

**ДЕПАРТАМЕНТ ОБРАЗОВАНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ГОРОДА МОСКВЫ
«МНОГОПРОФИЛЬНАЯ ШКОЛА №1449 ИМЕНИ ГЕРОЯ
СОВЕТСКОГО СОЮЗА М.В.ВОДОПЬЯНОВА»**

Исследовательская работа

**Исследование возможности использования моллюсков рода *Helisoma*
в качестве биоиндикаторов природных вод**

Автор работы:

Яковлева Анна– 11 М

Научный руководитель:

**Железнякова Ю.В. – учитель химии,
кпн**

Москва, 2018

Содержание

Введение	3
Глава 1. Моллюски рода <i>Helisoma</i> как возможные объекты биотестирования природных вод	5
1.1. Биоиндикация и биотестирование	5
1.2. Состояние воды в Московском регионе.....	6
1.3. Моллюски рода <i>Helisoma</i>	7
Глава 2. Исследование развития моллюсков рода <i>Helisoma</i> в пробах воды Московских водоемов	9
Заключение.....	14
Библиография	15

Введение

В современном мире вопрос сохранения своего здоровья и качества жизни волнует большинство людей. Вода – это один из главных источников жизни на планете. Человек не может прожить более трех суток без воды, но, даже понимая это, он продолжает загрязнять природные водоемы. По этой причине найти чистую, не загрязнённую воду, которая не нанесет вред живым организмам, становится труднее. По мнению специалистов, в промышленных районах, где природные воды сильно загрязнены, люди страдают большим количеством онкологических и других опасных заболеваний, их жизнь значительно сокращается.

Нас, как жителей Москвы, волнует состояние воды в черте города, ведь огромное количество жителей, транспорта и предприятий негативно сказывается как на экологической ситуации в целом, так и на состоянии воды. Известно, что в Москве регулярно проводятся мониторинговые исследования качества воды по ряду показателей, и данные публикуются Департаментом Природопользования и охраны окружающей среды города Москвы. Но такие исследования проводятся в нашей стране не повсеместно, а самим провести их достаточно сложно, поэтому необходимо найти более простые в использовании, но достоверные методы проверки состояния воды в своей местности. Мы решили обратиться к методу биотестирования, при котором качество воды оценивается с помощью лабораторных объектов (животных, растений, одноклеточных), помещённых в тестируемую среду в лаборатории. В прошлом году мы изучали эмбриогенез моллюсков рода *Helisoma* при культивировании кладок в разных средах, создаваемых нами искусственно, и убедились, что различные химические вещества приводят к различным патологиям и смерти эмбрионов. Так нельзя ли использовать эти удобные модельные объекты в биотестировании водоемов, учитывая, что развитие кладок и их патологии мы можем сравнить с опубликованными данными по водоемам Москвы?

Мы выдвинули **гипотезу** исследования: так как развитие кладок моллюсков рода *Helisoma* зависит от состава среды, то эти объекты можно использовать для определения качества воды методом биотестирования.

Для проверки гипотезы мы поставили **цель**: исследование развития моллюсков рода *Helisoma* в пробах воды Московских водоемов.

Для реализации цели мы определили следующие **задачи**:

- проанализировать литературу по проблеме исследования (состояние воды в московских водоемах, эмбриология моллюсков рода *Helisoma*, метод биотестирования);
- поддерживать численность популяции моллюсков, и собирать кладки;
- взять пробы воды в водоемах нашего округа и найти данные по их качеству;
- поставить серию экспериментов по исследованию зависимости развития моллюсков от степени загрязнения воды.

Объектом исследования стало развитие моллюсков рода *Helisoma* в различных пробах воды.

Предметом исследования стали возможности использования моллюсков рода *Helisoma* на ранних стадиях развития для биотестирования природных вод.

В работе мы использовали следующие **методы**: анализ, сравнение, наблюдение, эксперимент.

В работе было использовано **оборудование** конвергентной Курчатовской лаборатории: микробиологические петли, термостат ТС-1/80 СПУ, бинокулярный микроскоп со встроенной камерой.

