

УДК 578.4

ВИРИО- И БАКТЕРИОПЛАНКТОН ПРИБРЕЖНЫХ ВОД РЕКИ МОСКВЫ

© 2022 г. И. В. Мошарова^{2,*}, В. В. Ильинский¹, И. А. Козлова¹, А. Ю. Акулова¹,
К. П. Хазанова¹, С. А. Мошаров²

Представлено академиком РАН М.В. Флинтном

Поступило 20.10.2021 г.

После доработки 30.11.2021 г.

Принято к публикации 01.12.2021 г.

Впервые изучена динамика численности вириопланктона (ЧВ) в прибрежных водах реки Москвы (р. Москвы) в осенне-зимний период на станциях, различающихся по уровню антропогенного воздействия. ЧВ в водах более загрязненной ст. *Дзержинский* (среднее значение $235.6 \pm 71.5 \times 10^6$ частиц/мл, при варьировании от 167.79 до 397.39×10^6 частиц/мл) на протяжении всего периода исследований была выше, чем в водах менее загрязненной ст. *Тушино* (среднее значение $129.0 \pm 39.6 \times 10^6$ частиц/мл, при варьировании от 61.01 до 186.85×10^6 частиц/мл). Между значениями численности вирио- и бактериопланктона в водах ст. *Дзержинский* наблюдалась положительная связь ($R = 0.6$, $p < 0.01$). Полагаем, что значительная доля в составе вириопланктона прибрежных вод р. Москвы представлена бактериофагами. Три четверти различий динамики ЧВ были значимо положительно связаны с содержанием аммония и фосфатов в водах реки на ст. *Дзержинский*. По-видимому, возрастание биогенной нагрузки является основным фактором, обуславливающим высокую ЧВ в водах р. Москвы в осенне-зимний период.

Ключевые слова: вириопланктон, бактериопланктон, бактериофаг, река Москва, антропогенное загрязнение

DOI: 10.31857/S2686738922020159

ВВЕДЕНИЕ

Планктонные вирусные частицы (вирионы) являются самыми мелкими по размеру, но наиболее многочисленными биологическими объектами, которые присутствуют во всех водных экосистемах [1]. Основная экологическая роль вириопланктона в водных экосистемах определяется их способностью инфицировать широкий спектр хозяев, начиная от прокариот (бактерий, архей и цианобактерий) до одноклеточных и многоклеточных эукариот [2]. Показано, что вириопланктон лизирует до 60–100% суточной бактериальной продукции [3, 4]. За последние два десятилетия научное сообщество признало вирусы важным биологическим компонентом в функционировании водных экосистем и заключило, что они являются “основными игроками” в глобальных экосистемах [1, 5].

К настоящему времени экология вириопланктона озер и водохранилищ достаточно хорошо изучена [1, 3, 4], в то же время для рек, особенно протекающих через крупные промышленные города, подобных исследований крайне мало [6]. Вместе с тем реки, а особенно их прибрежные воды, являются “горячими точками” (“hotspots”) биоразнообразия и важными звеньями в глобальных циклах биогенных элементов [2].

Целью нашей работы было исследование динамики численности вирио- и бактериопланктона прибрежной части реки Москвы в экологически важный, но практически не изученный осенне-зимний период. Важность этого направления определяется ролью вирусов в регулировании численности бактерио- и фитопланктона, а также недостатком информации по этой проблеме для крупных рек, протекающих через промышленные территории.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор проб воды проводили в период с сентября 2019 г. по март 2020 г. на двух участках реки Москвы (р. Москвы), испытывающих различный уровень антропогенного воздействия. В период с

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Институт океанологии им. П.П. Ширинова Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: ivmpost@mail.ru

