



МИНИСТЕРСТВО НА ЗДРАВЕОПАЗВАНЕТО
НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР ПО ОБЩЕСТВЕНО ЗДРАВЕ И АНАЛИЗИ

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

за присъждане на образователна и научна степен

„ДОКТОР“

по

НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ „ХИГИЕНА“

на

Мария Ангелова Митрева

**ХИГИЕННИ И АНАЛИТИЧНИ АСПЕКТИ В ИЗСЛЕДВАНЕТО
НА СЕЗОННАТА ДИНАМИКА НА МИКРОЦИСТИНИ В
ПОВЪРХНОСТНИ ВОДИ ЗА ПИТЕЙНИ ЦЕЛИ**

Научен ръководител:
доц. Вера Павлова, дм

София, 2026

Изказвам своята благодарност за възможността да реализирам проект на тема: „Сезонна динамика на приоритетен според новата Европейска директива за качеството на питейната вода токсин микроцистин–LR“, финансиран от ФНИ чрез Договор КП-06-М69/5 от 15.12.2022 г., както и да участвам в продължаване на изследванията в тази област чрез проект: „Изследване на цианотоксини в някои български водоеми (CYANOACTION-BG)“ по договор с ФНИ № КП-06-КОСТ/3/10.06.2025 г., с национално съфинансиране по програма COST – Акция CA23160 “Effective Lake management: reducing cyanobacteria by actions in the catchment (CYANOACTION)”.

СПИСЪК НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ СЪКРАЩЕНИЯ

ВЕЦ	Водноелектрическа централа
ПСПВ	Пречиствателна станция за питейни води
СЗО	Световна здравна организация
DAD	Диодно-матричен детектор
ELISA	Ензимно-свързан имуносорбентен анализ
HPLC	Високоэффективна течна хроматография
LC-MS	Течна хроматография с масспекрометрия
LD ₅₀	Средната летална доза
LOD	Граница на откриване
LOQ	Граница на количествено определяне
MC-LR	Микроцистин-LR
MC-RR	Микроцистин-RR
MC-YR	Микроцистин-YR
PTFE	Политетрафлуоретилен
SPE	Твърдофазна екстракция
TDI	Общ дневен прием
TFA	Трифлуороцетна киселина
UV	Ултравиолетов

СЪДЪРЖАНИЕ

УВОД.....	6
1. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР	8
1.1. Характеристика на цианотоксините	8
1.2. Класификация на цианотоксините.....	9
1.2.1. Циклични пептиди	11
1.2.1.1. Микроцистини.....	11
1.2.1.2. Нодуларини	12
1.2.2. Алкалоиди.....	12
1.2.2.1. Анатоксини.....	12
1.2.2.2. Цилиндроспермопсин.....	13
1.2.3. Липополизахариди.....	14
1.3. Цъфтеж на цианобактерии и негативно влияние върху здравето на човека	14
1.4. Питейни водоизточници	17
1.5. Влияние на факторите на околната среда върху образуването на токсини.....	21
1.6. Глобалност на проблема и значението му за България	24
1.7. Методи за определяне на микроцистини	26
2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	32
3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ	33
3.1. Апаратура	33
3.1.1. Ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA)	33
3.1.2. Определяне на нутриенти	34
3.1.2.1. Определяне на общ азот	34
3.1.2.2. Определяне на общ фосфор	35
3.1.3. Определяне на видовия състав и количеството клетки във фитопланктонните съобщества в пробите.....	35
3.1.4. Статистическа обработка на данните	36
4. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ	37
4.1. Постановка на изследването.....	37
4.1.1. Метод за хроматографско определяне на микроцистини	37
4.1.2. Обследвани водни обекти и вземане на проби	38
4.1.2.1 Характеристика на обследваните язовири	39
4.1.2.2. Пробовземане и пробоподготовка.....	40
4.2. Язовир Искър	42

4.2.1. Язовир Искър – водовземна кула	42
4.2.2. Язовир Искър – Щъркелово гнездо.....	52
4.2.3. Язовир Искър – ветроходна база	59
4.3. Бент Кокаляне	68
4.4. Язовир Студена.....	75
4.5. Язовир Красава	88
4.6. Сравнителен анализ на изследваните язовири	96
4.6.1. Фитопланктонна структура.....	96
4.6.2. Трофичен и сапробен статус.....	97
4.6.3. Микроцистини – сравнителна оценка.....	97
4.6.4. Зависимост между концентрациите на общ азот/общ фосфор и микроцистините	102
4.6.5. Хидрофизични фактори	104
4.7. Възможности на ELISA и HPLC методите за детекция при изследване съдържанието на микроцистини	104
4.8. Съпоставка с международни проучвания	105
5. ИЗВОДИ.....	108
6. ПРЕПОРЪКИ.....	110
6.1. Мониторинг на уязвими водоеми	110
6.2. Превантивен мониторинг при потенциално застрашени язовири.....	110
7. ПРИНОСИ.....	111
8. ПРИЛОЖЕНИЯ.....	112
9. ЛИТЕРАТУРА.....	127
10. ПУБЛИКАЦИИ.....	140
11. УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ.....	141

УВОД

Цианобактериите, известни още като синьо-зелени водорасли, представляват една от най-древните групи прокариотни, автотрофни микроорганизми [1]. Обширните анализи на молекулярни, физиологични, палеонтологични и геохимични данни сочат, че появата на цианобактериите датира преди 2,54 и 2,1 милиарда години [2]. Тези широко разпространени прокариоти използват разнообразни метаболитни стратегии, за да оцелеят и да се адаптират към разнообразните условия на околната среда. Цианобактериите, грам-отрицателни автотрофни бактерии, притежават широк спектър от метаболитни пътища и адаптивни механизми, включително азотфиксация, хроматична адаптация и способност да формират симбиотични отношения с еукариотни гостоприемници в присъствието на бактерии, като гъбички и протисти [3]. Някои цианобактерии са способни да извършват кислородна фотосинтеза, като използват сулфид като донор на електрони [4]. Освен това в условия на липса на кислород и светлина тези бактерии са способни да извършват ферментация [5]. Цианобактериите са еволюирали в продължение на дълъг период от време и са развили способността си да произвеждат разнообразни вторични метаболити в резултат на което да оцеляват при различни условия на околната среда.

Във водна среда цианобактериите могат да се срещат в множество местообитания: разпръснати или под формата на агрегати във водата, на повърхността на водата, върху дънните седименти или прикрепени към крайбрежните скали, както и към растенията. Масовите популации от цианобактерии на тези места могат да представляват цъфтежи, петна, биофилми и др. Такива масови популации могат да се появят в девствени водни басейни, неповлияни от човешка дейност, където обогатяването на водата с нутриенти, необходими за растежа на цианобактериите, става чрез естествени геоложки процеси. Въпреки това днес се признава, че това повишаване на трофичното състояние на водното тяло (еутрофикация) е особено чувствително към антропогенния натиск. Те включват повишено обогатяване с нутриенти от битови, селскостопански и промишлени източници, повишена ерозия във водосборния басейн на водното тяло и повишено водочерпене. При благоприятни условия на температура, проникване на светлина във водния стълб, рН на водата, време на престой на водата в езерото или речен поток може да се наблюдава масово увеличаване на цианобактериалния цъфтеж, образуване на петна и др. [6, 7].

В допълнение към неблагоприятното въздействие върху биоразнообразието на екосистемите, масовите популации на цианобактерии могат да окажат негативно въздействие върху наличността, здравето/безопасността и цената на водните ресурси, предназначени за питейни цели. Човешките нужди и дейностите, свързани с водата, които могат да бъдат неблагоприятно засегнати, включват: снабдяване с питейна вода, напояване на селскостопански култури и добитък, аквакултури, рекреация и туризъм [8].

Съвременните изисквания за качеството на питейните води в Европа са определени в новата Директива (ЕС) 2020/2184 от 16.12.2020 г. относно качеството на водата, предназначена за консумация от човека. Сред новите замърсители, които ще бъдат задължителни за мониторинг от 2026 г. и за които следва да се оцени рискът от замърсяване на водоемите, е микроцистин–LR. Той е представител на микроцистините, които са група цианотоксини, продуцирани от синьо-зелените водорасли. Максимално допустимата му концентрация в питейните води според новата директива е 1 µg/L [9]. Европейската директива е транспонирана в националното ни законодателство в изменение на Наредба № 9/2001 за качеството на водата, предназначена за питейно-битови цели (обн. ДВ, бр. 30 от 2001 г., посл. изм. ДВ, бр. 9 от 23.01.2026 г.) [10].

1. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1.1. Характеристика на цианотоксините

Синьо-зелените водорасли (цианобактерии) са сред най-разпространените представители на фитопланктона в еутрофни сладководни екосистеми. Те играят съществена роля в еволюционното и съвременното насищане на биосферата с кислород [11, 12]. Глобалното затопляне и засилената антропогенна еутрофикация са сред основните фактори, които благоприятстват интензивния растеж и честата поява на масови цианобактериални цъфтежи [13, 14]. През последните години се отчита увеличаване на честотата, продължителността и интензивността на тези явления, което ги превръща в значим екологичен и здравен проблем [15].

В литературата като долна ориентировъчна граница за цианобактериален цъфтеж най-често се посочва концентрация от около 20 000 клетки/mL. Тази стойност има условен характер и не позволява директни сравнения между различни типове водоеми (напр. високопланински и равнинни) поради съществените екологични и хидрологични различия между тях [16]. Масовото развитие на цианобактерии оказва неблагоприятно въздействие върху водните екосистеми и може да представлява пряка заплаха за здравето на хората и животните, особено когато цъфтежите включват видове, продуциращи токсични вещества [17, 18].

Цианобактериите са способни да синтезират разнообразни токсични метаболити, известни като цианотоксини, на различни етапи от развитието на цъфтежите [19]. Основните родове, за които е установено, че продуцират значителни количества токсини, включват *Microcystis* sp., *Anabaena* sp., *Planktothrix* sp. и други [20].

Във водните басейни цианобактериите могат да образуват повърхностни натрупвания и петна (напр. *Microcystis*), да бъдат равномерно разпределени в горния, добре осветен и затоплен воден слой или да се развиват прикрепени към подводни повърхности (напр. *Planktothrix*). Количеството светлина, необходимо за оптимален растеж, е видово специфично. Например *Microcystis aeruginosa* притежава способността да регулира плаваемостта си в зависимост от светлинните условия, което ѝ позволява вертикална миграция във водния стълб и усвояване на нутриенти от по-дълбоките и по-студени слоеве. За разлика от това, силната турбуленция и интензивните водни течения оказват неблагоприятно въздействие върху растежа и стабилността на цианобактериалните популации.

Токсичните вещества, синтезирани от определени видове цианобактерии, са известни като цианотоксини. Те могат да бъдат вътреклетъчни, свързани с клетъчната мембрана, или извънклетъчни, отделяни във водната среда в хода на жизнения цикъл на микроорганизмите. Вътреклетъчните цианотоксини попадат във водата при естественото разрушаване на клетъчната стена, както и при индуцирана клетъчна деструкция по време на процесите на пречистване и обработка на водата.

1.2. Класификация на цианотоксините

В зависимост от химичната си структура цианотоксините се класифицират в три основни групи:

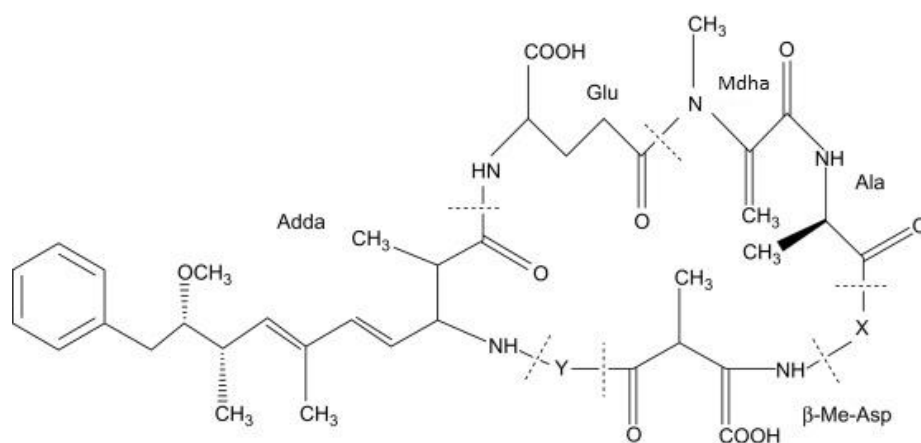
- **циклични пептиди** – микроцистини и нодуларини;
- **алкалоиди** – анатоксини и цилиндроспермопсин;
- **липополизахариди**.

Според характера на неблагоприятното им въздействие върху човешкото здраве цианотоксините се подразделят на:

- **хепатотоксини**, които увреждат черния дроб и могат да предизвикат туморни процеси (микроцистини, нодуларини, цилиндроспермопсин);
- **невротоксини**, засягащи нервната система (анатоксин-а, сакситоксини);
- **дерматотоксини**, причиняващи кожни възпаления и дерматити (апличиатоксини, лингбиатоксини) [21, 22].

Към настоящия момент най-задълбочено изследвани и считани за приоритетни от гледна точка на риска за общественото здраве са съединенията от групите на цикличните пептиди и алкалоидите.

Основни представители на цикличните пептиди са микроцистините (**фиг. 1А**), представляващи хептапептидни хепатотоксини, и нодуларините (**фиг. 1Б**), които са пентапептидни хепатотоксини със сходен механизъм на действие.



А) микроцистини

Adda: 3-amino-9-methoxy-2,6,8-trimethyl-10-phenyldeca-4,6-dienoic acid

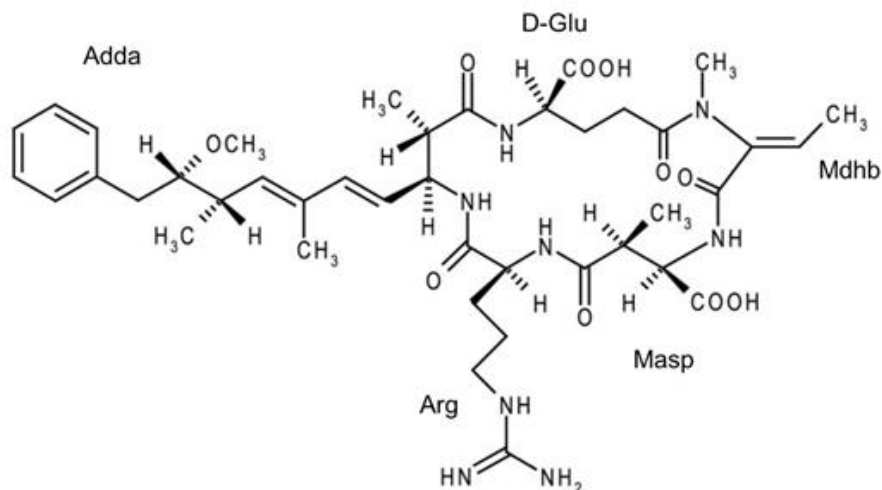
Glu: γ -glutaminic acid

Mdha: N-methyl-dehydroalanine

Ala: Alanine

β -Me-Asp: β - β -methylaspartic acid

	X	Y
Microcystin-RR	Arginine	Arginine
Microcystin-YR	Tryptophan	Arginine
Microcystin-LR	Leusine	Arginine
Microcystin-LA	Leusine	Alanine



Б) нодуларини

Фигура 1. Структура на пептидни хепатотоксини А) микроцистини; Б) нодуларини

1.2.1. Циклични пептиди

1.2.1.1. Микроцистини

Микроцистините представляват група циклични хептапептиди с изключително високо структурно разнообразие, като към настоящия момент са идентифицирани над 240 различни структурни варианта [23]. Те проявяват широк спектър от токсични ефекти върху човешкия организъм, включително хепатотоксичност, нефротоксичност, невротоксичност и репродуктивна токсичност [24–26]. Разрушаването на цианобактериалните клетки, както в природни условия, така и при антропогенно въздействие, води до освобождаване на микроцистини във водната среда [27].

Най-разпространеният и токсикологично най-значим представител е микроцистин–LR (MC–LR) [28]. Този токсин проявява изразена хепатотоксичност и канцерогенен потенциал, като се характеризира с висока химична стабилност във водната среда. Поради това MC–LR се разглежда като сериозна заплаха за общественото здраве и екосистемната безопасност [29].

Микроцистините се откриват основно в сладководни цианобактериални родове като *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix* и *Nostoc* [30–34]. През последните години тяхното наличие е установено и в пикопланктонни цианобактерии с размери 0,2–2 μm [35, 36], както и в почвени видове, например *Hapalosiphon hibernicus* [37]. Въпреки големия брой описани структури, токсикологичното поведение и разпространението са подробно изследвани за ограничен брой микроцистини [38].

МС–LR, заедно с основните му аналози МС–RR и МС–YR, причинява увреждане на черния дроб с различна степен, като при тежки случаи може да се стигне до остра чернодробна недостатъчност [39]. Въпросът за канцерогенния потенциал на микроцистините остава предмет на научни дискусии. Част от авторите ги определят като промотори на туморни процеси [40], докато други подчертават, че токсичният им ефект е предимно цитотоксичен, без пряко генотоксично действие [41–43].

В **таблица 1** са представени молекулните формули, молекулните маси и стойностите на LD₅₀ за основните микроцистини. Най-висока остра токсичност проявява МС–LR, следван от МС–YR, докато МС–RR е сравнително по-слабо токсичен [44].

1.2.1.2. Нодуларини

Нодуларините са циклични пентапептидни хепатотоксини с молекулна маса около 800 Da. Те се откриват основно в бракични води със соленост 0,5–5 ‰, където доминират цианобактериите *Nodularia spumigena* [45, 46]. Нодуларини са установени и в някои морски организми, като гъбата *Theonella swinhoei* [47].

Структурно и функционално нодуларините са близки до микроцистините и проявяват сходен механизъм на токсично действие, включително инхибиране на протеинфосфатазите PP1 и PP2A. Поради това те се разглеждат като потенциално значим риск за здравето на хората и животните, особено в региони с масови цъфтежи в бракични и крайбрежни водоеми.

Таблица 1. Химична формула на микроцистините и техните LD₅₀ стойности [48].

Токсин	Формула	Молекулна маса	LD ₅₀ [µg/kg т. м., Интраперитонеално]
Микроцистин–LR	C ₄₉ H ₇₄ N ₁₀ O ₁₂	994	43,0
Микроцистин–RR	C ₄₉ H ₇₅ N ₁₃ O ₁₂	1037	235,4
Микроцистин–YR	C ₅₂ H ₇₂ N ₁₀ O ₁₃	1044	110,6

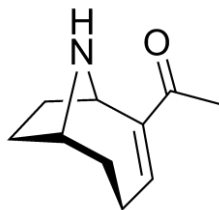
1.2.2. Алкалоиди

1.2.2.1. Анатоксини

Анатоксините, включително анатоксин-а, хомоанатоксин-а и анатоксин-а(s), представляват група бързодействащи невротоксини. Те предизвикват деполяризация на невромускулните синапси и проявяват токсични ефекти, сходни с тези при отравяне с органофосфорни инсектициди [48, 49].

Анатоксин-а е нискомолекулно съединение с молекулна маса 165 Da и структурен аналог на кокаина (фиг. 2). Той се характеризира с висока остра токсичност, като стойността на LD₅₀ при експерименти с животни е 200 µg/kg телесно тегло [50].

Продукцията на анатоксин-а и анатоксин-а(s) е специфична за цианобактериите [49]. Анатоксин-а е идентифициран в различни родове и видове цианобактерии, включително *Anabaena flos-aquae* [51, 52], *Anabaena* sp., *Planktothrix* sp., *Aphanizomenon* sp., *Cylindrospermum* sp. и други [53].

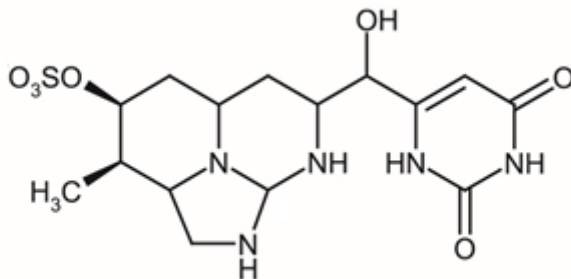


Фигура 2. Структурна формула на анатоксин-а.

1.2.2.2. Цилиндроспермопсин

Цилиндроспермопсинът представлява хидрофилен алкалоид с молекулна маса 415 Da, който се продуцира от няколко сладководни цианобактериални вида, включително *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Umezakia natans* и *Aphanizomenon ovalisporum* [54, 55].

Този токсин проявява предимно цитотоксични свойства и действа като инхибитор на синтеза на протеини. Цилиндроспермопсинът причинява увреждания на редица органи и тъкани, включително черен дроб, бял дроб, бъбреци, сърце, черва и тимус [54]. Стойността на LD₅₀ за цилиндроспермопсин е 2100 µg/kg телесно тегло при експериментални условия [50]. На фиг. 3 е представена структурната формула на цилиндроспермопсина.



Фигура 3. Структурна формула на цилиндроспермопсин.

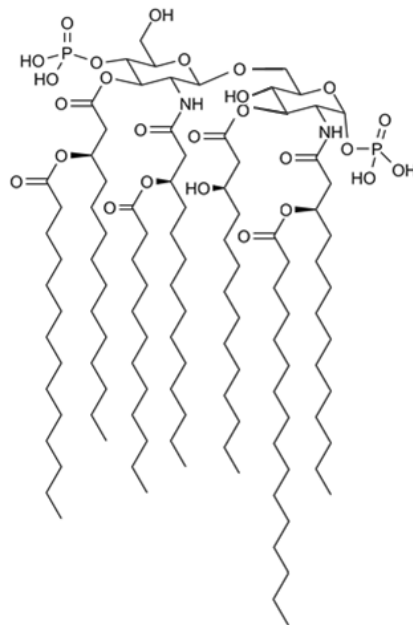
1.2.3. Липополизахариди

Липополизахаридите представляват структурен компонент на външната клетъчна стена на грам-отрицателните бактерии, включително цианобактериите. Те се състоят от полизахаридна част и липиден компонент, най-често представен от хидрокси мастни киселини с дължина на въглеродната верига C14–C18 [54].

Дразнещите, токсични и алергични ефекти на липополизахаридите се свързват основно с липидния компонент на молекулата. Според някои изследователи именно този фрагмент е отговорен за проявата на възпалителни реакции и дерматити при контакт с цианобактериална биомаса [50].

Освен директните си токсични ефекти, липополизахаридите могат да влияят и върху метаболитните процеси на самите цианобактерии. Съществуват данни, че те инхибират експресията на гени, участващи в частичното детоксикиране на микроцистините [50].

Структурната формула на липополизахаридите е представена на **фиг. 4**.



Фигура 4. Структурна формула на липополизахариди.

1.3. Цъфтеж на цианобактерии и негативно влияние върху здравето на човека

Освен чрез питейната вода и директен контакт, хората могат да бъдат експонирани на цианобактериални цъфтежи и при плуване, гребане, риболов и други рекреационни дейности. При висока клетъчна плътност, особено в повърхностните петна, рискът от контакт с опасно високи концентрации на цианотоксини значително нараства.

Случаи на човешка смърт вследствие на водораслови токсини също са документирани. През 1996 г. в Caruaru, Бразилия, 52 пациенти в диализен център умират от синдром, известен като Caruaru Syndrome [56]. В суровата вода на водоизточника преобладавали родове като *Microcystis*, *Anabaena* и *Cylindrospermopsis*, представляващи 99 % от общото обилие на фитопланктона [57]. Общо 116 пациенти, включително починалите, проявявали симптоми като гадене, повръщане и видими смущения след диализното лечение [58]. В пробите от черен дроб и кръвен серум на 39 от 52-мата починали били открити микроцистини в средна концентрация 2,2 µg/L. Caruaru Syndrome се характеризира с множество симптоми, включително жълтеница, клетъчна некроза и морфологични изменения на чернодробните клетки [59].

Предполага се, че микроцистините могат да действат като промотори на туморни процеси, като при микроцистин–LR прицелни са хепатоцитите [60].

Документиран е случай на експозиция на войници по време на тренировка в езеро във Великобритания с цъфтеж на *Microcystis aeruginosa*, при който е установено поглъщане и вероятно инхалиране на вода от повърхностни петна [61]. След експозицията са наблюдавани симптоми като коремни болки, диария, повръщане, подуване на устните, суха кашлица и главоболие, а при двама от трениращите – плевритни болки, пневмония и увреждане на черния дроб.

Хепатотоксините и невротоксините могат да навлязат в човешкия организъм и чрез хранителната верига – посредством консумация на храни с морски произход (напр. миди и ракообразни), както и чрез сладководни организми като риби и речни миди [62]. Данните за наличие и натрупване на цианотоксини в храни със сладководен произход са ограничени, а поведението на тези токсини в различните трофични вериги все още не е достатъчно проучено.

Синьо-зелените водорасли се използват и като хранителни добавки, предназначени за повишаване на енергията и умствената концентрация [63]. В отделни търговски продукти са установени следи от цианотоксини, което поражда опасения за потенциален риск за здравето на потребителите. Към настоящия момент обаче наличните данни не позволяват еднозначна оценка на степента на този риск.

Научните изследвания в различни страни са насочени към оценка на токсичността на цианобактериалните цъфтежи и експозицията на населението с цел определяне на здравния риск. Световната здравна организация препоръчва максимално допустима концентрация от 1 µg/L микроцистин–LR в питейни води, базирана на допустим общ дневен прием (TDI < 0,04 µg/kg телесно тегло). За води, използвани за къпане, риболов

и други рекреационни цели, препоръчителната максимална стойност е 20 µg/L микроцистин–LR при целогодишен ежедневен прием на 100 mL вода от експонираното лице [64].

В някои държави, като Нидерландия, се прилага двустепенна система за управление на риска, при която концентрация от 10 µg/L микроцистин–LR служи като предупредителен праг, а стойности над 20 µg/L се считат за недопустими и водят до забрана за използване на съответния водоем. Появата на повърхностни петна от цианобактериален цъфтеж се приема като индикатор за необходимост от засилен и продължителен мониторинг [64].

Тъй като цианотоксините са предимно вътреклетъчни, концентрациите на разтворените във водата токсини обикновено са сравнително ниски и най-често са в порядъка на няколко µg/L [20]. При определени условия обаче, особено при разрушаване на клетъчната структура, може да настъпи рязко повишаване на концентрацията на разтворените токсини. В тази връзка са докладвани случаи на остри отравяния след третиране на водоеми с интензивен цианобактериален цъфтеж с меден сулфат [65]. Лизирането на клетъчните стени води до бързо освобождаване на вътреклетъчните токсини директно във водната среда, което значително увеличава риска за хората и животните.

Контактът с цианобактериална биомаса, съдържаща цианотоксини и липополизахариди, може да предизвика остри заболявания, съпроводени с втрисане, повишена температура и общо неразположение. Инхалирането на аерозоли от вода, съдържаща цианотоксини, се свързва с възпалителни процеси на дихателните пътища и респираторни нарушения, особено при лица с повишена чувствителност или при продължителна експозиция [63, 65].

Наличните данни показват, че здравният риск, свързан с цианобактериалните цъфтежи, е комплексен и зависи от множество фактори, включително вида и концентрацията на токсините, пътя и продължителността на експозицията, както и индивидуалната чувствителност на експонираните лица. Това налага необходимостта от систематичен мониторинг на повърхностните водоеми и адекватна оценка на риска, особено когато същите се използват за питейни, рекреационни или стопански цели.

В тази връзка оценката на риска за общественото здраве при наличие на цианобактериални цъфтежи изисква комплексен подход, който да отчита както концентрацията и състава на токсините, така и специфичните характеристики на водоема и начина на неговото използване. Особено уязвими са водоеми, използвани

едновременно за питейно водоснабдяване, рекреация и риболов, при които вероятността от многократна експозиция е значително по-висока.

Значителен проблем представлява и фактът, че визуалното отсъствие на интензивен цъфтеж не гарантира липсата на токсини във водата. При определени условия цианотоксините могат да персистират във водната среда и след видимото отзвучаване на цъфтежа, което създава предпоставки за подценяване на реалния риск. Това е особено валидно за микроцистините, които се характеризират с относително висока стабилност и могат да се задържат във водата за продължителни периоди.

Допълнителна трудност при управлението на риска е липсата на универсално приложими индикатори за ранно предупреждение. Показатели като хлорофил *a* и обща биомаса на фитопланктона не винаги корелират пряко с концентрацията на цианотоксините, което затруднява своевременното идентифициране на опасни ситуации. Поради това се налага използването на комбинирани подходи, включващи биологичен мониторинг, токсикологична оценка и химичен анализ на водите.

В обобщение, наличните данни ясно показват, че цианобактериалните цъфтежи представляват сериозен и нарастващ риск за човешкото здраве, който не може да бъде адекватно оценен единствено въз основа на визуални наблюдения или общи екологични показатели. Необходимостта от надеждни методи за идентификация и количествено определяне на приоритетните цианотоксини е ключов елемент за ефективното управление на този риск и за гарантиране безопасността на водите, използвани за различни обществени нужди.

1.4. Питейни водоизточници

По отношение на водораслите и свързаните с тях цианотоксини, повърхностните води, използвани за питейни цели, представляват особено чувствителен обект на мониторинг и контрол. Традиционно обработката на водата е насочена основно към отстраняване на органолептични проблеми, като неприятен вкус и мирис. Все по-голямо внимание обаче се отделя на риска от наличие и освобождаване на цианотоксини в процеса на водообработка, тъй като тези съединения могат да имат както остри, така и дългосрочни неблагоприятни ефекти върху човешкото здраве [63].

Нарастващата необходимост от използване на повърхностни водоизточници за питейни нужди допълнително увеличава значимостта на проблема. В редица региони по света повърхностните води заемат все по-голям дял във водоснабдяването, което повишава вероятността от експозиция на населението на цианотоксини. Изследвания на

водоснабдителни системи в Съединените американски щати показват наличие на микроцистини в проби от питейна вода в концентрации, достигащи и надвишаващи препоръчителната от Световната здравна организация гранична стойност от 1 µg/L микроцистин–LR [66].

Особено тревожен е фактът, че традиционно използваните технологии за пречистване на водата невинаги осигуряват ефективно отстраняване на цианотоксините. В някои случаи процеси като коагулация, флокулация и филтрация могат да доведат до разрушаване на клетъчната структура на цианобактериите и последващо освобождаване на вътреклетъчните токсини във водната фаза. Това създава предпоставки за повишаване на концентрацията на разтворени токсини в третираната вода, дори когато видимият цъфтеж е отстранен.

Данни от проучвания на водоснабдителни системи в Съединените американски щати за периода 1996–1998 г. показват наличие на микроцистини в питейна вода във Флорида в концентрации от 0,1 до 12 µg/L [66]. Максимално измерените стойности превишават повече от десет пъти препоръчителната от СЗО гранична стойност от 1 µg/L микроцистин–LR. Тези резултати предизвикват сериозна загриженост, тъй като демонстрират, че цианотоксините не се отстраняват напълно при прилагане на стандартни технологии за пречистване на водата.

По-съвременни случаи в Съединените американски щати допълнително потвърждават актуалността на проблема. Интензивни цианобактериални цъфтежи в езерото Ери през последното десетилетие водят до временно прекъсване на водоснабдяването на големи населени места поради превишаване на допустимите концентрации на микроцистин–LR в суровата и третираната вода [67]. Тези инциденти ясно показват, че въпреки напредъка в технологиите за пречистване, рискът от експозиция на населението на цианотоксини остава реален и изисква постоянен контрол.

В европейските страни проблемът с цианобактериалните цъфтежи в питейните водоизточници също придобива все по-голямо значение. Чехия е сред държавите с дългогодишен опит в изследването на водорасли и свързаните с тях токсини. При проучване на осем пречиствателни станции за питейна вода е установено, че 61 % от суровите и 38 % от третираните води съдържат измерими количества микроцистини [68]. Общото съдържание варира от 0,29 до 39,1 µg/L в суровата вода и от 0,18 до 7,8 µg/L в третираната вода, т.е част от пробите от третираната вода надвишават препоръчителната от СЗО максимална стойност. В друго изследване в Чехия микроцистини са открити в суровата вода в диапазона 0,1–20 µg/L, като се наблюдават ясно изразени сезонни пикове

през летния и есенния период, което подчертава значението на времевия мониторинг [77].

Обикновено микроцистините се свързват с цъфтежи на *Microcystis* sp., *Anabaena* sp. и *Planktothrix* sp. [20], но съществуват и случаи, при които други цианобактериални видове доминират токсичните събития. При изследване на язовир Зноймо (Чехия) през 2002 г. е установен цъфтеж на *Pseudanabaena limnetica*, при който са измерени концентрации на микроцистин–LR 125 µg/g суха биомаса, микроцистин–RR 317 µg/g и микроцистин–YR 292 µg/g [69].

Случаи на контаминация с цианотоксини са докладвани и в Словакия, където цианобактериални цъфтежи са наблюдавани в езера, рибарници и язовири, използвани за различни стопански, рекреационни цели и водоснабдяване [70]. Установените концентрации на микроцистин–LR варират в широки граници – от недетектируеми стойности до 1445,5 µg/g суха биомаса, което подчертава потенциала за значителен риск при определени условия. Въз основа на получените резултати авторите препоръчват провеждането на задълбочени изследвания върху въздействието на цианобактериалните токсини върху човешкото здраве и водните екосистеми.

Наличие на цианобактериални цъфтежи и микроцистини е установено и в редица водоеми в Турция, използвани за рекреация, риболов и водоснабдяване. При тригодишно проучване на лагуна в близост до Истанбул са измерени концентрации на микроцистин–LR еквиваленти между 0,06 и 24,2 µg/L [71]. В питейния язовир на Истанбул с регистриран цианобактериален цъфтеж са установени 2,1 µg/L микроцистин–LR еквиваленти в суровата вода и 5,84 µg/L в сухата биомаса [72]. В други турски сладководни езера са отчетени концентрации на микроцистини в интервала 2,43–3,65 µg/L, които се свързват с високо биогенно обогатяване, обусловено от селскостопанска дейност [73].

Съвременните проучвания в Европа показват, че микроцистините продължават да присъстват в повърхностните водоизточници, особено при интензивни цианобактериални цъфтежи, като концентрациите в суровата вода често надвишават препоръчителната граница на СЗО и норма по Директива ЕС 2020/2184 за микроцистин–LR (1 µg/L). Въпреки това, след прилагане на съвременни пречиствателни технологии като активен въглен, озониране и мембранни филтри, нивата в питейната вода обикновено са под допустимите граници, макар че рискът от превишение остава при интензивни цъфтежи.

В Германия в няколко язовира, използвани за питейни цели, микроцистините са открити в суровата вода при концентрации до 2–10 µg/L. След третиране концентрациите в питейната вода обикновено са под 0,1 µg/L, благодарение на прилагането на активен въглен и озониране [74].

