

Трофические взаимосвязи между планктонными бактериями, гетеротрофными нанофлагеллятами и вирусами в мезозвтрофном водохранилище

А. И. КОПЫЛОВ, Д. Б. КОСОЛАПОВ, Е. А. ЗАБОТКИНА, Н. Г. КОСОЛАПОВА

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

Статья поступила 20.07.15

Принята к печати 16.11.15

АННОТАЦИЯ

В мезозвтрофном Рыбинском водохранилище определены численность, биомасса и продукция (P_B) бактериопланктона, таксономический состав, численность, биомасса гетеротрофных нанофлагеллят (ГНФ) и скорость потребления бактерий ГНФ, численность вириопланктона, частота видимых инфицированных клеток бактерий, вирус-индуцированная смертность бактериопланктона и продукция вирусов. Гибель бактерий в результате вирусного лизиса (7,8–34,1 %, в среднем $17,2 \pm 2,0$ % суточной P_B) оказалась ниже потребления бактерий сообществом ГНФ (15,4–61,3 %, в среднем $32,0 \pm 4,2$ % суточной P_B). ГНФ, потребляя бактерий, одновременно поглощали значительное количество вирусов, находящихся на поверхности и внутри бактериальных клеток.

Ключевые слова: планктонные бактерии, гетеротрофные нанофлагелляты, вирусы, трофические взаимоотношения.

Гетеротрофные бактерии, простейшие и вирусы являются основными компонентами планктонных микробных пищевых сетей (“микробная петля”) водных экосистем [Копылов, Косолапов, 2011]. Значительная часть (половина или более) общего потока углерода в планктонных трофических сетях водных экосистем проходит через гетеротрофные бактерии [Cole et al., 1988]. Бактериальная продукция регулируется как абиотическими, так и биотическими факторами. К абиотическим факторам (контроль снизу) относятся температура, обеспеченность субстратами и биогенными элементами. Биотические факто-

ры (контроль сверху) включают потребление бактерий простейшими и многоклеточными тонкими фильтраторами, а также их лизис вирусами. Для количественной оценки процессов трансформации вещества и энергии в трофических сетях водных экосистем важно знать, какой вклад в общую смертность бактерий вносят вирусы и консументы. Когда бактериальные клетки выедаются водными организмами, вещество и энергия поступают на более высокие уровни трофической сети. Когда же они лизируются вирусами, вещество и энергия не поступают на более высокие трофические уровни, а остаются в

пределах вирусной “петли” и усваиваются неинфицированными бактериями [Wommack, Colwell, 2000; Weinbauer, 2004]. Гетеротрофные нанофлагелляты (ГНФ) потребляют свободные планктонные вирусные частицы в небольших количествах [Suttle, Chen, 1992; Gonzalez, Suttle, 1993; Bettarel et al., 2005]. В то же время ГНФ, питаясь бактериями, могут поглощать значительное количество ассоциированных с ними вирусов.

Цель работы – количественно оценить роль вирусов и гетеротрофных нанофлагеллят в регулировании численности и продукции бактериопланктона Рыбинского водохранилища и выяснить значение ГНФ в потреблении вирусов, находящихся на поверхности и внутри бактериальных клеток.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в Рыбинском водохранилище (площадь зеркала 4550 км², средняя глубина 5,6 м, полный объем 25,4 км³), расположенном в регионе Верхней Волги, на 14 станциях в августе 2007 г. (см. рисунок).

Станция 1 находилась ниже плотины Шекснинской ГЭС, ст. 2–5 – в Шекснинском плесе, принимающем промышленно-бытовые сточные воды г. Череповец, ст. 6, 7 – в Волжском плесе, куда впадает р. Волга, ст. 8–11 – в центральной части водохранилища, ст. 12–14 – в Моложском плесе, куда впадает р. Молога.

Воду для определения концентрации растворенного органического вещества (РОВ) отбирали с помощью плексигласового батометра, предварительно промытого разбавленной соляной кислотой. Пробы воды фильтровали при слабом вакууме через поликарбонатные фильтры с диаметром пор 0,2 мкм, помещали в стерильные пластиковые флаконы и хранили до анализа в лаборатории при –20 °С не более одного месяца. Непосредственно перед проведением анализа водные пробы размораживали, определение осуществляли методом высокотемпературного каталитического сжигания [Spryges et al., 2000] с помощью автоматического анализатора углерода “LiquiTOC II” (“Elementar”, Германия), оснащенного инфракрасным детектором. Газом-носителем служил синтетический воз-

