

Муниципальное автономное образовательное учреждение дополнительного образования города Иркутска «Дворец творчества»

Муниципальное бюджетное образовательное учреждение средняя общеобразовательная школа № 24 города Иркутска

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДЫ РЕКИ КУЗЬМИХА МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ**



**Выполнил:**

Подлесный Михаил, 5 класс  
МБОУ г. Иркутска СОШ № 24

**Руководители:**

**Зеленкова Н.А.**, ПДО МАОУ ДО  
г. Иркутска «Дворец творчества»;  
**Шерешкова Е.М.**, учитель биологии  
МБОУ СОШ №24.

Иркутск  
2024г.

# **СОДЕРЖАНИЕ**

- 1. Введение**
- 2. Общая характеристика реки Кузьмиха**
- 3. Биотестирование с использованием дафний**
- 4. Дафния магна как тест-объект биотестирования водной среды**
- 5. Практическая часть**
  - 5.1. Отбор проб воды реки Кузьмиха**
  - 5.2. Ход эксперимента**
- 6. Выводы**
- 7. Используемая литература**

## 1. Введение

Все ли мы понимаем, какое это сокровище – речка? И как оно уязвимо, это сокровище?! Можно заново построить разрушенный город. Можно посадить новый лес, выкопать пруд. Но живую речку, если она умирает, как всякий живой организм, сконструировать невозможно.

В настоящее время состояние малых рек, в результате резко возросшей антропогенной нагрузки на них оценивается, как катастрофическое. Велико число рек, прекративших существование в последнее время, многие оказываются на пороге исчезновения. Река Большая Кузьмиха, которая протекает в районе где я живу является учебным полигоном для исследовательской деятельности ребят, обучающихся в объединении «Экологическое проектирование» Дворца творчества. Сейчас река находится в очень плачевном состоянии (рис.1).



*Рис. 1. Река Кузьмиха 2023 год*

Когда-то река была довольно большой и полноводной. На ее берегах росло много черемухи, а в реке водилась рыба.

**Актуальность** исследования заключается в необходимости получения текущей информации об экологическом состоянии реки Кузьмиха.

**Цель работы** - экологическая оценка качества воды р. Кузьмиха методом биотестирования с использованием в качестве тест-объект дафний.

### **Задачи исследования:**

1. Освоить методику определения токсичности воды по смертности и поведению дафний.
2. Выявить точки антропогенного воздействия и произвести забор проб воды.
3. Установить степень загрязнения воды реки Кузьмиха.

### **Методы исследования:**

1. Полевые работы (отбор проб, визуальный осмотр реки от истока до устья).

2. Экспериментальные работы.
3. Обработка результатов.

**Объект исследования** - дафния Магна.

**Предмет исследования** - вода реки Кузьмиха.

В ходе полевых работ мы выдвинули **гипотезу**: Вода в реке Кузьмиха из-за застройки береговой линии автостоянками, автосервисами и автомойками является токсичной.

## 2. Общая характеристика реки Кузьмиха

Река Кузьмиха относится к категории малые реки и имеет два истока и приток Кочумиха. С одной стороны река берет начало в балке у мкр. Зеленый берег и на всем протяжении находится под застройкой гаражных кооперативов, автомоек, АЗС, стоянок. С другой стороны- в балке на 4 км Мельничного тракта и проходит по мкр. Юбилейный. Здесь по берегам реки ИСЖ, СНТ.



Рис. 2. Схема объектов антропогенного воздействия

Все русло реки Кузьмиха канализировано (в трубах). Сток реки на этих участках направлен в водопропускные сооружения под автомобильными дорогами и строительными объектами. Прямо на реке построено два

торговых центра- БУМ и Юбилейный. Реку при строительстве спрятали в трубы под зданиями.



*Рис 3. Торговый комплекс, Академическая, 26, а под ним-РЕКА Кузьмиха*

Красивой, зеленой и полноводной Кузьмиха останется только в памяти у наших бабушек. А что теперь? Рыбаков никаких нет, значит, нет рыбы. Черемухи нигде не видно, да и большой реку назвать нельзя – все чаще она именуется ручьем, а кое-где и совсем, как в Санкт-Петербурге Фонтанка, река Кузьмиха закована в стальные или бетонные трубы.



