

УДК 574.583(282.2):579+578

ВИРИО- И БАКТЕРИОПЛАНКТОН В ЭСТУАРНОЙ ЗОНЕ РЕКИ ОБЬ И ПРИЛЕГАЮЩИХ РАЙОНАХ ШЕЛЬФА КАРСКОГО МОРЯ

© 2017 г. А. И. Копылов¹, А. Ф. Сажин², Е. А. Заботкина¹,
А. В. Романенко¹, Н. Д. Романова²

¹ Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок, Ярославская обл., Россия

² Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Москва, Россия

e-mail: kopylov@ibiw.yaroslavl.ru

Поступила в редакцию 08.06.2016 г.

После доработки 19.09.2016 г.

По пробам собранным в сентябре 2013 г. изучено распределение структурно-функциональных характеристик вириопланктона в области северной части Обского эстуария и прилегающего шельфа Карского моря между $71^{\circ}44'44''$ и $73^{\circ}45'24''$ с.ш. с учетом пространственных изменений численности (N_B) и продукции (P_B) бактерий, а также свойств водной среды (температура, соленость, плотность). В исследованном районе численность планктонных вирусов (N_V), частота видимых инфицированных клеток бактерий, вирус-индуцированная смертность бактерий и продукция вириопланктона варьировали в пределах, соответственно, $214\text{--}2917 \times 10^3$ ч/мл, $0.3\text{--}5.6\%$ N_B , $2.2\text{--}64.4\%$ P_B и $6\text{--}17248 \times 10^3$ частиц/(мл сут). Наиболее высокие величины данных параметров обнаружены в слоях воды с температурой $+7.3\text{--}7.5^{\circ}\text{C}$, соленостью $3.75\text{--}5.41$ psu, и условной плотностью σ_t $2.846\text{--}4.144$. Численность бактериопланктона составляла $614\text{--}822 \times 10^3$ кл/мл, отношение N_V/N_B — $1.1\text{--}4.5$. Большое количество вирусных частиц было прикреплено к бактериальным клеткам и частицам взвеси. Полученные результаты свидетельствуют о существенной роли вирусов в контроле над численностью и продукцией гетеротрофного бактериопланктона в зоне взаимодействия речных и морских вод.

DOI: 10.7868/S0030157417010051

ВВЕДЕНИЕ

Эстуарные районы крупных рек играют ведущую роль в регулировании воздействия континентальных процессов на морские экосистемы и трансформации приносимого речным стоком аллохтонного материала [4, 15]. Это в превосходной степени справедливо и для Карского моря, в которое через эстуарии Оби и Енисея ежегодно поступает около 1100 км^3 пресной воды [25, 28].

В эстуарных зонах пресноводный сток взаимодействует с морской водой, формируя уникальный высокоградиентный пелагический биотоп. Эстуарные области населены специфическими планктонными сообществами, которые играют огромную роль в экологических взаимодействиях в системе река–море, формировании биологической продукции и, с другой стороны, являют пример адаптации к существованию в условиях резко изменяющейся пелагической среды [9].

Вирусы являются самым многочисленным компонентом пресноводных и морских микробных сообществ, а вирусный лизис вызывает гибель значительного количества гетеротрофных бактерий, играющих основную роль в деструкции

органического вещества [29, 32]. Исследования экологии вирусов в разных пресноводных и морских арктических экосистемах показали, что в ряде местообитаний вирусы играли существенную роль в контроле над численностью и продукцией гетеротрофных бактерий [1–3, 18, 26, 27, 31]. В то же время структурно-функциональные характеристики вириопланктона в зонах смешения пресных и морских вод в Арктическом бассейне практически не изучены. Немногочисленные работы по изучению экологии вирусов в эстуариях рек в умеренных широтах и субтропиках выявили высокую численность вириопланктона и особенно его распределения в зоне смешения пресных и морских вод [11, 12, 16, 22].

Исходя из вышеизложенного, и была определена цель работы — в зоне взаимодействия пресных и морских вод определить параметры численности и продукции вириопланктона, его структуру, оценить уровень инфицирования бактерий вирус-бактериофагами и величину вирус-индуцированной смертности бактериопланктона. Выяснить особенности пространственного распределения структурно-функциональных параметров планктонных вирусов в зависимости от биотиче-

ских (численность, продукция бактериопланктона) и абиотических (температура, соленость, плотность воды) факторов водной среды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили 3–7 сентября 2013 г. в 125-м рейсе НИС “Профессор Штокман” на станциях 17 (71°44′44″ с.ш., 72°47′27″ в.д., глубина 20 м) и 19 (72°34′18″ с.ш., 73°49′30″ в.д., глубина 18.5 м), расположенных в устье Обской губы, и станциях 25 (72°44′24″ с.ш., 73°27′43″ в.д., глубина 26 м), 4 (72°57′27″ с.ш., 73°16′90″ в.д., глубина 29.4 м) и 26 (73°45′24″ с.ш., 72°54′65″ в.д., глубина 30.1 м), расположенных на прилегающем шельфе Карского моря.

Пробы отбирали с четырех–пяти горизонтов батометрами Нискина объемом 5 или 10 л комплекса “Rosette”, оснащенного STD-зондом в зависимости от глубины места по результатам зондирования температуры, электропроводности, флуоресценции (все оборудование производства Sea Bird Equipment, США).

Пробы воды фиксировали нейтральным раствором формальдегида (конечная концентрация в пробе 1%) и хранили в темноте при температуре +4 °С. Общую численность бактерий определяли под люминесцентным микроскопом Leica DM 5000B при увеличении ×1000, после предварительного окрашивания проб флуорохромом DAPI (4,6-диамидино-2-фенилиндол) [23]. Бактериальную сырую биомассу вычисляли исходя из объема бактериальных клеток с использованием программы анализа изображений “Image Score Color”. Бактериальную биомассу в углеродных единицах рассчитывали в соответствии с объемами бактериальных клеток, основываясь на формуле: $\text{фгС/кл} = 133.754 \times V^{0.438}$, где фгС/кл – содержание углерода (фемтограммы) в клетке, а V – объем клетки, мкм^3 [6].

Определение бактериальной продукции и выедания бактериопланктона потребителями проводили по методике с использованием антибиотиков, предложенной Шерр Б.Ф. с соавторами [24], в модификации для естественных местообитаний [30]. Подробно методика проведения работ изложена в работе Сажина с соавторами [7].

