

胶州湾浮游病毒的分布研究

赵苑^{1,2}, 武洪庆^{2,3}, 李洪波^{2,4}, 徐晋⁵, 肖天²

(1. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 中国科学院海洋研究所 海洋生态与环境科学重点实验室, 山东 青岛 266071; 3. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 4. 国家海洋环境监测中心, 辽宁 大连 116023; 5. 中南民族大学 生命科学学院, 湖北 武汉 430074)

摘要: 运用荧光显微镜技术, 对2007年6~8月胶州湾14个站点的浮游病毒丰度进行了检测, 分析了病毒在不同月份的水平与垂直分布变化, 发现胶州湾浮游病毒的丰度在 $0.48 \times 10^7 \sim 22.78 \times 10^7$ 个/mL之间, 平均值为 $(5.72 \pm 4.72) \times 10^7$ 个/mL, 7月份病毒丰度明显高于其他两个月($P < 0.01$)。病毒呈现从湾内至湾口至湾外递减的趋势, 病毒垂直分布变化不明显。病毒-细菌比率(VBR)范围为3.90~150.72, 平均值 42.05 ± 28.55 , 处于较高水平。利用多元相关性分析发现, 病毒丰度与异养细菌丰度、聚球藻蓝细菌丰度和叶绿素*a*含量相关, 其相关系数*r*分别为0.605($P < 0.01$), 0.265($P < 0.01$)和0.604($P < 0.05$), 确定系数 R^2 分析表明, 异养细菌和叶绿素*a*对浮游病毒丰度的影响基本相当。病毒丰度与温度、盐度无明显相关性。对VBR的分析表明, 调查区域藻类病毒占总浮游病毒的比例较高; 通过VBR与异养细菌丰度的负相关性分析, 认为胶州湾噬菌体的宿主菌种群较单一。

关键词: 浮游病毒; 荧光显微镜计数; SYBR Green-I; 胶州湾

中图分类号: Q938

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)07-0086-07

自1989年Bergh在海水中观察到高丰度的病毒样颗粒(Viruslike particles, VLPs)以来^[1], 人们发现浮游病毒是丰度最高的海洋浮游生物。近年来的大量研究证明浮游病毒具有着重要的生态学功能, 它们在海洋初级生产力、元素循环、细菌和浮游植物种群多样性、水华过程、基因转移等生物地球化学和生态学过程中起着重要的作用^[2,3]。

近20年来, 对海洋浮游病毒的研究越来越深入, 已有许多关于不同海域浮游病毒丰度及动态变化的报道, 包括近岸海、深海、河口等。目前, 普遍观察到的浮游病毒丰度范围从贫营养海域的 10^4 个/mL到富营养海域的 10^8 个/mL^[3], 通常比浮游细菌的丰度高出一个数量级。中国目前对海洋浮游病毒的检测研究较少, 主要集中在北黄海和长江口水域^[4-6], 作者利用荧光显微镜技术对胶州湾3个月的浮游病毒生态分布进行了检测, 并对影响浮游病毒分布的因素进行了分析, 以期对胶州湾海域生态学研究提供更多的资料。

1 调查海域及样品采集

1.1 调查海域

胶州湾位于中国北部山东半岛的南海岸线地带,

纬度 $35^{\circ}38'N \sim 36^{\circ}18'N$, 经度 $120^{\circ}04'E \sim 120^{\circ}23'E$, 是典型的半封闭性海湾, 总面积约为423 km², 通过约2.5 km宽的湾口与黄海相通^[7]。胶州湾是一个浅海湾, 绝大部分为水深不超过10 m的水下浅滩, 平均水深5 m, 湾口部分水深最大, 约67 m。有超过10条小河通向胶州湾, 为湾内带入大量河水和沉积物。由于近年来周边地区快速的经济的发展, 胶州湾的生态环境受到人类活动的显著影响, 生活污水和工业废水的排入导致胶州湾水质逐年恶化。自2002年起, 中国科学院海洋研究所对胶州湾进行每月一次的生态检测, 通过对生物、化学和水文等指标的检测, 来研究人类活动对胶州湾生态环境的影响。

1.2 调查站位及样品采集

本实验于2007年6月、7月及8月进行了3个航次的样品采集, 具体站位见图1。6月和7月采集了14个站位的水样, 8月采集了13个站位水样(未取

收稿日期: 2009-06-21; 修回日期: 2009-10-12

基金项目: 中国科学院海洋生态与环境科学重点实验室资助项目(KLMEE201002)