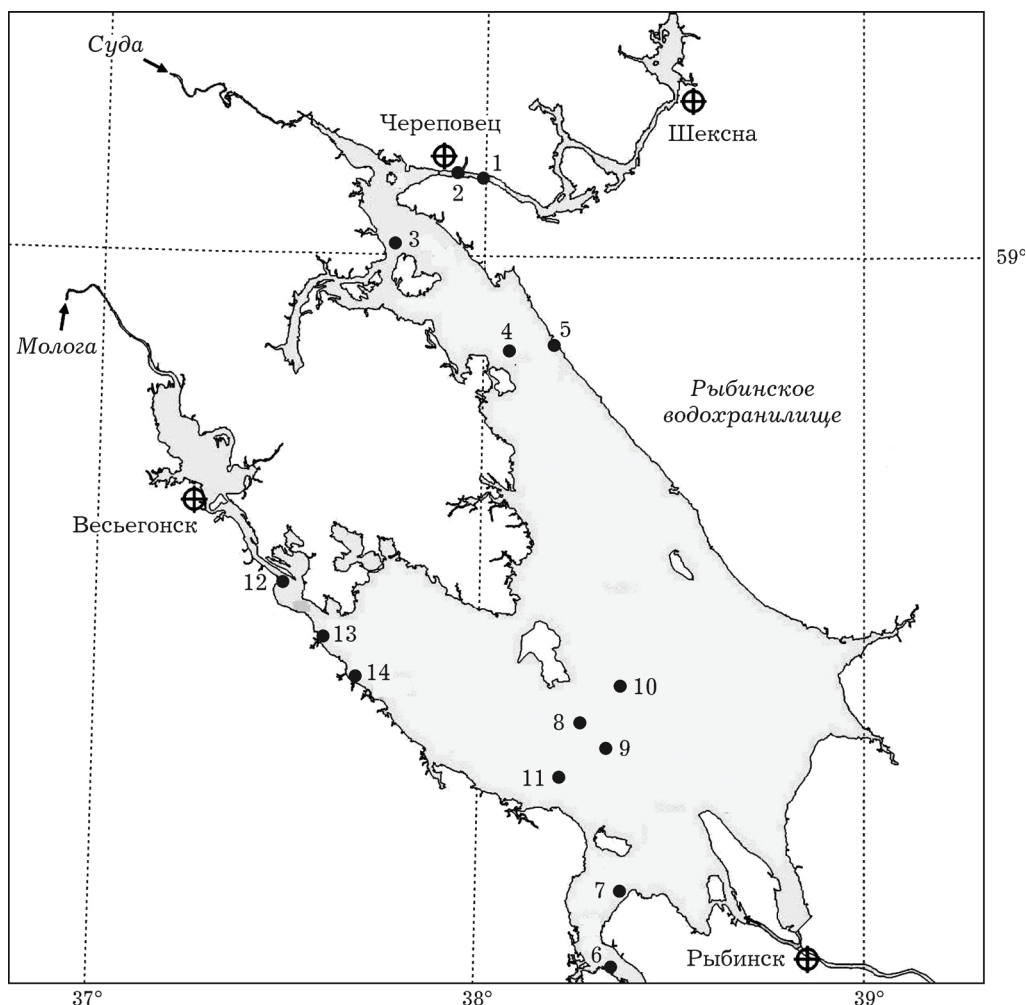
дух. Анализ проводили в двукратной повторяемости. Управление анализом, диагностика прибора и архивирование данных производилось с помощью соединенного с анализатором персонального компьютера.

Определение структурно-функциональных параметров вирусов, бактерий и гетеротрофных нанофлагеллят осуществляли в интегрированных образцах воды, которые получали смешиванием проб, отобранных через каждый метр от поверхности до дна. Для определения численности вирусов и микроорганизмов сразу после отбора пробу воды фиксировали глутаральдегидом до конечной концентрации 2 % и хранили в темноте при температуре 4 °С не более месяца.

Планктонные вирусные частицы учитывали методом эпифлуоресцентной микроскопии с использованием красителя SYBR Green I и фильтров из оксида алюминия Anodisc (“Wathman”) с диаметром пор 0,02 мкм [Noble, Fuhrman, 1978]. Численность и размеры гетеротрофных бактерий и нанофлагеллят определяли методом эпифлуоресцентной микроскопии с использованием красителей DAPI и примулин и черных ядерных фильтров с диаметром пор 0,2 и 0,5 мкм соответственно [Porter, Feig, 1980; Caron, 1983]. Препараты просматривали при увеличении 1000 раз под эпифлуоресцентным микроскопом Olympus VX51 (Япония) с системой анализа изображений.

Содержание углерода в одной вирусной частице принимали равным 10⁻¹⁰ мкг С [Gonzalez, Suttle, 1993]. Содержание углерода в сырой биомассе бактерий рассчитывали согласно уравнению, связывающему объем клетки (V, мкм³) и содержание углерода в клетке бактерий [Norland, 1993]. Допускали, что углерод составлял 22 % сырой биомассы гетеротрофных нанофлагеллят [Børsheim, Bratbak, 1987].

Удельную скорость роста бактериопланктона определяли методом “разбавления”: по изменению численности бактерий в изолированных пробах воды, экспонировавшихся в течение 14–22 ч при температуре и освещении, близким к естественным. Для устранения влияния бактериотрофных организмов пробы воды водохранилища десятикратно разбавляли водой, предварительно



Карта расположения станций отбора проб в Рыбинском водохранилище

профильтрованной через мембранные фильтры с диаметром пор 0,2 мкм [Tremaine, Mills, 1987]. Продукцию бактерий (P_B) определяли как произведение их удельной скорости роста и биомассы. Для оценки потребностей бактериопланктона в органическом углероде (рационе) принимали коэффициент использования потребленной пищи на рост, равный 0,3 [Романенко, 1985]. Первичную продукцию фитопланктона определяли радиоуглеродным методом [Романенко, Кузнецов, 1974].

Для определения частоты отчетливо видимых инфицированных вирусами гетеротрофных бактерий (Frequency of visibly infected cells (FVIC), % общей численности бактерий) и среднего количества зрелых фагов в инфицированных бактериях (Burst size (BS) частиц/кл.) использовали метод просвечива-

ющей электронной микроскопии. Вирусы и бактерии осаждали центрифугированием при 100 000 g (35 000 об./мин) в течение 1 ч с использованием ультрацентрифуги OPTIMA L-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 расчета доли всех инфицированных гетеротрофных бактерий (Frequency of infected cells (FIC), % общей численности бактерий) использовали уравнение $FIC = 7,1 \times FVIC - 22,5 \times FVIC^2$ [Binder, 1999]. Смертность бактериопланктона, вызванную вирусным лизисом (Virus-mediated mortality of bacteria (VMB), % суточной продукции бактериопланктона), определяли по формуле $VMB = (FIC + 0,6 \times FIC^2)/$

$/(1 - 1,2 \times FIC)$ [Binder, 1999]. Скорость вирус-индуцированной смертности бактерий (Virus-induced mortality (VIM), кл./мл · сут.) или мг С/(м³ · сут.) рассчитывали с использованием уравнения $VIM = VMB \times P_B$, где P_B – продукция бактериопланктона. Продукцию вириопланктона (P_V) определяли как произведение BS и VIM . Время оборота численности вирусов получали делением их численности на продукцию. Скорость поступления в окружающую водную среду органических веществ в процессе вирусного лизиса бактериальных клеток (мг С/(м³ · сут.) находили по разнице VIM и P_V . Полученные значения завышены, поскольку в расчетах не учтены энергетические траты вирусов на синтез белков капсида и процессы репликации нуклеиновых кислот, так как данные об этих процессах в литературе отсутствуют.

Скорость потребления бактерий гетеротрофными нанофлагеллятами определяли методом флуоресцентно меченых бактерий [Sherr E. B., Sherr B. F., 1993; Simek et al., 2001]. Для этого бактериопланктон, сконцентрированный из природной воды, окрашивали флуорохромом DТАF. Затем флуоресцентно меченые бактерии в количестве 5–15 % концентрации природного бактериопланктона добавляли в пробы воды, которые инкубировали в двух повторностях в течение

30 мин. Скорость осветления воды (CR, clearance rate) рассчитывали делением концентрации бактериопланктона на скорость потребления бактерий гетеротрофным жгутиконосцем. Для расчетов неусвоенного ГНФ органического вещества потребленных бактерий принимали, что усвояемость пищи равна 0,7 [Копылов и др., 1980].

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

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среднее содержание растворенных органических веществ (РОВ) в водохранилище составляло $9,37 \pm 0,32$ мг С/л. В Шекснинском плесе концентрация РОВ (в среднем 10,32 мг С/л) оказалась выше, чем в других участках водохранилища (в среднем 7,52–9,48 мг С/л) (табл. 1).

Первичная продукция фитопланктона в единице объема воды изменялась в пределах 213–1162 (в среднем 499 ± 81) мг С/(м³ · сут.), а под единицей площади водохранилища – 290–2593 (в среднем 1202 ± 207) мг С/(м² · сут.) (см. табл. 1).

Численность (N_B) и биомасса (B_B) бактериопланктона распределялись по акватории во-

Т а б л и ц а 1
Характеристика станций отбора проб

Номер станции	<i>H</i> , м	<i>Z</i> , см	<i>T</i> , °С	РОВ	ΣP_{PHY} , мг С/(м ² · сут.)
1	8,0	100	23,9	8,50	1846
2	11,0	100	22,7	11,19	2440
3	12,0	120	22,2	9,68	801
4	12,0	150	22,3	9,93	671
5	2,0			10,59	465
6	12,0	155	24,1	6,60	1667
7	12,5	160	23,2	8,44	773
8	9,5	200	22,7	9,22	290
9	9,5	175	22,7	9,84	1194
10	7,0	190	23,0	9,00	994
11	13,0	150	23,8	9,86	520
12	12,0	130	24,1	9,56	2061
13	1,5			8,75	517
14	10,0	140	23,5	9,37	2593

П р и м е ч а н и е. *H* – глубина, *Z* – прозрачность, *T* – температура, РОВ – растворенное органическое вещество, мг С/л, ΣP_{PHY} – первичная продукция фитопланктона.

Средние для столба воды значения численности, среднего объема клетки, биомассы и продукции бактериопланктона

Номер станции	$N_B, \times 10^6$ кл./мл	$V_B, \text{мк}/\text{м}^3$	$B, \text{мг}/\text{м}^3$	$B, \text{мг}/\text{С}/\text{м}^3$	$P_B, 10^6$ кл./(\text{мл} \cdot \text{сут.})	$P_B, \text{мг С}/(\text{м}^3 \cdot \text{сут.})$
1	7,82	0,053	414	113	6,92	100
2	7,59	0,055	417	113	10,33	154
3	6,74	0,090	607	143	3,54	110
4	4,96	0,103	511	116	7,20	116
5	6,93	0,083	575	133	5,16	104
6	5,69	0,060	341	90	8,28	131
7	6,58	0,062	408	107	8,84	144
8	5,23	0,091	476	112	6,78	112
9	6,15	0,058	357	95	6,29	97
10	6,25	0,094	588	137	4,76	104
11	6,32	0,097	613	142	8,11	182
12	10,37	0,059	684	162	7,69	120
13	9,91	0,069	684	173	8,25	144
14	8,83	0,076	671	166	6,15	116

дохранилища неравномерно, составляя в среднем $(7,10 \pm 0,44) \cdot 10^6$ кл./мл и 129 ± 7 мг С/м³ соответственно. Минимальные и максимальные значения численности и биомассы бактерий различались в 2,1 и 2,0 раза соответственно (табл. 2). На станциях Моложского плеса, величины N_B и V_B (соответственно $9,70 \cdot 10^6$ кл./мл и 167 мг С/м³) в среднем оказались выше таковых в других участках водохранилища (соответственно, $5,98-7,82 \cdot 10^6$ кл./мл и $95-126$ мг С/м³). Удельная скорость роста бактерий колебалась от 0,029 до 0,061 (в среднем $0,044 \pm 0,003$) ч⁻¹, достигая максимальных значений на ст. 4 и 6. Продукция бактериопланктона также существенно колебалась по акватории водохранилища и составляла в среднем $(7,02 \pm 0,50) \cdot 10^6$ кл./(\text{мл} \cdot \text{сут.}) или 124 ± 6 мг С/(\text{м}^3 \cdot \text{сут.}). Между первичной продукцией фитопланктона и продукцией бактериопланктона, рассчитанными под 1 м², наблюдалась умеренная положительная корреляция ($R = 0,35$; $p = 0,05$).

Количество свободных вирусных частиц (N_V) колебалось в широких пределах: минимальное и максимальное значения этого показателя различались в 4,3 раза (табл. 3). В среднем для водохранилища N_V составляла $(57,0 \pm 6,4) \cdot 10^6$ частиц/мл. Численность вириопланктона превышала численность бактериопланктона в 3,4–11,9 (в среднем $7,9 \pm 0,6$)

раза. Между количествами вирио- и бактериопланктона обнаружена высокая положительная корреляция ($R = 0,79$).

