

渤海浮游病毒的时空分布*

王健^{1,2} 汪岷^{1①} 刘哲³ 刘东艳⁴ 杨琳^{1,5}
卢龙飞¹ 王艳¹ 孙辉¹

(1. 中国海洋大学海洋生物遗传学与基因资源利用教育部重点实验室 青岛 266003; 2. 中国海洋大学极地海洋过程与全球海洋变化重点实验室 青岛 266100; 3. 中国海洋大学环境科学与工程学院 青岛 266100; 4. 中国科学院烟台海岸带研究所 烟台 264003; 5. 中国海洋大学生物多样性与进化研究所 青岛 266003)

提要 利用流式细胞仪对渤海浮游病毒的丰度分布进行了研究。结果表明, 浮游病毒丰度在 $6.40 \times 10^5 - 3.59 \times 10^7$ 个/mL 之间。辽东湾断面, 浮游病毒丰度春季在西部海域较高, 夏季在中部海域较高, 秋、冬季在东、西部海域均较高; 渤海湾断面, 4季丰度均在中部海域出现高值区; 莱州湾断面, 夏、秋、冬季均在东部海域出现丰度高值区; 渤海海峡断面, 春、秋、冬季于海峡中部海域丰度较高。垂直分布上, 表层和底层水体浮游病毒丰度在夏季差异性显著, 在其它季节无显著差异。夏季浮游病毒丰度显著高于其它季节。夏季, 连续站浮游病毒丰度昼夜波动幅度较大, 冬季较平缓。相关性分析表明, 浮游病毒丰度在春、夏、秋季均与温度显著正相关; 夏季与异养细菌丰度、微型真核浮游植物丰度显著正相关; 秋季与微型浮游植物丰度显著正相关; 冬季仅与异养细菌丰度显著正相关。

关键词 浮游病毒; 流式细胞仪; 渤海

中图分类号 Q958.885.3

浮游病毒是悬浮在水体中各类病毒的总称, 主要为噬菌体和藻类病毒。它是海洋微食物环的重要组成部分, 对于海洋生态系统中碳和营养物质的流动及生物地化循环起着重要作用(Azam *et al*, 1983; Bratbak *et al*, 1994; Noble *et al*, 1997; Fuhrman, 1999; Wilhelm *et al*, 1999), 病毒裂解和感染的过程能够介导微生物群落遗传物质的交换, 影响微生物宿主的遗传多样性和群落结构(Thingstad, 2000; Miller, 2001; Muhling *et al*, 2005; Bench *et al*, 2007)。鉴于浮游病毒对海洋生态系统的重要影响, 掌握浮游病毒的分布特征对理解海洋生态环境的变化具有重要意义。

渤海位于辽东半岛和胶东半岛之间, 是由黄河、辽河、海河三大水系汇聚的半封闭内海。渤海北部、西部和南部分别为辽东湾、渤海湾和莱州湾, 东部以渤海海峡与黄海相通。面积 77000 km², 平均水深 18 m, 最大水深约 86 m, 位于渤海海峡老铁山水道附近。渤海水质肥沃, 营养盐丰富, 饵料生物繁多, 是中国大

型海洋水产养殖基地。然而, 随着海洋资源的开发利用与陆域活动, 渤海的资源和生态环境受到较大破坏。浮游病毒作为海洋生态系统中重要的类群, 其丰度可作为研究海洋生态环境的参考依据。目前, 有关渤海浮游植物和浮游细菌的研究均已见相关报道(王俊等, 1998; 孙军等, 2002; 白洁等, 2003; 魏皓等, 2003), 但该海域浮游病毒的有关研究还未见报道。本文利用流式细胞仪对渤海浮游病毒丰度的分布特征、昼夜变化和季节变化进行了检测与分析, 并对环境因子与浮游病毒的相关性进行了初步研究, 以为该海域生态环境的监测和研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 站位设定

春季(2010年4月)、夏季(2011年6月)、秋季(2010年9月)、冬季(2011年12月)对渤海(37°40'—39°40'N, 118°50'—121°40'E)进行了4个季节的调查研究, 共