作者简介: 赵苑(1983-), 女, 山东青岛人, 博士研究生, 主要从事海洋微小型生物生态学研究, 电话: 0532-82898714, E-mail: vanessa_may@sina.com; 肖天, 通信作者: E-mail: txiao@ms.qdio.ac.cn

D8 站)。其中水深小于 5 m 的站位只取表层水样, 大于 5 m 的取多层。使用 2.5 L 的 Niskin 采水器采集海水, 从中取 4 mL 海水置于无菌的 5 mL 离心管中, 立即用多聚甲醛(Paraformaldehyde, Sigma)进行固定, 终浓度为 1%, 样品 4 °C 避光保存, 带回实验室当天分析完毕。温度、盐度等数据由海鸟 25CTD 进行监测。

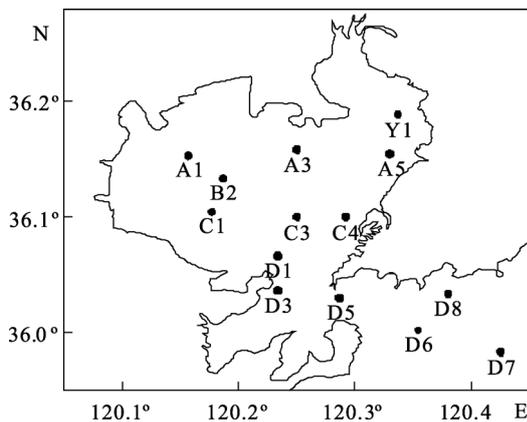


图 1 胶州湾采样站

Fig. 1 Sampling stations in the Jiaozhou Bay

2 实验方法

2.1 浮游病毒计数

病毒直接计数采用 Noble 和 Fuhrman^[8]的方法, 并稍加改动: 取 20~50 μL 固定后的样品(根据病毒丰度进行调整), 加入经 0.22 μm 滤膜预先过滤的 Milli-Q 超纯水稀释至 1 mL。将稀释后的样品用 0.02 μm 的氧化铝膜(Whatman)抽滤, 将病毒滤于膜上, 待干燥, 用 50 μL 终浓度为 0.25% 的 SYBR Green-I (Molecular Probes)染料避光于冰上染色 20 min。染色完毕后在滤膜上加入 20 μL 荧光保护剂[0.1% 对苯二胺(Sigma), 50% 甘油, 50% PBS (NaCl 0.13 mol/L, Na_2HPO_4 7.0 mmol/L, NaH_2PO_4 3.0 mmol/L, Sigma)]防止荧光淬灭, 制片, 进行观察。荧光显微镜(Olympus BH-2)蓝色激发光下(BH-2RFL filter set, BP490 excitation filter, EY455 supplementary exciter filter, O515 barrier filter), 1 000 倍观察, 病毒颗粒呈绿色点状(图 2)。随机取 10~20 个视野计数, 每个样品至少计数 200 个病毒颗粒。

2.2 浮游细菌计数

蓝细菌采用流式细胞仪(BD FACS Vantage SE,

Becton, Dickinson)进行计数。取 1 mL 固定后的样品, 上样至流式细胞仪计数 3 min。蓝细菌由橙色荧光(585 $\text{nm} \pm 21 \text{ nm}$)与侧向散射光(Side Scatter, SSC)的双参数散点图进行鉴别。异养细菌也采用流式细胞仪计数, 取 50 μL 固定后海水样品, 用 TE(Tris-EDTA, 100 mmol/L Tris-Cl, 10 mmol/L EDTA, pH= 8.0, Sigma) 缓冲液稀释至 300 μL , 加入 SYBR Green-I (Molecular Probes)染色剂, 终浓度为 10^{-4} , 避光染色 20 min, 上样至流式细胞仪检测 30 s。采用绿色荧光(530 $\text{nm} \pm 15 \text{ nm}$)和侧向散射光(SSC)的双参数散点图进行鉴别。在检测过程中使用 2 μm 绿色荧光微球 (Polysciences)作为标准内参。

