

На правах рукописи



ПОТАПОВ

Сергей Анатольевич

ВИРУСНЫЕ СООБЩЕСТВА В ОЗ. БАЙКАЛ

03.02.08 – Экология
(биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Иркутск – 2021

Работа выполнена в лаборатории водной микробиологии в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск

Научный руководитель: **Белых Ольга Ивановна**
кандидат биологических наук, в.н.с., доцент, зав. лабораторией водной микробиологии ФГБУН Лимнологический институт СО РАН

Официальные оппоненты: **Рябчикова Елена Ивановна**
доктор биологических наук, профессор, г.н.с. группы микроскопических исследований ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

Джиоев Юрий Павлович
кандидат биологических наук, в.н.с. НИИ Био-медицинских технологий ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук

Защита диссертации состоится «28» мая 2021 г. в 15:00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.074.07 при ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» по адресу: 664003, г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 5, ауд. 212.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» им. В. Г. Распутина по адресу: 664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 124 и на сайте Иркутского государственного университета: <http://old.isu.ru/ru/science/boards/dissert/dissert.html?id=186>

Отзывы просим направлять ученому секретарю диссертационного совета по адресу: 664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1, биолого-почвенный факультет ИГУ. Тел./факс: (3952)24-18-55, e-mail: dissovet07@gmail.com

Автореферат разослан «___» апреля 2021 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент



А. А. Приставка

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Вирусы – облигатные внутриклеточные паразиты, состоящие из одной или двух молекул РНК или ДНК, заключенных в белковый капсид. Вирусы инфицируют все домены жизни: эукариоты, археи, бактерии, вирусы последних двух доменов называют фагами. В водной среде вирусы встречаются как в виде свободных частиц, так и внутри клетки хозяина-гидробионта: от прокариот до многоклеточных организмов. Вирусы – самый многочисленный компонент биоты водных экосистем, их количество достигает 10^6 - 10^8 частиц/мл. Разнообразие водных вирусов насчитывает более 200 тыс. видов (Gregory et al., 2019), большинство из них являются ДНК-содержащими (Tapper, Hicks, 1998; Qi-Ya, 2006). Вирусы играют ключевую роль в регулировании численности и состава микробных сообществ, ежедневно они лизируют до 20% микробной биомассы (Bergh et al., 1989; Proctor, Fuhrman, 1990; Noble, Fuhrman, 1999; Suttle, 2007; Weitz, Wilhelm, 2012). Изменяя потоки вещества и энергии, вирусы активно участвуют в биогеохимических циклах; велико их влияние на генетическое разнообразие и эволюцию прокариот (Schwalbach, Hewson, Fuhrman, 2004).

Тесные взаимодействия присутствуют не только между вирусами и их хозяином, но также и между самими вирусами, внутри вирусного сообщества. Наиболее известны такие процессы как совместное инфицирование клетки хозяина несколькими видами вирусов, псевдотипирование вирусов, подавление вирусной суперинфекции, рекомбинация геномов, трансактивация генов и т.п., описаны сателлитные, встроенные вирусы и вирусы-помощники (Yurochko et al., 1999; Brindley et al., 2008; DaPalma et al., 2010).

Первые данные о высокой концентрации вирусных частиц в воде оз. Байкал получены благодаря методу эпифлуоресцентной микроскопии (ЭФМ) (Белых, Беликов, 2000). В дальнейшем при помощи электронной микроскопии описана морфология фагов, определена их численность, сезонная и межгодовая динамика (Дрюккер, Дутова, 2006; Дрюккер, Дутова, 2009). Разнообразие T4-подобных бактериофагов в северной и южной котловинах оз. Байкал впервые описано в 2008 г. с использованием маркеров к гену капсидного белка (Butina et al., 2010).

Отсутствие универсального генетического маркера для поиска и идентификации вирусов чрезвычайно затрудняет изучение вирусных сообществ, однако в последние годы применение метода высокопроизводительного секвенирования позволило решить многие методические проблемы и значительно расширило возможности изучения биоразнообразия, структуры и функционального потенциала вирусных сообществ (Watkins et al., 2015; Skvortsov et al., 2016; Gong et al., 2018).

До настоящего исследования не было сведений не только о вирусах пелагиали оз. Байкал, но и о вирусах других древнейших озер мира, как и о влиянии на состав и структуру вирусных сообществ абиотических и биотических факторов среды.

Цель работы – установление генетического разнообразия и структуры вирусных сообществ планктона, нейстона и перифитона оз. Байкал, а также количественных показателей и динамики развития планктонных вирусов в пелагиали с учетом абиотических и биотических факторов среды.

Задачи исследования:

1. Определить численность вирусных частиц и бактерий в планктоне пелагиали оз. Байкал методом эпифлуоресцентной микроскопии и проточной цитометрии (ПЦ).
2. Охарактеризовать разнообразие T4-подобных бактериофагов в различных экотопах оз. Байкал: поверхностном микрослое воды, биоплёнках каменистых субстратов и губок на основе анализа генов капсидного белка gp23 методом секвенирования по Сенгеру, сравнить их состав с бактериофагами других природных местообитаний.
3. Определить альфа- и бета-разнообразие сообществ планктонных бактериофагов на основе метода высокопроизводительного секвенирования.
4. Установить состав, структуру и функциональный потенциал ДНК-содержащих вирусов оз. Байкал и оценить их в биогеографическом аспекте.
5. Оценить экологические факторы, влияющие на количественные и качественные характеристики вирусных сообществ.

Научная новизна работы. Впервые проведена количественная оценка вирусных частиц и бактерий в оз. Байкал методом проточной цитометрии, определены экологические факторы, влияющие на численность микробных сообществ. Наибольшее влияние на численность вирусных частиц в оз. Байкал оказывает количество бактерий и температура воды.

Выполнен анализ вирусов по гену *g23* методом высокопроизводительного секвенирования. Дана сравнительная характеристика генетического разнообразия *g23*-сообществ поверхностного микрослоя воды, водной толщи и биоплёнок, сформированных на камнях и губках. Получены данные о высоком разнообразии сем. *Myoviridae*. Выявлена группа байкальских T4-цианофагов, поражающих пикоцианобактерии. Впервые выполнено метагеномное секвенирование вирусных сообществ в пелагиали оз. Байкал, установлены состав и структура вирусов, проведена функциональная аннотация генов. Методами главных компонент и многомерного неметрического шкалирования проанализированы вирусные сообщества ряда водных экосистем. Показано, что морфометрические показатели и трофический статус водоёмов влияют на состав вирусов. Установлена клада

«великих озёр мира». Сравнительный анализ виромов выявил их существенные различия в зависимости от физико-химических условий среды и состава бактериопланктона.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов.

Результаты диссертационной работы существенно дополняют и расширяют имеющиеся в литературе сведения о таксономическом составе вирусных сообществ в водных экосистемах и, в частности, о биоразнообразии T4-подобных вирусов сем. *Myoviridae*. Полученные в работе последовательности и массивы данных NGS зарегистрированы в базах MG-RAST, NCBI и могут быть использованы при сравнительном анализе других водоёмов. Метод проточной цитометрии, примененный для учета вирусных частиц и бактерий, а также качественного анализа проб, дал возможность с меньшими затратами времени произвести достоверную оценку микробных сообществ оз. Байкал, что позволяет рекомендовать его для мониторинга ультрамикробиоты водных экосистем.

Использованные в работе методы и подходы могут быть востребованы государственными органами РФ для контроля качества воды, выявления патогенных вирусов человека и животных. Присутствие T4-подобных фагов является косвенным подтверждением наличия условно-патогенных и патогенных бактерий, их идентификация и оценка биоразнообразия имеют значимость для санитарных служб.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Вирусные сообщества различных экотопов оз. Байкал характеризуются высоким генетическим и таксономическим разнообразием. Количество вирусов в пелагиали, сезонная изменчивость их численности и соотношение численности вирусов к бактериям в эпилимнионе и гиполимнионе соответствуют показателям характерным для олиготрофных озёр. Численность и состав вирусных сообществ находятся в прямой зависимости от температуры воды и численности бактерий.

2. В составе ДНК-содержащих вирусных сообществ оз. Байкал доминируют бактериофаги, принадлежащие хвостатым фагам семейств *Myoviridae*, *Podoviridae* и *Siphoviridae*, среди них преобладают вирусы семейства *Myoviridae*, в том числе присутствует значительное количество литических T4-подобных бактериофагов, что свидетельствует о высокой потенциальной способности воды озера к самоочищению от бактериального загрязнения.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на конференции с международным участием «Питьевая вода в XXI веке» (Иркутск, 2013), на всероссийской конференции «Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной Азии» (Улан-Удэ, 2016), международной конференции «Системы контроля окружающей среды» (Севастополь, 2016), конференции молодых учёных «Социально-экологические проблемы байкальского

региона и сопредельных территорий» (Иркутск, 2018, 2019), международной конференции «Пресноводные экосистемы – современные вызовы» (Иркутск, 2018), 2-м Российском микробиологическом конгрессе (Саранск, 2019), V Международном Байкальском Микробиологическом Симпозиуме «Микроорганизмы и вирусы в водных экосистемах» (Иркутск, 2020).

