

ЭКОЛОГИЯ

УДК 575.224.23

DOI:10.54503/0321-1339-2023.123.2-51

Член-корреспондент НАН РА Р. М. Арутюнян^{1,2}, Р. Э. Авалян²,
Л. Р. Гамбарян^{2,3}, А. Л. Атоянц², Э. А. Агаджанян²,
Э. Х. Гукасян³, Б. К. Габриелян³

Биоиндикация состояния поверхностных вод в прибрежных участках оз. Севан и изучение уровня генотоксичности воды в период эвтрофикации

(Представлено 19/III 2023)

Ключевые слова: биоиндикация, фитопланктон, цианобактерии, биотестирование, традесканция (клон 02), эвтрофикация.

По данным гидроэкологических исследований, в некоторых прибрежных районах оз. Севан наблюдается массовое распространение сине-зеленых водорослей (цианобактерий), вызывающее цветение воды. Масштабные цветения (эвтрофикация), начинающиеся в прибрежной части Большого Севана и распространяющиеся на глубоководные участки, наблюдаются с 2018 г. Процесс цветения вызывают в основном потенциально токсичные виды рода цианобактерий *Dolichospermum/Anabaena*, и в этот период впервые в озере было обнаружено наличие микроцистина и анатоксина [1].

Вследствие эвтрофикации изменились физико-химические показатели воды, в частности, уменьшились ее прозрачность и концентрация растворенного кислорода, повысилась концентрация ионов аммония, нитритов и фосфатов [2, 3], наблюдалось уменьшение количества кислорода, доступного для рыб и других водных обитателей, приводящее к нарушению биоразнообразия в экосистеме [4]. Токсическое действие вредных веществ на биоту водоемов является одним из главных негативных последствий антропогенного загрязнения. Биоиндикация водной среды по состоянию её биоты основана на наблюдении за составом и численностью видов-индикаторов. Для экспресс-оценки качества воды разнотипных водоемов весьма эффективны показатели численности, биомассы и состава доминирующих в фитопланктоне видов [1,5]. Токсикологическая оценка воздей-

ствия всего комплекса содержащихся в воде веществ на живые организмы осуществляется с помощью биотестирования. Для биотестирования качества водных ресурсов чаще всего используются растительные тест-объекты, в частности, *традесканция* (*Tradescantia*), которая пригодна для экспресс-оценки индукции генетических нарушений даже под воздействием достаточно низких концентраций ксенобиотиков [6]. Ранее нами проводилось тестирование воды оз. Севан в период цветения и после обработки цеолитом с применением тест-системы *Tradescantia* (клон 02) [7]. В качестве основного маркерного теста нами используется тест-система волосков тычиночных нитей (ВТН) традесканции (тест Трад-ВТН). При проведении биотеста Трад-ВТН в качестве индикаторных тест-критериев учитываются изменение окраски клеток-волосков тычиночных нитей с голубой на розовую (рецессивные мутационные события – РМС) и появление бесцветных клеток (белые мутационные события – БМС). Кроме соматических мутаций (РМС и БМС) при тестировании определяются также морфологические изменения волосков – карликовые (невыжившие) волоски (НВ), разветвлённые волоски (РВ) и различные нарушения в строении цветка (уменьшение числа тычинок и лепестков венчика, различные фасциации цветка и т.п.).

Целью настоящего исследования являлись биоиндикация состояния поверхностных вод из исследуемых точек водозабора бассейна оз. Севан на основе анализа наличия, состава и пространственного распределения фитопланктона (микроводорослей) в литоральной части озера, а также биотестирование уровня генотоксичности тех же водных образцов с применением Трад-ВТН (клон 02).

Материалом исследования служили водные пробы из четырех точек водозабора (мониторинговых трансект) бассейна оз. Севан: акватории Большого Севана (БС) – Личк, Станция-22 (глубоководный пункт наблюдения) и Малого Севана (МС) – Лчашен, Норашен. Водные пробы были отобраны в летний период цветения (июль 2022 г). Для биоиндикации изучались поверхностные воды (0.5 м) в пунктах водозабора, а для биотестирования – с глубины 1–2 м.