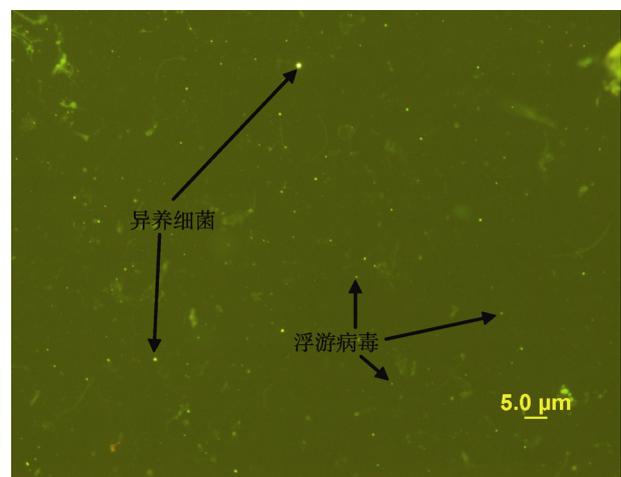


图 2 荧光显微镜视野下的病毒颗粒

Fig. 2 Virus particles under epifluorescence microscopy

2.3 水样中叶绿素 *a* 含量的测定

叶绿素 *a* 含量数据由胶州湾生态站提供。

2.4 数据分析

数据分析使用 SAS 8.2 软件包。对浮游病毒丰度和浮游细菌丰度、叶绿素 *a* 含量和其他水体参数进行多元相关性分析, 用独立样本 *t* 检验法分析月份之间的差异性。

3 结果

3.1 浮游病毒的水平分布

3 个月份浮游病毒和其他微小型浮游生物的水平分布见图 3。通过 3 个月的观测, 发现胶州湾浮游病毒的丰度在 $0.48 \times 10^7 \sim 22.78 \times 10^7$ 个/mL 之间, 平

