

Министерство образования и науки Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«Оренбургский государственный университет»

Кафедра экологии и природопользования

*Е. В. Гривко, О.С. Ишанова*

# **ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ БИОИНДИКАЦИОННЫМИ И ФИЗИКО- ХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ**

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет» в качестве методических указаний для студентов, обучающихся по программам высшего профессионального образования по направлению подготовки 022000.62 Экология и природопользование

Оренбург  
2013

УДК 502.51(076.5)  
ББК 20.18я7  
Г82

Рецензент - доцент, кандидат технических наук О.В. Чекмарева

- Гривко, Е.В.**  
Г82 Оценка состояния водных экосистем биоиндикационными и физикохимическими методами: методические указания / Е.В. Гривко, О.С. Ишанова – Оренбург: Оренбургский гос. ун-т, 2013. – 43 с.

Методические указания предназначены для выполнения практических работ по дисциплинам направления подготовки: 022000.62 Экология и природопользование : «экология», «биоэкология», «практикум по экологии».

Методические указания содержат понятийный аппарат, а для каждой работы - следующие структурные элементы: цель, оборудование и материалы, ход работы, структура отчета по выполненной работе, контрольные вопросы.

Указания рекомендованы также для студентов естественнонаучных, инженерных и экономических специальностей, изучающих дисциплины «Экология», «Биоэкология», «Биология с основами экологии».

УДК 502.51(076.5)  
ББК 20.18я7

© Гривко Е. В., Ишанова О.С., 2013  
© ОГУ, 2013

## Содержание

Введение.....	4
1 Общие сведения.....	7
1.1 Понятийный аппарат.....	8
1.2 Характеристика водных экосистем и воды как фактор окружающей среды.....	10
2 Биоиндикационные методы исследования водных экосистем.....	18
2.1 Практическая работа № 1: «Биоиндикация качества воды по донным беспозвоночным».....	18
2.2 Практическая работа № 2: «Определение степени загрязнения водоема по индексу Гуднайта и Уитлея».....	21
3 Физико-химические методы исследования водных экосистем.....	24
3.1 Практическая работа № 3: «Оценка состояния водной экосистемы по содержанию биогенных элементов».....	24
3.2 Контрольные вопросы.....	24
4 Литература рекомендуемая для изучения темы.....	39
Приложение А Таблица А.1 - «Параметры экосистемы и сравнительная характеристика состояний водных экосистем».....	41
Приложение Б Таблица Б.1 - Содержание химических элементов (масс. доля, %) в земной коре, почвах, морской воде, растениях, животных (по А.П. Виноградову).....	42

## Введение

В настоящее время проблема загрязнения водных объектов (рек, озер, морей, грунтовых вод и т.д.) является наиболее актуальной, т.к. всем известно – выражение «вода - это жизнь». Загрязнение окружающей среды, в том числе источников водоснабжения, представляет собой реальный фактор, оказывающий существенное негативное влияние на здоровье населения. По данным ВОЗ, от использования недоброкачественной питьевой воды ежегодно в мире страдает каждый десятый житель планеты. Поэтому в комплексе мероприятий, направленных на предупреждение негативных последствий влияния качества питьевой воды на здоровье человека, ведущее место должно занимать гигиенически обоснованное водоснабжение. Известно, что вода является основным фактором распространения холеры, тифа, паратифа, бациллярной дизентерии и гастроэнтерита, инфекционной желтухи, туляремии, полиомиелита, инфекционного гепатита и туберкулеза. Распространителями водных болезней являются не только бактерии и вирусы, но и некоторые водные паразиты (нематоды, глисты, гвинейские черви и т. п.).

Без воды не один живой организм не может существовать. В частности, человек без воды может прожить не более трех суток. Но, даже понимая всю важность роли воды в его жизни, он все равно продолжает жестко эксплуатировать водные объекты, безвозвратно изменяя их естественный режим сбросами и отходами.

Ткани живых организмов в среднем состоят на 70 % из воды, и поэтому В.И.Вернадский определял жизнь как живую воду. Воды на Земле много, но 97 % - это солёная вода океанов и морей, и лишь 3 % - пресная. Из этого количества пресной воды три четверти почти недоступны живым организмам, так как эта вода «законсервирована» в ледниках гор и полярных шапках (ледники Арктики и Антарктики). Это резерв пресной воды. Доступная живым организмам вода заключена в их тканях. Для образования 1 кг биомассы дерева расходуется до 500 кг воды, то есть, вода – это важнейший биоресурс планеты. Поэтому её нужно расходовать рационально.

Основная масса воды сосредоточена в океанах. Испаряющаяся с его поверхности вода дает живительную влагу естественным и искусственным экосистемам суши. Чем ближе район к океану, тем больше там выпадает осадков. Суша постоянно возвращает воду океану, часть воды испаряется, особенно лесами, часть собирается реками, в которые поступают дождевые и снеговые воды. Обмен влагой между океаном и сушей требует очень большого количества энергии: на это затрачивается до 1/3 того, что Земля получает от Солнца. Цикл воды в биосфере до развития цивилизации был равновесным, океан получал от рек столько воды, сколько расходовал при её испарении. Если не менялся климат, то не мелели реки и не снижался уровень воды в озёрах. С развитием цивилизации этот цикл стал нарушаться, в результате полива сельскохозяйственных культур увеличилось испарение с суши. Реки южных районов обмелели, океаны загрязнены. Появление на их поверхности нефтяной плёнки уменьшило количество испаряемой воды в гидросфере. Всё это ухудшает водоснабжение биосферы. Более частыми становятся засухи, возникают очаги экологических бедствий, например, многолетние катастрофические засухи в пустынных зонах. Кроме того, и сама пресная вода, которая возвращается в океан и другие водоёмы с суши, часто загрязнена. Основным источником питьевой воды являются малые реки, которые больше всего загрязняются промышленными предприятиями.

На рубеже веков разнообразная деятельность человека, связанная с экстенсивным производством, привела к угрозе потери природных ресурсов Земли и поставила задачу сохранения и защиты природы на первое место среди всех глобальных проблем.

Теоретические и экспериментальные основы исследования водных экосистем и их качества разработаны известными русскими учеными - Г.Г.Винбергом, С.Н.Скадовской, Е.А.Тимофеевой – Ресовской.

Загрязнение поверхностных вод токсикантами - это один из показателей общего ухудшения состояния природной среды, т. е. критерием антропогенной нагрузки. Очистка воды в природе - неременное звено в цикле водооборота. Любые типы загрязнений при самоочищении воды, в конечном счете, оказываются

сконцентрированными в виде продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, высших растений и животных и в итоге скапливаются на дне, в детрите. Искусственные системы очистки воды основаны на использовании процесса минерализации и концентрирования загрязнителей; они имитируют природные объекты - стоячие и проточные водоемы, болота, пойменные земли.

Данное методическое указание предназначено для выполнения практических работ как в полевых, так и в лабораторных условиях.

Целью данного комплекса практических работ является проверка и закрепление теоретических знаний, полученных на лекционных занятиях по вопросу оценки качества окружающей среды по состоянию водных объектов на исследуемой территории.

Задачи:

- научиться проводить биоиндикацию качества воды по донным беспозвоночным;
- овладеть количественными и качественными реакциями на белковые молекулы и их фрагменты;
- проанализировать полученные данные и сформулировать выводы о степени эвтрофикации водоемов на исследуемой территории по данным показателям.

В материалах методических указаний использованы данные из опубликованных ранее учебных пособий, атласов и справочников по дисциплине.

## 1 Общие положения

Проблемы чистой воды и охраны водных экосистем становятся все более острыми по мере исторического развития общества, стремительно увеличивается влияние на природу, вызываемого научно-техническим прогрессом. Вода, самое распространенное соединение в природе, не бывает абсолютно чистой. Природная вода одержит многочисленные растворенные вещества — соли, кислоты, щелочи, газы (углекислый газ, азот, кислород, сероводород), продукты отходов промышленных предприятий и нерастворимые частицы минерального и органического происхождения.

Свойства и качество воды зависят от состава и концентрации содержащихся в ней веществ. Наиболее чистая природная вода — дождевая, но и она содержит примеси и растворенные вещества (до 50 мг/л). Содержание растворенных веществ в морской воде составляет от 10000 до 20000 мг/л, а в воде океанов — около 35000 мг/л. Вода соленых озер — 200000 мг/л и более. Воду, содержащую до 0,1% растворенных веществ, принято называть пресной, от 0,1 % до 5 % — минерализованной, свыше 5 % — соленой.

Наиболее важным неорганическим соединением, входящим в состав живых систем, является вода. Ее содержится от 60 % до 95 % от общей массы живых организмов и 3/4 поверхности Земли.

Вода важна для живых организмов вдвойне, ибо она не только необходимый структурный компонент, но и для многих — среда обитания.

Во-первых: молекула воды, будучи диполем (способным соединяться водородными связями друг с другом) является прекрасным растворителем для полярных соединений (соли, сахара и спирты). Процесс растворения полярных соединений повышает их реакционную активность. А неполярные соединения (типа липидов) не смешиваются с водой, притягиваются неполярными частями друг к другу (как капельки жира), разделяя таким образом водные растворы на компоненты (части).

