

В каждой капле воды — ВИРУСЫ!

Везде, где есть жизнь, есть вирусы. Водная среда, занимающая большую часть нашей планеты, в которой сосуществует огромное число различных организмов, создает прекрасные условия и для жизни вирусов. В водных экосистемах вирусы атакуют все живые организмы – от бактерий до китов. Оставим за рамками рассмотрения вирусы крупных организмов и останемся в микромире – в мире микроскопических организмов, которые являются основой пищевых цепей и, как выясняется, многих глобальных процессов



ЛИХОШВАЙ Елена Валентиновна – доктор биологических наук, профессор, заведующая отделом ультраструктуры клетки Лимнологического института СО РАН (Иркутск). Автор и соавтор свыше 170 научных работ и монографий

Первая информация о количестве вирусных частиц в водных экосистемах, потрясая исследователей, была получена в 1989 г. (Bergh *et al.*, 1989). Материал из проб морской воды был осажден центрифугированием прямо на сеточки с пленкой-подложкой и исследован в трансмиссионном (просвечивающем) электронном микроскопе. В одном миллилитре оказалось до $2,5 \times 10^8$ вирусных частиц, представленных в основном фагами с характерной морфологией (капсид-отросток, или голова-хвост), что в 10^3 – 10^7 раз превышало концентрацию фагов, определенную путем традиционного высева проб на бактериальный газон (метод бляшек). Разница на порядки объясняется тем, что не все бактерии культивируются, и не все вирусы-фаги инфицируют именно бактерии.

Дальнейшие работы дали ошеломляющие результаты. Оказалось, что вирусы – самые многочисленные «организмы» океанов. Если поставить все 10^{30} вирусных частиц, обитающих в Мировом океане, в цепочку, то она растянется на 60 галактик(!) (Suttle, 2007). Они содержат около 200 мега-тонн углерода (Suttle, 2013).

Ясно, что такой объект водных экосистем нельзя оставлять без внимания. И это не «просто биомасса».

Бактериофаги в глобальном круговороте

В следующем после открытия водных вирусов году появились результаты исследований, проведенных во время весеннего развития водорослей и питающихся бактериями флагеллят (Bratbak *et al.*, 1990). Оказалось, что концентрация вирусных частиц во время весеннего цветения меняется, достигая максимума в конце развития диатомей, когда в слизи отмерших или прекративших деление клеток наблюдается самое большое число бактерий

На современной схеме глобального круговорота органического вещества и биогенных элементов в водных экосистемах важное место занимает «вириопланктон», под которым подразумевается вся совокупность вирусов одноклеточных водных организмов, включая бактериофаги – вирусы бактерий, цианофаги – вирусы цианобактерий, вирусы архей, альговирусы, поражающие эукариотические одноклеточные водоросли, вирусы протозоа, поражающие простейших, таких как амёбы и жгутиковые и вириофаги (вирусы вирусов). Как видно из схемы, вириопланктон влияет сразу на многие биогеохимические и экологические процессы в различных звеньях экосистемы.
По: (Wommack & Colwell, 2000)

Ключевые слова: водные экосистемы, вириопланктон, бактериофаги, цианофаги, вирусы архей, три домена жизни.

Key words: aquatic ecosystems, viroplankton, bacteriophages, cyanophages, archaeal viruses, three domains of life

Вирусы (от лат. *virus* – «яд») формируют отдельный домен наряду с тремя другими «клеточными» доменами – бактериями, археями и эукариотами. В нем 7 порядков, включающих 29 семейств, и дополнительно 82 семейства, не отнесенных к каким-либо порядкам, и этот список пополняется (<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>). Не будем спорить, живые они или не живые, просто они живут в особой окружающей среде – в живой клетке. Так же как рыба не может жить без воды, вирусы не могут жить без клетки. Но рыба без воды погибает, а вирусам клетка нужна только для размножения, вне клетки они могут сохраняться как угодно долго, то есть, вирусы даже более жизнеспособны, чем другие организмы!

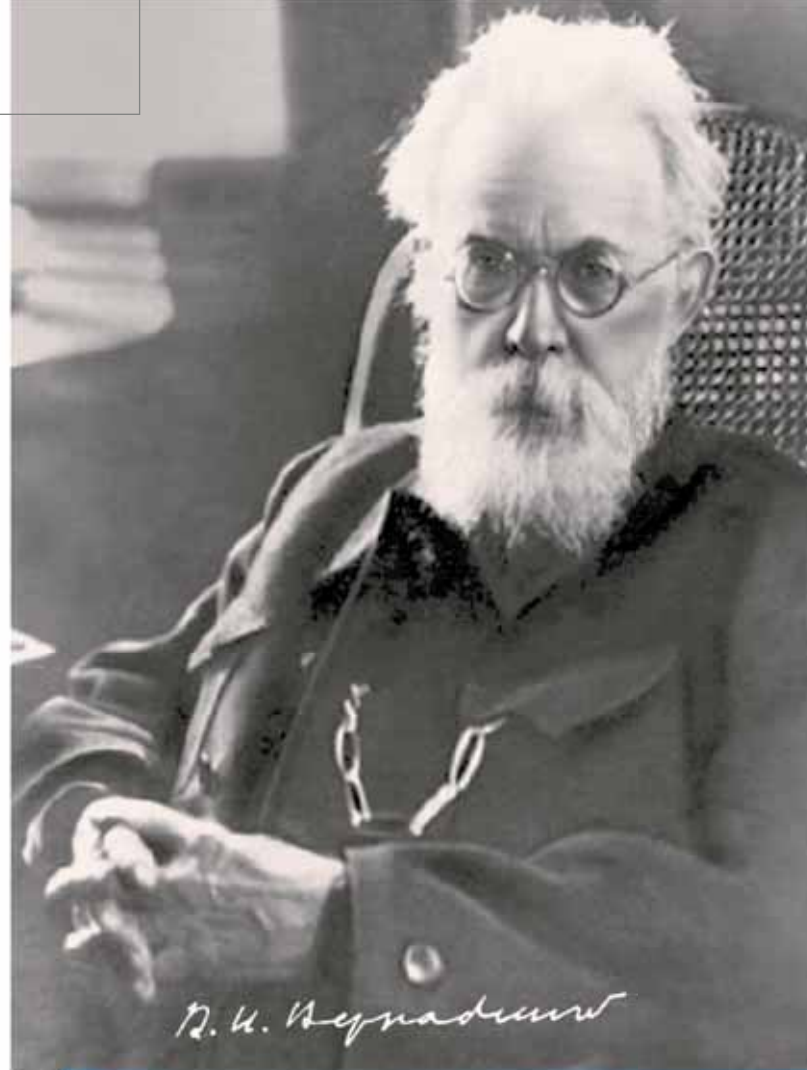
и вирусов. Эти наблюдения позволили авторам сделать предположение, что вирусы являются активными участниками микробной пищевой сети в качестве агентов, приводящих к лизису бактерий, тем самым, выводя часть бактериальной продукции из пищевой цепи «хищник-жертва», в данном случае – «флагелляты-бактерии».

Определение роли бактериофагов в водных экосистемах привело к существенному пересмотру представления о глобальном круговороте биогенных элементов. Раньше считалось, что гетеротрофные бактерии делают свое «гетеротрофное дело», расщепляя остатки органических веществ отмерших организмов и вращая по бактериальной петле циклы азота, углерода и других биогенных элементов. Введение в систему бактериофагов, активно и массово лизирующих бактерии, изменило эту схему.

Во-первых, удаление из экосистемы части бактерий, уничтоженной фагами, уменьшает интенсивность перевода нерастворимого (взвешенного в водной толще и осаждающегося на дно) биогенного вещества (различных частиц, отмерших организмов и др.) – в растворенное (расщепленное, гидролизованное). Таким образом фаги нарушают классическую пищевую цепь. Этот процесс был назван вирусным шунтом (Wilhelm, Suttle 1999).

Роль бактериофагов в глобальных циклах вещества и энергии была впервые отмечена выдающимся российским ученым академиком В.И. Вернадским, еще в 1927 г. опубликовавшим в журнале «Природа» свою пионерную работу «Бактериофаг и скорость передачи жизни в биосфере».

По: (В.И. Вернадский, Киев: НАН Украины, 2011. Том 4. Книга 1, с. 392)



392

ВЫБРАНИЕ ПРАШ

X

Работы над бактериофагами открывают новые проявления жизни в биосфере. Во-первых, они указывают, что могут существовать организмы, еще более мелкие, чем бактерии, обладающие еще большей геохимической энергией. Скорость ее передачи для этих организмов, т. е. скорость передачи их жизни в биосфере, превышает в несколько раз скорость звуковых волн в атмосфере.

В соответствии с этим организмы эти не могут существовать без редкого разрушения той среды, в которой они размножаются. Вне тех организмов в которых они размножаются, они находятся в латентном состоянии. Вероятно, таковы все организмы, размеры которых отвечают порядку тел 10^9 а. Организмы порядка 10^9 а (т. е. сотых долей микрона) могут существовать — проявлять активную геохимическую энергию — только внутри живого вещества, его интенсивно разрушая. Организмы этого и следующего порядка, 10^8 а (т. е. десятых долей микрона), лежат вне поля тяготения — живут в поле молекулярных сил.

Только организмы порядка 10^9 а и выше входят в область проявления сил, которым подчинены мы сами, попадают в наше обычное пространство.

Такое живое вещество в этой доступной непосредственному решению наших органов чувств среде — в поле тяготения — стремится в своем бытии достигнуть всюдности, проникнуть всюду, заполнить среду до конца. Оно достигает этого своей способностью к приспособлению к среде, способностью, действующей неустанно и непрерывно сотни миллионов, по-видимому, миллиарды лет. Приспособляемость жизни необычайна, и формы ее проявления бесконечны. Идет, по-видимому, расширение поля жизни [11, стр. 112 и сл.].

В бактериофагах мы наблюдаем то же явление в молекулярно-термодинамическом поле. Жизнь и здесь достигает своего возможного физического предела.

Мы не знаем, проявлением чего является это основное свойство живого тела, его стремление заполнить любое пространство — давление жизни.

Его проявление и в поле тяготения, и в поле молекулярных сил, по-видимому, указывает, что сила, которой оно служит выражением, выходит за пределы энергии планеты.

По оценкам авторов, через этот шунт может проходить до четверти первичной продукции углерода океана.

Во-вторых, разрушение бактерий приводит к высвобождению из них органических веществ, за увеличением концентрации которых в среде следует изменение сообщества других микроскопических организмов – микроводорослей. Одни из них ответят на это активным ростом, «цветением», другие будут угнетены. Понимание этих последствий привело к пересмотру не только схемы глобального круговорота органического вещества и биогенных элементов, но и структурно-функциональной организации водных экосистем в целом. Было введено понятие вириопланктон (Wommack, Colwell, 2000). Согласно новой схеме глобального круговорота органического вещества и биогенных элементов водных экосистем вириопланктон влияет на многие биогеохимические и экологические процессы, включая цикл питания, дыхания и распределение веществ в различных звеньях экосистемы.

В-третьих, морфологическое разнообразие бактериофагов в водных экосистемах велико, эта «армия» может избирательно поражать различных хозяев, приводя к изменению их соотношения в сообществах водных экосистем.

Количественная мультитрофическая модель, созданная авторским коллективом океанологов и математиков описывает влияние морских вирусов на микробные пищевые сети и процессы, проходящие в экосистемах. Согласно этой модели водные экосистемы, содержащие вирусы, будут иметь усиленный круговорот органического вещества, уменьшенный перенос этого вещества на более высокие трофические уровни и увеличенную валовую первичную продуктивность (Weitz *et al.*, 2014). Авторы модели считают, что в оценках круговорота углерода и азота необходимо учитывать роль вирусов, так как они являются важной составляющей пищевых сетей и регулируют глобальные биогеохимические циклы.

Цианофаги – особый случай?

Цианобактерии (синезеленые водоросли), хотя и относятся к домену *Bacteria*, благодаря способности к фотосинтезу играют иную нежели гетеротрофные бактерии роль в водных экосистемах. Это одни из самых древних организмов. Они доминировали на ранних стадиях эволюции биосферы Земли и определяли биогеохимические циклы. Их бурное развитие вызвало изменение атмосферы, обогатило ее кислородом, что сделало возможным появление других организмов и направило эволюцию биосферы нашей планеты. Можно предположить, что цианофагов тогда еще не было.

И сегодня среди цианобактерий есть экстремофилы – виды, прекрасно существующие в горячих источниках,

Вирус морской диатомы *Chaetoceros debilis* CdebDNAV – сохраняет инфекционность при широком диапазоне температур (от 20°C до -196°C) без добавления криопротекторов (Nagasaki, 2008).

Вирусы токсичной красной водоросли *Heterosigma akashiwo* сохраняют литическую активность в донных отложениях (Lawrence, 2002).

Цианофаги могут сохраняться в осадках до 100 лет (Suttle, 2000).

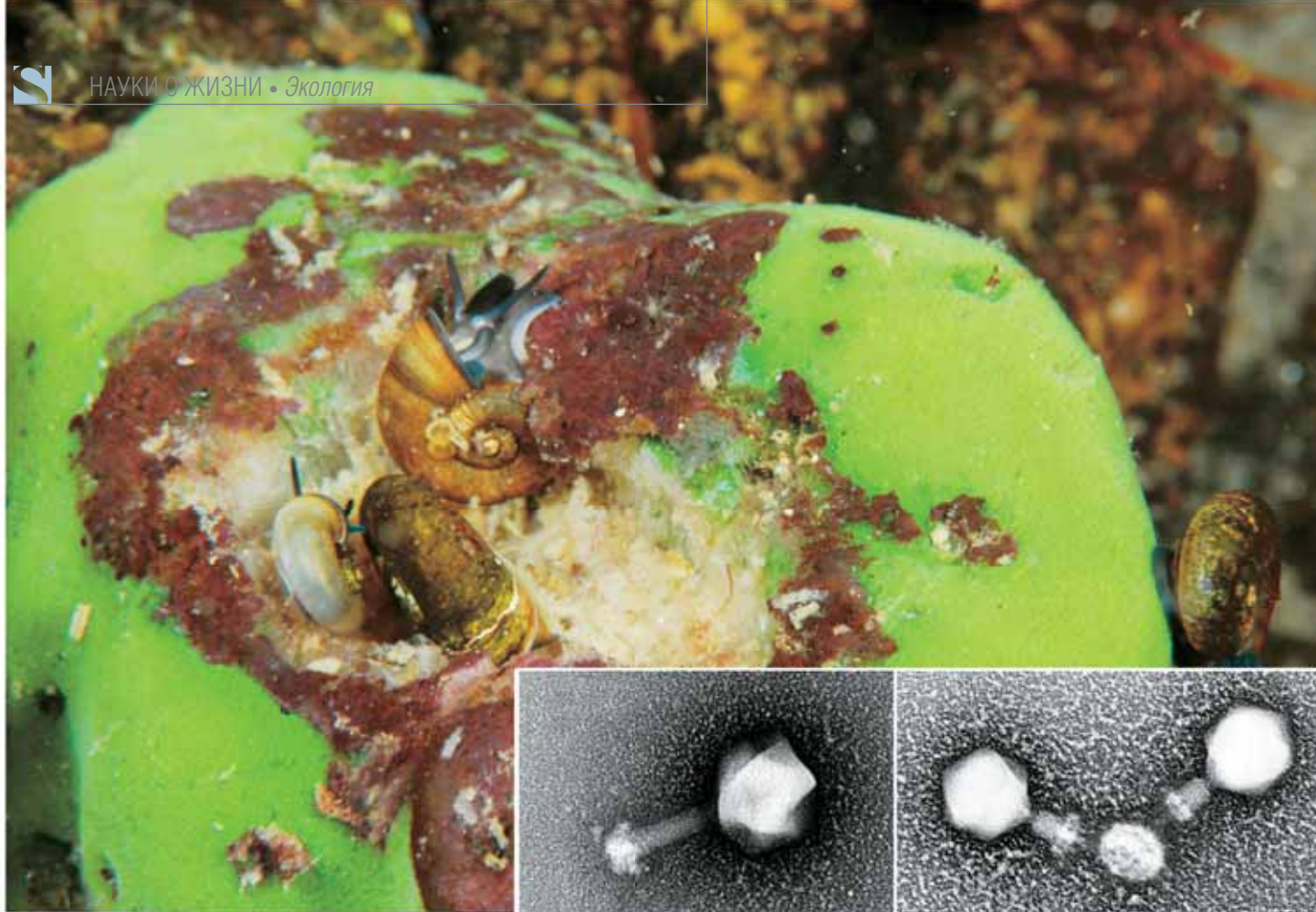
Гигантский вирус амёб *Pithovirus sibericum* – выделен из вечной мерзлоты возрастом 30 тыс. лет (Legendre *et al.*, 2014).

жарких пустынях, а также арктических и антарктических условиях. Если у таких видов есть цианофаги, то насколько они, эти цианофаги, уникальны?

В современных морских и пресноводных водоемах цианобактерии многочисленны и разнообразны: они обитают в водной толще, на дне, на водной растительности и различных субстратах. За цианобактериями закрепилась «дурная слава» – их бурное цветение делает водоемы неприглядными, а цианотоксины, выделяемые некоторыми видами, делают воду непригодной для питья, а некоторые из них – смертельно опасны. Возможно ли получение биопрепаратов на основе цианофагов, применение которых решило бы эти проблемы? Насколько хорошо изучены цианофаги?

Активное изучение цианофагов началось в 60-х гг. прошлого века. Сравнивая данные детальных наблюдений за развитием чистых альгокультур цианобактерий и других водорослей в лабораторных условиях и водорослей в природе Роберт В. Краусс (Robert W. Krauss) задумался над вопросом, почему лабораторные культуры могут месяцами сохранять жизнеспособность при низкой освещенности и скудном питании, а в природе «цветение» водорослей быстро прекращается даже в стабильных условиях окружающей среды? В 1960 г. на совещании, посвященном проблемам водоснабжения мегаполисов, он высказал предположение, что причиной быстрого разрушения водорослей могут быть «другие организмы» – фаги или сходные с ними вирусы (Krauss, 1961).

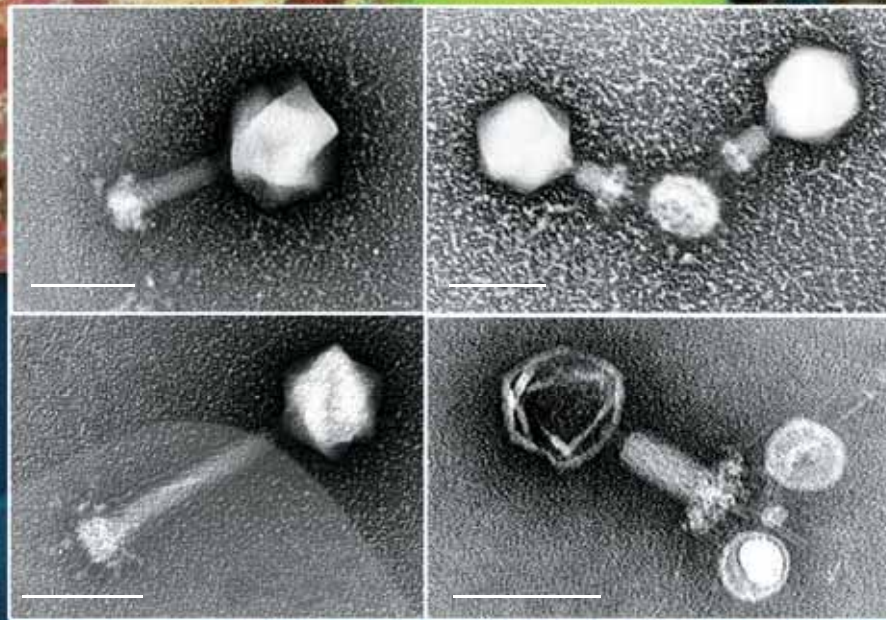
Поскольку пресноводные нитчатые цианобактерии легко культивируются, именно из них и были выделены первые цианофаги – вирусные частицы в форме икосаэдра без хвоста диаметром 66 нм, о чем последовало короткое сообщение в *Science* (Safferman, Morris, 1963). Ими были инфицированы нитчатые цианобактерии *Lyngbya*, *Plectonema* и *Phormidium*. За последующие десять лет были выявлены фаги у других цианобактерий, в том числе пикопланктонных (*Synechococcus*, *Microcystis*) и нитчатых, формирующих гетероцисты



(*Anabena*, *Nostoc*). Пробы для исследования были получены, в основном, из сточных вод и очистных сооружений.

Морские цианофаги были впервые выделены только в 1981 г. (Moisa *et al.*, 1981), они инфицировали нитчатые и одиночные цианобактерии в Черном море. Сообщение об этом оставалось без внимания почти десять лет – до тех пор, пока не вышла работа, в которой было показано, что значительная часть цианобактерий в морях инфицирована вирусами (Proctor, Fuhrman, 1990). В дальнейшем выяснилось, что инфекционные цианофаги могут быть выделены прямо из морской воды и содержатся в ней в высоких концентрациях.

Например, в Мексиканском заливе число цианофагов, инфицирующих определенные культивируемые штаммы *Synechococcus*, может достигать одного миллиона в одном



Зона на теле губки, пораженная цианобактериями (вверху). Фото И. Ханаева (ЛИН СО РАН)

На электронных микрофотографиях представлены примеры «хвостатых» бактериофагов семейства Myoviridae с сократительным хвостовым отростком (внизу). Фото: Public Library of Science journal (<http://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.0030144>)

ЗА РАЗНООБРАЗИЕМ – НА БАЙКАЛ!

В настоящее время согласно Международной классификации и таксономии вирусов (ICTV) бактериофаги, в зависимости от типа нуклеиновой кислоты разделяют на ДНК- и РНК-содержащие, которые, в свою очередь, разделяются на семейства по морфологическим признакам.

Исторически исследования водных бактериофагов связаны со сточными водами, где обнаруживаются колифаги, – бактериофаги кишечной палочки. Но на самом деле задача гораздо шире – обнаружить разнообразные фаги, поражающие другие бактерии, а не только *Escherichia coli*, или новые неизвестные фаги с возможными новыми свойствами. Практически одновременно с введением понятия вириопланктона в морской среде, были начаты исследования бактериофагов в воде озера Байкал. Сначала были выявлены фаги, поражающие присутствующую в воде кишечную палочку (Дрюккер, Масленников, 1998), а с 2002 г. для определения морфологии бактериофагов

