



深部生物圈病毒研究进展与展望

陈虹, 蔡兰兰, 焦念志*, 张锐*

厦门大学海洋微生物与地球圈层研究所, 海洋与地球学院, 近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361102

* 联系人, E-mail: jiao@xmu.edu.cn; ruizhang@xmu.edu.cn

2018-06-21 收稿, 2018-07-28 修回, 2018-07-31 接受, 2018-08-27 网络版发表

国家自然科学基金(41522603, 31570172)、青岛海洋科学与技术国家实验室项目(QNLM2016ORP0303)和中国大洋矿产资源研究开发协会项目(DY135-E2-1-04)资助

摘要 病毒是地球上丰度最高的生命形式, 广泛分布于包括深部生物圈在内的各种环境中. 病毒通过侵染微生物宿主影响其生态特征、生态过程和生物地球化学循环, 被称为“全球尺度过程的纳米尺度推动者”. 然而, 病毒在深部生物圈中的生态功能和生物地球化学作用仍是一个“黑箱”. 本文综述了深部生物圈病毒的研究进展, 包括病毒在典型深部生物圈环境中的分布规律和环境调控因素、多样性和群落结构、生活方式和活性、与宿主相互作用、生态效应和生物地球化学意义. 在此基础上, 对深部生物圈病毒在生物学、生态学和生物地球化学方面的研究方向提出建议, 以期促进深部生物圈病毒学科的发展.

关键词 深部生物圈, 综合大洋钻探计划, 病毒, 生态功能

病毒是地球上丰度最高的生命形式, 广泛分布于各种环境中. 海洋中病毒的总数量可达 10^{30} ^[1,2], 其丰度占据了海洋全部生物体的90%之多, 其中绝大部分为侵染原核生物的病毒^[3]. 作为地球生态系统的重要成员, 病毒在物质循环、能量流动、群落结构、物种间遗传物质的转移以及气候变化等方面都起着重要的调控作用. 病毒可以侵染地球上的一切细胞生命, 甚至一些大的病毒也可以被病毒侵染^[4,5]. 病毒对细菌的裂解作用是造成海洋细菌死亡的重要因素, 贡献了细菌死亡率的40%~60%^[1,2,6,7]. 海洋初级生产力的20%左右经由病毒裂解回到海洋溶解有机碳库并进行再循环^[2]. 病毒通过感染和裂解宿主影响其丰度、生产力、群落结构和多样性等生态特性, 从而影响物质和能量在微生物食物网中的流动. 因此病毒被称为“全球尺度过程的纳米尺度推动者”^[8]. 病毒的多样性极高, 是地球上最大的未知基因库之一. 此外, 凭借与宿主的相互作用, 病毒在宿主的水平基因转移以及进化等方面也有不可忽视的影响.

深部生物圈是指海底表面及陆地以下、不以光合作用为氧化还原反应能量来源的黑暗生物圈, 主要由微生物构成. 本文从病毒丰度、多样性、生活方式、生态功能和病毒-宿主相互作用等方面综述近年来深部生物圈病毒相关研究的进展, 讨论病毒在深部生物圈中生态效应和生物地球化学循环意义, 同时在现有研究的基础上对深部生物圈病毒未来相关研究进行展望.

1 深部生物圈病毒的生态特性

1.1 深部生物圈病毒的丰度

1.1.1 深部生物圈中病毒的丰度及变化

相对于深部生物圈的细菌和古菌, 病毒的相关研究起步较晚, 目前主要依赖于大洋钻探计划, 只在全球范围内为数不多的地点进行了采样研究(图1). 最早的报道来自于2001年Bird等人^[9]用Yo-Pro染料对富含有机物的加拿大Saanich Inlet沉积物中的病毒进

引用格式: 陈虹, 蔡兰兰, 焦念志, 等. 深部生物圈病毒研究进展与展望. 科学通报, 2018, 63: 3911–3919

Chen H, Cai L L, Jiao N Z, et al. Viruses in the deep biosphere: A review (in Chinese). Chin Sci Bull, 2018, 63: 3911–3919, doi: 10.1360/N972018-00612

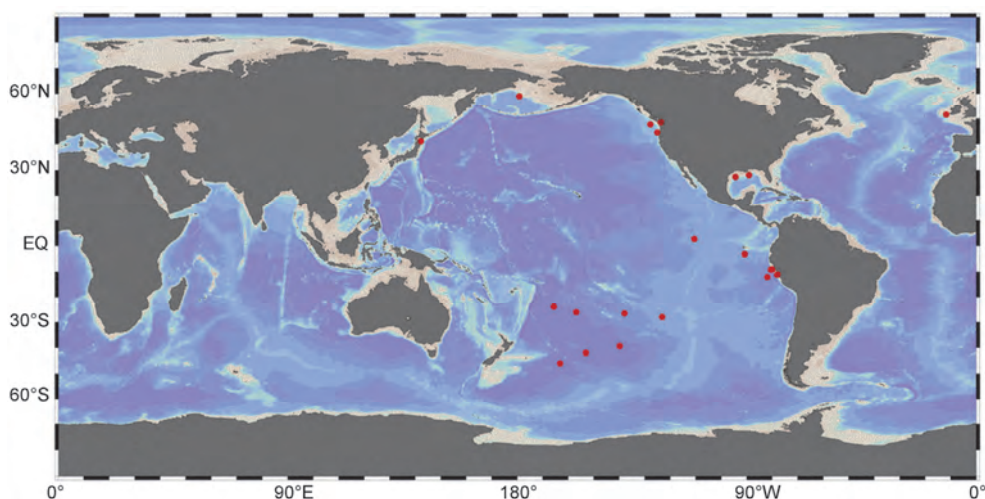


图1 深部生物圈病毒研究采样点. 航次(站位): ODP Leg 169S(1033B和 1034B)^[9]; IODP 307(U1317)^[10]; ODP Leg 201(1225, 1226, 1227, 1228, 1229, 1230 和 1231)^[11]; IODP 329 (U1365, U1366, U1367, U1368, U1369, U1370 和U1371), IODP 323(U1344)^[13]; ODP Leg 204(1251), IODP 308(U1320A和U1320B)^[12]; IODP 327(1364A和 1362B)^[14]. 采用Ocean Data View(ODV)软件绘图

