

УДК 574.583 + 581.526.325.2

Т. М. Михеева<sup>1</sup>, П. А. Митрахович<sup>1</sup>, О. И. Белых<sup>2</sup>,  
Е. Г. Сороковикова<sup>2</sup>, В. М. Самойленко<sup>1</sup>, Р. З. Ковалевская<sup>1</sup>,  
Н. В. Дубко<sup>1</sup>, Е. В. Лукьянова<sup>1</sup>, А. В. Кузьмин<sup>2</sup>,  
Г. А. Федорова<sup>2</sup>, З. К. Карташевич<sup>1</sup>

**ФИТОПЛАНКТОН КАК ИНДИКАТОР ИЗМЕНЕНИЯ  
ТРОФИЧЕСКОГО СТАТУСА И КАЧЕСТВА ВОДЫ  
ОЗЕРА КРОМАНЬ, ПОДВЕРГШЕГОСЯ  
АНТРОПОГЕННУМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ<sup>3</sup>**

Целью исследований была оценка современного трофического статуса и качества воды оз. Кромань по физико-химическим параметрам и показателям развития и функционирования фитопланктона (температурный, газовый и гидрохимический режим, биогенные элементы, видовой состав и количественное развитие фитопланктона, содержание хлорофилла, потенциальный фотосинтез, деструкция, БПК<sub>5</sub>, концентрация сестона, ХПК, растворенная (РОВ) и взвешенная (ВОВ) фракции в его составе, наличие микроцистин-продуцирующих цианобактериот). Дана оценка реакции озерной экосистемы на усилившееся антропогенное воздействие в связи с открытием туристического комплекса «Кромань».

**Ключевые слова:** Беларусь, оз. Кромань, показатели трофности и качества воды, микроцистины.

Озеро Кромань, отмечавшееся на картографических изображениях XVI в. как Кронес (Chrones), Кроне (Chrone) и Кроно (Crono), — уникальный водоем бассейна р. Немана в Столбцовском районе на границе Минской и Гродненской областей Республики Беларусь. Котловина озера относится к редкому для Беларуси аazonальному карстовому типу. С 2000 г. озеро включено в реестр пунктов наблюдений Национальной системы мониторинга окружающей среды. В 2003 г. на берегах озера организован туристический комплекс «Кромань», имеющий рыболовно-рекреационное направление. В связи со значительным ростом числа отдыхающих антропогенное воздействие на экосистему озера существенно усилилось, особенно в результате использования рыболовами-любителями дополнительного источника биогенных элементов — комбикорма при ловле рыбы.

<sup>3</sup> Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 12-04-90012\_Бел\_а) и БРФФИ (проект № Б12Р-028).

© Т. М. Михеева, П. А. Митрахович, О. И. Белых, Е. Г. Сороковикова, В. М. Самойленко, Р. З. Ковалевская, Н. В. Дубко, Е. В. Лукьянова, А. В. Кузьмин, Г. А. Федорова, З. К. Карташевич, 2018

## 1. Морфометрические показатели оз. Кромань

Показатели	Обозначения	Значения
Площадь зеркала, км <sup>2</sup>	$F$	0,92
Площадь водосбора, км <sup>2</sup>	$S_{\text{вдсб}}$	124,1
Объем воды, млн. м <sup>3</sup>	$V$	12,19
Глубина средняя, м	$H_{\text{ср}} = V/F$	13,2
Глубина максимальная, м	$H_{\text{max}}$	26,5
Длина озера, км	$L_{\text{оз.}}$	1,4
Ширина максимальная, км	$B_{\text{max}}$	1,12
Ширина средняя, км	$B_{\text{ср}} = F/L$	0,65
Длина береговой линии, км	$L_{\text{б.л.}}$	5,49
Коэффициент изрезанности	$L$	1,62
Удельный водосбор	$S/F$	134,8
Показатель глубинности	$H_{\text{ср}}/F_0$	14,4
Показатель открытости	$F_0/H_{\text{ср}}$	0,06
Коэффициент удлиненности	$L/B_{\text{ср}}$	2,1
Коэффициент емкости	$H_{\text{ср}}/H_{\text{max}}$	0,5
Условный водообмен	$W_{\text{притока}}/V_0$	1,55
Удельная водообменность	$V/W_{\text{притока}}$	0,64
Площадь под лесом и кустарником, км <sup>2</sup> (%)	$S_{\text{л}}$	74,82 (60,3)
Площадь под болотами и заболоченными землями, км <sup>2</sup> (%)	$S_{\text{б}}$	1,86 (1,5)

Комплексные гидроэкологические исследования оз. Кромань, включающие изучение температурного, газового и гидрохимического режима, сообществ гидробионтов, выполнены в 2004—2006 гг. Озеро слабопроточное: впадает на северо-востоке р. Блюшка (длина 16 км, ширина в месте впадения до 3 м) и один мелкий мелиоративный канал на южном берегу, вытекает на северо-западе р. Кроманка (глубина 0,8 м, скорость течения 0,25 м/с). Основные морфометрические параметры озера приведены в таблице 1.

Прозрачность воды озера по диску Секки до 2,5 м, по сравнению с 2004 г. снизилась в три раза, цветность 90° Pt-Co шкалы. Степень зарастания макрофитами невысокая — 10% (0,1 км<sup>2</sup>) площади водоема.

Естественная рыбопродуктивность невысокая — около 40 кг/га. Для поддержания устойчивого интереса рыболовов-любителей в период с 2003 по 2011 г. в озеро было вселено 9255 кг рыб разных возрастов и 105 тыс. личинок, как туводных видов, так и не обитавших ранее — азиатско-европейский карась, карп, судак и толстолобик пестрый. Более подробные сведения об озере и заказнике приведены в работах [1, 2].

