УДК 574.24

РЕАКЦИИ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ НА ПРИСУТСТВИЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ЭЛОДЕИ В МИКРОКОСМАХ

В. Б. Вербицкий^{1,*}, С. А. Курбатова¹, Н. А. Березина², Л. Г. Корнева¹, Н. Ю. Метелева¹,
О. С. Макарова¹, А. Н. Шаров^{1,3}, И. Ю. Ершов¹, О. А. Малышева¹, Я. В. Русских³,
Е. Н. Чернова³, Е. В. Борисовская¹

Представлено академиком РАН А.Ф. Алимовым 26.02.2019 г.

Поступило 12.03.2019 г.

Цель работы — исследовать влияние массового развития цианобактерий и элодеи на популяционные характеристики (численность, биомассу, плодовитость) и показатели “здоровья” (состояние эмбрионов, сердечный ритм и терморезистентность) водных беспозвоночных в эксперименте с контролируруемыми условиями. В июле–августе 2018 г. в четырех вариантах микрокосмов были смоделированы условия, характерные для прибрежной зоны Рыбинского водохранилища в период массового развития цианобактерий. В микрокосмы помещали массовые виды планктонных (с доминированием (80%) крупных *Daphnia longispina*) и донных животных (*Unio pictorum*, *Gmelinoides fasciatus*, *Asellus aquaticus*), а также элодею *Eloдея canadensis*. В вариантах с цианобактериями выявлено наличие токсичных микроцистинов LR (24–53% от суммы токсинов, или от 6,6–66,5 мкг/л). Присутствие цианобактерий (*Aphanizomenon flos-aquae*, *Microcystis aeruginosa* и *Gloeotrichia* spp.) сказывалось на структурных показателях планктона: снижение количества зеленых водорослей и увеличение обилия мелких форм ракообразных. Под влиянием цианобактерий были выявлены достоверные отличия показателей донных животных от контроля, такие как пониженный уровень терморезистентности моллюсков и амфипод, увеличенное время восстановления сердечного ритма после нагрузки (соленостный тест) у моллюсков, снижение индивидуальной плодовитости и рост частоты уродств и смертности эмбрионов у амфипод. Наличие элодеи усиливало эти эффекты. Таким образом, массовое развитие цианобактерий и элодеи влияет на экофизиологические показатели чувствительных видов водных животных, уменьшая их адаптивность к природным стрессам и ухудшая качество потомства.

Ключевые слова: ракообразные, моллюски, биомасса, репродукция, терморезистентность, кардиоактивность, цианотоксины, гипоксия.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524881112-116>

ВВЕДЕНИЕ

Массовое развитие цианобактерий в природных водоемах представляет глобальную проблему, которая обостряется в условиях изменчивого климата и эвтрофикации водоемов. Цианобактерии способны синтезировать внутриклеточные цианотоксины, защищающие их от поедания водными животными, но эти токсины могут быть опасны для здоровья человека. Известно, что активные фильтраторы: дафнии и двустворчатые моллюски, заглатывая цианобактерий, часто не переваривают их, и те, проходя невредимыми через пищевари-

тельную систему, используют экскретируемые животными фосфаты [1, 2]. В водоемах мира широко распространены высокотоксичные микроцистины MC-LR [3, 4]. Эти токсины продуцируются разными видами цианобактерий. После выделения из клетки они присутствуют в воде и биомассе планктона несколько недель [5].

Токсичные эффекты цианотоксинов (в том числе микроцистинов) на физиологические показатели беспозвоночных и водные растения широко обсуждаются в литературе [6, 7]. Они выражаются в снижении выживаемости и репродуктивного потенциала водных организмов, увеличении амплитуды колебаний популяционных показателей. Однако из-за высокой вариации физиологической и биохимической чувствительности между видами трудно дать общий вывод об их влиянии на какой-то определенный параметр. В работе впервые выявлено значимое влияние цианотоксинов на кардиоактивность и терморезистентность двух тестовых видов

¹ Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской Академии наук, п. Борок Ярославской обл.

² Зоологический институт Российской Академии наук, Санкт-Петербург

³ Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской Академии наук, Санкт-Петербург

* E-mail: verb@ibiw.ru

моллюсков и ракообразных, а также на развивающиеся эмбрионы рачков и, в целом, на качество формирующегося потомства, что, по-видимому, объясняет дальнейшие эффекты на размеры особей, численности популяций и структуру сообществ, отмечаемых для разных групп водных животных в природе при массовом развитии цианобактерий [8].

Элодея *Elodea canadensis* Michx (1803) — это североамериканский погруженный гидрофит, после случайного завоза с судами и намеренной интродукции широкого расселившийся в пресных водоемах России [7]. В ее густых зарослях меняется соотношение ионов и биогенных веществ в воде. Показано, что элодея может поглощать цианобактериальные метаболиты, включая MC-LR, но чувствительна к их концентрации $>0,5 \text{ мг дм}^{-3}$ [9].

Цель работы — изучить влияние цианобактерий и элодеи на структурные показатели сообществ водных организмов и состояние “здоровья” тестовых видов моллюсков и ракообразных по терморезистентности, кардиоактивности и состоянию эмбрионов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе стационара экспериментальных полевых и экспедиционных работ Института биологии внутренних вод РАН (58°02'57" с.ш.; 38°14'56" в.д.) в микрокосмах, которые создавали в пластиковых лотках (300 л), заполненных фильтрованной речной водой с природным сообществом планктона и для стабилизации температурных перепадов помещенных в бассейн с водой. Были смоделированы четыре варианта в трёх повторях: I — контроль (речная вода), II — I + элодея (фитоценоз плотностью $6,6 \text{ см}^3$ на 1 дм^3 воды), III — I + элодея и живые цианобактерии ($10\text{--}16 \text{ млн кл./дм}^3$) из Рыбинского водохранилища (*Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs (70%) и *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz., *Gloeotrichia* sp. и др.) и IV — I + цианобактерии. Цианобактерии вносили дважды — 19.07 и 30.07.2019 г. В каждый лоток были внесены зоопланктон (с доминированием крупных кладоцер *Daphnia longispina* O. F. Müller, 1776, $>80\%$ по биомассе) и донные животные (двустворчатые моллюски *Unio pictorum* (Linnaeus, 1758) (13 экз.), амфиподы *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) (50 экз.), изоподы *Asellus aquaticus* (Linnaeus, 1758) (40 экз.), добавлены сухие листья березы для питания и речная галька для укрытия донных ракообразных. Лотки изолировали сеткой от попадания животных из воздуха и бассейна.

Длительность эксперимента составила 20 сут (с 19.07. по 07.08.2018 г.). Каждые 5 сут отбирали пробы

фито- и зоопланктона, проводили физико-химический анализ воды (T °C, pH, O_2 , электропроводность, концентрации минерального и общего N и P, Na^+ и K^+) и измеряли содержание цианотоксинов в альгомассе методом жидкостной хроматографии и tandemной масс-спектрометрии [4]. По окончании оценивали стрессоустойчивость моллюсков по критерию времени восстановления (T_{rec}) частоты сердечных сокращений (ЧСС) после соленостного стресса [10], терморезистентность животных по критерию критического температурного максимума (КТМ) (фиксируется по моменту обездвиживания ножек у амфипод и изопод [11] и по резкому снижению ЧСС у моллюсков) и репродуктивный потенциал амфипод по индивидуальной плодовитости, частоте уродств и смертности эмбрионов [12]. Достоверность различий в показателях оценивали в стандартных статистических программах PAST и Statgraphics.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исходной пробе цианобактерий, вносимых в микрокосмы, выявлено 11 типов микроцистинов (MC) общей массой 26 мкг/дм^3 . Преобладали MC-YR, [D-Asp3]MC-RR, [D-Asp3]MC-LR и MC-LR, составляя соответственно 46, 23, 12 и 11%. Анатоксины не обнаружены. При втором внесении количество MC выросло до 117 мкг/дм^3 , 40% из них — высокотоксичные MC-LR.

В период наблюдений в вариантах I и II до 90% биомассы фитопланктона составляли зеленые водоросли *Volvox aureus* Ehr., *Closterium moniliferum* (Bory) Ehr., *Oocystis solitaria* Wittr. In Wittr. Et Nordst (табл. 1), а в III, IV — 63–88% — цианобактерии *Aphanizomenon flos-aquae* и обнаружены MC-LR.

Общая численность зоопланктона достоверно (тест Фридмана, $p < 0,05$) была выше в вариантах II–IV, чем в контроле (табл. 1), прежде всего вследствие роста количества мелкоразмерных форм: науплиусов и копепоидов Copepoda, коловраток, рачков сем. Chydoridae и других небольших Cladocera. Численность Cyclopoida в 3–11 раз, биомасса в 4–6 раз были выше, чем в контроле. Численность доминирующих крупных дафний, а также выживаемость моллюсков, амфипод и изопод достоверно не отличались от контроля. В природе при цианобактериальном “цветении” роль крупных кладоцер обычно снижается, а мелких кладоцер, копепоид и коловраток возрастает [13].

Средние значения КТМ амфипод из III были на $0,6\text{--}0,9$ °C, а минимальные значения — на $1,6\text{--}2,3$ °C ниже, чем в остальных вариантах (табл. 1). Разли-

Таблица 1. Диапазон величин (минимум–максимум), средние значения измеренных химических и биологических показателей, их стандартная ошибка ($\pm SE$) или *стандартное отклонение ($\pm SD$)

Показатель	Среда, организм	Варианты			
		I	II	III	IV
Фосфаты, $P_{\text{общ}}$, мкг/дм ³	Вода	28–34 48–67	24–43 44–65	22–27 45–57	28–42 52–78
Нитраты $N_{\text{общ}}$, мкг/дм ³		4–14 723–1233	2–6 770–1190	2–5 856–1433	2–15 803–1127
N , 10 ⁶ кл./дм ³	Chlorophyta	0,11–0,13	2,0–5,1	0,66–1,65	0,1–3,4
N , 10 ⁶ кл./дм ³	Cyanobacteria	0,09–0,02	0,35–0,52	2,27–12,6	2,6–16,8
B , мкг/дм ³ (%)	Микроцистин-LR			2,7–33,8 (41–53)	4,0–33,5 (24–50)
N , экз./дм ³	Зоопланктон	107,4 $\pm$ 35,3	179,2 $\pm$ 53,4	260,4 $\pm$ 76,4	315,4 $\pm$ 73,7
B , мг/дм ³	Cladocera	3,4 $\pm$ 0,9	5,6 $\pm$ 1,8	6,8 $\pm$ 4,6	5,9 $\pm$ 2,9
B , мг/дм ³	Cyclopoida	0,05 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,05	0,23 $\pm$ 0,09	0,33 $\pm$ 0,13
КТМ, °С *	<i>Asellus aquaticus</i>	34,1 $\pm$ 0,6 (32,7–34,9)	34,2 $\pm$ 0,8 (32,3–35,6)	34,1 $\pm$ 0,8 (32,7–35,4)	34,0 $\pm$ 0,6 (32,9–34,9)
КТМ, °С	<i>Unio pictorum</i>	35,0 $\pm$ 0,2 (34,5–35,6)	33,1 $\pm$ 1,0 (30,7–35,8)	31,5 $\pm$ 1,4 (28,5–34,7)	33,1 $\pm$ 0,5 (32,4–34,5)
$T_{\text{гес}}$, min		82 $\pm$ 13 (35–135)	175 $\pm$ 17 (120–250)	193 $\pm$ 42 (70–400)	94 $\pm$ 15 (57–144)
КТМ, °С *	<i>Gmelinoides fasciatus</i>	34,0 $\pm$ 0,6 (33,0–34,6)	34,1 $\pm$ 0,6 (32,9–34,7)	33,4 $\pm$ 0,8 (31,3–34,7)	34,3 $\pm$ 0,3 (33,6–34,9)
% уродств		0,8 $\pm$ 0,5	4,9 $\pm$ 2,7	9,7 $\pm$ 2,8	7,4 $\pm$ 3,2
% мертвых		2,1 $\pm$ 1,9	6,8 $\pm$ 2,7	12,9 $\pm$ 6,2	24,2 $\pm$ 7,8
% самок		16,7 $\pm$ 11,2	58,3 $\pm$ 28,8	83,3 $\pm$ 11,2	75,0 $\pm$ 13,1
Число яиц		16,8 $\pm$ 1,8	12,6 $\pm$ 1,2	12,7 $\pm$ 1,2	13,0 $\pm$ 1,6

чия между средними КТМ рачков из III и контроля статистически значимы по KS-тесту ($p = 0,002$) и W-тесту ($p = 0,09$). Наибольшие средние и наименьшие STD (F-тест, $p = 0,01$) были у рачков из IV, они немного, но значимо выше, чем в контроле (t-тест для средних: $p = 0,02$). Различия КТМ между I и II недостоверны ($p > 0,05$). Вместе с тем значимые различия в КТМ между II и III (KS-тест, $p = 0,004$; t-тест, $p = 0,007$; W-тест, $p = 0,007$) могут указывать на эффект совместного влияния элодеи и цианобактерий на термоустойчивость амфипод.

