

硕士学位论文

MASTER DISSERTATION

沙尘对中国近海不同海域异养细菌生物活性

论文题目: 和群落结构的影响

Impacts of Dust on Heterotrophic Bacterial

Bioactivity and Community Structure of Bacteria

英文题目: in China Coastal Marine

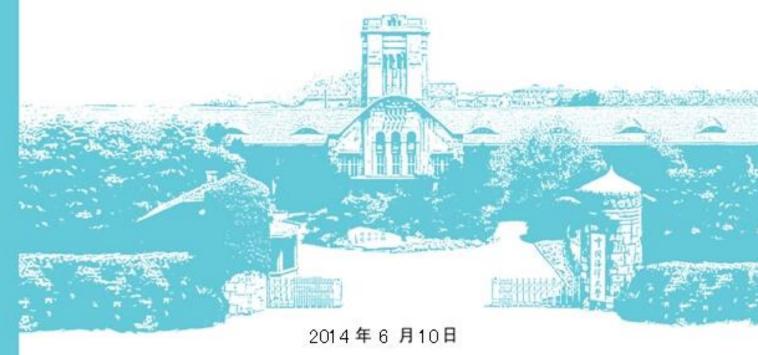
作者: 侯瑞

指导教师: 白洁 教授

学位类别: 全日制学术学位

专业名称: 环境规划与管理

研究方向: 海洋环境生态学



谨以此论文献给在科研道路上所有关心和帮助我的人 及中国海洋大学

-----侯瑞

沙尘对中国近海不同海域异养细菌生物活性和群落结构的影响

学位论文答辩日期: 2014年5月24日

答辩委员会成员签字:

独创声明

本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知,除了文中特别加以标注和致谢的地方外,论文中不包含其他 人已经发表或撰写过的研究成果,也不包含未获得他人已经发表或撰写过的研究成果,也不包含未获得(注:如没有其他需要特别声明的,本栏可空)或其他教育机构的学位或证书使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

学位论文作者签名: 人名

签字日期:2014年6月11日

学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定,并同意以下 事项:

- 1、学校有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘,允许 论文被查阅和借阅。
- 2、学校可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索,可以 采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。同时授权清华大学"中 国学术期刊(光盘版)电子杂志社"用于出版和编入 CNKI《中国知识资源总库》, 授权中国科学技术信息研究所将本学位论文收录到《中国学位论文全文数据库》。 (保密的学位论文在解密后适用本授权书)

学位论文作者签名: 4

导师签字: 不太

签字日期:2014年6月11日

签字日期: 2014年 6月 11日

沙尘对中国近海不同海域异养细菌生物活性 和群落结构的影响

摘要

海洋异养细菌是海洋生态系统中物质循环和能量流动的重要组成部分,在海洋环境中占有重要地位。由于海洋异养细菌数量大、繁殖速度快、转换效率高、生物量循环迅速,海水中的氮、磷等营养盐常常成为影响异养细菌生长的重要限制因子。沙尘沉降作为陆源营养物质和污染物质向海洋输送的重要途径,是海洋中营养元素的重要来源之一,因此沙尘沉降对于海洋异养细菌的意义十分重要。

研究发现,沙尘沉降在不同海域营养输入上的地位不同,沙尘沉降对不同海域生态系统的影响也会有一定差异。本文于 2013 年 3 月和 2013 年 7 月分别在南海东北部 S1 站位(20.50 N,120.50 E)和黄海中部 H1(37.00 N,124.25 E)、H2(36.00 N,123.50 E)两个站位进行了沙尘气溶胶添加的围隔培养实验,探讨了沙尘对不同营养水平海域异养细菌生物活性的影响过程和机制。结果表明:在南海 S1 站,沙尘气溶胶的添加组在异养细菌生物量最大时为对照组的 1.65 倍,可使异养细菌呼吸速率在最大时达到对照组的 2.74 倍;在黄海的 H1、H2 站位,沙尘气溶胶的添加组在异养细菌生物量最大时分别为对照组的 1.78 倍和 2.42 倍,使异养细菌呼吸速率在最大时分别为对照组的 1.78 倍和 2.14 倍。沙尘气溶胶的添加在营养水平低的海域对异养细菌的生长和代谢的促进作用比在营养水平高的海域大。沙尘气溶胶的添加能够显著促进异养细菌的物质转化速率,提高了其在海洋生态系统中的生态效率和生态功能。

因为沙尘在远距离输运过程中会与大气污染物中的重金属和有毒有机物结合,因此为了单纯考虑沙尘中营养物质对海洋异养细菌生长的作用,本文在南海S1、S2两个站位进行了源地沙尘对贫营养海区异养细菌生物活性的研究。结果表明:在S1、S2站位培养前3天,两种源地沙尘的单独添加均可极大地促进异养细菌的生物量和呼吸速率,而能够形成沙尘暴的小粒径沙尘对异养细菌生长和代谢的影响尤为明显。在S1站位培养第7天,小粒径沙尘和大粒径沙尘对异养细菌生长和呼吸代谢的影响差别不大;而在添加氮和磷基础上,添加小粒径或大

粒径沙尘都会抑制异养细菌生长和呼吸代谢,而且它们对异养细菌生物量的长期影响差别不大。

通过运用 PCR-DGGE 的分子生物学方法,对南海东北部 S1 站位、黄海中部 H1、H2 站位的沙尘气溶胶添加组在培养前后,以及 S1 站位源地沙尘添加前后的细菌群落结构进行对比分析,探讨了不同沙尘对不同海域细菌群落结构的影响。得到结论如下:在沙尘气溶胶添加培养中,营养水平较高的黄海 H1、H2 站位细菌群落结构和群落多样性没有营养水平低的南海 S1 站位变化明显。在源地沙尘添加培养中,小粒径沙尘使得细菌群落结构和群落多样性的降低程度比大粒径沙尘明显。在南海 S1 站位的沙尘气溶胶和源地沙尘添加培养结束后,能够利用 外 源 营 养 的 α-变 形 菌 纲 (Alphaproteobacteria) 和 γ-变 形 菌 纲 (Gammaproteobacteria) 成为培养结束后的优势菌群,而叶绿体 (chloroplast)等自养菌在培养结束后的优势度消失,细菌群落偏向于异养。然而,在黄海 H1、H2 两个站位的沙尘气溶胶添加培养中,叶绿体 (chloroplast) 在沙尘添加培养后的明显增加,而变形菌纲 (Proteobacteria) 在培养后优势消失,细菌群落偏向自养。

关键词:沙尘; 异养细菌生物活性; 细菌群落结构; 培养实验; 营养状况

Impacts of Dust on Heterotrophic Bacterial Bioactivity and Community Structure of Bacteria in China Coastal Marine Abstract

Heterotrophic bacteria play significant role in material cycle and energy flow of Marine ecosystem, occupying a crucial position in marine environment. Heterotrophic bacteria are often limited by nutrients in seawater, such as Nitrogen, Phosphorus and so on, due to their huge population, rapid reproduction, high conversion efficiency and prompt biological cycle. Dust deposition is one of the sources of marine nutrients and an important path transporting nutritive material and pollutant from lands to marine. As a result, it is undeniable that dust deposition is critical to marine heterotrophic bacteria.

Effects of Dust deposition on marine ecosystems were reported to be highly variable in various oceans. In this study, dust aerosol adding incubation experiments were conducted at S1 station(20.50 N, 120.50 E) of South China Sea during March, 2013 and at H1(37.00 N, 124.25 E) and H2(36.00 N, 123.50 E) station in Yellow Sea during July, 2013, respectively. Process and mechanism of heterotrophic bacterial activity response to dust in different tropic sea were discussed in this study. The results are listed as follows. At S1 station in South Sea, dust aerosol facilitated bacterial biomass increasing as a factor of 1.65 to control and facilitated bacterial respiration rate increasing as a factor of 2.74 to control. At H1 and H2 station in Yellow Sea, dust aerosol facilitated bacterial biomass increasing as a factor of 1.78 and 2.42 to control and facilitated bacterial respiration rate increasing as a factor of 1.78 and 2.14 to control, respectively. In brief, dust aerosol can obviously promote heterotrophic bacterial growth and metabolism, signally accelerate bacterial conversion efficiency and apparently enhanced bacteria's function in marine ecosystem, the effect of which is more significant in oligotrophic sea than in eutrophic

sea.

Dust can combine with heavy metal and toxic organic substance from atmospheric pollutants in long-term transport. In order to probe into impact of nutrients from dust on marine heterotrophic bacteria isolatedly, original dust enrichment experiments are conducted at S1 and S2 station in South China Sea. In the third days of experiment in S1 and S2, the two types of original dust have increased bacterial biomass and respiration rate tremendously when added alone. And the effects of small size dust are more conspicuous than big size dust. In the seventh day of experiment in S1, there is little difference of effects between small size dust and big size dust. On the basis of adding Nitrogen and Phosphorus, the two types of dust have restrained heterotrophic bacterial growth and metabolism and the difference of effect between small size dust and big size dust is non-significant.

Comparison of bacterial community structure before and after dust enrichment incubation is conducted at S1 in South China Sea and H1 and H2 in Yellow Sea, adopting PCR-DGGE method. The results are as follows. In dust aerosol enrichment experiments, variations of bacteria community structure in H1 and H2 are less significant than in S1. In original dust enrichment experiments, variations of bacteria community structure and diversity resulted from small size dust are more significant than big size dust. In dust aerosol enrichment experiment and original dust enrichment experiment in S1, *Alphaproteobacteria* and *Gammaproteobacteria* have turned into dominant species after incubation, while *Chloroplast's* dominant place has been disappeared and the bacteria community switched towards heterothrophy. In dust aerosol enrichment experiment in H1 and H2, *Chloroplast's* dominant place have consolidated, while *Proteobacteria's* dominant place has been disappeared and bacteria community switched towards autothrophy.

Key words: Dust; Heterotrophic bacterial bioactivity; Bacteria community structure; Incubation experiment; Nutritional status

目 录

0	前言	<u> </u>
1	文献	t综述······3
1.1	沙台	上沉降对海洋生态系统的影响 ••••••3
1	.1.1	沙尘暴与海洋的相互作用关系 •••••••
1	.1.2	沙尘沉降对海洋营养物质的贡献 ••••••3
1	.1.3	沙尘沉降对海洋生态系统的影响 ••••••5
1.2	沙台	上对海洋异养细菌作用的研究 ••••••
1	.2.1	海洋异养细菌在微食物环中地位和作用 ••••••7
1	.2.2	海洋异养细菌生物活性和群落结构的限制因素 ••••••
1	.2.3	沙尘对海洋生态系统影响的研究现状 •••••••
1.3	研列	克区域状况 • • • • • • • • • • • • • • • • • • •
1.4	研究	克目的内容、意义 ····································
1	.4.1	研究目的 ••••••11
1	.4.2	研究内容 ••••••12
1	.4.3	研究思路与技术路线 • • • • • 12
1	.4.4	研究意义 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
2	材料	4与方法 •••••••14
2.1	现均	汤模拟方法建立与实施 ••••••• 14
2	.1.1	沙尘采集与处理 ••••••14
2	.1.2	沙尘气溶胶添加围隔培养实验 ••••••15
2	.1.3	源地沙尘添加培养实验 ••••••15
2.2	测気	定方法 ••••••••••••16
2	.2.1	环境因子测定 •••••• 16

2	.2.2	细菌生长指标测定 ••••••	····· 16
2	.2.3	细菌群落结构测定 ••••••	•••• 17
2.3	数	据处理与分析 ••••••	18
3	沙台	尘气溶胶对不同海域异养细菌生物活性的影响	19
3.1	沙尘	尘气溶胶对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 •••••••	19
3	.1.1	异养细菌生物量对沙尘气溶胶的响应 ••••••	20
3	.1.2	异养细菌呼吸速率对沙尘气溶胶的响应 ••••••	21
3	.1.3	异养细菌生长效率对沙尘气溶胶的响应 ••••••	22
3.2	沙鱼	尘气溶胶对黄海中部海域异养细菌生物活性的影响 •••••••	23
3	.2.1	异养细菌生物量对沙尘气溶胶的响应 ••••••	·····24
3	.2.2	异养细菌呼吸速率对沙尘气溶胶的响应 ••••••	26
3	.2.3	异养细菌生长效率对沙尘气溶胶的响应 ••••••	28
2.2	4±.	· 论 ······	• •
3.3	妇	化	28
3.3		^论 也沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 ····	
	源均		•••••31
4.1	源均源	也沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 ••••	·····31
4 4.1 4	源 ^均 源 ¹ .1.1	也沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 •••• 地沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 ••••••	·····31 ····31
4 4.1 4 4	源却 .1.1 .1.2 .1.3	也沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 · · · · · 地沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	31 31 34 36
4 4.1 4 4	源却 .1.1 .1.2 .1.3	也沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 ···· 地沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 ····· 异养细菌生物量对源地沙尘的响应 ···· 异养细菌呼吸速率对源地沙尘的响应 ····	31 31 34 36
4 4.1 4 4	源均 .1.1 .1.2 .1.3 结论	也沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 · · · · · 地沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	31 31 34 36
4 4.1 4 4 4 4.2	源却 .1.1 .1.2 .1.3 结论	也沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 · · · · · 地沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	31 31 34 36 36
4 4.1 4 4 4.2 5	源却	也沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 ····· 地沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 ······ 异养细菌生物量对源地沙尘的响应 ····· 异养细菌呼吸速率对源地沙尘的响应 ····· 异养细菌生长效率对源地沙尘的响应 ····· 让对近海海域细菌群落结构的影响 ·····	31 31 34 36 36
4 4.1 4 4 4.2 5 5.1	源却 .1.1 .1.2 .1.3 结 沙 步 结	也沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 · · · · · 地沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	313436363838

前言

沙尘沉降是海洋外部营养盐(N、P、Fe等)的一个重要来源(Jickells等,2005)。过去的几十年中,随着观测技术的进步和研究成果的积累,对沙尘理化特性及海洋生态系统响应的一些方面有了更深刻的认识。近年来,沙尘沉降通过改变营养盐结构而影响海洋生态系统的相关研究已成为海洋科学与大气科学交叉研究的热点,其为国际 SOLAS(上层海洋-低层大气研究)科学计划、2004 GEOTRACES(痕量元素与同位素生物地球化学),IMBER(海洋生物地球化学与生态系统整合研究)等注重的热点问题。

沙尘沉降进入海洋为浮游植物及异养浮游细菌生长提供营养物质,这可以改变海洋生态系统的生命活动与海洋生物地球化学循环。然而,这种沙尘-海洋生态系统-气候变化之间的影响与反馈关系是非常复杂的(Gassó等,2010),沙尘沉降对海洋初级和次级生产过程的影响是其中最基础的一环,这一点已为许多学者所共识。但对大气沉降、营养盐循环、海洋初级生产过程三者之间的定性、定量关系的理解还存在许多不确定性。

海洋异养细菌是海洋物质循环和能量流动的重要组织环节,是海洋生态系统有机质的分解者以及重要的二次生产者,在海洋中数量大、繁殖速度快、转换效率高,生物量循环迅速,在海洋生态环境中占有重要地位(Carlson等,1994)。另外,海洋异养细菌生长也是海洋碳、氮、磷等元素的生物化学过程的重要环节。其中异养细菌的生产会消耗海水中的溶解性有机碳 DOC 和营养盐(无机氮 DIN、磷酸盐 PO4³⁻)并转换为自身的生物量,而细菌的呼吸会代谢自身产物并转化为CO₂,它们之间的关系会决定异养细菌的转换效率,进而影响细菌的生长(Hugh等,1997)。已有研究结果显示,沙尘沉降能够缓和海洋的营养盐限制状况并促进海洋的初级生产力和次级生产力,改变浮游细菌的群落结构,促进优势种更替。但至今的研究对沙尘中多种物质联合作用机制的认识尚待深入。