Личный вклад автора. Диссертационная работа является результатом исследований автора, выполненных согласно планам научно-исследовательских работ в лаборатории водной микробиологии ЛИН СО РАН в рамках базовых проектов и грантов РФФИ. Фактические данные получены автором при его непосредственном участии в экспедиционных и лабораторных работах, включая анализ и обобщение полученных результатов в течение 2008-2019 гг.

Публикации. По результатам исследования опубликовано 27 научных работ: одна монография, 12 статей, входящих в список ВАК, 6 статей в изданиях, включённых в систему цитирования Web of Science, 14 тезисов конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 156 страницах, содержит 11 таблиц и 25 рисунков. Список литературы включает 301 источник из которых 24 на русском языке, 273 на иностранных языках и 4 источника интернет ресурсов.

Благодарности. Выражаю искреннюю признательность и благодарность научному руководителю к.б.н., доценту Ольге Ивановне Белых. Благодарю к.б.н. Т. В. Бутину, к.б.н. И. В. Тихонову, д.б.н. В. В. Дрюккера, к.б.н. А. С. Гладких, к.б.н. В. С. Муханова, А. Ю. Краснопеева, Г. В. Подлесную за ценные советы, рекомендации и неоценимую помощь при подготовке диссертации, д.г-м.н. А. П. Федотова и Н. А. Жученко за предоставленную возможность использовать данные химического анализа воды. Выражаю благодарность сотрудникам лаборатории водной микробиологии за помощь в организации работы и консультации, а также сотрудникам приборного центра ЛИН СО РАН «Электронная микроскопия», ЦКП «Геномика» (г. Новосибирск), сотрудникам ФИЦ ИнБЮМ (г. Севастополь) и сотрудникам ЦКП ИСКЦ СО РАН (кластер «Академик В. М. Матросов»).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

С использованием зарубежной и отечественной литературы описаны экологическая значимость вирусов, современные методы исследования вирусных сообществ, особенности морфологии и таксономии бактериофагов.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования. Объектом исследования являлись вирусы, в частности, T4–подобные бактериофаги семейства *Myoviridae* оз. Байкал.

Отбор и фиксация проб. Отбор проб осуществлён в период с 2011 г. по 2018 г. Карта станций отбора проб приведена на рисунке 1. Для количественной оценки вирусных частиц и бактерий методом ЭФМ пробы фиксировали формалином (конечная концентрация 2%), для ПЦ замораживали в жидком азоте сразу после отбора.

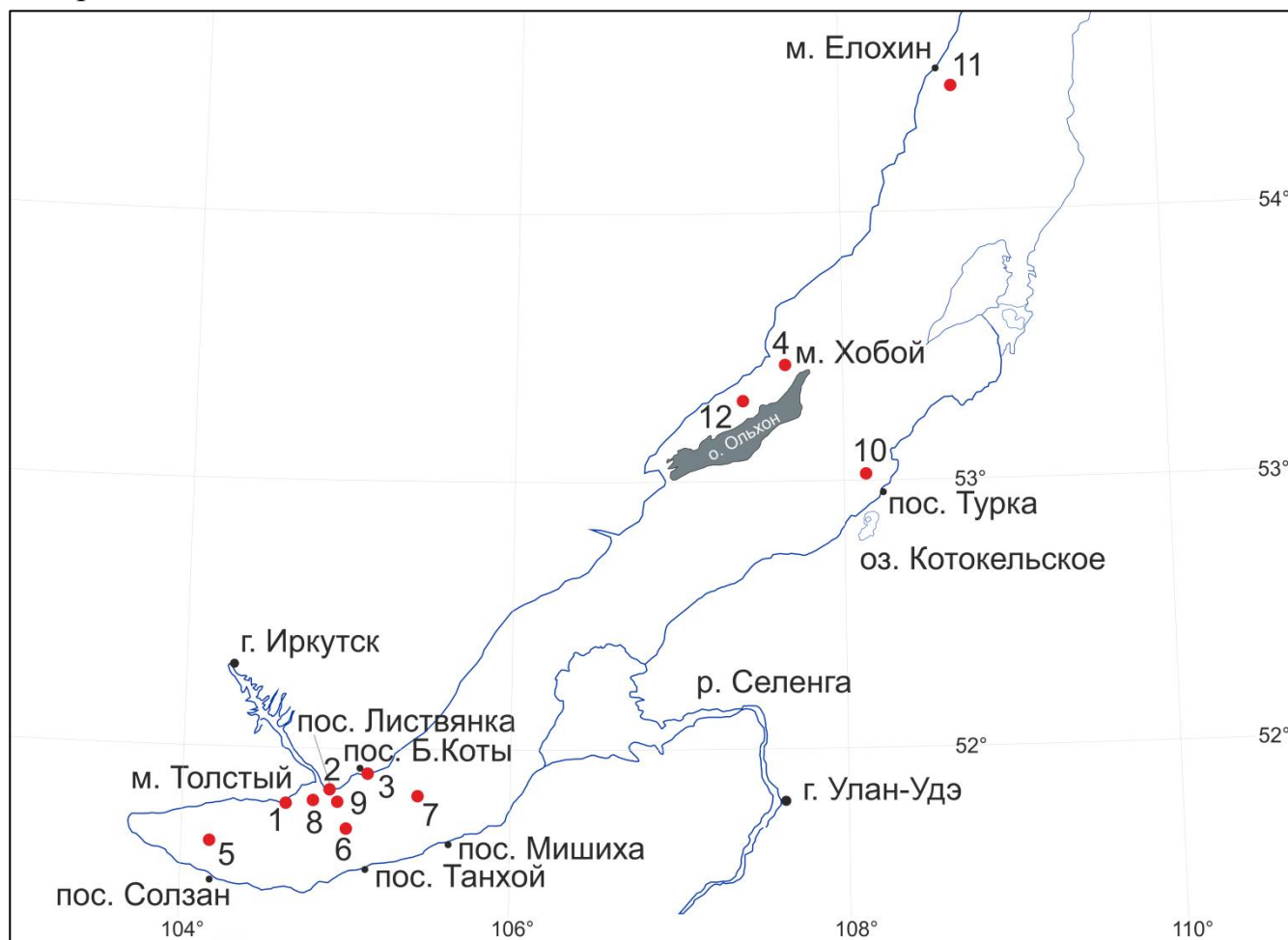


Рис. 1. Карта-схема станций отбора проб в оз. Байкал. 1 – м. Толстый, 2 – пос. Листвянка, 3 – пос. Б. Коты, 4 – м. Хобой (прол. Малое Море), 5 – центральная станция разреза пос. Маритуй – пос. Солзан, 6 – центральная станция разреза пос. Листвянка – пос. Танхой, 7 – центральная станция разреза м. Кадильный – пос. Мишиха, 8 – 7 км от пос. Листвянка, 9 – 3 км от пос. Листвянка, 10 – 3 км от пос. Турка, 11 – 3 км от м. Елохин, 12 – центральная станция прол. Малое Море. 1-3 – биоплёнки камней и губок; 4 – нейстон, 5-12 – планктон.

2.2 Методы исследования

Определение химических компонентов (нитратного, нитритного, аммонийного и общего азота, кремния, фосфатов, общего фосфора и органического углерода) в пробах воды проводили сотрудники лаборатории гидрохимии и химии атмосферы ЛИН СО РАН н.с. Н. А. Жученко, к.г.н. Н. С. Чебунина. Концентрация кислорода, температура воды измерены с помощью

зонда SBE 25 Sealogger CTD (Sea-Bird Electronics, США) сотрудниками лаборатории гидрологии и гидрофизики с.н.с. Р. Ю. Гнатовским и к.г.н. В. В. Блиновым. Прозрачность воды определяли по диску Секки.

Для определения концентрации хлорофилла 1 л воды фильтровали через поликарбонатный фильтр с диаметром пор 0,4 мкм (Millipore, США). После ультразвуковой обработки образцов выполняли экстракцию ацетоном (90%) в течение ночи при 4°C. Концентрацию хлорофилла *a* измеряли с помощью спектрофотометра Cintra-2020 согласно методике (Parsons, Maita, Lalli, 1984).

Для учёта вирусных частиц и бактерий применяли ЭФМ (красители DAPI, SYBR Green I) (Porter, Feig, 1980; Noble, Fuhrman, 1998) и ПЦ (SYBR Green I) (Marie et al., 1997; Brussaard, 2004). Для проверки наличия и определения размерного спектра вирусных частиц использовали трансмиссионный электронный микроскоп LEO-906E (Zeiss, Германия).

Секвенирование гена *g23* T4-подобных бактериофагов в биоплёнках методом Сенгера. Выделение ДНК проводили фенол-хлороформным методом. Для амплификации использовали праймеры MZIA1bis и MZIA6 (Filée et al., 2005).

