Управление образования администрации Нижегородского района
МБУ ДО ДДТ Нижегородского района
Детско-юношеский экологический центр «Зеленый парус»

Биологическое тестирование качества воды в реке Левинка

Выполнила:
Красичкова Екатерина Дмитриевна, 9 класс
МАОУ "Лицей 28 им. ак. Б.А.Королева"
Руководители:
Козлова Елизавета Андреевна,
ДЮЭЦ «Зеленый Парус»

Нижний Новгород
2023

Оглавление

1. Введение 2
2. Обзор литературы 3
2.1. Обзор малых водоемов Нижнего Новгорода и области 3
2.2. Описание объекта исследования 3
2.3. Методы биотестирования. 5
2.3.1. Биотестирование при помощи ракообразных. 5
2.3.2. Биотестирование при помощи лука *Allium cepa*. 5
3. Материалы и методы исследования 5
4. Результаты и их обсуждение 7
4.1. Результаты биотестирования на луке 7
4.2. Результаты биотестирования на артемиях. 9
5. Выводы 10

1. Введение

К одной из значимых проблем многих крупных городов относится проблема сохранения биологического разнообразия флоры и фауны. Велика роль биологического разнообразия животного и растительного мира в поддержании стабильности биосферы. Сохранение и использования биологического разнообразия обеспечивает экологическую безопасность существования человечества. На территории нашего города находится большое количество малых рек и других водоемов, у которых есть водоохранная зона, свободная от капитальной застройки. Таким образом, малые реки имеют отличный потенциал для сохранения и воссоздания животного и растительного мира.

Одной из таких рек является Левинка, протекающая по нескольким районам г. Н. Новгорода. В 2021-2022 годах проходила массивная акция по благоустройству ее территории – вдоль берега высаживали деревья и кустарники, убирали мусор, был разработан проект по созданию экотропы. Однако обустройство рекреационной зоны на пойме реки не является достаточной мерой для поддержания экосистемы реки. Для оценки состояния реки и возможности восстановления ее экосистемы необходимо проведение мониторинга ее состояния методами химического анализа, биотестирования и биоиндикации. В данной работе приводятся результаты биотестирования речной воды, что, предположительно, позволит выявить не только присутствие цитотоксичных веществ, анализ которых может быть затруднен, но и оценить ее влияние на развитие растений и животных в целом.

Цель работы: определить влияние воды реки Левинка на живые организмы при помощи методов биотестирования.

Задачи:

1.1. Произвести отбор проб воды р. Левинка на установленных станциях;

1.2. Выбрать методики биотестирования;

1.3. Оценить антропогенную нагрузку на экосистемы реки, основываясь на данных биотестирования на луке (*Allium cepa*) и артемиях (*Artemia salina*).

2. Обзор литературы

2.1. Обзор малых водоемов Нижнего Новгорода и области

На территории Нижегородской области имеется около 9000 рек и ручьев общей протяженностью 32 426 км.

Все реки Нижегородской области относятся к равнинному типу и принадлежат бассейну Волги - самой древней и самой крупной реки как европейской части России, так и Европы в целом. Самые крупные из притоков Волги на территории Нижегородской области: Ока, Ветлуга, Керженец, Алатырь, Сережа, Теша, Пьяна.

Из общего числа лишь 16 рек - более 100 км. 541 имеет длину от 10 до 50 км, 27 рек длину - от 51 до 100 км. Такие реки принято относить к малым рекам. Малые реки Нижегородской области условно можно разделить на реки Низменного Заволжья (Левобережье): Ветлуга, Керженец, Узола и Правобережья – Ока, Сура, Пьяна, Тёша, Алатырь, Мокша.

На территории г. Нижнего Новгорода расположены 33 озера и 12 рек [1]. Как правило, водоемы городских территорий по морфометрическим показателям относятся к категории малых и очень малых.

2.2. Описание объекта исследования

Левинка – малая река Нижнего Новгорода, которая берет свое начало после п. Березовский и протекает пределах Канавинского, Московского и Сормовского районов.

Левинка подпитывается как подземными водами, так и промышленными сбросами и имеет главный приток - реку Парашу. Длина реки составляет около 6 километров. Протекает по равнинной местности, имеет спокойное течение. Пойма реки - широкая, двухсторонняя, во многих местах заболочена, покрыта кустарником. Освобождается ото льда в первых числах третьей декады марта (редко - в начале апреля). Ширина реки до 25 метров в прудообразных образованиях, до 15 метров в середине реки, 2-3 метра в нижнем течении.

