

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ВОДЫ ОЗЕРА СЕВАН В ЛЕТНИЙ ПЕРИОД С ПРИМЕНЕНИЕМ МОДЕЛЬНЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

**Р. Э. Авалян¹, А. Л. Атоянц¹, Л. Р. Гамбарян^{1,2},
Э. А. Агаджанян¹, Б. К. Габриелян², Р. М. Арутюнян¹**

¹Ереванский государственный университет, НИИ “Биология”, кафедра Экологии
0025, Армения, г. Ереван, ул. Чаренца, д. 8,

²НЦ Зоологии и гидроэкологии, институт Гидроэкологии и ихтиологии НАН РА
0014, Ереван, ул. П. Севака, 7.

e-mail: re_avalan@mail.ru; genetika@ysu.am

Поступила в редакцию 5.04.2022

Проведено биотестирование уровня генотоксичности и кластогенности глубинных и поверхностных вод оз. Севан (Армения) в летний период с применением двух тест-систем: модельного тест-объекта традесканции (клон 02) и фитопланктона. По данным биотеста волосков тычиночных нитей традесканции (Трад-ВТН) показано достоверное повышение уровня мутационных событий во всех изученных водных пробах по сравнению с условно фоновым вариантом. Максимальное проявление рецессивных мутаций наблюдалось в образце Гилли, где значения изученного параметра превысили уровень фона в 5 раз. По данным двух основных тест-критериев микроядерного теста (Трад-МЯ: процент тетрад с микроядрами и микроядер в тетрадах), максимальная частота изученных показателей выявлена в водных пробах Цапатах и Арпа, где их уровень был выше фона в 4 раза. Показана достоверная положительная корреляция между уровнями РМС (рецессивные мутации) и БМС (бесцветные мутации) и концентрацией Са, К, Na, Mg, Fe, Mo, а также – между НВ (карликовые-невыжившие волоски тычиночных нитей) и концентрацией Cd и Co в изученных водных образцах ($p < 0.05$; $p < 0.001$). Кроме того, была установлена положительная корреляция между частотой тест-критериев микроядерного теста и концентрацией Na, Са, Fe, Mo, Ni, Cd ($p < 0.05$). Анализ пространственного распределения фитопланктона по акватории оз. Севан, а также данные о численности, биомассе и составе его доминирующих видов в летний период показал интенсивное развитие цианобактерий и зеленых водорослей по всей акватории озера, что вызвало цветение воды (ВЦВ) в исследуемых мониторинговых пунктах (особенно Д-модельный, Шоржа, Гилли и Цапатах), которое характеризует наличие процессов эвтрофирования в озере.

Ключевые слова: биотестирование, традесканция (клон 02), генотоксичность, кластогенность, загрязнение воды, биоиндикация, фитопланктон, вредоносные цветения цианобактерий (ВЦВ).

DOI: 10.47021/0320-3557-2022-26-37

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в связи с интенсивностью техногенных нагрузок на водные ресурсы актуальным является проведение генетического и гидробиологического мониторинга состояния гидросистем с привлечением чувствительных тест-систем. Озеро Севан – крупнейший высокогорный пресноводный водоем Южного Кавказа, который является не только хранилищем запасов пресной воды, но и – объектом культурного наследия и туризма Армении. В результате понижения уровня воды более чем на 20 м наблюдалось нарушение режимов температуры, кислорода, прозрачности; увеличение количественных показателей содержания биогенов (нитраты, фосфаты), что привело к повышению трофности водоема и, соответственно, ухудшению качества воды озера. После принятия закона об улучшении состояния оз. Севан (2001 г.) начался новый этап восстановления его лимносистемы путем повышения уровня воды. Важной мерой для улучшения экологического

состояния стало недопущение отрицательного водного баланса, уменьшение хозяйственной деятельности и постоянный контроль за антропогенной нагрузкой водосбора [Экология озера Севан..., 2010 (Ekologiya ozera Sevan..., 2010); Матишов и др., 2016 (Matishov et al., 2016); Озеро Севан. Экологическое состояние..., 2016 (Ozero Sevan. Ekologicheskoe sostoyanie..., 2016)].

В последнее время в некоторых районах оз. Севан наблюдается цветение воды в связи с массовым распространением синезеленых водорослей (цианобактерий). По данным гидроэкологических наблюдений (2019–2021 гг.) масштабное цветение воды начиналось в прибрежной части Большого Севана (особенно, в пунктах Гилли и Цапатах), распространяясь на глубоководные участки. Цветение в озере вызывали в основном виды рода цианобактерий *Dolichospermum/Anabaena*, которые являются потенциально токсичными. В этот период сотрудниками НЦЗГ ин-та Гидроэколо-

гии и ихтиологии в сотрудничестве с немецкими коллегами, впервые было обнаружено присутствие токсинов: группы микроцистинов и анатоксина-а, как в глубоководных, так и в прибрежных частях озера [Gevorgyan et al., 2020; Hambaryan et al., 2020] (рис. 1).

Исследования выявили, что вследствие эвтрофикации изменялись физико-

химические показатели воды. В частности уменьшилась прозрачность воды и концентрация растворенного кислорода, в то время как концентрации ионов аммония, нитритов и фосфатов увеличились [Hambaryan et al., 2020, Sakharova et al., 2020].

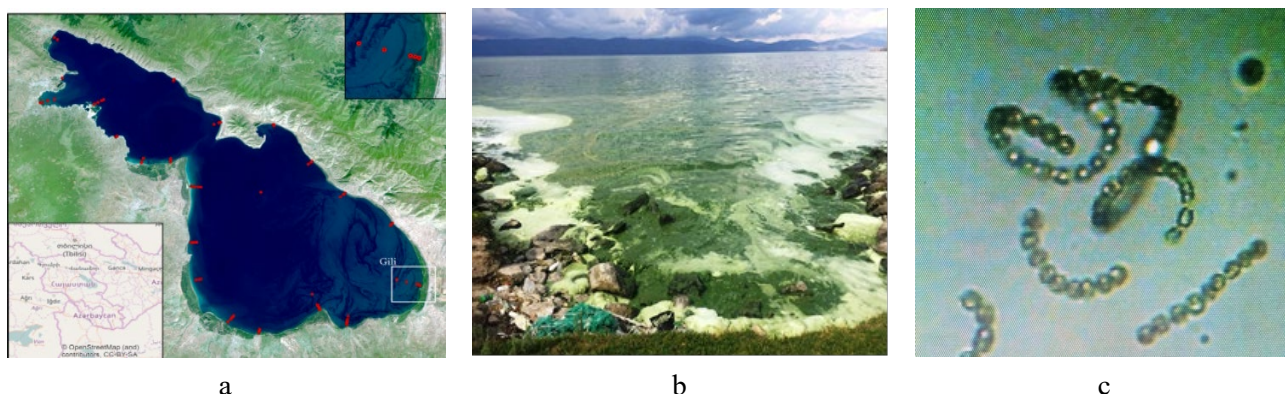


Рис. 1. Отдельные участки берега оз. Севан в период цветения цианобактерий: а) оз. Севан, мониторинговые точки водозабора; б) цветение воды оз. Севан; в) Виды рода *Dolichospermum/Anabaena*.

Fig. 1. Separate sections of the lake Sevan shore during the flowering of cyanobacteria: а) Lake Sevan, water monitoring points; б) Water bloom of Lake Sevan; в) Species of the genus *Dolichospermum/Anabaena*.

В связи с этим в республике были проведены комплексные исследования для оценки экологического состояния оз. Севан, показавшие необходимость постоянного мониторинга качества воды и состояния окружающей среды в прибрежных зонах его бассейна [Avalyan et al., 2017; Aghajanyan, 2020; Hambaryan, 2020; Арутюнян и др., 2021 (Aroutiounian et al., 2021)].

Использование традиционного подхода к оценке качества воды, основанного на определении только гидрохимических показателей, не позволяет определить качественные изменения в водной экосистеме. Для решения этого вопроса, как правило, используют методы биоиндикации и биотестирования с привлечением модельных тест-объектов. Гидроэкологическая индикация может дать сведения о степени, характере и распределении загрязнения в водоеме, а также – возможном состоянии водной экосистемы в сезонном масштабе. Генетический мониторинг на основе результатов биотестирования с привлечением чувствительных тест-систем позволяет определить степень суммарной техногенной нагрузки, являющейся эффектом комбинированного действия мутагенов и ксенобиотиков водной среды [Алексеевский, 1993 (Alekseyevskiy, 1993); Александрова, 2013 (Aleksandrova, 2013); Жукова и др., 2014 (Zhukova, 2014)].

Среди модельных растительных тест-объектов биотестирования следует особо выделить традесканцию (клон 02), использование которой позволяет оценить индукцию генетических нарушений под воздействием достаточно низких концентраций ксенобиотиков. [Yang, 1999; Campos, 2019]

Традесканция (клон 02) является природным межвидовым гибридом между *Tradescantia occidentalis* Britton Rudb. и *T. ohiensis* Raf., представляет собой гетерозиготное по окраске цветка растение: голубая окраска доминантный, розовая – рецессивный признак. Данный клон традесканции в качестве растительной тест-системы обладает рядом преимуществ для скрининга мутагенов и биоиндикации: высокой чувствительностью к действию ксенобиотиков, пригодностью для обнаружения как газообразных, так и водорастворимых мутагенов, возможностью проводить исследования *in situ* и одновременного изучения мутаций как в соматических, так и в спорогенных клетках на одних и тех же растениях.

В качестве основных маркерных тестов клона 02 традесканции при биотестировании используются: тест-система волосков тычиночных нитей (ВТН) для выявления соматических мутаций и морфологических изменений в ВТН (генотоксический эффект – тест Трад-ВТН), а также микроядерный тест для обнаружения нарушений процесса микроспо-

рогенеза с образованием микроядер (МЯ) в тетрадах микроспор (кластогенный эффект – тест Трад-МЯ).

При проведении биотеста Трад-ВТН в качестве индикаторных тест-критериев учитываются: изменение окраски клеток-волосков тычиночных нитей с голубых на розовые (рецессивные мутационные события – РМС) и появление бесцветных клеток (белые мутационные события – БМС). Кроме соматических мутаций (РМС и БМС) при тестировании также определяются морфологические изменения волосков – карликовые (невыжившие – НВ) и

разветвленные волоски (РВ), а также различные нарушения в строении цветка.

Применение микроядерного теста (Трад-МЯ) позволяет фиксировать появление хромосомных aberrаций (acentрические фрагменты или отстающие хромосомы), которые регистрируются в виде микроядер (МЯ) на стадии тетрад микроспор при нарушении процесса микроспорогенеза. При тестировании с применением данного теста учитываются два тест-критерия: процент тетрад с микроядрами и процент микроядер в тетрадах (рис. 2).

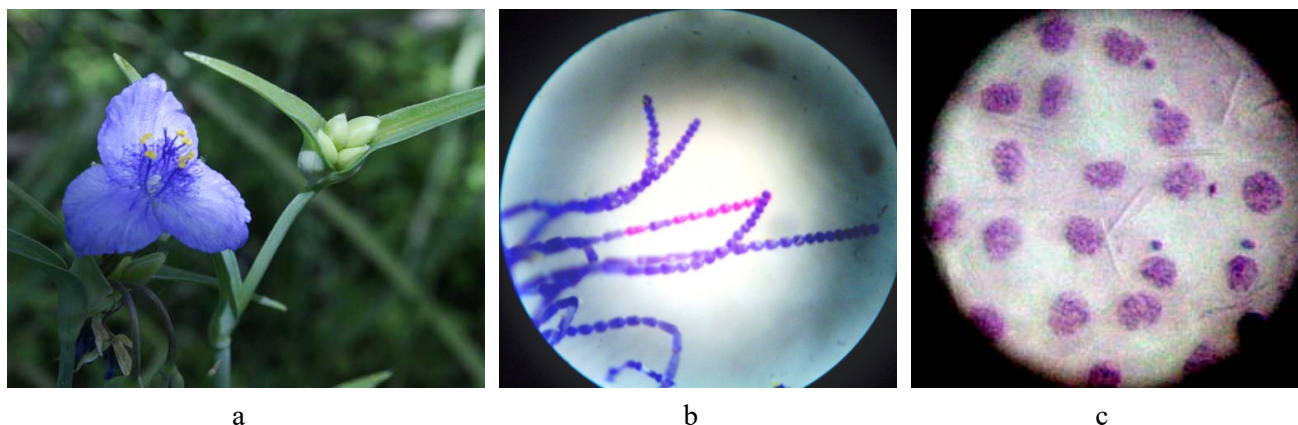


Рис. 2. Общий вид клона 02 традесканции и основные генетические маркеры: а) цветки и бутоны растения традесканции (клон 02); б) розовые мутационные события (рецессивные мутации) в волосках тычиночных нитей; в) Микроядра в тетрадах микроспор в спорогенных тканях традесканции.

Fig. 2. Tradescantia clone 02 and main genetic markers: a) Flowers and buds of *Tradescantia* plant (clone 02); b) Pink mutational events (recessive mutations) in the stamen hairs; c) Micronuclei in tetrads of microspore in sporogenous tissues of *Tradescantia*.

Оба биотеста входят в Международную программу по растительным тестам (IPRV) под эгидой ООН по окружающей среде (ЮНЕП) [Grant, 1994].

Биоиндикация природной водной среды по состоянию ее биоты основана на наблюдении за составом и численностью видов-индикаторов. В качестве индикатора экспресс-оценки качества воды разнотипных водоемов весьма активно используется фитопланктон [Reynolds, 2002; Legrand, 2003; Salmaso, 2006; Gevorgyan, 2016].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

За исследуемый период проводились две серии мониторинговых наблюдений. Выполнялись работы по биотестированию водных образцов (с привлечением двух биотестов традесканции) и по биоиндикации состояния поверхностных вод в тех же водосборных пунктах на основе изучения состава, численности и биомассы фитопланктона.

Целью настоящего исследования являлось биотестирование уровня генотоксичности и кластогенности глубинных вод, а также биоиндикация поверхностных вод из точек водозабора (7) бассейна оз. Севан. В целях биотестирования применялись два биотеста (Трад-ВТН и Трад-МЯ) модельного тест-объекта традесканции (клон 02); а для биоиндикации – анализ наличия и распределения фитопланктона (микроводорослей) литоральной части оз. Севан.

Материалом исследования служили водные пробы бассейна оз. Севан из семи точек водозабора (мониторинговых трансект): район Д-модельный, Гаварагет, Шоржа (участок Малого Севана – МС), Цапатах, Арпа, Норадус, Гилли (участок Большого Севана – БС). Водные пробы были отобраны в летний период: для биотестирования – с глубины 2–4 м, а для биоиндикации изучались поверхно-

стные воды (0.5 м) в тех же пунктах водозабора (рис. 3).

Тестирование проводили по стандартным методикам [Ma et al., 1994 (a, b)] с использованием двух модельных тест-систем клона 02 традесканции – системы волосков тычиночных нитей (тест Трад-ВТН) и микроядерного теста (тест Трад-МЯ). На каждый водный образец было просмотрено по 10–17 тыс. ВТН для теста Трад-ВТН и по 3000 тетрадей для теста Трад-МЯ. В исследуемых водных образцах определяли концентрации

химических элементов и тяжелых металлов (Ca, Na, K, Mg, Fe, Co, Mo, Ni, Cd). В качестве условно фонового образца (контроля) использовали водопроводную воду. Проводили корреляционный анализ между частотой мутационных событий в ВТН, а также частотой встречаемости микроядер в тетрадах микроспор и концентрацией химических элементов в исследуемых водных пробах. Все полученные результаты были статистически обработаны с применением компьютерной программы *Statgraphics Centurion 16. 2*.

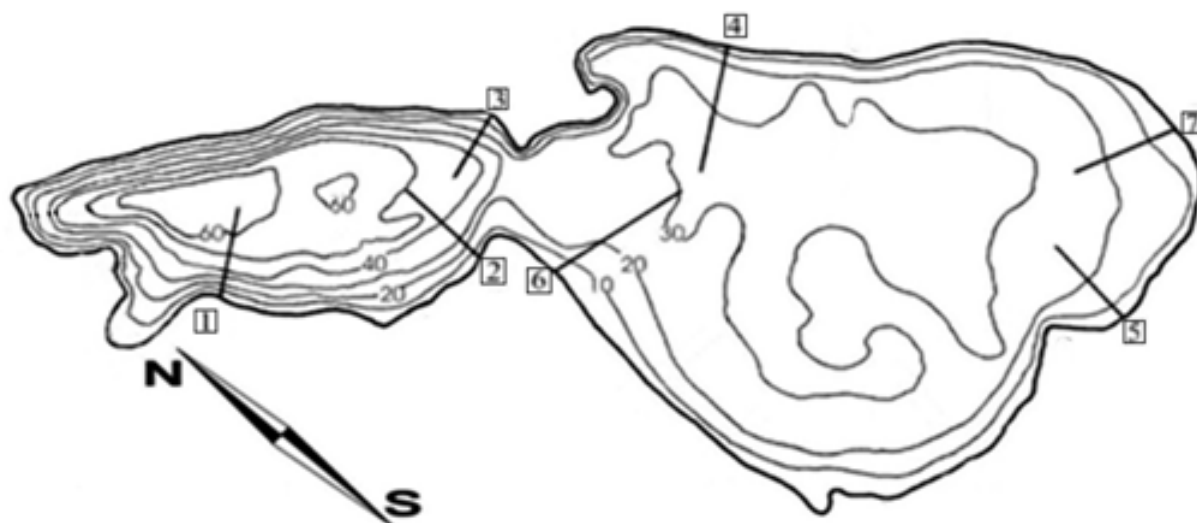


Рис. 3. Карта-схема расположения пунктов водозабора водных образцов и проб фитопланктона оз. Севан. 1 – Д-модельный; 2 – Гаварагет; 3 – Шоржа; 4 – Цапатах; 5 – Арпа; 6 – Норадус; 7 – Гилли.

Fig. 3. Map-scheme of water samples points location and phytoplankton sampling points of Lake Sevan. 1 – D-model; 2 – Gavaraget; 3 – Shorzha; 4 – Tsapatach; 5 – Arpa; 6 – Noradus; 7 – Gilli.

Для анализа наличия и изучения фитопланктона водные пробы отбирались с поверхности семи мониторинговых трансект из двух частей оз. Севан (МС и БС), расположенных параллельно береговой зоне, в летний период. Пробы воды консервировали 40%-ным раствором формальдегида и выдерживали в темном месте в течение 10–12 дней. Затем объем пробы уменьшали с 1000 мл до 100 мл, повторяя этот же процесс, объем образцов был уменьшен до 10 мл. [Абакумов, 1983 (Abakumov, 1983)]. Одновременно с определением

численности, проводили измерения массовых клеток фитопланктона. Биомассу вычисляли на основании индивидуальных размеров клеток методом геометрического подобия. Качественный и количественный анализ фитопланктона проводили под световым микроскопом Motis в камере Нажотта ($V = 0.1$ мл). Таксономические группы фитопланктона определяли с помощью определителей [Linne von Berg et al., 2012; Гамбарян и др., 2014 (Hambaryan et al, 2014)].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании проведенных исследований представлены результаты биотестирования воды оз. Севан с использованием основных тест-маркеров традесканции и биоиндикации на основе изучения численности, биомассы и состава доминирующих видов фитопланктона в летний период 2018 г. Для оцен-

ки возможной зависимости изучаемых эффектов от содержания химических элементов был проведен гидрохимический анализ состава воды изучаемых образцов, компонентный состав которых представлен в табл. 1. Все изученные параметры по своему значению

не превышали предельно допустимые нормативы (ПДК) для водных объектов.

Определение уровня генотоксичности водных образцов оз. Севан 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 с условно фоновым образцом. Уровень РМС превысил фоновый в 1.5–5 раз в зависимости

от водной пробы (рис. 4). Наибольшая частота соматических мутаций отмечалась в образце Гилли, превысив уровень фона в 5 раз. В вариантах Цапатах, Арпа и Норадус (пункты БС) проявление генотоксических эффектов (точковых мутаций) находилось на одном уровне и превышало фоновый в 1.5 раза. Частота встречаемости БМС во всех изученных вариантах была выше фонового уровня в 1.5–5.5 раза, с максимальным повышением в образцах Цапатах и Норадус.

Таблица 1. Содержание некоторых химических элементов в пробах воды оз. Севан

Table 1. The content of some chemical elements in water samples of Lake Sevan

Варианты проб Sampling sites	pH	Ca ²⁺ мг/л/ mg/L	Na ⁺ мг/л/ mg/L	K ⁺ мг/л/ mg/L	Mg мг/л/ mg/L	Fe мг/л/ mg/L	Cr мг/л/ mg/L	Mo мг/л/ mg/L	Ni мг/л/ mg/L	Cd мг/л/ mg/L	Co мг/л/ mg/L
Д-модельный D-model	8.2	27.6	54.2	14.0	33.9	0.05	0.003	0.003	0.001	0.0001	0.002
Гаварагет Gavaraget	8.1	28.4	54.9	14.2	33.8	0.06	0.002	0.003	0.001	0.0001	0.002
Шоржа Shorzha	8.4	31.5	68.1	16.1	42.4	0.14	0.003	0.004	0.001	0.0001	0.002
Цапатах Tsapatach	8.3	31.4	71.9	15.8	48.6	0.12	0.002	0.004	0.002	0.0002	0.003
Арпа Arpa	8.8	34.3	72.5	17.5	48.4	0.14	0.003	0.004	0.002	0.0001	0.001
Норадус Noradus	8.2	30.6	63.3	15.4	40.4	0.13	0.003	0.004	0.001	0.0001	0.002
Гилли Gilli	8.5	33.2	74.8	16.9	50.8	0.12	0.003	0.004	0.002	0.0001	0.001
Фон Background	7.5	12.9	8.5	1.9	5.8	0.008	0.007	0.001	0.001	0	0.001

Среди наблюдаемых морфологических нарушений в ВТН увеличение частоты встречаемости НВ отмечалось во всех изученных вариантах, и их значение превысило фоновый уровень в 2.5–11.5 раз в зависимости от водной пробы. Максимальное значение НВ проявился в вариантах Гаварагет и Цапатах, превысив контроль в 8 и 11.5 раза соответственно, что может свидетельствовать о наличии в данных образцах компонентов, обладающих повышенной тератогенной активностью, приводящей к снижению выживаемости соматических клеток ВТН традесканции.

При проведении корреляционного анализа между уровнем соматических мутаций и концентрациями химических элементов в водных образцах по результатам теста трад-ВТН отмечена достоверная положительная корреляция между уровнем РМС и концентрацией в водных пробах ионов Ca, K, Na, Mo, Fe, Mg, Ni ($p < 0.05$); уровнем БМС и

концентрацией Ca, K, Na, Mo, Fe, Mg, Cd ($p < 0.05$; $p < 0.001$); а также – между значениями НВ и концентрацией Cd и Co ($p < 0.001$) в изученных образцах.

Изучение кластогенных эффектов в спорогенных клетках традесканции по данным теста Трад-МЯ показало увеличение частоты обоих тест-критериев в 1.5–4 раза во всех изученных вариантах по сравнению с фоновым уровнем в зависимости от водного образца. Наибольшая частота встречаемости МЯ наблюдалась в вариантах Арпа и Цапатах, где оба тест-критерия превышали уровень фона в 4 раза (рис. 5).

На основании проведенного корреляционного анализа по данным теста Трад-МЯ показана достоверная положительная корреляция между значениями обоих тест-критериев и концентрацией химических элементов – Na, Ca, Fe, Ni, Mo, Cd ($p < 0.05$) в исследуемых водных пробах (табл. 2).

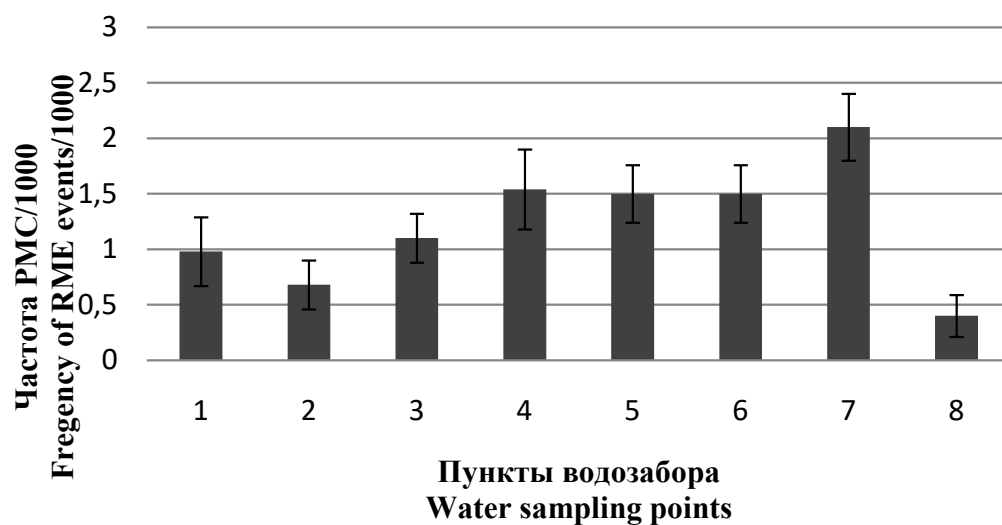


Рис. 4. Частота генотоксических эффектов в соматических клетках традесканции (клон 02): 1 – Д-модельный; 2 – Гаварагет; 3 – Шоржа; 4 – Цапатах; 5 – Арпа; 6 – Норадус; 7 – Гилли; 8 – фон.

Fig. 4. Frequency of genotoxic effects in the somatic cells of *Tradescantia* (clone 02): 1 – D-model; 2 – Gavaraget; 3 – Shorzha; 4 – Tsapatach; 5 – Arpa; 6 – Noradus; 7 – Gilli; 8 – background.

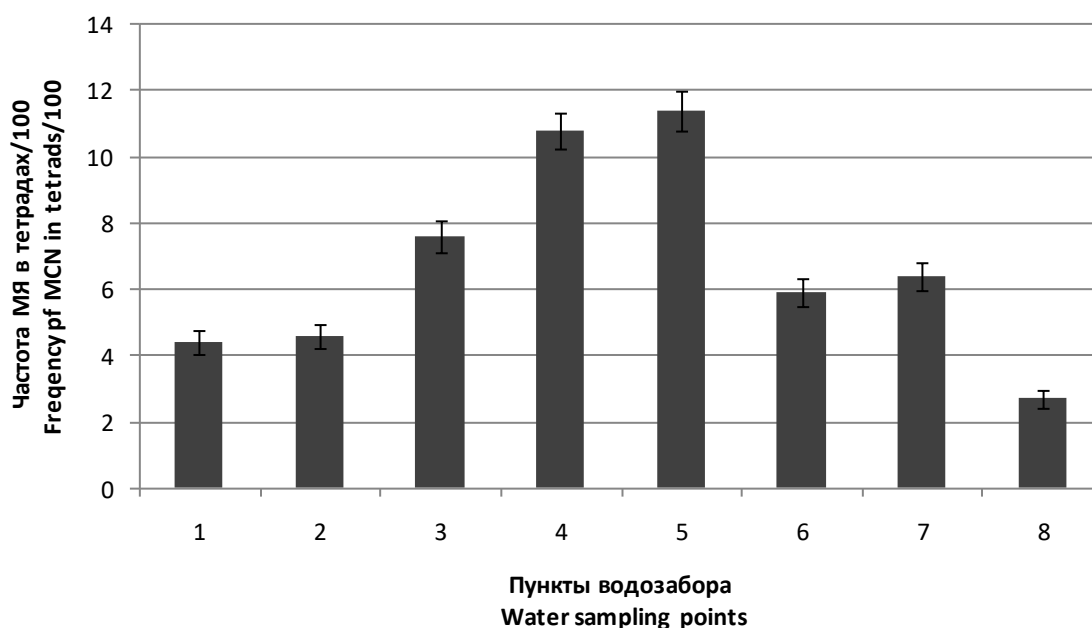


Рис. 5. Частота кластогенных эффектов в спорогенных клетках традесканции (клон 02): 1 – Д-модельный; 2 – Гаварагет; 3 – Шоржа; 4 – Цапатах; 5 – Арпа; 6 – Норадус; 7 – Гилли; 8 – фон.

Fig. 5. Frequency of clastogenic effects in the sporogenic cells of *Tradescantia* (clone 02): 1 – D-model; 2 – Gavaraget; 3 – Shorzha; 4 – Tsapatach; 5 – Arpa; 6 – Noradus; 7 – Gili; 8 – background.

Таблица 2. Коэффициент корреляции (r) между РМС/БМС/НВ, а также МЯ в тетрадах и тетрад с МЯ и концентрацией химических элементов в водных образцах оз. Севан**Table 2.** The coefficient of correlation (r) between PC/ CC/ SH, also MN in tetrads and tetrads with MN and concentration of chemical elements in the water samples of Lake Sevan

Химические компоненты Chemical components	РМС PC	БМС CC	НВ SH	МЯ в тетрадах MN in tetrads	Тетрады с МЯ Tetrads with MN
Ca	0.77*	0.79*	0.34	0.75	0.74
Na	0.80*	0.83*	0.40	0.76	0.74
K	0.76*	0.78*	0.38	0.65	0.67
Mg	0.85*	0.84*	0.38	0.76*	0.77*
Fe	0.78*	0.93**	0.12	0.79*	0.76*
Cr	0.43	-0.59	-0.68	-0.46	-0.51
Mo	0.84*	0.89**	0.32	0.77*	0.78*
Ni	0.76*	0.53	0.21	0.76*	0.76*
Cd	0.54	0.74	0.82*	0.75*	0.78*
Co	-0.02	0.40	0.84*	0.25	0.31

Примечание. “*” – достоверно при $p < 0.05$; “**” – достоверно при $p < 0.001$.

Note. “*” – significantly at $p < 0.05$; “**” – significantly at $p < 0.001$.

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 бассейна, создали предпосылки для необходимости изучения горизонтального распределения, количественного развития, сукцессии и цветения различных видов фитопланктона и взаимовлияния этих процессов на всю экосистему озера [Hambaryan, 2020]. За исследуемый период в планктоне было выявлено более 100 основных видов, из которых 86 являются биоиндикаторами органического загрязнения водной среды.

В ходе исследований выявлено интенсивное летнее цветение воды по всей акватории в обеих частях озера (МС и БС), которое было вызвано наличием потенциально токсичных форм цианобактерий рода – *Dolichospermum/Anabaena* как в литорали, так и в глубоководных участках озера. Развитие данного вида было количественно доминирующим, его доля составила 98.6% (БС) и 99.7% (МС) от общих количественных показателей фитопланктона.

Известно, что решающими факторами для цветения цианобактерий, рассматриваются концентрация биогенов и температура воды. Сезонная динамика концентраций минерального фосфора в воде оз. Севан, в исследуемый летний период превышала экологические нормы фосфатов (0.11 мг/л) для бассейна оз. Севан и колебалась от 0.12 до 0.17 мг/л, одновременно наблюдалось повышение температуры воды в озере, которая в разных пунктах составила 18–21°C [Novsepyan, 2019].

Максимальные показатели фитопланктона литорали (численность – 16 528 000 кл./л и биомасса – 66.1 г/м³) в МС, в период цветения были зарегистрированы в пунктах Шоржа и Д-модельный, что по данным показателям соответствует сильному цветению (рис. 5).

Изучение качественного состава выявило, что цветение воды вызывали виды: *Dolichospermum/Anabaena flos-aquae*, в меньшей степени встречались *Dolichospermum/Anabaena circinales* и *Dolichospermum/Anabaena lemmermanii*. По мере убывания интенсивности цветения наблюдалось увеличение количественных и качественных показателей зеленых водорослей, доминировал крупноклеточный вид *Oocystis solitaria*.

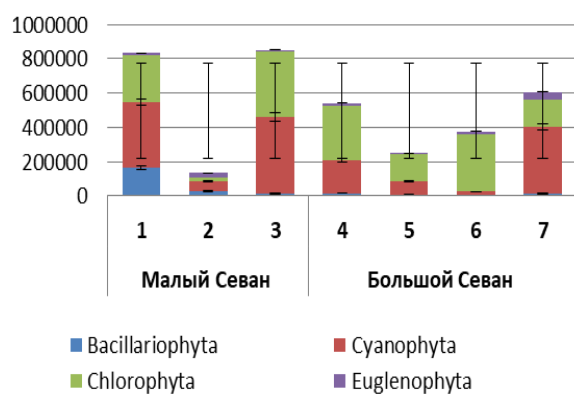
Изменения происходили также и в БС, где на фоне уменьшения показателей диатомовых и эвгленовых водорослей, наблюдалась сукцессия на уровне основных групп (рис. 5). Так доминантной группой по показателям численности и биомассе были зеленые водоросли, составляющие 54% и 81%, субдоминантами сообщества, по показателям численности были синезеленые водоросли – 39%, а по биомассе – эвгленовые водоросли и составляли 10% соответственно.

Доминантными были виды: зеленая *Oocystis solitaria* (пункт Норадус) и синезеленая *Dolichospermum/Anabaena flos-aquae* (пункты Гилли и Цапатах). Для БС максимальные показатели численности и биомассы фитопланктона в летний период составляли 3 080 000 кл./л и 9.5 г/м³ соответственно и наблюдались в пункте Гилли. Вероятно, массовое развитие цианобактерий на данной акватории, расположенной в устье р. Масрик, обусловлено сложившимися гидролого-гидрохимическими ус-

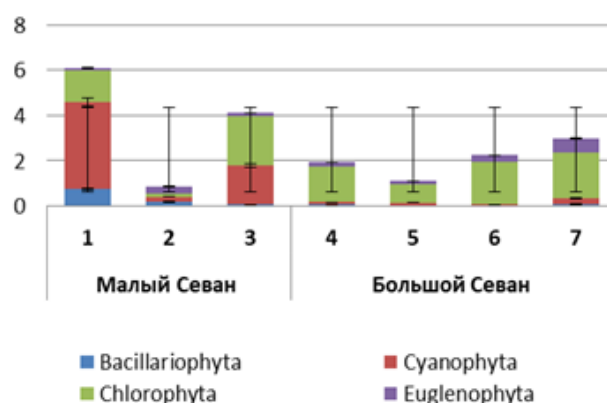
ловиями т.к. реки приносят в приустьевые участки большое количество органических и минеральных веществ).

Обобщая данные биотестирования показано генотоксическое и тератогенное действие исследуемых образцов оз. Севан в летний период на соматические клетки традесканции, которое выражается в достоверном повышении уровня рецессивных мутаций и морфологических нарушений типа НВ. Увеличение частоты формирования микроядер, как результат повреждения хромосом в период микроспорогенеза, свидетельствует о наличии кластогенного эффекта, оказываемого водными пробами озера на

спорогенные клетки традесканции. Таким образом, по результатам обоих биотестов выраженное повышение уровня генотоксичности и кластогенности за исследуемый период свидетельствует о загрязненности воды оз. Севан химическими элементами и тяжелыми металлами (Ca, Na, K, Mg, Fe, Mo, Ni, Cr, Co, Cd), а также цианотоксинами, выделяемыми потенциально токсичными цианобактериями в тестируемых точках, с наибольшим уровнем рецессивных мутаций в водном образце Гилли, а по значениям БМС и НВ, а также по показателям микроядерного теста – в пробе Цапатах.



a



b

Рис. 5. Динамика развития фитопланктона в летний период в разных пунктах мониторинга: а) Изменения численности (кл./л); б) Изменения биомассы (г/м³). 1 – Д-модельный; 2 – Гаварагет; 3 – Шоржа; 4 – Цапатах; 5 – Арпа; 6 – Норадус; 7 – Гилли.

Fig. 5. Dynamics of phytoplankton development in summer at different monitoring points: Quantity change (cell/l); б) Biomass change (g/m³). 1 – D-model; 2 – Gavaraget; 3 – Shorzha; 4 – Tsapatach; 5 – Arpa; 6 – Noradus; 7 – Gilli.

Следует отметить, что в результате биотестирования в образцах с акватории МС, несмотря на увеличение численности и биомассы фитопланктона, не зарегистрированы высокие уровни генетических параметров по сравнению с БС. Данный факт можно объяснить неодновременным цветением воды в БС и МС. Если рассматривать пространственно-временную динамику распространения фитопланктона по акватории оз. Севан, то начало цветения регистрируется вначале в БС, а затем – распространяется на МС. Так как водные образцы для исследования забираются одновременно, то, когда в БС уже заканчивается активная фаза цветения и начинаются процессы разложения фитопланктона, в МС наблюдается активная фаза цветения. Процесс эвтрофикации обусловлен повышенным содержанием биогенных веществ (минеральные и органические соединения фосфора, азота и др.), а после разложения микроводорослей, кроме биогенов в воде могут накапливаться также вторичные метаболиты

цианобактерий, которые также потенциально токсичны. Кроме того, микроводоросли, после разложения не исчезают, а опускаются на дно озера, где конечным результатом их распада становится накопление органических веществ. Возможно, именно этим, наряду с наличием в воде цианотоксинов, обусловлен высокий уровень генотоксичности образцов из БС (особенно, в вариантах Гилли и Цапатах).

По данным биоиндикационных исследований за период наблюдений основными группами фитопланктона оз. Севан были: *Cyanophyta* (синезеленые водоросли) и *Chlorophyta* (зеленые водоросли), наблюдалось угнетение развития *Bacillariophyta* (диатомовые водоросли). Также отмечены значительные изменения количественных показателей и качественного состава фитопланктона, непредсказуемые флуктуации и участвовавшее цветение потенциально токсичных видов цианобактерий в пунктах гидроэкологического мониторинга. Максимальные показатели по численности и

биомассе фитопланктона в летний период на участке МС наблюдались в пунктах: Д-модельный и Шоржа, а на участке БС – Гилли и Цапатах.

Различия наблюдаемых эффектов, по-видимому, обусловлены неравномерностью бытовых и техногенных нагрузок, изменениями физико-химических показателей воды

вследствие эвтрофикации, а также суммарным токсическим действием всего комплекса загрязняющих веществ, что могло привести к повышению уровня генетических эффектов в исследуемых водных образцах, а также к накоплению цианобактерий в водозаборных пунктах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании исследований водных образцов оз. Севан показано, что пробы воды с акватории БС (Гилли и Цапатах) индуцируют повышенный уровень точковых мутаций (РМС) и морфологических нарушений типа НВ, а также – процент микроядер (в вариантах Цапатах и Арпа), что согласуется с данными гидробиологического анализа по увеличению численности и биомассы фитопланктона в этих водозаборных пунктах БС. Нахождение потенциально токсичных таксономических форм цианобактерий (синезеленая *Dolichospermum/Anabaena flos-aquae* и *D/A. circinales*) в пунктах Гилли и Цапатах является возможной причиной увеличения генотоксичности воды на исследуемых участках.

Но для более достоверной информации необходимо и целесообразно проведение дополнительного мониторинга на наличие других более токсичных компонентов в воде Севана (особенно, хлорорганических поллютантов и стойких органических загрязняющих веществ – СОЗ), поступающих с водостоком реки Масрик, загрязненной биогенными веществами, устье которой находится рядом с пунктом водозабора Гилли, а также – с коммунально-бытовыми и сельскохозяйственными

ми стоками с близлежащих прибрежных территорий БС.

Увеличение биогенного загрязнения экосистемы оз. Севан привело к неблагоприятным изменениям в фитопланктоне: рост биомассы, увеличение в составе сообщества потенциально токсичных цианобактерий и частых цветений, что наряду с другими показателями указывает на наличие процессов эвтрофирования. В целом, произошло ухудшение показателей качества воды, возросли экологические и токсикологические риски (накопление цианотоксинов в воде) для всей лимносистемы. В связи с этим необходимо проводить постоянный мониторинг и регулирование антропогенной нагрузки на экосистему оз. Севан, приводящей к его эвтрофикации, особенно для веществ, формирующихся под действием природных и антропогенных факторов.

Комплексные исследования по биотестированию и биоиндикации на основе генетического и гидробиологического мониторинга проводились в республике впервые, и в дальнейшем предполагается их продолжить для более эффективной и всесторонней оценки экологического состояния экосистемы оз. Севан.

Работа выполнена в рамках государственного целевого проекта Комитета по науке Министерства образования, науки, культуры и спорта Республики Армения “Исследование механизмов эвтрофикации озера Севан и разработка методов борьбы с явлениями “цветения” (№ 1-15/ ТВ-21 от 21.01.2021 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абакумов В.А. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. Ленинград: Гидрометеиздат, 1983. С. 78–86.
- Александрова В.В. Биотестирование как современный метод оценки токсичности природных и сточных вод. Нижневартовск: Изд-во Нижневарт. гос. ун-та, 2013. 119 с.
- Алексеевский Н.И. Генетический анализ качества воды. Москва: Изд-во МГУ. География, 1993. 135с.
- Арутюнян Р.М., Авалян Р.Э., Атоянц А.Л., Агаджанян Э.А., Габриелян Б.К. Биотестирование водных проб оз. Севан в период цветения воды и после обработки цеолитом с применением модельного тест-объекта // Доклады АН Армении. 2021. Т. 121. № 4. С. 294–301.
- Гамбарян Л.Р., Шахазизян И.В. Краткий определитель родов пресноводных водорослей. Ереван: Изд-во ЕГУ. 2014. 61 с.
- Жукова А.А., Матицкий С.Э. Биоиндикация качества природной среды. Минск: Изд-во БГУ, 2014. 112 с.
- Матишов Г.Г., Селютин В.В., Месропян К.Э., Булышова Н.И., Шевердяев И.В., Арутюнян Р.М., Габриелян Б.К. Современное состояние и проблемы изучения озера Севан // Вестник Южного Научного Центра, 2016. Т. 12. № 2. С. 43–52. DOI: 10.23885/2500-0640-2017-13-3-58-70
- Озеро Севан. Экологическое состояние в период изменения уровня воды. Ярославль: Филигрань, 2016. 328 с.

- Экология оз. Севан в период повышения его уровня. Результаты исследований Российско-Армянской биологической экспедиции по гидроэкологическому обследованию оз. Севан (Армения). Махачкала: Наука, 2010. 348 с.
- Aghajanyan E., Avalyan R., Atoyants A., Khosrovyan A., Aroutiounian R. Assessing a Freshwater Ecosystem Using *Tradescantia* Model Test Object // *Water, Air, & Soil Pollution*. 2020. № 231(2). P. 231–244. DOI: 10.1007/s11270-020-4407-3
- Avalyan R.E., Aghajanyan E.A., Khosrovyan A., Atoyants A.L., Simonyan, A.E., Aroutiounian, R.M. Assessment of mutagenicity of water from Lake Sevan, Armenia with application of *Tradescantia* (clone 02) // *Mutation Research*. 2017. Vol. 800. P. 8–13. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2017.03.006
- Campos C.F., Morelli S., De Campos Júnior E.O., Santos V.S.V., De Moraes C.R., Cunha M.C., Souto H.N., Pavanin L.A., Bonetti A.M., Pereira B.B. Assessment of the genotoxic potential of water courses impacted by wastewater treatment effluents using micronucleus assay in plants from the species *Tradescantia* // *J. Toxicol. Environ. Health A*. 2019. № 82(13). P. 752–759.
- Gevorgyan G., Rinke K., Schultze M. et al. First report about toxic cyanobacterial bloom occurrence in Lake Sevan, Armenia // *Int Rev Hydrobiol*. 2020. P. 1–12. DOI: 10.1002/iroh.202002060.
- Grant W.F. The present status of higher plant bioassay for the detection of environmental mutagens // *Mutation Research*. 1994. Vol. 310. № 2. P. 175–185. DOI: 10.1016/0027-5107(94)90112-0
- Hambaryan L., Khachikyan T., Ghukasyan E. Changes in the horizontal development of phytoplankton of the littoral of lake Sevan (Armenia) in conditions of water level fluctuations // *Limnology and Freshwater Biology*. 2020. № 4. P. 662–664. DOI: 10.31951/2658-3518-2020-A-4-662SI:
- Hovsepyan A.A., Mamyas A.S., Khachikyan T.G., Tikhonova I.V., Sorokovikova E.G., Belykh O.I., Gevorgyan G.A. Monitoring of phytoplankton status in Lake Sevan (Armenia) in 2018 // *Proceedings of the Yerevan State University*. 2019. Vol. 53(3). P. 206–211.
- Legrand C., Rengefors K., Fistarol G.O., Graneli E. Allelopathy in phytoplankton – biochemical, ecological and evolutionary aspects // *Phycologia. Research Library*. 2003. Vol. 42. № 4. P. 406–419. DOI: 10.2216/i0031-8884-42-4-406.1
- Linne von Berg K.-H., Hoef-Emden K., Melkonian M. *Der Kosmos-Algenführer: Die wichtigsten Süßwasseralgen im Mikroskop*. Stuttgart: Kosmos, 2012. 368 s.
- Ma T.H., Cabrera G.L., Cebulska-Wasilevska A., Chen R., Loarca A.I., Vandenberg A.L., Salamone M.F. *Tradescantia* stamen hair mutation bioassay // *Mutation Research*. 1994. Vol. 310. № 2. P. 211–220. DOI: 0027-5107(94)00104-D
- Ma T.H., Cabrera G.L., Chen R., Gill B.S., Sandhu S.S., Vandenberg A.L., Salamone M.F., *Tradescantia* micronucleus bioassay // *Mutation Research*. 1994. Vol. 310, № 2. P. 220–230. DOI: 10.1016/0027-5107(94)90115-5
- Majer B.J., Grummi T., Uhl M., Knasmueller, S. Use of plant bioassay for the detection of genotoxins in the aquatic environment // *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*. 2005. Vol. 33. P. 45–55. DOI: 10.1002/ahch.200300557
- Reynolds C., Huszar V., Kruk C., Naselli-Flores L., Melo S. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton // *J. Plankton Res.* 2002. Vol. 24. P. 417–428. DOI: 10.1093/plankt/24.5.417
- Sakharova E.G., Krylov A.V., Sabitova R.Z., et al. Horizontal and vertical distribution of phytoplankton in the alpine Lake Sevan (Armenia) during the summer Cyanoprokaryota bloom // *Problems of Ecology*. 2020. Vol. 13 (1). P. 60–70. DOI: 10.1134/S1995425520010072
- Salmaso N., Morabito G., Buzzi F., Garibaldi L., Simona M. & Mosello R. Phytoplankton as an indicator of the water quality of the deep lakes south of the Alps // *Hydrobiologia*. 2006. Vol. 563. P. 167–187. DOI: 10.1007/s10750-005-0003-1
- Yang G. *Tradescantia*-micronucleus assay on the water quality of lake Hongzhe in Jiangsu Province, China // *Mutation Research*. 1999. Vol. 426. P. 155–157. DOI: S0027-5107(99)00047-0

REFERENCES

- Abakumov V.A. Guidance on methods of hydrobiological analysis of surface waters and bottom sediments. Leningrad, Gidrometeoizdat. 1983. P. 78–86. (in Russian)
- Aghajanyan E., Avalyan R., Atoyants A., Khosrovyan A., Aroutiounian R. Assessing a Freshwater Ecosystem Using *Tradescantia* Model Test Object. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2020, no. 231(2), pp. 231–244. doi: 10.1007/s11270-020-4407-3
- Aleksandrova V.V. Biotesting as a modern method for assessing the toxicity of natural and waste waters: Nizhnevartovsk, Nizhnevart Publishing House. State university. 2013. 119 c. (in Russian)
- Alekseyevskiy N.I. Genetical analysis of water quality. Geografiya. Moscow, MGU. 1993. 135 p. (in Russian).
- Aroutiounian R.M., Avalyan R.E., Atoyants A.L., Agajanyan E.A., Gabrielyan B.K. Biotesting of water samples from lake Sevan during water bloom and after treatment with zeolite using a model test object. *Reports of National Academy of Science of Armenia*, 2021, vol. 121, no. 4, pp. 294–301. (In Russian)
- Avalyan R.E., Aghajanyan, E. A., Khosrovyan, A., Atoyants, A.L., Simonyan, A. E., Aroutiounian, R. M. Assessment of mutagenicity of water from Lake Sevan, Armenia with application of *Tradescantia* (clone 02). *Mutation Research*, 2017, vol. 800, pp. 8–13. doi: org/10.1016/j.mrfmmm.2017.03.006
- Campos C.F., Morelli S., De Campos Júnior E.O., Santos V.S.V., De Moraes C.R., Cunha M.C., Souto H.N., Pavanin L.A., Bonetti A.M., Pereira B.B. Assessment of the genotoxic potential of water courses impacted by wastewater

- treatment effluents using micronucleus assay in plants from the species *Tradescantia*. *J. Toxicol. Environ. Health A.*, 2019, vol. 82(13), pp. 752–759.
- Ekologiya oz. Sevan v period povysheniya ego urovnya. Rezul'taty issledovaniy Rossijsko-Armyanskoj biologicheskoy ekspedicii po gidroekologicheskomu obsledovaniyu oz. Sevan (Armeniya) [Ecology of Lake Sevan during the period of its level increase. Research results of the Russian-Armenian biological expedition for hydroecological survey of the Lake Sevan (Armenia)]. Makhachkala, Nauka DNC, 2010. 348 p. (In Russian)
- Grant W.F. The present status of higher plant bioassay for the detection of environmental mutagens. *Mutation Research*, 1999, vol. 310, no. 2, pp. 175–185. doi: S0027-5107(99)00047-0
- Gevorgyan G., Rinke K., Schultze M. et al. First report about toxic cyanobacterial bloom occurrence in Lake Sevan, Armenia. *Int Rev Hydrobiol.*, 2020, pp. 1–12. doi: 10.1002/iroh.202002060.
- Hambaryan L., Khachikyan T., Ghukasyan E. Changes in the horizontal development of phytoplankton of the littoral of Lake Sevan (Armenia) in conditions of water level fluctuations. *Limnology and Freshwater Biology*, 2020, no. 4, pp. 662–664. doi: 10.31951/2658-3518-2020-A-4-662
- Hambaryan L.R., Shahazizyan I.V. Determinant and educational manual for genera of freshwater algae. Yerevan, YSU Press, 2014. 61 p. (In Armenian)
- Hovsepyan A.A., Mamyan A.S., Khachikyan G.T., Tikhonova I.V., Sorokovikova E.G., Belykh O.I., Gevorgyan G.A. Monitoring of phytoplankton status in Lake Sevan (Armenia) in 2018. *Proceedings of the Yerevan State University*, 2019, vol. 53(3), pp. 206–211.
- Legrand C., Rengefors K., Fistarol G.O., Graneli E. Allelopathy in phytoplankton - biochemical, ecological and evolutionary aspects. *Phycologia. Research Library*, 2003, vol. 42, no. 4, pp. 406–419. doi: 10.2216/i0031-8884-42-4-406.1
- Linne von Berg K.-H., Hoef-Emden K., Melkonian M. Der Kosmos-Algenführer: Die wichtigsten Süßwasseralgen im Mikroskop. Stuttgart, Kosmos, 2012. 368 s.
- Ma T.H., Cabrera G.L., Cebulska-Wasilevska A., Chen R., Loarca A.I., Vandenberg A.L., Salamone M.F. *Tradescantia* stamen hair mutation bioassay. *Mutation Research*, 1994, vol. 310, no. 2, pp. 211–220. doi: 0027-5107(94)00104-D
- Ma T.H., Cabrera G.L., Chen R., Gill B.S., Sandhu S.S., Vandenberg A.L., Salamone M.F. *Tradescantia* micronucleus bioassay. *Mutation Research*, 1994, vol. 310, no. 2, pp. 220–230. doi: 10.1016/0027-5107(94)90115-5
- Majer B.J., Grummi T., Uhl M., Knasmuelle S. Use of plant bioassay for the detection of genotoxins in the aquatic environment. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 2005, vol. 33, pp. 45–55. doi: 10.1002/ahch.200300557
- Matishov G.G., Selyutin V.V., Mesropyan K.E., Bulysheva N.I., Sheverdyayev I.V., Aroutiounyan R.M., Gabrielyan B.K. The current state and problems of studying Lake Sevan. *Science South of Russia*, 2016, vol. 12(2), pp. 43–52. doi: 10.23885/2500-0640-2017-13-3-58-70 (In Russian)
- Ozero Sevan. Ekologicheskoe sostoyanie v period izmeneniya urovnya vody [Lake Sevan. Ecological state during the period of water level change]. Yaroslavl, Filigran, 2016. 328 p. (In Russian)
- Reynolds C., Huszar V., Kruk C., Naselli-Flores L., Melo S. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *J. Plankton Res.*, 2002, vol. 24, pp. 417–428. doi: 10.1093/plankt/24.5.417
- Sakharova E.G., Krylov A.V., Sabitova R.Z. et al. Horizontal and vertical distribution of phytoplankton in the alpine Lake Sevan (Armenia) during the summer Cyanoprokaryota bloom. *Problem of Ecology*, 2020, vol. 13(1), pp. 60–70. doi: 10.1134/S1995425520010072 (In Russian)
- Salmaso N., Morabito G., Buzzi F., Garibaldi L., Simona M., Mosello R. Phytoplankton as an indicator of the water quality of the deep lakes south of the Alps. *Hydrobiologia*, 2006, vol. 563, pp. 167–187. doi: 10.1007/s10750-005-0003-1
- Yang G. *Tradescantia*-micronucleus assay on the water quality of lake Hongzhe in Jiangsu Province, China. *Mutation Research*, 1999, vol. 426, pp. 155–157. doi: S0027-5107(99)00047-0
- Zhukova A.A., Mastitsky S.E. Bioindikatsiya kachestva prirodnoj sredy [Bioindication of the quality of the natural environment]. Minsk, BSU, 2014. 112 p. (In Russian)

ASSESSMENT OF THE STATE OF LAKE SEVAN WATER DURING THE SUMMER USING MODEL TEST-OBJECTS

R. E. Avalyan¹, A. L. Atoyants¹, L. R. Hambaryan^{1,2},
E. A. Aghajanyan¹, B. K. Gabrielyan², R. M. Aroutiounian¹

¹ RI “Biology”, Yerevan State University, Chair of Ecology
8, Charents St., Yerevan, Armenia, 0025,

² SC of Zoology and Hydroecology, Institute of Hydroecology and ichthyology NAS RA
7, Sevak str. 0014, Yerevan, Armenia. e-mail: re_avalan@mail.ru; genetika@ysu.am

The biotesting of the level of genotoxicity and clastogenicity of deep and surface waters of Lake Sevan (Armenia) in the summer period was carried out using two test systems: of the model test object *Tradescantia* (clone 02) and phytoplankton. The *Tradescantia* clone 02 stamen hair mutations (Trad-SHM) and *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) bioassays are two of the efficient and reliable biomonitoring test systems for mutagenicity of

air, water and soil pollutants. Here we report a significant increase in the level of The *Tradescantia* clone 02 stamen hair mutations (Trad-SHM) somatic mutations in all investigated probes compared to phone control level. The maximum manifestation of these genetic effects – PC was observed in Gilli water samples with five-fold increase. According to the micronucleus test (Trad-MN), when studying its two main test-criteria: the percentage of tetrads with micronuclei and micronuclei in tetrads, the maximum frequency of test indicators was detected in water samples of Tsapatakh and Arpa, where their level was 4 times higher than the background. A significant positive correlation between the somatic mutation events and concentration of chemical elements Ca, K, Na, Mg, Fe, Mo ($p<0.05$; $p<0.001$) was revealed. It also showed a significant correlation between MN in tetrads and concentration of chemical elements Na, Ca, Fe, Mo, Ni, Cd ($p<0.05$). The analysis of the spatial distribution of phytoplankton in the water area of the Lake Sevan, as well as data on the abundance, biomass and composition of the dominant species in the summer observation period showed an intensive development of Cyanoprokaryota (HAB) and green algae in the all water area of the lake, which caused the process of its eutrophication.

Keywords: biotesting, *Tradescantia* (clone 02), genotoxicity, clastogenicity, water pollution, bioindication, phytoplankton, Harmful Algal Blooms of Cyanoprokaryota (HABs)