ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ
Биология және биотехнология факультеті

Дәріс №9
Биомониторинг – қоршаған ортаны алдын ала бақылау тәсілі

Дәріскер: Какимова Ардак Болатовна

«Мониторинг» түсінігі объекттер, құбылыстар және процестер қатысында әртүрлі іс-әркеттерден тұрады: бақылау мен бағалау, қадағалау және болжау, адам үшін кері салдарды алдын алу бойынша ұсыныстар жасау, бұлардың әр қайсысы белгілі бір әдістерді қолдануды қажет етеді.

Жалпы мониторингтің бастапқы сатысы болып «биоэкологиялық» немесе «санитарлық-гигиеналық» мониторинг табылады, оның басты міндеті болып қоршаған ортаның адам денсаулығы мен халыққа әсер ету жағынан оны бақылау, себебі бұл көрсеткіш қоршаған ортаның сапасын көрсетеді.

Экологиялық мониторинг бойынша табиғи ортаны қадағалаудың кез келген жүйесі келесі операциялардан тұрады: экожүйенің тек биоталық емес, сондай-ақ абиоталық құрастырушыларын біріншілік бақылаудан алынған деректерді жинау және сақтау, алынған деректерді талдау, экожүйенің жұмыс істеуі перспективасы мен практикалық пайдалану туралы шешімдер қабылдау.

Табиғи сулардың сапасын бағалауға арналған биологиялық әдістерді екі негізгі топқа бөледі:

-Биотестілеу

-Биоиндикация тәсілдері.

«Судың сапасы» деген ұғым судың гидрохимиялық және гидробиологиялық сипаттамаларының жиынтығы болып саналады.

Биоиндикациялық зерттеулер түрлік және биоценотикалық деген екі деңгейге бөлінеді. Түрлік деңгейге организмнің болу мүмкіншілігі, оның кездесу жиілігінің есебі, анатомиялық-морфологиялық және физиологиялық-биохимиялық қасиеттерін зерттеу кіреді.

Биоценотикалық мониторинг кезінде түрлердің әртүрлілігінің көрсеткіштері, сол қауымдастықтың өнімділігі есепке алынады.

Биоиндикацияның бірнеше түрлері бар. Егер бірдей реакция әр түрлі факторлардан болса, онда ол *арнайы емес биоиндикация* деп аталады. Егер сондай және басқа да болып жатқан өзгерістер, бір ғана фактормен байланысты болса, ол *арнайы биоиндикация* делінеді.

Биоиндикациялық әдістер екі түрге бөлінеді: тіркеуші биоиндикация және аккумуляция бойынша биоиндикация.

Индикатор-сапробты микробалдырларды су экожүйелерін бағалауға пайдалану

Биоиндикатор грек тілінен аударғанда «*bios*»-тірі, «*indico*»-көрсеткіш, анықтағыш деген мағынаны білдіреді. Биоиндикатор дегеніміз - организмдердің бір жерде тұрақты мекендеуі, олардың сандары, құрылымы және дамуы, табиғи процестер мен тіршілік ортасы жағдайларының көрсеткіші. Қоршаған ортаның жағдайлары мен кейбір процестердің маңызын бағалау мақсатында биоиндикаторларды қолдану организмдердің белгілі бір факторларға біржақты бейімделушілік қасиетіне негізделген.

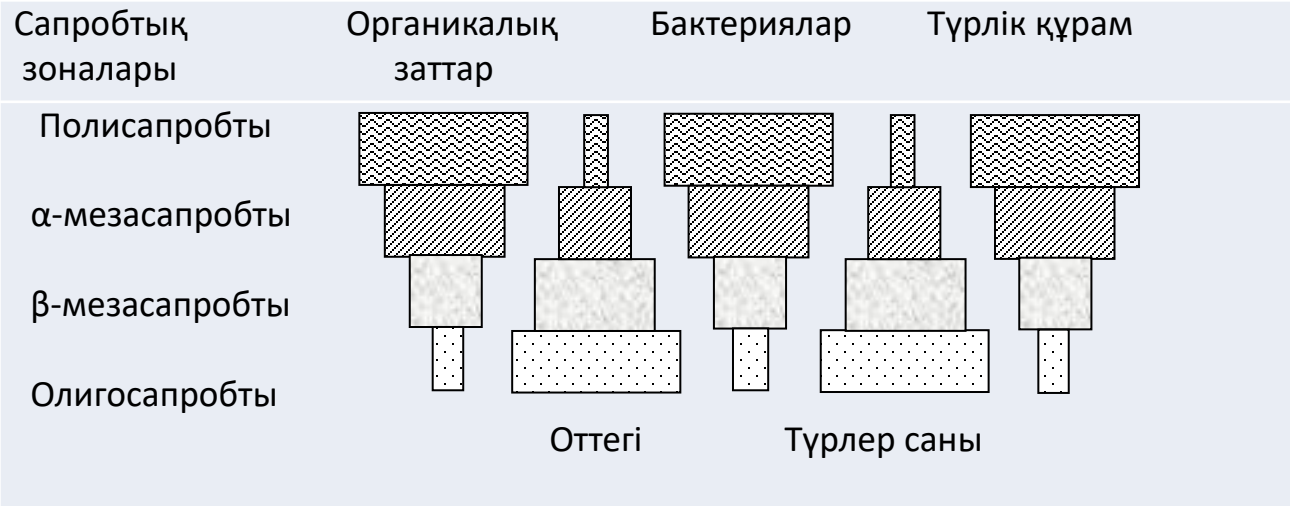
Сапробтылыққа нақты түсінікті Ресейдегі санитарлы-гидробиологияның негізін салушылар профессор Я.Я.Никитинский мен Г.И.Долгов берді. **Сапробтылық дегеніміз** - берілген организмнің әр түрлі органикалық заттардың құрамында, әр түрлі ластану деңгейіне байланысты олардың суда даму қабілетінің физиологиялық қасиетінің кешені.

«Тірі индикаторлар шамасының» сезімталдығын жоғарылату үшін чех зерттеушісі В.Сладечек индикатор-организмдердің айырмашылықтарын жасады. Ол сапробты организмдер жүйесін төрт топқа бөлді: катаробты (ауыз сулары), лимносапробты (Кольквиц пен Марссон жүйесіне сәйкес), эусапробты (бактериялық бұзылуларға ұшырайтын тұрмыстық және өндірістік қалдық сулар) және транссапробты (ластанулары бактериялық ластануларға әкелмейтін қалдық сулар).

Бұдан өзге, бірге индикаторлы организмдердің сезімталдығын, ластанудың әсерін организмдердің тіршілігін жоймастан алдын-ала физиологиялық өзгерістерін бақылай отырып жоғарылатуға болады.
Сонымен көптеген зерттеулер нәтижесінде қазіргі кезде судың тазалығының деңгейін бағалауда органикалық заттар мөлшерінің көлеміне қарай суқоймалар мынадай зоналарға бөлінеді: ксеносапробты (мүлдем ластанбаған өте таза, 1 класты су), олигосапробты (таза, 2 класс) бета–мезосапробты (әлсіз немесе орташа ластанған, 3 класс), альфа – мезосапробты (ластанған, 4 класс) және полисапробты (өте ластанған, 5 класты су).

