

ПЕРСПЕКТИВЫ И ПРОБЛЕМЫ ИЗУЧЕНИЯ МОРСКИХ ВИРУСОВ - БАКТЕРИОФАГОВ

Представлен обзор по экологии морских вирусов - бактериофагов. Подчеркивается, что вирусы могут быть важным фактором в экологическом контроле водных микроорганизмов, принимать участие в эволюции некоторых видов гидробионтов, играть существенную роль в передаче вещества и энергии в океане, опосредованно влияя на продукцию морской биоты. Отражена информация о перспективах, направлениях и проблемах по изучению экологии морских вирусов в ИнБЮМ НАН Украины.

Сведения о вирусах морских бактерий, в отличие от бактериофагов патогенной микрофлоры, отрывочны, недостаточны и часто противоречивы. В определенной степени это объясняется методическими трудностями в их изучении.

Интенсивное изучение водных вирусов началось лишь со времени применения для этих целей новых методов фильтрации и электронной микроскопии (ЭМ). Ранее для выявления водных вирусов - бактериофагов использовались индикаторные бактерии [1]. Однако методом ЭМ в морской воде определяют до 10^8 вирусов в 1 мл, что на 3-7 порядков выше, чем при определении обычными биологическими методами [21, 22]. Весьма перспективным в изучении водных вирусов оказалось использование люминисцентной (эпифлуоресцентной) микроскопии [13, 14, 20, 23].

Учитывая значимость морских вирусов-бактериофагов в продукционных процессах, их слабую изученность и перспективы исследования, мы провели информационный поиск, результаты которого изложены ниже.

Большая часть морских вирусов сосредоточена в фемтопланктоне - размерной фракции микропланктона менее 0,2 мкм. Идентифицируются водные вирусы в основном как бактериальные вирусы, принадлежащие к морфологическим группам, близким к Т-фагам, а также бактериофаги Бредли групп А, В5, С и Е. Многие из них встречаются в воде свободно, но часть связана с бактериями. Установлено, что в морской воде до 7% гетеротрофных и до 5% цианобактерий содержат зрелые фаговые частицы, подобные свободным вирионам [9, 17, 18, 22]. В прибрежных водах соотношение численности фагов и бактерий составляет 20 : 1, в открытом океане - 3 - 5 : 1.

Установлено, что количества вирусов на поверхности морской воды находится в прямой зависимости от количества бактерий и бактериальной активности, имеющих, в свою очередь, сезонную динамику. Например, в Чесапикском заливе (США) наибольшая концентрация вирусов наблюдалась в августе и октябре, превышая численность бактерий в 12 и 25 раз соответственно. На этом основании было высказано предположение, что вирусы значительно снижают бактериальное загрязнение вод [24]. В северных районах Адриатического моря численность вирусов в холодное время года была значительно ниже, чем летом. К тому же, она заметно варьировала в зависимости от трофических условий моря и освещенности, а также от пика концентрации бактерий и кульминации весеннего расцвета диатомовых водорослей [9, 12]. Кроме того, установлена положительная корреляция численности вирусов с концентрациями хлорофилла ($r=0,97$), нерастворимой ДНК ($r=0,96$) и прямым бактериальным счетом ($r=0,94$) [10].

При ЭМ обследовании органических частиц, собранных в ряде районов Тихого океана на глубинах от 30 до 400 м, вирусы (включая фаги) были обнаружены во всех пробах, за исключением глубины 400 м. Зрелые фаги встречались в 0,7-3,7% бактерий, обнаруживаемых на органических частичках, и во многих эукариотных клетках [19].

Известно, что ежедневно фагами атакуется треть популяции водных бактерий [9]. При изучении мертвых цианобактерий и гетеротрофных бактерий было установлено, что от 30 до 60% общей смертности бактерий можно отнести к вирусному лизису [18, 19, 20]. Существует мнение, что явление лизогении широко распространено в природе, а основная вирусная продукция в морской воде идет через лизогенную индукцию [1, 11]. Вызывая лизис бактерий, в результате которого образуются неживые органические

частицы, вирусы выступают активными членами трофической цепи, участвуя в трансформации вещества и энергии в морских сообществах [1, 12-14, 17-21]. Следовательно, фаги можно рассматривать как фактор, влияющий на продукционные процессы.

