

Bacteriophages of Lake Baikal in the structure of the new international classification ICTV (analytical overview)

Analytical Review

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Drucker V.V.*^{id}, Gorshkova A.S.^{id}

Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Batorskaya Str., 3, Irkutsk, 664033, Russia

ABSTRACT. We analyzed the first research results from the literature concerning autochthonous bacteriophages, a new link of a microbial loop in the ecosystem of Lake Baikal. In a short time, the cutting-edge study methods revealed a significant taxonomic diversity of phages in various biotopes of the lake in all seasons of the year and at all depths. For the first time, we examined a size structure and abundance of Baikal bacteriophages as well as the genetic diversity of T4-like phages in the surface microlayer and biofilms from biogenic and abiogenic substrates of the lake. The whole genome of the new Baikal bacteriophage, PaBG, was determined. The International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) ratified it as a novel genus *Baikalvirus*.

Keywords: Lake Baikal, autochthonous bacteriophages, electron microscopy, virological, molecular genetic methods, taxonomic diversity, modern microbial loop

For citation: Drucker V.V., Gorshkova A.S. Bacteriophages of Lake Baikal in the structure of the new international classification ICTV (analytical overview) // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 4. - P. 566-582. DOI: 10.31951/2658-3518-2025-A-4-566

1. Introduction

In recent decades, waters of seas and oceans have demonstrated high numbers of viral particles—up to 10^8 particles/mL, which is much higher than the abundance of all other aquatic ecosystem organisms (Bergh et al., 1989; Proctor and Fuhrman, 1990; Wommack and Colwell, 2000; Weinbauer, 2004). In 1990, M.E. Klut and J.G. Stockner (1990) detected virus-like particles of $\sim 10^7$ particles/mL water, varying in size (60-200 nm), in the ultra-oligotrophic Sproat Lake (Canada). According to transmission electron microscopy (TEM), the phages represented five- or six-sided heads with a clearly visible appendage (tail). There were phage particles both unattached to the cells and associated with them, and their numbers were high in spring. The phage to bacteria ratio was 3:1. This ratio is used to compare virioplankton and bacterioplankton populations, and it was higher in freshwater than marine ecosystems (Maranger and Bird, 1995).

Bacteriophages (phages) are among the most powerful biological factors that control the diversity and number of their hosts, as well as the aquatic productivity, taking an active part in biogeochemical cycles. The great diversity and ubiquity of viruses in

aquatic ecosystems (both marine and freshwater), as well as their various functions, indicate their ecological importance in the life processes of water bodies. Insufficient knowledge on virioplankton in freshwater ecosystems offers great opportunities for studying these relatively new and the most numerous biological objects. Bacterial and algal viruses are recognized as active participants in the microbial loop, a section of the trophic chain responsible for the circulation of soluble organic matter, which is their most important property in the functioning of aquatic ecosystems (Noble and Fuhrman, 1999; Suttle, 2005; Weitz and Wilhelm, 2012). This new knowledge has changed the current understanding of the structure and functioning of the microbial loop in aquatic ecosystems. Such studies are particularly relevant for poorly studied freshwater ecosystems, and the problem of maintaining high water quality is now of great importance for Lake Baikal. Research on the structure and functioning of microbial and viral population of the lake in the modern period of global warming is essential to solving this pressing global problem because these populations perform the main function of self-purification from various types of pollution.

*Corresponding author.

E-mail address: drucker@lin.irk.ru (V.V. Drucker)

Received: July 15, 2025; **Accepted:** August 04, 2025;

Available online: August 31, 2025

© Author(s) 2025. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



2. Materials and methods

Studies of coliphages in Lake Baikal and its tributaries were initiated in 1998 (Drucker and Maslennikov, 1998). Epifluorescence microscopy (EFM) detected viral particles in the lake (Belykh and Belikov, 2000). A conventional approach was used to isolate phages from natural water samples and cultivate them. Subsequently, TEM was used to study them, allowing for the most accurate and complete understanding of their morphology, abundance, and spatial distribution (Drucker and Dutova, 2003; 2005; 2006). For the search and study of autochthonous bacteriophages, water and neuston were collected in the littoral and pelagic zones of Lake Baikal in the spring, summer, autumn, and winter periods between 2002 and 2015. To study bacteriophages in natural biofilms formed on natural geological rocks (granite, marble, mica, quartz, amphibolite, gabbro, and urtite) and on the steel plate, divers took samples exposed to the conditions of a natural experiment that lasted for five years in the littoral zone at a depth of 3 m. For electron microscopy, sterile water samples were sedimented using Beckman L8-55 and Sorvall Discovery 96 SE ultracentrifuges. Two grids were prepared from each sample, on which the phage particles of different morphological groups were counted in 100 fields of view; the number was counted in two variations (Zheng et al., 1996). Phage preparations were examined in an LEO-906E transmission electron microscope (Karl Zeiss, Germany). Bacteriophages were identified by morphological features, according to the existing international classification (Ackermann, 2001). Statistical processing of the obtained results was performed using Microsoft Excel 2010.

The molecular methods included sequencing of the major capsid protein gene (*g23*) and portal protein gene (*g20*) of T4-like bacteriophages through the Sanger sequencing method and high-throughput sequencing (Butina et al., 2010; Butina et al., 2012; Potapov et al., 2013; 2018; 2020; 2022a; 2024a). Metagenomic and metatranscriptomic sequencing of the viral community (fraction $<0.2\ \mu\text{m}$) were also performed, for which 25 L water samples were taken in each of three

basins of the lake and in the Maloye More Strait in different seasons (Potapov et al., 2019; 2020; 2022b; 2024a). Bioinformatics analysis was performed with such programs as SPAdes v.3.13.0, Virsorter v.1.0.3, BWA v.0.7.17, SAMtools v.1.9, etc. and the RefSeq and GenBank databases. The β -diversity of viral communities was also assessed: i) based on amino acid sequences of *g20* and *g23* genes using the UniFrac metric and ii) based on taxa of viral communities using hierarchical clustering (Potapov et al., 2018; 2019).

3. Results and discussion

In 2001-2003, TEM first discovered autochthonous bacteriophages in the oldest and deepest oligotrophic Lake Baikal throughout the entire water column up to the maximum depths. Among the families of DNA and RNA phages known at that time (according to the International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV), the families *Siphoviridae*, *Myoviridae*, *Podoviridae*, and *Inoviridae* were first identified and studied in various biotopes of the lake (Drucker and Dutova, 2003; 2005; 2006). Moreover, four morphological types of phages with unknown systematic position, possibly 'endemic', were detected. Thus, the great biodiversity typical of the Lake Baikal flora and fauna also applies to bacteriophages.

Bacteriophages were detected in all seasons of the year in the communities of various biotopes of Lake Baikal: neuston, plankton, and benthos; therefore, they can be considered autochthonous because long-term studies constantly found them during all seasons of the year at different depths—from the surface to 1200 m (maximum research depth) (Drucker and Dutova, 2009). For the first time, we determined a very clear pattern for the deep oligotrophic ecosystem of Lake Baikal: most of the detected phages (76%) belonged to the order *Caudovirales*—tailed phages with icosahedral heads, which unites three families, depending on the sizes and contractility of tails (*Siphoviridae*, *Podoviridae*, and *Myoviridae*). Among them, phages with long non-contractile tails representing the family *Siphoviridae* prevailed, 40-59% (Fig. 1, 2). These were phages with

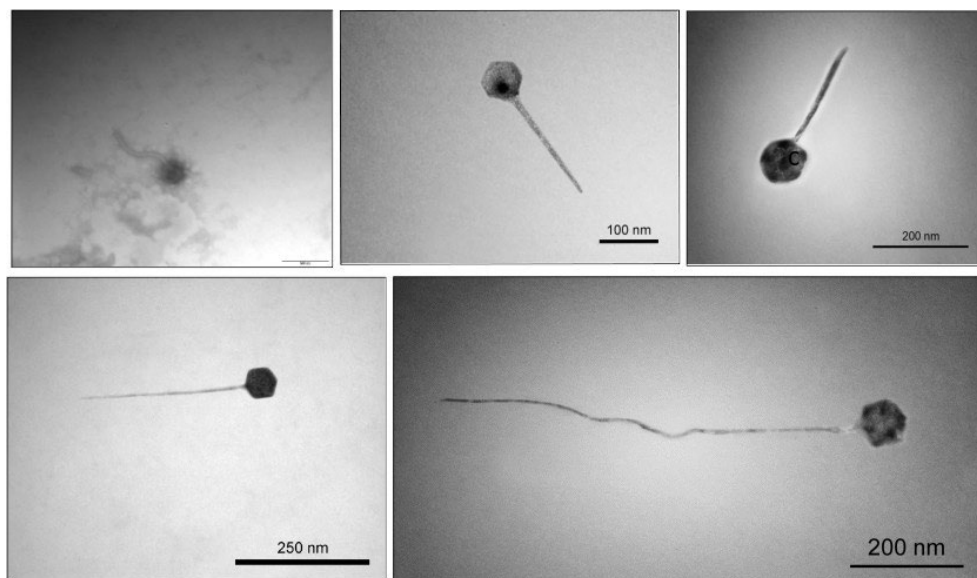


Fig.1. Transmission electron microscopy images of siphoviruses (previously classified as the family *Siphoviridae*).

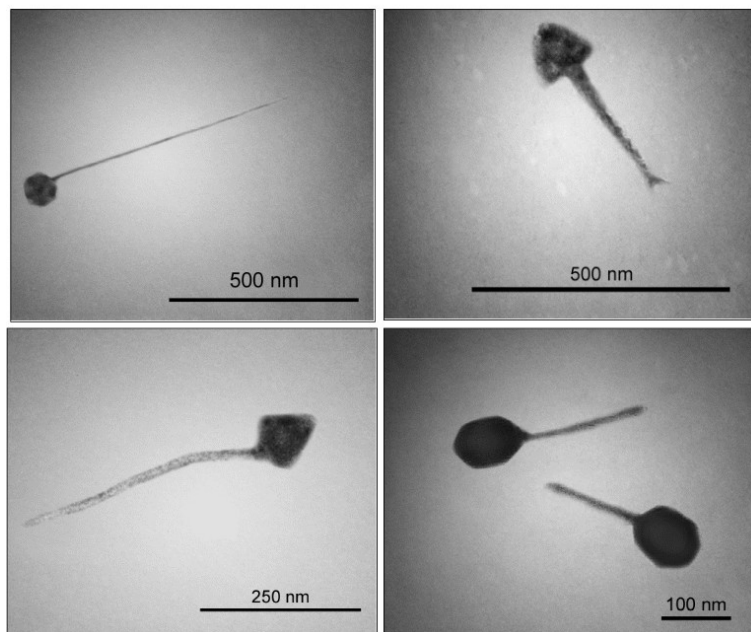


Fig.2. Transmission electron microscopy images of siphoviruses (previously classified as the family *Siphoviridae*).

different forms of capsid, whose size varied from 20 to 254 nm, and the tail length ranged from 45 to 780 nm. The next most common bacteriophages belonged to the family *Podoviridae* with a short non-contractile tail without a baseplate (Fig. 3). The capsid size was 40-73 nm, and the length of tails—8-29 nm. Bacteriophages of the family *Myoviridae* had a capsid size of 69-143 nm, the length of tails of 25-326 nm, and the length of sheaths 15-121 nm; their proportion in the lake plankton reached 6-25 % (Fig. 4, 5). They were distinguished by a complex structural organization of the contractile tail. The baseplate of these phages had various structures: tooth-shaped, felted appendages, and spherical bodies at the ends of the tails. There was a small number of virus-like particles without tails, phages of the family *Inoviridae* (filamentous), in viroplankton of Lake Baikal (Fig. 6). Of special interest were the identified morphotypes of bacteriophages, which are not included in the ICTV classification and have not been described by the authors for other aquatic ecosystems, possibly being endemic to Lake Baikal (Fig. 7). For instance, in the summer, virions with the top-shaped head were detected. A morphological feature of other phages was

the presence of spiny processes about 7 nm long radially extending from the capsid. Furthermore, there were phages with two clearly differentiated envelopes and a thick tail. There were also 'hammer'-shaped phages having a head extended perpendicular to the tail. Most tailed phages of the order *Caudovirales* (up to 96%) were also found in seas and oceans (Ackermann, 2001), with 67-87% belonging to the family *Siphoviridae* and to a lesser extent—to the families *Myoviridae* (7-14%) and *Podoviridae* (5-19%).

