

Бюджетное общеобразовательное учреждение Вологодской области  
«Вологодский многопрофильный лицей»

# Оценка токсичности тяжелых металлов на клеточном и популяционном уровне

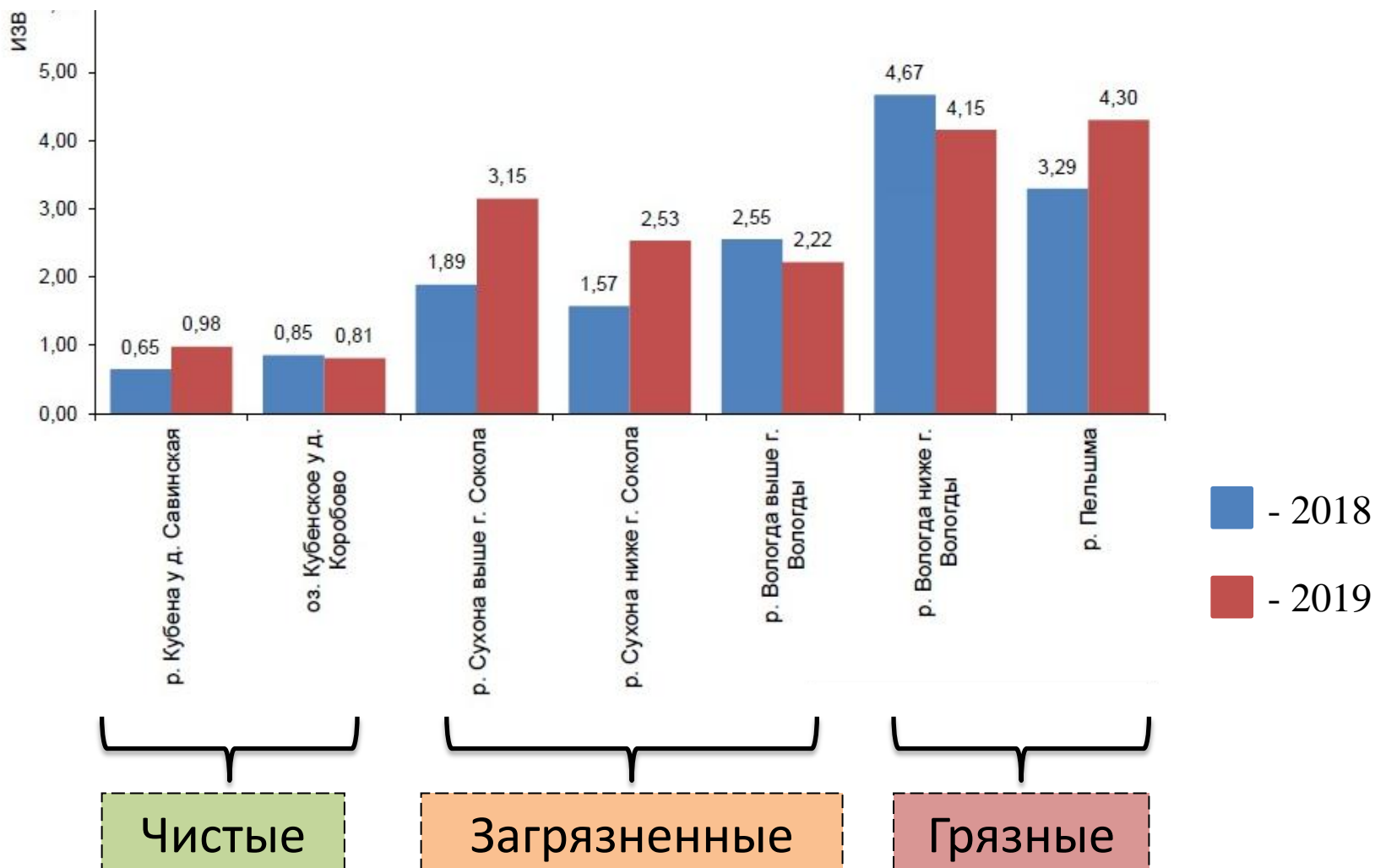
Шестакова Ксения Александровна, 11 класс

Научный руководитель: Зейслер Н.А.

