



В ПОИСКАХ «ЭКОЛОГИИ ЧЕРНОМОРСКИХ ВИРУСОВ»

Рец. на кн. О. А. Степановой «Экология аллохтонных и автохтонных вирусов Чёрного моря». – Киевский нац. унив-т им. Тараса Шевченко. – Севастополь: Мир, 2004. – 306 с.

Тема, вынесенная в заголовок монографии О. А. Степановой – «Экология аллохтонных и автохтонных вирусов Чёрного моря» –, весьма актуальна, однако актуальность тематики не всегда является гарантией высокого качества и значимости результатов исследования, что наглядно демонстрирует рецензируемая работа. Она вобрала в себя, пожалуй, весь спектр недопустимых ошибок и недоработок, которые могут встретиться в исследовательской практике: от некомпетентности в вопросах методологии исследований и непонимания основополагающих концепций и терминологии до неспособности грамотно организовать экспериментальную работу, сделать правильные выводы из полученных результатов и ясно изложить их на бумаге. Объём работы, которую пришлось выполнить рецензентам монографии, оказался столь велик, что мы были вынуждены акцентировать внимание лишь на ряде наиболее существенных вопросов (в первую очередь, методах исследования, см. ниже п. 4), некоторые из них иллюстрировать яркими примерами, большую же часть оставить без внимания. К тому же, пришлось отказаться от традиционного рассмотрения содержания глав монографии в порядке их изложения в пользу системного анализа всей работы, который приводит, увы! к неутешительному для автора выводу: большая часть полученных им данных не отвечает критериям достоверности.

1. Отсутствие целостности исследования, несоответствие содержания монографии заявленному названию. Попытка автора объединить свои результаты некоторой общей идеей свелась к выбору обобщающего названия. Однако «экология» вирусов Чёрного моря в понимании О.А. Степановой – это гелиогеофизические факторы, ультрафиолетовая «нагрузка», превышающая естественный фон в порядки раз, содержание нуклеиновых кислот в среде, превышающее природные концентрации в порядки раз (см. ниже). В монографии предпринята попытка (гл. 4) объяснить динамику численности бактерио- и вириопланктона, изменения в их морфологии и в метаболической активности бактерио-

планктона фазами Луны, продолжительностью светового дня и геомагнитной напряжённостью. Такие же факторы, как содержание органического вещества и биогенов в воде (т.е. источников углерода и энергии, определяющих физиологическую активность микроорганизмов и продуктивность сообщества), трофические процессы в микробальной пищевой цепи (в частности, смертность микроорганизмов вследствие их выедания консументами), естественные процессы потери вирулентности и разрушения вирусных частиц в толще воды (как один из процессов, определяющих численность вирусов *in situ*) и многие другие, автором вовсе игнорируются: они исключены из полевых исследований и экспериментов, не рассматриваются в ходе анализа и обсуждения полученных результатов. Позабыт автором и главный процесс, в котором, собственно, заключена экологическая значимость вирусов в водных экосистемах, – смертность планктонных и бентосных организмов в результате их инфицирования вирусами.

2. Несоответствие литературного обзора направлениям исследования. Результаты, которые изложены в главах 2, 4, 7 и 9, не соотносены в полной мере с ранее известными и опубликованными данными. В частности, литературный обзор (гл. 1) не содержит исчерпывающей информации о возможности межвидовой трансмиссии бактериофага со сменой прокариотного хозяина эукариотным и методах идентификации этого процесса (к результатам гл. 2.4); интенсивность дыхания бактериопланктона (для сопоставления с результатами микрокалориметрии, представленными в гл. 4.3, табл. 4.12); энергетических аспектах взаимодействия фагов и бактерий в ходе литической инфекции (к результатам гл. 7.2); влиянию лунных фаз и геомагнитной напряженности на численность и физиологическую активность гидробионтов (к результатам гл. 4.3); физические и химические основы контакта и «взаимодействия» (терминология автора., стр. 252 – 259) вируса с растворённой в водной среде ДНК и предпосылках к использованию микрокалориметрии в исследовании этого процесса.

Столь неуважительное отношение к публикациям коллег автор оправдывает смелостью своих идей, примеряя при этом образ «первооткрывателя» новых направлений в исследованиях морских вирусов: «Вполне возможно, что наши работы в представленном направлении выполнены впервые, а выводы, сделанные на основании результатов, неожиданны и слишком смелы, т.к. не имеют опоры и поддержки в виде ссылок на иные публикации» (стр. 204).

