

## 研究报告

## 纳帕海高原湿地浮游病毒丰度及其与可溶性有机碳关系

王爽<sup>1</sup> 张中耀<sup>1</sup> 李珊<sup>1</sup> 魏云林<sup>1</sup> 林连兵<sup>1</sup> 张琦<sup>1</sup> 陈伟<sup>2</sup> 季秀玲<sup>1\*</sup>

(1. 昆明理工大学生命科学与技术学院 云南 昆明 650500)

(2. 昆明理工大学医学院 云南 昆明 650500)

**摘要:**【背景】浮游病毒在有机碳循环中具有重要作用。【目的】研究纳帕海高原湿地不同季节水样及土样中的浮游病毒和细菌丰度,并分析不同季节浮游病毒丰度与可溶性有机碳的关系。【方法】利用荧光显微镜技术检测不同季节水样中浮游病毒和细菌丰度,利用流式细胞仪技术检测不同季节土壤样品中病毒颗粒和细菌丰度。【结果】雨季所有样品浮游细菌和浮游病毒丰度分别为  $3.38 \times 10^6/\text{mL}$  和  $4.38 \times 10^7/\text{mL}$ ,旱季所有样品的浮游细菌和浮游病毒丰度分别为  $8.85 \times 10^5/\text{mL}$  和  $9.66 \times 10^6/\text{mL}$ ,浮游细菌和浮游病毒丰度年平均值分别为  $2.13 \times 10^6/\text{mL}$  和  $2.67 \times 10^7/\text{mL}$ 。不同季节浮游细菌和浮游病毒的丰度有显著性差异,雨季明显高于旱季( $P < 0.01$ )。雨季细菌碳产量为  $8.01 \mu\text{g C}/(\text{L} \cdot \text{h})$ ,旱季为  $10.30 \mu\text{g C}/(\text{L} \cdot \text{h})$ 。雨季浮游病毒裂解细菌贡献的可溶性有机碳(Dissolved organic carbon, DOC)占总 DOC 库的 32.38%–76.38%,而旱季为 8.23%–47.87%。【结论】浮游病毒在纳帕海高原湿地有机碳循环中具有重要作用。

**关键词:** 高原湿地, 可溶性有机碳, 浮游病毒丰度, 浮游细菌丰度

## Virioplankton abundance and its relationship with dissolved organic carbon in Napahai plateau wetland

WANG Shuang<sup>1</sup> ZHANG Zhong-Yao<sup>1</sup> LI Shan<sup>1</sup> WEI Yun-Lin<sup>1</sup> LIN Lian-Bing<sup>1</sup>  
ZHANG Qi<sup>1</sup> CHEN Wei<sup>2</sup> JI Xiu-Ling<sup>1\*</sup>

(1. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650500, China)

(2. Medical School of Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650500, China)

**Abstract:** [Background] Virioplankton plays an important role in organic carbon cycle. [Objective] We studied the abundance of virioplankton and bacteria in different seasonal water samples and soil samples in Napahai wetland, and analyzed the relationship between the abundance of virioplankton and soluble organic carbon in different seasons. [Methods] The abundance of virioplankton and

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (31700324); Yunnan Provincial Department of Education Science Research Fund Project (2017ZZX132); Personnel Training Fund by the Kunming University of Science and Technology (KKS201632059)

\*Corresponding author: Tel: 86-871-65920148; E-mail: jixiuling1023@126.com

**Received:** August 11, 2017; **Accepted:** December 05, 2017; **Published online** (www.cnki.net): January 15, 2018

**基金项目:** 国家自然科学基金(31700324); 云南省教育厅科学研究基金(2017ZZX132); 昆明理工大学人才培养基金(KKS201632059)

\*通信作者: Tel: 86-871-65920148; E-mail: jixiuling1023@126.com

**收稿日期:** 2017-08-11; **接受日期:** 2017-12-05; **网络首发日期**(www.cnki.net): 2018-01-15

bacteria in water samples of different seasons was detected by Epifluorescence Microscopy. The abundance of virus and bacteria in soil samples of different seasons was detected by Flowcytometry. **[Results]** The abundance of phytoplankton bacteria and virus was  $3.38 \times 10^6/\text{mL}$  and  $4.38 \times 10^7/\text{mL}$  in rainy season. The abundance of phytoplankton bacteria and virus in the dry season was  $8.85 \times 10^5/\text{mL}$  and  $9.66 \times 10^6/\text{mL}$ , the average annual abundance of phytoplankton bacteria and virus was  $2.13 \times 10^6/\text{mL}$  and  $2.67 \times 10^7/\text{mL}$ . There were significant differences of phytoplankton bacteria and virus abundance in different seasons. The yield of bacterial carbon was  $8.01 \mu\text{g C}/(\text{L} \cdot \text{h})$  in the rainy season, and  $10.30 \mu\text{g C}/(\text{L} \cdot \text{h})$  in the dry season. The DOC contributed by the virioplankton accounted for 32.38% to 76.38% of the total DOC library in the rainy season, while it was 8.23% to 47.87% in the dry season. **[Conclusion]** Virioplankton plays an important role in the organic carbon cycle of the Napahai wetland.