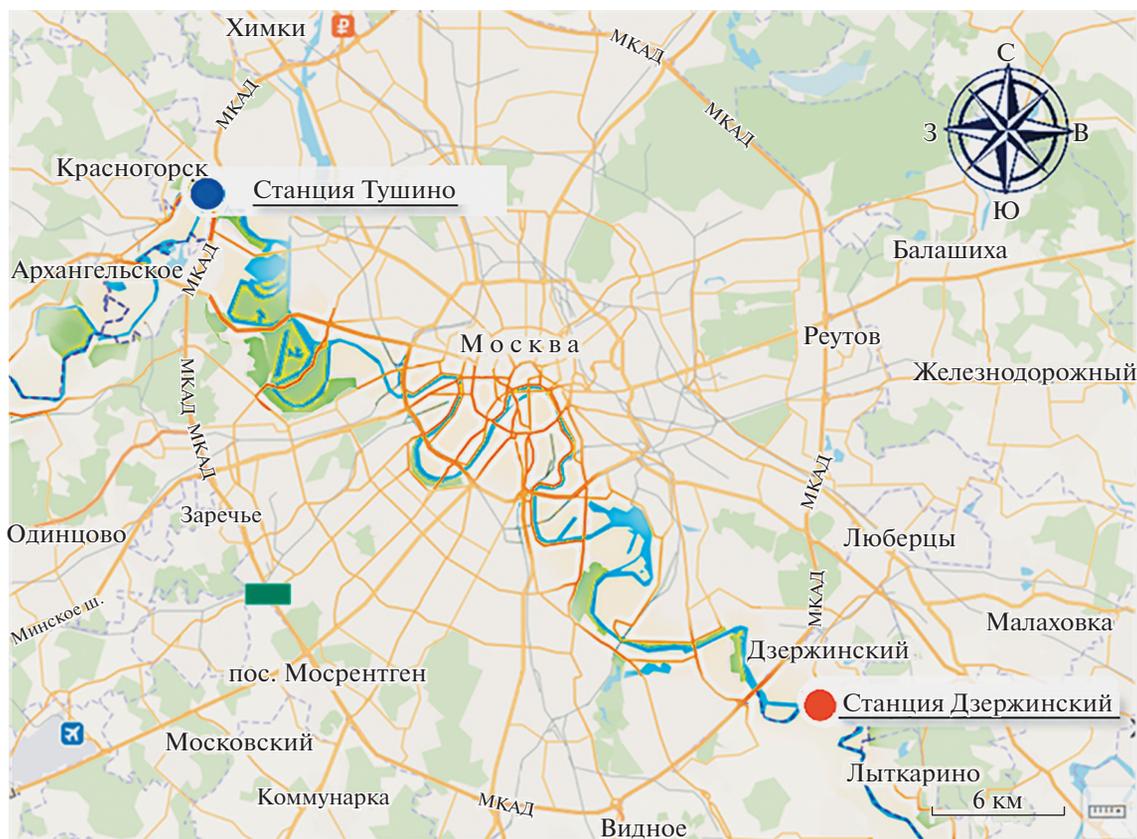


Рис. 1. Карта-схема станций отбора проб на реке Москва. Станции Тушино и Держинский отмечены разным цветом: ст. Тушино – синий, ст. Держинский – красный.

19.09.2019 по 24.12.19 пробы отбирали два раза в месяц, а в период с января по март 2020 г. – один раз в месяц. В период становления ледяного покрова на ст. Тушино (с 12.12.2019 по 11.03.2020) пробы отбирали из пробитой во льду лунки. Первый участок отбора проб (ст. Тушино) находился в районе Южное Тушино, на входе реки в черту г. Москва. Второй участок (ст. Держинский) располагался на выходе реки из г. Москва на юго-востоке, в черте подмосковного города Держинский (рис. 1).

