

На правах рукописи



Шилова Наталья Александровна

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ
ПРЕСНОВОДНОГО ФИТО- И ЗООПЛАНКТОНА
В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ

03.02.08 – экология
(биологические науки)

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Саратов – 2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Рогачева Светлана Михайловна

Официальные оппоненты: Волкова Ирина Владимировна,
доктор биологических наук, доцент
ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный
технический университет», профессор
кафедры «Гидробиология и общая экология»

Ларин Игорь Николаевич,
кандидат биологических наук, доцент
ФГУ «Государственный научно-
исследовательский институт промышленной
экологии», зам. заведующего лабораторией
биомониторинга

Ведущая организация: ФГБ УН «Институт биохимии и физиологии
растений и микроорганизмов РАН», г. Саратов

Защита состоится «26» декабря 2014 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д.212.243.13 при Федеральном государственной бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д.83, V уч.корпус. E-mail: biosovet@sgu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке имени В.А. Артисевич ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского».

Автореферат разослан « » октября 2014 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



С.А. Невский

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Загрязнение водной среды, наряду с дефицитом пресной воды, является глобальной экологической проблемой (Моисеенко, 2003; Флерова, 2004; Atli, Canli, 2007). В водоемах увеличивается содержание веществ антропогенного происхождения, токсичность которых для большинства водных организмов проявляется уже в малых концентрациях (Флерова, 2004; Моисеенко, 2006). Наибольшую экологическую опасность представляют тяжелые металлы (ТМ). Установлено, что даже эссенциальные металлы, такие как медь, никель, цинк, кобальт при накоплении в водной среде являются потенциальной угрозой для живых систем (Mason, Jenkins, 1995; Dethloff et al., 1999; Yang, Chen, 2003; Atli, Canli, 2007). Известно, что они способны нарушать целостность физиологических и биохимических процессов, вызывать серьезные изменения в метаболических реакциях у гидробионтов (Hogstrand et al., 1999; Basha, Rani, 2003; Atli, Canli, 2010).

Не менее значимой экологической проблемой для пресных водоемов является засоление, в частности, увеличение содержания хлоридов и сульфатов натрия, калия и кальция. Засоление может быть обусловлено иссушением водоемов, вымыванием солей из почв, сбросом сточных вод промышленных предприятий, содержащих минеральные соли (Sanchez et al., 2005; Polunin, 2008). Соленость является серьезным экологическим стрессом для гидробионтов, который приводит к утрате биоразнообразия пресноводных экологических сообществ (Yeo, 1998; Rogers, McCarty, 2000).

В литературных источниках имеется мало данных о взаимном влиянии засоления водоемов и загрязнения ТМ на функционирование водных организмов. Известно, что соленость изменяет способность гидробионтов усваивать ТМ, воздействует на форму и физико-химические свойства соединений металлов, и как следствие, влияет на их биодоступность. (Клерман и др., 2004; Loretz, 1995; Bianchini et al. 2002; Marshall, Grosell, 2005; Blanchard, Grosell, 2006; Monserrat et al. 2007; Leblebici et al., 2011).

Основой пищевых цепей в пресных водоемах является фито- и зоопланктон. Фитопланктон продуцирует кислород, питательные вещества, преобразует солнечную энергию в форму, доступную для организмов более высоких трофических уровней (Sabater, Carrasco, 2001). Зоопланктон является для них источником питания, участвует в самоочищении водоемов (Садчиков, 2007, 2013).

Повышение содержания ТМ и увеличение солености в пресноводных экосистемах – это важные факторы, влияющие на жизнеспособность фито- и зоопланктона, определяющих продуктивность водоемов (Lin, Lee, 2005; Choi, An, 2008). В связи с этим актуальной задачей факториальной

экологии является определение пределов толерантности водных организмов к воздействию ТМ в условиях хлоридного и сульфатного засоления водоемов.

Известно, что электромагнитное излучение крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ), в частности 65 ГГц, низкой интенсивности способно повышать адаптационные способности биосистем различного уровня организации к техногенной нагрузке (Зотова, 2007; Карагайчева и др., 2010; Карагайчева, 2012), поэтому научный и практический интерес представляет изучение эффектов воздействия КВЧ-излучения на гидробионты в условиях загрязнения ТМ.

Цель и задачи исследования. Оценить жизнеспособность представителей пресноводного фито- и зоопланктона при загрязнении водной среды ионами Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} в условиях солевого стресса и изучить воздействие на них ЭМИ 65 ГГц низкой интенсивности.

Для достижения поставленной цели решались задачи:

- изучить влияние водорастворимых солей кобальта, никеля, цинка и меди в концентрациях ниже и выше ПДК_{вр} на фотосинтетическую активность микроводорослей *Scenedesmus quadricauda*, на выживаемость, рождаемость и трофическую активность рачков *Daphnia magna*;
- исследовать указанные показатели жизнеспособности гидробионтов *S. quadricauda* и *D. magna* под действием 0,05–0,25% водных растворов хлорида натрия и сульфата натрия;
- оценить воздействие ионов ТМ в условиях солевого загрязнения водной среды на показатели жизнеспособности данных культур;
- изучить эффекты комбинированного воздействия ЭМИ 65 ГГц низкой интенсивности и солей ТМ на фотосинтетическую активность *S. quadricauda* и трофическую активность *D. magna*.

Научная новизна. Впервые исследовано изолированное и комбинированное воздействие водорастворимых солей ТМ (меди, кобальта, никеля, цинка) в диапазоне концентраций 0,0001–1,0 мг/л и солей натрия (0,5–2,5 г/л) на представителей фито- и зоопланктона. Установлено, что ионы Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} и Ni^{2+} в концентрациях ниже ПДК_{вр} угнетают фотосинтетическую активность одноклеточных водорослей *S. quadricauda*, не влияют на выживаемость *D. magna*, но снижают их рождаемость и трофическую активность. Выявлено ингибирующее действие ионов металлов в концентрациях 0,0001 мг/л на фотосинтетическую активность микроводорослей. Определены пределы толерантности *D. magna* к содержанию в воде хлорида и сульфата натрия. Отмечены устойчивость микроводорослей к засолению (5 г/л NaCl, Na₂SO₄) и увеличение трофической активности дафний в солоноватой воде (2,5 г/л NaCl, Na₂SO₄). Установлено усиление токсического воздействия ТМ на микроводоросли в условиях засоления. При совместном воздействии ТМ в малых концентрациях (0,0001 мг/л) и засоления (2,5 г/л

NaCl, Na₂SO₄) на дафний установлено снижение их рождаемости в 1,5–3 раза. Показан положительный эффект воздействия ЭМИ КВЧ с частотой 65 ГГц (ППЭ 120 мкВт/мин·см²) на жизнеспособность представителей фито- и зоопланктона в чистой воде и в средах с содержанием ионов ТМ менее 0,01 мг/л.