Подобный подход, однако, может свидетельствовать лишь о некомпетентности автора в тех самых областях знаний, в которых она и проводит свои исследования.

3. Неточности цитирования и искажение содержания ссылок. Монография переполнена ссылками на публикации, содержание которых автор или понимает неверно, или умышленно искажает, чтобы обосновать необходимые положения (в том числе, для оправдания применения устаревших и несуществующих методов – см. ниже п. 4). Одновременно фактически проигнорированы работы, без которых понимание той или иной проблемы будет неполным. Несколько тому примеров в одной лишь из тем, затронутых в монографии: микроскопии мельчайших организмов планктона.

На стр. 53 – 57 автор делает обзор методов количественного исследования вирусов в водных экосистемах. Концептуальная статья Дж. Сибурга с соавторами (Sieburth et al., 1978) представлена как «одна из первых работ, посвящённых изучению фракций морского микропланктона при помощи трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) с выделением фракции фемтопланктона...» (стр. 53). Однако, цитируемая публикация является теоретической работой и не содержит описания каких-либо методов, включая ТЭМ.

Говоря об эпифлуоресцентной микроскопии (ЭФМ), автор рецензируемой монографии адресует читателя к источникам, в которых приводятся «особенности использования ЭФМ для прямого счёта бактерий и вирусов, требования к размерам пор фильтров, описания разнообразных флуорохромов» (стр. 55), а именно: Родина (1965), Hobbie et al. (1977), Stockner et al. (1990), Suzuki et al. (1993), Wommack, Colwell (2000). Однако ни одна из этих работ не содержит описания метода прямого счёта вирусов в пробах воды с помощью ЭФМ.

Автор сообщает о сопоставимости результатов счёта вирусов, получаемых с помощью ЭФМ и ТЭМ, ссылаясь на статью Borsheim et al. (1990) (стр. 55). Однако в этой работе ЭФМ применяли только для счёта бактериопланктона, тогда как вириопланктон исследовали с помощью ТЭМ. Следо-

вательно, упомянутое сопоставление результатов ТЭМ и ЭФМ было невозможно.

О.А. Степанова пишет, что Hara et al. (1991) концентрировали вириопланктон на миллиметровых фильтрах (стр. 56), но, увы! они применяли для этих целей трековые (ядерные) мембраны с диаметром пор 0.015 мкм, а миллиметровые мембраны (с диаметром пор 0.45 мкм) использовали в качестве подложки для равномерного распределения вакуума по поверхности трековой мембраны.

Со времени опубликования упоминаемой в монографии О. А. Степановой работы Hara et al. (1991), в которой была предпринята первая попытка количественного учёта фемтопланктона с помощью ЭФМ, технология концентрирования сообщества претерпела серьёзные изменения с появлением мембран Anodisc 25 (Whatman International Ltd.), сменились два поколения флуорохромов – от DAPI (Suttle, 1993) к Yo-Pro-1 (Weinbauer & Suttle, 1997), SYBR Green I (Noble, Fuhrman, 1998) и SYBR Gold (Chen et al., 2001), были усовершенствованы методы фиксации проб и их хранения (Wen et al., 2004).

Ни одна из этих работ не упоминается в монографии. Если причина этого – неосведомлённость её автора, то – как объяснить тот факт, что неоднократно цитируемый в монографии обзор Wommack, Colwell (2000) содержит информацию о Yo-Pro-1 и SYBR Green I?

4. Несоответствие методологии исследования поставленным задачам. Применение устаревших и несуществующих методик.

4.1. Микроскопия вириопланктона. Обосновывая применение ЭФМ для счёта морских вирусов, О.А. Степанова ссылается на пособие К.А. Макирова (1974), в котором, по её словам, описаны возможности люминесцентного микроскопа МЛ-2 «для обнаружения отдельных вирусов» (стр. 123). Однако в этой работе (Макиров, 1974, стр. 137) речь идёт о выявлении: а) «элементарных телец крупных вирусов, размеры которых превышают 150 нм», тогда как более 65 % морских вирусов имеют размер капсида в диапазоне от 30 до 60 нм (Hennes, Simon, 1995; Weinbauer, Peduzzi, 1994); б) «внутриклеточных вирусных включений», которые не являются отдельными вирусами. Кроме того, в пособии не обсуждается применение мембран для концентрирования проб, не приводится подробное описание методов.

О.А. Степанова пытается показать, что метод, который она использовала для оценки численности вирусов с помощью ЭФМ, давно применяется в морской микробиологии, тем самым вводя читателя в заблуждение.