В составе вириопланктона присутствовали вирусные частицы, имеющие размеры капсидов от 26 до 254 нм. Среднее для исследованных станций значение этого параметра составляло 80 ± 4 нм (диапазон колебаний от 49 до 111 нм). Средние доли разных размерных групп в общем количестве вирусов оказались следующими: менее 40 нм – $9,5 \pm 2,6$ % (пределы 0–28,9 %), 40–60 нм – $24,2 \pm 5,0$ % (0–49,0 %), 60–100 нм – $41,5 \pm 3,7$ (24,3–64,0 %), 100–150 нм – $20,0 \pm 5,8$ % (0–66,7 %), 150–200 нм – $4,2 \pm 1,5$ % (0–13,6 %) и более 200 нм – $0,6 \pm 0,4$ % (0–5,1 %).

В водохранилище обнаружено большое количество вирусов, прикрепленных к бактериальным клеткам (см. табл. 3). На поверхности одной клетки бактерий находилось до 23 вирусных частиц, но в среднем для пробы их численность находилась в пределах 1,3–3,1 частиц/клетка. Среднее количество бактерий с прикрепленными к их клеткам вирусными частицами составило $(1,58 \pm 0,16) \cdot 10^6$ кл./мл или $24,2 \pm 2,2$ % общей численности бактериопланктона, а численность прикрепленных к бактериям вирусов – $(3,40 \pm 0,40) \cdot 10^6$ частиц/мл или $6,78 \pm 1,20$ % общей численности вириопланктона.

Т а б л и ц а 3

Численность свободных вирусов (N_V), бактерий с прикрепленными к их клеткам вирусами (N_{BV}) и вирусов, прикрепленных к клеткам бактерий (N_{VB})

Номер станции	$N_V, \times 10^6$ частиц/мл	N_V/N_B	$N_{BV}, \times 10^6$ кл./мл	N_{BV}/N_B	$N_{VB}, \times 10^6$ частиц/мл	$N_{VB}/N_V, \%$
1	54,17	6,9	1,92	24,52	3,36	6,20
2	60,62	8,0	1,97	25,96	6,11	10,08
3	77,01	11,4	1,12	46,63	2,52	3,27
4	43,96	8,9	1,00	20,15	3,00	6,82
5	82,19	11,9	2,11	30,51	6,14	6,47
6	44,27	7,8	1,15	20,15	3,45	7,79
7	50,32	7,6	2,01	30,51	4,68	9,30
8	24,49	4,7	0,42	8,11	0,56	2,29
9	29,65	4,8	0,83	43,53	2,22	7,49
10	21,1	3,4	2,32	37,06	4,22	20,0
11	45,45	7,2	1,54	24,32	2,26	4,97
12	90,52	8,7	2,07	20,0	3,11	3,44
13	86,15	8,7	2,05	20,65	3,16	3,67
14	87,98	10,0	1,62	18,41	2,80	3,18

Частота видимых инфицированных вирусами бактерий ($FVIC$), т. е. доля в N_B клеток, содержащих внутри зрелые фаговые частицы, изменялась от 1 % N_B в центральной части водохранилища до 3,5 % N_B в прибрежном участке, составляя в среднем $2,0 \pm 0,2$ % (табл. 4). На основании этих данных рассчитано, что от 6,9 до 22,1 % (в среднем $13,1 \pm 1,2$ %) всех бактерий на исследованных участках оказалось инфицировано вирусами. Ви-

русы инфицировали гетеротрофных бактерий различной морфологии. Среди инфицированных бактерий в среднем $43,5 \pm 4,4$ % составляли палочки, $25,2 \pm 3,0$ % – вибрионы, $20,7 \pm 3,5$ % – кокки и $10,7 \pm 2,8$ % – нити. Бактерии содержали в клетке до 135 фагов. Средние для пробы воды значения количества фагов в клетке варьировали от 11 до 39 (в среднем 22 ± 2) частиц/кл. (см. табл. 4).

Т а б л и ц а 4

Частота видимых инфицированных бактерий ($FVIC$), частота инфицированных бактерий (FIC), вирус-индуцированная смертность бактерий (VMB), количество бактерий, лизированных вирусами за сутки (VIM), количество вирусов внутри клеток бактерий (BS), продукция вирусов (P_V)

Номер станции	$FVIC, \%$ N_B	$FIC, \%$ N_B	$VMB, \%$ P_B	$VIM, \times 10^6$ кл./мл \times сут.)	$BS, \text{ вирусы/кл.}$	$P_V, \times 10^6$ частиц/(мл \cdot сут.)
1	1,9	12,7	16,1	1,11	18 ± 7	20,00
2	2,3	15,1	20,1	2,08	39 ± 14	81,12
3	1,5	10,1	12,2	0,43	29 ± 27	12,47
4	1,9	12,7	16,1	1,16	11 ± 5	12,76
5	3,5	22,1	34,1	1,76	22 ± 10	38,72
6	2,5	16,3	22,2	1,84	16 ± 3	29,44
7	1,4	9,5	11,3	1,00	30 ± 21	30,00
8	1,0	6,9	7,8	0,53	23 ± 10	12,19
9	1,5	10,1	12,2	0,77	15 ± 7	11,55
10	3,3	21,0	31,6	1,50	34 ± 24	51,00
11	1,8	12,0	15,0	1,22	20 ± 12	24,40
12	1,9	12,7	16,1	1,24	17 ± 6	21,78
13	1,8	12,0	15,0	1,24	17 ± 8	21,08
14	1,4	9,5	11,3	0,69	15 ± 5	10,35

Вирус-индуцированная смертность бактериопланктона (*VMB*) изменялась в широких пределах (см. табл. 4), составляя в среднем для исследованных участков водохранилища $17,2 \pm 2,0$ % суточной продукции бактериопланктона. Количество бактерий, отмирающих в результате вирусного лизиса (*VIM*), существенно различалось между станциями (см. табл. 4). Среднее значение *VIM* составило $(1,18 \pm 0,13) \cdot 10^6$ кл./мл · сут. (пределы колебаний 0,43–2,08) или $21,1 \pm 2,3$ (пределы колебаний 8,7–35,5) мг С/(м³ · сут.).

