

宁波沿海陆源排污口蓝藻(Cyanobacteria)和裸藻纲(Euglenoidea)生物的分布特点*

谢利¹ 王朝阳² 张迪骏² 周君² 司开学² 张红燕²
韩姣姣² 崔晨茜² 董丽莎² 苏秀榕^{2①}

(1. 国家海洋局北海环境监测中心 青岛 266033; 2. 宁波大学海洋学院 宁波 315211)

摘要 采用高通量 454 焦磷酸测序方法对宁波沿海 2 个重点排污口、8 个一般排污口的 20 个站位水样进行分析, 得到 2011 年的 3 月、5 月、8 月和 10 月份各排污口蓝藻和含叶绿体单细胞生物的分布情况。研究结果表明: 宁波沿海陆源排污口中含叶绿体单细胞生物数量最多, 占 91.857%, 包括眼虫门(Euglenozoa)、绿藻门(Chlorophyta)、隐藻门(Cryptophyta)生物。其中主要为眼虫门的裸藻纲(Euglenoidea)生物占 90.08%。蓝藻门的集球藻目(Synechococcophycidae)和颤藻亚目(Oscillatoriophycidae)含量相对较多, 分别占 5.70%和 1.79%; 排污口中裸藻纲生物数量季节性差异比较大, 3 月份、8 月份数量相对较多, 5 月份和 10 月份较少, 推测这类生物的数量与季节性温度变化有关; 各排污口污染物、这两类生物检出量和种类有一定差异, 在氮磷含量高的排污口(如 S9 号)其检出量并不高, 推测检出量与排污口的主要污染物中氮氮含量没有直接关系, 可能受氮磷比的影响。

关键词 蓝藻; 裸藻纲; 454 焦磷酸测序; 陆源排污口; 水华

中图分类号 X55 **doi:** 10.11693/hyhz20140600180

蓝藻(Cyanobacteria)又称为蓝细菌或蓝绿藻, 是一类进化历史悠久、革兰氏染色阴性、无鞭毛、含叶绿素 *a* (但不形成叶绿体)、能进行产氧性光合作用的大型原核微生物。蓝藻的分布广泛, 从水生到陆生生态系统, 从热带到南北极均有分布。蓝藻是海洋生态系统和海洋初级生产力的重要组成部分(孙晟等, 2003; Paul, 2008)。蓝藻结构简单, 细胞内没有真正的细胞核结构和色素体, 只有核质和色素两大部分。蓝藻的繁殖方式有两类, 一类为营养繁殖, 包括细胞直接分裂(即裂殖)、群体破裂和丝状体产生藻殖段等几种方法; 另一类为可产生内生孢子或外生孢子等, 以进行无性生殖。蓝藻主要有微囊藻、螺旋藻、项圈藻、颤藻等, 其中微囊藻的危害

最大(Asselman *et al.*, 2014)。根据长期的观测, 发现在大多数情况下, 在特定湖区内, 这种突然“暴发”的水华是在适宜的气象与水文条件下, 该湖区内亦已存在的、悬浮于水体中的蓝藻群体再加上其它湖区的水华蓝藻, 随着风和湖流的驱动, 漂移到该湖区聚集上浮至水面, 并为人们肉眼所见过程(孔繁翔等, 2009; O'Neil *et al.*, 2012)。蓝藻作为河湖水华中的常见优势种群, 引起的蓝藻事件是目前社会普遍关注的问题。蓝藻水华的暴发是水体富营养化特征之一。蓝藻通过产生毒素、死亡个体分解使水体缺氧和破坏正常的食物链威胁到饮用水安全、公众健康和景观, 会造成严重的经济损失和社会问题(马健荣等, 2013)。因此人们开始关注蓝藻, 并取得一定

* 海洋公益性行业专项经费资助项目, 201105007-4 号; 浙江省重大科技攻关项目, 2006C13089 号; 宁波市科技局资助项目, 2008C50027 号。谢利, 研究员, E-mail: xlgongzuo@sina.com

