Бюджетное общеобразовательное учреждение Вологодской области
«Вологодский многопрофильный лицей»

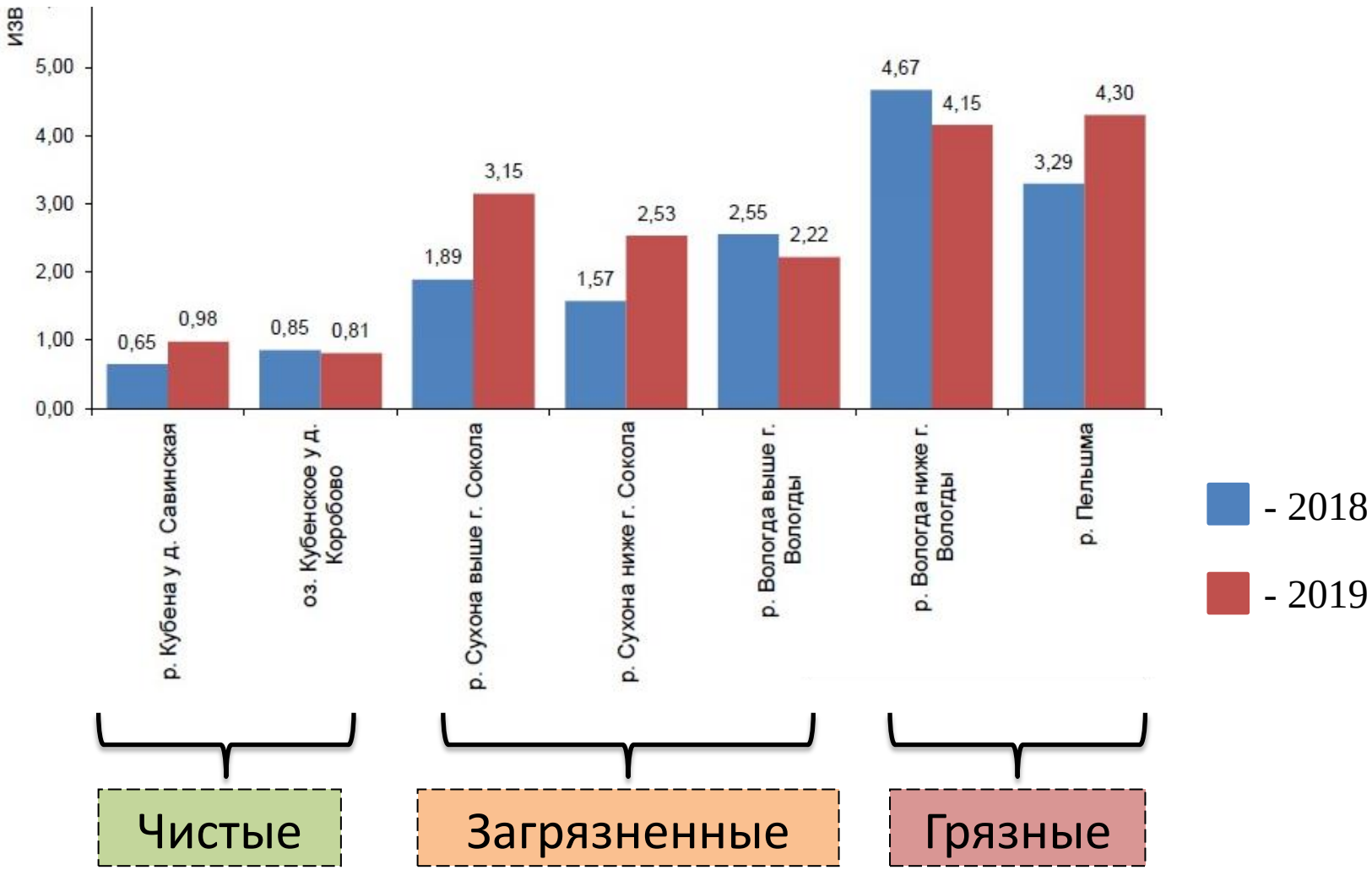
# Оценка токсичности тяжелых металлов на популяционном уровне

Шестакова Ксения Александровна, 10 класс

Научный руководитель: Зейслер Н.А.

