

УДК 578.3:578.81(282.256.341)

Н. В. Дутова, В. В. Дрюккер

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И РАЗМЕРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИРУСОВ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Представлены результаты исследований (2004—2006 гг.) природного вирусного сообщества олиготрофного озера Байкал. Выявлены особенности морфологии и размерной структуры 2000 свободных вирусных частиц. Установлено, что подавляющее большинство фагов (76%) относятся к порядку Caudovirales (хвостовые фаги). Отмечено большое структурное разнообразие фагов представителей семейств Siphoviridae, Myoviridae, проявляющееся, главным образом, в тонких деталях строения хвостового отростка.

Ключевые слова: вирусы, морфология, разнообразие, бактериофаги, Байкал.

Вирусы — наиболее многочисленный компонент природных сред, играющий важную роль в регулировании численности и структуры микробных сообществ [6, 9, 11, 14, 15]. В литературе имеются сведения о разнообразии морфологических типов вирусов водных экосистемах, но, в основном, это касается морских водоемов и значительно меньше данных по морфологии вирусов пресных вод [6, 9, 11, 13]. Следует отметить, что большинство исследований морфологии вирусных сообществ были ограничены изучением размерной структуры свободных вирусных частиц. Размерное распределение было описано для естественных сообществ вирусов в соленых и пресных водоемах. Оказалось, что большинство вирусов обычно находятся в размерном диапазоне 30—60 нм [14].

К настоящему времени известно более 4500 изолятов фагов бактерий, охарактеризованных по морфологии частиц [2]. Наряду с типичными бактериофагами, имеющими изометрическую головку и хвостовой отросток, встречаются кубические, веретенообразные, в форме лимона, нитчатые и плеоморфные вирусы. Существуют многочисленные и разнообразные факультативные структуры, такие как отросток головки, воротничок, хвостовые нити или шипы [5, 13]. Диаметр капсида вирусов и геномный размер изолятов различаются больше чем на порядок [14].

Структура природных вирусных сообществ в настоящее время недостаточно изучена. Известны лишь единичные работы, в которых наиболее подробно описаны морфологические особенности вирусов бактерий [1, 7]. Считается, что состав некультивируемых вирусных сообществ весьма вари-

© Дутова Н. В., Дрюккер В. В., 2009

абелен, при этом доминирующие вирусы немногочисленны и составляют до 5—7% от общего числа вирусных частиц [8].

