

М.І. ХИЖНЯК, М.Ю. ЄВТУШЕНКО

МЕТОДОЛОГІЯ ВИВЧЕННЯ УГРУПОВАНЬ ВОДНИХ ОРГАНІЗМІВ



КИЇВ – 2014

УДК 574.5 (075)
ББК 28.082.1
Х 43

Гриф надано Міністерством освіти і
науки України (лист від 24.10.2014 р.
№1/11-16911)

Рецензенти:

Гандзюра В.П. – доктор біологічних наук, професор кафедри охорони навколишнього середовища ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, м. Київ;

Ліщук А.В. – доктор біологічних наук, провідний науковий співробітник Інституту гідробіології НАН України, м. Київ

Вовк Н.І. – доктор сільськогосподарських наук, професор, завідувач кафедри аквакультури рибогосподарського факультету Національного університету біоресурсів і природокористування України

Хижняк М.І., Євтушенко М.Ю. **Методологія вивчення угруповань водних організмів [Навчальний посібник]**/М.І. Хижняк, М.Ю. Євтушенко – Київ: **Український фітосоціологічний центр, 2014. – 269 с.: іл.**

ISBN

У навчальному посібнику наведено методологію планування й безпосереднє проведення наукових досліджень з оцінки стану водойм. Основні розділи представлені інформацією щодо планування мережі станцій, періодичність відбирання проб, описані традиційні й сучасні методи відбирання і опрацювання проб біологічних угруповань, визначення структурних характеристик, якості води, біологічної продуктивності водойм. Надається перелік державних стандартів (гармонізованих з міжнародними), які регламентують принципи вибору пунктів та правил відбирання проб води, донних відкладів, біоти у водоймах різного типу, рекомендації щодо приладів і засобів, які використовуються для відбирання біоти, методи фіксації з метою збереження відповідних показників.

Навчальний посібник студентам і викладачам біологічних спеціальностей вищих навчальних закладів II - IV рівнів акредитації, аспірантам і науковим співробітникам, фахівцям рибного господарства та охорони природи.

ISBN

ББК 28.082.1
Х 43

© Хижняк М. І., Євтушенко М.Ю. 2014
© НУБіП України, 2014

ЗМІСТ

ВСТУП	5
1. ОСНОВНІ МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ НАСЕЛЕННЯ ВОДОЙМ	7
1.1. Загальні методи досліджень	7
1.2. Мікроскопічні методи досліджень.....	15
2. БІОТОПИ ВОДОЙМ, ЖИТТЄВІ ФОРМИ ТА НАСЕЛЕННЯ.....	35
3. УПРАВЛІННЯ ЯКІСТЮ НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	46
3.1. Методологія наукових досліджень	46
3.2. Мета наукових досліджень	47
3.3. Якість наукових досліджень	48
3.4. Керівництво зі складання програми відбирання проб.....	51
4. ПЛАНУВАННЯ МЕРЕЖІ СТАНЦІЙ ДЛЯ ВІДБИРАННЯ ГІДРОБІОЛОГІЧНИХ ПРОБ.....	61
3.1. Загальна характеристика водойми	63
3.2. Пункти спостережень	66
3.3. Створи спостережень	67
3.4. Базові та проміжні станції.....	70
5. ПОКАЗНИКИ ЯКОСТІ ВОДИ, ДИНАМІКА ТА ЕТАПИ ВІДБИРАННЯ ГІДРОБІОЛОГІЧНИХ ПРОБ	73
5.1. Показники якості води	73
5.2. Режим відбирання гідробіологічних проб	75
5.3. Часова динаміка відбирання гідробіологічних проб.....	77
5.4. Етапи відбирання гідробіологічних проб.....	79
5.5. Вимоги до устаткування, ємкостей та їх підготовка до відбирання проб ...	81
6. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО НАСЕЛЕННЯ ВОДОЙМ	87
6.1. Експедиційні та лабораторні прилади й обладнання.....	87
6.2. Відбирання проб води для мікробіологічних досліджень.....	88
6.3. Методи визначення загальної чисельності бактерій у воді.....	89
6.4. Методи визначення біомаси бактерій.....	97
6.5. Визначення загальної кількості сапрофітних бактерій у воді.....	105
6.6. Визначення кількості бактерій групи кишкової палички.....	109
6.7. Методи визначення загальної чисельності бактеріобентосу	111
6.8. Визначення загальної кількості сапрофітних бактерій у ґрунтах	115
6.9. Визначення метаболічно активних бактерій у воді й донних відкладах ...	117
7. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ФІТОПЛАНКТОНУ	123
7.1. Експедиційні та лабораторні прилади та обладнання	123
7.2. Прилади для відбирання проб фітопланктону.....	124
7.3. Відбирання та консервування проб фітопланктону.....	131
7.4. Підготовка проб до камерального опрацювання проб	133
7.5. Камеральне опрацювання проб	136

8. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ПЕРВИННОЇ ПРОДУКЦІЇ	144
8.1. Експедиційні та лабораторні прилади й обладнання.....	144
8.2. Методи визначення первинної продукції.....	147
8.3. Визначення первинної продукції фітопланктону склянковим методом....	150
8.4. Визначення первинної продукції водяних макрофітів	155
8.5. Визначення первинної продукції у радіовуглецевій модифікації	156
8.6. Визначення первинної продукції методом авторадіографії.....	157
8.7. Визначення первинної продукції за вмістом хлорофілу-а	160
9. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ЗООПЛАНКТОНУ	164
9.1. Експедиційні та лабораторні прилади й обладнання.....	164
9.2. Методи відбирання проб зоопланктону	165
9.3. Консервування та етикетування проб зоопланктону	181
9.4. Методи опрацювання проб зоопланктону	183
10. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ЗООБЕНТОСУ	191
10.1. Експедиційні та лабораторні прилади й обладнання.....	191
10.2. Прилади та знаряддя для відбирання проб зообентосу	192
10.3. Методи опрацювання проб зообентосу.....	197
11. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ПЕРИФІТОНУ	204
11.1. Експедиційні та лабораторні прилади й обладнання.....	204
11.2. Методи відбирання та опрацювання проб перифітону	205
11.2.1. Методи відбирання проб перифітону з природних субстратів	205
11.2.2. Методи відбирання проб перифітону з вилученням субстратів	209
11.2.3. Методи відбирання проб перифітону з штучних субстратів.....	213
11.3. Спеціальні методи опрацювання епіфітних водоростей	216
12. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ МАКРОФІТІВ ВОДОЙМ	220
12.1. Експедиційні та лабораторні прилади й обладнання.....	220
12.2. Вивчення структури рослинних угруповань	220
13. СТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОТИ ТА ОЦІНКА ЯКОСТІ ВОДИ ЗА БІОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ.....	233
13.1. Деякі статистичні показники	233
13.2. Структурна характеристика біоти.....	235
13.3. Методи біологічної індикації	238
14. ВИЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ ВОДОЙМ	249
14.1. Визначення біологічної продуктивності гідробіологічних угруповань ..	251
14.2. Метод орієнтовного розрахунку потенційної рибопродуктивності.....	251
14.3. Визначення потенційної рибопродуктивності	256
14.4. Розрахунок потенційної промислової рибопродуктивності	258
14.5. Розрахунок рибопродуктивності на основі біотичного балансу	259
12. ПЕРЕЛІК ДЕРЖАВНИХ СТАНДАРТІВ ГАРМОНІЗОВАНИХ ДО МІЖНАРОДНИХ СТАНДАРТІВ.....	263

ВСТУП

Класична гідробіологія у вивченні стану водних екосистем оперує багатьма різноманітними методами досліджень, які дозволяють оцінити структуру популяцій різних видів гідробіонтів, їх функціональну роль у гідросфері, використовуючи енергетичний принцип, перебіг речовини та енергії трофічними ланцюгами та інших методів. Існує низка методів оцінки якості води та стану водних екосистем шляхом застосування в системі біомоніторингу індикаторних видів гідробіонтів та відповідних індексів. Більшість цих методів представлена у виданні «Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод» (за редакцією академіка НАН України В.Д. Романенка). Проте багато з цих методів є досить працемісткими, на визначення видового складу гідробіонтів витрачається чимало часу, а деякі з них не в повній мірі задовольняють вимоги, які ставляться до наукових знань з позицій міжнародної наукової спільноти.

Між тим інтенсивний розвиток та досягнення світової науки привели до створення нових приладів та обладнання, які дозволяють не лише більш оперативно здійснювати моніторингові дослідження водойм різного типу, а й на більш глибокому методичному рівні вивчати механізми функціонування водних екосистем та фізіолого-біохімічні процеси, які відбуваються в організмі гідробіонтів як у нормі, так і через вплив на них природних та антропогенних чинників.

У зв'язку з цим студенти, які опановують гідробіологію, мають можливість ознайомитись у межах зібраної інформації з наявними сучасними методами, приладами та обладнаннями, які використовуються науковими установами, навчальними закладами при вивченні гідробіологічних процесів, які відбуваються у водних екосистемах різного типу.

Автори навчального посібника не претендують на повноту викладення всіх сучасних методів гідробіологічних досліджень, які існують, оскільки в науковій сфері відбувається постійне вдосконалення приладного парку та методів досліджень, спрямованих на підвищення ефективності та якості гідробіологічних досліджень водойм різного типу.

1. ОСНОВНІ МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ НАСЕЛЕННЯ ВОДОЙМ

1.1. Загальні методи вивчення населення водойм

Основними методами дослідження водойм є описовий, порівняльний та експериментальний. *Описовий метод* – це збирання та описування фактичного матеріалу для з'ясування суті явищ, тобто вивчення видового складу живого населення водойм та кількісних показників розвитку окремих видів. Збирання та описування фактичного матеріалу були основними засобами дослідження на ранніх стадіях розвитку гідробіології, які не втратили свого значення і сьогодні. Для збирання матеріалу використовують спеціальні прилади та обладнання: планктонні сітки, батометри, дночерпаки, волоки, драги тощо.

Порівняльний метод дозволяє шляхом зіставлення вивчати подібність чи відмінність організмів, популяцій, гідробіоценозів різних водойм.

Експериментальний метод досліджень пов'язаний з активним впливом дослідника на окремі популяції, біоценози та екосистеми в природних чи лабораторних умовах у необхідному для нього напрямку. При цьому точно вимірюють потрібні умови і враховують зміни перебігу процесів. Метод дозволяє вивчати явища ізольовано й досягати повторення їх при відтворенні ідентичних умов. Вищою формою експерименту є *моделювання* досліджуваних процесів у водних екосистемах.

Для вирішення низки завдань гідробіологія залучає багатий арсенал сучасних хімічних, фізіологічних, мікробіологічних, біохімічних, біофізичних, молекулярно-генетичних, токсикологічних методів. Окрім цього, у сучасних дослідженнях використовують дистанційні біофізичні прилади, підводне й надводне відеоспостереження (телебачення, фотографування), ехолокацію та методи візуального спостереження – акваланги, підводні човни, батискафи та космічні супутники. Вивчення населення водойм проводять шляхом відбирання зразків (проб) води й донних відкладів з наявними там організмами при експедиційних виїздах на водойму. У морській експедиції судно виходить на заздалегідь визначену станцію і прив'язується у просторі за допомогою супутникової системи позиціонування (GPS). Ехолотом визначається глибина місця. Для визначення параметрів середовища (температури, вмісту розчиненого кисню, тиску, електропровідність, флуоресценція) використовують СТД-зонд та касети з батометрами для відбирання проб води (рис.1.1). Після цього проводять відбирання проб зоопланктону планктонною сіткою, проб зообентосу дночерпачами чи донним тралюванням. При роботі судна в прибережних районах проводять підводні водолазні дослідження.

Вивчення великомасштабних процесів і явищ, що відбуваються на земній поверхні, проводиться з використанням штучних супутників Землі. Найкращі результати досягаються при

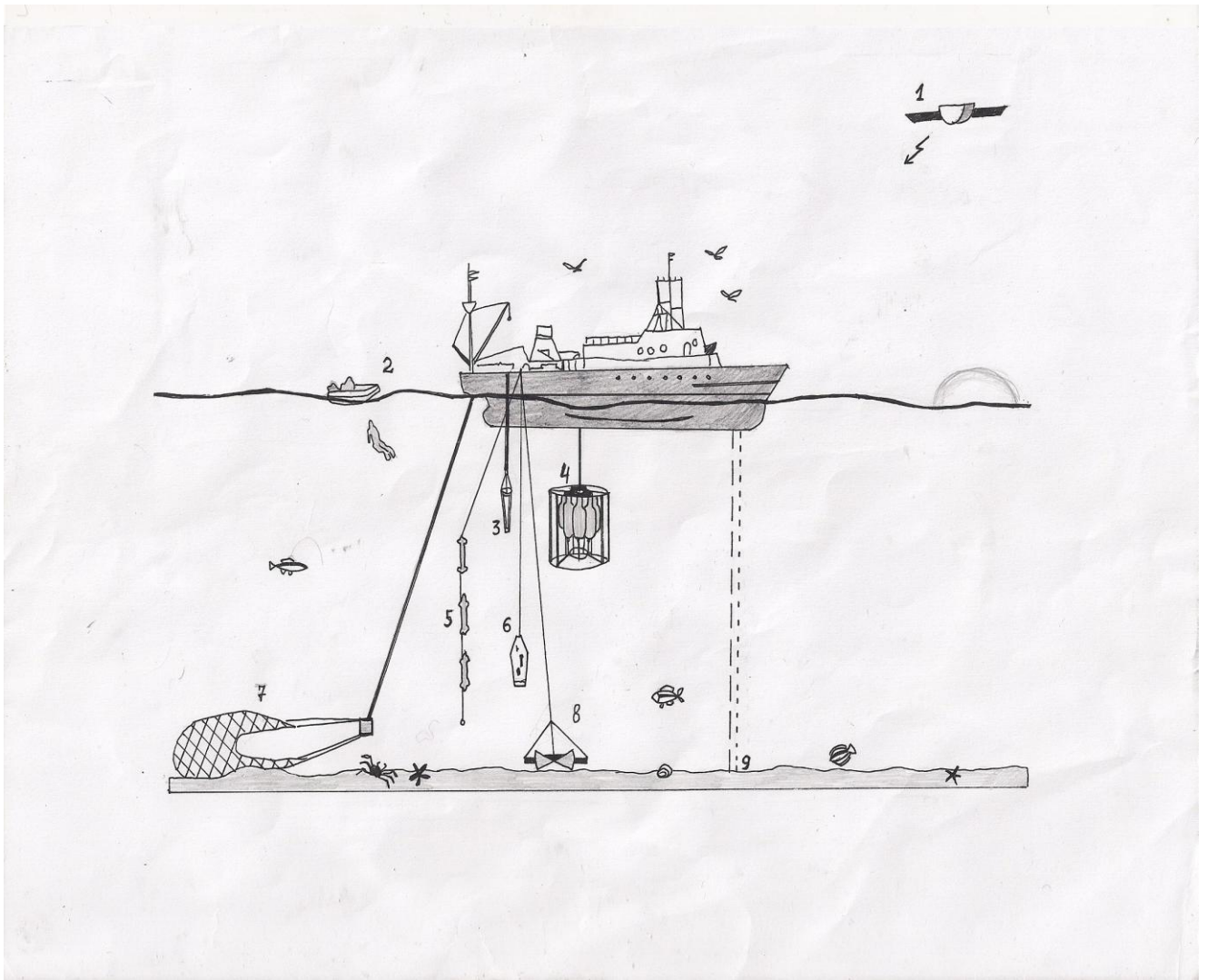


Рис.1.1. Оснащення науково-дослідного судна у морській експедиції

1. Супутникова система позиціонування (GPS);
2. Підводні дослідження, висадка на берег;
3. Зоопланктонна сітка;
4. STD-зонд STD90 (Т, С, О, рН, ФАР, флуоресценція) у касеті MWWS12 з батометрами для відбирання проб води;
5. Серія батометрів Ніскіна або БМ-48;
6. STD-зонд SEACAT SBE19 (Т, С, D) ;
7. Донний трал або трал Сігсбі;
8. Дночерпач Ван-Віна;
9. Ехолот.

комплексному, синхронному використанні дистанційних і наземних вимірювань, коли результати останніх екстраполюються на картосхеми, отримані на основі космічних знімків. Космічні зйомки поверхні Землі виконують супутники Січ-1, Природа, Lendsat, Shot, NOAA, ERS IRS тощо. Вони мають спектральну скануючу апаратуру, що дозволяє отримати зображення земної поверхні в різних діапазонах спектра: у видимому (від 0,40 до 0,75 мкм), інфрачервоному (від 0,75 до 14 мкм) і радіоспектрі (від 3 до 100 см). При цьому забезпечується максимальна роздільна здатність на місцевості зі смугою огляду у декілька десятків кілометрів. Ці параметри апаратури забезпечують отримання різних карт, які при дослідженні водойм дають панораму водних систем (річок, озер, водосховищ, морів і океанів), використовуються для побудови мережі станцій, визначення координат мережі станцій (GPS) та екологічних карт водних об'єктів.

Сучасне вивчення біології морів проводять з використанням географічних інформаційних систем (ГІС). Це організований набір апаратних і програмних засобів, географічних даних, призначених для ефективного отримання, збереження, оновлення, опрацювання, аналізу й зображення усіх видів географічно прив'язаної інформації. Інформація в ГІС надходить з експедиційних досліджень, дистанційного зондування, архівних матеріалів і літературних джерел. Інформація про водні екосистеми для роботи у ГІС-системі складається з основних блоків:

- середовище (морфометричні характеристики водойми, рельєф дна, ґрунти, характер берегів, клімат, гідрологічний режим, фізико-хімічні умови тощо);
- біота (дані щодо планктону, бентосу, іхтіофауни, птахів і ссавців);
- антропогенний вплив (різні види забруднень – органічне, хімічне, теплове і радіаційне, а також рибництво, рибальство, розробка сировинних запасів тощо).

Також у системі ГІС наводяться дані про експедиції, дистанційне зондування, фото- і відеоматеріали тощо. Впровадження в практику гідробіологічних досліджень сучасних технологій – GPS та ГІС дозволяє вирішувати питання визначення координат на новітньому рівні.

Одним із найбільш перспективних методів в гідробіології вважають застосування ізольованих екологічних систем або мікрокосм. Це експериментальні ємкості, виготовлені із поліетилену, поліхлорвінілу чи інших полімерних плівок, що поміщаються в природні водойми для систематичних спостережень за гідробіологічними процесами в контрольованих умовах, наближених до природних. Сучасні мікрокосми являють собою складні інженерні споруди об'ємом до декількох сот кубічних метрів, які використовуються в морських і океанічних умовах. Якщо дослідження проводять у природних умовах безпосередньо на водному об'єкті, то у цьому випадку екосистема наближена до природного середовища піддається впливу природних і

антропогенних чинників. Переваги мікрокосмів є очевидними, і їх прийнято називати штучними басейнами для досліджень екологічного стану водойм. Проте такий експеримент вимагає постійного контролю, потребує великої кількості технічних засобів і фінансових витрат. Дослідження з використанням мікрокосм використовують у гідробіології та екології, вивчаючи дію токсиканта на організм, популяцію і гідробіоценоз. Дослідження з використанням мікрокосма широко використовують у США як невід'ємну частину екологічного моніторингу.

Останнім часом для визначення чисельності водоростей та бактерій використовують біохімічні методи (за концентрацією хлорофілу та концентрацією АТФ). Вміст хлорофілу, а відповідно і чисельність водоростей, визначають біофізичними методами (за спектральним складом світла, що виходить з води). Поширеними методами визначення інтенсивності фотосинтезу планктону є кисневий (хімічний) та радіовуглецевий (біофізичний) методи.

Надзвичайно перспективними є молекулярно-генетичні дослідження. Вони дають можливість за виділеними РНК і ДНК вивчати бактеріопланктон та досліджувати його різноманіття, визначати детекцію (якісні ознаки), характеристику, контроль поширення фітопланктону та залежність генетичної структури зоопланктону від екологічних факторів тощо.

Вивчення видового складу різних таксономічних груп водних організмів неможливе без інформаційного забезпечення, яке включає три основних блоки:

1 – Визначники систематичної ієрархії флори та фауни – від виду (підвиду, форми, варієтету статусу) до таксонів найвищого рангу – тип, царство. У наш час робляться спроби щодо створення електронних атласів-визначників, які б поєднали багатий фактичний матеріал традиційних визначників з методами, що використовуються в штучному інтелекті (експертних системах) та розпізнаванні образів. Швидкість електронного визначення визначення залежить від складності таксономічної групи, фізичного стану об'єкта та складності ознак. Система дає відповідь про вид даного об'єкта (чи варіанти відповіді) та розгорнуту довідку з морфології, екології, біогеографії, літературі тощо. Розроблено електронні атласи-визначники риб і деяких вищих ракоподібних – *Isopoda*, *Anisopoda*, *Cirripedia* Чорного моря, атласи-визначники безхребетних тварин прісних вод (річок, озер, ставів, водосховищ) середньої смуги Росії, які включають 130 видів (30 систематичних груп різного порядку) та атлас-визначник найбільш поширених водоростей (52 види, 49 таксонів на рівні відділів і родів).

2 – Основні монографічні роботи, за допомогою яких можна

- обґрунтувати необхідність дослідження гідробіонтів даної систематичної, екологічної чи трофічної групи;
- вибрати необхідні найбільш інформативні структурно-функціональні характеристики;
- освоїти нові методи досліджень.

3 – Математичне забезпечення – в найменше розроблене та представлене в основному методами варіаційної статистики.

Практично відсутні програми системного забезпечення та аналізу емпіричних даних, методичних підходів до їх узагальнення. Доопрацювання вимагає математичне забезпечення короткочасових і, особливо, довгострокових прогнозів можливих загроз біорізноманіттю від антропогенних чинників. Більшість розроблених в екології математичних моделей дозволяє моделювати абіотичні складові водних екосистем, а біотичні (ті, що формують біорізноманіття), як правило, ігноруються. Необхідною складовою інформаційного забезпечення повинен бути пакет комп'ютерних програм для характеристики біорізноманіття, структурних індексів, їх основних функціональних характеристик. Важливим моментом також є і те, що математичне забезпечення дозволяє більш чітко сформулювати мету, задачі досліджень, логічно обґрунтовувати отримані результати досліджень.

Визначення таксономічного складу планктонних і бентосних угруповань водних організмів та їх кількісних показників неможливе без апаратного забезпечення оптичними та вимірювальними приладами: мікроскопами різних видів, фотоелектроколориметрами, цитофлуориметрами тощо. Сучасні світлові мікроскопи – це складні оптичні системи, які дають можливість отримувати збільшення у 2500–3000 разів. У ХХ столітті сконструйований цифровий мікроскоп, що збільшує предмети в сотні тисяч разів.

1.2. Мікроскопічні методи досліджень населення водойм

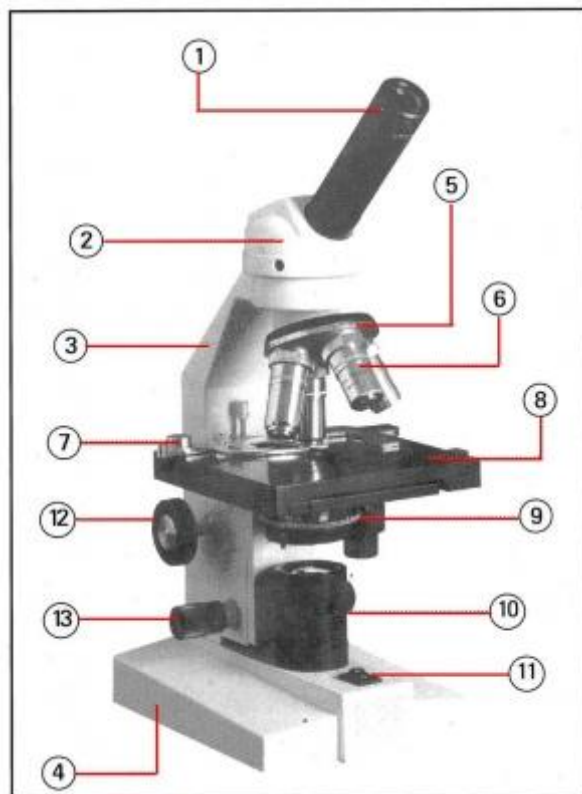
Мікроскоп – оптичний прилад для отримання збільшених зображень мікрооб'єктів (або деталей їхньої структури). За допомогою мікроскопів визначають різні характеристики мікрооб'єктів: форму, розміри, будову тощо.

Історична довідка. Властивість системи з двох лінз давати збільшені зображення предметів було відомо вже в 16 ст в Нідерландах і Північній Італії майстрам, що виготовляли скло для окулярів. Є відомості, що близько 1590 р. прилад типу мікроскопа був виготовлений братами Янсенами (Нідерланди). Швидке поширення мікроскопа та його вдосконалення, головним чином ремісниками-оптиками, розпочинається з 1609-1610 рр., коли Р. Галілей сконструював зорову трубу та використовував її як мікроскоп, змінюючи відстань між об'єктивом і окуляром. Перші блискучі успіхи використання мікроскопа в наукових дослідженнях пов'язані з іменами Р. Гуку (близько 1665; зокрема, він встановив, що тваринні і рослинні тканини мають клітинну будову) і особливо А. Левенгука, що відкрив за допомогою мікроскопа мікроорганізми (1673-1677рр.). У 1827 Д. Б. Амічі вперше застосував в мікроскопі іммерсійний об'єктив.

У навчальних лабораторіях використовують світлові мікроскопи, на яких мікропрепарати розглядаються з використанням природного або штучного світла. Найбільш поширені світлові та стереоскопічні біологічні мікроскопи. Вони дають збільшення в межах від 56 до 1350 разів. Стереоскопічний мікроскоп забезпечує об'ємне сприйняття мікрооб'єкта зі збільшенням від 3,5 до 88 разів.

Головний принцип роботи світлового мікроскопа полягає в тому, що через прозорий або напівпрозорий об'єкт дослідження, розміщений на предметному столику, проходять промені світла та

потрапляють на систему лінз об'єктиву, які збільшують зображення (рис.1.2). Мікроскоп складається з трьох функціональних елементів: освітлювального, відтворювального та візуалізованого. Освітлювальний елемент створює потік світла на об'єкт дослідження для збільшення його розмірів.



1. Окуляр
2. Насадка
3. Штатив
4. Основа
5. Револьверна головка
6. Об'єктив
7. Координатний столик
8. Предметний столик
9. Конденсор
10. Освітлювальний пристрій
11. Перемикач
12. Гвинт макрометричного (грубого) фокусування
13. Гвинт мікрометричного (точного) фокусування

Рис.1.2. Будова світлового мікроскопа.

В освітлювальну частину входять джерело світла та оптико-механічна система.

Відтворювальна частини мікроскопа – це відтворення зображення предмета у площині з необхідною якістю зображення і

кратністю збільшення. Відтворюючий елемент - це об'єктив і проміжна оптична система.

Візуалізований елемент необхідний для отримання зображення предмета на сітківці ока, фотоплівці, екрані та додаткового збільшення. Він складається з монокулярної, бінокулярної чи тринокулярної візуальної насадки із спостережною системою (окулярами), проекційної насадки, системи додаткового збільшення, системи аналізу та документування зображень. Наявність додаткових систем залежить від типу мікроскопа.

Оптична система мікроскопа складається з окуляра і об'єктива, з'єднаних між собою трубою – тубусом, який прикріплений до штатива.

Збільшення мікроскопа є його основною характеристикою і дорівнює добутку збільшень об'єктива й окуляра. З навчальною метою використовують об'єктиви $\times 8$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 90$. Збільшення окулярів позначено на них цифрами: $\times 7$, $\times 10$, $\times 15$. Якість об'єктива визначає його роздільна здатність, тобто властивість зображувати найдрібніші деталі препарату. Роздільна здатність характеризується найменшою відстанню, при якій дві крапки розрізняють окремо – це близько 0,2 мкм. Наприклад, при використанні імерсійного об'єктива ($\times 90$) і окуляра ($\times 10$), зображення об'єкта буде збільшене в 900 разів.

Механічна система мікроскопа – це тубус, штатив, предметний столик, механізми фокусування, револьверна голівка. Механізми фокусування використовують для отримання чіткого

зображення. Гвинт грубого (макрометричного) фокусування використовують при роботі з малим збільшенням, а тонкого (мікрометричного) фокусування – при роботі з великим збільшенням.

Препарат з об'єктом досліджень поміщають на предметному столику. Існує декілька видів предметних столиків: нерухомий (стаціонарний), рухомий, координатний тощо. Координатний столик дає можливість пересувати досліджуваній об'єкт у горизонтальній площині по осях X и Y.

На револьверній голівці розташовані об'єктиви. Повертаючи її, можна вибрати потрібний об'єктив і таким чином помінати збільшення. Освітлювальна система мікроскопа складається з джерела світла, яке може бути вмонтованим і зовнішнім, конденсора і діафрагми. Біологічні мікроскопи мають нижню вмонтовану підсвітку. За допомогою діафрагми можна регулювати освітлення препарату. Конденсори бувають однолінзові, двохлінзові, трьохлінзові. Шляхом піднімання чи опускання конденсора, можна конденсувати чи розсіювати повітря, що падає на препарат. Діафрагма може бути з поступовою зміною діаметра отвору або ступінчатою з декількома отворами різного діаметру. При зменшенні чи збільшенні діаметру отвору можна обмежувати або збільшувати потік світла, що падає на об'єкт досліджень.

Мікроскоп біологічний стереоскопічний МБС-1 (рис. 1.3) дає пряме та об'ємне зображення об'єкта, що проходить у відбитому

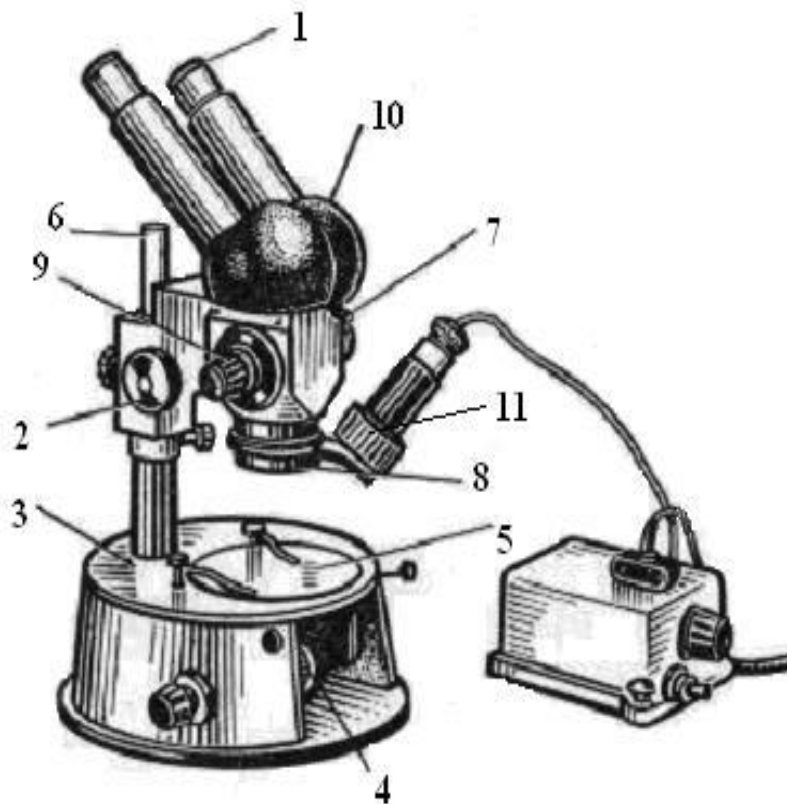


Рис.1. 3. Будова стереоскопічного мікроскопа МБС-1:

1 - окуляр, 2 - гвинт грубої наводки, 3 - підставка, 4 - дзеркало, 5 - предметний столик, 6 - стійка, 7 - оптична голівка, 8 - об'єктив, 9 - рукоятка перемикавання збільшення, 10 - бінокулярна насадка, 11 - лампа .

світлі. Він призначений для вивчення дрібних об'єктів і препарування їх, так як має велику робочу відстань (відстань від накривного скельця до фронтальної лінзи). Основна частина мікроскопа – оптична голівка. У нижню частину її вмонтовано об'єктив, що складається з системи лінз, які можна перемикати за допомогою рукоятки і цим змінювати збільшення. Збільшення об'єктива позначені цифрами на рукоятці - х0, 6, х1, х2, х4, х7. Для

встановлення потрібного збільшення об'єктива необхідно цифру на рукоятці поєднати з точкою на корпусі голівки. На верхню частину голівки встановлена біноккулярна насадка. Окуляри мають збільшення $\times 6$, $\times 8$, $\times 12$, $\times 5$. Для встановлення зручної для очей відстані між окулярами треба розсунути або зрушити тубуси. До задньої стінки корпусу голівки прикріплений кронштейн з рейковим механізмом пересування. Підйом і опускання корпусу голівки здійснюється обертанням гвинта.

Кронштейн кріпиться до стійки, яка прикріплена до підставки. Для роботи в прохідному світлі в корпус підставки вмонтований відбивач світла із дзеркальною і матовою поверхнями. З передньої сторони корпусу є вікно для доступу денного світла. Для штучного освітлення призначена лампа, яку вставляють або в отвір у задній частині корпусу (для прохідного світла), або в кронштейн, укріплений на об'єктиві (для відбитого світла). Столик встановлений у круглому вікні на верхній поверхні корпусу підставки. Він може бути або скляним (при світлі, що проходить), або металевим, з білою і чорною поверхнями (при відбитому світлі).

Мікроскопія. Структуру препарату можна розрізнити лише тоді, коли різні його частки по-різному поглинають або відбивають світло чи відрізняються одна від іншої (або від довкілля) показником заломлення. Ці властивості обумовлюють різницю амплітуд і фаз світлових хвиль, що пройшли через різні ділянки препарату, від чого залежить контрастність зображення. Тому

методи спостереження при мікроскопічному дослідженні вибираються залежно від характеру і властивостей об'єктів, що вивчаються. Серед них виділяють метод світлого поля, метод темного поля, метод косоного освітлення, метод імерсійної мікроскопії тощо.

Метод світлого поля в прохідному світлі (рис.1.4) застосовується при дослідженні прозорих препаратів з включеними в них абсорбуючими (що поглинають світло) частками і деталями. Такими є, наприклад, тонкі забарвлені зрізи тваринних і рослинних тканин тощо.

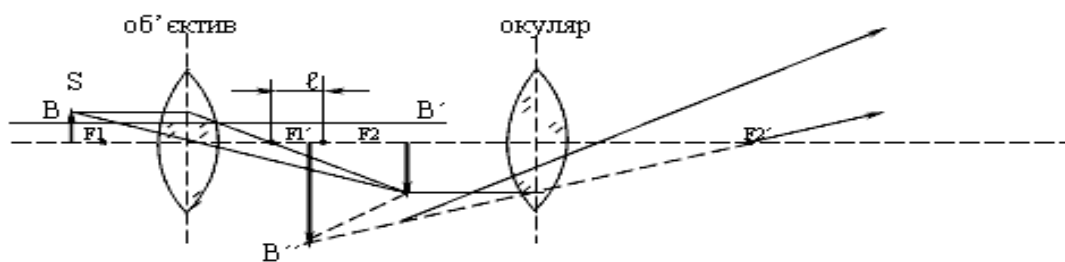


Рис.1.4. Хід променів у світловому мікроскопі.

Метод темного поля застосовують для отримання зображень непрозорих об'єктів, невидимих при освітленні за методом світлого поля. При цьому у полі зору на темному фоні видно світлі зображення елементів структури препарату, що відрізняються від довкілля показником заломлення.

Метод косоного освітлення є різновидом попереднього відрізняючись тим, що світло на об'єкт направляють під великим

кутом до напрямку спостереження. У деяких випадках це дозволяє виявити «рельєфність» об'єкту за рахунок утворення тіней.

Метод імерсійної мікроскопії передбачає застосування сильних об'єтивів (x90) і кедрової олії для вирівнювання показників приломлення світла між фронтальною лінзою об'єктива та препаратом, що підвищує якість зображення. Світловий пучок, який проходить через олію, не розсіюється, не змінює свого напрямлення, а потрапляє до об'єктива, забезпечуючи добре освітлення поля зору (рис.1.5). При відсутності олії промені на межі скло-повітря розсіюються, тоді освітлення буде недостатнім.

Крім світлового мікроскопа, який залишається основним інструментом при вивченні клітин і тканин, для спеціальних цілей

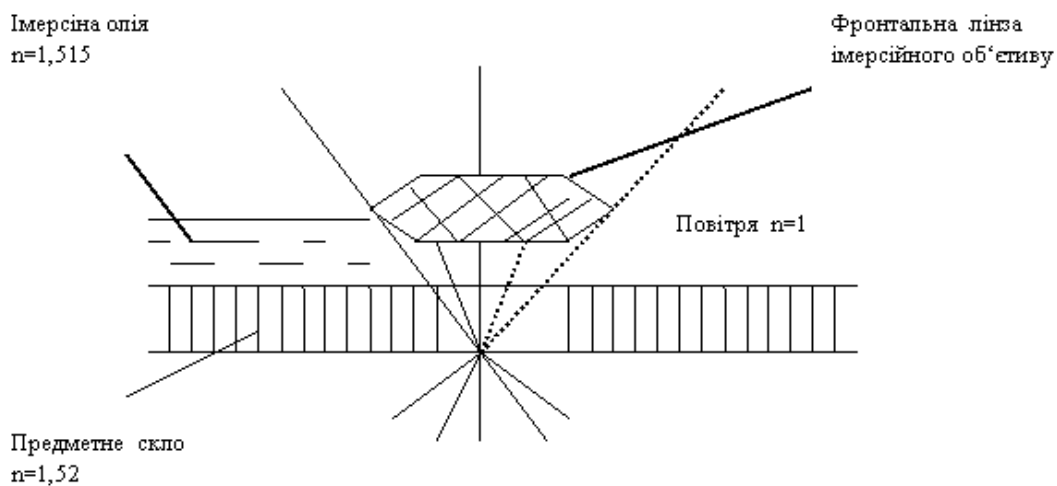


Рис. 1.5. Хід променів в імерсійній системі світлового мікроскопа

використовують фазовоконтрастний, інтерференційний, поляризаційний, люмінесцентний та інші мікроскопи.

Флуоресцентна (люмінесцентна) мікроскопія використовує явище флуоресценції або світіння об'єкта, збуджене

ультрафіолетовими променями. Розрізняють первинну, власну флуоресценцію (хлорофіл флуоризує яскраво-червоним кольором), і вторинну, або наведену, що збуджується флуорохромами (акридин оранжевий збуджує світіння ДНК яскраво-зеленим, а РНК – червоно-оранжевим світлом). У люмінесцентній мікроскопії використовують освітлення препаратів зверху (через об’єктив, який в цьому випадку служить і конденсором) і знизу, через звичайний конденсор. Спостереження при освітленні зверху інколи називають «люмінесцентною мікроскопією у відбитому світлі» (цей термін умовний – збудження світіння препарату не є простим віддзеркаленням світла); його часто поєднують із спостереженням за фазово-контрастним методом в прохідному світлі. Препарати для вивчення в люмінесцентному мікроскопі обробляють речовинами, здатними флуорескувати – флуорохромами. Основними флуорохромами є акридин, корифосфін, ізотіоціонат.

Ультрафіолетова мікроскопія ґрунтується на принципі використання явища вибіркового поглинання ультрафіолетових променів речовинами. Різні речовини мають різні спектри поглинання цих променів, що дає можливість виявляти певні сполуки, наприклад, диференціювати ДНК і РНК.

Фазовоконтрастна та інтерференційна мікроскопія. Метод фазовоконтрастної та інтерференційної мікроскопії передбачає вивчення живих нефарбованих препаратів. У фазовоконтрастному мікроскопі використовується явище дифракції. За допомогою кільцевої діафрагми “фазової пластинки”

підвищується контрастність об'єкта, що дає можливість розрізняти структури, які мають різні показники заломлення.

Метод фазового контрасту використовують для отримання зображень прозорих і безбарвних об'єктів, невидимих при спостереженні за методом світлого поля. До таких об'єктів належать, наприклад, живі незабарвлені тварини тканини. Метод заснований на тому, що навіть при дуже малих відмінностях в показниках заломлення різних елементів препарату світлова хвиля, що проходить через них, зазнає різних змін по фазі (набуває фазового рельєфу). Ці фазові зміни, що не сприймаються безпосередньо ні оком, ні фотопластиною, за допомогою спеціального оптичного пристрою перетворюються в зміни амплітуди світлової хвилі, тобто в зміни яскравості («амплітудний рельєф»), які вже помітні оком або фіксуються на фоточутливому шарі. Тобто у видимому зображенні відтворюється фазовий рельєф, який є фазово-контрастним.

Інтерференційний мікроскоп характеризується тим, що в ньому один пучок світла розділяється на два, які потім накладаються й інтерферують. Структури, різні за товщиною і показниками заломлення, у такому мікроскопі стають контрастними і добре розрізняються. Інтерференційний мікроскоп дозволяє визначати товщину об'єкту та вміст у ньому сухої маси речовини.

Відеокамери та відповідні технології обробки зображення значно збільшили можливості світлової мікроскопії. Це дозволило

спостерігати клітини протягом тривалого часу при низькій освітленості, виключаючи тривалий вплив яскравого світла (або тепла). Оскільки зображення створюється відеокамерою у формі електронних сигналів, його можна відповідним чином перетворити в числові сигнали, направити в комп'ютер і потім піддати додатковій обробці для вилучення прихованої інформації. Ці та подібні методи обробки зображення дозволяють компенсувати оптичні недоліки мікроскопів і практично досягти межі дозволу.

Правила роботи з світловим мікроскопом. При роботі з мікроскопом необхідно виконувати операції у такому порядку:

1. Працювати з мікроскопом слід сидячи.
2. Мікроскоп оглянути, витерти від пилу м'якою серветкою об'єктиви, окуляр, дзеркало або електроосвітлювач.
3. Мікроскоп встановити перед собою, трохи ліворуч на 2-3 см від краю столу, під час роботи не зрушувати.
4. Відкрити повністю діафрагму, підняти конденсор в крайнє верхнє положення.
5. Роботу з мікроскопом завжди починати з малого збільшення.
6. Опустити об'єктив у робоче положення, тобто на відстань 1 см від предметного скла.
7. Встановити освітлення в полі зору мікроскопа, використовуючи електроосвітлювач або дзеркало. Дивлячись одним оком в окуляр і користуючись дзеркалом з увігнутою стороною, направити світло від вікна в об'єктив, а потім максимально і рівномірно висвітлити поле зору. Якщо мікроскоп забезпечений освітлювачем, то під'єднати мікроскоп до джерела живлення, включити лампу і встановити необхідну яскравість горіння.

8. Покласти мікропрепарат на предметний столик так, щоб досліджуваний об'єкт знаходився під об'єктивом. Дивлячись збоку, опускати об'єктив за допомогою макрогвинта доти, поки відстань між нижньою лінзою об'єктива і мікропрепарата не стане на рівні 4-5 мм.
9. Дивитися одним оком в окуляр і обертати гвинт грубого фокусування на себе, плавно піднімаючи об'єктив до положення, при якому добре буде видно зображення об'єкта. Не можна дивитися в окуляр і опускати об'єктив. Фронтальна лінза може розчавити накривне скельце і на ній з'являться подряпини.
10. Пересуваючи препарат рукою, знайти потрібне місце, розташувати його в центрі поля зору мікроскопа.
11. Якщо зображення не з'явилося, то треба повторити всі операції пунктів 6, 7, 8, 9 спочатку.
12. Для вивчення об'єкта при великому збільшенні, спочатку потрібно поставити обрану ділянку в центр поля зору мікроскопа при малому збільшенні. Потім поміняти об'єктив на 40 х, повертаючи револьвер, так щоб він зайняв робоче положення. За допомогою мікрогвинта домогтися гарного зображення об'єкта.
13. Після закінчення роботи з великим збільшенням, встановити мале збільшення, підняти об'єктив, зняти з робочого столика препарат, протерти чистою серветкою всі частини мікроскопа, накрити його поліетиленовим пакетом і поставити в шафу.

Світлові мікроскопи, що відповідають сучасному науково-технічному рівню та міжнародному стандарту ISO 9000 – мають складні універсальні оптичні системи. Вони дають можливість отримувати збільшення у 2500-3000 разів і одночасно аналізувати зображення (рис.1.6). Мікроскопія проходить в прохідному світлі (світле поле та дисперсійно-інтерференційний контраст) і у



Рис. 1.6. Універсальний мікроскоп Axio Imager A1

відбитому світлі (епіфлуоресценція). Освітлювальна система прохідного світла вмонтована в основі й забезпечує реалізацію принципу Келера з галогенним джерелом світла. Об'єктиви мають збільшення/числову апертуру: 5x/0,15, 10x/0,30, 20x/0,50, 40x/0,75 і 100x/1,30 масляної імерсії. Оптична корекція об'єтивів – апохроматична. Окуляри мають лінійне поле з можливістю роботи в окулярах і діоптрійну наводку на різкість для вирівнювання зображення у бінокулярній насадці. Система аналізу зображення складається з програмного забезпечення Axio Vision 4 та кольорової цифрової камери Axio Cam MRc 5.