Секвенирование фрагментов гена *g23* произведено в компании «Синтол» (г. Москва, Россия). Нуклеотидные последовательности фрагментов гена *g23* обрабатывали с помощью программ BioEdit v. 7.0.9 (Hall, 1999), Mega 7 (Kumar, Stecher, Tamura, 2016), Gblocks (Castresana, 2000), MrBayes v. 3.2.6 (Huelsenbeck, Ronquist, 2001), Tracer 1.6 (Rambaut et al., 2013). Поиск ближайших соседей выполняли, используя BLAST-анализ (e-value – $1e^{-6}$). На основе аминокислотных последовательностей получали матрицу дистанций метрикой UniFrac с последующим использованием иерархического кластерного анализа (hclust) (Murtagh, 1992), применяя пакеты phyloseq v. 1.21.0, phangorn v. 2.2.0, реализованные в программе R v. 3.2.4.

Анализ *g23* последовательностей бактериофагов оз. Байкал с использованием высокопроизводительного секвенирования. Пробу воды не концентрировали и не выделяли ДНК. Фильтрат служил матрицей для ПЦР с праймерами MZIA1bis и MZIA6 (Filée et al., 2005).

Библиотеку готовили, используя набор реактивов NEBNext Ultra DNA Library Prep Kit (NEB, США), секвенирование выполняли с обоих концов (2×300) на платформе MiSeq (Illumina, США). Для объединения парных прочтений применяли программу PandaSeq (Masella et al., 2012), затем обрабатывали с помощью программного обеспечения QIIME v. 1.9.1 (Caporaso et al., 2010), BioEdit v. 7.0.5 (Hall, 1999), Mega 7 (Kumar, Stecher, Tamura, 2016), MrBayes v. 3.2.6 (Huelsenbeck, Ronquist, 2001), CD-HIT v. 4.6 (Huang et al., 2010). Ближайших родственников репрезентативных последовательностей определяли программой BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) (e-value – 10^{-6}).

Для филогенетического анализа из базы данных GenBank выбирали репрезентативные аминокислотные последовательности белка gp23 вирусов из других экосистем. Для сравнения бета-разнообразия сообществ бактериофагов в образцах применяли невзвешенный (качественный) UniFrac-анализ, далее использовали метод главных компонент (PCA), применяли пакеты phyloseq v. 1.21.0, phangorn v. 2.2.0, vegan v. 2.4-3, реализованные в программе R v. 3.2.4. Для анализа альфа-разнообразия применяли программу DnaSP v.6 (Rozas et al., 2017).

Необработанные данные, полученные в результате секвенирования, депонированы в архив SRA (NCBI) под номером SRR5469168.

Метагеномное секвенирование вирусных сообществ оз. Байкал (виром).

Пробы фильтровали через поликарбонатные фильтры с диаметром пор 0,4 мкм (Sartorius, Германия), фильтраты концентрировали, используя систему ультрафильтрации VivaFlow 200 (Sartorius, Германия), далее образцы пропускали через насадку с диаметром пор 0,2 мкм (Sartorius) для удаления бактерий и затем концентрировали с помощью Vivaspin Turbo 15 (50 кДа) (Sartorius) до объема ~100 мкл. Для очистки свободных вирусных частиц от чужеродной ДНК проводили обработку пробы ДНКазой (Thermo Fisher Scientific, США) (Thurber et al., 2009). ДНК выделяли стандартным фенол-хлороформным методом. ДНК фрагментировали на Covaris S2 (Covaris, США) и готовили библиотеки с помощью набора реагентов NEBNext Ultra II (NEB, США). Полученные ДНК-библиотеки секвенировали по технологии Illumina (США) на приборе Miseq (США) с использованием реактивов Kit v3 2x300 (Illumina).

Первоначальный контроль качества проводили, используя программу FastQC v. 0.11.5, затем полученные данные обрабатывали с помощью Trimmomatic v. 0.36 (Bolger, Lohse, Usadel, 2014), применяя параметр SLIDINGWINDOW:4:20. Виромы анализировали, используя онлайн сервис Meta Genome Rapid Annotation using Subsystem (MG-RAST) (Meyer et al., 2008).

Для сборки *de novo* применяли метагеномный «сборщик» SPAdes 3.13.0 (Bankevich et al., 2012). Из скаффолдов, собранных SPAdes с помощью программы VIBRANT v. 1.2.0 (Kieft, Zhou, Anantharaman, 2019), отсортировывали скаффолды, принадлежащие вирусам. Далее скаффолды аннотировали с помощью blastn-анализа, e-value – 10^{-3} . Для предсказания генов применяли программу MetaGeneMark v. 3.25 (Zhu, Lomsadze, Vorodovsky, 2010), затем осуществляли поиск по базе данных NR NCBI вручную с использованием blastp-анализа. Сходство между скаффолдами и референсными геномами визуализировали с помощью EasyFig (Sullivan, Petty, Beatson, 2011). Для проверки степени покрытия байкальских скаффолдов риды применяли программы BWA (алгоритм MEM, Li H., 2013) и Samtools (Li et al., 2009). Сравнительный анализ виромов проводили, используя программы Centrifuge v. 1.0.4 (Kim et al., 2016), R v. 3.6.1, пакет vegan

v. 2.5-6 и скрипт python3 (Ivanov, 2019). Дендрограмма получена на основе сравнения байкальских виромов с 22 виромами из различных источников.

Необработанные данные загружены на сервер MG-RAST под номерами: BVP1 – mgm4814173.3 (подлёдное сообщество), BVP2 – mgm4816981.3, BVP3 – mgm4821571.3, BVP4 – mgm4816982.3 (весенние сообщества) и в архив NCBI SRA project – PRJNA547700 (архив содержит BVP1 и BVP2). Образцы BVP5 и BVP6 на момент написания диссертации имеют статус частных данных.

Статистическая обработка результатов проведена при помощи программы R 3.6.3 (<https://cran.r-project.org/bin/windows/base/old/3.6.3/>).

ГЛАВА 3. ЧИСЛЕННОСТЬ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ И БАКТЕРИЙ В ОЗЕРЕ БАЙКАЛ

3.1 Оценка численности бактерий и вирусных частиц методами проточной цитометрии и эпифлуоресцентной микроскопии. Численность свободных вирусных частиц и бактерий определяли в сентябре 2012 г. на трёх центральных станциях в пелагиали южной котловины оз. Байкал в слое 0-50 м (табл. 1).

Таблица 1

Численность вирусных частиц, ПЦБ и гетеротрофных бактерий, полученная методами ПЦ и ЭФМ (0-50 м)

Станция	ПЦ			ЭФМ		
	ВЧ*, частиц/мл $\times 10^6$	ПЦБ**, кл/мл $\times 10^5$	Гетеротроф. бактерии, кл/мл $\times 10^6$	ВЧ, частиц/мл $\times 10^6$	ПЦБ, кл/мл $\times 10^5$	Гетеротроф. бактерии, кл/мл $\times 10^6$
пос. Маритуй – пос. Солзан	5 \pm 0,9	2 \pm 0,7	2,5 \pm 0,5	3,8 \pm 0,3	3,5 \pm 1,2	2,3 \pm 0,6
пос. Листвянка – пос. Танхой	4,3 \pm 0,7	1,7 \pm 0,5	2,3 \pm 0,4	4,1 \pm 0,7	2,4 \pm 0,6	2,5 \pm 0,5
м. Кадильный – пос. Мишиха	3,5 \pm 0,5	2,1 \pm 0,6	2,6 \pm 0,5	3,5 \pm 0,1	3,1 \pm 0,8	2,4 \pm 0,5

* ВЧ – вирусные частицы

** ПЦБ – пикоцианобактерии

Примечание. После знака « \pm » приводится величина стандартной ошибки среднего.

Результаты оценки численности бактерий, вирусных частиц и пикоцианобактерий, полученные двумя методами, показали значимую положительную корреляционную связь (коэффициент корреляции Пирсона, ККП; $r = 0,83-0,99$, $p < 0,05$).

3.2 Оценка вертикального распределения вирусных частиц, бактерий, пикоцианобактерий в разные периоды термальной стратификации. В условиях гомотермии (диапазон изменения температуры воды 3,2-3,5°C) в июне 2015 г. вертикальное распределение исследуемых показателей на центральной станции разреза пос. Листвянка – пос. Танхой было неравномерным. Наибольшая численность бактерий с максимумом $0,75 \times 10^6$ кл/мл на глубине 5 м и вириопланктона с пиком $2,5 \times 10^6$ частиц/мл на глубине 15 м отмечена в верхнем 50-метровом слое. Соотношение численности вирусов к численности бактерий (VBR, virus to bacteria ratio) в этом слое составляло в среднем 8, с максимумом 20 на глубине 15 м. В более глубоких слоях, ниже 50 м, количество вирусных частиц и бактерий уменьшалось до минимальных показателей: $0,07 \times 10^6$ частиц/мл (1000 м) и $0,003 \times 10^6$ кл/мл (1200 м), при этом их соотношение достигало в среднем 26. Максимальное значение VBR (44) выявлено на глубине 1200 м.

