

研究进展

## 极地海洋病毒宏基因组研究进展

周莘皓<sup>1</sup> 梁彦韬<sup>1</sup> Andrew McMinn<sup>1,2</sup> 汪岷<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 中国海洋大学, 海洋生命学院, 海洋生物多样性与进化研究所, 极地海洋过程与全球  
海洋变化重点实验室, 深海圈层与地球系统前沿科学中心, 山东 青岛 266003;  
<sup>2</sup> 塔斯马尼亚大学海洋与南极研究所, 澳大利亚 霍巴特 7001)

**提要** 两极占据地球生物圈表面积的 14%, 共同组成了地球上独特的冰冻生物圈。南极是被南大洋包围着的巨大大陆, 受南极绕极流所影响。而北极则是由欧、亚、北美三洲大陆包围着的北冰洋以及大量分散的岛屿所组成。极地海洋生物圈主要包括海水、海冰两大生态系统, 而海冰是在两极地区存在的一个独特的生态系统。极地的海洋、海冰、冰下湖泊等环境中包含了大量的未知病毒和作为其主要宿主的微生物群落, 是全球生物地球化学循环重要驱动力之一。本文对近十年来在南北极海洋环境中病毒多样性的研究进展进行综述, 其中大多数的病毒多样性是随着宏基因组学技术的进步而被人所知的。目前对极地海洋双链 DNA 病毒组已有较好的认识, 而对单链 DNA 病毒组和 RNA 病毒组的认识还非常有限。总体来说, 对于极地海洋病毒认识还处在初级阶段, 仍然存在大量未知的科学问题等待我们去探索。

**关键词** 极地 海洋 海冰 病毒 多样性 宏基因组

doi: 10.13679/j.jdyj.20200077

### 0 引言

南北两极储存着 72% 以上的地球淡水资源, 具有大量的燃料能源储备以及丰富的生物多样性。南北两极作为全球气候变化的驱动器, 无时无刻不在影响全球的气候与环境, 对全球的生态系统有着非常重要的作用<sup>[1]</sup>。南极洲被南大洋包围着, 南大洋被强大的南极绕极流所驱动, 而北极则被陆地包围。这两个大陆在四千万到二千万年前移动到地球相反的两极地区, 造成了如此不同的地形。地磁和重力数据表明, 北极在北美大陆和欧亚大陆盆地的驱动下, 从 6.1 亿至 1.45 亿年前演变为一个由陆地包围的冰冷的水冰

极地地区<sup>[2-4]</sup>。南极洲是由超级大陆冈瓦纳大陆解体而成的, 冈瓦纳大陆被南大洋包围。南极大陆永久性地被冰川覆盖, 只有 0.4% 的面积是由散布着湖泊和池塘的裸露陆地组成的<sup>[5-6]</sup>。

极地环境包含了各种各样的细菌、古细菌和真核微生物群落, 它们与病毒一起构成了极地生态系统的重要组成部分<sup>[7]</sup>。它们存在于一系列栖息地中, 包括陆地、海洋、海冰、冰下湖泊和冰锥洞等, 大量的微生物群落使得这些极地地区成为了活跃的生物地球化学循环场所<sup>[8-9]</sup>。这些环境覆盖了地球表面约五分之一的面积, 不适宜人类生存, 是独特微生物群落的家园<sup>[10]</sup>。考虑到极地海洋的连通性有限以及淡水供应(这些淡水供应分别来自冰川融化和流入南大洋和北冰洋的河流)

[收稿日期] 2020 年 12 月收到来稿, 2021 年 1 月收到修改稿

[基金项目] 国家实验室项目(2018SDKJ0406-6)、国家重点研发计划(2018YFC1406704)、中央高校基本业务费(201812002, 202072002)、国家自然科学基金(41976117, 42120104006, 42176111)、国家海洋局极地考察办公室项目(RFSOCC2020-2025)资助

[作者简介] 周莘皓, 男, 1995 年生。硕士研究生, 主要从事极地病毒生态学研究。E-mail: 294566038@qq.com

[通信作者] 梁彦韬, E-mail: liangyantao@ouc.edu.cn

的差异,这两个地区的常住微生物群落只有大约30%的相似性<sup>[11]</sup>。

病毒是游离在海洋环境中的一类无细胞结构的生物,在海洋中分布非常广泛,并且数量极其丰富,全球海洋中的病毒粒子丰度能达到每毫升 $3 \times 10^6$ 个,比海洋细菌丰度高了3~25倍<sup>[12]</sup>。在各大洋的所有海域中,海洋病毒都是数量最大、物种多样性最丰富的生物,它们主要感染的目标是海水中的微生物。每年,很大一部分海洋浮游原核生物的死亡都是由海洋病毒的侵染所导致的(约占其总死亡率的40%~60%),给全球的海洋生物地球化学循环带来了非常巨大的影响<sup>[13]</sup>。

