

## Биохимические исследования в школьном химическом эксперименте на примере пресноводных гидробионтов

*Н. Ю. Козлова, младший научный сотрудник НИЛ элементоорганического синтеза кафедры органической химии Белорусского государственного университета, магистр биологических наук,  
Е. И. Кацнельсон, преподаватель-стажёр кафедры химии  
Витебского государственного университета имени П. М. Машерова,  
О. М. Балаева-Тихомирова, заведующий кафедрой химии Витебского государственного университета имени П. М. Машерова, кандидат биологических наук, доцент*

**Аннотация.** Данная статья раскрывает возможности применения биохимических опытов при организации научно-исследовательской работы учащихся и дальнейшие перспективы доступного использования экспериментального определения основных веществ живых организмов в курсах изучения естественнонаучных дисциплин на базе средних учебных образовательных учреждений. Представленные исследования способствуют реализации принципа непрерывного образования, повышению качества научно-исследовательской работы учащихся, формированию целостного представления о метаболизме живых организмов и факторов окружающей среды, влияющих на их обмен веществ.

**Summary.** This article shows the possibilities of applying biochemical experiments in the organization of students' research work and reveals further prospects for the affordable use of experimental determination of the main substances of living organisms in courses of study of natural sciences based on secondary educational institutions. The presented studies contribute to the implementation of the principle of lifelong education, improving the quality of students' research work, the formation of a holistic understanding of the metabolism of living organisms and environmental factors affecting their metabolism.

Данная статья является продолжением рассмотренной ранее темы «Организация научно-исследовательской работы учащихся: использование биохимических стандартных наборов при исследовании лёгочных моллюсков» [4].

В X–XI классах для реализации принципа непрерывного образования экспериментальные исследования, проводимые учащимися в VIII–IX классах, можно усложнить с сохранением выбранного объекта и модели эксперимента. Рассмотрим на примере исследования моллюсков. В VIII–IX классах учащиеся изучают состав гемолимфы, а в X–XI классах с ними же можно рассмотреть состав внутренних органов (гепатопанкреаса), в результате у учащихся формируется целостное представление об обмене веществ в живом организме.

**Цель работы:** проиллюстрировать возможности использования биохимических методов для организации научно-исследовательской работы учащихся в школе на примере исследо-

вания показателей азотного обмена в гепатопанкреасе пресноводных гидробионтов.

При проведении эксперимента учитель вместе с учащимися может изменять цель и задачи планируемого исследования, сохраняя при этом основную структуру эксперимента и определяемые показатели, что позволяет отработать методики экспериментальных исследований и проводить их на протяжении нескольких лет, а затем использовать накопленные данные для сравнения. При этом сохраняются актуальность, новизна, самостоятельность исследований и многообразие тем с использованием одного объекта исследований с одними и теми же определяемыми показателями. Примеры тем, в которых объектом исследования является гепатопанкреас, а определяемыми показателями — содержание общего белка, ДНК и РНК:

1. Влияние антропогенных факторов на показатели азотного обмена в тканях лёгочных моллюсков.

2. Изменение ключевых показателей азотного обмена в гепатопанкреасе брюхоногих гидробионтов в зависимости от сезона года.

3. Влияние токсикантов различного происхождения на содержание общего белка, ДНК и РНК в тканях лёгочных моллюсков в зависимости от типа транспорта кислорода.

4. Сравнительная характеристика содержания показателей азотного обмена у моллюсков, обитающих в водоёмах Республики Беларусь.

5. Определение концентрации общего белка, ДНК и РНК в гепатопанкреасе лёгочных моллюсков в зависимости от типа транспорта кислорода.

6. Влияние солей тяжёлых металлов на показатели азотного обмена в гепатопанкреасе брюхоногих гидробионтов в зависимости от сезона года [6].

**Методика определения содержания нуклеиновых кислот в гепатопанкреасе**

Метод основан на регистрации светопоглощения нуклеиновыми кислотами.

**Оборудование:** пробирки, химические стаканы, мерные колбы на 50 и 100 см<sup>3</sup>, пипетки на 1 и 2 см<sup>3</sup>, весы, центрифуга, водяная баня, спектрофотометр (фотоэлектроколориметр).

**Приготовление реактивов:**

1. Среда для гомогенизации: 0,48 г хлорида магния, 0,37 г хлорида калия, 8,55 г сахарозы растворяют в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды.

2. 0,2 М раствор хлорной кислоты: 1,1 см<sup>3</sup> HClO<sub>4</sub> (M(HClO<sub>4</sub>) = 100,5 г/моль, ρ = 1,55 г/см<sup>3</sup>, ω = 60,75 %) переносят в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и доводят объём до метки дистиллированной водой.