В Полша микроцистин–LR е установен в суровата вода в концентрации до 5,4 µg/L, като след третиране стойностите спадат под 0,3 µg/L. Авторите подчертават необходимостта от системен мониторинг, особено при интензивни цианобактериални цъфтежи [75].

В Испания в язовири за питейно водоснабдяване са докладвани концентрации на микроцистини в суровата вода до 3–15 µg/L по време на цъфтежи. В питейната вода стойностите обикновено са под 1 µg/L, но в отделни случаи превишават препоръчителните нива на СЗО [76].

В Швеция в северноевропейски язовири микроцистините достигат до 1,2 µg/L в суровата вода, докато в питейната вода обикновено са под границата на откриване. Въпреки това авторите предупреждават за потенциално увеличаване на концентрациите във връзка с глобалното затопляне [78].

В Нидерландия са докладвани концентрации на микроцистини до 10 µg/L в повърхностни водоизточници, като е оценена ефективността на активен въглен и мембранни технологии за тяхното отстраняване [79].

В Южна Италия в язовири за питейно водоснабдяване микроцистините достигат до 7 µg/L при ясно изразени летни цъфтежи, като след третиране концентрациите са под 0,5 µg/L [80]. Данните подчертават, че микроцистините са широко разпространени в европейските водоизточници за питейни цели, но съвременните пречиствателни технологии обикновено поддържат нивата в безопасни граници. Въпреки това, климатичните промени, еутрофикацията и периодичните цъфтежи изискват редовен мониторинг и продължаване на изследванията за количествено определяне на микроцистините. Тези примери от различни географски региони показват, че проблемът с цианобактериалните цъфтежи и контаминацията на питейните водоизточници с микроцистини не е ограничен до отделни държави или климатични зони. Напротив, той има ясно изразен транснационален характер и изисква координирани усилия за мониторинг, оценка на риска и прилагане на адекватни мерки за управление.

В този контекст става очевидно, че гарантирането на безопасността на питейната вода не може да се основава единствено на традиционни показатели за качество и стандартни технологични решения. Необходим е систематичен подход, който да

включва редовен мониторинг на цианобактериалните популации, целенасочено определяне на приоритетните цианотоксини и прилагане на чувствителни и надеждни аналитични методи за тяхното количествено определяне.

Осигуряването на безопасността на питейната вода при наличие на цианобактериални цъфтежи изисква интегриран подход, който да съчетава екологичен мониторинг, оценка на риска и прилагане на адекватни аналитични методи. Традиционните индикатори за качество на водата и рутинните технологични процеси не винаги са достатъчни за надеждно откриване и контрол на цианотоксините.

Особено важно е навременното идентифициране и количествено определяне на приоритетните цианотоксини в повърхностните водоизточници, използвани за питейни цели. Това позволява ранно предупреждение, предотвратяване на здравни рискове и вземане на информирани управленски решения при възникване на цианобактериални цъфтежи.

В обобщение, данните от различни страни ясно показват, че контаминацията на питейните водоизточници с микроцистини и други цианотоксини представлява реален и персистиращ проблем. Наличието на ефективен мониторинг и надеждни аналитични методи е ключово условие за гарантиране безопасността на питейната вода и за защита на общественото здраве.

1.5. Влияние на факторите на околната среда върху образуването на токсини

Влиянието на факторите на околната среда върху продуцирането на цианотоксини не е напълно изяснено и остава предмет на интензивни научни изследвания. Данните от литературата показват, че редица физични, химични и биологични параметри, като концентрацията на хлорофил *a*, наличието на нутриенти, температурата, рН, светлинният режим и солеността, оказват съществено влияние върху развитието на цианобактериалните популации и върху синтеза на токсини [81–84].

Установено е, че продуцирането на цианотоксини може да варира значително дори в рамките на един и същи вид, което затруднява прогнозирането на токсичността на даден цъфтеж. Факторите на околната среда влияят върху концентрацията на микроцистини по два основни механизма: от една страна чрез регулиране на съотношението между токсигенни и нетоксигенни щамове в популацията, а от друга – чрез директно въздействие върху нивото на продукция на токсини от токсигенните видове [83].

Оценката на комбинираното въздействие на отделните фактори е особено сложна, тъй като те често действат едновременно и взаимно се модифицират. Например концентрацията на фосфати оказва влияние както върху числеността на *Microcystis aeruginosa*, така и върху количеството на продуцираните микроцистини на единица биомаса [85]. Според някои автори отношението общ азот/общ фосфор е ключов фактор, определящ доминирането на токсигенни видове, докато други изследвания поставят под съмнение универсалната приложимост на този показател [85].

Съществуват обаче и противоречиви данни, според които най-високи концентрации на микроцистини са наблюдавани при значително по-ниски температури, например около 8 °C [85], което подчертава сложния и видово-специфичен характер на температурното въздействие.

Съществено значение има и температурната стратификация на водните маси. През летния период стабилната стратификация създава благоприятни условия за повърхностно натрупване на цианобактериална биомаса, докато разрушаването ѝ през есента води до смесване на водните слоеве, лизис на клетките и освобождаване на вътреклетъчни токсини във водната маса [86, 87]. Подобни механизми са описани в редица питейни язовири в Европа и Северна Америка [88].

В контекста на климатичните промени се отчита тенденция към удължаване на периода на температурна стратификация и повишаване на повърхностните температури, което увеличава риска от по-чести и по-интензивни цианобактериални събития в умерения пояс [89, 90]. Това поставя допълнителни предизвикателства пред управлението на водоеми, използвани за питейно водоснабдяване.

Нутриентите, и по-специално азотът и фосфорът, имат съществено значение за количественото натрупване на цианобактериална биомаса и за синтеза на токсини. В литературата са докладвани максимални концентрации на микроцистини при съдържание на общ азот над 0,5 mg/L и общ фосфор над 4 mg/L, при отношение общ азот/общ фосфор в диапазона 7:1–11:1 [71]. В други проучвания са установени високи нива на микроцистини при концентрации на общ азот между 1,5 и 4 mg/L и общ фосфор между 0,1 и 0,6 mg/L [91].

Същевременно съществуват данни, показващи рязко намаляване на концентрацията на микроцистини при отношение общ азот/общ фосфор над 5:1 [85]. Други автори подчертават, че този показател има ограничена приложимост при силно еутрофни водоеми, където концентрациите на нутриентите превишават асимилиращия

капацитет на фитопланктона и не отразяват реално условията за растеж и инициране на отделяне на токсини [92].

Фитопланктонът е един от най-важните структурни и функционални компоненти на стоящите водни екосистеми и играе ключова роля при формирането на качеството на водата. Чрез фотосинтетичната си активност той е основен източник на биогенен кислород в тези водоеми и същевременно служи като чувствителен биологичен индикатор за трофичния статус на езера, язовири и други водни тела. Поради това параметри като концентрацията на хлорофил *a* често се използват като индиректен показател за количеството на фитопланктонната биомаса и интензивността на цъфтежите.

Влиянието на солеността върху продуцирането на цианотоксини е разгледано в сравнително ограничен брой изследвания, но наличните данни сочат тенденция към увеличаване на количеството токсини при повишаване на солеността [71, 84, 93]. Този ефект е особено отчетлив при видове, които обитават бракични води, и може да бъде свързан с физиологичен стрес, стимулиращ синтеза на вторични метаболити, включително токсини.

Светлинният режим е друг съществен фактор за растежа и формирането на цианобактериални цъфтежи. Цианобактериите обикновено се определят като организми, предпочитащи условия на по-ниска светлинна интензивност, което им дава конкурентно предимство спрямо други фитопланктонни групи [94]. Видовете от род *Microcystis* проявяват относително ниска чувствителност към висока осветеност, тъй като способността им да регулират плаваемостта си позволява оптимално разпределение във водния стълб и адаптация към променящите се светлинни условия [95].

Някои автори установяват, че високата интензивност на светлината стимулира концентрацията на клетките на *Microcystis* в повърхностните слоеве под формата на петна [96]. Проучванията за влиянието на светлината върху продуцирането на токсини показват, че силната осветеност може да влияе както върху клетъчната плътност, така и върху отделянето на токсини [97]. В други изследвания е установено, че най-високите концентрации на токсини се наблюдават в повърхностните слоеве на водния стълб, като стойностите намаляват с увеличаване на дълбочината [71].

За по-добро изясняване на условията, при които се продуцират цианотоксините, са проведени експериментални изследвания с чисти монокултури цианобактерии чрез контролирано вариране на отделни фактори на средата. Един от най-изследваните видове е *Microcystis aeruginosa*, за който е доказано, че продуцира микроцистини [20]. В серия

експерименти е проследено влиянието на различни съотношения на азот и фосфор върху растежа и продукцията на токсини при температура 30 °C и светлинна интензивност 150 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, осигурена от бели флуоресцентни лампи [82]. Резултатите показват, че при фиксирано количество фосфор и вариране на концентрацията на азота, максимална концентрация на микроцистини се наблюдава при отношение N:P = 16:1. Установена е пряка пропорционална зависимост между количеството на микроцистините, концентрацията на хлорофил *a* и количеството сухо вещество, което отразява интензивността на растежа на монокултурата. Авторите подчертават, че хлорофил *a* се явява по-чувствителен показател при промяна на отношението азот/фосфор в сравнение със сухото вещество.

В друго експериментално изследване с *Microcystis aeruginosa* е анализирано влиянието на концентрациите на фосфор и желязо върху растежа и продукцията на микроцистини при температура 25 °C и светлинна интензивност 30 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ [98]. Най-високи концентрации на токсини са отчетени при съдържание на фосфор 6 mM. В рамките на този експеримент количеството желязо не оказва съществено влияние върху растежа и продукцията на токсини, но води до съкращаване на продължителността на съществуване на монокултурата.

Други изследвания обаче показват, че ниските концентрации на желязо могат да стимулират продуцирането на микроцистини, като ефектът зависи и от интензивността на светлината [38]. Съществуват и данни, според които повишеното отделяне на микроцистини не е задължително свързано с увеличаване на биомасата [39]. Тези противоречиви резултати подчертават сложната взаимовръзка между факторите на околната среда, доминиращите цианобактериални видове и количеството и типа на синтезираните токсини.

В обобщение, влиянието на факторите на околната среда върху продуцирането на цианотоксини е комплексно и силно зависимо от видово-специфичните особености, както и от съвкупното действие на физико-химичните параметри. Наличието на противоречиви данни в литературата показва необходимостта от локални и регионално ориентирани изследвания, които да отчитат специфичните характеристики на отделните водоеми и климатични условия.

1.6. Глобалност на проблема и значението му за България

Глобалният характер на цианобактериалните цъфтежи и свързаните с тях цианотоксини налага разработването на координирани научни и управленски подходи

на международно ниво. В отговор на нарастващия риск за общественото здраве и водните екосистеми са реализирани редица мащабни изследователски програми и проекти, насочени към оценка на разпространението, токсичността и управлението на цианобактериалните цъфтежи. Един от тях е европейският проект TOXIC (EVK1-2002-00107), реализиран в рамките на Петата рамкова програма на Европейския съюз [62]. Основните цели на проекта са фокусирани върху три ключови направления: питейна вода, храни с морски произход и храни със сладководен произход.

Проучванията, проведени в рамките на проекта, обхващат биологични, хидрологични и токсикологични аспекти на проблема, както и въпроси, свързани с обработката и безопасността на водите. В тази връзка е създаден и интернет-информационен център за токсични водорасли и техните токсини, чиято цел е обединяване и разпространение на актуални данни от различни европейски региони. Платформата предоставя възможност за публикуване на токсикологични резултати, регионални и системни анализи, сигнали за потенциална опасност и данни, подпомагащи вземането на управленски решения.

Значима роля в глобалния мониторинг и управлението на риска от цианобактериални токсини има и мрежата CYANONET – международна инициатива под егидата на UNESCO, насочена към обмен на информация, оценка на риска и разработване на препоръки за контрол и превенция на цианобактериалните цъфтежи [99]. Дейността на подобни мрежи подчертава необходимостта от координирани усилия и съпоставими данни за оценка на мащаба и динамиката на проблема в различни географски региони.

Във водоемите на България цианобактериални цъфтежи се наблюдават най-често в края на пролетта и началото на лятото и могат да продължат до края на есента. В редица язовири, резервоари, рибарници, термални извори и други водни обекти са установени представители на родовете *Anabaena*, *Microcystis*, *Oscillatoria* и *Spirulina* [100, 101]. Ранните цъфтежи обикновено се свързват с видовете *Anabaena flos-aquae* и *Aphanizomenon flos-aquae*, докато през летния период доминира *Microcystis aeruginosa*. Всеки от тези видове е потенциален продуцент на цианотоксини, което означава, че при интензивни цъфтежи в българските водоеми е възможно наличие на микроцистини, нодуларини, анатоксини и други токсични съединения. Въпреки това към настоящия момент липсват систематизирани данни за съдържанието и концентрациите на цианотоксини във водите на страната, а рутинен химичен анализ за тези съединения не се извършва.

В България първото проучване за наличие на микроцистини в български водоеми, предназначени за питейно водоснабдяване и за рекреация, е проведено от изследователски екип на Националния център по обществено здраве и анализи (НЦОЗА) в периода 2004–2005 г. Понастоящем се провеждат проучвания по научно-приложна тема на НЦОЗА „Проучване на наличието на цианотоксини във води и биомаса – аналитични и хигиенни проблеми“, свързана с обследването на близки до гр. София язовири.

Първите участия на български изследователи в международни проекти, посветени на цианобактериалните цъфтежи и свързаните с тях токсини, се осъществяват на по-късен етап в сравнение с повечето европейски страни. В периода 2012–2016 г. представители на България от Биологическия факултет на Софийския университет и НЦОЗА участват в Управителния съвет на COST акция ES1105 “Cyanobacterial blooms and toxins in water resources: Occurrence, impacts and management (CYANOCOST)”. През 2025 г. българските изследователи се включват и в COST акция CA23160 “Effective Lake Management: Reducing Cyanobacteria by Actions in the Catchment (CYANOACTION)”.

Недостатъчните данни създават съществена празнина в оценката на риска за общественото здраве и подчертават необходимостта от целенасочени изследвания, адаптирани към специфичните климатични и хидрологични условия на България. Наличието на подходящи физико-химични условия във водоемите и потенциално токсин-продуциращи видове създава предпоставки за развитие на опасни цианобактериални цъфтежи и налага въвеждането на системен мониторинг.

1.7. Методи за определяне на микроцистини

За определяне на микроцистините в природни води и цианобактериална биомаса са разработени и прилагани разнообразни аналитични и биологични методи, всеки от които притежава специфични предимства и ограничения. Изборът на подходящ метод зависи от целта на изследването, матрицата на пробата, изискваната чувствителност и селективност, както и от наличната апаратура.

В практиката методите за определяне на микроцистини условно се разделят на инструментални физикохимични методи и биологични (биоаналитични) методи. Физикохимичните методи позволяват идентификация и количествено определяне на отделни микроцистинови аналози, докато биологичните методи дават информация за общата токсичност на пробата и потенциалния ѝ биологичен ефект.

Един от най-надеждните и широко използвани аналитични подходи за определяне на микроцистини е **високоэффективната течна хроматография (HPLC)** [102]. Методът се характеризира с висока селективност, добра възпроизводимост и възможност за разделяне на различни микроцистинови аналози. Предварителната подготовка на водните проби и пробите от биомаса обикновено включва концентриране чрез твърдофазна екстракция (SPE), най-често с използване на C18 картриджи [103].

За аналитичното разделяне при HPLC анализа по-често се използват подвижни фази с добавка на киселина, отколкото неутрални. Най-разпространената практика включва линеен градиент от ацетонитрил и вода в присъствие на трифлуороцетна киселина (TFA), като неподвижната фаза обикновено е C18. Поради наличието на микроцистини с различна полярност – от по-хидрофилни до силно хидрофобни съединения – относителната им полярност определя реда на задържане при комбинацията TFA–подвижна фаза/ C18–неподвижна фаза. При използване на маспектрометрични детектори често се прилагат микроколони с цел повишаване на чувствителността и намаляване на разхода на разтворители [103].

Ултравиолетовата (UV) детекция е един от най-често използваните методи за детекция в HPLC анализа на микроцистини. **UV фотодиодните детектори** позволяват регистриране на характерните абсорбционни спектри на микроцистините и осигуряват надеждна количествена информация [102]. Основният хромофор в структурата на микроцистините абсорбира при дължина на вълната около 238 nm, което позволява по-висока чувствителност при тяхното детектиране [103]. В зависимост от аминокиселинния състав, UV спектрите на микроцистините могат да се разделят в две основни групи: типични спектри с максимум при 238 nm (напр. микроцистин–LR) и спектри на триптофан-съдържащи микроцистини, при които се наблюдава допълнителен максимум около 222 nm.

За повишаване на чувствителността и селективността на анализа са разработени методи, включващи дериватизация на микроцистините с флуорогени [104] или хемилуминисцентни реагенти [105], последвани от детекция с флуоресцентен или хемилуминисцентен детектор. Тези подходи позволяват по-ниски граници на откриване, но изискват допълнителни стъпки при подготовката на пробите, което увеличава сложността и времето за анализ.

Маспектрометричните методи като **LC–MS** и **LC–MS/MS**, предоставят значително по-висока надеждност при идентификацията на микроцистините благодарение на възможността за получаване на специфични фрагментни йони [103]. Те

позволяват едновременно качествено и количествено определяне на отделни микроцистинови аналози, включително при сложни матрици. За структурни изследвания на микроцистините широко се използва електроспрей йонизационна масспектрометрия с колизионно-индуцирана дисоциация (ESI-MS/CID), базирана на фрагментацията на метастабилни йони.

Други масспектрометрични техники, като бързо атомно бомбардиране (FAB-MS), намират приложение при определяне на молекулната маса и вероятната молекулна формула, особено при съчетаване с измервания с висока резолюция. Ядрено-магнитният резонанс (NMR) се използва основно за окончателно структурно определяне на микроцистините [102]. MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry) се разглежда като перспективен метод за бърза идентификация на структурата на токсините и за скринингови анализи [106].

Йонообменната хроматография също намира приложение при определянето на микроцистини, особено при препаративно изолиране и пречистване на отделни аналози [107]. Поради по-ниската си селективност в сравнение с високоефективната течна хроматография, този подход по-рядко се използва самостоятелно за рутинен анализ, но може да бъде полезен като допълващ метод при комплексни аналитични схеми.

Тънкослойната хроматография (TLC) и високоефективната тънкослойна хроматография (HPTLC) се прилагат основно за полупрепаративни цели, за бърз скрининг и за проверка на чистотата на изолирани проби [108]. Въпреки че чувствителността на тези методи е по-ниска в сравнение с HPLC и LC-MS, те предлагат бързина, ниска цена и възможност за едновременно анализиране на голям брой проби.

Капилярната електрофореза представлява алтернативен аналитичен подход за определяне на микроцистини, като се характеризира с висока разделителна способност и ниска консумация на реагенти. Метод, базиран на капилярна зонална електрофореза, комбиниран с лазерна флуоресцентна детекция, е успешно приложен за анализ на микроцистини и позволява постигане на добри граници на откриване [109]. Въпреки тези предимства, приложението на капилярната електрофореза в рутинната практика остава ограничено поради по-сложната апаратура и необходимостта от прецизен контрол на аналитичните условия.

Освен физикохимичните методи, за определяне на микроцистини и оценка на токсичността на цианобактериалните проби е разработен широк спектър от **биологични методи** [102]. За разлика от инструменталните техники, които предоставят информация за конкретни съединения, биологичните методи отразяват общия токсичен ефект на

пробата и са особено полезни при анализ на сложни матрици, съдържащи смеси от различни токсини.

Сред биологичните методи за оценка на токсичността на цианобактериалните проби широко приложение намират **бактериални тестове**, които се отличават с относителна простота, бързина и ниска цена. Един от най-известните е тестът Microtox, базиран на биолуминесцентната бактерия *Photobacterium phosphoreum*, при който се измерва инхибирането на биолуминесценцията като индикатор за токсичност [102]. Първоначално методът се счита за чувствителен към микроцистини, но по-късни изследвания показват липса на ясна корелация между наблюдавания токсичен ефект и съдържанието на хепатотоксини в пробата [102]. Подобни резултати са получени и при други бактериални тестове, което ограничава тяхната приложимост за специфично определяне на микроцистини [110, 111].

Въпреки тези ограничения, бактериалните биотестове се използват като скринингов инструмент за оценка на общата екотоксикологична опасност, особено при наличие на други цианобактериални токсини. Предимството им се състои в ниските разходи и възможността за бързо обработване на голям брой проби [102].

Изследвани са и различни безгръбначни организми като модели за токсичност, включително морски и сладководни ракообразни, при които е установена добра корелация между смъртността и концентрацията на микроцистини [112]. Други безгръбначни модели, като ротатории и протозои, също показват висока чувствителност към цианобактериалните токсини [111]. Макар да предоставят ценна информация за екологичния риск, тези модели имат ограничено приложение за рутинен мониторинг поради биологичната вариабилност и по-сложната интерпретация на резултатите.

Токсикологичните тестове с гръбначни лабораторни животни осигуряват най-комплексна информация за токсичността на цианобактериалните проби. Най-често използваният модел включва експерименти с мишки, при които токсичността на сурови цианобактериални екстракти или пречистени токсини се оценява чрез интраперитонеално инжектиране и последващо наблюдение на животните за характерни симптоми в рамките на определен времеви интервал [102, 113]. Токсичността на цианобактериалната биомаса се изразява чрез стойности на LD₅₀, които варират в широки граници в зависимост от съдържанието и състава на токсините [110].

Въпреки високата си информативност, тестовете с животни са свързани със значителни етични ограничения, високи разходи и трудоемкост, което ограничава тяхното приложение в рутинната практика. Допълнителен недостатък е възможността

по-остро действащ токсин в пробата да маскира ефектите на други съединения, което затруднява интерпретацията на резултатите при наличие на смеси от различни цианотоксини.

За определянето на микроцистини широко се използват и имунохимични методи, базирани на специфични антитела, като най-разпространеният от тях е **ELISA** (ензимно-свързан имуносорбентен анализ) [102]. Методът се счита за надеждна алтернатива на инструменталните аналитични техники и е успешно прилаган за определяне на микроцистини в проби от природни води и цианобактериална биомаса [114]. Границата на откриване, която обикновено е около 1 µg/L, е достатъчна за скрининг и мониторинг на питейни и повърхностни води, като при някои модификации на метода се постига чувствителност до 0,1 µg/L за микроцистин–LR [115].

Основно предимство на ELISA е възможността за бърз анализ на голям брой проби без необходимост от сложна предварителна подготовка и концентриране. Методът е относително евтин, лесен за изпълнение и подходящ за рутинен мониторинг. Негов основен недостатък е липсата на информация за индивидуалния състав на микроцистиновите аналози, тъй като резултатите обикновено се изразяват като еквиваленти на микроцистин–LR [116]. Поради това ELISA не позволява пълна химична характеристика на пробата и следва да се разглежда като допълващ, а не като заместител на инструменталните методи.

В сравнение с ELISA, методите на високоефективната течна хроматография и маспектрометрията предоставят по-висока селективност и възможност за идентификация и количествено определяне на отделни микроцистинови аналози. Те обаче са по-скъпи, изискват специализирана апаратура, висококвалифициран персонал и наличието на стандартни вещества, които са достъпни само за ограничен брой микроцистини [116]. Това ограничава приложението им за широкомащабен рутинен мониторинг, но ги прави незаменими при задълбочени изследвания и валидиране на резултатите.

В обобщение, наличните методи за определяне на микроцистини се различават съществено по отношение на чувствителност, селективност, информативност и практическа приложимост. Комбинираното използване на биологични, имунохимични и инструментални аналитични методи предоставя най-надежден подход за оценка на риска, свързан с цианобактериалните цъфтежи. Сред инструменталните техники високоефективната течна хроматография, самостоятелно или в комбинация с

масспектрометрия, се утвърждава като една от най-надеждните и перспективни методики за количествено определяне на микроцистини в природни и питейни води.

В България липсва систематизирана съвременна информация за съдържанието на микроцистини в повърхностни води, използвани за питейни цели, както и за влиянието на факторите на околната среда върху сезонната динамика на цианобактериалните популации. Наличните данни са ограничени и фрагментарни и не позволяват надеждна оценка на риска, свързан с появата на цианотоксини във водоизточници за питейно водоснабдяване. Необходими са систематизирани изследвания за проследяване на сезонната вариабилност на микроцистините и за оценка на ролята на основните екологични фактори, определящи тяхното образуване и натрупване във водната среда. От особена важност е получаването на надеждни аналитични данни за съдържанието на микроцистини чрез използване на чувствителни и селективни аналитични методи, което определя целта и задачите, поставени в настоящия дисертационен труд.

2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел

Разработване, валидиране и прилагане на аналитични методи за определяне на микроцистини в повърхностни води за питейни цели, както и охарактеризиране на състоянието на избрани язовири в района на гр. София и областта чрез изследване на съдържанието на тези токсини и оценка на зависимостта между тяхното отделяне и факторите на околната среда.

Задачи

За постигане на поставената цел са формулирани следните основни задачи:

1. Разработване и валидиране на аналитични методи за качествено и количествено определяне на микроцистини във водни проби.
2. Да се определи съдържанието на микроцистини в повърхностни води за питейни цели.
3. Да се проследи в динамика видовият състав на цианобактериите и наличието на микроцистини в избрани язовири в района на гр. София и областта.
4. Да се оцени влиянието на факторите на околната среда върху продуцирането на микроцистини в реални условия.

3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

3.1. Апаратура

- Високоэффективен течен хроматограф с диодно-матричен детектор (DAD) Agilent 1200 (Agilent Technologies, САЩ) Аналитичното разделяне е проведено с колона Supelcosil ABZ+Plus (150 mm × 4,6 mm, 5 μm, Supelco, Германия);
- ELISA комплект за анализ състоящ се от: четец на 96-ямкови микроплаки HiPO MPP-96; термо шейкър PST-60HL; промиващо устройство за 96-ямкови микроплаки Intelspeed IW-8, всички с производител Biosan SIA, Латвия;
- Термоблок (Digester Unit DS6, тип 2006, FOSS TECATOR, Швеция);
- Спектрофотометър Specol 11 (Carl Zeiss Jena, Германия).

3.1.1. Ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA)

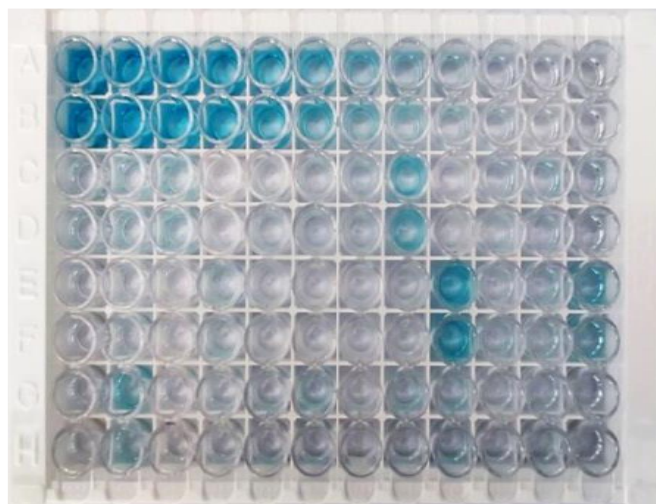
ELISA представлява бърза, сравнително проста и чувствителна аналитична методика, която изисква основни лабораторни умения и позволява получаване на резултати в рамките на 3–4 часа. Съществено предимство на метода е възможността за едновременно анализиране на голям брой проби.

Определянето на микроцистини е извършено чрез конкурентен индиректен ELISA, позволяващ конгенер-независимо количествено определяне. ELISA комплектът за анализ се състои от следните модули: четец на 96-ямкови микроплаки HiPO MPP-96; термо шейкър PST-60HL; промиващо устройство за 96-ямкови микроплаки Intelspeed IW-8, всички с производител Biosan SIA, Латвия.

Откриването на вътреклетъчни и извънклетъчни токсини, продуцирани от цианобактерии по време на цъфтеж, е осъществено чрез използване на търговски комплекти за ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA). Използвани са ELISA китове ABRAXIS Microcystins-ADDA ELISA Microtiter Plate, Gold Standard Diagnostics, САЩ.

Методът може да се прилага върху екстракти или проби от сурова вода, прясно събрани или съхранявани при –20 °С, съгласно инструкциите на производителя на съответния комплект. Основава се на конкуренция между токсините, съдържащи се в пробата, и имобилизирания върху 96-ямкова микротитърна плака антиген за свързване със специфично първично антитяло. След инкубация и отмиване на несвързаните компоненти, свързаното първично антитяло се детектира посредством ензимно-конюгирано вторично антитяло (индиректна детекция), което при добавяне на субстрат предизвиква колориметрична реакция (фиг. 5).

Интензитетът на получения сигнал е обратно пропорционален на концентрацията на токсините в пробата и абсорбцията се измерва спектрофотометрично при 450 nm след спиране на реакцията със стоп-реагент (**Фиг. 6**). Количественото определяне се извършва чрез построяване на калибрационна зависимост със стандартни разтвори с определени концентрации, като концентрацията на анализа в изследваната проба се оценява чрез получената калибрационна крива.



Фигура 5. Колориметрична реакция върху 96-ямкова плака. Концентрацията на токсина се измерва чрез абсорбция, която е обратно пропорционална на интензитета на цвета.



Фигура 6. Спектрофотометър Biosan SIA за определяне на токсини.

3.1.2. Определяне на нутриенти

3.1.2.1. Определяне на общ азот

Определянето на общ азот е извършено след минерализация на пробата с концентрирана сярна киселина в термоблок (Digester Unit DS6, тип 2006, FOSS

TECATOR, Швеция). В резултат на минерализацията органичните съединения на азота се превръщат в амониев сулфат.

Полученият амониев сулфат се разлага с натриева основа до амониак, който се дестилира и улавя в разтвор на борна киселина с помощта на дестилационен апарат Kjeltec 2100 (FOSS TECATOR, Швеция). Образуваният амониев борат се определя чрез обратно титруване с 0,01 mol/L разтвор на солна киселина (0,01 N HCl).

Използвана е бюрета $10 \text{ cm}^3 \pm 0,02 \text{ cm}^3$, клас AS, (ISOLAB, Германия). Границата на количествено определяне на метода е 0,5 mg/L.

3.1.2.2. Определяне на общ фосфор

Определянето на общ фосфор е осъществено съгласно процедура, описана в БДС EN ISO 6878:2005 „Качество на водата. Определяне на фосфор. Спектрометричен метод с амониев молибдат“ [117]. Стандартът специфицира методи за определянето на ортофосфат, ортофосфат след екстракция с разтворител, хидролизуем фосфат плюс ортофосфат и общ фосфор след разлагане. Концентрации до 0,8 mg/L могат да се определят в такива проби без разреждане.

Анализът е извършен чрез спектрофотометър Specol 11 (Carl Zeiss Jena, Германия). Границата на количествено определяне на метода е 0,02 mg/L.

3.1.3. Определяне на видовия състав и количеството клетки във фитопланктонните съобщества в пробите

При провеждането на хидробиологичните анализи, водните проби с обем 1 L взети от определени пунктове на водното тяло в прозрачни стъклени бутилки, се консервират с подходящ фиксатор [118]. В случая е използван фиксатор на Утермиол (Utermol). Следва концентриране на пробите чрез седиментиране (утаяване), което протича до избистряне на супернатанта. Целта на тази процедура е да се „уловят“ всички клетки на фитопланктона, намиращи се във всяка проба с обем 1 L и да се отделят в един по-малък воден обем от 10 cm^3 за анализ (т.нар. концентрирана проба) чрез пипета. С така подготвените проби се провежда микроскопски анализ, за да се определят видовият състав и количествената застъпеност на отделните видове във фитопланктонното съобщество. За видовото идентифициране на микроводораслите са използвани биологични определители и атласи, а при количественото определяне – камера на Burker с обем $0,9 \text{ mm}^3$. Крайният резултат изразява общия брой клетки или броя клетки на масовия вид (при цъфтеж) в 1 L проба. Сапробиологичната оценка е направена чрез прилагане на метода на Pantle – Buck, базиращ се на индикаторното значение (s) и на

относителната честота на срещане (h) на видовете микроводорасли в пробите. На базата на научни публикации е заимствана корелация между сапробност и трофност [119–121]. Хидробиологичният анализ на фитопланктонните съобщества са извършени в отдел „Микробиологични фактори“, НЦОЗА.

3.1.4. Статистическа обработка на данните

Статистическата обработка на получените резултати е извършена с помощта на **Microsoft Excel**. За оценка на взаимовръзките между концентрациите на микроцистини и съдържанието на основните нутриенти във водата – общ азот (N) и общ фосфор (P), е приложен **корелационен анализ по Pearson**.

За всяка двойка изследвани параметри са изчислени **коэффициентът на линейна корелация (r)** и **коэффициентът на детерминация (R²)**, които характеризират силата и посоката на зависимостта между променливите. В допълнение е извършен **линеен регресионен анализ**, като са определени уравненията на линейната регресия, описващи връзката между разглежданите параметри.

Статистическата значимост на установените зависимости е оценена чрез изчисляване на **p-стойности**, като за статистически значими са приемани зависимости при **ниво на значимост $p < 0,05$** .

При обработката на данните концентрациите на микроцистини под границата на количествено определяне (**LOQ = 0,2 µg/L**) са третираны като **LOQ/2 (0,1 µg/L)**, което е широко използван подход при статистически анализ на екологични данни.

Проведен е вариационен анализ чрез t-тест с цел установяване на сходство между резултатите, получени чрез ELISA и HPLC.

Получените резултати са представени чрез корелационни таблици и уравнения на линейна регресия, което позволява да се оцени степента на взаимовръзка между концентрациите на микроцистини и съдържанието на нутриенти в изследваните водоеми.

4. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

4.1. Постановка на изследването

4.1.1. Метод за хроматографско определяне на микроцистини

Хроматографското определяне на микроцистини е осъществено с високоефективен течен хроматограф с диодно-матричен детектор (DAD) Agilent 1200. Аналитичното разделяне е проведено с колона Supelcosil ABZ+Plus (150 mm × 4,6 mm, 5 µm, Supelco), термостатирана при 25 °C.

Като подвижна фаза е използван градиент от ацетонитрил (HPLC чистота) и ултрачиста вода (електропроводимост 0,055 µS/cm), към които е добавена 0,1 % трифлуороцетна киселина (спектроскопски чиста). Градиентната програма включва 20 % ацетонитрил при 0 min до 46 % при 20 min, с общо време за хроматографиране 25 min. Потокът на подвижната фаза е 1 mL/min, а детекцията е извършена при дължина на вълната 238 nm. За калибриране на системата са използвани сертифицирани референтни материали за микроцистин–LR и микроцистин–RR (Cifga, Испания), както и референтен материал за микроцистин–YR (Abraxis, САЩ).

Разработеният хроматографски метод „Води. Определяне съдържанието на микроцистини чрез HPLC“ е валидиран като вътрешнолабораторна методика за изпитване и е включен в обхвата на акредитация на Изпитвателен център „Здраве“ към НЦОЗА. Основните характеристики от валидирането на метода са представени в Приложения 1А и 1Б.