Сапробтық зоналары	Суқойма жағдайы	Су сапасының класы
Ксеносапробты	Өте таза	1
Олигосапробты	Таза	2
β-мезосапробты	Орташа ластанған	3
α-мезосапробты	Ластанған	4
Полисапробты	Өте ластанған	5

Ластанудың зоналарының өздеріне тән организмдері мен қасиеттері болады:



Сапробтылық зоналар сызбасы
(Г.И.Долгов және Я.Я.Никитинский бойынша)

Сапробтылыққа қысқаша сипаттама беретін болсақ:

Полисапробты аймақ:

-Өсімдіктер мен жануарлардың қалдықтарына бай, анаэробтық шіру процесі өте күшті жүреді.

-Белокты заттар, пектин заттары көп.

-Фотосинтез жоқтың қасы.

-Оттегі суға тек атмосфералық аэрация есебінен түседі де, толығымен тотығу процесіне жұмсалады.

-Оттегі мөлшері аз.

-Суда күкіртті сутек пен метан болады да, судағы тіршілік иелері осы газдарға аса төзімді келеді.

-Су түбінде оттегі жоқ, детрит көп, тотықсыздану процесі жүреді, темір FeS түрінде болады, су түбіндегі балшық қара түсті және H_2S иісті болады.

-Сапрофитті микрофлора өте көп.

-Гетеротрофты организмдер жақсы дамыған:

*жіп тәрізді бактериялар *(Sphaerotilus),*

*күкірт бактериялары *(Beggiatoa, Thiothris),*

*бактериальды зооглея *(Zoogloea ramigera),*

*қарапайымдар-инфузориялар *(Paramecium putrinum, Vorticella putrina),* түссіз талшықтылар,

*олигохеттер *Tubifex tubifex,*

*балдырлар *Polytoma uvella.*

Альфа-мезосапробты аймақ:

-Органикалық заттардың аэробты ыдырауы басталады, аммиак, көмірқышқылы түзіледі;

-Оттегі аз, күкіртсутек пен метан жоқ.

-$ОБП_5$ бір литрде ондаған милиграмм болады.

-Сапрофитті бактериялар саны 1 мл-де ондаған және жүздеген мыңдап табылады.

-Темір тотыққан түрінде болады.

-Тотығу-тотықсыздану процесі жүреді.

-Балшықтың түсі сұры түсті.

-Оттегінің аздығы мен көмірқышқылының жоғары мөлшеріне төзімді организмдер кездеседі.

-Гетеротрофты және миксотрофты қоректенетін организмдер басым болады.

-Жеке орнаизмдерден дамиды:

*бактериальды зооглеялар,

*жіп тәрізді бактериялар,

*саңырауқұлақтар,

*балдырлардан - осциллаториялар, стигеоклониум, хламидомонас, эвглена.

-Инфузориялар *(Carchesium)* және көп мөлшерде боялған немесе түссіз талшықтылар тіршілік етеді.

-Саз, батпақта олигохеттер мекендейді.

Бета-мезосапробты аймақ:

-Тұрақсыз органикалық заттар жоқ, минералдану толық жүреді.

-Сапрофиттер -1 мл-де жүз мыңдап кездеседі, олардың саны өсімдіктердің өліп –шіріген кезінде дереу өседі.

-Оттегі мен көмір қышқылының мөлшері тәуліктік уақытқа байланысты өзгеріп тұрады: күндіз оттегі мөлшері көп те, көмір қышқылы аз, ал түнде керісінше

Балшық түсі сары, тотығу процесі жүреді, детрит көп.

-Автотрофты қоректенетін организмдер көп, фитопланктонның күшті дамуына байланысты судың гүлденуі байқалады.

Кездеседі:

*Диатомды балдырлар Melosira vaians, Diatoma, Navicula;

*Жасыл балдырлар Cosmarium, Botrytis, Spirogira crassa, Cladophora;

*Протококкалы балдырлар көп.

*Құрттар, былқылдақденелілер, хирономидтер, шаянтәрізділер және балықтар саны көбейеді.

Олигосапробты аймақ:

-Органикалық заттарға кедей, тірі организмдері өте аз, таза су.

-Гүлдену болмайды, аммиактың азот қышқылына, күкіртсутектің күкірт қышқылына тотығуы аяқталады.

-Темір (II) оксидінің темір (III) гидрооксидіне айналу процесі жүреді. Тотықтыру процесін жүргізетіндер-темір бактериялары.

Судың 1 мл-де оннан мыңға дейін бактериялар болады.

-Су түбінде детрит, автотрофты организмдер, бентосты жануарлар аз.

-Балдырлардан *Melosira itallica, Draparnaldia glomerata және Draparnaldia plumose* кездеседі.

Ксеносапробты немесе каторобты аймақ-судың өте тазалығымен сипатталады. Бұл аймақта сапрофитті микрофлора мен су саңырауқұлақтары кездеспейді, өте жиі қарапайымдылар мен балдырлар кездеседі. Бұл аймақтың сулары өте тұнық және гидробионттардың әсерінен «гүлдену» құбылысы байқалмайды.

Тест-организмдерді таңдауда бірнеше шарттар орындалуы тиіс. Олардың көлемі өте ірі емес, жеңіл дақылданатын, тіршілік циклі қысқа және улы заттарға сезімталдығы орташа деңгейде болуы қажет. Практикада тест-организмдер ретінде қарапайымдылар, жалпаққұрттар, былпылдақ денелілер, көптеген шаянтәрізділер мен микробалдырлар қолданылады.



Су экожүйелерін бағалауда фототрофты организмдердің рөлі

Су экожүйелерін зерттеуде ерекше орынды микробалдырлар алады. Себебі бұл организмдердің кейбір топтары эволюция процесінде белгілі бір экологиялық факторларға бейімделеді, суқоймаларда микробалдырлардың белгілі бір систематикалық топтары өкілдерінің болуы немесе болмауы бойынша суқоймалардың ластану дәрежесі, олардағы поллютанттардың улылығы туралы айтуға болады, және сәйкесінше суқоймалардың ремедиациясы үшін қажетті жолдар мен құралдарды жасау. Ағын сулардың тазалану дәрежесі мен жағдайын индикациялаудың биологиялық әдісі осы принципке негізделген, бұл әдіс микробалдырлардың түрлік құрамы және сандық дамуы бойынша зерттелетін суқойма суының химиялық құрамын айтуға мүмкіндік береді. Су экожүйелерінің ластану деңгейлеріне тест жүргізу микробалдырлардың альгологиялық таза дақылдарынан протококкалы балдырлар - *Chlorella, Scenedesmus Chlamydomonas* туыстарының өкілдері, көкжасыл балдырлардан - *Microcystis, Phanizomenon, Anabaena,* эвгленалы балдырлардан - *Euglena gracilis* қолдануға болады.

