

长江口及其毗连东海水域蓝细菌的 分布和细胞特性及其环境调节

宁修仁

D. 沃洛

(国家海洋局第二海洋研究所, 杭州) (国家科研中心海洋生物实验室,
法国罗斯考夫)

摘 要

1986年1月和7月,作者在长江口及冲淡水区对海洋蓝细菌*Synechococcus* spp. 的密度分布,细胞特性及其与环境要素的关系进行了研究。结果表明,冬季细胞密度低(平均约 10^3 cell/cm³),活性也低,夏季细胞密度要比冬季高1至2个数量级。高值区出现在离长江口门向东大约100km的带状区,在该区细胞密度峰值(2×10^5 cell/cm³)的出现是由于富营养盐的长江冲淡水,随着悬浮物质的沉降(临界值为2—3mg/dm³),光的利用率增加的结果。流动细胞仪测定结果表明,细胞密度最大区,平均细胞体积最小,这与种群生长速率高有关;细胞藻红蛋白的含量受光的利用率和无机氮的浓度所调节。

由于采样方法和观测技术的限制,过去人们一直认为在浮游植物中以大的细胞如硅藻或甲藻占优势,但是在10年前微微型光能自养浮游生物(Photosynthetic picoplankton)的发现^[1,2],大大开阔了人们的视野,近几年来发现它们在微食物网中生物量循环迅速,能量转换效率高而越来越受到海洋生态学家的重视^[3],特别是海洋蓝细菌(Cyanobacterium)聚球菌*Synechococcus*这类光能自养原核生物,它们在世界海洋中数量大,分布广而被认为是微微型浮游生物中的优势组分。这种极微小的球形细胞(0.5—2 μ m)容易通过它们所含的主要色素—藻红蛋白(Phycoerythrin)的荧光来鉴别^[4],它们在海洋中的分布受海水的温度和光的可利用率的影响^[5],迄今为止,对蓝细菌*Synechococcus*的海上观测是在寡营养的大洋和富营养的沿岸带进行的,而在世界大河口和东海未见研究报道。

本工作是在世界大河口之一长江口及其冲淡水区这样一个复杂多变的生态环境中,从低光穿透率和高营养盐浓度的口门到高光穿透率和低营养盐浓度的外海,沿着盐度梯度,并在长江丰水期(夏季)和枯水期(冬季)分别来研究*Synechococcus*细胞的丰度和特性及其与环境因子的关系。在本工作中除采用落射荧光显微技术外,还采用了80年代近期国际上所使用的先进技术——流动细胞测定技术(Flow cytometry)用于*Synechococcus*的细胞计数和细胞特性的测定。

一、材料和方法

1. 研究区域和采样观测

研究海域包括自徐六泾至长江口门的内河段，口门区，冲淡水区并向外海伸延至离长江口门大约200km的范围以内（ $30^{\circ}45' - 32^{\circ}00' N$ 和 $121^{\circ}00' - 124^{\circ}00' E$ ）。在该海域内，水深从长江口门的10米至外海的40—50m。向外海有一海底深谷向东南倾斜（图1）。

1986年1月和7月，使用“向阳红09”号船进行了两个航次的调查。冬季设置了4个周日连续观测站和20个大面站。每个连续站在26小时内每2小时观测一次，取5m层样。夏季航次设4个连续站和23个大面站，连续站按潮周期从表层和温跃层之下取样观测。两个航次的大面站均在三天之内作业完毕，以获取准同步的观测资料。内河站位（R1—R5）的观测，使用“海监42”和“向阳红01”船完成（图1）。