Читаем на стр. 125: «Подсчёт вирусов (на

фильтрах с диаметром пор 0,05 и 0,01 мкм), а также и бактерий (на фильтрах с диаметром пор 0,45 и 0,2 мкм) осуществляли по общепринятой методике [Родина, 1965; Naga et al., 1991; Hobbie et al., 1977; Suzuki et al., 1993]». Среди цитируемых ею публикаций лишь одна (Naga et al., 1991) содержит описание метода ЭФМ, пригодного для счёта ДНК-содержащих частиц в фемтопланктоне, который, впрочем, уже устарел и более не используется в современных исследованиях. Однако и этот метод О. А. Степановой не применялся, поскольку вместо DAPI и трековых мембран, о которых говорится в публикации Naga et al. (1991), она использовала акридиновый оранжевый (АО) и белые нитроцеллюлозные.

Заметим, что до О. А. Степановой никто не использовал АО и нитроцеллюлозные мембраны в подобных целях: «т.к. нам не встречалась информация по использованию для окрашивания водных вирусов АО, то наши публикации являются первыми по описанию эффективности применения этого флуорохрома в водной вирусологии» (стр. 124). Можно было бы считать О. А. Степанову «новатором», но лишь с той лишь оговоркой, что она применяла эти материалы в исследованиях вириопланктона и вириобентоса без соответствующей методологической базы.

Причина, по которой другие исследователи не додумались до подобного «новаторства», заключается в следующем.

Во-первых, белые нитроцеллюлозные мембраны – источник интенсивной фоновой автофлуоресценции даже после их чернения иргаланом (Dalley, Hobbie, 1975; Jones, 1979). Вследствие этого контраст изображения настолько мал, что распознавание окрашенных флуорохромами микроорганизмов становится трудноосуществимым.

Во-вторых, неспецифическая окраска детрита и клеточных структур, которая свойственна АО (Porter, Feig, 1980), и о которой говорит сама О.А. Степанова (стр. 123), может быть источником артефактов. К этому следует добавить, что для чернения нитроцеллюлозных мембран автор использовала спирторастворимый краситель Судан чёрный, но нитроцеллюлоза чувствительна к действию большинства растворителей, в том числе спиртовых (Brock, 1983, см. также техдокументацию к мембранам Sartorius). В ходе чернения мембрана должна выдерживаться в красителе в течение нескольких часов. Если материал мембраны – нитроцеллюлоза, её структура и фильтрационные свойства будут нарушены. О.А. Степанова же использовала такие мем-

браны для оценки численности как бактерий, так и вирусов.

К сожалению, автор демонстрирует также и непонимание элементарных основ микроскопии. В монографии приведены описания «геометрических («морфологических») форм представителей черно-морского вириопланктона, которых наблюдали при ЭФМ» (стр. 124), т.е. автор описывала «морфотипы» морских вирусов с помощью светового микроскопа. «Мы отличали по форме округлые (сферические), палочковидные, лимоноподобные (игловидные) и волосковидные вирусные частицы» (стр. 124). Автор утверждает, что этим описаниям созвучны «упрощенные характеристики морфологии вирусов», приводимые в пособии К.А. Макирова (1974): «по внешним признакам вирусы подразделяются на сферические (шаровидные), палочковидные (нитевидные) и сперматопоподобные» (Макиров, 1974, стр. 125). Однако описания, которые приводит К.А. Макиров, получены с помощью электронной микроскопии, а не ЭФМ.

4.2. Выделение и микроскопия бактерио- и вириобентоса. Метод, который автор рецензируемой монографии использовала для выделения микроорганизмов бентоса, заключался в приготовлении суспензий донных осадков в физиологическом растворе, их встряхивании (собственно, смыв бактерий и вирусов с частиц взвеси) и отстаивании для проведения микроскопии надосадочной жидкости. Каких-либо ссылок на работы, в которых данная методика описана подробно, она не приводит. Её подход не имеет ничего общего с современным методом экстрагирования бактерий и вирусов из донных осадков (см. Danovaro et al., 2001; Glud, Middelboe, 2004; Bettarel et al., 2006), высокая эффективность которого основана на действии ПАВ (пирофосфата натрия), ультразвуковой обработке и центрифугировании проб.

Микроскопия экстрагированных из донных осадков бактерий и вирусов (Danovaro et al., 2001; Glud, Middelboe, 2004; Bettarel et al., 2006) подразумевает использование упомянутых выше материалов (мембраны Anodisc 25, флуорохромы SYBR Green I или SYBR Gold), а также обработку проб нуклеазами для разрушения внеклеточных нуклеиновых кислот и снижения их фоновой флуоресценции (Danovaro et al., 2001). Однако О.А. Степанова не использовала ни один из этих методов, что заставляет сомневаться в достоверности полученных ею данных о численности вирусов и бактерий в бентосе.

