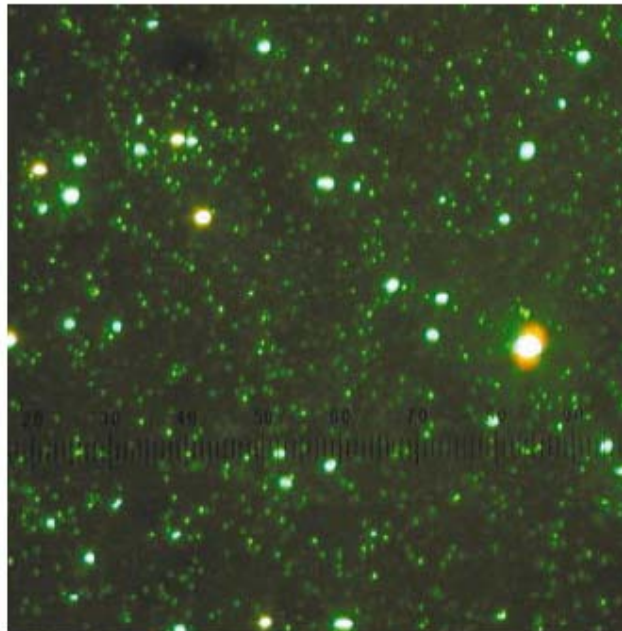


Universidade de Évora

- Virologia -

# Vírus Marinhos e seus efeitos Ecológicos e Biogeoquímicos



Realizado por:

Ana Marta Serronha N° 17838

Joana Lourenço N° 17563

Vera Sobral N° 17578

Biologia 2004/2005

## Índice

Introdução.....	3
Abundância de vírus.....	5
Actividade viral.....	6
Frequência de infecção.....	6
Degradação de vírus.....	7
Produção de vírus.....	9
Mortalidade de bactérias.....	9
Mortalidade do fitoplâncton.....	9
Efeitos biogeoquímicos.....	11
Efeitos ecológicos.....	13
Regulação da diversidade.....	13
Resistência.....	15
Lisogenia.....	16
Transferências genéticas.....	17
Considerações Finais.....	18
Bibliografia.....	18

## **Introdução**

**Os vírus são os agentes biológicos mais comuns no ambiente marinho, sendo cerca de dez bilhões por litro. Eles infectam provavelmente todos os organismos, podendo sofrer um decréscimo abrupto, assim como uma rápida recuperação. Para além disso, influenciam muitos dos processos ecológicos e biogeoquímicos, incluindo o ciclo dos nutrientes, a respiração do sistema, a distribuição das partículas por tamanhos e a sua taxa de sedimentação. Contribuem também para a biodiversidade do fitoplâncton e bactérias e suas distribuições, para o controlo de blooms de algas, para a formação de dimetil-sulfido (DMS) e para a transferência genética. Através do desenvolvimento de novas técnicas moleculares e de fluorescência concretizaram-se avanços significativos em direcção à avaliação e quantificação dos seus efeitos.**

A importância dos processos microbianos no ambiente marinho tem-se revelado cada vez mais importante nestas duas últimas décadas. Embora os microrganismos heterotróficos existentes na coluna de água, tenham sido ignorados durante muito tempo, actualmente é evidente que uma grande percentagem (muitas vezes metade ou mais) do fluxo total de matéria e energia na cadeia alimentar marinha, passa por este tipo de organismos, através da dissolução de matéria orgânica. Os procariotas heterotróficos são abundantes, representando uma proporção significativa da biomassa na zona eufótica (a superfície das águas), existindo ainda em maior número em águas mais profundas. O conceito de loop microbiano na cadeia alimentar marinha, tem sido desenvolvido e aperfeiçoado nestes últimos anos, mas até uma década atrás, os vírus eram ignorados neste tipo de estudos. No entanto, uma série de estudos têm demonstrado que os vírus não só são extremamente abundantes no plâncton marinho, como são agentes importantes no controlo das bactérias e do fitoplâncton, no que diz respeito à sua reprodução e à composição das espécies, influenciando os fluxos de transferência de matéria e energia no sistema.

Os vírus são partículas de pequenas dimensões, que variam entre os 20 e os 200 nm, compostos por material genético (DNA ou RNA, de cadeia simples ou dupla), rodeados por proteínas (cápside) em que alguns, para além destes componentes, também

possuem um envelope lipídico. Para além disso, estes não possuem metabolismo, funcionando como parasitas durante o ciclo celular do organismo hospedeiro. Teoricamente, todos os organismos celulares são susceptíveis à infecção, grande parte das vezes, por mais de um tipo de vírus, o que significa que os vírus serão, provavelmente, os agentes biológicos mais diversificados existentes na Terra. Um dado tipo de vírus, tem normalmente um número restrito de hospedeiros, grande parte das vezes, uma única espécie ou apenas certas subespécies, embora outros possam infectar espécies aparentadas ou até géneros. Os vírus penetram nos seus hospedeiros através de difusão passiva e usam estruturas celulares expostas dos seus hospedeiros, muitas vezes proteínas transportadoras, como pontos de adsorção e entrada na célula.