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 [20]. Фильтры с вирусами просматривали при увеличении ×1000 под эпифлуоресцентным микроскопом Olympus BX51 (Япония) с системой анализа изображений Cell-F.

На каждом фильтре просчитывали не менее 400 вирусных частиц. Содержание углерода в

1 вирусной частице принимали равным $0.055 \text{ фгС} \times \text{вирус}^{-1}$ [26].

Для определения частоты видимых инфицированных вирусами гетеротрофных бактерий (Frequency of visibly infected cells (FVIC), доля от общего количества бактерий) и среднего количества зрелых фагов в инфицированных бактериях (Burst size (BS), частиц/кл.) использовали метод электронной трансмиссионной микроскопии. Вирусы и бактерии осаждали центрифугированием при 100000 g (35000 об/мин) в течение 2 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 ×50000–150000. На каждом препарате учитывали не менее 800 клеток бактерий. Для расчета доли всех инфицированных клеток гетеротрофных бактерий (Frequency of infected cells (FIC), доля от общего количества гетеротрофных бактерий) использовали уравнение $\text{FIC} = 7.1\text{FVIC} - 22.5\text{FVIC}^2$ [13]. Гибель бактериопланктона, вызванную вирусным лизисом (Viral-mediated mortality of bacteria (VMB), доля от общей смертности или продукции бактериопланктона), определяли по формуле $\text{VMB} = (\text{FIC} + 0.6\text{FIC}^2) / (1 - 1.2\text{FIC})$ [13]. В данном методе предполагается, что продукция бактерий равна их общей смертности. Количество бактерий, погибающих в результате вирусного лизиса (Viral-induced mortality of bacteria, VIM), оцениваемое в $\text{кл}/(\text{мл сут})$ или $\text{мг С}/(\text{м}^3 \text{ сут})$, рассчитывали как $\text{VIM} = \text{VMB} \times P_B$, где P_B – продукция бактериопланктона. Продукцию вириопланктона (P_V , частиц/(мл сут)) – по уравнению $P_V = \text{BS} \times \text{VIM}$, где BS – количество вирусов на клетку бактерий, VIM – в $\text{кл}/(\text{мл сут})$. Время оборота численности вирусов получали делением величины их численности на величину продукции. Количество поступающего в окружающую водную среду в процессе вирусного лизиса бактериопланктона легкоусвояемого органического вещества лизированных бактериальных клеток в $\text{мг С}/(\text{м}^3 \text{ сут})$ находили по разнице, как VIM и P_V . Полученные величины, по-видимому, несколько завышены, так как в расчетах не учтены величины энергетических трат вирусов на синтез белков капсида и процессы репликации нуклеиновых кислот. Такие данные до сих пор не известны и отсутствуют в литературе.

При установлении корреляционных зависимостей между параметрами был использован ранговый коэффициент корреляции Спирмена для уровня значимости 0.05. В качестве показателя разброса средних значений рассчитывали ошибку среднего.

Таблица 1. Температура (T), соленость (S), условная плотность (σ_t), условная мутность (TUR) воды

Станция	Глубина, м	T , °C	S , psu	σ_t	TUR, ftu
17	0	+8.137	0.385	0.148	487
	11	+6.813	7.456	5.800	1240
	15	+5.287	13.449	10.616	1492
	18	+5.303	13.403	10.579	2452
19	0	+7.360	3.746	2.846	294
	5	+7.199	11.156	8.676	174
	12	-0.577	29.500	23.687	1558
	16	-0.613	29.619	23.784	1632
25	0	+7.318	4.090	3.120	363
	5	+7.315	4.135	3.156	378
	12	-1.132	31.081	24.981	1030
	23	-1.219	31.464	25.294	2350
4	5	+7.526	5.410	4.144	241
	10	-0.734	30.290	24.330	221
	15	-1.463	32.365	26.031	537
	20	-1.545	32.669	26.280	704
	27	-1.553	32.706	26.310	978
26	0	+6.768	11.062	8.636	72
	12	+6.445	11.916	9.331	65
	20	-1.498	32.501	26.142	2451
	27	-1.519	32.655	26.268	2450

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследованная эстуарная область р. Обь характеризовалась очень неравномерным распределением физико-химических свойств водной среды в столбе воды (табл. 1), включая температуру, соленость, плотность, мутность [5, 10]. Показателем действия мощного пресноводного стока на акватории исследованных станций служил уровень пониженной солености.

В зоне взаимодействия вод р. Обь и Карского моря величины физико-химических показателей воды варьировали в широких пределах (табл. 1). Минимальные и максимальные величины температуры различались в 10 раз, солености — в 85 раз, условной плотности — в 18 раз, мутности — в 38 раз.

В толще воды исследованного района численность (N_B) и биомасса (B_B) бактериопланктона колебались в широких пределах (табл. 2). Минимальные и максимальные величины N_B и B_B различались, соответственно, в 43 и 65 раз. Средний объем бактериальных клеток изменялся от 0.014 до 0.042 мкм³, в среднем составляя $0.027 \pm \pm 0.002$ мкм³. Продукция бактериопланктона существенно различалась на разных глубинах станции (табл. 2). P/B -коэффициент варьировал в

Таблица 2. Численность (N_B), биомасса (B_B) и суточная продукция (P_B) бактериопланктона

Станция	Горизонт, м	N_B , 10 ³ кл/мл	B_B , мг С/м ³	P_B , 10 ³ кл/мл	P_B , мг С/м ³
17	0	995	23.0	1065	24.6
	11	1102	25.9	1234	28.9
	15	489	10.0	621	12.7
	18	1247	22.4	0	0
19	0	797	11.9	606	9.1
	5	596	12.8	584	12.5
	12	222	2.2	493	4.9
	16.5	153	1.9	153	1.9
25	0	614	7.0	883	10.1
	5	822	10.4	123	1.6
	12	74	0.8	167	1.8
	23	49	0.4	123	1.0
4	5	734	10.7	1395	20.3
	10	204	2.5	212	2.6
	15	40	0.6	27	0.4
	20	29	0.4	73	1.0
	27	74	1.5	212	4.3
26	0	471	6.6	805	11.3
	12	433	7.0	784	12.7
	20	97	0.9	226	2.1
	27	66	0.6	121	1.1

пределах $0-2.87 \text{ сут}^{-1}$, при среднем значении $1.50 \pm 0.17 \text{ сут}^{-1}$.