4.3. Контаминация гидробионтов аллохтонными вирусами. О.А. Степанова пишет, что в бухтах Севастополя в 1994 – 1997 гг. ею «...были изучены 34 сообщества мидий, 10 из которых были контаминированы адено-, энтеро-, рота- и реовирусами, что составляет около 30 % от общего количества исследованных сообществ» (стр. 97). Более ничего конкретного о встречаемости вирусов в мидиях не сообщается. В работе отсутствуют данные не только о частоте встречаемости тех или иных групп вирусов в исследованных пробах мидий («сообществах», по терминологии автора), но и об общей доле инфицированных моллюсков в отдельно взятой пробе. Однако только на основании таких данных можно сделать вывод об общей инфицированности черноморских мидий. Автор лишь указывает, что «... чаще были инфицированы особи средних размеров (25 – 45 мм длины) по сравнению с более мелкими или крупными представителями, что вероятно связано с их физиологическими особенностями» (стр. 112). Что понимать в научной публикации под словом «чаще» – непонятно, поскольку никаких цифр автор не приводит. И совершенно неясно, что имела в виду О. А. Степанова, говоря о физиологических особенностях моллюсков разных размеров, и как это связано с их инфицированием, т.к. это утверждение никак не комментируется. Более того, непонятен сам принцип деления моллюсков на «пулы» (!) из особей крупного (4.5 x 2.5 см), среднего (4.5 – 2.5 x 2.5 – 2 см) и *малого* (так у автора!) (менее 2.5 x 1.5 см) размеров, т.к. хорошо известно, что мидии одного и того же возраста могут иметь разный размер, а потому отождествлять возраст и размеры, как это делает автор на стр. 92, никак нельзя.

Судя по материалам табл. 2.4 (стр. 95 – 96), взятие проб мидий из Севастопольских бухт носило случайный характер, не учитывались глубина места взятия проб и его удаленность от источника поступления сточных вод, полностью отсутствовал круглогодичный ряд наблюдений, выполняемых хотя бы на одной станции. К тому же в большинстве случаев пробы мидий были представлены какой-либо одной размерной группой из числа, выделенных автором, – или 0, или 1, или 2. Единственный раз, в июле 1995 г., проба мидий из Артиллерийской бухты была представлена всеми тремя размерными группами (0, 1 и 2), и один раз, в июне 1995 г., в Камышовой бухте – двумя (2 и 3). На основании таких фрагментарных материалов сделать обоснованные выводы об экологии вирусов невозможно.

Хорошо известно, что встречаемость энтеровирусов в моллюсках, в том числе в мидии, зави-

сит от их циркуляции в сообществе людей, а также от многих других биотических и абиотических факторов. По этой причине она подвержена сезонным и межгодовым колебаниям, пространственной изменчивости, что необходимо учитывать при анализе роли моллюсков в «возвращении» вирусов в человеческое общество. Только располагая такой информацией можно судить о роли мидий в циркуляции патогенных для человека вирусов в любом водоёме, в том числе и в Чёрном море.

4.4. Применение микрокалориметрии в исследовании бактериопланктона. Результаты, полученные автором в микрокалориметрических экспериментах с бактериопланктоном, представлены в табл. 4.12 (стр. 159), как общая теплопродукция пробы (мкВт) и интенсивность теплопродукции бактерий (мкВт 10^{-5} кл.). В соответствии с этими данными, интенсивность теплопродукции планктонных бактерий изменялась в диапазоне от 0.04 до 3.25 мкВт 10^{-5} кл., что эквивалентно 0.4 – 32.5 пВт кл.⁻¹ (п = пико = 10^{-12}) и в среднем на 3 порядка выше величин скорости дыхания морского бактериопланктона, полученных ранее разными исследователями. Например, интенсивность дыхания сообщества в океанических водах составляла 0.4 – 8.7 фмоль O_2 кл.⁻¹ сут.⁻¹ (Biddanda et al., 1994; Blight et al., 1995), что эквивалентно 2.1 – 45.2 фВт кл.⁻¹ (ф = фемто = 10^{-15}), если принять оксикалорийный коэффициент равным -450 кДж моль⁻¹ O_2 . Можно обратиться и к отечественным данным, в соответствии с которыми интенсивность дыхания бактериопланктона в Севастопольской бухте составляла $0.18 – 0.41 \times 10^{-12}$ г O_2 кл.⁻¹ сут.⁻¹ (Шумакова, 1987), что эквивалентно интенсивности теплопродукции 29.3 – 66.7 фВт кл.⁻¹.