The number of free phage particles in the water of Lake Baikal varied in different seasons from $0.58 \cdot 10^6$ mL⁻¹ on the surface to $0.01 \cdot 10^6$ at a depth of 1000 m. Phages in the surface water layer showed the highest number in the spring and summer-autumn periods. The minimum number of bacteriophages was observed in winter at a depth of 1000 m. Such a seasonal pattern in the development of phage numbers, as well as their vertical distribution, was consistent with the dynamics of the total number of bacteria in the lake water. There was a common pattern in the vertical distribution of bacteriophages: a decrease in their number with depth. However, at the lake's bottom (1200 m), the number

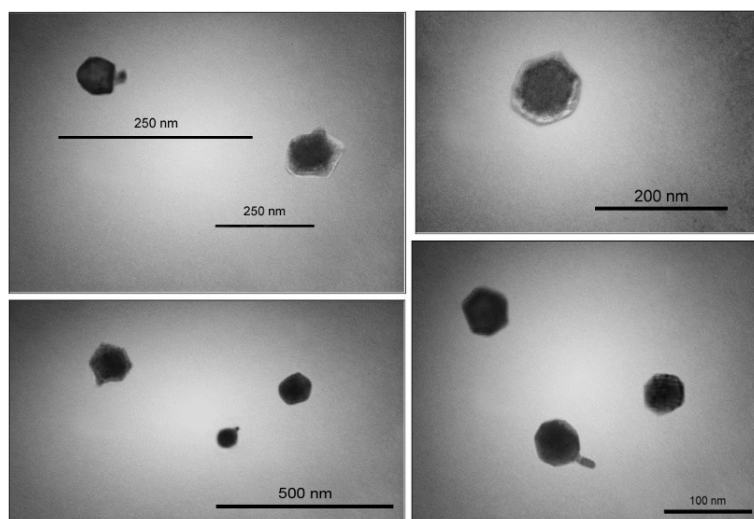


Fig.3. Transmission electron microscopy images of podoviruses (previously classified as the family *Podoviridae*).

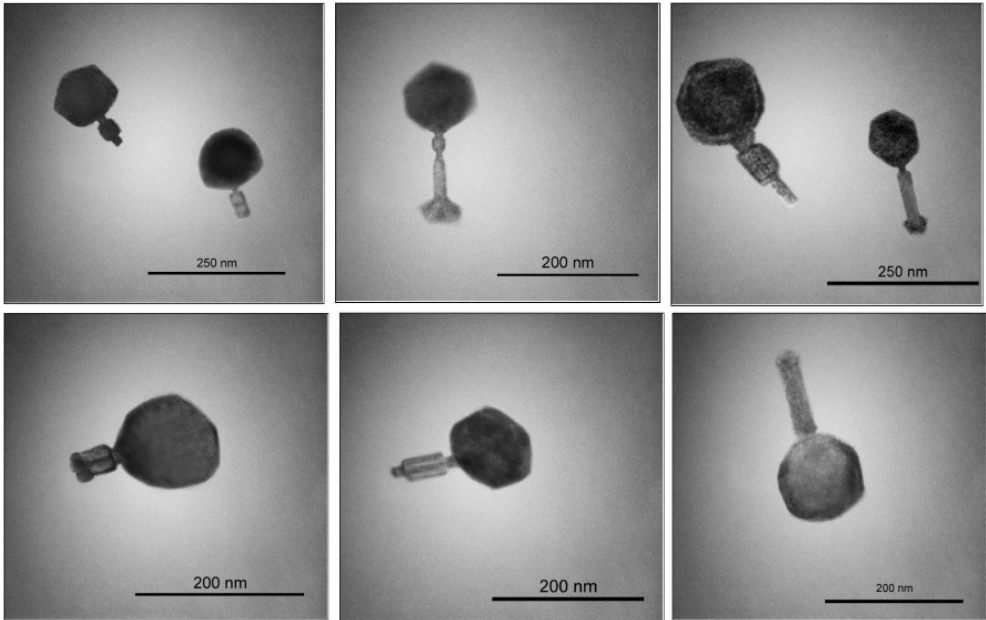


Fig.4. Transmission electron microscopy images of myoviruses (previously classified as the family *Myoviridae*).

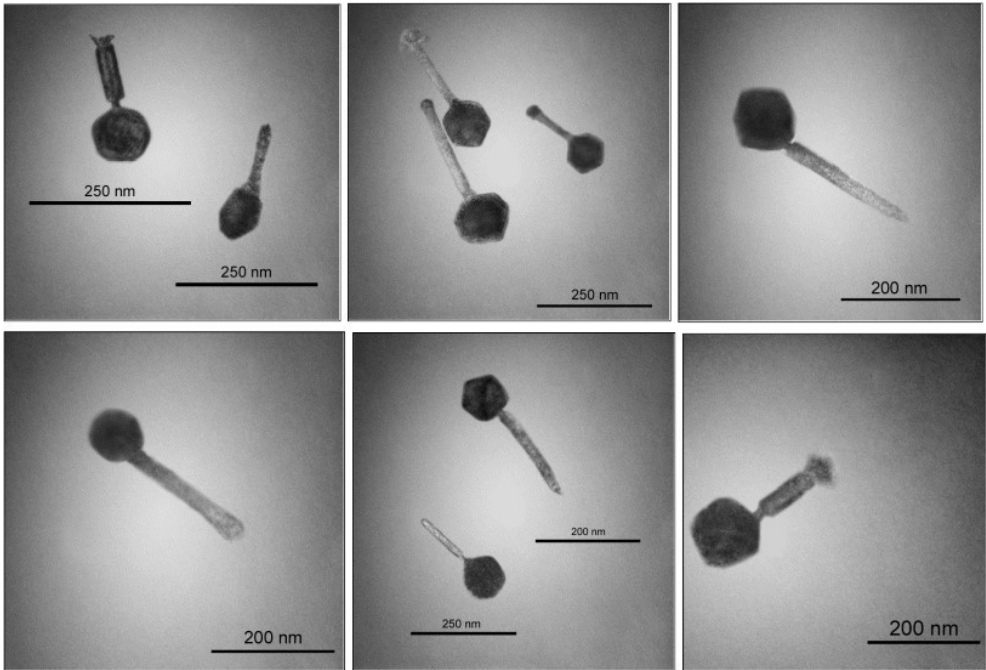


Fig.5. .Transmission electron microscopy images of myoviruses (previously classified as the family *Myoviridae*).

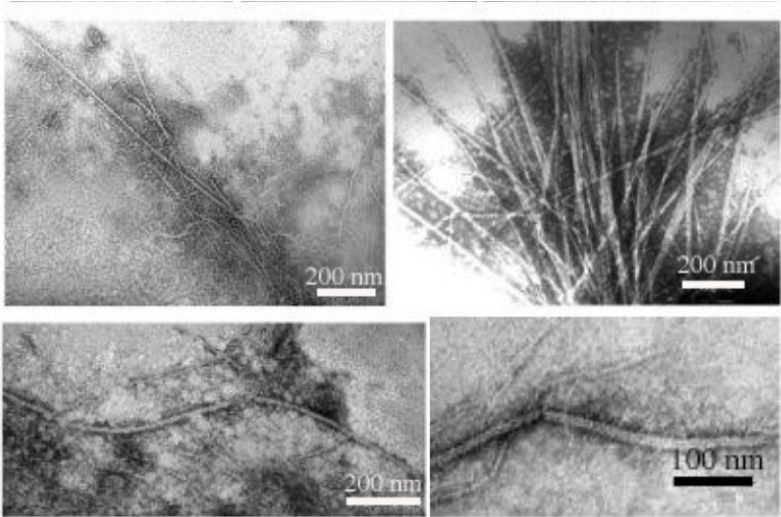


Fig.6. Transmission electron microscopy images of filamentous virus-like particles.

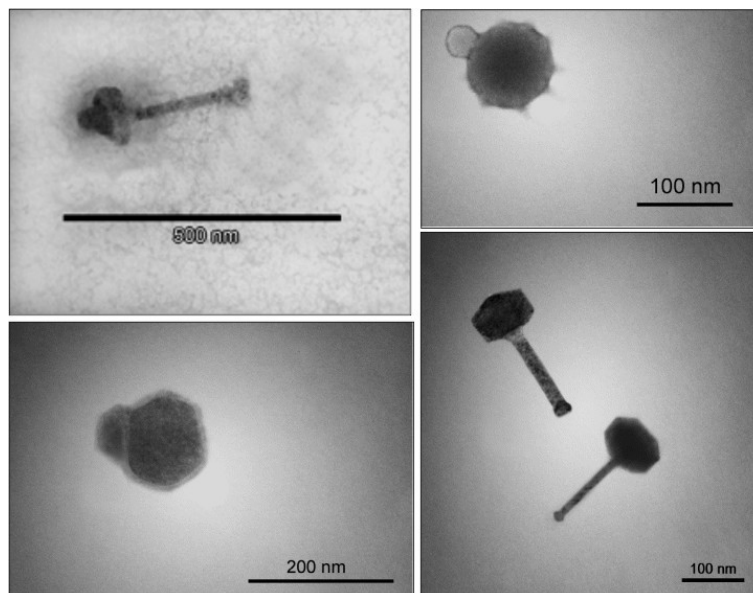


Fig.7. Unusual morphotypes of bacteriophages found in the Lake Baikal.

of phages increased to $0.03 \cdot 10^6 \text{ mL}^{-1}$, which was likely associated with a specific functioning of the microbiocenosis in the near-bottom zone of the lake.

The studies of the taxonomic composition of phages in the neuston film at the water-air interface yielded different results. Virus-like particles without a tail were the main component of the virioneuston (in the neuston microbiome)–65%. The proportion of tailed phages was lower: the contribution of members of the family *Podoviridae* reached 25%, while those of the families *Siphoviridae* and *Myoviridae* amounted to ~10% each. The surface microlayer of the Lake Baikal water column showed a significant number of filamentous phages of the family *Inoviridae* distinguished by long (up to 2000 nm) flexible and (or) rigid straight and thin curved threads. There were also phages having similar ultrastructural features with viruses of the rare families *Rudoviridae* and *Fuselloviridae* that had not been previously recorded in the lake. Small forms with a capsid diameter of 30–60 nm predominated (44%) in the size structure of phages in the neuston film at the water-air interface. Phages sized ≥ 60 –80 nm and ≥ 80 nm accounted for 28 and 23%, respectively. The occurrence frequency of phages sized ≤ 30 nm was insignificant (5%). The number of bacteriophages in the neuston film varied from $0.05 \cdot 10^6$ to $0.16 \cdot 10^6 \text{ mL}^{-1}$.