本研究以黄海为近海的富营养化代表海区,南海为贫营养代表区域,它们同时受到亚洲沙尘的影响,同处于沙尘向海洋传输的路径上,因此更具有比较意义。

现有研究主要集于大西洋、地中海、南大洋以及亚极地东北太平洋,相比而言,对中国黄渤海富营养盐海区和南海贫营养盐海区的研究相对较少,而它们之间的对比研究尚未见报道。开展对比研究的意义,在于从比较中能够更明确地认识不同海区对沙尘沉降的响应特征。通过沙尘添加模拟培养实验,进行沙尘对不同营养水平海区异养细菌生长影响的对比研究,认识不同来源沙尘生物可利用性的差异,揭示沙尘对海洋浮游细菌的联合促进/抑制作用机制,为探索沙尘沉降对海洋初级生产力的影响提供一定理论依据。本文是在国家自然科学基金国际(地区)合作交流项目"亚洲沙尘沉降对近海和大洋初级生产过程影响的对比研究(41210008)"的资助下完成。

1 文献综述

1.1 沙尘沉降对海洋生态系统影响

1.1.1 沙尘暴与海洋相互作用关系

沙尘暴(Sand duststorm)是沙暴(Sandstorm)和尘暴(Duststorm)的总称,是指地面大量沙尘等颗粒性物质被强风吹起并卷入空中,随之空气变混浊,并且能见度小于一千米的严重风沙天气现象。其中沙暴指大风把大量沙粒吹入近地层所形成的挟沙风暴;尘暴则是大风把大量尘埃及其他细颗粒物卷入高空所形成的风暴。中国西北地区沙尘暴发生频率较高的(30-45 N)沙尘源区,主要分布在中纬度地区,包括最北的蒙古戈壁、最西的塔克拉玛干沙漠和柴达木盆地沙漠、中部的内蒙古巴丹吉林沙漠、腾格里沙漠和毛乌素沙地(张凯等,2003)。长距离输运是沙尘暴对生态系统影响的一个重要原因。近年来研究都证实来自亚洲沙尘不仅可以影响到中国北方的广大地区,还可以到达中国香港海域和台湾地区及邻国韩国、日本,甚至能够影响广阔的太平洋,其中一些特大沙尘暴足以影响到整个太平洋和北半球区域。

沙尘经过长距离的大气输运,通过干、湿沉降进入海洋生态系统。据研究表明,在组成结构和化学成分上北太平洋的颗粒性气溶胶和海洋沉降物与中国黄土有着明显的联系(Zhang等,1992)。据统计,亚洲源地沙尘大约有50%最终沉降到了北太平洋,即每年从亚洲大陆输入到北太平洋的矿物尘土高达480Tg(Duce等,1991)。Gao等(1997年)基于区域沙尘长距离输送模式估计了亚洲沙尘向黄海的输送和沉降通量在9g/(m²•a)和76g/(m²•a)之间。多个研究表明,大气沉降在远离人类活动的大洋是陆源物质的最主要来源之一,即使在近岸海域也是陆源物质的重要来源(Gao等,1997; Zhang等,1999)。因此,沙尘通过干、湿沉降进入到海洋的过程是海洋物质循环的重要环节,会对海洋生态系统产生巨大的影响。

1.1.2 沙尘沉降对海洋营养物质的贡献

进入 20 世纪以来,海洋中可溶解性的营养物质对海洋生态系统的限制作用一直是海洋科学研究的重要方向。营养盐作为海洋生物生命活动的物质基础,在初级生产过程中,为海洋浮游植物所摄取,成为其组成部分和物质、能量代谢的来源,并进入下一营养级在海洋生态中循环。海水中氮(N)、磷(P)、硅(Si)和铁(Fe)

等营养盐或微量营养元素的水平及供应极大地影响着初级生产水平和生态系统结构。因此,氮、磷、硅通常会作为海洋初级生产的限制因子,尤其是在一些开阔的大洋中,由于这些营养物质长期得不到补充,营养物质的限制作用会更加明显。大气沉降,尤其是沙尘沉降,作为海洋生物可利用性营养物质的主要补充途径,对海洋营养物质的贡献或对海洋的"施肥"作用,是近期海洋科学研究的热门之一。

早期的研究中关于大气沉降占海洋外源营养输入比例的结论表明,在北太平洋中部、北大西洋、地中海等海域的大气氮沉降占这些海域总外源氮补充的40%-70%(Prospero等,1989; Paerl等,1999),黄海海域来自大气沉降的生物可利用性氮和磷分别占总外源输入量的58%和75%(Zhang等,1999)。在开阔的大洋中,人类活动引发的大气氮沉降为海洋外源氮输入的1/3,其提供了海洋中3%生产力,对海洋与大气CO2的交换与海洋N2O的释放有明显影响。在欧洲北海的研究中,发现生物可利用性氮的大气沉降部分和河流输入相当,大气氮沉降对海洋初级生产和富营养化的影响具有较大的时空变化。如果仅考虑河流和大气的输入,地中海51%的氮和33%的磷来自于大气沉降,中国黄海48.7%的氮和40.8%的磷来自大气沉降,中国东海47.3%的氮和11.8%的磷来自大气沉降

许多海区铁也是限制海洋生物生长的重要营养物质,近年来,大气沉降的"铁施肥"作用及其在海洋生物地球化学中地位倍受关注。Young等(1991年)对亚洲沙尘暴发季节的观测,发现在沙尘天气过后北太平洋的初级生产力水平有了大幅的增加;他们又指出铁含量占这次沙尘暴中沙尘质量的10-15%,其中有10%铁是可溶解的,验证了这次初级生产力的增大的现象。Guieu等(2002年)对沙尘暴过后地中海海水的营养物质的调查中发现,海洋溶解性铁增加了0.8nM,是地中海铁循环的一个重要的环节。最近的研究表明,亚洲沙尘从源地向海洋的输送过程中,铁的溶解性会发生显著变化,日本 Tsukuba 沙尘中铁的溶解度(雨水和海水的溶解度分别为11.8%和1.10%)明显高于沙尘源地阿克苏沙尘中铁的溶解度(雨水和海水的溶解度分别为4.1%和0.28%),铁的溶解度从戈壁源区的0.5%能够增加到西北太平洋的3-5%(Takahashi等,2011)。另外一些研究则表明,铁的溶解性为海洋过程(如海洋中的生命活动)所控制

(Mendez 等, 2010)。

1.1.3 沙尘沉降对海洋生态系统的影响

由于在大气输运过程中沙尘携带了大量陆源营养物质和海洋生物可利用的 铁和其他微量营养素,对海洋表层初级生产力有直接影响,对沿途各地的生态系 统、海洋生态系统以及全球气候和环境变化也有显著的影响(Zhuang等,2001, 2002)。

(1) 沙尘沉降对海洋生命活动的影响

沙尘沉降对海洋生命活动产生影响的大小,主要取决于沙尘沉降提供的营养物质是否能缓解海洋水体中营养盐的限制状况。由于各个海域的营养限制类型并不相同,因此海洋生命活动可能与沙尘中的某种营养盐的浓度具有明显的相关性,也可能对沙尘中不同营养盐的比例更敏感。所以,沙尘沉降对海洋生命活动的影响既可能是正向的,也可能是负向的,还有可能是影响不显著。

观测发现,北太平洋的一次沙尘过程使海洋中 C 和 N 的同化速率分别提高 37%和 25%,新生产力增加 4 倍 (Ditullio 等,1991)。北大西洋东部副热带海域,沙尘沉降曾经在四天之内使浮游植物生产力增加了 10 倍 (Duarte 等,2006)。澳大利亚昆士兰近岸海域,2002 年 10 月一次强沙尘暴及其后的小雨过程使浮游植物现存量增加至多年平均值的 1.5-2.0 倍,同时令叶绿素的高浓度维持了 3 周;另有观测显示,在 2000 年和 2008 年,大量的沙尘入海导致了该海区水华发生和月平均叶绿素浓度的增加 (Nezlin 等,2010)。西北非洲的沿岸水体,虽然上升流是营养盐的主要控制因素,但沙尘沉降也能够促进该海区生产力的增加,在 2000-2008 年的 57 次强沙尘事件中,有 6 次沙尘事件引起了表层叶绿素的明显变化,滞后于沙尘事件的时间分别为 8-16 天 (Ohde 等,2010)。地中海西北部,2004 年 2 月沙尘过后整层水体的颗粒物浓度较沙尘事件前 (一月份)增加了 1 倍,细菌的丰度在沙尘后达到极大值,平均增加 57%。

但沙尘事件也并不是总能引起浮游植物的明显响应。Banzon 等(2004年) 在阿拉伯海开展了一些研究,但并未发现沙尘事件之后浮游植物生产力的明显增加。Paytan 等(2009年)实验研究发现,沙尘对浮游植物生长的影响决定于沙尘的化学成分且随物质而不同,沙尘中的 Cu 能够对微微型真核生物和聚球藻产生毒性作用,从而抑制其生长。可以推测,沙尘中的其他元素以及至今尚不为 人所熟知的元素间的联合作用也可能对某些浮游植物的生长产生促进或毒性效应,从而使沙尘沉降的影响更为复杂。因此,沙尘沉降对海洋生命活动及海洋生物地球化学过程的影响是多种营养物质联合作用,包括可能产生毒性效应的重金属以及有机污染物联合作用的结果。

(2) 沙尘过程携带的微生物对海洋生态系统的影响

沙尘在大气的输运中还会协带有大量可存活的微生物一细菌、真菌、病毒 等。粗略来说,保守估计每克土壤中存活着 104个细菌,而每年有 106吨的土壤 经过风媒进入大气圈,因此每年在大气中会输运 1016 个细菌,而且还不包括颗粒 中的真菌和病毒。近期在沙尘暴期间对非洲(Kellogg等,2004)和加勒比海地 区(Griffin 等, 2001)的大气中微生物的调查发现,在不大于 200L 的空气中存 在上百种细菌和真菌,并且它们都能够在沙尘的远距离输运中存活;同时,Griffin 发现总细菌数中有相当一部分是可培养细菌,并且在空气样品中检测出了具有病 毒特征的颗粒性物质。在维京群岛的大气样品的微生物检测中,发现有25%的病 毒为植物原体,有10%为可引发人群感染的病原体;而在沙尘天气下在马里收集 的同样样品中,检测出 10%的细菌为动物病原体,5%的为植物病原体,以及 27% 的为可引发人群感染的病原体(Kellogg 等, 2004)。至今, 在沙尘暴过程的大气 样品中已经确定发现了许多种微生物,并且有一部分细菌和真菌是之前在水生生 态系统中出现过的。其中,有一部分海洋细菌已在马里的大气样品中收集,这些 细菌是源于数百公里之外的大洋中的(Kellogg 等, 2004)。而在早期关于陆地土 壤细菌与海洋细菌的对比研究中发现,大多数土壤细菌都具有更强的广盐性,这 预示着它们可以在海洋生态系统中生存(Zobell 等, 1936)。

近期关于海洋生态系统灾害和流行病的报道也越来越多,而对其暴发机制的研究中,更多的人选择在沙尘暴等天气现象中寻求联系。Shinn等(2000年)就曾假设 20 年间加勒比海地区珊瑚虫数量的下降和非洲沙尘暴之间的巧合关系,原因是已经检测出导致这种海洋珊瑚虫疾病的微生物是 aspergillosis,而这类真菌不能在海洋中繁殖; Shinn等认为这类真菌是通过沙尘沉降进入海洋生态系统中的。Garrison 在(2003年)的调查中发现在维京群岛海域的细菌的 16SrDNA 序列与 Bacillus mojavensis 有 98%的相似性,而 Bacillus mojavensis 是首次在 Mojave 沙漠中发现的。越来越多的证据说明,沙尘中携带的微生物的沉降对

于海洋生态系统的影响是不可忽视的,而对于沙尘沉降的微生物的更深层次的研究也仍需持续进行。

1.2 沙尘对海洋异养细菌作用的研究

在海洋生态系统中异养细菌既是生产者,又是分解者;由于其在海洋中数量大、增殖速度快,且转换效率高、生物量循环迅速,因此在海洋生态系统中扮演者及其总要的角色。由于海洋异养细菌具有高效的酶系统和特殊的生化活性,其参与到海洋的碳、氮、磷、硫等元素的生化过程中,成为海洋生物地球化学循环过程的重要环节。因为海水中的DOM、氮、磷等营养盐常常成为影响异养细菌生长的重要限制因子,而沙尘沉降作为陆源营养物质和污染物质向海洋输送的重要途径,是海洋中这些限制性营养元素的重要来源。又因为在海洋异养细菌是较为敏感且易受生存环境影响的微生物,所以当外源营养物质的进入使海水的营养条件发生改变时,尤其是沙尘沉降时,异养细菌生存的环境特征的变化会对异养细菌的生物活性和群落结构产生重要影响。因此,沙尘沉降对于海洋异养细菌的作用,尤其是对贫营养海域异养细菌生长的影响十分巨大。

1.2.1 海洋异养细菌在微食物环中地位和作用

自从Azam(1983年)提出微食物环的概念以来,异养细菌在海洋生态系统中的地位和作用受到广泛重视。微食物环是指异养细菌微生物在吸收溶解性有机质(DOM)过后转化为细菌自身的生物量,然后被以细菌为食的生物(通常是原生动物)所利用,转化为更大的颗粒(大约几十μm),最后进入下一级食物链(见图 1-1)。异养细菌是微食物环的主要组成部分,它将DOM转变为POM,这个转变过程是次级生产过程,通常异养细菌的次级生产力相当于初级生产力的20%-30%;并且其利用了浮游动物所不能利用的DOM,使整个海洋生态系统的生态效率得到一定程度的提升。异养细菌生物量站总颗粒有机物的14%-62%,在贫营养盐海域中异养细菌与DOM相偶联构成生态系统能流与物流的基础环节。

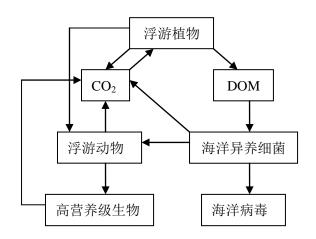


图 1-1 海洋微食物环示意图 (据Kirehman等, 2009)

Fuhrman(1992年)应用一系列新的研究方法和手段发现异养细菌生产力相当于平均初级生产力的20%,在个别海域可达到30%。通过测定海洋细菌细胞个体的重量发现,海洋异养细菌的转化因子比在实验室培养最大的细菌值大3倍以上。通常海洋异养细菌的转化系数在300 fg/μm³到500fg/μm³之间,而海洋异养细菌体积大小约为0.036-0.073μm³,每个细菌大约含有碳共20 fg和氮共5 fg。通过这些研究可得知,海洋异养细菌的生物量十分巨大,生产力也非常高,并且其也是微食物环中的能流和物流的重要环节。海洋异养细菌在微食物环中受温度和DOM的影响,同时又受到微型浮游动物的摄食压力和病毒的控制。因为同一海域同样的细菌生产需要大量的溶解性有机物,而初级生产力产生的DOC往往满足不了细菌生产力的需要。因此大量的外源DOM是支持细菌生产力进行的重要来源。因此,一些海洋生物学家据此认为某些海域外源可溶性有机物(DOM)是细菌生长重要的资源。

