

УДК 574.5 (28):578

Роль вирусов в структуре и функционировании микробных сообществ в пресноводных экосистемах

А.И. Копылов*

*Институт биологии внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН,
Россия, 152742, Ярославская обл.,
Некоузский р-н, пос. Борок*

Received 28.10.2012, received in revised form 21.08.2013, accepted 05.10.2013

Обсуждается значение вирусов в структуре и функционировании планктонных, эпифитонных и бентосных микробных сообществ в пресноводных экосистемах. Анализ собственных и литературных данных свидетельствует, что вирусы являются постоянным и наиболее многочисленным компонентом трофических сетей в водной толще, обрастаниях высших водных растений, донных осадках в пресных водоемах и водотоках. Планктонные вирусы выполняют одну из ключевых ролей в регулировании численности и видового многообразия прокариотных микроорганизмов. В эпифитоне пресноводных макрофитов количество инфицированных микроорганизмов и их гибель в результате вирусного лизиса были значительно ниже, чем у планктонных микроорганизмов. В пресноводном бентосе при высокой численности вириобентоса наблюдается очень низкая зараженность бактерий бактериофагами (в некоторых работах близкая к нулю), что предполагает очень незначительную роль вирусов в смертности бентосных прокариотных микроорганизмов.

Ключевые слова: вирусы, вирусный лизис, гетеротрофные бактерии, пикоцианобактерии, микробные сообщества, пресноводные экосистемы.

Присутствие вирусов в водной среде известно с середины прошлого века (Spencer, 1955). Однако активные исследования их экологического значения в водных экосистемах начались только с работы Берга с соавторами (Bergh et al., 1989), которые обнаружили очень высокую концентрацию водных виру-

сов ($1.5-254 \cdot 10^6$ частиц/мл). Дальнейшие исследования (Proctor, Fuhrman, 1990; Suttle et al., 1990; Nara et al., 1991) также зарегистрировали высокую численность вирусов в различных водных местообитаниях и установили, что вирусы инфицируют и вызывают смертность бактерий и первичных продуцентов.

В настоящее время общепризнано, что вирусы являются важной и неотъемлемой частью биологических сообществ водных экосистем. Они влияют на численность, видовой состав и разнообразие планктонных микробных сообществ, а также изменяют потоки вещества и энергии в микробной петле (Fuhrman, 1999; Noble et al., 1999; Bratbak, Heldal, 2000; Thingstad, 2000). Кроме того, вирусы – посредники генетического обмена внутри вида и между видами через трансдукцию (Jiang, Paul, 1998). Однако эти заключения главным образом основаны на результатах исследований микробных сообществ пелагиали морских и пресных водоемов. В то же время немногочисленные исследования вирусов в донных осадках пресноводных экосистем свидетельствуют о том, что их роль в функционировании бентосных микробных сообществ по сравнению с планктонными существенно ограничена (Danovago et al., 2008). Цель данного обзора – оценить, используя собственные результаты исследований и литературные сведения, значение вирусов в структуре и функционировании планктонных, эпифитонных и бентосных микробных сообществ в пресноводных экосистемах.

Вирусы в водной толще водоемов

Численность свободных планктонных вирусов, определяемая с помощью эпифлуоресцентной микроскопии, в различных озерах колеблется в очень широком диапазоне – от 0.02×10^6 частиц/мл в олиготрофном (Hofer, Sommaruga, 2001) до 379×10^6 частиц/мл в гипертрофном озере (Wilhelm, Smith, 2000). В пресных водах соотношение вирус/бактерия (VBR) варьирует от 0.03 до 41 (в озерах Антарктики до 141), но обычно величина VBR находится в пределах 3–10 (Wommack, Colwell, 2000). В пресноводных экосистемах

отношение вирус/бактерия выше, чем в морских (Maranger, Bird, 1995).

В водных экосистемах разного типа численность и активность вириопланктона регулируется многими биотическими и абиотическими факторами, среди которых концентрация кислорода, уровень трофии, температура, свет, особенно ультрафиолетовая часть спектра, содержание взвешенных органических веществ, концентрация гуминовых соединений, структура и продукция бактериопланктона, активность бактериотрофных простейших и др. (Wommack, Colwell, 2000; Clasen et al., 2008).

Количество вириопланктона в мезотрофных и эвтрофных водохранилищах Волго-Балтийского бассейна изменяется в меньших пределах (табл. 1). В исследованных водохранилищах количество и продукция вириопланктона слабо коррелировали с первичной продукцией фитопланктона. Слабая отрицательная корреляция была установлена между количеством вирусных частиц и прозрачностью воды. В то же время выявлена тесная связь численности вирусных частиц с численностью, биомассой и продукцией гетеротрофных бактерий (Копылов и др., 2007, 2008, 2011). Величины отношения вирус/бактерия в глубоководных участках водохранилищ отличались в 1.3–2.8 раза, но величины VRB, рассчитанные в среднем для водоема, оказались близкими (табл. 1).

Литическая инфекция зависит от частоты столкновения вируса с хозяином, контролируемой численностью вирусов и бактерий. В водохранилищах Волги в летние месяцы скорость контактов между планктонными вирусами и бактериями в глубоководных районах составляла 741–5355 (в среднем 2400 ± 212 контактов/(клетку \times сутки)).