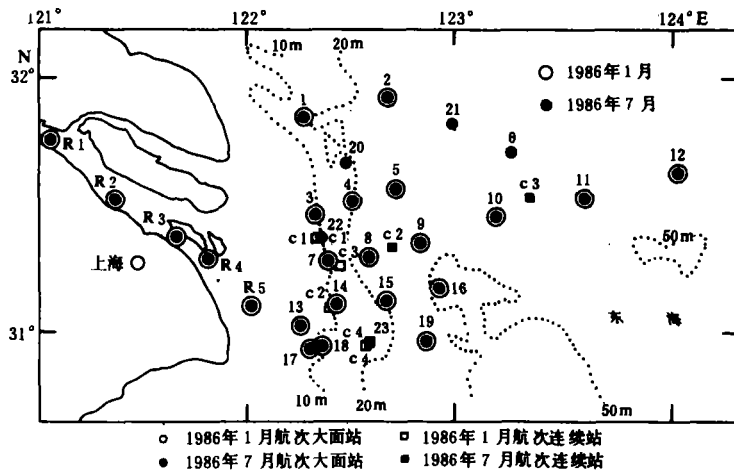


图1 长江口及其冲淡水区取样观测站位

水样大多是用Rosette多瓶采水器（General Oceanics Inc.）采得。当流太急时，用国产的有机玻璃制的 $5dm^3$ 采水器采得。落射荧光显微镜观测用水样保存在暗处 $4^{\circ}C$ ，在24小时内处理；流动细胞测定用水样 $1cm^3$ 放入液氮快速冰冻，然后保存在 $-20^{\circ}C$ ，直至分析。

2. 水文和化学参数

在所有可取样的深度，温度，盐度和深度用CTD进行现场测定。总悬浮体含量和营养盐（ NO_3^- 和 PO_4^{3-} ）浓度用标准的海洋学方法〔6〕在船上进行测定。

3. 落射荧光显微测定

量取10—40 cm^3 水样进行抽滤，滤膜用直径25mm，孔径 $0.2\mu m$ 的黑色核孔滤膜（Nucleopore filter），抽滤负压不超过267Pa。完后，将膜取下放到载玻片上，滴1滴水样，盖好盖玻片。

滤膜在Olympus BH-2型落射荧光显微镜下计数,用Olympus G滤色片组,外加一个EO 530激发滤片获得在530nm左右的窄波段的绿色激发光,根据激发和发射荧光的特性区分了两种藻胆蛋白(Phycobiliprotein): (1)藻红蛋白(phycoerythrin-PE),具光亮的桔黄色荧光,其发射光波长低于670nm; (2)藻蓝蛋白(phyocyanin-PC),呈桔红色荧光,其发射荧光波长大于670nm〔4〕。

细胞计数通常使用40倍的物镜,每张滤膜一般计数两行,每行具200—300个细胞,根据计数视野的总面积,滤膜过滤面积和所过滤水样的体积,计算出每立方厘米水样中的细胞数。

4. 流动细胞仪测定

冰冻的水样在室温下溶化,并保持在0℃。流动细胞仪为EPICS 541型(Coulter, Hialeah Florida),配有5W的激光,激发光在1.3W功率通过488nm波长的线路产生,并通过一组共轭聚焦透镜组产生较标准透镜组强的光,光在488nm波长的二色性滤光片反射后,90°角的光散射(LS90)被收集,桔色荧光在530nm和590nm之间被收集,这两个光信号均被光电倍增管转换放大,并以三维对数尺度显示,LS90信号的强弱取决于细胞的大小和光学性质〔7〕; *Synechococcus* 桔色荧光的强度与其藻红蛋白(PE)的含量成正比〔8〕。

每个样品取两份0.2cm³的平行样,加入绿色荧光小珠(直径1μm, Polysciences, Warrington, PA)作内标准进行分析,双参数LS90和PE荧光在EPICS MDADS系统中记录和分析,计算荧光小珠和*Synechococcus*种群的平均LS90和平均PE荧光值(二者均为对数尺度),再将对数尺度转换为线性尺度来表达最终的结果。

二、结 果

(一) 环境参数

1. 水文特征

在冬季的枯水期,无水温的层化现象,而盐度的层化仅在近口门处发生,温度较低的(5℃)长江淡水沿着口门的两侧向南流动,较暖的(13℃),盐度较高的(33)台湾暖流自东南方沿着口门外海底的深谷楔入调查海区,在北部,温度(5℃)和盐度(30)均较

