

СТРУКТУРА ФИТОПЛАНКТОНА И СОДЕРЖАНИЕ МИКРОЦИСТИНОВ В ВЫСОКОЭВТРОФНОМ ОЗЕРЕ НЕРО¹

© 2011 г. О. В. Бабаназарова*, Р. Кармайер**, С. И. Сиделев*, Е. М. Александрина*,
Е. Г. Сахарова*

*Ярославский государственный университет
150057 Ярославль, проезд Матросова, 9

**Институт лимнологии
Академии наук Австрии
Австрия, Мондзее, Мондзеештрассе, 9 А-5310

Поступила в редакцию 22.12.2009 г.

Проанализированы результаты наблюдений ряда абиотических (прозрачность воды, освещенность, глубина, содержание биогенных элементов) и альгологических (содержание хлорофилла, численность и биомасса фитопланктона, содержание микроцистинов—токсина синезеленых водорослей) показателей оз. Неро по периодам исследований 1999–2004 и 2005–2007 гг. Показан значимый характер изменений данных показателей за последний период. Отмечен переход фитопланктона озера по “катастрофическому” типу к монодоминированию планктотрихетового комплекса синезеленых водорослей. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии впервые для оз. Неро определены концентрации в сестоне микроцистинов MC-LR и MC-RR. Подтверждено наличие этих типов микроцистинов в пробах с помощью метода масс-спектрометрии. Статистически значимая корреляция была получена между суммарными концентрациями микроцистинов и биомассой видов рода *Microcystis*, что свидетельствует о возможной токсичности представителей именно этого рода водорослей в оз. Неро.

Ключевые слова: ланктотрихетовый комплекс синезеленых водорослей, высокоэвтрофный водоем, микроцистины.

В исследованиях оз. Неро 1999–2003 гг. использование функциональной классификации планктонных водорослей позволило выдвинуть гипотезу о развитии фитопланктона открытой части озера к стадии доминирования планктотрихетового типа (тип S_1 по [30]) как заключительному этапу развития фитопланктоценоза в мелководных высокоэвтрофных водоемах, обогащенных органическим веществом (ОВ) [18].

В экологической классификации водорослей выделена 31 функциональная группа, характерная для водоемов разного типа [31]. Каждая состоит из комплекса совместно развивающихся видов с близкой морфологией, физиологическими потребностями к свету и биогенным веществам независимо от таксономической принадлежности. К планктотрихетовому (осцилляториевому) типу относится фитопланктон с доминированием тонких нитчатых безгетероцистных форм синезеленых водорослей *Pseudanabaena limnetica* (Lemm.) Gom, *Limnithrix redekei* (Van Goor) Meffert, *Planktothrix agardhii* Gom. Данная функциональная группа характери-

зуется устойчивостью к низкой освещенности, развивается в мелководных водоемах, обогащенных по ОВ, чувствительна к повышению проточности. В предыдущих исследованиях был определен генотоксический эффект воды оз. Неро и отмечено совпадение его проявления с сезонным нарастанием синезеленых водорослей [7]. Установленная динамика определила научный интерес к изучению содержания природных токсинов синезеленых водорослей в оз. Неро.

Появление и развитие синезеленых водорослей в водоемах, как правило, сопровождается выделением различных типов токсинов: гепатотоксинов, нейротоксинов, дерматотоксинов. Наиболее изученный гепатотоксин микроцистин способен наносить существенный вред здоровью как людей, так и животных [23]. Всемирная организация здравоохранения установила в 1997 г. предел в 1 мкг/л микроцистина-LR или эквивалента этого токсина в качестве предельно допустимой нормы содержания в питьевых водах [35]. Микроцистины продуцируются представителями родов *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix* и *Nostoc*. В Европе систематические исследования качественного и количественного состава наиболее распространенного гепатотоксина—микроцистина проводятся >15 лет.

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 09-04-01771-а) и Рособразования (тематический план НИР).

Микроцистины относятся к классу циклических пептидов и имеют общую форму цикла ($-D-Ala^{(1)}-X^{(2)}-D-MeAsp^{(3)}-Z^{(4)}-AddA^{(5)}-D-Glu^{(6)}-Mdha^{(7)}$), где X и Z – различные аминокислоты, $D-MeAsp$: 3-метиласпарагиновая кислота, $AddA$: 3-амино-9-метокси-2,6,8-триметил-10-фенил-4,6-декадиеновая кислота, $Mdha$: N-метилдегидроаланин [19]. В настоящее время описано >70 типов различных микроцистинов [19]. При цветении воды синезелеными водорослями могут формироваться как монодоминантные, так и полидоминантные фитопланктоценозы соответственно с разнообразием выраженного токсичного эффекта. Генотипическая вариабельность видов синезеленых водорослей весьма широка. Молекулярно-биологический анализ выявляет сосуществование токсичных и нетоксичных популяций синезеленых водорослей [25, 26]. Опасность “цветения” воды синезелеными водорослями в России известна с середины прошлого столетия, тем не менее, исследований природных токсинов в настоящее время практически нет, как и работ, касающихся биологии и экологии токсичных комплексов водорослей. Цель настоящего исследования – провести сравнительный анализ ряда абиотических параметров, структуры фитопланктона за десятилетний период наблюдений и оценить наличие микроцистинов в высокоэвтрофном оз. Неро.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оз. Неро расположено в России в Верхнем Поволжье между $57^{\circ}06' - 57^{\circ}12'$ с.ш. и $39^{\circ}21' - 39^{\circ}30'$ в.д. Это самое большое озеро Ярославской обл. ($S \sim 58 \text{ км}^2$). Озеро мелководное (средняя глубина 1.6, максимальная 4.7 м). Водоем сформировался в конце среднего плейстоцена ~150000 лет назад, в период деградации московского ледника. Около 5000 лет назад с конца бореального – начала атлантического периодов водоем характеризуется комплексом эвтрофных организмов [3]. Оз. Неро – проточное: в него впадает >20 притоков, самый крупный из которых – р. Сара, вытекает из озера р. Векса Ростовская. Уровень воды в озере зарегулирован плотиной на выходе в р. Вексу – приток р. Которосли, воды которой служат источником питьевой воды целого ряда населенных пунктов, включая до начала 2009 г. и г. Ярославль. Площадь водосбора 1256.2 км^2 , коэффициент условного водообмена составляет 1.9 [2].

