

## НОВЫЕ ДАННЫЕ ПО ОБИЛИЮ И ВЕРТИКАЛЬНОМУ РАСПРЕДЕЛЕНИЮ ВИРИОПЛАНКТОНА В ГЛУБОКОВОДНОЙ И НЕРИТИЧЕСКОЙ ЗОНАХ ЧЕРНОГО МОРЯ

М. А. Уфимцева, В. С. Муханов

*Федеральный исследовательский центр  
«Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,  
Россия, 299011, г. Севастополь, пр-кт Нахимова, д. 2,  
e-mail: ritica011@bk.ru*

Вирусы играют ключевую роль в функционировании морских экосистем, контролируя численность и активность микроорганизмов. Однако вириопланктон Черного моря практически не изучен. В данной работе впервые получены количественные данные о распределении вирусов в толще вод Черного моря методом прямого счета с использованием эпифлуоресцентной микроскопии. Исследования проводили в октябре 2022 г. в 124-м рейсе НИС «Профессор Водяницкий». Пробы отбирали на шельфе у побережья Крыма и на вековом разрезе к центру циклонического круговорота. В соответствии с полученными результатами, общая численность вириопланктона изменялась в диапазоне  $0.4\text{--}11.6 \times 10^6$  частиц/мл и составляла, в среднем,  $4.83 \pm 2.52 \times 10^6$  частиц/мл. Максимальные величины выявлены в аэробной зоне, минимальные – в сероводородной. Плавное увеличение численности вирусов в пределах сероводородной зоны до  $2.7 \times 10^6$  частиц/мл могло быть связано с формированием более прочного капсида и, соответственно, медленным разрушением частиц, как было показано в аналогичных условиях для вирусов Балтийского моря. Диапазоны изменения численности вириопланктона и соотношения вирусы/бактерии (от 3 до 90) в глубоководной части Черного моря, а также их уменьшение с глубиной соответствовали наблюдениям в других акваториях Мирового океана. Полученные данные восполняют пробел в знаниях о вириопланктоне Черного моря.

**Ключевые слова:** вириопланктон, бактериопланктон, обилие, вертикальное распределение, Черное море, эпифлуоресцентная микроскопия

### Введение

Вирусы – самые распространенные биологические объекты водных экосистем со средней концентрацией  $10^6\text{--}10^8$  частиц/мл поверхностной морской воды (Suttle et al., 2005). Численно они превосходят бактерии примерно в десять раз, и их гораздо больше, чем вместе взятых фитопланктона, зоопланктона или организмов на более высоких трофических уровнях. Вирусы представляют собой мельчайшие из известных биологических объектов в Мировом океане и наземных экосистемах, составляют 94 % содержащих нуклеиновые кислоты частиц в океанических водах, но являются крайне малой долей от общей биомассы из-за очень малых размеров. Предполагается, что вирусы заражают все морские организмы: от мелкого фитопланктона, который

играет важную роль в глобальном круговороте углерода, до более ценных с коммерческой точки зрения организмов, таких как беспозвоночные, рыба и мегафауна. Вирусы убивают примерно 20 % микробной биомассы морей в день (Breitbart et al., 2018). Вирусные инфекции оказывают широкое влияние на все: от эволюции, экологии и биогеохимии океана до здоровья человека и экономики (Rohwer et al., 2007).

Как один из важнейших факторов смертности микроорганизмов вирусы играют ключевую роль в регулировании численности, состава и разнообразия микробных сообществ Мирового океана (Weitz et al., 2012), контролируют потоки вещества и энергии в морских экосистемах посредством так называемого «вирусного шунта», суть которого заключается в гибели инфицированных вирусами гидробионтов и, как следствие, пополнении запасов растворенного и взвешенного органического вещества. В результате функционирования «вирусного шунта» в «микробной петле» предотвращается миграция органического вещества вверх по пищевым цепям, вызывая отклонение части потока органического вещества к основанию пищевой пирамиды.

Несмотря на постоянный рост числа исследований морского вириопланктона, черноморские вирусы практически не изучены, сведения об их численности содержатся в редких микробиологических исследованиях прибрежных вод и донных осадков Черного моря (Рылькова и др., 2019; Степанова и др., 2003; Миронов и др., 2010), однако достоверность некоторых результатов вызывает сомнение, из-за применения некорректных методов и значительного недоучета вирусных частиц в пробах воды (Гаевская А. В. и др., 2007). Таким образом, Черное море – «белое пятно» на карте исследований вириопланктона Мирового океана. Первые данные о вертикальном распределения численности вириопланктона были получены Уфимцевой М. А. и Мухановым В. С. (Ufimtseva, Mukhanov, 2023), позже появилась работа И. В. Мошаровой (Мошарова, 2023). В данной работе представлены полученные с помощью эпифлуоресцентной микроскопии новые данные о численности вириопланктона и их вертикальном распределении в пелагиали глубоководной части Черного моря, включая сероводородную зону, на разрезах от шельфа к глубоководным районам Черного моря в осенний период.

## **Материалы и методы исследования**

### ***Район и методы отбора проб***

Исследования проводили в 124-м рейсе НИС «Профессор Водяницкий» в октябре 2022 г. в мезотрофных водах Черного моря – на шельфе южнее Крымского полуострова (ялтинский и алуштинский разрезы) и на разрезе от мыса Херсонес к центру западного циклонического круговорота (рисунок 1).

Пробы отбирали батометром Нискина General Oceanics 10 л на нескольких горизонтах от поверхности до придонного слоя (около 2000 м) с учетом данных

СТД-зондирований (океанографический зонд IDRONAUT Ocean Seven 320 plus STD) о гидролого-гидрохимической структуре водного столба. По данным, полученным с помощью STD-зондирующего комплекса (океанографический зонд IDRONAUT Ocean Seven 320 plus STD), в состав которого входил зонд с датчиком флуоресценции, было построено вертикальное распределение концентрации хлорофилла *a* (рисунок 3г). В качестве экспресс-метода определения содержания хлорофилла *a* в Черном море используется флуоресценция пигментов *in vivo*, определяемая с помощью погружного флуоресцентного зонда, откалиброванного по стандартным концентрациям хлорофилла *a*, что предполагает наличие постоянного коэффициента между флуоресценцией и концентрацией хлорофилла. В результате данные зонда были представлены в виде абсолютных значений концентрации этого пигмента (мг/м<sup>3</sup>).