За доказване на аналитичната компетентност при определяне на микроцистини–LR, –RR и –YR във води е осъществено участие в международно междулабораторно сравнително изпитване, организирано от LGC Standards Ltd., Великобритания. Получените резултати са представени в **таблица 2**.

Таблица 2. Резултати от междулабораторно сравнително изпитване.

Показател	Резултат, средна стойност µg/L	Сертифицирана концентрация, µg/L	z-score
Микроцистин–LR	0,27	0,30	-0,49
Микроцистин–RR	0,15	0,15	0
Микроцистин–YR	0,20	0,15	1,67

В рамките на проект на тема „Сезонна динамика на приоритетен според новата Европейска директива за качеството на питейната вода токсин микроцистин–LR“, финансиран от Фонд „Научни изследвания“ (ФНИ) по Договор № КП-06-М69/5 от 15.12.2022 г., по конкурс за финансиране на научни изследвания на млади учени и постдокторанти, бе осигурена възможност за първи път в България да се проследи в динамика наличието на микроцистини в питейни води.

4.1.2. Обследвани водни обекти и вземане на проби

Настоящият дисертационен труд представя обобщени резултати от проведени изследвания през периода юни–октомври 2023 г. и същия сезонен интервал през 2024 г., насочени към проучване на сезонната динамика на микроцистин–LR и неговите хомолози –RR и –YR във водни проби от основни водоизточници за питейно водоснабдяване в района на гр. София и областта: яз. Искър и бент Кокаляне, яз. Студена и яз. Красава. През 2025 г. са проведени изследвания в язовирите Студена и Красава. На **фигура 7** е представена карта с обследваните пунктовете за пробонабиране.



Фигура 7. Обследвани водни обекти: 1) яз. Искър – водоземна кула; 2) яз. Искър – Щъркелово гнездо; 3) яз. Искър – ветроходна база; 4) бент Кокаляне; 5) яз. Студена; 6) яз. Красава.

4.1.2.1 Характеристика на обследваните язовири

Язовир Искър е най-големият по площ и обем язовир на територията на страната. Той е изкуствено създаден водоем, разположен по течението на едноименната река в България. Средната надморска височина, на която е разположен, е 850 m, дължината на язовира е 25 km, а общата залята площ е 30 km². Язовирната стена е дълга 204 m и висока 76 m.

От построяването си и първоначалната си експлоатация през 1956 г., язовирът служи за основен водоизточник за столицата. А от 1999 г. след започването на работа на Пречиствателна станция за питейни води Бистрица, язовир Искър осигурява 80 % от водата за нуждите на гр. София, което го прави обект на изследване на редица български автори [122–125]. Водоснабдителният комплекс Искър е едно от най-сложните и обемни хидротехнически съоръжения в страната. Язовирът е оборудван с два основни изпускателя с капацитет 60 m³/sec и две преливника с общ дебит 612 m³/sec при най-високо водно ниво. Освен за питейно и промишлено водоснабдяване, водите на язовира се използват за производство на електроенергия и напояване. От водоземната кула, водата постъпва в напорен тунел, в края на водопроводът се разделя на два клона – единият, Искърският водопровод, достигащ до ПСПВ Бистрица, и другият, чрез турбините на ВЕЦ Пасарел и Пасарелския водопровод - до ПСПВ Панчарево. Освен ВЕЦ Пасарел, водите на язовира захранват и още една водноелектрическа централа – тази в Кокаляне. Водните ресурси от бент Кокаляне служат като резерв за снабдяване на ПСПВ Панчарево. След енергийната преработка, водите се използват за напояване на обработваемите земи в Софийското поле. Язовир Искър е с общ обем 673 млн. m³, от които 530 млн. m³ са в употреба, а останалите са „мъртъв обем“, които може да се използва като резерв.

Язовир Студена се намира в западната част на планина Витоша, по горното течение на река Струма. Разположен е в землищата на селата Студена, Кладница и Боснек, община Перник [126]. Въведен е в експлоатация на 5 декември 1953 г. [127]. През 1992 г. преливникът на язовирната стена е надграден, с което общият обем достига 25,2 млн. m³ [127]. Язовирът се използва за питейно-битово водоснабдяване на гр. Перник, както и за напояване и промишлени цели.

Освен от естествения си водосбор (река Струма и високите ѝ притоци), язовирът получава води и чрез канал Владая, който довежда води от североизточния дял на

Витоша (Владайска и Рударска река), както и чрез канал Палакария – от южните склонове на Витоша и река Палакария [127].

Язовир Красава е разположен на около 10 km от Брезник, област Перник, между планините Завалска и Вискяр. Язовирът се захранва от няколко малки реки (р. Конска, Светля, Романска, Бабешка и др.). Максималната дължина на язовира е 1,3 km, а широчината му е около 0,3 km, като в източния му край има два ръкава. Надморската му височина е 815 метра. Обемът на язовира е около 3 милиона кубически метра.

До язовира се стига от село Гърло, както и от село Красава. Язовирът захранва с вода за питейно-битови нужди жителите на град Брезник и брезнишките села Ноевци, Бегуновци, Велковци, Режанци и Бабица. От водоснабдителната група Секирна – Брезник са водоснабдени селата Долна Секирна, Станьовци, Кошарево, Бегуновци, Гигинци, Непразненци, Ноевци и Велковци. Останалите селища са водоснабдени от местни водоизточници, според информация за техническата инфраструктура на Община Брезник [128].

Според измерване проведено на през месец юни 2024 г. язовир Красава разполага с 1 733 769 m³ вода. Мъртвият обем на водоема е 775 000 кубически метра, а пълният обем е 2 975 000 m³ [129].

4.1.2.2. Пробовземане и пробоподготовка

Общо за изследвания период 2023–2025 г. са взети и анализирани за наличие на микроцистини, нутриенти и видов състав на цианобактериите 46 проби през 2023 г., 45 проби през 2024 г. и 8 проби през 2025 г.

Разпределението на пробите по водоеми е както следва:

От яз. Искър са взети 25 проби през 2023 г. и 25 проби през 2024 г. от три пункта за пробовземане:

- Водовземна кула – от повърхностен слой 0 m и дълбочина 25 m;
- Щъркелово гнездо – от повърхностен слой 0 m и дълбочина 20 m;
- Ветроходна база – повърхностен слой.

От бент Кокаляне са взети 5 проби през 2023 г. и 5 проби през 2024 г.

От яз. Студена са взети 11 проби през 2023 г.; 10 проби през 2024 г. от три пункта за пробовземане и 5 водни проби през 2025 г.

От яз. Красава са взети 5 проби през 2023 г.; 5 проби през 2024 г. и 3 проби през 2025 г.

Водните проби, предназначени за определяне на микроцистини, са съхранявани в замразено състояние в пластмасови бутилки с обем 1,5 L. Преди анализ пробите се

размразяват, като при наличие на масивни цианобактериални цъфтежи се прилага двукратно замразяване и размразяване с цел пълно лизиране на клетъчните стени и освобождаване на вътреклетъчните токсини.

След размразяване пробите се филтрат през стъклоvlakнест филтър (glass microfiber filter GF/A, Ø 47 mm, Cytiva, САЩ).

Филтруваните проби се подлагат на твърдофазна екстракция с използване на SPE картриджи Oasis HLB 60 µm (LP), 6 mL (Waters Corporation, САЩ). Елуирането се извършва с метанол (HPLC чистота), след което елуатът се изпарява до сухо под лек поток азот. Сухият остатък се разтваря в 0,5 mL 50 % (v/v) метанол.

Получените крайни екстракти се филтрат през PTFE мембранни филтри (0,45 µm, Alltech, САЩ) преди хроматографски анализ.

4.2. Язовир Искър

4.2.1. Язовир Искър – водовземна кула

Резултатите от анализите на проби, взети през 2023 г. и 2024 г. за видов състав на фитопланктона са обобщени в **таблица 3**, а в **таблица 3А** са обобщени данните за наличие на микроцистини и нутриенти.

Таблица 3. Язовир Искър – водовземна кула 2023–2024 г. Резултати от идентификация на фитопланктон.

Пункт/ месец на вземане на проби	t ± 0,2 °C		Видове		TCN (Общ брой клетки)/L		PBSITS (Pantle-Buck's сапробиологичен индекс и трофично състояние)	
	2023	2024	2023	2024	2023	2024	2023	2024
яз. Искър водовземна кула 0 m м. юни	19,0	25,3	Ochrophyta <i>Dinobryon cylindricum</i>	Chlorophyta <i>Chlamidomonas simplex</i> Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Cymatopleura elliptica</i>	5,1 x 10 ⁵	6,1 x 10 ⁵	1,4 oligosaprobic/ oligotrophic state	1,4 oligosaprobic/ oligotrophic state
яз. Искър водовземна кула –25 m м. юни	8,0	11,4	Cyanoprokaryota <i>Pseudoanabaena limnetica</i> Chlorophyta <i>Oocystis naegelii</i> Streptophyta <i>Cosmarium tumidum</i> <i>Staurastrum cristatum</i> <i>Staurastrum pingue</i> Ochrophyta <i>Dinobryon cylindricum</i> <i>Aulacoseira italica</i> <i>Tabellaria flocculosa var. asterionelloides</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i>	-	7,2 x 10 ⁵	-	1,5 β-mesosaprobic/ oligo- mesotrophic state	-
яз. Искър водовземна кула 0 m м. юли	25,2	24,2	Chlorophyta <i>Oocystis naegelii</i> Streptophyta <i>Staurastrum pingue</i> Ochrophyta <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Tabellaria flocculosa var. asterionelloides</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Melosira italica</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chlorophyta <i>Cosmarium depressum</i> Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Cryptophyta <i>Rhodomonas spp.</i>	4,1 x 10 ⁵	6,5 x 10 ⁵	1,5 β-mesosaprobic/ oligo- mesotrophic state	1,7 β-mesosaprobic/ oligo- mesotrophic state

яз. Искър водовземна кула –25 m м. юли	11,0	9,0	Cyanoprokaryota <i>Aphanothece minutissima</i> Chlorophyta <i>Eudorina elegans</i> Chrophyta <i>Fragilaria crotonensis</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Melosira italica</i> <i>Stephanodiscus</i> <i>astraea</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas ovata</i>	5,3 x 10 ⁵	6,4 x 10 ⁵	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,8 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
яз. Искър водовземна кула 0 m м. август	23,0	23,6	Chlorophyta <i>Eudorina elegans</i> <i>Oocystis naegelii</i>	Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> <i>volvocinopsis</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Stephanodiscus</i> <i>astraea</i> Chlorophyta <i>Cosmarium</i> <i>depressum</i> Cyanophyta <i>Aphanocapsa</i> <i>elachista</i>	6,6 x 10 ⁵	7,5 x 10 ⁵	4 oligosaprobic/ oligotrophic state	1,4 oligosaprobic/ oligotrophic state
яз. Искър водовземна кула –25 m м. август	9,0	10,0	Cyanoprokaryota <i>Aphanothece minutissima</i> Ochrophyta <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Gyrosigma acuminatum</i> <i>Tabellaria flocculosa</i> var. <i>asterionelloides</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i>	Bacillariophyta <i>Fragilaria</i> <i>crotonensis</i> <i>Cyclotella comta</i> <i>Melosira italica</i> <i>Stephanodiscus</i> <i>astraea</i> Chlorophyta <i>Staurastrum</i> <i>planctonicum</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> <i>volvocinopsis</i> Cyanophyta <i>Aphanocapsa</i> <i>elachista</i>	8,3 x 10 ⁵	6,9 x 10 ⁵	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
яз. Искър водовземна кула 0 m м. септември	20,0	21,0	Cyanoprokaryota <i>Aphanothece minutissima</i> Ochrophyta <i>Tabellaria flocculosa</i> var. <i>asterionelloides</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocina</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Melosira italica</i> <i>Pinnularia nobilis</i> <i>f.intermedia</i> Chlorophyta <i>Coenococcus</i> spp. Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Euglenophyta <i>Phacus orbicularia</i>	3,8 x 10 ⁵	5,3 x 10 ⁵	1,4 oligosaprobic/ oligotrophic state	1,4 oligosaprobic/ oligotrophic state
яз. Искър водовземна кула –25 m м. септември	17,0	9,6	Cyanoprokaryota <i>Anabaena</i> sp. ster. 2 <i>Aphanothece minutissima</i> Ochrophyta <i>Aulacoseira italica</i> <i>Tabellaria flocculosa</i> var. <i>asterionelloides</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocina</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i>	Cyanophyta <i>Aphanocapsa</i> <i>elachista</i> Dinophyta <i>Peridinium cinctum</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas ovata</i> Bacillariophyta <i>Melosira italica</i> <i>Stephanodiscus</i> <i>astraea</i> <i>Cyclotella comta</i> <i>Navicula</i> spp.	4,3 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	1,5 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,7 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
яз. Искър водовземна кула 0 m м. октомври	17,4	15,2	Cyanoprokaryota <i>Anabaena</i> sp. ster. 1 <i>Aphanothece minutissima</i> Streptophyta <i>Staurastrum</i> cf. <i>muticum</i> Ochrophyta <i>Dinobryon cylindricum</i>	Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> <i>volvocinopsis</i> Chlorophyta <i>Staurastrum</i> <i>planctonicum</i> Bacillariophyta	7,6 x 10 ⁵	1,3 x 10 ⁶	1,4 oligosaprobic/ oligotrophic state	1,4 oligosaprobic/ oligotrophic state

			<i>Aulacoseira italica</i> <i>Tabellaria flocculosa</i> var. <i>asterionelloides</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i>	<i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Cyclotella comta</i> <i>Melosira italica</i> <i>Stephanodiscus astraera</i> <i>Diatoma elongatum</i>				
яз. Искър водовземна кула –25 м м. октомври	8,0	13,0	Cyanoprokaryota <i>Aphanothece minutissima</i> Ochrophyta <i>Aulacoseira italica</i> <i>Tabellaria flocculosa</i> var. <i>asterionelloides</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i>	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Chlorophyta <i>Cosmarium depressum</i> Bacillariophyta <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Cyclotella comta</i> <i>Melosira italica</i> <i>Stephanodiscus astraera</i> <i>Diatoma elongatum</i>	8,5 x 10 ⁵	2,9 x 10 ⁶	1,5 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state

Таблица 3А. Язовир Искър – водовземна кула 2023–2024 г. Резултати от анализи за определяне на микроцистини и нутриенти.

Пункт/ месец на вземане на проби	ELISA LOQ 0,15 µg/L		MC-RR, -YR, -LR, µg/L LOQ 0,2 µg/L		Общ N mg/L LOQ 0,5 mg/L		Общ P mg/L LOQ 0,02 mg/L	
	2023	2024	2023	2024	2023	2024	2023	2024
яз. Искър водовземна кула 0 m м. юни	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,78 ± 0,08	1,35 ± 0,14	0,031 ± 0,003	0,208 ± 0,021
яз. Искър водовземна кула -25 m м. юни	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,70 ± 0,07	0,63 ± 0,07	0,028 ± 0,003	0,026 ± 0,003
яз. Искър водовземна кула 0 m м. юли	0,30 ± 0,07	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	1,46 ± 0,15	0,53 ± 0,06	0,044 ± 0,004	0,022 ± 0,002
яз. Искър водовземна кула -25 m м. юли	0,26 ± 0,06	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	1,05 ± 0,11	0,54 ± 0,05	0,051 ± 0,005	0,036 ± 0,004
яз. Искър водовземна кула 0 m м. август	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,26 ± 0,13	0,66 ± 0,07	0,026 ± 0,003	0,047 ± 0,005
яз. Искър водовземна кула -25 m м. август	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,01 ± 0,10	0,58 ± 0,06	0,057 ± 0,006	0,168 ± 0,017
яз. Искър водовземна кула 0 m м. септември	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,98 ± 0,10	0,74 ± 0,08	0,023 ± 0,002	0,034 ± 0,003
яз. Искър водовземна кула -25 m м. септември	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,88 ± 0,09	0,53 ± 0,05	0,026 ± 0,003	0,073 ± 0,007
яз. Искър водовземна кула 0 m м. октомври	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,06 ± 0,11	1,01 ± 0,10	0,037 ± 0,004	0,064 ± 0,006
яз. Искър водовземна кула -25 m м. октомври	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,56 ± 0,06	0,74 ± 0,07	0,026 ± 0,003	0,052 ± 0,005

Съгласно резултатите от идентификацията на фитопланктона (**таблица 3**), през наблюдавания период юни–октомври 2023 г. и 2024 г. водният обект в района на водоземната кула се характеризира с преобладаващо добро екологично състояние.

В повърхностния слой 0 m е установена олигосапробия, съответстваща на олиготрофен статус – т.е. водоем с ниско съдържание на нутриенти и ограничено развитие на фитопланктон.

На дълбочина 25 m преобладава β -мезосапробия, съответстваща на олиго-мезотрофно състояние, което може да се разглежда като преходно равновесно състояние в трофичната еволюция на водоема.

Тази вертикална диференциация е типична за дълбоки стратифицирани водоеми, при които в дълбочина се наблюдава по-голямо натрупване на нутриенти и по-богато фитопланктонно разнообразие.

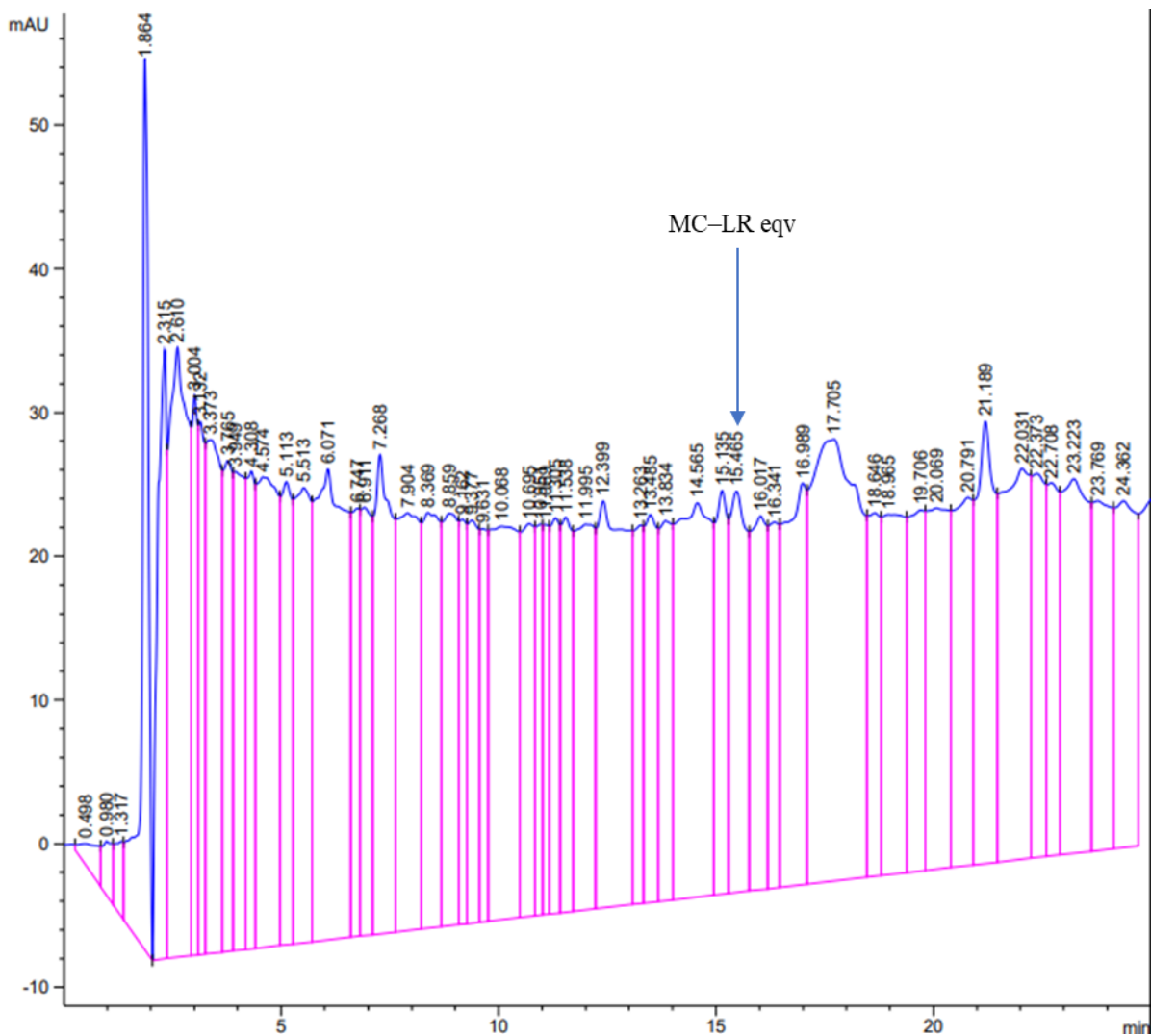
През юли 2024 г. на дълбочина 25 m е регистрирана начална фаза на размножаване на кремъчното водорасло *Melosira italica*, което е индикатор за наличие на подходящи физико-химични условия в дълбочинния слой.

През есенния период, особено през октомври 2024 г., както в повърхностния, така и в дълбочинния слой се наблюдава богат комплекс от диатомови водорасли, характерни за сезона, с доминиращо присъствие на *Asterionella formosa*.

Резултатите за съдържанието на микроцистини (MC-RR, MC-YR и MC-LR) и нутриенти, представени в **таблица 3А**, показват изключително ниско ниво на наличие на токсини.

В две от общо двадесет анализирани проби (и двете от юли 2023 г.) са установени следови количества микроцистин-LR еквивалент – съединение със сходен спектър, но с различно време на задържане спрямо целевите аналити.

На **фиг. 8** е представена хроматограма на проба от яз. Искър – водозема кула 0 m, месец юли 2023 г. MC-LR eqv $\sim 0,2 \mu\text{g/L}$.



Фигура 8. Хроматограма на проба от яз. Искър – водовзема кула 0 m, месец юли 2023 г. MC-LR eqv ~ 0,2 µg/L.

Концентрациите са близки до границата на количествено определяне и значително под максималната стойност 1 µg/L за питейни води, което показва липса на реален токсикологичен риск за водоснабдяването.

Температурният градиент между повърхностния и дълбочинния слой при водовземната кула потвърждава наличието на сезонна температурна стратификация. Пониските температури в дълбочина ограничават развитието на фитопланктона, което кореспондира с по-ниските клетъчни концентрации и липсата на значими токсинни количества.

Интерес представлява фактът, че установените следови количества съвпадат с най-високите измерени стойности на общ фосфор за периода – 0,044 и 0,051 mg/L, което

предполага възможна зависимост между фосфорното обогатяване и инициране на отделяне на токсини.

Концентрациите на **общ азот** варират:

2023 г.: 0,56–1,46 mg/L

2024 г.: 0,53–1,35 mg/L

Общият фосфор варира:

2023 г.: 0,023–0,051 mg/L

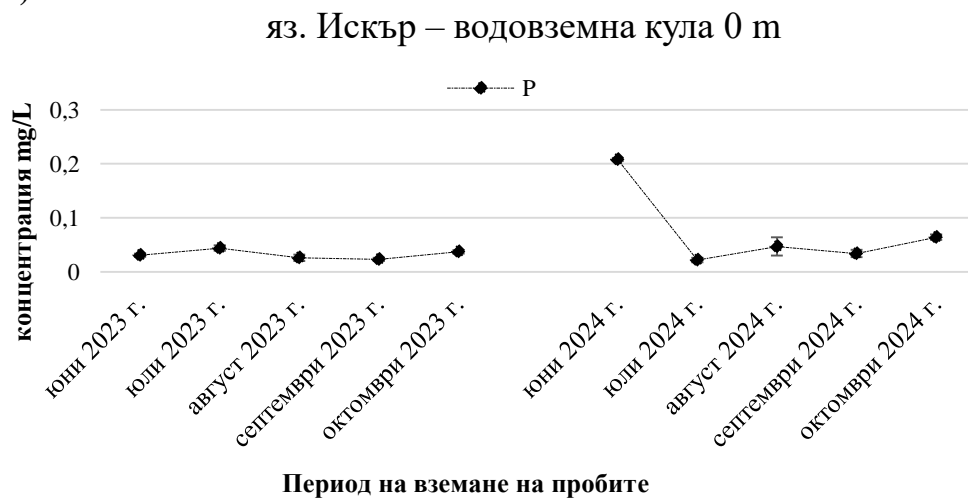
2024 г.: 0,022–0,208 mg/L

На **фигури 9 и 10** са представени резултатите от анализите за съдържание на общ азот (**фиг. 9А и 10А**) и общ фосфор (**фиг. 9Б и 10Б**) във водните проби, взети от пунктовете яз. Искър – водовземна кула 0 m и яз. Искър – водовземна кула –25 m.

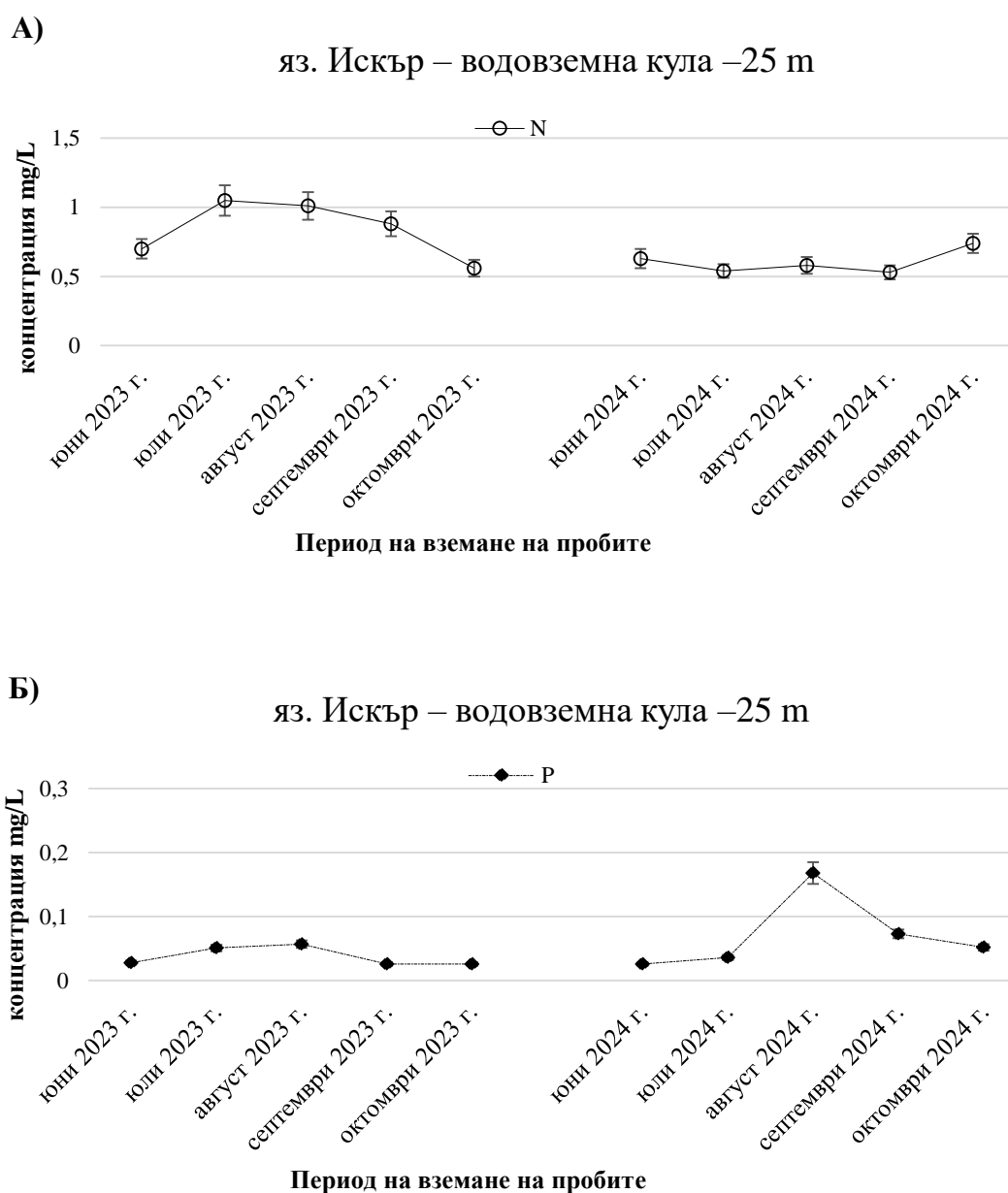
А)



Б)



Фигура 9. Резултати от анализите за съдържание на общ азот (фиг. 9А) и общ фосфор (фиг. 9Б) във водните проби, взети от пункт яз. Искър – водовземна кула 0 m.



Фигура 10. Резултати от анализите за съдържание на общ азот (фиг. 10А) и общ фосфор (фиг. 10Б) във водните проби, взети от пункт яз. Искър – водовземна кула –25 m.

В табл. 4 са представени корелационни зависимости между изследваните параметри при пункт яз. Искър – водовземна кула за 2023–2024 г.

Таблица 4. Корелационни зависимости между изследваните параметри при пункт яз. Искър – водовземна кула по години.

Година	Параметри	Регресионно уравнение	r	R ²	p
2023	MC-N	MC = 0,087·N + 0,016	0,684	0,468	0,062
	MC-P	MC = 2,41·P + 0,021	0,552	0,305	0,156
	N-P	N = 6,89·P + 0,766	0,322	0,104	0,436
2024	MC-N	не се изчислява	–	–	–
	MC-P	не се изчислява	–	–	–
	N-P	N = 2,49·P + 0,549	0,603	0,364	0,065

Забележка: MC – микроцистини, N – общ азот, P – общ фосфор, r – коефициент на линейна корелация, R² – коефициент на детерминация, p – ниво на статистическа значимост

Корелационният анализ за пункт яз. Искър – водовземна кула показва умерена положителна зависимост между концентрациите на микроцистини и общия азот през 2023 г. ($r = 0,684$), докато връзката между микроцистините и общия фосфор е по-слабо изразена. Получените зависимости не са статистически достоверни ($p > 0,05$), но показват връзка към нарастване на концентрацията на микроцистини при по-високи стойности на нутриенти. През 2024 г. всички измерени концентрации на микроцистини са под границата на количествено определяне и са изчислени като LOQ/2, поради което липсва вариация на показателя и не може да бъде извършен корелационен анализ между микроцистините и нутриенти.

Вариационният анализ чрез сдвоен t-test между резултатите, получени чрез ELISA и HPLC за пробите от яз. Искър – водовземна кула (2023 г.), не показва статистически значима разлика между двата метода ($t = -0,71$, $p = 0,49 > 0,05$). Средните концентрации на микроцистини, определени чрез HPLC (0,12 µg/L) и ELISA (0,136 µg/L), са съпоставими, което показва добра съгласуваност между двата аналитични метода. Вариационният анализ чрез сдвоен t-test не може да бъде приложен за данните от 2024 г., тъй като всички измерени стойности за микроцистини, определени чрез HPLC и ELISA, са еднакви (0,1 µg/L). Това показва пълно съответствие между резултатите, получени чрез двата аналитични метода за изследваните проби.

Получените резултати са в съответствие с първото проведено изследване на яз. Искър за цианотоксини (2004–2005 г.), при което също не е установено наличие на микроцистини [130].

Районът на водовземната кула се характеризира с:

- стабилен олиготрофен до олиго-мезотрофен статус;
- ограничено развитие на цианобактерии;
- липса на токсични цъфтежи;
- епизодично наличие на следови токсини, свързани с повишен фосфор.

Това определя пункта като нискорисков по отношение на контаминация с цианотоксини в разглеждания период.

4.2.2. Язовир Искър – Щъркелово гнездо

Резултатите от анализите на проби, взети през 2023 г. и 2024 г. за видов състав на фитопланктона са обобщени в **таблица 5**, а в **таблица 5А** са обобщени данните за наличие на микроцистини и нутриенти.

Таблица 5. Язовир Искър – Щъркелово гнездо 2023–2024 г. Резултати от идентификация на фитопланктон.

Пункт/ месец на вземане на проби	t ± 0,2 °C		Видове		TCN (Общ брой клетки)/L		PBSITS (Pantle-Buck's сапробиологичен индекс и трофично състояние)	
	2023	2024	2023	2024	2023	2024	2023	2024
Щъркелово гнездо 0 m м. юни	19,0	25,0	Chlorophyta <i>Coenococcus</i> spp. <i>Pleurococcus viridis</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Navicula</i> spp. Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i>	1,5 x 10 ⁶	1,1 x 10 ⁵	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,4 oligosabrobic/ oligotrophic state
Щъркелово гнездо –20 m м. юни	7,0	13,0	Chlorophyta <i>Coenochloris</i> spp. <i>Closterium parvulum</i> <i>Penium</i> spp. Charophyta <i>Mougeotia genulflex</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> <i>volvocinopsis</i> <i>Phacus</i> spp. Bacillariophyta <i>Melosira varians</i> Cyanophyta <i>Oscillatoria tenuis</i>	-	3,7 x 10 ⁴	-	1,8 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	-
Щъркелово гнездо 0 m м. юли	25,8	24,8	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Asterionella gracillima</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Synedra actinastroides</i> Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i>	Bacillariophyta <i>Melosira granulata</i>	1,7 x 10 ⁶	9,3 x 10 ⁵	1,7 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,8 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
Щъркелово гнездо –20 m м. юли	11,2	10,0	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Diatoma vulgare</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i>	Bacillariophyta <i>Melosira varians</i> <i>Melosira italica</i> Chlorophyta <i>Ulothrix tenerrima</i> <i>Scenedesmus</i> <i>quadricauda</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> <i>volvocinopsis</i>	3,5 x 10 ⁶	2,1 x 10 ⁶	1,3 oligosabrobic/ oligotrophic state	1,8 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
Щъркелово гнездо 0 m м. август	22,5	23,6	Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> <i>volvocinopsis</i>	Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> <i>volvocinopsis</i> <i>Phacus</i> spp. Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i>	3,0 x 10 ⁴	2,1 x 10 ⁵	2,0 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	2,0 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state

Щъркелово гнездо –20 м м. август	10,6	11,0	Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Bacillariophyta <i>Melosira italica</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Stephanodiscus astraea</i>	1,8 x 10 ⁴	4,1 x 10 ⁵	2,0 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
Щъркелово гнездо 0 м м. септември	20,6	21,0	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Bacillariophyta <i>Synedra berolinensis</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> spp.	4,8 x 10 ⁶	2,6 x 10 ⁵	2,0 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,5 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
Щъркелово гнездо –20 м м. септември	18,0	11,0	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Bacillariophyta <i>Diatoma vulgare</i> <i>Melosira italica</i>	Cyanophyta <i>Gomphosphaeria aponina</i> Bacillariophyta <i>Melosira italica</i> <i>Melosira varians</i> <i>Melosira granulata</i> <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria capucina</i> <i>Ceratoneis arcus</i>	8,9 x 10 ⁴	4,8 x 10 ⁵	1,4 oligosabrobic/ oligotrophic state	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
Щъркелово гнездо 0 м м. октомври	16,6	15,2	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> <i>Merismopedia punktata</i> Bacillariophyta <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Synedra berolinensis</i> <i>Melosira varians</i> <i>Asterionella formosa</i>	Bacillariophyta <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Cyclotella comta</i> <i>Melosira varians</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Diatoma elongatum</i> Chlorophyta <i>Chlorella vulgaris</i>	5,3 x 10 ⁵	2,7 x 10 ⁶	1,7 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,8 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
Щъркелово гнездо –20 м м. октомври	9,0	10,0	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Bacillariophyt <i>Navicula</i> spp. <i>Cymbella</i> spp. <i>Melosira italica</i> <i>Tabellaria fenestrata</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Diatoma vulgare</i> <i>Amphora</i> spp.	Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Bacillariophyt <i>Navicula</i> spp. <i>Cymbella</i> spp. <i>Melosira italica</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Diatoma elongatum</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Cyclotella comta</i>	4,7 x 10 ⁵	6,2 x 10 ⁶	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,5 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state

Таблица 5А. Язовир Искър – Щъркелово гнездо 2023–2024 г. Резултати от анализи за определяне на микроцистини и нутриенти.