**Keywords:** Plateau wetland, Dissolved organic carbon, Virioplankton abundance, Bacteria abundance

浮游病毒在有机碳循环中具有重要作用, 研究表明经由病毒参与的有机碳循环占到全球有机碳循环的 26%<sup>[1-5]</sup>。国际上关于浮游病毒在碳循环中作用的研究主要集中在海洋和湖泊<sup>[1]</sup>。高原湿地作为陆地有机碳最大的储库, 其有机碳调节情况对陆地生态系统影响巨大, 但关于噬菌体在此环境中与碳循环关系的研究却鲜有报道。目前国外关于浮游病毒与可溶性有机碳(Dissolved organic carbon, DOC)关系的研究主要集中在各大海洋, 美国科学家 Weinbauer 等对地中海和波罗的海近海岸水、表层水及深水的烈性病毒对细菌的致死作用进行了研究, 证明病毒的裂解对 DOC 循环具有重要作用<sup>[6-7]</sup>。Säwström 等对 Druzhby 湖和 Crooked 湖两大南极洲贫营养淡水湖的季节性病毒循环动力学进行了研究, 结果表明冬季病毒裂解对 DOC 泵的贡献率高于 60%<sup>[8]</sup>。国内陆婷等研究了贵州阿哈湖和百花湖细菌和病毒丰度的垂直分布特征, 探讨了它们与温度、溶解氧、电导率和 DOC 之间的关系, 发现两湖 DOC 的浓度范围为 1.48–2.96 mg/L, 阿哈湖中细菌丰度与 DOC 呈极显著性正相关; 在阿哈湖湖区, 病毒丰度与 DOC 呈显著正相关<sup>[9]</sup>。郑天凌等对中国台湾海峡海域细菌产量、生物量及其在微生物环中的作用进行了研究<sup>[10]</sup>。土壤微生物的活性是土壤形成和发育、碳氮矿化以及有机质分解等过程的重要指示因子<sup>[11]</sup>。土壤有机碳分解转化也受到微生物活性及养分有效性的限制, 因此微生物在参与土壤生物地球化学循环的过程中影响土壤碳库的变化<sup>[12]</sup>。

纳帕海高原湿地位于云南西北部, 是我国独有的低纬度、高海拔、季节性高原沼泽湿地, 受西南季风影响, 雨季、旱季分明, 是一个孤立而分散的生态系统。其特殊的地理位置和丰富的微生物资源, 在碳循环和能量流动中细菌消耗和回收 DOC 过程中发挥着非常重要的作用<sup>[1]</sup>。

因纳帕海高原湿地雨季、旱季分明, 又有特殊的湿地环境, 本研究采集不同季节 4 种不同湿地类型的水样和土样, 检测样品中浮游病毒丰度、浮游细菌丰度、细菌碳量、病毒碳量和 DOC 浓度, 揭示它们的分布规律, 同时利用 Binder 数学模型计算并分析它们之间的内在联系, 以期阐明浮游病毒及细菌在纳帕海高原湿地碳循环中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

分别于 2013 年 12 月(旱季)和 2014 年 9 月(雨季)在纳帕海高原湿地采取水样和土样。其中水样命名为 YW-1、YW-5、YW-6、YW-7、SDW-1、SDW-2、YNW-1 和 YNW-3, 土样命名为 SDS-1、SDS-2、SDS-3、SDS-4、NTS-1、NTS-2、YNS-1 和 YNS-3。采集土壤深度为 10 cm, 水体样品为表层水体。将采集的样品放在 4 °C 避光保存。

### 1.2 主要试剂和仪器

TE 缓冲液(1 mmol/L pH 8.0 EDTA, 10 mmol/L pH 8.0 Tris-HCl)、10000×SYBR Green I 购自北京博凌科为生物科技有限公司。TOC-VCPH 仪购自岛津公司。

### 1.3 DOC 的测定

土样前处理过程:称取一定量的纳帕海高原湿地新鲜土壤,65 °C 烘箱烘干,取 15 g 烘干土放入瓶中,加入 60 mL 蒸馏水,常温下振荡 30 min 使之充分破碎,13 000×g 离心 10 min,将上清液过 0.45 μm 微孔滤膜。水样用 0.45 μm 微孔滤膜过滤保存。利用岛津 TOC-VCPH 仪测定处理后土样滤液和水样的 DOC。

### 1.4 细菌产量和细菌碳产量的测定

细菌产量的估算采用 <sup>3</sup>H-胸苷掺入法,将 <sup>3</sup>H-胸苷掺入到细菌体中,根据细菌体内 <sup>3</sup>H-胸苷强度换算细菌产量,利用闪烁仪进行闪烁计数测量<sup>[8]</sup>。

细菌产量的计算:参考 Fuhrman<sup>[13]</sup>推荐的经验常数  $1.4 \times 10^{15}$  cells/mmol 胸苷, cpm 与 Ci 的转换系数为  $4.5 \times 10^{-13}$  Ci/cpm。细菌产量的计算公式为  $BP = 1.4 \times 10^{15} \times (U - U_b) \times 4.5 \times 10^{-13} / (R \times V \times t)$ , 其中 BP 为细菌产量[cells/(L·h)]; U 为平行样放射性强度(平均值) (dpm); U<sub>b</sub> 为空白样放射性强度(平均值) (dpm); R 为 <sup>3</sup>H-thy 的比放射性强度(Ci/mmol); V 为过滤水样的体积(L); t 为培养时间(h)。单个细菌碳含量按生物量常数模型测定细菌碳产量,该模型是由 Lee 和 Fuhrman 提出<sup>[14]</sup>,认为每个细菌细胞的碳含量是一个相对常数( $20 \pm 0.8$  fg C/cell),适用于 0.036–0.073 μm<sup>3</sup> 细胞体积区间。采用单个细菌碳含量 20 fg C/cell,细菌碳产量 BCP [μg C/(L·h)] =  $BP \times 20 \times 10^{-9}$ ; 20 为单个细菌的碳含量(fg/cell)。

