中国科学: 地球科学 2018 年 第 48 卷 第 12 期: 1589 ~ 1599
SCIENTIA SINICA Terrae earthcn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS

进 展 微生物海洋学专题

原绿球藻病毒研究进展——从多样性到生物地球化学过程

肖喜林[1], 曾庆璐[2], 张锐[1*], 焦念志[1†]

1. 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门大学海洋与地球学院, 海洋微型生物与地球圈层研究所, 厦门 361002;
2. Division of Life Science, Hong Kong University of Science and Technology, Clear Water Bay, Hong Kong 999077
* 通讯作者, E-mail: ruizhang@xmu.edu.cn
† 通讯作者, E-mail: jiao@xmu.edu.cn

收稿日期: 2017-10-31; 收修改稿日期: 2018-02-05; 接受日期: 2018-07-13; 网络版发表日期: 2018-09-28
青岛海洋科学与技术国家实验室开放基金项目(编号: QNLM2016ORP0303)、国家自然科学基金项目(批准号: 41522603、91428308)、中国海洋石油总公司"渤海海洋碳汇时间序列观测"项目(编号: CNOOC-KJ125FZDXM00TJ001-2014)和"南海西部海洋碳汇时间序列观测"项目(编号: CNOOC-KJ12FZDXM00ZJ001-2014)资助

摘要 原绿球藻(*Prochlorococcus*)是地球上体积最小、丰度最高的光合自养生物. 作为贫营养海区及大洋的优势微生物类群, 原绿球藻是海洋初级生产力的重要组成部分和碳循环的重要贡献者. 病毒对原绿球藻的生长、碳固定、进化、环境适应及生物地球化学意义等方面具有重要的影响. 文章综述了原绿球藻病毒研究在研究方法、遗传多样性及其与宿主相互关系方面的研究成果, 分析了原绿球藻病毒潜在的生物地球化学作用, 并提出了研究展望, 为海洋病毒及碳循环研究提供参考.

关键词 原绿球藻病毒, 遗传多样性, 生物地球化学

1 引言

原绿球藻属于海洋蓝细菌的一个属, 个体大小为0.5~0.7μm, 是海洋中已知体积最小的光合自养生物. 原绿球藻在海洋中广泛分布且具有极高的丰度, 在南北纬40°之间的贫营养海区占主导地位, 是海洋初级生产力的重要组成部分(Chisholm等, 1988; Partensky等, 1999). 在局部海区, 原绿球藻对海区光合作用生物量及初级生产力的贡献高达80%(Vaulot等, 1990; Goericke和Welschmeyer, 1993; Campbell等, 1997; Liu等, 1997; Jiao和Yang, 2002; Gérikas-Ribeiro等, 2016). 模型研究结果显示, 原绿球藻年平均丰度为$(2.9\pm0.1)\times10^{27}$个细胞, 年净初级生产力为4Gt C, 占全球海洋净初级生产力的8.5%; 在未来全球变暖的趋势下, 原绿球藻的分布范围会向南极、北极延伸, 至21世纪末期细胞年平均丰度会提高29%(Flombaum等, 2013). 在未来全球气候变化的环境下, 海洋微生物群落将经历复杂的变化, 原绿球藻种群规模、生产力、多样性等的研究, 对研究海洋生态系统、生物地球化学循环及气候变化下海洋微生物的响应与反馈有重要意义.

中文引用格式: 肖喜林, 曾庆璐, 张锐, 焦念志. 2018. 原绿球藻病毒研究进展——从多样性到生物地球化学过程. 中国科学: 地球科学, 48: 1589–1599, doi: 10.1360/N072017-00363
英文引用格式: Xiao X, Zeng Q, Zhang R, Jiao N. 2018. *Prochlorococcus* viruses—From biodiversity to biogeochemical cycles. Science China Earth Sciences, 61: 1728–1736, https://doi.org/10.1007/s11430-017-9247-4

© 2018 《中国科学》杂志社

影响原绿球藻生态特征和生态过程的因素，主要包括上行效应和下行效应，其中病毒是主要的下行效应因素之一. 病毒在海洋中的数量可达到4×10^{30}, 超过细菌和古菌数量之和的10倍以上，是海洋生态系统中丰度最高的生物体(Suttle, 2005, 2007). 病毒对宿主的致死性这一特点使病毒在海洋中具有重要的生态和生物地球化学作用, 例如影响食物网结构(Wilhelm和Suttle, 1999; Suttle, 2007)、宿主的进化(Rohwer和Thurber, 2009; Avrani和Lindell, 2015)、元素循环(Fuhrman, 1999; Wilhelm和Suttle, 1999; Jover等, 2014; Zhang等, 2014).

本文综述了原绿球藻病毒在研究方法、遗传多样性及其与宿主相互关系方面的研究成果，分析了原绿球藻病毒潜在的生物地球化学作用，并在此基础上讨论了未来的重点研究方向与可能的突破.

2 原绿球藻病毒生物学特征

2.1 原绿球藻病毒的分离和分类

原绿球藻不耐高温，对光照、重金属离子等敏感, 致使原绿球藻病毒的分离手段较局限，主要是基于超低凝点琼脂平板噬菌斑法(Sullivan等, 2003). 将环境病毒样品、细菌EZ55和原绿球藻接种到含超低凝点琼脂的培养基Pro99(Moore等, 2007)中, 冷却后原绿球藻在固体培养基上生长形成绿色“菌苔”，病毒感染细胞后, 原绿球藻细胞破裂、死亡, 绿色消失, 而在固体培养基上形成透明的病毒噬菌斑. 作为原绿球藻培养中的“Helper”，细菌EZ55能够移除原绿球藻生长环境中氧化性物质(Morris等, 2008), 进而促进原绿球藻更好的在平板上生长而有利于噬菌斑的形成.

目前报道的59株原绿球病毒都是双链DNA病毒, 包括3种形态类型：肌尾病毒(*Myovirus*)、短尾病毒(*Podovirus*)、长尾病毒(*Siphovirus*). 分离的原绿球藻肌尾病毒和短尾病毒的数目相当，其中肌尾病毒28株、短尾病毒29株, 而长尾病毒仅2株(如表1). 与原绿球藻亲缘最近的海洋聚球藻(*Synechococcus*)病毒的分离株中，肌尾病毒也占主要部分(Waterbury和Valois, 1993). 而另一类海洋中广泛分布的异养细菌玫瑰杆菌，其分离的病毒株系以短尾病毒为主(Yang等, 2017). 全球尺度的电子显微镜观察表明，自然海洋病毒类群的形态也是以肌尾、短尾和长尾病毒为主，而且三种形态病毒的丰度没有显著差异. 海洋主要微生物类群中可分离培养病毒在形态上的差异，表明目前病毒分离纯化技术尚有很大的提升空间.

根据其在海洋中的垂直分布及其对光的适应，原绿球藻可以分为高光适应型(High Light adapted, HL)、低光适应型(Low Light adapted, LL)2类生态型, 具有12种具体生态型, 其中5种生态型已获得实验室可培养株系，仍有7种生态型未分离到代表性株系(Biller等, 2015). 目前已经分离获得病毒的宿主主要集中于HLⅠ、HLⅡ、LLⅠ、LLⅣ及LLⅡ/Ⅲ等5类具有实验室可培养株系的生态型，而现已报道60%的病毒分离自其中3株原绿球藻(MED4、NATL1A、NATL2A). 这在一定程度上限制了原绿球藻病毒多样性及生理生态学等的研究，也可能是以分子手段检测到仍有大量原绿球藻病毒环境类群没有分离纯株的原因.

