

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

« 16 » июня 2020 г.

## **ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

Сравнительная оценка действия тяжелых металлов на водоросль хлорелла при коротких периодах культивирования по показателям светопоглощения и флуоресценция хлорофилла

05.03.06. – Экология и природопользование

05.03.06.02 – Природопользование

Руководитель \_\_\_\_\_ 16.06.2020 проф., канд.биол. наук Ю. С. Григорьев  
Выпускник \_\_\_\_\_ 16.06.2020 М. В. Тупикова  
Нормоконтролер \_\_\_\_\_ 16.06.2020 П. А. Красноперова

Красноярск 2020

## СОДЕРЖАНИЕ

|   |    |
|---|----|
| Введение.....   | 4  |
| 1 Обзор литературы .....  | 6  |
| 1.1 Методы биотестирования качества водной среды .....  | 6  |
| 1.2 Морфологические признаки <i>Chlorella vulgaris</i> и<br>её систематика .....  | 8  |
| 1.3 Использование водоросли <i>Chlorella vulgaris</i> как тест–объект.....  | 9  |
| 1.4 Загрязнение водной среды тяжелыми металлами.....  | 11 |
| 1.5 Влияние ТМ на растения .....  | 13 |
| 1.6 Токсичность меди.....   | 15 |
| 1.7 Токсичность цинка.....  | 16 |
| 1.8 Токсичность кадмия.....   | 16 |
| 1.9 Токсичность бихромата калия .....   | 17 |
| 2 Объект и методы исследования .....  | 19 |
| 2.1 Изучение влияния времени и интенсивности света при засветке<br>на прирост тест культуры.....  | 20 |
| 2.2 Изучение степени воздействия ТМ на водоросль <i>Chlorella vulgaris</i><br>методами регистрации флуоресценции хлорофилла.....  | 20 |
| 3 Результаты и обсуждения.....  | 21 |
| 3.1 Изучение влияния времени и интенсивности света при коротком<br>периоде культивирования на прирост тест культуры по показателю<br>светопоглощения.....                               | 21 |
| 3.2 Изучение степени воздействия ТМ на водоросль<br><i>Chlorella vulgaris</i> по изменению интенсивности нулевого уровня<br>флуоресценции после коротких периодов культивирования ..... | 24 |
| 3.3 Изучение степени воздействия ТМ на водоросль<br><i>Chlorella vulgaris</i> по изменению интенсивности замедленной<br>флуоресценции после коротких периодов культивирования .....     | 28 |
| Заключение .....  | 33 |

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| Список сокращений .....               | 34 |
| Список использованной литературы..... | 35 |

## ВВЕДЕНИЕ

В экологическом контроле (мониторинге) существуют методы исследования окружающей среды, которые позволяют следить за характером изменения состояния природных объектов [1].

На сегодняшний день экологический мониторинг включает в себя два основных направления:

1) физико-химический анализ объектов окружающей среды, который связан с предельно допустимой концентрацией химических веществ;

2) биологический контроль окружающей среды, включающий две группы методов биоиндикации и биотестирования.

Биотестирование - вид биологического контроля объектов окружающей среды, построенный на измерении тест-реакции тест-организма к вредному фактору.

В настоящее время биотестирование промышленных и городских сточных вод проводится для того, чтобы определить токсичность этих вод, возможности и условий подачи на сооружения биологической очистки, а также для оценки эффективности работы очистных сооружений и установления возможности сброса очищенных сточных вод в водоемы [2].

В качестве тест-организмов в водной среде используются различные гидробионты- водоросли, микроорганизмы, а также беспозвоночные. Оценка токсического эффекта при биотестировании проводится на основе регистрации тест-реакций организма, то есть это жизненные функции, характеризующие отклик тест-объекта на токсическое действие среды. Для одноклеточных водорослей тест-реакциями являются гибель клеток, изменение численности клеток в культуре, интенсивность фотосинтеза, средняя скорость роста, суточный прирост культуры [3].

На кафедре экологии и природопользования ИЭиГ разработаны методики биотестирования на водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer по

воздействию токсикантов на рост численности клеток и на изменение относительного показателя интенсивности замедленной флуоресценции (ОПЗФ) водоросли [4; 5; 6]. При работе по методике ОПЗФ, которая основана на оценке воздействия токсических веществ на фотосинтез, для обеспечения вхождения токсикантов в клетки водоросли требуется проводить предварительную одночасовую засветку тест-культуры водоросли. Вместе с тем, при увеличении длительности засветки до нескольких часов, во время которого происходит увеличение численности клеток, методом регистрации ОПЗФ можно выявлять воздействие одновременно на фотосинтез и на ростовые процессы в тест-организме. Такой методический прием может повысить чувствительность методики, сохранив ее оперативность.