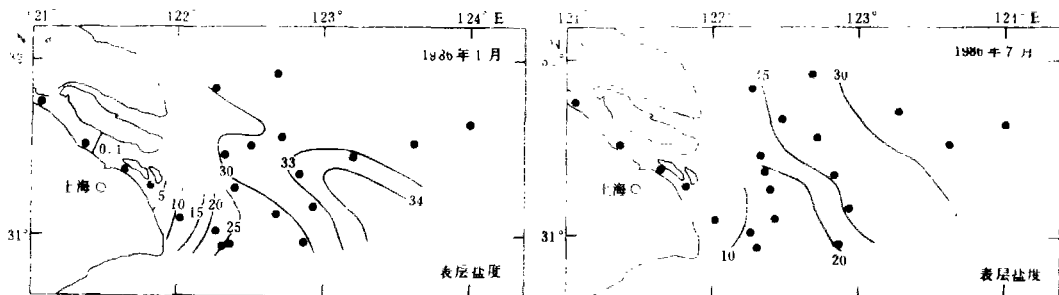


图2 表层盐度分布

低的黄海沿岸流, 沿着苏北沿岸流至长江口海域 (图2a)。

夏季丰水期, 口门以外海域出现明显的温度层化现象。温度较高的 (27°C) 长江淡水处于上层, 在口门处向东南流动; 表层冲淡水舌向东北方向扩展到外海 (图2b)。在底层, 河水的影响仅局限在口门。低温高盐的台湾暖流水沿着海底深谷自东南方楔入长江口水域。

2. 悬浮体和营养盐

长江携带着大量的陆源悬浮物质注入东海。在潮汐和风的影响下, 悬浮体随着数目众多的羽状流向南输运^[9]。在本研究中, 调查海区海水悬浮物质的平均浓度冬季 ($93\text{ mg}/\text{dm}^3$) 高于夏季 ($27.4\text{ mg}/\text{dm}^3$), 尽管夏季冲淡水势力较冬季强。浓度最大值出现在口门的南部 (站13, 14和17)。夏季表层浑浊水羽流向东北扩展, 与水温羽状扩展方向相一致。冬季黄海沿岸流携带大量泥沙沿苏北沿岸流入长江口区。

与悬浮体输运的同时, 长江冲淡水携带着大量可溶性营养盐至调查海区。夏季硝酸盐的平均浓度 ($23.03\mu\text{ mol}/\text{dm}^3$) 高于冬季 ($8.79\mu\text{ mol}/\text{dm}^3$)。与以前的调查结果^[10]不同, 最大值 (冬季 $20\mu\text{ mol}/\text{dm}^3$, 夏季 $70\mu\text{ mol}/\text{dm}^3$) 不是出现在内河, 而是出现在口门偏东南的最大浊度带。磷酸盐平均浓度冬季为 $0.87\mu\text{ mol}/\text{dm}^3$, 夏季为 $0.35\mu\text{ mol}/\text{dm}^3$; 最大值冬季低于 $2\mu\text{ mol}/\text{dm}^3$, 夏季低于 $1\mu\text{ mol}/\text{dm}^3$ 。

(二) *Synechococcus* 细胞密度与分布

对绝大多数的样品, 我们仅发现含PE的细胞。在夏季的样品中, 只有很少的样品同时观测到含PC的细胞。后者细胞密度总是低的 ($10^3\text{ cell}/\text{cm}^3$), 而且仅限于分布在盐度低于10的水体中, 这与Waterbury等 (1986)^[5]所观测到的这种细胞通常生存在淡水和沿岸水的结果相一致。以下仅就数量占绝对优势的、在海洋中分布极其广泛的第一种细胞, 即含PE的细胞进行论述。

冬季 *Synechococcus* 细胞密度大体在 $500\text{--}2\,000\text{ cell}/\text{cm}^3$ 范围, 外海略高、口门较低。水平和垂直分布的总趋势是相对均匀的 (图3a)。

夏季 *Synechococcus* 细胞密度的高值区与高盐度水相关联, 河口内密度最低 ($<200\text{ cell}/\text{cm}^3$)。一个显著的特征是在被温跃层所分开的上下两层水体中, 细胞的分布有明显的不同。在表层 (图3b), 细胞密度从口门的 $10^2\text{ cell}/\text{cm}^3$ 向外海60 km 逐渐增加至 $10^4\text{ cell}/\text{cm}^3$, 然后细胞密度迅速达到峰值 ($2 \times 10^5\text{ cell}/\text{cm}^3$), 向高盐度的东部外海站位 (站12) 又