Figure 1 Sampling sites for virus research in deep biosphere. Voyage(Sites): ODP Leg 169S(1033B, 1034B)^[9]; IODP 307(U1317)^[10]; ODP Leg 201(1225, 1226, 1227, 1228, 1229, 1230, 1231)^[11]; IODP 329(U1365, U1366, U1367, U1368, U1369, U1370, U1371), IODP 323(U1344)^[13]; ODP Leg 204(1251), IODP 308(U1320A, U1320B)^[12]; IODP 327(1364A, 1362B)^[14]. Picture made by Ocean Data View(ODV)

行了计数(ODP Leg 169S), 发现在深达100 m以下的沉积物中类病毒颗粒(virus-like particle, VLP)丰度也可达到 10^9 VLP/g, 且病毒丰度与微生物丰度显著相关. 通过综合大洋钻探计划(Integrated Ocean Drilling Program, IODP)307航次, Middelboe等人^[10]于2011年检测了北大西洋Porcupine Seabight海区深达96 m的完整沉积物柱中微生物的丰度, 结果显示病毒和原核生物颗粒的丰度随着沉积物的深度呈指数下降, 从4 mbsf(meters below seafloor)的 1.0×10^8 VLP/cm³, 3.8×10^6 细胞/cm³到深部96 mbsf的 4.9×10^6 VLP/cm³, 9.8×10^5 细胞/cm³. ODP Leg 201中, 在秘鲁边缘和东赤道太平洋地区海底沉积物样品中(深至320 mbsf), 病毒丰度高达 $1.6 \times 10^6 \sim 5.7 \times 10^8$ VLP/cm³^[11]; 来自西北太平洋Shimokita Peninsula近海深部沉积物样品(0.9~363 mbsf)中病毒丰度为 $1.6 \times 10^4 \sim 7.6 \times 10^6$ VLP/cm³^[12]; IODP航次Leg 323, 白令海峡陆坡沉积物中病毒丰度随深度的增加(7.5~288 mbsf)而减少, 范围在 $1.01 \times 10^8 \sim 7.16 \times 10^5$ VLP/cm³. IODP 329航次中, 寡营养的South Pacific Gyre沉积物病毒丰度从表层的 10^7 VLP/cm³到深部95 mbsf减少2~3个数量级^[13]. 不仅深部沉积物中含有高的病毒丰度, 在海底地下热液中也检测到大量病毒颗粒的存在. 2017年, 有研究发现在东北太平洋的Juan de Fuca Ridge东部的大洋基底热流样品(分别为528和359 mbsf)中, 病毒颗粒的平

均丰度为 9×10^4 VLP/cm³^[14], 该采样点上部覆盖了厚度达到240 m的沉积物, 阻止了海底地下热液与上覆海水的交换, 意味着热流中的病毒极有可能是原生的并且活跃的群落. 最新的估计表明, 海洋深部生物圈的病毒总数可达 5×10^{30} VLP, 在陆地深部生物圈约为 2×10^{30} VLP^[15]. 综合仅有的几篇研究表明, 与原核生物细胞一样, 病毒也广泛分布于深部生物圈, 且具有较高的丰度, 丰度范围为 $10^4 \sim 10^{10}$ VLP/cm³, 一般随深部的增加呈降低趋势, 不同深部环境病毒丰度随深度的变化不一(图2).

1.1.2 深部生物圈病毒丰度与宿主丰度的关系

病毒与原核生物丰度之间的比值(virus-to-prokaryote ratio, VPR)是用于研究特定环境中病毒和原核生物之间关系的一个有效信息, 常作为一个指标来表示特定生态系统中病毒粒子对宿主的侵染率. 一般来说, 高VPR值归因于高且持续的病毒活性, 即高的病毒生产力和低的病毒降解率; 相反, 低比值则被解释为病毒活性减弱、病毒移除速率或病毒降解率高.

在深部生物圈中, 已报道最低的VPR值为0.001^[12], 最高的为225^[13], 平均为12.1, 相对水体中的平均VPR值(10~25)略低(图2). 低VPR值可能是深部环境具有高的原核生物丰度即高的原核生物生产力, 或高的病毒降解率; 也可能是因为深部环境处在稳定的状态, 其中原核生物活性低, 或是病毒侵染原