В работах по определению общего количества вирусов в водной среде, как правило,

Таблица 1. Средние для столба воды величины (\pm ошибка среднего) численности вириопланктона (N_v , $\times 10^6$ частиц/мл), отношение численности вирусов и численности бактериопланктона (N_v / N_B) и среднее количество зрелых фаговых частиц в клетках гетеротрофных бактерий (BS) в водохранилищах. В скобках – минимальная и максимальная величины

Водохранилище	N_v	N_v / N_B	BS
Иваньковское	55 \pm 10 (16–120)	4.5 \pm 0.4 (2.5–7.0)	58 \pm 9 (17–83)
Угличское	43 \pm 5 (22–74)	4.2 \pm 0.2 (3.1–5.0)	45 \pm 9 (23–109)
Рыбинское	31 \pm 6 (17–57)	4.9 \pm 0.5 (3.2–6.8)	13 \pm 2 (7–20)
Горьковское	49 \pm 5 (21–86)	4.9 \pm 0.3 (3.2–6.9)	41 \pm 4 (17–72)
Чебоксарское	31 \pm 2 (26–37)	3.5 \pm 0.2 (2.9–3.7)	35 \pm 8 (23–58)
Шекснинское	20 \pm 1 (9–25)	3.4 \pm 0.2 (2.5–5.0)	23 \pm 3 (12–47)
Новинкинское	23	3.7	24

Таблица 2. Количество свободных (N_1 , 10^6 частиц/мл) и прикрепленных (N_2 , 10^6 частиц/мл) к клеткам микроорганизмов вирусов (средняя величина \pm ошибка среднего) в р. Ока и водохранилищах Средней Волги (лето 2010 г.). В скобках – минимальная и максимальная величины

Водный объект	N_1	N_2	N_2 / N_1 , %
Р. Ока	54 \pm 3 (18–56)	7.2 \pm 1.4 (5.1–9.9)	13.2 \pm 2.2 (10.5–17.6)
Водохранилища			
Горьковское:			
Русловая часть	41 \pm 4 (24–50)	3.8 \pm 0.7 (1.5–7.0)	10.2 \pm 3.2 (5.0–28.9)
Озерная часть	62 \pm 26 (30–140)	9.6 \pm 2.1 (6.0–17.8)	24.4 \pm 9.5 (4.3–50.1)
Чебоксарское	56 \pm 3 (38–77)	8.4 \pm 0.9 (3.2–14.2)	15.4 \pm 1.3 (8.2–26.8)

не учитываются вирусы, прикрепленные к клеткам микроорганизмов. В водохранилищах на поверхности одной клетки бактерии могут находиться до 19 бактериофагов. Таким образом, количество прикрепленных к бактериям фагов может быть значительным, а общая численность вириопланктона оказывается более высокой (табл. 2).

Электронно-микроскопические исследования вирусных частиц показали, что в водных местообитаниях наиболее многочисленны вирусы с размером капсид между 30 и 80 нм, тогда как более крупные частицы (более 80 нм) встречаются гораздо реже (Дрюккер, Дутова, 2009; Wommack, Colwell, 2000). Однако в некоторых озерах в больших количе-

ствах встречаются крупные нитчатые вирусы длиной от 460 до 730 нм, паразитирующие на нитчатых гетеротрофных бактериях (Hofer, Sommaruga, 2001). Содержание углерода в одной вирусной частице, как правило, принимают равным $(1-2) \times 10^{-10}$ мкг C/частицу (Gonzalez, Suttle, 1993). В итоге вирусы, являясь наиболее многочисленным компонентом планктонных сообществ водохранилищ Волги, составляли (в мгC/м³) только 1.6–2.7 % от биомассы гетеротрофного бактериопланктона, 1.3–2.1 % биомассы микробного сообщества и 0.2–1.0 % общей биомассы планктона (Копылов и др., 2011).

В настоящее время известно, что в водной среде вирусы используют в качестве хо-

зьев гетеротрофных бактерий и цианобактерий (Копылов и др., 2010; Wommack, Colwell, 2000; Weinbauer, 2004), водоросли (Brussaard, 2004), простейших (La Scola et al., 2008; Fischer, Suttle, 2011), вероятно, коловраток и ракообразных (Federici, Hazard, 1975; Comps et al., 1991).

Исследованиями с использованием электронной микроскопии визуально было выявлено, что в озерах чаще всего от 0.7 до 4.3 % общего количества бактерий содержали внутри клеток зрелые частицы фагов, т.е. от 4.9 до 26.5 % всех бактерий были инфицированы бактериофагами, что предполагает вирусиндуцированную смертность, составляющую 5.4–45.0 % от бактериальной продукции (Weinbauer, 2004). Оценки вирус-наведенной гибели микроорганизмов в водохранилищах Волги показали, что в вегетационный период смертность гетеротрофных бактерий в результате вирусного лизиса составляла в среднем для водохранилищ 20.2 % суточной продукции бактериопланктона, а смертность пикоцианобактерий – 15.8 % их суточной

продукции (табл. 3, 4). В подледный период (февраль–март) зараженность гетеротрофных бактерий вирусами оказалась близкой к таковой, зарегистрированной в вегетационный период, а инфицированность пикоцианобактерий была выше, чем в летние месяцы (табл. 5).

Таким образом, вирусы-бактериофаги наряду с гетеротрофными нанофлагеллятами являются важным фактором, регулирующим развитие бактериопланктона. В Рыбинском водохранилище в среднем за вегетационный период жгутиконосцы выедали 27.5 %, а бактериофаги лизировали 22.5 % продукции бактериопланктона. Роль этих факторов существенно изменялась в течение сезона. Максимальное потребление бактерий гетеротрофными нанофлагеллятами происходило весной и в первой половине лета, а наибольшая гибель бактерий в результате вирусного лизиса наблюдалась в конце лета – осенью (Копылов и др., 2007). Какой из этих двух факторов преобладает, чрезвычайно важно для функционирования планктонного