1.2.2 海洋异养细菌生物活性和群落结构的限制因素

海洋异养细菌是海洋生态系统的重要组成部分之一,并且海洋细菌与其生存的环境存在互相联系、互相制约的关系。影响海洋异养细菌生产力和群落结构的因素较多,其中具有重要生态学意义的限制因子主要有DOM、海水温度、无机营养盐、一些微量金属元素(如铁)、海洋异养浮游动物的摄食和噬菌体的感染等(白洁等,2004)。在自然环境中,细菌的生物活性和群落结构往往受多个因

素的共同作用,海洋中一种环境因素的变化往往伴随着其它环境因子的改变,这些变化也调控着海洋异养细菌的生物活性和群落结构的变化。

首先,海洋生态系统中的DOM是细菌维持生命活动、进行生长繁殖的营养来源,对细菌生产力起着决定性的作用。因为,海洋中细菌能够直接吸收利用的DOM所占比例很小(约6%-7%),无法满足细菌的营养需求,所以DOM的总量和生物可利用程度,与细菌生长有着密切的关系。

其次,在海洋生态系统中,异养浮游细菌的生长也依赖于无机营养盐和铁等微量元素的组成和数量。由于海洋异养浮游细菌有高蛋白质和高核酸含量,导致其体内C:N:P比值处于较低水平,因而细菌对N、P的需求很高,并且利用溶解性无机氮(DIN)和溶解性无机磷(DIP)作为N源和P源。而铁在海洋细菌中的含量一般也很高,并且对异养细菌特有的生理、生化功能有一定作用,所以铁一般也是海洋异养细菌生长的限制因子(Kirchman等,2000)。

温度也是影响细菌生长的重要环境因子。细菌的新陈代谢能力主要取决于细菌体内酶的活性,并且在一定温度范围内,细菌酶的活性与温度成正比。因为海水温度直接影响了海洋异养浮游细菌的酶活性,因此会对其新陈代谢能力和生产力产生很大影响,并且会导致细菌多样性的变化(Fuhrman等,2008)。同时,水温显著影响生态系统的初级生产力,这将导致海区的DOM含量的变化,从而间接影响细菌生产力产生。

另外,由于微型浮游动物是海洋异养细菌的主要摄食者,微型浮游动物通过摄食将细菌的物质和能量转移到更高的营养级。因此,摄食对异养细菌的分布、生长和细菌群落的结构也产生着重要的作用(Azam等,1983)。

1.2.3 沙尘对海洋异养细菌影响的研究现状

实验生态学是研究沙尘等外源营养物质影响海洋生态系统过程和机制的有效手段,包括实验室培养实验和围隔培养实验。其中,实验室培养实验具有易于控制和操作的优点,在沙尘对海洋异养细菌影响的研究中得到了广泛应用。Pulido-Villena等(2008年)的实验研究发现,沙尘添加能够影响原核生物细胞的丰度和活动,溶解有机碳和磷的添加能够改变细菌的营养供应,沙尘添加对异养细菌的促进作用比自养过程更明显。Lekunberri等(2010年)设计培养实验研究了沙尘对贫营养近岸生态系统中细菌丰度、种群结构和代谢平衡等的影响。在

不同的培养系统中分别添加了少量(0.05g/L)和大量(0.5g/L)沙尘样品,少量沙尘的添加使培养系统中溶解性磷的浓度增加了 0.3μmol/L,DOC 的浓度增加了 14μmol/L,与此相对应,细菌丰度增加了 1.8 倍,细菌生产力增加了 5 倍,叶绿素浓度增加 1.5 倍,系统呈现异养细菌优势状态。而大量沙尘的添加则使培养系统中海洋细菌群落结构转为自养细菌优势状态。这些培养实验进一步证明了沙尘添加对海洋生态系统初级生产力、细胞丰度、细菌生产力和细菌丰度等不同作用。 Schafer 等(2001 年)通过中型模拟实验生态系对不同梯度营养物质对地中海细菌数量、群落结构组成、物种多样性的变化进行研究,结果发现在营养加富与自然海水状态相比,细菌的群落结构差别较大,通过对细菌的 DNA 进行 DGGE 指纹多维尺度分析发现,在实验过程的不同阶段细菌群落结构有所不同,对 DGGE 的主要条带进行序列分析发现,细菌菌群为 α-变型菌纲,γ-变型菌纲,δ-变型菌纲,以及噬细胞菌属(Cytophaga)、拟杆菌属(Bacteroides)、黄质菌属(Flavobacterium),而随着整个实验过程的推进,噬细胞菌属、拟杆菌属、黄质菌属等 3 个属的细菌逐渐成为优势种群。

由于更加接近现实海洋生态系统,围隔培养实验也得到了广泛的应用。 Mart fiez-Garc fa 等(2010年)利用小型船基围隔实验系统研究了大西洋氮、磷、硅及有机营养盐(葡萄糖、氨基酸)及其联合作用对浮游植物生物量、种群结构及代谢作用的影响。营养盐添加最大可使初级生产率提高1.8倍,细菌生物量和微生物群落呼吸率分别提高14.3和12.7倍,有机营养盐和无机营养盐的联合作用导致的微生物生物量和细菌生产力的增长最大。徐燕青等(2012年)于2009年8月至9月在太平洋西部和中部进行了船基营养盐加富培养实验。通过对照组、N+P组、N+Si组、P+Si组和N+P+Si组实验结果的对比发现,太平洋西部为 N、P共同限制,其中P是首要限制因子,太平洋中部浮游植物生物量仅对N、P共同添加有明显响应。CUI GUO等(2012年)利用小型船基围隔对南海贫营养盐海域细菌对沙尘气溶胶添加的响应进行了研究,发现沙尘气溶胶的添加对细菌的潜在影响被摄食压力消耗并减小自养细菌的生物量,并且指出细菌生物量和群落结构的变化是通过气溶胶增加海水有机质和无机营养盐的含量、气溶胶改变浮游植物的群落结构以及改变原生生物摄食而形成的。Lebaron等(1999年)采集地中海水样用筛绢过滤后,利用围隔装置进行高、中、低3个不同的营养梯度的营养 加富实验,对从中型模拟实验生态系中的细菌群落结构进行分析,发现在低营养梯度中获得的菌株,经鉴定,α-变型菌纲、β-变型菌亚纲、放线菌纲、梭菌纲以及黄质菌属分别有4个菌株、6个菌株、3个菌株、2个菌株、2个菌株;在中营养梯度中获得的菌株,经鉴定,α-变型菌纲、β-变型菌亚纲、放线菌纲以及黄质菌属分别有4个菌株、7个菌株、3个菌株和1个菌株;在高营养梯度中获得的菌株,经鉴定,变型菌亚纲、放线菌纲以及梭菌纲分别有2个菌株、1个菌株和1个菌株。

1.3 研究区域概况

本论文的研究区域分为两部分,以黄海中部营养盐浓度相对较高的近海海域作为富营养研究海域,以南海东北部与太平洋海水交换区域(吕宋海峡)作为贫营养研究区域。

黄海北起辽东半岛,南至长江口区域,平均水深较浅,是东亚大陆架的一部分。本研究区域位于北黄海与南黄海交界区域,其气象条件为东亚季风气候,春季为沙尘暴多发季节(冯士筰等,1999)。黄海中部水温7-8月份最高,表层水温为16℃左右,为富营养盐区域,其异养细菌丰度在2.37-13.33×10⁸cell/L之间(赵三军等,2003)。

南海位于西太平洋,南侧延至赤道,终年高温,受季风、地形及黑潮等影响,水文条件较复杂,具有丰富的微生物资源。南海是世界上最大的边缘海之一,具有半封闭特点,拥有广阔的大陆架和世界著名的河流——珠江和湄公河输入(李立等,2002a)。南海东北部海域属于亚热带季风区,其气候变化主要受东亚季风环流控制,南海北部沿岸海域冬季表层水温约为 21℃,夏季则高于 28℃,海域水温随离岸距离增加而增高(袁梁英等,2005)。南海东北部海域具有典型的大洋特征,属于贫营养海区,其海水中异养细菌数量较小且分布不均,极易受外界营养物质的影响,是亚洲沙尘沉降的主要区域(Gao等,2002)。

1.4 研究目的、内容和意义

1.4.1 研究目的

以中国黄海富营养化海区与南海贫营养海区为研究区域,通过培养实验与模拟研究,进行亚洲沙尘沉降对海洋异养细菌生长影响的探究,为认识不同海区生态系统对沙尘输入的响应机制提供一定理论依据。具体研究目的包括:

- (1) 协助建立沙尘添加培养实验(主要为船基围隔培养实验)的技术流程和实验方法。
- (2) 深入认识沙尘沉降对海洋异养微生物的响应特征,重点考虑异养细菌的生物量、比生长速率和呼吸速率对沙尘的响应关系。
- (3)理解沙尘中的主要营养要素对异养细菌生长过程的联合作用机制,揭示亚洲沙尘沉降对近海富营养海域和贫营养海域异养微生物过程影响的异同及其主要控制因子。

1.4.2 研究内容

通过对我国近海不同海域海洋异养细菌进行沙尘富集模拟培养研究,对比探究不同来源沙尘、不同添加量、不同的营养物质的耦合对不同营养条件海区异养细菌生物量和群落结构的影响,结合围隔培养系统内营养盐、DOC、溶解氧、叶绿素 a、细菌呼吸速率在培养期间的变化,分析系统内异养细菌生物量和群落结构对添加沙尘和各种营养要素前后和过程中的响应。具体包括:

- (1)不同来源和粒径沙尘、不同营养要素联合添加对海洋异养细菌生物量、 比生长速率和呼吸速率的影响过程,以及影响异养细菌生长的限制因子。
- (2)不同营养状态海域海水异养细菌对沙尘和不同营养要素添加响应的对比;培养体系内异养细菌生物活性的变化过程。
- (3) 采用现代分子生物学方法PCR-DGGE法分析添加沙尘前后异养细菌群落结构变化,并分析导致变化的原因。

1.4.3 研究思路与技术路线

通过对国内外同类研究现状和研究成果的收集和理解,结合中国近海海域营养状况制定沙尘对异养细菌生物量和群落结构研究的实施方案。首先,利用船基围隔沙尘添加模拟实验,对比研究沙尘气溶胶添加对黄海和南海等不同营养条件海区异养细菌生物活性和群落结构的影响;其次,在南海东北部贫营养海域,对比研究不同来源沙尘添加对异养细菌生物活性和群落结构的影响;最后,结合沙尘溶出状况和当前海域环境状况,对沙尘添加对异养细菌的作用机制进行探讨。本文的研究路线如图 2-1 所示。

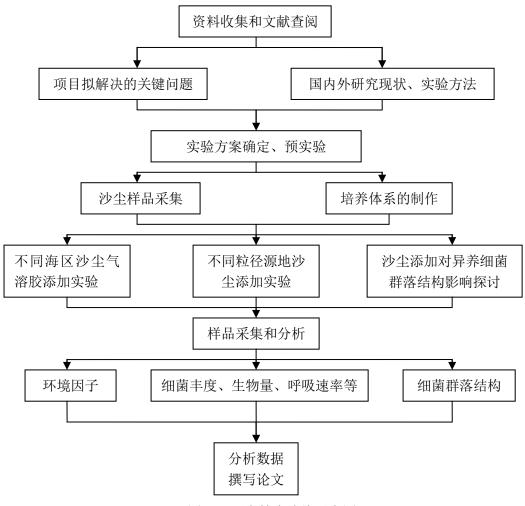


图 1-2 研究技术路线示意图

1.4.4 研究意义

本研究以黄海为近海的富营养化代表海区,南海为贫营养代表区域,它们同时受到亚洲沙尘的影响,同处于沙尘向海洋传输的路径上,因此更具有比较意义。现有研究主要集于大西洋、地中海、南大洋以及亚极地东北太平洋,相比而言,对中国黄渤海富营养盐海区和南海贫营养盐海区的研究相对较少,而它们之间的对比研究尚未见报道。开展对比研究的意义,在于从比较中能够更明确地认识不同海区对沙尘沉降的响应特征。通过沙尘添加模拟培养实验,进行沙尘对不同营养水平海区异养细菌生长影响的对比研究,认识不同来源沙尘生物可利用性的差异,揭示沙尘对海洋异养细菌的联合促进/抑制作用机制,为探索沙尘沉降对海洋初级生产力的影响提供一定理论依据。

2 材料与方法

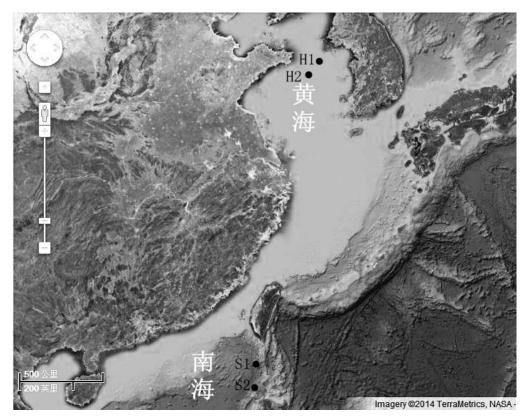


图 2-1 研究区域示意图

2.1 现场模拟培养方法的建立与实施

2.1.1 沙尘采集与处理

本次研究所用沙尘样品共为两种,一种为沙尘气溶胶样品,一种为源地沙 尘。

沙尘气溶胶样品于 2013 年 3 月 9 日-10 日发生沙尘暴时在青岛用 KC-1000 大流量气溶胶采样器(青岛崂山电子公司)进行采集,采样膜为 Whatman-41。 采样前后后,在干燥条件下称重,两者之间的差值即为沙尘气溶胶样品的质量。 在培养前,将定量的气溶胶膜剪碎后放入干净的加入去离子水的 PET 瓶中超声波震荡 20min。使用时,将气溶胶膜和瓶中液体一并倒入围隔培养瓶中。

源地沙尘样品采集于中国沙尘暴沙源地之一库布奇沙漠包头附近的沙漠表层,用干净无菌的 PET 瓶 4℃保存。在实验室对沙尘过网筛进行粒径分级,D1 为粒径小于 25μm 样品,D2 为粒径小于 150μm 样品。因小于 40μm 的沙尘是能

够形成沙尘暴的粒径范围(陈广善等,2006),本研究中 D1 样品代表源地大粒径沙尘(后称为大粒径沙尘), D2 样品代表其能够漂浮到空中形成沙尘暴源地小粒径沙尘(后称为小粒径沙尘)。

2.1.2 沙尘气溶胶添加围隔培养实验

沙尘气溶胶添加围隔培养实验分别于 2013 年 3 月和 2013 年 7 月搭载"东方红 2 号"科学考察船在南海北部和黄海中部海域分别进行。围隔培养将黄海中部海域的 H1(37.00 N,124.25 E)、H2(36.00 N,123.50 E)和南海东北部的S1(20.50 N,120.50 E)作为采水站位(见图 2-1)。由 CTD 采水器(Seabird 25,USA)采集 3m 深的表层海水并测得其初始温度、盐度和 pH 等现场数据。溶解氧 DO 由 WTW 500i 便携水质分析仪测得。水样采集后,通过 63μm 的筛绢过滤以除去大型浮游动物,装于 20L 无菌的 PET 瓶中,在通有循环海水的培养箱中进行培养。除空白对照组外,分为 4 组进行培养,培养分组和物质添加量见表2-1,其中添加的 N 为 KNO₃、P 为 KH₂PO₄、Fe 为 FeSO₄。培养周期为 10 天左右。

分别在每天的固定时间在无菌的条件下取培养系统的细菌样品。取样时,用 WTW 500i 便携水质分析仪测定培养瓶中的温度、盐度、pH、DO 等现场数据。在培养结束后,在无菌的条件下用 0.22μm 的核孔膜过滤瓶中的海水作为分子生物学样品,于-80℃保存。