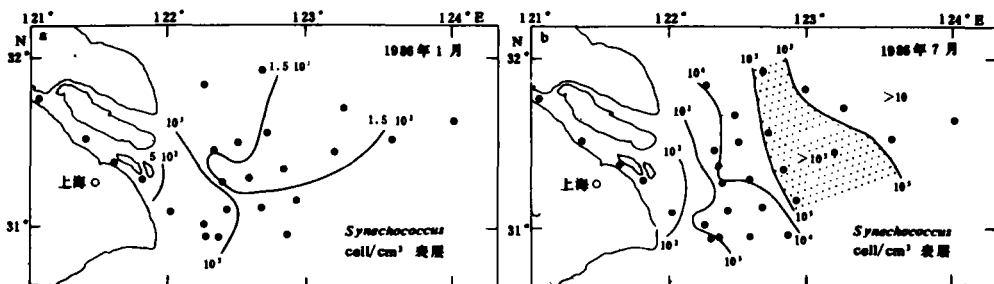


图 3 表层 *Synechococcus* 细胞密度的分布

逐渐降至 $3 \times 10^4 \text{ cell/cm}^3$ (图3b)。底层细胞密度一般较温跃层之上为低,但是高盐度的台湾暖流水细胞密度超过 10^4 cell/cm^3 。

在 *Synechococcus* 的垂直分布方面, 一个明显的特征是细胞密度的层化与温度的层化相一致 (图4)。在细胞密度最高的区域 ($>10^5 \text{ cell/cm}^3$), 表层细胞密度要比温跃层之下高20倍, 而在外海站位仅高5倍 (图4a)。在近口门区水文状况极其复杂, 我们观测到中层细胞密度具最大值 (图4b), 这很可能是由于细胞密度较大的高盐度水与细胞密度很小的淡水交叠的结果。

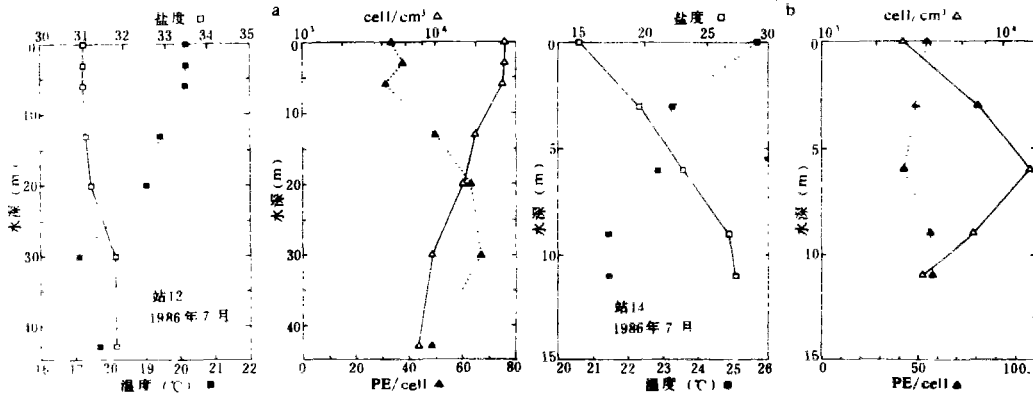


图4 1986年7月航次站12 (a) 和站14 (b) 水温, 盐度 *Synechococcus* 细胞密度和细胞PE含量的垂直分布

(三) *Synechococcus* 的细胞特性

我们用流动细胞测定仪测定了夏季航次大面站样品 *Synechococcus* 细胞的平均大小 (LS90表示) 和细胞PE含量 (PE相对荧光表示)(图5)。从图5可明显分辨两个种群, 即绝大多数样品细胞平均LS90大于3.8 (相对单位), 较少样品LS90要小1/3。表层细胞较小的区域 (图6), 正是细胞密度最大 ($>10^5 \text{ cell/cm}^3$) 的区域 (图3b)。在所观测的诸站中, 细胞PE含量可相差一个数量级, 总的分布趋势是自外海向口门、自表层向底层逐渐增加 (图4a)。

