

# 海洋浮游病毒的研究方法

## Methods of studying marine virioplankton

李洪波<sup>1,2</sup>, 肖天<sup>3</sup>, 林凤翱<sup>1</sup>

(1. 国家海洋环境监测中心, 辽宁 大连 116023; 2. 国家海洋局海洋生态系统与生物地球化学重点实验室, 国家海洋局 第二海洋研究所, 浙江 杭州 310012; 3. 中国科学院 海洋研究所生态与环境重点实验室, 山东 青岛 266071)

中图分类号: Q331

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)09-0097-05

浮游病毒在海洋中大量存在, 利用超离心和透射电镜技术研究发现病毒丰度为  $10^5 \sim 10^7$  个/mL, 远远超过细菌的数量。由于浮游病毒在微食物环、生源要素的循环及对宿主细胞的裂解以及控制宿主多样性方面都具有重要作用<sup>[1-3]</sup>, 所以世界各国对海洋病毒的研究发展迅速。由于技术方法方面的原因, 国内在这方面刚刚起步不久。尽管在淡水病毒研究方面已取得了一些进展<sup>[4]</sup>, 但在海洋研究领域, 此部分工作还很薄弱。国内在海洋鱼类病毒、贝类病毒等流行性病毒方面已取得较大进展<sup>[5-7]</sup>, 而本文则将对海洋浮游病毒研究中所涉及的丰度、生产力以及病毒对宿主的影响方面的技术进行重点阐述。

## 1 病毒丰度的测定

### 1.1 间接计数法: 空斑法(plaque assay)与 MPN(most-probable-number)法

适量的噬菌体和宿主菌液混合后接种培养, 培养基表面可有透亮的溶菌空斑出现。一个空斑系由一个噬菌体复制增殖并裂解细菌后形成, 称为噬斑(plaque)。不同噬菌体噬斑的形态与大小不尽相同。若将噬菌体按一定倍数稀释, 通过噬斑计数, 可测定一定体积内的噬斑形成单位(plaque forming units, pfu)数目, 即噬菌体的数目。另外利用液体培养基作最大可能数目(MPN)分析。用该方法计数明显低于用显微镜镜检 100~1000 倍<sup>[8]</sup>。

尽管这个方法在计数病毒中并不是很有效, 但在分离纯化病毒-宿主系统中有不可替代性。尤其是在噬蓝藻体的研究中, 如在墨西哥湾, Suttle<sup>[9]</sup>利用 MPN 法方法发现水中的噬蓝藻体超过  $10^5$  个/mL。

## 1.2 直接计数法

### 1.2.1 透射电镜技术(Transmission electron microscopy, TEM)

早期直接计数水体病毒(viral direct counts, VDC)的方法是用电镜技术。1979年, Torella and Morita<sup>[10]</sup>利用电镜第一次直接计数了  $>0.2 \mu\text{m}$  的浮游生物样品中的病毒丰度为  $>10^4$  个/mL。因大多数病毒通过了  $0.2 \mu\text{m}$  的滤膜, 其丰度被大大低估了。电镜计数样品中的病毒颗粒大约在  $10^3 \sim 10^6$  个/mL。电镜技术可同时提供病毒形态多样性方面的证据, 包括蛋白外壳和尾部大小<sup>[11]</sup>。

最普通的电镜方法是直接沉降自由的病毒颗粒, 从未过滤的由戊二醛固定的水样沉降到 Formvar-喷碳铜网上。有两种方法可把水体中的病毒收集到铜网上: 超滤(ultrafiltration)和超离(ultracentrifugation)。通过超离病毒直接收集在电镜铜网上或者通过浓缩后转移到铜网上, 然后在电镜下观察<sup>[11-13]</sup>。TEM 病毒直接计数要求颗粒达到的最低浓度是  $10^5$  个/mL, 因而在贫营养环境中 TEM 技术受到限制<sup>[14]</sup>。另外由于染色和在铜网上的不均匀分布, 导致计数自然水域的病毒有大约 20%~25% 的误差<sup>[15]</sup>。

TEM 直接计数的缺点是装备要求高, 如透射电子显微镜和超速离心机。另外样品准备和分析也是

收稿日期: 2008-10-08; 修回日期: 2008-12-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40906082); 国家海洋局青年基金资助项目(2010111); 国家海洋局海洋生态与海洋生物地球化学重点实验室开放基金资助项目(LMEB 200604); 中国科学院海洋生态与环境科学重点实验室基金资助项目(KLMES201002)