Река имеет несколько прудообразных образований на своем течении, совмещающихся между собой - параллельно ул. Люкина, Красных Зорь, Большевистской.

Направление течения реки: от устья до ул. Большевистской - на север, далее - на северо-восток.

Вода в реке местами не замерзает зимой. Скорее всего, это связано со стоком промышленных и бытовых вод. Питание реки в основном снеговое и грунтовое (40 % и 35 %), также ливневое (10 %) и верховодное (15 %). Река протекает на северо-запад и север по Балахнинской низменности, сложенной суглинками, песками, местами заболоченной. Глубина от 2 метров до 30 см (там, где заилено). Очищение воды происходит крайне медленно.

Дно русла реки в верховье - песчаное, переходит в илисто-торфяное, песчано-илистое. Дно чрезвычайно загрязнено бытовыми отходами, строительным мусором. На всем протяжении реки, по берегам стоят гаражи. Кроме того, "соседями" реки являются больница №39, авиазавод, завод "Дорожник", ТЭУ, завод "Красное Сормово", множество авторемонтных организаций, ТЭУ, частные дома. Кроме автомобильных трасс, реку пересекают железная дорога (на Балахну), многочисленные трубопроводы.

Загрязнения, попадающие в реку, можно разделить на минеральные, органические, бактериальные и биологические.

Слив бытовых сточных вод характерен для Левинки и включает в себя воды от кухонь, туалетов, бань, хозяйственные воды. В них органическое вещество составляет приблизительно 60%, минеральные вещества - приблизительно 40%.

На авиационном заводе образуются специфические сточные воды, а в результате выхлопов от автотранспорта вокруг автомобильных трасс вода р. Левинки постоянно загрязняется компонентами выхлопных газов.

Одним из самых распространенных химических загрязнителей р. Левинки можно назвать синтетические поверхностно - активные вещества (ПАВ). И это объяснимо - вдоль реки тянутся сотни гаражей.

ПАВ входит в состав синтетических моющих средств (СМС), которые используются в быту. Особенно это бросается в глаза у частных домов вдоль реки по ул. Красных Зорь и далее.

В р. Левинку поступают и пестициды с огородов, нередко подходящих к реке на 1-2 метра и затапливаемых по весне. Пестициды поступают также в воду с дождевыми и талыми водами. Огороды особенно близко подходят к реке на левой стороне Левинки на ул. Карпинского и ул. Рябцева (правая сторона реки по течению).

Источником загрязнения являются также поверхностный сток. Периодические загрязнения поступают в результате выпадения кислотных дождей.

Левинка загрязняется и по мере поступления в неё загрязненных подземных вод. Это вызвано тем, что источниками загрязнения подземных вод являются отходы производства, участки инфильтрации загрязненных атмосферных осадков, промышленные площадки предприятий, места аккумуляции бытовых отходов - все это находится довольно близко от р. Левинка (от 100 метров до 2 километров) [2, 3, 4, 7].

Левинка испытывает сильную рекреационную нагрузку - на ее берегах видны отдыхающие, рыболовы, машины из гаражей, к ней вплотную подходят жилые дома.

Происходит ухудшение кислородного режима реки. Одна из причин этого - поступление фосфоросодержащих удобрений с огородов, синтетических моющих средств и органических загрязнителей. В реку постоянно сбрасывается зола, шлак, бумага, пластмасса, пищевые отходы, стекло, металл.

В реке Левинка произрастают роголистник, элодея (преобладающий вид). В прибрежной зоне растёт Тростник обыкновенный, камыш, рогоз. Пойма реки поросла осокой, хвощом, кустарниками.

В Левинке обнаружены полисапробные организмы - обитающие в сильно загрязненных водоемах и служащие индикаторами загрязненных сточных вод - трубочник обыкновенный, щетинковый червь (вдоль частных домов по ул. Карпинского).

Река регулярно переживает цветение вод - массового развития фитопланктона (развитие интенсивное 10-99,9 мг/л).

В целом, вода в реке Левинке пригодна для жизни организмов, однако высокая цветность ухудшает органолептические свойства. Она обусловлена присутствием гумусовых веществ и комплексных соединений трехвалентного железа.

