

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Curso de Especialização em Microbiologia
Grazielle Cossenzo Florentino Galinari

Bacteriófagos em ecossistemas aquáticos

Belo Horizonte
2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas

Curso de Especialização em Microbiologia

Grazielle Cossenzo Florentino Galinari

Bacteriófagos em ecossistemas aquáticos

Monografia apresentada ao Curso de Especialização de Microbiologia Industrial e Ambiental do Instituto de Ciências Biológicas para obtenção do Título de Especialista em Microbiologia pela Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vera Lucia dos Santos.

Belo Horizonte
2011

Dedico este trabalho à minha família, que sempre me incentivou a estudar, souberam lidar com todos os meus momentos de ausência, com carinho e compreensão. À minha orientadora por tanta dedicação e paciência, você é um exemplo de educadora e pessoa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço;

A Deus por sempre me guiar e ser meu fortalecimento nas horas difíceis. Aos meus grandes amores, Leandro e Igor, por sempre estar ao meu lado, incentivarem nos estudos, aceitarem e compreenderem meus momentos de ausência, que foram muitos.

À minha mãe por ser um exemplo de mulher batalhadora que me inspira nas minhas dificuldades, e pelas orações. A todos os meus familiares que sempre vibram e torcem pelos meus sucessos e realizações.

Aos meus colegas de trabalho, do Laboratório de Virologia em Pesquisa Animal, principalmente a Priscilla, por tamanho auxílio sempre.

Às minhas amigas Eleen e Fernanda, que durante esta especialização surgiu uma amizade sólida, obrigada, por toda a companhia.

Aos professores e funcionários do curso de Especialização em Microbiologia, pelo conhecimento transmitido e pela atenção durante um ano de convivência.

E finalmente à minha querida orientadora, Professora Vera, por tanta disponibilidade, paciência, carinho e compreensão, que me auxiliou a vencer esta grande barreira, a escrita. Como aprendi, e ainda muito tenho que aprender com a senhora, pois a considero um exemplo de professora e pessoa. Muito obrigada mesmo.

“A alegria não chega apenas no encontro do achado,mas faz parte do processo da busca. E ensinar e aprender não pode dar-se fora da procura,fora da boniteza e da alegria.”

Paulo Freire

RESUMO

A descoberta dos vírus nos ecossistemas aquáticos iniciou-se há algumas décadas. Porém, até hoje existem muitas lacunas a serem preenchidas, necessitando ainda de estudos para respondê-las. Esta revisão de literatura aborda a relação entre vírus ecossistemas aquáticos, como o modo que os vírus atuam neles, descrevendo algumas das espécies mais estudadas, bem como a sua distribuição nestes ambientes e suas interações com seus hospedeiros, além de descrever as características das constituições principais de um ecossistema aquático, distinção entre as subdivisões de um lago e mares, o modo de multiplicação viral e suas estratégias de acordo com as características ambientais. Faz ainda uma pequena abordagem das técnicas mais utilizadas nos estudos das interações entre os vírus e seus hospedeiros. Os vírus de ecossistemas aquáticos participam de vários processos na cadeia alimentar, atuando diretamente na mortalidade do bacterioplâncton e fitoplâncton, transferência de genes entre hospedeiros, regulação do fluxo de nutrientes e carbono, diversidade e diversificação de espécies. Esta breve revisão visa relatar a importância dos vírus nos ecossistemas aquáticos, bem como mostrar que é necessária a realização de mais estudos nesta área.

Palavras – chaves: ecossistemas aquático; vírus; bacteriófagos; bacterioplâncton; fitoplâncton; diversidade e ciclagem de nutrientes

ABSTRACT

The discovery of viruses in aquatic ecosystems started few decades ago. However, there are still many gaps to be filled, requiring further studies to answer them. This literature review addresses the relationship between viruses and aquatic ecosystems, and the way that viruses act on it, describing some of the most studied species, as well as their distribution in this environment and their interactions with their hosts. Moreover, it describes the main features of the constitution of the aquatic ecosystem, a distinction between subdivisions of a lake and seas, the mode of viral replication and their strategies according to their environmental characteristics. It also has few details of the technical approach used in the study of interactions between viruses and their hosts. The viruses of aquatic ecosystems of various processes are involved in the food chain, acting directly on the mortality of phytoplankton and bacterioplankton, gene transfer between hosts, regulating the flow of nutrients and carbon, diversity and diversification of species. This revision aims to report the importance of viruses in aquatic ecosystems, as well to show achievements the need have more studies in this area.

Key words: ecosystemaquatic; viruses; bacteriophage; bacterioplankton, phytoplankton, abundance; diversity; nutrient cycling.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Principais divisões dos microorganismos que compõem o plâncton.	15
Figura 2	Desenho esquemático dos fagos de DNA de fita dupla mais comumente encontrados no ambiente aquáticos pertencentes à Ordem <i>Caudovirales</i> .	19
Figura 3	Micrografia eletrônica de transmissão de uma cultura de <i>Emiliana huxley</i> , as setas indicam o capsideo do vírus <i>Emiliana huxleyi</i> .	21
Figura 4	Representação esquemática dos três tipos de ciclos virais que podem ocorrer no ambiente aquático.	22
Figura 5	Diagrama demonstrando o impacto dos vírus na ciclagem de nutrientes e carbono no ecossistema marinho.	38

LISTA DE ABREVIATURAS

DNA – Ácido desoxirribonucléico

ME – Microscopia de epifluorescência

ICTV – “International Committee of Taxonomy of Viruses”. Comitê Internacional de Taxonomia Viral

Kbp – Kilopares de base

μm – Micrômetro

nm – Nanômetro

ml – Mililitro

mm – Milímetro

MET – Microscopia eletrônica de transmissão

MOD – Matéria Orgânica Dissolvida

RNA – Ácido ribonucléico

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Vírus encontrados no ecossistema aquático que não pertencem a ordem Caudovirales.	20
Tabela 2	Abundância de vírus e bactérias em ambientes marinhos e dulcícolas.	26
Tabela 3	Comparação da produção viral em água marinha, água doce, sedimentos realizados através de estudos por vários pesquisadores em localidades diversas.	28
Tabela 4	Vírus que infectam o fitoplâncton eucariótico e crescem em cultura de células.	43

SUMARIO

1.0 Introdução.....	12
2.0 Revisão Bibliográfica.....	15
2.1 Componentes do Ambiente Aquático.....	15
2.2 Vírus Aquáticos	17
2.3 Replicação Viral em Ambiente Aquático.....	21
2.4 Abundância dos Vírus Aquáticos.....	25
2.5 Variação da População Viral nos Ecossistemas Aquáticos	29
2.6 Papéis dos vírus no controle das comunidades do fitoplâncton e zooplâncton.....	31
2.7 Transferência horizontal de genes realizada pelos vírus no ecossistema aquático.....	32
2.8 Vírus e ciclagem de nutrientes no ecossistema marinho.....	37
2.8.1 Absorção de Fósforo e Nitrogênio do Lisado Viral por Bactérias.....	40
3.0 Influências dos vírus no fitoplâncton marinho.....	42
4.0 Influências dos vírus no ecossistema bentônico.....	46
5.0 Influência dos Vírus em Ambiente Oligotrófico.....	49
6.0 Métodos para analisar os vírus em ecossistemas aquáticos.....	51
7.0 Conclusão.....	53
8.0 Referências bibliográficas.....	54

1 INTRODUÇÃO

Os microorganismos como fungos, bactérias e vírus estão amplamente distribuídos no ambiente, sendo encontrados em todos os ecossistemas, tanto aquáticos quanto terrestres, participando de várias relações ecológicas. Existem diversos estudos sobre o papel dos fungos no meio ambiente, principalmente em relação à função que desempenham no processo de decomposição e consequente reciclagem de nutrientes para o meio ambiente. Além disso, os fungos são frequentemente utilizados pelo setor industrial no processo de fermentação de vários produtos. Em relação às bactérias, também existem vários estudos sobre sua importância, tais como sua participação na microbiota indígena dos organismos, como agentes etiológicos de várias doenças, além de serem de grande interesse para indústrias de vários setores, pois são utilizadas como vetores para muitas técnicas laboratoriais, sendo também amplamente empregadas na fermentação e produção de medicamentos. No entanto, existem poucos estudos sobre a interação que os vírus mantêm com o meio ambiente, principalmente o aquático. A diversidade, importância e papel ecológico dos vírus, presentes no solo, sedimentos de lagos e mares são pouco conhecidos. Em relação aos vírus, os estudos de diversidade são recentes e têm mostrado até o presente momento que estes organismos são capazes de infectar representantes de todos os domínios: Eukarya, Archaea e Bactéria.

Os vírus são muito estudados na área da saúde, pois são agentes etiológicos de diversas doenças que atingem potencialmente todas as espécies conhecidas espécies, desde plantas a animais. Essas doenças podem gerar grandes prejuízos ao setor agropecuário e para a população humana em geral, e muito do que já se tem sido estudado e descoberto sobre a biologia dos vírus foi devido à sua importância como agentes causais de diversas doenças, conhecidas como viroses.

Os estudos de interação entre vírus e o meio ambiente vem aumentando desde 1990, com maior ênfase na interação dos vírus com os ecossistemas aquáticos. Atualmente, as informações disponíveis, apesar de serem relevantes para a

compreensão das interações ambientais, ainda apresentam grandes lacunas a serem desvendadas (BETTAREL et al., 2004). E quando se compara a compreensão dos vírus ambientais com os da área da saúde, ainda são necessários mais estudos e desenvolvimento de novas tecnologias para entender as várias interações que estes vírus apresentam no ecossistema.

Os vírus estão presentes em grande quantidade e diversidade no meio ambiente, ocorrendo na proporção de 10^6 a 10^8 vírus por mililitro de água marinha ou por grama de solo, sendo aproximadamente 10^{31} na escala global (MIDDELBOE, 2008).

Os vírus de ambientes aquáticos, tanto marinhos quanto dulcícolas, ainda são pouco conhecidos. Isto ocorre porque um dos maiores problemas enfrentados pelos pesquisadores no estudo dos vírus, bem como de outros microorganismos componentes do ecossistema aquático, é a grande dificuldade metodológica para coleta e isolamento destes microorganismos. Um dos problemas é o grande volume de água necessário para realizar os estudos; e por serem considerados parasitas intracelulares, é necessário cultivar as espécies hospedeiras em laboratório. Sabe-se que menos de 10% dos microorganismos são cultiváveis em laboratório dificultando o crescimento dos mesmos *in vitro* (HELDAL & BRATBAK, 1991).

Atualmente, já se tem o conhecimento de que os vírus de ambiente aquático participam ativamente da cadeia alimentar, atuando na mortalidade do bacterioplâncton e fitoplâncton; promovendo a ciclagem de nutrientes devolvendo ao meio carbono, nitrogênio e fósforo; e, em algumas situações, podem provocar um crescimento excessivo de algas, causando o fenômeno conhecido como florações, que geram prejuízos ambientais e econômicos (PROCTOR, 1990; SÄWSTRÖN, 2003). Essa ciclagem de nutrientes é de grande importância para todos os ambientes aquáticos (PRADEEP RAM & SIME-NGANDO, 2010).

Estudos realizados em ambientes dulcícolas e marinhos têm sugerido a existência de grande diversidade de espécies e de estratégias de sobrevivência dos vírus. Além do predomínio de bacteriófagos em relação aos outros tipos de

vírus (PRADEEP RAM & SIME-NGANDO, 2010). Os vírus nos ecossistemas aquáticos infectam tanto organismos como bactérias e protozoários quanto eucariotos de todas as classes, e estes podem ser encontrados nos sedimentos, em águas de temperaturas diversas, em ambientes extremófilos como lagos de água salgada e de temperaturas elevadas e até no gelo (MIDDELBOE, 2006). O objetivo desta revisão de literatura foi realizar uma abordagem sobre a influência dos vírus nos ecossistemas aquáticos, descrevendo a participação dos vírus na ciclagem de nutrientes, no controle populacional do fitoplâncton e zooplâncton, na transferência horizontal de genes, apresenta relatos atualizados dos vírus nestes ambientes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 COMPONENTES DO AMBIENTE AQUÁTICO

O ambiente aquático pode ser dividido em Talassociclo e Liminociclo, que constituem o conjunto de ecossistemas marinhos e de água doce, respectivamente. Os organismos aquáticos pertencem aos dois ecossistemas são divididos de acordo com a capacidade de deslocamento em três categorias: plâncton, nécton e bento (MAIER et al., 2009).

O termo plâncton é originado do grego (*planktón*) sendo constituídos por animais, protistas que não apresentam movimento capaz de vencer as correntes marítimas. Estes podem ser divididos de acordo com as suas dimensões, como mostra a figura 1, em picoplâncton (0,2 a 2 μm) representado pelas letras A e B nanoplâncton (2 a 20 μm) em C, microplâncton (20 a 200 μm) em D, e mesoplâncton (200 a 1000 μm) em E (RÉ, 2005; MAIER et al.,2009). Também existem outras divisões do plâncton baseadas em seu biótopo, distribuição vertical, duração da vida planctônica e nutrição. Em relação ao modo como estes microorganismos se alimentam, este pode ser dividido em fitoplâncton, que é autotrófico; plâncton animal ou zooplâncton; e o bacterioplâncton, ambos heterotróficos, sendo que existem os mixotróficos. Esses quatro grupos juntos formam a comunidade planctônica (RÉ, 2005; MAIER et al., 2009).