作者简介: 李洪波(1976-), 男, 河南漯河人, 助理研究员, 博士, 主要从事海洋微生物生态研究, 电话: 0411-84782711, E-mail: hbli@nmemc.gov.cn

耗时繁琐的。

### 1.2.2 荧光显微镜技术(epifluorescence light microscopy, ELM)

本质上说,荧光显微镜计数病毒是在直接计数细菌技术上的变更。病毒壳内的核酸被核酸染料染色,病毒被过滤到小孔径(0.02  $\mu\text{m}$ )滤膜上,用高倍镜观察。一个明显的缺点就是小的浮游细菌和大的病毒颗粒在大小上重叠,这会导致病毒计数的偏差。通过提高染料的特异性,ELM 直接计数病毒方法已与 TEM 方法达到相似的准确度,且超过 TEM 计数结果<sup>[15]</sup>。

在新的荧光标记物 SYBR Green I 出现之前,有用 DAPI 和 Yo-Pro-1 染色剂的<sup>[15,16]</sup>,现在也有新的替代品,有研究认为利用 SYBR Green Gold 染色效果会更好,但染料昂贵,不值得推荐。另外研究<sup>[17]</sup>认为 YO-PRO-1 染料更适合荧光显微镜下计数病毒,是因为此染料有较强且稳定的荧光。相比 SYBR Green I 染料荧光淬灭较快,不易计数和拍照。YO-PRO-1 可被波长为 491nm 的蓝光激发,发出波长为 509 nm 的黄绿色荧光。但由于其染色时间较长,长达 2 d,使用起来不方便。而 SYBR Green I 染色时间较短(小于 15 min),亮度较高,且不受固定剂的影响。只要在染色后添加荧光保护剂,就可避免荧光淬灭过快<sup>[17-19]</sup>。

由于固定剂和保存条件的不同,常常低估了病毒的丰度。研究认为用戊二醛和甲醛固定的样品,在其前 2 小时内,病毒平均损失率分别为 0.12  $\text{h}^{-1}$  和 0.13  $\text{h}^{-1}$ 。16 天后,病毒丰度已下降了 72%。要准确测定病毒丰度,最好采样后不用固定剂而是立即抽滤染色,把制成的玻片放置在 $-20^{\circ}\text{C}$ , SYBR Green I 染色的可放置 2 周,而用 Yo-Pro-1 染色的可放置 1 年。另一方面,样品固定后用液氮瞬时冷冻后在 $-80^{\circ}\text{C}$  条件下保存。只有做到以上两点才可避免对病毒丰度的低估<sup>[20]</sup>。一种新型荧光探针 GeneFinder<sup>TM</sup>,价格相对便宜,效果与 SYBR Green I 效果不差上下。荧光显微镜适合现场研究病毒丰度。

### 1.2.3 流式细胞仪技术(Flow Cytometry, FCM)

近十几年来,流式细胞术(flow cytometry)已被广泛应用于海洋生物学研究。最初被用于植物种群的区分与计数,接着又被用于异养细菌群落研究,而这几年则被开发用于海洋病毒的分析<sup>[21]</sup>。流式细胞术主要优势在于能快速分析大量细胞,并获取数据易于进行多元数据分析,准确性得到提高,误差减小,检测下限与灵敏度都得以提高。同时新型核酸

染料 SYBR Green-I 的发明也推进了流式在病毒检测中的应用<sup>[19,21]</sup>。Chen 等<sup>[22]</sup>用 FCM 法分辨出至少 4 种不同病毒类型,可分为真核藻类病毒、原核藻类病毒、高 DNA 噬菌体和低 DNA 噬菌体。