Научно-практическая значимость работы. Полученные результаты расширяют представления о функционировании фито- и зоопланктона в средах, одновременно засоленных и загрязненных ТМ. Установлено, что в условиях хлоридного и сульфатного засоления (2,5 г/л) и загрязнения водной среды ТМ (Cu, Zn, Co и Ni в концентрациях 0,0001 мг/л и выше) происходит значительное снижение фотосинтетической активности микроводорослей и рождаемости дафний, увеличение трофической активности последних, что может привести к общему снижению численности фитопланктона и зоопланктона. Установлены ограничения метода определения токсичности среды по трофической активности *D. magna*: присутствие в водной среде сульфата или хлорида натрия (0,5–2,5 г/л) не позволяет оценить токсичность среды, содержащей Zn²⁺, Co²⁺ и Ni²⁺ (0,0001–1,0 мг/л). Показана возможность применения ЭМИ с частотой 65 ГГц и ППЭ 120 мкВт/ мин·см² для повышения жизнеспособности представителей фито- и зоопланктона, что может быть использовано в пастбищной аквакультуре и в технологиях ремедиации пресных водоемов.

Результаты работы используются в курсе лекций и в лабораторном практикуме по дисциплинам «Экологический мониторинг», «Биоиндикация и биотестирование» в Саратовском государственном техническом университете (СГТУ) имени Гагарина Ю.А.

Реализация и внедрение результатов работы. Исследования проводились в соответствии с планами НИР СГТУ по направлению 14В.02 «Оценка риска техногенных воздействий на живые системы и разработка методов реабилитации природных сред от химических загрязнений» (2010–2012 гг.), в рамках государственного задания Минобрнауки РФ «Обеспечение проведения научных исследований» (2014 г.).

Апробация работы. Основные результаты и положения работы докладывались на научных конференциях: Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Экологические проблемы промышленных городов» (Саратов, 2009); XIV и XV международных экологических конференциях «Экология России и сопредельных территорий» (Новосибирск, 2009, 2010); Международной научно-практической конференции «Вавиловские чтения-2009» (Саратов, 2009); XIV Пушкинской международной школы-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2010); на I и III Всероссийском научно-практическом форуме «Экология: синтез естественно-научного, технического и гуманитарного знания» (Саратов, 2010, 2012); III, IV Всероссийском с международным участием конгрессе

студентов и аспирантов-биологов «Симбиоз-Россия» (Нижний Новгород, 2010, Воронеж, 2011); I Всероссийской научно-практической конференции «Техногенная и природная безопасность» (Саратов, 2011); VI VII Международных научно-практических конференциях «Экология речных бассейнов» (Владимир, 2011, 2013); Всероссийской научно-практической конференции-выставки экологических проектов с международным участием «Бизнес. Наука. Экология родного края: проблемы и пути их решения» (Киров, 2013); XV Международном научно-промышленном форуме «Великие реки-2013 (экологическая, гидрометеорологическая, энергетическая безопасность)» (Нижний Новгород, 2013); Международной научно-практической конференции «Экология и защита окружающей среды» (Минск, 2014).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 17 работ, из них 3 в изданиях, рекомендованных перечнем ВАК РФ.

Личный вклад автора. Диссертантом выполнен весь объем экспериментальной работы, проведены обработка и анализ результатов, сформулированы положения, выносимые на защиту и выводы. В совместных работах доля участия автора составляет 60–70%.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, 6 глав, выводов и приложений. Работа изложена на 126 страницах, содержит 17 рисунков, 20 таблиц и список использованной литературы, включающий 222 источников отечественных и зарубежных авторов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Фотосинтетическая активность микроводорослей *S. quadricauda*, рождаемость и трофическая активность беспозвоночных *D. magna* снижается в водных средах с ионами Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} и Ni^{2+} в концентрациях ниже ПДК_{вр} (0,0001–0,01 мг/л).

2. Продолжительность жизни и рождаемость *D. magna* снижается, их трофическая активность увеличивается в водных средах с хлоридной и сульфатной минерализацией (0,5–2,5 г/л). Клетки *S. quadricauda* устойчивы к повышению содержания в водной среде сульфата и хлорида натрия до 5 г/л.

3. В условиях хлоридного или сульфатного засоления (0,5–2,5 г/л) негативное воздействие ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} и Ni^{2+} (0,0001–1,0 мг/л) на фотосинтетическую активность *S. quadricauda* и рождаемость *D. magna* возрастает, ингибирующее воздействие Zn^{2+} , Co^{2+} и Ni^{2+} (до 1,0 мг/л) на трофическую активность дафний не проявляется.

4. Под влиянием ЭМИ КВЧ с частотой 65 ГГц у *S. quadricauda* и *D. magna* повышается устойчивость к токсическому действию Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} и Ni^{2+} в концентрациях 0,0001–0,01 мг/л.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во *введении* обосновываются актуальность исследования, его практическая и теоретическая значимость, сформулированы цель и задачи исследования.

Глава 1. АНТРОПОГЕННОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПРЕСНЫХ ВОДОЕМОВ И ИХ БИОПРОДУКТИВНОСТЬ (обзор литературы)

Анализ литературных источников по проблеме антропогенного загрязнения водных объектов показал, что и засоление, и загрязнение поверхностных вод соединениями ТМ – это важные экологические проблемы, обусловленные хозяйственной деятельностью человека. Медь, никель, цинк, кобальт являются эссенциальными металлами, но превышение предельно допустимого содержания этих металлов в водных средах способствует их накоплению в планктонных организмах, передачи по трофическим цепям млекопитающим, проявлению токсического воздействия на всех уровнях биологической организации. Засоление водоемов отрицательно сказывается на жизнеспособности гидробионтов, индуцирует адаптационные клеточные механизмы, которые не всегда способны противостоять разрушительному действию солей. Однако проблема воздействия солей ТМ в условиях засоления пресных водоемов на функционирование представителей планктона до настоящей работы не была изучена, о чем свидетельствует отсутствие публикаций в доступной литературе. Что касается возможности использования ЭМИ КВЧ для повышения устойчивости фито- и зоопланктона к химическому воздействию, то имеются лишь отдельные ссылки по данному вопросу. Все это обуславливает актуальность и новизну проводимых нами исследований.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились в 2009–2014 гг. в Саратовском государственном техническом университете имени Гагарина Ю.А.