Для учета численности вириопланктона 5 мл морской воды непосредственно после отбора проб фиксировали формалином (2 %) в криопробирках, замораживали их в нескольких повторностях в жидком азоте, где они хранились до последующей обработки в условиях стационарной лаборатории на берегу. Анализ численности вириопланктона проводили по горизонтам на основе условной плотности  $\sigma_t$ . Горизонты определяли в соответствии с моделью плотностной стратификации вод Черного моря (Mukhanov et al., 2022), выделяя аэробный слой ( $14.5 < \sigma_t < 15.5$ ), зону окислина и субкислородный слой ( $15.5 < \sigma_t < 16.2$ ), а также сероводородную зону ( $\sigma_t > 16.2$ ).

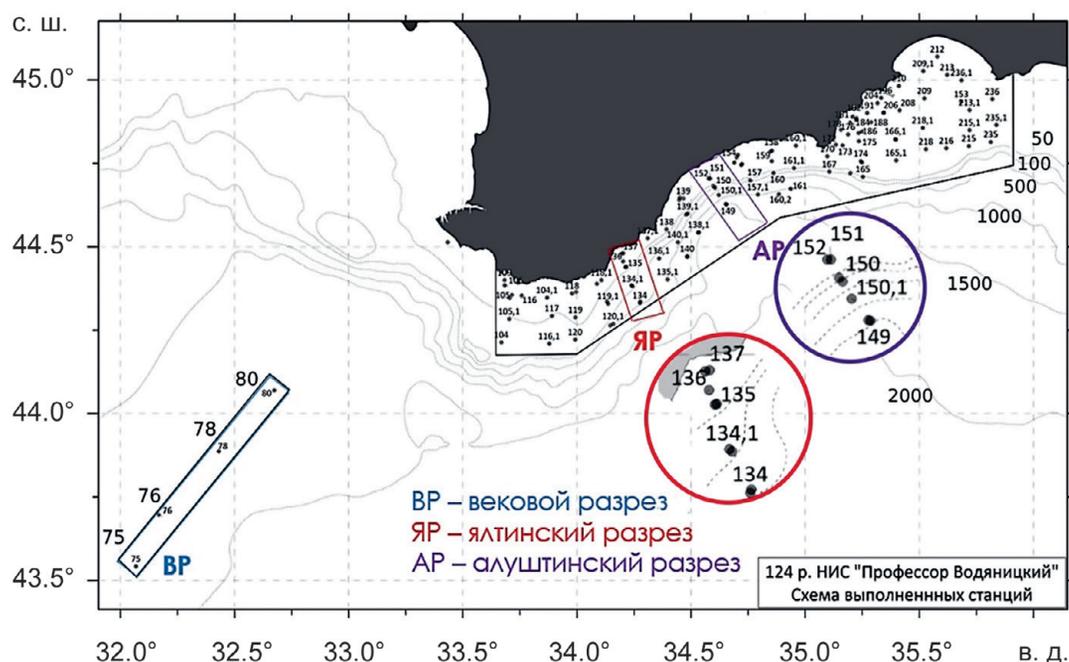


Рис. 1 – Станции отбора проб воды в Черном море (124-й рейс НИС «Профессор Водяницкий») на вековом разрезе (BP) от центра западного циклонического круговорота (ст. 75) в сторону мыса Херсонес, ялтинском (ЯР) и алуштинском (АР) разрезах на шельфе южнее Крымского полуострова

### *Гидрологические условия в районах исследования*

Максимум температуры на вековом разрезе составил 20.3 °С на глубине 4 м на ст. 75, минимум – 8.2 °С на глубине 52 м на ст. 80. Глубина залегания термоклина на вековом разрезе варьировала от 17 до 22 м. Максимальный градиент термоклина составлял 1.89 °С/м и был расположен на ст. 80. Глубина залегания оксиклина составляла от 30 до 90 м, субкислородного слоя – от 54 до 140 м, сероводородный слой начинался с глубины 94 м на ст. 75. Максимум фотосинтетически активной радиации (ФАР) был отмечен в подповерхностном слое, на глубине 2 м на ст. 75.

Максимум температуры на ялтинском разрезе составил 21.1 °С на глубине 1.5 м на ст. 134.1, минимум – 8.1 °С на глубине 66 м на ст. 134.1. Глубина залегания термоклина на ялтинском разрезе изменялась от 18 до 26 м. Максимальный градиент термоклина составлял 1.9 °С/м и был расположен на ст. 134. Глубина залегания оксиклина варьировала от 40 до 100 м, субкислородный слой начинается от 100 м на ст. 134.1. Максимум ФАР был отмечен в подповерхностном слое, на глубине 2.6 м на ст. 134.1.

Максимум температуры на алуштинском разрезе составил 19.5 °С на глубине 16.1 м на ст. 149, минимум – 8.2 °С на глубине 90 м на ст. 149. Глубина залегания термоклина на алуштинском разрезе варьировала от 33 до 58 м. Максимальный градиент термоклина составлял 1.38 °С/м и был расположен на ст. 149. Глубина залегания оксиклина варьировала от 60 до 120 м, субкислородного слоя – от 115 до 155 м, сероводородный слой начинался с глубины 155 м на ст. 150.1. Максимум ФАР был отмечен в подповерхностном слое, на глубине 2.3 м на ст. 151.

### *Эпифлуоресцентная микроскопия*

После размораживания 1–мл аликвоту пробы фильтровали на мембрану с размером пор 0.02 мкм (Whatman Anodisc 25), окрашивали на капле SYBR Gold и отмывали в соответствии с (Chen et al., 2001). Визуализацию вирусных частиц проводили методом эпифлуоресцентной микроскопии (Naga et al., 1991) с помощью микроскопа Jenalumar–a/d, оборудованного ртутной лампой НВО–202. Методом эпифлуоресцентной микроскопии определяют численность вирусоподобных частиц, так как размеры крупных вирусов совпадают с размерами мелких бактерий. Микрофотографии полей зрения (рисунок 2) обрабатывали в программе ImageJ (National Institutes of Health) для автоматического счета частиц. В ходе анализа глубоководных проб с помощью эпифлуоресцентного микроскопа наблюдали сильную засветку фона на фильтре, обусловленную, по-видимому, автофлуоресценцией взвеси, что значительно затрудняло подсчет вирусных частиц и могло отразиться на качестве получаемых оценок.