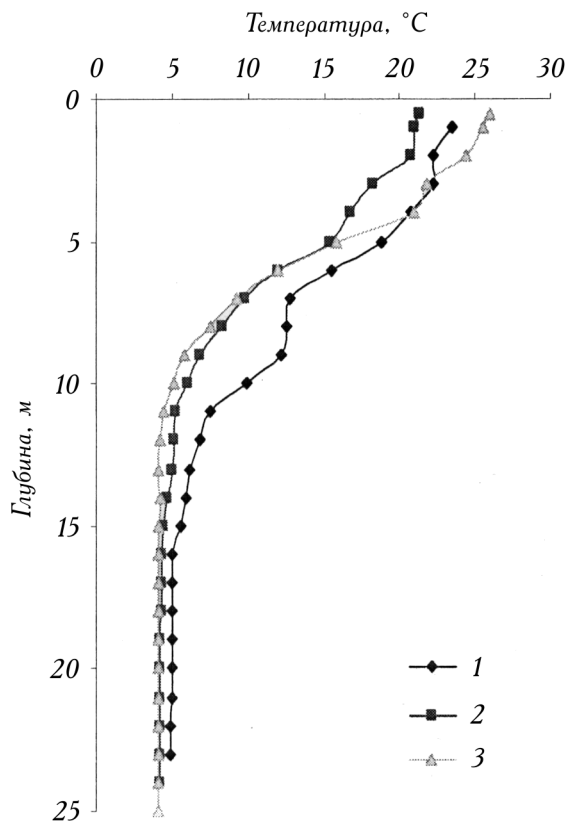
**Материал и методика исследований.** Изучение водорослей планктона было приурочено в основном к периоду летнего максимума, который наблюдается в условиях Беларуси обычно в июле — августе, на двух литоральных станциях и в точке максимальной глубины. В 2004 г. пробы отбирали также в марте и октябре. Для оценки количественного развития водорослей планктона использовали традиционные гидробиологические методы, в частности осадочный метод и световую микроскопию. Осадочные пробы объемом 0,5 дм<sup>3</sup> и сетные для сбора *Suaephryta* отбирали параллельно с определением продукционно-деструкционных показателей, фиксировали по Утермелю в нашей модификации [3]. Осадок просчитывали в камере Фукса — Розенталя. Индивидуальную биомассу водорослей определяли объемно-весовым методом, приравнивая клетки к определенным геометрическим фигурам [4, 8]. Видовой состав фитопланктона приводится на основании учета организмов при камеральной обработке количественных проб в световом микроскопе Axiostar.

Скорость фотосинтеза ( $A$ , валовый фотосинтез) и деструкции ( $R$ ) измеряли с помощью общепринятого скляночного метода в кислородной модификации, экспонируя их в стационарном люминостате при освещенности, близкой к «оптимальной» для фотосинтеза, и температуре около 20°C. Содержание кислорода измеряли методом Винклера. Содержание хлорофилла  $a$  (Chl- $a$ ) — главного фотосинтетического пигмента растительной клетки — определяли спектрофотометрическим методом в ацетоновых экстрактах [11], концентрацию сухой массы сестона ( $C_{\text{сест}}$ ) — гравиметрическим методом, концентрацию общего пула органических веществ (ХПК) — общепринятым методом бихроматного окисления сухого остатка после выпаривания пробы на водяной бане. Величины хлорофилла  $a$  в работе приведены без учета феопигментов, содержание которых в общем форбине редко превышало 10—15%. Концентрацию растворенной фракции (РОВ) определяли в пробах после фильтрации воды через поликарбонатные фильтры (г. Дубна) с размером пор 1 мкм. По разности между ХПК и РОВ оценивали содержание взвешенного органического вещества (ВОВ). Величины органического вещества приведены в кислородном эквиваленте.

Пробы для молекулярно-биологического анализа отобраны сетью Апштейна в июне и июле 2012 г. и зафиксированы 80%-ным этанолом. Выявление генов синтеза микроцистинов проводили с помощью праймеров *hepF* и *hepR*, детектирующих домен аминотрансферазы (АМТ) гена *mscE* [9]. АМТ-домен входит в состав всех известных микроцистин-синтаз и играет ключевую роль в биосинтезе микроцистинов. Использование в качестве генетической мишени показало его эффективность для идентификации родов токсиногенных цианопрокариот [9]. В качестве контроля использовали ДНК токсин-продуцирующего штамма *Microcystis aeruginosa* CALU 972. Выделение ДНК, ПЦР, клонирование и секвенирование проводили по описанной ранее методике [6]. Уникальные нуклеотидные последовательности депонированы в *GenBank* под номерами *KF219528-KF219535*, транслированные аминокислотные — *AGW27922-AGW27929*. Нуклеотидные и аминокислотные последовательности АМТ-домена цианопрокариот, определенные в данной работе, сравнивали с последовательностями из *GenBank* с помощью программы *BLAST*. Выравнивание последовательностей, молекулярно-филогенетический анализ проводили при помощи пакета программ *Мега*, версия

6.0 [16]. Филогенетические реконструкции выполняли методом объединения ближайших соседей (NJ).