			组别			
添加的营养物质	对照组	A 组	B 组	C 组	D组	E组
沙尘气溶胶(mg/I	L) 0	2	0	0	0	0
$N \ (\mu mol/L)$	0	0	2	0	2	0
$P (\mu mol/L)$	0	0	0	0.2	0.2	0
Fe (µmol/L)	0	0	0	0	0	0.02

表 2-1 沙尘气溶胶添加围隔培养实验分组情况

2.1.3 源地沙尘添加培养实验

于 2013 年 3 月份利用"东方红 2 号"科学考察船,在南海东北部 S1(20.50 N, 120.50 E)、S2(19.00 N, 120.50 E)作为采水站位(见图 2-2)。采水处理步骤同围隔培养一致,取水装于 1.5L 无菌的 PET 瓶中,同样置于通有循环海水的培养

箱中进行培养。在 S1 站做长时间培养,时间为 7d; 在 S2 做短时间培养,时间为 3d。培养共分为 6组,其中有一个空白对照,剩余组别和沙尘添加量见表 2-2,添加的 N 为 KNO₃、P 为 KH₂PO₄。取样方法同围隔培养一致。

			组别			
添加的营养物质	对照组	D1 组	D2 组	NP 组	D1+NP 组	D2+NP 组
大粒径沙尘(mg/L)	0	50	0	0	50	0
小粒径沙尘(mg/L)	0	0	50	0	0	50
$N (\mu mol/L)$	0	0	0	20	20	20
P (µmol/L)	0	0	0	4	4	4

表 2-2 源地沙尘添加培养实验分组情况

2.2 测定方法

2.2.1 环境因子的测定

(1) DOC

用高温燃烧氧化法由岛津 TOC-V 型总有机碳测定仪测定(Knap 等, 1994)。

(2) DIN

 NH^{4+} -N 用次氯酸钠氧化靛酚蓝法(Knap 等,1994), NO^{3-} -N 用铜—镉柱还原后盐酸萘乙二胺络合显色法, NO^{2-} -N 用盐酸萘乙二胺络合显色法(孙西艳 等,2010),均用 BRAN+LUEBBE AA3 型营养盐自动分析仪测定。DIN 物质的量为 NO^{3-} -N、 NO^{2-} -N 和 NH^{4+} -N 的物质的量的和。

(3) PO_4^{3-}

用磷钼蓝显色分光光度法由 BRAN+LUEBBE AA3 型营养盐自动分析仪测定(曾爱娣 等, 2010)。

2.2.2 细菌生长指标的测定

(1) 细菌生物量(Bacterial Biomass)

将细菌样品过滤到 0.22μm 的核孔膜上,经过 DAPI 染色后,用 Leica Dmla 荧光显微镜对异养细菌进行计数 (Porter 等, 1980)。用 CCD 及其软件拍照并量取细菌大小,计算其体积,并按比重 1: 1 折算重量。又据 Bratbak(1984 年)等人的测定,细菌含碳量为其湿重的 10%,将异养细菌丰度换算为以碳单位表示的细菌的生物量。

(2) 细菌比生长速率 (µ)

根据公式 μ = (lnN_2-lnN_1) / T 计算培养 3d 前后细菌比生长速率,其中 N_1 和 N_2 是培养时间 T 前后的细菌总数。

(3) 细菌呼吸速率(Bacterial Respiration Rate)

参照 Vazquez-Dom 在(2007)年的方法,根据每一时段前后 DO 浓度的变化量并换算成 C 消耗量来计算细菌的呼吸速率。

2.2.3 异养细菌群落结构的测定

(1) DNA 提取与扩增

采用美国产环境微生物样品总群落基因组 DNA 提取(PowerSoil_DNA 提取)试剂盒提取总 DNA。采用 16S rRNA 基因通用引物,以总 DNA 为模板,进行 PCR 扩增。PCR 引物采用真细菌 16S rRNA 通用引物,分别为 BA101F: 5'-TGGCGGACGGGTGAGTAA-3'; BA534R: 5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'。 引物 BA534R 的 5'端有一个 40 bp 的 GC 夹,由 Invitrogen 合成。PCR 反应程序为: 预变性 94℃,5 min; 并接以 30 个循环包括,94℃变性 40 s,55℃退火 40 s,每一循环降 0.1℃,72℃延伸 1 min,循环完毕,72℃延伸 5 min。

(2) DGGE 分析

采用 Bio-Rad 公司 DcodeTM 基因突变检测系统进行 DGGE 分析。电泳结束后,剥胶银染,并扫描获取胶图。将 DGGE 图谱数字化,以同一迁移率下,有条带计为 1,无条带计为 0。采用 SPSS 软件(SPSS Inc., Chicago IL)对各泳道群落进行聚类分析,并进行 Shannon-Weiner 多样性指数(H')分析,H'通过公式 $H' = -\sum Pi$ /lnPi 计算,其中 Pi 是泳道中条带的相对信号强度。

(3) 序列测定与分析

选取数量较大或变化较大的条带回收 DNA。取回收的 DNA 为模板,以产生该 DGGE 图谱相同的不带 GC 夹的引物,采用同前体系和 PCR 程序进行扩增,PCR 产物切胶纯化(德国,Nucleo Spin Extract II,Macherey-Nagel 生产)后,按产品说明书克隆 T-载体(PMD19-T,宝生物)。对转化子的筛选采用了蓝白斑及 PCR 的方法,PCR 直接以白斑菌落为模板,采用能与 T-载体插入点两侧特异结合的 M13 通用引物进行检测。每条带选取 5 个阳性克隆,同样以 M13 通用引物进行测序。

将所有序列提交到 RDP II 数据库中进行在线分类,同时计算各类群的比例。下载相似序列后,采用 Clustal W 对齐序列并去除冗余序列后,应用 MEGA 4.0 软件以相邻法绘制系统进化树。

2.3 数据处理与分析

采用 SPSS 公司 Spss17. 0 统计软件中多因素方差分析 Multivariate Analysis of Variance 计算显著差异性,其中 sig.<0.05 代表结果在不同分组上的差异具备显著性。应用 Spss17.0 的 Correlate 程序计算分析不同指标类型结果之间的相关性。

3 沙尘气溶胶对不同海域异养细菌生物活性的影响

沙尘气溶胶主要来源于沙漠和干旱地区的沙尘随风扬起的过程,沙尘粒子可以通过气溶胶的形式远距离输运于下游地区,并通过干、湿沉降进入海洋生态系统(张凯等,2003年)。沙尘气溶胶在入海时不仅包括源地沙尘中的营养物质,其在输运过程中还有可能结合大气污染物并且有可能携带一些微生物(张凯等,2003年)。因此,本次研究将采集于青岛的沙尘气溶胶样品近似代替沉降入海的沙尘,将其作为沙尘入海的最终形式进行对海洋异养细菌生物活性的研究。

不同海域的营养盐输入结构不同,因而沙尘沉降在不同海域营养输入上的地位也不同。南海东北部海域,尤其是巴士海峡区域海水处于与外大洋高度混合状态,其陆源输入的重要性很低,营养也较为贫乏,沙尘沉降很可能是营养元素的主要来源。而黄海中部区域则情况不同,其营养情况较为充分,沙尘沉降的重要性相对较低。因此,本研究将南海东北部的 S1 站位和黄海中部的 H1、H2 站位作为两个不同海域的典型代表,对沙尘气溶胶对不同营养海海域异养细菌的作用进行对比分析。

细菌生物量是细菌在某一时间点上有机物质的含量,是细菌同化作用的具体表现;细菌呼吸速率是指细菌呼吸用于维持自身生命活动而消耗的能量,是细菌生产代谢的重要指标;细菌的生长效率则与细菌的物质转换效率有关,它们都可以作为细菌生物活性的表征。本研究利用围隔培养系统,模拟一个与外界一致并相对稳定的生态系统,通过观测细菌生物活性的各个指标,研究沙尘气溶胶样品对异养细菌的影响过程;并在相同条件下不添加任何物质或添加氮、磷、铁等营养元素进行对照,研究沙尘气溶胶对异养细菌的作用机制。

3.1 沙尘气溶胶对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响

选择南海东北部海域 S1、S2 站进行现场模拟培养,其中只在 S1 站进行沙 尘气溶胶添加围隔培养。两个站 S1、S2 站位都位于南海东北部巴士海峡区域,它是南海连通大洋的唯一深水通道,有着重要的地理位置(李立,2002)。站位 其环境情况见表 3-1,表层海水都处于高水温、高盐度和高 pH 值的状态。S1 站

位的 DOC、DIN 和磷酸盐浓度都处于较低的水平,与 Yuan 于 2011 年在附近海域的观测值(DOC: $70\mu\text{mol/L}$, DIN: $4\mu\text{mol/L}$, PO_4^{3-} : $0.1\mu\text{mol/L}$)相比(Yuan 等,2011); 2 个站位的 DOC 浓度均低于检测值,A2 站的 DIN 浓度相对较低,而 2 个站位磷酸盐浓度则较高。根据 Fisher(1992 年)提出营养盐的限制浓度 DIN: 2 $\mu\text{mol/L}$, PO_4^{3-} : $0.2 \mu\text{mol/L}$; 可知 S2 可能受氮限制,S1 可能受到磷限制。2 个站位异养细菌丰度和叶绿素 a 与 He(2009 年)对邻近海域的观测值对比(异养细菌丰度: $1.6\pm0.8\times10^6$ cell/ml;叶绿素 a: 0.7 ± 0.3 $\mu\text{g/L}$),可知 S2 站异养细菌和浮游植物处正常状态,而 S1 站可能处于异养细菌和浮游植物暴发的状态。

站	水温	盐度	pН	DO	DOC	DIN	PO ₄ ³⁻	异养细菌丰度	叶绿素 a
位	$^{\circ}$ C	‰		mg/L	μmol/L	μmol/I	μmol/I	cell/ml	μg /L
S 1	26.3	33.9	8.13	6.62	35.04	4.82	0.23	2.79×10^6	1.174
S2	26.6	33.8	8.09	6.32	31.82	2.81	0.30	1.51×10^{6}	0.657

表 3-1 南海东北部海域培养站位环境条件

3.1.1 异养细菌生物量对沙尘气溶胶的响应

图 3-1 为 S1 站位气溶胶添加围隔培养中各分组细菌生物量的变化情况。各培养组细菌生物量均在培养初期有小幅增长,除沙尘添加的 A 组外均在第 4 天达到第一个峰值。在第 4 天,对照组的细菌生物量为 0.082 mg C/L,而添加沙尘的 A 组的细菌生物量为 0.127 mg C/L,是对照组的 1.55 倍。在第 4 天,添加磷的 C 组细菌生物量最大,为 0.227 mg C/L,是对照组的 2.77 倍;其次是同时添加氮、磷的 E 组、添加氮的 B 组和添加铁的 D 组,细菌生物量分别为 0.171 mg C/L、0.159 mg C/L 和 0.145 mg C/L,分别是对照组的 2.09 倍、1.94 倍和 1.77 倍。

在培养的 5-9 天,各组的细菌生物量均呈现缓慢上升的趋势,并在第 10 天达到培养期间的最高值。在第 10 天对照组的细菌生物量为 0.366 mg C/L,添加沙尘的 A 组的细菌生物量为 0.603 mg C/L,是对照组的 1.65 倍。在所有培养分组中,添加铁的 D 组细菌生物量最大,为 0.744 mg C/L,是对照组的 2.03 倍;其次是添加氮的 B 组、添加磷的 C 组和同时添加氮、磷的 E 组,细菌生物量分别为 0.739 mg C/L 、 0.673 mg C/L 和 0.606 mg C/L,分别是对照组的 2.02 倍、1.75 倍和 1.66 倍。

在海洋生态系统中,当受到外源的营养补充时,由于海洋异养细菌有着较大的比表面积,异养细菌的生产对其响应比初级生产快速(Drakare 等,2002)。因此可知,在培养前期异养细菌生物量的增长主要是环境中营养限制的缓解而引起的。而在培养后期,异养细菌生物量的增长可能是由于浮游植物在培养中段的暴发而引起的,因为浮游植物的生长会向环境中释放 DOM,这引起系统中异养细菌的又一次暴发,这种情况在 Lekunberri 等(2010 年)地中海的沙尘沉降培养研究中曾分析过。

在培养过程中,添加沙尘气溶胶的 A 组细菌生物量明显大于对照组 (P<0.05),说明沙尘添加可以明显促进异养细菌生长。在培养第 10 天添加铁的 D 组细菌生物量最大,而在第 4 天时细菌生物量不大,可能是因为铁是浮游植物 的限制因子,在培养后期浮游植物的生长刺激了异养细菌的增长。

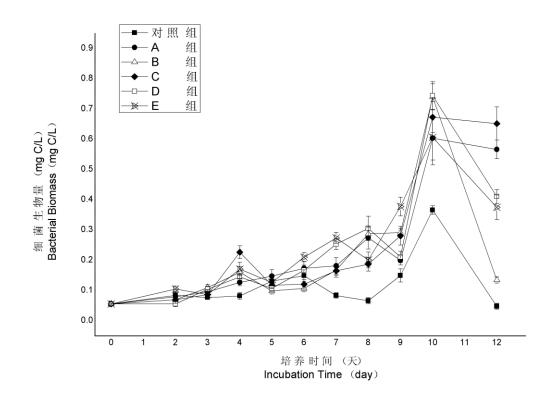


图 3-1 S1 站位气溶胶添加培养实验异养细菌生物量的变化

3.1.2 异养细菌呼吸速率对沙尘气溶胶的响应

图 2-2 为 S1 站位气溶胶添加围隔培养中各分组细菌呼吸速率的变化情况。培养初始时,细菌呼吸速率为 0.081 mg C/ L·d。对照组的细菌呼吸速率在培养期间变化不大,其余各组都有一定的增加趋势。其中,添加氮的 B 组、添加磷

的 C 组和同时添加氮、磷的 E 组的细菌呼吸速率均在第 4 天达到了第一个峰值,而其余组则呈缓慢增长的趋势。在培养的第 10 天,各组的细菌呼吸速率都达到了最高值。其中,在沙尘气溶胶添加 A 组的细菌呼吸速率为 0.271 mg C/ L·d,是对照组的 2.74 倍;各组在第 10 天的细菌呼吸速率最大值为添加铁的 D 组的 0.354 mg C/ L·d,是对照组的 3.58 倍。其余各组的呼吸速率从大到小分别为添加氮 B 组的 0.325 mg C/ L·d、添加磷 C 组的 0.307 mg C/ L·d 和同时添加氮、磷的 E 组的 0.246 mg C/ L·d,它们分别为对照组的 3.28 倍、3.10 倍和 2.48 倍。

培养过程中,添加沙尘气溶胶的 A 组细菌呼吸速率明显大于对照组 (P<0.05),表明沙尘气溶胶的添加能够极大程度地促进细菌呼吸代谢功能。在培养前 10 天,添加沙尘气溶胶 A 组的异养细菌呼吸速率一直呈现上升趋势,这与 A 组细菌生物量的变化一致。这可能是因为与其他的营养物质不同,沙尘在系统中溶出营养物质的过程是缓慢渐进的,所以反映在细菌呼吸速率和细菌生物量的增加上也比其他营养物质的添加稍迟缓。