В период положительной стратификации, при формировании прогретого эпилимниона с залегающим под ним термоклинном, наибольшую численность вирусов в оз. Байкал наблюдали на поверхности воды и глубине 15 м. В августе 2015 г. температура поверхности воды достигала 17,7-18°C, снижаясь до 3,2°C на глубине 20 м. В гиполимнионе численность вирусов и бактерий резко снижалась, до $0,47 \pm 0,1 \times 10^6$ частиц/мл и $0,04 \pm 0,01 \times 10^6$ кл/мл соответственно. Значения VBR варьировали по горизонтам, VBR в слое 0-50 м достигало 11,8, пик (21) найден на глубине 800 м.

Полученные в данной работе профили вертикального распределения численности вирусов, гетеротрофного бактериопланктона и ПЦБ оз. Байкал сопоставимы с описанными ранее другими авторами (Белькова и др., 2003; Belykh, Sorokovikova, 2003; Katano et al., 2008; Дрюккер, Дутова, 2009).

Осенью, в период понижения температуры в верхнем слое воды, наибольшую численность бактерио- и вириопланктона в пелагиали оз. Байкал отмечали в эпилимнионе, наименьшую – в гиполимнионе. Так, на трёх станциях в Южном Байкале ВЧ были наиболее многочисленными на глубине 5-15 м, составляя в среднем $5,8 \times 10^6$ частиц/мл, наибольшее количество ПЦБ отмечено на глубине 15 м в среднем $4,7 \times 10^5$ кл/мл, численность бактерий на глубине 0-15 м достигала в среднем $3,1 \times 10^6$ кл/мл. Соотношение VBR на трёх станциях в слое 0-50 м варьировало от 1 до 2,8, в гиполимнионе этот показатель повышался до 7,8.

В целом численность вирусных частиц в эпилимнионе во все сезоны выше, чем в гиполимнионе. VBR было наибольшим в гиполимнионе, с максимальными значениями на глубинах ниже 600 м. Увеличение коэффициента VBR на больших глубинах в водах оз. Байкал согласуется с похожими наблюдениями в глубоководной зоне Атлантического океана (VBR > 100) (Parada et al., 2007), однако достоверных объяснений пока не имеет (Suttle, 2007).

В летний и осенний сезоны наблюдали значимую положительную корреляционную связь между численностью вирусов и бактерий (ККП, $r = 0,9$, $p < 0,05$) и между численностью вирусов и температурой воды (ККП, $r = 0,8$, $p < 0,05$). Исключение составил период обратной стратификации, во время которого не выявлено значимой корреляционной связи между вирусной численностью, температурой воды и численностью бактерий.

3.3 Сезонная динамика численности вирусных частиц и бактерий, метод ЭФМ. Сезонная динамика численности вирусных частиц, гетеротрофных бактерий и ПЦБ определена на центральной станции разреза пос. Листвянка – пос. Танхой в июне и сентябре 2015 и 2016 гг. с использованием ЭФМ, расчёт произведён для слоя 0-25 м.

За два года наблюдений показано, что численность ПЦБ и ОЧБ в июне значительно ниже, чем в сентябре, при этом она почти не различалась по годам, составляя в среднем $0,02 \times 10^6$ кл/мл и $0,28 \times 10^6$ кл/мл соответственно. В сентябре наблюдали увеличение численности бактерий: ПЦБ в 3 раза, ОЧБ в 13 раз. Максимальная концентрация ВЧ отмечена осенью 2015 г. ($6,75 \times 10^6$ частиц/мл) – в период сезонного пика развития ПЦБ и в год высокоурожайный по пикопланктону. В сентябре 2016 г. количество ВЧ составило $4,62 \times 10^6$ частиц/мл. Минимальная численность ВЧ выявлена в июне, при этом самое низкое количество ВЧ обнаружено в 2016 г. – $0,9 \times 10^6$ частиц/мл. Величина VBR в слое 0-25 м достигала 20, что входит в диапазон значений, найденных в других пресных водоемах (Hofer, Sommaruga, 2001; Bettarel et al., 2003).

Выявленная зависимость между ростом численности ПЦБ и повышением количества ВЧ свидетельствует о том, что в сентябре в вирусном сообществе увеличилась доля цианофагов – вирусов цианобактерий. Увеличение количества вирусов неоднократно наблюдали при массовом развитии цианобактерий, в том числе токсичных (Laybourn-Parry, Hofer, Sommaruga, 2001; Yoshida et al., 2008).

3.4 Межгодовая динамика численности вирусных частиц и бактерий метод ЭФМ. С 2011 г. по 2016 г. проводили ежегодную количественную оценку ОЧБ, ВЧ и ПЦБ на центральной станции разреза пос. Листвянка – пос. Танхой.

Корреляционный анализ обнаружил зависимость численности исследуемых компонентов планктона от температуры воды ($r = 0,50-0,75$) с уровнем значимости $p < 0,05$. Как уже указывали, наибольшее количество ВЧ в осенний период выявлено в 2015 г., самое низкое – в 2011 г.

За период исследований установлена положительная корреляционная связь между численностью вирусов и гетеротрофных бактерий ($r = 0,92-0,97$, $p < 0,05$), вирусов и пикоцианобактерий ($r = 0,79-0,95$, $p < 0,05$). В межгодовом аспекте результаты показали бóльшую зависимость количества вирусов от численности гетеротрофных бактерий, чем вирусов от пикоцианобактерий. За весь период

наблюдений установлено преобладание численности вирусных частиц над гетеротрофными бактериями и ПЦБ.

ГЛАВА 4. АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ G23-СООБЩЕСТВ БАКТЕРИОФАГОВ В БИОПЛЁНКАХ ОЗ. БАЙКАЛ

В работе с использованием праймеров, фланкирующих фрагмент гена основного капсидного белка gp23, исследованы T4-подобные бактериофаги в биоплёнках, сформированных на биогенных и абиогенных субстратах, и в поверхностном микрослое воды оз. Байкал.

Из проб биоплёнок получено 85 уникальных нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *g23*: 37 из губок, 10 из биоплёнок каменистых субстратов, 25 из цианобактериальных обрастаний камней и 13 из поверхностного микрослоя воды. Длина последовательностей варьировала от 342 до 459 п.н. Последовательности *g23* депонированы в базу данных GenBank под номерами: MH576490-MH576574.

Согласно филогенетическим реконструкциям, T4-подобные вирусы состоят из нескольких подгрупп: «истинные» T-evens (например, фаги T2, T4, T6), PseudoT-evens, SchizoT-evens (например, *Aeromonas*, *Vibrio* фаги и др.) и более отдалённые EchoT-evens (циано-, пелагиофаги и др.) (Suttle, 2002; Desplats, Krisch, 2003). Недавно предложенная классификация T4-подобных фагов, основанная на анализе последовательностей гена *g23*, разделила их на три группы: Far T4 (*Escherichia* фаг 121Q, *Rodothermus* фаг RM378), Near T4 (группа T-, PseudoT- и SchizoT-evens) и Cyano T4 (EchoT-evens и *Pelagibacter* фаги) (Comeau, Krisch, 2008; Hjorleifsdottir et al., 2014).

Результаты генетического анализа показали, что ни одна из байкальских последовательностей не кластеризовалась с представителями группы Near T4. Семь последовательностей вошли в группу Far T4. Группа Cyano T4 объединила остальную часть последовательностей (78), 65 из них образовало 14 кластеров.

Иерархический кластерный анализ, который включал последовательности из различных местообитаний, доступных в базе NCBI: заливов, почв, озёр, гидротермальных источников, рек, сточных вод, болот, показал, что сообщества вирусов из биоплёнок оз. Байкал располагаются на дендрограмме ближе к планктонным вирусам из северной и южной котловин озера (рис. 2). Характер распределения отражает наиболее близкое родство вирусных сообществ различных экотопов оз. Байкал и их меньшее сходство с другими экосистемами, что может определяться физико-химическими параметрами среды обитания, а также зависеть от происхождения, возраста и географического положения водоёмов.