Соңғы жылдары су экожүйелерін зерттеу үшін фототрофты микрорганизмдерді пайдаланумен байланысты 2 бағыт анықталды:

1. Биоиндикация
2. Биотестілеу

Биоиндикация суқойманың ластанғанын немесе ластануын онда тіршілік ететін организмдердің функционалдық сипаттамасы мен организмдер қауымдастының экологиялық сипаттамасы бойынша анықтауды қарастырады, себебі ұзақ уақыт улану нәтижесінде су экожүйелерінде фототрофты микроорганизмдердің түрлік құрамы өзгереді.

Гидробионттарды қоладана биотестілеу ластанып жатқан табиғи сулар улылығын бағалау, ағын сулар токсикалығын бақылау, экстракттар, жуындылар мен орталар токсикалығын санитарлы-гигиеналық мақсатта жылдамдатылған бағалау, лабораторлық мақсаттарда химиялық анализ жүргізу үшін қолдануға болады. Қойылған міндеттерге тәуелді бүтіндей биотестілеу жүйесіне және әдістерге талаптар әртүрлі болуы мүмкін.

Индикация мен экожүйені бақылаудың биологиялық әдістері соңғы жылдары әртүрлі бағыттардың ғалымдарын қызықтыруда – биологтарды, экологтарды, химиктерді және т.б. Биотестілеу ретінде әртүрлі организмдер қолданылады – бактериялар, балдырлар, жоғарғы сатыдағы өсімдіктер, дафниялар, былпылдақ денелер, балықтар және басқалар.

Қазіргі уақытта биотестілеу үшін модельді объект ретінде *хлорелла және сценедесмус микробалдырлары* қолданылады.

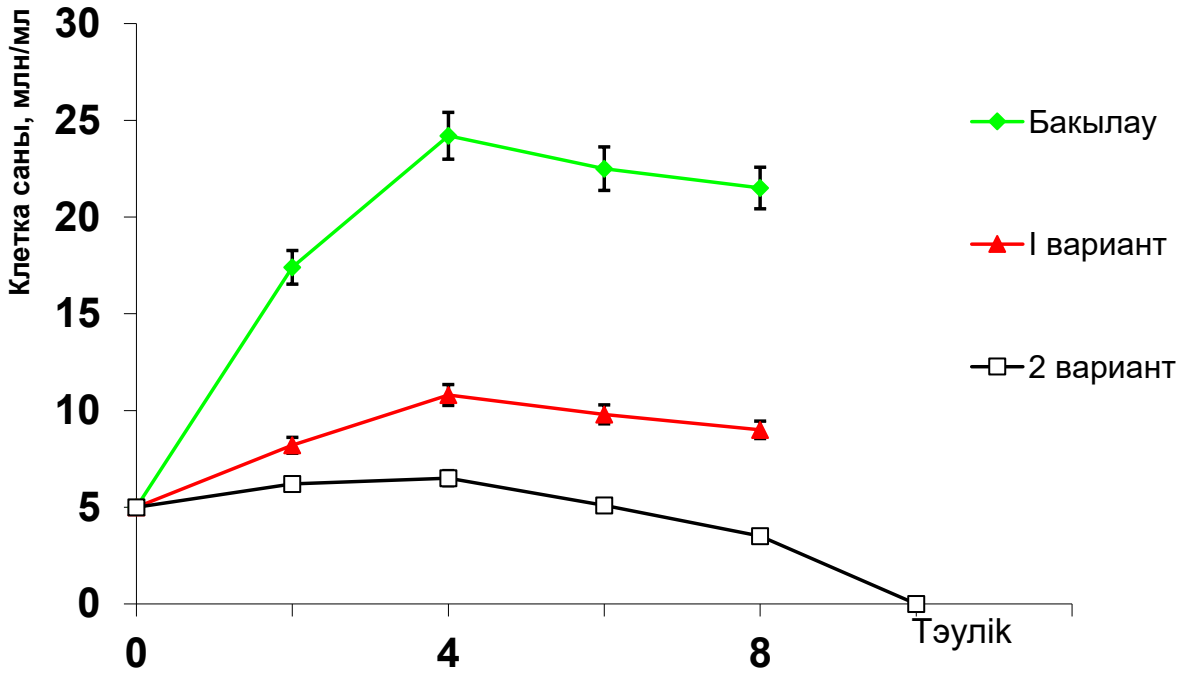
Бір сөзбен айтқанда, фототрофты микроорганизмдерді қолданудың негізгі артықшылығының бірі олардың көбеюінің жоғары жылдамдығы, бұл лабораториялық жағдайларда көптеген ұрпақ бойы клеткалық популяцияны бақылауға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, микробалдырлардың фотосинтетикалық аппараты әртүрлі ластаушы заттарға сезімтал болып келеді және олардың әсеріне бірінші болып жауап қайтарады. Фототрофты микроорганизмдер клеткаларының пигменттік аппаратының фотосинтетикалық активтілігінің өзгеруі фототрофты микроорганизмдердің жалпы физиологиялық күйінің көрсеткіші бола алады, бұдан шығатыны олардың тіршілік ету ортасының жағдайын да сипаттай алады.

Мутагенді заттардың хламидомонада жасыл балдырының табиғи және мутантты штамдарына әсерінің салдарын зерттеу біздің білімімізді тек экожүйені ластайтын факторлардың биологиялық әсері жағынан ғана емес, сонымен қатар қоршаған орта объектілерінің генетикалық мониторингі үшін тест-жүйе алу мүмкіндігі жағынан да қызықтырады. Мұндай жолға теориялық алғы шарт – зиянды заттарға тұрақтылық белгісін генетикалық бақылау мәселесін зерттеу қоршаған орта жағдайы туралы ақпаратты алуда үлкен көмек береді. Бұл дегеніміз, микробалдыр *Chlamydomonas reinhardtii* негізіндегі модельді тест-жүйе биоценоз жағдайын бағалауға қолайлы болып табылады.

Су жинағыш Сорбұлақ жасанды көлінің суларына хлорелла көмегімен био-тест жүргізген нәтижелер

Бақылаумен салыстырғанда I нұсқада *Chlorella-sp-1* табиғи түрінің клеткалар саны алғашқы 5x10^6-нан 2- тәулікте 8,2x10^6 дейін аздап өскенімен, келесі тәуліктерде өсуі байқалмады.

Ағынды судың II нұсқасында клеткалардың өсуі тіпті байқалған жоқ. Ал бақылаудағы *Chlorella-sp-1* табиғи түрінің клеткалар саны 4 тәулікте 24,2 x10^6 өскені анықталды. Бұл *Chlorella-sp*-1 табиғи түрінің клеткаларының өсу динамикасын 24-суретте көрсетілді.