Левинка обладает способностью к самоочищению. Загрязнения, попадающие в реку, разбавляются, частично оседают на дно, частично минерализируются, распадаются до мельчайших соединений. Но все это происходит в результате жизнедеятельности природных обитателей водоема: микробов, простейших водорослей, которые используют загрязнения в качестве питательного субстрата, окисляют их и таким образом очищают водоем.

Но способности р. Левинки не безграничны к самоочищению и в последнее время она медленно, но верно превращается в сточную канаву.

В реках с ненарушенным биоценозом и с нормальной скоростью течения, не замедляемой чем-либо, под влияние процессов перемешивания окисления, осаждения, поглощения и разложения редуцентами, дезинфекции солнечными лучами, загрязненная вода полностью восстанавливает свои свойства на протяжении 30 километров от источников загрязнения. Отсюда видно, что река Левинка длиной 6 километров не успевает самоочищаться [6].

2.3. Методы биотестирования.

Биотестирование – это процедура установления токсичности объекта (воды природных водоемов, химических соединений, кормов и т. п.) с помощью тест-объектов. Среди тест-параметров, по которым определяют собственно токсичность, наиболее часто используют поведенческие реакции, выживаемость, плодовитость, изменение ферментативной и метаболической активности организмов, а также их морфологических характеристик.

Тесты бывают двух групп: острые (характеризуются короткой длительностью, оценивают мгновенное действие фактора на тест-объект) и хронические (выявляют долговременный эффект токсиканта).

Тест-объекты. В их качестве могут быть использованы либо целостные организмы, либо изолированные органы, ткани (в биомедицинских исследованиях), эмбрионы (например, моллюсков), или клетки (например, половые клетки млекопитающих) [10].

2.3.1. Биотестирование при помощи ракообразных.

Многие виды мелких ракообразных являются чувствительными к составу воды. При проведении биотестирования при их помощи оценивают смертность организмов с промежутком в 7 дней.

Артемии относятся к классу *Crustacea*, подклассу *Entomostraca*, отряду *Phyllopoda*. В благоприятных условиях вылупление науплиев артемий из яиц (стадия «парашютика», 0) происходит через 1 – 2 суток. В первые дни жизни науплии находятся на эндогенном питании (I). В возрасте 3 - 4 суток переходят на активное питание (II) и совершают первую линьку (метанауплии (II)). Спустя некоторое время науплии становятся ювенилями (III). В зависимости от температурных условий артемии достигают половозрелое состояние (IV) через 18-29 дней после выклева из яиц. Артемии являются фильтраторами, пищей им служат мелкие планктонные организмы (одноклеточные водоросли, бактерии) и частицы детрита. Артемии обитают в соленых озерах, содержащих хлориды, карбонаты и сульфаты в различной концентрации вплоть до насыщенного состояния.

Применение артемий в качестве тест-организмов распространено для анализа донных отложений и морских вод. Они чувствительны к присутствию тяжелых металлов в воде. Артемии – распространенные в аквакультуре организмы, крайне доступные для некоммерческого производства [10, 11, 13, 14].

2.3.2. Биотестирование при помощи лука *Allium cepa*.

Лук *Allium cepa* – объект для одного из классических методов биотестирования – Allium-теста. Применение данного метода распространено как для оценки цитотоксичности синтетических веществ, так и для анализа качества вод. В данном методе учитываются параметры роста корней, деления клеток корней и т.д. Считается, что тестирование луком может, например, показывать присутствие тяжелых металлов и радионуклидов в пробе.

Для проведения биотестирования луковицы погружают корнями в воду и оставляют для проращивания. На 4 день подсчитывают митотический индекс, а затем учитывают параметры роста корней [12].

3. Материалы и методы исследования

Для проведения исследования в ноябре 2022 года было отобрано 4 пробы воды из реки Левинка (рисунок 1).