Эти взаимодействия стабилизируют, делают более прочными мембраны клетки. Иначе говоря, неполярные молекулы – гидрофобны (боятся воды).

Благодаря первому своему свойству, вода осуществляет транспорт веществ в организмах.

Во-вторых: обладая большой теплоемкостью (когда сильное увеличение тепловой энергии вызывает лишь небольшое повышение температуры) вода создает относительно постоянные условия протекания всех биохимических процессов.

В-третьих: вода обладает большой теплотой испарения. Эту энергию она берет из своего окружения, чем обеспечивает охлаждение организмов (потоотделение, транспирация).

В-четвертых: воде свойственна большая теплота плавления – это есть мера тепловой энергии, необходимой для расплавления твердого вещества (т.е. льда); справедливо и обратное: при замерзании вода должна отдать большое количество энергии, что уменьшает вероятность замерзания клеточного содержимого.

В-пятых: вода - единственное вещество, у которого плотность в жидком состоянии больше, чем в твердом. Это дает возможность существовать организмам на дне водоемов и в холодное время, а также обеспечивает циркуляцию соединений в растворе (т.к. соединения, охладившиеся до +4 °С и ниже, поднимаются на поверхность водоема).

В-шестых: транспорт воды по сосудам осуществляется благодаря когезии (сцепление молекул или физических тел друг с другом под действием сил притяжения).

В-седьмых: вода – главный реагент, т.к. она является важным метаболитом, т.е. участвует в реакциях обмена веществ. Например: в качестве источника водорода в фотосинтезе; участвует в реакциях гидролиза.

В-восьмых: вода участвует в процессе эволюции в качестве главного ограничивающего фактора при естественном отборе.

Проблема дефицита качественной питьевой воды остро стоит уже в масштабах всей планеты. В России обеспечение населения доброкачественной питьевой водой остается нерешенной, а в ряде регионов приобрело кризисный



характер. В общем объеме подаваемой населению воды 68 % занимают поверхностные водоисточники, только 1 % которых соответствует 1-му классу качества (см. ГОСТ 2761-84), обеспечивающему получение питьевой воды при существующих технологиях, отвечающему лимитам СанПиН 2.1.4.559-96 "Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды...".

По данным Госкомстата России, централизованные системы водоснабжения имеют 1078 городов (99 % общего количества городов) и 1686 поселков городского типа (83 %), около 34 тыс. сельских населенных пунктов (22 %). Общая протяженность трубопроводных сетей в населенных пунктах России составляет 456,0 тыс. км. В 1997 году водопроводными сооружениями подано 24,2 млрд. м<sup>3</sup> воды, в том числе населению и на коммунально-бытовые нужды 14,6 млрд. м<sup>3</sup>. Мощность водопроводов достигла 90,44 млн. м<sup>3</sup>/сут. При среднем уровне удельного водопотребления в Российской Федерации на хозяйственно-питьевые и коммунально-бытовые нужды, равном 272 л/сут. на 1 жителя, в Москве этот показатель составляет 539 л/сут, Челябинской области – 369 л/сут, Саратовской - 367 л/сут, Новосибирской - 364 л/сут, Магаданской - 359 л/сут, Камчатской - 353 л/сут.

В последние годы сохраняется тенденция увеличения загрязненности практически всех поверхностных вод - источников централизованного водоснабжения, а также примышленными объектами. В некоторых районах отмечен рост количества створов с высоким и экстремально высоким уровнем загрязнения водных объектов (соответственно более 10 и 100 ПДК). К предприятиям, сбрасывающим сточные воды с высоким содержанием биогенных элементов белковой природы можно отнести: пищевые предприятия, парфюмерные и фармацевтические производства, канализационные стоки и другое, что ведет к снижению качества воды и свойств водных экосистем.

В данной ситуации увеличивается количество артезианских источников для подключения к системе водоснабжения населения России. Качество используемых для водоснабжения подземных вод (32 % общего объема водозабора) в основном удовлетворяет нормативным требованиям, однако их загрязнение также

увеличивается в последнее время. В результате около 90 % поверхностных и менее 30 % подземных вод, забираемых для нужд водоснабжения, подвергается обработке. Однако из-за повышенного загрязнения водоисточников СПАВ, нефтепродуктами, солями тяжелых металлов и другими вредными примесями применяемые технологии водоподготовки в большинстве случаев недостаточно эффективны. Поэтому водопроводные сооружения не всегда обеспечивают надежную водоподготовку и подачу населению питьевой воды гарантированного качества.

В содержании методических указаний для проведения экомониторинга водоемов предлагается изучение воды природных поверхностных водоемов (рек, прудов, озер, ручьев, каналов и т. д.) биоиндикационными и физико-химическими методами.

## **1.1 Понятийный аппарат**

**Вода** – прозрачная жидкость, не имеющая цвета (в малом объеме) и запаха. Химическая формула:  $H_2O$ . В твердом состоянии называется льдом или снегом, а в газообразном — водяным паром.

**Биоиндикация** – оценка качества природной среды по состоянию её биоты. Биоиндикация основана на наблюдении за составом и численностью видов-индикаторов.

**Трофность воды** – характеристика местообитания (почвы, водоёма) по его биологической продуктивности, обусловленной содержанием биогенных элементов.

**Эвтрофикация** – (от греческого «eutrophia» - хорошее питание) процесс обогащения водных систем биогенными элементами; чрезмерное увеличение содержания биогенных элементов в водоемах, сопровождающееся повышением их продуктивности. Это может быть результатом естественного старения водоема, поступления удобрений или загрязнения сточными (в том числе с полей) водами. Для эвтрофных водоемов характерно наличие богатой растительности, обильного планктона. Эвтрофикация может приводить к бурному развитию водорослей ("цветению" вод), дефициту кислорода и гибели (замору) рыб и других животных.

**Биогенные элементы** – вещества, являющиеся продуктами метаболизма живых организмов, часто выступают в качестве загрязнителей.

**Экосистема** (от греч . oikos – жилище, местопребывание и система), единый природный комплекс, образованный живыми организмами и средой их обитания (атмосфера, почва, водоем и т. п.), в котором живые и косные компоненты связаны между собой обменом вещества и энергии.

**Сапробность** – комплекс физиолого-биохимических свойств организма, обуславливающий его способность обитать в воде с тем или иным содержанием органических веществ, т. е. с той или иной степенью загрязнения.

**Качество вод** - совокупность свойств и характеристик вод, обеспечивающая удовлетворение обусловленных или предполагаемых потребностей в ней в соответствии с ее назначением.

**Планктон** – совокупность живых обитателей водоема, не способных активно передвигаться или медленно передвигающихся, но не противостоящих токам воды.

**Фитопланктон** – совокупность растительных организмов водоема, не способных активно передвигаться, - важнейший компонент водных систем, активно участвует в формировании качества воды и является чутким показателем состояния водных экосистем и водоема в целом.

**Зообентос** – совокупность животных, обитающих на дне и в придонных слоях воды, служит хорошим индикатором загрязнения донных отложений и придонного слоя воды.

**Биотестирование** – использование в контролируемых условиях биологических объектов (тест-объектов) для выявления и оценки действия факторов (в том числе и токсических) окружающей среды на организм, его отдельную функцию или систему организмов.

**Консументы** – это самые разнообразные организмы (от микроорганизмов до синих китов): простейшие, насекомые, пресмыкающиеся, рыбы, птицы и, наконец, млекопитающие, включая человека.

**Детрит** – мертвые растительные и животные остатки, например опавшие листья, трупы животных, продукты систем выделения.

**Гидробионты** – морские и пресноводные организмы, постоянно обитающие в водной среде. К гидробионтам также относятся организмы, живущие в воде часть жизненного цикла, то есть земноводные. Существуют морские и пресноводные гидробионты, а также живущие в естественной или искусственной среде, имеющие промышленное значение и не ставшие таковыми.

**Гидробиология** – наука о жизни и биологических процессах в воде.

**Три состояния водных экосистем**, которые подвергаются постепенным превращениям:

**Олиготрофное** состояние характеризуется малым содержанием биогенных элементов.

**Эвтрофное** состояние характеризуется высоким содержанием биогенных элементов.

**Дистрофное** состояние характеризуется высоким содержанием биогенных элементов, но биогенные элементы находятся в труднодоступном состоянии.

**Биогенные элементы** - вещества, являющиеся продуктами метаболизма живых организмов, часто выступают в качестве загрязнителей.

**Группы абиотических факторов:**

- климатические;
- эдафические (почва);
- топографические (местность.)

**Гиполимнион** – глубинные воды экосистемы с низкими температурами.

**Эпилимнион** – хорошо перемешиваемые и прогреваемые слои воды.

**Конвекция** – процесс перемешивания слоев в системе.

**Диализ** – это восстановление растворимости белка и всех его свойств при уменьшении концентрации соли.

**Загрязнение водоемов** - ухудшение их экологического значения и биосферных функций в результате антропогенного поступления в них вредных веществ.