* 国家自然科学基金项目资助, 41076088号。王健, 硕士研究生, E-mail: wangjian0324@126.com

① 通讯作者: 汪岷, 博士, 教授, E-mail: mingwang@ouc.edu.cn, wangmin30@hotmail.com

收稿日期: 2011-12-26, 收修改稿日期: 2012-02-28

设站位 23 个, 其中 22 个站分布于辽东湾、渤海湾、莱州湾和渤海海峡 4 个断面, 1 个连续站位于黄河口附近(图 1)。

1.2 样品的采集、保存与测定方法

依据站位水深的不同, 用 CTD 采水器采集表层、10m 层、20m/30m 层、50m 层以及近底层水样 (春季航次由于莱州湾水深较浅, 只采集了表层和底层水样)。2011 年夏季和冬季, 对连续站表层和底层进行了采水, 每隔 3h 一次, 连续采水 9 次(冬季航次由于大风影响, 连续采水 7 次)。每个站点每层采集 5mL 水样, 立即用终浓度为 0.5% 的戊二醛溶液固定 30min, 放入液氮中快速冷冻, 然后置于 -80°C 超低温冰箱保存。测定时, 将深度冰冻的水样置于 37°C 水浴锅中解冻, 经 SYBR Gold 染料避光染色 15min, 上样至流式细胞仪(BD FACSCalibur), 记录实验结果。

1.3 环境理化参数的测定

温度、盐度、深度数据由船载 CTD 测得。

1.4 数据分析

用 Surfer 8.0 软件分析 4 个断面浮游病毒的丰度分布, 并利用 SPSS 软件对 4 季各断面浮游病毒丰度分布的差异性进行分析, Pearson 相关系数法分析浮游病毒丰度与异养细菌、微微型浮游植物丰度(实验室未发表数据)及环境因子的相关性。

2 结果与讨论

2.1 浮游病毒的分布特征

2.1.1 浮游病毒的断面分布 辽东湾断面, 浮游

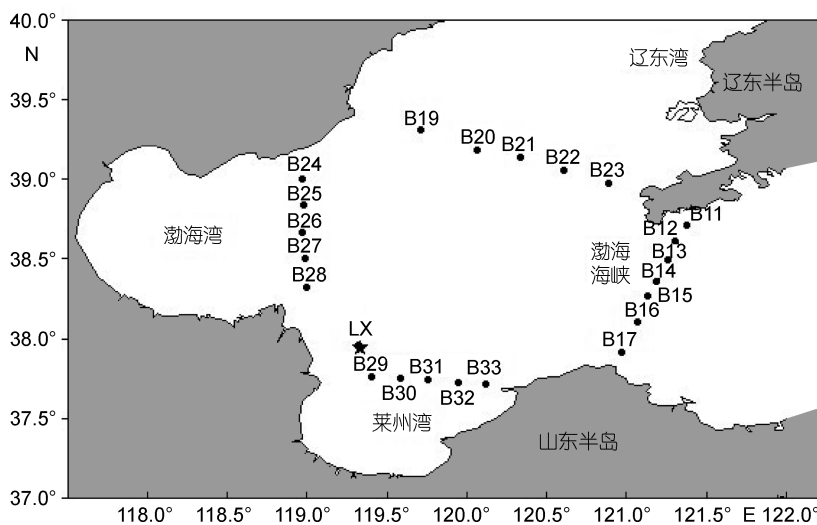


图 1 渤海采样站位

Fig.1 Sampling stations in the Bohai Sea

★表示连续站

病毒丰度春季在断面西侧近秦皇岛海域较高, 夏季在中部海域较高, 秋、冬季在断面东、西两侧近大连、秦皇岛海域均较高(图 2)。春、秋、冬季均表现为近岸水域浮游病毒丰度较高, 这可能与海水富营养化有关, 辽东湾属三面环陆、一面环海的封闭式海湾, 海水交换能力很弱, 近岸区工业污水和生活污水直接流入湾内, 多条河流在此流入渤海, 向湾内输送大量的有机物和营养盐, 使得辽东湾富营养化程度较高, 为浮游植物和异养细菌的大量繁殖提供了有力条件, 利于浮游病毒的繁殖和释放, 所以浮游病毒丰度的高值区出现在近岸。渤海湾断面, 浮游病毒丰度 4 季均在中部海域较高(图 3)。渤海湾由于水深较浅, 推测浮游病毒丰度在该海区的分布可能是受河流冲淡水的影响, 沿岸河流含沙量大, 滩涂广阔, 注入湾内时携带的大量泥沙使得水层透光度下降, 水体中初级生产力降低, 生物量减少, 渤海湾断面北侧和南侧分别受到海河、滦河冲淡水和黄河冲淡水的影响, 所以浮游病毒丰度低于中部海域。莱州湾断面, 浮游病毒丰度夏、秋、冬季均是在断面东侧近龙口港海域较高(图 4)。莱州湾与渤海湾类似, 水深较浅, 受河流冲淡水影响较大, 断面西侧有黄河水注入, 受黄河冲淡水的影响, 浮游病毒丰度较东部水域低。渤海海峡断面, 浮游病毒丰度春、秋、冬季在海峡中部海域丰度值较高, 夏季在海峡两侧丰度值较高(图 5)。渤海海峡位于渤海和黄河的交界处, 浮游病毒丰度的分布可能是受到渤海环流、黄海暖流、北黄海冷水团的影响, 季节、温度、盐度、宿主的分布特征及水体富