通讯作者: 苏秀榕, 教授, 博士生导师, E-mail: suxiurong@nbu.edu.cn

收稿日期: 2014-06-25, 收修改稿日期: 2015-01-28

的进展。眼虫门是一群鞭毛生物, 兼有叶绿素和眼点, 兼有动物和植物的特性, 在植物学、藻类学中称为“裸藻”, 而在原生动物学中称为“眼虫”, 因此眼虫门也称作裸藻门。眼虫门主要有两个纲: 裸藻纲和动质体纲。在本次研究中的主要对象是裸藻纲, 这类生物在水华和赤潮中也起一定的作用。

藻-菌关系一直是研究的热点问题之一, 但目前主要集中在海洋、湖泊赤潮藻方面, 陆源排污口中的蓝藻和裸藻纲生物未见报道。本文选取宁波沿海 10 个主要的陆源排污口, 分别对排污口处和距排污口

50m 以外的 20 个站位的水样进行分析, 对每个站点进行总体和单独分析, 研究蓝藻和裸藻纲生物种类和分布特点。

1 材料与方法

1.1 样品采集

选取宁波沿海 10 个陆源排污口和距离排污口 50m 以外的 10 个站位作为采样位点(见图 1)。分别于 2011 年 3 月、5 月、8 月、10 月进行采集, 每次采集 4L 水样。

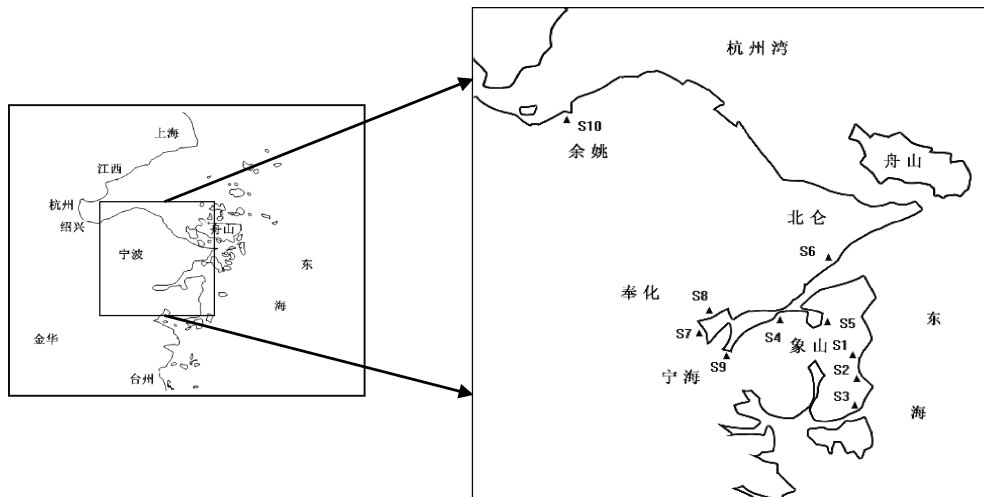


图 1 采样站位区域分布图

Fig.1 Map of sampling site

S1: 象山爵溪东塘排污口; S2: 象山水桶岱垃圾场排污口, S3: 象山石浦水产加工园区排污口, S4: 象山西周工业园区排污口, S5: 象山墙头综合排污口, S6: 北仑三山排污口, S7: 宁海西店崔家综合排污口, S8: 奉化下陈排污口, S9: 宁海颜公河入海排污口, S10: 余姚黄家埠排污口; 其中 S5 和 S9 为重点排污口, 其余为一般排污口

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 取排污口的海水, 以 $0.22\mu\text{m}$ 的微孔滤膜富集微生物, 利用试剂盒提取基因组 DNA(美国 Omega 生物技术公司)。

1.2.2 PCR 扩增 根据细菌 16S rRNA 的保守序列, 利用 Primer Premier 5.0 设计扩增引物: 16S F (5'-CCA TCT CAT CCC TGC GTG TCT CCG ACT CAG-3')和 16S R (5'-CCT ATC CCC TGT GTG CCT TGG CAG TCT CAG-3')。

20 μL 扩增反应体系: 10 $\times$ buffer 2 μL , MgCl_2 2 μL , dNTP 2 μL , 上游引物和下游引物各 25 μL , 0.2 μL Taq DNA 聚合酶和 1 μL DNA 模版。PCR 扩增产物用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测(Wang *et al*, 2014a, b)。

PCR 扩增条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 退火温度从 65 $^{\circ}\text{C}$ 到 55 $^{\circ}\text{C}$, 退火 30 s, 20 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$