Продукция вирусов (*P_V*) колебалась по акватории водохранилища в значительных пределах (см. табл. 4). Минимальное и максимальное значения этого параметра различались в 7,8 раза, а среднее составило $(26,92 \pm 5,20) \cdot 10^6$ частиц/(мл · сут.). Время оборота количества вирусов оказалось высоким 0,4–8,4 (в среднем $3,0 \pm 0,6$) сут.

В водной толще Рыбинского водохранилища обнаружено 35 видов гетеротрофных нанофлагеллят из 15 крупных таксонов. Наибольшим видовым разнообразием отличались отряды Kinetoplastida (7 видов) и Chrysomonadida (6 видов). Большая часть видов относилась к бактериотрофам:

- Choanomonada Kent, 1880
- Codosigabotritis Kent, 1880
- Monosigaovata Kent, 1880
- Lagenoecaruttneri Bourrelly, 1952

- Salpingoecaglobulosa* Zhukov, 1978
- S. minor* Dangeard, 1910
- S. minuta* Kent, 1880
- S. pixidium* Kent, 1880
- S. urnula* Skuja, 1948
- Bicosoecida Grassé, 1926, emend. Karpov, 1998
- Bicosoecaconica* Lemmermann, 1914
- B. lacustris* Skuja, 1948
- B. planctonica* Kisselew, 1931
- Cafeteria* sp.
- Chrysomonadida Engler, 1898
- Paraphysomon. simperforata* Lucas, 1967
- P. vestita* (Stokes) De Saedeleer, 1929
- Spumella dinobryonis* Skuja, 1948
- S. neglecta* Skuja, 1956
- S. sp.*
- Pedinellales Zimmermann, Møestrup and Hällfors, 1984
- Actinomonas mirabilis* Kent, 1880
- Kinetoplastida Honigberg, 1963
- Bodocurvifilis* Griessmann, 1913
- B. designis* Skuja, 1948
- B. saliens* Larsen et Patterson, 1990
- B. saltans* Ehrenberg, 1832
- B. rostratus* (Kent) Klebs. 1893
- Rhynchomonas nasuta* (Stokes) Klebs, 1893
- Euglenida Bütschli, 1884, emend. Simpson, 2003
- Entosiphonsulcatum* (Duj.) Stein, 1878
- Petalomonas pusilla* Skuja, 1948

Т а б л и ц а 5

Численность (*N_{HNF}*), средний объем клетки (*V_{HNF}*), биомасса (*B_{HNF}*), скорость потребления бактерий (*C_B*), скорость осветления воды (*CR*)

Номер станции	<i>N_{HNF}</i> , кл./мл	<i>V_{HNF}</i> , мкм ³	<i>B_{HNF}</i> , мг/м ³	<i>B_{HNF}</i> , мг/м ³	<i>C_B</i> , бакт./(экз. · ч)	<i>CR</i> , нл/(экз. · ч)
1	2029	49	99,4	21,9	41	5,3
2	1816	39	70,8	15,6	36	4,8
3	1709	34	58,1	12,8	28	4,2
4	1602	41	65,7	14,4	23	4,7
5	2002	78	156,2	34,4	53	7,7
6	1845	39	72,0	15,8	31	5,5
7	2756	48	132,3	29,1	51	7,7
8	2056	37	76,1	16,7	22	4,3
9	1788	44	78,7	17,3	34	5,6
10	2563	32	82,0	18,0	25	4,0
11	1735	34	59,0	13,0	32	5,0
12	2823	55	155,3	34,2	69	6,7
13	2402	51	122,5	27,0	68	6,9
14	2242	65	145,7	32,0	66	7,5

P. sp.
Ploeotiadiscoides Larsen et Patterson, 1990
 Cryptophyceae Pascher, 1913, emend. Schoenichen, 1927
Goniomonas truncata (Fresenius) Stein, 1887
G. sp.
Cercomonadida (Poche) Mylnikov, 1986 (Poche, 1913), emend. Vickerman, 1983, emend. Mylnikov, 1986
Cercomonas minimus Mylnikov, 1989
C. sp.
Glissomonadida Howe & Cavalier-Smith 2009, emend. Hess et al., 2013
Bodomorpha minima (Hollande) Mylnikov et Karpov, 2004
B. reniformis (Zhukov), 1978 comb. nov., Mylnikov
Colpodellida Cavalier-Smith, 1993, emend. Adl et al., 2005
Ancyromonadida Cavalier-Smith, 1997
Ansyromonas contorta (Klebs, 1893) Lemmermann, 1910
A. sigmoides Kent, 1880
Incertaesedis Amoebozoa
Quadriciliarotundata (Skuja) Vors, 1992
 Число хищных видов ГНФ, использующих в пищу других более мелких флагеллят, в планктоне водохранилища составляло всего четыре вида: *Kinetoplastida* Honigberg, 1963 (*Phyllomitus apiculatus* Skuja, 1948), *Colpodellida* Cavalier-Smith, 1993, emend. Adl et al., 2005 (*Colpodella angusta* (Dujardin, 1841) Simpson et Patterson, 1996), *Kathablepharida* Okamoto et Ibouye, 2005 (*Kathablepharis ovalis* Skuja, 1948), *Collodictyonidae* Brugerolle, Bricheux, Philippe et Coffe, 2002 (*Aulocomonas hyalina* Skuja, 1956) и *Colponemida* Cavalier-Smith, 1993 (*Colponema loxodex* Stein, 1878).
 Численность (N_{HNF}) и биомасса (B_{HNF}) гетеротрофных нанофлагеллят распределялись по акватории водохранилища также неравномерно: их минимальное и максимальное значения различались в 1,8 и 2,7 раза соответственно (табл. 5). В среднем численность и биомасса ГНФ составляли соответственно 2103 ± 112 кл./мл и $21,6 \pm 2,2$ мг С/м³. Отношение N_B/N_{HNF} находилось в пределах 2388–4126 (в среднем 3412 ± 164), что указывает на благоприятные трофические условия для роста ГНФ. Биомасса (мг С) ГНФ составляла 9,0–29,2 (в среднем $17,1 \pm 1,5$) биомассы бактериопланктона. Между численностью бакте-

