



УДК 578.811

DOI <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2018.25.15>

Характеристика генетического разнообразия Т4-подобных бактериофагов в бентосных биоплёнках озера Байкал

С. А. Потапов, А. Ю. Краснопеев, И. В. Тихонова, А. Д. Галачянц,
Г. В. Подлесная, И. В. Ханаев, О. И. Белых

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск
E-mail: poet1988@list.ru

Аннотация. Впервые исследовано генетическое разнообразие Т4-подобных бактериофагов в биоплёнках, сформированных на биогенных и абиогенных субстратах (губка, камень) в литоральной зоне оз. Байкал. Для идентификации бактериофагов использованы маркеры к гену основного капсидного белка *gp23*. Определены последовательности 72 клонированных фрагментов гена. Установлено высокое генетическое разнообразие фагов, большая часть последовательностей (84,7 %) принадлежала группе Суано Т4. Из культивируемых фагов наибольшее сходство (78 %) установлено с изолятом *Synechococcus* phage S-CAM1, поражающим цианобактерии *Synechococcus* sp. Наибольшее количество полученных последовательностей на нуклеотидном уровне было сходно с последовательностями из оз. Байкал (43 %), 18 % с последовательностями из оз. Восточное (Китай), 12,5 % с последовательностями из оз. Бурже и Анси (Франция), 26,5 % – с другими образцами (каждый менее 5,5 %). Сообщество Т4-подобных бактериофагов из губок имело наибольшее сходство с планктонными бактериофагами. Выявлено, что вирусные сообщества группируются в зависимости от физико-химических параметров среды обитания. Показано, что последовательности бактериофагов из биоплёнок камней и губок литоральной зоны и последовательности из планктона пелагической зоны Байкала, полученные ранее, образуют общий «байкальский» кластер.

Ключевые слова: биоплёнки, бактериофаги, разнообразие, *Myoviridae*, *g23*, оз. Байкал.

Для цитирования: Потапов С. А., Краснопеев А. Ю., Тихонова И. В., Галачянц А. Д., Подлесная Г. В., Ханаев И. В., Белых О. И. Характеристика генетического разнообразия Т4-подобных бактериофагов в бентосных биоплёнках озера Байкал // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2018. Т. 25. С. 15–31. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2018.25.15>

Введение

Вирусы – самые многочисленные обитатели планеты Земля [Viruses as ... , 2016]. Большинство вирусов являются бактериофагами – вирусами, поражающими прокариот. В морских и пресноводных экосистемах они достигают высокой численности (до 10^8 частиц/мл) и играют глобальную роль, влияя на многие биогеохимические и экологические процессы [Suttle, 2005]. В водной среде вирусы являются важным фактором регуляции численности и структуры микробных сообществ [Kutter, Sulakvelidze, 2005].

Наиболее многочисленными бактериофагами в водных экосистемах являются фаги, принадлежащие к порядку Caudovirales (хвостатые) [Ackermann, 2003], состоящему из четырёх семейств: Ackermannviridae, Podoviridae, Siphoviridae и Myoviridae. Семейство Myoviridae включает 6 подсемейств и 41 род, из которых 11 родов относятся к Т4-подобным вирусам [International Committee ...]. Последние являются ДНК-содержащими литическими фагами, генетически и морфологически сходными с хорошо изученным колифагом Т4 [Ackermann, Krisch, 1997]. Т4-подобные вирусы состоят из нескольких подгрупп: «истинные» Т-evens, представленные бактериофагом Т4 и близкородственными фагами, инфицирующими энтеробактерии (например, Т2, Т6); PseudoТ-evens и SchizoТ-evens (*Aeromonas*, *Vibrio* фаги и др.) и более отдалённые EchoТ-evens (циано- и пелагифаги и др.) [Desplats, Krisch, 2003]. Для анализа биоразнообразия Т4-подобных фагов семейства Myoviridae часто используют фрагмент признанного наиболее надёжным маркером для изучения генетического разнообразия гена *g23*, который кодирует основной капсидный белок [Phylogeny of the major... , 2001]. На основе анализа пула последовательностей *gp23* Т4-подобные фаги были разделены на три основные группы: Far Т4 (включая *Rhodothermus* phage RM378 [Isolation, growth ... , 2014]), Near Т4 (включая Т-evens, PseudoТ-evens и SchizoТ-evens) и Cyano Т4 (включая Echo-Т4) [Comeau, Krisch, 2008].

В настоящее время преимущественно исследуется разнообразие Т4-подобных фагов в планктоне водоёмов, сведения же о составе и роли вирусов в природных микробных сообществах биоплёнок весьма ограничены.

Биоплёнка – сообщество окружённых внеклеточным полисахаридным матриксом микроорганизмов, расположенное на границе раздела сред [De-Beer, Stoodley, 2006]. Большинство бактерий (90–95 %) способны формировать биоплёнки на поверхности различных субстратов абиогенного и биогенного происхождения [Biofilms as complex ... , 2002].

Ранее предполагали, что биоплёнки не подвержены влиянию вирусов из-за непроницаемости матрикса. Однако фаги, эволюционируя совместно с бактериями, выработали несколько механизмов для преодоления препятствий на пути заражения бактерий. Известно, что геномы многих бактериофагов содержат гены, кодирующие ферменты, способные разрушать элементы матрикса биоплёнки. Кроме того, бактериофаги синтезируют ферменты, которые позволяют им проникать через стенку бактериальной клетки [Bacteriophages and... , 2014]. Большое внимание изучению способности бактериофагов разрушать микробные биоплёнки, которые, как известно, являются причиной 65 % инфекционных заболеваний, уделяется в медицине [Lewis, 2006].

Ранее из собранных в оз. Байкал биоплёнок с применением метода электронной микроскопии были определены морфология и размерная структура бактериофагов, выявлено доминирование фагов семейства Podoviridae [Dutova, Drucker, 2013]. Молекулярно-генетических исследований разнообразия Т4-подобных бактериофагов в байкальских биоплёнках до

настоящего времени не проводили. Целью настоящей работы стало выявление биоразнообразия Т4-подобных фагов в биоплёнках, развивающихся на различных субстратах в оз. Байкал.

Материалы и методы

Пробы отобраны в октябре 2016 г. и июне, сентябре и декабре 2017 г. в южной котловине оз. Байкал.

Четыре пробы биоплёнок зелёного цвета собраны с поверхности камней в урезовой зоне в районе посёлка Листвянка (LS, 1а, BP3-1, SB3). Три пробы цианобактериальных биоплёнок бордово-фиолетового цвета отобраны с поверхности камней водопадами-исследователями в районе пос. Бол. Коты (2а) и м. Толстый (1D3Tp, 2D1) с глубин 6, 9 и 36 м соответственно. Образцы губок *Rezinkovia* sp. (2D 4-1) и *Swartschewskia* sp. (2D 2-1) взяты в районе м. Толстый с глубин 20 и 35 м, соответственно.

Видовую идентификацию цианобактерий выполняли с использованием светового микроскопа Axio Imager M1 (Zeiss, Германия), снабжённого ртутной лампой HBO 100W и камерой AxioCam, согласно определителям [Komárek, 2013; Komárek, Anagnostidis, 1999; 2005].

Выделение ДНК проводили фенол-хлороформным методом. Для амплификации использованы праймеры MZIA1bis и MZIA6 [Marine T4-type ... , 2005]. Реакционная смесь содержала следующие компоненты на один образец: 5 мкл реактива ПЦР-Color HS-Taq 2× (БиоМастер, Новосибирск), праймеры по 0,1 мкл (10 pmol), 3,8 мкл подготовленной (mQ) воды. Ампликоны первоначально визуализировали электрофорезом в 6%-ном полиакриламидном геле в 1× TAE буфере с последующим окрашиванием в растворе бромистого этидия. Фрагменты ожидаемой молекулярной массы (300–700 п.н.) были вырезаны и использованы как источник ДНК в повторной амплификации объёмом 20 мкл. Далее проводили электрофорез в 0,8%-ном агарозном геле. Полученные ампликоны клонированы набором Clone JET PCR Cloning Kit (Thermo Scientific, США). Секвенирование фрагментов гена *g23* произведено в компании «Синтол» (г. Москва). Нуклеотидные последовательности фрагментов гена *g23* редактировали, транслировали с помощью программы BioEdit (v. 7.0.9) [Hall, 1999]. Поиск ближайших соседей выполняли, используя BLAST-анализ (E-value threshold – $1e^{-6}$) [BLAST Assembled ...]. Выравнивание последовательностей проводили в программе Mega 7 [Kumar, Stecher, Tamura, 2016] с помощью алгоритма ClustalW. Филогенетическое древо конструировали, применяя Байесовский анализ с помощью программы MrBayes (v. 3.2.6) [Huelsenbeck, Ronquist, 2001]. В программе запускали два независимых анализа МСМС (Markov chain Monte Carlo), в течение 10 млн генераций, параметр отжига 25 % (отбрасывание начальных генераций), 4 цепи (одна холодная и три горячих). Расчёты выполнены на оборудовании центра коллективного пользования «Иркутский суперкомпьютерный центр СО РАН» [Иркутский суперкомпьютерный центр]. Трассировочные файлы, сгенерированные в ходе МСМС, анализировали с помощью программы Tracer v.1.6 [Rambaut, 2013].

На основе аминокислотных последовательностей с использованием дистанционной метрики UniFrac получена матрица дистанций, с последующим использованием метода неметрического многомерного шкалирования (nonmetric multidimensional scaling, NMDS), применяя реализованные в программе R (v. 3.2.4) пакеты phyloseq (v. 1.21.0), phangorn (v. 2.2.0) и vegan (v. 2.4-3). Подбор эволюционной модели осуществляли в программе Mega 7.

Результаты

Микроскопическое наблюдение проб биоплёнок с поверхности камней из урезовой зоны выявило, что в них доминировали хлорофитовые и харофитовые водоросли. В биоплёнках, отобранных с камней на глубинах 6, 9 и 36 м, преобладали нитчатые цианобактерии порядка Oscillatoriales: *Symplocastrum* sp. (в районе пос. Большие Коты) и *Tychonema* sp. (м. Толстый). В биоплёнках, покрывающих губки, обнаружены диатомовые водоросли, нитчатые цианобактерии не найдены. В теле губок присутствовали зелёные водоросли, принадлежащие к классу Trebouxiophyceae и коккоидные цианобактерии родов *Synechococcus* и *Cyanobium*.

Из проб, отобранных в литоральной зоне оз. Байкал, получены 72 уникальных нуклеотидных последовательности фрагмента гена *g23*: 37 из губок, 10 из бентосных биоплёнок, сформированных на поверхности камней в урезовой зоне, и 25 из цианобактериальных обрастаний камней на глубинах 6, 9 и 36 м. Длина нуклеотидных последовательностей варьировала от 342 до 459 п. н.

Нуклеотидные последовательности имели некультивированных ближайших родственников из водной толщи озёр Байкал (Россия) [Phylogenetic diversity of ... , 2010], Бурже и Анси (Франция) [Zhong, Jacquet, 2014], Восточное (Китай) [Genetic diversity and ... , 2015], Лимнополар (Антарктика) [High diversity ... , 2009]; из морского планктона Чесапикского залива (США) [Evaluation of two ... , 2012]; рисовых полей Японии [Survey of major ... , 2009] и Китая (Liu et al., неопубликованные данные н/д); чернозёмных почв (Китай) [Molecular analysis of ... , 2011], сточных вод (Ирландия) (Knapik and Prentice, н/д); осадков р. Жемчужной [Liu, Cai, Zhang, 2017]; коралловых полипов (Buerger et al., н/д).

Из культивируемых фагов наибольшее сходство (на нуклеотидном уровне) (78 %) установлено с изолятом *Synechococcus* phage S-CAM1 (YP_007673099), выделенным из прибрежных вод Тихого океана в Калифорнии (Henn et al. 2013, н/д). Наибольшее количество последовательностей, полученных в данной работе, на нуклеотидном уровне имело сходство с последовательностями из оз. Байкал (43 %), 18 % – с последовательностями из оз. Восточное, 12,5 % – с последовательностями из озёр Бурже и Анси, с остальными – 26,5 % (каждый менее 5,5 %). Сходство последовательностей с ближайшими соседями из базы данных NCBI (на нуклеотидном уровне) варьировало от 69 до 99 %. На нуклеотидном уровне сходство между байкальскими последовательностями из бентосных и полученных ранее планктонных биоплёнок варьировало от 30,6 до 99,7 %.

Анализ филогенетического дерева показал, что ни одна из последовательностей не кластеризовалась с представителями группы Near T4 (рис. 1). Одиннадцать последовательностей вошли в группу Far T4, содержащую культивированные фаги *Escherichia* phage 121Q и RM378.

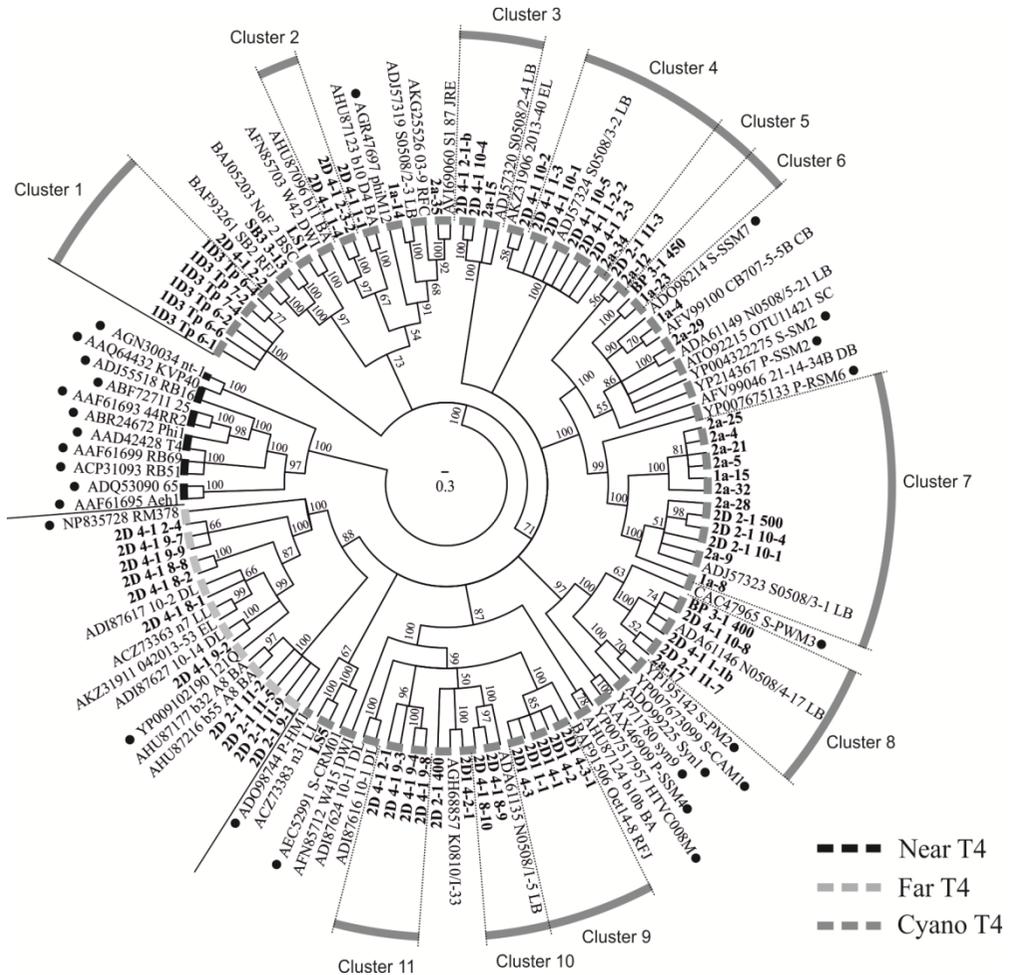


Рис. 1. Результаты филогенетического анализа по фрагменту гена основного capsidного белка *gp23*. Чёрными точками отмечены культивированные бактериофаги. Последовательности из биоплёнок оз. Байкал выделены жирным: LS; 1a; BP 3-1; SB3 – биоплёнки с камнем с доминированием водорослей; 2a; 1D3 Tr; 2D1 – цианобактериальные биоплёнки; 2D 2-1; 2D 4-1 – губки. RFJ – рисовые поля (Япония); BSC – почва (Китай); DWI – сточные воды (Ирландия); BA – озёра Бурже и Анси (Франция); LB – оз. Байкал (Россия); RFC – рисовые поля (Китай); JRE – осадки р. Жемчужной; EL – оз. Восточное (Китай); CB – Чесапикский зал. (США); SC – коралловые полипы (у о. Орфеус, Австралия); DB – зал. Делавэр (США); Kot – оз. Котокель (Россия); DL – оз. Дунху (Китай); LL – оз. Лимнополар (Антарктида)

Группа *Suano T4* объединила остальную часть последовательностей (61 последовательность), 49 из них образовали 11 кластеров. Сформировавшимся считали кластер при наличии более одной последовательности из биоплёнок Байкала. Пять кластеров (3-й, 4-й, 7-й, 8-й, 10-й) включали последовательности планктонных бактериофагов из двух котловин оз. Байкал [Phylogenetic diversity of ... , 2010] (два кластера с байкальскими группами B1, B4 и три кластера с последовательностями, которые не образовали группу B), шесть кластеров (1-й, 2-й, 5-й, 6-й, 9-й, 11-й) содержали только последовательности байкальских биоплёнок. Остальные 12 последовательностей внутри группы *Suano T4* не формировали кластеры.

Ординация с использованием метода NMDS показала (рис. 2), что вирусные сообщества из различных водоёмов формируют отдельные группы, при этом наблюдается тенденция группировки в зависимости от физико-химических параметров среды. В анализ взяты последовательности из различных источников, доступных в базе NCBI: из озёр, морских заливов, рек, гидротермальных источников, болот, сточных вод, почв. Как показывают результаты анализа, последовательности бактериофагов из бентосных биоплёнок оз. Байкал группируются с байкальскими планктонными последовательностями вирусов, а не с последовательностями фагов из других водоёмов.

Обсуждение

Древние озёра представляют собой уникальные обособленные экосистемы, формировавшиеся на протяжении миллионов лет. До наших исследований информации о вирусах древних озёр не имелось, первые сведения о генетическом разнообразии бактериофагов в озёрах Байкал [Phylogenetic diversity ... , 2010; Генетическое разнообразие ... , 2012; Генетическое разнообразие ... , 2013; Genetic diversity ... , 2015; Assessing the ... , 2018] и Хубсугул [Molecular genetic ... , 2014] появились в последнее десятилетие.

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

По результатам BLAST-анализа большинство полученных нами последовательностей на нуклеотидном уровне имело наибольшее сходство с последовательностями из озёр Байкал, Бурже и Анси, Восточное, а не с последовательностями из других экосистем и биотопов. Вероятно, подобное родство можно объяснить сходством в составе бактерий – хозяев бактериофагов – в этих озёрах.

Филогенетический анализ показал, что шесть кластеров содержали только последовательности из биоплёнок, 29 последовательностей группировались с ранее полученными последовательностями из планктона. Очевидно, часть планктонных вирусов попадает на дно прибрежной зоны озера и оседает на камнях и губках. Кроме того, возможна инфекция бентосных бактерий планктонными бактериофагами. В целом большая часть последовательностей (84,7 %) фагов вошла в группу *Suano T4*, которая включает

культивированные цианофаги. Согласно данным, полученным нами ранее [Parfenova, Gladkikh, Belykh, 2013] и в настоящей работе, цианобактерии доминируют по биомассе в бентосных биоплёнках литоральной зоны оз. Байкал. Учитывая это обстоятельство, последовательности бентосных бактериофагов, возможно, принадлежат цианофагам.

Наиболее представительным является кластер 7, в котором находятся 12 последовательностей биоплёнок и последовательность из планктона южной котловины оз. Байкал, не сформировавшая байкальскую группу в предыдущем исследовании. Вероятно, представители этого кластера – одни из наиболее встречаемых генотипов в биоплёнках из южной котловины Байкала.

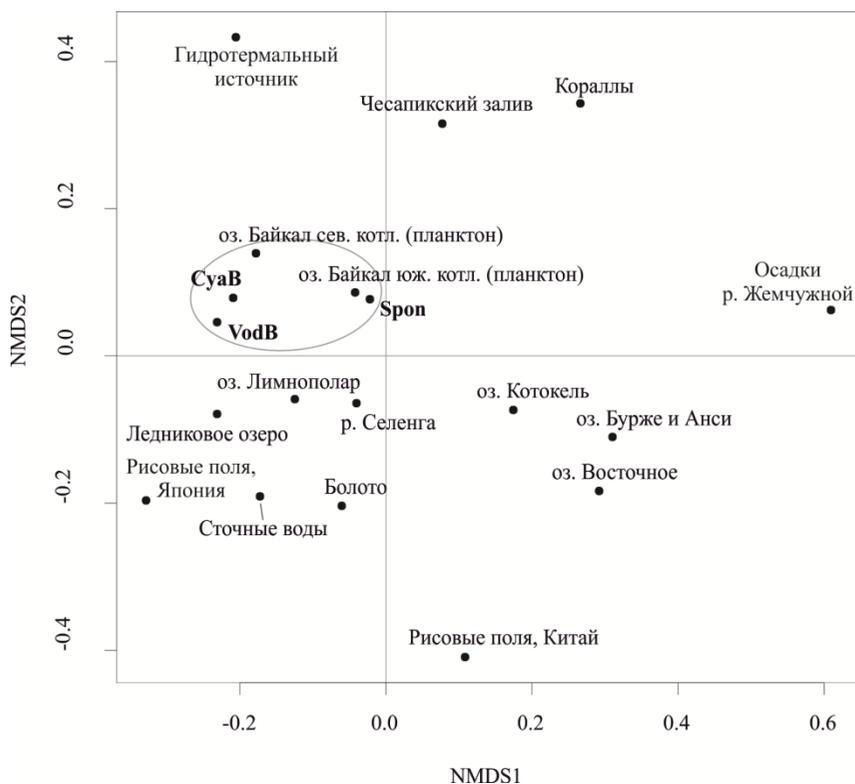


Рис. 2. Результаты ординации $g23$ -сообществ с использованием метода NMDS. СуаВ – цианобактериальная биоплёнка, образованная на поверхности камней, отобранных с глубин 6, 9 и 36 м. VodB – водорослевая биоплёнка, образованная на поверхности камней из урезовой зоны, Spon – биоплёнка и тело губки. Источники изоляции сообществ: водная толща оз. Байкал (северная и южная котловины) [Phylogenetic diversity of ... , 2010], р. Селенга [Молекулярно-генетическое исследование ... , 2015], гидротермальный источник [Millard, Pearce, Zwirgmaier, 2016], Чесапикский залив [Evaluation of two ... , 2012], коралловые полипы (н/д), осадки р. Жемчужной [Liu, Cai, Zhang, 2017], оз. Лимнополар [High diversity ... , 2009], оз. Котокель [Diversity of the major ... , 2013], озёра Бурже и Анси [Zhong, Jacquet, 2014], ледниковое озеро [Bellas, Anesio, 2013], рисовые поля (Япония) [Survey of major... , 2009], болото [Characterization of the ... , 2013], сточные воды (н/д), оз. Восточное [Genetic diversity and... , 2015], рисовые поля (Китай) (н/д)

Ни одна из последовательностей не попала в группу Near T4. В Far T4 находится бактериофаг *Escherichia* phage 121Q, выделенный из *E. coli*: очевидно, T4-бактериофаги из Байкала, входящие в эту группу, также поражают патогенные и/или условно-патогенные бактерии. Примечательно, что все 11 последовательностей, объединившиеся в Far T4, получены из губок.

В нескольких исследованиях с использованием таргетного секвенирования по Сенгеру гена *g23* продемонстрировано, что для морей, эстуариев, пресных водоёмов, почв характерны как собственные «эндемичные» кластеры, так и сходные последовательности некультивированных T4-подобных фагов, распространённые во многих экосистемах, что привело к предположению о том, что некоторые вирусы являются космополитами и поражают аналогичные виды хозяев, а часть их имеет уникальное происхождение [Breitbart, Miyake, Rohwer, 2004; Short, Suttle, 2005].

Метод NMDS показал, что сообщества вирусов из биоплёнок Байкала располагаются ближе к планктонным сообществам из северной и южной котловины озера (см. на рис. 2, в овальной обводке). Характер распределения на графике отражает наиболее близкое родство вирусных сообществ различных экотопов оз. Байкал и меньшее сходство с другими экосистемами, что может определяться, в первую очередь, физико-химическими параметрами среды обитания и, возможно, зависит от происхождения водоёмов. Обращают на себя внимание сообщества T4-подобных бактериофагов, последовательности которых получены нами ранее из близко расположенных водоёмов: р. Селенги [Молекулярно-генетическое исследование ... , 2015] и оз. Котокель [Diversity of the major ... , 2013]. Селенга – река в Монголии и России – крупнейший приток оз. Байкал, в настоящее время экологическое состояние реки ухудшается и трофность вод увеличивается. Котокель – озеро в Прибайкальском районе Бурятии, расстояние до Байкала составляет 2 км, имеет статус эвтрофного [Presence and genetic ... , 2011]. Их объединяют небольшие глубины и высокая продуктивность. Возможно, поэтому последовательности из этих водоёмов не группируются с последовательностями из биоплёнок и планктона оз. Байкал. Сообщества вирусов из байкальской губки расположились на графике ближе к точке с планктонными последовательностями из южной котловины Байкала. Наблюдаемый факт может быть вызван тем, что большая часть вирусов проникает в губку из водной толщи в результате фильтрационного питания животных: в день губки способны прогонять через своё тело до 24 тыс. л воды на 1 кг массы [Sponge-associated microorganisms ... , 2007].

Последовательности из биоплёнок с камней имели отличие от таковых в планктоне и губках, что можно объяснить значительным различием состава гетеротрофных бактерий планктона и бентоса, как показано в ранних работах [Parfenova, Gladkikh, Belykh, 2013], наличием в бентосных обрастаниях большого количества нитчатых цианобактерий и водорослей [Rapid ecological ... , 2016; Обнаружение микроцистинов ... , 2017]. Кроме того, сообщества вирусов биоплёнок с камней с доминированием водорослей и цианобактерий отличались друг от друга, что отражает разный видовой со-

став как доминирующих групп, так и минорных видов, поскольку первые собраны в урезовой зоне на глубине не более 1 м, а цианобактериальные биоплёнки подняты с глубин 6, 9 и 36 м.

Заключение

Впервые получены нуклеотидные последовательности Т4-подобных бактериофагов из бентосных биоплёнок, сформированных на абиотических и биотических субстратах в оз. Байкал. Проведённый анализ продемонстрировал высокое разнообразие Т4-подобных бактериофагов в Байкале. Показано, что сообщество Т4-подобных бактериофагов из губок имеет наибольшее сходство с планктонными последовательностями бактериофагов. Сообщества бактериофагов биоплёнок камней из прибрежной зоны Байкала наиболее близки к последовательностям, полученным из водной толщи пелагиали озера, что свидетельствует об их близком родстве, а также указывает на олиготрофность этих зон. Показано, что сообщества Т4-подобных бактериофагов из оз. Байкал несмотря на различные биотопы имеют большее сходство друг с другом, а не с сообществами из других экосистем. Выявлено, что вирусные сообщества группируются в зависимости от биотопа и физико-химических параметров среды обитания. В дальнейшем планируется расширить это исследование, используя высокопроизводительное секвенирование.

Работа выполнена в рамках темы госзадания ЛИН СО РАН № 0345-2018-0003 (сбор полевых материалов), а также при финансовой поддержке проектов РФФИ № 18-34-00513 мол_а и № 18-54-05005 Арм_а (секвенирование, анализ данных).

Список литературы

- Генетическое разнообразие Т4-подобных бактериофагов в озере Байкал / С. А. Потапов, Т. В. Бутина, О. И. Белых, С. И. Беликов // Изв. Иркут. гос. ун-та. Сер. Биология. Экология. 2013. Т. 6, № 3 (1). С. 14–19.
- Генетическое разнообразие цианофагов семейства Myoviridae в озере Байкал / Т. В. Бутина, С. А. Потапов, О. И. Белых, Н. Дамдинсүрэн, Б. Чойдаш // Изв. Иркут. гос. ун-та. Сер. Биология. Экология. 2012. Т. 5, № 3. С. 17–22.
- Иркутский суперкомпьютерный центр СО РАН [Электронный ресурс]. URL: <http://hpc.icc.ru>.
- Молекулярно-генетическое исследование Т4-подобных бактериофагов в планктоне реки Селенги / Т. В. Бутина, О. С. Усова, С. А. Потапов, О. И. Белых, А. П. Федотов, С. И. Беликов // Изв. Иркут. гос. ун-та. Сер. Биология. Экология. 2015. Т. 12. С. 12–22.
- Обнаружение микроцистинов в цианобактериальных обрастаниях различных субстратов прибрежной зоны озера Байкал / О. И. Белых, Г. А. Фёдорова, А. В. Кузьмин, И. В. Тихонова, О. А. Тимошкин, Е. Г. Сороковикова // Вестн. Моск. ун-та. 2017. Т. 72, № 4. С. 262–269.
- Ackermann H. W. Bacteriophage observations and evolution // Res. Microbiol. 2003. Vol. 154, N 4. P. 245–251. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(03\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(03)00067-6).
- Ackermann H. W., Krisch H. M. A catalogue of T4-type bacteriophages // Arch. Virol. 1997. Vol. 142, N 12. P. 2329–2345. <https://doi.org/10.1007/s007050050246>.
- Assessing the diversity of the g23 gene of T4-like bacteriophages from Lake Baikal with high-throughput sequencing / S. Potapov, O. Belykh, A. Krasnopeev, A. Gladkikh,

M. Kabilov, A. Tupikin, T. Butina // FEMS Microbiol. Lett. 2018. Vol. 365, N 3. P. fnx264. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx264>.

Bacteriophages and Biofilms / D. Harper, H. Parracho, J. Walker, R. Sharp, G. Hughes, M. Werthén, S. Lehman, S. Morales // Antibiotics. 2014. Vol. 3, N 3. P. 270–284. <https://doi.org/10.3390/antibiotics3030270>.

Bellas C. M., Anesio A. M. High diversity and potential origins of T4-type bacteriophages on the surface of Arctic glaciers // Extremophiles. 2013. Vol. 17, N 5. P. 861–870. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0569-x>.

Biofilms as complex differentiated communities / P. Stoodley, K. Sauer, D. G. Davies, J. W. Costerton // Annu. Rev. Microbiol. 2002. Vol. 56. P. 187–209. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160705>.

BLAST Assembled RefSeq Genomes [Electronic resource]. URL: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>.

Breitbart M., Miyake J. H., Rohwer F. Global distribution of nearly identical phage-encoded DNA sequences // FEMS Microbiol. Lett. 2004. Vol. 236, N 2. P. 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.05.042>.

Characterization of the Major Capsid Genes (g23) of T4-Type Bacteriophages in the Wetlands of Northeast China / C. Zheng, G. Wang, J. Liu, C. Song, H. Gao, X. Liu // Microb. Ecol. 2013. Vol. 65, N 3. P. 616–625. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0158-z>.

Comeau A. M., Krisch H. M. The capsid of the T4 phage superfamily: The evolution, diversity, and structure of some of the most prevalent proteins in the biosphere // Mol. Biol. Evol. 2008. Vol. 25, N 7. P. 1321–1332. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn080>.

De-Beer D., Stoodley P. Microbial biofilms // Appl. Microbiol. 2006. Vol. 1. P. 1–50. https://doi.org/10.1007/0-387-30741-9_28

Desplats C., Krisch H. M. The diversity and evolution of the T4-type bacteriophages // Res. Microbiol. 2003. Vol. 154, N 4. P. 259–267. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(03\)00069-X](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(03)00069-X)

Diversity of the major capsid genes (g23) of T4-like bacteriophages in the eutrophic Lake Kotokel in East Siberia, Russia / T. V. Butina, O. I. Belykh, S. A. Potapov, E. G. Sorokovikova // Arch. Microbiol. 2013. Vol. 195, N 7. P. 513–520. <https://doi.org/10.1007/s00203-013-0884-8>

Dutova N. V., Drucker V. V. Viral Community of Biofilms Forming on Different Substrates under Natural Conditions of Lake Baikal // Dokl. Biol. Sci. 2013. Vol. 451, N 4. P. 238–240. <https://doi.org/10.1134/S0012496613030113>

Evaluation of two approaches for assessing the genetic similarity of virioplankton populations as defined by genome size / S. Jamindar, S. W. Polson, S. Srinivasiah, L. Waidner, K. E. Wommack // Appl. Environ. Microbiol. 2012. Vol. 78, N 24. P. 8773–8783. <https://doi.org/10.1128/AEM.02432-12>

Genetic diversity and temporal dynamics of phytoplankton viruses in East Lake, China / M. N. Wang, X. Y. Ge, Y. Q. Wu, X. L. Yang, B. Tan, Y. J. Zhang, Z. L. Shi // Virol. Sin. 2015. Vol. 30, N 4. P. 290–300. <https://doi.org/10.1007/s12250-015-3603-6>

Genetic diversity of cyanophages of the Myoviridae family as a constituent of the associated community of the Baikal sponge *Lubomirskia baicalensis* / T. V. Butina, S. A. Potapov, O. I. Belykh, S. I. Belikov // Russ. J. Genet. 2015. Vol. 51, N 3. P. 313–317. <https://doi.org/10.1134/S1022795415030011>

Hall T. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // Nucleic Acids Symp. Ser. 1999. Vol. 41. P. 95–98.

High diversity of the viral community from an Antarctic lake / A. López-Bueno, J. Tamames, D. Velázquez, A. Moya, A. Quesada, A. Alcamí // Science. 2009. Vol. 326, N 5954. P. 858–861. <https://doi.org/10.1126/science.1179287>

Huelsenbeck J. P., Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // Bioinformatics. 2001. Vol. 17, N 8. P. 754–755. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/17.8.754>

International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) [Electronic resource]. URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>.

Isolation, growth and genome of the *Rhodothermus* RM378 thermophilic bacteriophage / S. Hjørleifsdóttir, A. Aevarsson, G. O. Hreggvidsson, O. H. Fridjonsson, J. K. Kristjansson // *Extremophiles*. 2014. Vol. 18, N 2. P. 261–270. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0613-x>.

Komárek J., Cyanoprokaryota. Vol. 3: Heterocytous Genera // Büdel B., Gärtner G., Krienitz L. (eds.). Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bd. 19/3, 2013. 1131 p.

Komárek J., Anagnostidis K. Cyanoprokaryota. T. 1: Chroococcales // Ettl H., Gerloff J., Heynig H., Mollenhauer D. (eds.). Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bd 19/1, 1999. 548 p.

Komárek J., Anagnostidis K., Cyanoprokaryota. Vol. 2: Oscillatoriales // Büdel B., Krienitz L., Gärtner G., Schagerl M. (eds.). Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band 19/2, 2005. 759 p.

Kozhova O. M., Izmet'seva L. R. Lake Baikal: Evolution and Biodiversity. Leiden : Blackhuys Publ., 1998. 447 p.

Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets // *Mol. Biol. Evol.* 2016. Vol. 33, N 7. P. 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>

Kutter E., Sulakvelidze A. Bacteriophages: Biology and Applications. CRC Press, 2005. 528 p.

Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease // *Nat. Rev. Microbiol.* 2006. Vol. 5, N 1. P. 48. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1557>

Liu L., Cai L., Zhang R. Co-existence of freshwater and marine T4-like myoviruses in a typical subtropical estuary // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2017. Vol. 93, N 11. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix119>

Marine T4-type bacteriophages, a ubiquitous component of the dark matter of the biosphere / J. Filée, F. Tétart, C. A. Suttle, H. M. Krisch // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005. Vol. 102, N 35. P. 12471–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503404102>

Millard A.D., Pearce D., Zwirgmaier K. Biogeography of bacteriophages at four hydrothermal vent sites in the Antarctic based on g23 sequence diversity // *FEMS Microbiol. Lett.* 2016. Vol. 363, N 7. P. fnw043. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw043>

Molecular analysis of the major capsid genes (g23) of T4-type bacteriophages in an upland black soil in Northeast China / G. Wang, Z. Yu, J. Liu, J. Jin, X. Liu, M. Kimura // *Biol. Fertil. Soils*. 2011. Vol. 47, N 3. P. 273–282. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0158-z>.

Molecular genetic diversity of the Myoviridae family cyanophages in Lake Khövsgöl (Mongolia) / T. V. Butina, S. A. Potapov, O. I. Belykh, V. S. Mukhanov, O. A. Rylkova, N. Damdinsuren, B. Chojdash // *Mol. Biol.* 2014. Vol. 48, N 6. P. 906–910. <https://doi.org/10.1134/S0026893314060041>

Parfenova V. V., Gladkikh A. S., Belykh O. I. Comparative analysis of biodiversity in the planktonic and biofilm bacterial communities in Lake Baikal // *Microbiology*. 2013. Vol. 82, N 1. P. 91–101. <https://doi.org/10.1134/S0026261713010128>

Phylogenetic diversity of T4-like bacteriophages in Lake Baikal, East Siberia / T. V. Butina, O. I. Belykh, S. Y. Maksimenko, S. I. Belikov // *FEMS Microbiol. Lett.* 2010. Vol. 309, N 2. P. 122–129. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02025.x>.

Phylogeny of the major head and tail genes of the wide-ranging T4-type bacteriophages / F. Tétart, C. Desplats, M. Kutateladze, C. Monod, H. W. Ackermann, H. M. Krisch // *J. Bacteriol.* 2001. Vol. 183, N 1. P. 358–366. <https://doi.org/10.1128/JB.183.1.358-366.2001>.

Presence and genetic diversity of microcystin-producing cyanobacteria (*Anabaena* and *Microcystis*) in Lake Kotokel (Russia, Lake Baikal Region) / O. I. Belykh, E. G. Sorokovikova, G. A. Fedorova, O. V. Kaluzhnaya, E. S. Korneva, M. V. Sakirko, T. A. Sherbakova // *Hydrobiologia*. 2011. Vol. 671. N 1. P. 241–252. <https://doi.org/10.1007/s10750-011-0724-2>

Rambaut A. Tracer v1.6. [Electronic resource]. URL: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer/2013>.

Rapid ecological change in the coastal zone of Lake Baikal (East Siberia): Is the site of the world's greatest freshwater biodiversity in danger? / O. A. Timoshkin, D. P. Samsonov, M. Yamamuro, M. V. Moore, O. I. Belykh, V. V. Malnik, M. V. Sakirko, A. A. Shirokaya, N. A. Bondarenko, V. M. Domysheva, G. A. Fedorova, A. I. Kochetkov, A. V. Kuzmin, A. G. Lukhnev, O. V. Medvezhonkova, A. V. Nepokrytykh, E. M. Pasyukova, A. E. Poberezhnaya, N. V. Potapskaya, N. A. Rozhkova, N. G. Sheveleva, I. V. Tikhonova, E. M. Timoshkina, I. V. Tomberg, E. A. Volkova, E. P. Zaitseva, Y. M. Zvereva, A. B. Kupchinsky, N. A. Bukshuk // *J. Great Lakes Res.* 2016. Vol. 42, N 3. P. 487–497. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2016.02.011>

Short C. M., Suttle C. Nearly Identical Bacteriophage Structural Gene Sequences Are Widely Distributed in both Marine and Freshwater Environments Nearly Identical Bacteriophage Structural Gene Sequences Are Widely Distributed in both Marine and Freshwater Environments // *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. Vol. 71, N 1. P. 480–486. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.1.480-486.2005>

Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential / M. W. Taylor, R. Radax, D. Steger, M. Wagner // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2007. Vol. 71, N 2. P. 295–347. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00040-06>

Survey of major capsid genes (g23) of T4-type bacteriophages in rice fields in Northeast China / G. Wang, J. Jin, S. Asakawa M. Kimura // *Soil Biol. Biochem.* 2009. Vol. 41, N 2. P. 423–427. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.11.012>

Suttle C. A. Viruses in the sea // *Nature.* 2005. Vol. 437, N 7057. P. 356–361. <https://doi.org/10.1038/nature04160>

Viruses as Winners in the Game of Life / G. Cobian, A. Georgina, M. Youle, V. A. Cantu, B. Felts, J. Nulton, F. Rohwer // *Annu. Rev. Virol.* 2016. Vol. 3, N 1. P. 197–214. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-054952>

Zhong X., Jacquet S. Differing assemblage composition and dynamics in T4-like myophages of two neighbouring sub-alpine lakes // *Freshw. Biol.* 2014. Vol. 59, N 8. P. 1577–1595. <https://doi.org/10.1111/fwb.12365>

Characterization of the Genetic Diversity of T4-like Bacteriophages in Benthic Biofilms of Lake Baikal

S. A. Potapov, A. Yu. Krasnopeev, I. V. Tikhonova, A. D. Galachyants,
G. V. Podlesnaya, I. V. Khanaev, O. I. Belykh

Limnological Institute SB RAS, Irkutsk

Abstract. The genetic diversity of T4-like bacteriophages in biofilms formed on various substrates in the littoral zone of Lake Baikal was studied for the first time. Gene markers for the major capsid protein gp23 were used to identify bacteriophages. There are 72 unique nucleotide sequences of g23 gene fragment in the Baikal biofilm samples. Phages possessed high genetic diversity. Most of the sequences (84,7 %) belonged to the Cyano T4 group. The cultured phages showed the highest similarity (78 % at the nucleotide level) with *Synechococcus* phage S-CAM1. At the nucleotide level, the majority of sequences reported here were similar to those from Lake Baikal (43 %); 18 % – to the sequences from East Lake, 12,5% – to the sequences from Bourget and Annecy lakes; 26,5 % – the sequences from the rest places (less than 5,5 % each). The composition of viral communities depended on the habitat. We have indicated that the community of T4-like bacteriophages from sponges have the highest similarity with planktonic sequences of bacteriophages. We show that bacteriophages from biotopes of biofilms of stones and sponges from the littoral zone and of the water column earlier in the pelagic zone of Lake Baikal form a common Baikal cluster.

Keywords: biofilms, bacteriophages, diversity, Myoviridae, g23, lake Baikal.

For citation: Potapov S.A., Krasnopeev A.Yu., Tikhonova I.V., Galachyants A.D., Podlesnaya G.V., Khanaev I.V., Belykh O.I. Characterization of the Genetic Diversity of T4-like Bacteriophages in Benthic Biofilms of Lake Baikal. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology*, 2018, vol. 25, pp. 15-31. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2018.25.15> (in Russian)

References

Potapov S.A., Butina T.V., Belykh O.I., Belikov S.I. Geneticheskoe raznoobrazie T4-podobnykh bakteriofagov v ozere Baikal [Genetic diversity of T4-like bacteriophages in Lake Baikal]. *Bull. Irkutsk St. Univ. Ser. Biol. Ekol.*, 2013, vol. 6, no. 3(1), pp. 62-83. (in Russian)

Butina T.V., Potapov S.A., Belykh O.I., Damdinsuren N., Chojdash B. Geneticheskoe raznoobrazie tsianofagov semejstva Myoviridae v ozere Baikal [Genetic diversity of the family Myoviridae cyanophages in Lake Baikal]. *Bull. Irkutsk St. Univ. Ser. Biol. Ekol.*, 2012, vol. 5, no. 3, pp. 17-22. (in Russian)

Irkutskii superkompyuternyi tsentr SO RAN [Irkutsk Supercomputer Center of SB RAS. Available at: <http://hpc.icc.ru>.

Butina T.V., Usova O.S., Potapov S.A., Belykh O.I., Fedotov A.P., Belikov S.I. Molekulyarno-geneticheskoe issledovanie T4-podobnykh bakteriofagov v planktone reki Selengi [Molecular Genetic Study of T4-like Bacteriophages in Plankton of Selenga River]. *Bull. Irkutsk St. Univ. Ser. Biol. Ekol.*, 2015, vol. 12, pp. 12-22. (in Russian)

Belykh O.I., Fedorova G.A., Kuzmin A.V., Tikhonova I.V., Timoshkin O.A., Sorokovikova E.G. Obnaruzhenie mikrotsistinov v tsianobakterial'nykh obrastaniyakh razlichnykh substratov pribrezhnoj zony ozera Baikal [Microcystin-producing cyanobacteria in biofilms from the littoral zone of Lake Baikal]. *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.*, 2017, vol. 72, no. 4, pp. 262-269. (in Russian)

Ackermann H.W. Bacteriophage observations and evolution. *Res. Microbiol.*, 2003, vol. 154, no. 4, pp. 245-251. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(03\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(03)00067-6)

Ackermann H.W., Krisch H.M. A catalogue of T4-type bacteriophages. *Arch. Virol.*, 1997, vol. 142, no. 12, pp. 2329-2345. <https://doi.org/10.1007/s007050050246>

Potapov S., Belykh O., Krasnopeev A., Gladkikh A., Kabilov M., Tupikin A., Butina T. Assessing the diversity of the g23 gene of T4-like bacteriophages from Lake Baikal with high-throughput sequencing. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2018, vol. 365, no. 3, pp. fnx264. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx264>

Harper D., Parracho H., Walker J., Sharp R., Hughes G., Werthén M., Lehman S., Morales S. Bacteriophages and Biofilms. *Antibiotics*, 2014, vol. 3, no. 3, pp. 270-284. <https://doi.org/10.3390/antibiotics3030270>

Bellas C.M., Anesio A.M. High diversity and potential origins of T4-type bacteriophages on the surface of Arctic glaciers. *Extremophiles*, 2013, vol. 17, no. 5, pp. 861-870. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0569-x>

Stoodley P., Sauer K., Davies D.G., Costerton J.W. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2002, vol. 56, pp. 187-209. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160705>

BLAST Assembled RefSeq Genomes. Available at: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>.

Breitbart M., Miyake J.H., Rohwer F. Global distribution of nearly identical phage-encoded DNA sequences. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2004, vol. 236, no. 2, pp. 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.05.042>

Zheng C., Wang G., Liu J., Song C., Gao H., Liu X. Characterization of the Major Capsid Genes (g23) of T4-Type Bacteriophages in the Wetlands of Northeast China. *Microb. Ecol.*, 2013, vol. 65, no. 3, pp. 616-625. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0158-z>

Comeau A.M., Krisch H.M. The capsid of the T4 phage superfamily: The evolution, diversity, and structure of some of the most prevalent proteins in the biosphere. *Mol. Biol. Evol.*, 2008, vol. 25, no. 7, pp. 1321-1332. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn080>

De-Beer D., Stoodley P. Microbial biofilms. *Appl. Microbiol.*, 2006, vol. 1, pp. 1-50. https://doi.org/10.1007/0-387-30741-9_28

Desplats C., Krisch H.M. The diversity and evolution of the T4-type bacteriophages. *Res. Microbiol.*, 2003, vol. 154, no. 4, pp. 259-267. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(03\)00069-X](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(03)00069-X)

Butina T.V., Belykh, O.I., Potapov S.A., Sorokovikova E.G. Diversity of the major capsid genes (g23) of T4-like bacteriophages in the eutrophic Lake Kotokel in East Siberia, Russia. *Arch. Microbiol.*, 2013, vol. 195, no. 7, pp. 513-520. <https://doi.org/10.1007/s00203-013-0884-8>

Dutova N.V., Drucker V.V. Viral Community of Biofilms Forming on Different Substrates under Natural Conditions of Lake Baikal. *Dokl. Biol. Sci.*, 2013, vol. 451, no. 4, pp. 238-240. <https://doi.org/10.1134/S0012496613030113>

Jamindar S., Polson S.W., Srinivasiah S., Waidner L., Wommack K.E. Evaluation of two approaches for assessing the genetic similarity of virioplankton populations as defined by genome size. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, vol. 78, no. 24, pp. 8773-8783. <https://doi.org/10.1128/AEM.02432-12>

Wang M.N., Ge X.Y., Wu Y.Q., Yang X.L., Tan B., Zhang Y.J., Shi Z. L. Genetic diversity and temporal dynamics of phytoplankton viruses in East Lake, China. *Virologica Sinica*, 2015, vol. 30, no. 4, pp. 290-300. <https://doi.org/10.1007/s12250-015-3603-6>

Butina T.V., Potapov S.A., Belykh O.I., Belikov S.I. Genetic diversity of cyanophages of the Myoviridae family as a constituent of the associated community of the Baikal sponge *Lubomirskia baicalensis*. *Russ. J. Genet.*, 2015, vol. 51, no. 3, pp. 313-317. <https://doi.org/10.1134/S1022795415030011>

Hall T. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, 1999, vol. 41, pp. 95-98.

López-Bueno A., Tamames J., Velázquez D., Moya A., Quesada A., Alcamí A. High diversity of the viral community from an Antarctic lake. *Science*, 2009, vol. 326, no. 5954, pp. 858-861. <https://doi.org/10.1126/science.1179287>

Huelsenbeck J.P., Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // *Bioinformatics*, 2001, vol. 17, no. 8, pp. 754-755. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/17.8.754>.

International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Available at: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>.

Hjorleifsdottir S., Aevarsson A., Hreggvidsson G.O., Fridjonsson O.H., Kristjansson J.K. Isolation, growth and genome of the Rhodothermus RM378 thermophilic bacteriophage. *Extremophiles*, 2014, vol. 18, no. 2, pp. 261-270. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0613-x>

Komárek J. Cyanoprokaryota. Vol. 3: Heterocytous Genera. In Büdel B., Gärtner G., Krienitz L. (Eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, Bd. 19/3, 2013, 1131 p.

Komárek J., Anagnostidis K. Cyanoprokaryota. Teil1: Chroococcales. In Ettl H., Gerloff J., Heynig H., Mollenhauer D. (Eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Bd 19/1, 1999. 548 p.

Komárek J., Anagnostidis K. Cyanoprokaryota. Teil2: Oscillatoriales. In: Büdel B., Krienitz L., Gärtner G., Schagerl M. (eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, Band 19/2, 2005, 759 p.

Kozhova O.M., Izmet'seva L.R. *Lake Baikal: Evolution and Biodiversity*. Leiden, Blackhuys Publ., 1998, 447 p.

Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.*, 2016, vol. 33, no. 7, pp. 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>.

Kutter E., Sulakvelidze A. *Bacteriophages: Biology and Applications*. CRC Press, 2005. 528 p.

Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2006, vol. 5, no. 1, pp. 48. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1557>

Liu L., Cai L., Zhang R. Co-existence of freshwater and marine T4-like myoviruses in a typical subtropical estuary. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2017, vol. 93, no. 11, pp. fix119 <https://doi.org/10.1093/femsec/fix119>

Filée J., Tétart F., Suttle C.A., Krisch H.M. Marine T4-type bacteriophages, a ubiquitous component of the dark matter of the biosphere. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2005, vol. 102, no. 35, pp. 12471-12476. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503404102>

Millard A.D., Pearce D., Zwirgmaier K. Biogeography of bacteriophages at four hydrothermal vent sites in the Antarctic based on g23 sequence diversity. *FEMS Microbiol. Lett.* 2016, vol. 363, no. 7, pp. fnw043. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw043>

Wang G., Yu Z., Liu J., Jin J., Liu X., Kimura M. Molecular analysis of the major capsid genes (g23) of T4-type bacteriophages in an upland black soil in Northeast China. *Biol. Fertil. Soils.*, 2011, vol. 47, no. 3, pp. 273–282. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0158-z>

Butina T.V., Potapov S.A., Belykh O.I., Mukhanov V.S., Rylkova O.A., Damdinsuren N., Chojdash B. Molecular genetic diversity of the Myoviridae family cyanophages in Lake Khövsgöl (Mongolia). *Mol. Biol.*, 2014, vol. 48, no. 6, pp. 906–910. <https://doi.org/10.1134/S0026893314060041>

Parfenova V.V., Gladkikh A.S., Belykh O.I. Comparative analysis of biodiversity in the planktonic and biofilm bacterial communities in Lake Baikal. *Microbiology*, 2013, vol. 82, no. 1, pp. 91-101. <https://doi.org/10.1134/S0026261713010128>

Butina T.V., Belykh O.I., Maksimenko S.Y., Belikov S.I. Phylogenetic diversity of T4-like bacteriophages in Lake Baikal, East Siberia. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2010, vol. 309, no. 2, pp. 122–129. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02025.x>

Tetart F., Desplats C., Kutateladze M., Monod C., Ackermann H.W., Krisch H.M. Phylogeny of the major head and tail genes of the wide-ranging T4-type bacteriophages. *J. Bacteriol.*, 2001, vol. 183, no. 1, pp. 358–366. <https://doi.org/10.1128/JB.183.1.358-366.2001>

Belykh O.I., Sorokovikova E.G., Fedorova G.A., Kaluzhnaya O.V., Korneva E.S., Sakirko M.V., Sherbakova T.A. Presence and genetic diversity of microcystin-producing cyanobacteria (*Anabaena* and *Microcystis*) in Lake Kotokel (Russia, Lake Baikal Region). *Hydrobiologia*, 2011, vol. 671, no. 1, pp. 241-252. <https://doi.org/10.1007/s10750-011-0724-2>

Rambaut A. *Tracer v1.6*. Available at: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer> (2013).

Timoshkin O.A., Samsonov D.P., Yamamuro M., Moore M.V., Belykh O.I., Malnik V.V., Sakirko M.V., Shirokaya A.A., Bondarenko N.A., Domysheva V.M., Fedorova G.A., Kochetkov A.I., Kuzmin A.V., Likhnev A.G., Medvezhonkova O.V., Nepokrytykh A.V., Pasyukova E.M., Poberezhnaya A.E., Potapovskaya N.V., Rozhkova N.A., Sheveleva N.G., Tikhonova I.V., Timoshkina E.M., Tomberg I.V., Volkova E.A., Zaitseva E.P., Zvereva Y.M., Kupchinsky A.B., Bukshuk N.A. Rapid ecological change in the coastal zone of Lake Baikal (East Siberia): Is the site of the world's greatest freshwater biodiversity in danger? *J. Great Lakes Res.*, 2016, vol. 42, no. 3, pp. 487-497. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2016.02.011>

Short C.M., Suttle C. Nearly Identical Bacteriophage Structural Gene Sequences Are Widely Distributed in both Marine and Freshwater Environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, vol. 71, no. 1, pp. 480-486. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.1.480-486.2005>

Taylor M.W., Radax R., Steger D., Wagner M. Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2007, vol. 71, no. 2, pp. 295–347. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00040-06>

Wang G., Jin J., Asakawa S., Kimura M. Survey of major capsid genes (g23) of T4-type bacteriophages in rice fields in Northeast China. *Soil Biol. Biochem.*, 2009, vol. 41, no. 2, pp. 423–427. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.11.012>

Suttle C.A. Viruses in the sea. *Nature*, 2005, vol. 437, no. 7057, pp. 356-361. <https://doi.org/10.1038/nature04160>

Cobian G., Georgina A., Youle M., Cantu V.A., Felts B., Nulton J., Rohwer F. Viruses as Winners in the Game of Life. *Annu. Rev. Virol.*, 2016, vol. 3, no. 1, pp. 197–214. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-054952>

Zhong X., Jacquet S. Differing assemblage composition and dynamics in T4-like myophages of two neighbouring sub-alpine lakes. *Freshw. Biol.*, 2014, vol. 59, no. 8, pp. 1577-1595. <https://doi.org/10.1111/fwb.12365>

Потапов Сергей Анатольевич
главный специалист по вирусологии
Лимнологический институт СО РАН
Россия, 664033, г. Иркутск,
ул. Улан-Баторская, 3
тел.: (3952) 42-54-15
e-mail: poet1988@list.ru

Potapov Sergey Anatolyevich
Chief Specialist in Virology
Limnological Institute SB RAS
3, Ulan-Batorskaya St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation
tel.: (3952) 42-54-15
e-mail: poet1988@list.ru

Краснопеев Андрей Юрьевич
ведущий инженер
Лимнологический институт СО РАН
Россия, 664033, г. Иркутск, ул. Улан-
Баторская, 3
тел.: (3952) 42-54-15
e-mail: andrewkrasnopeev@gmail.com

Krasnopeev Andrey Yurievich
Leading Engineer
Limnological Institute SB RAS
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033,
Russian Federation
tel.: (3952) 42-54-15
e-mail: andrewkrasnopeev@gmail.com

Тихонова Ирина Васильевна
кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник
Лимнологический институт СО РАН
Россия, 664033, г. Иркутск,
ул. Улан-Баторская, 3
тел.: (3952) 42-54-15
e-mail: iren@lin.irk.ru

Tikhonova Irina Vasilevna
Candidate of Sciences (Biology),
Senior Research Scientist
Limnological Institute SB RAS
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033,
Russian Federation
tel.: (3952) 42-54-15
e-mail: iren@lin.irk.ru

Галачьянц Агния Дмитриевна
ведущий инженер
Лимнологический институт СО РАН
Россия, 664033, г. Иркутск,
ул. Улан-Баторская, 3
тел.: (3952) 42-26-95
e-mail: shamshurasya@gmail.com

Galachyants Agniya Dmitrievna
Leading Engineer
Limnological Institute SB RAS
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033,
Russian Federation
tel.: (3952) 42-26-95
e-mail: shamshurasya@gmail.com

Подлесная Галина Владимировна
ведущий инженер
Лимнологический институт СО РАН
Россия, 664033, г. Иркутск,
ул. Улан-Баторская, 3
тел.: (3952) 42-26-95
e-mail: podlesnaya@lin.irk.ru

Podlesnaya Galina Vladimirovna
Leading Engineer
Limnological Institute SB RAS
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033,
Russian Federation
tel.: (3952) 42-26-95
e-mail: podlesnaya@lin.irk.ru

Ханаев Игорь Вениаминович
старший научный сотрудник
Лимнологический институт СО РАН
Россия, 664033, г. Иркутск,
ул. Улан-Баторская, 3
тел.: (3952) 42-26-95
e-mail: igkhan@lin.irk.ru

Khanaev Igor Veniaminovich
Senior Research Scientist
Limnological Institute SB RAS
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033,
Russian Federation
tel.: (3952) 42-26-95
e-mail: igkhan@lin.irk.ru

Белых Ольга Ивановна
кандидат биологических наук, доцент,
ведущий научный сотрудник
Лимнологический институт СО РАН
Россия, 664033, г. Иркутск,
ул. Улан-Баторская, 3
тел.: (3952) 42–54–15
e-mail: belykh@lin.irk.ru

Belykh Olga Ivanovna
Candidate of Sciences (Biology), Leading
Research Scientist, Associate Professor
Limnological Institute SB RAS
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033,
Russian Federation
tel.: (3952) 42–54–15
e-mail: belykh@lin.irk.ru

Дата поступления: 03.07.2018

Received: July, 03, 2018