Биоиндикация состояния поверхностных вод в исследуемых водосборных пунктах проводилась на основе изучения состава, численности и биомассы фитопланктона. В рассматриваемый временной период проводились мониторинговые исследования особенностей развития фитопланктонного сообщества в вышеуказанных пунктах прибрежных участков оз. Севан, которые своим гидрологическим и биогенным режимом, а также активной волновой перемешиваемостью отличаются от открытых участков акватории озера. Для исследования фитопланктона водные пробы объемом 1 л отбирали с поверхности четырех мониторинговых трансект, консервировали 40% раствором формальдегида и выдерживали в темном месте 10–12 дней, в течение которых объем образцов был уменьшен до 10 мл [8]. Биомассу видов фитопланктона вычисляли на основании индивидуальных размеров клеток методом геометрического подобия. Качест-

венный и количественный анализ фитопланктона проводили под световым микроскопом марки «Motic» в камере Нажотта ($V = 0.1$ мл). Был проведен анализ корреляции показателей количества и биомассы основных групп фитопланктона с содержанием химических компонентов в водных образцах.

Одновременно с биоиндикацией проводилось биотестирование тех же водных образцов с применением теста Трад-ВТН (клон 02) традесканции. Тестирование с использованием модельной тест-системы клона 02 традесканции – системы волосков тычиночных нитей (тест Трад-ВТН) проводили по стандартной методике [9]. На каждый водный образец было просмотрено по 7–12 тыс. ВТН. В исследуемых водных образцах определяли концентрации химических элементов и тяжёлых металлов (NH_4^+ , HCO_3^- , SO_4^{2-} , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , Cl^- , F^- , Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Mo^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+}). В качестве условно фонового образца (контроля) использовали водопроводную воду. Проведен также корреляционный анализ между частотой мутационных событий в ВТН и концентрацией химических элементов в исследуемых водных пробах. Все полученные результаты статистически обработаны с применением компьютерной программы *Statgraphics Centurion 16. 2*.

Одним из основных индикаторных показателей структуры фитопланктона является его количественное развитие (численность и биомасса). Изменения, происходящие за последнее время в литоральной зоне оз. Севан и его бассейне, создали предпосылки для изучения горизонтального распределения, количественного развития, сукцессии и цветения различных видов фитопланктона и влияния этих процессов на всю экосистему озера. Многолетний анализ процесса цветения указывает на наличие загрязнения воды, что является благоприятным условием для развития и бесконтрольного роста видов-индикаторов эвтрофикации, таких как представители рода *Dolichospermum/Anabaena*. На первом этапе гидробиологических исследований проводилась биоиндикация состояния изучаемых водных образцов по показателям состава, численности и биомассы фитопланктона.

В изученный временной период (июль) наблюдалась сукцессия водорослей на уровне видов и групп в составе фитопланктона. Во всех точках наблюдения доминирующее положение занимали цианобактерии, количественное развитие которых свидетельствовало о начале в озере цветения (рис. 1).

Максимальное количественное развитие цианобактерий – 1972.0 тыс. кл/л и 7.48 г/м^3 отмечено в мониторинговом пункте Норашен, что обусловлено развитием потенциально токсичных видов *Dolichospermum/Anabaena flos-aquae* и *Anabaena spiroides*. Следует отметить, что в пункте Личк также наблюдались широкое биоразнообразие и доминирование по показателям численности цианобактерий – 83% от общей численности сообщества (рис. 2). Основными видами цианобактерий были: *Aphanothece*

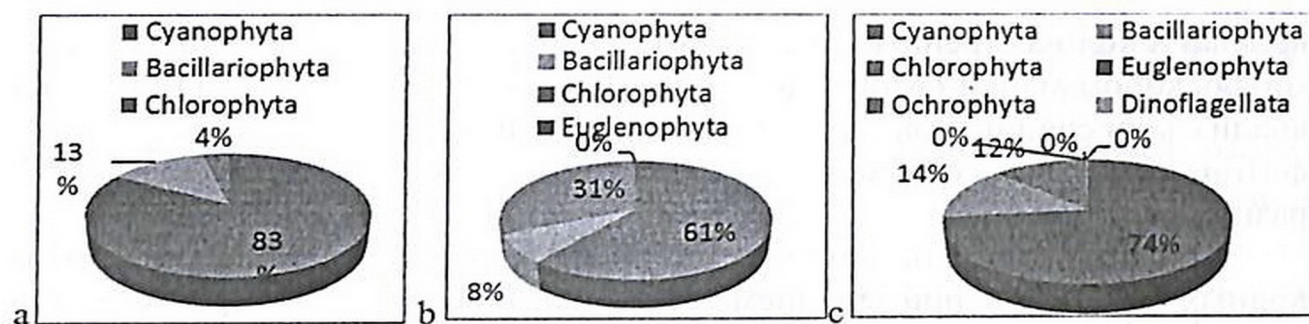


Рис. 1. Соотношение между основными группами фитопланктона по численности (тыс. кл/л) в разных пунктах наблюдения: а) Личк, б) Норашен, с) Лчашен.

stagnina, *Aphanothece clathrata*, *Lyngbia limnetica*, *Gloethece linearis*, *Gomphosphaeria lacustris*, токсичные виды *Anabaena flos-aquae*, *Anabaena circinales*, *Microcystis aeruginosa*. В пункте Лчашен наблюдалось доминирование вида *Anabaena flos-aquae*, что вызвало слабое цветение воды (по численности – 1120.0 тыс.кл/л, по биомассе – 4 г/м³), показатели вида *Anabaena circinales* составляли 480.0 тыс.кл/л по численности и 4 г/м³ по биомассе.

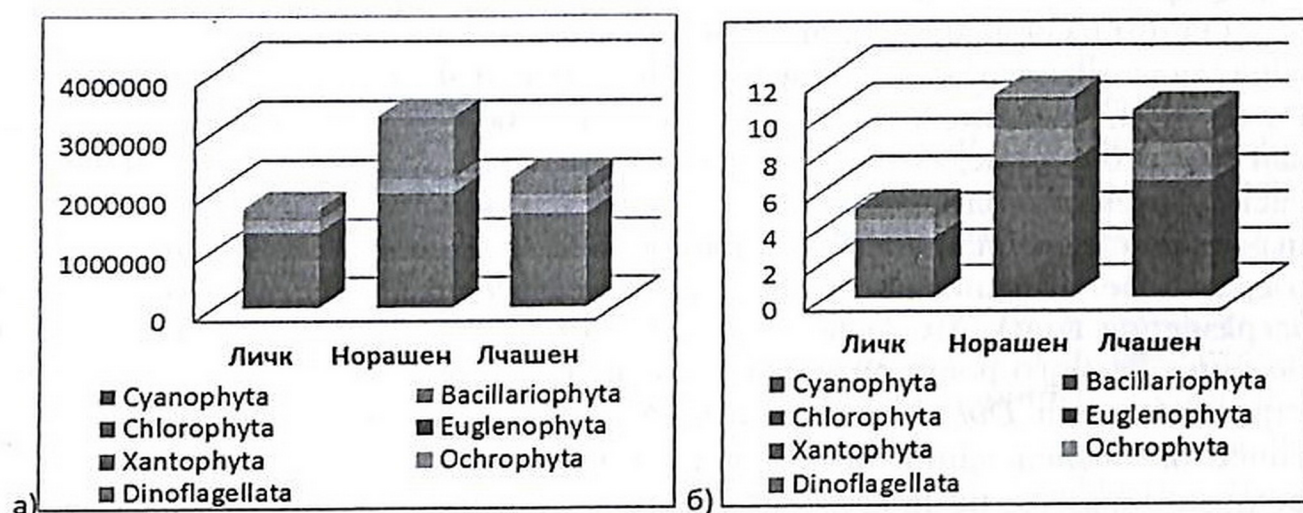


Рис. 2. Количественное развитие основных групп фитопланктона в разных точках наблюдения: а) по численности (тыс.кл/л), б) по биомассе (г/м³).

Как видно из диаграммы (рис. 2), в июле количественный максимум фитопланктона (по показателю численности) наблюдался в мониторинговом пункте исследований Норашен при доминировании сине-зеленых водорослей (цианобактерий). Анализ общих показателей биомассы фитопланктона показал, что во всех прибрежных пунктах доминировали цианобактерии (62.6–67.5%) с максимальными показателями в пункте Норашен. В тот же временной период с интервалом в несколько дней был проведен пробоотбор из мониторингового глубинного участка оз. Севан – Станции-22 с акватории БС, где также визуально наблюдалось цветение водорослей.

Рассматривалось также пространственное распределение интенсивности цветения. По количественным показателям фитопланктона численность потенциально токсичных цианобактерий *Anabaena flos-aquae* – 27624.0 была выше в акватории Большого Севана, что подтверждает ранее полученную нами информацию о начале процесса цветения в БС [10, 11].

Анализ зависимости численности и биомассы фитопланктона в период цветения от концентрации химических компонентов, находящихся в исследуемых водных образцах, показал достоверную положительную корреляцию: *Cyanophyta* – Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , F^- , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- ($p < 0.01$; $p < 0.001$); *Bacillariophyta* – K^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- ($p < 0.01$; $p < 0.001$); *Euglenophyta* – Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Cu^{2+} , F^- , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- ($p < 0.01$; $p < 0.001$); *Chlorophyta* – Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- ($p < 0.01$; $p < 0.001$). Результаты, полученные на основании мониторинговых исследований пространственного распределения фитопланктона по акватории озера, свидетельствуют, что за исследуемый период качественного улучшения экологического состояния озера не произошло. С одной стороны, наблюдались повторяющиеся цветение фитопланктона и снижение показателей прозрачности воды, а с другой, не было выявлено резкого повышения концентрации биогенных веществ, что является позитивным фактом.

На втором этапе мониторинговых исследований при биотестировании с применением клон 02 традесканции определение уровня генотоксичности водных образцов оз. Севан в период цветения воды по результатам биотеста Трад-ВТН показало, что во всех изученных вариантах наблюдалось достоверное повышение частоты соматических мутаций (РМС и БМС), а также морфологических нарушений в ВТН типа НВ по сравнению

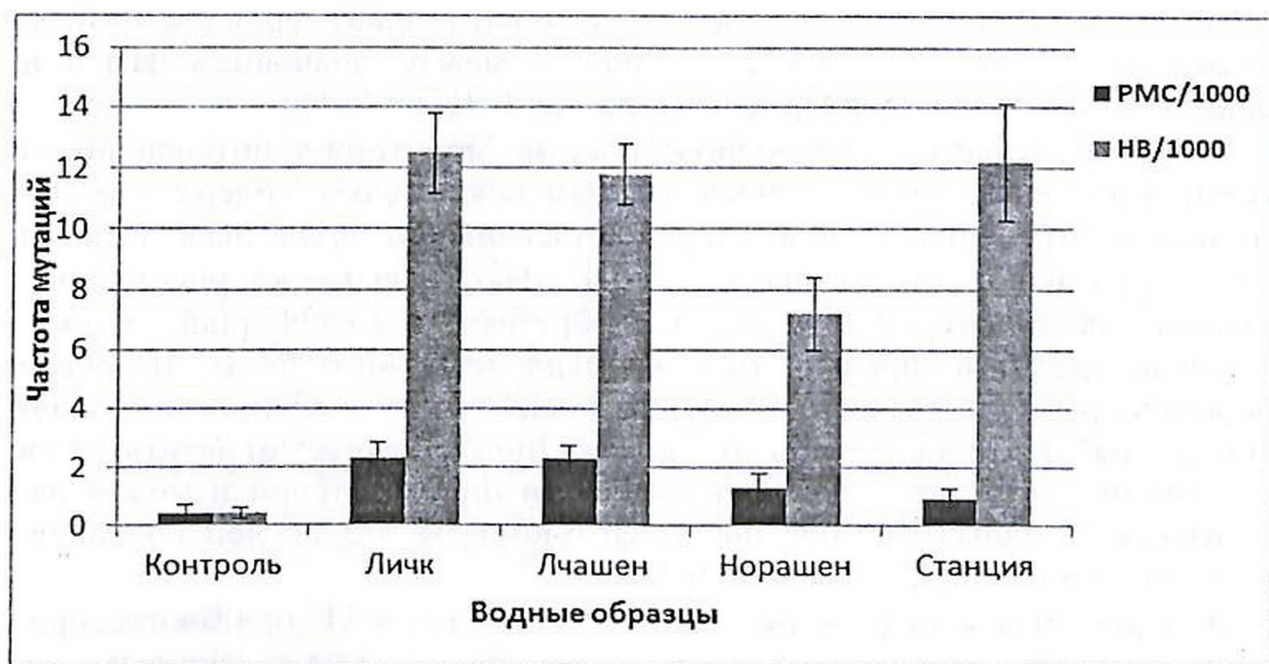


Рис. 3. Частота генотоксических эффектов в соматических клетках традесканции (клон 02) в период цветения воды.

с условно фоновым образцом. Уровень РМС превышал фоновый в 2–5 раз в зависимости от водной пробы. Наибольшая частота соматических точковых мутаций отмечалась в образцах Личк и Лчашен, где она находилась на одном уровне и превышала фон в 5 раз. Частота встречаемости БМС во всех изученных вариантах была выше фонового уровня в 4–12 раз, с максимальным повышением в образце Станция-22 (рис. 3).

Следует отметить, что во всех водных образцах наблюдалось повышенное количество невыживших волосков, что свидетельствует о нахождении в исследуемых вариантах токсичных компонентов, вызывающих тератогенный эффект и снижающих выживаемость клеток-волосков у традесканции. Морфологические нарушения типа НВ превышали контрольный уровень в 6–30 раз в зависимости от водного варианта. Максимальное значение НВ наблюдалось в вариантах Личк и Станция-22, превысив уровень фона в 30 раз, что свидетельствует о наличии в данных образцах БС компонентов, обладающих повышенной тератогенной активностью, приводящей к снижению выживаемости соматических клеток-волосков ВТН традесканции.

Максимальное проявление РМС также наблюдалось в варианте Личк, превышая контрольный уровень в 5 раз. Наименьшим уровнем точковых мутаций отличался образец Станция-22, где уровень РМС был минимальным, несмотря на повышенную частоту показателей БМС (превышающей контроль в 12 раз).

На основе определения корреляционной зависимости между генетическими маркерами теста Трад-ВТН и концентрацией химических компонентов в водных образцах в период цветения показана достоверная положительная корреляция между уровнем РМС и ионами Zn^{2+} ($r=0.84$, $p<0.01$), Cd^{2+} ($r=0.67$, $p<0.05$) и NO_2^- ($r=0.64$, $p<0.05$); уровнем БМС и ионами Pb^{2+} ($r=0.89$, $p<0.01$), а также между значением НВ и концентрацией NH_4^+ ($r=0.88$, $p<0.01$) и Fe^{2+} ($r=0.91$, $p<0.01$).

Как свидетельствует гидробиологический мониторинг интенсивности цветения воды в июле по количественным показателям, содержание потенциально токсичной цианобактерии *Anabaena flos-aquae* было выше в образцах из акватории Большого Севана. Максимальное количественное развитие цианобактерий отмечалось в образцах из водосборного пункта Норашен, где доминировали потенциально токсичные виды. Широкое биоразнообразие и доминирование по показателям численности цианобактерий наблюдалось также в образцах из Личка. Следует отметить, что в периоды цветения нет стойкой локализации цианобактерий и может наблюдаться активный перенос цветущей биомассы водорослей под влиянием волновой и ветровой деятельности.

Как уже отмечалось, по результатам теста Трад-ВТН при биотестировании показано выраженное повышение уровня генотоксичности за исследуемый период в тестируемых точках с наибольшим уровнем РМС в водных образцах Личк и Лчашен, а по значениям БМС и НВ – в пробе Станция-22. В дальнейшем предполагается продолжить совместные

комплексные исследования для проведения гидробиологического и генетического мониторинга состояния воды оз. Севан в период эвтрофикации.

Работа выполнена в рамках государственного целевого проекта Комитета по науке МОНКС РА «Исследование механизмов эвтрофикации озера Севан и разработка методов борьбы с явлениями цветения» (№ 1-15/ТВ-21 от 25.01.2021 г.).

¹ Президиум НАН РА

² Ереванский государственный университет

³ Научный центр зоологии и гидроэкологии НАН РА

e-mail: roubenm@sci.am

**Член-корреспондент НАН РА Р. М. Арутюнян, Р. Э. Авалян,
Л. Р. Гамбарян, А. Л. Атоянц, Э. А. Агаджанян,
Э. Х. Гукасян, Б. К. Габриелян**

**Биоиндикация состояния поверхностных вод в прибрежных
участках оз. Севан и изучение уровня генотоксичности
воды в период эвтрофикации**

Проведено биотестирование уровня генотоксичности образцов поверхностных вод из прибрежных участков оз. Севан (Личк, Лчашен, Норашен, Станция-22) в период цветения воды с применением тест-системы волосков тычиночных нитей растений, в частности традесканции (клон 02), и биоиндикации численности, биомассы и состава фитопланктона в водных пробах. Показано достоверное повышение уровня рецессивных точковых мутаций в водных образцах из Личка и Лчашена по сравнению с контролем. Анализ пространственного распределения фитопланктона по акватории оз. Севан, а также данных о численности, биомассе и составе его доминирующих видов в летний период показал интенсивное развитие цианобактерий и зеленых водорослей по всей акватории озера, что и вызвало цветение воды. В исследуемых мониторинговых пунктах Норашен и Личк наблюдалось максимальное количественное развитие цианобактерий с доминированием потенциально токсичных видов, свидетельствующее о наличии в озере процессов эвтрофикации.

**ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ Ռ. Մ. Հարությունյան, Ռ. Ե. Ավալյան,
Լ. Ռ. Համբարյան, Ա. Լ. Աթոյանց, Է. Ա. Աղաջանյան,
Է. Խ. Ղուկասյան, Բ. Կ. Գաբրիելյան**

**Սևանա լճի ափամերձ տարածքների մակերևութային ջրերի վիճակի
կենսացուցումը և ջրի գենոտոքսիկության մակարդակի
նուսումնասիրությունը էվտրոֆիկացիայի ժամանակ**

Կատարվել է գենոտոքսիկության մակարդակի բիոթեստավորում՝ օգտագործելով տրադեսկանցիայի (կլոն 02) ատեջաթելերի մազիկների թեստ-համակարգը և ֆիտոպլանկտոնի առատության կենսազանգվածի և բաղադրության բիոինդիկացիան Սևանա լճի ջրահավաք ավազաններից՝ Լիճք, Լճաշեն, Նորաշեն, Կայան-22 ջրի ծաղկման ժամանակաշրջանում: Ջրի ծաղկման շրջանում Լիճքի և Լճաշենի ջրային նմուշներում դիտվել է ռեցեսիվ կետային մուտացիաների մակարդակի զգալի աճ

համեմատած ստուգիչի հետ: Սկսնա լճի ջրային տարածքում ֆիտոպլանկտոնի տարածական բաշխման վերլուծությունը, նրա գերիշխող տեսակների առատության, կենսազանգվածի և կազմի վերաբերյալ տվյալները ցույց են տվել ցիանոբակտերիաների և կանաչ ջրիմուռների ինտենսիվ զարգացում լճի ողջ ջրային տարածքում, ինչը ջրի ծաղկման պատճառ է դարձել: Ուսումնասիրված Նորաշեն և Լիճք կետերում դիտվել է ցիանոբակտերիաների առավելագույն բնակական զարգացում պոտենցիալ թունավոր տեսակների գերակշռությամբ, ինչը բնութագրում է լճում էվտրոֆիկացման գործընթացների առկայությունը:

**Corresponding member NAS RA R. M. Aroutiounian, R. E. Avalyan,
L. R. Hambaryan, A. L. Atoyants, E. A. Agajhanyan,
E.Kh. Ghukasyan, B.K. Gabrielyan**

Bioindication of Surface Waters state at Ccoastal Areas of Lake Sevan and Study of Water Genotoxicity Level During Eutrophication

With the application of stamen hair mutations of *Tradescantia* (clone 02) biotesting was carried out on genotoxicity level and the estimates of phytoplankton abundance, biomass, and composition of lake Sevan water samples, taken from water points Lichk, Lchashen, Norashen, Station-22 in the period of water blooming were realized. A significant increase of the level of recessive point mutations in the water samples of Lichk and Lchashen during water blooming is revealed. Analysis of the spatial distribution of phytoplankton in the water of the lake Sevan, as well as data on the abundance, biomass and composition of its dominant species in the summer period, showed an intensive development of cyanobacteria and green algae throughout the entire water area of the lake, which caused the water to bloom. In the studied monitoring points Norashen and Lichk, the maximum quantitative development of cyanobacteria was observed with the dominance of potentially toxic species, which characterizes the presence of eutrophication processes in the lake.

Литература

1. Asatryan V., Stepanyan L., Hovsepyan A. et al. Environmental Monitoring and Assessment. 2022. P.194:757.
<https://link.springer.com/article/10.1007/s10661-022-10446-5>.
2. Hambaryan L., Khachikyan T., Ghukasyan E. – Limnology and Freshwater Biology. 2020. № 4. P. 662–664.
3. Габриелян Б. К. – Вестник Южного научного центра. 2016. Т. 12. № 2. С. 43–52. doi: 10.23885/2500-0640-2017-13-3-58-70
4. Крылов А. В., Айрапетян А. О. и др., – Зоологический журнал РАН. 2021. Т. 100. № 2. С. 147–158. doi.org/10.31857/S0044513420120053
5. Salmaso N., Morabito G., Buzzi F. et al. – Hydrobiologia. 2006. V. 563. P. 167–187. doi:10.1007/s10750-005-0003-1.
6. Campos C. F., Morelli S., De Campos Júnior E. O. et al. – J. Toxicol Environ Health. 2019. V. 82(13). P. 752–759.
7. Арутюнян Р. М., Авалян Р. Э., Атоянц А. Л. и др. – Доклады НАН РА. 2021. № 4. Т.121. С. 294–301.

8. Абакумов В. А. 1983. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. Гидрометеониздат. С. 78–86.
9. Ma T. H., Cabrera G. L., Cebulski-Wasilevska A. et al. – Mutation Research. 1994. V. 310. № 2. P. 211–220. doi: 0027-5107/94//S07.00.
10. Авалян Р. Э., Атоянц А. Л., Гамбарян Л. Р. и др. – Тр. Ин-та биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. 2022. Вып. 98(101). С. 26–37. doi: 10.47021/0320-3557-2022-26-37.
11. Асатрян В. Л., Гамбарян Л. Р., Гукасян Э. Х. В: Научные основы сохранения и восстановления природных ресурсов озера Севан. Ростов-на-Дону. Изд-во ИОНЦ РАН. 2022. С. 323–332.