Пункт/ месец на вземане на проби	ELISA <i>LOQ 0,15 µg/L</i>		МС-RR, -YR, -LR µg/L <i>LOQ 0,2 µg/L</i>		Общ N mg/L <i>LOQ 0,5 mg/L</i>		Общ P mg/L <i>LOQ 0,02 mg/L</i>	
	2023	2024	2023	2024	2023	2024	2023	2024
Щъркелово гнездо 0 m м. юни	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,32 ± 0,13	0,77 ± 0,08	0,053 ± 0,005	0,022 ± 0,002
Щъркелово гнездо -20 m м. юни	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,01 ± 0,10	0,77 ± 0,08	0,062 ± 0,006	0,023 ± 0,002
Щъркелово гнездо 0 m м. юли	0,21 ± 0,05	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	1,04 ± 0,10	0,56 ± 0,06	0,035 ± 0,004	0,026 ± 0,003
Щъркелово гнездо -20 m м. юли	0,23 ± 0,06	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	1,83 ± 0,18	0,57 ± 0,06	0,038 ± 0,001	0,058 ± 0,006
Щъркелово гнездо 0 m м. август	0,28 ± 0,07	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	1,28 ± 0,13	0,63 ± 0,06	0,091 ± 0,009	0,067 ± 0,007
Щъркелово гнездо -20 m м. август	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,99 ± 0,10	0,57 ± 0,06	0,136 ± 0,014	0,144 ± 0,014
Щъркелово гнездо 0 m м. септември	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,11 ± 0,11	0,71 ± 0,07	0,022 ± 0,002	0,023 ± 0,002
Щъркелово гнездо -20 m м. септември	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,31 ± 0,13	0,58 ± 0,06	0,023 ± 0,002	0,035 ± 0,004
Щъркелово гнездо 0 m м. октомври	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,47 ± 0,15	0,56 ± 0,06	0,036 ± 0,004	0,036 ± 0,004
Щъркелово гнездо -20 m м. октомври	< LOQ	0,15 ± 0,04	< LOQ	-LR 0,20 ± 0,02	1,28 ± 0,13	0,51 ± 0,05	0,037 ± 0,004	0,187 ± 0,019

Резултатите от идентификацията на фитопланктона (**таблица 5**) показват, че през периода юни–октомври 2023 г. и 2024 г. районът на пункт яз. Искър – Щъркелово гнездо се характеризира с преобладаващо β -мезосапробно състояние, съответстващо на олиго-мезотрофен статус. Това е типично равновесно състояние за дълбоки планински водоеми, при които не се наблюдава трайна тенденция към еутрофикация.

Повърхностните проби 0 m като цяло показват по-бедно видово разнообразие в сравнение с дълбочинните 20 m. Тази вертикална диференциация вероятно е резултат от температурна стратификация през летния период и натрупване на нутриенти в по-дълбоките слоеве.

През юли 2023 г. на дълбочина 20 m е установен цъфтеж на диатомовото водорасло *Fragilaria crotonensis*, но не е свързано с продуциране на токсини.

През юли 2024 г. в пробата от повърхността е установено силно редуцирано фитопланктонно разнообразие, представено основно от *Melosira granulata*. Това може да се свърже с хидрометеорологични фактори (интензивно слънчево греење, по-силна циркулация или водообмен), водещи до ограничаване на видовия състав. През есенния период (септември–октомври) и през двете години се наблюдава типичен за сезона диатомов комплекс.

Резултатите за съдържание на микроцистини и нутриенти (**таблица 5А**) показват различна картина спрямо водовземната кула.

През 2023 г. в три от десетте анализирани проби (юли и август) са установени следови количества микроцистин–LR еквивалент. Концентрациите са близки до границата на количествено определяне и значително под 1 $\mu\text{g/L}$.

Особено показателен е резултатът от юли 2023 г. на дълбочина 20 m, където:

- е регистрирана най-високата концентрация на общ азот за периода – 1,83 mg/L;
- са установени следови количества токсин.

Това съвпадение предполага възможна връзка между повишеното азотно обогатяване и инициране на отделяне на токсини, макар и в минимални количества.

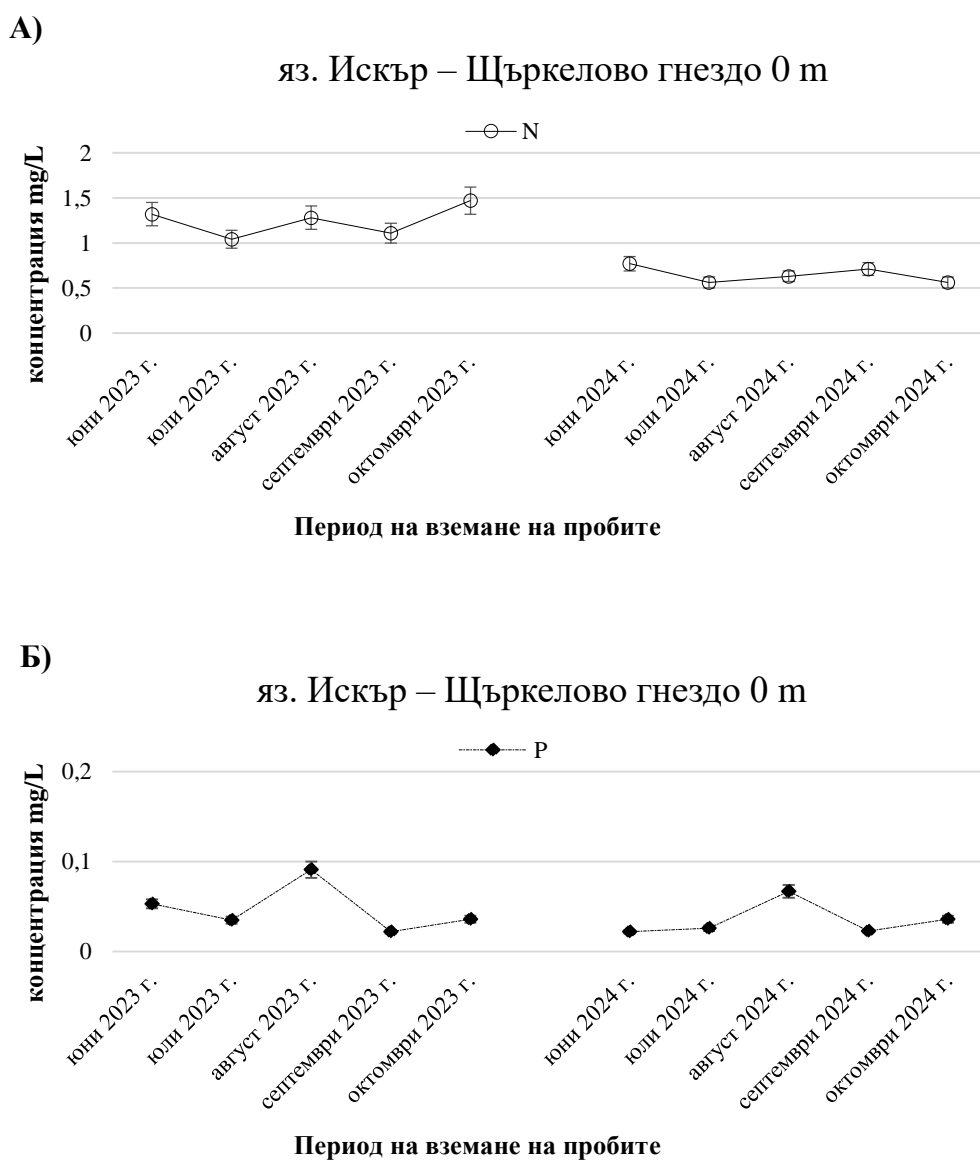
Концентрациите на общ фосфор през 2023 г. варират от 0,022 до 0,136 mg/L, като най-високите стойности са регистрирани в дълбочинния слой през август.

През 2024 г. не се установява наличие на микроцистини в повърхностния слой. Единствено в проба от октомври 2024 г. –20 m са регистрирани следи от MC–LR.

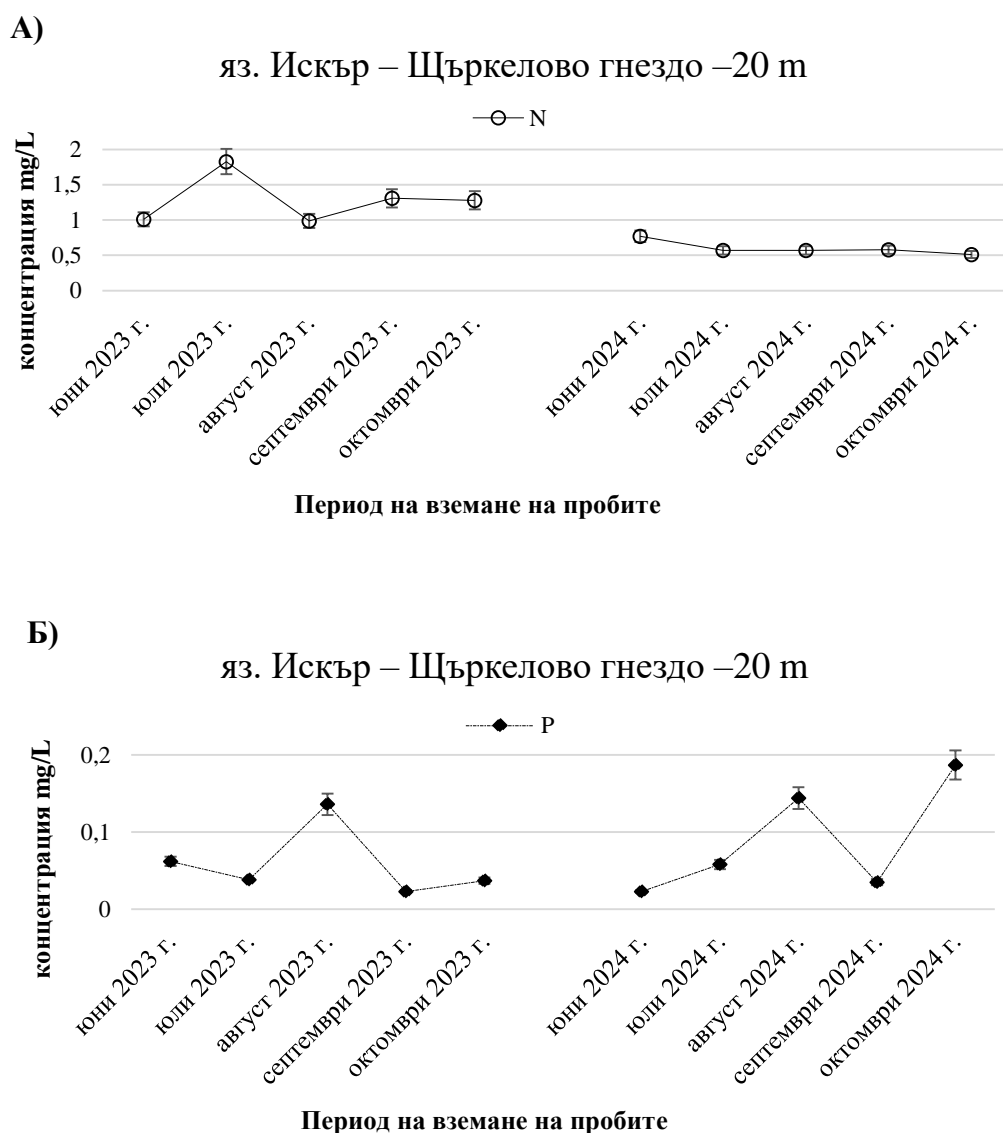
Характерно за 2024 г. е по-слабо азотно обогатяване (0,51–0,77 mg/L), докато фосфорните концентрации показват локално повишение до 0,187 mg/L.

Въпреки наличието на относително високи концентрации на общ фосфор в някои проби, не се наблюдава развитие на цианобактериален цъфтеж, продуциращ токсини.

На **фигури 11 и 12** са представени резултатите от анализите за съдържание на общ азот (**фиг. 11А и 12А**) и общ фосфор (**фиг. 11Б и 12Б**) във водните проби, взети от пунктовете яз. Искър – Щъркелово гнездо 0 m и пункт яз. Искър – Щъркелово гнездо –20 m.



Фигура 11. Резултати от анализите за съдържание на общ азот (фиг. 11А) и общ фосфор (фиг. 11Б) във водните проби, взети от пункт яз. Искър – Щъркелово гнездо 0 m.



Фигура 12. Резултати от анализите за съдържание на общ азот (фиг. 12А) и общ фосфор (фиг. 12Б) във водните проби, взети от пункт яз. Искър – Щъркелово гнездо –20 m.

В табл. 6 са представени корелационни зависимости между изследваните параметри при пункт яз. Искър – Щъркелово гнездо за 2023–2024 г.

Таблица 6. Корелационни зависимости между изследваните параметри при пункт яз. Искър – Щъркелово гнездо по години.

Година	Параметри	Регресионно уравнение	r	R ²	p
2023	МС–N	МС = 0,066 · N + 0,038	0,487	0,237	0,184
	МС–P	МС = –0,181 · P + 0,141	–0,162	0,026	0,677

Година	Параметри	Регресионно уравнение	r	R ²	p
	N-P	$N = -0,910 \cdot P + 1,310$	-0,269	0,072	0,482
	MC-N	не се изчислява	–	–	–
2024	MC-P	не се изчислява	–	–	–
	N-P	$N = -0,764 \cdot P + 0,706$	-0,286	0,082	0,395

Забележка: MC – микроцистини, N – общ азот, P – общ фосфор, r – коефициент на линейна корелация, R² – коефициент на детерминация, p – ниво на статистическа значимост

Резултатите от корелационния анализ за пункт яз. Искър – Щъркелово гнездо показват слаби зависимости между концентрациите на микроцистини и нутриенти през 2023 г., като получените коефициенти на корелация са ниски и не са статистически достоверни ($p > 0,05$). Между микроцистините и общия азот се наблюдава слаба положителна връзка, докато зависимостта с общия фосфор е практически отсъстваща. През 2024 г. всички измерени концентрации на микроцистини са под границата на количествено определяне и са изчислени като LOQ/2 при статистическата обработка, поради което липсва вариация на показателя и корелационен анализ между микроцистините и нутриенти не може да бъде извършен.

За пробите от яз. Искър – Щъркелово гнездо вариационният анализ чрез сдвоен t-test не показва статистически значима разлика между резултатите, получени чрез ELISA и HPLC както през 2023 г. ($t = -0,64$, $p = 0,54$), така и през 2024 г. ($t = 0,52$, $p = 0,62$). Средните стойности на микроцистините, определени чрез двата аналитични метода, са съпоставими, което показва добра съгласуваност между резултатите.

В сравнение с района на водоземната кула, пункт яз. Искър – Щъркелово гнездо показва по-висока биологична активност, по-голяма вариабилност на нутриентите и по-често регистриране на следови токсини. Това вероятно се дължи на по-ограничен водообмен, локално натрупване на нутриенти или по-силно изразена стратификация. Въпреки това, установените концентрации остават в диапазон, който не представлява риск за питейното водоснабдяване.

Особено важно е, че:

- доминиращите видове са предимно диатомови;
- не се наблюдава устойчиво доминиране на токсин-продуциращи цианобактерии;
- токсините се отделят епизодично и в следови количества.

Тези резултати показват, че макар районът да демонстрира по-висока чувствителност към нутриентно обогатяване, екосистемата запазва своята стабилност. Пункт яз. Искър – Щъркелово гнездо може да се разглежда като по-чувствителен индикаторен участък в рамките на яз. Искър, при който се регистрират:

- по-високи стойности на общ азот;
- локални повишения на общ фосфор;
- епизодични следови количества микроцистини.

Въпреки това, липсва доказателство за развитие на токсичен цианобактериален цъфтеж или достигане на концентрации, представляващи риск съгласно международните стандарти.

4.2.3. Язовир Искър – ветроходна база

Резултатите от анализите на проби, взети през 2023 г. и 2024 г. за видов състав на фитопланктона са обобщени в **таблица 7**, а в **таблица 7А** са обобщени данните за наличие на микроцистини и нутриенти.

Таблица 7. Язовир Искър – ветроходна база, 2023–2024 г. Резултати от идентификация на фитопланктон.

Пункт/ месец на вземане на проби	t ± 0,2 °C		Видове		TCN (Общ брой клетки)/L		PBSITS (Pantle-Buck's сапробиологичен индекс и трофично състояние)	
	2023	2024	2023	2024	2023	2024	2023	2024
яз. Искър ветроходна база м. юни	21,0	27,0	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Amphora ovalis</i> <i>Naviula</i> spp. <i>Synedra ulna</i> <i>Melosira varians</i> Chlorophyta <i>Scenedesmus</i> <i>quadricauda</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Amphora ovalis</i> <i>Naviula</i> spp. <i>Cymbella lanceolata</i> <i>Synedra ulna</i> <i>Melosira varians</i> Chlorophyta <i>Staurostrum gracile</i>	9,8 x 10 ⁵	1,6 x 10 ⁶	1,7 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
яз. Искър ветроходна база м. юли	27,8	26,0	Bacillariophyta <i>Cymbella lanceolata</i> <i>Cyclotella comta</i> Euglenophyta <i>Phacus</i> spp. <i>Trachelomona</i> spp.	Bacillariophyta <i>Cymbella lanceolata</i> <i>Cyclotella comta</i>	2,4 x 10 ⁵	1,7 x 10 ⁵	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
яз. Искър ветроходна база м. август	23,0	25,0	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Melosira varians</i> Euglenophyta <i>Phacus</i> spp. Chlorophyta <i>Closterium aciculare</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Melosira varians</i> Euglenophyta <i>Phacus</i> spp.	3,6 x 10 ⁵	2,2 x 10 ⁵	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,5 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
яз. Искър ветроходна база м. септември	22,0	21,2	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Amphora ovalis</i> <i>Synedra ulna</i> <i>Pinnularia nobilis</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> <i>volvocinopsis</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Amphora ovalis</i> <i>Synedra ulna</i> <i>Pinnularia nobilis</i> Chlorophyta <i>Pediastrum duplex</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Chrysophyta <i>Kephyrion</i> spp. Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> <i>volvocinopsis</i>	2,1 x 10 ⁵	3,6 x 10 ⁵	1,7 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
яз. Искър ветроходна база м. октомври	18,0	16,0	Bacillariophyta <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Cyclotella comta</i> <i>Melosira varians</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Diatoma elongatum</i> <i>Synedra ulna</i> <i>Amphora</i> spp. <i>Gomphonema</i> spp. <i>Stephanodiscus atraea</i>	Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> <i>volvocinopsis</i> <i>Phacus</i> spp. Chlorophyta <i>Cosmarium depresum</i> Bacillariophyta <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Cyclotella comta</i> <i>Melosira varians</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Diatoma elongatum</i> <i>Synedra ulna</i> <i>Amphora</i> spp. <i>Gomphonema</i> spp. <i>Stephanodiscus atraea</i>	1,7 x 10 ⁵	2,4 x 10 ⁶	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,7 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state

Таблица 7А. Язовир Искър – ветроходна база, 2023–2024 г. Резултати от анализи за определяне на микроцистини и нутриенти.

Пункт/ месец на вземане на проби	ELISA LOQ 0,15 µg/L		MC-RR, -YR, -LR µg/L LOQ 0,2 µg/L		Общ N mg/L LOQ 0,5 mg/L		Общ P mg/L LOQ 0,02 mg/L	
	2023	2024	2023	2024	2023	2024	2023	2024
яз. Искър ветроходна база м. юни	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,79 ± 0,08	1,18 ± 0,12	0,023 ± 0,002	0,048 ± 0,005
яз. Искър ветроходна база м. юли	0,24 ± 0,06	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	1,52 ± 0,15	0,51 ± 0,05	0,063 ± 0,007	0,032 ± 0,003
яз. Искър ветроходна база м. август	0,26 ± 0,06	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	1,58 ± 0,16	0,96 ± 0,10	0,066 ± 0,007	0,034 ± 0,003
яз. Искър ветроходна база м. септември	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,90 ± 0,09	1,01 ± 0,10	0,025 ± 0,003	0,036 ± 0,004
яз. Искър ветроходна база м. октомври	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,88 ± 0,09	1,13 ± 0,11	0,041 ± 0,004	0,062 ± 0,006

Резултатите от идентификацията на фитопланктона в наблюдавания пункт яз. Искър – ветроходна база (таблица 7) за периода юни–октомври 2023 г. и 2024 г. показват относително стабилно екологично състояние на водоема.

През целия изследван период водният обект се характеризира с β-мезосапробно състояние, съответстващо на олиго-мезотрофен статус. Това показва умерено нутриентно обогатяване без тенденция към изразена евтрофикация.

Във видовия състав доминират диатомови (кремъчни) водорасли, като най-голямо видово разнообразие се наблюдава през юни, септември и октомври. Това е типично за умерените климатични зони, където диатомовите водорасли са водещ компонент на пролетно-есенната популация на фитопланктона.

По-ниските температури на дълбочина 20 m създават условия за развитие на кремъчни микроводорасли, типични за по-хладни и добре оксигенирани води, което обяснява доминирането им във фитопланктонния комплекс.

Характерна особеност за пункта е наличието на значително количество абиосестон в пробите. Това явление се наблюдава и през двете години, но е особено изразено през летните месеци на 2024 г. (юли и август), когато се регистрира силно редуцирано фитопланктонно разнообразие и ниска клетъчна численост.

Вероятни причини за това са засилен ветрови и вълнов режим, ресуспендиране на седименти и повишена мътност.

Подобни условия създават неблагоприятна среда за развитие на цианобактериални цъфтежи.

Резултатите за съдържанието на микроцистини и нутриенти (**таблица 7А**) показват ниско ниво на продукцията на токсини, сходно с останалите изследвани пунктове на язовира.

В две (от юли и август) от петте анализирани проби през 2023 г. са установени следови количества микроцистин–LR еквивалент. През 2024 г. не се установява наличие на микроцистини в нито една от пробите.

Регистрираните следови количества през 2023 г. съвпадат с най-високите измерени стойности на нутриенти за пункта:

Общ азот: 1,52 mg/L (юли) и 1,58 mg/L (август);

Общ фосфор: 0,063 mg/L (юли) и 0,066 mg/L (август).

Тази корелация подкрепя наблюдаваната и в други пунктове зависимост между повишено нутриентно обогатяване и епизодична продукция на токсини.

Диапазоните на измерените концентрации са:

Общ азот:

- 2023 г.: 0,79–1,58 mg/L;
- 2024 г.: 0,51–1,18 mg/L.

Общ фосфор:

- 2023 г.: 0,023–0,066 mg/L;
- 2024 г.: 0,032–0,062 mg/L.

На **фиг. 13** са представени резултатите от анализите за съдържание на общ азот (**фиг. 13А**) и общ фосфор (**фиг. 13Б**) във водните проби, взети от пункт яз. Искър – ветроходна база.



Фигура 13. Резултати от анализите за съдържание на общ азот (фиг. 13А) и общ фосфор (фиг. 13Б) във водните проби, взети от пункт яз. Искър – ветроходна база.

В табл. 8 са представени корелационни зависимости между изследваните параметри при пункт яз. Искър – ветроходна база за 2023–2024 г.

Таблица 8. Корелационни зависимости между изследваните параметри при пункт яз. Искър – ветроходна база по години.

Година	Параметри	Регресионно уравнение	r	R ²	p
2023	МС–N	$МС = 0,093 \cdot N + 0,020$	0,823	0,677	0,086
	МС–P	$МС = 1,93 \cdot P + 0,063$	0,780	0,608	0,118

Година	Параметри	Регресионно уравнение	r	R ²	p
	N-P	$N = 15,74 \cdot P + 0,503$	0,989	0,978	0,001
	MC-N	не се изчислява	–	–	–
2024	MC-P	не се изчислява	–	–	–
	N-P	$N = 8,86 \cdot P + 0,602$	0,614	0,377	0,270

Забележка: MC – микроцистини, N – общ азот, P – общ фосфор, r – коефициент на линейна корелация, R² – коефициент на детерминация, p – ниво на статистическа значимост

Корелационният анализ за пункт яз. Искър – ветроходна база на показва положителна връзка между концентрациите на микроцистини и нутриентите през 2023 г., като корелацията между микроцистините и общия азот ($r = 0,823$) е по-силно изразена в сравнение с тази между микроцистините и общия фосфор. Въпреки високите стойности на коефициентите на корелация, получените зависимости не са статистически достоверни ($p > 0,05$) вероятно поради ограничения брой наблюдения. Статистически достоверна зависимост се наблюдава между двата нутриента – общ азот и общ фосфор ($r = 0,989$, $p = 0,001$), което показва сходна динамика на изменението им във водния стълб. През 2024 г. всички измерени концентрации на микроцистини са под границата на количествено определяне и са изчислени като LOQ/2 при статистическата обработка, поради което липсва вариация на този показател и не може да бъде извършен корелационен анализ между микроцистините и нутриентите.

За пробите от яз. Искър – ветроходна база вариационният анализ чрез сдвоен t-test не показва статистически значима разлика между резултатите, получени чрез ELISA и HPLC през 2023 г. ($t = -0,73$, $p = 0,51$). През 2024 г. всички измерени стойности са идентични ($0,1 \mu\text{g/L}$), поради което t-test не може да бъде приложен. Това показва пълно съответствие между резултатите, получени чрез двата аналитични метода.

Съпоставката с останалите два пункта на яз. Искър показва интересен пространствен модел:

Яз. Искър – водоземна кула

- Най-ниска биологична активност;
- Олиготрофен характер;
- Единични следови токсини.

Яз. Искър – Щъркелово гнездо

- По-високо нутриентно обогатяване;
- По-чести следови токсини;
- По-богато фитопланктонно разнообразие.

Яз. Искър – ветроходна база

- Умерена трофност;
- Ниска продукция на токсини;
- Силен абиосестонен ефект.

Това позиционира пункта яз. Искър- ветроходна база като хидродинамично по-активна зона, където водният обмен, физико-химичните условия и ресуспендирането на частици ограничават развитието на цианобактерии. Районът се характеризира със стабилен олиго-мезотрофен статус, доминиране на диатомови водорасли, отсъствие на токсични цианобактериални цъфтежи и епизодично наличие на следови микроцистини при повишени количества нутриенти. Хидродинамичните условия и високото съдържание на абиосестон вероятно действат като ограничаващ фактор за инициране на отделяне на токсини.

Относително по-високите температури в повърхностния слой през летните месеци не водят до цианобактериални цъфтежи, вероятно поради ограничено наличие на нутриенти и засилена водна динамика в крайбрежната зона.

Обобщеният анализ на резултатите от трите изследвани пункта – яз. Искър – водовземна кула, яз. Искър – Щъркелово гнездо и яз. Искър – ветроходна база – позволява проследяване на **пространствената и сезонната динамика** на фитопланктона, нутриентите и микроцистините в рамките на яз. Искър.

И в трите пункта преобладава β -мезосапробно състояние, съответстващо на олиго-мезотрофен статус. Изключение прави повърхностният слой в района на водовземната кула, където се наблюдава олигосапробия, характерна за олиготрофни водоеми.

Тази пространствена диференциация е типична за дълбоки язовири с ясно изразена вертикална стратификация и различна степен на нутриентно обогатяване в отделните зони.

Като цяло екологичното състояние на язовира може да се определи като стабилно, без признаци на ускорена еутрофикация.

Видовият състав във всички изследвани пунктове от язовира се характеризира с доминиране на диатомови водорасли (*Bacillariophyta*), особено през пролетно-есения период.

Наблюдаваните сезонни особености включват:

- летни намножавания на видове като *Fragilaria crotonensis* и *Melosira* spp.;
- есенно доминиране на *Asterionella formosa*;
- ограничено присъствие на цианобактерии.

Липсата на устойчиво доминиране на токсин-продуциращи родове (*Microcystis*, *Dolichospermum*, *Planktothrix*) е ключов фактор за отсъствието на токсични цъфтежи.

Сравнителният анализ показва ясно изразена **пространствена хетерогенност**:

Яз. Искър – водоземна кула

- Най-ниско трофично обогатяване;
- Олиготрофни характеристики;
- Минимална продукция на токсини.

Яз. Искър – Щъркелово гнездо

- Най-високи стойности на общ азот;
- По-голямо фитопланктонно разнообразие;
- Най-често регистрирани следови токсини.

Яз. Искър – ветроходна база

- Умерено нутриентно обогатяване;
- Силен абиосестонен ефект;
- Ограничено развитие на фитопланктон.

Този модел показва, че продукцията на токсини не е равномерно разпределена, а е свързана с локални хидрологични и биогеохимични условия.

Най-често положителни проби са регистрирани:

- през летните месеци (юли–август);
- при повишени концентрации на нутриенти;
- предимно в пунктове с по-слабо водообменни условия.

В нито една проба не е установена концентрация, доближаваща или надвишаваща препоръчителната стойност от 1 µg/L за питейни води.

Наблюдава се тенденция **следовите количества микроцистини да съвпадат с периоди на повишено нутриентно обогатяване**:

- по-висок общ азот – при Щъркелово гнездо;
- по-висок общ фосфор – при водоземната кула;

- комбинирани пикове – при ветроходна база.

Тази зависимост обаче не води до развитие на токсични цъфтежи, което показва, че нутриентите сами по себе си не са достатъчни фактори – необходима е комбинация с температурни, светлинни и хидрологични условия.

Получените резултати показват липса на токсични цианобактериални цъфтежи, наличие единствено на следови количества токсини, стабилен олиго-мезотрофен статус и доминиране на нетоксигенни фитопланктонни групи. Това определя яз. Искър като водоизточник с нисък риск по отношение на контаминация с цианотоксини в рамките на изследвания период.

Пространственият анализ показва, че макар в отделни зони да се наблюдават локални повишения в концентрацията на нутриентите и епизодична поява на следови количества микроцистини, яз. Искър като цяло запазва стабилно екологично състояние и висока степен на безопасност за питейно водоснабдяване.

4.3. Бент Кокаляне

Резултатите от анализите на проби, взети през 2023 г. и 2024 г., за видов състав на фитопланктона са обобщени в **таблица 9**, а в **таблица 9А** са обобщени данните за наличие на микроцистини и нутриенти.

Таблица 9. Бент Кокаляне 2023–2024 г. Резултати от идентификация на фитопланктон.

Пункт/ месец на вземане на проби	t ± 0,2 °C		Видове		TCN (Общ брой клетки)/L		PBSITS (Pantle-Buck's сапробиологичен индекс и трофично състояние)	
	2023	2024	2023	2024	2023	2024	2023	2024
Бент Кокаляне м. юни	17,0	12,0	Bacillariophyta <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Melosira italica</i> <i>Amphora</i> spp. Cryptophyta <i>Rhodomonas</i> spp.	Chlorophyta <i>Monoraphidium contortum</i> Bacillariophyta <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Melosira italica</i> <i>Amphora</i> spp. Dinophyta <i>Peridinium cinctum</i> Cryptophyta <i>Rhodomonas</i> spp.	7,3 x 10 ⁴	9,8 x 10 ⁴	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,7 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
Бент Кокаляне м. юли	19,0	21,0	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chlorophyta <i>Closterium venus</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chlorophyta <i>Closterium venus</i> Cryptophyta <i>Rhodomonas lens</i>	8,5 x 10 ⁴	8,9 x 10 ⁴	1,7 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
Бент Кокаляне м. август	13,5	19,0	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chlorophyta <i>Closterium venus</i>	Cryptophyta <i>Cryptomonas</i> spp. Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i>	5,3 x 10 ⁵	8,9 x 10 ⁵	1,6 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,7 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
Бент Кокаляне м. септември	13,0	16,0	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas</i> spp. Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas</i> spp. <i>Rhodomonas</i> spp. Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> <i>Euglena</i> spp. Chlorophyta <i>Coelastrum astroideum</i> Bacillariophyta <i>Melosira varians</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Cymbella lanceolata</i>	4,9 x 10 ⁵	9,2 x 10 ⁵	1,8 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,8 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state

Бент Кокаляне м. октомври	13,0	11,6	Bacillariophyta <i>Asterionella formosa</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas ovata</i>	Bacillariophyta <i>Asterionella formosa</i> <i>Diatoma elongatum</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas ovata</i>	6,5 x 10 ⁴	1,8 x 10 ⁶	1,7 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,8 β-mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
---------------------------------	------	------	---	---	-----------------------	-----------------------	--	--

Таблица 9А. Бент Кокаляне 2023–2024 г. Резултати от анализи за определяне на микроцистини и нутриенти.

Пункт/ месец на вземане на проби	ELISA LOQ 0,15 µg/L		MC-RR, -YR, -LR µg/L LOQ 0,2 µg/L		Общ N mg/L LOQ 0,5 mg/L		Общ P mg/L LOQ 0,02 mg/L	
	2023	2024	2023	2024	2023	2024	2023	2024
Бент Кокаляне м. юни	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,86 ± 0,09	1,20 ± 0,12	0,045 ± 0,005	0,025 ± 0,003
Бент Кокаляне м. юли	0,24 ± 0,06	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	1,62 ± 0,16	1,01 ± 0,10	0,043 ± 0,004	0,026 ± 0,003
Бент Кокаляне м. август	0,28 ± 0,07	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	1,75 ± 0,17	1,02 ± 0,10	0,052 ± 0,005	0,041 ± 0,004
Бент Кокаляне м. септември	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,46 ± 0,15	0,58 ± 0,05	0,028 ± 0,003	0,043 ± 0,004
Бент Кокаляне м. октомври	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,73 ± 0,07	0,66 ± 0,06	0,027 ± 0,003	0,046 ± 0,005

Бент Кокаляне е хидрологично свързан с яз. Искър и се захранва с вода от него, но се характеризира със специфични хидрологични условия, които предполагат известна самостоятелност на екологичните процеси. Това обуславя разглеждането му като отделен пункт в рамките на настоящото изследване.