延伸 30 s, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 35 个循环; 最终 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min(刘兵等, 2009)。

1.2.3 测序与分析 将纯化后的 PCR 产物进行 454 焦磷酸测序(Margulies *et al*, 2005; 王中华等, 2014), 结果用罗氏软件 2.5.3 进行信号处理分析。根据蓝藻细菌在文库中出现的频次数量, 进一步用 R For Window 2.15.2、SPSS 等进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 454 测序分析裸藻纲和蓝藻在排污口的分布

通过对 454 高通量测序共检出眼虫门的裸藻纲(Euglenoidae)、蓝藻门的集球藻目(Synechococophycidae)、颤藻目(Oscillatorio-phycidae)、念珠藻目(Nostocophycidae)、粘杆菌目(Gloeobacterophycidae), 具体数量见表 1。

表 1 不同时间蓝藻和裸藻纲生物检出次数总体分析
Tab.1 Results of detection on Cyanobacteria and Euglenoidea in percentage

检出菌种	检出频次(%、总和)	检出频次(%、3月)	检出频次(%、5月)	检出频次(%、8月)	检出频次(%、10月)
裸藻纲	29305(82.745)	17504(88.312)	3485(85.027)	5928(75.240)	2387(65.997)
集球藻目	2020(5.704)	22(0.111)	74(1.805)	1114(14.139)	810(22.394)
颤藻目	633(1.787)	325(1.640)	44(1.073)	143(1.815)	121(3.345)
念珠藻目	224(0.632)	42(0.212)	112(2.732)	35(0.444)	35(0.968)
粘杆菌目	7(0.020)	0(0)	0(0)	6(0.076)	1(0.028)

2.2 排污口蓝藻和裸藻纲生物的分布与季节的关系

通过对 454 高通量测序平台结果进行比对分析发现: 在 3 月份, S4 象山西周工业园区排污口、S7 宁海西店崔家综合排污口蓝藻和裸藻纲生物数量最多, S7 宁海西店崔家综合排污口次之。在 5 月份, S4 象山西周工业园区排污口的检出次数最高, S6 北仑三山排污口、S7 宁海西店崔家综合排污口和 S8 奉化下陈排污口次之。在 8 月份, S7 宁海西店崔家综合排污口的检出次数最高, S9 宁海颜公河入海排污口次之。在 10 月份, S6 北仑三山排污口检出次数最高, S7 宁海西店崔家综合排污口次之。

月份, S6 北仑三山排污口检出次数最高, S7 宁海西店崔家综合排污口和 S9 宁海颜公河入海排污口次之。

3 月份的蓝藻和裸藻纲生物检出次数最高, 8 月份和 10 月份检出次数较低。其原因是 8 月份东海海洋表面平均温度达到年最高值约为 30—35℃, 高温使部分工厂停产休息, 因此污水排放量减小(陈丽萍等, 2013), 3 月份的时候排污量较多, 而且气温较低适于这两类生物的生长, 因此检出次数与季节温度、空气湿度有关(图 2)。

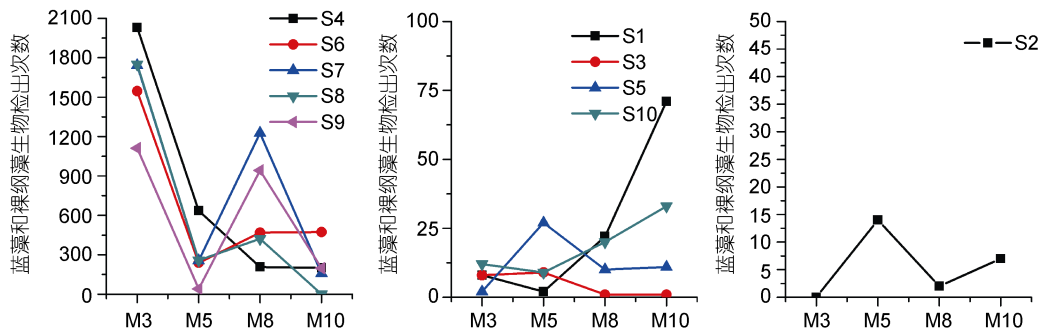


图 2 不同月份蓝藻和裸藻纲生物在排污口的分布情况

Fig.2 The distribution of Cyanobacteria and Euglenoidea in different sewage outlets and months

