现象可能与沉积物污染较重有关,这些对污染比较敏感的类群可能在该底泥中难以生存。也有可能这些类群被沙蚕所摄食。

DGGE图谱聚类分析结果表明,不同时间采集的样品微型真核生物群落结构不同。可能因为本实验虽然在室内进行,排除了一些外界因素的干扰,但为了模仿自然潮汐,每天都会向养殖箱中加入和放出1次海水,DGGE图谱按采样时间聚类,可能与每批次所用的海水不完全相同有关。多样性指数分析结果显示未播种沙蚕的对照组比处理组多样性变化更大,可能是因为沙蚕的扰动部分缓解了外界环境的影响,促进形成了一个更为稳定的底栖环境。聚类分析结果表明,播种沙蚕对微型真核生物群落结构造成了一定的影响,表现为播种沙蚕的处理组样品多聚为一支,并与未播种沙蚕的对照组样品分开。

测序及系统进化分析结果表明,线虫动物门等后生动物在播种沙蚕的处理组中更丰富。沙蚕的活动不断更新洞穴环境,影响了沉积物物理化学过程<sup>[26-27]</sup>,促进了底栖环境的新陈代谢作用和沉积碳的氧化作用,进而对有机质矿化作用产生影响。而线虫等小型底栖动物的丰度都直接或间接的受底栖环境中能量流动、矿化比例、营养盐再循环的影响<sup>[28-29]</sup>。Urban-Malinga等<sup>[30]</sup>的研究也表明,多毛类等底栖动物提高了线虫动物的多样性。高滤食性底栖沙蚕构造了具

有多分枝的U型洞穴结构<sup>[31]</sup>,提高了底栖环境的溶解氧,提供稳定的物理化学环境,保护底栖微型生物免受极端温度变化的影响,并避免被浅水猎食者捕食<sup>[31]</sup>,这种环境更有利于底栖微型生物的生长。但本研究中,除了线虫有较明显的增加以外,其他类群并没有明显的变化规律,一方面可能是沙蚕的扰动作用对底栖微型生物的影响具有选择性,另一方面也可能是由于DGGE数据不够充分和详尽,今后的高通量测序技术将为此类研究挖掘更多的信息。本研究中,尽管播种沙蚕对微型真核生物群落结构造成了一定的影响,但这种影响在沙蚕生物修复中有何作用,尚需要进一步研究。此外,本研究是在室内进行,这与自然海区的修复情况有所不同,在自然海区中,海水的周期性涨落会带来饵料食物等,而室内模拟实验过程中沙蚕主要摄食沉积物中的物质,这对沙蚕的生长和生活是有影响的,进而也影响到沉积物中微生物的群落结构。后续研究将在自然海区开展现场实验进行对比分析,以便更好地揭示近岸环境滩涂底泥中微型真核生物的群落结构及其对生物修复的响应。

### 参考文献:

- [1] Wang C, Sun Q, Jiang S, *et al.* Evaluation of pollution source of the bays in Fujian province[J]. *Procedia Environmental Sciences*, 2011, 10: 685-690.
- [2] 邓霏. 福建沿海滩涂底泥中古菌群落结构及其对生物修复的响应[D]. 厦门: 集美大学, 2015.  
Deng F. Archaeal communities and response to bioremediation in intertidal mudflats of Fujian coast[D]. Xiamen: Jimei University, 2015 (in Chinese).
- [3] 任可欣, 阎希柱. 沙蚕在海洋滩涂生境修复中的应用与展望[J]. *水产学杂志*, 2013, 26(2): 63-68.  
Ren K X, Yan X Z. Application and prospect of environmental bioremediation at marine tideflat with nereis[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2013, 26(2): 63-68(in Chinese).
- [4] Sayama M, Kurihara Y. Relationship between burrowing activity of the polychaetous annelid, *Neanthes Japonica* (Izuka) and nitrification-denitrification processes in the sediments[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1983, 72(3): 233-241.
- [5] Bertics V J, Ziebis W. Biodiversity of benthic microbial

