



Серия «Науки о Земле»  
2008. Т. 1, № 1. С. 189–197

Онлайн-доступ к журналу:  
<http://isu.ru/izvestia>

---

---

ИЗВЕСТИЯ  
Иркутского  
государственного  
университета

---

---

УДК 578.81 (282.256.341)

## Размерная структура, сезонная динамика и вертикальное распределение бактериофагов оз. Байкал

Дрюккер В. В. ([drucker@lin.irk.ru](mailto:drucker@lin.irk.ru)), Дутова Н. В., Ковадло А. С., Косторнова Т. Я.

**Аннотация.** Впервые в оз. Байкал в 2003–2006 гг. методом трансмиссионной электронной микроскопии были обнаружены и исследованы бактериофаги. В пробах воды, взятых с поверхности озера и на разных глубинах до 1400 м, выделены бактериофаги, изучен морфологический состав, их размерный спектр, сезонная динамика численности. Установлено большое разнообразие морфотипов бактериофагов, идентифицированных по международной классификации как семейства: *Siphoviridae* – 56 %, *Podoviridae* – 13 %, *Myoviridae* – 7 %. Размерный спектр байкальских бактериофагов представлен пятью классами величин, среди которых наибольшее количество составляют фаги размером 30–80 нм. Изучение численности показало максимальное содержание их в слое воды 0–25 м, а сезонная динамика имела два пика численности – весенний и летне-осенний. Установленная периодичность развития бактериофагов согласуется с сезонной динамикой общей численности бактериопланктона озера.

**Ключевые слова:** оз. Байкал, бактериофаги, морфотипы, размерная структура, сезонная динамика численности, бактериопланктон.

### Актуальность

Изучение функционирования экосистемы самого крупного (объем водной массы 23,6 тыс. км<sup>3</sup>), самого древнего (25 млн лет) и самого глубокого (1642 м) олиготрофного оз. Байкал имеет приоритетное научное и практическое значение, т. к. в нем содержится 20 % всей пресной воды на Земле. Исследование роли каждого компонента в структуре экосистемы озера и процессах трансформации энергии внутри биологического сообщества, в частности, необходимо для адекватного количественного описания потоков энергии в целом, а также для оценки данной экосистемы с точки зрения ее эффективности.

Микробная трофическая сеть («микробная петля»), включающая мельчайшие водоросли, цианобактерии, гетеротрофные бактерии, флагелляты, инфузории и др., является важным компонентом планктонных сообществ водных экосистем и выполняет функцию промежуточного звена в трансформации органического вещества от автотрофных организмов к метазой-

ному планктону. Для озер различного трофического статуса важно знать, как гетеротрофные микроорганизмы осуществляют быстрый рециклинг биогенных веществ и удерживают их внутри планктонного сообщества, что позволяет фитопланктону многократно использовать биогенные элементы.

Наряду с фундаментальными исследованиями для оз. Байкал большое практическое значение имеет и проблема сохранения воды высокого качества, и разработка конкретных мероприятий по предотвращению загрязнения озера. В решении этих проблем значительную роль играют гидробиологические исследования Байкала и, в частности, структуры и функционирования микробного населения. Бактериопланктон обоснованно считается одним из важнейших звеньев трофической цепи в экосистемах, с одной стороны, способствующий поддержанию непрерывного процесса биопродукции, а с другой – интенсивному протеканию процессов самоочищения в водоемах.

Микробное сообщество оз. Байкал, как и других озер мира, изучается сравнительно давно [1]. Однако лишь в 80–90-х гг. прошлого столетия внимание исследователей было обращено на высокую численность вирусов в водах, и в первую очередь в морях – до  $10^8$  частиц/мл [6, 8, 9, 11, 12]. Недостаточное внимание к планктонным вирусам как к организмам, постоянно присутствующим в естественной водной среде в количествах, на порядок превышающих величину численности бактерий, заставляет пересмотреть наши представления о структурно-функциональной организации концепции «микробной петли». В настоящее время уже не подлежит сомнению присутствие большого количества вирусов и в пресных водоемах и водотоках [4, 10]. Установлено, что вирусы – самые распространенные биологические организмы водных экосистем, они способны быстро размножаться и распадаться, в состоянии заразить другие организмы, влиять на многие биогеохимические и экологические процессы, включая цикл питания, дыхания, распределение веществ и скорость их осаждения, регулировать численность и биоразнообразие бактерий и водорослей, осуществлять генетический перенос. Если раньше подобные связи в водных экосистемах игнорировались, то сейчас становится все более очевидным, что потоки веществ и энергии в пищевых цепях проходят через вириопланктон. Важными являются новые знания о взаимодействии фагов и бактерий для выяснения как общих закономерностей происходящих процессов в водоемах, так и частных вопросов. Первые исследования бактериофагов оз. Байкал были начаты нами в 2003 г. [2, 3].

Целью нашей работы было обнаружение бактериофагов в воде оз. Байкал, определение их морфологического разнообразия и размерной структуры, выяснение вертикального распределения и сезонной динамики численности и сравнение с общим количеством бактерий.

### Материалы и методы исследования

Отбор проб воды проводили в 2003–2006 гг. в Южном, Среднем и Северном Байкале с глубин: 0,25, 0,5, 25, 250, 500, 1000, 1200 и 1400 м в зимний, весенний, летний и осенний периоды. Исследования бактериофагов выполнены на трансмиссионном электронном микроскопе LEO-906 E (Германия) – напряжение 80 кВ, увеличение 40 000–100 000 раз [7]. Пробы воды фиксировали формальдегидом (конечная концентрация 1 %) и фильтровали через мембранный фильтр «Сынпор» № 2 для удаления фито- и зоопланктона, взвесей. Бактериофаги осаждали ультрацентрифугированием – бакет-ротор «Beckman-L8-55», 100 000 г (время 1,5 ч). Осадок ресуспендировали в объеме 1,5 мл. Суспензию в количестве 20 мкл нанесли на медные сетки, покрытые формвар-углеродной подложкой, высушивали на воздухе и контрастировали 1%-ным раствором фосфовольфрамовой кислоты. Из каждой пробы воды было приготовлено по 5 сеток, на которых учитывали бактериофаги различных морфологических типов в 100 полях зрения. Морфологическое описание фагов сделано по компьютерным микроснимкам, сохраненным на электронных носителях. Подсчет проводили в двух повторностях, размер поля зрения использовался для расчета площади поля. Идентификация найденных в Байкале бактериофагов проведена по международной классификации [5]. Численность фаговых частиц рассчитывалась по уравнению [13]. Определение общей численности бактерий во взятых пробах воды проводилось на эпифлуоресцентном микроскопе «Olympus» (Япония) с красителем ДАПИ.

### Результаты

Проведенные исследования по выделению и изучению морфотипов бактериофагов в их естественной популяции в пробах воды, отобранных в феврале 2003 г., феврале, мае, июне, июле, августе, октябре 2005 г., июне, июле, августе и октябре 2006 г. в Южном Байкале, установили большое морфологическое разнообразие фаговых частиц, что в основном подтвердило наши первые результаты [2, 3]. Среди выделенных и изученных 500 байкальских бактериофагов доминировали фаги с длинным несократимым хвостовым отростком семейства *Siphoviridae* (морфотипы В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>) – 56 %. Это фаги с различной формой и размерами головки, которые колеблются довольно в широких пределах – 21–248 нм. Длина несократимого хвостового отростка, имеющего периодическую исчерченность, составляет 48–378 нм. На конце отростков некоторых фагов имеется базальная пластинка с короткими лопастными выростами. Большинство фагов в воде озера имеют икосаэдрическую форму головки с тремя осями симметрии, другие – неправильную форму головки только с одной симметричной осью. Впервые были встречены крупные фаги размером 188–222 x 263–303 нм с вытянутой изометрической головкой, относящиеся к морфотипу В<sub>3</sub>.

В меньшем количестве в оз. Байкал представлены бактериофаги семейства *Podoviridae* (морфотипы С<sub>1</sub>, С<sub>2</sub>) – 13 %, обладающие четко выра-

женным отростком небольшого размера – от 8 до 27 нм. Большинство фагов этого семейства имеют конусовидный хвостовой отросток.

Бактериофаги семейства *Myoviridae* составляют в Байкале 7 %, отличительной особенностью которых является структурная организация отростка. Чехол отростка фаговых частиц находится в двух различных состояниях: в растянутом, что характерно для интактных фаговых частиц, и в сокращенном состоянии, нижний конец которого заканчивается базальной пластинкой. У некоторых представителей этого семейства фагов обнаружены дополнительные структуры в виде воротничка в месте прикрепления стержня к головке. Бактериофаги данного семейства (морфотипы А<sub>1</sub>, А<sub>2</sub>) имеют икосаэдральную форму головки размером 83–125 нм. Отросток интактных частиц этих фагов может быть несколько изогнутым, либо прямым, цилиндрической формы. Размер хвостового отростка фаговых частиц составляет 108–166 нм, длина чехла – 40–123 нм, ширина – 17–43 нм.

Изучение размерной структуры выделенных бактериофагов оз. Байкал показало, что размерный спектр представлен пятью классами величин. Преобладающими являются вирусные частицы размером 30–80 нм. Частота встречаемости этого размерного класса составляет 45–90 % на всех исследуемых глубинах с максимальным значением в поверхностном слое воды (рис. 1). Вторая группа по значимости в размерном спектре (за редким исключением) представлена крупными фагами – более 100 нм с частотой встречаемости до 56 %. Из общего числа изученных бактериофагов только 2–5 % – это частицы размером менее 30 нм, которые в большей степени представлены фагами без хвостового отростка.

Численность свободных фаговых частиц в воде оз. Байкал в различные сезоны года изменялась от 0,017 до 0,58 × 10<sup>6</sup> мл<sup>-1</sup> (рис. 2). За весь период исследования наибольшая численность фагов отмечалась в поверхностном слое воды, за исключением мая 2005 г. Минимальное количество фагов наблюдалось в феврале на глубине 250 м. Подобная сезонная периодичность в развитии фаговых частиц вполне согласуется с динамикой общей численности бактерий в Байкале. Отмечена общая закономерность в распределении бактериофагов по вертикали – снижение их численности с глубиной. Так, средняя численность свободных фаговых частиц в 2005–2006 гг. в поверхностном слое воды и на глубине 25 м составила (0,17 ± 0,03) × 10<sup>6</sup> мл<sup>-1</sup>, (0,18 ± 0,04) × 10<sup>6</sup> мл<sup>-1</sup>, соответственно. На глубине 250 м численность фагов снижается до (0,09 ± 0,01) × 10<sup>6</sup> мл<sup>-1</sup>.

Большой интерес вызывает сопоставление результатов изучения численности бактериофагов и общей численности бактерий в воде оз. Байкал. На рис. 3 представлены результаты вертикального распределения этих показателей в воде Южного Байкала за исследованный период. В целом можно констатировать, что прослеживается корреляция этих показателей в зимний, весенний, летний и осенний периоды времени на различных глубинах озера. Однако численность фаговых частиц остается ниже по сравнению с общим количеством бактерий.

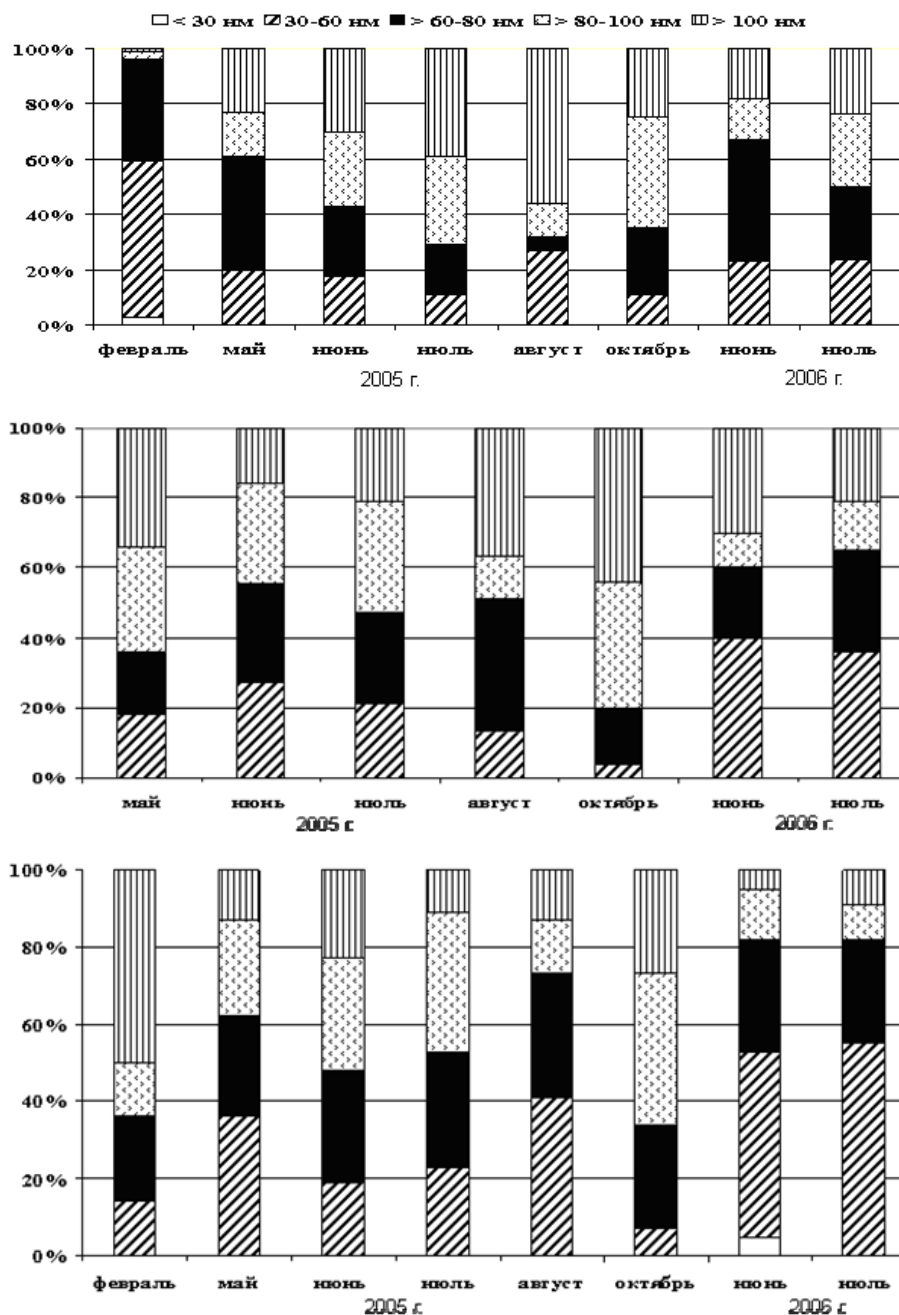


Рис. 1. Размерная структура бактериофагов оз. Байкал на разных глубинах в различные сезоны 2005–2006 гг. (1 – поверхность, 2 – глубина 25 м, 3 – глубина 250 м)

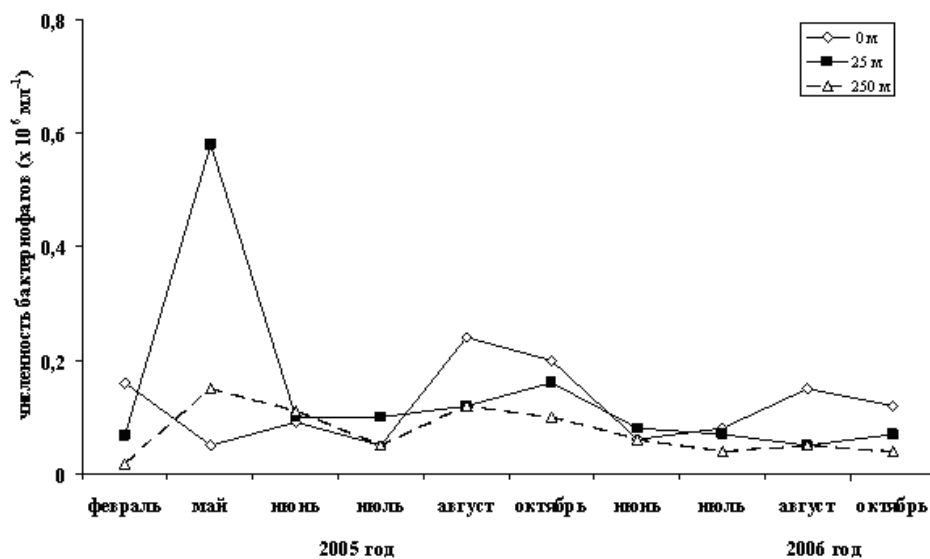


Рис. 2. Сезонная динамика общей численности бактериофагов в 2005–2006 гг. в воде оз. Байкал

Таким образом, в олиготрофном оз. Байкал между популяциями вириопланктона и бактериопланктона наблюдается корреляция во все сезоны года и на различных глубинах. Отношение численности вирус-бактерии в воде озера составляет  $< 1$ . В связи с тем, что бактерии являются важным и во многом уже хорошо изученным компонентом биологических сообществ водных экосистем, а бактериофаги в них еще мало исследованы, необходимо в приоритетном порядке выяснить экологическую роль и возможность использования их в контроле за численностью и биоразнообразием бактериопланктона, в частности, в древнем и сверхглубоком олиготрофном оз. Байкал.

## Выводы

1. Впервые в наших исследованиях, проведенных с применением современного метода трансмиссионной электронной микроскопии, обнаружено и выделено большое морфологическое разнообразие бактериофагов в воде оз. Байкал.

2. Среди изученных байкальских бактериофагов по морфологическому разнообразию доминируют представители семейства *Siphoviridae* – 56 % (морфотипы  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$ ). Бактериофаги семейства *Podoviridae* (морфотипы  $C_1$ ,  $C_2$ ) составляют в Байкале 13 %, а семейства *Myoviridae* (морфотипы  $A_1$ ,  $A_2$ ) – 7 %.

3. В размерной структуре бактериофагов оз. Байкал выделено пять классов величин. Преобладающими являются частицы размерного класса 30–80 нм, частота встречаемости которых составляет от 45 до 90 %.

4. В сезонной динамике численности бактериофагов наблюдается два пика максимальных величин – весенний и летне-осенний. Вертикальное распределение численности бактериофагов в оз. Байкал характеризуется наибольшей численностью в поверхностном слое воды, которая снижается с глубиной.

5. Установлена корреляция численности бактериофагов и общей численности бактерий во все изученные сезоны и на различных глубинах озера. Отношение численности вирус-бактерии в воде оз. Байкал составляет  $< 1$ .

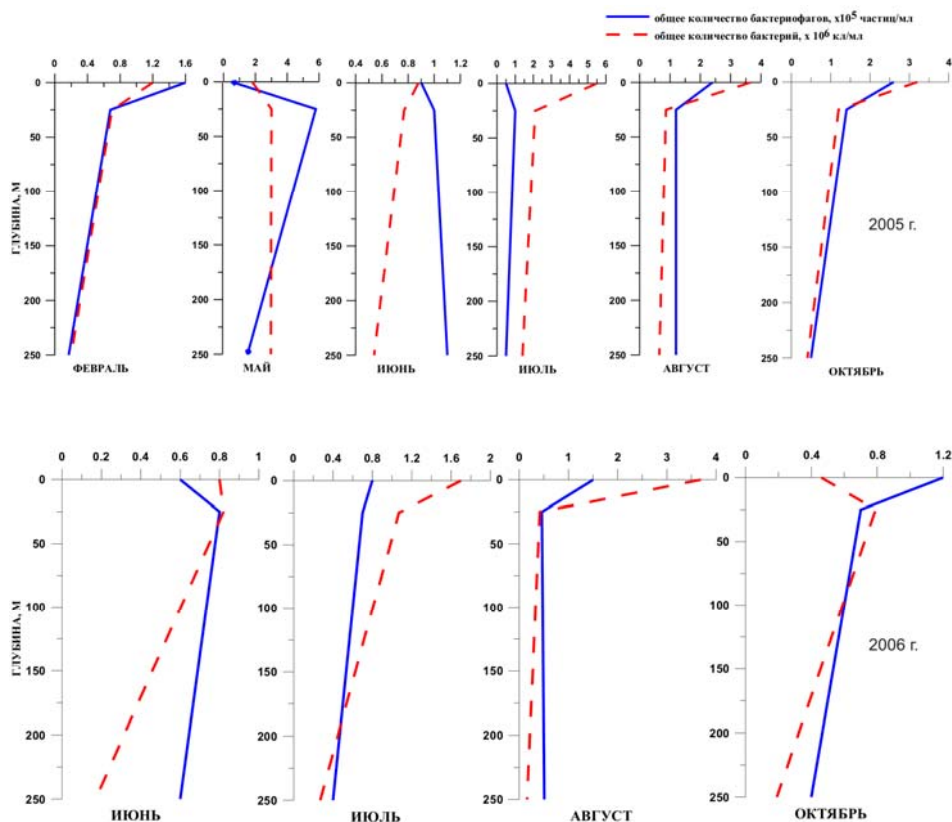


Рис. 3. Вертикальное распределение общей численности бактерий и бактериофагов в 2005–2006 гг. в воде оз. Байкал

#### Список литературы

1. Дрюккер В. В. Микробиологические исследования на Байкале / В. В. Дрюккер, А. И. Штевнева // Путь познания Байкала. – Новосибирск, 1987. – С. 156–163.
2. Дрюккер В. В. Фаги озера Байкал / В. В. Дрюккер, Н. В. Дутова // Микроорганизмы в экосистемах озер, рек и водохранилищ : материалы науч. конф., 8–13 сент. 2003 г. – Иркутск, 2003. – С. 35–36.

3. Дрюккер В. В. Изучение морфологического разнообразия бактериофагов озера Байкал / В. В. Дрюккер, Н. В. Дутова // Докл. РАН (сер. биол.). – 2006. – Т. 410, № 6. – С. 847–849.
  4. Вирусы в планктоне Ладожского озера / А. К. Сироткин [и др.] // Докл. РАН (сер. биол.). – 2001. – Т. 378, № 3. – С. 427–429.
  5. Ackermann H. W. Frequency of morphological phage descriptions in 1995 // J. Arch. Virol. – 1966. – N 141. – P. 209–218.
  6. High abundance of viruses found in aquatic environments / O. Bergh [and at. al.] // Nature. – 1989. – N 340. – P. 467–468.
  7. A comparison of methods for counting viruses in aquatic systems / Y. Bettarel [and at. al.] // J. Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – N 66. – P. 2283–2289.
  8. Viruses as partners in spring bloom microbial trophodynamics / G. Bratback [and at. al.] // J. Appl. Environ. Microbiol. – 1990. – N 56. – P. 1400–1405.
  9. Fuhrman J. A. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects // Nature. – 1999. – N 399. – P. 541–548.
  10. Mathias C. B. Seasonal variations of virus abundance and viral control of the bacterial production in a backwater system of the Danube river / C. B. Mathias, A. K. Kirscher, B. Vilimirov // J. Appl. Environ. Microbiol. – 1995. – N 61. – P. 3734–3740.
  11. Proctor L. M. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria / L. M. Proctor, J. A. Fuhrman // Nature. – 1990. – N 343. – P. 60–62.
  12. Weinbauer M. G. Size-specific mortality of lake bacterioplankton by natural virus communities / M. G. Weinbauer, M. G. Hofle // J. Appl. Environ. Microbiol. – 1998. – N 64. – P. 431–438.
  13. Improved method for counting virus and virus like particles / Y. Zheng [and at. al.] // J. of Virological Methods. – 1996. – N 62. – P. 153–159.
- 

**Drucker V. V., Dutova N. V., Kovadlo A. S., Kostornova T. Ya.**

### **Size structure, seasonal dynamics and vertical distribution of bacteriophages of Lake Baikal**

**Abstract.** In 2003–2006, bacteriophages were for the first time recorded and studied in Lake Baikal with transmission electron microscopy. Bacteriophages were isolated from water samples collected from the lake surface and different depths up to 1400 m. Their morphological composition, as well as size spectrum and their seasonal abundance dynamics were analyzed. A wide range of variability of bacteriophage morphotypes was revealed which were identified according to the international classification: families *Siphoviridae* – 56 %, *Podoviridae* – 13 %, and *Myoviridae* – 7 %. The size spectrum of Baikal bacteriophages is represented by five size classes among which prevail phages of 30–80 nm. Their maximal abundance was recorded in the 0–25 m water layer, while seasonal dynamics had two peaks of the abundance – spring and summer-autumn. The periodicity of bacteriophage development is in good correlation with seasonal dynamics of the total abundance of bacterioplankton of the lake.



**Key words:** Lake Baikal, bacteriophages, morphotypes, size structure, seasonal dynamics, bacterioplankton.

*Дрюккер Валентин Валерьянович*  
д-р биол. наук, профессор  
Лимнологический институт СО РАН  
664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3  
гл. науч. сотрудник  
тел.: (395-2) 42-54-15

*Дутова Наталья Викторовна*  
канд. биол. наук  
Лимнологический институт СО РАН  
664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3  
гл. специалист  
тел.: (395-2) 42-54-15

*Ковадло Анна Сергеевна*  
канд. биол. наук  
Лимнологический институт СО РАН  
664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3  
науч. сотрудник  
тел.: (395-2) 42-54-15

*Косторнова Татьяна Ярославовна*  
Лимнологический институт СО РАН  
664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3  
науч. сотрудник  
тел.: (395-2) 42-54-15