3 月份, 距 S7 宁海西店崔家综合排污口 50m 处蓝藻和裸藻纲生物数量最多, 距 S4 象山西周工业园区排污口 50m 处含量次之; 5 月份, 距 S7 宁海西店崔家综合排污口 50m 处含量最高, 距 S4 象山西周工业园区排污口 50m 处含量次之; 8 月份, 距 S7 宁海西店崔家综合排污口 50m 处含量最高, 距 S6 北仑三山排污口 50m 处含量次之; 10 月份, 距 S6 北仑三山排污口 50m 处含量最高, 距 S7 宁海西店崔家综合排污口 50m 处含量次之(图 3)。

蓝藻和裸藻纲生物大量出现时, 附近水体一般呈蓝色或绿色, 水面被大量藻体覆盖。蓝藻细胞尤其是微囊藻将毒素释放到水里, 由于本身的机制使得其在夏天的富营养水体中容易大量暴发生长, 造成严重的水体生态灾难(Bresciani *et al.*, 2014)。微囊藻毒素对人体肝功能有很大的伤害, 生活在湖边、池塘边

和海边的人容易通过饮用水和食用藻类中毒(王伟琴等, 2010; Urrutia-Cordero *et al.*, 2013)。宁海西店镇是中国著名的“牡蛎之乡”, 牡蛎营养丰富, 具有各种人体必需氨基酸对降低血糖也有一定的作用(滕瑜等, 2005), 冬季是西店牡蛎最盛产也是蛎肉最肥美的季节。而蛎肉品质与海水的质量有着紧密联系, 某些蓝细菌(如集球藻目)会通过内吞的方式进入牡蛎组织内部达到寄生目的, 进而在牡蛎组织内部累积, 从而污染了牡蛎的肉质(Avila-Poveda *et al.*, 2014), 因此 3 月份应重点加强对 S7 号排污口的监控, 以免造成牡蛎污染和经济损失。

2.3 种类的分布

在 3 月份, S4 号象山西周工业园区排污口裸藻纲生物检出频次最高(排污口 1906 次, 距排污口 50m 处 2223 次), 占 3 月份所有检出生物总量的 20.83%, 蓝

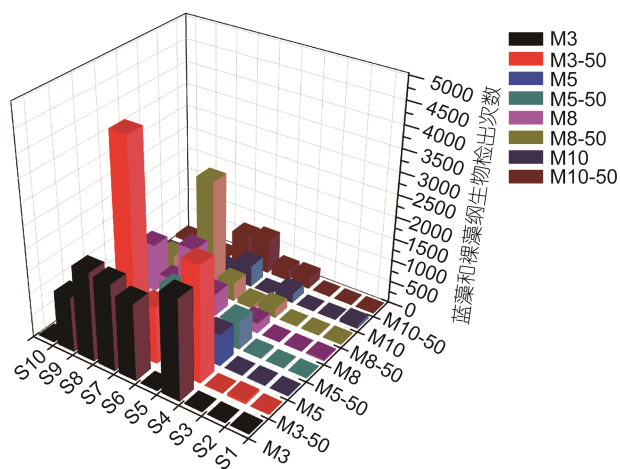


图3 不同月份各排污口的蓝藻和裸藻纲生物数量与 50m 的站位点的比较

Fig.3 Comparison in Cyanobacteria and Euglenoidea quantity between each sewage outlet and a site 50m away in different months

M3, M5, M8, M10 分别表示 3, 5, 8, 10 月份排污口站位; M3-50, M5-50, M8-50, M10-50 分别表示 3, 5, 8, 10 月份距排污口 50m 以外的站位