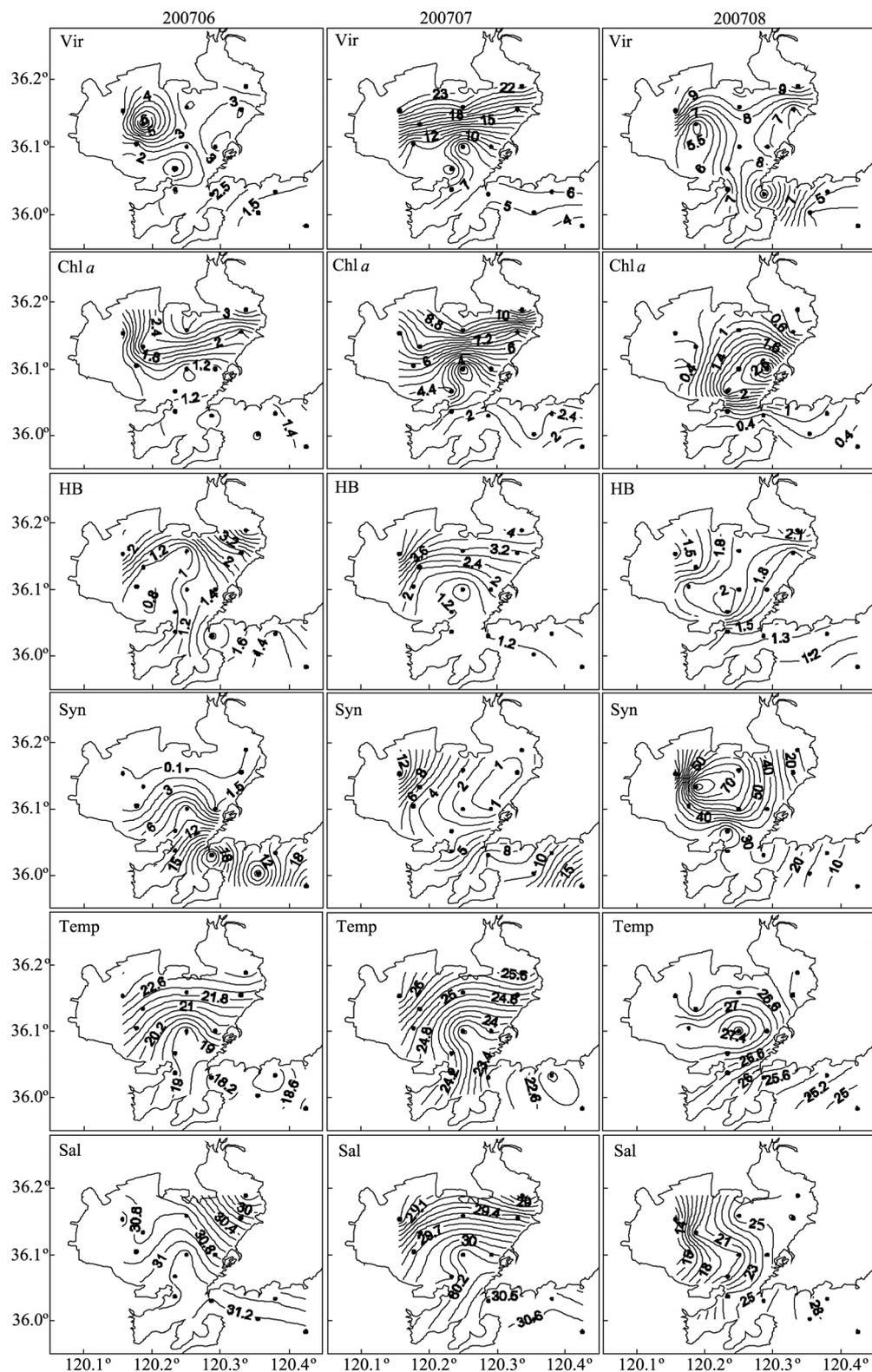


图 3 胶州湾微微型浮游生物、叶绿素 *a* 含量和温度、盐度的水平分布

Fig. 3 Horizontal distributions of picophytoplankton, chlorophyll *a*, temperature and salinity in the Jiaozhou Bay
 Vir: 浮游病毒, 10^7 个/mL; Syn: 聚球藻蓝细菌, 10^3 个/mL; HB: 异养细菌, 10^6 个/mL; VBR: 病毒-细菌比率, Chl*a*: 叶绿素 *a* 质量浓度, $\mu\text{g/L}$; Tem: 水温, $^{\circ}\text{C}$; Sal: 盐度

Vir: Virioplankton, 10^7 particles/mL; Syn: *Synechococcus*, 10^3 cells/mL; HB: Heterotrophic Bacteria, 10^6 cells/mL; VBR: Virus-to- Bacteria Ratio; Chl*a*: Chlorophyll, $\mu\text{g/L}$; Tem: Temperature, $^{\circ}\text{C}$; Sal: Salinity

均值为 $(5.72 \pm 4.72) \times 10^7$ 个/mL ($N=83$)。最高值 22.78×10^7 个/mL 出现在 7 月靠近大沽河河口的 A1 站表层; 最低值 0.48×10^7 个/mL 出现在 6 月 D3 站的底层(5 m)。在 83 个水样中, 病毒丰度超过 10×10^7 个/mL 的共有 9 个, 主要出现在 7 月份和 8 月份湾内近岸表层。其中 6 月、7 月、8 月病毒丰度的平均值分别为 $(2.35 \pm 1.34) \times 10^7$ 个/mL、 $(8.90 \pm 6.09) \times 10^7$ 个/mL、 $(6.04 \pm 2.53) \times 10^7$ 个/mL, 丰度 7 月 > 8 月 > 6 月, 月份之间丰度差异显著 ($P < 0.01$)。

14 个采样站 3 个月份表层的病毒丰度在 $0.74 \times 10^7 \sim 22.78 \times 10^7$ 个/mL 之间, 平均值为 $(7.08 \pm 5.69) \times 10^7$ 个/mL; 底层病毒丰度在 $0.48 \times 10^7 \sim 17.18 \times 10^7$ 个/mL 之间, 平均值为 $(5.06 \pm 3.75) \times 10^7$ 个/mL。

根据位置将胶州湾的 14 个采样站分为湾内(A1、A3、A5、B2、C1、C3、C4、D1、D3、Y1)、湾口(D5)、湾外(D6、D7、D8), 其病毒丰度平均值分别为 $(7.63 \pm 5.76) \times 10^7$ 个/mL、 $(4.59 \pm 2.33) \times 10^7$ 个/mL、 $(3.42 \pm 1.80) \times 10^7$ 个/mL, 丰度呈现从湾内向湾外递减的趋势。

3.2 浮游病毒的垂直分布

由于胶州湾是一个浅海湾, 仅湾口和湾外部分水深较大, 所以取位于湾口的 D5 站和位于湾外的 D6 站来展示浮游病毒的垂直分布情况。3 个月份 D5、D6 站浮游病毒的垂直分布见图 4。浮游病毒的分布与深度无显著关系 ($P > 0.05$)。

3.3 病毒-细菌比率

病毒-细菌比率(Virus-to-Bacteria Ratio, VBR)通常用来分析浮游病毒与其他微小型浮游生物的相互关系^[3]。在本研究中, VBR 值变化范围很广, 最低值

为 3.90, 出现于 2007 年 6 月 Y1 站表层(0 m); 最大值为 150.72, 出现在 2007 年 8 月 D6 站底层(24 m); 平均值为 42.05 ± 28.55 。VBR 与异养细菌丰度呈显著负相关 ($r = -0.638, P < 0.01$) (表 1)。