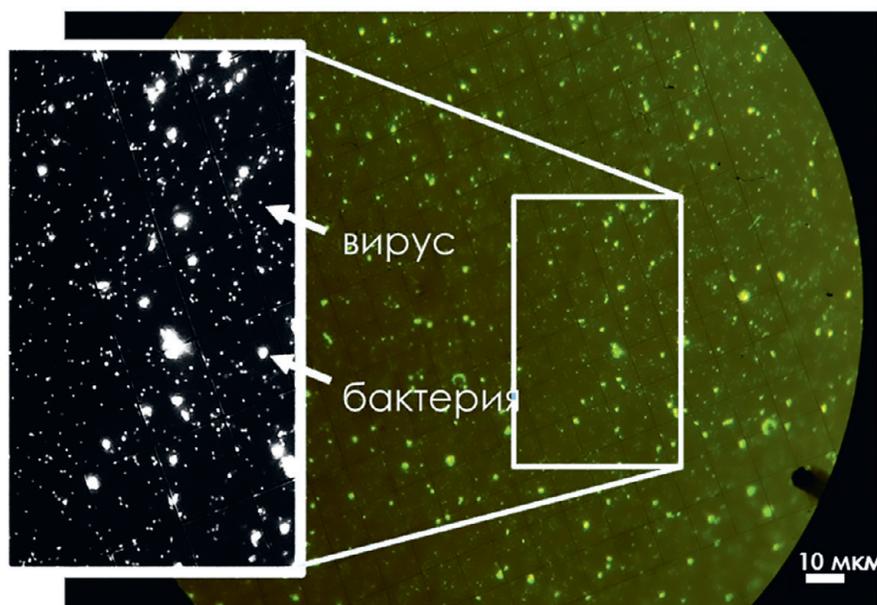


Рис. 2 – Морские вирусы и бактерии в поле зрения эпифлуоресцентного микроскопа

### *Проточная цитометрия*

Численность бактериопланктона определяли путем окрашивания пробы морской воды красителем SYBR Green I по стандартной методике (Brussaard et al., 2010) с помощью проточного цитометра Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США), оборудованного 488 нм однофазным аргоновым лазером, и программного обеспечения СХР. Обработку цитометрических данных проводили с помощью программного обеспечения Flowing Software v. 2.5.0 (Perttu Terho, Turku Centre for Biotechnology, University of Turku, Finland, [www.flowingsoftware.com](http://www.flowingsoftware.com)).

### *Статистический анализ*

Построение профилей пространственного распределения бактерио- и вириопланктона осуществлялось с помощью программного пакета Surfer 11 (Golden Software, Inc.). При расчетах использовался 95 % доверительный интервал.

### **Результаты**

По результатам прямого счета общая численность вириопланктона в районах исследования во всем диапазоне глубин всего водного столба (0–2000 м) составляла  $4.83 \pm 2.52 \times 10^6$  частиц/мл и изменялась в диапазоне от  $0.25 \times 10^6$  до  $1.16 \times 10^7$  частиц/мл. Численность бактериопланктона была на порядок меньше и составляла  $0.34 \pm 0.05 \times 10^6$  частиц/мл и изменялась в диапазоне от  $0.03 \times 10^6$  до  $1.15 \times 10^6$  частиц/мл.

Диапазоны изменения и статистика численности вириопланктона и соотношения вирусы/бактерии (VBR) в аэробной ( $\sigma_t < 14.5$ ), переходной (оксиклин и субкислородный слой –  $14.5 < \sigma_t < 16.2$ ) и анаэробной ( $\sigma_t > 16.2$ ) зонах Черного моря приведены в таблице 1. В аэробной зоне ( $\sigma_t < 14.5$ ) численность вирусных частиц и бактерий ( $4.02 \pm 0.50 \times 10^6$  частиц/мл и  $0.42 \pm 0.07 \times 10^6$  кл/мл) была выше, чем в сероводородной ( $\sigma_t > 16.2$ ) – соответственно,  $2.71 \pm 1.16 \times 10^6$  частиц/мл и  $0.11 \pm 0.04 \times 10^6$  кл/мл). Величины VBR составляли от 3 до 90. Статистически достоверные отличия ( $p < 0.05$ , тест Манна-Уитни) были выявлены между аэробной и переходной зонами.

Табл. 1 – Численность вирусов и соотношение вирусы/бактерии на всех исследуемых разрезах. AEROBIC – аэробная зона; TRANS – оксиклин + субкислородный слой; H2S – сероводородная зона

<b>Численность вирусов, <math>10^6</math> частиц/мл</b>				
Зона	Минимум	Максимум	Среднее	95 % дов. инт.
AEROBIC	0.43	9.36	4.02	0.51
TRANS	0.55	8.40	3.03	0.74
H2S	0.61	6.07	2.72	1.16
<b>Отношение вирусы/бактерии</b>				
Зона	Минимум	Максимум	Среднее	95 % дов. инт.
AEROBIC	1.27	88.34	16.55	5.32
TRANS	1.36	68.91	17.51	6.65
H2S	4.69	98.47	32.84	19.29

На вековом разрезе максимумы численности бактериопланктона (рисунок 3а) были расположены в аэробном слое ( $1.15 \times 10^6$  кл/мл) как над, так и под термоклинном, минимумы – в сероводородной зоне ( $0.06 \times 10^6$  кл/мл). На Ялтинском разрезе был получен схожий результат – максимум бактериопланктона ( $0.93 \times 10^6$  кл/мл) был над термоклинном. На алуштинском разрезе бактерии были многочисленны от поверхности до глубин около 50 м, достигая количественной отметки  $0.99 \times 10^6$  кл/мл.

Профили распределения вириопланктона (рисунок 3б) вдоль исследованных разрезов существенно отличались, в первую очередь – наличием максимумов концентрации в более глубоких слоях, включая оксиклин ( $8.40 \times 10^6$  частиц/мл) и сероводородную зону ( $6.07 \times 10^6$  частиц/мл).