Existem três tipos básicos de reprodução de vírus: (1) Infecção lítica: o vírus prende-se à célula hospedeira e injecta o seu ácido nucleico para o interior da mesma, induzindo o hospedeiro à produção de numerosos vírus (progenia), estes são libertados através do rebentamento da célula, o que permite que o ciclo comece outra vez; (2) Infecção crónica: a libertação dos vírus não é letal para o hospedeiro, este liberta-os por exocitose ou budding durante várias gerações; (3) Infecção lisogénica: o ácido nucleico do genoma viral torna-se parte do genoma da célula hospedeira, e reproduz-se como o material genético (chamado de profago ou provírus), à medida que a célula realiza o seu ciclo celular. Neste caso, um fenómeno de indução, como o stress, no hospedeiro, pode provocar a conversão para infecção lítica.

Existe um tipo, menos definido, de interacção vírus-hospedeiro, denominado de pseudolisogenia, em que o ácido nucleico viral pode permanecer numa célula hospedeira por algum tempo (possivelmente durante algumas gerações) antes que a lise, ou destruição da célula ocorra. A pseudolisogenia pode estar relacionada com a carência em nutrientes do hospedeiro, pelo que o vírus adopta um estado inactivo, em que este é incapaz de iniciar a expressão de genes virais, devido ao baixo estado de energia da célula. A actividade viral normal volta quando a célula hospedeira voltar ao estado energético normal.

## **Abundância de vírus**

Os vírus que infectam organismos marinhos têm sido estudados durante várias décadas, inicialmente a partir de culturas puras, que incidiam apenas sobre os organismos em detrimento dos sistemas ecológicos. Mas, os vírus não eram considerados como componentes quantitativamente importantes das cadeias alimentares marinhas, até ser comprovado, através de contagem directa, que são deveras abundantes. O pequeno tamanho dos vírus torna-os invisíveis para um microscópio comum, e embora possam ser visualizados por um microscópio electrónico de transmissão (TEM), são necessários procedimentos especiais para os concentrar a partir da água do mar.

A descoberta de vírus e procariotas altamente abundantes em ambientes aquáticos, tem sensivelmente 25 e 40 anos respectivamente. Os primeiros relatos da alta abundância de vírus, excedendo a abundância de bactérias (de  $10^9$  por litro), despertaram o interesse acerca desta matéria. Muitos estudos subsequentes, mostraram que os vírus são as entidades mais abundantes no ambiente marinho, perto ou longe da costa, do clima tropical ao polar, da superfície até ao fundo do mar, em águas geladas e pobres em sedimentos. A abundância de vírus ronda os  $10^{10}$  por litro na superfície das águas (cerca de 5 a 25 vezes mais que a abundância de bactérias), e segue os mesmos padrões de abundância que as bactérias. Estes padrões incluem o decréscimo, em cerca de uma ordem de magnitude, entre as águas costeiras ricas e as águas pobres em nutrientes do oceano aberto, o decréscimo da superfície das águas para uma profundidade de 500 metros, assim como, nas fossas abissais e a riqueza do gelo em vírus (também o é em bactérias), em comparação com as águas imediatamente abaixo.

A abundância de vírus é dinâmica, respondendo particularmente a mudanças ecológicas, tais como, blooms de algas. Este facto, representa uma prova de que os vírus são membros activos da comunidade, não são partículas inertes. As flutuações pronunciadas, da abundância de vírus, em escalas de tempo de minutos a algumas horas, pode significar uma lise sincronizada das células hospedeiras, assim como, uma rápida degradação de vírus resultantes da progenia. Numa escala de centenas de quilómetros, a abundância de vírus é fortemente correlacionada com a abundância de bactérias, mas menos correlacionada com organismos que contenham clorofila a, o que indica que a maioria dos vírus marinhos infectam bactérias. O termo bactéria diz respeito aos procariotas em geral, pois a maioria dos estudos não distinguem as verdadeiras bactérias

(também denominadas de eubactérias) das archeobactérias. Em alguns habitats, particularmente as profundezas dos oceanos, metade dos procariotas poderão pertencer às archeobactérias.

O estudo dos vírus marinhos vai para além da sua simples contagem, a diversidade de vírus marinhos também tem sido examinada, através da sua morfologia e tamanho. As culturas e amostras recolhidas na natureza mostram que existe uma grande variedade de vírus.

### **Actividade viral**

Assim que foi descoberto que os vírus apresentam constantemente grande abundância no ambiente marinho, foi proposto que estes vírus deveriam infectar procariotas marinhos a taxas significativas, de modo a poderem persistir

Os procariotas parecem ser os maiores candidatos a hospedeiros, pois são os organismos mais abundantes (existem cerca de  $10^9$  bactérias marinhas por litro). Os vírus podem alcançar os seus hospedeiros por intersecção e difusão, em que o contacto é proporcional à abundância de hospedeiros e ao seu tamanho, pelo que é mais provável o contacto de um vírus com uma bactéria do que com um metazoário ou um outro protista. A relação entre vírus e bactérias é corroborada através de dados recolhidos no campo, que demonstram, que a abundância de bactérias é o melhor indicador da abundância de vírus. Para além disso, os vírus podem limitar a abundância de bactérias até varias ordens de magnitude abaixo do limite de capacidade de suporte do meio, demonstrando que exercem um potencial controlo sobre o meio.

Uma década após a descoberta da existência de uma elevada abundância viral, várias evidências conduzem à conclusão, de que os vírus são agentes importantes na mortalidade de procariotas aquáticos, e na estruturação das comunidades aquáticas.