Вологда, 2020

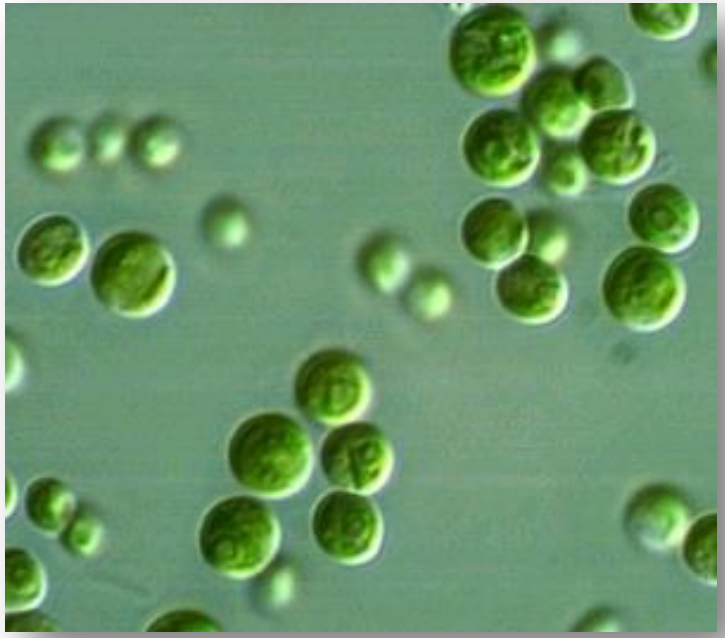
# Загрязнение рек Вологодской области

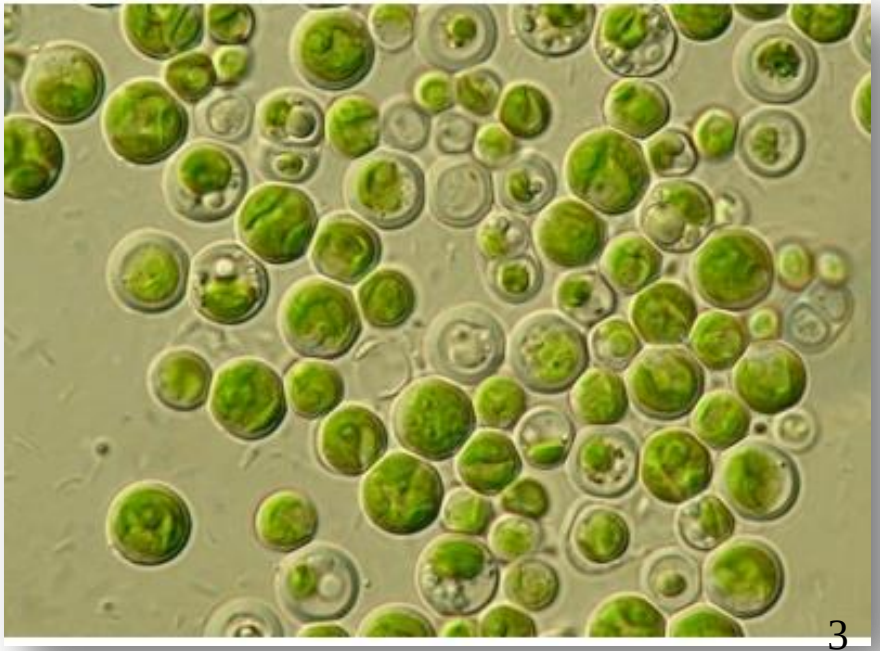


# Объект исследования

***Chlorella vulgaris*** – это микроскопическая зеленая водоросль. Название происходит от греческого слова хлорос = «зелёный», «жёлто-зелёный» и латинского суффикса –элла = «маленький».

Царство: Растения
Отдел: Зелёные водоросли
Семейство: Хлорелловые
Род: Хлорелла





***Цель***: оценить токсичность тяжелых металлов на примере меди, цинка и железа для популяции хлореллы.

***Задачи***:

1. Оценить влияние солей тяжелых металлов на численность популяции хлореллы.
2. Исследовать взаимосвязь концентрации используемых растворов солей и степени их токсичности.
3. Оценить адаптационные возможности хлореллы.
4. Исследовать возможность накопления тяжелых металлов в клетках хлореллы.

***Гипотеза***: Соли тяжелых металлов оказывают угнетающее действие на популяцию хлореллы.

# Схема исследования

Исследование влияния тяжелых металлов на численность хлореллы

Исследование возможности адаптации хлореллы к тяжелым металлам

Исследование возможности аккумулирования металлов

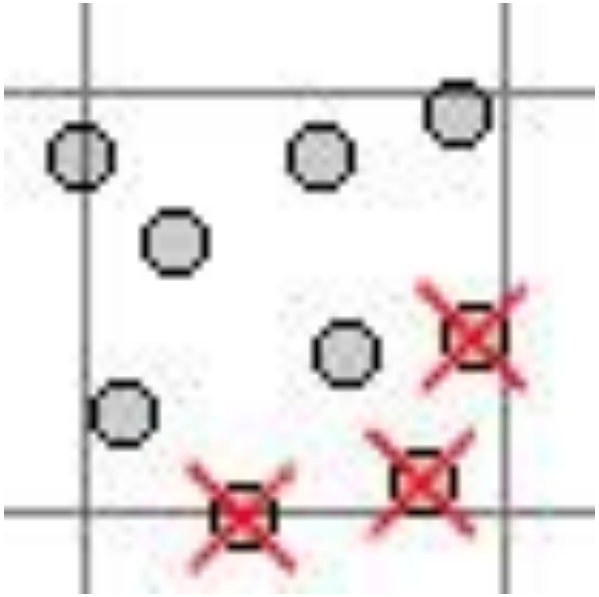
Изучение интенсивности аккумулирования металлов в мертвых организмах

# Методика и методы исследования

Хлореллу культивировали в 216 пробирках на питательной среде Тамийа, дистиллированной воде и растворах солей исследуемых металлов при периодическом перемешивании (на планшетном шейкере) и 10-часовом освещении.

Подсчет клеток проводили каждые сутки с помощью камеры Горяева. Всего было подсчитано число клеток хлореллы в 1026 пробах

Камера Горяева



Принцип подсчета клеток

# Методика и методы исследования

Для изучения влияния тяжелых металлов на рост хлореллы использовали соли $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, в концентрациях, подобранных с учетом ПДК данных металлов в водной среде

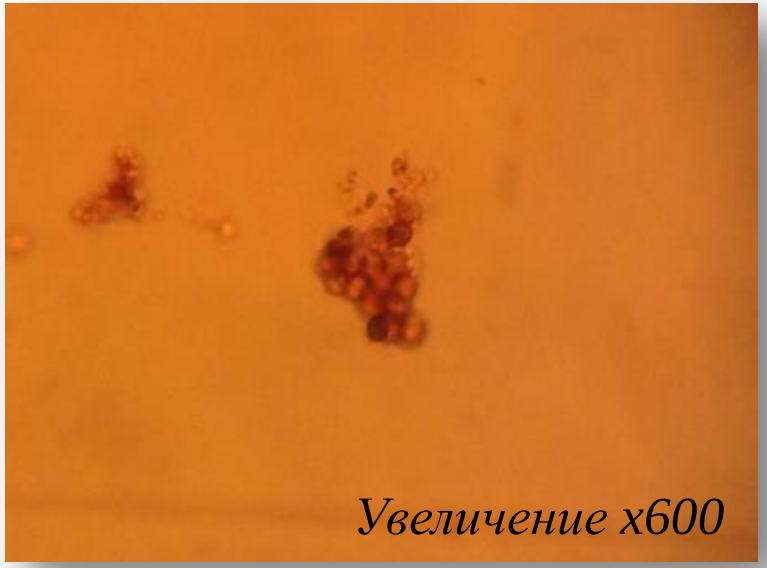
| **Концентрация** | **Сульфат меди (II)** | **Сульфат цинка** | **Сульфат железа (II)** |
|---|---|---|---|
| **0,1 мкг/л** | 0,1 ПДК | 0,01 ПДК | 0,001 ПДК |
| **1 мкг/л** | ПДК | 0,1 ПДК | 0,01 ПДК |
| **10 мкг/л** | 10 ПДК | ПДК | 0,1 ПДК |
| **100 мкг/л** | 100 ПДК | 10 ПДК | ПДК |
| **1000 мкг/л** | 1000 ПДК | 100 ПДК | 10 ПДК |

# Методика и методы исследования

Для определения живых и мертвых клеток в суспензии хлореллы добавляли красители: метиленовый синий и нейтральный красный.