According to current concepts, 95–99% of microorganisms hosting bacteriophages in aquatic ecosystems exist in the form of specifically organized biofilms attached to the substrate, being formed on the interface. The development of biofilm communities is one of the main strategies for the survival of bacteria not only in the environment but also in infected organisms (Ilyina et al., 2004). Phages with different specificity enzymes capable of destroying the polysaccharide protection (matrix), as well as bacteria themselves, play the main role in the lysis of biofilm microorganisms (Sutherland, 2001). The activity of fouling bacteriophages leads to the formation of the biofilm structure—the appearance of cavities, channels, and pores, resulting in a disruption of its integrity. Of great interest is the search for new phages with high enzymatic activ-

ity in the destruction of biofilms consisting of pathogenic microorganisms. For the first time in oligotrophic Lake Baikal, we studied the microbiological diversity and size spectrum of bacteriophages in near-bottom biofilms formed on the natural geological rocks and artificial substrate (Dutova and Drucker, 2013; Drucker et al., 2015; Drucker et al., 2019). The results of the study of morphological composition of phages in biofilms formed on rocky substrates under natural conditions at the water-marble, water-granite, water amphibolite, water-mica, water-quartz, water-gabbro, water-urtite, and water-steel plate interfaces were different from those obtained for a neuston film. Phages of the family *Podoviridae* predominated (45–50%) in biofilms formed on geological rocks (marble, granite, and amphibolite), except for biofilms at the water-mica interface where they amounted to ~23%. These were phages with a capsid diameter of 42–55 nm and a tail length of 8–22 nm. Small tailless phage particles, hexagonal in shape, 30–52 nm in size on a plane, presumably belonging to the family *Microviridae*, ranked second in terms of occurrence (35–45%). We also identified bacteriophages of the families *Myoviridae*, *Siphoviridae*, and *Inoviridae*, as well as enveloped phages, in small or even single quantities.

Tailed forms of bacteriophages of the families *Siphoviridae* (8%), *Myoviridae* (14%), and *Podoviridae* (44%) mainly represented bacteriophages in the biofilm collected from the metal plate. Morphologically uniform particles with a diameter of 28–100 nm without a tail comprised a significant part of the community (30%), while tailless enveloped viral particles were less significant (up to 4%) in the fouling on the metal plate,

Small viral particles with a capsid diameter of 30–60 nm mostly represented (70–85%) the size structure of bacteriophages in the fouling on rocks of Lake Baikal. The size class ≥ 60 –80 nm accounted for 10–25%, while the occurrence frequency of particles sized ≥ 80 nm was insignificant. Phages sized 30–60 nm (41%) and ≥ 60 –80 nm (39%) were more common on the steel plate. Large phages belonging to the size classes ≥ 80 –100 nm and ≥ 100 nm amounted to 9 and

7%, respectively. The total number of bacteriophages in different geological environments varied significantly: $0.03 \cdot 10^6$ - $0.1 \cdot 10^6$ cm².

Thus, the first studies of autochthonous bacteriophages formed on stony substrates and a metal plate under the natural conditions of Lake Baikal demonstrated differences in morphology, size structure, and number of phages compared to other biotopes of the lake. This indicates the presence of various biological virus-host systems and their interaction mechanisms under different ecological conditions of the functioning of virioneuston and viriobenthos biofilm communities in Lake Baikal. Upon the acquisition of new knowledge about autochthonous bacteriophages in aquatic ecosystems, it becomes clear that they can significantly change the balance of life processes, interrupting many links of food chains, changing the structure of communities and, thereby, improve or worsen the self-purification processes in them.

A comparison of bacteriophage sizes, such as capsid diameter and tail length, in Lake Baikal and other lakes, seas, and oceans revealed that the characteristics of Baikal phages are significant sizes of their capsids and tails (20-254 and 8-780 nm, respectively). According to (Wommack et al., 1992; Auguet et al., 2006), virioplankton relatively homogenous in sizes, with a capsid size of 30-60 nm, predominates in seas and oceans.

The diversity of T4-like bacteriophages in Lake Baikal was first described using the capsid protein gene markers (Butina et al., 2010). The genetic diversity of T4-like bacteriophages in the surface microlayer and biofilms of biogenic and abiogenic substrates from Lake Baikal was determined for the first time. Bacteriophages from biofilms of rocks and sponges in the coastal zone appeared to be phylogenetically close to planktonic phages in the pelagic zone of the lake. Neuston phages much differed from the communities in the lake's plankton and biofilms. Surface microlayer bacteriophages from the Maloye More Strait differed significantly from other ecotopes of Lake Baikal, grouping into one cluster with sequences from polar lakes and forming a clade with Baikal cluster (Potapov et al., 2020). In most cases, the *g23* sequences had the closest uncultivated relative; therefore, it is not possible to answer the question of who hosted these viruses.

The lack of a universal genetic marker for the search and identification of viruses extremely complicates the study of viral communities, including aquatic ecosystems. In recent years, high throughput sequencing has solved many methodological issues and substantially expanded the possibilities for studying the structure, biodiversity, and functioning of viromes (Watkins et al., 2016; Skvortsov et al., 2016). For the first time, on the example of Lake Baikal, high throughput sequencing determined the genetic diversity of DNA viromes for ancient lakes on the Earth (Butina et al., 2019; 2020; Potapov et al., 2019). Bacteriophage communities from different biotopes of the lake had the greatest similarity to each other, rather than to communities from other aquatic ecosystems (Potapov et al., 2019). The taxonomic annotation of viromes indicated

the predominance of sequences belonging to bacteriophages of the families *Myoviridae*, *Siphoviridae*, and *Podoviridae* (Potapov et al., 2019; Butina et al., 2019; 2020), which was consistent with direct microscopic observation of free virus-like particles. It was also reported that sequences of the family *Myoviridae* were most frequently detected in the virome data (Potapov et al., 2019; Butina et al., 2019). The overwhelming majority among all bacteriophage sequences, both in the coastal and pelagic samples, involved sequences similar to cyanophages (Potapov et al., 2020; Butina et al., 2019).

It should be taken into account that genomes of phages of the family *Myoviridae* average 134 kbp, compared to siphoviruses and podoviruses, whose genomes average 50 kbp, and genomes of the families *Inoviridae*, *Microviridae*, and *Leviviridae* of <10 kbp (Zrelavs et al., 2020). A radical change in the current classification of phages is the abolition of the morphology-based families *Myoviridae*, *Podoviridae*, and *Siphoviridae*, as well as the removal of the order *Caudovirales* that was replaced by the class *Caudoviricetes* to group all tailed bacterial and archaeal viruses with icosahedral capsids and a double-stranded DNA genome. This change was necessary, taking into account numerous independent assessments that these morphology-based families are polyphyletic and do not accurately reflect the common evolutionary history. Twenty-two new families were identified in the class *Caudoviricetes* (Turner et al., 2023). Based on the taxonomic analysis of viromes at the class level, bacteriophages of the class *Caudoviricetes* dominated (80-94.6%) all samples from Lake Baikal, according to the current classification. The second most common class was *Megaviricetes*, eukaryotic viruses that include giant DNA viruses (except for the sample collected during the under-ice period when *Maveriviricetes* were ranked second). Their proportion was 5.6-17.9%. *Maveriviricetes* was the third most numerous class that includes virophages capable of reproducing in eukaryotic cells only in the presence of another virus (0.9-2.7%) (Potapov and Belykh, 2023). According to the new classification, phages from Lake Baikal, which previously belonged to the family *Myoviridae*, are currently classified as members of the families *Kianoviridae*, *Straboviridae*, *Peduoviridae*, and *Herelleviridae*, while phages with podoviral morphology are represented mainly by the family *Autographiviridae* and less represented by the families *Suoliviridae* and *Pachyviridae*. Sequences of phages with siphoviral morphology were minor in Baikal virome (Potapov and Belykh, 2023).

From metagenomic data on Lake Baikal water, 73 bacteriophage genomes with a length ranging from 13.8 to 163.7 kb were reconstructed. Two of them presumably belonged to cyanophages. The rest, according to the current classification, were new taxa because they did not have a significant similarity with known phages at the genomic level. Analysis of amino acid sequences identified in the reconstructed bacteriophage genomes using the PHROG (Phage Orthologous Groups) database revealed that 27.5% of them had an unknown function, while most sequences similar to the known ones (23.7%) belonged to the "DNA, RNA and

nucleotide metabolism" category. The reconstructed genomes also contained auxiliary metabolism genes (AMGs) that accelerate host metabolism during phage infection (*nadM*, *cysC*, *cobS*, *galE*, *cobT*, etc.) (Potapov et al., 2024b).

The whole genome of a new Baikal phage, PaBG, infecting the *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 strain was determined (Sykilinda et al., 2014). Bioinformatics analysis of this genome did not reveal sufficient homology with known phage genomes. Bacteriophage PaBG consists of a head with a diameter of 136 nm and a tail with a length of 220 nm, which allows it to be classified as a giant phage. It has a double-stranded DNA with a length of 258139 bp; the number of open reading frames (ORF) is 308. The PaBG genes encode their own phage RNA and DNA polymerases. This giant Baikal phage is phylogenetically distant from other pseudomonad phages and represents a novel genus of viruses, *Baikalvirus*, of the class *Caudoviricetes*, according to the modern taxonomic classification of ICTV (https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202407911&taxon_name=Baikalvirus). Molecular genetic and biological characteristics of Baikal phages infecting *Pseudomonas aeruginosa*, an opportunistic pathogen, were shown in (Sykilinda et al., 2011; Evseev et al., 2020; Evseev et al., 2021). The efficacy of the combined effect of bacteriophage and antibiotic on the biofilm containing *Pseudomonas aeruginosa* was reported in (Gorshkova et al., 2020). The conducted research allowed us to deposit two Baikal bacteriophage strains in the Bioresource Center "All-Russian Collection of Industrial Microorganisms" of the National Research Center "Kurchatov Institute". Moreover, Limnological Institute SB RAS received a patent No2831 173, 2024 for the invention "Pseudomonas phage Ka1 bacteriophage strain for the treatment and/or prevention of infectious diseases caused by *Pseudomonas aeruginosa*".

4. Conclusion

Comprehensive microbiological, virological, and molecular genetic studies of autochthonous bacteriophages in various biotopes of oligotrophic Lake Baikal, which were conducted by different authors, revealed that bacteriophages occupy an important place in the lake's ecosystem, interacting with other links in the trophic chain. V.V. Drucker, S.A. Potapov, A.S. Gorshkova, and O.I. Belykh (2020) proposed a modern microbial loop scheme, a previously unknown viral link that significantly complements the understanding of the structural and functional organization of the ecosystem of Lake Baikal, the world's deepest and oldest freshwater body. The results of the comprehensive studies can be used to control the water quality of Lake Baikal as well as to detect opportunistic and pathogenic viruses and microorganisms. Baikal bacteriophages can be also used to obtain effective prophylactic and therapeutic antibacterial agents. Nevertheless, the ecology of viruses in aquatic ecosystems around the world is still poorly understood, and many issues remain unclear to date.

Acknowledgements

This study was supported by the National Government and was carried out within the framework of State Project No. 0279-2021- 0015 "Viral and bacterial communities as the basis for the stable functioning of freshwater ecosystems".