### **Frequência de infecção**

Os vírus podem ser detectados visualmente dentro dos hospedeiros apenas no estágio terminal de uma infecção lítica, no entanto, as células infectadas que podem ser visualizadas representam apenas uma pequena parte do número de células infectadas.

Os vírus são responsáveis por cerca de 8 a 43% da mortalidade de bactérias, porém, esta percentagem pode estar sobrestimada, pois uma célula infectada pode ser consumida antes da sua lise. A contribuição dos vírus para a mortalidade em águas aeróbias é de cerca de 10 a 50%, no entanto, em águas anaeróbias a percentagem é bastante mais elevada, sendo de cerca de 45 a 100%.

Uma forma simples de examinar o possível impacto de vírus nos sistemas plantónicos, é a de aumentar artificialmente o número de vírus. Tal procedimento foi feito experimentalmente, usando concentrados virais naturais, produzidos por ultra-filtração da água do mar. Um aumento de cerca de 20% na concentração de vírus pode reduzir as taxas fotossintéticas em 50%. Quando foram adicionados vírus numa variedade de amostras, provenientes da costa e do alto mar, observou-se uma inibição do crescimento da comunidade bacteriana. Embora os concentrados aumentem a mortalidade das bactérias, podem também estimular o crescimento de bactérias resistentes.

### **Degradação de vírus**

A degradação de vírus é um parâmetro importante na investigação do papel ecológico dos vírus. O termo degradação é ambíguo, umas vezes refere-se à sua destruição, outras vezes refere-se ao seu desaparecimento por adsorção. Em culturas, a degradação é medida normalmente, através do decréscimo de partículas virais infecciosas medidas directamente ou de outros centros de infecção, depois de introduzidos vírus numa amostra. Em comunidades virais inteiras, a degradação é medida como o desaparecimento ao longo do tempo de partículas virais directamente contáveis (a progenia deve ser inibida para correcta medição).

As condições de degradação viral conduziram a estimativas de duração dos tempos de turnover dos vírus (o tempo necessário para a substituição do stock à medida que é degradado), de cerca de 1 hora a alguns dias. As taxas da degradação tendem a seguir a riqueza biológica das águas, em que a degradação mais rápida ocorre em águas costeiras ricas e a mais lenta em águas com baixa concentração em nutrientes (alto mar).

O estudo da perda de infecciosidade e dos mecanismos que levam a este fenómeno requerem culturas dos hospedeiros. Devido a este facto, é largamente desconhecida a natureza da diversidade microbiana, o que resultou no estudo de uma

percentagem ínfima dos vírus aí existentes. Um vírus em degradação pode perder a sua infecciosidade muito antes da sua completa degradação, por isso a perda de infecciosidade providencia uma medida mais precisa da taxa de degradação.

Um dos factores importantes na degradação, identificado em vários estudos marinhos até agora, foi a luz solar e seus consequentes danos. No entanto, a susceptibilidade a danos provocados pela luz solar varia bastante, com alguns vírus a degradarem-se rapidamente a uma taxa de 40 a 80% por hora, enquanto que outros se degradam a uma taxa mais baixa de apenas 5 a 10% por hora, o que faz com que as generalizações sejam difíceis de fazer. Os vírus de regiões mais iluminadas evidenciam, aparentemente, maior resistência aos danos provocados pela luz.

Pelo facto de a luz ser atenuada com a profundidade, a degradação provocada pela luz é mais importante perto da superfície, não tendo efeito nenhum nas profundezas do oceano. No entanto, mesmo com a atenuação da luz com a profundidade, os vírus presentes logo abaixo do nível de superfície do mar, particularmente susceptíveis poderão ser mais afectados pela radiação solar do que por qualquer outro mecanismo de degradação.

Na presença de luz, as bactérias hospedeiras podem, frequentemente, reparar o DNA viral danificado pela luz, restaurando a infecciosidade do vírus. Esta fotoreactivação (ou outros mecanismos de reparação dependentes da luz, em células hospedeiras) levou a uma nova conclusão, de que na porção iluminada da coluna de água os vírus são infecciosos, contrariamente à prévia suposição comum de que são inactivos.

A radiação solar não é o único dos factores mais importantes no mecanismo de degradação viral; outros mecanismos podem ser mais importantes dependendo das circunstâncias (mesmo em plena luz solar). Também foi observada uma significativa degradação, na presença de enzimas líticas provenientes das bactérias lisadas e na presença de enzimas hidrolíticas. Muitas vezes, bactérias, protistas, agregados e material dissolvido “trabalham” em conjunto com a luz solar.

A taxa total típica de degradação é cerca de 3-10% por hora, durante cerca de 0,5-1,5 dias. Culturas experimentais recentes mostram-nos que a percentagem de declínio da infecciosidade na água do mar pode abrandar com o tempo, deixando um baixo nível de vírus infecciosos que se degradam lentamente. Uma possível explicação para este facto será a possível existência de refúgios para os vírus, na água do mar, que os protegem. Para além disso, a variação natural entre os vírus, mesmo dentro da mesma



progenia, faz com que possa haver alguns que estejam perfeitamente estruturados e outros que podem ter falhas na cápside.