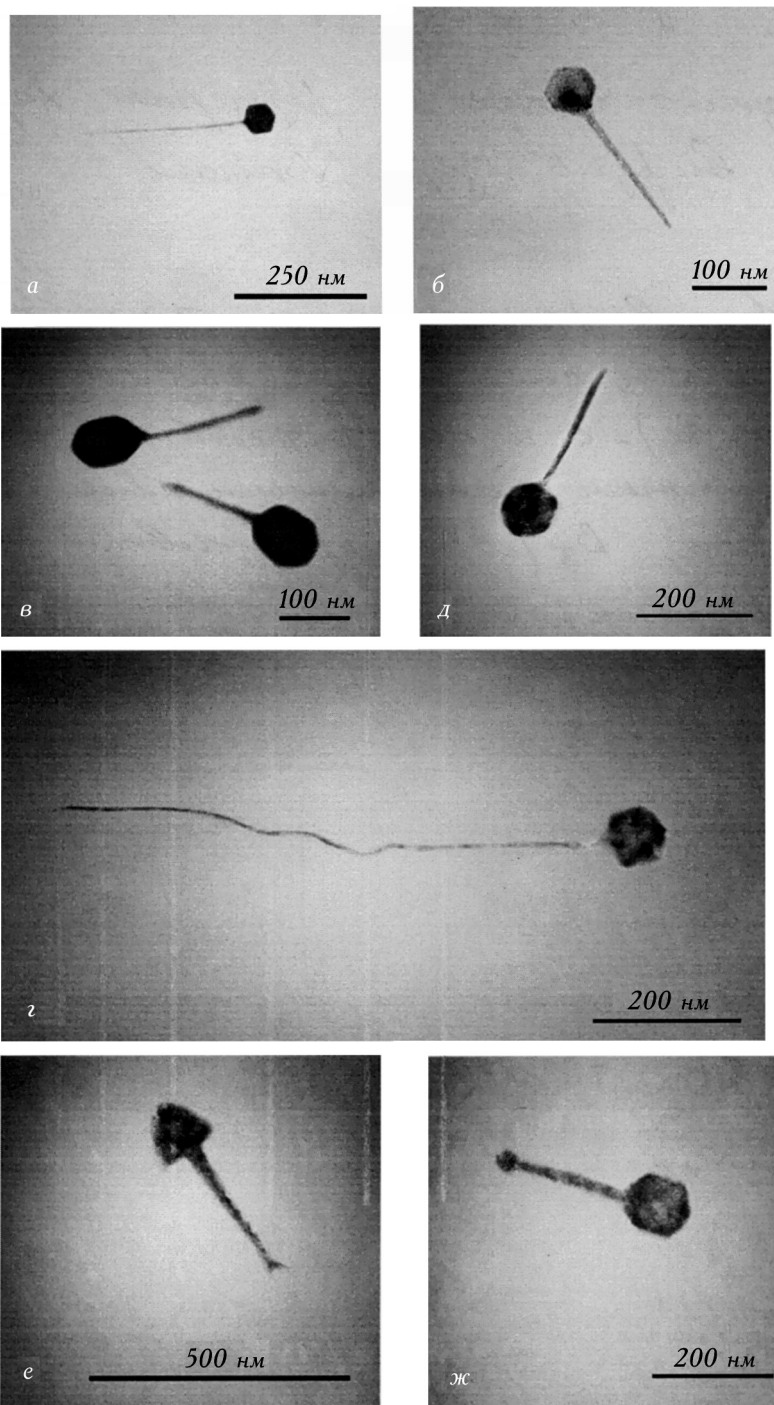
Целью настоящей работы явилось изучение морфологического разнообразия и размерной характеристики природного вирусного сообщества в воде олиготрофного озера Байкал.

Материал и методика исследований. Отбор проб воды проводили в 2004—2006 гг. в пелагиали Южного Байкала на разрезе Листвянка — Танхой (51° 42' N, 105° E) с глубин 0, 25, 250, 500, 1200 м в зимний, весенний, летний и осенний периоды. Объем пробы воды составил 0,5 л. Исследования природного вирусного сообщества были проведены с использованием метода трансмиссионной электронной микроскопии [4]. Пробы воды фиксировали формальдегидом (конечная концентрация 1%) и фильтровали через мембранный фильтр «Сынпор» № 2 (2,5 мкм) для удаления взвеси, фито- и зоопланктона. Бактериофаги осаждали ультрацентрифугированием — бакет-ротатор «Beckman-L8-55», 100000 г (время 1,5 час). Осадок ресуспендировали в объеме 1,5 мл. Суспензию в количестве 20 мкл наносили на медные сетки, покрытые формвар-углеродной подложкой, высушивали на воздухе и контрастировали 1%-ным раствором фосфовольфрамовой кислоты в течение трех минут¹. Из каждой пробы воды было приготовлено по три сетки, на которых учитывали бактериофаги различных морфологических типов. Препараты просматривали на трансмиссионном электронном микроскопе ЛЕО-906Е при увеличении 40 000—100 000×. Было изучено 2000 свободных вирусных частиц. Морфологическое описание фагов сделано по компьютерным микроснимкам, сохраненным на электронных носителях. Идентификация найденных в Байкале бактериофагов проведена по международной классификации [2].