3. 0,3 М раствор хлорной кислоты: 1,6 см<sup>3</sup> HClO<sub>4</sub> переносят в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и доводят объём до метки дистиллированной водой.

4. 0,5 М раствор хлорной кислоты: 2,7 см<sup>3</sup> HClO<sub>4</sub> переносят в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и доводят объём до метки дистиллированной водой.

5. 0,6 М раствор хлорной кислоты: 3,2 см<sup>3</sup> HClO<sub>4</sub> переносят в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и доводят объём до метки дистиллированной водой.

6. 1,0 М раствор хлорной кислоты: 5,3 см<sup>3</sup> HClO<sub>4</sub> переносят в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и доводят объём до метки дистиллированной водой.

7. 0,6 М раствор гидроксида калия: 1,68 г КОН растворяют в 25 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, переносят в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и доводят до метки дистиллированной водой.

Материал исследования: печень моллюсков.

**Методика проведения опыта:**

1. Навеску ткани гомогенизируют на холоде (0,15 г гепатопанкреаса к 0,6 мл среды для гомогенизации — соотношение 1 : 4).

2. К 0,1 мл гомогената добавляют 2 мл 0,3 М HClO<sub>4</sub> (выпадают в осадок белок, ДНК, РНК).

3. Пробирки помещают на 15 мин в лёд или холодильник для охлаждения.

4. Центрифугируют 10 мин при 5000–6000 об/мин.

5. Надосадочную жидкость сливают.

6. К осадку прибавляют 2 мл 0,2 М HClO<sub>4</sub>, размешивают.

7. Центрифугируют 10 мин при 5000–6000 об/мин.

8. Надосадочную жидкость сливают и к осадку добавляют 0,5 мл дистиллированной воды.

9. Добавляют 0,5 мл 0,6 М КОН.

10. Помещают на 24 часа в термостат при 37 °С (для растворения осадка, происходит гидролиз РНК).

11. Пробирки переносят в лёд на 1 час.

12. Добавляют 2 мл 0,6 М HClO<sub>4</sub>, оставляют на 15 мин во льду. Выпадают в осадок ДНК и белок, РНК остаются в надосадочной жидкости.

13. Центрифугируют 10 мин при 5000–6000 об/мин.

14. Надосадочную жидкость сливают в большие чистые пробирки.

15. К осадку прибавляют 2 мл 0,5 М HClO<sub>4</sub>, размешивают при охлаждении (0 °С).

16. Центрифугируют 10 мин при 5000–6000 об/мин.

17. Надосадочную жидкость сливают в те же пробирки.

18. Для определения РНК измеряют поглощение при длине волны 260 нм против 0,6 М HClO<sub>4</sub>.

19. К осадку прибавляют 4 мл 1 М HClO<sub>4</sub>, размешивают.

20. Помещают в кипящую водяную баню на 20 мин (гидролиз ДНК).

21. После охлаждения центрифугируют 10 мин при 5000–6000 об/мин.

22. Надосадочную жидкость сливают в малые чистые пробирки.

23. Для определения ДНК измеряют поглощение при длине волны 270 нм и 290 нм против 1 М  $\text{HClO}_4$ .

Содержание ДНК  $X_1$  рассчитывают по формуле:

$$X_1 \text{ (мг/г) ткани} = ((A_{270} - A_{290}) \times 221 \times 10 \times V) / m,$$

где  $V$  — объём гомогената,  $m$  — масса ткани, г.

Содержание РНК  $X_2$  рассчитывают по формуле:

$$X_2 \text{ (мг/г) ткани} = (A_{260} \times 1,6 \times 10 \times V) / m,$$

где  $V$  — объём гомогената,  $m$  — масса ткани, г.

#### Методика определения концентрации общего белка в гепатопанкреасе

Метод основан на измерении интенсивности окраски, которую даёт раствор белка в цветных реакциях — биуретовой и реакции Фолина. При взаимодействии белка со щелочным раствором сульфата меди образуются комплексные соединения (биуретовая реакция), которые своими тирозиновыми и цистеиновыми радикалами восстанавливают смесь фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислот с образованием комплексного соединения синего цвета (реакция Фолина). Интенсивность окраски комплекса, которая зависит от количества белка в исследуемой пробе, измеряется на фотоэлектроколориметре с красным светофильтром.

**Оборудование:** пробирки, градуированные пробирки, химические стаканы, мерные колбы на 50 и 100  $\text{см}^3$ , пипетки на 1 и 2  $\text{см}^3$ , весы, центрифуга, спектрофотометр (фотоэлектроколориметр).