作为全球海洋环境中数量最为庞大的生物,浮游病毒在调节海洋生物群落结构、介导水平基因转移和代谢重组、影响生物地化循环等方面发挥着非常重要的作用。在海洋中,每日大约有20%的浮游生物被病毒感染裂解,海洋中的很大一部分浮游生物死亡的原因就是病毒的裂解作用<sup>[14]</sup>。海洋病毒可以通过微生物细胞裂解的方式影响微生物群落的结构和功能,从而使细胞内的物质转化为可溶性颗粒有机物并被其他微生物同化吸收。由于病毒对宿主生物的感染有着特定的专一性,因此通过病毒的裂解作用会一定程度上减少其宿主的丰度,从而间接改变其他生物种群的丰度,进而改变这片海域的生物群落结构<sup>[15]</sup>。海洋病毒还可以介导生物间的水平基因转移,由海洋病毒介导的水平基因转移可以分为溶源性基因转导和非溶源性基因转导两种<sup>[16-17]</sup>。前者是溶源性病毒在感染宿主细胞后把病毒携带的遗传物质整合进宿主的基因组中,在之后的装配释放过程中,使增殖的病毒粒子携带有原宿主细胞基因,从而通过对下一个宿主细胞的侵染实现原宿主的基因转移<sup>[18]</sup>。非溶源性转导则是指病毒在宿主细胞内的装配合成过程中混入了宿主的遗传物质,从而通过病毒粒子整合进入了新的宿主基因组中<sup>[17,19]</sup>。此外,已知病毒基因组含有控制光合作用代谢途径以及碳、氮和硫代谢的基因。海洋病毒与其宿主之间的这种长期的密切关系,促进了彼此之间的共同进化,增加了海洋的生物多样性和遗传基因的多样性。除此之外,海洋病毒还可以通过侵染微生物宿主来调节海洋生态环境中的能量流动和物质循环,从而影响生物地球化学循

环<sup>[20]</sup>。

目前关于极地病毒已有初步研究结果,也有综述分析了南极陆地和湖泊病毒的研究进展<sup>[21]</sup>,但关于极地海水和海冰中病毒研究的综述较少。本文针对此问题,对南北极海水和海冰病毒的丰度、生态特征、群落结构与多样性的最新研究进展进行综述,以期为极地海洋病毒的进一步研究工作提供信息。

## 1 海洋病毒宏基因组技术进展

近年来,宏基因组学的方法在海洋病毒的学术领域发展迅速,并且正在产生大量关于病毒群落多样性和动态变化的文库,但是存在一个限制宏基因组应用的关键问题:病毒的核酸相对于细菌核酸含量来说相当低<sup>[22-23]</sup>。为了获得足够的核酸进行宏基因组测序,就要减少细菌和细胞外核酸的污染,主要通过三个步骤来从环境样品中纯化浓缩病毒以减少污染和在测序之前直接扩增提取的病毒核酸。幸运的是,最近已经解决了在构建病毒组时许多可能导致偏好或效率低下的因素<sup>[24-25]</sup>。首先,通过氯化铁絮凝(Iron Chloride Flocculation)来浓缩病毒颗粒(通常从海水中可以回收超过90%的病毒)<sup>[26]</sup>,这种方法克服了切向过滤法(Tangential Flow Filtration)病毒颗粒回收效率变化幅度过大的困扰,成为了一种新的病毒颗粒浓缩方法,并广泛应用于塔拉海洋考察(Tara Ocean Expeditions)病毒组的研究。其次,利用复制的病毒基因组数据评估密度梯度法和酶促消化法对病毒的纯化效果,据此来指导研究人员选择最佳的方法以实现他们的研究目标。第三,将从病毒浓缩物中提取的核酸单独或作为测序建库制备的一部分而进行接头扩增(Linker Amplification),使dsDNA能够近似定量地扩增病毒基因组,如果同时进行多重置换扩增(Multiple Displacement Amplification, MDA),由于MDA具有一定的偏好性,可能会对病毒的相对定量产生影响。此外,各种测序平台和文库制备方法现在都有比较多的经验数据,这使研究人员能够选择特定的应用方法。这些进展共同促成了一个病毒样本到序列获取的新实验流程,以产生近定量的、可重复的病毒宏基因组,用于环境dsDNA病

毒群落的研究。

## 2 南极海洋病毒组研究进展

南极具有非常特殊的地理环境, 远离人类社会, 很少受到人类活动影响。这些年来, 随着各国科技力量的增强, 人们对南极地区的探索不断深入, 迄今为止有 40 多个国家在南极地区建立了 100 多个极地科学考察站。其中我国在南极有着 5 个科学考察站, 分别为长城站、中山站、昆仑站、泰山站以及正在建设的罗斯海新站<sup>[27]</sup>。我国科学家通过“雪龙”号和“雪龙 2”号等极地考察破冰船对南极开展了多学科的综合考察研究, 在多项科学研究上取得了重大的突破性进展。海水和海冰是南极主要的海洋生态系统, 为包括细菌和病毒在内的极端嗜冷微生物提供了生存栖息地。近年来, 科学家们对南极半岛和普里兹湾等少数海域的海水病毒组进行了前期研究, 获得了南极海域病毒组的第一手资料。然而, 目前关于南极病毒组的研究报道仍然较少<sup>[21]</sup>。