营养化也会对其产生影响, 推测渤海海峡浮游病毒丰度分布是受复杂的多因素影响。通过独立样本的均值检验发现, 浮游病毒丰度春季在渤海海峡断面最高, 与辽东湾断面、渤海湾断面差异性显著 ($P < 0.05$), 在其它季节各断面无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.1.2 浮游病毒丰度的垂直变化 夏季表层和底层水体浮游病毒丰度差异性显著 ($P < 0.05$), 其它各季节各水层差异性不显著 ($P > 0.05$)。浮游病毒丰度在夏季表层水体最高, 原因可能是夏季光照较强, 表层水体光线较好, 依赖光合作用的藻类生长旺盛, 以藻类为食的其它生物也大量生长繁殖, 寄生在这些藻类和微生物中的病毒繁殖和释放量增加, 浮

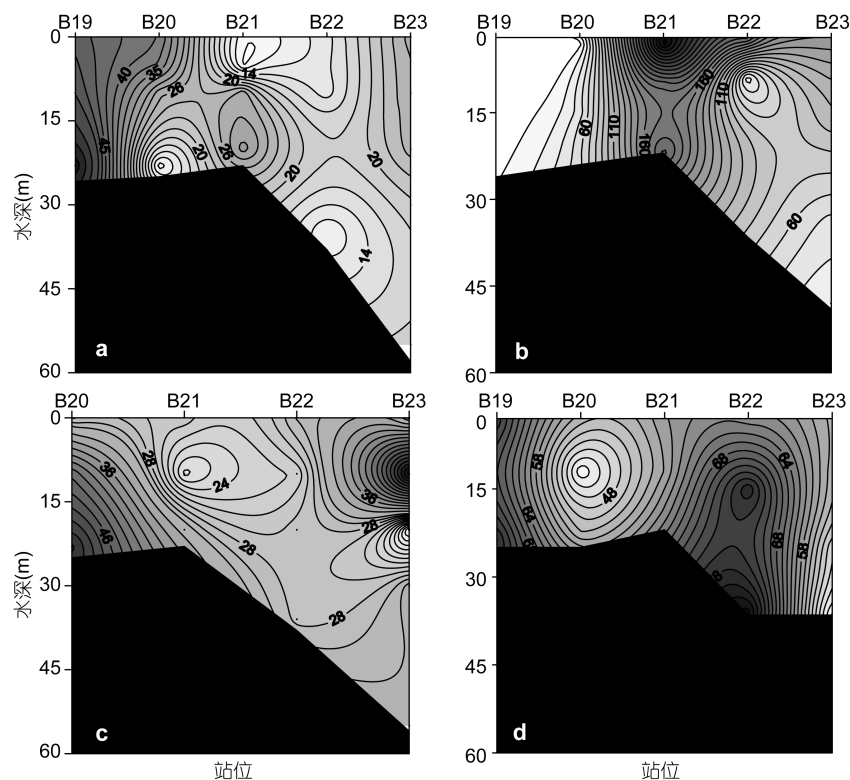


图 2 辽东湾断面浮游病毒丰度的分布(单位: $\times 10^5$ 个/mL)

Fig.2 Distribution of virioplankton abundance in the Liaodong Bay Transect (unit: $\times 10^5$ viruses/mL)