Профили распределения соотношения вирусов и бактерий (рисунок 3в), косвенно характеризующего интенсивность инфекционных процессов в столбе воды, были получены с ожидаемым распределением «пятен» максимумов в тех же зонах, где находились максимумы вириопланктона – в оксиклине и субкислородной зоне (17.5), а также в сероводородной зоне (32.8).

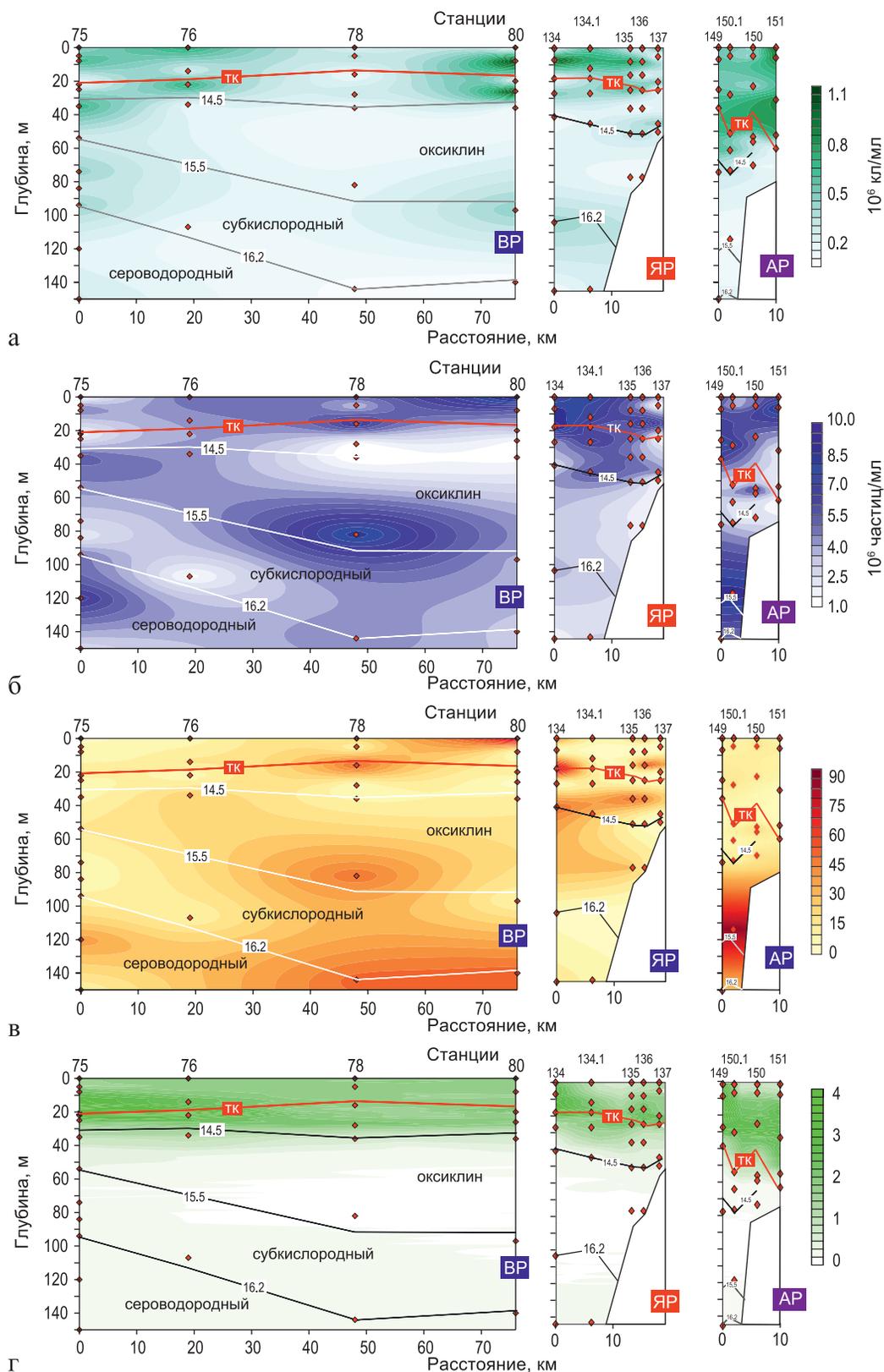


Рис. 3 – Профили пространственного распределения: а – бактериопланктона; б – вириопланктона; в – отношения вирусы/бактерии; г – хлорофилла *a* на вековом (ВР), ялтинском (ЯР) и алуштинском (АР) разрезах. Линиями представлены термоклин (ТК) и изопикны, ограничивающие оксиклин, субкислородный и сероводородный слои

Вертикальное распределение вирусных частиц оказалось неоднородным: в пределах аэробной зоны ( $14.5 < \sigma_t < 15.5$ ) численность вириопланктона изменялась незначительно ( $4.01 \pm 1.94 \times 10^6$  частиц/мл,  $n = 44$ , указано ст. откл.), в зоне оксиклина и субкислородном слое ( $15.5 < \sigma_t < 16.2$ ) – сильно снижалась, на больших глубинах – изменялась в узком диапазоне (между  $0.43$  и  $1.62 \times 10^6$  частиц/мл,  $n = 15$ ). С глубины около 800 м до придонного слоя было обнаружено плавное нарастание численности вириопланктона от  $0.61 \times 10^6$  частиц/мл до  $2.71 \times 10^6$  частиц/мл (рисунок 4), причины которого пока не ясны. Численность бактериопланктона, в свою очередь, имела тренд монотонного снижения с ростом глубины и, по-видимому, не зависела от стратификации водного столба (рисунок 4).

Зона высокой концентрации хлорофилла *a* была расположена от подповерхностного слоя до глубин в диапазоне от 30 м (на ВР) до 50 м (на АР). Максимумы хлорофилла *a* залегали на глубинах, соответственно, 20 м (ВР, ст. 76), 17 м (ЯР, ст. 134) и 22 м (АР, ст. 149) (рисунок 3г).