Таблица 3. Численность инфицированных клеток бактерий (FIC, % от общей численности), вирус индуцированная смертность бактерий (VIM, % от суточной бактериальной продукции), продукция вирусов-бактериофагов (P_v , 10^6 частиц/(мл × сут), время оборота численности вирусов (T, сут⁻¹). Над чертой – средняя величина±ошибка среднего, под чертой – минимальная и максимальная величины

Водохранилище	FIC	VIM	P_v	T
Иваньковское	<u>14.0±2.0</u> 8.3–22.4	<u>19.1±3.4</u> 10.5–34.8	<u>72.8±16.1</u> 11.4–131.5	<u>0.9±0.3</u> 0.3–2.8
Угличское	<u>17.3±2.5</u> 9.4–33.5	<u>23.5±3.0</u> 14.2–40.2	<u>47.3±10.0</u> 12.3–111.4	<u>1.2±0.2</u> 0.3–2.0
Рыбинское	<u>17.6±3.2</u> 6.9–25.3	<u>26.5±6.1</u> 7.8–41.8	<u>6.4±1.8</u> 1.6–13.0	<u>7.5±2.1</u> 1.3–14.7
Горьковское	<u>15.1±0.2</u> 5.5–23.7	<u>20.5±2.3</u> 6.1–37.8	<u>34.4±6.9</u> 9.8–95.9	<u>2.5±0.5</u> 0.4–6.8
Чебоксарское	<u>16.8±3.2</u> 11.4–24.8	<u>24.8±6.0</u> 14.1–40.6	<u>39.4±6.7</u> 28.0–57.3	<u>0.8±0.1</u> 0.6–1.1
Шекснинское	<u>11.7±1.5</u> 5.5–23.7	<u>15.0±2.4</u> 6.1–37.8	<u>11.3±4.2</u> 2.3–35.8	<u>3.9±0.8</u> 0.5–8.7
Новинкинское	10	12.0	7.7	3.0

Таблица 4. Численность инфицированных клеток пикоцианобактерий (FIC, % от общей численности), вирус-индуцированная смертность бактерий (VIM, % от суточной продукции пикоцианобактерий), среднее количество зрелых фаговых частиц в клетках пикоцианобактерий (BS), продукция вирусоцианофагов (P_v , 10^3 частиц/(мл × сут). Над чертой – средняя величина±ошибка среднего, под чертой – минимальная и максимальная величины

Водохранилище	FIC	VIM	BS	P_v
Шекснинское*	<u>6.8±2.6</u>	<u>10.7±4.5</u>	<u>16±16</u>	<u>250±202</u>
	3.0–14.5	4.5–24.5	5–81	59–446
Рыбинское*	<u>11.6±2.7</u>	<u>19.6±5.0</u>	<u>22±6</u>	<u>650±204</u>
	5.0–22.5	7.6–41.9	6–44	108–1620
Горьковское**	<u>7.0±1.0</u>	<u>11.0±1.7</u>	<u>13±1</u>	<u>340±71</u>
	4.0–13.6	6.0–22.7	8–21	55–829
Чебоксарское**	<u>12.8±1.5</u>	<u>21.8±2.9</u>	<u>35±12</u>	<u>2084±881</u>
	3.2–24.0	4.8–45.6	6–156	68–10954

* – август 2007 г., ** – июль 2010 г.

Таблица 5. Частота видимых инфицированных клеток микроорганизмов (FVIC, % общей численности), частота инфицированных клеток микроорганизмов (FIC, % общей численности), количество зрелых фагов в клетках (BS, частиц/клетку) и гибель микроорганизмов в результате вирусного лизиса (VIM, % от общей смертности) в Волжском плесе (глубоководные станции) Рыбинского водохранилища в разные сезоны. Над чертой – средняя величина±ошибка среднего, под чертой – минимальная и максимальная величины

Параметры	Гетеротрофные бактерии		Пикоцианобактерии	
	05 – 09.2005	02 – 04.2008	07 – 08.2007	02 – 04.2008
Температура, °C	12.2–20.5	0.8–1.3	23.2–24.1	0.8–1.3
FVIC	<u>2.4 ± 0.5</u>	<u>1.9 ± 0.4</u>	<u>1.4 ± 0.3</u>	<u>3.3 ± 0.8</u>
	0.9–3.7	0.6–4.1	1.0–2.0	1.4–6.0
FIC	<u>15.8 ± 2.9</u>	<u>12.1 ± 2.4</u>	<u>7.2 ± 1.5</u>	<u>16.5 ± 3.8</u>
	6.2–23.2	4.2–25.3	5.0–10.0	7.0–30.0
BS	<u>10 ± 1</u>	<u>21 ± 11</u>	<u>10 ± 6</u>	<u>26 ± 5</u>
	7–14	5–80	5–23	5–32
VIM	<u>22.6 ± 5.1</u>	<u>15.9 ± 4.4</u>	<u>10.7 ± 2.8</u>	<u>28.5 ± 9.1</u>
	6.9–36.6	4.5–41.8	7.6–16.0	10.9–61.8

сообщества. Выедание бактерий простейшими с дальнейшим потреблением последних метазойным планктоном приводит к переносу углерода и других биогенных элементов на более высокие уровни трофической сети, в то время как вирусный лизис вызывает рециклинг элементов в пределах микробной «петли».

В последние годы значительно возросло количество работ, посвященных инфекции вирусами колониальных и нитчатых цианобак-

терий (Honjo et al., 2006; Wilhelm et al., 2006). В водных экосистемах вирусы-цианофаги могут быть значительным фактором смертности крупных цианобактерий, влияющей на динамику «цветения» воды этими автотрофными организмами (Hewson et al., 2001; Gons et al., 2002). Оценка смертности разных групп фитопланктона в мелководном эвтрофном озере с использованием техники разбавлений и проточной цитометрии показала, что основным фактором гибели нитчатых цианобакте-

рий являлся вирусный лизис (87–94 % от их продукции) (Tijdens et al., 2008).