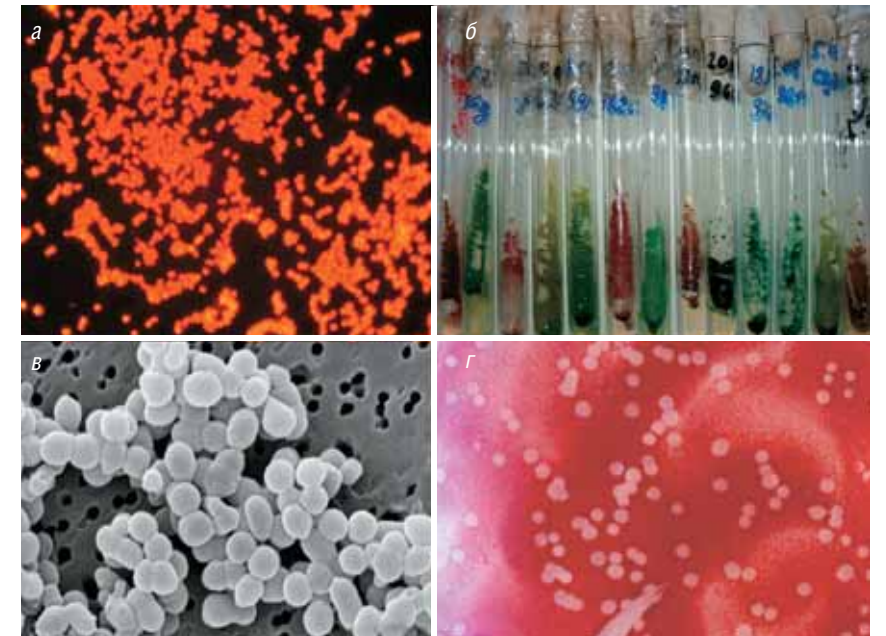
стали использовать трансмиссионную электронную микроскопию.

В Байкале за рекордно долгий для пресноводных водоемов период существования, несмотря на климатические катаклизмы (а, может, и благодаря им) сформировалась уникальная биота, с большим видовым богатством и высоким уровнем эндемизма практически во всех группах организмов. Как оказалось, из десяти известных семейств ДНК-содержащих бактериофагов в Байкале обитают морфологически разнообразные представители девяти из них (*Myoviridae*, *Podoviridae*, *Siphoviridae*, *Fuselloviridae*, *Inoviridae*, *Microviridae*, *Tectiviridae*, *Leviviridae*, *Rudoviridae*). Кроме того, обнаружено и несколько морфотипов неизвестного систематического положения (Дрюккер, Дутова, 2006, 2009). Таким образом, огромное биоразнообразие, характерное для флоры и фауны озера Байкал, распространяется и на фаги.

Пикопланктонные цианобактерии, обитатели водной толщи:

- а – флуоресцентная микроскопия;
- б – изолированные штаммы пикопланктонных цианобактерий с различной окраской вследствие разного состава фотосинтетических пигментов;
- в – сканирующая электронная микроскопия;
- г – штамм *Synechococcus* sp., инфицированный цианофагами, с характерными бляшками лизиса.

Фото О. Бельых (ЛИН, СО РАН)



миллилитре. На долю этих цианофагов может приходиться 10% всех обнаруженных в пробе воды вирусов, они имеют сезонную динамику, следуют за динамикой развития *Synechococcus* и активно атакуют хозяина, когда концентрация его клеток в среде достигает максимальных величин. Цианофаги обнаруживаются и в донных осадках, где они могут сохранять инфекционность более 100 лет, то есть осадки можно рассматривать как важный резервуар цианофагов, который может время от времени «обогащать» экосистему (Christon, 2000).

Интересно, что пресноводные и морские цианофаги родственны (Wilhelm *et al.*, 200). Морфологически цианофаги ничем особенно от бактериофагов не отличаются и относятся к тем же семействам – в основном, «хвостатым» отряда *Caudovirales*.

Вирусы древнейших

Археи – это прокариоты, то есть, также как и бактерии, – «доядерные» организмы. По названию домена *Archaea* видно, что их считают одними из древнейших организмов на Земле. Морфологически археи сходны с бактериями, а вот генетически, как недавно подтвердил анализ полных геномов представителей 92 филумов бактерий, 26 филумов архей и всех пяти супергрупп эукариотических организмов, археи ближе к эукариотам (Hug *et al.*, 2016).

В гиперэкстремальных средах археи – это зачастую единственные живые организмы. Они как бы очерчивают границы биосферы, за пределами которых жизни нет. Отметим, что археи встречаются и в «мягких» условиях

среды – в пищеварительном тракте людей и термитов, почвах и донных осадках (Pikuta *et al.*, 2007).

Ферменты архей применяются в пищевой промышленности, так как могут работать при высоких температурах, а ДНК-полимераза архей *Pyrococcus furiosus* используется в ПЦР (полимеразной цепной реакции). Сами археи являются компонентом очистных сооружений, обеспечивая анаэробное разложение сточных вод; используются при обогащении руд ценных металлов. Ясно, что в промышленном производстве лизис архей вирусами – большая неприятность.