Вологда, 2020



# Загрязнение рек Вологодской области



# Объект исследования

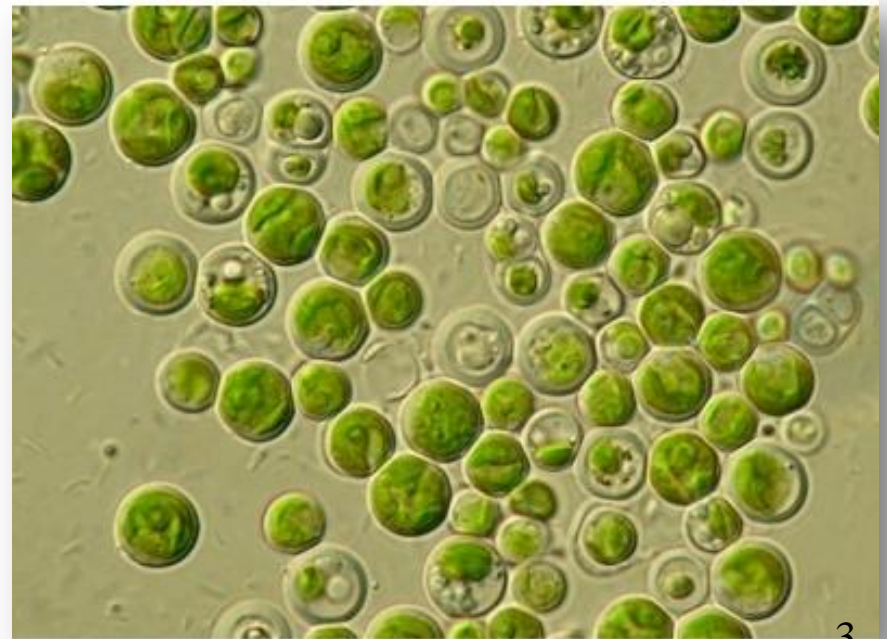
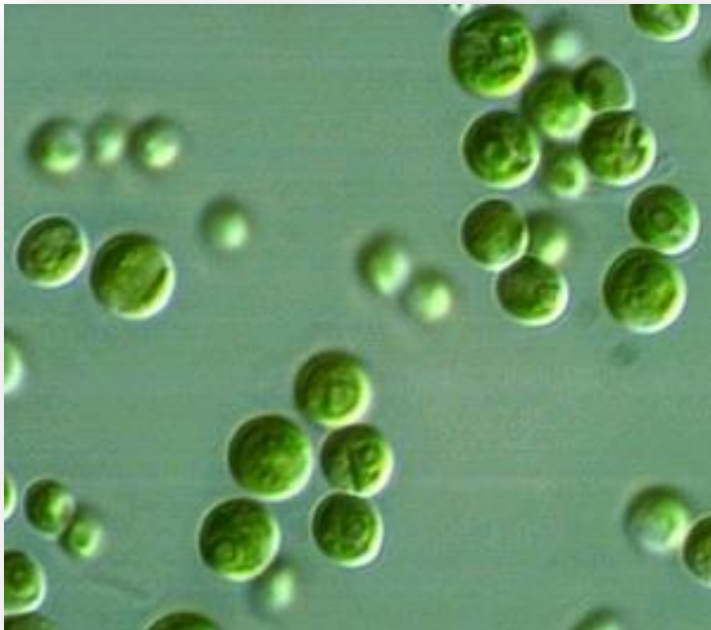
*Chlorella vulgaris* – это микроскопическая зеленая водоросль. Название происходит от греческого слова хлорос = «зелёный», «жёлто-зелёный» и латинского суффикса –элла = «маленький».

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  
аккумуляции металлов

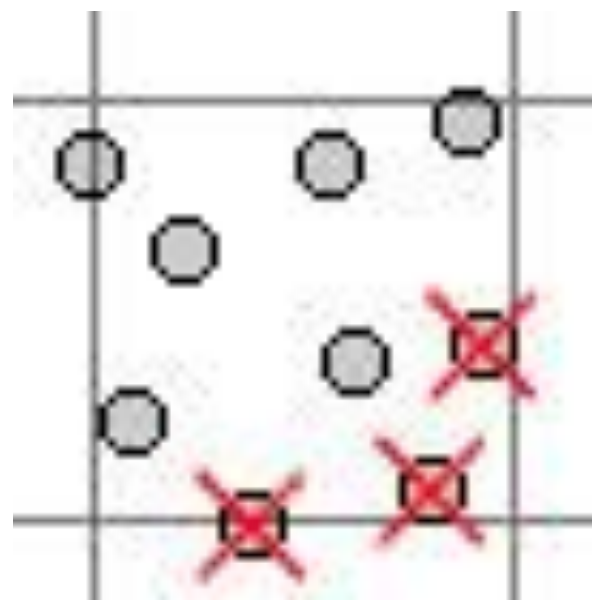
Изучение интенсивности  
аккумуляции металлов в мертвых  
организмах



# Методика и методы исследования

Хлореллу культивировали в 216 пробирках на питательной среде Тамия, 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



## Методика и методы исследования

Для изучения влияния тяжелых металлов на рост хлореллы использовали соли  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , в концентрациях, подобранных с учетом ПДК данных металлов в водной среде