a. 春季; b. 夏季; c. 秋季; d. 冬季

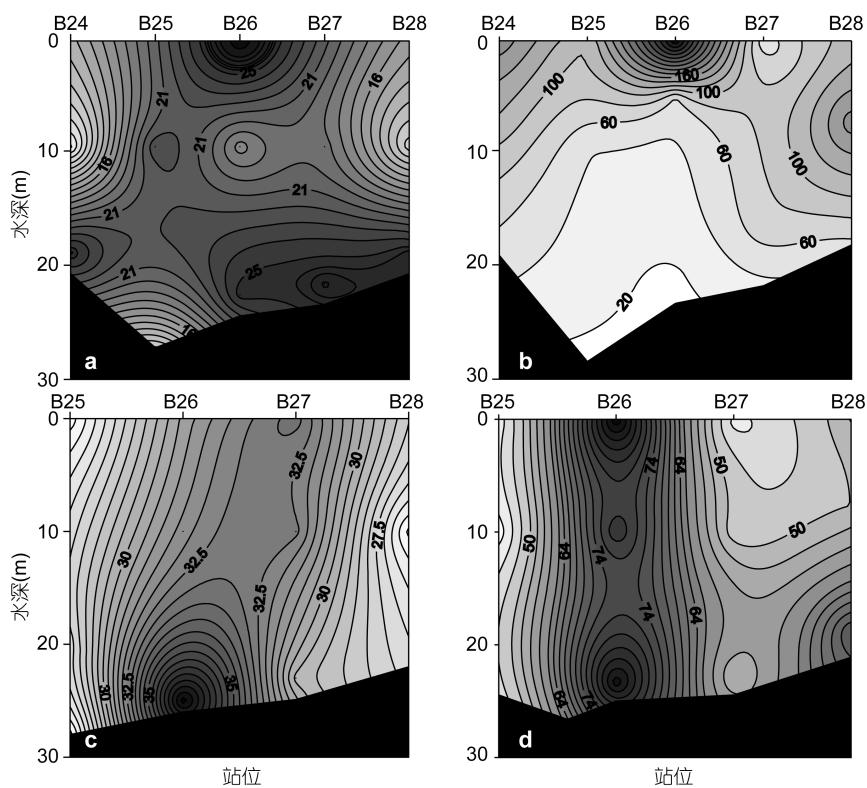


图 3 渤海湾断面浮游病毒丰度的分布(单位: $\times 10^5$ 个/mL)

Fig.3 Distribution of virioplankton abundance in the Bohai Bay Transect (unit: $\times 10^5$ viruses/mL)

a. 春季; b. 夏季; c. 秋季; d. 冬季

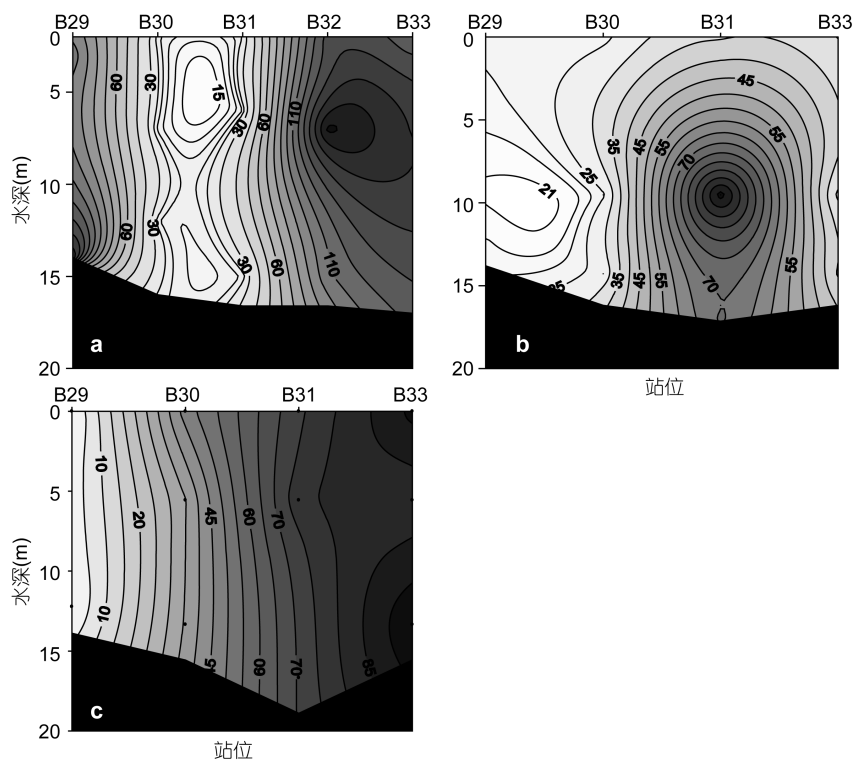


图4 莱州湾断面浮游病毒丰度的分布(单位: $\times 10^5$ 个/mL)