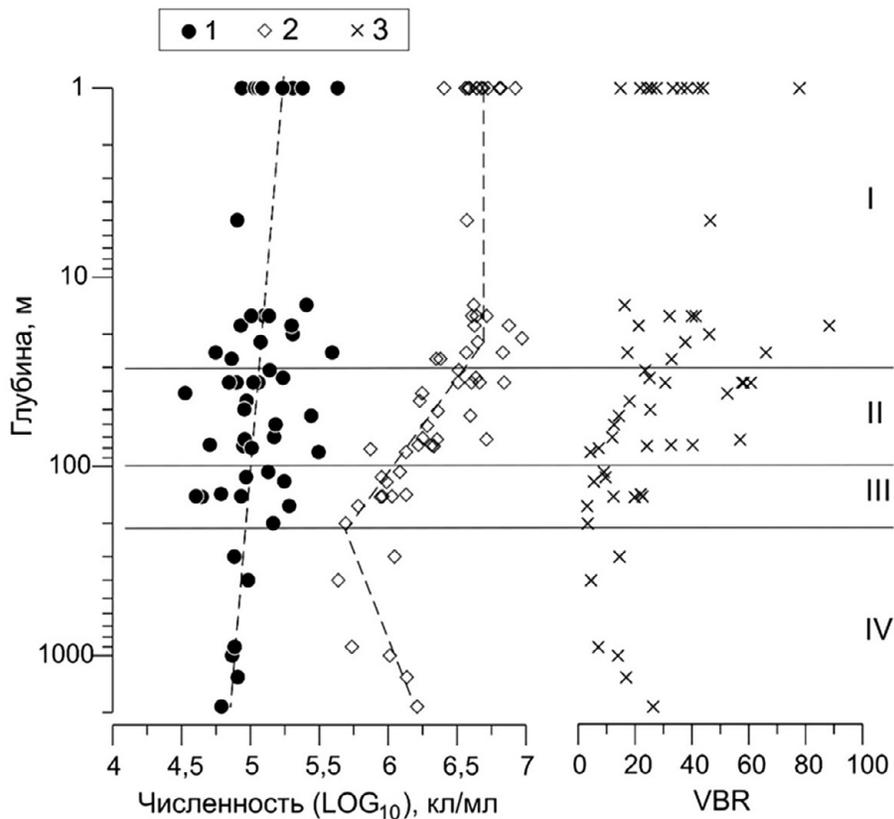


Рис. 4 – Вертикальное распределение бактерий (1), вирусов (2), соотношения вирусы/бактерии (3) в стратифицированном водном столбе Черного моря. Сведены данные, полученные на всех разрезах

## Обсуждение

Полученные в рамках данного исследования величины обилия черноморского вириопланктона (до  $10^7$  частиц/мл) более, чем на порядок, превышали те немногочисленные оценки, которые приводили для Черного моря другие авторы (Степанова и др., 2003). Вероятно, сильный недоучет ими вирусных частиц мог быть обусловлен недостатками применяемых методов и расходных материалов (Гаевская А. В. и др., 2007). Поскольку в основу нашей работы был положен стандартный протокол количественного учета вирусных частиц в морской воде, то представленные здесь данные можно считать первыми достоверными оценками численности вириопланктона в водах Черного моря.

Чтобы соотнести полученные нами величины с численностью вириопланктона в других акваториях Мирового океана, были использованы данные, собранные в двух трансокеанических экспедициях, охватывающих как прибрежные районы, так и олиготрофные океанические воды (Liang et al., 2014; Wigington et al., 2016). Данные, полученные в Черном море ( $10^{5.8}$ – $10^7$  частиц/мл), в значительной степени перекрывали диапазон изменчивости обилия вирусов в водах Мирового океана ( $10^5$ – $10^{8.5}$  частиц/мл) за исключением экстремально высоких или экстремально низких концентраций.

Также данные по численности вириопланктона Черного моря сопоставимы с данными, полученными в крупномасштабном исследовании (охватившем более 3000 км) о распределении вириопланктона в эпи-, мезо- и батипелагических водах в 19 районах Средиземного моря, от Альборанского моря и Западного Средиземноморья до Тирренского моря, Сицилийского канала и Ионического моря (Magagnini et al., 2007). Совокупная численность вирусов в эпипелагических водах Средиземного моря была значительно выше, чем в глубоководных водах (в среднем  $2.4 \times 10^6$  частиц/мл против  $0.5 \times 10^6$  частиц/мл). Тем не менее, численность вириопланктона в глубоководных районах Средиземного моря была самой высокой на сегодняшний день для глубоководных районов мира ( $7.0 \times 10^5$  частиц/мл и  $3.1 \times 10^5$  частиц/мл в мезопелагических и батипелагических водах соответственно) и их биомасса составляла 13–18 % от общей биомассы прокариот. Значительная взаимосвязь между численностью вириопланктона и прокариотами и первичной продукцией в глубоководных водах предполагает, что глубоководный вириопланктон так же зависит от численности и метаболизма хозяев. Более того, соотношение численности вириопланктона к бактериопланктону увеличивается с увеличением глубины, что позволяет предположить, что глубокие воды могут представлять оптимальную среду для выживания или размножения вириопланктона.

Как и в других морских водоемах, в Черном море численность вирусов значительно снижалась с глубиной. В соответствии с (Liang et al., 2014), в эпипелагических водах самую высокую численность вириопланктона наблюдали в водах океанического круговорота между изобатами 50 и 100 м, тогда как в высокопродуктивных апвеллинговых водах – выше 50 м, что примерно соответствовало глубине подповерхностных максимумов хлорофилла *a* (рисунок 4г), наблюдаемых и в нашем исследовании,

где рассматривались мезотрофные воды на шельфе южнее Крымского полуострова с наиболее часто встречающимися апвеллингами.

Подповерхностные пики численности вириопланктона на глубине максимумов хлорофилла *a* наблюдали и ранее (Parsons et al., 2012; Cochlan et al., 1993; Nara et al., 1996). Их формирование могло быть связано с высокими скоростями элиминации вириопланктона в поверхностном слое (вследствие воздействия солнечного света) и его продукции в зоне максимальной численности и физиологической активности потенциальных хозяев – бактерио- и фитопланктона, т. е. в слое максимума хлорофилла *a*. Эти результаты могут свидетельствовать и о том, что бактериопланктон способен поддерживать высокое число вирусных частиц в условиях, способствующих его быстрому росту и высокой продуктивности (Wommack et al., 2000).