*Рис. 4. Река, «закованная» в бетон...*

Впадает наша Кузьмиха прямиком в Ангару.....

## Историческая справка

Река получила свое название в честь села Кузьмиха, которое вплотную прилегало к Ангаре, с запада и востока имея границами две небольшие речки, Большая и Малая Кузьмиха. Существуют две версии происхождения села. По первой, в древности «кузьминками» называли выселки, то есть поселения, расположенные далеко от города. Вторая версия связана с проживающим здесь когда-то кузнецом по имени Кузьма. Как гласит легенда, он подковывал лошадей, везущих грузы по Байкальскому тракту, часть которого проходила через село.

Село Кузьмиха было старейшим и самым населенным, оно «возглавляло» «сельское общество», состоящее из нескольких деревень: Титово, Мельниково, Ершово, Марково.

По сведениям на 1908 год в селе Кузьмиха было 75 дворов и 472 жителя. Школу посещали 36 детей.

Кузьмиха являлась приходским центром сельского общества благодаря церкви.

Существует целая легенда, связанная с постройкой этой церкви. Здесь с 1814 года находился на поселении богатый ярославский помещик Шубин, сосланный за порочащий честь офицера поступок. В Кузьмихе он влюбился в дочь местного казака, женился на ней. Позднее Шубин был прощён и восстановлен в правах и звании. Он дал клятву построить в деревне каменную церковь в честь и память об этом важном в его жизни событии.

Шубин подал прошение с просьбой о строительстве храма, и 8 декабря 1822 года церковь, построенная на его пожертвования, была открыта и освящена в честь Николая Чудотворца.

Кузьмихинская Николаевская церковь являлась своеобразной постройкой, в архитектуре которой формы классицизма получили местную трактовку. Церковь не имела аналогов в культовой архитектуре Иркутска как прежних, так и последующих столетий.

В 1923 году церковь передали в пользование обновленческой общины верующих. Ещё в 1937 году в ней проводились богослужения, но, вероятно, вскоре она была закрыта, так как в списках действующих церквей в 1948 году она не значится. В 1970-е годы здание было снесено.



*Рис. 5. Никольская церковь села Кузьмиха (снесена в 70-е годы)*

С XIX века через село пролегла Кругобайкальская железная дорога.

После постройки ГЭС, в 1956 году, от неё остались лишь каменные опоры железнодорожного моста через Большую Кузьмиху.



Рис.6. Опоры моста через р. Большая Кузьмиха

Опоры железнодорожного моста сохранились на сегодняшний день. Вы можете полюбоваться ими по дороге к Теплым озерам. Но и здесь река под жестким антропогенной нагрузкой. Кузьмиха сервис, автомобильная развязка, склады магазина Мауро- все является загрязняющим фактором. Насколько токсична вода реки, впадающей в Ангару, нам предстоит проверить.

### 3. Биотестирование с использованием дафний

Оценка качества воды в работе была определена методом биотестирования по методике ФР.1.39.2007.03222 «Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний» [3]

Метод основан на определении изменений выживаемости и плодовитости дафний при воздействии токсических веществ, содержащихся в тестируемой воде, по сравнению с контролем.

Кратковременное биотестирование (до 96 часов) позволяет определить острое токсическое действие воды на дафний по их выживаемости. Показателем выживаемости служит среднее количество тест-объектов, выживших в тестируемой воде или в контроле за определенное время. Критерием токсичности является гибель 50 и более процентов дафний за период времени до 96 ч в тестируемой воде по сравнению с контролем.

Большинство методов биотестирования с использованием дафний основывается на регистрации их смертности под воздействием загрязняющих веществ. Но еще до гибели тест-объектов токсиканты влияют на изменение их поведенческой активности. Под воздействием поллютантов у дафнии наблюдается либо резкое повышение двигательной активности, либо наоборот замедление. Таким образом фиксирование изменения плавательной

активности дафний позволяет на ранней стадии определить токсичность воды.