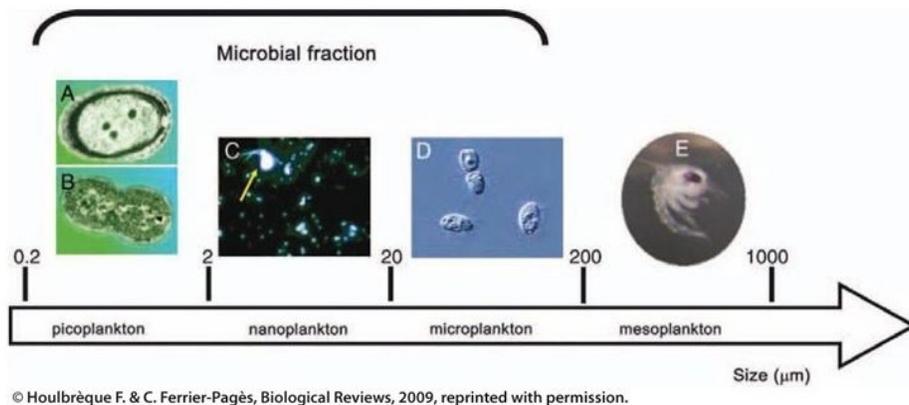


Figura 1: Principais divisões dos microorganismos que compõem o plâncton.
Fonte: <http://www.ipaq.org.br/vb/content.php113-ALIMENTE-SEUS-CORAI>

O habitat nectônico é a zona de transição entre a coluna de água e a parte profunda. Nesta, há um aumento dos níveis de nutrientes e densidade de microorganismos, e em termos de atividade dos seres que o ocupam é parecida com a planctônica (MAIER et al., 2009). Ocorre alta atividade dos ciclos biogeoquímicos, com alta ciclagem de nutrientes como carbono, enxofre e nitrogênio. Já o habitat bentônico está localizado na zona profunda, associado ao sedimento, apresentando predomínio de animais e grandes concentrações de bactérias anaeróbias (MAIER et al., 2009).

Em ambiente dulcícola, principalmente em lagos, existem outras subdivisões, a região costeira, a região limnética e a região profunda. A região costeira fica junto à margem e apresenta grande quantidade de algas e plantas, sendo considerada uma área produtiva devida à alta incidência de luz e nutrientes. A região limnética é aberta e afastada da borda, rica em fitoplâncton, zooplâncton e peixes. Na região profunda, não há seres vivos fotossintetizantes; os seres vivos desse local dependem de alimentos de outra região, havendo presença de pouco oxigênio, e uma abundância de bactérias anaeróbias (MAIER et al., 2009). Existe ainda outra subdivisão que varia de acordo com a incidência de luz solar, muito comum em lagos. Esta subdivisão compreende três grupos, o epilímnio, termoclima e hipolímnio. O epilímnio é caracterizado pela alta incidência de luz solar, com grande concentração de produtores primários, pouca variação de temperatura e alta concentração de nutrientes. O termoclima é uma região intermediária com grande variação de temperatura, com ocorrência da estratificação de água e que recebe incidência de luz solar menor quando comparada ao epilímnio. No hipolímnio, há pouca ou quase ausência de luz, ficando próxima ao sedimento e apresentando pouco oxigênio e baixa temperatura da água (MAIER et al., 2009).

No ambiente aquático, o zooplâncton e o fitoplâncton são encontrados na região eufótica, que é caracterizada por apresentar grande luminosidade, chegando a até 80 metros de profundidade (RÉ, 2005). Neste ambiente é realizada a maioria dos estudos sobre a influência dos vírus nos ecossistemas aquáticos, pois é na região eufótica que se encontram a maioria dos hospedeiros dos vírus (MAIER et al., 2009). Existe ainda a zona disfótica, na

qual a intensidade da luz é reduzida, chegando até 200 metros de profundidade. Nela, as populações de organismos fotossintetizantes são reduzidas; há um aumento do tamanho dos animais e é nesta região onde vive a maioria dos peixes. A zona afótica é uma região totalmente escura que vai além dos 200 metros de profundidade, limitando a sobrevivência de herbívoros. Porém, sabe-se que há uma grande concentração de microorganismos como bactérias anaeróbias e vírus no sedimento (MILDDEBOE et al., 2004; RÉ, 2005; MAIER, 2009).

Diversos fatores favorecem a diferença existentes entre os dois ambientes, como salinidade, temperatura, pH, concentração de oxigênio dissolvido, concentração total de nitrogênio, fósforo e carbono, profundidade, fluxo de nutrientes, entre outros (PRADEEP RAM & SIME-NGANDO, 2010). Estes fatores são importantes por afetarem as características da população microbiana, e mesmo pequenas mudanças nestes fatores podem alterar toda a dinâmica do sistema (JACQUET et al., 2010).

2.2 VÍRUS AQUÁTICOS

Há 20 anos, os estudos sobre a relação dos vírus com ecossistemas aquáticos começaram a despertar interesse, devido à descoberta da grande quantidade de vírus existentes em um mililitro de água. Diversos estudos foram feitos visando à descoberta dos hospedeiros dos vírus nos ecossistemas aquáticos (FUHRMAN & SCHWALBACH, 2003). Hoje, já se sabe que os vírus em ambientes aquáticos conseguem se multiplicar em animais e vegetais de todos os ecossistemas e são encontrados em maior quantidade no zooplâncton e no fitoplâncton que se encontram na zona eufótica (MIDDELBOE, 2006; PRADEEP & SIME-NGANDO, 2010).

Os vírus aquáticos, assim como os outros, são pequenos organismos sendo que a maioria compreende entre 30 a 60 nanômetros (nm) de tamanho, variando em média de 51-64 nm para sistemas marinho/estuários e 51-89 nm para sistemas dulcícolas (SIME-NGANDO & COLOMBET, 2009), embora

existam vírus gigantes de DNA (NCPLV). Apresentam estrutura biológica simples, composta por DNA (ácido desoxirribonucléico) ou RNA (ácido ribonucléico) e o tamanho do genoma varia de acordo com a família. A forma extracelular é conhecida como virion ou partícula viral, que são partículas infecciosas estáveis, de difícil desnaturação e resistentes à ação de algumas enzimas como nucleases e proteases (SÄWSTRÖM, 2003).

Dentre os vírus isolados no ambiente aquático observa-se um predomínio dos bacteriófagos em relação aos demais (SUTTLE, 2005). Dos fagos isolados do domínio Bactéria, aproximadamente em números absolutos 96% pertencem à ordem *Caudovirales*, porém esta porcentagem não é válida para a riqueza de espécies de vírus neste ambiente (THURBER, 2009). Esses vírus apresentam capsídeo não envelopado, com cabeça de simetria icosaédrica e a cauda podendo ser contrátil ou não. São vírus de DNA de fita dupla, divididos em três famílias a partir da diferença do comprimento da cauda e sua capacidade de contraí-la: *Siphoviridae*, *Myoviridae* e *Podoviridae*. Exemplos destas famílias podem ser vistos na Figura 2 (THURBER, 2009). A família *Siphoviridae* apresenta cauda longa e flexível e não contrátil, com capsídeo icosaédrico, com aproximadamente 50 a 80 nm. Seu genoma não é segmentado e apresenta aproximadamente 48.500 pares de bases e infectam predominantemente o domínio Bactéria. São encontrados em lugares úmidos e até hoje não foi possível perceber qualquer padrão de distribuição biogeográfico (THURBER, 2009). A família *Myoviridae* apresenta cauda de comprimento médio e contrátil, com aproximadamente 60 a 85 nm, capsídeo icosaédrico com 50 a 110 nm de diâmetro, não apresentam genoma segmentado e este pode variar de 36.000 a 170.000 nucleotídeos (THURBER, 2009). Os *Myovirus*, em sua maioria, realizam ciclo lítico e apresentam um amplo espectro de hospedeiros e genoma circular. Atualmente, estes vírus parecem ser dominantes no ambiente aquático. Infectam microorganismos dos domínios Archaea e Bactéria. Em relação à distribuição geográfica, os *Myovirus* são amplamente distribuídos e encontrados em grandes quantidades em águas oligotróficas nos trópicos (JACQUET, 2010). Os vírus da família *Podoviridae* são pequenos, com cauda não contrátil e capsídeo icosaédrico medindo aproximadamente 20nm. Seu genoma completo varia de 40.000 a 42.000

nucleotídeos (SUTTLE, 2005; JACQUETE, 2010; ICTV, 2010). Os *podovirus* já apresentam um número de hospedeiro mais restrito a bactérias do gênero gram- negativas, quando comparado aos vírus pertencentes às famílias *Myoviridae* e os *Siphoviridae*. Em relação à distribuição geográfica, os *Podovirus* são encontrados com maior frequência em regiões temperadas, como na Costa do Canadá e nos Estados Unidos (SUTTLE, 2005).

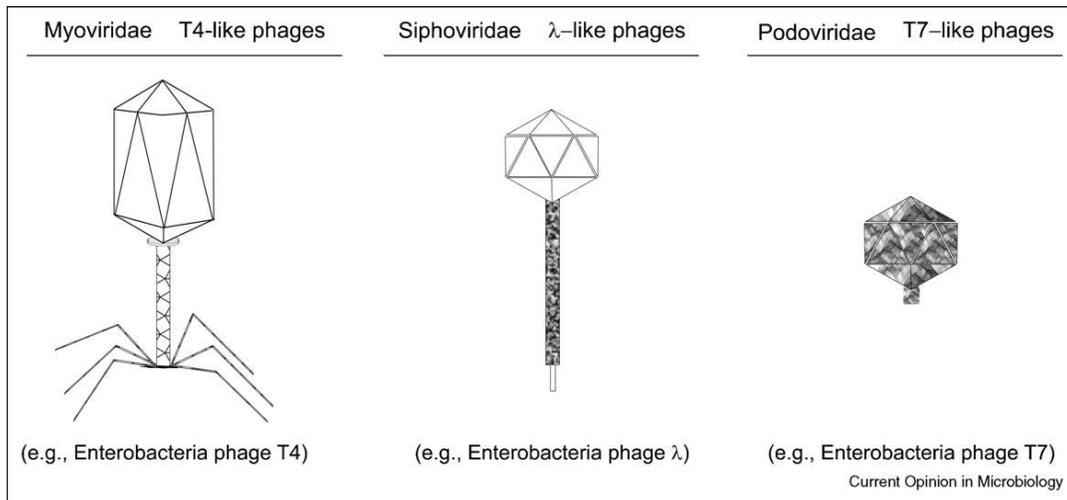


Figura 2: Desenho esquemático dos fagos de DNA de fita dupla mais comumente encontrados no ambiente aquáticos pertencentes à Ordem *Caudovirales*.
Fonte: THURBER, 2009.

Na Tabela 1 estão apresentados alguns vírus que não pertencem a Ordem *Caudovirales*, mas estão presentes em ambientes aquáticos. A maioria infecta o fitoplâncton, com exceção dos vírus *Ectocarpus siliculosus*, *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* e Vírus da síndrome *White spot*, que infectam algas pardas, protistas de alga doce e camarão do gênero *Penaied*, respectivamente. O material genético de todos estes vírus é composto por DNA e o genoma varia muito em relação ao tamanho podendo apresentar de 8.600 a 1.181404 pares de bases. Estes vírus aquáticos são encontrados com menor frequência quando comparados aos pertencentes à ordem *Caudovirales* (SUTTLE, 2005).

Tabela1: Vírus encontrados nos ecossistemas aquáticos, que não pertencem a ordem *Caudovirales*.

Vírus	Família	Ácido nucléico	Tamanho do genoma (bp)
<i>Chaetoceros salsugineum</i>	-	ssDNA/dsDNA	6.005 ssDNA 997 dsDNA
<i>Emiliana huxleyi</i> vírus	<i>Phycodnaviridae</i>	dsDNA	407.339
<i>Heterosigma akashiwo</i> RNA	<i>Marbaviridae</i>	ssRNA	8.600
<i>Micromonas pusilla</i>	<i>Reoviridae</i>	dsDNA	26.00 em 11 segmentos
<i>Ectocarpus siliculosus</i> vírus	<i>Phycodnaviridae</i>	dsDNA	335.593
<i>Acanthamoeba polyphaga</i> <i>mimivirus</i>	<i>Mimiviridae</i>	dsDNA	1.181.404
<i>White spot syndrome virus</i>	<i>Nimaviridae</i>	dsDNA	305.107

Fonte: Adaptado de Suttle (2005).

O ambiente dulcícola apresenta uma concentração maior de vírus do que o marinho (PEARCE & WILSON, 2003). Nos dois tipos de ambiente, os vírus realizam atividades semelhantes. Todavia, em relação à diversidade de espécies, existem pequenas diferenças na população viral. Um estudo realizado por Demuth e colaboradores (1993) no Lago Plubee na Alemanha, avaliou a diversidades de fagos presentes neste ecossistema através da morfologia dos mesmos. Os resultados demonstraram uma grande quantidade fagos que eram distintos morfologicamente, e que pertenciam às famílias *Siphoviridae*, *Myoviridae* e *Podoviridae* (DEMUTH & WITZEL, 1993).

Os vírus que infectam o fitoplâncton também apresentam grande diversidade. A maioria deles pertence à família *Phycodnaviridae* que é composta de seis gêneros: *Chlorovirus*, *Coccolithovirus*, *Phaeovirus*, *Prasinovirus*, *Prymnexovirus* e *Raphidovirus*. Vírus desta família infectam algas dos ambientes dulcícola e marinho. Estes vírus apresentam formato poliédrico, não são envelopados, com 100 a 220 nanômetros (nm) de diâmetro, e possuem DNA de fita dupla variando de 100 a 560 Kpb. Um dos primeiros a ser isolado foi o vírus *Emiliana huxleyi* (EhV) em 1999, em um lago do Reino Unido. Estes vírus infectam algas da espécie *Emiliana huxleyi*, induzindo ao fenômeno de florações. Na figura 3 há uma micrografia eletrônica de transmissão do vírus *Emiliana huxleyi* (EhV), as setas indicam o capsídeo deste vírus (SHROEDER et al, 2002).