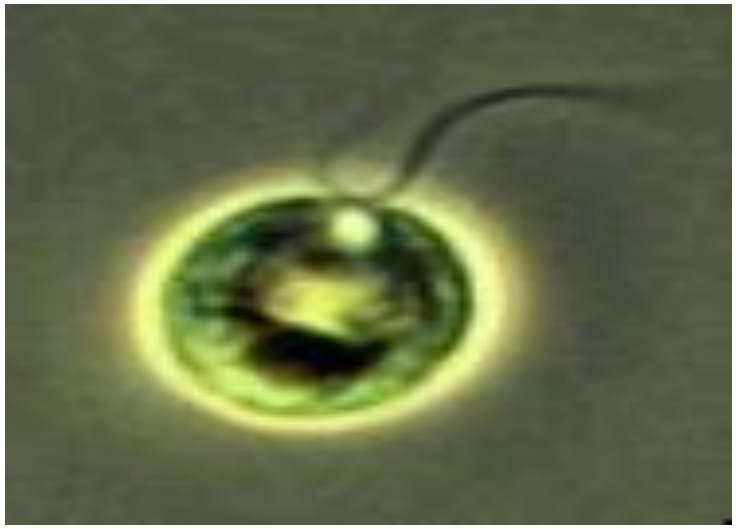
Судың ластану индексі (СЛИ) өлшемі бойынша су беткейінің сапалық көрсеткіші

Сапалық класы	Судың сапалық сипаттамасы	СЛИ өлшемі
1	өте таза	= 0,3
2	Таза	0,3-1,0
3	Орташа ластанған	1,0-2,5
4	Ластанған	2,5-4
5	Лас	4-6
6	өте лас	6-10
7	Төтенше ластанған	>10

Жұмыста қолданылған *Chlamydomonas reinhardtii* штаммдарының сипаттамасы

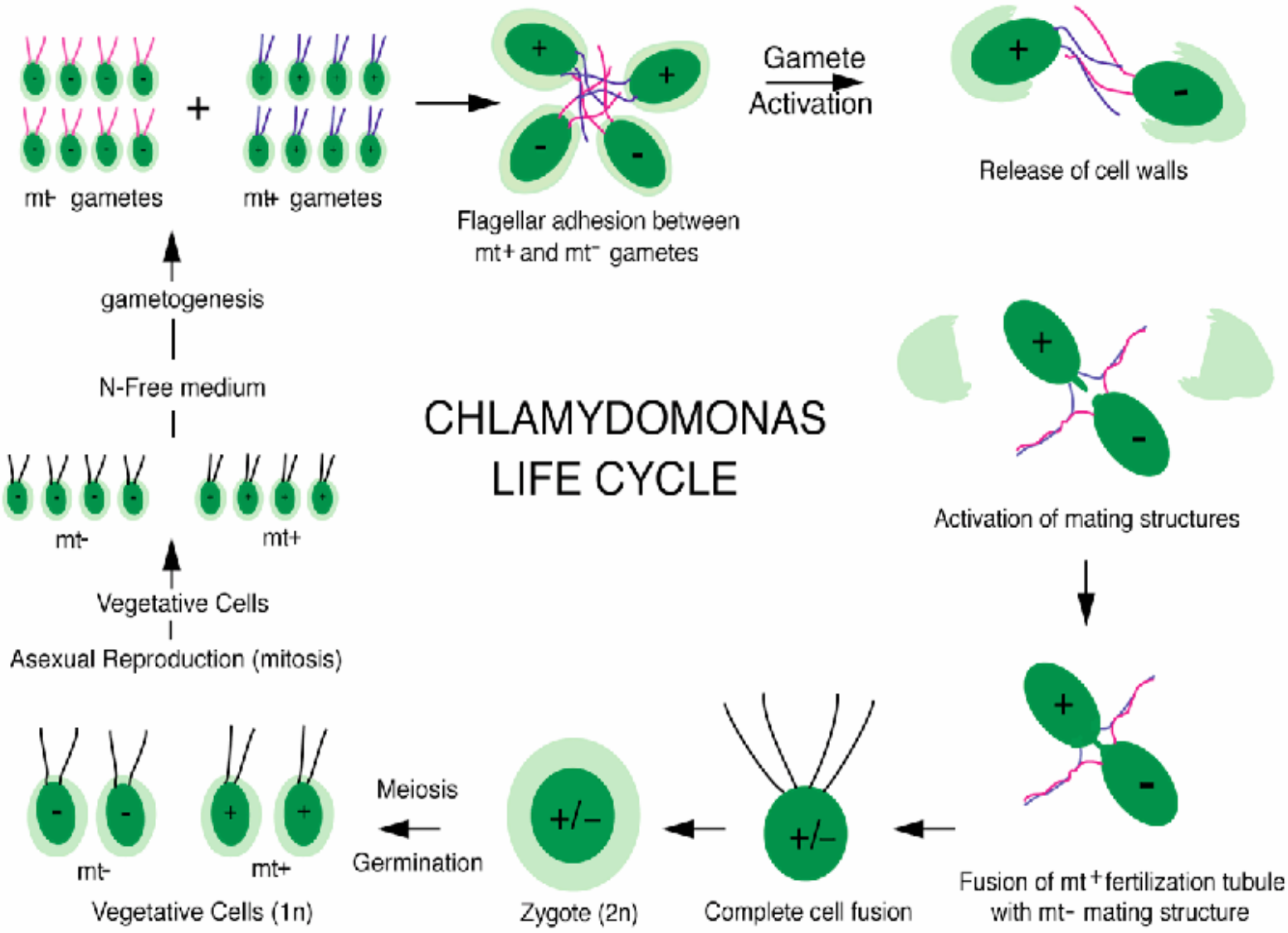
Штамм шифры	Генотип	Фенотип	Шығу тегі
CC-124	wt mt-	жасыл прототроф	Хламидомонада генетикасы орталығы (АҚШ)
CC-137	wt mt^+	жасыл прототроф	Хламидомонада генетикасы орталығы (АҚШ)
CC-79	ery-3(1) mt^+	эритромицинге төзімді	Хламидомонада генетикасы орталығы (АҚШ)
Nfr-4	nfr mt-	норфлуразонға төзімді	Санкт-Петербург мемлекеттік университетінің генетика кафедрасы
GB-277	cw-15-2 mt^+	жасуша қабырғасы жоқ	Хламидомонада генетикасы орталығы (АҚШ)
16411B	cbn mt^+	ашық жасыл прототроф	Санкт-Петербург мемлекеттік университетінің генетика кафедрасы
CC-124 Res-1	mt-	кадмийге төзімді	Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-дың микробиология кафедрасы
CC-124 Res-2	mt-	кадмийге төзімді	Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-дың микробиология кафедрасы
CC-124 Res-3	mt-	кадмийге төзімді	Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-дың микробиология кафедрасы
CC-124 Res-4	mt-	кадмийге төзімді	Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-дың микробиология кафедрасы

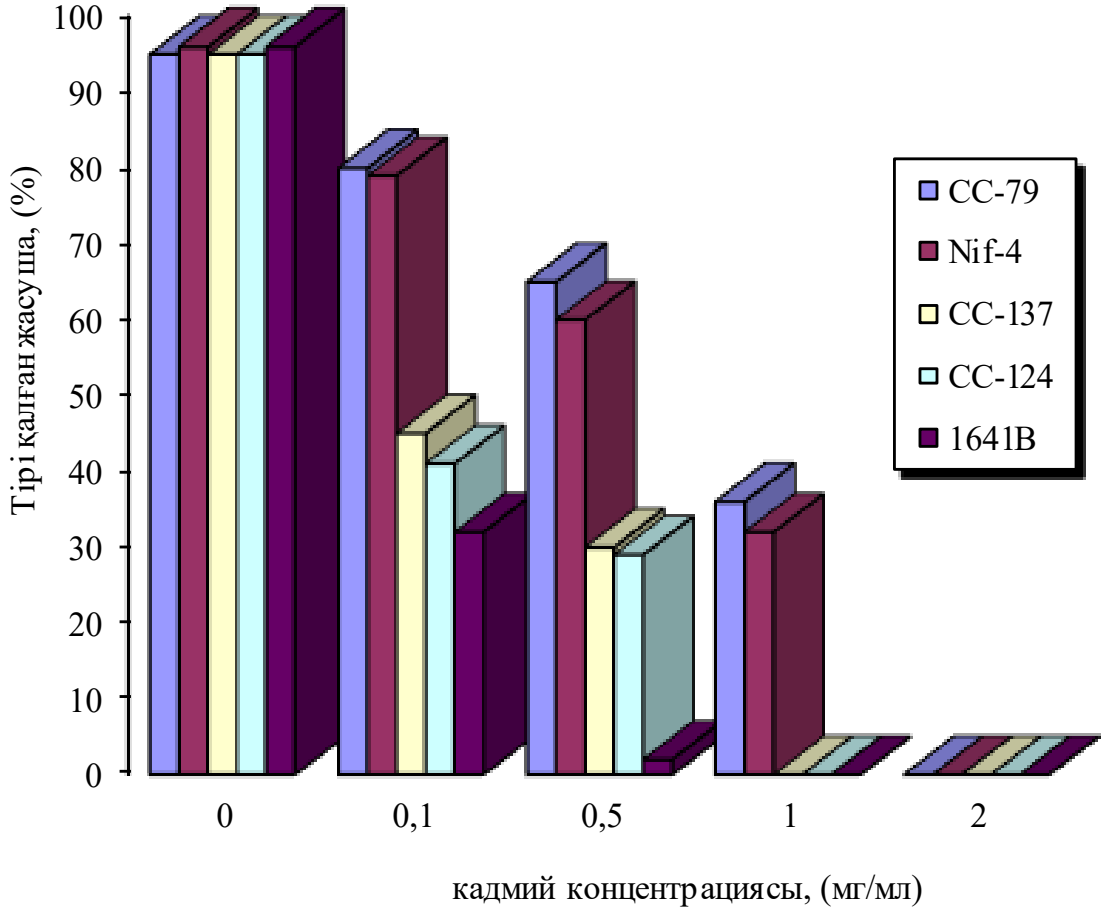




Chlamydomonas reinhardtii, Dangeard



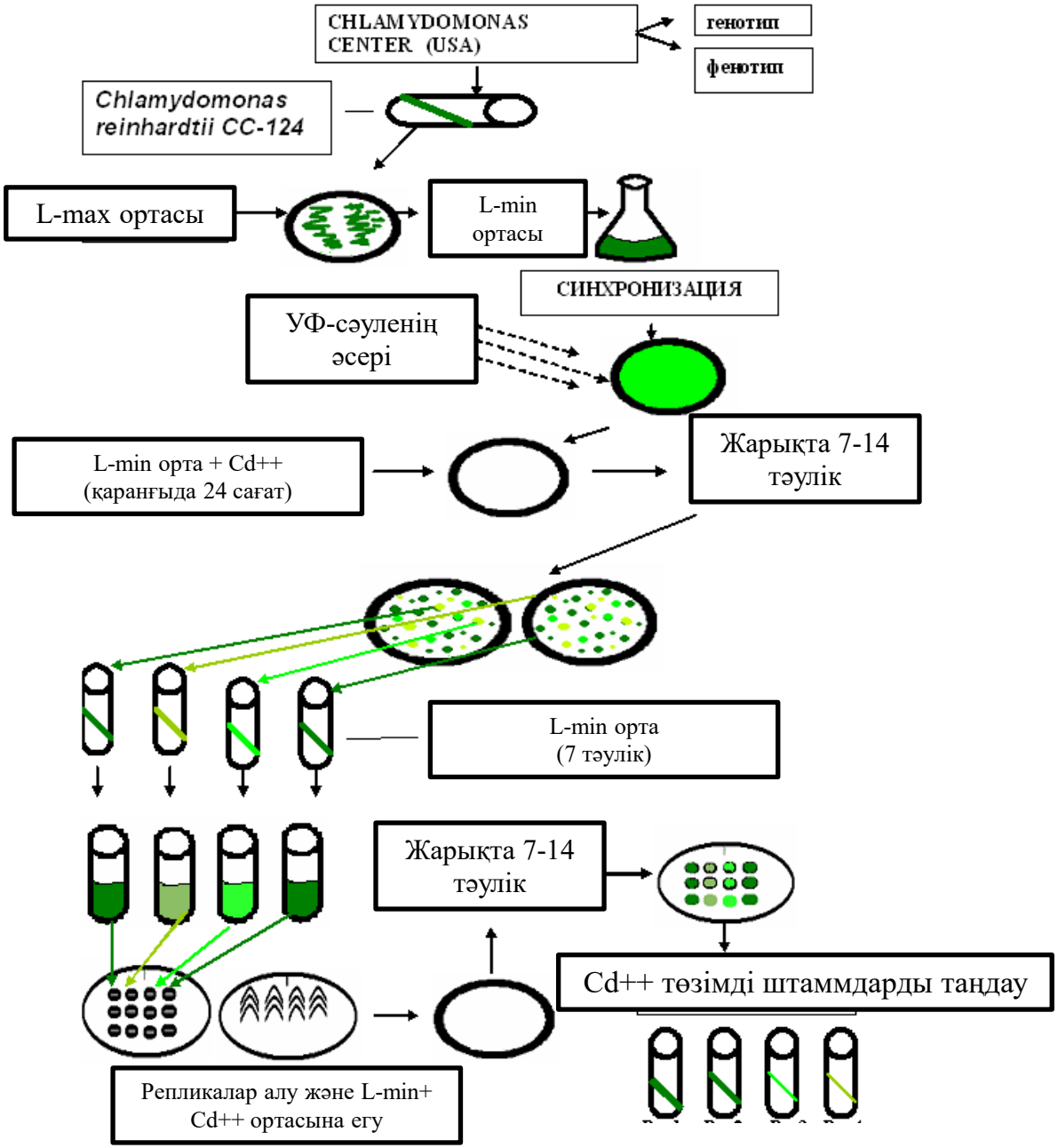

CHLAMYDOMONAS
LIFE CYCLE
mt- gametes
mt+ gametes
Flagellar adhesion between
mt+ and mt- gametes
Gamete
Activation
Release of cell walls
gametogenesis
N-Free medium
mt-
mt+
Vegetative Cells
Asexual Reproduction (mitosis)
Activation of mating structures
Fusion of mt+ fertilization tubule
with mt- mating structure
Complete cell fusion
Zygote (2n)
Meiosis
Germination
mt-
mt+
Vegetative Cells (1n)





Chlamydomonas reinhardtii-дің жабайы және мутантты штамм жасушаларының кадмий иондарының әртүрлі концентрациясындағы ортада өсу кезіндегі тіршілікке қабілеттілігі.