## 1.2 Характеристика водных экосистем как фактора окружающей среды

Экосистемой называют совокупность продуцентов, консументов и детритофагов, взаимодействующих друг с другом и с окружающей их средой посредством обмена веществом, энергией и информацией таким образом, что эта единая система сохраняет устойчивость в течение продолжительного времени.

Таким образом, для естественной экосистемы характерны три признака:

1) экосистема обязательно представляет собой совокупность живых и неживых компонентов;

2) в рамках экосистемы осуществляется полный цикл, начиная с создания органического вещества и заканчивая его разложением на неорганические составляющие;

3) экосистема сохраняет устойчивость в течение некоторого времени, что обеспечивается определенной структурой биотических и абиотических компонентов.

### *Водные биоресурсы и их рациональное использование.*

В результате роста и размножения гидробионтов в водоемах происходит непрерывное образование биомассы. Это экосистемное явление называют биологической продуктивностью, сам процесс образования биомассы - биологическим продуцированием, а новообразованную биомассу - биологической продукцией. Биологическая продукция - только часть биоорганической продукции - всего органического вещества, создаваемого организмами в процессе своей жизнедеятельности. Биопродуктивность экосистем реализуется в форме образования организмов, полезных, безразличных или вредных для человека. В связи с этим, исходя из текущих запросов практики, можно говорить о биохозяйственной продукции - биомассе организмов, имеющих в настоящее время промышленное значение. Вне зависимости от интересов практики различают продукцию первичную и вторичную. Первая - представляет собой результат биосинтеза органического вещества из неорганического в процессе жизнедеятельности гидробионтов-автотрофов. Вторичная продукция образуется в

процессе трансформации уже имеющегося органического вещества организмами-гетеротрофами.

Биопродуктивность гидросистем можно рассматривать в двух планах: природном (биосферном) и социально экономическом. В первом случае результаты продуцирования безотносительно к интересам человека, как одну из особенностей круговорота веществ в экосистеме, как одну из функций экосистем - блоков биосферы. С социально-экономической точки зрения биопродуктивность характеризуется величиной вылова гидробионтов, используемых человеком. В этом случае продуктивность определяется как свойствами самих эксплуатируемых экосистем, так и формой их хозяйственного освоения.

Организмы, используемые в качестве объектов промысла, образуют биологические ресурсы водоемов. В историческом процессе становления природы для человека все большее число гидробионтов вовлекается в сферу общественного производства и становится биоресурсами людей. Гидробионты, в воспроизводство которых вкладывается труд человека - это уже не биоресурсы, а возделываемое сырье. Из огромного числа гидробионтов только очень немногие представители флоры и фауны используются человеком в качестве биологического сырья. Этим в значительной мере объясняется тот факт, что водные растения и животные составляют 3 % в пище людей, хотя первичная продукция гидросферы только в 3 раза меньше первичной продукции суши. Поэтому перспективная оценка биологических ресурсов гидросферы должна исходить не только из учета возможного вылова объектов, добываемых в настоящее время.

В отличие от полезных ископаемых биологические ресурсы относятся к самовоспроизводящимся. Следовательно, их величина в гидросфере определяется не количеством имеющихся промысловых организмов, а их приростом, т.е. продукцией. Мерой реализации этой продукции служит промысел.

Объем устойчивого промысла водных организмов определяется величиной их естественного воспроизводства. Поэтому промысел не должен превысить естественных природных популяций и учитывать особенности их воспроизводства (сроки, места, орудия лова и т.д.). Охрана и повышение эффективности

естественного воспроизводства представляют собой важную меру укрепления сырьевой базы промысла, равно как и обогащение водоемов новыми промысловыми объектами за счет акклиматизации.

Промысел водных организмов не всегда легко отличить от "урожая" при искусственном разведении, т.к. существует множество переходных форм между этими двумя видами биосырья.

В настоящее время мировой промысел гидробионтов составляет около 20 % животных белков, потребляемых человеком. До начала 70-х годов он быстро возрастал, затем стабилизировался. Среди рыб значительную долю в промысле составляют сельдевые, тресковые, скумбриевые и ставридовые. В меньшем количестве добываются тунцовые, мерлузовые и комбаловые, еще меньше отлавливаются лососевые.

Среди нерыбных объектов, добываемых в водоемах в настоящее время, первое место по массе занимают моллюски. Из них в наибольшем количестве добываются двустворчатые моллюски, в значительном количестве - головоногие моллюски (больше половины из них - кальмары). Из ракообразных животных наибольшую роль в промысле играют крабы и креветки.

Мировой промысел гидрофитов основан преимущественно на добыче красных и бурых водорослей. В гораздо меньшем количестве добывают зеленые. Значительная часть водорослей используется для йода и других технических и медицинских продуктов.

В настоящее время уровень использования гидробионтов в отношении большинства традиционных объектов промысла достиг величин, близких к предельным. Во многих случаях наблюдается перелов гидробионтов; что означает, что воспроизводительная способность их популяций уже не может компенсировать убыль в результате промысла. В 1770 г. был убит последний экземпляр замечательного растительноядного млекопитающего - стеллеровой (морской) коровы. Почти исчез в наше время гренландский кит, взятый под охрану слишком поздно, под угрозой исчезновения находится синий кит. Среди рыб наблюдается перелов многих легко поддающихся добыче камбал, сельдей. В ряде районов в

чрезвычайно напряженном состоянии находятся запасы крабов. Поэтому с необычайной остротой встает вопрос об охране и повышении естественного воспроизводства биоресурсов.

Серьезный вред воспроизводству промысловых гидробионтов может наносить гидротехническое строительство, в частности сооружение плотин, перерезающих естественные миграционные пути рыб. Например, гидростроительство на Волге и Куре резко нарушило условия естественного размножения осетровых, в связи с чем пришлось принять меры по организации искусственного воспроизводства. Огромное количество молоди гибнет, попадая в оросительные системы и в турбины гидроэлектростанций. Для предупреждения захода молоди в каналы оросительной системы, в турбины электростанций создают различные заградители, в частности электрические.

Естественное воспроизводство промысловых организмов часто подрывает неправильная организация их вылова. В связи с этим необходимо научное обоснование регулирования промысла: оно должно сводиться не только к установлению необходимого объема вылова, но и к установлению сроков и мест промысла, регламентирование способов и орудий лова.

Проблема охраны и повышения эффективности естественного воспроизводства биоресурсов осложняется тем, что приходится их решать в условиях комплексного использования водоемов, учитывая интересы самых разных отраслей народного хозяйства связанных с использованием водоемов.

Большое значение для усиления естественного воспроизводства промысловых организмов имеет борьба с их пищевыми конкурентами, врагами и паразитами. Огромное количество рыб погибает от вирусных и бактериальных заболеваний. Основной элемент в комплексе мер борьбы с паразитами прудовых рыб - профилактика заболеваний, в частности контроль за перевозками рыб. Помимо комплекса профилактических мероприятий, проводятся и лечебные.

Термином "акклиматизация" обозначают целенаправленную деятельность человека по обогащению флоры и фауны новыми компонентами. В биологическом смысле под акклиматизацией понимают приспособление организмов к



существованию за пределами собственного ареала после переселения в новые места обитания. Акклиматизация характеризуется не только выживанием и размножением переселенных особей, но и нормальным развитием последующих поколений, т.е. натурализацией вида.

Из промысловых организмов акклиматизируются рыбы, ракообразные, моллюски и водные млекопитающие.

Акклиматизация организмов является одной из первых составляющих частей аквакультуры (в узком смысле слова "аквакультура" понимается как промышленное выращивание гидробионтов по определенной технологической схеме с контролем над всеми основными звеньями процесса). Дальнейшее развитие аквакультуры сводится к преобразованию экосистем, их конструированию в интересах оптимизации производства биосырья в водоемах.

#### *Загрязнение водоемов*

До недавнего времени загрязнение воды было относительно локальной проблемой промышленно развитых стран. В настоящее время наиболее распространенным явлением стала эвтрофикация, т. е. обогащение внутренних водоемов азотом и фосфором. Источниками этих элементов служат смываемые с сельскохозяйственных земель удобрения, канализационные и промышленные стоки, особенно предприятий, в технологическом процессе которых присутствуют, в том числе белковые фрагменты. Это явление сейчас принимает глобальные масштабы и затрагивает не только пресноводные, но и морские экосистемы.

При загрязнении водоемов наблюдается нарушение отдельных физиологических функций, изменение поведения, снижение темпа роста, увеличение смертности, изменение наследственности особей. Загрязнения также могут изменить некоторые показатели популяции: изменение численности гидробионтов и биомассы, рождаемости и смертности, половой и размерной структуры и ряда функциональных свойств. К этому следует добавить хаотичность внутривидовых отношений, играющих огромную роль в коммуникации особей.