В своей работе для определения токсичности мы пользовались таблицей Комплексная экологическая классификация качества поверхностных вод суши по О.П. Окснюк и В.Н. Жукинскому (таблица 1) [4].

С-2.2. По уровню токсичности (на основании результатов биотестирования на дафниях, цериодафниях)

Критерии токсичности	Уровни (классы) токсичности воды								
	Зона нетоксичных и слаботоксичных вод (природные воды)				Зона токсичных вод (сточные и приравненные к ним воды)				
	1 - нетоксичная		II - Слаботоксичная (хронотоксичная)		III - остроотоксичная	IV - высоко-токсичная	V - чрезвычайно токсичная		
	Классы качества воды								
	1 — предельно чистая	2 — чистая		3 — удовлетворительной чистоты	4 — загрязненная		5 — грязная		
Разряды качества вод									
предельно чистая	очень чистая	вполне чистая	достаточно чистая	слабо загрязненная	умеренно загрязненная	сильно загрязненная	весьма грязная	предельно грязная	
1	2а	2б	3а	3б	4а	4б	5а	5б	
Острый токсический эффект (смертность)	Отсутствие		Смертность менее 10 % в 48-часовом опыте		Отсутствие. Смертность менее 10 % в 48-часовом опыте		Смертность 50 % и более в 48-часовом опыте	Смертность 50 % и более в 24-часовом опыте	Смертность 100 % в течение 1 ч.
Поведенческие реакции	Не нарушены				Нарушены: имлобилизация, изменение характера движения, вращение вокруг своей оси		Реакции, предшествующие гибели (абортирование яиц, судорожные движения, вращение вокруг своей оси, имлобилизация)		
Хронический токсический эффект	Отсутствие в 30-суточном опыте (в отстойной или отфильтрованной воде)				Выражен отчетливо				-

Таблица 1. О.П. Окснюк и В.Н. Жукинский.

#### 4. Дафния Магна как тест-объект биотестирования водной среды

**Тест-объект** - организм, используемый при оценке токсичности химических веществ, природных и сточных вод, почв, донных отложений.

**Тест-объекты** - "датчики" сигнальной информации о токсичности среды и заменители сложных химических анализов, позволяющие оперативно констатировать факт токсичности (ядовитости, вредности) водной среды.

В качестве тест-объектов в водной токсикологии широко используются планктонные ветвистоусые ракообразные (Cladocera), в частности дафнии (лат. Daphnia).

Это обусловлено прежде всего тем, что:

- род *Daphnia* имеет очень широкое распространение в пресных водах и является ключевым звеном во многих водных пищевых цепях;
- вследствие прозрачности тела дафний, есть возможность визуального наблюдения за качеством эмбрионов, скоростью их созревания, темпом размножения, а также оценки физиологического состояния (сердцебиения, наполнения кишечника и т.д.) тест-объекта;
- есть возможность регулярной оценки народившейся молодежи по ее морфологическим признакам, а также по выживаемости от родительского к дочерним поколениям;
- **род *Daphnia*** имеет относительно короткий жизненный цикл, что особенно важно для тестов на плодовитость;
- **род *Daphnia*** используется как один из наиболее чувствительных индикаторов (датчиков) присутствия в водной среде тяжелых металлов и фосфорорганических пестицидов.

Наиболее универсальным тест-объектом по чувствительности и адекватности реагирования на различные токсиканты признан вид Дафний - *Daphnia magna* Straus



Рис. 7. *Daphnia magna* Straus - внешний вид

Впервые этот вид *Daphnia* как тест-объект был использован в работе Э.Наумана в 1933 году. Дафнии широко применяются в биотестировании в таких странах мира, как США, Германия, Франция, Венгрия и др. Во многих из них дафния принята как стандартный тест-организм. В СССР начало подобных работ связано с исследованиями Н.С. Строгонова и его школы, Е.А. Веселова и Л.А. Лесникова. Дафнии как обязательный тест-объект включены в схему установления ПДК веществ-загрязнителей и сточных вод России

***Daphnia magna* Straus** имеет серо-желтую или красноватую окраску (при дефиците кислорода), не превышает 2-3 мм в длину, обитает в водоёмах, прудах, озерах почти повсеместно.