Простейшие вычисления показывают, что при численности бактерий в морской воде 10^6 кл. мл⁻¹ и объёме исследуемой пробы 3 мл суммарная теплопродукция пробы не может превысить порог чувствительности микрокалориметра ВМ-2277, который О.А. Степанова использовала в своих исследованиях. Это означает, что, как и в случае с микроскопией, микрокалориметрические данные, представленные в монографии, не соответствуют действительности.

4.5. Применение микрокалориметрии в исследовании взаимодействия бактерий и фагов. В микрокалориметрических экспериментах с модельной системой «фаг-бактерия» О.А. Степанова использовала вирулентные фаги. Следовательно, при возрастании кратности заражения (MOI, multiplicity of infection) выше некоего предела должен происходить полный лизис бактериальной культуры с соответствующими изменениями в оптической

плотности и теплопродукции культуры. Однако, ни в одном из многочасовых экспериментов, результаты которых представлены в гл. 7.2, подобной картины не наблюдалось. Более того, О.А. Степанова получила микрокалориметрические свидетельства «бурного роста» инфицированной культуры *Xanthomonas* (стр. 223 – 227) и делает на их основе следующее заключение: «изученные вирусные изоляты не могут быть использованы в качестве биологического средства против возбудителя туберкулёза сахарной свеклы (*X. axanopodis* pv. *beticola*), т.к. в конечном итоге потенцируют рост бактериальной культуры» (стр. 226 – 227). Возникает вопрос: как могло случиться, что штамм 7325 бактериофагов фитопатогенных бактерий из коллекции кафедры вирусологии КНУ, предназначенных для борьбы с заболеваниями с/х растений, стал, в соответствии с выводами автора монографии, потенциально опасным для сельского хозяйства страны? Если происхождение штамма сомнительно, автору не следовало включать в монографию результаты, которые она получала с его помощью, в частности, гл. 2.3, 2.4, часть гл. 7.2 (микрокалориметрию взаимодействия *Xanthomonas* со штаммом фага 7325), часть гл. 9 (микрокалориметрию штамма 7325 с ДНК).

Идея исследования системы «фаг-бактерия» микрокалориметрическим методом хоть и не нова, но, несомненно, перспективна. Можно лишь сожалеть, что ценность результатов, представленных в гл. 7.2, невелика по причине: а) отсутствия калибровок кривых оптической плотности, которые бы позволили перейти от относительных единиц к численности бактерий в культуре и, как одно из следствий этого, б) отсутствия информации об интенсивности метаболизма бактерий (пВт кл.⁻¹) на протяжении экспериментов; в) отсутствия точной информации о том, какие величины МОИ были заданы в представленных экспериментах; г) недостаточного количества вариантов МОИ в экспериментах с каждой парой фаг-бактерия; д) недостаточного количества повторных микрокалориметрических экспериментов; е) отсутствия контроля процесса инфицирования методами микроскопии.

Если в описании экспериментов с культурами сальмонеллы и ксантомоноса указаны, по крайней мере, приблизительные (на уровне порядков) численности бактерий и титр фагов (чего, конечно, недостаточно), то для накопительных культур бактериопланктона и обогащённых фильтратов морской воды, которые, предположительно, содержали бактериофагов (стр. 227 – 238), подобная информация не приводится вовсе (данные микроскопии также отсутствуют). Как следствие этого, все

результаты, описываемые О.А. Степановой в этой части работы, а также выводы, сделанные на их основе, носят спекулятивный характер.

4.6. Тепловой эффект взаимодействия вирусов и ДНК. Одной из целей микрокалориметрических исследований, проводимых О.А. Степановой, было «выявить возможное влияние нуклеотидов на аллохтонных вирусов в гидросфере» (гл. 9, стр. 252). Поскольку автор не включила эту проблему (в первую очередь, публикации, в которых назывались бы механизмы подобного воздействия) в литературный обзор, трудно понять, каким путём она пришла к идее «химического механизма взаимодействия тетрануклеотидов с вирусными структурами» и необходимости применения микрокалориметрии для его исследования. Содержание гл. 9 порождает множество вопросов. Почему идёт речь о химическом взаимодействии, а физические процессы игнорируются (хотя последние также могли протекать с выделением или потреблением тепловой энергии)? Почему говорится о «взаимодействии»: вирусы воздействуют на тетрануклеотиды? Если это химические процессы, то какие именно? Какие «структуры» вирусов, взаимодействующие с тетрануклеотидами, автор имеет в виду? Какую роль во взаимодействии ДНК и вирусов автор отводит АТФ и интерферону? Результаты исследования не дают ответа ни на один из этих вопросов.