- communities in bioturbated coastal sediments is controlled by geochemical microniches[J]. *The ISME Journal*, 2009, 3(11): 1269-1285.
- [6] Satoh H, Okabe S. Spatial and temporal oxygen dynamics in macrofaunal burrows in sediments: a review of analytical tools and observational evidence[J]. *Microbes and Environments*, 2013, 28(2): 166-179.
- [7] 邓锦松. 投放双齿围沙蚕和毛蚶对虾池的生物修复作用[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006.
- Deng J S. Bioremediation effect of introducing *Perinereis aibuhitensis* grube and *Scapharca subcrenata* Lischke on shrimp pond[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006 (in Chinese).
- [8] Foshtomi M Y, Braeckman U, Derycke S, *et al.* The link between microbial diversity and nitrogen cycling in marine sediments is modulated by macrofaunal bioturbation[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0130116.
- [9] Grossi V, Massias D, Stora G, *et al.* Burial, exportation and degradation of acyclic petroleum hydrocarbons following a simulated oil spill in bioturbated Mediterranean coastal sediments[J]. *Chemosphere*, 2002, 48(9): 947-954.
- [10] Cuny P, Miralles G, Cornet-Barthaux V, *et al.* Influence of bioturbation by the polychaete *Nereis diversicolor* on the structure of bacterial communities in oil contaminated coastal sediments[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2007, 54(4): 452-459.
- [11] Timmermann K, Banta G T, Johnsen A R, *et al.* Effects of the polychaetes *Arenicola marina* and *Nereis diversicolor* on microbial pyrene mineralization[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2008, 50(2): 197-207.
- [12] Stauffert M, Cravo-Laureau C, Duran R. Structure of hydrocarbonoclastic nitrate-reducing bacterial communities in bioturbated coastal marine sediments[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 89(3): 580-593.
- [13] Ma Y, Hu A Y, Yu C P, *et al.* Response of microbial communities to bioturbation by artificially introducing macrobenthos to mudflat sediments for in situ bioremediation in a typical semi-enclosed bay, southeast China[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, 94(1-2): 114-122.
- [14] Deng F, Ma Y, Li J, *et al.* Archaeal community structure and response to ark shell bioturbation in typical intertidal mudflats, Southeast coast of China[J]. *Continental Shelf Research*, 2015, 106: 97-106.
- [15] Harding T, Jungblut A D, Lovejoy C, *et al.* Microbes in high arctic snow and implications for the cold biosphere[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(10): 3234-3243.
- [16] Engel M, Behnke A, Klier J, *et al.* Effects of the bioturbating lugworm *Arenicola marina* on the structure of benthic protistan communities[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2012, 471: 87-99.
- [17] Taylor J D, Cunliffe M. Polychaete burrows harbour distinct microbial communities in oil-contaminated coastal sediments[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2015, 7(4): 606-613.
- [18] Díez B, Pedrós-Alió C, Marsh T L, *et al.* Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to study the diversity of marine picoeukaryotic assemblages and comparison of DGGE with other molecular techniques[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(7): 2942-2951.
- [19] 邢德峰, 任南琪, 宋业颖, 等. DG-DGGE分析产氢发酵系统微生物群落动态及其种群多样性[J]. *生态学报*, 2005, 25(7): 1818-1823.
- Xing D F, Ren N Q, Song Y Y, *et al.* Application of DG-DGGE to analyze microbial community diversity and population dynamics in fermentative hydrogen-producing system[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(7): 1818-1823(in Chinese).
- [20] 陈菊芳, 齐雨藻, 肖咏之, 等. 我国赤潮新记录种——*Peridinium quinquecorne* Abe的研究[J]. *海洋环境科学*, 2000, 19(3): 20-23.
- Chen J F, Qi Y Z, Xiao Y Z, *et al.* A new red tide species found *Peridinium quinquecorne* Abe in South China Sea[J]. *Marine Environmental Science*, 2000, 19(3): 20-23(in Chinese).
- [21] Rocke E, Jing H M, Liu H B. Phylogenetic composition and distribution of picoeukaryotes in the hypoxic northwestern coast of the Gulf of Mexico[J]. *MicrobiologyOpen*, 2013, 2(1): 130-143.
- [22] 汪安泰, 李慧. 旋涡虫属一新种(单肠目, 隐头吻亚目, 多囊科)[J]. *动物分类学报*, 2005, 30(4): 721-724.
- Wang A T, Li H. A new species of the genus *Gyatrix* from a freshwater pond in Guangdong Province, China (rhabdozoa, polycystididae)[J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2005, 30(4): 721-724(in Chinese).