В связи с этим, целью данной работы явилась сравнительная оценка степени воздействия тяжелых металлов на водоросль хлорелла по показателям светопоглощение и флуоресценция хлорофилла после коротких периодов культивирования.

Для ее решения необходимо выполнить следующие задачи:

1) исследовать влияние времени и интенсивности света при коротких периодах культивирования на прирост тест-культуры водоросли *Chlorella vulgaris* по изменению ее оптической плотности.

2) оценить степень воздействия ТМ на нулевой уровень быстрой флуоресценции водоросли после коротких периодов культивирования.

3) определить характер воздействия тяжелых металлов на тест-культуру водоросли по изменению интенсивности ее замедленной флуоресценции после коротких периодов культивирования.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований были сделаны следующие выводы:

Токсическое действие исследованных тяжелых металлов на прирост водоросли хлорелла, определяемый по изменению оптической плотности тест-культуры, проявляется уже после 4 часов культивирования. При увеличении времени до 6 часов токсический эффект усиливается. С повышением интенсивности светового облучения воздействие металлов возрастает.

После короткого периода культивирования нулевой уровень быстрой флуоресценции водоросли в присутствии тяжелых металлов снижается. Особенно хорошо данный эффект проявляется при внесении в среду ионов меди.

В наибольшей степени токсическое действие исследованные тяжелые металлы на водоросль *Chlorella vulgaris* при коротком периоде культивирования выявляется по изменению интенсивности замедленной флуоресценции. При повышении светового облучения в этот период реакция тест-объекта на тяжелые металлы усиливается.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клюев, В. В. Экологическая диагностика. / В. В. Клюев // – М. : Знание, 2000. – 496 с.
2. Чеснокова, С. М. Биологические методы оценки качества объектов окружающей среды. / С. М. Чеснокова, Н. В. Чугай // Методы биотестирования – уч. пособие. – Владимир : Владим. гос. ун-т. – 2008. С. 92.
3. Булгаков, Н. Г. Индикация состояния природных экосистем и нормирование факторов окружающей среды: обзор существующих подходов. / Н. Г. Булгаков // Успехи современной биологии. – 2002. – № 2. – С. 115–135.
4. Григорьев, Ю. С. Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris Beijer*) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления. / Ю. С. Григорьев. – Москва, 2004. – 36 с.
5. Пат. 2069851 Российская Федерация, МПК<sup>7</sup> 6G 01N 33/00 В. Способ определения фитотоксических веществ. / Ю. С. Григорьев, Е. А. Фуряев, А. А. Андреев ; заявитель и патентообладатель Григорьев Ю. С. – № 5054869/25 ; опубл. 15.07.96, Бюл. № 33.
6. Григорьев, Ю.С. Методика измерений относительного показателя замедленной флуоресценции культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris Beijer*) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления. / Ю. С. Григорьев, Е. С. Стравинскене // – Москва, 2009. – 36 с.
7. Шуберт, М. Биоиндикация загрязнений наземных экосистем. / М. Шуберт // – М. : Мир, 1988. – 350 с.