Желание автора распространить полученные ею экспериментальные результаты на всю гидросферу похвально. Проблема в том, что для достижения этой цели она считает правильным «сmodelировать контакт растворимых ДНК и вирусов в лабораторных условиях при искусственно созданных их высоких концентрациях» (стр. 252). «Искусственно созданные» автором концентрации ДНК были как минимум на 4 порядка выше, чем в морской воде. Неудивительно, что экологическая интерпретация результатов подобных экспериментов невозможна, т.е. выходит за рамки темы «экология вирусов моря».

4.7. Межвидовая трансмиссия фагов. В гл. 2.4 приведены результаты успешной «адаптации» бактериофагов к микроводоросли (эукариотному микроорганизму), т.е. речь идёт о межвидовой трансмиссии фага (этот термин автором не используется) со сменой прокариотного хозяина эукариотным за 50 дней. Однако достоверность подобного результата может быть подтверждена только с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ряда других молекулярных методов (см., например, Arzul et al., 2001a, 2001b; Voevodin et al., 1996), которые автор не использовала в своих исследованиях. Возможность подобной трансмиссии вы-

зывает большие сомнения и неудивительно, что автор не приводит ссылки на публикации, в которых описан подобный феномен.

4.8. «Лунный фактор» и экология вирио- и бактериопланктона. Чтобы показать в полево-мисследовании, что «гелиогеофизические факторы», действительно, вовлечены в контроль динамики численности бактерио- и вириопланктона (и ряда других переменных, о которых говорит автор), и количественно определить степень этого контроля, не обойтись лишь расчётом «дурной» корреляции между фазами луны и численностями бактерий и вирусов (хотя и это не было грамотно сделано автором). Необходим многофакторный статистический анализ всего комплекса значимых переменных, включая скорости роста и смертности бактериопланктона (вследствие инфицирования фагами и выедания фаготрофными простейшими), скорости продукции (вследствие лизиса микроорганизмов) и деградации вирусных частиц в столбе воды, численности основных групп гетеротрофного и фотоавтотрофного микропланктона, концентрации РОВ и биогенов, температура воды и др. Подобную работу автор планировала («силу данного [лунного] фактора мы хотели определить на фоне многих других варьирующих факторов, биотических и абиотических, которые присутствуют в морской воде Севастопольской бухты, подвергающейся загрязнению»), но по каким-то причинам не воплотила в жизнь.

5. Отсутствие необходимого количества повторных экспериментов и статистического анализа. Количество повторностей во всех экспериментах (за исключением оптической плотности культур, измеряемой с помощью Биоскрин) недостаточно для подтверждения достоверности результатов. Счёт микроорганизмов и «вирусов» также не обеспечен повторностями. Подавляющее большинство величин, приводимых в тексте и таблицах монографии, не обеспечены соответствующей статистикой. В тех случаях, когда автор приводит средние величины с интервалами (\pm) (стр. 122, 126 – 128), не указано происхождение последних: доверительный интервал, стандартная ошибка или стандартное отклонение? Единственный параграф во всей монографии (стр. 151), в котором автор упоминает критерий Стьюдента и коэффициенты корреляции, демонстрирует её беспомощность и неспособность понять смысл статистических показателей. Например, она пишет, что «различие между [...] находится в пределах значимости... более 0,01» (стр. 151). Так достоверно оно или нет?

6. Безосновательность и противоречивость выводов. Стоит согласиться с автором, что выводы, которые она делает на основе полученных результатов, «неожиданны и слишком смелы, т.к. не имеют опоры и поддержки в виде ссылок на иные публикации» (стр. 204). К этому необходимо добавить только то, что они не подкреплены и самими результатами.