Кадмийге төзімді *Chlamydomonas reinhardtii* мутантты штаммдарын алу схемасы

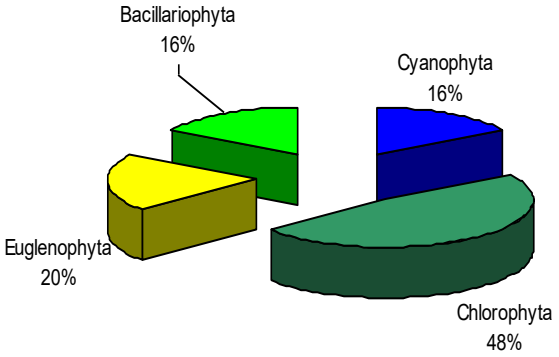


Кадмийге төзімді коллекциялық және мутантты штаммдардың кадмий иондарының әртүрлі концентрациясындағы ортада өсуінің салыстырмалы сипаттамасы

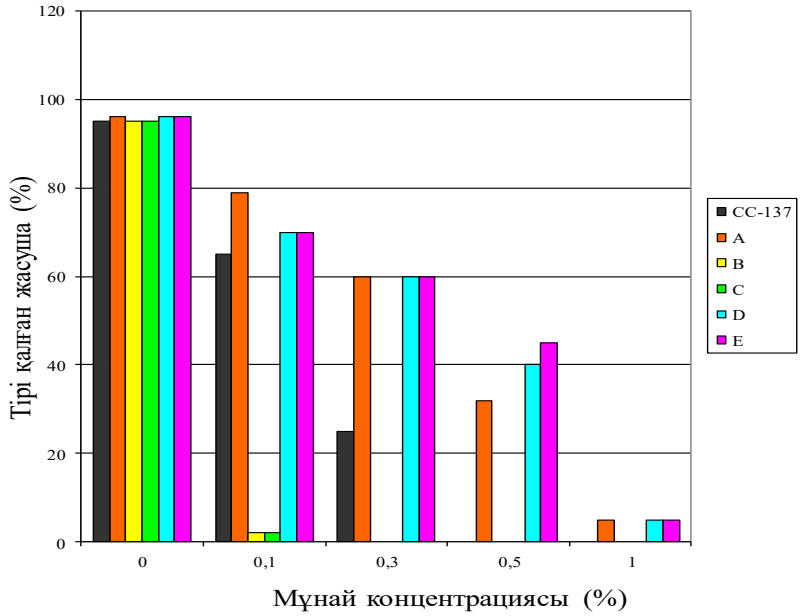
Хлористі кадмий концентрациясы, мг/мл / Штамм шифрі	0	0, 05	0,1	0,15	0,2
CC-124	●	●	●	○	○
CC-79	●	●	●	●	○
Nfr-4	●	●	●	●	○
1641B	●	●	●	○	○
CC-137	●	●	●	○	○
CC-124 Res1	●	●	●	●	●
CC-124 Res 2	●	●	●	●	●
CC-124 Res 3	●	●	●	●	●
CC-124 Res 4	●	●	●	●	●

● - қалыпты өсу ● - орташа өсу ● - әлсіз өсу ● - өсуінің болмауы

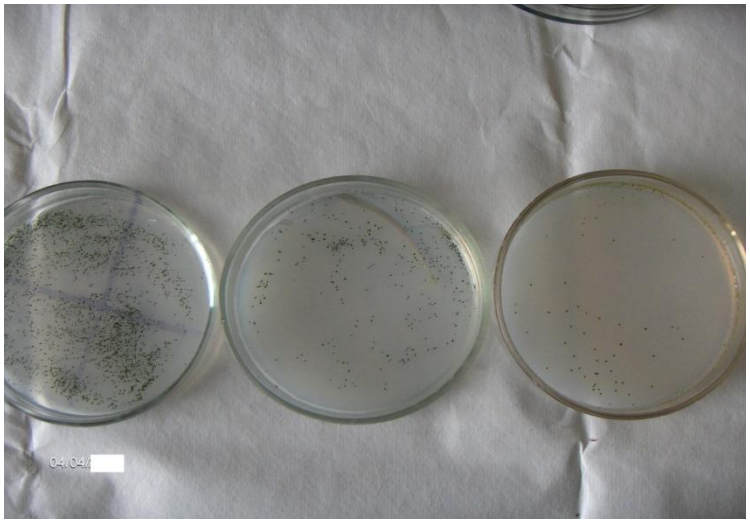
АНПЗ ағын сулар каналының микробалдырларының құрамы



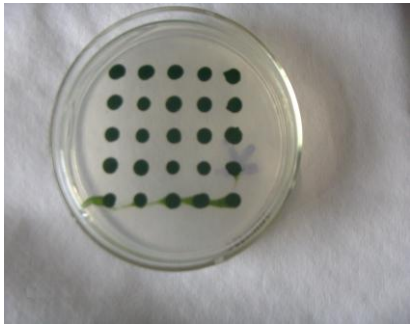
Chlamydomonas reinhardtii мутантты штамм жасушаларының әртүрлі мұнай концентрациялары әсеріндегі тіршілікке қабілеттілігі

