

УДК 535.8; 574.583; 578.4; 577.3

РОЛЬ ВИРУСОВ И ВИРУСНОГО ЛИЗИСА В ИЗМЕНЕНИИ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОДНОЙ СРЕДЫ ИХ ОБИТАНИЯ

© 2021 г. С.А. Шоларь*, О.А. Степанова**

**Морской гидрофизический институт РАН, 299011, Севастополь, ул. Капитанская, 2*

E-mail: sa.sholar@mail.ru

***Институт природно-технических систем РАН, 299011, Севастополь, ул. Ленина, 28*

E-mail: solar-ua@ya.ru

Поступила в редакцию 30.03.2020 г.

После доработки 17.12.2020 г.

Принята к публикации 11.01.2021 г.

В обзоре представлены данные о роли вирусов гидросферы и вызываемого ими вирусного лизиса одноклеточных хозяев в изменении оптических свойств воды. В ранних работах считалось, что вирусы водоемов как представители наноразмерной фракции микропланктона не оказывают существенного влияния на оптические свойства воды. Однако в дальнейших экспериментах зарубежных коллег и собственных исследованиях авторов было выявлено, что вирусный лизис представителей бактерио- и фитопланктона приводит к многочисленным последствиям, итогом которых является изменение оптических характеристик воды как жидкой среды их обитания. Предполагается, что обнаруженное явление можно использовать в практических целях.

Ключевые слова: оптика моря, вирусы гидросферы и их хозяева, вирусный лизис, показатель ослабления света.

DOI: 10.31857/S0006302921020022

Океаническая вода, как и вода любого водоема, представляет собой сложную физико-химико-биологическую систему, включающую растворенные вещества, взвесь и множество разнообразных живых организмов. Основными факторами, определяющими ее оптические свойства, как указано в работе К.С. Шифрина «Введение в оптику океана» [1], являются оптические компоненты – чистая вода, растворенные вещества (неорганические и органические) и взвесь – минеральная и органическая. Множество разнообразных органических веществ в водной среде находятся в двух формах – входят в состав частиц взвеси, в частности, в планктон (микропланктон), либо молекулярно растворены в океанической воде [1]. Состав фитопланктонного сообщества является важным источником оптической изменчивости в океане [2]. При этом виروпланктон, увеличивающаяся сезонная численность которого отмечается в периоды «цветения» его хозяев – представителей бактерио- и фитопланктона, также является составной частью микропланктона [3]. Следовательно, являясь частью планктона, виропланктон, вызывающий вирусный лизис оп-

тически значимых частиц (бактерий, представителей фитопланктона), может быть рассмотрен учеными и оценен как фактор, приводящий к изменениям в составе и численности оптически активных компонентов. Иными словами, вирусы водоемов, как самые многочисленные и наименее изученные, но играющие ключевую роль в глобальной экосистеме [4, 5], могут быть значимы и в физике водоемов, в том числе в оптике моря и гидросферы в целом.

Влияние различных факторов биотического и абиотического происхождения на вирусы гидросферы в настоящее время находится еще в стадии активного исследования и осмысления. Логичное предположение, что высокая численность вирусов в водоемах и те процессы, за которые вирусы ответственны, могут отражаться на изменениях некоторых физических параметров водной среды их обитания, пока еще не получило достаточных подтверждений в силу слабой изученности. Такая ситуация связана в первую очередь со сравнительно недавней активизацией исследований в области молодой науки – морской (водной) вирусологии, произошедшей лишь в конце XX столетия, когда впервые для прямого счета вирусов в пробах воды использовали электронную микроскопию [6].

Сокращения: РОВ – растворенное органическое вещество, ПОС – показатель ослабления света.

Бурное развитие нового научного направления — морской (водной) вирусологии — поставило перед учеными множество проблем, среди которых можно отметить следующие:

- контаминация гидросферы и ее обитателей вирусами суши с проистекающими последствиями вплоть до их адаптации к новым условиям среды и возникновение так называемых «новых» вирусов;
- значение морских вирусов в инфекционной патологии гидробионтов и их возможная роль в патологии организмов суши, в том числе человека;
- изучение сезонности, численности, морфологии и размерного спектра сообществ виروпланктона и виробентоса как отражение экологии их хозяев;
- роль вирусов в круговороте органического углерода, в биоразнообразии, в процессах функционирования пищевых цепей в водоемах, а также влияние вирусов и вирусного лизиса на физические параметры водной среды их обитания;
- изучение воздействий глобальных и региональных экологических факторов на вирусную составляющую гидросферы, в том числе на отдельных представителей;
- поиск, изоляция и изучение отдельных представителей вирусов гидросферы и их геномов, в том числе альговирюсов, ответственных за лизис первичных продуцентов органической материи, диметилсульфида и кислорода в Мировом Океане, что влияет на атмосферу и климат нашей планеты;
- практическое применение вирусов гидросферы (в изучении сезонности и географии распространения и распределения хозяев-микроорганизмов, в определении видов неизвестных микроводорослей, в фармакологии, в биологических способах борьбы с обрастателями и коррозией, а также и в других направлениях нанотехнологий).

По мере развития водной вирусологии круг проблем только расширяется. Определенную лепту в решение проблем водной вирусологии внесли результаты и наших исследований, как и результаты других российских ученых-исследователей из Лимнологического института СО РАН (Иркутск) [7–13] и Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина (пос. Борок Ярославской области) [14–20].

Анализ доступной литературы свидетельствует о слабой исследовательской заинтересованности и активности отечественных ученых и ученых стран бывшего СССР в получении знаний о вероятной роли вирусов гидросферы и вызываемого ими лизиса одноклеточных хозяев (представителей бактерио- и фитопланктона) в изменениях некоторых физических параметров водной среды

их обитания [21, 22]. Одной из причин слабой заинтересованности специалистов по физике и биофизике моря в изучении влияния вирусов и вирусного лизиса на некоторые физические параметры водной среды их обитания в лабораторных и естественных (природных) условиях может быть недостаточная информированность в этом направлении (по этому вопросу). Проведенный литературный поиск выявил ряд работ зарубежных коллег по подробному изучению вирусного лизиса как морских бактерий и цианобактерий, так и микроводорослей в условиях эксперимента, а также и его влияния на оптические свойства водной среды [2, 23–29].

