

大冶湖和朱婆湖中微型和超微型真核浮游生物多样性研究

张曼^{1,2}, 于佳骏^{1,2}, 孙丽丽^{1,2}, 徐悦馨^{1,2}, 李运涛³, 侯建军^{1,2}

(1. 食用野生植物保育与利用湖北省重点实验室, 湖北黄石 435002;

2. 湖北师范大学国家级生物学实验教学示范中心, 湖北黄石 435002;

3. 蚌埠学院, 安徽蚌埠 233030)

摘要:应用常规浮游生物调查策略以及18S rRNA的V4可变区进行高通量测序,并结合实时荧光定量PCR技术以及相关统计学分析方法,在大冶湖和朱婆湖分别选取6个和3个采样站位,于2017年春季(4月)对两个湖泊中粒级5~20 μm的部分微型(Nano粒级, 2~20 μm)和超微型(Pico粒级, ≤5 μm)真核浮游生物多样性进行初步探究。结果表明,大冶湖超微型真核浮游生物物种相对丰度最高的是隐藻门种类(约占OTU总数的28%),5~20 μm的部分微型真核浮游生物物种相对丰度最高的分别是纤毛虫(约19%)和绿藻门种类(约18%);朱婆湖超微型真核浮游生物物种相对丰度最高的分别是纤毛虫(约23%)和顶复门种类(约23%),5~20 μm的部分微型真核浮游生物物种相对丰度最高的是硅藻门种类(约33%)。大冶湖和朱婆湖中,两种粒级真核浮游生物的多样性之间均存在显著性差异,且大冶湖的真核浮游生物多样性高于朱婆湖。大冶湖超微型真核浮游生物多样性高于5~20 μm的部分微型真核浮游生物,朱婆湖两粒级真核浮游生物多样性无显著性差异。大冶湖中的超微型真核浮游生物种类最为繁多,生物多样性最高。与真核浮游生物自身粒级大小的影响相比,水环境差异可能是影响真核浮游生物多样性更为重要的因素。

关键词:真核浮游生物;粒级;生物多样性;大冶湖;朱婆湖

中图分类号:Q143 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2022)01-0079-07

浮游生物是指生活在水中且移动能力弱的浮游动物和浮游植物。根据浮游生物粒径谱理论,可划分为巨型浮游生物(>1 cm)、大型浮游生物(2~10 mm)、中型浮游生物(200~2000 μm)、小型浮游生物(20~200 μm)、微型浮游生物(2~20 μm)、微微型浮游生物(0.2~2 μm),均包含真核生物和原核生物(Legendre et al, 2001)。由于其包含大量真核的原生生物,且粒径大小多集中在2~5 μm,因此有学者提出超微型浮游生物(≤5 μm)的概念来定义2~5 μm的微型浮游生物和2 μm以下的微微型浮游生物(Davis et al, 1985)。浮游植物种类简单,多为单细胞植物;浮游动物种类复杂,有低等微小的纤毛虫和鞭毛虫和高等尾索动物。生物种类繁多但其功能个体极其微小,因此人们多强调粒级结构组成,从粒级生态类群入手研究。不同粒级大小的真核浮游生物在水生态系统中扮演着许多重要角色,并组成微型生物食物网(微食物环)(戴聪杰, 2006)。在微食物环中,浮游植物可直接

被异养鞭毛虫和异养纤毛虫摄食,二者再被其他肉食性浮游动物摄食,从而使浮游植物的能量流入经典食物网。

在不同粒径的浮游生物中,粒径20 μm以下的浮游植物虽然体积微小,但其数量多、分布广、周转率高,在浮游植物中占据绝大多数,是水生态系统中最主要的初级生产者。研究表明,在不同营养状态的水域中,粒径小于20 μm的浮游植物存在原核组分大于真核组分的现象。由于真核浮游植物具有较高吸收¹⁴C的细胞特异性速率,尽管真核组分丰度小于原核组分,也可以贡献相当显著的初级生产力(Li, 1994);最终在水生态系统中呈现出真核浮游植物贡献的初级生产力与其丰度不成正比的格局(Worden, 2006; Jardillier et al, 2010)。