Преобладаващото състояние на водоема през периода юни–октомври 2023 г. и 2024 г. е β-мезосапробия, съответстваща на олиго-мезотрофен статус (**таблица 9**).

През целия изследван период температурата на водата остава сравнително ниска, като максимална стойност от 21 °C е регистрирана през юли 2024 г. Този температурен режим е по-нисък в сравнение с останалите пунктове на яз. Искър и представлява важен ограничаващ фактор за развитието на цианобактериални съобщества.

Фитопланктонното съобщество се характеризира с относително беден видов състав и по-ниска клетъчна численост в сравнение с другите изследвани зони. Доминиращи са диатомови водорасли (*Cyclotella comta*, *Fragilaria crotonensis*, *Melosira* spp.), както и представители на криптофитови и хризофитови микроводорасли.

През октомври 2024 г. е регистриран цъфтеж на диатомовото водорасло *Diatoma elongatum*, въпреки ниската температура на водата. Това е типично явление за есенния период и не е свързано с продукция на токсини.

Ниската температура на водата, съчетана с по-интензивен водообмен и възможна турбулентност, вероятно обяснява ограниченото развитие на фитопланктон и липсата на масови цианобактериални размножавания.

Резултатите от анализа за микроцистини и нутриенти (**таблица 9А**) показват сходна тенденция с останалите пунктове на язовира.

В две (от юли и август) от петте анализирани проби през 2023 г. са установени следови количества микроцистин–LR еквивалент. През 2024 г. не е регистрирано наличие на микроцистини.

Следовите количества през 2023 г. съвпадат с най-високите измерени стойности на общ азот за пункта:

- 1,62 mg/L (юли);
- 1,75 mg/L (август).

Това подкрепя наблюдаваната при останалите пунктове зависимост между повишено азотно обогатяване и инициране на отделяне на токсини.

Диапазоните на измерените концентрации са:

Общ азот:

- 2023 г.: 0,73–1,75 mg/L;
- 2024 г.: 0,58–1,20 mg/L.

Общ фосфор:

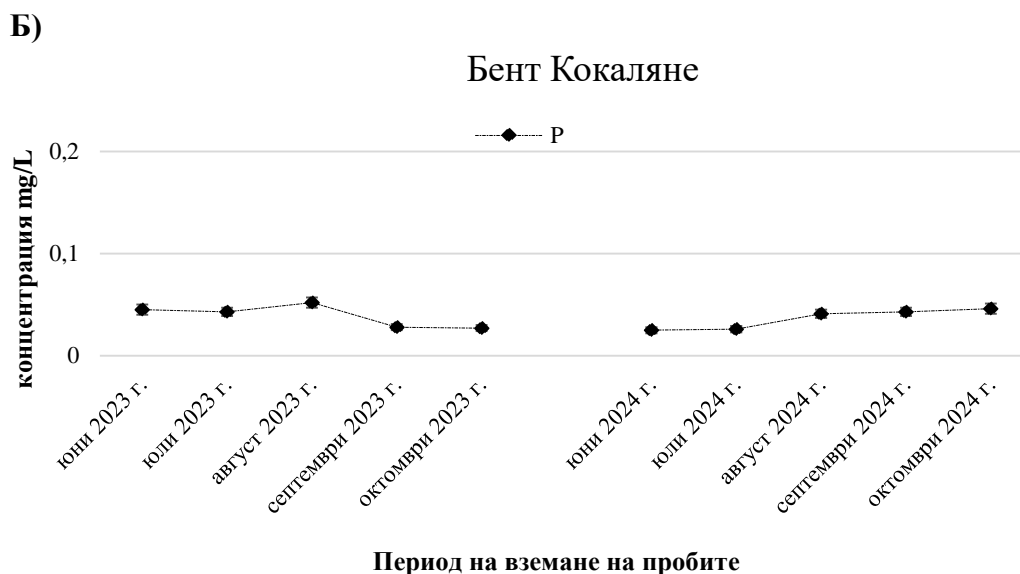
- 2023 г.: 0,027–0,052 mg/L;
- 2024 г.: 0,025–0,046 mg/L.

Въпреки отчетените пикове, не се наблюдава устойчиво наличие на микроцистини, а концентрациите остават значително под препоръчителните международни гранични стойности за питейни води.

На **фиг. 14** са представени резултатите от анализите за съдържание на общ азот (**фиг. 14А**) и общ фосфор (**фиг. 14Б**) във водните проби, взети от пункт бент Кокаляне.

А)





Фигура 14. Резултати от анализите за съдържание на общ азот (фиг. 14А) и общ фосфор (фиг. 14Б) във водните проби, взети от пункт бент Кокаляне.

В табл. 10 са представени корелационни зависимости между изследваните параметри при пункт бент Кокаляне за 2023–2024 г.

Таблица 10. Корелационни зависимости между изследваните параметри при пункт бент Кокаляне по години.

Година	Параметри	Регресионно уравнение	r	R ²	p
2023	МС–N	$МС = 0,095 \cdot N + 0,019$	0,796	0,634	0,109
	МС–P	$МС = 3,50 \cdot P + 0,003$	0,705	0,497	0,183
	N–P	$N = 19,69 \cdot P + 0,516$	0,472	0,223	0,423
2024	МС–N	не се изчислява	–	–	–
	МС–P	не се изчислява	–	–	–
	N–P	$N = -9,43 \cdot P + 1,30$	-0,693	0,480	0,193

Забележка: МС – микроцистини, N – общ азот, P – общ фосфор, r – коефициент на линейна корелация, R² – коефициент на детерминация, p – ниво на статистическа значимост

Корелационният анализ за пункт бент Кокаляне показва наличие на положителна зависимост между концентрациите на микроцистини и нутриентите през 2023 г. Най-силно изразена е връзката между микроцистините и общия азот ($r = 0,796$), докато

зависимостта между микроцистините и общия фосфор е малко по-слаба ($r = 0,705$). Въпреки сравнително високите стойности на коефициентите на корелация, получените зависимости не са статистически достоверни ($p > 0,05$), което вероятно се дължи на ограничения брой наблюдения. Между двата нутриента (общ азот и общ фосфор) не се наблюдава корелация, което показва по-слаба синхронност в динамиката на изменението на двата показателя в разглеждания пункт.

През 2024 г. всички измерени концентрации на микроцистини са под границата на количествено определяне и при статистическата обработка са изчислени като LOQ/2 ($0,1 \mu\text{g/L}$). Поради липсата на вариация на този показател корелационен анализ между микроцистините и нутриентите не може да бъде извършен, като е анализирана единствено зависимостта между общия азот и общия фосфор.

За пробите от бент Кокаляне вариационният анализ чрез сдвоен t-test не показва статистически значима разлика между резултатите, получени чрез ELISA и HPLC през 2023 г. ($t = -0,67$, $p = 0,54$). През 2024 г. всички измерени стойности са идентични ($0,1 \mu\text{g/L}$), поради което t-test не може да бъде приложен. Това показва пълно съответствие между резултатите, получени чрез двата аналитични метода.

В сравнение с останалите зони на яз. Искър, бент Кокаляне се характеризира с понисък температурен режим, по-ограничено фитопланктонно разнообразие, липса на цианобактериални цъфтежи и епизодична поява на следови количества токсини единствено през 2023 г.

Наблюдаваната температурна специфика вероятно играе ключова роля за ограничаване на цианобактериалната активност, тъй като повечето токсигенни родове се развиват оптимално при температури над $22-25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Фактът, че през 2024 г. не се установява наличие на микроцистини, въпреки регистрираните умерени концентрации на нутриенти, показва, че температурният и хидродинамичният режим могат да имат по-съществено значение от самото обогатяване с нутриенти.

Може да се обобщи, че бент Кокаляне се характеризира със стабилен олиго-мезотрофен статус, доминиране на диатомови и нетоксигенни фитопланктонни съобщества, отсъствие на токсични цианобактериални цъфтежи и епизодично наличие на следови количества микроцистини при повишени концентрации на азот през 2023 г.

Като част от водоснабдителната система, пунктът не показва индикации за риск от контаминация с цианотоксини през изследвания период.

Комплексният анализ на резултатите от трите изследвани пункта на яз. Искър – водовземна кула, яз. Искър – Щъркелово гнездо и яз. Искър – ветроходна база и бент Кокаляне показва, че язовирът запазва стабилен олиго-мезотрофен статус през периода 2023–2024 г., без признаци на ускорена еутрофикация или развитие на токсични цианобактериални цъфтежи. Във всички зони доминират диатомови водорасли, а присъствието на цианобактерии е ограничено и без устойчиво доминиране на токсин-продуциращи родове. Установените микроцистини са единствено в следови количества, регистрирани епизодично през летните месеци на 2023 г., при съвпадение с повишени концентрации на нутриенти, но значително под определената максимална стойност от 1 µg/L за питейни води. Данните за съдържание на микроцистини, получени от ELISA анализ на изследваните проби, са близки по стойности с тези, получени чрез HPLC метода.

През 2024 г. не се наблюдава наличие на микроцистини в повечето пунктове, което допълнително потвърждава стабилността на екосистемата. В предишни проучвания през 2004, 2017 и 2018 г. също не се установяват микроцистини в проби от яз. Искър [130, 131]. Бент Кокаляне, въпреки хидрологичната си свързаност с язовира, демонстрира по-нисък температурен режим и ограничено фитопланктонно развитие, което вероятно действа като допълнителен ограничаващ фактор за продукцията на токсини. Като цяло резултатите показват нисък риск от контаминация с цианотоксини на водоснабдителната система на гр. София в рамките на изследвания период.

В табл. 11 са представени корелационни зависимости между изследваните параметри при всички пунктове на язовир Искър и пункт бент Кокаляне за 2023–2024 г.

Таблица 11. Обобщение на корелационните зависимости за яз. Искър.

Пункт	Година	(r) MC–N	(r) MC–P	(r) N–P	Статистическа значимост (p)
яз. Искър водовземна кула	2023	0,684	0,552	0,322	p > 0,05 (MC–N, MC–P, N–P)
	2024	–	–	0,603	p > 0,05 (N–P)
яз. Искър Щъркелово гнездо	2023	0,487	–0,162	–0,269	p > 0,05 (MC–N, MC–P, N–P)
	2024	–	–	–0,286	p > 0,05 (N–P)
	2023	0,823	0,780	0,989	p > 0,05 (MC–N, MC–P) p < 0,05 (N–P)

Пункт	Година	(r) МС–N	(r) МС–P	(r) N–P	Статистическа значимост (p)
яз. Искър					
ветроходна база	2024	–	–	0,614	p > 0,05 (N–P)
	2023	0,796	0,705	0,472	p > 0,05 (МС–N, МС–P, N–P)
Бент Кокаляне	2024	–	–	–0,693	p > 0,05 (N–P)

Забележка: МС – микроцистини, N – общ азот, P – общ фосфор, r – коефициент на линейна корелация, R² – коефициент на детерминация, p – ниво на статистическа значимост

Корелационният анализ на данните от различните пунктове на яз. Искър показва пространствени различия в зависимостите между концентрациите на микроцистини и нутриентите. През 2023 г. в повечето изследвани зони се наблюдава положителна, макар и статистически незначима, връзка между микроцистините и общия азот, като най-силно изразена е зависимостта в яз. Искър – ветроходна база (r = 0,823) и бент Кокаляне (r = 0,796). Подобна връзка се наблюдава и по отношение на връзката между микроцистините и общия фосфор, макар и с по-ниски стойности на коефициента на корелация в някои от пунктовете. Между двата нутриента – общ азот и общ фосфор – се наблюдава различна степен на корелация в отделните части на язовира, като най-силна зависимост е установена в яз. Искър – ветроходна база (r = 0,989).

През 2024 г. във всички изследвани пунктове концентрациите на микроцистини са под границата на количествено определяне, което не позволява извършването на корелационен анализ между микроцистините и нутриентите. Анализът на зависимостите между общия азот и общия фосфор показва незначими положителни или отрицателни корелации в различните зони на язовира, което отразява динамичния характер на процесите, свързани с постъпването и трансформацията на нутриентите във водното тяло.

4.4. Язовир Студена

Резултатите от анализите на проби, взети през 2023–2025 г., за видов състав на фитопланктона са обобщени в **таблица 12**, а в **таблица 12А** са обобщени данните за наличие на микроцистини и нутриенти.

Таблица 12. Язовир Студена 2023–2025 г. Резултати от идентификация на фитопланктон.

Пункт/ месец на вземане на проби	t ± 0,2 °C			Видове			TCN (Общ брой клетки)/L			PBSITS (Pantle-Buck's сапробиологичен индекс и трофично състояние)		
	2023	2024	2025	2023	2024	2025	2023	2024	2025	2023	2024	2025
яз. Студена водовземна кула м. юни	18,0	25,4	-	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> <i>Oscillatoria tenuis</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Synedra acus</i> <i>Navicula</i> spp. <i>Synedra ulna</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> spp.	-	3,6 x 10 ⁵	6,2 x 10 ⁵	-	1,7 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,6 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	-
яз. Студена кей м. юни	-	25,2	-	-	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> . <i>Navicula</i> spp. Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> spp.	-	-	2,1 x 10 ⁵	-	-	1,7 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	-
яз. Студена водовземна кула м. юли	27,2	26,0	24,6	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Nitschia</i> spp. <i>Epithemia</i> spp.	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> Chlorophyta <i>Pseudosphaerocystis lundii</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i> Chlorophyta <i>Staurastrum chaetoceras</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> <i>Phacus</i> spp.	1,1 x 10 ⁶	1,3 x 10 ⁶	1,6 x 10 ⁶	1,6 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,3 oligosaprobic/ oligotrophic state	1,6 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
яз. Студена кей м. юли	27,8	26,2	24,6	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Eunotia</i> spp. Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> spp.	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Cymbella lanceolata</i> <i>Stephanodiscus astraea</i> Chlorophyta <i>Closterium navicula</i>	Bacillariophyta <i>Cymbella</i> spp. <i>Fragilaria construens</i> <i>Cyclotella comta</i> <i>Stephanodiscus astraea</i> Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i> Chlorophyta <i>Staurastrum chaetoceras</i>	1,7 x 10 ⁶	1,2 x 10 ⁶	1,0 x 10 ⁶	1,4 oligosaprobic /oligotrophic State	1,3 oligosaprobic/ oligotrophic state	1,7 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state

яз. Студена водовземна кула м. август	24,6	23,8	23,0	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chlorophyta <i>Coenococcus planktonicum.</i> <i>Chlorella vulgaris</i> Bacillariophyta <i>Asterionella formosa</i> <i>Cyclotella comta</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Stephanodiscus astrae</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas stokesiana</i> Chlorophyta <i>Pseudosphaerocystis lacustris.</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas rostrata</i>	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> <i>Phacus skujai</i> Bacillariophyta <i>Fragilaria construens</i> <i>Cyclotella comta</i> Cryptophyta <i>Rhodomonas lens</i> Chlorophyta <i>Chlorella spp.</i> <i>Staurastrum gracile</i>	$1,7 \times 10^6$	$6,9 \times 10^6$	$5,6 \times 10^6$	1,9 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,2 oligosaprobic/ oligotrophic state	1,9 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
яз. Студена кей м. август	24,6	24,0	-	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Asterionella formosa</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Stephanodiscus astrae</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> <i>Peridinium cinctum</i> <i>Peridinium palatinum</i>	-	$1,3 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$	-	1,1 oligosaprobic/ oligotrophic state	1,1 oligosaprobic/ oligotrophic state	-
яз. Студена водовземна кула м. септември	20,6	19,2	20,4	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Stephanodiscus astrae</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas rostrata</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Asterionella formosa</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> <i>Phacus polytrophos</i> Cyanophyta <i>Anabaena solitaria</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i>	$3,2 \times 10^5$	$1,21 \times 10^6$	$8,5 \times 10^5$	1,7 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,2 oligosaprobic/ oligotrophic state	1,5 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
яз. Студена кей м. септември	21,0	19,2	20,6	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> <i>Merismopedia punctate</i> Chlorophyta <i>Scenedesmus bijuga</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i>	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Stephanodiscus astrae</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas ovata</i> <i>Rhodomonas minuta</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> <i>Peridinium cinctum</i> Euglenophyta	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Asterionella formosa</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Cyanophyta <i>Anabaena solitaria</i> Dinophyta	$4,3 \times 10^5$	$9,3 \times 10^5$	$3,7 \times 10^5$	1,5 oligosaprobic/ oligotrophic state	1,4 oligosaprobic/ oligotrophic state	1,3 oligosaprobic/ oligotrophic state

					<i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	<i>Ceratium hirundinella</i>						
яз. Студена водовземна кула м. октомври	18,0	16,2	-	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Navicula</i> spp. Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas rostrata</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Stephanodiscus astrae</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> Chlorophyta <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Cosmarium</i> spp. <i>Pediastrum</i> spp. <i>Closteriopsis longissima</i> Cyanophyta <i>Synechococcus linearis</i>	-	$3,8 \times 10^5$	$4,7 \times 10^6$	-	1,6 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	2,0 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	-
яз. Студена кей м. октомври	18,0	16,2	-	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Stephanodiscus astraea</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Chlorophyta <i>Chlorella</i> spp. <i>Cosmarium depressum</i>	Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas ovata</i> <i>Rhodomonas minuta</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Stephanodiscus astrae</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> Chlorophyta <i>Coenococcus</i> spp. <i>Pseudosphaerocystis lundii</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> <i>Phacus</i> spp.	-	$9,8 \times 10^5$	$1,8 \times 10^6$	-	1,8 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,7 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	-

Таблица 12А. Язовир Студена 2023–2025 г. Резултати от анализи за определяне на микроцистини и нутриенти.

Пункт/ месец на вземане на проби	ELISA LOQ 0,15 µg/L			MC-RR, -YR, -LR, µg/L LOQ 0,2 µg/L			Общ N, mg/L LOQ 0,5 mg/L			Общ P, mg/L LOQ 0,02 mg/L		
	2023	2024	2025	2023	2024	2025	2023	2024	2025	2023	2024	2025
яз. Студена водовземна кула м. юни	0,21 ± 0,05	< LOQ	-	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	-	0,86 ± 0,09	0,80 ± 0,08	-	0,092 ± 0,009	0,084 ± 0,008	-
яз. Студена кей м. юни	< LOQ	< LOQ	-	< LOQ	< LOQ	-	0,93 ± 0,09	1,45 ± 0,15	-	0,084 ± 0,008	0,096 ± 0,009	-
яз. Студена водовземна кула м. юли	0,22 ± 0,05	< LOQ	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	< LOQ	1,51 ± 0,15	0,63 ± 0,06	0,87 ± 0,09	0,263 ± 0,026	0,021 ± 0,002	0,108 ± 0,011
яз. Студена кей м. юли	0,24 ± 0,06	< LOQ	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	< LOQ	0,74 ± 0,07	0,84 ± 0,08	0,82 ± 0,08	0,191 ± 0,019	0,026 ± 0,003	0,085 ± 0,009
яз. Студена водовземна кула м. август	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,05 ± 0,11	1,13 ± 0,11	2,28 ± 0,23	0,084 ± 0,008	0,173 ± 0,018	0,033 ± 0,003
яз. Студена кей м. август	< LOQ	< LOQ	-	< LOQ	< LOQ	-	1,03 ± 0,10	1,12 ± 0,11	-	0,074 ± 0,007	0,032 ± 0,003	-
яз. Студена водовземна кула м. септември	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,05 ± 0,11	0,68 ± 0,07	1,04 ± 0,10	0,026 ± 0,003	0,047 ± 0,005	0,045 ± 0,005
яз. Студена кей м. септември	0,15 ± 0,04	< LOQ	< LOQ	- RR 0,20 ± 0,02	< LOQ	< LOQ	1,13 ± 0,11	1,14 ± 0,11	0,81 ± 0,08	0,022 ± 0,002	0,092 ± 0,009	0,091 ± 0,009
яз. Студена водовземна кула м. октомври	1,01 ± 0,25	1,41 ± 0,35	-	- RR 0,55 ± 0,09 - YR 0,27 ± 0,06 - LR 0,38 ± 0,05	- RR 0,68 ± 0,05 - YR 0,31 ± 0,02 - LR 0,30 ± 0,02	-	1,06 ± 0,11	1,13 ± 0,11	-	0,031 ± 0,003	0,064 ± 0,006	-
Петно при стената в близост до яз. Студена водовземната кула м. октомври	2,06 ± 0,51	-	-	- RR 0,70 ± 0,08 - YR 0,48 ± 0,06 - LR 0,75 ± 0,09	-	-	-	-	-	-	-	-

яз. Студена кей м. октомври	< LOQ	0,30 ± 0,07	-	< LOQ	- RR 0,24 ± 0,02	-	1,05 ± 0,11	1,03 ± 0,10	-	0,027 ± 0,003	0,062 ± 0,006	-
--------------------------------	-------	-------------	---	-------	------------------	---	-------------	-------------	---	---------------	---------------	---

Проучването на фитопланктонното съобщество в язовир Студена през периода 2023–2025 г. показва относително беден видов състав (**таблица 12**), съставен от отделни представители на *Cyanophyta*, *Chlorophyta*, *Bacillariophyta*, *Euglenophyta* и *Dinophyta*. Подобна структура е характерна за водоеми с ниско до умерено трофично обогатяване и е в съответствие с предходни наблюдения за язовира.

През изследвания период доминиращи видове са диатомовото водорасло *Cyclotella comta* и цианобактерията *Aphanocapsa elachista*, като последната се установява като постоянен, но неконкурентно доминиращ компонент на фитопланктона. Установеното присъствие на *Aphanocapsa elachista* не е съпроводено с формиране на токсични цъфтежи.

През август 2023 г. е регистриран цъфтеж на диатомовото водорасло *Cyclotella comta* и в двата пункта (водовземна кула и кей). Подобни диатомови цъфтежи са типични за стоящи водоеми.

През 2024 г. в периода юни–септември се наблюдава продължително размножаване на *Cyclotella comta*, с пик през август. В края на летния сезон и началото на есента (септември–октомври) се отчита увеличено видово разнообразие и наличие на абиосестон, което може да се свърже с есенната миксия на водните маси.

Термичният режим на язовира показва ясно изразена сезонна динамика, характерна за умереноклиматични дълбоки водоеми – стратификация през летния период и хомотермия през пролетта и есента. Тези процеси оказват съществено влияние върху разпределението на фитопланктона и потенциала за развитие на цианобактерии.

Резултатите от настоящото изследване показват наличие на микроцистини в ограничен брой проби (**таблица 12А**). През юни и юли 2023 г. в проби от водовземната кула и кея са установени следови количества микроцистини (LR–еквиваленти), които не съответстват напълно на стандартната смес, но притежават характерен спектър. През септември 2023 г. и септември 2024 г. следи от MC–LR са установени в проба от кея. Най-съществените резултати са регистрирани през **октомври 2023 г.**, когато:

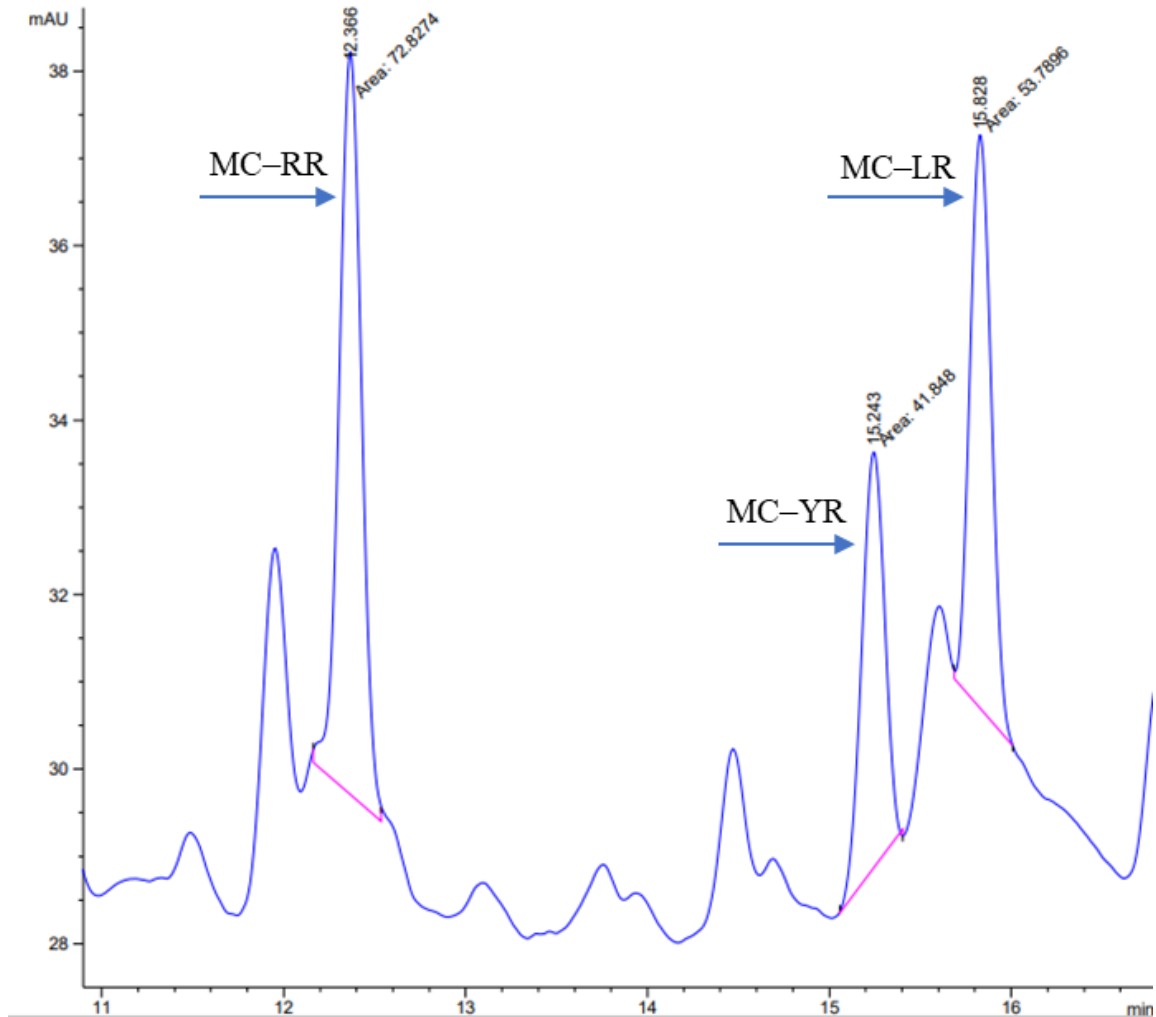
- във водовземната кула е установено общо съдържание на микроцистини 1,2 µg/L;
- MC–LR е 0,38 µg/L (~ 32 % от общото съдържание);
- в повърхностно петно близо до стената са установени още по-високи концентрации, доближаващи нормативната стойност и са представени на хроматограмата на **фиг. 15.**;

През **2024 г.** се наблюдава сходна сезонна картина, но с по-ниски концентрации:

- MC–LR = 0,30 µg/L;

- общо съдържание = 1,29 µg/L;
- дял на MC-LR ≈ 23 %.

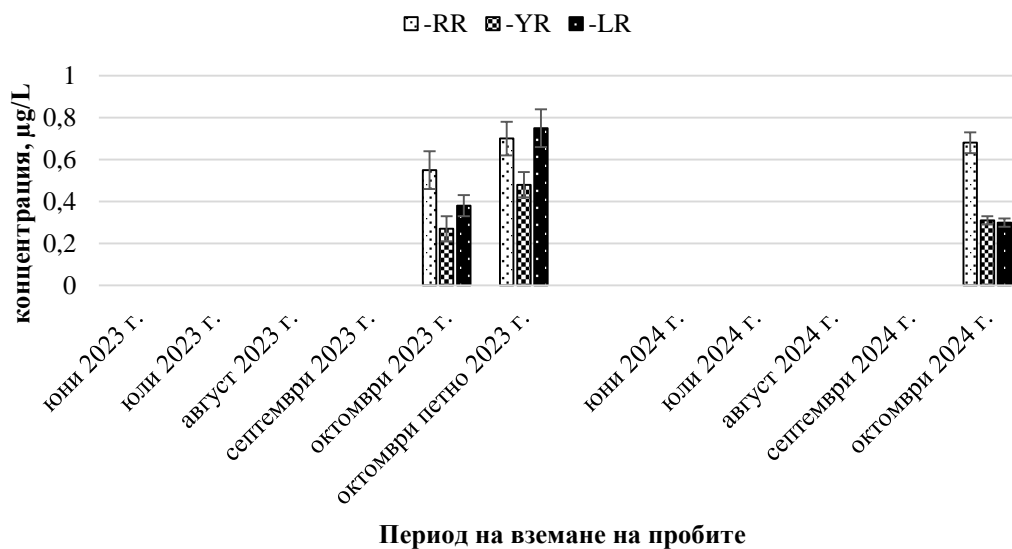
В анализираните проби от **2025 г.** не е установено наличие на микроцистини.



Фигура 15. Хроматограма на проба от петно при стената в близост до водоземната кула на яз. Студена, месец октомври 2023 г.

На **фиг. 16** са представени резултатите от анализите за наличие на микроцистини във водните проби, взети от пункт яз. Студена водоземна кула.

яз. Студена водовземна кула



Фигура 16. Резултати от анализите за наличие на микроцистини във водните проби, взети от пункт яз. Студена водовземна кула.

Установените повишени концентрации на микроцистини през есенния период съвпадат с температурен спад и вероятно са свързани с разрушаване на температурната стратификация и освобождаване на вътреклетъчни токсини след отмиране на цианобактериалната биомаса.

Сравнението с предходни проучвания [132 – 135] очертава ясна времева динамика:

- 2004 г. – липса на микроцистини;
- 2011–2013 г. – следови количества;
- 2015 г. – ниски концентрации;
- 2020 г. – рязко повишение (до 0,78 µg/L MC–LR);
- 2023–2024 г. – отново измерими концентрации (до 0,75 µg/L 2023 г. и 0,30 µg/L 2024 г. MC–LR);
- 2025 г. – липса.

Особено показателни са данните от 2020 г. [135], когато в повърхностно петно са измерени изключително високи стойности (до 169,47 µg/L MC–LR), свързани с цъфтеж на *Coelosphaerium kuetzingianum*.

Това показва, че язовирът притежава потенциал за формиране на локални токсични събития, макар и епизодични.

В рамките на настоящото проучване не се установява ясно изразена корелация между концентрациите на микроцистини и общ азот/общ фосфор.

Регистрираните концентрационни диапазони за общ азот и общ фосфор са съпоставими с предходни години:

- **Общ азот:** 0,74–1,51 mg/L;
- **Общ фосфор:** 0,02–0,26 mg/L.

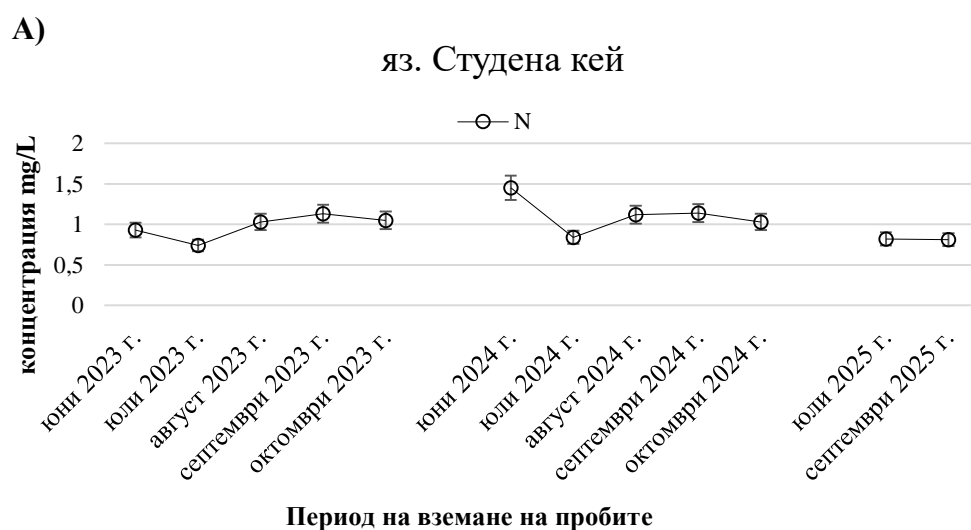
Това показва, че формирането на токсини вероятно е обусловено от комплексно взаимодействие на фактори – температурен режим, стратификация, светлинни условия и локални хидродинамични процеси.

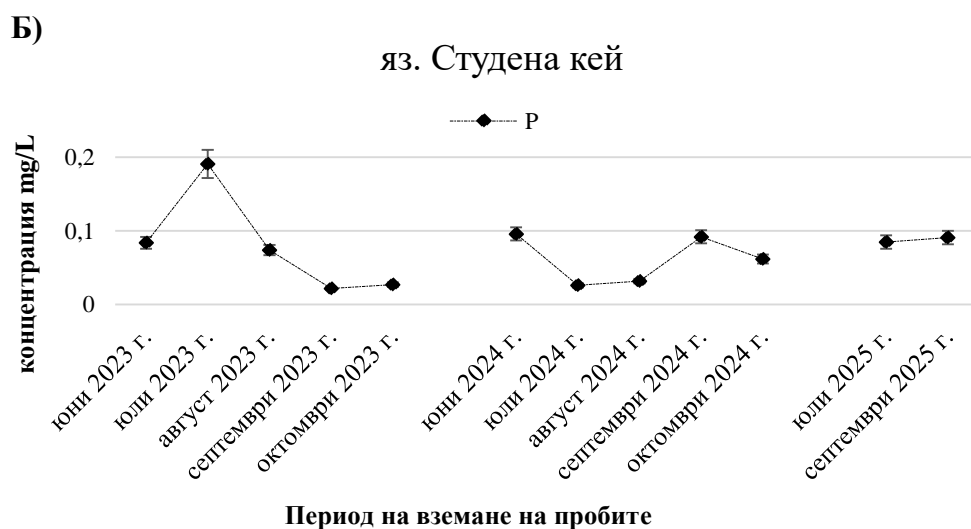
На **фигури 17 и 18** са представени резултатите от анализите за съдържание на общ азот (**фиг. 17А и 18А**) и общ фосфор (**фиг. 17Б и 18Б**) във водните проби, взети от пунктовете яз. Студена водоземна кула и яз. Студена кей.





Фигура 17. Резултати от анализите за съдържание на общ азот (фиг. 17А) и общ фосфор (фиг. 17Б) във водните проби, взети от пункт яз. Студена водовземна кула.





Фигура 18. Резултати от анализите за съдържание на общ азот (фиг. 18А) и общ фосфор (фиг. 18Б) във водните проби, взети от пункт яз. Студена кей.

В табл. 13 са представени корелационни зависимости между изследваните параметри при пункт яз. Студена за 2023–2025 г.

Таблица 13. Корелационни зависимости между изследваните параметри при язовир Студена за 2023–2025 г.