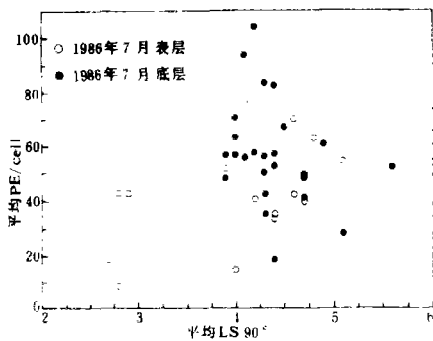


图5 1986年7月航次站1—23平均 *Synechococcus* 细胞LS90和平均PE的关系

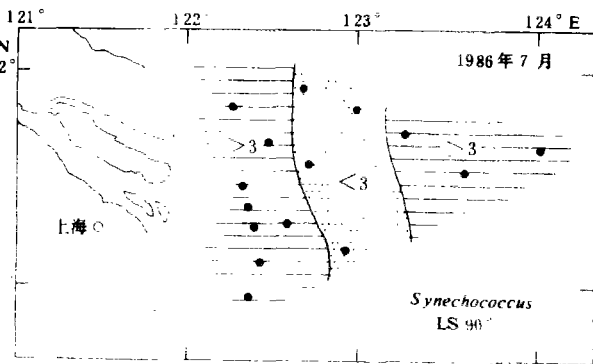


图6 1986年7月表层平均 *Synechococcus* 细胞LS90值的分布

三、讨 论

本研究所测得的 *Synechococcus* 细胞密度数据与其他相应海域的结果有较好的可比性。调查海区冬季值 10^3 cell/cm^3 是大多数沿岸和近海水域的典型值,例如,美国东部沿岸^[5],爱尔兰海^[11]等。夏季大多数外海站位测值相对较低,接近寡营养海域的测值,如马尾藻海^[12]或日本海^[13]等。与此相反,在长江冲淡水区中部测得的最大值 ($2 \times 10^5 \text{ cell/cm}^3$) 与其他海域,如凯尔特海 (Celtic Sea)^[11]、西北大西洋^[14]等的最大值相比又是最大的。

冬季细胞密度的最大值 ($2 \times 10^3 \text{ cell/cm}^3$) 出现在盐度高于30的毗连外海 (图3a),向低盐方向逐渐减小。在冲淡水区,尽管营养盐浓度高,但并未出现细胞密度的最大值,这是由于水温低 ($5-10^\circ\text{C}$) 和水体垂直混合强烈不出现层化现象所致,后者减低了水柱真光层的光强,即温度和光限制了细胞的生长速率^[5]。

夏季情形迥然不同,高的水温和水体的层化促使了表层水体 *Synechococcus* 细胞密度最大值区域的形成,其盐度在25—30范围 (图7)。该最大值锋面既不同于河—海交汇的物理学锋,也不同于悬浮体浓度高于 100 mg/dm^3 的浊度锋,后者均出现在近口门处。在冲淡水区的中部,表层细胞密度与悬浮物的浓度成反比关系 (图8),说明光是控制 *Synechococcus* 丰度的关键因子。当悬浮物浓度低于 5 mg/dm^3 , 即真光层深度超过10m时,细胞密度才会超过 10^4 cell/cm^3 。块状分布硅藻的旺发也是在相同的真光层深度出现^[15]。尽管无机营养盐是保证 *Synechococcus* 生长的必需条件,但在本调查海区,单营养盐不足以引起高密度细胞种群的产生,例如,硝酸盐和磷酸盐浓度的最大值出现在近口门区,但那里细胞密度却很低。只有当悬浮物质沉降至一个临界值 ($< 3 \text{ mg/dm}^3$, 图8) 时,表层 *Synechococcus* 细胞密度才可上升到最大值 $2 \times 10^5 \text{ cell/cm}^3$ 。在该最大值区硝酸盐浓度为 $10 \mu\text{mol/dm}^3$, 磷酸盐浓度低于检测限。在所有悬浮物浓度低于 5 mg/dm^3 的站位, *Synechococcus* 的丰度几乎与硝酸盐浓度无关,在细胞密度出现最大值区域,磷酸盐的耗尽将限制 *Synechococcus* 种群的进一步发展。