湖泊和水库等许多淡水水域在人为扰动下存在不同程度的富营养化,导致浮游生物大量生长,破坏了水体正常的浮游生物多样性格局,对淡水生态系统的正常功能造成危害。饶钦止和章宗涉(1980)总结了武汉东湖20年来浮游植物群落生态变化,发现其多样性格局与水体富营养化密切相关;于佳骏等(2019)研究发现,在某些水域超微型真核浮游生物多样性与水体的富营养化程度成反比。国外学者发现在不同水质和污染程度的湖泊中,浮游动物对浮游植物的捕食可以导致浮游植物多样性表现出不同的特征(Unni & Pawar, 2000; Lessmann et al, 2003)。目前,关于长江中下游浅水湖泊20 μm以下不同粒级

收稿日期:2020-02-17 修回日期:2021-10-27

基金项目:国家自然科学基金(41171045)及学校配套项目;湖北师范大学优秀创新团队项目(T201504);湖北省中央引导地方科技发展专项(2017ZYD008)。

作者简介:张曼,1998年生,女,本科,专业方向为淡水生态学。
E-mail:1104369713@qq.com

通信作者:侯建军,1966年生,男,教授,主要从事淡水生态学研究。
E-mail:jhhou@hbnu.edu.cn

浮游生物多样性的报道较少,这些研究将有助于了解真核浮游生物多样性对于水体富营养化的影响。

大冶湖是湖北省黄石市面积最大的浅水型湖泊,近年来水体污染不断加重(宋梦婷等, 2014)。根据湖北省水利厅公布的信息,大冶湖在 2017 年和 2018 年已经由重度富营养化转为中度富营养化;朱婆湖是华中地区的重要保护湿地,于 2018 年与网湖湿地中的其他湖泊一同被列入《国际重要湿地名录》,近几年来也持续处于中度富营养化状态,其浮游生物多样性也鲜见报道。因此,项目组拟对大冶湖和朱婆湖中 5~20 μm 的部分微型(Nano 粒级, 2~20 μm)和超微型(Pico 粒级, $\leq 5 \mu\text{m}$)真核浮游生物的多样性进行初步探究,分析其真核浮游生物多样性格局,比较两个水域中两种粒级真核浮游生物多样性是否存在显著差异(下文中微型/Nano 粒级均指粒级大小为 5~20 μm 的部分微型真核浮游生物),以期为深度探究真核浮游

生物对水体富营养化的影响提供理论依据,同时为水域自然资源评价提供指导。

1 材料与方法

1.1 样品采集

在大冶湖选取 6 个采样站位,朱婆湖选取 3 个采样站位(图 1),于 2017 年春季(4 月)进行采样。使用不锈钢分层采水器在各采样站位现场采集深度为 0.5 m 的表层水样,记录采样站位的经纬度。首先使用 20 μm 的筛绢过滤并收集滤液,再使用 5 μm 的 Isopore(Millipore)聚碳酸酯滤膜对所得滤液进行二次过滤(获得 Nano 粒级真核浮游生物),最后将滤液使用 GF/F 膜(Whatman, 0.7 μm)进行 3 次过滤(获得 Pico 粒级真核浮游生物)。将过滤后的聚碳酸酯滤膜和 GF/F 膜吸干水分后密封保存于 -75°C 直至分析。

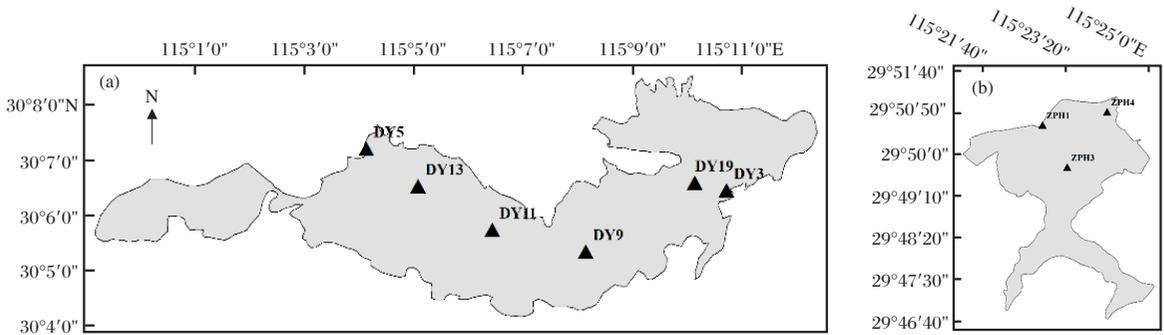


图 1 大冶湖(a)和朱婆湖(b)采样站位分布

Fig.1 Location of sampling sites on Daye Lake (a) and Zhupo Lake (b)