## 2 病毒生产力的研究方法

### 2.1 放射性标记技术

来源于测定细菌二次生产力的方法<sup>[23]</sup>, Steward 开创了 $^3\text{H}$ 或 $^{32}\text{P}$ 被病毒核酸吸收基础上的现场估计病毒生产力的方法<sup>[24]</sup>。这个方法的基本原理是用 $^3\text{H}$ 或 $^{32}\text{P}$ 标记浮游病毒的核酸,然后计数宿主裂解后的放射性标记物的量,这个量所代表的就是病毒生产量,最后用病毒生产量除以病毒的平均裂解量(burst size)就能够推算出被感染的宿主数量。这个方法有一个假设前提,那就是:噬菌体合成中用的核苷酸来源于宿主细胞核酸库或者外源的而并非重新合成的<sup>[25]</sup>。这个方法依赖于过滤把细菌和病毒分离开来,然后测量标记的病毒 DNA 数量。在将放射性标记量转化成病毒的生产量时,还需要一个转化系数。通常这个系数是通过比较用其他方法测量的标准 PHS (phage-host system)中的病毒的数量变化和放射性标记物的数量变化来得到的<sup>[24, 25]</sup>。但迄今为止,系数的选择没能达成统一,不同的研究者使用这种方法得到的病毒导致的致死率是有极大差异的。在用 $^3\text{H}$ -TdR 作为示踪物时,使用的转换系数有 $6.17 \times 10^{20}$  个/mol 或 $2 \times 10^{21}$  个/mol。在用 $^{32}\text{P}$ i 作为示踪物时候,转化系数为 $1.25 \times 10^{20}$  个/mol。由于 $^{32}\text{P}$ i 在 DNA 病毒测量中的限制,目前 $^3\text{H}$ -TdR 比 $^{32}\text{P}$ i 被更广泛的应用<sup>[26, 27]</sup>。

此方法能够直接测定病毒的生产速率并推算它所造成的致死率,而且也可以用于直接记录病毒粒子的降解率,同时还提供了有关物质从浮游细菌流向浮游病毒的直接证据<sup>[24]</sup>。缺点是被标记的细菌 DNA 容易分解成病毒大小的部分,同时需要适当的转化系数把放射性标记量转化为病毒生产量。

### 2.2 荧光标记病毒(Fluorescently Labeled Viruses, FLV)技术<sup>[28]</sup>

此方法与放射性标记的原理一样,更使用于贫营养和避光培养的 PHS 体系。该方法能同时测定病毒降解率、生产率和转化率。荧光标记的病毒作为示踪物添加到培养水体中,监测 FLVs 和总病毒丰度

的变化。病毒生产率能用 FLV 丰度的改变率和总丰度的变化率计算得出。缺点是需要制备荧光标记的病毒颗粒,这个过程比较繁琐,利用率较低。

### 2.3 氰化物抑制法

假定病毒丰度保持相对稳定(病毒衰减被病毒生产所平衡),那么病毒生产停止后就可以从病毒移除率中估算出来病毒生产率<sup>[29, 30]</sup>。病毒衰减率是利用抑制新病毒颗粒的产生,然后检测一段时间内病毒丰度的降低而被估算出来的。氰化物经常被用作抑制剂杀死宿主细胞而不能使自由的噬菌体颗粒失去活性。由于太阳光辐射、酶还有其他因素均可引起病毒的衰减。因而在不同地区利用病毒衰减得到的生产率没有可比性<sup>[31]</sup>,限制了该方法的推广。

### 2.4 稀释方法

2002年, Wilhelm等<sup>[32]</sup>用稀释技术估计了病毒生产力。该方法操作相对简单,已在较多科研方面得到应用。具体操作如下:把450 mL水样中的细菌收集到直径47 mm、孔径0.2 μm的聚碳酸酯膜。然后用不含病毒颗粒的超滤海水(<30 ku)把滤膜上的细胞重新悬浮起来,保持到最初体积。这样病毒丰度就被稀释到大约原浓度的10%~20%。水样分装到3个瓶子,用铝箔包裹,现场温度下培养。每隔2.5 h取样一次(4 mL,戊二醛固定,终浓度2.5%)。每一个试验限制在10 h内。

用病毒生产量对时间的一阶线形回归得到病毒平均生产率(个/(mL·h))。

到目前为止,测定病毒生产力并没有标准的方法。上面的方法各有优缺点。然而,获取可靠的生产力对于估计病毒对细菌死亡率的贡献和病毒介导的营养盐释放都是非常重要的。

## 3 病毒介导的死亡率(Virus induced mortality, VIM)

### 3.1 以电镜方法为基础研究病毒介导的死亡率

透射电镜(TEM)被用来观看病毒形态和决定被感染的细胞频率(Frequency of visibly infected cells,  $F_{VIC}$ ),包含病毒的细胞数目。包含成熟噬菌体的浮游细菌仅代表被病毒感染数量的一小部分,因为完整无缺的病毒外壳只有在感染周期的后期才能看到。为了准确估计病毒溶源效应,需要利用转换因子把

