

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

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

## **ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

Влияние температуры среды и возраста тест-организмов *Artemia salina* на  
чувствительность биотеста

05.03.06 – Экология и природопользование

05.03.06.02 - Природопользование

Научный руководитель \_\_\_\_\_ доцент, канд. биол. наук. Т. Л. Шашкова

Выпускник \_\_\_\_\_ 16.06.2020 Е.С. Бородина

Нормоконтролер \_\_\_\_\_ П.А. Краснопёрова

Красноярск 2020

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	3
1 Обзор литературы .....	5
1.1 Биотестирование как современный метод оценки качества окружающей природной среды .....	5
1.2 Общая характеристика <i>Artemia salina</i> .....	6
1.3 <i>Artemia salina</i> как тест-объект .....	12
1.4 Особенности токсического воздействия ксенобиотиков на <i>Artemia salina</i> .....	14
1.5 Тяжелые металлы в водной среде .....	15
2 Объекты и методы исследования .....	19
2.1 Получение тест-культуры <i>Artemiasalinae</i> и методика проведения экспериментов .....	19
2.2 Изучение действия модельных токсикантов на выживаемость <i>Artemiasalinae</i> в условиях вращения.....	22
2.3 Изучение чувствительности артемий (к ионам кадмия и бихромату калия) при различных температуре среды (23, 25 и 27 °С) и возрасте науплий .....	22
2.4 Изучение времени выклева науплий <i>Artemiasalinae</i> при температуре, 25 и 27 °С.....	23
3 Результаты и обсуждения.....	25
3.1 Оценка действия модельных токсикантов на выживаемость <i>Artemia salina</i> в условиях вращения.....	25
3.3 Исследование скорости выклева науплий <i>Artemia salina</i> при температуре 25 и 27 °С .....	28
3.2 Оценка чувствительности артемий (к ионам кадмия и бихромату калия) при различных температуре среды (23, 25 и 27 °С) и возрасте науплий .....	31
Заключение .....	38
Список использованных источников .....	39

## ВВЕДЕНИЕ

В условиях современного загрязнения окружающей среды состав природных вод водоемов в значительной степени формируется под влиянием антропогенной нагрузки. На дне аккумулируется большое количество загрязняющих веществ разной природы: тяжелые металлы, нефтепродукты, органические вещества.

Современным методом оценки качества окружающей природной среды является биотестирование. Оно позволяет выявить на гидробионтах степень и характер токсичности воды, загрязненной биологически опасными веществами и оценить возможную опасность этой воды для водных и других организмов. Однако в существующих методиках имеется ряд недостатков, которые нужно прорабатывать и устранять. В связи с этим, актуальность проводимых нами научных исследований связана с необходимостью разработки, совершенствования и обновления методов биотестирования.

Для биотестирования токсичности гипергалинных сред наиболее часто используются жаброногие рачки *Artemia salina* [1]. Эти ракообразные, являясь обитателями и фильтраторами солоноводных водоёмов, играют важнейшую роль в их очистке и поддержании экосистемы в стабильном для неё состоянии.

В процедуре биотестирования используют начальную стадию развития рачков артемий – науплий, легко получаемых из цист. Эта особенность является преимуществом артемий для их использования в биотестировании, так как из цист за непродолжительное время выклеивается большое количество науплий, что снимает необходимость поддержания лабораторной культуры тест-организмов. Цисты артемий, в свою очередь, могут храниться продолжительное время [3]. В то же время скорость и синхронность выклева артемий может варьировать в зависимости от условий среды [47]. Кроме

того, способность тест-объектов переносить токсические нагрузки при загрязнении среды зависит от сопутствующих условий существования.

Для стабилизации этих факторов во время биотестирования можно использовать такие устройства как Климатостат-Р2, где поддерживаются температура и освещённость и УЭР-03, который, благодаря вращению кассеты с пробами, поддерживает равномерность условий и газообмен с воздушной средой. Можно предположить, что созданные условия будут способствовать получению более достоверных результатов. В то же время неизвестно как условия вращения тестируемых проб, температура среды и возраст науплий скажутся на их жизнеспособности и чувствительности к токсикантам.

В связи с этим, целью данной работы являлось исследование чувствительности и оперативности метода биотестирования на *Artemia salina*, в зависимости от возраста науплий и температуры среды.

