

Влияние вирусов на смертность гетеротрофных бактерий в реках, протекающих через большой город (г. Череповец, Верхняя Волга)

А. И. КОПЫЛОВ¹, Е. А. ЗАБОТКИНА¹, Т. В. ИЕВЛЕВА²

¹ *Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН
152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, пос. Борок
E-mail: kopylov@ibiw.yaroslavl.ru*

² *Череповецкий государственный университет
162612, Череповец, ул. Гоголя, 5*

Статья поступила 26.06.2014

Принята к печати 23.10.2014

АННОТАЦИЯ

В двух малых реках и крупной р. Шексна, расположенных в пределах большого города, в течение апреля – октября 2011 г. определяли численность и продукцию планктонных вирусов, частоту инфицированных клеток бактерий и количество зрелых фагов внутри зараженных бактериальных клеток, вирус-индуцированную смертность бактериопланктона. Между численностью планктонных вирусов и бактерий, а также между количеством вирусов, прикрепленных к клеткам бактерий, и частотой инфицированных клеток установлены высокие положительные связи. Количество планктонных вирусов и гибель бактерий в результате вирусного лизиса в гипертрофной и эвтрофной малых реках значительно превышали таковое в мезотрофной р. Шексна.

Ключевые слова: Вирусы, бактерии, частота инфицированных бактерий, вирус-индуцированная смертность бактерий, малые реки.

Вирусы присутствуют во всех водных экосистемах, являясь многочисленным компонентом планктонных сообществ [Wommack, Colvell, 2000]. Вирусы-бактериофаги часто играют значительную роль в контроле над численностью и продукцией гетеротрофных бактерий [Weinbauer, 2004]. Большинство исследований вирусов в пресноводных экосистемах сосредоточены на оценке их количества и активности в лентических системах

тогда как очень немного работ посвящено изучению распределения и взаимодействия вирусов и их хозяев в лотических системах [Slováčova, Marsálek, 2008; Стройнов и др., 2011]. В регионе Верхней Волги одними из наиболее загрязненных водных объектов являются малые реки, протекающие в пределах крупных промышленных городов. К их числу относятся водотоки в черте крупного промышленного центра г. Череповец, испытывающие многолетнее антропогенное воз-

действие. Цель работы – оценить количество и продукцию планктонных вирусов, численность инфицированных клеток бактерий и вирус-индуцированную смертность бактериопланктона в воде двух значительно загрязненных малых рек и прибрежной зоне крупной р. Шексна, протекающих в черте г. Череповец.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работы проводили в апреле – октябре 2011 г. Изучали образцы воды, отобранные в черте г. Череповец на станциях: в малой реке Серовка, малой реке Ягорба, в которую впадает р. Серовка; на прибрежной станции крупной реки Шексна, в нее впадает р. Ягорба (рис. 1). Река Серовка – малая река, длиной 2,17 км, максимальная глубина 1,5 м, скорость течения воды 0,2–0,4 м/с. Река Ягорба – малая река, длиной 43 км, средняя глубина 0,6 м, максимальная глубина 3,5 м, скорость течения воды 0,35 м/с. В реках Серовка и Ягорба, в пределах г. Череповец, кон-

центрация общего азота составляет соответственно 2,4 и 1,3–2,4 мг N/л, общего фосфора – 300 и 137–309 мкг P/л, растворенного органического вещества – 37,0 и 27,7 мг C/л; содержание легко окисляемых органических соединений по БПК₅ (биологическое потребление кислорода) превышало ПДК (предельно допустимые концентрации) в 3 раза; первичная продукция фитопланктона составляла 1,6–2,0 и 0,8–1,0 г C/(м³ · сут). Река Шексна – крупная река, длиной 139 км, средняя глубина 5,6 м, максимальная глубина 30,4 м, скорость течения воды от Шексинского гидроузла в сторону г. Череповца по ширине потока изменяется от 0,04 м/с (у берега) до 0,23 м/с (на фарватере), средняя скорость течения по ширине – 0,05 м/с. В р. Шексна, в пределах г. Череповец, концентрация общего азота составляет 0,6–0,9 мг N/л, фосфора – 46–56 мкг P/л, растворенного органического вещества – 11,1–14,6 мг C/л; содержание легко окисляемых органических соединений по БПК₅ соответствовало ПДК; первичная продукция фитопланктона состав-