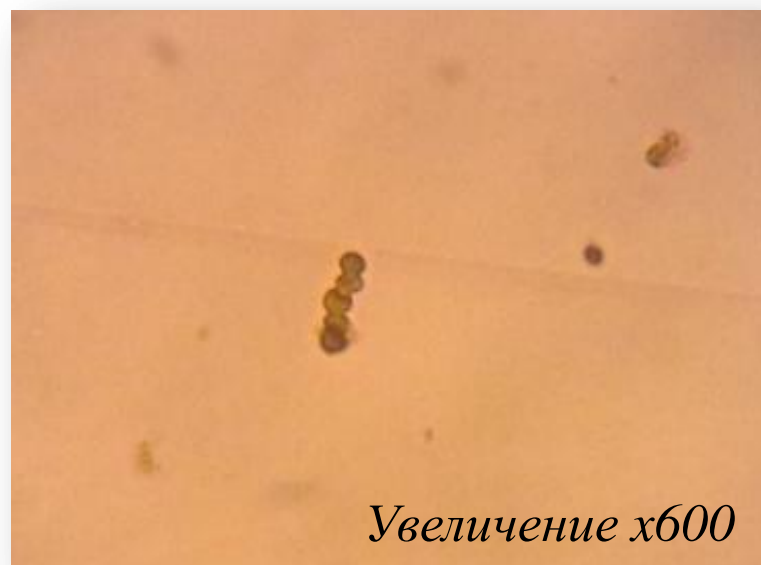
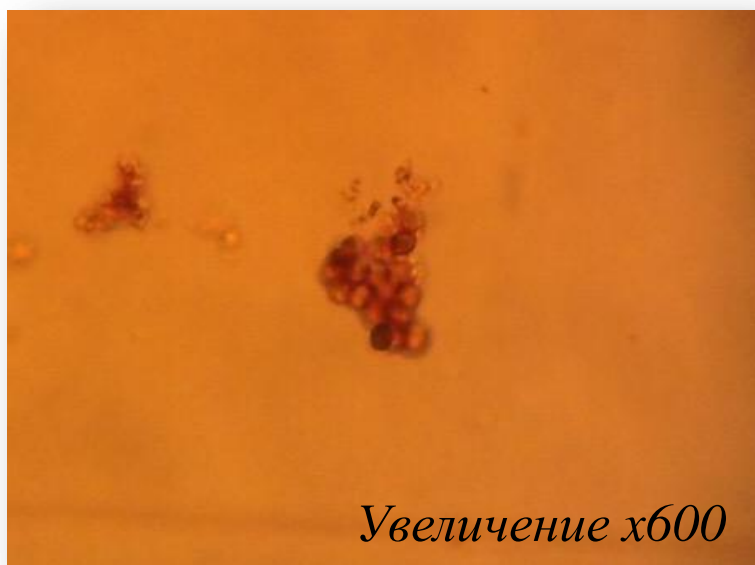
Концентрация	Сульфат меди (II)	Сульфат цинка	Сульфат железа (II)
0,1 мкг/л	0,1 ПДК	0,01 ПДК	0,001 ПДК
1 мкг/л	ПДК	0,1 ПДК	0,01 ПДК
10 мкг/л	10 ПДК	ПДК	0,1 ПДК
100 мкг/л	100 ПДК	10 ПДК	ПДК
1000 мкг/л	1000 ПДК	100 ПДК	10 ПДК

# 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:

$$N = 1000 * n / S * h$$

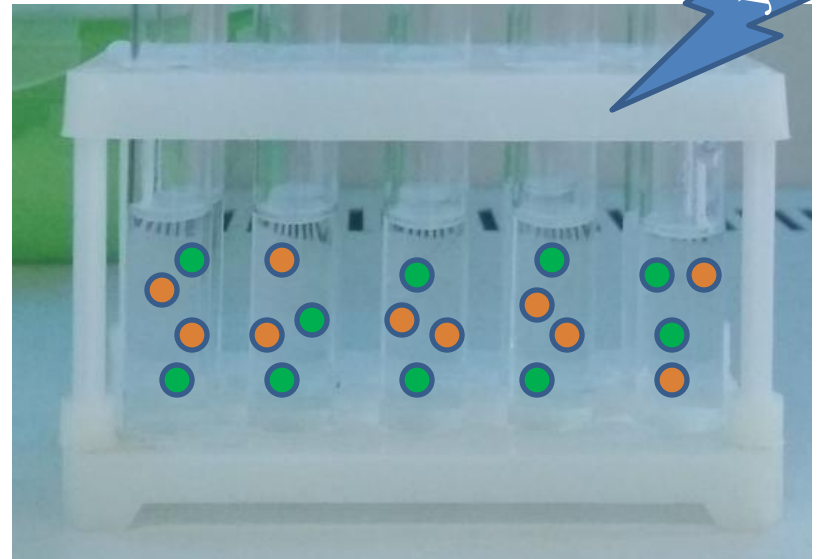
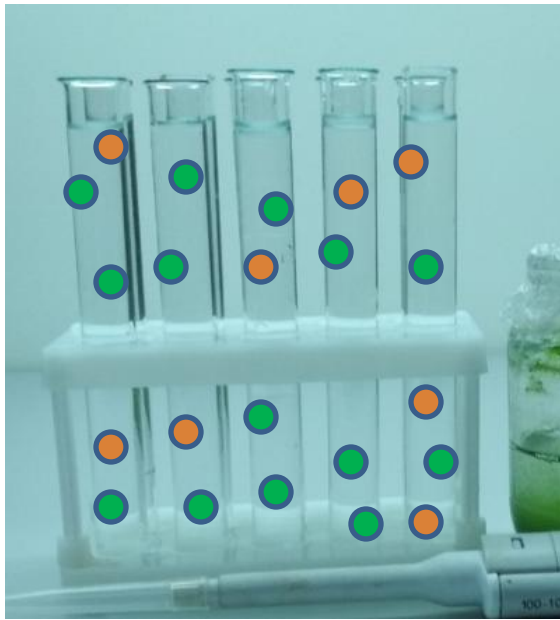
$N$  – численность водорослей, млн/мл;

