

## 真核藻类的病毒和病毒类粒子(VLPs)

赵以军

石正丽

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉 430071)

## Viruses and Virus-like Particles of Eukaryotic Algae

Zhao Yijun

Shi Zhengli

(Institute of Hydrobiology,  
Academia Sinica, Wuhan 430072)(Wuhan Institute of Virology,  
Academia Sinica, Wuhan 430071)

关键词 真核藻类, 病毒, 病毒类粒子

Key words Eukaryotic algae, Virus, Virus-like particles

植物病毒

藻病毒最先是在蓝藻中发现的。Safferman 和 Morris<sup>[1]</sup>用 78 种蓝藻做病毒感染的试验, 结果有 11 株蓝藻被溶解, 这 11 株敏感的藻类分别属于鞘丝藻属(*Lyngbya*), 织线藻属(*Plectonema*)和席藻属(*Phormidium*)三个属, 取这三个属的拉丁文第一个字母, 这类病毒被命名为“LPP”型病毒。七十年代初 Lee<sup>[2]</sup>报道了真核藻类的病毒粒子后, 藻病毒有了大量的研究积累。研究证实原核藻类(蓝藻)病毒同真核藻类病毒无论从形态、结构, 还是从生化性质、感染情况来看都是截然不同的两类病毒; 蓝藻病毒与噬菌体相似, 因此通常将蓝藻病毒称为“噬蓝藻体”(cyanophage)或者“噬藻体”(phycophage), 事实上, 蓝藻的核酸生物化学、细胞亚微结构、细胞壁的组成近似于细菌, 国外一般也将蓝藻称作“蓝细菌”(cyanobacteria); 而真核藻类病毒和病毒类粒子的绝大多数为多角体粒子(polyhedrals particles)。多角体粒子的形态缺乏具体细致的描述。除了近年来小球藻病毒(*Chlorella viruses*)和褐藻类的长囊水云(*Ectocarpus siliculosus*)及费氏藻(*Feldmannia* sp.)等病毒的研究比较详细之外, 真核藻类病毒和病毒类粒子的性质以及感染宿主的情况, 就总体而言, 远不如蓝藻病毒那么清楚。另外, 需要说明的是, 国外文献中对真核藻细胞中具有病毒特征、尚未定性的活性粒子, 一般用“病毒类粒子”(viruslike particles, VLPs)来表述, 据此本文也在需要的地方使用“病毒类粒子”这个词。

## 1 研究情况

## 1.1 发现

真核藻类包括小至单细胞的“微藻”(microalgae)和大至多细胞的“巨藻”(macroalgae)的数量庞大的类群。其中有些藻类与别的生物共生, 如软体动物、扁虫、腔肠类、原生动物及真菌

等。真核藻既是食物链中的初级生产者,同时也是水质的污染者(当其生长失控时)<sup>[3]</sup>。

真核藻类病毒或病毒类粒子的发现可追溯到三十多年前。前苏联的一些文献描述过绿藻门的蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)细胞中,存在一种有溶藻活性的粒子<sup>[4,5]</sup>,由于这种粒子具有噬菌体的特征,所以当时被称作“噬小球藻体”(chlorellophage)。不过这种粒子的分离和鉴定没能完成。

七十年代初期,几乎同时报道了真核藻类中存在病毒类粒子。Lee<sup>[2]</sup>描述过红藻门的滕氏连珠藻(*Sirodotia tenuissima*)体细胞中有一种有活性的大小为50~60 nm的多角体粒子。Pickett Heaps<sup>[6]</sup>描述过鞘藻属(*Oedogonium* sp.)(绿藻门)藻的幼体中有直径为240 nm的多角体粒子,同时Toth和Wilce<sup>[7]</sup>报道褐藻门的通氏绳藻(*Chorda tomentosa*)孢子含有直径170 nm左右的多角体粒子。以后陆续在许多真核藻类的细胞中发现了病毒或病毒类粒子,已知含有病毒或病毒类粒子的真核藻分布在14个已知的真核藻纲中的10个纲中,只有裸藻纲(*Euglenophyceae*)、硅藻纲(*Bacillariophyceae*)、*Raphidophyceae*以及*Tribophyceae*等四个纲没有发现(见表)。

表 真核藻类病毒和病毒类粒子

Table Viruses and virus-like particles of eukaryotic algae  
(Van Etten 等, Microbiological Reviews, 1991, 55:586~620)