Глава 1. Моллюски рода *Helisoma* как возможные объекты биотестирования природных вод

1.1. Биоиндикация и биотестирование

Биоиндикация — оценка качества природной среды по состоянию её биоты. Этот метод основан на наблюдении за составом и численностью видов-индикаторов.

Изучение последствий воздействия человека на окружающую среду невозможно без применения методов биологической индикации, которая дает достоверную информацию о реакции организмов на различные негативные факторы. Применение биологических методов для оценки качества среды подразумевает выделение видов животных или растений, чутко реагирующих на тот или иной тип воздействия. [6] Существует два основных метода биоиндикации: пассивный и активный. Пассивная биоиндикация связана с оценкой состояния среды обитания, исходя из присутствия в ней тех или иных видов или групп организмов. Это исследование у свободноживущих организмов или их сообществ повреждений и отклонений от нормы, являющихся признаками неблагоприятного воздействия. Так, некоторые виды планктона указывают на происхождение водных масс и течений, характеризуют определённые параметры среды обитания (в том числе солёность, температуру). Лишайники и некоторые хвойные растения служат биоиндикаторами чистоты воздуха. По комплексам почвенных животных судят о типах почв. Очень важно, что с помощью биоиндикаторов производится оценка степени загрязнения окружающей природной среды, постоянный мониторинг её качества и изменений. [9]

Активная индикация, или биотестирование — исследование последствий неблагоприятных факторов в стандартных условиях на наиболее чувствительных к данному фактору организмах - тест-организмах. [6]

При активной биоиндикации с помощью тест-объектов определяют степень влияния различных химических (рН, содержание солей, пестицидов и других веществ) и физических (например, радиоактивность) факторов среды. [8] Так, очень часто в качестве тест-объектов загрязнения водоёмов выступают бактерии *Photobacterium phosphoreum* (Microtox-тест), дафнии, гуппи. Тест-объектами загрязнения почв служат дождевые черви, панцирные клещи, коллемболы, некоторые виды растений. Тест-объекты применяются также для оценки токсичности, мутагенности, канцерогенности химических веществ, их потенциальной опасности для самых разных компонентов окружающей среды. [13]

Биоиндикация отличается от биотестирования тем, что если при биоиндикации организмы извлекаются из природной среды, и по их состоянию оценивают степень загрязнения, то при биотестировании качество среды оценивается посредством лабораторных объектов (животных, растительных, одноклеточных), помещённых в тестируемую среду уже в лаборатории. [6]

1.2. Состояние воды в Московском регионе

Москва — один из крупнейших мегаполисов мира, на территории её области работает множество заводов и фабрик, состав почвы варьируется. К тому же, в черте города находятся крупные свалки бытовых отходов, часто-несанкционированных, что не может не влиять на качество воды. Часть москвичей и жителей области получают воду из Москвы-реки или местных скважин: в основном это южные и западные округа. Другая вода приходит из Волги. [17]

Наш мегаполис разделён на 9 районов сетей водоснабжения. При этом контролирующая организация регулярно выполняет плановые проверки воды в системе водоснабжения. Пробы берутся непосредственно из кранов таких общественных организаций, как школы, детские сады, больницы, магазины, фармацевтические пункты. Всего таких точек водозабора насчитывается

более 250. Они равномерно распределены по городу. Качество воды в Москве проверяется путём забора проб жидкости из распределительной системы. Затем пробы тестируются по показателям микробиологической группы и органолептическим характеристикам. Все анализы и заборы проб выполняются согласно составленному плану проверок, и частота проверок напрямую связана с численностью населения района. [15]

В городе организована единая система мониторинга качества воды реки Москвы и ее притоков. Общее количество створов наблюдения в 2013 году с учетом присоединенных территорий доведено до 66. Из них на реке Москве предусмотрено 13 контрольных створов, в устьях малых рек - 14, на крупных притоках - 18, на присоединенных территориях - 14. Отбор проб воды осуществляется 1 раз в месяц в течение всего года, в лаборатории анализ проводится по 40 показателям: рН, прозрачность, растворенный кислород, взвешенные вещества, БПК₅, ХПК, сухой остаток, Cl⁻, SO₄²⁻, S²⁻, PO₄³⁻, NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, Fe общее, Mn, Cu, Zn, Cr общий, Ni, Pb, Co, Al, Cd, нефтепродукты, фенолы, формальдегид, ПАВ, токсичность и др. [10]