- [23] Li Y W, Luo X C, Dan X M, *et al.* Molecular cloning of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) TLR21 and expression analysis post *Cryptocaryon irritans* infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 32(3): 476-481.
- [24] 胡晓钟, 宋微波. 海洋腹毛目纤毛虫—束状全列虫的形态学以及与相近种的比较[J]. *青岛海洋大学学报*, 1999, 29(3): 469-473.
- Hu X Z, Song W B. On Morphology of the marine hypotrichous ciliate, *Holosticha diademata* (Ciliophora, Hypotrichida), with comparison of its related species[J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 1999, 29(3): 469-473(in Chinese).
- [25] Hess S, Sausen N, Melkonian M. Shedding light on vampires: the phylogeny of vampyrellid amoebae revisited[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31165.
- [26] Kristensen E, Penha-Lopes G, Delefosse M, *et al.* What is bioturbation? The need for a precise definition for fauna in aquatic sciences[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2011, 446(1): 285-302.
- [27] Van Duren L A, Middelburg J J. The benthic boundary layer: transport processes and biogeochemistry[J]. *EOS: Transactions American Geophysical Union*, 2001, 82(52): 658-659.
- [28] Platt H M, Warwick R M. The significance of free-living nematodes to the littoral ecosystem[M]//Price J H, Irvine D E G, Farnham W F. *Shore Environment, vol 2. Ecosystems*. Cambridge, UK: Ecosystems Academic Press, 1980: 729-759.
- [29] Heip C, Vincx M, Vranken G, *et al.* The ecology of marine nematodes[J]. *Oceanography and Marine Biology*, 1985, 23: 399-489.
- [30] Urban-Malinga B, Drgas A, Gromisz S, *et al.* Species-specific effect of macrobenthic assemblages on meiobenthos and nematode community structure in shallow sandy sediments[J]. *Marine Biology*, 2014, 161(1): 195-212.
- [31] Kristensen E, Kostka J E. Macrofaunal burrows and irrigation in marine sediment: microbiological and biogeochemical interactions[J]. *Coastal and Estuarine Studies*, 2005, 60: 125-157.



## Microeukaryotic community structure and response to nereid bioturbation in mudflat sediments of Xiamen Bay

OUYANG Junfeng, CHEN Siyang, WEI Na, ZHANG Shasha,  
YAN Qingpi, LING Mao, MA Ying\*

(Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Fisheries College, Jimei University,  
Ministry of Agriculture, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** The microeukaryotic community structure and response to indoor simulated bioremediation by *Nereis succinea* of mudflat sediments in Jimei, Xiamen, was investigated by PCR-DGGE. The results indicated that the microeukaryotes in mudflat sediments of Jimei were mainly divided into four groups: Metazoa (including 6 phyla: Gnathostomulida, Annelida, Nematoda, Arthropoda, Mollusca and Gastrotricha), Cercozoa, Bacillariophyta and Alveolata (including Pyrrophyta and Ciliophora). The dominant group was Ciliophora, and the subdominant group was Nematoda. *Peridinium quinquecorne* (belonging to Pyrrophyta) was the dominant species. Cluster analysis of DGGE profiles indicated that nereids bioturbation had influenced the microeukaryotic community, and the treatment samples with nereids clustered together and separated from the control samples without *N. succinea*. More Nematoda were detected in treatment samples, which probably indicated that the nereid bioturbation stimulated the growth of Nematoda.

**Key words:** *Nereis succinea*; mudflat sediment; microeukaryote; community structure; bioturbation; 18S *rRNA* gene; PCR-DGGE

**Corresponding author:** MA Ying. E-mail: maying@jmu.edu.cn

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (31272669); Regional Demonstration of Marine Economy Innovative Development Project (14PYY050SF03); Natural Science Foundation of Fujian Province of China (2014J01131)