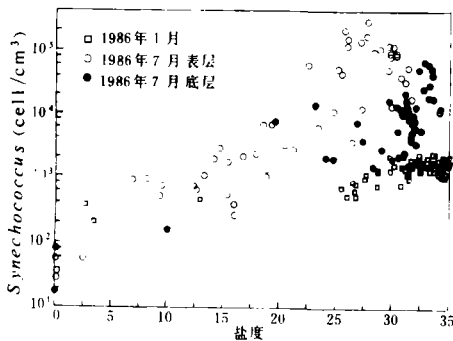


图7 *Synechococcus* 细胞密度随盐度的变化

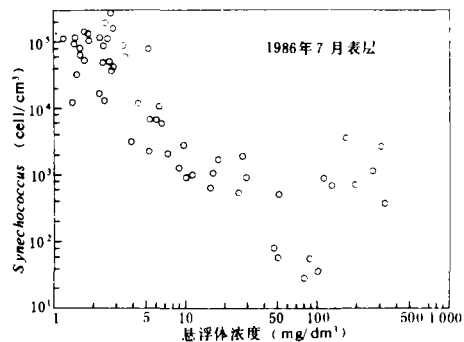


图8 1986年7月表层水体中 *Synechococcus*

细胞密度与悬浮物质浓度的关系

在细胞大小的分布方面,一个显著的特征是,细胞密度较大区域细胞较小 (图6)。这

种大小的差异可显示出两个不同菌群的存在,但小细胞与高的生长速率有关。Glibert等(1986)^[8]指出, *Synechococcus* 沿岸菌群细胞的大小与营养盐的补充有关, 经受缺氮的细胞要比正常生长的细胞大得多。据此可推知, 在毗连外海生长缓慢的细胞当遇到冲淡水所含高浓度营养盐时, 生长加快, 细胞变小。

在细胞密度具最大值的区域, 无机氮的分布并非均匀, 南部 NO_3^- 浓度 (如站16: $\text{NO}_3^- = 16 \mu \text{mol}/\text{dm}^3$) 较北部 (如站21: $\text{NO}_3^- = 0.11 \mu \text{mol}/\text{dm}^3$) 高得多, 后者低很可能是生物消耗的结果。但南部和北部细胞的大小都无明显差异, 说明细胞均保持着正常分裂。然而南部和北部细胞PE含量有很大差别, 例如, 细胞PE含量站21仅为站16的1/5。这与Glibert等(1986)^[8]的结果相一致, 他指出, *Synechococcus* 沿岸菌群在缺氮的情况下可继续分裂48小时, 但细胞PE含量却迅速降低。

向口门方向, 细胞密度迅速降低显示了高的细胞损失率, 这很可能是由于 *Synechococcus* 细胞对低盐和低光照的不适应 (图7, 8); 同时向口门方向, 表层细胞PE含量增加, 这很可能是对高悬浮物浓度, 从而造成低光强的生物适应^[16] (图9)。

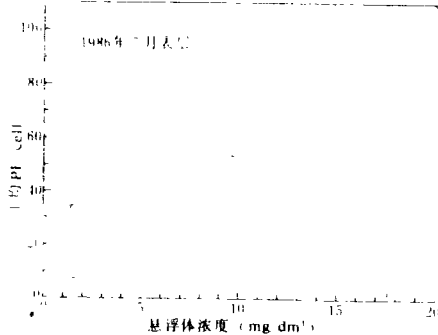


图9 1986年7月表层水体中 *Synechococcus* 细胞PE含量与悬浮物质浓度的关系

由于夏季水体的层化, 底层 *Synechococcus* 细胞分布与表层不同, 两层之间无明显混合。这可从细胞密度的垂直分布 (图4a) 和底层不存在个体小的、快速生长的细胞 (图5) 所证实。随着深度的增加, 细胞PE含量增加 (图4a), 这似乎是光适应的结果^[12], 这种光适应的时间尺度大约为几天^[16]。在水体发生迅速混合的近口门站位 (如站14), 底层细胞PE含量并无增长 (图4b), 这是由于细胞光适应的发生缺乏足够的时间的缘故。