Всем известно, что качество питьевой воды влияет не здоровье человека. Если раньше специалисты успокаивали россиян, что кипячения воды, идущей из-под крана, достаточно, все больше столичных жителей выказывают недоверие, переходя на бутилированную. Однако работники санэпидемстанции скептически относятся к упакованной жидкости – написать на емкости можно все что угодно, но это не гарантирует высокого качества. [15]

1.3. Моллюски рода *Helisoma*

Систематика аквариумной катушки:

Царство – животные (*Animalia*)

Тип – моллюски (*Mollusca*)

Класс – брюхоногие (*Gastropoda*)

Отряд – легочные (*Pulmonata*)

Семейство – катушкообразные (*Planorbidae*)

Род – катушки (*Planorbella*)

Вид - *Planorbella trivolvis* (*Helisoma trivolvis*)

Пресноводные легочные моллюски - очень удобный объект для исследования. Они развиваются внутри яйцевой капсулы и проходят все те же стадии, что и свободноплавающие личинки морских моллюсков. Благодаря развитию внутри прозрачного и проницаемого для многих веществ яйца они более удобны для наблюдения за развитием и проведения экспериментов [6]. Эмбрионы пульмонат в начале эмбрионального развития проходят традиционные стадии (бластула, гастрюла), затем стадии личиночного развития, после чего трохофора преобразуется в велигера, и именно в конце этой стадии начинается метаморфоз, в результате которого велигер превращается в ювенильную улитку (у пульмонат он проходит «скрыто», внутри яйца). После нескольких постметаморфных стадий с переходом на ножное движение (скольжение по стенке яйца) и становлением жевательного ритма, улитка прогрызает яйцевую капсулу и вылупляется [5].

При использовании моллюсков как моделей исследования были накоплены многочисленные факты, раскрывающие механизмы регуляции различных функций организма. [4; 5]. Таким образом, пресноводные легочные моллюски используются в качестве объектов для тестирования различных биологически активных веществ, и являются интересной моделью эмбриологических исследований.

На основании вышеизложенного мы сделали следующие **выводы:**

1. Исследования, посвященные механизмам регуляции биологических систем, особенно влиянию абиотических факторов на эмбриональное развитие организмов, не теряют своей актуальности.
2. Методы биоиндикации и биотестирования позволяют определить присутствие загрязняющих веществ по наличию или состоянию определенных организмов, наиболее чувствительных к изменению

экологической обстановки, и осуществить оценку их воздействия на окружающую среду.

3. Несмотря на то, что в Москве организована единая система мониторинга качества воды реки Москвы и ее притоков, население выказывает недоверие к качеству воды.

4. Пресноводные легочные моллюски *Helisoma trivolvis* могут стать удобным тест-объектом, так как благодаря развитию внутри прозрачного и проницаемого для многих веществ яйца удобны для наблюдения за развитием и проведения экспериментов.

Глава 2. Исследование развития моллюсков рода *Helisoma* в пробах воды Московских водоемов

Методика проведения эксперимента

Маточная культура *Helisoma* содержалась в пластиковой ёмкости, объёмом 15 литров, заполненная отстоявшейся водопроводной водой. Замена воды производилась 2 раза в неделю. Кормление улиток происходило 3 раза в неделю (понедельник, среда, пятница) листовым салатом. На дно ёмкости был постелен полиэтиленовый пакет, для облегчения отделения кладок. Кладки отделялись от субстрата микробиологической петлёй. Сбор кладок происходил ежедневно в течении 1 недели. После отделения кладки помещались в холодильник (+4°C) для торможения их развития. После накопления необходимого материала кладки были распределены на 9 групп (8 экспериментальных и контроль). Экспериментальные чашки были заполнены пробами воды, взятыми в различных водоемах Москвы, и пробой питьевой воды из школьного кулера. Описание экспериментальных групп приведено в таблице 1.

Таблица 1.

№ группы	Проба воды
-----------------	-------------------

1	Вода из р. Яуза
2	Вода из родника
3	Вода из среднего Лианозовского пруда
5	Вода их Хлебниковского пруда
6	Вода из Ангарских прудов
7	Вода из пруда на Яузе
8	Вода из школьного кулера
9	Контроль (водопроводная вода)

В ходе эксперимента чашки Петри инкубировались в термостате при температуре +25°C. Ежедневно в течение 2 недель проводилась фиксация стадии развития зародышей, велся учет погибших особей и особей, успешно завершивших эмбриональное развитие. Наблюдения проводились с помощью лабораторного микроскопа (увеличение объектива – 4X, увеличение окуляра – 10X) и установленной на нём камеры. Результаты наблюдения за ростом и развитием эмбрионов брюхоногих моллюсков заносились в таблицу. Полученные данные (число выживших особей в 3-х кладках в каждой пробе) приведены в таблице 2.

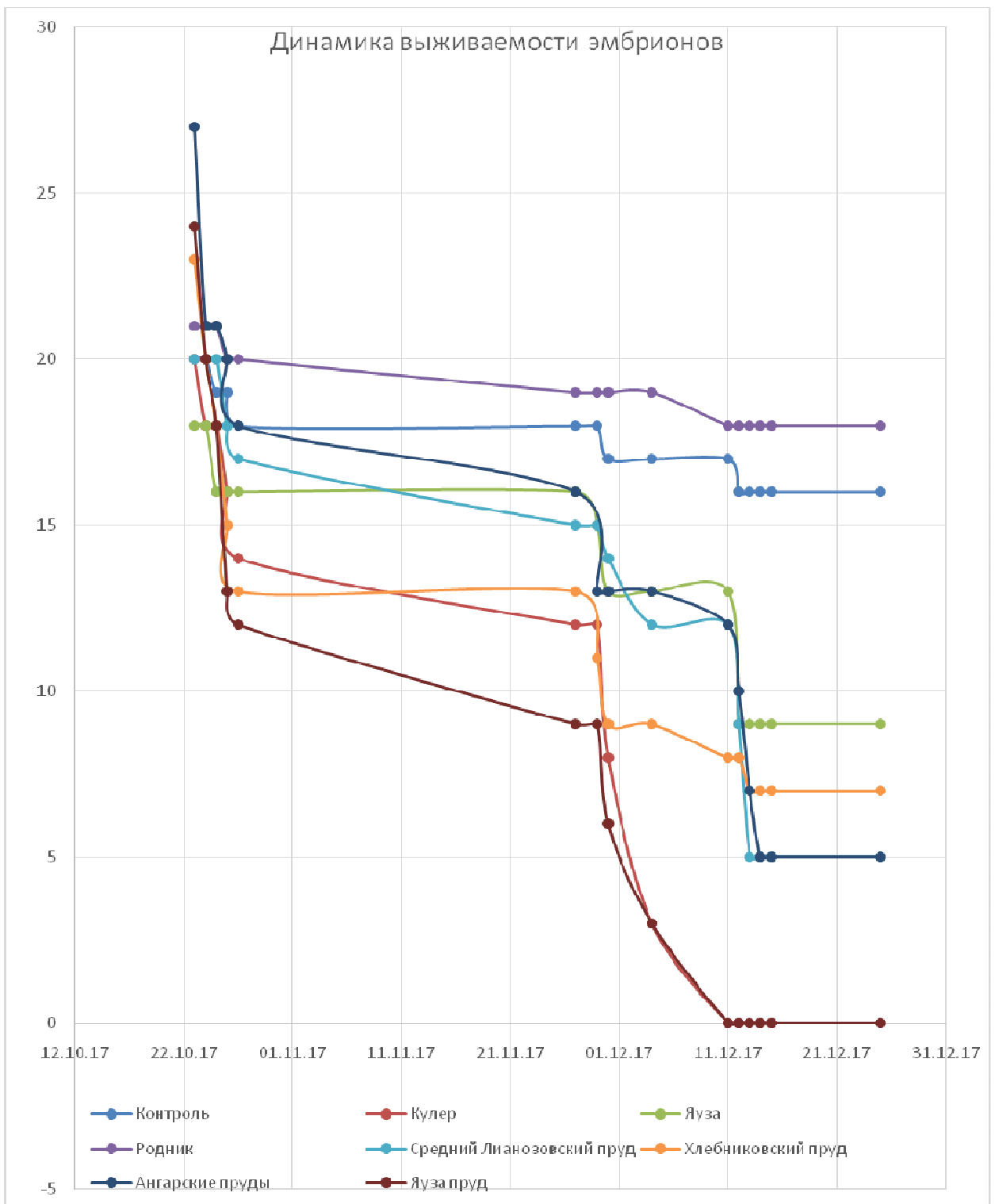
Таблица 2.