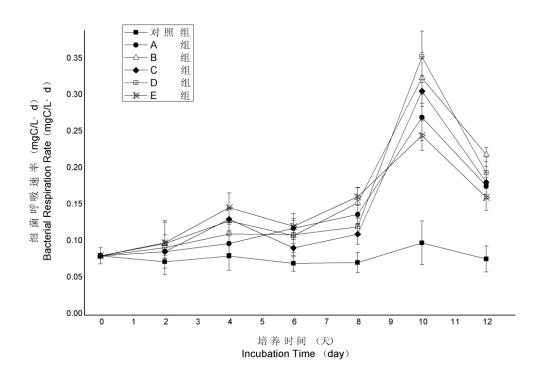


图 3-2 S1 站位气溶胶添加培养实验异养细菌呼吸速率的变化

3.1.3 异养细菌生长效率对沙尘气溶胶的响应

S1 站位气溶胶添加围隔培养的异养细菌平均比生长速率如表 3-1 所示。在培养期间,对照组的平均细菌比生长速率为-0.013 /d,添加沙尘气溶胶的 A 组的平均细菌比生长速率为 0.193 /d,而添加磷的 C 组平均细菌比生长速率最大,为 0.205 /d。其次,依次是添加铁的 D 组、添加氮和磷的 E 组和单独添加氮的 B 组。

Pradeep-Ram (2002年)曾报道,海水中细菌的呼吸速率与细菌生产之间有着紧密的关系,异养细菌的比生长速率与细菌呼吸速率的比值可作为细菌物质转换效率的指标。S1 站位比生长速率与细菌呼吸速率的比值见表 3-1;比值越大,说明细菌对物质的转换效率越高,细菌异养程度越高(Itziar等,2010)。在不同实验组中,添加沙尘气溶胶的 A 组细菌转换效率的促进作用较为明显(P<0.05);而添加磷的 C 组的细菌转换效率最高(P<0.05),添加氮的 B 组细菌转换速率相比对照组增长不大(P>0.05),这说明在各项营养物质中,磷对于异养细菌生长的促进作用最大,氮对于异养细菌生长的促进作用不明显,异养细菌处于磷限制状况。

结果表明,沙尘气溶胶能够同时促使异养细菌比生长速率和呼吸速率的增长,并增加了细菌的物质转换效率,使异养细菌的生长效率进一步增大,提高了其在微食物环和生态系统中的作用。

组别	μ(/d)	r(mg C/L d)	μ/r
对照组	-0.013	0.102	-0.127
A组	0.193	0.129	1.496 *
B 组	0.073	0.123	0.593
C 组	0.205	0.122	1.680 *
D组	0.166	0.123	1.349 *
E 组	0.159	0.135	1.178 *

表 3-2 围隔培养期间平均异养细菌比生长速率(µ)、呼吸速率(r)及比值(µ/r)

3.2 沙尘气溶胶添加对黄海中部海域异养细菌生物活性的影响

选择黄海中部海域 H1、H2 两个站位进行培养,两个培养站位均位于黄海中部富营养盐海域(见表 3-3),其 DOC、DIN 浓度都大于南海北部两个站位的值,

而磷酸盐的浓度则要比南海两个站位低; H1、H2 站位的氮磷比分别为为 47:1 和 31:1,均大于 Redfield 指数 16:1,说明两个站位都有着明显的磷限制。这两个站位的异养细菌丰度都明显大于南海北部的两个站位,而叶绿素 a 水平则明显低于南海北部两个站位;这说明黄海中部两个站位的异养程度相对较高。H1 站无论在营养水平还是异养细菌和叶绿素 a 水平上都要高于 H2 站。

站	水温	盐度	pН	DO	DOC	DIN	PO_4^{3-}	异养细菌丰度	叶绿素 a
位	$^{\circ}$	‰		mg/L	μmol/L	μmol/I	μmol/L	cell/mL	μg/L
H1	21.8	31.3	8.1	6.83	95.12	9.42	0.22	9.39×10^{6}	0.238
H2	21.9	31.7	8.2	6.68	50.31	6.27	0.20	6.01×10^{6}	0.212

表 3-3 黄海中部海域培养站位环境条件

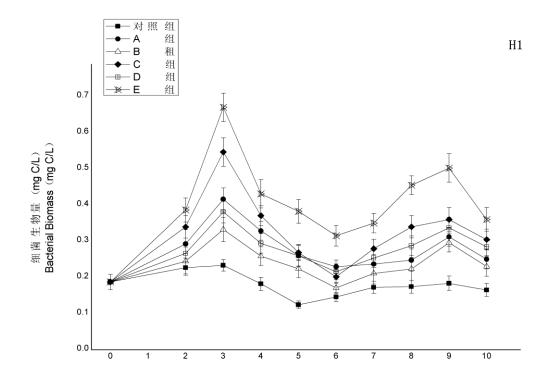
3.2.1 异养细菌生物量对沙尘气溶胶的响应

黄海中部海域 2 个站位气溶胶添加培养期间海水异养细菌的生物量变化见图 3-3。在 H1 站,初始异养细菌生物量为 0.188 mg C/L,培养期间各培养组的细菌生物量都呈现出先增长后下降再增长的趋势;各培养组细菌生物量都在第 3 天达到峰值。在培养第 3 天,添加沙尘气溶胶的 A 组细菌生物量为 0.416 mg C/L,是对照组的 1.78 倍;各培养组中,同时添加氮和磷的 E 组细菌生物量最大,为 0.670 mg C/L,是对照组的 2.86 倍;其次依次是添加磷的 C 组、添加铁的 D 组和添加氮的 B组,细菌生物量分别为 0.547 mg C/L、0.381 mg C/L和 0.332 mg C/L,分别为对照组的 2.33 倍、1.62 倍和 1.42 倍。

在培养过程中,添加沙尘气溶胶的 A 组异养细菌生物量较对照组有明显增长 (P<0.05); 说明沙尘的添加能有效地缓解 H1 站海水营养限制,促进其异养细菌生长。 培养期间,同时加氮和磷的 E 组的细菌生物量相比于对照组的增长最大,而磷添加 C 组的细菌生物量大于氮添加 B 组和铁添加的 D 组; 这说明 H1 站异养细菌生长的限制因子主要为磷。

在 H2 站,初始异养细菌生物量为 0.120mg C/L,低于 H1 站的初始值;各培养组异养细菌生物量的变化规律与 H1 站相似,各组生物量均在第 3 天达到最大值。在第 3 天,添加沙尘气溶胶的 A 组细菌生物量为 0.399 mg C/L,是对照组的 2.42 倍,大于在 H1 站的倍数;各培养组中,同时添加氮和磷的 E 组细菌生物量最大,为 0.505mg C/L,是对照组的 3.06 倍;其次依次是添加磷的 C 组、添加

氮的 D 组和添加铁的 B 组,细菌生物量分别为 0.376mg C/L、0.305mg C/L 和



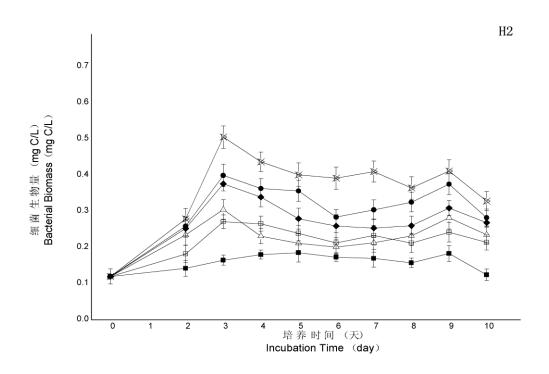


图 3-4 H1、H2 站位沙尘气溶胶添加围隔培养异养细菌生物量的变化

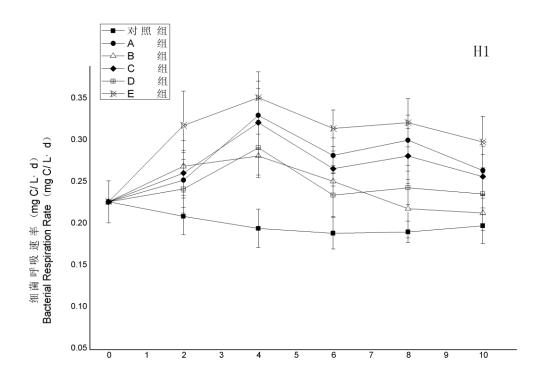
0.271mg C/L,分别为对照组的 2.28 倍、1.85 倍和 1.64 倍。H2 站添加沙尘的 A 组细菌生物量相对于对照组的增长比 H1 站的大,说明在营养水平和初始细菌生物量较低的 H2 站,沙尘气溶胶对异养细菌生长的促进作用更为明显。H2 在其他营养物质添加组的情况与 H1 相似,各个营养物质中,磷的限制作用相对较大。

3.2.2 异养细菌呼吸速率对沙尘气溶胶的响应

H1、H2 沙尘气溶胶添加围隔培养期间细菌呼吸速率的变化见图 3-4。H1 站位培养前初始细菌呼吸速率为 0.227 mg C/ L·d; 各培养组的细菌呼吸速率都 先增大后减小,在第 4 天达到最高值。在第 4 天,添加沙尘气溶胶的 A 组细菌呼吸速率为 0.331 mg C/ L·d,是对照组的 1.59 倍;添加氮和磷的 E 组细菌呼吸速率最大为 0.352 mg C/ L·d,是对照组的 1.81 倍;其次依次是磷添加的 C 组、铁添加的 D 组和氮添加的 B 组,最大值为 0.322 mg C/ L·d、0.292 mg C/ L·d 和 0.282 mg C/ L·d,分别为对照组的 1.65 倍、1.50 倍和 1.45 倍。

H2 站位的细菌呼吸速率变化与 H1 不同,除铁添加 D 组呼吸速率一直缓慢增加在第 8 天才达到最高值外,各培养组都在先增长在第 4 天达到最高值后缓慢减小。添加沙尘气溶胶的 A 组细菌呼吸速率在第 4 天达到了最高值 0.235mg C/L·d,是对照组的 2.14 倍,大于在 H1 的值。在第 4 天,同时添加氮和磷的 E 组细菌呼吸速率最高,是对照组的 2.28 倍,其次是添加磷的 D 组和添加氮的 B 组,分别为对照组的 2.06 倍和 1.86 倍。

在 H1、H2 两个站位,沙尘气溶胶的的添加都能明显促进异养细菌呼吸速率的增长 (P<0.05),而在 H2 站沙尘气溶胶的促进作用要更为明显,这与细菌生物量的变化相似。在两个站位,氮和磷同时添加的 E 组对细菌呼吸速率增长的促进作用最明显,其中磷添加使细菌呼吸速率的增长比氮和铁的添加大。



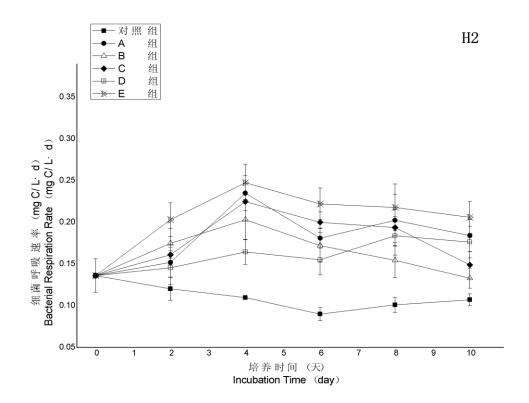


图 3-4 H1、H2 站位沙尘气溶胶添加围隔培养异养细菌呼吸速率的变化

3.2.3 异养细菌生长效率对沙尘气溶胶的响应

H1、H2 站位在培养期间异养细菌的平均比生长速率见表 3-4。在 H1 站培养期间,对照组的平均细菌比生长速率为-0.013/d,添加沙尘气溶胶的 A 组的平均细菌比生长速率为 0.029/d,同时添加氮和磷的 E 组平均细菌比生长速率最大,为 0.065/d。其次依次是添加磷的 C 组、添加铁的 D 组和单独添加氮的 B 组。而在 H2 站,各组的异养细菌平均比生长速率都大于 H1 站。添加沙尘气溶胶的 A 组平均比生长速率为 0.085/d;同时添加氮和磷同样使细菌的比生长速率达到最大。

在 H1 站位的不同分组中,添加沙尘气溶胶的 A 组细菌转换效率的促进作用较为明显 (P < 0.05);而添加氮和磷的 D 组的细菌转换效率最高 (P < 0.05),添加氮的 B 组细菌转换速率相比对照组增长不大 (P > 0.05),这说明在各项营养物质中,氮和磷同时添加对于异养细菌生长的促进作用最大,磷对于异养细菌生长的促进作用大于氮。而在 H2 站位,各组的 μ r 值相对于对照组都具备显著性 (P < 0.05),其中同时添加氮和磷使得异养细菌的细菌转换效率最高。

结果表明,沙尘气溶胶能够同时促使黄海中部富营养海域 H1、H2 两个站位异养细菌比生长速率和呼吸速率的增长,并增加了细菌的物质转换效率,使异养细菌的生长效率进一步增大,增加了其在物质循环中的作用。

		H1 站			H2 站	
组别	μ(/d)	r(mg C/L d)	μ/r	μ(/d)	r(mg C/L d)	μ/r
对照组	-0.013	0.201	-0.065	0.004	0.111	0.036
A 组	0.029	0.276	0.105 *	0.085	0.182	0.467 *
B 组	0.020	0.244	0.082	0.067	0.162	0.414 *
C 组	0.049	0.270	0.181 *	0.081	0.178	0.455 *
D 组	0.042	0.237	0.177 *	0.058	0.160	0.363 *
E 组	0.065	0.306	0.212 *	0.101	0.206	0.490 *

表 3-4 围隔培养期间平均异养细菌比生长速率 (μ)、呼吸速率 (r) 与比值 (μ /r)

3.3 结论

通过围隔培养模拟海洋环境,对沙尘气溶胶和其它营养物质添加下异养细菌生物活性各指标进行分析,探讨了在不同营养情况海域异养细菌对沙尘气溶胶

的响应过程和机制,得到结论如下:

- (1) 南海东北部 S1 站位与黄海中部 H1、H2 两个站位分别处于不同的营养状态。S1 站位属于贫营养盐海域,各营养盐状况都低于以往检测值,但其异养细菌丰度和叶绿素 a 则高于报道值,其浮游植物和异养细菌有可能处于暴发状态。H1、H2 两站位则属于富营养盐海域,DOC 和 DIN 都明显高于 S1 站位,但其磷酸盐浓度都不高,处于明显的磷限制状态;两个站位的异养细菌丰度均明显大于 S1 站,但叶绿素 a 值很低,这可能与磷的限制有关。而在 H1 站位与 H2 站位之间,无论在细菌丰度还是营养水平上 H1 站位都大于 H2 站位。
- (2) 在培养期间,两个海域的围隔内异养细菌生物量都大致经历了先增长后减小再增长的过程。不同的是,在南海 S1 站异养细菌生物量在培养后期的第10 天左右出现最大值,而黄海的 H1、H2 站位都在培养的前期第3 天细菌生物量就达到了培养期间的最大值。这可能是因为,虽然 H1、H2 站在异养细菌数量上明显大于 S1 站,但这两个站位的浮游植物数量则相对较小,在培养后期对异养细菌提供内源 DOM 促进异养细菌增殖的能力相对 S1 站较弱。

在南海 S1 站,沙尘气溶胶的添加组在异养细菌生物量最大时为对照组的 1.65 倍;在黄海的 H1、H2 站位,沙尘气溶胶的添加组在异养细菌生物量最大时分别为对照组的 1.78 倍和 2.42 倍。沙尘在两个海域都能够明显地促进异养细菌生物量的增加,在南海沙尘对在异养细菌生物量最大时对细菌生物量增加的促进没有黄海两个站位大,可能是因为其所处的培养阶段不同而引起的;在黄海的 H1、H2 两站位之间的比较可以看出,营养水平相对低的情况下,沙尘对异养细菌的促进作用更为明显。