Объектами исследования служили: культура протококковой зеленой водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb; культура ветвистоусых рачков *Daphnia magna* Str.

Культуру микроводорослей выращивали на среде Прата в климатостате Р2 (Россия), при температуре $24\pm 1^\circ\text{C}$ и искусственном освещении интенсивностью 3000–10000 лк с 24-х часовым световым периодом (ФР.1.39.2007.03223).

Культуру ветвистоусых рачков выращивали в климатостате Р2, при температуре $20\pm 1^\circ\text{C}$ и искусственном освещении интенсивностью 1000–

1500 лк с 12-и часовым световым периодом, ежедневно кормили суспензией водорослей *S. quadricauda* (ФР.139.2001.00283).

В экспериментах использовали растворы солей следующих ТМ: сульфатов меди ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$), кобальта ($\text{CoSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), цинка ($\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), никеля ($\text{NiSO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$); хлоридов меди ($\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$), кобальта ($\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$), никеля ($\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$), цинка (ZnCl_2) с концентрацией ионов металлов 0,0001–1,0 мг/л.

Для моделирования засоления водоема использовали растворы солей NaCl и Na_2SO_4 с концентрацией 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 5,0 г/л, приготовленные на дистиллированной и водопроводной отстоянной воде для культивирования *S. quadricauda* и *D. magna*, соответственно.

Воздействие исследуемых растворов на фотосинтетическую активность *S. quadricauda* оценивали по изменению интенсивности флуоресценции хлорофилла микроводорослей (ФР.1.39.2007.03223). Интенсивность флуоресценции измеряли на спектрофлуориметре «Флюорат-02-Панорама» при $\lambda_{\text{возб}} = 400$ нм, $\lambda_{\text{рег}} = 685$ нм.

Токсичность вышеперечисленных растворов для дафний оценивали по их выживаемости и плодовитости в течение 21 суток (ПНД Ф Т 14.1:2:4.12-06; 16.1:2:3:3.9-06; ФР.1.39.2007.03222). Трофическую активность рачков определяли по методике, описанной в работах (Маторин и др., 2007, Маторин и Венедиктов, 2009).

В качестве источника ЭМИ КВЧ-диапазона использовали генератор Г4-142. Культуры *S. quadricauda* и *D. magna*, помещенные в сосуды объемом 100 мл с водной средой, облучали с помощью пирамидальной рупорной антенны длиной 12 см при температуре $21 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 30 минут в режиме непрерывной генерации сигнала. Частота ЭМИ 65 ГГц, плотность потока энергии – $120 \text{ мкВт/мин} \cdot \text{см}^2$. Оценивали воздействие ТМ на облученных дафний и микроводорослей по изменению их трофической и фотосинтетической активности, соответственно.

Каждую серию экспериментов проводили в трехкратной повторности. Для обработки результатов использовали стандартные методы математической статистики. В экспериментах с *D. magna* рассчитывали среднее арифметическое, стандартное отклонение, показатель достоверности разности опытных и контрольных значений, который сравнивали с t-критерием Стьюдента для уровня достоверности $P=0,95$ (ФР.1.39.2007.03222). В опытах с *S. quadricauda* определяли среднее арифметическое, стандартное отклонение, процентное отклонение от контроля, которое при значимых отличиях ($P=0,95$) составляло больше 20% (ФР.1.39.2007.03223). Расчеты выполнялись с применением пакета Microsoft Office Excel.

Глава 3. ВОЗДЕЙСТВИЕ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ГИДРОБИОНТЫ

Приведены результаты лабораторных исследований жизнеспособности представителей пресноводного фито- и зоопланктона при загрязнении водной среды ионами меди, никеля, кобальта, цинка в концентрациях на уровне ПДК, выше и ниже этих значений.

Установлено, что ионы металлов Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} и Ni^{2+} в концентрациях 0,0001–1,0 мг/л угнетают размножение одноклеточных водорослей *S. quadricauda* в водной среде на 47–95, 42–90, 34–80 и 20–60% ($P=0,95$), соответственно, с ростом содержания металла степень угнетения увеличивалась. Вид аниона (хлорид, сульфат) в составе солей металлов практически не влиял на характер их воздействия на микроводоросли.

Исследуемые ионы ТМ в концентрациях ниже 0,01 мг/л не оказывали влияния на выживаемость рачков, в концентрациях выше ПДК_{вр} проявляли токсический эффект. Ионы меди в концентрациях 0,1 и 1,0 мг/л проявляли острую токсичность, вызывая 100% гибель дафний на 5 и 2 сутки, соответственно. Ионы Zn^{2+} , Co^{2+} и Ni^{2+} в тех же концентрациях обладали хронической токсичностью, вызывая гибель 20 и 100, 20 и 50, 30 и 60% дафний на 21 сутки ($P=0,95$), соответственно.

При воздействии солей металлов в концентрациях, нелетальных для дафний, наблюдалось снижение их рождаемости и трофической активности. В присутствии ионов металлов в концентрации 0,0001 мг/л за три недели происходило снижение количества молоди на 81–89% ($P=0,95$). Трофическая активность рачков при их инкубировании в течение суток в растворах Cu^{2+} , Zn^{2+} с концентрациями в интервале от 0,0001 до 0,01 мг/л, снижалась, соответственно, на 20–43, 18–30% ($P=0,95$). Достоверное уменьшение трофической активности дафний в растворах Co^{2+} и Ni^{2+} наблюдалось при содержании ионов 0,01 мг/л – на 25 и 17%, соответственно.

Вид аниона (хлорид, сульфат) в составе солей металлов практически не влиял на характер их воздействия на рачков, т.е. токсическое воздействие на *D. magna* оказывали ионы металлов.

Полученные результаты позволили предположить, что хроническое воздействие растворимых в воде солей ТМ, особенно меди и цинка, в концентрациях ниже ПДК может привести к общему снижению в водоемах численности фитопланктона и зоопланктона, последнего – как за счет ограничения пищевых ресурсов, так и уменьшения трофической активности и плодовитости.

Глава 4. ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ НА ГИДРОБИОНТЫ

Приведены результаты исследований жизнеспособности *S. quadricauda* и *D. magna* в средах, моделирующих хлоридное и сульфатное засоление пресных водоемов. При выборе концентраций солей учитывали градацию минерализации природных вод: слабосоленоватый тип – общее содержание солей 1–2 г/л, солоноватый тип – 2–5 г/л.