Година	Параметри	Регресионно уравнение	r	R ²	p
2023	МС–N	$МС = 0,344 \cdot N - 0,162$	0,149	0,022	0,703
	МС–P	$МС = -2,10 \cdot P + 0,611$	-0,212	0,045	0,585
	N–P	$N = 2,56 \cdot P + 0,868$	0,334	0,112	0,379
2024	МС–N	$МС = 0,857 \cdot N - 0,711$	0,402	0,162	0,251
	МС–P	$МС = -2,93 \cdot P + 0,543$	-0,305	0,093	0,392
	N–P	$N = 1,62 \cdot P + 0,900$	0,199	0,040	0,581
2025	МС–N	не се изчислява	–	–	–
	МС–P	не се изчислява	–	–	–
	N–P	$N = -0,72 \cdot P + 1,04$	-0,183	0,034	0,695

Забележка: МС – микроцистини, N – общ азот, P – общ фосфор, r – коефициент на линейна корелация, R² – коефициент на детерминация, p – ниво на статистическа значимост

Корелационният анализ на данните от яз. Студена не показва изразена зависимост между концентрациите на микроцистини и нутриентите през 2023 г. Аналогично през 2024 г. и 2025 г. зависимостите между показателите не са статистически достоверни и показват липса на ясно изразена връзка между тях през разглеждания период.

За пробите от яз. Студена вариационният анализ чрез сдвоен t-test не показва статистически значима разлика между резултатите, получени чрез ELISA и HPLC както през 2023 г. ($t = 0,29$, $p = 0,78$), така и през 2024 г. ($t = -0,36$, $p = 0,73$). Средните концентрации на микроцистини, определени чрез двата аналитични метода, са съпоставими. През 2025 г. всички измерени стойности са идентични ($0,1 \mu\text{g/L}$), поради което t-test не може да бъде приложен. Получените резултати показват добра съгласуваност между двата метода при определяне на микроцистини във водните проби.

Комплексният анализ на резултатите от проведените проучвания през периода 2023–2025 г., разгледан в контекста на ретроспективни данни от предходни изследвания, показва, че язовир Студена се характеризира с относително стабилен олиго-мезотрофен статус и бедно по видов състав фитопланктонно съобщество, доминирано предимно от диатомови водорасли. Присъствието на цианобактерии е ограничено, като не се наблюдават устойчиви токсични цъфтежи в изследваните пунктове. Независимо от това, в отделни проби през летно-есенния период на 2023 г. и 2024 г. са установени измерими концентрации на микроцистини, включително стойности, доближаващи нормативната граница за питейни води, както и повишени концентрации в повърхностни цъфтежни петна. Данните за съдържание на микроцистини, получени от ELISA анализ на изследваните проби, са близки по стойности с тези, получени чрез HPLC метода. Съпоставката с данни от периода 2017–2022 г. [135] очертава епизодичен, но повтаряем характер на продукция на токсини, с отчетлив пик през 2020 г. и последващо поява в настоящото изследване. Не се установява пряка зависимост между концентрациите на микроцистини и нивата на нутриенти, което предполага комплексно влияние на хидрофизични и климатични фактори, включително стратификация и сезонна миксия. Регистрираните епизодични събития налагат засилен мониторинг на язовир Студена като водоизточник за питейно водоснабдяване през рисковите сезони и подобрена координация между институциите, ангажирани с управлението и контрола на качеството на водите.

4.5. Язовир Красава

Резултатите от анализите на проби, взети през 2023–2025 г., за видов състав на фитопланктона са обобщени в **таблица 14**, а в **таблица 14А** са обобщени данните за наличие на микроцистини и нутриенти.

Таблица 14. Язовир Красава 2023–2025 г. Резултати от идентификация на фитопланктон.

Пункт/ месец на вземане на проби	t ± 0,2 °C			Видове			TCN (Общ брой клетки)/L			PBSITS (Pantle-Buck's сапробиологичен индекс и трофично състояние)		
	2023	2024	2025	2023	2024	2025	2023	2024	2025	2023	2024	2025
яз. Красава м. юни	18,0	26,4	-	Bacillariophyta <i>Cyclotella</i> spp. Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i>	Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Cyanophyta <i>Anabaena affinis</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Cymbella</i> spp. Chlorophyta <i>Closterium navicula</i> <i>Oocystis lacustris</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i>	-	<1 cell/ counting chamber	$6,7 \times 10^5$	-	1,5 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,5 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	-
яз. Красава м. юли	27,2	27,0	25,2	Cyanophyta <i>Aphanocapsa</i> spp. Bacillariophyta <i>Synedra acus</i> <i>Cymbella</i> spp. <i>Navicula gastrum</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chlorophyta	Bacillariophyta <i>Stephanodiscus atraea</i> <i>Navicula gastrum</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	Bacillariophyta <i>Cymbella</i> spp. <i>Amphora</i> spp. <i>Navicula</i> spp. Chlorophyta <i>Chlorella vulgaris</i> Cyanophyta <i>Oscillatoria</i> spp. <i>Merismopedia tenuissima</i>	$7,4 \times 10^5$	$1,5 \times 10^6$	$1,9 \times 10^5$	2,2 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,8 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	2,5 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state

				<i>Staurastrum planctonicum</i> <i>Chlorella vulgaris</i>								
яз. Красава м. август	24,7	24,2	23,4	Bacillariophyta <i>Synedra acus</i> <i>Surirella</i> spp. Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chlorophyta <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Closterium pronum</i> Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i>	Cryptophyta <i>Cryptomonas ovata</i> <i>Rhodomonas lacustris</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Bacillariophyta <i>Amphora</i> spp. <i>Navicula</i> spp. Chlorophyta <i>Didymocystis bicellularis</i> Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i>	Chlorophyta <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Oocystis lacustris</i> <i>Closterium acerosum</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Cyanophyta <i>Anabaena solitaria</i> Dinophyta <i>Ceratium cornutum</i>	1,6 x 10 ⁵	5,8 x 10 ⁵	2,8 x 10 ⁵	2,2 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	2,0 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	2,1 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state
яз. Красава м. септември	21,0	18,0	20,0	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Bacillariophyta <i>Caloneis amphisbaena</i> Chlorophyta <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Scenedesmus bijuga</i> <i>Crucigenia tetrapedia</i> Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i> Dinophyta <i>Peridinium inconspicuum</i>	Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> <i>Phacus elegans</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Cryptophyta <i>Rhodomonas lacustris</i> Bacillariophyta <i>Amphora</i> spp. <i>Synedra acus</i> <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Gyrosigma</i> spp.	Cyanophyta <i>Anabaena solitaria</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Chlorophyta <i>Chlorhormidium rivulare</i> Bacillariophyta <i>Epithemia</i> spp. Euglenophyta <i>Phacus</i> spp.	4,3 x 10 ⁵	6,6 x 10 ⁵	1,1 x 10 ⁷	2,1 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,7 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,7 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state

яз. Красава м. октомври	16,0	14,8	-	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Navicula</i> spp. Chlorophyta <i>Chlorella</i> <i>vulgaris</i> <i>Zygnema</i> <i>stellinum</i> <i>Crucigenia</i> <i>tetrapedia</i>	Cyanophyta <i>Anabaena</i> <i>solitaria</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> <i>volvocinopsis</i> <i>Phacus elegans</i> Bacillariophyta <i>Amphora</i> spp. Dinophyta <i>Ceratium</i> <i>hirundinella</i> Cryptoophyta <i>Rhodomonas</i> <i>lacustris</i>		4,7 x 10 ⁵	5,4 x 10 ⁵		2,0 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	1,8 β- mesosabrobic/ oligo- mesotrophic state	
-------------------------------	------	------	---	--	---	--	-----------------------	-----------------------	--	--	--	--

Таблица 14А. Язовир Красава 2023–2025 г. Резултати от анализи за определяне на микроцистини и нутриенти.

Пункт/ месец на вземане на проби	ELISA <i>LOQ 0,15 µg/L</i>			MC-RR, -YR, -LR, µg/L <i>LOQ 0,2 µg/L</i>			Общ N, mg/L <i>LOQ 0,5 mg/L</i>			Общ P, mg/L <i>LOQ 0,02 mg/L</i>		
	2023	2024	2025	2023	2024	2025	2023	2024	2025	2023	2024	2025
яз. Красава м. юни	0,25 ± 0,06	< LOQ	-	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	-	1,17 ± 0,12	1,80 ± 0,18	-	0,021 ± 0,002	0,023 ± 0,002	-
яз. Красава м. юли	0,27 ± 0,07	< LOQ	< LOQ	LR eqv ~ 0,2	< LOQ	< LOQ	1,16 ± 0,12	1,75 ± 0,18	1,81 ± 0,18	0,344 ± 0,034	0,032 ± 0,003	0,122 ± 0,012
яз. Красава м. август	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,35 ± 0,14	1,76 ± 0,18	0,81 ± 0,08	0,246 ± 0,031	0,108 ± 0,011	0,067 ± 0,007
яз. Красава м. септември	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,90 ± 0,09	1,88 ± 0,19	1,96 ± 0,20	0,041 ± 0,004	0,082 ± 0,008	0,035 ± 0,004
яз. Красава м. октомври	< LOQ	< LOQ	-	< LOQ	< LOQ	-	1,12 ± 0,11	1,25 ± 0,13	-	0,028 ± 0,003	0,131 ± 0,013	-

Фитопланктонното съобщество на язовир Красава през изследвания период 2023–2025 г. се характеризира с относително беден видов състав, включващ представители на *Cyanophyta*, *Chlorophyta*, *Bacillariophyta*, *Euglenophyta*, *Cryptophyta*, *Chrysophyta* и *Dinophyta*. Сезонната динамика показва редуване на доминиращи видове, без формиране на масови токсични цъфтежи.

В редица проби видовете са представени в ниски клетъчни концентрации, което е показателно за умерено трофично обогатяване на водоема. Най-добре представени през целия наблюдаван сезон са диатомовите водорасли, което е характерно за сравнително чисти стоящи води.

Установеното присъствие на *Aphanocapsa* spp. и *Oscillatoria* spp. в отделни години от ретроспективни наблюдения, както и на златистото водорасло *Dinobryon sertularia*, потвърждава олиго-мезотрофния характер на водоема, тъй като последният вид е индикатор за добър екологичен статус.

Във всички проби е регистрирано наличие на абиосестон, което насочва към повишена мътност в отделни периоди и пунктове, вероятно свързана с хидродинамични процеси и сезонна миксия.

Сапробиологичната оценка, извършена по метода на Pantle – Buck, показва стойности на индекса в диапазона 1,5–2,2.

Тези стойности характеризират β -мезосапробно състояние и олиго-мезотрофен статус.

Това означава умерено органично обогатяване и добро функциониране на дисимилационните процеси във водоема. Подобно състояние се разглежда като относително стабилен екологичен баланс за среднопланински язовири.

През 2024 г. се наблюдава устойчива β -мезосапробия през целия изследван сезон, което потвърждава стабилността на екосистемата и липсата на значими органични обогатявания.

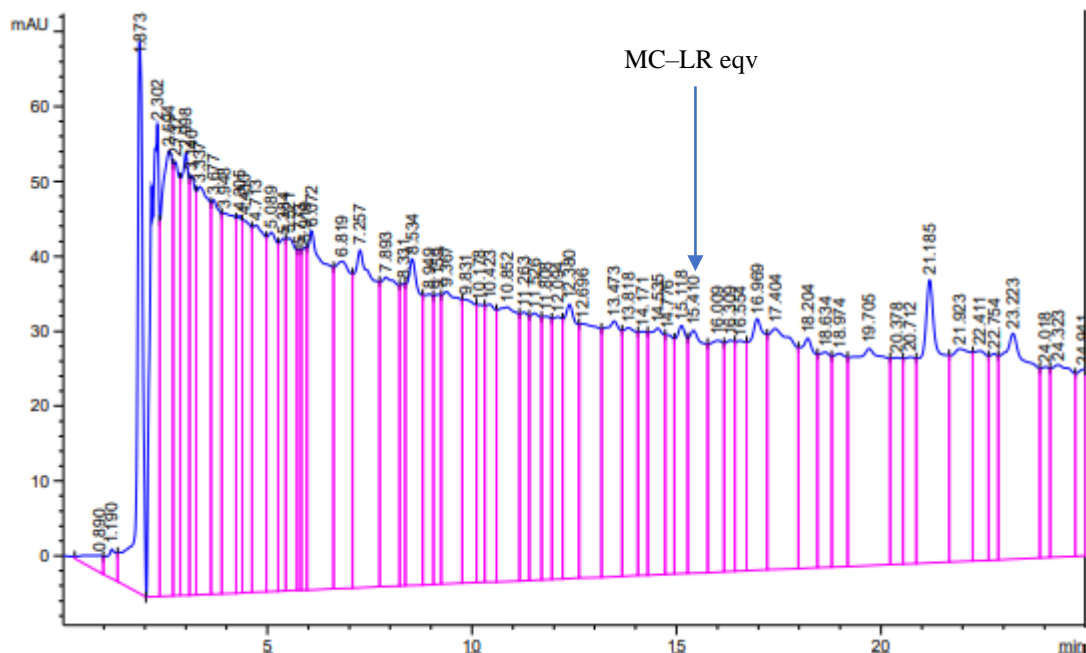
Повишеното количество абиосестон през септември–октомври 2024 г. вероятно е свързано с есенната циркулация на водните маси.

Въпреки регистрираните високи летни температури, липсата на цианобактериални цъфтежи показва, че температурният фактор не е лимитиращ, а водоемът се характеризира с относително стабилен олиго-мезотрофен статус.

Резултатите от настоящото изследване показват ограничено и епизодично присъствие на микроцистини.

Следови количества микроцистин–LR еквивалент са установени в две от петте проби през 2023 г. (юни и юли). На **фиг. 19** е представена хроматограмата от месец юли 2023 г. Установеното съединение показва спектрални характеристики, сходни с MC–LR, но с различно време на задържане.

През 2024 г. и 2025 г. не е установено наличие на микроцистини в анализираниите проби.



Фигура 19. Хроматограма на проба от яз. Красава м. юли 2023 г. MC–LR eqv ~ 0,2 µg/L.

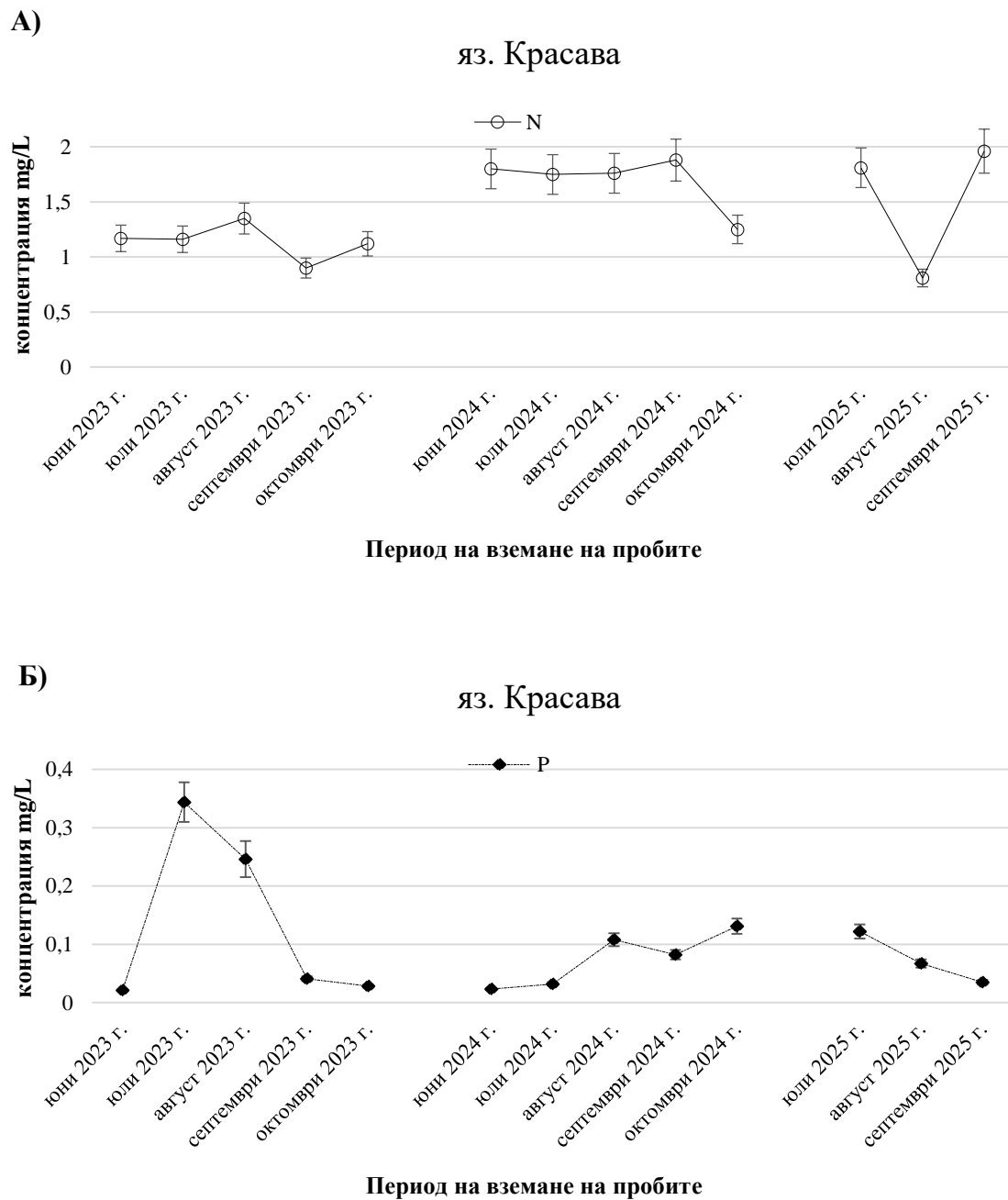
Ретроспективните данни показват сходна картина [130, 136]:

- 2005 г. – липса;
- 2017 г. – липса;
- 2022 г. – липса;
- настоящото проучване – само следови количества.

Това потвърждава, че язовир Красава не е склонен към формиране на токсични цианобактериални събития.

Концентрациите на общ азот варират в интервала 0,90–1,96 mg/L, а на общ фосфор показват по-широк диапазон: 0,021–0,344 mg/L. Най-високата стойност на общ фосфор (0,344 mg/L) съвпада с пробата, в която са установени следови количества микроцистини (юли 2023 г.), което предполага възможна локална връзка между фосфорното обогатяване и продукцията на токсини.

На **фиг. 20** са представени резултатите от анализите за сътаблдържание на общ азот (**фиг. 20А**) и общ фосфор (**фиг. 20Б**) във водните проби, взети от яз. Красава.



Фигура 20. Резултати от анализите за съдържание на общ азот (фиг. 20А) и общ фосфор (фиг. 20Б) във водните проби, взети от яз. Красава.

В **табл. 15** са представени корелационни зависимости между изследваните параметри при пункт яз. Красава за 2023–2025 г.

Таблица 15. Корелационни зависимости между изследваните параметри при язовир Красава 2023–2025 г.

Година	Параметри	Регресионно уравнение	r	R ²	p
2023	МС–N	$МС = 0,096 \cdot N - 0,012$	0,552	0,305	0,336
	МС–P	$МС = -0,361 \cdot P + 0,203$	-0,589	0,347	0,296
	N–P	$N = -0,475 \cdot P + 1,248$	-0,110	0,012	0,861
2024	МС–N	не се изчислява	–	–	–
	МС–P	не се изчислява	–	–	–
	N–P	$N = 0,789 \cdot P + 1,66$	0,070	0,005	0,911
2025	МС–N	не се изчислява	–	–	–
	МС–P	не се изчислява	–	–	–
	N–P	$N = -3,41 \cdot P + 1,88$	-0,437	0,191	0,713

Забележка: МС – микроцистини, N – общ азот, P – общ фосфор, r – коефициент на линейна корелация, R² – коефициент на детерминация, p – ниво на статистическа значимост

Корелационният анализ на данните от яз. Красава показва слаби до умерени зависимости между концентрациите на микроцистини и нутриентите: през 2023 г. се наблюдават умерени разнопосочни корелации между микроцистините и съдържанието на общ азот и общ фосфор, но получените зависимости не са статистически значими; между двата нутриента също не се установява ясно изразена връзка. Като цяло резултатите показват липса на статистически достоверна зависимост между изследваните параметри през разглеждания период.

През 2024 г. и 2025 г. всички измерени концентрации на микроцистини са под границата на количествено определяне, което не позволява извършването на корелационен анализ между микроцистините и нутриентите. Анализът на зависимостта между общия азот и общия фосфор показва липса на ясно изразена връзка между двата показателя през разглеждания период.

Липсата на токсични цъфтежи, ниските клетъчни концентрации на цианобактерии и преобладаването на диатомови водорасли показват нисък риск от контаминация с цианотоксини.

Епизодичното наличие на LR–еквиваленти през 2023 г. следва да се разглежда като индикатор за потенциална, но слабо изразена продукция на токсини при наличие на благоприятни условия.

За пробите от яз. Красава вариационният анализ чрез сдвоен t-test не показва статистически значима разлика между резултатите, получени чрез ELISA и HPLC през 2023 г. ($t = -0,79$, $p = 0,47$). През 2024 г. и 2025 г. всички измерени стойности са идентични ($0,1 \mu\text{g/L}$), поради което t-test не може да бъде приложен. Получените резултати показват добро съответствие между резултатите, получени чрез двата аналитични метода.

Комплексният анализ на резултатите от проведените изследвания през периода 2023–2025 г., допълнен с ретроспективни данни, показва, че язовир Красава се характеризира със стабилен олиго-мезотрофен статус и β -мезосапробно състояние, съответстващи на умерено органично обогатяване и добър екологичен потенциал. Фитопланктонното съобщество е относително бедно по видов състав, с доминиране на диатомови водорасли и ограничено присъствие на цианобактерии, без формиране на токсични цъфтежи. Установени са единствено следови количества микроцистин–LR еквиваленти в отделни проби през 2023 г., без потвърждение в следващите години. Данните за съдържание на микроцистини, получени от ELISA анализ на изследваните проби, са близки по стойности с тези, получени чрез HPLC метода. Концентрациите на нутриенти са в умерени граници, като не се наблюдава устойчива зависимост с продукцията на токсини. Като цяло язовирът показва нисък риск от контаминация с цианотоксини, но с оглед използването му за питейно-битово водоснабдяване е целесъобразно провеждането на периодичен мониторинг през топлите сезони, особено при повишено нутриентно обогатяване и климатични аномалии.

4.6. Сравнителен анализ на изследваните язовири

Комплексният сравнителен анализ на язовирите Искър, Студена и Красава показва различна степен на екологична устойчивост и различен потенциал за развитие на цианобактериални цъфтежи, въпреки че и трите водоема се използват за питейно-битово водоснабдяване.

4.6.1. Фитопланктонна структура

Яз. Искър се характеризира с доминиране на диатомови водорасли, ограничено присъствие на цианобактерии и липса на устойчиви токсични цъфтежи.

Яз. Студена се характеризира с беден видов състав, постоянен член на съобществото *Arhanocapsa elachista*, регистрирани повърхностни цъфтежни петна в отделни години и най-ясно изразена склонност към продукция токсини.

Яз. Красава се характеризира диатомово доминиране, спорадично присъствие на цианобактерии и липса на токсични цъфтежи.

4.6.2. Трофичен и сапробен статус

И трите язовира се характеризират с преобладаващо:

- β-мезосапробно състояние;
- олиго-мезотрофен статус.

Най-стабилен екологичен баланс демонстрира **яз. Искър**, където доминират диатомови водорасли и не се наблюдават устойчиви токсични цъфтежи.

Яз. Красава също показва стабилна β-мезосапробия и отсъствие на масови цъфтежи.

Яз. Студена се отличава с по-изразени колебания в екологичния статус, особено в края на летния и началото на есенния сезон.

4.6.3. Микроцистини – сравнителна оценка

В **таблица 16** са обобщени всички проби, в които е установено наличие на микроцистини в изследваните водоеми (яз. Искър, яз. Студена и яз. Красава). За всяка проба са представени концентрацията на микроцистини, концентрациите на общ азот и общ фосфор, изчисленото отношение N/P, температурата на водата и установеният фитопланктонен състав.

Таблица 16. Положителни проби, взети в периода на проучването (2023–2025 г.) – пункт и месец на вземане на проби, видов състав, съдържание на микроцистини, общ азот, общ фосфор и съотношението общ азот:общ фосфор, температура

Пункт/ месец на вземане на проби	Видове	МС общо, µg/L LOQ 0,2 µg/L	Общ N mg/L LOQ 0,5 mg/L	Общ P mg/L LOQ 0,02 mg/L	N/P	t ± 0,2 °C
яз. Искър водовземна кула 0 m м. юли 2023 г.	<i>Chlorophyta</i> <i>Oocystis naegelii</i> <i>Streptophyta</i> <i>Staurastrum pingue</i> <i>Ochrophyta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Tabellaria flocculosa</i> var. <i>asterionelloides</i> <i>Dinophyta</i> <i>Ceratium hirundinella</i>	0,2	1,46	0,044	33:1	25,2

яз. Искър водовземна кула –25 m м. юли 2023 г.	Cyanoprokaryota <i>Aphanothece minutissima</i> Chlorophyta <i>Eudorina elegans</i> Ochrophyta <i>Fragilaria crotonensis</i>	0,2	1,05	0,051	21:1	11,0
Щъркелово гнездо 0 m м. юли 2023 г.	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Asterionella gracillima</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Synedra actinastroides</i> Chrysophyta <i>Dinobrion sertularia</i>	0,2	1,04	0,035	30:1	25,8
Щъркелово гнездо –20 m м. юли 2023 г.	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Diatoma vulgare</i> Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i>	0,2	1,83	0,038	48:1	11,2
Щъркелово гнездо 0 m м. август 2023 г.	Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	0,2	1,28	0,091	14:1	22,5
яз. Искър ветроходна база м. юли 2023 г.	Bacillariophyta <i>Cymbella lanceolate</i> <i>Cyclotella comta</i> Euglenophyta <i>Phacus</i> spp. <i>Trachelomona</i> spp.	0,2	1,52	0,063	24:1	27,8
яз. Искър ветроходна база м. август 2023 г.	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Melosira varians</i> Euglenophyta <i>Phacus</i> spp. Chlorophyta <i>Closterium aciculare</i>	0,2	1,58	0,066	24:1	23,0
Бент Кокаляне м. юли 2023 г.	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chlorophyta <i>Closterium venus</i>	0,2	1,62	0,043	38:1	19,0
Бент Кокаляне м. август 2023 г.	Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chlorophyta <i>Closterium venus</i>	0,2	1,75	0,052	34:1	13,5
яз. Студена водовземна кула м. юни 2023 г.	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> <i>Oscillatoria tenuis</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i>	0,2	0,86	0,092	9:1	18,0
яз. Студена водовземна кула м. юли 2023 г.	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Nitzschia</i> spp. <i>Epithemia</i> spp.	0,2	1,51	0,263	6:1	27,2

яз. Студена кей м. юли 2023 г.	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Asterionella formosa</i> <i>Eunotia</i> spp. Euglenophyta <i>Trachelomonas</i> spp.	0,2	0,74	0,191	4:1	27,8
яз. Студена водовземна кула м. октомври 2023 г.	Cyanophyta <i>Aphanocapsa elachista</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Navicula</i> spp. Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	1,2	1,06	0,031	34:1	18,0
яз. Студена водовземна кула м. октомври 2024 г.	Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas rostrata</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Stephanodiscus astrae</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> Chlorophyta <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Cosmarium</i> spp. <i>Pediastrum</i> spp. <i>Closteriopsis longissima</i> Cyanophyta <i>Synechococcus linearis</i>	1,29	1,13	0,064	18:1	16,2
яз. Студена кей м. октомври 2024 г.	Dinophyta <i>Ceratium hirundinella</i> Cryptophyta <i>Cryptomonas ovata</i> <i>Rhodomonas minuta</i> Bacillariophyta <i>Cyclotella comta</i> <i>Stephanodiscus astrae</i> <i>Fragilaria crotonensis</i> Chlorophyta <i>Coenococcus</i> spp. <i>Pseudosphaerocystis lundii</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> <i>Phacus</i> spp.	0,24	1,03	0,062	17:1	16,2
яз. Красава м. юни 2023 г.	Bacillariophyta <i>Cyclotella</i> spp. Chrysophyta <i>Dinobryon sertularia</i>	0,2	1,17	0,021	56:1	18,0
яз. Красава м. юли 2023 г.	Cyanophyta <i>Aphanocapsa</i> spp. Bacillariophyta <i>Synedra acus</i> <i>Cymbella</i> spp. <i>Navicula gastrum</i> Euglenophyta <i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Chlorophyta <i>Staurastrum planctonicum</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	0,2	1,16	0,344	3:1	27,2

Обобщените данни за положителните проби показват, че концентрациите на микроцистини варират в диапазона **0,2–1,29 µg/L**, като най-високите стойности са установени в яз. Студена през есенния период. Концентрациите на общ азот и общ фосфор варират съответно между **0,74–1,83 mg/L** и **0,02–0,344 mg/L**, а съотношението **N/P** е в широк диапазон (от **3:1** до **56:1**). Корелационният анализ показва **слаби и статистически недостоверни зависимости ($p > 0,05$)** между концентрациите на микроцистини и нивата на нутриентите. Получените резултати показват **епизодично наличие на микроцистини**, като тяхната поява вероятно се определя от комплексното действие на екологични фактори и от видовия състав на фитопланктонните съобщества, а не само от концентрациите на общ азот и общ фосфор.

Наличието на положителни проби в широк температурен диапазон (11–28 °C) показва, че температурата на водата създава благоприятни условия за развитие на фитопланктонните съобщества, но не представлява единствения фактор, определящ появата на микроцистини. Положителни резултати са установени както в повърхностния слой, така и в проби, взети от по-голяма дълбочина (20–25 m), където интензитетът на светлината е значително по-нисък. Това показва, че наличието на микроцистини не е ограничено само до добре осветения повърхностен слой. Вероятно токсините се разпределят във водния стълб в резултат на вертикално смесване на водните маси, както и вследствие на освобождаването им при лизис на цианобактериални клетки. Същевременно установеният фитопланктонен състав показва доминиране на диатомови, зелени и еугленови водорасли и само епизодично присъствие на цианобактерии, което вероятно ограничава формирането на масови цианобактериални цъфтежи дори при наличие на подходящи температурни и светлинни условия. Получените резултати показват, че появата на микроцистини в изследваните водоеми се наблюдава при различно съдържание на нутриенти на водната среда и не може да бъде свързана с конкретен тесен диапазон на концентрации на общ азот и общ фосфор. Това показва, че сезонната динамика на микроцистини вероятно се определя от комплексното взаимодействие на физични, химични и биологични фактори, включително температурата на водата, светлинните условия и структурата на фитопланктонните съобщества.

Таблица 17 представя сравнение на максималните установени концентрации на микроцистини с максимално допустимата стойност и честотата на наличие.

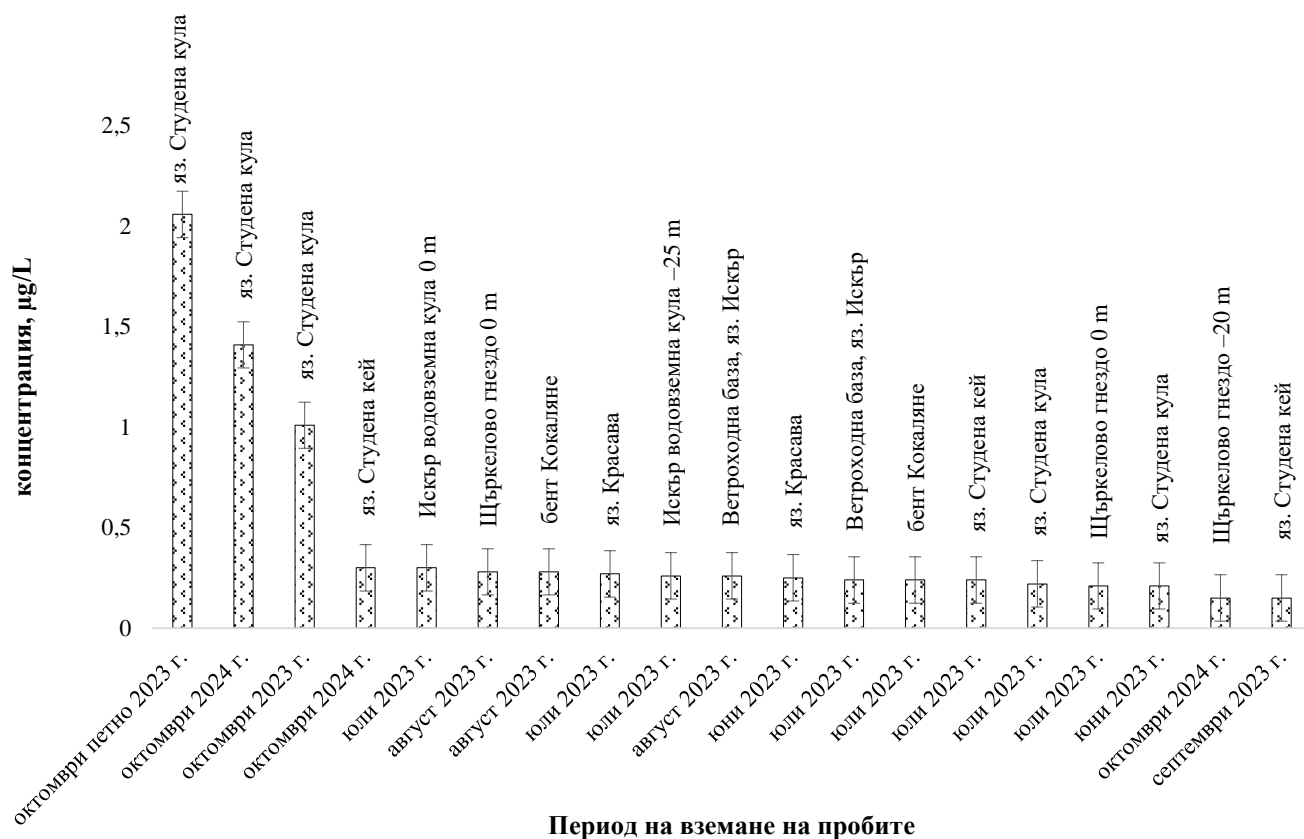
Таблица 17. Сравнение на максималните установени концентрации на микроцистини с максимално допустимата стойност (1 µg/L) и честотата на наличие.

Язовир	Наличие на микроцистини	Максимална установена концентрация (µg/L)	% от МСт	Характер на появата
Искър	Следи (2023, 2024)	0,20	20 %	Епизодични
Студена	Да (2023, 2024)	1,29	129 %	Повтаряеми
Красава	Само следи (2023)	0,20	20 %	Случайни

МСт – максимална стойност, следи – установени количества в концентрационен интервал между границата на откриване (LOD) и границата на определяне (LOQ)

Резултатите показват, че в яз. Искър и яз. Красава установените концентрации на микроцистини са значително под максимално допустимата стойност от 1 µg/L и представляват съответно около 20 % от нормативната граница. В яз. Студена са установени по-високи концентрации през 2023 и 2024 г., като в отделни случаи стойностите се доближават или леко надвишават максимално допустимата стойност. Това показва по-честа и по-изразена поява на микроцистини в този водоем в сравнение с останалите изследвани язовири.

