

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
« ____ » _____ 2020г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Влияние плотности засева и температуры культивирования на чувствительность биотеста на водоросли *Chlorella Vulgaris Beijer* к тяжелым металлам

05.03.06 – Экология и природопользование

05.03.06.01 - Экология

Выпускник _____ 16.06.2020 Т. О. Смирнова
подпись, дата инициалы, фамилия
Научный руководитель _____ 16.06.2020 профессор, к.б.н. Ю. С. Григорьев
подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия
Нормоконтролер _____ П.А. Красноперова
подпись, дата инициалы, фамилия

Красноярск 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	3
1 Обзор литературы.....	6
1.1 Загрязнение водной среды.....	6
1.2 Биотестирование как один из методов экологического мониторинга....	7
1.2.1 Методы биотестирования	7
1.2.2 Биотестирование с использованием водоросли в качестве тест-объекта.....	10
1.2.3 Преимущества хлореллы для биотестирования.....	10
1.3 Общая характеристика <i>Chlorella vulgaris</i> Beijer.....	11
1.4 Факторы, влияющие на чувствительность биотестов с использованием водоросли <i>Chlorella vulgaris</i> Beijer в качестве тест-культуры.....	12
2 Объекты и методы исследования.....	15
2.1 Характеристика тест-объекта.....	15
2.2 Методика проведения биотестирования на основе регистрации прироста культуры водоросли <i>Chlorella vulgaris</i> Beijer.....	16
3 Результаты и обсуждения.....	20
3.1 Влияние плотности засева и температуры на чувствительность тест-культуры водоросли <i>Chlorella vulgaris</i> Beijer.....	20
3.2 Характер воздействия различных тяжелых металлов на прирост водоросли хлорелла. Сопоставление полученных данных с ПДК для рыбохозяйственных водоемов.....	26
3.3 Сопоставление полученных данных по чувствительности водоросли хлорелла с литературными данными по чувствительности для других тест-организмов.....	31
Заключение.....	32
Список использованных источников.....	33

ВВЕДЕНИЕ

В условиях современного загрязнения окружающей среды необходимо всестороннее изучение антропогенного влияния на природные экосистемы, в том числе и на водную среду. В настоящее время для контроля качества вод различного назначения широко применяются методы биотестирования [1].

Целью биотестирования природных вод с использованием различных водных организмов является: оценка качества тестируемых вод по таким параметрам как токсичность и степень токсичности; оценка загрязненности водной среды органическими веществами (избыток органических веществ в тестируемой пробе); и оценка возможной опасности этой воды для водных и иных контактирующих с ней организмов [2].

Водоросли являются одним из приоритетных тест-объектов по причине их повсеместного распространения [3], а также они являются первичным звеном в трофической цепи водоемов.

Поверхностные воды отличаются малой загрязненностью и по этой причине, методы применяемые при оценке их качества должны обладать достаточно высокой чувствительностью даже к минимальным концентрациям поллютантов. Температура поверхностных природных вод даже в теплые месяцы года редко превышает 25 градусов.

На кафедре экологии и природопользования СФУ разработана и активно используется методика биотестирования поверхностных пресных вод на водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer [4]. При проведении биотестов в соответствии с данной методикой используется термофильный штамм водоросли хлорелла. Оптимальная температура для данного штамма составляет 36 градусов.

Однако такая температура не является типичной для водоемов России и, в частности, Красноярска, а, следовательно, при нагревании такой пробы до неестественной для нее температуры, могут происходить изменения физико-химических свойств растворенных в ней веществ [5], а также скорость

поступления токсикантов в организм. Это может повлиять на результаты биотестирования. Таким образом, возникла задача определить условия культивирования и чувствительность данной культуры водоросли при более низких температурах, в частности при 25 градусах.

Поскольку природные воды в большинстве случаев отличаются малой загрязненностью, одной из задач данной работы явилось изучение влияния плотности засева на чувствительность тест-культуры.

Повысить чувствительность биотестов можно, снизив соотношения численности или массы тест-организмов к объему тестируемой воды [6]. Применительно к методике на хлорелле это можно сделать, уменьшив плотность засеваемой тест-культуры.

В связи с этим целью данной работы явилось изучение влияния плотности засева и температуры на чувствительность тест-культуры водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer к различным тяжелым металлам.

В рамках этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Сравнить чувствительность водоросли хлорелла к шести тяжелым металлам при температуре 36 и 25 °С и при одной плотности засева тест-культуры.

2. Исследовать влияние плотности засева на чувствительность к тяжелым металлам водоросли хлорелла, выращиваемой при одинаковой температуре.