На биоцентрическом уровне загрязнение сказывается на структуре и функциях сообщества, поскольку одни и те же загрязняющие вещества по-разному влияют на разные компоненты биоценоза. В конечном счете, происходит деградация экосистемы - ухудшение ее как элемента среды человека и снижение положительной роли в формировании биосферы, обесценивание в хозяйственном отношении.

Каждое из токсических веществ обладает определенным механизмом действия и обуславливает специфический механизм реагирования. Гидробионты, их популяции и гидробиоценозы обнаруживают различную чувствительность и устойчивость к токсинам.

Из загрязняющих веществ наибольшее значение для водных экосистем имеют нефть и продукты ее переработки, пестициды, соединения тяжелых металлов, пептиды и т.п. Чрезвычайно опасным стало загрязнение водоемов различными продуктами радиоактивного распада - радионуклидами или радиоизотопами. Все большее беспокойство вызывает загрязнение и засоление пресных водоемов вследствие выпадения "кислотных дождей", когда в атмосферной влаге растворяются газы и некоторые другие вещества, выбрасываемые в воздух промышленными предприятиями. Значительную роль в загрязнении водоемов играют бытовые стоки, лесосплав, отходы деревообрабатывающих и фармацевтических предприятий и многие другие виды загрязнения, не относящиеся к токсичным, но ухудшающие среду гидробионтов.

Водоемы, загрязненные органическими стоками, содержащими пептиды и их фрагменты, как и организмы, способные жить в них, называют сапробными (от греческого слова «сапрос» — гнилой), а процесс снижения способности к саморегуляции в связи с увеличивающимся загрязнением — эвтрификацией. По степени загрязненности вод органическими веществами водоемы классифицируют на полисапробные, мезосапробные (подразделяемые на альфа-мезосапробные и бета-мезосапробные) и олигосапробные. В полисапробной зоне водоема (эвтрофное состояние) органических веществ много, кислорода нет. Здесь происходит расщепление белков и углеводов. В мезосапробной зоне нет неразложившихся

белков, есть сероводород, диоксид углерода и кислород. Происходит минерализация органических веществ. Есть различия между альфа- и бета-мезосапробной зонами. Вода в альфа-мезосапробной зоне умеренно загрязнена органическими веществами, есть аммиак и аминокислоты (белковой природы), кислорода мало. В бета-мезосапробной зоне органических загрязнителей мало; кроме аммиака, есть продукты его окисления — азотная и азотистая кислоты, много кислорода. В олигосапробной зоне (при олиготрофном состоянии) практически нет растворенных органических веществ, кислорода много, вода чистая.

Небольшое количество загрязнений не может вызвать значительное ухудшение состояния водоема, так как он имеет способность биологического очищения, но проблема состоит в том, что, как правило, количество загрязняющих веществ, сбрасываемых в воду, очень велико и водоем не может справиться с их обезвреживанием.

Водоснабжение и водопользование часто осложняется биологическими помехами: зарастание каналов снижает их пропускную способность, цветение водорослей ухудшает качество воды, ее санитарное состояние, обрастание создает помехи в навигации и функционировании гидротехнических сооружений. Поэтому разработка мер с биологическими помехами приобретает большое практическое значение и становится одной из важнейших проблем гидробиологии и экологии.

Уже сейчас во многих районах земного шара наблюдаются большие трудности в обеспечении водоснабжения и водопользования вследствие качественного и количественного истощения водных ресурсов, что связано с загрязнением и нерациональным использованием воды.

Поскольку загрязнение воды происходит преимущественно вследствие сброса в нее промышленных, бытовых и сельскохозяйственных отходов, то в некоторых водоемах загрязнение настолько велико, что происходит их полная деградация как источников водоснабжения.

## **2 Биоиндикационные методы исследования водных экосистем**

### **2.1 Практическая работа 1 - «Биоиндикация качества воды по донным беспозвоночным»**

#### **2.1.1 Отбор и обработка проб для анализа**

Количество участков реки, выбираемых для обследования, определяется целями работы. При исследовании качества воды на всем протяжении водотока места отбора проб выбирают через равные интервалы от истока до устья. Если исследуется влияние конкретного источника загрязнения, качество воды может определяться на небольшом числе участков ниже и выше по течению от него.

При выборе участков отбора проб следует учитывать ряд условий. На них не должно быть мелководий с густой водной растительностью, а также затонов с застойной водой. И в том, и в другом случае донное население может значительно отличаться от такового на участках реки с нормальной скоростью течения воды. Очень важно, чтобы в пробах на каждом из обследованных участков были представлены донные организмы различных биотопов: илистых, песчаных и каменистых грунтов; скоплений растительности, а также ее остатков; погруженных в воду стволов, веток и иных предметов и т. п. Чем разнообразнее участок по числу местообитаний, тем число проб должно быть больше. Но и на участках с однообразным дном число проб не должно быть менее трех. Пробы грунта с обитающими в нем донными организмами отбирают с помощью специальных ловушек: закидной драги и сачкового скребка. Закидная драга представляет собой треугольную пирамиду, основанием которой служит треугольник из стальных полос, а ребрами — стальные прутья, жестко скрепленные друг с другом (в вершине пирамиды), а также с углами основания. Длина стороны основания — 25 см, высота пирамиды от 50 до 75 см. Боковые стороны пирамиды обшиваются прочным сетчатым материалом (например, мельничным газом). Драга применяется для облова удаленных от берега участков дна. Для этого ее закидывают с берега или с лодки и волокут по дну с помощью веревки или тросика.

Скребок представляет собой сачок, имеющий в нижней части дугообразного обода заточенную металлическую пластинку длиной 25 см. Сачок, как и драгу, обшивают прочной сетчатой тканью. Во время отбора проб движение сачка и драги следует направлять против течения, чтобы отловленные организмы не вымывались из них водой. После каждого наполнения ловушек донным материалом пробы промывают непосредственно в этих же ловушках и помещают в эмалированные емкости с крышками. Отбор организмов из промытого грунта обычно ведут на месте отбора проб. При этом небольшую порцию грунта переносят в кювету с водой и с помощью пинцета перекладывают животных в баночки с 4 %-ным раствором формалина. На баночки наклеиваются этикетки, на которых указываются название реки, а также дата и место отбора пробы. Допускается разбор проб и в лаборатории. Промытые пробы могут храниться в холодильнике в течение 1 — 2 суток.

#### 2.1.2 Оценка качества воды малых рек и озер по биотическому индексу

О чистоте воды природного водоема можно судить по видовому разнообразию и обилию животного населения. Чистые водоемы заселяют личинки веснянок, поденок, вислокрылок и ручейников. Они не выносят загрязнения и быстро исчезают из водоема, как только в него попадают сточные воды. Умеренно загрязненные водоемы заселяют водяные ослики, бокоплавцы, личинки мошек (мокрецов), двустворчатые моллюски-шаровки, битинии, лужанки, личинки стрекоз и пиявки (большая ложноконская, малая ложноконская, клепсина).

Чрезмерно загрязненные водоемы заселяют малощетинковые кольцецы (трубочники), личинки комара-звонца (мотыли) и ильной мухи (крыска).

Показателем качества воды может служить биотический индекс, который определяется по количеству ключевых и сопутствующих видов беспозвоночных животных, обитающих в исследуемом водоеме. Самый высокий биотический индекс определяется числом 10, он отражает качество воды экологически чистых водоемов, вода которых содержит оптимальное количество биогенных элементов и кислорода,

в ней отсутствуют вредные газы и химические соединения, способные ограничить обитание беспозвоночных животных.

Для определения биотического индекса необходимо взять пробу воды из водоема с помощью водного сачка. Проба включает небольшое количество воды с илом и беспозвоночных животных, обнаруженных в сачке. Взятая проба может быть разобрана сразу на берегу водоема, если позволяет погода, или перенесена в лабораторию (классную комнату) и рассмотрена там. Перед разбором проба промывается на сите, все обнаруженные беспозвоночные переносятся в чистую воду, налитую в чашки Петри или эмалированные ванночки. Содержимое чашек Петри тщательно разбирается и определяется по видам и группам видов беспозвоночных животных. В исследуемой пробе определяют ключевые виды и группы сопутствующих видов. Под группой сопутствующих видов в одних случаях понимают род или семейство, или класс беспозвоночных, в других — каждый вид. Например, под группой подразумевают весь класс малощетинковых кольцецов (кроме рода трубочников), семейство ручейников, семейство хирономид, каждый вид плоских червей, пиявок, моллюсков, ракообразных, стрекоз, мух, жуков, водных клещей.

Отчет должен содержать следующую таблицу (таблица 2.1).