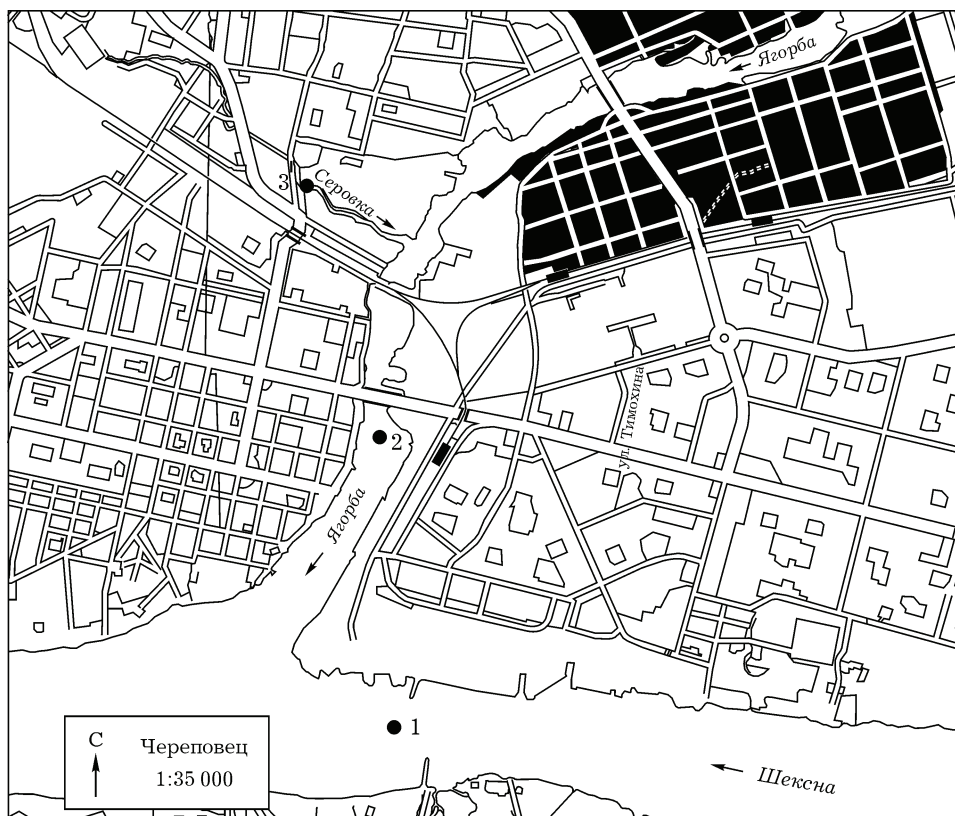


Рис. 1. Карта-схема расположения станций

ляла 0,5–0,8 г С/(м³ · сут). Реки Серовка и Ягорба являются соответственно гипертрофным и эвтрофным водотоками, р. Шексна – мезотрофным водотоком.

На каждой станции в течение периода исследования отбиралось девять проб воды. Глубина станций составляла 1,0–1,2 м. Образцы воды отбирали с помощью однолитрового плексигласового батометра Рутнера. Исследовали интегрированные (поверхность – дно) пробы воды.

Численность гетеротрофных бактерий определяли методом эпифлуоресцентной микроскопии с применением флуорохрома DAPI (4,6-диамидино-2-фенилиндол) и черных ядерных фильтров с диаметром пор 0,2 мкм (Nucleopore) [Porter, Feig, 1980]. На каждом фильтре подсчитывали не менее 400 клеток бактерий. Бактериальная сырая биомасса вычислена, исходя из объема бактериальных клеток.

Содержание органического углерода в сырой биомассе бактерий рассчитывали согласно уравнению, связывающему объем клетки (V , мкм³) и содержание углерода в клетке [Norland, 1993].

Удельную скорость роста бактерий (μ , ч⁻¹) определяли в экспериментах с использованием антибиотика эукариот тирама [Копылов, Крылова, 1993; Newell et al., 1983]. Конечная концентрация антибиотика в экспериментах составляла 2 мг/л. Время экспозиции – 18–24 ч. Эксперименты проводили в двух повторностях. Величину μ для одиночных и агрегированных бактерий находили по изменению численности клеток, для нитей – по изменению их биомассы. Продукцию бактерий рассчитывали как произведение μ и биомассы.

Вирусные частицы учитывали методом эпифлуоресцентной микроскопии с использованием флуорохрома SYBR Green I и фильтров из оксида алюминия Anodisc (Wathman) с диаметром пор 0,02 мкм [Noble, Fuhrman, 1998]. На каждом фильтре просчитывали не менее 400 вирусных частиц. Содержание углерода в одной вирусной частице принимали равным 10⁻¹⁰ мкг С [Gonzalez, Suttle, 1993].

Фильтры с бактериями и вирусами просматривали при увеличении в 1000 раз под эпифлуоресцентным микроскопом Olympus

VX51 (Япония) с системой анализа изображений.

Частоту контактов между вирусами и бактериями (RVB) рассчитывали по формуле $RVB = (Sh2\pi wD_v)VP$ [Murray, Jackson, 1992], где Sh – число Шервуда (использовали величину 1,01, принимаемую для неподвижных бактерий), w – диаметр бактериальной клетки, V и P – численность вирусов и численность бактерий. Диффузия D_v (распространение вирусов) рассчитывалась по формуле: $D_v = k T / 3\pi\mu d_v$, где k – константа Больцмана (1,38 × 10⁻²³ Дж К⁻¹), T – температура воды *in situ* (в градусах Кельвина), μ – вязкость воды и d_v – диаметр вирусной капсиды.

Для определения частоты отчетливо видимых инфицированных вирусами гетеротрофных бактерий (Frequency of visibly infected cells ($FVIC$), % от общего количества бактерий) и среднего количества зрелых фагов в инфицированных бактериях (Burst size (BS), частиц/кл.) использовали метод просвечивающей электронной микроскопии. Вирусы и бактерии осаждали центрифугированием при 100 000 г (35 000 об./мин) в течение 1 ч с использованием ультрацентрифуги OPTIMAL-90k (Beckman Coulter, США) на никелевые сеточки плотностью 400 мешей, покрытые пиолоформом с угольным напылением. Сеточки просматривали в электронном микроскопе JEM 1011 (Jeol, Япония) при увеличении в 50 000–150 000 раз. Для каждой пробы воды приготовлено и просмотрено 2 сеточки. На каждой сеточке исследовали не менее 800 клеток бактерий.