Средние для столба воды величины N_B , B_B и P_B резко снижались в направлении от самой южной станции (ст. 17) до северной (ст. 26) (рис. 1). Значения данных параметров также уменьшались с возрастанием солености и снижением температуры воды (рис. 2).

Численность свободных вирусов (N_V) изменялась в меньшей степени: минимальная и максимальная N_V различались в 14 раз, составляя, в среднем, $(1033 \pm 179) \times 10^3$ частиц/мл (табл. 3). Отношение N_V/N_B колебалось от 0.6 до 21.9, при среднем значении 4.3 ± 1.0 . Между N_V и N_B , N_V и P_B , а также между N_V и температурой воды были выявлены положительные корреляции, соответственно, $R = 0.54$, $p = 0.05$, $R = 0.75$, $p = 0.05$ и $R = 0.78$, $p = 0.05$. Высокие отрицательные корреляции обнаружены между N_V и соленостью воды ($R = 0.78$, $p = 0.05$), а также между N_V и мутностью воды ($R = 0.58$, $p = 0.05$).

Средние для столба воды величины N_V , в отличие от бактериопланктона, различались менее существенно (рис. 1). В направлении с юга на север (от ст. 17 до ст. 4 и 26) отношение N_V/N_B возрастало от 1.3 до 3.1–4.5. Более существенно различались величины N_V , средние для слоев воды с разным уровнем солености и температуры (рис. 2).

Диаметр капсида (головки) свободных вирусов (D_V) изменялся от 16 до 367 нм. Минимальная и максимальная величины D_V , рассчитанные в среднем для пробы воды, различались в 1.6 раз, составляя, в среднем, 76 ± 5 нм (табл. 4). Во всех пробах воды в составе вириопланктона преобладали вирусные частицы с диаметром капсида 40–100 нм. В тоже время в слоях воды с высокой соленостью и низкой температурой воды была выше доля вирусов с диаметром капсида <40 нм и, напротив, ниже доля вирусов с диаметром капсида >200 нм (табл. 4).

В исследованных пробах воды количество бактерий с прикрепленными к их клеткам вирусными частицами колебалось от 6×10^3 кл/мл (ст. 4, горизонт 15 м) до 255×10^3 кл/мл (ст. 25, горизонт 5 м), а в среднем $(94 \pm 20) \times 10^3$ кл/мл, что составляло от 8.9% N_B (ст. 4, горизонт 27 м) до 38.9% N_B (ст. 26, горизонт 0 м), в среднем $21.0 \pm 1.6\%$ N_B . На одной бактериальной клетке могло находиться до 13 частиц/кл, составляя в среднем 1.2–2.0 (в среднем 1.5 ± 0.04 частиц/кл). Минимальная и максимальная величины численности вирусов, прикрепленных к клеткам бактерий (N_{VB}), различались в 13 раз, составляя в среднем $(165 \pm 35) \times 10^3$ кл/мл (табл. 3). Значение отношения N_{VB}/N_V изменялось от 1.0% N_V (ст. 4, 15 м) до 51.5% N_V (ст. 4, 5 м), в среднем $14.8 \pm 2.8\%$ N_V . Величины

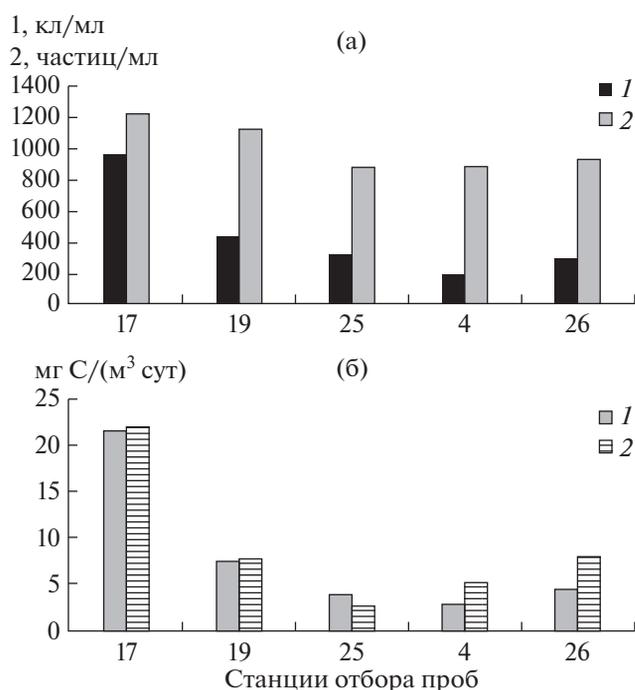


Рис. 1. Распределение средних для столба воды величин численности бактериопланктона (1 — N_B , кл/мл) и численности вириопланктона (2 — N_V , частиц/мл) (а) и биомассы (1 — B_B , мг C/м³) и продукции (2 — P_B , мг C/(м³ сут)) бактериопланктона (б) на исследованных станциях.

N_{VB} и N_{VB}/N_V , средние для столба воды, снижались в направлении с юга на север, соответственно: ст. 17 — 295×10^3 частиц/мл и 26.3%, ст. 19 — 257×10^3 частиц/мл и 13.6%, ст. 25 — 150×10^3 частиц/мл и 16.3%, ст. 4 — 99×10^3 частиц/мл и 6.3%, ст. 26 — 142×10^3 частиц/мл и 12.3%. В тоже время, наиболее высокая средняя величина N_{VB} обнаружена в воде с соленостью 3.75–5.41 psu и температурой +7.3–7.5°C, а средняя величина N_{VB}/N_V — в воде с соленостью 7.46–13.45 psu и температурой +5.3–7.2°C (рис. 2).

Диаметр капсида вирусов, прикрепленных к клеткам бактерий, колебался от 22 до 175 нм (в среднем 62 ± 1 нм). При этом в составе вирус-бактериофагов, атакующих бактерий, доминировали вирусные частицы с диаметром капсида <70 нм — 67% общего количества прикрепленных к бактериям вирусов. Крупные вирусные частицы (диаметр капсида 160–175 нм) были присоединены к палочкам размером 0.5×0.25 мкм.