Fig.4 Distribution of virioplankton abundance in the Laizhou Bay Transect (unit: $\times 10^5$ viruses/mL)

a. 夏季; b. 秋季; c. 冬季

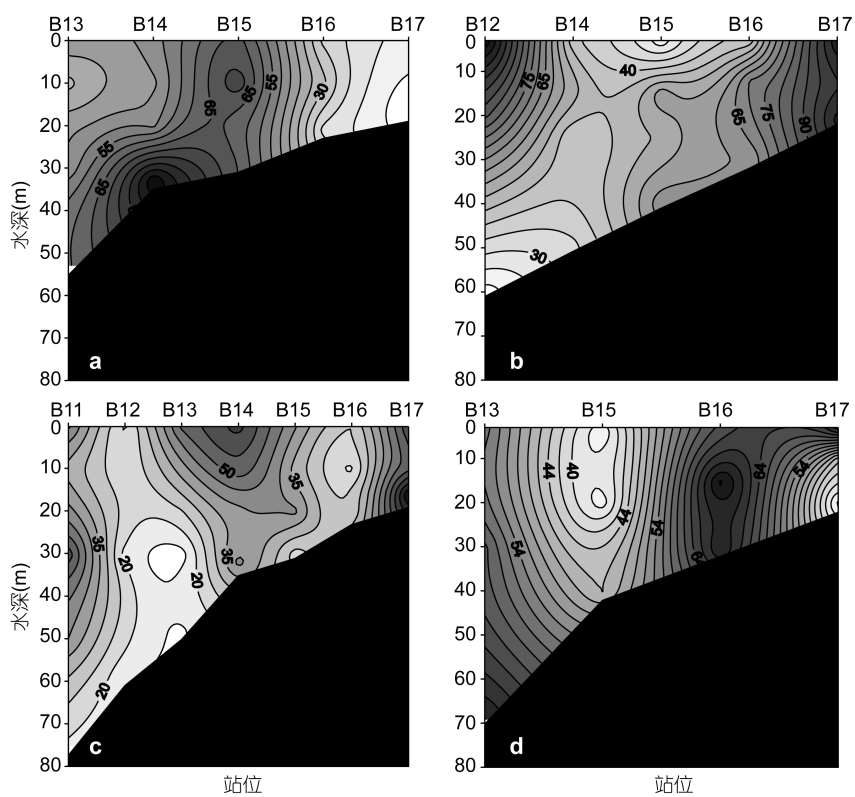


图5 渤海海峡断面浮游病毒丰度的分布(单位: $\times 10^5$ 个/mL)

Fig.5 Distribution of virioplankton abundance in the Bohai Strait Transect (unit: $\times 10^5$ viruses/mL)

a. 春季; b. 夏季; c. 秋季; d. 冬季

游病毒丰度相应就高(白晓歌等, 2007)。梁彦韬等(2008)对于青岛近海浮游病毒丰度的研究也发现, 夏季表层水体浮游病毒丰度高于底层水体。

2.1.3 浮游病毒丰度的季节变化 春季, 浮游病毒丰度变化范围在 $6.40 \times 10^5 - 9.43 \times 10^6$ 个/mL 之间, 平均值为 2.98×10^6 个/mL; 夏季, 丰度变化范围在 $1.28 \times 10^6 - 3.59 \times 10^7$ 个/mL 之间, 平均值为 8.28×10^6 个/mL; 秋季, 丰度变化范围在 $1.30 \times 10^6 - 1.02 \times 10^7$ 个/mL 之间, 平均值为 3.38×10^6 个/mL; 冬季, 丰度变化范围在 $3.54 \times 10^6 - 8.97 \times 10^6$ 个/mL 之间, 平均值为 5.77×10^6 个/mL。通过独立样本的均值检验发现, 夏季丰度显著高于其它季节($P < 0.01$), 春、秋、冬季浮游病毒丰度差异不显著($P > 0.05$)。本文检测到浮游病毒丰度在夏季最高, 原因可能是渤海水深较浅, 且是近封闭的海区, 受海水温度的影响较大, 夏季海水温度高, 异养细菌和微微型浮游植物等宿主数量增加, 浮游病毒大量繁殖和释放, 导致水体中浮游病毒丰度增高。据文献报道, 许多水域也检测到浮游病毒丰度的季节性变化, 且认为夏季水体中病毒丰度较高是与水温有关(Bergh *et al*, 1989; Wommack *et al*, 1992; Jiang *et al*, 1994; Cochran *et al*, 1998; August *et al*, 2005)。