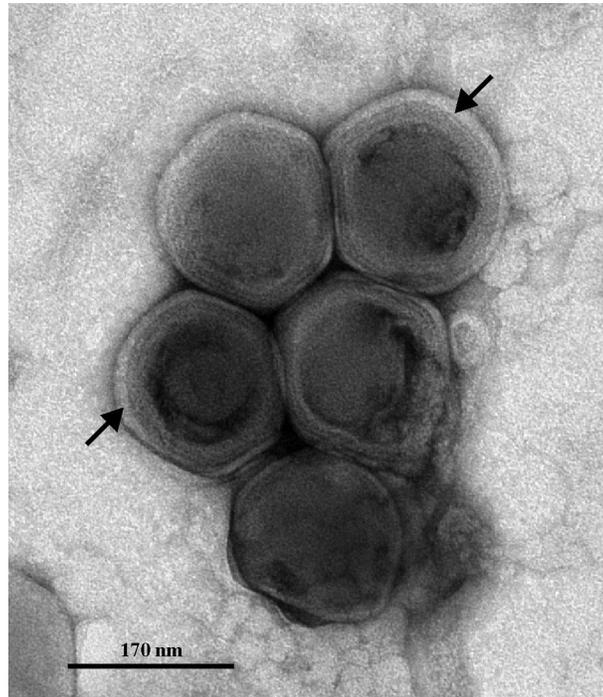


Figura 3: Micrografia eletrônica de transmissão de uma cultura de *Emiliana huxleyi*, as setas indicam o capsídeo do vírus *Emiliana huxleyi*.
Fonte: Schroeder et al, (2002).

Existem outros vírus aquáticos que não são tão frequentes, mas de grande importância para o ecossistema marinho. Um deles é o vírus *Chaetoceros salsugineum* de inclusão nuclear (CsNIV), os quais infectam diatomáceas do gênero *Chaetoceros*, além de outras algas eucarióticas, bactérias heterotróficas, protistas heterotróficos, e cianobactérias (PARK et al, 2009). É um vírus considerado pequeno, apresenta genoma de ssDNA circular com aproximadamente 6005 nucleotídeos e um segmento linear de 997 nucleotídeos, com 38 nm de diâmetro e simetria icosaédrica, e ainda não apresenta família e gênero conhecidos. Estima-se que a cada lise celular gerada por este vírus, são eliminadas 325 unidades infecciosas (NAGASAKI et al. 2005).

2.3 MULTIPLICAÇÃO VIRAL EM AMBIENTES AQUÁTICOS

Os vírus podem apresentar duas maneiras diferentes de realizar a multiplicação. Esta pode ser através do ciclo lítico e do ciclo lisogênico ou temperado, os quais se iniciam com a adsorção ou fixação dos vírus em células hospedeiras como

pode ser visto na figura 4 (SÄWSTROM, 2003). Durante a etapa de adsorção, como mostra a figura 4, as glicoproteínas virais se ligam aos receptores celulares presentes na célula hospedeira, sendo uma relação específica entre os vírus e seus hospedeiros (SÄWSTRÖM, 2003). Os vírus utilizam o material genético da célula hospedeira para promover a sua replicação. Ao final deste processo, poderá ocorrer um dos dois tipos de ciclos o ciclo lítico, no qual as células hospedeiras são destruídas com liberação de novos vírus para o ambiente externo, sendo capazes de infectar novas células hospedeiras; o ciclo o lisogênico, no qual o genoma viral é mantido como profago, que fica na célula hospedeira por um período indeterminado (período de latência), podendo ou não acontecer a lise destas células (SÄWSTRÖM, 2003; BRUSSAARD, 2004; JACQUET et al., 2010; MAURICE et al., 2010); os vírus recém formados também podem sair da célula hospedeira por um processo de brotamento sem a ruptura da mesma, mas este processo ocorre em uma freqüência baixa nos ecossistemas aquáticos (HOFER & SOMMAGURA, 2001; WEIBAUER, 2004; PERSONNIC et al., 2009; JACQUET et al., 2010).

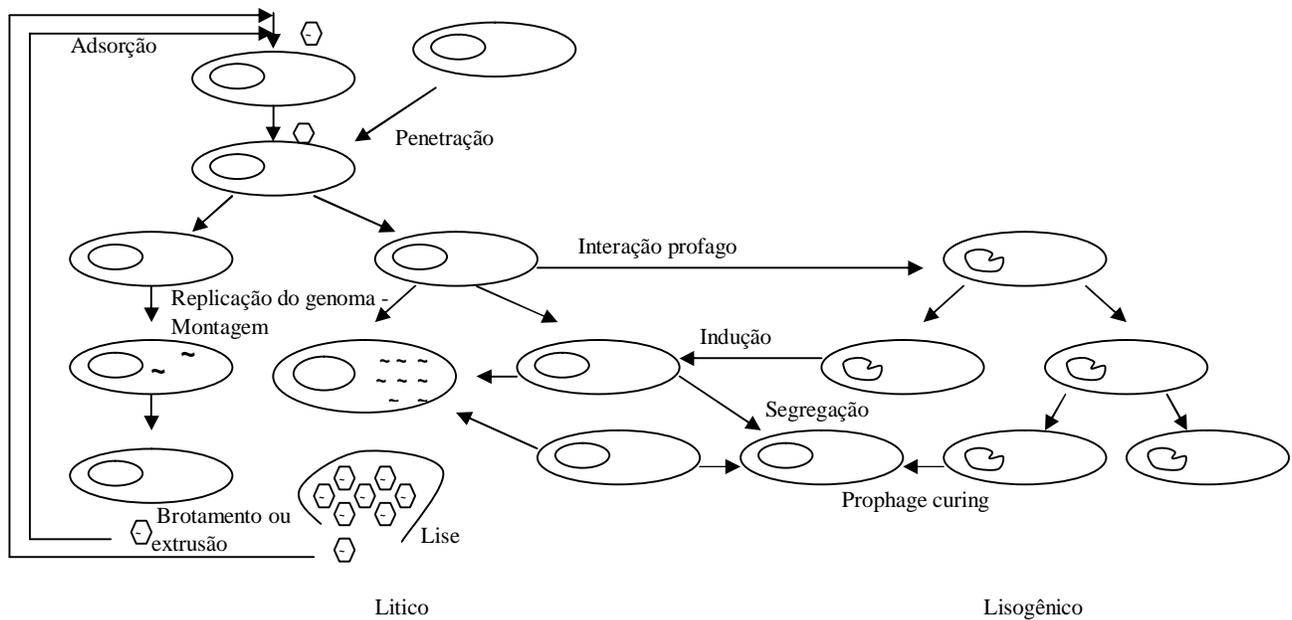


Figura 4: Representação esquemática dos três tipos de ciclos virais que podem ocorrer no ambiente aquático.
Fonte: Weibauer, 2004.

Os ciclos líticos e lisogênicos são considerados como estratégias de grande importância ecológica. Essas estratégias de vida viral são influenciadas e influenciam diversos fatores como a interação entre os vírus e seus hospedeiros, transferência de genes, diversidade de procariotos e por fatores externos como mudança na temperatura da água, na produção primária bacteriana, na disponibilidade de nutrientes e no estado trófico do sistema (MIDDELBOE, 2008; MAURICE et al., 2010). Ademais, outro fator que influencia a infecção viral de ambientes aquáticos é a concentração de hospedeiros. Como os vírus e a maioria dos organismos que compõem o fitoplâncton e zooplâncton não apresentam aparelho locomotor, a infecção viral acontece de modo ocasional, ou seja, ela é dependente do movimento das águas para que exista o encontro entre partícula viral e hospedeiro específico. Desse modo, locais com maior concentração de hospedeiros favorecem a infecção viral (MEI & DENOVARO, 2004; JACQUET et al., 2010).

As vantagens do ciclo lisogênico para os bacteriófagos e outros vírus são muitas, pois permitem que os vírus consigam sobreviver em períodos e situações difíceis, onde há baixa densidade de hospedeiros. No entanto, este fato sozinho não pode explicar a influência positiva do ciclo lisogênico. O profago também pode conferir novas propriedades às células do hospedeiro, incluindo o aumento do grau de imunidade contra novas infecções virais ou super infecção por fagos homólogos, “fitness” de reprodução aumentada ou aquisição de novas funções codificadas pelo genoma do profago (conversão fágica) (WEINBAUER, 2004). A abundância de células lisogênicas pode afetar a diversidade microbiana, devido à aquisição de imunidade contra o ataque viral, mas também devido à aquisição de novas características metabólicas, morfológicas ou imunogênicas de interação com o profago no genoma bacteriano (JACQUET et al., 2010). Tem sido proposto que os profagos reprimem não somente a expressão dos genes líticos, mas também genes de processos metabólicos desnecessários aos hospedeiros em condições desfavoráveis do meio em que estão inseridos. Tal economia metabólica permite aos hospedeiros sobreviverem em condições desfavoráveis, até que as condições ambientais sejam novamente favoráveis ao crescimento. Assim, os

profagos são considerados bombas relógio moleculares que podem provocar a mortalidade do hospedeiro, bem como servem de chave para a sobrevivência de bactérias em condições desfavoráveis (FILIPPINI et al., 2007).

Em lagos de água doce, acredita-se que há um predomínio do ciclo lisogênico. E dentre os fatores determinantes da escolha da estratégia viral utilizada neste ambiente é o estado fisiológico do hospedeiro (MAURICE et al., 2010). Quando há uma diminuição na população bacteriana, devido à falta de nutrientes, principalmente fosfato inorgânico, e temperatura acima de 19°C, os vírus que estão em ciclo lisogênico apresentam vantagens em relação aos demais, pois devido ao fato do profago estar inserido dentro do genoma, este permanecerá integrado até que exista uma situação que leve o vírus a entrar em ciclo lítico (MAURICE et al., 2010).

No ciclo lítico e lisogênico pode acontecer a transferência de genes entre os organismos. Esta ocorre de forma direta por transformação e/ou de forma indireta por transdução. A transformação consiste na assimilação e incorporação de DNA livre por células procariotas. Em sistemas marinhos, Jiang & Paul (1995) estimaram que 17 a 30% do DNA livre resultam da lise viral, sugerindo que a ação do ciclo lítico pode ser uma das maiores fontes de DNA livre neste ambiente. Na transdução, o material genético bacteriano pode ser englobado pelo vírus tanto no ciclo lisogênico quanto no lítico e este é transferido para a célula receptora durante o novo ciclo de infecção viral (OHINISHI et al., 2001).

Mas até hoje não existe um consenso a respeito da importância dos ciclos de replicação no ambiente aquático. Parece que na maior parte dos ambientes aquáticos há um predomínio do ciclo lítico. O número de virions produzidos durante o ciclo lítico depende da taxa pela qual o genoma viral se multiplica com o intuito de formar novas cópias virais em uma única célula hospedeira; enquanto que o número de fagos produzidos durante o ciclo lisogênico depende completamente da taxa de crescimento da célula hospedeira. No entanto, os virions, ao serem liberados para o meio, estão sujeitos a uma taxa de perda

devida à exposição à irradiação solar ou hidrólise enzimática, deste modo, a produtividade viral dependerá da probabilidade dos vírus encontrarem um novo hospedeiro, bem como da razão das partículas viáveis e defectivas (JACQUET et al., 2010).

Enfim, os fatores que favorecem os mecanismos envolvidos na escolha entre o ciclo lítico e lisogênico permanecem pouco compreendidos, em parte, porque faltam estudos extensivos a respeito do ciclo lisogênico em ambientes aquáticos. São necessários mais estudos sobre os efeitos das condições ambientais ou perturbações nas populações naturais de vírus lisogênicos.

2.4 ABUNDÂNCIA DOS VÍRUS AQUÁTICOS

O conceito de abundância viral está correlacionado com a dinâmica da taxa de produção e o processo de decaimento, que está diretamente correlacionado com a produtividade do ecossistema aquático. Em geral, as concentrações virais diminuem da região costeira para o mar aberto, e da superfície para as regiões profundas (MARANGER & BIRD, 1995). Mas já se tem conhecimento de que em alguns ambientes aquáticos são encontradas altas taxas virais em regiões profundas, nos sedimentos marinhos e em ambiente dulcícola. Estes dados são referentes aos bacteriófagos. Isto foi considerado novo, pois a quantidade viral encontrada foi parecida com a coluna de água, onde também existe uma grande abundância de vírus (DANOVARO et al., 2008). Em lagoas eutrofizadas onde existe maior concentração de matéria orgânica, o número de partículas virais é maior quando comparado a um ambiente oligotrófico, no qual a disponibilidade de recursos nutricionais é menor (MARANGER & BIRD, 1995). Outro fator importante é que existe uma proporção de 10 vezes mais vírus do que bactérias no ambiente aquático. Christin Säwstrom (2003) realizou um levantamento de vários estudos em épocas e localidades diferentes, demonstrando esta correlação de 10 para 1 (Tabela 2). Ao analisar a média de vírus e bactérias por ml em ambientes marinhos e dulcícolas, foi observado que a abundância viral e bacteriana é maior em ambientes dulcícolas (HELDAL &

BRATBAK, 1991; MEI & DENOVARO, 2004; MIDDELBOE, 2006; JACQUET et al., 2010).