Публикации отечественных исследователей свидетельствуют о значении хозяев морских вирусов, например представителей фитопланктона, в оптике моря [30–32], а также в изменении оптических характеристик в жидкой среде наращиваемых культур микроводорослей в лабораторных условиях [33]. Есть сведения и о влиянии представителей морской микробиоты, в частности бактерий, водорослей и простейших одноклеточных, на «электрическую энергию» в гидросфере, что «проявляется на акватории макроскопически — в виде локального электрического эффекта» [34]. С учетом недостаточной изученности и освещенности в публикациях проблемы влияния вирусов и вирусного лизиса на физические характеристики водной среды, в том числе значения черноморской микробиоты в этом явлении, нами были выполнены некоторые исследования. Результаты наших первых экспериментальных работ с использованием черноморской микробиоты (разные штаммы альговирюсов и культур разных видов микроводорослей) свидетельствовали об изменении электрической проводимости морской воды при вирусном лизисе [35, 36]. Также наши исследования в лабораторных экспериментах, как и работы зарубежных коллег, выявили значение вирусного лизиса в изменении оптических свойств водной среды обитания вирусов гидросферы [36–39].

Цель представленной работы — проанализировать имеющуюся информацию о роли вирусов и вирусного лизиса в гидросфере в изменении оптических свойств воды, как среды их обитания, на уровне экспериментальных и полевых исследований. При этом были поставлены следующие задачи — выявить теоретические предпосылки значения вирусного лизиса в оптике гидросферы, описать некоторые эксперименты по изучению вирусного лизиса и набор используемых при этом материалов и методов, представить результаты собственных исследований на основе черноморской микробиоты, выдвинуть предположения о возможном использовании альговирюсов и вирусного лизиса в практических целях.

Первый этап в изучении роли вирусов и вирусного лизиса в изменении оптических свойств воды, как среды их обитания, в качестве теоретических предпосылок. Основание в 1892 г. вирусологии как науки, принадлежащее нашему отечественному ученому Д.И. Ивановскому, привело к тому, что уже к началу XX века (с 1926 г.) исследователи занимались выделением вирусов (бактериофагов) из морской воды к ряду патогенных микроорганизмов. В середине XX века наши отечественные исследователи — гидробиологи А.Е. Крисс и Е.А. Рукина проводят изоляцию вирусов (бактериофагов) к морским бактериям из материала (воды и ила), отобранного из экосистемы Черного моря [40, 41]. При этом используются методики, позволяющие накопить морские вирусы в жидкой культуре бактерий, что в случае присутствия вирусов наблюдалось в виде просветления и повышения прозрачности жидкой среды за счет контакта бактериофагов со своими хозяевами (клетками культур бактерий) и последующего вирусного лизиса. Иными словами, вирусный лизис одноклеточных хозяев в жидкой среде наблюдается в виде повышения прозрачности этой среды, что давно известно специалистам в области вирусологии и используется в ряде вирусологических методик, в том числе и в авторских [42, 43].

Высокая оценка учеными водных вирусов как главных игроков в глобальной экологии обусловлена их влиянием на функционирование водных экосистем за счет активного участия в круговороте органического углерода, углекислого газа, кислорода, диметилсульфида (биоактивный газ, участвующий в образовании облаков), в биоразнообразии своих хозяев, в процессах функционирования пищевых цепей и пр. [3–5, 44–48]. А одно из важнейших и крайне актуальных значений вирусов гидросферы — их потенциальная роль в патологии организмов суши, в том числе и людей [49–51].

Однако для расширения знаний об экологии водных вирусов необходимо также уделять внимание изучению вопросов, связанных с ролью вирусов, как самых многочисленных гидробионтов, и вызываемого ими вирусного лизиса в изменении оптических характеристик водной среды их обитания для дальнейшего учета этого явления в теории и практике оптики моря и гидросферы в целом. Полученные при изучении значения вирусного лизиса в оптике водной среды результаты помогут при объяснении наблюдаемых аномалий оптических свойств воды в разных океанических регионах и послужат оригинальным дополнением к выдвигаемым разными учеными предположениям и объяснениям [52].

Эксперименты и набор используемых материалов и методов при изучении влияния вирусов и вирусного лизиса на оптические свойства водной сре-

ды по данным зарубежных исследователей. В ранних работах по изучению оптических свойств вирусов, средний размер которых составляет 0.07 мкм (70 нм), была определена их слабая роль в рассеивании и преломлении света по сравнению с такими оптически активными компонентами, как их хозяева — представители бактерио- и фитопланктона [53]. К заключению о том, что водные вирусы, хотя и очень распространены в море, не являются основным источником обратного рассеяния, пришли и исследователи, использующие в экспериментах лазерный нефелометр [23, 24]. Тем не менее ими было показано, что вирусная инфекция и лизис гетеротрофных бактерий резко изменяют форму индикатрисы рассеяния, делая ее более плоской как в прямом, так и в обратном направлениях. Однако, несмотря на высокую численность водных вирусов, учеными в ранних работах высказывались предположения, что морские вирусы играют второстепенную роль в оптике океана из-за их малого размера и рассеивающего поперечного сечения.

В исследованиях отмечается, что фундаментальные изменения в рассеянии света связаны с заражением морских бактерий, а именно основное влияние вирусов на оптические свойства водной среды связано с вирусным лизисом их хозяев [24]. В этой работе эксперименты проводились в 100-литровых автоклавируемых полиэтиленовых пакетах, при этом в схему эксперимента кроме емкости с зараженными вирусом бактериями входил и контроль (емкость с бактериями без вируса). Неполаризованное объемное рассеяние света на длине волны 514 нм от бактериальных/вирусных суспензий измеряли с помощью лазерного нефелометра (Dawn Wyatt Technologies, США). Источник света этого прибора представляет собой аргон-ионный лазер с вертикально поляризованным световым лучом. В работе впервые количественно описано два оптических изменения, связанных с инфицированием и лизисом морских бактерий бактериофагом: 1) быстрые, сильные сдвиги в величине и форме индикатрисы рассеяния света; 2) быстрое увеличение концентрации окрашенного растворенного органического материала («желтого вещества», именуемого также РОВ). Выказано предположение, что вызванные вирусом (вирусным лизисом) изменения обратного рассеяния будут обнаруживаться с помощью спутниковых или авиационных методов дистанционного зондирования, что позволит определять локализацию наведенной вирусами гибели их хозяев. Так, согласно работе [54], в зоне, где произошел вирусный лизис, по спутниковым данным отмечалась повышенная отражательная способность поверхности. Появление области с высокой отражательной способностью в западном Ла-Манше, наблюдаемой со спутника, по мнению исследователей было вызвано прекра-

шением цветения микроводоросли *Emiliana huxleyi*. В экспедиционных исследованиях на четырех станциях были взяты пробы воды, причем одна станция была снаружи и три станции — в зоне высокой отражательной способности. Для мониторинга численности фитопланктона, кокколитов, бактерий и вирусов в этом исследовании использовали аналитическую проточную цитометрию. Было выявлено, что внутри зоны концентрации вирусов была выше, численность клеток *E. huxleyi* ниже, число кокколитов и бактерий выше. Эти данные были интерпретированы учеными как вызванный вирусом лизис клеток *E. huxleyi* в период цветения, вызывающий отделение больших концентраций кокколитов, что приводит к высокой отражательной способности, наблюдаемой на спутниковых снимках. Эта интерпретация была подтверждена выделением двух вирусов, Eh V84 и Eh V86, из области высокой отражательной способности.