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Ackermann H.W. 2001. Frequency of morphological phage description in the year 2000. *Archives of Virology* 146: 843-857.
- Auguet J.C., Montanie H., Lebaron P. 2006. Structure of viroplankton in the Charente estuary (France): Transmission electron microscopy versus pulsed field gel electrophoresis. *Microbial Ecology* 5: 197-208.
- Belykh O.I., Belikov S.I. 2000. Detection and recording of virus-like particles in Lake Baikal water using epifluorescence microscopy. In: Third Vereshchagin Baikal Conference, pp. 27. (in Russian)
- Bergh O., Borsheim K.Y., Bratbak G. et al. 1989. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature* 340(6233): 467-8.
- Butina T.V., Belykh O.I., Maksimenko S.Y. et al. 2010. Phylogenetic diversity of T4-like bacteriophages in Lake Baikal, East Siberia. *FEMS Microbiology Letters* 309(2): 122-129.
- Butina T.V., Potapov S.A., Belykh O.I. et al. 2012. Genetic diversity of the family *Myoviridae* cyanophages in Lake Baikal. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series "Biology. Ecology"* 5(3): 17-22
- Butina T.V., Bukin Y.S., Krasnopeev A.Yu. et al. 2019. Estimate of the diversity of viral and bacterial assemblage in the coastal water of Lake Baikal. *FEMS Microbiology Letters* 366(9): fnz094. DOI: [10.1093/femsle/fnz094](https://doi.org/10.1093/femsle/fnz094)
- Butina T.V., Petrushin I.S., Khanaev I.V. et al. 2020. Virome Analysis of Near-Bottom Coastal Water of Lake Baikal. *Microbiol Resource Announcment* 9(49): 1-3. DOI: [10.1128/mra.01241-20](https://doi.org/10.1128/mra.01241-20)
- Drucker V.V., Dutova N.V. 2009. Bacteriophages as a new trophic link in the ecosystem of the deep-water Lake Baikal. *Doklady Biological Sciences* 427: 339-342. DOI: [10.1134/S0012496609040103](https://doi.org/10.1134/S0012496609040103)
- Drucker V.V., Dutova N.V. 2006. Study of the morphological diversity of bacteriophages in Lake Baikal. *Doklady Biological Sciences* 410: 421-423. DOI: [10.1134/S001249660605022X](https://doi.org/10.1134/S001249660605022X)
- Drucker V.V., Dutova N.V. 2003. Phages of Lake Baikal. In: *Proceeding of the International Baikal Microbiological Symposium*, pp. 35. (in Russian)
- Drucker V.V., Belykh O.I., Gorshkova A.S. et al. 2019. Autochthonous bacteriophages in the structure of the "microbial loop" in different biotopes of Lake Baikal. *Contemporary Problems of Ecology* 12: 143-154. DOI: [10.1134/S1995425519020045](https://doi.org/10.1134/S1995425519020045)
- Drucker V.V., Maslennikov A.A. 1998. Coliphages of Lake Baikal and its tributaries. In: *Modern problems of ecology, nature management and resource conservation of the Baikal region. - Proceedings of the All-Union Scientific Conference - Irkutsk*, pp. 279. (in Russian)

Drucker V.V., Dutova N.V. 2005. Study of bacteriophages of Lake Baikal as a component of the natural viral community. In: Fourth Vereshchagin Baikal Conference, pp. 70-71.

Drucker V.V., Potapov S.A., Gorshkova A.S. et al. 2020. Bakteriofagi ozero Baikal. Novosibirsk: Publishing House of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. ISBN: 978-5-7692-1678-7. (in Russian)

Drucker V.V., Bondar A.A., Gorshkova A.S. et al. 2015. Search and study of autochthonous bacteriophages in various biotopes of Lake Baikal. In: Actual problems of science in the Baikal region, pp. 120-124. (in Russian)

Dutova N.V., Drucker V.V. 2013. Viral community of biofilms forming on different substrates under natural conditions of Lake Baikal. *Doklady Biological Sciences* 451: 238-240. DOI: [10.1134/S0012496613030113](https://doi.org/10.1134/S0012496613030113)

Evseev P., Lukianova A., Sykilinda N. et al. 2021. *Pseudomonas* Phage MD8: Genetic Mosaicism and Challenges of Taxonomic Classification of Lambdoid Bacteriophages. *International journal of molecular sciences* 22(19): 1-33. DOI: [10.3390/ijms221910350](https://doi.org/10.3390/ijms221910350)

Evseev P., Sykilinda N., Gorshkova A. et al. 2020. *Pseudomonas* Phage PaBG—A Jumbo Member of an Old Parasite Family. *Viruses* 12(7): 1-25. DOI: [10.3390/v12070721](https://doi.org/10.3390/v12070721)

Gorshkova A.S., Drucker V.V., Sykilinda N.N. 2020. The combined effect of bacteriophages and antibiotics on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *Antibiotics and Chemotherapy* 65(3-4):7-11. DOI: [10.37489/0235-2990-2020-65-3-4-7-11](https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-3-4-7-11) (in Russian)

Ilyina T.S., Romanova Y.M., Gintsburg A.L. 2004. Biofilms as a mode of existence of bacteria in external environment and host body: the phenomenon, genetic control, and regulation systems of development. *Russian Journal of Genetics* 40: 1189-1198. DOI: [10.1023/B:RUGE.0000048660.19958.c3](https://doi.org/10.1023/B:RUGE.0000048660.19958.c3)

Klut M.E., Stockner J.G. 1990. Virus-Like Particles in an Ultra-Oligotrophic Lake on Vancouver Island, British Columbia. *Canadian Journal Fisheries and Aquatic Sciences* 47(4): 725-730.

Maranger R., Bird D.F. 1995. Viral abundance in aquatic systems: A comparison between marine and fresh waters. *Marine Ecology Progress Series* 121(1-3): 217-226.

Noble R.T., Fuhrman J.A. 1999. Breakdown and microbial uptake of marine viruses and other lysis products. *Aquatic Microbial Ecology* 25: 943-948.

Potapov S.A., Butina T.V., Belykh O.I. et al. 2013. Genetic diversity of T4-like bacteriophages in Lake Baikal. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series "Biology. Ecology"* 6(3): 14-19.

Potapov S.A., Krasnopeev A.Yu., Tikhonova I.V. et al. 2018. Characterization of the genetic diversity of T4-like bacteriophages in benthic biofilms of Lake Baikal. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series "Biology. Ecology"* 25: 15-31. DOI: [10.26516/2073-3372.2018.25.15](https://doi.org/10.26516/2073-3372.2018.25.15)

Potapov S.A., Tikhonova I.V., Krasnopeev A.Yu. et al. 2019. Metagenomic Analysis of Virioplankton from the Pelagic Zone of Lake Baikal. *Viruses* 11(11): 1-15. DOI: [10.3390/v11110991](https://doi.org/10.3390/v11110991)

Potapov S., Belykh O., Krasnopeev A. et al. 2020. Diversity and biogeography of bacteriophages in biofilms of Lake Baikal based on g23 sequences. *Journal of Great Lakes Research* 46(1): 4-11. DOI: [10.1016/j.jglr.2019.06.007](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2019.06.007)

Potapov S.A., Tikhonova I.V., Krasnopeev A.Yu. et al. 2022. Communities of T4-like bacteriophages associated with bacteria in Lake Baikal: diversity and biogeography. *PeerJ* 10:e12748. DOI: [10.7717/peerj.12748](https://doi.org/10.7717/peerj.12748)

Potapov S., Krasnopeev A., Tikhonova I. et al. 2022. The Viral Fraction Metatranscriptomes of Lake Baikal. *Microorganisms* 10: 1937. DOI: [10.3390/microorganisms10101937](https://doi.org/10.3390/microorganisms10101937)

Potapov S.A., Belykh O.I. 2023. Virophages Found in Viromes from Lake Baikal. *Biomolecules* 13(12): 1-16. DOI: [10.3390/biom13121773](https://doi.org/10.3390/biom13121773)

Potapov S.A., Tikhonova I.V., Krechetova E.L. et al. 2024. T4-Like Cyanophages of Lake Baikal: Genetic Diversity and Biogeography. *Microbiology* 93(2): 213-216. DOI: [10.31857/S0026365624020216](https://doi.org/10.31857/S0026365624020216)

Potapov S.A., Tupikin A.E., Tikhonova I.V. et al. 2024. Search for putative complete and near-complete genomes of DNA-containing viruses in metagenomes obtained from the Lake Baikal. *Limnology and Freshwater Biology* 4: 1050-1065. DOI: [10.31951/2658-3518-2024-A-4-1050](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2024-A-4-1050)

Proctor L.M., Fuhrman J.A. 1990. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria. *Nature* 343: 60-62.

Skvortsov T., De Leeuwe C., Quinn J.P. et al. 2016. Metagenomic characterisation of the viral community of lough neagh, the largest freshwater lake in Ireland. *PLoS One* 11(2): 1-19.

Sutherland I.W. 2001. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Journal of Microbiology UK* 147: 3-9.

Suttle C.A. 2005. Viruses in the sea. *Nature* 437(7057): 356-361.

Sykilinda N.N., Bondar A.A., Gorshkova A.S. et al. 2014. Complete Genome Sequence of the Novel Giant *Pseudomonas* Phage PaBG. *Genome Announcements* 2(1): e00929-13.

Sykilinda N.N., Kovadlo A.S., Kadykov V.A. et al. 2011. Molecular genetic and biological characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages in Lake Baikal. In: *Proceedings of the 3rd Baikal Microbiological Symposium with international participation. BSM-2011*, pp. 130-133. (in Russian)

Turner D., Shkoporov A.N., Lood C. et al. 2023. Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names: 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. *Archives of Virology* 168(74): 1-9. DOI: [10.1007/s00705-022-05694-2](https://doi.org/10.1007/s00705-022-05694-2)

Watkins S.C., Kuehnle N., Ruggeri C.A. et al. 2016. Assessment of a metaviromic dataset generated from near-shore Lake Michigan. *Marine Freshwater Resources* 67(11): 1700.

Weinbauer M.G. 2004. Ecology of prokaryotic viruses. *Journal FEMS Microbiological Reviews* 28: 127-181.

Weitz J.S., Wilhelm S.W. 2012. Ocean viruses and their effects on microbial communities and biogeochemical cycles. *F1000 Reports Biology* 4(17): 1-8.

Wommack K.E., Colwell R.R. 2000. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Journal Microbiology Molecular Biology Review* 64: 69-114.

Wommack K.E., Hill R.T., Kessel M. et al. 1992. Distribution of viruses in the Chesapeake Bay. *Applied Environmental Microbiology* 58(9): 2965-2970.

Zheng Y.Z., Webb R., Greenfield P. et al. 1996. Improved method for counting virus like particles. *Journal Virological Methods* 62(2): 153-159.