**Приготовление реактивов:**

1. 0,1 М раствор  $\text{NaOH}$  ( $M(\text{NaOH}) = 40$  г/моль): 0,4 г гидроксида натрия переносят в мерную колбу вместимостью 100  $\text{см}^3$  и доводят объём до метки дистиллированной водой.

2. Раствор А: 2%-ный раствор  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  в 0,1 М растворе  $\text{NaOH}$  ( $M(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 106$  г/моль): 2 г карбоната натрия переносят в мерную колбу вместимостью 100  $\text{см}^3$  и доводят объём до метки 0,1 М раствором  $\text{NaOH}$ .

3. 1%-ный раствор  $\text{CuSO}_4$ : 1,56 г  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  переносят в мерную колбу вместимостью 100  $\text{см}^3$  и доводят объём до метки дистиллированной водой.

4. 2%-ный раствор цитрата натрия ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ): 2 г  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  переносят в мерную колбу вместимостью 100  $\text{см}^3$  и доводят объём до метки дистиллированной водой.

5. Раствор В (готовится перед определением): смешивают 25  $\text{см}^3$  1%-ного раствора  $\text{CuSO}_4$  и 25  $\text{см}^3$  2%-ного раствора  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ .

6. Раствор С (готовится перед определением): к 50  $\text{см}^3$  раствора А добавляют 1  $\text{см}^3$  раствора В.

7. Реактив Фолина. Для приготовления основного раствора реактива Фолина в круглодонную колбу с обратным холодильником вместимостью 1  $\text{дм}^3$  наливают 600  $\text{см}^3$  дистиллированной воды, добавляют 100 г вольфрамата натрия ( $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) и 25 г молибдата натрия ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Затем приливают 50  $\text{см}^3$  ортофосфорной кислоты ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) с массовой долей 85 % и 100  $\text{см}^3$  концентрированной соляной кислоты ( $\text{HCl}$ ) и осторожно перемешивают. Смесь кипятят на слабом огне на плитке в течение 10 ч. По окончании кипячения в охлаждённую смесь добавляют 150 г сульфата лития ( $\text{Li}_2\text{SO}_4$ ), 50  $\text{см}^3$  дистиллированной воды и пять капель брома. Открытую колбу кипятят на слабом огне под тягой в течение 15–20 мин, чтобы удалить избыток паров брома. Раствор должен иметь жёлтую окраску. После охлаждения раствор доводят дистиллированной водой до 1  $\text{дм}^3$ . Приготовленный раствор реактива Фолина хранят в склянке из тёмного стекла в холодильнике.

Рабочий раствор реактива Фолина готовят разведением основного раствора дистиллированной водой в соотношении 1 : 2 (одна часть реактива Фолина и две части дистиллированной воды). Рабочий раствор реактива Фолина хранят в закрытой стеклянной посуде при температуре 20 °С в течение одной недели.

8. Стандартный раствор кристаллического сывороточного альбумина концентрацией 0,25 мг/мл в 0,1 М растворе  $\text{NaOH}$ : смешивают 12,5 мг альбумина и добавляют 5,0  $\text{см}^3$  0,1 М раствора  $\text{NaOH}$ . Для лучшего растворения альбумина раствор помещают на водяную баню при температуре 37 °С, затем к 1  $\text{см}^3$  полученного раствора добавляют 9  $\text{см}^3$  дистиллированной воды и перемешивают раствор стеклянной палочкой.

9. 1 М раствор  $\text{NaOH}$  ( $M(\text{NaOH}) = 40$  г/моль): взвешивают 4 г гидроксида натрия, переносят

в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят объём до метки дистиллированной водой.

10. 6%-ный раствор трихлоруксусной кислоты (ТХУ): 1,5 г ТХУ переносят в мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup>, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

**Методика проведения опыта:**

1. Навеску ткани массой 100 мг гомогенизируют в стеклянном гомогенизаторе или растирают в фарфоровой ступке со стеклянным песком с небольшим количеством дистиллированной воды (около 1 см<sup>3</sup>).

2. Добавляют дистиллированную воду до общего объёма гомогената 10 см<sup>3</sup>.

3. Через 5 минут гомогенат центрифугируют в течение 10–15 мин в центрифуге ОПН-8 при 5000–6000 об/мин.

4. Центрифугат сливают в центрифужные пробирки вместимостью 20 см<sup>3</sup>.

5. Для экстрагирования и осаждения белков к центрифугату добавляют равный объём 6%-ного раствора трихлоруксусной кислоты.