2.1.4 浮游病毒丰度的昼夜变化 夏季, 连续站浮游病毒丰度范围在 $1.05 \times 10^6 - 1.01 \times 10^7$ 个/mL 之间, 昼夜波动幅度较大。表层水体浮游病毒在 15:00 和 0:00 出现峰值, 底层水体浮游病毒在 15:00 和 21:00 出现峰值, 表层和底层水体均在 3:00 出现丰度最低值(图 6)。冬季, 连续站浮游病毒丰度范围在 $3.61 \times 10^5 - 8.31 \times 10^5$ 个/mL 之间, 昼夜波动幅度较平缓。表层和底层浮游病毒丰度均在 22:00 和 7:00 出现谷值(图 7)。冬季黄河口风浪大, 上下水层温度、盐度等在垂直方向上分布均匀, 从而浮游病毒丰度表、底层变化趋势较为一致。

2.2 浮游病毒丰度与宿主、环境因子的相关性

本文运用 Pearson 相关系数法对渤海浮游病毒丰度与异养细菌、微微型浮游植物丰度及环境参数之间进行了相关性分析。

春季, 渤海浮游病毒丰度与温度显著正相关($P < 0.01$, $r = 0.689$), 与盐度显著负相关($P < 0.01$, $r = -0.659$) (表 1)。夏季, 浮游病毒丰

度与温度、异养细菌丰度、微微型真核浮游植物丰度及 VBR 均显著正相关($P < 0.05$, $r = 0.236$, $r = 0.284$; $P < 0.01$, $r = 0.445$, $r = 0.784$), 与水深显著负相关($P < 0.01$, $r = -0.326$) (表 2)。秋季, 浮游病毒丰度与温度、聚球藻和微微型真核浮游植物丰度均显著正相关($P < 0.05$, $r = 0.246$, $r = 0.236$, $r = 0.269$) (表 3)。冬季, 浮游病毒丰度仅与异养细菌丰度显著正相关($P < 0.05$, $r = 0.268$) (表 4)。

浮游病毒丰度夏季与异养细菌、微微型真核浮游植物丰度均显著正相关, 结合渤海夏季温度、盐度, 异养细菌和微微型浮游植物的分布特点(本实验室未发表数据), 分析原因可能是夏季营养丰富、水温适宜, 有利于浮游植物生长; 浮游植物的生长将无机营养物质转化为有机营养成分, 为异养细菌提供了更多可利用的有机物, 促进细菌生长; 异养细菌数量增加, 制造出大量的无机营养物; 这些物质又可以维持浮游植物的生长, 宿主数量的增加使浮游病毒大量繁殖, 呈现出与宿主的显著相关性。秋季, 浮游病毒丰度与聚球藻和微微型真核浮游植物丰度显著正相关, 本实验室检测到的微微型浮游植物丰度(实验室未发

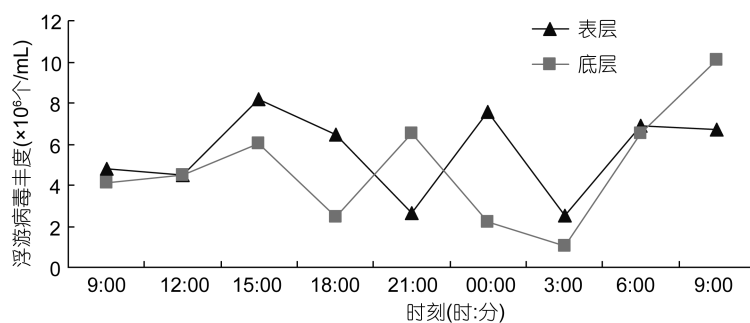


图 6 夏季渤海连续站浮游病毒丰度昼夜变化曲线

Fig. 6 Diel variation of virioplankton abundance in the anchor station of the Bohai Sea in summer

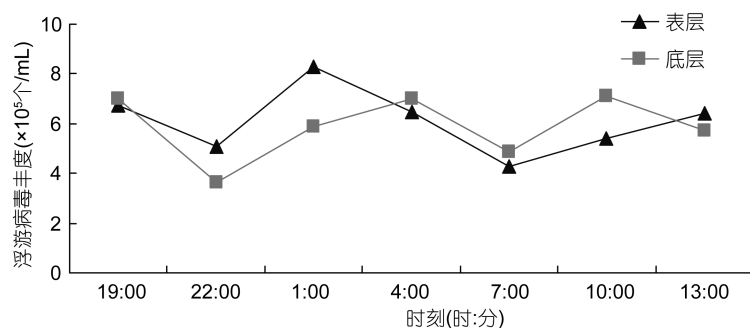


图 7 冬季渤海连续站浮游病毒丰度昼夜变化曲线

Fig. 7 Diel variation of virioplankton abundance in the anchor station of the Bohai Sea in winter