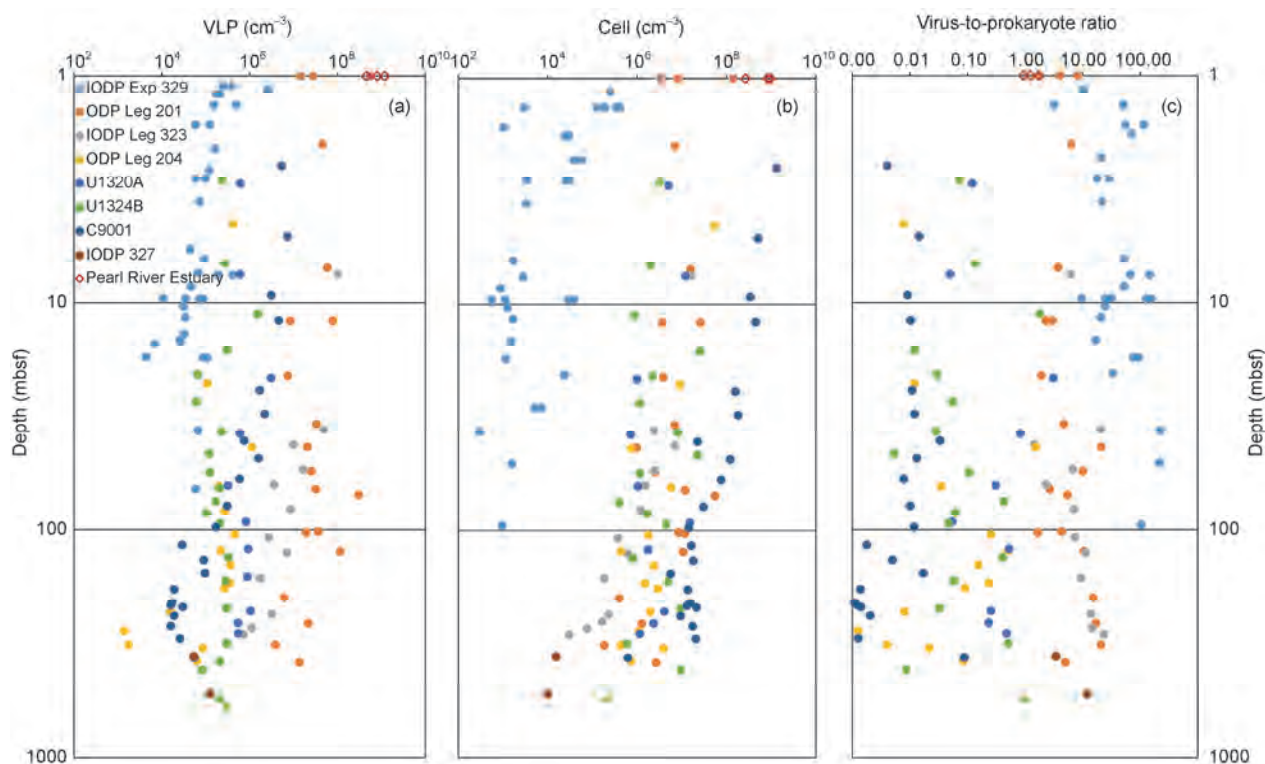


图2 深部生物圈病毒丰度(a), 原核生物丰度(b), VPR(c)的垂直分布图。数据来源: 棱形代表中国珠江口表层沉积物数据^[16]; ODP Leg 201^[11]; IODP Exp 329, IODP Leg 323^[13]; ODP Leg 204, U1320A, U1324B, C9001^[12]; IODP 327^[14]

Figure 2 Abundance of viruses (a) and prokaryotes (b) and VPR (c) in deep biosphere. Data from that surface sediment of the Subtropical Pearl River Estuary(diamond)^[16], ODP Leg 201^[11], IODP Exp 329, IODP Leg 323^[13], ODP Leg 204, U1320A, U1324B, C9001^[12], IODP 327^[14]

宿主的活动有利于那些不被噬菌体侵染的原核生物类群的繁殖, 从而降低了VPR值。此外, 病毒在深部生物圈的生存策略, 尤其是溶源性感染, 对其中的微生物群落和病毒生产都有重要的影响, 进而影响VPR值。

为数不多的进行了病毒丰度调查的深部环境各有自身的特点, VPR值也不一样。例如, 加拿大Saannich Inlet沉积物中的病毒和原核生物丰度随着深度的增加减少了25倍, 但其在垂直尺度上严格地保持相对恒定的VPR值(约为3), 表明沉积物中病毒和宿主的保存能力相当, 病毒移除率低, 且有恒定的宿主裂解率。图2(c)中, ODP Leg 204, U1320A, U1324B及C9001的数据均来自于Yanagawa等人^[12]的研究, 绝大部分层位样品的VPR值都低于0.1, 平均值为0.21, 实际上这四个站位的病毒丰度并不比其他研究报道的深部病毒丰度低, 导致普遍低VPR值的可能原因是病毒和原核生物计数方法与其他研究的不同。Yanagawa等人^[12]将沉积物处理成悬浊液并进行离心, 然后用0.2 μm 孔径的滤头过滤上清液, 滤液制片用于病毒的观察, 原核生物计数则是直接将处理后

的悬浊液过滤在0.2 μm 孔径的聚碳酸酯膜上用于染色计数, 这样还附着在沉积物上及大粒径的病毒颗粒被计数为原核生物细胞, 从而降低了VPR值。显然, 目前环境、特别是深部生物圈病毒的计数方法存在问题, 样品前处理也尚未统一。虽然常用的荧光显微镜计数法(epifluorescence microscopy, EFM)的样品处理过程简单, 与透射电子显微镜法(transmission electron microscopy, TEM)及流式细胞计数法(flow cytometry, FCM)相比, 能提供更加精确和高效率的计数, 但是深部环境样品本身高度复杂, 来自于背景荧光信号的干扰强。同时, 样品物化性质各异(例如高黏度、高致密性、高温和高酸碱度等), 导致病毒和原核生物颗粒不易保存以及计数时洗脱难度增加, 这些因素都限制了深部生物圈病毒的研究。

需要特别指出的是, VPR值仅代表在特定时间和特定环境中, 游离病毒颗粒相比于其宿主细胞的数值, VPR值的解释需要结合更多其他的信息。目前关于深部生物圈病毒研究的数据还十分有限, 因此, 使用VPR来推断深部生物圈病毒和宿主之间的关系

(如病毒动力学和裂解的重要性)时需要十分谨慎。

1.1.3 影响深部生物圈病毒种群规模的因素

在深部生物圈病毒的早期研究阶段,人们对病毒的来源、活性和病毒对宿主的动态变化影响认识有限。深部病毒是来源于上覆水体的沉降,还是由原位细胞裂解产生,或是二者共同产生,并不清楚。但是任何生态环境中的病毒种群规模是其生产、保存和降解过程的总和。在深部生物圈环境中,病毒的生产主要与微生物的生长代谢活动有关,病毒颗粒从环境中的移除则主要是通过通过与颗粒的不可逆结合及蛋白酶和核酸酶的消化。而这些生化因素又主要受深部环境的总有机碳(total organic carbon, TOC)含量、孔隙率、孔隙水含量、沉积速率和温度等物理性质的影响。