Tabela 2: Abundância de vírus e bactérias em ambientes marinhos e dulcícolas

Localização	Vírus (X10 ⁶ ml ⁻¹)	Bactéria (X10 ⁶ ml ⁻¹)	Referência bibliográfica
Ambiente marinho			
Baía de Chesapeake	10.1	3.2	Bergh et al., (1989)
Korsffjorden	6.1	1.1	Bergh et. al., (1989)
Oeste de Raunwfjorden,	9.9	0.2	Bergh et. al., (1989)
Norway Atlântico Norte	14.9	0.3	Bergh et. al., (1989)
Mar Barents	0.06	0.02	Bergh et. al., (1989)
Angra da Califórnia do Sul USA	1.1 – 1.14	–	Cochlam et al., (1993)
Golfo de Bothnia, Suécia	17.5 – 52.2	–	Cochlam et al., (1993)
Mar do Artico , Canadá Ártico	9 – 130	0.15 – 10	Maranger et al., (1994)
Baía Tampa Florida, EUA no Verão	20	5.6	Jiang & Paul , (1994)
Baía Tampa Florida, EUA no Inverno	4.8	1.8	Jiang & Paul , (1994)
Mar de Chukchi, estreito Bering de	2.5 – 36	0.21 – 2.1	Steward et al., (1996)
Pacífico Norte, zona Sub Ártica	0.06 – 3.8	0.04 – 0.94	Hara et al., (1996)
Mar Mediterrâneo	5 – 30	–	Guixa-Boixereu et al., (1999)
Média em águas marinhas	8 – 25	1 – 3	
Ambiente dulcícola			
22 Lagos de água doce em Quebec, Canadá	41 – 250	0.023 – 14	Maranger & Bird, (1995)
Lagos Constance, Alemanha	10 – 40	–	Hennes & Simon, (1995)
4 Lagos em, Taylor Valley, Antártica	4.2 – 33.5	1.3 – 4.3	Kepner, & Wharton, (1998)
Lago Plubsee, Alemanha, região oeste	13 – 43	4.6 – 7.7	Weinbauer & Höfle, (1998)
Lago Erie	37 – 379	1.8 – 4.6	Wilhelm & Smith, (2000)
Lago superior	1.5 – 9.2	1.2 – 18.3	Tapper and Hicks, (1998)
10 Lagos de água doce na Ilha Singy, Antártica	4.9 – 31	1.6 – 7.6	Wilson et al., (2000)
5 Lagos de água doce e 4 lagos de água salina em Vestfold Hill, região leste da Antártica	1.01 – 4.6	–	Laybourn-Parry et al., (2001)
Lago Gossenköllesee, Áustria	0.02 – 4.6	–	Hofer & Sommaruga, (2001)
Media de ambientes dulcícolas	13 – 92	2 – 9	

Fonte: Modificado de Sävstrom (2003).

Estimativas recentes da abundância de vírus em água do mar (10^5 /ml em águas profundas e 10^8 /ml em águas costeiras produtivas) tem sido extrapoladas para prever a quantidade total de partículas virais (SUTTLE, 2005). Considerando que os oceanos contenham um total de aproximadamente 4×10^{30} partículas virais e os vírus são responsáveis pela liberação de 0,37 a 0,63 Gt de carbono por ano nos oceanos. Este carbono liberado por 35% do metabolismo dos procaríotos presentes no assoalho oceânico (DANOVARO et al, 2008)

Em ecossistemas dulcícolas e marinhos, a taxa de produção viral é uma medida importante que indica como está a atividade da comunidade do virionplâncton. Na tabela 3 estão indicadas algumas técnicas utilizadas para medir a taxa de produção viral. Os dados mostram que a produção viral é relativamente alta, mesmo no sedimento, onde há um predomínio de bactérias anaeróbias. Mei e Denovaro (2004) realizaram uma investigação de vírus bentônicos em localidades diferentes e observaram que há grande número de vírus na superfície dos sedimentos aquáticos. Estes sedimentos podem ser considerados como reservatórios virais. Os resultados encontrados por estes autores indicam que a média da produção viral é maior na parte superior do sedimento quando comparada com as outras regiões dos ambientes marinhos e dulcícolas. Ao analisar as médias da produção viral nos diferentes ecossistemas, conclui-se que os sedimentos marinhos apresentam a maior produção viral, $1,06 \times 10^8$ vírus $\text{ml}^{-1} \text{h}^{-1}$. Ao comparar a camada mais profunda do sedimento marinho com a superfície do mesmo, observa-se uma diminuição de quase 10 vezes na produção viral. Os valores encontrados entre sedimento marinho e dulcícola apresentam uma pequena variação $1,06 \times 10^8$ e $7,7 \times 10^7$ respectivamente. Ao analisar as médias entre águas marinhas ($1,44 \times 10^6$) e dulcícolas ($9,35 \times 10^5$) observa-se uma maior produção viral nos sedimentos de ambientes marinhos (MEI & DENOVARO, 2004).

Tabela 3: Comparação da produção viral em água marinha, água doce e sedimentos em localizações diferentes

Tipo de ambiente e localização	Método utilizado	Produção viral (vírus ml ⁻¹ h ⁻¹)
Água marinha		
Costa do Sul da Califórnia	Incorporação de ³² P _i ao DNA viral	3.67 X 10 ⁵
Próximo da Costa do Sul, Califórnia	Incorporação de ³² P _i ao DNA viral	7.50 X 10 ⁵
Afastado da Costa do Sul Califórnia	Incorporação de ³² P _i ao DNA viral	2.07 X 10 ⁴
Santa Monica, Califórnia	Incorporação de ³² P _i ao DNA viral	1.70 X 10 ⁵
Santa Monica, Califórnia	Incorporação de ³² P _i ao DNA viral	1.04 X 10 ⁵
Ilha de Santa Catarina	Marcador fluorescente	3.85 X 10 ⁵
Canal de São Pedro	Marcador fluorescente	4.22X 10 ⁵
Afastado da estação	Marcador fluorescente	1.54 X 10 ⁵
Playa Del Rey Jetty	Marcador fluorescente	1.17 X 10 ⁵
Baía de Moreton, Austrália	Técnica de diluição	8.50 X 10 ⁵
Mar Coral, Austrália	Técnica de diluição	<0.001 X 10 ⁵
Passagem Descoberta, Canadá	Técnica de diluição	3.95 X 10 ⁵
Estreito de Geórgia, Canadá	Técnica de diluição	9.70 X 10 ⁵
Mar de Chukchi/Mar Bering Alasca	H-Tdr dentro do DNA bacteriófago	9.81 X 10 ⁴
Baía de Masan, Coreia	Produção bacteriana x lise	5.46 X 10 ⁵
Mar do leste, Coreia	Produção bacteriana x lise	2.94 X 10 ⁴
Noroeste do mar Mediterrâneo	Produção bacteriana x FIC/ 100) X lise	3.60 X 10 ³
Mar Báltico	Produção bacteriana x FIC/ 100) X lise	4.94 X 10 ⁵
Media		1.44 X 10 ⁵
Sedimento marinho		
Porto Ancora	Técnica de diluição	1.60 X 10 ⁵
Sedimento da costa Adriática	Técnica de diluição	1.30 X 10 ⁷
Golfo de Thermaikos	Técnica de diluição	5.90 X 10 ⁷
Golfo de Manfredonia (0-1 cm)	Técnica de diluição	1.50 X 10 ⁷
Sul da Califórnia	Técnica de diluição	2.83 X 10 ⁵
Baía de Niva, Dinamarca (0 -1.5 cm)		ND
Média		1.06 X 10 ⁵
Camada de sedimento marinho profunda		
Golfo da Manfredonia (10-20 cm)	Técnica de diluição	1.63X 10 ⁷
Golfo da Manfredonia (90 – 100 cm)	Técnica de diluição	2.66 X 10 ⁷
Baía de Niva, Dinamarca (5 -7 cm)		ND
Baía de Niva, Dinamarca (13 - 15 cm)		ND
Média		2.15 X 10 ⁷
Ambiente dulcícola (água doce)		
Lago Constance, Alemanha	Taxa de mortalidade X lise	5.42 X 10 ⁴
Lago plubsee, Norte da Alemanha	Produção bacteriana lisada X lise	4.50 X 10 ⁵
Rio Brisbane, Austrália	Técnica de diluição	2.07 X 10 ⁴
Média		9.35 X 10 ⁵
Sedimento dulcícola		
Rio ensino	Técnica de diluição	7.70 X 10 ⁷
Lago Oxbow		ND
Média		1.44 X 10 ⁵

Fonte: Adaptado de MEI & DENOVARO (2004).

2.5 VARIAÇÃO DA POPULAÇÃO VIRAL NOS ECOSISTEMAS AQUÁTICOS

Estudos sugerem que as alterações ambientais e mudanças sazonais podem explicar as diferenças encontradas quando se reporta a variedade de espécies e número de partículas virais estudadas (MEI & DENOVARO, 2004). O impacto causado pela comunidade microbiana é um parâmetro essencial para fazer cálculos de medição em qualquer estudo aquático e estes podem ser afetados por fatores bióticos e abióticos (FILIPPINI et al., 2007). O processo de remoção dos vírus na coluna de água pode ocorrer devido à ingestão por flagelados fagotróficos, à desintegração por partículas bioativas susceptíveis como exoenzimas, proteases e nucleases e à radiação solar (SÄWSTRÖM, 2003).

As populações dos microorganismos aquáticos bem como os vírus não permanecem constantes por todo o tempo, podendo variar na escala de minutos a anos. Essa flutuação da população viral está correlacionada também com as estações do ano. Tanto em ecossistemas marinho como dulcícola, foi observado que durante as estações da primavera e do verão, há um aumento da população viral e esta decai no período de outono e inverno (BORAS et al., 2009; JACQUET et al., 2010). Esta sazonalidade pode ser explicada devido ao fato de que durante o período da primavera, existe um aumento do fotoperíodo e da temperatura da água; isto resulta em maior atividade fotossintética, com liberação de carbono orgânico dissolvido favorecendo o crescimento bacteriano e conseqüentemente a proliferação viral (MAURIN et al., 1997). Filippini e colaboradores (2007) realizaram um trabalho no lago Hallwil, localizado na Suíça, de característica eutrófica e de região temperada. Foram realizadas coletas nos meses de fevereiro, maio, julho e outubro no ano de 2003, num total 12 amostras por estação. No verão, as amostras foram coletadas mais vezes em intervalo de 3 horas durante um dia. Ao analisar a abundância bacteriana e viral foi observada uma variação destas duas comunidades. As concentrações de bactéria e vírus presentes nas amostras coletadas neste experimento foram altas no verão e primavera, e baixas no período do outono e inverno. Foi observada também uma correlação positiva do fitoplâncton com as duas comunidades estudadas. Quando o fotoperíodo e a temperatura aumentaram na

primavera, a população de fitoplâncton aumentou e com isso, houve mais disponibilidade de nutrientes favorecendo o crescimento bacteriano e viral. No inverno, todas as comunidades apresentaram uma redução. Outro estudo realizado por Lymer e colaboradores (2008) também identificou esta relação em mais lagos, porém com algumas modificações em relação aos dados encontrados. Esses estudos comprovam que a abundância viral está estreitamente correlacionada com a dos seus hospedeiros (bactéria e fitoplâncton). As bactérias e o fitoplâncton são os organismos mais abundantes no ecossistema aquático. Procariotos, Bactérias e Archeas constituem 90% do carbono biológico encontrado no ecossistema aquático. Considerando que os vírus são parasitas celulares obrigatórios, este dado justifica a alta dependência da abundância dos vírus com seus hospedeiros específicos inclusive do domínio Bactéria (FILIPPINI et al., 2008).

A maioria dos trabalhos realiza as medições dos parâmetros que indicam a sazonalidade dos vírus e bactérias em intervalos semanais ou mensais. Este grande intervalo para cada coleta realizada pode não refletir a realidade da variação entre estas comunidades. Apesar de estudos com menor escala de tempo serem ideais para avaliar estas mudanças, eles são mais dispendiosos quando comparados com os que realizam menos coletas num maior intervalo de tempo (JACQUET et al. 2010; FILIPPINI et al., 2008).

Realizar estimativas sobre o modo como ocorre a infecção viral em ambiente aquático não é fácil, pois vários fatores estão correlacionados, como a especificidade das linhagens, que pode variar de espécie a gênero, embora alguns vírus tenham uma ampla gama de hospedeiros. A infecção depende ainda da densidade populacional do hospedeiro, ou seja, a chance de infecção aumenta de acordo com o aumento da chance de contato, além de existir uma grande e contínua sazonalidade de espécies nos ecossistemas aquáticos (FUHRMAN & SCHWALBACH, 2003, JACQUET, 2010).

2.6 PAPÉIS DOS VÍRUS NO CONTROLE DAS COMUNIDADES DO FITOPLÂNCTON E ZOOPLÂNCTON

As infecções virais causadas por vírus de ciclo lítico constituem um fator de perda importante para todos os organismos celulares, sendo estes responsáveis por aproximadamente 10 a 50% da mortalidade bacteriana na superfície da água e em protistas que residem em ambientes extremos como águas com baixo teor de oxigênio, sendo conseqüentemente de fundamental importância para a ciclagem de nutrientes nestes ambientes (FUHRMAN, 1999; SUTLLE, 2005). Estima-se que aproximadamente 50% das bactérias marinhas possam estar infectadas por algum tipo de bacteriófago (HELDAL & BRATBAK, 1991; WEINBAUER, 2004).

Os vírus líticos podem destruir populações de microorganismos procariotos, enquanto infecções lisogênicas representam interações parasíticas (WEINBAUER, 2004). A mortalidade de procariotos induzida por vírus é altamente variável em relação ao tempo e espaço, dependente especialmente de características do habitat, da abundância do hospedeiro, e do estado fisiológico do hospedeiro, além de serem considerado um dos maiores reservatórios de diversidade genética no mundo. Como infecções virais são dependentes da relação hospedeiro-específico e da densidade populacional, é amplamente aceito que infecções podem controlar a composição de comunidades microbianas dominantes, pois a morte de um determinado grupo de bactérias dominantes gerada pelos vírus pode favorecer outro grupo de bactérias que não conseguiriam estabelecer uma comunidade no mesmo ecossistema, facilitando assim a coexistência de espécies que não são tão competitivas (WEINBAUER, 2004; FILIPPINI et al., 2007). Os vírus podem adotar duas estratégias na ecologia de ecossistemas aquáticos, conhecidas como *K* estrategistas e *R* estrategistas (SÄWSTRÖM, 2003).