Проблема обоснованности выводов, сделанных автором в монографии, имеет несколько составляющих. Во-первых, почти все выводы базируются на недостоверных результатах (артефактах), как это было показано выше на примере микроскопии и микрокалориметрии. Во-вторых, структура результатов такова, что невозможно провести их качественный статистический анализ. В-третьих, если даже предположить, что результаты достоверны, из них не следуют те заключения, которые формулирует О.А. Степанова. По большей части – это лишь безосновательные спекуляции (нередко доведённые до абсурда), в которых желаемое выдается за действительное. Примеров тому множество. Некоторые из них приведены выше (см. пп. 4.1 – 4.8). К голословным утверждениям можно отнести и следующие:

«...загрязнение акватории стоками привело к контаминации 74% морских рыб патогенными вирусами бактерий, поражающих сельскохозяйственные культуры» (стр. 105);

«наши результаты свидетельствуют о том, что вирусы играют определенную роль в патологии черноморских млекопитающих» (стр. 121);

«морфологические характеристики вириопланктона отличаются в разные годы, что, по нашему мнению, связано с воздействием гелиогеофизических факторов» (стр. 122);

«...пик бактериопланктона приходился на весеннее-летний период, когда удлиняется продолжительность дня» (стр. 126);

«...обнаруживалась масса бесформенных образований органического происхождения, представляющих, по всей видимости, обломки и осколки погибших бактерий» (стр. 141);

«размерная фракция микроорганизмов более 0,45 мкм, представленная в морской воде бактериями, в т.ч. и цианобактериями, препятствует быстрому изменению численности остальных представителей микропланктона под воздействием УФ лучей. Иными словами, слой воды и наличие крупной размерной фракции микропланктона служат защитными факторами морским бактериям и вирусам при УФ нагрузке» (стр. 142);

«На основании полученных результатов возникло предположение, что вариабельность сезонной чувствительности к УФ отражает универсальное защитное свойство морских гетеротрофных, а возможно и иных микроорганизмов, выработанное в ходе эволюции» (стр. 149);

«Таким образом, было обнаружено, что дополнительный свет, отраженный в дни полнолуния, положительно (положительная корреляция) влияет на численность крупного бактериопланктона...» (стр. 156); «...отмечается преобладание сферических (округлых) форм (до 100%). Не свидетельство ли это своеобразной «стерилизации» морской воды и адаптации микроорганизмов и вирусов под действием усиленного УФ фона?» (стр. 173);

«Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что в начале 21 века (2000-2002 гг.) как в Черном море, так и в водах Антарктики наблюдается значительное снижение численности фракций микропланктона – морских бактерий и вирусов. По нашему мнению, тенденция [снижения численности] ...должна отмечаться по всей планете, как быстрое и адекватное реагирование представителей микромира на глобальное потепление и изменение климата, на повышенную в 2000-2002 гг. активность Солнца» (стр. 204);

«культура, инфицированная вирусами..., растет активнее контроля в несколько раз» (стр. 223);

«морские бактериофаги... влияют угнетающе на метаболические процессы бактерий...» (стр. 231) – вывод следует за утверждением, что «вероятно, контакт бактериальных клеток с вирусами сопровождался повышением метаболизма, что может быть связано с репродукцией вируса» (стр. 223);

«Этот факт позволяет предположить, что бактериопланктон Черного моря представлен в значительной своей массе из лизорезистентных популяций, а лизогения, вероятно, преобладает над литической инфекцией» (стр. 231);

«Вероятно, это явление [резкое падение теплопродукции] свидетельствует о так называемом «кооперативном переходе ДНК», сущность которого состоит...» (стр. 256);

«...в основе снижения инфекционного титра альговирюсов, лежит химический механизм взаимодействия тетрауклеотидов с вирусными структурами» (стр. 259).

7. Неправильное использование терминологии, небрежность в подаче материала. Создается впечатление, что автор не понимает базовые гидробиологические и экологические концепции и термины. Например, при разделении рыб на группы

– «рыбы-бентофаги» и «рыбы, обитающие в придонном слое воды» (стр. 104) – нарушен сам принцип экологической терминологии: выделение первой группы основано на трофических связях рыб, второй – на приуроченности к определенному биотопу.

Бактерии в размерной фракции 0.2 – 0.45 мкм именуется в монографии «фильтрующимися формами» в соответствии с ссылкой на Tabor et al. (1981), а все микроорганизмы мельче 0.2 мкм определяются как «вирусы». Однако в указанной работе под термином «фильтрующиеся бактерии» (filterable bacteria) подразумеваются *все* бактерии, прошедшие через фильтр 0.45 мкм (т.е. во фракции <0.45 мкм). Автор рецензируемой монографии, вероятно, не знает, что многие бактерии, как и вирусы, не улавливаются мембранами с диаметром пор 0.2 мкм – это так называемые «ультрамикробактерии» (Suttle, 1993). Относятся ли они к фильтрующимся формам? Несомненно. Общую численность бактериопланктона традиционно определяют на фильтре 0.2 мкм (Hobbie et al., 1977), т.е. «традиционный» бактериопланктон (его можно определить и как «гетеротрофный пикопланктон», 0.2-2 мкм) включает и те самые бактерии во фракции 0.2 – 0.45 мкм, которые автор именуется фильтрующимися формами.