宿主名称 Host	病毒在细胞中的分布 Virus distribution in cell	核酸 Nucleic acid	形态特征 Feature	感染和复制情况 Infection and replication
红藻纲 Rhodophyceae				
紫球藻 <i>Porphyridium purpureum</i>	细胞核和细胞质	未知	多角体,直径40 nm	未知
滕氏连珠藻 <i>Sirodotia tenuissima</i>	细胞质	未知	多角体,直径50~60 nm	未知
隐藻纲 Cryptophyceae				
隐藻 <i>Cryptomonas</i> sp.	细胞核和细胞质	未知	在同一细胞中有两种类型: 1)多角体,直径99 nm 2)杆状,长240 nm,头部直径120 nm	
甲藻纲 Dinophyceae				
裸甲藻 <i>Gymnodinium uberrimum</i>	细胞核和细胞质	未知	多角体,直径385 nm	未知
<i>Gyrodinium resplendens</i>	细胞质	未知	有两种类型粒子:1)直径35 nm, 2)直径20 nm	未知
金藻纲 Chrysophyceae				
<i>Chromophysomonas cornuta</i>	细胞质	未知	有两种多角体,直径分别为:1). 50~60 nm, 2). 150~180 nm	未知
类金藻 <i>Chrysophycean-like</i>	细胞质	未知	多角体,直径35 nm	未知
锥囊藻 <i>Dinobryon</i> sp.	细胞质	未知	多角体,直径100 nm	未知
水树藻 <i>Hydrurus foetidus</i>	细胞质	未知	多角体,直径50~60 nm	未知
鱼鳞藻 <i>Mallomonas</i> sp.	细胞质	未知	多角体,直径175 nm	未知
<i>Paraphysomonas caelitifica</i>	细胞质	未知	多角体,直径150~180 nm	未知
<i>Paraphysomonas corynephora</i>	细胞质	未知	三种多角体粒子,直径分别为:1). 50~60 nm, 2). 150~180 nm, 3). 270~300 nm	未知
<i>Paraphysomonas bourrellii</i>	细胞质	未知	两种多角体粒子,直径分别为:1). 50~60 nm, 2). 150~180 nm	未知
定鞭藻纲 Prymnesiophyceae				
金色藻 <i>Chrysochromulina</i> sp.	细胞质	未知	多角体,直径22 nm	未知

(续表)

宿主名称 Host	病毒在细胞中的分布 Virus distribution in cell	核酸 Nucleic acid	形态特征 Feature	感染和复制情况 Infection and replication
钙板金藻 <i>Coccolithus huaiyi</i>	细胞质	未知	多角体, 直径 22 nm	未知
膜胞藻 <i>Hymenomonas carterae</i>				
品系 1	细胞核(?)	未知	多角体, 直径 65 nm	未知
品系 2	细胞质	未知	多角体, 直径 400 nm	未知
黄藻纲 Eustigmatophyceae				
蒜头藻 <i>Monodus</i> sp.	细胞核(?)	未知	多角体, 直径 400 nm	未知
褐藻纲 Phaeophyceae				
绒绳藻 <i>Chorda tomentosa</i>	细胞核(?)	未知	多角体, 直径 170 nm	未知
束枝水云 <i>Ectocarpus fasciculatis</i>	细胞核(?)	未知	多角体, 直径 170 nm	使细胞溶解
长囊水云 <i>Ectocarpus siliculosus</i>	细胞质	双链 DNA	多角体, 直径 130 nm	感染游动孢子
费氏藻 <i>Feldmannia</i> sp.	细胞核(?)	双链 DNA	多角体, 直径 150 nm	只在减数分裂的孢子囊中复制
间囊藻 <i>Pylaeella littoralis</i>	未知	未知	多角体, 直径 130~170 nm	未知
聚果藻 <i>Sorocarpus uvaeformis</i>	细胞质	未知	多角体, 直径 170 nm	有感染性
扭线藻 <i>Streblonema</i> sp.	细胞质	未知	多角体, 直径 135~150 nm	未知
绿枝藻纲 Prasinophyceae				
异毛藻 <i>Heteromastix</i> sp.	细胞核(?)	未知	多角体, 直径 320 nm, 有复杂的膜	未知
<i>Mesostigma viride</i>	细胞质	未知	多角体, 直径 130 nm	未知
<i>Micromonas pusilla</i>	细胞质	双链 DNA	多角体, 直径 130~135 nm	吸附在细胞表面
扁藻 <i>Platymonas</i> sp.	细胞核	未知	多角体, 直径 51~58 nm	未知
塔形藻 <i>Pyramimonas orientalis</i>	细胞核	未知	有两种多角体, 直径分别为: 1). 60 nm, 2). 200 nm	未知
绿藻纲 Chlorophyceae				
<i>Aulacomonas</i> sp.	细胞质(?)	未知	多角体, 直径 200~230 nm, 尾巴长 150~200 nm	未知
威胞藻 <i>Brachiomonas</i> sp.	细胞质(?)	未知	多角体, 直径 380~400 nm, 有的有尾巴(长 500 nm.)	未知
小球藻 <i>Chlorella</i> spp.	未知	未知	多角体, 直径 41 nm, 尾巴长 24 nm 宽 10 nm	未知
小球藻 <i>Chlorella</i> spp.	细胞质	双链 DNA	多角体, 直径 170~180 nm	未知
小球藻 <i>Chlorella</i> NC64A 品系	细胞质	双链 DNA	多角体, 直径 150~190 nm	吸附到细胞壁专一位点并褪掉外壳
小球藻 <i>Chlorella</i> Pbi 品系	细胞质	双链 DNA	多角体, 直径 140~150 nm	同上
绿球藻 <i>Chlorococcum minutum</i>	细胞质	双链 DNA	多角体, 直径 180~220 nm, 有尾巴	只感染游动孢子, 8h 后细胞裂解
筒藻 <i>Cylindrocapsa geminella</i>	未知	双链 DNA	多角体, 直径 200~230 nm	可能溶解宿主有外膜
鞘藻 <i>Oedogonium</i> sp.	细胞质	未知	多角体, 直径 240 nm	未知
传氏辐丝藻 <i>Radiofilum transversale</i>	细胞核	未知	多角体, 直径 41 nm	未知
发克毛枝藻 <i>Stigeoclonium farctum</i>	叶绿体(?)	未知	杆状(?), 约 16.3 nm	未知
尾丝藻 <i>Uronema gigas</i>	细胞质(?)	双链 DNA	多角体, 直径 390 nm, 有的有长尾巴(长 1000 nm)。	未知
轮藻纲 Charophyceae				
珊瑚轮藻 <i>Chara corallina</i>	细胞质(?)	单链 DNA	杆状, 532 nm 长, 18 nm 宽	人工导入后 10~12d 细胞死亡
鞘毛藻 <i>Coleochaete scutata</i>	细胞核	未知	多角体, 直径 41 nm	未知