По химическому составу вод оз. Неро отличается от большинства озер Ярославского Поволжья повышенным количеством растворенных минеральных компонентов с минерализацией 277–1310 мг/л [2, 3]. Дно озера покрыто мощным слоем сапропеля толщиной в среднем 4.9 м, который является мощным аккумулятором биогенных элементов. Северная и центральная части акватории озера относятся к “фитопланктонному”, а южная часть – к “макрофитному” типу [6]. По содержанию хлорофилла

[12], биомассе [6] и первичной продукции фитопланктона [10] в конце 80-х гг. XX в. озеро относилось к водоемам высокоэвтрофного типа [16]. В исследованиях начала XXI в. по большинству параметров (общий фосфор $P_{\text{общ}}$, содержание Хл “а” в сестоне и донных отложениях, биомасса фитопланктона, интенсивность фотосинтеза, показатели структуры зоопланктона) трофический статус озера оценивался как переходный между эвтрофным и гипертрофным [14].

Пробы воды отбирались ежемесячно (март, май–октябрь) из поверхностного слоя водной толщи в северной части оз. Неро, прилегающей к г. Ростову Великому по общепринятой сетке станций 3–5, 7, 8 (рис.1) [1, 6]. Анализировались осредненные результаты за июнь–сентябрь 1999–2004, 2005–2007 гг. по абиотическим и альгологическим показателям. В 2008 г. также впервые проводилось определение содержания микроцистинов в сестоне ежемесячно на ст. 5 и интегрировано со станций 3, 4, 7, 8 с июня по сентябрь. Пространственное распределение токсинов изучалось в сентябре на пяти станциях, также в этот период была проанализирована и сетная проба планктона. Анализированный период июнь–сентябрь отвечает времени наибольшего обилия фитопланктона в оз. Неро с доминированием планктотрихетового комплекса водорослей.

Растворенный реактивный Р определяли колориметрическим методом Дениже–Аткинса, $P_{\text{общ}}$ находили после переведения органических компонентов в неорганические формы путем нагревания с концентрированной серной кислотой и последующим применением выше указанного метода. Аммонийный и нитратный N определяли с применением соответственно реактива Несслера и сульфифенолового реактива методом колориметрирования [15]. Условия освещенности оценивали с использованием диска Секки и по отношению $Z_{\text{eu}}/Z_{\text{mix}}$ – глубины эвфотической зоны, рассчитанной как утроенная прозрачность Z_{eu} , к глубине перемешиваемого слоя Z_{mix} , последняя в силу мелководности озера приравнивалась к глубине станции отбора проб [29]. Фитопланктон концентрировали осадочным методом из объема 0.5 л. Подсчет и определение водорослей проводили в камере Нажотта, приравнивая форму клеток к известным геометрическим фигурам [21]. Биомассу водорослей определяли счетно-объемным методом [4]. Для определения Хл “а” использовали стандартный спектрофотометрический метод [11, 32]. Концентрацию Хл “а” рассчитывали по уравнению Джеффри–Хамфри [22].

Анализ содержания микроцистинов в сестоне проводили методами высокоэффективной жидкостной хроматографии в Институте лимнологии Академии наук Австрии по лицензионным методикам и стандартам ISO 20179:2005. Пробы сестона концентрировались на стекловолоконистые фильтры GF/A непосредственно после отбора проб во-

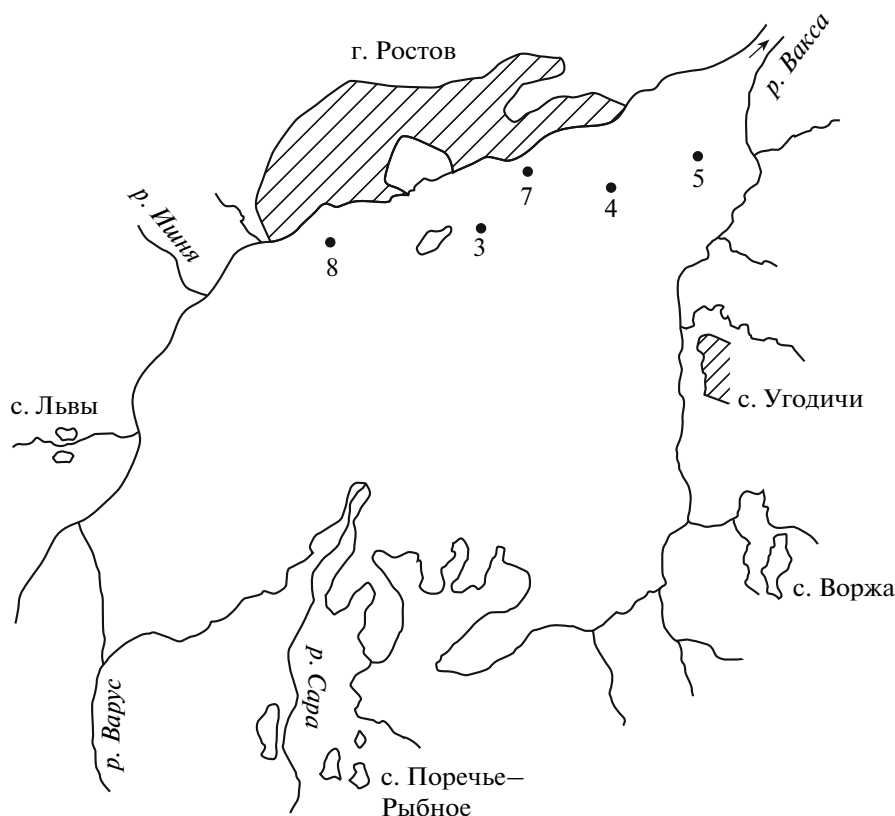


Рис. 1. Карта-схема расположения станций на оз. Неро.

ды. Фильтры сушили при температуре 50°C и затем хранили замороженными в холодильнике при температуре –18°C. Для проведения анализа сетной пробы было профильтровано ~20 л воды оз. Неро (ст. 3) и сконцентрировано до 250 мл при помощи планктонной сети из капронового сита № 77. Экстракцию микроцистинов проводили в 75%-ном метаноле [20]. Анализ микроцистинов проводили методом высокочувствительной жидкостной хроматографии HPLC с использованием фотодиодного детектора HPLC-DAD [24, 27]. Ультрафиолетовые спектры были получены от 200 до 300 нм, спектры и время удержания использовались для идентификации микроцистинов [27]. Стандарты микроцистинов были получены из центра Cyanobiotec GmbH (Германия). Дополнительно чистая фракция HPLC отбиралась и анализировалась методом позитивной ион-масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) [25]. Для обнаружения различий между средними значениями двух выборок применялся *t*-критерий Стьюдента при условии нормального распределения и статистически незначимого отличия дисперсий сравниваемых показателей. При несоблюдении данного условия использовался ранговый *U*-критерий Манна–Уитни. Для выявления линейных зависимостей между некоторыми параметрами применялся корреляционный ана-

лиз с использованием коэффициента корреляции Пирсона [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Был проведен анализ изменений абиотических и альгологических показателей в оз. Неро за десятилетний срок исследований. За 1999–2004 и 2005–2007 гг. зафиксировано статистически значимое снижение средних значений содержания аммонийного и повышение нитратного N, $P_{\text{мин}}$ и $P_{\text{общ}}$ (табл. 1). Значимо уменьшилась средняя прозрачность воды в последний период на фоне повышения уровня воды в водоеме. Коэффициенты вариации уменьшились по всем показателям. Данные 2008 г. по концентрациям аммонийного N близки данным 1999–2004 гг., содержание $P_{\text{мин}}$ еще более возросло относительно 2005–2007 гг., остальные показатели укладываются в диапазон значений, характерных для 2005–2007 гг. (табл. 1).

Статистически значимо и сопряженно с абиотическими параметрами изменились и показатели развития фитопланктона озера в указанные периоды исследований (табл. 2). Отмечаемый спад в содержании Хл “а” в 1999–2004 гг. [11, 12] сменился новым подъемом. В последние 3–4 года достоверно возросли как численность, так и биомасса фито-

Таблица 1. Содержание биогенных веществ, мг/л; прозрачность воды по диску Секки S , м; глубина H , м; отношение глубины эвфотной зоны Z_{eu} к глубине перемешивания Z_{mix} в оз. Неро в межгодовой динамике (здесь и в табл. 2 числитель – среднее значение \pm ошибка среднего, знаменатель – пределы варьирования; в скобках – коэффициент вариации, %)

| Период, годы (VI–IX мес.) | N-NH ₄ ⁺ | N-NO ₃ ⁻ | P-PO ₄ ³⁻ | P _{общ} | S | H | Z_{eu}/Z_{mix} |
|---------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|
| 1999–2004 | $\frac{0.166 \pm 0.02}{0.02-0.29}$ (77) | $\frac{0.056 \pm 0.006}{0.0003-0.17}$ (63) | $\frac{0.015 \pm 0.003}{0.0001-0.07}$ (127) | $\frac{0.089 \pm 0.02}{0.017-0.176}$ (65) | $\frac{0.400 \pm 0.01}{0.2-0.6}$ (23) | $\frac{1.37 \pm 0.4}{1.08-1.88}$ (15) | $\frac{0.87 \pm 0.05}{0.55-1.64}$ (26) |
| 2005–2007 | $\frac{0.090 \pm 0.01}{0.03-0.21}$ (52) | $\frac{0.130 \pm 0.016}{0.045-0.24}$ (39) | $\frac{0.030-0.009}{0.004-0.085}$ (95) | $\frac{0.130 \pm 0.012}{0.06-0.19}$ (31) | $\frac{0.6330 \pm 0.02}{0.28-0.5}$ (17) | $\frac{1.48 \pm 0.3}{1.30-1.68}$ (7) | $\frac{0.67 \pm 0.04}{0.6-1.1}$ (24) |
| 2008 | $\frac{0.155 \pm 0.04}{0.04-0.36}$ (72) | $\frac{0.103 \pm 0.023}{0.04-0.18}$ (54) | $\frac{0.060 \pm 0.02}{0.01-0.15}$ (82) | $\frac{0.122 \pm 0.024}{0.08-0.24}$ (49) | $\frac{0.350 \pm 0.02}{0.3-0.4}$ (14) | $\frac{1.51 \pm 0.2}{1.43-1.56}$ (3) | $\frac{0.67 \pm 0.05}{0.6-0.9}$ (14) |