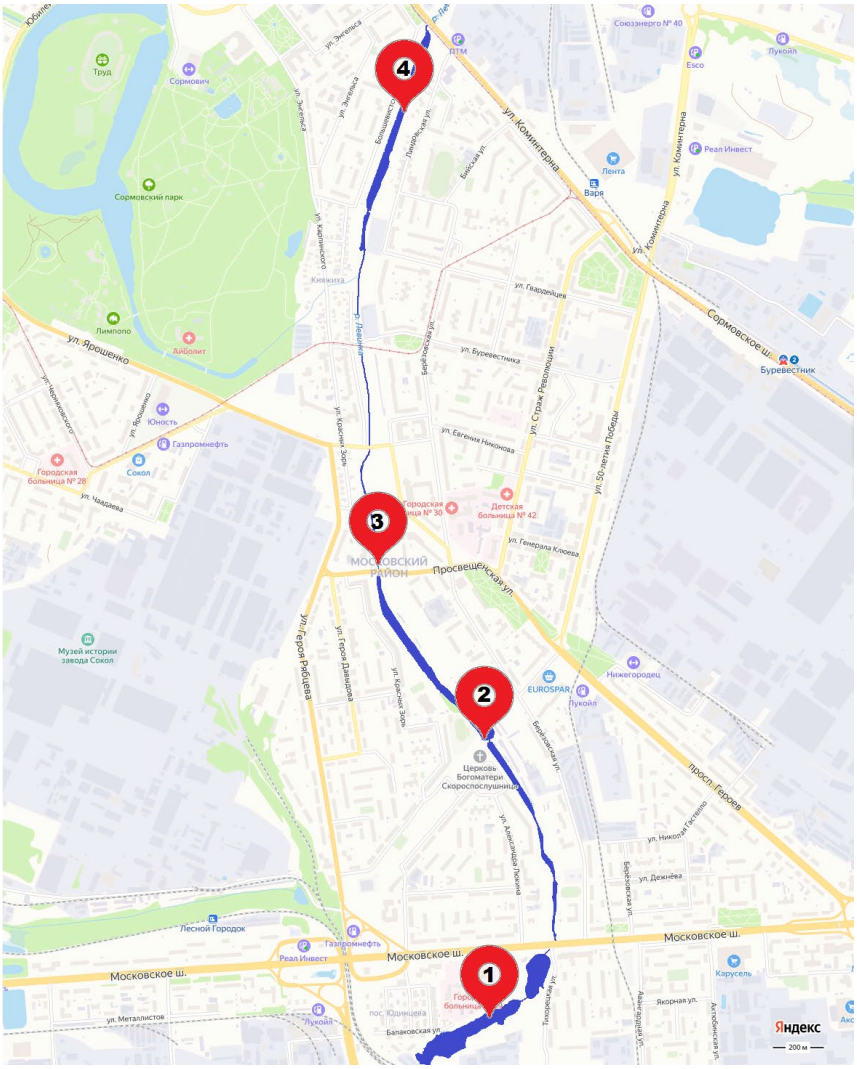

Рисунок 1. Схема расположения станций отбора проб

Станция 1: исток реки, озеро Больничное (около Московского шоссе);
Станция 2: около улицы Александра Лукин, недалеко от церкви;
Станция 3: мост через реку, Рессорный переулок;
Станция 4: в районе улицы Большевистской.

Биотестирование на луке.

Луковицы лука-севка диаметром до 2см помещались на кюветы объемом 20мл, заполненные водой из разных проб. Для контрольной пробы использовалась фильтрованная вода. Для каждой пробы было высажено по 5 луковиц.

Каждые 2 дня воду в кюветах меняли и насыщали кислородом при помощи пипеток Пастера.

Длину корешков и листьев оценивали на 7 и 30 день эксперимента. Рассчитывали среднюю и суммарную длины корней и стеблей, а также показатель критерия Стьюдента для каждой пробы по сравнению с контролем.

Биотестирование на артемиях.

Для тестирования были взяты цисты *Artemia salina* производителя Aquamenu. В пробы воды добавляли поваренную соль (из расчета 5 гр/л). Затем 200 мл подготовленной воды из каждой пробы было налито в лабораторный стакан. Для каждой пробы было по 2 стакана. В качестве контроля была взята фильтрованная лабораторная вода, смешанная с солью в той же концентрации.

В каждый стакан было помещено по 30 цист артемий. Каждые 2 дня вода доливалась до уровня и насыщалась кислородом при помощи пипеток Пастера. Рост и развитие рачков оценивались на 7 и 14 день эксперимента. Для подсчета рачков использовалась сетка 2х2 см.