При одновременной окраске метиленовый синий окрашивает мертвые клетки в синий цвет, нейтральный красный окрашивает живые клетки в розовый цвет.

Все исследования проводили в 3-х кратной биологической повторности.



# Расчет численности хлореллы

В каждой пробе подсчитывали клетки водорослей, как минимум, в трех камерах с последующим вычислением среднего арифметического. Пересчет численности клеток водорослей проводится по формуле:

$$\mathbf{N = 1000 * n / S * h}$$

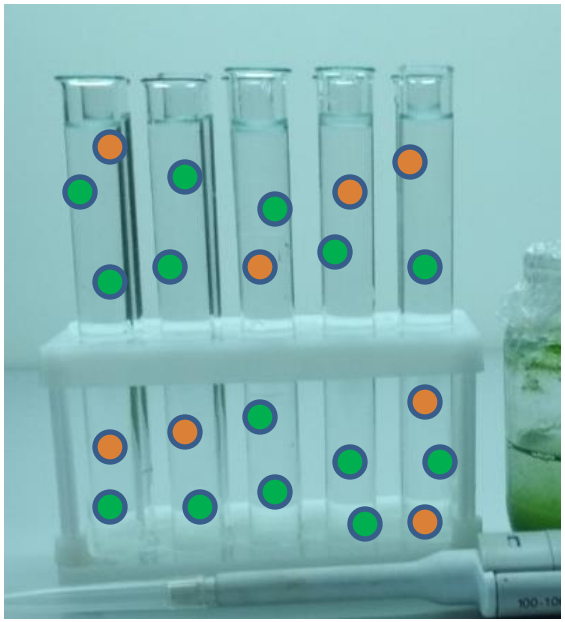
N – численность водорослей, млн/мл;

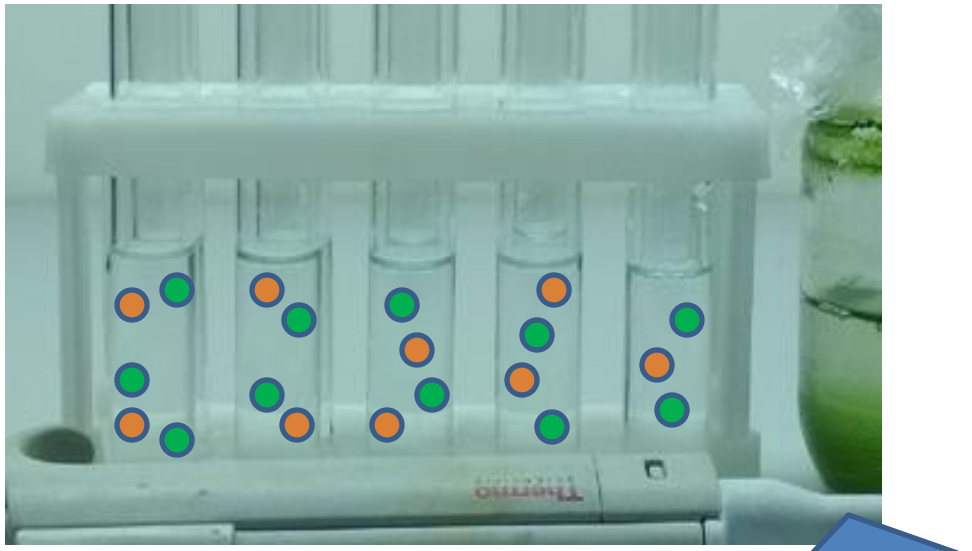
n – численность клеток, найденных в секторе сетки камеры, кл.;

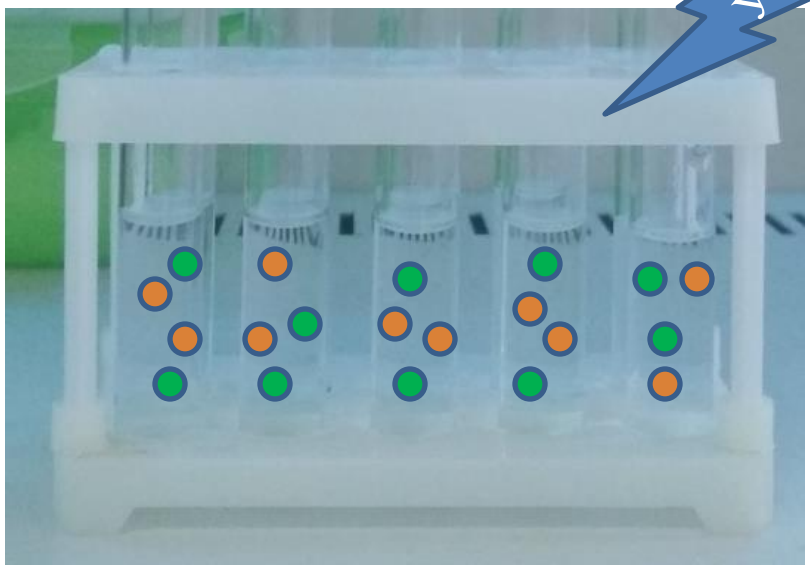
S – площадь сектора сетки (400 мм$^2$);

h – глубина счетной камеры (0,1 мм);