3. Определить условия по температуре и плотности засева, при которых тест-культура водоросли имеет наибольшую чувствительность к исследованным тяжелым металлам.

Работа выполнялась на кафедре экологии и природопользования ИЭиГ СФУ под руководством проф. кафедры Григорьева Юрия Сергеевича.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Чувствительность тест-культуры водоросли хлорелла к исследованным тяжелым металлам выше при засеве с оптической плотностью 0,001, чем с 0,005. Эти различия наиболее заметно проявляются при 36°C.

2. Чувствительность тест-культуры водоросли хлорелла к тяжелым металлам выше при температуре культивирования 25°C, чем при 36°C.

3. Наибольшую чувствительность к тяжелым металлам тест-культура водоросли хлорелла проявляет при засеве с оптической плотностью 0,001 и проведении биотестирования при температуре 25°C.

4. По степени снижения величине EC_{50} (повышения токсичности для водоросли хлорелла) исследованные тяжелые металлы размещаются в ряд никель>кобальт>бихромат>цинк>кадмий>медь.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Толкачева, В. В. Анализ токсичности природных вод методом биотестирования (На примере Нижневартовского района) : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.16 / Толкачева Виктория Викторовна.- Омск : РГБ ОД, 61:05-3/405, 2004. - 137 с.
2. Опекунова, М. Г. Биоиндикация загрязнений: учеб. пособие. - Санкт-Петербург : Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2016. – 300 с.
3. Биотестирование [Электронный ресурс] : Википедия. - Режим доступа: <http://ru.wikipedia.org/wiki/Биотестирование>
4. Григорьев, Ю. С. Методика измерений оптической плотности культуры водоросли (*Chlorella vulgaris Beijer*) для определения токсичности питьевых, пресных, природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления. ПНД ФТ 14.1:2:3:4.10-04, Т 16.1:2:2.3:3.7-04 – М., 2014. 19 с.
5. Цикуниб, А. Д. Оценка токсичности сточных вод / А. Д. Цикуниб, О. Ю. Борсук // Экология и промышленность России; 2006. - № 6. - С. 40 – 41.
6. Стравинскене, Е. С. Биодоступность тяжелых металлов в экологическом мониторинге природных вод (методологические аспекты) : дис. ... канд. биолог.наук : 03.02.08 / Стравинскене Екатерина Сергеевна. – Красноярск, 2011. – 122 с.
7. Ляшенко, О. А. Биоиндикация и биотестирование в охране окружающей среды : учебное пособие / О. А. Ляшенко- Санкт-Петербург, 2012. - 69 с.
8. Константинов, А. С. Общая гидробиология / М.: Высш. шк., 1986.– 472 с.
9. Исидоров, В.А. Введение в химическую экотоксикологию: учеб. Пособие / СПб.: Химиздат, 1999. – 144 с.

10. Тяжелые металлы [Электронный ресурс]: Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена. Режим доступа: <https://geoecology.nethouse.ru/page/147831>

11. Линник, П. Н. Комплексообразование ионов металлов в природных водах / П. Н. Линник, Б. И. Набиванец // Гидробиологический журнал. – 1983. – Т. 19, №3. – С. 82-95.

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

13. Мур, Дж. Тяжелые металлы в природных водах/ Дж. Мур, С. Рамамурти. – Москва : Мир, 1987. – 288 с.

14. Алексеев, Ю. В. Тяжелые металлы в почвах и растениях / Ю.В. Алексеев. – Ленинград: Агропромиздат, 1987. – 142 с.

15. Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использование в мониторинге. Сборник материалов докладов III Международной научной конференции, 24 – 29 августа 2014 года / Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина. – Ярославль : Филигрань , 2014. – 252 с.

16. Биотестовый анализ – интегральный метод оценки качества объектов окружающей среды / А. Г. Бубнов [и др.]. – Иваново: Ивановский гос. химико-технологический ун-т, 2007. - 113 с.

17. Принципы и методы экологической токсикологии / Д. Б. Гелашвили [и др.]. – Нижний Новгород, 2015. – 745 с.

18. Методическое руководство по биотестированию воды. РД-118- 02-90. М., 1991. - С. 71.

19. Жмур, Н.С. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей : Н.С. Жмур, Т.Л. Орлова ; ФР. 1.39.2007.03223. М. 2007. - 48 с.

20. Альгоиндикация и альготесты в экологотоксикологических оценке качества водных экосистем / Бакаева Е.Н., Игнатова Н.А., Черникова

Г.Г. // Сыктывкар: Институт биологии КомиНЦ УрО РАН, Материалы 2-й Всеросс. Конф. 2009 б. С. 256–258.