Существует несколько типов взаимодействия между вирусом и клеткой: лизис, лизогения, псевдолизогения, хроническая инфекция (Weinbauer, 2004). При лизисе происходит гибель клетки и выход вирусных частиц в окружающую среду немедленно после латентного периода (т.е. периода формирования вирусов). При лизогении вирусный геном в неинфекционной форме становится частью генома хозяина или сохраняет самостоятельность и передается бактериальными клетками потомству. Вирусный геном существует в покоящейся форме (профага) до наступления лизиса, вызываемого внешними факторами (Wilson, Mann, 1997; Fuhrman, 1999). Лизогению вызывают умеренные вирусы, которые играют большую роль в горизонтальном генетическом переносе информации – трансдукции. При псевдолизогении вирусный геном в неактивном состоянии находится в клетке в течение длительного периода, но не интегрируется с геномом хозяина и не способен к репликации. Предполагается, что псевдолизогения возникает при сильном истощении клетки. Однако при наступлении благоприятных трофических условий состояние псевдолизогении прекращается, вызывая настоящую лизогению или иницируя литическую продукцию вирионов. При хронической инфекции клетки хозяина не лизируются в течение вирусного жизненного цикла, а живые бактерии освобождают вирусы из клетки путем отпочковывания.

Возрастание численности вирусов в водной среде происходит в основном в результате двух типов взаимодействия между вирусами и микроорганизмами: лизисом и лизогенией. Определению вирусной продукции уделяется большое внимание, поскольку данный параметр четко показывает степень

активности вирусного сообщества в водной среде. Высокие величины продукции вирусов указывают на значительный вирусный лизис прокариотных или эукариотных водных организмов. Определенная разными методами продукция вирусов бактерий в различных озерах колеблется в очень широком диапазоне – 0.16 до 50.4×10^6 вирусов/(мл \times сут), а время оборота численности – от 0.3 до 3.5 сут (Weinbauer, 2004). Продукция вирусов-бактериофагов в водохранилищах в среднем для водоема изменялась в пределах $(6.4\text{--}72.8) \times 10^6$ вирусов/(мл \times сут), достигая максимальных значений в наиболее продуктивных или загрязненных участках водохранилищ (табл. 3). Продукция вирусов пикоцианобактерий была на два порядка ниже, чем бактериофагов, и в среднем для водоема колебалась в пределах $(0.2\text{--}2.0) \times 10^6$ вирусов/(мл \times сут) (табл. 4).

Численность вирусов в природных водах зависит как от их продукции, так и от распада (decay) свободных вирусных частиц (Bratbak et al., 1994). Процессы, вовлеченные в удаление (распад) вирусов из водного столба, не ясны, но могут включать:

- оседание крупных частиц с прикрепленными вирусами (Proctor, Fuhrman, 1991);
- потребление свободных вирусов фаготрофными флагоеллятами (скорость потребления невысокая – от 1.9 до 3.3 вирусов/(жгутиконосца \times час) (Suttle, Chen, 1992; Gonzalez, Suttle, 1993; Bettarel et al., 2005);
- разрушение вирусных частиц биоактивными молекулами, такими как экзонзимы, протеазы или нуклеазы, которые изымают нуклеиновые кислоты из капсида вирусов (Bratbak et al., 1994; Noble, Fuhrman, 1997, 1999);
- гибель, вызванная вирофагами.

В последние годы ученые обнаружили три вириофага – вируса, паразитирующего на вирусах (La Scola et al., 2008; Fischer, Suttle, 2011; Yau et al., 2011):

1) первый вириофаг – Спутник (Sputnic virophage) – паразитирует на мимивирусе амебы *Acanthamoeba polyphaga*. В амебах, зараженных одновременно мимивирусом и вириофагом, значительно увеличивается доля дефектных вирионов мимивируса. Производство жизнеспособных вирионов мимивируса уменьшается примерно на 70 %, при этом почти втрое снижается смертность зараженных амеб;

2) второй вириофаг – Мавирус (Mavirus) – оказался паразитом жгутиконосца *Cafeteria roenbergensis*;

3) третий вириофаг – OLV (Organic Lake Virophage), обнаруженный в Антарктиде, специализируется на вирусах из Phycodnaviridae, которые обитают в водорослях хлореллы. Вириофаг OLV, паразитируя на вирусе водоросли, увеличивает продуктивность хлореллы. Жертвы этих вириофагов – крупные нуклеоцитоплазматические ДНК-содержащие вирусы, имеющие наиболее сложный структурированный геном. Кроме антарктических озер присутствие вириофага OLV отмечено в районе апвеллинга у Галапагосских островов, в речных дельтах Нью-Джерси и озерах Панамы. Следовательно, вириофаги можно считать

широко распространенным и полноправным компонентом микробных трофических сетей.

Однако существенное количество вирусов попадает на более высокие трофические уровни, находясь на поверхности и внутри инфицированных клеток микроорганизмов. Например, в Рыбинском водохранилище в процессе потребления бактериопланктона природными популяциями гетеротрофных нанофлагеллят бесцветные жгутиконосцы вместе с бактериями потребляют определенное количество вирусов-бактериофагов и вирусов-цианофагов (табл. 6). Таким же образом вирусы оказываются в пищевом рационе тонких фильтраторов. Конечно, доля вирусов в их рационе весьма незначительна.

В результате вирусного лизиса хозяйских клеток вместе с вирусами в окружающую водную среду выделяются легкоусвояемые органические соединения. При этом углерод и другие биогенные элементы из состава взвешенного органического вещества (ВОВ) клеток переходят в растворимую форму (РОВ). Эти растворимые соединения активно используются гетеротрофными бактериями и остаются внутри планктонного микробного сообщества, не попадая на более высокие уровни трофических сетей, – это так называемый вирусный шунт.

