

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ В.А.Кратасюк
« _____ » _____ 20 ____ г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Разработка биотеста для оценки качества донных отложений на основе
водного растения элодеи канадской

03.03.02 Физика
03.04.02.01 Биофизика

Научный руководитель	_____	к.б.н., доцент	Т.А. Зотина
	подпись, дата	должность, ученая степень	инициалы, фамилия
Выпускник	_____		Е.А. Прокофьева
	подпись, дата		инициалы, фамилия
Рецензент	_____	д.б.н., профессор	Н.А. Гаевский
	подпись, дата	должность, ученая степень	инициалы, фамилия

Красноярск 2021

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Разработка биотеста для оценки качества донных отложений на основе водного растения элодеи канадской» содержит 65 страниц текстового документа, 57 использованных источников, 19 рисунков, 5 таблиц, 4 формулы.

Цель работы: разработать биотест для оценки качества донных отложений на основе водного растения элодеи канадской (*Elodea canadensis Michx*).

Для исследования была использована экспериментальная система «вода-донные отложения», предложенная ранее для контактного биотестирования цельных донных отложений.

В результате работы были подобраны оптимальная температура (23 °С) и уровень освещенности (2-6 кЛк) для роста элодеи канадской в тест-системе «вода-донные отложения». Подобран оптимальный субстрат для использования в качестве «отрицательного» контроля - искусственные донные отложения. В качестве эффективных субстратов для использования в качестве «положительного» контроля предложены искусственные донные отложения с добавкой меди и цинка. Разработанная тест-система была опробована на природных донных отложениях из р. Енисей. Индикаторные параметры элодеи канадской ранжированы по чувствительности к качеству донных отложений: длина корней>длина побегов>масса побегов.

Предложенный биотест позволяет оценивать токсичность цельных природных донных отложений с использованием индикаторных показателей элодеи канадской: длины побега, длины корней, биомассы побега в оптимальном для роста элодеи диапазоне освещенности и температуры.

Ключевые слова: ЭЛОДЕЯ КАНАДСКАЯ, ДОННЫЕ ОТЛОЖЕНИЯ, БИОТЕСТИРОВАНИЕ, ИНДИКАТОРНЫЕ ПАРАМЕТРЫ, КАЧЕСТВО ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ.

Содержание

РЕФЕРАТ	Ошибка! Закладка не определена.
ВВЕДЕНИЕ	Ошибка! Закладка не определена.
1. Обзор литературы.....	Ошибка! Закладка не определена.
1.1. Биотестирование, биоиндикаторы ..	Ошибка! Закладка не определена.
1.2. Методы, применяемые для биотестирования цельных донных отложений	Ошибка! Закладка не определена.
1.3. Организмы, применяемые для тестирования донных отложений. Индикаторные параметры	Ошибка! Закладка не определена.
1.4. Использование сосудистых водных растений для биотестирования донных отложений	Ошибка! Закладка не определена.
1.5. Показатели качества донных отложений, используемые в мировой практике	Ошибка! Закладка не определена.
2. Материалы и методы	Ошибка! Закладка не определена.
2.1. Индикаторное растение	Ошибка! Закладка не определена.
2.2.1. Подготовка донных отложений для «отрицательного» контроля	Ошибка! Закладка не определена.
2.2.2. Подготовка донных отложений для «положительного» контроля	Ошибка! Закладка не определена.
2.2.3. Подготовка экспериментальной системы «вода-донные отложения» и условия эксперимента	Ошибка! Закладка не определена.
2.3. Ход экспериментов	Ошибка! Закладка не определена.
2.3.1. Измерение параметров роста.....	Ошибка! Закладка не определена.
2.3.2. Химический анализ воды и донных отложений (ДО).....	Ошибка! Закладка не определена.
2.4. Расчет параметров роста растений и статистический анализ данных	Ошибка! Закладка не определена.
3. Результаты и обсуждение	Ошибка! Закладка не определена.
3.1. Зависимость параметров роста элодеи от уровня освещённости	Ошибка! Закладка не определена.
3.2. Зависимость параметров роста элодеи от температуры	Ошибка! Закладка не определена.

- 3.3. Подбор субстрата (донных отложений) для отрицательного контроля **Ошибка! Закладка не определена.**
- 3.4. Интенсивность роста элодеи на субстратах, содержащих медь – подбор положительного контроля..... **Ошибка! Закладка не определена.**
- 3.4.2. Параметры роста элодеи на природных донных отложениях (ЕнДО) с добавкой меди **Ошибка! Закладка не определена.**
- 3.4.3. Ингибирования индикаторных параметров элодеи канадской относительно контроля при разных концентрациях меди в природных и искусственных донных отложениях ... **Ошибка! Закладка не определена.**
- 3.4.4. Содержание меди в воде **Ошибка! Закладка не определена.**
- 3.5. Сравнительная оценка ингибирующего действия меди, цинка и свинца, внесенных в искусственные донные отложения, на рост элодеи **Ошибка! Закладка не определена.**
- 3.6. Биотестирование природных донных отложений **Ошибка! Закладка не определена.**
- 3.7. Оценка чувствительности индикаторных параметров элодеи канадской к качеству донных отложений **Ошибка! Закладка не определена.**
- ЗАКЛЮЧЕНИЕ **Ошибка! Закладка не определена.**
- СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ **Ошибка! Закладка не определена.**