藻检出频次则较少(排污口 124 次, 距排污口 50m 处 106 次); S2 号象山水桶岱垃圾场排污口中两类生物排出量最少(排污口 0 次, 距排污口 50m 处 51 次)。说明 S2 号 3 月份排污口排出的污染物中没有这两类微生物需要的营养。而其它排污口均是裸藻纲生物的检出频次最高(图 4)。在 5 月份, 各排污口蓝藻检出频次均较少, S4 号象山西周工业园区排污口裸藻纲生物检出频次最高(排污口 629 次, 距排污口 50m 处 557 次), S6 号北仑三山排污口裸藻纲生物检出频次也较高(排污口处 231 次, 距排污口 50m 处 343 次), S1 号象山爵溪东塘排污口裸藻纲生物检出频次最低(排污口处 3 次, 距排污口 50m 处 3 次)。在 8 月份, S7 号宁海西店崔家综合排污口裸藻纲生物检出频次最高(排污口处 1077 次, 距排污口 50m 处 2040 次), 其它排污口裸藻纲生物检出频次都较低。各排污口集球藻目检出频次均偏低, 其中 S8 号奉化下陈排污口检出频次最高(排污口处 236 次, 距排污口 50m 处 4 次), S6 号北仑三山排污口集球藻目检出频次次之(排污口处 180 次, 距排污口 50m 处 195 次)。而 S2、S3、S5 号则没有集球藻目。在 10 月份, S6 号北仑三山排污口集球藻目检出次数最高(排污口处 344 次, 距排污口 50m 处 249 次), 而裸藻纲检出频次较低(排污口处 129 次, 距排污口 50m 处 404 次), S9 宁海颜公河入海排污口叶绿体目检出频次最高(排污口 212 次, 距排污口 50m 处 193 次), 集球藻目检出次数则较低。

S7 宁海西店崔家综合排污口和距排污口 50m 处裸藻纲生物的检出次数总数最高, 说明 S7 号处的海水质量更适合裸藻纲生物的生长。宁海西店崔家综合排污口的主要污染物没有氨氮化合物, 而其它排污口处氨氮浓度较高。裸藻纲生物的生长并不只是受氨氮含量的影响, 氮磷比对裸藻纲生物的生长影响较大, 在低磷情况下(0.02mg/L), 氮磷比为 4:1—32:1 范围内, 某些生物(如铜绿微囊藻和斜生栅藻)的生长均受到营养盐的限制, 当磷浓度达到 0.20mg/L 时, 这两种藻类分别在在 N/P 比为 32:1 和 64:1 时生长速率达到最大值, 而在磷浓度升高到 2mg/L 时, 氮磷比对生长速率已经没有影响(Sabour *et al*, 2009; 许海等, 2011)。可以推测 S7 号排出的污水中氮磷比适合裸藻纲生物的生长, 因此应该加强对 S7 号氮磷含量的监控, 以避免出现水华现象(图 4)。

2.4 蓝藻和裸藻纲生物在重点排污口的分布

S9 号宁海颜公河入海排污口和 S5 号象山墙头综合排污口为宁波市两个重点沿海排污口。两类生物检出频次在时间和数量上有明显的差异。S9 号宁海颜公河入海排污口中的裸藻纲检出频次最高为 3 月份, 高达 1099 次, 最低为 5 月份的 35 次, 蓝藻的检出次数在 3、5、8、10 月份检出频次均很少, 最高为 8 月份 16 次。S5 号象山墙头综合排污口裸藻纲检出频次最高为 5 月份, 高达 23 次, 其它月份排污口裸藻纲的检出频次都在 15 次以下, 而蓝藻在四月份检出频次一共只有 3 次(图 5)。S9 号宁海颜公河入海排污口和 S5 号象山墙头综合排污口排出的主要是裸藻纲。

S9 号宁海颜公河入海排污口的主要污染物为磷和氨氮, S5 号象山墙头综合排污口的主要污染为粪大肠菌群、苯胺、生化需氧量。这两个重点排污口两类生物检出频次均相对较少, 说明这两个排污口污染物中氮磷比含量不适合它们生长。但是宁海颜公河排污口和象山墙头综合排污口分别在 3 月和 5 月裸藻纲的检出量达到最大值, 宁海颜公河排污口 3 月份裸藻纲检出频次要高于象山墙头综合排污口在 5 月份的检出频次, 这可能与宁波 3 月份和 5 月份气温有关系, 3 月份平均气温比 5 月份平均气温低 10℃ 左右, 推测裸藻纲生物更适宜较低温度生长; 蓝藻检出量分别在 8 月和 5 月达到最大值。宁波 8 月份日均最低温度为 25℃, 日均最高温度为 32℃; 5 月份日均最低温度为 17℃, 日均最高温度为 25℃, 铜绿微囊藻在 15℃ 的生长速率和生长量低于在 20℃、25℃ 下的生长速率, 20℃ 条件下铜绿微囊藻在前期的生长速率低于