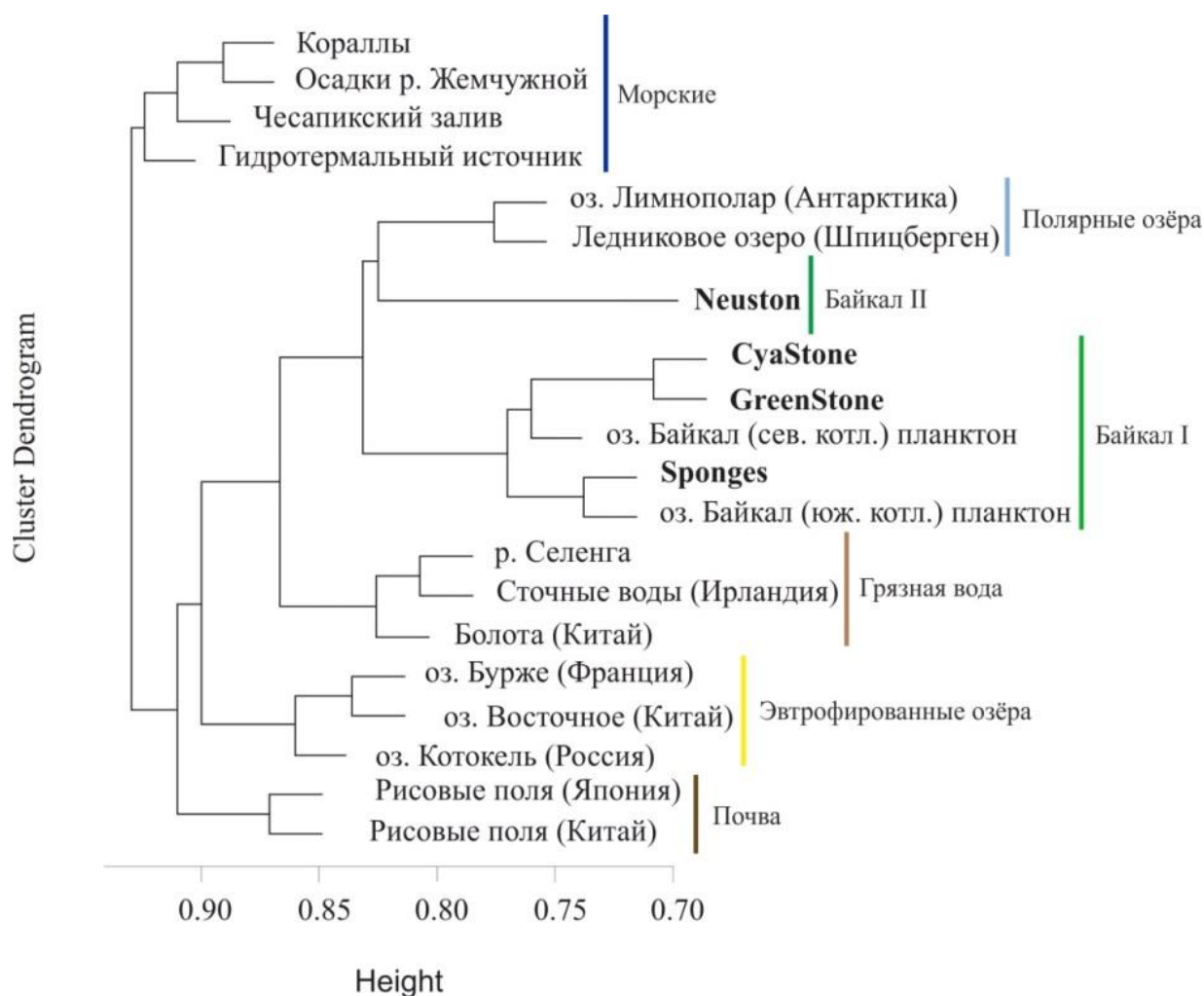


Рис. 2. UPGMA-дендрограмма, построенная с помощью иерархического кластерного анализа (hclust). Сообщества из биоплёнок оз. Байкал выделены жирным.

ГЛАВА 5. АНАЛИЗ *G23* ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БАКТЕРИОФАГОВ ОЗ. БАЙКАЛ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

В результате обработки первичных данных получена 33701 последовательность фрагмента гена *g23* бактериофагов. Кластерный анализ позволил идентифицировать 1244 ОТЕ (уровень кластеризации 97%). После удаления синглтонов и даблтонов (88,6% ОТЕ) осталась 141 ОТЕ (11,3% ОТЕ).

Микроразнообразие (нуклеотидное разнообразие, π) фагов оз. Байкал достигало 0,38, что выше, чем их разнообразие в других пресных водоёмах, кроме оз. Лимнополар. Для оз. Котокельское π составило 0,36, озера на арх. Шпицберген – 0,35, оз. Восточное (Китай) – 0,28, оз. Лимнополар (Антарктика) – 0,42.

Филогенетический анализ показал, что байкальские последовательности распределились по двум группам: *Suano T4* (95,8%) и *Far T4* (4,2%). Ни одна последовательность не вошла в группу *Near T4*. Сходство между

последовательностями фагов оз. Байкал, определенными ранее (Butina et al., 2010) и полученными в данном исследовании, составило 15-100%.

Выявлено высокое родство последовательностей из оз. Байкал с последовательностями гена *g23* бактериофагов из альпийских озёр Бурже и Анси, что связано, вероятно, со значительным сходством озёр по таким показателям как высота над уровнем моря, содержание биогенов, рН, а также обусловлено близким составом бактериопланктона (Jacquet et al., 2008; Zhong, Jacquet, 2014; Perga et al., 2016).

С помощью метрики дистанций UniFrac и PCA определено бета-разнообразие исследуемых сообществ и продемонстрировано отличие сообществ бактериофагов морских и пресноводных экосистем, включая оз. Байкал.

ГЛАВА 6. МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ВИРИОПЛАНКТОНА ПЕЛАГИАЛИ ОЗ. БАЙКАЛ

6.1 Химический анализ воды. На основании полученных данных (содержание хлорофилла *a*, общего фосфора и азота, прозрачности по диску Секки), согласно классификации R. Vollenweider и J. Kerekes (Vollenweider, Kerekes, 1982), трофическое состояние пелагиали оз. Байкал в период исследования определено как олиготрофное.

6.2 Таксономический состав виромов. Большая часть последовательностей байкальских виромов не была идентифицирована по базам данных, т.к. не имела какого-либо сходства с известными последовательностями. Это так называемая «viral dark matter» (вирусная тёмная материя), описанная при исследовании других виромов (Reyes et al., 2012).

Всего в образцах из оз. Байкал идентифицировано 21 семейство вирусов, поражающих широкий круг хозяев: бактерий, водорослей, птиц, рыб, насекомых, людей и др. (рис. 3).

Основная часть последовательностей вирусов принадлежала хвостатым бактериофагам порядка *Caudovirales*, который включал в себя семейства *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae*. Семейства *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae*, *Phycodnaviridae*, *Poxviridae* составляли 97% от всех идентифицированных семейств.

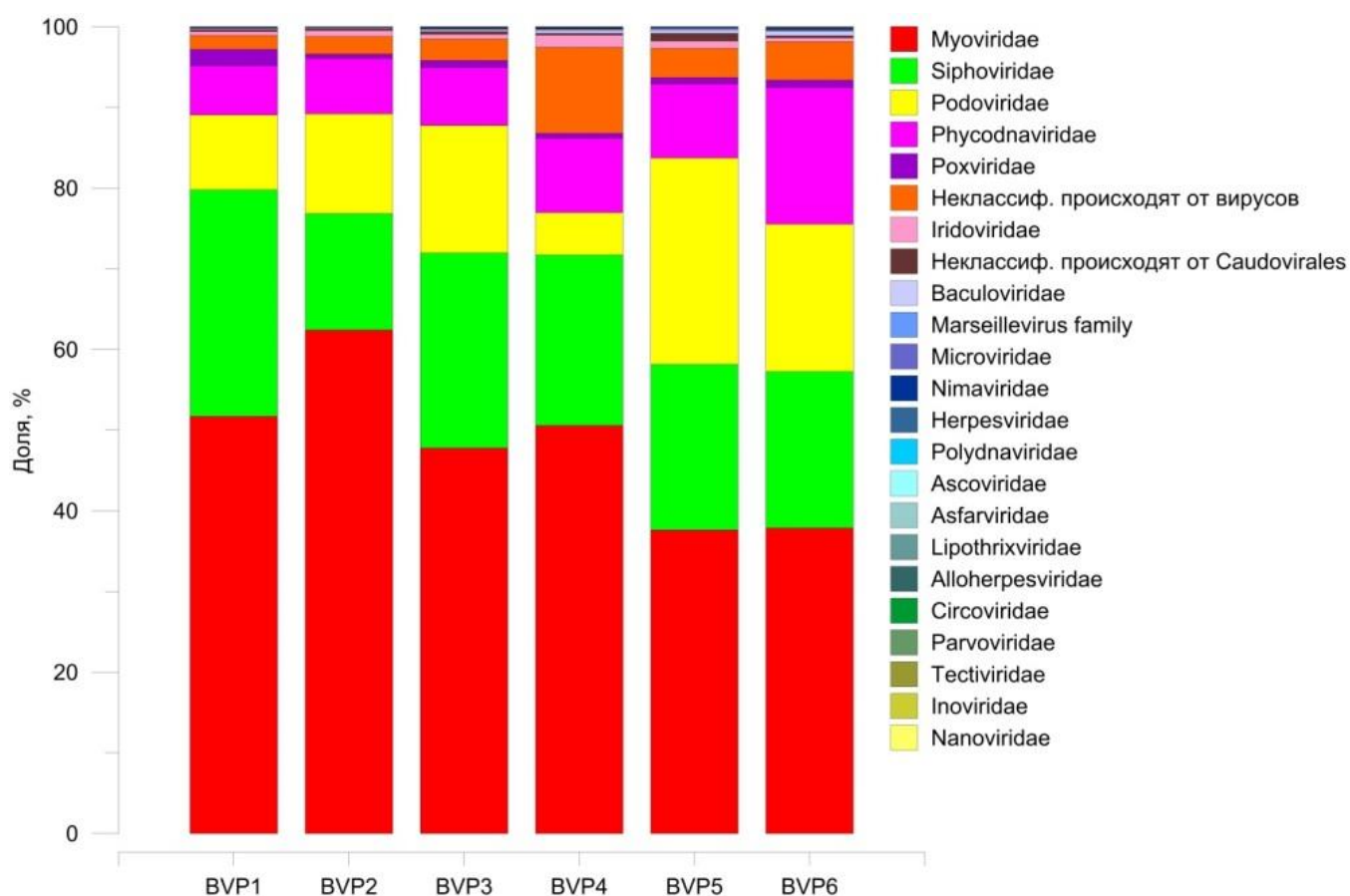


Рис. 3. Состав и структура виромов на уровне семейств в оз. Байкал, база данных RefSeq 2019 (MG-RAST, e-value 10^{-5}). BVP1 – 7 км от пос. Листвянка, BVP2 – 3 км от пос. Листвянка, BVP3 – 3 км от пос. Турка, BVP4 – 3 км от м. Елохин, BVP5 – центральная станция прол. Малое Море, BVP6 – центральная станция разреза пос. Листвянка – пос. Танхой.

Среди них преобладали фаги сем. *Myoviridae*, субдоминантами являлись представители сем. *Siphoviridae*, самыми малочисленными были фаги сем. *Podoviridae*, кроме образца BVP5. В пробе BVP5 из прол. Малое Море – единственной из всех исследованных образцов – сем. *Podoviridae* занимало второе место, в BVP4 (ц. ст. м. Елохин – пос. Давша) наблюдали большее количество неклассифицированных последовательностей и меньшее количество фагов сем. *Podoviridae* по сравнению с другими виромами.

Наиболее таксономически сложное сообщество вирусов по данным индексов разнообразия Шеннона (на основе k-mers 3) свойственно образцу, отобранному в сентябре в южной котловине озера, наименее сложное – вирусное сообщество из прол. Малое Море, август.

6.3 Анализ последовательностей на уровне вида. В исследуемых пробах из всех хитов, принадлежащих виду, большинство отнесено к цианофагам: BVP1 – 38,7%, BVP2 – 53,4%, BVP3 – 29,6%, BVP4 – 33,2%, BVP5 – 26,4%, BVP6 – 31,6%. Они представляли фаги, инфицирующие цианобактерии родов *Synechococcus*, *Prochlorococcus*, *Phormidium* и вид *Microcystis aeruginosa*.

Наиболее многочисленными по количеству хитов после цианофагов в виромах были *Flavobacterium* фаг 11b (BVP1 – 8,3%, BVP2 – 1,9% и BVP6 – 3,5%), в виромах BVP3 – *Staphylococcus* фаг G1 (6,5%), в BVP4 – *Clostridium* фаг 39-O (7,5%) и в BVP5 – *Pseudomonas* фаг LUZ24 (7,2%). Большинство хитов сем. *Phycodnaviridae* в виромах BVP1, BVP2, BVP3 принадлежало вирусам водорослей *Ostreococcus* и *Acanthocystis turfacea*, в виромах BVP4 и BVP6 преобладали *Ostreococcus* вирус OsV5 и *Micromonas* sp. RCC1109 вирус MpV1, в BVP5 – *Ostreococcus* вирус OsV5 и *Paramecium bursaria* Chlorella вирус 1. Среди представителей сем. *Poxviridae*, вызывающих заболевания человека и животных, большинство хитов определены как вирусы оспы свиней *Swinepox* (0,3-0,9%).

Наибольшее количество аннотированных последовательностей по базам данных принадлежало T4-подобным вирусам (*Myoviridae*), которые являются литическими бактериофагами. Данный факт указывает на значимую экологическую роль литических фагов в планктоне оз. Байкал.

6.4 Функциональное аннотирование генов. Сравнительный анализ байкальских виромов по функциональным категориям показал, что в подлёдный период доминировала категория «Фаги, профаги, переносимые элементы, плазмиды». Преобладание этой категории, вероятно, свидетельствует об активном размножении вирусов подо льдом. В других виромах основную долю составляла категория первого уровня – «Кластерные подсистемы». Примечательно, что в шести виромах процентное соотношение этой категории варьировало в небольшом диапазоне (12,6-13,6%). Внутри этой категории самой многочисленной была подкатегория «NULL», которая может содержать некоторые неправильные назначения (An et al., 2014), что указывает либо на уникальность, либо на отсутствие последовательностей с известными функциями в базе данных SEED.

6.5 Анализ скаффолдов. Наибольшее количество вирусных скаффолдов определено в пробе BVP5 (прол. Малое Море). Сходство с референсными последовательностями по базе данных RefSeq (e-value 10^{-3}) варьировало: BVP1 – 63-94,4%, BVP2 – 63,4-100%, BVP3 – 64,6-93,9%, BVP4 – 65,9-92,1%, BVP5 – 63,6-97,1%, BVP6 – 63,1-96,9%, покрытие составляло от 0 до 100%.

Согласно GenBank, основную часть аннотированных белков составляли гипотетические белки (72,2-81%), также многочисленными были большая и малая субъединицы терминазы, основной и минорный капсидные белки, белок хвоста.

В скаффолдах из каждого вирома обнаружено от 41 до 270 вспомогательных метаболических генов (Auxiliary metabolic genes, AMGs), среди них DNMT1, *vanY*, *cobS*, *ahbD*, *purC*, *cysC*, *nadE* и др. Некоторые гены, например, *psbA*, *pbsA1*, *psbD*, ответственные за фотосинтез, экспрессируются в цианобактериях во время

фаговой инфекции (Clokie, Mann, 2006) и, таким образом, увеличивают количество энергии для размножения вирусов (Millard et al., 2009).

В виромах собрано 79 кольцевых полногеномных последовательностей вирусов длиной до 80 тысяч нуклеотидов. Ближайшими родственниками байкальских фагов являются такие представители, как *Ralstonia* фаг P-PSG-11, *Methylophilaceae* фаг P19250A, *Synechococcus* фаг S-CBS4.

Скаффолд Node_88 получен из сборки *de novo* вирома VVP2, покрытие ридами составило 16,5, длина – 42155 нуклеотидов. Скаффолд определяется как кольцевой полный геном, характеризующийся лизогенным типом инфекции. Последовательность имеет 47 открытых рамок считывания, из них 25 аннотируются по базе данных NCBI NR (2020 г.) с помощью blastp-анализа ($e\text{-value } 10^{-3}$), остальные являются гипотетическими. Среди идентифицированных продуктов найдены большая субъединица терминазы, хвостовой трубчатый белок, белок капсида, белок, присоединяющий капсид к хвостовому отростку. Большая субъединица терминазы и основной капсидный белок байкальского фага наиболее сходны с таковыми *Ralstonia* фага P-PSG-11 (сходство 61-73%, покрытие 95-100%). Возможно, этот гипотетический геном принадлежит фагу сем. *Podoviridae*.

6.6 Сравнительный анализ виромов. Виromы из оз. Байкал образовали совместный кластер с виромами крупнейших по площади (Мичиган, Онтарио, Эри) (Watkins et al., 2015, Mohiuddin et al., 2015) и древнейшего (Бива) (Okazaki et al., 2020, статья не была опубликована на момент анализа) пресных озёр мира (рис. 4). Виrom из оз. Байкал, полученный из прибрежной зоны вблизи пос. Б. Коты (Butina et al., 2019), формировал отдельный подкластер с виромами из эпилимниона оз. Бива (мезотрофный участок). До настоящего времени трофический статус оз. Байкал по гидрохимическим параметрам остается олиготрофным (Khodzher et al., 2017), однако признаки эвтрофирования регистрируются в прибрежной зоне озера вблизи посёлков и в местах активной рекреации (Khodzher et al., 2018), что следует и из наших данных. Наблюдаемая кластеризация вирома из литоральной зоны оз. Байкал с виромом из оз. Бива также указывает на эвтрофирование литорали, как показано ранее (Timoshkin et al., 2018).

Согласно проведенному анализу, наблюдается разделение байкальских виромов по сезонам: подлётное сообщество VVP1 (март) имеет отдельную ветвь в кластере, поздневесенние сообщества (июнь) из трех котловин озера (VVP2, VVP3, VVP4) формируют общий подкластер, виromы VVP5 и VVP6 образуют отдельный «летний» подкластер (август и сентябрь соответственно).