Количество вирусных частиц (N_{VP}), прикрепленных к частицам взвеси размером от 190 до 6387 нм, изменялось в широких пределах, составляя, в среднем, $(142 \pm 329) \times 10^3$ частиц/мл (табл. 3). Отношение N_{VP} к N_V колебалось от 1.9% до 22.2%, в среднем $14.0 \pm 3.4\%$. На одной частице находилось до 56 вирусов/частицу взвеси, составляя в

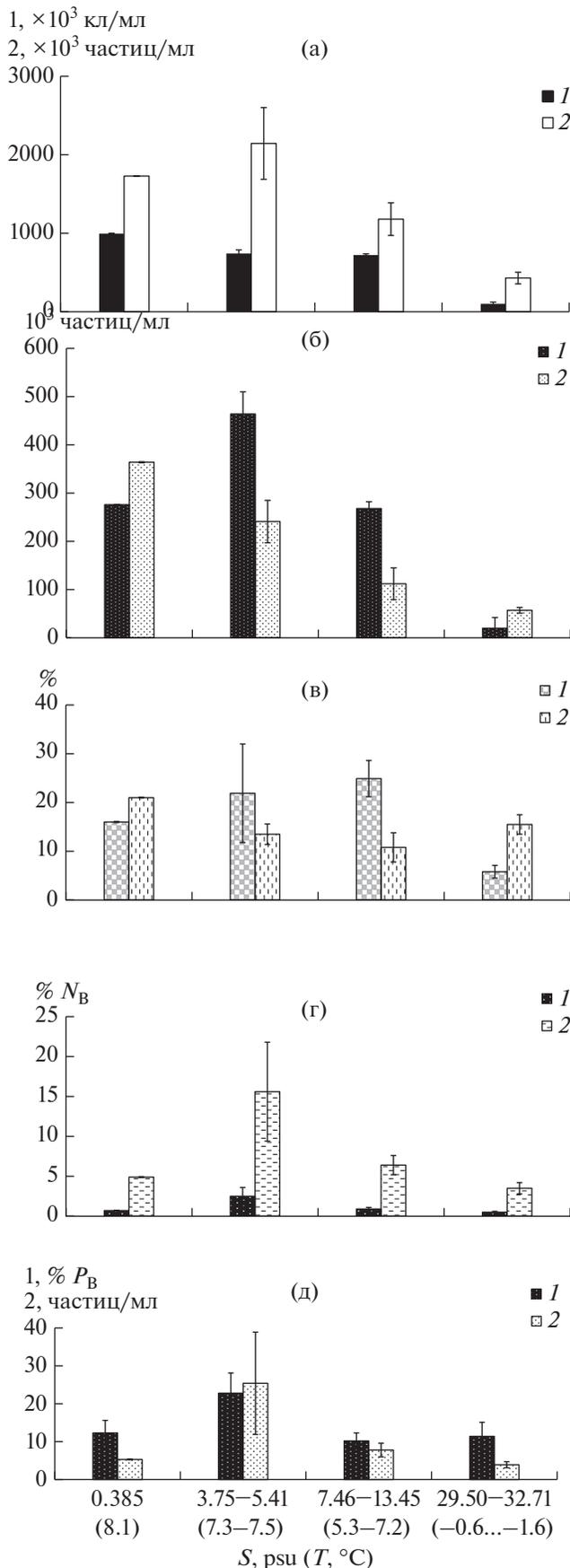


Рис. 2. Величины численности бактерий ($1 - N_B$, 10^3 кл/мл) и численности свободных вирусов ($2 - N_V$, 10^3 частиц/мл) (а), численности вирусов, прикрепленных к клеткам бактерий ($1 - N_{VB}$, 10^3 частиц/мл) и прикрепленных к частицам взвеси ($2 - N_{VP}$, 10^3 частиц/мл) (б), доли N_{VB} в N_V ($1 - N_{VB}/N_V$, %) и N_{VP} в N_V ($2 - N_{VP}/N_V$, %) (в), частота видимых ($1 - FVIC$, % N_B) и всех инфицированных ($2 - FIC$, % N_B) клеток бактерий (г), вирус-индуцированная смертность бактерий ($1 - VMB$, % P_B) и количество вирусов внутри клеток бактерий ($2 - BS$, частиц/кл) (д) в слоях воды с разной соленостью (S , psu) и температурой (T , °C).

среднем для пробы воды 1.5–12.4 (в среднем 3.8 ± 0.6 вирусов/частицу). Величины N_{VP} и N_{VP}/N_V , средние для столба воды, снижались в направлении с юга на север, соответственно: ст. 17 — 232×10^3 частиц/мл и 19.0%, ст. 19 — 147×10^3 частиц/мл и 13.1%, ст. 25 — 124×10^3 частиц/мл и 14.0%, ст. 4 — 83×10^3 частиц/мл и 9.3%, ст. 26 — 34×10^3 частиц/мл и 3.6%. Наиболее высокие средние величины N_{VP} и N_{VP}/N_V обнаружены в наиболее распресненной воде (рис. 2). Диаметр капсида вирусов, прикрепленных к частицам взвеси, находился в пределах 40–200 нм (в среднем 90 нм).

Уровень зараженности бактерий вирусами-бактериофагами как на разных глубинах одной станции, так и между станциями не был одинаковым (табл. 5). Средняя для исследованных проб воды величина частоты видимых инфицированных клеток бактерий (FVIC) составила $1.0 \pm 0.3\%$. Наиболее высокие величины FVIC обнаружены в слоях воды с относительно высокой концентрацией бактерий и высокой температурой воды, а минимальные величины — в придонных слоях воды с низкой концентрацией бактериопланктона и низкой температурой воды при высоких значениях солености (табл. 1, 4). В исследованном районе величина FVIC коррелировала: положительно — с численностью бактерий ($R = 0.34$, $p = 0.05$), с продукцией бактерий ($R = 0.58$, $p = 0.05$), с долей бактерий с прикрепленными вирусами в общей численности бактериопланктона ($R = 0.60$, $p = 0.05$), с численностью вирусов, прикрепленных к клеткам бактерий ($R = 0.68$, $p = 0.05$), с температурой воды ($R = 0.47$, $p = 0.05$); отрицательно — с соленостью воды ($R = -0.46$, $p = 0.05$), с плотностью воды ($R = -0.46$, $p = 0.05$), с мутностью воды ($R = -0.43$, $p = 0.05$). Среди данных, полученных на исследованных станциях, средние для столба воды величины FVIC были более высокими на ст. 25 (1.1% N_B) и ст. 4 (1.5% N_B), чем на других станциях (0.7–0.8% N_B). Средняя для исследованных проб воды величина частоты инфицированных клеток бактерий (FIC) составила $6.7 \pm 1.5\%$ N_B . Закономерности пространственного распределения FIC в исследованном районе аналогичны таковым FVIC (табл. 5).