### 1.5 细菌生物量的测定

用 pH 8.0 的 TE 缓冲液经 0.02 μm 滤膜抽滤作为试剂稀释溶剂,将 SYBR Green I (10 000×) 稀释到 100×,分装成每管 20 μL, -20 °C 避光保存。样品制备方法参见文献[15]。

细菌生物量(μg C/mL) = 细菌丰度  $\times 20 \times 10^{-9}$ ; 20 为菌体的碳含量(fg/cell)。

### 1.6 浮游细菌和浮游病毒丰度测定

土样样品的细菌和病毒丰度利用 FC 检测。

样品处理:称取 5 g 土样,加入 20 mL 经 0.02 μm

滤膜过滤的 pH 8.0 TE 缓冲液,涡旋混匀 3 min; 加入 10% (体积比)的 Tween-80 50 μL 和 10 mmol/L 的焦磷酸钠 6 mL,混匀 15 min; 59 Hz 超声 45 s, 停 30 s, 重复 3 次; 1 500×g 离心 5 min, 2 500×g 离心 10 min, 上清液通过布氏漏斗后收集滤液,分装冻存管;按终浓度 0.5% (体积比)加入 25% 戊二醛,4 °C 避光固定 15 min,液氮速冻, -80 °C 保存。

FC 检测细菌和病毒丰度:样品自 -80 °C 取出, 37 °C 水浴轻晃解冻。每个样品 400 μL 加入 2 μL 染液到样品中。常温避光染 5 min 后, 80 °C 水浴锅中孵育 10 min, 避光冷却到室温。流式细胞仪检测时,选择侧向角 SSC 和通道 FL1 进行检测。

### 1.7 浮游植物生产量(PB)和初级生产碳量(PP)

利用估算出的浮游植物生产量和 PB/BB 来计算初级生产碳量:  $PP [\mu\text{g C}/(\text{L} \cdot \text{h})] = BCP \times PB/BB$ 。

采用反复冻融-浸提法测定雨旱季叶绿素-a (Chl-a)浓度。Chl-a 与浮游植物生物量之间的转换关系按照 1 单位重量的 Chl-a 等于 10–150 单位重量的碳含量进行估算。由于浮游植物在不同季节所处环境不同,种类和组成及优势种会有差异,导致其生物量和 Chl-a 的比值(C/Chl-a)存在一定差异,一般来说,比值介于 10–150 之间。

由于浮游细菌和浮游植物的生长密切相关,通常利用浮游植物生物量与细菌生物量的比值 PB/BB 来衡量初级生产与细菌二次生产之间的关系。因此利用估算出的浮游植物生产量和 PB/BB 来计算初级生产碳量:  $PP [\mu\text{g C}/(\text{L} \cdot \text{h})] = BCP \times PB/BB$ 。

### 1.8 病毒感染细菌的致死率、裂解性和溶原性病毒产量

利用 Binder 模型估算细菌丰度、病毒丰度、细菌产量(BP)、病毒裂解引起的细菌死亡率(FMVL)<sup>[16-17]</sup>。

噬菌体裂解导致的细菌死亡率  $FMVL = FVIB / [\gamma \ln(2)(1 - \varepsilon - FVIB)]$ , 其中  $\gamma = 1$ , 为潜伏期与代时的比值。一般来讲,潜伏期的长短是变化的,但经常认为等于代时;  $\varepsilon$  为常数,取值为 0.186; FVIB 代表被侵染细菌的比例, FVIB 可通过透射电镜测

定,水样经 9 000×g 离心 2 min,细菌离心到电镜的网格上,可以观察到被病毒感染的细菌,而噬菌体则在细菌体内。

烈性病毒产量= $FMVL \times \text{活细菌量} \times B_z$  (平均裂解大小),  $B_z=4$ ,通过稀释法测定烈性噬菌体量;样品过 0.22 μm 滤膜,病毒液用不含病毒的无菌水稀释至 10%–20%,然后加入无菌水稀释的细菌菌液,对照样品则只含有病毒液。15 °C、150 r/min 摇床培养,每隔 2 h 取样并参照前文 1.6 利用 FC 检测病毒丰度。根据病毒丰度的变化计算烈性噬菌体量。噬菌体裂解细菌产生的碳量= $FMVL \times \text{细菌碳量}$ ,因此噬菌体裂解细菌产生的碳作为 DOC 库的贡献率为 $(FMVL \times \text{细菌碳量}) \times 100\% / DOC$ 。

湿地本身的 DOC 来源主要包括病毒裂解释放碳、原生鞭毛虫捕食、初级生产者(主要是浮游植物)碳产量。鞭毛虫释放碳量( $HNF$ )按细菌碳产量的 10% 估算,假设所有捕食的细菌均转化成了 DOC,并可以被细菌所利用。病毒裂解细菌对湿地 DOC 贡献率( $\%$ )= $(FMVL \times BCP) / (FMVL \times BCP + HNF + PP) \times 100\%$ ,其中  $FMVL$  是病毒裂解引起细菌死亡率,  $BCP$  是细菌碳产量,  $FMVL \times BCP$  是病毒裂解细菌产生的碳量,  $HNF$  是鞭毛虫捕食细菌产生碳量,  $PP$  是浮游植物初级生产碳量。因此可以估算出浮游病毒裂解细菌产生的 DOC 对湿地生态系统中总 DOC 库的贡献率。