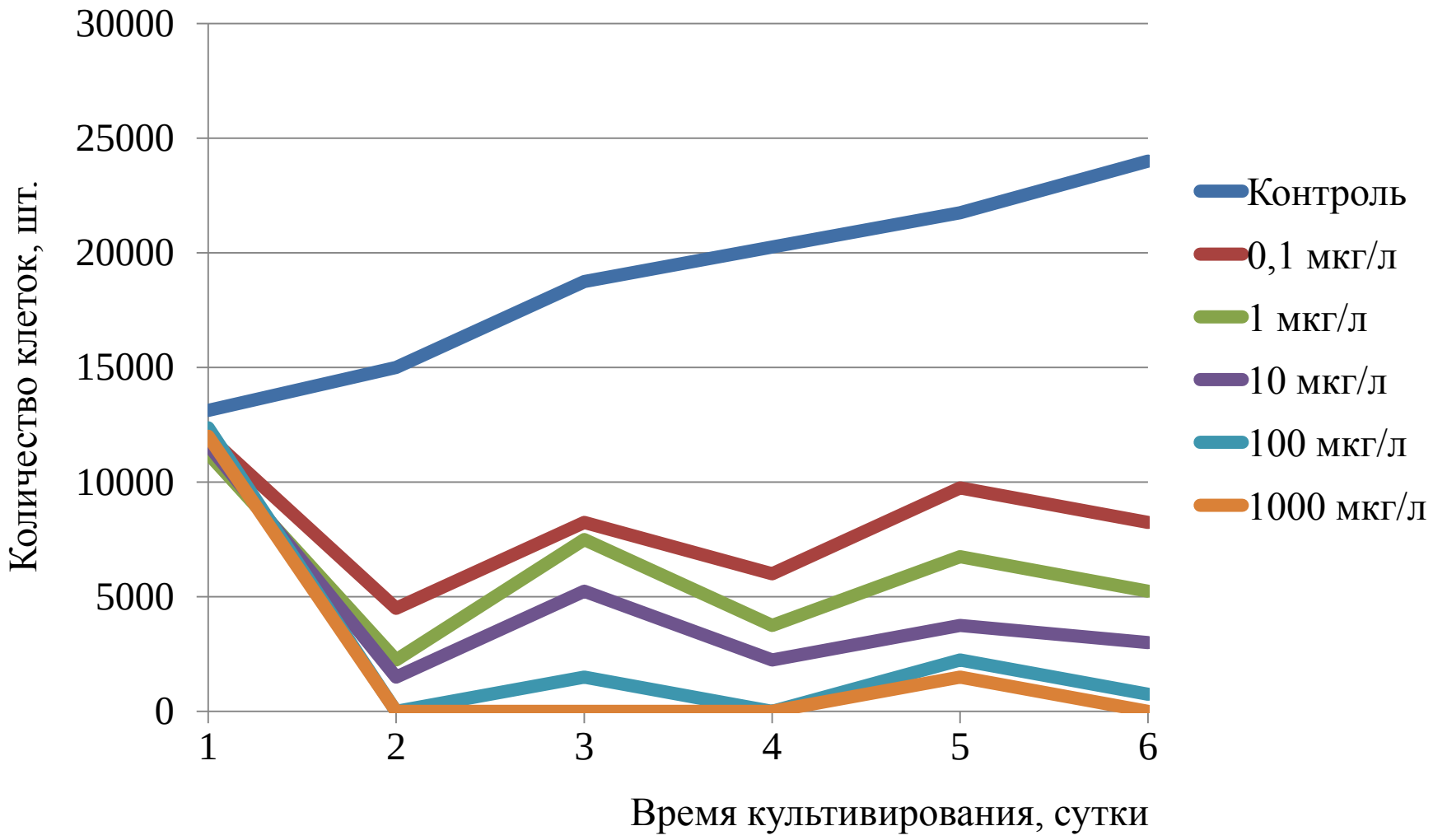
1000 – коэффициент пересчета кубических миллиметров в кубические сантиметры.