Таким образом, ученые приходят к выводу о том, что вирусная инфекция оптически значимых биологических частиц представляет собой еще один процесс, который может быстро трансформировать клетки микропланктона в новые типы оптически значимого материала, т. е. окрашенное растворенное органическое вещество и обломки клеток. Следовательно, вирусы и вызываемый ими процесс вирусного лизиса оказывают значительное влияние на оптические свойства вод океана.

В работе [27] в лабораторных условиях изучались оптические изменения, сопровождающие распад популяции нитчатых цианобактерий из мелкого эвтрофного озера. В экспериментальных условиях было обнаружено резкое разрушение доминирующих видов водорослей или цианобактерий, что, в свою очередь, по мнению авторов, может быть связано с вирусной активностью. В течение двух недель непрерывного добавления богатой питательными веществами среды отмечалось почти полное разрушение доминирующей популяции за несколько дней. При этом разрушение происходило неоднократно и характеризовалось заметным повышением прозрачности воды. Рассеяние света уменьшилось на 80%, поглощение — на 20–80%. Наблюдалось большое сходство в оптических изменениях между несколькими экспериментами, проведенными в разные сезоны года. Во время разрушения хозяев вирусов отмечали увеличение количества РОВ и частиц субмикронного размера, спектр поглощения которых соответствовал поглощению хлорофилла *a*. Отношение фикоцианина к хлорофиллу *a* и отношение феопигмента к хлорофиллу *a* оказались хорошими показателями наблюдаемого разрушения клеток. Спектры отражения, которые были смоделированы с использованием индикатрисы объемного рассеяния излучения, показали, что

массовая клеточная смертность таких масштабов может быть обнаружена в природных системах с помощью современных дистанционных датчиков. В работе использовали метод трансмиссионной электронной микроскопии, что позволяло наблюдать повышенное количество вирусоподобных частиц. В серии экспериментов проводили описание изменений оптических свойств жидкой среды при распаде клеток доминирующего вида в результате вирусного лизиса. Исследователи высказали мнение, что после лизиса доминирующих видов собственные оптические свойства (поглощение и рассеяние) водоема резко изменятся и наблюдаемые изменения в оптических свойствах исследуемого объема будут обусловлены разрушением (лизисом) инфицированных клеток, который вызывает высвобождение растворимых и нерастворимых веществ в окружающую среду.

Таким образом, во время фазы вирусного лизиса популяции хозяина, рассеяние и поглощение живыми клетками или их колониями в большинстве случаев изменяются на поглощение света малыми частицами и РОВ. Кроме того, можно ожидать положительный отклик со стороны гетеротрофных бактерий, инфузорий, нанофлагеллят и других представителей микропланктона в результате высвобождения свежего органического материала, вызывающего дальнейшие изменения, наблюдающиеся в окраске воды. Описание обнаруженных в ходе работы оптических изменений при массовом лизисе может, по мнению исследователей, в будущем использоваться для идентификации вирусолитических событий в природе по данным оптического дистанционного зондирования, получаемого со спутников или датчиков на буях и судах. В связи с этим исследователи основное внимание уделили описанию прелизиса или пику цветения фитопланктона после лизиса. Полученные результаты свидетельствуют о самых больших оптических изменениях, которые могут произойти в полевых условиях в описываемые в работе периоды. Иными словами, выполненные исследования и интерпретация полученных данных могут быть экстраполированы на природные условия, в гидросферу.

В работе [25] описаны изменения в экспериментах с течением времени концентраций одноклеточного хозяина и вируса, наряду с соответствующими изменениями первичных гидрооптических характеристик, когда четыре штамма цианобактерий *Synechococcus* были заражены вирусами, выделенными и очищенными от бактерий из воды залива Мэн. При этом отмечались сильные оптические сдвиги до и после лизиса на временных масштабах, соизмеримых с процессом вирусной инфекции. В частности, обратное рассеяние и поглощение (особенно в области видимых длин волн) немного увеличились после зара-

жения, но заметно уменьшились после вирусного лизиса. Наиболее быстрые изменения наблюдались во флуоресценции хлорофилла. Замечено было незначительное увеличение флуоресценции в течение двух суток после первоначального заражения. Такие изменения, вероятно, по мнению исследователей, отражают фундаментальные сдвиги в фото физиологии хозяина после заражения. После лизиса хозяина наблюдалось значительное снижение флуоресценции хлорофилла a , синхронно со значительным увеличением количества свободных вирусов на клетку хозяина. Эти оптические изменения сопровождались и значительными изменениями в спектрах размеров субмикронных частиц по мере лизиса клеток и высвобождающегося при этом их внутриклеточного содержимого. В ходе работы для каждого образца измеряли три оптических параметра: объемное рассеяние на 514 нм, флуоресценцию хлорофилла и спектральное поглощение, которое измеряли с помощью спектрофотометра CamSpec (США), оборудованного интегрирующей сферой с односантиметровой кварцевой кюветой с жидкостным образцом, размещенной в сфере и установленной на пути луча. Оптические эффекты вирусной инфекции на оптическое рассеяние были исследованы с помощью нефелометра Wyatt Technologies Dawn-F (США), оснащенного аргон-ионным лазером. Этот прибор измерял функцию объемного рассеяния (при 514 нм) на 15 углах.

Результаты изучения временной динамики распределения частиц по размерам и связанной с этим оптической изменчивости, вызванной вирусной инфекцией морских гетеротрофных бактерий, в проведенном лабораторном эксперименте, описаны в работе [29]. Распределение частиц по размерам в диапазоне от < 50 нм до 200 нм измерялось параллельно со спектральными показателями поглощения частиц и ослабления света, из которых был определен показатель рассеяния частицами — $b_p(\lambda)$.

Так, в течение 12 ч после заражения бактериальная популяция хозяина разрушилась, численность вирусов увеличилась, и при этом появились субмикронные частицы, поскольку бактерии были разрушены с высвобождением содержимого клетки, что привело к большому снижению $b_p(\lambda)$, замеченному как почти полная очистка (просветление) смеси используемых суспензий частиц. На протяжении оставшейся части эксперимента значительные изменения распределения частиц по размерам происходили главным образом в пределах диапазона размеров относительно крупных частиц (4 мкм), вероятно, в результате агрегации частиц меньшего размера, происходящей при лизисе хозяина. Полученные результаты распределения частиц по размерам были использованы в

качестве входных данных при расчете рассеяния Ми, проводившегося для оценки эффектов динамики этих частиц в терминах относительных вкладов различных классов размеров частиц в показатели рассеяния и обратного рассеяния. Этот анализ выявил значительное увеличение влияния агрегации частиц на рассеяние света в течение вторых и третьих суток после заражения. Авторы выполненного эксперимента приходят к выводу, что вирусный лизис бактерий и последующая наблюдаемая динамика частиц ведут к большой колебательной их распределения в широком диапазоне размеров и в масштабе времени от нескольких часов до нескольких дней, и такие процессы приводят к соответственно большим изменениям оптических свойств исследуемой суспензии.

В одной из работ [26] изучали воздействие вирусного лизиса на культуру микроводоросли *Micromonas pusilla* в стадии роста. При этом определяли влияния вирусного лизиса на концентрацию и состав растворенного органического углерода. Это оценивали по получению из лизата прозрачных экзополимерных частиц и двух фракций флуоресцентного РОВ: ароматических аминокислот (возбуждение/эмиссия, 280/320 нм, $F(280/320)$) и морского гуминового флуоресцентного РОВ (320/410 нм, $F(320/410)$). Концентрация растворенного органического углерода увеличилась в 4.5 раза быстрее, и конечная концентрация в инфицированной культуре достигала в 2.6 раза больших значений по сравнению с неинфицированной. Производство $F(280/320)$ и $F(320/410)$ было соответственно в 4.1 и 2.8 раза выше в зараженных культурах, а повышенное соотношение между $F(280/320)$ и $F(320/410)$ в лизатах свидетельствовало о более высоком вкладе лабильных (белковых) компонентов в продуцируемый вирусами РОВ, чем в водорослевых экссудатах. Производство прозрачных экзополимерных частиц было в 1.8 раза быстрее и достигало уровня в 1.5 раза выше у инфицированных вирусом клеток культуры *M. pusilla* в сравнении с незараженными клетками. Измеренное увеличение концентраций растворенного органического углерода и прозрачных экзополимерных частиц свидетельствовало о том, что вирусный лизис имеет множественный и противоположный характер последствий для производственных и экспортных процессов в пелагическом океане. Таким образом, влияя на микробную пищевую сеть путем увеличения производства как лабильного, так и рефрактерного растворенного органического углерода и окрашенного РОВ, вирусный лизис изменяет оптическую сигнатуру РОВ, а также оказывает влияние на агрегацию частиц посредством усиленного производства прозрачных экзополимерных частиц. Итоги вирусной активности многочисленны и имеют противоположные последствия для производства и экспортных про-

цессов в пелагическом (открытом) океане и поэтому, по мнению авторов процитированной работы, очень важно расширять знания об относительно значимом вкладе этих процессов для получения лучшего понимания механизмов функционирования океанических биогеохимических циклов.

Таким образом, анализ информации, полученной при обзоре ряда публикаций зарубежных исследователей, посвященных изучению роли вирусов гидросферы в изменении оптических характеристик главным образом в ходе экспериментов в лабораторных условиях, выявил, что:

- вирусы, как самостоятельные частицы, являясь самыми многочисленными среди гидробионтов, тем не менее, не оказывают существенного влияния на оптику моря из-за их малого размера и поперечного сечения рассеяния;

- вирусный лизис представителей бактерио- и фитопланктона приводит к многочисленным последствиям (обломки клеток, свободные кокколиты, РОВ, и т.д.), итогом которых является изменение оптических характеристик жидкой среды их обитания, что было зафиксировано и в экспериментах, и по спутниковым данным;

- в составе материалов и методов, которые используют зарубежные исследователи в экспериментах по выявлению роли вирусов в изменении оптических свойств водной среды, необходимо отметить применение в основном двух резервуаров (колб, туб, полиэтиленовых мешков и других емкостей), заполняемых водой и биотическими составляющими; один из резервуаров служит в качестве контроля (рост культур бактерий, цианобактерий, микроводорослей без вирусного лизиса), второй – в качестве опытного (с добавлением в культуру хозяина вирусной суспензии); в ходе экспериментов используются методы и комплекс приборов, необходимых для определения изменения в динамике численности вирусов и их хозяев и оптических свойств исследуемой в экспериментах жидкой среды;

- изменения обратного рассеяния, обусловленные вирусным лизисом, можно обнаружить с помощью спутниковых или авиационных методов дистанционного зондирования, что позволит определять локализацию наведенной вирусами гибели их хозяев;

- вирусная инфекция оптически значимых биологических частиц бактерио- и фитопланктона представляет собой еще один, пока малоизученный процесс, который может быстро трансформировать клетки микропланктона в новые типы оптически значимого материала, в том числе и в окрашенное растворенное органическое вещество;

- в соответствии с мнением исследователей очень важно расширять знания об относительно

значимом вкладе процессов вирусного лизиса для получения лучшего понимания механизмов функционирования океанических биогеохимических циклов.

Первые результаты собственных исследований по изучению роли вирусного лизиса в изменении оптических характеристик черноморской воды (2018–2019 гг.). Проведенные нами исследования были обусловлены отсутствием данных о роли вирусного лизиса в изменениях оптических свойств черноморской воды при использовании черноморской микробиоты (культуры микроводорослей и штаммы альговирюсов), при этом были учтены результаты, полученные в ходе исследований данной проблемы зарубежными коллегами, применявшими микробиоту в основном из тихоокеанского региона.

Использованные в проведенных экспериментах культуры микроводорослей были получены из коллекции живых культур микроводорослей отдела экологической физиологии водорослей Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН». Штаммы альговирюсов были выделены из различных проб (вода, донные осадки, гидробионты), отобранных из экосистемы Черного моря в акватории у побережья Севастополя. Изоляцию альговирюсов проводили при помощи запатентованных авторских способов [42, 43]. Свойства выделенных вирусов, в том числе и анализ их секвенированных геномов, описаны в работах [55, 56].

Первые эксперименты по изучению роли вирусной инфекции в изменении оптических характеристик проводили с использованием универсальной лабораторной установки, схематическое изображение которой представлено на рис. 1а. Устройство созданной лабораторной установки, как и полученные при этом результаты, подробно изложены в наших опубликованных работах [35–37]. Было зафиксировано (рис. 1б) влияние вирусного лизиса (двух штаммов черноморских альговирюсов – TvV-S1 и PtV-S18 при контакте с культурами двух видов черноморских микроводорослей – *Tetraselmis viridis* и *Phaeodactylum tricorutum*) на снижение значений показателя ослабления света (ПОС) по данным малогабаритного спектрального измерителя показателя ослабления направленного света (прозрачномера), разработанного в отделе оптики и биофизики моря Морского гидрофизического института РАН [57]. Однако в использованной лабораторной установке имелась лишь одна емкость, которая и служила в эксперименте в качестве опыта, результаты которого представлены в виде графика на рис. 1б, что не позволяло одновременно получать сведения об изменениях ПОС в контроле – роста и развития культур микроводорослей.

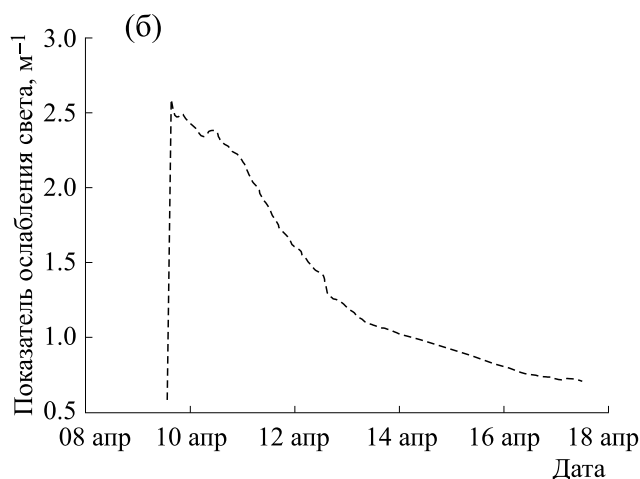
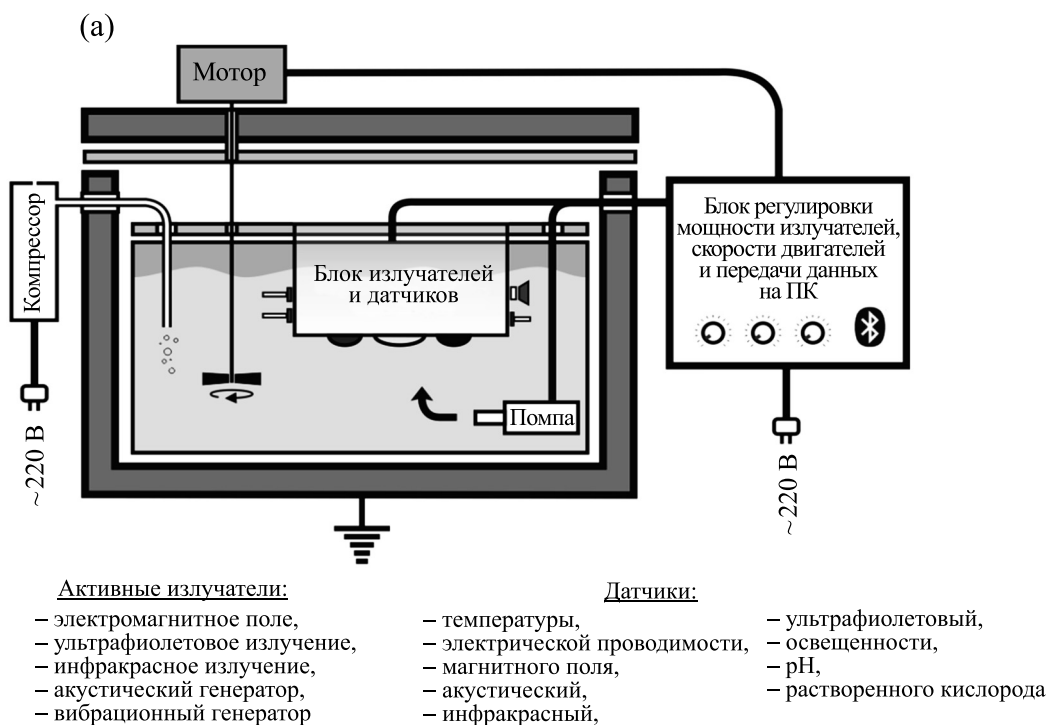


Рис. 1. (а) – Схема универсальной лабораторной установки контроля и мониторинга изучаемой жидкой среды [21]; (б) – изменение показателя ослабления света под действием вирусного лизиса (альгровирусы TvV-S1и PtV-S18) микроводорослей *Tetraselmis viridis* и *Phaeodactylum tricornutum* [22].

дорослей без вирусного лизиса. Для дальнейших исследований и их оценки необходимо было проведение экспериментов в двух емкостной установке или стенде, где помимо опыта были бы условия и для контроля.

В ходе экспериментов по изучению оптических свойств водной среды (черноморской воды) в присутствии черноморской микробиоты был разработан и адаптирован простой и доступный экспериментальный лабораторный стенд (рис. 2), подробное описание которого представлено в работе [38]. Для создания стенда были использова-

ны два идентичных пластиковых сосуда (диаметром 28 см и высотой 30 см), в которых можно было размещать до 15 л изучаемых жидких модельных биологических систем на основе морской воды. Одна из емкостей служила для контроля, другая для опыта. Апробирование созданного экспериментального лабораторного стенда было проведено в нескольких исследованиях, в которых в качестве модельных биологических систем использовали как монокультуры черноморских микроводорослей, так и их смесь, которые подвергали воздействию альгровирусов в опыте,

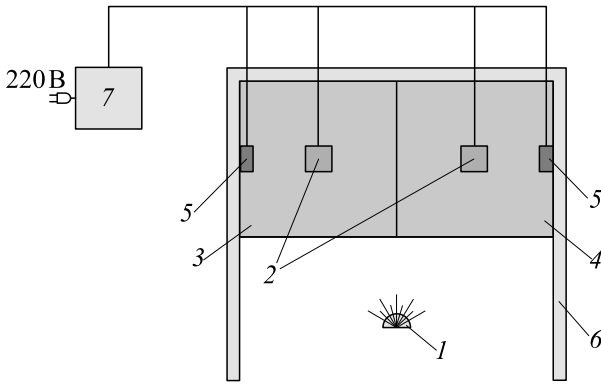


Рис. 2. Схема экспериментального лабораторного стенда для изучения изменения оптических свойств водной среды под влиянием микробиоты и вирусного лизиса [24]: 1 – источник искусственного освещения (светодиодная лампа ЕСО А60, 11 Вт 4000 К); 2 – рабочая зона, где размещается прозрачномер и датчик температуры; 3 – контрольная емкость (модель биологической системы без альговирюсов); 4 – емкость для опыта (модель биологической системы с альговирюсом); 5 – аквариумные насосы для перемешивания содержимого; 6 – светоотражающая поверхность; 7 – блок регулировки интенсивности работы насосов и передачи данных на персональный компьютер.

сравнивая показатели ПОС с контролем – без вирусного лизиса.

Выполненные эксперименты выявили влияние черноморской микробиоты на оптические свойства водной среды – наблюдалось повышение ПОС в результате роста культур микроводорослей (в контроле) и его снижение вследствие вирусного лизиса культур (в опыте), что представлено на рис. 3 в виде графиков изменения величин ПОС в динамике. Результаты, полученные на примере одной из черноморских культур под воздействием альговирюса в опыте и без вирусного лизиса в контроле, подробно описаны в работе [39]. Как можно видеть из графиков на рис. 3в, в инфицированной культуре в первые сутки опыта ПОС выше, что отчасти не противоречит и данным экспериментов, описанных в работе [25]. При этом между данными измерений ПОС на длине волны 625 нм и численностью клеток культуры микроводоросли, используемой в этом эксперименте, с учетом контроля и опыта была выявлена тесная связь, описанная линейным регрессионным уравнением с высоким коэффициентом детерминации (рис. 4).

Таким образом, полученные результаты являются первыми в плане экспериментального изучения роли черноморской микробиоты и вирусного лизиса в изменении оптических характеристик черноморской воды по данным ПОС и с учетом изменения численности клеток хозяев черноморских альговирюсов.

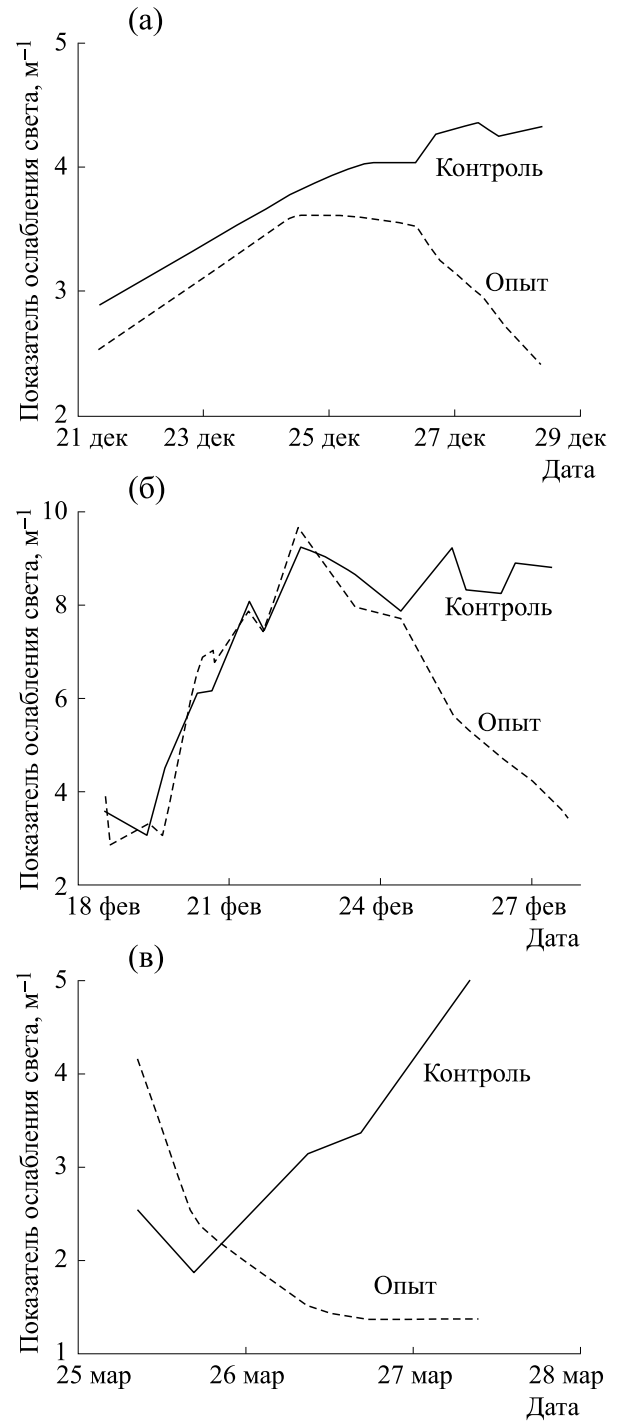


Рис. 3. Изменение показателя ослабления света в смеси морской воды и культур микроводоросли *Tetraselmis viridis* (а), смеси микроводорослей *Tetraselmis viridis* и *Dunaliella tertiolecta* (б), микроводоросли *Dunaliella viridis* (в) с добавлением вирусной суспензии альговирюсов TvV-S11 (а, б) и DvV-S11 (в) в опыте и в контроле. Эксперименты выполнены в 2019 г. [24].

Возможное практическое применение альговирюсов и вирусного лизиса. Известно, что вирусы широко используются в практике нанотехнологий

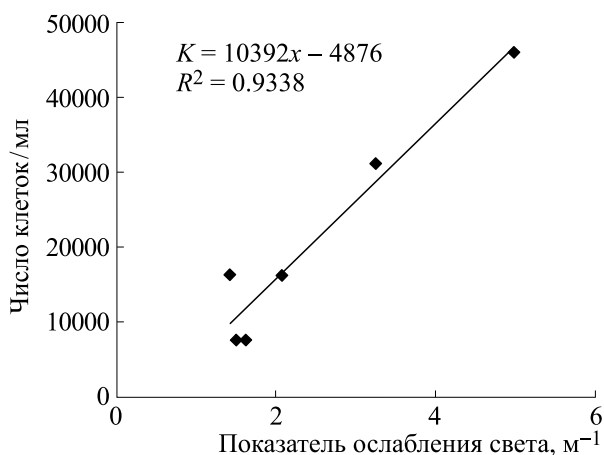


Рис. 4. Линейная зависимость значений ПОС и численности клеток культуры микроводоросли *Dunaliella viridis* на длине волны 625 нм по данным контроля (без вируса) и опыта (с вирусом DvV-SI1) [24].

[58]. Так, в одной из публикаций [59] приведены современные данные о применении вирусов в качестве эффективных инструментов в нанобиотехнологии и наномедицине (биочипы, латексные частицы, рекомбинантные вирусы-химеры, сорбенты вирусов на основе полианилина и наноалмазов и др.). Описано их использование для фундаментальных исследований и в различных сферах нанотехнологий, включая электронику.

С учетом полученных данных как в экспериментах зарубежных коллег, так и в наших исследованиях логично предположить, что альговирussy и вирусный лизис могут использоваться в профилактике и/или в борьбе с такими широко распространенными явлениями в гидросфере, как биокоррозия и биообрастание, где основную роль играют и микроводоросли.

По нашему мнению, возможно применение альговирussy и вызываемого ими вирусного лизиса в марихозайствах в качестве «природного фермента» для расщепления (трансформации) живого органического вещества на легко усваиваемый коктейль макро- и микромолекулярной органической субстанции [60]. В таком виде РОВ поглощается и утилизируется различными гидробионтами, что способствует их росту и развитию [3, 60–63]. Это свойство альговирussy может использоваться в технологиях для растворения посредством лизиса культур микроводорослей с целью выделения из них белков, ферментов, витаминов и др. биологически активных веществ без их повреждения.

Альговирussy и вызываемый ими вирусный лизис, с нашей точки зрения, можно применять в методиках по обработке кожи (при обрастании микроводорослями) обитаемых в неволе дельфи-

нов, а также и для снижения явления обрастания в замкнутых местах их содержания (бассейнах).

Перспективно использование альговирussy и вирусного лизиса для профилактики и/или устранения явления «цветения воды» в различных водоемах (бассейнах, водохранилищах, каналах, городских бухтах), что улучшит их эстетический вид.

Однако все представленные предположения для использования альговирussy и вызываемого ими вирусного лизиса нуждаются в дополнительных исследованиях, экспериментах и практических изучениях, что одновременно будет являться и расширением знаний в области молодой науки — морской (водной) вирусологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Проведенный литературный обзор доступной информации о роли вирусов гидросферы, самых многочисленных и наименее изученных среди гидробионтов, в изменении оптических свойств воды водоемов, с учетом собственных результатов, полученных в ходе экспериментов с использованием черноморской микробиоты, выявил следующее.

1. Самые многочисленные среди гидробионтов вирусы водоемов как самостоятельные частицы по мнению исследователей не оказывают существенного влияния на оптические свойства воды, что объясняют их нано размером и малым поперечным сечением рассеяния.

2. По данным экспериментов зарубежных коллег при использовании как опытных, так и контрольных емкостей вирусный лизис представителей бактерио- и фитопланктона приводит к многочисленным последствиям, итогом которых является изменение оптических характеристик жидкой среды. Эти изменения при экстраполяции на природные водоемы было предложено определять дистанционно как показатели наведенной (вызванной) вирусами гибели их одноклеточных хозяев.

3. Вирусная инфекция оптически значимых биологических частиц бактерио- и фитопланктона представляет собой еще один пока малоизученный процесс, который может быстро трансформировать клетки микроранктона в новые типы оптически значимого материала. Причем это свойство может быть использовано в практике, в том числе и в нанотехнологиях.

4. По мнению ученых, назрела актуальность и необходимость расширения знания о вкладе процессов вирусного лизиса в физико-химико-биологическую составляющую гидросферы для получения лучшего понимания механизмов функционирования океанических биогеохимических циклов.

5. Сведений, особенно в работах отечественных ученых, о роли вирусного лизиса в изменении оптических характеристик водной среды в гидросфере на уровне экспериментов или полевых исследований недостаточно, и они не учитываются в теории и практике оптики моря.

Дальнейшие исследования по изучению роли черноморской микробиоты в изменении физических характеристик морской среды будут направлены на использование в экспериментах более широкого спектра черноморских альговирюсов (в авторской коллекции имеются альговирюсы к семи видам микроводорослей), как и круга их хозяев. В опытах предполагается использовать влияние таких физических факторов, как магнитное и электрическое поля, ультрафиолетовое облучение и некоторые другие абиотические воздействия.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках госбюджетной темы ФИЦ МГИ РАН (тема № 0827-2019-0001, № госрегистрации АААА-А18-118012690119-7) и Государственного задания ИПТС (тема № 0012-2019-0003, № госрегистрации АААА-А19-119040590054-4).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. К. С. Шифрин, *Введение в оптику океана* (Гидрометеоздат, Л., 1983).
2. D. Stramski, A. Bricaud, and A. Morel, *Appl. Optics* **40** (18), 2929 (2001).
3. K. E. Wommack and R. R. Colwell, *Microbiol. Mol. Biol. R.* **64** (1), 69 (2000).
4. M. Middelboe and C. Brussaard, *Viruses*, **9** (10), 302 (2017).
5. C. A. Suttle, *Nature Rev. Microbiol.* **5**, 801 (2007).
6. J. McN. Sieburth, V. Smetacek, and J. Lenz, *Limnol. Oceanogr.* **23** (6), 1256 (1978).
7. В. В. Дрюккер и Н. В. Дутова, Докл. РАН **410** (6), 847 (2006).
8. В. В. Дрюккер и Н. В. Дутова, Докл. РАН **427** (2), 277 (2009).
9. В. В. Дрюккер, Н. В. Дутова, А. С. Ковадло и др., в сб. *Проблемы устойчивого функционирования водных и наземных экосистем* (Изд-во РГУ, Ростов-на-Дону, 2006), сс. 118–121.
10. В. В. Дрюккер, Н. В. Дутова, А. С. Ковадло и Т. Я. Косторнова, *Изв. ИрГУ. Науки о Земле* **1** (1), 189 (2008).
11. В. В. Дрюккер, Н. В. Дутова и А. С. Ковадло, Докл. РАН **440** (2), 282 (2011).
12. Н. В. Дутова и В. В. Дрюккер, *Гидробиол. журн.* **45** (4), 82 (2009).
13. Н. В. Дутова и В. В. Дрюккер, Докл. РАН **450** (4), 468 (2013).
14. А. И. Копылов, *Журн. Сиб. фед. ун-та. Биология* **6** (4), 354 (2013).
15. А. И. Копылов, Д. Б. Косолапов и Е. А. Заботкина, *Микробиология* **76** (6), 879 (2007).
16. А. И. Копылов, Д. Б. Косолапов и Е. А. Заботкина, *Биол. внутренних вод*, № 1, 49 (2008).
17. А. И. Копылов, Д. Б. Косолапов, Е. А. Заботкина и В. Страшкрабова, *Изв. РАН. Сер. биол.*, № 6, 661 (2010).
18. А. И. Копылов, Д. Б. Косолапов и Е. А. Заботкина, *Микробиология* **80** (2), 241 (2011).
19. А. И. Копылов, А. Ф. Сажин, Е. А. Заботкина и Н. Д. Романова, *Океанология* **55** (4), 620 (2015).
20. А. И. Копылов, Д. Б. Косолапов и Е. А. Заботкина, *Поволжский экологич. журн.*, № 2, 128 (2017).
21. О. А. Степанова, *Системы контроля окружающей среды*, № 12 (32), 99 (2018).
22. С. А. Шоларь и М. Е. Ли, *Системы контроля окружающей среды*, № 14 (34), 17 (2018).
23. W. M. Balch, J. M. Vaughn, J. F. Novotny, et al., *Limnol. Oceanogr.* **45** (2), 492 (2000).
24. W. M. Balch, J. M. Vaughn, J. F. Novotny, et al., *Limnol. Oceanogr.* **47** (5), 1554 (2002).
25. W. M. Balch, J. M. Vaughn, J. I. Goes, et al., *Limnol. Oceanogr.* **52** (2), 727 (2007).
26. C. Lønborg, M. Middelboe, and C. P. D. Brussaard, *Biogeochemistry* **116** (1–3), 231 (2013).
27. S. G. H. Simis, M. Tjidsens, H. L. Hoogveld, et al., *J. Plankton Res.* **27** (9), 937 (2005).
28. S. G. H. Simis, M. Tjidsens, H. L. Hoogveld, et al., *Limnol. Oceanogr.* **52**, 184 (2007).
29. J. Uitz, D. Stramski, A. C. Baudoux, et al., *Limnol. Oceanogr.* **55**, 2317 (2010).
30. В. И. Маньковский, *Морской гидрофизич. журн.* **5**, 78 (1999).
31. В. И. Маньковский, *Морской гидрофизич. журн.* **5**, 14 (2011).
32. V. I. Man'kovsky and E. V. Man'kovskaya, *Phys. Oceanography* **1**, 41 (2017).
33. Р. П. Тренкеншу, А. С. Лелеков, П. Е. Гаврилов и др., *Актуальные вопросы биологической физики и химии* **1** (1), 77 (2016).
34. В. В. Александров, *Электрофизика пресных вод* (Гидрометеоздат, Л., 1985).
35. О. А. Степанова и П. В. Гайский, *Системы контроля окружающей среды* **11** (31), 48 (2018).
36. О. А. Степанова, П. В. Гайский и С. А. Шоларь, *Системы контроля окружающей среды* **13** (33), 19 (2018).
37. С. А. Шоларь, П. В. Гайский и О. А. Степанова, в кн. *Мезомасштабные и субмезомасштабные процессы в гидросфере и атмосфере*, под ред. Ю. В. Воро-