Вместе с тем, факторы, регулирующие вирусную продукцию в водных экосистемах, изучены недостаточно. Экспериментальное изучение механизма вирусной продукции, проводимое в условиях, близких к естественным, выявило, что в процессах и видах взаимодействия (лизис или лизогения) природных морских фагов и специфических бактерий одну из ключевых ролей играют пороговые концентрации [23].

Экспериментально было установлено, что при определенных условиях и соотношениях численности вирусов и бактерий вирулентная фаговая инфекция стимулирует деление хозяина, увеличивая таким образом долю потребляемой им пищи и, следовательно, помогая ему в конкурентной борьбе за выживание [15]. Такое поведение фагов свидетельствует об их поддерживающей роли в сохранении бактерии-хозяина как вида.

Таким образом, во взаимоотношениях вирусов и бактерий в среде природных водоемов наблюдаются два противоположных явления: продукция бактериями фагов в виде лизогении или лизиса, завершающегося гибелью клетки микроорганизма, и в противоположность этому, - стимулирование фагами деления клеток-хозяев для поддержания их жизнедеятельности и возможной победе в конкурентной борьбе с другими видами. Отправным моментом проявления этих двух противоположных действий является соотношение концентраций вирусов и бактерий.

Бактериофаги могут опосредованно влиять и на иную морскую продукцию. Так, установлено, что литические продукты взаимодействия специфического фага и бактерии вызывают повышение метаболической активности и клеточной продукции присутствующего в воде неинфицированного бактериопланктона [16]. Наведенный вирусный лизис, с одной стороны, вызывает появление большого количества неживых, легко усваиваемых органических частиц, а с другой стимулирует рост и развитие микробного сообщества. И ту, и другую продукцию вирусного метаболизма могут использовать в своем питании представители морской фауны, а возможно и флоры.

Таким образом, имеющаяся информация о морских вирусах свидетельствует о том, что эта форма жизни играет очень важную роль в биопродукционных процессах. Влияя непосредственно на микробные сообщества, вирусный метаболизм тем самым затрагивает и иную морскую биоту, поскольку именно бактерии стоят в основе пищевых цепей.

Свыше 50 лет тому назад А.Е.Криссом и Е.А.Рукиной были начаты исследования бактериофагов Черного моря. В своих работах они подчеркивали необходимость исследования морских бактериофагов, предполагая, что их основную роль в море еще только предстоит узнать. Расширившийся в настоящее время арсенал методов исследований в области морской вирусологии предоставляет более широкие возможности.

Исследования морских вирусов с целью выяснения их роли в экологии микропланктона и микробентоса Черного моря развернулись в Институте биологии южных морей НАН Украины относительно недавно. Использование метода эпифлуоресцентной микроскопии позволило определить сезонную численность и морфологические характеристики представителей фемтопланктона в Севастопольской бухте [2]. Этот же метод был применен при изучении влияния отраженного Луной (фазы Луны) солнечного света на численность морских вирусов и бактерий [4]. На основе метода А.Е.Крисса [1] были отработаны способы получения морских вирусов в своей первоначальной, естественной, среде и в среде, обогащенной специфическими бактериями [3]. Для изучения процессов взаимодействия морских вирусов и бактерий впервые были использованы автоматический анализатор «Биоскрин-С» и прибор непрерывного мониторинга процессов и реакций Termal Activity Monitor 2277 (ТАМ) шведской фирмы LKB [5-7]. Удалось установить, что микрокалориметрический метод позволяет изучать динамику взаимодействия системы "вирус-бактериальная клетка" как на уровне литической фаговой инфекции, так и при других формах отношений вирусов и бактерий. При изучении вирусов микропланктона из Севастопольских бухт установлено, что бактериофаги Черного моря представлены в основном умеренными фагами, чья

продукция осуществляется за счет лизогении. Впервые было показано, что концентрации вирусов и бактерий микробентоса находятся не только во взаимной зависимости, но зависят от степени загрязнения акваторий. Опыты по определению влияния ультрафиолетовой радиации на численность и жизнеспособность морского микропланктона, в том числе и вирусов, показали, что ультрафиолетовое облучение микропланктона вызывает выход интегральных вирусов из бактерий [8].

