

学校编码: 10384
学号: 22320141151326

密级_____

厦门大学

硕士学位论文

海洋病毒-宿主相互关系的日周期、潮汐周期变化

Diel and tidal dynamics of marine virus-host interactions

陈晓炜

指导教师姓名: 焦念志教授

张锐教授

专业名称: 海洋生物学

论文提交日期: 2017年05月

论文答辩时间: 2017年05月

2017年05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

| | |
|---|-----------|
| 目 录..... | I |
| Contents | IV |
| 摘 要..... | VII |
| Abstract..... | IX |
| 第一章 绪论..... | 1 |
| 1.1 海洋病毒简介 | 1 |
| 1.1.1 海洋病毒的分类..... | 1 |
| 1.1.2 海洋病毒的生命循环周期..... | 3 |
| 1.1.3 海洋病毒研究的发展历程..... | 5 |
| 1.2 海洋病毒生态学 | 13 |
| 1.2.1 海洋病毒丰度..... | 13 |
| 1.2.2 海洋病毒生产力和降解率..... | 13 |
| 1.2.3 海洋病毒侵染率..... | 16 |
| 1.2.4 海洋病毒的生态功能..... | 17 |
| 1.3 海洋病毒-宿主相互关系的动态变化研究 | 23 |
| 1.4 本论文的研究方向和意义 | 26 |
| 第二章 海洋病毒-宿主相互关系在南中国海的日周期变化 | 28 |
| 摘要 | 28 |
| 2.1 前言 | 28 |
| 2.2 实验材料和方法 | 30 |
| 2.2.1 样品的采样站位和现场处理..... | 30 |
| 2.2.2 环境参数的检测..... | 32 |
| 2.2.3 叶绿素 <i>a</i> 浓度的测定..... | 32 |
| 2.2.4 微型生物丰度的检测..... | 32 |
| 2.2.5 原核生物异养生产力..... | 35 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.6 病毒生产力和侵染率..... | 36 |
| 2.2.7 病毒降解率..... | 40 |
| 2.2.8 病毒、宿主相关参数的计算..... | 41 |
| 2.2.9 数据统计分析..... | 42 |
| 2.3 结果 | 42 |
| 2.3.1 环境因子..... | 42 |
| 2.3.2 微型生物丰度参数..... | 45 |
| 2.3.3 原核异养生产力..... | 48 |
| 2.3.4 病毒的生产力、侵染率和降解率..... | 49 |
| 2.3.5 培养过程中的病毒丰度变化..... | 53 |
| 2.3.6 影响病毒日周期侵染的因素..... | 54 |
| 2.3.7 病毒和原核生物介导的碳量..... | 56 |
| 2.4 讨论 | 57 |
| 2.4.1 微型自养和异养生物的日周期变化..... | 58 |
| 2.4.2 病毒侵染的日周期变化..... | 59 |
| 2.4.3 影响海洋病毒-宿主相互关系日周期变化的因素..... | 61 |
| 2.5 本章小结 | 62 |
| 第三章 海洋病毒-宿主相互关系在九龙江河口的潮汐周期变化 | 64 |
| 摘要 | 64 |
| 3.1 前言 | 64 |
| 3.2 实验材料与方法 | 66 |
| 3.2.1 样品的采集站位和现场处理..... | 66 |
| 3.2.2 环境参数的检测..... | 67 |
| 3.2.3 叶绿素 <i>a</i> 浓度的测定..... | 67 |
| 3.2.4 微型生物丰度的检测..... | 67 |
| 3.2.5 原核异养生产力..... | 68 |
| 3.2.6 病毒生产力和侵染率..... | 68 |
| 3.2.7 病毒降解率..... | 68 |
| 3.2.8 数据统计分析..... | 68 |

| | |
|-------------------------------|-----------|
| 3.3 结果 | 68 |
| 3.3.1 环境参数..... | 68 |
| 3.3.2 微生物参数..... | 70 |
| 3.3.3 病毒的侵染率与降解率..... | 71 |
| 3.3.4 影响潮汐周期病毒和宿主变化的因素..... | 73 |
| 3.4 讨论 | 75 |
| 3.4.1 微生物类群的潮汐周期变化..... | 76 |
| 3.4.2 病毒侵染和降解的潮汐周期变化..... | 77 |
| 3.5 本章小结 | 80 |
| 第四章 总结、创新点、不足与展望 | 81 |
| 4.1 本研究的主要结论 | 81 |
| 4.2 本研究的创新点 | 82 |
| 4.3 本研究的不足之处 | 82 |
| 4.4 展望 | 82 |
| 参考文献 | 83 |
| 附 录 | 96 |
| 缩写列表..... | 96 |
| 致 谢 | 98 |