1.9 统计学分析

利用 Binder 模型计算烈性病毒对细菌致死率及烈性病毒产量,应用 Excel 2003、SPSS 等统计分析软件对实验数据进行统计学分析处理,分析浮游病毒丰度、浮游细菌丰度以及细菌和病毒产量与 DOC 浓度的关系。

2 结果与分析

2.1 采样点特征

纳帕海高原湿地有着中国其他湿地所不具备的高海拔、低气压等独特条件,分别在雨季和旱季于纳帕海高原湿地的不同地区采集样品,采样点特征见表 1。

表 1 纳帕海高原湿地雨季和旱季采样点概况  
Table 1 The overview of Napahai plateau wetland sampling points in rainy season and dry season

样品 Sample	经度 Longitude	纬度 Latitude	气压 Air pressure (kPa)	海拔 Altitude (m)
YW-1	E99°37'28"	N27°53'34"	19.6	3 275
YW-5	E99°37'43"	N27°54'26"	19.6	3 266
YW-6	E99°38'11"	N27°54'04"	19.4	3 270
YW-7	E99°37'44"	N27°54'18"	19.5	3 270
SDW-1	E99°38'16"	N27°51'08"	19.4	3 272
SDW-2	E99°38'09"	N27°50'34"	19.5	3 273
YNW-1	E99°37'28"	N27°53'34"	19.5	3 275
YNW-2	E99°37'47"	N27°53'35"	19.6	3 274
NTS-1	E99°38'07"	N27°50'01"	19.4	3 274
NTS-2	E99°38'14"	N27°50'04"	19.5	3 270
SDS-1	E99°38'16"	N27°51'08"	19.5	3 270
SDS-2	E99°38'09"	N27°50'34"	19.5	3 273
SDS-3	E99°37'34"	N27°52'21"	19.6	3 275
SDS-4	E99°38'07"	N27°51'41"	19.4	3 266
YNS-1	E99°37'28"	N27°53'34"	19.5	3 275
YNS-2	E99°37'47"	N27°53'35"	19.5	3 274

2.2 DOC 的测定

纳帕海高原湿地雨季和旱季样品 DOC 见图 1 和图 2。

由图 1 可见,雨季 YW 样点的 DOC 远高于 SDW 和 YNW,旱季 DOC 含量最高处为 SDW-1 样点,但多样点 DOC 的平均值雨季与旱季无显著性差异( $P>0.05$ )。从图 2 可见,雨季 SDS 样品的 DOC 含量最高,其次为 NTS,而 YNS 的最低;但在旱季 NTS-1 的 DOC 含量最高,其次为 SDS,而 YNS 的最低。但多样点 DOC 的平均值在雨季和旱季无显著性差异( $P>0.05$ )。

2.3 浮游细菌、浮游病毒丰度和浮游病毒颗粒总数与浮游细菌总数比值(VBR)

纳帕海高原湿地雨季和旱季的浮游细菌丰度、浮游病毒丰度和浮游病毒颗粒总数与浮游细菌总数比值(VBR)见表 2。

雨季所有样品的浮游细菌和浮游病毒丰度平均值分别为  $3.38 \times 10^6 / \text{mL}$  和  $4.38 \times 10^7 / \text{mL}$ ,旱季所有

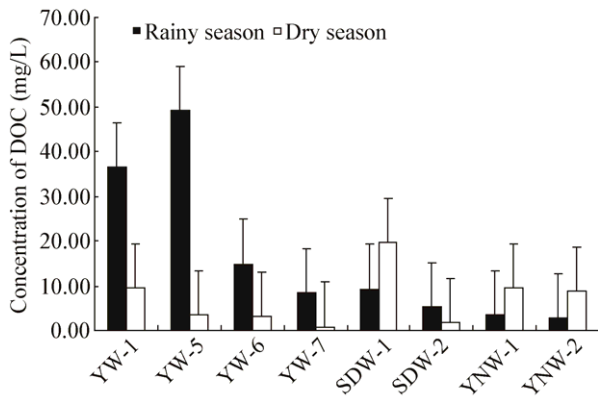


图1 纳帕海高原湿地水样品中DOC的浓度

Figure 1 Concentration of DOC of water samples from Napahai plateau wetland

样品的浮游细菌和浮游病毒丰度平均值分别为  $8.85 \times 10^5/\text{mL}$  和  $9.66 \times 10^6/\text{mL}$ , 纳帕海高原湿地浮游细菌和浮游病毒丰度年平均值分别为  $2.13 \times 10^6/\text{mL}$  和  $2.67 \times 10^7/\text{mL}$ 。不同季节浮游细菌丰度具有显著性差异, 雨季明显高于旱季 ( $P < 0.01$ ,  $r = 0.790$ )。浮游病毒丰度最高的均为 SDS 土层。