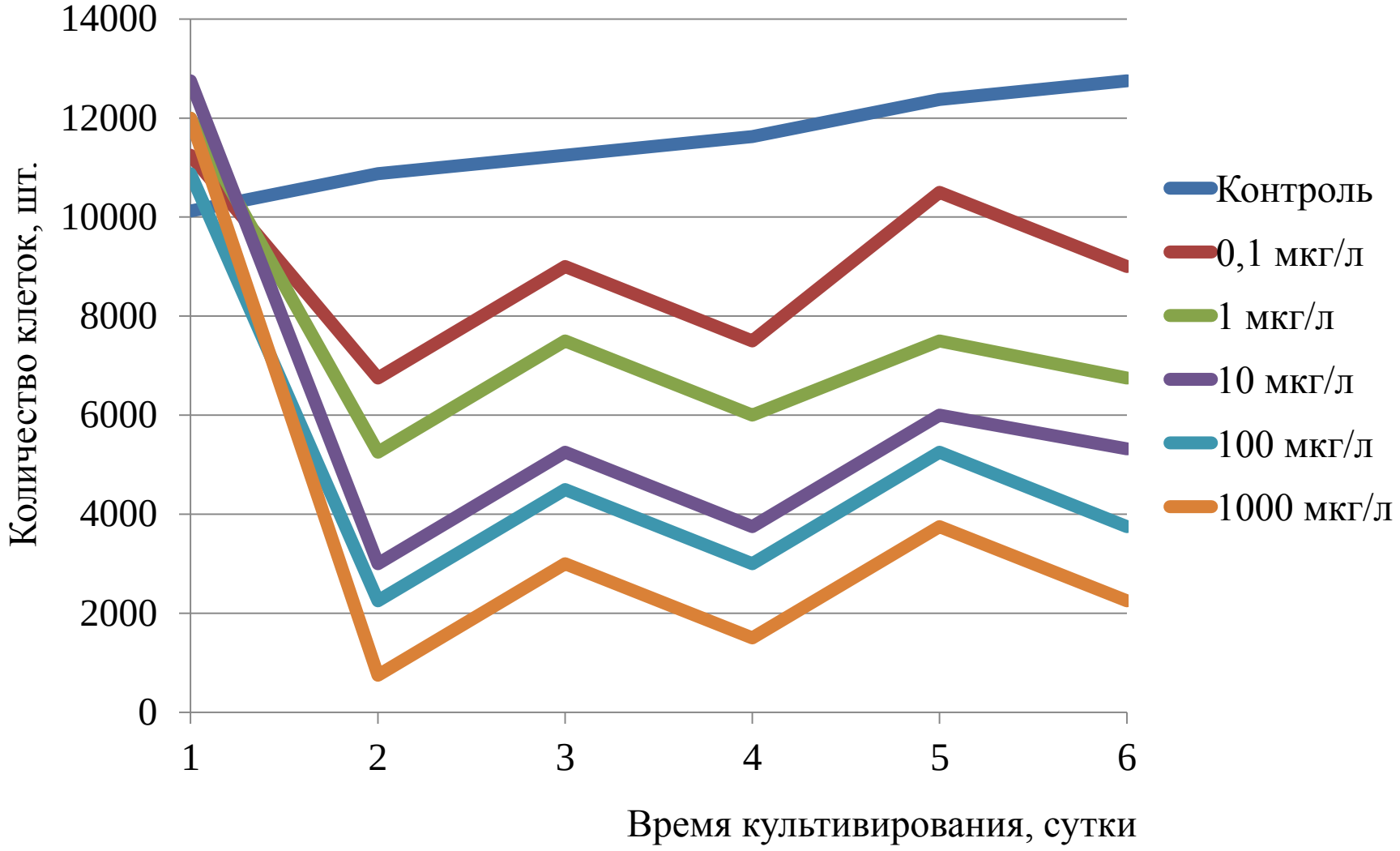



УФ

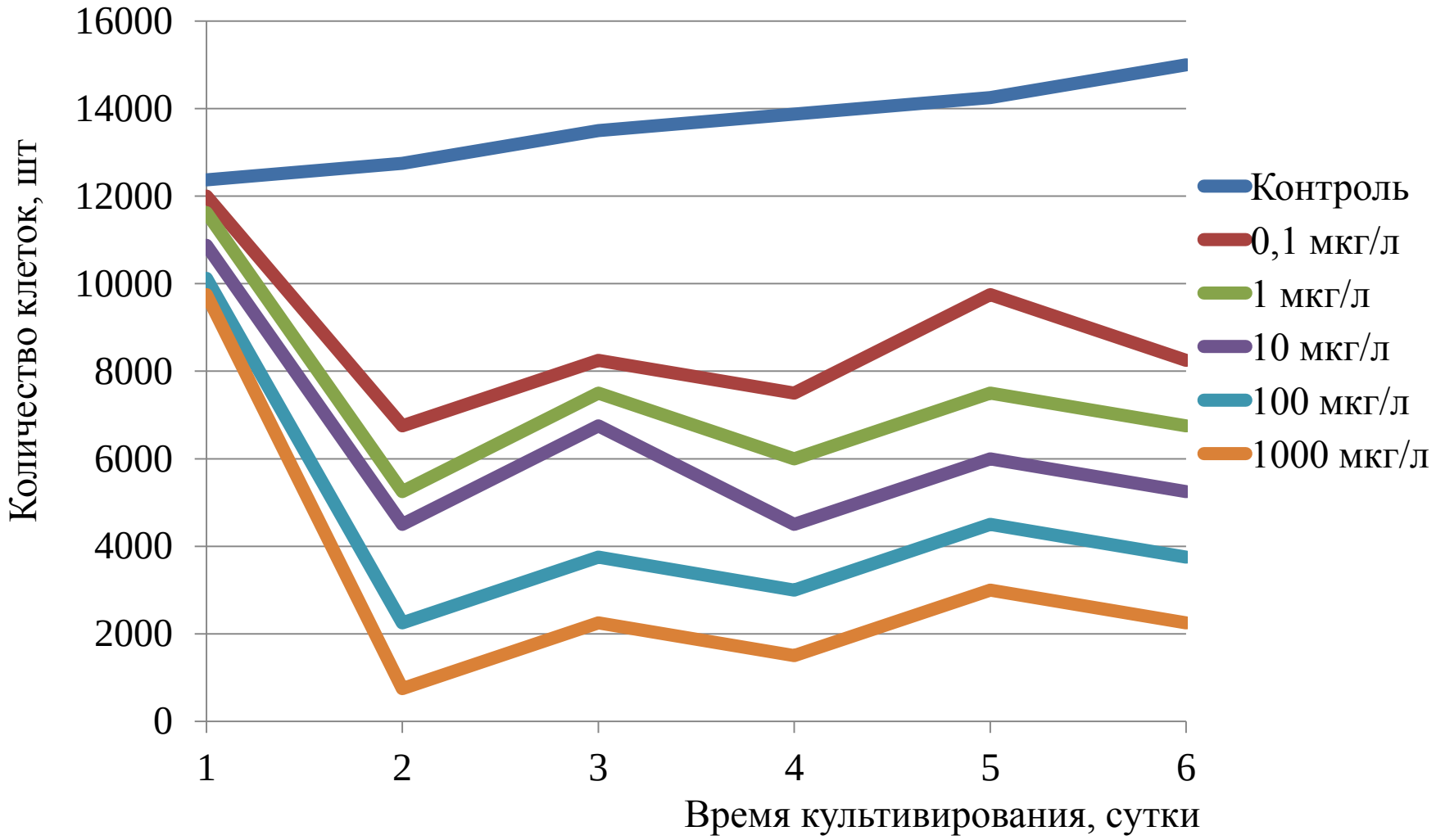
# Динамика изменения численности популяции хлореллы в присутствии сульфата меди (II)



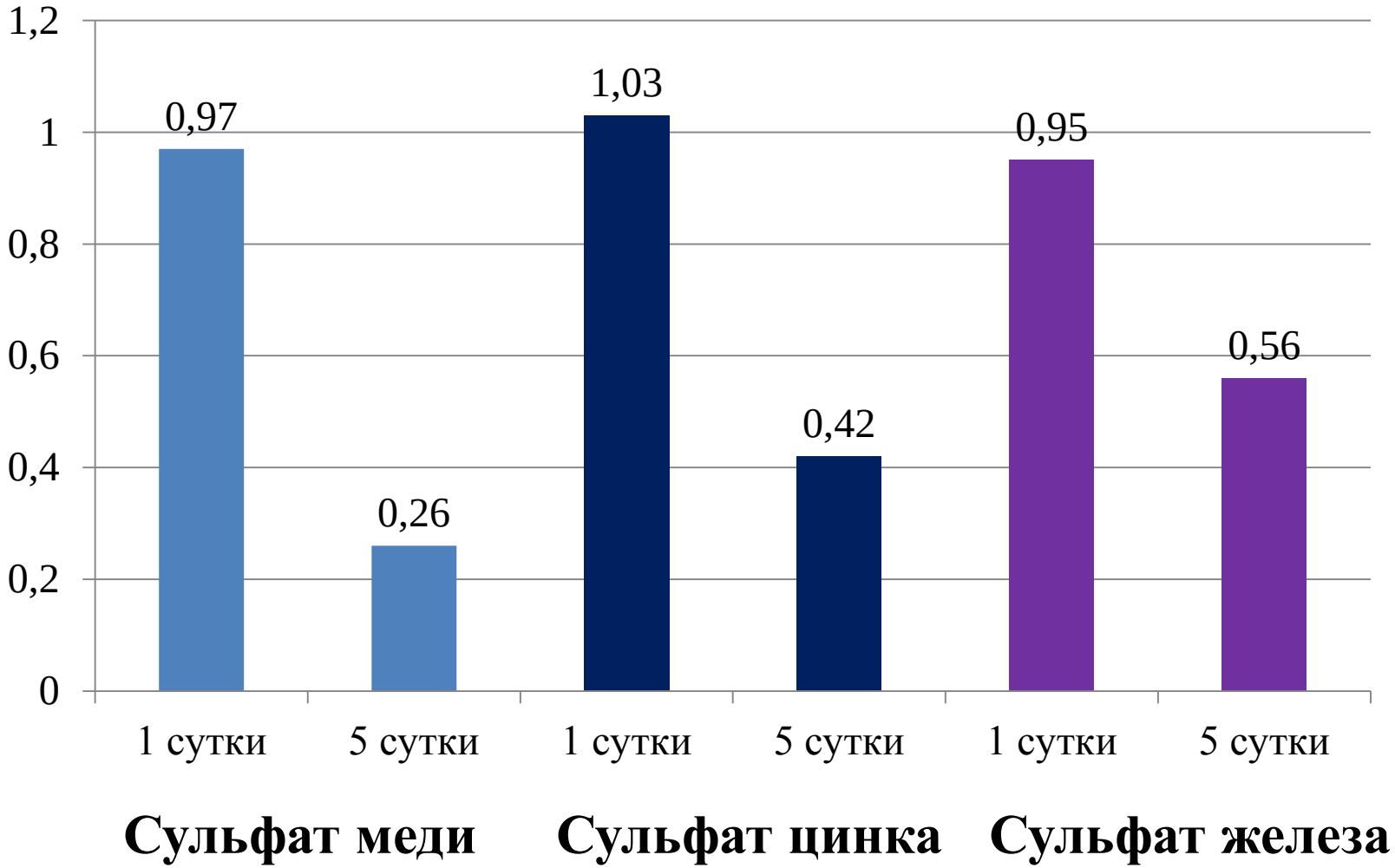
# Динамика изменения численности популяции хлореллы в присутствии сульфата железа (II)



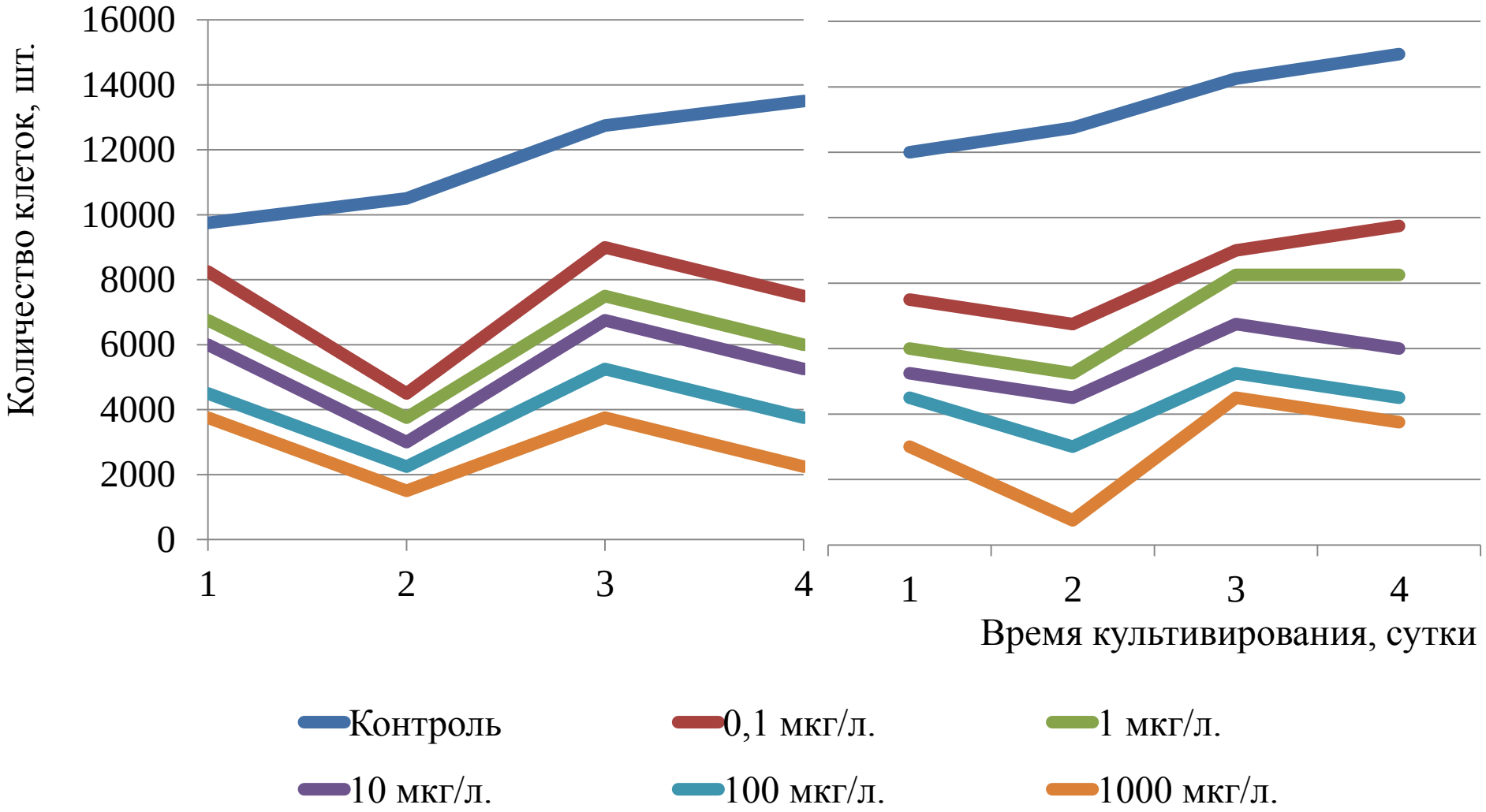
# Динамика изменения численности популяции хлореллы в присутствии сульфата цинка



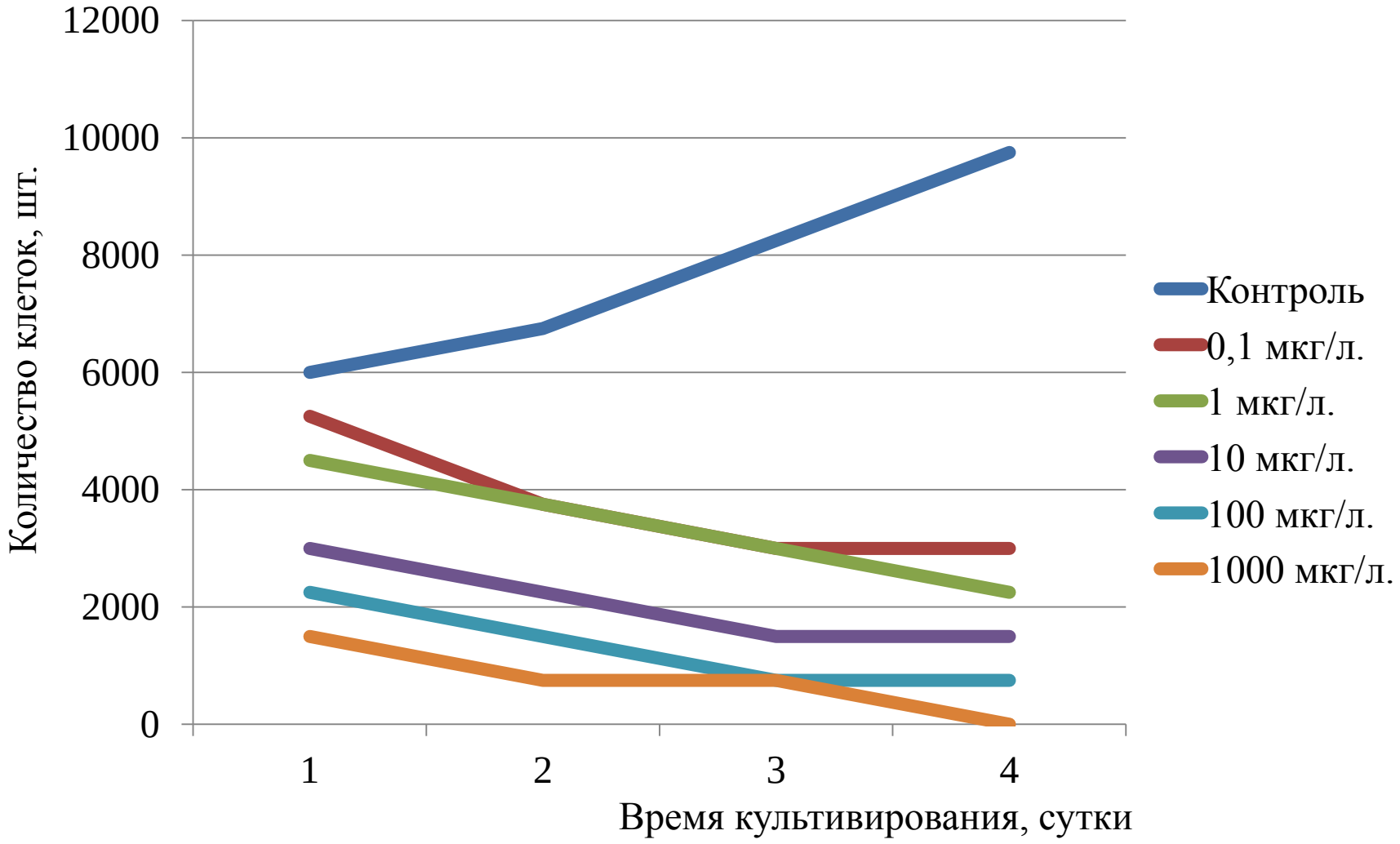
# Сравнение токсичности ионов меди, железа и цинка в концентрации 10 мкг/л