Дата	Контроль	Кулер	Яуза	Родник	Сред. Лианозовский пруд	Хлебниковский пруд	А п	Яуза пруд
23.10.17	20	20	18	21	20	23	27	24
24.10.17	20	18	18	21	20	20	21	20
25.10.17	19	18	16	21	20	18	21	18

26.10.17	19	16	16	20	18	15	20	13
27.10.17	18	14	16	20	17	13	18	12
27.11.17	18	12	16	19	15	13	16	9
29.11.17	18	12	15	19	15	11	13	9
30.11.17	17	8	13	19	14	9	13	6
04.12.17	17	3	13	19	12	9	13	3
11.12.17	17	0	13	18	12	8	12	0
12.12.17	16	0	9	18	9	8	10	0
13.12.17	16	0	9	18	5	7	7	0
14.12.17	16	0	9	18	5	7	5	0
15.12.17	16	0	9	18	5	7	5	0
25.12.17	16	0	9	18	5	7	5	0

Для получения более точных данных эксперимент был проведен дважды: осенью 2017 года и в апреле 2018 года. В целом, данные совпадают, лишь контроль в апреле показал превышение смертности по сравнению с осенним экспериментом на 3%: скорее всего, это связано с изменением качества водопроводной воды в связи с таянием снега. Поэтому мы ограничились приведением данных осеннего эксперимента.

Для удобства восприятия результатов эксперимента на основе таблицы был построен график, отражающая ход развития эмбрионов в девяти исследуемых группах.



Как видно из приведенных данных, наиболее высокая смертность эмбрионов наблюдалась в пробах воды из пруда на Яузе и из школьного кулера (погибли все после 9-го дня эксперимента). Это объясняется разными причинами: пруд на Яузе небольшой, заболоченный и действительно очень загрязненный с виду, а школьный кулер обрабатывается химическими

реагентами для его очистки, и, видимо, они губительны для улиток. Мы думаем, что вода из кулера может быть опасна и для нашего употребления. Немного лучше ситуация в пробах воды с Ангарского и Лианозовского прудов: к концу эксперимента там выжили по 5 эмбрионов (от 75 до 81% смертности). Далее по улучшению ситуации идут Хлебниковские пруды и проточная Яуза (70% и 50% смертность эмбрионов соответственно). Контроль не превышает литературные данные (20% смертность), а в воде из родника смертность составила 14,2%. Полученные нами данные соответствуют визуальным наблюдениям за водоемами и нашим предположениям, что проточная вода более чистая по сравнению с прудовой из-за процессов самоочищения.

На основании проведенных экспериментов мы сделали следующие **выводы**:

1. Моллюсков рода *Helisoma* на ранних стадиях развития можно использовать для определения качества воды методом биотестирования, так как развитие их кладок зависит от состава среды.
2. Метод биотестирования не дает представления о конкретных веществах-загрязнителях, но показывает экологическое состояние водоема в целом.
3. Исследования состояния водоемов Москвы методом биотестирования подтвердили предположение о более благополучном состоянии проточных вод реки по сравнению с водой прудов из-за более активных процессов самоочищения реки.
4. Вода из школьного кулера оказалась губительной для эмбрионов моллюсков рода *Helisoma*, на основании чего можно судить об ее небезопасности для употребления: необходимы более точные исследования.