4. Результаты и их обсуждение

4.1. Результаты биотестирования на луке

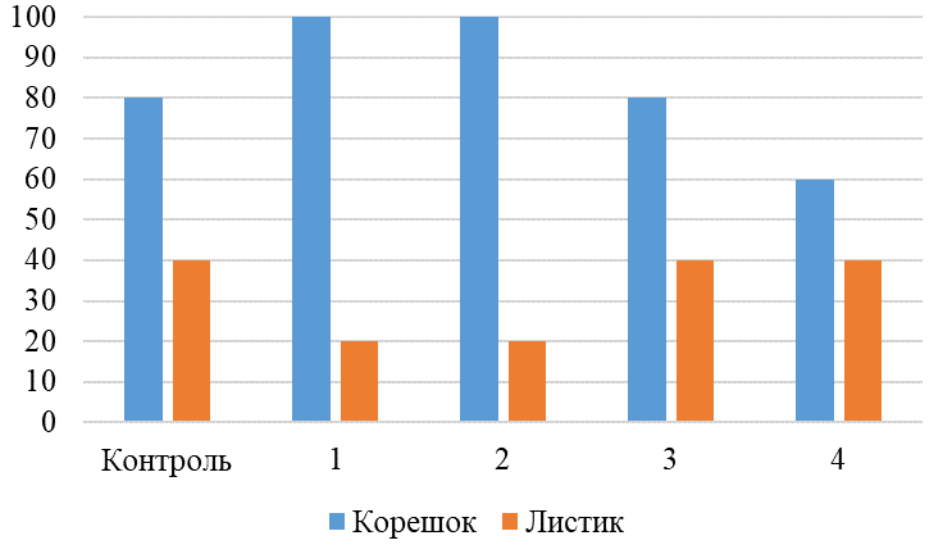

Рис. 1. Процент прорастания луковиц на 7 день.

На 7 день после проращивания луковиц наибольшим процентом прорастания были отмечены пробы 1 и 2 (корешки проросли во всех 5 кюветах). В контрольной пробе проросло 80% луковиц. Наименьший процент прорастания наблюдался для пробы №4 (60%).

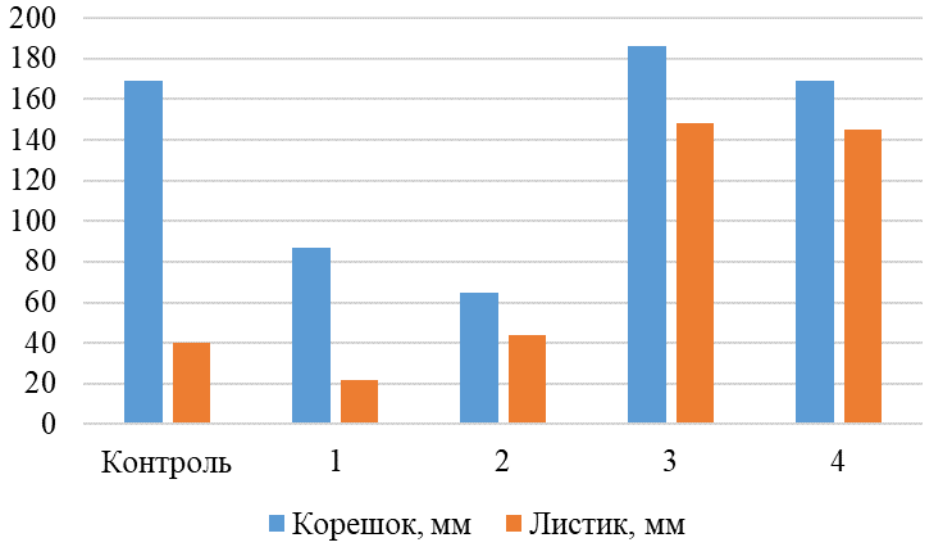

Рис. 2. Суммарная длина листьев и корней.

На втором рисунке показано, что, не смотря на низкий процент прорастаемости, суммарная длина и для листьев, и для корней была наибольшей для 3 и 4 пробы. Это может говорить о наружении режима проращивания для 4 пробы. В то же время для 1 и 2 пробы наблюдалось значительное торможение роста.