Т а б л и ц а 6
 Количество бактерий, погребленных сообществом ГНФ (ΣC_B), количество вирусов, прикрепленных к клеткам бактерий (C_{va}) и количество вирусов, находящихся внутри бактериальных клеток (C_{vit}), погребленных сообществом ГНФ

Номер станции	ΣC_B , 10^6 кл./мл · сут	$\Sigma C_B/P_B$, %	C_{va} , 10^6 частиц/(мл · сут)	C_{vit} , 10^6 частиц/(мл · сут)	$C_{va} + C_{vit}$, 10^6 ч/(мл · сут)	$(C_{va} + C_{vit})/P_V$, %
1	2,00	29,2	0,97	4,58	5,55	27,8
2	1,57	15,4	1,26	9,24	10,50	13,1
3	1,15	22,4	1,19	3,36	4,55	36,5
4	0,88	18,1	0,54	1,23	1,77	13,8
5	2,55	47,3	2,26	12,40	14,66	37,9
6	1,37	16,7	0,84	3,59	4,43	15,0
7	3,37	37,8	2,38	9,59	11,97	39,9
8	1,09	21,2	0,10	1,73	1,83	15,0
9	1,46	23,5	1,72	2,23	3,95	34,2
10	1,54	32,4	1,05	10,95	12,00	23,5
11	1,33	16,5	0,46	3,21	3,67	15,0
12	4,67	61,3	1,42	10,10	11,52	52,9
13	3,92	47,8	1,22	8,01	9,23	43,8
14	3,55	57,8	1,13	5,06	6,19	59,8

риопланктона и численностью ГНФ наблюдалась умеренная положительная корреляция ($R = 0,56$).

ГНФ поглощали бактерий со скоростью $22-69$ (в среднем 41 ± 4) кл./ (экз. · ч), при этом скорость осветления воды (CR) изменялась в пределах $4,0-7,7$ (в среднем $5,7 \pm 0,4$) нл./ (экз. · ч). В результате в среднем для водохранилища сообществом ГНФ потреблялось количество бактерий равное $(2,18 \pm 0,3) \cdot 10^6$ ($(0,88-4,67) \cdot 10^6$) кл./ (мл · сут.) или $38,8 \pm 5,2$ ($21,0-73,5$) мг С/(м³ · сут.), что составило $32,0 \pm 4,2$ % ($15,4-61,3$ %) суточной продукции бактериопланктона (табл. 6).

ГНФ, питаясь бактериями, одновременно потребляли вирусы, находящиеся на поверхности и внутри клеток бактерий. Полученные нами данные о N_{BV} , N_{VB} , FIC , BS и CR позволили рассчитать скорость потребления ГНФ вирусов, прикрепленных к бактериям, которая составила $2-47$ (в среднем 23 ± 3) частиц/(экз. · сут), и скорость потребления вирусов, содержащихся внутри бактериальных клеток – $32-258$ (в среднем 116 ± 22) частиц/(экз. · сут.). В результате сообществом ГНФ потреблялось значительное количество вирусных частиц, ассоциированных с бактериями, соответствующее $13,1-59,8$ % (в среднем $30,6 \pm 4,1$ %) суточной продукции вирусов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в настоящей работе высокие значения численности, биомассы и продукции бактериопланктона свидетельствовали, что в Рыбинском водохранилище в период исследования процесс деструкции органического вещества планктонными гетеротрофными бактериями происходил с большой скоростью. Суточные потребности бактериопланктона в органическом веществе оценивались $323-607$ мг С/(м³ · сут.) (в среднем 414 ± 22), т. е. за сутки запасы растворенного органического вещества в водохранилище уменьшались на $3,3-6,6$ % (в среднем $4,5 \pm 0,3$ %).

В мезоэвтрофном Рыбинском водохранилище в период исследования частота инфицированных клеток бактерий ($13,1 \pm 1,2$ % N_B) и вирус-индуцированная смертность бактериопланктона ($17,2 \pm 2,0$ % P_B) оказались ниже, чем в эвтрофных водохранилищах Волги:

Горьковском (соответственно $17,8 \pm 2,2$ и $26,9 \pm 4,6$ %) и Чебоксарском ($16,1 \pm 1,2$ и $22,4 \pm 2,7$ %) [Копылов и др., 2013а, б].

Исследования, проведенные ранее другими авторами с применением электронной микроскопии, установили, что в озерах от $0,7$ до $4,3$ % общего количества бактерий содержат внутри своих клеток зрелые вирусные частицы. Это предполагает, что $4,9-26,5$ % всех бактерий инфицированы бактериофагами, и вирус-индуцированная смертность составляет $5,4-45,0$ % бактериальной продукции [Weinbauer, 2004].

По литературным данным, скорость потребления бактерий природными популяциями ГНФ в зависимости от их видового состава, температуры воды, состава и концентрации пищи изменяется в пределах $4-168$ бактерий/(экз. · ч), но чаще всего находится в пределах $5-40$ бактерий/(кл. · ч). В мезотрофных и эвтрофных водных экосистемах сообществом ГНФ выедается от 0 до 100 % суточной продукции бактериопланктона [Копылов, Косолапов, 2011, стр. 71]. Значения скоростей потребления бактерий ($22-69$ кл./ (экз. · ч)) и выедания сообществом ГНФ суточной бактериальной продукции ($15,4-61,3$ %) в Рыбинском водохранилище находятся внутри диапазона величин, полученных в других пресноводных экосистемах.