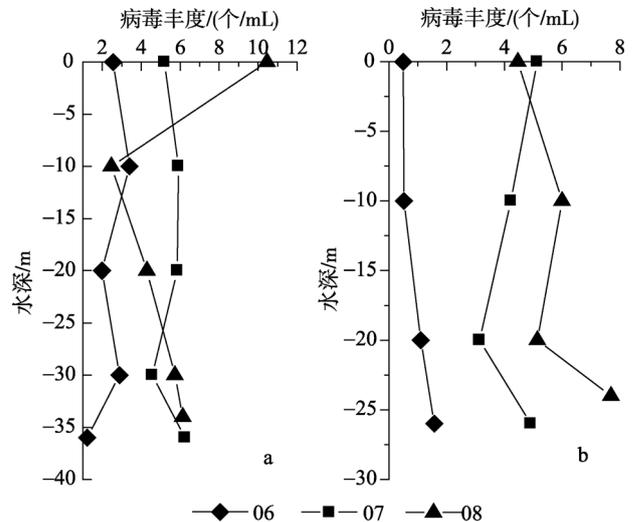


图 4 胶州湾病毒的垂直分布(a. D5 站; b. D6 站)

Fig. 4 Vertical distribution of virioplankton in the Jiaozhou Bay(a. Stn. D5; b. Stn. D6)

3.4 浮游病毒丰度与其他微小型浮游生物丰度、叶绿素 a 和水体参数的相关性

利用 SAS 软件对浮游病毒丰度和其他微小型浮游生物丰度、叶绿素 a 含量和其他水体参数进行多元相关性分析, 所得 Pearson 相关系数数据见表 1。浮游病毒丰度与异养细菌丰度、叶绿素 a 含量呈显著正相关, 其相关系数分别为 0.605 ($P < 0.01$)、0.604 ($P < 0.01$); 与蓝细菌丰度呈正相关 ($r = 0.265, P < 0.05$); 与温度和盐度无显著相关性 ($P > 0.05$)。

表 1 浮游病毒与各生物因素及水体参数的相关系数

Tab. 1 Correlation coefficients between virus and other biological and environmental parameters

	Syn	HB	VBR	Chla	Temp	Sal	Dept
Vir	0.265*	0.605**	0.690**	0.604*	-0.122	-0.173	-0.134
HB			-0.638**				

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Vir: 浮游病毒; Syn: 聚球藻蓝细菌; HB: 异养细菌; VBR: 病毒-细菌比率; Chla: 叶绿素 a; Temp: 水温; Sal: 盐度; Dept: 水深

4 讨论

本研究采用荧光显微镜和 SYBR Green I 核酸染料染色技术, 检测到胶州湾的病毒丰度在 10^7 个/mL 数量级, 个别站位可以达到 10^8 个/mL, 符合目前研

究中绝大多数环境下海洋浮游病毒 $10^4 \sim 10^8$ 个/mL 的范围^[3]。与多数近岸环境研究发现病毒丰度在 10^6 个/mL 数量级相比^[4, 9, 10], 胶州湾的病毒丰度较高。如此高的病毒丰度, 可能与胶州湾独特的地理位置和结构有密切关系, 胶州湾周边城市生活和工业污

水大量排入、湾内养殖区施加的各类肥料, 加上胶州湾的半封闭性, 湾内海水与开放海域海水交换受到一定限制, 使胶州湾内水质长期处于富营养化状态^[11], 为胶州湾内浮游微生物提供了良好的生活环境, 有利于病毒的复制和释放。在对西非大西洋沿岸的 Hann 湾的研究中, Bettarel^[12]也发现了 10^7 个/mL 数量级的浮游病毒, 并且浮游病毒的丰度从湾内、湾口到湾外递减。从图 3 浮游病毒表层分布图明显可以看出, 胶州湾浮游病毒的丰度也是从湾内、湾口到湾外递减。在胶州湾病毒丰度超过 10^8 个/mL 的 9 个样品中, 8 个属于胶州湾湾内采样站, 仅有 1 个位于湾口。近岸站位病毒丰度高于湾外, 可能与部分河口区域严重的富营养化有关, 另外在排入胶州湾的生活和工业污水中也可能携带了大量的病毒和细菌, 导致该区域的病毒丰度进一步增高。

胶州湾深度较浅, 由风、海浪、潮流以及海岸和海底摩擦等引起的混合效应极为显著^[13], 导致浮游病毒的垂直分布呈现均匀状态, 对水深最大的两个采样站的研究发现, 胶州湾浮游病毒的丰度与深度无明显相关性。