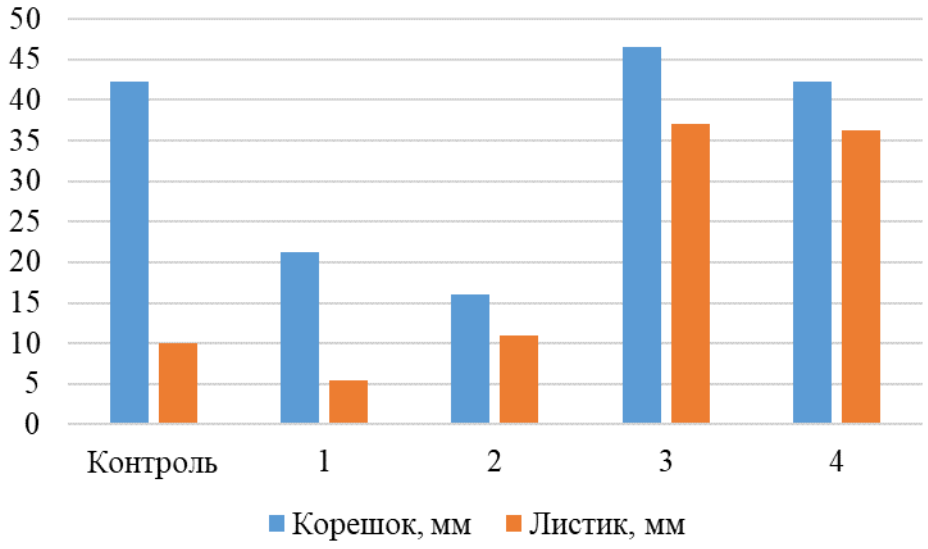

Рис. 3. Средняя длина листьев и корней.

При расчете критерия Стьюдента статистически достоверных различий обнаружено не было. Однако сохраняется следующая тенденция: листья в третьей и четвертой пробе растут больше, чем в контрольной, в то время как для первой и второй пробы наблюдается заторможенный рост корней.

4.2. Результаты биотестирования на артемиях.

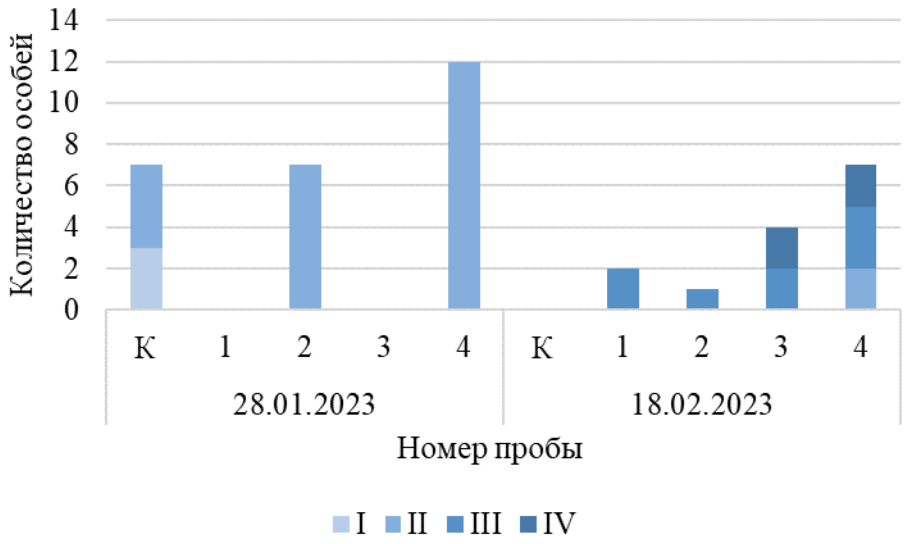

Рис. 4. Динамика численности артемий.