2016 年, 科学家对西南极半岛帕尔默科学考察站(Palmer Station)的 DNA 和 RNA 病毒组分别进行了时间序列研究, 结果表明温和病毒(Temperate Viruses)在这一地区占主导地位, 随着细菌产量的增加, 从溶原性(Lysogenic Life Strategy)转变为裂解性(Lytic Life Strategy)复制<sup>[28-29]</sup>。温和病毒主要隶属于短尾噬菌体科(Podoviridae), 而之前其他环境中的研究普遍认为温和病毒主要隶属于长尾噬菌体科(Siphoviridae)。裂解性病毒主要隶属于肌尾病毒科(Myoviridae)。同时, 南大洋病毒群落在遗传物质上不同于低纬度病毒群落, 主要是受这种温和病毒优势的驱动。这一新的信息表明, 极地环境中病毒与宿主的相互作用有着根本的不同。在极地环境中, 细菌生产的强烈季节性变化会选择温和的病毒, 这是由于它能够根据资源的可用性而改变复制策略, 从而具有更广泛的适应能力。此外, 温和病毒成为优势种可能导致由原噬菌体诱导引起的细菌死亡, 有助于解释在极地和低纬度海洋生态系统中细菌和初级生产力之间的时间延迟和较低的比率。这些结果共同表明, 温和病毒与宿主的相互作用对于预测极地海洋系统变暖引起的微生物动态变化至关

重要<sup>[28]</sup>。对南极帕尔默站附近沿海地区采集的纯化病毒样本进行的宏基因组学研究结果显示, 在夏季浮游植物大量繁殖期间(11 月至 3 月), RNA 病毒占总浮游病毒高达 65%(8%~65%), 并且大多数 RNA 病毒的基因组中都具有与微小 RNA 病毒目(Picornavirales)最为匹配的正链 ssRNA 基因。通过整合这些基因组片段, 得到了 5 个新的、几乎完整的 RNA 病毒基因组, 其中 3 个具有与感染硅藻的 RNA 病毒相似的特征, 这一结果与 RNA 病毒影响南极水域硅藻水华动态的假设一致<sup>[29]</sup>。

塔拉海洋考察也对美洲和南极半岛之间的高纬度海区 3 个站位表层和次表层叶绿素最大层 5 个样品的病毒组进行了研究报道, 并对塔拉海洋病毒组数据集(TOV)中大于 100 kb 的基因簇 contigs 进行了分析, 证明了南极洲的病毒种群与世界其他地区(共有 26 个, 包括表层和深海站点)存在明显差异<sup>[30]</sup>。利用宏基因组技术对从塔拉海洋和马拉斯皮纳(Malaspina Expedition)研究考察期间采集的表层和深海病毒样本进行分析, 获得了大量的完整基因组和大基因组片段, 并分析由此产生的“全球海洋病毒组”(Global Oceans Viromes, GOV)数据集, 以呈现丰富的双链 DNA 病毒的全球海洋分布图, 包括基因组和生态环境。GOV 数据集共鉴定出 15222 个表层和中层病毒群(Viral Population, 相当于种水平), 包括 867 个病毒簇(Viral Cluster, 相当于属水平)。最新的全球病毒组 2.0 数据集整合了北极病毒宏基因组的数据, 发现南极病毒组与北极和中低纬度海洋病毒组之间存在非常大的差异, 代表了一个独特的病毒区(Viral Ecological Zone)<sup>[31]</sup>。

2016 年本课题组报道了南极普里兹湾(Prydz Bay)的病毒丰度分布。研究表明, 表层病毒丰度约为每毫升  $10^5 \sim 10^6$  个, 平均值为每毫升  $1.1 \times 10^6$  个。表层病毒在近岸埃默里冰架(Amery Ice Shelf)前缘附近丰度较高, 普里兹湾湾内高于湾外, 表层病毒丰度整体上呈现由近岸至远海减少的趋势。而本课题组 2018 年对普里兹湾病毒宏基因组进行了报道, 结果表明, 在南极普里兹湾附近表层海域有尾噬菌体目(Caudovirales)病毒处于支配地位, 相对物种丰度高达 67.67%~71.99%。其中长尾噬菌体科(29.34%~34.78%)的所占比例高于

肌尾噬菌体科(17.60%~21.30%)和短尾噬菌体科(10.37%~18.58%)。此外,在普里兹湾的研究发现了核质巨DNA病毒(Nucleocytoplasmic Large DNA Viruses, NCLDV)类群的大量存在,其中主要是藻类DNA病毒科(Phycodnaviridae)和拟菌病毒科(Mimiviridae)的成员。并且在南极第一个深海病毒组样品(采集自海面以下3357m水层)中发现NCLDV的相对丰度超过30%,并且与低纬度的夏威夷ALOHA时间序列站的深海病毒组结构相似。利用病毒组拼接得到的病毒基因组发现,南极普里兹湾宏基因组拼接得到的病毒基因组(PBI2\_1\_C, 环状, 长度为34336 bp)与从北极分离得到的病毒Cellulophaga phage phi10:1和Flavobacterium phage 11b的基因组相似性最高,暗示着南北极病毒组之间存在紧密联系<sup>[32]</sup>。

同样,2019年本课题组在南极南斯科舍岭(South Scotia Ridge)的研究也发现,有尾噬菌体和NCLDV在该地区具有很高的生物多样性,其中有尾噬菌体的相对丰度高达85.74%~88.59%,丰度最高的为短尾噬菌体(41.92%~48.70%),其次为肌尾噬菌体(22.92%~29.46%)和长尾噬菌体(11.92%~14.08%)。而NCLDV的相对丰度低于普里兹湾海域<sup>[32]</sup>,为2.85%~4.24%,其中占主要地位的是藻类DNA病毒科的成员(1.32%~3.57%),推测NCLDV在极寒环境中的多样性较高。并且,在南斯科舍岭病毒组中发现了5个新的感染球形棕囊藻病毒的噬病毒体(Phaeocystis globosa virus virophage, Pgvv)基因组片段<sup>[33]</sup>。