Для размножения «в неволе» археям требуются особые условия, большинство из них анаэробы, то есть кислород для них – яд, и культивировать в лабораторных условиях их удается не все и не всем. По этой причине изучение вирусов архей находится в самом начале. К настоящему времени выделено около 140 вирусов архей – это всего несколько процентов от числа известных вирусов (фагов) прокариот. Тем не менее, уже обнаружено много фактов, обращающих на себя внимание (Pina *et al.*, 2011; Prangishvili, 2013; Pietila *et al.*, 2014; Prangishvili *et al.*, 2016).

Вирусы архей морфологически более разнообразны, чем бактериофаги. Помимо «обычных» хвостатых икосаэдров, среди вирусов архей есть сферические и линейные; ветреновидные, бутылочко- и каплевидные, и даже уникальные, например, в форме лимона (Pietila *et al.*, 2014). При этом, большинство вирусов архей из высокосолёных вод сходны по морфологии с бактериофагами и имеют с ними общих предков. В частности, по данным анализа геномов, электронной криомикроскопии и модельных реконструкций изображений, родственны хвостатые фаги архей и бактерий (Pietila *et al.*, 2013). Другое дело – вирусы термофильных архей. Они имеют разнообразную и необычную морфологию, что свидетельствует об их независимом происхождении (Prangishvili, 2013).

Есть мнение, что природа генома и пути его репликации в клетке хозяина не являются самыми главными вопросами с точки зрения самого вируса (Abrescia *et al.*, 2012). Для сохранения «генофонда» и выживания в экстремальных условиях, в которых обитают их хозяева, вирусам нужна надежная защита. И она была изобретена и многим вирусам пригодилась.

Структурные исследования вирусных капсидов показали, что бесхвостые икосаэдры, инфицирующие архей, бактерий и эукариот, имеют общего предка (Abrescia *et al.*, 2012). Например, структурные сходства имеют белки оболочки нитчатых вирусов табачной мозаики, двух вирусов архей из рода *Acidianus* и вируса гепатита В. Несмотря на низкую гомологию аминокислотных последовательностей, белки вирусов архей могут иметь сходные элементы третичной структуры с вирусами других доменов (Dallas *et al.*, 2014). А совсем недавно

был описан нитевидный вирус гипертермофильной археи *Pyrobaculum*, который имеет уникальную среди ДНК-содержащих нитевидных вирусов структуру вириона. Его линейный геном заключен в трехслойный панцирь, состоящий из двух белковых слоев и дополнительной наружной оболочки. Вирион организован в виде суперспирали подобно вирусам Эбола и Марбург, но они являются РНК-содержащими (Rensen *et al.*, 2016). (картинку мы не взяли – она слишком мелкая)

Таким образом, изучение вирусов архей дает новое представление о «мире вирусов», выявляя глубокие эволюционные взаимоотношения между вирусами, инфицирующими хозяев из всех трех доменов живых организмов. Обнаруженные сведения поддерживают гипотезу о том, что последний общий предок клеточных организмов инфицировался большим количеством разных вирусов (Pietila *et al.*, 2014; Snyder *et al.*, 2015).

Каждую секунду в океане происходит 10^{23} вирусных инфекций. Каждая инфекция имеет возможность для введения новой генетической информации в организм и в вирусное потомство, способствуя таким образом эволюции как сообществ хозяина, так и вирусов (Suttle, 2007). И хотя важность водных вирусов уже стала очевидной, на многие вопросы наука пока ответить не может.

В заключение приведу цитату из лекции одного известного морского биолога: «Если вам интересно, как функционирует планета, то сначала надо понять, что главное – это не киты, которые, конечно, важны. Главное – это микробная жизнь, которую мы не можем увидеть глазами» (Suttle, 2013).

Литература

Bergh Ø, Borsheim KY, Bratbak G, Heldal M. Abundance of viruses found in aquatic environments // *Nature*. 1989. V. 340. P. 467–468.

Hug L.A., Baker B.J., Anantharaman K. *et al.* A new view of the tree of life // *Nature Microbiol.* 2016. 11 Apr. N. 16048. DOI 110.1038.