Заключение

Наша работа была посвящена изучению возможности использования моллюсков рода *Helisoma* на ранних стадиях их развития в качестве тест-объекта для определения степени загрязненности водоемов. На сегодняшний момент проблемы биотестирования и биоиндикации достаточно актуальны, поскольку качество среды постоянно ухудшается в связи с антропогенным воздействием, и нам необходимо выживать в этих условиях. В прошлом году мы изучали эмбриогенез моллюсков рода *Helisoma* при культивировании кладок в разных средах, создаваемых нами искусственно, и убедились, что различные химические вещества приводят к различным патологиям и смерти эмбрионов. Так нельзя ли использовать эти удобные модельные объекты в биотестировании водоемов, учитывая, что развитие кладок и их патологии мы можем сравнить с опубликованными данными по водоемам Москвы? - на этот вопрос мы попытались ответить в ходе исследования.

В первой части нашей работы мы изучили целесообразность использования аквариумной катушки в качестве объекта исследования эмбриогенеза, ее таксономическую характеристику и стадии эмбриогенеза, а также методы биоиндикации и биотестирования, и экологическое состояние водоемов Москвы. Во второй части работы мы поставили серию экспериментов по разведению данного моллюска в лаборатории и инкубировании кладок в пробах воды, взятых из разных Московских водоемов. В ходе работы наша гипотеза подтвердилась: действительно, так как развитие кладок моллюсков рода *Helisoma* зависит от состава среды, то эти объекты можно использовать для определения качества воды методом биотестирования. Задачи работы выполнены в полном объеме. В перспективе возможен поиск других тест-объектов для определения качества среды, и не только воды.

Библиография

2. Биоиндикация и биомониторинг / отв. ред. проф. Д.А. Криволуцкий. - М.: Наука, 1991.- 288 с.
3. Березкина Г.В. Старобогатов Я.И. Экология размножения и кладки яиц пресноводных легочных моллюсков/ Г.В. Березкина, Г.В. Старобогатов// Труды зоологического института. Ленинград, -1988. -Т. 174. -С. 79-83.
4. Жмур Н.С. Государственный и производственный контроль токсичности вод методами биотестирования в России. - М.: Международный Дом сотрудничества, 1997. - 117 с.
5. Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Трохофорные, щупальцевые, щетинкочелюстные, погонофоры/ О.М. Иванова-Казас. - М.: Наука, 1977, -С. 376
6. Измайлова Н.Л., Ляшенко О.А., Антонов И.В. Биотестирование и биоиндикация состояния водных объектов: учебно-методическое пособие к лабораторным работам по прохождению учебной (ознакомительной) практики/ СПбГТУРП. - СПб., 2014. – 52 с.
7. Николаев А.Н., Нилова И.В. Основы микробиологии и биотехнологии: учебное пособие / СПбГТУРП. - СПб., 2002. - 111 с.
8. Мелихова О.П., Егорова Е.И. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учебное пособие для студентов высш. учеб. заведений.- М.: Издательский центр «Академия», 2007. – 288 с.
9. Основы экогеологии, биоиндикации и биотестирования водных экосистем/ под ред. В.В. Куриленко. - СПб: Изд-во СПбГУ, 2004.- 480 с.
10. <http://www.dpioos.ru/eco/ru/mill-портал> Департамента Природопользования и охраны окружающей среды города Москвы
11. <http://biofile.ru/bio/22458.html>

12. <http://fb.ru/article/43725/bryuhonogie-mollyuski-stroenie-jiznedeyatelnost-razmnojenie>
13. <http://knowledge.su/b/bioindikatsiya->
14. <https://dic.academic.ru/dic.nsf/ruwiki/823311>
15. <http://oskada.ru/analiz-i-kontrol-kachestva-vody/kachestvo-vody-v-moskve-po-rajonam-v-podmoskove-moskovskoj-oblasti.html>
16. <http://zhkhinfo.ru/novosti/kachestvo-i-zhestkost-vody-po-rajonam-v-moskve-pokazateli.html>
17. <http://ap9.ru/blog/kachestvo-vody-v-moskve-i-podmoskove-po-rajonam>
18. <http://mosriver.narod.ru/yauza.htm>
19. <http://www.dpioos.ru/eco/ru/water>