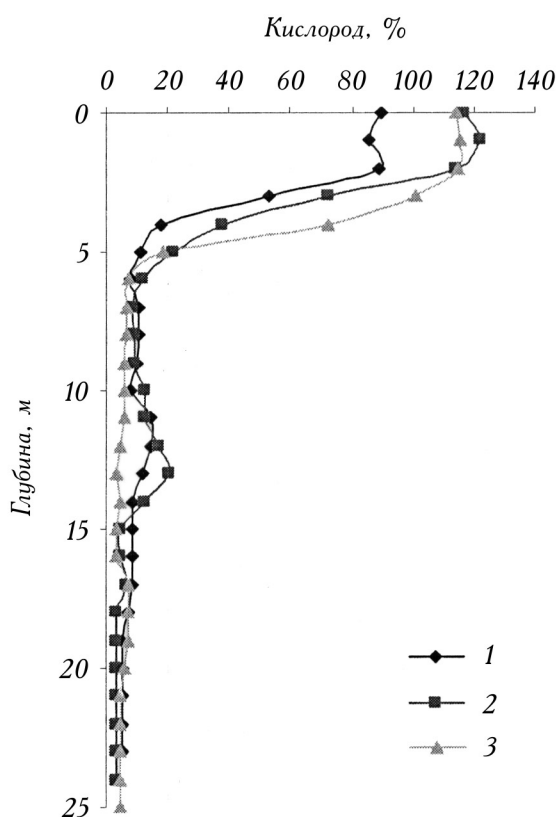
Для масс-спектрометрического определения микроцистинов сухую биомассу фитопланктона дважды экстрагировали 75%-ным метанолом в течение 60 мин при воздействии ультразвука. Полученные экстракты объединяли и упаривали досуха на роторном испарителе при температуре водяной бани  $45 \pm 2^\circ\text{C}$  и перерастворяли в метаноле [12, 13]. Идентификацию микроцистинов выполняли на тандемном времяпролетном масс-спектрометре с матричной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF/TOF) (Bruker Daltonics, Германия), используя в качестве матрицы  $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричную кислоту. Детектирование проводили в режиме регистрации положительных ионов (рабочая длина волны лазера 355 нм). Диапазон регистрируемых масс 500—3500 Да.



1. Послойное распределение температуры за разные годы наблюдений. Здесь и на рис. 2: 1 — 2004 г.; 2 — 2005 г.; 3 — 2006 г.

### Результаты исследований и их обсуждение

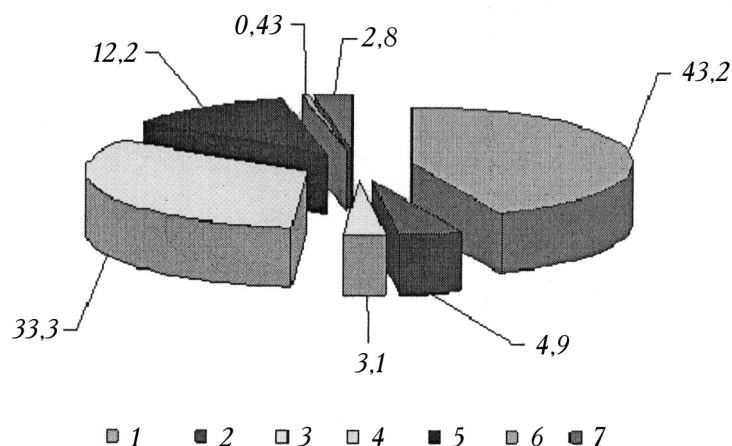
Озеро Кромань относится к водоемам с термической стратификацией в период летней стагнации (рис. 1, 2). Макрокомпонентный состав вод гидрокарбонатно-кальциевого класса с высокой минерализацией ( $288,8$ — $303,8$  мг/дм<sup>3</sup>) не имеет существенных межгодовых колебаний (рис. 3). Тенденция роста (от  $9,6$  до  $18,6$  мг/дм<sup>3</sup>) была характерна для показателей содержания сульфатов, одним из вероятных источников которых может быть протеин, содержащийся в комбикорме для прикорма рыб. Отмечается также повышенное содержание хлоридов ( $7,9$ — $9,2$  мг/дм<sup>3</sup>), в поступлении которых превалирует антропогенный фактор, поскольку для территории Беларуси основным природным источником хлоридов являются атмосферные осадки [5]. В озере отмечается постепенный рост значений водородного показателя (рис. 4).



2. Послойное распределение растворенного кислорода на станции максимальной глубины.

Фосфор и азот являются основными биогенными элементами, определяющими уровень трофического статуса водоемов. Средняя величина общего Р в оз. Кромань в 2004 г. составила 0,045 мг Р/дм<sup>3</sup> при диапазоне 0,038—0,056, минерального — 0,023 (0,01—0,036), органического — 0,022 (0,004—0,033) мг Р/дм<sup>3</sup>. Соотношение минерального и органического Р было примерно одинаковым. Минеральные соединения в 2004 г. полностью не потреблялись, они присутствовали на всех горизонтах. Одной из возможных причин низкой усвояемости Р может быть нахождение его в недоступной для гидробионтов форме в условиях относительно низкой щелочности, что характерно для водоемов с болотным питанием. В 2005 г., когда началось интенсивное внесение комбикорма, ситуация несколько изменилась. На фоне снижения содержания общего Р отмечалось полное потребление его минеральных соединений (рис. 5).

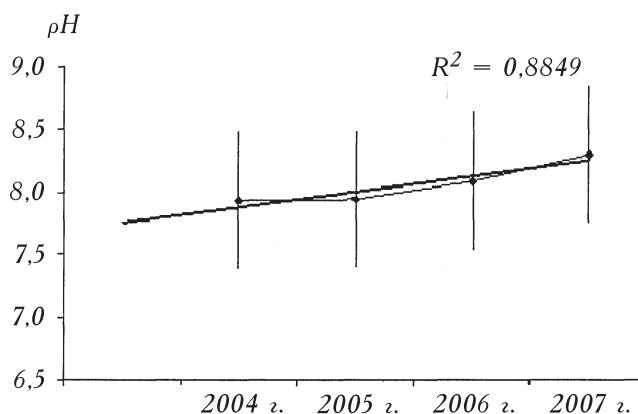
По мере накопления комбикорма в водоеме суммарная концентрация всех соединений Р возросла за короткий период в 5—6 раз. Согласно проведенным расчетам, в современных условиях интенсивной эксплуатации водоема комбикорм является основным поставщиком Р (более 80% от общего его поступления в экосистему). Суммарное поступление Р в год возросло до 245 кг. Реальная внешняя нагрузка в современный период составляет около 0,26 г Р/м<sup>2</sup> в год, что приближается к уровню ее допустимого значения. Изменилась также и структура его соединений, в которой постепенно возрастала роль органических форм, в 2007 г. они превалировали над минеральными. В последние два года наблюдалась четкая дифференциация в послойном распределении Р. Концентрация соединений Р в придонных горизонтах увеличилась на порядок по сравнению с поверхностными. Не утилизированный рыбами комбикорм достигает придонных горизонтов даже в летнюю стагнацию, несмотря на значительную мощность гипolimниона. Основное его поступление, по всей видимости, в придонные горизонты осуществляется в циклы полного перемешивания (весной и осенью).



3. Состав главных ионов (% эквивалентов вещества): 1 — HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>; 2 — SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>; 3 — Cl<sup>-</sup>; 4 — Ca<sup>2+</sup>; 5 — Mg<sup>2+</sup>; 6 — K<sup>+</sup>; 7 — Na<sup>+</sup>.

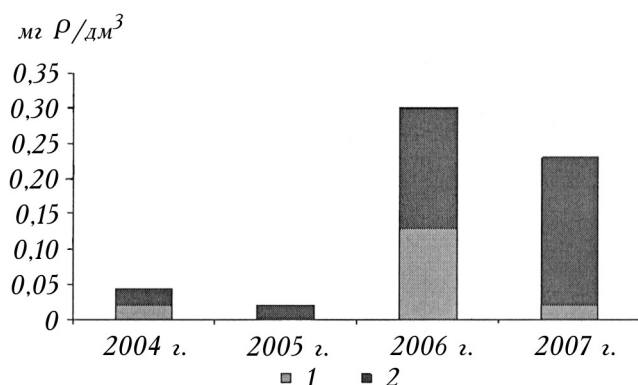
Экосистема водоема за короткий промежуток времени оказалась чрезмерно переполнена фосфором. Уровень его концентрации стал приближаться к значениям, характерным для гипертрофных озер.

Содержание минерального азота в первый год исследования оз. Кромань (2004 г.) было наиболее высоким, значения его варьировали в широком диапазоне — (6,23—17,0 мг N/дм<sup>3</sup>), при среднем значении 9,9 мг N/дм<sup>3</sup>. Преобладали нитраты (5,8—15,9 мг N/дм<sup>3</sup>), их доля в среднем составила 94% минерального азота (рис. 6).

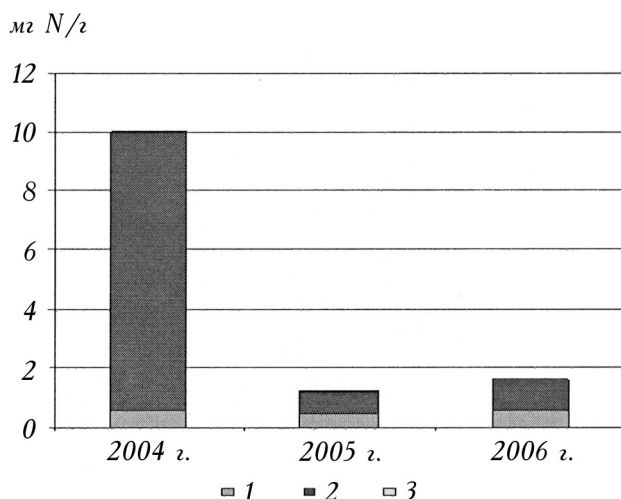


4. Динамика водородного показателя в летнюю стагнацию.

Основным антропогенным источником азота является транзитный поток по р. Блюшка, дренирующей мелиорированный водосбор озера. Мелиорированные земли, используемые в сельском хозяйстве, а также животноводческие фермы являются мощным источником как минеральных, так и органических соединений азота. После проведения природоохранных мероприятий и переноса локальных источников (ферм) за пределы водосбора реки ситуация заметно улучшилась. Среднее содержание минерального N составило в 2005 г.  $1,25 \pm 0,19$  мг N/дм<sup>3</sup>, в 2006 г. —  $1,63 \pm 0,47$  мг N/дм<sup>3</sup>. Концентрация нитратов при этом снизилась на порядок, а доля аммония в структуре



5. Многолетняя динамика фосфора: 1 — P<sub>мин</sub>; 2 — P<sub>орг</sub>.



6. Многолетняя динамика соединений азота: 1 — NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 2 — NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; 3 — NO<sub>2</sub><sup>-</sup>.

минерального N возросла до 30%, наблюдалось его резкое возрастание в придонных слоях. Изменения структуры минерального N, в частности рост концентрации аммония, следует рассматривать как один из признаков усиления евтрофирования экосистемы водоема.

Показатели содержания органического вещества за период наблюдений изменялись слабо. Значения перманганатной окисляемости, отражающей количество стойкого ОВ в основном аллохтонного происхождения, составили 11,7—13,6 мг О/дм<sup>3</sup>, содержание ОВ, определяемого по бихроматной окисляемости, — 43—52 мг О/дм<sup>3</sup>. Увеличение концентрации автохтонной органики при интенсивном внесении комбикорма в дальнейшем будет приводить к полному потреблению на ее окисление

кислорода в мета- и гиполимнионе, что ухудшит условия и скорость процессов минерализации ОВ в анаэробных условиях.

За исследуемый период в составе сообщества фитопланктона идентифицировано 126 видов и внутривидовых таксонов, включая номенклатурный тип вида, относящихся к семи отделам (табл. 2). Наиболее разнообразно во все сезоны были представлены зеленые и диатомовые водоросли, в летний период возрастало количество видов *Synophyta*. Сообщество включает в основном широко распространенные в белорусских озерах виды.

Не останавливаясь более подробно на характеристике фитопланктона оз. Кромань, поскольку она дана в работе [2], приведем только летний уровень его численности и биомассы и долевого вклад в него разных отделов водорослей (рис. 7, 8).



## 2. Количество таксонов водорослей планктона оз. Кромань

Отделы водорослей	2004 г.			2005 г.	2006 г.	Всего за период исследований
	22.03.	12.08.	26.10.	23.08.	26.07.	
Синезеленые	4	10	4	8	10	16
Зеленые	8	29	12	21	34	59
Диатомовые	5	9	14	16	9	26
Криптофитовые	4	5	5	6	5	7
Динофитовые	1	1	0	2	2	3
Эвгленовые	1	1	1	1	2	3
Золотистые	5	5	5	5	6	12
Всего	28	60	41	59	69	126

Резкий рост обилия и продуктивности планктонных водорослей наблюдался летом 2006 г. и был обусловлен интенсификацией развития цианопрокариот. Их вклад в суммарные численность и биомассу достигал соответственно 88 и 71%. Общая численность сообщества возросла более чем в 3 раза, достигнув 18,7 млн. кл/дм<sup>3</sup> при биомассе 7,3 г/м<sup>3</sup>.

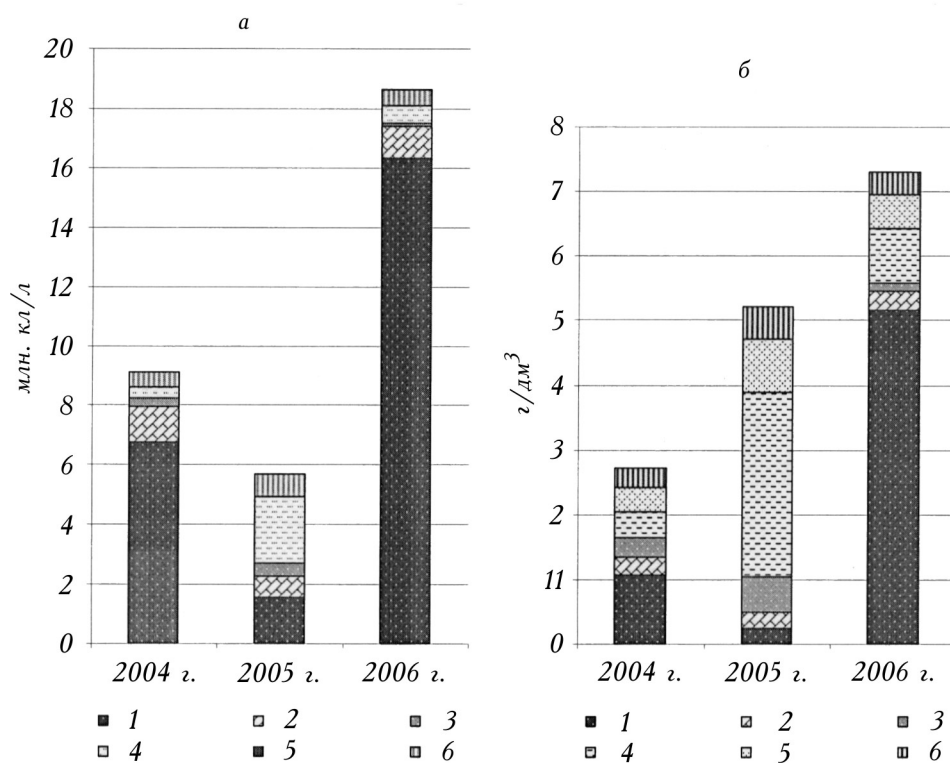
Далее мы приводим значения некоторых широко используемых в гидробиологической практике показателей оценки уровня трофности и тесно связанного с ним качества воды оз. Кромань, полученные летом 2012 г. при исследовании фитопланктона на возможность обнаружения в нем токсичных микроцистинов.

Структурные показатели: общая биомасса фитопланктона составила 6,63 мг/дм<sup>3</sup> (доля синезеленых в общей биомассе достигала 5,8%), содержание Хл *a* — 16,30 мкг/дм<sup>3</sup>, доля Хл *a* в общей биомассе — 0,25%, биомасса сестона — 3,97 мг/дм<sup>3</sup>, доля Хл *a* в биомассе сестона — 0,41%.

Функциональные показатели: уровень потенциального фотосинтеза был равен 1,72, деструкции — 0,53 мг О<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>·сут; концентрация общего ОВ достигала 44,36 мг О/дм<sup>3</sup>, в том числе растворенной его фракции — 41,40 мг О/дм<sup>3</sup> (93,3%), взвешенной — 2,96 мг О/дм<sup>3</sup>. Отношение РОВ/ХПК, выраженное в процентах, составило 93,3%, а удельное содержание органического вещества (УСОВ) в массе сухой взвеси — 0,28 мг С/мг с. м.

Продукционно-деструкционные процессы в водной экосистеме, не подверженной внешнему загрязнению, в значительной мере формируют режим общего содержания органического вещества, растворенной и взвешенной фракций в его составе. Содержание органических веществ может служить одним из важнейших показателей качества воды. В водоемах с небольшим поступлением органических веществ с водосбора, основным источником формирования как общего пула органического вещества, так и его отдельных фракций, а в целом и качества воды, в значительной мере являются биологические процессы, пусковым механизмом которых служит функционирование автотрофных сообществ.



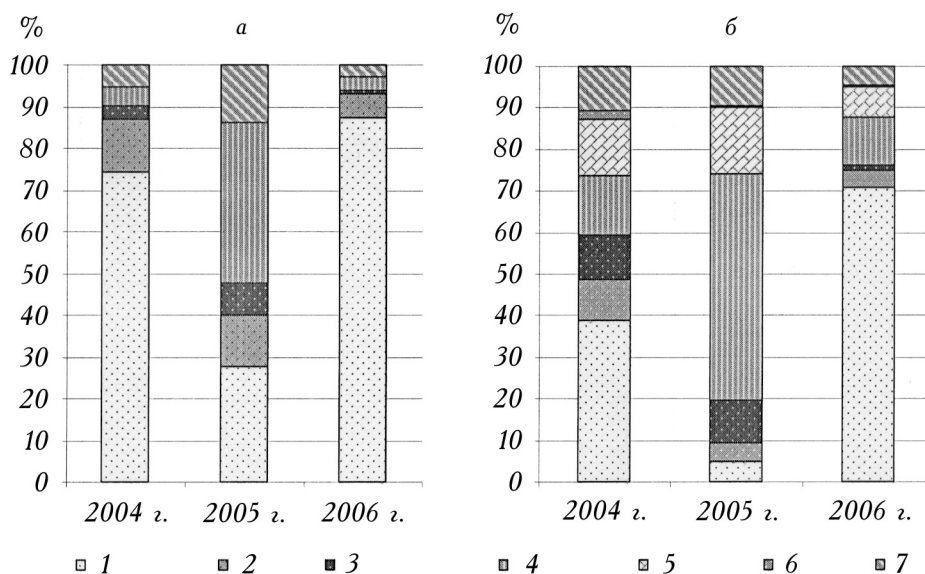


7. Изменение общей численности (а) и биомассы (б) летнего фитопланктона в разные годы: 1 — сине-зеленые; 2 — зеленые; 3 — диатомовые; 4 — криптофитовые; 5 — динофитовые; 6 — золотистые.

Согласно значениям всех изученных показателей, оз. Кромань можно отнести к типу эвтрофных водоемов [15]. Отметим при этом, что численность синезеленых водорослей приближается к порогу их численности (20 млн. кл/дм<sup>3</sup>), установленному ВОЗ для безопасного использования водоемов в рекреационных целях.

В последнее время во всем мире повышенное внимание уделяется качеству природной воды, что вызвано, с одной стороны, усилением санитарно-гигиенических требований, а с другой — ухудшением состояния экосистем пресных водоемов, которые служат основными источниками питьевой воды.

В связи с антропогенным эвтрофированием водоемов и водотоков массовое развитие цианопрокариот приобретает глобальный характер. Потепление климата и возрастающая антропогенная нагрузка на водоемы позволяют прогнозировать ухудшение ситуации с «цветением» воды. Значительный интерес представляют токсины цианопрокариот, как для фундаментальных исследований, так и для решения проблем, связанных со здоровьем человека и сохранением водных ресурсов. Цианотоксины могут вызывать у человека гастроэнтериты, пневмонию, разнообразные аллергические реакции, дерматиты, раздражение глаз и хронические повреждения печени.



8. Вклад водорослей разных отделов в суммарную численность (а) и биомассу (б) летнего фитопланктона в разные годы: 1 — синезеленые; 2 — зеленые; 3 — диатомовые; 4 — криптофитовые; 5 — динофитовые; 6 — эвгленовые; 7 — золотистые.

Микроцистины — наиболее распространенные цианотоксины в пресных водах — обладают выраженным гепатотоксичным действием: они ингибируют активность серин/треонин-фосфатазы в клетках печени, разрушая цитоскелет гепатоцитов. При отравлении микроцистинами в высокой концентрации наблюдаются клинические признаки острой интоксикации, в тяжелых случаях возникают некротические изменения и обширные кровоизлияния в печени. Длительное воздействие низких доз микроцистинов вызывает рак печени [7].

В современных условиях многое зависит от эффективного внедрения базовых знаний по экофизиологии и токсикологии цианопрокариот в практику охраны водных ресурсов и защиты здоровья. Случаи, когда здоровье человека может подвергнуться опасному воздействию токсичных цианопрокариот, можно сгруппировать в следующие категории:

— использование питьевой воды, содержащей токсины, так как даже кипячение воды не разрушает микроцистины;

— использование вод с токсичными цианопрокариотами в рекреационных целях несет потенциальную угрозу для отдыхающих;

— использование продуктов питания (моллюски, ракообразные, рыба, водоплавающие птицы), в которых цианотоксины могут накапливаться и передаваться далее по пищевым цепям, приводя к риску злокачественных образований в печени и развитию многих других заболеваний.

Это усложняет проблему выбора источников питьевой воды, рекреационных озер, рыбопродуктивных прудов и других водоемов и ставит новые задачи перед учеными и органами по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

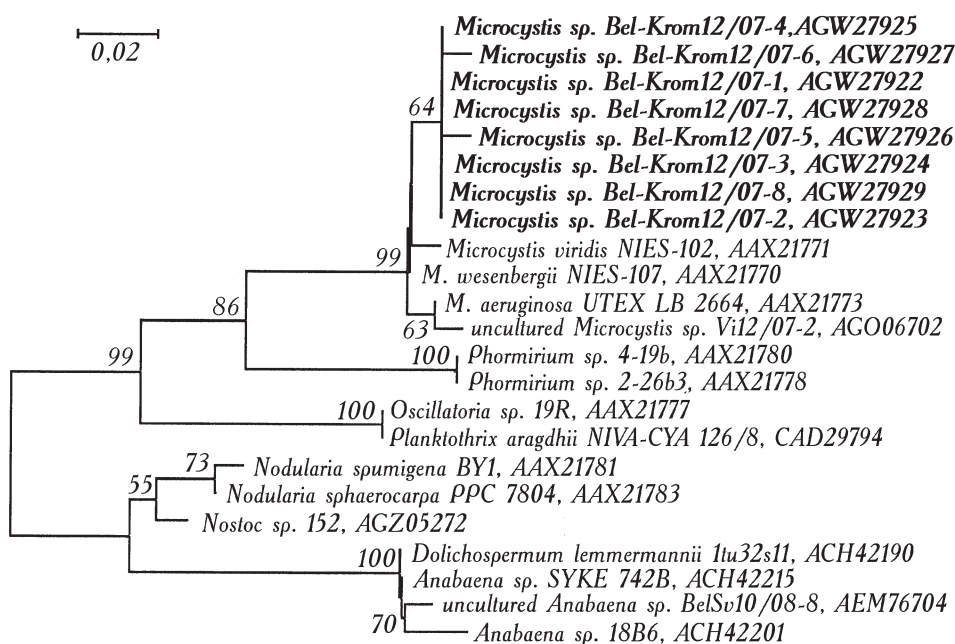
В июне — июле 2012 г. в оз. Кромань вегетировали, преимущественно, представители хроококковых синезеленых: *Aphanothece clathrata* W. et G. S. West, *Gloeocapsa violacea* (Corda) Rabenhorst, *G. limnetica* (Lemm.) Holm. f. *limnetica*, *Gomphosphaeria lacustris* Chod. f. *lacustris*, *Merismopedia minima* G. Beck. Доминировали по численности организмов — *M. minima* (5,3%), по численности клеток — *A. clathrata* (80,3%) и *M. minima* (5,1%). К доминантам относили виды, составляющие  $\geq 10\%$  суммарной численности и биомассы фитопланктонных организмов; виды, составляющие 5,0—9,9% — к субдоминантам.

Доля синезеленых в общей численности организмов фитопланктона (2,12 млн. кл/дм<sup>3</sup>) составила 8,9% (0,19 млн. кл/дм<sup>3</sup>); в общей численности клеток (48,51 млн. кл/дм<sup>3</sup>) — 90,3% (43,81 млн. кл/дм<sup>3</sup>); в общей биомассе (6,63 мг/дм<sup>3</sup>) — 5,8% (0,38 мг/дм<sup>3</sup>).

*Молекулярно-биологический анализ.* В ПЦР с использованием в качестве матрицы суммарной ДНК фитопланктона и праймеров к АМТ-домену во всех пробах получен положительный ответ. Из 30 клонов, последовательности гена АМТ-домена которых были определены, шесть представляли уникальные генотипы. Они имели 99% сходства между собой и 95—99% — с нуклеотидными последовательностями гена АМТ-домена р. *Microcystis*. Ближайшими гомологами (98—99% сходства) клонов из оз. Кромань являются изоляты из Усть-Илимского и Братского водохранилищ, оз. Байкал и оз. Котокельское, расположенных в Восточной Сибири, из водоемов Беларуси: оз. Нарочь, водохранилища Дрозды, р. Виляя. Среди культивируемых видов р. *Microcystis* последовательности гена АМТ-домена близкородственные таковым из оз. Кромань обнаружены у *M. aeruginosa* NIES-843 и *M. aeruginosa* K-139, выделенных во время токсичных «цветений» в оз. Казумигаура в Японии [14].

На древе транслированные аминокислотные последовательности АМТ-домена формируют устойчивые клады, соответствующие отдельным родам цианопрокариот, продуцирующим микроцистины [6, 9]. Все последовательности АМТ-домена микроцистин-синтетазы цианопрокариот из оз. Кромань входят в кладу *Microcystis*, в которой они группируются совместно с клонами и культивируемыми штаммами р. *Microcystis* из разных водоемов, в том числе из р. Виляя (Беларусь), из озер Казумигаура и Кавагучи (Япония), из водоема в Южной Африке (рис. 9).

*MALDI-TOF.* В результате проведенного *MALDI-TOF* анализа получены пики молекулярных ионов  $[M + H]^+$ , характеристичные отношения которых сравнивали с литературными данными. В масс-спектре образца обнаружено три варианта микроцистинов MC-LR, MC-YR и MC-RR, которые являются наиболее распространенными среди 90 других вариантов, продуцируемыми цианопрокариотами [18]. Так, для различных штаммов рода р. *Microcystis*, выделенных из «цветущих» озер в Японии, показаны, как и в нашем случае, преимущественно варианты MC-LR, MC-YR и MC-RR [14]. Микроцистины



9. Бескорневое филогенетическое древо синезеленых водорослей оз. Кромань, основанное на результатах секвенирования гена микроцистинсинтетазы (*mcyE*), построенное с использованием метода ближайших соседей. Цифрами показаны результаты бутстреп-анализа. Жирным шрифтом выделены последовательности, полученные в данной работе. Масштаб соответствует двум заменам на 100 п.н.

MC-LR и MC-YR относятся к наиболее токсичным вариантам, их LD<sub>50</sub> составляет, соответственно, 50 и 70 мкг/кг для мышей при в/б введении, в то время как микроцистин MC-RR слаботоксичен (LD<sub>50</sub> = 600 мкг/кг).

Согласно нормативам ВОЗ концентрация MC-LR в питьевой воде не должна превышать 1 мкг/дм<sup>3</sup>, а в воде для купания и рекреационного использования — 2—4 мкг/дм<sup>3</sup> [7]. В данном случае мы не можем оценить реальную опасность присутствия микроцистинов в оз. Кромань для здоровья человека и животных, так как в работе не определяли их концентрацию. Однако детекция MC-LR и высокий уровень развития цианопрокариот свидетельствуют о необходимости мониторинга токсин-продуцирующих видов и концентрации микроцистинов в оз. Кромань, например, с использованием метода иммуноферментного анализа.

На основании полученных результатов можно заключить, что продуцентом микроцистинов в оз. Кромань являются представители р. *Microcystis*, вероятнее всего *M. aeruginosa*, и хотя его численность в озере невысока (менее 5% общей численности фитопланктона), использованные в работе методы позволили детектировать токсиногенных представителей р. *Microcystis* и идентифицировать продуцируемые варианты микроцистинов.

Достоверных литературных сведений о токсичности видов Cyanophyta, доминирующих в оз. Кромань (*Aphanothece clathrata*, *Merismopedia minima*),

таких как положительные результаты биотестирования и химического анализа, наличие генов, кодирующих синтез микроцистинов, выполненных на культивируемых штаммах, в настоящий период нет. Из представителей р. *Aphanothese* продукция микроцистинов установлена у *Aphanothese halophytica* Gréму, изолированной из соленого озера [17].

### Заключение

Полученные значения всех изученных показателей развития и функционирования фитопланктона оз. Кромань характеризуют его как эвтрофный водоем, находящийся в последние годы под сильным антропогенным воздействием в результате интенсивной эксплуатации водоема рыбаками-любителями. Используемый ими для прикорма рыб комбикорм является важнейшим источником биогенных и загрязняющих веществ, обеспечивающем более 80% поступления в озеро одного только фосфора. Автотрофное звено, в частности фитопланктон, одним из первых реагирует на интенсификацию процесса эвтрофирования изменением всех структурно-функциональных показателей. Происходящее усиление развития мелкоклеточных цианопрокариот, в биомассе которых выявлены токсические вещества, требует объективной информации о современной экологической ситуации в озере и соблюдения режима охраны его вод.

\*\*

*Подано оцінку сучасного трофічного статусу та якості води оз. Кромань у республіканському ландшафтному заказнику «Налибокський» (Білорусь) за фізико-хімічними показниками і показниками розвитку і функціонування фітопланктону. Простежено реакцію озерної екосистеми на посилення антропогенного впливу у зв'язку з відкриттям туристичного комплексу «Кромань». Проведено пошук та ідентифікацію цианотоксинів у складі синьозелених водоростей, які вегетують в озері.*

\*\*

*The estimation of the modern trophic status and water quality of the Kroman Lake located in the national landscape reserve «Naliboksky» (Belarus) on physico-chemical indicators and indicators of the phytoplankton development and functioning is given. The reaction of the lake ecosystem to the intensified anthropogenic impact in connection with the opening of the tourist complex «Kroman» is traced. The results of the search and identification of cyanotoxins in the cyanobacteria growing in the lake are presented.*

\*\*

1. Красная Книга Республики Беларусь: Растения. — Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений. — Минск: Беларус. Энцыкл. им. П. Бровки, 2005. — 456 с.
2. Митрахович П.А., Власов Б.П., Самойленко В.М. и др. — Кромань: природно-экологический потенциал озера и приозерной территории. — Минск: Изд. центр Белорус. ун-та, 2016. — 119 с.
3. Михеева Т.М. Методы количественного учета нанофитопланктона (обзор) // Гидробиол. журн. — 1989. — Т. 25, № 4. — С. 3—21.
4. Михеева Т.М. Альгофлора Беларуси. Таксономический каталог. — Минск: Изд-во Белорус. ун-та, 1999. — 396 с.

5. *Посохов Е.В.* Ионный состав природных вод. Генезис и эволюция. — Л.: Гидрометеиздат, 1985. — 256 с.
6. *Belykh O.I., Sorokovikova E.G., Fedorova G.A. et al.* Presence and genetic diversity of microcystin-producing cyanobacteria (*Anabaena* and *Microcystis*) in Lake Kotokel (Russia, Lake Baikal Region) // *Hydrobiologia*. — 2011. — Vol. 671. — P. 241—252.
7. *Chorus I., Bartram J.* Toxic cyanobacteria in water: a guide to public health significance, monitoring and management. WHO. — London: Chapman & Hall, 1999. — 416 p.
8. *Hillebrand H., Durselen C.-D., Kirschtel D. et al.* Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae // *J. Phycol.* — 1999. — Vol. 35. — P. 403—424.
9. *Jungblut A.-D., Neilan A.B.* Molecular identification and evolution of the cyclic peptide hepatotoxins, microcystin and nodularin, synthetase genes in three orders of cyanobacteria // *Arch. Microbiol.* — 2006. — Vol. 185. — P. 107—114.
10. *Kaneko T., Narajima N., Okamoto S. et al.* Complete genomic structure of the bloom-forming toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* NIES-843 // *DNA Res.* — 2007. — Vol. 14. — P. 247—256.
11. *Lorenzen C.J.* Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations // *Limnol. Oceanogr.* — 1967. — Vol. 12, N 2. — P. 343—346.
12. *Mikheyeva T.M., Belykh O.I., Sorokovikova E.G. et al.* Cyanobacteria and cyanotoxins in plankton of the regulated waterbodies and of the municipal section of the Svisloch River (Belarus) // *Environmental Bull.* — 2011. — Vol. 4. — P. 30—37.
13. *Mikheyeva T.M., Belykh O.I., Sorokovikova E.G. et al.* Detection of microcystin producing cyanobacteria in the Svisloch River, Belarus // *Baltic Coastal Zone. J. Ecol. Protection of the Coastline*. — 2012. — Vol. 16. — P. 131—146.
14. *Nishizawa T., Asayama M., Fujii K et al.* Genetic analysis of the peptide synthetase genes for a cyclic heptapeptide microcystin in *Microcystis* spp. // *J. Biochem.* — 1999. — Vol. 126. — P. 520—529.
15. *OECD: Eutrophication of Waters // Monitoring, assessment and control* OECD. Paris: OECD, 1982. — 154 p.
16. *Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al.* MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods // *Mol. Biol. and Evol.* — 2011. — doi:10.1093/molbev/msr121.
17. *Vishwakarma R., Rai A.K.* Microcystin congeners contribute to toxicity in the halophilic cyanobacterium *Aphanothece halophytica* // *Arch. Biol. Sci.* — 2014. — Vol. 66. — P. 1441—1446.
18. *Welker M., von Dohren H.* Cyanobacterial peptides — Nature's own combinatorial biosynthesis // *FEMS Microbiol. Rev.* — 2006. — Vol. 30. — N 4. — P. 530—563.

<sup>1</sup> Белорусский государственный университет,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Лимнологический институт СО РАН,  
Иркутск, РФ