В разных водных экосистемах совместный вклад вирусов и ГНФ в снижение продукции бактериопланктона колеблется от $22,4$ до $128,5$ % P_B , при этом чаще всего потребление бактерий ГНФ превышало смертность бактерий в результате вирусного лизиса [Weinbauer, Hofle, 1998; Simek et al., 2001; Pradeep Ram et al., 2005; Personnic et al., 2009; Tsai et al., 2013]. В исследованных участках Рыбинского водохранилища суммарный вклад вирусов и гетеротрофных нанофлагеллят в элиминацию бактериопланктона варьировал от $29,9$ до $81,4$ % (в среднем $49,2 \pm 4,8$ %) суточной бактериальной продукции. Таким образом, в одних участках водохранилища (Моложский плес, прибрежные воды) основная роль в контроле над численностью и продукцией бактериопланктона принадлежала вирусам и ГНФ (суммарная смертность бактерий составляла $62,8-81,4$ % P_B), в других районах, по-видимому, значительное учас-

тие в потреблении бактериопланктона принимали инфузории и кладоцеры. Доля вирусов в суммарной смертности бактерий составляла 16,4–57,1 % (в среднем $35,0 \pm 3,6$ %), а ГНФ – 42,9–83,6 % (в среднем $65,0 \pm 3,6$ %). Только на двух из 14 станций вирус-индуцированная смертность бактерий превышала гибель бактерий в результате их поглощения ГНФ. Таким образом, на более высокий трофический уровень поступало большее количество органического вещества бактерий, чем оставалось в пределах вирусной “петли”.

После усвоения ГНФ поглощенных бактерий и вирусного лизиса бактерий в водную среду поступает “мертвое” органическое вещество (О) в виде неусвоенного ГНФ органического вещества потребленных бактерий и остатков лизированных бактерий, которое может повторно использоваться активно функционирующими бактериями. В первом случае ОВ выделялось со скоростью 6,3–22,1 (в среднем $11,7 \pm 1,6$) мг С/(м³ · сут.), во втором – 7,5–31,6 (в среднем $18,4 \pm 1,9$) мг С/(м³ · сут.). В итоге суммарное количество “мертвого” ОВ, поступающего в водную толщу, составило 14,7–38,5 (в среднем $30,1 \pm 2,1$) мг С/(м³ · сут.), что обеспечивало 3,9–10,9 % (в среднем $7,0 \pm 0,5$ %) суточных потребностей бактериопланктона в ОВ. Таким образом, образующееся в процессе питания ГНФ бактериями и вирусного лизиса “«мертвое” органическое вещество может быть заметным дополнительным источником питания для активно функционирующих бактерий.

Численность планктонных вирусов в природных водах зависит как от их продукции, так и от распада (decay) или удаления вирусных частиц из водной толщи [Bratbak et al., 1994]. Причинами снижения численности вирусов в столбе воды могут являться потребление свободных вирусов ГНФ [Suttle, Chen, 1992; Gonzalez, Suttle, 1993; Bettarel et al., 2005], оседание крупных частиц взвеси с прикрепленными вирусами, разрушение вирусных частиц биоактивными молекулами, такими как экзоэнзимы, протеазы или нуклеазы, которые изымают нуклеиновые кислоты из капсида вирусов [Bratbak et al., 1994; Noble, Furman, 1997, 1999].

Экспериментальными исследованиями установлено, что скорость потребления ГНФ свободных вирусов невысока – от 1,9 до 3,3 вирусов/(экз. · ч) [Suttle, Chen, 1992; Gonzalez, Suttle, 1993; Bettarel et al., 2005]. Вероятно, ГНФ способны извлекать из воды только крупные вирусные частицы. В Рыбинском водохранилище в период исследования свободные вирусы с размером капсид более 0,2 мкм (размер самых мелких бактерий около 0,2 мкм) обнаружены на двух из 14 исследованных станций. Их численность находилась в пределах $1,06–2,25 \cdot 10^6$ частиц/мл. Используя величины скорости осветления воды, получили, что на этих станциях ГНФ могли потреблять крупные вирусные частицы со скоростью 4–9 частиц (экз. · ч), а количество потребленных свободных вирусов составило $0,18–0,43 \cdot 10^6$ частиц/(мл · сут.) или 0,9–3,4 % суточной продукции вирусов. Значительно большее количество вирусов поступает на более высокий трофический уровень при питании ГНФ инфицированными бактериями и бактериями с прикрепленными к их клеткам вирусными частицами. В итоге суммарное потребление ГНФ свободных вирусов и вирусов, ассоциированных с бактериями, составило 2,20–14,66 (в среднем $6,60 \pm 1,19$) · 10⁶ частиц/(мл · сут.) или 13,1–59,8 (в среднем $30,9 \pm 4,0$) % P_V . При пересчете на углерод скорость потребления вирусов сообществом ГНФ оценивалась ориентировочно как 0,22–1,47 (в среднем $0,66 \pm 0,12$) мг С/(м³ · сут.), что составляло 0,8–4,4 % (в среднем $1,9 \pm 0,2$) биомассы бактерий, потребленных ГНФ за сутки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Значения численности, биомассы, удельной скорости роста и продукции бактерий, полученные в настоящей работе, свидетельствуют о высокой активности бактериопланктона в период исследования. Планктонные вирусы оказались самым многочисленным компонентом планктонного микробного сообщества водохранилища, их численность превышала численность бактериопланктона в среднем в 3,8 раза. Кроме свободных вирусных частиц, значительное количество вирусов прикреплено к клеткам бактерий. Гете-

ротрофные нанофлагелляты, представленные в водохранилище 35 видами, являлись важным компонентом микробного сообщества, составляя в среднем 16,8 % биомассы бактериопланктона. Проведенное исследование показало, что выедание бактериопланктона ГНФ превышало вирус-индуцированную смертность бактерий в среднем в 1,9 раза.