$F_{VIC}$  值转化为全部被感染的细胞频率( $F_{IC}$ )<sup>[33~35]</sup>。用到的转化因子有10, 4.34~10.78(平均7.11)<sup>[34]</sup>, 3.7~7.14<sup>[36]</sup>。Binder<sup>[33]</sup>认为在 $F_{VIC}$ 与 $F_{IC}$ 之间存在非线性的关系,得到如下的数学模型:

$$F_{IC} = 7.1 F_{VIC} - 22.5 F_{VIC}^2$$

$M_{VMB}$  (viral-mediated bacterial mortality,  $M_{VMB}$ )代表采样时间给定的细菌种群内病毒介导的死亡率,能利用下面的模型推导出来<sup>[33]</sup>:

$$M_{VMB} = (F_{IC} + 0.6 F_{IC}^2) / (1 - 1.2 F_{IC})$$

而病毒介导的细菌死亡率可由下式计算得出,  $M_{VIM} = M_{VMB} \times P_B$  (细菌生产力)<sup>[35]</sup>。

在河北沿岸采取该方法,研究了春季由病毒感染而导致的细菌死亡率达40% $P_B$ 以上<sup>[37]</sup>,由此证明在近岸富营养化海区病毒对细菌衰亡、碳循环过程都有重要的作用。

### 3.2 以稀释方法来估计由病毒引起的细菌死亡率

由于VIM代表用裂解量去除病毒生产力得到的由于病毒溶源而裂解的细胞数目<sup>[30]</sup>,即VIM = 病毒生产力/裂解量。要得到由于病毒感染而死亡的细菌占细菌总数的比例,那么得到的VIM还需除以细菌丰度,即VIM(%) = (病毒生产力/裂解量)/细菌丰度。裂解量(Burst Size)被估计为所有可见感染的细胞内的平均病毒颗粒(最小裂解量)或者细胞内完全装满病毒颗粒的平均病毒数量(最大裂解量)。病毒裂解量通过计数至少有15个可见的感染细菌细胞(visibly infected bacterial cell, VIC)内的病毒颗粒,每一个可见感染细胞内至少要有5个噬菌体。在文献内常用的裂解量有两个值20和50,平均值为24<sup>[8]</sup>。BS受到许多因素的影响,如宿主细胞和病毒的大小、宿主和噬菌体的代谢活性以及宿主多样性、温度、季节等<sup>[30]</sup>。

Suttle<sup>[1]</sup>综述认为由于病毒感染,每天大约有10%~20%的异养细菌消失,蓝细菌则相当少(大约3%)。在自然环境里,由病毒介导的细菌死亡率大约为15%~20%  $d^{-1}$ <sup>[1, 30]</sup>。

## 4 病毒对宿主多样性的影响

病毒对海洋系统最令人关注的就是对群落组成的潜在影响。这是因为:(1)病毒对宿主通常是特异性的,大多情况下被认为是种类特异性<sup>[38]</sup>;(2)感染是一个依赖密度的过程。在高密度宿主情况下,增加的

接触率导致感染率升高。根据上面两个情况,有专家提出病毒对宿主的感染符合“杀死优胜者”(Killing-the-winner)的假设<sup>[1,39]</sup>。

一个典型病毒控制宿主群落多样性的试验就是在存在和缺乏病毒情况下,细菌群落的改变状况。试验如下:接种体用 0.6 μm 聚碳酸酯核孔滤膜过滤的自然海水(除去原生动物)。培养体是两种,一种是用 0.02 μm 核孔氧化铝滤膜过滤不含病毒的海水;另一种是用 0.2 μm 核孔滤膜过滤的包含病毒的海水。培养 2~4 d,利用 DGGE 技术监控细菌群落组成的改变状况<sup>[40]</sup>。

对浮游病毒的研究不单单要研究其生态分布状况,今后还要加强如下工作:(1)病毒在元素循环方面的贡献;(2)由病毒引起的宿主死亡率大小;(3)病毒形态、基因多样性研究;(4)利用病毒进行赤潮治理方面的研究。