Електронна мікроскопія. Електронний мікроскоп дозволяє розглянути будову дуже дрібних структур, невидимих у світловому мікроскопі. Його роздільна здатність у 400 разів більше, ніж у світлового мікроскопа. Це досягається за рахунок потоку електронів, замість видимого світла. Розрізняють два типи

електронних мікроскопів: трансмісійний (просвічує) і скануючий (дає об'ємне зображення мікропрепаратів).

Трансмісійний електронний мікроскоп дозволяє отримувати пряме зображення об'єкта за допомогою електронного променя (рис.1.7). Техніка просвічення електронами (трансмісії) тонких об'єктів дозволяє отримувати розділення до 0,08 нм, а при використанні техніки електронного коректування аберації – до 0,05 нм.

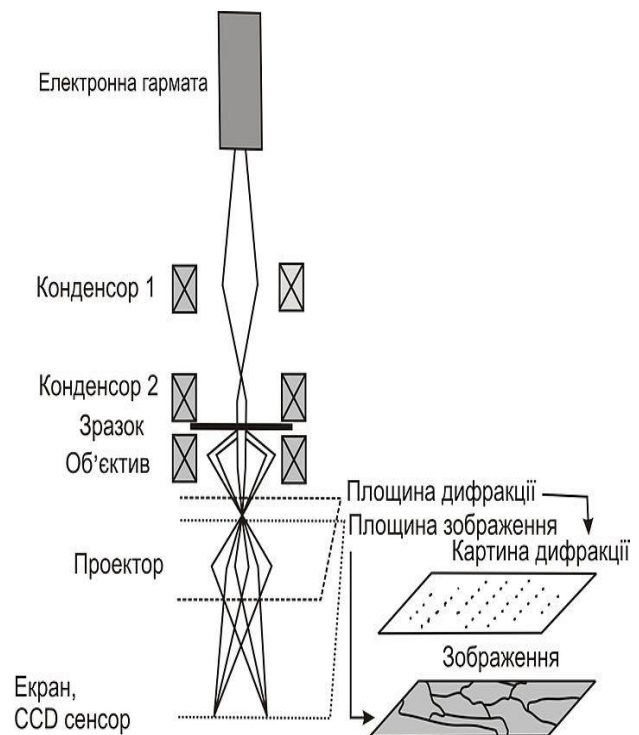


Рис. 1.7. Трансмісійний електронний мікроскоп та схематичне зображення потоку електронних променів

Принцип роботи. Досліджуваний зразок в умовах високого вакууму просвічується пучком електронів, що виходить з джерела катода – електронної гармати й прискорюється високою напругою.

В управлінні пучком використовується система магніто-електричних конденсорів-лінз таким чином, щоб він попадав паралельно на вибрану ділянку об'єкта.

У трансмісійному електронному мікроскопі електрони проходять через об'єкт, завтовшки від декількох нанометрів до мікрометра. При попаданні на об'єкт частина електронів розсіюється. За допомогою діафрагми на екрані (фотоплівці або CCD сенсорі) отримується пряме зображення реальної структури у світлому або темному полі, яке залежить від режиму роботи мікроскопа.

Скануючий електронний мікроскоп (рис. 1.8) – прилад, що дозволяє одержувати зображення поверхні зразка з великою роздільною здатністю (менше 1 мкм). Зображення, одержані за допомогою електронного мікроскопа, є тривимірними і зручними для вивчення структури сканованої поверхні. Ряд додаткових методів (EDX, WDX- методи) дозволяє отримувати інформацію про хімічний склад приповерхневих шарів.

Принцип роботи. Досліджуваний зразок в умовах промислового вакууму сканується сфокусованим електронним пучком середніх енергій. Залежно від механізму реєстрації сигналу розрізняють декілька режимів роботи скануючого електронного мікроскопа: режим відбитих електронів, режим вторинних електронів, режим катодолюмінесценції тощо. Розроблені методики дозволяють досліджувати не тільки властивості поверхні зразка, але також візуалізувати та отримувати інформацію про властивості

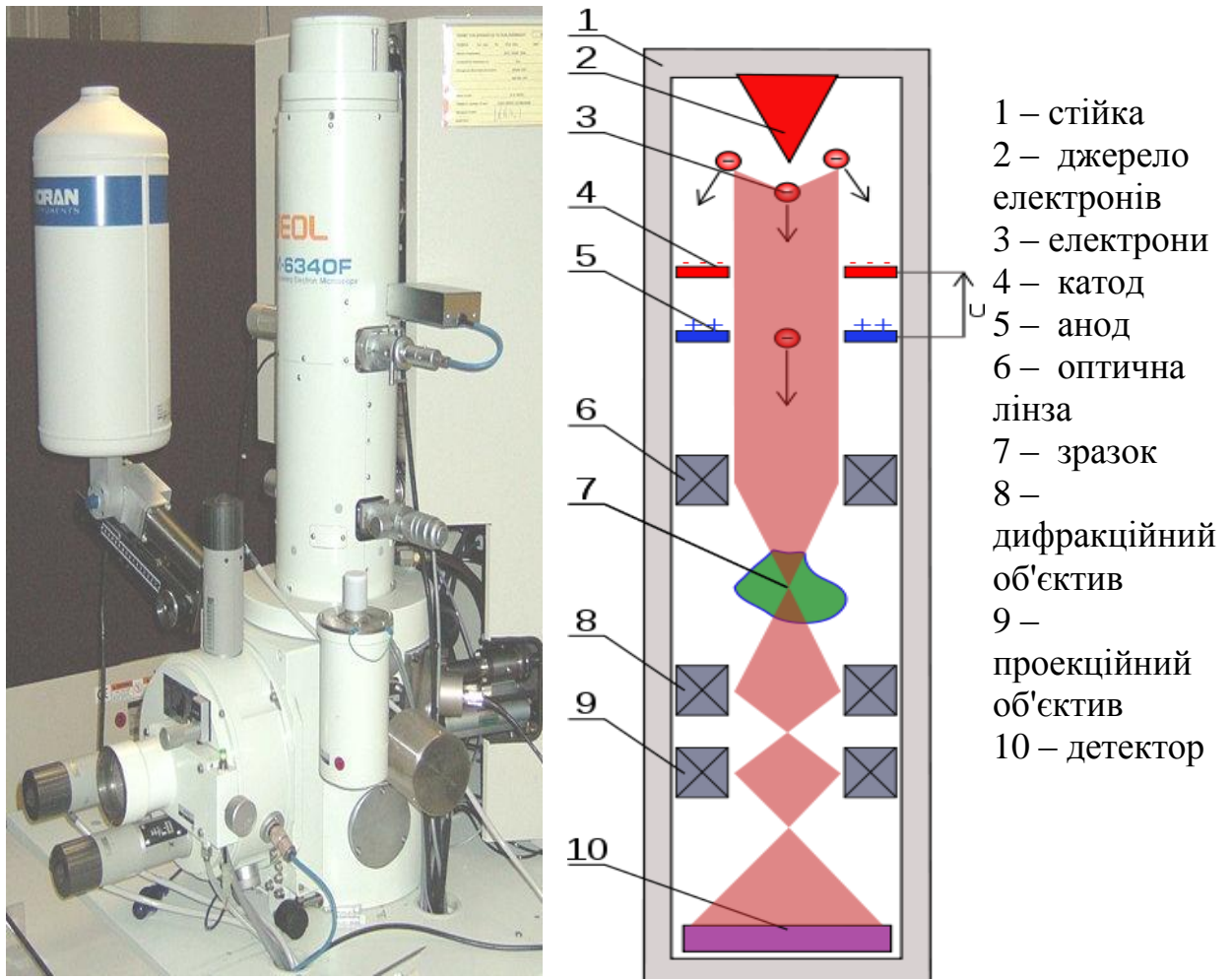


Рис.1.8. Скануючий електронний мікроскоп та схематичне зображення потоку електронних променів

підповерхневих структур, які знаходяться на глибині декілька мікрон від сканованої поверхні.

Просторова роздільна здатність скануючого електронного мікроскопа залежить від поперечного розміру електронного пучка, який у свою чергу залежить від характеристик електронно-оптичної системи, що фокусує пучок. Роздільна здатність також обмежена розміром області взаємодії електронного зонда із зразком, тобто від матеріалу мішені. Розмір електронного зонда і розмір області

взаємодії зонда із зразком набагато більші від відстані між атомами мішені. Таким чином, роздільна здатність скануючого електронного мікроскопа не є достатньо великою, щоб відображати атомарні масштаби, як це можливо, наприклад, в електронному мікроскопі, що працює за принципом просвічування. Проте скануючий електронний мікроскоп має свої переваги, включаючи здатність візуалізувати порівняно велику область зразка, здатність досліджувати масивні мішені (а не тільки тонкі плівки), а також різноманітність аналітичних методів, що дозволяють досліджувати фундаментальні характеристики матеріалу мішені. Залежно від конкретного приладу й параметрів експерименту, можна досягнути значення роздільної здатності від десятків до одиниць нанометрів.

Методи проточної цитометрії. У сучасних наукових гідробіологічних дослідженнях використовують методи проточної цитометрії для оптичного вимірювання параметрів клітини, її органел та процесів, що відбуваються у клітині (рис.1.9).



Рис. 1.9. Проточний цитофлуориметр серії CYTOMICS FC 500

Методика полягає у виявленні розсіювання світла лазерного променя при проходженні через нього клітини в струмені рідини, причому ступінь світлової дисперсії дозволяє отримати уявлення про розміри та структуру клітини. Крім того в ході аналізу враховується рівень флуоресценції хімічних сполук, що входять до складу клітини (аутофлуоресценція) або внесених у зразок перед проведенням досліджень.

Принцип роботи цитофлуориметра полягає у тому, що суспензія, попередньо мічена флуоресцентними барвниками, потрапляє в потік рідини, що проходить через проточну клітинку. Умови підібрані таким чином, що клітини шикуються одна за одною за рахунок так званого гідродинамічного фокусування струменя в струмені. У момент перетину кліткою лазерного променя детектори фіксують розсіювання світла під різними кутами та інтенсивність флуоресценції, що використовується для визначення розмірів клітин, співвідношення ядро/цитоплазма, неоднорідності та гранулярності клітин, субпопуляційного складу клітинної суспензії тощо.

Використання методу протічної цитометрії дозволяє визначити:

- чисельність, біомасу та розмірний спектр природних мікробних популяцій і угруповань (переважно піко- і нанопланктона), культивованих мікроорганізмів і клітин;

- ідентифікацію та кількість фотоавтотрофних мікроорганізмів за флуоресценцією пігментів з оцінкою ступеня флуоресценції кожної з клітин;
- якісний і кількісний аналіз популяції клітин або мікроорганізмів, специфічно забарвлених флуоресцентними маркерами;
- якісне та кількісне визначення життєздатності та фізіологічної активності клітин тощо.

Питання для самоперевірки

1. Назвіть традиційні методи дослідження водойм.
2. Назвіть сучасні методи дослідження водойм.
3. Які оптичні прилади використовують у гідробіологічних дослідженнях?
4. Назвіть правила роботи з світловим мікроскопом.
5. Назвіть принцип роботи цитофлуориметра.
6. У чому полягає суть використання методу протічної цитометрії?

Використана література

1. *Бутаков Е.А., Лелеков С.Г.* Принципы создания компьютерных определителей гидробионтов//Гидробиол. журн. – 1993. – Т.29, №6. – С. 96-100.
2. *Доменюк В.П., Гончаров А.Ю.* Проблемы и перспективы использования молекулярно-генетических методов в гидробиологических исследованиях//Экология моря. 2005. – Вып.68. – С.48-52.
3. *Лаврик В. И., Никифорович Н.А.* Математическое моделирование в гидроэкологических исследованиях. – К.: Фитосоциоцентр, 1998. – 288 с.
4. *Моисеев Д.В.* Изучение морских экосистем с помощью ГИС/«Комплексные гидробиологические базы данных: ресурсы, технологии и использование»; «Адаптации гидробионтов»: Материалы молодежных школ (г.Азов, октябрь 2005 г.)Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2005. – С.70-78.
5. *Хорбут Н.С., Костышин С.С.* Использование микрокосмов для исследования экологического состояния гидроекосистем под.

- воздействием загрязнения нефтепродуктами// Гидробиол. журн. – 1993. – Т.44, №3. – С. 89-94.
6. *Федоровский А.Д., Сиренко Л.А.* Роль космической информации в решении водохозяйственных и гидроэкологических задач //Гидробиол. журн. – 1998 – Т.34, №4. – С.3-15.
 7. http://uk.wikipedia.org/.../Трансмiсiйний_електронний_мiкроскоп.
 8. http://uk.wikipedia.org/.../Скануючий_електронний_мiкроскоп.
 9. http://www.beckmancoulter.ru/clinical.../flow_cytometry.asp.
 10. http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cytometer_ru.svg?uselang=ru.

2. БІОТОПИ ВОДОЙМ, ЖИТТЄВІ ФОРМИ ТА НАСЕЛЕННЯ

Гідробіологічний аналіз водойм передбачає вивчення бактеріального, рослинного і тваринного населення основних біотопів – нейсталі, пелагіалі та бенталі (рис.2.1).

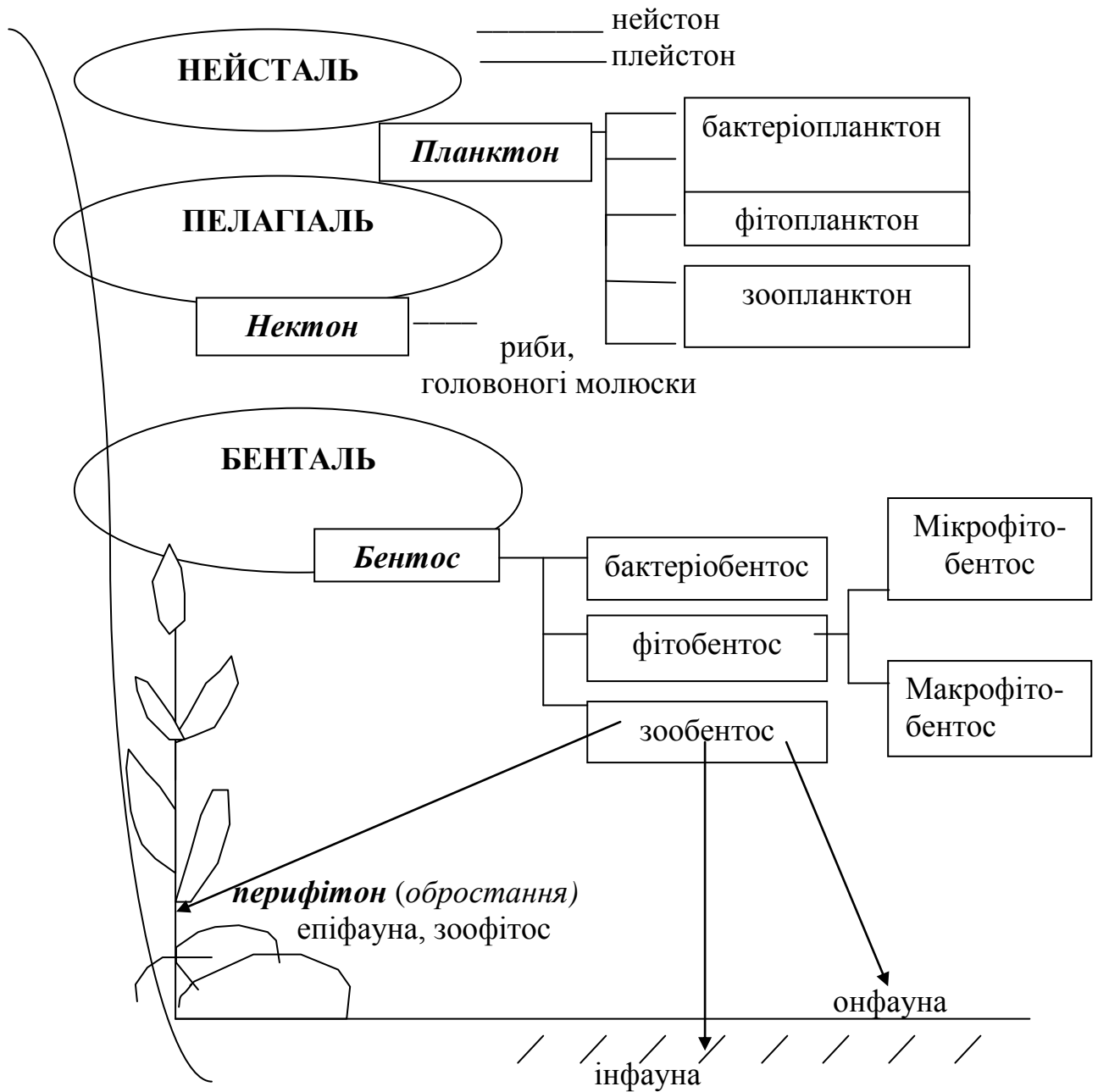


Рис.2.1. Біотопи водойм та їх гідробіологічні угруповання

Угруповання нейстали представлені життєвими формами нейстону і плейстону, пелагіалі – планктоном (бактеріо-, фіто-, зоопланктоном) та нектоном (риби, головоногі молюски), бенталі – бентосом (бактеріобентосом, мікро- та макрофітобентосом, зообентосом та перифітоном. У передіхних зонах пелагіалі та бенталі існує життєва форма планктобентос і нектобентос.

Нейстон (з гр. плаваючий) – угруповання мікроскопічних організмів та дрібних безхретних, що живуть на межі водного та повітряного середовищ і пов'язані з плівкою поверхневого натягу. Виділяють епінейстон (організми, що живуть над поверхневою плівкою) і гіпонейстон (організми, що прикріплюються до неї знизу, або живуть у воді завглибшки до кількох мм). Переважну частину прісноводного нейстону складають бактерії, одноклітинні водорості, деякі найпростіші, дрібні легеневі молюски, планарії, клопи-водомірки, жуки-вертлячки, личинки комарів. До морського нейстону відносяться постійні чи тимчасові мешканці верхнього шару води (0-5 см): мальки риб, личинки деяких донних тварин. Нейстонні організми для утримання в приповерхневому шарі води мають спеціальні пристосування – різні вирости, «вітрила», газові вакуолі та включення олії в клітинах, слизові оболонки тощо. Нейстонні плівки утворюються в стоячих водоймах (озера, болота, калюжі, канали) та затишних ділянках інших водойм.

Плейстон (з гр. плавання, пливу) – сукупність водних організмів – бактерій, рослин і тварин, які постійно або протягом тривалого часу напівзанурені у воду або тримаються її поверхні

(тобто такі організми, що мешкають одночасно у повітряному та водному середовищах). Для багатьох плейстонних організмів характерне утворення газових резервуарів (сифонофори, саргасові водорості), виділення пінистих плівок (актинії та молюски), прикріплення до поверхневої плівки (деякі молюски). Серед прісноводних організмів до плейстону належать ряска, вольфія, водяний салат, водяний гіацинт, водокрас, азолла, сальвінія тощо.

Планктон (з гр. блукаючий) – сукупність мікроскопічних і дрібних організмів, що живуть у товщі води у завислому стані і не можуть активно протистояти перенесенню течією. Переважно планктонні організми пересуваються разом з водними масами, проте більшість з них при спокійній воді здатні до самостійного пересування за рахунок роботи різноманітних джгутиків, війок, ніжок. Залежно від таксономічних груп організмів планктон поділяють на бактеріопланктон (бактерії), фітопланктон (одноклітинні та колоніальні водорості) та зоопланктон (безхребетні). Термін «планктон» запропонував німецький океанолог В.Гензен у 1887 році. Фітопланктон потребує багато світла і переважно знаходяться в освітлених поверхневих шарах води (50-100 м), де вони утворюють плавучі «кормові угіддя» для безхребетних і риб. Бактеріопланктон і зоопланктон зустрічаються на будь-якій глибині водойми.

Бактеріопланктон представлений бактеріями різних фізіологічних груп. Бактерії водних екосистем відіграють надзвичайно важливу роль у трофічних зв'язках (як компонент

кормової бази безхребетних тварин і личинок риб), в процесах трансформації складних органічних сполук та їх подальшій мінералізації, у змінах хімічного складу води, газового режиму, потоку біогенів. Бактерії беруть участь у біологічних циклах, забезпечують кругообіг речовин у водних екосистемах та формують екологічний стан водойм.

Фітопланктон прісних вод переважно складається з діатомових, синьозелених, зелених водоростей; морський – діатомових та динофітових. Поширення водоростей обумовлене освітленістю, температурою, наявністю мінеральних і органічних сполук у доступних для засвоєння формах, гідрохімічним та гідрологічним режимом. Фітопланктон – це основа автотрофної ланки водної екосистеми, продуцент органічних речовин і кисню, що формує енергетичну основу різноманіття гідробіонтів вищих трофічних рівнів, початкова ланка трофічних ланцюгів, джерело живлення безхребетних та риб на різних стадіях розвитку. Фітопланктон характеризується високим видовим і таксономічним різноманіттям, є показником їх трофності та індикатором сапробності.

Первинна продукція – це кількість органічної речовини, що синтезується автотрофними організмами з простих неорганічних компонентів за певний проміжок часу. Первинна продукція є основою трофічної піраміди, забезпечує функціонування вищих трофічних рівнів і формування біологічної продуктивності водних екосистем. Для характеристики процесів біологічної продукції та

самоочищення водойм велике значення має коефіцієнт відношення продукції до деструкції – A/R .

Первинна продукція – це утворення первинної органічної речовини в процесі фотосинтезу автотрофними організмами. Поряд із синтезом автохтонних органічних речовин у процесі фотосинтезу виділяється кисень (відповідно до основного рівняння фотосинтезу), який забезпечує життєдіяльність гідробіонтів усіх трофічних рівнів і здатність водних екосистем до самоочищення, самовідновлення і формування якості води (фотосинтетична аерація). Залежно від інтенсивності утворення первинної продукції водні екосистеми поділяють на оліготрофні (низькопродуктивні), мезотрофні (середньопродуктивні), евтрофні (високопродуктивні) та гіпертрофні (надзвичайно високопродуктивні). Первинну продукцію фітопланктону виражають у різних одиницях: грамах O_2 на одиницю площі (m^2 , га), чи одиницю об'єму (m^3), в джоулях за одиницю часу (добу, сезон, рік). Розрізняють валову первинну продукцію, яка визначається без поправки на витрати кисню на дихання самих фотосинтезуючих організмів, і чисту первинну продукцію, яка визначається з урахуванням утилізації кисню на дихання рослин і тварин (деструкцію). Первинна продукція позначається символом A (assimilation), деструкція – символом R (reduction). При $A=R$ коефіцієнт $A/R = 1$, екосистема знаходиться у збалансованому стані (гомеостаз), при $A > R$ і $A/R > 1$ екосистема має високий біопродукційний потенціал (евтрофний чи гіпертрофний), при $A < R$ і $A/R < 1$ – в системі переважають деструкційні процеси. Кількісно величину первинної продукції визначають в основному, кисневим та радіовуглецевим методами.

Пігменти фітопланктону – хлорофіл a , b , c та каротиноїди.

Вміст хлорофілу «а» пов'язаний з первинною продукцією, трофічним статусом, евтрофікацією та самоочищенням водойм. За кількісними характеристиками різних пігментів судять про співвідношення таксономічних груп в угрупованні фітопланктону (хлорофіл «а» присутній в усіх рослинних клітинах, хлорофіл b – тільки в зелених та синьо-зелених, хлорофіл «с» - у діатомових, динофітових і хризомонад)

Зоопланктон. У прісноводному зоопланктоні найбільш чисельні найпростіші, гіллястовусі та веслоногі ракоподібні, коловертки і личинки молюсків. У морському зоопланктоні домінують ракоподібні (веслоногі, мізиди, евфаузеви, креветки), найпростіші (радіолярії, форамініфери, інфузорії), кишковопорожнинні (медузи, сифонофори, гребневики), крилоногі молюски, оболонники (апендикулярії, сальпи), ікра риб, молюски донних безхребетних. Зоопланктон має велике господарське та екологічне значення. Він є природним біофільтром, зокрема бере участь у самоочищенні водойм за рахунок споживання завислих та розчинених у воді органічних речовин авто- і алохтонного походження. Самі організми зоопланктону становлять основу живлення більшості видів риб і служать індикаторами якості води. Від продуктивності планктону залежить продуктивність водойми в цілому, цей взаємозв'язок використовують рибні господарства, штучно підвищуючи евтрофність водойми методами комплексної інтенсифікації .

За розмірними ознаками планктон поділяють на категорії:

- *мегалопланктон* (0,2-2 м) – медузи;
- *макропланктон* (0,02-0,2 м) – креветки, мізиди;
- *мезопланктон* (0,0002-0,02 м) – гіллястовусі та веслоногі ракоподібні;
- *мікропланктон* (20-200 мкм) – водорості, найпростіші, коловертки;
- *нанопланктон* (2-20 мкм) – деякі бактерії та водорості;

- *пікопланктон* (0,2-2 мкм) – бактерії та деякі водорості;
- *фемтопланктон* (0,2 мкм) – віруси.

За ступенем залежності від водного середовища планктон поділяють на голопланктон (весь цикл розвитку проводять у формі планктону) та меропланктон (частину циклу розвитку проводять у формі планктону: личинки донних безхребетних та деяких видів риб).

Нектон (з гр. плаваючий) – сукупність організмів, які можуть активно протистояти течії та переміщуватись на значні відстані. До нектону відносяться риби, кальмари, морські змії та черепахи, пінгвіни, кити, ластоногі. Іхтіофауна є останнім трофічним рівнем харчового ланцюга. Її різноманіття залежить від якісного та кількісного розвитку гідробіонтів нижчих рівнів. Риба найбільш уразлива до антропогенного впливу екологічна група. Як харчовий продукт являє найбільш значну роль для соціуму.

Бентос (з гр. глибина) – сукупність організмів, що мешкають на дні водойм. Залежно від таксономічних груп поділяється на бактеріобентос (бактерії), фітобентос (одноклітинні водорості – мікрофітобентос, вищі водяні рослини – макрофітобентос або макрофіти) і зообентос (донні тварини). До бентосу належить організми піщаних пляжів (*псамон*) та товщі льоду, що знаходяться в стадії анабіозу (*пагон*).

Склад бентосу у різних водоймах може істотно відрізнятись. Це залежить від типу донних відкладів та глибини водойми.

У прісноводному бентосі переважають бактерії, діатомові та зелені водорості, вищі водяні рослини, личинки комах (одноденок, волохокрильців, хірономід), малощетинкові черви (олігохети), молюски (двостулкові і черевоногі), ракоподібні тощо. Морський бентос різноманітніший, і найбільший вплив на його склад має глибина. У прибережній зоні морів до складу бентосу входять сидячі організми (асцидії, актинії, губки, корали, гідроїди, водорості, моховатки), риучі (кільчасті черви, молюски), ковзаючі (ракоподібні, голкошкірі) та вільноплаваючі біля дна (камбалоподібні, скати, черевоногі молюски тощо). На скельному субстраті багато водоростей та рослиноїдних тварин, а всередині твердого субстрату мешкають організми-свердлуни (в основному двостулкові молюски).

Макрофітобентос (макрофіти) залежно від розселення у водоймах та біологічних особливостей (розташування асимілюючих органів по відношенню до дна та поверхні водойми) поділяють на три екологічні групи: гідатофіти (занурені рослини), плейстофіти (рослини з листками, які плавають на поверхні води) та гелофіти (повітряно-водні рослини). Розвиток рослинності визначається комплексною дією багатьох факторів: глибиною водного об'єкту, кольоровістю і прозорістю води, характером руху водних мас та інтенсивністю водообміну, температурою, хімічним складом води, донних відкладів та їх механічним складом.

Екологічні та систематичні характеристики вищих водяних рослин дозволяють протягом тривалого часу візуально проводити

експрес-аналіз стану водних екосистем і біорізноманіття від популяційно-видового рівня до ландшафтного. Дослідження вищої водної рослинності має важливе значення під час рекогносційного гідробіологічного огляду водних об'єктів, який проводять з метою екологічно зумовленого розміщення стаціонарних пунктів контролю забруднення.

Зообентос. За розмірними ознаками організми зообентосу поділяються на такі категорії:

- *мікрозообентос* (< 0,5мм) – найпростіші, коловертки, нематоди, деякі турбеллярії;
- *мезозообентос* (< 3,0мм) – бентосні ракоподібні (гіллястовусі, веслоногі, черепашкові), дрібні олігохети, личинки комарів, бабок, одноденок, жуків тощо;
- *макрозообентос* (>3мм) – олігохети, поліхети, личинки комах, червононогі та двостулкові молюски, голкошкірі, корали, губки, асцидії, турбеллярії, ракоподібні (краби, лобстери, кумові) тощо;

Залежно від місця проживання організмів у різних ділянках донних відкладів зообентос поділяють на категорії:

- *онфауна* – організми, що перебувають на поверхні ґрунту – ракоподібні, молюски, деякі голкошкірі тощо;
- *інфауна* – організми, що перебувають у товщі донних відкладень ґрунту – багатощетинкові черви, двостулкові молюски, деякі голкошкірі тощо;

- *епіфауна* – організми, прикріплені до поверхні твердого субстрату, що перебувають на дні (занурені стебла квіткових рослин, каміння тощо) – губки, гідроїди, моховатки, коралові поліпи тощо.

Формування та розвиток донних організмів залежить від типу донних відкладів (пісок, мул, каміння, рештки деревини, водні рослини), абіотичних чинників середовища (течії, температура, сольовий склад) та забезпечення елементами живлення. Організми зообентосу відіграють велику роль у житті водойм – активно переробляють відмерлі рештки різних організмів і беруть участь у формуванні відкладень органічних речовин на дні водойм – сапропелю, очищають воду шляхом фільтрації, є основою раціону риб-бентофагів. Зообентос достатньо «інертна» і в той же час чутлива біологічна підсистема, структура, яка впродовж тривалого часу може представляти інформацію про вплив природних чи антропогенних чинників. Організми зообентосу є основою багатьох систем біоіндикації. У деяких випадках це єдиний біоіндикатор забруднення донних відкладів і придонного шару води.

Перифітон або обростання (з гр. *пери-* навколо, *фітос-* рослина) – це угруповання різних організмів, що мешкають за межами придонного шару води на різних субстратах – стеблах рослин, скелях, металевих та гідротехнічних спорудах, підводних частинах суден, камінні, бетонних укріпленнях берегів, черепашках молюсків тощо. До складу перифітону входять бактерії, найпростіші, гриби, водорості, черви, ракоподібні, личинки комах,

двостулкові молюски. Організми перифітону у водних екосистемах очищають воду, служать їжею іншим безхребетним і риbam та є біологічними індикаторами якості води.

Найважливішими факторами існування перифітону є наявність у водоймі твердого субстрату, швидкість течії, коливання рівня води та концентрація розчиненого у воді кисню.

Питання для самоперевірки.

1. Назвіть біотопи водойм та їх життєві форми.
2. Яка роль бактеріопланктону у водоймах?
3. Яка роль фітопланктону у водоймах?
4. Дайте визначення первинній продукції водойм.
5. Яка роль пігментів фітопланктону у водних екосистемах?
6. Яка роль зоопланктону у водоймах?
7. Яка роль бентосу у водоймах?
8. Яка роль макрофітів у водоймах?
9. Перифітон та його значення у водоймах.

Використана література

1. Константинов А.С. Общая гидробиология / Константинов А.С. – М.:Высшая школа. – 1986. – 472 с.
2. Кражан С.А. Природна кормова база рибогосподарських водойм: навчальний посібник / Кражан С.А., Хижняк М.И. – Херсон:Олді-плюс, 2011. – 330 с
3. Протасов А.А. Жизнь в гидросфере. Очерки по общей гидробиологии / Протасов А.А. – К.: Академперіодика, 2011. – 704 с.
4. Протасов А.А. Пресноводный перифитон / Протасов А.А. – К.:Наукова думка, 1994. – 308 с.
5. Романенко В.Д. Основи гідроекології / Романенко В.Д. – К.: Обереги, 2001. – 728 с.
6. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений // Под ред. Абакумова В.А. – Гидрометеоиздат, 1983. – 239 с.
7. Щербак В. І., Майстрова Н.В., Ковальчук Л.А. Гідробіологічний моніторинг водних екосистем// Методичні основи гідробіологічних досліджень водних екосистем. – К., 2002. – С. 41–47.

3. УПРАВЛІННЯ ЯКІСТЮ НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Методологія наукових досліджень

Проведення польових наукових досліджень передбачає розробку відповідної методології – програми відбирання проб. Вона повинна враховувати особливості водного об'єкта, конкретну мету та завдання науково-господарських, виробничих або суто біологічних досліджень. Важливою складовою методології проведення науково-дослідних робіт є:

- визначення мережі станцій, де буде проводитися відбирання зразків (проб) води, донних відкладів, біоти
- складання програми відбирання проб, яка передбачає вибір ємкостей для проб; техніку відбирання зразків води, донних відкладів і біоти; консервація, зберігання, способи транспортування зразків у стаціонарні лабораторії.

Усі ці питання висвітлені у відповідних міжнародних стандартах, якими необхідно керуватись, застосовуючи їх в практичній роботі при проведенні польових та експериментальних досліджень. З метою спрощення оперування специфічними термінами щодо екологічного керування екосистемами розроблено словник відповідних термінів, який викладений у міжнародному стандарті ISO 140050: 1998, IDT). Детальна інформація щодо термінів та визначення понять з проблем аквакультури представлена в Державному стандарті України ДСТУ 65.150 2009.

Міжнародним стандартом ІСО 6107-9 представлені основні терміни та визначення, які відносяться до типів вод, їх якості та аналізу. Основною метою створення такого міжнародного стандарту є вироблення визначень, суть яких би сприймалася однаково всіма користувачами на міжнародному рівні, що є одним із засобів тісного спілкування фахівців різних країн.

Державним стандартом ДСТУ ІСО 9001-2001 представлена система управління якістю, зокрема описані основні вимоги до документації, планування виробничих процесів, управління ресурсами, яке включає забезпечення ними та стан виробничого середовища. Цим документом регламентуються також вимоги до планування та випуску продукції, а також до управління засобами моніторингу, вимірювання, аналізу та поліпшення якості продукції.

3.2. Мета наукових досліджень

Метою проведення гідробіологічних досліджень є здобуття дискретної проби досліджуваної води, що відображає її якість.

Відбір проб проводять для:

- дослідження якості води для вживання заходів, що коректують при виявленні змін короткочасного характеру;
- дослідження якості води для встановлення програми досліджень або виявлення змін довгострокового характеру;
- визначення складу і властивостей води за показниками, регламентованими нормативними документами (НД);

- ідентифікації джерел забруднення водного об'єкту.

Методи відбирання проб вибирають залежно від типу та глибини водного об'єкта, цілі досліджень і переліку показників з таким розрахунком, аби виключити (звести до мінімуму) можливі зміни показника, що визначається в процесі відбирання проби.

Гідробіологічні проби повинні бути дослідженні протягом відповідних термінів з дотриманням умов зберігання. Усі процеси відбирання проб мають бути суворо документовані. Записи мають бути чіткими, не розмитими. При відбиранні проб усі фахівці повинні чітко дотримуватися правил техніки безпеки.

3.3. Якість наукових досліджень

Важливою компонентою наукових досліджень є управління якістю проведених експериментів, від якої значною мірою залежить точність і репрезентативність кінцевих результатів дослідження. Управління якістю експериментів включає визначення точності, повторюваності, відтворюваності отриманих у ході експериментів результатів. Цей процес передбачає також і враховує можливі наслідки впливу певних чинників на хід експерименту і отримання кінцевих результатів.

Відомо, що, аналізуючи однакові зразки в однакових умовах, результати досліджень не завжди є ідентичними. Це має місце через випадкові погрішності, які притаманні кожній методиці визначення. Крім відхилень, викликаних структурою зразка, що

аналізується, вплив на отриманий результат чинить оператор, обладнання, яке застосовується, калібровка приладів, навколишні умови (температура, вологість) тощо.

Згідно ISO 5725 «Точність методу аналізу. Визначення повторюваності та відтворюваності стандартного методу аналізу міжлабораторними випробуваннями» точність являє собою загальний термін для вираження варіацій між повторними аналізами. Два критерії точності, які позначаються як «повторюваність» і «відтворюваність», були визнані необхідними і достатніми у багатьох практичних випадках для описання варіацій методики аналізу. Термін «повторюваність» характеризує варіації методики в умовах, коли аналіз проводить один оператор в одній лабораторії, з використанням одного обладнання. Термін «відтворюваність» відноситься до умов, коли аналіз проводиться в різних лабораторіях різних країн, різними операторами і з використанням обладнання, що випускається різними фірмами.

Тому ISO 5725 встановлює основні принципи планування і проведення міжлабораторних експериментів для оцінки значень повторюваності та відтворюваності якої-небудь методики, а також дає детальні методи статистичної обробки отриманих результатів та наводить приклади практичного застосування результатів розрахунків. Згідно ISO 5725 аналітична методика перед визначенням значень повторюваності та відтворюваності повинна бути стандартизована після детальної оцінки з участю декількох лабораторій. При цьому повинні бути отримані попередні значення

повторюваності та відтворюваності. Практично це означає, що у аналітичній методиці, перед оцінкою за ISO 5725, систематичні погрішності повинні бути усунені.

При проведенні міжлабораторного експерименту стандартом рекомендується, щоб число лабораторій, які беруть участь, повинно бути не менше 8, а краще – 15 і більше. При проведенні міжлабораторного експерименту із центральної лабораторії висилаються зразки об'єкта, що аналізується, який є ідентичним для всіх учасників експерименту, для забезпечення єдиних умов аналізу.

Після проведення досліджень усіма лабораторіями готується повний звіт про експеримент, підготований адміністративним працівником, який направляється до центральної лабораторії, в якій і проводиться кінцева статистична обробка всіх представлених результатів згідно вимог ISO 5725, і визначаються точні значення повторюваності та відтворюваності методики. При цьому центральна лабораторія оцінює також якість роботи спеціалістів усіх лабораторій-учасників міжлабораторних досліджень і направляє рекомендації щодо поліпшення організації робіт та пояснює причини, за якими були відкинуті результати аналізів даної лабораторії.

Отже, дотримання вимог ISO 5725 забезпечує надійність результатів оцінки достовірності методики.

Загальне керівництво з ідентифікації та прийому зразків в лабораторії наведено в ISO 5667-3. Документація зі збору та аналізу

зразків навколишнього середовища повинна містити інформацію, яка прослідковує зразок із місця відбирання до отримання кінцевого результату аналізу. На всіх стадіях можуть відбуватись систематичні або випадкові помилки. Тому доцільно відібрати необхідну кількість додаткових зразків, щоб усунути неочікувані проблеми з транспортуванням і консервуванням.

До контейнера зі зразками прикріплюють ярлик, який не змивається та містить наступну інформацію:

- дату і час відбирання зразка;
- номер зразка;
- опис і розміщення зразка;
- ПІБ співробітника, що проводив відбирання зразка;
- застосований метод консервування зразка;
- використаний метод, який вимагає збереження зразка.

3.4. Керівництво зі складання програми відбирання проб

Державними установами та міжнародними організаціями розроблено декілька державних та міжнародних стандартів, які стосуються методів відбирання, фіксації, транспортування та зберігання проб. Так методичні вказівки за проектом програми проведення відбору проб викладені в ДСТУ ISO 5667-1-2003 (ISO 5667-1; 1980, ITD) (частина 1), а також в ДСТУ ISO 5667-2-2003 (ISO 5667-2: 1991, IDT).

Існують певні особливості та методичні підходи й правила відбирання проб води у водоймах різного типу. Так керівництво з відбирання проб з природних і штучних озер представлено стандартами ДСТУ ISO 5667-4-2003 (ISO 5667-4: 1987, IDT), а керівництво з відбирання проб води з річок та інших водотоків викладене в стандарті ДСТУ ISO 5667-6-2001 (ISO 5667-6: 1990, IDT). Окремим стандартом (ДСТУ ISO 5667-8-2007) визначається настанова щодо відбирання проб вологих опадів (ISO 5667-8: 1993, IDT).

Визначення показників якості води хіміко-аналітичними методами досліджень передбачає ДСТУ ISO 5667-14: 2005. Поряд з цим розроблено керівництво, в якому детально описано не лише методи забезпечення якості відбирання проб, але й опрацювання природних вод (ISO 5667-14: 1998, IDT).

Вивчення хімічного складу морської води передбачає відбирання проб згідно Державного стандарту України (ДСТУ ISO 5667-9: 2005) та керівництво з відбирання проб морської води представлено ISO 5667-6: 1990, IDT.

Кожній аналітичній або біохімічній лабораторії контролю якості води міжнародний стандарт ISO 5667-1 рекомендує застосування активної програми контролю якості. У цьому керівництві акцентується увага на тому, що перед впровадженням програми відбирання проб важливо визначити завдання і, виходячи з цього, основні чинники, які слід брати до уваги при визначенні місця, частоти, тривалості, способу відбирання та відповідного

обладнання для проведення аналізу. У керівництві наголошується на доцільності встановлення бажаного рівня точності, визначенні методів фіксації результатів, максимальних і мінімальних результатів тощо. При цьому даний стандарт виділяє три основні проблеми, які можуть бути вирішені при відбиранні проб, а саме:

- контроль стану даної водної екосистеми для прийняття корегуючих заходів короткочасного характеру;
- контроль якості води, який необхідно здійснювати для встановлення змін довготривалого характеру;
- здійснення ідентифікації джерел забруднення.

Застосування рекомендацій зі складання програми відбирання проб дозволяє підійти до цієї проблеми на основі ідентифікації місць їх відбирання, що дозволяє здійснювати цей процес в одній точці, з метою порівняння результатів досліджень.

Програма також передбачає особливості відбирання проб через умови впливу основних факторів навколишнього середовища, зокрема, осадів (снігу, дощу, граду).

Особлива увага звертається міжнародним стандартом на вибір місця відбирання проб у морях, океанах та в прибережних водах. Це місце повинно бути визначено з урахуванням припливних течій. Вказується також на те, що вплив вітру, густини води, стану дна, віддалення від берега і судноплавства може в значній мірі впливати на показники якості води на даній ділянці.

За наявності течії або значної стратифікації в точці відбирання необхідно відібрати декілька проб як завдовжки, так і завглибшки.

Це дасть можливість визначити характер та об'єм кожної течії або стратифікації.

Існують також певні особливості вибору пунктів відбирання проб води в природі, які передбачені міжнародним стандартом ISO 5667-1. Особлива увага програми даного стандарту зосереджена на принципі вибору пунктів відбирання проб води в природних водоймах. Стандартом ISO наголошується на тому, що для отримання достатньо представницьких зразків пункти відбирання проб повинні зосереджуватись у місцях найбільш вірогідної зміни якості води, в зонах наявності притоків або водозабору. При цьому необхідно уникати відбирання проб води у місцях скиду стічних вод, що може суттєво впливати на результати досліджень. З метою здійснення контролю щодо впливу стічних вод, відбирання проб повиненне здійснюватись одночасно у верхньому і нижньому пунктах відбирання проб води.

Програма стандарту наголошує на тому, що при дослідженні екосистеми водосховищ і озер відбирання проб води повиненне здійснюватись у всіх місцях надходження та скиду вод. При цьому вода може стратифікуватись термічно, а її якість змінюватись з глибиною водойми.

Згідно міжнародного стандарту програми відбирання проб донних відкладів річок, естуаріїв, морів, озер і водосховищ повинні складатись з урахуванням змін складу донних відкладів по горизонталі та вертикалі.

Міжнародним стандартом ISO 5667-1 представлені рекомендації або інструкції щодо пристроїв та засобів, які можуть бути використані при проведенні гідробіологічних досліджень: фітопланктону, зоопланктону, зообентосу, перифітону, макрофітів та риби. Слід зазначити, що вказані методи і пристрої ідентичні тим, які широко використовуються в практиці проведення гідробіологічних досліджень, відповідають загальноприйнятим методам і не мають жодних обмежень, які регламентуються даним стандартом.

При проведенні наукових досліджень на правильний відбір проб та підготовку відповідного обладнання, матеріалів і посуду для цього процесу звертається особлива увага. Цих вимог необхідно беззаперечно дотримуватись, посилаючись на існуючий державний та міжнародний стандарти ДСТУ ISO 5667-1-2003 (ISO 5667-1: 1980, IDT).

