

Microbial biodiversity as an indicator of anthropogenic pollution of aquatic ecosystems

Short communication

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

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

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

ABSTRACT. It is important to study the level of anthropogenic pollution of rivers in order to maintain the health of ecosystems and provide the sustainable development of society. Surface water pollution is mainly caused by urbanisation, agriculture and industrial discharges. Here, we present the results of a three-year study of the chemical composition and bacterial diversity of samples collected from three rivers of the Kuibyshev Reservoir. Statistically significant differences between chemical parameters and alpha diversity indices were found. In addition, a negative correlation was between the Shannon index and manganese content, and the Chao1 index with nitrite ions.

Keywords: microbiome of water, biodiversity, 16S rRNA gene amplicon sequencing, anthropogenic pollution

For citation: Senina A.M., Khusnutdinova D.R., Markelova M.I., Siniagina M.N., Boulygina E.A., Khaliullina L.Yu., Khaliullin I.I., Grigoryeva T.V. Microbial biodiversity as an indicator of anthropogenic pollution of aquatic ecosystems // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - P. 1091-1094. DOI: [10.31951/2658-3518-2024-A-4-1091](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2024-A-4-1091)

1. Introduction

Various anthropogenic factors, including agricultural and industrial activities, lead to the worsening of water quality in rivers. Not only aquatic species are at risk, but also human health (Breton-Deval et al., 2019, Akhtar et al., 2021). Anthropogenic activities affect the composition of water, increasing the content of various chemical elements in natural sources (Matveeva et al., 2022). For example, nitrates, phosphates and organic compounds are released into the water from agricultural activities (Yuce et al., 2006), while nitrogen and manganese pollution are mainly associated with industry (Li et al., 2014). As a result, the composition and diversity of the aquatic microbial community changes, so the microbiome can be used as an indicator of water quality (Yuce et al., 2006). Next-generation sequencing techniques are being developed and their costs are decreasing, making this approach available for a deeper understanding of the relationship between the microbial community and physicochemical parameters of water, as well as for water quality monitoring.

2. Materials and methods

Samples were taken from the surface of the water at the mouths of the Kama, Volga and Kazanka

Rivers in the area of the Kuibyshev Reservoir for three years. Water samples were centrifuged for 15 minutes at 8000 rpm in 50 ml bottles to obtain a cell pellet. DNA was then isolated from the obtained sediment using the DNA-Express kit (Lytech, Russia) according to the manufacturer's recommendations. Amplification of the V3-V4 region of the 16S rRNA gene and subsequent library preparation was carried out according to the protocol 'Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System' (Illumina, USA). Sequencing of the 16S rRNA amplicons was carried out on the MiSeq platform (Illumina, USA) according to the manufacturer's protocol. The resulting reads were processed using QIIME 1.9. All statistical calculations were performed using the R v.4.2.2 programming language in the RStudio v.2023.12.1 + 402 program. Statistically significant differences in the parameters studied between samples from different rivers were calculated using the non-parametric Kruskal-Wallis test. Correlations between alpha diversity and hydrochemical parameters were calculated using Spearman's rank correlation test.

3. Results and discussion

The study revealed significant differences between rivers in terms of indicators and levels of

*Corresponding author.

E-mail address: Anastasiahm@list.ru (A.M. Senina)

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.