1.2 样品 DNA 提取和高通量测序

采用改良的 CTAB 法进行样品 DNA 的提取,提取后通过琼脂糖凝胶电泳法检测样品 DNA 的提取质量。测序使用 Illumina HiSeq 2500 PE250 平台。测序引物使用扩增真核生物 18S rRNA V4 可变区的通用引物 TAReuk454FWD1 (5'-CCAGCASCYGGTAAATTC-3') 和 TAReukREV3 (5'-ACTTTCGTTCTTGATYRA-3')(Stoeck et al, 2010),扩增片段长度约为 380 bp。除微孢子虫以外,该通用引物一般适用于所有真核生物。

1.3 实时荧光定量 PCR

1.3.1 18S rRNA V4 可变区标准质粒构建 用真核生物 18S rRNA V4 可变区的通用引物 F-574(5'-GCGGTAATTCAGCTCCAA-3') 和 R-952: (5'-TTGGCAAATGCTTTCGC-3') 对任意样品膜提取得到的 DNA 进行 PCR 扩增并回收纯化后(Hadziavdic et al,

2014),将其与 pGEM-T Easy Vector 载体(Beijing Promega Biotechnology Co., Ltd.)连接。使用通用分子生物学方法进行连接产物的克隆。随机挑选阳性单克隆进行扩增培养,以碱裂解法提取高浓度质粒。对质粒进行测序得知连接产物的长度,用于后续质粒拷贝数的计算。1.3.2 18S rRNA V4 可变区实时荧光定量 PCR 检测 在测定标准质粒的初始浓度后,进行 5 倍梯度稀释处理,使用不同浓度梯度的质粒作为模板进行实时荧光定量 PCR。取 1~35 循环阈值(Cycle threshold, Ct)与质粒拷贝数的对数建立定量标准曲线。实验过程采用 SYBR Green 染料法,反应条件为 50°C 、2 min, 95°C 、2 min, 95°C 、15 s, 60°C 、1 min(采集荧光信号) $\times 40$ 。溶解曲线程序为 95°C 、15 s, 60°C 、1 min,每循环一次增加 0.3°C ; 95°C 、15 s。大冶湖和朱婆湖的两种粒级样品 DNA 以相同的反应条件进行检测。每组实验样品均设置 3 个平行。