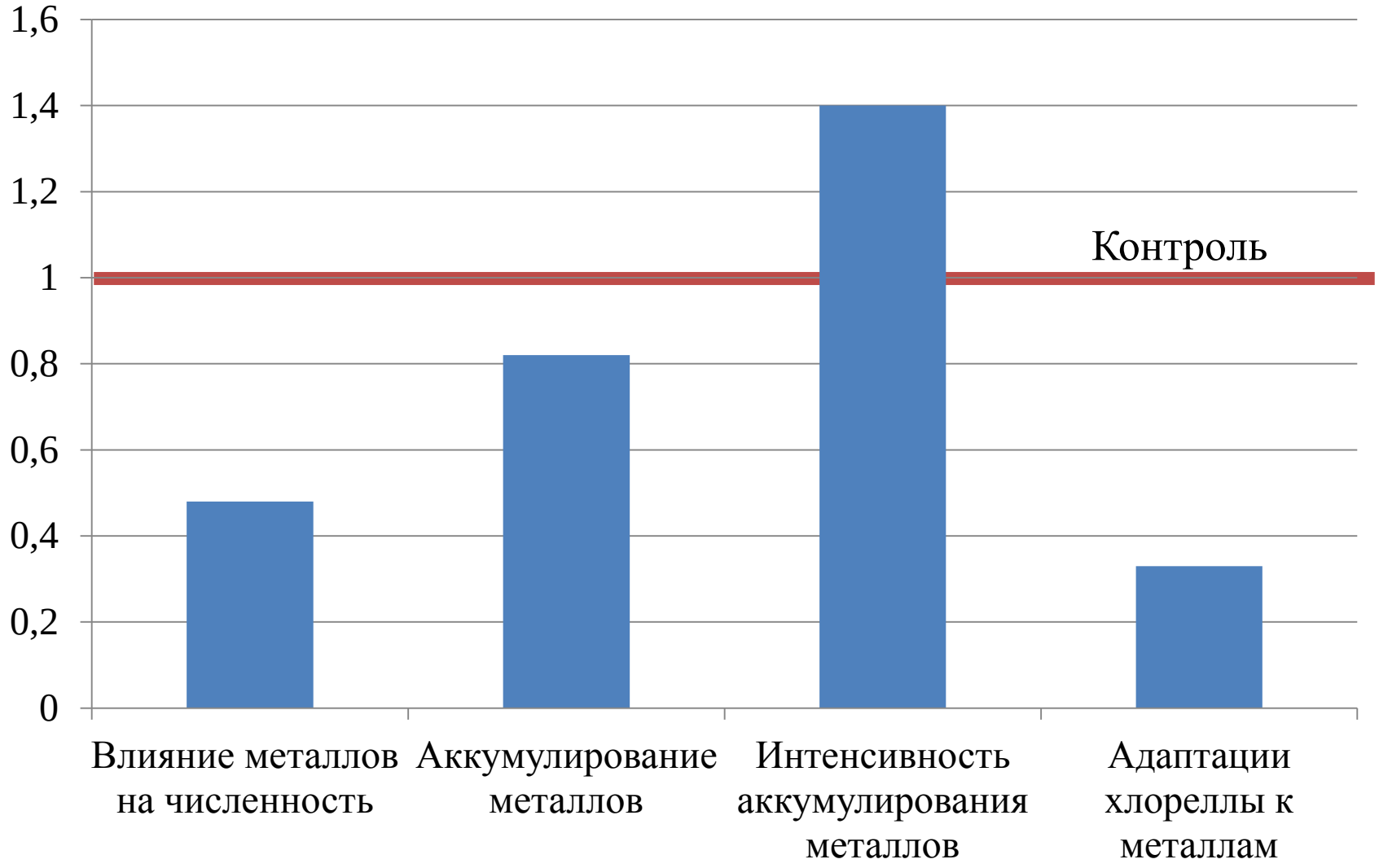
# Возможность выноса ионов на примере сульфата цинка



# Возможность адаптации хлореллы на примере сульфата цинка



# Сравнение численности хлореллы в разных исследованиях на примере сульфата цинка в концентрации 10 мкг/л



# Вывод

Важно отметить, что при большем времени инкубирования водоросль приспосабливается к данным условиям среды, и включаются механизмы нейтрализации негативного воздействия.

Адаптационные реакции могут фиксироваться уже у 2-3 поколения хлореллы. Так, более острая реакция проявляется на 1-4-е сутки.

Наибольшим токсичным действием отличаются соли меди в концентрации 1000 мкг/л.

Таким образом, наблюдения  показывают, что хлорелла, как компонент экосистемы, значима из-за накопления токсических веществ, в клетке и выведении их из пищевых сетей.

# Решение экологической проблемы

По результатам различных исследований хлорелла, на ряду с другими микроорганизмами, способна снижать концентрацию тяжелых металлов в среде. Таким образом, можно использовать ***биофильтры*** на основе хлореллы или других водорослей с аналогичными свойствами.

# Перспективы развития работы

Исследовать реакцию хлореллы на загрязнение металлами на большем диапазоне металлов

Исследовать явления **синергизма и антагонизма** в среде металлов

Исследовать **другие водоросли** помимо хлореллы

# Список литературы

Багаева, Т. В. Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов: учебно-методическое пособие .

Будников, Г. К. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных систем.

Горностаева, Е. А. Влияние ионов меди и никеля на почвенные цианобактерии и цианобактериальные сообщества: дис. канд. биол. наук: 03.02.08.

Грубинко, В.В. Структурные изменения в клеточных мембранах водных растений при воздействии токсических веществ .

Давыдова, Н.С. Влияние ионов меди на динамику роста водоросли хлорелла

Доклад о состоянии и охране окружающей среды Вологодской области в 2018 году.

Евдокимова, Г. А. Эколого-микробиологические основы охраны почв Крайнего Севера.

Мелехова, О. П. Биологический контроль окружающей среды. Биоиндикация и биотестирование.

Пиментел Флорес Хосе Луис. Микроводоросли как объект биомониторинга в условиях антропогенного стресса при действии тяжелых металлов .

# Список литературы

Плеханов, С. Е. Ранние эффекты токсического действия цинка, кобальта, кадмия на фотосинтетическую активность водоросли Chlorella pyrenoidosa Chick .

Полынов, В. А. Действие низких концентраций меди на фотоингибирование фотосистемы 2 у Chlorella vulgaris .

Хоботьев, В. Г. Токсичность медьсодержащих соединений для водорослей.

Шилова, Н. А. Влияние тяжелых металлов на представителей пресноводного фито- и зоопланктона в условиях засоления: дис. канд. биол. наук: 03.02.08.

Franklin, N. M. Effect of initial cell density on the bioavailability and toxicity of copper in microalgal bioassays.

Howlett, N. Induction of lipid peroxidation during heavy metal stress in Saccharomyces cerevisiae and influence of plasma membrane fatty acid unsaturation.

3N-BBM+V (Bold Basal Medium with 3-fold Nitrogen and Vitamins; modified)

Р 52.24.695-2007. Рекомендации. Оценка токсического загрязнения природных вод и донных отложений водных экосистем по коэффициенту регенерации популяции.