Таблица 2. Содержание Хл “а”, мкг/л; численность N , млн. кл/л; общая биомасса $B_{общ}$, мг/л, фитопланктона; вклад в общую биомассу синезеленых $B_{син}$, %, планктотрихетового фитопланктона B_{S1} , %, в оз. Неро в межгодовой динамике

| Период, годы (VI–IX мес.) | Хл “а” | N | $B_{общ}$ | $B_{син}$ | B_{S1} |
|---------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| 1999–2004 | $\frac{63.5 \pm 4.8}{9.7-181.8}$ (55) | $\frac{584 \pm 61.2}{33.04-1697.9}$ (70) | $\frac{18.6 \pm 1.5}{1.68-38.6}$ (54) | $\frac{57.0 \pm 3.6}{5-93.5}$ (42) | $\frac{34.8 \pm 2.8}{0.8-62.5}$ (52) |
| 2005–2007 | $\frac{109.7 \pm 10}{50.2-170.5}$ (38) | $\frac{832.9 \pm 140.2}{282.1-1636.6}$ (58) | $\frac{30.7 \pm 5.3}{7.2-63}$ (60) | $\frac{76.0 \pm 4.0}{54-93}$ (18) | $\frac{62.3 \pm 4.6}{41.4-89}$ (26) |
| 2008 | $\frac{96.7 \pm 11}{50-174.4}$ (40) | $\frac{1024.3 \pm 109.5}{696.3-1339.8}$ (26) | $\frac{36.5 \pm 6.1}{23.7-61.4}$ (36) | $\frac{72.5 \pm 6.9}{32.6-95.6}$ (29) | $\frac{60.8 \pm 7.3}{28.6-89}$ (36) |

планктона (табл. 2). Значимое увеличение вклада синезеленых водорослей произошло в основном за счет повышения биомассы водорослей типа $S_{1от}$ с 35 до 62%. Переход имел характер скачкообразного

увеличения вклада планктотрихетового комплекса в общую биомассу фитопланктона с 2005 г.

Охарактеризовав долговременные изменения, остановимся более подробно на динамике показателей в 2008 г. Биомасса фитопланктона летом 2008 г. характеризовалась высокими средними значениями (36.5 мг/л) с постепенным нарастанием от июня к августу и резким подъемом в сентябре (рис. 2). В составе сообщества преобладали Cyanophyta (32–86% общей биомассы фитопланктона), основную часть составляли водоросли планктотрихетового комплекса – 29.1–64.4% общей биомассы (*Limnotherix redekei* 22.2–30.2%, *Pseudanabaena limnetica* 3.7–19.2, *Planktothrix agardhii* 2–17.3 и *Lyngbya limnetica* Lemm. 0.4–1.3%). Доминировала в летнем планктоне 2008 г. *Limnotherix redekei*, возможно, что обилие этой формы было выше. Сложность точной идентификации тонких нитчатых синезеленых методами светового микроскопирования известна, стабильность фенотипических характеристик и их использование в таксономии широко дискутируется [17, 33]. В исследованиях авторов данной статьи возникли проблемы при идентификации субдоминанта сообщества *Pseudanabaena limnetica*. Наряду с формой, отвечающей диагнозу, к этому виду отно-

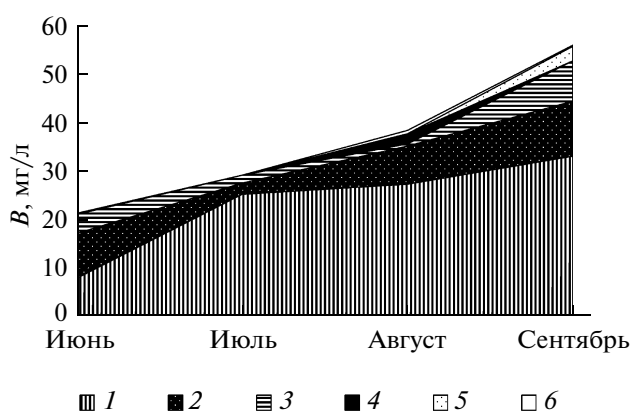


Рис. 2. Динамика развития фитопланктона оз. Неро летом 2008 г. 1 – синезеленые, 2 – диатомовые, 3 – зеленые, 4 – криптофитовые, 5 – динофитовые, 6 – эвгленовые водоросли.

Таблица 3. Суммарное содержание микроцистинов RR и LR в сестоне и биомасса водорослей $B_{\text{microcystis}}$ – видов рода *Microcystis*, $B_{\text{planktothrix-agardhii}}$ – *Planktothrix agardhii*)

| Дата | Станция | Микроцистины (RR + LR), мкг/л | $B_{\text{общ}}$ | $B_{\text{син}}$ | $B_{\text{microcystis}}$ | $B_{\text{planktothrix-agardhii}}$ |
|------------|------------|----------------------------------|------------------|------------------|--------------------------|------------------------------------|
| | | | мг/л | | | |
| 13.09.2008 | 3 | 12.91* | 1393.00* | 819.00* | 16.93* | 27.71* |
| 19.06.2008 | 5 | 1.13 | 30.90 | 10.10 | 0.34 | 0.83 |
| 13.09.2008 | 3 | 1.70 | 56.30 | 33.20 | 1.56 | 4.90 |
| 13.09.2008 | 4 | 0.62 | 44.64 | 28.92 | 0.71 | 5.09 |
| 13.09.2008 | 5 | 0.70 | 61.42 | 37.85 | 0.81 | 5.90 |
| 28.07.2008 | 5 | 1.92 | 37.98 | 32.70 | 2.01 | 6.53 |
| 20.08.2008 | 5 | 1.70 | 48.28 | 33.38 | 1.77 | 3.29 |
| 19.06.2008 | 3, 4, 7, 8 | 0.63 | 23.68 | 7.71 | 0.14 | 0.64 |
| 28.07.2008 | 3, 4, 7, 8 | 1.07 | 29.05 | 25.00 | 0.79 | 5.02 |
| 20.08.2008 | 3, 4, 7, 8 | 0.55 | 36.91 | 25.53 | 0.85 | 2.53 |

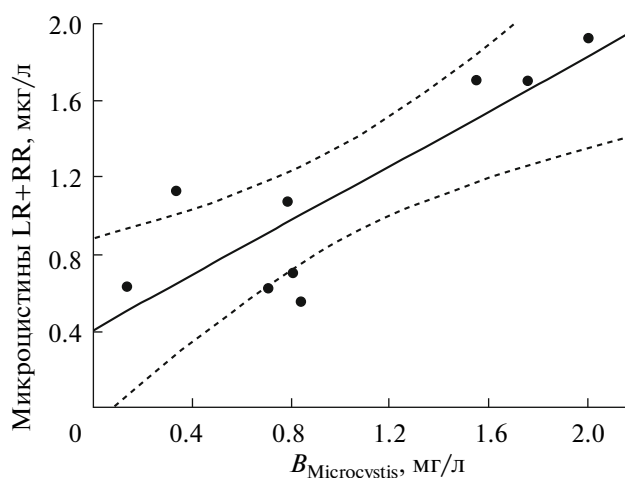
* – значения показателей в сетной пробе.

сили форму с мало выраженными перетяжками между клетками и ополосцирующими грануляциями внутри клеток, весьма близкую к *Limnothrix redekei*, но без газовых вакуолей. Возник вопрос, не относятся ли эти формы к одному виду. При выполнении работ по определению качества воды, подаваемой на Южную водопроводную станцию г. Ярославля из р. Которосли, отбирая и фиксируя пробу воды на входе и выходе трубы водовода, наблюдали удивительный феномен. Большая часть фитопланктона на входе состояла из типичных форм *Limnothrix redekei*, тогда как на выходе это уже была форма, относимая авторами данной статьи к *Pseudanabaena limnetica* с грануляциями. Труба водовода имеет протяженность 2.5 км, вода в ней находится ~1 ч. Видимо, изменение физических условий, в том числе освещенности, вызвало изменение морфологии трихомов. Мнение, что это один вид, высказывала и О.А. Ляшенко, работавшая на оз. Неро в 1980-х гг. В то же время не исключено, что это несколько видов, близких по своей морфологии и жизненным стратегиям; одно не вызывает сомнения – их принадлежность к планктотрихетовому комплексу S_1 согласно функциональной классификации [30]. На уровне субдоминанта (2.7–17.3%) развивалась *Planktothrix agardhii* (тип S_1), с июня по сентябрь биомасса вида составляла 0.84–6.5, в сетной пробе – 27.7 мг/л (табл. 3). Летом 2008 г. субдоминировала азотфиксирующая синезеленая водоросль *Aphanizomenon flos-aquae* f. *gracile* (Lemm.) Elenk. (4–13.5%), роль видов из рода *Lyngbya* была незначительна.

Доля видов рода *Microcystis* в общей биомассе фитопланктона была невелика (0.5–5.7% общей биомассы фитопланктона), изменяясь в сезонной динамике от 0.14 до 3.45 мг/л, наибольшее количество было отмечено в июне на ст. 4. В сентябре (пе-

риод более полного обследования на содержание микроцистинов) биомасса по станциям варьировала от 0.71 до 1.56 мг/л. Среди представителей рода в этот период в среднем по трем станциям преобладали *Microcystis wesenbergii* (Komarek) (31.2%), *Microcystis smithii* Komarek et. Anagnostidis (19.2), *Microcystis viridis* (A. Braun in Rabenhorst) Lemmermann (19.3), *Microcystis aeruginosa* Kutz. (16), *Microcystis flos-aquae* (Wittrock) Kirchner (14%). В летний период преимущественно развивались последние две формы водорослей.

Среди представителей других отделов водорослей в структуре сообщества значительную долю в биомассе имели *Bacillariophyta* (с максимумом 39.3% в июне и минимумом 8% в июле) (рис. 3). Наибольший вклад в биомассу давала водоросль

**Рис. 3.** Связь суммарной концентрации в сестоне микроцистинов LR + RR и $B_{\text{microcystis}}$ в оз. Неро.

Aulacoseira ambigua (Grun.) Sim. (7.5–21.4%), в некоторых пробах заметное количество составляла бентосная водоросль *Fragilaria construens* var. *binodis* (Ehr.) Grun. (до 5.3%). Участие Chlorophyta было низким (2.6–16%) с более высоким вкладом весной и осенью (рис. 1). Наибольшего обилия достигала водоросль *Scenedesmus communis* Hegewald. — до 10.3% в сентябре, в июне *Pediastrum duplex* Meyen var. *duplex* развивался до 6.4% общей биомассы фитопланктона. Вклад других отделов водорослей был незначителен, можно отметить только некоторый подъем Струтоphyta в августе и Dinophyta в сентябре. В целом, динамика развития фитопланктона в исследуемый период 2008 г. соответствовала тенденции последних лет наблюдений — нарастание количественных показателей и преобладание планктотрихетового типа в структуре фитопланктона.

Количество микроцистинов в анализируемых пробах оказалось невелико (табл. 3). Предполагаемые микроцистины были идентифицированы при времени задержания 14.3 и 19.7 мин и показали высокое соответствие при сравнении со стандартами MC-RR (14.3 мин) и MC-LR (19.7 мин). Относительно стандартных кривых, построенных для MC-RR и MC-LR, концентрации этих цианотоксинов в анализируемом экстракте составляли 198.33 и 124.38 нг соответственно. При пересчете на 1 л воды это составило в сумме 12.9 мкг/л сетной пробы фитопланктона. MALDI-TOF MS анализ выделенных пиков фракций HPLC по времени задержания 14.3 и 19.7 мин показал наличие M + H 1038 (MC-RR) и M + H 995 (MC-LR) соответственно, подтвердив результаты высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Были рассчитаны зависимости между обнаруженными концентрациями токсинов и биомассами водорослей разного таксономического уровня (табл. 3). При вычислении коэффициента корреляции значения для сконцентрированной сетной пробы были исключены, поскольку нарушали однородность выборки, будучи выбросами, и искусственно завышали тесноту связи. С общей биомассой водорослей, биомассой синезеленых водорослей и биомассой *Planktothrix agardhii* корреляции были незначимы. Статистически значимая связь ($r = 0.84$, $p < 0.05$, $n = 9$) была получена между суммарными концентрациями микроцистинов и биомассой видов рода *Microcystis* (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Стабильность средних количественных показателей развития фитопланктона была характерной особенностью фитопланктоценоза оз. Неро с конца 1980-х гг. до 2004 г. [1, 6, 18]. По количественному развитию и встречаемости форм в течение года как в 1987–1989 гг., так и в 1999–2004 гг. сообщество определяли *Limnothrix redekei*, *Pseudanabaena lim-*

netica, *Aphanizomenon flos-aquae* f. *gracile*, *Aulacoseira ambigua*, *Scenedesmus communis*, виды родов *Microcystis* и *Anabaena*. В наблюдениях 1999–2004 гг. авторы отмечали упрощение структуры фитопланктона за счет выпадения с доминирующих позиций зеленых водорослей родов *Pediastrum*, *Coelastrum*, *Golenkinia*, *Scenedesmus*, характерных для водоема в 1987–1989 гг. [18]. В исследованиях 2005–2006 гг. отмечено уменьшение относительной роли в фитопланктоне видов из родов *Microcystis*, *Aphanizomenon*, *Anabaena* по сравнению с концом 1980-х гг. и периодом 1999–2004 гг. [9].

Статистически значимое увеличение содержания биогенных веществ (за исключением аммонийного N), уменьшение величины евфотической зоны в 2005–2007 гг. свидетельствуют об изменении абиотических параметров развития фитопланктона озера (табл. 1). Возрастание численности, биомассы фитопланктона, содержания Хл “а” в сестоне в этот период сопровождалось резким увеличением вклада как характерных для озера планктотрихетовых форм *Limnothrix redekei*, *Pseudanabaena limnetica*, так и *Planktothrix agardhii*, отмечаемой ранее как сопутствующая форма.

Можно выделить 2005 г., как переломный для межгодовой динамики абиотических показателей и структуры фитопланктона оз. Неро. Возможным запускающим фактором могли быть заторы из высшей водной растительности, принесенной ветром в приплотинную часть р. Вексы весной–летом 2005 и 2006 гг. С целью предотвращения попадания массы высших водных растений в р. Вексу, а затем в р. Которосль плотина на выходе из озера была закрыта. Работал лишь санитарный шлюз, и уровень воды в озере поддерживался на 10–20 см выше обычного.

Такая практика продолжалась и в последующие годы наблюдений (2007–2008 гг.). Уменьшилась проточность, произошло повышение удерживающей способности озера по отношению к биогенным элементам, что и было зафиксировано в виде резкого возрастания концентраций N и P (табл. 1). Из литературы известно, что высокие их концентрации и снижение проточности — факторы, благоприятствующие развитию планктотрихетового комплекса синезеленых водорослей [30]. Соответственно, уменьшение водообмена и увеличение содержания биогенных веществ в последний период наблюдений могло способствовать резкому возрастанию вклада водорослей типа S_1 в общую биомассу фитопланктона. Точно установить фактор, приведший к перестройке сообщества, в рамках настоящего исследования сложно. В то же время с уверенностью можно свидетельствовать, что двукратное увеличение вклада планктотрихетового комплекса синезеленых в общую биомассу водорослей может быть рассмотрено как преобразование структуры фитопланктона по “катастрофическому” типу.

В рамках теории самоорганизации катастрофа — это скачкообразное изменение, возникающее при изменении внешних условий в открытой неравновесной системе [34]. Характерные черты такого “катастрофического” перехода рассмотрены для осцилляториевых (планктотрихетовых) озер в работе [31]. Анализировались данные по 55 немецким озерам (не глубже 3 м) для определения взаимосвязей между биогенными элементами, условиями освещенности и доминированием Oscillatoriaceae. Данные собирались в июле–августе, для некоторых озер рассматривалось несколько лет исследований, соответственно, 118 рядов наблюдений было проанализировано. Относительное обилие Oscillatoriaceae оценивалось как процентное содержание в общей биомассе фитопланктона. В [31] на основе данных наблюдений была построена модель, показывающая, что механизм конкурентного преимущества планктотрихетового комплекса синезеленых водорослей перед другими альгогруппировками реализуется через создание неблагоприятных световых условий в процессе массового развития представителей комплекса. Другие светолюбивые группы водорослей, такие как зеленые хлорококковые и синезеленые из родов *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Anabaena*, проигрывают в конкурентной борьбе за световой ресурс. При этом сам комплекс хорошо адаптирован к низкой освещенности как за счет нитчатой формы строения тела (высокое отношение площади к объему клетки), так и за счет наличия эффективного механизма “перехвата” солнечной энергии — наличия хроматической адаптации [16]. В итоге при одинаковом содержании Р и сходных биомассах в озерах с преобладанием планктотрихетового типа фитопланктона эффект затенения на единицу Р или биомассы значительно выше, чем в озерах с доминированием других альгогруппировок [31].

Ранее было установлена связь между снижением освещенности и преимущественным развитием планктотрихетового комплекса в оз. Неро [18]. В наблюдениях по хорошо изученному озеру осцилляториевого типа — оз. Велуве-Мер (Голландия) также показано, что низкая освещенность — основной механизм, определяющий конкурентное преимущество нитчатых синезеленых водорослей в структуре его фитопланктона [28]. Резкого снижения в развитии синезеленых в водоеме добились при ограничении поступления Р. В мелководном оз. Veluwemeer снижение ниже 50% вклада рода *Planktothrix* в общую биомассу водорослей произошло при значениях $P_{\text{общ}} \sim 0.12$ мг/л и показателю $Z_{\text{eu}}/Z_{\text{mix}}$, равном 0.5. В исследованиях авторы наблюдали обратную тенденцию увеличения вклада планктотрихетового типа водорослей в структуру фитопланктона при содержании $P_{\text{общ}}$, равном 0.13 мг/л, и $Z_{\text{eu}}/Z_{\text{mix}} = 0.67$. Близость значений как $P_{\text{общ}}$, так и показателя освещенности в наблюдениях на оз. Veluwemeer и в исследованиях авторов данной статьи может свидетельствовать о важности этих парамет-

ров как условий скачкообразного перехода в структуре фитопланктона мелководных высокоэвтрофных водоемов.

Летняя динамика фитопланктона в 2008 г. соответствовала характеру сезонной сукцессии последних лет наблюдений с преобладанием планктотрихетового фитопланктона (табл. 2) и развитием типичных субдоминантов летнего планктона: *Aphanizomenon flos-aquae* f. *gracile*, *Aulacoseira ambigua* [9, 18].

В наблюдениях 2006–2007 гг. был определен генотоксический эффект воды оз. Неро и отмечено совпадение его проявления с сезонным нарастанием синезеленых водорослей [7]. Изначально авторы связывали проявление генотоксического эффекта воды оз. Неро с увеличением с 2005 г. развития *Planktothrix agardhii*, потенциальная токсичность этого вида по продукции микроцистина известна [25]. Корреляционный анализ показал значимые связи содержания микроцистинов с биомассой видов рода *Microcystis* и отсутствие таковых с биомассами *Planktothrix agardhii*, синезеленых водорослей и общей биомассой фитопланктона.

Соответственно, можно выдвинуть предположение о токсичности видов рода *Microcystis* оз. Неро. В опубликованных ранее работах было отмечено значительное уменьшение вклада представителей данного рода в суммарную биомассу фитопланктона [18]. За последние 5 лет произошло дальнейшее снижение их удельного участия в летнем фитопланктоне с 7–15.3 (1999–2004 гг.) до 2.4–4.6% (2005–2008 гг.) по максимальным годовым значениям. Тем не менее, при наличии стонно-нагонных явлений возможна концентрация водорослей рода *Microcystis* в опасных количествах в оз. Неро, соединенном с гидрографической сетью рек — источников питьевого водоснабжения для поселков и городов Ярославской обл. Учитывая широкое распространение этих водорослей и массовое их развитие до состояния “цветения” в реках, озерах и водохранилищах, используемых в рекреационных целях и для источников питьевого водоснабжения, необходимо шире изучать наличие токсинов синезеленых водорослей и генотипов, отвечающих за их продуцирование как в гидробиологических исследованиях, так и в практике служб водоснабжения.

ВЫВОДЫ

Выявлены существенные изменения экосистемы оз. Неро по ряду абиотических и альгологических показателей, которые произошли с 2005 г. Отмечено возрастание концентраций N и P, ухудшение подводного светового режима, сопряженное с этим увеличение количественных характеристик фитопланктона озера.

Отмечены резкие изменения в структуре планктонного альгоценоза. Произошло значимое увели-

чение вклада синезеленых водорослей за счет возрастания биомассы планктотрихетового комплекса по “катастрофическому” типу. Результаты анализа летнего фитопланктона в 2008 г. подтверждают структурные изменения фитопланктоценоза за 2005–2007 гг.