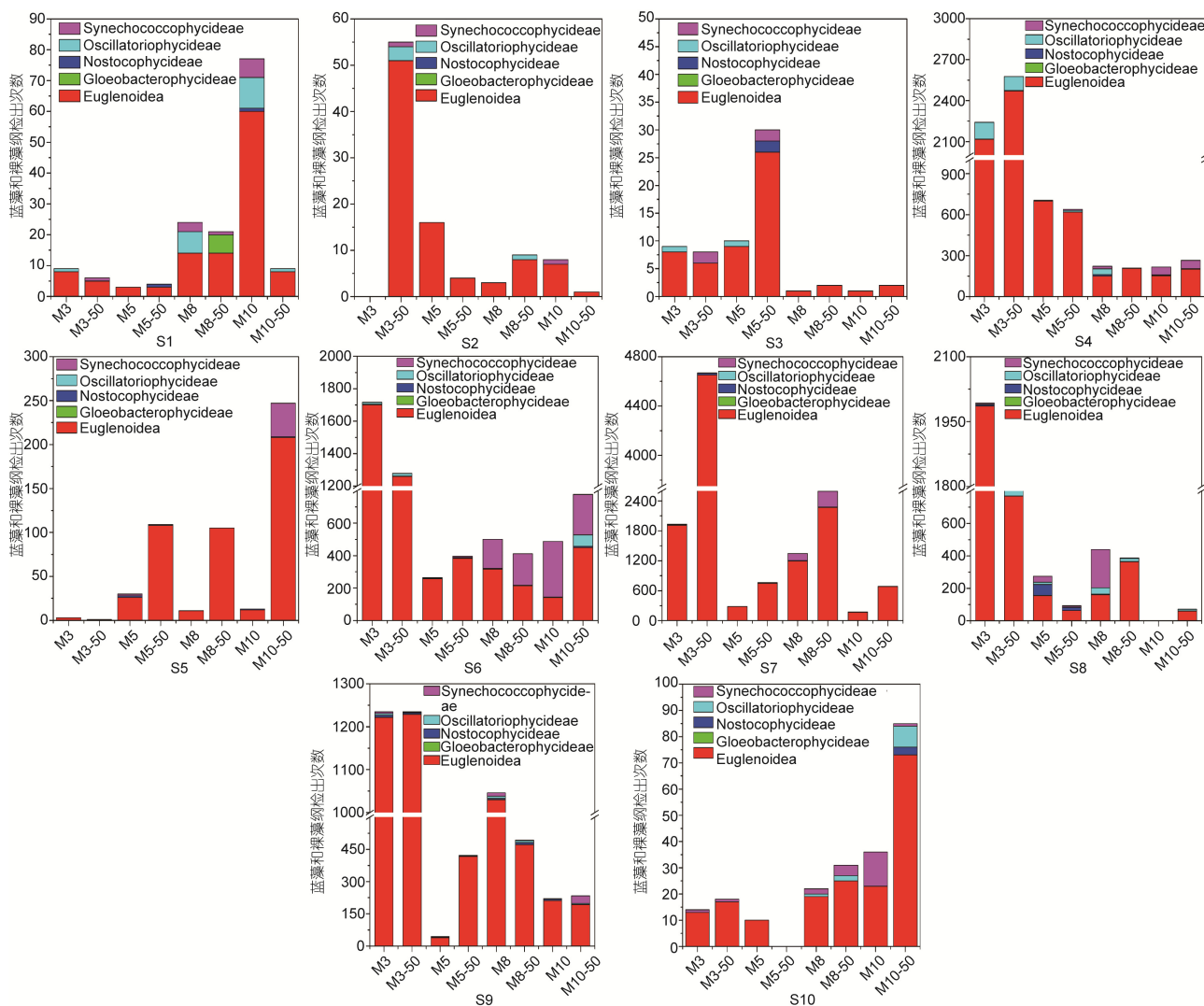


图 4 不同月份和不同站位排污口的蓝藻和裸藻纲生物检出次数

Fig.4 The numbers of Cyanobacteria and Euglenozoa in the sewage outlets in different months

