

# Dynamic changes in the microbiota of the middle Volga: a three-year study

Short communication  
LIMNOLOGY  
FRESHWATER  
BIOLOGY

Khusnutdinova D.R.\*, Senina A.M., Aetdinova S.E., Markelova M.I., Siniagina M.N., Boulygina E.A., Khaliullina L.J., Khaliullin I.I., Grigoryeva T.V.

Kazan Federal University, Kremlevskaya Str., 18, Kazan, 420008, Russia

**ABSTRACT.** The Volga River is one of the largest rivers in Russia, which plays an important role in the life of many plants, animals and humans. Annual research of the river microbiota is an integral part of the work to preserve the river ecosystem and ensure its sustainable development. The work analysed the composition of the microbiota using high-throughput sequencing methods, as well as physicochemical indicators over a three-year period from 2017 to 2019. A stable microbiota community and changes in chemical oxygen consumption and microbial diversity of the Volga River community were revealed.

**Keywords:** microbiota, river, Volga, high-throughput sequencing of 16S rRNA genes

**For citation:** Khusnutdinova D.R., Senina A.M., Aetdinova S.E., Markelova M.I., Siniagina M.N., Boulygina E.A., Khaliullina L.J., Khaliullin I.I., Grigoryeva T.V. Dynamic changes in the microbiota of the middle Volga: a three-year study // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - P. 949-954. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-949

## 1. Introduction

The Volga River is one of the largest rivers in Russia. The discharge of waste and chemical compounds into the river is one of the largest sources of environmental pollution due to inadequate treatment of domestic and industrial wastewater (Kora et al., 2017). River pollution can affect various economic sectors such as agriculture, livestock, industrial production and recreational activities (Paul, 2017). The microbial community of aquatic ecosystems is extremely important for the maintenance and sustainability of these environments. The microbiota of the Volga River is a unique ecosystem where microorganisms perform a number of important functions. They are involved in the processes of decomposition of organic matter, water purification and providing optimal living conditions for fish, plants and other organisms. In addition, the composition of the microbiota can be an indicator of the quality of the aquatic environment and the level of pollution of the river with various substances. Aim of the study: to characterise changes in the microbial community of the Volga River during the three-year period from 2017 to 2019.

## 2. Materials and methods

For three years, water samples were taken in the area of the Kuibyshev reservoir from the mouth of the

Volga River, water samples were taken from the surface into sterile test tubes (Table). 50 ml of water samples were centrifuged at 8000 rpm for 15 min to obtain a cell pellet. DNA was then isolated from the resulting sediment using the DNA-Express kit (NPF Lytech, Russia) according to the manufacturer's recommendations. Amplicon libraries were prepared using the "Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System" protocol. Amplification of the V3-V4 region of 16S rRNA was carried out using prokaryotic primers: forward-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGG-CWGCAG; reverse-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGG-GTATCTAATCC, followed by amplicon indexing. Sequencing of 16S rRNA amplicons was carried out on the MiSeq platform (Illumina, USA). Bioinformatic data processing was performed using the Qiime 1.9 program.

**Table.** Sample collection dates

2017	2018	2019
B-15 - 4 september	B-11 - 3 september	B-11 - 2 september
B-16 - 11 september	B-12 - 10 september	B-12 - 9 september
B-17 - 18 september	B-13 - 17 september	B-13 - 16 september
B-18 - 25 september	B-14 - 24 september	B-14 - 22 september

\*Corresponding author.

E-mail address: [dilyahusn@gmail.com](mailto:dilyahusn@gmail.com) (D.R. Khusnutdinova)

**Received:** June 01, 2024; **Accepted:** June 14, 2024;

**Available online:** August 30, 2024

© Author(s) 2024. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



### 3. Results and discussion

Temperature changes are known to be a prerequisite for influencing the composition of microbial communities (Glasl et al., 2018). According to the analysis of physicochemical parameters of the Volga River, the highest average water temperature was recorded in 2018 ( $18,2 \pm 0,8^\circ\text{C}$ ). In 2017 and 2019, the water temperature was  $2^\circ\text{C}$  lower ( $16,6 \pm 1,1^\circ\text{C}$  и  $16,2 \pm 0,7^\circ\text{C}$ , respectively). In addition to environmental factors, the composition of the microbiota is influenced by anthropogenic factors. One of the parameters used to assess the anthropogenic load and the level of river pollution is the level of chemical oxygen demand (COD) (Cai et al., 2022). COD is an indicator of the organic matter content of water. In 2017 and 2018, COD levels were above the maximum allowable concentration ( $30 \text{ mgO/dm}^3$ ) in all selected water samples. The highest COD levels of the Volga River were recorded in 2017 ( $47,7 \pm 1,6 \text{ mgO/dm}^3$ ), which is more than double the figure for 2019 ( $20,2 \pm 2,2 \text{ mgO/dm}^3$ ).

Metagenomic sequencing identified between 657 and 1081 operational taxonomic units (OTU). The highest number of OTU was found in water samples from 2018 ( $1001 \pm 40$ ,  $p=0,02$ ), compared to 2017 ( $782 \pm 58$ ) and 2018 ( $809 \pm 67$ ) (Fig.1). The most diverse microbial community was in 2018 - Shannon index  $7,14 (\pm 0,05)$ ; least diverse in 2017 -  $6,82 (\pm 0,35)$ ; in 2019 -  $6,88 (\pm 0,14)$ .

Volga River water samples were clustered according to the year of sampling (Fig. 2). The stable microbial community of the river for all three years included 46 OTUs, representing between 59,4% and 86,6% of the total community share at different times.

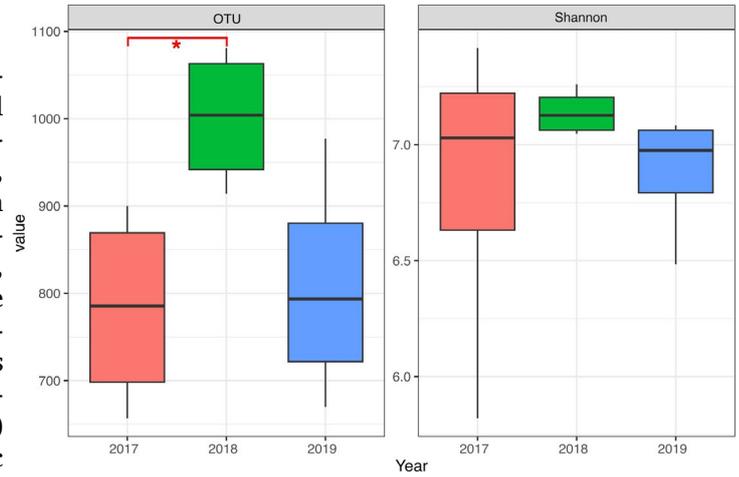


Fig.1. Diversity of the microbial community of the Volga River in 2017-2019 (\*- $p < 0,05$ ).

### 4. Conclusions

Between 2017 and 2019, there was a decrease in organic pollution in the Volga River, but this was not associated with an increase in the microbial diversity of the community. Thus, the diversity of the microbiota of the Volga River is more influenced by temperature and, probably, by other types of pollutants.

### Acknowledgements

The work was carried out within the framework of the Strategic Academic Leadership Program of the Kazan Federal University (PRIORITY-2030).

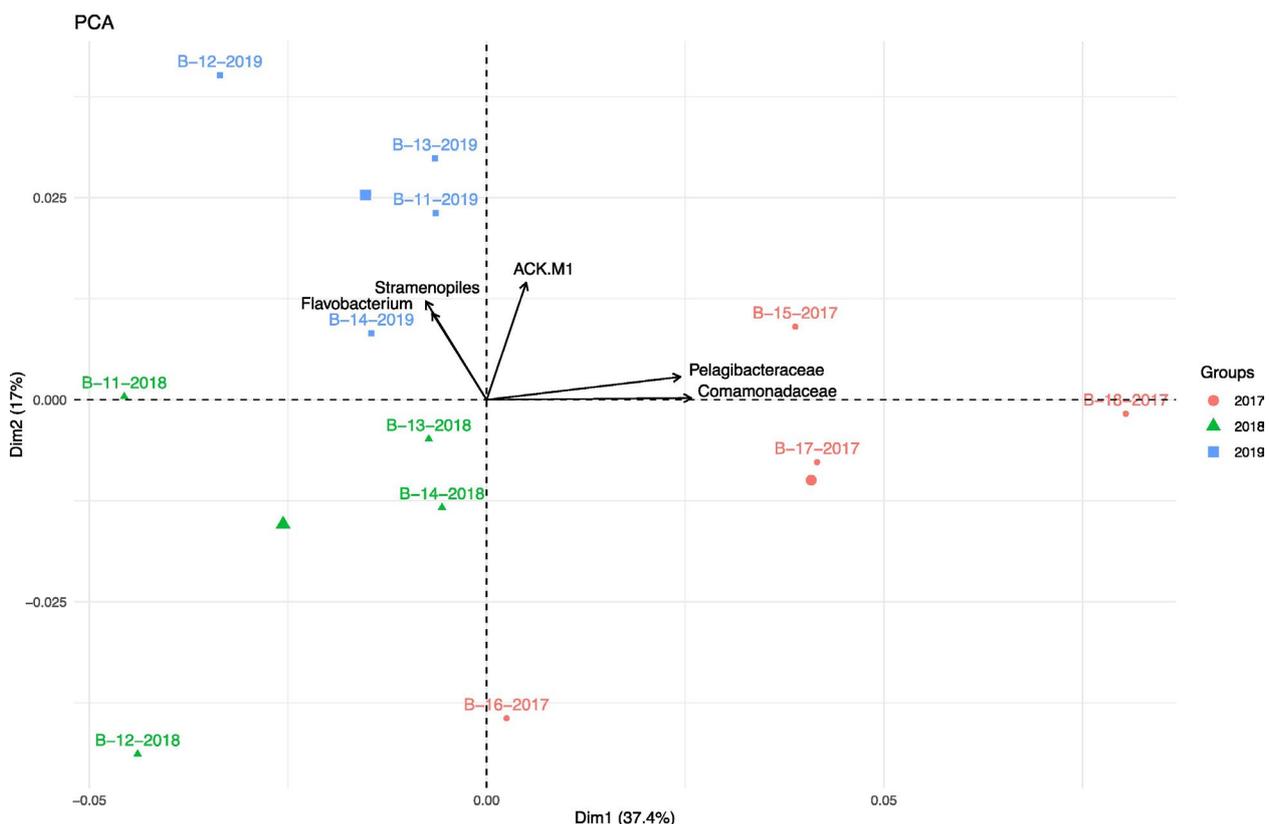


Fig.2. Clustering of samples using principal component analysis.

## **Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest.

## **References**

Cai J., Meng L., Liu H. et al. 2022. Estimating chemical oxygen demand in estuarine urban rivers using unmanned aerial vehicle hyperspectral images. *Ecological Indicators* 139: 108936. DOI: [10.1016/j.ecolind.2022.108936](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.108936)

Glasl B., Smith C.E., Bourne D.G. et al. 2018. Exploring the diversity-stability paradigm using sponge microbial communities. *Scientific Reports* 8(1): 8425–8429. DOI: [10.1038/s41598-018-26641-9](https://doi.org/10.1038/s41598-018-26641-9)

Kora A., Rastogi L., Kumar S. et al. 2017. Physico-chemical and bacteriological screening of Hussain Sagar lake: An urban wetland. *Water Science* 31: 24–33. DOI: [10.1016/j.wsj.2017.03.003](https://doi.org/10.1016/j.wsj.2017.03.003)

Paul D. 2017. Research on heavy metal pollution of river Ganga: A review. *Annals of Agrarian Science* 15: 278–286. DOI: [10.1016/j.aasci.2017.04.001](https://doi.org/10.1016/j.aasci.2017.04.001)

# Динамические изменения микробиоты средней Волги: трехлетнее исследование

Краткое сообщение

LIMNOLOGY  
FRESHWATER  
BIOLOGY

Хуснутдинова Д.Р.\*, Сенина А.М., Аетдинова С.Э., Маркелова М.Н.,  
Синягина М.Н., Булыгина Е.А., Халиуллина Л.Ю.,  
Халиуллин И.И., Григорьева Т.В.

Казанский федеральный университет, ул. Кремлёвская, 18, Казань, 420008, Россия

**АННОТАЦИЯ.** Река Волга одна из крупнейших рек в России, которая играет важную роль в жизни многих растений, животных и человека. Ежегодное исследование микробиоты реки является неотъемлемой частью работы по сохранению экосистемы реки и обеспечению ее устойчивого развития. В работе проанализирован состав микробиоты с использованием методов высокопроизводительного секвенирования, а также физико-химические показатели за трёхлетний период с 2017 по 2019 год. Выявлено стабильное сообщество микробиоты и изменения в показателях химического потребления кислорода и микробном разнообразии сообщества реки Волга.

**Ключевые слова:** микробиота, река Волга, высокопроизводительное секвенирование генов 16S рНК

Для цитирования: Хуснутдинова Д.Р., Сенина А.М., Аетдинова С.Э., Маркелова М.Н., Синягина М.Н., Булыгина Е.А., Халиуллина Л.Ю., Халиуллин И.И., Григорьева Т.В. Динамические изменения микробиоты средней Волги: трехлетнее исследование // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - С. 949-954. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-949

## 1. Введение

Река Волга является одной из крупнейших рек в России. Сброс отходов и химических соединений в реки является одним из основных источников загрязнения окружающей среды, из-за ненадлежащей очистки бытовых и промышленных сточных вод (Koga et al., 2017). Загрязнение рек способно затронуть различные экономические секторы, такие как сельское хозяйство, животноводство, промышленное производство и рекреационная деятельность (Paul, 2017). Микробное сообщество водных экосистем чрезвычайно важно для поддержания и устойчивости этих сред. Микробиота реки Волга представляет собой уникальную экосистему, где микроорганизмы выполняют ряд важных функций. Они участвуют в процессах декомпозиции органических веществ, очистки воды, обеспечивая оптимальные условия обитания для рыб, растений и других организмов. Кроме того, состав микробиоты может быть индикатором качества водной среды и уровня загрязнения реки различными веществами. Цель работы: охарактеризовать изменения микробного сообщества реки Волга в трехлетний период с 2017 по 2019 года.

## 2. Материалы и методы

Отбор проб воды проводился в течение трёх лет на территории Куйбышевского водохранилища из устья р. Волги с поверхности воды в стерильные пробирки (Таблица). Образцы воды объемом 50 мл центрифугировали 15 минут при 8000 об/мин для получения клеточного осадка. Затем из полученного осадка проводили выделение ДНК с использованием набора «ДНК-Экспресс» (НПФ «Литех», Россия), согласно рекомендациям производителя. Подготовку метагеномных библиотек осуществляли согласно протоколу «Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System».

Таблица. Даты отбора образцов

2017	2018	2019
В-15 - 4 сентября	В-11 - 3 сентября	В-11 - 2 сентября
В-16 - 11 сентября	В-12 - 10 сентября	В-12 - 9 сентября
В-17 - 18 сентября	В-13 - 17 сентября	В-13 - 16 сентября
В-18 - 25 сентября	В-14 - 24 сентября	В-14 - 22 сентября

\*Автор для переписки.

Адрес e-mail: [dilyahusn@gmail.com](mailto:dilyahusn@gmail.com) (D.R. Khusnutdinova)

Поступила: 01 июня 2024; Принята: 14 июня 2024;

Опубликована online: 30 августа 2024

© Автор(ы) 2024. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



Аmplификацию V3-V4 региона 16S рРНК проводили с использованием прокариотических праймеров: прямой –TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAG-ACAGCCTACGGGNGGCWGCAG; обратный – GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC, с последующей индексацией ампликонов. Секвенирование ампликонов 16S рРНК проводили на платформе MiSeq (Illumina, США). Биоинформатическую обработку данных осуществляли с помощью программы Qiime 1.9.

### 3. Результаты и обсуждение

Известно, что изменение температуры является важным фактором влияющим на состав микробных сообществ (Glasl et al., 2018). Согласно анализу физико-химических показателей р.Волга наиболее высокая средняя температуры воды была зафиксирована в 2018 году ( $18,2 \pm 0,8^\circ\text{C}$ ). В 2017 и 2019 году температура воды была на 2 градуса ниже ( $16,6 \pm 1,1^\circ\text{C}$  и  $16,2 \pm 0,7^\circ\text{C}$ , соответственно). Помимо экологических факторов, на состав микробиоты оказывают влияние антропогенные факторы. Одним из параметров оценки антропогенной нагрузки и степени загрязнения рек является уровень химического потребления кислорода (ХПК) (Cai et al., 2022). ХПК - показатель содержания органических веществ в воде. В 2017 и 2018 году во всех отобранных пробах воды показатели ХПК были выше уровня предельно-допустимой концентрации –  $30 \text{ мгО/дм}^3$ . Самые высокие значения ХПК р.Волга были зафиксированы в 2017 году ( $47,7 \pm 1,6 \text{ мгО/}$

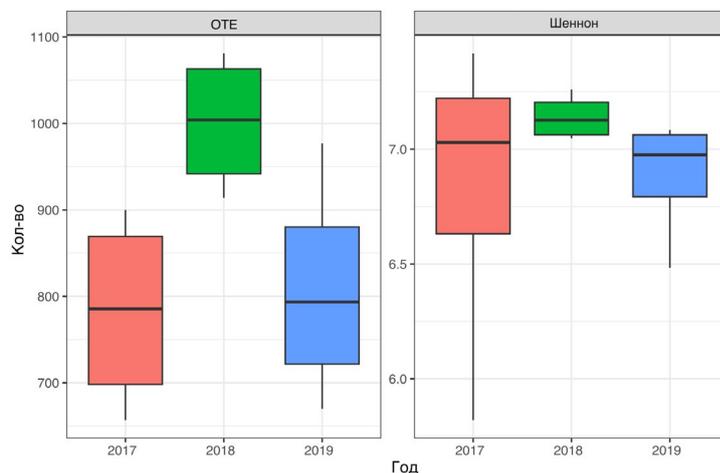


Рис.1. Разнообразие микробного сообщества р. Волга с 2017-2019 гг (\*- $p < 0,05$ ).

$\text{дм}^3$ ), что более чем в два раза выше по сравнению показателями за 2019 год ( $20,2 \pm 2,2 \text{ мгО/дм}^3$ ).

В результате метагеномного секвенирования было идентифицировано от 657 до 1081 операционных таксономических единиц (ОТЕ) (Рис. 1). В образцах воды за 2018 год было обнаружено наибольшее количество ОТЕ ( $1001 \pm 40$ ,  $p = 0,02$ ), по сравнению с 2017 ( $782 \pm 58$ ) и 2018 ( $809 \pm 67$ ) годом. Наиболее разнообразное микробное сообщество было в 2018 году - индекс Шеннона  $7,14 (\pm 0,05)$ ; наименее разнообразное в 2017 году -  $6,82 (\pm 0,35)$ ; в 2019 году -  $6,88 (\pm 0,14)$ .

Образцы воды р.Волга кластеризовались в соответствии с годом отбора проб (Рис. 2).

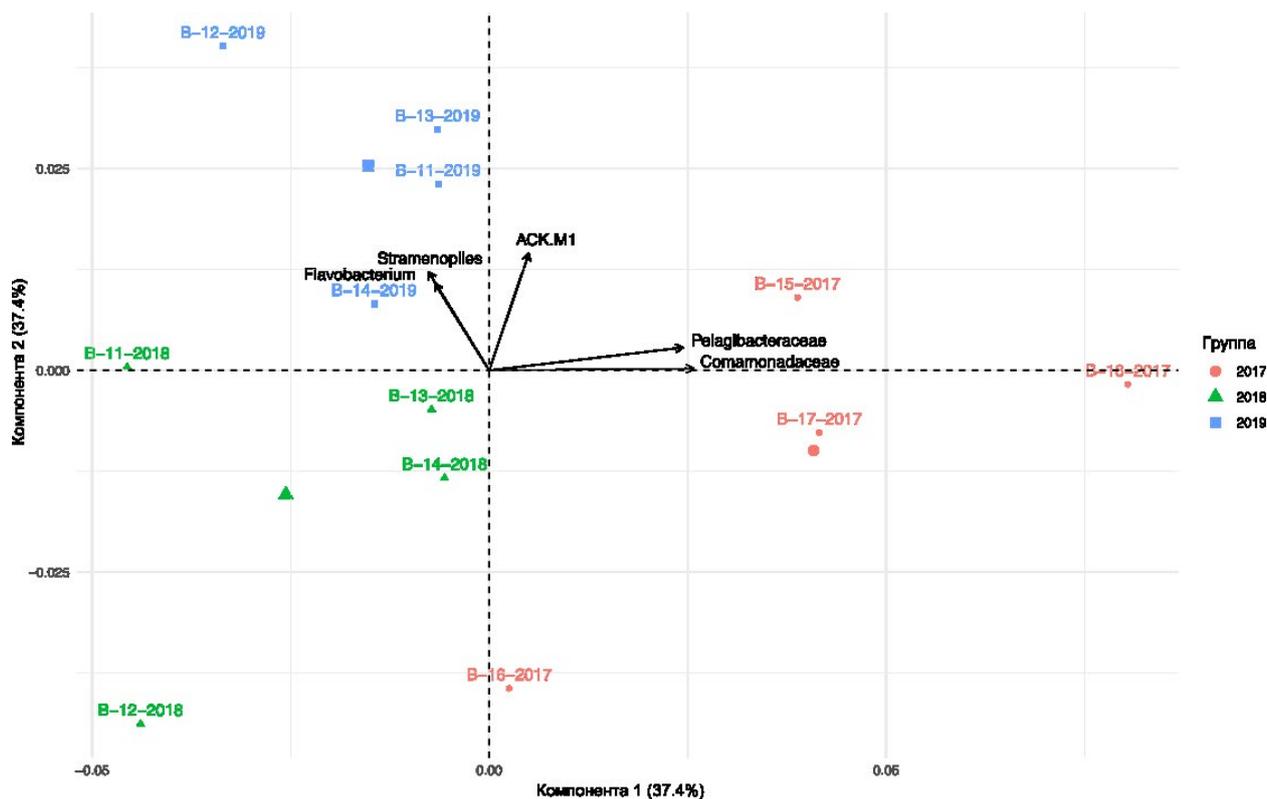


Рис.2. Кластеризация образцов с использованием метода главных компонент.

Стабильное микробное сообщество реки за все три года включало 46 ОТЕ, которые занимали от 59,4% до 86,6% от всего сообщества в разный момент времени.

#### 4. Выводы

За период с 2017 по 2019 год происходило снижение органических загрязнений в реке Волга, однако связи с увеличением микробного разнообразия сообщества не выявлено. Таким образом, на разнообразие микробиоты реки Волга большее влияние оказывает температуры и, вероятно, другие типы загрязняющих веществ.

#### Благодарности

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Список литературы

Cai J., Meng L., Liu H. et al. 2022. Estimating chemical oxygen demand in estuarine urban rivers using unmanned aerial vehicle hyperspectral images. *Ecological Indicators* 139: 108936. DOI: [10.1016/j.ecolind.2022.108936](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.108936)

Glasl B., Smith C.E., Bourne D.G. et al. 2018. Exploring the diversity-stability paradigm using sponge microbial communities. *Scientific Reports* 8(1): 8425–8429. DOI: [10.1038/s41598-018-26641-9](https://doi.org/10.1038/s41598-018-26641-9)

Kora A., Rastogi L., Kumar S. et al. 2017. Physico-chemical and bacteriological screening of Hussain Sagar lake: An urban wetland. *Water Science* 31: 24–33. DOI: [10.1016/j.wsj.2017.03.003](https://doi.org/10.1016/j.wsj.2017.03.003)

Paul D. 2017. Research on heavy metal pollution of river Ganga: A review. *Annals of Agrarian Science* 15: 278–286. DOI: [10.1016/j.aasci.2017.04.001](https://doi.org/10.1016/j.aasci.2017.04.001)