Для расчета доли всех инфицированных клеток гетеротрофных бактерий (Frequency of infected cells (FIC), % от общего количества гетеротрофных бактерий) использовали уравнение $FIC = 7,1 \times FVIC - 22,5 \times FVIC^2$ [Binder, 1999]. Гибель бактериопланктона, вызванную вирусным лизисом (Viral-mediated mortality of bacteria (VMB), %), определяли по формуле $VMB = (FIC + 0,6 \times FIC^2) / (1 - 1,2 \times FIC)$ [Binder, 1999]. В данном методе предполагается, что численность бактериальных популяций остается постоянной, т. е. продукция бактерий равна их смертности. Количество бактерий, погибающих в результате вирусного лизиса (VIM), оцениваемое в кл./мл · сут) или мг С/(м³ · сут), рассчиты-

вали как $VIM = VMB \times P_B$, где P_B – продукция бактериопланктона. Продукцию вириопланктона (P_V , частиц/(мл · сут)) рассчитывали по уравнению $P_V = BS \times VIM$, где VIM – в кл./мл · сут). Время оборота численности вирусов получали делением их численности на продукцию. Количество поступающего в окружающую водную среду в процессе вирусного лизиса бактериопланктона легко усвояемого органического вещества лизированных бактериальных клеток ($OMLB$, мг С/(м³ · сут) находили как $OMLB = VIM - P_V$, где VIM и P_V – в мг С/(м³ · сут). Полученные величины несколько завышены, поскольку в расчетах не использовали величины энергетических трат вирусов на синтез белков капсида и процессов репликации нуклеиновых кислот, так как таковые отсутствуют в литературе.

При установлении корреляционных зависимостей между параметрами использовали ранговый коэффициент корреляции Спирмена для уровня значимости 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследованных городских реках обнаружены очень высокие концентрации планктонных бактерий (табл. 1). Величины общей численности, биомассы и продукции бактериопланктона, рассчитанные в среднем за период исследования, в малых реках оказались выше, чем на прибрежной станции в р. Шекс-

на, соответственно в 1,2 раза, 1,6–1,7 и 1,6–1,8 раза.

В течение апреля – октября общая численность вириопланктона (N_V) изменялась в реках в широких пределах (табл. 2). Минимальная и максимальная величины N_V в исследованных реках различались в 6–7 раз. Наиболее высокие значения N_V наблюдались в конце июня – июле (рис. 2). Величины N_V в среднем за апрель–октябрь, в малых реках оказались выше, чем в р. Шексна в 1,2–1,5 раза. В то же время отношения N_V/N_B , средние за исследованный период, оказались близкими (см. табл. 2).

Во всех реках обнаружены очень высокие коэффициенты корреляции (r) между численностью бактериопланктона и численностью вириопланктона: $r = 0,90–0,95$, $p = 0,05$. В исследованных водотоках выявлена положительная связь между продукцией бактериопланктона и численностью вириопланктона: в реках Серовка и Ягорба $r = 0,55–0,57$, $p = 0,05$; в р. Шексна $r = 0,95$, $p = 0,05$.

Численность вириопланктона в гипертрофной и эвтрофной малых реках, и мезотрофной р. Шексна находится внутри диапазона величин численности планктонных вирусов ((2–208) · 10⁶ частиц/мл), полученных в других лотических системах [Mathias et al., 1995; Lemke et al., 1997; Baker, Leff, 2004; Auguet et al., 2005; Slováčova, Marsálek, 2008; Стройнов и др., 2011; Tsai et al., 2013].

Т а б л и ц а 1

Численность (N_B), биомасса (B_B) и продукция (P_B) бактериопланктона в реках

Параметры	Река		
	Серовка	Ягорба	Шексна
T , °С	2,0–21,0*	2,0–22,0	2,0–20,0
	12,3 ± 2,1	12,5 ± 2,2	11,6 ± 2,1
N_B , 10 ⁶ кл./мл	12,17–33,84	12,72–37,70	10,58–26,38
	19,90 ± 2,54	19,70 ± 2,64	16,07 ± 1,67
B_B , мг С/м ³	374–1852	338–1063	229–674
	708 ± 151	650 ± 92	413 ± 52
P_B , 10 ³ кл./мл · сут	1567–27710	2440–32771	1494–21402
	10460 ± 3300	10215 ± 3244	8067 ± 2178
P_B , мг С/(м ³ · сут)	62–691	46–996	31–553
	322 ± 81	380 ± 119	205 ± 54

П р и м е ч а н и е. В табл. 1–3 над чертой – минимальная – максимальная величины, под чертой – средняя величина ± ошибка. T , °С – температура воды на поверхности.

Численность вириопланктона (N_V), частота контактов между вирусами и бактериями (RVB), численность бактерий с прикрепленными вирусами (N_{BV}), численность вирусов, прикрепленных к бактериальным клеткам (N_{VB}), в реках

Параметры	Реки		
	Серовка	Ягорба	Шексна
N_V , 10^3 частиц/мл	24,0–169,2* 78,5 ± 17,0	23,7–150,8 62,6 ± 13,3	17,9–98,7 51,9 ± 8,2
N_V / N_B	1,9–5,0 3,6 ± 0,4	1,8–4,0 3,2 ± 0,2	1,8–4,2 3,2 ± 0,2
RVB , контакты/сут	611–15922 5134 ± 1770	665–16560 4317 ± 1728	314–7396 2272 ± 721
N_{BV} , 10^3 кл./мл	1280,6–6539,6 3950,5 ± 563,8	1159,5–7162,1 3085,7 ± 609,5	1299,3–4515,1 2782,2 ± 388,4
N_{BV} , % от N_B	9,6–40,4 20,9 ± 3,4	6,9–28,9 15,0 ± 2,2	9,6–25,2 17,5 ± 2,0
N_{VB} , 10^3 ч/мл	1792,8–22627,9 7702,7 ± 2069,1	1971,1–14324,1 5582,4 ± 1270,6	1819,0–6411,4 3953,5 ± 530,0
N_{VB} , % N_V	4,0–59,9 13,7 ± 5,8	4,8–21,7 9,5 ± 1,6	4,8–15,6 8,5 ± 1,2