四、小 结

本研究所报道的长江口及冲淡水区海洋蓝细菌 *Synechococcus* 的丰度, 细胞特性及其环境的调节, 为世界大河口的研究提供了可与之相比较的资料。所观测到的 *Synechococcus* 细胞特性, 与Glibert等(1986)^[8] 和Kana & Glibert (1987)^[16] 在实验室所观测的结果相一致。今后的研究, 如与 *Synechococcus* 现场增长速率和对浮游植物自然种群生物量和生产力的贡献的测定相结合, 将有助于我们更加深入地了解 *Synechococcus* 种群的动力学及其生态功能。

参 考 文 献

- 1 Waterbury, J. B. et al., Wide spread occurrence of a unicellular, marine planktonic, cyanobacterium, *Nature*, **277** (1979), 293—294.
- 2 Johnson, P. W. and J. McN. Sieburth, Chroocoid cyanobacteria in the sea: a ubiquitous and

- diverse phototrophic biomass, *Limnol. Oceanogr.*, **24** (1979), 928—939.
- [3] Stockner, J.G. and N.J. Antia, Algal picoplankton from marine and fresh water ecosystems: a multidisciplinary perspective, *Canad. J. Fisher. Aqu. Sci.*, **43** (1986), 2472—2503.
- [4] Wood, A.M. *et al.*, Discrimination between types of pigments in marine *Synechococcus* spp. by scanning spectroscopy, epifluorescence microscopy and flow cytometry, *Limnol. Oceanogr.*, **30** (1985), 1303—1315.
- [5] Waterbury, J.B. *et al.*, Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*, in *Photosynthetic Picoplankton* (T. Platt and W.K. Li eds.), *Canad. Bul. Fisher. Aqu. Sci.*, **214** (1986), 71—120.
- [6] Strickland, J.D.H. and T.R. Parsons, *A Practical Handbook of Seawater Analysis*, *Bul. Fisher. Res. Board Canada*, **167** (1972), 1—310.
- [7] Kerker, M., Elastic and inelastic light scattering in flow cytometry, *Cytometry*, **4** (1983), 1—10.
- [8] Glibert, P.M. *et al.*, Clonal comparisons of growth and photosynthetic responses to nitrogen availability in Marine *Synechococcus* spp., *J. Exper. Mar. Biol. Ecol.*, **101** (1986), 199—208.
- [9] Milliman, J.D. *et al.*, Transport and deposition of river sediment in the Changjiang estuary and adjacent continental shelf, *Cont. Shelf Research*, **4** (1985), 37—45.
- [10] Edmond, J.M. *et al.*, Chemical dynamics of the Changjiang estuary, *Cont. Shelf Research*, **4** (1985), 17—36.
- [11] El Hag, A.G.D. and G.E. Fogg, The distribution of coccoid blue-green algae (Cyanobacteria) in the Menai Straits and the Irish Sea, *British Phycology*, **21** (1986), 45—54.
- [12] Olson, R.J. *et al.*, Marine phytoplankton distributions measured using shipboard flow cytometry, *Deep-Sea Research*, **32** (1985), 1273—1280.
- [13] Takahashi, M. *et al.*, Importance of picocyanobacteria biomass (unicellular, blue-green algae) in the phytoplankton population of the coastal waters off Japan, *Mar. Biol.*, **89** (1985), 63—69.
- [14] Glover, H.E. *et al.*, Contribution of *Synechococcus* spp. to size-fractionated primary productivity in three water masses in the Northwest Atlantic Ocean, *Mar. Biol.*, **91** (1986), 193—203.
- [15] Ning, X. *et al.*, Standing stock and production of phytoplankton in the Changjiang (Yangtze river) estuary and the adjacent East China Sea, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **49** (1988), 141—150.
- [16] Kana, T.M. and P.M. Glibert, Effect of irradiances up to $2\ 000\ \mu\text{E m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ on marine *Synechococcus* WH 7803-1. Growth pigmentation and cell composition, *Deep-Sea Research*, **34** (1987), 479—485.