Таким образом, если численность бактерий в Черном море имела тренд монотонного снижения с ростом глубины, то вирусы сохраняли относительно высокие концентрации в аэробном слое, а от оксиклина к субкислородному слою их численность снижалась более, чем на порядок. Неожиданным результатом стало плавное нарастание численности вирусов на больших глубинах – в сероводородной зоне. Можно ли это отнести к уникальным особенностям вертикального распределения вириопланктона в Черном море, пока не ясно, поскольку мы не располагаем достаточным количеством данных для подобного утверждения. Объяснить такой феномен было бы тоже непросто. Тем не менее, самые осторожные предположения можно было бы сделать на основе недавнего исследования вирусов Балтийского моря (KoÈstner et al., 2017), где также исследовалось вертикальное распределение вириопланктона в сероводородной зоне. Его авторы показали, что (а) вирусы редокс-клина Балтийского моря направляют больше ресурсов на формирование защитных механизмов – формирование более прочного и устойчивого к агрессивной среде капсида; (б) в редокс-клин Балтийского моря низкая скорость элиминации (разрушения) вирусных частиц ведет к увеличению их численности. Возможно, похожие механизмы лежат и в основе увеличения численности вириопланктона в анаэробных глубинах Черного моря. Это предстоит выяснить в будущих исследованиях.

### Заключение

Получены первые для акватории Черного моря данные по вертикальному распределению вириопланктона и отношения вирусы/бактерии на шельфе и в глубоководном районе, включая анаэробную зону. В осенний период численность вирусов изменялась в диапазоне от  $0.4 \times 10^6$  до  $1.16 \times 10^7$  частиц/мл с максимумами в аэробной зоне; соотношение вирусы/бактерии составляло от 3 до 90. Указанные диапазоны величин, а также общий тренд их уменьшения с глубиной соответствовали наблюдениям в других акваториях Мирового океана.

В пределах сероводородной зоны наблюдали незначительное нарастание численности вирусов с увеличением глубины, что, как предполагается, могло быть

обусловлено меньшей скоростью разрушения капсида, как было ранее показано для вирусов анаэробной зоны Балтийского моря.

Первые и единичные исследования, которые начались в 2023 г., тем не менее, все еще не заполнили существовавший до сих пор пробел в исследованиях вириопланктона Черного моря. Это потребует огромных усилий в будущем. В дальнейшем необходимо изучить состав вирусных сообществ, продукцию и элиминацию вирусных частиц на разных горизонтах, чтобы прояснить механизмы их контроля в черноморских водах и вклад в функционирование пелагических экосистем Черного моря.

**Благодарности.** Исследование выполнено в рамках тем государственного задания № 1023032700553-3-1.6.16;1.6.19 «Трансформация структуры и функций экосистем морской пелагиали в условиях антропогенного воздействия и изменений климата» и при финансовой поддержке РФФИ (№ 21–55–52001). Авторы выражают благодарность сотрудникам отдела планктона ФИЦ ИнБЮМ с.н.с. Литвинюк Д. А., м.н.с. Сахонь Е. Г., вед.инж. Ляшко Т. В., принимающим участие в отборе и обработке проб.

### Список литературы

1. Гаевская А. В., Миронов О. Г., Рябушко В. И., Самышев Э. З., Шадрин Н. В. В поисках «экологии черноморских вирусов» // Морской экологический журнал. 2007. Т. 6. № 4. С. 85–92. EDN UIQKQT.
2. Миронов О. Г., Полтаруха О. П., Ковальчук Ю. Л. Сезонная динамика вирусоподобных частиц и нуклеиновых кислот в воде и донных осадках Севастопольской бухты Черного моря // Вода: Химия и экология. 2010. № 2. С. 27–30.
3. Мошарова И. В. Вирио- и бактериопланктон северо-восточной части Черного моря // Экология гидросферы. 2023. № 2 (10). С. 39–46. [https://doi.org/10.33624/2587-9367-2023-2\(10\)-39-46](https://doi.org/10.33624/2587-9367-2023-2(10)-39-46).
4. Рьлькова О. А., Гулин С. Б., Пименов Н. В. Определение общей численности микроорганизмов в донных осадках Черного моря методом проточной цитометрии // Микробиология. 2019. Т. 88. № 6. С. 685–694. <https://doi.org/10.1134/S0026365619060156>.
5. Степанова О. А. Морские бактерии и вирусы в воде и донных осадках у побережья Крыма // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон. 2003. № 9. С. 255–261.
6. Breitbart M., Bonnain Ch., Malki K., Sawaya N. A. Phage puppet masters of the marine microbial realm // Nature Microbiology. 2018. Vol. 3. No. July. P. 754–766. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0166-y>.
7. Brussaard C., Payet J. P., Winter C., Weinbauer M. Quantification of aquatic viruses by flow cytometry // Mar. Aquat. viral Ecol. 2010. Vol. 11. No. 2004. P. 102–109. <https://doi.org/10.17504/protocols.io.dpj5km>.
8. Chen F., Lu J. R., Binder B., Hodson R. E. Enumeration of viruses in aquatic environments using SYBR Gold stain: application of digital image analysis and flow cytometer // Appl. Environ. Microbiol. 2001. Vol. 67. P. 539–545. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.2.539-545.2001>.
9. Cochlan W. P., Wikner J., Steward G. F., Smith D. C., Azam F. Spatial distribution of viruses, bacteria and chlorophyll a in neritic, oceanic and estuarine environments // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1993. Vol. 92. P. 77–87. <https://doi.org/10.3354/meps092077>.