- (3)两个海域异养细菌呼吸速率的变化状况与细菌生物量的变化一致,沙尘气溶胶的添加都使细菌的呼吸速率相对于对照组得到明显的增加。在南海 S1 站,沙尘气溶胶的添加组在异养细菌呼吸速率最大时为对照组的 2.74 倍;在黄海的 H1、H2 站位,沙尘气溶胶的添加组在异养细菌呼吸速率最大时分别为对照组的 1.78 倍和 2.14 倍。结果表明,在营养水平低的海域沙尘气溶胶的添加对异养细菌的呼吸代谢的促进作用更大。
- (4)通过对两个海域围隔培养期间的异养细菌平均比生长速率、平均呼吸速率及其比值进行分析,发现沙尘气溶胶的添加能够显著促进异养细菌的物质转

化速率,提高了其在海洋生态系统中的生态效率和生态功能。

(5)在南海 S1 站位的围隔培养的其它营养物质添加组,磷添加组无论在细菌生物量、呼吸速率还是生长效率上都大于其他组,说明异养细菌处于磷限制状态。在黄海的 H1、H2 两个站位,氮和磷同时添加对异养细菌的生长最大,而且磷的促进作用比氮大,异养细菌同样处于磷限制的状况。

4 源地沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响

沙尘在远距离输运过程中与会与空气中的污染物相互作用,使其含有重金属和有毒有机物等,从而可能对海洋生物和生态系统产生损害效应(高会旺等,2009)。因此,为了单纯考虑沙尘中营养物质对南海营养限制的缓解和对异养细菌生长的促进;在去除摄食压力的条件下,进行源地沙尘对南海异养细菌生物活性影响的研究具有重要意义。

沙尘粒子的传输距离和影响范围主要取决于粒径的大小,研究表明粒径大于 150µm 者不能漂浮到上空,而粒径 20µm 左右则可上升到 4000m 的高度,而且可输送到在离源地 3000 km 以外的地区(陈广善等,2006年)。本研究以 150µm 级沙尘和 25µm 级沙尘为研究对象,探讨源地沙尘中能形成沙尘暴的大粒径沙尘 D2 和不能形成沙尘暴的小粒径沙尘 D1 对异养细菌生长的影响。

本次研究为突出沙尘对异养细菌的作用,选定南海东北部海域 S1、S2 两个站位异养细菌进行沙尘富集培养,在单独添加两种沙尘和联合添加营养盐与沙尘的情况下,观察培养体系内细菌生物活性指标的变化,讨论两种沙尘对贫营养海域异养细菌生长的短期和长期影响,探讨异养细菌对不同源地沙尘的响应机制。

4.1 源地沙尘对南海东北部海域异养细菌生物活性的影响

选取南海东北部 S1、S2 两个培养站位进行源地沙尘添加培养,其初始环境 状况见 3.1.1。

4.1.1 异养细菌生物量对源地沙尘的响应

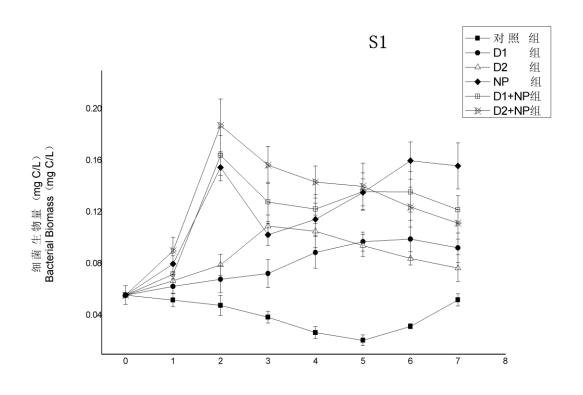
根据图 4-1 结果,沙尘和营养盐的不同添加组均使培养体系中异养细菌生物量相对于对照组出现了明显增长 (P<0.05)。在 S1 站,培养期间除对照组外,各组的异养细菌生物量都出现了增长。其中添加小粒径沙尘的 D2 组细菌生物量在第 3 天达到最大值 0.109 mg C/L,是对照组的 2.79 倍;大粒径沙尘添加的 D1 组在第 6 天才达到最大值 0.099 mg C/L,是对照组的 3.19 倍。然而,沙尘与营养盐联合添加的培养组则呈现出不同的趋势。由于氮和磷的添加,这三个组的异养细菌生物量短期内会迅速增长,分别在第 2 天达到最大值;添加氮和磷的 NP 组

为 0.155 mg C/L,是对照组的 3.23 倍;同时添加大粒径沙尘和氮磷的 D1+NP 组为 0.164 mg C/L,是对照组的 3.42 倍;同时添加小粒径沙尘和氮磷的 D2+NP 为 0.188 mg C/L,是对照组的 3.92 倍。与 S1 相似的结果,S2 站的 3 天的短期培养中,对照组的异养细菌生物量缓慢下降;NP 组、D1+NP 组和 D2+NP 组的细菌生物量均在第 2 天达到了最大值;NP 组为 0.114 mg C/L,是对照组的 3.17 倍;D1+NP 组为 0.120 mg C/L,是对照组的 3.33 倍;D2+NP 为 0.133 mg C/L,是对照组的 3.69 倍。而 D1 组和 D2 组细菌生物量则一直呈现上升趋势;其中在 3 天时,D2 组的细菌生物量为 0.055 mg C/L,是对照组的 1.96 倍;D2 组的细菌生物量为 0.072 mg C/L,是对照组的 2.57 倍。

在 2 个站位第 3 天,添加大粒径沙尘的 D1 组和添加小粒径沙尘 D2 组的细菌生物量都明显大于对照组 (P<0.05),而且 D2 组的细菌生物量明显大于 D1 组 (P<0.05);在联合添加氮和磷的情况下,添加大粒径沙尘的 D1+NP 组和添加小粒径沙尘 D2+NP 组的细菌生物量比只添加氮和磷的 NP 组大,但不明显 (P>0.05),生物量在 D1+NP 组与 D2+NP 组之间也不存在显著差异性 (P>0.05)。这说明在营养受限制的情况下,两种沙尘的添加均可在短期内极大地促进异养细菌的生长,而能够形成沙尘暴的小粒径沙尘对异养细菌生长的影响尤为明显;在

在 S1 站培养第 7 天时,NP 组的细菌生物量明显大于 D1+NP 组和 D2+NP 组 (P<0.05); D1 组和 D2 组的细菌生物量明显大于对照组 (P<0.05); 而细菌生物量在 D1+NP 组与 D2+NP 组之间和 D1 组与 D2 组之间都没有显著性差异 (P>0.05)。这说明,在营养盐受限制的情况下,沙尘的添加长期内会促进异养细菌的生长;在营养盐充足的情况下,沙尘的添加在长期内会抑制异养细菌的生长; 而小粒径沙尘和大粒径沙尘对异养细菌生物量的长期影响差别不大。

营养不受限制的情况下,沙尘的添加对细菌生物量的增加的促进作用不明显。



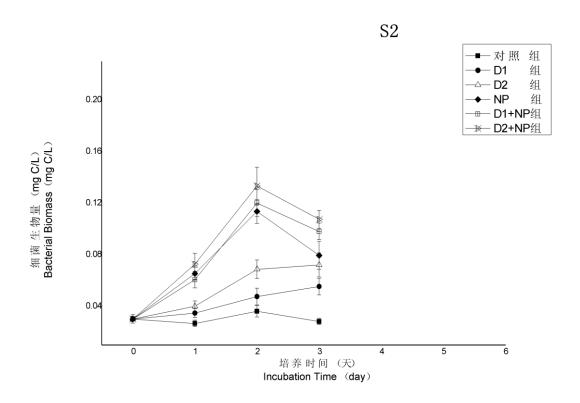


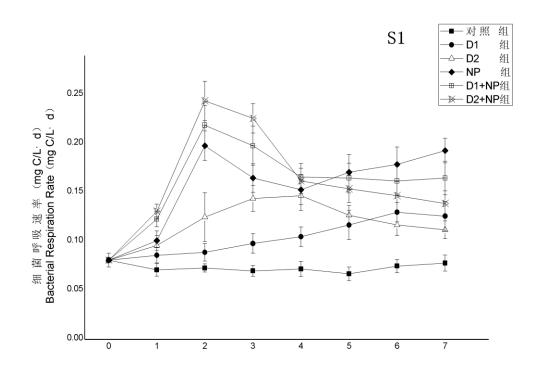
图 4-1 S1、S2 站位源地沙尘添加培养异养细菌生物量的变化

4.1.2 异养细菌呼吸速率对源地沙尘的响应

源地沙尘添加模拟培养中异养细菌呼吸速率的变化见图 4-2,细菌呼吸速率的变化过程同细菌生物量一致。在 S1 站,添加小粒径沙尘的 D2 组细菌生物量在第 4 天达到最大值 0.147 mg C/L d,是对照组的 2.04 倍;大粒径沙尘添加的 D1 组在第 6 天达到了最大值 0.130 mg C/L d,是对照组的 1.73 倍。沙尘与营养盐联合添加的培养组也与细菌生物量的趋势相似。在氮和磷的添加下,这三个组的异养细菌呼吸速率都在第 2 天达到最大值;添加氮和磷的 NP 组为 0.198 mg C/L d,是对照组的 2.71 倍;同时添加大粒径沙尘和氮磷的 D1+NP 组为 0.219 mg C/L d,是对照组的 3.00 倍;同时添加小粒径沙尘和氮磷的 D2+NP 为 0.244 mg C/L d,是对照组的 3.34 倍。在 S2 站的 3 天的短期培养中,添加氮和磷的 NP 组、D1+NP 组和 D2+NP 组的细菌呼吸速率均在第 2 天达到了最大值;NP 组为 0.132 mg C/L d,是对照组的 2.75 倍;D1+NP 组为 0.154 mg C/L d,是对照组的 3.21 倍;D2+NP 为 0.188mg C/L d,是对照组的 3.92 倍。而 D1 组和 D2 组细菌生物量则一直呈现上升趋势;其中在第 3 天时,D1 组的细菌生物量为 0.095 mg C/L d,是对照组的 1.98 倍;D2 组的细菌生物量为 0.112 mg C/L d,是对照组的 2.33 倍。

在 2 个站位的前 3 天,添加大粒径沙尘的 D1 组和添加小粒径沙尘 D2 组的细菌呼吸速率都明显大于对照组 (P<0.05),而且 D2 组的细菌呼吸速率明显大于 D1 组 (P<0.05);这说明在营养受限制的情况下,两种沙尘的添加均可在短期内极大地促进异养细菌的呼吸代谢能力,而能够形成沙尘暴的小粒径沙尘对异养细菌呼吸的促进作用尤为明显。在联合添加氮和磷的情况下,添加大粒径沙尘的 D1+NP组和添加小粒径沙尘 D2+NP组的细菌呼吸速率比添加氮和磷的 NP组大,但不明显 (P>0.05);这说明在富营养的情况下,沙尘的添加对细菌呼吸代谢的促进作用不明显。

在S1站培养第7天,只添加氮和磷的NP组的细菌呼吸速率明显大于D1+NP组和D2+NP组(P<0.05); D1组和D2组的细菌呼吸速率明显大于对照组(P<0.05); 而细菌呼吸速率在D1+NP组与D2+NP组之间和D1组与D2组之间都没有显著性差异(P>0.05)。这说明,在营养盐充足的情况下,沙尘的添加在长期内会抑制异养细菌的呼吸代谢能力;而小粒径沙尘和大粒径沙尘对异养细菌呼吸的长期影响差别不大。



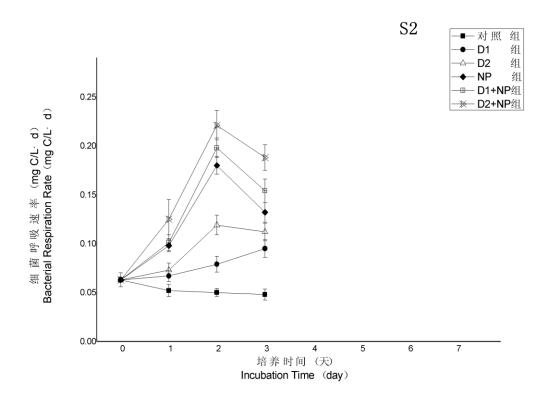


图 4-2 S1、S2 站位源地沙尘添加培养异养细菌呼吸速率的变化

4.1.3 异养细菌生长效率对源地沙尘的响应

S1、S2 站位在培养前 3 天异养细菌的平均比生长速率见表 4-1。在 S1 站前 3 天,对照组的平均细菌比生长速率为-0.013 /d,添加大粒径沙尘的 D1 组的平均细菌比生长速率为 0.087 /d,添加小粒径沙尘的 D2 组的平均细菌比生长速率为 0.225 /d,同时添加氮磷和小粒径沙尘的 D2+NP 组平均细菌比生长速率最大,为 0.344 /d,其次依次是 D1+NP 组和 NP 组。而在 S2 站,各组的异养细菌平均比生长速率都大于 S1 站。添加大粒径沙尘的 D1 组的平均细菌比生长速率为 0.202 /d,添加小粒径沙尘的 D2 组的平均细菌比生长速率为 0.290 /d,同时添加氮磷和小粒径沙尘的 D2+NP 组平均细菌比生长速率最大。

在 S1 和 S2 站位的不同分组中,前 3 天各组的平均 μ/r 值相对于对照组都具备显著性 (P<0.05),添加小粒径沙尘的 D2 组的 μ/r 值大于添加小粒径沙尘的 D1 组,而且同时添加小粒径沙尘和氮、磷的 D2+NP 组也大于 D1+NP 组;这说明,在短期内小粒径沙尘对异养细菌转换效率的促进作用大于大粒径沙尘。

		S1 站			S2 站	
组别	μ(/d)	r(mg C/L d)	μ/r	$\mu(/d)$	r(mg C/L d)	μ/r
对照组	-0.121	0.074	-1. 650	-0.023	0.053	-0.053
D1 组	0.087	0.088	0.991 *	0.202	0.076	2.660 *
D2 组	0.225	0.112	2.014 *	0.290	0.092	3.163 *
NP 组	0.203	0.136	1.492 *	0.323	0.118	2.729 *
D1+NP 组	0.277	0.155	1.785 *	0.393	0.129	3.043 *
D2+NP 组	0.344	0.171	2.020 *	0.423	0.149	2.835 *

表 4-1 培养前 3 天平均异养细菌比生长速率 (μ)、呼吸速率 (r) 与比值 (μ/r)

4.2 结论

以南海东北部海域的 S1、S2 站位为代表,研究了不同粒径的两种源地沙尘 在单独添加和联合氮和磷添加的情况下,对异养细菌生物活性的影响过程,得到 以下结论:

(1)添加沙尘后,S1、S2两个站位的源地沙尘的添加异养细菌生物量出现不同程度增长。在培养前3天,两种沙尘的单独添加均可极大地促进异养细菌的生长,而能够形成沙尘暴的小粒径沙尘对异养细菌生长的影响尤为明显。在S1站位培养第7天,两种沙尘的单独添加会促进异养细菌生物量的增加,而在

添加沙尘和磷的情况下,两种沙尘的添加会抑制异养细菌生物量的增长;而且小粒径沙尘和源地沙尘对异养细菌生物量的长期影响差别不大。

- (2) S1、S2 两个站位的细菌呼吸速率与细菌生物量变化相似。在两个站位的培养前 3 天,两种沙尘的添加均可在短期内极大地促进异养细菌的呼吸代谢能力,而能够形成沙尘暴的小粒径沙尘对异养细菌呼吸的促进作用尤为明显。在联合添加氮和磷的富营养条件下,沙尘的添加对细菌呼吸代谢的促进作用不明显。在 S1 站培养第 7 天,而小粒径沙尘和大粒径沙尘对异养细菌呼吸的影响差别不大;相比于只添加氮和磷,沙尘和氮磷的同时添加会抑制异养细菌的呼吸代谢能力。
- (3) 而对前 3 天 S1、S2 站位的生长效率的分析中发现,不同源地沙尘的添加都能够明细促进异养细菌的物质转换效率,提高异养细菌在生态循环中的作用;无论有无联合添加氮和磷,小粒径沙尘对异养细菌转换效率的促进作用大于大粒径沙尘。

