

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА

Кафедра екології та безпеки життєдіяльності

**МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
ДЛЯ ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ
З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
«БІОМОНІТОРИНГ»**

Освітній рівень: другого рівня вищої освіти (магістр)
Галузь знань: 09 – Біологія
Спеціальність: 091 – Біологія та біохімія
Освітня програма: Агробіологія

УМАНЬ 2024

Підготовлено:

кандидатом біологічних наук, доцентом Н.О. Гнатюк
кандидатом сільськогосподарських наук, доцентом О. В. Василенко.

Рецензент – доктор с.-г. наук Улянич О. І. (Уманський національний університет садівництва)

Затверджено на засіданні кафедри екології та безпеки життєдіяльності
(протокол № 1 від 07 серпня 2024 року)

Методичні рекомендації рекомендовані до видання науково-методичною комісією факультету плодоовочівництва, екології та захисту рослин
Уманського НУС
(протокол № 1 від 09 серпня 2024 року)

Гнатюк Н.О., Василенко О. В.

Методичні рекомендації для виконання лабораторних робіт з дисципліни «Біомоніторинг» для студентів ОР «Магістр» спеціальності 091 «Біологія та біохімія». Умань: Уманський НУС: Редакційно-видавничий відділ, 2024. – 53 с.

© Уманський НУС, 2024 рік

© Гнатюк Н.О., 2024 рік

Василенко О. В., 2024 рік

ЗМІСТ

ВСТУП	4
Лабораторна робота №1. Фактори, індикатори та показники в системі моніторингу довкілля.....	8
Лабораторна робота №2. Суб'єкти системи моніторингу довкілля в Україні.....	11
Лабораторна робота №3. Оцінка забрудненості атмосферного повітря за допомогою лишайників (ліхеноіндикація).....	13
Лабораторна робота №4. Експрес-аналіз якості повітря за допомогою сосни звичайної (<i>Pinus sylvestris</i>).....	20
Лабораторна робота №5. Оцінка стабільності розвитку деревних рослин за рівнем асиметрії морфологічних структур (на прикладі Берези повислої <i>Betula pendula</i> L.).....	23
Лабораторна робота №6. Методика оцінки токсичності водних джерел та ґрунтів за допомогою «Ростового тесту».....	30
Лабораторна робота №7. Біотестування якості води з використанням рачків виду <i>DAPHNIA MAGNA S.</i>	38
Лабораторна робота №8. Фітоіндикація ґрунту.....	44
Лабораторна робота №9. Відбір проб об'єктів навколишнього середовища для біоіндикаційних досліджень.....	49

ВСТУП

Навчальна дисципліна «Біомоніторинг» належить до обов'язкових дисциплін, вивчення яких передбачено освітньо-професійною програмою «Агробіологія» підготовки фахівців другого (магістерського) рівня вищої освіти за спеціальністю 091 Біологія та біохімія.

Мета вивчення навчальної дисципліни: є вивчення закономірностей поведінки біологічних об'єктів у відповідь на стресові впливи, що використовуються для біологічного моніторингу навколишнього середовища, оволодіння методами біотестування і біоіндикації.

Основні завдання навчальної дисципліни: вивчення основних принципів і методів біомоніторингу та біотестування, оволодіння методами біотестування природних і антропогенно трансформованих екосистем, застосовувати методичні основи виконання практичних біологічних досліджень, набуття здобувачами вищої освіти вмінь використовувати одержані знання і навички у сільськогосподарському виробництві.

Місце навчальної дисципліни в структурно-логічній схемі освітньо-професійної програми: дисципліна вивчається в третьому семестрі на другому курсі навчання, вивченню змісту дисципліни передують вивчення таких дисциплін як «Сучасні методи та організація наукових досліджень біологічних об'єктів в аграрній сфері» та «Фізіологія адаптації рослин».

Вивчення навчальної дисципліни «Біомоніторинг» передбачає формування та розвиток у здобувачів компетентностей і програмних результатів навчання відповідно до освітньо-професійної програми «Агробіологія» спеціальності 091 Біологія та біохімія (табл. 1).

Таблиця 1

Матриця компетентностей і програмних результатів навчання, що формуються під час вивчення навчальної дисципліни «Біомоніторинг»

Шифр компетентності	Компетентності	Шифр програмних результатів навчання	Програмні результати навчання
Загальні компетентності (ЗК)			
ЗК06	Здатність проведення досліджень на відповідному рівні	ПР04	Розв'язувати складні задачі в галузі біології, генерувати та оцінювати ідеї.
		ПР06	Аналізувати біологічні явища та процеси на молекулярному, клітинному, організменному, популяційно-видовому та біосферному рівнях з точки зору фундаментальних загальнонаукових знань, ї а також за використання спеціальних сучасних методів досліджень.

		ПР12	Використовувати інноваційні підходи для розв'язання складних задач біології за невизначених умов і вимог.
Спеціальні (фахові) компетентності (СК)			
СК04	Здатність аналізувати і узагальнювати результати досліджень різних рівнів організації живого, біологічних явищ і процесів.	ПР04	Розв'язувати складні задачі в галузі біології, генерувати та оцінювати ідеї.
		ПР06	Аналізувати біологічні явища та процеси на молекулярному, клітинному, організменному, популяційно-видовому та біосферному рівнях з точки зору фундаментальних загальнонаукових знань, і а також за використання спеціальних сучасних методів досліджень.
		ПР07	Описувати й аналізувати принципи структурно-функціональної організації, механізмів регуляції та адаптації організмів до впливу різних чинників.
		ПР16	Критично осмислювати теорії, принципи, методи з різних галузей біології для вирішення практичних задач і проблем
СК06	Здатність прогнозувати напрямки розвитку сучасної біології на основі загального аналізу розвитку науки і технологій.	ПР04	Розв'язувати складні задачі в галузі біології, генерувати та оцінювати ідеї.
		ПР07	Описувати й аналізувати принципи структурно-функціональної організації, механізмів регуляції та адаптації організмів до впливу різних чинників.
		ПР16	Критично осмислювати теорії, принципи, методи з різних галузей біології для вирішення практичних задач і проблем
СК07	Здатність діагностувати стан біологічних систем за результатами дослідження організмів різних рівнів організації.	ПР07	Описувати й аналізувати принципи структурно-функціональної організації, механізмів регуляції та адаптації організмів до впливу різних чинників.
		ПР16	Критично осмислювати теорії, принципи, методи з різних галузей біології для вирішення практичних задач і проблем

Методи навчання та засоби діагностики, що відповідають визначеним результатам навчання за навчальною дисципліною «Біомоніторинг», наведено в табл. 2, 3.

Таблиця 2

Результати, методи навчання та методи контролю за навчальною дисципліною «Біомоніторинг»

Результати навчання за навчальною дисципліною		Методи навчання	Методи контролю
1	Знання:		
1.1	Знання та розуміння факторів формування екологічних ризиків та методик їх оцінки на окремих територіях та проведення досліджень.	лекція, лабораторне заняття, дискусія, вирішення конкретних задач і ситуацій, кейс-метод, самонавчання через Moodle	усне опитування, експрес-контроль, тестування, участь у дискусії, контрольна (модульна) робота, підсумковий контроль
1.2	Знання сучасних методів та інструментальних засобів досліджень		
1.3.	Розуміння процесів взаємодії між природними, соціальними і техногенними складовими навколишнього середовища.		
2	Уміння/навички:		
2.1	Аналізувати і прогнозувати процеси взаємодії між окремими складовими навколишнього середовища	лекція, лабораторне заняття, дискусія, вирішення конкретних задач і ситуацій, кейс-метод, самонавчання через Moodle	усне опитування, тестування, участь у дискусії, контрольна (модульна) робота, підсумковий контроль
2.2	Використовувати відомі теоретичні та практичні інструменти для проведення досліджень та інноваційної діяльності у галузі біології та екології		
3	Комунікація:		
3.1	Здатність зрозуміло і недвозначно доносити власні знання, висновки, а також пояснення, що їх обґрунтовують, до фахівців і нефахівців	лабораторне заняття, вирішення конкретних задач	участь у дискусії, усне опитування, підсумковий контроль
4	Відповідальність і автономія		
4.1	Проведення досліджень та реалізація проектів (особисто та у складі команди), спрямованих на вирішення локальних та	дискусія, лабораторне заняття, вирішення	представлення виконання вирішених конкретних задач і

	регіональних біологічних, екологічних проблем у галузі екології та природокористування	конкретних задач	ситуацій, усне опитування, підсумковий контроль
4.2	Планування та реалізація комплексних заходів або проєктів, спрямованих на розв'язання практичних проблем у сфері біології, екології та природокористування		

Таблиця 3

Методи навчання та методи контролю програмних результатів навчання з навчальної дисципліни «Біомоніторинг»

Програмний результат навчання		Метод навчання	Методи контролю
ПР04	Розв'язувати складні задачі в галузі біології, генерувати та оцінювати ідеї	Лекція, лабораторні заняття, вирішення конкретних задач і ситуацій, кейс-метод, самонавчання через Moodle	усне опитування, експрес-контроль, тестування, виконання командних завдань, контрольна (модульна) робота, підсумковий контроль
ПР06	Аналізувати біологічні явища та процеси на молекулярному, клітинному, організменному, популяційно-видовому та біосферному рівнях з точки зору фундаментальних загальнонаукових знань, і а також за використання спеціальних сучасних методів досліджень.	Лабораторні заняття, вирішення конкретних задач і ситуацій, кейс-метод, самонавчання через Moodle	усне опитування, експрес-контроль, тестування, виконання командних завдань, контрольна (модульна) робота, підсумковий контроль

ПР07	Описувати й аналізувати принципи структурно-функціональної організації, механізмів регуляції та адаптації організмів до впливу різних чинників.	Лабораторні заняття з вирішення професійно-орієнтованих задач, кейс-метод	Усне опитування, тестування, виконання завдань, контрольна (модульна) робота
ПР12	Використовувати інноваційні підходи для розв'язання складних задач біології за невизначених умов і вимог.	Лабораторні заняття з вирішення професійно-орієнтованих задач, кейс-метод	Усне опитування, тестування, виконання завдань, контрольна (модульна) робота
ПР16	Критично осмислювати теорії, принципи, методи з різних галузей біології для вирішення практичних задач і проблем	Лабораторні заняття з вирішення професійно-орієнтованих задач, кейс-метод	Усне опитування, тестування, виконання завдань, контрольна (модульна) робота, підсумковий контроль

Лабораторна робота №1.

Тема: Фактори, індикатори та показники в системі моніторингу довкілля

Мета роботи: основною метою лабораторної роботи є вивчення та аналіз факторів, індикаторів та показників у системі моніторингу довкілля.

Короткі теоретичні відомості

Моніторинг довкілля є важливою складовою управління природними ресурсами та охороною навколишнього середовища. Одним із ключових аспектів моніторингу є визначення факторів, індикаторів та показників, які визначають стан довкілля та дозволяють здійснювати ефективний контроль.

При здійсненні моніторингу стану біосфери необхідно організувати досить представницьку мережу спостережень (вимірювань) за найбільш важливими факторами впливу і показниками стану навколишнього природного середовища. В залежності від конкретної задачі моніторингу ці фактори і показники можуть бути різними.

При визначенні індикаторів та показників слід шукати компроміс між достовірністю і доступністю інформації. При цьому втрати інформації мають бути мінімальними, а сам показник повинен забезпечувати:

- інформативність, реальність і можливість практичної реалізації;
- спрощення інформації таким чином, щоб допомогти уповноваженим особам приймати обґрунтовані рішення, а громадськості – зрозуміти проблему.

Показники спрощують складну реальність і є «вижимкою» інформації, отриманої в процесі добору та аналізу даних моніторингу. Більшість екологічних показників слід розглядати у нерозривному взаємозв'язку між собою.

Як правило, показники розробляють для:

- допомоги у виробленні оптимальної екологічної політики;
- порівняння країн та регіонів;
- формування розуміння проблеми; вивчення взаємозв'язку з діяльністю промисловості, причинно-наслідкових зв'язків та синергізму.

Таким чином, критерії вибору показників повинні враховувати і їх політичне значення. В Європейській агенції з навколишнього середовища (ЄАНС; англ. – ЕЕА) виділяють п'ять типів інтегральних показників.

Описові показники (А). Наприклад, частка органічного землеробства на всіх сільгоспугіддях, %.

Показники виконання (В) – показники, що характеризують хід виконання намічених цілей (викиди парникових газів).

Показники ефективності (С) – показники, що характеризують екологічну ефективність, наприклад, рівень викидів на одиницю ВВП.

Показники політичної ефективності (D) – показники, що характеризують зв'язок змін навколишнього середовища з політичними заходами (реагування).

Сумарні показники добробуту (Е) – показники, що характеризують розвиток суспільства, наприклад, показники сталого розвитку. Виходячи з основних задач системи моніторингу довкілля, необхідно, насамперед знаходити фактори, які призводять до найбільш серйозних, довгострокових змін у навколишньому середовищі (і джерела таких збурень), а також виявляти елементи біосфери, найбільш чутливі до таких збурень, або критичні ключові елементи, пошкодження яких може призводити до гибелі екосистем. Необхідно відмітити, що визначення пріоритетів для підсистем моніторингу при вирішенні різних задач може призвести до різних результатів для одного і того ж фактора збурення. Наприклад, збитки від збільшення CO₂ в атмосфері для деяких екосистем незначні, а в багатьох випадках збільшення CO₂ навіть корисне – воно сприяє збільшенню продуктивності рослин. З іншого боку, накопичення CO₂ призводить до парникового ефекту і можливих змін клімату з різними негативними наслідками для біосфери.

На першій нараді з моніторингу в Найробі (1974 р.) було розроблено метод, вибрано критерії та визначено пріоритетність різних забруднювальних речовин. Знайдені пріоритети було розбито на вісім класів (чим вищий клас, тобто менший його порядковий номер, тим вищий пріоритет) з визначенням середовища і типу програми вимірювань («І» — імпактний, «Р» — регіональний, «Б» — базовий і «Г» — глобальний).

Якщо говорити про спостереження за територіями, то найвищий пріоритет мають міста та зони, з яких беруть питну воду. Серед середовищ вищий пріоритет мають атмосферне повітря та вода прісних водойм (особливо малопроточних). Для повітря найважливішими інгредієнтами є пил, оксиди сірки, вуглецю та азоту, важкі метали, бенз(а)пірен та пестициди.

Для води – біогенні продукти, феноли та нафтопродукти. Серед джерел забруднень найвищий пріоритет мають автомобільний транспорт, ТЕС,

підприємства кольорової металургії тощо.

Моніторинг охоплює спостереження за джерелами і факторами антропогенного впливу – хімічними, фізичними (випромінювання, механічні дії) та біологічними, а також за ефектами, які викликають різні дії у навколишньому середовищі, в першу чергу за реакцією біологічних систем.

Особливо поширеними вважаються інтегральні показники стану природних систем.

Інтегральними показниками, які характеризують зміни в екологічній рівновазі, вважають такі:

- збалансованість біологічної продуктивності (відношення первинної біологічної продуктивності до вторинної);
- швидкість утворення біологічної продукції (відношення біопродуктивності до загальної біомаси);
- інтенсивність кругообігу біогенних речовин.

Практична частина завдання:

1. Ознайомлення із поняттями: фактор, індикатор, показник.

1.1. Розгляньте визначення та ролі факторів, індикаторів та показників у контексті моніторингу довкілля.

1.2. Визначте, які фактори впливають на стан довкілля та чому їх важливо враховувати.

2. Класифікація факторів довкілля.

2.1. Складіть класифікацію факторів довкілля за їхнім впливом та джерелами походження.

2.2. Дайте приклади кожного класу факторів.

2.3. Заповніть таблицю.

Класифікація	Приклади факторів	Джерела походження
Фізичні фактори		
Хімічні фактори		
Біологічні фактори		

3. Індикатори та їх роль у моніторингу.

3.1. Поясніть, що таке індикатори та яку роль вони відіграють у системі моніторингу довкілля.

3.2. Оберіть конкретні індикатори та поясніть, чому вони є важливими для оцінки стану довкілля.

3.3. Заповніть таблицю.

Індикатор	Опис	Роль у моніторингу
Індекс якості повітря		
Біорізноманіття		
Водні показники		

4. Показники та їх вимірювання.

4.1. Визначте, що таке показники та як їх вимірювати.

4.2. Подайте приклади показників, які застосовуються у моніторингу довкілля.

4.3. Заповніть таблицю показників якості повітря (5–6 основних показників, перша стрічка – зразок заповнення).

Показник	Одиниці вимірювання	Спосіб вимірювання	Рівень норми
<i>Кількість твердих часток у повітрі</i>	<i>мг/м³</i>	<i>Лазерний дифузійний аналізатор</i>	<i>< 50 мг/м³</i>

Висновки:

У висновках роботи підбити підсумки проведеного дослідження щодо факторів, індикаторів та показників у системі моніторингу довкілля. Зазначити важливість цих елементів для ефективного управління та охорони природи.

Контрольні запитання:

1. Для чого розробляються показники моніторингу?
2. Опишіть 5 типів інтегральних показників.
3. Які інгредієнти для повітря найважливіші для фіксації?
4. Які інгредієнти для води найважливіші для фіксації?
5. Назвіть інтегральні показники, які характеризують зміни в екологічній рівновазі.

Лабораторна робота №2.

Тема: Суб'єкти системи моніторингу довкілля в Україні

Мета роботи: система моніторингу довкілля в Україні є складною та має ряд суб'єктів, які взаємодіють для забезпечення ефективного контролю та управління станом природи. Метою роботи є аналіз основних суб'єктів системи моніторингу довкілля в Україні та визначення їхньої ролі та функцій.

Короткі теоретичні відомості

Система моніторингу довкілля в Україні включає ряд суб'єктів, які беруть участь у зборі, аналізі та поширенні інформації про стан природи та екологічні процеси.

Основні суб'єкти системи моніторингу довкілля в Україні включають:

1. Державна служба з екологічної безпеки України (ДСЕБУ):

Функції: Розробка та впровадження державної екологічної політики, контроль за дотриманням екологічного законодавства, моніторинг стану природних ресурсів.

2. Міністерство екології та природних ресурсів України:

Функції: Розробка та виконання стратегії управління природними ресурсами, контроль за використанням лісових, водних та інших ресурсів, регулювання викидів.

3. Місцеві органи влади:

Функції: Здійснення контролю та моніторингу стану довкілля на місцевому рівні, ведення обліку викидів та забруднення, розробка та виконання програм екологічного захисту.

4. Наукові установи та дослідницькі інститути:

Функції: Здійснення наукових досліджень стану довкілля, розробка методик та технологій моніторингу, надання наукових рекомендацій для поліпшення екологічної ситуації.

5. Громадські екологічні організації:

Функції: Участь у моніторингу діяльності підприємств, захист прав та інтересів громадян у сфері довкілля, участь у розробці та впровадженні проектів з екологічного захисту.

6. Міжнародні організації та програми:

Функції: Співпраця з міжнародними екологічними організаціями, участь в глобальних програмах з охорони довкілля, обмін інформацією та досвідом.

Ці суб'єкти спільно забезпечують ведення моніторингу довкілля в Україні та впроваджують заходи для покращення екологічної ситуації.

Практична частина завдання:

1. Аналіз структури системи моніторингу довкілля в Україні.

- Розгляд організацій та установ, які беруть участь у системі моніторингу.

- Створення таблиці із зазначенням основних суб'єктів та їх функцій.

-

Таблиця 1: Основні суб'єкти системи моніторингу довкілля в Україні

Суб'єкт	Функції та обов'язки
Державна служба з екологічної безпеки України	
Міністерство екології та природних ресурсів України	
Громадські екологічні організації	

2. Участь наукових та громадських організацій.

- Аналіз внеску наукових та громадських організацій у моніторинг довкілля.

- Створення таблиці з описом діяльності наукових та громадських суб'єктів.

Таблиця 2: Діяльність наукових та громадських суб'єктів

Організація	Діяльність
Інститут екології та географії	
Громадська екологічна організація "Екологічний Світ"	

Організація	Діяльність

3. Міжнародна співпраця в галузі моніторингу довкілля.
- Розгляд участі України в міжнародних екологічних проектах та програмах.
 - Створення таблиці із зазначенням міжнародної співпраці в галузі моніторингу.

Таблиця 3: Міжнародна співпраця в галузі моніторингу довкілля

Міжнародна організація	Участь України, проекти та програми
Європейська агенція з екології	
UN Environment	

Висновки

В ході виконання завдань було проведено аналіз суб'єктів системи моніторингу довкілля в Україні. Визначено роль державних органів, наукових та громадських організацій у цій системі, а також розглянуто міжнародну співпрацю в галузі моніторингу. Це допомагає зрозуміти взаємодію різних суб'єктів для забезпечення ефективного контролю та управління станом довкілля.

Контрольні запитання:

1. Опишіть основні задачі суб'єктів моніторингу довкілля в Україні.
2. Які функції Державної служби з екологічної безпеки України (ДСЕБУ) в системі екологічного моніторингу?
3. Які функції Міністерства екології та природних ресурсів України в системі екологічного моніторингу?
4. Які функції громадських екологічних організацій в системі екологічного моніторингу?
5. Опишіть міжнародні організації та програми в галузі екологічного моніторингу

Лабораторна робота №3.

Тема: Оцінка забрудненості атмосферного повітря за допомогою лишайників (ліхеноіндикація)

Мета роботи: навчитися оцінювати ступінь забруднення атмосферного повітря шкідливими речовинами за допомогою лишайників.

Короткі теоретичні відомості

Лишайники – своєрідна група комплексних організмів – гриба (мікобіонта) й водорості (фікобіонта), які утворюють єдине симбіотичне співжиття, що відрізняється вільними морфологічними типами й особливими фізіологобіохімічними процесами. Вегетативне тіло лишайника, яке називають талломом або сланню, цілком складається з переплетення грибних гіфів.

Водорості або розкидані безсистемно серед грибних гіфів у всій товщі слані (рис. 1а), або розташовані окремим диференційованим шаром трохи нижче її поверхні. (рис. 1б).

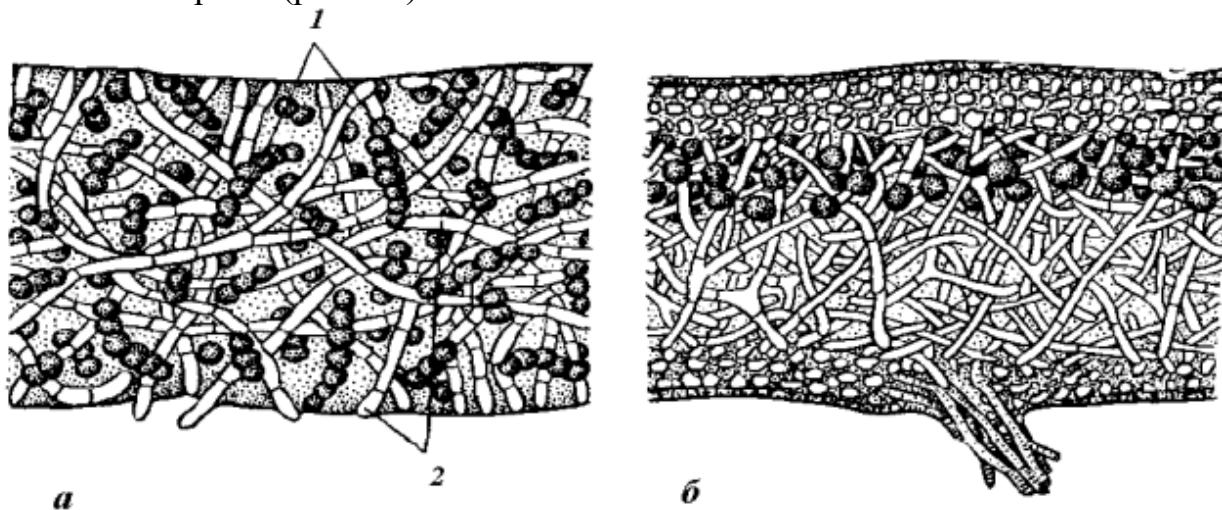


Рис. 1. Клітини водорості, охоплені гіфами гриба: а – поперечний розріз гомеомірного таллому; б – поперечний розріз гетеромірного таллому (1 – клітини водорості, 2 – гіфи гриба)

Водоростевий та грибний компоненти лишайника перебувають у дуже складних взаєминах. Мікобіонт поводить себе як паразит і сапрофіт на тілі водорості, а фікобіонт, у свою чергу, паразитує на лишайниковому грибі. При цьому паразитизм фікобіонта завжди носить більш помірний характер, ніж паразитизм гриба.

Слань лишайників дуже різноманітна за розмірами, формою, будовою та забарвленням. Залежно від зовнішнього вигляду розрізняють три основних морфологічних типи лишайників:

1. Накипні, таллом яких являє собою скоринку, що міцно зчеплена зі субстратом (корою дерева, поверхнею каменя) (рис. 2). Такі лишайники неможливо відокремити від субстрату без ушкодження. Як правило, накипні слані мають невеликі розміри, а їхній діаметр становить кілька міліметрів або сантиметрів (іноді може досягати й 20–30 см).

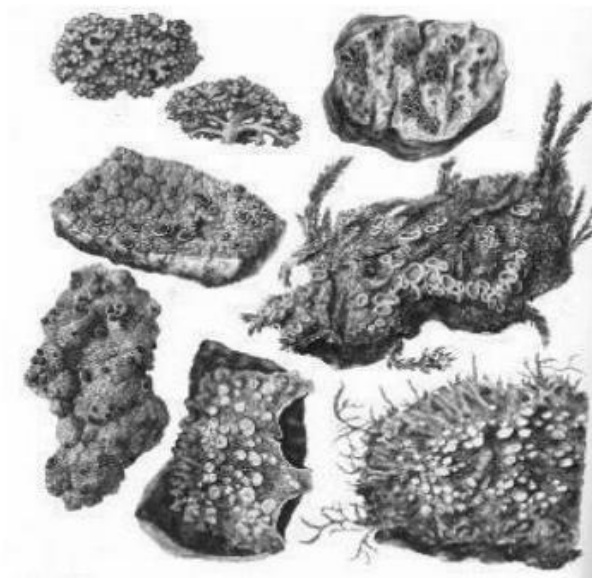


Рис. 2. Накипні лишайники

2. Листуваті, таллом яких має вигляд лусочок або листовидних пластинок (рис. 3). Найбільш проста слань листуватих лишайників має вигляд однієї великої округлої листовидної пластинки, що досягає в діаметрі 10–20 см. Слань, що складається з однієї листовидної пластинки, зветься монофільною. Монофільна пластинчаста слань звичайно прикріплюється до субстрату тільки у своїй центральній частині за допомогою товстої короткої ніжки, що називають гомфом. Більш складною за будовою є листувата слань, розсічена на безліч дрібних лопастей. Як правило, вони зібрані в округлі розетки, але іноді утворюють слані невизначених, нескінченно різноманітних форм.

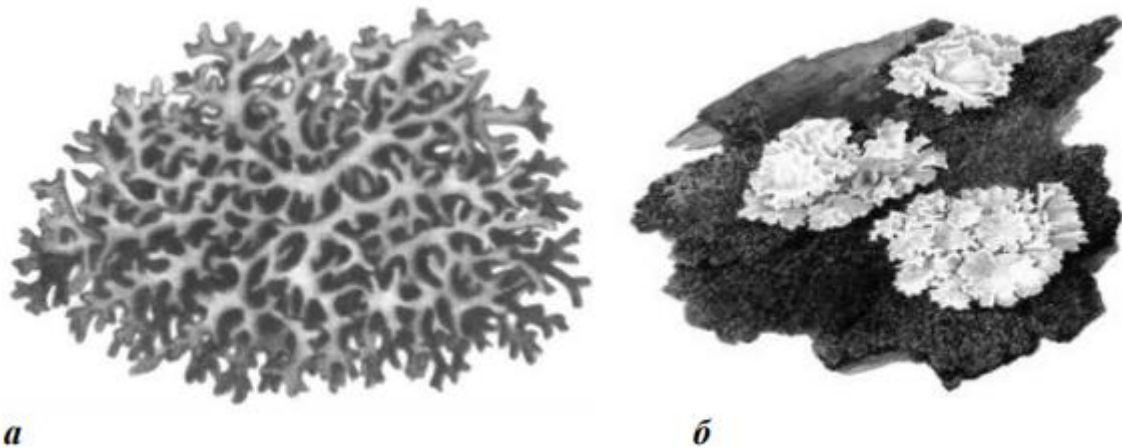


Рис. 3. Листуваті лишайники: а – пармелія ; б – цетрарія

Характерною рисою нижньої поверхні листуватих лишайників є те, що вона майже завжди утворює особливі органи, за допомогою яких листуватий лишайник прикріплюється до субстрату. На відміну від накипних лишайників, слань яких щільно зростається із субстратом, листуваті лишайники звичайно досить слабо з ним зв'язані й, у більшості випадків, можуть бути легко відділені від субстрату.

3. Рунисті, таллом яких складається з гілочок або звисаючих «борід» (рис.

4). За організаційним рівнем рунисті лишайники представляють собою вищий етап розвитку слані. На відміну від накипних і листуватих форм лишайників, для яких характерний горизонтальний ріст гіфів, у рунистих лишайників спостерігається вертикально спрямований ріст гіфів і верхівковий ріст сланей.

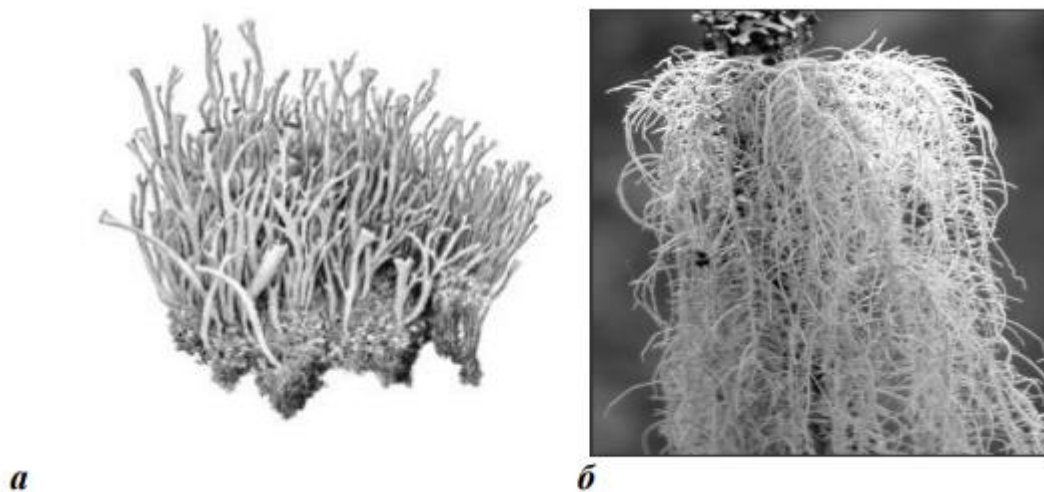


Рис. 4. Рунисті лишайники: а – кладонія; б – уснея

Рунисті лишайники звичайно прикріплюються до субстрату тільки невеликою ділянкою нижньої частини слані. Прямостоячі рунисті лишайники найчастіше прикріплюються до ґрунту тонкими різьдами (грец. *rhiza* – корінь й *eidos* – вид) – нитковидними утвореннями, які виконують у грибів функцію кореня.

Особливості використання лишайників для цілей біоіндикації. Все необхідне для життя лишайники отримують із повітря й атмосферних опадів, і при цьому не мають спеціальних пристосувань, що запобігають надходженню в їхні тіла різних забруднювачів.

Таллом лишайника не має кутикули, тому поглинання елементів проходить дуже швидко, і шкідливі речовини легко накопичуються без можливості виділення. Надходячи в таллом, такі з'єднання руйнують хлоропласти водоростей, рівновага між компонентами лишайника порушується, і організм гине. Тому багато видів лишайників швидко зникають з територій, підданих значному забрудненню атмосферного повітря. Таким чином, лишайники є ідеальним об'єктом біоіндикації стану атмосферного повітря.

Вимогливість лишайників до чистоти повітря зростає в ряді «накипні → листуваті → рунисті». Тобто самими витривалими і толерантними є накипні лишайники. Листуваті проявляють середню чутливість до забруднення повітря, а рунисті лишайники зникають при перших симптомах забруднення.

Метод оцінки забруднення атмосферного повітря за допомогою лишайників одержав назву ліхеноіндикація. У ліхеноіндикації використовуються методи пасивного й активного спостереження. В процесі пасивного спостереження вивчають кількість лишайників та їх видів, а також розміри покриття лишайниками поверхні субстрату в природному біотопі. При активному спостереженні ступінь забруднення атмосферного повітря шкідливими речовинами оцінюють за кількістю ушкодженого таллому (% від загальної площі лишайника) і за вмістом забруднюючих речовин у слані лишайника.

Опис методу. Обирають район для дослідження й складають його карту з нанесенням ТЕС, заводів, потужних підприємств та великих автомагістралей. Розбивають досліджувану територію на квадрати розміром 10x10 м, 20x20 м, 50x50 м, 100x100 м (залежно від мети дослідження й розрідженості насаджень). У кожному квадраті вибирають 10 старих, але здорових дерев, що ростуть окремо. На кожному дереві підраховують кількість видів лишайників.

При цьому, точну назву видів знати не обов'язково – досить відрізнити їх за формою таллону. Потім проводять оцінку ступеня покриття деревного стовбура лишайником. Для цього на висоті 30–150 см на найбільш зарослу лишайниками частину кори дерева накладають рамку з розмірами 10x10 см і клітками 1x1 см (палетку).

Підраховують, який відсоток загальної площі рамки займають лишайники. Крім дерев, додатково можна досліджувати заростання лишайниками каменів, ділянок ґрунту, стін будинків і т.д. Отримані результати заносять в таблицю (табл.2).

Таблиця 4 – Результати ліхеноіндикації

Ознака	Дерева									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Кількість накипних лишайників										
Кількість листуватих лишайників										
Кількість рунистих лишайників										
Ступінь покриття площі рамки накипними лишайниками, %										
Ступінь покриття площі рамки листуватими лишайниками, %										
Ступінь покриття площі рамки рунистими лишайниками, %										

Потім підраховують частоту трапляння кожного виду лишайників за формулою:

$$A^{\text{виду}} = \frac{m^{\text{виду}}}{n} \cdot 100, \%$$

де $m^{\text{виду}}$ – кількість лишайників даного виду; n – загальна кількість дерев у досліджуваному квадраті (у нашому випадку $n=10$).

Визначають середній ступінь покриття площі рамки лишайниками кожного виду за формулою:

$$S^{\text{виду}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_i, \%$$

де S_i – ступінь покриття площі рамки лишайниками окремого дерева, %.

Після цього кожному отриманому значенню частоти зустрічальності лишайників певного виду $A^{\text{виду}}$ й ступеню їхнього покриття $S^{\text{виду}}$ привласнюють свій умовний бал оцінки: відповідно $a^{\text{виду}}$ й $s^{\text{виду}}$ за шкалою, наведеною в табл. 2.

Таблиця 2 – Оцінка частоти зустрічальності й ступеня покриття лишайниками за п'ятибальною шкалою

Умовний бал оцінки	Частота зустрічальності $A^{виду}$		Ступінь покриття $S^{виду}$	
	значення, %	оцінка	значення, %	оцінка
1	0-5,0	дуже рідко	0-5,0	дуже низький
2	5,1-20,0	рідко	5,1-20,0	низький
3	20,1-40,0	рідко	20,1-40,0	середній
4	40,1-60,0	часто	40,1-60,0	високий
5	60,1-100	дуже часто	60,1-100	дуже високий

Для кожного виду лишайників обчислюють середній умовний бал частоти зустрічальності й ступеню покриття за формулою:

$$M^{виду} = \frac{a_i^{виду} + S_i^{виду}}{2}$$

Після цього визначають показник відносної чистоти атмосфери:

$$Q = \frac{M^H + 2 \cdot M^L + 3 \cdot M^K}{30},$$

де M^H , M^L і M^K – середній умовний бал частоти зустрічаємості й ступеню покриття накипних, листоватих і рунистих лишайників, відповідно. За даним показником згідно шкали, наведеної в табл. 3, роблять висновки щодо ступеня забруднення атмосферного повітря.

Таблиця 3 – Шкала оцінки забруднення атмосферного повітря за результатами ліхеноіндикації

Показник відносної чистоти атмосфери Q	Оцінка забруднення
0,0-0,20	сильне («лишайникова пустеля»)
0,21-0,40	досить сильне
0,41-0,60	середнє
0,61-0,80	незначне
0,81-1,0	забруднення відсутнє

Приклад розрахунку

При дослідженні території парку методами ліхеноіндикації були отримані наступні результати (табл. 4).

Таблиця 4 – Результати ліхеноіндикації парку

Ознака	Дерева										Всього
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Кількість накипних лишайників	1	1	2	1	1	1	1	1	1	2	12
Кількість листоватих лишайників	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	7
Кількість рунистих лишайників	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2
Ступінь покриття площі рамки накипними лишайниками, %	60	50	90	60	60	50	40	80	60	70	620
Ступінь покриття площі рамки листоватими лишайниками, %	20	30	30	0	40	30	40	20	0	0	210
Ступінь покриття площі рамки рунистими лишайниками, %	0	0	0	0	0	0	0	5	0	10	15

За формулою підраховують частоту зустрічаємості кожного виду лишайників.

Частота зустрічаємості накипних лишайників:

$$A^H = \frac{m^H}{n} \cdot 100\% = \frac{12}{10} \cdot 100 = 120,0\%$$

Частота зустрічаємості листуватих лишайників:

$$A^L = \frac{m^L}{n} \cdot 100\% = \frac{7}{10} \cdot 100 = 70,0\%$$

Частота зустрічаємості рунистих лишайників:

$$A^K = \frac{m^K}{n} \cdot 100\% = \frac{2}{10} \cdot 100 = 20,0\%$$

За формулою визначають середній ступінь покриття площі рамки лишайниками кожного виду.

Ступінь покриття накипних лишайників:

$$S^H = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_i = \frac{1}{10} \cdot 620 = 62,0\%$$

Ступінь покриття листуватих лишайників:

$$S^L = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_i = \frac{1}{10} \cdot 210 = 21,0\%$$

Ступінь покриття рунистих лишайників:

$$S^K = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_i = \frac{1}{10} \cdot 15 = 1,5\%$$

За шкалою оцінки, отриманим значенням частоти зустрічальності лишайників певного виду $A^{\text{виду}}$ та ступеню їхнього покриття $S^{\text{виду}}$ привласнюють умовний бал оцінки $a^{\text{виду}}$ та $s^{\text{виду}}$:

$A^H=120,0\%$	\rightarrow	$a^H=5$	(дуже часто)
$A^L=70,0\%$	\rightarrow	$a^L=5$	(дуже часто)
$A^K=20,0\%$	\rightarrow	$a^K=2$	(рідко)
$S^H=62,0\%$	\rightarrow	$s^H=5$	(дуже висока)
$S^L=21,0\%$	\rightarrow	$s^L=3$	(середня)
$S^K=1,5\%$	\rightarrow	$s^K=1$	(дуже низька)

Для кожного виду лишайників обчислюють середній умовний бал частоти зустрічальності й ступеню покриття за формулою:

Середній умовний бал для накипних лишайників:

$$M^H = \frac{a_i^{\text{виду}} + S_i^{\text{виду}}}{2} = \frac{5+5}{2} = 5.$$

Середній умовний бал для листуватих лишайників:

$$M^L = \frac{a_i^{\text{виду}} + S_i^{\text{виду}}}{2} = \frac{5+3}{2} = 4.$$

Середній умовний бал для рунистих лишайників:

$$M^K = \frac{a_i^{\text{виду}} + S_i^{\text{виду}}}{2} = \frac{2+1}{2} = 1,5.$$

Після цього за формулою визначають показник відносної чистоти атмосфери:

$$Q = \frac{M^H + 2 \cdot M^I + 3 \cdot M^K}{30} = \frac{5 + 2 \cdot 4 + 3 \cdot 1,5}{30} = 0,58.$$

Висновки: Згідно оціночної шкали визначаємо, що атмосферне повітря на досліджуваній території парку має середній рівень забруднення.

Практична частина завдання:

Виконати оцінку забруднення атмосферного повітря за результатами дослідження території методом ліхеноіндикації. Варіанти вихідних даних наведені в нижче.

Варіант	Ознаки лишайників	Дерева									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Кількість накипних	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
	Кількість листуватих	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0
	Кількість рунистих	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
	Ступінь покриття площі рамки накипними лишайниками, %	60	70	90	60	60	50	50	80	60	0
	Ступінь покриття площі рамки листуватими лишайниками, %	0	30	30	0	40	30	10	20	0	0
	Ступінь покриття площі рамки рулистими лишайниками, %	0	0	0	0	0	5	0	5	0	10
2	Кількість накипних	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
	Кількість листуватих	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
	Кількість рунистих	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Ступінь покриття площі рамки накипними лишайниками, %	0	50	100	60	60	50	40	80	60	0
	Ступінь покриття площі рамки листуватими лишайниками, %	20	30	30	0	40	30	0	0	0	0
	Ступінь покриття площі рамки рулистими лишайниками, %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10

Звіт з лабораторної роботи повинен бути оформлений відповідно з наведеним вище прикладом розрахунку.

Контрольні запитання:

1. Що являють собою лишайники?
2. Будова міко- і фікобіонта.
3. Види лишайників. Їхні морфологічні особливості.
4. Переваги лишайників як біоіндикаторів якості атмосферного повітря.
5. Суть методу ліхеноіндикації.
6. Принцип обробки експериментальних даних.

Лабораторна робота №4.

Тема: Експрес-аналіз якості повітря за допомогою сосни звичайної (*Pinus sylvestris*)

Мета роботи: навчитися проводити експрес-аналіз якості повітря з використанням сосни звичайної (*Pinus sylvestris*).

Короткі теоретичні відомості

Рослини, які зростають в місті, найбільше страждають від вихлопних газів автомобілів і викидів підприємств. Вони рано старіють, рідшає і спотворюються їх крона, завчасно опадає листя і хвоя. У сосен, що ростуть в місті, поблизу великої кількості промислових підприємств, хвоя опадає тим швидше, чим сильніше забруднене атмосферне повітря. У нормі хвоя сосни звичайної опадає через 3-4 роки, тоді як поблизу від промислових підприємств значно раніше. Встановлено, що хвоя сосни звичайної найбільш чутлива до забруднення атмосферного повітря, тому ця рослина входить в основний список рослинних біоіндикаторів рівня забруднення атмосферного повітря. Підвищена чутливість хвоїнок пов'язана з тривалим терміном життя хвої, активним поглинанням газів, а також зниженням маси хвої, хвойні рослини зручні тим, що можуть служити біоіндикаторами цілий рік. Це рослина невибаглива до місцевих кліматичних умов ґрунтів і вологи.

Проникаючи в тканини рослин шкідливі сполуки в різних концентраціях надходять в провідні судини, і вражають практично всі тканини рослини, найбільш чутливі і наочні пошкодження вони надають на хвою сосни. При підвищенні концентрацій перевищують адаптивні здатності хвої сосни, що нейтралізують і протистоять пошкодженню відбуваються глибокі зміни у всьому організмі рослини на молекулярному рівні, в результаті це проявляється на морфології рослини-індикатори відбувається зміна структури клітин судин, тканин. Глибокі органічні порушення в життєдіяльності ведуть, по всій видимості, до скорочення припливу води, мінеральних речовин і подальшого відмирання клітин і тканин.

У викидах стаціонарних джерел переважне значення мають такі речовини як діоксид сірки, оксид вуглецю, оксиди азоту, тверді речовини. Від промислових джерел в атмосферної повітря надходить більше 150 найменувань, забруднюючих речовин (включаючи метали, бенз (о) пірену, діоксиду сірки та специфічних високотоксичних шкідливих речовин.

У загальному обсязі сумарного забруднення речовин основна частка припадає на енергетичну, нафтогазову і металургійну галузі. Потрапляючи на хвою у якості пилу ці речовини, проникаючи через кутикули всередину клітин викликають некротичні плями, а далі повне відмирання хвоїнок.

На пагонах хвої поблизу інтенсивних автомагістралей товстим шаром лежить пил, кіптява, сажа, тому тут відзначається високий відсоток пошкодженої хвої. З огляду на все вище викладене, сосна звичайна обрана нами як найбільш чутлива рослина до забруднення атмосферного повітря. Ця рослина найбільш інформативно, як по морфологічним і анатомічним змінам, а також за тривалістю життя хвої і зменшення її маси в забрудненої атмосфері від 30 до 60%.

Практична частина завдання:

1. Вибірку хвої необхідно робити з 5-10 близько зростаючих дерев сосни звичайної. У блокнот вносяться відомості про місце збору і наявності поблизу можливого інтенсивного руху транспорту; вказується також час огляду хвої.

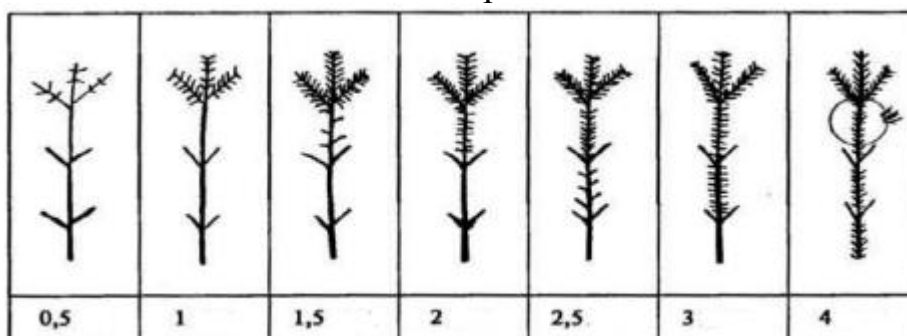
2. Дуже важливий при виборі дерев показник витопанності ділянки біля

місце зростання сосни. Ступінь витоптаності ділянки оцінюється балами:

- 1 - витоптування немає;
- 2 - витоптані стежки;
- 3 - немає ні трави, ні чагарників;
- 4 - залишилося трохи трави навколо дерев.

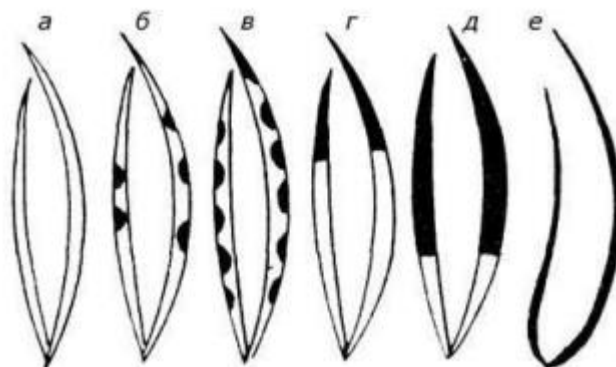
3. Оглянути у кожного дерева хвоїнки другого-третього року. Якщо дерева дуже великі, то обстеження проводити на бічному пагоні (див. малюнок нижче). Всього збирають або оглядають не менше 200 хвоїнок. Шипик хвоїнки завжди світліше. Він не оцінюється. Аналіз хвоїнок проводять в лабораторії.

Ділянка гілки, на якій проводять дослідження хвої при експрес-аналізі якості повітря.



4. За ступенем пошкодження і висихання хвої виділяють кілька класів (див. малюнок нижче). Підрахувати кількість хвоїнок різних класів, дані знести до таблиці. Користуючись матеріалами наведеними нижче, зробити висновки про стан повітря дослідної ділянки.

Види пошкодження і висихання хвої



А – хвоя без плям, не має сухих ділянок; Б – хвоя з невеликим числом дрібних плям, не має сухих ділянок; В – хвоя з великою кількістю чорних і жовтих плям, кінчик хвоїнки засох; Г – засохла третя частина хвоїни; Д – засохло більше половини хвоїнки; Е – вся хвоїнка жовта і суха.

Таблиця. Візуальний аналіз хвої сосни звичайної (*Pinus sylvestris*)

Якість повітря	Вид пошкодження	Відсоткова кількість хвоїнок з кожним типом	Примітки
I	А		
II	Б		

III	B		
IV	Г		
V	Д		
VI	Е		

Примітка.

I – повітря ідеально чисте;

II – чисте;

III – відносно чисте («норма»);

IV – забруднене («тривога»);

V – брудне («небезпечно»);

VI – дуже брудне («шкідливо»).

Зробити висновок.

Контрольні запитання:

1. Чому сосна може бути ефективним біоіндикатором?
2. Який чином визначають рівень забруднення повітря за допомогою сосни?

Лабораторна робота № 5

Тема: Оцінка стабільності розвитку деревних рослин за рівнем асиметрії морфологічних структур (на прикладі Берези повислої *Betula pendula* L.)

Мета роботи: навчитися оцінювати якість навколишнього середовища за допомогою морфо-фізіологічних змін листя рослин-індикаторів

Короткі теоретичні відомості

При роботі з біологічними об'єктами часто використовується поняття асиметрії, запропоноване Ван Валеном. Виділяють декілька типів характерних ознак асиметрії:

1 – спрямована асиметрія, коли якась структура розвинена на одній стороні більше, ніж на іншій: серце ссавців; візуальний розвиток в одних крабів лівої клішні, в інших – правої; наявність ліво- або правобічної асиметрії в будові тіла камбалоподібних або закрученості раковини у брюхоногих молюсків та ін.;

2 – антисиметрія – характеризується більшим розвитком структури то на одній, то на іншій стороні тіла, що відповідає негативному зв'язку прояву ознаки на різних сторонах тіла.

Як приклад, «лівша» і «правша» у популяції людини; 3 – флуктуюча асиметрія – незначні ненаправлені відхилення (розходження) між правою й лівою (R-L) сторонами різних морфологічних структур від строгої білатеральної симетрії. З різних форм асиметрії білатеральних ознак живих організмів особливо виділяється флуктуюча асиметрія (ФА), що дозволяє оцінити нестабільність розвитку цілого організму або його частини.

При флуктуючій асиметрії розходження між сторонами не є строго

генетично детермінованими. Такі розходження, зазвичай, є результатом помилок в ході розвитку організму. Флуктуюча асиметрія (на відміну від інших типів асиметрії) не має самостійного адаптивного значення, а є вираженням незначних ненаправлених порушень симетрії, які перебувають у межах певного люфту. Це допускається природним добром і не впливає на життєздатність. Значні розходження між сторонами можуть мати місце в природі лише в тому випадку, якщо вони носять пристосувальний характер. При нормальних умовах їхній рівень мінімальний, а зростає тільки при будь-якому стресовому впливі, що і призводить до збільшення асиметрії.

Практична частина завдання:

Робота починається з вибору моніторингових точок – чотирьох-п'яти площадок, які перебувають на одній лінії по мірі віддалення від потенційного джерела забруднення (населеного пункту, промислового підприємства або автомагістралі). Бажано розташовувати площадки по одній лінії, відповідно до рози вітрів (переважного напрямку вітру).

Відстань між площадками залежить від потужності джерела забруднення. Якщо це великий населений пункт із промисловими підприємствами й численним автотранспортом, то відстані між площадками можуть бути в межах 1 км. У випадку невеликої котельні відстані між площадками можуть бути в межах 400-800 метрів, автотраси – 20-200 метрів (залежно від інтенсивності потоку автотранспорту).

Для досягнення найкращих результатів площадки варто закладати рівномірно по всій місцевості, або по лінії зменшення передбачуваного негативного впливу.

Вимоги до досліджуваних ділянок:

1. Для фонових моніторингу використовуються декілька площадок у різних за природними умовами біотопах.

2. Для оцінки наслідків антропогенного впливу площадки вибираються з максимально подібних за природними умовами біотопів з різним ступенем антропогенного навантаження, а також таких, що не зазнають впливу антропогенного впливу для оцінки умовного фонових рівня.

Об'єкти дослідження. Теоретично дослідження флуктуючої асиметрії можна проводити на будь-яких білатеральних (симетрично організованих) об'єктах – будь то тварини або рослини. Однак, чим простіше влаштований організм і чим він крупніше, тим простіше проводити виміри.

Виходячи з цього, зручним для організації подібних досліджень модельним об'єктом є листя листопадних дерев. Це можуть бути такі види дерев, як клени, тополі або берези. В якості основного об'єкту для вивчення рівнів флуктуючої асиметрії пропонується використати один з її видів: березу повислу (*Betula pendula* Roth.) або березу пухнату (*B. alba* L.). Якщо в місцевості, де планується виконувати дослідження, немає даних видів берези, можна провести оцінку на інших видах листопадних дерев.

Умови вибору екземплярів для дослідження. При зборі матеріалу для біоіндикаційних досліджень варто враховувати наступні правила:

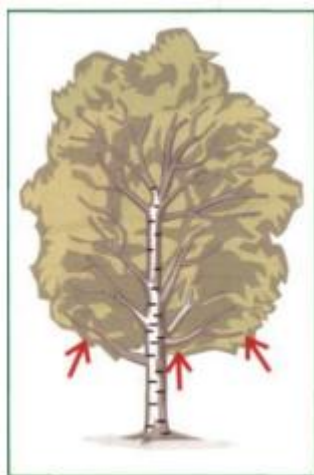
1. При виборі дерев враховується чіткість визначення приналежності рослини до досліджуваного виду. За даними деяких авторів береза повисла

здатна схрещуватися з іншими видами та утворювати міжвидові гібриди, які мають ознаки обох видів. Для запобігання помилок варто вибирати дерева із чіткими ознаками виду.

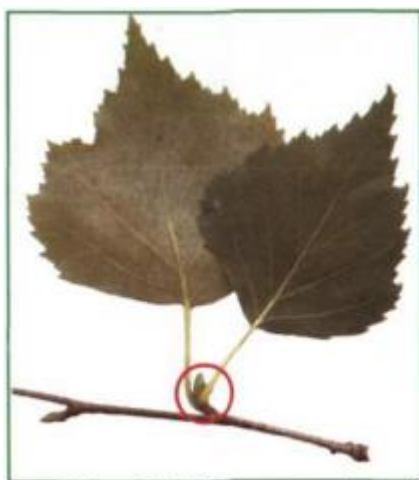
2. Листя повинні бути зібрані з рослин, що перебувають в подібних екологічних умовах (враховується рівень освітленості, зволоження та ін.). Наприклад, одна з порівнюваних вибірок не повинна перебувати на узліссі, а інша в лісі. При цьому рекомендується вибирати дерева, що ростуть на відкритих ділянках (галявинах, узліссях), тому що умови затінення є стресовими для берези й істотно знижують стабільність її розвитку.

3. При зборі матеріалу треба враховувати віковий стан дерев. Для дослідження вибираються дерева, що досягли генеративного вікового стану (середньовікові рослини), уникаючи молодих та старих екземплярів.

Період збору матеріалу. Збір матеріалу варто проводити після зупинки інтенсивного росту листя до періоду його опадання (у середній смузі це приблизно період з кінця травня до кінця серпня). Збір листя з рослини. У берези повислої збирають листи з нижньої частини крони дерева на рівні піднятої руки, з максимальної кількості доступних гілок рівномірно навколо дерева

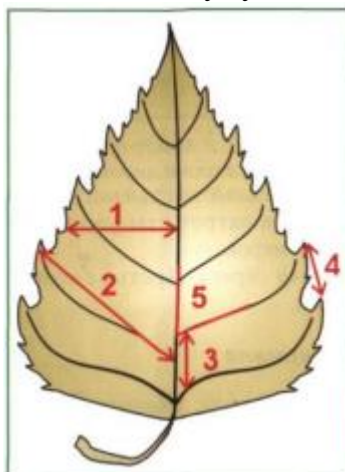


При цьому, намагаються задіяти гілки різних напрямків, умовно – з півночі, півдня, заходу й сходу. У берези збирають листя тільки з укорочених пагонів.



Тип пагонів не повинен змінюватися в серії порівнюваних вибірок. Листя намагаються відбирати приблизно одного, середнього для даного виду розміру. Ушкоджені листки можуть бути використані в дослідженні тільки в тому

випадку, якщо не порушені ділянки, з яких будуть зніматися значення промірів/



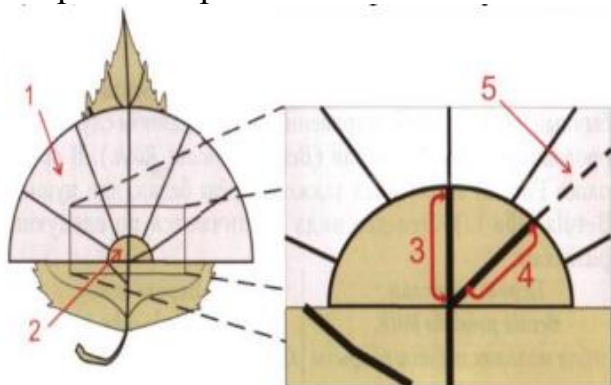
Однак, щоб уникнути помилок, ушкоджені листи краще оминати. Обсяг вибірки. Збір листів проводиться з 10 поблизу зростаючих дерев, по 10 листків з кожного дерева (усього – 100 листів з однієї площадки).

Варто брати трохи більше листків, чим потрібно, на той випадок, якщо частина листків через ушкодження не зможе бути використана для аналізу. Підготовка (лабораторна обробка) та зберігання матеріалу. Всі листки, зібрані для однієї вибірки, поміщають в поліетиленовий пакет, який помічається етикеткою: вказують дату, місце збору (максимально докладна прив'язка на місцевості), номер площадки, а також автора (авторів) збору.

Листки з однієї рослини зберігаються окремо, щоб надалі можна було проаналізувати отримані результати індивідуально для кожної особини (зібрані з одного дерева листки зв'язують ниткою за черешки). Зібраний матеріал бажано почати обробляти відразу ж, поки листки не зів'яли. Для нетривалого зберігання зібраний матеріал слід упакувати в поліетиленовий пакет та помістити на нижню полицю холодильника (максимальний строк зберігання – тиждень). Для більш тривалого зберігання використовують фіксатор – спирт, розведений на 1/3 гліцерином або водою.

Виконання досліджень (вимірювання). Для обробки зібраного матеріалу необхідні: лінійка, циркуль-вимірник, транспорир, бланки для записів результатів вимірів, рахункове устаткування (калькулятор або комп'ютер). При виконанні досліджень виконують наступні операції. Для виміру листок берези поміщають перед собою черешною стороною нагору. Черешною стороною листка називають сторону, повернену до верхівки пагону.

З кожного листка знімають показники по п'яти промірах (параметрах) з лівої та правої сторін листа:



1 – ширина половинки листа. Для виміру лист складають поперек навпіл, сполучаючи верхівку з основою листової пластинки. Потім розгинають лист і по складці, що утворилася, вимірюється відстань від границі центральної жилки до краю листа, мм;

2 – довжина другої жилки другого порядку від основи листа, мм;

3 – відстань між основами першої та другої жилок другого порядку, мм;

4 – відстань між кінцями першої та другої жилок другого порядку, мм;

5 – кут між головною жилкою та другою від основи листка жилкою другого порядку, град.

Виходячи з того, що жилки не прямолінійні, а звивисті, кут вимірюють у такий спосіб: ділянку центральної жилки (поз. 3), що перебуває в межах віконця транспортира (поз. 2), сполучають із центральним променем транспортира, що відповідає 90° , а ділянку жилки другого порядку (поз. 4) продовжують до градусних значень транспортира (поз. 5), використовуючи лінійку. Бажано, щоб всі листи з однієї вибірки вимірялися однією людиною – для запобігання впливу суб'єктивних помилок. Якщо виміри проводять декілька людей (одна вибірка обробляється однією людиною), то необхідно простежити щоб лінійки й транспортери були однаковими.

Варто пам'ятати, що інтерес представляють не абсолютні розміри параметрів, а різниця між лівою й правою половинками. Тому, на техніку вимірів лівої й правої сторін листа варто постійно звертати увагу (положення лінійки й транспортира, освітлення та ін.).

Дані вимірів заносять в таблицю. Обробка й оформлення результатів досліджень. Для мірних ознак величина асиметрії у рослин розраховується як розходження в промірах ліворуч і праворуч, віднесене до суми промірів на двох сторонах. Інтегральним показником стабільності розвитку для комплексу мірних ознак є середня величина відносного розходження між сторонами на ознаку.

Цей показник розраховується як середнє арифметичне суми відносної величини асиметрії за всіма ознаками у кожної особини, віднесене до числа використовуваних ознак. У таблицях нижче на прикладі берези повислої приводиться розрахунок середньої відносної величини асиметрії на ознаку для 5 промірів листа у 10 рослин.

Зразок таблиці для обробки даних з оцінки стабільності розвитку рослини з використанням мірних ознак (проміри листа)

№ листа	Номер ознаки									
	1		2		3		4		5	
	Л	П	Л	П	Л	П	Л	П	Л	П
1	18	20	32	33	4	4	12	12	46	50
2	20	19	33	33	3	3	14	13	50	49
3	18	18	31	31	2	3	12	11	50	46
4	18	19	30	32	2	3	10	11	49	49
5	20	20	30	33	6	3	13	14	46	53
6	12	14	22	22	4	4	11	9	39	39
7	14	12	26	25	5	3	11	11	34	40
8	13	14	25	23	5	3	10	8	39	42
9	12	14	24	25	5	5	9	9	40	32
10	14	14	25	25	4	4	9	8	32	32

Примітка: – значення промірів листа берези повислої ліворуч (Л) і праворуч (П)

Розрахунок середньої відносної величини асиметрії на ознаку для 5 промірів листа у 10 рослин проводиться за наступною методикою:

1. Спочатку для кожного листа обчислюється відносна величина асиметрії для кожної ознаки. Для цього модуль різниці між промірами ліворуч (Л) і праворуч (П) поділяють на суму цих же промірів: $|Л-П| / |Л+П|$.

Наприклад: лист №1, ознака 1 (див. табл.), $|Л-П| / |Л+П| = |18-20| / |18+20| = 2/38 = 0,052$

Отримані величини заносяться в допоміжну таблицю у графі 1-6.

2. Потім обчислюють показник асиметрії для кожного листа. Для цього підсумовують значення відносних величин асиметрії за кожною ознакою і ділять на їх число. Наприклад, для листа 1 (див. табл.): $(0,052+0,015+0+0+0,042)/5=0,022$.

Результати обчислень заносять у графу 7 таблиці.

3. На останньому етапі обчислюється інтегральний показник стабільності розвитку – величина середнього відносного розходження між сторонами на ознаку. Для цього обчислюють середню арифметичну всіх величин асиметрії для кожного листа (граф 7 табл.), значення якої округляється до третього знаку після коми.

У нашому випадку ця величина дорівнює: $X = (0,022+0,015+0,057+0,061+0,098+0,035+0,036+0,045+0,042+0,012)/10=0,042$

Зразок заповнення допоміжної таблиці для розрахунку інтегрального показника флуктуючої асиметрії берези повислої у вибірці

№ листа	Номер ознаки					Величина асиметрії листа
	1	2	3	4	5	6
1	0,052	0,015	0	0	0,042	0,022
2	0,026	0	0	0,037	0,010	0,015
3	0	0	0,2	0,044	0,042	0,057
4	0,027	0,032	0,2	0,048	0	0,061
5	0	0,048	0,33	0,037	0,071	0,098
6	0,077	0	0	0,1	0	0,035
7	0,077	0,019	0	0	0,081	0,036
8	0,037	0,042	0	0,111	0,037	0,045
9	0,077	0,020	0	0	0,111	0,042
10	0	0	0	0,059	0	0,012
Величина асиметрії у вибірці						X=0,042

Статистична значимість розходжень між вибірками за величиною інтегрального показника стабільності розвитку (величина середнього відносного розходження між сторонами на ознаку) визначається по t-критерію Стьюдента.

Для оцінки ступеня виявлених відхилень від норми та їх місця в загальному діапазоні можливих змін показника використовується шкала (табл. нижче). Весь діапазон між граничними рівнями в таблиці ранжується в порядку зростання значень показника.

Діапазон значень інтегрального показника асиметрії, що відповідає умовно нормальному фоновому стану, приймається як перший бал (умовна норма). Він відповідає даним, отриманим в природних популяціях при відсутності видимих несприятливих впливів (наприклад, на природно-заповідних територіях).

Однак треба звернути увагу на той факт, що на практиці при оцінці якості середовища в регіоні з підвищеним антропогенним навантаженням фоновий рівень порушень у вибірці рослин або тварин (навіть в точці умовного контролю), не завжди перебуває в діапазоні значень, що відповідають першому балу.

Шкала оцінки відхилень стану організму від умовної норми за величиною інтегрального показника стабільності розвитку

Стабільність розвитку в балах	Величина показника стабільності розвитку	Якість середовища
1	<0,040	Умовно нормальне
2	0,040-0,044	Початкові (незначні) відхилення від норми
3	0,045-0,049	Середній рівень відхилення від норми
4	0,050-0,054	Істотні (значні) відхилення від норми
5	>0,054	Критичний стан

Висновки. Діапазон значень, що відповідає критичному стану, приймається за п'ятий бал. Він відповідає тим популяціям, де відмічений явний несприятливий вплив факторів довкілля і такі зміни стану організму, що призводять до його загибелі.

Контрольне завдання Для виконання досліджень за даною методикою студенти поділяються на групи. Кожна група проводить збір листя рослин з установленної викладачем ділянки, що характеризується певним типом антропогенного навантаження.

Контрольні запитання:

1. Види асиметрії в природі.
2. Що являє собою флуктуюча асиметрія?
3. Напрямки використання асиметрії для оцінки якості середовища.
4. Основні положення методики оцінки стабільності розвитку деревних рослин за рівнем асиметрії морфологічних структур.
5. Принцип обробки експериментальних даних.
6. Шкала оцінки відхилень стану організму від умовної норми за величиною інтегрального показника стабільності розвитку.

Лабораторна робота №6.

Тема: Методика оцінки токсичності водних джерел та ґрунтів за допомогою «Ростового тесту»

Мета роботи: навчитися оцінювати токсичні властивості об'єктів довкілля з використанням «Ростового тесту».

Короткі теоретичні відомості

Рослини – це найбільш зручні індикатори забруднення навколишнього середовища, тому що вони є первісними ланками трофічних ланцюгів і відіграють головну роль у поглинанні різного роду забруднювачів.

Унаслідок цього, за допомогою рослин можна достатньо точно оцінити екологічну ситуацію на досліджуваній території. Сутність ростового тесту полягає в обліку змін показників проростання індикаторної культури, вирощеної на досліджуваних зразках ґрунту, води, водних витяжок ґрунтів тощо. Цей метод дозволяє оцінити не тільки пригноблюючу дію різних забруднювачів на рослини, але і стимулюючий ефект.

Перевагу віддають тест-культурам, які швидко проростають та є характерними для даного регіону. Наприклад, у регіонах з дерновопідзолистими ґрунтами в якості тест-культури використовують овес і горох; у регіонах зі степовими ґрунтами – пшеницю, люцерну, боби і квасоллю. Найбільш розповсюдженими тест-культурами є пшениця, огірок та салат.

Існує значна кількість варіантів проведення ростового тесту. Деякі з них розглянуті нижче.

1. Пророщування тест-культур у чашках Петрі

При оцінці токсичності проб ґрунтів в чашку Петрі кладуть аркуш фільтрувального паперу, на який насипають 1 грам висушеного та подрібненого ґрунту і рівномірно розподіляють по ємності. Потім додають 5–7 мл води (використовують кип'ячену питну воду, яку попередньо відстоюють кілька днів) і на ґрунт висаджують по 30–50 насінин індикаторної рослини (в залежності від крупності).

Найбільш зручними культурами для тестування в чашках Петрі є рослини з дрібним насінням – редис, гірчиця, цибуля звичайна. Контрольним субстратом у цьому випадку є ґрунт, відібраний на умовно чистій території (заповідник, заказник, курортна зона та ін.). При оцінці токсичності водних зразків (стічних та природних вод, питної води тощо) в чашку Петрі кладуть аркуш фільтрувального паперу, зволожують його 5–7 мл водної проби і висаджують по 30–50 насінин. Через кожні шість годин проводять провітрювання чашок шляхом відкривання на декілька хвилин.

Дослід триває 72–96 годин. Контрольним субстратом є кип'ячена відстояна питна вода. Після закінчення експерименту рослини обережно виймають з чашок Петрі (при необхідності змивають з них ґрунт) та вимірюють довжину кореневої і стеблової системи паростків, а також сиру масу десяти найбільш типових проростків. Потім рослини поміщують у паперові пакети і висушують протягом декількох днів, після чого визначають їхню суху масу. Дослідження всіх варіантів проводять у трьох повторностях.

2. Пророщування тест-культур на «плаваючих дисках».

При дослідженні токсичності проб води і водних витяжок за цим методом в лабораторні склянки наливають досліджувані проби води чи витяжки в об'ємі 250–500 мл. Насіння індикаторної культури (по 20–25 насінин) пророщують на спеціальних плаваючих кільцях з пінопласту, обтягнутих марлею. Для цього дослідження найбільш зручною культурою є пшениця.

На перші кілька діб ємності з досліджуваними зразками накривають склом. Два-три рази на добу скло знімають на 10–15 хвилин для провітрювання. На четверту добу ємності з насінням поміщають на полицю, де по можливості протягом 14-ти годин (з 6–00 до 20–00) підтримується постійне освітлення. Витримують рослини в таких умовах ще 2 тижні, фіксуючи наступні показники:

- час появи сходів і їхню кількість (кожну добу);
- довжину надземної частини проростків та їх приріст (кожну добу);
- загальну кількість пророслих насінин (на кінець експерименту).

При цьому звертають увагу на морфологічні особливості рослин (раннє пожовтіння, особливості розвитку кореневої системи та ін.). Дослідження всіх варіантів проводять у трьох повторностях. Контрольним субстратом є кип'ячена відстояна питна вода. Через 2 тижні молоді рослини обережно звільняють із води та трохи підсушують на фільтрувальному папері. Потім проводять виміри довжини кореневої і стеблової системи та визначають сиру масу десяти найбільш типових проростків. Після цього рослини поміщують у паперові пакети, висушують протягом декількох днів, а потім визначають суху масу.

3. Пророщування тест-культур у ємностях

При дослідженні токсичності проб ґрунту в кожному з посудин вносять по

50–100 г субстрату, зволоженого до 70% (використовують кип'ячену відстояну питну воду), і висівають по 15–20 пророслих насінин тест-культури. У даному випадку індикатором може слугувати будь-яка рослина.

Для дослідження використовують лабораторний скляний простерилізований посуд, у разі його відсутності – чисті пластикові стакани, чашки та ін. На перші кілька діб посудини з досліджуваними зразками накривають склом. Два-три рази на добу скло знімають на 10–15 хвилин для провітрювання. На четверту добу ємності з висадженим в них насінням поміщають на полицю, та створюють для них умови, аналогічні вказаним вище (п. 2).

Неодмінною умовою проведення даного експерименту є підтримка постійної вологості досліджуваного ґрунту (на рівні 70% від повної вологості ґрунту), яка досягається наступним:

- перед закладкою досліду ґрунт просушують і зважують;
- підготовлений в такий спосіб ґрунт звожують такою кількістю води, що дозволяє досягти 70%-ї вологості;
- зволожений у такий спосіб ґрунт розносять в експериментальні ємності і визначають загальну вагу.

В ході експерименту зважування періодично повторюють і компенсують утрату вологи шляхом поливу відповідною кількістю води. Дослідження усіх варіантів проводять в трьох повторностях. Контрольним субстратом у цьому випадку є ґрунт, відібраний в екологічно чистій зоні (заповідник, заказник, курортна зона та ін.).

Практична частина завдання:

Обробка результатів ростового тесту. Після проведення вимірювань для кожного з досліджуваних варіантів обчислюють середню довжину надземної і кореневої частин $\bar{x} \pm m$, де m – помилка середнього арифметичного, яку визначають так:

$$m = \sqrt{\frac{\sigma^2}{N}}$$

де N – кількість результатів; σ^2 – дисперсія, яку визначають за виразом:

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N}$$

Достовірність різниці середніх арифметичних t розраховується за критерієм Ст'юдента-Фішера:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

де \bar{x}_1 – середнє арифметичне значення показника в контрольному досліді; \bar{x}_2 – середнє арифметичне значення показника у досліджуваному варіанті; m_1 – помилка середнього арифметичного в контрольному досліді; m_2 – те ж у досліджуваному варіанті.

Якщо фактично встановлена величина t більше або дорівнює критичному (стандартному) значенню t_{st} роблять висновок про існування статистично достовірної різниці між середніми арифметичними у досліджуваному та

контрольному варіанті. Якщо ж фактична величина t менша за t_{st} , різницю між середніми вважають статистично недостовірною.

Відсутність статистично достовірної різниці між середніми значеннями біопараметра у контрольному та досліджуваному варіанті свідчить про відсутність значних змін ростових процесів у біоіндикаторів, в порівнянні з контрольним варіантом. Тобто ґрунт або вода у досліджуваному варіанті майже такої ж якості, як і в контрольному досліді та не має токсичних властивостей. І навпаки, статистично достовірна різниця між варіантом та контрольним дослідом вказує на те, що досліджуваний зразок (вода, ґрунт) мають фітотоксичні властивості.

Фітотоксичний ефект визначається у відсотках за будь-яким біопараметром: за масою рослини, довжиною кореневої або стеблової системи, кількістю ушкоджених рослин або кількістю сходів тощо. Розраховується фітотоксичний ефект за формулою:

$$FE = \frac{M_0 - M_x}{M_0} \cdot 100, \%$$

де M_0 – значення біопараметра (маса рослин, висота паростків, довжина корінців та ін.) у посуді з контрольним субстратом; M_x – значення аналогічного біопараметра у посуді з досліджуваним субстратом.

Приклад розрахунку

При дослідженні токсичності проб річкової води, відібраної на відстані 500, 1000 і 1500 м від місця скиду стічних вод підприємства, були отримані наступні результати (табл. 1). В якості біоіндикатора використовували насіння озимої пшениці, пророщування якої проводилося на «плаваючих дисках». Контрольним субстратом була вода, відібрана на відстані 500 м вище місця скиду стічних вод підприємства. Завдання: – оцінити токсичність зразків річкової води, відібраних на відстані 500, 1000 та 1500 м від місця скиду стічних вод промислового підприємства; - встановити розмір зони впливу стічних вод підприємства на водний об'єкт; - обчислити величину фітотоксичного ефекту від дії стічних вод підприємства.

Хід розрахунків

Для кожного досліджуваного варіанта за формулою обчислюємо середнє арифметичне висоти рослин і довжини корінців та дисперсію. Висота рослин у контрольному досліді:

$$\bar{x}_1 = \frac{12,2 + 13,4 + \dots + 13,8}{10} = 12,17 \text{ см}$$

$$\sigma_1^2 = \frac{(12,2 - 12,17)^2 + (13,4 - 12,17)^2 + \dots + (13,8 - 12,17)^2}{10} = 2,31$$

Довжина корінців у контрольному досліді:

$$\bar{x}_2 = \frac{14,0 + 13,7 + \dots + 9,9}{10} = 13,05 \text{ см}$$

$$\sigma_2^2 = \frac{(14,0 - 13,05)^2 + (13,7 - 13,05)^2 + \dots + (9,9 - 13,05)^2}{10} = 2,71$$

Таблиця 1 – Результати оцінки токсичності річкової води, відібраної на різних відстанях від місця скиду стічних вод промислового підприємства за «Ростовим тестом»

Варіант							
Контроль (500 м до місяця скиду)		500 м від місяця скиду		1000 м від місяця скиду		1500 м від місяця скиду	
Висота рослин, см	Довжина коренів, см	Висота рослин, см	Довжина коренів, см	Висота рослин, см	Довжина коренів, см	Висота рослин, см	Довжина коренів, см
12,2	14,0	9,2	9,9	10,3	8,3	12,3	9,9
13,4	13,7	8,3	8,7	10,1	8,7	14,6	8,7
10,8	12,9	7,4	6,3	12,3	7,9	12,9	6,3
9,6	14,8	7,2	7,5	9,9	8,0	7,2	7,5
12,8	13,0	7,0	7,9	8,1	9,2	7,0	14,0
13,2	13,8	9,8	8,3	7,9	9,0	9,8	13,7
14,1	15,2	10,3	9,0	7,0	9,3	10,3	12,9
9,9	12,9	8,9	7,7	8,9	8,8	8,9	14,8
11,9	10,3	7,9	7,6	7,9	8,7	7,9	13,0
13,8	9,9	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8
Суха маса 10 проростків, мг							
237		160		185		203	

Помилку середніх арифметичних для кожного варіанта визначаємо за формулою:

$$m_1 = \sqrt{\frac{2,31}{10}} = 0,48 \text{ см}$$

$$m_2 = \sqrt{\frac{2,71}{10}} = 0,52 \text{ см}$$

Аналогічні розрахунки виконуємо для інших дослідів

Таким чином, для варіанту 1 (500 м від місяця скиду) маємо:

- висота рослин $8,60 \pm 0,36$ см
- довжина корінців $8,27 \pm 0,33$.

Для варіанту 2 (1000 м від місяця скиду):

- висота рослин $8,27 \pm 0,33$ см;
- довжина корінців $9,24 \pm 0,47$ см.

Для варіанту 3 (1500 м від місяця скиду):

- висота рослин $10,09 \pm 0,76$ см;
- довжина корінців $11,06 \pm 0,90$ см.

Для визначення наявності чи відсутності токсичних властивостей у досліджуваних зразків, за формулою визначимо достовірність отриманих результатів відрізняються від контрольного досліді:

Для варіанту 1 (500 м від місяця скиду) маємо:

$$\text{висота рослин} \quad t_1 = \frac{12,17 - 8,6}{\sqrt{0,48^2 + 0,36^2}} = \frac{3,57}{0,6} = 5,95,$$

$$\text{довжина корінців} \quad t_2 = \frac{13,05 - 8,27}{\sqrt{0,52^2 + 0,33^2}} = \frac{4,78}{0,62} = 7,7.$$

Для варіанту 2 (1000 м від місяця скиду):

$$\text{висота рослин} \quad t_3 = \frac{12,17 - 9,24}{\sqrt{0,48^2 + 0,47^2}} = \frac{2,93}{0,67} = 4,35,$$

$$\text{довжина корінців} \quad t_4 = \frac{13,05 - 8,77}{\sqrt{0,52^2 + 0,18^2}} = \frac{4,28}{0,55} = 7,78.$$

Для варіанту 3 (1500 м від місця скиду):

$$\text{висота рослин} \quad t_5 = \frac{12,17 - 10,09}{\sqrt{0,48^2 + 0,76^2}} = \frac{2,08}{0,9} = 2,31,$$

$$\text{довжина корінців} \quad t_6 = \frac{13,05 - 11,06}{\sqrt{0,52^2 + 0,90^2}} = \frac{1,99}{1,04} = 1,9.$$

Результати розрахунків заносимо в табл. 2.

Таблиця 2 – Середні арифметичні висоти рослин та довжини коренів, їх помилки та дисперсія для кожного варіанта

Варіант	Показник	Дисперсія σ^2	Середнє $\bar{x} \pm m$	t- критерій
Контроль (500 м до місця скиду)	Висота рослин, см	2,31	12,17±0,48	-
	Довжина коренів, см	2,71	13,05±0,52	-
500 м від місця скиду	Висота рослин, см	1,33	8,60±0,36	5,95
	Довжина коренів, см	1,11	8,27±0,33	7,7
1000 м від місця скиду	Висота рослин, см	2,23	9,24±0,47	4,35
	Довжина коренів, см	0,32	8,77±0,18	7,78
1500 м від місця скиду	Висота рослин, см	5,74	10,09±0,76	2,31
	Довжина коренів, см	8,06	11,06±0,90	1,9

Значення $t_1, t_2 > t_{st}(\infty; 0,05) = 2,96$, отже отримані результати достовірно відрізняються від контрольного варіанту. Це свідчить про те, що процеси росту рослин на досліджуваній воді, відібраній на відстані 500 м від місця скиду підприємства, дійсно пригноблені – отже вода має токсичні властивості.

Значення t_3, t_4 також більше 2,96, тобто висота рослин і довжина корінців, вирощених на зразках води з відстані 1000 м від місця скиду, достовірно відрізняються від контрольного варіанту. Це свідчить про те, що ростові процеси пригноблені і вода має токсичні властивості.

Значення $t_5, t_6 < 2,96$. Це вказує на те, що результати експерименту у варіанті з річною водою з відстані 1500 м від місця скиду статистично недостовірно відрізняються від контрольного досліджу. Це вказує на те, що токсичність води на відстані 1500 м від підприємства знаходиться на тому ж рівні, що і в контрольному варіанті, тобто вода не має токсичних властивостей і негативний вплив підприємства на річку відсутній.

Таким чином, зона впливу стічних вод підприємства на річку поширюється на відстань до 1000 м від місця скиду стічних вод (рис. 1).

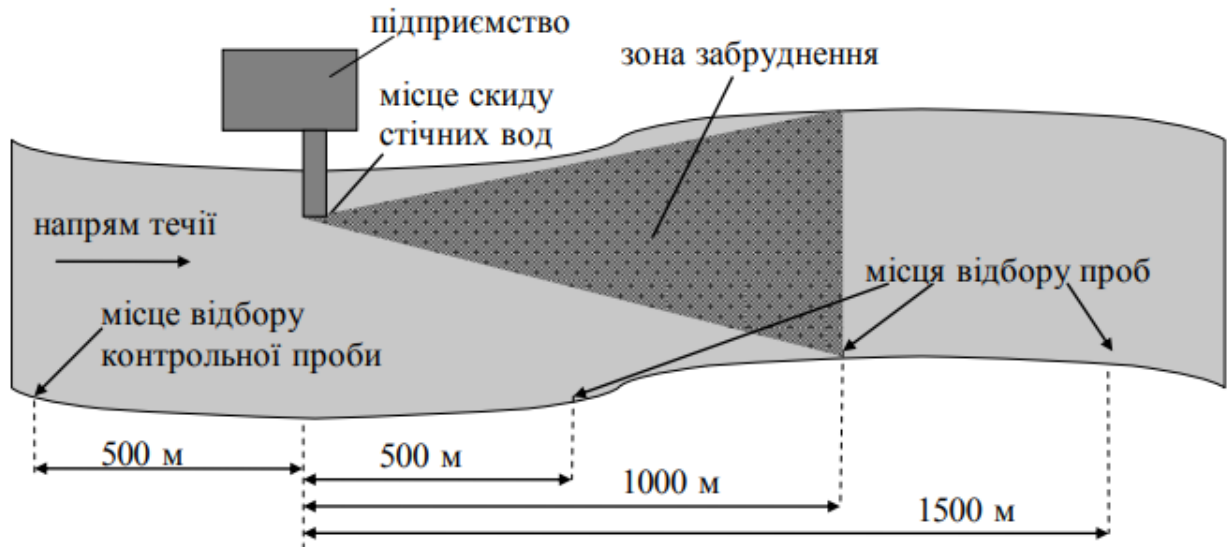


Рис. 1. Зона впливу стічних вод промислового підприємства на річку

Середній фітотоксичний ефект від дії стічних вод підприємства на відстані 500 м від місця скиду становить:

$$\Phi E_{cp}^1 = \frac{29,3 + 36,6 + 32,5}{3} = 32,8\%$$

Аналогічним чином підраховуємо величину фітотоксичного ефекту від дії досліджуваних вод на відстанях 1000 м та 1500 м від місця скиду. Результати розрахунків заносимо у табл. 3.

Таблиця 3 – Фітотоксичний ефект від дії стічних вод підприємства

Параметр	Значення, %		
	500 м	1000 м	1500 м
ΦE_1 (за висотою рослин)	29,3	24,1	17,1
ΦE_2 (за довжиною коренів)	36,6	32,8	15,3
ΦE_3 (за сухою масою)	32,5	21,9	14,4
ΦE_{cp}	32,8	26,3	15,6

Таким чином, на відстані 500 м від місця скиду стічних вод процеси росту рослин за трьома ознаками пригноблені на 32,8% у порівнянні з контролем, на відстані 1000 м – на 26,3% і на відстані 1500 м – на 15,6%.

Висновки. У ході експерименту було встановлено, що:

1. Ростові процеси рослин, пророщених на досліджуваній воді з відстані 500 та 1000 м від місця скиду, пригноблені (показники росту достовірно відрізняються від контролю) – отже, вода має токсичні властивості.

2. Інтенсивність процесів росту рослин, пророщених на досліджуваній воді з відстані 1500 м, достовірно не відрізняється від контролю. Це свідчить про те, що вода не має токсичних властивостей.

3. Зона впливу стічних вод підприємства на річку поширюється на відстань до 1000 м від місця скиду стічних вод.

4. Результати обчислення фітотоксичного ефекту за сухою масою рослин показали, що з віддаленням від місця скиду стічних вод підприємства показники росту рослин поступово покращуються, і фітотоксичність води знижується з 32,8% на відстані 500 м до 15,6% на відстані 1500 м.

Контрольне завдання

Оцінити вплив стічних вод промислового підприємства на якість природної води за результатами ростового тесту. Варіанти вихідних даних отримуються експериментальним шляхом, або наведені в таблиці нижче (за умов дистанційного навчання). Звіт з лабораторної роботи повинен бути оформлений за відповідно з наведеним вище прикладом розрахунку.

Місце відбору проб	Варіант									
	1		2		3		4		5	
	В*	Д*	В*	Д*	В*	Д*	В*	Д*	В*	Д*
Контроль (500 м до місця скиду)	15,3	12,8	13,0	10,1	14,9	16,3	14,7	17,3	17,1	16,2
	13,4	12,3	12,0	8,7	13,4	13,7	13,4	13,7	13,4	13,7
	10,8	14,8	12,9	11,0	10,8	12,9	10,8	12,9	10,8	12,9
	9,6	14,8	7,2	7,5	12,3	14,8	9,6	14,8	9,6	14,8
	12,8	13,0	7,0	14,0	12,8	13,0	12,8	13,0	12,8	13,0
	12,0	13,8	9,8	13,7	13,2	13,8	13,2	13,8	13,2	13,8
	14,1	15,2	10,3	12,9	14,1	15,2	14,1	15,2	14,1	15,2
	10,5	14,8	8,9	14,8	12,0	12,9	9,9	12,9	9,9	12,9
	11,9	10,3	7,9	13,0	11,9	10,3	11,9	10,3	11,9	10,3
	13,8	9,9	10,0	9,8	13,8	12,7	13,8	9,9	13,8	9,9
Суха маса 10 проростків, мг	251		237		237		299		237	
500 м від місця скиду	8,9	8,0	7,0	9,0	9,2	9,9	10,8	6,8	5,1	4,9
	6,9	6,3	8,3	8,7	8,3	8,7	8,3	8,7	8,3	8,7
	7,2	6,3	7,4	6,3	7,4	6,3	7,4	6,3	7,4	6,3
	7,2	5,9	7,2	7,5	7,2	7,5	7,2	7,5	7,2	7,5
	7,0	7,9	7,0	12,9	7,0	7,9	7,0	7,9	7,0	7,9
	9,8	8,3	9,8	8,3	9,8	8,3	9,8	8,3	9,8	8,3
	10,3	9,0	5,0	9,0	10,3	9,0	10,3	9,0	10,3	9,0
	8,7	7,7	8,9	11,5	8,9	7,7	8,9	7,7	8,9	7,7
	7,9	7,6	7,9	9,0	7,9	7,6	7,9	7,6	7,9	7,6
	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8
Суха маса 10 проростків, мг	160		201		160		160		160	
1000 м від місця скиду	10,0	5,2	10,3	8,3	10,3	8,3	10,3	8,3	12,3	16,4
	9,9	8,7	10,1	8,7	10,1	8,7	10,1	8,7	14,6	8,7
	11,9	11,2	12,3	15,0	12,3	7,9	12,3	7,9	12,9	6,3
	9,9	10,3	9,9	8,0	9,9	8,0	9,9	8,0	11,8	12,4
	8,1	9,2	8,1	9,2	8,1	9,2	8,1	9,2	11,4	14,0
	7,9	9,0	7,9	9,0	7,9	9,0	7,9	9,0	12,9	13,7
	7,0	9,3	7,0	9,3	7,0	9,3	7,0	9,3	10,3	12,9
	7,2	10,9	8,9	8,8	8,9	8,8	8,9	8,8	13,8	12,7
	7,9	8,7	7,9	8,7	7,9	8,7	7,9	8,7	14,7	13,0
	10,0	4,9	10,0	9,8	10,0	9,8	11,3	9,8	10,0	12,5
Суха маса 10 проростків, мг	185		212		185		185		212	
1500 м від місця скиду	15,3	13,6	8,0	10,1	12,3	9,9	10,0	8,2	12,3	9,9
	14,6	8,7	14,6	8,7	14,6	8,7	11,0	8,7	14,6	8,7
	12,9	6,3	12,9	6,3	12,9	6,3	12,9	6,3	12,9	12,6
	7,2	7,5	7,2	7,5	9,9	7,5	7,2	7,5	15,6	15,4
	7,0	14,0	7,0	14,0	8,6	14,0	7,0	14,0	10,9	14,0
	12,3	12,5	9,8	13,7	9,8	13,7	9,8	13,7	10,3	13,7
	14,5	12,9	10,3	12,9	10,3	12,9	10,3	12,9	10,3	12,9
	8,9	14,8	8,9	14,8	9,4	14,8	8,9	8,7	12,7	14,8
	7,9	12,1	7,9	13,0	11,6	13,0	7,9	9,2	15,3	13,0
	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8
Суха маса 10 проростків, мг	203		226		203		203		229	

*Примітка: В – висота паростків, см; Д – довжина коренів, см.

Контрольні запитання

1. У чому полягає сутність ростового тесту?
 2. Які рослини використовуються у якості індикаторів у ростовому тесті?
 3. Які параметри контролюються при проведенні ростового тесту?
 4. Про що свідчать достовірні відхилення показників росту рослин від контролю?
 5. Яким чином визначається зона впливу стічних вод підприємства на поверхневі водойми?
 6. Що таке фітотоксичний ефект і за якими показниками він визначається?
-

Лабораторна робота №7.

Тема: Біотестування якості води з використанням рачків виду *DAPHNIA MAGNA S.*

Мета роботи: навчитися оцінювати ступінь токсичності та кратності розбавлення стічних вод за результатами біотестування з використанням рачків виду *Daphnia Magna S.*

Короткі теоретичні відомості

Одними з найбільш чутливих до токсичних речовин різної природи серед гідробіонтів є прісноводні ракоподібні роду *Daphnia* загону Cladocera, що включає понад 20 видів (серед них звичайні *Daphnia magna* Straus, *D. pulex* de Geer, *D. longispina* O. F. Muller і *D. carinata* King). Оскільки вони володіють значною фільтраційною здатністю, то в більшості випадків зазнають впливу розчинних та дрібнодисперсних завислих компонентів стічних вод.

З цієї причини дафній частіше обирають в якості тест-об'єкта для токсикологічних дослідів. При цьому, вони є організмами з коротким біологічним циклом розвитку, що дає можливість простежити дію токсичних речовин на ряді поколінь при відносно невеликій тривалості дослідів (до 1-2 місяців).

Основним видом, легко культивованим у лабораторних умовах, є *Daphnia magna* Straus, відома також як водяна блоха. В природних умовах цей вид живе в дрібних стоячих і слабопроточних водоймах із вмістом кисню від 2 мг/л і більше, харчується бактеріями, фітопланктоном і детритом.

У природі в літню пору, а в лабораторії при сприятливих умовах цілий рік, дафнії розмножуються без запліднення – партеногенетично (причому народжуються тільки самки). При різкій зміні умов існування (нестача їжі, зниження температури та ін.) в популяції дафній з'являються самці. З цього моменту дафнії переходять до статевого розмноження, відкладаючи після запліднення «зимові яйця» (1-2 шт.), які розміщуються в спеціальній виводковій камері (ефипіумі).

Навесні з яєць з'являються самки, що надалі дають партеногенетичні

покоління дафній. В природі дафнії живуть у середньому 40-60 днів (в залежності від температури), а в лабораторії при оптимальному режимі – 3-4 місяця і більше.

При високих температурах (понад +25°C) тривалість життя дафній може скорочуватися до 25 днів. Дафнія стійка до зміни кисневого режиму, що пов'язано зі здатністю синтезувати гемоглобін. При зниженні концентрації розчиненого кисню (що є біоіндикаційною ознакою) спостерігається підвищений вміст гемоглобіну в дафнії. Вони стають яскраво-червоними і загальна чисельність збільшується. При оптимальному ж вмісті у воді розчиненого кисню рачки мають рожево-жовтий колір.

Практична частина завдання:

Культивування дафній і біоіндикаційні досліді проводять у термолюмініостаті з оптимальним температурним режимом 20±2°C та світловим днем 10-12 год., що підтримується лампами денного світла. Воду для культивування рачків відбирають із незабруднених природних водойм або використовують вистояну водопровідну воду, дехлоровану шляхом аерації протягом 7-10 діб. Кормом для рачків слугують протокові зелені водорості. Гострий дослід – це короткочасне біотестування (до 96 год.), що дозволяє визначити гостру токсичну дію води на дафній за показником їх виживаності. Облік дафній, що вижили, проводять через 1, 6, 24, 48, 72 і 96 год.

У гострому досліді досліджуються 5-7 розведень стічної води або концентрації речовини. Коефіцієнт розведення складає 2-20 в залежності від токсичності досліджуваних вод. Токсичність хімічних сполук випробовують також з концентраціями 10-100 мг/л.

Досліді проводять у трьох повторностях наступним чином: у кожному склянку заливають по 200-300 мл розчину і висаджують по 10 дафній. В якості контролю використовується вистояна протягом 7-10 діб водопровідна вода. Тривалість спостережень – до 96 год. При короткочасному біотестуванні дафній не годують.

Час загибелі рачків відзначають за фактом настання нерухомості (імобілізації): дафнії лежать на дні склянки, плавальні рухи відсутні і не відновляються при легкому дотику струменем води або погойдуванні склянки. Особин вважають вижившими, якщо вони вільно пересуваються в товщі води або спливають із дна склянки не пізніше 15 с після її легкого погойдування. Якщо в будь-який період часу, що визначається, у стічній воді гине 50 і більше відсотків дафній, біотестування припиняють.

Якщо загибель контрольних дафній в період тестування перевищить 10%, то гострий дослід припиняють і повторюють знову. За результатами гострих дослідів визначають:

1) ЛКр50 – кратність розведення досліджуваної води (концентрації речовини), при якій гине 50% дафній за 96 год.;

2) ЛКр0 – гранична концентрація (мінімально діюча), при якій організми не гинуть;

3) ТЛ50 – середній час виживання 50% дафній у ряді розведень.

Найбільш простим і часто застосовуваним методом визначення ЛКр50 є графічний метод. На осі абсцис відкладають логарифми величин кратності

розведення води, що тестується, а на осі ординат – середні арифметичні величини виживаності дафній у відсотках до контролю.

Отримані крапки з'єднують лінією. Від крапок на осі ординат, що відповідають 50 і 100% виживаності, проводять лінії, паралельні осі абсцис. З крапок перетинання цих ліній з експериментальною прямою опускають перпендикуляри на вісь абсцис і знаходять логарифми величин кратності розведення, що будуть відповідати величинам ЛКр50 і ЛКр0.

Чим більше величини ЛКр50 і ЛКр0, тим більше токсичність стічних вод (речовини). Ступінь токсичності стічних вод (речовин) визначається мірою її зниження відносно розведення чистою водою. Якщо токсичність стоків не проявляється в гострих дослідах, або знімається при розведенні 1:10, то говорять про низький ступінь токсичності стоків; зниження токсичності при розведенні стоків більше ніж у 10 разів – середній ступінь токсичності; якщо токсичність знижується тільки при розведеннях більше ніж у 100 разів, то ці стоки мають високу ступінь токсичності. Остання група стоків є найбільш небезпечною.

Для визначення середнього часу виживання ТЛ50 будують графіки: на осі абсцис відкладають час, на осі ординат – виживаність у % для кожного розведення (концентрації). Чим менше величина ТЛ50, тим більше токсичність досліджуваної води. Хронічний дослід з дафніями слугує для глибокого дослідження властивостей природних вод і окремих речовин. Дозволяє визначити хронічну токсичну дію води на дафній по показниках їх виживаності і плодючості.

Показником виживаності служить середня кількість самок дафній, що вижили протягом біотестування, показником плодючості – середня кількість молоді, яка була виметана під час біотестування (у перерахуванні на одну самку, що вижила). Критерієм токсичності є достовірна відмінність від контролю показника виживаності або плодючості дафній. Умови проведення хронічних дослідів аналогічні описаним вище гострим дослідом: постійний температурний і світловий режим, а також щоденне внесення корму – водорості хлорела. Тривалість досліду 20 і більше діб.

Оцінка результатів досліду (у % відносно контролю) проводиться за наступною формою: виживаність під час досліду; плодючість (реальна і потенційна, в перерахуванні на одну дафнію під час досліду); розміри дафній; кількість линьок. Таким чином, використання дафній в якості тест-організмів дозволяє визначити ступінь токсичності досліджуваних вод, а також оцінити кратність розведення стічних вод

Приклад розрахунку

При дослідженні токсичності стічних вод підприємства на рачках *Daphnia magna* S. були отримані наступні результати (табл. нижче).

Вживаність дафній у гострому досліді зі стічною водою підприємства

Час, годин	Контроль			Розведення 1: 3			Розведення 1: 5			Розведення 1: 10			Розведення 1: 15		
	Номер проби			Номер проби			Номер проби			Номер проби			Номер проби		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Кількість дафній, що вижили														
1	10	10	10	9	10	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10
6	10	10	10	8	9	8	10	9	9	10	9	10	9	10	10
24	10	10	9	8	7	6	9	9	8	9	9	10	9	9	10
48	10	10	9	6	7	6	8	8	6	9	8	9	9	9	10
72	10	10	9	5	6	5	8	7	6	8	8	9	9	9	10
96	10	10	9	4	5	4	6	7	5	7	8	8	8	9	9

В першу чергу знаходимо середнє значення кількості дафній, що вижили, у кожному варіанті і виражаємо у відсотках відносно контролю.

Вживаність дафній відносно контролю

Час, годин	Контроль		Розведення 1: 3		Розведення 1: 5		Розведення 1: 10		Розведення 1: 15	
	Сере дне	% до конт- ролю	Сере- дне	% до конт- ролю	Сере дне	% до конт- ролю	Сере- дне	% до конт- ролю	Сере- дне	% до конт- ролю
	Кількість дафній що вижили									
	1	10,0	100	9,33	93,33	10,0	100	10,00	100	10,00
6	10,0	100	8,33	83,33	9,33	93,33	9,67	96,67	9,67	96,67
24	9,67	100	7,00	72,41	8,67	89,66	9,33	96,55	9,33	96,55
48	9,67	100	6,33	65,52	7,33	75,86	8,67	89,66	9,33	96,55
72	9,67	100	5,33	55,17	7,00	72,41	8,33	86,21	9,33	96,55
96	9,67	100	4,33	44,83	6,00	62,07	7,67	79,31	8,67	89,66

Потім визначаємо логарифми кратності розведення стічної води:

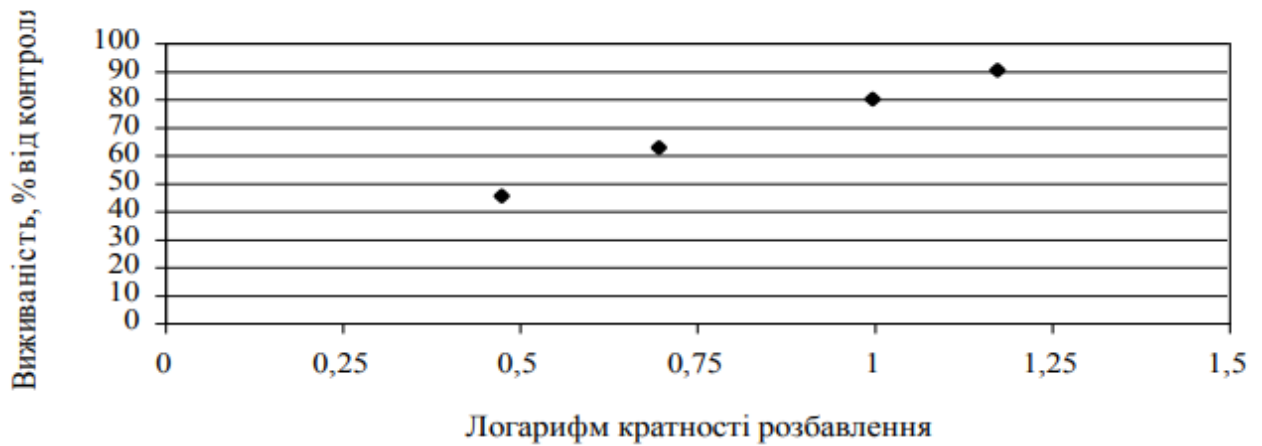
$$\lg 3 = 0,48, \lg 5 = 0,70, \lg 10 = 1,00, \lg 15 = 1,18.$$

Будуємо графік, на якому по осі у відкладаємо вживаність дафній через 96 год. у відсотках стосовно контролю, а по осі x – логарифми концентрацій (табл. нижче).

Вихідні дані для побудови графіка залежності вживаності від кратності розведення

x	0,48	0,70	1,00	1,18
y	44,83	62,07	79,31	89,66

З'єднуємо отримані крапки і продляємо отриману пряму до перетинання з горизонталлями, що відповідають 50 і 100% вживаності



Графік залежності виживаності від кратності розбавлення

З крапок перетинання горизонталей 50 і 100% опускаємо перпендикуляри на вісь x. У такий спосіб знаходимо логарифми кратності розведення.

Визначаємо саму величину кратності розведення:

$$\lg n_{50} \approx 0,52 ; \lg n_{100} \approx 1,35 ; \text{ЛКр}_{50} = 10^{0,52} = 3,3 ; \text{ЛКр}_{100} = 10^{1,35} = 22,4.$$

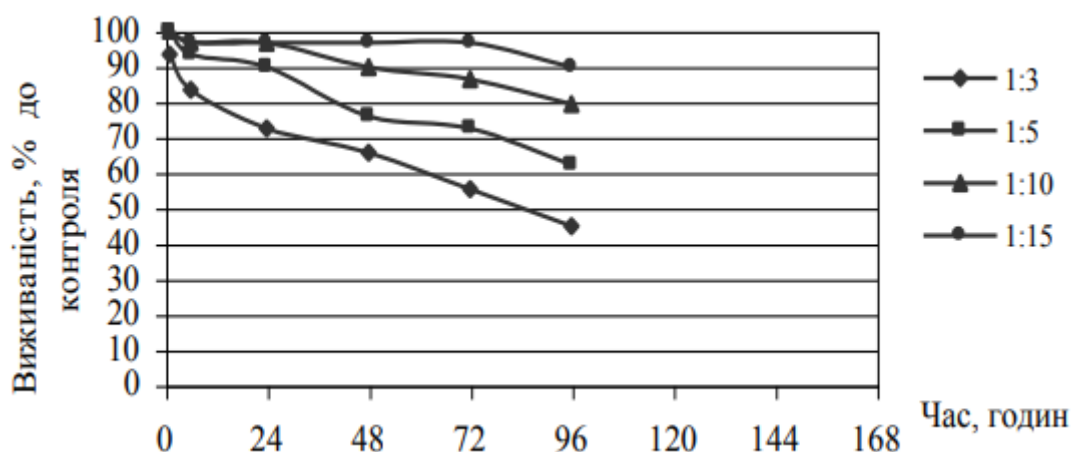
Таким чином, визначаємо що 50% дафній гинуть при розведенні досліджуваної стічної води 1:3,3; а при розведенні 1:22,4 стічна вода не чинить токсичного впливу на організми (виживають 100% дафнії).

Визначення ступеня токсичності стічної води. Стічна вода даного підприємства відноситься до середнього класу токсичності промислових вод, тому що токсичний ефект знімається при розведенні в 22 рази ($10 < 22 < 100$). Для визначення середнього часу виживання ТЛ50 будуємо графіки для кожного варіанта розведення. Для цього на осі абсцис відкладаємо час, а на осі ординат – виживаність у % для кожного розведення.

Вихідні дані для побудови графіків залежності виживаності дафній від часу

x, час, годин	1	6	24	48	72	96
y, розведення						
1:3	93,33	83,33	72,41	65,52	55,17	44,83
1:5	100,0	93,33	89,66	75,86	72,41	62,07
1:10	100,0	96,67	96,55	89,66	86,21	79,31
1:15	100,0	96,67	96,55	96,55	96,55	89,66

Графіки залежності виживаності від часу



Знаходимо крапки перетинання кожної кривої виживаності з горизонталлю 50% і визначаємо в такий спосіб час, протягом якого гине 50% організмів. У даному випадку

- для варіанта розведення 1:3 $TL_{50} \approx 84$ год,
- для варіанта розведення 1:5 $TL_{50} \approx 120$ год,
- для варіанта розведення 1:10 $TL_{50} \approx 150$ год,
- для варіанта розведення 1:15 $TL_{50} > 150$ год.

Очевидно, що найбільшим ступенем токсичності володіє концентрована стічна вода (варіант розведення 1:3), а найменшою – найбільш розведена (варіант 1:15).

Висновки:

1. Стоки підприємства чинять у різному ступені токсичний вплив на живі організми при всіх досліджених кратностях розведення (тому що загибель дафній спостерігалася у всіх варіантах).
2. Найбільш вагомий токсичний вплив стічна вода чинить на дафній у першому варіанті розведення – 1:3 (загинуло більше 50% дафній – 55,17%). При цьому загибель організмів у контролі не перевищила 10% і склала 3,3% (вижило в середньому 9,67 особин з 10).
3. Найменший час загибелі 50% тварин – 84 год. спостерігається при розведенні стоків 1:3, найбільший (> 150 год.) – при розведенні 1:15.
4. $LK_{p50}=3,3$, $LK_{p0}=22,4$; тобто кратність розведення, при якій гине 50% дафній, складає приблизно 1:3, а концентрація стічних вод, що не чинить негативного впливу на живі організми, відповідає розведенню 1:22.
5. Стоки даного підприємства відносяться до середнього ступеня токсичності, тому що токсичність знімається при розведенні 1:22.

Контрольне завдання Виконати оцінку ступеня токсичності шахтних вод за результатами, отриманими при біотестуванні за допомогою рачків *Daphnia magna* S. Варіанти вихідних даних наведено нижче.

Варіант	Час, години	Контроль			Розбавлення 1:3			Розбавлення 1:5			Розбавлення 1:8			Розбавлення 1:10		
		Номер проби			Номер проби			Номер проби			Номер проби			Номер проби		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Кількість дафній, що вижили																
1	1	10	10	10	9	10	9	10	9	10	10	9	10	10	10	10
	6	10	10	10	8	9	7	8	9	9	10	9	10	9	9	9
	24	10	10	10	7	7	6	8	8	8	9	8	10	9	9	8
	48	10	10	10	5	7	6	8	8	6	9	8	9	9	9	8
	72	10	10	9	5	6	5	7	7	5	8	8	8	9	9	8
96	9	10	9	4	3	4	5	6	4	7	8	8	8	9	8	
2	1	10	10	10	9	10	9	9	9	10	10	10	10	10	10	10
	6	10	10	10	8	8	8	9	9	9	10	8	10	9	8	10
	24	10	10	10	8	6	6	9	8	8	9	8	9	9	8	9
	48	10	10	10	5	6	5	7	7	6	7	8	9	9	8	9
	72	10	10	10	5	6	5	7	5	6	7	7	9	9	8	9
96	10	10	9	4	4	4	5	5	4	7	7	8	8	8	7	

Контрольні запитання

1. Чому дафній використовують для біотестування стічних вод?

2. У чому полягають біологічні особливості життєдіяльності дафній?
3. Що є критерієм оцінки токсичності при проведенні гострих дослідів?
4. Як проводиться гострий дослід?
5. Які параметри визначають за результатами гострих дослідів?
6. Що є критерієм токсичності при хронічному досліді?
7. Чим відрізняється хронічний дослід від гострого?

Лабораторна робота №8. **Тема: Фітоіндикація ґрунту**

Мета роботи: навчатися визначати стан ґрунту шляхом фітоіндикації.

Короткі теоретичні відомості

У біотестуванні основним параметром оцінки забруднення виступає не концентрація поллютанта, а реакція та відповідь живого організму. Перевагою біотестування токсичності забрудненого середовища є врахування впливу антагоністичних і синергічних взаємодій поллютантів, оцінка сумісної біологічної активності впливу фізико-хімічних факторів на біоту.

На основі екологічної характеристики організмів, тобто їх реакцій на вплив факторів середовища, виокремлюють еврибіонти - види з широкою адаптаційною здатністю, які можуть жити при різних значеннях фактору, і стенобіонти - види з низькою адаптаційною здатністю, життєдіяльність яких обмежена вузьким діапазоном змін певного фактора.

Саме стенобіонти (організми або їх угруповання), життєві функції яких тісно корелюють з певними чинниками середовища використовують для біоіндикації ґрунту. На основі дослідження рослинного покриву можна визначити основні складові ґрунтів (рухомі сполуки основних елементів живлення рослин Ca, N, P, S, K, Mg), оскільки певні види рослин домінують у місцевостях з відповідним складом ґрунту. Наприклад, нітрофіти (азотолюби) можна вважати надійними індикаторами ґрунту, збагаченого азотом, до них відносять берест, черемху, бузину, бруслину європейську.

Найбільше їх росте на землях з підвищеним вмістом нітратів, дуже рідко вони трапляються на бідних азотом землях. Домінування різних рослин-галофітів (солестійких) пов'язано з засоленістю ґрунтів різними йонами. Певні види рослин відображають якісний склад катіонів у поглинаючому комплексі ґрунту.

Фітоіндикацію широко застосовують при визначенні кислотності ґрунтів. Так, на дуже кислих ґрунтах (рН = 3- 4,5) ростуть крайні ацидофіли (надають перевагу кислим ґрунтам), до яких належать сфагнум, плавун булавовидний; на кислих ґрунтах (рН 4,5-6,0) - помірні ацидофіли (калюжниця болотна, їдкий і повзучий жовтець); на слабо кислих ґрунтах (рН 5,0-6,7) - слабкі ацидофіли (медунка, купина багатоквіткова, анемона жовтецева).

Про високий вміст азоту свідчать рослини-нітрофіли – іванчай, малина, кропива; на луках і ріллі - розростання пирію, споришу (горця пташиного). При хорошому забезпеченні азотом рослини мають інтенсивно-зелене забарвлення.

Навпаки, нестача азоту проявляється блідо-зеленим забарвленням рослин, зменшенням гіллястості і числа листя. Високу забезпеченість кальцієм показують кальцієфіли: багато бобових (наприклад люцерна серповидна), модрина сибірська. При нестачі кальцію панують кальцієфоби - рослини кислих ґрунтів: шучка (луговик дернистий), квас, сфагнум та ін. Ці рослини стійкі до шкідливої дії іонів заліза, марганцю, алюмінію.

Індикаторами різного водного режиму ґрунтів є рослини-гігрофіти, мезофіти, ксерофіти. Вологолюбні рослини (гігрофіти) - мешканці вологих, іноді заболочених ґрунтів: лохина, багно, морощка, білозір, калюжниця, герань лугова, очерет лісовий, шабельник болотний, горець зміїний, м'ята польова, чистець болотний.

Рослини досить забезпечених вологою місць, але не сирих і не заболочених - мезофіти. Це велика частина лугових трав: тимофіївка, лисохвіст луговий, пирій повзучий, конюшина лучна, горошок мишачий, волошка фрігійська. У лісі це брусниця, костяниця, копитняк, золота різка, плауни.

Встановлення показників глибини залягання ґрунтових вод має значення для уточнення властивостей ґрунтів і для вироблення рекомендацій щодо їх меліорації. Для індикації глибини залягання ґрунтових вод можна використовувати групи видів трав'янистих рослин (індикаторні групи).

Для лугових ґрунтів виділяється 5 груп індикаторних видів. Крім названих груп рослин, є перехідні види, які можуть виконувати індикаторні функції, наприклад мятлик луговий може бути включений як в першу, так і в другу групи.

Він вказує залягання води на глибині від 100 до понад 150 см. Хвощ болотний - від 10 до 100 см і калюжниця болотна - від 0 до 50 см. Глибина ґрунтових вод:

I. Конюшина лучна, подорожник великий, пирій повзучий – більше 150 см.

II. Мітлиця біла, костриця лучна, горошок мишачий - 100-150 см.

III. Таволга в'язолисна, канаркова трава - 50-100 см.

IV. Осока лисяча, осока гостра, куничник Лангсдорфа - 10-50 см;

V. Осока дерниста, осока пухирчаста - 0-10 см.

Практична частина завдання:

1. Занотувати характерні особливості дослідної ділянки (географічне місце розташування – країна, область, район; оточення – ліси, луки, поля, місто, село тощо; рельєф, клімат, ґрунт, розмір дослідної ділянки).

2. Вивчити біорізноманіття дослідної ділянки та на основі отриманих даних зробити висновки про стан ґрунту:

ґрунти з високим вмістом азоту - кропива дводомна, осот, м'ята, хрестовик звичайний.

ґрунти з низьким вмістом азоту - конюшина польова, лядвенець, роговик, льнянка.

Виснажені ґрунти - ромашка аптечна, пастуша сумка.

Ущільнені ґрунти - подорожник великий, перстач гусячий, лисохвіст.

Перегнійні ґрунти - зірочник середній, вероніка польова, глуха кропива пурпурна, кульбаба лікарська.

Перезволожені і заболочені ґрунти – вологостійка рослинність, осока, хвощ, очерет.

Біоіндикатори залягання ґрунтових вод

Глибина ґрунтових вод, см	Біоіндикатори
010	Осока дерниста, осока пухирчаста, очерет
1050	Осока лисяча, осока гостра, куничник Лангсдорфа
50100	Таволга в'язолиста, канаркові трави
100150	Мітлиця біла, костриця лучна, горошок мишачий, чина лугова
Більше 150	Стоколос безостий, конюшина лугова, подорожник великий, пирій повзучий

Зовнішні ознаки хвороб рослин при надлишку мікроелементів

М/елемент	Зовнішні ознаки хвороб рослин
Залізо (Fe)	Тканина без некрозів; хлороз розвивається між жилками молодих листочків, жилки залишаються зеленими, пізніше весь листок стає жовтим або білуватим, що подібно з голодуванням
Марганець (Mn)	Перші ознаки з'являються на молодих рослинах, ураження місцеве. Тканина некротична, хлороз розвивається між жилками молодих листочків, перетворюючи їх у жовті або білуваті з темно-коричневими або майже білими некротичними плямами, листя викривляється й зморщується (у цьому основна відмінність від голодування)
Кобальт (Co)	У деяких рослин уздовж основних жилок листя з'являються прозорі, наповнені водою ділянки; між жилками розвивається некроз; пізніше листя стає коричневим й обпадає
Цинк (Zn)	Тканина некротична, хлороз листя, молоді листочки жовтіють; верхівкові бруньки відмирають, більш старе листя може обпадати без зів'янення, жилки знебарвлюються в червоний або чорний кольори (на ранніх стадіях ушкодження подібно з дефіцитом заліза). Перші ознаки з'являються на молодих рослинах, при цьому уражується вся рослина
Мідь (Cu)	Слабкий розвиток коріння, хлороз молодого листя, жилки залишаються зеленими
Бор (B)	Хлороз кінців і країв листя, що поширюється всередину, особливо між жилками, поки все листя не стає блідо-жовтим або білуватим; опіки країв листя і некроз із закручуванням країв, опадання листя

Зовнішні ознаки хвороб рослин при нестачі або надлишку поживних речовин

Речовин	Недостача	Надлишок
Азот (N)	Уповільнення росту. Пожовтіння, побуріння й засихання листя. Одеревіння стебел. Зменшення розміру квіток.	Побуріння листя (обпалені краї) і їх загибель Скорочення періоду вегетації
Калій (K)	Поява «крайового опіку» нижнього листя. Ослаблення рослин. Блакитно-зелене листя плодкових і ягідних культур	Утворення на плодах гіркокого слизу
Фосфор (P)	Бурі плями між жилками листя Засихання листя. Ослаблення росту. Фіолетово-червоне забарвлення стебла, гілок і нижньої сторони листя Загинання листя вгору Квітки дрібні, опадаючі	Зменшення вегетаційного періоду Зниження врожаю
Кальцій (Ca)	Припинення росту й розвитку коріння. Верхнє листя білясте, нижнє - зелене. Відмирання вегетаційних точок росту	Стимуляція розвитку не тільки корисних, але й шкідливих мікроорганізмів
Магній (Mg)		Листя злегка темніє і трохи зменшується; іноді спостерігається згортання й зморщування молодих листочків, на пізніх стадіях росту кінці їх втягуються і відмирають, особливо при ясній погоді
Хлор (Cl ₂)	.	Загальне огрубіння рослин, листя маленьке, тьмяно-зелене, стебла тверді, у деяких рослин на більш старому листі з'являються пурпурно-коричневі плями, що викликає його опадання
Сірка(S)		Загальне огрубіння рослин, листя маленьке, тьмяно-зелене, стебла тверді, пізніше листя може скручуватися всередину й покривається наростами, краї його стають коричневими, потім блідо-жовтими

Біоіндикатори вологості ґрунтів

Місцеперебування	Біоіндикатори
Сухе місце існування	Ксерофіти (сухолюбиві) котяча лапка, ястребинка волосиста, очиток, материнка, рокитник, сон-трава, мучниця, наземні лишайники, мітлиця біла
Забезпечені вологою місця, але не сирі і не заболочені	Мезофіти - велика частина лугових трав: тимофійка, лисохвіст луговий, пирій повзучий, конюшина лугова, копитняк, плаун, дрібні зелені мохи, кислиця, золота різка, брусниця, костяниця
Вологі, іноді сирі та заболочені ґрунти	Гігрофіти (вологолюбиві) - білозір, калужниця, комиш лісовий, шабельник болотний, м'ята польова, чистець болотний, багно, лохина, росичка, сфагнум, очерет

Біоіндикатори кислотності ґрунту

Ґрунти	Біоіндикатор
Кислі (рН менше 5,0)	Білоус, запашний колосок, щавель малий, хвощ, журавлина, лохина, сфагнум, верес, зелені мохи, сфагнум плаун
Слабокислі (рН 5,1-5,5)	Ромашка непахуча, манжетка, метлиця польова, куничник ланцетний, щучка, жовтець їдкий
Нейтральні, близькі до нейтральних (рН 5,5-7,0)	Лисохвіст луговий, цикорій, костриця лугова, тонконіг луговий, борщівник сибірський, тимофіївка лучна, конюшина лугова, яглиця європейська, мильнянка лікарська
Лужні (рН більше 7,0)	Бересклет бородавчастий, бузина сибірська, піщанка, мати-й-мачуха, очиток їдкий, гірчиця

Біоіндикатори родючості ґрунту

рівень родючості	Біоіндикатори	
	на луках	в лісах
Дуже високий	Чина лучна, стоколос безостий, таволга, осока лисяча	Малина, кропива, іван-чай, таволга, чистотіл, копитняк, кислиця, валеріана
Помірний (середній)	Костриця лучна, лисохвіст луговий, щучка дерниста, купальниця, вероніка довголиста	Майник дволистий, медунка, дудник, грушанка, купальниця, гравілат річковий
Низький	Білоус, ситник нитковидний, запашний колосок, котяча лапка	Сфагнові мохи, наземні лишайники, чорниця, брусниця, журавлина

3. Оцінити результати біоіндикації:

3.1. Флористичні (видовий склад дендрофлори)

3.2. Фізіологічні (аномалії вмісту в тканинах рослин йонів металів, легкорозчинних солей, відмінності у складі і концентрації пігментів, зміни водоутримуючої здатності, осмотичний потенціал).

3.3. Морфологічні (внутрішні та зовнішні зміни структури організму: зміни внутрішні та зовнішні: ширина річних кілець, особливості тканин, розміри листової пластинки).

3.4. Фітоценотичні (численність, проективне покриття, структурні ознаки фітоценозу).

Контрольні запитання:

1. Принцип фітоіндикації ґрунтів.
2. Які рослини свідчать про рівень ґрунтових вод?
3. Які зовнішні ознаки хвороб рослин при надлишку мікроелементів?
4. Які зовнішні ознаки хвороб рослин при нестачі або надлишку поживних речовин?
5. Які рослини є біоіндикаторами вологості ґрунтів?
6. Які рослини є біоіндикаторами кислотності ґрунту?
7. Які рослини є біоіндикаторами родючості ґрунту?

Лабораторна робота № 9.

Тема: Відбір проб об'єктів навколишнього середовища для біоіндикаційних досліджень

Мета роботи: вивчити особливості відбору зразків об'єктів навколишнього природного середовища для біоіндикаційних досліджень.

Короткі теоретичні відомості

Вибір тест-полігонів. Для проведення біологічного моніторингу довкілля на досліджуваній території повинні бути виділені тест-полігони. Тест-полігони вибираються таким чином, щоб першочергово були досліджені найбільш небезпечні та техногенно-навантажені райони. Відбір проб проводять як в промислових зонах, так і в житлових масивах, віддалених від підприємств. Загальні вимоги до відбору проб ґрунтів. Відбір проб здійснюється згідно «ГОСТ 17.4.3.01–83. Ґрунти. Відбір проб».

Такі методи відбору проб ґрунту застосовуються для оцінки загального та локального забруднення навколо підприємств, поблизу автомобільних трас та ін. При загальному забрудненні ґрунтів ділянки для відбору зразків вибирають у відповідності з координатною сіткою (вказують номер і координати). При локальному забрудненні ґрунтів для визначення пробних ділянок використовують систему концентричних кіл, розташованих на диференційованих відстанях від джерела забруднення (вказують номери кіл і азимут місця відбору зразків).

При дослідженні забруднень ґрунтів проби відбирають пошарово з глибини 0–5; 5–20; 21–40; 41–60 см, в залежності від мети дослідження. Крім того визначається необхідний розмір досліджуваної ділянки, кількість і вид проби.

Максимально допустимі розміри ділянок визначають в залежності від економічних районів країни: в Поліссі – 8 га, Лісостеповій зоні – 25 га, Степовій – 40 га. В середньому розмір ділянки в Україні дорівнює приблизно 25 га. Для визначення у ґрунтах хімічних речовин розмір ділянки для відбору зразків коливається від 1 до 5 га, де відбирають не менш однієї об'єднаної проби масою не менше 400 г. Обстеження земель навколо підприємств-забруднювачів та поблизу автомобільних трас.

Навколо підприємств-забруднювачів обстеження земель проводиться за системою концентричних кіл, розташованих на відстані 0,5; 1; 1,5; 2,5; 5; 10 км від джерела забруднення, з урахуванням пануючих вітрів (рис. 1). При відборі проб ґрунту з ділянок уздовж дорожніх смуг враховується те, що газопиловий струмінь автотранспорту викидається в повітря невисоко над ґрунтом, а відстань переносу викидних газів (в тому числі і аерозолів важких металів, сажі та інших речовин) не перевищує 100 м в напрямку пануючих вітрів. Ділянки для відбору зразків довжиною 200–500 м розмічають на відстанях 0–10, 10–50 і 50–100 м від полотна дороги, враховуючи рельєф, ґрунтовий і рослинний покрив, гідрологічні умови місцевості. На кожній з них відбирають 20–25 індивідуальних проб ґрунту для отримання змішаного (середнього) зразка.

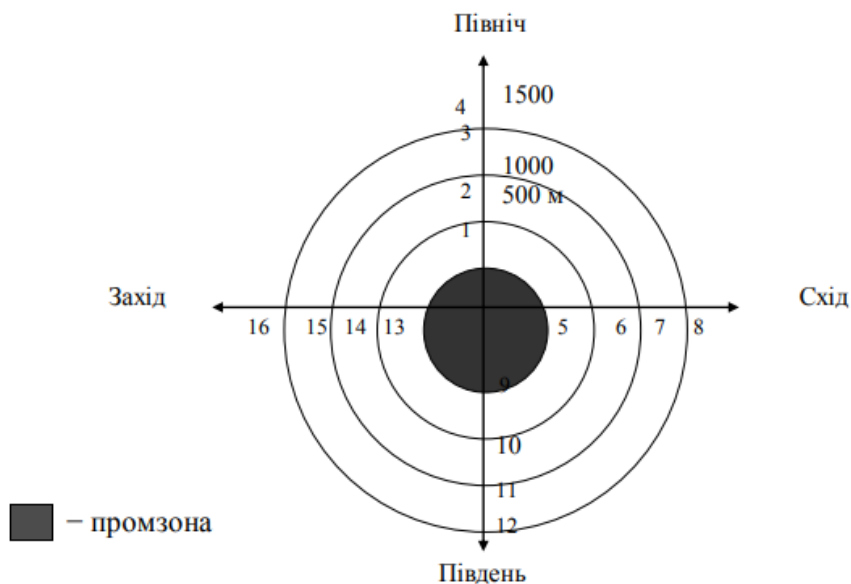


Рис. 1. Пункти відбору проб ґрунтів для визначення впливу промислового об'єкта на довкілля (1–16)

Відбір проб ґрунтів для біоіндикаційних досліджень. На першому етапі комплексного моніторингу навколишнього природного середовища із застосуванням біологічних методів оцінки рекомендується проводити великомасштабні рекогносцирувальні дослідження.

Вони повинні бути прив'язані до стаціонарних постів спостереження Держкомгідромету та санітарно-епідеміологічної служби, а також включати найбільш екологічно небезпечні і умовно чисті контрольні території (за рекомендаціями обласних управлінь Міністерства екології та природних ресурсів України, санітарноепідеміологічної служби тощо).

Далі переходять до середньо- та маломасштабних досліджень відносно оцінки стану ґрунтів та інших об'єктів навколишнього середовища за сумарним токсико-мутагенним фоном. Такі дослідження, як правило, завершуються картографуванням території за даною ознакою.

Великомасштабне картографування дозволяє встановити орієнтовані рівні мутагенного фону, а середньо- та маломасштабне картографування – диференціювати райони всередині окремих регіонів за ступенем мутагенного впливу та виявити джерела впливу на одиницю площі. При великомасштабному картографуванні за одиницю площі рекомендується приймати ділянку розміром 10000 км², при середньо- та маломасштабному – 1000 і 100 км², відповідно. На кожній одиниці площі повинно бути не менше 10 пунктів спостережень. У випадку впливу окремих джерел забруднень (підприємств, електростанцій та ін.) на об'єкти навколишнього середовища, рекомендується застосовувати метод концентричних кіл з шагом через 0,5 км (до 2,5 км).

При оцінці екологічного стану міста з населенням 1 млн. чоловік бажано поділити його територію на 20 умовних квадратів з виділенням у кожному від 10 до 20 пунктів спостережень залежно від рівня екологічної напруженості. У кожному пункті проби ґрунту відбирають за правилом «конверта» зі стороною 10–100 м.

Об'єднана проба ґрунту формується з 9–12 проб, розміщується у відповідну тару, на яку ставиться печатка та наклеюється етикетка із

супровідною відомістю. Періодичність обстеження ґрунтів встановлюється диференційовано (з урахуванням особливостей території) – в середньому через кожні 5 років. Зазначений термін може бути збільшений, якщо різниця між показниками попереднього обстеження не істотна.

Відбір проб з водних джерел. Зразки з водних джерел (річки, озера тощо) відбирають згідно з «ДСТУ ISO 5667-6-2001 Якість води. Відбір проб. Частина 6». Проби води з річок та інших водотоків відбирають на відстані 3–5 м від берега в чисті скляні пляшки та зберігають у холодильнику до проведення дослідів. Якщо проби відбирають зі свердловин, то зразок води наливають у пляшки після 1–2 хвилинного зливу води.

Відбір проб пилку рослин. Відбір пилку кожного досліджуваного виду рослин проводять одночасно в усіх точках спостереження. З кожної моніторингової точки у суху погоду збирають готові до розкриття бутони квітів (від 30-ти рослин кожного виду) У деревинних та чагарникових рослин відбирають біопробы з неушкоджених, здорових паростків середнього ярусу крони південної орієнтації, а у трав – з рослин, зростаючих у територіальному центрі мікропопуляції індикаторів. Рослини повинні бути добре розвинуті і не мати ознак пригнічення. Досліджують у кожній пробі від 1000 до 3000 клітин, серед яких виділяють стерильні та фертильні.

Практична частина завдання:

Для обраної території (уздовж дорожніх смуг, навколо промислових підприємств та ін.) визначити місця та періодичність відбору проб об'єктів навколишнього середовища та нанести їх на топографічну карту.

Контрольні запитання:

1. Критерії вибору тест-полігонів.
2. Загальні вимоги до відбору проб ґрунтів
3. Як здійснюється обстеження земель навколо підприємств та поблизу автомобільних магістралей?
4. Як здійснюється відбір проб ґрунтів для цитогенетичних досліджень?
5. Як здійснюється відбір проб з водних джерел?
6. Як відбирають зразки пилку рослин?

Рекомендована література

1. Василенко О.В., Сонько С.П., Суханова І.П. Моніторинг навколишнього середовища. Навчальний посібник. Умань, Уманський НУС, 2019. 186 с.
2. Нікіфоров В. В., Дігтяр С. В., Мазницька О. В., Козловська Т. Ф. Біоіндикація та біотестування. Кременчук: Вид-во ПП Щенбатих О. В., 2016. 76 с.
3. Айхімов А. І. Екологічний моніторинг. Х., 2005. 120 с.
4. Чухрій Ю. П. Біоіндикація. Біотестування. Біомоніторинг. Одеса: ОНАХТ, 2014. 41 с.
5. Ауров В. В. Методи вимірювання параметрів навколишнього середовища: Підручник. Одеса: «ТЭС», 2012. 284 с.
6. Інтегральні та комплексні оцінки стану навколишнього природного середовища : монографія / О. Г. Васенко та ін. Х: НУГЗУ, 2015. 419 с.
7. Біоіндикація [Текст]: навч. посіб. / В. О. Слободян; Інститут менеджменту та економіки «Галицька Академія». Івано-Франківськ: Полум'я, 2004. 196 с.
8. Дідух Я. П. Основи біоіндикації [Текст]: [монографія] / [відп. ред. акад. НАН України Д. М. Гродзинський]; Нац. акад. наук України, Ін-т ботаніки ім. М. Г. Холодного. К.: Наукова думка, 2012. 42 с.
9. Калінін М.І., Єлісеєв В.В. Біометрія: Підручник для студентів вузів біологічних та екологічних напрямків. Миколаїв: Вид-во МФ НаУКМА, 2000. 204 с.
10. Величко О. М. Основи екології та моніторингу довкілля: Навч. посібник. Ужгород: УжНУ, 2001. 213 с.
11. Величко О. М., Зеркалов Д. В. Контроль забруднення довкілля. Навч. посібник. К.: Основа, 2002. 256 с.
12. Величко О. М., Зеркалов Д. В. Екологічний моніторинг: посібник. К.: Наук, світ, 2001. 250 с.
13. Щетина М.А., Василенко О.В. Аналіз та оцінка рівня забруднення атмосферного повітря Вінницької області // Таврійський науковий вісник, 2020. №112. С. 285–292.
14. Балабак А.В., Василенко О.В. Дослідження території НДП «Софіївка» НАНУ внаслідок зростання рекреаційного навантаження // Таврійський науковий вісник, 2020, №112. С. 249–255.
15. Василенко О.В., Балабак А.В., Щетина М.А. Характеристика розподілу ресурсів сировинних видів лікарських рослин в урбофітоценозах м. Умань та Уманського району. // Таврійський науковий вісник, 2020, №114. С. 250–256.
16. Балабак О. А., Балабак А. В., Василенко О. В. Глобальне електромагнітне навантаження та шумове забруднення довкілля в екологічному стані сучасної урбоєкосистеми. Таврійський науковий вісник. Херсон, 2021, № 117. С. 264-270.

DOI <https://doi.org/10.32851/2226-0099.2021.117.36>

17. Василенко О.В., Балабак А.В., Балабак О.А. Екологічна оцінка посухостійкості ліщини деревовидної (*Corylus Colurna* L.) в умовах урбоекосистем міста Умань. Екологічні науки, 2021, №34. С. 34–41.

18. Василенко О.В., Шевченко Н.О., Сорока Л.В. Прогнозування та оцінка впливу нового житлового району на екологічну безпеку едафотопів урбоекосистеми. Таврійський науковий вісник, 2021, №120. С. 318–323.

DOI <https://doi.org/10.32851/2226-0099.2021.120.40>

19. Аніскіна-Левчук Р. В. Оцінка стану атмосферного повітря по наявності, густоті та видовому різноманіттю лишайників // Матеріали I міжнародної науково-практичної конференції «На шляху до сталого розвитку регіонів», Полтава, 18-19 листопада 2004 р. С.163-166.