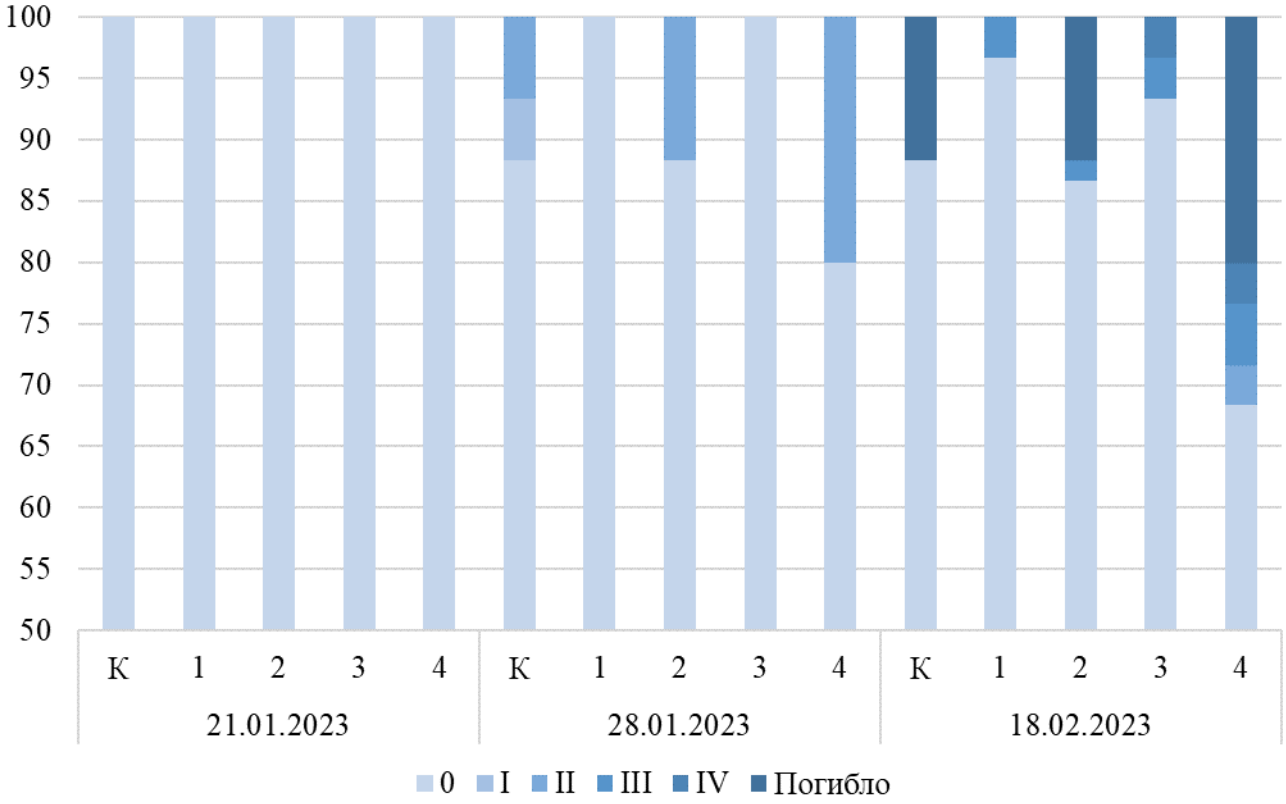

Рис. 5. Процентное соотношение особей артемий.

По результатам эксперимента можно сказать, что в целом динамика для численности артемий в эксперименте схожа с таковой для прорастания лука. Если рассматривать суммарную численность особей, наибольшая выживаемость особей наблюдалась в 3 и 4 пробах воды. К тому же, это – единственные пробы, в которых были замечены половозрелые артемии. К 60 дню эксперимента артемии в 4 пробе успешно дали потомство. В пробах 2 и 4 обильно размножились микроводоросли, и они послужили хорошим кормом для рачков. По результатам микроскопии, во второй пробе преимущественно присутствовали диатомовые водоросли, а в четвертой – представители цианобактерий, зеленых водорослей и диатомовых водорослей.

Однако к результатам данного эксперимента следует относиться с осторожностью. Согласно литературным данным, вылупляемость артемий в нормальных условиях должна составлять около 75% [14]. В то же время для контрольной пробы данное значение не превышает 15%, что может быть следствием низкого качества яиц (перед инкубацией особей отбор цист не проводился).

К тому же, артемии – рачки солоноватых вод. В качестве тест-объекта они были выбраны нами, так как представлялись более доступной для выращивания аквакультурой, чем традиционные для анализа пресных вод дафнии.

В то же время динамика численности артемий, схожая с динамикой роста лука, говорит о том, что при разработке должной методики и тщательном отборе яиц для инкубации, этот вид возможно использовать для биотестирования пресной воды.