Contents

Abstract in Chinese..... VII

Abstract in EnglishIX

Chapter 1 Introduction..... 1

1.1 Overview of marine virus..... 1

1.1.1 Classification of marine virus 1

1.1.2 The life cycle of marine virus 3

1.1.3 Major progresses of marine virus 5

1.2 Ecology of marine virus..... 13

1.2.1 Marine viral abundance..... 13

1.2.2 Marine viral production and decay 13

1.2.3 Marine viral infection 16

1.2.4 Ecological importance of marine virus 17

1.3 Dynamics of marine virus-host interactions..... 23

1.4 Objectives and significance of this thesis..... 26

Chapter 2 Diel dynamics of marine virus-host interactions in the South China Sea 28

Abstract 28

2.1 Introduction..... 28

2.2 Materials and methods 30

2.2.1 Sampling and pretreatment 30

2.2.2 Environmental parameters 32

2.2.3 Chlorophyll *a* concentration 32

2.2.4 Microbial abundance..... 32

2.2.5 Prokaryotic heterotrophic production 35

2.2.6 Viral production and infection 36

| | |
|---|-----------|
| 2.2.7 Viral decay rate | 40 |
| 2.2.8 Virus and host related parameters | 41 |
| 2.2.9 Statistical analysis | 42 |
| 2.3 Results | 42 |
| 2.3.1 Environmental parameters | 42 |
| 2.3.2 Microbial abundance | 45 |
| 2.3.3 Prokaryotic heterotrophic production | 48 |
| 2.3.4 Viral production, infection and decay | 49 |
| 2.3.5 Time dependent variation in viral abundance during incubation | 53 |
| 2.3.6 Influencing factors of diel viral infection | 54 |
| 2.3.7 Carbon flux mediated by marine virus and host | 56 |
| 2.4 Discussion | 57 |
| 2.4.1 Diel change of microbial autotroph and heterotroph | 58 |
| 2.4.2 Diel change of viral infection | 59 |
| 2.4.3 Influencing factors of virus-host interactions | 61 |
| 2.5 Summary | 62 |
| Chapter 3 Tidal dynamics of marine virus-host interactions in | |
| Jiulong estuary, Xiamen | |
| 64 | |
| Abstract | 64 |
| 3.1 Introduction..... | 64 |
| 3.2 Materials and methods | 66 |
| 3.2.1 Materials and methods | 66 |
| 3.2.2 Sampling and pretreatment | 67 |
| 3.2.3 Chlorophyll <i>a</i> concentration | 67 |
| 3.2.4 Microbial abundance..... | 67 |
| 3.2.5 Prokaryotic heterotrophic production | 68 |
| 3.2.6 Viral production and infection | 68 |
| 3.2.7 Viral decay rate | 68 |
| 3.2.8 Statistical analysis | 68 |

| | |
|---|-----------|
| 3.3 Results | 68 |
| 3.3.1 Environmental parameters | 68 |
| 3.3.2 Microbial parameters | 70 |
| 3.3.3 Viral production, infection and decay | 71 |
| 3.3.4 Influencing factors of tidal viral-host interactions..... | 73 |
| 3.4 Discussion | 75 |
| 3.4.1 Tidal change of marine microbe | 76 |
| 3.4.2 Tidal change of viral infection and decay | 77 |
| 3.5 Summary | 80 |
| Chapter 4 Conclusions, originality, deficiencies and prospects | 81 |
| 4.1 Major conclusions | 81 |
| 4.2 Originality | 82 |
| 4.3 Deficiencies | 82 |
| 4.4 Prospects | 82 |
| References | 83 |
| Appendix | 96 |
| List of abbreviations | 96 |
| Acknowledgements | 98 |

摘 要

病毒作为海洋中丰度最高的生命粒子,在海洋微食物环中起着非常重要的生态作用。病毒同宿主相互关系的改变,会引起病毒裂解性侵染、溶源性侵染和降解率的动态变化,直接影响到海洋生态系统的物质循环和能量流动。因此病毒被认为是全球生物地球化学循环过程中的纳米级驱动者。但是目前关于病毒-宿主相互关系在日周期和潮汐周期等短时间尺度上动态变化的认识还很局限。本论文在南中国海和厦门九龙江河口分别进行了日周期和潮汐周期的时间序列研究,分析了这两个时间尺度上病毒侵染和降解及其相关环境和生物因素的动态变化过程。主要研究结果包括以下两方面:

在南中国海,病毒的侵染和降解在真光层以下没有明显的日周期变化,但在表层和次表层都具有显著的日周期变化规律。表层的病毒裂解性侵染呈现白天低晚上高的趋势。外海 SEATS 站和近海 J4 站表层都是在 02:00 达到裂解性病毒侵染率的最高值(分别为 4.59%和 10.46%),并且 SEATS 站表层在 14:00 具有最低值;而裂解性病毒侵染率在 SEATS 站次表层呈现晚上低白天高的趋势,在 02:00 具有最低值(1.16%),而最高值出现在 18:00 为 5.44%。光照是导致这种日周期病毒侵染变化的主要因素。在表层,病毒的侵染活性受光照的抑制会强于受到宿主的促进作用,而次表层的病毒侵染主要是受到宿主活性的驱动。并且病毒侵染的日周期变化会受海水混合过程的掩盖,在开阔外海的日周期变化规律会比近海区域更为显著。同时,我们还发现病毒的裂解性侵染和溶源性侵染在日周期时间尺度上是显著正相关的,它们具有相似的变化趋势。而病毒降解率在日周期过程中也表现出显著的变化,在光照和宿主活动较强的时候会有更高的病毒降解率。我们的研究发现海洋病毒-宿主相互关系的动态变化具有日周期规律,表明病毒能够在短时间尺度上影响海洋微生物群落结构进而影响到整个海洋的碳储存过程。

九龙江河口微生物具有显著的潮汐变化规律,倾向于在高潮时具有更高的丰度。潮汐导致的淡水混合和盐度变化会引起宿主的裂解性侵染发生明显的变化,河口 S03 站位的裂解性侵染在 3.30-22.42%之间波动,而离河口较远的 S05 站在 1.55-6.04%之间变化和 S07 站在 0.42-4.01%之间波动。潮汐引发的盐

度剧烈变化会影响病毒对宿主的侵染模式,病毒的溶源性侵染更多地出现在低盐度的低潮时,同时低盐也导致了病毒降解率的增加。并且,我们发现在潮汐周期过程中病毒的裂解性侵染和溶源性侵染也呈现显著正相关。本研究表明潮汐周期过程中环境的变化能够影响病毒和宿主的活性转变,进而改变病毒对宿主的侵染方式,而这种病毒-宿主相互关系的改变会反过来影响到整个河口区域微生物群落结构的变化。

关键词: 裂解性侵染; 溶源性侵染; 病毒降解率; 日周期; 潮汐周期

Abstract

Viruses are key players in marine ecosystem not only because they are the most abundant and diverse biological entities but also they are the nanoscale drivers in the global biogeochemical cycle. The dynamics of the virus-host interactions will cause the switching of viral lytic and lysogenic infection, as well as the viral decay rate. Moreover, the dynamics of the virus-host interactions are able to affect the material circulation and energy flowing in marine microbial loop. However, the short-term dynamics of virus-host interactions over a diel and a tidal cycle are far less understood. To access the diel and tidal patterns of viral infection and decay facing the changing environmental and biotic parameters, we conducted the time series studies in the South China Sea and Jiulong estuary, Xiamen respectively. The main conclusions include:

In the South China Sea, there were no obvious diel change of viral infection and decay rate below the euphotic layer, but distinct diel patterns were detected in the surface and sub-surface. The frequency of viral lytic infection (FIC) was generally higher during the night but lower at the daytime in the surface, and FIC in the sub-surface showed an oppositely pattern. Surface FIC at oceanic station SEATS and offshore station J4 reached the peak on 02:00 (4.59% and 10.46%, respectively); Sub-surface FIC at SEATS had a maximum at 18:00 (5.44%) but a minimum at 02:00 (1.16%). This difference mainly caused by the viral infection in the surface under the control of sunlight than host activities, but viral infection in the sub-surface just be affected by the host's activities. In addition, the stronger mixing at the offshore masked the diel change of viral infection. Furthermore, we found a positive relationship between the viral lytic and lysogenic infection over the diel cycle. The diel changes of environmental and biotic conditions led a significant dynamic viral decay. In this study, the virus-host interactions showed a diel pattern indicated that viruses can affect the microbial community composition and the marine biogeochemical cycle at a short time scale.

A significant tidal pattern of microbial abundances was detected in Jiulong estuary, the higher abundances were generally found at high tide. The tidal dynamics caused a distinct change of frequency of viral lytic infection. FIC varied from 3.30 to 22.42% at the estuary station S03, 1.5 to 6.04% and 0.42 to 4.01% at the distant station S05 and S07, respectively. The tidal mixing of freshwater and seawater as well as the changing salinity also caused the switching of viral infection strategies. The low salinity led to a higher frequency of lysogenic infection and viral decay rate. Moreover, we found a positive relationship between the viral lytic and lysogenic infection over the tidal cycle. Our results showed that the tidal mixing and changing salinity caused the pattern of tidal virus-host interactions and the trade-off of viral strategies, which in turn affect the microbial activities and ecological functions in the estuary.

Key words: Lytic infection; Lysogenic infection; Viral decay; Diel cycle; Tidal cycle

第一章 绪论

1.1 海洋病毒简介

病毒颗粒的个体十分微小 (~100 nm) 并且结构简单, 主要由外部的蛋白质衣壳和包裹在衣壳内部的遗传物质(核酸)所组成, 少数病毒还含有少量的糖类或脂类物质。病毒是一类严格的寄生性(Obligate parasitic)有机体, 其自身不能独立进行遗传复制, 但当它接触到宿主细胞之后, 能够将自身遗传物质注入宿主体内, 并借助宿主的遗传代谢系统来进行子代病毒的复制(Weinbauer, 2004; Suttle, 2007)。

病毒是海洋中个体最为微小, 却丰度最高、多样性最为丰富的“生命粒子”(Biological entities)。每毫升海水中就会含有 10^4 - 10^8 个病毒颗粒, 海洋中全部病毒颗粒数量可达 10^{30} 个(Weinbauer, 2004; Suttle, 2007)。病毒能够影响海洋微生物的群落结构和遗传进化, 参与到生态系统的物质循环和能量流动, 是全球尺度生物地球化学循环中的纳米级驱动者(Brussaard *et al.*, 2008)。近年来海洋病毒的相关研究得到不断拓展和深入, 在揭示病毒更多生态功能的同时也带来了许多未解之谜。当代, 海洋病毒生态学已经成为海洋微生物生态学研究热点之一(Sullivan *et al.*, 2017; Brum and Sullivan, 2015)。

1.1.1 海洋病毒的分类

海洋中约 96% 的病毒属于有尾噬菌体(Caudovirales)(Salmond and Fineran, 2015), 其根据具体形态特征又可以下分为三个科(图 1.1): 长尾噬菌体(Siphoviridae), 肌尾噬菌体(Myoviridae)和短尾噬菌体(Podoviridae)(Suttle, 2005)。肌尾噬菌体具有较为粗壮并且可收缩的尾巴, 其裂解性较强同时宿主范围也较广, 有着高繁殖速率和较短的世代时间。长尾噬菌体具有较长且不可收缩的尾巴, 其裂解性一般较弱, 通常表现为温和性噬菌体。而短尾噬菌体的尾巴较短且不可收缩, 是最为典型的裂解性病毒, 通常具有较窄的宿主范围(Suttle, 2005)。除了常见的有尾噬菌体, 海洋中还存在着大量的无尾噬菌体, 如丝状噬菌体、纺锤状噬菌体等(Wang *et al.*, 2007; Casjens and Hendrix, 2001; Pawlowski *et al.*, 2014)。

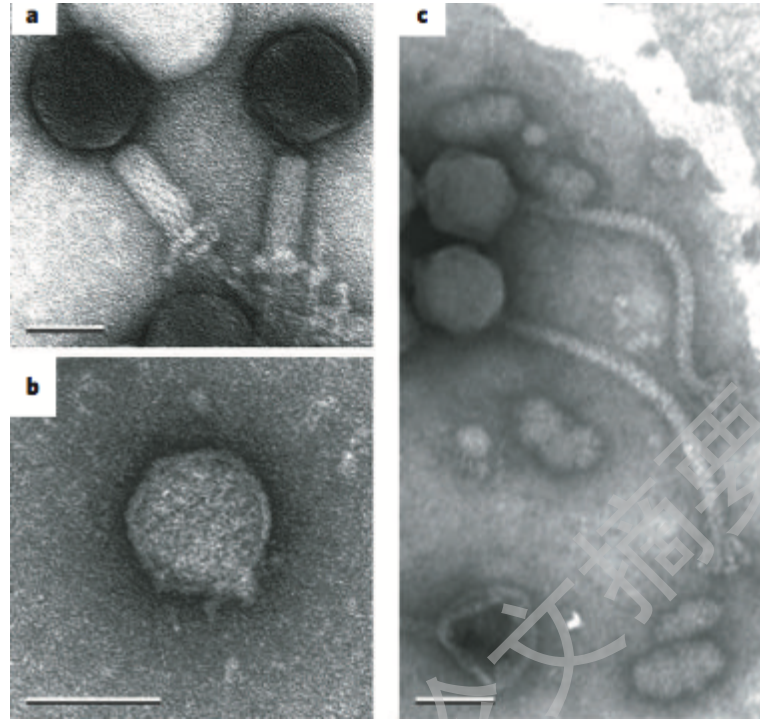


图 1.1 海洋有尾科病毒：a, 肌尾病毒；b, 短尾病毒；c, 长尾病毒（比例尺为 50 nm）（Suttle, 2005）

Fig. 1.1 Marine bacteriophage: a, Myoviruses; b, Podoviruses; c, Siphoviruses (Scale bar 50 nm) (Suttle, 2005).

此外海洋病毒还存在其它各种分类标准。根据病毒核酸的组成差异，可以将病毒分为 DNA 病毒和 RNA 病毒；又可根据核酸分子结构的差异，将病毒分为双链或单链病毒。海洋中含量最高的有尾科病毒都属于双链 DNA 病毒，不过最新的研究表明单链 DNA 病毒和 RNA 病毒在海洋中的丰度可能也很高（Steward *et al.*, 2012; Tomaru *et al.*, 2009; Shirai *et al.*, 2008; Miranda *et al.*, 2016; eacute *et al.*, 2013）。人们还经常按照宿主类群对病毒进化划分，比如分为侵染蓝细菌的蓝细菌噬菌体（Cyanophage）、侵染藻类的藻病毒（Phycovirus）、侵染 SAR11 的噬菌体（Pelagiphage）、玫瑰杆菌的玫瑰杆菌噬菌体（Roseophage）和弧菌的弧菌噬菌体（Vibriophage）等（Suttle, 2007; Zhan *et al.*, 2016; Lorenz *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2013）。同时还可以根据海洋病毒生存层位的不同可以将病毒分为浮游（Viriplankton）病毒和底栖（Viriobenthos）病毒，或根据生活方式的不同分为浮游生活的病毒（Free-living virus）以及吸附在颗粒物上的病毒（Particle-attached

virus)。目前人们对海洋病毒的研究主要还是集中在浮游病毒，但越来越多的研究表明底栖或颗粒物上的病毒也具有重要的生态意义 (Danovaro *et al.*, 2008; 2016; Dell'Anno *et al.*, 2015; Nigro *et al.*, 2017; Weinbauer *et al.*, 2009b)。

1.1.2 海洋病毒的生命循环周期

由于病毒是完全寄生性的生命体，因此海洋病毒的生态功能更多地是通过它同宿主之间相互作用来实现的。根据病毒侵染宿主方式的不同，可以将病毒生命循环周期主要分为三种类型：慢性侵染 (Chronic infection)、裂解性侵染 (Lytic infection) 和溶源性侵染 (Lysogenic infection)，海洋病毒以裂解性侵染和溶源性侵染这两类最为常见 (图 1.2) (Fuhrman, 1999; Weinbauer, 2004)。

裂解性侵染：裂解性病毒 (Lytic virus) 侵染到宿主细胞之后，能够利用宿主的遗传系统进行自身病毒颗粒的合成和装配，然后在较短时间之内引起宿主的裂解死亡和子代病毒颗粒的释放。裂解性侵染的生命循环周期可以具体分为病毒的吸附 (Adsorption)、侵入 (Injection)、复制 (Replication)、组装 (Assembling) 和裂解 (Lysis) 等几个阶段 (Weinbauer, 2004)。

溶源性侵染：温和性病毒 (Temperate virus) 侵染到宿主体内之后，并不会导致宿主的死亡，而是将自身基因组整合到宿主染色体上或以质粒形式存在，并随宿主的复制而复制。整合到宿主体内的病毒被称为前噬菌体 (Prophage) 或前病毒 (Provirus)，其宿主称为溶源性细菌 (Lysogen)，而这种现象称为溶源性 (Lysogeny)。在一定条件下，前噬菌体能够被受到特定物理生物化学因素的诱导 (Induction)，进入裂解性感染周期 (如图 1.2) (Davies *et al.*, 2016; Weinbauer, 2004; Howard-Varona *et al.*, 2017; Paul, 2008)。

此外还有一种伪溶源性侵染 (Pseudolysogenic infection)，指的是病毒核酸进入宿主之后会在宿主细胞内停留一定时间，此时病毒在宿主体内处于非活跃的状态 (Carrier stage) (Cenens *et al.*, 2014; Feiner *et al.*, 2015)。关于伪溶源性侵染的研究还比较缺乏，在海洋病毒生态学的研究中有时候会将其并入溶源性侵染的范畴 (Paul, 2008; Williamson *et al.*, 2001; Cenens *et al.*, 2014)。

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.

厦门大学博硕士学位论文摘要库