ВВЕДЕНИЕ

Проблема техногенного загрязнения континентальных водоемов актуальна в регионах с высокоразвитой добывающей и перерабатывающей промышленностью. Попадающие в водоем загрязняющие вещества накапливаются в донных отложениях, где могут храниться многие годы, воздействуя на водную биоту и представляя потенциальную опасность для человека в силу возможности их переноса в организм человека с водой и пищей. Для оценки качества донных отложений используются два подхода [1, 2]:

1) анализ содержания потенциально токсичных веществ и сравнение измеренных концентраций с принятыми нормативами, которые в свою очередь устанавливаются с помощью биотестов. На сегодняшний день в Российской Федерации (за исключением Ленинградской области) не установлены нормативы на содержание загрязняющих (потенциально токсичных) веществ в донных отложениях, в отличие от многих стран мира;

2) экспериментальная оценка токсичности с помощью биотестов. Перечень тест объектов чрезвычайно широк: от молекул до организмов. Проводятся в основном сублетальные (хронические) тесты, в которых оценивается изменение биохимических реакций, физиологических процессов, параметров роста, репродукции и прочего [1–4].

Биотестирование донных отложений возможно на основе оценки токсичности их экстрактов, поровой воды, вытяжек [1], что дает представление о токсичности растворимых форм загрязняющих веществ, содержащихся в пробах донных отложений. Также возможно контактное биотестирование, когда биологический тест-объект контактирует с цельными донными отложениями. При контактном биотестировании оценивается токсичность всего комплекса токсикантов, находящихся в пробе донных отложений, в том числе встроенных в минеральную матрицу, что наиболее близко к реальным условиям в природном водоеме. Несмотря на уже

имеющийся в мировой практике арсенал методов биотестирования, в настоящее время продолжается поиск новых биологических индикаторов и разработка тест-систем, которые позволят наиболее адекватно оценить биологическое действие смеси токсикантов, находящихся в донных отложениях. В последнее двадцать лет появились и интенсивно развиваются методы биотестирования донных отложений с использованием высших водных растений [4, 6, 53-57] укореняющихся в донных отложениях. Донные отложения служат естественным субстратом для укорененных макрофитов в среде их обитания. Поэтому данная экологическая группа сосудистых растений в большей мере подходит для оценки токсичности донных отложений, чем другие водные растения. Биотесты на основе водных растений являются удобным инструментом для изучения качества донных отложений.

В настоящее время в международной практике используются два сертифицированных теста, основанных на использовании сосудистых водных растений урути водной (*Myriophyllum aquaticum*) [7] и урути колосистой (*Myriophyllum spicatum*) [8] в качестве индикаторных видов. В Российской Федерации на настоящий момент нет сертифицированных биотестов для контактного тестирования донных отложений с использованием водных растений. Поэтому их разработка весьма актуальна для решения задач защиты водных экосистем при техногенных воздействиях, а также для мониторинга и прогнозирования последствий загрязнения природных водоемов.

Ранее была предложена модельная система для биотестирования донных отложений с использованием элодеи канадской [36, 45, 50] в качестве вида-индикатора. Сравнительное исследование показало, что индикаторные показатели роста побегов и корней элодеи канадской более чувствительны к качеству донных отложений р. Енисей по сравнению с индикаторными параметрами урути колосистой, используемой в международном сертифицированном тесте [8, 50]. В качестве нововведения по сравнению с

международными тестами, в предложенном тесте предусмотрена возможность оценить помимо токсичности, цито- и генотоксичность донных отложений [9–12].

В целях усовершенствования предложенной ранее методики контактного биотестирования донных отложений с использованием водного растения элодеи канадской в настоящей работе требовалось разработать биотест для оценки качества донных отложений на основе водного растения элодеи канадской. В частности, решались следующие экспериментальные задачи:

- 1) Подбирался оптимальный уровень поверхностной освещенности и температуры для роста элодеи канадской;
- 2) Подбирался субстрат (донные отложения) для использования в качестве «отрицательного» контроля;
- 3) Подбирался вариант загрязненных донных отложений для использования в качестве «положительного» контроля;
- 4) Апробировалась методика на природных донных отложениях из реки Енисей.
- 5) Оценивалась токсичность природных донных отложений из реки Енисей.

1. Обзор литературы

1.1. Биотестирование, биоиндикаторы

Процедура биотестирования устанавливает токсичность среды с помощью различных организмов, так называемых тест-объектов. Как правило, данные организмы сообщают об опасности собственным изменением своих жизненно важных функций [2].