Таблица 3. Численность свободных вирусов (N_V), численность вирусов, прикрепленных к клеткам бактерий (N_{VB}) и частицам взвеси (N_{VP})

Станция	Горизонт, м	N_V , 10^3 частиц/мл	N_V/N_B , %	N_{VB} , 10^3 частиц/мл	N_{VP} , 10^3 частиц/мл
17	0	1729	1.7	276	364
	11	1273	1.2	380	224
	15	498	1.0	150	87
	18	745	0.6	277	122
19	0	1992	2.5	281	368
	5	1921	3.2	311	186
	12	225	1.0	29	50
	16.5	340	2.2	33	50
25	0	2751	4.5	164	197
	5	915	1.1	471	169
	12	748	10.1	15	121
	23	214	4.4	13	46
4	5	2917	4.0	464	231
	10	432	2.1	47	91
	15	876	21.9	9	38
	20	253	8.7	9	49
	27	292	3.9	8	42
26	0	1447	3.1	326	28
	12	1198	2.8	166	28
	20	321	3.3	22	47
	27	597	9.0	14	36

Таблица 4. Диаметр капсида вирусов (D) и доли разных размерных групп вирусных частиц в общей численности свободных вирусов в слоях воды с разной соленостью (S) и температурой (T)

S , psu	T , °C	D , нм	Доли, %					
			<40	40–60	60–100	100–150	150–200	>200
0.385	8.1	71 ± 4	3.4	50.0	32.8	10.3	1.7	1.7
3.746–5.410	7.3–7.5	90 ± 4	2.7 ± 0.9	20.1 ± 3.4	44.2 ± 5.2	23.7 ± 2.2	7.1 ± 2.4	2.2 ± 1.0
7.456–13.449	5.3–7.2	79 ± 5	7.5 ± 1.2	31.4 ± 2.9	40.4 ± 2.9	14.4 ± 2.9	4.1 ± 1.4	2.2 ± 1.3
29.500–32.706	–0.577–(–1.553)	77 ± 4	7.3 ± 2.3	30.9 ± 3.5	41.6 ± 2.9	15.6 ± 2.4	3.9 ± 1.2	0.7 ± 0.4

Средние величины FVIC и FIC в слоях воды с соленостью 3.75–5.41 psu и температурой +7.3–7.5°C превышали таковые в других слоях воды в 2.8–5.0 раз (рис. 2).

Среди инфицированных клеток бактерий клетки разной морфологии были представлены неодинаково. Общее число зараженных вирусами клеток относилось к палочкам (53.8 ± 5.8%), коккам (27.9 ± 5.4%), вибрионам (16.5 ± 3.8%) и 1.8 ± 0.7% к нитевидным бактериям.

Количество фагов в инфицированных бактериальных клетках (BS) в среднем на пробу воды существенно различалось на разных станциях и глубинах, составляя в среднем 13.3 ± 2.3 частиц/кл (табл. 5). В исследованных районах максимальная и средняя для всех инфицированных бактерий величины BS составили, соответственно, на ст. 17 — 25 и 8.9 ± 1.8 частиц/кл, на ст. 19 — 131 и 17.0 ± 7.9 частиц/кл, на ст. 25 — 41 и 11.0 ± 3.5, на

ст. 4 — 101 и 19.0 ± 6.5 частиц/кл, ст. 26 — 14 и 9.1 ± 0.8 частиц/кл. Число фагов в клетках бактерий, обитающих в слоях воды с соленостью 3.75–5.41 psu и температурой +7.3–7.5°C, было в 2 раза выше величин BS в других водах (рис. 2).

Диаметр капсида вирусов внутри клеток бактерий колебался от 18 до 81 нм (в среднем 35 ± 1 нм). При этом в составе внутриклеточных вирусобактериофагов фаги с диаметром капсида менее 70 нм составляли 94% от их общего количества.

Вирус-индуцированная смертность бактериопланктона (VMB) также значительно колебалась: минимальная и максимальная величины различались в 29 раз и в среднем для всех проб воды определялись величиной 9.0 ± 3.0% от P_B (табл. 5). Гибель бактерий в результате вирусного лизиса, в среднем для столба воды, была более высокой на ст. 25 и ст. 4 (9.4% и 15.5% от P_B), чем на остальных станциях (5.0–6.2% от P_B). Средние величины

Таблица 5. Частота видимых инфицированных клеток бактерий (FVIC), частота инфицированных клеток бактерий (FIC), вирус-индуцированная смертность бактерий (VMB), количество вирусов внутри клеток бактерий (BS)

Станция	Горизонт, м	FVIC, % N_B	FIC, % N_B	VMB, % P_B	BS, фагов/клетку
17	0	0.7	4.9	5.3	12.3 ± 3.3
	11	0.7	4.9	5.3	5.0 ± 0.3
	15	0.5	3.5	3.7	6.5 ± 1.1
	18	0.7	4.9	5.3	11.7 ± 5.1
19	0	1.2	8.2	9.5	38.4 ± 16.6
	5	1.3	8.9	10.4	19.4 ± 8.1
	12	0.3	2.1	2.2	5
	16.5	0.3	2.1	2.2	5
25	0	0.7	4.9	5.3	14.3 ± 3.6
	5	2.5	16.4	22.3	19.3 ± 2.1
	12	0.7	4.9	5.3	4.7 ± 0.2
	23	0.5	3.5	3.7	5.5 ± 0.4
04	5	5.6	32.7	64.4	19.2 ± 4.01
	10	1.3	8.9	10.4	18.0 ± 9.0
	15	0.4	2.8	3.0	7.0 ± 0.9
	20	0.5	3.5	3.7	43.0 ± 20.0
	27	0.3	2.1	2.2	8
26	0	1.7	11.4	14.2	7.6 ± 1.2
	12	0.7	4.9	5.3	11.3 ± 1.0
	20	0.3	2.1	2.2	9
	27	0.5	3.5	3.7	8.5 ± 3.2

VMB в слоях воды с разной соленостью и температурой существенно различались, достигая наибольшей величины в воде с соленостью 3.75–5.41 psu и температурой +7.3–7.5°C (рис. 2).