Таким образом, полученные в ИнБЮМ данные по морским вирусам-бактериофагам содержат определенную новизну как в практическом, так и в теоретическом плане, позволяя на примере Севастопольского региона расширить представления об экологии вирусов Черного моря. Выявленная зависимость соотношения численности вирусов и бактерий микробентоса от степени загрязнения акваторий может быть в дальнейшем использована в качестве индикатора экологического благополучия водоемов. Дальнейшие исследования предполагается посвятить изучению роли бактериофагов в регулировании численности морских бактерий и их опосредованном влиянии на иную биоту Черного моря.

1. *Крисс А.Е.* Бактериофаг в глубинах моря // *Морская микробиология (глубоководная)*. - М.: Изд. АН СССР, 1959. - С. 258 - 261.
2. *Миронов О.Г., Степанова О.А., Пахорукова О.Н.* Микрофлора Севастопольской бухты // *Диагноз состояния среды прибрежных и шельфовых зон Черного моря*. - Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 1996. - С. 92 - 97.
3. *Миронов О.Г., Степанова О.А., Пахорукова О.Н.* Методы и результаты выделения фага автохтонного происхождения из вод Черного моря // *Сб. науч. работ специалистов санитарно-эпидемиологической службы г. Севастополя*. - Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 1996. - Вып. 4. - С. 32 - 36.
4. *Степанова О.А., Пахорукова О.Н.* Влияние лунных фаз на численность некоторых фракций морского микропланктона // *Экология моря*. - 1998. - Вып. 47. - С. 23 - 24.
5. *Степанова О.А., Пахорукова О.Н., Шайда В.Г. и др.* Экспериментальное изучение влияния морских фагов на бактериопланктон // *Сб. науч. трудов специалистов санитарно-эпидемиологической службы*. - Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 1997. - Вып. 5. - С. 47-49.
6. *Степанова О.А., Шайда В.Г.* Методические подходы к изучению процесса взаимодействия бактерий и вирусов // *Экология моря*. - 1999. - Вып. 48. - С. 96-99.
7. *Степанова О.А., Шайда В.Г.* Микрокалориметрическая характеристика взаимодействия бактерий и бактериофагов // *Экология моря*. - 1998. - Вып. 47. - С. 100-105.
8. *Степанова О.А., Шайда В.Г.* Влияние ультрафиолетового излучения на биоэнергетику морского микропланктона // *Экология моря*. - 1999. - Вып. 49. - С. 52 - 56.
9. *Bergh O., Borsheim K., Bratbak G. et al.* High abundance of viruses found in aquatic environments // *Nature*. - 1989. - 340, n. 6233. - P. 467-468.
10. *Boehme J., Frischer M.E., Jiang S.C. et al.* Viruses, bacterioplankton and phitoplankton in the southeastern Gulf of Mexico: Distribution and contribution to oceanic pools // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1993. - 97, n 1. - P.1-10.
11. *Bratbak G., Heldal M., Niess A. et al.* Viral impact on microbial communities // 8th Int. Cong. Immunol., Budapest, Aug. 23-28, 1992: Abstr. - Budapest. - 1992. - P. 71.
12. *Bratbak G., Heldal M., Norland S. et al.* Viruses as partners in spring bloom microbial trophodynamics // *Appl. Environ. Microbiol.* - 1990. - 56, n5. - P.1400-1405.
13. *Hara S., Koike I.* Abundance of bacterial phage in the ocean // 5th Int. Symp. Microb. Ecol., Kyoto, Aug.27 - Sept.1, 1989: Abstr. - S.J. - [1990]. - P.161.
14. *Hara S., Terauchi K., Koike I.* Abundance of viruses in marine waters: Assessment by epifluorescence and transmission electron microscopy // *Appl. Environ. Microbiol.* - 1991. - 57, n 9 - P.2731-2734.
15. *Lammers W.T.* Stimulation of bacterial cytokinesis by bacteriophage predation // *Sediment Water Interactions*. St: Hydrobiologia. Hart B.T., Sly P.G. eds. - 1992. - 235-236. - P.261-265.
16. *Middelboe M., Jorgensen N. O.G., Kroer N.* Effects of viruses on nutrient turnover and growth efficiency of noninfected marine bacterioplankton // *Appl. Environ. Microbiol.* - 1996. - 62, n 6. - P. 1991 - 1997.
17. *Proctor L.M., Fuhrman J.A.* Bacteriophage-infected bacteria in the sea // 5th Int. Symp. Microb. Ecol., Kyoto, Aug.27-Sept. 1., 1989: Abstr. - S.L. - 1990. - P. 161.