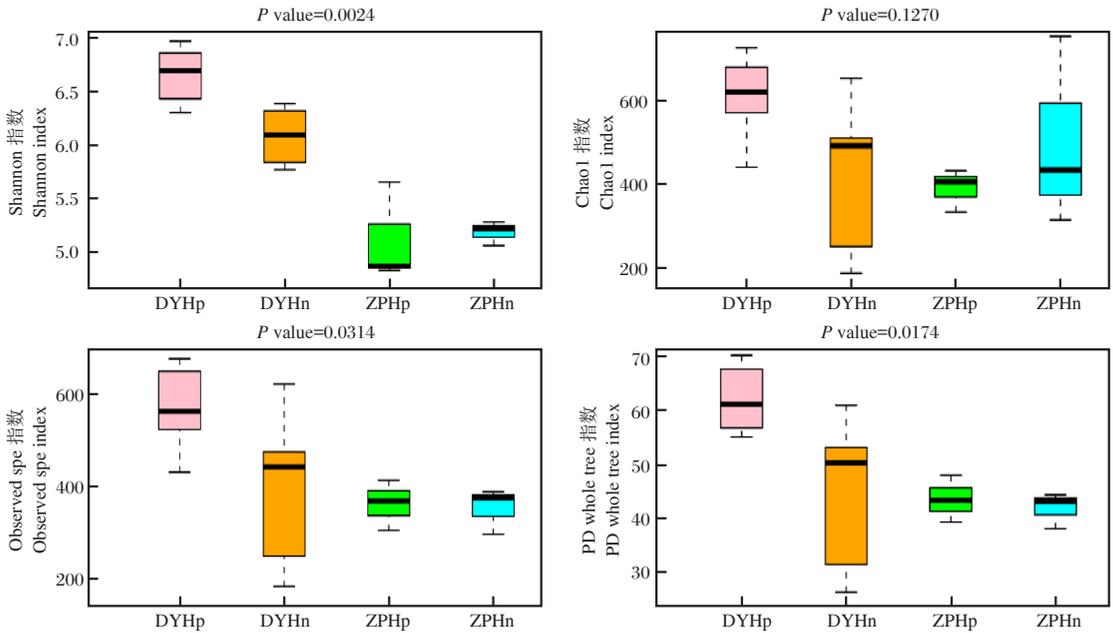
2 结果与分析

2.1 群落多样性

计算得到两水域两粒径各样品的4种Alpha多样性指数,并绘制得到箱线图(图2)。大冶湖和朱婆湖中,两种粒径真核浮游生物的多样性间均存在显著性差异,大冶湖两粒径真核浮游生物多样性均高于朱婆湖。大冶湖中的Pico粒径真核浮游生物多样性高于

Nano粒径,朱婆湖中两种粒径真核浮游生物多样性大小基本持平。可见4种Alpha多样性指数均以大冶湖中的Pico粒径样品最高,说明在大冶湖中的Pico粒径的真核浮游生物种类最为繁多,生物多样性最高。

基于Bray-Curtis距离矩阵对4种不同群落的物种结构组成进行非加权组平均聚类分析(Unweighted Pair-group Method with Arithmetic Means, UPGMA)和主坐标分析(Principal Co-ordinates Analysis, PCoA),结果见图3。

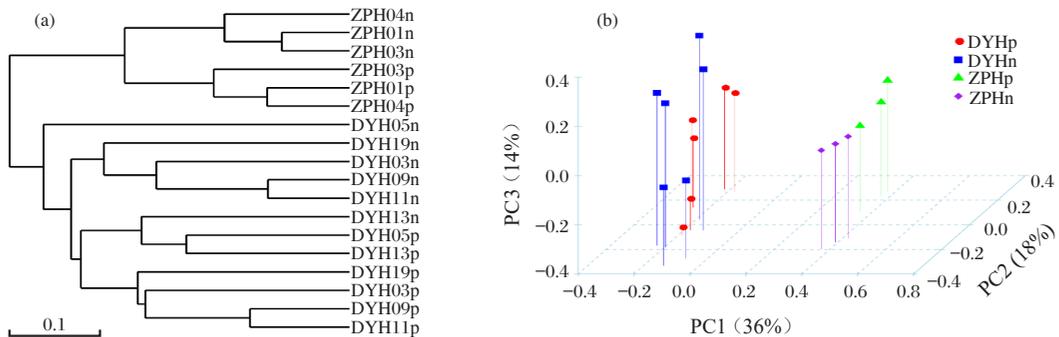


DYHp:大冶湖超微型;DYHn:大冶湖微型;ZPHp:朱婆湖超微型;ZPHn:朱婆湖微型

图2 Alpha多样性指数组间分布

DYHp:Picoplankton in Daye Lake; DYHn:Nanoplankton in Daye Lake; ZPHp:Picoplankton in Zhupo Lake; ZPHn:Nanoplankton in Zhupo Lake

Fig.2 Alpha diversity index for each plankton group



DYHp:大冶湖超微型;DYHn:大冶湖微型;ZPHp:朱婆湖超微型;ZPHn:朱婆湖微型

图3 大冶湖和朱婆湖真核浮游生物群落结构聚类(a)与PCoA分析(b)

DYHp:Picoplankton in Daye Lake; DYHn:Nanoplankton in Daye Lake; ZPHp:Picoplankton in Zhupo Lake; ZPHn:Nanoplankton in Zhupo Lake

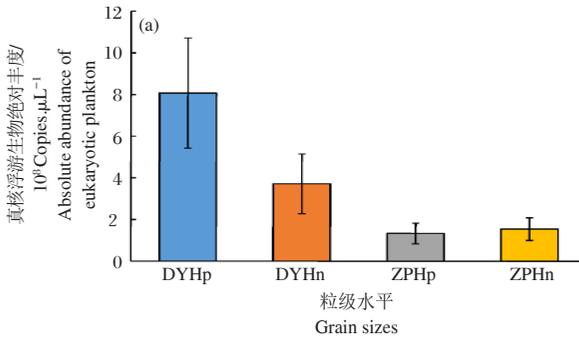
Fig.3 Cluster analysis (a) and principal coordinate analysis (b) of eukaryotic plankton community structure in Daye Lake and Zhupo Lake

各采样站点样品先以湖泊为依据划分为两大分支,其内部再以粒径为依据进行聚类,表明相比较真核浮游生物自身粒径大小的影响而言,所处水域环境的不同是影响其生物多样性的更重要因素;此外,大冶湖13号采样站位的Nano粒径真核浮游生