## 1.2 研究历史和研究概况

最早对真核藻类病毒进行分离和鉴定的是 Gibbs 等<sup>[8]</sup>。他们发现一种特异性地感染绿藻门的珊瑚轮藻(*Chara corallina*)的病毒,将其命名为珊瑚轮藻病毒(CCV)。CCV 是一种很像烟草花叶病毒(TMV)、但比烟草花叶病毒大近两倍的藻病毒,长约 523 nm(TMV 长 300 nm),宽 18 nm,同 TMV 一样含单链 RNA(ssRNA),基因组  $3.6 \times 10^6$  Da,比 TMV 基因组( $2.1 \times 10^6$  Da)大近两倍,外壳蛋白分子量 16500,接近 TMV(TMV 的外壳蛋白分子量 17500)。由于 CCV 的结构和性质与高等维管植物病毒十分相近,所以 Van Etten 等<sup>[9]</sup>认为,对 CCV 进行深入研究有可能解释高等植物进化上的某些疑问。

Dodds 和 Cole<sup>[10]</sup>从丝状绿藻(*Uronema gigas*)中分离和鉴定了一种大的(6300s)、不具感染活性的病毒。它们只在未成熟的藻丝细胞中出现,大约 1% 的处于萌发期或藻丝幼体期的细胞中含有这种病毒。初步的研究表明,该病毒是直径为 390 nm 的多角体,有厚约 15 nm 的外壳,含双链 DNA,核酸(也可能仅仅是 DNA 片段)的大小约在 13~120 kbp 范围内,病毒至少有十种结构蛋白,最大的分子量约为 450 kDa。

Stanker 等人<sup>[11-13]</sup>对一种多细胞丝状绿藻(*Cylindrocapsa geminella*)的病毒类粒子进行了初步的鉴定。它是一种非感染性的病毒,而且它只出现在宿主的单细胞萌发期(single-celled germling)的细胞中,这个时期中只有大约 5% 的细胞含有病毒类粒子。研究发现该粒子有多片层的厚约 14~16 nm 的外壳和致密的纺锤体形内核,含 275~300 kbp 的双链 RNA 和至少 10 种结构蛋白。

Gromov 和 Mamkaeva<sup>[14,15]</sup>描述过一种绿藻(*Chlorococcum minutum*)中含双链 DNA 病毒,这种病毒只感染宿主的游动孢子,对营养细胞无影响。其头部大小约为 180~220 nm,尾巴不象别的病毒那样是伸出来的,而是卷曲在头部中,只有在病毒对宿主进行感染的时候尾巴才暴露出来。病毒对宿主的感染发生在藻的鞭毛管中,结果宿主的运动机能丧失和鞭毛脱落。感染 8 小时后,新的病毒形成并从裂解的细胞中释放。

Mayer 和 Taylor<sup>[16]</sup>对一种感染单细胞微型鞭毛藻——*Micromonas pusilla*——的病毒进行了描述。这种微型藻不同于大多数的真核藻,它缺乏清晰可辨的细胞壁。病毒对宿主的侵染过程不是很清楚,只知它附着在宿主的细胞表面。后来 Waters 和 Chan<sup>[17]</sup>发明了一种“终点稀释方法”(end-point dilution assay)分析病毒有侵染情况,发现感染后有一个 7 h 长短的潜伏期,潜伏期过后,病毒开始破坏宿主对 CO<sub>2</sub> 的固定并破坏质膜的完整性。细胞裂解时释放出大约 70 个具感染力的病毒。他们发现,这种病毒是含双链 DNA 的多角体粒子(直径为 130~135 nm)。

自八十年代至今,小球藻病毒和褐藻病毒的研究代表了当前整个真核藻病毒的研究方向和研究水平。小球藻病毒有两类,一类是 HVCV 型,一类是 PBCV 型。PBCV-1 是研究最深入、最清楚的真核藻病毒。以 Van Etten 为代表对它的化学组成、基因组结构、复制情况作了相当详细的研究,本文将重点介绍这方面的情况。至于褐藻病毒,近几年来以 Müller 为代表的几个人不断有新的发现,他们对感染几种大型丝状褐藻,特别是水云目(Ectocarpales)的费氏藻类(*Feldmannia* sp.)和长囊水云(*Ectocarpus siliculosus*)的病毒,进行了连续的研究和报道。不过总的看来,真核藻病毒和病毒类粒子的研究虽然始于 70 年代,但有关的资料还是相当少的。绝大多数的报道局限在藻和病毒或病毒类粒子的相互作用的电镜观察方面,只有很少的

一部分病毒的性质和感染机制的研究结果,这是由于真核藻类病毒和病毒类粒子的研究受很大的限制,主要的原因是:

(1) 只有很少的真核藻含有病毒或病毒类粒子(尽管这些藻分布在大多数的真核藻纲中,但常常一个纲中只有一种或几种藻含有病毒或病毒类粒子);

(2) 一般只在某一生活时期的藻细胞中有病毒或病毒类粒子;

(3) 通常宿主细胞中即使含有病毒或病毒类粒子,也不发生裂解;

(4) 大多数的病毒或病毒类粒子不具感染性。

此外,有些藻不易培养,有的大型藻类(如丝状褐藻)不便于研究,这都影响了真核藻类病毒或病毒类粒子的分离提取以及感染机制的研究<sup>[9]</sup>。

### 1.3 基本性质

从表中可以看出,真核藻类病毒或病毒类粒子不同于原核的蓝藻病毒或噬蓝藻体,后者具有噬菌体的特征,而前者概括起来有如下一些特点:

(1) 形状一般是多角体粒子(只有个别例外,如CCV是杆状),直径为20~4000 nm,有包裹核髓的多片层结构的外壳;

(2) 大多数藻类细胞中含有一种病毒或病毒类粒子,但是少数的细胞含有两种或者三种粒子。已知含有两种粒子的藻类有五种,它们分别是:*Gyrodinium resplendens*<sup>[18]</sup>, *Chromophysomonas cornuta*<sup>[19]</sup>, *Paraphysomonas bourrellyi*<sup>[19]</sup>, 一种隐藻(*Crytomonas*)<sup>[20]</sup>, 以及绿藻门的塔形藻(*Pyramimonas orientalis*)<sup>[21]</sup>。其中有的藻同一个细胞中同时含有两种粒子。此外在 *Physomonas corynephora*<sup>[19]</sup> 中发现有三种粒子存在;

(3) 粒子在宿主细胞中的部位不是固定的:有的病毒或病毒类粒子出现在细胞核内,有的出现在细胞质中,有的在这两处同时出现;

(4) 绝大多数细胞真核藻类的营养细胞不含有病毒或病毒类粒子,它们只存在于生殖细胞或由其萌发的植物幼体中;在大多数情况下,病毒或病毒类粒子对宿主的感染只发生在藻的游动孢子时期;

(5) 并非所有的生殖细胞及其萌发的细胞中都含有病毒或病毒类粒子,它们只存在于极少数的这类细胞(一般只有1~5%)中。仅在扁藻属(*Platymonas*)及 *Paraphysomonas caelifrica*<sup>[19, 22]</sup> 中发现有较高的比例(30~50%);

(6) 并非含有病毒或病毒类粒子的细胞都溶解,真正溶解的细胞只是极少数。现有证据表明,在两种海水褐藻中发现潜伏感染和溶源现象<sup>[23]</sup>。

### 1.4 对宿主感染的特点

1.4.1 细胞水平——一般宿主细胞受到感染后处于“濒死”状态,并很快溶解。有关细胞器和细胞结构的损伤与破坏包括:叶绿体片层结构破坏<sup>[24]</sup>、核膜丧失<sup>[25]</sup>、细胞器瓦解<sup>[26]</sup>、细胞壁不能形成<sup>[27]</sup>、细胞形状改变<sup>[24]</sup>、核仁消失<sup>[10, 24, 28, 29]</sup>。

1.4.2 组织水平——通常病毒或病毒类粒子不侵染宿主的营养细胞,只破坏宿主的生殖细胞<sup>[24, 27, 29]</sup>。电镜下可见受感染的细胞的外形已不同于正常的细胞<sup>[26]</sup>;病毒或病毒类粒子的核酸并入宿主DNA后,细胞的破坏更加严重<sup>[30]</sup>。

## 2 小球藻病毒(*Chlorella viruses*)

小球藻病毒是研究最多、最详细的真核藻类病毒。小球藻属(*Chlorella* sp.)的种类均是

单细胞,很容易培养,繁殖很快,在特殊培养条件下能充分利用光能,且比高等植物更有效地合成有机物质,因此常大量培养这一类藻进行实验<sup>[3]</sup>。小球藻病毒是十几年前在与一种水螅(*Hydra viridis*)<sup>[31-33]</sup>和一种草履虫(*Paramecium bursaria*)<sup>[31,34,35]</sup>营内共生(endosymbiotic)的所谓“类小球藻”(Chlorella-like algae)或者“动物小球藻”(zoochlorella)中发现的。与水螅(*Hydra viridis*)内共生的小球藻病毒称为“HVCV”,与草履虫(*Paramecium bursaria*)内共生的小球藻病毒称为“PBCV”。PBCV-1是迄今为止研究最为详尽的真核藻病毒。

PBCV-1是直径140~150 nm的多角体粒子,含21~25%双链DNA、64%的蛋白质及5~10%的脂肪<sup>[36,37]</sup>,其基因组大小为333 kbp,GC含量40%,碱基甲基化<sup>[34]</sup>。DNA有至少41个BamHI片段,41个HindIII片段及50个Pst I片段,其末端重复且形成共价闭合的发夹结构。PBCV-1的结构蛋白质有50多种,分子量从10 kDa到200 kDa不等,其中一种分子量为54 kDa的蛋白质占40%,这是一种糖蛋白,其性质和功能目前尚不清楚。PBCV-1的脂类主要是卵磷脂和磷脂酰乙酰胺,它们对病毒粒子的感染功能可能是必不可少的,因为在氯仿、乙醚及甲苯等能溶解这些脂类的溶剂中病毒丧失了感染性<sup>[9]</sup>。

PBCV型病毒侵染与草履虫(*Paramecium bursaria*)内共生的小球藻的品系如NC64A及Pbi,其侵染的情况可用形成噬斑单位(PFU)和其它的噬菌体方法进行研究<sup>[38]</sup>。Van Etten等<sup>[34]</sup>调查了自然水体中的PBCV类型。他们从美国北部的四个州的不同淡水水体中采得了20个水样,查出4个样品中有PBCV的存在,它们分别在*Chlorella* NC64A的藻苔上形成边缘清晰、鲜明的噬斑,效价分别为 $60\sim 4\times 10^4$  PFU/ml;后来从分布在美国各地的各种淡水水体中采集了35份水样进行测试,其中有13份的感染效价在1 PFU/ml以上,占总样的37%,这说明PBCV在淡水水体中的分布很广泛,感染力也很强。

PBCV-1侵染*Chlorella* NC64A的过程是这样的:病毒用一些头发般的尾丝牢牢吸附在宿主细胞外壁上,并立刻产生一种酶消化吸附处的细胞壁,将病毒DNA注入宿主细胞,空的衣壳则留在细胞外面;病毒DNA侵入后,宿主细胞很快裂解并释放大量新的病毒颗粒。这是迄今所知唯一用酶解方式消化宿主细胞壁而进入宿主细胞的植物病毒<sup>[34]</sup>。

PBCV型病毒只侵染游离于原生动动物之外所谓“外共生”(exosymbiotic)的“草履虫小球藻”(Paramecium Chlorella)、“纤毛虫小球藻”(Ciliate Chlorella),而不感染“内共生”(endosymbiotic)的小球藻,也就是说,病毒无法进入原生动动物细胞内,对受动物“保护”的小球藻造成伤害。这类小球藻之所以只能“被迫”生活在原生动动物内,是因为它们一旦被分离出来,就立刻受到病毒的攻击而死亡<sup>[9]</sup>。这也许具有进化上的意义。

小球藻病毒在自然界中可能不少以溶源方式存在,例如用溶源的方法可将病毒的效价从1~100 PFU/ml迅速提高到 $10^8\sim 10^9$  PFU/ml。小球藻病毒与宿主的溶源性关系可能同细菌与噬菌体的溶源性关系一样,是一种“载体状态关系”(carrier state relation)或者“假溶源性”(pseudolysogeny)<sup>[39]</sup>,例如PBCV-1和*Chlorella* NC64A之间就有这种载体状态关系<sup>[9]</sup>;挑取偶然能够在PBCV-1噬斑中生长的NC64A藻克隆单独培养,发现有低浓度的PBCV-1(约 $10^5$  PFU/ml)产生。这样的过程重复几次和重复几个月之后,依然产生少量的PBCV-1粒子。研究证实,PBCV-1的DNA并未同单藻落分离物(single-colony isolates)的小球藻细胞杂交,但是用这种从培养物中挑取的克隆同PBCV-1混合后培养时,25%的宿主又可以和PBCV-1重新建立这种载体状态关系,而其他分离的单克隆藻要么对PBCV-1敏感,要么表现出抗性。

溶源性在真核藻类的出现是不频繁的,往往只出现在藻发育的某个时期。真核藻类病毒可能同噬菌体一样,或者建立与宿主的溶源关系,或者被预先进入宿主溶源性病毒排斥在细胞之外<sup>[9]</sup>。

### 3 褐藻病毒

近年来,有关大型丝状褐藻病毒或病毒类粒子的研究陆续有了一些报道。最早 Henry 等<sup>[40]</sup>对褐藻病毒进行了鉴定,他们从生长在新西兰海岸的费氏藻(*Feldmannia* sp.)的孢子囊中分离到形状为多角体的病毒粒子(直径 150 nm)。病毒的核酸为双链 DNA,基因组约为 190 kbp;他们用脉冲场电泳技术(pulsed-field electrophoresis)对病毒的核酸进行检测分析,发现宿主细胞中存在两种不同的病毒 DNA 分子,这两种 DNA 分子的基因组相差 10 kbp。用单营养细胞培养物做试验,结果新的培养细胞仍然产生两种不同的病毒基因组。这种现象的可能解释是:在宿主细胞内含有两种病毒,或两个 DNA 分子被包裹在同一病毒中。应特别提到的是病毒只存在于进行减数分裂的孢子囊中,不存在于进行有丝分裂的孢子囊中,这说明病毒的复制可能是由宿主的减数分裂驱动的。

褐藻中除了费氏藻类(*Feldmannia* sp.)病毒之外,近年还报道了长囊水云(*Ectocarpus siliculosus*)等海藻的病毒或病毒类粒子<sup>[13,41-43]</sup>。长囊水云是广泛分布于温暖气候的海水中的丝状藻类,容易在实验室中培养。它的生活周期已经研究得比较清楚,病毒或病毒类粒子感染的病症易于观察,粒子在细胞中的检出率也很高,所以长囊水云的病毒或病毒类粒子的研究比较深入,仅次于小球藻病毒。长囊水云病毒或病毒类粒子是多角体粒子,直径约 130 nm,含有于一条 350 kbp 的线型双链 DNA。这些病毒或病毒类粒子专性在宿主的配子囊中复制和完成生活史,宿主细胞裂解后,释放出来的病毒或病毒类粒子能够再感染健康的游动孢子。感染使孢子“休克”并沉到瓶子底部,随后发育成成熟的藻体,藻体的配子囊又产生新的病毒或病毒类粒子。

两类褐藻(*Feldmannia* 和 *Ectocarpus*)病毒或病毒类粒子研究的初步结构表明,它们的 DNA 已经整合到宿主的 DNA 上,此外,病毒或病毒类粒子只感染宿主的生殖器官,不感染营养细胞。正常情况下,宿主以有丝分裂方式产生含有数百个小室的相互挤压的中性孢子囊(zoidangia),但是受到感染时,宿主的有丝分裂提前结束,细胞中的 DNA 数量比正常的要多好几倍。病毒的感染使细胞核遭到破坏,大量的病毒与核质挤压在一起,使细胞膨胀、破裂,病毒粒子被释放出来,再感染别的生殖细胞<sup>[13]</sup>。

Müller 等人<sup>[41,44]</sup>发现,感染长囊水云的病毒同时对长囊水云亲缘关系邻近的两类藻 *Kuckukia* 和 *Feldmannia* 形成交叉感染。他们认为,这种病毒可能在种属之间的基因转移方面具有载体的功能。

水云类(*Ectocarpus* sp.)病毒或病毒类粒子的表达是温度敏感型的,而且与宿主的生殖细胞的分化有关系<sup>[45]</sup>。例如在 10~15℃ 时,宿主病状加重;在 20℃ 时,病状减弱,温度对病毒的限制作用非常明显,这对研究季节变化的藻病理学有很大启示。

Müller 和 Frenzer<sup>[23]</sup>对褐藻病毒或病毒类粒子的研究结果进行了总结:

- (1)病毒往往有宿主专一性;
- (2)病毒只感染未形成细胞壁的游动孢子;

- (3)病毒只出现在植物发育中处于潜伏期的细胞中,其基因组附着在宿主的基因组上;
- (4)病毒只在宿主的繁殖器官中表达,导致植物不育;
- (5)病毒效价偶然降低的情况下,虽然宿主的功能孢子或配子数量增加,但是病毒的基因组仍旧留存在宿主的细胞中,并借助于有丝分裂转移到宿主的其它细胞之中。

#### 4 病毒对浮游藻类的影响及在水生生态中的作用

病毒和病毒类粒子不仅广泛存在于各种水环境中,同时也是浮游生物活跃的成员<sup>[46]</sup>;病毒和病毒类粒子在海水中的浓度高达  $10^4 \sim 10^9$  粒子/ml,大大超过了传统的推断<sup>[46-48]</sup>。淡水中的含量也高得惊人,例如对挪威 Raunefiorden 湖春季硅藻水华期间的病毒含量的测定,水华前为  $10^5$  个/ml,水华高峰期间为  $1.3 \times 10^7$  个/ml<sup>[49]</sup>。因此病毒和病毒类粒子在浮游生物群落演替中可能具有极其重要的作用,是通过特异性溶解宿主来维持种群关系平衡的关键因子<sup>[50]</sup>。病毒或 VLPs 对浮游植物群落及初级产物的影响也有不少报道<sup>[50]</sup>。例如 Van Etten 等<sup>[34]</sup>对自然水体中有 PBCV 效价进行了测定,PBCV 在 *Chlorella* 藻苔上的噬斑单位(PFU)高达  $4 \times 10^4$ /ml H<sub>2</sub>O。

由于在水华中和产毒蓝藻中常发现藻细胞中含有病毒和病毒类粒子,它们也许能用于对水华的控制和抑制有毒藻类的生长<sup>[51-53]</sup>。Procter 和 Fuhrman<sup>[47]</sup>认为,病毒和病毒类粒子是潜在的海洋生态的重要调节因子;病毒造成的藻溶解明显地导致微藻群落的消亡,并且病毒作为藻种群的显著的控制因素,如调节藻种群的遗传基因库<sup>[52]</sup>、有机溶解物质的水平的保持者,受到了越来越广泛的关注和认可<sup>[50,53]</sup>。

有的病毒或病毒类粒子有“共专一的宿主”(cospecific host),特异性地感染亲缘关系比较近邻的一些藻<sup>[23,41]</sup>,因此这类病毒可以被用作转移致死基因的载体,杀死有害的或不需要的藻类。

#### 参 考 文 献

- 1 Safferman R S, Morris M E. Algal virus; isolation. *Science*, 1963;140: 679~680
- 2 Lee R E. Systemic virul material in the cells of the freshwater red algae *Sirodotia tenuissima* (Holden) Skuja, *J Cell Sci*, 1971;8: 623~631
- 3 福迪著,罗迪安译.藻类学.上海科学技术出版社,1980:255
- 4 Zavarzina N B. A lytic agent in cultures of *Chlorella pyrenoidosa* Pringh cultures. *Dokl Akad Nauk SSSR Ser Biol*, 1961;122: 936~939
- 5 Zavarzina N B. Lysis of *Chlorella* cultures in the absence of bacteria. *Mikrobiologiya*, 1964;33:561~564
- 6 Pickett-Heaps J D. A possible virus infection in the green alga *Oedogonium*. *J Phycol*, 1972;8: 44~47
- 7 Toth R, Wilce R T. Viruslike particles in the marine algae *Chorda tomentosa* Lyngbye (Phaeophyceae). *J Phycol*, 1972;8: 126~130
- 8 Gibbs A, Scotlicki A H, Gardiner E S, et al. A tobamovirus of a green algae. *Virology*, 1975;64: 571~574
- 9 Van Etten J L, Lane L C, Meints R N. Virus and viruslike particles of eukaryotic algae. *Microbiol Rev*, 1991;55:586~620
- 10 Dodds J A, Cole A. Microscopy and biology of *Uronema gigas*, a filamentous eukaryotic green algae, and its associated tailed virus-like particle. *Virology*, 1980;100: 156~165
- 11 Hoffman L R, Stanker L H. Virus-like particles in the green algae *Cylindrocapsa*. *Can J Bot*, 1976;54: 2827~2841



- 12 Stanker L H, Hoffman L R, MacLeod R. Isolation and partial chemical characterization of a virus-like particle from a eukaryotic alga. *Virology*, 1981; 114: 357~369
- 13 Müller D G, Kawai H, Stacke B, *et al.* A virus infection in the marine brown alga *Ectocarpus siliculosus* (Phaeophyceae). *Bot acta*. 1990; 103: 72~82
- 14 Gromov B V, Mamkaeva K A. Phage - form infectious virus of the green algae *Chlorococum*. *Bull Acad Sci USSR Biol*, 1979; (2): 181~186
- 15 Gromov B V, Mamkaeva K A. A virus infection in the synchronized population of the *Chlorococum minutum* zoospores. *Arch Hydrobiol Suppl*, 1981; 60: 252~259
- 16 Mayer J A, Taylor F J R. A virus which lyses the marine nanoflagellate *Micromonas pusilla*. *Nature(London)*, 1979; 281: 299~301
- 17 Waters R E, Chan A T. *Micromonas pusilla* virus: the virus growth cycle and associated physiological events within the host cells; host rangemutation. *Gen Virol*, 1982; 63: 199~206
- 18 Franca S. On the presence of virus-like particles in the dinoflagellate *Gyrodinium replendens* (Hulbert). *Protistologica*, 1976; 12: 425~430
- 19 Preisig H R, Hibberd D J. Virus-like particles and endophytic bacteria in *Paraphysomonas* and *Chromophysomonas* (Chryso-phyceae). *Nord J Bot*, 1984; 4: 279~285
- 20 Pienaar R N. Virus-like particles in three species of phytoplankton from San Juan Island, Washington. *Phycologia*, 1976; 15: 185~190
- 21 Moestrup O, Thomsen H A. An ultrastructural study of the flagellate *Pyramimonas orientalis* with particular emphasis on Golgi apparatus activity and the flagellar apparatus. *Protoplasma*, 1974; 81: 247~269
- 22 Pearson B R, Norris R E. Intranuclear virus-like particles in the marine alga *Platymonas* sp. (Chlorophyta Prasinophyceae). *Phycologia*. 1974; 13: 5~9
- 23 Müller D G, Frenzer K. Virus infection in the marine brown alga; *Feldmannia irregularis*, *F. simplex*, and *Ectocarpus siliculosus*. *Hydrobiologia*, 1993; 260/261: 37~44
- 24 Dodds J A. Viruses of marine algae. *Experimentia*, 1979; 35: 440~442
- 25 DaSilva E J, Gyllenberg H G. A taxonomic treatment of the genus *Chlorella* by the technique of continuous classification. *Arch Mikrobiol*, 1972; 87: 97~117
- 26 Deom C M, Schulze I T. Oligosaccharide composition of an influenza virus hemagglutinin with host-determined binding properties. *J Biol Chem*, 1985; 260: 14771~14774
- 27 Doermann A H. Introduction to the early years of bacteriophage T4. In: *Bacteriophage T4*, American Society for Microbiology, Washington, D. C. 1983: 1~7
- 28 Cernichiari E, Muscatine L, Smith D C. Maltose excretion by the symbiotic algae of *Hydra viridis*. *Proc R Soc London Ser*, 1969; B-173: 557~576
- 29 Borowitzka M A, Borowitzka L J. *Microalgal biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge (ed.) 1988
- 30 Douglas A E, Huss V A R. On the characteristics and the taxonomic position of symbiotic *Chlorella*. *Arch Mikrobiol*, 1986; 145: 80~84
- 31 Meints R H, Van Etten J L, Kuozmarski D, *et al.* Viral infection of the symbiotic *Chlorella*-like alga present in *Hydra viridis*. *Virology*, 1981; 113: 698~703
- 32 Van Etten J L, Meints R H, Burbank D E. Isolation and characterization of a virus from the intracellular green alga symbiotic with *Hydra viridis*. *Virology*, 1981; 113: 704~711
- 33 Van Etten J L, Meints R H, Burbank D E. Viruses of symbiotic *Chlorella*-like isolated from *Paramecium bursaria* and *Hydra viridis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982; 79: 3871
- 34 Van Etten J L, Burbank D E, Schuster A M, *et al.* Lytic virus infecting *Chlorella*-like alga. *Virology*, 1985; 140: 135~143
- 35 Reisser W, Klein T, Becker B. Studies on phycoviruses: 1. On the ecology of viruses attacking *Chlorella* exosymbiotic from an European strain of *Paramecium bursaria*. *Arch Hydrobiol*, 1988; 111: 575~583

- 36 Martin E L, Berson R L. Algal viruses, pathogenic bacteria and fungi: introduction and bibliography. In: Rosowski J R, Parker B C (ed), Selected papers in phycology II. Phycological society of America Inc., Lawrence, Kans; 1982; 793~798
- 37 Skrdla M P, Burbank D E, Xia Y, et al. Structural proteins and lipids in a virus, PBCV-1, which replicates in a *Chlorella*-like alga. *Virology*, 1984; 135: 308~315
- 38 Van Etten J L, Burbank D E, Schuster A M, et al. Virus infection of culturable *Chlorella*-like algae and development of a plaque assay. *Science*, 1983; 219: 994~996
- 39 Hayes W. The genetics of bacteria and their viruses. 2nd ed. New York, USA: John Wiley and Sons, Inc, 1968
- 40 Henry E C, Lanka S, Meints R H. A stable virus infection in a brown alga. Abstr 18. Int Seaweed Symp, A98. 1989
- 41 Müller D G. Intergeneric transmission of a marine plant DNA viruses. *Naturwissenschaften*, 1992; 79: 37~39
- 42 Lanka S T J, Klein M, Ramsperger U, et al. Genome structure of a virus infecting the marine brown alga *Ectocarpus siliculosus*. *Virology*, 1993; 193: 802~811
- 43 Parodi E R, Müller D G. Field and culture studies on virus infection in *Hinckia hinckiae* and *Ectocarpus fasciculatus* (Ectocarpales, Phaeophyceae). *Eur J Phycol*, 1994; 29: 113~117
- 44 Müller D G, Parodi E. Transfer of a marine DNA virus from *Ectocarpus* to *Feldmannia* (Ectocarpales, Phaeophyceae): aberrant symptoms and resititition of the host. *Protoplasma*, 1993; 175: 121~125
- 45 Müller D G. Marine viroplankton produced by infected *Ectocarpus siliculosus* (Phaeophyceae). *Virology*, 1991; 76: 101~102
- 46 Bergh O, Borsheim K Y, Bratbak C, et al. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature*, 1989; 340: 467~468
- 47 Proctor L M, Fuhrman J A. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria. *Nature*, 1990; 343: 60~62
- 48 Torrella F, Monta R Y. Evidence for a high incidence of bacteriophage particles in the waters of Yaquina Bay, Oregon: ecological and taxonomical implications. *Appl Environm Microbiol*, 1979; 37: 774~778
- 49 Bratbak G, Heldal M, Norland S, et al. Viruses as partners in spring bloom microbial trophodynamics. *Appl Environm Microbiol*, 1990; 56: 1400~1405
- 50 Suttle C A, Chan A M, Cottrell M T. Infection of phytoplankton by viruses and reduction of primary productivity. *Nature*, 1990; 347: 467~469
- 51 Misra A, Sinha R, Jha V, et al. Virus infection of marine algae. In: Marine algae in Pharmaceutical Science (Hoppe, H. A. and Leving T., ed, Berlin), 1982: 289~297
- 52 Sieburth J M, Johnson P W, Hargraves P E. Ultrastructure and ecology of *Aureococcus anophagefferens* Gen. et sp. nov (Chrysophyceae): the dominant picoplankton during bloom in Narragansett Bay, Rhode Island, summer 1985; *J Phycol*, 1988; 24: 416~425
- 53 Milligan K L D, Coper E M. Isolation of virus capable of lysing the brown tide microalga, *Aureococcus anophagefferens*. *Science*, 1994; 266: 805~807