substances associated with anthropogenic water pollution such as ammonium ions, manganese, nitrate ions, nitrite ions, phosphate ions, total phosphorus and chemical oxygen demand. Samples from the Kazanka River contained significantly more ammonium ions (1.24 ± 0.7 mg/l to 0.43 ± 0.2 mg/l in the Volga River and 0.44 ± 0.1 mg/l in the Kama River) and less nitrate ions (0.7 ± 0.4 mg/l to 1.4 ± 0.5 mg/l in the Volga River and 1.15 ± 0.2 mg/l in the Kama River) than the other rivers studied. Samples from the Volga River contained more manganese (0.02 ± 0.02 mg/l) compared to the Kama River (0.01 ± 0.003 mg/l), and phosphate ions (0.2 ± 0.1 mg/l to 0.10 ± 0.03 mg/l in the Kama River and 0.1 ± 0.1 mg/l in the Kazanka River) and total phosphorus (0.06 ± 0.03 mg/l to 0.03 ± 0.01 mg/l in the Kama River and 0.04 ± 0.03 mg/l in the Kazanka River) were higher in this river compared to the other analyzed rivers. We also found significant differences in alpha diversity indicators. Samples from the Kama River had the highest values of all alpha diversity indices analyzed compared to the Kazanka River, and the highest values of Shannon (7.3 ± 0.5 to 6.95 ± 0.4 in the Volga River and 6.46 ± 0.7 in the Kazanka River) and Simpson (0.98 ± 0.01 to 0.96 ± 0.02 in the Volga River and 0.93 ± 0.05 in the Kazanka River) indices were for the Kama River compared to the other rivers. Correlation analysis of seven chemical indicators studied with the biodiversity indices was also performed. We found a negative correlation of the Shannon index with the amount of manganese ($R = -0.5$; $p < 0.1$) and a negative correlation of the Chao1 index with nitrite ions ($R = -0.4$; $p < 0.1$). The results obtained indicate a possible negative impact of these anthropogenic chemical factors on the biodiversity of the microbial community. It is known that excess manganese is toxic to plants and animals and can cause central nervous system disorders in humans (Matveeva et al., 2022). Nitrite ions are mutagens and can cause various human diseases such as cancer, methaemoglobinemia, thyroid enlargement and diabetes mellitus (Parvizishad et al., 2017).

4. Conclusions

In this study, samples from three different rivers in the same geographical area were analyzed. We found

that water pollution with manganese and nitrite ions affect the diversity of the aquatic microbial community.

Acknowledgements

The work was carried out on the basis of the Interdisciplinary Center for Collective Use of Kazan Federal University within the framework of the Strategic Academic Leadership Program of the Kazan Federal University (PRIORITY-2030) and was financed by a subsidy allocated to the Kazan Federal University for the implementation of the state assignment in the field of scientific activity (project No. FZSM-2023-0013).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Akhtar N., Syakir Ishak M.I., Bhawani S.A. et al. 2021. Various natural and anthropogenic factors responsible for water quality degradation: A review. *Water* 13(19): 2660. DOI: [10.3390/w13192660](https://doi.org/10.3390/w13192660)
- Breton-Deval L., Sanchez-Flores A., Juárez K. et al. 2019. Integrative study of microbial community dynamics and water quality along The Apatlaco River. *Environmental pollution* 255: 113158. DOI: [10.1016/j.envpol.2019.113158](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113158)
- Li P., Qian H., Howard K.W.F. et al. 2014. Anthropogenic pollution and variability of manganese in alluvial sediments of the Yellow River, Ningxia, northwest China. *Environ Monit Assess* 186: 1385–1398. DOI: [10.1007/s10661-013-3461-3](https://doi.org/10.1007/s10661-013-3461-3)
- Matveeva V.A., Alekseenko A.V., Karthe D. et al. 2022. Manganese pollution in mining-influenced rivers and lakes: Current state and forecast under climate change in the Russian Arctic. *Water* 14(7): 1091. DOI: [10.3390/w14071091](https://doi.org/10.3390/w14071091)
- Parvizishad M., Dalvand A., Mahvi A.H. et al. 2017. Review of Adverse Effects and Benefits of Nitrate and Nitrite in Drinking Water and Food on Human Health. *Health Scope* 6(3): e14164. DOI: [10.5812/jhealthscope.14164](https://doi.org/10.5812/jhealthscope.14164)
- Yuce G., Pinarbasi A., Ozcelik S. et al. 2006. Soil and water pollution derived from anthropogenic activities in the Porsuk River Basin, Turkey. *Environmental Geology* 49: 359–375. DOI: [10.1007/s00254-005-0072-5](https://doi.org/10.1007/s00254-005-0072-5)

Микробное биоразнообразие как индикатор антропогенного загрязнения водных экосистем

Краткое сообщение

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

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

Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008, Россия

АННОТАЦИЯ. Исследование уровня антропогенного загрязнения рек является важной задачей для поддержания здоровья экосистем и обеспечения устойчивого развития общества. Загрязнение поверхностных вод в основном происходит из-за урбанизации, сельского хозяйства и промышленных сбросов. В данном исследовании представлены результаты исследования химического состава и бактериального разнообразия образцов, полученных из трех рек Куйбышевского водохранилища в течение трех лет. Нами были найдены статистически значимые отличия химических показателей и индексов альфа-разнообразия. Кроме того, была выявлена отрицательная корреляция индекса Шеннона с содержанием марганца и индекса Чао1 с нитрит-ионами.