具有高TOC含量的深部环境中,微生物代谢活性高,从而也导致微生物群落中较高的病毒产量,例如在高TOC含量的Saanich Inlet沉积物中病毒颗粒丰度较高($>10^9$ VLP/g)^[9]。海底地下热流形成了一个巨大的深部生态系统,这种高温环境对微生物群落生产的热刺激,也许可以促进细胞增殖和病毒生产^[14]。由于化学运输和栖息空间的限制,海底深部沉积物中的孔隙对微生物活动也起着重要作用^[17-19],孔隙连通性的缺乏限制了微生物细胞的移动,产生了空间隔离,并最终影响了海底地下沉积中微生物群落的遗传和生理多样性。此外,孔隙水可以运输深部微生物在不同层位流动,沉积物-细胞相互作用可引起微生物细胞膜的刺穿或拉伸破坏,因此,孔隙率的高低、孔隙大小及孔隙水含量可能影响海底沉积环境中病毒宿主细胞生态功能,进而成为影响病毒生产的一个重要因素。研究表明Shimokita Peninsula近海海底病毒丰度与原核生物丰度随着深度的增加而减少,与沉积物孔隙率(63%~85%)呈正相关^[12]。但在北大西洋Procubine Seabight海区的研究发现,沉积物孔隙率(0.51%~0.41%)随着深度的增加而减少,与病毒和原核生物细胞丰度不存在显著相关性^[10]。相比于原位病毒生产,病毒的保存对病毒的丰度也具有重要的意义。快速的沉积速率和成岩作用,增加了沉积物对病毒颗粒的吸附作用,更有利于病毒在深部环境的保存。虽然病毒丰度在深部环境一般随沉积物深度的增加而降低,然而在墨西哥湾,高速沉积效率形成了很厚的沉积物,对病毒颗粒起着重要的保存作用,海底深部沉积物中(0.064 Ma, 600 mbsf)也保持恒定的高丰度的病毒颗粒^[12],这也说明深部病毒群

落可以保存在古老的地质环境。沉积物的低孔隙率会减少病毒和宿主的相互作用,帮助病毒在其中的长期保存,同时也降低病毒颗粒与环境中酶的接触从而降低病毒降解率。因此,深部病毒群落规模是其受多种环境因素影响的生产和移除的平衡的体现。

1.2 深部生物圈病毒的多样性

1.2.1 深部生物圈病毒的形态多样性

病毒衣壳的大小和形状是病毒形态多样性的一个重要指标。目前,对深部生物圈病毒形态的认识主要来自于透射电子显微镜的观察结果。形态研究结果表明,海洋浮游病毒的大小通常在20~200 nm,其中30~60 nm范围内占到总数的65%以上^[20]。深部生物圈病毒的大小范围更为广泛,具有不少大粒径的病毒颗粒^[21]。

在深部生物圈环境中,除了观察到多种常见的属于无囊膜包裹的衣壳和尾部形态大小不一的有尾病毒目(包括短尾病毒科、长尾病毒科和具有可收缩尾部的肌尾病毒科)的典型浮游病毒形态,还观察到丝状、杆状、纺锤状和棒状等多种特殊的病毒类群颗粒。这些病毒大多属于噬藻体、真核藻类病毒及噬菌体。除此之外,深部生物圈中还观察到一些新颖的病毒类群形态,在法国中央高地的Pavin Lake最深处采集的沉积物柱中,观察到包括球面和立方体状的病毒形态,与高温高盐极端环境中古菌病毒相似的纺锤状和带中央腔的棒状病毒类群,及多种带外壳的病毒类群^[21]。Nigro等人^[14]在海底地下热液(528和359 mbsf)中观察到有尾和无尾的二十面体形态病毒颗粒,还有无尾球形、柠檬形、棒状和纺锤状等形态病毒颗粒(图3),其中柠檬状和棒状的病毒在极端环境(例如黑烟囱)中具有较高丰度。同时在浮游病毒中较少出现的RNA和单链DNA(ssDNA)病毒在沉积物中却普遍存在^[22,23]。大部分深部生物圈环境与上覆沉积物或水体相互影响较小,具有相对封闭和稳定的深部环境特征,在其中观察到的多种新型的病毒形态在水体环境中都鲜有报道,表明这些特定的病毒类群很有可能起源于深部环境并具有一定的活性。

1.2.2 深部生物圈病毒的基因多样性

深部生物圈病毒遗传多样性主要通过高通量测序技术为基础的组学进行研究。宏转录组分析表明,在厌氧的Peru Margin深部沉积物(0~159 mbsf)中主要的病毒类群包括丝状病毒科(Inoviridae)及有尾病毒目