Na ecologia, as espécies podem ser divididas de acordo com a sua capacidade reprodutiva, sendo diretamente influenciada por fatores ambientais. As espécies denominadas *R* estrategistas apresentam alto potencial biótico e tendem a ser selecionadas em ambientes que não são densamente habitados ou em

ambientes sujeitos a perturbações periódicas. Essas espécies são consideradas como bons pioneiros e conseguem explorar os recursos rapidamente, apresentando crescimento rápido e maior elasticidade em relação às perturbações ambientais. Já as espécies *K* estrategistas crescem mais lentamente, dividindo a energia em favor da manutenção da sua vida e de uma capacidade competitiva melhor. Estas espécies apresentam melhor desempenho em ambientes com fatores físicos estáveis, tendo crescimento mais lento e menos elástico em relação às perturbações ambientais (RICKLEFS, 2003).

Na dinâmica populacional dos vírus de ecossistema aquático também foram observados os dois tipos de comportamento de *R* e *K* estrategistas. Os vírus apresentam um comportamento estrategista em termos ecológicos que varia de acordo com o gênero. Os vírus do gênero *Myovirus* conseguem infectar vários tipos de hospedeiros, apresentando assim maior vantagem para aumentar sua população, sendo denominados de *R* estrategistas, ou seja, conseguem formar uma geração em um pequeno intervalo de tempo com alta taxa reprodutiva. Em contraste, vírus do gênero *Siphovirus* podem integrar seu genoma aos de células hospedeiras, coordenando sua taxa de replicação à do hospedeiro, até que o ambiente favoreça o ciclo lítico. Esta informação sugere que os *Siphovirus* são *K* estrategistas, ou seja, gastam muito tempo para formar uma geração com baixa taxa reprodutiva (SUTTLE, 2005).

2.7 TRANSFERÊNCIA HORIZONTAL DE GENES REALIZADA PELOS VÍRUS NO ECOSSISTEMA AQUÁTICO

Através do desenvolvimento de técnicas moleculares, como sequenciamento de genes, foi possível observar que os vírus de ecossistema aquáticos apresentavam semelhanças com vírus de ambientes terrestres, bem como de algas e bactérias do ambiente aquático.

Estudos de biblioteca genômica a partir de amostras de fezes humanas, águas oceânicas e sedimentos marinhos tem sugerido a presença de

aproximadamente 1.000 genótipos virais em fezes humanas, 5.000 para 200 litros de água do mar e até 10^4 a 10^6 em 1 Kg de sedimento marinho. A grande maioria destas sequências difere daquelas provenientes de vírus cultiváveis. (EDWARDS & ROLIVER, 2005 FILIPPINI et al., 2007).

Os primeiros bacteriófagos marinhos sequenciados foram isolados das espécies bacterianas *Roseobacter*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Synechococcus* sp. Os resultados obtidos sugerem que estes vírus apresentam semelhanças com os do ambiente terrestre, porém a maioria dos genes putativos não apresentou similaridade significativa com o banco de dados já existente, indicando serem de espécies diferentes (SUTTLE, 2005).

Através do estudo da análise genômica, foi possível observar que existe a transferência horizontal entre os vírus e seus hospedeiros. Um exemplo disso seria a presença de genes específicos da maquinaria fotossintética, em alguns vírus aquáticos as proteínas D1 e D2, que estão presentes em cianobactérias, foram encontradas em cianofagos juntamente com os genes homólogos *psbA* e *psbD* que codificam componentes da fotossíntese. Esses genes necessitam da presença de proteínas D1 e D2 para realizarem a fotossíntese em cianobactérias e já foram encontrados também em alguns vírus (JACQUET, 20210). Pelo menos um desses genes, *psbA* ou *psbD*, dentre outros, foram descritos ocorrendo em bacteriófagos que infectam os gêneros *Synechococcus* e *Prochlorococcus*. Estes gêneros são considerados os mais cosmopolitas do fitoplâncton, sendo os mais comumente estudados em termos de infecção viral (FELDER, 2009). A presença desses dois genes em cianofagos parece ser generalizada. Em um estudo realizado por Millard e colaboradores (2004), foram isolados e identificados 68 fagos pertencentes ao gênero *Myovirus* na região do Mar Vermelho, destes 37 eram portadores do gene *psbA*, representando 54% da população estudada (MILLARD et al, 2004).

Segundo Hambly & Suttle (2005), os genes responsáveis pela fotossíntese de cianofagos tem sua própria origem evolucionária, sendo que o gene *psbA* de bacteriófagos forma um grupo monofilético distinto. Este exemplo demonstra que os vírus agregam os genes do seu hospedeiro e os passam para a sua

progênie viral, contribuindo para o aumento da variabilidade genética (HAMBLY & SUTTLE, 2005).

Há uma grande variação no tamanho do genoma de vírus de DNA, este fato já foi observado para vírus que infectam procariotos como bacteriófagos com 30 Kb até 670 kb, bem como em vírus que infectam animais variando em relação ao tamanho como *Poliomavírus*, pertencente a família *Papovaviridae* (5 Kb) e o *Poxvírus* pertencente a família *Poxviridae* (360 Kb), bem como vírus grandes de DNA que infectam o plâncton eucariótico como *Mimivírus* (*Acanthamoeba polyphaga vírus*) com genoma de 1,2 Mb e o *Emiliana Huxleyi vírus* 86 (407 Kb).

Há uma grande variação no tamanho do genoma de vírus de DNA. Este fato já foi observado para vírus que infectam procariotos como bacteriófagos, cujos genomas variam de 30 Kb até 670 kb. De forma similar, vírus que infectam animais também apresentam tal variação: , enquanto os *Poliomavírus*, pertencentes a família *Papovaviridae* apresentam genoma de 5 Kb, os *Poxvirus* apresentam genomas de 360 Kb. Os vírus grandes de DNA que infectam o plâncton eucariótico como *mimivírus* (*Acanthamoeba polyphaga Mimivirus*) com genoma de 1,2 Mb e o *Emiliana Huxleyi vírus* 86 (407 Kb) também apresentam uma grande variação em relação ao tamanho do seu genoma.

Acredita-se que esta variação de tamanho entre vírus de DNA pode acontecer devido à transferência horizontal de genes entre os vírus e seus hospedeiros (MONIER, et al. 2007). Os “vírus grandes” geralmente realizam a sua replicação no citoplasma, ou então iniciam no núcleo da célula hospedeira terminando no citoplasma. Isto é possível uma vez que eles carregam a maior parte dos genes necessários para replicação do DNA, metabolismo e transcrição (FILÉE et al, 2006). Até hoje não se tem muito conhecimento a respeito da origem destes vírus, mas quase todos os vírus gigantes carregam genes homólogos de bactérias, archaea e eucariotos (FILÉE, et al, 2006). A incorporação de genes de bactérias por vírus gigantes pode ocorrer de duas formas, uma pelo mecanismo de recombinação e outra através de evolução simpátrica, onde

ocorre a transferência lateral de genes entre vírus e bactérias (FILÉE et al, 2006).

Vírus como *Acanthamoeba polyphaga Mimivirus* carregam e transportam genes de bactérias humanas como *Legionella* sp dentre outros tipos de bactérias, que servem de alimento para as amebas, que são os organismos hospedeiros destes vírus. Entretanto, vírus da família *Phycodnaviridae*, que infectam algas do gênero *Chorella*, e vivem em simbiose com a espécie de *Paramecium brusaria* presente em água doce, tem o hábito de alimentar de bactérias presentes no ambiente aquático. Em situações de escassez de nutrientes o *Paramecium brusaria* pode se alimentar de algas do gênero *Chorella*. Desta forma, bactérias, algas e vírus estariam localizados dentro do fagossoma do *Paramecium* facilitando assim a transferência de genes entre eles. Em termos de combinação gênica, já se tem conhecimento de que vírus como poxvírus dentre outros conseguem recombinar seu DNA com o de outros organismos (FILÉE et al, 2006)

Um estudo realizado por Monier e colaboradores (2007), avaliou vírus de DNA de dupla fita com tamanho superior a 150 Kb, que podem ser encontrados em vários tipos de família como *Asfarviridae*, *Poxviridae*, *Phycodnaviridae*, *Iridoviridae*, *Mimiviridae*, bem como *Herpesvirus*, *Baculovirus*, e *Nimavirus*. Neste estudo foram analisados 67 genomas de vírus. Foi realizada uma comparação dos nucleotídeos do genoma viral com a dos seus hospedeiros. Posteriormente foi feita uma análise dos componentes anômalos (CA) nos genomas virais, com o intuito de verificar a existência de alguma correlação com a assimetria da fita, uma possível relação de proporção na composição, bem como descrever suas propriedades funcionais e físicas, além de investigar uma origem dos genes CA exógenos através da reconstrução da árvore filogenética. Ao final do estudo, Monier e colaboradores concluíram que dentre os “vírus gigantes” estudados, analisados a partir da composição dos nucleotídeos e da construção da árvore filogenética, não houve uma correlação entre a transferência horizontal de genes e entre os vírus e seus hospedeiros,

que explicasse o tamanho do seu genoma. No entanto, foi encontrado uma grande proporção de genes anômalos (MONIER et al, 2007).

A análise do genoma do - *Acanthamoeba polyphaga Mimivirus*, demonstrou uma correlação pequena entre os seus genes e genes homólogos de eucariotos, por exemplo espécies de amebas que são hospedeiras destes vírus. Esta informação contradiz a idéia de que haveria uma grande transferência de genes horizontais entre vírus gigantes e seus hospedeiros, sendo uma das hipóteses existentes (MONIER et al, 2007).

Em um outro trabalho, Moreira e Brochier-Armanet (2008), demonstraram uma outra hipótese, na qual a maioria dos genes adquiridos pelos mimivírus seria por transferência horizontal de genes. Para comprovar esta hipótese eles realizaram um estudo filogenético do vírus *Acanthamoeba polyphaga Mimivirus*, comparando com genomas de organismos procariotos e eucariotos baseados nas descobertas de trabalhos anteriores de que este vírus apresentava ORFs homólogas à procariotos e eucariotos. Foi encontrada uma única ORF de origem archaea, a DNA polimerase MILI_R470, e seis ORFs MIMI_L436, MIMI_L153, MIMI_R836, MIMI_R852, MIMI_R853 e MIMI_R855, são exclusivamente compartilhadas com bactérias, que provavelmente foram adquiridos por transferência horizontal de genes (MOREIRA & BROCHIER-ARMANET, 2008).

A árvore filogenética criada por Moreira e Brochier-Armanet (2008) mostrou que várias ORFs de Mimivírus estão correlacionados com correspondentes homólogos de espécies de bactérias que são habitantes típicos de amebas como MIMI_L498 relacionada com *Legionella pneumophila* e MIMI_R877 relacionada com *Campylobacter* spp, que estão presentes em amebas do gênero *Acanthamoeba*. Estes dados demonstram que existe uma troca de genes entre bactérias e vírus que coexistem dentro de uma mesma ameba (MOREIRA & BROCHIER-ARMANET, 2008).

Em relação aos eucariotos, a maioria de ORFs encontradas foram semelhantes a amebas de espécies diferentes. De acordo com a árvore filogenética criada por Moreira e Brochier-Armanet, cerca de 10% das ORFs adquiridas pelos mimivírus são adquiridos de amebas, provavelmente por transferência horizontal de genes (MOREIRA & BROCHIER-ARMANET, 2008). Além disso, os mimivirus que infectam amebas podem coexistir com uma variedade de outros parasitas, dentre eles as bactérias. E acredita-se que a maioria dos genes adquiridos por estes vírus, seja a partir da transferência horizontal de genes que ocorre dentro da ameba (MOREIRA & BROCHIER-ARMANET, 2008).

Por ser um tema recente, a transferência horizontal e lateral de genes parece ser a forma mais comum, na qual ocorre a agregação de novos genes aos vírus, impulsionada pela evolução simpátrica de vírus, bactérias e amebas.

2.8 VÍRUS E CICLAGEM DE NUTRIENTES NO ECOSISTEMA MARINHO

Os vírus influenciam os ciclos geoquímicos por pelo menos dois mecanismos: primeiro, o ciclo lítico viral pode reduzir o tamanho e a atividade fisiológica de procariontos que catalisam etapas iniciais na ciclagem de carbono (C), nitrogênio (N), fósforo (P) e enxofre (S) e outros elementos; segundo, por meio da via de loop viral, pelo qual os nutrientes podem ser movidos do pool de nutrientes celulares para o pool de matéria particulada e nutrientes envolvidos (SÄWSTRÖM, 2003). Na visão clássica da dinâmica trófica, o fitoplâncton microbiano é predado pelo zooplâncton, que serve como alimento para os carnívoros da teia alimentar como mostrado na Figura 5.

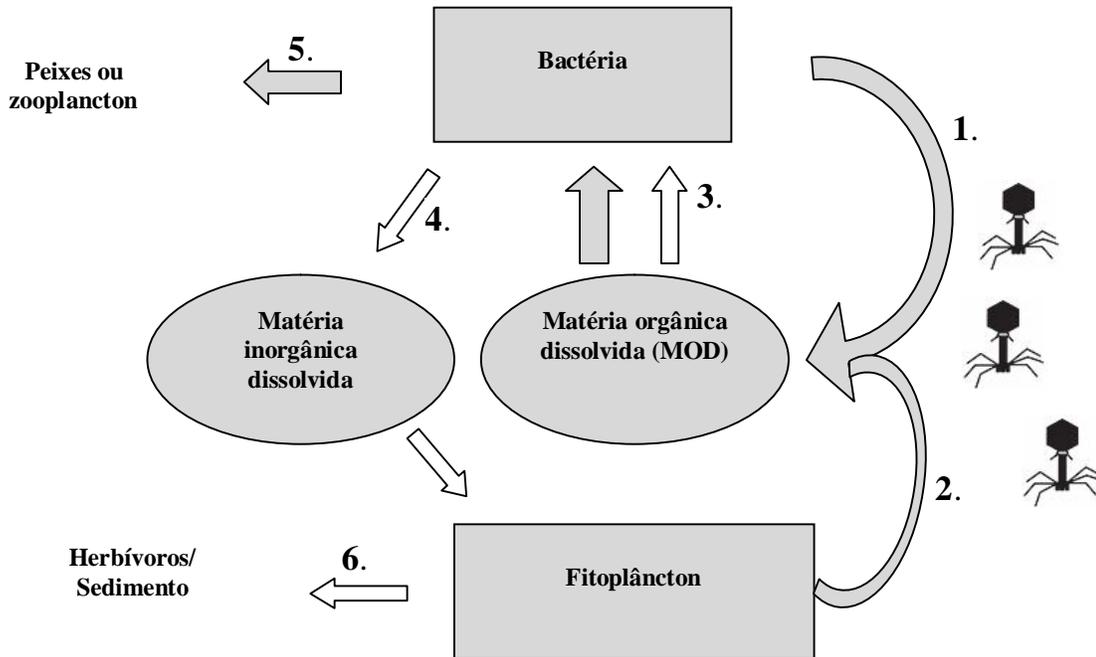


Figura 5: Diagrama demonstrando o impacto dos bacteriófagos na ciclagem de nutrientes e carbono no ecossistema marinho. As setas em cinza e branco ilustram o fluxo de carbono e matéria inorgânica, respectivamente. (1) 5 a 40% da produção bacteriana, (2) 2 a 10% produção primária perdida pela lise viral, (3) a lise viral contribui em geral com 10 a 40% do fornecimento de carbono. (4) baixa quantidade de carbono, nitrogênio e fósforo disponível na matéria orgânica, quando comparada o conteúdo liberado pela lise viral. (5) a liberação do carbono provido das bactérias para os protozoários herbívoros é afetada pela atividade viral. (6) efeito negativo gerado para os consumidores primários, pela remineralização de nutrientes inorgânicos como resultado da atividade viral.

Fonte: MIDDELBOE, 2008.

O conceito de loop microbiano foi proposto em 1983 por Azam, e somente na década de 90, os vírus foram incluídos neste processo (AZAM et al.,1983). Estima-se que aproximadamente 5 a 40% da produção de matéria orgânica dissolvida são gerados devido ao ciclo lítico realizado pelos vírus (SÄWSTRÖM, 2003; MIDDELBOE, 2008; JACQUET, 2010).

A lise bacteriana gerada pelos vírus libera um material rico em nitrogênio, carbono e fósforo que são aproveitados pelas bactérias não infectadas. Sendo assim, este mecanismo pode ser considerado a chave para suprir o carbono de bactérias heterotróficas no ambiente aquático. A Figura 5 mostra um diagrama que explica a dinâmica deste processo. As setas em cinza indicam o fluxo de energia do carbono e as setas em branco indicam o fluxo da matéria inorgânica. Os números 1 e 2 indicam a lise provocada pelos vírus em bactérias e

fitoplâncton, que libera matéria orgânica para o meio. A seta 3 indica que 10 a 40% do carbono do meio provém desta lise viral. A seta 4 indica que bactérias, fitoplâncton e outros grupos de animais e microorganismos aproveitam a matéria inorgânica dissolvida liberada durante a lise viral. A seta 5 indica que a disponibilidade de carbono para os protozoários que são predadores de bactérias é diminuída pela atividade da lise viral. A seta 6 indica que a lise viral gera remineralização dos componentes inorgânicos, estimulando a produção primária e diminuição de nutrientes para os outros níveis tróficos. Esta via ainda não é bem conhecida (MIDDELBOE, 2008).

Em ambientes dulcícolas eutróficos, os bacteriófagos são os principais responsáveis pela mortalidade bacteriana, a qual favorece a ciclagem de nutrientes. Já em ambientes oligotróficos, os bacteriófagos também participam da mortalidade bacteriana em uma proporção menor, porém com a mesma importância, do que em outros ambientes, pois a lise fornecerá matéria orgânica dissolvida para o meio, e esta poderá ser aproveitada por outros microorganismos, sendo responsável pela manutenção da produção bacteriana. Este fato também mostra como uma mudança ambiental pode influenciar o papel dos microorganismos na cadeia trófica (BORAS et al., 2009)

Estudos realizados por Wilhelm e Suttle (2000) calcularam que o lisado viral pode contribuir com 4 a 30% da demanda de carbono bacteriana no Golfo do México, que apresentava características ambientais estáveis, e com 80 a 95% em locais estratificados como no Estreito da Geórgia nos Estados Unidos, que apresentava características ambientais turbulentas. Durante as estações do ano houve estratificação da água, bem como marés mistas. No ambiente do golfo do México, a taxa de produção viral variou de 1×10^3 por ml no período de uma hora em ambientes oligotróficos longe da costa, e de 1×10^5 para ambientes mesotróficos próximo da costa. Esses valores poderiam suprir a demanda de carbono pelas bactérias, sendo 5 a 7 % em ambientes oligotróficos longe da costa e de 30% para o ambiente mesotrófico. Estes resultados sugerem que a lise viral pode ser o principal mecanismo para fornecer matéria orgânica dissolvida (DOM) ao bacterioplâncton heterotrófico em ambientes com grande

movimentação das águas como foi a situação descrita no estreito da Geórgia (WILHELM & SUTTLE, 2000).

Para que os vírus tenham importância na ciclagem de nutrientes, um pré-requisito que deve ser levado em consideração é a disponibilidade do material que foi liberado pela lise celular. Estudos com cultura celular demonstraram que bactérias não infectadas convertem boa parte do material lisado em biomassa num período de 48 horas após lise celular. Os resultados deste estudo também corroboraram outros dados, onde a matéria orgânica dissolvida era transformada em uma forma na quais outras bactérias pudessem utilizar, podendo agir como catalisadores (SUTTLE, 2005). Dessa maneira, os vírus, ao mudarem o substrato, podem levar à coexistência de outras espécies de bactérias, que não seriam capazes de viver neste meio (MIDDELBOE, 2003). Sabe-se que a lise realizada pelos vírus libera matéria orgânica dissolvida (DOM) favorecendo a permanência de moléculas como carbono (C), nitrogênio (N), fósforo (P), enxofre (S) e Ferro (Fe) por mais tempo na zona eufótica, aumentando a disponibilidade de nutrientes para os microorganismos do zooplâncton e fitoplâncton (MIDDELBOE, 2003).

2.8.1 ABSORÇÃO DE FÓSFORO E NITROGÊNIO DO LISADO VIRAL POR BACTERIAS.

A matéria orgânica liberada pela lise celular também contém outros importantes nutrientes além do carbono, como nitrogênio e fósforo, na proporção de 30:6:1, respectivamente (MIDDELBOE, 2008).

Middebloe e colaboradores (2006) cultivaram bactérias em meio com limitações de fósforo orgânico *in vitro*. Estas bactérias foram adicionadas a um meio que continha o lisado viral rico em fósforo. Eles observaram que as bactérias conseguiam assimilar o fósforo orgânico disponível no meio pela ação da enzima bacteriana fosfatase extracelular que se encontrava no meio, estimulando o crescimento bacteriano. Porém, em alguns casos, a eficiência do crescimento foi reduzida, provavelmente devido à necessidade do aumento da

energia necessária para degradar os lisados antes da assimilação (MIDDELBOE, 1996). Em outro estudo, Noble e Fuhrman (1999) adicionaram um material lisado radiomarcado a uma comunidade de bactérias cultivada em laboratório e acompanharam o destino desse material. O lisado era pouco estável e foi utilizado pelas células num período de 30 horas de incubação. No mesmo experimento eles utilizaram ^{33}P como marcador no lisado viral e adicionaram bactérias retiradas diretamente do ecossistema aquático. Foi observado que em 7 horas de incubação houve uma assimilação mais rápida do fósforo em torno de 50%. Estes dados mostram que os resultados obtidos em culturas de laboratório diferem daqueles encontrados ao se utilizarem microorganismos que compõem naturalmente o meio ambiente, e que fatores como disponibilidade de nutrientes e composição viral interferem nos resultados (NOBLE & FUHRMAN, 1999).

3.0 INFLUÊNCIA DOS VÍRUS NO FITOPLÂNCTON MARINHO

A dinâmica de população do fitoplâncton marinho é a base de toda a teia alimentar biológica dos oceanos. Os vírus são importantes agentes causadores de doenças no fitoplâncton e alguns vírus influenciam a ocorrência de florações excessivas das algas, o que gera danos ambientais e prejuízos econômicos (SUTTLE, 2005). Existe uma suposição de que 2 a 10% da produção primária do fitoplâncton são perdidos devido à ação viral. Os vírus são responsáveis por um “curto circuito” na cadeia trófica pelágica, pois à medida que ocorre a lise celular, os consumidores primários terão menor disponibilidade de nutrientes e paralelamente uma maior quantidade de matéria orgânica estará disponível para as bactérias heterotróficas (MIDDELBOE, 2008). A infecção viral em algas altera a taxa fotossintética, diminuindo-a. Em alguns casos, ela pode alterar também a fixação de carbono, levando a uma supressão rápida de CO₂ (BRUSSAARD, 2004).

Os vírus que infectam o fitoplâncton apresentam alta especificidade pelo seu hospedeiro e ampla distribuição geográfica. Já foram isolados na Europa, América do Norte e Ásia. São encontrados em ambientes diversos como: oligotróficos, eutróficos e sedimentos marinhos e dulcícolas (CASTBERG et al, 2002). Os vírus pertencentes à família *Phycodnaviridae* infectam algas eucarióticas tanto em ambiente dulcícola como marinho e são encontrados em maior frequência nos estudos de ambientes aquáticos (NAGASAKI et al., 2005).

A tabela 4 mostra alguns vírus cultiváveis em laboratório e seus respectivos hospedeiros. Dos seis vírus descritos, três pertencem à família *Phycodnaviridae*, que são vírus de DNA de fita dupla. Esta família apresenta uma grande variedade de hospedeiros, e em uma pequena amostragem apresentada na tabela, observa-se que esta família de vírus infecta três gêneros de algas diferentes como *Micromonas*, *Heterocapsa* e *Heterosigma*. Existem também profágos de vírus de RNA de fita simples que infectam os gêneros de algas *Heterocapsa* e *Heterosigma* (BRUSSAARD, 2004; SUTTLE, 2005). Em duas espécies de algas, *Heterosigna akashiwo* da família Raphidophyceae, e

Heterocapsa circularisquama, da família Dinophyceae foi observada a infecção por vírus de RNA de fita simples, como demonstrado na Tabela 4. Isto foi uma novidade, porque até esta descoberta só haviam sido isolados vírus de DNA.

O vírus de RNA de fita simples, descoberto por Tai e colaboradores em 2003, recebeu o nome de *Heterosigma akahiwo* (HaV). Estes vírus infectam algas da espécie *Heterosigma akahiwo*, e já se tem conhecimento de que a infecção viral pode gerar grandes florações desta alga no ambiente (NAGASAKI et al., 2005). Outro vírus que causa florações de algas é o *Emiliana huxleyi*, e à medida que infectam algas da família *Emiliana huxleyi*, eles promovem a lise celular diminuindo a população destas algas no ambiente (SCHROEDER et al., 2002).

Posteriormente outros vírus de RNA de fita dupla, pertencentes à família *Reoviridae*, foram encontrados infectando membros da família Prasinophyceae, *Micromonas pusilla*, demonstrando que tanto vírus de DNA como RNA infectam a mesma espécie do fitoplâncton (BRUSSAARD, 2004). Na tabela 4 pode ser observado que o período de latência desses vírus varia de 3 a 48 h., superando, às vezes, o tempo de geração das suas células hospedeiras (SUTTLE, 2005).

Tabela 4: Vírus que infectam o fitoplâncton eucariótico e crescem em cultura de células.

Gênero de alga	<i>Micromonas</i>	<i>Micromonas</i>	<i>Heterocapsa</i>	<i>Heterocapsa</i>	<i>Heterosigma</i>	<i>Heterosigma</i>
Espécie de alga hospedeira	<i>M.pusilla</i>	<i>M.pusilla</i>	<i>H.circularisquama</i>	<i>H.circularisquama</i>	<i>H.akashiwo</i>	<i>H.akashiwo</i>
Família do vírus	<i>Phycodnaviridae</i>	<i>Reoviridae</i>	<i>Phycodnaviridae</i>	n.d.	<i>Phycodnaviridae</i>	n.d.
Tipo de genoma	dsDNA	dsRNA	dsDNA	ssRNA	dsDNA	ssRNA
Tamanho do genoma (Kbp)	77-110	25.5	n.d.	4.4	n.d.	9.1
Morfologia	Icosaédrica	Icosaédrica	Icosaédrica	Icosaédrica	Icosaédrica	Icosaédrica
Tamanho da partícula (nm)	115-135	65-80	180-210	30	180-220	25
Período latência (horas)	7-14	36	24-48	24-48	30-33	24
Local onde ocorre a proliferação	Citoplasma	Citoplasma	Citoplasma	Citoplasma	Citoplasma	Núcleo
Local de isolamento	Águas costeiras Suécia; Texas (USA)	Águas costeiras da Suécia	Águas costeiras do Japão	Águas costeiras do Japão	Águas costeiras do Japão	Águas Costeiras de BC, Canadá
Referência	Waters & Chan 1982; Cottrell & Suttle 1991	CB., unpubl. Data	Tarutani et al... 2001	Tomaru, Y., unpubl. Data	Nagasaki et al... 1994a; Nagasaki et al... 1999	Tai et al 2003; Lawrence et. 2001

Fonte: Adaptado de Brussard (2004).

Os vírus que infectam o fitoplâncton realizam um controle populacional semelhante ao do bacterioplâncton. Os fatores que influenciam este controle são os mesmos, como especificidade pelo hospedeiro e variações ambientais (TIDJENS et al. 2007).