В рамках этой цели были поставлены следующие задачи:

- 1) оценить действие модельных токсикантов (бихромата калия и ионов кадмия) на выживаемость артемий в условиях вращения;
- 2) исследовать влияние температуры среды на время выклева науплий артемии;
- 3) исследовать влияние температуры среды на чувствительность артемий к модельным токсикантам;
- 4) исследовать влияние возраста науплий артемии на чувствительность к модельным токсикантам.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований были сделаны следующие выводы:

1. Условия вращения тестируемых проб обеспечивают необходимый уровень выживаемости науплий артемий в контрольном варианте опыта и не влияют на их чувствительность к модельным токсикантам.

2. Повышение температуры до 27°C ускоряет выклев науплий артемии, что способствует наиболее быстрому получению тест-материала. Разница между появлением первых науплий и большинством составляет в среднем 2 часа во всех опытах вне зависимости от температуры, что говорит об однородности культуры тест-организмов, получаемой для биотестирования.

3. Чувствительность артемий к ионам кадмия и бихромату калия зависит от температуры среды, и увеличивается с ее повышением в диапазоне от 23 до 27 °C.

4. Чувствительность науплий к бихромату калия и ионам кадмия повышается с увеличением возраста рачков с 24 часов до 48 часов от начала кыклева.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Бакаева, Е.Н. Биологические подходы к оценке экотоксикологического состояния водных экосистем : методическое пособие / Е. Н. Бакаева, А. М. Никаноров. – Москва : Известия вузов, 2006. – 3 с.

2. Александрова, В. В. Применение метода биотестирования в анализе токсичности природных и сточных вод (на примере Нижневартовского района Тюменской области) : монография / В. В. Александрова. — Нижневартовск: Изд-во Нижневарт. гуманит. ун-та, 2009. — 94 с.

3. Сёмик А. М. Современное состояние запасов жаброногого рачка артемии (*Artemiasalina* L.) в солёных озёрах республики Крым / А. М. Сёмик, А. О. Ушакова // Труды ЮгНИРО. – 2017. – Т. 54, № 1. – С. 137–141.

4. ГОСТ Р 53886-2010 (ИСО 14669:1999) Вода. Методы определения токсичности по выживаемости морских ракообразных. – Введ. 01.01.2012. – Москва : Стандартинформ, 2012. – 32 с.

5. Методика определения токсичности высокоминерализованных поверхностных и сточных вод, почв и отходов по выживаемости солоноватоводных рачков *ARTEMIA SALINA* L. / В.А. Терехова, Е. Ф. Исакова, Т.А. Самойлова, И.З. Ибатудлина. – Москва : ЛЭТАП, лаб. водной токсикологии МГУ ЭАЦ "Экоterra", 2009. – 27 с.

6. G. Libralato, E. Prato, L. Migliore, A.M. Cicero, L. Manfra A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp. // *Ecological Indicators*. – 2016. – Vol. 69. – P. 35-49

7. Петросян, А.Г. Методические рекомендации по морским биологическим тестам : авторефер. дис. канд. биол. наук : 03.00.18 / Петросян Анна Георгиевна. – Москва, 1996. – 28 с.

8. Артемия (лат. *Artemiasalina*) [Электронный ресурс]: сайт о артемии. Режим доступа: <http://animalworld.com.ua/news/Artemija-lat-Artemia-salina>

9. Varo, I. Serrano, R. Navarro, J. C. Lopez, F. J. Amat, F. Acute lethal toxicity of the organophosphorous pesticide chlorpyrifos to different species and

strains of Artemia. // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. – 1998.– Vol. 61. P. 778-785.

10. Спекторова Л.В. Обзор зарубежного опыта разведения артемии для использования ее в аквакультуре : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.10 / Спекторова Людмила Валерьевна. – Москва, 1984. – 63 с.

11. Рачки артемии (*Artemia*) - описание и жизненный цикл [Электронный ресурс]: сайт о артемии. Режим доступа:<https://www.aqvium.ru/126-rachki-artemii-opisanie-i-zhiznennyj-tsikl>

12. Nunes, B.S. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing / B.S. Nunes, F.D. Carvalho, L.M. Guilhermino, G. Van Stappen // *Environmental Pollution*. – 2006. – Vol. 144. - P. 453 – 462.

13. ArtemiaWorld 2016 [Электронный ресурс]: сайт о артемии. Режим доступа: <http://www.artemiaworld.com/home/index.php?lng=ru>

14. Кошелев, А.В. Гидроидные полипы рода *Cordylophora* в токсикологических исследованиях / А. В. Кошелев // *Экология моря*. – 2003. – № 4. – С. 1–4 .