В итоге, вирусы-бактериофаги в сутки лизировали от 1×10^3 ч/мл или 0.01 мг С/м³ (ст. 4, горизонт 15 м) до 898×10^3 ч/мл или 13.07 мг С/м³ (ст. 4, горизонт 5 м), в среднем $73 \pm 44 \times 10^3$ ч/мл или 1.12 ± 0.64 мг С/м³. Основное количество бактерий, подвергшихся вирусному лизису, было сосредоточено в слоях воды с соленостью 3.75–5.41 psu и температурой +7.3–7.5 °C (табл. 6).

В свою очередь суточная продукция вирусов изменялась от 6×10^3 частиц/мл (ст. 4, горизонт 15 м) до 17248×10^3 частиц/мл (ст. 4, горизонт 5 м), в среднем $(1256 \pm 850) \times 10^3$ частиц/мл. Между продукцией бактерий и продукцией вирусов существовала положительная корреляция: $R = 0.55$, $p = 0.05$. Время оборота численности вирусов варьировало в более узких пределах, чем их продукция от 0.2 до 146 сут, в среднем 12.7 ± 7.1 сут.

Наиболее высокий прирост численности свободных вирусов происходил в слоях воды с соленостью 3.75–5.41 psu и температурой +7.3–7.5°C (табл. 6). В этой же воде обнаружены самые низкие величины времени оборота численности вирусов (табл. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Численность вириопланктона в зоне смешения пресных вод р. Обь и соленых вод Карского моря ($(1033 \pm 179) \times 10^3$ частиц/мл) оказалась ниже N_V на мелководье (глубина около 1 м) у островов и побережья Карского моря ($(11112 \pm 2334) \times 10^3$ частиц/мл), соизмерима с N_V в эстуарной зоне р. Енисей ($(975 \pm 422) \times 10^3$ частиц/мл) и выше N_V в глубоководных районах Карского моря ($(421 \pm 50) \times 10^3$ частиц/мл) [2, 3].

В исследованном районе пространственное распределение вириопланктона позитивно зависело от распределения численности бактериопланктона и температуры воды, но негативно — от значений солености воды. Сходные результаты были получены в эстуарии р. Шаранты (Charente, Франция), где численность вириопланктона также положительно коррелировала с численностью и продукцией бактериопланктона, температурой воды, но отрицательно коррелировала с соленостью воды [11]. Однако, в отличие от этого исследования, где с увеличением солености воды от 0.2 до 32.7 psu величина отношения численность вирусов/численность бактерий снижалась от 14.3 до 11.6, в нашей работе, напротив, с увеличением солености воды от 0.385 до 29.50–32.71 psu отношение N_V/N_B возрастало от 1.7 до 6.6 ± 2.0 .

Проведенное исследование показало, что наиболее высокие концентрации планктонных виру-

Таблица 6. Количество бактерий, лизированных вирусами за сутки (VIM), продукция вирусов (P_V), время оборота численности вириопланктона (t_V) в слоях воды с разной соленостью (S) и температурой (T)

Параметры		$S, \text{psu} (T, ^\circ\text{C})$			
		0.385 (8.1)	3.75–5.41 (7.3–7.5)	7.46–13.45 (5.3–7.2)	29.50–32.71 (–0.6)–(–1.6)
VIM	10^3 ч/мл	56	$\frac{27-898}{258 \pm 21}$	$\frac{23-114}{61 \pm 15}$	$\frac{1-22}{7 \pm 2}$
	мг C/M^3	1.30	$\frac{0.36-13.07}{3.71 \pm 3.1}$	$\frac{0.47-1.60}{1.11 \pm 0.22}$	$\frac{0.01-0.27}{0.08 \pm 0.02}$
$P_V, 10^3$ частиц/(мл сут)		694	$\frac{439-17248}{5164 \pm 405}$	$\frac{150-1178}{599 \pm 187}$	$\frac{6-403}{78 \pm 37}$
t_V сут		2.5	$\frac{0.2-4.1}{1.7 \pm 0.8}$	$\frac{1.6-3.9}{2.6 \pm 0.4}$	$\frac{1.1-146}{8.6 \pm 2.2}$

сов были приурочены к слоям воды с соленостью 3.75–5.41 psu. Детальные исследования распределения фитопланктона в Обском эстуарии показали, что область наиболее высоких концентраций фитопланктона совпадала с участком фронтальной зоны, где соленость поверхностного надпикноклинного слоя водной толщи менялась в пределах от 2.5 до 7 psu. С увеличением солености до 9.5 psu происходило резкое — на порядок — снижение обилия фитопланктона — от $2.2-2.5 \times 10^6$ кл/л до $0.2-0.4 \times 10^6$ кл/л [8].

В зоне смешения вод р. Обь и Карского моря диаметр капсида свободных вирусов (D_V) изменялся от 16 до 367 нм. В эстуарии р. Шаранты диаметр капсида планктонных вирусов колебался от 20 до 523 нм, но в вириопланктоне, как правило, преобладали вирусные частицы с размером капсида <65 нм (в среднем $71 \pm 5\%$ от общей численности вириопланктона) и только в нескольких случаях большая часть вириопланктона (52–58%) была представлена вирусными частицами с диаметром капсида >65 нм. В группе мелких вирусов доминировали (47–50%) вирусные частицы с размером капсида 45–64 нм [12].

В эстуарии р. Янцзы (Yangtze) планктонные вирусы в основном являлись бактериофагами, и только 5.4% общего количества вириопланктона было представлено вирусами водорослей [16]. В нашем исследовании, принимая во внимание, что максимальный размер вирусов, атакующих гетеротрофных бактерий, был равен 175 нм, вирусы-бактериофаги могли составлять в разных слоях воды 90.7–96.6% общей численности вириопланктона.

С использованием электронной микроскопии установлено, что, кроме свободных вирусов, в толще воды исследованного района присутствует значительное количество вирусных частиц, прикрепленных к клеткам бактерий и к частицам,

суммарная численность которых составляла $(47-695) \times 10^3$ (в среднем $(289 \pm 53) \times 10^3$) частиц/мл или 5.4–69.9 (в среднем 29.0 ± 3.4) % численности свободных вирусов.

Численность вириопланктона в природных водах зависит как от продукции вирусов, так и от их распада (decay) или удаления из столба воды [14, 19, 21]. Полученные результаты свидетельствуют, что, по-видимому, существенное количество планктонных вирусов может быть удалено из водной толщи исследованного района при потреблении гетеротрофными нанофлагеллятами бактерий с прикрепленными к их клеткам вирусами и в процессе оседания крупных взвешенных частиц с прикрепленными вирусами.