表 1 春季浮游病毒丰度与宿主丰度、环境参数间的 Pearson 相关系数

Tab.1 Pearson correlation coefficients among virioplankton abundance, hosts abundance and environmental parameters in spring							
相关影响因子	Vir	HB	VBR	Syn	Euk	Tem	Sal
HB	0.184						
VBR	0.035	-0.192					
Syn	-0.209	0.122	-0.335**				
Euk	-0.095	-0.213	-0.076	-0.173			
Tem	0.689**	-0.125	0.646**	-0.162	0.054		
Sal	-0.659**	0.254*	-0.831**	0.300*	0.071	-0.787**	
Dep	-0.114	0.123	-0.100	0.176	-0.052	-0.371**	0.183

注: Vir: 浮游病毒; HB: 异养细菌; VBR: 病毒/细菌比值; Syn: 聚球藻; Euk: 微微型真核浮游植物; Tem: 水温; Sal: 盐度; Dep: 水深。* $P<0.05$ 水平的显著相关性(双尾 t 检验), ** $P<0.01$ 水平的显著相关性(双尾 t 检验)。下同

表 2 夏季浮游病毒丰度与宿主丰度、环境参数间的 Pearson 相关系数

Tab.2 Pearson correlation coefficients among virioplankton abundance, hosts abundance and environmental parameters in summer							
相关影响因子	Vir	HB	VBR	Syn	Euk	Tem	Sal
HB	0.284*						
VBR	0.784**	-0.216					
Syn	0.206	0.173	0.114				
Euk	0.445**	0.434**	0.179	-0.071			
Tem	0.236*	0.321**	0.084	0.276*	0.127		
Sal	-0.085	0.013	-0.154	-0.248*	0.144	-0.727**	
Dep	-0.326**	-0.253*	-0.226*	-0.287*	-0.122	-0.727**	0.527**

表 3 秋季浮游病毒丰度与宿主丰度、环境参数间的 Pearson 相关系数

Tab.3 Pearson correlation coefficients among virioplankton abundance, hosts abundance and environmental parameters in autumn							
相关影响因子	Vir	HB	VBR	Syn	Euk	Tem	Sal
HB	0.017						
VBR	0.070	-0.229					
Syn	0.236*	0.305**	-0.010				
Euk	0.269*	0.449**	0.120	0.765**			
Tem	0.246*	0.059	-0.095	0.026	0.066		
Sal	-0.061	0.151	-0.044	0.027	0.030	-0.425**	
Dep	-0.139	-0.044	0.097	-0.140	-0.119	-0.744**	0.390**

表 4 冬季浮游病毒丰度与宿主丰度、环境参数间的 Pearson 相关系数

Tab.4 Pearson correlation coefficients among virioplankton abundance, hosts abundance and environmental parameters in winter							
相关影响因子	Vir	HB	VBR	Syn	Euk	Tem	Sal
HB	0.268*						
VBR	0.052	-0.628**					
Syn	0.049	0.229	-0.189				
Euk	-0.090	0.155	-0.195	0.184			
Tem	0.009	0.129	-0.097	-0.102	0.077		
Sal	-0.167	0.076	-0.014	-0.060	0.056	0.337**	
Dep	-0.182	-0.038	-0.068	0.182	0.220	0.230	0.164

表数据)也显示这两类浮游植物均在秋季丰度高,推测秋季水体中营养物质丰富,浮游植物生长旺盛,病毒迅速侵染,大量复制和释放,导致水体中浮游病毒丰度增加。冬季,浮游植物数量减少,且低温导致原生动物的捕食细菌的能力减弱,水体中细菌数量较