M3, M5, M8, M10 分别表示 3, 5, 8, 10 月份排污口站位; M3-50, M5-50, M8-50, M10-50 分别表示 3, 5, 8, 10 月份距排污口 50m 以外的站位

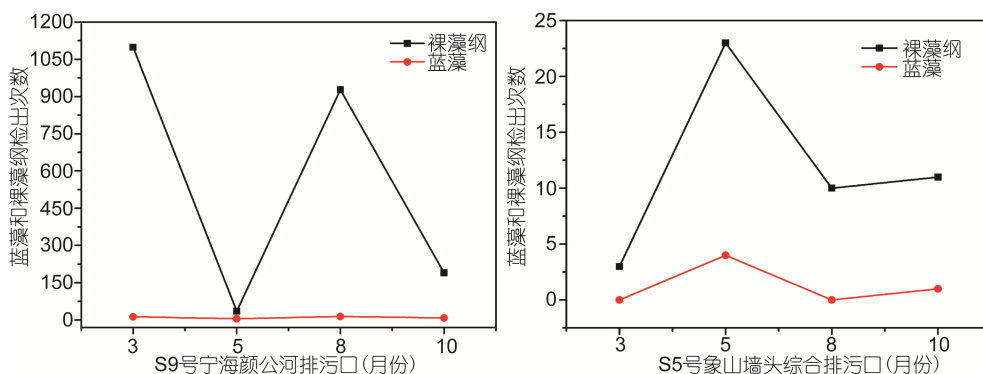


图 5 重点排污口蓝藻和裸藻纲生物各月份检出频次

Fig.5 The number of Cyanobacteria and Euglenozoa in major sewage outlets in different months

在 25°C 下的生长速率, 而在 17d 时两种条件下的生长量开始相等。铜绿微囊藻更容易在 5 月份生长, 所

以应根据温度变化做好对蓝藻生长的防治, 以免其毒素在水产品中(如藻类、螺类、贝类和各种鱼类)积

累, 对人类健康造成危害(陈建中等, 2010)。

3 结论

利用 454 高通量测序技术, 确定了宁波沿海 2 个重点排污口、8 个一般排污口的 20 个站位的海水中, 含有叶绿体的裸藻纲生物检出量最高, 蓝藻门的集球藻目次之。由于季节性的影响, 排污口的污染物和温度也会发生相应的变化, 进而影响蓝藻的生长。裸藻纲生物的检出量也受各排污口中氮磷比含量影响较大, 不同的生物在不同的氮磷比的条件下生长速率也会不同, S7 号排污口中污染源更适合裸藻纲生物的生长。S9 号和 S5 号排污口作为宁波市两个重点陆源排污口, 两种生物检出量均相对较低, 分别在 3 月份和 5 月份裸藻纲检出量最大, 8 月和 5 月蓝藻检出量达到最大值, 季节性温度变化会影响这两类生物的生长, 应该依照不同季节和不同类型的排污口针对性地对蓝藻进行治理, 防止造成水体污染。