Zrelavs N., Dislers A., Kazaks A. et al. 2020. Motley Crew: Overview of the Currently Available Phage Diversity. *Frontiers Microbiology* 29(11): 579452. DOI: [10.3389/fmicb.2020.579452](https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.579452)

Бактериофаги озера Байкал – в структуре новой международной классификации ICTV (аналитический обзор)

Аналитический обзор

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGYДрюккер В.В.*^{id}, Горшкова А.С.^{id}

Лимнологический институт Сибирское отделение Российской академии наук, ул. Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033, Россия

АННОТАЦИЯ. Проведен анализ результатов исследований из литературных источников впервые изученного нового звена «микробной петли» экосистемы озера Байкал – автохтонных бактериофагов. За короткий период времени с использованием самых современных методов исследования установлено значительное таксономическое разнообразие фагов в различных биотопах озера во все сезоны года и на всех глубинах. Впервые проведено изучение размерной структуры и численности байкальских бактериофагов, впервые выяснено генетическое разнообразие Т4-подобных фагов поверхностного микрослоя и биопленок биогенных и абиогенных субстратов озера. Определен полный геном нового гигантского байкальского бактериофага РаBG. Он был ратифицирован международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV) как новый род *Baikalvirus*.

Ключевые слова: озеро Байкал, автохтонные бактериофаги, электронно-микроскопические, вирусологические, молекулярно-генетические методы, таксономическое разнообразие, современная «микробная петля»

Для цитирования: Дрюккер В.В., Горшкова А.С. Бактериофаги озера Байкал – в структуре новой международной классификации ICTV (аналитический обзор) // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 4. - С. 566-582. DOI: 10.31951/2658-3518-2025-A-4-566

1. Введение

В последние десятилетия в водах морей и океанов установлена высокая численность вирусных частиц – до 10^8 частиц/мл, которая значительно превышает численность всех других организмов водных экосистем (Bergh et al., 1989; Proctor and Fuhrman, 1990; Wommack and Colwell, 2000; Weinbauer, 2004). В 1990 г. М.Е. Klut, J.G. Stockner (1990) в ультраолиготрофном озере Спроат (Канада) обнаружили вирусоподобные частицы в количестве около 10^7 частиц/мл воды, различного размера – 60-200 нм. По данным трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ), фаги представляли собой пяти-, шестисторонние головки с отчетливо видимым придатком (хвостом). Были обнаружены фаговые частицы, как не прикрепленные к клеткам, так и ассоциированные с ними, установлена большая их численность в весеннее время. Коэффициент численности фагов к бактериям составлял 3:1. Соотношение фаг/бактерия используется для сравнения между популяциями вириопланктона и бак-

териопланктона, и как выяснено, в пресноводных экосистемах оно выше, чем в морских (Maranger and Bird, 1995).

Выяснено, что бактериофаги (фаги) относятся к числу наиболее мощных биологических факторов, контролирующих разнообразие и численность своих хозяев, а также продуктивность водных экосистем, принимая активное участие в биогеохимических циклах. Большое разнообразие и повсеместная распространенность вирусов в водных экосистемах (как в морских, так и в пресноводных), а также их различные функции, свидетельствуют об их экологической важности в жизненных процессах водоемов. Недостаточная изученность вириопланктона в пресноводных экосистемах открывает большие возможности для исследования этих сравнительно новых, причем – самых многочисленных биологических объектов. Вирусы бактерий и водорослей являются общепризнанными активными участниками «микробной петли» - участка трофической цепи, ответственного за циркуляцию растворимого органического вещества, и это наиболее значимое

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: drucker@lin.irk.ru (В.В. Дрюккер)

Поступила: 15 июля 2025; **Принята:** 04 августа 2025;

Опубликована online: 31 августа 2025

© Автор(ы) 2025. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



свойство их в функционировании водных экосистем (Noble and Fuhrman, 1999; Suttle, 2005; Weitz and Wilhelm, 2012). Эти новые знания изменили сложившиеся представления о структуре и функционировании «микробной петли» водных экосистем. Подобные исследования особенно актуальны для малоизученных пресноводных экосистем, а для озера Байкал в настоящее время большое значение имеет проблема сохранения высокого качества воды. И в решении этой актуальной глобальной задачи существенную роль играют исследования структуры и функционирования микробного и вирусного населения озера в современный период глобального потепления, поскольку они выполняют основную функцию самоочищения от различных видов загрязнения.

2. Материалы и методы

Исследования колифагов озера Байкал и его притоков были начаты в 1998 году (Дрюккер и Масленников, 1998). Методом эпифлуоресцентной микроскопии (ЭФМ) в озере были обнаружены вирусные частицы (Белых и Беликов, 2000). Для изоляции фагов из природных образцов воды и культивирования их был использован общепринятый подход, а в дальнейшем, для их изучения - ТЭМ, что позволило получить наиболее точное и полное представление о морфологии, численности и пространственном распределении их (Дрюккер и Дутова, 2003; 2005; 2006). Для поиска и изучения автохтонных бактериофагов отбор проб воды и нейстона проведен в литорали и пелагиали озера Байкал в весенний, летний, осенний и зимний периоды 2002-2015 гг. Для исследования бактериофагов природных биопленок, образованных на естественных геологических породах (гранит, мрамор, слюда, кварц, амфиболит, габбро, уртит) и на стальной пластине водолазами были взяты образцы, экспонированные в условиях природного эксперимента, продолжавшегося 5 лет в литорали на глубине 3 м. Для электронно-микроскопического изучения взятые стерильно пробы воды осаждали с помощью ультрацентрифуг Beckman L8-55 и Sorvall Discovery 96 SE. Из каждой пробы готовились по две сетки, на которых учитывали фаговые частицы различных морфологических групп в 100 полях зрения, подсчет численности проводили в двух проворностях (Zheng et al., 1996). Препараты фагов исследовались в трансмиссионном электронном микроскопе LEO-906E (Karl Zeiss, Германия). Идентификацию бактериофагов проводили по морфологическим признакам согласно существовавшей международной классификации (Ackermann, 2001). Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью Microsoft Excel 2010.

Молекулярные методы исследования заключались в секвенировании гена основного капсидного белка g23 и гена порталного белка g20 T4-подобных бактериофагов по методу Сенгера и с помощью высокопроизводительного секвенирования (Butina et al., 2010; Бутина и др., 2012; Потапов

и др., 2013; 2018; Potapov et al., 2020; 2022a; 2024a). Также было выполнено метагеномное и метатранскриптомное секвенирование вирусного сообщества (фракция менее 0,2 мкм), для чего были отобраны пробы воды объемом по 25 л в 3 котловинах озера и проливе Малое Море в различные сезоны (Potapov et al., 2019; 2020; 2022b; 2024a). Биоинформатический анализ выполнен с помощью ряда программ SPAdes v.3.13.0, Virsorter v.1.0.3, BWA v.0.7.17, SAMtools v.1.9 et al. и баз данных RefSeq и GenBank. Также проведена оценка β -разнообразия вирусных сообществ: 1) на основе аминокислотных последовательностей гена g20, g23, применяя метрику UniFrac; 2) на основе таксонов вирусных сообществ с применением иерархического кластерного анализа (Potapov et al., 2018; 2019).

3. Результаты и обсуждение

Впервые в самом древнем и глубоководном олиготрофном озере Байкал в 2001-2003 гг. методом ТЭМ во всей водной толще до максимальных глубин были обнаружены автохтонные бактериофаги. Из известных в то время семейств ДНК- и РНК-содержащих фагов (по данным Международного комитета по таксономии вирусов, ICTV) в различных биотопах озера впервые найдено, идентифицировано и изучены семейства: *Siphoviridae*, *Myoviridae*, *Podoviridae*, *Inoviridae* (Дрюккер и Дутова, 2003; 2005; 2006). Кроме того, были обнаружены четыре морфологических типа фагов неизвестного систематического положения, возможно «эндемичные». Таким образом, большое биоразнообразие, характерное для флоры и фауны оз. Байкал, относится и к бактериофагам.

Бактериофаги найдены во все сезоны года в сообществах различных биотопов оз. Байкал: нейстоне, планктоне, бентосе и поэтому их можно считать автохтонными, так как их обнаруживали постоянно в многолетних исследованиях в течении всех сезонов года на различных глубинах – от поверхности до 1200 м (максимальная глубина исследований) (Дрюккер и Дутова, 2009). Для глубоководной олиготрофной экосистемы оз. Байкал была впервые установлена вполне четкая закономерность: большинство найденных фагов (76 %) принадлежали отряду *Caudovirales* – хвостатых фагов с икосаэдрическими головками, объединяющему в зависимости от размеров и сократимости хвостовых отростков три семейства: *Siphoviridae*, *Podoviridae*, *Myoviridae*. Среди них преобладали – 40-59 % фаги с длинными несократимыми хвостовыми отростками, представляющими семейство *Siphoviridae* (Рис. 1, 2). Это фаги с различной формой капсида, размер которого варьировал от 20 до 254 нм, длина отростка составляла 45-780 нм. Следующим по встречаемости – 11-32 %, были бактериофаги семейства *Podoviridae* с коротким несократимым хвостовым отростком без базальной пластинки (Рис. 3). Размер капсида составлял 40-73 нм, длина хвостовых отростков 8-29 нм. Бактериофаги семейства *Myoviridae* имели размер капсида 69-143 нм, длину хвостовых отрост-

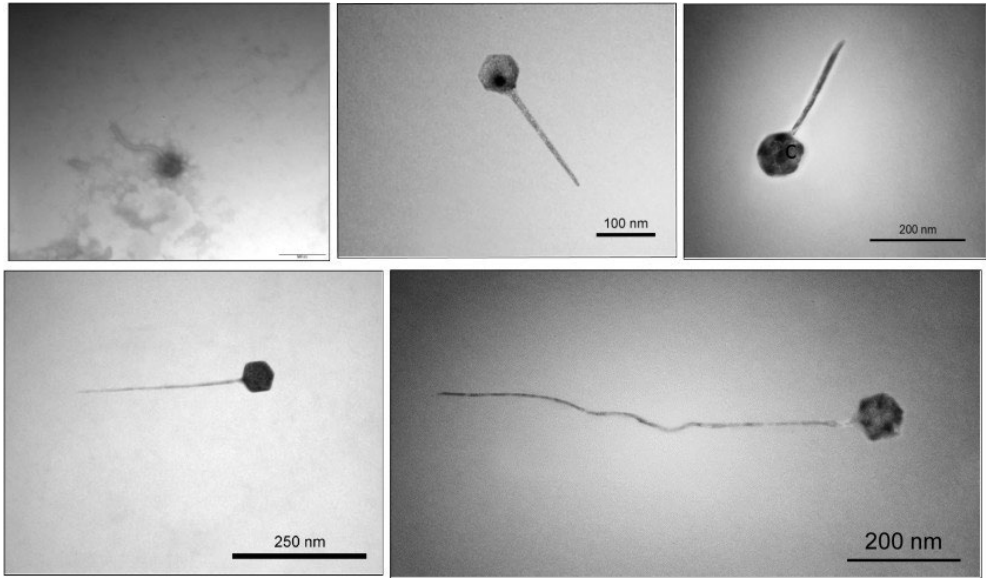


Рис.1. Трансмиссионная электронная микроскопия сифовирусов (ранее классифицированных как семейство *Siphoviridae*).