10. Hara S., Terauchi K., Koike I. Abundance of Viruses in Marine Waters: Assessment by Epifluorescence and Transmission Electron Microscopy // *Appl. Environ. Microbiol.* 1991. Vol. 57. No. 9. P. 2731–2734. <https://doi.org/10.1128/aem.57.9.2731-2734.1991>.
11. Hara S., Koike I., Terauchi K., Kamiya H., Tanoue E. Abundance of viruses in deep oceanic waters // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1996. Vol. 145. P. 269–277. <https://doi.org/10.3354/meps145269>.
12. KoEstner N., Scharnreitner L., JuErgens K., Labrenz M., Herndl G. J., Winter C. High viral abundance as a consequence of low viral decay in the Baltic Sea redoxcline // *PLoS ONE.* 2017. Vol. 12 (6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178467>.
13. Liang, Yantao, Li, Li & Luo, Tingwei & Zhang, Yao & Zhang, Rui & Jiao, Nianzhi Horizontal and Vertical Distribution of Marine Virioplankton: A Basin Scale Investigation Based on a Global Cruise // *PLoS ONE.* 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111634>.
14. Magagnini M. et al. Viral abundance and distribution in mesopelagic and bathypelagic waters of the Mediterranean Sea // *Deep Sea Research. Part I: Oceanographic Research Papers.* 2007. Vol. 54. No. 8. P. 1209–1220. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2007.05.006>.
15. Mukhanov V., Sakhon E., Rodionova N., Tsai An–Yi Vertical distribution of picophytoplankton in the NW shelf and deep-water area of the Black Sea in spring // *Journal of Marine Systems.* 2022. Vol. 234. Article No. 103779. 11 p. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2022.103779>.
16. Parsons R. J., Breitbart M., Lomas M. W., Carlson C. A. Ocean time–series reveals recurring seasonal patterns of virioplankton dynamics in the northwestern Sargasso Sea // *The ISME Journal.* 2012. Vol. 6. P. 273–284. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.101>.
17. Rohwer F., Vega Thurber R. Viruses manipulate the marine environment // *Nature.* 2007. Vol. 459. P. 207–212. <https://doi.org/10.1038/nature08060>.
18. Suttle C. A. Viruses in the sea // *Nature.* 2005. Vol. 437. No. 7057. P. 356–361. <https://doi.org/10.1038/nature04160/>.
19. Ufimtseva M. A., Mukhanov V. S. Vertical distribution of viral particles in the deep part of the Black Sea // *Complex Investigation of the World Ocean (CIWO-2023).* P. 217–222. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-47851-2\\_25](https://doi.org/10.1007/978-3-031-47851-2_25).
20. Weitz J. S., Wilhelm S. W. Ocean viruses and their effects on microbial communities and biogeochemical cycles // *F1000 Biol Rep.* 2012. Vol. 8. No. September. P. 2–9. <https://doi.org/10.3410/B4-17>.
21. Wigington, Charles & Sonderegger, Derek & Brussaard, Corina & Buchan, Alison & Finke, Jan & Fuhrman, Jed & Lennon, Jay & Middelboe, Mathias & Suttle, Curtis & Stock, Charles & Wilson, Willie & Wommack, K Eric & Wilhelm, Steven & Weitz, Joshua Re-examination of the relationship between marine virus and microbial cell abundances // *Nature. Microbiology.* 2016. Vol. 1. Art. 15024. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2015.24>.
22. Wommack K. Eric, Colwell Rita Virioplankton: Viruses in Aquatic Ecosystems // *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR.* 2000. Vol. 64. P. 69–114. <https://doi.org/10.1128/mnbr.64.1.69-114.2000>.

Статья поступила в редакцию 03.10.2023, одобрена к печати 28.02.2024.

**Для цитирования:** Уфимцева М. А., Муханов В. С. Новые данные по обилию и вертикальному распределению вириопланктона в глубоководной и неритической зонах Черного моря // *Океанологические исследования.* 2024. № 52 (1). С. 142–156. [https://doi.org/10.29006/1564-2291.JOR-2024.52\(1\).7](https://doi.org/10.29006/1564-2291.JOR-2024.52(1).7).

## NEW DATA ON THE ABUNDANCE AND VERTICAL DISTRIBUTION OF VIRIOPLANKTON IN THE DEEP-WATER AND NERITIC ZONES OF THE BLACK SEA

M. A. Ufimtseva, V. S. Mukhanov

*A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas,  
Russian Academy of Sciences,  
2, Nakhimov av., Sevastopol, 299011, Russia,  
e-mail: ritica011@bk.ru*

Viruses play a key role in the functioning of marine ecosystems, controlling the number and activity of microorganisms. However, the virioplankton of the Black Sea has been practically unstudied. In this work, for the first time, quantitative data on the distribution of viruses in the water column of the Black Sea was obtained by direct counting using epifluorescence microscopy. The research was carried out in October 2022 on cruise 124 of the R/V “Professor Vodyanitsky”. Samples were taken on the shelf off the coast of Crimea and along a secular section towards the center of the cyclonic circulation. In accordance with the results obtained, the total abundance of virioplankton varied in the range of  $0.4\text{--}11.6 \times 10^6$  particles/ml and averaged  $4.83 \pm 2.52 \times 10^6$  particles/ml. The maximum values were found in the aerobic zone, the minimum – in the hydrogen sulfide zone. A gradual increase in the number of viruses within the hydrogen sulfide zone to  $2.7 \times 10^6$  particles/ml could be associated with the formation of a more durable capsid and, accordingly, slow destruction of particles, as was shown under similar conditions for Baltic Sea viruses. The ranges of changes in the abundance of virioplankton and the virus/bacteria ratio (from 3 to 90) in the deep-sea part of the Black Sea and their decrease with depth were consistent with observations in other areas of the World Ocean. The data obtained fill the gap in knowledge about virioplankton in the Black Sea.

**Keywords:** virioplankton, bacterioplankton, abundance, vertical distribution, Black Sea, epifluorescence microscopy

**Acknowledgements:** The study was carried out within the framework of state assignment No. 1023032700553-3-1.6.16;1.6.19 “Transformation of the structure and functions of marine pelagic ecosystems under conditions of anthropogenic impact and climate change” and with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research (No. 21–55–52001). The authors express their gratitude to the staff of the plankton department of the Federal Research Center InBYUM, senior researcher Litvinyuk D. A., junior researcher Sakhon E.G., leading engineer Lyashko T. V., who took part in sampling and processing of samples.

### References

1. Breitbart, M., Ch. Bonnain, K. Malki, and N. A. Sawaya, 2018: Phage puppet masters of the marine microbial realm. *Nature Microbiology*, **3** (July), 754–766, <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0166-y>.