纳帕海高原湿地雨季和旱季不同样点 VBR 值如图 3 所示。雨季所有样品的 VBR 平均值为 17.90,

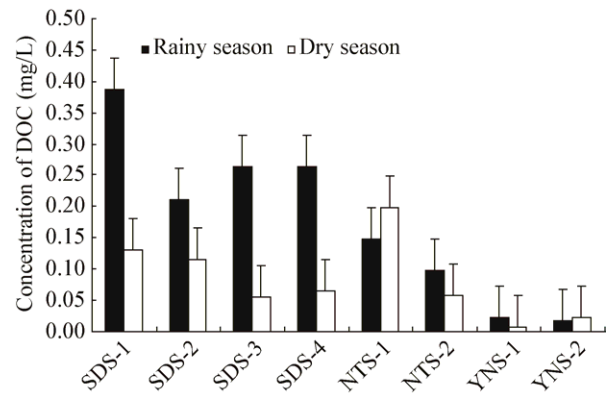


图2 纳帕海高原湿地土壤样品中DOC的浓度

Figure 2 Concentration of DOC of soil samples from Napahai plateau wetland

旱季所有样品的 VBR 平均值为 9.86, 年平均 VBR 为 13.88。雨季和旱季在原水采样点变化趋势相反, 在湿地水和淤泥水处变化趋势相同。雨季时 YW-5、YW-6 和 YW-7 处 VBR 呈逐渐下降趋势, 旱季呈上升趋势; 雨季和旱季时, SDW-1、SDW-2 及 YNW-2 处 VBR 均呈下降趋势。雨季 YNW-1 的 VBR 最高, 达到 40.11; 其次为 SDS-4, 为 37.79。全年 VBR 平均值为 13.88。雨季和旱季 VBR 无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

表2 浮游细菌及浮游病毒丰度及浮游病毒颗粒总数与浮游细菌总数比值(VBR)

Table 2 Abundance of virioplankton and bacteria and Viruses-to-Bacterium ratio (VBR)

采样点 Sample	浮游细菌丰度 Planktonic bacteria abundance ( $\text{mL}^{-1}$ )		浮游病毒丰度 Virioplankton abundance ( $\text{mL}^{-1}$ )		VBR Viruses-to-Bacterium ratio	
	旱季 Dry season	雨季 Rainy season	旱季 Dry season	雨季 Rainy season	旱季 Dry season	雨季 Rainy season
YW-5	$2.87 \times 10^5$	$1.21 \times 10^6$	$3.54 \times 10^6$	$1.57 \times 10^7$	12.33	12.97
YW-6	$3.58 \times 10^5$	$2.76 \times 10^6$	$5.78 \times 10^6$	$3.19 \times 10^7$	16.15	11.56
YW-7	$4.63 \times 10^5$	$3.14 \times 10^6$	$8.46 \times 10^6$	$3.49 \times 10^7$	18.27	11.12
SDW-1	$2.57 \times 10^5$	$1.03 \times 10^6$	$1.65 \times 10^6$	$2.41 \times 10^7$	6.42	23.40
SDW-2	$3.06 \times 10^5$	$1.45 \times 10^6$	$1.35 \times 10^6$	$3.08 \times 10^7$	4.41	21.24
YNW-1	$3.08 \times 10^5$	$1.75 \times 10^6$	$2.38 \times 10^6$	$7.02 \times 10^7$	7.73	40.11
YNW-2	$4.55 \times 10^5$	$2.78 \times 10^6$	$2.22 \times 10^6$	$5.21 \times 10^7$	4.88	18.74
SDS-1	$3.87 \times 10^6$	$6.38 \times 10^6$	$4.97 \times 10^7$	$8.08 \times 10^7$	12.84	12.66
SDS-2	$2.98 \times 10^6$	$1.06 \times 10^7$	$3.06 \times 10^7$	$5.41 \times 10^7$	10.27	5.10
SDS-3	$5.17 \times 10^5$	$2.03 \times 10^6$	$1.17 \times 10^6$	$1.57 \times 10^7$	2.26	7.73
SDS-4	$4.87 \times 10^5$	$9.05 \times 10^5$	$6.89 \times 10^6$	$3.42 \times 10^7$	14.15	37.79
YNS-2	$4.51 \times 10^5$	—	$3.14 \times 10^6$	—	6.96	—
NTS-1	$7.56 \times 10^5$	$6.53 \times 10^6$	$8.70 \times 10^6$	$8.07 \times 10^7$	11.51	12.36

注: —: 雨季由于原淤泥土已被水覆盖, 因此未检测到 YNS-2 的浮游细菌和浮游病毒丰度。

Note: —: The monsoon planktonic bacteria and virioplankton abundance of YNS-2 were undetected in the rainy season because the original silt was covered by water.

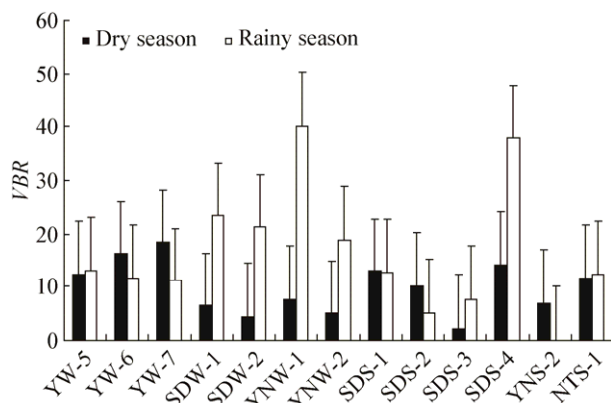


图 3 纳帕海高原湿地样品浮游病毒颗粒总数与浮游细菌总数比值(VBR)