В Обском эстуарии средняя величина частоты видимых инфицированных клеток бактерий (FVIC) ($1.0 \pm 0.3\%$) оказалась ниже FVIC в прибрежных водах у островов и побережья Карского моря ($1.6 \pm 0.2\% N_B$), но выше величин FVIC в эстуарной зоне р. Енисей ($0.6 \pm 0.1\% N_B$) и в глубоководных районах Карского моря ($0.5 \pm 0.1\% N_B$). В то же время максимальная величина FVIC в исследованном районе (5.6% от N_B) была наиболее высокой среди таковых, обнаруженных в других участках Карского моря ($1.2-4.3\%$ от N_B) [2, 3].

В разных районах и местообитаниях Арктики вирус-индуцированная смертность бактериопланктона (VMB), определенная с использованием трансмиссионной электронной микроскопии, значительно варьирует: от $<1\% P_B$ (Центральная Арктика) до $44.8\% P_B$ (прибрежные воды Карского моря) [1, 2, 18, 26, 27]. В нашей работе величина VMB изменялась в диапазоне $2.2-64.4\% P_B$.

В зоне смешения вод р. Обь и Карского моря самые низкие значения FVIC и VMB обнаружены в морской воде с отрицательной температурой воды, высокой соленостью (29.50–32.71 psu) и плот-

ностью, низкой численностью и продукцией бактерий и, по-видимому, как следствие, — очень низкой частотой контактов между вирусами и бактериями.

Наиболее высокая зараженность бактерий вирусами и гибель бактерий в результате вирусного лизиса отмечены в распресненных слоях воды с соленостью 3.75–5.41 psu. В этой же воде максимальные величины достигали продукция вирусов (P_V) и число бактериофагов BS. На горизонтах с меньшей (0.385 psu) или большей (7.46–13.45 psu) соленостью воды значения FVIC, VMB, P_V , BS были ниже.

Время оборота численности свободных вирусов (t_V), среднее для области смешения речных и морских вод, (12.7 ± 7.1 сут) превышало таковое в поверхностных водах (0–25 м) глубоководной части Карского моря (32.8 ± 13.0 сут) [3]. При этом минимальные значения t_V присутствовали в слоях воды с соленостью 3.75–5.41 psu.

После вирусного лизиса клеток бактерий и выхода во внешнюю среду зрелых вирусов-бактериофагов в воду также поступает некоторое количество органического вещества лизированных бактерий (VIM- P_V), которое может повторно использоваться активными бактериями. Допуская, что отношение продукции бактерий к их рациону в водах Карского моря в среднем равно 0.27 [17], мы рассчитали, что суточная потребность бактериопланктона в органическом веществе (C_B) на разных глубинах исследуемого района колебалась в пределах 1.5–107.9 (в среднем 30.6 ± 7.0) мг С/м³ сут, а величина VIM- P_V варьировала в пределах 0.01–12.21 (в среднем 1.06 ± 0.60) мг С/м³ сут. В итоге отношение C_B /VIM- P_V колебалось от 0.4% в придонной морской воде до 16.2% в подповерхностной солоноватой воде, составляя в среднем $3.4 \pm 0.8\%$. Таким образом, органическое вещество, поступающее в водную среду в результате вирусного лизиса бактерий, могло быть существенным дополнительным источником питания для бактериопланктона лишь в слоях воды с соленостью 3.75–5.41 psu.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как мы видели, область взаимодействия вод р. Обь и Карского моря характеризуется очень неравномерным пространственным распределением структурно-функциональных параметров вириопланктона. Максимальное количество вирусов, обнаруженное в поверхностном, распресненном слое воды, было на порядок выше минимальных значений, встречающихся в придонных горизонтах. В период исследований численность вириопланктона положительно коррелировала с численностью и продукцией бактериопланктона, температурой воды и отрицательно коррелировала с соленостью и плотностью воды. Кроме сво-

бодных вирусных частиц значительное количество вирусов было прикреплено к клеткам бактерий и частицам взвеси. В толще воды исследованного района Обского эстуария зараженность бактерий, вирус-индуцированная смертность бактериопланктона и продукция вирусов достигали максимальных величин, рекордных для Карского моря, в слоях воды с температурой — $+7.3$ – 7.5 °С и соленостью 3.75–5.41 psu.

В целом, в исследованный период вирусы-бактериофаги играли существенную роль в контроле над численностью и продукцией гетеротрофного бактериопланктона.

Экспедиционные исследования и сбор материала выполнены при финансовой поддержке РФФ (проект № 14-50-00095). Полевые эксперименты по оценке бактериальной продукции выполнены при поддержке РФФ (проект № 14-17-00681). Обработка материала выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 14-04-00130а и № 14-05-00028а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Венгер М.П., Копылов А.И., Заботкина Е.А., Макаревич П.Р. Влияние вирусов на бактериопланктон открытой и прибрежной части Баренцева моря // Биол. моря. 2016. Т. 42. № 1. С. 19–26.
2. Копылов А.И., Косолапов Д.Б., Заботкина Е.А. и др. Планктонные вирусы, гетеротрофные бактерии и нанофлагелляты в пресных и морских прибрежных водах бассейна Карского моря (Арктика) // Биология внутр. вод. 2012. № 3. С. 15–24.
3. Копылов А.И., Сажин А.Ф., Заботкина Е.А., Романова Н.Д. Вириопланктон Карского моря: влияние вирусов на смертность гетеротрофных бактерий // Океанология. 2015. Т. 55. № 4. С. 620–631.
4. Лисицын А.П. Маргинальный фильтр океанов // Океанология. 1994. Т. 34. № 5. С. 737–747.
5. Маккавеев П.Н. Отчет по морским экспедиционным работам НИС “Профессор Штокман”. Основные научные результаты. М.: ИО РАН, 2013. 38 с.
6. Романова Н.Д., Сажин А.Ф. Взаимосвязь между объемом бактериальных клеток и содержанием в них углерода // Океанология. 2010. Т. 50. № 4. С. 556–565.
7. Сажин А.Ф., Романова Н.Д., Мошаров С.А. Бактериальная и первичная продукция в водах Карского моря // Океанология. 2010. Т. 50. № 5. С. 801–808.
8. Суханова И.Н. Отчет по морским экспедиционным работам НИС “Профессор Штокман”. Основные научные результаты. М.: ИО РАН, 2013. 38 с.
9. Флинт М.В., Семенова Т.Н., Арашкевич Е.Г. и др. Структура зоопланктонных сообществ в области эстуарной фронтальной зоны реки Обь // Океанология. 2010. Т. 50. № 5. С. 809–822.
10. Шука С.А. Отчет по морским экспедиционным работам НИС “Профессор Штокман”. Основные научные результаты. М.: ИО РАН, 2013. 38 с.
11. Auguet J.C., Montanie H., Delmas D. et al. Dynamic viroplankton abundance and its environmental control in the Charente estuary (France) // Microb. Ecology. 2005. V. 50. P. 337–349.