#### 参考文献:

- [1] Fuhrman J A. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects[J]. *Nature*, 1999, 399: 541-548.
- [2] Bergh Børsheim K Y, Bratbak G, *et al.* High abundance of viruses found in aquatic environments[J]. *Nature*, 1989, 340: 467-468.
- [3] 王斐, 郑天凌, 洪华生. 海洋病毒在微食物环中的重要作用[J]. *海洋科学*, 1998, 4: 41-43.
- [4] 程凯, 赵以军, 夏燕华, 等. 浮游病毒的测定方法及其应用[J]. *水生生物学报*, 2003, 27(5): 535-538.
- [5] 闫云峰, 苏友禄, 郭志勋, 等. 鱼类神经坏死病毒对军曹鱼仔鱼的致病性[J]. *海洋科学*, 2010, 34 (4): 6-10.
- [6] 柳淑芳, 苏来金, 周德庆. 牡蛎中诺如病毒的分子流行病学研究进展[J]. *海洋科学*, 2008, 32(8): 82-86.
- [7] 樊景凤, 宋立超, 张喜昌, 等. 辽东湾沿岸海水及贝类中甲肝病毒分布的研究[J]. *海洋科学*, 2007, 31(2): 52-54, 76.
- [8] Weinbauer M G. Ecology of prokaryotic viruses[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2004, 28: 127-181.
- [9] Suttle C A, Chan A M. Dynamics and distribution of cyanophages and their effect on marine *Synechococcus* spp. [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60: 3167-3174.
- [10] Torrella F, Morita R Y. Evidence by electron micrographs for a high incidence of bacteriophage particles in the waters of Yaquina Bay, Oregon: ecological and taxonomical implications[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1979, 37: 774-778.
- [11] Børsheim K Y, Bratbak G, Haldal M. Enumeration and biomass estimation of planktonic bacteria and viruses by transmission electron microscopy[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1990, 56: 352-356.
- [12] Suttle C A, Chan A M, Cottrell M T. Use of ultrafiltration to isolate viruses from seawater which are pathogens of marine phytoplankton[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57: 721-726.
- [13] Wommack K E, Hill R T, Colwell R R. A simple method for the concentration of viruses from natural water samples[J]. *J Microbiol Methods*, 1995, 22: 57-67.
- [14] Jiang S C, Paul J H. Viral contribution to dissolved DNA in the marine environment as determined by differential centrifugation and kingdom probing[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61: 317-325.
- [15] Weinbauer M G, Suttle C A. Comparison of epifluorescence and transmission electron microscopy for counting viruses in natural marine waters[J]. *Aquat Microb Ecol*, 1997, 13: 225-232.
- [16] Hara S, Terauchi K, Koike I. Abundance of viruses in marine waters: assessment by epifluorescence and transmission electron microscopy[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57(9): 2731-2734.
- [17] Hennes K P, Suttle C A. Direct counts of viruses in natural waters and laboratory cultures by epifluorescence microscopy[J]. *Limnol Oceanogr*, 1995, 40: 1050-1055.
- [18] Bettael Y, Sime-Ngando T, Amblard C, *et al.* A comparison of methods for counting viruses in aquatic systems[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(6): 2283-2289.
- [19] Noble R T, Fuhrman J A. Use of SYBR Green I for rapid epifluorescence counts of marine viruses and bacteria[J]. *Aquat Microb Ecol*, 1998, 14: 113-118.
- [20] Wen K, Ortmann A C, Suttle C A. Accurate estimation of viral abundance by epifluorescence microscopy[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 3862-3867.
- [21] Marie D C, Brussard C P D, Thyraug R, *et al.* Enumeration of marine viruses in culture and natural samples by flow cytometry[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65: 45-52.
- [22] Chen F, Lu J R, Brian J B, *et al.* Application of digital image analysis and flow cytometry to enumerate marine viruses stained with SYBR Gold[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(2): 539-545.
- [23] Fuhrman J A, Azam F. Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results[J]. *Mar Biol*, 1982, 66: 109-120.
- [24] Steward G F, Wikner J, Cochla W P, *et al.* Estimation of virus production in the sea. I. Method development[J]. *Mar Microb Food Webs*, 1992, 6: 57-78.
- [25] Wilkner J, Vallino J J, Steward G F, *et al.* Nucleic acids from the host bacterium as a major source of nucleotides for three marine bacteriophages[J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 1993, 12: 237-248.
- [26] Steward G F, Smith D C, Azam F. Abundance and production of bacteria and viruses in the Bering and