У стандарті ISO 5667-2 представлено керівництво щодо методів відбирання проб, які можуть бути використані для отримання аналітичних даних, необхідних для здійснення контролю якості, а також характеристик якості та ідентифікації джерел забруднення води. При цьому для хімічного і біологічного аналізів стандарт рекомендує застосування окремих проб, оскільки методи, пристрої для відбирання проб та їх попереднє опрацювання різні. Цим стандартом встановлені певні вимоги і конструкції пристроїв для відбирання проб.

Ряд державних та міжнародних стандартів орієнтує на відповідні методи відбирання проб води у водоймах різного типу. Так стандарт ДСТУ ISO 5667-4: 2003 визначає особливості відбирання проб води і донних відкладів з природних і штучних водойм, а також і з озер.

Стандартом ДСТУ 5667-6-2001 передбачено керівництво з відбору проб води з річок та інших водотоків.

ДСТУ ISO 5667-10: 2005 націлює на застосування керівництва з відбору проб стічних вод. Запропоновані цим стандартом методи доцільно застосовувати при проведенні наукових досліджень з проблем екотоксикології та санітарного стану водойм комплексного і рибогосподарського призначення.

Міжнародних стандартів ДСТУ ISO 5667-12-2001 та ДСТУ ISO 5667-13:2005 доцільно дотримуватись при проведенні науково-дослідних робіт з цінки якості води.

При проведенні польових досліджень камеральне опрацювання відібраних проб може здійснюватись у лабораторних умовах через деякий час після їх відбирання. З метою збереження відповідних показників якості води та хімічного складу гідробіонтів у процесі їх тривалого зберігання і транспортування доцільно здійснювати їх фіксацію певними фіксаторами. Усі ці методи представлені даним міжнародним стандартом (ISO 5667-3: 1994). Консервація і зберігання проб води являє собою досить складну задачу. Поверхневі та майже всі види стічних вод досить чутливі до змін, які відбуваються в них більш-менш швидко, в

результаті фізико-хімічних, хімічних та біологічних реакцій, перебіг яких може здійснюватись у період між моментом відбирання проби і її аналізом. Природа та швидкість цих реакцій такі, що якщо відразу не буде вжито необхідних заходів до і під час транспортування та збереження проб, то отримані при аналізі результати будуть відрізнятись від реальних концентрацій.

Ціла низка міжнародних стандартів присвячена методам консервації та зберігання проб води для проведення фізико-хімічного аналізу. При цьому вказується досліджуваний параметр (певна сполука), вид посуду, метод консервації проби, місце проведення аналізу (польовий чи лабораторія), максимально рекомендований час зберігання проби (з посиланням на відповідний міжнародний стандарт). Так, наприклад, для визначення у воді кисню проби води відбирають у склянки, фіксуючи кисень на місці відбирання проб і зберігають їх у темряві протягом не більше 4-х діб для проведення досліджень в умовах стаціонарної лабораторії (ISO 5814).

Крім цих сполук, існують певні рекомендації щодо вибору посуду, методу консервації та термінів зберігання проб для визначення хлорофілу (ISO 10260), а також хімічного споживання кисню (ISO 6060) – показників, які широко застосовуються в гідробіологічних дослідженнях.

Міжнародними стандартами визначені також методи консервації та зберігання біологічних проб (ISO 9001, 6222, 6340, 6461, 7899, 8360, 9308, 10705, 11731, 7828, 8265, 9391, 9998, 8689, 9391 та зразків осадів і донних відкладів, з метою встановлення в

них рН (ISO 10390), провідності (ISO 11265), загального азоту (ISO 11261), амонійного азоту (ISO 13878), нітратів та нітритів (ISO 14256) тощо.

При цьому для фіксації різних проб відповідними стандартами рекомендовано певні методи консервації та особливості зберігання проб ISO 5667-3 встановлює загальні вимоги до консервації та зберігання води з різних джерел.

Консервують проби, зазвичай, додаванням до ємкостей (колб, склянок, пляшок тощо) хімічних сполук (кислот, лугів, біоцидів) після відбирання проби або раніше (до відбирання проби), в пусту ємкість. Не слід застосовувати екологічно небезпечні сполуки ртуті у якості консервантів. Деякі консерванти (кислоти, хлороформ) рекомендується застосовувати, дотримуючись техніки безпеки поводження з ними.

При додаванні консервантів необхідно враховувати, що вони можуть змінити хімічну і фізичну природу компонентів проби води, тому необхідно використовувати лише перевірені методики консервування (наприклад, підкиснення проби може сприяти розчиненню колоїдних розчинів і твердих речовин, тому його треба застосовувати обережно).

Якщо метою аналізу є визначення токсичності води відносно живих організмів, то слід уникати розчинення компонентів проби, зокрема важких металів, які токсичні в іонній формі. Слід враховувати вірогідність внесення консервантами додаткової

кількості елементів, що визначаються (наприклад, кислоти можуть вносити деяку кількість миш'яку, свинцю, ртуті).

Ємкості, які містять проби, повинні бути чітко промарковані. Польові записи, які повинні містити чисельні особливості при відбиранні проб (дата, час, природа, кількість доданого консерванту, умови відбирання), надзвичайно важливі для наукових досліджень якості води, необхідні для правильної інтерпретації результатів аналізу, але їх можна легко переплутати і загубити.

Питання для самоперевірки.

1. Яка методологія проведення польових науково-дослідних робіт?
2. Назвіть складові методології науково-дослідних робіт.
3. Які стандарти використовують при проведенні науково-дослідних робіт на водоймах?
4. У чому полягає мета проведення науково-дослідних робіт на водоймах?
5. У чому полягає якість проведення наукових досліджень?
6. Від чого залежить точність і репрезентативність результатів досліджень?
7. Назвіть критерії точності результатів науково-дослідних робіт.
8. Назвіть проблеми при відбиранні гідробіологічних проб.
9. Де розташовуються пункти відбирання проб для визначення якості води?

Використана література

1. *Єдине міжвідомче керівництво* по організації та здійсненню державного моніторингу вод. Затверджено Наказом Міністерства екології та природних ресурсів України 24.12.2001 №485.
2. *Клименко М.О., Фещенко В.П., Вознюк Н.М.* Основи та методологія наукових досліджень. К.: Аграрна освіта, 2010. – 351 с.
3. *Трохимець В.М.* Методика комплексних моніторингових досліджень гідробіонтів у водоймах різного типу//Рибогосподарська наука України. – 2011, №1. – С16-23.

Використані стандарти

- ДСТУ ISO 5667-1-2003 Якість води. Відбір проб. Частина 1. Методичні вказівки за проектом програм проведення відбору проб (ISO 5667-1:1980, IDT)
- ДСТУ ISO 5667-2-2003 Якість води. Відбір проб. Частина 2. Методичні вказівки з методів відбору проб (ISO 5667-2:1991, IDT)
- ДСТУ ISO 5667-3-2001 Якість води. Відбір проб. Частина 3. Керівництво по зберіганню і поводженню з пробами (ISO 5667-3:1994, IDT)
- ДСТУ ISO 5667-4-2003 Якість води. Відбір проб. Частина 4. Керівництво по відбору проб з природних і штучних озер (ISO 5667-4:1987, IDT)
- ДСТУ ISO 5667-6-2001 Якість води. Відбір проб. Частина 6. Керівництво по відбору проб води з річок і інших водотоков (ISO 5667-6:1990, IDT)
- ДСТУ ISO 5667-8:2007 Якість води. Відбирання проб. Частина 8. Настанови щодо відбирання проб вологих опадів (ISO 5667-8:1993, IDT)
- ДСТУ ISO 5667-9:2005 Якість води. Відбір проб. Частина 9. Керівництво по відбору проб морської води (ISO 5667-6:1990, IDT)
- ДСТУ ISO 5667-10:2005 Якість води. Відбір проб. Частина 10. Керівництво по відбору проб стічних вод (ISO 5667-10:1992, IDT)
- ДСТУ ISO 5667-11:2005 Якість води. Відбір проб. Частина 11. Керівництво по відбору проб підземних вод (ISO 5667-11:1993, IDT)
- ДСТУ ISO 5667-12-2001 Якість води. Відбір проб. Частина 12. Керівництво по відбору проб донних відкладень (ISO 5667-12:1995, IDT)
- ДСТУ ISO 5667-14:2005 Якість води. Відбір проб. Частина 14. Керівництво по забезпеченню якості відбору і обробки проб природних вод (ISO 5667-14:1998, IDT)
- ДСТУ ISO 5667-15:2007 Якість води. Відбирання проб. Частина 15. Настанови щодо зберігання та поводження з пробами мулу і осади́в (ISO 5667-15:1999, IDT)

4. ПЛАНУВАННЯ МЕРЕЖІ СТАНЦІЙ ДЛЯ ВІДБИРАННЯ ПРОБ

Об'єктами досліджень можуть бути природні та штучні водоймища (озера, лимани, водосховища, ставки), природні та штучні водотоки (річки, струмки, канали), внутрішні морські води та виключна (морська) економічна зона України. Водоймища – це надзвичайно різнотипні водні об'єкти, які за площею поділяються на малі – до 10 км² (ставки, озера), середні – від 10 до 100 км² (озера, річки, водосховища) та великі – від 101 до 1000 км² (великі рівнинні водосховища, лимани, моря).

Проведення експедиційних і польових досліджень з вивчення водойм необхідно розпочинати з визначення мети їх проведення. Дані можуть збиратися в рамках виконання фундаментальних, прикладних та моніторингових досліджень. *Фундаментальні* дослідження передбачають збір науково-пошукової інформації для визначення загальної схеми та особливостей функціонування екосистеми. *Прикладні* дослідження необхідні для практичної діяльності чи мають певні господарські завдання. У останньому випадку з'ясовується перелік питань, на які повинні відповісти плановані польові дослідження. Для цього вивчаються всі наявні відомості по об'єкту досліджень, подібних з ним об'єктів-аналогів, аналізуються результати попередніх досліджень, дані про джерела антропогенного впливу тощо. *Моніторингові* дослідження передбачають систему спостережень та контролю за станом

природних вод, які забезпечують своєчасне розпізнавання, прогноз критичних ситуацій та розробку рекомендацій для прийняття управлінських рішень, які можуть позначитися на стані вод. Основна мета налагодження системи спостережень і контролю за забрудненням водних об'єктів – це отримання інформації про природну якість води та оцінка змін якості води внаслідок дії антропогенних факторів. Основними об'єктами, які потребують моніторингу, є місця скидання стічних і дощових вод міст, селищ, сільськогосподарських комплексів, стічних вод окремих підприємств, ТЕС, АЕС; місця скидання колекторно-дренажних вод, які відводяться зі зрошуваних або осушуваних земель; місця нересту, нагулу молоді та старших вікових груп промислових видів риби; кінцеві створи великих і середніх річок, які впадають у моря, внутрішні водоймища; кордони економічних районів, республік, країн, що перетинають транзитні річки.

Насьогодні в Україні згідно з «Порядком здійснення державного моніторингу вод» та «Положенням про державну систему моніторингу навколишнього середовища» державний моніторинг вод є невід'ємною складовою частиною державної системи моніторингу довкілля. На основі цих двох урядових документів розроблена «Єдина міжвідомча інструкція з організації та здійснення державного моніторингу вод» (ЄМІ). Цей документ встановлює єдині вимоги до організації та проведення спостережень за станом поверхневих вод, прибережних зон водосховищ, підземних вод, джерел забруднення вод, за гідрологічними, фізико-хімічними, біологічними,

радіологічними показниками якості вод. Виконання вимог ЄМІ обов'язкове для всіх підрозділів суб'єктів державного моніторингу вод, а також відповідальних водокористувачів, які здійснюють спостереження за кількісним та якісним станом вод.

4.1. Загальна характеристика водойми

На будь-якому водоймищі роботу розпочинають з характеристики водойми, зробленої на підставі вивчення інформаційних (рукописних та друкованих) джерел про тип даної водойми та простих візуальних спостережень. Характеристика водойми включає:

- *назву* (може бути декілька) та максимально точний опис його *місцезнаходження* (позначити на карті);
- *схему* з відображенням форми і різних об'єктів, що знаходяться поблизу водоймища (дороги, споруди, елементи рельєфу тощо);
- *розміри та площу* (ширина і довжина берегової лінії озера чи ставка, ширина і довжина річки). Довжина озера чи ставка – це найкоротша відстань між двома найбільш віддаленими точками, що знаходяться на березі водойми. Максимальна ширина – це найбільша відстань між берегами по перпендикуляру до довжини водойми. Ці параметри вимірюються мірної мотузкою, а при значних розмірах водойми - за допомогою кутомірної зйомки.

Довжина берегової лінії може бути виміряна кроками або мірної мотузкою по урізу води;

- *протяжність* (для річок за допомогою карти), *площу басейну водозбору* (території, з якої в річку накопичується вода), *наявність приток* (характеристика), *величину падіння висоти* (різниця висот між витоком і гирлом річки). Відношення величини падіння до протяжності - це ухил річки. Від цього показника залежить швидкість течії. Наявність та характеристики приток.

- *глибину* – на малих водоймах вимірюють глибину біля берегів за допомогою жердини. Точну інформацію можна отримати за допомогою човна і ручного лота - розміченій мотузці з вантажем. На невеликому водоймищі досить зробити ряд промірів глибини по його довжині та ширині. Якщо форма водойми складна, то кількість ліній, уздовж яких виробляються проміри глибин (вони називаються створами), має бути збільшено. Результати вимірювань представляють у вигляді профілів глибин (рис.4.1).

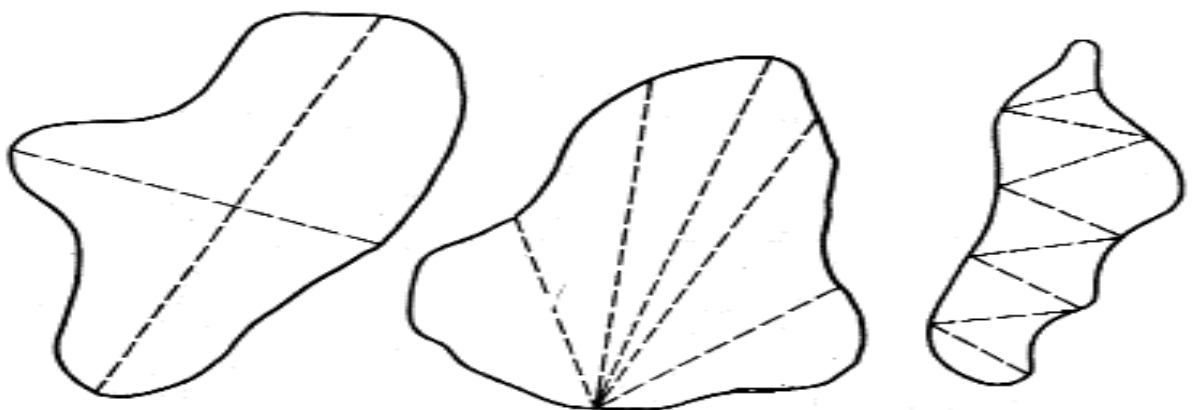


Рис.4.1. Профілі глибин водойм

- *швидкість течії* (для річки). Найбільш простий спосіб її визначення – за допомогою поплавців. Поплавці не повинні сильно виступати з води (щоб зменшити вплив вітру). Це можуть бути не повністю наповнені водою білі пластикові флакони (пляшки) або просто шматки дерева. Вимірюється час, за який поплавець пропливають зазначену відстань (зазвичай використовують округлене значення потроєної ширини річки). На кожній ділянці необхідно провести 5-10 вимірювань, пускаючи поплавець як по центру річки, так і ближче до берегів.

- *тип донного ґрунту* (візуально). Пробу ґрунту відібрати спеціальною банкою і зазначити основні типи ґрунту, характерні для водойми: кам'янистий, піщаний, мулистий, глинистий, гниючі рослинні залишки тощо;

- *прозорість води* – дуже важливий для водних мешканців та характеристики водойми показник. Якщо водойма неглибока, скрізь проглядається дно, то слід вказати прозорість максимальної глибини. Якщо дно водойми не видно з поверхні, то прозорість вимірюється за допомогою диска Секкі - білого металевого диска діаметром 30 см. Цей диск в горизонтальному положенні опускається у воду на розміченій мотузці. Відзначається глибина, на якій диск перестає бути видимим з поверхні при спуску, і глибина, починаючи з якої він стає бути видимим при підйомі з неї. Показником прозорості води вважають середнє арифметичне цих двох значень. Вимірювання

прозорості можна проводити з човна або пірсу, причому в сонячну погоду працювати потрібно з тіньової сторони споруди;

- *температура води біля поверхні та в придонному шарі*. При вимірюванні температури на поверхні потрібно стежити, щоб на термометр не потрапляли сонячні промені. На глибину опускається обважений термометр на мотузці. Його потрібно досить довго потримати в придонному шарі води, а потім швидко підняти на поверхню і відразу ж зняти показники;

- *характеристика берегової лінії*: порізаність берегів, розчленованість, типи ґрунтів на схилах, характер прибережної рослинності, ступінь розвитку водної рослинності та її видовий склад (можна скласти схему);

- *ступінь антропогенного впливу на прибережну зону*: наявність пляжів, будов, промислових підприємств, доріг, звалищ, стоків тощо.

На підставі обстеження водоймища (морфометрії, гідрологічного режиму та антропогенного впливу) планують мережу станцій для відбирання біологічних проб

4.2. Пункти спостережень

Гідробіологічні дослідження, які передбачають як фундаментальні та прикладні, так і моніторингові дослідження, проводиться на постійних або тимчасових пунктах спостережень,

які розміщують у місцях, де наявний або відсутній вплив господарської діяльності.

Пункт спостереження – місце на водоймі, де проводять комплекс робіт для одержання даних про якісні й кількісні характеристики води.

У межах річок, озер і водосховищ відбирання проб проводиться у пунктах спостережень розташованих до і після джерел забруднення (у місцях розміщення великих населених пунктів, промислових і сільськогосподарських комплексів). На річках пункти спостережень розташовують вище джерела забруднення і нижче за течією на різних відстанях від нього. За таким же принципом розміщуються пункти спостережень на протічних озерах і на водосховищах. Обов'язковою умовою, яка пред'являється до розташування пункту, є його репрезентативність, типовість у відношенні як видів забруднення, так і масштабів антропогенного навантаження. Кожна точка відбирання проб води, донних відкладень, біоти повинна нести певну інформацію, яку необхідно отримати з метою оцінки якості води, екологічної оцінки стану екосистеми тощо.

4.3. Створи спостережень

На пунктах спостережень досліджують один або кілька створів.
Створ пункту спостереження – умовний поперечний переріз

водоймища або водотоку, де проводиться комплекс робіт для одержання інформації про стан водойми та якість води.

Створи спостережень розміщують з урахуванням гідрометричних умов і морфологічних особливостей водоймища, наявності джерел забруднення, об'єму та складу стічних вод.

На водотоках у разі відсутності організованого скидання зворотних вод, у гирлах забруднених приток, на незабруднених ділянках водотоків, на кінцевих ділянках річок і в місцях перетину державного кордону України встановлюють один створ.

На водотоках, де організоване скидання зворотних вод, встановлюють декілька створів. Перший – *фоновий створ* – рекомендується розміщувати на відстані 1 км вище від джерела забруднення, тобто поза зоною впливу стічних вод, другий – у зоні забруднення, на відстані 1 км вище від найближчого місця водозабору, третій – у місці достатнього змішування стічних вод із водами річки.

У процесі спостережень за водоймищем загалом встановлюють не менше трьох створів, по можливості рівномірно розподілених його акваторією з урахуванням конфігурації берегової лінії. Застосування декількох створів дозволяє провести порівняння параметрів, отриманих на різних відстанях від місця скидання, а також оцінити "внесок" джерела в забруднення природних вод та оцінити здатність водойми до самоочищення.

Кожний створ має кілька вертикалей та горизонталей.

Вертикаль створу – умовна вертикальна лінія від поверхні води до дна водоймища або водотоку, на якій здійснюють

дослідження для отримання інформації про якість води. Кількість вертикалей у створі на водотоці визначають з урахуванням умов змішування вод водотоку зі зворотними водами, а також із водами приток. За неоднорідного хімічного складу води у створі встановлюють не менше трьох вертикалей, а за однорідного – одну вертикаль на стрижні водотоку. Кількість вертикалей залежить також від ширини зони забруднення.

Горизонт створу – зона на вертикалі (углиб), де виконують комплекс досліджень для отримання інформації про якість води. Кількість горизонтів на вертикалі визначають з урахуванням глибини водного об'єкта. Крім того необхідно відокремити додаткові горизонти в кожному шарі зміни густини води. Якщо глибина водойми не перевищує 5 метрів, то встановлюється один горизонт завглибшки 20-30 см від поверхні води (поверхневий горизонт). При глибині водойми від 5 до 10 м організовуються спостереження на двох горизонтах: біля поверхні та за півметра від дна. Якщо глибина водойми перевищує 10 м, то передбачений третій горизонт, який розташовується посередині між верхнім і нижнім горизонтами.

Відбирання проб у фоновому створі здійснюють тільки в поверхневому горизонті води, а на інших створах – залежно від глибини водного об'єкта, зокрема:

на водоймищі

– завглибшки менше 5 м – тільки з поверхневого горизонту;

– завглибшки від 5 до 10 м – з поверхневого й придонного горизонтів;

– завглибшки до 20 м – з поверхневого, придонного та 10 м горизонтів;

– завглибшки до 50 м – з поверхневого, 10 м, 20 м і придонного горизонтів;

– завглибшки до 100 м – з поверхневого, 10 м, 20 м, 50 м і придонного горизонтів;

– завглибшки більше 100 м – з поверхневого, з 10 м, 20 м, 50 м, 100 м і придонного о горизонтів;

на водотоці

– завглибшки менше 5м – з поверхневого горизонту;

– завглибшки від 5 до 10 м – з поверхневого й придонного горизонтів;

– завглибшки більше 10 м – з поверхневого, із придонного й ще з горизонту половинної глибини

4.4. Базові та проміжні станції

У межах мережі пунктів спостережень для проведення досліджень з визначення біологічної продуктивності різних ділянок водойм визначають станції – базові та проміжні станції.

Базові станції (спеціалізовані) – це ділянки на яких вирішуються конкретні науково-дослідницькі завдання. У літній період здійснюють добові (проби відбирають 4 рази на добу – вранці, вдень, увечері та вночі) та сезонні (весна, літо, осінь) дослідження;

Проміжні станції (тимчасові) – відбирають лише сезонні проби або при виникненні надзвичайних ситуацій.

Кількість станцій спостережень визначають з урахуванням величини водоймищ. Так у ставах або у малих водосховищах обирають три станції в межах верхнього, середнього та нижнього створів. Одна з них може бути базовою. Такою станцією, зазвичай, обирають ту, яка розміщується в пониззі водойми для більш детального вивчення стану екосистеми в зоні стоку вод.

У середніх водосховищах обирають чотири базові станції в межах верхнього, середнього (правий та лівий берег) та нижнього створів. Якщо за розмірами водойма наближається до великої, то рекомендують обирати 8 станцій: 4 базові та 4 проміжні (по 2 з лівого та правого берегів, по 1 між базовими станціями).

На великих та дуже великих водосховищах обирають 14 станцій, з яких 6 є базовими (по 3 з правого і лівого берегів – верхня, середня та нижня частина водосховища), а 8 – проміжні (по 2 між базовими станціями).

У межах кожної станції виділяють біотопи (зарослий і незарослий) і ділянки водойм з застійними явищами, які мають найбільший вплив на процеси самоочищення і формування якості поверхневих вод. Якщо якийсь із біотопів відсутній, то відбирають проби лише з одного. Якщо є різнотипові зарослі у біотопах, то проби відбирають у кожному з них для з'ясування переважного розвитку певних угруповань гідробіонтів до вищої водної рослинності.

Питання для самоперевірки.

1. Що включає поняття загальна характеристика водойми?
2. Яке значення для водойм має прозорість води?
3. На чому базується планування мережі а водоймах?
4. Де розташовують пункти спостережень на водоймах?
5. Де розташовують створи спостережень?
6. Що включає створ спостережень на водоймах?
7. Що включає поняття фоновий створ, базові і проміжні станції?

Використана література

1. Єдине міжвідомче керівництво по організації та здійсненню державного моніторингу вод. Затверджено Наказом Міністерства екології та природних ресурсів України 24.12.2001 №485.
2. Трохимець В.М. Методика комплексних моніторингових досліджень гідробіонтів у водоймах різного типу//Рибогосподарська наука України. – 2011. - №1. – С16-23.

5. ПОКАЗНИКИ ЯКОСТІ ВОДИ, РЕЖИМ, ДИНАМІКА ТА ЕТАПИ ВІДБИРАННЯ ПРОБ

5.1. Показники якості води

Система оцінки якості поверхневих вод суші та естуаріїв України охоплює три блоки показників: сольового складу, трофо-сапробіологічних (еколого-санітарних) показників та специфічних показників токсичної та радіаційної дії. Оскільки не існує єдиного показника, який визначав би весь комплекс характеристик води, оцінювання якості води проводиться на основі системи показників. Ці показники поділяються на фізичні, бактеріологічні, гідробіологічні та хімічні. Інша форма класифікації показників якості води – їх розподіл на загальні та специфічні. До *загальних* відносять показники, характерні для будь-яких водоймищ. Присутність у воді *специфічних показників* обумовлена місцевими природними умовами, а також особливостями антропогенного впливу на водний об'єкт.

Серед основних *фізичних показників* якості води виділяють такі: температуру, запах, прозорість, кольоровість, вміст завислих речовин.

Бактеріологічні показники характеризують забрудненість води патогенними мікроорганізмами. До найважливіших бактеріологічних показників відносять: колі-індекс – кількість кишкових паличок у літрі води; колі-титр – кількість води в мл, у якій може бути знайдена одна кишкова паличка.

Гідробіологічні показники дають змогу оцінити якість води за мікробіологічним, рослинним та тваринним населенням водоймищ. Зміна видового складу біологічних угруповань водних екосистем може відбуватися за незначного забруднення водних об'єктів, яке не виявляється жодними іншими методами. З цією метою вивчають структурні характеристики біологічних угруповань та функціональну активність фітопланктону, вищих водяних рослин, бактеріопланктону, зоопланктону, зообентосу, перифітону, риб. Найбільш інформативними є визначення таких структурних характеристик:

видового різноманіття,

кількісних показників – чисельності та біомаси,

просторово-часової динаміки,

інформаційного різноманіття (за індексом Шеннона)

видів-індикаторів сапробності

Фізичні, бактеріологічні та гідробіологічні показники відносять до загальних показників якості води.

Хімічні показники можуть бути загальними та специфічними. До загальних хімічних показників якості води належать: уміст

розчиненого кисню, хімічне та біохімічне споживання кисню; водневий показник; уміст азоту і фосфору та мінеральний склад.

До найбільш поширених специфічних показників якості води відносять феноли, нафтопродукти, поверхнево-активні речовини (ПАР), синтетичні поверхнево-активні речовини (СПАР), пестициди та важкі метали.

Правильність оцінки стану водних екосистем забезпечує виконання таких умов: відбирання проб води згідно методики, належної кількості та репрезентативності (відповідність до поставленого завдання як за якістю та об'ємом, так і за вибраними точками та часом відбирання, а також технікою відбирання, попереднього опрацювання, умов зберігання та транспортування).

Репрезентативною (від англ., *representative* - представницький, показовий) вважається така проба, що максимально характеризує якість води за даним показником, є типовою й не змінюється внаслідок концентраційних й інших факторів. Різні види водойм спричиняють деякі особливості відбору проб у кожному випадку.

5.2. Режим відбирання гідробіологічних проб

Режим відбирання гідробіологічних проб зумовлюється водним режимом водоймища.

Повінь – фаза водного режиму річки, яка характеризується найбільшою водністю, значним відносно тривалим підвищенням рівня води і спостерігається щороку в один і той же сезон.

Межень – фаза водного режиму річок, яка відзначається малою водністю, тривалим збереженням низького рівня води й виникає внаслідок зменшення живлення водотоку.

На більшості водотоків відбір проб проводять 7 разів на рік: під час повені – на підйомі, максимумі, спаді; під час літньої межені – при найменшій витраті води та після дощового паводка; восени перед льодоставом; під час зимової межені. Гідрохімічну та гідробіологічну інформацію про озера та водосховища збирають посезонно, тобто 4 рази на рік. Гідробіологічну інформацію про стави збирають щодавно, або 2 рази на місяць протягом вегетаційного періоду.

Проби поділяються також на прості та змішані.

Прості проби характеризують якість води в певному пункті відбору, відбираються у визначений час у необхідному об'ємі. У змішаних пробах об'єднують кілька простих проб із метою оцінки якості води за певний період часу або певної ділянки досліджуваного об'єкта.

Залежно від мети дослідження вдаються до разового або регулярного відбору проб. Разовий відбір проб застосовують, якщо вимірювані параметри неістотно змінюються в просторі (глибина, акваторія водоймища) і в часі; закономірності зміни визначуваних параметрів попередньо відомі; необхідні лише найзагальніші уявлення про якість води у водоймищі. Регулярний відбір означає, що кожну пробу відбирають у часовій і просторовій взаємозалежності з іншими.

Проби з річок і водних потоків відбирають для визначення якості води в басейні річки, придатності води для харчового використання, зрошення, для водопою худоби, риборозведення, купання й водного спорту, встановлення джерел забруднення. Для визначення впливу місця скидання стічних вод і вод приток проби відбирають вище за течією й місці, де відбулося повне змішання вод. Варто мати на увазі, що забруднення можуть бути нерівномірно поширені по потоку ріки, тому звичайно проби відбирають у місцях максимально бурхливого потоку, де потоки добре перемішуються. Пробовідбірники поміщають униз за течією потоку, розташовуючи на потрібній глибині.

Проби із природних і штучних озер (ставків). Якість води у водоймах (як озерах, так і річках) носить циклічний характер, причому спостерігається добова й сезонна циклічність. Із цієї причини щоденні проби варто відбирати в один й той же час доби, а тривалість сезонних досліджень повинні бути не менше 1 року, включаючи дослідження серій проб, відібраних протягом кожної пори року.

5.3. Часова динаміка відбирання проб

Для визначення зон впливу стічних вод на якість води та стан екосистеми важливим є вибір часового «кроку» спостережень. При цьому необхідно враховувати сезонну динаміку стану гідробіологічних угруповань, властиву даній водоймі. Це

виражається у наявності різних комплексів організмів в ті чи інші сезони року, у кількісному співвідношенні видів, у віковій структурі популяцій. Терміни спостережень за станом біоценозів повинні вибиратись з урахуванням тривалості розмноження популяцій. Оскільки планктонні угруповання представлені видами, які швидше розмножуються від бентосних, спостереження над планктоном в часі повинні проводитися частіше.

Зменшення біомаси на надто забруднених ґрунтах відбувається в основному за рахунок зникнення або суттєвого зменшення біомаси молюсків і олігохет (в зоні глибин 5-20 м), а в зоні глибин 20-100 м – олігохет. Найменші зміни відбуваються у видовому складі та біомасі гамарид. Вміст гамарид у відсотках є показником забрудненості тих чи інших ділянок водойми і може бути використаним з метою експрес-визначення впливу стічних вод. Подібна перебудова угруповань на забруднених ґрунтах відбувається і в мезозообентосі. Чисельність домінуючих в мезозообентосі гарпактицид, нематод і циклопів знижується досить суттєво. Майже зникають коловертки, різко зменшується чисельність остракод, стає менше рабдоцилід і тихоходок. Зниження біомаси мезозообентосу на забруднених ґрунтах супроводжується зменшенням різноманіття в десятки разів .

Масова поява епіфітів, серед яких домінують сувойки, – ознака, яка може бути використана як експрес-метод забруднення водойм.

У безпосередній близькості від місця надходження стічних вод бактерій відносно мало. Але при віддаленні на деяку відстань чисельність бактерій зростає до максимальної, а далі знижується до величин, характерних для природних вод. Цей факт може свідчити про те, що інтенсивність процесів самоочищення в товщі вод може бути найвищою на межі плями стійкого забруднення.

5.4. Етапи відбирання проб гідробіологічних угруповань

Вивчення будь-якого угруповання гідробіонтів у водних об'єктах має свою послідовність і складається з декількох етапів:

- визначення мережі станцій для досліджень;
- вибір характерних біотопів у водоймі;
- вибір адекватних методів та приладів відбирання проб;
- відбирання проб в польових умовах з описом необхідної супутньої інформації;
- консервування проб;
- первинне опрацювання проб;
- камеральне опрацювання проб;
- проведення розрахунків якісних і кількісних показників;
- занесення результатів до бази даних;
- робота з базою даних;
- проведення аналізу.

Під час першого відбирання проб на будь-якій станції необхідно:

- охарактеризувати водойму (назва, місцезнаходження, схему, розміри, площу, глибину, швидкість течії, тип

- донного ґрунту, прозорість води, температура води біля поверхні та в придонному шарі, характеристика берегової лінії, ступінь антропогенного впливу на прибережну зону);
- чітко позначити координати станції для орієнтування у системі GPS;
 - детально описати умови станції для встановлення змін під час наступних експедиційних виїздів.

При проведенні біологічного контролю за станом гідроекосистеми на водоймі, в якій антропогенне забруднення має місце тільки на частині акваторії, робота може здійснюватись такими шляхами:

- у стоячій водоймі збір гідробіологічних матеріалів слід проводити на станціях спостережень, розташованих на таких ділянках акваторії, де вплив антропогенного фактору наявний і відсутній;
- у річках станції спостережень необхідно розміщувати безпосередньо у місці дії антропогенного фактору, а також вище та нижче цього місця.

Якщо робота проводиться на водоймі, що цілком перебуває в умовах антропогенного навантаження, можливі три варіанти:

- для порівняння взяти гідробіологічні матеріали, зібрані перед і після початку антропогенної дії;
- при відсутності таких матеріалів можлива так звана експертна оцінка, яка може бути здійснена тільки досвідченим спеціалістом і полягає в порівнянні досліджуваної водойми з водоймами такого ж лімнологічного типу, але які, на відміну

від неї, не зазнають антропогенного пресу і перебувають у природному екологічному стані;

- проведення багаторічного моніторингу для відстеження динаміки змін, їх наростання, стабілізації або спаду.

5.5. Вимоги до устаткування, ємкостей та їх підготовка до відбирання проб

Критеріями для вибору ємкостей, що використовується для відбирання і зберігання проб, є:

- оберігання складу пробу від втрат або від забруднення іншими речовинами;
- стійкість до екстремальних температур і руйнування;
- здатність легко і щільно закриватися, необхідні розміри, форма, маса, придатність до повторного використання;
- світлопроникність;
- хімічна (біологічна) інертність матеріалу, що використовується для виготовлення ємкості та її корка;
- можливість проведення очищення, обробки стінок, усунення поверхневого забруднення важкими металами та радіонуклідами.

Допускається вживання одноразових ємкостей для відбору проб. Для відбирання твердих і напіврідких проб використовують кухлі або пляшки з широким горлом. Ємкості для проб на показники

паразитологічних досліджень мають бути з корками, що щільно закриваються. Не допускається відбір проб у відкриті відра.

Ємності з кришками, що закручуються, вузьким і широким горлом мають бути забезпечені інертними пластмасовими (наприклад, з політетрафторетилену) або скляними корками. Не допускається застосовувати гумові прокладки і мастила, якщо ємність призначена для відбору проб з метою визначення органічних і мікробіологічних показників.

Для зберігання проб, що містять світлочутливі інгредієнти (включаючи морські водорості), застосовують ємності зі світлонепроникного або неактинічного скла з подальшим розміщенням їх в світлонепроникну тару на весь період зберігання проби.

Ємності для проб, призначених для визначення мікробіологічних показників, повинні:

- витримувати високі температури при стерилізації (у тому числі пробки і захисні ковпачки);
- оберігати від внесення забруднень;
- виготовлятися з матеріалів, що не впливають на життєдіяльність мікроорганізмів;
- мати корки (силіконові або з інших матеріалів), що щільно закриваються, і захисні ковпачки (з алюмінієвої фольги, щільного паперу);

Пробовідбірники повинні:

- мінімізувати час контакту між пробою і пробовідбірником;

- виготовлятися з матеріалів, що не забруднюють пробу;
- мати гладенькі поверхні.

Проби відбирають вручну спеціальними приладами або із застосуванням автоматичного устаткування. При розробці та виборі автоматичного устаткування для відбирання проб враховують наступні основні чинники з врахуванням програми відбирання проб:

- міцність концентрації;
- стійкість до корозії та біопошкоджень у воді;
- простота експлуатації та управління;
- можливість мимовільного очищення від засмічення твердими частками;
- можливість вимірювання відібраного об'єму проби;
- забезпечення кореляції аналогічних даних з пробами, відібраними вручну.

Міжнародним стандартом ISO 5667-1 особлива увага акцентується на підготовці посуду для відбирання проб води різного хімічного складу з різних джерел водозабезпечення. Так для визначення фізичних і хімічних характеристик води застосовують посуд з інертних матеріалів: поліетилену і боросилікатного скла. Проте цей посуд для загального користування є надто дорогим, тому міжнародним стандартом рекомендовано застосування пляшок з корками, які закручуються і декілька видів пляшок з притертими корками, з вузьким і широким горлом. Однак при транспортуванні такого посуду для проведення

лабораторного аналізу необхідно слідкувати за герметичністю корків для уникнення забруднення та проливання проб.

Стандартом наголошується на те, що ємкість, в якій зберігається проба, і її корок не повинні бути причиною забруднення, а також абсорбувати або адсорбувати елемент, що визначається (наприклад, вуглеводні можуть адсорбуватися в поліетиленовому посуді, сліди металів можуть адсорбуватися на поверхні скляного посуду); вступати в реакцію з певними елементами, які знаходяться в пробі (наприклад, фтористі сполуки можуть вступати в реакцію зі склом).

Автори стандарту звертають увагу на те, що застосування непрозорого або затемненого скляного посуду може значно зменшити вплив світла на пробу. Нові скляні ємкості необхідно мити водою і миючими засобами з метою видалення пилу й пакувального матеріалу. Пісця цього посуд можна промивати розчинами біхромату калію і сірчаної кислоти (хромова суміш) та ополіскувати дистильованою водою. Стандарт застерігає, що не можна використовувати миючі засоби, якщо необхідно визначити фосфати та хромову суміш при визначенні сульфату або хрому.

Важливим нагадуванням є й те, що зазвичай поліетиленовий посуд очищують соляною кислотою (концентрації 1 моль/л), потім дають йому просохнути протягом 1-2-х днів і лише після цього необхідно досить добре промити дистилатом або деіонізованою водою. Для визначення слідів органічних речовин скляні пляшки очищують лише неорганічними речовинами.

Для проведення деяких біохімічних аналізів пляшки додатково промивають розбавленим розчином азотної кислоти, потім – дистильованою водою, для видалення важких металів або залишків хромату.

При проведенні наукових досліджень на правильне відбирання проб та підготовку відповідного обладнання, матеріалів і посуду для цього процесу звертається особлива увага. Цих вимог необхідно беззаперечно дотримуватись, посилаючись на існуючий державний та міжнародний стандарти ДСТУ ISO 5667-1-2003 (ISO 5667-1: 1980, IDT).

Для мікробіологічного аналізу посуд повинен бути ретельно вимитим, висушеним і стерильним. Флакони тимчасово затикають ватними корками з паперовими ковпачками, а до їх шийки прив'язують підібрані каучукові або коркові корки, загорнені у папір. Чашки Петрі та піпетки вкладають у спеціальні металеві пенали або загортають у папір. Кінчики для дозаторів загортають у папір або алюмінієву фольгу. Підготовлений посуд стерилізують в автоклаві при $126 \pm 2^\circ\text{C}$ ($1,5 \text{ кгс/см}^2$) 30 хвилин (рис. 5.1).



Рис. 5.1. Автоклави електричні: вертикальний, горизонтальний настільний, автоматичний

Питання для самоперевірки.

1. Назвіть показники якості води.
2. Назвіть найбільш інформативні структурні характеристики угруповань.
3. Назвіть найбільш поширені специфічні показники якості води.
4. Які умови гарантують правильність оцінки стану водних екосистем?
5. Які проби можна вважати репрезентативними?
6. Якими факторами зумовлений режим відбирання проб?
7. Яка часова динаміка відбирання проб?
8. Назвіть етапи відбирання проб гідробіологічних угруповань.
9. Назвіть вимоги до устаткування і ємкостей та їх підготовку до відбирання проб .
10. Які міжнародні стандарти регламентують підготовку посуду для відбирання проб .

Використана література

1. Єдине міжвідомче керівництво по організації та здійсненню державного моніторингу вод. Затверджено Наказом Міністерства екології та природних ресурсів України 24.12.2001 №485.

2. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений* / Под ред. В.А.Абакумова. – Л.: Гидрометеоздат, 1983. – 239 с.

6. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО НАСЕЛЕННЯ ВОДОЙМ

6.1. Експедиційні та лабораторні прилади й обладнання

Експедиційне обладнання:

- батометр;
- стерильні флакони (склянки, пляшки) місткістю 100-500 см³;
- поліетиленові пакети Baks, Steril, Whiri-Pak (Nach Europe-S.A/N.V);
- сумка-холодильник або ящик з термоізоляцією;
- формальдегід;

Лабораторні прилади та обладнання:

- автоклав електричний;
- шафа сушильна лабораторна;
- термостат електричний;
- мікроскопи;
- об'єкт-мікрометр;
- окуляр-мікрометр;
- рН-метр;
- дистильатор;
- холодильник;

- шутель-апарат;
- прилад для фільтрування води (фільтр Зейтца з діаметром фільтруючої поверхні 32 мм та колба Бунзена);
- насос вакуумний;
- лічильник формених елементів крові;
- прилад для підрахунку колоній бактерій;
- шютель-апарат;
- лупа;
- спиртівки;
- пенали металеві для піпеток та чашок Петрі;
- фільтри мембранні ацетатцелюлозні або нітроцелюлозні з діаметром пор 0,17- 0,35 мкм;
- пінцети;
- пальник;
- мірні піпетки на 1, 2, 5, 10 см³ з ціною поділок 0,1 см³;
- піпетки Мора місткістю 50 і 100 см³;
- стакани лабораторні;
- предметні і накривні скельця;
- чашки Петрі;
- пробірки бактеріологічні;
- фільтрувальний папір;

Поживні середовища та реактиви:

- агар-агар;
- агар сухий живильний;
- м'ясо-пептонний агар (МПА);
- пептон сухий;
- агар Ендо;
- олія імерсійна для мікроскопії;
- спирт етиловий ректифікований;
- фенол;
- барвники: еритрозин основний, акридиноранж, 4,6-діамідино-2-фнілоіндол (DAPI);

6.2. Відбирання проб води для мікробіологічних досліджень

Відбирання проб води для мікробіологічних досліджень проводять на заздалегідь визначених станціях. Для відбирання більшості мікробіологічних проб придатні стерильні склянки (флакони) зі скла або стерильні поліетиленові пакети Baks, Steril, Whiri-Pak (Hach Europe-S.A/N.V) згідно ISO 9001. Після відбирання проб, у випадку використання батометра зі змінними стерильними скляними флаконами, флакон знімають, верхній шар води зливають, пробу фіксують 40%-м розчином формаліну (0,5 см³ формаліну на 100 см³ води) і закривають стерильним корком, який покривається стерильним паперовим ковпачком і обв'язується ниткою.

Для відбирання проб на глибині (наприклад, в озерах або водосховищах) застосовують батометри. Батометри мають бути виготовлені з матеріалу, що витримує сухоповітряну або парову стерилізацію.

Вся використовувана апаратура, включаючи насоси і насосне устаткування, має бути чистою (промита) і не повинна додатково вносити нові мікроорганізми.

Для прижиттєвого вивчення бактеріопланктону та проведення посівів на поживні середовища відібрані проби зберігають у сумці-холодильнику не більше 2-3 год. Кожній пробі води присвоюють номер, а у польовому щоденнику під цим номером вказують найменування водойми, станцію, дату й інші обов'язкові відомості – екологічні, гідрологічні, гідрометеорологічні тощо. Для транспортування проби складають у спеціальний ящик.

6.3. Методи визначення загальної чисельності бактерій у воді

Загальну чисельності бактерій у воді визначають методом мембранних фільтрів, запропонованим А.С. Разумовим. Суть його полягає в концентрації мікроорганізмів на поверхні мембранного фільтра при фільтруванні проби води з подальшим фарбуванням фільтра і мікроскопічним вивченням.

Фільтрувальний прилад – фільтр Зейтца та колба Бунзена приєднана до насоса для створення вакууму (рис.6.1).