Alguns estudos correlacionam a influência da luz solar com a atividade dos vírus e das células que compõem o fitoplâncton. Estudos feitos por Van Etten e colaboradores (1983) mostraram que os vírus que infectam o gênero *Chlorella*, tinham multiplicação viral independente da célula realizar a fotossíntese e, após a multiplicação viral foi observada uma redução de 50% na nova progênie viral (VAN ETTEN et al. 1983). Thyrrhaug e colaboradores (2002) analisaram o crescimento do *Phaeocystes pouchetti* vírus (Ppv) em cultura da alga *Phaeocystes pouchett*, em diferentes tempos de exposição à luz. O mesmo resultado foi observado para a alga *Phaeocystes pouchetti*, na qual a produção de vírus não era diretamente dependente do ciclo celular da alga. Porém, neste mesmo estudo, outras espécies de alga e vírus foram testadas, a alga *Pyramimonas orientalis* e o *Pyramimonas orientalis* vírus (Pov). Foi comprovado que estes vírus eram dependentes do ciclo celular da alga. Neste estudo foi observado que quando a infecção viral é iniciada no período da fase clara, há uma produção viral oito vezes maior do que quando a infecção é iniciada na fase escura. A lise das células infectadas durante a fase clara e a conseqüente liberação dos vírus geralmente ocorre durante o período noturno e com isso, os vírus não sofrem com a ação da radiação ultravioleta, que pode levar à sua degradação e morte das partículas virais liberadas no meio aquático (THYRHAUG et al., 2002).

A temperatura da água também pode influenciar na infectividade dos vírus dependendo da espécie em questão. Nagasaki e Yamaguchi (1998) estudaram o vírus *Heterosigma akashiwo* infectando a alga *Heterosigma akashiwo* e perceberam que este, ao ser armazenado em laboratório na temperatura de 5 a 25°C, diminuiu sua infectividade rapidamente. Em contraste, os vírus que

infectam *Chlorella* mantiveram a sua infectividade inalterada por um ano quando armazenados a 4°C (NAGASAKI & YAMAGUCHI, 1998).

Além da temperatura, outro fator que afeta os vírus é a diminuição de nutrientes do ambiente aquático como nitrato e fosfato. Esta redução afeta as condições fisiológicas celulares das algas e podem afetar o título viral, pois em condições de baixa de nutrientes o ciclo viral que predomina é o ciclo lisogênico (BRUSSARD, 2004).

Em resumo, a influência dos vírus no fitoplâncton é fundamental para este sistema, pois eles regulam os produtores primários. Os fatores abióticos influenciam diretamente a atividade viral, como a incidência de luz, radiação ultra violeta, dentre outros.

4.0 INFLUÊNCIA DOS VÍRUS NO ECOSSISTEMA BENTÔNICO

Os vírus são encontrados nos sedimentos marinhos em concentrações elevadas, de 10^8 a 10^9 partículas por cm^3 (SUTTLE, 2005). E acredita-se que os vírus também desempenham um papel importante na ciclagem de nutrientes em ambientes bentônicos por promoverem a mortalidade bacteriana (GLUD & MIDDELBOE, 2004; MEI & DANOVARO, 2004). As condições ambientais da região bentônica quando comparadas as da coluna de água são mais favoráveis à infecção viral, pois há uma grande concentração de bactérias e microalgas, aumentando a probabilidade de contato e infecção viral (MEI & DANOVARO, 2004).

Os resultados encontrados em estudos realizados na região bentônica ainda não são conclusivos em relação à atividade viral e à ciclagem de nutrientes. Em relação aos ambientes bentônicos marinhos, a taxa de mortalidade bacteriana pode variar de 6 a 40%. Acredita-se que a importância da lise causada pelos vírus nos sedimentos seja semelhante a que acontece na superfície da água, promovendo a ciclagem de nutrientes, transferência horizontal de genes, e controle populacional dos microorganismos que residem no sedimento. Em ambientes de água doce, os estudos revelam uma baixa taxa de células infectadas por vírus no sedimento, gerando dúvidas sobre sua importância na ciclagem de nutrientes neste ambiente, sendo necessária a realização de mais pesquisas nesta área (MEI & DANOVARO, 2004). Apesar de serem recentes os estudos em sedimentos aquáticos, existem evidências de que na parte mais superficial dos sedimentos há uma grande concentração de vírus, sugerindo que estes possam ser reservatórios de vírus e serem capazes de realizarem trocas com a coluna de água (MEI & DANOVARO, 2004).

Em um estudo realizado por Middelboe e colaboradores (2006), foi analisada a distribuição espacial e atividade dos vírus em ecossistema aquático nos sedimentos marinhos no mar Sagami Bay no Japão. Os autores analisaram a distribuição vertical de bactérias e vírus nos sedimentos em vários aspectos, e

observaram o mesmo padrão de distribuição durante análise dos transectos. Foi observada uma variação de 3 a 23×10^8 partículas virais por cm^3 na superfície do sedimento. À medida que a profundidade aumentou, foi observada uma diminuição das partículas virais, sendo que entre 3 – 5 cm foram encontradas de 2 a 4×10^8 partículas virais por cm^3 . Abaixo desta profundidade, houve um pequeno declínio da quantidade viral, chegando a valores mínimos entre 0,7 a $3,0 \times 10^8$ partículas virais por cm^3 na camada entre 11 a 15 cm de profundidade do sedimento. Os autores concluíram que há uma concentração relativamente alta de partículas virais tanto na superfície do sedimento quanto em camadas mais profundas. A distribuição vertical bacteriana em termos de quantidade populacional apresentou resultados similares aos encontrados para a distribuição viral, e o número de bactérias diminuiu à medida que aumentou a profundidade. Este fato pode ser explicado, pela presença de bactérias aeróbias na superfície dos sedimentos e à medida que a profundidade aumenta, a concentração de oxigênio é reduzida impossibilitando a sobrevivência desses microorganismos, favorecendo apenas as bactérias anaeróbias (MIDDELBOE et al., 2006).

A variação de partículas virais e de bactérias no sedimento pode ser influenciada por vários fatores, como variação da temperatura, observada ao longo das estações do ano, além de condições tróficas, poluentes, e disponibilidade de oxigênio, dentre outros (MEI & DENOVARO, 2004). Estes fatos variam de uma região para outra, o que explicaria a divergência de dados encontrados na literatura atual (MIDDELBOE et al., 2006) .

Os vírus que se encontram na região bentônica são compostos em sua maioria por bacteriófagos, assim como ocorre nas outras regiões do ecossistema aquático (MEI & DENOVARO, 2004). Acredita-se também que a estratégia de vida entre estes vírus seja diferente (GLUD & MIDDELBOE, 2004). Existe a hipótese de que os ciclos lisogênicos sejam predominantes nos sedimentos aquáticos, devido à quantidade de hospedeiros disponíveis. Nos sedimentos de ambientes oligotróficos, 40% das bactérias isoladas continham profagos (MEI & DENOVARO, 2004). Porém existem hipóteses que contradizem esta preferência pelo ciclo lisogênico em sedimentos aquáticos. A primeira é devido à alta

densidade bacteriana com taxas de crescimento rápido, o que aumentaria a chance de contato dos vírus com as células hospedeiras. Em segundo, seria a diferença de espécies na composição dos vírus da coluna de água e do sedimento. Acredita-se, ainda, que há um grande acúmulo de contaminantes no sedimento aquático, que poderia levar à indução do ciclo lítico nas bactérias em ciclo lisogênico, bem como estresse ambiental (MEI & DENOVARO, 2004).

5.0 INFLUÊNCIA DOS VÍRUS EM AMBIENTES OLIGOTRÓFICOS

Até o momento, existem poucos estudos correlacionando a atividade viral e a ciclagem de nutrientes em ambientes oligotróficos. A maior parte dos estudos tem sido conduzida em ambientes oligotróficos.

Boras e colaboradores (2009) realizaram um estudo em um ambiente oligotrófico com coleta de amostras mensais durante 2 anos no Mar do Mediterrâneo. Neste estudo eles avaliaram vários parâmetros como a abundância dos microorganismos, a produção bacteriana, a mortalidade bacteriana, parâmetros físicos-químicos e concentração de clorofila II. Em relação aos parâmetros físicos químicos, não houve variação significativa nos parâmetros testados como salinidade, temperatura e incidência da luz solar. A abundância bacteriana não seguiu um padrão de variação claro, e a taxa média de vírus e bactérias permaneceu semelhante durante os dois anos, com menor valor detectado em agosto de 2006 e o maior em janeiro de 2007. A produção viral lítica (VLP) foi maior no segundo ano quando comparada ao primeiro, e não foi observada uma relação clara entre a produção viral lítica e as estações do ano. Porém foi observado um aumento da VLP juntamente com a abundância bacteriana. Outros dados mostraram que a mortalidade bacteriana mediada por vírus estava diretamente correlacionada com a abundância bacteriana. A abundância dos vírus e bactérias encontrada neste estudo foi semelhante a outros que ocorreram no Mar Mediterrâneo. Os resultados encontrados sugerem que os vírus presentes no ecossistema oligotrófico podem ser patógenos de outros organismos além das bactérias, ou que estes poderiam estar em diferentes fases de infecção durante a amostragem. Outros autores como Bettarel e colaboradores (2002) também encontraram esta falta de correlação neste mesmo ambiente (citado por BORAS et al, 2009).

Em ambientes oligotróficos, os vírus também participam da ciclagem de nutrientes, porém há um predomínio do ciclo lisogênico em relação ao ciclo lítico. Em consequência da baixa disponibilidade de nutrientes neste ambiente, há uma baixa concentração de bactérias. Nestas condições, se os vírus

realizarem o ciclo lítico, estes poderiam comprometer a produção de uma nova progênie ao lisarem seus hospedeiros (BORAS et al, 2009). Assim, a escolha do ciclo lisogênico seria uma estratégia de sobrevivência dos vírus neste tipo de ambiente. Devido a estas condições, a possibilidade dos vírus encontrarem as células bacterianas e terem sucesso para infecção e replicação lítica é baixa. É provável que as bactérias infectadas por vírus lisogênicos sejam mais competitivas, caso haja a transmissão de genes que favoreçam as bactérias. Em exemplo é que bactérias infectadas por certos tipos de bacteriófagos não podem ser infectadas novamente por um vírus homólogo e, ainda, são capazes de aproveitar o produto da lise de outras células bacterianas. Porém, em outros estudos realizados esta correlação não foi encontrada, sendo necessárias mais pesquisas nesta área (BORAS et al., 2009).

6.0 MÉTODOS PARA ANALISAR OS VÍRUS EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS

Existem várias técnicas que são utilizadas para estudar os vírus em ecossistemas aquáticos. Abaixo são descritas algumas das mais usadas.

A microscopia de transmissão (TEM) usa feixes de elétrons altamente energéticos para examinar objetos numa escala muito fina. Existem duas formas de analisar os vírus aquáticos por este tipo técnica. As amostras podem ser filtradas para concentrar as partículas virais por ultracentrifugação, ou podem ser colhidas diretamente em redes e concentradas por ultracentrifugação. Melhorar a tradução O acetato de uranila é usado para criar um contraste, que auxilia na delimitação do contorno das partículas e estruturas internas a serem visualizadas, por exemplo, na contagem total de vírus presentes em uma amostra. Também é utilizado para determinar a morfologia viral e para determinar a frequência das células infectadas. É uma ferramenta muito utilizada em estudos de ecologia viral. A desvantagem desta técnica é que o equipamento necessário é específico e de custo elevado, além de não fornecer informações sobre a infectividade e não identificar partículas incomuns. Além disso, a execução da análise é demorada, apresentando baixa precisão e pouco limite de detecção (SÄWSTRON, 2003; WEINBAUER, 2004).

Desde 1990, a microscopia de epifluorescência é um método utilizado para quantificar os vírus em ecossistemas aquáticos. Este método utiliza corantes fluorescentes altamente específicos para ácido nucléico, e se tornou um dos métodos mais aceitos, devido à rapidez de análise. Porém, este método apresenta desvantagens, com o custo elevado, não sendo capaz de descrever a morfologia viral, e não detecta a frequência de células bacterianas infectadas, e não distingue DNA de vírus e de colóides presentes (SÄWSTRÖM, 2003; WEINBAUER, 2004).

A citometria de fluxo é considerada uma técnica moderna que permite quantificar os vírus nos ecossistemas aquáticos. É utilizada para analisar também as comunidades fitoplanctônica e bacteriana. Em comparação com os outros métodos, apresenta vantagens por ser uma técnica rápida e precisa. Porém, para ambientes oligotróficos, a confiabilidade dos resultados é menor, devido à baixa concentração viral. Além disso, não fornece informações sobre a infectividade dos vírus, bem como sua morfologia, não permite a distinção entre vírus de DNA e colóides presentes no meio e a distinção entre bacteriófagos e bactérias não é muito eficiente (SÄWSTRÖM, 2003; WEINBAUER, 2004).

A técnica molecular vem sendo utilizada com sucesso para amplificar e identificar vírus de algas em ecossistemas aquáticos, sendo uma ferramenta útil para identificar a diversidade genética. Esta metodologia ainda vem sendo desenvolvida, e já tem contribuído para ampliar os conhecimentos a respeito dos vírus aquáticos. Através desta técnica o número de espécies virais conhecidas está aumentando, devido ao fato de não ser preciso cultivar os vírus para analisá-los (SÄWSTRÖM, 2003; WEINBAUER, 2004).

A medida da taxa de reprodução viral é um índice importante, pois indica sobre a atividade do virionplâncton no ecossistema aquático. As altas taxas de produção viral indicam lise significativa de células hospedeiras. Esta taxa de produção viral pode ser monitorada de diversas maneiras, como o aumento líquido da abundância viral e taxa de decomposição. São utilizados marcadores fluorescentes ou radioativos de ácido nucléico dos vírus. As taxas de decaimento são estimadas inibindo a produção de novas partículas virais e observando a sua diminuição ao longo do tempo. O cianeto é o inibidor mais comum, matando os hospedeiros, mas não inativa as partículas virais (SÄWSTRÖM, 2003; WEINBAUER, 2004).