6. Раствор центрифугируют в центрифуге ЦЛН в течение 10 мин при 2500 об/мин.

7. Осадок белка, полученный в процессе декантации надосадочной жидкости после центрифугирования, растворяют в 1–2 см<sup>3</sup> 1 М NaOH.

8. Щелочной раствор белка переносят в стеклянные градуированные пробирки, доводят объём до 10 см<sup>3</sup> дистиллированной водой, перемешивают и используют для количественного определения белка.

9. В химические пробирки помещают по 0,1 см<sup>3</sup> исследуемого раствора белка (по 2 параллельные пробы) и добавляют 0,9 см<sup>3</sup> 0,1 М раствора NaOH.

10. В холостую пробу добавляют 0,1 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 0,9 см<sup>3</sup> 0,1 М раствора NaOH.

11. В опытную и холостую пробирки приливают по 2 см<sup>3</sup> рабочего раствора С, хорошо перемешивают и оставляют на 10 мин при комнатной температуре.

12. Добавляют 0,2 см<sup>3</sup> реактива Фолина и немедленно тщательно перемешивают.

13. Через 30 мин после развития окраски измеряют оптическую плотность (А) образцов на спектрофотометре в кювете толщиной слоя в 1,0 см при длине волны 750 нм против холостой пробы, не содержащей белка.

14. Используя градуировочный график (рис.), рассчитывают содержание белка в данном растворе.

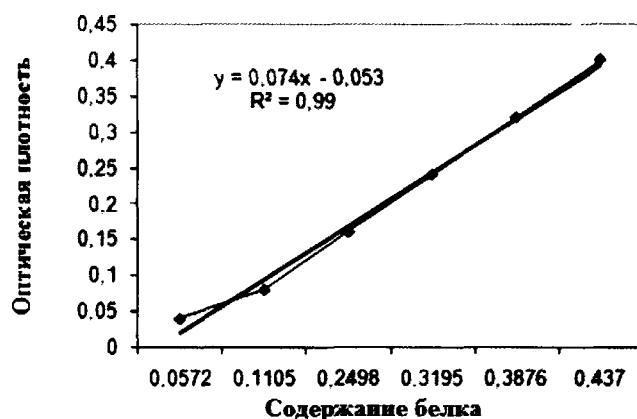


Рисунок — Градуировочный график для определения содержания белка

В уравнение  $y = 0,074x - 0,053$  подставляем полученные результаты оптической плотности и рассчитываем концентрацию белка в пробе ( $x$  — оптическая плотность).

**Пример модельного эксперимента по теме**

**«Содержание ключевых показателей азотного обмена в тканях лёгочных пресноводных моллюсков, обитающих в водоёмах Республики Беларусь»**

**Цель:** определить содержание общего белка, ДНК и РНК в тканях лёгочных пресноводных моллюсков, обитающих в водоёмах Республики Беларусь.

**Материал и методы.** При проведении исследований использовались два вида лёгочных пресноводных моллюсков — прудовик обыкновенный (*Lymnaea stagnalis*) и катушка роговая (*Planorbarius corneus*). Исследования проводились на 756 лёгочных

пресноводных моллюсках, разделённых на две группы: 378 особей *Lymnaea stagnalis* и 378 особей *Planorbarius corneus*. Моллюски собирались из водоёмов четырёх районов Витебской области (таблица 1). В каждой исследуемой подгруппе содержалось по 9 моллюсков. Сбор осуществлялся в осенний (сентябрь–октябрь) и в весенний (апрель–май) периоды. Особи собирались вручную.

## Даследчая дзейнасць навучэнцаў

Таблица 1 — Места сбора моллюсков

Район сбора моллюсков	Место сбора	Название водоёма
Витебский р-н	г. Витебск	р. Витьба
Дубровенский р-н	д. Шеки	оз. Афанасьевское
Ушачский р-н	д. Дубровка	оз. Дубровское
Шумилинский р-н	а/г Башни	оз. Будовесь

После отлова в лабораторных условиях осуществлялся забор материала (гепатопанкреаса и гемолимфы) для дальнейшего исследования. Гемолимфу у моллюсков получали посредством раздражения ноги уколом иглы. Это стимулировало рефлекс втягивания ноги в раковину, в результате чего гемолимфа выделялась наружу. Пробы гемолимфы помещали в пробирки

Эппендорфа. Для произведения отбора гепатопанкреаса раковина моллюска разбивалась, далее, используя скальпель и пинцет, производилось отделение пищеварительной железы.