12. *Auguet J.C., Montanie H., Lebaron P.* Structure of viroplankton in the Charente estuary (France): transmission electron microscopy versus pulsed field gel electrophoresis // *Microb. Ecology*. 2006. V. 51. P. 197–208.
13. *Binder B.* Reconsidering the relationship between virally induced bacterial mortality and frequency of infected cells // *Aquat. Ecol.* 1999. V. 18. P. 207–215.
14. *Bratbak G., Thingstad F., Heldal M.* Viruses and the microbial loop // *Microb. Ecol.* 1994. T. 28. P. 209–221.
15. *Gordeev V.V., Martin J.M., Sidirov M.V. et al.* A reassessment of the Eurasian river input of water, sediment, major elements, and nutrients to the Arctic Ocean // *Amer. J. Sci.* 1996. V. 296. P. 664–691.
16. *Jiao N., Zhao Y., Luo T., Wang X.* Natural and anthropogenic forcing on the dynamics of viroplankton in the Yangtze river estuary // *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 2006. V. 86. 543–550.
17. *Meon B., Amon R.M.W.* Heterotrophic bacterial activity and fluxes of dissolved free amino acids and glucose in the arctic rivers Ob, Yenisei and the adjacent Kara Sea // *Aquat. Microb. Ecol.* 2004. V. 37. P. 121–135.
18. *Middelbore M., Nielsen T.G., Biorsen P.K.* Viral and bacterial production in the north water in situ measurements batch-culture experiments and characterization of a viral-host system // *Deep-Sea Res.* 2002. V. 49. P. 5063–5079.
19. *Noble R.T., Fuhrman J.A.* Breakdown and microbial uptake of marine viruses and other lysis products // *Aquat. Microb. Ecol.* 1999. V. 20. P. 1–11.
20. *Noble R.T., Fuhrman J.A.* Use of SYBR Green for rapid epifluorescence count of marine viruses and bacteria // *Aquat. Microb. Ecol.* 1998. V. 14. P. 113–118.
21. *Noble R.T., Fuhrman J.A.* Viral decay and its causes in coastal waters // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. T. 63. № 1. P. 77–83.
22. *Pan L.A., Zhang J., Zhang L.H.* Picophytoplankton, nanophytoplankton, heterotrophic bacteria and viruses in the Changjiang estuary and adjacent coastal waters // *J. Plankt. Res.* 2007. V. 29. № 2. P. 187–197.
23. *Porter K.G., Feig Y.S.* The use DAPI for identifying and counting of aquatic microflora // *Limnol. Oceanogr.* 1980. V. 25. № 5. P. 943–948.
24. *Sherr B.F., Sherr E.B., Andrew T.L. et al.* Trophic interactions between heterotrophic protozoa and bacterioplankton in estuarine water analyzed with selective metabolic inhibitors // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1986. V. 32. P. 169–179.
25. *Stein R.* Circum arctic river discharge and its geological record // *Int. J. Earth Science*. 2000. V. 89. P. 447–449.
26. *Steward G.F., Fandino L.B., Hollibaugh J.T. et al.* Microbial biomass and viral infections of heterotrophic prokaryotes in the sub-surface layer of the Central Arctic Ocean // *Deep-Sea Res.* 2007. V. 54. P. 1744–1757.
27. *Steward G.F., Smith D.C., Azam F.* Abundance and production of bacteria and viruses in the Bering and Chukchi Seas // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1996. V. 131. P. 287–300.
28. *Volkov V.A., Johannessen O.M., Borodachev V.E. et al.* Polar seas oceanography: an integrated study of the Kara Sea. Berlin: Springer, 2002. 450 p.
29. *Weinbauer M.G.* Ecology of prokaryotic viruses // *FEMS Microbiol. Rev.* 2004. V. 28. № 2. P. 127–181.
30. *Weisse T.* The microbial loop in the Red Sea: dynamics of pelagic bacteria and heterotrophic nanoflagellates // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1989. V. 55. P. 241–250.
31. *Wells L.E., Deming J.W.* Significance of bacterivory and viral lysis in bottom waters of Franklin Bay, Canadian Arctic, during winter // *Aquat. Microb. Ecol.* 2006. V. 43. P. 209–221.
32. *Wommack K.E., Colvell R.R.* Viruses in aquatic ecosystems // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000. V. 64. P. 69–114.

The Virio- and Bacterioplankton in the Estuarine of River Ob and Adjoining Areas of Kara Sea Shelf

A. I. Kopylov, A. F. Sazhin, E. A. Zobotkina, A. V. Romanenko, N. D. Romanova

In September of 2013 the distribution of structural and functional characteristics viroplankton in the northern part of the Ob estuary and adjoining shelf of the Kara Sea between 71°44'44" and 73°45'24" N were investigated taking into account spatial changes in the number (N_B) and the products (P_B) of bacteria as well as the properties of the aquatic environment (temperature, salinity, density). In the studied area the number of planktonic virus (N_V), the frequency of visible bacteria infected cells, the virus-induced mortality of bacteria and products viroplankton ranged, respectively, $(214-2917) \times 10^3$ particles/mL, 0.3–5.6% N_B , 2.2–64.4% P_B and $(6-17248) \times 10^3$ particles/(mL day). The highest values of these parameters were found in the layers of water with a temperature of +7.3–7.5°C, salinity 3.75–5.41 psu, and the conditional density σ_t 2.846–4.144. The number of bacterioplankton was $(614-822) \times 10^3$ cells/mL, the ratio N_V/N_B — 1.1–4.5. A large number of virus particles was attached to the bacterial cells and suspended particles. The results suggest an important role of viruses in controlling numbers and heterotrophic bacterial production in the zone of interaction of river and sea water.