Участок реки в районе ст. Держинский испытывает хроническое воздействие Курьяновских очистных сооружений (КОС). Отбор проб воды проводился в рипали с глубины 0.5 м. Пробы для определения численности вирио- и бактериопланктона фиксировали сразу на месте отбора 37% раствором безвирусного формальдегида (конечная концентрация – 2% по объему). ЧВ учитывали с помощью эпифлуоресцентного микроскопа МикМед-3 ЛЮМ LED, предварительно сконцентрировав подпробы воды на фильтрах Anodisc с диаметром пор 0.02 мкм (Whatman International Ltd) и затем окрасив их флуорохромом SYBR Green I [7]. Численность бактериопланктона (ЧБ) определяли также с помощью эпифлюо-

ресцентного микроскопа, сконцентрировав подпробы воды на поликарбонатных фильтрах Nuclepore filter (Whatman Int., Ltd.) с диаметром пор 0.2 μm , предварительно окрасив бактериальные клетки флуорохромом DAPI [8]. Определение концентрации хлорофилла *a* в воде проводили флуориметрическим методом с феофитиновой коррекцией [9] с помощью сертифицированного флуориметра МЕГА-25 [10]. Определение гидрохимических параметров (концентрации аммоний-иона, нитратов, фосфатов) проводили фотометрическим методом [11]. Статистический анализ данных выполнен с использованием программных пакетов PAST v. 4.02. Для анализа данных применялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Все приводимые в работе коэффициенты корреляции значимы на уровне $p \leq 0.01$. Значения средних величин представлены с указанием стандартной ошибки ($\pm SE$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Гидролого-гидрохимические параметры и содержание хлорофилла *a**

В период проведения исследований температура поверхностного слоя водной толщи на



Рис. 2. Распределение значений численности бактериопланктона (клеток $\times 10^6 \text{ мл}^{-1}$) в прибрежных водах станций Тушино и Дзержинский на реке Москве в период с 19.09.2018 по 11.03.2020.

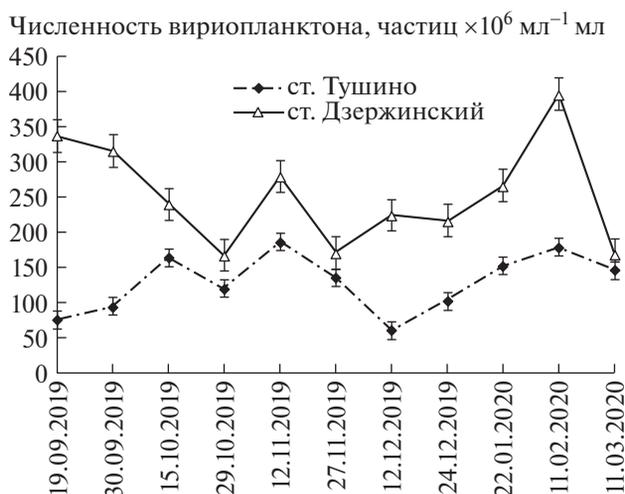


Рис. 3. Распределение значений численности вириопланктона (частиц $\times 10^6 \text{ мл}^{-1}$) в прибрежных водах станций Тушино и Дзержинский на реке Москве в период с 19.09.2018 по 11.03.2020.

ст. Тушино варьировала от 0.4 до 15°C, составляя в среднем 5.5°C. Ледяной покров в Тушино присутствовал в период с 12.12.2019 по 11.03.2020. На ст. Дзержинский температура воды оказалась выше и варьировала от 3.7 до 18°C, составляя в среднем 9.4°C. Ледяной покров на ст. Дзержинский не отмечался. В водах ст. Тушино содержание ионов аммония не превышало 0.05 мг/л. Среднее значение этого параметра в водах ст. Дзержинский составило 0.62 мг/л. Содержание нитратов на ст. Тушино было невысоким – среднее значение – 4.74 мг/л (варьирование от 3.04 до 6.86 мг/л). В водах ст. Дзержинский оно было в 3.5 раза выше – среднее значение 16.69 мг/л (варьирование от

12.73 мг/л до 25.40 мг/л). Содержание фосфатов на ст. Тушино варьировало от 0.05 до 0.44 мг/л, составляя в среднем 0.26 мг/л, в водах ст. Дзержинский размах варьирования этого параметра – от 0.08 до 0.90 мг/л, при среднем значении 0.45 мг/л.

Содержание хлорофилла *a* на ст. Тушино варьировало от 0.71 мкг/л – в конце октября до максимальных значений 18.78 мкг/л – в марте (среднее значение 4.36 ± 5.7 мкг/л). Резкое возрастание значений этого параметра (до 13.30 мкг/л) наблюдалось в первой декаде февраля 2020 г. В водах ст. Дзержинский содержание хлорофилла *a* варьировало от минимальных значений 0.46 мкг/л – в конце декабря до максимальных значений

Таблица 1. Результаты пошагового множественного регрессионного анализа влияния факторов среды на численность вириопланктона

Effect	Coefficient	Std Error	Std Coef (Beta)	Tolerance	Student' t	P(2 Tail)
CONSTANT	-0.039	0.117	0.000	.	-0.330	0.746
NH ₄	0.892	0.259	1.016	0.216	3.444	0.004
NO ₂	-0.481	0.248	-0.548	0.236	-1.941	0.073
PO ₄	0.363	0.132	0.414	0.829	2.749	0.016

5.10 мкг/л – в сентябре 2019 г. Возрастание значений этого параметра (до 2.63 мкг/л) наблюдалось в марте 2020 г., т.е. позже на месяц, чем на ст. Тушино. Среднее значение содержания хлорофилла *a* в водах ст. Дзержинский составило 1.7 ± 5.7 мкг/л, что было почти в три раза меньше, чем на ст. Тушино.

Сезонная динамика численности бактериопланктона

Численность бактериопланктона в водах варьировала от 0.56 до 3.04×10^6 кл./мл, при среднем значении $1.37 \pm 0.7 \times 10^6$ кл./мл. Максимальные значения этого параметра (3.04×10^6 кл./мл) были обнаружены 19.09.2019, а минимальные (0.56×10^6 кл./мл) – 12.11.2019 (рис. 2). ЧБ на ст. Дзержинский варьировала от 1.16 до 3.62×10^6 кл./мл, при среднем значении $2.01 \pm 0.7 \times 10^6$ кл./мл. В среднем ЧБ в водах более загрязненной ст. Дзержинский оказалась в 2 раза выше, чем в водах ст. Тушино, однако варьировал этот параметр в меньшей степени, чем на ст. Тушино – различия колебаний составили 3.1 и 5.4 соответственно.

Сезонная динамика численности вирусных частиц

В поверхностных водах реки на ст. Тушино численность вирионов значительно варьировала от минимальных значений – 61.01×10^6 частиц/мл (12.12.2019) до максимальных – 186.85×10^6 частиц/мл (12.11.2019), при среднем значении $129.0 \pm 39.6 \times 10^6$ (рис. 3). С сентября (19.09.2019) и до начала ноября (12.11.2019) ЧВ, варьируя, возрастала, затем наблюдалось ее снижение до минимума (61.01×10^6 частиц/мл) в первой декаде декабря. С конца декабря ЧВ вновь увеличивалась до 179.13×10^6 частиц/мл в феврале. В марте она вновь несколько снизилась до 145.86×10^6 частиц/мл (рис. 3).

ЧВ на более загрязненной ст. Дзержинский оказалась значительно выше, чем на ст. Тушино, значения этого параметра варьировали от минимальных 167.79 до максимальных значений –

397.39×10^6 частиц/мл, составляя в среднем для станции $235.6 \pm 71.5 \times 10^6$ частиц/мл. В сентябре ЧВ в водах ст. Дзержинский была очень высокой (337.5×10^6 частиц/мл), затем до конца октября значения этого параметра последовательно снижались до 167.79×10^6 частиц/мл. В начале ноября вновь наблюдалось резкое возрастание ЧВ до 280.28×10^6 частиц/мл, затем ее значения снизились до 171.60×10^6 частиц/мл (27.11.2019), после этого численность вириопланктона в водах ст. Дзержинский последовательно возрастала до своего максимального значения – 397.39×10^6 частиц/мл (11.02.2020). Сезонная динамика численности вирусных частиц в поверхностных водах двух станций имела существенные различия. В начале осени и за кратковременный период в начале декабря (12.12.2019) наблюдались противофазы динамики этого параметра (рис. 3). В остальные периоды наблюдалась синхронная динамика численности вириопланктона, но при этом на ст. Дзержинской численность вирусов в течение всего периода исследований была выше примерно в 2–4 раза, чем на ст. Тушино. Численность вириопланктона, установленная нами для прибрежных вод р. Москвы, варьировала в пределах величин, обычно регистрируемых для мезо- и эвтрофных рек в средней полосе Европы (10 – 390 млн ч./мл) [2, 6].

Численность вирионов в прибрежных водах реки значительно превосходила численность бактериопланктона – соотношение вирус/бактерий варьировало от 25 до 200, составляя в среднем 110. Согласно результатам современных исследований, это соотношение, определенное для разных водоемов, варьирует в широких пределах от 0.4 до более 100. Наиболее высокие значения этого параметра отмечаются в эвтрофных прибрежных зонах водоемов в холодный период года [5]. Предполагают, что в летний период повышенная температура воды способствует возрастанию скорости ферментативных реакций в клетках бактериопланктона, что ведет к значительному увеличению его численности и тем самым к снижению вирусной нагрузки. В то время как в холодноводный период наблюдаются явления противоположного

характера [5]. По-видимому, полученные нами высокие значения соотношения вирус/бактерий объясняются тем, что исследования проводились именно в осенне-зимний период в таком специфическом экотопе реки, как рипаль.

Между численностью вирио- и бактериопланктона в водах ст. Дзержинский наблюдалась уверенная положительная связь ($R = 0.6, p < 0.01$). При этом значимых корреляций между ЧВ и содержанием хлорофилла *a* нами не было установлено. В тех случаях, когда обнаруживаются значимые корреляции между ЧВ и содержанием хлорофилла *a*, многие авторы предполагают преобладание в популяции вириопланктона фитовирусов, которые инфицируют эукариотный фитопланктон [1, 4]. В нашем же случае можно предполагать доминирование в популяции речного вириопланктона вирусов-бактериофагов. Значимые положительные корреляции также были установлены между численностью вирусов и содержанием в воде аммония, нитратов, фосфатов. При построении регрессионной модели было установлено, что почти три четверти всех различий динамики численности вириопланктона в водах р. Москвы были значимо положительно связаны с содержанием аммония и фосфатов (табл. 1). Подобные результаты докладываются в работах других исследователей [12–14]. Отмечается, что фосфаты могут напрямую стимулировать численность вирусов, усиливая лизогенный ответ природных популяций и способствуя репликации вирусов [12]. Многие загрязняющие вещества, включая неорганический азот, фосфаты, углеводороды, нефть и тяжелые металлы, могут стимулировать высвобождение вирусов из организмов-хозяев [13] и способствовать появлению зимних пиков численности вириопланктона [14].