在电镜观察研究浮游病毒时, 人们发现绝大多数的浮游病毒外形呈噬菌体形态^[14]; 与此同时, 对浮游病毒基因组研究发现, 绝大多数病毒基因组在 20~60 kb, 属于噬菌体的基因组大小范围^[3], 这些证据证明, 噬菌体在浮游病毒种群中占主导地位。这也是目前绝大多数的研究中发现浮游病毒的丰度与异养细菌丰度显著相关^[9, 15, 16]的原因。在本研究中, 胶州湾浮游病毒与异养细菌丰度呈显著正相关($r=0.605$, $P<0.01$); 与蓝细菌丰度也呈正相关($r=0.265$, $P<0.05$), 其确定系数 R^2 分别为 0.366 和 0.070, 异养细菌对浮游病毒丰度的影响(36.6%)高于蓝细菌的影响(7%), 以上数据可以说明在胶州湾浮游的噬菌体中, 异养细菌噬菌体的丰度高于蓝细菌噬菌体占主导地位。

通常多数研究中发现浮游病毒丰度仅与浮游细菌丰度有相关性, 而与叶绿素 *a* 含量无关。但是在部分研究中也发现了叶绿素 *a* 与病毒丰度呈显著相关的情况^[5, 9, 10, 17]。从图 3 的浮游病毒和叶绿素 *a* 表层水平分布图可以看出, 在胶州湾浮游病毒丰度分布与叶绿素 *a* 含量分布趋势极为相似, 多元相关分析得知浮游病毒丰度与叶绿素 *a* 含量呈显著正相关($r=0.604$, $P<0.01$), 其确定系数 R^2 为 0.365, 浮游植物对浮游病毒丰度的影响(36.5%)与异养细菌(36.6%)的影响基本相当。这说明, 在胶州湾浮游病毒中, 除了

通常占优势的噬菌体外, 藻类病毒也占了相当的比例。

在观测过程中发现 7 月份的胶州湾叶绿素 *a* 含量明显高于其他两个月($P<0.01$)(图 3), 平均值达到了 $4.34 \mu\text{g/L}$, 根据常用判定标准(叶绿素 *a* 含量 $>4 \mu\text{g/L}$ 时即可认为发生了水华), 可以认为 7 月份在胶州湾内有水华发生。而 7 月份浮游病毒丰度与 6 月和 8 月相比也显著提高($P<0.01$), 这与研究表明浮游病毒的丰度会随着水华的发生而增加相一致^[18, 19]。对比 3 个月数据发现, 7 月份异养细菌丰度未发现显著升高(图 3), 这说明 7 月份浮游病毒大量增加主要是由于藻类爆发所导致的。水华发生时, 藻类生长旺盛, 有利于以这些藻类为宿主的噬菌体迅速侵染、大量复制并且释放, 导致浮游病毒丰度明显提高。已有很多研究发现, 病毒致死是调节水华消亡的一个重要因子^[20~22], 水华过程中随着病毒的复制, 宿主藻被大量降解, 从而促进了水华消亡。利用病毒对水华进行防治有迅速、廉价、特异性强等明显的优势, 从而有巨大的应用潜力^[23]。

VBR 是研究浮游病毒和其他微小型浮游生物相互关系的一个常用指标^[3, 24]。通常情况下, VBR 为 3~10, 在营养盐丰富, 初级生产力高的海域 VBR 会有所提高^[3]。在本研究中, VBR 范围为 3.90~150.72, 平均 42.05 ± 28.55 , 在目前研究所报告的数值中属于较高水平。在对武汉东湖浮游病毒的研究中, 也发现了与胶州湾类似的高 VBR(49~56), 并且在东湖浮游病毒丰度与叶绿素 *a* 含量显著相关($r=0.488$, $P<0.01$)^[25], 这与胶州湾浮游病毒丰度与叶绿素 *a* 含量显著相关的情况类似($r=0.604$, $P<0.01$)。对东湖浮游病毒电镜观察发现, 大部分的病毒形态与噬菌体和噬藻体极为相似^[26], 也曾有研究报道在高浮游植物丰度情况下会产生较高的 VBR^[24]。通过对以上数据的分析, 作者认为胶州湾的高 VBR 可能是由藻类病毒占总浮游病毒比例相对较高所导致。

对浮游病毒的研究中曾多次发现浮游细菌丰度增高时, VBR 值相对降低^[17, 27, 28]。同样的情况在胶州湾也有出现。有学者^[3]提出假设认为 VBR 与浮游细菌丰度之间的相关性可以作为宿主菌种群多样性的指标。在宿主种群较单一的情况下, 特定宿主菌的丰度通常较高, 噬菌体会迅速侵染宿主, 导致浮游病毒数量相对下降, 此时 VBR 与异养细菌丰度会有负相关性或者呈反比; 而宿主菌种群较多样时, 特定宿主菌的丰度相对较低, 噬菌体需要更多的时间