Таблица 2.1 - Определение биотического индекса пресноводных экосистем по донным беспозвоночным

Ключевые организмы		Общее количество групп				
		0-1	2-5	6-10	11-15	16
		Биотический индекс				
1	2	3	4	5	6	7
Личинки веснянок имеются	Более одного вида	-	7	8	9	0
	Только один вид	-	6	7	8	9
Личинки поденок имеются	Более одного вида	-	6	7	8	9
	Только один вид*	-	5	6	7	8
Личинки ручейников имеются	Более одного вида	-	5	6	7	8
	Только один вид**	4	4	5	6	7

Продолжение таблицы 2.1

1	2	3	4	5	6	7
Бокоплавы имеются	Все прочие виды отсутствуют	3	4	5	6	7
Водяные ослики имеются	Все прочие виды отсутствуют	2	3	4	5	6
Черви-трубочники и/или красные личинки хирономид имеются	Все прочие виды отсутствуют	1	2	3	4	-
Все другие ключевые группы отсутствуют	Некоторые организмы, не требующие растворенного кислорода, могут присутствовать (личинки мух)	0	1	2	-	-

\* — исключая личинок поденок вида *Baetis rhodani*

\*\* — личинки поденок вида *B.rhodani* включаются в группу личинок ручейников, что связано с их экологическими особенностями.

## 2.2 Практическая работа 2 - «Определение степени загрязнения водоема по индексу Гуднайта и Уитлея»

Показателем качества воды в озерах и прудах является ее трофность, понимаемая как количество органических веществ, накопленных в процессе фотосинтеза в условиях наличия биогенных элементов (азот, фосфор, калий). Органическое вещество обеспечивает существование животного населения и его видовое разнообразие, численность популяций зависит от количества пищи. После смерти животных возникают проблемы с разложением их трупов и изменением газового состава воды. Процесс повышения трофности водоема называется эвтрофикацией. К наиболее заметным проявлениям эвтрофикации относятся летнее «цветение» водоемов, зимние заморы, быстрое обмеление и зарастание водоемов. Эвтрофикацию можно выявить в процессе исследования с применением биоиндикаторов.

Роль биоиндикаторов в этом случае могут играть личинки комаров-дергунов или хирономусов и малощетинковые кольцецы, обитающие в донных илах, богатых органикой. Личинки хирономусов, называемые в народе «мотылем», и кольцецы живут в иле, питаются органическими остатками и приспособлены к недостатку кислорода благодаря содержанию в крови гемоглобина. Если в составе донного ила присутствуют названные организмы — это верный признак эвтрофикации. Для выяснения этого факта необходимо с помощью водного сачка или черпака добыть ил со дна водоема, затем тщательно отмыть на сите или металлической сетке с мелкими ячейками обитающие организмы. По количеству кольцецов и хирономид определяют степень эвтрофикации. Принято выделять три степени эвтрофикации:

- 1) слабая;
- 2) средняя;
- 3) сильная.

При сильной эвтрофикации в иле встречаются многочисленные трубочники, они часто покрывают дно сплошным слоем, в летнее время вода становится зеленой от массового размножения водорослей, а в зимнее время наблюдаются заморы рыб и водоемы нуждаются в аэрации. Воды таких водоемов мало пригодны для бытового использования.

При средней эвтрофикации наблюдается увеличение численности «мотыля», трубочники единичны.

При слабой эвтрофикации эти признаки отсутствуют.

Для оздоровления водоемов с сильной эвтрофикацией можно рекомендовать скашивание и уборку водных растений, удаление со дна ила, называемого сапропелем. Сапропель в свежем виде можно вносить в почву в качестве ценного органического удобрения.

Показателем эвтрофикации может служить также индекс Гуднайта Уитлея. Для определения индекса собирают бентосные организмы с определенной площади дна. С помощью скребка или лопаты снимают донный грунт, тщательно промывают его на сите. Организмы, оставшиеся на сите, помещают в емкость с водой. В лаборатории собранных животных разбирают на две группы: одна группа —



малощетинковые кольцецы, вторая — прочие виды. После подсчета организмов в группах находят Индекс Гуднайта и Уитлея по формуле 2.1:

$$a = \frac{M}{B} 100 \quad (2.1)$$

где а — индекс;

М — численность малощетинковых червей;

В — численность всех видов организмов.

После нахождения индекса определяют степень загрязнения водоема по таблице 2.2

Отчет должен содержать следующую таблицу (таблица 2.2)

Таблица 2.2 - Определение степени загрязнения водоема

Состояние водоема	Индекс Гуднайта и Уитлея (%)		
	80	60-80	60
Сильное загрязнение			
Сомнительное загрязнение	X	X	X
Хорошее состояние			

### **3 Физико-химические методы исследования водных экосистем**

#### **3.1 Практическая работа 3 - «Оценка состояния водной экосистемы по содержанию биогенных элементов»**

##### 3.1.1 Общие положения

Человек живет на Земле не один, но, несмотря на многообразие живых существ нашей планеты, их химическая природа очень сходна.

Изучение химии живых организмов (т.е. биохимии) тесно связано с общим бурным развитием биологии в наше время. Современная биохимия занимается исследованием химических реакций, которые протекают в живых клетках, т.е. теми реакциями, благодаря которым клетки растут и делятся, питаются и выделяют шлаки, движутся и общаются друг с другом. Эти реакции, каждую из которых катализирует свой специфический (особенный) фермент, составляют сложную сеть метаболизма или обмена веществ. Обмен веществ включает как синтез (ассимиляция, пластический обмен) так и распад (диссимиляция, энергетический обмен) с поглощением и выделением энергии.

В земной коре встречаются около 100 химических элементов, но для жизни необходимо всего 16 (см. приложение Б). Эти необходимые элементы разделяются на три группы:

I группа: основные: С, Н, О, N.

II группа: макроэлементы (ионы):  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{S}^{--}$ ,  $\text{P}^-$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{++}$ .

III группа: микроэлементы: Mn,  $\text{Co}^-$ , Cu, Zn, B, Al, Si, V, Mo, J (наиболее важный).

*Топография важнейших биогенных элементов в организме человека.*

Органы человека по-разному концентрируют в себе различные химические элементы, т. е. микро- и макроэлементы неравномерно распределяются между разными органами и тканями. Большинство микроэлементов накапливаются в печени, костной и мышечной тканях. Эти ткани являются основным депо (запасником) для многих микроэлементов.

Элементы могут проявлять специфическое сродство по отношению к некоторым органам и содержатся в них в высоких концентрациях. Хорошо известно, что цинк концентрируется в поджелудочной железе, йод – в щитовидной, фтор – в эмали зубов, алюминий, мышьяк, ванадий накапливаются в волосах и ногтях, кадмий, ртуть, молибден – в почках, олово – в тканях кишечника, стронций – в предстательной железе, костной ткани, барий – в пигментной сетчатке глаза, бром, марганец, хром – в гипофизе и т. д. Данные по распределению (топографии) некоторых макро- и микроэлементов в организме человека приведены на схеме.

В организмах микроэлементы могут находиться как в связанном состоянии, так и в виде свободных ионных форм. Установлено, что кремний, алюминий, медь и титан в тканях головного мозга находятся в виде комплексов с белками, тогда как марганец – в ионном виде.

Водород и кислород – макроэлементы. Они входят в состав воды, которой в организме взрослого человека в среднем содержится около 65 %. Вода неравномерно распределена по органам, тканям и биологическим жидкостям человека. Так, в желудочном соке, слюне, плазме крови, лимфе вода составляет от 99,5 % до 90 %. В моче, сером веществе головного мозга, печени, коже, спинном мозге, мышцах, легких, сердце от 70 % до 80 %. Меньше всего – 40 % воды содержится в скелете.

Макроэлементы – углерод, водород, кислород, азот, сера, фосфор – входят в состав белков, нуклеиновых кислот и других биологически активных соединений организма. Содержание углерода в белках составляет от 51 % до 55 %, кислорода – от 22 % до 24 %, азота – от 15 % до 18 %, водорода – от 6,5 % до 7 %, серы – от 0,3 % до 2,5 %, фосфора – около 0,5 %. О содержании белков в различных тканях и органах животных и человека, а, следовательно, и о примерном содержании элементов С, Н, N, S, Р можно судить на основании данных, приведенных в таблице 3.1.

Таблица 3.1 - Содержание белков в тканях различных органов животных и человека (w, % от сухой массы).