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

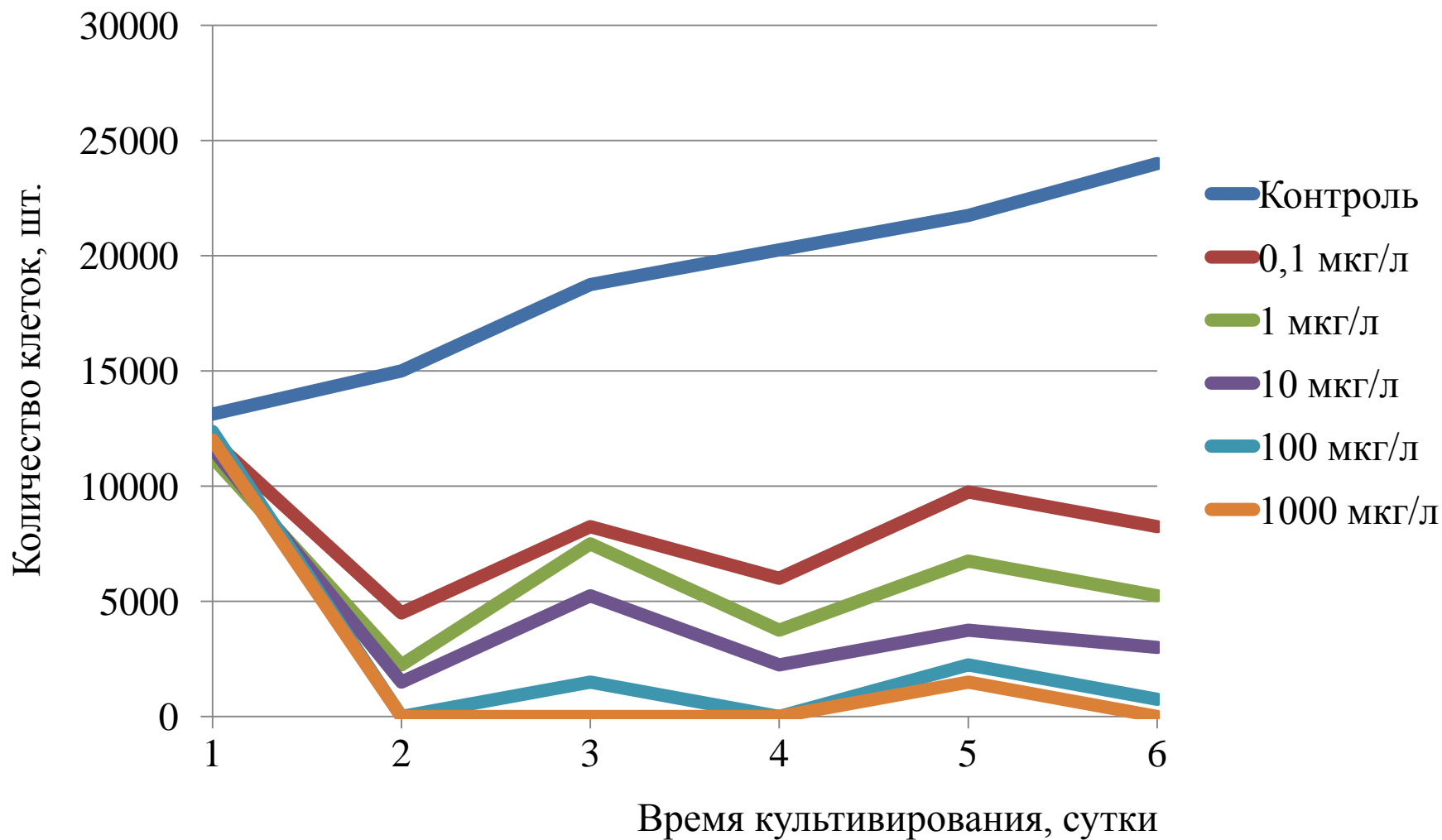
$S$  – площадь сектора сетки (400 мм<sup>2</sup>);

$h$  – глубина счетной камеры (0,1 мм);

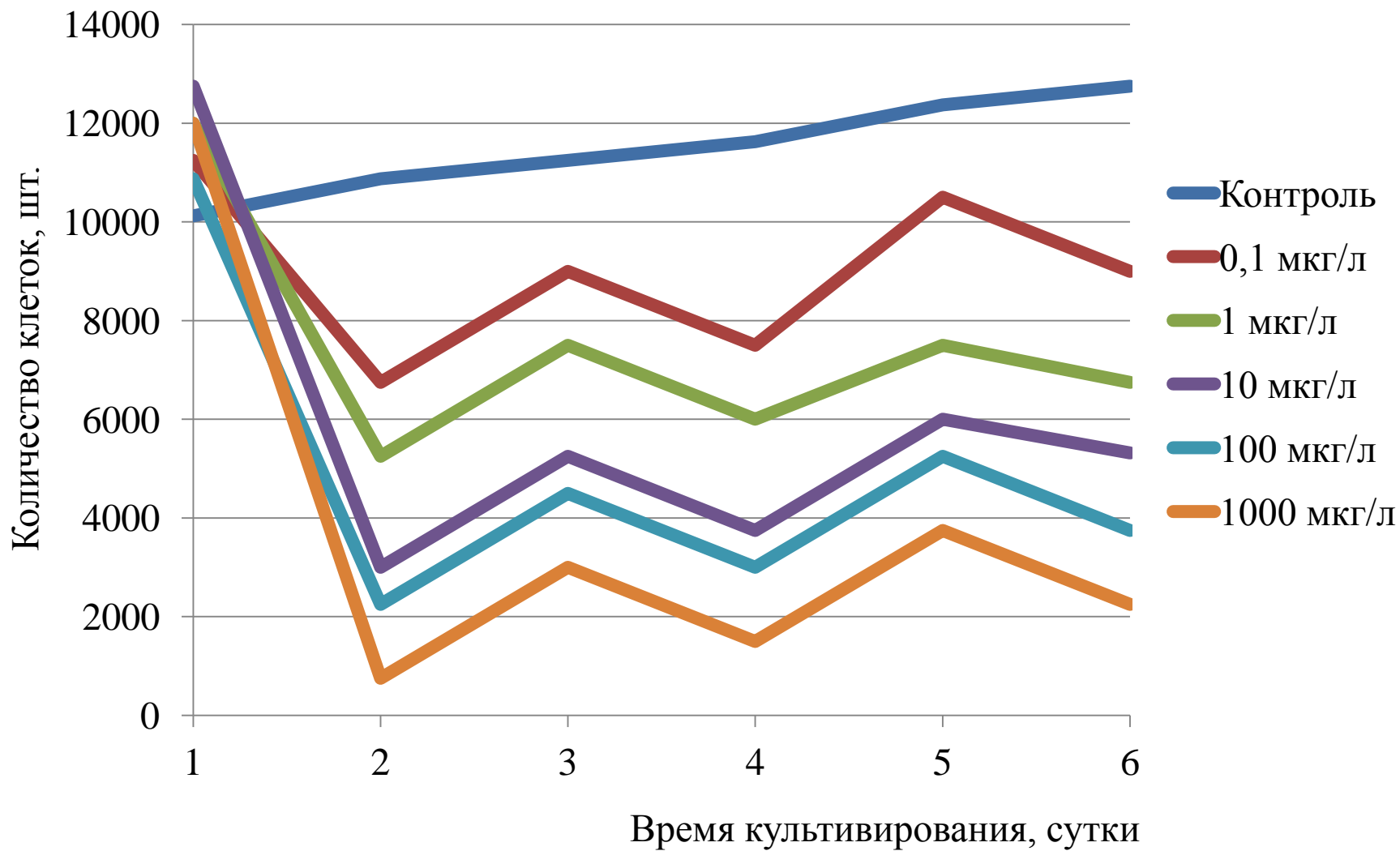
1000 – коэффициент пересчета кубических миллиметров в кубические сантиметры.