2. Brussaard, C., J. P. Payet, C. Winter, and M. Weinbauer, 2010: Quantification of aquatic viruses by flow cytometry. *Man. Aquat. viral Ecol.*, **11**, 2004, 102–109, <https://doi.org/10.17504/protocols.io.dpj5km>.
3. Chen, F., J. R. Lu, B. Binder, and R. E. Hodson, 2001: Enumeration of viruses in aquatic environments using SYBR Gold stain: application of digital image analysis and flow cytometer. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 539–545, <https://doi.org/10.1128/AEM.67.2.539-545.2001>.
4. Cochlan, W. P., J. Wikner, G. F. Steward, D. C. Smith, and F. Azam, 1993: Spatial distribution of viruses, bacteria and chlorophyll a in neritic, oceanic and estuarine environments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **92**, 77–87, <https://doi.org/10.3354/meps092077>.
5. Gaevskaya A. V., O. G. Mironov, V. I. Ryabushko, E. Z. Samyshev, and N. V. Shadrin, 2007: In search of the “ecology of the Black Sea viruses”. *Marine Ecological Journal*, **6** (4), 85–92, EDN UIQKQT.
6. Hara, S., K. Terauchi, and I. Koike, 1991: Abundance of Viruses in Marine Waters: Assessment by Epifluorescence and Transmission Electron Microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57** (9), 2731–2734, <https://doi.org/10.1128/aem.57.9.2731-2734.1991>.
7. Hara, S., I. Koike, K. Terauchi, H. Kamiya, and E. Tanoue, 1996: Abundance of viruses in deep oceanic waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **145**, 269–277, <https://doi.org/10.3354/meps145269>.
8. KoÈstner, N., L. Scharnreitner, K. JuÈrgens, M. Labrenz, G. J. Herndl, and C. Winter, 2017: High viral abundance as a consequence of low viral decay in the Baltic Sea redoxcline. *PLoS ONE*, **12** (6), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178467>.
9. Liang, Yantao, Li, Li & Luo, Tingwei & Zhang, Yao & Zhang, Rui & Jiao, Nianzhi, 2014: Horizontal and Vertical Distribution of Marine Virioplankton: A Basin Scale Investigation Based on a Global Cruise. *PLoS ONE*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111634>.
10. Magagnini, M. et al., 2007: Viral abundance and distribution in mesopelagic and bathypelagic waters of the Mediterranean Sea. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, **54** (8), 1209–1220. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2007.05.006>.
11. Mironov, O. G., O. P. Poltarukha, and Yu. L. Kovalchuk, 2010: Seasonal dynamics of virus-like particles and nucleic acids in water and bottom sediments of the Sevastopol Bay of the Black Sea. *Water: Chemistry and Ecology*, **2**, 27–30.
12. Mukhanov, V., E. Sakhon, N. Rodionova, and An–Yi Tsai, 2022: Vertical distribution of picophytoplankton in the NW shelf and deep-water area of the Black Sea in spring. *Journal of Marine Systems*, **234**, 103779, 11 p., <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2022.103779>.
13. Mosharova, I. V., 2023: Virioplankton and bacterioplankton of the northeastern part of the Black Sea. *Ecology of the Hydrosphere*, **2** (10), 39–46, [https://doi.org/10.33624/2587-9367-2023-2\(10\)-39-46](https://doi.org/10.33624/2587-9367-2023-2(10)-39-46).
14. Parsons, R. J., M. Breitbart, M. W. Lomas, and C. A. Carlson, 2012: Ocean time–series reveals recurring seasonal patterns of virioplankton dynamics in the northwestern Sargasso Sea. *The ISME Journal*, **6**, 273–284, <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.101>.
15. Rohwer, F. and Thurber R. Vega, 2007: Viruses manipulate the marine environment. *Nature*, **459**, 207–212, <https://doi.org/10.1038/nature08060>.
16. Rylkova, O. A., S. B. Gulina, and N. V. Pimenov, 2019: Determination of the total number of microorganisms in bottom sediments of the Black Sea by flow cytometry. *Microbiology*, **88** (6), 685–694, <https://doi.org/10.1134/S0026365619060156>.
17. Stepanova, O. A., 2003: Marine bacteria and viruses in water and bottom sediments off the coast of Crimea. *Ecological safety of coastal and shelf zones*, **9**, 255–261.
18. Suttle, C. A., 2005: Viruses in the sea. *Nature*, **437** (7057), 356–361, <https://doi.org/10.1038/nature04160/>.

19. Ufimtseva, M. A. and V. S. Mukhanov, 2023: Vertical distribution of viral particles in the deep part of the Black Sea. *Complex Investigation of the World Ocean (CIWO-2023)*, 217–222, [https://doi.org/10.1007/978-3-031-47851-2\\_25](https://doi.org/10.1007/978-3-031-47851-2_25).
20. Weitz, J. S. and S. W. Wilhelm, 2012: Ocean viruses and their effects on microbial communities and biogeochemical cycles. *F1000 Biol Rep.*, **8** (September), 2–9, <https://doi.org/10.3410/B4-17>.
21. Wigginton, Charles & Sonderegger, Derek & Brussaard, Corina & Buchan, Alison & Finke, Jan & Fuhrman, Jed & Lennon, Jay & Middelboe, Mathias & Suttle, Curtis & Stock, Charles & Wilson, Willie & Wommack, K Eric & Wilhelm, Steven & Weitz, Joshua, 2016: Re-examination of the relationship between marine virus and microbial cell abundances. *Nature. Microbiology*, **1**, Art. 15024, <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2015.24>.
22. Wommack, K. Eric and Colwell Rita, 2000: Virioplankton: Viruses in Aquatic Ecosystems. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, **64**, 69–114, <https://doi.org/10.1128/mnbr.64.1.69-114.2000>.

Submitted 03.10.2023, accepted 28.02.2024.

**For citation:** Ufimtseva M. A. and V. S. Mukhanov, 2024: New data on the abundance and vertical distribution of virioplankton in the deep-water and neritic zones of the Black Sea. *Journal of Oceanological Research*, **52** (1), 142–156, [https://doi.org/10.29006/1564-2291.JOR-2024.52\(1\).7](https://doi.org/10.29006/1564-2291.JOR-2024.52(1).7).