Фишер и Велимиров (Fischer, Velimirov, 2002) определили, что в эвтрофном озере в

Таблица 6. Численность бактериопланктона (N_B , 10^6 кл/мл), численность гетеротрофных нанофлагеллят (N_{HNF} , кл/мл) и суточная скорость потребления бактерий и прикрепленных к ним вирусов природными популяциями гетеротрофных нанофлагеллят в Чебоксарском водохранилище (август 2010 г.)

N_B	N_{HNF}	Потребление бактерий (за сут.)		Потребление вирусов (за сут.)	
		10^6 кл/мл	мг С/м ³	10^6 фагов/мл	мг С/м ³
17.96	5898	11.69	267.39	6.90	0.69
17.01	5462	9.59	185.01	7.26	0.73
12.58	6155	8.55	192.64	9.62	0.96

процессе вирусного лизиса бактериальных клеток в водную среду поступило в среднем 15.2 мкг С/(л × сут), что составило 46 % суточной продукции бактерий в столбе воды.

В волжских водохранилищах скорость лизиса гетеротрофных бактерий колебалась от 7.1 мг С/(м³ × сут) в Рыбинском водохранилище (июль) до 29.1 мг С/(м³ × сут) в Ивановском водохранилище, составляя в среднем 15.5 мг С/(м³ × сут). Расчеты показали, что для процессов репликации нуклеиновых кислот и синтеза белков капсида бактериофаги использовали от 0.8 до 7.3 (в среднем 3.0) мг С/(м³ × сут) органических веществ лизированных бактерий, а в водную толщу органические соединения лизированных клеток выделялись со скоростью 5.9–21.8 (в среднем 12.5) мг С/(м³ × сут), что составляло 13.6–25.7 % (в среднем 17.4 %) суточной продукции бактерий и 5.4–19.7 % (в среднем 11.2 %) суточной интегральной первичной продукции планктона – основного источника поступления органических веществ в пелагиали водохранилищ.

Вирусы в обрастаниях высших водных растений (эпифитоне)

В эпифитоне также обнаружено большое количество вирусов: от 1.31×10^6 до

105.6×10^6 частиц/см², что выше численности гетеротрофных бактерий в 1.6–9.6 раза (Farnell–Jackson, Ward, 2003; Filippini et al., 2006). В обрастаниях шести видов макрофитов Рыбинского водохранилища вириозепифитон составлял 0.7–3.6 % биомассы бактерий, 0.5–2.0 % биомассы микробного сообщества и 0.01–0.16 % общей биомассы эпифитона. В эпифитоне были выявлены гетеротрофные бактерии и пикоцианобактерии, содержащие в клетках зрелые фаги, но их численность была очень низкой. Частота инфицированных клеток гетеротрофных бактерий в эпифитоне макрофитов была значительно ниже, чем частота инфицированных клеток планктонных гетеротрофных бактерий (табл. 7). Частота инфицированных клеток пикоцианобактерий в эпифитоне также была в 1.6–9.5 раза (в среднем в 4 раза) ниже, чем таковая планктонных пикоцианобактерий. Между общей биомассой эпифитона и долей инфицированных гетеротрофных бактерий в их общей численности обнаружена отрицательная зависимость ($R = -0.78$, $\rho = 0.05$). Отрицательная связь ($R = -0.84$, $\rho = 0.05$) зарегистрирована также между общей биомассой эпифитона и долей инфицированных пикоцианобактерий в их общей численности. Кроме того, количество фагов внутри клеток планктонных микроорганизмов и продукция планктонных

Таблица 7. Частота видимых инфицированных клеток микроорганизмов (FVIC, % общей численности), частота инфицированных клеток микроорганизмов (FIC, % общей численности), количество зрелых фагов в клетках (BS, частиц/клетку) и гибель микроорганизмов в результате вирусного лизиса (VIM, % от общей смертности) в эпифитоне и в воде зарослей макрофитов в Рыбинском водохранилище

Параметры	Растение			Вода в зарослях макрофитов
	<i>Potamogeton Perfoliatus</i>	<i>Stratiotes aloides</i>	<i>Nymphaea alba</i>	
FVIC	1.0	0.5	1.2	3.0
FIC	6.9	3.5	8.2	19.3
BS	9	11	11	59
VIM	7.2	3.7	9.5	22.3

вирусов были значительно выше, чем у эпифитных микроорганизмов и вирусов. В итоге, по нашим данным, в эпифитоне макрофитов Рыбинского водохранилища вирусы играли незначительную роль в контроле над численностью и продукцией прокариотных микроорганизмов.

Вирусы в донных осадках водоемов

Численность вирусов в донных осадках пресноводных экосистем колеблется от 0.6 до 203.3×10^8 частиц/г сухого вещества. Отношение вирус/бактерия изменяется от 0.6 до 65.0, в среднем – 9.6. Количество вириобентоса в 1 см³ в поверхностном слое осадков превышает численность вириопланктона в 1 мл в столбе воды в 10–1000 раз (Maranger, Bird, 1995; Fischer et al., 2003; Danovaro et al., 2008).

Сведения о вирусной инфекции, продукции и вирус-индуцированной смертности бактерий в донных осадках пресных водоемов малочисленны и противоречивы. Исследования вирусной инфекции прокариот в пресноводных донных осадках с помощью просвечивающей электронной микроскопии выявили очень низкую численность видимых инфицированных клеток бактерий (Bettarel et al., 2006; Filippini et al., 2006). В поверхностном слое донных отложений только одна из 4269 бактерий содержала в клетке зрелые фаги (Filippini et al., 2006). В донных осадках мелководных африканских озер не было обнаружено видимых инфицированных клеток бактерий (Bettarel et al., 2006).