在西南极半岛智利湾(Chile Bay)浮游植物水华(Phytoplankton Bloom)爆发前后的宏基因组研究显示了肌尾噬菌体和藻类DNA病毒科的相对丰度变化,爆发前由肌尾噬菌体(82%)占主导地位,而爆发后改为藻类DNA病毒(92%)占主导地位,阐明了极地海洋病毒在水华爆发过程中对群落结构调节的重要作用<sup>[34]</sup>。此外,还报道了一种新的藻类病毒(Phycodnavirus, PaV),推测该病毒的宿主为南极棕囊藻(Phaeocystis antarctica),一种主要在南大洋繁殖的浮游植物<sup>[35]</sup>。这项工作能够识别极地水华发育过程中主要病毒因子的变化,并表明病毒类群在浮游植物赤潮爆发过程中的变化可以作为一个模型来理解整个水华期的发展和衰退。

海冰生态系统是极地特有的生态系统类型,是极地海洋生态系统的重要组成部分。与细菌、藻类和原生物宿主相关的病毒在南极海冰中也有发现<sup>[36]</sup>,尽管目前尚无海冰病毒宏基因组的研究被报道。随着海冰的形成,富含盐分和营养物质的盐水通道和盐穴就会形成,并在冰内保持液态。由于是半封闭的,它们支持微生物生长,并有利于提高病毒和微生物宿主之间的接触率<sup>[37]</sup>。在南极洲不同地区的海冰中检测到了高病毒丰度,例如,在深秋和夏季的罗斯海冰中检测到病毒丰度为每毫升 $10^6 \sim 10^8$ 个<sup>[38]</sup>,其中包括在盐水和淤泥冰芯样本中的衣壳直径大于110 nm的大型病毒<sup>[36]</sup>。在南极东部普里兹湾的两个近海地点,通过每年海冰周期从两个不同深度采集的速冻样本中检测到病毒数量在每毫升 $0.6 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 个之间<sup>[39]</sup>。最近,第一个可培养的噬菌体-宿主系统是从威德尔海的第一年和第二年冬季海冰中分离出来的<sup>[37]</sup>,共鉴定出感染典型海冰细菌59株,并首次分离到4株南极海冰病毒(分别命名为PANV1、PANV2、OANV1和OANV2),其宿主分别属于典型海冰细菌Paraglaciicola和Octadecabacter。

### 3 北极海洋病毒组

不同于有着巨大大陆的南极,北极地区由北冰洋、沿岸亚、欧、北美三洲大陆以及大量分散的岛屿组成,是地球环境系统中重要的一部分,直接影响全球尺度的大气环流、大洋环流和气候演化等<sup>[40]</sup>。在每年的大多数时间内,大多数地区的北冰洋表层都会有冰盖形成,在北冰洋中心位置有着终年不化的海冰,这些海冰最久的甚至已经有三百万年的历史。北冰洋下方有2/3的面积是大陆架,储藏着大量的石油资源,也有着非常丰富的底栖生物和浮游生物多样性。现今,北极生态系统是对全球气候变化最敏感的生态系统,北极地区发生的环境变化在很大程度上取决于边缘海大陆架上发生的过程,包括大量的淡水径流等<sup>[41]</sup>。从陆地引入的大陆水域和外来物质的转化,对水体理化性质的形成、控制物质的生物地球化学平衡、横向和纵向通量以及生物生产起着重要的作用。此外,北极生态系统对与海洋人类活动和河流径流污染物有关的人为压力特别敏感。随着全球气

候变暖, 北极地区正发生着快速的气候环境变化, 不仅对北冰洋沿岸地区的人类活动产生影响, 还对全球的气候环境产生直接或间接的影响<sup>[42]</sup>。

海冰是在北极地区存在的一个独特的生态系统, 它给包括了细菌和病毒在内的几类丰度极高的特殊冰相关生物提供了生存栖息地。低温是影响微生物多样性的关键性因素之一, 这些物种不仅把海冰作为它们的栖息地, 它们之间发生的相互作用对整个生态系统的功能也具有潜在的巨大影响。近年来, 科学家们多次在北冰洋地区开展科学考察, 获得了大量研究资料<sup>[43]</sup>。然而, 受到北冰洋地区特殊的地缘关系的影响, 这些地区的研究成果相对较少<sup>[44]</sup>。

北极与南极洲一样, 由于冰层融化, 光和淡水输入也经历了类似的季节性波动<sup>[45]</sup>。由于温度和光照影响极地地区的微生物多样性, 为了了解营养循环, 已经进行了一些研究, 将病毒成分与原核生物丰度联系起来<sup>[46]</sup>。北极地区的病毒群落组成和分布已通过分子方法进行评估, 如随机扩增多态性 DNA PCR(RAPD-PCR)<sup>[45]</sup>、末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)和宏基因组学<sup>[47-48]</sup>。在加拿大北极地区, 用 CRA-22 和 OPA-13 引物检测到的 DNA 基因组中, 病毒群落的变异受空间距离和空间相关环境参数的影响。在巴芬湾和北极群岛, 这种变异与原核成分不耦合, 可能表明这些病毒感染真核宿主<sup>[46]</sup>。