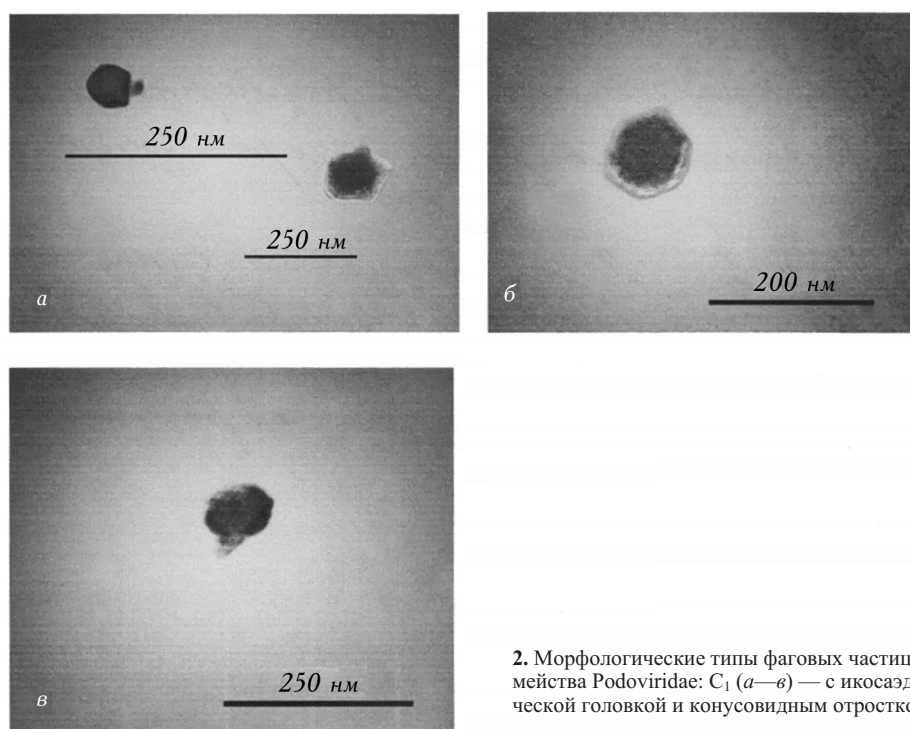
Результаты исследований и их обсуждение

Электронно-микроскопическое изучение вирусного сообщества оз. Байкал показало преобладание фагов с длинным несократимым хвостовым отростком семейства Siphoviridae (морфотипы В₁ и В₂) — 59%. Это фаги с различной формой и размером головки, который колебался в довольно широких пределах — от 20 до 254 нм, длина несократимого отростка составляла 45—780 нм. У отдельных представителей этого семейства отмечается большое сходство в морфологии, однако, форма головки, длина хвостового отростка и его некоторые структурные детали придают фагам индивидуальные черты строения. Форма головки фагов, встречающихся у различных представителей семейства Siphoviridae, может быть как в виде изометрического многогранника и представлять собой икосаэдр — морфотип В₁ (рис. 1, а, б), так и удлиненного многогранника — морфотип В₃ (рис. 1, в). У некоторых фагов видна капсомерная структура головки (рис. 1, г, г), другие частицы обладают дополнительными структурами на отростке, выступающими за его пределы (рис. 1, е). Встречаются фаги с периодической исчерченностью несократимого хвостового отростка, на конце которого имеется базальная пластинка с короткими выростами (рис. 1, ж). По данным ряда исследователей

¹ Техническая помощь в подготовке сеток для электронной микроскопии любезно оказана Е. Д. Бедошвили.



1. Морфологические типы фаговых частиц семейства Siphoviridae: В₁ (а, б, з—ж) — с изометрической головкой и длинным несократимым хвостовым отростком; В₃ (в) — с продолговатой головкой и несократимым хвостовым отростком.