18. Proctor L.M., Fuhrman J.A. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria // Nature. – 1990. – 343, n 6253. – P. 60 - 62.
19. Proctor L.M., Fuhrman J.A. Roles of viral infection in organic particles flux // Mar. Ecol. Progr. Ser. – 1991. – 69, n 1-2. – P. 133 - 142.
20. Proctor L.M., Fuhrman J.A. Mortality of marine bacteria in response to environments of the virus size fraction from seawater // Mar. Ecol. Progr. Ser. – 1992. – 87, n 3. – P. 283 - 293.
21. Sherr E.B. And now small is plentiful // Nature. – 1989. – 340, n 6233. – P. 429.
22. Waterbury J.B. Viruses of marine bacteria // Oceanus. – 1992. – 35, n3. – P. 107 - 108.
23. Wilcox R.M., Fuhrman J.A. Lytic rather than lysogenic production // Mar. Ecol. Progr. Ser. – 1994. – 114, n 1-2. – P. 35 - 45.
24. Wommack K. E., Hill R.T., Kessel M. et al. Distribution of viruses in the Chesapeake Bay // Appl. Environ. Microbiol. – 1992. – 58, n 9. – P. 2965 - 2970.

Институт биологии южных морей НАНУ,
г. Севастополь

Получено 22.11.99.

O.A. STEPANOVA

THE PROSPECTS AND PROBLEMS OF STUDYING MARINE VIRUSES – BACTERIOPHAGES

Summary

The review of marine viruses ecology, in particularly bacteriophages is presented. It is emphasized that viruses are a factor of special importance in ecological control over the water microorganisms; they may be involved in the evolution of some hydrobionts and in the transport of substance and energy in the ocean and indirectly influence on marine biota production. Information about the research trends, prospects and problems of studying on the marine viruses ecology in the Institute of Biology of the Southern Seas NASU is given.

УДК 582.273:626.02 (262.5)

А. А. СТРОГОНОВ, И. К. ГОРДЕЕВА

ИЗУЧЕНИЕ БИОЦЕНОЗА *PHYLLOPHORA NERVOSA* НА ФИЛЛОФОРНОМ ПОЛЕ ЗЕРНОВА С ПОМОЩЬЮ ПОДВОДНОГО ОБИТАЕМОГО АППАРАТА

Наблюдениями из подводной лаборатории "Бентос" на Филлофорном поле Зернова установлено, что в 1989 г. здесь наблюдались не отмеченные ранее: взвесь, два вида налета на грунте и гидробионтах, заиливание грунта, погибшие филлофора и рыба, уменьшение численности мидии и биомассы филлофоры. Большинство этих явлений приурочено к юго-западной части Поля, что связано с затоками дунайских вод.

В центре северо-западной части Черного моря (рис. 1) расположено Филлофорное Поле Зернова - уникальное скопление красной водоросли филлофоры. Поле всегда было в центре внимания исследователей, которое особенно усилилось в последние годы [6, 7 и др.]. Запасы филлофоры, стабильные в первой половине 20-го столетия (около 10 млн т), в начале восьмидесятых годов сократились до 1,4 млн. Была высказана гипотеза [4, 5, 6], что причиной этого явилось вторжение на Филлофорное Поле дунайских вод. Выполненные нами исследования позволили выявить здесь многие негативные явления, которые ранее не наблюдались.

Материал и методика. В работе использованы материалы четырех съемок, выполненных на судах Базы "Гидронавт" (ныне ГНПП "Морские технологии" МГИ