21. ISO 8692:1989 Water quality — Fresh water algal growth inhibition test with *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum*, 1997

22. Abu Al-Rub, F. A. Biosorption of copper on *Chlorella vulgaris* from single, binary and ternary metal aqueous solutions / F. A. Abu Al-Rub, M.H. El-Naas, I. Ashour, M. Al-Marzouqi // *Process Biochemistry*. – 2006. – №41. – P. 457–464.

23. Khoshmanesh, A. Cell surface area as a major parameter in the uptake of cadmium by unicellular green microalgae / A. Khoshmanesh, F. Lawson, I. G. Prince // *Chem. Eng. J.* –1997. – №1. – P. 13–19.

24. Тютюкова, Е. А. Чувствительность биотестов на основе водорослей хлорелла и сценедесмус к тяжёлым металлам/Е. А. Тютюкова, Ю. С. Григорьев // *Теоретическая и прикладная экология*. - 2014, № 2. - С. 57-60.

25. Yan, H. Toxicity and bioaccumulation of copper in three green microalgal species /H. Yan, G. Pan // *Chemosphere*. – 2002. – №49. – P. 471–476.

26. Pereira, M.J. Differences in the effects of metals on growth of two freshwater green algae (*Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) Hindak and *Gonium pectoral* Müller) / M.J. Pereira, P. Resende, U.M. Azeiteiro, J. Oliveira, D.R. de Figueiredo // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2005. – №75. – P. 515–522.

27. Ипатова, В. И. Микроводоросли в оценке токсичности металлов / В. И. Ипатова, М. А. Михеева // Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, Материалы международного симпозиума «Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии». – 2016. – С. - 83-90.

28. Григорьев, Ю. С. Влияние связывания тяжелых металлов на результаты биотестирования токсичности природных и сточных вод / Ю.С. Григорьев, В. Н. Бурмакин, Н. С. Бондарев // *Вестник Красноярского*

государственного университета, сер. Естественные науки. – 2005. – №5. – С. 125–128.

29. Демидчик, В. В. Токсичность избытка меди и толерантность к нему растений / В. В. Демидчик, А. И. Соколик, В. М. Юрин // Успехи современной биологии. – 2001. – Т. 121, № 5. – С. 511-525.

30. Демидчик, В. В. Поступление меди в растения и распределение в клетках, тканях, органах / В. В. Демидчик, А. И. Соколик, В. М. Юрин // Успехи современной биологии.– 2001. Т. 121, № 2. – С. 190-197.

31. Александрова, В. В. Биотестирование как современный метод оценки токсичности природных и сточных вод: Монография. / В. В. Александрова. – Нижневартовск : Изд-во Нижневарт. гос. ун-та, 2013. – 119 с.

32. Туманов, А. А. Водные беспозвоночные как аналитические индикаторы/А. А. Туманов, И. Е. Постнов // Гидробиологический журнал. Киев, 1983. Т. XIX. № 5. – С. 3–16.

33. Будников, Г. К. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных систем / Г. К. Будников // Соросовский образовательный журнал.– 1998. - №5. - С. 23-29.

34. Водоросли. Справочник. Под ред. С. П. Вассер / Киев: Наук.думка, 1989. – 608 с.

35. De Shamphelaere, K.A.C. Development and field validation of a predictive copper toxicity model for the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata* / K.A.C. De Shamphelaere, F. M. Vasconcelos, D. G. Heijerick, F.M.G. Tack, K. Delbeke, H. E. Allen, C. R. Janssen // Environmental toxicology and chemistry.– 2003.– №22.– P. 2454–2465.

36. Вавилова, М. В. Экотоксикологическая оценка объектов окружающей среды / М. В. Вавилова, В. А. Терехова // Технологии биотестирования. - Москва: Изд-во МГУ, 2008. - 82 с.

37. Розанцев, Э.Г. Биотестирование, или биологическая оценка безопасности / Э.Г. Розанцев, Е.Г. Черемных // Экология и промышленность России. – 2003. – С. 44-46.