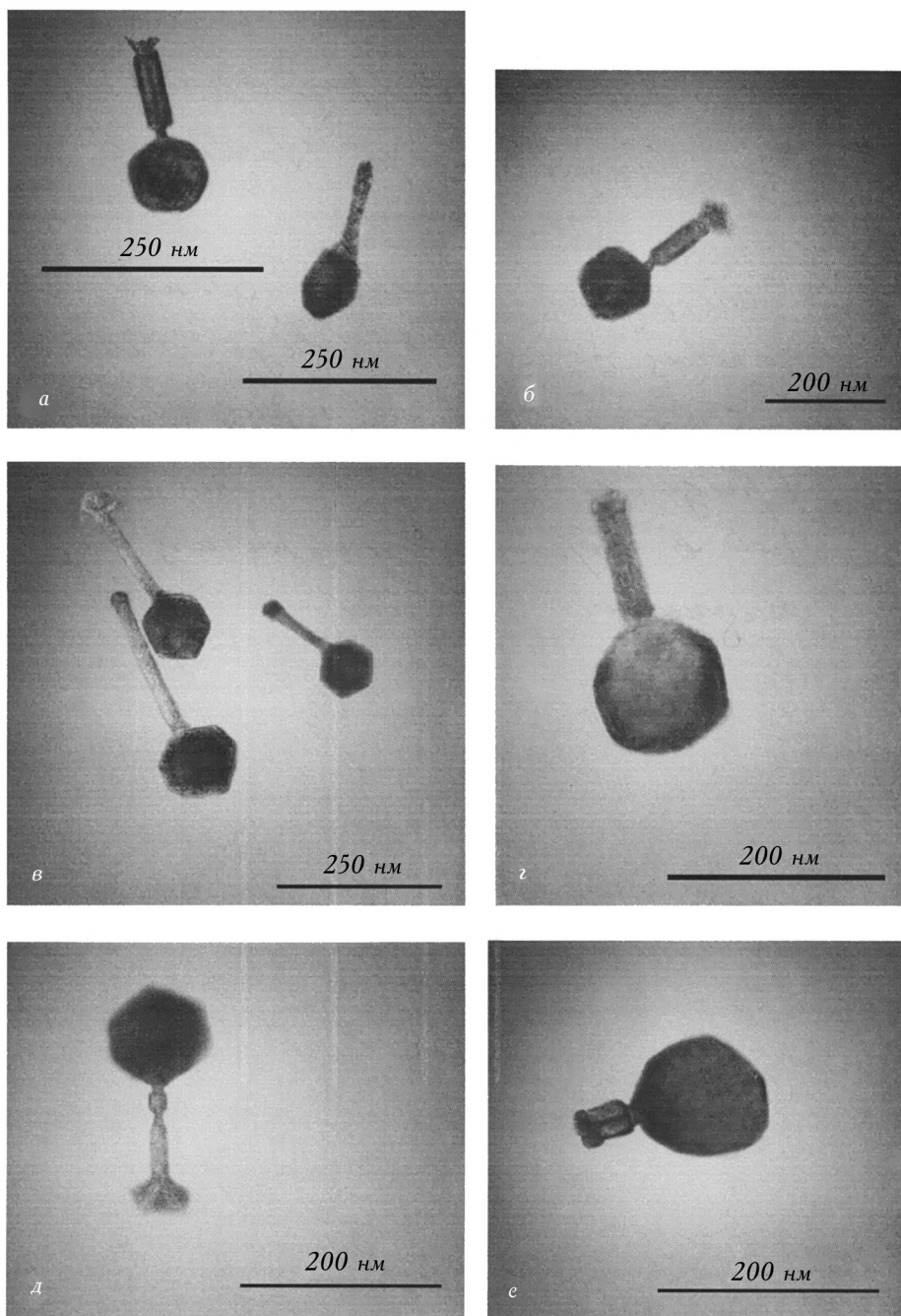


2. Морфологические типы фаговых частиц семейства Podoviridae: С₁ (а—в) — с икосаэдрической головкой и конусовидным отростком.

[1, 7, 14] эта группа фаговых частиц в большей степени представлена в водных экосистемах.

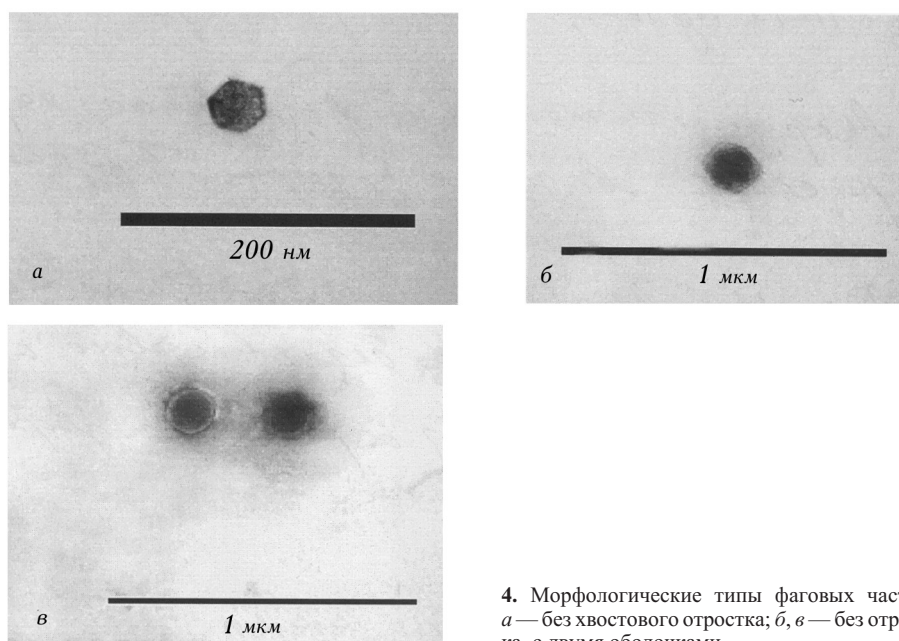
Второе место по значимости в байкальской воде занимают бактериофаги семейства Podoviridae (морфотипы С₁, С₂) — 11%, частицы которых представляют собой икосаэдр и имеют гексагональную форму на плоскости. Характерная особенность бактериофагов этого семейства — наличие короткого конусовидного отростка без базальной пластинки, отходящего от одной из вершин многогранной головки (рис. 2, а, б). Редко встречаются фаги с явно выраженными структурными деталями у основания отростка (рис. 2, в). Размер головки фаговых частиц составляет 40—73 нм, длина конусовидного выроста — 8—29 нм.

В оз. Байкал представители семейства Myoviridae отличаются значительной структурной организацией сократимого хвостового отростка и составляют 6%. Чехол отростка бактериофагов находится в двух различных состояниях: в растянутом, что характерно для интактных частиц, или в сокращенном состоянии. Большинство фагов имеют базальную пластинку с разного рода структурами. Так, отмечено существование у бактериофагов базальной пластинки с зубцеобразными придатками (рис. 3, а, б) и войлочным придатком на конце отростка (рис. 3, в, г). Встречаются фаги с дополнительными структурами в виде воротничка (рис. 3, г) и с шаровидными телами на конце отростка (рис. 3, е). Бактериофаги этого семейства — морфотипы А₁, А₂ имеют икосаэдрическую форму головки размером 69—143 нм, размер хвостового отростка составляет 25—326 нм, длина чехла — 15—121 нм, а его ширина — 15—45 нм.



3. Морфологические типы фаговых частиц семейства Myoviridae: *а, б* — с зубцеобразными придатками на конце базальной пластинки; *в, г* — с войлочным придатком; *д* — с дополнительной структурой в форме воротничка; *е* — с шаровидными телами.

В озере отмечена группа вирусных частиц, у которых отсутствует четко дифференцированный отросток, характерный для большинства бактерио-



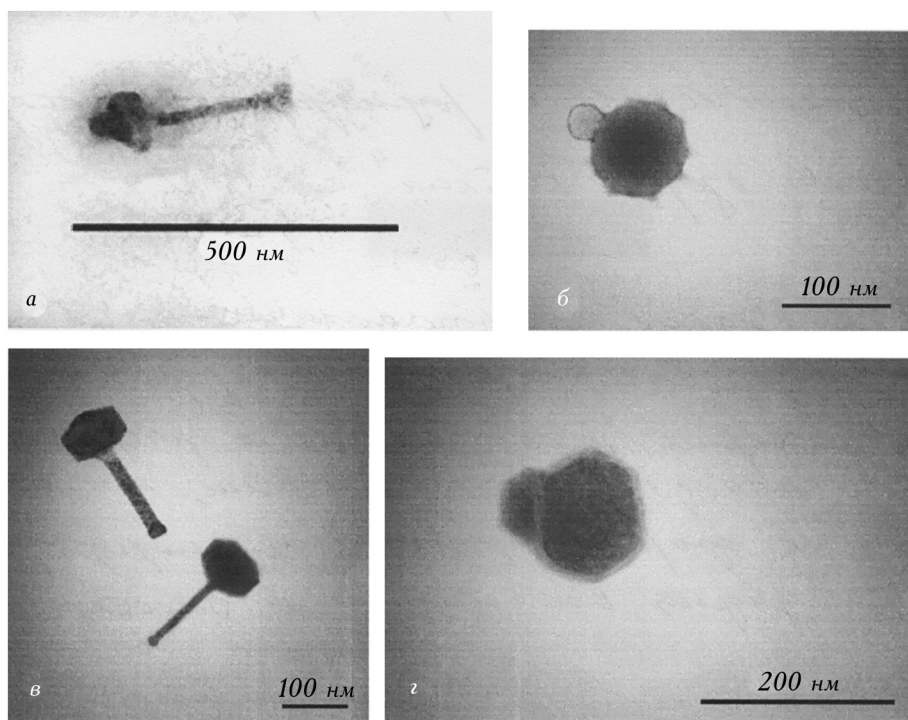
4. Морфологические типы фаговых частиц: *a* — без хвостового отростка; *б, в* — без отростка, с двумя оболочками.

фагов. Это частицы икосаэдрической формы с малыми размерами (36—42 нм), которые отличаются от других форм своей однородностью как по размерам, так и по морфологии частиц (рис. 4, *a*). Другая группа фагов, представленная на рисунке 4 (*б, в*), характеризуется довольно крупными размерами (110—160 нм) и наличием двух четко выраженных оболочек. Подобные частицы были найдены в природном вирусном сообществе ультра-олиготрофного озера Спрут [10]. Для морских систем известны только изоляты подобных фагов [5, 13].

Особый интерес представляют редкие формы бактериофагов, обнаруженные в Байкале. Так, своеобразный морфотип был найден в летних образцах воды, который имеет головку в форме «юлы», (рис. 5, *a*) а также фаг с двумя четко дифференцированными оболочками и толстым хвостовым выростом (рис. 5, *г*). Исключительная особенность другого фага заключается в том, что от капсида радиально отходят шиповидные выросты длиной 7 нм (рис. 5, *б*). Фаги, представленные на рисунке 5, *в*, отличаются от всех известных морфотипов вытянутой головкой поперек хвостового отростка в форме «молотка». Следует отметить, что среди разнообразия фаговых частиц, описанных разными авторами [1, 2, 5, 7, 12], редкие формы, отмеченные нами в озере Байкал, не найдены. Отсутствуют они и в современной классификации фагов.

Заключение

Природное вирусное сообщество озера Байкал характеризуется высоким морфологическим разнообразием. Среди изученных 2000 вирусов первое место (59%) занимают фаги семейства Siphoviridae (морфотипы V_1, V_2, V_3) с длинным несократимым хвостовым отростком. Фаговые частицы с укороченным хвостовым отростком — представители семейства Podoviridae (морфотипы C_1, C_2) со-



5. Редкие морфологические типы фаговых частиц: *а* — морфотип в форме «молотка»; *б* — фаг с радиально отходящими выростами; *в* — морфотип в форме «молотка»; *г* — морфотип с двумя оболочками и толстым выростом.

ставляют 11%. В меньшей степени (6%) представлены бактериофаги семейства *Myoviridae* (морфотипы A_1 , A_2), отличающиеся значительной структурной организацией сократимого хвостового отростка.

Значительная часть фагов в воде озера Байкал имеет икосаэдрическую форму головки с тремя осями симметрии, редко встречаются фаги с одной симметричной осью. Подавляющее большинство фагов (76%) в озере относятся к порядку *Caudovirales* (хвостатые фаги). Кроме того, найдены редкие бактериофаги, отличающиеся своеобразными морфологическими особенностями.

Вирусы бактерий озера Байкал характеризуются большим структурным разнообразием, проявляющимся, главным образом, в тонких деталях строения хвостового отростка. Возможно эти индивидуальные черты, присущие различным фагам, и обуславливают их специфичность в отношении определенного типа бактерий-хозяев.

**

*Представлені результати досліджень (2004—2006 рр.) природного вірусного угруповання оліготрофного озера Байкал. Виявлені особливості морфології і розмірної структури 2000 вільних вірусних часток. Встановлено, що переважна більшість фагів (76%) відносяться до порядку *Caudovirales* (хвостові фаги). Відзначено велику*

структурну різноманітність фагів представників сімейств *Siphoviridae*, *Myoviridae*, що виявляється, насамперед, в тонких деталях будови хвостового паростка.

**

The results (2004—2006) of natural viral community studies from the oligotrophic Lake Baikal. Peculiar features of morphology and size structure of 2000 free viral particles have been described. The major part of phages (76%) belongs to the order Caudovirales (tail phages). A high level of structural diversity of phages have been observed in representatives of families the Siphoviridae and Myoviridae which is recorded mainly in fine structures of tail appendages.

**

1. Сироткин А.К., Гаврилова О.В., Волошко О.Н. Вирусы в планктоне Ладожского озера // Докл. РАН. — 2001. — Т. 378, № 3. — С. 427—429.
2. Ackermann H.W. Frequency of morphological phage descriptions in 1995 // J. Arch. Virol. — 1996. — Vol. 141. — P. 209—218.
3. Bergh O., Borsheim K.Y., Bratbak G., Haldal M. High abundance of viruses found in aquatic environments // Nature. — 1989. — Vol. 340. — P. 467—468.
4. Bettarel Y., Sime-Ngando T., Amblard C., Valeran H. A comparison of methods for counting viruses in aquatic systems // J. Appl. Environ. Microbiol. — 2000. — Vol. 66, N 6. — P. 2283—2289.
5. Borsheim K.Y. Native marine bacteriophages // FEMS Microbiol. Ecol. — 1993. — Vol. 102. — P. 141—159.
6. Bratbak G., Haldal M., Norland S., Thingstad T.F. Viruses as partners in spring bloom microbial trophodynamics // J. Appl. Environ. Microbiol. — 1990. — Vol. 56, N 5. — P. 1400—1405.
7. Demuth J., Neve H., Witzel K. Direct electron microscopy study on the morphological diversity of bacteriophage populations in lake Plußsee // Ibid. — 1993 — Vol. 59, N 10. — P. 3378—3384.
8. Edwards R.A., Rohwer F. Viral metagenomics // Nat. Rev. Microbiol. — 2005. — Vol. 3, № 6. — P. 504—510.
9. Fuhrman J.A. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects // Nature. — 1999. — Vol. 399. — P. 541—548.
10. Klut M., Stockner J. Virus-like particles in an ultra-oligotrophic lake on Vancouver Island British Columbia // Can. J. Fish. Aquat. Sci. — 1990. — Vol. 47. — P. 725—730.
11. Mathias C. B., Kirscher A.K., Vilimirov B. Seasonal variations of virus abundance and viral control of the bacterial production in a backwater system of the Danube river // J. Appl. Environ. Microbiol. — 1995. — Vol. 61, N 10. — P. 3734—3740.
12. Proctor L.M. Advances in the study of marine viruses // Microsc. Res. Tech. — 1997. — Vol. 37. — N 2. — P. 136—161.
13. Proctor L.M., Fuhrman J.A. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria // Nature. — 1990. — V. 343. — P. 60—62.
14. Weinbauer M.G. Ecology of procariotic viruses // FEMS Microbiol. Rev. — 2004. — Vol. 28, N 2. — P. 127—181.
15. Wommack K. E., Colwell R.R. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2000. — Vol. 64, N 1. — P. 69—114.