Впервые для оз. Неро определены концентрации в sestone природных токсинов синезеленых водорослей – микроцистинов LR и RR. Статистически значимая корреляция была получена между суммарными концентрациями микроцистинов и биомассой видов рода *Microcystis*, что свидетельствует о возможной токсичности представителей именно этого рода в оз. Неро.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бабаназарова О.В.* Структура фитопланктона и динамика содержания биогенных элементов в озере Неро // *Биология внутренних вод.* 2003. № 1. С. 33–39.
2. *Бикбулатов Э.С., Бикбулатова Е.М., Литвинов А.С., Поддубный С.А.* Гидрология и гидрохимия озера Неро. Рыбинск: Рыбинский Дом печати, 2003. 190 с.
3. *Гунова В.С., Лефлат О.Н.* Четвертичные отложения и палеогеография озера Неро // *Экологические проблемы озера Неро и городских водных объектов.* Ростов Великий, 2002. С. 17–30.
4. *Кузьмин Г.В.* Фитопланктон. Видовой состав и обилие // *Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов.* М.: Наука, 1975. С. 73–87.
5. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
6. *Ляшенко О.А.* Фитопланктон оз. Неро // *Современное состояние экосистемы озера Неро.* Рыбинск: ИБВВ РАН, 1991. С. 10–32.
7. *Прохорова И.М., Фомичева А.Н., Ковалева М.И., Бабаназарова О.В.* Пространственная и временная динамика мутагенной активности воды оз. Неро // *Биология внутренних вод.* 2008. Прил. 2. С. 17–25.
8. *Сиделев С.И., Бабаназарова О.В.* Анализ связей пигментных и структурных характеристик фитопланктона высокоэвтрофного озера // *Журн. Сибирского федерального ун-та. Биология.* 2008. № 2. С. 153–168.
9. *Сиделев С.И., Бабаназарова О.В.* Структура фитопланктона высокоэвтрофного озера Неро // *Изв. Оренбургского гос. аграрного ун-та.* 2008. № 4. С. 187–190.
10. *Сигарева Л.Е.* Первичная продукция фитопланктона озера Неро // *Современное состояние экосистемы оз. Неро.* Рыбинск: ИБВВ РАН, 1991. С. 53–61.
11. *Сигарева Л.Е.* Спектрофотометрический метод определения пигментов фитопланктона в смешанном экстракте // *Методические вопросы изучения первичной продукции планктона внутренних водоемов.* СПб.: Гидрометеиздат, 1993. С. 75–85.
12. *Сигарева Л.Е., Ляшенко О.А.* Пигментные характеристики фитопланктона озера Неро // *Современное состояние экосистемы оз. Неро.* Рыбинск: ИБВВ РАН, 1991. С. 32–53.
13. *Сигарева Л.Е., Сиделев С.И., Бабаназарова О.В.* Растительные пигменты в водной толще // *Состояние экосистемы озера Неро в начале XXI века.* М.: Наука, 2008. С. 118–130.
14. *Состояние экосистемы озера Неро в начале XXI века.* М.: Наука, 2008. 406 с.
15. *Строганов Н.С., Бузинова Н.С.* Практическое руководство по гидрохимии. М.: Изд-во МГУ, 1980. 196 с.
16. *Трифенова И.С.* Экология и сукцессия озерного фитопланктона. Л.: Наука, 1990. 184 с.
17. *Anagnostidis K., Komarek J.* Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3 – Oscillatoriales // *Arch. Hydrobiol.* 1988. Suppl. 80. H. 1–4. S. 327–472.
18. *Babanazarova O.V., Lyashenko O.A.* Inferring long-term changes in the physical-chemical environment of the shallow, enriched lake Nero from statistical and functional analyses of its phytoplankton // *J. Plankton Res.* 2007. V. 29. № 9. P. 747–756.
19. *Carmichael W.W., Beasley V., Bunner D.L. et al.* Naming cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (blue-green algae) // *Toxicon.* 1988. V. 26. P. 971–973.
20. *Fastner J., Erhard M., Carmichael W.W. et al.* Characterization and diversity of microcystins in natural blooms and strains of the genera *Microcystis* and *Planktothrix* from German freshwaters // *Arch. Hydrobiol.* 1999. B. 145. S. 147–163.
21. *Hillebrand H., Durselen C.-D., Kirschtel D. et al.* Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae // *J. Phycol.* 1999. V. 35. P. 403–424.
22. *Jeffrey S.W., Humphrey G.F.* New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c₁ and c₂ in higher plants algae and natural phytoplankton // *Biochem. Phys. Pflanz.* 1975. B. 167. S. 191–194.
23. *Kuiper-Goodman T., Falconer I., Fitzgerald J.* Human health aspects // *Toxic Cyanobacteria in Water. A guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management.* London, 1999. P. 113–153.
24. *Kurmayer R., Christiansen G., Chorus I.* The abundance of microcystin-producing genotypes correlates positively with colony size in *Microcystis* and determines its microcystins net production in Lake Wannsee // *Applied Environ. Microbiology.* 2003. V. 69. № 2. P. 787–795.
25. *Kurmayer R., Christiansen G., Fastner J., Borner T.* Abundance of active and inactive microcystin genotypes in populations of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. // *Environ. Microbiology.* 2004. V. 6. № 8. P. 831–841.
26. *Kurmayer R., Dittmann E., Fastner J., Chorus I.* Diversity of microcystin genes within a population of the toxic cyanobacterium *Microcystis* spp. in lake Wannsee (Berlin, Germany) // *Microbiol. Ecol.* 2002. V. 43. P. 107–118.
27. *Lawton L.A., Edwards C., Codd G.A.* Extraction and high-performance liquid chromatographic method for the determination of microcystins in raw and treated waters // *Analyst.* 1994. V. 119. P. 1525–1530.
28. *Mur L.R., Schreus H., Visser P.* How to control undesirable cyanobacteria dominance // *Proc. the Fifth Intern. Conf. on the Conservation and Management of Lakes.* Stresa, 1993. P. 565–569.
29. *Reynolds C.S.* The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge: Cambridge Univer. Press, 1984. 384 p.
30. *Reynolds C.S., Huszar V., Kruk C. et al.* Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton // *J. Plankton Res.* 2002. V. 24. № 5. P. 417–428.

31. *Scheffer M., Rinaldi S., Gragnani A. et al.* On the dominance of filamentous cyanobacteria in shallow, turbid lakes // *Ecology*. 1997. V. 78. № 1. P. 272–282.
32. SCOR-UNESCO Working Group № 17. Determination of photosynthetic pigments in sea water // *Monographs on oceanographic methodology*. Paris: UNESCO, 1966. P. 9–18.
33. *Suda S., Watanabe M., Otsuka S. et al.* Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatorioid cyanobacteria // *Intern. J. Systematic Evolutionary Microbiology*. 2002. V. 52. P. 1577–1959.
34. *Toha J., Soto A., Contreras S.* Catastrophe theory and logistic growth equation // *Studia Biophysica*. 1981. №. 83. P. 53–55.
35. World Health Organization: Guidelines for Drinking-water Quality. Health Criteria and other supporting information. Geneva: World Health Organization, 1998. 273 p.