15. Воронов, П.М. Сезонная численность и биомасса артемии и ее яиц в соленых озерах Крыма / П. М. Воронов // *Труды ВНИРО*. – 1973. – Т. ХСІV. –С. 170-178.

16. Пермякова, Г. В. Жаброногий рачок *Artemia* Leach, 1819 в гипергалинных озерах Алтая: на примере озера Большое Яровое :дис. ... канд. биол. наук : 03.02.10 / Пермякова Галина Валерьевна. – Москва, 2012. – 24 с.

17. Мур, Дж. Тяжелые металлы в природных водах / Дж. Мур, С. Рамамурти. – Москва : Мир, 1987. – 286 с.

18. Никаноров, А.М. Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах / А. М. Никаноров, А.В. Жулидов. – Санкт-Петербург : Гидрометеоиздат, 1991. – 312 с.

19. Tackaert, W. The biogeography of *Artemia* an updated review. In: *Artemia research and its application morphology, genetics, strain characterization*

and toxicology / W. Tackaert, P. Sorgeloos, D. A. Bengston, W. Declair, E. Jaspers // Universapress. – 1987. Vol 1. P. 129-135.

20. Строганов, Н.С. Методика определения токсичности водной среды : дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.16 / Строганов Николай Сергеевич. – Москва, 1978. – 60 с.

21. Миркин, Б. М. Экология России / Б. М. Миркин, Л. Г. Наумова. – Уфа :Изд-во БГПУ, 1995. – 232 с.

22. Сребняк, Е. А. Исследование воздействия нефтяного загрязнения на представителей бактерио -, фито - и зоопланктона экосистем Балтийского моря / Е. А. Сребняк // Ломоносов –2008: Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых. – Москва ; МАКС Пресс, 2008. № 3 – С.138– 141.

23. Руднева, И.М. Артемия - важнейший компонент гипергалинных водоемов юга Украины и Крыма / И. М. Руднева // Биоразнообразие артемии в странах СНГ: современное состояние ее запасов и их использование. – Москва ; Тюмень, 2004. – Т. 4, № 2. – С. 79-93.

24.Олиферов, А. Н. Реки и озера Крыма : учебник / А. Н. Алиферов, З. В. Тимченко. – Симферополь: ДОЛЯ, 2005. – 216 с.

25.Pérez, S. The mysid *Sirie llaarmataasa* model organismin marine ecotoxicology: comparative acute toxicity sensitivity with *Daphnia magna* / S. Perez, R. Veiras //Ecotoxicology. 2010. – Vol. 5. P.196-206.

26. Цалолихин, С. Я. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Ракообразные : в 2 т. / С. Я. Цалолихин; под. ред. С. Я. Цалолихина. – Санкт-Петербург : Наука, 1995. – Т.2. – 629 с.

27. Флеров, Б.А. Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных : / – Б. А. Флеров. – Санкт-Петербург : Л.: Наука, 1989. – 144 с.

28. Самойлова, Т. А. Отдаленные эффекты токсичного загрязнения среды на солоноводных беспозвоночных в культуре: дис. ... канд. биол. наук : 03.00.18. – Москва, 2006. – 119 с.



29. Svensson, B. M. *Artemia salina* as test organism for assessment of acute toxicity of leachate water from landfills / B. M. Svensson, L. Mathiasson, L. Martensson, S. Bergström // *Environ Monit Assess.* – 2005. – Vol.102. – P.309-21.

30. Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях / Ю.В. Алексеев // *Агропромиздат.* – 1987. – С. 137-142.

31. Филенко, Е. Ф. Компенсаторные изменения в ответе дафний на летальные воздействия. Реакции гидробионтов на загрязнение / Е. Ф. Филенко, Е. Ф. Исакова // *Наука.* – 1983. – С 135-140.

32. Patrick Sorgeloos, Claire Remiche-Van Der Wielen, Guido Persoone The use of of *Artemia* nauplii for toxicity tests - A critical analysis. // *Ecological indicators.* – 1978. – Vol. 2. – P. 249-255

33. Приказ Минприроды России от 04.12.2014 N 536"Об утверждении Критериев отнесения отходов к I - V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду". – Москва : Минюст России 29.12.2015 N 40330, 2014. – 11 с.

34. Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. – Введ. 27.04.2001. – Москва : РЭФИА, НИА – Природа, 2002. – 52 с.