2006 年, 科学家通过对北美北冰洋 16 个不同地点的 56 个样本的未培养病毒组的焦磷酸测序鉴定了 ssDNA 噬菌体和原噬菌体(Prophage)。使用 tBlastX 和 tBlastN 对来自北极和其他三个海洋区域(加拿大英属哥伦比亚沿海、马尾藻海、墨西哥湾)的组装序列与非冗余和环境种子数据库进行了比较, 并使用噬菌体蛋白组树(Phage Proteomic Tree)进行了分类学分类<sup>[48]</sup>。这些分析表明, 海洋噬菌体与土壤和沉积物中发现的噬菌体不同, 可以通过它们的生物地理学加以区分<sup>[23]</sup>。此外, 通过病毒宏基因组技术研究了北冰洋北美洲扇区 16 个站位 56 个样品混合组成的一个病毒组文库的病毒群落结构, 发现北极与加拿大英属哥伦比亚沿海、马尾藻海、墨西哥湾三个海洋环境的病毒群落结构存在显著差异, 并发现北极样品中含有更高比例的原噬菌体序列(prophage-like

sequences)。但大多数病毒类群在四个环境中均被检测到, 一定程度上支持生物地理学的基础假说“Everything is everywhere, but, the environment selects”。但由于测序通量所限, 当时北极病毒组的数据量仅有 69 Mbp, 这极大限制了我们对北极病毒组的深入认识<sup>[23]</sup>。

对加拿大北极波弗特海和阿蒙森湾的空间和季节性调查表明了这些高度异质的北极环境中的类 T4 肌病毒和藻类 DNA 病毒的组成和驱动力<sup>[49]</sup>。在 2003—2004 年收集的环境样品上, 对藻类 DNA 病毒的 DNA 聚合酶 B 基因(*polB*)、肌噬菌体的主要衣壳蛋白基因(*g23*)以及细菌(16S)和真核生物(18S)SSU rDNA 使用已建立的标记基因进行了 PCR 变性梯度凝胶电泳(DGGE)指纹图谱分析。病毒组合的季节性变化与病毒群的季节性变化有关。*polB* 指纹图谱显示不同季节的藻类 DNA 病毒种群存在显著差异。藻类 DNA 病毒多样性与 18S rDNA 动态相关, 表明病毒种群结构和潜在寄主群落对环境变化的响应。*g23* 带型具有高度动态性, 表明感染原核生物的各种肌病毒在季节和空间上都存在差异; 但在不同季节、不同地区或不同深度取样的情况下, 没有检测到显著差异<sup>[49]</sup>。虽然这项研究提供了微生物和病毒群落结构的定性评估, 但它仅限于两种可以设计引物的 DNA 病毒, 并且通过 DGGE 的分辨能力, 即大小和核苷酸组成相似的扩增子一起迁移。

来自北极附近波罗的海的研究提供了一个从北极到亚北极地区过渡过程中, 对蓝藻浮游生物和相关微生物类群进行详尽的宏基因组和转录组分析的例子<sup>[50]</sup>。在这个区域海冰形成的盐水通道中, 原核生物和病毒多样性的研究也在展开。以培养为基础的方法已认识到希瓦氏菌(*Shewanella*)和黄杆菌(*Flavobacterium*)菌株是波罗的海海冰中最丰富的异养细菌, 在那里, 北部波的尼亚湾(Gulf of Bothnia)每年可能在严冬中被冰层覆盖超过 6 个月。据报道, 这些冷活性细菌通常被宿主范围狭窄的长尾噬菌体和肌尾噬菌体感染<sup>[51]</sup>。根据国际病毒分类委员会(ICTV)分类标准, 这些分离的噬菌体中有 6 个属于 5 个新属<sup>[52]</sup>。与宏基因组学相比, 这种基于培养的研究在评估病毒多样性的能力上似乎有限, 然而这些特征化的病毒是序列数据库的重要补充, 因为超过 60%的宏基因

组注释结果不能匹配上已知的病毒类群<sup>[53-54]</sup>。众所周知,病毒通过感染循环来调节群落结构,引起系统内的各种化学流动,进而导致生物地球化学循环的转变。序列数据提供了可以外推的证据,以便更好地了解病毒的生态作用与生态位。利用细菌核心基因系统进化树上丰富节点数(分类群)归一化的病毒细菌比例为感染潜势的度量,发现这种潜力通常与波罗的海细菌多样性呈负相关<sup>[50]</sup>,并支持了负密度依赖的选择性环境会导致更大的宿主多样性的推测。因此,更丰富和更有效的宿主群体可能会增加对病毒攻击的易感性,这种情况可能导致宿主多样性和感染风险之间的直接关系。

最近, Gregory 等<sup>[31]</sup>建立了一个由 145 个横跨全球海洋的病毒样品构成的、拥有 195728 种全球海洋 DNA 病毒组的最新全球海洋病毒宏基因文库(Global Ocean Viromes2.0, GOV 2.0),其中在北冰洋及其附近海域的 20 个采样点共收集到 41 个样品,这 41 个北冰洋病毒样品代表了海洋中最显著的气候密集区和极端环境。与以往的 GOV 病毒数据集相比, GOV 2.0 增加了部分海洋中层和极地病毒样品,也改进了病毒基因组序列的拼接方法。通过对 145 个样本的聚类分析, GOV 2.0 将全球海洋病毒群落分为了 5 个生态区(Ecological Zones)——北极病毒生态区(ARC)、南极病毒生态区(ANT)、深海病毒生态区(BATHY)、温带及热带上层海洋生态区(TT-EPI)和温带及热带中层海洋生态区(TT-MES)。对这些病毒生态区的预测因子和驱动因子进行的单维度和多维度评估结果显示,与全球微生物研究相似,温度是构成这些生态区的主要驱动力,此外,温度在病毒-宿主相互作用中起着重要作用,尤其是在北极地区。在每个生态区中寻找特殊的病毒适应因子时发现,每个样品中至少有 124882 个基因是正向选择的,其中 82% 的基因无法得到功能注释,其余的 18% 的基因主要与结构或 DNA 代谢有关<sup>[31]</sup>。据此推测,每个生态区的宿主给海洋病毒类群造成了一个强大的选择压力。病毒的多样性研究结果表明,病毒的宏观多样性在海洋浅表最高并随着海洋深度的增

加而降低,微观多样性在水深小于 200 m 的时候没有降低,在水深大于 200 m 时急剧增加。据此推测区域特殊细菌种群宏观多样性的增加会影响病毒微观多样性,病毒微观多样性的增加会引起细菌种群宏观多样性的减少。同时,研究还指出,全球的表层海域和北冰洋将会是未来病毒生物多样性研究的热点地区。

## 4 小结

北极和南极作为微生物的乐园,有着极高的多样性,探索极地病毒多样性和病毒与宿主之间的关系有助于了解极地病毒组成、进化过程,及其在生物地球化学循环中的作用。近年来,病毒宏基因组学从采样方法到分析流程,都有了巨大的改进和优化,这也大大增强了分析结果的可信度。然而,病毒宏基因组的研究方法仍然存在着一个非常重要的难题。海洋中存在着大量的未知病毒,而人类对全球海洋病毒多样性研究还不够深入,目前绝大多数海洋病毒不能被人工分离培养,这也导致病毒宏基因组中大量的序列不能与基因组数据库中已知的病毒序列相匹配。有些海洋环境中,这些不能匹配的序列占比超过 90%,被称为病毒“暗物质”<sup>[55]</sup>。

总体来说,目前极地海洋病毒组研究才刚刚开始,且主要集中在 dsDNA 病毒组研究,而 ssDNA 病毒和 RNA 病毒组研究还非常少。这需要未来开展大量的极地海洋病毒宏基因组研究来弥补这一不足。并且,未来随着病毒分离培养技术的进步,我们能够分离和鉴定得到更多的极地病毒基因组,将这些病毒基因数据整合进病毒宏基因组数据库中,并且能够通过生物信息学分析方法将未知病毒与其潜在宿主联系起来,这些技术与数据库方面的进步将大大提高宏基因组分析的准确性与认识水平。并且极地病毒宏基因组与海洋生物地球化学循环的耦合分析也将是一个值得深入研究的方向<sup>[56]</sup>。未来,极地病毒的神秘面纱必将被慢慢揭开,这对从全球尺度认识海洋病毒的多样性、进化和生物地球化学循环中的作用具有非常重要的意义。