В качестве тест-объектов или биоиндикаторов используются живые организмы разного уровня организации, чье присутствие в среде обитания, обилие, морфологические и другие особенности развития, либо показатели процессов жизнедеятельности могут служить индикаторами качества среды обитания или ее антропогенного изменения. Как правило, биоиндикаторы используются для оценки ухудшения качества среды обитания.

Биоиндикаторы применяются для оценки качества различных объектов окружающей среды: воздуха, воды, почв, донных отложений и пр. Надежность и эффективность того или иного биоиндикатора, характеризуются по степени сопряженности индикатора с объектом индикации, и по частоте встречаемости с объектом индикации [1, 2].

В качестве индикаторов для биотестирования применяют различные живые организмы: бактерии, водоросли, высшие растения, беспозвоночных животных, амфибий и др. (Таблица 1).

1.2. Методы, применяемые для биотестирования цельных донных отложений

Донные отложения представляют собой сложную природную матрицу, в состав которой входят природные автохтонные и аллохтонные соединения, в том числе антропогенного происхождения. Методы биотестирования качества донных отложений можно разделить на две группы [13]:

Первая группа – это элютриатные тесты, когда биотестированию подвергается экстракт донных отложений или поровая вода. Таким образом оценивается потенциальное токсическое действие несвязанных

(растворимых) токсикантов, которые могут относительно легко переходить из донных отложений в воду. Технологии получения элютриатов из донных отложений подробно изложены в работе [1].

Вторая группа – это контактное тестирование. Процесс биотестирования проводят в системе вода-донные отложения с использованием гидробионтов, обитающих в грунте и на границе вода–донные отложения и испытывающих воздействие сорбированных в донных отложениях загрязняющих веществ, в том числе гидрофобных. Одним из вариантов контактного теста является добавление в донные отложения токсинов, так называемый, спайкинг (spiking). Спайкинг – это экспериментальное добавление потенциально токсичного вещества или смеси химических веществ, осадок сточных вод, нефтепродуктов, твердых частиц или сильно загрязненного донного осадка, к чистому отрицательному контролю или эталонному осадку для определения токсичности добавляемого материала [1]. В частности, контактные тесты являются единственным методом, позволяющим оценить токсичность техногенных радионуклидов, находящихся в донных отложениях в связанной форме, в том числе в виде горячих частиц [20].

По продолжительности выделяют два типа тестов: острые и хронические. Краткосрочные, или острые, тесты: продолжаются не более 96 часов, главной целью которых является выявление токсических соединений острого действия. Главным индикаторным параметром токсичности в острых тестах является смертность или ингибирование деления. Также проводят долговременные, или хронические, биотесты, которые предназначены для выявления отложенных эффектов, вызываемых токсикантами [13].

1.3. Организмы, применяемые для тестирования донных отложений. Индикаторные параметры

В последние два десятка лет одним из наиболее доступных методов тестирования донных отложений является тест с использованием лука

репчатого *Allium cepa* L. – луковый тест (*Allium*-тест). Тест такого рода отмечает высокого рода чувствительность к различного рода токсикантов [14–20] (Таблица 1). Луковый тест позволяет оценить по мимо общей токсичности, так же цито- и генотоксичность исследуемых донных отложений. Цито- и генотоксичность определяется на основе анализа митотической активности и доли клеток с хромосомными aberrациями в кончиках корней [14, 19, 20–22]. С не давних пор луковый тест применяется для контактного тестирования донных отложений [16–20, 23, 24, 49] (Таблица 1).

Для контактного тестирования донных отложений также используются различные виды высших водных растений, укореняющихся в донных отложениях (Таблица 1): элодею канадскую, элодею густолиственную, уруть водную, уруть колосистую, уруть сибирскую [3, 4, 7, 8, 11, 25-27, 43, 46]. В качестве индикаторов токсичности донных отложений оцениваются такие показатели растений, как длина и вес побегов, длина и число корней, скорость роста биомассы побегов, содержание фотосинтезирующих пигментов и др. Недавно было предложено оценивать цито- и генотоксичность донных отложений на основе анализа количества делящихся клеток и доли aberrантных ана-телофазных клеток в корнях элодеи канадской, по аналогии с луковым тестом [11]. Значительно реже, чем макрофиты, для контактного тестирования донных отложений используют другие высшие растения, например рис посевной [28] (Таблица 1).

Контактное тестирование донных отложений проводят также на животных тестах (Таблица 1). Животные тесты считаются очень чувствительными к ряду токсикантов, поэтому на их основе были предложены критерии качества донных отложений [38]. Одним из наиболее распространенных является сертифицированный тест на хирономидах – личинках комаров-звонцов, для которых донные отложения являются естественной средой обитания [26]. Также в контактных биотестах донных отложений используются различные виды червей: свободноживущие

нематоды [3, 4, 30]; дождевые черви [56]; олигохеты, или малощетинковые черви [3, 4, 30], полихеты, или многощетинковые черви [31]. В качестве индикаторных показателей в тестах с червями используют численность организмов, длину и массу тел, плодовитость и др. (Таблица 1).

Из моллюсков для тестирования донных отложений используют несколько видов двустворчатых моллюсков (Таблица 1), основным индикаторным показателем которых в биотестах является смертность [31].

Икра различных видов рыб и земноводных (Таблица 1) широко используется для биотестирования донных отложений, в основном в летальных тестах, где показателем токсичности является смертность эмбрионов [3, 4, 32, 33].

Таблица 1. Тест-объекты для контактного тестирования донных отложений

Тест объект	Индикаторные параметры	Источник
Высшие растения		
Лук репчатый <i>Allium cepa</i>	Исследования на луковицах	
	-Митотический индекс; -частота и спектр хромосомных аберраций в апикальной меристеме корня в ана-телофазе	[17]
	-Митотический индекс; -хромосомные аномалии в митотическом цикле. -количество микроядер	[19]
	-Митотический индекс; -хромосомные аберрации в ана-телофазе; -количества микроядер; -ядерные аномалии в меристематических клетках (морфологические изменения в межфазных ядрах в результате действие проверяемого агента)	[16]
	-Митотический индекс, -тип и процент митотических аномалий в корневых кончиках в ана-телофазе	[23]
	-Хромосомные аберрации в ана-телофазе	[24]
	-Средняя длина корня;	[20]

	-митотический индекс; -Доля аберантных ана-телофазных клеток в апикальной корневой меристеме	
	Исследования на семенах лука	
	-Хромосомные аберации; -митотический индекс	[49]
Рис посевной <i>Oryza sativa</i>	-Длина побега; -длина корней	[28]
Элодея канадская <i>Elodea canadensis</i>	-Длина побега; -количество корней; -масса побегов (сухая); -длина корней; -количество корней на 1 побег	[11]
	-длина побега; -масса побегов (сухая)	[25]
	-длина побега; -масса побегов (сырая); -общее увеличение длины и биомассы растений; -количество боковых побегов и корней; -длина корней	[26]
	-Длина основного побега; -длина боковых побегов; -отношение длины корня к длине побега; -сухой вес побега; - скорость роста (по сух. весу побегов)	[46]
Элодея густолиственная	-Длина основного побега;	[46]

<i>Elodea densa</i>	-длина боковых побегов; -отношение длины корня к длине побега; -сухой вес побега; -относительная скорость роста (по сух. весу)	
Уруть водная <i>Myriophyllum aquaticum</i>	-Скорость роста побегов по сырому весу	[3,4,7,27]
Уруть колосистая <i>Myriophyllum spicatum</i>	-Длина побега; -масса побегов (сырая); -прирост длины и биомассы побегов; -количество боковых побегов; - число корней; -длина корней	[26]
	-Длина побега; -количество и длина боковых побегов; -визуальная оценка состояния побега; -масса побегов (сырая и сухая); -визуальная оценка корней	[8]
	-Концентрация фотосинтетических пигментов; -длина побега; - масса побегов (сырая); - масса побегов (сухая); -количество корней; -длина основного корня	[43]

Уруть сибирская <i>Myriophyllum sibiricum</i>	-Концентрация фотосинтетических пигментов; -длина побега; - масса побегов (сырая); - масса побегов (сухая); -количество корней; -длина основного корня	[43]
Хирономиды- личинки комаров-звонцов		
Хирономусы	-количество вылупившихся имаго; -количество личинок; -средняя сухая масса личинок; -соотношение особей мужского и женского пола	[29]
Нематоды – круглые черви		
Свободноживущая нематода	-длина тела; -репродукция (общее количество организмов)	[3, 4]
Дождевые черви		
Дождевые черви	-изменение биомассы; -смертность	[56]
Олигохеты – малощетинковые черви		
<i>Lumbriculus variegatus</i>	-репродукция (общее количество организмов)	[3,4]

	-общее число червей; -число полных и неполных червей в конце теста; -сухой вес червей (в начале и конце испытания); -поведение червей; -смертность	[30]
Полихеты – многощетинковые черви		
<i>Australonereis ehlersi</i>	Смертность	[31]
<i>Nephtys australiensis</i>	Смертность	[31]
Двустворчатые моллюски		
<i>Mysella anomala</i>	Смертность	[31]
<i>Tellina deltoidalis</i>	Смертность	[31]
<i>Soletellina alba</i>	Смертность	[31]
РЫБЫ		
Икра данио-рерио (<i>Danio rerio</i>)	Смертность	[3, 4].

Икра озерной форели (кумжы)	Эмбриональная смертность и рост	[32]
Икра обыкновенного сига	Эмбриональная смертность и рост	[32]
Земноводные		
Икра гладкой шпорцевой лягушки	Смертность	[33]

1.4. Использование сосудистых водных растений для биотестирования донных отложений

Донные отложения служат естественным субстратом для укорененных сосудистых растений (макрофитов) в среде их обитания. Поэтому данная экологическая группа водных растений в большей мере подходит для оценки токсичности донных отложений, чем другие (плавающие, микроводоросли).

Водные макрофиты выполняют несколько критических функций в водных экосистемах. Они фиксируют углерод, производят кислород, стабилизируют донные отложения, участвуют в круговороте питательных веществ, сорбируют загрязняющие вещества и способствуют их разложению. Выполняя эти роли, они обеспечивают важные экосистемные услуги. Следовательно, водные макрофиты являются одной из функциональных групп организмов, которые необходимо учитывать при оценке риска, связанного с химическими веществами [1].

В качестве индикаторов токсичности используют различные ответные реакции растений, к числу которых относятся различные физиологические показатели (Таблица 1). В качестве индикаторных параметров, чувствительных к качеству донных отложений, оценивают показатели роста побегов и корней (длину и вес), число корней и побегов, соотношение длины корней к длине побегов, концентрацию фотосинтетических пигментов (хлорофиллов «а» и «б», каротиноидов), количество корней, количество боковых побегов и корней, общее увеличение длины и биомассы растений [3, 4, 7, 8, 11, 20, 25-28, 43, 46].

В последние два десятилетия появились и интенсивно развиваются методы биотестирования донных отложений с использованием погруженных макрофитов [3, 4, 7, 8, 11, 25, 26, 27, 43, 46].

1.5. Показатели качества донных отложений, используемые в мировой практике

Предельно допустимая концентрация (ПДК) – является утвержденным санитарно-гигиеническим нормативом. Под данным нормативом подразумевается максимальная концентрация химических веществ или соединений в окружающей среде, которая при постоянном влиянии на протяжении долгого времени на организм не приводит к патологическим изменениям у живых организмов.

На сегодняшний день существуют несколько способов выявления загрязнения донных отложений. Биологический способ включает в себя биотестирование [34].

На основе результатов биотестирования были предложены пороговые концентрации потенциальных токсикантов в донных отложениях, разграничивающие возможность возникновения негативных эффектов у живых организмов [38]. Так, на основе консенсуса были установлены ТЕС - пороговые концентрации загрязняющих веществ в донных отложениях, ниже которых воздействие на организмы, обитающие в донных отложениях, не должно происходить. Аналогичным образом были установлены РЕС - пороговые концентрации загрязняющих веществ в донных отложениях, выше которых вероятны негативные эффекты у биоты, обитающей в донных отложениях. В таблице 2 приведены примеры ТЕС и РЕС для потенциально токсичных металлов [38].

На территории РФ в настоящее время не регламентируется загрязнение донных отложений водоемов, аналогично регламентации загрязнения почв [41], за исключением Ленинградской области. В 1994 году на территории г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области были законодательно приняты ПДК для ряда загрязняющих веществ в донных отложениях [41].

Таблица 2.Примеры ТЕС и РЕС для потенциально токсичных металлов [38]

Металлы	ТЕС	РЕС
Мышьяк	9,79	33
Кадмий	0,99	4,98
Хром	43,4	111
Медь	31,6	149
Свинец	35,8	128
Ртуть	0,18	1,06
Никель	22,7	48,6
Цинк	121	459

Изъято с 21 по 59 страницу, в связи с авторскими правами.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Mothersill, C. In vitro methods in aquatic toxicology / C. Mothersill, V. Austin – Berlin, Germany: Springer, 2003. – 472.
- 2 Мелихова, О.П. Биологический контроль окружающей среды: Биоиндикация и биотестирование / О.П. Мелихова, Е. И. Егорова, Т. И. Евсеева, С.А. Гераськин, В.М. Глазер, [и др.]. // учебное пособие.- М.: Издательский центр «Академия», 2007.-288с.
- 3 Hoess, S. Variability of sediment-contact tests in freshwater sediments with low-level anthropogenic contamination —Determination of toxicity thresholds / S. Hoess, W. Ahlf, C. Fahnenstich , D. Gilberg , H. Hollert, K Melbye, M. Meller, M Hammers-Wirtz,. P. Heininger , H. Neumann-Hensel, R. Ottermanns, H. Ratte, T. Seiler, D. Spira, J. Weber, U. Feiler // Environ. Pollut. - 2010. С. 2999–3010.
- 4 Feiler U. Sediment contact tests as a tool for the assessment of sediment quality in German waters / U. Feiler, S. Hoess, W. Ahlf, et al. // Environ. Toxicol. Chem. - 2013. С. 144– 155.
- 5 Teodorovic, I. *Myriophyllum aquaticum* v. *Lemna minor*: sensitivity and recovery potential after exposure to atrazine / I. Teodorovic, V. Knezevic, T. Tunic, M. Cucak, J.N. Lecic, A. Leovac, I.I. Tumbas // Environ. Toxicol. Chem. – 2012. №2. – С. 417-426.
- 6 Diepens, N.J. Sediment toxicity testing of organic chemicals in the context of prospective risk assessment a review / N.J. Diepens, G.H.P. Arts, T.C.M. Smidt, P.J. van den Brink, M.J. Heuvel-Greve, A.A. Koelmans // Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. – 2014. №3. – С. 255-302.
- 7 ISO 16191:2013 specifies a method for determining the toxicity of environmental samples on the growth of *Myriophyllum aquaticum*.
- 8 OECD. Test № 239: Water-sediment *Myriophyllum spicatum* toxicity test. OECD Publishing. 2014.

- 9 Зотина, Т.А. Биотестирование донных отложений р.Енисей с использованием водного растения *Elodea canadensis* / Т.А. Зотина, Е.А. Трофимова, М.Ю. Медведева, А.Я. Болсуновский // Известия самарского научного центра РАН. – 2013. № 15. – С.579-584.
- 10 Zotina, T. Experimental estimation of the possible use of submersed macrophytes for biotesting bottom sediments of the Yenisei River / T. Zotina, E. Trofimova, A. Bolsunovsky, O. Anishenko // Contemporary Problems of Ecology – 2014. С. 410–421.
- 11 Zotina, T. Chromosomal abnormalities in roots of aquatic plant *Elodea canadensis* as a tool for testing genotoxicity of bottom sediments / T. Zotina, M. Medvedeva, E. Trofimova, Yu. Alexandrova, D. Dementyev, A. Bolsunovsky // Ecotoxicology and Environmental Safety – 2015. – С. 384-391.
- 12 Zotina, T. Use of the aquatic plant *Elodea canadensis* to assess toxicity and genotoxicity of Yenisei River sediments // T. Zotina, E. Trofimova, M. Medvedeva, D. Dementyev, A. Bolsunovsky // Environ. Toxicol. Chem. – 2015. С. 2310-2321.
- 13 Степанова Н.Ю. Использование остракод для биотестирования донных отложений / Н.Ю. Степанова // Труды ИБВВ РАН. -2017.- 13с.
- 14 Fiskesjo, G. The *Allium*-test as a standard in environmental monitoring // G. Fiskesjo. // Hereditas – 1985. С. 99-112.
- 15 Evseeva, T.I. Genotoxicity and cytotoxicity assay of water sampled from the underground nuclear explosion site in the north of the Perm region (Russia) / T.I. Evseeva, S.A. Geras'kin, I.L. Shuktomova, A.I. Taskaeva. // Environ. Radioact. – 2005. С. 59-74.
- 16 Leme, D.M. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application / D.M. Leme, M.A. Marin-Morales. // Mutat. Res. – 2009. №682. С. 71-81.
- 17 Geras'kin, S. Geno-toxicity assay of sediment and water samples from the Upper Silesia post-mining areas, Poland by means of *Allium*-test / S.

Geras'kin, A.Oudalova, B.Michalik, N. Dikareva, V. Dikarev. // *Chemosphere*. – 2011. №83. С. 1133-1146.

18 Udalova, A.A. Evaluation of cytological and genotoxicity of natural waters in the area of dump of radioactive wastes using *Allium* test / A.A. Udalova, S.A. Geras'kin, V.G. Dikarev, N.S. Dikareva // *Radiats. Biol.Radioekol.* – 2014. № 1. С. 97-106.

19 Junior, H.M. Evaluation of genotoxicity and toxicity of water and sediment samples from a Brazilian stream influenced by tannery industries. / H.M. Junior, J. Silva, A.Arenson, C.S. Portela, I.C. de Sa Ferreira, C. Fernandes, J.A.P. Henriques // *Chemosphere*. – 2007. №67. С. 1211-1217.

20 Зотина, Т.А. Оценка качества донных отложений среднего участка р. Енисей с помощью *Allium*-теста. / Т.А. Зотина, Е.А. Трофимова, Ю.В. Александрова, О.В. Онищенко // *Сибирский экологический журнал*. – 2019. № 3. – С.327-340.

21 Firbas, P. Chromosome damage studies in the onion plant *Allium cepa* L. / P. Firbas, T. Amon. // *Caryologia*. – 2014. №2. С. 25-35.

22 Firbas, P.A survey of *Allium cepa* L. Chromosome damage in Slovenian environmental water, soil and rainfall samples. / P.A. Firbas // *Curr. Res. Biosci. Plant. Biol.* – 2015. №2. С. 62-83.

23 Türkoğlu, S. Determination of genotoxic effects of chlorfenvinphos and fenbuconazole in *Allium cepa* root cells by mitotic activity, chromosome aberration, DNA content, and comet assay. / S.Türkoğlu//*Pestic. Biochem. Physiol.*- 2012. № 103. С. 224–230.