35. Федосеева, Е. В. Практическая экотоксикология : оценка чувствительности биотест-культур : учебное пособие / Е. В. Федосеева, Н.Ю. Сапункова, В.А. Терехова. –Москва, 2016. - 55с.

36. Шилова Н. А. Влияние тяжелых металлов на представителей пресноводного фито- и зоопланктона в условиях засоления : автореферат дис. на соискание уч. степ. канд. биол. наук : 03.02.08 / Шилова Наталья Александровна. – Саратов. – 2014. - 127 с.

37. Мелехова, О. П. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / О. П. Мелехова, Е. И. Егорова, Т. И. Евгеньева [и др.]; под ред. О.

П. Мелеховой, Е. И. Егоровой. – М.: Издательский центр «Академия», 2007. – 288 с.

38. Коккова, В. Е. Непрерывное культивирование беспозвоночных / В. Е. Коккова – Москва : Наука СО АН СССР, 1980. – 168 с.

39. Hadjispyrou, S. Toxicity, bioaccumulation, and interactive effects of organotin, cadmium, and chromium on *Artemia franciscana* / S. Hadjispyrou, A. Kugolos, A. Anagnostopoulos // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2001. – Vol. 49. – P. 179-186.

40. Артына Н. К. Оценка токсичности высокоминерализованной водной среды рачковыми биотестами / Н. К. Артына, Ю. С. Григорьев, Т. Л. Шашкова // *Понт Эвксинский*. – 2019. – № 1. – С. 111-113.

41. Самойлова Т. А. Вариабельность характеристик выклева и роста артемии применяемой в биотестировании водной среды / Т. А. Самойлова // *Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность*. – 2019. – № 2. – С. 1442-1445.

42. Григорьев Ю. С. Биотестирование в экологическом мониторинге качества вод: решаемые задачи и возможности обеспечения воспроизводимости результатов токсикологического анализа / Ю. С. Григорьев // *Экология Южной Сибири и сопредельных территорий*. – 2017. – № 21. – С. 17-24.

43. Костромин Е. А. Влияние факторов среды (солёность, температура, освещение) на инкубацию *Artemia salina* в эксперименте / Е. А. Костромин // *Агрономия, ветеринария и зоотехния*. – 2017. – № 9. – С. 164-168.

44. Постнов И. Е. Разработка принципов биотестирования физиологически активных веществ в объектах природной среды : дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.13 / Постнов Иван Евстафьевич. – Нижний Новгород, 2001. – 230 с.

45. ГОСТ Р 52.24.741-2010 Оценка токсичности поверхностных вод суши в условиях чрезвычайных ситуаций методом экспрессного

биотестирования. – Введ. 01.10.2011. – Москва : «НПО» Тайфун», 2011. – 46 с.

46. Мироненко О. Е. Место метода биотестирования в структуре производственного экологического мониторинга при осуществлении поисково-разведочного бурения ОАО «Лукойл» на акватории северного каспия / О. Е. Мироненко, С. Н. Егоров // Науки о Земле. – 2007. – № 1. – С. 13-21.


47. Егоркина Г. И. Изменчивость токсического воздействия ксенобиотиков на выклев артемий в различных инкубационных средах / Г. И. Егоркина, Л. Н. Тарубаров, В. С. Мошкина // Мир науки, культуры, образования. – 2007. – № 1. – С. 14-16.

48. Биотестовый анализ – интегральный метод оценки качества объектов окружающей среды : учебно-методическое пособие / А. Г. Бубнов, С. А. Буйманова, А. А. Гуцин, Т. В. Извекова. – Иваново : Гос. ун-т химико-технологический. – 2007. – 112 с.

49. Иванова В. И. Экологическое состояние и генезис биоты гипергалинных водоемов Калмыкии : автореф. дис. ... канд. биологических наук : 03.02.08 / Иванова Вера Ивановна. – Саратов, 2013. – 20 с.

50. Лященко, О. А. Биоиндикация и биотестирование в охране окружающей среды : учебное пособие / О. А. Лященко. – Санкт-Петербург : СПб ГТУРП, 2012. – 67 с.

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. Безкоровайна  
« 16 » июня 2020 г.

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**


Влияние температуры среды и возраста тест-организмов *Artemia salina* на чувствительность биотеста

05.03.06 – Экология и природопользование

05.03.06.02 - Природопользование

Научный руководитель  доцент, канд. биол. наук. Т. Л. Шашкова

Выпускник  16.06.2020 Е.С. Бородина

Нормоконтролер  16.06.2020 П.А. Краснопёрова

Красноярск 2020