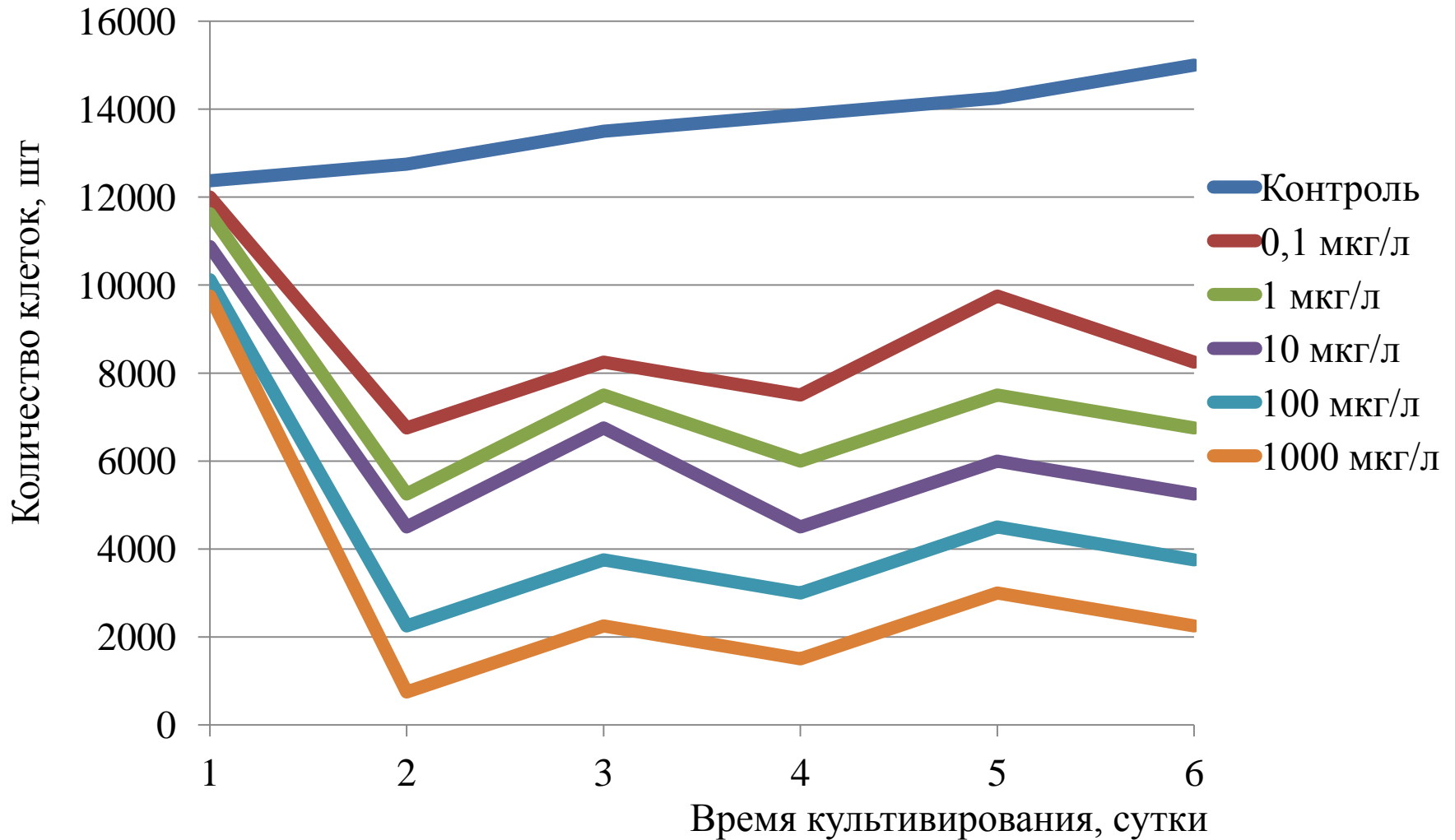
# Динамика изменения численности популяции хлореллы в присутствии сульфата меди (II)