- бьева (Изд. Инст. океанол. им. П. П. Ширшова РАН, М., 2018), сс. 410–412.
38. С. А. Шоларь, О. А. Степанова и Л. В. Стельмах, Системы контроля окружающей среды **2** (36), 13 (2019).
 39. С. А. Шоларь, О. А. Степанова, Л. В. Стельмах и др., в кн. *Современные проблемы оптики естественных вод* (Химиздат, Спб., 2019), сс. 156–160.
 40. А. Е. Крисс, *Морская микробиология (глубоководная)* (АН СССР, М., 1959).
 41. А. Е. Крисс и Е. А. Рукина, ДАН СССР, **57** (8), 833 (1947).
 42. О. А. Степанова, Патент Украины на изобретение № 2003065499, Бюл. № 4 (2003).
 43. О. А. Степанова, Патент Украины на изобретение № 201003881, Бюл. № 2 (2010).
 44. Е. В. Лихошвай, Наука из первых рук **70** (4), 88 (2016).
 45. N. Guixa-Boixereu, C. Pedros-Alio, J. I. Calderón-Paz, et al., in *Ecology of Marine Viruses* (CIESM Workshop Monographs, Banyuls, 2003), pp. 41–44.
 46. S. Wilhelm, M. Weinbauer and C. Suttle, *Manual of Aquatic Viral Ecology* (ASLO, Waco, 2010).
 47. Proposal for SCOR WG to investigate the role of viruses in marine ecosystems, in *Proc. Sci. Comm. Ocean. Res.* (Baltimore, 2005), v. 40, pp. 66–70 (Annex 4).
 48. P. Hyman and T. Stephen, *Viruses of Microorganisms* (Caister Acad. Press, Ashland, 2018).
 49. O. A. Stepanova, Y. A. Solovyova, and A. V. Solovyov, *Ukr. Bioorg. Acta* **2**, 53 (2011).
 50. M. S. Petro, I. V. Agarkova, and T. M. Petro, *J. Neuroimmunol.* **297**, 46 (2016).
 51. R. H. Yolken, L. Jones-Brando, and D. D. Dunigan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **111** (45), 16106 (2014).
 52. E. Organelli, H. Claustre, A. Bricaud, et al., *Geophys. Res.-Oceans.* **122** (5), 3542 (2017).
 53. D. Stramski and C. D. Mobley, *Limnol. Oceanogr.* **42**, 538 (1997).
 54. W. H. Wilson, G. A. Tarran, and D. Schroeder, *J. Mar. Biol. Assoc. UK* **82** (3), 369 (2002).
 55. O. A. Stepanova, A. L. Воїко, and I. S. Shcherbatenko, *Mikrobiologich. Zh.* **75** (5), 76 (2013).
 56. O. A. Stepanova, *Russ. J. Mar. Biol.* **42** (2), 123 (2016).
 57. М. Е. Ли, Системы контроля окружающей среды **17**, 7 (2012).
 58. P. Singh, M. Gonzales, and M. Manchester, *Drug Develop. Res.* **67** (1), 23 (2006).
 59. Л. В. Урываев, С. В. Альховский, Е. И. Самохвалов и др. Вопросы вирусологии **1**, 52 (2012).
 60. O. A. Stepanova, *Russ. J. Mar. Biol.* **43** (2), 127 (2017).
 61. E. Beretta and Y. Kuang, *Math. Biosci.* **149** (1), 57 (1998).
 62. I. Hewson, J. M. O’Neil, C. A. Heil, et al., *Aquat. Microb. Ecol.* **25** (1), 1 (2001).
 63. A. G. Murray and P. M. Eldridge, *J. Plankton. Res.* **16** (6), 627 (1994).

The Role of Viruses and Viral Lysis in Alteration of the Optical Properties of Aquatic Environment as the Habitat of Viruses

S.A. Sholar* and O.A. Stepanova**

*Marine Hydrophysical Institute, Russian Academy of Sciences, Kapitanskaya ul. 2, Sevastopol, 299011 Russia

**Institute of Natural and Technical Systems, Russian Academy of Sciences, ul. Lenina 28, Sevastopol, 299011 Russia

This review has its focus on the role of hydrosphere viruses and hydrosphere virus-induced viral lysis of single-celled hosts in alteration of the optical properties of water. Our earlier research showed that viruses of reservoirs as representatives of the nano-sized fraction of microplankton have no significant effect on the optical properties of water. However, further experiments conducted by foreign researchers and our current study include reports that viral lysis of the representatives of bacterio- and phytoplankton leads to numerous effects ultimately altering the optical characteristics of the aquatic environment as the habitat of viruses. It is assumed that the discovered phenomenon can be used for practical purposes.

Keywords: sea optics, hydrosphere viruses and their hosts, viral lysis, light beam attenuation coefficient