Обнаруженное в пресноводных донных осадках явление, когда при очень высокой численности вириобентоса наблюдается очень низкая зараженность бактерий вирусами, получило название «инфекционный парадокс» (“infection paradox” (Weinbauer, 2004)).

Объяснения данного явления главным образом связаны со сложной пространственной структурой среды обитания бентосных бактерий, где микроорганизмы связаны с поверхностями. Прежде всего, экзополимерная матрица, в которой находятся бактерии, может обеспечивать физическую защиту от встречи с вирусами (Davey, O’Toole, 2000), если последние не имеют энзимов, способных разрушать экзополимерную биопленку (Sutherland et al., 2004). Вирусы могут адсорбироваться к минеральным или органическим частицам и в таком состоянии становятся неактивными (Newson, Fuhrman, 2003). Рецепторы вирусов для присоединения к поверхности клеток хозяев могут блокироваться компонентами экзополимерной матрицы или бактериальных агрегатов (Sutherland et al., 2004; Weinbauer, 2004). Протеазы, находящиеся внутри биопленок, могут катализировать разрушение белковых капсид вирусов (Weinbauer, 2004). В литературе приводится еще целый ряд возможных причин, объясняющих «инфекционный парадокс» в пресноводных осадках, но точный механизм, ответственный за очень низкую вирусную инфекцию у гетеротрофных бактерий в бентосных микробных сообществах, пока неизвестен (Filippini et al., 2006; Danovaro et al., 2008).

В то же время другие ученые, используя метод разведения и применяя цианид калия, определили в донных пресноводных осадках достаточно высокие величины продукции вирусов (до $8.6\text{--}24.7 \cdot 10^7$ вирусов/(г × ч)) и вирус-индуцированную смертность бактерий (до 5.8–18.4 %) (Fischer et al., 2003; Mei, Danovaro, 2004). Однако полученные данные свидетельствуют, что гибель пресноводных бентосных прокариот, связанная с вирусным лизисом, в среднем в 3 и 5 раз ниже, чем в морских глубоководных и прибрежных осадках соответственно (Danovaro et al., 2008).

Единственная экспериментальная работа по сравнительной оценке влияния вирусов и простейших в пресноводных седиментах показала, что смертность бактерий в результате вирусного лизиса превышала их выедание простейшими в 2.5–20 раз (Fischer et al., 2006). Если этот факт подтвердится дальнейшими исследованиями, то, по-видимому, роль вирусов в функционировании бентосных микробных сообществ более значима (по сравнению с простейшими), чем роль вирусов в планктонных микробных сообществах.

Таким образом, с одной стороны, численность и продукция вирусов предполагает преобладание в донных осадках литического вирусного жизненного цикла, а с другой – количество видимых инфицированных клеток бентосных бактерий ничтожно мало.

Филиппини с соавторами (Filippini et al., 2006) считает, что продукция вирусов в пресноводных седиментах значительно ниже, чем определенная в экспериментальных исследованиях с использованием метода разведения. Другие ученые полагают, что неудача в обнаружении зараженных клеток бактерий не обязательно подразумевает отсутствие инфицирования прокариотов (Danovaro et al., 2008). Возможно, использование ультразвука в процессе извлечения прокариот из седиментов приводит к снижению доли лизогенных бактерий по причине преждевременного разрыва инфицированных клеток. Более того, отсутствие в пресноводных донных осадках видимых инфицированных клеток бактерий и в то же время наличие продукции вирусов может свидетельствовать о важной роли других жизненных циклов вирусов, таких как псевдолизогения и хроническая инфекция. В донных отложениях возможна полилизогения, когда в лизогенной клетке присутствуют два и более различных вирусных профагов. Однако эти типы взаимодействия между вирусом и хозя-

ином изучены очень слабо, поэтому в настоящее время преждевременно делать выводы о роли тех или иных жизненных циклов вирусов в бентосных сообществах. Присутствием всех типов взаимодействия можно объяснить высокую численность и продукцию вирусов в пресноводных донных отложениях. В последние годы изучению значения разных жизненных циклов вирусов в динамике вириобентоса и разработке новых методов исследования бентосных вирусов уделяется очень большое внимание (Danovaro et al., 2008).

Заключение

Автохтонные вирусы водных экосистем, входящие в состав планктона (виропланктон), эпифитона (вироэпифитон) и бентоса (виробентос), – важные и наиболее многочисленные компоненты водных микробных сообществ. Они играют значительную роль в регулировании численности и видового многообразия гетеротрофных и автотрофных микроорганизмов. В результате лизиса вирусами клеток гетеротрофных бактерий, цианобактерий, эукариотных водорослей существенная часть продукции бактериопланктона и первичной продукции фитопланктона не поступает на более высокие трофические уровни, а продукты вирусного лизиса увеличивают запасы растворимого и нерастворимого органического вещества, т. е. удерживаются внутри микробных сообществ. Таким образом, вирусы поддерживают своих же хозяев, обеспечивая их органическим углеродом и минеральными веществами. Вирусные частицы вовлекаются в трофические сети водоемов при их непосредственном потреблении простейшими или в составе клеток-хозяев.

Вирусы имеют огромное значение в поддержании разнообразия водных микроорганизмов. Одним из механизмов сохранения структуры сообщества прокариотов явля-

ется селективный лизис вирусами наиболее многочисленных и активно размножающихся видов бактерий. Данный процесс, названный «убийство популяций-победителей» (“killing the winner”), не позволяет тем или иным бактериям в конкурентной видовой борьбе получать количественное преимущество. Вирусы играют основную роль в переносе (вирусных и хозяйских) генов между видами. Выдвинута гипотеза, что вирусные гены и вирусная активность генерируют генетическую изменчивость прокариотных микроорганизмов и служат движущей силой в экологическом функционировании и эволюционном развитии (Weinbauer, Rassoulzadegan, 2004).