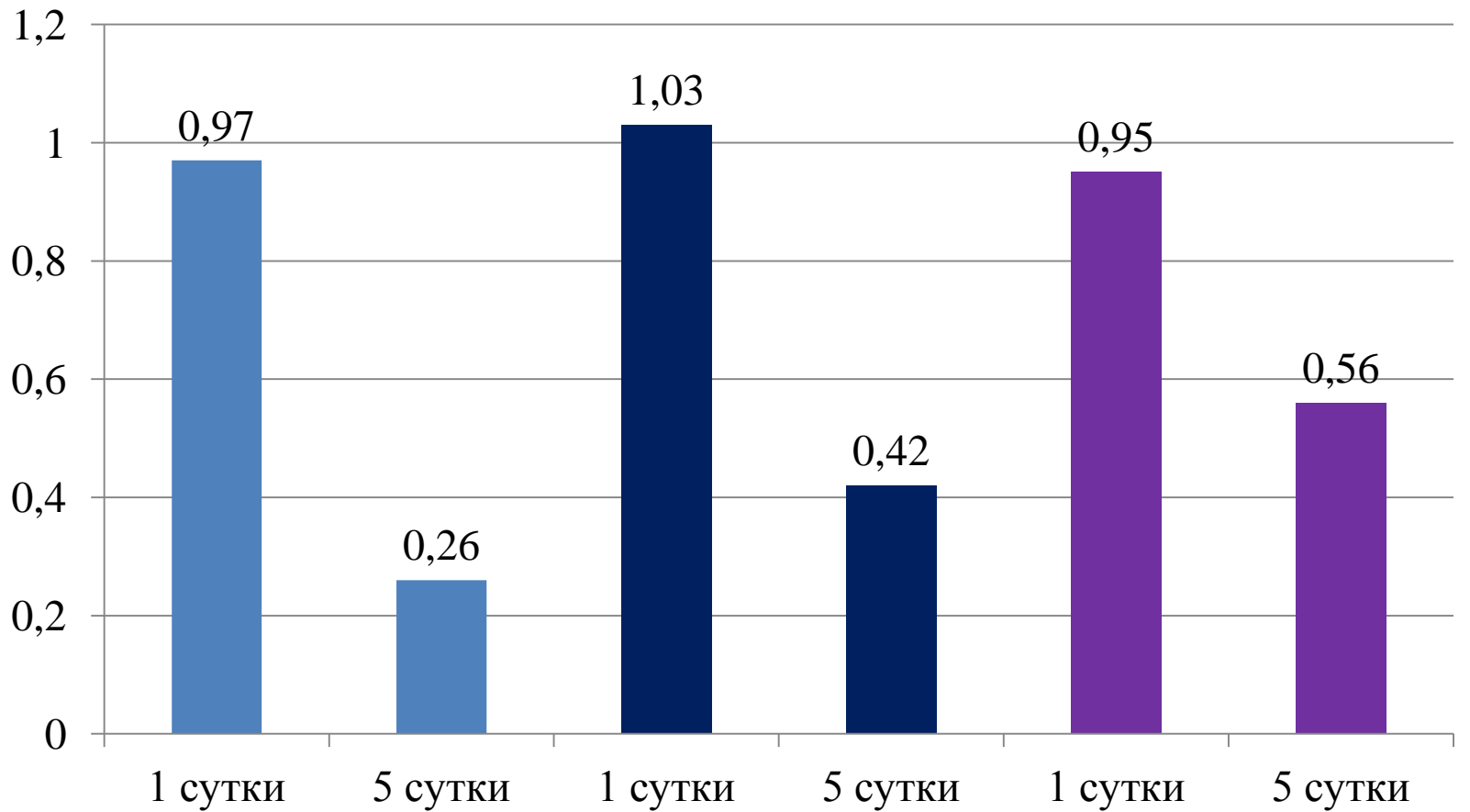
# Динамика изменения численности популяции хлореллы в присутствии сульфата железа (II)