При благоприятных условиях в лаборатории дафнии большую часть года размножаются без оплодотворения, т.е. партеногенетически, производя потомство, состоящее из самок. Период созревания рачков при температуре  $20 \pm 2$  С и хорошем питании - 5-8 дней. Длительность эмбрионального развития обычно 3-4 дня. По истечении этого времени происходит вымет молоди. Партеногенетические поколения следуют одно за другим каждые 3-4 дня.

#### **Культивирование дафний.**

Исходный материал для культивирования (водоросли, дафнии) получают в лабораториях, занимающихся биотестированием, имеющих культуру требуемой видовой принадлежности.

Биотестирование воды проводят только на синхронизированной культуре дафний. Синхронизированной является одновозрастная культура, полученная от одной самки путем ациклического партеногенеза в третьем поколении. Такая культура генетически однородна.

Рачки для проведения нашего исследования приобретались в ветеринарной лаборатории. Хлорелла для питания тест-объекта приобреталась там же.

Культивирование дафний проводилось в Лимнологическом институте.

## 5. Практическая часть

### 5.1. Отбор проб воды реки Кузьмиха

Для определения качества воды методом биотестирования был произведен отбор проб в трех точках реки. Места для взятия проб были выбраны исходя из визуальной оценки антропогенного воздействия.



Рис. 8. Схема точек отбора проб

**Точка 1**- рядом с автомобильным сервисом

**Точка 2**- вблизи АЗС

**Точка 3**- напротив гаражного кооператива

Отбор и хранение проб проводились согласно ГОСТ 17.1.5.05-85 «Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков».[5]

Согласно ГОСТ пробы воды отбирают в специально обработанные пластиковые бутылки.

Химическая обработка бутылок проводилась в Лимнологическом институте.

Отобранные пробы наливают, предварительно дважды ополаскивая отбираемой водой, в бутылки, заполняя их до краев и закрыв без пузырьков воздуха полиэтиленовыми крышками.

Биотестирование проб воды проводят не позднее 6 часов после их отбора. При невозможности проведения анализа в указанный срок пробы воды охлаждают (от +2 °С до +4 °С). Хранить пробы следует в темноте не более 24 часов после отбора.

## 5.2 Проведение эксперимента

Биотестирование проводилось в период со 02.03.2024г. по 06.03.2024г. Для проведения эксперимента взяли 3 сосуда для исследуемой воды и 3 сосуда для контрольной пробы, не содержащей токсичных веществ. Налили в них по 100 мл исследуемой воды и по 100 мл воды для контроля.

Воду профильтровали через фильтровальную бумагу. В качестве контрольной воды взяли воду для культивирования дафний. В каждый сосуд поместили по 10 особей дафний (односоточных).

Дафний во время эксперимента не кормили. Учет выживших дафний проводили через **1, 6, 24, 48, 72 и 96 часов**. При определении зоны загрязнения водоема учитывали совокупное поведение дафний. Результаты эксперимента представлены в таблицах.

### Эксперимент №1 – точка вблизи автомобильного сервиса.

Результаты исследования токсичности воды в точке №1 представлены в таблице 2.

Точка отбора	Время от начала биотестирования	Количество выживших дафний		Смертность дафний в опыте, % к контролю
		контроль	опыт	
Точка 1: Вблизи автомобильного сервиса	1 час	10	10	0
	6 часов	10	10	0
	24 часа	10	8	20
	<b>48 часов</b>	<b>10</b>	<b>8</b>	<b>20</b>
	72 часа	10	6	40
	96 часов	10	6	40

Таблица 2. Эксперимент № 1.