В течение вегетационного сезона в исследованных реках наблюдались большие колебания численности бактерий и вирусов, что также отмечено в небольших реках в Чехии [Slováčova, Marsálek, 2008]. В то же время сезонные исследования в разных районах Рыбинского водохранилища, в которое впадает р. Шексна, выявили более низкие отличия в максимальных и минимальных значениях численности бактерий (1,2–2,9, в среднем 2,2) и численности вирусов (1,7–4,0, в среднем 2,6) [Копылов и др., 2007]. Более высокие по сравнению с водохранилищем сезонные колебания численности бактерий и вирусов, вероятно, связаны с особенностями гидрологичес-

кого, гидрохимического режимов рек и водохранилища. Однако периоды наибольшей численности вириопланктона в реках (конец июня – июль) и в водохранилище (июль) совпадали, что, по-видимому, связано с летним максимумом развития фитопланктона [Копылов, Косолапов, 2008]. В реках Чехии наиболее высокие величины численности планктонных вирусов обнаружены в июле и октябре [Slováčova, Marsálek, 2008]. В реках Серовка, Ягорба и Шексна, так же как и в других пресноводных экосистемах [Hennes, Simon, 1995; Marranger, Bird, 1995; Bettarel et al., 2003; Vrede et al., 2003; Auguet et al., 2005; Копылов и др., 2007; Slováčova, Mar-

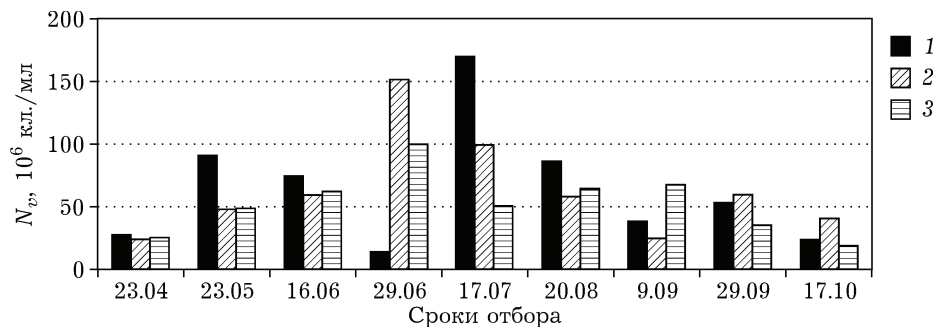


Рис. 2. Сезонные изменения общей численности вириопланктона (N_V , 10^6 кл./мл) в реках Серовка (1), Ягорба (2) и Шексна (3) в 2011 г.

sálek, 2008], вирусы значительно коррелируют с численностью бактерий, что свидетельствует о сильной взаимозависимости между этими двумя сообществами. Кроме того, данный факт свидетельствует, что в этих водных экосистемах вириопланктон представлен в основном вирусами-бактериофагами [Wommack, Colvell, 2000]. Показано, что численность и продукция планктонных вирусов в значительной степени зависят от активности и продукции бактериопланктона [Cochlan et al., 1993; Wommack, Colvell, 2000; Weinbauer, 2004]. В исследованных водотоках выявлена существенная зависимость численности планктонных вирусов от продукции бактериопланктона. Некоторые исследователи [Marranger, Bird, 1995; Hewson et al., 2001] полагают, что величина отношения N_V/N_B снижается с уменьшением трофического статуса водной экосистемы. Однако в нашей работе не обнаружено существенного различия в величинах N_V/N_B в гипертрофной, эвтрофной малых реках (3,2–3,6) и мезотрофной реке Шексна (3,1).

В течение периода исследования частота возможных контактов между вирусами и бактериями (RVB) в реках существенно изменялась. Во всех реках максимальные значения RVB зарегистрированы в конце июня. Величины RVB в среднем в малых реках оказались существенно выше, чем в р. Шексна (см. табл. 2).

Обнаружено значительное количество бактерий с прикрепленными к их клеткам вирусными частицами (N_{BV}). Доля N_{BV} изменялась от 6,9 до 40,4 % от N_B . Максимальные величины N_{BV} и N_{BV}/N_B во всех реках зарегистрировались в сентябре. Величины N_{BV}/N_B в р. Серовка оказались близкими, а в менее продуктивных р. Ягорба и р. Шексна – ниже, чем у обнаруженных в устьевом участке р. Ока (17–39 %) и эвтрофных водохранилищах Средней Волги (14–45 %) в период мощного “цветения” воды цианобактериями [Копылов и др., 2013а, б].

На поверхности одной бактериальной клетки присутствовало от 1 до 30 вирусных частиц. Численность вирусов, прикрепленных к бактериальным клеткам (N_{VB}), и отношение N_{VB}/N_V в течение апреля – октября в малых реках и р. Шексна существенно варьировали (см. табл. 2). Величина N_{VB}/N_V , как

правило, не превышала 16 %, за исключением пробы воды, отобранной в р. Серовка 9 сентября, где численность прикрепленных вирусов составляла 59,9 % численности свободных вирусов.

Экспериментальные исследования показали, что скорость потребления свободных вирусов фаготрофными нанофлагеллятами (от 1,9 до 3,3 частиц/флаг. · ч) невысокая [Gonzalez, Suttle, 1993; Bettarel et al., 2005], т. е. выедание свободных вирусов природными популяциями простейших в пресноводных экосистемах незначительно.

Допуская, что гетеротрофный жгутиконосец осветляет за час объем воды, равный 10^5 объема своей клетки [Fenchel, 1982], рассчитано, что в период исследования скорость питания гетеротрофных нанофлагеллят (ГНФ) бактериями составляла в малых реках 33–141 (в среднем 76 ± 7) кл./флаг. · ч) и в р. Шексна – 36–116 (в среднем 60 ± 8) кл./флаг. · ч). Одновременно с бактериями ГНФ потребляли вирусы, прикрепленные к клеткам бактерий, в малых реках со скоростью 6–149 (в среднем 34 ± 9) част./флаг. · ч), в р. Шексна – 7–33 (в среднем 20 ± 9) част./флаг. · ч). В итоге, сообщества ГНФ, при их численности в малых реках и в р. Шексна, потребляли прикрепленные к бактериям вирусы в больших количествах: в малых реках $(15–547) \cdot 10^3$ (в среднем $159 \pm 38 \cdot 10^3$) част./мл · ч), в р. Шексна – $(9–181) \cdot 10^3$ (в среднем $80 \pm 9 \cdot 10^3$) част./мл · ч), что составляло, соответственно, 0,5–6,6 % (в среднем $2,4 \pm 0,4$ %) от N_{VB} и 0,4–2,9 % (в среднем $1,9 \pm 0,3$ %) от N_{VB} . Таким образом, планктонные вирусы могут поступать на более высокие трофические уровни планктонных пищевых сетей при потреблении тонкими фильтраторами как крупных свободных вирусных частиц, так и, в значительно больших количествах, вирусных частиц, прикрепленных к клеткам микроорганизмов.

Частота видимых инфицированных вирусами бактерий ($FVIC$), т. е. доля в общей численности бактериопланктона бактерий, содержащих внутри клеток зрелые фаговые частицы, изменялась от 0,5 до 4,8 % (табл. 3). В р. Серовка величина $FVIC$, в среднем за апрель – октябрь оказалась в 1,5–1,7 раза выше таковых в других исследованных реках. На основании этих данных рассчитано, что от

Т а б л и ц а 3

Частота видимых инфицированных клеток бактерий; частота инфицированных клеток бактерий; количество фагов внутри бактериальной клетки; вирус-индуцированная смертность бактерий; количество бактерий, погибающих в результате вирусного лизиса; продукция вирусов; время оборота численности вирусов; количество органического углерода, поступающего в водную среду в результате вирусного лизиса бактерий в реках

Параметры	Реки		
	Серовка	Ягорба	Шексна
$FVIC, \%$	0,8–4,8*	0,7–1,7	0,5–2,1
	$1,7 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,2$
$FIC, \%$	5,5–28,9	4,9–11,4	3,5–13,9
	$11,4 \pm 2,4$	$7,5 \pm 0,8$	$6,9 \pm 1,1$
$BS, \text{ фагов/кл.}$	4,0–24,0	5,0–8,5	6,4–29,8
	$10,5 \pm 2,2$	$7,0 \pm 0,4$	$11,2 \pm 2,4$
$VMB, \%$ от P_B	6,1–51,9	5,4–14,1	3,6–18,1
	$14,1 \pm 4,8$	$8,6 \pm 1,0$	$7,8 \pm 1,5$
$VIM, 10^3 \text{ кл./}(мл \cdot \text{сут})$	109,7–3361,6	131,8–3998,8	69,4–1669,4
	$1295,1 \pm 366,4$	$951,1 \pm 398,6$	$672,7 \pm 205,0$
$VIM, \text{ мг С}/(м^3 \cdot \text{сут})$	4,32–111,77	2,47–101,48	1,70–46,0
	$43,46 \pm 11,95$	$32,59 \pm 11,07$	$18,07 \pm 5,78$
$P_V, 10^3 \text{ кл./}(мл \cdot \text{сут})$	438,8–80678,4	790,8–23193,0	673,1–44032,5
	$17810,5 \pm 8362,6$	$6277,2 \pm 2306,6$	$9613,1 \pm 4599,2$
$P_V, \text{ мг С}/(м^3 \cdot \text{сут})$	0,04–8,07	0,08– 2,32	0,07–4,40
	$1,78 \pm 0,84$	$0,63 \pm 0,23$	$0,96 \pm 0,46$
$T_V, \text{ сут}$	1,2–40,8	4,9–50,3	1,5–37,1
	$11,2 \pm 4,3$	$16,9 \pm 4,6$	$17,1 \pm 4,5$
$OMLB, \text{ мг С}/(м^3 \cdot \text{сут})$	4,28–109,05	2,39– 99,16	1,63–41,66
	$41,59 \pm 11,51$	$31,86 \pm 10,87$	$17,11 \pm 5,40$

3,5 до 28,9 % всех бактерий в исследованных водах было инфицировано бактериофагами. В период исследования наиболее высокие величины FIC обнаружены в конце августа – начале сентября (рис. 3). Во всех реках между N_{VB} и FIC наблюдалась положительная связь: в р. Серовка – $r = 0,96, p =$

0,05, в р. Ягорба – $r = 0,55, p = 0,05$; в р. Шексна – $r = 0,74, p = 0,05$.

Вирусы в разной степени инфицировали гетеротрофных бактерий различной морфологии. Общее число зараженных клеток представлено: в р. Серовка 58,3 % – палочками, 20,8 – вибрионами, 16,7 – кокками,

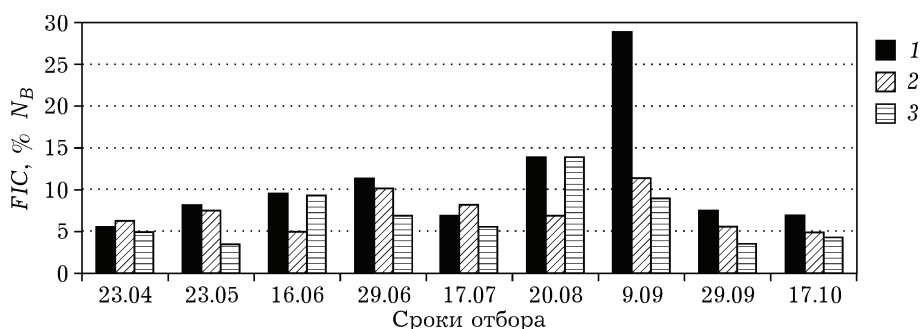


Рис. 3. Сезонные изменения частоты инфицированных клеток бактерий ($FIC, \% N_B$) в реках Серовка (1), Ягорба (2) и Шексна (3) в 2011 г.

4,2 % – нитями; в р. Ягорба 21,4 % – палочками, 21,4 – вибрионами, 42,9 – кокками, 14,3 % – нитями; в р. Шексна 48,9 % – палочками, 19,1 – вибрионами, 27,7 – кокками, 4,3 % – нитями.

Максимальное количество зрелых бактериофагов в инфицированной бактериальной клетке (BS) в р. Серовка составило 79 фагов/клетку (20.08.11), в р. Ягорба – 18 фагов/клетку (16.06.11), в р. Шексна – 105 фагов/клетку (20.08.11). В р. Ягорбе величина BS , средняя для пробы воды и за период апрель – октябрь, оказалась в 1,3–1,4 раза ниже таковых в двух других реках (см. табл. 3).

Вирус-индуцированная смертность бактериопланктона (VMB) изменялась в широких пределах, достигая максимального значения в р. Серовка (см. табл. 3). Величина VMB в среднем за апрель – октябрь в р. Серовка оказалась выше таковой в р. Ягорба в 1,6 раза и в р. Шексна – в 1,8 раза. Количество бактерий, отмирающих в результате вирусного лизиса (VIM), было также выше в р. Серовка (см. табл. 3). В течение апреля – октября, VMB существенно варьировала, достигая наибольших величин в конце августа – начале сентября. Суточная гибель бактерий в кл./мл · сут) и в мг С/(м³ · сут) в период исследования также существенно колебалась, но оставалась наибольшей во всех исследованных реках в конце июня (см. табл. 3).

Вейнбауер с соавт. [Weinbauer et al., 1993] предположили, что вирусный лизис гетеротрофных бактерий играет более значительную роль в эвтрофных водных экосистемах, чем в олиготрофных. Величины частоты видимых инфицированных клеток бактерий ($FVIC$) и вирус-индуцированная смертность бактериопланктона (VMB) в городских реках оказались значительно выше величин $FVIC$ ($0,5 \pm 0,1$ %) и VMB ($3,7 \pm 0,7$), определенных в олиго-мезотрофной р. Ильдь, протекающей в сельской местности и являющейся притоком Рыбинского водохранилища (соответственно $0,2$ – $1,0$ % и $1,1$ – $7,8$ %) [Стройнов и др., 2011]. В р. Серовка значения $FVIC$ и VMB оказались соизмеримы с полученными в эвтрофных пресноводных экосистемах, в реках Ягорба и Шексна – в мезотрофных [Wilhelm, Smith, 2000; Bettarel et al., 2004; Weinbauer, 2004; Pradeep Ram et al., 2005;

Стройнов и др., 2010; Копылов и др., 2013а, б]. Сезонная динамика вирус-индуцированной смертности бактерий в городских реках оказалась сходной с таковой, ранее описанной в Рыбинском водохранилище, в которое впадает р. Шексна [Копылов и др., 2007].

Продукция вирусов (P_V) в исследованных реках значительно колебалась, достигая максимальных значений в реках Серовка и Шексна в конце июня, а в р. Ягорба – в конце августа (см. табл. 3). Минимальная и максимальная величины времени оборота численности вирусов (T_V) обнаружены в р. Серовка соответственно в конце июня и октябре, в р. Ягорба – в начале сентября и октябре, в р. Шексна – в конце августа и апреле. В р. Серовка величина P_V в среднем за апрель – октябрь оказалась выше, чем в реках Ягорба и Шексна в 1,8–2,6 раза, а величина T_V , напротив, ниже в 1,5 раза (см. табл. 3).

В результате вирусного лизиса в водную среду поступало существенное количество органического вещества лизированных бактерий ($OMLB$), достигая максимальных значений в летний период (см. табл. 3). В реках Серовка и Ягорба величины $OMLB$, в среднем за апрель – октябрь значительно превосходили таковую в р. Шексна.