# Динамика изменения численности популяции хлореллы в присутствии сульфата цинка



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

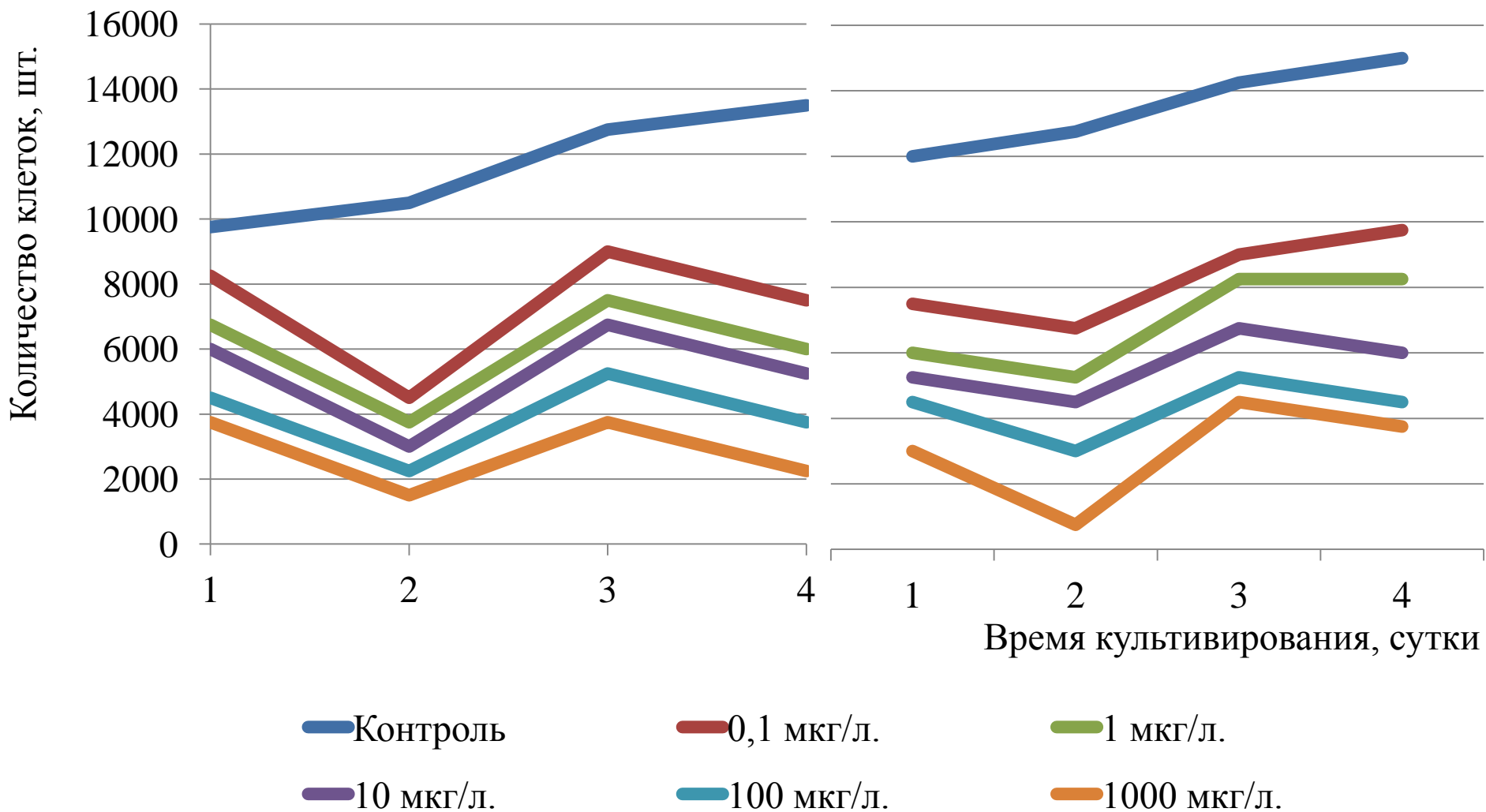


**Сульфат меди**

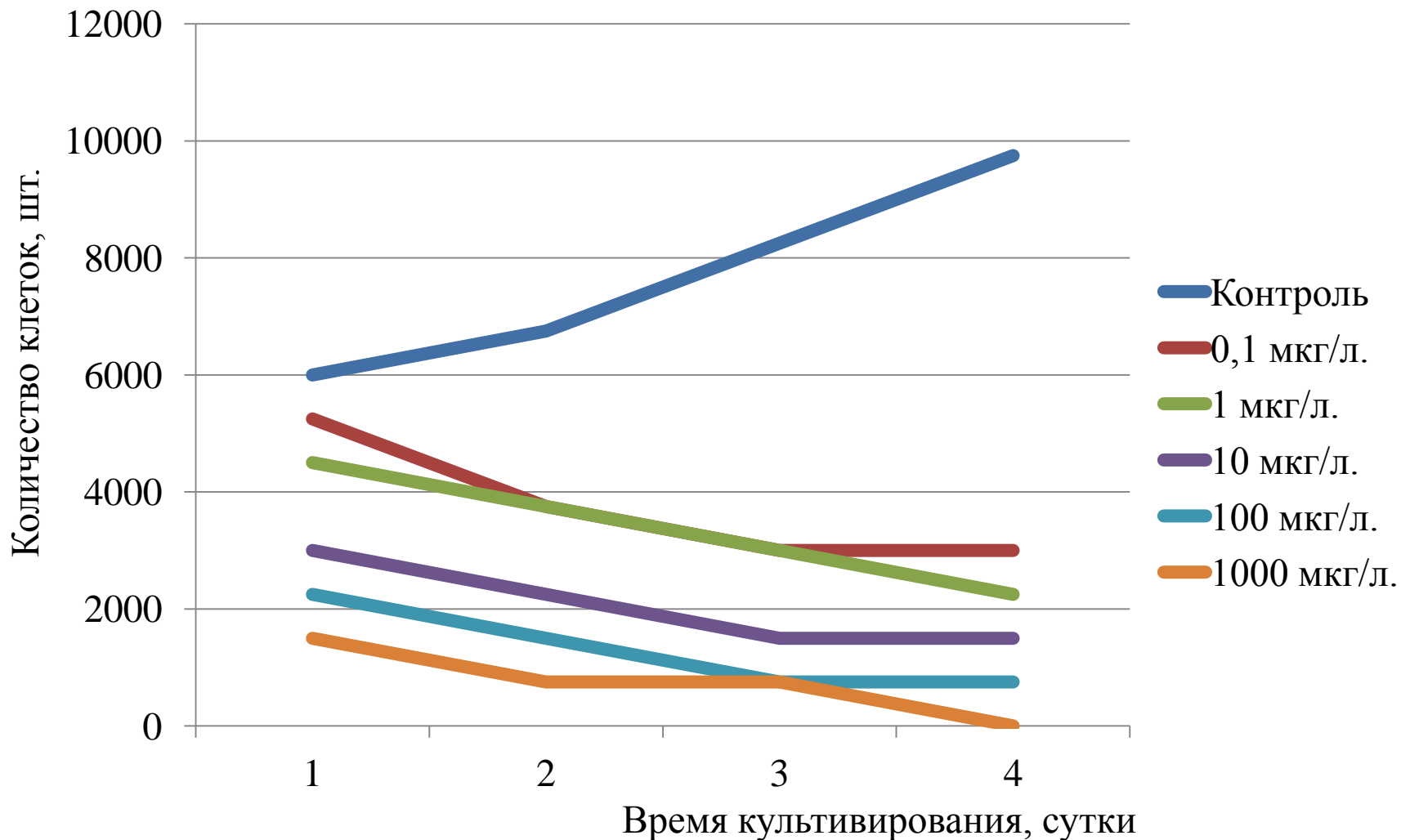