## 参考文献

- 1 马浩, 王召民, 史久新. 南大洋物理过程在全球气候系统中的作用[J]. 地球科学进展, 2012, 27(4): 398-412.
- 2 HERRON E M, DEWEY J F, PITMAN W C. Plate tectonics model for the evolution of the arctic[J]. *Geology*, 1974, 2(8): 377-380.
- 3 GAINA C, MEDVEDEV S, TORSVIK T H, et al. 4D Arctic: A glimpse into the structure and evolution of the Arctic in the light of new geophysical maps, plate tectonics and tomographic models[J]. *Surveys in Geophysics*, 2014, 35(5): 1095-1122.
- 4 KANAO M, SUVOROV V D, TODA S, et al. Seismicity, structure and tectonics in the Arctic region[J]. *Geoscience Frontiers*, 2015, 6(5): 665-677.
- 5 BOETIUS A, ANESIO A M, DEMING J W, et al. Microbial ecology of the cryosphere: Sea ice and glacial habitats[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2015, 13(11): 677-690.
- 6 ADIE R J. The geology of Antarctica[M]//Antarctic Research: The Matthew Fontaine Maury Memorial Symposium. Washington D. C.: American Geophysical Union, 2013: 26-39.
- 7 RAMPELOTTO P. Polar microbiology: Recent advances and future perspectives[J]. *Biology (Basel)*, 2014, 3(1): 81-84.
- 8 CAVICCHIOLI R. Microbial ecology of Antarctic aquatic systems[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2015, 13(11): 691-706.
- 9 ANESIO A M, BELLAS C M. Are low temperature habitats hot spots of microbial evolution driven by viruses?[J]. *Trends in Microbiology*, 2011, 19(2): 52-57.
- 10 ANESIO A M, LAYBOURN-PARRY J. Glaciers and ice sheets as a biome[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2012, 27(4): 219-225.
- 11 GHIGLIONE J F, GALAND P E, POMMIER T, et al. Pole-to-pole biogeography of surface and deep marine bacterial communities[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(43): 17633-17638.
- 12 WOMMACK K E, COLWELL R R. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(1): 69-114.
- 13 ORTMANN A C, SUTTLE C A. High abundances of viruses in a deep-sea hydrothermal vent system indicates viral mediated microbial mortality[J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2005, 52(8): 1515-1527.
- 14 HINGAMP P, GRIMSLEY N, ACINAS S G, et al. Exploring nucleo-cytoplasmic large DNA viruses in Tara Oceans microbial metagenomes[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(9): 1678-1695.
- 15 MASLOV S, SNEPPEN K. Population cycles and species diversity in dynamic Kill-the-Winner model of microbial ecosystems[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 39642.
- 16 JIANG S C, PAUL J H. Significance of lysogeny in the marine environment: Studies with isolates and a model of lysogenic phage production[J]. *Microbial Ecology*, 1998, 35(3/4): 235-243.
- 17 JIANG S C, PAUL J H. Gene transfer by transduction in the marine environment[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(8): 2780-2787.
- 18 WEINBAUER M G. Ecology of prokaryotic viruses[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2004, 28(2): 127-181.
- 19 RIPP S, OGUNSEITAN O A, MILLER R V. Transduction of a freshwater microbial community by a new *Pseudomonas aeruginosa* generalized transducing phage, UT1[J]. *Molecular Ecology*, 1994, 3(2): 121-126.
- 20 CHEN F, LU J. Genomic sequence and evolution of marine cyanophage P60: A new insight on lytic and lysogenic phages[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(5): 2589-2594.
- 21 YAU S, SETH-PASRICHA M. Viruses of polar aquatic environments[J]. *Viruses*, 2019, 11(2): 189.
- 22 THOMAS T, GILBERT J, MEYER F. Metagenomics-a guide from sampling to data analysis[J]. *Microbial Informatics and Experimentation*, 2012, 2(1): 3.
- 23 ANGLY F E, FELTS B, BREITBART M, et al. The marine viromes of four oceanic regions[J]. *PLoS Biology*, 2006, 4(11): e368.
- 24 CULLEY A I, LANG A S, SUTTLE C A. Metagenomic analysis of coastal RNA virus communities[J]. *Science*, 2006, 312(5781): 1795-1798.
- 25 HURWITZ B L, SULLIVAN M B. The Pacific Ocean virome (POV): A marine viral metagenomic dataset and associated protein clusters for quantitative viral ecology[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57355.
- 26 HURWITZ B L, DENG L, POULOS B T, et al. Evaluation of methods to concentrate and purify ocean virus communities through comparative, replicated metagenomics[J]. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(5): 1428-1440.