Допуская, что отношение продукции бактерий к их рациону равно 0,3, мы рассчитали, что скорость потребления органического углерода (C_B) гетеротрофным бактериопланктоном в исследованных реках изменялась: в р. Серовка от 206 до 2302 (в среднем 1072 ± 271) мг С/(м³ · сут), в р. Ягорба – от 152 до 3321 (в среднем 1267 ± 396) мг С/(м³ · сут) и в р. Шексна – от 103 до 1843 (в среднем 684 ± 180) мг С/(м³ · сут). Поступавшее в водную среду органическое вещество отмерших лизированных бактерий могло потребляться живыми бактериями и составляло в р. Серовка 1,8–15,1 % (в среднем $4,3 \pm 1,4$ %) от C_U , в р. Ягорба – 1,6–3,9 % (в среднем $2,5 \pm 0,3$ %) от C_B , в р. Шексна – 1,0–4,9 % (в среднем $2,2 \pm 0,4$ %) от C_B . Таким образом, образующееся в процессе вирусного лизиса бактериальных клеток легкоусвояемое органическое вещество в отдельные периоды могло быть существенным компонентом рациона активно функционирующих бактерий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящая работа показала, что вирусы являются многочисленным и динамичным компонентом планктонного сообщества в малых, городских реках. В исследованных водотоках обнаружена сильная положительная связь между численностью вириопланктона и численностью бактериопланктона. В реках, кроме свободных вирусных частиц, значительное количество вирусов прикреплено к клеткам бактерий. Электронно-микроскопические исследования установили, что доля зараженных вирусами клеток бактерий в общем количестве планктонных бактерий и вирус-индуцированная смертность бактериопланктона в течение апреля – октября значительно колебались, достигая максимальных значений в конце августа – начале сентября. В этот период вирусы играли большую роль в контроле над численностью и продукцией бактериопланктона. В гипертрофной и эвтрофной малых реках величины частоты видимых инфицированных клеток бактерий и смертности бактерий в результате вирусного лизиса в среднем за период исследования оказались выше таковых в мезотрофной крупной реке.

ЛИТЕРАТУРА

- Копылов А. И., Крылова И. Н. Структура бактериопланктона Рыбинского водохранилища // Современное состояние экосистемы Рыбинского водохранилища. СПб: Гидрометеиздат, 1993. С. 141–173.
- Копылов А. И., Косолапов Д. Б., Заботкина Е. А. Вирусы в планктоне Рыбинского водохранилища // Микробиология. 2007. Т. 76, № 6. С. 879–997.
- Копылов А. И., Косолапов Д. Б. Бактериопланктон водохранилищ Верхней и Средней Волги. М.: Изд-во СГУ, 2008. 377 с.
- Копылов А.И., Стройнов Я. В., Заботкина Е.А., Романенко А. В., Масленникова Т. С. Влияние аномально высокой температуры воды и “цветения” воды цианобактериями на функционирование гетеротрофных микроорганизмов и вирусов в Горьковском водохранилище летом 2010 года // Биол. внутр. вод. 2013а. № 2. С. 16–24.
- Копылов А. И., Стройнов Я. В., Заботкина Е. А., Романенко А. В., Масленникова Т. С. Гетеротрофные микроорганизмы и вирусы в реке Оке и Чебоксарском водохранилище в аномально жаркое лето 2010 года // Изв. РАН. Сер. биологическая. 2013б. № 3. С. 377–382.
- Стройнов Я. В., Романенко А. В., Масленникова Т. С., Копылов А. И. Вирио- и бактериопланктон малой реки: влияние вирусов на смертность гетеротрофных бактерий // Биол. внутр. вод. 2011. № 3. С. 22–29.
- Стройнов Я. В., Косолапов Д. Б., Копылов А.И. Вирусы в планктоне озера Севан // Экология озера Севан в период повышения его уровня. Махачкала: Наука ДНЦ, 2010. С. 115–123.
- Auguet J. C., Montanie H., Delmas D., Hartmann H. J., Huet V. Dynamic virioplankton abundance and its environmental control the Charente Estuary (France) // Microbial. Ecol. 2005. Vol. 50. P. 337–349.
- Baker P. W., Leff L. G. Seasonal patterns of abundance of viruses and bacteria in a Northeast Ohio (USA) stream // Arch. Hydrobiol. 2004. Vol. 161. P. 225–233.
- Bettarel I., Sime-Ngando T., Amblard C., Carrias J. F., Portelli C. Virioplankton and microbial communities in aquatic systems: a seasonal study in two lakes of differing trophic // Freshwater Biol. 2003. Vol. 48. P. 810–822.
- Bettarel Y., Sime-Ngando S., Amblard C., Dolan J. Viral activity in two contrasting ecosystems // Appl. Environ. Microbiol. 2004. Vol. 70. P. 2941–2951.
- Bettarel Y., Sime-Ngando T., Bouvy M., Arfi R., Amblard C. Low consumption of virus-sized particles by heterotrophic nanoflagellates in two lakes of the French Massif Central // Aquat. Microbiol. Ecol. 2005. Vol. 39. P. 205–209.
- Binder B. Reconsidering the relationship between virally induced bacterial mortality and frequency of infected cells // Ibid. 1999. Vol. 18. P. 207–215.
- Cochlan W. P., Wikner J., Steward C. F., Smith D. C., Azam F. Spatial distribution of viruses, bacteria and chlorophyll a in neretic, oceanic and estuarine environments // Mar. Ecol. Progr. Ser. 1993. Vol. 92. P. 77–87.
- Fenchel T. Ecology of heterotrophic microflagellates. II. Bioenergetics and growth // Ibid. 1982. Vol. 8. P. 225–231.
- Gonzalez J. M., Suttle C. A. Grazing by marine nanoflagellates on viruses and virus-sized particles: ingestion and digestion // Ibid. 1993. Vol. 94. P. 1–10.
- Hennes K. P., Simon M. Significance of bacteriophages for controlling bacterioplankton growth in a mesotrophic lake // Appl. Environ. Microbiol. 1995. Vol. 61. P. 333–340.
- Hewson I., O’Neil J. M., Fuhrman J. A., Dennison W. C. Virus-like particle distribution and abundance in sediments and overlying waters along eutrophication gradients in two subtropical estuaries // Limnol. Oceanogr. 2001. Vol. 46. P. 1734–1746.
- Lemke M. L., Wickstrom C. E., Leff L. G. A preliminary study on the distribution of viruses and bacteria in lotic habitats // Arch. Hydrobiol. 1997. Vol. 141. P. 67–74.
- Marranger R., Bird D. F. Viral abundance in aquatic systems: a comparison between marine and fresh waters // Mar. Ecol. Progr. Ser. 1995. Vol. 121. P. 217–226.
- Mathias C. B., Kirschner A. K. T., Velimirov B. Seasonal variation of virus abundance and viral control of the bacterial production in a backwater system of the Danube River // Appl. Environ. Microbiol. 1995. Vol. 61. P. 3734–3740.
- Murray A. G., Jackson G. A. Viral dynamics: a model of the effects of single-celled planktonic organisms and other particles // Mar. Ecol. Progr. Ser. 1992. Vol. 89. P. 103–116.