**Сульфат цинка**

**Сульфат железа**

# Возможность выноса ионов на примере сульфата цинка

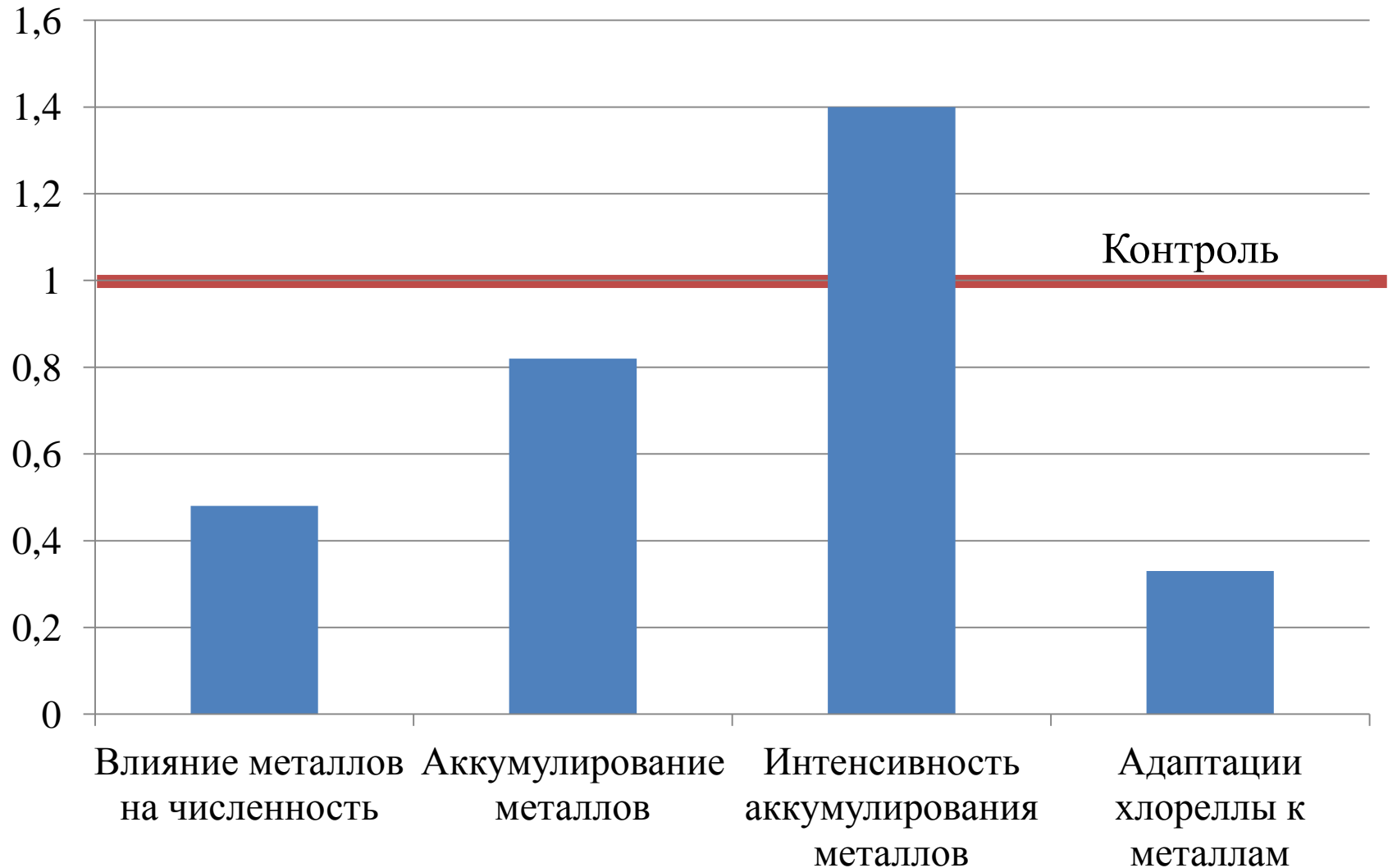


# Возможность адаптации хлореллы на примере сульфата цинка





# 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, наряду 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.