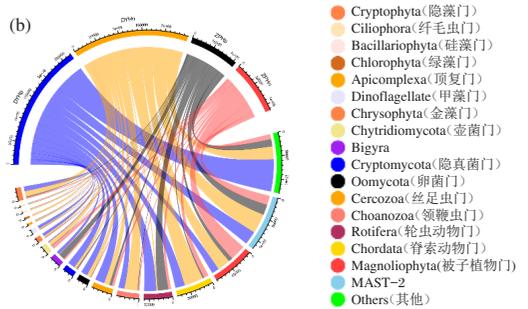
物的物种组成及丰度与大冶湖5号和13号采样站位的Pico粒径存在较高的一致性,而大冶湖5号采样站位的Nano粒径真核浮游生物的物种组成及丰度与其整体存在相对较大的差异。PCoA分析也得到了与聚类分析相似的结果。

2.2 真核浮游生物绝对丰度检测

基于 18S rRNA V4 可变区测序获得的是在某一群落中物种的相对丰度,而基于 18S rRNA V4 可变区的实时荧光定量 PCR 则可以获得某一样品中全部真核浮游生物的绝对丰度。虽然检测过程存在一定的误差,但可对高通量测序数据得到的物种相对丰度结果进行初步验证。绝对定量构建所得标准曲线为: $y = -5.1977x + 64.382 (R^2 = 0.9981)$ 。



检测结果显示(图 4-a),大冶湖的 Pico 和 Nano 粒级真核浮游生物绝对丰度分别为最高和次之,且其真核浮游生物绝对丰度也整体大于朱婆湖;而在相对丰度分析的弦状图中,每一部分的宽度代表其丰度的大小(图 4-b)。可以得知,通过实时荧光定量 PCR 所检测到的真核浮游生物的绝对丰度与高通量测序所得真核浮游生物的相对丰度结果完全吻合。



DYHp: 大冶湖超微型; DYHn: 大冶湖微型; ZPHp: 朱婆湖超微型; ZPHn: 朱婆湖微型

图 4 大冶湖和朱婆湖中两种粒级真核浮游生物绝对丰度(a)与相对丰度(b)对比

DYHp: Picoplankton in Daye Lake; DYHn: Nanoplankton in Daye Lake; ZPHp: Picoplankton in Zhupo Lake; ZPHn: Nanoplankton in Zhupo Lake

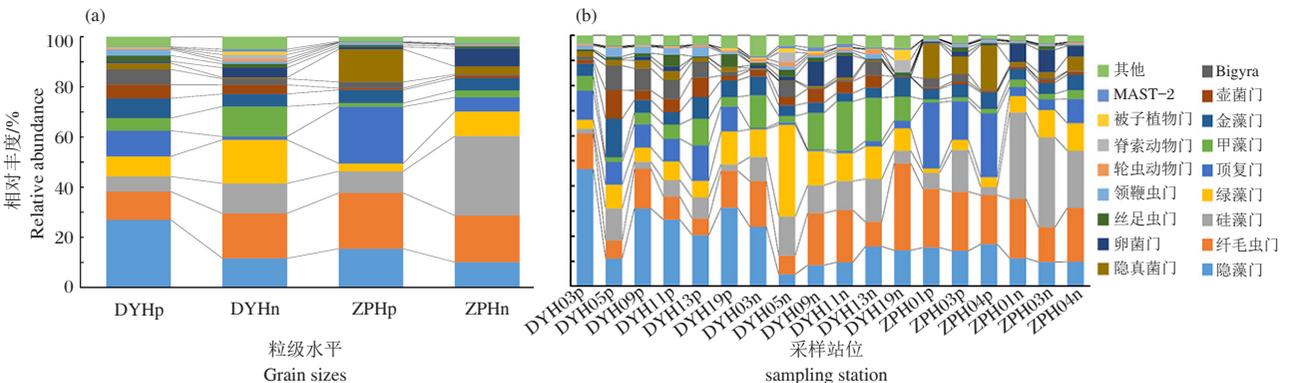
Fig.4 Comparison of absolute abundance (a) and relative abundance (b) of eukaryotic plankton in Daye Lake and Zhupo Lake