Время восстановления сердечного ритма после нагрузки у моллюсков более чем 2 раза выше во II и III (t-тест для средних: $p < 0,001$ и $p = 0,02$), чем в контроле (табл. 1). Минимальные КТМ и максимальное STD у моллюсков, как и у амфипод, были в III; t-тест ($p = 0,015$) и F-тест ($p = 0,004$) подтвердили значимость этих отличий от контроля. Термоустойчивость моллюсков из IV (t-тест, $p = 0,003$) также значимо ниже, чем в контроле (табл. 1). По сравнению с амфиподами и моллюсками, изоподы оказались менее чувствительны к изучаемым факторам, значимой разницы в КТМ между вариантами не было (табл. 1).

Средняя плодовитость амфипод во всех трёх экспериментальных вариантах была достоверно

ниже, чем в контроле (t-тест для средних контроля и II, III и IV: $p = 0,02$; 0,015 и 0,05; $n = 12$). У эмбрионов амфипод выявлены нарушения в развитии (рис. 1). В контроле частота эмбрионов с уродствами низка (0,8% на 1 самку). Статистически значимое увеличение этой частоты выявлено в III и IV ($p < 0,05$; $n = 12$). В III отмечено наибольшее количество эмбрионов с уродствами (10%) и около 13% эмбрионов были мертвыми или остановили свое развитие. Доля неразвивающихся эмбрионов в 3 раза во II и на порядок в IV выше, чем в контроле (t-тест: $p = 0,04$ для I и II; $p = 0,03$ для I и IV). Во всех вариантах, кроме контроля, высока доля самок (58–83%) с выявленными теми или иными нарушениями в развитии эмбрионов.

Морфологические уродства эмбрионов, как правило, возникают при токсическом загрязнении [12]. В случае отсутствия или менее 5% уродств у эмбрионов амфипод состояние водной среды оценивается как хорошее, если доля таких эмбрионов выше, то возможным считается наличие в среде токсического загрязнения. Частота встречаемости самок, у которых есть хотя бы один эмбрион с нарушениями развития, более 20%, указывает на неблагоприятные условия, а более 50% — на стрессовые тяжелые условия для рачков. Неразвиваю-

Рис. 1. Примеры эмбрионов с морфологическими отклонениями в развитии: (а) — здоровые эмбрионы, эмбрионы с отеком и остановившие развитие; (б) — эмбрионы с нарушением в развитии средней кишки; (в) — мертвые эмбрионы; (г) — несколько типов нарушений в одном марзупиуме.

щиеся (мертвые) эмбрионы могут свидетельствовать не только о токсичности среды, но и о неблагоприятных трофических и иных условиях. Судя по состоянию эмбрионов наибольший эффект токсичности среды обнаружен при совместном влиянии элодеи и цианобактерий.

В микрокосмах с элодеей (II и III) концентрация в воде O_2 была достоверно ниже (среднее 5,1 и 5,2 мг/дм³), чем в контроле (7,3) и в IV (7,6), а также значимы ($p < 0,01$) различия в pH, электропроводности, содержании ионов Na^+ , K^+ и нитратов в воде (табл. 1). Такие изменения среды часто наблюдаются в густых ценозах элодеи [14].

Возможно, снижение концентрации кислорода в зарослях элодеи (особенно в ночные часы) усугубляло негативное влияние цианобактерий на амфипод и моллюсков, что проявилось в изменении их терморезистентности, кардиоактивности и эмбриогенеза.