Figure 3 Viruses-to-Bacterium ratio (VBR) of samples in Napahai plateau wetland

## 2.4 影响土样中浮游病毒丰度的因子

### (1) 浮游细菌丰度与浮游病毒丰度

线性相关分析表明浮游细菌丰度与浮游病毒丰度变化趋势上一致(图 4A、B), 雨季和旱季浮游病毒丰度与浮游细菌丰度属于正相关。雨季和旱季

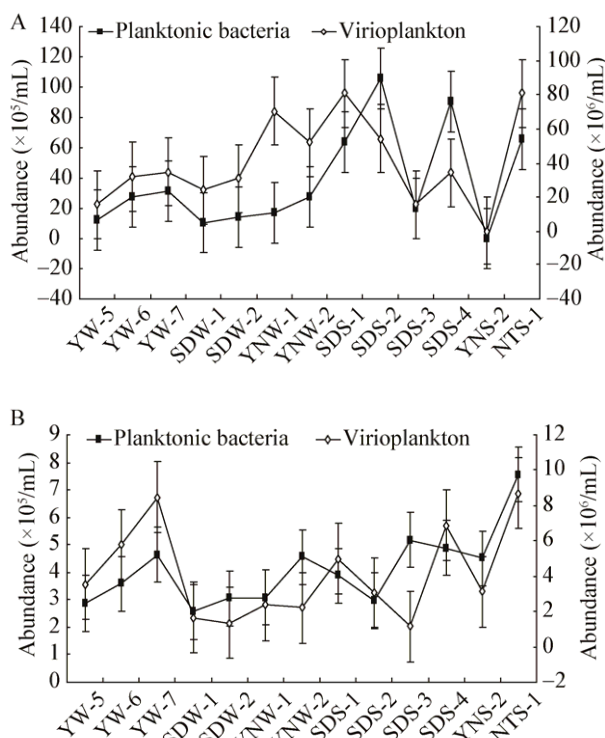


图 4 纳帕海高原湿地浮游细菌与浮游病毒丰度

Figure 4 Abundance of virioplankton and planktonic bacteria in Napahai plateau wetland

Note: A: Rainy season; B: Dry season.

浮游病毒丰度与浮游细菌丰度进行  $t$  双尾检验的偏相关性分析表明,  $P>0.05$ ,  $r$  分别为 0.598 和 0.591, 显示雨季和旱季浮游病毒丰度与浮游细菌丰度具有正相关性, 但不显著。

### (2) VBR

旱季浮游病毒丰度与 VBR 具有显著正相关性 ( $P<0.01$ ,  $r=0.843$ ), 雨季浮游病毒丰度与 VBR 具有弱相关性 ( $P<0.01$ ,  $r=0.097$ )。

### (3) 不同季节

经独立样本均值差异性检验发现旱季和雨季浮游病毒丰度具有显著性差异 ( $P<0.01$ ,  $r=0.323$ )。

### (4) DOC

经独立样本均值差异性检验发现旱季浮游病毒的丰度与 DOC 具有显著负相关性 ( $P<0.05$ ,  $r=-0.226$ ); 雨季浮游病毒丰度与 DOC 具有极显著正相关性 ( $P=0.000\ 23$ ,  $r=0.226$ )。

## 2.5 细菌产量(BP)、细菌碳产量(BCP)

纳帕海湿地雨季和旱季土样和水样的细菌产量及细菌碳产量测定结果见图 5 和图 6。

从图 5 和图 6 可看出不同采样点在雨季和旱季具有相似的变化趋势, BP 和 BCP 在旱季 YW 处最高, 整体来看水样采样点旱季高于雨季, 但土样采样点的雨季和旱季差别不大。雨季和旱季最高 BCP 值都出现在 YW 处。雨季时水样细菌碳产量最高为  $23.51\ \mu\text{g C}/(\text{L}\cdot\text{h})$ , 最低为  $1.91\ \mu\text{g C}/(\text{L}\cdot\text{h})$ , 旱季时水样细菌碳产量最高为  $38.62\ \mu\text{g C}/(\text{L}\cdot\text{h})$ , 最低为  $11.93\ \mu\text{g C}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。

经独立样本均值差异性检验发现雨季和旱季总体的 BP 和 BCP 无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 雨季和旱季不同类型样品间 BP 和 BCP 也无显著性差异 ( $P>0.05$ )。

## 2.6 浮游病毒和细菌的 FMVL 和烈性病毒产量

分别测定雨季和旱季 2 个典型时期的 FMVL 和病毒产量(表 3)。纳帕海高原湿地 FMVL 旱季为 27%, 雨季为 54.9%。烈性病毒产量旱季为  $5.55\times 10^8/(\text{L}\cdot\text{h})$ , 雨季为  $8.81\times 10^8/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。雨季病毒裂解细菌贡献的 DOC 最高占总 DOC 库的 76.38%, 而旱季则为 47.78%。

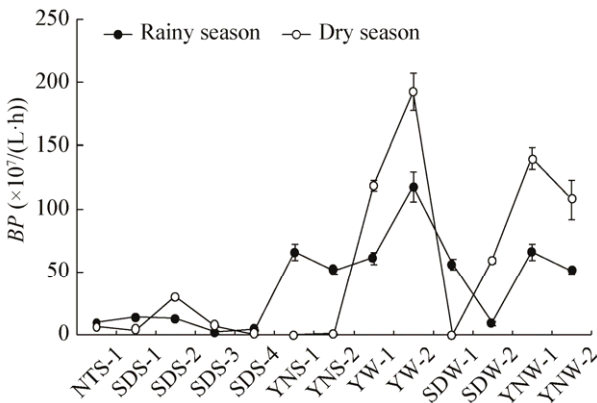


图 5 纳帕海高原湿地样品中细菌产量(BP)  
Figure 5 BP value of samples from Napahai plateau wetland