### Результаты и их обсуждение.

Моллюски из р. Витьба Витебского района характеризуются следующими показателями обмена веществ (таблица 2).

Таблица 2 — Показатели обмена веществ в гепатопанкреасе *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis* из р. Витьба Витебского района ( $M \pm m$ )

Показатели	Сезон сбора	
	Весна (n = 9)	Осень (n = 9)
<i>Planorbarius corneus</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	189 ± 7,1	256 ± 8,2
ДНК (мг/г)	1,44 ± 0,11	1,83 ± 0,10
РНК (мг/г)	10,20 ± 0,58 <sup>1</sup>	5,46 ± 0,35
<i>Lymnaea stagnalis</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	271 ± 7,6	323 ± 21,7
ДНК (мг/г)	1,74 ± 0,04 <sup>1</sup>	2,49 ± 0,03
РНК (мг/г)	9,07 ± 0,42 <sup>1</sup>	5,74 ± 0,24

Примечание. <sup>1</sup>p < 0,05 по сравнению с осенним периодом сбора моллюсков.

Содержание общего белка в гепатопанкреасе в осенний период сбора превышало весенние значения показателя в 1,4 раза у *Pl. corneus*. Уровень ДНК в гепатопанкреасе прудовика обыкновенного увеличивается от весны к осени в 1,4 раза. По сравнению с осенним периодом сбора у *Pl. corneus* повышено содержание РНК в весенний период в 1,9 раза, у *L. stagnalis* — в 1,6 раза. Статистических отличий в содержании общего белка у обоих видов моллюсков, а также в содержании ДНК у *L. stagnalis* между сезонами года не выявлено.

Данные особенности обмена веществ лёгочных пресноводных моллюсков связаны с

экологическими характеристиками р. Витьба Витебского района и её прибрежной зоны. Река Витьба имеет выраженные признаки антропогенного воздействия. Наличие на её берегах зон отдыха усугубляет это воздействие. На берегах и в воде реки можно наблюдать много мусора. На дне реки обнаружен чёрный ил, что свидетельствует о большом количестве органических веществ в воде, что является начальными признаками эвтрофикации водоёма.

Моллюски из оз. Афанасьевское Дубровенского района характеризуются следующими показателями обмена веществ (таблица 3).

Таблица 3 — Показатели обмена веществ в гепатопанкреасе *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis* из оз. Афанасьевское Дубровенского района ( $M \pm m$ )

Показатели	Сезон сбора	
	Весна (n = 9)	Осень (n = 9)
<i>Planorbarius corneus</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	123 ± 5,2	139 ± 8,6
ДНК (мг/г)	1,64 ± 0,16	2,00 ± 0,07
РНК (мг/г)	11,06 ± 0,55 <sup>1</sup>	6,12 ± 0,15
<i>Lymnaea stagnalis</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	196 ± 4,7	228 ± 7,8
ДНК (мг/г)	1,13 ± 0,03 <sup>1</sup>	1,43 ± 0,03
РНК (мг/г)	10,33 ± 0,36 <sup>1</sup>	6,77 ± 0,25

Примечание. <sup>1</sup>p < 0,05 по сравнению с осенним периодом сбора моллюсков.

Уровень ДНК и гликогена в гепатопанкреасе двух видов моллюсков увеличивается от весны к осени в 1,3 раза у *L. stagnalis*. У *Pl. corneus* повышен уровень РНК в весенний период в 1,8 раза, у *L. stagnalis* — в 1,5 раза по отношению к осеннему периоду. У *Pl. corneus* и *L. stagnalis* статистически значимых отличий в содержании общего белка не отмечено, также они не обнаружены в содержании ДНК у *Pl. corneus*.

Данные характеристики обмена веществ связаны с экологическими особенностями оз. Афанасьевское и его прибрежной зоны. Озеро подвергается сильной антропогенной нагрузке, так как используется для мелиорации земель, что приводит к загрязнению воды и береговой зоны водоёма, в частности к высокому содержанию ионов меди и цинка, катионов

аммония, калия, натрия, магния и кальция в воде, цинка в почве, превышающего ПДК. Это оказывает негативное влияние на показатели обмена веществ *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis*, что отражается на содержании РНК, ДНК и гликогена в гепатопанкреасе и мочевой кислоты в гемолимфе. Увеличение содержания продуктов азотного обмена у двух видов моллюсков может быть вызвано высоким содержанием катионов аммония в воде. В пробах воды нами были отмечены высокое содержание катионов магния, высокая карбонатная и общая жёсткость, что сказывается на состоянии моллюсков [7].

Моллюски из оз. Дубровское Ушачского района характеризуются следующими показателями обмена веществ (таблица 4).