Установлено (рис.1), что присутствие в водной среде NaCl и Na₂SO₄, как правило, снижает фотосинтетическую активность клеток *S. quadricauda*. В растворах NaCl наблюдалась немонотонная зависимость эффекта воздействия соли от ее концентрации, значимое снижение интенсивности флуоресценции ($P=0,95$) наблюдалось при концентрации NaCl 2,0, 3,5, 5,0 г/л.

В растворах сульфата натрия с концентрацией 0,5 г/л интенсивность флуоресценции уменьшалась на 38%, в диапазоне концентраций 1,0–5,0 г/л – ее значение было неизменно на 20% ниже, чем в контроле. Т.е. микроводоросли достаточно чувствительны к концентрационным колебаниям особенно хлоридов в водной среде, но, тем не менее, устойчивы к повышению содержания хлоридов и сульфатов.

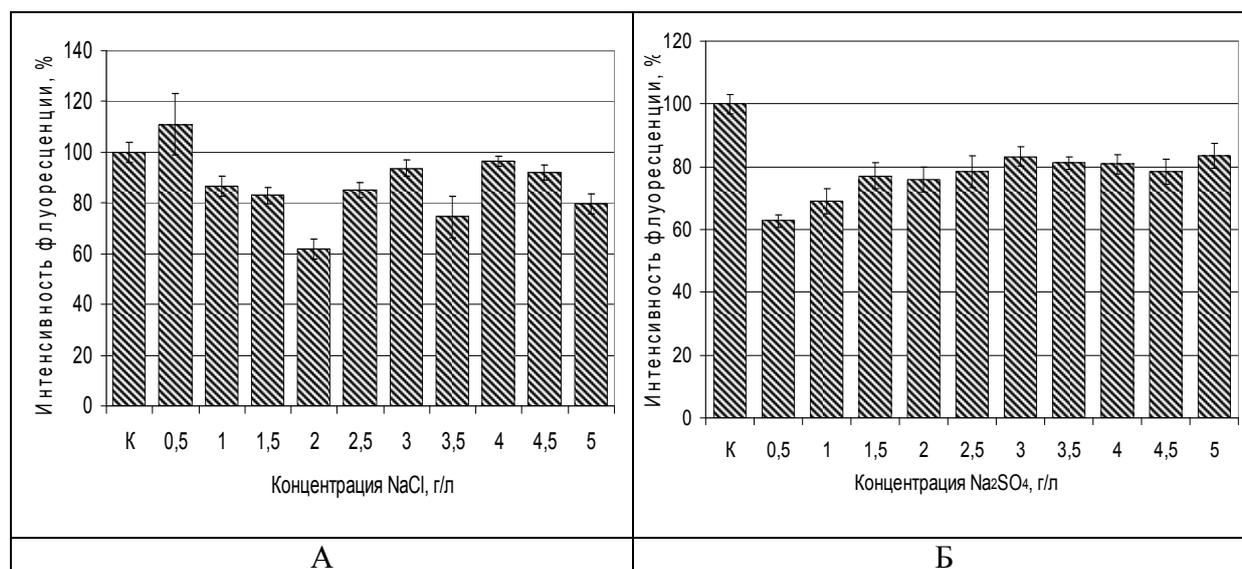


Рис. 1. Относительные значения интенсивности флуоресценции хлорофилла водорослей, подвергнутых воздействию А) NaCl Б) Na₂SO₄

Установлено, что засоление негативно влияет на выживаемость и рождаемость рачков *D. magna*. Из рис. 2 видно, что хлорид натрия в концентрациях 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 г/л вызывал смертность 20, 50, 60, 60% ($P=0,95$), рачков на 21 сутки; сульфат натрия в концентрациях 2,0; 2,5 г/л вызывал смертность 30, 40% ($P=0,95$) дафний. Na₂SO₄ в концентрациях

0,5; 1,0; 1,5 г/л не влиял на жизнеспособность дафний. Т.е. дафнии более устойчивы к сульфатному засолению.

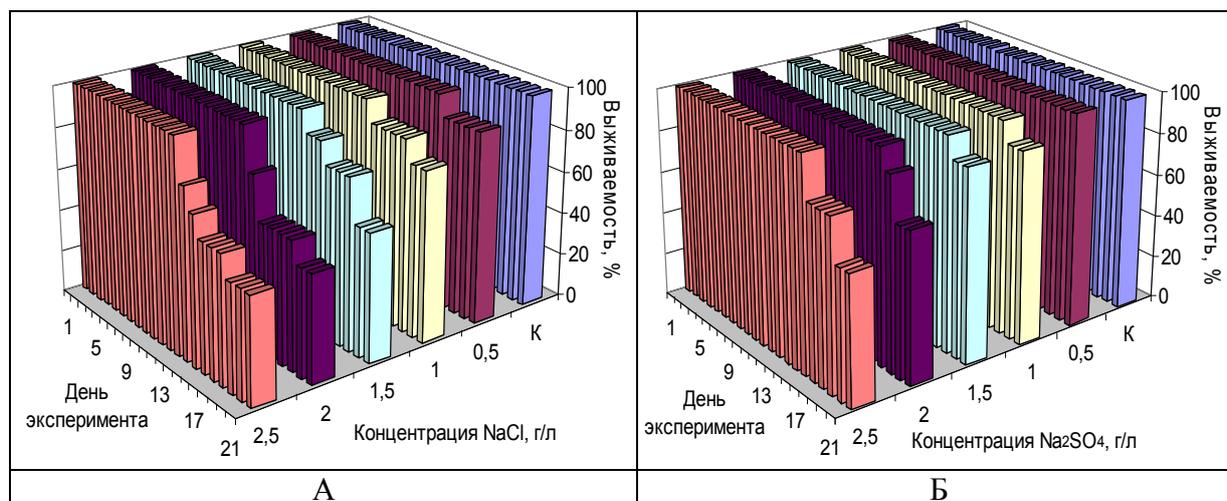


Рис. 2. Влияние растворов хлорида натрия (А) и сульфата натрия (Б) с различными концентрациями на выживаемость *D. magna*

При хроническом воздействии сульфата и хлорида натрия в различных концентрациях на *D. magna* наблюдалось достоверное снижение их рождаемости в среднем в 3–5 раз по сравнению с контролем.

Изучение трофической активности дафний, инкубированных в растворах NaCl с концентрацией 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 г/л, показало, что она увеличилась на 23, 20, 23, 30, 38% ($P=0,95$), соответственно, по сравнению с контролем. В 0,5 и 1 г/л растворах Na₂SO₄ она не изменялась, в 1,5; 2,0; 2,5 г/л растворах Na₂SO₄ – незначительно возрастала.

Таким образом, увеличение солености воды в природных водных объектах может вызвать увеличение трофической активности рачков и, как следствие, уменьшение кормовой базы, что может привести к снижению биопродуктивности водоема.

Глава 5. ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ЗАСОЛЕНИЯ НА ГИДРОБИОНТЫ

В данной главе рассмотрено совместное влияние ТМ и засоления на показатели жизнеспособности микроводорослей *S. quadricauda* и рачков *D. magna*. Для сравнения были выбраны концентрации металлов ниже и выше ПДК_{вр}, концентрации солей, соответствующие слабосоленовой и солончатой воде. Использовались хлориды и сульфаты ТМ с концентрацией ионов Co²⁺, Ni²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺ 0,0001, 1 мг/л, концентрации сульфата и хлорида натрия составляли 0,5 и 2,5 г/л соответственно.

В табл. 3 представлены относительные значения интенсивности флуоресценции хлорофилла водорослей, подвергнутых изолированному

действию хлорида натрия и комбинированному воздействию NaCl (0,5 г/л; 2,5 г/л) и солей ТМ в указанных выше концентрациях. За 100% (контроль) принята интенсивность флуоресценции клеток, инкубированных в чистой воде.

Во всех исследуемых растворах солей ТМ наблюдалось достоверное уменьшение интенсивности флуоресценции клеток по сравнению с контролем, свидетельствующее об угнетении роста и фотосинтетической способности микроводорослей.

Отмечено, что при комбинированном воздействии 0,5 г/л NaCl и 0,0001 мг/л Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} интенсивность флуоресценции хлорофилла микроводорослей снизилась на 25, 26, 23, 19% ($P=0,95$), соответственно, по сравнению с изолированным воздействием ТМ. При повышении содержания Zn^{2+} до 1,0 мг/л отмечено достоверное увеличение интенсивности флуоресценции хлорофилла микроводорослей на 42% по сравнению с пробой без NaCl.

Таблица 3

Относительные значения интенсивности флуоресценции хлорофилла водорослей (в %) при изолированном и комбинированном воздействии хлорида натрия и хлоридов металлов

C_{TM} , мг/л	Без ТМ	$NiCl_2$		$ZnCl_2$		$CoCl_2$		$CuCl_2$	
		0,0001	1,0	0,0001	1,0	0,0001	1,0	0,0001	1,0
Без соли	100	62,3 ±7,3	43,1 ±3,1	69,7 ±3,4	9,85 ±2,2	87,4 ±6,5	22,6 ±2,7	60,8 ±4,6	0,15
NaCl 0,5	111,0 ±10,9	36,6 ±3,3	55,4 ±5,4	46,7 ±4,1	51,7 ±5,3	61,3 ±3,8	42,1 ±3,1	42,1 ±6,2	0,43
NaCl 2,5	85,1 ±7,1	62,5 ±2,8	54,5 ±5,1	63,3 ±3,4	66,5 ±6,2	56,1 ±4,3	6,34 ±1,2	62,3 ±5,7	0

C_{TM} – концентрация тяжелых металлов; C_c – концентрация солей натрия.

В растворах, содержащих 2,5 г/л NaCl и 0,0001 мг/л Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} интенсивность флуоресценции хлорофилла не изменилась по сравнению с таковой при изолированном воздействии данных металлов. При комбинированном воздействии 2,5 г/л NaCl и 0,0001 мг/л Co^{2+} интенсивность флуоресценции уменьшилась на 26%. С увеличением содержания ионов ТМ наблюдался обратный эффект. Так, при сравнении с изолированным воздействием, интенсивность флуоресценции хлорофилла водорослей, инкубированных в растворах 2,5 г/л NaCl и 1,0 мг/л Co^{2+} , Zn^{2+}

достоверно увеличилась на 44, 57%, соответственно. Для ионов меди в концентрации 1 мг/л подобного эффекта не обнаружено.

Аналогичные закономерности были обнаружены при комбинированном воздействии сульфата натрия и сульфатов ТМ. Возможно, в солевой среде проницаемость клеточной мембраны для ионов металлов увеличивается, металлы в меньшей степени накапливаются в клетках микроводорослей, и их токсический эффект проявляется в меньшей степени.

В экспериментах на *D. magna* показано, что наличие в водной среде малых количеств Co^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} способствовало снижению (на 20–50%) токсического эффекта на дафнии хлорида натрия и сульфата натрия в концентрации 2,5 г/л, что выражалось в увеличении выживаемости рачков. Возможно, это связано с участием биогенных металлов в биохимических процессах, способствующих адаптации дафний к засолению. Отмечено, что ионы никеля не оказывали подобного действия. С другой стороны, увеличение хлоридной и сульфатной засоленности воды способствовало усилению токсического действия ТМ в концентрациях выше ПДК_{вр}. Это можно объяснить повышением трофической активности рачков под действием соли и, как следствие, накоплением в их организме большего количества металлов, вызывающих их гибель.

Присутствие ТМ в низких концентрациях (0,0001 мг/л) в солоноватой среде (2,5 г/л) приводило к значительному снижению рождаемости – в 1,5–3 раза, особенно высокую токсичность проявляли ионы меди. При высокой концентрации металлов различий в эффектах их изолированного и комбинированного с солями действия не обнаружено.

Исследована трофическая активность дафний в зависимости от присутствия в среде ионов ТМ и солей натрия в различных комбинациях. Результаты экспериментов с хлоридом натрия представлены в табл. 4.

Полученные данные свидетельствуют о том, что хлорид натрия способствует увеличению трофической активности дафний. При добавлении NaCl в концентрации 0,5 г/л в растворы, содержащие 0,0001 мг/л Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , наблюдалось увеличение трофической активности рачков на 52, 50, 48, 34% ($P=0,95$), соответственно. Увеличение концентрации NaCl до 2,5 г/л повышало эту активность по сравнению с растворами солей ТМ – на 60, 61, 56, 48% ($P=0,95$), соответственно.

При увеличении концентрации ионов Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} до 1,0 мг/л в солевых средах трофическая активность дафний снизилась, но была выше контроля и значительно выше значений, полученных при изолированном действии ТМ. Присутствие ионов меди в данной концентрации приводило к гибели дафний независимо от уровня засоленности воды.

В средах с сульфатом натрия установлены аналогичные закономерности, но отмечено меньшее влияние соли на трофическую активность дафний.

Таблица 4

Относительные значения трофической активности дафний (в %) при изолированном и комбинированном воздействии хлоридов ТМ и NaCl

C _{TM} , мг/л	C _c , г/л	NiCl ₂		ZnCl ₂		CoCl ₂		CuCl ₂	
		0,0001	1,0	0,0001	1,0	0,0001	1,0	0,0001	1,0
Без соли	100 (конт роль)	81,17 ±5,7	42,45 ±7,4	82,68 ±6,9	39,16 ±5,9	94,37 ±8,4	29,04 ±6,9	78,65 ±8,3	0
NaCl 0,5	122,4 ±8,3	132,8 ±7,9	103,2 ±6,1	130,6 ±8,7	98,6 ±8,2	143,9 ±11,2	109,1 ±9,3	113,3 ±6,9	0
NaCl 2,5	137,0 ±10,1	140,3 ±8,1	115,9 ±9,9	139,4 ±7,2	124,1 ±10,9	155,7 ±8,7	137,1 ±7,4	127,3 ±8,9	0

C_{TM} – концентрация тяжелых металлов; C_c – концентрация солей натрия.

Повышение трофической активности рачков под действием солей может привести к накоплению в их организме большего количества ТМ, что вызовет снижение их рождаемости и гибель.

Необходимо также отметить, что в условиях хлоридной и сульфатной засоленности ингибирующее воздействие ТМ на трофическую активность дафний не проявляется.

Глава 6. ВОЗДЕЙСТВИЕ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ЭМИ НА ГИДРОБИОНТЫ

Согласно литературным данным, одним из факторов, способствующих адаптации организма к техногенной нагрузке, является КВЧ-излучение низкой интенсивности (Зотова, 2007; Карагайчева и др., 2010; Карагайчева, 2012). Представляло интерес определить характер воздействия ЭМИ на жизнеспособность представителей фито- и зоопланктона в водной среде, загрязненной ТМ.

Влияние ЭМИ КВЧ на *S. quadricauda* определяли по разности между относительными значениями интенсивности флуоресценции клеток *S. quadricauda*, облученных ЭМИ 65 ГГц и подвергнутых воздействию солей металлов, и аналогичными значениями необлученных клеток. Результаты исследований представлены на рис. 3.

Из диаграмм видно, что воздействие ЭМИ приводит к увеличению интенсивности флуоресценции микроводорослей: в среде без солей металлов – на 40% ($P=0,95$); в средах с хлоридами ТМ с концентрацией

катионов 0,0001 мг/л – в среднем на 20%; в средах с сульфатами ТМ в той же концентрации – на 30–40%. При увеличении концентрации хлоридов меди и цинка модифицирующее действие ЭМИ становится не достоверным, в средах с ионами никеля и кобальта 0,01 мг/л влияние ЭМИ сохраняется. В средах с сульфатами ТМ влияние ЭМИ на микроводоросли сохраняется при содержании ТМ до 0,01 мг/л, что является ПДК_{вр} Ni²⁺, Co²⁺, Zn²⁺ и составляет 10 ПДК_{вр} Cu²⁺.

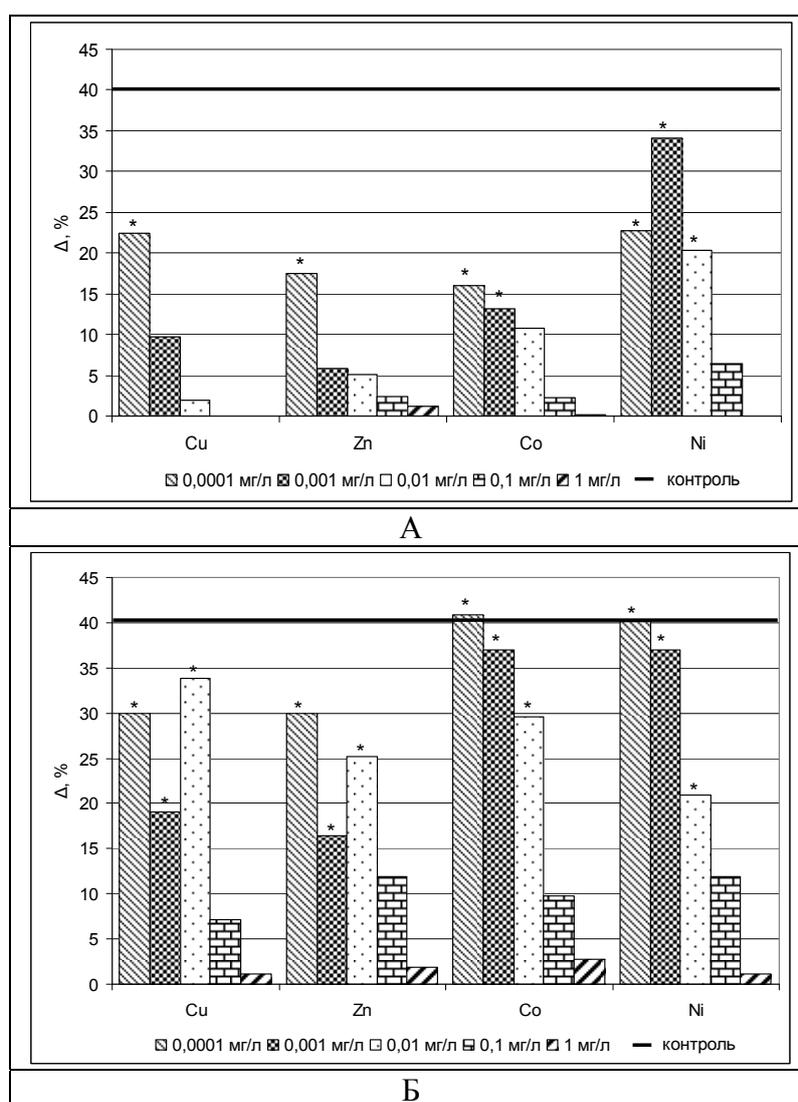


Рис. 3. Разность между относительными значениями интенсивности флуоресценции клеток *S. quadricauda*, облученных ЭМИ 65 ГГц и подвергнутых воздействию хлоридов (А), сульфатов (Б) металлов, и аналогичными значениями необлученных клеток.

* – достоверные отличия облученных от необлученных клеток $P=0,95$.

Таким образом, однократное 30-и минутное облучение культуры водорослей до инкубирования в исследуемых растворах значительно снижает токсический эффект ионов металлов. Чем выше концентрация соли металла и чем токсичнее металл, тем в меньшей степени проявляется

эффект ЭМИ на клетки микроводорослей. В средах с сульфатами металлов модифицирующий эффект ЭМИ КВЧ проявляется в большей степени.

Чтобы выявить степень влияния ЭМИ КВЧ на *D. magna* определяли разность между относительными значениями трофической активности рачков, облученных ЭМИ 65 ГГц и подвергнутых воздействию солей металлов, и аналогичными значениями необлученных дафний. Результаты исследований представлены на рис. 4.

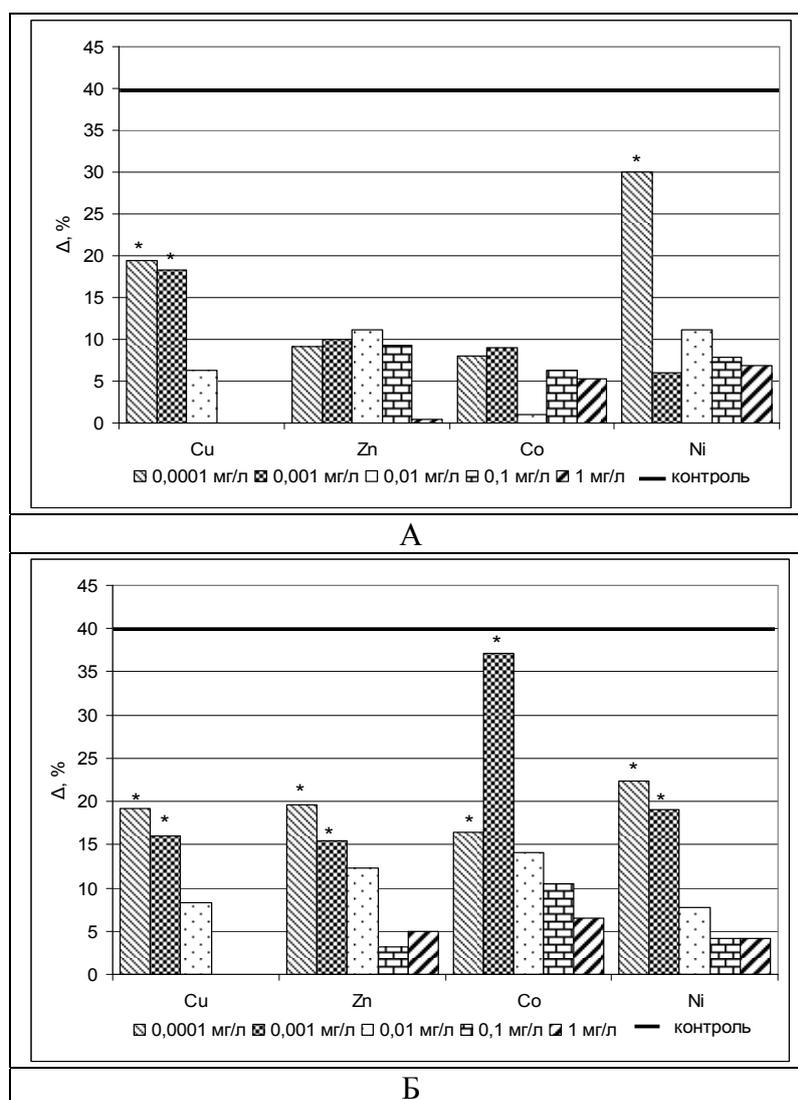


Рис. 4. Разность между относительными значениями трофической активности *D. magna*, облученных ЭМИ 65 ГГц и подвергнутых воздействию хлоридов (А), сульфатов (Б) металлов, и аналогичными значениями необлученных рачков.

* – достоверные отличия облученных от необлученных дафний $P=0,95$.

Из диаграмм видно, что в водной среде в отсутствии металлов трофическая активность у облученных рачков выше на 40% трофической активности необлученных особей. Достоверные отличия трофической активности облученных и необлученных дафний обнаружены в средах с

сульфатами ТМ и хлоридами меди и никеля с содержанием катионов 0,0001, 0,001 мг/л.

Следовательно, на дафниях нами обнаружен тот же эффект ЭМИ КВЧ – повышение жизнеспособности организмов в водных средах, загрязненных солями ТМ, причем солей меди – на уровне ПДК_{вр}.

Облучение представителей фито- и зоопланктона миллиметровыми волнами низкой интенсивности можно проводить на стадии культивирования для применения в пастбищной аквакультуре и в технологиях ремедиации пресных водоемов.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что ионы Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} и Ni^{2+} в концентрациях 0,0001–1,0 мг/л, что в 100 и 10 раз ниже ПДК_{вр}, угнетают фотосинтетическую активность *S. quadricauda* на 47–95%, 42–90%, 34–80% и 20–60%, соответственно, наибольшее воздействие оказывают ионы меди и цинка. Исследуемые ионы ТМ в концентрациях 0,0001–0,01 мг/л не влияют на выживаемость *D. magna*, но уменьшают рождаемость рачков в среднем на 80%; в концентрациях 0,1 и 1,0 мг/л ионы Cu^{2+} проявляют острую токсичность, ионы Zn^{2+} , Co^{2+} и Ni^{2+} – хроническую токсичность. Ионы Cu^{2+} , Zn^{2+} (0,0001–0,01 мг/л), Co^{2+} (0,01 мг/л) снижают трофическую активность дафний на 20–43, 18–30, 25%, соответственно. Вид аниона (хлорид, сульфат) в составе солей металлов не влияет на характер их воздействия на микроводоросли и рачков.

2. При моделировании засоления водной среды установлено, что в средах с NaCl (1,0–5,0 г/л) фотосинтетическая активность *S. quadricauda* немонотонно снижается на 5–38%, в средах с Na_2SO_4 (1,0–5,0 г/л) уменьшается на 20%. Засоление негативно влияет на выживаемость и рождаемость *D. magna*. Увеличение концентрации хлорида и сульфата натрия с 1,0 до 2,5 г/л снижает выживаемость дафний на 21 сутки с 80 до 40%, с 90 до 60%, соответственно. Во всех исследуемых растворах количество молодежи снижается в 3–5 раз по сравнению с контролем. В условиях хлоридного засоления (0,5–2,5 г/л NaCl) трофическая активность дафний увеличивается на 20–38%, в условиях сульфатного засоления практически не изменяется.

3. Комбинированное воздействие ионов ТМ в концентрациях 0,0001 мг/л и солей натрия (0,5 г/л) приводит к уменьшению фотосинтетической активности микроводорослей в среднем на 23% по сравнению с изолированным воздействием ТМ. Металлы в малых концентрациях (0,0001 мг/л) в условиях засоления проявляют токсическое воздействие на микроводоросли в большей степени, чем в более высоких концентрациях (1,0 мг/л).

4. При комбинированном воздействии ТМ в низких концентрациях (0,0001 мг/л) и солей натрия (2,5 г/л) происходит снижение рождаемости дафний в 1,5–4 раза, по сравнению с изолированным действием каждого из факторов, наиболее высокую токсичность проявляют ионы меди. В условиях хлоридной и сульфатной засоленности токсическое действие ТМ в концентрациях выше ПДК на выживаемость дафний возрастает, но ингибирующее воздействие металлов на трофическую активность дафний не проявляется.

5. Кратковременное воздействие ЭМИ КВЧ 65 ГГц низкой интенсивности (ППЭ 120 мкВт/мин·см²) на *S. quadricauda* и *D. magna* способствует улучшению показателей их жизнеспособности в воде и в водных растворах солей ТМ с концентрацией ионов меди, никеля, цинка и кобальта меньше 0,01 мг/л. Фотосинтетическая активность микроводорослей и трофическая активность дафний после воздействия ЭМИ увеличивается в водной среде на 40%, в средах с хлоридами и сульфатами ТМ – на 15–40%.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*– публикации в печатных изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК РФ

1. * Шилова Н.А. Изучение влияния ацетатов Ni²⁺, Cu²⁺, Co²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺ на морфофизиологические характеристики *Daphnia magna* [Текст] / Н.А. Шилова, Г.В. Лобкова, Т.И. Губина // Естественные и технические науки, 2009. – № 4. – С. 131–132.

2. Шилова Н.А. Изучение токсичного действия ионов тяжелых металлов на тест-объект *Daphnia magna* Straus, 1820 [Текст] /Н.А. Шилова, Г.В. Лобкова // Сб. научных трудов «Исследования молодых ученых в биологии и экологии», – СГУ им. Н.Г. Чернышевского, 2009. – вып. 7. – С. 7–8.

3. Шилова Н.А. Мониторинг поступления тяжелых металлов в пищевые цепи на основе морфофизиологических характеристик гидробионтов [Текст] / Н.А. Шилова // Экология России и сопредельных территорий: материалы XIV международной экологической студенческой конференции. – Новосибирск, 2009. – С. 228–229.

4. * Шилова Н.А. Влияние биогенных металлов на жизнедеятельность *Daphnia magna* [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева, Т.И. Губина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. – Т. 12 – № 1(8) – С.1951–1953.

5. Шилова Н.А. Трофическая активность *Daphnia magna* как показатель токсичности среды [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева // Биология – наука XXI века: тез. докл. 14-ой Междунар. Пущинской школы–конф. молодых ученых. – Пущино, 2010. – С.97.

6. Шилова Н.А. Влияние солей тяжелых металлов на трофическую активность *Daphnia magna* [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева // Симбиоз-Россия 2010: материалы III Всероссийского с международным участием конгресса студентов и аспирантов-биологов. – Н. Новгород, 2010. – С. 42–43.

7. Шилова Н.А. Изменение фильтрационной активности *Daphnia magna* под воздействием солей тяжелых металлов [Текст] / Н.А. Шилова // Экология России и сопредельных территорий: материалы XV международной экологической студенческой конференции. – Новосибирск, 2010. – С. 298.

8. Шилова Н.А. Влияние биогенных металлов на жизнедеятельность ракообразных *Daphnia magna* [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева // Техногенная и природная безопасность: сб. науч. трудов Первой Всероссийской науч.-практ. конф. – Саратов: ИЦ «Наука», 2011. – С.24–27.
9. Шилова Н.А. Изменение фильтрационной активности ракообразных под действием биогенных металлов [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева // Симбиоз-Россия 2011: материалы IV Всероссийского с международным участием конгресса студентов и аспирантов-биологов. – Воронеж, 2011. – Т. 1. – С. 189–191.
10. Шилова Н.А. Сочетанное действие биогенных металлов и миллиметрового излучения на *Daphnia magna* [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева // Экология речных бассейнов: труды 6-й Междунар.науч.-практ.конф. – Владимир, 2011. – С.300–303.
11. Шилова Н.А. Влияние сочетанного действия ЭМИ КВЧ и солей тяжелых металлов на микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева, М.В. Линник // Экология: синтез естественнонаучного, технического и гуманитарного знания: материалы Всероссийской научно-практической конференции. - Саратов, 2012. – С.195–197.
12. * Шилова Н.А. Влияние ЭМИ КВЧ на устойчивость гидробионтов к солям тяжелых металлов [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева, М.В. Линник // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т.14. – №5(3). – С.863–865.
13. Шилова Н. А. Влияние сочетанного действия электромагнитного излучения крайне высоких частот и солей тяжелых металлов на гидробионты [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева // Бизнес. Наука. Экология родного края: проблемы и пути их решения: материалы Всероссийской научно-практической конференции-выставки экологических проектов с международным участием.- Киров: Из-во ООО «Веси», 2013. – С.113–115.
14. Шилова Н.А. Влияние водных растворов хлорида натрия на гидробионты [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева, М.В. Линник // Великие реки 2013: труды конгресса 15-й Междунар. науч.-пром. форума. / Нижегород. гос. архит.-строит. ун-т; отв. ред. С. В. Соболев. – Н. Новгород: ННГАСУ, 2013. – Т. 1. – С. 145–148.
15. Шилова Н.А. Оценка реакций гидробионтов на хлоридное засоление водной среды [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева // Экология речных бассейнов: труды 7-й междунар.науч.-практ.конф. – Владимир, 2013. – С. 461–464.
16. Шилова Н.А. Функционирование рачков *Daphnia magna* в условиях хлоридного засоления [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева, М.В. Линник // YOUNG ELPIIT 2013: Международный инновационный форум молодых учёных в рамках IV Международного экологического конгресса «Экология и безопасность жизнедеятельности промышленно-транспортной конференции»: сборник научных докладов/ под ред. А.В. Васильева. – Тольятти: Изд-во ТГУ, 2013. – С. 192–196.
17. Шилова Н.А. Комбинированное воздействие ионов тяжелых металлов и сульфатного засоления на функционирование гидробионтов [Текст] / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева // Экология и защита окружающей среды: сб. тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф. / под общ. ред. А. Е. Грицук. – Минск: Изд. центр БГУ, 2014. – С. 116–119.