由于病毒体系扩大培养、高浓度病毒获得及活性病毒计数等方面存在困难，目前尚没有对已有的原绿球藻病毒分离株系的基本生理生态参数(如一步生长曲线、吸附动力学参数等)的报道, 这给原绿球藻病毒生态功能的认识带来了困难. 此外, 原绿球藻病毒分离株系的不足, 也导致其全基因组信息的缺乏, 进而限制了海洋宏基因组的解读. 因此, 分离更多原绿球藻纯株病毒、进行基因组分析以及生理生态学研究，依然是原绿球藻病毒生态学研究的重点之一.

从蓝细菌病毒的宿主范围可以看出(Sullivan等, 2003)，某些病毒能够跨属同时感染原绿球藻和聚球藻. 自聚球藻分离的能感染原绿球藻的病毒主要能感染低光型的原绿球藻(分离获得的18株病毒中有10株病毒可感染原绿球藻, 其中8株病毒仅能感染低光型原绿球藻，2株病毒可同时感染高光型和低光型原绿球藻); 然而，分离自原绿球藻的病毒很少能侵染聚球藻(26株分离自原绿球藻的病毒，其中2株病毒可同时感染受测试的10株聚球藻中的3株，1株病毒能感染其中的1株受测试聚球藻). 由于宿主和病毒的分离株系较少，自聚球藻分离的病毒能感染原绿球藻而分离自原绿球藻的病毒很少能感染聚球藻的这种现象是否具有普遍性还不清楚，这对我们认识病毒的侵染机制有重要意义. Enav等(2012)认为在病毒跨属感染原绿球藻和聚球藻过程中tRNA可能发挥着重要作用. 同一病毒使用同一套感染系统入侵宿主，但不同宿主应对病毒侵染有一定的差异，从而推测具有较宽宿主范围的病

表 1　已分离的原绿球藻病毒[a)]

病毒名称	宿主	生态型	分离地	形态	水层(m)	NCBI基因组序列号	参考文献
P-SS1	9313	LLⅣ	大西洋	S	60		Sullivan等, 2003
P-SS2	9313	LLⅣ	大西洋	S	83	NC_013021	Sullivan等, 2003
P-ShM1	9313	LLⅣ	大西洋	M	40		Sullivan等, 2003
P-ShM2	9313	LLⅣ	大西洋	M	0		Sullivan等, 2003
P-RSM1	9303	LLⅣ	红海	M	0	HQ634175	Sullivan等, 2003
P-RSM2	NATL2A	LLⅠ	红海	M	50		Sullivan等, 2003
P-RSM3	NATL2A	LLⅠ	红海	M	50	HQ634176	Sullivan等, 2003
P-RSM4	9303	LLⅣ	红海	M	130	GU071099	Sullivan等, 2008
P-RSM5	NATL1A	LLⅠ	红海	M	130		Sullivan等, 2008
P-RSM6	NATL2A	LLⅠ	红海	M	50	HQ634193	Kelly等, 2013
P-SSM1	9303	LLⅣ	BATS	M	100		Sullivan等, 2003
P-SSM2	NATL1A	LLⅠ	BATS	M	100	AY939844	Sullivan等, 2003
P-SSM3	NATL2A	LLⅠ	BATS	M	100	HQ337021	Sullivan等, 2003
P-SSM4	NATL2A	LLⅠ	BATS	M	10	AY940168	Sullivan等, 2003
P-SSM5	NATL2A	LLⅠ	BATS	M	15	HQ632825	Sullivan等, 2003
P-SSM6	NATL2A	LLⅠ	BATS	M	40		Sullivan等, 2003
P-SSM7	NATL1A	LLⅠ	BATS	M	120	GU071103	Sullivan等, 2008
P-SSM8	9211	LLⅡ/Ⅲ	马尾藻海	M?	30		Sullivan等, 2008
P-SSM9	NATL2A	LLⅠ	马尾藻海	M?	0		Sullivan等, 2008
P-SSM10	NATL2A	LLⅠ	马尾藻海	M?	0		Sullivan等, 2008
P-SSM11	NATL2A	LLⅠ	马尾藻海	M?	0		Sullivan等, 2008
P-SSM12	NATL2A	LLⅠ	马尾藻海	M?	95		Sullivan等, 2008
P-TIM3	MED4	HLⅠ	红海	M	20		Avrani等, 2011
P-TIM40	NATL2A	LLⅠ	太平洋	M	NA	KP211958	Enav等, 2012
P-TIM68	9515	HLⅠ	太平洋	M	NA	NC_028955	Fridman等, 2017
P-HM1	MED4	HLⅠ	太平洋	M	125	GU071101	Sullivan等, 2010
P-HM2	MED4	HLⅠ	太平洋	M	125	GU075905	Sullivan等, 2010
MED4-117	MED4	HLⅠ	HOTS	M	125	NC_020857	
MED4-184	MED4	HLⅠ	HOTS	M	125	NC_020847	
MED4-213	MED4	HLⅠ	HOTS	M	125	HQ634174	Kelly等, 2013
P-RSP1	9215	HLⅡ	红海	P	0		Sullivan等, 2003
P-RSP2	9302	HLⅡ	红海	P	0	HQ332139	Sullivan等, 2003
P-RSP3	NATL2A	LLⅠ	红海	P	50		Sullivan等, 2003
P-RSP5	NATL1A	LLⅠ	红海	P	130	GU071102	Labrie等, 2013
P-SSP1	9215	HLⅡ	BATS	P	100		Sullivan等, 2003
P-SSP2	9312	HLⅡ	BATS	P	120	GU071107	Sullivan等, 2003
P-SSP3	9312	HLⅡ	BATS	P	100	HQ332137	Sullivan等, 2003
P-SSP4	9312	HLⅡ	BATS	P	70		Sullivan等, 2003
P-SSP5	9515	HLⅠ	BATS	P	120		Sullivan等, 2003
P-SSP6	9515	HLⅠ	BATS	P	100	HQ634152	Sullivan等, 2003

(续表1)

病毒名称	宿主	生态型	分离地	形态	水层(m)	NCBI基因组序列号	参考文献
P-SSP7	MED4	HL Ⅰ	BATS	P	100	NC_006882	Sullivan等, 2003
P-SSP8	NATL2A	LL Ⅰ	BATS	P	100		Sullivan等, 2003
P-SSP9	SS120	LL Ⅱ/Ⅲ	BATS	P	100	HQ316584	Labrie等, 2013
P-SSP10	NATL2A	LL Ⅰ	BATS	P	100	HQ337022	Labrie等, 2013
P-SSP11	9515	HL Ⅰ	BATS	P	100	HQ634152	Labrie等, 2013
P-GSP1	MED4	HL Ⅰ	墨西哥湾流	P	40	HQ332140	Sullivan等, 2003
P-SP1	SS120	LL Ⅱ/Ⅲ	马尾藻海	P	83		Sullivan等, 2003
P-TIP1	MED4	HL Ⅰ	红海	P	20		Avrani等, 2011
P-TIP2	MED4	HL Ⅰ	红海	P	20		Avrani等, 2011
P-TIP34	9515	HL Ⅰ	红海	P	NA*		Dekel-Bird等, 2013
P-TIP38	MED4	HL Ⅰ	红海	P	0		Avrani等, 2011
P-TIP39	9215	HL Ⅱ	红海	P	NA**		Dekel-Bird等, 2013
P-TIP42	MED4	HL Ⅰ	红海	P	NA**		Dekel-Bird等, 2013
P-TIP43	MED4	HL Ⅰ	红海	P	NA**		Dekel-Bird等, 2013
P-TIP44	MED4	HL Ⅰ	红海	P	NA**		Dekel-Bird等, 2013
10G	MED4	HL Ⅰ	红海	P	NA**		Dekel-Bird等, 2013
P-HP1	NATL2A	LL Ⅰ	HOTS	P	25	GU071104	Labrie等, 2013
NATL1A-7	NATL1A	LL Ⅰ	红海	P	130	NC_016658	
NATL2A-133	NATL2A	LL Ⅰ	HOTS	P	25	NC_016659	

a) M, 肌尾病毒, P, 短尾病毒, S, 长尾病毒; BATS, 大西洋百慕大群岛时间序列研究站; HOTS, 夏威夷海洋时间序列监测站; NA, 原文中没有指明具体水层; *, 近海海域(coastal region), **, 远洋海域(open water)

毒对不同宿主的侵染取决于宿主的病毒防御机制而非是病毒的特异性侵染机制(Doron等, 2016).

2.2 原绿球藻病毒的基因组

截至当前, 已经分离的原绿球藻病毒中有16株肌尾病毒(Sullivan等, 2005, 2010; Fridman等, 2017)、13株短尾病毒(Sullivan等, 2005; Labrie等, 2013)和1株长尾病毒(Sullivan等, 2009)已经完成基因组测序. 原绿球藻三种形态病毒基因组差异较大, 短尾病毒基因组44.9~47.7kb, 50~70个ORF, G+C含量为37~40%; 肌尾病毒基因组176.4~252.4kb, 221~334个ORF, 基因组大小与ORF数呈正相关, G+C含量为35~38%; 当前仅有的长尾病毒P-SS2基因组大小为108kb, 含有132个ORF, G+C含量为52.3%(Sullivan等, 2009, 2010; Labrie等, 2013). 比较基因组的分析表明原绿球藻短尾病毒是T7-like病毒, 肌尾病毒是T4-like病毒. 此外, 长尾病毒同源基因片段在海洋表层中很少, 说明原绿球藻长尾病毒可能主要分布于真光层深部(Sullivan等, 2009).

基因组分析结果表明, 原绿球藻病毒基因组中有很多宿主特征基因, 如光合作用系统Ⅱ(PSⅡ)(*psbA*、*psbD*)、光合作用系统Ⅰ(PSⅠ)(*psaJF*、*psaC*、*A*、*B*、*K*、*E*、*D*)、碳代谢(*talC*、*cp12*)、磷代谢(*phoH*, *pstS*)、核酸代谢(*nrd*, *mazG*)、维生素代谢(*cobS*)及色素和电子传递(*petE*、*petF*、*pebA*)等相关的基因(Sullivan等, 2005; Dammeyer 等, 2008; Fridman等, 2017). 这些基因被称为辅助代谢基因(Auxiliary Metabolic Genes, AMGs), 在病毒侵染宿主后, 可以在宿主内表达, 参与到宿主的代谢活动, 保证宿主在最大限度合成病毒粒子复制所需的物质和能量, 提高病毒的适应性(Lindell等, 2005; Breitbart等, 2007; Dammeyer等, 2008; Fridman等, 2017). 通过病毒AMGs的统计分析发现, 大部分与光捕获相关的基因(*ho1*、*pcyA*、*pebS*、*cpeT*)、部分与电子传递相关的基因(*psbD*、*petE*、*petF*、*proX*)和与碳、磷及核酸代谢相关的基因(*cp12*、*phoH*、*pstS*、*mazG*)仅存在于原绿球藻肌尾病

毒基因组中(Sullivan等, 2005, 2010; Labrie等, 2013). *psbA*、*hli*、*nrd*和*talC*在原绿球藻肌尾病毒和短尾病毒基因组中都有发现, 但是*hli*在肌尾病毒中具有多个拷贝而在短尾病毒中仅有单个拷贝. 与短尾病毒相比较, AMGs更加广泛的存在于肌尾病毒中. 这种现象可能的原因是肌尾病毒通常具有较宽的宿主范围而具有更多基因交换机会.

研究表明, 在感染期间, 病毒的部分光合作用相关基因会转录表达, 同时其表达的产物可以在宿主代谢过程中发挥重要作用. Lindell等(2005)首次报道, 在短尾病毒P-SSP7侵染宿主期间, 宿主*psbA*和*hli*的表达降低而病毒的*psbA*和*hli*能够正常表达. 在肌尾病毒P-TIM68侵染宿主的过程中发现, 病毒PSⅡ、PSⅠ基因会同时在宿主内转录, 而宿主PSⅠ活性增强而PSⅡ活性不变, 说明病毒PSⅠ基因表达产物可以参与宿主光合作用并增强宿主PSⅠ活性, 进而最大限度的维持宿主的光合作用能力(Fridman等, 2017). 光合色素*pebS*基因在病毒基因组中也有发现, 与宿主的色素合成途径相比, 该基因表达产物PebS介导的一种新的藻胆素合成途径更较短, 被认为较宿主色素合成途径有多种优势(Dammeyer 等, 2008). 海洋蓝细菌病毒基因组中含有卡尔文循环的抑制基因*cp12*、磷酸戊酮糖途径相关的转醛醇酶基因*talC*等. 在病毒感染宿主后, CP12可能会抑制卡尔文循环中关键酶磷酸核酮糖激酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶, 进而阻断卡尔文循环, 使宿主内的碳代谢转向磷酸戊酮糖途径。海洋蓝细菌病毒*talC*表达产物TalC氨基酸序列与宿主转醛醇酶(transaldolase)序列差异较大而与大肠杆菌醛缩酶(aldolase)序列相似, 但TalC纯化后在胞外具有转醛醇酶活性, 这说明病毒*talC*可能可以有效促进宿主磷酸戊酮糖途径而产生更多的核苷酸、NADPH (Thompson等, 2011).

在原绿球藻病毒基因组中, 核苷酸还原酶基因(*nrd*)广泛存在. 在病毒侵染宿主期间, 病毒*nrd*与病毒DNA复制相关基因、磷酸戊糖途径代谢相关基因在宿主内同步转录, 这表明病毒*nrd*可能有助于将宿主内的核苷酸转化为脱氧核苷酸而用于病毒粒子的DNA合成(Lindell等, 2007; Thompson等, 2011). 此外, 另一种与核酸合成相关的基因*mazG*也存在于大部分肌尾病毒基因组中, 人们推测该基因可能与降解宿主DNA而为病毒粒子DNA合成提供前体物有关。

NtcA是一种依赖于2-氧戊二酸盐(2-oxoglutarate, 2OG)的氮代谢调控子, 当2OG浓度较低时NtcA处于抑制状态. 原绿球藻肌尾病毒基因组中发现有多个NtcA启动子. 据推测, 原绿球藻病毒感染宿主后, 会导致宿主胞内氮浓度下降, 2OG开始在宿主细胞内积累, 当2OG浓度达到一定程度后NtcA被激活, 进而导致病毒NtcA启动子介导的氮胁迫响应相关基因的表达(Sullivan等, 2010). 原绿球藻病毒基因组也发现有磷诱导基因(phosphate-inducible genes, *pstS*), 被认为可能是宿主、病毒对海洋磷限制环境的一种响应机制(Sullivan等, 2010). 在磷限制环境下, 病毒侵染宿主后宿主磷吸收相关基因表达下调, 而病毒*pstS*表达量高于未受病毒侵染宿主*pstS*的表达, 这表明病毒*pstS*可能有利于宿主的磷吸收(Zeng和Chisholm, 2012; Lin等, 2016).

海洋蓝细菌肌尾病毒比较基因组研究证实, 其核心基因包含目前已经认识到的6个已知功能的基因(*psbA*、*mazG*、*phoH*、*hsp20*、*hli03*、*cobS*)、1个加氧酶(phytanoyl-CoA dioxygenase)相关基因、2个结构基因以及16个未知功能基因(Sullivan等, 2010). Labrie等(2013)研究表明, 原绿球藻短尾病毒基因组中包括3个易变区, 超变基因通常位于基因组C末端. 基于12株蓝细菌短尾病毒的宏基因组分析显示, 夏威夷海洋时间序列监测站(HOT)样品及海洋病毒数据库中短尾病毒序列超过50%, 说明短尾病毒在海洋中可能具有较高的丰度(Labrie等, 2013). 近年来, 高通量测序和宏基因组技术提供了越来越多原绿球藻病毒的序列信息, 但是仍然有大量病毒基因(包括AMGs)的功能不清楚, 这说明病毒基因组是很大的一个未探索的基因库, 急需投入更多力量研究基因的功能.

值得注意的是, 短尾病毒P-SSP7具有*int*基因, 该基因中具保守氨基酸序列, 有重组酶特异性识别位点; 并且在*int*基因下游发现一个42bp的片段, 与宿主亮氨酸tRNA基因非编码链的部分序列相同, 因此推测P-SSP7具有成为溶原性噬菌体的可能性(Sullivan等, 2005). 在随后的长尾病毒P-SS2研究中, 也发现该病毒也具有成为溶原性噬菌体的可能性(Sullivan等, 2009). 然而, 迄今为止, 尚没有原绿球藻溶源性噬菌体的确凿证据. 考虑到原绿球藻的生活环境多为寡营养海区, 而人们一般认为营养条件不好的环境会促进病毒选择溶源性的生活方式. 我们推测随着原绿球藻病毒分离株系的增加, 有可能发现溶源性原绿球藻病毒, 这将为深入了解原绿球藻-病毒相互作用关系提供新的视角.

3 原绿球藻病毒的多样性

由于病毒没有像微生物体内普遍存在的保守基因, 使得病毒多样性的研究比较困难(Paul等, 2002), 但是特定病毒类群的某些基因可以用于病毒多样性的研究(Rohwer和Edwards, 2002). 结合纯培养病毒及宏基因组数据库信息, 可以在一定程度上弥补病毒多样性研究没有通用引物的缺陷. 目前, 原绿球藻病毒多样性的研究主要涉及结构基因*g20*, 光合系统*psbA*、*psbD*、*psaA*基因, 衣壳蛋白基因(major capsid protein, MCP)及DNA聚合酶基因(DNA polymerase, DNA *pol*).

*g20*多样性研究显示, 海洋蓝细菌病毒可以区分为由分离获得的病毒株系组成的4个类群(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ)及由环境样品组成的6个环境类群(Sullivan等, 2008). 通过对当前文献报道的能感染原绿球藻的32株肌尾病毒的*g20*序列进行分析, 结果如图1所示. 随着病毒序列的增加, 传统的4个类群更加明确(图1). 6个环境类群从10年前首次确立以来, 仍然没有分离株系. 类群Ⅰ、Ⅱ、Ⅳ主要是分离自原绿球藻的病毒, 而类群Ⅲ包括能跨属感染原绿球藻的病毒. 此外, 类群Ⅲ可以区分出4个亚类群(Ⅲ-1、2、3、4). 亚类群Ⅲ-1、2主要是跨属感染原绿球藻的病毒, 而亚类群Ⅲ-3、4包括分离自原绿球藻及可跨属感染原绿球藻的病毒. 因此, 探究类群Ⅲ中的病毒可能有助于我们认识病毒跨属感染能力.

Sullivan等(2006)通过蓝细菌及其病毒光合作用系统Ⅱ基因*psbA*分析发现, 原绿球藻病毒可以分为3个类群, 即以分离自原绿球藻的2个类群及分离自聚球藻可跨属侵染原绿球藻的1个类群. 通过整合分析文献报道能感染原绿球藻的肌尾病毒的*psbA*序列进行分析结果与Sullivan等研究结果一致(图2). 在结构基因和功能基因构建的进化树中, 具跨属感染力的肌尾病毒都与其他病毒分离开(图1和2), 说明具跨属感染力的病毒与具专一侵染力的病毒具有不同的进化路径. *psbD*基因分析结果与*psbA*类似(Sullivan 等, 2006). 通过比较肌尾病毒标记基因的分析结果可以看出, 与*psbA*、*psbD*基因相比, *g20*序列对原绿球藻肌尾病毒有较好分辨率, 这有可能反映了病毒结构蛋白对不同宿主的适应.

基于DNA *pol*序列的多样性分析, 9株原绿球藻短尾病毒可以分为MPP-A、MPP-B两个类群及由P-RSP2组成的离异类群(Labrie等, 2013). 随后研究人员用病毒分离株系、PCR产物、宏基因组序列等分析得到一致的结果(Dekel-Bird等, 2013; Huang等, 2015). MPP-B类群包含原绿球藻病毒和聚球藻病毒, 都含有*psbA*, 而MPP-A类群不含有*psbA*. 大部分短尾病毒属于MPP-B类群, 且MPP-B类群比MPP-A类群包含更多的亚类群, 说明MPP-B类群病毒在海洋中更常见且具有更高的多样性(Dekel-Bird等, 2013). 此外, 对太平洋4个岛附近的病毒*psaA*基因分析发现, 蓝细菌病毒可以区分出6个亚群, 这比之前预想的多样性要高(Hevroni等, 2015).

当前原绿球藻病毒多样性研究主要集中于分离到的病毒纯株及少量的基于PCR扩增和宏基因组数据. 相对于原绿球藻的广泛分布, 人们对其病毒的认识还远远不够. 探索原绿球藻病毒的时空分布特征, 需要大尺度、长期的生态调查. 最近, 单细胞分析技术显示原绿球藻具有高的多样性, 基因组结构具有显著的空间差异, 并且这些特征与当地环境因素紧密相关, 如营养条件、光照、温度等(Kashtan等, 2014, 2017; Kent等, 2016). 作为具有严格宿主的生物因子, 病毒与其宿主具有频繁的基因交换, 因此病毒可能与其宿主一样具有高遗传多样性. 我们期望新近研发的高分辨率分子技术, 如微流体数显PCR技术(microfluidic digital PCR)、单病毒分选技术和病毒标记技术(viral tagging)等(Allen等, 2011; Brum和Sullivan, 2015), 可以在更精细尺度上认识原绿球藻病毒多样性.