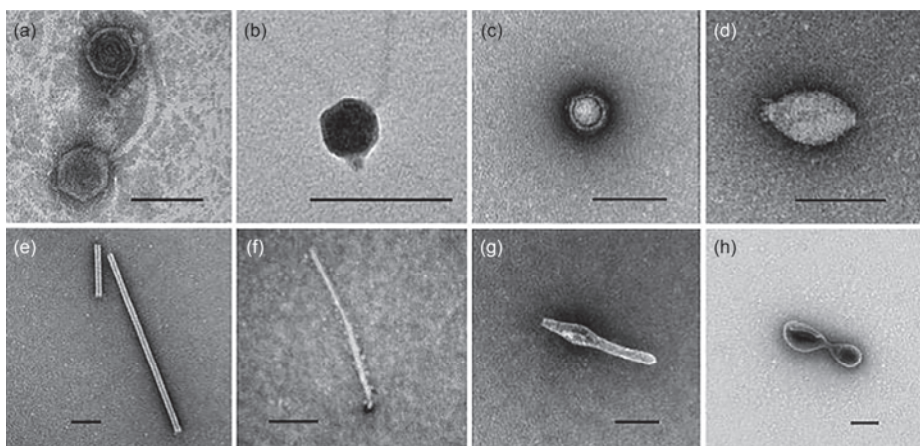


图3 玄武岩地壳热液流中的病毒形态. 钻孔U1362A样品获得的病毒电子显微镜照片(a~h), 包括相似有尾病毒目病毒(a和b), 无尾病毒(c), 类似于双尾病毒科或纺锤病毒科的柠檬状病毒(d), 相似于古病毒科的棒状病毒(e), 相似于分离自古菌的丝状病毒(f)和纺锤形病毒(g), 以及在病毒大小范围内重复观察到的二分裂结构(h), 二分裂结构不同于任何已分类的病毒形态, 可能是新型病毒或是囊泡. 标尺长度为 100 nm^[14]

Figure 3 Morphologies of viruses observed in basalt-hosted crustal fluid. (a–h) Electron micrographs of particles harvested from borehole U1362A revealed tailed viruses similar to members of the order *Caudovirales* (a and b), untailed viruses (c), lemon-shaped viruses resembling members of the family *Bicaudaviridae* or *Fuselloviridae* (d), rod-shaped viruses resembling members of the family *Rudiviridae* (e), and other particles resembling filamentous (f) or spindle-shaped (g) viruses isolated from *Archaea*. Bilobate structures in the viral size range (h) were repeatedly observed, but they were unlike any classified viruses. These might represent a novel virus or may be membrane vesicles. Bars, 100 nm^[14]

(Caudovirales)的短尾病毒科(Podoviridae)、长尾病毒科(Siphoviridae)、肌尾病毒科(Myoviridae), 而隶属脂毛病毒科(Lipothrixviridae)、小杆状病毒科(Rudiviridae)和双尾病毒科(Bicaudaviridae)的古菌病毒在0~30 mbsf沉积物都有分布^[24]. 在2.5 km深的页岩气压裂液生态系统, 宏基因组分析获得了331个病毒contig (包括21个封闭的环状病毒基因组), 所有病毒contig中有86%属于有尾病毒目(主要有44%的肌尾病毒科和26%的长尾病毒科), 有34个病毒contig可以与假单胞菌属(*Pseudomonas*)、盐厌氧菌属(*Halanaerobium*)、暗杆菌属(*Pelobacter*)、弓形杆菌属(*Arcobacter*)、甲烷叶菌属(*Methanolobus*)和海杆菌属(*Marinobacter*)的细菌基因组匹配^[25]. 海底地下热液(528和359 mbsf)的宏基因组分析发现了多种多样侵染古菌和细菌的病毒类群, 主要包括有尾病毒目和dsDNA病毒(*Bicaudaviridae*, *Sphaerolipoviridae*, *Turriviridae*), 但是大部分序列与已知的病毒序列差异大, 表明在高温、流动变化快的海底地下热液流中存在着多种新型病毒类群^[14]. 以上研究都显示深部生物圈病毒包含丰富的遗传多样性, 但是由于数据库的限制, 深部生物圈病毒目前仍是一个巨大的未知病毒基因库.

1.3 深部生物圈病毒的生活方式及活性

病毒的生存必须依靠宿主细胞, 通过侵染宿主

并利用其胞内的能量和物质进行繁殖, 病毒的生活方式主要包括裂解性感染(lytic)、溶源性感染(lysogenic)和慢性感染(chronic). 全球深海表层沉积物中, 病毒具有很高的裂解活性, 病毒介导的原核生物死亡率平均高达80%, 且随着水深的增加而增加^[26]. 深部生物圈病毒在如此极端的环境是否还有活性引起人们的广泛兴趣. Engelhardt等人^[13]认为在南太平洋环流区海底相对较浅的沉积物中, VPR值约为10表明病毒的产生和死亡的短期平衡, 而在更深、更贫营养、微生物活性更低的深部沉积层(100 mbsf), VPR持续增加(甚至高达225), 表明持续进行的病毒生产. 在深部沉积物(159 mbsf)中, 通过宏转录组分析也检测到了指示病毒生产活动的代表性病毒同源物(representative viral homologues, RVHs)^[24]. 这些研究都表明病毒群落在深部生物圈中可能具有很高的活性, 但是目前还没有这些病毒活性的实测数据.

在不利于宿主群落生长的环境, 病毒更倾向选择溶源性. 例如水体环境中病毒溶源性主要出现在冬季月份, 即微生物活性较低的季节^[27]. 已有研究表明溶源性是深部生物圈病毒的重要生活方式, 有助于病毒适应宿主数量相对较少、活性较低的深部生物圈环境^[28]. 在深部生物圈中, 噬菌体和宿主细胞的流动性在高度致密的沉积物中受到极大的限制, 加之沉积物中低密度的宿主细胞分布大大降低了病

毒与宿主的接触率,也不足以支撑病毒的裂解繁殖,故推测前噬菌体(prophage)的自然诱导可能是深部沉积物中病毒产生的主要来源.宏转录组分析发现,在大陆边缘海底深部沉积物中,指示溶源性病毒和宿主相互作用及病毒裂解活动的RVHs从表层到深部159 mbsf的沉积物中都能检测到^[24].在细菌基因组中的前噬菌体整合可以关闭宿主基因^[29],以帮助宿主节约能量,这对于宿主在深部沉积物中的生存尤其重要^[30].Engelhardt等人^[31]利用在深层沉积物中丰度高的且最常在实验室分离得到的放射型根瘤菌去确认与其伴生的温和性根瘤菌噬菌体的丰度,发现从秘鲁沿岸到赤道东太平洋开阔海域等站位的深海沉积物(ODP Leg 201)各层位样品中,温和型噬菌体占有病毒丰度的14.3%,这也说明溶源现象是深部病毒群落的主要繁殖模式.

2 深部生物圈病毒-宿主相互作用

深部生物圈中的微生物群落在生活环境中与其他圈层中的微生物群落形成了隔离,能量限制和黑暗条件使它们在极端环境中形成了独特的生存方式.然而由于环境特殊,分离培养土著深部微生物技术的限制,及实验室模拟深部原位环境的困难,目前关于深部病毒和宿主相互作用的直接研究还很少,只能从已有的深部微生物宏基因数据中了解一二.

来自海底地下的热液环境可以作为窗口,用来研究深部生物圈的病毒-宿主相互作用.运用鸟枪宏基因测序,从西太平洋Eastern Lau Spreading Center和加利福尼亚湾Guaymas Basin的热液喷口羽流样品中获得18个病毒基因组,其中有15个包含编码反向异化型亚硫酸还原酶 α 和 γ 亚基的辅助代谢基因,分析表明这一基因来源于病毒的选择性保留,可帮助补充或维持其宿主体内的硫氧化代谢以便保证持续的病毒侵染和复制活动^[32].这种病毒宿主相互作用机制与之前报道的蓝藻噬菌体内的核心光合作用基因和其他微生物来源的辅助代谢基因(例*psbA*, *psbD*和*mazG*)的意义相似^[33,34].对深海热液喷口的病毒和微生物宏基因分析也表明,病毒基因不仅参与大多数的微生物代谢途径,而且在微生物代谢中形成分支途径,参与包括嘧啶代谢,丙氨酸、天门冬氨酸和谷氨酸代谢,双组分系统的氮代谢和同化途径,硒氨基酸代谢,氨基酰基-tRNA生物合成,氨基糖和核苷酸糖代谢,这种病毒介导的宿主代谢补偿对增强宿

主在极端环境的适应性及生存力具有很大的帮助^[35].此外,有研究从南非Witwatersrand Basin 3000 m深的裂隙水中获得了5个金矿菌(*Candidatus Desulfurudis audaxviator*),单细胞基因组分析发现它们有一个转座前噬菌体、一个反转座转录子、多种规律成簇的间隔短回文重复(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)和限制性修复系统及高频率的转座酶,这表明在稳定的深部环境中,重组、水平基因转移和病毒侵染可能是微生物群落的普遍进化事件^[36].深部页岩气压裂液生态系统中,时间序列样品的宿主宏基因组分析发现CRISPRs和新的间隔序列(spacer)随着时间的增加而增加,表明在这个深部生物圈中有活跃的病毒侵染活动和宿主获得性免疫过程,病毒通过自上而下(top-down,如侵染并裂解宿主)和自下而上(bottom-up,如裂解宿主并释放细胞内含物)同时控制压裂液中的微生物群落^[25].同时,有研究发现,在生物可利用有机质受到限制的深部沉积物中,放射型根瘤菌所占总原核生物丰度的比值随着沉积深度的增加而增加,具有代谢多样性特点的放射型根瘤菌之所以能在条件不利的深部环境中占据一定优势与其伴生的温和型噬菌体密切相关^[31].总之,在极端的深部环境中,病毒通过裂解和溶源途径,不仅帮助和促进宿主的代谢活动,对宿主的多样性和进化也具有重要的作用.

3 深部生物圈病毒的生态效应和生物地球化学意义

一般的海洋环境中,原生生物介导的捕食和病毒介导的裂解是微生物生物量和群落的两大主要下行(top-down)控制因素.在一些不利于原生动物生存的环境中(如深海及沉积物中),病毒介导的原核生物死亡率会远远超过捕食作用所导致的原核生物死亡率.有研究表明,随着海水深度的增加,病毒介导的微生物死亡率逐渐升高;特别是在水深超过1000 m的表层沉积物中,几乎全部的微生物死亡是由病毒裂解贡献的^[26].此外,有研究发现在深海表层沉积物中(1000~10000 m水深)病毒对古菌的侵染率大于对细菌的侵染率,在0~50 mbsf的海洋沉积物,古菌丰度占原核生物总丰度的12%,而被病毒裂解的原核生物总生物量中,古菌的贡献高达1/3,导致了全球每年约0.3~0.5 Gt C(1 Gt C=10¹⁵ g碳)的释放^[37].而在深部生物圈中,体积较大的原生生物数量随着深度的增加而急剧减少甚

至消失,捕食作用变得微不足道^[38].因此在深部生物圈环境中,病毒裂解就很可能作为原核生物最主要的致死因子,调控着微生物群落的组成.

深部沉积物中的有机碳含量低,并随着沉积深度的增加,难以利用的惰性有机物不断累积,限制了沉积物中原核生物的繁殖和新陈代谢活动,深部生物圈中的生物面临着严峻的营养限制.在缺乏其他有机碳和营养输入的情况下,沉积物中的病毒回路可能是原核生物生存所需物质和能量的主要来源,作为原核生物群落的上行控制因素发挥调控作用.据估计,全球总生物量为550 Gt C,其中分布在深部生物圈约为70 Gt C,在地球上细菌和古菌的总生物量分别约为70和7 Gt C,超过80%分布在深部生物圈^[15].病毒通过侵染和裂解宿主细胞,产生易于扩散的高分子量分解产物,对深部生物圈的营养物质循环和整个群落的有机物代谢起着独特及频繁的刺激作用,是深部生物圈中碳、氮等元素在微生物之间循环的强大推动力.除此之外,如果按照单个病毒粒子的含碳量平均为0.02 fg C计算,深部生物圈病毒可谓一个量级可观的碳库,约为0.14 Gt C^[15],在深部生物圈的碳、氮、磷循环中可能占有重要地位^[39],然而由于研究方法的限制,相关研究十分有限.

4 展望

现今为数不多的研究报道都向我们传递着一个重要的信息:病毒在深部生物圈生态系统中可能扮演着比上层病毒更为重要的角色,病毒及其宿主在深海和深部生物圈的生态功能和生物地球化学作用亟待我们去探索.此外,作为重要的生物资源,深部生物圈病毒不仅为分子生物学研究提供了宝贵的实验材料,也将为人类认知生命的起源进化及在极端环境下生命如何繁衍生息开拓新的视野.发掘有丰富多样性的病毒基因功能,将成为解密病毒微小生命体如何蕴藏巨大生物能量的途径之一.因此,深部病毒的多样性、作用机制及其生态学功能,包括对极端环境的适应、微生物群落的调控及遗传信息表达传递等潜能也亟待研发.然而,相对于其他生命形式,我们对病毒的了解是最少的.深部生物圈病毒研究亟需开展的重点方向主要包括:(1)病毒生态特性(生物量、生产、降解、多样性、群落结构、生活方式等)的系统研究;(2)病毒生态功能和生物地球化学效应(碳、氮、磷、硫循环)的研究;(3)病毒参与的水平基因转移及其对宿主进化的影响;(4)典型病毒的分离培养、生物学研究及其生态环境意义的阐释.

致谢 感谢中国科学院微生物研究所黄力研究员、中国地质大学(北京)董海良教授和中国地质大学(武汉)谢树成教授的建议和讨论.

参考文献

- 1 Suttle C A. Viruses in the sea. *Nature*, 2005, 437: 356–361
- 2 Suttle C A. Marine viruses—Major players in the global ecosystem. *Nat Rev Microbiol*, 2007, 5: 801–812
- 3 Breitbart M, Rohwer F. Here a virus, there a virus, everywhere the same virus? *Trends Microbiol*, 2005, 13: 278–284
- 4 Claverie J M, Abergel C. Mimivirus and its virophage. *Annu Rev Genet*, 2009, 43: 49
- 5 Yau S, Colwell R R. Virophage control of antarctic algal host-virus dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 6163–6168
- 6 Fuhrman J A. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature*, 1999, 399: 541
- 7 Wommack K E, Colwell R R. Virioplankton: Viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000, 64: 69
- 8 Brussaard C P, Wilhelm S W, Thingstad F, et al. Global-scale processes with a nanoscale drive: The role of marine viruses. *ISME J*, 2008, 2: 575
- 9 Bird D F, Juniper S K, Ricciardi-Rigault M, et al. Subsurface viruses and bacteria in Holocene/Late Pleistocene sediments of Saanich Inlet, BC: ODP holes 1033b and 1034b, Leg 169s. *Mar Geol*, 2001, 174: 227–239
- 10 Middelboe M, Glud R N, Filippini M. Viral abundance and activity in the deep sub-seafloor biosphere. *Aquat Microb Ecol*, 2011, 63: 1–8
- 11 Engelhardt T, Sahlberg M, Cypionka H, et al. Induction of prophages from deep-subseafloor bacteria. *Environ Microbiol Rep*, 2011, 3: 459–465
- 12 Yanagawa K, Morono Y, Yoshida-Takashima Y, et al. Variability of subseafloor viral abundance at the geographically and geologically distinct continental margins. *FEMS Microbiol Ecol*, 2013, 88: 60–68
- 13 Engelhardt T, Kallmeyer J, Cypionka H, et al. High virus-to-cell ratios indicate ongoing production of viruses in deep subsurface sediments. *ISME J*, 2014, 8: 1503–1509

- 14 Nigro O D, Jungbluth S P, Lin H T, et al. Viruses in the oceanic basement. *mBio*, 2017, 8: e02129-16
- 15 Bar-On Y M, Phillips R, Milo R. The biomass distribution on earth. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 201711842
- 16 He M, Cai L, Zhang C, et al. Phylogenetic diversity of T4-type phages in sediments from the subtropical pearl river estuary. *Front Microbiol*, 2017, 8: 897
- 17 Boivin-Jahns V, Ruimy R, Bianchi A, et al. Bacterial diversity in a deep-subsurface clay environment. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 62: 3405–3412
- 18 Fredrickson J K, McKinley J P, Bjornstad B N, et al. Pore-size constraints on the activity and survival of subsurface bacteria in a late cretaceous shale-sandstone sequence, northwestern new mexico. *Geomicrobiol J*, 1997, 14: 183–202
- 19 Zhang C, Palumbo A V, Phelps T J, et al. Grain size and depth constraints on microbial variability in coastal plain subsurface sediments. *Geomicrobiol J*, 1998, 15: 171–185
- 20 Weimbauer M G, Peduzzi P. Frequency, size and distribution of bacteriophages in different marine bacterial morphotypes. *Mar Ecol- Prog Ser*, 1994: 11–20
- 21 Borrel G, Colombet J, Robin A, et al. Unexpected and novel putative viruses in the sediments of a deep-dark permanently anoxic fresh-water habitat. *ISME J*, 2012, 6: 2119–2127
- 22 Danovaro R, Serresi M. Viral density and virus-to-bacterium ratio in deep-sea sediments of the Eastern Mediterranean. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66: 1857–1861
- 23 Middelboe M, Glud R N, Finster K. Distribution of viruses and bacteria in relation to diagenetic activity in an estuarine sediment. *Limnol Oceanogr*, 2003, 48: 1447–1456
- 24 Engelhardt T, Orsi W D, Jørgensen B B. Viral activities and life cycles in deep subseafloor sediments. *Environ Microbiol Rep*, 2015, 7: 868–873
- 25 Daly R A, Borton M A, Wilkins M J, et al. Microbial metabolisms in a 2.5-km-deep ecosystem created by hydraulic fracturing in shales. *Nat Microbiol*, 2016, 1: 16146
- 26 Danovaro R, Dell'Anno A, Corinaldesi C, et al. Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems. *Nature*, 2008, 454: 1084–1087
- 27 Williamson S J, Houchin L A, McDaniel L, et al. Seasonal variation in lysogeny as depicted by prophage induction in tampa bay, Florida. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68: 4307–4314
- 28 Williamson S J, Cary S C, Williamson K E, et al. Lysogenic virus-host interactions predominate at deep-sea diffuse-flow hydrothermal vents. *ISME J*, 2008, 2: 1112–1121
- 29 Brussow H, Canchaya C, Hardt W D. Phages and the evolution of bacterial pathogens: From genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2004, 68: 560–602
- 30 Morono Y, Terada T, Nishizawa M, et al. Carbon and nitrogen assimilation in deep subseafloor microbial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 18295–18300
- 31 Engelhardt T, Sahlberg M, Cypionka H, et al. Biogeography of rhizobium radiobacter and distribution of associated temperate phages in deep subseafloor sediments. *ISME J*, 2013, 7: 199–209
- 32 Anantharaman K, Duhaime M B, Breier J A, et al. Sulfur oxidation genes in diverse deep-sea viruses. *Science*, 2014: 1252229
- 33 Breitbart M, Thompson L R, Suttle C A, et al. Exploring the vast diversity of marine viruses. *Oceanography*, 2007, 20: 135–139
- 34 Breitbart M. Marine viruses: Truth or dare. *Annu Rev Mar Sci*, 2012, 4: 425–448
- 35 He T, Li H, Zhang X. Deep-sea hydrothermal vent viruses compensate for microbial metabolism in virus-host interactions. *mBio*, 2017, 8: e00893-17
- 36 Labonté J M, Field E K, Lau M, et al. Single cell genomics indicates horizontal gene transfer and viral infections in a deep subsurface Firmicutes population. *Front Microbiol*, 2015, 6: 349
- 37 Danovaro R, Dell'Anno A, Corinaldesi C, et al. Virus-mediated archaeal hecatomb in the deep seafloor. *Sci Adv*, 2016, 2: e1600492
- 38 Orcutt B N, Sylvan J B, Knab N J, et al. Microbial ecology of the dark ocean above, at, and below the seafloor. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2011, 75: 361–422
- 39 Zhang R, Wei W, Cai L. The fate and biogeochemical cycling of viral elements. *Nat Rev Microbiol*, 2014, 12: 850