На **фиг. 21** са представени положителните проби и концентрации на микроцистини, определени чрез ELISA анализ в язовирите Искър, Студена и Красава в периода 2023–2025 г.



Фигура 21. Положителни проби и концентрации на микроцистини, определени чрез ELISA анализ в язовирите Искър, Студена и Красава.

Фигура 21 обобщава положителните проби за микроцистини, установени при анализа на водните проби чрез ELISA метод в язовирите Искър, Студена и Красава през периода на наблюдение. Най-високи концентрации са отчетени в яз. Студена, където в отделни проби стойностите достигат значително по-високи нива в сравнение с останалите изследвани водоеми. В яз. Искър и яз. Красава микроцистините се установяват предимно като следови количества. Положителните проби са регистрирани основно през летния и есенния период, когато условията на водната среда са по-благоприятни за развитие на цианобактериални популации. Получените резултати показват, че появата на микроцистини в изследваните водоеми е по-скоро епизодична и с ниски концентрации, като в повечето случаи стойностите остават значително под референтната стойност от 1 µg/L за микроцистин-LR.

4.6.4. Зависимост между концентрациите на общ азот/общ фосфор и микроцистините

При трите язовира не се установява зависимост между концентрациите на общ азот/общ фосфор и микроцистините.

Наблюдават се локални съвпадения:

- яз. Искър – токсини при сезонно повишаване на нутриенти;
- яз. Студена – епизодични наличия при умерени концентрации;
- яз. Красава – следи при най-висока стойност на общ фосфор.

Това показва, че продукцията на токсини не се определя единствено от нутриентното обогатяване, а зависи от комплекс от фактори:

- температура;
- стратификация;
- сезонна миксия;
- хидродинамика;
- локални повърхностни натрупвания.

Общият корелационен анализ (обединен масив от данни от всички взети проби ($n = 99$) през изследвания период 2023–2025 г. е представен в **таблица 18**.

Таблица 18. Общ корелационен анализ (обединени данни от всички взети проби) през 2023–2025 г.

Параметри	Регресионно уравнение	r	R ²	p
МС–N	$МС = 0,067 \cdot N + 0,022$	0,21	0,044	> 0,05
МС–P	$МС = -0,148 \cdot P + 0,118$	-0,18	0,032	> 0,05
N–P	$N = 0,92 \cdot P + 0,63$	0,26	0,068	> 0,05

Забележка: МС – микроцистини, N – общ азот, P – общ фосфор, r – коефициент на линейна корелация, R² – коефициент на детерминация, p – ниво на статистическа значимост

Корелационният анализ на обединените данни от язовирите Искър, Студена и Красава не показва изразени зависимости между концентрациите на микроцистини и съдържанието на нутриенти: не се наблюдава корелация между микроцистините и общия азот, както и между микроцистините и общия фосфор; между двата нутриента – общ азот и общ фосфор връзката също не е значителна. Получените зависимости не са статистически значими ($p > 0,05$), което показва липса на ясно изразена връзка между изследваните параметри в обединения набор от данни.

4.6.5. Хидрофизични фактори

Язовир Студена показва най-силна чувствителност към къснолетни и есенни условия, хомотермия и разрушаване на стратификацията и локални повърхностни натрупвания.

Язовир Искър поради големия си обем и дълбочина, демонстрира по-голяма буферна способност.

Язовир Красава въпреки по-малкия си обем, не показва склонност към масови токсични събития.

Сравнителният анализ показва, че сред трите изследвани язовира яз. Студена проявява най-висок потенциал за епизодично развитие на цианобактериални събития и продукция на микроцистини, докато язовирите Искър и Красава демонстрират по-стабилен екологичен статус и нисък токсикологичен риск в рамките на изследвания период. Липсата на пряка зависимост между концентрациите на нутриенти и микроцистините подчертава значението на хидрофизичните и климатичните фактори при формиране на токсични събития. Получените резултати потвърждават необходимостта от динамичен сезонен мониторинг, особено при водоеми, използвани за питейно водоснабдяване.

4.7. Възможности на ELISA и HPLC методите за детекция при изследване съдържанието на микроцистини

Получените резултати от изследването на яз. Искър, яз. Студена и яз. Красава показват, че съдържанието на микроцистини в повечето анализирани проби е ниско и често се намира в диапазона на следови концентрации. При такива условия изборът на подходящ аналитичен метод е от съществено значение за надеждното установяване на присъствието на токсина.

В проведеното изследване е използван имуоензимен метод ELISA, който позволява определяне на общо количество микроцистини. Получените резултати показват, че методът е достатъчно чувствителен за регистриране на ниски концентрации, характерни за изследваните водоеми. В яз. Искър и яз. Красава в по-голямата част от пробите са установени стойности под границата на количествено определяне или близки до нея. В яз. Студена са наблюдавани по-високи концентрации и по-честа поява на токсина, като в отделни случаи стойностите се доближават или превишават препоръчителната максимална концентрация за питейни води от 1 µg/L.

При тези условия ELISA се оказва особено подходящ метод за скринингов мониторинг, тъй като позволява бърз анализ на голям брой проби и откриване на ниски концентрации на микроцистини. Въпреки това методът определя общото съдържание на микроцистини и не предоставя информация за конкретните структурни аналози на токсина.

От друга страна, високоефективната течна хроматография (HPLC) предоставя възможност за разделяне и идентификация на отделни микроцистинови аналози, което позволява по-прецизна оценка на токсикологичното значение на установените концентрации. Този метод се характеризира с по-висока селективност и аналитична надеждност, но изисква по-сложна апаратура, по-дълга подготовка на пробите и повече време за анализ.

В контекста на получените резултати може да се заключи, че ELISA методът е особено подходящ за рутинен мониторинг на водоеми с ниски концентрации на микроцистини, каквито са установени в по-голямата част от изследваните проби. При установяване на по-високи концентрации HPLC анализът представлява подходящ инструмент за потвърждаване на резултатите и за идентификация на отделните микроцистини.

Комбинираното използване на двата аналитични подхода позволява както бърз скрининг на водните проби, така и по-прецизна идентификация на токсините, което е особено важно при оценка на риска за водоеми, използвани за питейно водоснабдяване.

4.8. Съпоставка с международни проучвания

Резултатите от настоящото изследване са съпоставими с данни от мониторинг на питейни язовири и естествени езера в Европа и Северна Америка, където концентрациите на микроцистини в повечето случаи са под 0,5 µg/L, но епизодично се регистрират стойности, доближаващи или надвишаващи 1 µg/L при наличие на повърхностни цъфтежи [137–140].

Подобно на установеното в язовирите Искър, Студена и Красава, редица автори докладват липса на ясно изразена корелация между концентрациите на общ азот и общ фосфор и наличието на микроцистини. Това подчертава комплексния характер на факторите, контролиращи продукцията на токсини, сред които водеща роля имат температурният режим, температурната стратификация, хидродинамиката и светлинният режим [141–143].

Проучвания върху питейни водоеми в Германия, Полша и Чехия показват, че умерено трофични (олиго-мезотрофни) водни тела могат да демонстрират епизодична продукция на цианотоксини без наличието на ясно изразена еутрофикация [139, 144]. Тези наблюдения кореспондират с установените в настоящото изследване резултати, при които токсини се откриват при относително умерени концентрации на нутриенти.

В северноамерикански изследвания върху питейни язовири се съобщава, че повишени концентрации на микроцистини се наблюдават най-често в края на летния и началото на есенния период, когато настъпва разрушаване на температурната стратификация и се създават условия за масово развитие и последващ лизис на цианобактериални клетки [140, 145]. Аналогични сезонни закономерности се установяват и при яз. Студена, където най-високи стойности на микроцистини се регистрират през есента, включително в повърхностни петна в близост до водоземните съоръжения.

Сходни резултати са докладвани и в обзорни анализи на Световната здравна организация, според които наличието на цианотоксини в питейни водоеми често е епизодично, трудно прогнозируемо и не винаги пряко обвързано с класическите показатели за еутрофикация [146].

В този контекст получените резултати за българските питейни язовири се вписват в общата глобална тенденция за поява на локализирани и сезонно обусловени епизоди на продукция на токсини, без наличие на трайно влошаване на трофичния статус на водоемите.

Температурата на водата е един от основните екологични фактори, регулиращи структурата на фитопланктонните съобщества и продукцията на цианотоксини. Повишаването на температурата ускорява метаболитната активност на цианобактериите и увеличава тяхната конкурентоспособност спрямо еукариотните микроводорасли, особено при стойности над 20–22 °C [89, 147].

Множество експериментални и полеви проучвания показват, че оптималният температурен диапазон за развитие на токсин-продуциращи видове от родовете *Microcystis*, *Dolichospermum* (*Anabaena*) и *Aphanizomenon* е между 22 и 30 °C [148–150]. В същото време диатомовите водорасли демонстрират по-висока конкурентоспособност при по-ниски температури и добре смесени водни колони, което обяснява тяхното доминиране в редица умерени водоеми [151].

Температурният режим влияе не само върху растежа на цианобактериите, но и върху синтеза на микроцистини. Установено е, че повишените температури могат да

стимулират експресията на гени, участващи в биосинтезата на микроцистини, както и да увеличат вътреклетъчната концентрация на токсини [152, 153].

Съществено значение има и температурната стратификация на водните маси. През летния период стабилната стратификация създава благоприятни условия за повърхностно натрупване на цианобактериална биомаса, докато разрушаването ѝ през есента води до смесване на водните слоеве, лизис на клетките и освобождаване на вътреклетъчни токсини във водната маса [86, 87]. Подобни механизми са описани в редица питейни резервоари в Европа и Северна Америка [88].

В контекста на климатичните промени се отчита тенденция към удължаване на периода на температурна стратификация и повишаване на повърхностните температури, което увеличава риска от по-чести и по-интензивни цианобактериални събития в умерения пояс [89, 90]. Това поставя допълнителни предизвикателства пред управлението на водоеми, използвани за питейно водоснабдяване.

Получените в настоящото изследване резултати, при които най-високи концентрации на микроцистини се регистрират през къснолетния и есенния период, съответстват на описаните в литературата закономерности, свързани с температурната динамика и разрушаването на стратификацията.

Изследванията продължават към настоящия момент в изпълнение на проект „Изследване на цианотоксини в някои български водоеми (CYANOACTION-BG)“, с национално съфинансиране по програма COST – Акция CA23160 “Effective Lake management: reducing cyanobacteria by actions in the catchment (CYANOACTION)” по договор с ФНИ № КП-06-КОСТ/3/10.06.2025 г.

В обобщение, резултатите от настоящия дисертационен труд разширяват наличните научни данни за разпространението на микроцистини в българските питейни язовири и очертават ключовите екологични фактори, свързани с тяхната поява. Те създават основа за бъдещи изследвания и за усъвършенстване на националните политики по мониторинг на цианотоксини.

5. ИЗВОДИ

Методични изводи

1. Разработен и валидиран е хроматографски метод за определяне на микроцистини–RR, –YR и –LR във води чрез HPLC, с граница на количествено определяне 0,2 µg/L и граница на откриване 0,1 µg/L, линеен диапазон от 0,2 до 1,5 µg/L, аналитичен добив от 66,5 до 123,79 %. Методът отговаря на изискванията на Директива (ЕС) 2020/2184 и Наредба № 9/2001 за качеството на водата, предназначена за питейно-битови цели, и е включен в обхвата на акредитираната дейност на ИЦ „Здраве“ към НЦОЗА.
2. Резултатите за съдържание на микроцистини, получени чрез ELISA анализ, са сравними с концентрациите получени при HPLC анализа.

Наличие и динамика на микроцистини

3. Изследваните язовири Искър, Студена и Красава се характеризират с преобладаващо β-мезосапробно състояние и олиго-мезотрофен статус, без установяване на устойчиви масови цианобактериални цъфтежи в периода 2023–2025 г.
4. Фитопланктонните съобщества са доминирани предимно от диатомови водорасли, като присъствието на цианобактерии е ограничено и не показва трайна тенденция към доминиране.
5. В язовир Студена са установени измерими концентрации на микроцистини през 2023 г. и 2024 г., включително стойности, доближаващи нормативната граница за микроцистин–LR (1 µg/L), както и повишени концентрации в повърхностни цъфтежни петна. Данните потвърждават епизодичен, но повтаряем характер на продукцията на токсини.
6. В язовир Красава и в различни пунктове на язовир Искър през 2023 г. са установени само следови количества микроцистин–LR еквиваленти, без потвърдена устойчивост на продукцията на токсини в следващите години.
7. През 2025 г. в изследваните водни проби не е установено наличие на микроцистини.

Връзка с факторите на околната среда

8. Не се установява устойчива линейна зависимост между концентрациите на общ азот и общ фосфор и съдържанието на микроцистини. Зависимостите между концентрациите на микроцистини и нутриентите в изследваните язовири са слаби до умерени и в повечето случаи не достигат статистическа значимост ($p < 0,05$). Най-

изразени корелации се наблюдават в яз. Искър, докато при яз. Студена и яз. Красава връзката между микроцистините и нутриентите е по-слабо изразена, което показва, че продукцията на токсини не се определя единствено от нутриентното обогатяване.

9. Епизодичното наличие на микроцистини кореспондира с:

- лятно-есенния температурен максимум;
- разрушаването на температурната стратификация;
- сезонната миксия на водните маси;
- локално повишени концентрации на нутриенти.

10. Установените по-високи концентрации на микроцистини през есенния период предполагат освобождаване на вътреклетъчни токсини вследствие на лизис на цианобактериалната биомаса при промяна на хидрофизичните условия.

Оценка на риска

11. Сред изследваните водоеми язовир Студена проявява най-висок потенциал за епизодична продукция на токсини, докато язовирите Искър и Красава демонстрират по-стабилен екологичен статус и нисък токсикологичен риск.

12. Получените резултати потвърждават необходимостта от динамичен сезонен мониторинг на питейните язовири, особено в периоди на повишени температури и хидрофизични промени, в съответствие с изискванията на европейското законодателство.

6. ПРЕПОРЪКИ

6.1. Мониторинг на уязвими водоеми

Проведеното проучване на сезонната динамика на микроцистини в питейни язовири в района на гр. София за периода 2023–2025 г. идентифицира язовир Студена като водоем с повишена уязвимост по отношение на епизодична продукция на цианотоксини.

Установените концентрации на микроцистини, доближаващи нормативната стойност от 1 µg/L за микроцистин–LR, налагат включването на този показател в регулярните мониторингови програми за качеството на водите, предназначени за питейно-битово водоснабдяване.

Препоръчва се проследяването да се осъществява с повишена честота през топлите месеци и началото на есенния сезон, когато рискът от цианобактериални събития е най-висок.

6.2. Превантивен мониторинг при потенциално застрашени язовири

В условията на динамично променящ се климат и засилващи се процеси на еутрофикация е необходимо да се прилага превантивен подход при оценката на риска за питейните водоизточници.

Водоеми като язовирите Искър и Красава, при които са установени само следови количества микроцистини, следва също да бъдат включени в периодични наблюдения през сезоните с благоприятни условия за развитие на цианобактерии и продукция на токсини.

Подобен подход ще позволи ранно идентифициране на неблагоприятни тенденции и своевременно предприемане на управленски и технологични мерки за гарантиране безопасността на питейните води.

7. ПРИНОСИ

1. Разработен и валидиран е аналитичен метод „Води. Определяне съдържанието на микроцистини чрез HPLC“, въведен като вътрешнолабораторна методика за изпитване и включен в обхвата на акредитация на ИЦ „Здраве“ към НЦОЗА. Методът може да бъде използван за контрол на съдържанието на микроцистин–LR, съгласно Директива (ЕС) 2020/2184 и Наредба № 9/2001 за качеството на водата, предназначена за питейно-битови цели.
2. За първи път в България е извършено системно проучване на сезонната динамика на микроцистини и основни нутриенти във водоеми, използвани за питейно водоснабдяване.
3. За първи път е проследена сезонната динамика на микроцистини и нутриенти (пролет–лято–есен) в периода 2023–2024 г. в основния водоизточник на столицата – язовир Искър, чрез пробонабиране от три пункта: яз. Искър – водовземна кула, яз. Искър – Щъркелово гнездо и яз. Искър – ветроходна база.
4. За първи път е извършена оценка на динамиката на микроцистини на входа на ПСПВ Панчарево (бент Кокаляне) като част от водоснабдителната система на язовир Искър.
5. За първи път е охарактеризирана сезонната динамика на микроцистини и нутриенти (пролет–лято–есен) в периода 2023–2025 г. в питейния язовир Студена, водоизточник за гр. Перник и региона.
6. За първи път е охарактеризирана сезонната динамика на микроцистини и нутриенти (пролет–лято–есен) в периода 2023–2025 г. в язовир Красава, използван за питейно водоснабдяване на гр. Брезник и прилежащите населени места.
7. Получените резултати допълват и надграждат дългогодишните изследвания на цианотоксини във водоеми в района на гр. София, провеждани в НЦОЗА от 2004 г., като разширяват базата данни за риска от продукция на токсини в питейни водоизточници.
8. Дисертационният труд предоставя научна основа за въвеждане на мониторинг на микроцистин–LR в съответствие с изискванията на Директива (ЕС) 2020/2184, като включва и съпътстващите хомолози микроцистин–YR и –RR за по-пълна оценка на риска.
9. Генерираната информация може да бъде използвана при разработване на програми за оценка на риска и управление на качеството на повърхностните води, предназначени за питейни цели.

8. ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1А. Данни от валидиране на метод за изпитване на „Води. Определяне съдържанието на микроцистини чрез HPLC“.

№	Вид дейност	Изпълнение
1.	Наименование на метода за изпитване	Води. Определяне съдържанието на микроцистини чрез HPLC
2.	Параметър	Концентрация на: I/ микроцистин–RR II/ микроцистин–YR III/ микроцистин–LR
3.	Кратко описание на метода	Методът се отнася до количествено и качествено определяне на микроцистини в сурова вода (която съдържа биомаса) и обработена вода, като чешмяната вода. Водните проби се екстрахират чрез твърдофазна екстракция (SPE). Микроцистините се елуират от SPE картриджи с метанол, екстрактите се изпаряват до сухо и се добавя разтвор метанол/вода 50/50 (v/v), който след филтруване се хроматографира. Микроцистините се определят количествено чрез обратно-фазова високо ефективна течна хроматография (HPLC) с диод аррей детекция при 238 nm.

4.	Кратко описание на процедурата по валидиране	<p>При валидирането са използвани:</p> <p>I/ CRM Microcystin–RR, (10,1 ± 1,1) µg/mL, Eurofins, Abraxis</p> <p>II/ RM Microcystin–YR, 10 µg/mL, >95 %, Eurofins, Abraxis</p> <p>III/ CRM Microcystin–LR, (11,5 ± 0,7) µg/mL, Eurofins, Abraxis</p> <p>в три точки от работния обхват:</p> <p>I/ 0,206 µg/L, 0,515 µg/L, 1,010 µg/L</p> <p>II/ 0,204 µg/L, 0,510 µg/L, 1,000 µg/L</p> <p>III/ 0,235 µg/L, 0,587 µg/L, 1,150 µg/L</p> <p>Потвърдени са следните основни характеристики на метода:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ граница на откриване/определяне – празна проба (n=12); ▪ интервал на измерване; ▪ повторяемост/възпроизводимост; ▪ точност/изместване/RSD %; ▪ неопределеност.
5.	Техническо средство	<p>Течен хроматограф, тип “Agilent Series HP 1200”; № DE63058797; комплект с: DAD детектор; тип HP 1200, № DE64260531;</p> <p>“Agilent”, САЩ</p>
РЕЗУЛТАТИ ОТ ВАЛИДИРАНЕ НА МЕТОДА		
6.	Граница на откриване, µg/L	<p>I/ 0,125</p> <p>II/ 0,129</p> <p>III/ 0,097</p>
7.	Граница на определяне, µg/L	<p>I/ 0,202</p> <p>II/ 0,200</p> <p>III/ 0,230</p>
8.	Интервал на измерване, µg/L	<p>I/ От 0,202 до 1,515</p> <p>II/ От 0,200 до 1,500</p> <p>III/ От 0,230 до 1,725</p>

9.	Точност (в трите точки от работния обхват), %	I/ 91,99; 66,50; 64,94 II/ 90,98; 69,07; 61,86 III/ 123,79; 88,82; 73,22
10.	Изместване (в трите точки от работния обхват), %	I/ -8,01; -33,50; -35,06 II/ -9,02; -30,93; -38,14 III/ 23,79; -14,18; -26,78
11.	Относително стандартно отклонение RSD (в трите точки от работния обхват), %	I/ 3,05; 1,99; 1,49 II/ 2,81; 2,31; 2,07 III/ 3,11; 1,08; 0,80
12.	Граница на повторяемост (в трите точки от работния обхват), $\mu\text{g/L}$	I/ 0,031; 0,030; 0,050 II/ 0,017; 0,038; 0,036 III/ 0,041; 0,024; 0,032
13.	Граница на възпроизводимост (в трите точки от работния обхват), $\mu\text{g/L}$	I/ 0,032; 0,038; 0,055 II/ 0,029; 0,046; 0,072 III/ 0,051; 0,031; 0,038
14.	Неопределеност (в трите точки от работния обхват), $\mu\text{g/L}$	I/ 0,052; 0,085; 0,152 II/ 0,042; 0,060; 0,097 III/ 0,058; 0,082; 0,129

Приложение 1Б. Данни за оценяване на неопределеността при химичните измервания.

№	Наименование	Стойности
1.	Метод на изпитване	Води. Определяне съдържанието на микроцистини чрез HPLC
2.	Параметър, µg/mL	Концентрация на: I/ микроцистин–RR II/ микроцистин–YR III/ микроцистин–LR
3.	Използван СРМ	I/ CRM Microcystin–RR, (10,1 ± 1,1) µg/mL, Eurofins, Abraxis II/ RM Microcystin–YR, 10 µg/mL, >95 %, Eurofins, Abraxis, III/ CRM Microcystin–LR, (11,5 ± 0,7) µg/mL, Eurofins, Abraxis
4.	Единични стойности от паралелните измервания (в трите точки от работния обхват), µg/mL	I/ 0,193; 0,190; 0,190; 0,181; 0,197; 0,184; 0,196; 0,193; 0,183 0,340; 0,342; 0,337; 0,353; 0,348; 0,344; 0,347; 0,341; 0,330 0,669; 0,663; 0,644; 0,657; 0,651; 0,669; 0,648; 0,644; 0,656 II/ 0,182; 0,187; 0,187; 0,179; 0,181; 0,181; 0,190; 0,194; 0,189 0,363; 0,355; 0,357; 0,349; 0,366; 0,344; 0,343; 0,346; 0,348 0,636; 0,626; 0,618; 0,619; 0,626; 0,631; 0,599; 0,601; 0,610 III/ 0,278; 0,281; 0,286; 0,293; 0,297; 0,291; 0,289; 0,291; 0,309 0,497; 0,501; 0,511; 0,505; 0,501; 0,507; 0,497; 0,500; 0,511

		0,847; 0,855; 0,836; 0,848; 0,841; 0,843; 0,834; 0,835; 0,841
5.	Средноаритметична стойност на паралелните измервания (в трите точки от работния обхват), $\mu\text{g/mL}$	I/ 0,189; 0,343; 0,656 II/ 0,186; 0,352; 0,619 III/ 0,290; 0,503; 0,842
Неопределеност на входни величини, определени при измерването		
6.	Средноквадратична неопределеност на средноаритметичната стойност- $u(x_i)$ (в трите точки от работния обхват), $\mu\text{g/mL}$	I/ 0,0116; 0,0136; 0,0195 II/ 0,0104; 0,0163; 0,0257 III/ 0,0181; 0,0109; 0,0135
Неопределеност на входни величини, внесени от външни източници		
7.	Средноквадратична неопределеност на СРМ- $u(\Delta C_{\text{СРМ}})$, $\mu\text{g/mL}$	I/ 0,550 II/ 0,029 III/ 0,350
8.	Неопределеност от стъклария- $u(v)$, mL	I/ 2,25531 II/ 2,25531 III/ 2,25531
9.	Неопределеност от средство за измерване- $u(c_u)$ (в трите точки от работния обхват), дименсия	I/ 0,545; 0,547; 0,671 II/ 0,723; 0,579; 0,660 III/ 0,335; 0,436; 0,790
10.	Комбинирана средноквадратична неопределеност- u_c (в трите точки от работния обхват), $\mu\text{g/mL}$	I/ 0,026; 0,042; 0,076 II/ 0,021; 0,030; 0,049 III/ 0,029; 0,041; 0,064
11.	Разширена неопределеност- U (в трите точки от работния обхват), $\mu\text{g/mL}$	I/ 0,052; 0,084; 0,152 II/ 0,042; 0,060; 0,097 III/ 0,058; 0,082; 0,129
12.	Заявена допустима неопределеност на приложения метод- Δ , $\mu\text{g/mL}$	I/ 0,165 II/ 0,163 III/ 0,187

13.	Оценка - $U \leq \Delta$, (в трите точки от работния обхват), $\mu\text{g/mL}$	I/ $0,052 \leq 0,165$ $0,084 \leq 0,165$ $0,152 \leq 0,165$
		II/ $0,042 \leq 0,163$ $0,060 \leq 0,163$ $0,097 \leq 0,163$
		III/ $0,058 \leq 0,187$ $0,082 \leq 0,187$ $0,129 \leq 0,187$

14. Бюджет на неопределеност

I/ 0,206 µg/L

Входни величини		Средноквадратична Неопределеност $u(x)$	Относителна средноквадратична неопределеност $\frac{u(x)}{x}$	Относителен принос към общата неопределеност $\frac{u(x)/x}{\sum u(x)/x}$
описание	стойност			
СИ	23,268	0,54458	0,02340	0,26560
мерителен цилиндър 1000 mL	1000	2,25531	0,00225	0,02559
пипета 100- 1000 µl	500	3,52840	0,00705	0,08008
пипета 20-200 µl	150	1,26960	0,00846	0,09605
пипета 100- 1000 µl	850	6,02490	0,00709	0,08044
пипета 20-200 µl	136	1,26963	0,00934	0,10594
Измерена конц. на проба добавка, µg/mL	0,379	0,01156	0,03051	0,34628
Комбинирана неопределеност, µg/mL		средноквадратична		0,026
Разширена неопределеност, µg/mL				0,052

I/ 0,515 µg/mL

Входни величини		Средноквадратична Неопределеност $u(x)$	Относителна средноквадратична неопределеност $\frac{u(x)}{x}$	Относителен принос към общата неопределеност $\frac{u(x)/x}{\sum u(x)/x}$
описание	стойност			
СИ	58,483	0,54709	0,00935	0,14511
мерителен цилиндър 1000 mL	1000	2,25531	0,00226	0,03499
пипета 100- 1000 µl	500	3,52840	0,00706	0,10947
пипета, 20- 200 µl	150	1,26960	0,00846	0,13130
пипета, 100- 1000 µl	850	6,02490	0,00709	0,10996
пипета 100- 1000 µl	340	3,52842	0,01038	0,16099
Измерена конц. на проба с добавка, µg/mL	0,685	0,54709	0,00935	0,14511
Комбинирана неопределеност, µg/mL			средноквадратична	0,042
Разширена неопределеност, µg/mL				0,084

I/ 1,010 µg/mL

Входни величини		Средноквадратична Неопределеност $u(x)$	Относителна средноквадратична неопределеност $\frac{u(x)}{x}$	Относителен принос към общата неопределеност $\frac{u(x)/x}{\sum u(x)/x}$
описание	стойност			
СИ	104,908	0,67128	0,00640	0,16170
мерителен цилиндър 1000 mL	1000	2,25531	0,00226	0,05699
пипета 100- 1000 µl	500	3,52840	0,00706	0,17833
пипета 20- 200 µl	100	0,89888	0,00899	0,22716
Измерена конц. на проба с добавка, µg/mL	1,312	0,67128	0,00640	0,16170
Комбинирана неопределеност, µg/mL			средноквадратична	0,076
Разширена неопределеност, µg/mL				0,152

II/ YR 0,204 µg/mL

Входни величини		Средноквадратична Неопределеност $u(x)$	Относителна средноквадратична неопределеност $\frac{u(x)}{x}$	Относителен принос към общата неопределеност $\frac{u(x)/x}{\sum u(x)/x}$
описание	стойност			
СИ	20,980	0,72314	0,03447	0,35608
мерителен цилиндър 1000 mL	1000	2,25531	0,00226	0,02330
пипета 100- 1000 µl	500	3,52840	0,00706	0,07290
пипета, 20- 200 µl	150	1,26960	0,00846	0,08744
пипета, 100- 1000 µl	850	6,02490	0,00709	0,07323
пипета 20- 200 µl	136	1,26963	0,00934	0,09644
Измерена конц. на проба с добавка, µg/mL	0,371	0,01044	0,02813	0,29060
Комбинирана неопределеност, µg/mL		средноквадратична	0,021	
Разширена неопределеност, µg/mL			0,042	

II/ YR 0,551 µg/mL

Входни величини		Средноквадратична Неопределеност $u(x)$	Относителна средноквадратична неопределеност $\frac{u(x)}{x}$	Относителен принос към общата неопределеност $\frac{u(x)/x}{\sum u(x)/x}$
описание	стойност			
СИ	57,982	0,57941	0,00999	0,14627
мерителен цилиндър 1000 mL	1000	2,25531	0,00226	0,03301
пипета 100- 1000 µl	500	3,52840	0,00706	0,10329
пипета, 20- 200 µl	150	1,26960	0,00846	0,12389
пипета, 100- 1000 µl	850	6,02490	0,00709	0,10375
пипета, 100- 1000 µl	340	3,52842	0,01038	0,15190
Измерена конц. на проба с добавка, µg/mL	0,705	0,01626	0,02308	0,33790
Комбинирана неопределеност, µg/mL		средноквадратична	0,030	
Разширена неопределеност, µg/mL			0,060	

II/ YR 1,000 µg/mL

Входни величини		Средноквадратична Неопределеност $u(x)$	Относителна средноквадратична неопределеност $\frac{u(x)}{x}$	Относителен принос към общата неопределеност $\frac{u(x)/x}{\sum u(x)/x}$
описание	стойност			
СИ	90,253	0,66030	0,00732	0,15779
мерителен цилиндър 1000 mL	1000	2,25531	0,00226	0,04864
пипета 100- 1000 µl	500	3,52840	0,00706	0,15220
пипета 20- 200 µl	100	0,89888	0,00899	0,19387
Измерена конц. на проба с добавка, µg/mL	1,237	0,0257	0,02075	0,44750
Комбинирана неопределеност, µg/mL			средноквадратична	0,049
Разширена неопределеност, µg/mL				0,097

III/ LR 0,235 µg/mL

Входни величини		Средноквадратична Неопределеност $u(x)$	Относителна средноквадратична неопределеност $\frac{u(x)}{x}$	Относителен принос към общата неопределеност $\frac{u(x)/x}{\sum u(x)/x}$
описание	стойност			
СИ	45,370	0,33480	0,00738	0,10147
мерителен цилиндър 1000 mL	1000	2,25531	0,00226	0,03101
пипета 100- 1000 µl	500	3,52842	0,00706	0,09704
пипета 20- 200 µl	150	1,26963	0,00846	0,11639
пипета 100- 1000 µl	850	6,02490	0,00709	0,09747
пипета 20- 200 µl	136	1,26963	0,00934	0,12837
Измерена конц. на проба с добавка, µg/mL	0,581	0,01809	0,03114	0,42824
Комбинирана неопределеност, µg/mL		средноквадратична	0,029	
Разширена неопределеност, µg/mL			0,058	

III/ LR 0,587 µg/mL

Входни величини		Средноквадратична Неопределеност $u(x)$	Относителна средноквадратична неопределеност $\frac{u(x)}{x}$	Относителен принос към общата неопределеност $\frac{u(x)/x}{\sum u(x)/x}$
описание	стойност			
СИ	83,323	0,43593	0,00523	0,10194
мерителен цилиндър 1000 mL	1000	2,25531	0,00226	0,04394
пипета 100- 1000 µl	500	3,52840	0,00706	0,13750
пипета, 20- 200 µl	150	1,26960	0,00846	0,16492
пипета 100- 1000 µl	850	6,02490	0,00709	0,13811
пипета 100- 1000 µl	340	3,52842	0,01038	0,20221
Измерена конц. на проба с добавка, µg/mL	1,007	0,01092	0,01085	0,21137
Комбинирана неопределеност, µg/mL		средноквадратична	0,041	
Разширена неопределеност, µg/mL		0,082		

III/ LR 1,150 µg/mL

Входни величини		Средноквадратична Неопределеност $u(x)$	Относителна средноквадратична неопределеност $\frac{u(x)}{x}$	Относителен принос към общата неопределеност $\frac{u(x)/x}{\sum u(x)/x}$
описание	стойност			
СИ	126,883	0,79029	0,00623	0,19135
мерителен цилиндър 1000 mL	1000	2,25531	0,00226	0,06929
пипета 100- 1000 µl	500	3,52840	0,00706	0,21680
пипета 20- 200 µl	100	0,89888	0,00899	0,27615
Измерена конц. на проба с добавка, µg/mL	1,684	0,01351	0,00802	0,24641
Комбинирана неопределеност, µg/mL			средноквадратична	0,064
Разширена неопределеност, µg/mL				0,129

9. ЛИТЕРАТУРА

1. Golubic, S., & Seong-Joo, L. (1999). Early cyanobacterial fossil record: preservation, palaeoenvironments and identification. *European Journal of Phycology*, 34(4), 339–348.
2. Dvořák, P. (2013). Morphological and genetical variability of cyanobacteria. Ph.D. thesis, Palacký University Olomouc, Faculty of Science, Department of Botany, Olomouc.
3. Bergman, B., Ran L., & Adams D. G. (2008). Cyanobacterial–plant symbioses: Signalling and Development, In: A. Herrero, E. Flores (Eds.), *The Cyanobacteria: Molecular Biology, Genomics and Evolution*, 447–473. Caister Academic Press, U.K.
4. Cohen, Y., Jørgensen, B. B., Revsbech, N. P., & Poplawski, R. (1986). Adaptation to hydrogen sulfide of oxygenic and anoxygenic photosynthesis among cyanobacteria. *Applied and environmental microbiology*, 51(2), 398–407.
5. Stal, L. J., & Moezelaar, R. (1997). Fermentation in cyanobacteria. *FEMS microbiology reviews*, 21(2), 179–211.
6. Schindler, D. W. (2006). Recent advances in the understanding and management of eutrophication. *Limnology and oceanography*, 51(1part2), 356–363.
7. Lampert, W., & Sommer, U. (2007). *Limnoecology: the ecology of lakes and streams*. Oxford university press.
8. Codd, G. A., Azevedo, S. M. F. O., Bagchi, S. N., Burch, M. D., Carmichael, W. W., Harding, W. R., Kaya K., & Utkilen, H. C. (2005). *Cyanonet. A global network for cyanobacterial bloom and toxin risk management. Initial situation assessment and recommendations//Int. Hydrol. Progr VI (Unesco, Paris), Tech. Doc. Hydrol, 76, 138.*
9. Directive (EU) 2020/2184 of 16 December 2020 on the quality of water intended for human consumption (as amended 20.12.2020). <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2020/2184/oj/eng>
10. Ordinance No. 9/2001 on the quality of water intended for drinking purposes (promulgated in SG No. 30 of 2001, as amended in SG No. 9 of 23 Jan 2026). <https://lex.bg/laws/ldoc/-549175806>
11. Blank, C. E., & Sanchez-Baracaldo, P. (2010). Timing of morphological and ecological innovations in the cyanobacteria—a key to understanding the rise in atmospheric oxygen. *Geobiology*, 8(1), 1–23.
12. Soo, R. M., Hemp, J., Parks, D. H., Fischer, W. W., & Hugenholtz, P. (2017). On the origins of oxygenic photosynthesis and aerobic respiration in Cyanobacteria. *Science*, 355(6332), 1436–1440.

13. Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M., & Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(8), 471–483.
14. Zhao, C. S., Pan, X., Yang, S. T., Wang, X. L., Liu, X. J., Sun, Y., Yang Y., & Pan, T. L. (2020). Drivers of cyanobacterial blooms in lakes and reservoirs in Jinan City, China. *Marine and Freshwater Research*, *71*(5), 626–635.
15. Wang, H., Xu, C., Liu, Y., Jeppesen, E., Svenning, J. C., Wu, J., ... & Xie, P. (2021). From unusual suspect to serial killer: Cyanotoxins boosted by climate change may jeopardize megafauna. *The Innovation*, *2*(2), 100092.
16. Oliver, R. L., & Ganf, G. G. (2000). Freshwater blooms *In*: Whitton BA, Potts M, (Eds.). *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time*, 149-194. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
17. Mishra, S., Stumpf, R. P., Schaeffer, B., Werdell, P. J., Loftin, K. A., & Meredith, A. (2021). Evaluation of a satellite-based cyanobacteria bloom detection algorithm using field-measured microcystin data. *Science of The Total Environment*, *774*, 145462.
18. Skafi, M., Duy, S. V., Munoz, G., Dinh, Q. T., Simon, D. F., Juneau, P., & Sauv e, S. (2021). Occurrence of microcystins, anabaenopeptins and other cyanotoxins in fish from a freshwater wildlife reserve impacted by harmful cyanobacterial blooms. *Toxicon*, *194*, 44–52.
19. Li, H., Barber, M., Lu, J., & Goel, R. (2020). Microbial community successions and their dynamic functions during harmful cyanobacterial blooms in a freshwater lake. *Water Research*, *185*, 116292.
20. Chorus, I., & Bartram, J. (1999). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management (1st Ed.)*. CRC press. London.
21. Wehr, J. D., Sheath, R. G., & Kociolek, J. P. (Eds.). (2015). *Freshwater algae of North America: ecology and classification*. Elsevier, USA.
22. Watanabe, M. F., Harada, K. I., Carmichael, W. W., & Fujiki, H. (1996). *Toxic microcystis*. CRC press, USA.
23. Meriluoto, J., Spoof, L., & Codd, G. A. (Eds.). (2017). *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*. John Wiley & Sons, USA.
24. Chen, L., Chen, J., Zhang, X., & Xie, P. (2016). A review of reproductive toxicity of microcystins. *Journal of hazardous materials*, *301*, 381–399.
25. Hinojosa, M. G., Guti errez-Praena, D., Prieto, A. I., Guzm n-Guill n, R., Jos, A., & Came n, A. M. (2019). Neurotoxicity induced by microcystins and cylindrospermopsin: A review. *Science of the total environment*, *668*, 547–565.

26. Li, J., Li, R., & Li, J. (2017). Current research scenario for microcystins biodegradation—a review on fundamental knowledge, application prospects and challenges. *Science of the Total Environment*, 595, 615–632.
27. Loftin, K. A., Graham, J. L., Hilborn, E. D., Lehmann, S. C., Meyer, M. T., Dietze, J. E., & Griffith, C. B. (2016). Cyanotoxins in inland lakes of the United States: Occurrence and potential recreational health risks in the EPA National Lakes Assessment 2007. *Harmful algae*, 56, 77–90.
28. Kim, M., Kim, D., Kim, J., Hong, S., & Shin, K. H. (2021). Distribution of microcystins in environmental multimedia and their bioaccumulation characteristics in marine benthic organisms in the Geum River Estuary, South Korea. *Science of the Total Environment*, 757, 143815.
29. Ebrahimi, A., Jafari, N., Ebrahimpour, K., Karimi, M., Rostamnia, S., Behnami, A., ... & Abdollahnejad, A. (2021). A novel ternary heterogeneous TiO₂/BiVO₄/NaY-Zeolite nanocomposite for photocatalytic degradation of microcystin-leucine arginine (MC-LR) under visible light. *Ecotoxicology and environmental safety*, 210, 111862.
30. Carmichael, W.W. (1997). The Cyanotoxins. *Advances in Botanical Research*, 27, 211–256.
31. Codd, G. A. (1995). Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance. *Water Science and Technology*, 32(4), 149–156.
32. Harada, K. I. (2024). Chemistry and detection of microcystins. In: *Toxic microcystis*, 103–148. CRC Press. USA.
33. Sivonen, K. (1996). Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia*, 35(sup6), 12–24.
34. Sivonen, K., & Jones, G. (1999). Toxic cyanobacteria in water. In I. Chorus & J. Bartram (Eds.), *Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*, 41. E & FN Spon. London, UK.
35. Blaha, L., Marsalek, B., & Turanek, J. (1998). Compilation of abstracts. In *4th International Conference on Toxic Cyanobacteria*, Beaufort, NC, USA.
36. Domingos, P., Rubim, T. K., Molica, R. J. R., Azevedo, S. M. F. O., & Carmichael, W. W. (1999). First report of microcystin production by picoplanktonic cyanobacteria isolated from a northeast Brazilian drinking water supply. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 14(1), 31–35.

37. Prinsep, M. R., Caplan, F. R., Moore, R. E., Patterson, G. M., Honkanen, R. E., & Boynton, A. L. (1992). Microcystin-LA from a blue-green alga belonging to the Stigonematales. *Phytochemistry*, *31*(4), 1247–1248.
38. Codd, G. A. (2000). Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. *Ecological engineering*, *16*(1), 51–60.
39. Dvořáková, D., Dvořáková, K., Bláha, L., Maršálek, B., & Knotková, Z. (2002). Effects of cyanobacterial biomass and purified microcystins on malformations in *Xenopus laevis*: teratogenesis assay (FETAX). *Environmental Toxicology: An International Journal*, *17*(6), 547–555.
40. Falconer, I. R., & Humpage, A. R. (1996). Tumour promotion by cyanobacterial toxins. *Phycologia*, *35*(sup6), 74–79.
41. Lankoff, A., Krzowski, Ł., Głąb, J., Banasik, A., Lisowska, H., Kuszewski, T., ... & Wójcik, A. (2004). DNA damage and repair in human peripheral blood lymphocytes following treatment with microcystin-LR. *Mutation research/genetic toxicology and environmental mutagenesis*, *559*(1–2), 131–142.
42. Zhan, L., Sakamoto, H., Sakuraba, M., Wu, D. S., Zhang, L. S., Suzuki, T., ... & Honma, M. (2004). Genotoxicity of microcystin-LR in human lymphoblastoid TK6 cells. *Mutation research/genetic toxicology and environmental mutagenesis*, *557*(1), 1–6.
43. Ueno, Y., Nagata, S., Tsutsumi, T., Hasegawa, A., Watanabe, M. F., Park, H. D., ... & Yu, S. Z. (1996). Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis*, *17*(6), 1317–1321.
44. Gupta, N., Pant, S. C., Vijayaraghavan, R., & Rao, P. L. (2003). Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin variants (LR, RR, YR) in mice. *Toxicology*, *188*(2–3), 285–296.
45. Rinehart, K. L., Harada, K., Namikoshi, M., Chen, C., Harvis, C. A., Munro, M. H., ... & Beasley, V. R. (1988). Nodularin, microcystin, and the configuration of Adda. *Journal of the American Chemical Society*, *110*(25), 8557–8558.
46. Namikoshi, M., Choi, B. W., Sakai, R., Sun, F., Rinehart, K. L., Carmichael, W. W., ... & Blunt, J. W. (1994). New nodularins: a general method for structure assignment. *The Journal of Organic Chemistry*, *59*(9), 2349–2357.
47. De Silva, E. D., Williams, D. E., Andersen, R. J., Klix, H., Holmes, C. F., & Allen, T. M. (1992). Motuporin, a potent protein phosphatase inhibitor isolated from the Papua New Guinea sponge *Theonella swinhoei* Gray. *Tetrahedron letters*, *33*(12), 1561–1564.

48. Dow, C. S., & Swoboda, U. K. (2000). Cyanotoxins. In B. A. Whitton & M. Potts (Eds.), *The ecology of cyanobacteria: Their diversity in time and space* (613–632). Kluwer Academic Publishers.
49. Pitois, S., Jackson, M. H., & Wood, B. J. B. (2000). Problems associated with the presence of cyanobacteria in recreational and drinking waters. *International Journal of Environmental Health Research*, *10*(3), 203–218.
50. Briand, J. F., Jacquet, S., Bernard, C., & Humbert, J. F. (2003). Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Veterinary research*, *34*(4), 361–377.
51. Kearns, K. D., & Hunter, M. D. (2001). Toxin-Producing *Anabaena flos-aquae* Induces Settling of *Chlamydomonas reinhardtii*, a Competing Motile Alga. *Microbial ecology*, *42*(1), 80–86.
52. Chernova, E., Sidelev, S., Russkikh, I., Voyakina, E., & Zhakovskaya, Z. (2019). First observation of microcystin- and anatoxin-a-producing cyanobacteria in the easternmost part of the Gulf of Finland (the Baltic Sea). *Toxicon*, *157*, 18–24.
53. Du, X., Zhang, Y., Li, Q., & Wang, X. (2019). The diversity of cyanobacterial toxins and their structural characterization. *Toxins*, *11*, 206.
54. Meriluoto, J. (2000). B Toxins of freshwater cyanobacteria (blue-green algae). *Handbook of analytical separations*, *2*, 359-390.
55. Maršálek, B., Bláha, L., & Hindák, F. (2000). Review of toxicity of cyanobacteria in Slovakia. *Biologia*, *55*(6), 645–652.
56. Carmichael, W. W., Azevedo, S. M., An, J. S., Molica, R. J., Jochimsen, E. M., Lau, S., ... & Eaglesham, G. K. (2001). Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental health perspectives*, *109*(7), 663.
57. Azevedo, S. M., Carmichael, W. W., Jochimsen, E. M., Rinehart, K. L., Lau, S., Shaw, G. R., & Eaglesham, G. K. (2002). Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. *Toxicology*, *(181–182)*, 441–446.
58. Pouria, S., de Andrade, A., Barbosa, J., Cavalcanti, R. L., Barreto, V. T. S., Ward, C. J., ... & Codd, G. A. (1998). Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *The Lancet*, *352*(9121), 21–26.
59. Carmichael, W. W. (2001). Health effects of toxin-producing cyanobacteria: “The CyanoHABs”. *Human and ecological risk assessment: An International Journal*, *7*(5), 1393–1407.

60. Nishiwaki-Matsushima, R., Ohta, T., Nishiwaki, S., Suganuma, M., Kohyama, K., Ishikawa, T., ... & Fujiki, H. (1992). Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 118(6), 420–424.
61. Falconer, I. R. (1996). Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia*, 35(sup6), 6–11.
62. Meriluoto, J., Codd, G., Reilly, M., Metcalf, J. S., Spoof, L., Sjövall, O., ... & Tarczynska, M. (2005). TOXIC: cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis.
63. Burgess, C. (2001). A wave of momentum for toxic algae study. *Environmental Health Perspectives*, 109(4), 160.
64. Chorus, I. (Ed.). (2012). *Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries* (63). Berlin.
65. Moosová, Z., Šindlerová, L., Ambruzová, B., Ambrožová, G., Vašíček, O., Velki, M., Babica, P., & Kubala, L. (2019). Lipopolysaccharides from *Microcystis* cyanobacteria-dominated water bloom and from laboratory cultures trigger human immune innate response. *Toxins*, 11(4), 218.
66. U.S. Environmental Protection Agency. (2001, May 17–18). *Meeting summary: Creating target list for the unregulated contaminant monitoring rule*. Technical Service Center. <https://downloads.regulations.gov/EPA-HQ-OW-2015-0218-0063/content.pdf>
67. McKindles, K. M., Manes, M. A., DeMarco, J. R., McClure, A., McKay, R. M., Davis, T. W., & Bullerjahn, G. S. (2020). Dissolved microcystin release coincident with lysis of a bloom dominated by *Microcystis* spp. in western Lake Erie attributed to a novel cyanophage. *Applied and environmental microbiology*, 86(22), e01397-20.
68. Bláha, L., & Maršálek, B. (2003). Contamination of drinking water in the Czech Republic by microcystins. *Archiv für Hydrobiologie*, 158(3), 421–429.
69. Maršálek, B., Bláha, L., & Babica, P. (2003). Analyses of microcystins in the biomass of *Pseudanabaena limnetica* collected in Znojmo reservoir. *Czech Phycology, Olomouc 3*, 195–197.
70. Maršálek, B., Bláha, L., & Hindák, F. (2000). Review of toxicity of cyanobacteria in Slovakia. *Biologia*, 55(6), 645–652.
71. Albay, M., Matthiensen, A., & Codd, G. A. (2005). Occurrence of toxic blue-green algae in the Kucukcekmece lagoon (Istanbul, Turkey). *Environmental Toxicology: An International Journal*, 20(3), 277–284.

72. Albay, M., Akcaalan, R., Aykulu, G., Tufekci, H., Beattie, K. A., & Codd, G. A. (2003). Occurrence of toxic cyanobacteria before and after copper sulphate treatment in a water reservoir, Istanbul, Turkey. *Algological Studies* 109(1), 67–78.
73. Albay, M., Akcaalan, R., Tufekci, H., Metcalf, J. S., Beattie, K. A., & Codd, G. A. (2003). Depth profiles of cyanobacterial hepatotoxins (microcystins) in three Turkish freshwater lakes. *Hydrobiologia*, 505(1), 89–95.
74. Fastner, J., Abella, S., Litt, A., Morabito, G., Chorus, I., & others. (2021). Cyanobacterial toxins in drinking water reservoirs in Europe: Occurrence and management. *Water Research*, 189, 116543.
75. Mankiewicz-Boczek, J., Urbaniak, M., Romanowska-Duda, Z., & Kokociński, M. (2020). Cyanobacterial toxins in Polish drinking water reservoirs. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192, 1–15.
76. Valerio, E., Martins, J., Pacheco, M., & Pereira, P. (2021). Occurrence of cyanotoxins in drinking water reservoirs in Southern Europe. *Toxins*, 13(6), 1–18.
77. Bláhová, L., Oravec, M., Marsalek, B., & Bláha, L. (2020). Cyanotoxins in Czech drinking water sources. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 1–14.
78. Dirks, C., Cappelli, P., Blomqvist, M., Ekroth, S., Johansson, M., Persson, M., Drakare, S., Pekar, H., & Zuberovic Muratovic, A. (2024). Cyanotoxin occurrence and diversity in 98 cyanobacterial blooms from Swedish lakes and the Baltic Sea. *Marine Drugs*, 22(5), 199.
79. Faassen, E. J., & Lürling, M. (2013). Occurrence of the Microcystins MC-LW and MC-LF in Dutch surface waters and their contribution to total microcystin toxicity. *Marine Drugs*, 11(7), 2643–2660.
80. Messineo, V., Bogianni, S., Melchiorre, S., Sechi, N., Lugiè, A., Casiddu, P., ... & Bruno, M. (2009). Cyanobacterial toxins in Italian freshwaters. *Limnologica*, 39(2), 95–106.
81. Hobson, P., Burch, M., & Fallowfield, H. J. (1999). Effect of total dissolved solids and irradiance on growth and toxin production by *Nodularia spumigena*. *Journal of Applied Phycology*, 11(6), 551–558.
82. Lee, S. J., Jang, M. H., Kim, H. S., Yoon, B. D., & Oh, H. M. (2000). Variation of microcystin content of *Microcystis aeruginosa* relative to medium N: P ratio and growth stage. *Journal of Applied Microbiology*, 89(2), 323–329.
83. Wiedner, C., Visser, P. M., Fastner, J., Metcalf, J. S., Codd, G. A., & Mur, L. R. (2003). Effects of light on the microcystin content of *Microcystis* strain PCC 7806. *Applied and environmental microbiology*, 69(3), 1475–1481.

84. Orr, P. T., Jones, G. J., & Douglas, G. B. (2004). Response of cultured *Microcystis aeruginosa* from the Swan River, Australia, to elevated salt concentration and consequences for bloom and toxin management in estuaries. *Marine and Freshwater Research*, 55(3), 277–283.
85. Kotak, B. G., Lam, A. K., Prepas, E. E., & Hrudey, S. E. (2000). Role of chemical and physical variables in regulating microcystin-LR concentration in phytoplankton of eutrophic lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57(8), 1584–1593.
86. Carey, C. C., Ibelings, B. W., Hoffmann, E. P., Hamilton, D. P., & Brookes, J. D. (2012). Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water research*, 46(5), 1394–1407.
87. Westrick, J. A., Szlag, D. C., Southwell, B. J., & Sinclair, J. (2010). A review of cyanobacteria and cyanotoxins removal/inactivation in drinking water treatment. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 397(5), 1705–1714.
88. Carpenter, K. D., Rosen, B. H., Donahue, D., Duncan, K., Hilbrandt, B., Lewis, C., ... & Welch, E. (2025). Reservoir and riverine sources of cyanotoxins in oregon's cascade range rivers tapped for drinking water supply. *Phycology*, 5(2), 16.
89. Paerl, H. W., & Otten, T. G. (2013). Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. *Microbial ecology*, 65(4), 995–1010.
90. Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M., & Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 471–483.
91. Graham, J. L., Jones, J. R., Jones, S. B., Downing, J. A., & Clevenger, T. E. (2004). Environmental factors influencing microcystin distribution and concentration in the Midwestern United States. *Water research*, 38(20), 4395–4404.
92. Paerl, H. W., Fulton, R. S., Moisander, P. H., & Dyble, J. (2001). Harmful freshwater algal blooms, with an emphasis on cyanobacteria. *The Scientific World Journal*, 1(2), 76–113.
93. Sellner, K. G., Lacouture, B. R., & Parrish, C. R. (1988). Effects of increasing salinity on a cyanobacteria bloom in the Potomac River estuary. *Journal of Plankton Research*, 10(1), 49–61.
94. Havens, K. E., Philips, E. J., Cichra, M. F., & Li, B. L. (1998). Light availability as a possible regulator of cyanobacteria species composition in a shallow subtropical lake. *Freshwater Biology*, 39(3), 547–556.
95. Mur L. R., Skulberg O. M., & Utkilen H. (1999). Cyanobacteria in the Environmental. In: Chorus I, Bartram J. (Eds.). *Toxic cyanobacteria in water*, 15-40. London & New York: E & FN Spon. London, UK.

96. White, S. H., Fabbro, L. D., & Duivenvoorden, L. J. (2003). Changes in cyanoprokaryote populations, Microcystis morphology, and microcystin concentrations in Lake Elphinstone (Central Queensland, Australia). *Environmental Toxicology: An International Journal*, 18(6), 403–412.
97. Utkilen, H., & Gjølme, N. (1992). Toxin production by Microcystis aeruginosa as a function of light in continuous cultures and its ecological significance. *Applied and environmental microbiology*, 58(4), 1321–1325.
98. Almeida, V. P., Cogo, K., Tsai, S. M., & Moon, D. H. (2006). Colorimetric test for the monitoring of microcystins in cyanobacterial culture and environmental samples from southeast-Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37, 192–198.
99. Codd, G. A., Young, F. M., & Utkilen, H. C. (2005). Europe: Cyanobacteria, cyanotoxins, their health significance and risk management. *Cyanonet a global network for cyanobacterial bloom and toxin risk management. Initial situation assessment and recommendations*, 71–90.
100. Воденичаров, Д. (2000). Систематика на растенията. Част 1. Прокариотни водорасли и талусни растения. *Пенсофт*, 31–40.
101. Воденичаров, Д.; Темнискова, Д.; Стойнева, М.; Киряков, Ив.; Младенов, Ф. (2003). Ръководство за упражнения по систематика на водорасли и гъби. *Пенсофт*, 21-28.
102. Bláha, L., & Maršálek, B. (2000). Methods for determination and quantification of cyanobacterial toxins – a review. *Algological Studies* 99, 1–22.
103. Meriluoto, J. (2000). Toxins of freshwater cyanobacteria (blue-green alge). M.J. Bogusz (Ed.), Forensic Science, *Handbook of Analytical Separations 2*, Elsevier Science B.V., Chapter 11B, 359–390.
104. Shimizu, M., Iwasaki, Y., & Yamada, S. (1995). New fluorogenic dienophile: synthesis, reaction with vitamin D, vitamin A and microcystins, and application to fluorometric assays. *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 115(8), 584–602.
105. Murata, H., Shoji, H., Oshikata, M., Harada, K. I., Suzuki, M., Kondo, F., & Goto, H. (1995). High-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection of derivatized microcystins. *Journal of chromatography A*, 693(2), 263–270.
106. Erhard, M., von Döhren, H., & Jungblut, P. (1997). Rapid typing and elucidation of new secondary metabolites of intact cyanobacteria using MALDI-TOF mass spectrometry. *Nature biotechnology*, 15(9), 906–909.

107. Diehnelt, C. W., Dugan, N. R., Peterman, S. M., & Budde, W. L. (2006). Identification of microcystin toxins from a strain of *Microcystis aeruginosa* by liquid chromatography introduction into a hybrid linear ion trap-fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer. *Analytical Chemistry*, 78(2), 501–512.
108. Lanaras, T., & Cook, C. M. (1994). Toxin extraction from an *Anabaenopsis milleri*—dominated bloom. *Science of the total environment*, 142(3), 163–169.
109. Ding, C., Wang, Y., Zheng, Y., Lu, J., Wang, G., & Geng, X. (2026). Highly sensitive laser-induced fluorescence detector for algal identification by capillary electrophoresis. *Talanta Open*, 100631.
110. Lawton, L. A., Beattie, K. A., Hawser, S. P., Campbell, D. L., & Codd, G. A. (1994). Evaluation of assay methods for the determination of cyanobacterial hepatotoxicity. In *Detection Methods for Cyanobacterial Toxins*, 111–116. Woodhead Publishing.
111. Maršálek, B., & Bláha, L. (2000). Microbiotests for cyanobacterial toxins screening. In *New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring*, 519–525. Boston, MA: Springer US.
112. Maršálek, B., Le Du, A., Turanek, J., & Machala, M. (1995). Selection of bioassays for cyanotoxin detection. In *1st International Congress on Toxic Cyanobacteria*, 42.
113. Wu, H., Zhu, H., Li, Q., Gao, J., Du, J., Cao, L., ... & Xu, G. (2025). Study on the Toxicological Impacts of Intraperitoneal Microcystin-LR Injection on GIFT Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Through Multi-Omics Analysis. *Antioxidants*, 14(3), 296.
114. Fischer, W. J., Garthwaite, I., Miles, C. O., Ross, K. M., Aggen, J. B., Chamberlin, A. R., ... & Dietrich, D. R. (2001). Congener-independent immunoassay for microcystins and nodularins. *Environmental science & technology*, 35(24), 4849-4856.
115. Liu, S., Lin, M., Hu, X., Shen, C., Zhang, X., Xu, C., ... & Liu, X. (2023). Improved sensitivity of the anti-microcystin-LR ELISA using phage-displayed alpha-type anti-idiotypic nanobody. *Analytical Biochemistry*, 664, 115030.
116. Mountfort, D. O., Holland, P., & Sprosen, J. (2005). Method for detecting classes of microcystins by combination of protein phosphatase inhibition assay and ELISA: comparison with LC-MS. *Toxicon*, 45(2), 199–206.
117. BDS EN ISO 6878:2005 Water quality - Determination of phosphorus - Ammonium molybdate spectrometric method.
118. BDS EN ISO-5667-3:2024 Water quality - Sampling - Part 3: Preservation and handling of water samples.

119. Rusev, B. (1993). *Bases of Saprobiology*, Sofia, St. Kliment Ohridski University Press, (in Bulgarian).
120. Svirčev, Z., Krstić, S., Simeunović, J., Nakov, T., & Dulić, T. (2006). Comparative analysis of water quality methods for the monitoring of eutrophication regarding implementation of WFD in Serbia. *Geographica Pannonica*, (10), 32–42.
121. Rakocevic-Nedovic, J., & Hollert, H. (2005). Phytoplankton community and chlorophyll *a* as trophic state indices of Lake Skadar (Montenegro, Balkan) (7). *Environmental Science and Pollution Research*, 12(3), 146–152.
122. Kalinkov, P., Ribarova, I., Topalova, Y., Ninov, P., & Kukurin, K. (2003). Measuring planning for application of HSPF model for Iskar River catchment before Iskar reservoir. *Bul. Aqua*, 35–39.
123. Todorova, Y., & Topalova, Y. (2008). Functional profile of microbial community structure in critical points of upper Iskar subcatchment. *Bulgaria/, Natura Montenegrina*, 7(2), 345–356.
124. Stoineva-Gertner, M., & Uzunov, B. (2019). Report on the Phytoplankton Study of the Iskar Dam (23.08.2019), Sofia University St. Kliment Ohridski, Biological Faculty, Sofia.
125. Stoineva-Gertner, M., Uzunov, B., Pavlova, V., & Mitreva, M. (2020). Report on the Status and Potential of Microcystin–LR Production by Phytoplankton in Raw and Drinking Water from Iskar Dam; Internal Documentation of Sofiyska Voda JSC 2020; Sofiyska Voda: Sofia, Bulgaria.
126. Portal for electronic administrative services, Geodesy, cartography and cadaster agency, Republic of Bulgaria, <https://kais.cadastre.bg/bg/Map>
127. Nabatov, N., Tafrov, D., Hristova, T., Kanev, K., Popov, J., & Pelovski, N. (2011) Electricity in Bulgaria, Sofia, Tangra, 176–178. (in Bulgarian).
128. <https://breznik.egov.bg/wps/portal/municipality-breznik/home/important.messages>
129. <https://zapadno.com/2024/06/05>
130. Pavlova, V. (2007) Hygienic and analytical aspects of the presence of microcystins in surface waters, PhD thesis, National Center of Public Health Protection, Sofia (in Bulgarian).
131. Павлова В., Митрева, М. (2023). Проучване за наличие на цианотоксини и нутриенти в питеен язовир Искър (2017–2018), *Сборник доклади от годишна научна университетска конференция*, НВУ „Васил Левски“, В. Търново.
132. Pavlova, V., Babica, P., Todorova, D., Bratanova, Z., & Maršálek, B. (2006). Contamination of some reservoirs and lakes in Republic of Bulgaria by microcystins. *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 34(5), 437–441.

133. Pavlova, V., Stoyneva, M., Georgieva, V., Donchev, D., Spoo, L., Meriluoto, J., ... & Karadjova, I. (2014). New records of microcystins in some Bulgarian water bodies of health and conservational importance. *Journal of Water Resource and Protection*, 6, 446–453.
134. Georgieva, V., Pavlova, V., & Bratanova, Z. (2015). Hygienic assessment of the water reservoirs Studena, Bistrica and Pchelina, based on performed hydrobiological analyzes and determination of some cyanotoxins. *Bulgarian Journal of Public Health*, 7(4), 3–13.
135. Pavlova, V., Mitreva, M., Georgieva, V., Vasileva, K., Arsova, S., Rachinska, M., ... & Georgieva, T. (2023). Study of the presence of cyanotoxins, nutrients and composition of phytoplankton communities in the Studena Reservoir in the period 2017–2022. *Bulgarian Journal of Public Health*, 15(3), 33–49.
136. Mitreva, M., Georgieva, V., Rachinska, M., Sotirova, F., Lazarova, A., & Pavlova, V. (2024). Study of seasonal dynamics of microcystins, nutrients and composition of phytoplankton communities in Krasava dam in 2023, *Bulgarian Journal of Public Health*, 16 (4), 72–81.
137. Chorus, I., & Bartram, J. (1999). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. E & FN Spon. London, UK.
138. Toxins, C. (2020). Microcystins. Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality and Guidelines for Safe Recreational Water Environments. *World Health Organization: Geneva, Switzerland*, 33, 38–40.
139. Fastner, J., Rücker, J., Stüken, A., Preußel, K., Nixdorf, B., Chorus, I., ... & Wiedner, C. (2007). Occurrence of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in northeast Germany. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 22(1), 26–32.
140. Graham, J. L., Loftin, K. A., Meyer, M. T., & Ziegler, A. C. (2010). Cyanotoxin mixtures and taste-and-odor compounds in cyanobacterial blooms from the Midwestern United States. *Environmental science & technology*, 44(19), 7361–7368.
141. Paerl, H. W., & Otten, T. G. (2013). Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. *Microbial ecology*, 65(4), 995–1010.
142. Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M., & Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 471–483.
143. Carey, C. C., Ibelings, B. W., Hoffmann, E. P., Hamilton, D. P., & Brookes, J. D. (2012). Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water research*, 46(5), 1394–1407.

144. Kobos, J., Błaszczuk, A., Hohlfeld, N., Toruńska-Sitarz, A., Krakowiak, A., Hebel, A., ... & Mazur-Marzec, H. (2013). Cyanobacteria and cyanotoxins in Polish freshwater bodies. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 42(4), 358–378.
145. Westrick, J. A., Szlag, D. C., Southwell, B. J., & Sinclair, J. (2010). A review of cyanobacteria and cyanotoxins removal/inactivation in drinking water treatment. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 397(5), 1705–1714.
146. WHO (2021). Guidelines for Drinking-water Quality (4th ed., addendum).
147. Paerl, H. W., & Huisman, J. (2008). Blooms like it hot. *Science*, 320(5872), 57–58.
148. Wang, X., Liu, X., Qin, B., Gu, Z., Wu, Z., Xu, H., ... & Liu, H. (2015). Green algae dominance quickly switches to cyanobacteria dominance after nutrient enrichment in greenhouse with high temperature. *Journal of Ecology and Environment*, 38(3), 293–305.
149. Davis, T. W., Berry, D. L., Boyer, G. L., & Gobler, C. J. (2009). The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful algae*, 8(5), 715–725.
150. Hu, L., Wang, H., Cui, J., Zou, W., Li, J., & Shan, K. (2023). Temperature-dependent growth characteristics and competition of *Pseudanabaena* and *Microcystis*. *Water*, 15(13), 2404.
151. Reynolds, C. S. (2006). *The ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press.
152. Dziallas, C., & Grossart, H. P. (2011). Increasing oxygen radicals and water temperature select for toxic *Microcystis* sp. *PLoS One*, 6(9), e25569.
153. Davis, T. W., Berry, D. L., Boyer, G. L., & Gobler, C. J. (2009). The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful algae*, 8(5), 715–725.

10. ПУБЛИКАЦИИ

1. **Митрева, М., & Павлова, В.** (2018). Микроцистин–LR: Нов замърсител в европейската директива за питейни води. *Доклади от годишна университетска научна конференция на НВУ „В. Левски“*, 382–389, ISSN 2367-7481.
2. **Митрева, М., & Павлова, В.** (2023). Разработване на метод за определяне на микроцистин–LR и негови аналози чрез HPLC. *Доклади от годишна университетска научна конференция на НВУ „В. Левски“*, 1520–1528, ISSN 2367-7481.
3. **Mitreva, M., Karakashkova, P., & Pavlova, V.** (2024). Study of the seasonal dynamics of microcystins and nutrients in Kokalyane bent. *Mechanization in Agriculture & Conserving of the Resources*, 4, 159–161, ISSN 2603-3704.

11. УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ

1. **Митрева, М.,** В. Павлова, Микроцистин–LR: нов замърсител в европейската директива за питейни води, *Годишна университетска научна конференция на НВУ „В. Левски“*, 14–15 Юни 2018 г., Велико Търново, България (доклад).
2. **Митрева, М.,** В. Павлова, Разработване на метод за определяне на микроцистин–LR и негови аналози чрез HPLC, *Годишна университетска научна конференция на НВУ „В. Левски“*, 08–09 Юни 2023 г., Велико Търново, България (доклад).
3. **Mitreva, M.,** V. Pavlova. Development of a highly sensitive and reliable analytical method for determination of Microcystin–LR in drinking water. *5th International Environmental Chemistry Congress*, 30.10–02.11.2023, Antalya, Turkey, (постер).
4. Павлова, В., **М. Митрева**, Токсини на синьо-зелени водорасли – нов замърсител за мониторинг в Директивата за питейни води, *он-лайн семинар с международно участие в Европейска седмица на общественото здраве*, 13–17 май 2024 г., он-лайн (доклад).
5. Павлова, В., **М. Митрева**, М. Рачинска, Ф. Сотирова, Нови замърсители в ревизираната и транспонирана в българското законодателство Директива (ЕС) 2020/2184 относно качеството на водата, предназначена за консумация от човека, *XI^{та} Национална конференция по хранене*, 30 май–1 юни 2024 г., София, България (доклад).
6. **Митрева, М.,** В. Павлова, Кр. Иванов, М. Андров, П. Каракашкова, Д. Жиланов, В. Влахова, Микроцистин–LR – нов показател в ревизираната Директива (ЕС) 2020/2184 относно качеството на водата, предназначена за консумация от човека, *Семинар с международно участие „Инструментални техники и методи за химичен анализ-предизвикателства и нови решения“*, 5 юни 2024 г, Пловдив, България (постер).
7. **Mitreva, M.,** P. Karakashkova, K. Ivanov, M. Androv, V. Vlahova, D. Zhilanov, M. Rachinska, F. Sotirova, A. Lazarova, V. Pavlova, B. Uzunov. Study of Seasonal Dynamics of Microcystins and Nutrients in Iskar dam. *6th International Environmental Chemistry Congress*, 05.11–08.11.2024, Trabzon, Turkey (**постер отличен с първа награда**).
8. **Митрева, М.,** В. Павлова, В. Георгиева. Изследване на съдържанието на микроцистини в избрани водоеми в района на София, *семинар „Инструментални техники и методи за химичен анализ“*, 05.06.2025 г., Пловдив, България (постер).
9. Pavlova, V., **M. Mitreva.** Microcystin-LR as a New Parameter under the Revised EU Drinking Water Directive (2020/2184), *Twelfth National Conference on Chemistry, Chemistry for building a decarbonized society*, University of Chemical Technology and Metallurgy, 25–27.09.2025, Sofia, Bulgaria (постер).