Таблица 4 — Показатели обмена веществ в гепатопанкреасе *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis* из оз. Дубровское Ушачского района ( $M \pm m$ )

Показатели	Сезон сбора	
	Весна (n = 9)	Осень (n = 9)
<i>Planorbarius corneus</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	150 ± 7,3 <sup>1</sup>	211 ± 9,7
ДНК (мг/г)	2,09 ± 0,26 <sup>1</sup>	2,94 ± 0,19
РНК (мг/г)	10,80 ± 0,35 <sup>1</sup>	7,02 ± 0,42
<i>Lymnaea stagnalis</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	169 ± 9,2	184 ± 3,2
ДНК (мг/г)	1,40 ± 0,07 <sup>1</sup>	1,93 ± 0,03
РНК (мг/г)	10,17 ± 0,30 <sup>1</sup>	7,28 ± 0,44

Примечание. <sup>1</sup>p < 0,05 по сравнению с осенним периодом сбора моллюсков.

У катушки роговой содержание общего белка в гепатопанкреасе в осенний период сбора превышало значения в весенний период в 1,4 раза. Уровень ДНК в гепатопанкреасе обоих видов моллюсков увеличивается от весны к осени в 1,4 раза. У *Pl. corneus* по сравнению с осенним периодом сбора повышен уровень РНК в весенний период сбора в 1,5 раза, а у *L. Stagnalis* — в 1,4 раза. Статистические отличия не обнаружены при сравнении двух сезонов года в содержании общего белка (гепатопанкреас) у *L. stagnalis*.

Озеро Дубровское находится относительно далеко от крупных промышленных центров и крупных автомагистралей, отличается чистой водой без вредных примесей. Установлено незначительное превышение значений ПДК ионов железа и цинка, катионов магния и кальция в воде по сравнению с пробами из других исследуемых водоёмов, цинка в почве, что не оказывает существенного влияния на метаболизм лёгочных моллюсков [7].

Моллюски из оз. Будовесть Шумилинского района характеризуются следующими показателями обмена веществ (таблица 5).

Таблица 5 — Показатели обмена веществ в гепатопанкреасе *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis* из оз. Будовесть Шумилинского района ( $M \pm m$ )

Показатели	Сезон сбора	
	Весна (n = 9)	Осень (n = 9)
<i>Planorbarius corneus</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	233 ± 9,2 <sup>1</sup>	205 ± 7,5
ДНК (мг/г)	1,96 ± 0,17 <sup>1</sup>	2,73 ± 0,29
РНК (мг/г)	10,60 ± 0,67 <sup>1</sup>	6,79 ± 0,58
<i>Lymnaea stagnalis</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	164 ± 6,0 <sup>1</sup>	203 ± 4,3
ДНК (мг/г)	1,96 ± 0,04 <sup>1</sup>	2,44 ± 0,08
РНК (мг/г)	9,05 ± 0,41	7,46 ± 0,28

Примечание. <sup>1</sup>p < 0,05 по сравнению с осенним периодом сбора моллюсков.

Уровень общего белка в гепатопанкреасе в весенний период сбора превышал осенние значения в 1,4 раза у катушки роговой и в 1,3 раза у прудовика обыкновенного. Содержание ДНК в гепатопанкреасе *Pl. corneus* и *L. stagnalis* увеличивается от весны к осени в 1,4 и 1,3 раза соответственно. По сравнению с осенним периодом сбора у катушки роговой повышена концентрация РНК в весенний период сбора в 1,6 раза.

Данные особенности обмена веществ катушки роговой и прудовика обыкновенного связаны с экологией оз. Будовесть Шумилинского района и его прибрежной зоны. Озеро подвергается слабой антропогенной нагрузке, так как не используется в промышленных

и сельскохозяйственных целях и в него не осуществляется сброс сточных вод, что доказывается низким содержанием ионов меди (меньше значения ПДК), незначительно превышающим значения ПДК, содержанием железа и цинка в почве и как следствие слабая активность протеазы, уреазы и каталазы, низким значением катионов магния и кальция в воде по сравнению с пробами воды из других районов, что не оказывает существенного влияния на показатели обмена веществ у *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis* [7].

Моллюски из оз. Любенское Гомельского района характеризуются следующими показателями обмена веществ (таблица 6).