- Chukchi seas[J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1996, 131: 287-300.
- [27] Steward G F, Wikner J, Cochlan W P, *et al.* Estimation of virus production in the sea. II. Field results[J]. **Mar Microb Food Webs**, 1992, 6: 79-90.
- [28] Nobel R T, Fuhrman J A. Rapid virus production and removal as measured with fluorescently labeled viruses as tracers[J]. **Appl Environ Microbiol**, 2000, 66(9): 3790-3797.
- [29] Haldal M, Bratbak G. Production and decay of viruses in aquatic environments[J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1991, 72: 205-212.
- [30] Suttle C A. The significance of viruses to mortality in aquatic microbial communities[J]. **Microb Ecol**, 1994, 28: 237-243.
- [31] Riemann L and Middelboe M. Viral lysis of marine bacterio- plankton : implications for organic matter cycling and bacterial clonal composition[J]. **Ophelia**, 2002, 56: 57-68.
- [32] Wilhelm S W, Brigden S M, Suttle C A. A dilution technique for the direct measurement of viral production: a comparison in stratified and tidally mixed coastal waters[J]. **Microb Ecol**, 2002, 43: 168-173.
- [33] Binder B. Reconsidering the relationship between virally induced bacterial mortality and frequency of infected cells[J]. **Aquatic Microbial Ecology**, 1999, 18: 207-215.
- [34] Weinbauer M G, Winter C, Höfle M G. Reconsidering transmission electron microscopy based estimates of viral infection of bacterioplankton using conversion factors derived from natural communities[J]. **Aquat Microb Ecol**, 2002, 27: 103-110.
- [35] Weinbauer M G, Suttle C A. Potential significance of lysogeny to bacteriophage production and bacterial mortality in coastal waters of the Gulf of Mexico[J]. **Appl Environ Microbiol**, 1996, 62: 4374-4380.
- [36] Proctor L M, Okubo A, Furman JA. Calibrating estimates of phage-induced mortality in marine bacteria: ultrastructural studies of marine bacteriophage development from one-step growth experiments[J]. **Microbial Ecology**, 1993, 25: 161-182.
- [37] 李洪波, 崔向阳, 林凤翔, 等. 河北近岸海域浮游细菌与病毒的关系[J]. **海洋环境科学**, 2010, 29(2): 187-190.
- [38] Wilcox R M, Fuhrman J A. Bacterial viruses in coastal seawater: lytic rather than lysogenic production[J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1994, 114: 35-45.
- [39] Wommack K E, Colwell R R. Viroplankton: viruses in aquatic ecosystems[J]. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 2000, 64(1): 69-114.
- [40] Schwalbach M S, Hewson I, Fuhrman J A. Viral effects on bacterial community composition in marine plankton microcosms[J]. **Aquat Microb Ecol**, 2004, 34: 117-127.

(本文编辑: 张培新)

(上接第 69 页)

## Numerical analysis of mutual influence between wave and current in the Yellow River Delta

ZHANG Jing<sup>1</sup>, YANG Li-li<sup>1</sup>, GU Xue-zhun<sup>2</sup>, LIANG Bing-chen<sup>1</sup>

(1. College of Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Offshore Oil Engineering (Qingdao) Company, Limited, Qingdao 266520, China)

Received: Jan., 30, 2009

**Key words:** COHERENS; SWAN; the Yellow Rive Delta; wave-current coupling

**Abstract:** There are obvious functions of wave-current coupling in coastal and estuarine zones, so it is recommended strongly to account for such interaction when wave or current is simulated. In the present work, three-dimensional hydrodynamic model COHERENS is coupled with the third generation wave model SWAN. The obtained model by combining COHERENS and SWAN is named as COHERENS-SWAN and it is used to simulate wave and current in the Yellow River Delta. The effects of current and water level on wave are discussed. There are good agreements with measurement for significant wave height and significant wave period generally, which demonstrates the effectiveness of COHERENS-SWAN in the simulation of wave and current in the Yellow River Delta.

(本文编辑: 刘珊珊)