38. 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.
39. Федосеева, Е. В. Практическая экотоксикология: оценка чувствительности биотест-культур : учебное пособие / Е. В. Федосеева, Н.Ю. Сапункова, В.А. Терехова. – Москва : Академия, 2016. – 55 с.
40. Багдасарян, А.С. Эффективность использования тест-систем при оценке токсичности природных сред / А. С. Багдасарян // Экология и промышленность России. – 2007. – № 1. – С. 44 – 48.
41. Григорьев, Ю.С. Методические рекомендации по проведению практических работ по экологии на базе учебно-экологической лаборатории / Ю. С. Григорьев. - Красноярск, 1999. - С. 30.
42. Жукова, Н. И. Влияние тяжелых металлов на рост и развитие растений / Н. И. Жукова, Е. И. Потенко ; Материалы региональной научно-практической конференции «Стратегия развития Дальнего Востока: возможности и перспективы». – Хабаровск: издательство Дальне-восточной народной академии наук. – 2003. – С. 55-58.
43. Малева, М. Г. Реакция гидрофитов на загрязнение среды тяжелыми металлами / М. Г. Малева, Г. Ф. Некрасова, В. С. Безель // Экология. – 2004. – № 4. – С. 266–272.
44. Филенко, О. Ф. Водная экотоксикология в России : от прошлого к настоящему / О. Ф. Филенко, Г. М. Чуйко // Труды Института биологии внутренних вод РАН. – № 77 (80). – 2017. – С. 124-142.
45. Строганов, Н. С. Принципы оценки нормального и патологического состояния водоемов при химическом загрязнении / Н. С. Строганов // Теоретические вопросы водной токсикологии. - Ленинград, 1981. - С. 16-29.

46. Строганов, Н. С. Токсическое загрязнение водоемов и деградация водных экосистем / Строганов Н.С. // Водная токсикология. Москва, 1976. - С. 5-47.

47. Трунова, О.Н. Химические загрязнения и их воздействие на биологические факторы самоочищения. Биodeградация химических загрязнителей в водной среде / О. Н. Турунова // Биологические факторы самоочищения водоемов и сточных вод. - Ленинград, 1979. - С. 81-93.

48. Федоренко, В. И. Методика оценки комбинированного действия вредных веществ в токсиколого-гигиенических исследованиях / Федоров В.И. // Гигиена и санитария. - 1987. № 10. - С. 56—58.

49. Гелашвили, Д. Б. Методологические проблемы применения биологических тест-объектов в экоаналитике / Д.Б. Гелашвили, А.А. Туманов, М.Е. Безруков, Н.В. Лисенкова, О.К. Барина, Н.П. Крестьянинов // Аналитическая химия. Москва, 1999. - Т. 54.- С. 909—917.

50. Жмур, Н.С. Государственный и производственный контроль токсичности вод методами биотестирования в России / Жмур Н. С. – Москва: 1997. - 117 с.

51. Кривоуцкий, Д. А. Биоиндикация и биомониторинг. / Д. А. Кривоуцкий. – М. : Наука. – 1991. – С. 6–7.

52. Schafer H. Biotests using unicellular algae and ciliates for predicting long-term effects of toxicants/ H. Schafer, H. Hettler, U. Fritsche, G. Pitzen, G. Rodeger, A. Wenzel // Ecotoxicol. Environ. Saf. 1994. - V. - 27. N - 1. P. 64—81.

53. Филенко, О. Ф. Биотестирование качества среды с использованием гидробионтов. Раздел большого практикума по гидробиологии. Учебно-методическое пособие / О. Ф. Филенко, Е. Ф. Исакова, Д. М. Гершкович, В. И. [и др.]. – Москва : Изд-во МГУ, 2015. - 44 с.


54. Giloni-Lima, P.C. A study of the effects of chromium exposure on the growth of *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) hindak evaluated by central composite design and response surface methodology/ P.C. Giloni-Lima, D. Delello,

M.L. Cremonez, M.N. Éler, V.A. Lima, E.L. Espíndola // *Ecotoxicology*. 2010. - V. - 19. - №. 6. - P. 1095-1101.

55. Hörcsik, Z.T. Effect of chromium on photosystem 2 in the unicellular green alga, *Chlorella pyrenoidosa*/ Z.T. Hörcsik, L. Kovács, R. Láposi, I. Mészáros, G. Lakatos, G. Garab // *Photosynthetica*. 2007. - V. - 45. №. - 1. P. 65-69.

56. 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 c.

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 плотности засева и температуры культивирования на
чувствительность биотеста на водоросли *Chlorella Vulgaris Beijer* к тяжелым
металлам

05.03.06 – Экология и природопользование

05.03.06.01 - Экология

Выпускник	 16.06.2020	<u>Т. О. Смирнова</u>
	подпись, дата	инициалы, фамилия
Научный руководитель	 16.06.2020	<u>профессор, к.б.н. Ю. С. Григорьев</u>
	подпись, дата	должность, ученая степень инициалы, фамилия
Нормоконтролер		<u>П.А. Красноперова</u>
	подпись, дата	инициалы, фамилия

Красноярск 2020