В разных участках водохранилища гибель бактерий в результате потребления ГНФ и вирусного лизиса существенно колебалась, составляя в среднем для водохранилища 49,2 % суточной продукции бактериопланктона. В Рыбинском водохранилище ГНФ, потребляя бактерий, содержащих вирусы на поверхности и внутри клеток, принимают значительное участие в контроле над численностью и продукцией планктонных вирусов.

ЛИТЕРАТУРА

- Копылов А. И., Мамаева Т. И., Бацанин С. Ф. Энергетический баланс бесцветного жгутиконосца *Parabodo attenuatus* (Zoomastigophorea, Protozoa) // Океанология. 1980. Т. 20, № 6. С. 1073–1078.
- Копылов А. И., Косолапов Д. Б. Микробная “петля” в планктонных сообществах морских и пресноводных экосистем. Ижевск: “КнигоГрад”, 2011. 332 с.
- 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. 2013а. № 3. С. 377–382.
- 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. 2013б. № 2. С. 16–24.
- Романенко В. И., Кузнецов С. И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. Лабораторное руководство. Л.: Наука, 1974. 194 с.
- Романенко В. И. Микробиологические процессы продукции и деструкции органического вещества во внутренних водоемах. Л.: Наука, 1985. 295 с.
- Bettarel Y., Sime-Ngando T., Bouvy M., Arfi R., Ambard 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.
- Børshem K. Y., Bratbak G. Cell volume to carbon conversion factors for bacterivorous *Monas* sp. enriched from seawater // Mar. Ecol. Progr. Ser. 1987. Vol. 36. P. 171–175.
- Bratbak G., Thingstad F., Heldal M. Viruses and the microbial loop // Microbiol. Ecol. 1994. Vol. 28. P. 209–221.
- Caron D. A. Technique for enumeration of heterotrophic and phototrophic nanoplankton, using epifluorescence microscopy and comparison with other procedures // Appl. Environ. Microbiol. 1983. Vol. 46, N 2. P. 491–498.
- Cole J. J., Findley S., Pace M. L. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview // Mar. Ecol. Progr. Ser. 1988. Vol. 43. P. 1–10.
- 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.
- Noble R. T., Fuhrman J. A. Viral decay and its causes in coastal waters // Appl. Environ. Microbiol. 1997. Vol. 63, N 1. P. 77–83.
- Noble R. T., Fuhrman J. A. Breakdown and microbial uptake of marine viruses and other lysis products // Aquat. Microbiol. Ecol. 1999. Vol. 20. P. 1–11.
- 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.
- Personnic S., Domaizon I., Sime-Ngando T., Jacquet S. Seasonal variations of microbial abundances and virus-versus flagellate-induced mortality of picoplankton in three peri-alpine lakes // J. Plankton Res. 2009. Vol. 31, N 10. P. 1161–1177.
- Porter K. G., Feig Y. S. The use 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 // Microb. Ecol. 2005. Vol. 50. P. 64–72.
- Sherr E. B., Sherr B. F. Protozoan grazing rates via uptake fluorescently labeled prey // Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology / eds. P. Kemp, B. Sherr, E. Sherr, J. Cole. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993. P. 695–701.
- Simek K., Pernthaler J., Weinbauer M. G., Hornak K., Dolan J. R., Nedoma J., Masin M., Amann R. Changes in bacterial community composition and viral mortality rates associated with enhanced flagellate grazing in a mesoeutrophic reservoir // Appl. Environ. Microbiol. 2001. Vol. 67. P. 2723–2733.
- Spyres G., Nimmo M., Worsfold P. J., Achterberg E. P., Miller A. E. J. Determination of dissolved organic carbon in seawater using high temperature catalytic oxidation techniques // Trends in Analytical Chemistry. 2000. Vol. 19, N 8. P. 498–506.
- Suttle C. A., Chen F. Mechanisms and rates of decay of marine viruses in seawater // Appl. Environ. Microbiol. 1992. Vol. 58, N 11. P. 3721–3729.
- Tremaine S. C., Mills A. L. Tests of the critical assumptions of the dilution method for estimating bacterivory by microeucaryotes // Ibid. 1987. Vol. 53, N 12. P. 2914–2921.
- Tsai An-Yi, 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. Plankton Res.* 2013. Vol. 35, N 6. P. 1283–1293.
- Weinbauer M. G. Ecology of prokaryotic viruses // *FEMS Microbiol. Rev.* 2004. Vol. 28. P. 127–181.
- Weinbauer M. G., Hofle M. G. Significance of virus lysis and flagellate grazing as factors controlling bacterioplankton production in a eutrophic lake // *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. Vol. 64, N 2. P. 431–438.
- Wilhelm S. W., Smith R. E. N. 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., Colwell R. R. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000. Vol. 64, N 1. P. 69–114.

The Trophic Relationships Between Planktonic Bacteria, Heterotrophic Nanoflagellates and Viruses in a Mesoeutrophic Reservoir

A. I. KOPYLOV, D. B. KOSOLAPOV, E. A. ZABOTKINA, N. G. KOSOLAPOVA

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters, RAS
152742, Yaroslavl region, Borok
E-mail: kopylov@ibiw.yaroslavl.ru*

In the paper the following parameters were determined for the mesoeutrophic Rybinsk Reservoir: the abundance, biomass and production (P_B) of bacterioplankton; taxonomic composition, abundance and biomass of heterotrophic nanoflagellates (HNF) and the rate of consumption of the HNF bacteria; the number of virioplankton, frequency of visible bacteria-infected cells, virus-induced mortality of bacterioplankton and viral production. Death rate of the bacteria due to viral lysis (7.8–34.1 %, on average – 17.2 ± 2.0 % of the daily P_B) was lower than the consumption of the bacteria by the HNF community (15.4–61.3 %, on average – 32.0 ± 4.2 % of the daily P_B). HNF, while consuming bacteria, simultaneously absorbed a significant number of viruses residing on the surface and inside the bacterial cells.

Key words: planktonic bacteria, heterotrophic nanoflagellates, viruses, trophic relationships.