Таким образом, многочисленные работы в области вирусной экологии водоемов значительно расширили знания о структуре и функционировании микробных сообществ гидросферы. В то же время многие аспекты роли автохтонных вирусов в функционировании биологических сообществ водных экосистем (влияние разных факторов на численность, продукцию вирусов и вирус-индуцированную смертность водных организмов, «инфекционный парадокс» в бентосе и обрастаниях, роль вирусов в горизонтальном переносе генетической информации – трансдукции и т.д.) исследованы недостаточно полно и их изучению в настоящее время уделяется очень большое внимание.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 11–04–00577а.

Список литературы

1. Дрюккер В. В., Дутова Н. В. (2009) Бактериофаги как новое трофическое звено в экосистеме глубоководного озера Байкал. Доклады АН 427 (2): 277–281.
2. Копылов А. И., Косолапов Д. Б., Заботкина Е. А. (2007) Вирусы в планктоне Рыбинского водохранилища. Микробиология 76(6): 879–887.
3. Копылов А. И., Косолапов Д. Б., Заботкина Е. А. (2008) Распределение вирусов и их влияние на бактериопланктон в эвтрофном и мезотрофном водохранилищах. Биология внутренних вод 1: 49–57.
4. Копылов А. И., Косолапов Д. Б., Заботкина Е. А., Страшкрабова В. (2010) Распределение пикоцианобактерий и вириопланктона в мезотрофном и мезоэвтрофном водохранилищах: роль вирусов в смертности пикоцианобактерий. Известия РАН, Серия Биологическая 6: 661–669.
5. Копылов А. И., Косолапов Д. Б., Заботкина Е. А. (2011) Влияние вирусов на гетеротрофный бактериопланктон водохранилищ. Микробиология 80 (2): 241–260.
6. Bergh O., Borsheim K. Y., Bratbak G., Heldal M. (1989) High abundance of viruses found in aquatic environments. Nature 340: 467–468.
7. Bettarel Y., Sime-Ngando T., Bouvy M., Arfi R., Amblard C. (2005) Low consumption of virus-sized particles by heterotrophic nanoflagellates in two lakes of the French Massif Central. Aquat. Microb. Ecol. 39: 205–209.
8. Bettarel Y., Bouvy M., Dumont C., Sime-Ngando T. (2006) Virus–bacterium interactions in water and sediment of West African inland aquatic systems. Appl. Environ. Microb. 72: 5274–5282.
9. Bratbak G., Thingstad F., Heldal M. (1994) Viruses and the microbial loop. Microb. Ecol. 28: 209–221.

10. Bratbak G., Heldal M. (2000) Viruses rule the waves – the smallest and most abundant members of marine ecosystems. *Microbiology Today* 27: 171–173.
11. Brussaard C. P. D. (2004) Viral control of phytoplankton populations – a review. *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 51 (2): 125–138.
12. Clasen J. L., Brigden S. M., Payet J. P., Suttle C. A. (2008) Evidence that viral abundance across oceans and lakes is driven by different biological factors. *Freshwater Biol.* 53: 1090–1100.
13. Comps V., Menu B., Breuil G. (1991) Viral infection associated with rotifer mortalities in mass culture. *Aquaculture* 93: 1–7.
14. Davey M. E., O'Toole G. A. (2000) Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbial. Mol. Biol. Rev.* 64: 847–867.
15. Danovaro R., Corinaldesi C., Filippini M., Fischer U. R., Gessner M. O., Jacquet S., Magagnini M., Velimirov B. (2008) Viriobenthos in freshwater and marine sediments: a review. *Freshwater Biol.* 53 (6): 1196–1213.
16. Farnell-Jackson E. A., Ward A. K. (2003) Seasonal patterns of viruses, bacteria and dissolved organic carbon in a riverine wetland. *Freshwater Biol.* 48: 841–851.
17. Federici B. A., Hazard E. I. (1975) Iridovirus and cytoplasmic polyhedrosis virus in the freshwater daphnid *Simocephalus expinosus*. *Nature* 254: 327–328.
18. Filippini M., Buesing N., Bettarel Y., Sime-Ngando T., Gessner M. O. (2006) Infection paradox: high abundance but low impact of freshwater benthic viruses. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 4893–4898.
19. Fischer U. R., Velimirov B. (2002) High control of bacterial production by viruses in a eutrophic oxbow lake. *Aquat. Microb. Ecol.* 27: 1–12.
20. Fischer U. R., Wieltchnig C., Kirschner A. K. T., Velimirov B. (2003) Does viruses-induced lysis contribute significantly to prokaryotic mortality in the oxygenated sediment layer of shallow oxbow lake? *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 5281–5289.
21. Fischer U. R., Wieltchnig C., Kirschner A. K. T., Velimirov B. (2006) Contribution of virus-induced lysis and protozoan grazing to benthic prokaryotic mortality estimated simultaneously in microcosms. *Environ. Microbiol.* 8: 1394–1407.
22. Fischer M. G., Suttle C. A. (2011) A virophage at the origin of large DNA transposons. *Science* 332: 231–234.
23. Fuhrman J. A. (1999) Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature* 399: 541–548.
24. Gons H. J., Ebert J., Hoogveld H. L., Hove L., Pel R., Takkenberg W., Woldringh C. J. (2002) Observations on cyanobacterial population collapse in eutrophic lake water. *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 319–326.
25. Gonzalez J. M., Suttle C. A. (1993) Grazing by marine nanoflagellates on viruses and virus-sized particles: ingestion and digestion. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 94: 1–10.
26. Hara S., Terauchi K., Koike I. (1981) Abundance of viruses in marine waters: assessment by epifluorescence and transmission electron microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 57(9): 2731–2734.
27. Hewson I., O'Neil J. M., Dennison M. C. (2001) Virus-like particles associated with *Lyngbya maiuscula* (Cyanophyta; Oscillatoriaceae) bloom decline in Moreton Bay, Australia. *Aquat. Microb. Ecol.* 35(3): 207–213.