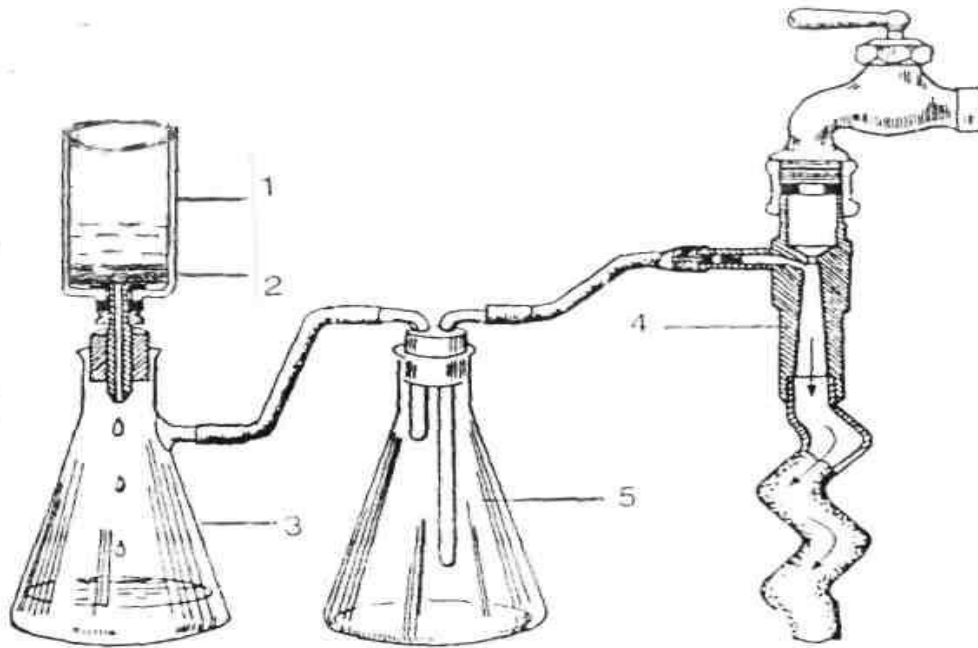


Рис. 14. Фільтрувальний прилад: 1- фільтр Зейтца; 2- фільтрувальна пластинка ; 3- колба Бунзена; 4- водоструминний насос; 5 – проміжна посудина.

Об'єм води для фільтрування – чисті райони річок, озер, водосховищ – 10-20 см³, забруднені – 0,1-2 см³.

Барвники для фарбування мембранних фільтрів: еритрозин основний, акрединоранж чи 4,6-діамідино-2-фінілоіндол (DAPI). Від назви барвника походить назва методу.

Еритрозиновий метод

1) Приготування розчину еритрозину:

5 г свіжоперегнаного фенолу (карбол) розчинити в 100 мл дистильованої води, перемішати і додати 5 г еритрозину. Суміш перемішати і настояти протягом доби. За діаметром чашок Петрі вкласти диски фільтрувального паперу і просякнуту їх приготовленим розчином еритрозину;

2) Фільтрування формальдегіду

Фільтрування основного розчину формальдегіду через мембранний фільтр з діаметром пор 0,3 мкм для очищення від бактерій.

3) Приготування мембранних фільтрів

Мембранні фільтри тричі протягом 10 хвилин кип'ятять у дистильованій воді (не допускаючи бурхливого кипіння) для видалення з них повітря і залишків розчинників.

4) Приготування фільтрувального приладу

Перед кожною процедурою фільтрування проб води металеві деталі фільтра Зейтца протирають спиртом і стерилізують методом фламбування (обпалюють) ватним тампоном, змоченим у спирті, накрученим на металеву паличку. Порядок операцій:

- розібрати прилад;
- протерти ватою зі спиртом і обпалити підставку і циліндричний корпус;
- протерти ватою зі спиртом і обпалити лійку;
- вставили основу фільтра у колбу Бунзена, вкласти обпалену дрібнопористу металеву сіточку, стерильним пінцетом швидко покласти підготовлений мембранний фільтр, встановити циліндричний корпус і загвинтити його.

Усі операції необхідно виконувати швидко біля або у полум'ї пальника. Відросток колби Бунзена приєднують до

вакуумного насосу. Для рівномірного розподілу бактерій по площі фільтра вакуум у приймальній колбі Бунзена не повинен перевищувати 0,1 - 0,2 атм.

5) *Визначення площі поля зору мікроскопа*

Площу поля зору мікроскопа визначають за формулою $S=\pi R^2$. Щоб одержати величину радіуса, вимірюють діаметр поля зору за допомогою об'єкт-мікрометра.

Проведення роботи. На фільтрувальну сіточку фільтра Зейтца накладають паперовий фільтр, злегка змочують його стерильною водою, на нього кладуть блискучою стороною догори мембранний фільтр і закручують верхню частину до основи. Стерильною піпеткою над полум'ям спиртівки відбирають необхідну кількість води і пропускають через мембранний фільтр. Після цього фільтр виймають, висушують на фільтрувальному папері, маркують (дата, об'єм профільтрованої води, номер проби), кладуть у чашку Петрі з тампончиком вати, змоченим формальдегідом. У такому вигляді фільтри можна зберігати тривалий час. Для подальшого вивчення фільтр необхідно пофарбувати. Його пінцетом переносять на просякнутий еритрозином фільтрувальний папір у чашці Петрі. Витримують протягом 3 - 4 год при температурі 50 - 60°C в термостаті або залишають на ніч при кімнатній температурі. Після закінчення фарбування зайвий еритрозин з мембранних фільтрів відмивають, перекладаючи їх пінцетом на аркуші фільтрувального паперу, змоченого дистильованою водою, поки мембранні фільтри не набудуть рожевого кольору. Фільтри висушують на повітрі та зберігають у паперових пакетах.

Для підрахунку мікроорганізмів на предметне скло наносять краплю імерсійної олії, на нього накладають 1/2 – 1/4 забарвленого фільтра і зверху ще наносять краплю олії (фільтр повинен бути прозорим). Для мікроскопії використовують імерсійний об'єктив (90×) і окуляр (10×) з сітчастим мікрометром. Підрахунок бактерій проводять за окремими морфологічними типами: палички, коки, азотобактероподібні бактерії, сіркобактерії тощо. Кількість бактерій підраховують у 20 полях зору, використовуючи лічильник.

Підрахунок чисельності бактерій проводиться за формулою:

$$x = \frac{S \cdot 10^6 \cdot a}{s \cdot n \cdot v},$$

де, x – кількість бактерій в 1 см³ води;

S – площа фільтра, мм²;

10^6 – коефіцієнт для переведення з мм² у мкм²;

a – кількість бактерій, підрахована в n полях зору;

n – число полів зору;

s – площа окулярної сіточки, в якій були підраховані бактерії, мкм²;

v – об'єм профільтрованої води, см³.

Недоліки методу: еритрозином забарвлюються і відповідно підраховуються усі клітини бактерій: і живі, і мертві; має місце неповний облік дрібних клітин, які складають значну частину тотального бактеріопланктону.

Акрединоранжевий метод. Акрединоранж – флуорохром, що утворює комплекси з ДНК і РНК клітини і забарвлює бактерії в жовтий або зелений колір залежно від концентрації барвника, складу стінки клітини та співвідношення РНК до ДНК в цитоплазмі.

Вимоги до консервування проб

Проби води можуть бути використані безпосередньо після відбирання (прижиттєве вивчення) або зафіксовані 40% формальдегідом з розрахунку його кінцевої концентрації в пробі 5%.

Зберігання проб

При +2 - 4°C декілька тижнів.

Опрацювання консервованих проб

Декілька днів після відбирання проб.

Приготування розчину акридиноранжу:

0,1 г акридиноранжу розчиняють у 100 дм³ дистильованої, профільтрованої через полікарбонатний чорний мембранний фільтр (Ø 0,2 мкм) води. Розчин зберігають у холодильнику. Термін придатності – декілька місяців. Перед кожним використанням необхідно фільтрувати через вказаний вище фільтр за збереження умов стерильності.

Проведення роботи. До 1 - 2 см³ проби води додають 0,1 см³ 0,1% розчину акридиноранжу і залишають на 2 - 5 хв. На фільтрувальну пластинку приладу накладають паперовий фільтр, злегка змочують його стерильною водою і на нього кладуть блискучою стороною догори чорний полікарбонатний фільтр. Пробу з барвником вносять до фільтрувального приладу і фільтрують при 0,2 - 0,4 атм. Після того, як проба відфільтрується, у прилад додають 2 см³ стерильної води і фільтрують (для усунення надлишку барвника). Фільтр знімають і ретельно висушують на повітрі. Фільтри зберігають в темноті.

На предметне скло наносять тонкий шар нефлуоресційної імерсійної олії і на нього приклеюють фільтр догори поверхнею з осадженими на ній мікроорганізмами. На поверхню препарату

наносять краплю нефлуоресційної імерсійної олії та досліджують препарат в епіфлуоресцентному мікроскопі з використанням об'єктиву 100×, окуляру 10× і системи фільтрів: 410 - 485 нм, 515 нм та 505 нм.

Недоліки методу: незначна канцерогенність барвника та здатність акридиноранжу адсорбуватися на завислих у воді частках мулу, що перешкоджає отриманню достовірної інформації про чисельність бактеріопланктону.

DAPI – метод. Барвник 4,6-діамідино-2-фенілоіндол або DAPI є специфічним флуорохромом, що дає комплекси з ДНК, які світяться при збудженні УФ $\lambda=365$ нм блакитним кольором. На відміну від акридиноранжу DAPI не зв'язується з РНК, але утворює комплекси з ДНК нуклеоїду, цитоплазми, клітинної стінки. Зважаючи на це, перевагою методу DAPI у порівнянні з методом акридиноранжу є можливість обліку не тільки загальної чисельності бактерій, але й при модифікації методу – виявлення метаболічно активних клітин (NuCC – nucleoid containing cells – клітин, які містять нуклеоїд).

Вимоги до консервування проб і терміну камерального опрацювання такі ж, як і в методі з акридиноранжем.

Приготування розчину 4,6-діамідино-2-фенілоіндолу (DAPI):

Концентрований розчин DAPI (500 мкг/мл): 10 мг барвника розчиняють в 20 мл дистильованої, профільтрованої через полікарбонатний чорний мембранний фільтр (\varnothing 0,2 мкм) води. Розчин по 1–2 см³ розливають в стерильні мікропробірки (епендорфи), які зберігають при -20°C (термін зберігання кілька місяців).

Робочий розчин DAPI (50 мкг/мл) готують методом розведення концентрованого дистильованою профільтрованою через полікарбонатний чорний мембранний фільтр (\varnothing 0,2 мкм) водою. Робочий розчин зберігають при $+2-4^{\circ}\text{C}$ і використовують протягом двох тижнів. Для подальшого використання його необхідно знову фільтрувати через вказаний фільтр.

Проведення роботи. До 1 - 2 см³ проби води додають стільки ж робочого розчину барвника, щоб його кінцева концентрація в пробі становила 5 мкг/см³ DAPI. Пробу з барвником залишають у темноті на 7 - 10 хв. Після експозиції пробу фільтрують через полікарбонатний чорний мембранний фільтр при 0,2 - 0,4 атм. Після цього до фільтрувальної лійки приладу додають спочатку 1 - 2 см³ стерильної води і фільтрують, а потім ще 1 - 2 см³ 80% етилового спирту і знову фільтрують. Фільтр знімають з фільтрувального приладу і висушують на фільтрувальному папері в темноті. Препарати зберігають в темноті при температурі мінус 20°C. Перед мікроскопією препарати треба витримати до прийняття ними кімнатної температури.

На предметне скло наносять тонкий шар спеціальної олії ST-fluor і накладають фільтр догори поверхнею з осадженими мікроорганізмами. На ST-fluor до препарату приклеюють покривне скельце. На нього наносять краплину нефлуоресційної імерсійної олії і переглядають препарат в епіфлуоресцентному мікроскопі, підраховуючи кількість бактерій. Використовують об'єктив 100 \times ,

окуляр 10× і систему фільтрів для екстинції з $\lambda=365$ нм, емісії $\lambda=420$ нм.

Загальну чисельність бактерій, забарвлених акридиноранжем чи DAPI, у мікробіологічних дослідженнях підраховують автоматично з використанням сучасних мікроскопів, приєднаних до програми Multi-Scan. При цьому вимірюються розміри бактерій, визначається їх об'єм та біомаса.

6.4. Методи визначення біомаси бактерій

Визначення біомаси бактерій є необхідною умовою для оцінки ролі бактеріального населення в продукційних процесах, трофічних зв'язках і процесах самоочищення у водних екосистемах. Найчастіше показники біомаси застосовуються при визначенні продукції бактерій, їх виїдання безхребетними тваринами, при розрахунках витрат асимільованої бактеріальним населенням енергії на дихання і конструктивний обмін. Показники біомаси бактерій також використовують в системах класифікацій, пов'язаних з встановленням трофічного статусу водойм

Вимірювання розмірів мікроорганізмів. Після підрахунку загальної чисельності бактерій на цьому самому препараті визначають середній об'єм бактеріальних клітин шляхом вимірювання їх довжини і ширини. Вимірювання можна проводити

і на мікрофотографіях. Розміри бактерій у водоймах можуть коливатися в широких межах.

Проведення роботи. Вимірювання величини бактеріальних клітин проводять за наявності окуляр-мікрометра і об'єкт-мікрометра. Окуляр-мікрометр – це кругла скляна пластинка, в центрі якої є лінійка, завдовжки 5 мм (кожний міліметр поділений на 10 поділок) (рис. 6.2).

Окуляр-мікрометр встановлюється на діафрагму окуляра мікроскопа поділками вниз. Перед цим потрібно викрутити очну лінзу окуляра, проте за допомогою лише одного окуляр-мікрометра

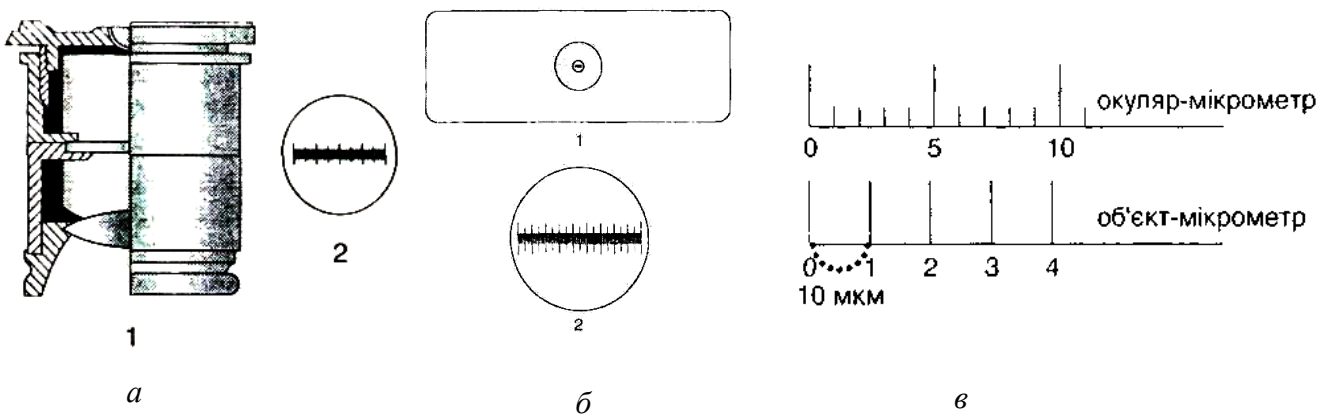


Рис. 6.2. а) Окуляр-мікрометр: 1 – окуляр зі вставленим мікрометром (розріз); 2 – окуляр-мікрометр; б) 1- об'єкт-мікрометр; 2 – окуляр-мікрометр, який вставляється в окуляр мікроскопа; в) визначення величини поділки окуляр-мікрометра.

ще не можна безпосередньо встановити величину бактеріальної клітини, тому що мікроорганізми проглядаються через об'єктив і окуляр, а поділки лінійки – тільки через верхню лінзу окуляра. У цьому випадку збільшення бактеріальної клітини і поділок не може бути однаковим. Тому перед вимірюванням розмірів клітини

насамперед треба визначити ціну поділки окуляр-мікрометра для даного збільшення мікроскопа. Визначають ціну поділки за допомогою об'єкт-мікрометра.

Об'єкт-мікрометр (рис. 6.2.б) – це металева пластинка з отвором у центрі. В отворі є скельце, на якому нанесена лінійка завдовжки 1 мм. Лінійка поділена на 100 часток. Одна поділка дорівнює 0,01 мм або 10 мкм. Щоб визначити ціну поділки окуляр-мікрометра, об'єкт-мікрометр розміщують на предметному столику мікроскопа і розглядають як препарат. Рухаючи столиком мікроскопа і повертаючи окуляр, досягають такого положення, щоб шкали окуляр-мікрометра і об'єкт-мікрометра були паралельними. Після цього нульову риску шкали об'єкт-мікрометра сполучають з нульовою рисою шкали окуляр-мікрометра і знаходять найближчий збіг рисок від нульових точок обох шкал. Визначають скільки поділок об'єкт-мікрометра відповідають одній поділці окуляр-мікрометра. Наприклад, на рис.6.2 в видно, що дві поділки шкали об'єкт-мікрометра відповідають п'ятьом поділкам окуляр-мікрометра. Так одна поділка окуляр-мікрометра дорівнюватиме $20 : 5 = 4$ мкм. Отже, ціна поділки окуляр-мікрометра при даному збільшенні мікроскопа становить 4 мкм. Знайшовши ціну поділки окуляр-мікрометра, можна вимірювати величину мікробних клітин без об'єкт-мікрометра. Для цього під мікроскопом визначають кількість поділок шкали окуляр-мікрометра, що займає об'єкт і множать її на ціну поділки.

Вимірювання мікрооб'єктів здійснюють також за допомогою гвинтового окуляр-мікрометра МОВ-1-15× (рис.6.3). Його накладають на тубус мікроскопа і закріплюють гвинтом. У фокальній площині окуляра МОВ-1-15× розміщені нерухома шкала з поділками від 1 до 8 мм (ціна поділки – 1 мм), індекс у вигляді біштриха (двох рисок) і рухоме перехрестя (рис.6.3.б). При обертанні мікрометричного гвинта перехрестя і біштрих переміщуються у полі зору окуляра відносно нерухомої шкали.

Крок гвинта дорівнює 1 мм. Нерухома шкала призначена для відліку повних обертів барабана гвинта, тобто цілих міліметрів

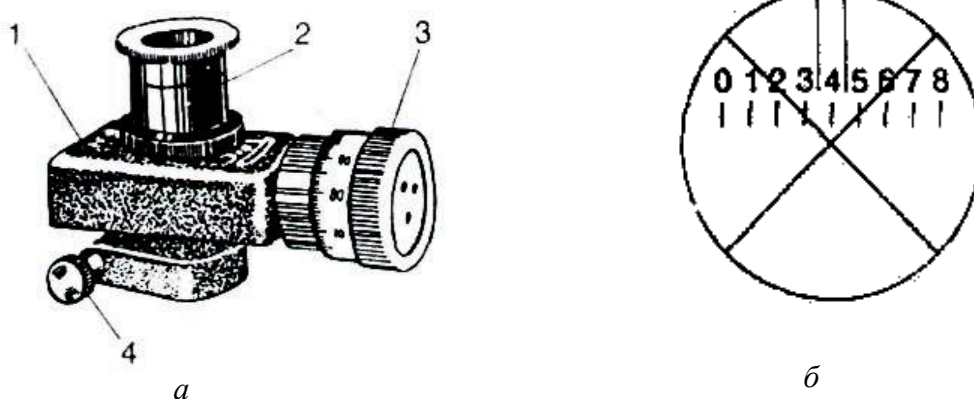


Рис. 6.3. а) Гвинтовий окуляр-мікрометр МОВ-1-15^х: 1– корпус; 2 – окуляр; 3 – барабан зі шкалою; 4 – гвинт для закріплення; б) вимірювальна лінійка окуляр-мікрометра: нерухома шкала з поділками від 0 до 8, рухоме перехрестя та індекс у вигляді біштриха.

переміщення перехрестя. Рухомий барабан МОВ-1-15× поділений на 100 частин. Поворот барабана на 1 поділку відповідає переміщення на 0,01 мм. Таким чином, шкала барабана призначена для відліку сотих часток міліметра. Повний відлік по шкалах МОВ-

1-15× складатиметься з відліку на нерухомій шкалі та відліку на барабані.

Перед вимірюванням досліджуваних об'єктів спочатку треба виміряти лінійне збільшення об'єктива мікроскопа. Для цього на предметному столику розміщують об'єкт-мікрометр і фокусують на нього мікроскоп. По шкалі об'єкт-мікрометра визначають певне число поділок, які укладаються в 2/3 поля зору окуляра. За інструкцією вимірювання лінійного збільшення об'єктива мікроскопа можна робити в двох напрямках: від нульової поділки до поділки «8» міліметрової шкали окуляр-мікрометра або навпаки. При вимірюванні від нульової поділки обертанням барабана позначеною поділкою об'єкт-мікрометра і проводять відлік по шкалах окуляр-мікрометра. Далі обертанням барабана у той самий бік підводять центр перехрестя до сполучення з останньою поділкою шкали об'єкт-мікрометра і здійснюють другий відлік. Обчислення роблять за формулою:

$$\beta = \frac{\Pi - I}{z \cdot \alpha},$$

де, β – лінійне збільшення об'єктива; $\Pi - I$ – різниця двох підрахунків по шкалах окуляр-мікрометра; z – число поділок об'єкт-мікрометра, прийнятих при вимірюванні; α – ціна однієї поділки шкали об'єкт-мікрометра (0,01 мм).

Приклад. Для об'єктива 40× перший відлік по шкалі окуляр-мікрометра дорівнював 1,36 мм, другий – 8,20 мм. Число поділок об'єкт-мікрометра при вимірюванні становив 15. У цьому випадку лінійне збільшення об'єктива 40× дорівнює:

$$\beta = \frac{8,20 - 1,36}{15 \cdot 0,01} = 45,6^x$$

Після визначення лінійного збільшення об'єктива можна приступати до вимірювання досліджуваних об'єктів. На предметному столику мікроскопа замість об'єкт-мікрометра розміщують препарат, наводять різкість і, дивлячись в окуляр, обертанням барабана підводять центр перехрестя до сполучення з краєм зображення досліджуваного об'єкта. Роблять перший відлік по шкалах окуляр-мікрометра. Потім підводять центр перехрестя до сполучення з другим краєм об'єкта (барабан обертають у той самий бік) і роблять другий відлік. Величину досліджуваного об'єкта визначають за такою формулою:

$$t = \frac{II - I}{\beta},$$

де t – величина досліджуваного об'єкта; $II - I$ – різниця двох підрахунків; β – лінійне збільшення об'єктива.

Приклад. При вимірюванні довжини дріжджової клітини за допомогою об'єктива 40× перший підрахунок становив 3,37 мм, другий – 3,79 мм. У цьому випадку довжина дріжджової клітини дорівнює 0,09 мм або 9 мкм:

$$t = \frac{3,79 - 3,37}{45,6} = 0,09_{мм}$$

При розрахунках загальної біомаси бактерій доводиться приймати одні (середні) розміри для усіх паличок, що знаходяться у водоймі, коків тощо. Тому для одержання середніх розмірів мікроорганізмів кожного типу необхідно проводити значну кількість вимірювань бактеріальних клітин.

Об'єм паличковидних клітин розраховують за формулою циліндра:

$$V = \frac{1}{4} \pi d^2 h,$$

де, d – товщина, h – довжина палички.

Об'єм коковидних клітин визначають за формулою кулі:

$$V = \frac{1}{6} \pi D^3,$$

де, D – діаметр коковидної клітини.

Об'єм овальних клітин отримують за допомогою формули еліпсоїда:

$$V = \frac{1}{6} \pi D d^2,$$

де, D – довжина клітини, d – ширина (по короткій осі).

У зв'язку з тим, що на висушених і фіксованих препаратах об'єм клітин зменшуються в 1,5–2 рази, тому при розрахунках використовують поправочний коефіцієнт, що дорівнює 1,6. Об'єм бактеріальних клітин спочатку отримують в мкм³ і далі перераховують в мм³.

Загальну біомасу бактерій виражають в одиницях маси на певний об'єм води (в мг/дм³). Загальна біомаса дорівнює сумі маси клітин різних морфологічних типів. Приймається, що питома маса бактерій дорівнює питомій масі води 1; маса 1 мм³ біомаси бактерій становить 1 мг.

Приклад розрахунку біомаси бактерій [4]. Об'єм однієї коковидної клітини в даній водоймі, наприклад, становить 0,52 мкм³, кількість коків в 1 см³ води – 200000. Біомаса коків в 1 см³ дорівнює

$$0,52 \times 200000 = 104000 \text{ мкм}^3, \text{ або } \frac{104000}{1000^3} = 0,000104 \text{ мм}^3.$$

Біомаса бактерій в 1 дм³ води має об'єм 0,104 мм³ і дорівнює 0,104 мг. Отже, для визначення біомаси бактерій в мг/дм³ води необхідно середню масу однієї клітини помножити на кількість клітин, встановлених прямим підрахунком у 1 см³, і отриманий результат розділити на 1000.

У наведеному вище прикладі:

$$\frac{0,52 \times 200}{1000} = 0,104 \text{ мм}^3 = 0,104 \text{ мг} / \text{л}.$$

Для визначення біомаси бактерій у донних відкладах необхідно середній об'єм однієї клітини помножити на число клітин у 1 г ґрунту і отриманий добуток розділити на 1000.

Для визначення сухої маси від отриманої величини береться 15%, (бактерії містять 85% води). Вуглець становить 50% за масою від сухої біомаси бактерій. Тоді:

$$B_c = Nv \times 0,15 \times 1,6 \times 0,5,$$

де, B_c – вуглець сухої біомаси бактерій; 0,15 – перехід від вологої біомаси до сухої; 0,5 – розрахунок біомаси на вуглець; v – середній об'єм сухої клітини; N – число бактерій в 1 см³ (1 дм³) води або в 1 г ґрунту; 1,6 – поправочний коефіцієнт.

При автоматичному підрахунку чисельності бактерій (забарвлених акридиноранжем чи DAPI) з використанням програми Multi-Scan визначення розмірів клітин різних морфологічних типів виконується системою в кожному полі зору. На основі отриманого середнього об'єму клітин розрахунок біомаси бактерій проводять за формулою:

$$B = (104,5 \times V^{0.59}) \times 0,86 \times N \times 10^{-5}, \text{ мкг С/л,}$$

де, B – біомаса бактерій, мкг С/л;

V – середній об'єм клітин бактерій, мкм³;

N – загальна кількість бактерій, кл/мл (у воді) чи кл/г (в донних відкладах).

6.5. Визначення загальної кількості сапрофітних бактерій

Кількість сапрофітних бактерій, що ростуть на стандартних живильних середовищах, є чутливим індикатором вмісту та якості органічних речовин у водоймах. Оцінка кількості життєздатних сапрофітних бактерій, значну частину яких становить алохтонна мікрофлора, тобто така, що надходить до водних об'єктів із різних джерел, дозволяє отримати інформацію щодо якості води.

Суть методу полягає у внесенні певного об'єму досліджуваної проби води в стандартне живильне середовище агара в чашках Петрі шляхом змішування (глибинний засів) з подальшим інкубуванням засіву при 22°C протягом 72 год, або (та) при 37°C протягом 24 чи 48 год та підрахунком колоній бактерій, що утворюються, на одиницю об'єму води.

Відбирання проб води. Відбирання проб води для визначення кількості сапрофітних бактерій проводиться аналогічно, як і у випадку загальної чисельності бактеріопланктону. Проба води повинна бути досліджена відразу або у межах 2 год, але не пізніше, як через 6 год після відбирання, за умови зберігання її при температурі від 1 до 5°C у сумці-холодильнику або ящику з теплоізоляційною прокладкою.

Підготовка до аналізу:

1) Поживні середовища для сапрофітних бактерій

М'ясо-пептонний агар (МПА): м'ясний екстракт – 3г, пептон – 5 г, агар-агар – 20 г, вода водопровідна – 1000 мл. Реакцію середовища доводять до 6,8–7,2.

Агарове середовище (ІСО 8199): триптон – 6 г, зневоднений екстракт дріжджів – 3 г, агар у порошку або в гранулах – 12 г, вода – до 1000 мл. рН середовища після стерилізації доводиться до $7,2 \pm 0,2$ при 25°C.

Приготовлені поживні середовища розливають у флакони або пробірки у кількості, необхідній для аналізу. Стерилізують в автоклаві при $120 \pm 2^\circ\text{C}$ ($1,1 \text{ кгс/см}^2$) 20 хв.

2) Лабораторний посуд

Посуд для бактеріологічного аналізу повинен бути підготовленим згідно правил – вимитим, висушеним, спеціально упакованим і простерилізованим сухим жаром в сушильній шафі при $160 \pm 5^\circ\text{C}$ протягом 1 год, або в автоклаві при $126 \pm 2^\circ\text{C}$ ($1,5 \text{ кгс/см}^2$) 30 хв.

3) Приготування стерильної води.

Водопровідну (колодязну, річкову) воду розливають у пробірки по 10 мл в кожну, закривають ватними корками і стерилізують в автоклаві при $120 \pm 2^\circ\text{C}$ ($1,1 \text{ кгс/см}^2$) 20 хв. Термін зберігання не більше 2-х тижнів.

4) Приготування розведень із проб води

При необхідності висівання на поживні середовища малих об'ємів ($0,1 \text{ см}^3$ і менших) досліджувану пробу води необхідно розвести стерильною водою. Для цього в

пробірку з 9 см^3 стерильної води вносять 1 см^3 води, що досліджується. При цьому піпетка повинна бути опущена нижче поверхні води не більше, ніж на 3 мм, щоб не допустити змиву бактерій із зовнішньої сторони. Іншою стерильною піпеткою шляхом продування повітря ретельно перемішують вміст пробірки, відбирають з неї 1 см^3 і переносять в чашку Петрі. Це буде становити $0,1 \text{ см}^3$ води, що досліджується. За необхідності висівання менших об'ємів води цією ж піпеткою переносять 1 мл вмісту першої пробірки в наступну з 9 см^3 стерильної води. Висівання 1 см^3 з другої пробірки відповідатиме $0,01 \text{ см}^3$ води, що досліджується тощо.

Проведення аналізу. Усі маніпуляції, пов'язані з мікробіологічними засівами, виконують над полум'ям спиртівки. У промарковані стерильні чашки Петрі стерильною піпеткою вносять по 1 см^3 досліджуваних проб води. Із кожної проби води необхідно посіяти не менше 2-х різних об'ємів. Потім у чашку заливають розплавлене на водяній бані та охолоджене до 45°C поживне середовище ($10\text{-}12 \text{ см}^3$). Обережно нахиляють і обертають чашку для перемішування суміші на поверхні столу. Не допускається утворення повітряних пухирців бульбашок повітря, незалитих частин дна чашки, попадання середовища на краї та кришку чашки. Після застигання середовища чашки розміщують у термостаті при температурі 37°C , витримують протягом доби. За цей час виростають колонії, які добре видно при використанні лупи.

Підраховують кількість колоній звичайним способом за допомогою лупи із збільшенням в 2–5 разів або за допомогою лічильної камери Вольфлюгеля чи приладу для підрахунку колоній

(рис.6.4). При використанні лупи чашку ставлять на чорний фон догори дном, розділяють на 4-8 сегментів і кожен підраховану колонію відмічають зі сторони дна олівцем для скла. При висіванні 1 см^3 нерозведеної проби враховують будь-яку кількість колоній, але таку, що не перевищує 300. Якщо в чашці з найбільш високим розведенням виросло більше 300 колоній і аналіз неможливо повторити, то допускається підрахунок колоній за допомогою пластинки з сіткою і лупи при сильному бічному освітленні. Підраховують не менше 20 квадратів площею 1 см^2 кожний в різних місцях чашки, потім виводять середнє арифметичне число

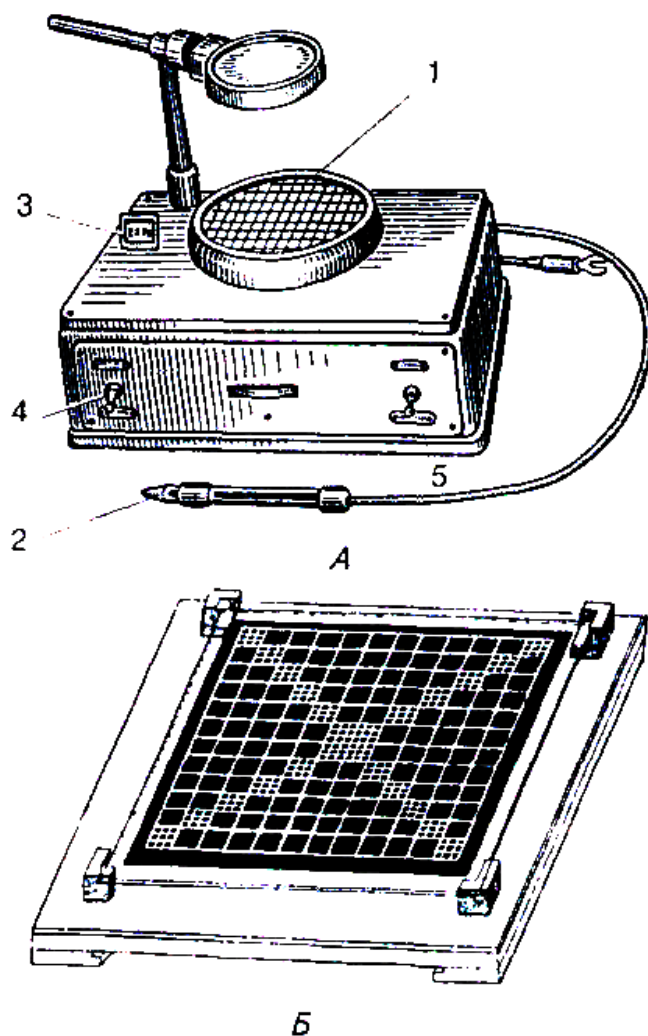


Рис.6.4. Прилади для підрахунку колоній мікроорганізмів: (А – апарат для кількісного підрахунку колоній: 1 – столич для чашки Петрі; 2 – голка з пружинним пристроєм; 3 – показник лічильника; 4 – тумблер для вмикання імпульсного лічильника; 5 – тумблер для вмикання лампи освітлення; Б – лічильна камера Вольфлюгеля.

колоній на 1 см^2 , величину якого множать на площу чашки в см^2 за формулою $S=\pi R^2$.

Якщо посів проводився без попереднього розведення, то кількість колоній, які одержано у чашці, дорівнюватиме вмісту бактерій у 1 см^3 води. У разі розведення треба помножити кількість колоній на відповідне розведення, і тоді одержимо кількість бактерій у 1 см^3 води.

Результат підрахунку колоній в кожній чашці з урахуванням висіяного об'єму виражають у кількості бактерій у 1 см^3 води. За кінцеву кількість бактерій приймають середнє арифметичне результату підрахунку на 2-х паралельних чашках або різних розведень.

6.6. Визначення кількості бактерій групи кишкової палички

Визначення кишкової палички ґрунтується на її здатності при розмноженні зброджувати цукор. Якщо поживне середовище містить лактозу, то вона зброджується до молочної кислоти, яка руйнує сполуку барвника фуксину з сульфітом. У місцях росту колоній бактерій *Escherichya coli* виникають забарвлені фуксином червоні блискучі випуклі колонії, підрахунок яких вказує на кількість бактерій кишкової

палички. Для визначення кількості бактерій *E.coli* та інших представників цієї групи використовують бродильний метод і метод фільтрів. Суть останнього полягає в концентруванні бактерій з певного об'єму досліджуваної води на мембранному фільтрі та вирощуванні їх на середовищі Ендо при температурі 37 °С.

Підготовка до аналізу:

1) *Агар Ендо* (випускають у сухому вигляді). Склад: поживний агар сухий 26,5 г; вітамінний препарат «ЕКД» - 1,22; лужний фуксин – 0,23 г; цукор молочний – 10,7 г; динатрію фосфат – 0,48 г; сульфат натрію безводний – 0,83 г; натрій вуглекислий - 0,03 г.

Спосіб приготування поживного середовища: 19,40 г (точну наважку див. на упаковці) агару Ендо розчинити в 1 л дистильованої води, прокип'ятити до повного розплавлення агару 2-3 хв, профільтрувати і знову довести до кипіння, остудити до температури 45-50 ° С, розлити в стерильні чашки Петрі шаром 3-4 мм, після застигання підсушити при температурі (37 ± 1) ° С протягом 40-60 хвилин. Готове поживне середовище необхідно використовувати в день приготування

2) *Приготування фільтрувального приладу*

Як і в еритрозиновому методі

3) *Приготування мембранних фільтрів*

Як і в еритрозиновому методі

Проведення роботи. У стерильні флакони відбирають проби води (300-500 мл). Якщо вода забруднена, то її розводять стерильною водою у 100-1000 разів. Підготовлені мембранні фільтри поміщають у простерилізований апарат Зейтца, з'єднаний з водоструминним насосом. Після закінченні фільтрування мембранний фільтр переносять стерильним пінцетом у чашку Петрі на поверхню

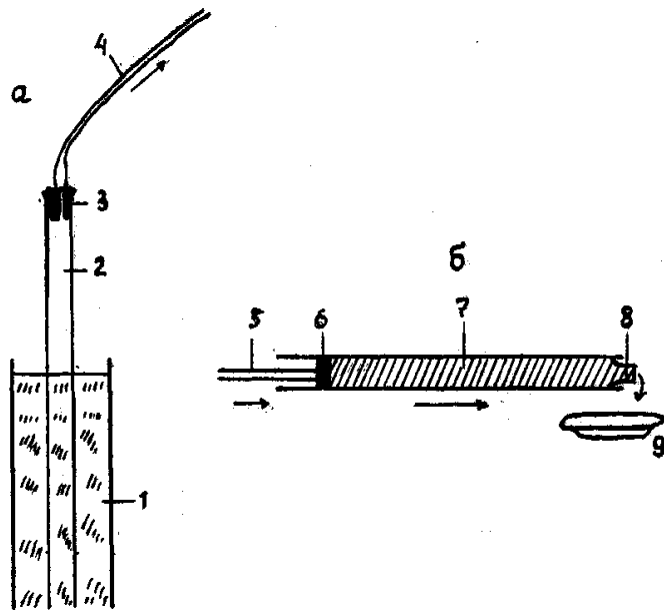
середовища Ендо. Чашку розміщують у термостаті при температурі 37 °С і витримують протягом доби. Після цього розглядають і підраховують колонії кишкової палички, які мають металевий блиск і червоне забарвлення.

Для визначення колі-індексу підраховану кількість бактерій групи кишкових паличок, які вирости із досліджуваного об'єму води, множать на 1000 і ділять на цей же об'єм V :

$$\text{колi-iндекc} = n \times 1000 : V$$

6.7. Методи визначення загальної чисельності бактеріобентосу

Проби донних відкладів відбирають стратометром (рис. 6.5). Попередньо в лабораторії заготовляють серію скляних трубочок діаметром близько 1 см і довжиною 15 - 20 см кожна, закривають ватними тампонами, стерилізують у сушильній шафі.



10

Рис. 6.5. Стратометр (а) та з скляна трубка (б): 1 – стратометрична трубка з монолітом ґрунту; 2 – скляна трубка, в яку асептично відбирається колонка ґрунту; 3 – гумовий корок з скляною трубочкою; 4 – гумова трубка; 5 – скляна паличка; 6 – поршневий корок; 7 – моноліт ґрунту; 8 – ніж; 9 – приймач для ґрунту; 10 – проби донних відкладів відібрані за допомогою стратометра.

Окремо в автоклаві стерилізують гумові корки в паперових пакетах по 2 - 4 шт. При відбиранні проб ґрунту із стратометра у верхній кінець скляної трубки вставляють гумовий корок з гумовим шлангом; протилежний кінець трубки ставлять у центр моноліта ґрунту, що знаходиться в стратометрі, і поступово вводять в нього трубку так, щоб поверхня ґрунту в моноліті та трубці вирівнялась. Для цього за допомогою гумового шлангу та груші витягують повітря з верхньої частини скляної трубки. Потім трубку виймають з моноліту й затикають з обох сторін гумовими корками. У такому

вигляді проба донних відкладів може зберігатись в холодильнику декілька годин (3 - 4°C).

Для відбирання проб для мікробіологічного аналізу гумові корки із скляної трубки виймають і в її нижній кінець вставляють поршневий корок. За допомогою скляної палички моноліт ґрунту пересувають до протилежного кінця трубки й відбирають необхідну порцію з відповідної глибини для аналізу.

Визначення загальної кількості бактеріобентосу проводять прямим підрахунком на мембранних фільтрах з використанням світлооптичної або епіфлуоресцентної мікроскопії.

Точність підрахунку бентосних бактерій суттєво залежить від умов підготовки проби для аналізу. Уніфікованої процедури не існує; ефективність різних її варіантів визначається способом і повнотою десорбції бентосних бактерій від частинок ґрунту. Найчастіше застосовується обробка проб ультразвуком або синтетичними детергентами.

Українськими вченими запропонована ультразвукова обробка проб та розведення ґрунту безбактеріальною водою у співвідношенні не менше, ніж 1:500. Визначення загальної кількості бентосних бактерій з одноразовим застосуванням ультразвукової обробки включає наступні процедури .

Проведення роботи. 1 г вологого ґрунту вносять в бюкс, додають 19 см³ 0,5% розчину K₂SO₄, приготовленого на безбактеріальній воді (отриманій методом фільтрування у лійці через азбестовий фільтр Зейтца, під який накладається мембранний

фільтр з діаметром пор 0,45 мкм. Суспензію гомогенізують на ультразвуковій установці УЗДН-2Т протягом 2 хв (сила струму 0,015 А, частота 22 кГц) з метою десорбції бактерій на частинках ґрунту.

5 см³ гомогенату переносять в чисту колбу на 200 см³ і розводять розчином K₂SO₄ в 25 разів. 20 см³ отриманої суспензії центрифугують при 750 г. Відбирають 1 см³ супернатанта і фільтрують через мембранний фільтр з діаметром пор 0,17 мкм. Для більш рівномірного розподілу бактерій по поверхні фільтра у лійку доцільно попередньо внести 4 см³ безбактеріального розчину K₂SO₄.

Подальша процедура обробки мембранних фільтрів – фарбування еритрозином, відмивання від фарби, підрахунок бактерій у світловому мікроскопі виконується за умов, викладених для визначення загальної кількості бактеріопланктону. Розрахунок кількості бактеріобентосу також проводять за формулою для визначення кількості бактерій у воді з урахуванням розведення початкової проби в 500 разів. Кінцевий результат виражають у кількості бактерій на 1 г вологого ґрунту. Як показали останні дослідження щодо оптимізації методу тотального обліку бентосних бактерій, наведений вище метод все ж недооцінює істинну кількість бентосних бактерій. Пропонуються більш складні та трудомісткі схеми обробки проб і підрахунку бентосних бактерій, але вони потребують більш широкої апробації на різних водоймах з різнотипними донними відкладами.

Для підрахунку бактерій на фільтрах з використанням барвника акридиноранжу необхідно до 0,5–1 см³ отриманої суспензії донних відкладів у розведенні 1:500 додати 0,1 см³ 0,1% розчину барвника. Забарвлення бактерій триває протягом 2–5 хв. Подальші процедури ідентичні тим, що відносяться до підрахунку загальної кількості бактерій у воді з використанням барвника акридиноранжу.

Для підрахунку бактерій на фільтрах із застосуванням флуорохрому DAPI до певного об'єму суспензії донних відкладів у розведенні 1:500 додають таку кількість робочого розчину барвника, щоб його кінцева концентрація в пробі становила 5 мкг/мл DAPI. Пробу з барвником залишають у темноті на 7–10 хв. Подальші процедури ідентичні таким, що відносяться до підрахунку загальної чисельності бактерій у воді з використанням барвника DAPI.

Викладена вище методика відбору проб ґрунту з моноліту, отриманого за допомогою стратометра, у стерильні скляні трубки дозволяє проаналізувати чисельність бактеріобентосу не тільки у верхньому шарі ґрунту, але і дослідити вертикальний розподіл загальної чисельності та вмісту сапрофітних бактерій у донних відкладах різного типу в залежності від фізико-хімічних умов.

6.8. Визначення кількості сапрофітних бактерій у ґрунтах

Кількість сапрофітних бактерій, що ростуть на стандартних поживних є чутливим індикатором вмісту і якості органічних речовин як у воді, так і в донних відкладах водойм.

Відбір проб донних відкладів для посіву на поживні середовища та підрахунок кількості сапрофітних бактерій виконується за схемою, викладеною для загальної чисельності бактеріобентосу з дотриманням умов асептики.

Зберігання, транспортування проб донних відкладів, матеріали, що використовуються, поживні середовища та їх підготовка для засівання донними відкладами мають загальні вимоги, викладені для обліку сапрофітних бактерій у воді.