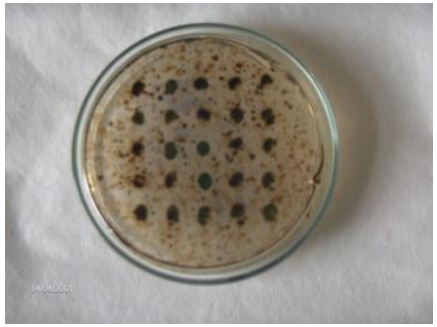


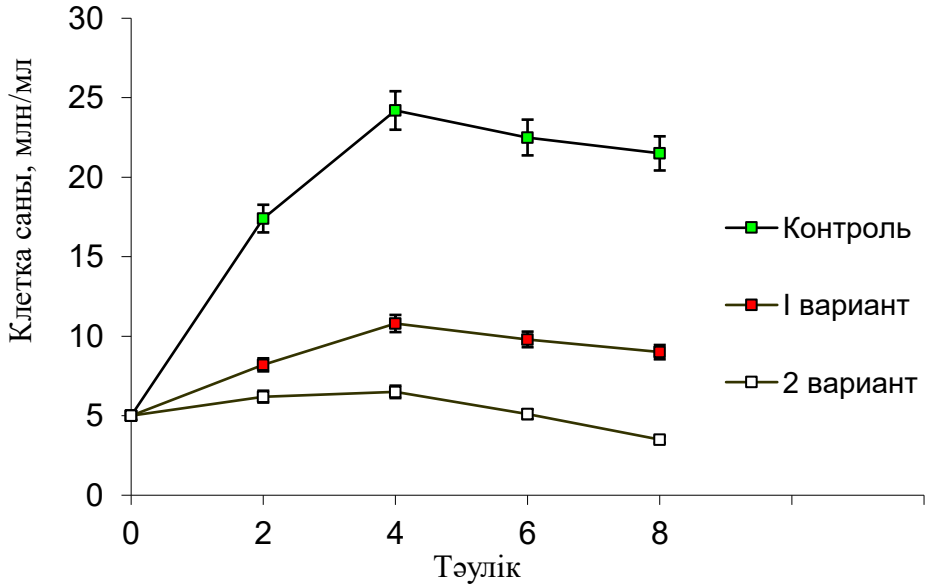
Chlamydomonas reinhardtii CC-137 жасушаларының ультракүлгін сәуле әсеріндегі тіршілікке қабілеттілігі.



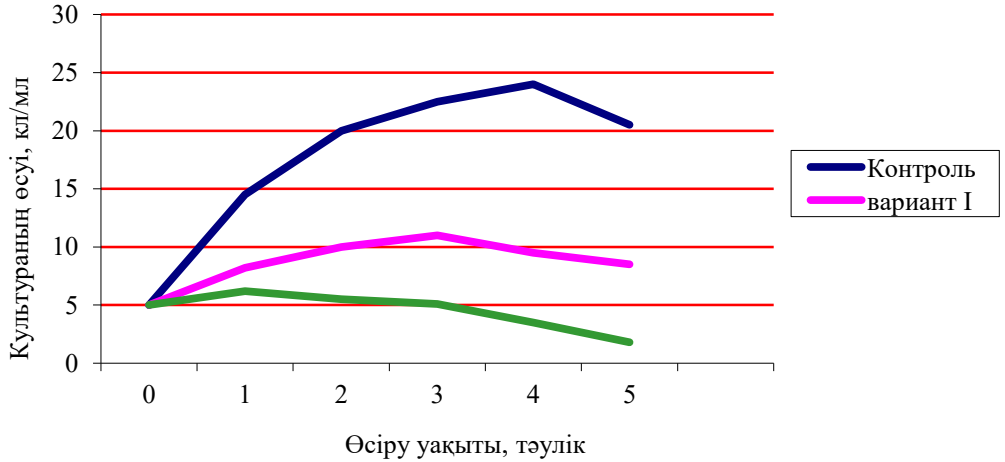
Мұнай әсерінде «хлорофиллдің жоғалу» белгілері бойынша Chlamydomonas reinhardtii штаммдарын скрининг жасау



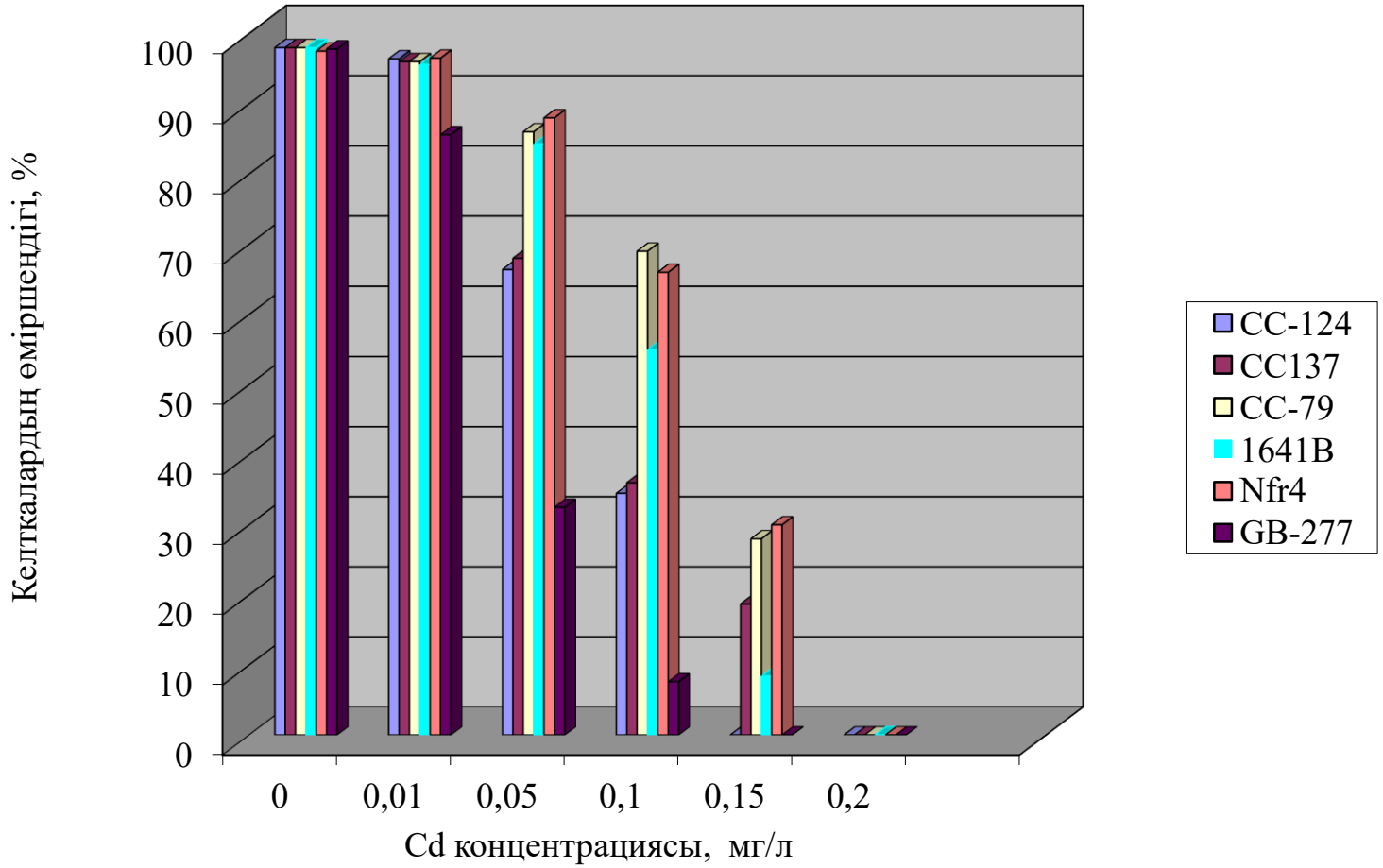




Chlamydomonas reinhardtii 1641B мутант штаммінің жасушаларының Текелі өзенінің табиғи суларында өсуі



Chl.reinhardtii CC-137Oil S-1 мутант штаммінің жасушаларының АНПЗ ағынды су арнасының су үлгілеріндегі өсуі