24 Yildiz, M., Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the *Allium cepa* anaphase–telophase chromosome aberration assay. / M. Yildiz, E.S. Arikan. // *Caryologia* – 2008. №61. – С. 45-52.

25 Brain, A. Influence of light intensity on the toxicity of atrazine to the submerged freshwater aquatic macrophyte *Elodea canadensis* / A. Brain, J. Hoberg, J. Hosmer, S. Wall // *Ecotoxicol. Environ.Safety*. - 2012. С. 55-61.

26 Knauer, K. Methods for assessing the toxicity of herbicides to submersed aquatic plants / K. Knauer, M. Vervliet-Scheeboom, R. Dark, S. Maund // Pest Manag Sci. – 2006. C. 715–722.

27 Stesevic, D. Application of a New Sediment Contact Test with *Myriophyllum aquaticum* and of the Aquatic *Lemna* Test to Assess the Sediment Quality of Lake Skadar. / D. Stesevic, U. Feiler, D. Sundic, S. Mijovic, L. Erdinger, T. Seiler, P. Heininger, H. Hollert. // Soils and sediments. – 2007. №7. – C. 342-349.

28 Brinke, A. Development of a sediment-contact test with rice for the assessment of sediment-bound pollutants. / A. Brinke, S. Buchinger, G. Reifferscheid, R. Klein, U. Feiler. // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2015. №16. – C. 12664-12675.

29 OECD. Test № 218: Sediment- water chironomid toxicity test using spiked sediment. OECD Publishing. 2004.

30 OECD. Test № 225: Sediment-Water *Lumbriculus* Toxicity Test Using Spiked Sediment. OECD Publishing. 2007.

31 King, C. K. An Assessment of Five Australian Polychaetes and Bivalves for Use in Whole-Sediment Toxicity Tests: Toxicity and Accumulation of Copper and Zinc from Water and Sediment. / C.K. King, M.C. Dowse, S.L. Simpson, D.F. Jolley. // Environ. Contam. Toxicol. – 2004. №47. – C. 314-323.

32 Arola, H. Assessment of Fish Embryo Survival and Growth by In Situ Incubation in Acidic Boreal Streams Undergoing Biomining Effluents. / H. Arola, K. Karjalainen, J. Syrjänen, M. Hannula, A. Väisänen, J. Karjalainen. // Archives of Environmental Contamination and Toxicology. – 2018. – C.56-69.

33 Hoke, R. Application of frog embryo teratogenesis assay-xenopus to ecological risk assessment / R. Hoke, G. Ankley. // Environ. Toxicol. Chem., 2005. №24. – C. 2677-2690.

34 Бакаева, Е.Н. Место биотестовых исследований донных отложений в мониторинге водных объектов / Е.Н. Бакаева, А.М.

Никаноров, Н.А. Игнатова // Вестник южного научного центра РАН, 2009. – Т 5, № 2. – С. 84-93.

35 РД 52.24.609 Организация и проведение наблюдений за содержанием загрязняющих веществ в донных отложениях водных объектов. – Ростов-на-Дону, 2013. – 14с.

36 Зотина, Т.А. Фитомасса и видовое разнообразие макрофитной растительности в среднем течении р. Енисей. / Т.А. Зотина //Журнал сибирского федерального университета.- 2014. №7. –С. 73-86.

37 OECD. Test № 219: Sediment-water chironomid toxicity test using spiked water. OECD Publishing. 2004.

38 MacDonald, D. Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems / D. MacDonald, C. Ingersol, T. Berger // Environ. Contam. Toxicol. – 2000. С. 20–31.

39 Lichtenthaler, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. / H.K. Lichtenthaler // Methods in Enzymology. – 1987. №148. - С.350-382.

40 Lichtenthaler, H.K. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. / H.K. Lichtenthaler, C. Buschmann. // Current Protocols in Food Analytical Chemistry. – 2001. C/ 218-239.

41 МУК № 45203 Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения в том числе нормативы предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения (с изменениями на 10 марта 2020 года). – М. Гидрометеиздат, 2017. – 153с.

42 Arts, G. Sensitivity of submerged freshwater macrophytes and endpoints in laboratory toxicity tests / G. Arts, J. Belgers, C. Hoekzema, J. Thissen // Environ. Pollut. – 2008. С. 199-206.

43 Hanson, M. Trichloroacetic acid (TCA) and trifluoroacetic acid (TFA) mixture toxicity to the macrophytes *Myriophyllum spicatum* and *Myriophyllum*

sibiricum in aquatic microcosms / M. Hanson, P. Sibley, S. Mabury, K. Solomon, D. Muir // *Sci. Total Environ.* – 2002. С. 247- 259.

44 Loboda, A. M. Seasonal changes in the biomechanical properties of *Elodea canadensis* Michx / A.M. Loboda, R. J. Bialik, M. Karpinski, L. Przyborowski // *Aquatic Botany* (2010), с.43-51

45 Александрова, Ю.В. Влияние светового фактора на рост и содержание фотосинтетических пигментов элодеи канадской (*Elodea canadensis*) в модельной системе «вода-донные отложения» / Ю.В. Александрова, Т.А. Зотина, Н.А. Гаевский // *Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология*, 2020. 13(2). С. 188-196.

46 Kankanamge, E.C. Shading may alter the colonization pattern and dominance between two invasive submerged aquatic plant species / E.C. Kankanamge, F.E. Matheson, T. Riis // *Aquat. Ecol.* 2020. Vol. 54, P. 721–728.

47 Girling, A.E. Development of methods for evaluating toxicity to freshwater ecosystems / A.E. Girling, D. Pascoe, C.R. Janssen, A. Peither, A. Wenzel, B. Neumeier, G.C. Mitchell, E.J. Taylor, S.J. Maund, J.P. Lay, N.O. Crossland, R.R. Stephenson, G. Persoone // *Ecotoxicol Environ Saf.* 2000. Vol. 45, P. 148–176.

48 McGregor, E.B. Effects of planting system design on the toxicological sensitivity of *Myriophyllum spicatum* and *Elodea canadensis* to atrazine / E.B. McGregor, K.R. Solomon, M.L. Hanson // *Chemosphere* – 2008. Vol. 73. P. 249–260.

49 Kovalchuk, O. The *Allium cepa* chromosome aberration test reliably measures genotoxicity of soils of inhabited areas in the Ukraine contaminated by the Chernobyl accident / O. Kovalchuk, I. Kovalchuk, A. Arkhipov, P. Telyuk, B. Hohn, L. Kovalchuk // *Mutat. Res.* – 1988. Vol. 415. P. 47–57.

50 Зотина, Т.А. Экспериментальная оценка возможности использования погруженных макрофитов для биотестирования донных отложений р. Енисей / Т.А. Зотина, Е.В. Трофимова, А.Я. Болсуновский, О.В. Анищенко // *Сиб. экол. журн.* 2014. № 4. С. 547–560

51 Fairchild, J. F. Comparative sensitivity of five species of macrophytes and six species of algae to atrazine, metribuzin, alachlor, and metolachlor / J. F. Fairchild, D. S. Ruessler, A.R. Carlson // *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1998. Vol. 17, No. 9, pp. 1830–1834.

52 Зотина, Т.А. Находка бразильской элодеи *Egeria densa* Planch. (Hydrocharitaceae) в реке Енисей // Т.А. Зотина – Красноярск: *Turczaninowia*. 2013, 16 (3):С 60-63.

53 Feiler, U. A new plant-based bioassay for aquatic sediments / U. Feiler, I. Kirchesch, P. Heininger // *Soils Sediments*, 2004. Vol. 4, pp.261–266.

54 Knauer, K. Methods for assessing the toxicity of herbicides to submersed aquatic plants / K. Knauer, M. Vervliet-Scheebaum, R.J. Dark, S.J. Maund // *Pest Manag Sci*. 62: 2006. 715–722.

55 Sanchez, D. Testing the use of water milfoil (*Myriophyllum spicatum* L.) in laboratory toxicity assays / D. Sanchez, MAS. Grase, J. Canhoto // *Bull Environ Contam Toxicol.*, 2007. Vol. 78, pp. 421–426.

56 Vezzone, M. Ecotoxicological evaluation of dredged sediments from Rodrigo de Freitas Lagoon (Rio de Janeiro State, Brazil) using bioassays with earthworms and collembolans. / M. Vezzone, R. Cesar, H. Polivanov // *Environ Earth Sci.*, 2018. **77**,743.

57 Buresova, H. Effects of linuron on a rooted aquatic macrophyte in sediment-dosed test systems. / H. Buresova, SJH. Crum, JDM. Belgers, P.I. Adriaanse, G. Arts // *Environ Pollut*, 2013. Vol. 175, pp. 117–124.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

В.А.Кратасюк В.А.Кратасюк

« 16 » *мая* 2021 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Разработка биотеста для оценки качества донных отложений на основе
водного растения элодеи канадской

03.04.02 Физика

03.04.02.01 Биофизика

Научный руководитель	<i>Т.А. Зотина</i> 16.06.21	к.б.н., доцент	Т.А. Зотина
	подпись, дата	должность, ученая степень	инициалы, фамилия
Выпускник	<i>Е.А. Прокофьева</i> 16.06.21		Е.А. Прокофьева
	подпись, дата		инициалы, фамилия
Рецензент	<i>Н.А. Гаевский</i> 16.06.21	д.б.н., профессор	Н.А. Гаевский
	подпись, дата	должность, ученая степень	инициалы, фамилия

Красноярск 2021