来选择宿主和进行侵染, VBR 与异养细菌丰度无负相关性或者反比的关系。通过多元相关性分析发现, 胶州湾 VBR 与异养细菌丰度显著负相关($r = -0.638$, $P < 0.01$), 根据以上假设可以认为胶州湾噬菌体的宿主菌的种群多样性较低, 出现该现象的原因可能是由于胶州湾独特的地形和富营养化的水质, 更有利于某几种宿主菌的生长和大量繁殖。

5 小结

通过对胶州湾 3 个月的浮游病毒检测, 发现胶州湾浮游病毒的丰度值较高, 并且呈现从湾内到湾外递减的趋势, 可能受到了湾内海水富营养化的影响。由于胶州湾浅海湾的地理条件, 未发现浮游病毒垂直分布与水深的相关性。胶州湾浮游病毒丰度与异养细菌、蓝细菌丰度和叶绿素 a 含量均呈正相关, 说明除通常占优势的噬菌体外, 藻类病毒在浮游病毒种群中可能也占相当比例。根据对 VBR 的分析, 进一步说明藻类病毒占总浮游病毒的比例较高, 同时通过 VBR 与异养细菌丰度的负相关性分析, 认为胶州湾噬菌体的宿主菌种群较单一。

致谢: 感谢胶州湾生态站提供叶绿素 a 和温度、盐度数据。

参考文献:

- [1] Bergh Ø, Børsheim K Y, Bratbak G, *et al.* High abundance of viruses found in aquatic environments[J]. **Nature**, London, 1989, 340: 467-468.
- [2] Fuhrman J A. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects[J]. **Nature**, London, 1999, 399: 541-548.
- [3] Wommack K E, Colwell R R. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems[J]. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 2000, 64: 69-114.
- [4] 白晓歌, 汪岷, 梁彦韬, 等. 运用荧光显微技术分析北黄海夏季浮游病毒的分布[J]. 中国海洋大学学报, 2008, 38(4): 609-613.
- [5] 白晓歌, 汪岷, 马晶晶, 等. 冬季和春季长江口及其近海水域浮游病毒丰度的分析[J]. 海洋与湖沼, 2007, 38(4): 367-372.
- [6] Jiao N Z, Zhao Y L, Luo T W, *et al.* Natural and anthropogenic forcing on the dynamics of virioplankton in the Yangtze river estuary[J]. **Journal of the Marine Biological Association of the UK**, 2006, 86: 543-550.
- [7] 刘瑞玉. 胶州湾生态学和生物资源[C]. 北京: 科学出版社, 1992. 2-3.
- [8] Noble R T, Fuhrman J A. Virus decay and its causes in coastal waters[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 1997, 63: 77-83.
- [9] Boehme J, Frischer M E, Jiang S C, *et al.* Viruses, bacterioplankton, and phytoplankton in the southeastern Gulf of Mexico: Distribution and contribution to oceanic DNA pools[J]. **Marine Ecology Progress Series, Oldendorf**, 1993, 97(1): 1-10.
- [10] Weinbauer M G, Fuks D, Puskaric S, *et al.* Diel, seasonal, and depth-related variability of viruses and dissolved DNA in the northern Adriatic Sea[J]. **Microbial Ecology**, 1995, 30(1): 25-41.
- [11] 孙优善, 孙鹤鲲, 王学昌, 等. 胶州湾近岸海域水质状况调查与评价[J]. 海洋湖沼通报, 2007, 4: 93-97.
- [12] Bettarel Y, Arfi R, Bouvier T, *et al.* Virioplankton distribution and activity in a tropical eutrophicated bay[J]. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 2008, 80(3): 425-429.
- [13] 翁学传, 朱兰部, 王一飞. 胶州湾的自然环境: 水文要素的结构和变化[A]. 刘瑞玉. 胶州湾生态学和生物资源[C]. 北京: 科学出版社, 1992. 20-38.
- [14] Wommack K E, Hill R T, Kessel M, *et al.* Distribution of viruses in the Chesapeake Bay[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 1992, 58(9): 2965-2970.
- [15] Auguet J C, Montanie H, Delmas D, *et al.* Dynamic of virioplankton abundance and its environmental control in the Charente estuary (France) [J]. **Microbial Ecology**, 2005, 50(3): 337-349.
- [16] Corinaldesi C, Crevatin E, Del Negro P, *et al.* Large-scale spatial distribution of virioplankton in the Adriatic Sea: testing the trophic state control hypothesis[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2003, 69(5): 2664-2673.
- [17] Jiang S C, Paul J H. Seasonal and diel abundance of viruses and occurrence of lysogeny/ bacteriocinogeny in the marine environment[J]. **Marine Ecology Progress Series Oldendorf**, 1994, 104: 163-172.
- [18] Brussaard C P D, Kempers R S, Kop A J, *et al.* Virus-like particles in a summer bloom of *Emiliania huxleyi* in the North Sea[J]. **Aquatic Microbial Ecology**, 1996, 10: 105-113.
- [19] Tomaru Y, Tarutani K, Yamaguchi M, *et al.* Quantitative and qualitative impacts of viral infection on a *Heterosigma akashiwo* (*Raphidophyceae*) bloom in Hiroshima Bay, Japan[J]. **Aquatic Microbial Ecology**, 2004, 34(3): 227-238.
- [20] Bratbak G, Egge J K, Heldal M. Viral mortality of the