5 沙尘对中国近海海域细菌群落结构的影响

沙尘不仅对培养系统内细菌的生长代谢产生一定程度的影响,而且会影响细菌群落结构的演替(Herut 等,2005; Pulido-Villena 等,2010; Lekunberri 等,2010)。本研究运用 PCR-DGGE 的分子生物学研究方法,对南海东北部 S1 站位的源地沙尘培养中单独添加沙尘的 D1 组和 D2 组在培养前后、S1 站位沙尘气溶胶围格培养的沙尘添加的 A 组培养前后和黄海 H1、H2 两个站位沙尘气溶胶围格培养的沙尘添加的 A 组培养前后的细菌群落结构进行研究,分析不同海域同中沙尘的添加、不同种类沙尘在同一海域的添加对细菌群落结构的影响,探讨沙尘对海洋细菌群落结构的影响机制。

5.1 沙尘对海洋细菌群落结构的影响

图 5-1 是 S1、H1 和 H2 三个站位添加沙尘培养前后海水中细菌群落结构变化的 DGGE 指纹图谱和聚类分析结果。S1 初、H1 初和 H2 初分别对应了 S1 站位在培养前、H1 站位在培养前和 H2 站位在培养前的细菌群落结构情况;S1-D1 组和 S1-D2 组分别代表 S1 站位在源地沙尘培养中添加大粒径沙尘的 D1 组和添加小粒径沙尘的 D2 组在 7 天培养后的细菌群落结构情况;S1-A 组、H1-A 组和 H2-A 组分别代表在沙尘气溶胶围隔培养最后 S1、H1 和 H2 三个站位添加沙尘气溶胶的 A 组的细菌群落结构情况。

从 DGGE 图中可明显分辨出 18 个条带,编号为 1-18。可以发现,不同样品在 DGGE 上呈现的条带在数目与亮度上均存在差异。细菌条带数目的多少可以反映出样品中优势细菌菌群的多少,而同一位置条带亮度的不同,则可反映出不同样品中优势细菌数量的差异。从整体看,各个站位在培养前样品的条带数目大于培养之后样品,H1 初样品的优势菌最多,其次是样品 H2 初和 S1 初。在 S1 站的 4 个样品中,对比添加沙尘培养前后细菌群落中优势菌的变化,发现培养前条带 1、条带 5 的和条带 12 代表的优质菌在培养后失去了优势地位;条带 6、条带 10 和条带 14 在培养前后均为优势菌;而条带 2、条带 4、条带 7 和条带 9 在培养结束后成为优势菌。在黄海的 H1 站位,培养前的条带 16 代表的优势菌在培养后失去了优势地位,而添加沙尘气溶胶培养后条带 8、条带 15 和条带 18 成

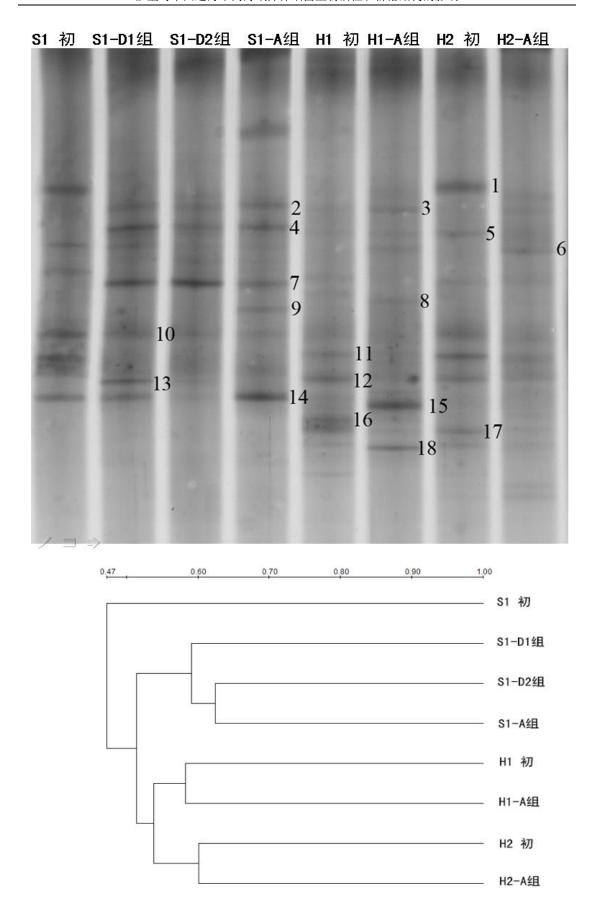


图 5-1 沙尘添加培养前后细菌群落 DGGE 图谱(上)和聚类分析(下)

为优势菌。在黄海的 H2 站位,培养前的条带 1 和条带 5 代表的优势菌在培养后失去了优势地位,而添加沙尘气溶胶培养后条带 6 成为优势菌。

通过对 DGGE 图谱的聚类分析,可得知各个样品相似性。在 S1 站位的样品中,添加沙尘气溶胶的 S1-A 组和添加小粒径沙尘的 S1-D2 组之间的相似性最高,这说明沙尘气溶胶和能形成沙尘暴的小粒径源地沙尘对南海 S1 站位细菌群落结构的影响相近。在黄海的 H1、H2 两个站位中,添加沙尘气溶胶培养前后的样品相似性相近,且都小于 S1 站位沙尘气溶胶添加前后样品间的相似性。这说明,营养水平越高,沙尘对群落结构的影响越小。

对各样品 DGGE 条带多样性分析的结果见表 5-1,经过沙尘添加培养后,细菌群落结构多样性均有降低的趋势。在南海 S1 站位,培养初始样品 S1 初的香农指数 (H')最大,培养后添加小粒径沙尘的 S1-D2 组样品的香农指数 (H')最小。在黄海的 H1、H2 两个站位的沙尘添加培养,也出现培养后细菌群落香农指数 (H')减小的情况。之前对细菌群落结构的研究曾指出,添加沙尘后能够利用沙尘溶出营养物质的细菌会大量地生长繁殖,使细菌群落结构趋于简单,物种多样性降低 (Schafer等, 2001; Guo等, 2013)。

样品编号 S1 初 S1-D1 组 S1-D2组 S1-A组 H1初 H1-A组 H2 初 H2-A 组 多样性指 1.273 1.229 1.109 1.113 1.555 1.443 1.449 1.324 数(H')

表 5-1 沙尘添加培养前后各样品细菌群落多样性

将典型条带 1-18 进行克隆测序后,采用 RDP 中的 Sequence Match 程序与已知序列对比,并构建系统发育树,结果如图 5-2。结果表明,这 18 个克隆属于细菌界,主要分布于 α-变形菌纲(Alphaproteobacteria)、γ-变形菌纲(Gammaproteobacteria)、δ-变形菌纲(Deltaproteobacteria)、鞘脂杆菌纲(Sphingobacteria)、疣微菌纲(Verrucomicrobiae)、叶绿体(chloroplast)和放线菌(Actinobacteria)。

在南海的 S1 站位,培养前 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)和 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)是细菌群落中的优势菌(条带 10、条带 12),并且培养后它们的优势均进一步增大,成为培养结束后的最优势菌群(条带 2、条带 7、条带 9 和条带 13);这是因为它们都能够快速适应对外界环境的变化,其中 γ -

变形菌纲能够适应外部事件对生存环境的不规则扰动,并能直接利用外源 DOC 作为生长的碳源,而 α-变形菌纲则会更多的从浮游植物的暴发中获得生长需要的 营养物质(Pukall 等,1999)。另外,培养后鞘脂杆菌(*Sphingobacteria*)也成为优势菌(条带 4),因为其一般附着在大颗粒物上生存,长降解糖类、DNA、纤维素等一般细菌很难利用的大分子有机物(Ramsaketal 等,2000),因此添加沙尘培养后它们也会随着营养物质的增加而暴发;而疣微菌纲(*Verrucomicrobiae*)和叶绿体(*chloroplast*)在沙尘添加培养后的明显减小(条带 1、条带 5)。结果表明,在南海贫营养海域,沙尘的添加使细菌群落中异养菌群优势凸显,自养菌相对衰弱,细菌群落的异养程度增大。

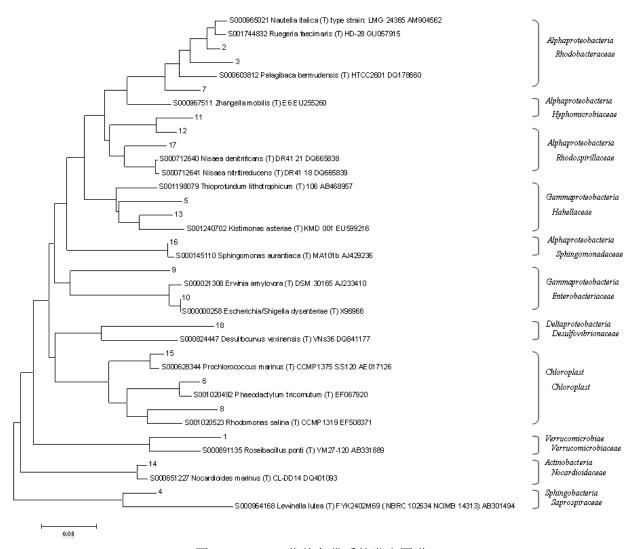


图 5-2 DGGE 优势条带系统发育图谱

在黄海 H1、H2 两个站位的沙尘气溶胶添加培养中,细菌群落机构的变化结果则与在南海 S1 站不同。叶绿体 (chloroplast) 在沙尘添加培养后的明显增加,在 H1 站位表现为条带 6、条带 8 和条带 15 等的增加,在 H2 站表现为条带 6 的增加;培养前占优势地位的变形菌纲 (Proteobacteria) 在培养后优势度消失,在 H1 站位表现为条带 11、条带 12、条带 16 和条带 17 等的减少,在 H2 站位表现为条带 11、条带 12、和条带 17 等的减少。在黄海中部富营养海域的结果表明,沙尘的添加使细菌群落中异养菌群优势减少,自养菌优势度增加,细菌群落的异养程度减少。

5.2 结论

通过运用 PCR-DGGE 的分子生物学方法,对南海东北部 S1 站位、黄海中部 H1、H2 站位的沙尘气溶胶添加组在培养前后,以及 S1 站位源地沙尘添加前后的细菌群落结构进行对比分析,探讨了沙尘气溶胶对不同海域细菌群落结构和不同源地沙尘对贫营养海域细菌群落结构的影响,得到结论如下:

- (1)沙尘气溶胶添加长期培养(10天左右)能够改变细菌的群落结构,在营养水平较高的黄海 H1、H2 站位细菌群落结构没有营养水平低的南海 S1 站位变化明显。源地沙尘的添加也可在 7 天左右的培养周期内使南海 S1 站位的细菌群落结构产生变化。
- (2)沙尘气溶胶和源地沙尘都可以降低细菌群落的多样性,使细菌群落出现简化的趋势。在源地沙尘添加的培养中,小粒径沙尘使得细菌群落多样性的降低程度比大粒径沙尘明显。
- (3) 在南海 S1 站位的沙尘气溶胶和源地沙尘添加培养结束后,能够利用外源营养的 α-变形菌纲 (Alphaproteobacteria) 和 γ-变形菌纲 (Gammaproteobacteria) 成为培养结束后的优势菌群,而叶绿体(chloroplast)等自养菌在培养结束后的优势度消失,细菌群落的异养程度进一步增大。然而,在黄海 H1、H2 两个站位的沙尘气溶胶添加培养中,叶绿体(chloroplast)在沙尘添加培养后的明显增加,而变形菌纲(Proteobacteria)在培养后优势度消失,细菌群落的异养程度降低。

6 结论

本次研究通过不同海域沙尘气溶胶添加围隔培养和贫营养海域源地沙尘添加培养,分析了沙尘气溶胶对不同海域异养细菌生物活性和不同粒径源地沙尘对贫营养海域异养细菌生物活性的影响,并分析了两次培养中沙尘添加下细菌群落结构的变化,探讨了沙尘对中国近海不同海域异养细菌生物活性和群落结构的影响机制。本文结论如下:

(1) 南海东北部 S1 站位与黄海中部 H1、H2 两个站位分别处于不同的营养状态。在南海 S1 站位的围隔培养的其它营养物质添加组,磷添加组无论在细菌生物量、呼吸速率还是生长效率上都大于其他组,说明异养细菌处于磷限制状态。在黄海的 H1、H2 两个站位,氮和磷同时添加对异养细菌的生长最大,而且磷的促进作用比氮大,异养细菌同样处于磷限制的状况。

两个海域的围隔的异养细菌生物量和呼吸速率都大致经历了先增长后减小再增长的过程。在南海 S1 站,沙尘气溶胶的添加组在异养细菌生物量最大时为对照组的 1.65 倍,可使异养细菌呼吸速率在最大时达到对照组的 2.74 倍;在黄海的 H1、H2 站位,沙尘气溶胶的添加组在异养细菌生物量最大时分别为对照组的 1.78 倍和 2.42 倍,使异养细菌呼吸速率在最大时分别为对照组的 1.78 倍和 2.14 倍。结果表明,在营养水平低的海域沙尘气溶胶的添加对异养细菌的生长和代谢的促进作用更大。

通过对两个海域围隔培养期间的异养细菌平均比生长速率、平均呼吸速率及其比值进行分析,发现沙尘气溶胶的添加能够显著促进异养细菌的物质转化速率,提高了其在海洋生态系统中的生态效率和生态功能。

(2)在南海东北部海域的 S1、S2 站位的不同粒径的两种源地沙尘培养中,源地沙尘的添加都使异养细菌生物量、呼吸速率出现不同程度增长。在培养前 3 天,两种沙尘的单独添加均可极大地促进异养细菌的生物量和呼吸速率,而能够形成沙尘暴的小粒径沙尘对异养细菌生长和代谢的影响尤为明显。而对前 3 天 S1、S2 站位的生长效率的分析中发现,不同源地沙尘的添加都能够明细促进异养细菌的物质转换效率,提高异养细菌在生态循环中的作用;无论有无联合添加氮和磷,小粒径沙尘对异养细菌转换效率的促进作用大于大粒径沙尘。

在 S1 站位培养第 7 天,两种沙尘的单独添加使异养细菌生物量和呼吸速率相对于对照组出现明显增加,小粒径沙尘和大粒径沙尘对异养细菌生长和呼吸代谢的影响差别不大。在添加氮和磷的基础上,添加小粒径或大粒径沙尘都会抑制异养细菌生长和呼吸代谢,而且它们对异养细菌生物量的长期影响差别不大。

(3)沙尘气溶胶和源地沙尘的添加能够改变细菌的群落结构和群落多样性,使细菌群落出现简化的趋势。在沙尘气溶胶添加培养中,营养水平较高的黄海 H1、H2 站位细菌群落结构和群落多样性没有营养水平低的南海 S1 站位变化明显。在源地沙尘添加培养中,小粒径沙尘使得细菌群落结构和群落多样性的降低程度比大粒径沙尘明显。在南海 S1 站位的沙尘气溶胶和源地沙尘添加培养结束后,能够利用外源营养的 α-变形菌纲(Alphaproteobacteria)和 γ-变形菌纲(Gammaproteobacteria)成为培养结束后的优势菌群,而叶绿体(chloroplast)等自养菌在培养结束后的优势度消失,细菌群落的异养程度进一步增大。然而,在黄海 H1、H2 两个站位的沙尘气溶胶添加培养中,叶绿体(chloroplast)在沙尘添加培养后的明显增加,而变形菌纲(Proteobacteria)在培养后优势度消失,细菌群落的异养程度降低。