По данным таблицы видно, что самая большая смертность (40%) наблюдалась в 96 – часовом опыте. Фиксирование изменений плавательной активности дафний показало, что через 48 часов их движение стало хаотичным, отчётливо было выражено вращение вокруг своей оси. На основании таблицы «Комплексной экологической классификации качества поверхностных вод суши» вода из точки №1 относится к **слаботоксичной, умеренно загрязнённой**, так как смертность дафний в 48-часовой пробе более 10%, но значительно менее 50%, поэтому считать её **остротоксичной, сильно загрязнённой** было бы не правильно.

### Эксперимент №2 – точка вблизи АЗС.

Результаты исследования токсичности воды в точке № 2 представлены в таблице 3.

Точка отбора	Время от начала биотестирования	Количество выживших дафний		Смертность дафний в опыте, % к контролю
		контроль	опыт	
Точка 2: вблизи АЗС	1 час	10	10	0
	6 часов	10	10	0
	24 часа	10	9	10
	48 часов	10	6	40
	72 часа	10	4	60
	96 часов	10	0	100

Таблица 3. Эксперимент № 2.

По данным таблицы видно, что через 96 часов смертность составила 100%, все дафнии погибли. Фиксирование изменений плавательной активности дафний показало, что, так же как и в предыдущих экспериментах, через 48 часов их движение стало хаотичным, беспорядочным, отчётливо было выражено вращение вокруг своей оси. Дафнии располагались преимущественно в нижнем слое воды. На основании таблицы «Комплексной экологической классификации качества поверхностных вод суши» вода из точки №2 относится скорее к **остротоксичной, сильно загрязнённой**, так как смертность дафний в 48-часовой пробе составляет 40%, что приближено к 50%.

### Эксперимент №3 – точка вблизи садоводства, гаражного кооператива.

Результаты исследования токсичности воды в точке № 3 представлены в таблице 4.

Точка отбора	Время от начала биотестирования	Количество выживших дафний		Смертность дафний в опыте, % к контролю
		контроль	опыт	
Точка 3: вблизи садоводства, гаражного кооператива	1 час	10	10	0
	6 часов	10	9	10
	24 часа	10	9	10
	48 часов	10	8	20
	72 часа	10	6	40
	96 часов	10	5	50

Таблица 4. Эксперимент № 3.

По данным таблицы видно, что самая большая смертность (50%) наблюдалась в 96 – часовом опыте. Фиксирование изменений плавательной активности дафний показало, что, так же как и в первом эксперименте, через 48 часов их движение стало хаотичным, отчётливо было выражено вращение вокруг своей оси. На основании таблицы «Комплексной экологической классификации качества поверхностных вод суши» вода из точки №3 относится к **слаботоксичной, умеренно загрязнённой**, так как смертность дафний в 48-часовой пробе более 10%, но значительно менее 50%, поэтому считать её **остротоксичной, сильно загрязнённой** было бы не правильно.

## Выводы

Исследование загрязнённости воды реки Кузьмиха методом биотестирования с использованием дафний в период с 02 марта по 06 марта 2024 года показало следующие результаты:

1. Гипотеза, выдвинутая в начале исследования, подтвердилась.
2. В точке 1 вблизи автомобильного сервиса вода является **слаботоксичной, умеренно загрязнённой**.
3. В точке 2 вблизи АЗС вода является **остротоксичной, сильно загрязнённой**.
4. В точке 3 вблизи садоводства и гаражного кооператива вода так же является **слаботоксичной, умеренно загрязнённой**.
5. Практическое значение моего исследования заключается в том, что его результаты могут быть использованы на внеклассных занятиях по экологии, а также для информирования местного населения о состоянии вод. Еще мое исследование может войти в комплекс общественного экологического мониторинга реки Кузьмиха, проводимого старшими ребятами нашего объединения.

## Используемая литература

1. Атлас развития Иркутска. - Иркутск: Изд-во Ин-та географии СО РАН, 2011. - 131 с.
2. Фотографии с высоты 492 м. [Электронный ресурс]. Программа "Google Планета Земля"
3. ФР.1.39.2007.03222 «Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний»
4. Комплексная экологическая классификация качества поверхностных вод суши по О.П. Оксьюк и В.Н. Жукинскому
5. ГОСТ 17.1.5.05-85 «Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков»