

Министерство науки и высшего образования РФ  
Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт экологии и географии  
Кафедра экологии и природопользования

УТВЕРЖДАЮ Заведующий кафедрой

\_\_\_\_\_ И.Н.Безкорвайная

подпись инициалы, фамилия

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2019 г.

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

Dunalitlla tertiolecta как тест-объект для оперативной оценки воздействий  
МОДЕЛЬНЫХ ТОКСИКАНТОВ

тема

05.03.06 – Экология и природопользование

05.03.06.01 - Экология

Выпускник

\_\_\_\_\_

подпись, дата

А.В. Михайлова

инициалы, фамилия

Научный руководитель \_\_\_\_\_ ст.преподаватель, к.б.н. Е.С. Стравинскене

подпись, дата

должность, ученая степень инициалы, фамилия

Нормоконтролер

\_\_\_\_\_

подпись, дата

П.А. Красноперова

инициалы, фамилия

Красноярск 2019

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение .....	4
Глава 1 Литературный обзор .....	6
1.1 Биотестирование в системе биологического мониторинга.....	6
1.2 Замедленная флуоресценция растений как тест-функция.....	9
1.3 Характеристика токсикантов: медь, кадмий, цинк.....	11
1.4 Характеристика микроводоросли <i>Dunaliella tertiolecta</i> как тест-объекта.....	13
Глава 2 Материалы и методы.....	15
Глава 3 Результаты и обсуждения.....	19
3.1 Соответствие численности клеток и оптической плотности суспензии <i>D. tertiolecta</i> .....	19
3.2 Воздействие ионов $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ на прирост тест-культуры <i>D. tertiolecta</i> .....	21
3.3 Изменение параметров замедленной флуоресценции тест-культуры <i>D. tertiolecta</i> при воздействии ионов ТМ .....	24
3.4 Влияние условий экспозиции на чувствительность ЗФ тест-культуры к токсикантам.....	27
3.5 Сравнительный анализ чувствительности прироста и ЗФ тест-культуры <i>D. tertiolecta</i> к ионам меди, цинка и кадмия.....	33
Выводы.....	41
Список использованных сокращений.....	43
Список использованных источников.....	44

## ВВЕДЕНИЕ

Водоросли, как и высшие водные растения, представляют в водных экосистемах группу организмов-продуцентов. Им принадлежит ведущая роль в синтезе органического вещества, а также в формировании качества природных вод, что обусловило их широкое применение для оценки токсичности. Все эти факторы обусловили включение водорослей в число обязательных объектов исследований по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК) загрязняющих веществ в воде, а также при определении класса опасности сточных, морских и минерализованных вод [1]. Преимущество использования одноклеточных водорослей состоит в том, что они имеют короткий жизненный цикл, позволяющий оценивать последствия воздействия антропогенных факторов в ряду поколений, как на клеточном, так и на популяционном уровнях организации сообщества [2].

В последние годы в России происходит активное развитие различных биологических методов тестирования минерализованных водных проб. Так, в 2014 году введен межгосударственный стандарт, касающийся биотестирования качества морских и сточных вод на одноклеточных водорослях [3]. Согласно данному документу биотестирование проводится в течение 72 и 96 часов, при этом колбы с образцами встряхивают вручную 1-2 раза в сутки (либо непрерывно взбалтывают) для перемешивания. Контроль численности клеток проводится методом прямого счета в камере Горяева либо с использованием метода флуориметрии. Выполнение такого биотестирования является достаточно длительной и трудоемкой процедурой [4]. Вместе с тем, проведение биотестирования на высокопродуктивной морской водоросли *Dunaliella tertiolecta* Butcher с использованием созданных в СФУ оборудования и методологии могло бы позволить максимально автоматизировать процесс, а также существенно сократить время анализа проб.