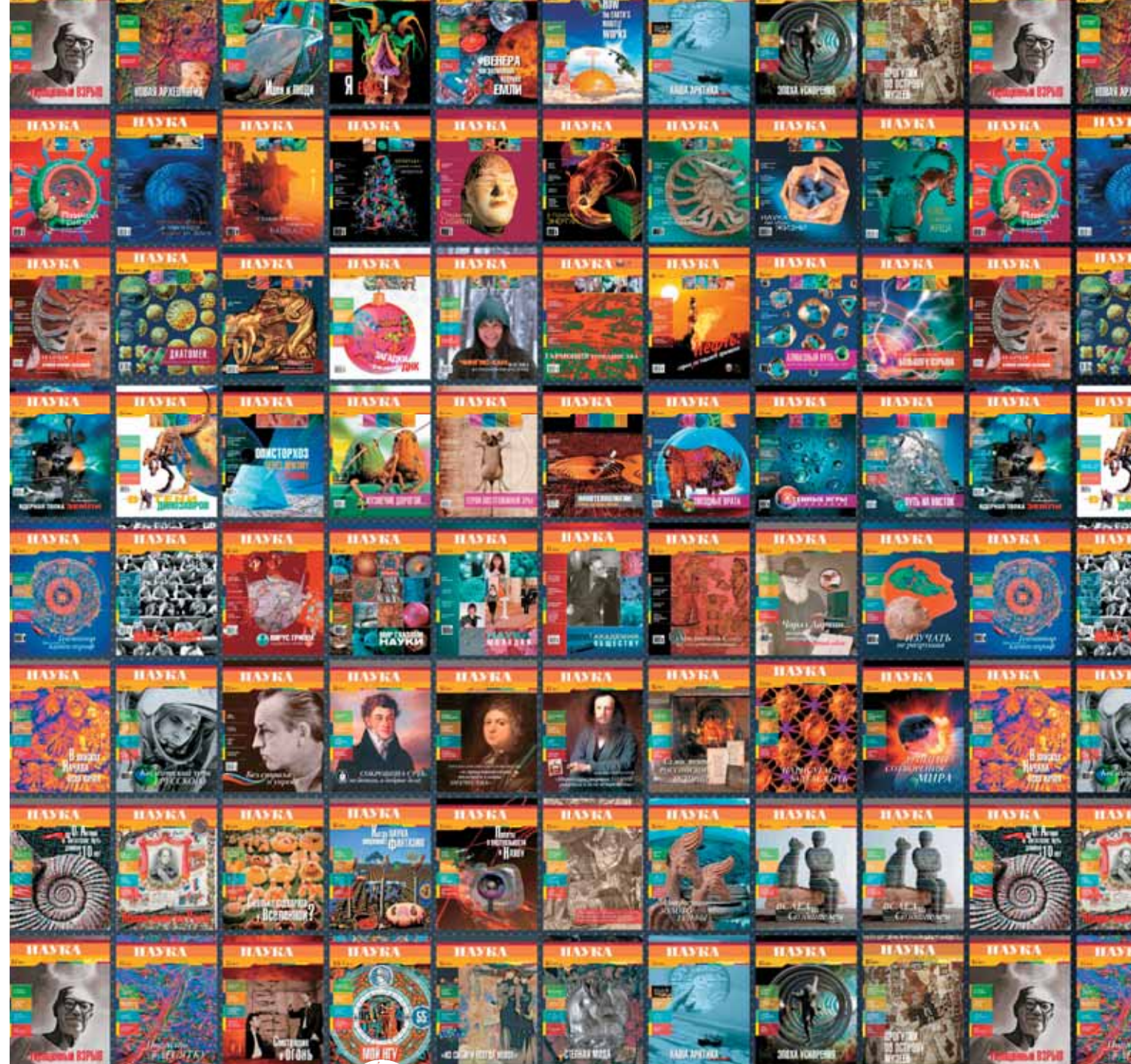
Pietilä M.K., Demina T.A., Atanasova N. S., Oksanen H.M., Bamford D.H. Archaeal viruses and bacteriophages: comparisons and contrasts // *Trends in Microbiology*. 2014. V. 2. N. 6. P. 334–344.

Prangishvili D. The wonderful world of archaeal viruses // *Annu. Rev. Microbiol.* 2013. V. 67. P. 565–85.

Suttle C.A. Viruses in the sea // *Nature*. 2005. V. 437. P. 356–361.

Дрюккер В.В., Дутова Н.В. Бактериофаги как новое трофическое звено в экосистеме глубоководного озера Байкал // Докл. РАН. 2009. Т. 427, № 2. С. 277–281.

Автор благодарит Г.И. Филиппову (ЛИН СО РАН, Иркутск) за помощь в подготовке публикации



НАУКА
из первых рук

SCIENCE
First Hand

Теперь Вы можете **ОФОРМИТЬ И ОПЛАТИТЬ ПОДПИСКУ**
НА ЭЛЕКТРОННУЮ ВЕРСИЮ (pdf) на сайте журнала www.scfh.ru:

http://scfh.ru/sub_re/ на русском языке
http://scfh.ru/en/sub_re/ на английском языке

ВСЕ АРХИВ журнала с 2004 по 2016 гг. – на сайте: <http://scfh.ru/archive/> –
на русском языке, <http://scfh.ru/en/archive/> – на английском языке