Как и вирусы, ультрамикробактерии, попадающие во фракцию <0.2 мкм, окрашиваются флуорохромами, специфичными к нуклеиновым кислотам, и их невозможно отличить от вирусов с помощью ЭФМ. По этой причине исследователи, применяющие ЭФМ для количественной оценки фемтопланктона, предпочитают пользоваться термином «вирусоподобные частицы» (virus-like particles, VLP), который объединяет и вирусы и ультрамикробактерии. Автор же безоговорочно использует термин «вирусы».

Ошибок подобного рода в монографии много. Несколько примеров:

«Виропланктон оказался самым многочисленным классом среди других гидробионтов» (стр. 8). Это не класс, а жизненная форма.

«Число вирусных частиц в загрязняющих стоках значительно меньше содержания токсических химических веществ» (стр. 9). Невозможно сравнивать концентрации частиц (шт. в единице объема) и растворенных в воде веществ (г или моли в единице объема).

«В воде обитает множество видов живых существ и растений» (стр. 10). Растения не относятся к живым существам?

«...воздействие вирусной инфекции на гибель хозяйских популяций» (стр. 72). Может ли инфекция воздействовать на гибель? «Хозяйские популяции» - биологический ли термин?

«Размерная фракция микроорганизмов более 0.45 мкм, представленная в морской воде бактериями, в т.ч. и цианобактериями» (стр. 142). Фракция >0.45 мкм представлена не только бактериями и цианобактериями (т.е. частью гетеротрофного и фотоавтотрофного пикопланктона, 0.2 – 2 мкм), но и жгутиковыми, инфузориями, фитопланктоном (соответственно, нано- и микропланктоном).

«...фитопланктонная фракция микропланктона» (стр. 204). Фитопланктон – это сообщество фотосинтезирующих микроорганизмов, которые по своим размерным характеристикам могут быть отнесены к микропланктону (размерной фракции 20 – 200 мкм). Впрочем, есть и фотосинтезирующие жгутиковые (фотоавтотрофный наннопланктон), и цианобактерии (фотоавтотрофный пикопланктон).

«...являются природными представителями гидросферы» (стр. 261). Встречаются ли неприродные представители гидросферы?

«...микроорганизмы – наиболее чувствительные биоассоциации, быстро откликающиеся на любые флуктуации экосистемы» (стр. 204). Микроорганизмы – это не «биоассоциации», а группа мельчайших организмов (вирусов, бактерий, простейших, водорослей, грибов).

Перечень подобных несуразностей можно продолжать бесконечно.

И если приведённые примеры иллюстрируют некомпетентность автора в вопросах гидробиологии и водной микробиологии, то как можно объяснить «оговорки» такого рода: «... моллюски, в силу своей физиологии, представляют собой одну из ступеней в эволюции вирусов» (стр. 48)?

К сказанному следует добавить небрежность подачи и неточности в библиографии (например, ссылки 276, 297, 280, 282, 285, 343, 411 – удивительный гибрид иностранного и русского текста), большое количество грамматических ошибок, издательских несуразностей (иногда абзацы доходят до 75 строк), слабое владение научным языком, регулярное повторение одного и того же текста.

Резюмируя сказанное выше, подход автора к экологическим исследованиям можно охарактеризовать следующим образом: фрагментарность в сборе первичного материала; применение устаревших и/или не соответствующих поставленным задачам методов; отсутствие системности в анализе данных; плохое знание биологии предмета исследований; слабая обоснованность выводов; избыток утверждений декларативного характера.

Таким образом, мы вынуждены констатировать, что монография О. А. Степановой «Экология аллохтонных и автохтонных вирусов Чёрного моря», в силу уже упомянутой некомпетентности автора в вопросах гидробиологии и водной микробиологии, ошибочности большинства положений и результатов, не только не раскрывает экологию черноморских вирусов, но и дезориентирует молодых исследователей, которые начинают работать в области экологии вообще и экологии водных вирусов в частности.

*А. В. Гаевская, О. Г. Миронов, В. И. Рябушко,
Э. З. Самышев, Н. В. Шадрин*

(Институт биологии южных морей НАН Украины,
Севастополь, Украина)