7.0 CONCLUSÃO

A interação dos vírus em ambientes aquáticos é uma área recente em termos de estudos. Os autores que se dedicam a entender como eles atuam neste ecossistema enfrentam vários problemas, a começar pela dificuldade de reproduzir em laboratório as mesmas condições ambientais, além da necessidade de hospedeiros específicos para realizar a multiplicação viral, sendo que estes às vezes, podem não ser cultiváveis em laboratórios. Com o advento da descoberta de novas técnicas como: biologia molecular, citometria de fluxo, microscopia eletrônica, está sendo possível a descoberta de novos gêneros e espécies.

Os dados obtidos mostram a importância dos vírus na ciclagem de nutrientes. Eles infectam um grande número de organismos, principalmente componentes do plâncton como as bactérias. Ao realizar o ciclo lítico eles devolvem ao ambiente matéria orgânica dissolvida, que é aproveitada pelos organismos aquáticos. A escolha do tipo de ciclo de vida varia de acordo com as condições tróficas do ambiente e pela disponibilidade de hospedeiros.

A participação dos vírus na ciclagem de nutrientes e na transferência de genes é de grande importância para o ecossistema aquático. Com as informações obtidas até hoje é possível concluir que independente do ambiente ser marinho ou dulcícola, os vírus são de fundamental importância neste ecossistema. Porém, existem muitas lacunas que precisam de respostas sobre a completa atuação dos vírus no ambiente aquático, e estas serão preenchidas por meio de investimentos em novos estudos.

7.1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

AZAM F, FENCHEL T, FIELD JG, MEYER-REIL L A, THINGSTAD F. The ecological role of water column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series* V.10, p. 257 – 263, 1983.

BETTAREL, Y.; SIME-NGANDO, T.; AMBLARD, C.; DOLAN J. Viral Activity in Two Contrasting Lake Ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 70, p. 2941-2951, 2004.

BETTAREL, Y.; SIME-NGANDO, T.; AMBLARD, C.; LAVERAN, H. A comparison of Methods for Counting Viruses in Aquatic Systems. *Applied and Environmental Microbiology*. V.66, p. 2283-2289, 2000.

BORAS, J. A.; SALA M. M.; VÁZQUEZE- DOMINGUEZ, E.; WEINBAUER M.G.; VAQUÉ D. Annual changes of bacterial mortality due to viruses and protists in an oligotrophic coastal environment (NW Mediterranean). *Environmental Microbiology*. V. 11, p.1181 – 1193, 2009.

BRUSSAARD, C. P. D. Viral control of Phytoplankton Populations- -a Review. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*. V. 51, p. 125 – 138, 2004.

CASTEBERG, T.; THYRHAUG, R.; LARSEN, A.; SANDAA, R.; HELDAL, M.; VAN ETTEN, J. L.; BRATBAK, G.. Isolation and characterization of a virus infects *Emiliana huxleyi* (Haptophita). *Journal of Phycology*. V. 38, p. 767 – 774, 2002.

DANOVARO, R.; CORIN ALDESI, C.; FILIPPINI, M.; FISCHER, U. R.; GESSNER, M. O.; JACQUET, S.; MAGAGNINI, M. and VELIMIRA, B.. Viriobenthos in freshwater and marine sediments; a review. *Freshwater Biology*. V. 53, p. 1186 – 1213, 2008.

DANOVARO, R.; DELL'ANNO, A.; CORINALDESI, C.; MAGAGNINI, M.; NOBLE, R.; TAMBURINI, C.; WIENBAUERM M.; Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems. *Nature*, V. 454, p 1084 1087

DEMUTH, J.; NEVE, H.; and WITZEL, K.. Direct, Electrons Microscopy Study on the Morphological Diversity of Bacteriophage Populations in Lake Plubsee. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 59, p. 3378 – 3384, 1993.

FILÉE, J.; SIGUIER, P. and CHANDLER, M. I am what I eat and I eat what I am: acquisition of bacterial genes by giant viruses. *Trends in genetic*. V.23, p. 10 – 15, 2006.

FILIPPINI, M., BUESING, N. AND GESSNER, M. Temporal dynamics of freshwater bacterio-and virioplankton along a litoral-pelagial gradient. *Freshwater Biology*. V. 53, p. 1114 – 1125, 2008.

FUHRMAN, J. A.. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Revisit Nature*. V. 399, p. 541 – 548, 1999.

GLUD,R.N. MIDDELBOE,M. Virus and bacteria dynamics of a coastal sediment: implications for benthonic carbon cycling. *Limnology and Oceanography*. V. 49, p. 2073 –2081, 2004 .

HAMBLY, E. AND SUTTLE,C. A.. The virosphere diversity and genetic exchange within phage communities. *Current Opinion Microbiology*. V. 8 p.444 – 450, 2005.

HELDAL, M; BRATBAC, GUNNAR. Production and decay of viruses in aquatic environments. *Marine Ecology Progress Series*. V.72, p. 205 – 212, 1991.

JACQUET, S.; MIKI, T.; NOBLE, R.; PEDUZZI, P.; WILHELM S.. Viruses in aquatic ecosystems: important advancements of the last 20 year and prospects for the future in the field microbial oceanography and limnology. *Advances in Oceanography and Limnology*. V.1, p. 71 – 101, 2010.

JIANG, S. C. AND PUL, J. H. Viral contribution to dissolved DNA in the marine environment as determined by differential centrifugation and kingdom probing. *Applied Environmental Microbiology*. . V. 57, p. 2197 – 2204, 1995.

LYMER, D.; LINDSTRÖM E. S. and VREDE K. Variable importance of viral induced bacterial mortality along gradients of trophic status and humic content in lakes. *Freshwater Biology*. V. 5, p. 1101 – 1113, 2008.

MARANGER, R. AND BIRD, D. F. Viral abundance in aquatic systems: a comparison between marine and freshwaters. *Marine Ecology Progress Series*. V. 121, p. 217 – 226,1995.

MAURICE, C. F.; BOUVIER, T.; COMTE, J.; GUILLEMETTE, F.; and GIORGIO, P. A. Del. Seasonal variations of phages life strategies and bacterial physiological states in three northern temperate lakes. *Environmental Microbiology*. Vol. 12, p 628 – 641, 2010.

MEI, M.L. AND DENOVARO, R.. Virus production and life strategies in aquatic sediments. *Limnology and Oceanography*. V. 49, p. 459 – 470, 2004.

MIDDELBOE, M. Microbial disease in the sea: Effects of viruses on carbon and nutrient cycling. In Ostfeld, R.S., F. Keesing, and V.T. Eviner, eds.: *Infectious disease ecology: Effects of ecosystems on disease and of disease on ecosystems*. Princeton University Press, Princeton, NJ: pp 242-259.

MIDDELBOE, M. GLUD, R. N.; WENZHÖFER, F.; KITAZATO, H.. Spatial distribution and activity of viruses in the deep-sea sediments of Sagami Bay, Japan. *Deep-Sea Research Part I*. V.53, p.1 – 13, 2006.

- MONIER, A.; CLAVERIE, J and OGATA, H. Horizontal gene transfer and nucleotide compositional anomaly in large DNA viruses. *Biomed Central Genomic*. V. 8, p. 1 – 17, 2007.
- MOREIRA, D. BROCHIER-ARMANET. Giant viruses, gigant chimeras: The multiple evolutionary histories of Mimivirus genes. *BMC Evolutionary Biology*. V.8, p. 1 – 10, 2008.
- NAGASAKI, K. AND YAMAGUCHI, M.. Effect of temperature on the algicidal activity and the stability of HaV (*Heterosigma akashiwo* virus). *Aquatic Microbial Ecology*. V.15, p. 211 – 216, 1998.
- NAGASAKI, K.; SHIRAI, Y.; TOMARU, Y.; NISHIDA, K.. Algal Viruses with distinct intraspecies host specificities include identical intein elements. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 71, p. 3599–3607, 2005.
- NOBLE, R. T., AND FUHRMAN J. A. Breakdown and microbial uptake of marine viruses and other lysis products. *Aquatic Microbial Ecology*. V. 20, p. 1 – 11, 1999.
- OHNISHI, M., KUOKAWA, K. AND HAYASHI, T. Diversification of genome: are bacteriophage the main contributors?. *Trends Microbiology*. V. 9, p 481 – 485, 2001.
- PARK, Y., JUNG, S., TOMARU, Y., CHOI, W., KIM, Y. Characterization of the *Chaetoceros salsugineum* nuclear inclusion virus coat protein gene. *Virus Research*. V. 142, p 127–133, 2009.
- PRADEEP RAM, A. S.; SIM-NGANDO, T. Resource drive trade-off between viral lifestyles in the plankton: evidence from freshwater microbial microcosms. *Environmental Microbiology*. V.12, p. 467 – 479, 2010.
- PEARCE, D. A. WILSON, W. H.. Review Virus in Antarctic ecosystems. *Antarctic Science*. 2003. V. 15, p 319 – 333, 2003
- RICKLEFS, R., E. *A economia da Natureza*. .Cap. 10, p. 193-198. Rio de Janeiro, Ed: Guanabara Koogan, 503 páginas. 2003.
- ROSA C. A.; ROSA, L.H.; MEDEIROS, A. DE O. ; FONSECA, F. G. Diversidade Microbiana. In: Glacia M. Drummond, Cássio S. Martins, Magda B. Greco & Fabio Vieira. (Org.). *Biota Minas - Diagnóstico do Conhecimento sobre a Biodiversidade no Estado de Minas Gerais*. Belo Horizonte. *Biodiversitas*. V. 1, p. 43 – 65, 2009.
- SÄWSTRÖM C., M. ALEXANDRE ANESIO, WILHELM GRANÉLI AND JOHANNA LAYBOURN-PARRY: Seasonal Viral Loop Dynamics in Two Large Ultraoligotrophic Antarctic Freshwater Lakes. *Microbiology. Ecology*. V 53, p. 1 – 10, 2007.

SCHROEDER, D., C.; OKE, J.; MALIN, G. and WILSON, H.. Coccolithovirus (Phycodnaviridae): Characterisation of a new large dsDNA algal virus that infects *Emiliania huxleyi*. *Archives of Virology*. V.147, p. 1685 – 1698 , 2002.

SIME-NGANDO, T. AND COLOMBET, J. Virus et prophages dans les écosystèmes aquatiques. *Canadian Journal of Microbiology*. V. 55, p. 95 – 109, 2009

SUTTLE,C.A. Virus in the sea. *Revist Nature*. V. 2005 September. vol: 437/15 . .

SUTTLE, C. A AND FUHRMAN, J. A. Enumeration of virus particles in aquatic or sediment samples by epifluorescence microscopy. *Manual of Aquatic Viral Ecology*. By American Society of Limnology on; viruses in Oceanography, Chapter 1, p. 145 – 153, 2010.

TAI, V.; LAWRENCE, J. E.; LONG, A. S.; CHAN, A. M.; CULLEY, A.I. & SUTTLE, C. A.. Characterization of HaRNAV a single-stranded RNA virus causing lysis of *Heterosigma akashiwo*. *Journal Phycology*. V.39, p 343 – 352, 2003.

THURBER, R. V.. Current insights into phage biodiversity and biogeography. *Opinion in Microbiology*. V.12, p. 582 – 587, 2009.

THYRHAUG, R.; LARSEN, A.; BRUSAARD, C. P. D. and BRATBAK, G.. Cell cycle dependent virus production in marine phytoplankton. *Journal Phycology* V 38, p. 338 – 343, 2002.

TIJDENS M.; HOOGVELD, H. L.; KAMST-VAN, M.P.SIMIS, S.G. H.; BAUDOUX, A.; LAANBTOEK, H.J. GONS, H.J.. Population Dynamics and Diversity of Viruses, Bacteria and Phytoplankton in a Shallow Eutrophic Lake. *Microbiology Ecology*. V. 56, p. 29 – 42, 2008

VAN ETTEN, J. L.; BURBANK, D. E., XIA, Y. &MEINTS, R. H. Growth cycle of a virus, PBCV-1, that infects *Chorella* like algae. *Virology*. V 126, p. 117 – 125, 1983.

VAN ETTEN, J. L.; LANE, L. C. & MEINTS, R. H.. Virus and virus-like particles of eukaryotic algae. *Microbiology Review*. V. 55, p. 586 – 620, 1983.

WEINBAUER, M. G.. Ecology of Procariotic. *FEMS Microbiology Reviews*. V. 28, p 127 – 181, 2004.

WILHEM, S. W., AND SUTTLE, C. A.. Viruses as regulator of nutrient cycles in aquatic environments In Proceedings of the Eight International Symposium on Microbial Ecology, ed. C. R. Bell, M. Brylinsky, and P. Johson-Green, 2000. pp. 551 – 56. Halifax: Atlantic Canada Society for Microbial Ecology.

WOMMACK, K. E. & COLWELL, R. R.. Virioplankton: Viruses in Aquatic Ecosystems. *Microbiology and molecular Biology Reviews*. V. 64, p 69 – 114, 2000.

http://www.portalbrasil.net/educacao_serresvivos_biosfera.htm. Acessado em: 06/12/2010

<http://www.glerl.noaa.gov/seagrant/GLWL/Algae/Cyanophyta/Cards/Synechococcus.html> Acesso em: 06/12/2010.

http://www.smhi.se/oceanografi/oce_info_data/plankton_checklist/others/micromonas_pusilla.htm Acessado em: 06/12/2010.

RÉ Pedro. Ecologia Marinha. Universidade de Lisboa. Departamento de biologia animal. 2005. 59p. Disponível em: http://www.astrosurf.com/re/ecologia_marinha_sebenta_pre.pdf.

<http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?bhcp=1>

<http://moodle.unipar.br> acessado em: 01/02/2011

http://ipaq.prolabs.com.br/downloads/Artigos/Imagens_artigos/Plancton.jpg

<http://www.ipaq.org.br/vb/content.php?113-ALIMENTE-SEUS-CORAIS>