2.3 大冶湖和朱婆湖两粒级真核浮游生物组成

对两水域 9 个采样站点 18 个样品的 774 069 条有效序列以 97% 一致性进行聚类,成为一个操作分类单位(Operational taxonomic unit, OTU),共得到 1 148 种 OTU。两水域两粒级共有 OTU 323 种,特有 OTU 种类数量最多的为大冶湖 Pico 粒级,而特有 OTU 种类数目最少的为朱婆湖 Nano 粒级,大冶湖特有的 OTU 数量远远高于朱婆湖。朱婆湖两粒级间特有 OTU 的数量相近,而大冶湖中 Pico 粒级所

特有的 OTU 数量约是 Nano 粒级的 3 倍。

通过对全部 OTU 进行物种注释后,在门水平上分析各采样站点不同粒级的物种相对丰度(图 5)。结果表明,18 个样品中共含有 40 个门。在大冶湖中,Pico 粒级最主要的类群分别是隐藻门(约占 OTU 总数的 28%),Nano 粒级最主要的类群分别是纤毛虫(约 19%)和绿藻门(约 18%);而在朱婆湖中,Pico 粒级最主要的类群分别是纤毛虫门(约 23%)和顶复门(约 23%),Nano 粒级最主要的类群是硅藻门(约 33%)(图 5-a)。



(a) 两水域两粒级物种门水平相对丰度; (b) 各采样站点物种在门水平的相对丰度

图 5 大冶湖和朱婆湖中两种粒级真核浮游生物在门水平的相对丰度

(a) Relative abundance of the two cell sizes at the phylum level in the two lakes (b) Relative abundance at the phylum level at each sampling station

Fig.5 Relative abundance of eukaryotic plankton at the phylum level in Daye Lake and Zhupo Lake

在粒级层面来看,大冶湖Pico粒级中的隐藻和顶复门的含量要远高于Nano粒级,大冶湖Nano粒级中的纤毛虫、硅藻、绿藻和甲藻却又明显高于Pico;而朱婆湖在粒级层面来看,Pico粒级中顶复门和隐真菌的含量要远高于Nano粒级,Nano粒级中的硅藻和绿藻又明显高于Pico。综合来说,顶复门可能更多的存在于Pico粒级中,硅藻和绿藻可能更多的存在于Nano粒级中(图5-a)。

在空间分布层面来看,大冶湖Pico粒级的最主要类群隐藻在DYH 6最多,而在DYH 1最少。结合大冶湖采样站位分布可见,隐藻在大冶湖中的分布特征为由东到西逐渐减少。同样推理方法也发现,大冶湖Nano粒级的最主要类群纤毛虫的分布特征也为由东到西逐渐减少,而绿藻却只集中分布在DYH 1。而在朱婆湖的两粒级中,各种主要类群均在湖中均匀分布(图5-b)。

3 讨论

3.1 水环境是影响真核浮游生物多样性的的重要因素

在大冶湖中,隐藻是Pico粒级真核浮游生物中丰度最高的标志性物种,纤毛虫和绿藻是Nano粒级真核浮游生物中丰度最高的标志性物种。在朱婆湖中,Pico粒级真核浮游生物中物种丰度最高的为顶复门和纤毛虫,而Nano粒级中物种丰度最高的是硅藻。在水域层面,大冶湖的真核浮游生物多样性高于朱婆湖;在粒级层面,大冶湖Pico粒级的真核浮游生物多样性高于Nano粒级。与真核浮游生物自身粒级大小的影响相比,水环境的差异是影响真核浮游生物多样性的一个更为重要的因素。

3.2 定量法可印证不同粒级真核浮游生物多样性

基于可进行生物分类鉴定的靶基因扩增子测序是初步研究不同生境中生物多样性的主流技术策略(Desantis et al, 2007; Rastogi & Sani, 2011),可以根据各物种序列总数占实际测序获得有效序列的比重来获取每一物种的相对丰度,是一种相对定量手段。本研究采用基于可用于种级及以上分类鉴定的18S rRNA V4可变区的扩增子测序,对两水域两粒级真核浮游生物的丰度进行相对定量;此外,还通过实时荧光定量PCR技术,对两水域两粒级总的真核浮游生物进行绝对定量,用获得的群落中真核浮游生物18S rRNA V4可变区的总拷贝数来表征群落总的真核浮游生物的绝对丰度。二者相互印证,使得实验结论更加真实可靠。

3.3 新管家基因有助于改进物种绝对丰度检测

几乎所有生物细胞内都存在rDNA,其拷贝数

高、便于扩增,是研究浮游生物群落的分子生物学基础(Jang-Seu, 2009)。然而,在不同物种的细胞中,rDNA的拷贝数可能存在着显著差异,有学者选取几种不同藻类细胞进行研究后发现,不同藻类细胞内SSU rDNA的拷贝数存在着较大差异,这也就导致基于扩增rDNA区域对群落真核浮游生物的定量分析存在些许误差(Zhu et al, 2005; 郭立亮, 2015)。从而也证明在保证能够体现物种间差异的前提下,寻找不同物种细胞内具有均匀拷贝数的新管家基因,并建立其拷贝数与物种丰度之间的线性关系,将会对未来更加真实准确的检测群落中物种绝对丰度提供巨大的帮助。

3.4 粒级划分比传统湖泊优势类群分析法更全面

有研究发现,富营养型湖泊中的浮游生物优势类群常以绿藻和蓝藻为主(邓春凯, 2007; 董云仙等, 2012; 黄享辉等, 2013; 周驰等, 2015; 陆建芳, 2017)。大冶湖属于轻度富营养化湖泊,其Pico粒级真核浮游生物标志性主要类群为隐藻,Nano粒级真核浮游生物标志性主要类群为绿藻和纤毛虫,这与前人所得结论存在着些许差异。导致这种差异的主要原因,可能是本研究侧重通过粒级的划分来比较不同水域和不同粒级间的群落结构差异,虽然绿藻在大冶湖两粒级真核浮游生物群落中仍为主要类群,但富营养型湖泊中浮游生物的优势类群常以绿藻为主的结论显然更加适用于Nano粒级的浮游生物;此外,不同水域环境中的理化因子不同,主要类群和环境理化因子的相关性也可能存在差异,从而也会导致水体中适宜生长的浮游生物种类有所不同。

参考文献

- 戴聪杰, 2006. 极地近海微食物环的主要类群组成及其功能[D]. 厦门: 厦门大学: 1-6.
- 邓春凯, 2007. 生物的指示作用与水环境[J]. 环境保护科学, 33(4): 114-117.
- 董云仙, 谭志卫, 朱翔, 等, 2012. 程海藻类植物种群结构和数量的周年变化特征[J]. 生态环境学报, 21(7): 1289-1295.
- 郭立亮, 2015. 海洋微藻DNA条形码基因的评估及环境样本多样性分析和定量基因的开发[D]. 青岛: 中国海洋大学.
- 黄享辉, 胡韧, 雷腊梅, 等, 2013. 南亚热带典型中小型水库浮游植物功能类群季节演替特征[J]. 生态环境学报, 22(2): 311-318.
- 陆建芳, 2017. 山仔水库浮游植物群落特征及水体富营养化研究[J]. 海峡科学, (7): 66-69.