参 考 文 献

- 马健荣, 邓建明, 秦伯强等, 2013. 湖泊蓝藻水华发生机理研究进展. 生态学报, 33(10): 3020—3030
- 王中华, 徐茂琴, 谢 利等, 2014. 宁波沿海陆源排污口拟杆菌(Bacteroidetes)分布的特点. 海洋与湖沼, 45(5): 1030—1036
- 王伟琴, 金永堂, 吴 斌等, 2010. 水源水中微囊藻毒素的遗传毒性与健康风险评价. 中国环境科学, 30(4): 468—476
- 孔繁翔, 马荣华, 高俊峰等, 2009. 太湖蓝藻水华的预防、预测和预警的理论与实践. 湖泊科学, 21(3): 314—328
- 刘 兵, 李太武, 苏秀榕等, 2009. 宁波北仑港冬季浮游细菌多样性研究. 台湾海峡, 28(2): 217—222
- 许 海, 朱广伟, 秦伯强等, 2011. 氮磷比对水华蓝藻优势形成的影响. 中国环境科学, 31(10): 1676—1683
- 孙 晟, 肖 天, 岳海东, 2003. 秋季与春季东、黄海蓝细菌(*Synechococcus* spp.)生态分布特点. 海洋与湖沼, 34(2): 161—168
- 陈丽萍, 侯付景, 张迪骏等, 2013. 宁波沿海陆源排污口假单胞菌属(*Pseudomonas*)分布特点. 海洋与湖沼, 44(4): 926—930
- 陈建中, 刘志礼, 李晓明等, 2010. 温度、pH 和氮、磷含量对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)生长的影响. 海洋与湖沼, 41(5): 714—718
- 滕 瑜, 王彩理, 2005. 牡蛎的营养和降糖作用研究. 海洋水产研究, 26(6): 39—44
- Asselman J, Hochmuth J D, de Schampelaere K A C, 2014. A comparison of the sensitivities of *Daphnia magna* and *Daphnia pulex* to six different cyanobacteria. Harmful Algae, 39: 1—7
- Avila-Poveda O H, Torres-Ariño A, Girón-Cruz D A *et al*, 2014. Evidence for accumulation of *Synechococcus elongatus* (Cyanobacteria: Cyanophyceae) in the tissues of the oyster *Crassostrea gigas* (Mollusca: Bivalvia). Tissue and Cell, 46(5): 379—387
- Bresciani M, Adamo M, de Carolis G *et al*, 2014. Monitoring blooms and surface accumulation of cyanobacteria in the Curonian Lagoon by combining MERIS and ASAR data. Remote Sensing of Environment, 146: 124—135
- Margulies M, Egholm M, Altman W E *et al*, 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. Nature, 437(7057): 376—380
- O'Neil J M, Davis T W, Burford M A *et al*, 2012. The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. Harmful Algae, 14: 313—334
- Paul V J, 2008. Global warming and cyanobacterial harmful algal blooms. Advances in Experimental Medicine and Biology, 619: 239—257
- Sabour B, Loudiki M, Vasconcelos V, 2009. Growth responses of *Microcystis ichthyoblabe* Kützinger and *Anabaena aphanizomenoides* Forti (cyanobacteria) under different nitrogen and phosphorus conditions. Chemistry and Ecology, 25(5): 337—344
- Urrutia-Cordero P, Agha R, Cirés S *et al*, 2013. Effects of harmful cyanobacteria on the freshwater pathogenic free-living amoeba *Acanthamoeba castellanii*. Aquatic Toxicology, 130—131: 9—17
- Wang Z H, Yang J Q, Zhang D J *et al*, 2014a. Composition of microbial communities in industrial drain outlets. Journal of Pure and Applied Microbiology, 8(1): 807—815
- Wang Z H, Yang J Q, Zhang D J *et al*, 2014b. Composition and structure of microbial communities associated with different domestic sewage outfalls. Genetics and Molecular Research, 13(3): 7542—7552

CYANOBACTERIA AND EUGLENOIDEA DISTRIBUTION IN SEWAGE OUTLETS ALONG NINGBO COAST

XIE Li¹, WANG Zhao-Yang², ZHANG Di-Jun², ZHOU Jun², SI Kai-Xue², ZHANG Hong-Yan²,
HAN Jiao-Jiao², CUI Chen-Qian², DONG Li-Sha², SU Xiu-Rong²

(1. Beihai Environmental Monitoring Center of the State Oceanic Administration, Qingdao 266033, China;

2. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract Water samples were collected at 20 sites from 2 major sewage outlets and 8 regular sewage outlets in Ningbo, Zhejiang in March, May, August, and October, 2011. Samples were analyzed in 454 pyrosequencing on cyanobacteria and euglenoidea distribution. The most abundant ones were from Chloroplast, occupying 91.857%, including the euglenozoa, chlorophyta, cryptophyta biological, and euglenoidea of the euglenozoa accounted for 90.08%, followed by members of Synechococcophycideae and Oscillatoriothricideae, accounting for 5.704% and 1.787%, respectively. Seasonal variation was remarkable in the amount of euglenoidea: relatively more abundant in March and August, and less in October and May, to which we believe it was due to temperature change. In addition, differences were found in the amount and type of pollutants and these two kinds of organisms. For example, in Outlet S9 where N and P contents were the greatest among all the outlets, the amount of them was not so high as we thought. Therefore, we infer that the amount of them had no direct relationship with the contents of N and P in the sewage water. The amount of them was affected by certain N/P ratios that varied among different cyanobacteria species.

Key words Cyanobacteria; Euglenoidea; 454 pyrosequencing; land-source sewage outfall; detectable amount