

基于浮游植物流式细胞仪对胶州湾春季浮游植物的研究

陈芸燕^{1,2}, 孙晓霞^{1,3}, 朱明亮¹

(1. 中国科学院海洋研究所 胶州湾海洋生态系统国家野外科学观测研究站, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院大学 北京 100049; 3. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋生态与环境科学功能实验室, 山东 青岛 266071)

摘要: 本文基于浮游植物流式细胞仪 CytoSub 对 2014 年春季胶州湾浮游植物功能群组成及其与环境因子的关系开展研究。CytoSub 共检测出 6 个浮游植物类群, 分别是聚球藻、微微型真核浮游植物、隐藻、微型单细胞藻、小型单细胞藻和链状藻。多元统计分析显示胶州湾春季浮游植物可划分为两个群落, 群落 1 主要由湾外站位组成, 浮游植物生物量浓度为 15.15 $\mu\text{g/L}$ (以碳含量计, 下同), 以小型单细胞藻、链状藻和微型单细胞藻为主; 群落 2 主要由湾内站位组成, 浮游植物生物量浓度为 72.83 $\mu\text{g/L}$, 以链状藻为主。胶州湾的优势类群为链状藻, 其丰度与水温 and 营养盐浓度呈显著正相关关系。与其他浮游植物粒级研究方法的比较表明, 当调查海域优势种为小粒径的链状藻时, 该方法能够快速、准确地测量出各个浮游植物类群的粒径参数, 从而推算出浮游植物群落的粒级结构。

关键词: 浮游植物; 浮游植物流式细胞仪; 流式细胞术; 粒径分析法; 胶州湾

中图分类号: P593

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2017)06-0072-07

DOI: 10.11759/hyxx 20160726001

海洋浮游植物以及浮游植物的初级生产过程是海洋生态系统中的重要驱动因子, 浮游植物的变化能够直接影响海洋生态系统的结构和功能^[1]。浮游植物能够直接吸收海水中的营养物质, 利用光合作用参与海水中的 C、N、P 等元素的循环, 从而在整个海洋生态系统的物质循环和能量流动中起着极其重要的作用^[2-5]。不同粒级结构的浮游植物对海洋初级生产力的贡献不同^[6], 了解浮游植物的类群组成、丰度和粒级结构等生态特点是研究特定海区生态系统的基础。目前海洋浮游植物调查研究的方法主要有: 传统的叶绿素浓度调查方法、传统的显微镜镜检方法、传统的流式细胞术、高效液相色谱法、分子探针法和卫星海洋遥感法^[7-11]。但是这些方法还不能实现浮游植物的现场快速自动监测。近些年来发展的水下型浮游植物流式细胞仪(CytoSub)能够根据浮游植物藻类细胞的粒级、内部构造、色素等光学变量实时提供浮游植物类群和丰度信息, 为高频、实时、原位、全粒级地监测浮游植物提供了一种有效的手段^[11-19]。关于应用 CytoSub 在近海海湾区域以及远海海域对浮游植物类群的高频监测, 国际上已经开展了大量的研究。例如, Thyssen 等^[20-21]使用 CytoSub 对 2015 年夏季马赛湾浮游植物类群时间序列的变化进行了研究; Dugenne 等^[22]使用浮游植物流式细胞仪

(CytoSense)来研究了 Berre lagoon 中甲藻的分裂率; Bonato 等^[23]使用 CytoSense 研究了英吉利海峡中浮游植物类群随季节的演替以及影响浮游植物类群演替的环境因子。但是, 基于 CytoSub 对我国近海浮游植物的全粒级研究目前还未见报道。

胶州湾是我国近海典型的海湾, 胶州湾海水中的营养盐水平在全球典型海湾中处于一个中等水平, 胶州湾的生物生产力高、生物多样性相对较高, 具有黄海大生态系统的特征和海湾自身的特征^[24-25]。本文基于 2014 年春季(4 月)在胶州湾 12 个站位采集的样品资料, 用浮游植物流式细胞仪监测胶州湾浮游植物类群和丰度的变化, 系统研究和分析了胶州湾浮游植物功能群组成、丰度变化及关键环境影响因子, 为近海生态系统浮游植物的快速自动观测提供支撑。

收稿日期: 2016-12-18; 修回日期: 2017-03-16

基金项目: 中国科学院海洋专项项目(No. XDA11030204)、国家 973 项目(2014CB441504)

[Foundation: Marine special project of the Chinese Academy of Sciences, No. XDA11030204; the Natural Basic Research Program of China, No. 2014CB441504]

作者简介: 陈芸燕(1987-), 女, 山东省东营人, 博士, 主要从事浮游植物生态学研究, E-mail: 88412052@163.com; 孙晓霞, 通信作者, 女, 研究员, 博士, E-mail: xsun@qdio.ac.cn

1 材料用方法

1.1 样品采集与处理

在2014年春季(4月)在胶州湾及其邻近海域共设置12个调查站,具体站位见图1。在每个采样站点用Niskon采水器采集表层水样,使用CytoSub对水样进行分析。本研究以红色荧光作为激发光来检测胶州湾新鲜海水中的浮游植物功能群,每个样品检测3~5min。

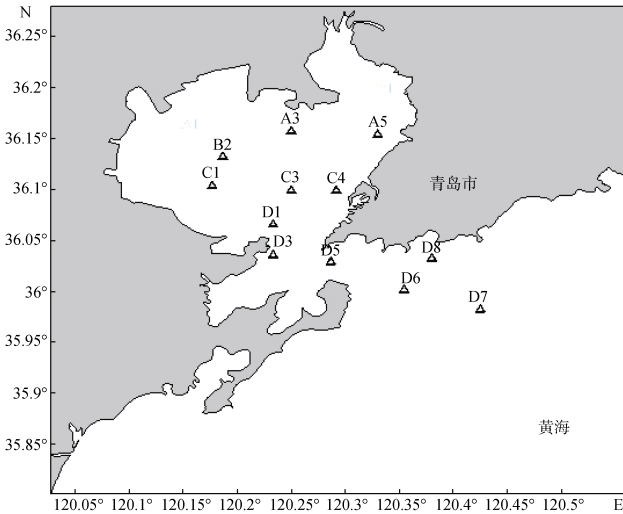


图1 采样站位图

Fig. 1 Sampling stations in Jiaozhou Bay

同时取500 mL水过滤于0.45 μm醋酸纤维滤膜,回实验室用Turner Designs荧光光度计测定叶绿素a含量。海水温度、盐度用CTD现场同步测定。营养盐数据由中国科学院海洋研究所胶州湾生态站提供。

1.2 浮游植物碳含量(生物量)计算

根据反映细胞粒径大小的前向散射,通过

Cytoclus3软件转换得出细胞粒径。浮游植物细胞的体积由球形体积公式进行推算,然后通过公式 $C=0.433 \times V^{0.863}$ 得到碳含量(C 表示细胞碳含量, V 表示细胞体积)^[26],最后根据细胞碳含量乘以细胞丰度得到浮游植物的生物量。

1.3 数据分析

浮游植物流式细胞仪检测结果采用Cytoclus3软件进行分析。浮游植物丰度数据经过log转化后,借助Primer6.0基于Bray-Curtis相似性指数和组平均的方法进行q-型聚类^[27],从而确定浮游植物群落结构。采用SPSS16.0软件进行浮游植物优势种丰度与环境因子的相关性分析。

2 结果

2.1 胶州湾浮游植物类群组成

CytoSub基于样品光学性质聚类分析出6个浮游植物类群(图2),分别是Cluster 1($1.93 \mu\text{m} \pm 0.39 \mu\text{m}$)、Cluster 2($0.94 \mu\text{m} \pm 0.20 \mu\text{m}$)、Cluster 3($5.11 \mu\text{m} \pm 2.33 \mu\text{m}$)、Cluster 4($6.86 \mu\text{m} \pm 0.46 \mu\text{m}$)、Cluster 5($35.03 \mu\text{m} \pm 11.57 \mu\text{m}$)和Cluster 6($7.06 \mu\text{m} \pm 3.40 \mu\text{m}$)。在本研究中,Cluster 1由于细胞大小为1~3 μm,并且以叶绿素a作为主要色素,因此,Cluster 1为微微型真核浮游植物^[22]。Cluster 2由于细胞大小小于2 μm,且细胞富含藻胆蛋白,因此Cluster 2为聚球藻^[4, 28]。Cluster 3细胞大小为2~10 μm,且细胞富含藻胆蛋白和叶绿素a,因此Cluster 3为隐藻^[29]。Cluster 4和Cluster 5细胞大于3 μm,且细胞为富含叶绿素a的单细胞,因此Cluster 4和Cluster 5为单细胞藻^[30-31]。Cluster 6细胞为链状,且细胞为富含叶绿素a的单细胞,因此Cluster 6为链状硅甲藻^[30-31]。

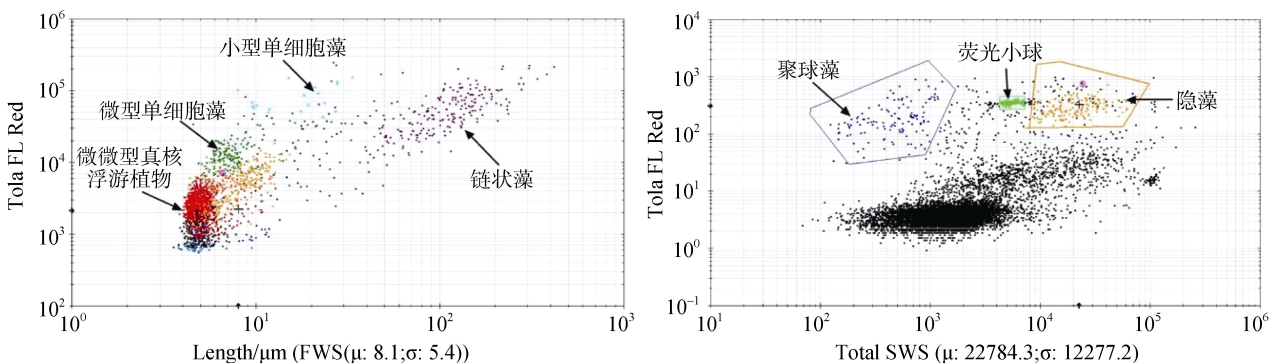


图2 2014年春季胶州湾浮游植物类群组成

Fig. 2 Cytosub cytograms and clusters defined in the FLR during the cruise

2.2 胶州湾浮游植物的群落结构

胶州湾浮游植物的群落结构如图 3 所示。

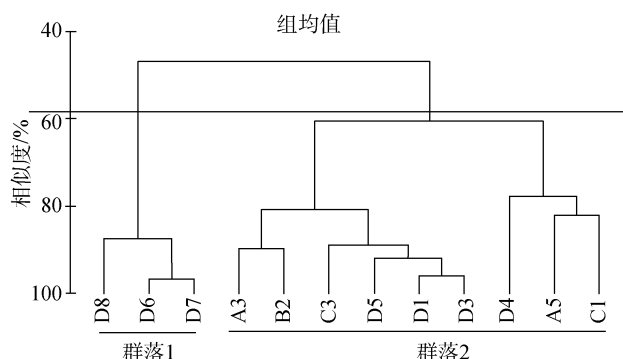


图 3 胶州湾 12 个采样站浮游植物群落的等级聚类树枝图
Fig. 3 The dendrogram for similarity matrix of phytoplankton communities from the sampling stations in Jiaozhou Bay

在本研究中, 利用 Bray-Curtis 相似性指数聚类分析显示调查海区浮游植物可划分为 2 个群落, 群落 1 主要由湾外 D6、D7、D8 站位的样品构成, 此群落所处位置的平均温度和平均营养盐(硝酸盐、亚硝酸盐、氨盐和硅酸盐)浓度较低, 分别为 9.24℃、2.55、0.41、2.23 和 1.03 $\mu\text{mol/L}$, 平均叶绿素 *a* 浓度相对较低, 为 0.68 mg/m^3 ; 群落 2 主要由湾内站位的样品构成, 此区域平均温度、平均营养盐(硝酸盐、亚硝酸

盐、氨盐和硅酸盐)浓度和叶绿素 *a* 浓度较高, 分别为 11.30℃、8.62、0.74、3.82、2.13 $\mu\text{mol/L}$ 和 0.72 mg/m^3 (表 1)。

群落 1 中浮游植物的平均丰度较低(858.48 个/mL), 主要类群为聚球藻(146 个/mL)和微微型真核浮游植物(412 个/mL)且群落 1 以微微型真核浮游植物(48.00 %)为主, 群落 2 中浮游植物的平均丰度较高(3 009.44 个/mL), 主要由微微型真核浮游植物(1 147 个/mL)和链状藻(1 187 个/mL)组成(表 2)。

2.3 胶州湾浮游植物生物量的分布

与丰度的分布趋势一致, 群落 1 的总生物量浓度(15.15 $\mu\text{g/L}$)低于群落 2 的总生物量浓度(72.83 $\mu\text{g/L}$), 详见表 3。但是, 在群落 1 中, 小型单细胞藻、链状藻和微型单细胞藻生物量对总浮游植物生物量的贡献最大, 分别为 32.73%、29.97%、24.60%, 而群落 2 中, 链状藻生物量对总浮游植物生物量的贡献最大, 为 63.63%。群落 1 中微微型浮游植物、微型浮游植物和小型浮游植物生物量对总生物量的贡献分别为 3.90%、63.37%、32.73%, 群落 2 中微微型浮游植物、微型浮游植物和小型浮游植物生物量对总生物量的贡献分别为 2.19%、83.62%、14.19%。

表 1 群落 1、2 的环境特征

Tab. 1 Environmental variables of community 1 and 2

群落	水温(℃)	盐度	硝酸盐 ($\mu\text{mol/L}$)	亚硝酸盐 ($\mu\text{mol/L}$)	氨盐 ($\mu\text{mol/L}$)	磷酸盐 ($\mu\text{mol/L}$)	硅酸盐 ($\mu\text{mol/L}$)	叶绿素 <i>a</i> (mg/m^3)
1	9.24±0.13	30.96±0.014	2.55±0.49	0.41±0.01	2.23±0.47	1.71±2.25	1.03±0.20	0.68±0.42
2	11.30±1.23	30.81±0.26	8.62±6.81	0.74±0.31	3.82±2.27	0.89±0.64	2.13±1.68	0.72±0.64

表 2 各群落的浮游植物功能群组及丰度(个/mL)

Tab. 2 Average abundance of each community (cells/L)

群落	聚球藻	微微型真核浮游植物	隐藻	微型单细胞藻	小型单细胞藻	链状硅甲藻
1	146±7	412±33	79±9	103±26	2.01±0.56	116±32
2	157±67	1147±497	212±65	303±142	4.18±3.77	1187±826

表 3 浮游植物群落的生物量

Tab. 3 Average biomass of each community

群落	聚球藻 ($\mu\text{g/L}$)	微微型真核浮游植物 ($\mu\text{g/L}$)	隐藻 ($\mu\text{g/L}$)	微型单细胞藻 ($\mu\text{g/L}$)	小型单细胞藻 ($\mu\text{g/L}$)	链状硅甲藻 ($\mu\text{g/L}$)
1	0.03±0	0.56±0.04	1.33±0.16	3.73±0.92	4.96±1.38	4.54±1.26
2	0.03±0.01	1.56±0.67	3.58±1.09	10.97±5.15	10.38±9.31	46.31±32.25

3 讨论

3.1 胶州湾浮游植物功能群的组成特点以及环境因子对胶州湾浮游植物功能群的影响

传统的显微镜镜检结果研究表明硅藻和甲藻是胶州湾浮游植物的主要组成类群^[32],且胶州湾网采浮游植物以硅藻占绝对优势^[24],高效液相色谱法也表明胶州湾的优势类群为硅藻,微型鞭毛藻次之,甲藻和蓝细菌最低^[8]。而本文基于 CytoSub 的研究结果表明,胶州湾湾内丰度最高的浮游植物类群为链状硅甲藻和微微型真核浮游植物(表 2),胶州湾湾内生物量最高的浮游植物类群为链状硅甲藻(表 3);胶州湾湾外丰度最高的浮游植物类群为微微型真核浮游植物(表 2),胶州湾湾外生物量最高的浮游植物类群为小型单细胞藻和链状硅甲藻(表 3)。可以看出,与传统的研究方法相比, CytoSub 能够准确、高效地对胶州湾优势类群进行鉴定分析,且 CytoSub 在野外实时监测中对链状藻的分析计数具有优势。CytoSub 在对浮游植物类群进行快速分类计数的主要

依据就是浮游植物类群所含特征色素及粒径区别,比如富含藻胆蛋白的聚球藻和隐藻,就能在浮游植物类群中进行准确分类计数,但是由于硅藻和甲藻都属于叶绿素较高且胡萝卜素、类胡萝卜素也较高,目前用 CytoSub 很难将这两类藻进行区分聚类分析。

一般来讲,不同的水体浮游植物群落结构具有不同的特征^[33],且浮游植物的种类组成、丰度等变化在天然水体中主要与季节和营养盐等密切相关^[24]。在本研究中,浮游植物群落丰度及生物量呈现湾内高值、湾外低值的原因可能是由于湾外海域受人为活动因素影响较小,主要受黄海水流的影响,温度和营养盐浓度最较;而湾内海域靠近陆地,有许多陆源排放口,人类活动频繁,是胶州湾温度最高、盐度最低、营养盐浓度最高的海域(表 1)。基于浮游植物丰度与环境因子的相关性分析显示链状藻的丰度与水温 and 大部分营养盐浓度呈显著的正相关关系(表 4),这与湾内较高的链状藻丰度和生物量有很好的吻合(表 2,表 3)。Hein 等^[34]也研究表明,小粒径浮游植物更适应低营养盐环境,但高营养盐环境更能满足大粒径浮游植物生长,与本文的研究结果相同。

表 4 胶州湾不同功能群浮游植物丰度与环境因子的相关性分析

Tab.4 Correlation between the phytoplankton clusters and the environmental factors

丰度(个/mL)	水温(°C)	盐度	硝酸盐(μmol/L)	亚硝酸盐(μmol/L)	氨盐(μmol/L)	磷酸盐(μmol/L)	硅酸盐(μmol/L)
聚球藻	-0.543	0.235	-0.365	-0.11	-0.17	-0.275	-0.454
微微型真核浮游植物	0.613*	-0.478	0.502	0.771**	0.747*	-0.267	0.368
隐藻	-0.61*	-0.432	0.789**	0.907**	0.753**	-0.67*	0.839**
微型单细胞藻	0.273	-0.171	0.297	0.45	0.11	-0.243	-0.065
小型单细胞藻	-0.165	0.039	0.246	-0.46	-0.25	-0.192	-0.344
链状藻	0.788**	-0.854*	0.957**	0.872**	0.894**	0.168	0.812**

注: n=12; *表示差异显著(P<0.05), **表示差异极显著(P<0.01)

3.2 胶州湾浮游植物粒级结构及生物量估算

浮游植物粒径分布方法研究目前主要包括叶绿素 a 粒级分离法、电子粒度分析法 and 显微测量粒径分析等方法(表 5)^[35-37]。其中,对于浮游植物粒级结构的研究,最常用的方法是叶绿素 a 粒级分离法^[38]。本文基于 CytoSub 的研究结果表明,胶州湾湾外湾外浮游植物生物量以微型浮游植物(63.37%)为主,小型浮游植物次之 32.73%,微微型浮游植物仅有 3.90%;胶州湾湾内浮游植物生物量以微型浮游植物(83.62%)为主,小型浮游植物(14.19%)次之,微微型

浮游植物仅有 2.19%。但是,孙晓霞等^[36]采用叶绿素 a 粒级分离法对胶州湾 2003~2010 年浮游植物粒级结构进行的研究结果表明胶州湾表层浮游植物粒级组成以小型和微型浮游植物为主;孙军等^[34]由叶绿素 a 粒级分离法研究得出胶州湾浮游植物粒径结构平面分布情况为以小型浮游植物为主(60.65%),微型浮游植物只有 39.35%。从以上结果可知,在本研究中微型浮游植物生物量对浮游植物总生物量的贡献率高于以往调查资料,可能的原因是使用 CytoSub 对链状硅甲藻进行分类计数时能根据链内每个浮游植物细胞的大小进行分粒级计数,而传统的叶绿素 a

粒级分离法叶绿素 *a* 粒级分离法虽简单易行, 但其在网筛和滤膜粒级分离时会造成不可避免的误差^[35]。对胶州湾浮游植物种类组成的长期研究也表明, 中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)为胶州湾最重要的优势种, 且旋链角毛藻(*Chaetoceros curvisetus*)也是胶州湾较重要的种类^[24]。孙军等^[35]指出当调查海域优

势种为链状浮游植物群体时, 传统的叶绿素 *a* 粒级分离法、电子粒度分析法都会低估微型和微微型浮游植物的生物量, 高估>20 μm 的小型浮游植物的贡献。因此, CytoSub 应用在小粒径的链状藻占优势的海域具有极大的优势, 可以有效地避免分粒级过滤中的误差, 从而准确监测浮游植物群落的粒级结构。

表 5 浮游植物粒级观测技术类型及比较

Tab. 5 Characteristics and comparison of techniques used the observation of phytoplankton size distribution

技术类型	浮游植物类型和粒度	类群组成	检测速度	测定范围	能否区分生物颗粒和非生物颗粒	能否区分单个细胞和链状细胞
叶绿素分级法	全粒级浮游植物	粒级	慢	实验室监测	能	否
电子粒度分析法	全粒级浮游植物	粒级	较快	实验室监测	否	否
显微镜分析技术	微型及以上浮游植物	种类	慢	实验室监测	能	能
CytoSub 技术	全粒级浮游植物	色素及粒级特征类群	快	现场监测	否	能

参考文献:

[1] 孙松, 张永山, 吴玉霖, 等. 胶州湾初级生产力周年变化[J]. 海洋与湖沼, 2005, 36(6): 481-486.
Sun Song, Zhang Yongshan, Wu Yulin, et al. Annual variation of primary productivity in Jiaozhou Bay[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2005, 36 (6): 481-486.

[2] Field C B, Behrenfeld M J, Randerson J T, et al. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components[J]. Science, 1998, 281: 237-240.

[3] Falkowski P G, Laws E A, Barber R T, et al. Phytoplankton and their role in primary new and export production[M]. In M. J. R. Fasham. (ed.) Ocean biogeochemistry, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2003: 99-121.

[4] 高亚辉, 杨军霞, 骆巧琦, 等. 海洋浮游植物自动分析和识别技术[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2006, 45(2): 40-45.
Gao Yahui, Yang Junxia, Luo Qiaoqi, et al. Automatic identification and analysis techniques of marine phytoplankton[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2006, 45 (2): 40-45.

[5] Li W K W. Primary production of prochlorophytes, cyanobacteria and eukaryotic ultraphytoplankton: measurements from flow cytometric sorting[J], Limnol. Oceanogr, 1994, 39: 169-175.

[6] Pena M A, Lewis M R, and Harrison W G. Primary productivity and size structure of phytoplankton biomass on a transect of the equator at 135°W in the Pacific Ocean[J], Deep-Sea Res., 1990, 37: 295.

[7] Tsujimura S, Tsukada H, Nakahara H, et al. Seasonal variations of Microcystis populations in sediments of Lake Biwa, Japan[J]. Hydrobiologia, 2000, 434(1-3): 183-192.

[8] Zhou Q, Chen W, Zhang H, et al. A flow cytometer based protocol for quantitative analysis of bloom-forming cyanobacteri (Microcystis) in lake sediments[J]. Journal of Environmental Sciences, 2012, 24(9): 1709-1716.

[9] 姚鹏, 于志刚, 邓春梅, 等. 基于诊断色素分析的胶州湾浮游藻功能类群研究[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(4): 866-876.
Yao Peng, Yu Zhigang, Deng Chunmei, et al. Functional types of phytoplankton in Jiaozhou Bay using Diagnostic Pigment Analysis (DPA)[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44 (4): 866-876.

[10] Trask B J, van den English G J, Elgershuizen J H B W. Analysis of phytoplankton by flow cytometry[J]. Cytometry, 1982, 2(4): 258-264.

[11] Veldhuis M J W, Kraay G W. Application of flow cytometry in marine phytoplankton research: current applications and future perspectives[J]. Scientia Marina, 2000, 64(2): 121-134.

[12] Chisholm S W, Olson R J, Zettler E R, et al. A novel free-living prochlorophyte abundant in the oceanic euphotic zone[J]. Nature, 1988, 334: 340-343.

[13] Dubelaar G B J, Groenewegen A C, Stokdijk W, et al. The optical plankton analyser (OPA): a flow cytometer for plankton analysis, II: specifications[J]. Cytometry, 1989, 10: 529-539.

[14] Dubelaar G B J, Gerritzen P L, Beeker A E R, et al. Design and first results of CytoBuoy: a wireless flow cytometer for in situ analysis of marine and fresh waters[J]. Cytometry, 1999, 37(4): 247-254.

[15] Dubelaar G B J, Gerritzen P L. CytoBuoy: a step forward towards using flow cytometry in oprational oceanography[J]. Scientia Marina, 2000, 64(2): 244-265.

- [16] Dubelaar G B J, Venekamp R R, Gerritzen P L. Hands-free counting and classification of living cells and colonies[C]. 6th Congress on Marine Sciences. Mar-Cuba 2003, Havana, 1-5 December 2003.
- [17] Dubelaar G B J, Geerders P J F, Jonker R R. High frequency monitoring reveals phytoplankton dynamics[J]. *J Environ Monit*, 2004, 6: 946-952.
- [18] Rutten T P A, Sandee B, Hofman A R T. Phytoplankton monitoring by high performance flow cytometry: A successful approach[J]? *Cytometry*, 2005, 64A(1): 16-26.
- [19] Zobkov M V, Burkill P H. Syringe pumped high speed flow cytometry of oceanic phytoplankton[J]. *Cytometry part A*, 2006, 69A: 1010-1019.
- [20] Thyssen M, Tarran G A, Zubkov M V, et al. The emergence of automated high frequency flow cytometry: revealing temporal and spatial phytoplankton variability[J]. *Journal of Plankton Research*, 2008a, 30: 333-343.
- [21] Thyssen M, Mathieu D, Garcia N, et al. Short-term variation of phytoplankton assemblages in Mediterranean coastal waters recorded with an automated submerged flow cytometer[J]. *Journal of Plankton Research*, 2008b, 30: 1027-1040.
- [22] Dugenne M, Thyssen M, Nerini D, et al. Consequence of a sudden wind event on the dynamics of a coastal phytoplankton community: an insight into specific population growth rates using a single cell high frequency approach[J]. *Front in Microbiol*, 2014, 5(485): 1-14.
- [23] Bonato S, Breton E, Didry M, et al. Spatio-temporal patterns in phytoplankton assemblages in inshore-offshore gradients using flow cytometry: A case study in the eastern English Channel[J]. *Journal of Marine Systems*, 2016, 156: 76-85.
- [24] 孙松, 孙晓霞. 海湾生态系统的理论与实践-以胶州湾为例[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 12-15, 52, 179.
Sun Song, Sun Xiaoxia et al. The theory and practice of the gulf ecosystem-taking Jiaozhou Bay as an example[M]. Beijing: Science Publishing Company, 2015: 12-15, 52, 179.
- [25] 董金海, 焦念志. 胶州湾生态学研究[M]. 北京: 科学出版社, 1995: 2-6.
Dong Jinghai, Jiao Nianzhi. Ecology of Jiaozhou Bay[M]. Beijing: Science Publishing Company, 1995: 2-6.
- [26] Verity P G, Roberson C Y, Tronzo C R, et al. Relationships between cell volume and the carbon and nitrogen content of marine photosynthetic nanoplankton[J]. *Limnology and Oceanography*, 1992, 37(7): 1434-1446.
- [27] Clarke K R, Gorley R N. PRIMER v6: User Manual/Tutorial, PRIMER-E, Plymouth[M]. Spain: Primer-E Press, 2006.
- [28] Waterbury J B, Watson S W, Guillard R R L, et al. Widespread occurrence of a unicellular, marine, planktonic cyanobacteria[J]. *Nature*, 1979, 277: 293-294.
- [29] Olson R J, Zettler E R, Anderson O K. Discrimination of eukaryotic phytoplankton cell types from light scatter and autofluorescence properties measured by flow cytometry[J]. *Cytometry*, 1989, 10: 636-643.
- [30] Bonato S, Christaki U, Lefebvre A, et al. High spatial variability of phytoplankton assessed by flow cytometry, in a dynamic productive coastal area, in spring: The eastern English Channel[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2015, 154: 214-223.
- [31] Thyssen M, Alvain S, Lefebvre A, et al. Phytoplankton community structure in the North Sea: coupling between remote sensing and automated in situ analysis at the single cell level. *Biogeosciences*, 2015, 11: 15621-15662.
- [32] 刘东艳, 孙军, 陈洪涛, 等. 2001 年夏季胶州湾浮游植物群落结构的特征[J]. *青岛海洋大学学报*, 2003, 33: 366-374.
Liu Dongyan, Sun Jun, Chen Hongtao, et al. The phytoplankton community in summer 2001 in Jiaozhou Bay, China[J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2003, 33: 366-374.
- [33] 吴玉霖, 孙松, 张永山. 环境长期变化对胶州湾浮游植物群落结构的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2005, 36(6): 487-498.
Wu Yulin, Sun Song, Zhang Yongshan. Long-term change of environment and its influence on phytoplankton community structure in Jiaozhou Bay[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2005, 36(6): 487-498.
- [34] Hein M, Riemann B. Nutrient limitation of phytoplankton biomass or growth rate: An experimental approach using marine enclosures[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1995, 188, 167-180
- [35] 孙军, 刘东艳, 钟华, 等. 浮游植物粒级研究方法的比较[J]. *青岛海洋大学学报*, 2003, 33(6): 917-924.
Sun Jun, Liu Dongyan, Zhong Hua, et al. A comparison of three methods for studying phytoplankton size fraction[J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2003, 33 (6): 917-924.
- [36] 杨茹君, 王修林, 石晓勇, 等. 海洋浮游植物粒径分布方法研究[J]. *高技术通讯*, 2004, 14(6): 89-94.
Yang Rujun, Wang Xiulin, Shi Xiaoyong, et al. Study on the size distribution of marine phytoplankton[J]. *Chinese High Technology Letters*, 2004, 14 (6): 89-94.
- [37] 孙晓霞, 孙松. 胶州湾浮游植物粒级结构及其时空变化[J]. *海洋与湖沼*, 2012, 43(3): 411-418.
Sun Xiaoxia, Sun Song. Phytoplankton size structure and its temporal and spatial changes in Jiaozhou Bay[J].

Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43 (3): 411-418.

[38] 国家技术监督局. 海洋调查规范. GB 12763-1991.北

京: 中国标准出版社, 1991.

Specifications for oceanographic survey. GB 12763-1991. National Quality Technical Supervise Department.

High-resolution analysis of Jiaozhou Bay phytoplankton community structure based on automated submerged flow cytometer during spring

CHEN Yun-yan^{1, 2}, SUN Xiao-xia^{1, 3}, ZHU Ming-liang¹

(1. Jiao Zhou Bay Marine Ecosystem Research Station, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences (IOCAS), Qingdao 266071, China; 2. University Of Chinese Academy Of Sciences, 19 Yuquan Road, Beijing 100049, China; 3. Laboratory For Marine Ecology And Environmental Science, Qingdao National Laboratory For Marine Science And Technology, Qingdao 266071, China)

Received: Dec. 18, 2016

Key words: Phytoplankton; CytoSub; Flow Cytometry; size fraction analysis; Jiaozhou Bay

Abstract: This study presents an integrated analysis of the phytoplankton community of Jiaozhou Bay during the spring of 2014 using CytoSub, an automated submersible flow cytometry method. Data treatment was conducted on the basis of pulse shape analysis and resolved six clusters, which were named *Synechococcus*, picoeukaryotes, cryptophytes, nanoeukaryotes, microeukaryotes, and chainseukaryotes. Primer analysis showed that Jiaozhou Bay phytoplankton mainly included 2 phytoplankton groups; group 1 mainly comprised stations out of Jiaozhou Bay and group 2 mainly comprised stations inside Jiaozhou Bay. The phytoplankton biomass of group 1 (15.15 $\mu\text{g C/L}$) was lower than that of group 2 (72.83 $\mu\text{g C/L}$). Group 1 was mainly composed of nanoeukaryotes, chainseukaryotes, and microeukaryotes, while group 2 was mainly composed of chainseukaryotes. Chainseukaryotes were predominant in Jiaozhou Bay and positively correlated with temperature and nutrients. Compared to other phytoplankton size fraction analysis methods, CytoSub provided an accurate evaluation of the phytoplankton community dominated by the chainseukaryotes.

(本文编辑: 梁德海)