Таблица 6 — Показатели обмена веществ в гепатопанкреасе *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis* из оз. Любенское Гомельского района ( $M \pm m$ )

Показатели	Сезон сбора	
	Весна ( $n = 9$ )	Осень ( $n = 9$ )
<i>Planorbarius corneus</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	229,82 ± 1,70	250,46 ± 2,36
ДНК (мг/г)	1,98 ± 0,40 <sup>1</sup>	3,11 ± 0,05
РНК (мг/г)	12,72 ± 0,15 <sup>1</sup>	8,93 ± 0,20
<i>Lymnaea stagnalis</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	227,42 ± 2,43	229,16 ± 3,89
ДНК (мг/г)	1,75 ± 0,41 <sup>1</sup>	2,62 ± 0,06
РНК (мг/г)	10,95 ± 0,37 <sup>1</sup>	7,90 ± 0,01

Примечание. <sup>1</sup> $p < 0,05$  по сравнению с осенним периодом сбора моллюсков.

Содержание общего белка в гемолимфе повышено в осенний период у *L. stagnalis* в 1,6 раза. Уровень ДНК в гепатопанкреасе катушки роговой и прудовика обыкновенного увеличивается от весны к осени в 1,6 и 1,5 раза соответственно. По сравнению с осенним периодом сбора у обоих видов моллюсков повышено содержание РНК в весенний период в 1,4 раза.

Данные особенности обмена веществ лёгочных пресноводных моллюсков связаны с экологическими характеристиками оз. Любенское Гомельского района. Существенное влияние

на экологическое состояние озера оказывает хозяйственная деятельность человека. Основными источниками загрязнения поверхностных вод являются промышленные, бытовые и ливневые сточные воды, атмосферные осадки и газодымовые выбросы. Озеро Любенское характеризуется высоким содержанием растворённых органических веществ. Прозрачность воды в озере низкая; радиационное загрязнение — умеренное [7].

Моллюски из р. Припять Мозырского района характеризуются следующими показателями обмена веществ (таблица 7).

Таблица 7 — Показатели обмена веществ в гемолимфе и гепатопанкреасе *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis* из р. Припять Мозырского района ( $M \pm m$ )

Показатели	Сезон сбора	
	Весна ( $n = 9$ )	Осень ( $n = 9$ )
<i>Planorbarius corneus</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	208,37 ± 1,66	227,79 ± 2,34
ДНК (мг/г)	1,90 ± 0,41 <sup>1</sup>	2,98 ± 0,04
РНК (мг/г)	12,77 ± 0,16 <sup>1</sup>	8,33 ± 0,04
<i>Lymnaea stagnalis</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	189,51 ± 2,18	214,41 ± 2,33
ДНК (мг/г)	1,61 ± 0,24 <sup>1</sup>	2,72 ± 0,04
РНК (мг/г)	12,73 ± 0,26 <sup>1</sup>	8,33 ± 0,02

Примечание. <sup>1</sup> $p < 0,05$  по сравнению с осенним периодом сбора моллюсков.



Содержание общего белка в гемолимфе повышено в осенний период у *L. stagnalis* в 1,3 раза. Уровень ДНК в гепатопанкреасе катушки роговой увеличивается от весны к осени в 1,6 раза, у прудовика обыкновенного — в 1,5 раза. У обоих видов моллюсков повышен уровень РНК в весенний период в 1,5 раза по отношению к осеннему периоду. У катушки роговой и прудовика обыкновенного между сезонами года не обнаружены отличия в содержании общего белка (гепатопанкреас).

Данные характеристики обмена веществ *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis*

связаны с экологическими особенностями р. Припять и её прибрежной зоны. Река Припять является одним из крупнейших водных объектов в Чернобыльской зоне. Протекая по радиационно-загрязнённым территориям, р. Припять играет исключительную роль в переносе радионуклидов за пределы зоны отчуждения. Вынос радионуклидов с водой р. Припять является наибольшим в сравнении с другими путями (воздушным, техногенным, биогенным и т. д.) [7].

Моллюски из р. Друть Рогачёвского района характеризуются следующими показателями обмена веществ (таблица 8).

Таблица 8 — Показатели обмена веществ в гемолимфе и гепатопанкреасе *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis* из р. Друть Рогачёвского района ( $M \pm m$ )

Показатели	Сезон сбора	
	Весна (n = 9)	Осень (n = 9)
<i>Planorbarius corneus</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	186,61 ± 1,73	219,50 ± 1,87
ДНК (мг/г)	1,94 ± 0,18 <sup>1</sup>	2,95 ± 0,08
РНК (мг/г)	12,81 ± 0,13 <sup>1</sup>	8,56 ± 0,14
<i>Lymnaea stagnalis</i>		
Общий белок (гепатопанкреас) (мг/г)	190,98 ± 1,94	208,23 ± 2,98
ДНК (мг/г)	1,41 ± 0,34 <sup>1</sup>	2,98 ± 0,08
РНК (мг/г)	12,65 ± 0,23 <sup>1</sup>	8,45 ± 0,39

Примечание. <sup>1</sup>p < 0,05 по сравнению с осенним периодом сбора моллюсков.