Проведення роботи. На годинниковому склі, яке попередньо протирається спиртом та обпалюється на полум'ї спиртівки, на вагах готується наважка ґрунту 100 мг, який змивається стерильною водопровідною водою у колбу до досягнення об'єму 100 см^3 (одразу отримують третє розведення). Вміст колби перемішують протягом 10 хв, відбирають 1 см^3 рідини і переносять у пробірки з 9 см^3 стерильної водопровідної води (рис. 6.6). Тобто проводиться серія десятикратних розведень. Висіви на поживне середовище проводять з 5–8-го розведень. З кожного розведення по 1 см^3 матеріалу засівають у дві чашки Петрі. Інкубацію чашок з засівами проводять при температурі $20\text{--}25^\circ\text{C}$ протягом 7–10 днів. Кількість колоній враховується в тих розведеннях, де їх виростає не менше 30 і не більше 300 на одній агаровій чашці.

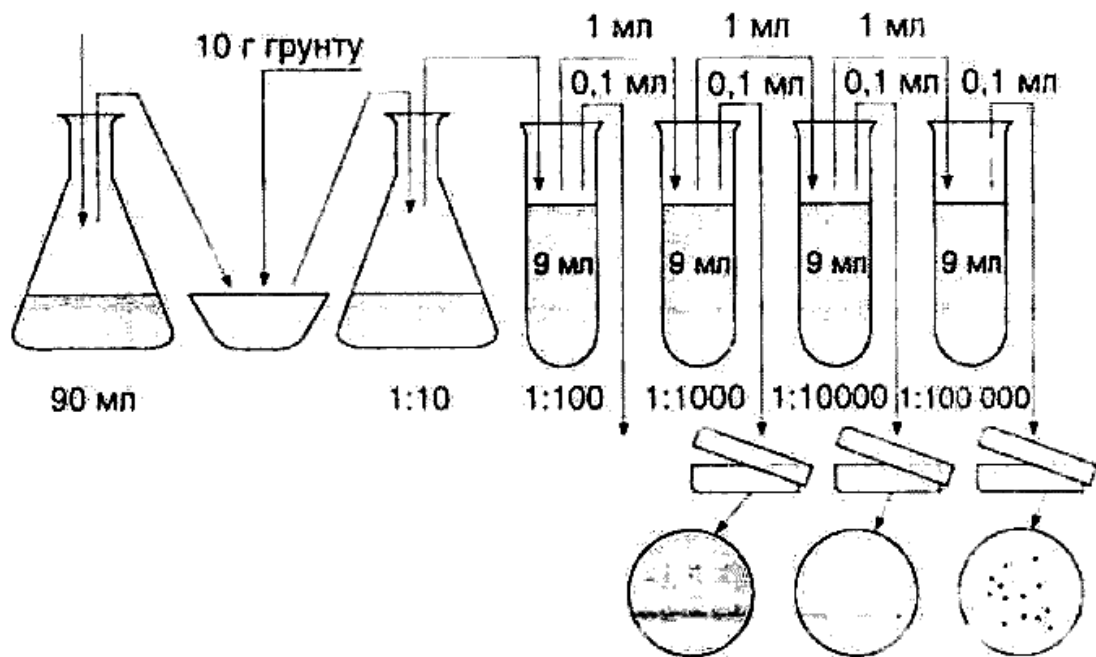


Рис. 6.6. Схема виготовлення розведень та посіву ґрунтової суспензії в чашки Петрі.

Результат підрахунку колоній в кожній чашці з урахуванням розведень виражають у кількості бактерій на 1 г вологого ґрунту. За кінцеву кількість бактерій приймають середнє арифметичне результату підрахунку на 2-х паралельних чашках або різних розведень.

6.9. Визначення метаболічно активних бактерій у воді та донних відкладах

Визначення кількості клітин, які містять недеградований нуклеоїд. Комплекси DAPI з неспецифічним ДНК цитоплазми і клітинної стінки бактерій є нестійкими сполуками. Натомість

комплекси DAPI з нуклеоїдом клітини більш стійкі. Для того, щоб визначити клітини з недеградованим нуклеоїдом (метаболічно активні), препарати, приготовані у відповідності з процедурою підрахунку загальної кількості бактерій, обробляються гарячим ізопропиловим спиртом. Ізопропанол руйнує і вимиває сполуки DAPI з неспецифічним ДНК, але не викликає вимивання барвника з комплексів DAPI з ДНК нуклеоїда.

Консервування проб

Проби води та донних відклад можуть бути використані безпосередньо після відбирання (прижиттєве вивчення) або зафіксовані 40% формальдегідом з розрахунку його кінцевої концентрації в пробі 10% (за меншої кількості формаліну аналіз неможливий).

Зберігання проб

При +2–4°C декілька тижнів.

Опрацювання консервованих проб

Декілька днів після відбирання проб.

Проведення роботи. Приготування барвника (DAPI) і забарвлення препаратів проводиться аналогічно, як і при визначення загальної кількості бактерій у воді. Фільтр з осадженими і забарвленими бактеріями промивають 2 см³ гарячого (65–70°C) ізопропанолу. Аналіз і розрахунки виконують аналогічно методу визначення загальної кількості бактерій при забарвленні DAPI.

Визначення стану цитоплазматичної мембрани бактерій.

Бактерії з неушкодженою та ушкодженою цитоплазматичною мембраною (живі й мертві) можна відрізнити при забарвленні

препарату комплексом LIVE/DEAD BacLight viability kit (Molecular Probes USA). Комплекс складається з двох барвників – SYTO 9 і Propidium Iodide (PI), кожний з яких з'єднується з нуклеїновими кислотами. Сполуки SYTO 9 з ДНК мають зелену флуоресценцію, а PI з ДНК – червону. SYTO 9 проникає як в живі, так і мертві клітини; PI – тільки в мертві, тобто клітини з порушеною цитоплазматичною мембраною, конкуруючи з SYTO 9 за з'єднання з ДНК. У результаті після забарвлення препарату комплексом LIVE/DEAD BacLight viability kit живі клітини світяться зеленим кольором, а мертві – червоним.

Консервування проб

Проби води і донних відкладів можуть бути використані безпосередньо після відбирання (прижиттєве вивчення) або зафіксовані 40% формальдегідом з розрахунку його кінцевої концентрації в пробі 5 % (за меншої кількості формаліну аналіз неможливий).

Зберігання проб

При температурі +2 - 4°C декілька тижнів.

Опрацювання консервованих проб

Декілька днів після відбирання проб.

Зберігання барвників

При температурі мінус 20°C.

Проведення роботи. барвники SYTO 9 і PI змішують у рівних кількостях і добре перемішують на шутель-апараті безпосередньо перед початком аналізу.

До 1 мл проби додають 3 мкл суміші реагентів і протягом 15 хв перемішують на шутель-апараті при кімнатній температурі у темноті. На фільтрувальну пластинку фільтрувального приладу

накладають паперовий фільтр, злегка змочують його стерильною водою і на нього кладуть блискучою стороною догори чорний полікарбонатний фільтр. Забарвлену суспензію бактерій фільтрують при 0,2 - 0,4 атм. Після того, як проба відфільтрується, у прилад додають 2 см³ стерильної води і фільтрують (для усунення надлишку барвника). Фільтр знімають з фільтрувального апарату і висушують на фільтрувальному папері в темноті. Фільтри зберігають в темноті при температурі мінус 20°C.

Перед мікроскопічним дослідженням препарати треба витримати при кімнатній температурі. Після цього на накривне скельце наносять краплину нефлуоресційної імерсійної олії. Мікроскопію виконують в епіфлуоресцентному мікроскопі з об'єктивом 100×, окуляром 10×. При підрахунку клітин, забарвлених в зелений колір, використовують фільтри NB (блакитний), а з фільтром WG (зеленим) рахують бактерії, забарвлені в червоний колір.

Визначення клітин бактерій з активним транспортом електронів. При обробці суспензії бактерій 5-ціано-2,3-дитоміл тетразоліумхлоридом (СТС) з подальшим забарвленням DAPI в препаратах на чорних полікарбонатних мембранних фільтрах виявляють бактерії з активним транспортом електронів (клітини, які активно дихають). Безкольоровий СТС при відновленні в клітині внаслідок відриву електронів переходить в червоний формазан. У клітинах з дегідрогеназами, що беруть участь у транспорті електронів, спостерігаються включення червоно-

помаранчевого кольору, і такі бактерії визначають як СТС+. Цей метод дає можливість отримати інформацію про співвідношення загальної чисельності до кількості СТС+ клітин в бактеріальному угрупованні.

Консервування проб

Тільки прижиттєве вивчення проб води і донних відкладів

Опрацювання консервованих проб

Після відбирання проб.

Зберігання розчину СТС

При температурі +4–5°C у темноті

Приготування розчину 4,6-діамідино-2-фінілоіндолу (DAPI):

Як у методі визначення загальної кількості бактерій у воді.

Проведення роботи. Готують 50 мМ розчин СТС на деіонізованій, профільтрованій через мембранний фільтр (\varnothing 0,2 мкм) воді.

До нефіксованої проби додають розчин СТС у співвідношенні 10:1 і перемішують на шутель-апараті при кімнатній температурі у темноті протягом 1 - 3 год. Після експозиції пробу фіксують 40% ультрафільтрованим формаліном до кінцевої концентрації 5%.

Пробу фарбують DAPI і препарат готують згідно з вищевикладеним методом визначення загальної кількості бактерій. Мікроскопія виконується в епіфлуоресцентному мікроскопі з використанням двох систем фільтрів: а) для DAPI (згідно метода обліку загальної кількості бактерій, забарвлених DAPI); б) світло-блакитного фільтру (підрахунок клітин, в яких накопичений формаза у вигляді червоно-помаранчевих включень).

Примітка: при вмісті в пробі значної кількості кулястих ціанобактерій, фотопігменти яких світяться червоним кольором, необхідно паралельно проводити дослідження незабарвленого препарату для ідентифікації ціанобактерій та СТС+ бактерій.

Питання для самоперевірки.

1. Назвіть прилади для відбирання проб бактеріопланктону.
2. Які методи використовують для визначення загальної чисельності бактерій у воді та донних відкладах?
3. Які вимоги до консервування проб бактеріопланктону?
4. Які методи використовують для визначення біомаси бактерій?
5. Назвіть методи визначення загальної кількості сапрофітних бактерій у воді і донних відкладах.
6. Якими методами визначають бактерії групи кишкової палички?
7. Назвіть методи визначення метаболічно активних бактерій у воді і донних відкладах.

Використана література

1. Вода питьевая. Методы анализа. – М.: Изд-во стандартов, 1976. – 191 с.
2. Дзюбан А.Н. Оценка экологического состояния водохранилищ по критериям бактериобентоса // Гидробиол. журн. – 2004. – 40, № 4.– С. 73–79.
3. Дзюбан А.Н., Горбенко А.Ю. Оптимизация метода прямого счета бактерий в донных отложениях водоемов // Микробиология. – 1989. – 58, вып. 5. – С. 871–875.
4. Дзюбан А.Н., Горбенко А.Ю., Буторин А.Н., Кузнецова И.А. Оптимизация метода тотального учета бентосных бактерий // Гидробиол. журн.– 2001. – 37, № 4.– С. 102–107.
5. Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. – М.: Наука, 1989. – 288 с.
6. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод/О.М. Арсан, О.А. Давидов, Т.М. Дьяченко та ін.; За ред. В.Д. Романенка. – НАН України. Ін-т гідробіології. – К.: ЛОГОС, 2006. – 408 с.
7. Родина А.Г. Методы водной микробиологии. Практическое руководство. – М.–Л.: Наука, 1965. – 363 с.
8. Разумов А.С. Прямой метод учета бактерий в воде. Сравнение его с методом Коха // Микробиология. – 1932. – Т. 1, вып. 2. – С. 131–146.
9. Романенко В.И. Микроорганизмы воды и грунтов // Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. – М.: Наука, 1975. – С. 51–72.

10. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений* / Под ред. В.А.Абакумова. – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – 239 с.
11. *Фомин Г.С.* Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам. Энциклопедический справочник. – М.: Изд-во “Протектор”, 1995. – 624 с.
12. *Berman T., Kaplan B., Chara S., Viner Y., Sherr B.F., Sherr E.B.* Metabolically active bacteria in Lake Kinneret // *Aquat. Microb. Ecol.*, **23**, 2001. – P. 213–224.
13. *Choi J.W., Sherr E.B., Sherr B.S.* Relation between presence-absence of visible nucleoid and metabolic activity in bacterioplankton cells // *Limnol. Oceanogr.*, 41, 1996. – P. 1161–1168.
14. *Zweifel U.L., Hagström A.* Total counts of marine bacteria include a large fraction of non-nucleoid-containing bacteria (ghosts) // *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 1995. – P. 2180
15. *Hobbie J.E., Daley R., Jasper S.* Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy // *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 1977. – P. 1225–1228.
16. *Methods in Microbiology.* – USA: Academic Press, 30, 2001. – P. 131–194.
17. *Rodrigues G.G., Phipps D., Ishiguro K., Ridgway H.F.* Use of the fluorescent redox probe for direct visualization of activity respiring bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**(6), 1992. – P. 1801–1808
18. *Porter R.W., Feig Y.S.* The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora // *Limnol. Oceanogr.*, 25 (5), 1980. – P. 943–948.
19. *Simon M., Tilzer M.M.* Bacterial response to seasonal changes in primary production and phytoplankton biomass in Lake Constance // *J. Plankton Res.*, 9, 1987. – P. 535–552.
20. <http://www.helicon.ru/upload/iblock/g>
21. <http://www.everest-tech.ru/lab/autoclaves/selecta-micro8>.
22. <http://kz.all.biz/img/kz/catalog/195728.jpeg>

7. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ФІТОПЛАНКТОНУ

7.1. Експедиційні та лабораторні прилади й обладнання

Експедиційне обладнання:

- батометр
- планктонна сітка
- формалін
- флакони пластикові чи скляні для проб

- відро емальоване чи пластикове
- кухоль гідробіологічний
- ящик для проб, термометр

Лабораторні прилади та обладнання:

- мікроскопи
- камера Нажотта
- лічильна пластинка
- штемпель-піпетка
- об'єкт-мікрометр
- окуляр-мікрометр
- фільтр Зейтца
- колба Бунзена
- фільтратор Гусєвої
- фільтри мембранні
- насос вакуумний
- лійка скляна
- лійка гідробіологічна
- насос вакуумний
- центрифуга
- лабораторний лічильник
- олія імерсійна
- пінцети
- затискач Мора
- гідробіологічний сифон
- пензлик
- фільтрувальний папір
- польовий щоденник
- журнал робочий

7.2. Прилади для відбирання проб фітопланктону

Відбирання проб гідробіонтів, а також фітопланктону регламентують вимоги ISO 5676-2-91, ISO 5667-3-94 та ISO 5667-1-82. Поширеними методами відбирання проб фітопланктону є методи проціджування води за допомогою планктонних сіток,

вирізання стовпа води за допомогою батометрів або зачерпування води з поверхневого горизонту.

Планктонні сітки використовують в основному для визначення якісного складу фітопланктону. При використанні планктонних сіток на мілководді застосовують буксирування за човном, при значній глибині – тотальний лов від дна до поверхні. Кількісний і якісний склад фітопланктону встановлюють при відбиранні проб води за допомогою батометрів, які занурюють у воду і «вирізають» стовп води з відповідного горизонту. На мілководних станціях та рибницьких ставах проби води відбирають шляхом зачерпування з поверхневого горизонту (0,2 - 0,3 м) за допомогою ковша у емальоване відро. У випадку відбирання проб з глибини застосовують спеціальні прилади – батометри, які забезпечують відбирання проби на певній глибині та її ізоляцію від водної товщі. На прісних водоймах використовують батометри Рутнера, Паталаса, Ван Дорна, Молчанова, прилад Мейєра, (рис. 7.1, 7.2).

Основна частина батометра Рутнера – циліндр, виготовлений з металу чи органічного скла, об'ємом 1-5 л, масою 4-6 кг. Прилад обладнаний верхньою та нижньою кришками, які щільно закривають циліндр. Під воду батометр опускають з відчиненими кришками. При досягненні потрібної глибини, в результаті потужного струсу троса, кришки зачиняють отвори циліндра, і

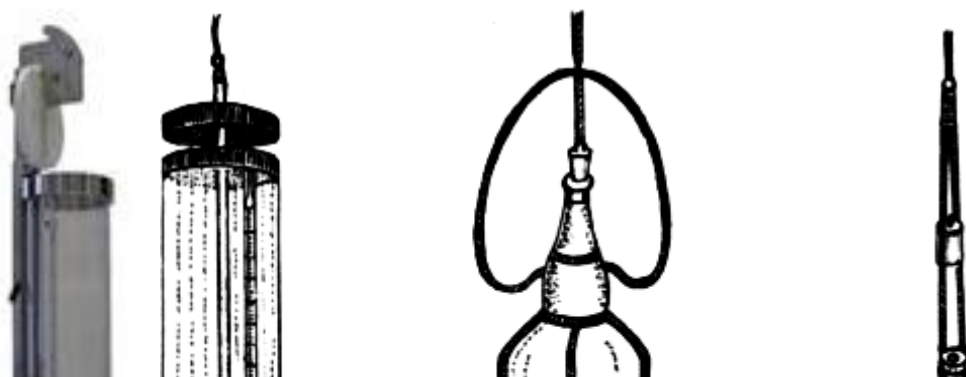
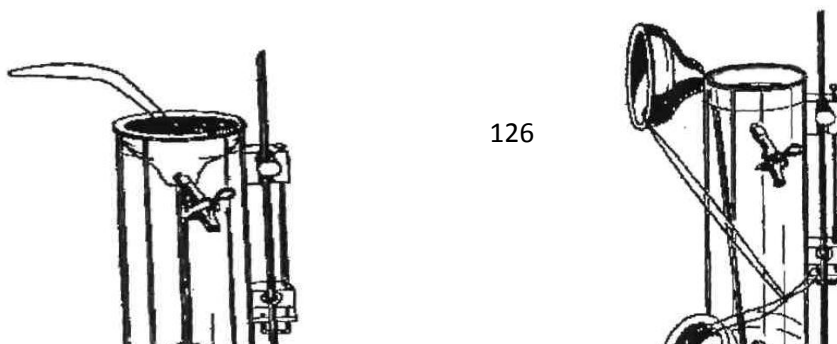


Рис. 7.1. Прилади для відбирання кількісних проб фітопланктону:
1 – батометр Рутнера (сучасний технічний і схематичний варіанти) 2, 3 –
прилад Мейєра

прилад витягують на поверхню. Воду, що знаходиться в циліндрі, через боковий отвір зливають у загальну ємність (відро). Прилад Мейєра складається із спеціальної склянки, охопленої металевим каркасом. Прилад занурюють у воду у закритому вигляді (рис. 7.1,2). При досягненні визначеної глибини склянку відкривають ривком за трос, що прикріплений до корка. Після заповнення склянки водою прилад піднімають на поверхню і воду зливають у ємність.

Батометр Паталаса (рис. 7.2) складається з колби (труби), об'ємом 1-3 л з верхньою та нижньою вставками. На вставках





3



4

Рис. 7.2. Батометри для відбирання кількісних проб планктону: 1, 2 – батометр Ван Дорна у зачиненому і відчиненому виді; 3 – Паталаса; 4 – Молчанова

розташовані кришки, поверхні яких притерті з поверхнями вставок.

Відбір проб води проводиться шляхом опускання приладу. У момент руху вниз кришки піднімаються і стовп води проходить через трубу. На потрібній глибині рух припиняється, і вода усередині труби закривається кришками, що мимоволі падають. Відібрана проба піднімається на поверхню.

Батометри Ван Дорна та Молчанова призначені для відбирання проб фіто-, бактеріо- та зоопланктону на невеликих глибинах – до 40 м. Батометр Молчанова являє собою конструкцію з двома циліндрами з оргскла. При опусканні батометра та його закривання застосовується «посильний вантаж». При закриванні батометра кронштейн, до якого кріпляться нижні кришки, повертається на 90 градусів і закриває циліндр зверху. Верхні кришки при закритті батометра падають на циліндри під дією власної ваги і утримуються при підйомі напором води. В середині циліндрів розташовані термометри. Оскільки підйом з незначною глибини займає небагато часу, то вважається, що вода в циліндрах зберігає свою температуру. При підйомі батометра відразу визначається температура води, а потім проводиться відбір проб води. Зливання проб води проводиться через кран, що знаходиться у нижніх кришках циліндрів. Перевага цього батометра полягає в тому, що його можна досить близько підвести до дна. Робота з батометрами проводиться з маломірних суден, гребних човнів, монаха чи понтона. Він опускається на потрібну глибину на тросі (мотузці) за допомогою лебідки або вручну. На трос можна підвісити тільки один батометр. Трос повинен бути розмічений по довжині.

Морський батометр БМ-48 (батометр Ф. Нансена) – це товстий латунний циліндр, масою близько призначений для взяття проб з великих глибин (рис. 7.3). Відбір проби води відбувається

при перевертанні приладу, коли клапани на кінцях батометра закриваються. Ці батометри підвішуються на трос по одному.

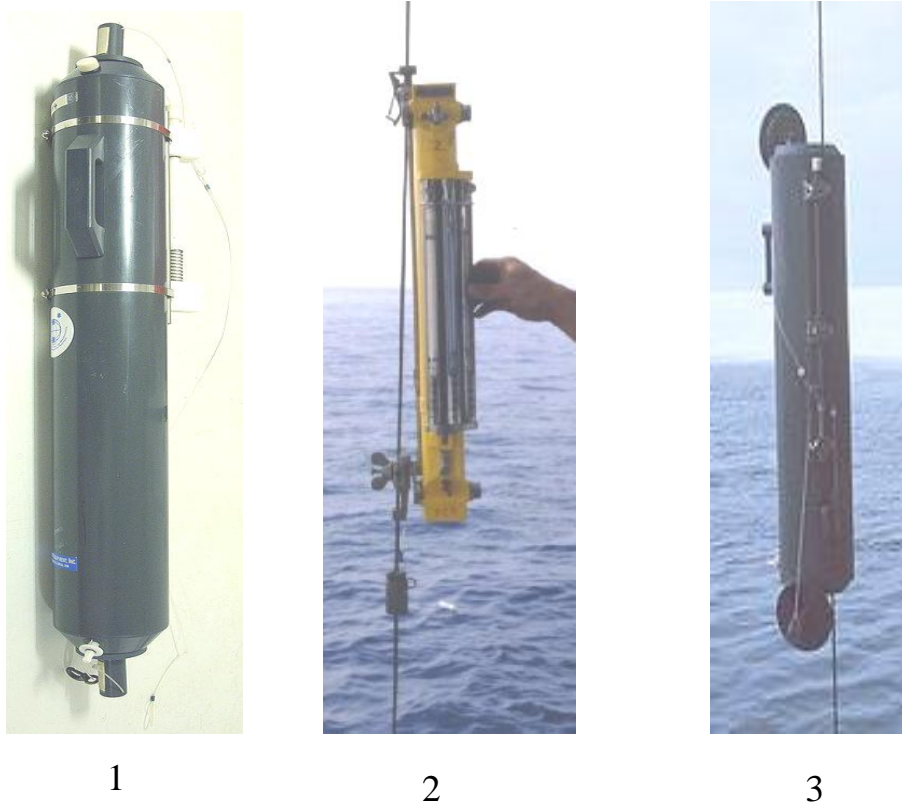


Рис. 7.3. Морські батометри Нансена (1) та Ніскина (2,3) різних модифікацій

Батометр кріпиться на тросі за допомогою двох затисків. Опускається у відкритому стані: верхній і нижній поворотні конусоподібні крани стоять в такому положенні, що наскрізні отвори забезпечують вільний водообмін. Коли сильний вантаж ударає по батометру, верхній затиск відкривається, і під дією ваги батометр перекидається, при цьому сполучені між собою обидва крани повертаються щодо батометра та ізолюють об'єм води. На один трос можна повісити багато батометрів, оскільки знизу до

батометра можна підвісити одягнений на трос такий посильний вантаж, який відчепиться при перекиданні батометра і «поїде» вниз по тросу «включати» забір води наступним батометром. Оскільки на одному тросі можна опустити серію батометрів, його називають серійним.

Батометр Нансена не має обмежень за глибиною занурення. Однак він має один недолік, викликаний саме тим, що він є перекидним: його не можна підводити близько до дна, оскільки при перекиданні він зачепить дно і не закритється. Для вимірювання температури на батометр кріпиться рама з глибоководними термометрами або термометром і термоглубомером.

Батометри Кнудсендовського типу або Ніскина (рис. 7.3) мають принципову відмінність від батометра Нансена. Вона полягає у тому, що цей батометр на обох кінцях циліндра має клапани. На момент занурення клапани залишаються відчиненими і вода вільно проходить крізь них. На відповідному горизонті досліджень клапани зачиняються. Часто батометри збирають у розетки карусельного типу з 12 та 24 штук з системою управління (зонд-батометри) (рис. 7.4). Вони призначаються не лише для відбирання проб води для гідробіологічних та гідрохімічних досліджень, але і безперервного запису океанографічних показників (температура, тиск, електропровідність, кисень, рН).



Рис.7.4. Пробовідбірники карусельного типу на 12 та 24 батометри

Зонд-батометри використовують на великих експедиційних науково-дослідних судах. Вони розміщуються по зовнішньому краю спеціально виготовленої конструкції з металевих прутів. Вона конструкція опускається у воду на кабель-тросі, який містить багатожильний кабель. З кабелю на пульт управління (комп'ютер) йдуть дані про тиск води, пов'язані з глибиною. При досягненні необхідної глибини оператор включає функцію закривання певного батометра.

7.3. Відбирання та консервування проб фітопланктону

Відбирання проб фітопланктону бажано проводити щодавно, у першій половині дня (з десятої до дванадцятої години). Проби відбирають з поверхневого горизонту та через кожний метр водної товщі. Відібрані проби зливають у поліетиленове відро, з якого відбирають інтегровані проби об'ємом 0,5–1,0 дм³. Об'єм проби визначається попередньою візуальною оцінкою розвитку фітопланктону:

- 0,5 дм³ – при інтенсивному розвитку планктонних водоростей (влітку та при «цвітінні» води);
- 1,0 дм³ – при незначній вегетації водоростей (взимку, рання весна, пізня осінь).

Проби фітопланктону у деяких випадках відбирають у двох повторностях: одну фіксують, іншу – використовують для вивчення живих клітин водоростей. Це пов'язано з тим, що фіксація проб консервантами призводить до пошкодження деяких тонких морфологічних структур клітин (джгутиків, виростів), які є характерними систематичними ознаками у вольвоксових, перидинієвих, евгленових і золотистих водоростей.

Проби фітопланктону відбирають у поліетиленові чи скляні флакони, відкалібровані на 0,5 і 1,0 дм³ з щільно закритими корками. У лабораторії посуд добре миють з використанням миючих засобів (для поліетиленових пляшок) чи хромової суміші (для скляних пляшок). Перед наповненням пляшки промивають 2-3 рази невеликою кількістю відібраної проби. У лабораторії проби зберігають у цих же пляшках.

Кожна проба повинна мати етикетку, що містять її порядковий номер або інші дані, яку прикріплюють на станції відбору проб. Окремо в картці обов'язкових відомостей (польовий щоденник) записують всі необхідні дані щодо відбору проби: найменування водойми, номер станції, її координати на водоймі та відповідна географічна «прив'язка» станції, дата відбору проби (число, місяць, рік, час доби), прозорість води, об'єм проби, температура води і повітря, кількість кисню, гідрометеорологічні дані – стан погоди, наявність чи відсутність на поверхні води ознак «цвітіння», спричиненого масовим розвитком водоростей, плівок нафтопродуктів, сміття, візуально відмічених джерел надходження стічних вод у водойму, звалищ сміття в районі природоохоронних смуг досліджуваної водойми тощо.

Найбільш поширеним консервантом у гідробіологічних дослідженнях є формальдегід. Для консервації у водні проби додають 40%-ний формальдегід з розрахунку 1:100, пляшку щільно закривають корком і ставлять у темний ящик. Незважаючи на простоту і доступність цього методу, дія формальдегіду, який є «жорстким» фіксатором, на водоростеві клітини може призводити до їх деформації, відкидання джгутиків, виходу монадних форм (евгленові, динофітові, золотисті) з будиночків, а у зелених хлорококових можливий і лізис клітин. Фактично до 20–25% вихідної кількості водоростей через 3–5 міс. руйнується під дією формальдегіду. Водночас фіксація ним не впливає на морфологічну структуру діатомових і синьо-зелених водоростей. Пояснюється це

тим, що перші з них мають кремнеземний панцир, а у других – клітини, огорнуті слизом.

Консервація розчином Люголя. Розчин Люголя є більш «м'яким» фіксатором, що не руйнує морфологічну структуру водоростей. Але він не завжди «вбиває» водяну мікрофлору і водянні гриби. Це призводить до того, що через 1–2 міс. зафіксована проба починає «загнивати» і практично руйнуються клітинні структури.

Консервація етиловим спиртом. Етиловий спирт є також «м'яким» фіксатором. Використовують спирт етиловий ректифікований, який додають до проби у співвідношенні 1:10. Проби фітопланктону, зафіксовані спиртом, не можна зберігати понад 1 - 1,5 місяця. Надалі неопрацьовані проби починають «загнивати».

Консервація хромовими квасцями. Комбінація розчину хромових квасців із розчином формальдегіду добре відображає морфологічну структуру планктонних водоростей і забезпечує тривале збереження альгологічних проб незалежно від видового складу фітопланктону.

7.4. Підготовка проб до камерального опрацювання проб

Згущення проб. Поширеними методами концентрації або згущення проб є седиментація, центрифугування та фільтрація через дрібнопористі мембранні фільтри.

Метод седиментації. Відібрані, зафіксовані та етикетовані альгологічні проби транспортують у лабораторію і виставляють у

темному прохолодному місці на 10 - 12 діб для відстоювання. За цей час переважна більшість водоростей осідає на дно пляшки, а деякі піднімаються і концентруються на поверхні проби. Після цього за допомогою сифона відбирають середній шар води, залишаючи біля 100 мл проби. Сифон – це скляна трубка завдовжки 20 - 25 см, діаметром 12 - 15 мм. З однієї сторони трубка закрита ситом (№76), складеним у декілька шарів, а на другий кінець одягається гумова трубка завдовжки 70 - 80 см. Цю процедуру проводять повільно і дуже обережно, не допускаючи порушення осаду і засмоктування поверхневого шару проби. Залишок проби (об'ємом не більш ніж 100 мл) переливають у посуд меншої місткості, відстоюють протягом 5 - 7 діб і повторно відсифонюють, доводячи кінцевий об'єм до 10 см³. Проби переливають у пеніцилінові склянки, додають 2 - 3 краплі формальдегіду чи розчину Люголя і починають камеральне опрацювання.

Недоліками методу є неможливість вивчення живого матеріалу. Проте незважаючи на це, метод седиментації найпоширеніший у сучасних гідробіологічних дослідженнях.

Метод центрифугування. Найбільш швидкий метод згущення альгологічних проб. Його застосовують в основному для прижиттєвого вивчення планктонних водоростей. Перевагою методу є можливість опрацювання невеликого об'єму проби (15 - 20 мл), який адекватний усій альгологічній пробі. Проте цей метод має ряд недоліків, зокрема руйнування клітин при центрифугуванні, прилипання їх до стінок пробірки, утворення

щільного осаду, який важко камерально опрацювати, він використовується рідко.

Метод фільтрації. В основі методу лежить фільтрація через дрібнопористі мембранні фільтри № 5 і № 6 під тиском або під вакуумом у спеціальному приладі – фільтраторі Гусевої (рис. 7.5).

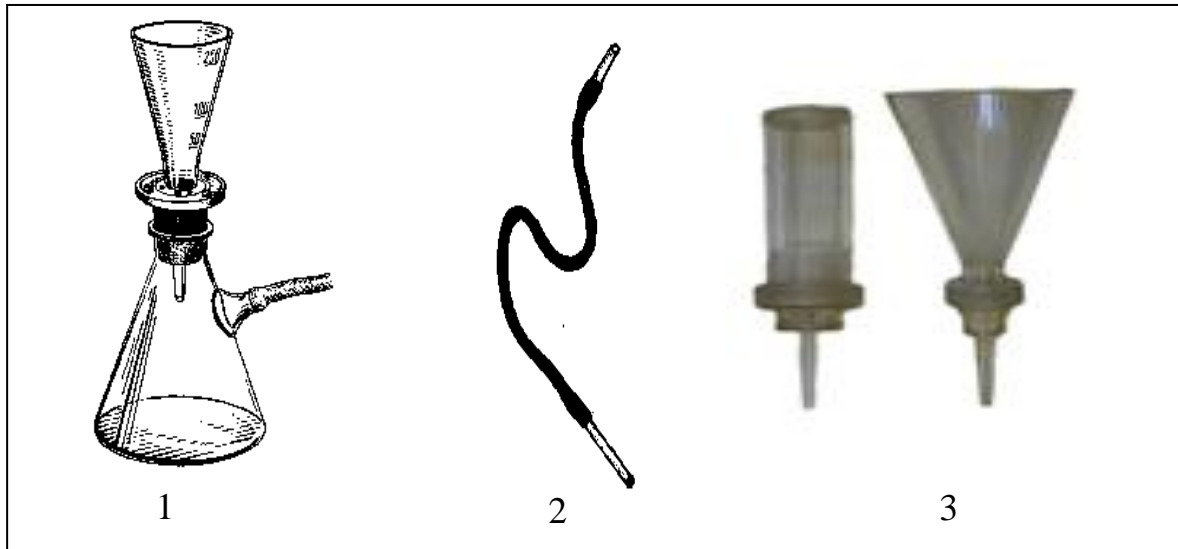


Рис.7.5. Обладнання для згущення проб фітотопланкtonу:
1 – фільтратор Гусевої; 2 – гідробіологічний сифон; 3 – гідробіологічні лійки.

Перед роботою фільтри кип'ятять у свіжій дистильованій воді та висушують. Проба для згущення не менше, ніж за 0,5 год до фільтрації консервується 5 - 10 краплями формальдегіду або розчином Люголя. Попередня консервація проби веде до зменшення деформації організмів при фільтрації. Після фільтрації фільтри кладуть у пеніцилінові флакони, додають 5 або 10 см³ фільтрату і обережно очищають від осаду пензликом. Після цього проба консервується. Це портативний і швидкий метод концентрації альгологічних проб, який дозволяє опрацювання

живих і фіксованих клітин водоростей. У цьому разі досягається концентрування проби у 200 разів і більше.

За відсутності приладу Гусевої використовують колбу Бунзена місткістю 1,0–2,0 дм³, фільтр Зейтца, дрібнопористі фільтри, вакуумну гумову трубку, вакуумний насос, що створює розрідження до 0,5–3,0 атм . Метод фільтрації використовують в експедиційних умовах. Різновидністю методу фільтрації з використанням вакуумного розрідження є метод фільтрації під тиском. Недоліком обох методів є втрата при фільтруванні нанопланктонних видів водоростей і можливе пошкодження їх морфологічних структур, що є основними систематичними ознаками виду.

7.5. Камеральне опрацювання проб

У гідробіологічних дослідженнях для опрацювання альгологічних проб використовуються світлові, електронні скануючі та трансмісійні мікроскопи. Основна вимога до мікроскопа – це величина збільшення. Для отримання репрезентативних результатів окуляр повинен мати збільшення не менше, як К5×, а об'єктив – ×20.

Камеральне опрацювання проб є якісне і кількісне. При якісному опрацюванні проб фітопланктону встановлюють систематичний склад та частоту зустрічності водоростей. За

шкалою Стармаха частота зустрічності окремих видів водоростей передбачає наступні позначення кількісних показників:

- + – дуже рідко (вид присутній не в кожному препараті);
- 1 – поодинокі (1-6 екземплярів в одному препараті);
- 1 – мало (7-16 екземплярів у препараті);
- 2 – достатньо (17-30 екземплярів у препараті);
- 3 – багато (31-50 екземплярів у препараті);
- 4 – дуже багато (більше 50 екземплярів у препараті).

Чисельність водоростей підраховують у спеціальних лічильних камерах. Найбільш поширеною в альгологічних дослідженнях є камера Нажотта об'ємом $0,01-0,05 \text{ см}^3$ (рис. 7.6).

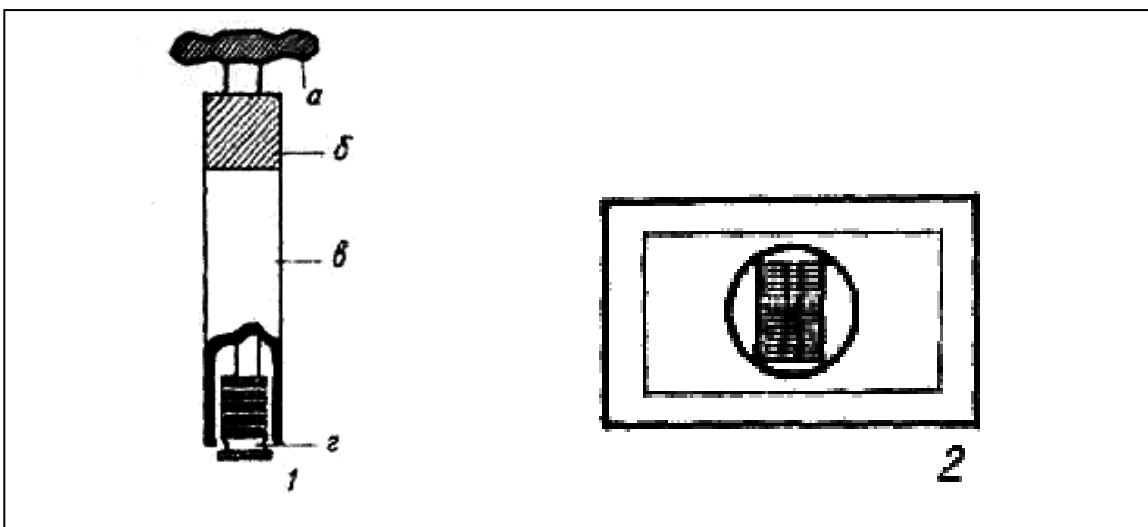


Рис.7.6. Обладнання для камерального опрацювання проб:
1 – штемпель-піпетка (*a* – ручка; *б* – металевий каркас; *в* – скляна трубка; *г* – катушка з виїмкою певного об'єму); 2 – лічильна камера Нажотта.

Окрім лічильних камер, необхідно мати штемпель-піпетку об'ємом 0,1 мл, покривні скельця, препарувальну голку, мірні склянки, гліцерин.

Підготовлену концентровану пробу виливають у мірну склянку, ретельно перемішують, штемпель-піпеткою відбирають 0,1 см³ і переносять на лічильну камеру або пластинку, голкою додають краплю гліцерину (для запобігання висихання). Якщо немає штемпель-піпетки, використовують звичайну градуйовану піпетку, відрізавши її нижню відтягнуту частину.

Залежно від кількості організмів у пробі підраховують або усі, або частину доріжок (квадратів) на поверхні лічильної пластинки. Необхідно проводити повторні підрахунки кількох порцій однієї й тієї ж проби.

Лічильну пластинку з порцією проби продивляються під мікроскопом, визначають видовий склад і підраховують кожний вид водоростей методом десятків, де крапками й рисками позначають кожний вид водоростей (табл.7.1).

Таблиця 7.1.

Спосіб позначення клітин водоростей у робочому журналі

Кількість підрахованих клітин				
• - 1	∴ - 2	∴* - 3	∴∴ - 4	†∴ - 5
└• - 6	└∴ - 7	- 8	▣ - 9	▣ - 10

Видовий склад водоростей встановлюють за визначниками (наведені в кінці розділу). У робочому журналі роблять записи про виявлений видовий склад і чисельність водоростей за зразком (табл. 7.2). Після цього підраховують знайдені водорості за видами у порції проби та перераховують в одиниці об'єму.

Таблиця 7.2.

Зразок опрацювання проби фітопланктону

Систематичні відділи	Кількість водоростей, клітин		Об'єм клітини в $\mu\text{м}^3$	Біомаса водоростей, $\text{мг}/\text{дм}^3$
	в 0,1 мл (порція)	в 1 л		
Хлорококові: <i>Pediastrum duplex</i>	☒ ☒	(144 x 2000) 288 000	301,2	0,09
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	:::	32 000	268,0	0,01
<i>Ankistrodesmus angustus</i>	•	20 000	79,0	0,002
<i>Crucigenia sp.</i>	:::	16 000	33,5	0,001
Вольвоксові: <i>Chlamidomonas sp.</i>	☒☒☒☒☒ ☒☒☒☒☒☒	218 000	777,0	0,17
Діатомові: <i>Navicula sp.</i>	☒☒☒☒↑:	90 000	890,0	0,08
<i>Melozira sp.</i>	☒☒☒☒☒::: ☒☒☒☒☒	108 000	1907,5	0,21
<i>Cyclotella sp.</i>	☒	18 000	500,0	0,01
Евгленові: <i>Trachelomonas</i>	☒☒☒	60 000	2143,0	0,13
<i>Euglena acus</i>	☐	16 000	1125,1	0,02
Синьозелені: <i>Merismopedia</i>	☒☒☒☒☒::: ☒☒☒☒☒	1 152 000	65,5	0,07
<i>Oscillatoria sp.</i>	•	132 000	42,4	0,01
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	:::	176 000	81,6	0,01
<i>Anabena spiroides</i>	☒☒☒☒☒ ☒☒↑:	150 000	150,0	0,02
Динофітові: <i>Peridinium sp.</i>	☒•	12 000	2393,0	0,03
Всього:		2488,0		0,86

Визначення чисельності фітопланктону. Для кількісної оцінки розвитку фітопланктону обчислюють його чисельність. Дані про чисельність водоростей необхідні для визначення їх біомаси,

вмісту пігментів, білків, жирів, вуглеводів, вітамінів, нуклеїнових кислот, зольних елементів, інтенсивності дихання та фотосинтезу.

Чисельність водоростей виражають в кількості клітин, ценобіїв, колоній на одиницю об'єму за формулою:

$$N = kn \frac{A}{a} v \frac{1000}{V},$$

де, N – кількість водоростей в 1 дм³ води досліджуваної водойми (як правило, тис. кл/дм³ або млн. кл/дм³);

k – коефіцієнт, що показує, у скільки разів об'єм використаної камери менший за 1 см³;

n – кількість клітин водоростей на переглянутих доріжках (квадратах) лічильної камери;

A – кількість доріжок (квадратів) лічильної камери;

a – кількість доріжок (квадратів), де підраховувалась кількість водоростей;

V – об'єм проби фітопланктону, взятий на водоймі, см³;

v – об'єм концентрованої проби, з якого розраховуються показники фітопланктону, см³.

Визначення біомаси фітопланктону. Біомаса фітопланктону визначається розрахунково-об'ємним методом. Його використання передбачає наявність даних чисельності в кожній конкретній пробі для кожного виду окремо та їх середнього об'єму. При вивченні видового складу одночасно проводять вимірювання виявлених водоростей, які є важливими діагностичними ознаками та використовуються при визначенні їх об'єму. У гідробіологічній практиці для вимірювання мікроскопічних об'єктів – бактерій, водоростей та безхребетних використовують окуляр-мікрометр з вимірювальною лінійкою (див. рис. 19).

Ціну поділки окуляр-мікрометра визначають за допомогою об'єкт-мікрометра (предметне скло з спеціальною лінійкою з ціною поділки 10 мкм) індивідуально для кожного мікроскопа і об'єктива (вимірювання клітин див. у розд. 6. Методи вивчення бактеріального населення водойм).

Для отримання репрезентативних даних необхідно виміряти параметри не менш, як 30 клітин водоростей одного виду. Отримані дані опрацьовують статистично. Для визначення об'єму водоростей їх прирівнюють до певних геометричних фігур, найбільш подібних до даної морфологічної форми: куля, паралелепіпед, циліндр, конус, октаедр тощо. Об'єм клітин визначають за відомими геометричними формулами, використовуючи лінійні розміри конкретних організмів (радіус, висоту, довжину).

Іноді використовують готові, обчислені раніше середні об'єми тіл для різних видів водоростей, які наводяться в літературі. Припускають, що відносна щільність (до води) прісноводних водоростей становить 1,00 - 1,05, гіпергалінних – 1,1 - 1,2. Біомасу розраховують для кожного виду окремо (добуток об'єму та чисельності), а потім визначають суму усіх виявлених видів – загальну біомасу, яку виражають у одиницях маси – мг/дм³, г/м³ або г/м². При необхідності одиниці маси переводять в одиниці органічної речовини (мгС/дм³, гС/м³) чи енергетичні одиниці (Дж/дм³, Дж/м³).

Питання для самоперевірки.

1. Назвіть прилади для відбирання проб фітопланктону.
2. Які консерванти використовують для фіксації проб фітопланктону?

3. У чому полягає суть підготовки проб до камерального опрацювання?
4. У чому полягає суть камерального опрацювання проб?
5. Як визначають біомасу фітопланктону?

Використана література

1. *Жадин В.И.* Методы гидробиологического исследования / Жадин В.И. – М.: Высшая школа. – 1960. – 191 с.
2. *Киселев И. А.* Планктон морей и континентальных водоемов. – Л.: Наука, 1969. – 657 с.
3. *Коновалов Б. В., Мордасова Н. В.* Методы и приборы современных океанологических исследований. – М.: ЦНИИ информ. и техн.-экон. исслед. рыб. хоз-ва, 1970. – 40 с.
4. *Кражан С.А., Хижняк М.И.* Природна кормова база рибогосподарських водойм. Херсон: Олді-плюс, 2011. – 330 с.
5. *Методи гідро екологічних досліджень поверхневих вод/О.М. Арсан, О.А. Давидов, Т.М. Дьяченко та ін.; За ред. В.Д. Романенка.* – НАН України. Ін-т гідробіології. – К.: ЛОГОС, 2006. – 408 с.
6. *Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах: фитопланктон и его продукция /Под ред. Г.Г.Винберга, Г.М.Лаврентьевой/* - Л.: ГОСНИОРХ, 1981. – 32 с.
7. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений / Под ред. В.А.Абакумова.* – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – 239 с.
8. *Топачевский А. В., Масюк Н. П.* Пресноводные водоросли Украинской ССР. – Киев: Вища шк., 1984. – 333 с.
9. *Щербак В. І.* Методи досліджень фітопланктону // *Методичні основи гідробіологічних досліджень водних екосистем.* – К., 2002. – С. 41–47.
10. <http://volta.spb.ru/content/view/86/42/>);
11. <http://www.xn--80aicmxhn.xn--p1ai/catalog/gidrologiya/batometry/batometr-patalasa.htm>) http://www.laborkomplekt.ru/img/cat/item/1301-01_big.jpg)
12. <http://www.oceanographers.ru/index.php?option=content&task=view&id=1614>
13. <http://www.oceanographers.ru/index.php?option=content&task=view&id=1614>)

Визначники прісноводних водоростей:

1. *Водоросли. Справочник* / Вассер С.П., Кондратьева Н.В., Масюк Н.П. и др. – К.: Наук. думка, 1989. – 608 с.
2. *Генкал С.И.* Атлас диатомовых водорослей планктона р. Волги. - СПб.: Гидрометеоздат, 1992. – 128 с.
3. Визначник прісноводних водоростей Української РСР. Вип. 1-6, 8, 10-12. – К.: Наук. Думка, 1938 – 1984.
4. Визначник прісноводних водоростей Української РСР. Синьозелені водорості – Суанophyta. Ч. 2. Клас гормогонієві – Normogoniophyceae/Кондратьєва Н.В. – К.: Наук. думка, 1968. – 524 с.
5. Визначник прісноводних водоростей Української РСР. Вип. I. Синьозелені водорості – Суанophyta. Ч. 1. Загальна характеристика синьозелених водоростей Суанophyta. Клас хроококові водорості – Chroococcophyceae. Клас хамесифонові водорості – Chamaesiphonophyceae / Кондратьєва Н.В.; Коваленко О.В., Приходькова Л.П.: За заг. ред. Н.В.Кондратьєвої. – К.: Наук. думка, 1984. – 388 с.
6. Визначник евгленових водоростей Української РСР / Асаул З.І. – К.: Наук. думка, 1975. – 408 с.
7. Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 2. Синезеленые водоросли /Голлербах М.М., Косинская Е.К., Полянский В.И. - М.: Сов. наука, 1953. – 652 с.
8. Краткий определитель хлорококковых водорослей Украинской ССР / Царенко П.М.: Отв. ред. Г.М.Паламарь-Мордвиниева. - К.: Наук. думка, 1990. – 208 с.
9. *Топачевский А.В., Масюк Н.П.* Пресноводные водоросли Украинской ССР. – К.: Вища школа, 1984. – 333 с.

8. МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ПЕРВИННОЇ ПРОДУКЦІЇ

8.1. Експедиційні та лабораторні прилади й обладнання

Експедиційне обладнання:

- батометри;
- диск Секкі;
- термооксиметр;
- термометр водяний в металевій оправі;
- фільтрувальний прилад Гусевої;
- фільтр Зейтца;
- колба Бунзена;
- мірні піпетки на 1-5 дм³;
- кисневі склянки з молібденового (кварцового скла) з притертими корками;
- чорні мішечки з тканини чи цупкого поліетилену;
- пристосування для установки склянок у водоймі;
- груша гумова;
- затискувач Мора;
- ящик з гніздами для перевезення склянок;
- відро емальоване чи поліетиленове;
- тримач для батометра та якорі для встановлення склянок;
- трубка-сифон;
- набір реактивів для фіксації кисню за методом Вінклера;

Лабораторні прилади та обладнання:

- спектрофотометр;
- вимірювальна система Plant Vital 5000
- газорозрядні та сцинтиляційні лічильники;
- гомогенізатор;
- центрифуга;
- колби з широким горлом з притертими корками;
- колби Ейленмейєра;
- бюретки та піпетки;
- мембранні фільтри №4,5;
- вакуумний насос;
- реактиви для визначення кисню методом Вінклера;
- ексикатори;

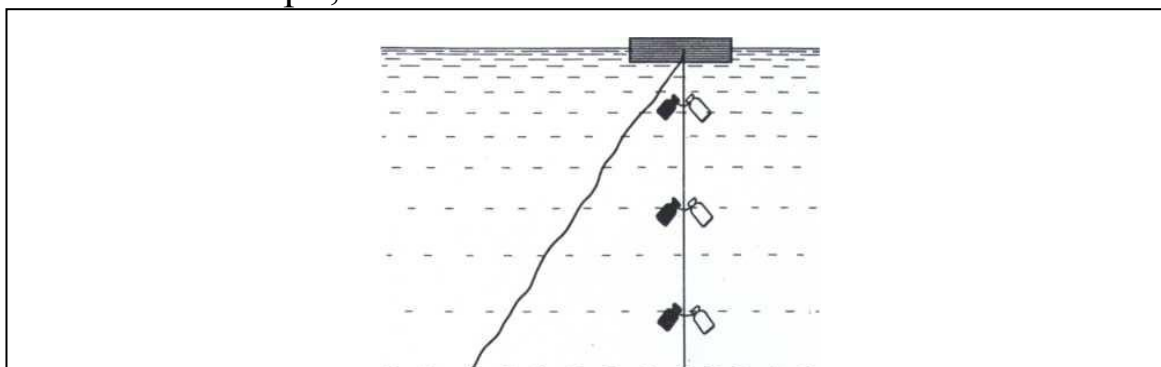


Рис.8.1. Прилади та устаткування для вимірювання первинної продукції та хлорофілу-а (1 – «гірлянда» – пристосування для установки склянок у водоймі; 2 – спектрофотометр; 3 – вимірювальна система PlantVital 5000; 4 – вимірювальний комплекс «Кондор»; 5 – флуориметр ФЛЮ-Х. (www.innoconcept.de/...rus/geraetesystem.htm, ecodevice.com.ua/ecodevice-catalogue/fluorimeter-flu-h, ecodevice.com.ua/ecodevice-catalogue/multiturbidimeter-kon)

Спектрофотометр (рис. 8.1) – прилад для визначення спектра поглинання або вимірювання світлопоглинання при певній довжині

хвилі, яка відповідає максимуму кривої поглинання досліджуваної речовини. Аналіз здійснюють за поглинанням речовинами монохроматичного випромінювання у видимій, УФ- і ІЧ-ділянках спектра.

Вимірювальна система PlantVital 5000 заснована на повному програмному забезпеченні як в управлінні приладу, так і в обліку вимірювальних даних та їх обробці, призначена для дослідження кисневого балансу первинної продукції та хлорофілу-а. Вимірювальна камера регулює температуру від 5 ° С - 45 °С, що встановлюється з точністю до 0,2 К. Освітлення досягається люмінесцентним діодом в червоному і жовтому спектрах. Для вимірювання кисню застосовується електрохімічний сенсор типу «Кларк». Серія приладів PlantVital 5000 була спеціально розроблена для вивчення життєдіяльності та стресового стану рослинних об'єктів, що виходить за межі простого дослідження процесу фотосинтезу і значно розширює область практичного застосування.

Автономний гідробіофізичний мультипараметричний занурювальний комплекс «Кондор» розроблений для комплексних досліджень біофізичних та гідрологічних процесів водної екосистеми: фотосинтетично активної радіації (ФАР), концентрації хлорофілу - а , концентрації завислих речовин та їх трансформації з урахуванням динамічних процесів у досліджуваному районі – трансформації річкових вод в морські, прибережних стоків, особливості трансформації вод у протоках тощо. Комплекс

призначений для проведення робіт з будь-якого маломірного судна або пірса.

Флуорометр «ФЛЮ-Х» призначений для оперативного визначення хлорофілу «а» в природних умовах на основі реєстрації флуоресценції хлорофілу. Прилад простий в застосуванні, має високу чутливість і швидкість вимірювання.

Перспективним методом сучасних гідробіологічних досліджень є дистанційне вимірювання кольоровості поверхневих вод морів і океанів за допомогою скануючих пристроїв, встановлених на штучних супутниках Землі. Кольоровість морських вод обумовлена в основному розвитком фітопланктону, а його просторово-часовий розподіл є індикатором змін навколишнього середовища і може використовуватися для оцінки екологічної ситуації із застосуванням даних дистанційного зондування.

8.2. Методи визначення первинної продукції

Визначення первинної продукції фітопланктону є одним з найпоширеніших методів дослідження водойм. Первинна продукція – це кількість органічної речовини, що синтезується автотрофними організмами з простих неорганічних компонентів за певний проміжок часу. Первинну продукцію найчастіше оцінюють за кількістю виділеного кисню або зв'язаного вуглецю фітопланктоном чи макрофітами за певний час на одиницю площі. Реальний приріст маси продуцентів – це і є чиста первинна

продукція. Саме ця речовина й може використовуватися споживачами і бути основою для підтримання трофічних ланцюгів водойм, визначати рівень біологічної продуктивності водойми у цілому. Розрізняють валову, ефективну та чисту первинну продукцію:

- валова продукція – це загальна кількість органічної речовини, утвореної продуцентами у процесі фотосинтезу;
- ефективна продукція – це валова продукція за вирахуванням витрат самих продуцентів на дихання;
- чиста продукція – це валова продукція за вирахуванням витрат усіх компонентів планктону на дихання.

При деяких методах дослідження одночасно з визначенням первинної продукції (A) визначають і деструкцію (R) органічних речовин. Саме співвідношення показників продукції та деструкції є важливою характеристикою стану водойм при оцінці якості води. Відношення валової первинної продукції до деструкції органічної речовини – це продукційно-деструкційний коефіцієнт або індекс самоочищення-самозабруднення. За його величиною можна судити про направленість продукційно-деструкційних процесів у водоймах:

- якщо $A/R < 1$ – процеси деструкції органічної речовини переважають над процесами продукції; низький показник може бути обумовлений високим вмістом алохтонних органічних речовин;

- якщо $A/R > 1$ – характеризує інтенсивність процесів утворення автохтонної органічної речовини, що може призвести до забруднення водойм;
- якщо $A/R = 1$ – екосистема знаходиться у збалансованому стані, кількість первинної продукції дорівнює мінералізованій, і надходження алохтонних речовин не має суттєвого значення.

Історична довідка

Перші вимірювання первинної продукції засновником продукційної гідробіології Г.Г. Вінбергом у 1932 р. на о. Біле. Для цього він використав метод «темних і світлих склянок», суть якого полягала в тому, що про кількість органічної речовини, що утворилася в процесі фотосинтезу визначали за кількістю кисню, що виділився.

На початку 1950-х років датський дослідник Е. Стеман-Нільсен в експедиції на науково-дослідному судні «Галатея» застосував так званий «радіовуглецевий» метод. Суть його полягала в тому, що у флакони з пробами води, що містить планктон, додавали CO_2 , мічений радіоактивним ізотопом вуглецю ^{14}C . Після експозиції цих склянок в лабораторії на борту судна (при температурі і освітленості, близьких до природних), дослідники відфільтровували фітопланктон, за обсягом його радіоактивності судили, яка частина доданого радіоактивного вуглецю виявилася пов'язаною в новоствореній органічній речовині.

У наш час для визначення первинної продукції в поверхневих водах океану використовують дистанційні (з космічних апаратів) методи оцінки кількості хлорофілу-а, в континентальних водоймах – склянковий метод в кисневій та радіовуглецевій модифікаціях та за кількістю хлорофілу- а.

Первинну продукцію визначають:

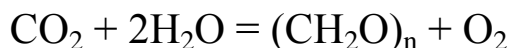
- склянковим методом у кисневій та радіовуглецевій модифікаціях;

- методом авторадіографії;
- за вмістом хлорофілу-а з екстракцією пігментів та флуоресцентним методом;

8.3. Визначення первинної продукції фітопланктону склянковим методом

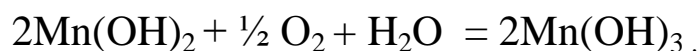
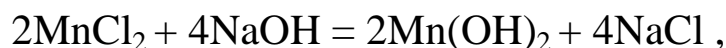
Найбільш широко у сучасних гідроекологічних дослідженнях використовується метод склянок у кисневій або радіовуглецевій модифікації. При використанні цього методу експозиція проб проводиться у водоймах, з яких вони були взяті.

Суть методу витікає з основного рівняння фотосинтезу і базується на вимірюванні кінцевих продуктів – кисню, що виділяється у водну товщу чи утвореної органічної речовини:



Визначення первинної продукції фітопланктону склянковим методом у кисневій модифікації дозволяє одночасно визначити величину валового фотосинтезу та величину деструкції органічних речовин планктоном. Концентрацію кисню у воді визначають йодометричним методом Вінклера, який базується на послідовних хімічних реакціях. Йодометричний метод визначення кисню дає гарні результати лише під час аналізу порівняно чистих вод, які не містять у великих кількостях нітратів, солей тривалентного заліза, сірководню і розчинених органічних сполук.

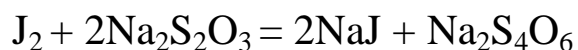
Зв'язування кисню у склянці відбувається шляхом наступних реакцій:



Подальше підкислення при наявності КJ призводить до виділення вільного J₂ у кількості, еквівалентній зв'язаному кисню:



Йод, що виділяється, відтитрують розчином гіпосульфїту відомої нормальності при наявності крохмалю в якості індикатора:



Реактиви та обладнання:

- 1) Розчин MnCl₂. 40 мг MnCl₂ (або еквівалентну кількість MnSO₄) розчиняють в дистильованій воді та доводять об'єм розчину до 100 мл. У разі появи каламуті розчин треба профільтрувати. Сіль марганцю не повинна містити заліза;
- 2) Розчин NaOH + КJ. 33 г NaOH (або еквівалентну кількість KOH) розчиняють у дистильованій воді, додають 20 г КJ і доводять розчин до 100 мл. Якщо розчин каламутний, його слід профільтрувати крізь скляний фільтр або скляну вату;
- 3) 0,1 н р-н Na₂S₂O₃ (гіпосульфїт натрію). Розчин готують на воді, звільненій від CO₂ кип'ятінням, і зберігають у темній склянці. Для кращого зберігання в розчин додають кілька мл ксилолу або толуолу;
- 4) Чиста концентрована соляна або сірчана кислоти;
- 5) 10% р-н КJ (свіжий);
- 6) 1% р-н крохмалю: 1 г крохмалю розчиняють в кількох мл холодної води і вливають отриманий розчин в 100 мл киплячої води. Кип'ятять кілька хвилин, доки розчин не стане прозорим;
- 7) Склянки кисневі з молібденового або кварцового скла на 120–150 см³ (за об'ємом робіт);
- 8) батометр або відро для відбирання проб води;
- 9) пристосування для установки склянок у водоймі (дерев'яна або металева хрестовина, яка заглиблюється в дно, або плавуча гірлянда для підвішування склянок) - за числом станцій;

- 10) чорні мішечки для експозиції склянок (для деструкції) або склянки з коричневого скла – за числом склянок для деструкції;
- 11) тонкий резиновий шланг (сифон) діаметром 0,5 см – 0,5 м;
- 12) ящик з гніздами для перевезення склянок.

Проведення роботи. Для відбирання проб води необхідно визначити прозорість води за допомогою білого диску Секкі для визначення фотичного шару. Межа фотичного шару дорівнює потрійній глибині прозорості за білим диском. Горизонти експонування повинні відповідати глибинам: 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 7,0, 10,0, 15,0 м.

У порядку відбирання проб із визначених горизонтів необхідно розставити склянки у ящику. На кожний горизонт виділити 4 склянки: 1 – для визначення початкової концентрації кисню, 2 світлі й 1 темна склянка для експонування проб. Усі склянки повинні бути промарковані, з прив'язаними до горла склянки корками.

Відбирання проб води з відповідних горизонтів проводять серією батометрів місткістю 1,5-2 л. При цьому з одного батометра одночасно відбирають проби на гідрохімічний аналіз, кількісний і якісний розвиток фітопланктону та первинну продукцію. Після відбирання води на хімічний аналіз та фітопланктон батометр встановлюють у спеціальний тримач, вставляють трубку-сифон у батометр та на дно попередньо ополоскані цією ж водою кисневої склянки й обережно заповнюють водою. Склянки заповнюють по вінця без утворення газових міхурців, переливаючи частину проби. У випадку наявності газових міхурців склянку залишають

відкритою 1 хв або легенько постукують по стінках для їх видалення. Заповнені склянки (дві світлих – на первинну продукцію й одна темну – на деструкцію) щільно закривають корками, закріплюють на «гірлянді» чи спеціальних стояках на відповідному горизонті у водоймі й відмічають час початку експозиції.

Після цього у четвертій склянці фіксують пробу для визначення початкової концентрації кисню 1 мл $MnCl_2$ і 1 мл лужного розчину КJ. Піпетки при цьому тримають над поверхнею води, 2 мл втраченої проби враховують у подальших розрахунках. Після фіксації склянку закривають і енергійно перемішують для рівномірного розподілу осаду. Після цього проби ставлять у темне місце для відстоювання (3-24 год).

Після експозиції (6-24 год) склянки знімають і відразу фіксують проби 1 мл $MnCl_2$ і 1 мл лужного розчину КJ. У лабораторії проводять визначення розчиненого у воді кисню за методом Вінклера: у склянку з осадом додають 1-3 мл концентрованої H_2SO_4 , закривають корком і перемішують до повного розчинення осаду. У циліндр відливають 50 мл отриманої проби, переливають у конічну колбу і титрують стандартним розчином гіпосульфата до солом'яно-жовтого забарвлення. Додають 1-2 мл крохмалю (забарвлення змінюється на синє) і титрують до повного знебарвлення. У таблицю записують об'єм гіпосульфата, що пішов на титрування (табл.8.1).

Кількість кисню розраховують за формулою:

$$O_2 = \frac{n \cdot N \cdot K \cdot 8 \cdot 1000}{V_1 - V_2},$$

де n – об'єм гіпосульфїту, витрачений на титрування, мл;

N – нормальність гіпосульфїту;

K – поправка на нормальність гіпосульфїта;

V_1 – об'єм взятої для титрування алїквоти, мл;

V_2 – об'єм внесених в експериментальну склянку реактивів для фіксації розчиненого кисню – $KJ + KOH + MnCl_2 (MnSO_4)$ та H_2SO_4 – для розчинення осаду, що утворився після додавання у склянку фіксаторів, мл.

Титр розчину гіпосульфїту з часом змінюється, для чого перед кожним визначенням перевіряють його нормальність і вводять поправку (K). Для цього в окремій колбі змішують 2 мл 10 % KJ , 3 мл H_2SO_4 і 20 мл точно виготовленого розчину 0,02 н K_2CrO_4 . Через 2-3 хвилини суміш титрують розчином гіпосульфїту при наявності крохмалю як індикатора. Поправку до титру гіпосульфїту розраховують за формулою:

$$K = 20 \text{ мл } K_2CrO_4 : V \text{ мл } Na_2S_2O_3,$$

де V – кількість (мл) гіпосульфїту, яку витратили на титрування.

Валову первинну продукцію (A_B) розраховують за різницею вмісту кисню (O_2) у світлій і темній склянках:

$$A_B = (O_{2 \text{ свім}} - O_{2 \text{ тем}}) \cdot t$$

Дихання (деструкцію, R_{II}) планктону розраховують за різницею вмісту кисню (O_2) у початковій і темній склянках:

$$R_{II} = (O_{2 \text{ початк}} - O_{2 \text{ тем}}) \cdot t$$

Чисту продукцію (A_v) обчислюють за формулою:

$$A_v = (A_B - R_{II}) \cdot t,$$

де t – експозиція (години, доба).

Результати заносять до таблиці.

Таблиця 8.1.

Продукційно-деструкційні процеси водойм

Проба, №	V, мл Na ₂ S ₂ O ₃	Конц. O ₂ , мг/л	t, год	Продукція (A), мг O ₂ /л год	Деструкція (R), мг O ₂ /л год

Різниця між валовим фотосинтезом (A) і деструкцією органічної речовини (R) дає чисту первинну продукцію планктону й характеризує кількість автохтонної органічної речовини, яка безпосередньо надходить у водойму.

8.4. Визначення первинної продукції водяних макрофітів

Колби з широким горлом на 100 мл з притертими корками заповнюють відстояною водопровідною водою з постійним вмістом кисню і вносять туди дослідні рослини – невикорінені гідатофіти (елодею, рдесники, кушир тощо). Рослини підбирають подібні за зовнішнім виглядом, приблизно однакового розміру, без видимих пошкоджень. Перед зануренням рослин у колби їх зважують на аналітичних терезах.

Колби закривають таким чином, щоб в них не залишилося пухирців повітря, для цього дають змогу воді деякий час переливатися через край і експонують їх в оптимальних умовах

температури (20-27 °С) і освітлення (1800-2000 Лк) для визначення продукції, або в темряві – для визначення деструкції органічних речовин). Проби в колбах експонують в умовах подібних до природних – “in situ” або за штучного освітлення.

Одночасно з дослідними колбами експонують контрольні колби з водою або з досліджуваними рідинами (залежно від схеми досліджу), але без рослин. Повторність має бути трикратною. Для визначення первинної продукції експозицію проводять протягом 30 - 60 хв, для визначення деструкції вона має бути не менше 120 хвилин.

Після закінчення експозиції рослини із колб обережно виймають і усі подальші дії виконують згідно попередньої методики. Результати вимірювань заносять до таблиці та розраховують показники продукції й деструкції органічних речовин.

8.5. Визначення первинної продукції в радіовуглецевій модифікації

Для визначення первинної продукції склянковим методом у радіовуглецевій модифікації використовують розчини ^{14}C -карбонату або ^{14}C -бікарбонату натрію. Активність робочого розчину має становити близько $0,2 \times 10^6$ імп/хв. У дослідях на кожному з горизонтів розміщують чотири склянки по 120 - 150 мл,

в яких міститься вода з фітопланктоном і 1 мл робочого розчину радіовуглецю. Після добової експозиції вміст склянок фіксують формаліном і по 50 мл фільтрують через мембранні вітчизняні фільтри, фільтри «Синпор» чи «Міліпор» або ядерні фільтри з діаметром пор 1,5 мкм.

Первинну продукцію розраховують за формулою:

$$A_p = \frac{r + c}{R} \cdot E,$$

де r – радіоактивність фільтру з осадженими водоростями;
 R – радіоактивність внесеного розчину ($\text{NaHC}^{14}\text{O}_4$ чи $\text{Na}_2\text{C}^{14}\text{O}_4$);
 c – сумарний вміст карбонатних сполук у воді, які визначають динаміку CO_2 , мг/дм³.

Кількість асимільованого водоростями радіовуглецю визначається на сцинтиляційних приладах.

При роботі з радіоактивним розчином необхідно суворо дотримуватись заходів безпеки!

При переході від однієї форми вимірювання продукції до іншої використовують дихальний коефіцієнт. Припускається, що він дорівнює 0,80, а 1 мг кисню відповідає 0,3 мг вуглецю.

8.6. Визначення первинної продукції методом авторадіографії

Удосконалення радіовуглецевої модифікації склянкового методу стало можливим при використанні поряд з газорозрядним (Гейгера-Мюллера) або сцинтиляційними лічильниками рідкої

фотоемульсії, що дозволяє визначати сумарну продукцію всього водоростевого угруповання та продукцію окремих видів і систематичних груп.

Методика авторадіографії полягає у визначенні радіоактивності клітин водоростей, пропорційній кількості атомів поглиненого ізотопу, за числом слідів або треків радіоактивних β -частинок ізотопу вуглецю ^{14}C , що утворилися з відповідних зерен срібла, залишених у фотоемульсії протягом експозиції.

Основні процедури визначення первинної продукції окремих зводяться до таких:

1. Визначають видовий склад і чисельність фітопланктону з виділенням домінуючих видів.
2. Вимірюють валову первинну продукцію угруповання водоростей.
3. Концентрують завись радіоактивного фітопланктону (необхідно не менш як 200 - 300 мкг) і наносять її на предметне скло у вигляді альгологічного препарату.
4. Препарати з радіоактивними водоростями (авторадіографи) покривають рідкою фотоемульсією. Одержані радіоавтографи експонують у темноті протягом кількох діб (експозиція залежить від чутливості фотоемульсії, яка використовується, і радіоактивності водоростей, зумовленої їх фотосинтетичною активністю).
5. На авторадіографах підраховують кількість відновлених зерен срібла навколо клітин водоростей (для отримання

достовірних результатів необхідно дослідити 30-40 клітин домінуючих видів та субдомінантів).

6. Відносну продукцію (R_i) кожного виду водоростей

обчислюють за формулою:
$$R_i = \frac{\overline{G_i N_i}}{\sum \overline{G_i}},$$

де G_i – середня кількість відновлених зерен срібла фотоемульсії на клітину водорості; N_i – кількість клітин даного виду в одиниці об'єму (1 дм³).

7. Абсолютну швидкість продукції (A_i) конкретного виду водорості розраховують за формулою

$$A_i = R_i A,$$

де A – первинна продукція фітопланктону, що визначалась кисневою чи радіовуглецевою модифікацією склянкового методу.

Метод авторадіографії має ряд переваг у порівнянні з іншими методами: дозволяє визначити швидкість фотосинтезу окремих видів водоростей та їх внесок у формування первинної продукції фітопланктону в цілому; є високочутливим, завдяки чому можна оцінювати продукційні характеристики водоростей навіть при їх низькій фізіологічній активності; існує можливість використання як мітки, залежно від завдань дослідження, всіх ізотопів хімічних елементів, які включаються водоростевими клітинами в метаболічні процеси; відносна простота методу дозволяє проводити продукційні дослідження в польових умовах, безпосередньо на водоймі.

8.7. Визначення первинної продукції фітопланктону за вмістом хлорофілу-а

Хлорофіл-а – пігмент, який присутній у всіх зелених рослинах. За його концентрацією судять про ступінь трофності поверхневих вод. Біологічна суть методу полягає у тому, що кількість хлорофілу а змінюється відповідно до інтенсивності первинної продукції.

Разом з іншими показниками, зокрема з вимірами активної біомаси, визначення концентрації хлорофілу-а дає уяву про кількість потенційної активності фотосинтезу водоростей. Цей пігмент досить чутливий до світла і кисню повітря, особливо за його вилучення з води. З метою запобігання фотохімічної руйнації хлорофілу всі операції по його визначенню міжнародним стандартом ISO 10260 рекомендується здійснювати в умовах затемнення. Цей стандарт також визначає сутність методу визначення хлорофілу-а, який полягає у згущенні рослин через фільтрацію проб води, екстракцію органічним розчинником пігменту, з наступним спектрометричним визначенням.

Відбирання, фільтрування та висушування проб. Для репрезентативного визначення пігментів їх концентрація має становити не менш, ніж 0,5 мкг хл.«а»/дм³. Тому слід відбирати пробу об'ємом 1 дм³ і більше. Пробу фільтрують на фільтрі Зейтца великого діаметру за допомогою вакуумного насоса або завдяки наявності перепаду висот між фільтром і каністрою (сулією) з пробною. Перед фільтруванням мембранні фільтри покривають

шаром MgCO_3 (10 мг MgCO_3 на 1 см² поверхні фільтра) для запобігання руйнуванню пігментів. Фільтрування здійснюють при вакуумі не більш як 40 - 60 гПа, щоб виключити втрати хлорофілу. По закінченні фільтрації рекомендується негайно екстрагувати осад без підсушування фільтра. У виняткових випадках, коли немає можливості провести екстрено екстракцію і спектрофотометрування, фільтри з осадом сушать у ексикаторі із силікагелем, натронним вапном і лугом (1:1:1) і зберігають у темному ексикаторі із силікагелем при температурі не вище 1°C (звичайно у холодильнику) не більш як 1,5 міс.

Екстракція пігментів. Екстракцію пігментів проводять 90%-ним розчином ацетону. Фільтр з осадом поміщають у гомогенізатор, заливають 2 - 3 мл 90%-ного розчину ацетону і розтирають протягом 1 - 2 хв. Потім переносять у центрифужну пробірку, додають 90%-ний розчин ацетону до об'єму 10 мл і витримують 10 - 15 хв у темному місці при кімнатній температурі до повного екстрагування. Далі екстракт центрифугують протягом 10 хв при 4 тис. об/хв, після чого прозорий розчин переносять у сантиметрову кювету спектрофотометра. У кювету порівняння наливають 90%-ний розчин ацетону з гомогенізованим фільтром без водоростей і вимірюють оптичну щільність екстракту при довжині хвилі 663, 645 і 630 нм.

До безекстрактних спектрофотометричних методів відносять визначення концентрації пігментів у природних умовах (*in situ*) за допомогою спектрофотометра, що занурюється у воду, визначення

вмісту пігментів проходить безпосередньо у зразках води, яку наливають у спеціальну кювету із дзеркальними стінками, а також методом визначення пігментів у клітинах фітопланктону, що знаходиться на мембранних фільтрах. Перед спектрофотометрією останні просвітлюють спеціальними розчинниками для оптичної прозорості.

Значний інтерес становить флуорометричний безекстрактний метод визначення хлорофілу безпосередньо у живих клітинах фітопланктону, що знаходяться у водоймі. Хоча інтенсивність флуоресценції хлорофілу водоростей набагато нижча, ніж у екстрактах, зазначений метод має високу чутливість, що дозволяє реєструвати низьку концентрацію хлорофілу у водоймі.

Розрахунок вмісту хлорофілу. Найбільш поширеним методом розрахунку концентрації хлорофілів *a*, *b* і *c* (мкг/дм³) є використання стандартних формул, рекомендованих робочою групою при ЮНЕСКО:

$$C_{xl.a} = \left(1,64 \cdot E_{663} - 2,16 \cdot E_{645} - 0,1 \cdot E_{630} \right) \frac{V_1}{V_2},$$

$$C_{xl.b} = \left(3,94 \cdot E_{663} + 20,97 \cdot E_{645} - 3,66 \cdot E_{630} \right) \frac{V_1}{V_2},$$

$$C_{xl.c} = \left(5,53 \cdot E_{663} - 14,81 \cdot E_{645} + 54,22 \cdot E_{630} \right) \frac{V_1}{V_2},$$

де, V_1 – об'єм екстракту, мл; V_2 – об'єм проби, дм³; E_{663} , E_{645} , E_{630} – оптична щільність при довжині хвилі відповідно 663, 645 і 630 нм, віднесені до робочої довжини кювети (1 см) з урахуванням поправки на мутність екстракту (контроль):

$$E_{663} = \frac{E_{663} - E_{750}}{l},$$

$$E_{645} = \frac{E_{645} - E_{750}}{l},$$

$$E_{630} = \frac{E_{630} - E_{750}}{l},$$

де E_{663} , E_{645} , E_{630} , E_{750} – оптична щільність при довжині хвиль відповідно 663, 645, 630 і 750 нм; l – довжина кювети, см.

Питання для самоперевірки.

1. Назвіть прилади для відбирання проб первинної продукції фітопланктону.
2. Назвіть методи визначення первинної продукції.
3. Які процеси характеризує продукційно-деструкційний коефіцієнт?

Використана література:

1. *Определение содержания хлорофилла в планктоне пресных водоемов / Сост. Л. А. Сиренко, А. В. Курейшевич – Киев: Наук. думка, 1982. – 52 с.*
2. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – С. 87–91.*
3. *Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод/О.М. Арсан, О.А. Давидов, Т.М. Дьяченко та ін.; За ред. В.Д. Романенка. – НАН України. Ін-т гідробіології. – К.: ЛОГОС, 2006. – 408 с.*
4. *Методические вопросы изучения первичной продукции планктона внутренних водоемов / Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. – СПб. : Гидрометеиздат, 1993. – 168 с.*
5. *Щербак В. І. Оцінка стану водоймищ шляхом визначення пігментів фітопланктону // Методичний посібник з визначення якості води. – К., 2002. – С. 16–19.*
6. *Щербак В. І. Методи досліджень фітопланктону // Методичні основи гідробіологічних досліджень водних екосистем. – К., 2002. – С. 41–47.*
7. *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council – Offic. J.U 327/1.*

Стандарти:

СТУ ISO 10260:2007 Якість води. Вимірювання біохімічних параметрів. Спектрометричний метод визначення концентрації хлорофілу-а (ISO 10260:1992, IDT).

9. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ЗООПЛАНКТОНУ

9.1. Експедиційні та лабораторні прилади й обладнання

- планктонна сітка Джеді
- планктонна сітка Апштейна
- батометр Рутнера
- батометр Молчанова
- планктонобатометр
- відро пластмасове чи емальоване
- планктонна кружка
- флакони чи склянки для проб місткістю 100-200 дм³
- затискач Мора
- формалін
- термометри
- мікроскопи
- камера Богорова або лічильна пластинка
- об'єкт-мікрометр
- терези аналітичні
- терези торсійні
- циліндри мірні
- склянки мірні
- піпетки мірні
- пробірки з притертими корками
- штемпель-піпетки
- пінцети
- голки препарувальні
- предметні скельця
- накривні скельця
- годинникові скельця
- сифони скляні з гумовими грушами
- гумовий шланг діаметром 0,5-1 см
- скальпель
- пальник
- фільтри
- фільтрувальний папір

7.2. Методи відбирання проб зоопланктону

Відбирання проб зоопланктону регламентують вимоги ISO 5676-2-91, ISO 5667-3-94 та ISO 5667-1-82. Поширеними методами відбирання проб зоопланктону є методи проціджування води у самій воді та вирізання стовпа води за допомогою спеціальних знарядь лову з подальшим її проціджуванням чи відстоюванням.

Метод проціджування проби води. Цей метод передбачає використання планктонних сіток різних конструкцій та планктоночерпаків (рис.9.1). Найчастіше при роботі на неглибоких

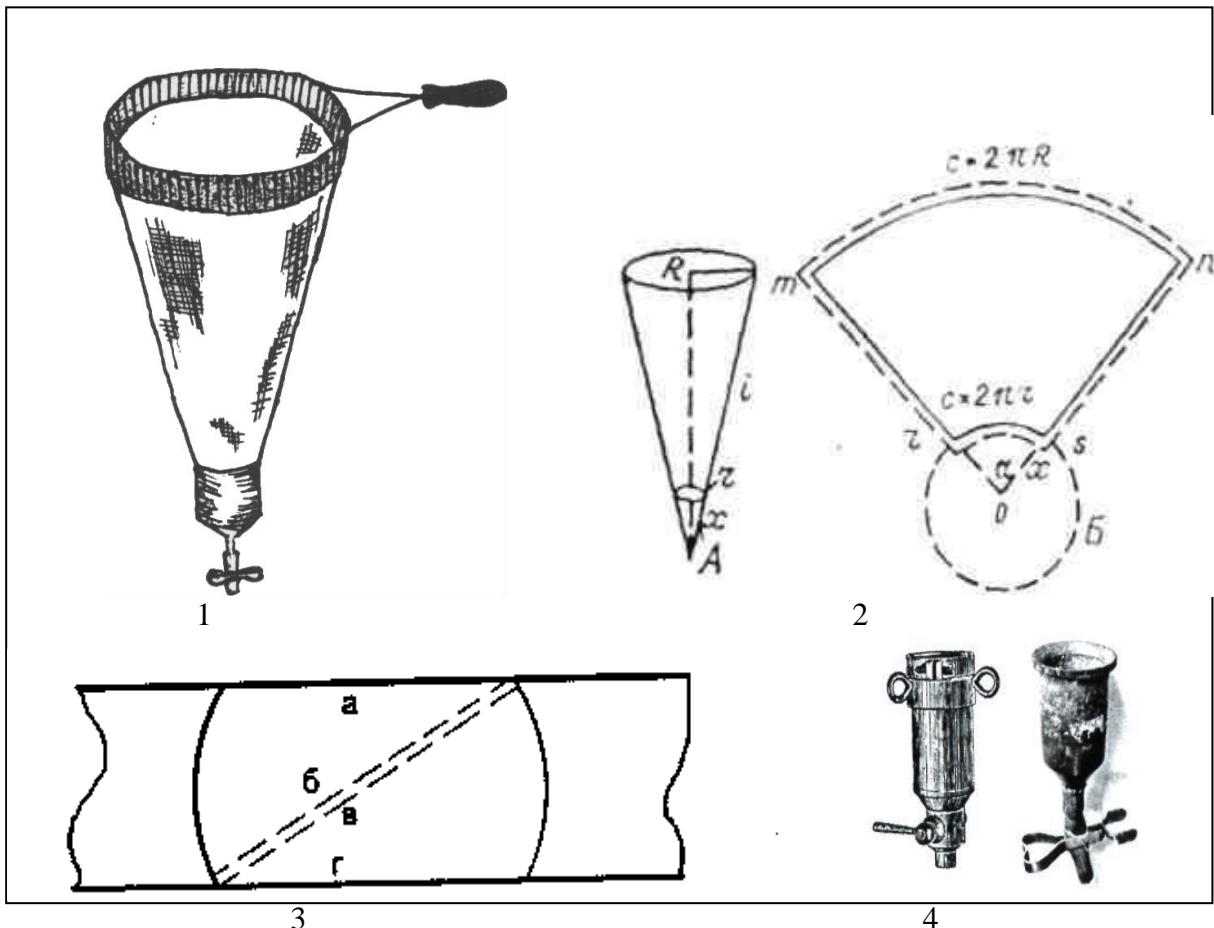


Рис. 9.1. Планктонна сітка Апштейна та схема її крою

1 – мала модель сітки Апштейна; 2 – схема крою мішка для сітки; 3 – схема розкладання крою на тканині; 4 – планктонні склянки.

водоймах використовують планктонну сітку Апштейна. Основна частина сітки – конусоподібний мішок, через який відбувається проціджування води, виготовляється з шовкового чи капронового сита, який закінчується алюмінієвим чи латунною планктонною скляночкою, де збирається осад з планктоном.

Планктонну сітку можна виготовити самостійно. Для цього необхідно мати шовковий млинарський газ (капронове сито) потрібного номеру, цупку тканину (льон чи бавовна), планктонна склянка, 1 або 2 металевих кільця відповідного діаметру. Номер капронового сита залежить від кількості чарунок в 1 см² і позначається від 7 до 77 (табл. 9.1).

Таблиця 9.1.

Нумерація млинарського газу

Номер сита	Число чарунок в 1 см ²	Розмір чарунок, мм	Номер сита	Число чарунок в 1 см ²	Розмір чарунок, мм
7	44,9	1,364	43	1849	0,158
9	81	1,024	46	2116	0,145
11,5	132	0,752	49	2300	0,112
15	225	0,559	51	2601	0,110
21,5	441	0,336	55	3025	0,099
23	529	0,333	59	3581	0,094
24,5	580	0,318	62	3730	0,086
26	676	0,282	64	4225	0,081
29	841	0,239	66	4356	0,079
32	1034	0,224	67	4489	0,077
34	1156	0,203	68	4624	0,076
38	1444	0,168	77	5929	0,064

Для відбирання мікропланктону застосовують сито № 64-77, мезопланктону – № 38 - 64. Розкрій конусоподібного мішка роблять на папері у вигляді цілого розгорнутого конуса чи його половини за схемою (див. 9.1). Усі тканинні матеріали перед розкромом сітки необхідно підготувати – капронове сито зволожити і випрасувати негарячою праскою, а тканину намочити, просушити і випрасувати.

Довжину бокової поверхні x і кут крою a знаходять за формулами:

$$x = r \cdot i / R - r,$$

$$a = 360r / x \text{ або } a/2 = 180r/x$$

де R – радіус металевого кільця (основа конуса) – 110 мм;

r – радіус стаканчика (вузький кінець усіченого конуса) – 35 мм;

i – бічна довжина усіченого конуса (довжина сітки) – 450 мм;

x – частина бічної довжина, яка відрізається – 210 мм;

a – кут чи половина кута між бічними сторонами розгорнутого конуса – $72^\circ(36^\circ)$.

Крій тканини зручніше робити способом, позначеним на рис. 9.1, враховуючи додавання на шви (1 см на довгій стороні, 3 см внизу та 1 см у верхній частині конуса). Конус сітки зшивається тонкою голкою, тонкими капроновими нитками запошивочним (як постільну білизну) швом таким чином, щоб краї однієї половини накладалися на косий край іншої («а» з «в» та «б» з «г»). Конус з капронового сита пришивається до вузької смужки (4 см) бавовняної тканини, яка кріпиться до металевого кільця. Планктонний стаканчик прикріплюється до вузького, попередньо обшитого цупкою тканиною кінця сітки, кількома обертами мотузки або клейкою стрічкою.

У планктонних сітках використовують алюмінієві чи латунні склянки, які закінчуються патрубком з краником або насадженою на нього гумовою трубкою, що перекривається спеціальним металевим затискачем Мора. Планктонну склянку можна виготовити з пластикової лійки, обрізавши вивідну трубку до розміру короткого патрубка, на який натягують гумову трубку з затискачем Мора.

Розміри малої моделі якісної сітки Апштейна такі: довжина бічної сторони – 55 см, діаметр вхідного отвору – 25 см, діаметр стаканчика – 4 см; середньої моделі відповідно – 100, 40 та 6 см. Кількісна сітка Апштейна у своїй конструкції має надставку у вигляді ще одного усіченого конуса, виготовленого з цупкої тканини та приєднаного своєю широкою основою до першого кільця, а вузькою – до іншого металевого кільця, яке в цьому випадку являє собою вхідний отвір. Основна функція надставки – запобігати утворенню зворотних потоків води, що виникають при протягуванні сітки та заважають її роботі. Для кількісної сітки Апштейна довжина боку надставки має складати приблизно половину довжини боку сітки, а діаметр її другого кільця – бути в півтора рази меншим від діаметра першого.

При відбиранні зоопланктону з поверхневих шарів води використовують малу модель сітки Апштейна. При цьому планктонну сітку занурюють у воду так, щоб верхній отвір сітки знаходився на відстані 5 - 10 см над її поверхнею. Гідробіологічним кухлем Кольквітца (або звичайним кухлем місткістю 1 л)

зачерпують воду з поверхневого горизонту (до 15-20 см завглибшки) та виливають її у сітку, відфільтровуючи таким чином 50-100 л води. На невеликих водоймах планктонні проби можна збирати з берега, поступово заходячи у воду, обережно черпаючи воду кухлем попереду себе та фільтруючи її через сітку чи закидаючи сітку на тонкій мотузці у воду та обережно витягуючи її. Закінчивши збір планктону, планктонну сітку «купають» (прополіскують), опускаючи її декілька разів у воду до верхнього кільця, щоб відмити організми, які затрималися на внутрішній поверхні сітки. Сконцентровану таким чином пробу планктону, що знаходиться в планктонній скляночці, зливають через вивідну трубку в приготовлену чисту склянку або флакон. Перед початком та після закінчення збору проби сітку необхідно добре прополоскати, а закінчивши роботу, висушити та покласти до спеціального чохла.

У мілких водоймах при відбиранні проб використовують планктонну сітку Ліпіна з лійкоподібним металевим дном із патрубком і гумовим шлагом з затискачем.