- 27 翟华文. 展望 21 世纪南极科学研究[J]. 中国高校科技与产业化, 2003(5): 41-43.
- 28 BRUM J R, HURWITZ B L, SCHOFIELD O, et al. Seasonal time bombs: Dominant temperate viruses affect Southern Ocean microbial dynamics[J]. The ISME Journal, 2016, 10(2): 437-449.
- 29 MIRANDA J A, CULLEY A I, SCHVARCZ C R, et al. RNA viruses as major contributors to Antarctic viroplankton[J]. Environmental Microbiology, 2016, 18(11): 3714-3727.
- 30 ROUX S, BRUM J R, DUTILH B E, et al. Ecogenomics and potential biogeochemical impacts of globally abundant ocean viruses[J]. Nature, 2016, 537(7622): 689-693.
- 31 GREGORY A C, ZAYED A A, CONCEIÇÃO-NETO N, et al. Marine DNA viral macro- and microdiversity from pole to pole[J]. Cell, 2019, 177(5): 1109-1123.e14.
- 32 GONG Z, LIANG Y, WANG M, et al. Viral diversity and its relationship with environmental factors at the surface and deep sea of Prydz Bay, Antarctica[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2981.
- 33 YANG Q W, GAO C, JIANG Y, et al. Metagenomic characterization of the viral community of the South Scotia Ridge[J]. Viruses, 2019, 11(2): 95.
- 34 ALARCÓN-SCHUMACHER T, GUAJARDO-LEIVA S, ANTÓN J, et al. Elucidating viral communities during a phytoplankton bloom on the West Antarctic Peninsula[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1014.
- 35 SCHOEMANN V, BECQUEVORT S, STEFELS J, et al. *Phaeocystis* blooms in the global ocean and their controlling mechanisms: A review[J]. Journal of Sea Research, 2005, 53(1-2): 43-66.
- 36 GOWING M M. Large viruses and infected microeukaryotes in Ross Sea summer pack ice habitats[J]. Marine Biology, 2003, 142(5): 1029-1040.
- 37 LUHTANEN A M, ERONEN-RASIMUS E, KAARTOKALLIO H, et al. Isolation and characterization of phage-host systems from the Baltic Sea ice[J]. Extremophiles, 2014, 18(1): 121-130.
- 38 GOWING M M, RIGGS B E, GARRISON D L, et al. Large viruses in Ross Sea late autumn pack ice habitats[J]. Marine Ecology Progress Series, 2002, 241: 1-11.
- 39 PATERSON H, LAYBOURN-PARRY J. Antarctic sea ice viral dynamics over an annual cycle[J]. Polar Biology, 2012, 35(4): 491-497.
- 40 陈建芳, 金海燕, 李宏亮, 等. 北极快速变化对北冰洋碳汇机制和过程的影响[J]. 科学通报, 2015, 60(35): 3406-3416.
- 41 陈立奇, 高众勇, 杨绪林, 等. 北极地区碳循环研究意义和展望[J]. 极地研究, 2004, 16(3): 171-180.
- 42 孙立广. 中国的极地科技: 现状与发展刍议[J]. 人民论坛·学术前沿, 2017(11): 16-23.
- 43 冷疏影, 李薇, 李克强, 等. 2018 年度海洋科学与极地科学基金项目评审与资助成果分析[J]. 地球科学进展, 2018, 33(12): 1305-1313.
- 44 叶滨鸿, 程杨, 王利, 等. 北极地区地缘关系研究综述[J]. 地理科学进展, 2019, 38(4): 489-505.
- 45 DE CORTE D, SINTES E, YOKOKAWA T, et al. Changes in viral and bacterial communities during the ice-melting season in the coastal Arctic (Kongsfjorden, Ny-Ålesund)[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(7): 1827-1841.
- 46 WINTER C, MATTHEWS B, SUTTLE C A. Effects of environmental variation and spatial distance on bacteria, Archaea and viruses in sub-polar and arctic waters[J]. The ISME Journal, 2013, 7(8): 1507-1518.
- 47 AGUIRRE DE CÁRCER D, LÓPEZ-BUENO A, PEARCE D A, et al. Biodiversity and distribution of polar freshwater DNA viruses[J]. Science Advances, 2015, 1(5): e1400127.
- 48 ROHWER F, EDWARDS R. The Phage Proteomic Tree: A genome-based taxonomy for phage[J]. Journal of Bacteriology, 2002, 184(16): 4529-4535.
- 49 PAYET J P, SUTTLE C A. Viral infection of bacteria and phytoplankton in the Arctic Ocean as viewed through the lens of fingerprint analysis[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2014, 72(1): 47-61.
- 50 ZEIGLER ALLEN L, MCCROW J P, ININBERGS K, et al. The Baltic Sea virome: Diversity and transcriptional activity of DNA and RNA viruses[J]. mSystems, 2017, 2(1): e00125-16. DOI:10.1128/msystems.00125-16.
- 51 LUHTANEN A M, ERONEN-RASIMUS E, OKSANEN H M, et al. The first known virus isolates from Antarctic sea ice have complex infection patterns[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2018, 94(4): fty028.
- 52 SENČILO A, LUHTANEN A M, SAARIJÄRVI M, et al. Cold-active bacteriophages from the Baltic Sea ice have diverse genomes and virus-host interactions[J]. Environmental Microbiology, 2015, 17(10): 3628-3641.

- 53 ROUX S, HALLAM S J, WOYKE T, et al. Viral dark matter and virus-host interactions resolved from publicly available microbial genomes[J]. *eLife*, 2015, 4: e08490.
- 54 KRISHNAMURTHY S R, WANG D. Origins and challenges of viral dark matter[J]. *Virus Research*, 2017, 239: 136-142.
- 55 SIMMONDS P, ADAMS M J, BENKŐ M, et al. Virus taxonomy in the age of metagenomics[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(3): 161-168.
- 56 李洪波. 极地浮游病毒的研究进展[J]. *极地研究*, 2012, 24(4): 415-422.

## Progress of metagenomic analysis of marine viromes in polar regions

Zhou Xinhao<sup>1</sup>, Liang Yantao<sup>1</sup>, Andrew McMinn<sup>1,2</sup>, Wang Min<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Frontiers Science Center for Deep Ocean Multispheres and Earth System, Key Lab of Polar Oceanography and Global Ocean Change, Institute of Evolution and Marine Biodiversity, College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

<sup>2</sup> Institute for Marine and Antarctic Studies, University of Tasmania, Hobart, Tasmania 7001, Australia)

### Abstract

The two poles occupy 14% of the surface area of the Earth's biosphere, and together form the unique frozen cryosphere on Earth. Antarctica is an extremely large continent surrounded by the Southern Ocean, affected by the Antarctic Circumpolar Current. In contrast, the Arctic is composed of the Arctic Ocean surrounded by continents of Europe, Asia, and North America, and many scattered islands. The polar marine biosphere mainly includes two ecosystems: sea water and sea ice; sea ice is a unique ecosystem that exists in the polar regions. The polar oceans, sea ice, subglacial lakes and other environments contain many unknown viruses and their host microbial communities, which are an important driving force of global biogeochemical cycles. This article reviews the progress of viral diversity in the marine environments of the Arctic and Antarctica over the past two decades, which has been mainly unveiled by metagenomic technology. To date, our knowledge of dsDNA viromes has been significantly improved, however, our knowledge of ssDNA and RNA viromes is still very limited in polar marine environments. In general, our understanding of polar marine viruses is still in its infancy, and many novel scientific issues related to polar marine viruses need to be studied in more detail.

**Keywords** polar region, ocean, sea ice, virus, diversity, metagenomics