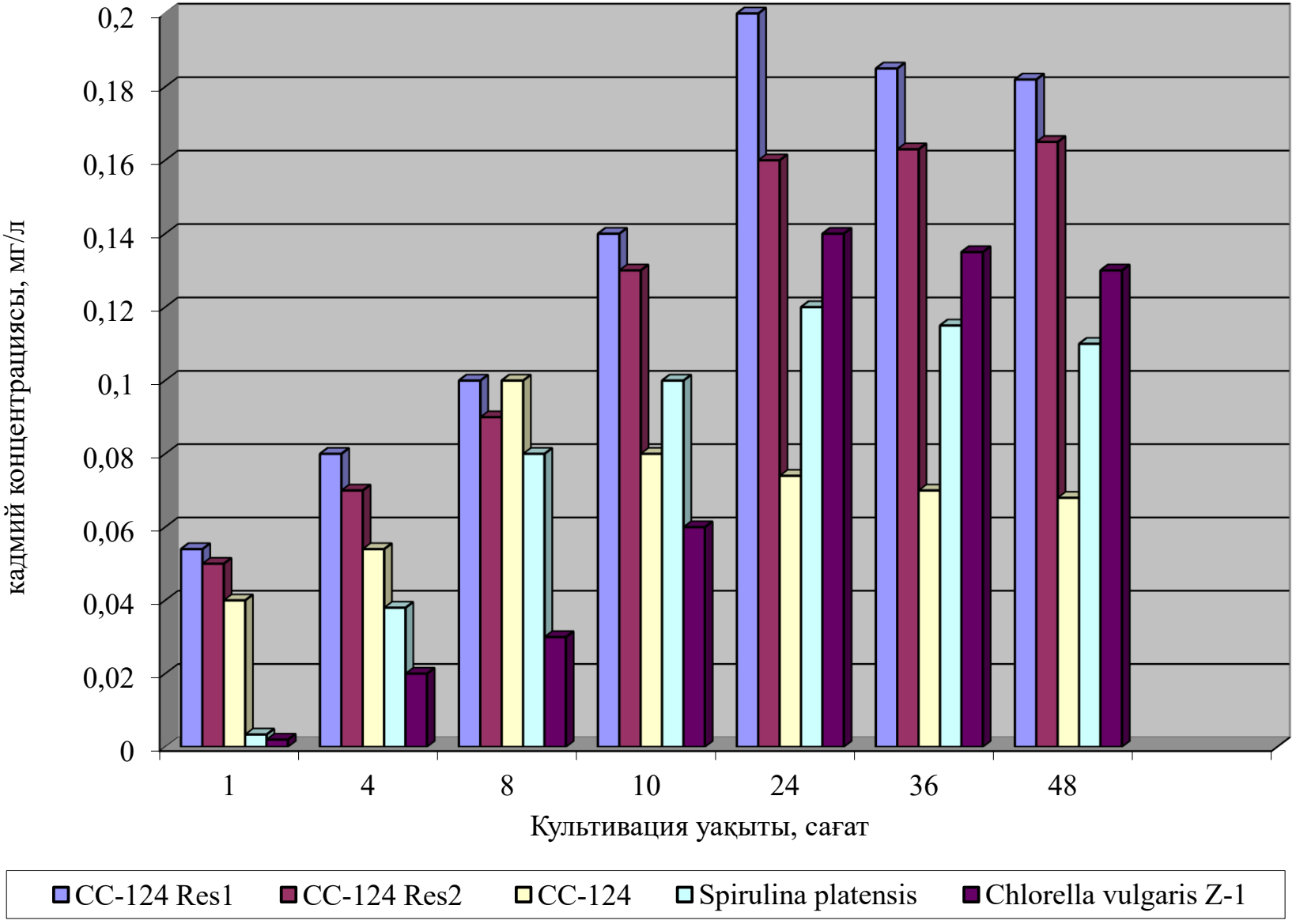
***Chlamydomonas reinhardtii* коллекциялық штаммдерінің әртүрлі кадмий иондарының концентрациясы бар орталарда өсуі кезінде жасушалардың өміршеңдігі**

Chlamydomonas reinhardtii жасушаларына УФ сәулесі мен кадмий иондарының бірлескен әсері кезінде жасушалардың өміршеңдігі ($CdCl_2$ концентрациясы – 0,1 мг/л)

Өміршеңдігі	Сәулелену ұзақтығы, минут				
	0	1	3	6	10
Өскен жасушалардың саны	26 600	1100	510	90	3
Өскен жасушалардың саны, %	100	4,1	1,9	0,3	0,01

CC-124 Chlamydomonas reinhardtii жабайы типті жасушаларында мутациялардың пайда болу жиілігі (УФ + Cd (0,1 мг/л) бірлескен әсері кезінде)

Сәулелену ұзақтығы, минут	0	1	3	6	10
Колониялардың жалпы саны	26600	1000	350	60	3
Қалыпты колониялардың саны	26600	1000	100	50	0
Мутантты колониялардың саны	0	28	250	10	1



Микробалдырлар мен цианобактерия жасушаларының кадмий иондарын биосорбциялау динамикасы

Кадмийге төзімді мутанттарды Chlamydomonas reinhardtii 1641B mt+ мутант штаммымен шағылыстырудан алынған гибридтердің ажырауын талдау (кездейсоқ таңдау)

Шағылыстыру шифры	mt- жұптасу типіндегі ата-ананың шифры	Барлығы талданған сегреганттар саны	Мутантты фенотипті сегреганттардың жиілігі (%)	Фенотипі бойынша сегреганттар саны		ипотезаға сәйкестік ықтималдығы P(H₀)	
				R (Cd+)	S (Cd^+)	1 Cd -: 1 Cd +	3 Cd^-: 1 Cd^+
C1	Cd Res-1	142	47.9	68	73	>0,95	<0,05
C2	Cd Res-2	177	71,2	126	51	<0,05	>0,95
C3	Cd Res-3	121	72,7	88	33	<0,05	>0,95
C4	Cd Res-4	96	70,1	68	28	<0,05	>0,95

Кадмийге төзімді мутанттарды *Chlamydomonas reinhardtii CC-137 mt+* жабайы штаммымен шағылыстырудан алынған зигоспоралардың төзімділік (R) және сезімталдық (S) белгілері бойынша ажырауын тетрада талдау

Шағылыстыру шифры	mt- жұптасу типіндегі ата-ананың шифры	Тетрадалардың саны мен түрлері			Зигоспоралардың өміршеңдігі, %	Зооспоралардың өміршеңдігі ,%
		2R:2S	3R:1S	4R:0S		
C5	**Cd Res-1**	**15**	**0**	**0**	**95,2**	**27,5**
C6	**Cd Res-2**	**0**	**10**	**1**	**55,3**	**18,0**
C7	**Cd Res-3**	**0**	**8**	**2**	**52,1**	**15,0**
C8	**Cd Res-4**	**0**	**6**	**0**	**45,5**	**12,0**