При роботі на великих водоймищах використовують планктонні сітки великого розміру. До металевого кільця такої планктонної сітки прикріплюють міцні мотузки (стропи) на рівних відстанях одна від одної, вільні кінці яких зв'язуються між собою над вхідним отвором сітки вузлом. За допомогою вузла сітка з'єднується з тросом, на якому і опускається воду з судна або з берега та утримується під час роботи (рис. 9.2). За допомогою

таких самих мотузок до кільця має бути прикріплена і склянка, інакше сітка може порватися під вагою води, що її наповнює. Ще одна деталь великих планктонних сіток – грузило, яке прив'язують

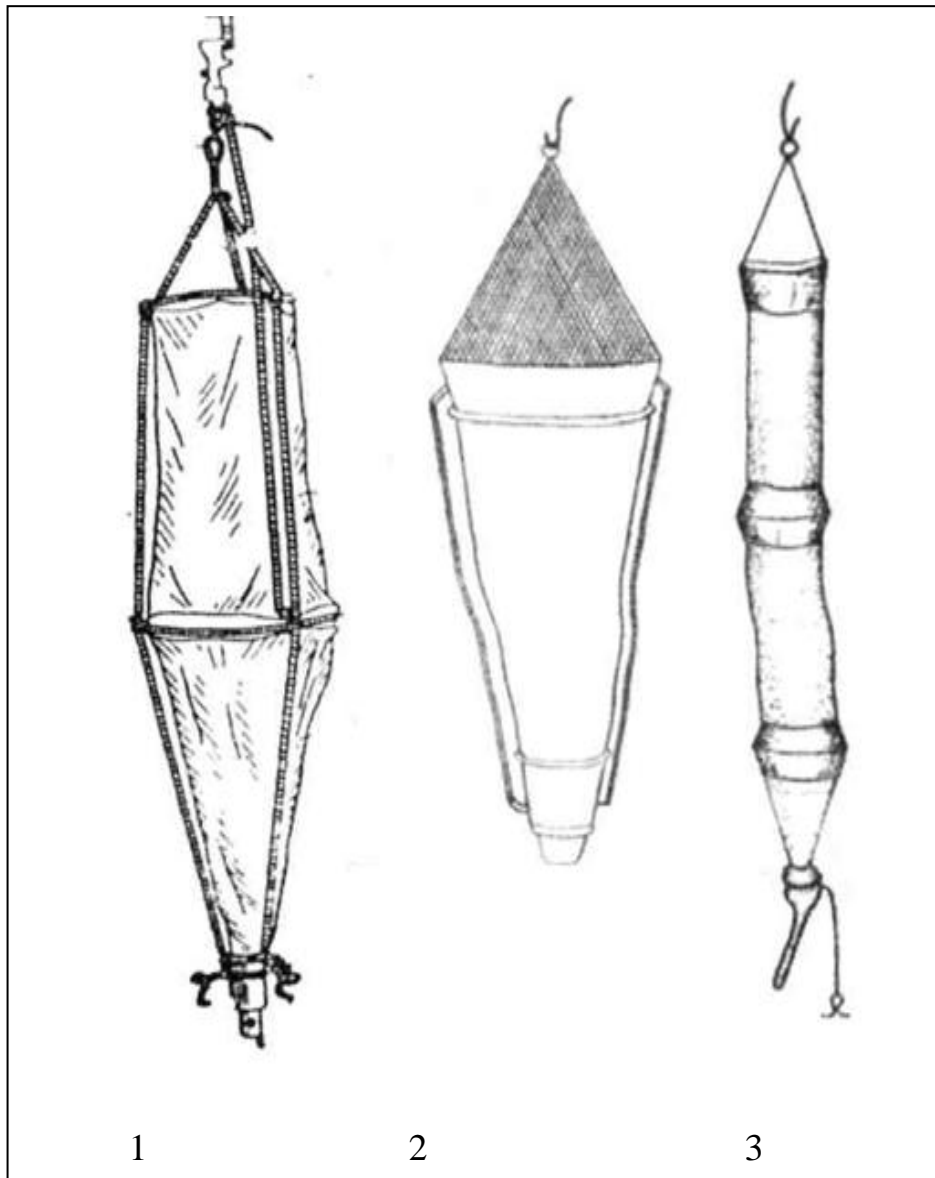


Рис. 9.2. Планктонні сітки:
1 – Джеді; 2 – Берджа; 3 – Лангганса (Цеппелін)



1



2



3

Рис. 9.3. Планктонна сітка з канатними стропами (1), грузилом (2), планктонна сітка Джудея (3)

до низу сітки для тотального лову зоопланктону (рис. 9.3). Трос, до якого прикріплюється кількісна сітка, має бути розміченим на метри за допомогою пришитих до нього клаптиків кольорової тканини.

Сітку Джеді (із замкачем) застосовують для вертикального лову планктону: її опускають на певну глибину, а потім підіймають на визначену відстань (0,5 м, 1 м), після чого сітка замикається зашморгом. Так можна отримати дані щодо глибинного розподілу зоопланктону. Але такі дослідження проводять в основному в межах досить глибоких водойм. Також можна робити тральні лови за допомогою сіток з човна: сітку опускають у воду до певної глибини, а потім починають рух з такою швидкістю, щоб сітка пересувалась за човном горизонтально щодо поверхні води на певній глибині.

Циліндрична сітка «Цеппелін»

призначена для відбирання зоопланктону на течії або з човна (див.

рис. 9.2). Складається з двох шовкових циліндрів, які зшивають між собою та одного шовкового конуса зі планктонною склянкою на кінці. Сітку за допомогою шматочків полотна пришивають до трьох кілець із дроту, які приєднують до троса. Розміри сітки довільні. Сітку рекомендують тягнути на тонкій мотузці за човном, що рухається, впродовж 5-10 хвилин.

Для морських досліджень та досліджень у великих водосховищах використовують планктонну сітку Джудея, яка складається з фільтруючого конуса з шовкового сита та верхнього зворотного конуса з тонкого брезенту.

Для одночасного збору зоопланктону з різних глибин використовують декілька планктонних сіток (рингтралі), які закріплюють на тросі на певній відстані одна від одної і буксирують за судном (рис. 9.4).

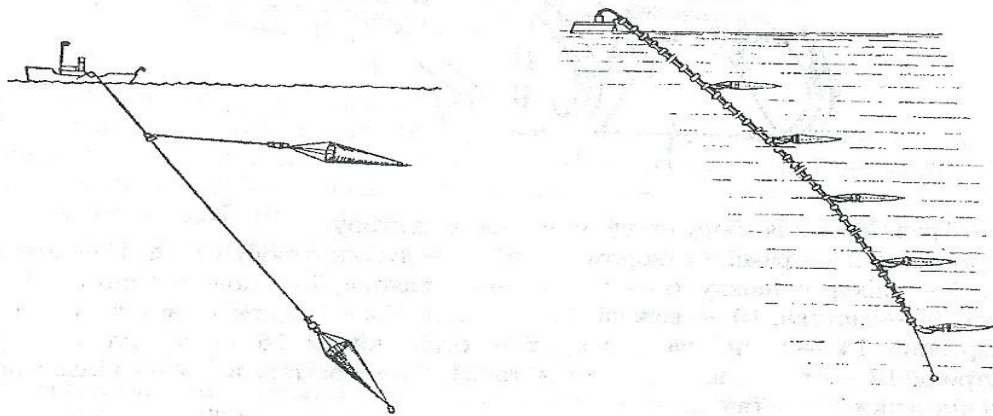


Рис. 9.4. Різноглибинний збір зоопланктону за допомогою рингтралів.

Для відбирання проб зоопланктону у цій серії методів використовують також планктонозбирачі (Богорова, стандартний

планктонний реєстратор Гарді, планктоновловлювач Вовка) та планктонометри. Планктонозбирач Богорова представляє собою великий циліндр (ємністю 25-50 л), стінка якого зроблена з млинарського газу, а верхня і нижня кришки – металеві. Прилад опускається у відчиненому вигляді, при цьому сітка опущена до нижньої кришки. Опустивши планктонозбирач на потрібну глибину, по тросику посилають грузик, який, вдаривши по верхній кришці приладу, приводить в дію особливий механізм. Сітка підтягується до верхньої кришки і зачиняє прилад з боків. Коли прилад піднятий на палубу, вміст його випускають в банку через кран, що знаходиться в центрі нижньої кришки. Перевага планктонозбирача полягає у тому, що він дає можливість точно врахувати кількість планктонних організмів у певному об'ємі води.

Стандартний планктонний реєстратор Гарді складається з відкритою з обох кінців трубки довжиною близько метра. Планктонні організми, що потрапляють в трубку, затримуються фільтром (ситом), який повільно обертається упоперек отвору. Обертання забезпечується імпеллером (обертається внаслідок руху носія), при цьому швидкість обертання фільтру пропорційна швидкості буксирування, що дозволяє проводити якісні та кількісні відбирання проб планктону. За його допомогою можна одночасно обловити декілька горизонтів і визначити горизонтальний і вертикальний розподіл зоопланктону.

Касетний планктонометр Мельникова-Темних (КПМТ) – це новий пробовідбірник для дослідження розподілу планктону,

розроблений вченими Інституту біології південних морів НАН України (рис.42). Він дозволяє безперервно збирати проби зоо- та іхтіопланктону завдяки автоматизованому послідовному відкриванню і закриванню 10 сіток під час горизонтальних,



Рис. 9.5. Касетний планктонометр Мельникова-Темних

косих і вертикальних ловів. Зібрані проби ідентичні за об'ємом профільтованій воді не залежно від швидкості судна, течії та сили вітру. Пробовідбірник простий в управлінні та пристосований для роботи з маломірних суден на мілководді, а також ефективно працює в районах зі скупченням гребневиків та медуз.

Планктоновловлювач Вовка, або торпедоподібна планктонна сітка, – це конічна сітка з капронового сита, що знаходиться в легкому металевому каркасі, який має форму циліндра і може вигинатися. Прилад опускають у воду на тросі, де він може працювати на різних глибинах.

Методи вирізання стовпа води. Цей метод передбачає використання різних типів батометрів (планктонобатометрів), планктонного насоса, планктонних трубок, приладу Ляхновича,

пластикових пасток АСТ тощо. При цьому відібрана проба витягується з води і проціджується на березі чи судні через планктонну сітку. Відбір проб за допомогою батометрів аналогічний відбору проб фітопланктону.

Планктонобатометр застосовують для збору зоопланктону в озерах і водосховищах (рис. 9.6). Він складається з циліндра, який закріплений на спеціальній стійці. Циліндр місткістю 10 л закривається верхньою і нижньою кришками і має кран для зливу проби. Перед відбиранням проб кришки приладу закріплюють у вертикальному положенні і, при досягненні потрібної глибини, різко зупиняють. Від поштовху кришки зачиняються.

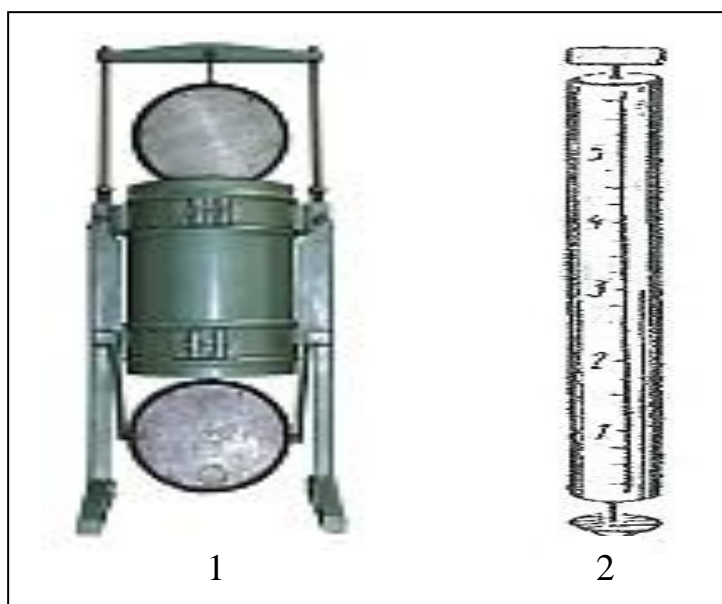


Рис. 9.6. Планктонобатометр (1) та прилад Ляхновича (2)

Планктонобатометр витягають і пробу фільтрують через сітку Апштейна. Прилад Ляхновича являє собою металевий циліндр завдовжки 120 см, діаметром 3 см з поршнем, місткістю 6 л, який

працює за принципом шприца (рис.9.6.2). Його використовують в основному для вивчення зоопланктону в рибогосподарських водоймах. Прилад опускають у воду, зтягують воду, закривають втяжною кришкою і проціджують вміст через планктонне сито чи сітку Апштейна.

Серед останніх розробок приладів для відбирання проб зоопланктону – пластикові пастки АСТ (рис. 9.7), запропоновані Алексієнко і Серебряковим. Вони застосовуються для відбирання проб зоопланктону та молоді риб на мілководних ділянках водойм. Пастки АСТ на деякий час встановлюється у водойму на певну глибину відповідної станції.

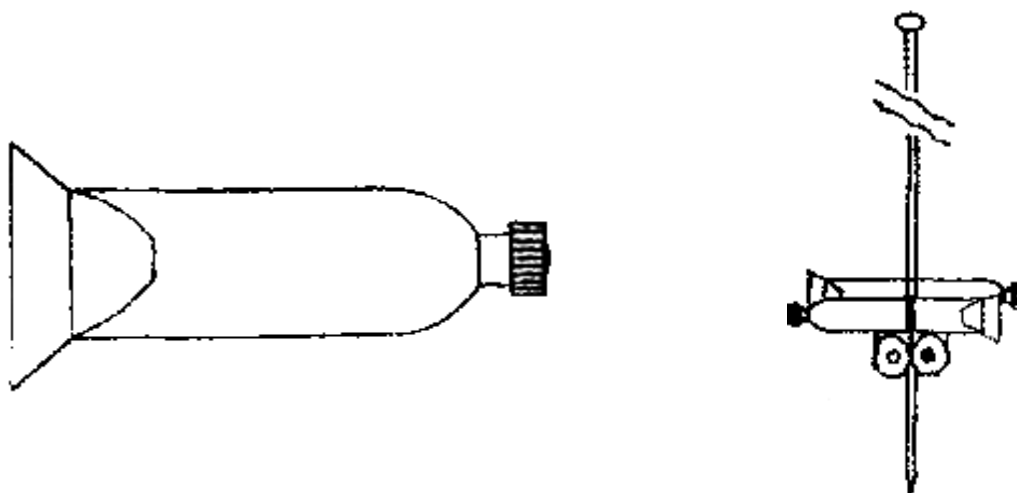


Рис. 44. Пластикова пастка АСТ

Пастки заповнюються самопливом без застосування активних знарядь лову. Як зазначають автори виготовлення пастки надзвичайно просте. Для цього необхідно мати 2 пластикові пляшки ємністю 1,5 дм³ та металевий каркас та кільця для кріплення. Для конструкції приладу у одній пляшці необхідно

зрізати верхню частину у тому місці, де вона вже не розширюється. В іншій – вирізати дно, а на його місце вставити (впаяти) верхню частину першої пляшки так, щоб верхня частина першої пляшки (горловина) знаходилась в середині іншої пляшки. Так утворюється ловча лійка, через яку й потрапляють організми планктону. До ловчого кінця пасток приєднують "фартух", який збільшує його ловчу поверхню, а з іншого боку в кришку закріплюють планктонне сито, створюючи проточну систему. Ці пастки встановлюють у спеціальні закріплювальні кільця, які припаяні на певній відстані (0,5 м) до металевого каркасу, що зверху має голівку для вбивання в ґрунт, а знизу загострений кінець для закріплення пристрою в ґрунті. На певному рівні кріплять по чотири кільця, які розташовані паралельно дну (так направлені вставлені в них пастки), але при цьому два з них приєднуються перпендикулярно до двох інших. Пастки вставляють у парні кільця уловлювальними отворами в протилежних напрямках на певній глибині так, щоб вони знаходились горизонтально щодо поверхні води. Тобто на певному рівні знаходиться відразу по чотири пастки, які спрямовані в чотири протилежні сторони (по течії, проти течії, до берега та від берега). Встановлюють пристрій вручну або з човна на дві години. Потім фільтрують проби через планктонне сито.

У водоймах з добре розвиненою кормовою базою (рибницькі стави) використовують методи відбирання проб модифікованою сіткою Апштейна, яка дає можливість одночасно визначити біомасу

зоопланктону (рис. 9.8). Це пов'язано з тим, що при попаданні в пробу деяких організмів – клопів, личинок комах, великих форм

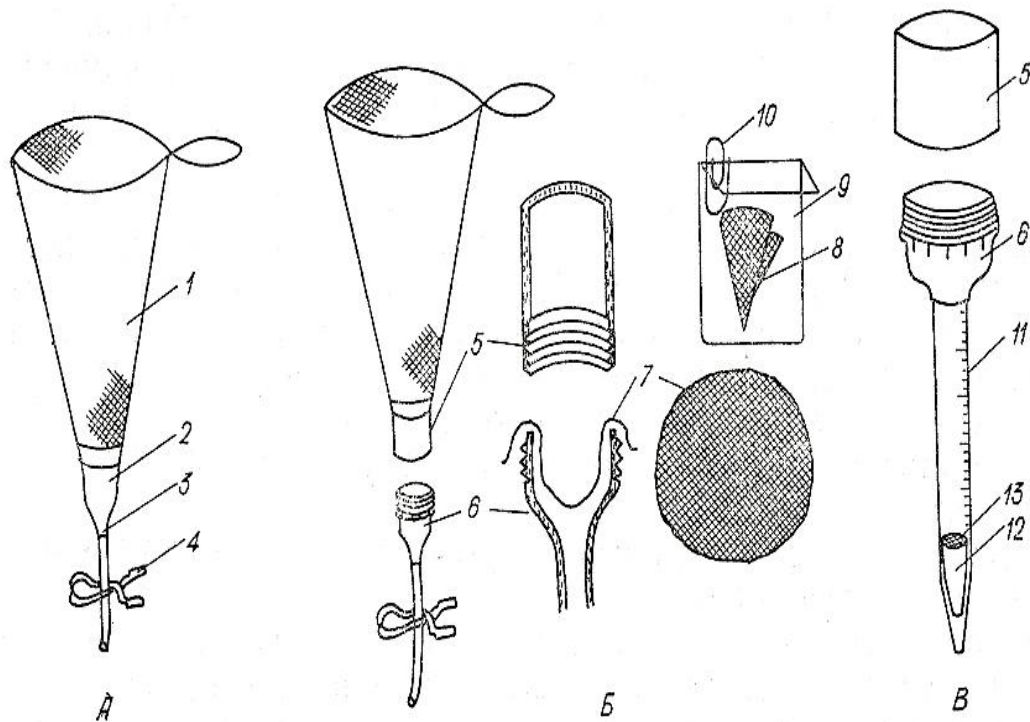


Рис. 9.8. Планктонні сітки з звичайними та удосконаленими склянками: А – сітка з суцільнометалевою склянкою; Б – сітка з роз'ємною склянкою і капроновим фільтром; В – градуйована приставка до роз'ємної склянки; 1 – конусний мішечок із капронового сита; 2 – суцільнометалева склянка; 3 – зливна трубка; 4 – затискач Мора; 5 – верхня частина роз'ємної склянки; 6 – нижня частина роз'ємної склянки; 7 – круг із капронового сита (фільтр); 8 – капроновий фільтр з осадом зоопланктону, складений вчетверо; 9 – пакетик із поліетиленової плівки; 10 – канцелярська скріпка; 11 – вимірювальна трубка; 12 – трубчатий вкладиш; 13 – капронове сито.

зоопланктону (*Daphnia magna*), нитчастих водоростей або сміття, отвір зливної трубки гідробіологічної склянки забруднюється. Для його очищення доводиться вивертати сітку, що створює незручність у роботі. Крім того при масовому зборі проб зоопланктону необхідно переносити (чи перевозити) з місця на місце велику серію склянок. З метою усунення цих недоліків та для

прискорення процесу отримання інформації щодо біомаси зоопланктону, Степановим В.Д. із співавторами (1991), була запропонована конструктивно змінена гідробіологічна склянка у традиційній планктонній сітці. Вона складається з двох секцій, з'єднаних між собою вільним гвинтовим різьбленням (рисунок, Б): 1) верхній, який прикріплений до вершини конусного мішку планктонної сітки (5) та 2) відгвинченої від нижньої секції, який становить в об'ємі від $1/3$ до $1/2$ спільної ємкості склянки (6). При засміченні отвору зливної трубки, нижню частину склянки відкорковують. Це дозволяє легко прочистити трубку за допомогою пінцета, скляної чи дерев'яної палички. Змінена конструкція склянки дозволяє також проводити орієнтовні експресні визначення біомаси зоопланктону. Для цього в нижню частину склянки вставляють круг із капронового сита № 70 (7). Кругу надають форму мішечка, верхні краї якого перегинають назовні і закріплюють в процесі вкручування нижньої секції склянки у верхню. Краї круга повинні бути оплавлені. Діаметр круга в 2 рази перевищує внутрішній діаметр склянки.

Перед початком проціджування проби води через планктонну сітку закупорений прилад відкручують: знімають затискач з гумової трубки або відкручують кран. Після закінчення проціджування проби, осад планктону концентрується в мішечку з капронового сита. Далі нижню частину стакана відкорковують. Капроновий круг разом з осадом планктону виймають, двічі перегинають, при цьому круг приймає форму конуса (8), і кладуть в

пакетик із поліетиленової плівки (9). Верхній край пакетика перегинають та перетискають канцелярською скріпкою (10), щоб усунути висихання осаду.

Пакетик нумерують відповідно до номера станції відбору проб. У пакетик осад планктону зберігають у вологій камері до моменту просушування і зважування проби в лабораторних умовах (до 2 - 3 год. при температурі повітря в холодильнику). При необхідності осад переглядають під мікроскопом.

Запропонований експрес-метод дозволяє з достатньою для рибоводних цілей точністю з'ясувати загальну біомасу зоопланктону. Оперативну інформацію щодо розвитку зоопланктону безпосередньо на водоймі проводять за допомогою спеціальної приставки до удосконаленої планктонної склянки, яка знімається (рис. В).

Приставка зроблена із нижньої відгвинченої частини планктонної склянки (6) і прикріпленої до неї вимірювальної трубки із прозорого матеріалу (11), наприклад, приклеєної за допомогою епоксидної смоли нижньої половини градуйованої піпетки на 10 мл. У піпетку вставлений трубчатий вкладиш (12), до верхнього кінця якого приклеєний круг із капронового сита (13), наприклад, із сита № 32. Висота вкладиша розрахована так, що поверхня капронового круга співпадає з нульовою відміткою ділення градуйованої піпетки.

Приставка може бути використана як разом з планктонною сіткою, так і без неї, – в комплексі з відокремленою планктонною

склянкою. Після проціджування визначеного об'єму води через планктонну сітку рідину із склянки відфільтровують, прискорюючи процес за допомогою гумової груші, прикріпленої до нижнього кінця градуйованої трубки (піпетки). При цьому зоопланктон осідає на капроновий круг (13) і ущільнюється. Після відсапування рідини об'єм осаду вимірюють з точністю до одного ділення (0,1 мл). Автори розробки зазначають, що зручніше користуватись градуйованою приставкою в комплексі з окремою планктонною склянкою. При цьому для концентрації зоопланктону використовують сітку зі звичайною або роз'єднаною планктонною склянкою без капронового круга. Осад разом з рідиною переносять в склянку з градуйованою приставкою і далі проводять операції з фільтрації проб і вимірювання об'єму осаду.

9.3. Консервування та етикетування проб

Сконцентрований у планктонній склянці будь-якої сітки зоопланктон зливається по трубці в невелику скляний або пластмасовий флакон об'ємом 100-200 см³, який має кришку з прокладкою. Якщо проба зоопланктону не опрацьовується у живому вигляді, її необхідно швидко законсервувати. Найпоширенішим консервантом (фіксатором) проб зоопланктону є формальдегід 40%-ї концентрації (формалін), який доливається до проби до появи відчутного характерного запаху. Іншим

консервантом є 70° етиловий спирт. Але якщо «формалінові» проби можуть зберігатись протягом кількох років, то «спиртові» повинні бути опрацьовані протягом місяця.

Кожна відібрана та зафіксована проба зоопланктону повинна мати етикетку (паспорт). Вона пишеться на щільному папері простим олівцем і вкладається під прокладку кришки. Етикетка несе усю необхідну інформацію щодо *водойми, станції, дати відбирання проби, знаряддя лову, об'єму води, профільованої через якісну планктонну сітку, або відстань, через яку була протягнута кількісна сітка під час лову зоопланктону, температура води та повітря, глибина на станції, а також при необхідності наявність і характер заростей водяної рослинності, тип донних відкладів тощо*. Окрім цього на кришку або збоку склянки з пробою спеціальним олівцем проставляють порядковий номер проби, який заноситься в польовий щоденник, де записуються усі дані з етикетки, а також час доби, погодні умови, дані по прозорості, глибині водойми, швидкості течії тощо.

Проби зберігають у порядку номерів у темному місці при кімнатній температурі. Для тривалого зберігання чи транспортування проби заливають парафіном або сумішшю воску і парафіну, причому перед заливанням їх доливають до пробки профільованою водою.

9.4. Методи опрацювання проб зоопланктону

Методи опрацювання зоопланктону поділяються на якісні та кількісні, при цьому зоопланктон вивчають у живому і консервованому вигляді.

При якісному опрацюванні проб у живому вигляді зібраний матеріал слід досліджувати відразу після лову на найближчому стаціонарному пункті (лабораторії, станції). При перенесенні проб у лабораторію їх слід загорнути в мокру ганчірку (для захисту від нагрівання сонцем) і наглухо не закупорювати.

Визначення організмів проводять за трьома основними групами: коловертки *Rotifera (Rotatoria)*, гіллястовусі (*Cladocera*) і веслоногі (*Copepoda*) ракоподібні, а також відмічають інші організми, які зустрічаються в пробі (велігери молюсків, личинки комах тощо).

Якісне опрацювання зоопланктону. Якісне опрацювання проб передбачає визначення видового складу зоопланктону та домінуючих видів під мікроскопом. Для цього піпеткою беруть частину осаду з проби і переносять на предметне скло, накривають накривним склом і досліджують під бінокулярним мікроскопом: встановлюють видовий склад (за визначниками) та частоту зустрічності окремих видів. Частоту зустрічності окремих видів визначають за шкалою Стармаха, яка у робочому журналі реєструється наступним чином:

+ – дуже рідко (вид присутній не в кожному препараті);

1 – поодинокі (1 - 6 екземплярів у одному препараті);

- 2 – мало (7 - 16 екземплярів у препараті);
- 3 – достатньо (17 - 30 екземплярів у препараті);
- 4 – багато (31 - 50 екземплярів у препараті);
- 5 – дуже багато (більше 50 екземплярів у препараті).

Якісне опрацювання зоопланктону передбачає і експрес-методи визначення біомаси зоопланктону. Серед експрес-методів виділяють об'ємний і ваговий.

Об'ємний експрес-метод передбачає визначення біомаси зоопланктону безпосередньо у польових умовах без встановлення видового складу. Для цього отриману після відбирання та консервування пробу зоопланктону переливають у мірний циліндр об'ємом 100 мл або мірну центрифужну пробірку, відстоюють протягом 30 хвилин і визначають об'єм осаду. Питома маса планктонних організмів в осаді дорівнює 1,02-1,05. Щоб визначити, скільки планктону міститься в 1 м^3 , отриманий об'єм осаду перемножують на 20 (якщо проціджували через планктонну сітку 50 л) або на 10 (якщо проціджували - 100 л). Наприклад, через планктонну сітку профільтрували 50 л води і отримали 1 см^3 осаду, це означає, що в 1 м^3 води знаходиться – 20 г планктонних організмів. Це і є біомаса зоопланктону. Слід зауважити, що ця біомаса включає масу усього сестону.

Ваговий експрес-метод визначення біомаси зоопланктону розрахований на опрацювання проби в лабораторних умовах і передбачає безпосереднє зважування відфільтрованого осаду зоопланктону на аналітичних або торсійних терезах. Пробу

зоопланктону профільтровують через шматок капронового чи млинарського сита №65-76 і вибирають частки рослин тощо. Осад із ситом підсушують на фільтрувальному папері до зникнення мокрих плям, переносять у чашку Петрі або бюкс і зважують на терезах (масу чашки Петрі або бюкса з вологим ситом визначають заздалегідь). За різницею мас отримують масу зоопланктону. Знаючи об'єм профільтрованої води й масу осаду, розраховують біомасу зоопланктону.

Кількісне опрацювання зоопланктону методом Гензена.

Кількісне опрацювання проб передбачає встановлення видового складу і кількості усіх організмів зоопланктону у лабораторних умовах (камеральне опрацювання) з використанням оптичних приладів та визначників. Для камерального опрацювання проб необхідно мати спеціальну лічильну пластинку (предметне скло, розліноване поперечними рисками на доріжки шириною трохи меншою за поле зору мікроскопу при окулярі $\times 10$ і об'єктиві $\times 40$) або камеру, штемпель-піпетку, мірну склянку, сифон з грушою (піпетка, кінець якої зтягнутий густим капроновим ситом, складеним у кілька шарів), воду для розведення проби, препарувальну голку, предметні скельця з лунками, накривні скельця, фільтрувальний папір тощо (рис. 9.9). Для цього пробу зоопланктону переливають у мірну склянку і залежно від кількості організмів доводять до зручного для дослідження об'єму. Проби з багатим планктоном (на дні склянки значний осад) розводять водою до 200 см^3 . Проби з бідним планктоном концентрують шляхом

відсмоктування води сифоном. Об'єм проби зменшують до 50 *мл*, а при необхідності – до 20-30 *мл*.

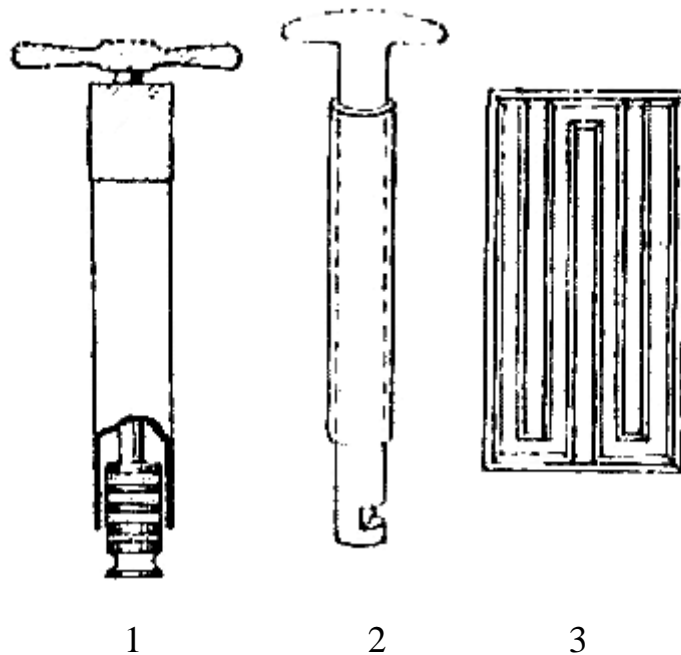


Рис. 9.9. Обладнання для камерального опрацювання зоопланктону: 1 – штемпель-піпетка Гензена; 2 – штемпель-піпетка Самишева; 3 – камера Богорова.

У мірній склянці відмічають точний об'єм підготовленої проби, ретельно перемішують, відбирають штемпель-піпеткою 0,5 або 1,0 *мл* і швидко переносять на лічильну пластинку або в камеру Богорова, накривають накривним скельцем.

Лічильну пластинку чи камеру поміщають на предметний столик мікроскопа і, рухаючись доріжками камери, визначають видову належність усіх організмів зоопланктону в пробі за допомогою визначників. Кожний виявлений вид заносять до робочого журналу в картку проби, а його чисельність реєструють

методом «десяток». Так встановлюють чисельність кожного виду виявлених організмів.

Для визначення біомаси виявлених видів необхідно встановити їх індивідуальні маси. Індивідуальні маси планктонних безхребетних визначають шляхом:

- безпосереднього визначення сирової маси безхребетних (кілька десятків або сотень особин певного виду швидко просушують фільтрувальним папером і зважують на торсійних терезах);

- за стандартними індивідуальними масами організмів (літературні дані);

- розрахунковим способом, що базується на застосуванні співвідношення між довжиною тіла планктонного безхребетного та його масою. Довжину планктонних безхребетних вимірюють за допомогою окуляр-мікрометра безпосередньо в пробі під мікроскопом і встановлюють масу організмів за формулою:

$$w = g \cdot l^b,$$

де w – маса тіла, мг; g – маса тіла, мг сирової маси за довжини тіла 1 мм; l – довжина тіла організму, мм; b – показник ступеню.

У сучасних гідробіологічних дослідженнях використовують комп'ютерні програми, які враховують індивідуальні параметри планктонних безхребетних та визначають їх масу (наприклад, WaCo – Water Communities, розроблена в Інституті гідробіології НАН України).

Сума чисельності та біомаси усіх виявлених видів організмів на пластинці дає чисельність і біомасу планктонних безхребетних у тому об'ємі проби, який був взятий для дослідження (0,5 чи 1 см³). Статистично доцільно проводити повторні підрахунки кількох порцій (не менше 2-3) однієї проби.

Розрахунок кількісних показників (чисельності та біомаси) зоопланктону представляють у перерахунку на одиницю об'єму води (м³).

При відбиранні проб зоопланктону якісною планктонною сіткою Апштейна кількісні показники зоопланктону в 1 м³ розраховуються за формулою:

$$X = n \cdot 1000 / v ,$$

де X – чисельність або біомаса зоопланктону в 1 м³ (екз/м³ або г/м³); n – чисельність або біомаса зоопланктону в пробі; v – об'єм профільтрованої води в літрах.

При відбиранні проб зоопланктону кількісною сіткою кількісні показники зоопланктону в 1 м³ обчислюють за формулою:

$$X = n \cdot 1000000 / \pi \cdot R^2 \cdot h ,$$

де X – чисельність або біомаса зоопланктону в 1 м³ (екз/м³ або г/м³); n – чисельність або біомаса зоопланктону в пробі; R – радіус вхідного отвору сітки, см; h – висота обловленого стовпа води, см.

Питання для самоперевірки.

1. Назвіть прилади для відбирання проб зоопланктону.
2. Які консерванти використовують для фіксації проб зоопланктону?

3. У чому полягає суть експрес-методів визначення біомаси зоопланктону?
4. У чому полягає суть підготовки проб до камерального опрацювання?
5. У чому полягає суть камерального опрацювання проб?
6. Як визначають біомасу зоопланктону?

Використана література

1. *Жадин В.И.* Методы гидробиологического исследования / Жадин В.И. – М.: Высшая школа. – 1960. – 191 с.
2. *Киселев И.А.* Планктон морей и континентальных водоемов. – Л.: Наука, 1969. – Т. 1. – 658 с.
3. *Кожова О.М., Мельник Н.Г.* Инструкция по обработке проб планктона счетным методом. – Иркутск, 1978. – 51 с.
4. *Кражан С.А., Хижняк М.И.* Природна кормова база рибогосподарських водойм. Херсон: Олді-плюс, 2011. – 330 с
5. *Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод*/О.М. Арсан, О.А. Давидов, Т.М. Дьяченко та ін.; За ред. В.Д. Романенка. – НАН України. Ін-т гідробіології. – К.: ЛОГОС, 2006. – 408 с.
6. *Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зоопланктон и его продукция*/Под. ред. Г.Г.Винберга и Г.М.Лаврентьевой. – Л., 1982. – 33 с.
7. *Ривьер И.К.* Зоопланктон и нейстон // Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. – М.: Наука, 1975. – С. 138–157.
8. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений* / Под ред. В.А.Абакумова. – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – 239 с.

Визначники планктонних безхребетних

1. *Боруцкий Е.В., Степанова Л.А., Кос М.С.* Определитель Calanoida пресных вод СССР. – С.-П.: Наука, 1991. – 504 с.
2. *Киселев И.А.* Планктон морей и континентальных водоемов. – Л.: Наука, 1969. – Т. 1. – 658 с.
3. *Кутикова Л.А.* Коловратки фауны СССР. – Л.: Наука, 1970. – 744 с.
4. Мануйлова Е.Ф. Ветвистоусые рачки фауны СССР. – Л.: Наука, 1964. – 328 с.
5. *Монченко В.І.* Щелепнороті циклопоподібні, циклопи (Cyclopidae) // Фауна України. – К.: Наук. думка, 1974. – Т. 27, Вип. 3. – 452 с.
6. *Определитель организмов пресных вод СССР. Пресноводная фауна. Пресноводная Calanoida СССР* /Подред. А.Л.Бенинга, Л.С.Берга. –Л., 1930. – 283 с.

7. *Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР.* – Л.: Гидрометеиздат, 1977. – 510с.
8. *Рылов В.М.* Пресноводные Calanoida СССР. – Л. – 1930. – 288 с.
9. *Рылов В.М.* Cyclopoidea пресных вод // Фауна СССР. Ракообразные. – М.–Л.: Изд-во АН СССР, 1948. – Т. 3, Вып. 3. – 320 с.
10. *Смирнов Н.Н.* Chydoridae фауны мира // Фауна СССР. Ракообразные. – Л.: Наука, 1971. – Т. 1, Вып. 2. – 530 с.
11. *Смирнов Н.Н.* Macrothricidae и Moinidae фауны мира // Фауна СССР. Ракообразные. – Л.: Наука, 1976. – Т. 1, Вып. 3. – 238 с.

10. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ЗООБЕНТОСУ

10.1. Експедиційне обладнання та інструментарій

- дночерпак Петерсена
- дночерпак Ланга
- драга
- гідробіологічний шкребок
- мікробентометр
- сито промивальне
- скальпелі
- ножі
- пінцети
- термометр
- відро пластмасове
- кювети пластмасові чи емальовані
- флакони чи склянки для проб місткістю 200-1000 см³
- склянки з притертими корками місткістю до 200 см³
- пеніцилінові склянки
- чашки Петрі
- формалін

Лабораторні прилади та інструментарій

- мікроскоп стереоскопічний
- мікроскоп світловий
- терези аналітичні
- терези торсійні
- препарувальні голки
- пінцети
- чашки Петрі
- предметні скельця
- накривні скельця
- лінійка
- піпетки мірні і Пастерівські
- циліндри мірні
- склянки мірні
- пробірки з притертими корками
- фільтри і фільтрувальний папір

10.2. Прилади та знаряддя для відбирання проб зообентосу

Відбирання проб донної фауни в основному проводиться на стандартних станціях одночасно з відбиранням інших гідробіологічних проб. Проте необхідно врахувати тип водойми, морфометричні характеристики (характер котловини, розчленованість берегів, типи ґрунтів), швидкість течії, інтенсивність заростання вищими водними рослинами. При цьому мережа станцій повинна охоплювати усі біотопи в кількості, що відповідає їх відсотку від загальної площі водойми і забезпечує можливість статистичного опрацювання одержаних матеріалів. У великих водоймах з вираженою літораллю, затоками та відособленими плесами встановлюють мережу станцій за поперечними розрізами, які враховують різноманітність ґрунтів. На кожному розрізі встановлюють по 3 - 4 станції у кожній зоні: прибережній, центральній, у плесах та затоках.

У водоймах площею до 100 га з мулистими ґрунтами встановлюють 4 - 5 на поздовжній осі від греблі до вершини. У водоймах площею 1 - 20 га – по розрізах – водонапуск (вершина), середина і водовипуск (гребля). Кожна проба складається з 2 - 5 виїмок. Кількість станцій може бути меншою чи більшою залежно від ступеня неоднорідності водойми та мети дослідження.

Станції на великих водоймах відмічають буйками, береговими мітками чи за допомогою навігаційних секстантів. Впровадження в практику гідробіологічних досліджень сучасних GPS та ГІС

технологій, дозволяє вирішувати питання визначення координат на новітньому рівні.

Усі знаряддя і прилади для відбирання проб зообентосу поділяють на якісні й кількісні (рис. 10.1).

Для якісного збору зообентосу використовують ручну сітку, шкребки, драги, трали та бентометри (ДСТУ ISO 7828-1985, IDT). Ручна сітка являє собою металевий обруч різної форми з пришитим до нього мішком з млинового газу. Його застосовують для збору імаго і лялечок комах з водяних рослин. *Шкребки* відрізняються від сачків наявністю ножа на одній зі сторін обруча. Істотним їх недоліком є пошкодження безхребетних при зішкрябанні. *Драги і трали* представляють собою металеву рамку різної форми з прикріпленим до неї тросом і мішком з млинового газу. У драг рами більш важкі і так, як плуг, вони зариваються в ґрунт. Рами трала більш легкі й ковзають по ґрунту. За формою рами розрізняють драги трикутні, чотирьохкутні та овальні. Рами тралів схожі на санчата, вони підтримують мішок над ґрунтом, а ґрунт і організми загрибаються переднім краєм нижньої сторони мішка, до якого прикріплений відрізок сталевого чи капронового троса або ланцюга.

Бентометр – це прямокутний каркас, три бічні сторони якого обтягнуті млиновим газом, а до четвертої прикріплений півтораметровий мішок. Він призначений для збору бентосних безхребетних на мілководних кам'янистих субстратах річок (каміння, галька і пісок).



1



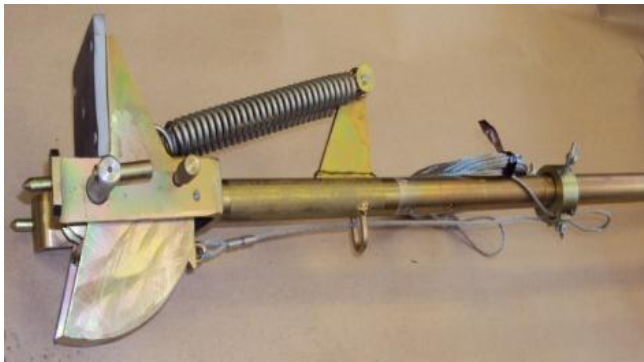
2



3



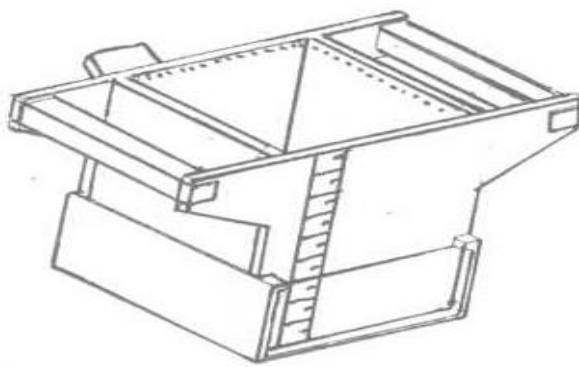
4



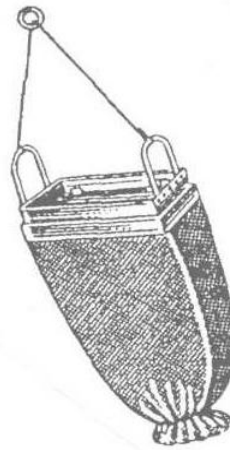
5



6



7



8

Рис. 10.1. Дночерпачі: 1 – автоматичний коробчатий 2 – стратифікаційний; 3 – Заболоцького; 4-5 – штангові; 6 – Петерсена; 7 – універсальний пробовідбірник; 8 – драга.

До кількісних знарядь збору бентосу відносяться рамки (для збору малорухливих і великих організмів), дночерпачі (для виїмки ґрунту з організмами з певної площі) та пробовідбірники (для підводних робіт за наявності водолазної техніки).

Рамки є дерев'яні та металеві, площею 0,25 - 1 м². Використовують на мілководних ділянках для відбирання переважно молюсків. Рамку опускають на дно і руками вибирають молюски.

Дночерпачі є різних конструкцій:

- штангові – прямокутної або циліндричної форми з утримувачем для штанги або жердини. Дночерпач опускають у воду й занурюють у ґрунт. Він захоплює моноліт ґрунту, після чого його піднімають на поверхню. Площа захоплення дночерпача цього типу – 1/100м². Штангові дночерпачі застосовують лише на глибинах, які не перевищують довжину штанги й рекомендовані для малих водойм. Крім цього може бути використаний трубчатий штанговий дночерпач системи Мордухай-Болтовського з площею захоплення 1/185 – 1/250 м²;

- тросові дночерпачі використовують у глибоких водоймах з мулистим дном; вони також є різної форми: коробковий дночерпач типу Екмана-Берджа з площею захоплення 1/25-1/40 м². Це прилад з міцними стальними пружинами легко приводиться в дію простим підняттям рукоятки, що піднімає щоки приладу. Зачиняють дночерпак за допомогою посиленого вантажу, який ударяє по спусковому механізму, який звільняє

пружини. На дуже м'яких і глибоких мулах використовують дночерпач Боруцького з високим коробом і великою масою (6кг) для забезпечення глибокого занурення приладу в ґрунт. Секційний дночерпак з робочою поверхнею 100 см², дає можливість пошарового відбору ґрунту.

- ковшові дночерпачі найбільш поширені. Це перш за все дночерпач Петерсена у різних модифікаціях з площею захоплення 1/10, 1/40, 1/100 м². При роботі на великих глибинах до нього прикріплюють чавунні або свинцеві пластинки для збільшення маси приладу. При роботі з такими дночерпачами слідкують за швидкістю занурення. У разі швидкого занурення на рідких мулах прилад розмиває ґрунт і руйнує організми.