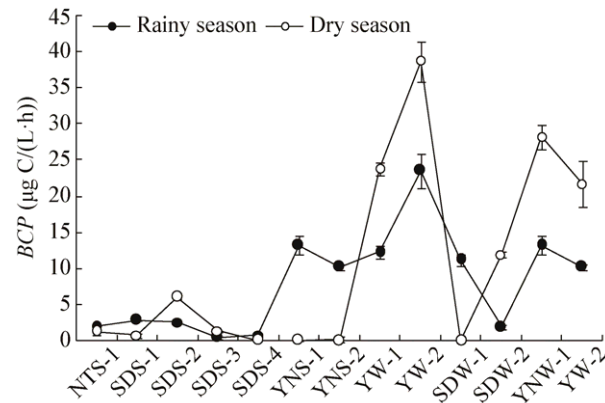


图 6 纳帕海高原湿地样品中细菌碳产量(BCP)  
Figure 6 BCP value of samples from Napahai plateau wetland

表 3 纳帕海高原湿地浮游细菌和浮游病毒相关参数

Table 3 Relevant parameters of viroplankton and planktonic bacteria of Napahai plateau wetland

参数 Parameters	雨季 Rainy season	旱季 Dry season
浮游病毒丰度 Abundance of viroplankton ( $10^9/L$ )	101.00	11.70
噬菌体裂解导致的细菌死亡率 FMVL Frequency of bacterial mortality caused by virus lysis (%)	54.90	27.00
烈性病毒产量 Potent virus production ( $10^8/(L \cdot h)$ )	8.81	5.55
浮游细菌丰度 Abundance of planktonic bacteria ( $10^9/L$ )	3.38	1.06
细菌产量 Bacterial production (BP) ( $10^7/(L \cdot h)$ )	40.10	51.40
细菌碳产量 Bacterial carbon production (BCP) ( $\mu g C/(L \cdot h)$ )	8.01	10.30
细菌生物量 Bacterial biomass ( $\mu g C/L$ )	67.60	21.20
可溶性有机碳 Dissolved organic carbon (DOC) (mg/L)	16.19	7.00
病毒裂解细菌产生的碳量 The amount of carbon produced by the virus to lyse bacteria ( $\mu g C$ )	4.40	2.78
叶绿素 a Chl-a (mg/L)	0.47	0.41
浮游植物生物量 Phytoplankton biomass (PB) (mg/L)	4.72–70.76	4.11–61.67
浮游植物生物量与细菌生物量的比值 PB/BB Phytoplankton biomass/Bacterial biomass	0.07–1.05	0.19–2.91
初级生产碳量 Primary production of carbon (PP) ( $\mu g C/(L \cdot h)$ )	0.56–8.39	2.00–29.96
HNF 产碳量 HNF carbon production ( $\mu g C/(L \cdot h)$ )	0.80	1.03
病毒裂解细菌贡献的 DOC DOC contributed by virus-lysed bacteria (%)	32.38–76.38	8.23–47.87

注:  $FMVL=FMVL/[0.693 \times (0.814 - FMVL)]$ ; 烈性病毒产量= $FMVL \times BP \times 4$ ; 病毒裂解细菌产生的碳量= $FMVL \times$ 细菌碳量;  $FMVL$  是病毒裂解引起的细菌死亡率;  $FMVL$  是可见的被感染细菌的比例。

Note:  $FMVL=FMVL/[0.693 \times (0.814 - FMVL)]$ ; Potent virus production= $FMVL \times BP \times 4$ ; The amount of carbon produced by the virus to lyse bacteria= $FMVL \times$  Bacterial carbon content;  $FMVL$  is the bacterial death rate caused by virus lysis;  $FMVL$  is a visible ratio of infected bacteria.



### 3 讨论与结论

纳帕海高原湿地浮游病毒和浮游细菌活动比较活跃, 浮游病毒丰度很高, 尤其是雨季 *VBR* 值高达 40.11, 旱季 *VBR* 值最高为 18.27, 年平均 *VBR* 值为 13.88。而不同季节 *VBR* 无显著性差异, 表明该地区在长期的进化过程中病毒与细菌的分布比例已趋于平衡, 形成了一个成熟度很高的生态系统。

纳帕海高原湿地雨季和旱季病毒裂解引起的细菌死亡率分别为 54.9% 和 27%, 与南极寡营养湖泊 Druzhby 湖的秋季(38%)和 Crooked 湖的春季(46%)结果类似。河北近海岸病毒引起的细菌死亡率平均为 41.5%<sup>[15]</sup>。纳帕海高原湿地雨季水体和土壤温度都较高, 病毒丰度高, 繁殖较为活跃, 导致细菌裂解死亡频率较高。旱季, 尤其是在冬季温度偏低, 水域面积减少, 病毒裂解活动减少, 形成了较大一部分非裂解的溶原性细菌, 这可能是旱季 *FMVL* 偏低的主要原因。

纳帕海湿地雨季病毒裂解细菌贡献的 DOC 最高占总 DOC 库的 76.38%, 高于南极寡营养湖泊(Druzhby 湖和 Crooked 湖)中的病毒, 尤其是噬菌体裂解细菌而释放的最高 DOC (69%)<sup>[8]</sup>, 而纳帕海高原湿地旱季病毒裂解细菌贡献的 DOC 最高占总 DOC 库的 47.87%。

本研究检测了纳帕海高原湿地不同季节水样中浮游病毒和细菌丰度及土壤样品中病毒颗粒与细菌丰度, 并分析了不同季节浮游病毒丰度与可溶性有机碳的关系。结果表明: 不同季节浮游细菌和浮游病毒丰度有显著性差异, 雨季明显高于旱季( $P < 0.01$ ); 由病毒裂解细菌所贡献的可溶性有机碳在总有机碳中占主导地位, 其贡献率在旱季和雨季均超过了 50%, 并且在雨季和旱季其贡献率有显著差异。本研究证明了在纳帕海高原湿地非常广泛地存在浮游细菌和病毒, 它们在不同季节有不同的组成和分布, 并且具有鲜明的地域特征。本研究也是首次关于该地区可溶性有机碳循环与噬菌体裂解关系的报道, 研究结果将为进一步阐明噬菌体在维持该地

区生态平衡中的作用提供重要的理论支撑。

### REFERENCES

- [1] Ji XL. Bacteriophage diversity, abundance and its role in the production of dissolved organic carbon in napahai plateau wetland[D]. Kunming: Doctoral Dissertation of Kunming University of Science and Technology, 2015 (in Chinese)  
季秀玲. 高原湿地纳帕海噬菌体的多样性、丰度及其与 DOC 关系初步研究[D]. 昆明: 昆明理工大学博士学位论文, 2015
- [2] Evans C, Pearce I, Brussaard CPD. Viral-mediated lysis of microbes and carbon release in the sub-Antarctic and Polar Frontal zones of the Australian Southern Ocean[J]. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(11): 2924-2934
- [3] Evans C, Brussaard CPD. Regional variation in lytic and lysogenic viral infection in the Southern Ocean and its contribution to biogeochemical cycling[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(18): 6741-6748
- [4] Colombet J, Charpin M, Robin A, et al. Seasonal depth-related gradients in viroplankton: standing stock and relationships with microbial communities in Lake Pavin (France)[J]. *Microbial Ecology*, 2009, 58(4): 728-736
- [5] Thomas R, Berdjeb L, Sime-Ngando T, et al. Viral abundance, production, decay rates and life strategies (lysogeny versus lysis) in Lake Bourget (France)[J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(3): 616-630
- [6] Weinbauer MG, Brettar I, Höfle MG. Lysogeny and virus-induced mortality of bacterioplankton in surface, deep, and anoxic marine waters[J]. *Limnology and Oceanography*, 2003, 48(4): 1457-1465
- [7] Weinbauer MG, Winter C, Höfle MG. Reconsidering transmission electron microscopy based estimates of viral infection of bacterioplankton using conversion factors derived from natural communities[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2002, 27: 103-110
- [8] Sävström C, Anesio MA, Granéli W, et al. Seasonal viral loop dynamics in two large ultraoligotrophic Antarctic freshwater lakes[J]. *Microbial Ecology*, 2007, 53(1): 1-11
- [9] Lu T, Liang XB, Zeng J, et al. Distribution patterns and related affecting factors of bacterial and viral abundance in lakes of Guizhou tableland[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2009, 28(10): 1996-2001 (in Chinese)  
陆婷, 梁小兵, 曾佳, 等. 贵州高原湖泊细菌和病毒分布特征及影响因素[J]. *生态学杂志*, 2009, 28(10): 1996-2001
- [10] Zheng TL, Wang F, Xu MZ, et al. Bacterial production, biomass and role in microbial loop in Taiwan Strait[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2002, 33(4): 415-423 (in Chinese)  
郑天凌, 王斐, 徐美珠, 等. 台湾海峡海域细菌产量、生物量及其在微食物环中的作用[J]. *海洋与湖沼*, 2002, 33(4): 415-423
- [11] Margesin R, Jud M, Tschierko D, et al. Microbial communities and activities in alpine and subalpine soils[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 67(2): 208-218



- [12] Guo DN, Zang SY, Zhao GY. Effect of freezing and thawing cycles on soil microbial activity and organic carbon density in forest swamp wetland with various drainage afforestation years[J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2017, 39(1): 175-184 (in Chinese)  
郭冬楠, 臧淑英, 赵光影. 冻融交替对不同年代排水造林湿地土壤微生物活性及有机碳密度的影响[J]. *冰川冻土*, 2017, 39(1): 175-184
- [13] Fuhrman JA, Azam F. Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica, and California[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1980, 39(6): 1085-1095
- [14] Lee S, Fuhrman JA. Relationships between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1987, 53(6): 1298-1303
- [15] Li HB, Cui XY, Lin FA, et al. Relationship between bacterioplankton and virioplankton in coastal area of Hebei[J]. *Marine Environmental Science*, 2010, 29(2): 187-190 (in Chinese)  
李洪波, 崔向阳, 林凤翱, 等. 河北近岸海域浮游细菌与病毒的关系[J]. *海洋环境科学*, 2010, 29(2): 187-190
- [16] Brussaard CPD. Optimization of procedures for counting viruses by flow cytometry[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(3): 1506-1513
- [17] Binder B. Reconsidering the relationship between virally induced bacterial mortality and frequency of infected cells[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 1999, 18(3): 207-215

## 编辑部公告

### 邀请您关注《微生物学通报》公众微信号

为了更好地与读者、作者、审稿专家和编委朋友们及时沟通、方便服务,《微生物学通报》已开通公众微信服务号。作者通过微信能及时收到稿件各流程通知,第一时间了解稿件进程并及时处理;审稿专家和编委可通过微信及时收到审稿邀请,还可通过手机审稿;读者通过微信可了解《微生物学通报》文章目录,查找阅读感兴趣的文章。

#### 关注办法:

- 1、在微信公众号搜索“微生物学通报”或“wswxtb”;
- 2、用微信扫右边二维码:

