

噬藻体

李勤生

(中国科学院水生生物研究所, 武汉)

藻类细胞的溶解现象, 无论在自然界或者实验室中早已引起人们的注意, 但病毒性溶解因子直到 1963 年才首次在蓝藻中得到证实^[1]。十几年来, 有关这类病毒的研究报告和综述已近 200 篇。在这些文献中采用了藻病毒 (Phycoviruses), 蓝藻病毒 (Blue-green viruses, Cyanoviruses)、噬蓝藻体 (Cyanophage)、噬藻体 (Algophage) 等名称。鉴于这类病毒与噬菌体之间若干相似性, 同时在红藻、绿藻、褐藻和轮藻中也有类似病毒颗粒的报道, 我们认为采用噬藻体为宜, 它既反映了病毒本身的特点, 也包括了它们宿主的性质。

一、噬藻体的发现、命名和种类

1963 年 Safferman 和 Morris 在美国印第安纳州的一个藻类繁多的污水池中采样分离, 发现了一种可以通过细菌滤器、在藻培养物中可以增殖、对热敏感的溶藻因子, 他们判断是病毒, 并在电镜下观察到一种多面体颗粒。根据它们可以裂解鞘丝藻 (*Lyngbya*)、织线藻 (*Plectonema*) 和席藻 (*Phormidium*), 将其命名为 LPP, 这是第一个被发现的噬藻体。以后为与其它相似的噬藻体加以区别而称之为 LPP-1。继之, 在美国、印度、英国、以色列、苏联、日本等国的污水池、水库、河流、鱼塘、水稻田、土壤中

陆续分离到噬藻体, 并都因袭了 Safferman 等的命名法: 取宿主藻学名的第一个字母作为该噬藻体的名称。但有二点补充以资区别越来越多的噬藻体: 用阿拉伯数字标志血清学类群; 相似类群的不同分离物则用其来源的字首作后缀。

已报道的噬藻体按其形态特征、宿主范围和血清学反应大体可以分为以下几个类群: LPP、SM-1^[2]、N-1^[3]、AS-1^[4]、O-1^[5] 等 (表 1)。其中以 LPP 类群分布最广泛。形态差别较大的是 Ueda^[6] 在日本溪流中分离到的一种与烟草花叶病毒相似的噬藻体, 呈细长杆状, 主要侵袭颤藻 (*Oscillatoria*)。这种形态的噬藻体 Trivedi^[5] 在绿色颤藻 (*Oscillatoria chlorina*) 中也观察到, 即 0-1 噬藻体。有趣的是 Gibbs (1975)^[7] 在珊瑚轮藻 (*Chara corallina*) 中发现的一种长达 532nm 的杆状体, 不仅形似烟草花叶病毒, 且与其中两种在血清学方面也表现出相关性。此外, 在小球藻 (*Chloralla*) 悬浮培养物溶解后, 也曾出现过大量 300—470 Å 的球形颗粒; Pickett-Heaps 在鞘藻 (*Oedogonium*) 萌发阶段观察到一种大约 2400 Å 大小的六角形颗粒; Lee (1971) 描述了红藻中直径为 500—600 Å 的多角形颗粒; 在褐藻中也有类似

表 1 几种噬藻体的生理特征

噬藻体名称	宿主名称	形态特征		血清学反应			
		头 部	尾 部	LPP-1	SM-1	N-1	AS-1
LPP-1	鞘丝藻、织线藻、席藻	20 面体, 58.6±2.1nm	短, 10—20nm	+	-	-	-
SM-1	聚球藻、微囊藻	多角形, 67±1.3nm 有颈, 6.0nm	无明显尾部	-	+	-	-
N-1	念珠藻	多角形, 61.4±2.8nm	长尾, 可伸缩 100±6.2nm	-	-	+	-
AS-1	组囊藻、聚球藻	多角形, 90nm	长尾, 可伸缩, 243.5nm	-	-	-	-
AS-2	组囊藻、聚球藻	六角形, 50nm	长尾, 不伸缩, 130nm	-	-	-	-
O-1	颤藻	杆状 25×300nm		-	-	-	-

的报道。虽然这些发现有待进一步研究,但真核藻类中存在噬藻体看来是无庸置疑的。

二、噬藻体的感染过程与生活周期

噬藻体的感染过程包括以下几个步骤: 1. 噬藻体吸附在宿主细胞上; 2. 将感染性核酸注入宿主细胞内; 3. 在宿主细胞内分别进行核酸的复制和蛋白质的合成; 4. 复制的噬藻体核酸和蛋白质装配成完整的噬藻体; 5. 细胞裂解, 完整的噬藻体由宿主细胞内释放出来。这一过程与烈性噬菌体的感染过程类似^[8]。

噬藻体与噬菌体一样具有一级生长特点, 只是生活周期比噬菌体长得多, 这可能与宿主的世代时间较长有关(表 2)。以 LPP-1 为例, 它的核酸合成发生在感染后 6—8 小时之间。蛋白质可按其出现的顺序分为三类: 最早出现的蛋白质是在感染之后立即开始合成的, 持续到第 4 小时停止; 第二类蛋白质则是在感染后 2 小时左右开始合成, 持续到藻细胞裂解, 但在成熟的噬藻体内没有发现这种蛋白质; 最后的一类蛋白质包括在噬藻体内的结构蛋白之中, 大约在感染后的第四小时开始合成直到裂解。总之, LPP-1 噬藻体——织线藻这一系统中, 噬藻体的蛋白质合成模式与大肠杆菌噬菌体

T₇ 非常相似。

观察感染后宿主细胞的变化, 发现感染后的第一个可见的特征是光合作用类囊体内折。这种现象出现在感染后的第 3 小时, 相当于隐蔽期的终点。在感染后的第 7 小时, 即潜伏期末, 几乎所有的细胞均出现这种内折, 并因此而形成一个特别的区域, 其中含有噬藻体颗粒。但是 SM-1 感染单细胞蓝藻——聚球藻 (*Synechococcus*) 后细胞学观察的结果与 LPP-1 相反, 从感染到裂解, 细胞内类囊体始终未发生变化。SM-1 噬藻体聚集在宿主细胞的核质之中, 24 小时后开始出现成熟的噬藻体, 32 小时后, 类囊体的所有空隙均为噬藻体所充满。

迄今, 凡分析过的噬藻体的核酸均为线性双链 DNA。有关 LPP-1、SM-1、N-1 等噬藻体的核酸、蛋白质的一些理化性质的数据列入表 3。

三、噬藻体与宿主间的相互作用^[9-11]

噬藻体的增殖所需的原料和能量都有赖于宿主细胞提供。因此, 宿主细胞的生理状态直接影响噬藻体的增殖。在织线藻培养物中加入光合磷酸化抑制剂羧基氰氯苯腈 (CCCP), 噬藻体的增殖也受到抑制。当宿主细胞处于暗处时, 噬藻体的增殖周期延长, 裂解量也大大下降。如在隐蔽期给予光照, 可获得最大裂解量, 而此阶段以后补充光照对最终裂解量没有影响。比较感染的和正常的织线藻无细胞制备, 发现它们具有相同的光合磷酸化速度, 看来噬藻体感染对藻的光合磷酸化的影响不大。当氧化磷酸化和底物水平磷酸化成为 ATP 的来源时, 噬藻体的产量明显减少。由于织线藻所有

表 2 几种噬藻体的生活周期和裂解量

噬藻体名称	潜伏期(h)	上升期(h)	裂解量 PFU/细胞
LPP-1G	6—6.5	6	350
N-1	7	13	100
AS-1	8.5	7.5	50
SM-1	30	20	100

表 3 几种噬藻体的核酸、蛋白质理化特性

测定项目		LPP-1	N-1	SM-1
核 酸	分子量(道尔顿)	27×10^6	38×10^6	$56-62 \times 10^6$
	长度(μm)	13.2	24.2	24.3
	氯化铯浮力密度 (g/cm ³)	17.14 25C	1.696 20C	1.725
	沉降系数 S _{20,w} 含量(克分子%)	33.4 53	38.7 37—41	48.0 66—67
蛋白质分子量	头部	39000 13000	37000	40000
	尾部	80000	14000	25000

的 ATP 都可以通过循环光合磷酸化提供,因而在光系统 II 的抑制剂二氯苯基甲基脲(DCMU)存在时,并不影响噬藻体的增殖。然而在念珠藻、聚球藻、微囊藻中则明显与光系统 II 有关,在 DCMU 的影响下,噬藻体的产量大大降低。这种抑制作用很可能是碳架不足所致。如噬藻体 AS-1 在光照条件下,CO₂ 缺乏和 DCMU 的存在都同样使它们的增殖受到影响。

噬藻体对宿主细胞的光合作用、呼吸作用、氮素代谢的影响在不同的藻中表现有所不同。如用 LPP-1G 感染织线藻,2.5—3.0 小时内,CO₂ 固定作用下降,5 小时后完全丧失,虽然此时细胞尚未裂解。这种现象可能与类囊体内折有关;也可能是与噬藻体增殖竞争 ATP 的结果。用 N-1 感染念珠藻也有类似情况,但不清楚类囊体是否内折。而 D-1 感染织线藻、SM-1 感染聚球藻后直至细胞裂解之前,既没有发现固定 CO₂ 的能力大幅度下降,也没有类囊体的内折。

Wu 等研究了噬藻体感染对织线藻呼吸作用的影响。发现感染后 24 小时内呼吸速率不变;48 小时约为对照的 150%;72 小时后为 300%;120 小时后降低到正常水平。还不清楚这种现象是创伤损害还是噬藻体感染、增殖过程中有关的生化过程引起的。

织线藻在感染噬藻体后 20 小时内,固氮活力没有明显变化,但在细胞裂解前几小时,固氮能力迅速下降。这可能是细胞代谢功能破坏或者是固氮酶被氧钝化的结果。

噬藻体对宿主细胞的核酸和蛋白质的合成有明显的破坏作用和竞争性。LPP-1 感染织线藻后 3—7 小时,宿主细胞内的核酸降解 50%,被利用作为噬藻体核酸合成的材料。此时宿主细胞还不断摄取外源物质继续合成自己的 DNA。感染后宿主蛋白质的合成立即受到抑制,到第 5 小时完全停止合成。Rimon 在一个硫饥饿的织线藻培养物中,加入 ³⁵S,大约 90% 的 ³⁵S 进入宿主蛋白质,10% 与多醣结合。用噬藻体感染后再测定它们蛋白质中 ³⁵S 的含量,发现噬藻体蛋白质中 ³⁵S 的含量达到宿主蛋白

质含 ³⁵S 的水平,充分证明宿主蛋白是噬藻体蛋白质的来源。

噬藻体与宿主的关系方面也存在溶原状态^[12]。当温和噬藻体在宿主细胞中沿发育途径进展时,与宿主细胞一起进行复制,可持续若干世代。只有在某些诱导因子如紫外线、X 射线、丝裂霉素或温度的影响下,才能使宿主细胞裂解而大量释放出来。有人推测在微囊藻中存在有毒和无毒藻株也许与溶原状态有关。

四、环境因子对噬藻体的影响

根据 Safferman 等的调查,LPP 类型的噬藻体在印第安纳州的污水池中几乎是终年存在的,只是在不同季节里检出的数量不等。这说明噬藻体对环境的变化有相当的适应能力。

在实验室中观察到不同温度下,噬藻体的吸附速度不同。如 N-1 在 10℃ 时不吸附;25—40℃ 之间吸附速度随温度上升而加快;40℃ 达到最高峰;45℃ 吸附速度低于 40℃。25℃ 最适于 N-1 发育,25—35℃ 之间裂解量随温度上升而逐渐下降,48℃ 则不能发育。

不同噬藻体对离子环境的反应不同。LPP-1 需要 0.001M Mg⁺⁺ 保持其活力。对其它盐类,LPP-1 也有相当的耐受性。但 AS-1、SM-1 在蒸馏水中也能存在。NaCl 对 AS-1 也起稳定附着的作用。大多数噬藻体适于碱性环境,pH 范围在 7—11 之间,与宿主藻的 pH 范围一致,因此在偏碱性的环境中分离噬藻体有其生态学意义^[10]。

自发现噬藻体以来,引起了许多不同领域研究者的兴趣:生态学者试图用它作为控制某些有害藻类的手段,以清除富营养化时产生的讨厌的藻华;温和噬藻体的存在,提供了转导作用的可能性,有可能成为藻类遗传学研究的工具;此外,由于研究或生产上需要培养大量藻类时,如何防止噬藻体的危害也具有实用价值。

参 考 文 献

- [1] Safferman, R. S. and M. E. Morris: *Science*, 140: 697, 1963.
- [2] Safferman, R. S. et al.: *Virology*, 37: 380—393, 1969.

- [3] Adolph, K. W. et al.: *Virology*, 53: 427—440, 1973.
- [4] Safferman, R. S. et al.: *Virology*, 47: 105—113, 1972.
- [5] Trivedi, J. P. and P. P. Oza: *Comp. Physiol. Ecol.*, 4 (4): 207—212, 1979.
- [6] Ueda, K.: *Exp. Cell Res.*, 40: 671, 1965.
- [7] Gibbs, A. et al.: *Virology*, 64: 571, 1975.
- [8] Stewart, W. D. P. and M. J. Daft: Microbial pathogens of cyanophycean blooms, in' Advance in Aquatic Microbiology', 1: L77—218, 1977.
- [9] Sherman, L. A. and R. M. Brown: Cyanophages and viruses of eukaryotic algae, in "Comprehensive Virology", 12: 145—234, 1978.
- [10] Padan, E. and M. Shilo,: *Bacteriol. Rev.*, 37: 343—370, 1973.
- [11] Brown, R. M.: *Adv. Virus Res.*, 17: 243—277, 1972.
- [12] Singh, P. K.: *Mol. Gen. Genet.*, 137: 181, 1975.