参考文献

- [1] Azam F., Fenchel T., Field J.G., et al. The ecological role of water column microbes in the sea. Marine Ecology Program Series, 1983, 23:257-263.
- [2] Banzon V.F., Evans R.E., Gordon H.R., et al. SeaWiFS observations of the Arabian Sea southwest monsoon bloom for the year 2000. Deep-Sea Research II, 2004, 51: 189-208.
- [3] Bratbak G, Dundas L. Bacterial Dry Matter ceiltent and Biomass estimations. Applied Environment Microbiology, 1984, 48 (4):755-757.
- [4] Carlson, C.A., Ducklow, H.W., Michaels, A.F. Annual flux of dissolved organic carbon from the euphotic zone in the northwestern Sargasso Sea. Nature, 1994, 371: 405-408.
- [5] Ditullio G.R., Laws E.A., et al. Impact of an atmospheric oceanic disturbance on phytoplankton community dynamics in the North Pacific Central Gyre. Deep-Sea Research, 1991, 38 (10): 1305-1329.
- [6] Drakare S., Blomqvist P., Bergstrom A.K., et al. Primary production and phytoplankton composition in relation to DOC input and bacterioplankton production in humic Lake Ortrasket. Freshwater Biology, 2002, 47: 41-52.
- [7] Duarte C.M., Dachs J., et al. Aerosols inputs enhance new production in the subtropical northeast Atlantic, Journal Geophysical Research, 2006, 111: 148-227.
- [8] Duce R.A., Liss P.S., Merrill J.T., et al. The atmospheric input of trace species to the world ocean. Global Biogeochemical Cycles, 1991, 5: 193-259.
- [9] Fisher T.R., Peele E.R., Ammerman J.W., Harding LW. Nutrient limition of hytoplankton in Chesapeake Bay. Marine Ecology Progress Series, 1992, 82: 51-63.
- [10] Fuhrman J. A., McCallum K., Davis A.A., et al. Novel major archaebacterial group from marine plankton. Nature, 1992, 356:148-149.
- [11] Fuhrman, J.A., Steele J.A., et al. Community structure of marine bacterioplankton: patterns, networks, and relationships to function. Aquatic Microbial Ecology, 2008, 53:69-81.
- [12] Gao Y., Aromoto R., Duce R.A. et al. Temporal and spatial distribution of dust and its deposition to the China Sea [J]. 1997, 49B: 172-189.
- [13] Gass ó S., Grassian V.H., Miller R.L., et al. Interactions between mineral dust, climate and ocean ecosystems. Elements, 2010, 6: 247-252.
- [14] Griffin D.W., Garrison V.H., Herman J.R., et al. African desert dust in the Caribbean atmosphere: microbiology and public health. Aerobiologia, 2001a, 17:203-213.
- [15] Garrison V.H., Shinn E.A., Foreman W.T., et al. African and Asian dust: from desert soils to coral reefs. BioScience, 2003, 53:469-480.
- [16] Guieu C., Bozec Y., Blain S, et al. Impact of high Saharan dust inputs on dissolved iron concentrations in the Mediterranean Sea. Geophysical Research Letters, 2002a, 29:171-174.
- [17] Guieu C., Dulac F., et al. Large clean mesocosms and simulated dust deposition: a new methodology to investigate responses of marine oligotrophic ecosystems to atmospheric inputs, Biogeosciences, 2010a, 7: 2765-2784.
- [18] Guo C., Jing H., Kong L., et al. Effect of East Asian aerosol enrichment on microbial community composition in the South China Sea. Journal of Plankton Research, 2013, 0 (0):1-19.
- [19] He L., Yin K., Yuan X.C., et al. Spatial distribution of viruses, bacteria and chlorophyll in the northern South China Sea. Aquatic Microbial Ecology, 2009, 54:153-162.
- [20] Herut B., Zohary T., Krom M.D., et al. Response of East Mediterranean surface water to

- Saharan dust: On-board microcosm experiment and field observations. Deep-Sea Research II, 2005, 52: 3024-3040.
- [21] Itziar L., Thomas L., Estela R. Effects of a dust deposition event on coastal marine microbial abundance and activity, bacterial community structure and ecosystem function. Journal of Plankton Research.2010, 32, (4): 381-396.
- [22] Jickells, T.D., An, Z.S., Andersen, K.K., et al. Global iron connections between desert dust, ocean biogeochemistry, and climate. Science, 2005, 308: 67-71.
- [23] Kellogg C.A., Griffin D.W., Garrison V.H., et al. Characterization of aerosolized bacteria and fungi from desert dust events, in Mali, West Africa. Aerobiologia, 2004, 20(2): 99-110.
- [24] Kirchman D.L., Meon B., Cottrell M.T., et al. Carbon versus iron limitation of bacterial growth in the California upwelling regime. Limnology and Oceanography, 2000, 45:1681-1688.
- [25] Kirchman D.L. The ecology of Cytophaga-Flavobacteria in aquatic environments. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 39:91-100.
- [26] Knap A., Michaels A., Close, A., et al. Protocols for the Joint Global Ocean Flux Study (JGOFS) Core Measurement. Scientific Committee on Oceanic Research Manual and Guides, 1994, 29:10-243.
- [27] Lekunberri I., Lefort T., et al. Effects of a dust deposition event on coastal marine microbial abundance and activity, bacterial community structure, and ecosystem function, J. Plankton Research, 2010, 32(4): 381-396.
- [28] LeBaron P.C., Wang Z., Pinnavaia T.J., et al. Polymer-layered silicate nano-composites: an overview. Applied Clay Science, 1999, 15:11-29.
- [29] Martinez-Garcia A., Rosell-Mel é A., McClymont E., et al. Subpolar Link to the Emergence of the Modern Equatorial Pacific Cold Tongue. Science, 2010, 328 (5985):1550-1553.
- [30] Mendez J., Cecile G., et al. Atmospheric input of manganese and iron to the ocean: Seawater dissolution experiments with Saharan and North American dusts, Marine Chemistry, 2010,120: 34-43.
- [31] Nezlin N.P., Polikarpov I.G., Faiza y., et al. Alexander M. Ignatov eSatellite monitoring of climatic factors regulating phytoplankton variability in the Arabian (Persian) Gulf, Journal of Marine Systems, 2010, 82:47-60.
- [32] Ohde T., Siegel H., et al. Biological response to coastal upwelling and dust deposition in the area off Northwest Africa, Continental Shelf Research, 2010, 30: 1108-1119.
- [33] Paerl H.W., Whitall D.R. Anthropogenically-derived atmospheric nitrogen deposition, marine eutrophication and harmful algal bloom expansion: is there a link? AMBIO, 1999, 28 (4): 307-311.
- [34] Paytan A., Mackey, et al. Toxicity of atmospheric aerosols on marine phytoplankton, Proc. Natl. Acad. Sci.USA, 2009, 106:4601-4605.
- [35] Porter K.G., Feig Y.S. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. Limnnolog and Oceanography, 1980, 25(5):943-948.
- [36] Pradeep-Ram A.S., Nair S., Chandramohan D. Bacterial Growth Efficiency in the Tropical Estuarine and Coastal Waters of Goa, Southwest Coast of India. Microbial Ecology, 2003, 45: 88-96.
- [37] Prospero J.M., Savoie D.L. Effect of continental sources on nitrate concentrations over the Pacific Ocean, Nature, 1989, 339 (29): 687-689.

- [38] Pukall R., Paeuker O., Buntefum D., et al. High sequence diversity of Alteromonas macleodii-related cloned and cellular 16S rDNAs from a Mediterranean seawater mesocosm experiment. FEMS Microbiology Ecology, 1999, 28: 335-344.
- [39] Pulido-Villena E., Rerolle V., Guieu C., et al. Transient fertilizing effect of dust in P-deficient LNLC surface ocean. Geophysical Research Letters, 2010, 37: 016-030.
- [40] Ramette A., Tiedje J.M. Biogeography: An emerging cornerstone for understanding prokaryotic diversity ecology and evolution. Microbial Ecology, 2007, 53:197-207.
- [41] Schafer H., Bernard L., Courties C., et al. Microbial community dynamics in Mediterranean nutrient-enriched seawater mesocosms: changes in the genetic diversity of bacterial populations. FEMS Microbiology Ecology, 2001, 34, (3): 243-253.
- [42] Shinn E.A., Smith G.W., Prospero J.M., et al. African dust and the demise of Caribbean coral reefs. Geological Research Letters, 2000, 27:3029-3032.
- [43] Takahashi Y., Higashi M., Furukawa T., et al. Change of iron species and iron solubility in Asian dust during the long-range transport from western China to Japan. Atmosphere Chemistry Physics, 2011, 11(21): 11237-11252.
- [44] Vázquez E., Roman í A.M., Sabater F., et al. Effects of the Dry–Wet Hydrological Shift on Dissolved Organic Carbon Dynamics and Fate Across Stream–Riparian Interface in a Mediterranean Catchment. Ecosystems, 2007, 10(2):239-251.
- [45] Young R.W., Carder K.L., Betzer P.R., et al. Atmospheric iron inputs and primary productivity: phytoplankton responses in the North Pacific. Global Biogeochemical Cycles, 1991, 5:119-134.
- [46] Yuan X., He L., Yin K., et al. Bacterial distribution and nutrient limitation in relation to different water masses in the coastal and northwestern South China Sea in late summer. Continental Shelf Research, 2011, 31: 1214-1223.
- [47] Zhang J., Chen S. Z., et al., Factors influencing changes in rain water composition from urban versus remoteregions of the Yellow Sea. Journal of Geophysical Research, 1999, 104:1631-1644.
- [48] Zhuang, G., Yi, Z., Duce R.A., et al. Link between iron and sulphur cycles suggested by detection of Fe(II) in remote marine aerosols, Nature, 1992. 355: 537-539.
- [49] Zhuang G.S., Guo J.H., Yuan H., et al., The compositions, sources and size distribution of the storm from China in Spring of 2000 and its impact on the global environment, Program in Nature Science, 2001,12(6): 407-413.
- [50] Zhuang G.S., Huang R.H., Wang M.X., et al. Great progress in study on aerosol and its impact on the global environment, Progress in Natural Science, 2002, 12(6): 407-413.
- [51] Zobell C.E., Mathews H.M., et al. A qualitative study of the bacterial flora of sea and land breezes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1936, 22:567-572.
- [52] 白洁, 张昊飞, 李岿然,等. 海洋异养浮游细菌生物量及生产力的制约因素. 2004, 4(4):594-602.
- [53] 陈广善, 刘晓东, 陈葆德. 亚洲大陆 2000-2002 年春季大气沙尘时空特征的数值模拟. 环境科学, 2006, 27, (1): 1-8.
- [54] 冯士筰,李凤岐,李少菁.海洋科学导论.北京:1999,高等教育出版社.
- [55] 高会旺, 祁建华, 石金辉,等. 亚洲沙尘的远距离输送及对海洋生态系统的影响. 地球科学进展, 2009, 24(1):1-10.

- [56] 李立. 南海上层环流观测研究进展. 台湾海峡, 2002, 21: 114-125.
- [57] 孙西艳,洪陵成,叶宏萌.在线镉柱还原-流动注射法测定水样中硝酸盐氮实验. 水资源保护, 2010, 26, (5): 75-77.
- [58] 徐燕青, 陈建芳, 高生泉, 等. 太平洋中西部海域浮游植物营养盐的潜在限制. 生态学报, 2012, 32(2): 394-401.
- [59] 袁梁英. 南海北部营养盐结构特征[硕士学位论文]. 厦门: 厦门大学 2005: 10-12.
- [60] 张凯, 高会旺. 东亚地区沙尘气溶胶的源和汇. 安全与环境学报, 2003, 3:7-12.
- [61] 曾爱娣. AA3 连续流动注射法测定水中的氨氮和总磷.环境研究与检测, 2010, 22(3):54-55.
- [62] 赵三军,肖 天,岳东海. 秋季东、黄海异养细菌的分布特点.海洋与湖沼, 2003, 34 (3): 295-305.

致 谢

区区数万字,硕士学位论文的完成不仅仅代表着自己付出的辛勤劳动,更凝集着众人的支持和帮助,在此一一表示由衷的谢意!

首先,非常感谢我的导师白洁教授。本论文是在导师白洁教授的悉心指导下完成的,无论是从实验的设计,资料的分析,数据的处理,还是论文的最终完成都得到了白洁老师的精心指导。求学的三年,白洁老师无论在生活上还是在学业上都给了我极大的鼓舞和无微不至的关怀。导师渊博的知识,认真严谨的治学态度,拼搏奋进的事业追求精神是我永远学习的榜样,她平易近人的性格深深地影响了我的为人处世原则和人生观,在此谨向导师表示我诚挚的感谢!特别感谢课题组的赵阳国和田伟君老师。在这三年里,无论是实验的教导、论文的修改,还是在日常生活中,两位老师都对我给予了悉心指导和无微不至的帮助,在此表示由衷的谢意!

同时,非常感谢实验室的兄弟姐妹在学习和生活上对我的帮助和支持。实验室的集体生活给我带来了家一般的温暖,为像我这样远道求学的研究生提供了坚实的依靠,对此我深表荣幸。在此特别感谢师兄王纯杰、姚泓名、潘益锋,师姐李辉、钟丽华、李艳艳、李新伟、王俊彩、王妍、顾霄瑶、陈敏、刘茹、孙会梅,同门刘小沙、陈田、孙雷、王亚洁、卢珊珊、王勇梅、尹亚琳,以及师弟吴承琳、郭小马、张晓浩、黄潇、师振华、冯巩,师妹张颖、王敏、陈玲,以及其他的师弟师妹们,愉快的合作和集体乐趣陪我度过了快乐而有意义的三年时光。

此外,本论文由国家自然科学基金国际(地区)合作交流项目"亚洲沙尘 沉降对近海和大洋初级生产过程影响的对比研究"课题支持,非常感谢"亚洲沙 尘"项目的全体老师和同学,尤其是在海上作业的过程中课题组同学的帮助!

另外,对我的家人和女朋友在学习和实验中给予的极大关怀和帮助表示由 衷的感谢!

最后,感谢中国海洋大学三年来的培养。在这里一个对科学研究充满各种 高大上的崇敬和遐想的少年完成了他的第一个梦想,而且他已经准备在这条道路 上大刀阔斧地前行了。

> 侯 瑞 2014年5月

个人简介

1989年8月3日出生于山西省临汾市。

2007年9月考入山西财经大学环境经济学院环境科学专业,2011年7月毕业并获得理学学士学位。

2011年9月考入中国海洋大学环境科学与工程学院环境规划与管理专业攻读硕士学位至今。

发表的学术论文

侯瑞, 白洁, 高会旺, 赵阳国, 张晓浩. 源地沙尘对南海东北部海域异养细菌生物量及群落结构的影响. 生态环境学报. 已收录.

侯瑞,白洁,刘小沙,高会旺,赵阳国.南海南部海域异养浮游细菌生物活性及对外源营养负荷的响应.中国海洋大学学报(自然科学版).已投稿.

刘小沙, 白洁, **侯瑞**, 赵阳国, 高会旺. 南海南部海域浮游细菌群落特征及影响因素研究. 中国环境科学. 已投稿.

Xiaosha Liu, Jie Bai, Jiajun Sun, **Rui Hou**, Yangguo Zhao. The study of denitrification rate and N_2O release rate in Shuangtaizi estuary wetland. Advanced Materials Research. accepted.