Ключевые слова: микробиом водоемов, биоразнообразие, секвенирование ампликонов гена 16S рРНК, антропогенное загрязнение

Для цитирования: Сенина А.М., Хуснутдинова Д.Р., Маркелова М.И., Синягина М.Н., Булыгина Е.А., Халиуллина Л.Ю., Халиуллин И.И., Григорьева Т.В. Микробное биоразнообразие как индикатор антропогенного загрязнения водных экосистем // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - С. 1091-1094. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1091

1. Введение

Различные антропогенные факторы, включающие деятельность сельскохозяйственных и промышленных предприятий, ведут к ухудшению качества воды в реках. Это не только угрожает видам, обитающим в водоемах, но и создает угрозу для здоровья людей (Breton-Deval et al., 2019, Akhtar et al., 2021). Антропогенная деятельность оказывает влияние на состав воды, повышая содержание различных химических элементов в природных источниках (Matveeva et al., 2022). Например, нитраты, фосфаты и органические соединения поступают в водоемы в результате сельскохозяйственной деятельности (Yuce et al., 2006), а загрязнения азотом и марганцем, в основном, связано с промышленностью (Li et al., 2014). В результате, происходит изменение состава и разнообразия микробного сообщества водоемов, позволяя использовать микробиом как индикатор качества воды (Yuce et al., 2006). Развитие и удешевление методов секвенирования нового поколения делает доступным использование данной технологии для более глубокого понимания взаимосвязи микробного сообщества с физико-химическими показателями воды, а также для мониторинга качества водоемов.

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: Anastasiahm@list.ru (А.М. Сенина)

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

Опубликована online: 30 августа 2024

2. Материалы и методы

Отбор проб производился с поверхности воды в устьях рек Камы, Волги и Казанки на территории Куйбышевского водохранилища в течение трех лет. Образцы воды центрифугировали в фальконах объемом 50 мл 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. Амплификацию региона V3-V4 гена 16S рРНК и последующую подготовку библиотек проводили в соответствии с протоколом «Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System» (Illumina, США), секвенирование нуклеотидной последовательности ампликонов 16S рРНК осуществляли на платформе MiSeq (Illumina, США) согласно протоколу производителя. Полученные прочтения обрабатывали с помощью QIIME 1.9. Все статистические расчеты производили в среде языка программирования R v.4.2.2 в программе RStudio v.2023.12.1 + 402. Статистически достоверные различия исследуемых параметров между образцами разных рек рассчитывались с использованием непараметрического теста Краскела-Уоллиса.

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



Корреляция между альфа-разнообразием и гидрохимическими показателями была рассчитана при помощи теста ранговой корреляции Спирмена.

