

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

Исследование острой и хронической токсичности водной среды по ответным
реакциям дафний

05.03.06 – Экология и природопользование

05.03.06.02 – Экология и природопользование

Выпускник _____ У. А. Линейцева
подпись, дата инициалы, фамилия

Научный руководитель _____ доцент, канд. биол. наук Т.Л. Шашкова
подпись, дата должностность, ученая степень инициалы, фамилия

Нормоконтролер _____ П.А. Красноперова
подпись, дата инициалы, фамилия

Красноярск 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	3
1 Обзор литературы.....	6
1.1 Биологические особенности тест–организма <i>Daphnia magna Straus</i>	6
1.2 Преимущества и недостатки биотестирования на дафниях.....	9
1.3 Чувствительность тест-организма <i>Daphnia magna Straus</i>	13
1.4 Воздействие поллютантов на дафний.....	16
2 Объект и методы исследования.....	19
2.1 Содержание культуры и условия экспонирования.....	19
2.2 Методика отбора проб природной воды.....	20
2.3 Методика экспериментов по оценке выживаемости дафний в присутствии ионов кадмия и в природной воде.....	21
2.4 Методика экспериментов по оценке трофической активности дафний в присутствии ионов кадмия и в природной воде.....	23
2.5 Методика экспериментов по оценке плодовитости дафний в присутствии ионов кадмия, в присутствии бихромата калия и в природной воде.....	25
2.6 Методы статистической обработки результатов экспериментов.....	26
3 Результаты и обсуждение.....	27
3.1 Исследование чувствительности дафний к модельным токсикантам.....	27
3.2 Исследование чувствительности дафний к природной воде.....	34
3.3 Сравнение чувствительности разных тест-функции дафний при определении острого и хронического токсического действия.....	42
Заключение.....	45
Список использованных источников.....	46

ВВЕДЕНИЕ

На данный момент одной из основных проблем современной экологии является загрязнение вод. Качество воды ухудшается из-за возрастающего антропогенного воздействия на природную среду в водных объектах [1, 40]. Вода становится непригодной для использования в народном хозяйстве, так же потребление загрязненной воды может негативно сказываться на здоровье людей. Основные причины загрязнения природных вод - это неограниченное поступление в воду загрязняющих веществ, слабая степень очистки сбрасываемых в водные объекты сточных вод, низкая скорость самоочищения водоемов. В условиях возрастающего техногенного воздействия на природную среду все чаще и чаще становятся актуальными задачи, касающиеся экологической безопасности окружающей среды [2].

Для оценки антропогенного влияния на водоемы, наряду с химическим анализом используют методы биотестирования. Биотестирование позволяет определить токсичность воды с помощью тест-организмов [3, 32]. Среди методов биотестирования одним из самых широко применяемых является, определение токсичности с использованием низших вествистоусых ракообразных. Метод биотестирования с использованием дафний широко применяется у нас в стране и за рубежом [4, 34]. *Daphnia magna* располагается в начале пищевой цепи пресноводных экосистем и любое качественное или количественное изменение популяции этого вида может привести к изменениям в популяциях других водных организмов [35]. Дафнии это обязательный тест-организм, входящий в систему установления ПДК загрязняющих веществ и контроля качества сточных вод России. Данный метод применяется не только для определения токсичности отдельных химических соединений, но так же и для оценки состояния природных вод.

Биотестирование с использованием тест-организма *Daphnia magna* Straus считается практическим, поскольку дафнии широко распространены в природной среде, их незатратно и легко выращивать в лабораторных условиях, также

данный организм отличается высокой чувствительностью к различным видам загрязняющих веществ. В добавок важным аспектом является то, что имеется возможность как визуальной, так и автоматической регистрации ответных реакций раков на загрязнение водной среды [5].

Так, в анализе на определение острой токсичности применяют такую тест-реакцию как смертность раков, а при проведении теста на хроническое воздействие ксенобиотика производится оценка изменения их плодовитости. Хронический метод дает более полную оценку о степени токсичности среды, однако, острые опыты позволяют уменьшить затраты для определения степени токсичности и получить в максимально короткие сроки информацию о качестве тестируемой воды. Одной из наиболее оперативных реакций раков на токсическое воздействие является изменение их трофической активности, которое проявляется до наступления гибели животного. Применение этой тест-функции, как одного из чувствительных показателей токсичности, является актуальным, так как небольшие концентрации отравляющих веществ не способны вызвать гибель тест-организма, но с течением времени накапливаются в организме и передаются далее по трофической цепи увеличиваясь в десятикратном размере на каждом последующем уровне. Тем самым происходит отравление и нарушение целой экосистемы. Следовательно, такая тест-функция может заблаговременно дать сигнал о потенциальной опасности токсического загрязнения [6].

В то же время результаты любого метода биотестирования зависят от стабильности и равномерности условий во время проведения биотестирования. Однако, стабилизация этих условий в большинстве случаев связана с трудностями, из-за этого создаются отличия в получаемых результатах в разных лабораториях, а это в свою очередь приводит к сложностям при сравнении результатов разных исследователей. Для решения этой задачи на кафедре экологии и природопользования СФУ было разработано специализированное оборудование для культивирования и экспонирования раков. Эти устройства успешно нашли применение при проведении острого

опыта, теперь же необходимо исследовать возможности данного оборудования при оценке трофической активности и хронического токсического воздействия на дафний, выражющееся в изменении их плодовитости.

В связи с этим целью работы является исследование острой и хронической токсичности водной среды по ответным реакциям тест-организма *Daphnia magna* Straus.

В рамках этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать острое и хроническое токсическое действие модельных токсикантов (бихромата калия и ионов кадмия) по показателям смертности, плодовитости и трофической активности дафний;
2. Исследовать острое и хроническое токсическое действие проб воды, отобранных из реки Енисей и пруда Бугач по показателям смертности, плодовитости и трофической активности дафний;
3. Провести сравнительный анализ чувствительности разных тест-функций дафний при определении острого и хронического токсического действия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Воздействие модельных токсикантов на разные тест-функции дафний носит различный характер: бихромат калия при концентрации 0,002 мг/л снижает плодовитость дафний, подавление трофической активности и смертность происходит при 1 мг/л. Действие ионов кадмия более дифференцировано: самые низкие концентрации вызывают стимуляцию плодовитости, средние – подавление трофической активности, при больших концентрациях наблюдается гибель раков. При этом эффект хронического токсического действия модельных токсикантов на дафний проявляется стимуляцией плодовитости при малых дозах модельных токсикантов и ее подавлением при больших. Изменение плодовитости в присутствии модельных токсикантов более четко выражено при производстве первого потомства, чем по суммарному показателю плодовитости.

2. Оценка плодовитости дафний в хроническом токсикологическом эксперименте является более информативным показателем при анализе токсичности природных вод, на примере проб воды из р. Енисей и пруда Бугач, чем регистрация их смертности и изменения трофической активности.

3. Наибольшей чувствительностью среди исследованных методик биотестирования на дафниях обладает метод оценки их плодовитости, наименьшей – оценка смертности. При этом, модифицированная нами методика оценки хронической токсичности является более чувствительной, чем методики описанные в литературе.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Варнаков, Н. С. Экологические проблемы водных ресурсов / Н. С. Варнаков // Современные проблемы обеспечения экологической безопасности. Сборник материалов Всероссийской очно-заочной научно-практической конференции с международным участием. Современные проблемы обеспечения экологической безопасности. – 2017. – С. 66-71.
2. Брызгало, В. А. Методы биоиндикации и биотестирования природных вод / В. А. Брызгало, Т. А. Хоружая // Выпуск 2. Ленинград: Гидрометиздат, 1989. – 36 с.
3. Мелехова, О. П. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование / Ред. О. П. Мелехова, Е. И. Сарапульцева. // Учебное пособие для студентов высших учебных заведений / М.: Издательский центр «Академия». - 2010, - 288 с.
4. Александрова, В. В. Биотестирование как современный метод оценки токсичности природных и сточных вод: Монография. — Нижневартовск: Изд-во Нижневарт. гос. ун-та, 2013. — 119 с.
5. Александрова, В. В. Сезонные изменения фактической выживаемости и плодовитости *Daphnia magna* в лабораторной культуре / В. В. Александрова // Вестник НВГУ. – 2009.
6. Шашкова, Т. Л. Выживаемость и трофическая активность *Daphnia magna* Straus в оперативном экологическом контроле водных сред: автореферат дис. на соискание уч. степ.канд. биол. наук : 03.02.08 / Шашкова Татьяна Леонидовна. – Красноярск, 2011. – 18 с.
7. Дятлова, Е. С. Методы гидробиологических исследований. Сравнительная чувствительность ветвистоусых ракообразных к бихромату калия / Е.С. Дятлова // Экология моря. - 2001 - Вып. 58. - С. 79-83.
8. Шуберт, Р. Биоиндикация загрязнителей наземных экосистем / Под ред. Р. Шуберта. – Москва: Мир, 1988. – 350 с.

9. Биология: Большой энциклопедический словарь. – М.: Большая Российская энциклопедия, 1999.-864 с.
10. Унифицированные методы исследования качества вод: сб. Ч.3 – Методы биологического анализа вод. – 1983. – 356 с.
11. Лисичкин, Г. В. Химическое модифицирование поверхности минеральных веществ / Г. В. Лисичкин // Соросовский образовательный журнал. – 1996. - № 4. – С. 52.
12. Бубнов А. Г. Биотестовый анализ – интегральный метод оценки качества объектов окружающей среды / А.Г. Бубнов [и др.]. – Иваново, 2007. - 113 с.
13. Брагинский, Л. П. Пресноводный планктон в токсической среде / Л.П. Брагинский, И.М. Величко, Э.П. Щербань. - Киев: Наук, думка, 1987. - 180 с.
14. Моисеенко, Т. И. Экотоксикологический подход к оценке качества вод / Т. И. Моисеенко // Водные ресурсы. - 2005. - №2. - С.184-195.
15. ГОСТ 32536-2013 Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение острой токсичности для дафний. – Введ. 01.08.2014. – Москва: Стандартинформ, 2014. – 27 с.
16. Брагинский, Л. П. Методологические аспекты токсикологического биотестирования на *Daphnia magna* St. и других ветвистоусых ракообразных / Л.П. Брагинский // Гидробиологический журнал. -2000. - № 5. -С. 50–70.
17. Лесников, Л. А. Методика оценки влияния воды из природных водоёмов на дафний/ Л. А. Лесников // Методики биологических исследований по водной токсикологии. - Москва: Наука, 1971. - С. 157-166.
18. Колупаев, Б. И. Дыхание гидробионтов в токсической среде / Б. И. Колупаев. – Казань: Казанский университет, 1992. – 128с.
19. Метелев, В. В. Водная токсикология / В. В. Метелев, А. И. Канаев, Н. Р. Дзесохова // Москва : Колос, 1971. - 247 с.
20. Шашкова, Т. Л. Влияние условий среды на чувствительность раков *Daphnia magna* к токсикантам / Т. Л. Шашкова, Ю. С. Григорьев, О. А.

Березина // Вестн. Краснояр. гос. ун-та. Сер. Естеств. науки. - 2006. - № 5/1. - С. 81 – 85.

21. Вавилова, М. В. Экотоксикологическая оценка объектов окружающей среды. Технологии биотестирования / М. В. Вавилова, В. А. Терехова. - Москва: Изд-во МГУ, 2008. - 82 с.
22. Олькова, А. С. Условия культивирования и многообразие тест-функций *Daphnia magna* Straus / А. С. Олькова // Вода и экология. – 2017.- С. 63-82.
23. Григорьев, Ю. С. Методика измерений количества *Daphnia magna* Straus для определения острой токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления методом прямого счета. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.12-06 Т 16.1:2:2.3:3.9-06 / Ю.С. Григорьев, Т.Л. Шашкова // Федеральная служба по надзору в сфере природопользования. Москва., 2014. - 39 с.
24. Григорьев, Ю. С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов, питьевой, сточной и природной воды по смертности тест-объекта *Daphnia magna* Straus. ПНД Ф 14.1:2:4.12-06 16.1:2.3.3.9-06 / Ю. С. Григорьев, Т. Л. Шашкова. – Москва, 2014. – 52 с.
25. Жмур, Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. ФР.1.39.2007.03222 / Н. С. Жмур. – Москва: АКВАРОС, 2007. – 48 с.
26. Федосеева, Е. В. Практическая экотоксикология: оценка чувствительности биотест-культур :учебное пособие / Е. В. Федосеева, Н. Ю. Сапункова, В. А. Терехова. –Москва, 2016. - 55с.
27. Сотникова, Е. В. Техносферная токсикология : учеб. пособ. – 2-е изд., испр. и доп. / Е. В. Сотникова – СПб. : Изд. «Лань». – 2015. – 432 с.
28. Нефедова, С. А. К вопросу выбора тест-чувствительных гидробионтов для биотестирования воды в лабораторных производственных и естественных

условиях / С. А. Нефедова, А. А. Коровушкин, Д. Г. Минин [и др.] // Теоретическая и прикладная экология. – 2014. – №3. – С. 14-20.

29. Дмитриенко, В. П. Экологический мониторинг техносферы: учебное пособие. -2-е изд., испр. / В. П. Дмитриенко. – СПб.: Изд. «Лань», 2014. – 386 с.

30. Халилова, А. А. Сравнительная оценка токсичности сточных вод, содержащих ионы хрома и никеля с применением различных биотест-объектов / А. А. Халилова, А. В. Яковлева, А. С. Сироткин // Вестник Казанского технологического университета. – 2010. – № 10. – С. 392 - 400.

31. ГОСТ Р 51593-2000 Вода питьевая. Отбор проб. – Введ. 01.07.2001. – Москва: Стандартинформ, 2001. – 20 с.

32. Будрин, К. С. Основы биологического мониторинга / К. С. Будрин.-Москва.: Изд-во МГУ, 1985.-158с.

33. Чеснокова, С. М. Биологические методы оценки качества объектов окружающей среды: учебное пособие в 2 ч. Ч. 2. / С. М. Чеснокова, Н. В. Чугай. – Владимир: Изд-во Владим. гос. ун-та, 2008. – 92 с.

34. Lee, S. Ecological assessment of coal mine and metal mine drainage in South Korea using Daphnia magna bioassay / S. Lee, I. Kim, K. Kim, B. Lee // Springer Plus. – 2015. - 13 pp.

35. Asghari, S. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in Daphnia magna / S. Asghari, S. Ali Johari, J. Lee, Y. Kim, Y. Jeon, H. Choi, M . Moon, I. Yu // Nanobiotechnology. – 2012. – 11 pp.

36. Борисова, С. Д. Биотестирование: методические указания по выполнению лабораторных работ / С.Д. Борисова. – Казань: Казан. гос. энерг.ун-т, 2015. – 64 с.

37. Khan, Q. Effect of temperature on waterflea Daphnia magna (Crustacea: Cladocera) / Q. Khan, M. Khan// Journal of the Fisheries Research Board of Canada. - 1972. - № 29(12). – P. 1691-1700.

38. Knops, M. Alterations of physiological energetics, growth and reproduction of Daphnia magna under toxicant stress / M. Knops, R. Altenburger, H. Segner // Aquatic Toxicology. – 2001. - №53. – P.79–90.

39. 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.
40. Зарубина, Р. Ф. Анализ и улучшение качества природных вод : учебное пособие / Р. Ф. Зарубина, Ю. Г. Копылова. – Томск: Изд. ТПУ, 2007. - 169 с.
41. Строганов, Н.С. Методика определения токсичности водной среды / Н. С. Строганов. - Москва: Наука. - 1971. - С. 14-60.
42. Филенко, О. Ф. Водная экотоксикология в России: от прошлого к настоящему / О. Ф. Филенко, Г. М. Чуйко // Труды Института биологии внутренних вод РАН. – 2017. – № 77 (80). – С. 124-142.
43. Горгуленко, В. В. Токсикологическая оценка воды и донных отложений реки Обь в районе г. Барнаула методами биотестирования / В. В. Горгуленко // Мир науки, культуры, образования. - 2010. - № 6 (25). – С. 252 – 258.
44. Мичукова, М. В. Области использования культуры *Daphnia magna* Straus / М. В. Мичукова, А. В. Канарский, З. А. Канарская // Вестник Казанского технологического университета. – 2007. - № 3. – С. 109-126.
45. Мануйлова, Е. Ф. Ветвистоусые раки фауны СССР / Е. Ф. Мануйлова. - Москва, 1964. - 233 с.
46. Загребин, А. О. Использование методов биотестирования и биоиндикации ксенобиотиков для оценки состояния водных экосистем / А. О. Загребин, В. А. Румянцев, В. Д. Тонкопий // Среда обитания. – 2014. - №1. – С. 157 – 160.
47. Яковлев, В. В. Биотестирование природных вод Харьковской области для оценки их токсичности / В. В. Яковлев, Т. Ю. Бирюкова, С. А. Мацюк // Коммунальное хозяйство городов. – 2008. - №84. – С. 102 – 110.

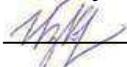
48. Давыдова, О. А. Влияние физико-химических факторов на содержание тяжелых металлов в водных экосистемах / О. А. Давыдова, Е. С. Климов, Е. С. Ваганова, А. С. Ваганов // Ульяновск: Изд. УлГТУ. – 2014.- 168 с.

49. РД 52.24.309-2016 Организация и проведение режимных наблюдений за состоянием и загрязнением поверхностных вод суши. - Введ. 03.04.2017. – Москва: ФГБУ "ГХИ", 2016.

50. Р52.24.566-94 Рекомендации. Методы токсикологической оценки загрязнения пресноводных экосистем. – Введ. 21.04.1994.- Москва: Федеральная служба России по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды, 1994 – 11 с.

51. Diamantino, T. Toxicity of Sodium Molybdate and Sodium Dichromate to *Daphnia magna* Straus Evaluated in Acute, Chronic, and Acetylcholinesterase Inhibition Tests / T. Diamantino, L. Guilhermino, E. Almeida, M. Soares // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2000. - № 45. – P. 253 – 259.

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

Исследование острой и хронической токсичности водной среды
по ответным реакциям дафний

05.03.06 – Экология и природопользование

05.03.06.02 – Природопользование

Научный руководитель 
подпись, дата

доцент, канд. биол. наук
должность, ученая степень

Т.Л. Шашкова
ициалы, фамилия

Выпускник 
подпись, дата

16 июня 2020

У. А Линейцева
ициалы, фамилия

Нормоконтролер 
подпись, дата

16.06.2020

П.А. Краснoperова
ициалы, фамилия

Красноярск 2020