8. Cho Chul–Woong. Microalgal photosynthetic activity measurement system for rapid toxicity assessment. / Cho Chul–Woong // *Ecotoxicology*. – 2008. – С. 455–463.
9. Вассер, С. П. Водоросли. Справочник. / С. П. Вассер, Н. В. Кондратьева [и др.]. // – Киев : Наук. думка, 1989. – 608 с.
10. Рубин, А. Д. Химия промышленных сточных вод. / А. Д. Рубин. – М. : Химия, 1983. – 359 с.
11. Филипцова, Г. Г. Основы биохимии растений. / Г. Г. Филипцова, И. И. Смолич // – Изд–во БГУ, 2004. – 78 с.
12. Малеева, М. Г. Реакция гидрофитов на загрязнение среды тяжелыми металлами. / М. Г. Малеева, под ред. Г. Ф. Некрасова, В. С. Безель // *Экология*, 2004. С. 266–272.
13. Мельничук, Ю. П. Влияние ионов кадмия на клеточное деление и рост растений. / Ю. П. Мельничук. – Киев : Наук. Думка, 1990. 37 с.
14. Inmaculada. Copper effect on the protein composition of photosystem II. / Inmaculada, Yruela, Miguel, Alfonso, Matilde, Baron and Rafael, Picorel // *Physiologia plantarum*. – 2000. – 551–557 с.
15. Bitton, G. Determination of the heavy metal binding capacity (HMBC) of environmental samples. / G. Bitton, M. Ward, R. Dagan // *The Netherlands*, 2005. P. 215–232.
16. Maksymiec, W. Effect of copper on cellular processes in higher plants. / W Maksymiec // *Photosynthetica*. – 1997. – № 34.– P. 321–342.
17. Bitton, G. Microbial Enzyme Assay for the detection of Heavy Metal Toxicity. / G. Bitton, J. L. Morel // – 1998. P. 143–152.
18. Obst, U. Enzyme Ingibition for Examination of Toxic Effects in Aquatic Pollution. / U. Obst, A. Wessler, M. Wiegand-Rosinus // – 1998. P. 77–96.
19. Водоросли и грибы. / Г. А. Белякова, К. Л. Тарасов, Ю. Т. Дьяков. – 2006. – 314 с.
20. Культивирование и применение микроводорослей в народном хозяйстве: Материалы респ. конф. – Ташкент : Фан, 1980. – 152 с.



21. Одум, Ю. Экология. / Ю. Одум. – М. : Мир, 1986. – Т. 1. – 328 с.
22. Мельников, С. С. Хлорелла. / С. С. Мельников. – Мн. : Навука і тэхніка, 1991. – 79 с.
23. Лидин, Р. А. Химические свойства неорганических веществ. / Р. А. Лидин, В. А. Молочко, Л. Л. Андреева // Химия – уч. пособие. – 2000. С. 286.
24. Голлербах, М. М. Жизнь растений. / М. М. Голлербах. – Москва : Просвещение, 1977. – Т. 3. – 346 с.
25. Исидоров, В. А. Введение в химическую экотоксикологию: учеб. пособие. / В. А. Исидоров. – СПб. : Химиздат, 1999. – 144 с.
26. Линник, П. Н. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах. / П. Н. Линник, Б. И. Набиванец // Ленинград : Гидрометеоиздат, – 1986. – С. 241.
27. Shewry, P. R. The uptake and transport of chromium by barley seedling (*Hordeum vulgare* L.). / P. R. Shewry, P. J. Peterson // J. Exp. Bot. – 1974. – № 87. – P. 785–797.
28. Фримантл, М. Химия в действии. / М. Фримантл. – М. : Мир, 1991. 31 с.
29. Heijerick, D. G. Effect of Varying Physicochemistry of European Surface Waters on the Copper Toxicity to the Green Alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. / D. G. Heijerick // Ecotoxicology. – 2005. – С. 661–670.
30. Будников, Г. К. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных систем. / Г. К. Будников // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 5. С. 23-29.
31. Федоров, В. Д. Загрязнение водных экосистем (принципы изучения и оценки действия). / В. Д. Федоров // Самоочищение и биоиндикация загрязненных вод. – М. : Наука, 1990. – С. 21–23.

32. Jonsson, C. M. Effect of copper on the activation of the acid phosphatase from the green algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. / C. M. Jonsson // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2009. – 93-98 с.
33. Софронов, В. Г. Медико-биологические основы оценки опасности экотоксикантов. / В. Г. Софронов, под. ред. П. С. Румак, С. П. Поздняков, Н. В. Умнова // СПб. : ВмедА, 1999. 47 с.
34. Синицкая, А. М. Сравнительный анализ токсичности соединений тяжелых металлов и источников их возникновения. / А. М. Синицкая, Е. А. Семенов, А. Ю. Олефиренко, П. А. Козуб, Г. И. Гринь // Труды междунар. научно-метод. конф. : Экология – образование, наука и промышленность. – Белгород. – 2002.
35. Sunda, W. G. Effect of complexation by natural organic ligands on toxicity of copper to a unicellular alga, *monochrysis lutheri*. / W. G. Sunda, J. A. M. Lewis // *Limnol. Oceanogr.* – 1978. – № 23. – P. 870–876.
36. Мелехова, О. П. Биологический контроль окружающей среды. / О. П. Мелехова // *Биоиндикация и биотестирование*. – М. : Академия, 2007. – С. 33–50.
37. Алексеев, В. А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента. / В. А. Алексеев // *Гидробиологический журнал*. – 1981. – № 3. С. 92.
38. Zhou, J. L. Sorption and desorption of Cu and Cd by macroalgae and microalgae. / J. L. Zhou, P. L. Huang, R. G Lin. // *Environmental Pollution*. — 1998. – № 101. – С. 67–75.
39. Жукова, Н. И. Влияние тяжелых металлов на рост и развитие растений. / Н. И. Жукова // *Стратегия развития Дальнего Востока: возможности и перспективы. Материалы региональной научно-практической конференции. Уссурийский государственный педагогический институт. Хабаровск: издательство Дальневосточной народной академии наук, 2003.*