Summary for “深部生物圈病毒研究进展与展望”

Viruses in the deep biosphere: A review

Hong Chen, Lanlan Cai, Nianzhi Jiao* & Rui Zhang*

State Key Laboratory of Marine Environmental Science, College of Ocean and Earth Sciences, Institute of Marine Microbes and Ecospheres, Xiamen University, Xiamen 361102, China

* Corresponding authors, E-mail: jiao@xmu.edu.cn; ruizhang@xmu.edu.cn

Viruses, the most abundant biological entities on the planet, are widely distributed in various environments, including the deep biosphere. Via infection, which is frequently followed by lysis of the host cells, viruses play an important role in shaping microbial population structure, impacting the ecological characteristics of their hosts, and breaking up cellular biomass into organic matter, thereby affecting microbial processes and nutrient cycling. Because of these activities, viruses are known as nano-scale drivers of global-scale processes. The deep biosphere, extending hundreds to thousands of meters below the seafloor, harbors by far the largest reservoir of organic carbon and more than half of the world's prokaryotic organisms. However, it remains a “black box” in terms of the ecological characteristics and functions of its resident viruses. To date, only a few studies on viruses in the deep biosphere have been reported, and these mainly originate from the Ocean Drilling Program (ODP) and the Integrated Ocean Drilling Program (IODP). The limited results of these studies show that the abundance of viruses in the deep biosphere is much greater than that in marine environments (10^8 – 10^9 viruses g^{-1} in sediments versus 10^6 – 10^8 viruses mL^{-1} in seawater). In general, viral abundance decreases with an increase in depth, but the Virus-to-Prokaryote Ratio, which is used to predict the relationship between viral and prokaryotic communities, varies greatly among different deep habitats. Viral abundance is affected not only by *in situ* viral production and decay, processes that are usually tightly linked to the productivity of microbial hosts and the activity of extracellular enzymes, but also by the physical, chemical, and geological characteristics of the environment, including temperature, total organic carbon content, sediment porosity, and sedimentation rate, amongst other factors. In addition, virus assemblages in the deep biosphere appear to be both morphologically and genetically more diverse than their aquatic counterparts. Highly diverse morphotypes and unknown virus sequences indicate that there is a huge uncharacterized viral pool in the deep biosphere, which could represent a treasure trove for the future discovery of novel viruses and life-style mechanisms. In addition, analyses of prophage sequences deduced from prokaryotic genomes imply that lysogenic infection should be an important life strategy for viruses, making them more adaptable to the dynamic, and often extreme, deep biosphere environment. These findings have important implications for the potential interactions between viruses and their hosts and for the vital role of viruses in manipulating microbial community structure and evolution in the deep biosphere. However, technical difficulties, which have only recently been at least partially overcome, have limited our ability to study these elusive viruses. The fact is that we have barely begun to characterize the deep virosphere, which is the “dark matter” of the biological world and a tremendous source of future discoveries. The questions of what role viruses play in the deep biosphere, whether and to what extent viruses drive the metabolic functioning and evolution of microbial populations, and how virus populations adapt to deep environments are still open and answering them will require significant amounts of work. The purpose of this review is, therefore, to provide an overview of the current knowledge about viruses (e.g., distribution, diversity, and life cycles) in the deep biosphere. The relationships of viruses with microbial hosts and environmental parameters and the potential ecological importance of viruses in the deep biosphere are discussed. Finally, we put forward some suggestions regarding areas of research that need to be addressed in the future to establish a more complete picture of the ecological and evolutionary significance of viruses in the biosphere.

deep biosphere, Integrated Ocean Drilling Program, virus, ecological function

doi: 10.1360/N972018-00612