4 原绿球藻病毒潜在的生物地球化学作用

病毒通过影响宿主的生理生态特征而在生物地球化学循环中发挥作用. 作为寡营养海区的重要初级生产力贡献者, 原绿球藻叶绿素*a*(二乙烯基叶绿素)在亚热带海洋表层占总叶绿素*a*的30~60%(Partensky和Garczarek, 2010). 因此, 由原绿球藻通过光合作用固定的碳对全球碳循环具有重要影响. Mojica等(2016)在北大西洋的研究揭示, 在中低纬度海区病毒对浮游植物(包括原绿球藻)的致死作用占主导, 其中由病毒引起的原绿球藻死亡率为0.02~0.57d^{-1}, 平均约为0.14d^{-1}. 在亚热带大西洋叶绿素最大层的研究显示, 病毒对原绿球藻的致死率为(0.02±0.03)d^{-1}, 相当于每天3%的原绿球藻因病毒侵染而致死(Baudoux等, 2007). 在加利福尼亚流的研究中, 病毒对原绿球藻的致死率

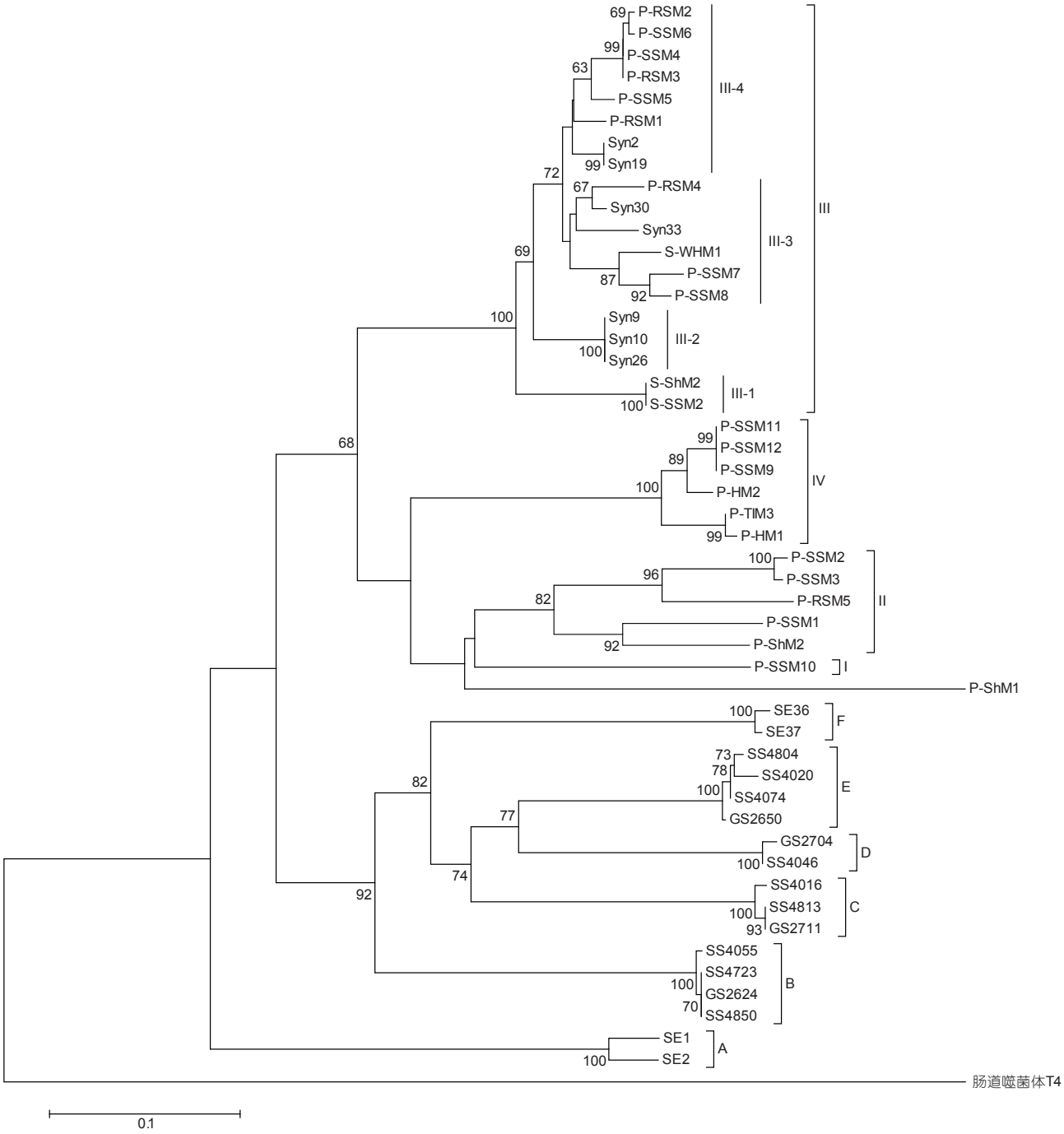


图 1　原绿球藻肌尾病毒结构基因*g20*氨基酸序列的Neighbour-Joining系统发育进化分析

以大肠杆菌T4噬菌体作树根, 分枝上数值表示1000次重复抽样检测的Bootstrap值, 仅显示大于60%支持率的数值; 标尺0.1代表10%的氨基酸替代率

0~0.25d^{-1}(Pasulka等, 2015). 同时, 研究显示, 病毒对原绿球藻的致死率与宿主的生长速率有关(Baudoux等, 2007; Pasulka等, 2015). 在北大西洋, 研究人员发现病毒对浮游植物的裂解率随纬度的升高而降低, 随温度的升高而增加(Mojica等, 2016), 这预示在未来全球海洋变暖的背景下由病毒导致的原绿球藻生物量损失将