40. Пиментел, Ф. Х. Л. Микроводоросли как объект биомониторинга в условиях антропогенного стресса при действии тяжелых металлов: диссертация. / Ф. Х. Л. Пиментел. – Москва, 2004.
41. Криволицкий, Д. А. Биоиндикация и биомониторинг. / Д. А. Криволицкий. – М. : Наука. – 1991. – С. 6–7.
42. Демидчик, В. В. Поступление меди в растения и распределение в клетках, тканях и органах. / В. В. Демидчик; под ред. А. И. Соколик, В. М. Юрин // Успехи современной биологии. – 2001. – С. 190–197.
43. Ермаков, И. П. Физиология растений. / И. П. Ермаков. – 2-е. изд. – Москва : Академия, 2007. – 65 с.
44. Mallick, N. Copper-induced oxidative stress in the chlorophycean microalga *Chlorella vulgaris*: response of the antioxidant system. / N. Mallick // Journal of Plant Physiology. – 2004. – № 161. – P. 591–597.
45. Pawlik-Skowronska, B. Phytochelatin production in freshwater algae *Stigeoclonium* in response to heavy metals contained in mining water; effects of some environmental factors. / B. Pawlik-Skowronska // Aquatic Toxicology. – 2001. – № 52. – P. 241–249.
46. Константинов, А. С. Оценка и индикация состояния водных систем в условиях антропогенного воздействия: Научные основы контроля качества вод по гидробиологическим показателям. / А. С. Константинов // Труды Всесоюзной конференции. – Москва, 1978. – С. 75 – 78.
47. Демидчик, В. В. Токсичность избытка меди и толерантность к нему растений. / В. В. Демидчик, под ред. А. И. Соколик, В. М. Юрин // Успехи современной биологии. – 2001. – С. 511–525.
48. Константинов, А. С. Общая гидробиология: учебник для студентов биол. спец. вузов. / А. С. Константинов // М. : Высш. шк., 1986. – 472 с.
49. Pereira, M. J. Differences in the Effects of Metals on Growth of Two Freshwater Green Algae (*Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) Hindak and

Gonium pectorale Muller). / P. Resende, U. M. Azeiteiro // Environmental Toxicology and Chemistry – 2005. – 515–522 с.

50. Мур, Дж., Рамамурти, С. Тяжелые металлы в природных водах. / Дж. Мур. – М. : Мир, 1988. – 287 с.

51. Остроумов, С. А. О самоочищении водных экосистем. В сб. «Антропогенные влияния на водные экосистемы». / С. А. Остроумов под ред д.б.н. О.Ф. Филенко // М. : КМК, 2005. – 260 с.

52. Селивановская, С. Ю. Создание тест-системы для оценки токсичности многокомпонентных образований, размещаемых в природной среде. / С. Ю. Селивановская, В. З. Латыпова // Экология. – 2004. – № 1. – С. 21–25.

53. Brain, R. A. Biomarkers in Aquatic Plants: Selection and Utility. / R. A. Brain, N. Cedergreen // Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. – 2008. – № 198. – P. 49-110.

54. Katsumata, M. Rapid ecotoxicological bioassay using delayed fluorescence in the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. / M. Katsumata, T. Koike, M. Nishikawa, K. Kazumura, H. Tsuchiya // Water Res. – 2006. – № 40. – P. 3393–3400.

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

« 16 » июня 2020 г.

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

Сравнительная оценка действия тяжелых металлов на водоросль хлорелла при коротких периодах культивирования по показателям светопоглощения и флуоресценция хлорофилла

05.03.06. – Экология и природопользование

05.03.06.02 – Природопользование

Руководитель



16.06.2020

проф., канд.биол. наук

Ю. С. Григорьев

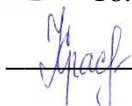
Выпускник



16.06.2020

М. В. Тупикова

Нормоконтролер



16.06.2020

П. А. Красноперова

Красноярск 2020