### **Produção de vírus**

A significância quantitativa da actividade viral pode ser investigada, através da estimativa da produção de vírus, pois esta implica necessariamente a infecção de células hospedeiras. Assumindo que a infecção é do tipo lítico, o número de vírus da progenia produzido por única célula hospedeira, pode ser usado para estimar a taxa de mortalidade das células hospedeiras, a partir da taxa de produção de vírus.

### **Mortalidade de bactérias**

Pensa-se, que os vírus são responsáveis por cerca de 10-50% da mortalidade total de bactérias em águas superficiais e por cerca de 50-100% em águas pouco oxigenadas (ambiente pouco favorável a protistas). A análise de correlação múltipla de abundância de bactérias, vírus e flagelados indica que, a mortalidade de bactérias induzidas por vírus, pode prevalecer ocasionalmente sobre a taxa de consumo de bactérias pelos flagelados. No entanto, alguns grupos de organismos e alguns habitats, mostram uma relativamente baixa indução de mortalidade por vírus; o efeito pode ser sazonal ou esporádico.

Em resumo, parece razoável concluir que os vírus frequentemente, mas não sempre, têm um efeito significativo na mortalidade das bactérias, algumas vezes, ainda mais significativo que o consumo destas por protistas.

### **Mortalidade do fitoplâncton**

Este tópico não é tão extensivamente estudado como a infecção de bactérias heterotróficas, no entanto o seu impacto é enorme, dado que o fitoplâncton é a base da cadeia alimentar marinha. Alguns estudos debruçam-se sobre o efeito geral dos vírus, em que um enriquecimento da água do mar, relativamente modesto, de 20% com um

concentrado de vírus, leva a uma redução de cerca de 50% da biomassa do fitoplâncton e da sua produção primária. Esta é uma evidência forte, de que uma grande abundância de vírus infecta activamente uma proporção significativa de comunidade fitoplânctónica.

Em contraste com estes estudos englobando a comunidade, outros estudos focaram-se em organismos hospedeiros particulares. Os estudos sobre organismos que infectam fitoplâncton dito ecologicamente importante, são facilitados, pois algumas destas espécies estão disponíveis em culturas puras, e são facilmente reconhecíveis ao microscópio (ao contrário das bactérias heterotróficas).

O fitoplâncton marinho é composto por procariotas (cianobactérias e proclorófitos) e eucariotas, ambos os grupos mostram evidências de infecção viral na natureza. Os vírus altamente abundantes (frequentemente  $10^2$ - $10^4$  por mililitro junto á costa e em alto mar, algumas vezes excedendo os  $10^5$  por mililitro) podem infectar estirpes específicas de cianobactérias marinhas (*Synechococcus sp.*). No entanto, os cianófagos, provavelmente, não serão responsáveis por uma grande proporção da mortalidade de cianobactérias, apenas cerca de 5-15% das cianobactérias no Golfo do México, são lisadas por cianófagos diariamente, com uma percentagem ainda mais baixa (cerca de 3% por dia) de *Synechococcus* lisadas em águas temperadas do Atlântico. Como as cianobactérias que se podem ter em cultura, tendem a ser resistentes a vários vírus que co-ocorrem, conclui-se assim, que os cianófagos afectam mais as espécies ou estirpes da comunidade que a abundância total. Este facto tem numerosas implicações na importância dos vírus na modificação da estrutura da comunidade, e talvez também, no funcionamento da comunidade.

Por vezes também são abundantes, os vírus encontrados na superfície das águas, que infectam o fitoplâncton marinho eucariótico. Os vírus são estruturalmente semelhantes aos iridovirus animais, em que o seu genoma é semelhante, mas maior (maior que 300 kbp), que o do poxvírus, e o seu processo de infecção assemelha-se ao dos bacteriófagos. Os vírus marinhos são capazes de infectar diatomáceas, chrysófitas, prymnesiófitas, haptófitas, raphidófitas e cryptomonas, assim, provavelmente todos os tipos de fitoplâncton podem ser infectados. Vários vírus que são patogénicos a uma prasinófito marinha, a *Micromonas pusilla* (um pequeno flagelado), têm sido isolados da água do mar em vários locais. A sua abundância pode exceder os  $10^5$  por mililitro em águas costeiras e o seu tempo de turnover é de cerca de 1,3 dias, para além disso, a infecção leva a cerca de 2-10% da lise de população hospedeira por dia.

Os vírus podem ser muito diversificados; foram identificados 5 genótipos de vírus de *M. pusilla*, usando análises de sequências de genes de DNA polimerase, de uma região fora da costa do Golfo do México. Também foi encontrada uma grande variedade entre estirpes de 14 vírus, isolados e testados contra 18 estirpes de cultura de *Heterosigma akashiwo*. Dada a dependência da diversidade da população hospedeira, por parte da infecção viral, é provável que esta infecção seja mais proeminente em blooms de algas, onde as células hospedeiras são abundantes.

Vários relatórios indicam que a infecção viral pode ser importante no controle de blooms de algas que podem causar problemas, pois a mucilagem que rodeia as algas pode asfixiar os peixes ou tornar as suas guelras permeáveis às toxinas dissolvidas. No fitoplâncton susceptível à infecção viral inclui-se a crysophita *Aureococcus anophagefferens* (que causa “marés castanhas” que trazem avultados prejuízos e têm efeitos devastadores), a raphidophyta tóxica *Heterosigma akashiwo* (que mata peixe em aquacultura e em meio natural), a comum *Phaeocystis pouchetti* e a *Emiliana huxleyi* (um organismo distribuído de forma global, que frequentemente forma grandes e densos blooms a latitudes medianas). Num bloom que está a ser destruído foi observado (recorrendo ao TEM), que mais de 50% de todas as células de *Emiliana huxleyi*, estão infectadas. Para além disso, a lise provocada por vírus é causadora de 25-100% da mortalidade de *Emiliana huxleyi*, uma das maiores produtoras de calcite do planeta (na forma de coccólitos), o que faz com que uma grande quantidade de carbono seja transportado para os sedimentos quando ocorre a sua lise. Esta alga também gera dimetil-sulfido (DMS), um gás importante para a regulação do clima e na alteração das rotas normais de migração dos peixes.

### **Efeitos biogeoquímicos**

Dado que os vírus, frequentemente, provocam grande parte de mortalidade de bactérias e fitoplâncton (particularmente durante os blooms), quais serão os seus efeitos no sistema como um todo? A infecção lítica converte as células em vírus mais detritos celulares, (monómeros, oligómeros e polímeros, colóides e fragmentos celulares), em que a maioria destes componentes é operacionalmente definido como matéria orgânica dissolvida. Qual será o destino deste material? A hipótese mais razoável é que a maioria dos produtos resultantes da lise, estarão, imediatamente ou eventualmente, disponíveis

para as bactérias. Este facto, foi confirmado recentemente, embora uma pequena parte dos vírus, possam ser directamente consumidos por flagelados heterotróficos e alguns detritos celulares possam resistir à degradação.

Se a célula lisada for uma bactéria, então a disponibilidade dos produtos resultantes da lise representa um loop trófico semi-fechado, onde a biomassa bacteriana é consumida primariamente por outras bactérias. O loop é alimentado externamente pela libertação de matéria orgânica pelos organismos heterotróficos e fitoplâncton. Dado que há perdas através da respiração e regeneração de nutrientes inorgânicos, associados ao uso de substâncias orgânicas dissolvidas, este loop tem como principal efeito o da oxidação de matéria orgânica e regeneração de nutrientes inorgânicos.

No entanto, dado que os protistas, de outra forma, consumiriam as bactérias, este consumo bacteriano de matéria originária de outras bactérias, tem a interessante propriedade de essencialmente “roubar” produção do resto da cadeia alimentar, e converter a biomassa em partículas muito pequenas e dissolvidas. De forma similar, a lise do fitoplâncton provocada por vírus iria retirá-lo aos grandes consumidores e transformá-lo em pequenas partículas. Este efeito foi ilustrado por um modelo que mostra que, comparando com um sistema sem vírus, a mesma cadeia alimentar com 50% de mortalidade de bactérias causada por vírus, possui mais 27% de respiração bacteriana e produção, e menos 37% de consumo de bactérias por protistas, o que culmina numa redução de 7% na produção do macrozooplâncton.

O modelo assumia que apenas as bactérias eram infectadas e que toda a matéria produzida por vírus era consumida por bactérias. Uma modificação deste modelo, em que se inclui uma pequena fracção de infecção viral de fitoplâncton (cerca de 7%) e também de consumo por flagelados (cerca de 3%) da produção de vírus, tem essencialmente o mesmo efeito de aumento da produção bacteriana e respiração (cerca de 33%) e redução da produção protista e animal.

A conversão de materiais em vírus, bactérias e matéria dissolvida, pode conduzir a uma melhor retenção de nutrientes na superfície das águas, em sistemas com infecção por vírus, pois mais materiais permanecem em formas que não sedimentam. Isto pode ser particularmente importante, para nutrientes que limitam potencialmente a produtividade (como o N, P e Fe), que estão relativamente concentrados em bactérias em comparação com os eucariótas. A actividade viral reduzida pode resultar em mais material em organismos maiores, que podem sedimentar, transportando carbono e nutrientes inorgânicos da superfície das águas para o fundo do mar.

A lise de organismos e a libertação dos conteúdos celulares para a água têm outros potenciais efeitos biogeoquímicos, devido às propriedades químicas e físicas dos materiais libertados e ao local, na coluna de água, onde a lise ocorre. Por exemplo, os polímeros libertados contribuem para as características de “gel” da água do mar, que influencia muitos processos biológicos e físico-químicos a nível microscópico. Estes polímeros podem também facilitar a agregação e sedimentação de material proveniente da superfície das águas. A lise viral em microrganismos agregados que estão a sedimentar, pode efectivamente dissolver as partículas, convertendo alguma matéria particulada em sedimentação, em material dissolvido que não sedimenta e colóides, a qualquer profundidade que a lise ocorra.

Os vírus podem também ser importantes para regular o clima a nível global, pois induzem a libertação de DMS, um gás que influencia a formação de nuvens. Experiências mostram que a infecção causa a total libertação do precursor de DMS intracelular, o DMSP, de *M. pusilla* (componente do fitoplâncton) e que os vírus infectam, na sua maioria, organismos que provocam blooms e contêm DMSP, como a *E. huxleyi* e a *P. pouchetti*, causando uma maior libertação de DMS. As interacções complexas na cadeia alimentar (dos micróbios ao zooplâncton), determinam se quantidades apreciáveis de DMS irão ser libertados para a atmosfera, ou se este é transformado e degradado primariamente por micróbios ou animais na coluna de água. No entanto, é importante compreender os processos físicos e as complexas interacções de vírus (quer de algas, que de bactérias), protistas e zooplâncton (consumidores), de forma a prever a quantidade de DMS libertado comparado com a sua degradação.

### **Efeitos ecológicos**

- **Regulação da diversidade**

Pelo seu efeito evidente nos blooms de algas e cianobactérias, os vírus estão numa posição única para influenciar a comunidade na sua composição em espécies. Análises teóricas indicam que o máximo possível de populações bacterianas distintas, num ambiente espacialmente homogéneo é igual ao número de recursos específicos mais o número de vírus específicos. Mesmo se os vírus causassem apenas uma pequena proporção da mortalidade de um pequeno grupo de organismos, eles ainda provocariam

um profundo efeito nas proporções relativas de diferentes espécies ou estirpes da comunidade.

Uma consideração importante é que, provavelmente, a infecção viral depende quer da densidade, como da especificidade das espécies. Pelo facto, de os vírus se poderem difundir sequencialmente de hospedeiro para hospedeiro, os hospedeiros mais raros, são menos susceptíveis ao alastramento da infecção que os mais comuns. Os vírus líticos apenas podem aumentar em abundância, quando o tempo médio de difusão de hospedeiro para hospedeiro é menor, que o tempo médio em que permanecem infecciosos. No entanto, quando a densidade de uma espécie ou estirpe particular aumenta, torna-se mais susceptível á infecção. Este facto pode contribuir para a resolução do paradoxo do plâncton de Hutchinson, que questiona como tantos diferentes tipos de fitoplâncton podem coexistir, dependendo apenas de alguns recursos potencialmente limitantes, quando a Teoria da Competição prevê apenas um ou poucos sobreviventes. Embora existam várias explicações possíveis, a actividade viral será, provavelmente, a que melhor contribui para a resposta, pois os organismos dominantes resultantes da competição tornam-se particularmente mais susceptíveis à infecção, enquanto que as espécies mais raras estão relativamente protegidas.

Os modelos dos potenciais factores que controlam a biomassa e a composição de espécies nos sistemas microbianos, incluem a limitação do crescimento por carbono orgânico, fosfato inorgânico ou azoto (inorgânico ou orgânico), e perdas nos efectivos celulares devido ao consumo por protistas ou pela lise viral. Mesmo quando a abundância bacteriana parece estar controlada devido ao consumo pelos protistas, os modelos mostram de forma consistente, que os vírus controlam o estado de equilíbrio da diversidade da comunidade bacteriana, enquanto que a taxa de crescimento bacteriano é limitada pelos nutrientes orgânicos e inorgânicos. Coincidentes com este modelo, existem estudos acerca do tamanho dos genomas virais e análises de hibridação de comunidades de vírus, que mostram mudanças periódicas e espaciais na composição destas comunidades. Para além disso, análises empíricas e teóricas indicam que os vírus são importantes na regulação de padrões de diversidade.

- **Resistência**

Tem sido mostrado que resistência ocorre em cianobactérias marinhas. A incidência da resistência em populações de bactérias heterotróficas marinhas não foi avaliada directamente, pois tal seria difícil dado que a maioria não se pode reproduzir em meio de cultura. No entanto, as altas taxas de produção de vírus em vários locais marinhos parecem não ser coincidentes com uma comunidade dominada por organismos resistentes aos vírus.

Porque será que a resistência aos vírus não parece ser um factor dominante, mesmo quando a teoria e alguns dados de campo indicam que assim deveria ser?

Infelizmente não existem explicações óbvias. Uma possível resposta, seria que a resistência é dominante, e a produção de vírus não é tão alta como parece ser, mas este facto iria requer explicações para as várias observações coincidentes com a alta produção de vírus. Outra possibilidade seria que a resistência é dispendiosa em termos fisiológicos, pois esta ocorre frequentemente através da perda de alguns receptores importantes, conferindo assim uma desvantagem competitiva. Esta teoria sugere que se o custo é tão alto, os organismos resistentes não poderiam persistir em competição com os organismos sensíveis, mesmo quando os vírus estão presentes. Experiências quimioestáticas indicam que mesmo com um custo que permita a persistência de células resistentes, elas podem permanecer raras, a não ser que o custo seja baixo ou que o recurso limitante seja abundante. No entanto, experiências laboratoriais indicam que a resistência a baixo custo, ou sem custo nenhum é possível, por isso a incerteza permanece.

O oceano contém muitas espécies de bactérias e vírus que coabitam, com uma variedade de mecanismos de mortalidade alternativos, e baixas, mas variáveis, condições nutricionais. Num típico ambiente marinho (oligotrófico), o crescimento bacteriano poderá ser limitado pelo azoto, fósforo ou carbono orgânico, então uma infecção viral sem sucesso (talvez travada intracelularmente por uma enzima de restrição, ou devido a uma incompatibilidade genética) é um benefício nutricional importante para o organismo hospedeiro, devido á injeção, por parte do vírus, de DNA pois este é rico em C, N e P. Mesmo a cápside, que ficou agarrada ao exterior da célula, é provavelmente digerível por exoenzimas de células associadas. Assim, poderíamos imaginar bactérias que usam receptores para vírus que não as podem infectar com

sucesso, se ocasionalmente entrar um que o possa fazer, mesmo assim a estratégia pode trazer benefícios para a linhagem destas células.

Poderia um modelo com tantas tentativas de infecção falhadas ser compatível com altas taxas de produção viral? Parece que sim, dado que, no estado de equilíbrio apenas um único vírus resultante da lise de uma célula (que produz tipicamente 20-50 vírus resultantes da progenia), infecta com sucesso outro hospedeiro. Uma grande proporção dos restantes (95-98% dos vírus sem sucesso) pode acabar por infectar os hospedeiros errados, dando a estes hospedeiros um incentivo para continuar a permitir a adsorção de vírus e a injeção de material genético viral. Este modelo é consistente mas altamente especulativo.

Outra consideração que argumenta contra a resistência é relativa aos resultados dos modelos dos sistemas que mostram que, como um grupo, as bactérias heterotróficas beneficiam de forma evidente da infecção viral, pois a infecção aumenta a sua produção significativamente, tirando o carbono e a energia, dos organismos de maior dimensão. Para além disso, os vírus também aumentam a biomassa e a produção de sistemas inteiros, ajudando a manter os nutrientes na superfície das águas. No entanto, estas explicações iriam necessitar adicionalmente de uma teoria de selecção de grupos, para explicar como é que as células iriam beneficiar do não desenvolvimento da resistência.

Parece que a maioria das explicações para a razão pela qual a resistência não é um factor dominante são tanto insatisfatórias como altamente especulativas. Como nota final, a resistência pode estar relacionada com a pseudolisogenia (no sentido de uma imunidade á infecção transitória, induzida por hospedeiros infectados), mas isto não é bem compreendido.

- **Lisogenia**

A lisogenia foi sugerida como uma estratégia de sobrevivência de vírus que vivem com uma baixa densidade de hospedeiros, que ao mesmo tempo, pode conferir vantagens ao hospedeiro, incluindo a imunidade a infecções provocadas por vírus específicos e a aquisição de novas funções codificadas pelo genoma viral (conhecido como conversão).

Em amostras de águas marinhas e de lagos, as bactérias infectadas com vírus lisogénico eram comuns, com níveis de abundâncias que variavam de, praticamente não



detectável a 40% do total de bactérias, sendo que esta variabilidade pode ser sazonal. Cerca de 40% das bactérias marinhas em cultura estão em ciclo lisogénico, no entanto, podem haver certas condições naturais que induzam estas bactérias a entrar em ciclo lítico, relatórios mostram que poluentes comuns como os hidrocarbonetos podem provocar este fenómeno. Porém, experiências com bactérias crescidas em água do mar filtrada indicam que, em condições naturais típicas, incluindo exposição á luz, a indução de bactérias em ciclo lisogénico é rara, e a vasta maioria (97% ou mais) dos vírus observados na água do mar resultam provavelmente de sucessivas infecções líticas. A indução da lisogenia pode ocorrer a um baixo nível ou de forma esporádica. Embora a indução seja rara, a elevada existência de lisogenia terá, provavelmente, maiores implicações em trocas genéticas e em fenómenos de evolução.

- **Transferências genéticas**

O papel dos vírus marinhos em transferências genéticas entre microrganismos, e o seu efeito na adaptação a curto prazo, no fundo genético da população e na evolução, constitui provavelmente a sua característica menos estudada. Devido a este fenómeno, podem surgir efeitos directos como a transdução, pela qual o vírus retira DNA de um hospedeiro e transfere-o para outro. Mas, o principal efeito em largas escalas de espaço e tempo seria o de homogeneizar os genes entre a população de hospedeiros susceptíveis. Embora a visão tradicional seja que a transdução ocorra numa gama muito restrita de hospedeiros, existe um estudo que indica que alguns vírus de bactérias marinhos são capazes de fazer transferências horizontais de genes, não específicas. Outra observação é que, a lise viral causa a libertação de DNA dos hospedeiros, que pode ser transferido para outro organismo através da transformação natural. O DNA dissolvido na água do mar é bastante comum, tendo como principal fonte a lise viral. Estes dois últimos processos (a transferência horizontal de genes não específica e a transformação) podem ter o efeito de mistura de genes entre uma grande variedade de espécies, com grandes efeitos na adaptação e evolução. Embora este tipo de transferência seja extremamente raro, a típica abundância de bactérias de  $10^9$  por litro na superfície das águas e o grande volume do mar, conjugado com os tempos de geração na ordem de um dia, implica que mesmo um fenómeno com uma probabilidade de  $10^{-20}$  por geração, ocorreria cerca de um milhão de vezes por dia. Estes processos podem ter

grandes efeitos na estrutura genética e na evolução da população global de bactéria marinhas. Tais processos também deveriam ser considerados, na avaliação do potencial alastramento de genes microbianos geneticamente modificados, ou na resistência a antibióticos introduzida pela aquacultura intensiva.

### **Considerações Finais**

A dificuldade no acesso à informação, devido à sua escassez, demonstra que se trata de um tema muito pouco explorado. Contudo, é de extrema importância a continuação do estudo da dinâmica da comunidade plantônica, sobretudo, no que diz respeito aos vírus, pois estes intervêm em diversos processos ecológicos e biogeoquímicos importantes a nível global.

Agradecemos à Professora Teresa Cruz pelo apoio e fornecimento de material indispensáveis para a realização deste trabalho.

### **Bibliografia**

- *Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects*; **Nature**; Vol 399; Fuhrman J. A.; 1999;
- <http://www.sciencedirect.com>
  - *Roles of viral infection in organic particle flux* Proctor L.M.; Fuhrman J.A.
- <http://www.ucmp.berkeley.edu/chromista/prymnesiophyta.html>
- [http://www.mansfield.ohio-state.edu/~sabedon/bib\\_av.htm](http://www.mansfield.ohio-state.edu/~sabedon/bib_av.htm)
  - *Viruses and viruslike particles of eukaryotic algae* ;Van Etten, J L; Lane, L C; Meints, R H; Department of Plant Pathology, University of Nebraska, Lincoln;
  - *Fundamental changes in light scattering associated with infection of marine bacteria by bacteriophage*. Balch,W.M., Vaughn,J.M., Novotny,J.F., Drapeau,D.T., Goes,J.I., Booth,E., Lapierre,J.M., Vining,C.L., Ashe,A., Vaughn,J.J. (2002). *Limnol. Oceanogr.*

- *Prokaryotic and viral diversity patterns in marine plankton.* Fuhrman, J.A., Griffith, J., Schwabach, M. (2002). *Ecol. Res.*
- *Bacteriophage replication and reactivation in stationary phase hosts.* Gallimore, W.H., Burgess, J.M., Kokjohn, T.A. (2002). *Research Signpost*
- *Flow cytometric analysis of an *Emiliania huxleyi* bloom terminated by viral infection.* Jacquet, S., Heldal, M., Iglesias-Rodriguez, D., Larsen, A., Wilson, W.H. (2002). *Aquat. Microb. Ecol.*
- *Degree of ultraviolet radiation damage and repair capabilities are related to G+C content in marine vibriophages.* Kellogg, C.A., Paul, J.H. (2002). *Aquat. Microb. Ecol.*
- *Viruses causing lysis of the toxic bloom-forming alga, *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae), are widespread in coastal sediments of British Columbia, Canada.* Lawrence, J.E., Chan, A.M., Suttle, C.A. (2002). *Limnol. Oceanogr.*
- *Regeneration of dissolved organic matter by viral lysis in marine microbial communities.* Middelboe, M., Lyck, P.G. (2002). *Aquat. Microb. Ecol.*
- *Marine phage genomics.* Paul, J.H., Sullivan, M.B., Segall, A.M., Rohwer, F. (2002). *Comparative Biochemistry and Physiology*
- *Effects of concentrated viral communities on photosynthesis and community composition of co-occurring benthic microalgae and phytoplankton.* Hewson, I., O'Neil, J.M., Heil, C.A., Bratbak, G., Dennison, W.C. (2001). *Aquat. Microb. Ecol.*
- *Effects of bacteriophages on the population dynamics of four strains of pelagic marine bacteria.* Middelboe, M., Hagstrom, A., Blackburn, N., Sinn, B., Fischer, U., Borch, N.H., Pinhassi, J., Simu, K., Lorenz, M.G. (2001). *Microb. Ecol.*
- *Estimating viral proliferation in aquatic samples.* Noble, R., Steward, G. (2001). *Methods in Microbiology*
- *Cyanophages.* Martin, E.L., Kokjohn, T.A. (1999). pp. 324-332. In In Granoff, A. and Webster, R.G. (eds.), *Encyclopedia of Virology second edition.* Academic Press, San Diego.
- *The fates of viruses in the marine environment.* Noble, R.T. (1999). University of Southern California.

- *Population dynamics of phytoplankton and viruses in a phosphate-limited mesocosm and their effect on DMSP and DMS production.* Wilson,W.H., Turner,S., Mann,N.H. (1998). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*
- *Viruses in aquatic ecosystems. A review.* Sime-Ngando,T. (1997). *Annee Biologique*
- *Photoreactivation compensates for UV damage and restores infectivity to natural marine virus communities.* Weinbauer,M.G., Wilhelm,S.W., Suttle,C.A., Garza,D.R. (1997). *Appl. Environ. Microbiol.*
- *Viral abundance in aquatic systems: a comparison between marine and fresh waters.* Maranger,R., Bird,D.F. (1995). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*
- *Marine viral ecology: Incorporation of bacteriophage into the microbial planktonic food web paradigm.* Murray,A.G., Eldridge,P.M. (1994). *J. Plankton. Res.*
- *Infection of phytoplankton by viruses and reduction of primary productivity.* Suttle,C.A., Chan,A.M., Cottrell,M.T. (1990). *Nature*
- *Resistance to co-occurring phages enables marine *Synechococcus* communities to coexist with cyanophages abundant in seawater.* Waterbury,J.B., Valois,F.W. (1993). *Appl. Environ. Microbiol.*
- *Mechanisms and rates of decay of marine viruses in seawater.* Suttle,C.A., Chen,F. (1992). *Appl. Environ. Microbiol*
- *Roles of viral infection in organic particle flux.* Proctor,L.M., Fuhrman,J.A. (1991). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 69:133-142.