多,因此浮游病毒丰度仅与异养细菌丰度显著正相关。

参 考 文 献

王 俊, 1998. 渤海浮游植物种群动态的研究. 海洋水产研究, 19(6): 43—52
白 洁, 李岿然, 李正炎等, 2003. 渤海春季浮游细菌分布与

- 生态环境因子的关系. 青岛海洋大学学报, 33(6): 841—846
- 白晓歌, 汪 岷, 马晶晶等, 2007. 冬季和春季长江口及其近海水域浮游病毒丰度的分析. 海洋与湖沼, 38(4): 367—372
- 孙 军, 刘东艳, 杨世民等, 2002. 渤海中部和渤海海峡及邻近海域浮游植物群落结构的初步研究. 海洋与湖沼, 33(5): 461—471
- 梁彦韬, 汪 岷, 白晓歌等, 2008. 青岛近海水域夏季和冬季浮游病毒丰度的分析. 海洋与湖沼, 39(4): 411—418
- 魏 皓, 赵 亮, 于志刚等, 2003. 渤海浮游植物生物量时空变化初析. 青岛海洋大学学报, 33(2): 173—179
- Auguet J C, Montanie H, Delmas D *et al*, 2005. Dynamic of virioplankton abundance and its environmental control in the Charente Estuary (France). *Microb Ecol*, 50: 337—349
- Azam F, Fenchel T, Field J G *et al*, 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar Ecol Prog Ser*, 10: 257—263
- Bench S R, Hanson T E, Williamson K E, 2007. Metagenomic characterization of Chesapeake Bay virioplankton. *Appl Environ Microbiol*, 73: 7629—7641
- Bergh O, Borsheim K Y, Bratbak G *et al*, 1989. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature*, 340: 467—468
- Bratbak G, Thingstad F, Heldal M, 1994. Viruses and the microbial loop. *Microb Ecol*, 28: 209—221
- Cochran P K, Paul J H, 1998. Seasonal abundance of lysogenic bacteria in a subtropical estuary. *Appl Environ Microbiol*, 64: 2308—2312
- Fuhrman J A, 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature*, 399: 541—548
- Jiang S C, Paul J H, 1994. Seasonal and diel abundance of viruses and occurrence of lysogeny/bacteriocinogeny in the marine environment. *Mar Ecol Prog Ser*, 104: 163—172
- Miller R V, 2001. Environmental bacteriophage-host interactions: factors contributing to natural transduction. *Antonie Leeuwenhoek*, 79: 141—147
- Muhling M, Fuller N J, Millard A *et al*, 2005. Genetic diversity of marine *Synechococcus* and co-occurring cyanophage communities: evidence for viral control of phytoplankton. *Environ Microbiol*, 7: 499—508
- Noble R T, Fuhrman J A, 1997. Virus decay and its causes in coastal waters. *Appl Environ Microbiol*, 63: 77—83
- Thingstad T F, 2000. Elements of a theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems. *Limnol Oceanogr*, 45: 1320—1328
- Wilhelm S W, Suttle C A, 1999. Viruses and nutrient cycles in the sea—viruses play critical roles in the structure and function of aquatic food webs. *Bioscience*, 49: 781—788
- Wommack K E, Hill R T, Kessel M *et al*, 1992. Distribution of viruses in the Chesapeake Bay. *Appl Environ Microbiol*, 58(9): 2965—2970

THE SPATIAL AND TEMPORAL DISTRIBUTION OF VIRIOPLANKTON IN THE BOHAI SEA

WANG Jian^{1,2}, WANG Min¹, LIU Zhe³, LIU Dong-Yan⁴, YANG Lin^{1,5},
LU Long-Fei¹, WANG Yan¹, SUN Hui¹

(1. Key Laboratory of Marine Genetics and Gene Resource Exploitation of Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao, 266003; 2. Key Laboratory of Polar Oceanography and Global Ocean Change, Ocean University of China, Qingdao, 266100; 3. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao, 266100; 4. Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai, 264003; 5. Institute of Evolution & Marine Biodiversity, Ocean University of China, Qingdao, 266003)

Abstract We investigated the abundance of virioplankton in 2010—2011 in the Bohai Sea by flow cytometry. Virioplankton abundance ranged from 6.40×10^5 to $3.59 \times 10^7/\text{mL}$. Shown in the northern transect (Liaodong Bay), the abundance was higher in spring, autumn and winter in the eastern and western sectors, and high in the central in all seasons. In the western transect (Laizhou Bay), viral abundance was high in summer, autumn and winter. In the eastern transect (Bohai Strait), it was high in spring, autumn and winter. In vertical direction, significant difference between the virioplankton abundance of the surface and that of the bottom of the sea in summer was found. Diel fluctuation in the abundance was quite obvious in the anchor stations in summer, but in winter. Virioplankton abundance was found closely related with heterotrophic bacteria, picophytoplankton, and temperature: positively between viral and bacterial abundance in summer and winter, and between virioplankton and picophytoplankton in summer and autumn.

Key words virioplankton; flow cytometry; Bohai Sea