- marine alga *Emiliania huxleyi* (Haptophyceae) and termination of algal blooms[J]. **Marine Ecology Progress Series. Oldendorf** 1993, 93: 39-48.
- [21] Jacquet S, Heldal M, Iglesias-Rodriguez D, *et al.* Flow cytometric analysis of an *Emiliania huxleyi* bloom terminated by viral infection[J]. **Aquatic Microbial Ecology**, 2002, 27: 111-124.
- [22] Evans C G T, Archer S D, Jacquet S, *et al.* Direct measurements of the contribution of viral lysis and microzooplankton grazing to the decline of a *Micromonas* spp. population [J]. **Aquatic Microbial Ecology**, 2003, 30: 207-219.
- [23] 杨小茹, 郑天凌, 苏建强, 等. 海洋病毒——一种新的, 潜力巨大的赤潮防治工具[J]. **应用与环境生物学报**, 2005, 11(5): 651- 656.
- [24] Maranger R, Bird D F. Viral abundance in aquatic systems: a comparison between marine and fresh waters[J]. **Marine Ecology Progress Series. Oldendorf**, 1995, 121: 217-226.
- [25] Liu Y M, Zhang Q Y, Yuan X P, *et al.* Seasonal Variation of Virioplankton in a Eutrophic Shallow Lake[J]. **Hydrobiologia**, 2006, 560(1): 323-334.
- [26] 刘艳鸣, 张奇亚, 袁秀平. 武汉东湖浮游病毒的丰度及多样性[J]. **水生生物学报**, 2005, 29(1): 1-6.
- [27] Maranger R, Bird D F, Juniper S K. Viral and bacterial dynamics in Arctic sea ice during the spring algal bloom near Resolute, N.W.T., Canada[J]. **Marine Ecology Progress Series. Oldendorf** 1994, 111: 121-127.
- [28] Tuomi P, Fagerbakke K M, Bratbak G, *et al.* Nutritional enrichment of a microbial community: The effects on activity, elemental composition, community structure and virus production[J]. **FEMS Microbiology Ecology**, 1995, 16(2): 123-134.

Distribution of virioplankton in the Jiaozhou Bay

ZHAO Yuan^{1,2}, WU Hong-qing^{2,3}, Li Hong-bo^{2,4}, XU Jin⁵, XIAO Tian²

(1. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 3. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 4. National Marine Environmental Monitoring Center, Dalian 116023, China; 5. College of Life Sciences, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

Received: Jun., 21, 2009

Key words: Virioplankton; epifluorescence microscopy(EFM); SYBR Green-I; Jiaozhou Bay

Abstract: To study the distribution of virioplankton in the Jiaozhou Bay, three cruises were performed in June, July, and August 2007. Virioplankton abundance was determined by epifluorescence microscopy. Direct count of virus in the Jiaozhou Bay was ranging from 0.48×10^7 particles/mL to 22.78×10^7 particles/mL for all sample stations in three cruises, averaging $5.72 \times 10^7 \pm 4.72 \times 10^7$ particles/mL. The abundance of virioplankton in July was significantly higher than those in June and August ($P < 0.01$). Virioplankton abundance was higher in offshore waters, and decreased toward the open sea. There was no obvious pattern of vertical distribution of virioplankton. The Virus-to-Bacteria Ratio (VBR) ranged from 3.90 to 150.72, with an average of 42.05 ± 28.55 . According to multi-correlation analysis, virioplankton abundance was positively correlated with heterotrophic bacteria abundance ($r = 0.605$, $P < 0.01$), *Synechococcus* abundance ($r = 0.265$, $P < 0.05$) and Chlorophyll *a* concentration ($r = 0.604$, $P < 0.01$). No significant correlations were found between virioplankton abundance and temperature and salinity. High VBR suggested a high portion of algal virus. VBR was negatively correlated with heterotrophic bacteria abundance ($P < 0.01$), indicating relatively limited host species for phages.

(本文编辑: 张培新)