28. Hewson I., Fuhrman J. A. (2003) Viriobenthos production and virioplankton sorptive scavenging by suspended sediment particles in coastal and pelagic waters. *Microb. Ecol.* 46: 337–347.
29. Hofer J. S., Sommaruga R. (2001) Seasonal dynamics of viruses in an alpin lake: importance of filamentous forms. *Aquat. Microb. Ecol.* 26: 1–11.
30. Honjo M., Matzui K., Ueki M., Nakamura R., Fuhrman J. A., Kawabata Z. (2006) Diversity of virus-like agents killing *Microcystis aeruginosa* in a hyper-eutrophic pond. *J. Plankton Res.* 28(4): 407–412.
31. Jiang S. C., Paul J. H. (1998) Gene transfer by transduction in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(8): 2780–2787.
32. La Scola, Desnues C., Pagnier I., Robert C., Barrassi L. (2008) The virophage as a unique parasite of the giant mimivirus. *Nature* 455: 100–104.
33. Maranger R., Bird D. (1995) Viral abundance in aquatic systems: a comparison between marine and fresh waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 121: 217–226.
34. Mei M. L., Danovaro R. (2004) Virus production and life strategies in aquatic sediments. *Limnol. Oceanogr.* 49(2): 459–470.
35. Noble R. T., Fuhrman J. A. (1997) Viral decay and its causes in coastal waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 63(1): 77–83.
36. Noble R. T., Fuhrman J. A. (1999) Breakdown and microbial uptake of marine viruses and other lysis products. *Aquat. Microb. Ecol.* 20: 1–11.
37. Noble R. T., Middelboe M., Fuhrman J. (1999) Effects of viral enrichment on the mortality and growth of heterotrophic bacterioplankton. *Aquat. Microb. Ecol.* 18: 1–13.
38. Proctor L. M., Fuhrman J. A. (1990) Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria. *Nature* 343: 60–62.
39. Spencer R. (1995) A marine bacteriophage. *Nature* 175: 690–691.
40. Sutherland I. W., Hughes K. A., Skillman L. C., Tait K. (2004) The interaction of phage and biofilms. *FEMS Microbiology. Lett.* 232: 1–6.
41. Suttle C. A., Chan A. M., Cottrell M. T. (1990) Infection of phytoplankton by viruses and reduction of primary productivity. *Nature* 347: 467–469.
42. Suttle C. A., Chen F. (1992) Mechanisms and rates of decay of marine viruses in seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 58(11): 3721–3729.
43. Thingstad T. F. (2000) Elements of a theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems. *Limnol. Oceanogr.* 46(6): 1320–1328.
44. Tjeldens M., Van de Waal D. B., Slovakova H., Hoogveld H. L., Gons H. J. (2008) Estimates of bacterial and phytoplankton mortality caused by viral lysis and microzooplankton grazing in shallow eutrophic lake. *Freshwater Biol.* 53: 1126–1144.
45. Weinbauer M. G. (2004) Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiol. Rev.* 28: 127–181.
46. Weinbauer M. G., Rassoulzadegan F. (2004) Are viruses driving microbial diversification and diversity? *Environ. Microbiol.* 5: 1–11.
47. Wilhelm S. W., Smith R. E. N. (2000) Bacterial carbon production in Lake Erie is influenced by viruses and solar radiation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57: 317–326.

48. Wilhelm S. W., Carberry M. J., Eldridge M. L., Poorvin L., Saxton M. A., Doblin M. A. (2006) Marine and freshwater cyanophages in a Laurentian Great Lake: evidence from infectivity assay and molecular analyses of g20 genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(7): 4957–4963.
49. Wilson W. H., Mann N. H. (1997) Lisogenic and lytic viral production in marine microbial communities. *Aquat. Microb. Ecol.* 13(1): 95–100.
50. Wommack K. E., Colwell R. R. (2000) Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64(1): 69–114.
51. Yau S., Lauro F. M., Demaere M. Z., Brown M. V., Thomas T., Raftery M. J. (2011) Virophage control of Antarctic algal host–virus dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(15): 6163–6168.

The Role of Viruses in Structure and Functioning of Microbial Communities in Freshwater Ecosystems

Alexander I. Kopylov

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS,
Borok, 152742 Russia*

The role of viruses in structure and functioning of microbial communities of plankton, epiphyton and benthos in freshwater ecosystems is discussed. The analysis of own and published data demonstrates that viruses are stable and numerous component of trophic webs in the water column, dense stands of higher aquatic vegetation, and bottom sediments in fresh water bodies. Plankton viruses play a crucial role in regulation of abundance and species diversity of prokaryotic microorganisms. In epiphyton of freshwater macrophytes, the number of infected microorganisms and their mortality caused by viruses-induced lysis were lower than in plankton microorganisms. In freshwater benthos, low infection of bacteria by bacteriophages (in some publications close to zero) at high abundances of viriobenthos testifies to the insignificant role of viruses in mortality of benthic prokaryotic microorganisms.

Keywords: viruses, viruses's lysis, heterotrophic bacteria, picocyanobacteria, microbial communities, freshwater ecosystems.