Таким образом, можно заключить, что значительная доля в составе вириопланктона прибрежных вод р. Москвы была представлена бактериофагами. Высоким значениям ЧВ соответствовали высокие концентрации аммония и фосфора, также с их колебаниями была связана значительная вариабельность ЧВ. Присутствие значительных количеств соединений аммония и фосфора в водах ст. Дзержинский, по-видимому, было связано с влиянием сточных вод. Можно сделать вывод, что повышенная биогенная нагрузка является основным фактором, обуславливающим высокую численность вирио- и бактериопланктона в прибрежных водах р. Москвы.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность профессору, д.б.н. А.И. Азовскому за помощь в статистической обработке материалов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы МГУ им. М.В. Ломоносова “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”, а также госзадания 0128-2021-0009 и ЦИТИС АААА-А16-116021660054-4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Jacquet S., Miki T., Noble R., Peduzzi P., Wilhelm St.* Viruses in aquatic ecosystems: important advancements of the last 20 years and prospects for the future in the field of microbial oceanography and limnology // *Advances in Oceanography and Limnology*. 2010. V. 1. № 1. P. 97–141.
2. *Peduzzi P.* Virus ecology of fluvial systems: a black spot on the map? // *Biological reviews*. 2016. V. 91. P. 937–949.
3. *Weinbauer M.G.* Ecology of prokaryotic viruses // *FEMS Microbiol. Rev.* 2004. V. 28. P. 127–181.
4. *Wommack K.E., Colwell R.R.* Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems // *Microb. Mol. Biol. Rev.* 2000. V. 64. № 1. P. 69–114.
5. *Cabral A.S., Lessa M.M., Junger P.C., Thompson F.L., Paranhos R.* Virioplankton dynamics are related to eutrophication levels in a tropical urbanized bay // *PLOS one*. 2017.
6. *Копылов А.И., Иевлева Т.В., Романенко А.В.* Сезонные и межгодовые изменения численности вириопланктона в реках, протекающих через промышленный город (г. Череповец, Верхняя Волга) // *Биология внутренних вод*. 2014. № 4. С. 50–53.
7. *Noble R.T., Fuhrman J.A.* Use of SYBR Green I for rapid epifluorescence counts of marine viruses and bacteria // *Aquatic Microbial Ecology*. 1998. V. 14. № 2. P. 113–118.
8. *Porter K.G., Feig Y.S.* The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora // *Limnol Oceanogr.* 1980. V. 25. P. 943–948.
9. *Holm-Hansen O., Riemann B.* Chlorophyll *a* determination: improvements in methodology // *Oikos*. 1978. С. 438–447.
10. *Маторин Д.Н., Рубин А.Б.* Флуоресценция хлорофилла высших растений и водорослей // *М.* – Ижевск: ИКИ-РХД. 2012. С. 256.
11. *Grashoff K., Kremling K., Ehrhard M.* (1999) *Methods of Seawater Analysis*. Wiley-VCH, Weinheim-NewYork-Chichester-Brisbane-Singapore-Toronto. P. 420.
12. *Williamson S.J., Houchin L.A., McDaniel L., Paul J.H.* Seasonal Variation in Lysogeny as Depicted by Prophage Induction in Tampa Bay Seasonal Variation in Lysogeny as Depicted by Prophage Induction in Tampa Bay Florida. *Appl Environ Microbiol.* 2002. V. 68.
13. *Danovaro R., Armeni M., Corinaldesi C., Mei M.L.* Viruses and marine pollution. *Mar Pollut Bull.* 2003. V. 46. P. 301–304.

VIRIO- AND BACTERIOPLANKTON OF THE COASTAL WATER OF THE MOSCOW RIVER

I. V. Mosharova^{b,#}, V. V. Ilinskiy^a, I. A. Kozlova^a, A. Y. Akylova^a, K. P. Hazanova^a, and S. A. Mosharov^b

^a*Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russian Federation*

^b*Shirshov Institute of Oceanology RAS, Moscow, Russian Federation*

[#]*e-mail: ivmpost@mail.ru*

Presented by Academician of the RAS M.V. Flint

For the first time, the dynamics of virioplankton abundance (VA) in the coastal waters of the Moskva River (r. Moskva) in the autumn-winter period at stations differing in the level of anthropogenic impact was studied. VA in waters of more polluted st. Dzerzhinsky (the average value is $235.6 \pm 71.5 \times 10^{-6}$ ml, varying from 167.79 to 397.39×10^{-6} ml) was higher than in the waters of less polluted st. Tushino (mean value $129.0 \pm 39.6 \times 10^{-6}$ ml, varying from 61.01 to 186.85×10^{-6} ml) throughout the study. Between the abundance of virio- and bacterioplankton in the waters of st. Dzerzhinsky, a positive relationship was observed ($R = 0.6$, $p < 0.01$). We assume that a significant proportion of the virioplankton of the coastal waters of the r. Moscow is represented by bacteriophages. Three quarters of the differences in the VA dynamics were significantly positively associated with the content of ammonium and phosphates in the waters at st. Dzerzhinsky. Apparently, the increase in the nutrient load is the main factor responsible for the high VA in the waters of the r. Moskva in the autumn-winter period.

Keywords: virioplankton, bacterioplankton, bacteriophage, Moscow river, anthropogenic pollution