Органы и ткани	Массовая доля w, %	Органы и ткани	Массовая доля w, %
Селезенка	84	Головной мозг	45
Легкие	82	Кишечник	63
Мышцы	80	Кожа	63
Почки	72	Кости	28
Сердце	60	зубы	24
Печень	57		

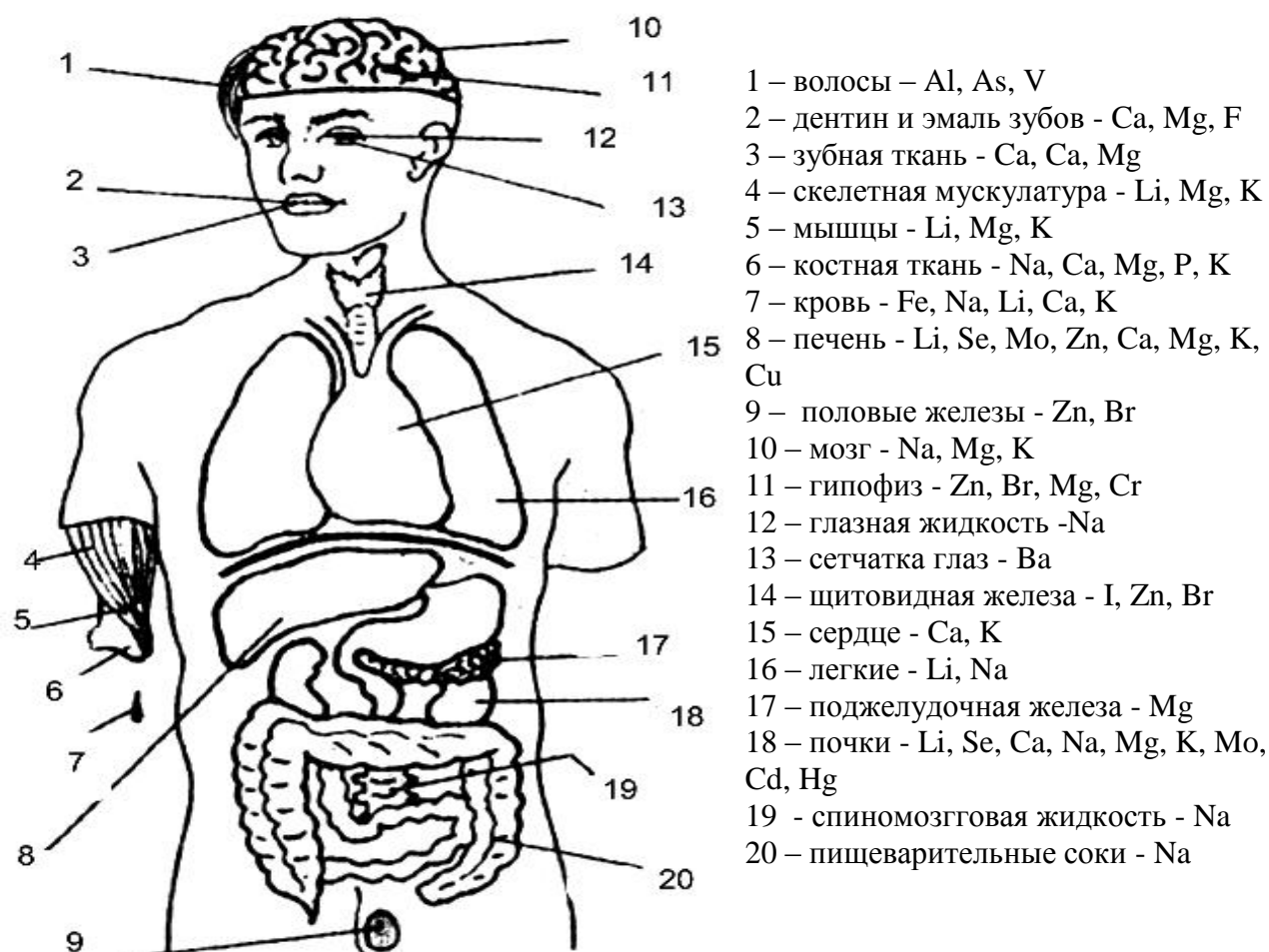


Рисунок 3.1 - Концентрирование нескольких химических элементов в органах, тканях и биожидкостях человека (Ю.А. Ершов, В.А. Попков, А.С. Берлянд, 2007г.).

Углерод, водород и кислород входят также в состав углеводов, содержание которых в тканях животных и человека невелико – примерно 2 %. Эти элементы входят в состав липидов (жиров). Кроме того, в состав фосфолипидов входит

фосфор в виде фосфатных групп. В наибольшей степени липиды концентрируются в головном мозге (12 %), а затем в печени (5 %), молоке (2 – 3 %) и сыворотке крови (0,6 %). Однако основная часть фосфора – 600 г – содержится в костной ткани. Это составляет 85 % от массы всего фосфора, находящегося в организме человека. Концентрируется фосфор и в твердых тканях зубов, в состав которых он входит вместе с кальцием, хлором, фтором в виде гидроксил-, хлор-, фторапатитов общей формулы  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{X}$ , где  $\text{X} = \text{OH}, \text{Cl}, \text{F}$  соответственно.

Кальций преимущественно концентрируется в костной ткани, а также и в зубной ткани. Натрий и хлор в основном содержатся во внеклеточных жидкостях, а калий и магний – во внутриклеточных. В виде фторидов натрия и калия входят в состав костной и зубной ткани. Магний в виде фосфата  $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$  содержится в твердых тканях зуба.

Десять металлов, жизненно необходимых для живого организма, получили название «металлы жизни». Так, установлено, что в организме человека массой 70 кг содержание «металлов жизни» составляет (в граммах): кальция – 1700, калия – 250, натрия – 70, магния – 42, железа – 5, цинка – 3, меди – 0,2, марганца, молибдена и кобальта, вместе взятых, – менее 0,1. В теле взрослого человека содержится около 3 кг минеральных солей, причем 5/6 этого количества (2,5 кг) приходится на долю костных тканей.

Некоторые макроэлементы (магний, кальций) и большинство микроэлементов содержатся в организме в виде комплексов с биолигандами – аминокислотами, белками, нуклеиновыми кислотами, гормонами, витаминами и т. д. Так, ион  $\text{Fe}^{2+}$  в качестве комплексообразователя входит в состав гемоглобина,  $\text{Co}^{2+}$  – в витамин B12,  $\text{Mg}^{2+}$  – в хлорофилл. Известны многочисленные биоконплексы и других элементов (Cu, Zn, Mo и др.), играющие важную биологическую роль в организме.

На изменение содержания химических элементов в организме влияют различные заболевания. Так, при рахите происходит нарушение фосфорно-кальциевого обмена, что приводит к снижению содержания кальция. При нефрите из-за нарушения электролитного обмена уменьшается содержание кальция, натрия, хлора и повышается содержание магния, калия в организме.

В поддержании определенного содержания макро- и микроэлементов в организме участвуют гормоны.

Встречаются также и другие элементы, но они не имеют такого жизненно важного значения. Элементы образуют соединения. Эти соединения, находясь в определенном постоянном процентном содержании в клетках, поступают ли они из окружающей среды (после ферментативного расщепления в пищевой системе) или синтезируются внутри клетки. В итоге такого перемещения устанавливается стационарное состояние стремления к гомеостазу. На этом основана система самообновления тканей.

Соединения клетки можно разделить на две основные группы: это неорганические и органические.

Органические соединения подразделены, соответственно, на две группы, 90 % от сухой массы клетки составляют макромолекулы, представляющие собой биополимеры (гигантские молекулы, построенные из многих, повторяющихся единиц-звеньев, так называемых мономеров). Они разделяются на три группы:

- 1) полисахариды;
- 2) белки;
- 3) нуклеиновые кислоты.

К другим органическим соединениям меньших размеров относятся липиды и липоиды, в основном нерастворимые в воде органические вещества, которые можно извлечь из клетки при помощи органических растворителей. В основном, это сложные эфиры, воски, фосфолипиды, стероиды, терпены.

В состав клетки входят и другие, не менее важные химические соединения, принимающие участие в метаболизме. Все сказанное выше, является доказательством сходства химии состава живых организмов. Но как бы не впечатляло их сходство, различия между ними не менее поразительны. Все это химическое разнообразие организмов обусловлено существованием различных генов, т.е. участков молекулы ДНК, несущих закодированную информацию в хромосомах клетки.

Генетические различия ведут к разнообразию структур белков, синтезируемых в клетке. Это соответственно ведет к возникновению различных ферментативных химических реакций метаболизма клетки и, в конечном счете, различных признаков.

Ко II группе органических макромолекул или биополимеров (БМ) клетки относятся белки. Они составляют 50 % от сухой ее массы. БМ – это важные компоненты пищи, способные превращаться и в жиры и в углеводы. Большое их разнообразие позволяет выполнять в живом организме множество различных функций, как структурных, так и метаболических. БМ – это сложные органические соединения, состоящие из С, Н, О, N и иногда S. Они содержат и другие элементы (P, Fe, Zn, Cu), т.к. способны образовывать комплексы с молекулами, содержащими эти элементы.

Молекулярная масса биополимеров (БМ) колеблется от нескольких тысяч до нескольких десятков миллионов у.е.

По своей структуре БМ представляют биополимеры, мономерами которых являются аминокислоты. В клетках и тканях встречается 170 аминокислот. В составе белков обнаружено 26, но компонентами белков можно считать лишь 20.

Аминокислоты имеют различное строение, что связано с наличием различных функциональных групп:

- 1) COOH (карбосильная);
- 2) NH<sub>2</sub> (аминогруппа);
- 3) OH (гидроксильная);
- 4) S (сульфидная).

Т.к. аминокислоты по своим свойствам легко растворимые соединения, то в растворах они присутствуют в виде биполярных ионов. Этим объясняются буферные свойства аминокислот (т.е. способность препятствовать изменению pH в клетке, что в свою очередь объясняет механизм гомеостаза). Аминокислоты способны образовывать 4 типа связи:

- 1) водородные;
- 2) дисульфидные;
- 3) ионные;

4) пептидные (это связь, которая возникает в результате реакции поликонденсации с образованием ковалентной азотуглеродной связи).