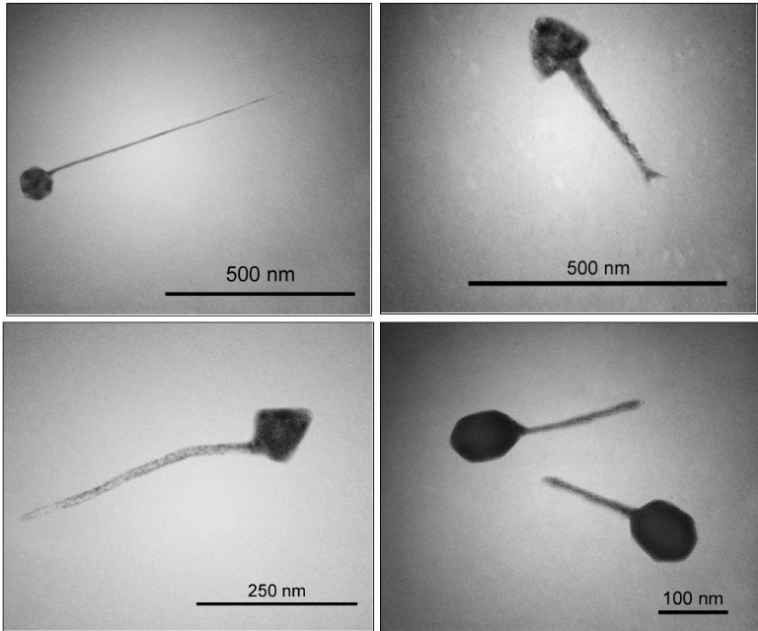


Рис.2. Трансмиссионная электронная микроскопия сифовирусов (ранее классифицированных как семейство *Siphoviridae*).

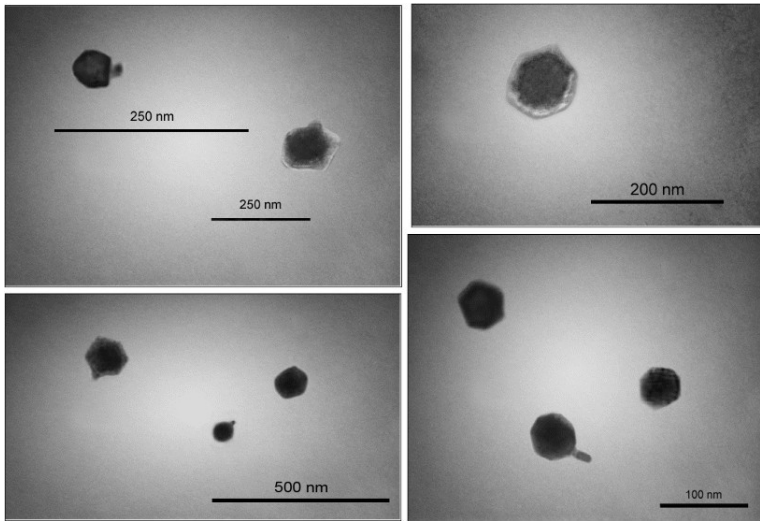


Рис.3. Трансмиссионная электронная микроскопия подовирусов (ранее классифицированных как семейство *Podoviridae*).

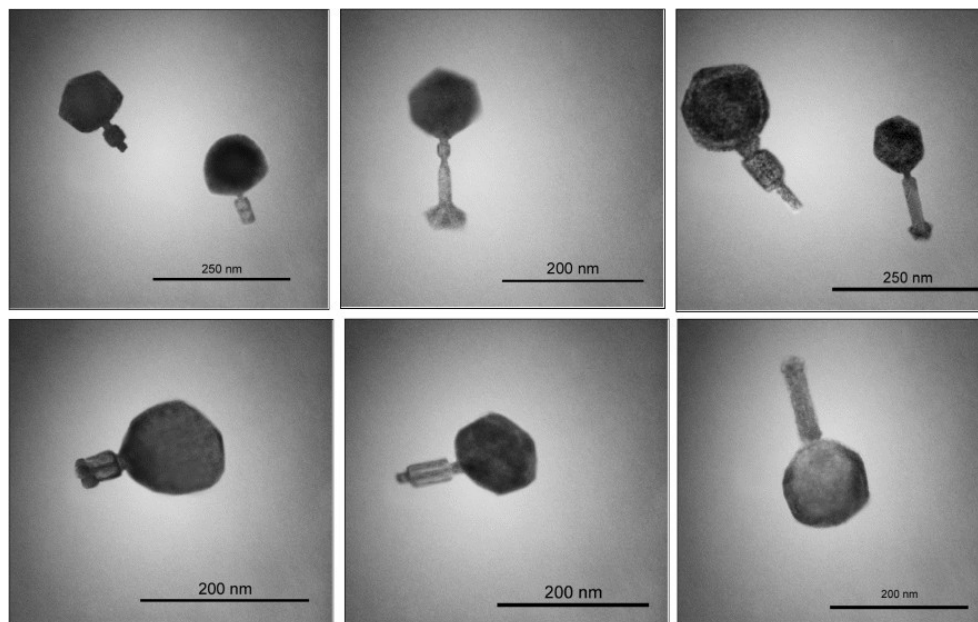


Рис.4. Трансмиссионная электронная микроскопия миовирусов (ранее классифицированных как семейство *Myoviridae*).

ков 25-326 нм, длину чехлов 15-121 нм, их доля в планктоне озера достигала 6-25 % (Рис. 4, 5). Они отличались сложной структурной организацией сократимого хвостового отростка. Базальная пластинка этих фагов снабжена разного рода структурами: зубцеобразными, войлочными придатками и шаровидными телами на концах отростков. В вириопланктоне оз. Байкал в небольшом количестве встречались вирусоподобные частицы без хвостового отростка, фаги семейства *Inoviridae* (нитчатые) (Рис. 6). Особый интерес представляют обнаруженные морфотипы бактериофагов, которые не представлены в классификации Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV) и не описаны авторами для других водных экосистем (возможно, эндемичные для Байкала)- Рис. 7. Так, в летний период найдены вирионы с головкой в форме «юлы». Особенностью морфологии фагов является наличие шиповидных выростов длиной около 7 нм,

радиально отходящих от капсида. Кроме того, найдены фаги с двумя четко дифференцированными оболочками и толстым хвостовым отростком. Также найдены фаги в форме «молотка» с головкой, вытянутой перпендикулярно хвосту. Большинство хвостатых фагов отряда *Caudovirales* – до 96 %, также обнаруживают в морях и океанах (Ackermann, 2001), причем 67-87 % принадлежат семейству *Siphoviridae*, и в меньшем количестве семейству *Myoviridae* – 7-14 % и *Podoviridae* – 5-19 %.

Численность свободных фаговых частиц в воде оз. Байкал в различные сезоны года изменялась от $0.58 \cdot 10^6$ мл⁻¹ на поверхности до $0.01 \cdot 10^6$ на глубине 1000 м. Наибольшая численность фагов отмечалась в весенний и летне-осенний периоды в поверхностном слое воды. Минимальное количество бактериофагов наблюдалось в зимний период на глубине 1000 м. Подобная сезонная закономерность в развитии численности фагов, как и верти-

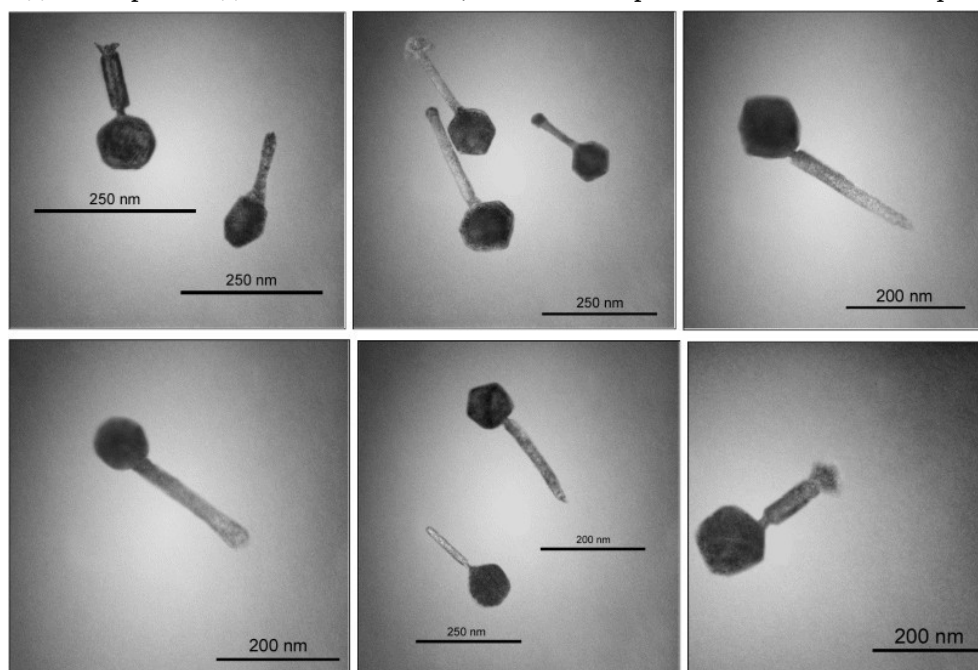


Рис.5. Трансмиссионная электронная микроскопия миовирусов (ранее классифицированных как семейство *Myoviridae*).

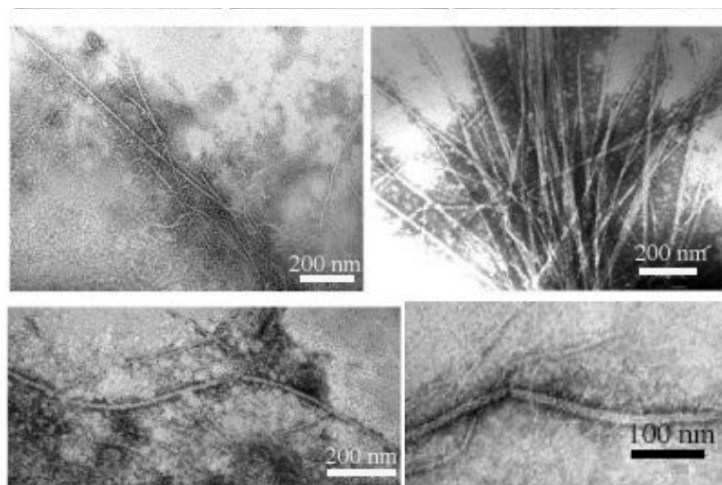


Рис.6. Трансмиссионная электронная микроскопия нитчатных вирусоподобных частиц.

кальное распределение их, согласуется с динамикой общей численности бактерий в воде озера. В вертикальном распределении бактериофагов отмечена общая закономерность – снижение их количества с глубиной. Однако у дна озера на 1200 м происходит увеличение численности фагов до $0.03 \cdot 10^6$ мл⁻¹, что, очевидно, сопряжено с особенностью функционирования микробиоценоза в придонной зоне озера.

Проведенные исследования таксономического состава фагов нейстонной пленки, находящейся на границе фаз вода-воздух, дали иные результаты. Основным компонентом вирионейстона (в составе микробиома нейстона) являлись вирусоподобные частицы без хвостового отростка – 65%. Доля хвостатых фагов в нейстоне оказалась ниже: вклад представителей семейства *Podoviridae* достигал 25 %, а семейства *Siphoviridae* и *Myoviridae* составлял около 10 % каждый. В поверхностном микрослое водной толщи Байкала в значительном количестве найдены нитчатые фаги семейства *Inoviridae*, отличающиеся длинными (до 2000 нм) гибкими и (или) жесткими прямыми и тонкими изогнутыми нитями. Найдены также фаги, обладающие сходными ультраструктурными признаками с вирусами редких семейств *Rudoviridae* и *Fuselloviridae*, которые ранее в

озере не регистрировались. В размерной структуре фагов нейстонной пленки на границе вода-воздух преобладали мелкие формы с диаметром капсида 30-60 нм (44 %). Фаги размером ≥ 60 -80 нм и ≥ 80 нм составляли 28 и 23 % соответственно. Частота встречаемости фагов размером ≤ 30 нм оказалась незначительной (5 %). Численность бактериофагов в нейстонной пленке варьировала от $0.05 \cdot 10^6$ до $0.16 \cdot 10^6$ мл⁻¹.

По современным представлениям, 95-99 % микроорганизмов-хозяев бактериофагов в водных экосистемах существуют в виде специфически организованных, прикрепленных к субстрату биопленок, формирующихся на поверхности раздела фаз. Развитие биопленочных сообществ – одна из основных стратегий выживания бактерий не только в окружающей среде, но и в инфицируемых организмах (Ильина и др., 2004). Основную роль в лизисе биопленочных микроорганизмов выполняют фаги, обладающие ферментами разной специфичности, способные разрушать полисахаридную защиту (матрикс), и сами бактерии (Sutherland, 2001). Активность бактериофагов обрастаний приводит к формированию структуры биопленки – появлению полостей, каналов, пор, и вследствие этого проис-

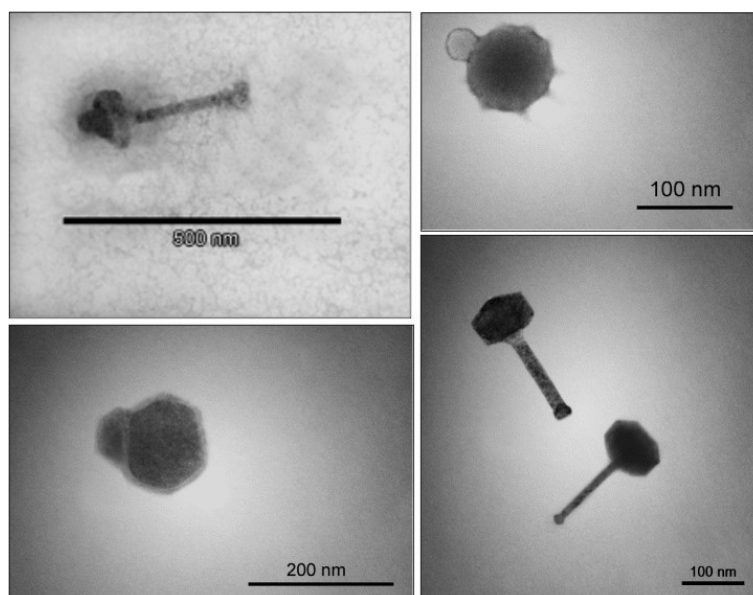


Рис.7. Необычные морфотипы бактериофагов, найденные в озере Байкал.

ходит нарушение ее целостности. Большой интерес вызывает поиск новых фагов, обладающих высокой ферментативной активностью в разрушении биопленок патогенных микроорганизмов. Впервые в олиготрофном озере Байкал исследовано морфологическое разнообразие и размерный спектр бактериофагов придонных биопленок, образованных на естественных геологических породах и искусственном субстрате (Дутова и Дрюккер, 2013; Дрюккер и др., 2015; 2019). Проведенное исследование морфологического состава фагов биопленок, формирующихся на каменистых субстратах в естественных условиях на границе фаз: вода-мрамор, вода-гранит, вода-амфиболит, вода-слюда, вода-кварц, вода-габбро, вода-уртит, а также вода-стальная пластина, дало результаты, отличные от полученных с нейстонной пленкой. В биопленках, образованных на геологических породах (мраморе, граните и амфиболите), доминировали – 45-50 % фаги семейства *Podoviridae*, за исключением биопленок на границе вода-слюда, где они составляли около 23 %. Это фаги с диаметром капсида 42-55 нм и длиной хвостового отростка 8-22 нм. На втором месте по встречаемости были мелкие бесхвостые фаговые частицы – 35-45 %, гексагональной формы размером 30-52 нм на плоскости, предположительно относящиеся к семейству *Microviridae*. Обнаружены также бактериофаги семейств *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Inoviridae* и оболочечные в небольшом и даже единичном количестве.

Основная часть бактериофагов биопленки, взятой с металлической пластины, представлена хвостатыми формами семейств *Siphoviridae* – 8 %, *Myoviridae* – 14 %, *Podoviridae* – 44 %. Значительную часть сообщества – 30 % составляли морфологически однотипные частицы диаметром 28 – 100 нм без хвостового отростка, менее значимы – до 4 % в обрастаниях на металлической пластине были бесхвостые оболочечные вирусные частицы.

Размерная структура бактериофагов обрастаний на горных породах оз. Байкал в большей степени – 70-85 % представлена мелкими вирусными частицами с диаметром капсида 30-60 нм. Размерный класс ≥ 60 -80 нм составил 10-25 %, а частота встречаемости частиц размером ≥ 80 нм оказалась незначительной. На стальной пластине более часто встречались фаги размером 30-60 нм – 41 % и ≥ 60 -80 нм – 39 %. Крупные фаги, относящиеся к размерным классам ≥ 80 -100 нм и ≥ 100 нм составляли 9 и 7 % соответственно. Общая численность бактериофагов на различных геологических средах изменялась в значительных пределах: $0.03 \cdot 10^6$ – $0.1 \cdot 10^6$ см².

Таким образом, впервые проведенные исследования автохтонных бактериофагов, формирующихся на каменистых субстратах и на металлической пластине в природных условиях оз. Байкал, установили различия в морфологии, размерной структуре и численности фагов по сравнению с другими биотопами озера. Это указывает на наличие различных биологических систем вирус-хозяин и механизмов их взаимодействия в отличающихся

экологических условиях функционирования биопленочных сообществ вирионейстона и вириобентоса оз. Байкал. С получением новых знаний об автохтонных бактериофагах в водных экосистемах становится понятным, что они могут существенно менять баланс жизненных процессов, прерывая многие звенья пищевых цепей, изменяя структуру сообществ, и вследствие этого улучшать или ухудшать происходящие процессы самоочищения в них.

Сравнение размеров бактериофагов – диаметр капсида и длина хвостового отростка, в оз. Байкал и в других изученных озерах, морях и океанах показало, что особенностями байкальских фагов являются значительные размеры их капсидов и хвостовых отростков: 20-254 и 8-780 нм соответственно. По данным (Wommack et al., 1992; Auguet et al., 2006), в морях и океанах доминирует относительно гомогенный по размерам вириопланктон с величиной капсидов 30-60 нм.

Разнообразие Т4-подобных бактериофагов в оз. Байкал впервые описано с использованием маркеров к гену капсидного белка (Butina et al., 2010). Впервые установлено генетическое разнообразие Т4-подобных бактериофагов поверхностного микрослоя, биопленок биогенных и абиогенных субстратов из оз. Байкал. Оказалось, что бактериофаги биопленок камней и губок в прибрежной зоне филогенетически близки с планктонными фагами пелагиали озера. Нейстонные фаги в большей степени отличаются от сообществ планктона и биопленок озера. Бактериофаги поверхностного микрослоя из пролива Малое Море имеют заметное отличие от других экотопов оз. Байкал, они группируются в один кластер с последовательностями из полярных озер, образуя совместную кладу с «байкальским» кластером (Potapov et al., 2020). В большинстве случаев последовательности *g23* имели ближайшего некультивированного родственника, поэтому нельзя ответить на вопрос, кто являлся хозяином этих вирусов.

Отсутствие универсального генетического маркера для поиска и идентификации вирусов чрезвычайно затрудняет изучение вирусных сообществ, включая водные экосистемы. В последние годы применение метода высокопроизводительного секвенирования позволило решить многие методические вопросы и значительно расширило возможности изучения структуры, биоразнообразия и функционирования виромов (Watkins et al., 2016; Skvortsov et al., 2016). Впервые для древних озер Земли с помощью высокопроизводительного секвенирования на примере оз. Байкал установлено генетическое разнообразие ДНК-содержащих виромов (Butina et al., 2019, 2020, Potapov et al., 2019). Сообщество бактериофагов из различных биотопов озера имеют наибольшее сходство друг с другом, а не с сообществами из других водных экосистем (Potapov et al., 2019). Таксономическая аннотация виромов показала преобладание последовательностей, принадлежащих бактериофагам семейства *Myoviridae*, *Siphoviridae* и *Podoviridae* (Potapov et al., 2019; Butina et al., 2019; 2020), что согласуется с

прямым микроскопическим наблюдением свободных вирусоподобных частиц. Также сообщается, что последовательности семейства *Myoviridae* чаще других выявляются в виромных данных (Potapov et al., 2019, Butina et al., 2019). Последовательности сходные с цианофагами, составляли подавляющее большинство среди всех последовательностей бактериофагов как в прибрежном образце, так и в пелагических (Potapov et al., 2020, Butina et al., 2019).

Следует учитывать тот факт, что геномы фагов семейства *Myoviridae* в среднем составляют 134 тыс. пар оснований, по сравнению с сифовирусами и подовирусами, геном которых в среднем имеет 50 тыс. пар оснований, а геномы семейств *Inoviridae*, *Microviridae* *Leviviridae* менее -10 тыс. пар оснований (Zrellov et al., 2020). Радикальным изменением в современной классификации фагов является отмена основанных на морфологии семейств *Myoviridae*, *Podoviridae* и *Siphoviridae* и удаление порядка *Caudovirales*, который заменен классом *Caudoviricetes* для группировки всех хвостатых бактериальных и архейных вирусов с икосаэдрическими капсидами и двухцепочечным ДНК-геномом. Это изменение было необходимо, учитывая многочисленные независимые оценки того, что эти основанные на морфологии семейства являются полифилетическими и неточно отражают общую эволюционную историю. Двадцать два новых семейства были выделены в классе *Caudoviricetes* (Turner et al., 2023). Согласно таксономическому анализу виромов на уровне классов, во всех образцах из озера Байкал по текущей классификации, доминировали бактериофаги класса *Caudoviricetes* (80–94,6%). Вторым по распространенности классом оказались *Megaviricetes* – вирусы эукариот, к которому относятся гигантские ДНК-вирусы (за исключением образца, отобранного в подледный период, где второе место заняли *Maveriviricetes*). Их доля составила 5,6–17,9%. Третьим по численности классом стали *Maveriviricetes*, включающие вирофаги, которые могут размножаться в эукариотических клетках только в присутствии другого вируса (0,9–2,7%). (Potapov and Belykh, 2023). По новой классификации фаги из озера Байкал, ранее относящиеся к семейству *Myoviridae*, на данный момент классифицируются как представители семейств *Kianoviridae*, *Straboviridae*, *Peduoviridae*, *Herelleviridae*, фаги с подовирусной морфологией представлены в основном семейством *Autographiviridae* и менее семействами *Suoliviridae*, *Pachyviridae*. Последовательности фагов с сифовирусной морфологией незначительно представлены в байкальском виrome (Potapov and Belykh, 2023).

Восстановлено 73 генома бактериофагов из метагеномных данных из воды оз. Байкал длиной от 13,8 тыс. до 163,7 тыс нк. Два из них принадлежат предположительно цианофагам. Остальные по современной классификации являются новыми таксонами, так как на геномном уровне не имеют значительного сходства с известными фагами. Анализ аминокислотных последовательностей, идентифицированных в собранных геномах бакте-

риофагов с использованием базы данных PHROG (Phage Orthologous Groups), показал, что 27,5% из них имеют неизвестную функцию, в то время как большинство последовательностей имеющие сходство с известными (23,7%) относятся к категории «Метаболизм ДНК, РНК и нуклеотидов». Также в собранных геномах были обнаружены гены вспомогательного метаболизма (AMGs), которые ускоряют метаболизм хозяина в ходе инфекции (*nadM*, *cysC*, *cobS*, *galE*, *cobT* et al) (Potapov et al., 2024b).