- Newell S. Y., Sherr B. F., Sherr E. B., Fallon R. D. Bacterial response to presence of eukaryote inhibitors in water from a coastal marine environment // *Marine Environ. Res.* 1983. Vol. 10. P. 147–157.
- Noble R. T., Fuhrman J. A. Use of SYBR Green for rapid epifluorescence count of marine viruses and bacteria // *Aquat. Microb. Ecol.* 1998. Vol. 14. P. 113–118.
- Norland S. The relationship between biomass and volume of bacteria // *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology* / eds. P. Kemp, B. Sherr, E. Sherr, J. Cole. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993. P. 303–308.
- Porter K. G., Feig Y. S. The use of DAPI for identifying and counting of aquatic microflora // *Limnol. Oceanogr.* 1980. Vol. 25, N 5. P. 943–948.
- Pradeep Ram A. S., Boucher D., Sime-Ngando T., Debroas D., Romagoux J. C. Phage bacteriolysis . protistan bacterivory potential and bacterial production in a freshwater reservoir: coupling with temperature // *Microbial. Ecol.* 2005. Vol. 50. P. 64–72.
- Slováčova H., Marčálek B. Virioplankton and microbial communities on two Czech rivers (Svratka and Morava River) // *Aquat. Sci.* 2008. Vol. 70. P. 282–291.
- Tsai A.-V., Gong G. C., Sanders R. W., Huang J. K. Contribution of viral lysis and nanoflagellate grazing to bacterial mortality in the inner and outer regions of the Changjiang River plume during summer // *J. Plankto Res.* 2013. Vol. 35, N. 6. P. 1283–1293.
- Vrede K., Stensdotter U., Lindstrom E. S. Viral and bacterioplankton dynamics in two lakes with different humic contents // *Microbiol. Ecol.* 2003. Vol. 46. P. 406–415.
- Weinbauer M. G. Ecology of prokaryotic viruses // *FEMS Microbiol. Rev.* 2004 . Vol. 28. N 2. P. 127–181.
- Weinbauer M. G., Fuks D., Peiduzzi P. Distribution of viruses and dissolved DNA along a coastal trophic gradient in the Northern Adriatic Sea // *Appl. Environ. Microbiol.* 1993. Vol. 59. P. 4047–4082.
- Wilhelm S. W., Smith R. E. H. Bacterial carbon production in Lake Erie is influenced by viruses and solar radiation // *Can. Journ. Fish. Aquat. Sci.* 2000. Vol. 57. P. 317–326.
- Wommack K. E., Colvell R. R. Viruses in aquatic ecosystems // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000. Vol. 64. P. 69–114.

Impact of Viruses on Mortality of Heterotrophic Bacteria in the Rivers of Cherepovets City (Upper Volga region)

A. I. KOPYLOV¹, E. A. ZABOTKINA¹, T. V. IEVLEVA²

¹ *Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS
152742, Yaroslavl Region, Nekouzskiy District, Borok*

² *Cherepovets State University
162612, Cherepovets, Gogolya str., 5
E-mail: kopylov@ibiw.yaroslavl.ru*

The abundance and production of planktonic viruses, frequency of infected bacterial cells, the number of mature phages in infected bacterial cells and virus-induced mortality of bacterioplankton were studied in two small rivers and the large Sheksna River (Cherepovets city) in April – October 2011. High positive correlations were determined between the abundance of planktonic viruses and bacteria and between the number of viruses attached to bacterial cell walls and the frequency of infected bacteria. The number of planktonic viruses and the mortality of bacteria caused by virus-induced lysis in hypertrophic and eutrophic small rivers were higher than in the mesotrophic Sheksna River.

Key words: viruses, bacteria, frequency of infected cells, virus-induced mortality of bacteria, small rivers.