3. Результаты и обсуждение

В исследовании были обнаружены достоверные отличия между реками в показателях и содержании веществ, связанных с антропогенным загрязнением водоёмов (аммоний-ионы, марганец, нитрат-ионы, нитрит-ионы, фосфат-ионы, общий фосфор и химическое потребление кислорода). В образцах из р. Казанка выявлено достоверно больше аммоний-ионов ($1,2 \pm 0,7$ мг/дм³ к $0,4 \pm 0,2$ мг/дм³ в р. Волга и $0,4 \pm 0,1$ мг/дм³ в р. Кама) и меньше нитрат-ионов ($0,7 \pm 0,4$ мг/дм³ к $1,4 \pm 0,5$ мг/дм³ в р. Волга и $1,15 \pm 0,2$ мг/дм³ в р. Кама), чем в других реках, представленных в исследовании. В образцах из р. Волга содержалось большее количество марганца ($0,02 \pm 0,02$ мг/л), чем в образцах из р. Кама ($0,01 \pm 0,003$ мг/л), фосфат-ионов ($0,2 \pm 0,1$ мг/дм³ к $0,10 \pm 0,03$ мг/дм³ в р. Кама и $0,1 \pm 0,1$ мг/дм³ в р. Казанка) и общего фосфора ($0,06 \pm 0,03$ мг/дм³ к $0,03 \pm 0,01$ мг/дм³ в р. Кама и $0,04 \pm 0,03$ мг/дм³ в р. Казанка), чем в других исследованных реках. Также нами были обнаружены достоверные отличия в показателях альфа-разнообразия. Образцы из р. Кама имели самые высокие значения всех индексов альфа-разнообразия по сравнению с образцами из р. Казанка и самые высокие значения индексов Шеннона ($7,3 \pm 0,5$ к $6,95 \pm 0,4$ в р. Волга и $6,46 \pm 0,7$ в р. Казанка) и Симпсона ($0,98 \pm 0,01$ к $0,96 \pm 0,02$ в р. Волга и $0,93 \pm 0,05$ в р. Казанка) по сравнению со всеми реками, представленными в исследовании. Также в исследовании был проведен корреляционный анализ семи исследуемых химических показателей с представленными индексами биоразнообразия. Была обнаружена отрицательная корреляция индекса Шеннона с количеством марганца ($R = -0,5$; $p < 0,1$) и отрицательная корреляция индекса Чао1 с нитрит-ионами ($R = -0,4$; $p < 0,1$). Полученные результаты указывают на возможное негативное влияние данных химических антропогенных факторов на биоразнообразие микробного сообщества. Из данных литературы известно, что марганец в избытке токсичен для растений и животных, у человека может вызывать расстройства центральной нервной системы (Matveeva et al., 2022). Нитрит-ионы являются мутагенами и способны вызывать у человека различные заболевания, такие как рак, метгемоглобинемия, увеличение щитовидной железы и сахарный диабет (Parvizishad et al., 2017).

4. Выводы

В данном исследовании образцов, полученных из трех разных рек одной географической зоны, было выявлено, что загрязнение воды марганцем и нитрит-ионами влияет на разнообразие микробного сообщества.

Благодарности

Работа выполнена на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования КФУ в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) и финансируется за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету на выполнение государственного задания в сфере научной деятельности (проект No FZSM-2023-0013).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Akhtar N., Syakir Ishak M.I., Bhawani S.A. et al. 2021. Various natural and anthropogenic factors responsible for water quality degradation: A review. *Water* 13(19): 2660. DOI: [10.3390/w13192660](https://doi.org/10.3390/w13192660)
- Breton-Deval L., Sanchez-Flores A., Juárez K. et al. 2019. Integrative study of microbial community dynamics and water quality along The Apatlaco River. *Environmental pollution* 255: 113158. DOI: [10.1016/j.envpol.2019.113158](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113158)
- Li P., Qian H., Howard K.W.F. et al. 2014. Anthropogenic pollution and variability of manganese in alluvial sediments of the Yellow River, Ningxia, northwest China. *Environ Monit Assess* 186: 1385–1398. DOI: [10.1007/s10661-013-3461-3](https://doi.org/10.1007/s10661-013-3461-3)
- Matveeva V.A., Alekseenko A.V., Karthe D. et al. 2022. Manganese pollution in mining-influenced rivers and lakes: Current state and forecast under climate change in the Russian Arctic. *Water* 14(7): 1091. DOI: [10.3390/w14071091](https://doi.org/10.3390/w14071091)
- Parvizishad M., Dalvand A., Mahvi A.H. et al. 2017. Review of Adverse Effects and Benefits of Nitrate and Nitrite in Drinking Water and Food on Human Health. *Health Scope* 6(3): e14164. DOI: [10.5812/jhealthscope.14164](https://doi.org/10.5812/jhealthscope.14164)
- Yuce G., Pinarbasi A., Ozcelik S. et al. 2006. Soil and water pollution derived from anthropogenic activities in the Porsuk River Basin, Turkey. *Environmental Geology* 49: 359–375. DOI: [10.1007/s00254-005-0072-5](https://doi.org/10.1007/s00254-005-0072-5)