- 饶钦止, 章宗涉, 1980. 武汉东湖浮游植物的演变(1956–1975年)和富营养化问题[J]. 水生生物学集刊, (1): 1–17.
- 宋梦婷, 李晔, 李柏林, 等, 2014. 基于灰色残差模型的大冶湖流域面源污染变化趋势预测[J]. 节水灌溉, (8): 53–55.
- 于佳骏, 段钰涵, 刘科赛, 等, 2019. 湖北黄石典型水域超微型真核浮游生物多样性研究[J]. 生态科学, 38(1): 137–142.
- 周驰, 周念来, 苗滕, 2015. 湖北省典型湖泊水生态现状与综合评价[J]. 中国水运, 15(8): 168–170.
- Davis P G, Caron D A, Johnson P W, et al, 1985. Phototrophic and apochlorotic components of picoplankton and nanoplankton in the North Atlantic: geographic, vertical, seasonal and diel distributions[J]. Marine Ecology Progress Series, 21(1/2): 15–26.
- Desantis T Z, Brodie E L, Moberg J P, et al, 2007. High-density universal 16S rRNA microarray analysis reveals broader diversity than typical clone library when sampling the environment[J]. Microbial Ecology, 53(3): 371–383.
- Hadziavdic K, Lekang K, Lanzen A, et al, 2014. Characterization of the 18S rRNA gene for designing universal eukaryote specific primers[J]. Plos One, 9(2): e87624.
- Jang-Seu K, 2009. Comparative molecular analysis of freshwater centric diatoms with particular emphasis on the nuclear ribosomal DNA of *Stephanodiscus* (Bacillariophyceae)[J]. Algae, 24(3): 129–138.
- Jardillier L, Zubkov M V, Pearman J W, et al, 2010. Significant CO₂ fixation by small prymnesiophytes in the subtropical and tropical northeast Atlantic Ocean[J]. The ISME Journal, 4(9): 1180–1192.
- Legendre L, Courties C, Troussellier M, 2001. Flow cytometry in oceanography 1989–1999: environmental challenges and research trends[J]. Cytometry, 44(3): 164–172.
- Lessmann D, Fyson A, Nixdorf B, 2003. Experimental eutrophication of a shallow acidic mining lake and effects on the phytoplankton[J]. Hydrobiologia, 506(1/3): 753–758.
- Li W K W, 1994. Primary production of prochlorophytes, cyanobacteria, and eukaryotic ultraphytoplankton: Measurements from flow cytometric sorting[J]. Limnol Oceanogr, 39(1): 169–175.
- Rastogi G, Sani RK, 2011. Microbes and microbial technology[M]. New York: Springer:29–57.
- Stoeck T, Bass D, Nebel M E, et al, 2010. Multiple marker parallel tag environmental DNA sequencing reveals a highly complex eukaryotic community in marine anoxic water[J]. Molecular Ecology, 19(1): 21–31.
- Unni K S, Pawar S, 2000. The phytoplankton along a pollution gradient in the river Mahanadi (M.P. state) India—a multivariate approach[J]. Hydrobiologia, 430(1/3): 87–96.
- Worden A Z, 2006. Picoeukaryote diversity in coastal waters of the Pacific Ocean[J]. Aquatic Microbial Ecology, 43(2): 165–175.
- Zhu F, Massana R, Not F, et al, 2005. Mapping of picoeukaryotes in marine ecosystems with quantitative PCR of the 18S rRNA gene[J]. FEMS Microbiology Ecology, 52(1): 79–92.

(责任编辑 万月华)

Eukaryotic Nanoplankton and Picoplankton Diversity in Daye Lake and Zhupo Lake

ZHANG Man^{1,2}, YU Jia-jun^{1,2}, SUN Li-li^{1,2}, XU Yue-xin^{1,2}, LI Yun-tao³, HOU Jian-jun^{1,2}

(1. Hubei Key Laboratory of Edible Wild Plants Conservation and Utilization, Huangshi 435002, P.R.China;

2. National Demonstration Center for Experimental Biology Education,
Hubei Normal University, Huangshi 435002, P.R.China;

3. Bengbu University, Bengbu 233030, P.R.China)

Abstract: In this study, we explored the diversity of eukaryotic nanoplankton (5–20 μm) and eukaryotic picoplankton ($\leq 5 \mu\text{m}$) in Daye Lake and Zhupo Lake, aiming to explore the effect of eukaryotic plankton on eutrophication and provide guidance for evaluating the two lakes. In April 2017, water samples were collected at 6 sampling sites on Daye Lake and 3 sampling sites on Zhupo Lake. Conventional survey methods for plankton, along with high-throughput sequencing technology, real-time fluorescence quantitative PCR and statistical methods were used to analyze the samples. The relative abundance of eukaryotic picoplankton in Daye Lake was highest for Cryptophyta, accounting for 28% of the total Operational Taxonomic Unit (OTU), and the relative abundance of eukaryotic nanoplankton was highest in Ciliophora (19% of total OTU) and Chlorophyta (18%). In Zhupo Lake, the relative abundance of eukaryotic picoplankton was highest in Ciliophora (23%) and Apicomplexa (23%), and the relative abundance of some eukaryotic nanoplankton was highest in Bacillariophyta (33%). There was a significant difference in the diversity of eukaryotic plankton of both cell sizes between Daye Lake and Zhupo Lake, and the diversity of eukaryotic plankton in Daye Lake was higher than in Zhupo Lake. In Daye Lake, the diversity of eukaryotic picoplankton was higher than that of the eukaryotic nanoplankton, and no significant difference was detected in the diversity of the two types of eukaryotic plankton in Zhupo Lake. The eukaryotic picoplankton species in Daye Lake were most abundant and the biodiversity was also higher. Compared with the cell size of eukaryotic plankton, differences in the water environment appear to be more important for eukaryotic plankton biodiversity.

Key words: eukaryotic plankton; cell size; biodiversity; Daye Lake; Zhupo Lake