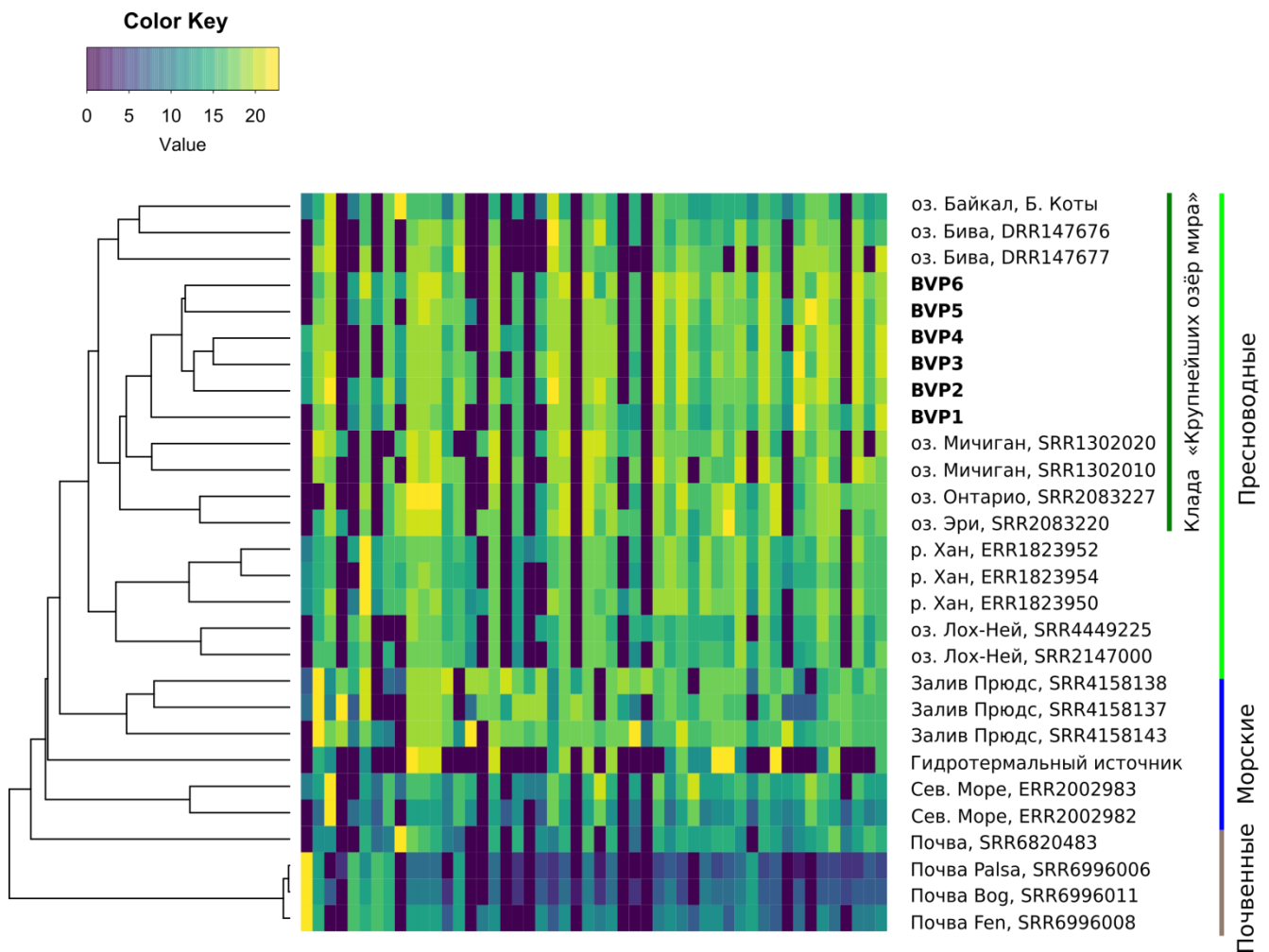


Рис. 4. UPGMA-дендрограмма и тепловая карта вирусных сообществ различных мест обитаний, построенная с использованием иерархического кластерного анализа. Виromы из оз. Байкал выделены жирным шрифтом. Количество «хитов» представлено в логарифмической шкале.

6.7 Анализ массивов многомерных данных физико-химических и микробиологических показателей. Для анализа NMDS и взаимосвязи состава и структуры виromов с физико-химическими и биологическими параметрами использованы 18 вирусных сообществ и 10 параметров, таких как температура, общий азот, общий фосфор, кремний, фосфаты, хлорофилл *a*, кислород, pH, разнообразие по Шеннону (на основе k-mers 3), численность вирусов (рис. 5). Анализ демонстрирует чёткое разделение на группы по трофности экосистем (обведены овалами). С виromами из озёр Байкал, Онтарио, Эри и Мичиган позитивно ассоциированы концентрация кислорода, pH, численность вирусов и индекс разнообразия по Шеннону. С эвтрофными озёрами Лох-Ней, Матока связаны концентрация фосфатного фосфора и хлорофилла *a*. Виromы рек положительно ассоциированы с концентрацией кремния, общего фосфора и температурой. Все показатели имеют уровень значимости $p < 0,01$.

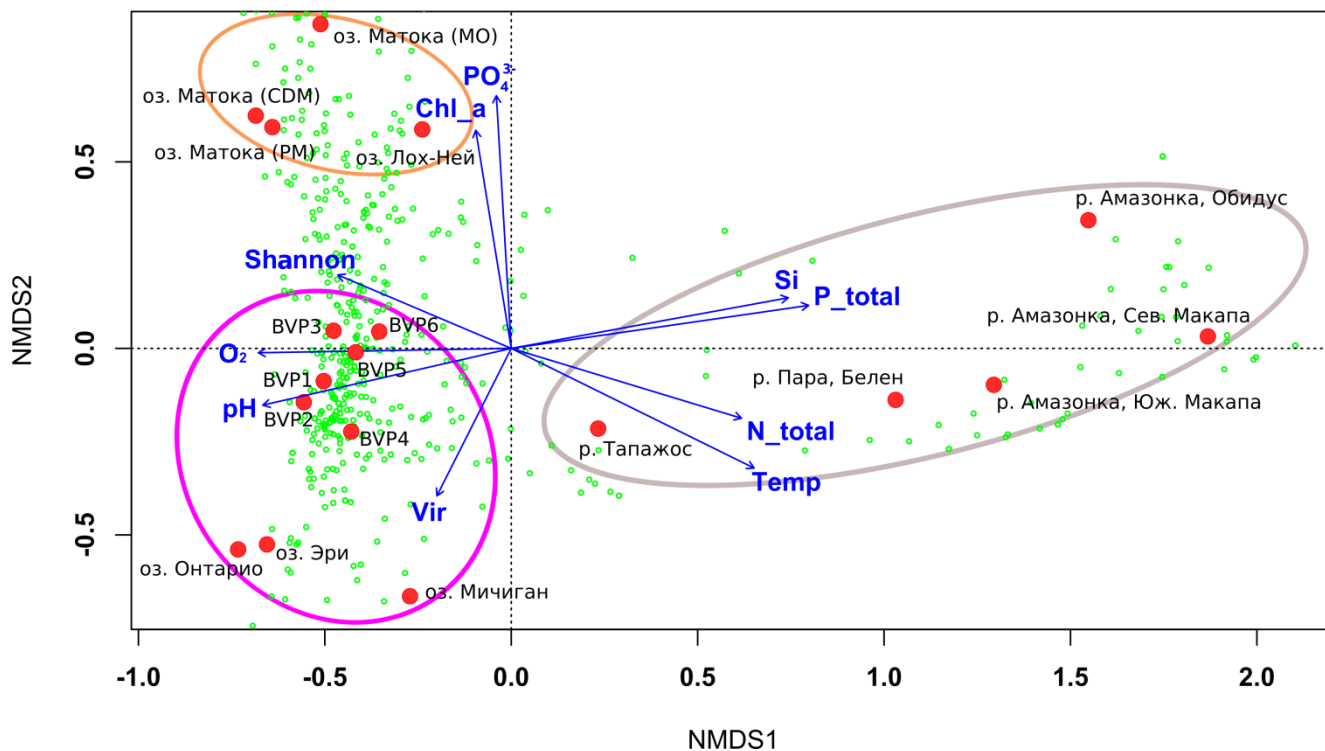


Рис. 5 NMDS-анализ, проведённый на основе таксономии виромов, физико-химических и биотических параметров. Temp – температура, N_total – общий азот, P_total – общий фосфор, Si – кремний, PO_4^{3-} – фосфаты, Chl_a – хлорофилл *a*, Shannon – индекс разнообразия по Шеннону, O_2 – растворённый кислород, pH – показатель pH, Vir – численность вирусов.

ВЫВОДЫ

1. Численность вирусных частиц в верхних слоях воды пелагиали оз. Байкал по данным флуоресцентной микроскопии и проточной цитометрии в исследуемый период составила в среднем $3,14 \pm 0,35$ млн. частиц/мл. Найдена значимая положительная корреляционная связь между численностью ВЧ и бактерий; между количеством ВЧ и температурой воды в период положительной термальной стратификации.

2. Анализ сезонной и межгодовой динамики численности вирусных частиц выявил, что в период 2011-2016 гг. среднегодовое количество вирусных частиц изменялось в 9 раз, наименьшая численность ВЧ обнаружена в июне, наибольшая в сентябре. Максимальное количество вирусных частиц встречалось на глубине 5-15 м в течение всех исследованных сезонов (периоды положительной термальной стратификации вод и весенней гомотермии). В гипolimнионе обнаружены более высокие величины VBR, чем в эпилимнионе.

3. Сообщества T4-подобных бактериофагов биоплёнок, сформированных на камнях и губках в литоральной зоне оз. Байкал, образуют с планктонными фагами пелагиали общий «байкальский» кластер. Фаги

поверхностного микрослоя воды заметно отличаются от фагов «байкальского» кластера, при этом вирусные сообщества всех экотопов озера формируют общую кладу с полярными фагами.

4. Установлено высокое альфа-разнообразие планктонных Т4-подобных бактериофагов в пелагиали оз. Байкал. Анализ бета-разнообразия фаговых сообществ пресноводных и морских экосистем выявил уникальность Т4-подобных бактериофагов оз. Байкал.

5. В ДНК-содержащих виромах пелагиали оз. Байкал доминируют хвостатые бактериофаги порядка *Caudovirales*; из них сем. *Myoviridae* – 37,6-62,4%, *Siphoviridae* – 14,4-28,1%, *Podoviridae* – 9,3-25,5%. Всего идентифицировано 21 семейство вирусов. Наиболее многочисленным является род Т4-подобных литических фагов, среди которых преобладают цианофаги. Доля неклассифицированных вирусных последовательностей в виромах составила от 1,9 до 10,9 %.

6. Сравнительный анализ вирусных сообществ почвенных, морских и пресноводных экосистем показал, что «байкальские» виромы образовали собственный кластер, в котором вирусные сообщества располагаются в зависимости от сезона и географической приуроченности. Виромы из озёр Байкал, Эри, Онтарио, Мичиган и Бива сформировали общую кладу «крупнейших и древнейших озёр мира», в которую входит подклада озёр, отличающихся низкой продуктивностью.

7. Методом NMDS установлено значимое влияние на состав виромов абиотических (температура, содержание биогенов) и биотических (численность вирусных частиц) факторов среды обитания.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Монография:

Дрюккер В. В. Бактериофаги озера Байкал / В. В. Дрюккер, С. А. Потапов, А. С. Горшкова, О. И. Белых, отв. ред. К. А. Мирошников; Рос. акад. наук, Сиб. отделение, Лимнологический ин-т. – Новосибирск: Издательство СО РАН, 2020. – 110 с.

Статьи в рецензируемых журналах:

1. Бутина Т. В. Генетическое разнообразие цианофагов семейства *Myoviridae* / Бутина Т. В., Потапов С. А., Белых О. И., Дамдинсурэн Н., Чойдаш Б. // Известия Иркутского государственного университета, Серия «Биология. Экология». – 2012. – Т. 5, №3. – С. 17–22.

2. Butina T. V. Diversity of the major capsid genes (*g23*) of T4-like bacteriophages in the eutrophic Lake Kotokel in East Siberia, Russia / Butina T. V., Belykh O. I., Potapov S. A., Sorokovikova E. G. // Archives of Microbiology. – 2013. – V. 195, № 7. – P. 513–520.

3. **Потапов С. А.** Генетическое разнообразие Т4-подобных бактериофагов в озере Байкал / **Потапов С. А.**, Бутина Т. В., Белых О. И., Беликов С. И. // Известия Иркутского государственного университета, Серия «Биология. Экология». – 2013. – Т. 6, №3(1). – С. 14–19.
4. Бутина Т. В. Молекулярно-генетическое разнообразие цианофагов семейства *Muoviridae* в озере Хубсугул / Бутина Т. В., **Потапов С. А.**, Белых О. И., Муханов В. С., Рылькова О. А., Damdinsuren N., Chojdash B. // Молекулярная биология. – 2014. – Т. 48, № 6. – С. 1030–1034.
5. Бутина Т. В. Генетическое разнообразие цианофагов семейства *Muoviridae* в составе сообщества байкальской губки *Lubomirskia baicalensis* / Бутина Т. В., **Потапов С. А.**, Белых О. И., Беликов С. И. // Генетика. – 2015. – Т. 51, № 3. – С. 384–388.
6. Бутина Т. В. Молекулярно-генетическое исследование Т4-подобных бактериофагов в планктоне реки Селенги / Бутина Т. В., Усова О. С., **Потапов С. А.**, Белых О. И., Федотов А. П., Беликов С. И. // Известия ИГУ Серия «Биология. Экология». – 2015. – Т. 12. – С. 12–22.
7. Бутина Т. В. Генетическое разнообразие Т4 бактериофагов семейства *Muoviridae* в прибрежных водах Чёрного моря / Бутина Т. В., Муханов В. С., Букин Ю. С., **Потапов С. А.**, Белых О. И., Рылькова О. А., Сахонь Е. Г. // Морской биологический журнал. – 2016. – Т. 1, № 3. – С. 72.
8. **Потапов С. А.** Межгодовая динамика численности и вертикальное распределение вирусоподобных частиц в планктоне оз. Байкал / **Потапов С. А.**, Бутина Т. В., Белых О. И. // Системы контроля окружающей среды. – 2016. – Т. 6 (26). – С. 120–124.
9. **Potapov S.** Assessing the diversity of the *g23* gene of T4-like bacteriophages from Lake Baikal with high-throughput sequencing / **Potapov S.**, Belykh O., Krasnopeev A., Gladkikh A., Kabilov M., Tupikin A., Butina T. // FEMS Microbiology Letters. – 2018. – V. 365, № 3, – P. fnx264.
10. **Потапов С. А.** Характеристика генетического разнообразия Т4-подобных бактериофагов в бентосных биоплёнках оз. Байкал / **Потапов С. А.**, Краснопеев А. Ю., Тихонова И. В., Галачьянц А. Д., Подлесная Г. В., Ханаев И. В., Белых О. И. // Известия ИГУ Серия "Биология. Экология". – 2018. – Т. 25. – С. 15–31
11. **Potapov S.** Diversity and biogeography of bacteriophages in biofilms of Lake Baikal based on *g23* sequences / **Potapov S.**, Belykh O., Krasnopeev A., Galachyants A., Podlesnaya G., Khanaev I., Tikhonova I. // Journal of Great Lakes Research. – 2019. – V. 46, №1. – P. 4–11.
12. **Potapov S. A.** Metagenomic analysis of virioplankton from the pelagic zone of Lake Baikal / **Potapov S. A.**, Tikhonova I. V., Krasnopeev A. Yu., Kabilov M. R.,

Tupikin A. E., Chebunina N. S., Zhuchenko N. A., Belykh O. I. // *Viruses*. – 2019. – V. 11. – P. 991.

В материалах конференций:

1. **Потапов С. А.** Межгодовая динамика численности вирусоподобных частиц в южной котловине озера Байкал // Международная научно-техническая конференция «Системы контроля окружающей среды – 2016». Севастополь, 2016. – С. 24–27.

2. **Потапов С. А.** Анализ гена g23 T4-подобных бактериофагов в озере Байкал методом NGS / Потапов С. А., Краснопеев А. Ю., Гладких А. С., Тупикин А. Е., Кабилов М. Р., Белых О. И., Бутина Т. В. // II Всероссийская конференция с международным участием «Высокопроизводительное секвенирование в геномике». Новосибирск, 2017. – С. 48.

3. Дрюккер В. В. Качество вод озера Байкал: значение и роль бактериофагов в функционировании глубоководной экосистемы / Дрюккер В. В., Горшкова А. С., **Потапов С. А.**, Белых О. И. // Всероссийская научная конференция «Фундаментальные проблемы экологии России». Иркутск - пос. Листвянка (оз. Байкал), 2017. – С. 83.

4. **Потапов С. А.** Генетическое разнообразие T4-подобных бактериофагов семейства Myoviridae в бентосных биоплёнках и поверхностном микрослое озера Байкал / **Потапов С. А.**, Галачьянц А. Д., Тихонова И. В., Белых О. И. // Международная научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Социально-экологические проблемы байкальского региона и сопредельных территорий». Иркутск, 2018. – С. 145-147.

5. **Потапов С. А.** Метагеномная характеристика вирусного сообщества в оз. Байкал / Потапов С. А., Тихонова И. В., Краснопеев А. Ю., Белых О. И. // II Международная научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Социально-экологические проблемы байкальского региона и сопредельных территорий». Иркутск, 2019. – С. 53.

6. **Потапов С. А.**, Тихонова И. В., Краснопеев А. Ю., Кабилов М. Р., Тупикин А. Е., Белых О. И. Анализ двух виромов оз. Байкал. / Потапов С. А., Тихонова И. В., Краснопеев А. Ю., Кабилов М. Р., Тупикин А. Е., Белых О. И. // 2-й российский микробиологический конгресс. Саранск, 2019. – С. 53.

ПОТАПОВ Сергей Анатольевич

ВИРУСНЫЕ СООБЩЕСТВА В ОЗ. БАЙКАЛ

Автореф. дис. на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Подписано к печати 25.03.2021 г.

Формат 60×84/16. Объем 1,4 п.л. Тираж 150 экз. Заказ № 914.

Издательство Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН.

664033 г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 1.