Определен полный геном нового байкальского фага PaBG, инфицирующего штамм *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (Sykilinda et al., 2014). Биоинформационный анализ этого генома не выявил существенной гомологии с известными геномами фагов. Бактериофаг PaBG состоит из головки диаметром 136 нм и хвоста длиной 220 нм, что позволяет отнести его к гигантским фагам. Он имеет двухцепочечную ДНК длиной 258139 п.н., количество открытых рамок считывания (ORF) составляет 308. Гены PaBG кодируют собственные фаговые РНК- и ДНК-полимеразы. Этот гигантский байкальский фаг филогенетически отделен от других фагов псевдомонад и представляет новый род вирусов *Baikalvirus* класса *Caudoviricetes* согласно современной таксономической классификации ICTV (https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202407911&taxon_name=Baikalvirus). Молекулярно-генетические и биологические характеристики байкальских фагов, инфицирующих оппортунистического патогена *Pseudomonas aeruginosa* даны в работах (Sykilinda et al., 2011; Evseev et al., 2020; Evseev et al., 2021). Эффективность совместного воздействия бактериофага и антибиотика на биопленку *Pseudomonas aeruginosa* показана в работе (Горшкова и др., 2020). Проведенные исследования позволили депонировать два байкальских штамма бактериофагов в Биоресурсном Центре Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов Национального Исследовательского Центра «Курчатовский институт». Также Лимнологический институт СО РАН получил патент №2831 173, 2024 на изобретение «Штамм бактериофага *Pseudomonas phage Ka1* для лечения и/или профилактики инфекционных заболеваний, вызываемых *Pseudomonas aeruginosa*».

4. Заключение

Проведенные различными авторами комплексные микробиологические, вирусологические и молекулярно-генетические исследования автохтонных бактериофагов в различных биотопах олиготрофного оз. Байкал позволили установить, что бактериофаги занимают важное место в экосистеме озера, взаимодействуя с другими звеньями трофической цепи. В.В. Дрюккер, С.А. Потаповым, А.С. Горшковой и О.И. Белых (2020) была предложена современная схема «микробной петли», ранее не известное вирусное звено, которое существенно дополняет представления о структурно – функциональной организации экосистемы оз. Байкал,

самого глубокого и самого древнего пресного водоема на Земле. Полученные результаты комплексных исследований могут быть использованы для контроля качества воды оз. Байкал, выявления условно-патогенных и патогенных вирусов и микроорганизмов. Показано, что байкальские бактериофаги могут использоваться и для получения эффективных лечебных и профилактических антибактериальных препаратов. Тем не менее, экология вирусов водных экосистем мира все еще мало изучена, и многие вопросы остаются до настоящего времени невыясненными.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта № 0279-2021- 0015 “Вирусные и бактериальные сообщества как основа стабильного функционирования пресноводных экосистем”.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Белых О.И., Беликов С.И. 2000. Выявление и учет вирусоподобных частиц в байкальской воде с помощью эпифлуоресцентной микроскопии. В: Третья Верещагинская Байкальская конференция, С. 27.

Бутина Т.В., Потапов С.А., Белых О.И. и др. 2012. Генетическое разнообразие цианофагов семейства Myoviridae в озере Байкал. Известия ИГУ. Серия ‘Биология. Экология’ 5 (3): 17-22.

Горшкова А.С., Дрюккер В.В., Сыкилинда Н.Н. 2020. Совместное воздействие бактериофагов и антибиотика на биоплёнку *Pseudomonas aeruginosa*. Антибиотики и химиотерапия 65(3-4): 7-11.

Дрюккер В.В., Белых О.И., Горшкова А.С. и др. 2019. Автохтонные бактериофаги в структуре «микробной петли» различных биотопов озера Байкал. Сибирский экологический журнал 2: 177-191.

Дрюккер В.В., Бондарь А.А., Горшкова А.С. и др. 2015. Поиск и исследование автохтонных бактериофагов в различных биотопах оз. Байкал. В: Search and study of autochthonous bacteriophages in various biotopes of Lake Baikal. In: Актуальные проблемы науки Прибайкалья, С. 120-124.

Дрюккер В.В., Дутова Н.В. 2003. Фаги озера Байкал. В: Международный Байкальский микробиологический Симпозиум, С. 35.

Дрюккер В.В., Дутова Н.В. 2005. Изучение бактериофагов озера Байкал как составной части естественного вирусного сообщества. В: Четвертая Верещагинская Байкальская Конференция, С. 70-71.

Дрюккер В.В., Дутова Н.В. 2006. Изучение морфологического разнообразия бактериофагов озера Байкал. Доклады Академии наук 410: 847–849.

Дрюккер В.В., Дутова Н.В. 2009. Бактериофаги как новое трофическое звено в экосистеме глубоководного озера Байкал. Доклады Академии наук 427: 277–281.

Дрюккер В.В., Масленников А.А. 1998. Коли-фаги озера Байкал и его притоков. В: Современные проблемы экологии, природопользования и ресурсосбережения

Прибайкалья, С. 279.

Дрюккер В.В., Потапов С.А., Горшкова А.С. и др. 2020. Бактериофаги озера Байкал. Новосибирск: Издательство Сибирского отделения Российской Академии Наук. ISBN: 978-5-7692-1678-7.

Дутова Н.В., Дрюккер В.В. 2013. Вирусное сообщество биопленок, формирующихся на различных субстратах в природных условиях озера Байкал. Доклады Академии Наук 450(4): 468-470.

Ильина Т.С., Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. 2004. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития. Генетика 40(11): 1445-1456.

Потапов С.А., Бутина Т.В., Белых О.И. и др. 2013. Генетическое разнообразие T4-подобных бактериофагов в озере Байкал. Известия ИГУ. Серия «Биология. Экология» 6(3): 14-19.

Потапов С.А., Краснопеов А.Ю., Тихонова И.В. и др. 2018. Характеристика генетического разнообразия T4-подобных бактериофагов в бентосных биоплёнках озера Байкал. Известия ИГУ. Серия «Биология. Экология» 25: 15-31.

Ackermann H.W. 2001. Frequency of morphological phage description in the year 2000. Archives of Virology 146: 843-857.

Auguet J.C., Montanie H., Lebaron P. 2006. Structure of viroplankton in the Charente estuary (France): Transmission electron microscopy versus pulsed field gel electrophoresis. Microbial Ecology 5: 197-208.

Bergh O., Borsheim K.Y., Bratbak G. et al. 1989. High abundance of viruses found in aquatic environments. Nature 340(6233): 467–468.

Butina T.V., Belykh O.I., Maksimenko S.Y. et al. 2010. Phylogenetic diversity of T4-like bacteriophages in Lake Baikal, East Siberia. FEMS Microbiology Letters 309(2): 122–129.

Butina T.V., Bukin Y.S., Krasnopeev A.Yu. et al. 2019. Estimate of the diversity of viral and bacterial assemblage in the coastal water of Lake Baikal. FEMS Microbiology Letters 366(9): fnz094. DOI: [10.1093/femsle/fnz094](https://doi.org/10.1093/femsle/fnz094)

Butina T.V., Petrushin I.S., Khanaev I.V. et al. 2020. Virome Analysis of Near-Bottom Coastal Water of Lake Baikal. Microbiol Resource Announcement 9(49): 1–3. DOI: [10.1128/mra.01241-20](https://doi.org/10.1128/mra.01241-20)

Evseev P., Lukianova A., Sykilinda N. et al. 2021. *Pseudomonas* Phage MD8: Genetic Mosaicism and Challenges of Taxonomic Classification of Lambdoid Bacteriophages. International journal of molecular sciences 22(19): 1-33. DOI: [10.3390/ijms221910350](https://doi.org/10.3390/ijms221910350)

Evseev P., Sykilinda N., Gorshkova A. et al. 2020. *Pseudomonas* Phage PaBG—A Jumbo Member of an Old Parasite Family. Viruses 12(7): 1-25. DOI: [10.3390/v12070721](https://doi.org/10.3390/v12070721)

Klut M.E., Stockner J.G. 1990. Virus-Like Particles in an Ultra-Oligotrophic Lake on Vancouver Island, British Columbia. Canadian Journal Fisheries and Aquatic Sciences 47(4): 725–730.

Maranger R., Bird D.F. 1995. Viral abundance in aquatic systems: A comparison between marine and fresh waters. Marine Ecology Progress Series 121(1–3): 217–226.

Noble R.T., Fuhrman J.A. 1999. Breakdown and microbial uptake of marine viruses and other lysis products. Aquatic Microbial Ecology 25: 943-948.

Potapov S., Belykh O., Krasnopeev A. et al. 2020. Diversity and biogeography of bacteriophages in biofilms of Lake Baikal based on g23 sequences. Journal of Great Lakes Research 46(1): 4-11. DOI: [10.1016/j.jglr.2019.06.007](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2019.06.007)

Potapov S.A., Belykh O.I. 2023. Virophages Found in Viromes from Lake Baikal. *Biomolecules* 13(12): 1-16. DOI: [10.3390/biom13121773](https://doi.org/10.3390/biom13121773)

Potapov S.A., Tikhonova I.V., Krasnopeev A.Yu. et al. 2019. Metagenomic Analysis of Virioplankton from the Pelagic Zone of Lake Baikal. *Viruses* 11(11): 1-15. DOI: [10.3390/v11110991](https://doi.org/10.3390/v11110991)

Potapov S.A., Tikhonova I.V., Krasnopeev A.Yu. et al. 2022. Communities of T4-like bacteriophages associated with bacteria in Lake Baikal: diversity and biogeography. *PeerJ* 10:e12748. DOI: [10.7717/peerj.12748](https://doi.org/10.7717/peerj.12748)

Potapov S., Krasnopeev A., Tikhonova I. et al. 2022. The Viral Fraction Metatranscriptomes of Lake Baikal. *Microorganisms* 10: 1937. DOI: [10.3390/microorganisms10101937](https://doi.org/10.3390/microorganisms10101937)

Potapov S.A., Tikhonova I.V., Krechetova E.L. et al. 2024. T4-Like Cyanophages of Lake Baikal: Genetic Diversity and Biogeography. *Microbiology* 93(2): 213-216. DOI: [10.31857/S0026365624020216](https://doi.org/10.31857/S0026365624020216)

Potapov S.A., Tupikin A.E., Tikhonova I.V. et al. 2024. Search for putative complete and near-complete genomes of DNA-containing viruses in metagenomes obtained from the Lake Baikal. *Limnology and Freshwater Biology* 4: 1050-1065. DOI: [10.31951/2658-3518-2024-A-4-1050](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2024-A-4-1050)

Proctor L.M., Fuhrman J.A. 1990. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria. *Nature* 343: 60-62.

Skvortsov T., De Leeuwe C., Quinn J.P. et al. 2016. Metagenomic characterisation of the viral community of lough neagh, the largest freshwater lake in Ireland. *PLoS One* 11(2): 1-19.

Sutherland I.W. 2001. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Journal of Microbiology UK* 147: 3-9.

Suttle C.A. 2005. Viruses in the sea. *Nature* 437(7057): 356-361.