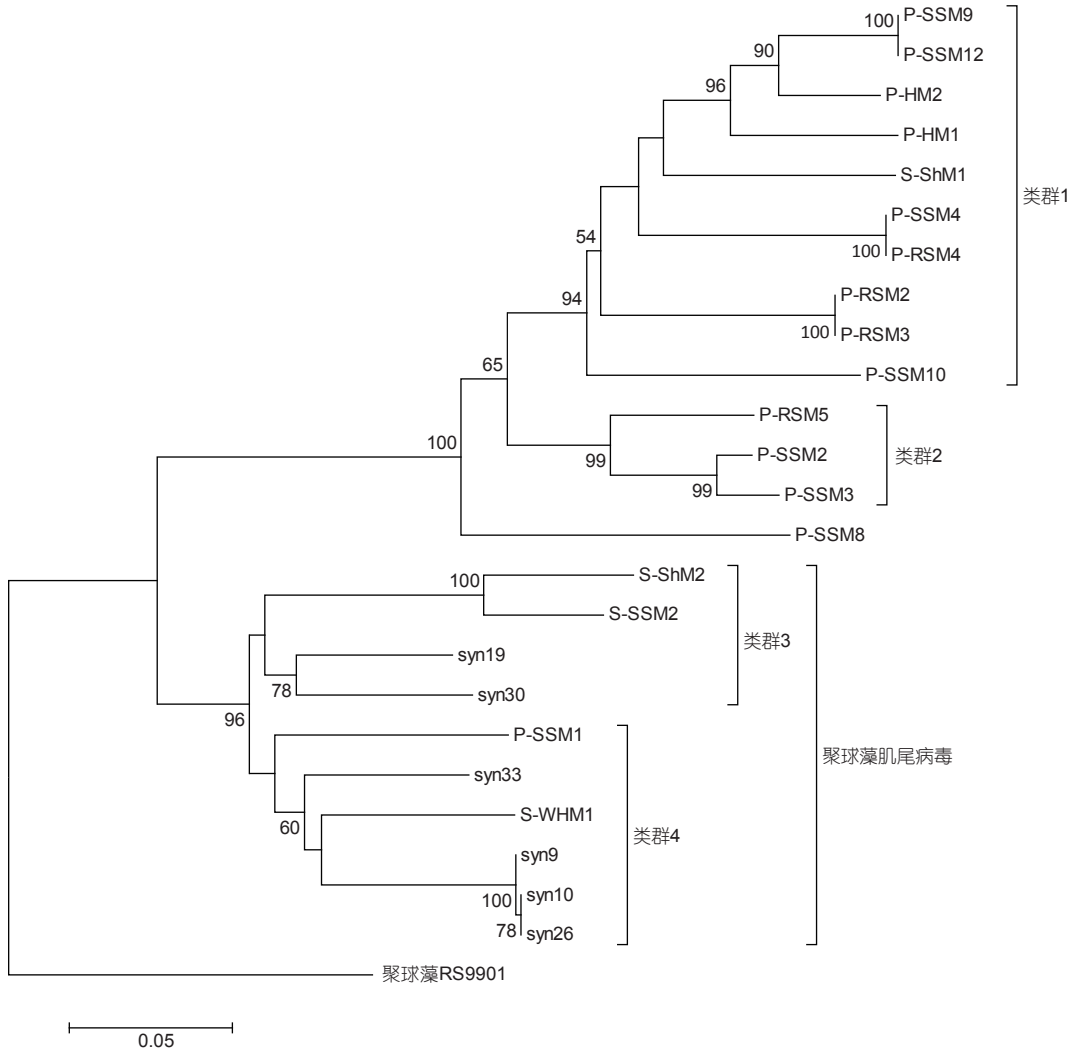


图 2　原绿球藻肌尾病毒光合作用系统 II 基因*psbA*核酸序列的Maximum Likelihood系统发育进化树

以聚球藻RS9901的*psbA*序列作为外枝. 分枝上数值表示1000次重复抽样检测的Bootstrap值, 仅显示大于50%支持率的数值; 标尺0.1代表10%的核酸替代率

可能增加. 基于当前有限的原位数据估算, 被病毒侵染的原绿球藻占1~60%, 相当于每天有1~60%的原绿球藻被病毒裂解, 不同海区差异大. 此外, 需要指出的是, 所有的原位观测数据是基于稀释实验方法, 这种方法主要是应用于评估浮游动物对浮游植物的捕食作用. 由于原绿球藻对环境变化敏感, 稀释实验是否对结果有影响有待更加系统的评估.

与其他浮游植物和细菌相比, 病毒导致的原绿球藻死亡率较低. 考虑到原绿球藻广泛分布在热带和亚热带贫营养海域及其极大的种群数量, 由病毒导致的原绿球藻死亡及其伴随的生物地球化学影响仍然不可忽视. 据估计, 原绿球藻年平均丰度为$(2.9\pm0.1)\times10^{27}$个细胞, 不同生态型原绿球藻在不同营养条件下单细胞碳含量为20~60fg(Bertilsson等, 2003; Heldal等, 2003), 由此估计每年由病毒介导的原绿球藻死亡而释放的碳量为0.6~104.4Tg C. 病毒介导的细菌裂解产物中包含大量易被微生物利用及部分难以被利用的物质, 在生物地球化学循环中具有重要意义(Gobler等, 1997; Middelboe和Jørgensen, 2006). 最近研究发现(Zhao等, 2017), 海洋蓝细菌(包括原绿球藻和聚球藻)释放的溶解有机物是海洋FDOM的一个重要来源, 被认为是惰性成分的FDOM中腐殖质类组分与深海的信号相似,

这说明病毒裂解原绿球藻的产物中部分成分可能会在深海积累, 进而贡献海洋微型生物泵(microbial carbon pump, MCP; Jiao等, 2010)和深海碳库. 此外, 在病毒感染宿主期间, AMGs的表达可能会调控宿主的代谢而进一步影响相应的生物地球化学循环. 例如, 在潜伏期(latent period)病毒可以减少20~50%的原绿球藻和聚球藻二氧化碳的固定, 相当于由于病毒侵染导致原绿球藻和聚球藻的年固碳量减少了0.02~5.39Pg C (Puxty等, 2016).

5 展望

原绿球藻是海洋中最小的光合自养生物, 多种生态类型共存, 是贫营养海区初级生产力的主要贡献者, 是研究生物多样性、生态过程、生物地球循环和气候变化等的模式微生物. 当前原绿球藻病毒的研究主要集中在实验室内研究, 野外环境条件下原绿球藻病毒丰度、生产力、多样性和群落结构等方面的研究几乎是空白, 这大大限制了人们对原绿球藻及其病毒在自然海洋生态系统中的认识. 我们认为今后原绿球藻病毒的研究重点推进以下几个方面:

(1) 原绿球藻病毒的分离培养. 当前分离得到的纯培养株系主要集中于肌尾病毒和短尾病毒, 病毒的分离地主要集中在红海、马尾藻海、太平洋等少数海区的真光层, 宿主仅限于少数株系(如MED4、NATL1A和NATL2A). 宏基因组数据库显示还有大量的病毒类群没有纯培养代表株系. 为了更好的进行原绿球藻病毒生理生态学研究, 建立更为全面的原绿球藻-病毒研究的模式体系, 急需将病毒的分离扩展到不同海域、不同水层以及更多生态型的宿主.

(2) 原绿球藻-病毒相互作用的研究. 由于病毒不能独立于宿主而单独进行生命活动, 对病毒的认识依赖于病毒-宿主相互作用. 对病毒与原绿球藻之间相互关系的研究对于认识所涉及的生物、生态过程至关重要. 然而, 病毒侵染裂解原绿球藻过程中的关键生理参数非常欠缺. 因此, 在基因水平、细胞水平、种群水平及生态系统水平探究原绿球藻-病毒相互作用十分必要.

(3) 原绿球藻病毒的生物地球化学效应. 作为海洋中重要的初级生产力贡献者, 原绿球藻在海洋碳循环中具有重要作用. 当前, 病毒在基因、细胞、种群及生态系统水平如何影响原绿球藻的生物地球化学作用还不清楚. 这需要实验室、原位观察及模型手段等多学科整合研究. 此外, 在海洋变暖的环境下预测原绿球藻分布会向高纬度延伸, 病毒的生物地理分布特征也与气候、环境变化紧密相关. 因此, 通过模型模拟, 预测未来海洋中原绿球藻病毒的分布特征对我们认识气候变化对海洋生态系统及生物地球化学循环的影响具有重要作用.

参考文献

Allen L Z, Ishoey T, Novotny M A, McLean J S, Lasken R S, Williamson S J. 2011. Single virus genomics: A new tool for virus discovery. Plos One, 6: e17722

Avrani S, Wurtzel O, Sharon I, Sorek R, Lindell D. 2011. Genomic island variability facilitates *Prochlorococcus*-virus coexistence. Nature, 474: 604–608

Avrani S, Lindell D. 2015. Convergent evolution toward an improved growth rate and a reduced resistance range in *Prochlorococcus* strains resistant to phage. Proc Natl Acad Sci USA, 112: E2191–E2200

Baudoux A C, Veldhuis M J W, Witte H J, Brussaard C P D. 2007. Viruses as mortality agents of picophytoplankton in the deep chlorophyll maximum layer during IRONAGES III. Limnol Oceanogr, 52: 2519–2529

Bertilsson S, Berglund O, Karl D M, Chisholm S W. 2003. Elemental composition of marine *Prochlorococcus* and *Synechococcus*: Implications for the ecological stoichiometry of the sea. Limnol Oceanogr, 48: 1721–1731

Biller S J, Berube P M, Lindell D, Chisholm S W. 2015. *Prochlorococcus*: The structure and function of collective diversity. Nat Rev Microbiol, 13: 13–27

Breitbart M, Thompson L, Suttle C, Sullivan M. 2007. Exploring the vast diversity of marine viruses. Oceanography, 20: 135–139

Brum J R, Sullivan M B. 2015. Rising to the challenge: Accelerated pace of discovery transforms marine virology. Nat Rev Microbiol, 13: 147–159

Campbell L, Liu H, Nolla H A, Vaulot D. 1997. Annual variability of phytoplankton and bacteria in the subtropical North Pacific Ocean at Station ALOHA during the 1991–1994 ENSO event. Deep-Sea Res Part I-Oceanogr Res Pap, 44: 167–192

Chisholm S W, Olson R J, Zettler E R, Goericke R, Waterbury J B, Welschmeyer N A. 1988. A novel free-living prochlorophyte abundant in the oceanic euphotic zone. Nature, 334: 340–343

Dammeyer T, Bagby S C, Sullivan M B, Chisholm S W, Frankenberg-

Dinkel N. 2008. Efficient phage-mediated pigment biosynthesis in oceanic cyanobacteria. Curr Biol, 18: 442–448

Dekel-Bird N P, Avrani S, Sabehi G, Pekarsky I, Marston M F, Kirzner S, Lindell D. 2013. Diversity and evolutionary relationships of T7-like podoviruses infecting marine cyanobacteria. Environ Microbiol, 15: 1476–1491

Doron S, Fedida A, Hernández-Prieto M A, Sabehi G, Karunker I, Stazic D, Feingersch R, Steglich C, Futschik M, Lindell D, Sorek R. 2016. Transcriptome dynamics of a broad host-range cyanophage and its hosts. ISME J, 10: 1437–1455

Enav H, Béjà O, Mandel-Gutfreund Y. 2012. Cyanophage tRNAs may have a role in cross-infectivity of oceanic *Prochlorococcus* and *Synechococcus* hosts. ISME J, 6: 619–628

Flombaum P, Gallegos J L, Gordillo R A, Rincón J, Zabala L L, Jiao N Z, Karl D M, Li W K W, Lomas M W, Veneziano D, Vera C S, Vrugt J A, Martiny A C. 2013. Present and future global distributions of the marine Cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. Proc Natl Acad Sci USA, 110: 9824–9829

Fridman S, Flores-Uribe J, Larom S, Alalouf O, Liran O, Yacoby I, Salama F, Bailleul B, Rappaport F, Ziv T, Sharon I, Cornejo-Castillo F M, Philosof A, Dupont C L, Sánchez P, Acinas S G, Rohwer F L, Lindell D, Béjà O. 2017. A myovirus encoding both photosystem I and II proteins enhances cyclic electron flow in infected *Prochlorococcus* cells. Nat Microbiol, 2: 1350–1357

Fuhrman J A. 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. Nature, 399: 541–548

Gérikas-Ribeiro C, Dos Santos A L, Marie D, Helena Pellizari V, Pereira Brandini F, Vaulot D. 2016. Pico and nanoplankton abundance and carbon stocks along the Brazilian Bight. Peer J, 4: e2587

Gobler C J, Hutchins D A, Fisher N S, Cosper E M, Saňudo-Wilhelmy S A. 1997. Release and bioavailability of C, N, P Se, and Fe following viral lysis of a marine chrysophyte. Limnol Oceanogr, 42: 1492–1504

Goericke R, Welschmeyer N A. 1993. The marine prochlorophyte *Prochlorococcus* contributes significantly to phytoplankton biomass and primary production in the Sargasso Sea. Deep-Sea Res Part I-Oceanogr Res Pap, 40: 2283–2294

Heldal M, Scanlan D J, Norland S, Thingstad F, Mann N H. 2003. Elemental composition of single cells of various strains of marine *Prochlorococcus* and *Synechococcus* using X-ray microanalysis. Limnol Oceanogr, 48: 1732–1743

Hevroni G, Enav H, Rohwer F, Béjà O. 2015. Diversity of viral photosystem-I *psa*A genes. ISME J, 9: 1892–1898

Huang S, Zhang S, Jiao N, Chen F. 2015. Marine cyanophages demonstrate biogeographic patterns throughout the global ocean. Appl Environ Microbiol, 81: 441–452

Jiao N Z, Yang Y H. 2002. Ecological studies on *Prochlorococcus* in China seas. Chin Sci Bull, 47: 1243–1250

Jiao N Z, Herndl G J, Hansell D A, Benner R, Kattner G, Wilhelm S W, Kirchman D L, Weinbauer M G, Luo T W, Chen F, Azam F. 2010. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: Long-term carbon storage in the global ocean. Nat Rev Microbiol, 8: 593–599

Jover L F, Effler T C, Buchan A, Wilhelm S W, Weitz J S. 2014. The elemental composition of virus particles: Implications for marine biogeochemical cycles. Nat Rev Microbiol, 12: 519–528

Kashtan N, Roggensack S E, Rodrigue S, Thompson J W, Biller S J, Coe A, Ding H, Marttinen P, Malmstrom R R, Stocker R, Follows M J, Stepanauskas R, Chisholm S W. 2014. Single-cell genomics reveals hundreds of coexisting subpopulations in wild *Prochlorococcus*. Science, 344: 416–420

Kashtan N, Roggensack S E, Berta-Thompson J W, Grinberg M, Stepanauskas R, Chisholm S W. 2017. Fundamental differences in diversity and genomic population structure between Atlantic and Pacific *Prochlorococcus*. ISME J, 11: 1997–2011

Kelly L, Ding H, Huang K H, Osburne M S, Chisholm S W. 2013. Genetic diversity in cultured and wild marine cyanomyoviruses reveals phosphorus stress as a strong selective agent. ISME J, 7: 1827–1841

Kent A G, Dupont C L, Yooseph S, Martiny A C. 2016. Global biogeography of *Prochlorococcus* genome diversity in the surface ocean. ISME J, 10: 1856–1865

Labrie S J, Frois-Moniz K, Osburne M S, Kelly L, Roggensack S E, Sullivan M B, Gearin G, Zeng Q, Fitzgerald M, Henn M R, Chisholm S W. 2013. Genomes of marine cyanopodoviruses reveal multiple origins of diversity. Environ Microbiol, 15: 1356–1376

Lin X Q, Ding H M, Zeng Q L. 2016. Transcriptomic response during phage infection of a marine cyanobacterium under phosphorus-limited conditions. Environ Microbiol, 18: 450–460

Lindell D, Jaffe J D, Johnson Z I, Church G M, Chisholm S W. 2005. Photosynthesis genes in marine viruses yield proteins during host infection. Nature, 438: 86–89

Lindell D, Jaffe J D, Coleman M L, Futschik M E, Axmann I M, Rector T, Kettler G, Sullivan M B, Steen R, Hess W R, Church G M, Chisholm S W. 2007. Genome-wide expression dynamics of a marine virus and host reveal features of co-evolution. Nature, 449: 83–86

Liu H B, Nolla H, Campbell L. 1997. *Prochlorococcus* growth rate and contribution to primary production in the equatorial and subtropical North Pacific Ocean. Aquat Microb Ecol, 12: 39–47

Middelboe M, Jørgensen N O G. 2006. Viral lysis of bacteria: An

important source of dissolved amino acids and cell wall compounds. J Mar Biol Ass, 86: 605–612

Mojica K D A, Huisman J, Wilhelm S W, Brussaard C P D. 2016. Latitudinal variation in virus-induced mortality of phytoplankton across the North Atlantic Ocean. ISME J, 10: 500–513

Moore L R, Coe A, Zinser E R, Saito M A, Sullivan M B, Lindell D, Frois-Moniz K, Waterbury J, Chisholm S W. 2007. Culturing the marine cyanobacterium *Prochlorococcus*. Limnol Oceanogr Methods, 5: 353–362

Morris J J, Kirkegaard R, Szul M J, Johnson Z I, Zinser E R. 2008. Facilitation of robust growth of *Prochlorococcus* colonies and dilute liquid cultures by "Helper" heterotrophic bacteria. Appl Environ Microbiol, 74: 4530–4534

Partensky F, Hess W R, Vaulot D. 1999. *Prochlorococcus*, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. Microbiol Mol Biol Rev, 63: 106–127

Partensky F, Garczarek L. 2010. *Prochlorococcus*: Advantages and Limits of Minimalism. Annu Rev Mar Sci, 2: 305–331

Pasulka A L, Samo T J, Landry M R. 2015. Grazer and viral impacts on microbial growth and mortality in the southern California Current Ecosystem. J Plankton Res, 37: 320–336

Paul J H, Sullivan M B, Segall A M, Rohwer F. 2002. Marine phage genomics. Comp Biochem Physiol Part B-Biochem Mol Biol, 133: 463–476

Puxty R J, Millard A D, Evans D J, Scanlan D J. 2016. Viruses inhibit CO_2 fixation in the most abundant phototrophs on Earth. Curr Biol, 26: 1585–1589

Rohwer F, Edwards R. 2002. The phage proteomic tree: A genome-based taxonomy for phage. J Bacteriol, 184: 4529–4535

Rohwer F, Thurber R V. 2009. Viruses manipulate the marine environment. Nature, 459: 207–212

Sullivan M B, Waterbury J B, Chisholm S W. 2003. Erratum: Cyanophages infecting the oceanic cyanobacterium *Prochlorococcus*. Nature, 424: 1047–1051

Sullivan M B, Coleman M L, Weigele P, Rohwer F, Chisholm S W. 2005. Three *Prochlorococcus* cyanophage genomes: Signature features and ecological interpretations. PLoS Biol, 3: e144–806

Sullivan M B, Lindell D, Lee J A, Thompson L R, Bielawski J P, Chisholm S W. 2006. Prevalence and evolution of core photosystem II genes in marine cyanobacterial viruses and their hosts. PLoS Biol, 4: e234

Sullivan M B, Krastins B, Hughes J L, Kelly L, Chase M, Sarracino D, Chisholm S W. 2009. The genome and structural proteome of an ocean siphovirus: A new window into the cyanobacterial 'mobilome'. Environ Microbiol, 11: 2935–2951

Sullivan M B, Coleman M L, Quinlivan V, Rosenkrantz J E, Defrancesco A S, Tan G, Fu R, Lee J A, Waterbury J B, Bielawski J P, Chisholm S W. 2008. Portal protein diversity and phage ecology. Environ Microbiol, 10: 2810–2823

Sullivan M B, Huang K H, Ignacio-Espinoza J C, Berlin A M, Kelly L, Weigele P R, DeFrancesco A S, Kern S E, Thompson L R, Young S, Yandava C, Fu R, Krastins B, Chase M, Sarracino D, Osburne M S, Henn M R, Chisholm S W. 2010. Genomic analysis of oceanic cyanobacterial myoviruses compared with T4-like myoviruses from diverse hosts and environments. Environ Microbiol, 12: 3035–3056

Suttle C A. 2005. Viruses in the sea. Nature, 437: 356–361

Suttle C A. 2007. Marine viruses—Major players in the global ecosystem. Nat Rev Microbiol, 5: 801–812

Thompson L R, Zeng Q, Kelly L, Huang K H, Singer A U, Stubbe J, Chisholm S W. 2011. Phage auxiliary metabolic genes and the redirection of cyanobacterial host carbon metabolism. Proc Natl Acad Sci USA, 108: E757–E764

Vaulot D, Partensky F É É, Neveux J, Mantoura R F C, Llewellyn C A. 1990. Winter presence of prochlorophytes in surface waters of the northwestern Mediterranean Sea. Limnol Oceanogr, 35: 1156–1164

Waterbury J B, Valois F W. 1993. Resistance to cooccurring phages enables marine *synechococcus* communities to coexist with cyanophages abundant in seawater. Appl Environ Microbiol, 59: 3393–3399

Wilhelm S W, Suttle C A. 1999. Viruses and nutrient cycles in the sea. Bioscience, 49: 781–788

Yang Y, Cai L, Ma R, Xu Y, Tong Y, Huang Y, Jiao N, Zhang R. 2017. A novel roseosiphophage isolated from the oligotrophic south china sea. Viruses, 9: 109

Zeng Q, Chisholm S W. 2012. Marine viruses exploit their host's two-component regulatory system in response to resource limitation. Curr Biol, 22: 124–128

Zhang R, Wei W, Cai L L. 2014. The fate and biogeochemical cycling of viral elements. Nat Rev Microbiol, 12: 850–851

Zhao Z, Gonsior M, Luek J, Timko S, Ianiri H, Hertkorn N, Schmitt-Kopplin P, Fang X, Zeng Q, Jiao N, Chen F. 2017. Picocyanobacteria and deep-ocean fluorescent dissolved organic matter share similar optical properties. Nat Commun, 8: 15284

(责任编委: 张传伦)