Предыдущие исследования, нацеленные на создание биотеста с использованием галофильной микроводоросли *D. tertiolecta*, основывались на ростовых характеристиках тест-культуры. Вместе с тем, в Институте экологии и географии СФУ разработаны методология и приборная база для более оперативного биотестирования по оценке токсических воздействий на замедленную флуоресценцию, отражающую состояние фотосинтетического аппарата растений. При этом исследований отклика флуоресцентных показателей данной водоросли на стрессовые воздействия сравнительно мало. В связи с этим, целью настоящей работы являлась оценка чувствительности водоросли *Dunaliella tertiolecta* к модельным токсикантам (ионам меди, цинка и кадмия) по замедленной флуоресценции хлорофилла. В рамках данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить зависимость между численностью клеток и оптической плотностью суспензии *Dunaliella tertiolecta*.
2. Определить воздействие ионов меди, цинка и кадмия на прирост тест-культуры *D. tertiolecta*.
3. Оценить изменение параметров замедленной флуоресценции тест-культуры *D. tertiolecta* при токсических воздействиях ионов ТМ.
4. Выявить влияние условий экспозиции на чувствительность ЗФ тест-культуры к токсикантам.
5. Сравнить значения  $EC_{50}$  ионов меди, цинка и кадмия, полученные в биотестах на основе прироста и ЗФ тест-культуры водоросли *D. tertiolecta*.

## ВЫВОДЫ

Из проделанной работы следуют следующие выводы:

1. Между численностью клеток и оптической плотностью суспензии *Dunaliella tertiolecta* существует линейная зависимость в диапазонах оптической плотности 0,15 – 0,6 отн. ед.


2. Токсическое воздействие модельных токсикантов на культуру *Dunaliella tertiolecta* в виде 50%-ного подавления прироста численности клеток водоросли в период 48-ми часовой экспозиции выявлено при концентрациях 0,64; 1,72 и 119 ионов меди, кадмия и цинка соответственно.

3. Наиболее информативным параметром замедленной флуоресценции при оценке токсических воздействий ТМ на *Dunaliella tertiolecta* являлся ЗФв, поскольку увеличения значений ЗФн при повышении концентраций ионов меди, цинка и кадмия выявлено не было. Наименьшие значения ЕС<sub>50</sub>, полученные при оценке интенсивности ЗФв, составляли 1,7; 56 и 112 мг/дм<sup>3</sup> ионов меди, кадмия и цинка соответственно.

4. Предварительная экспозиция позволила увеличить чувствительность ЗФ тест-культуры к ионам ТМ. При этом, значения ЕС<sub>50</sub> ионов меди и кадмия снизились уже после 60 минутной экспозиции, а дальнейшее увеличение времени контакта клеток водоросли с данными ТМ не вызывало усиления токсического эффекта. Однако значения ЕС<sub>50</sub> ионов цинка снижались по мере роста времени экспозиции, и после 6-ти часового экспонирования эффективные концентрации, выявленные при измерении ЗФ, были сопоставимы с таковыми, оцененными через прирост тест-культуры.

5. Биотест на основе прироста культуры *D. tertiolecta* позволил выявить токсические воздействия ионов меди и кадмия при меньших концентрациях в сравнении с биотестом на основе ЗФ водоросли.

Министерство науки и высшего образования РФ  
Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт экологии и географии  
Кафедра экологии и природопользования

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
 И.Н. Безкоровайная  
подпись инициалы, фамилия  
« 01 » 07 2019 г.

### ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

*Dunaliella tertiolecta* как тест-объект для оперативной оценки  
воздействия модельных токсикантов

05.03.06 – Экология и природопользование

Выпускник

 26.06.19

А. В. Михайлова

Научный руководитель

подпись, дата  
  
подпись, дата

инициалы, фамилия  
Е. С. Стравинскене  
инициалы, фамилия

Нормоконтролер

 1.07.19  
подпись, дата

П.А. Красноперова  
инициалы, фамилия

Красноярск 2019