Соединения, образующиеся в результате этой реакции, называются дипептидом. Реакция может идти и дальше до образования 3-, 4-,..., полипептидной цепи.

Для каждой БМ характерна сугубо специфичная полипептидная последовательность и геометрическая форма молекулы.

Геометрическая форма, т.е. конформация белковой молекулы, имеет обычно четыре уровня:

1. Под первичной структурой понимают число и последовательность аминокислот соединенных пептидными связями в полипептидную цепь.

Кембриджский университет (Ф. Сенгер, английский ученый) – первичная структура БМ. Работа продлилась с 1944 – 1954 гг. Основные работы посвящены химии белка и нуклеиновых кислот. С 1945 Сенгер изучал структуру инсулин. Антуан Франсуа Фуркруа (французский химик XIX века) – основоположник изучения белков. Данилевский А.Я. - русский ученый в 80-х гг. XIX века предложил теорию строения белковой молекулы, по которой БМ представляют собой длинные цепи остатков аминокислот, соединенных пептидными связями. Он первым получил полипептиды, состав которых доходила до 20 аминокислот.

2. Вторичная структура - это закручивание полипептидной цепи в пружинообразную ( $\alpha$  – спираль) или в складчатообразную ( $\beta$  – спираль) структуру, стабилизированную водородными связями. Во вторичной структуре встречаются также участки с нерегулярной геометрией, что объясняется наличием дисульфидных мостиков или аминокислот, которые препятствуют или не способны образовывать водородные связи.

3. Третичная структура – это такая пространственная конформация БМ, представляющая собой полипептидную спираль, свернутую еще раз в более плотную (чаще глобулярную) структуру за счет ионных, эфирных, солевых, дисульфидных и гидрофобных взаимодействий. Наиболее важными взаимодействиями являются последние (т.к. гидрофобные цепи прячутся вовнутрь



упаковки, а гидрофильные остаются снаружи; таким образом, БМ может приобретать заряд). Такая упаковка называется субъединицей или протомером.

4. Четвертичная структура - это упаковка более сложных белков, состоящих из нескольких протомеров, соединенных электростатическими, гидрофобными, ионными или водородными связями в мультимер.

Например: гемоглобин состоит из 4 протомеров, соединенных ионом железа ( $Fe^{4+}$ ).

Белковые молекулы обладают следующими свойствами:

1) *буферность* – свойств, связанное с рН средой и изоэлектрической точкой (в этой точке суммарный заряд молекулы равен нулю; при рН выше значение изоэлектрической точки БМ заряжается положительно; при рН ниже значения изоэлектрической точки БМ заряжается отрицательно). Это влияет на растворимость БМ;

2) *качественные реакции на БМ*: а) гидролиз; б) цветные реакции (биуретовая, ксантопротеиновая, Адамкевича, Фоля, Лоури);

3) *денатурация БМ* (нарушение первоначального строения), бывает обратимая и необратимая.

Факторы, вызывающие необратимую денатурацию:

а) высокие и низкие температуры;

б) лучи с широкой и узкой длиной волны (такие воздействия сопровождаются вибрацией БМ, что вызывает ее свертывание или коагуляцию);

в) концентрированные растворы кислот и щелочей;

г) тяжелые металлы и их соли (вызывают осаждение БМ, т.к. снижается растворимость);

д) органические растворители нарушают гидрофобные взаимодействия.

Существует обратимая денатурация или отжиг, который проходит в присутствии ионов растворимых солей (кроме солей тяжелых металлов), их концентрация влияет на восстановление растворимости БМ, т.е. *диализ*.

4) *сложное строение БМ*, вызывающее чрезвычайное разнообразие их функций. Это разнообразие и сложность строения крайне затрудняет создание единой четкой классификации форм БМ.

Тем не менее, можно выделить классификационные группы по трем основным принципам:

1) *по составу и физико-химическим свойствам*. БМ бывают: простые или протеины (гидролизуются только до аминокислот); сложные или протеиды (гидролизуются не только на аминокислоты, а и на небелковую часть). Это нуклеопротеиды, хромопротеиды, металлопротеиды, гемоглобин;

2) *по структуре и форме БМ* разделяются на:

а) фибриллярные;

б) глобулярные;

в) промежуточные.

3) *по выполняемым функциям БМ* бывают:

а) структурные (коллаген и эластин);

б) ферменты (пепсин, трипсин);

в) гормоны (инсулин и глюкагон);

г) транспортные (гемоглобин, миоглобин);

д) защитные (антитела, тромбин, фибриноген);

е) сократительные (меозин, актин); запасные (козеин, альбумин);

з) токсины (змеиный яд).

Таким образом, белки являются главными структурными и метаболическими компонентами живых систем, а с точки зрения водной экосистемы, так называемыми биогенными элементами.

На изменение содержания химических элементов в организме влияют различные заболевания. Так, при рахите происходит нарушение фосфорно-кальциевого обмена, что приводит к снижению содержания кальция. При нефрите из-за нарушения электролитного обмена уменьшается содержание кальция, натрия, хлора и повышается содержание магния, калия в организме.

В поддержании определенного содержания макро- и микроэлементов в организме участвуют гормоны.

Гидросфера вместе с ее населением играет большую роль в жизни человека, которая с прогрессом цивилизации непрерывно возрастает. Водоемы все интенсивнее используют для питьевого и технического водоснабжения как рыбохозяйственные угодья и зоны рекреации, для целей энергетики и навигации и во многих других отношениях. Поэтому по мере освоения гидросферы все большее значение приобретает ее биологическое изучение в интересах оптимизации природопользования и охраны среды. Этими вопросами занимается гидробиология и экология.

Из-за нарушения экологического равновесия в водоемах создается серьезная угроза значительного ухудшения экологической обстановки в целом. Поэтому перед человечеством стоит огромная задача охраны гидросферы и сохранения биологического равновесия в биосфере. Основным этапом решения этой задачи является мониторинг состояния водных экосистем и поиск причин его ухудшения.

### 3.1.2 Ход работы

*Цель:* овладение навыками проведения качественных и количественных реакций на белковые молекулы или их фрагменты как маркеры состояния водоема

*Реактивы и оборудование:*

- а) образцы: 1 %-ый раствор белка, 1 %-ый раствор желатина;
- б) кислоты: концентрированная азотная кислота, концентрированная уксусная кислота, концентрированная серная кислота;
- в) концентрированный раствор аммиака;
- г) щелочи: 10 %-ый раствор гидроксида натрия, 30 %-ый раствор гидроксида натрия;
- д) соли: 1 %-ный раствор сульфата меди, 5 %-ый раствор ацетата свинца;
- е) оборудование: пробирки, горелка, пипетки, штатив, химический стакан с водой, ФЭК.

Выполнить все качественные реакции на простые и сложные белки.

**Опыт № 1** Обнаружение в молекулах белка пептидных связей (биуретовая реакция).

К 1 - 2 мл 1 %-го раствора белка прибавляют двойной объем 10 % раствора гидроксида натрия, хорошо перемешивают и добавляют 2 - 3 капли 1 % раствора сульфата меди. Снова тщательно перемешивают.

Биуретовую реакцию проводят с 1 %-ым раствором желатина.

**Опыт №2** Ксантопротеиновая реакция.

К 1 мл 1 %-го раствора белка добавляют 5 - 6 капель концентрированной азотной кислоты до появления осадка или мути от свернувшегося белка. При осторожном нагревании раствор и осадок окрашиваются в ярко-желтый цвет. Смесь охлаждают и к полученному раствору, имеющему кислую реакцию, осторожно, не взбалтывая, добавляют по каплям избыток концентрированного раствора аммиака до щелочной реакции среды. Выпадающий вначале осадок кислотного альбумината растворяется и жидкость окрашивается в ярко-оранжевый цвет. Прodelать реакцию с 1 %-ым раствором желатина.

**Опыт №3** Реакция Адамкевича.

В пробирку наливают 1 мл 1 %-го раствора белка и прибавляют 1 мл ледяной (концентрированной) уксусной кислоты, которая всегда содержит немного глиоксильной кислоты. Смесь слегка нагревают до растворения образующегося осадка. Охлаждают пробирку со смесью, а затем, сильно наклонив ее, осторожно, по стенке приливают 1 мл концентрированной серной кислоты, так, чтобы обе жидкости не смешивались. При отстаивании (через 5 - 10 мин) на границе раздела двух жидкостей образуется красно-фиолетовое кольцо.

**Опыт №4** Реакция Фоля.

К 1 мл 1 %-го раствора белка приливают 1 мл 30 %-го раствора гидроксида натрия и 3 - 4 капли 5 %-го раствора ацетата свинца. При интенсивном кипячении жидкость окрашивается в бурый или черный цвет. Реакцию Фоля прodelывают с 1 %-ым раствором желатина, в составе которого нет серосодержащих аминокислот.

**Опыт №5** Реакция Лоури.

К 1 - 2 мл 1 %-го раствора белка прибавляют двойной объем 10 % раствора гидроксида натрия, хорошо перемешивают и добавляют 2 - 3 капли 1 % раствора сульфата меди. Снова тщательно перемешивают.

Данную реакцию проводят так же и с 1 %-ым раствором желатина.

В обе пробирки добавить реактив Фолина (смесь фосфорно-молебденовая и фосфорно-вольфрамовая смесь). Дать смеси отстояться, Аккуратно слить верхнюю часть смеси и проводить исследование на ФЭК. Количество белка в каждом образце определяют при помощи калибровочной кривой.

### 3.1.3 Отчет о выполненной работе

Отчет о выполненной работе должен содержать таблицу (таблица 3.2) и выводы о проделанной работе.

Таблица 3.2 – Отчет по результатам проведенных исследований

Название реакции (качественная или количественная)	Маркерная группа	Реактивы	Результаты реакций	
			С простым белком (желатин)	Со сложным белком (куриный альбумин)
Биуретовая				
Ксантопротеиновая				
Адамкевича				
Фоля				
Лоури				

### 3.2 Контрольные вопросы

1. С чем связана биологическая продуктивность водных экосистем?
2. Основные свойства воды.
3. Какова структурная организация белковой молекулы?
4. Основные связи, образующие белковую молекулу.
5. Охарактеризуйте конформацию белковой молекулы.

6. Где располагаются гидрофобные радикалы аминокислотных остатков полипептидной цепи?
7. Чем представлена вторичная структура природных белков?
8. При каком расположении аминокислотных остатков водородные связи более прочные?
9. В результате чего происходит денатурация белка?
10. Почему БМ являются маркерами загрязнения водоемов?
11. Чем отличаются три состояния пресных водоемов, связанных со степенью их загрязнения?
12. Основные источники антропогенного загрязнения пресных водоемов, содержащих в сточных водах большое количество БМ или их фрагментов?
13. Методы улучшения саморегулирующих свойств водоемов.

#### **4 Литература рекомендуемая для изучения темы**

1. Методика интегральной оценки загрязненности водных объектов / С. М. Мусаелян, Р. В. Худадян // Вода и экология: проблемы и решения, 2004. - N 1. - С. 46-50. - Библиогр.: с. 50
2. Оценка воздействия микроорганизмов на качество поверхностных вод/ Т. Ф.Тарасова, А. И. Байтелова, А. А. Ермолаева // Вестник Оренбургского государственного университета. - 2011. - № 12, декабрь. - С. 361-362. - Библиогр.: с. 362.
3. Биоиндикация поверхностных водоемов / Экологич. центр Мин. обороны РФ; Ю.С.Бадтиев, В.А.Барков, Г.П.Усов // ЭКиП: Экология и промышленность России,2003. - N7. - С.24-26.
4. Биологический контроль окружающей среды : биоиндексация и биотестирование: учеб, пособие для вузов / под ред. О. П. Мелеховой, Е. И. Сарапульцевой .- 2-е изд., испр. - М. : Академия, 2008. - 288 с.
5. Качество поверхностных вод: проблемы и решения / Э. Л. Зубарева, Н. А. Белоконова // ЭКиП: Экология и промышленность России,2007. - N 6. - С. 28-29. - Ил.- Библиогр.: с. 29
6. Структурирование функции качества гидробионтов / Л. П. Бессонова, Л. В. Антипова, О. И. Преснякова // Хранение и переработка сельхозсырья, 2008. - N 2. - С. 55-59. - Библиогр.: с. 59
7. О состоянии питьевого водоснабжения в Российской Федерации / Г. Г. Онищенко // Здравоохранение Российской Федерации,2005. - N 3. - С. 3-7.
8. Вода. Проблемы / Е. Г. Ризо // Вода и экология: проблемы и решения,2005. - N 1. - С. 13-19. - Библиогр.: с. 19
9. Гигиеническая оценка факторов и условий, определяющих качество питьевой воды / Л. М. Тулина [и др.] // Вестник Оренбургского государственного университета. - 2005. - N 5 (Прил.). - С. 112-116. - Библиогр.: с. 116

10. Качество питьевых природных вод: критерии, методы оценки / С. А. Брусиловский // Экологические системы и приборы, 2007. - N 7. - С. 29-35. - Библиогр.: с. 35



## Приложение А

(обязательное)

Таблица А.1 - «Сравнительная характеристика трех состояний водных экосистем»

Параметры экосистемы	Сравнительная характеристика трех состояний водных экосистем		
	Олиготрофные	Эвтрофные	Дистрофные
1. Глубина	Глубокие озёра	Мелкие озёра	Отмели, лужи
2. Содержание O <sub>2</sub> в гипolimнионе	O <sub>2</sub> содержится	O <sub>2</sub> не содержится	O <sub>2</sub> не содержится
3. Фитопланктон	Высокое видовое разнообразие, низкая продуктивность, доминируют зеленые одноклеточные водоросли (вольвокс, хломидомонада)	Всё наоборот	Отсутствует
4. «Цветение» фитопланктона	Наблюдается очень редко, только под воздействием жестких факторов	Наблюдается часто	Обильное
5. Приток биогенных элементов	Не значительный	Значительный, в доступном для редуцентов состоянии	Массовый, в недоступном для редуцентов состоянии
6. Животная продукция	Низкая	Высокая	Очень высокое содержание органических соединений белковой природы
7. Рыбы	Преобладают ценные породы в основном проходных рыб	Доминируют «сорные» рыбы (окунь, карась, плотва, карп)	Отсутствуют хордовые и другие многоклеточные животные

## Приложение Б

(справочное)

Таблица Б.1 - Содержание химических элементов (масс. доля, %) в земной коре, почвах, морской воде, растениях, животных (по А.П. Виноградову).

Элемент	Земная кора	почвы	Морская вода	растения	животные
1	2	3	4	5	6
O	49.4	49.0	85.82	70,0	62,4
Si	27.6	33.0	$5 \cdot 10^{-5}$	0,15	$1 \cdot 10^{-5}$
Al	7,45	7,12	$1 \cdot 10^{-6}$	0,02	$1 \cdot 10^{-5}$
Fe	5,0	3,8	$5 \cdot 10^{-6}$	0,02	0,01
C	0,15	2,0	0,002	18,0	21,0
Ca	3,5	1,37	0,04	0,3	1,9
K	2,5	1,36	0,038	0,3	0,27
Na	2,6	0,63	1,6	0,02	0,1
Mg	2,0	0,6	0,14	0,07	0,03
Ti	0,6	0,46	$1 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-5}$
N	0,02	0,1	$1 \cdot 10^{-5}$	0,3	3,1
H	1,0	-	10,72	10,0	9,7
P	0,08	0,08	$5 \cdot 10^{-6}$	0,07	0,95
S	0,05	0,05	0,09	0,05	0,16
Mn	0,09	0,085	$4 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-5}$
Zr	0,04	0,62	-	$5 \cdot 10^{-4}$	-
Sr	0,04	0,03	$1 \cdot 10^{-3}$	$10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$
Ba	0,04	0,04	$5 \cdot 10^{-6}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
Ce	0,02	0,02	$1 \cdot 10^{-7}$	-	$1 \cdot 10^{-6}$
Cr	0,02	0,019	-	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-5}$
F	0,027	0,02	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$
V	0,03	0,01	$5 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-5}$
Cl	0,048	0,01	1,89	$10^{-2}$	0,08
Rb	0,03	$5 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$10^{-5}$
Zn	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$
Ni	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-6}$
Cu	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Co	$4 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-5}$
Li	$6,5 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$10^{-4}$
Rb	$1,5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-7}$	$10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-6}$
B	$3 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-5}$
I	$3 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$10^{-5} - 10^{-4}$
Mo	$1,5 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$10^{-6} - 10^{-5}$
As	$5 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$10^{-6} - 10^{-5}$

Продолжение таблицы Б.1

1	2	3	4	5	6
Br	$1,5 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-3}$	-	$1 \cdot 10^{-4}$
Cd	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-6}$	-	$1 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Th	$1 \cdot 10^{-3}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-8}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-7}$
W	-	$1 \cdot 10^{-4}$	-	-	-
U	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-7}$	-	$1 \cdot 10^{-8}$
Se	$6 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-7}$	-
Bi	$1,7 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-8}$	-	$2 \cdot 10^{-6}$
Hg	$7 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-9}$	$10^{-7}$	$10^{-6} - 10^{-7}$
Ag	$1 \cdot 10^{-5}$	-	$10^{-9}$	-	$3 \cdot 10^{-5} - 5 \cdot 10^{-6}$
Au	$5 \cdot 10^{-7}$	-	$4 \cdot 10^{-10}$	-	$1 \cdot 10^{-7}$
Ra	$2 \cdot 10^{-10}$	$8 \cdot 10^{-11}$	$1 \cdot 10^{-14}$	$10^{-14}$	$1 \cdot 10^{-12}$