

学校编码: 10384
学号: 22620101151391

密级_____

廈門大學

硕士学位论文

西太平洋浮游病毒的生态特性及其对浮游
细菌的影响

Ecological characteristics of virioplankton and its effects on
bacterioplankton community in the western Pacific Ocean

栗艳霞

指导教师姓名: 张锐 副教授

专业名称: 环境科学

论文提交日期: 2013年08月

论文答辩时间: 2013年08月

2013年08月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为()课题(组)的研究成果，获得()课题(组)经费或实验室的资助，在()实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘要.....	IV
ABSTRACT.....	VI
第一章 绪论	1
1.1 海洋浮游病毒	1
1.1.1 海洋浮游病毒的概念.....	1
1.1.2 海洋病毒的结构和分类.....	2
1.1.3 海洋浮游病毒的生活周期.....	3
1.2 海洋浮游病毒生态学	5
1.2.1 海洋浮游病毒的生态分布.....	5
1.2.2 海洋浮游病毒生产力.....	9
1.2.3 海洋浮游病毒的生态功能.....	10
1.3 深海病毒的研究概况	16
1.4 本论文的研究方向和意义	17
第二章 西太平洋裂解性病毒生态特性及其生态意义.....	19
2.1 前言	19
2.2 材料和方法	21
2.2.1 采样站位和采样.....	21
2.2.2 样品现场预处理.....	22
2.2.3 环境参数的检测.....	23
2.2.4 生物参数的检测.....	27
2.2.5 数据统计分析.....	31
2.3 结果	31
2.3.1 细菌丰度和病毒丰度.....	31
2.3.2 细菌生产力和裂解性病毒生产力.....	33
2.3.3 病毒生产力同生物因子和环境因子的关系.....	34
2.3.4 病毒裂解引起的细菌死亡率.....	36

2.3.5 病毒裂解细菌释放的碳.....	37
2.4 讨论	38
2.4.1 裂解性病毒生产力及其影响因素.....	38
2.4.2 深海病毒对元素循环的重要作用.....	40
2.5 本章小结	41
第三章 西太平洋深海浮游病毒对细菌群落结构的影响.....	43
3.1 前言	44
3.2 材料和方法	46
3.2.1 采样海域与站位.....	46
3.2.2 实验设计.....	46
3.2.3 采样与检测.....	48
3.2.4 细菌多样性及群落结构.....	51
3.3 结果和讨论	54
3.3.1 实验处理效果.....	54
3.3.2 营养盐.....	55
3.3.3 溶解有机碳 (DOC)	57
3.3.4 浮游细菌丰度.....	58
3.3.5 细菌多样性和群落结构.....	59
3.4 本章小结	66
第四章 总结、创新点、不足与展望	68
4.1 本研究的主要结论	68
4.2 本研究的创新点	68
4.3 本论文的不足之处	69
4.4 展望	69
参考文献	70
硕士期间的学术论文	83
附录.....	84
致谢.....	85

Contents

Abstract in Chinese	IV
Abstract in English	VI
Chapter 1 Introduction	1
1.1 Virioplankton	1
1.1.1 Definition	1
1.1.2 Structures and classification	2
1.1.3 Life cycles.....	3
1.2 Ecology of virioplankton	5
1.2.1 Ecological distribution	5
1.2.2 Viral production	9
1.2.3 Ecological significance	10
1.3 Viruses in deep ocean	16
1.4 Objectives and significance of this thesis	17
Chapter 2 Ecological characteristics and significances of lytic viruses in the western Pacific Ocean	19
2.1 Introduction	19
2.2 Materials and methods	21
2.2.1 Sampling	21
2.2.2 Preprocessing of samples	22
2.2.3 Environmental factors	23
2.2.4 Biological factors	27
2.2.5 Statistical analysis	31
2.3 Results	31
2.3.1 Distribution of bacteria and viruses	31
2.3.2 Bacterial production and lytic viral production	33

2.3.3 Statistical analysis	34
2.3.4 Virus-mediated bacterial mortality	36
2.3.5 Carbon released by viral lysis	37
2.4 Discussions	38
2.4.1 Lytic viral production and influencing factors	38
2.4.2 Contribution of deep viruses to marine carbon cycling	40
2.5 Summary.....	41
Chapter 3 Viral effects on bacterial community in the deep sea of the western Pacific Ocean.....	43
3.1 Introduction.....	44
3.2 Materials and methods	46
3.2.1 Study area and stations.....	46
3.2.2 Experimental design.....	46
3.2.3 Sampling and detection.....	48
3.2.4 Data analysis	51
3.3 Results and discussion	54
3.3.1 Experimental design.....	54
3.3.2 Nutrients.....	55
3.3.3 Dissolved organic carbon.....	57
3.3.4 Heterotrophic bacterial abundance	58
3.3.5 Bacterial community	59
3.4 Summary.....	66
Chapter 4 Conclusions and outlook	68
4.1 Conclusions.....	68
4.2 Originality.....	68
4.3 Deficiencies	69
4.4 Outlook.....	69
References	70

List of publications.....	83
Appendix.....	84
Acknowledgements	85

厦门大学博硕士学位论文摘要库

摘要

浮游病毒是海洋生态系统中丰度最高的生物实体，总量可达 10^{30} 。海洋浮游病毒在海洋生物地球化学循环中具有非常重要的生态作用。通过侵染和裂解宿主细胞，海洋病毒可影响宿主死亡率、元素再循环以及微生物多样性和群落结构。目前，人们对深海病毒的生态特征研究还较少。本论文着重对西太平洋寡营养海区，特别是深海，浮游病毒丰度、生产力、对宿主死亡率和释放碳量等进行生态调查。同时，本论文利用培养实验研究了深海病毒对宿主群落结构和多样性影响，评估了浮游病毒在深海微食物环中的作用。主要研究结果包括以下两个方面：

(1) 研究西太平洋寡营养海区浮游病毒丰度和生产力的空间分布，评估裂解性病毒的生态作用（影响宿主死亡率、元素再循环）。调查结果显示，裂解性病毒生产力随着深度增加而显著降低，其中1000 m和2000 m海水中的裂解性病毒生产力分别为 $6.38 \times 10^8 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ 和 $4.67 \times 10^8 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ，分别仅是海洋表层病毒生产力的8%和6%。然而，在1000 m和2000 m水深处病毒引起的细菌细胞死亡率却相当高，分别是57.3%和58.1%，由此计算得到的碳元素裂解释放量范围是 $0-5.66 \mu\text{g C L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ，这一结果表明深海病毒裂解作用在全球海洋碳循环中具有潜在的重要意义。

(2) 研究西太平洋寡营养海区 3000 m 深海浮游病毒对细菌生态特性的影响（影响宿主微生物群落组成和结构），评估浮游病毒在深海微食物环中的作用。两个研究站位的流式细胞检测的结果表明，深海病毒明显地抑制细菌的丰度，添加病毒的处理组比没有病毒的对照组中的细菌丰度低 3.1-3.6 倍。培养体系中 DOC 浓度受到异养细菌和浮游病毒代谢活动的相互制约和影响。通过末端限制性片段长度多态性分析（T-RFLP）和焦磷酸测序（pyrosequencing）分析，表明深海病毒对宿主细菌的群落多样性和组成具有强烈作用。添加病毒的培养体系中的优势类群 *Proteobacteria* 受病毒的作用而减少，而其它主要类群在实验组中所占的相对比例基本上都比空白组中高。病毒可能通过“杀死胜利者”假说原理维持宿主细菌较高的群落多样性。而且，病毒影响细菌群落结构是一个紧密的动态相互作用过程，与生物因子（如细菌丰度值）的关联可能比环境理化因子（营养盐、温度等）更加密切。我们也发现随不同纬度站位细菌和病毒变化，深海病毒

对细菌群落结构的影响具有空间差异性。

关键词：海洋病毒生态特性；深海病毒；病毒生产力；流式细胞仪技术；末端限制性片段长度多态性分析（T-RFLP）；焦磷酸测序（pyrosequencing）

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Abstract

Studies over the past two decades have shown that viruses are the most abundant biological entities in the ocean with an estimated value of 4×10^{30} viruses. Viruses can influence host mortality, nutrients recycling, microbial diversity and community structure mainly through lytic and lysogenic infection and become activist of marine microbial communities. Yet ecological characteristics of virioplankton and its effects on bacterioplankton community in the deep sea are unknown to date. In order to have a better understanding of the ecological and biogeochemical significance of viruses in the western Pacific Ocean, we surveyed the viral abundance and the lytic viral production in the western Pacific Ocean. We also investigated the viral effects on bacterial abundance and community structure in the deep western Pacific Ocean. The main conclusions include:

(1) In the western Pacific Ocean, lytic viral production decreased significantly with the increasing depth. Rates of virus production at 1000 m and 2000 m depth were $6.38 \times 10^8 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ and $4.67 \times 10^8 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectively (median) and were only 8% and 6% of value for surface, respectively. However, the percentage of cells lysed by virus at 1000 m and 2000 m were 57.3% and 58.1%, respectively. The range of carbon released by lysis was 0 to $5.66 \mu\text{g C L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ in the deep western Pacific Ocean. Our results suggested that viral lysis in the deep ocean might have a significant impact on the mortality of bacteria and, subsequently, the carbon cycling in the ocean.

(2) The bacterioplankton in 3000 m deep-sea water in the western Pacific Ocean were manipulated with *in situ* virioplankton to develop +virus and -virus treatments. The responses of bacterial abundance, diversity and community structure were tracked during a two-week incubation. Flow cytometry results showed that deep-sea viruses had significant repressing effects (3.1-3.6 times) on bacterial abundance. The variation of DOC concentration during incubation indicated that viruses had strong effect on carbon cycling in the incubation systems. The changes of bacterial community compositions, estimated by terminal restriction fragment length

polymorphism (T-RFLP) and pyrosequencing analysis, suggested that bacterial species compositions were regulated by viruses. Comparing +virus treatments with -virus treatments, we concluded that viruses could repress the dominant specieses (e.g., Proteobacteria) and sustained relatively high community diversity. Simultaneously, we observed the spatial variation of viral influences between two sampling sites. Our study suggested that viruses and bacterial community had close dynamic interactions and related more closely to biological factors than chemical factors.

Key words: Marine viral ecology; Deep virus; Lytic viral production; Flow cytometry; T-RFLP; Pyrosequencing

第一章 绪论

1.1 海洋浮游病毒

海洋病毒 (marine viruses/phages) 的研究开始于 20 世纪 60 年代, 1979 年 Torrella & Morita (1979) 首次利用透射电子显微技术报道了自然水体环境中大量病毒的存在。之后的十年, 陆续有研究发现自然水体中病毒的数量远远超过细菌的数量, 而且水体中病毒的感染是海洋原核生物的主要致死因子 (Sieburth *et al.*, 1988; Proctor *et al.*, 1988; Bergh *et al.*, 1989; Proctor & Fuhrman, 1990; Suttle *et al.*, 1990)。20 世纪 90 年代开始, 海洋生态系统中病毒群落的生态功能及其在微食物环 (microbial food web) 过程和生物地球化学循环过程中的重要作用逐渐成为海洋生态学研究的前沿热点之一 (Weinbauer, 2004)。

1.1.1 海洋浮游病毒的概念

浮游在水体中的病毒称为浮游病毒 (virio plankton), 海洋浮游病毒与浮游动物、浮游植物以及浮游细菌共同组成浮游生物群落。病毒是海洋中数量最多的生命有机体, 海洋中大约含有 10^{30} 病毒颗粒 (virus-like particles, VLP) (Suttle, 2007)。表层海水中浮游病毒丰度能达到 10^7 particles/mL, 是细菌丰度的 5-25 倍 (Fuhrman, 1999)。病毒丰度会随着海区营养状况以及海水深度的变化发生变化, 由富营养的近岸海水到营养贫乏的开阔大洋海区, 病毒丰度会减少一个数量级, 另外, 深海中病毒颗粒的丰度约为 3×10^6 particles/mL (Guixa-Boixereu *et al.*, 2002; Ortmann & Suttle, 2005)。虽然海洋病毒的丰度可达海洋全部生命体的 90% 以上, 但由于病毒颗粒十分微小, 海洋中浮游病毒的生物量次于原核生物, 仅占海洋总生物量的 5%, 为 200Mt (2×10^{11} kg) (Suttle, 2007; Hambly *et al.*, 2005) (图 1.1)。

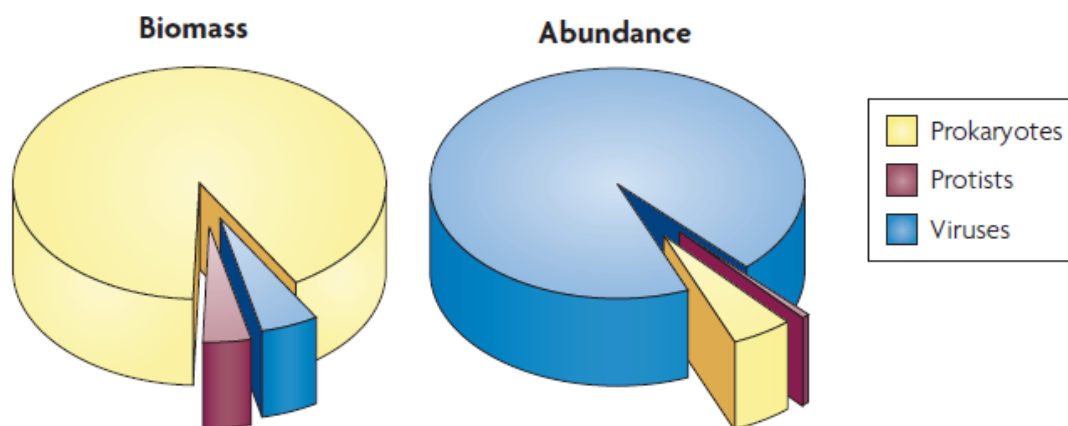


图 1.1 海洋中原核生物、原生生物和病毒的生物量及丰度 (Suttle, 2007)

Fig. 1.1 Relative biomass and abundances of prokaryotes, protists and viruses in the ocean (Suttle, 2007)

1.1.2 海洋病毒的结构和分类

海洋病毒的基本结构是由蛋白质外壳以及被蛋白质外壳包裹的遗传物质核酸所组成。病毒粒子内的遗传物质有的是 DNA，有的是 RNA，或者单链分子结构 (single strand)，或者双链分子 (double strands) 结构。另外，大多数已分离的海洋病毒都具有头部和尾部复合结构，即有尾噬菌体 (Caudovirales)，且遗传物质都是双链的 DNA (dsDNA)。但最新的研究表明海洋中的单链 DNA 病毒及 RNA 病毒的丰度也很高 (Tomaru *et al.*, 2009; Shirai *et al.*, 2008; Brussaard *et al.*, 2004)。海洋病毒必须依赖其特定的宿主才能生存，根据宿主类型的不同可将海洋中的浮游病毒分为细菌病毒 (bacteriophage)、蓝细菌病毒 (cyanophage) 和真核藻类病毒 (phycovirus) 等。其中，细菌病毒又称为噬菌体，蓝细菌病毒在分类学上也属于噬菌体。因为海洋病毒的宿主中细菌的数量最多，因此噬菌体是海洋病毒的主要组成成分 (Proctor & Fuhrman, 1990; Fuhrman, 1999)。

根据海洋病毒尾部超微结构特征可将海洋病毒分为三个科：肌尾病毒科 (Myoviridae)、长尾病毒科 (Siphoviridae) 和短尾病毒科 (Podoviridae) (图 1.2)。其中，肌尾病毒科病毒的典型特征是具有可收缩的尾巴、很广泛的宿主范围和典型的裂解性，生态选择上属于 r-选择者，繁殖速率高，世代时间短，这一类型病毒在已分离的噬菌体中最为常见。长尾病毒科病毒的典型特征是它们具有长的且不可收缩的尾巴，这一类病毒能侵染的宿主范围相对较大，因此也常常能从海洋

中分离出来。许多的长尾病毒在侵染宿主后可以将自身的基因结合到宿主体内，随宿主复制而代代复制，当受到某些外界环境因子的刺激或诱导时就会进入裂解细菌阶段，即溶菌周期，这说明长尾病毒在生态选择上属于 K-选择者，世代时间较长，繁殖速率较低。短尾病毒科的病毒有短且不可收缩的尾巴，也具有典型的溶菌裂解性，其宿主范围最窄，较少能从海洋中分离得到（Suttle, 2005）。

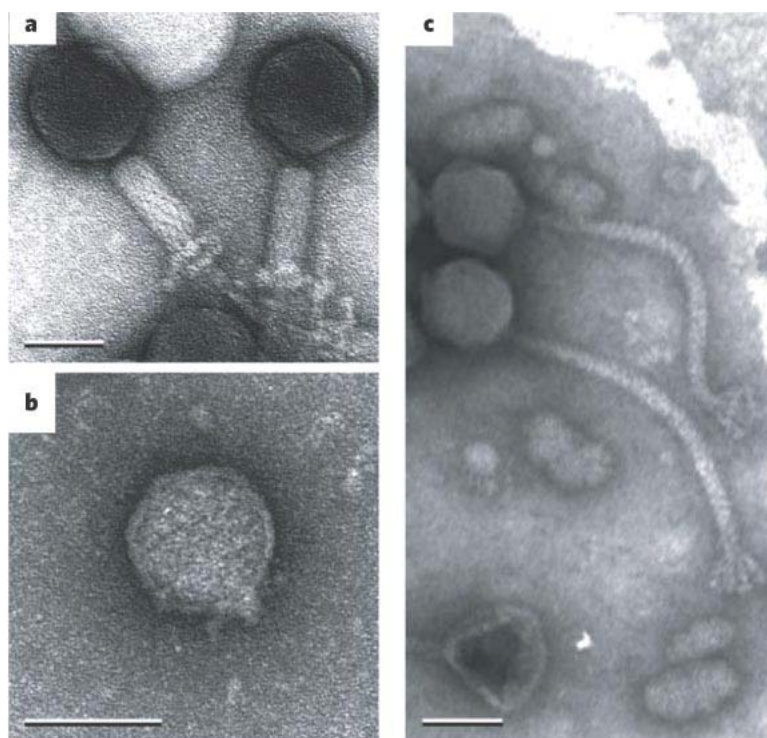


图 1.2 海洋浮游噬菌体的三个科 a: 肌尾病毒科; b: 短尾病毒科; c: 长尾病毒科 比例尺: 50 nm (Suttle, 2005)

Fig. 1.2 The three families of tailed dsDNA viruses (phages) that infect bacteria. a, Myoviruses; b, Podoviruses; c, Siphoviruses. Scale bar, 50 nm (Suttle, 2005)

1.1.3 海洋浮游病毒的生活周期

海洋病毒并不能单独生存，病毒的生态学效应是通过病毒与宿主的相互作用来实现的，即病毒必须侵染到特定的宿主体内，依赖宿主体内提供的营养物质和遗传信息进行生命活动。病毒的生活周期可概括为以下三种基本类型：

(1) 裂解性感染 (lytic)，病毒的裂解性感染宿主过程包括病毒吸附到宿主

细胞表面—病毒将其核酸物质侵入到宿主细胞内而其蛋白外壳留在宿主细胞外—宿主 DNA 的分解和病毒核酸的合成—病毒衣壳和尾部的合成—病毒粒子的装配—宿主细胞裂解释放病毒颗粒（图 1.3）。裂解性感染是造成宿主细胞死亡的重要原因之一（Fuhrman, 1999; Suttle, 2007）。

（2）慢性感染（chronic），病毒侵染宿主细胞后在宿主细胞体内复制，宿主细胞以泌出或出芽方式释放出子代病毒粒子，但病毒不会引起宿主细胞的死亡，即侵染宿主的病毒对宿主是非致死性的（Fuhrman, 1999）。

（3）溶源性感染（lysogenic），侵入宿主细胞的病毒并不会裂解宿主细胞，而是将其核酸物质整合到宿主基因组上面，或作为质粒存在，病毒基因组在宿主体内随着宿主细胞的分裂而复制，这类病毒又被称为前噬菌体或前病毒（prophage/provirus）。溶源性感染是病毒应对某些不利生存条件的一种生活策略，比如在宿主丰度很低的情况下，往往会发生溶源性感染而不是裂解性感染。另外，溶源性感染对宿主也有利，由于溶源性细胞会产生某些抗生素特性等代谢特征，因此溶源性感染可以保护宿主细胞免受其它相近的病毒的侵染（Waldor *et al.*, 1996）。溶源性细菌也可以获得由病毒基因组编码的新的功能（Lenski, 1988）。溶源性现象在海洋中是普遍存在的，大约 40% 的可培养海洋细菌是溶源性细菌（Jiang *et al.*, 1998），普遍存在的溶原现象在遗传信息交换以及进化方面也具有重要的意义（Fuhrman, 1999）。

除了上述三种基本的病毒生活周期的方式外，还有一种病毒侵染宿主的方式称为“假溶源性感染”（pseudolysogenic）（图 1.3）。在这种感染过程中，病毒的核酸物质可能会在宿主细胞裂解或破碎前在宿主细胞内停留几代时间（Lenski, 1988）。“假溶源性”可能与宿主的“饥饿”状态有关，而此时由于宿主细胞缺乏能量，因此病毒处于非活跃状态，不会启动基因表达程序。当细菌细胞营养补给后，病毒的生命活动就会恢复到正常状态（Ripp & Miller, 1997）。

“假溶源性”也可能是一种宿主免疫的过渡状态，被侵染的细胞会释放一种类似多糖解聚酶的免疫物质，这就能够促使宿主和病毒的共存（Moebus, 1996; Moebus, 1997）。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

廈門大學博碩士論文摘要庫