Таким образом, массовое развитие цианобактерий и элодеи может существенно влиять на струк-

туру планктонных сообществ и экофизиологические показатели чувствительных видов водных животных, снижая их адаптивность к стрессам и ухудшая качество потомства.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России (по темам АААА-А18-118012690101-2, АААА-А18-118012690096-1, АААА-А19-119020690091-0) и гранта РФФИ № 18-04-01069-а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Колмаков В.И. // Сиб. экол. журн. 2014. Т. 21. № 4. С. 601–613.
2. Berezina N.A., Maximov A.A., Umnova L.P., et al. // J. Sib. Federal Univ. Biol. 2017. V. 10. P. 485–501.
3. Merel S.D., Chicana W.R., Snyder S., Baurès E., Thomas O. // Environ. Int. 2013. V. 59. P. 303–327.
4. Chernova E., Russkikh I., Voyakina E., Zhakovskaya Z. // Oceanol. Hydrobiol. St. 2016. V. 45. № 4. P. 466–484.
5. Gagala I., Mankiewicz-Boczek J. // Polish J. Environ. Studies. 2012. V. 21. P. 1125–1139.
6. Wood R. // Environ. Int. 2016. V. 91. P. 276–282.

7. Кравцова Л.С., Ижболдина Л.А., Механикова И.В., Помазкина Г.В., Бельх О.И. // Журн. биол. инвазий. 2010. № 2. С. 2–16.
8. Bownik A. // Toxicon. 2016. V. 124. P. 26–35.
9. Pflugmacher S. // Environmental Toxicology. 2002. V. 17. P. 407–413.
10. Kholodkevich S.V., Kuznetsova T.V., Sharov A.N., et al. // J. Mar. Syst. 2017. V. 171. P. 151–158.
11. Вербицкий В.Б., Березина Н.А. // Журн. общей биол. 2009. Т. 70. № 3. С. 249–256.
12. Gorokhova E, Sundelin B, Berezina N. // HELCOM Technical report. 2018. DOI: 10.13140/RG.2.2.34346.52162
13. Alan J.D. // Freshwater Biology. 1977. V. 7. P. 505–512.
14. Курбатова С.А., Ершов И.Ю., Борисовская Е.В. // Биол. внутр. вод. 2017. Т. 1. С. 84–92.

RESPONSES OF AQUATIC ORGANISMS TO CYANOBACTERIA AND ELODEA IN MICROCOSMS

**V. B. Verbitsky¹, S. A. Kurbatova¹, N. A. Berezina², L. G. Korneva¹, N. Yu. Meteleva¹,
O. S. Makarova¹, A. N. Sharov^{1,3}, I. Yu. Ershov¹, O. A. Malysheva¹, Y. V. Russkikh³,
E. N. Chernova³, E. V. Borisovskaya¹**

¹ Papanin Institute for Biology of Inland Waters of the Russian Academy of Sciences,
Borok, Yaroslavl region, Russian Federation

² Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russian Federation

³ Institution of Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg Scientific-Research Centre
for Ecological Safety of Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russian Federation

Presented by Academician of the RAS A.F. Alimov February 26, 2019

Received March 12, 2019

The aim of the work was to investigate the effect of cyanobacteria and elodea on population characteristics (abundance, biomass, fecundity) and “health” indicators (embryo status, heart rate and thermal resistance) of aquatic invertebrates in microcosms with controlled conditions. In July–August 2018, four treatments with environmental conditions of the coastal zone of the Rybinsk Reservoir during the period of cyanobacterial bloom were modeled. Mass species of plankton (with 80% dominance of large *Daphnia longispina*) and benthic animals (*Unio pictorum*, *Gmelinoides fasciatus*, *Asellus aquaticus*) and *Elodea canadensis* were placed in microcosms. In treatments with cyanobacteria, the toxic microcystins-LR were detected (24–53% of the sum of toxins, or 6,6–66,5 µg/l). The cyanobacteria *Aphanizomenon flos-aquae*, *Microcystis aeruginosa* and *Gloeotrichia* spp. affected the structure of plankton reflecting in a decrease in the amount of green algae and an increase in the abundance of small crustaceans. Under the influence of cyanobacteria, variables of benthic animals differed significantly from control treatment, including a reduced level of thermal resistance of mollusks and amphipods, an increased recovery time of the heart rate after loading (salinity test) in mollusks, a decrease in individual fecundity, and an increase in the frequency of malformations and embryo mortality in amphipods. The presence of elodea enhanced these effects. Thus, the mass development of cyanobacteria and elodea affects the physiological status of sensitive species of aquatic animals, reducing their adaptability to natural stresses and worsening the quality of offspring.

Keywords: crustaceans, mollusks, biomass, reproduction, thermal resistance, cardioactivity, cyanotoxins, hypoxia.