Уровень ДНК в гепатопанкреасе катушки роговой увеличивается от весны к осени в 1,5 раза, у прудовика обыкновенного — в 2,11 раза. У обоих видов моллюсков по сравнению с осенним периодом сбора повышен уровень РНК в весенний период сбора в 1,5 раза. У *Pl. corneus* повышено содержание мочевой кислоты в весенний период сбора в 1,4 раза, а у *L. stagnalis* — в 1,2 раза по сравнению с осенним периодом.

Река Друть протекает в Рогачёвском районе Гомельской области. Отсутствие крупных промышленных центров обуславливает достаточно хорошее качество воды в реке в данном регионе. По показателям уровня загрязнения

она относится к категории относительно чистой. Однако вследствие Чернобыльской аварии данный регион загрязнён радионуклидами. В донных отложениях и в живых организмах уровень загрязнения радионуклидами в разной степени превышает ПДК [5].

#### Заключение

Биохимические показатели способны варьироваться в определённых пределах в зависимости от различных факторов, тем самым указывая на возможные отклонения в работе клеток, тканей или целых органов.

Изменения в содержании ключевых показателей метаболизма у моллюсков в весенний

и осенний периоды сбора могут быть связаны с изменением состава питательных веществ, физической и физиологической активности организмов и внешнего воздействия факторов окружающей среды. Так, показатели в осенний период сбора выше, чем в весенний, вследствие того, что осенью моллюски готовятся впасть в анабиоз и организм активно накапливает питательные вещества. Низкие значения исследуемых показателей весной объясняются выходом моллюсков из анабиоза, в течение которого гидробионты расходовали запасённые питательные вещества. Проведённые исследования показали, что содержание ДНК, РНК и общего

белка в гемолимфе и гепатопанкреасе двух видов лёгочных пресноводных моллюсков, отличающихся по типу транспорта кислорода, закономерно зависит от сезона и может отличаться в связи с особенностями химического состава водной среды обитания.

Таким образом, на примере данных видов моллюсков можно организовать научно-исследовательскую работу для школьников, позволяющую им сформировать целостное представление о строении и метаболизме пресноводных лёгочных гидробионтов, а также установить факторы, влияющие на их обмен веществ.

#### Список библиографических источников

1. *Ахметов, М. А. К методике применения средств наглядности при формировании химических понятий / М. А. Ахметов, О. Н. Исаева, Н. Н. Пильникова // Химия в школе. — 2010. — № 4. — С. 28–31.*
2. *Борздун, В. Н. Исследовательская деятельность в школе: критерии оценки / В. Н. Борздун // Методист. Научно-методический журнал. — 2003. — № 6. — С. 48–51.*
3. *Леонтович, А. В. Модель научной школы и практика организации исследовательской деятельности учащихся / А. В. Леонтович // Школьные технологии. — 2001. — № 5. — С. 146–149.*
4. *Полозова, Н. Ю. Организация научно-исследовательской работы учащихся: использование биохимических стандартных наборов при исследовании лёгочных моллюсков / Н. Ю. Полозова, Е. И. Кацнельсон, О. М. Балаева // Біялогія і хімія. — 2019. — № 4.*
5. *Полосин, В. С. Некоторые примеры развития познавательного интереса учащихся / В. С. Полосин // Химия в школе. — 1992. — № 3. — С. 18–19.*
6. *Чиркин, А. А. Сравнительный биохимический анализ тканей лёгочных пресноводных моллюсков, обитающих в озёрах Витебской и Гомельской областей Республики Беларусь / А. А. Чиркин [и др.] // Научные труды SWorld. Иваново. — 2018. — Т. 1. — № 51.*
7. *Данченко, Е. О. Действие сульфатов железа и меди на некоторые показатели свободно-радикальных процессов в тканях лёгочных пресноводных моллюсков / Е. О. Данченко, А. А. Чиркин, А. В. Якименко // Свободные радикалы в химии и жизни: сб. тезисов докладов 2-й Межд. конф., Минск, 19–20 сентября 2017 г. — Минск : Издательский центр БГУ, 2017. — С.75–76.*

### Информация для подписчиков и авторов!

Информируем вас, что с 1 января 2019 года изменилась периодичность выхода нашего издания. Журнал «Біялогія і хімія» выходит 1 раз в 2 месяца.