5. Выводы

По результатам работы можно сделать следующие выводы:

1. При биотестировании на луке *Allium cepa* наилучшими показателями роста обладали 3 и 4 пробы при том, что наивысшая прорастаемость была продемонстрирована для 1 и 2 пробы. Это может говорить о том, что в воде содержится повышенное по сравнению с контролем количество биогенных элементов.
2. При биотестировании на артемиях *Artemia salina* наивысшая выживаемость была продемонстирована для 4 пробы. Рачки в пробах 1 и 3 выжили хуже, чем в контрольной пробе.
3. Суммируя данные по биотестированию, можно предположить, что пробы воды из 1 и 2 точек содержат поллютанты, негативно влияющие на развитие как растений, так и животных. Это могут быть как тяжелые металлы, так и органические токсические вещества. Для первой точки это представляется логичным, поскольку рядом с ней проходит Московское шоссе, вероятно, являющееся основным загрязнителем. Однако негативное влияние воды из второй пробы как на лук, так и на артемий, является достаточно неожиданным результатом: именно здесь, в округе церкви Скоропослушницы, проводились основные работы по благоустройству поймы: очистка берегов, высадка деревьев. Именно здесь река испытывает наибольшую рекреационную нагрузку – и здесь экосистема реки, предположительно, наиболее уязвима. Наилучшее влияние на развитие живых организмов в наших экспериментах оказала вода из четвертой точки: здесь река неглубокая и узкая, но, вероятно, не испытывает серьезных загрязнений токсическими веществами.

Исходя из анализа данных, предполагаем, что Левинке все еще необходима помощь эковолонтеров. Однако, возможно, активистскому движению следует обратить внимание на новые участки реки для восстановления ее экосистем и привлечения внимания населения.

6. Список литературы

1. Озёра Нижегородской области. Баканина Ф.М., Воротников В.П., Лукина Е.В., Фридман Б.И.. – Нижний Новгород: издание ВООП, 2001. – 165 с.
2. Будущее "Левинки". Берегиня - № (194) 6 июня 2009.
3. Малые реки Нижегородской области, своего населенного пункта. Юрлова Марина: [Электронный ресурс] // Знанио – Режим доступа: https://znanio.ru/media/malye_reki_nizhegorodskoj_oblasti_svoego_naselennogo_punkta-285276.

4. Мониторинг водных ресурсов. Мидоренко Д.А., Краснов В.С. Учеб. пособие. - Тверь: Твер. гос. ун -т, 2009. - 77 с.

5. Оценка обеспеченности горожан зелеными территориями в условиях современного развития города Нижнего Новгорода Козлов А.В., Медведев Е.Б. ФГБОУ ВПО «Нижегородский государственный педагогический университет имени Козьмы Минина». Научная статья. № 12-1 (52) Год: 2015 Страницы: 15-18.

6. Экологическое состояние реки Левинка. Учебно - исследовательский проект: [Электронный ресурс] // Изучаем и сохраняем водоёмы – Режим доступа: http://edu.greensail.ru/monitoring/projects/levinka.shtml.

7. Экологические проблемы реки Левинка. Перфилова Ксения, Хорева Нина Тезисы выступления на областной экологической конференции: [Электронный ресурс] // Алые паруса. Проект для одаренных детей – Режим доступа: https://nsportal.ru/ap/library/drugoe/2019/11/16/izuchenie-ekologicheskogo-sostoyaniya-reki-levinka.

8. Экологическое состояние водных объектов Нижегородской области А.С. Курников, д.т.н., профессор; Т.А. Брагинская, старший преподаватель, ВГАВТ.

9. Экологическое состояние водных объектов Нижнего Новгорода: монография / Д. Б. Гелашвили, А. Г. Охапкин, А. И. Доронина, В. И. Колкутин, Е. Ф. Иванов. — Н.Новгород: Изд-во ННГУ, 2005. — 414 с.

10. Лихачев С. В., Пименова Е. В., Жакова С. Н. Биотестирование в экологическом мониторинге. – 2020.

11. Терехова В. А. и др. Методика определения токсичности высокоминерализованных поверхностных и сточных вод, почв и отходов по выживаемости солоноватоводных рачков Artemia salina L.(ФР 1.39. 2006.02505 ПНД Ф Т 14.1: 2.14-06 16.1: 3.11-06. – 2006.

12. Zotina T. A. et al. Assessment of the Quality of Bottom Sediments in the Middle Reaches of the Yenisei River by Allium test //Contemporary Problems of Ecology. – 2019. – Т. 12. – С. 265-274.

13. Белых О. А., Розанов С. Е. Особенности выращивания живого корма Artemia salina в аквакультуре //Известия Байкальского государственного университета. – 2021. – Т. 31. – №. 3. – С. 400-406.

14. Костромин Е. А. Влияние факторов среды (солёность, температура, освещение) на инкубацию Artemia salina в эксперименте //Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2016. – №. 42. – С. 164-168.