Універсальний пробовідбірник (УП) застосовується при водолазних методах відбирання проб бентосу і перифітону. Він сконструйований в Інституті гідробіології НАН України. Використання аквалангів надає дослідникові ряд переваг – дозволяє візуально оцінити біотопічну ситуацію у водоймах та безпосередньо контролювати якість відбирання проб. Він складається з короба, виготовленого із органічного скла, або пластмаси розміром основи 10^x10 см з ножем із нержавіючої сталі з одного боку та сітчастим мішечком з другого. На боковій стінці корпусу, висота якої може варіювати в залежності від потреб дослідження і вимог дослідника, закріплена сантиметрова шкала-лінійка, що дозволяє регулювати глибину занурення пробовідбірника в субстрат. Для полегшення роботи на стінках

корпусу укріплені ручки. У нижній частині на двох протилежних сторонах корпусу вирізані пази. Після занурення пробовідбірника у субстрат під ніж підводиться совок, що виконує функцію кришки. Верхні краї його бокових стінок загнуті до середини. Пересуваючись в пазах коробка, кришка-совок забезпечує щільне замикання нижньої частини пробовідбірника. Запропонована модель добре зарекомендувала себе в роботі на ґрунтах з різними фізичними характеристиками – від рідких мулів до гальки та щебеню.

10.3. Методи опрацювання проб зообентосу

Опрацювання бентосних проб складається з кількох етапів:

- відмивання проби від м'якого ґрунту
- вибирання організмів
- визначення кількісних характеристик: підрахунок, вимірювання, зважування
- визначення таксономічного складу

Відмивання проби. Відібрану пробу ґрунту з організмами перш за все відмивають від м'якого ґрунту. Для цього пробу з дночерпака розвантажують у відро, велику миску (таз) або відразу в промивальне сито (округлий мішок із капронового сита №19 - 23 пришитий до квадратної чи круглої рами). Під час розвантаження проби у відро чи миску її переносять у промивальне сито, яке може бути укріплене у станку на березі, на борту судна чи за бортом.

Промивати пробу можна у самій водоймі коливальними рухами, а також опускати на мотузці за борт на половину глибини мішка. Після промивання залишок ґрунту з організмами поміщають у склянку, консервують 4 - 10% формаліном і прикріплюють етикетку з відповідною інформацією щодо водойми, станції, системи дночерпача, площу захоплення, кількості взятих дночерпачів тощо.

Вибирання організмів. Розбирання відмитої проби рекомендують проводити у польових умовах до фіксації. У цьому випадку живі організми помітніші й легше вибираються. Відмиту пробу частинами переносять у емальовану білу кювету, організми вибирають пінцетом, тонким загнутим шпателем чи піпеткою. Процес вибирання контролюють лупою. Якщо відмитого матеріалу проби небагато, то його частинами поміщають у чашку Петрі, додають невелику кількість води. Своєю присутністю у пробі живі організми видають переміщенням, коливальними рухами, що полегшує їх вибирання. Вибрані організми поміщають в інші чашки Петрі під бінокулярний мікроскоп чи лупу і розбирають за групами: п'явки, олігохети, нематоди, турбеллярії, гуллястовусі раки, водні кліщі й павуки, клопи, личинки хірономід, волохокрилець, бабок, одноденок, веснянок, жуків, дорослі жуки, клопи, молюски тощо. Усі виявлені у пробі великі систематичні групи поміщають у окремі пробірки, пеніцилінові склянки чи бюкси, фіксують 10% формаліном і прикріплюють етикетку. Оскільки формалін руйнує

черепашки молюсків та хітиновий панцир ракоподібних, їх поміщають в окремі склянки з 70%-ним спиртом.

При великій кількості організмів у пробі застосовують метод флотації (спливання): пробу частинами поміщають у насичений розчин кам'яної солі (NaCl). Усі організми, окрім молюсків і олігохет, спливають на поверхню і їх вибирають маленьким газовим сачком. Зібрані організми відмивають від солі, а ґрунт переглядають з лупою чи під біноклярним мікроскопом у чашках Петрі.

Якщо проба взяти з піщаного ґрунту, то її переносять спочатку у велику миску і кілька разів відмивають (до світлої води): додають до половини миски води, розкручують рукою або палицею і швидко зливають у промивальне сито. У ситі концентруються живі організми і завислі речовини, які переносять у кювету для вибирання. Ґрунт, що залишився в мисці, переглядають і вибирають решту організмів. Окремі камінці, фрагменти деревини також переглядаються окремими порціями. Великі рослинні залишки проглядаються на наявність епі- та інфауни (форми, що поселяються у тканинах рослин).

Визначення таксономічного складу. Усі виявлені систематичні групи безхребетних визначають до виду візуально (великі молюски, раки) або під біноклярним мікроскопом за визначниками. Визначення видової приналежності гідробіонтів вимагає знання систематики та морфології видів, причому дослідники звичайно спеціалізуються на певних систематичних групах донних

безхребетних. Надалі складаються списки виявлених видів, визначається видова структура, яку характеризують кількісне та якісне співвідношення різних видів.

Визначення кількісних характеристик. У кожній систематичній групі підраховується загальна кількість тварин, проводиться їх вимірювання і визначення маси. Підрахунок організмів можна проводити у чашках Петрі, дно яких розграфлене на квадрати. Вимірювання організмів (довжина в мм) необхідне для характеристики вікового складу кожної систематичної групи. У личинок хірономід для визначення вікової стадії вимірюють ширину головної капсули.

Визначення маси організмів проводять після їх обсушування на фільтрувальному папері до зникнення мокрих слідів. Залежно від величини організмів їх зважують на торсійних, аптекарських або технічних терезах з точністю до 0,01 г терезах. Личинки волохокрильців зважують окремо від їх хатинок. Точні розрахунки біомаси (фіксація змінює масу організмів) проводять за формулами співвідношення довжини тіла та маси організмів, які є специфічними для представників різних таксономічних груп.

Підрахунок чисельності та біомаси зообентосу проводять за

формулами:

$$\frac{S}{N} \times n = \text{екз} / \text{м}^2$$
$$\frac{S}{N} \times P = \text{г} / \text{м}^2$$

де S – площа захоплення дночерпача (м²);

N – кількість дночерпачів (виємок);

n – кількість організмів, виявлених в пробі (екз);

P – маса організмів (г або мг).

Отримані дані щодо чисельності та маси кожної таксономічної групи додаються і визначається загальна чисельність і біомаса організмів у пробі. Отримані величини перераховуються на квадратний метр площі дна (табл.10.1).

Таблиця 10.1.

Картка опрацювання проб зообентосу

Групи та види організмів	Кількісні характеристики			чисельність, екз/м ²	маса, г/м ²
	чисельність, екз.	маса, мг (г)	розмір організмів, мм		
Лич. хірономід	1	0,029	20	50	1,45
Лич. хірономід	10	0,036	10	500	1,80
Лич. хірономід	10	0,021	6	500	1,05
Олігохети	2	0,035		100	1,75
Всього	23	0,121		1150	6,05

Такі картки із записами результатів опрацювання проб є матеріалом для різних розрахунків, порівнянь, узагальнень за складом, кількістю і розподілом донної фауни, визначення ролі окремих видів у складі донної фауни тощо.

Питання для самоперевірки

1. Назвіть прилади для відбирання проб зообентосу.
2. Які консерванти використовують для фіксації проб зообентосу?
3. У чому полягає суть підготовки проб до камерального опрацювання?
4. У чому полягає суть камерального опрацювання проб?
5. Як визначають біомасу зообентосу?

Використана література

1. *Жадин В.И.* Методы гидробиологического исследования. – М.: Высшая школа. – 1960. – 191 с.
2. *Кражан С.А., Хижняк М.И.* Природна кормова база рибогосподарських водойм. Херсон: Олді-плюс, 2011. – 330 с.
3. *Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод/О.М. Арсан, О.А. Давидов, Т.М. Дьяченко та ін.; За ред. В.Д. Романенка.* – НАН України. Ін-т гідробіології. – К.: ЛОГОС, 2006. – 408 с.
4. *Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах: Зообентос и его продукция / Под ред. Г.Г. Винберга, Г.Н. Лаврентьевой.* – Л.: ГосНИОРХ, 1984. – 51 с.
5. *Панкратова В. Я., Балушкина Е. В.* Зависимость массы тела от длины и интенсивности обмена от массы тела у личинок хирономид. – Основы изучения преснов. экосистем. – Л.: Наука, 1981. – С. 92-97
6. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений / Под ред. В.А.Абакумова.* – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – 239 с.
7. *Унифицированные методы исследования качества вод: Методы биол. анализа вод.* – М.: СЭВ, 1976. – Ч. 3. – 186 с.
8. *Харченко Т. А., Ляшенко А. В., Бойко С. Е.* К методикам изучения бентоса // Гидробиол. журн. – 1988. – 24, № 5. – С. 76-81.
9. *Цалолыхин С. Я.* Зависимость между длиной тела и весом у пресноводных нематод/ Основы изучения пресноводных экосистем. – Л.: Наука, 1981. – С. 105–106.

Основні визначники прісноводних безхребетних

1. *Жадин В.И.* Жизнь пресных вод. – Изд-во АН СССР, 1940. – 460 с.
2. *Жадин В.И.* Моллюски пресных и солоноватых вод СССР. – М., Л.: Изд-во АН СССР, 1952. – 376 с.
3. *Мордухай-Болтовской Ф.Л.* О методике количественного учета фауны во временных водоемах и периодически затопляемых зонах водохранилищ // Тр. биол. ст. Борок. –1955. – Вып. 2. – С. 393-405.
4. *Мордухай-Болтовской Ф.Л.* Каспийская фауна Азовско-Черноморского Бассейна. –М.: Изд-во АН СССР, 1960. – 281с.
5. *Определитель личинок комаров семейства Tendidae/Чекановский А.А.* – Изд-во АН СССР, 1949. – 185 с.
6. *Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР.* – Л.: Гидрометеиздат, 1977. – 510с.
7. *Определитель свободноживущих пресноводных веслоногих рачков СССР и сопредельных стран по фрагментам в кишечнике рыб / Боруцкий Е.В.* – М.: Изд-во АН СССР, 1960. – 422 с.
8. *Определитель фауны Черного и Азовского морей в трех томах. Т. 2. Свободноживущие беспозвоночные ракообразные.* – К.: Наук, думка, 1969. – 398 с.

9. *Панкратова В.Я.* Личинки и куколки комаров подсемейства Orthoclaninae фауны СССР (Diptera, Chironomidae = Tendipedidae). – Л.: Наука, 1977. – 343 с.
10. *Попова А.Н.* Личинки стрекоз. Изд-во АН СССР, 1953. – 231 с.
11. *Чекановская О.В.* Водные малощетинковые черви фауны СССР. Изд-во АН СССР, 1962. – 410 с.
12. *Фауна СССР.* Т. 3. Вып. 3. Ракообразные. Cuscleroidea пресных вод/ Под ред. Е.Н.Павловского. Изд-во АН СССР, 1960. – 354 с.
13. *Фауна СССР.* Т. 2. Вып. 1-2. Ручейники / Лепнева С.Г. М.,Л.: Наука, 1964. – 562 с.
14. *Фауна України.* Т. 30. П'явки/Лукін Е.І. – К.: Вид-во АНУРСР. –1962. – 396 с.
15. *Фауна Украинм.* - К.: Наук. думка, 1974. – 482 с.
16. *Фауна України.* – К.: Наук, думка, 1983. – Т. 24. – 113 с.

11. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ПЕРИФІТОНУ

11.1. Експедиційне обладнання та інструментарій

- гідробіологічний шкребок
- універсальний пробовідбірник
- скальпелі
- ножі
- пінцети
- термометр
- диск Секкі
- сачок для промивання проб
- відро пластмасове чи емальоване
- пластмасові чи металеві кювети
- флакони чи склянки для проб місткістю 200 см³
- склянки з притертими корками місткістю до 200 см³
- чашки Петрі
- формалін

Лабораторні прилади та інструментарій

- мікроскоп стереоскопічний
- мікроскоп світловий
- камери Нажотта, Богорова або лічильні пластинки
- окуляр-мікрометр, об'єкт-мікрометр
- терези аналітичні
- терези торсійні
- електрична плитка з закритою спіраллю
- препарувальні голки
- пінцети
- чашки Петрі
- годинникові скельця
- предметні скельця
- накривні скельця
- піпетки мірні й пастерівські
- циліндри мірні, склянки мірні, пробірки з притертими корками
- штемпель-піпетки
- сифони скляні з гумовими грушами
- гумовий шланг діаметром 0,5-1 см
- фільтри і фільтрувальний папір

11.2. Методи відбирання і опрацювання проб перифітону

Вивчення перифітону проводять на загальних встановлених гідробіологічних станціях та на характерних для розвитку цих угруповань біотопах. Не підходять для проведення спостережень станції поблизу різких берегових схилів, безпосередньо на урізі води, або ділянки затінені макрофітами.

Для досліджень перифітону використовують методи прямого відбирання проб з природних та штучних субстратів та методи експериментальних субстратів. Експериментальний субстрат це різні тверді поверхні природного або штучного походження, спеціально підготовлені, що використовуються для вивчення обростань.

11.2.1. Методи прямого відбирання проб перифітону з природних субстратів

Методи прямого відбирання проб перифітону передбачають вилучення усіх організмів з поверхні різноманітних твердих субстратів, що знаходиться у воді. При цьому самі субстрати можуть бути вилучені з води (макрофіти, каміння) та знаходитися у воді (бетонні укріплення берегів, скелі, сваї, пірси, хвилеломи тощо). У першому випадку проби перифітону відбираються після вилучення предметів, у другому – під водою.

При прямих відбираннях проб перифітону використовують спеціальні інструменти – різноманітні пробовідбірники і гідробіологічні шкребки, а також ножі, пінцети, скальпелі.

Гідробіологічний шкребок представляє собою мішок з густого млинарського сита № 30 - 40 прикріплений до металевого обруча, який закріплюється на довгу дерев'яну ручку. Протилежний до кріплення край обода – заточена під гострим кутом до повздовжньої осі пластина-лезо завширшки 5-6 см. Шкребком відбирають пробу завглибшки 50-100 см.

Універсальний пробовідбірник, розроблений в Інституті гідробіології НААН, описаний в розд. 10.

Пробовідбірник Ковешникова – це квадратна рамка зі стороною 0,2 м з металеві смуги шириною 0,04 м, обладнана ручкою-жердиною (рис.11.1).

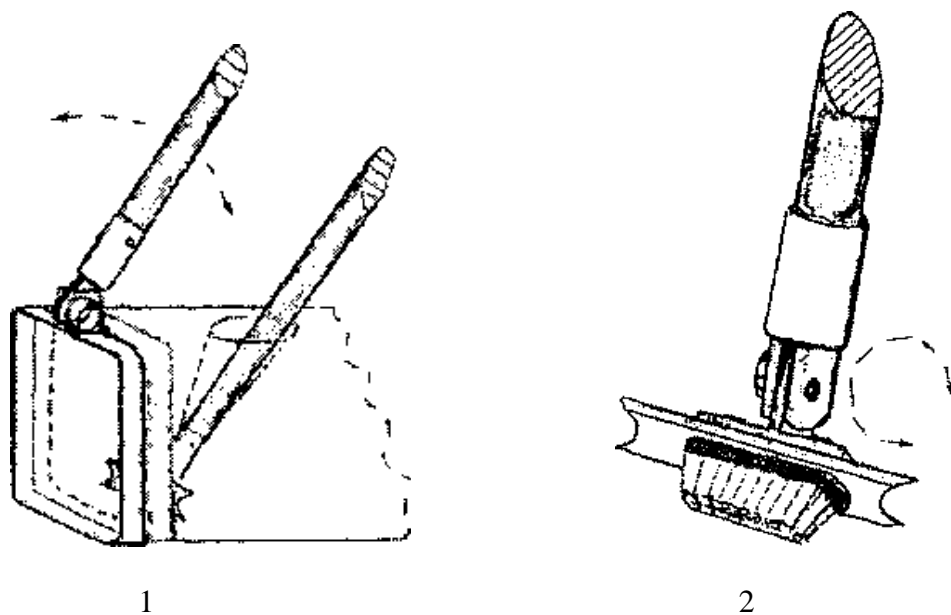


Рис. 11.1. Пробовідбірник Ковешникова: 1 – загальний вигляд; 2 – шкребок.

Жердина фіксується під різним кутом до рамки. До рамки прикріплений мішок завдовжки 1,7 м з капронового млинарського сита № 30-40. Мішок зшитий за типом дрифтової сітки: на відстані 0,7 м від рамки він звужується, а останні 0,05 м являють собою склянку для збору матеріалу. Через 0,15 м від рамки у сито вшитий внутрішній рукав довжиною 0,16 м. Через рукав, зафіксований на його ручці, в пробовідбірник вставлений шкребок. Шкребок складається з леза і щітки, закріплених на дерев'яній ручці. Шкребок і ручка рамки знімаються.

При дослідженні перифітону з великих валунів, скель, залізобетонних споруд, пробовідбірник однією рукою притискають до субстрату, а іншою рукою внутрішнім скребком ретельно очищають обмежену частину обростань, які зносяться у мішок пробовідбірника. Наявність щітки на шкребку дозволяє без пошкоджень зібрати рухливих тварин (і тих, що знаходяться в щілинах); потім поворотом ручки шкребка в дію приводиться лезо, яке зішкрябає з поверхні щільно прикріплені організми. Весь відібраний матеріал вибирають з мішка і фіксують. Модель цього пробовідбірника багатofункціональна, замінює різні знаряддя лову та може бути використана для відбирання кількісних і якісних проб макрозообентосу.

Пробовідбірник можна використовувати і як дрифтову сітку. Для цього прибирають шкребок і закривають внутрішній рукав. Рамку пробовідбірника з мішком встановлюють в потоці на заданій глибині і закріплюють як звичайну дрифтову сітку. Для збору

якісних проб зообентосу пробовідбірник (з закритим внутрішнім рукавом і зафіксованою ручкою) використовують як сачок або драгу: рамку пробовідбірника опускають на дно водотоку і за допомогою дерев'яної ручки проводять по дну.

Для отримання порівнюваних результатів на різних створах і станціях проби перефітону відбирають на однакових субстратах. Найбільш придатними для відбирання проб є нейтральні субстрати – каміння, бетонні споруди, макрофіти. Дерев'яні субстрати, які піддаються гниттю і утворюють своєрідний біоценоз, не рекомендують використовувати для відбирання проб.

На місці відбирання проб дають візуальну оцінку обростанням, яка зводиться до визначення таких основних характеристик:

- 1 – різноманіття (наліт, плівка, шар, кірка, наріст, бахрома, пасма ниткуватих водоростей тощо);
- 2 – консистенція (пухкі, щільні, шкірясті, вапняної структури, ватоподібні); характер
- 3 – потужність (ніжні, грубі, слабкі, тонкі, товсті);
- 4 – колір;
- 5 – розподіл (гетерогенне мозаїчне, рівномірне, одноманітне, в прибережжі, на глибині, в проточних чи застійних зонах);
- 6 – характеристика води (колір, каламутність, характер зависей, ознаки забруднення тощо);
- 7 – тип субстрату;
- 8 – наявність макроскопічних організмів (ниткуваті водорості, молюски, губки);

9 – визначають проективне покриття кожного типу обростань у відсотках від загальної площі субстрату

11.2.2. Методи відбирання і опрацювання проб перифітону з вилученням субстратів

Відбирання проб обростань на фрагментах повітряно-водних рослин проводять зі стебел. Фрагменти вищих водяних рослин зрізають під водою і поміщають у широкогорлі склянки об'ємом 100-500 см³, заливають водопровідною водою. У рослин з плаваючими листками проби відбирають з листків і стебел (площа 10-15 см², сира маса – 5-20 г) шляхом їх змивання м'якою щіточкою у невеликій кюветі з водою чи у склянці. Обростання з занурених рослин знімають з усієї рослини у склянці з водою, використовуючи м'яку щіточку з одночасним полосканням (рослину з склянки після полоскання виймають). Усі зібрані проби перифітону консервують 4% розчином формаліну у співвідношенні 1:10, нумерують, прикріплюють етикетку (зазначають порядковий номер, дату, короткі відомості щодо станції, субстрату тощо).

Камеральне опрацювання. У лабораторії, пробу з фрагментом рослини виливають у чисту пластикову ємкість, колонковим пензликом обережно змивають обростання, змив зливають у склянку, де раніше була проба. Об'єм змиву залежно від кількості водоростей в епіфітному угрупованні може коливатися в межах 25–100 см³.

Під мікроскопом переглядають поверхню фрагментів рослини для встановлення відсутності епіфітів, потім підсушують фільтрувальним папером і зважують для визначення сирої маси рослин. При можливості визначають площу фрагменту (за допомогою міліметрового паперу). Після висушування визначають повітряно-суху чи абсолютно суху маса зразка рослини, з якої були змиті водорості.

Систематичний склад та кількісні показники епіфітних угруповань водоростей визначають мікроскопічним методом (як камеральне опрацювання планктонних водоростей) за відповідними визначниками.

Розрахунок чисельності водоростей в епіфітних угрупованнях проводять за формулою:

$$N = n \times V_0 / V_1 \times m$$

де, N – кількість водоростей на 1 г сирої або сухої маси рослини (кл/г);
 n – кількість клітин водоростей, визначених на всій лічильній пластині; якщо підрахунок виконаний на частині пластини, то вводиться відповідний коефіцієнт;
 V_0 – об'єм проби (см^3);
 m – суха або сира маса зразка рослини, з якої змиті водорості (г);
 V_1 – об'єм переглянутої проби, відібраної штемпель-піпеткою (тобто $0,1 \text{ см}^3$).

Біомасу епіфітних водоростей розраховують згідно розрахунків біомаси планктонних водоростей.

Для вивчення епіфітних бактерій зрізані фрагменти рослин поміщають у стерильні склянки і заливають стерильною

водопровідною водою, консервують і в лабораторних умовах опрацюють згідно методики опрацювання бактеріопланктону.

Каміння – це нейтральний субстрат для відбирання проб. За можливості проби відбирають з каміння діаметром 10 - 15 см, причому на одній ділянці повинно бути не менше п'яти каменів. Якщо каміння дрібне, то його беруть більше. Каміння вилучають з води, поміщають у кювету з 25 - 100 дм³ водопровідної води і дають візуальну оцінку обростанням. На субстраті відмічають певну площу і вилучають з неї усі організми разом з детритом і ниткуватими водоростями за допомогою скальпеля, ножа, пінцета чи зубної щітки. Після цього визначають площу поверхні субстрату, де відібрали пробу. За слабого розвитку перифітону, коли обростання представлені ледь відчутним на дотик слизовим нальотом, слід використовувати зубну щітку, яку потрібно ретельно обполіскувати в склянці з невеликою кількістю води.

Вилучений матеріал поміщають у склянку з водою, консервують 4% розчином формаліну, нумерують і прикріплюють етикетку з відповідною інформацією.

Для вивчення проб у «живому вигляді» склянки з обростаннями заливають водою з таким розрахунком, щоб кількість повітря над пробною становила не менше половини об'єму склянки. Опрацювання проб проводять безпосередньо після відбирання або протягом 6 год після відбирання за умови зберігання за температури 5-10 °С (сумка-холодильник). Для отримання репрезентативних даних проби відбирають у тричі.

Камеральне опрацювання. У лабораторії відібрані проби з банок переливають у чашки Петрі й проводять первинне опрацювання: великі організми відбирають в окрему склянку і консервують. Їх ідентифікацію можна провести дещо пізніше (ідентифікацію та кількісні показники визначають згідно методики опрацювання бентосних проб). Чашку Петрі з рештою матеріалу переглядають під стереоскопічним мікроскопом. Мікроскопічні організми, що вимагають прижиттєвого вивчення (найпростіші, коловертки), відловлюють пастерівською піпеткою з витягнутим носиком, переносять на предметне скло, роблять препарат, фарбують метиленовим синім (нейтральним червоним) і визначають видову приналежність за відповідними визначниками.

Рослинний склад перифітону можна визначати в «живій» (жгутикові, вольвоксові, евгленові) і фіксованій пробі. Пробу переглядають до того часу, поки перестануть зустрічатися нові види.

Паралельно з визначенням видового складу перифітону оцінюють частоту зустрічності (h) кожного виду за окомірною шкалою:

- 1 - одинично (одиничні екземпляри в пробі),
- 2 - дуже рідко (кілька примірників в препараті),
- 3 - рідко (у небагатьох полях зору),
- 5 - нерідко (не у всіх полях зору),
- 7 - часто (у кожному полі зору),
- 9 - дуже часто (у кожному полі зору багато).

Масовими видами вважаються такі, кількість яких за окомірною шкалою становить 5-9 балів. Ця шкала використовується при розрахунках індекса сапробності.

Методи відбирання проб перифітону без вилучення субстрату із води (гідротехнічні споруди, скелі). З металевих та гідротехнічних підводних споруд, скель, бетонних укріплень берегів проби перифітону відбирають з берега, човна або під водою (за наявності водолазного спорядження), використовуючи шкребки та пробовідбірники різноманітних конструкцій. Вилучений матеріал поміщають у склянку з водою, консервують і прикріплюють етикетку з відповідною інформацією і камерально опрацьовують в лабораторії.

11.2.3. Методи відбирання проб перифітону з штучних субстратів

В основі використання цих методів лежить принцип дослідження формування угруповань перифітону на різноманітних субстратах, що спеціально експонуються у водному середовищі. Відбирання проб з нерівних природних поверхонь достатньо складне, тому на даний час частіше використовують експериментальні штучні субстрати, виготовлені зі скла, пластику, азбесту, бетону, металу, плоских каменів тощо. Найчастіше використовують пластинки обростання зі скла (рис.105).

Штучні субстрати мають ряд переваг: однорідні за розміром, структурою і складом, зручні у використанні, легко встановити точний вік угруповань гідробіонтів і транспортувати в лабораторію, легко організувати дослідження і виконати порівняння у різних

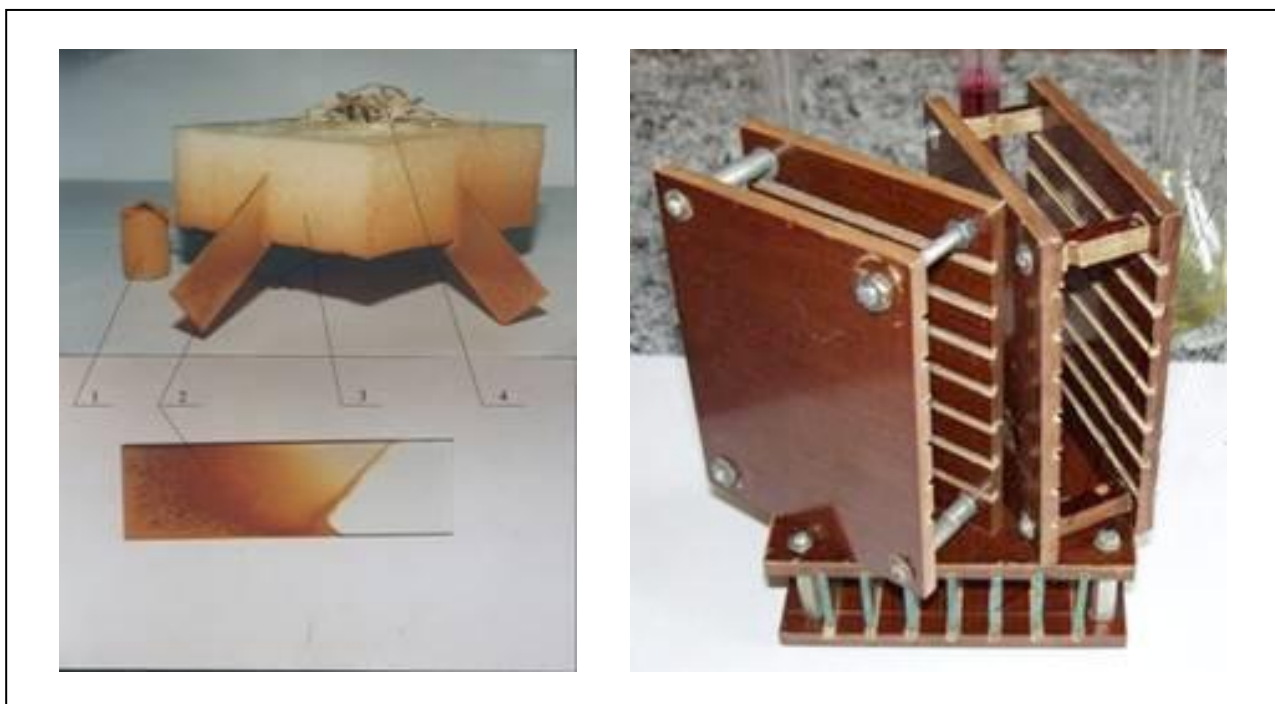


Рис. 11.2. Конструкції для кріплення пластин обростання

водоймах. У деяких випадках у якості субстрату використовують невелике очищене каміння на якому протягом декількох місяців утворюється рівномірне угруповання обростань.

Використання спеціальних конструкцій забезпечують надійну установку у водоймі, осідання на субстрат личинок гідробіонтів і подальший їх розвиток, легкість зняття субстрату для подальшого вивчення у лабораторних умовах. Перефітон на пластинах обростання можна вивчати під мікроскопом «у живому вигляді».

Конструкції з пластинами обростання встановлюють у в фотичній зоні (1/2 глибини прозорості за диском Секкі) та в олігофотичній зоні (подвійна глибина прозорості) водойм.

Тривалість експозиції пластин обростання визначається температурою, трофічним статусом водойми, якістю води об'єкта, пори року. Зазвичай експозиція становить 2 - 4 тижні: в мезосапробних водах – 2 тижні, в олігосапробних – довше, в α-мезосапробних – менше. Тривалий термін експозиції збільшує ймовірність їх втрати та не дає змоги встановити сезонні особливості.

Пластини обростання з конструкцій вилучають обережно, поміщають в широкогорлу банку з водою. У лабораторії проводять поетапне вивчення проби:

- визначають видовий склад і чисельність великих форм організмів (молюски, личинки комах) – скло поміщають у чашку Петрі з водою (вода повинна вкривати скло) і переглядають під мікроскопом;
- визначають видовий склад і чисельність прикріплених безхребетних – обростання зі скла ретельно змивають щіточкою в певний об'єм води і переглядають у камері Богорова або на лічильній пластинці під мікроскопом;
- визначають видовий склад і чисельність прикріплених водоростей – пробу перемішують і переглядають в камері Нажота або на лічильній пластинці під мікроскопом.

11.3. Спеціальні методи опрацювання епіфітних водоростей

Епіфітні угруповання водоростей представлені різноманітним видовим складом, проте у моніторингу стану водних об'єктів у країнах Європи найчастіше використовується не загальний флористичний склад фітопланктону, а діатомовий аналіз. Аналіз діатомових водоростей має переваги у тому, що вони достатньо поширені, добре вивчені, мають високе видове різноманіття, можуть бути виявлені в будь-яку пору року в різних водоймах незалежно від донних відкладів і швидкості течії.

Принципової різниці у відбиранні проб епіфітної флори з природних чи штучних субстратів немає. Проте останнім часом як штучний субстрат використовують матові (нерівні) поверхні – керамічні плитки без глазури, розпущений на окремі волокна поліпропіленовий канат тощо. Для відбирання проб рекомендують використовувати щітку з жорсткою щетиною, яка краще знімає клітини з нерівної поверхні. Після кожної проби щітку ретельно очищають. З жорстких гладеньких поверхонь проби відбирають ножом. Якщо на каменях багато ниткуватих водоростей, то вибирають каміння з найменшою кількістю ниток, обережно розділяють їх руками, а потім щіткою відбирають проби діатомових.

Для проведення діатомого аналізу необхідно виготовити постійні препарати. Перед їх виготовленням рекомендується

швидко оцінити кількість порожніх оболонок діатомових під мікроскопом. Якщо опрацювання проб відбувається відразу ж після їх відбирання, то проби не консервують. Для виготовлення постійних препаратів з проби необхідно провести очищення панцирів діатомових від різних домішок і органічної речовини, яка потрапила під час відбирання проб.

Основні етапи виготовлення препаратів:

1. Відмивання проби від мулу. З профільтрованої через дрібний млинарський газ пробу виділяють фракцію, що містить діатомові водорості. Для цього 10 мл проби переливають у пробірку і відстоюють протягом 1 хв. З дна пробірки, де концентруються діатомові водорості, піпеткою з довгим носиком відбирають 4 мл.

2. Відмивання від консерванта і розчинних солей. Для цього пробу (4 мл) двічі центрифугують з дистильованою водою (4 мл) протягом 5 хвилин (3000 обертів) з наступним обережним відсмоктуванням (або зливанням) верхнього шару рідини.

3. Видалення з проби нерозчинних солей кальцію. Для цього осад заливають 10 % розчином соляної кислотою (2 - 3 мл) і підігривають протягом 7 хв. Після охолодження пробу відмивають повторним центрифугуванням до повного видалення слідів соляної кислоти (за лакмусовим папером) .

4. Спалювання органічної речовини концентрованою сірчаною кислотою – пробу витримують протягом 24 годин в

концентрованої H_2SO_4 з подальшим додаванням дрібних кристаликів біхромату калію до знебарвлення.

Для видалення з проби нерозчинних солей кальцію і спалювання органічної речовини можна використати 30 - 50 % р-н перекису водню. Для цього осад (1 мл) заливають 2-3 мл перекису водню і кип'ячать на водяній бані протягом 1-2 годин. Коли осад повністю знебарвиться, проводять шляхом центрифугування проби 3-4 рази з дистильованою водою. Краплю осаду діатомей наносять на знежирене накривне скло, розподіляючи його на усій поверхні і підсушують. На предметне скло (заздалегідь знежирене, промарковане і нагріте на електроплитці) кладуть кусочок анілін-формальдегідної смоли Ельяшева з показником заломлення 1,67-1,68, злегка підігрівають. Коли смола розплавиться, на неї кладуть покривне скло осадом вниз і легенько притискають для рівномірного розподілу смоли. Надлишок її видавлюється з-під накривного скельця і після охолодження препарату обережно очищають скальпелем або лезом. Наскрізний порядковий номер відповідає номеру в журналі записів відбирання проб, а етикетка повинна бути точною копією етикетки проби. Після виготовлення препарату його переглядають під мікроскопом і визначають таксономічний склад діатомових водоростей.

Питання для самоперевірки.

1. Назвіть прилади для відбирання проб перифітону.
2. Які методи використовують для відбирання проб перифітону?
3. Які характеристики входять до візуальної оцінки обростань?
4. Які консерванти використовують для фіксації проб ?

5. Назвіть спеціальні методи опрацювання епіфітних водоростей.
6. У чому полягає суть підготовки проб до камерального опрацювання?
7. У чому полягає суть камерального опрацювання проб?

Використана література

1. *Методи* гідроекологічних досліджень поверхневих вод/О.М. Арсан, О.А. Давидов, Т.М. Дьяченко та ін.; За ред. В.Д. Романенка. – НАН України. Ін-т гідробіології. – К.: ЛОГОС, 2006. – 408 с.
2. *Методические* рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зообентос и его продукция. – Л., 1983. – 52 с.
3. *Методические* указания по изучению фитомикробентоса и фитоперифитона. О.А. Ковтун, А.А. Снигирева – Одесса: Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, 2012. – 36 с.
4. *Руководство* по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений / Под ред. В.А.Абакумова. – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – 239 с.
5. *Унифицированные методы* исследования качества вод: Методы биол. анализа вод. – М.: СЭВ, 1976. – Ч. 3. – 186 с.
6. *Протасов А. А., Стародуб К. Д., Афанасьев С. А.* Водолазний метод исследования пресноводного перифитона // Гидробиол. журн. – 1982. – № 4. – С. 91–93.
7. *Родина А. Г.* Метод пластинок обрастания // Жизнь пресных вод СССР. – Изд-во АН СССР. – 1956. – 4. – Ч. 1. – С. 28-32.
8. <http://www.voda.na.by/index.files/18.htm>

12. МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ МАКРОФІТІВ ВОДОЙМ

12.1. Експедиційне, лабораторне устаткування та інструментарій для відбирання проб

- човен (весельний, моторний)
- водні грабельки (різні типи)
- якорі
- якорі-кішки
- драги (різні типи)
- заростечерпаки
- рамки (різні типи)
- капронові мотузки
- шпагат
- ножиці, ножі, коса
- фільтрувальний папір
- марля чи бавовняна тканина
- гербарні папки
- пластмасові чи металеві кювети великі
- аналітичні терези
- термостат

12.2. Вивчення структури рослинних угруповань

Вищі водяні рослини залежно від розселення у водоймах та біологічних особливостей (розташування асимілюючих органів по відношенню до дна і поверхні водойми) поділяють на повітряно-водяні (гелофіти), з плаваючими листками (нейстофіти – укоріненні та плейстофіти - неукоріненні), занурені (гідатофіти) (рис. 12.1). Різні екологічні групи ростуть у водоймах на різних ґрунтах і глибинах, розміщуються завжди поясами або зонами: зона низьких і середньовисоких надводних рослин; високих надводних рослин;

рослин з плаваючими листками; високих занурених рослин; низьких занурених рослин.

Зона угруповань низьких і середньовисоких надводних рослин простягається від урізу завглибшки 0,5-0,75 м. До складу входять хвощ річковий, різні види осок, їжачої голівки, стрілолисту, частухи, сусака тощо.

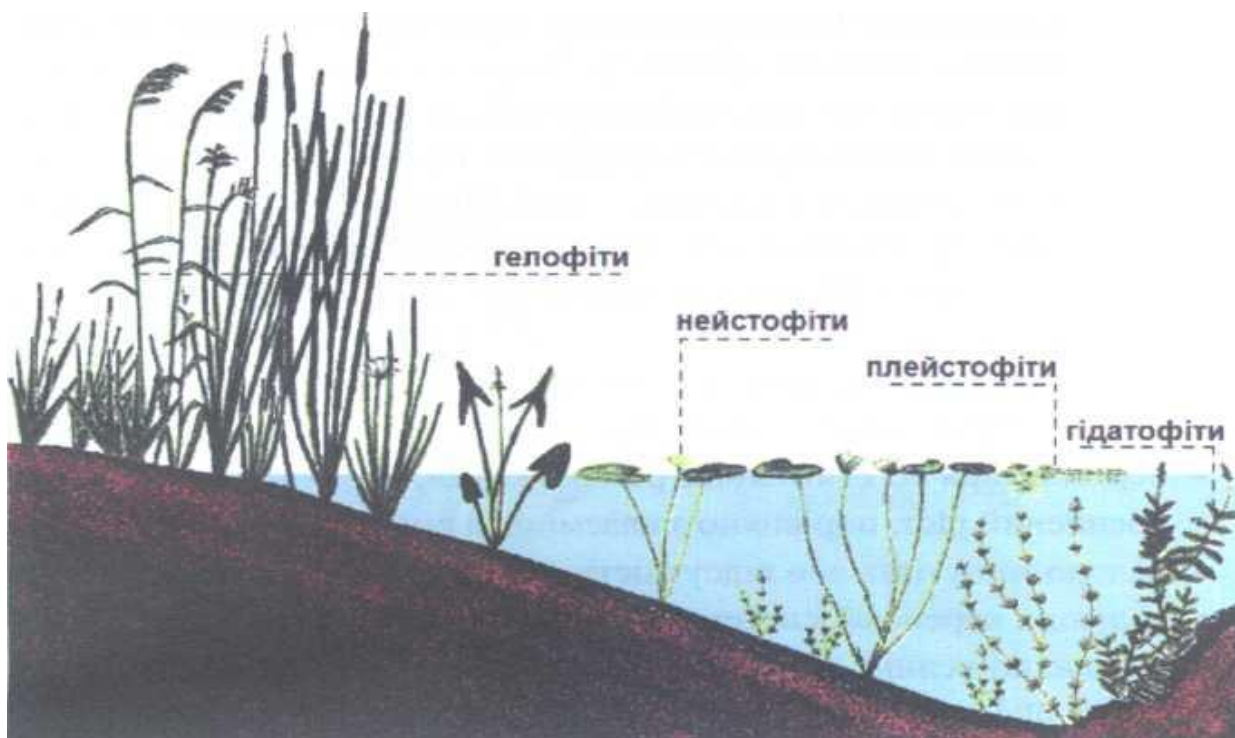


Рис. 12.1. Схема зонального розподілу водних рослин у водоймі

Зона угруповань високих надводних рослин розповсюджена заглубшки 1,5-2 м. Для неї типові зарості очерету, рогозів, комишу озерного та інших гелофітів. Зона угруповань плаваючих рослин розташована біля краю зони високих надводних рослин (з боку відкритого дзеркала водойми) заглубшки 2,5-3 м. Для неї характерні угруповання глечиків, латаття, рдесника плаваючого тощо. Зона угруповань високих занурених рослин розташована

відразу за попередньою завглибшки 3 - 3,5 м. Ця зона складається із угруповань великих рдесників – рдесників блискучого та пронизанолистого, водопериці колосистої тощо. Зона низьких (придонних) занурених рослин тягнеться до нижньої межі розповсюдження рослин. Чіткіше виражена в озерах з прозорою водою і представлена угрупованнями молодильника озерного, лобелії Дортмана, ситнягу голчастого, елодеї канадської, харових водоростей тощо. У водоймах з низькою прозорістю води її немає.

Дослідження водної рослинності у гідробіології проводяться в основному на ценотичному рівні: структурні і функціональні характеристики рослинних угруповань, класифікація рослинності. Вивчення водної рослинності здійснюють на початку вегетаційного сезону (кінець травня - початок червня) та у момент її оптимального розвитку (цвітіння, плодоносіння – липень-початок серпня).

Перед початком роботи з вивчення рослинності водойми рекомендується ознайомитися з літературними даними та картографічними матеріалами, а на великих водоймищах здійснити аеровізуальні спостереження та використати матеріалами аерофото- чи космічної зйомки. Для ознайомлення з характером рослинності та її розподілом проводять рекогносційне обстеження водного об'єкту. Для цього необхідні засоби пересування: весельний або моторний човен (з веслами та якорем) чи катер з надувним гумовим човном для роботи в заростях і жердину довжиною 2-3 м. Під час

роботи на водному об'єкті об'їжджають літоральну зону, на мілководному – всю акваторію із заїздами у затоки.

Після цього на дослідній водоймі відбирають три ділянки з різним рослинним покривом. При цьому спочатку дають характеристику самої водойми, звертаючи увагу на:

- назву і географічне положення водойми
- розмір та глибина водойми
- ступінь захищеності від вітру і хвиль
- прозорість або каламутність води та її колір
- наявність або відсутність течії
- характер берега (пологий, крутий, обривистий)
- фракційний склад ґрунту (пісок, глина, каміння, мул)
- температура повітря та води

Після цього описують водяну рослинність та її зональний розподіл:

- наявність на березі рослинності та її протяжність
- однорідність складу рослинності
- характер розподілу рослинності: кількість ярусів, їх висота та ширина

Опис структури рослинних угруповань проводять на облікових ділянках або на екологічних профілях, які охоплюють усю різноманітність біотопів. Кількість, розмір майданчиків та їх форма залежать від структури травостою, його щільності, однорідності тощо. Оптимальним вважається розмір майданчика, що дорівнює площі, на якій виявляють якомога більше видів фітоценозу (1 - 10 м²). У водних об'єктах з незначною кількістю

біотопів і достатньо однорідною рослинністю достатньо 1 - 2 профілі чи трансекти. У великих водоймах і водотоках зі складним рельєфом берега і високим різноманіттям біотопів профілі чи трансекти прокладають у найбільш показових частинах.

Екологічні профілі зазвичай прокладають за допомогою вимірного шнура з поплавками, що не розтягується при намоканні. Його прокладають під прямим кутом до лінії берега. Напрямок профіля встановлюють за компасом.

Вивчення рослинних угруповань передбачає вивчення вертикальної та горизонтальної структури. У вертикальному розподілі водних рослинних угруповань розрізняють три основні яруси:

- надводний, з під'ярусами за висотою: високих, середньовисоких та низьких надводних рослин
- плаваючий, із листками, що плавають на поверхні води;
- підводний, з під'ярусами за висотою: високих, середньовисоких та маленьких придонних рослин (трав).

Горизонтальна структура враховує характер розповсюдження (поодинокі, групами, плямами, рівномірно) та проективне покриття (площа горизонтальних проекцій рослин на поверхню дна), яке виражають у відсотках від поверхні дослідної ділянки, яку приймають за 100 % (рис.12.2).

Під час маршрутних досліджень широко застосовують окомірне визначення. Якщо рослинністю вкрито більше половини поверхні водойми, говорять про надмірне заростання;

від 1/3 до 1/2 (36 - 50%) поверхні водойми – дуже велике;
 від 1/5 до 1/3 поверхні (21 - 35%) – велике;
 від 1/10 до 1/5 поверхні (11 - 20 %) – середнє;
 від 1/5 до 1/10 поверхні (3 - 10%) – невелике;
 від 1/50 до 1/100 (1 - 2%) – дуже мале.

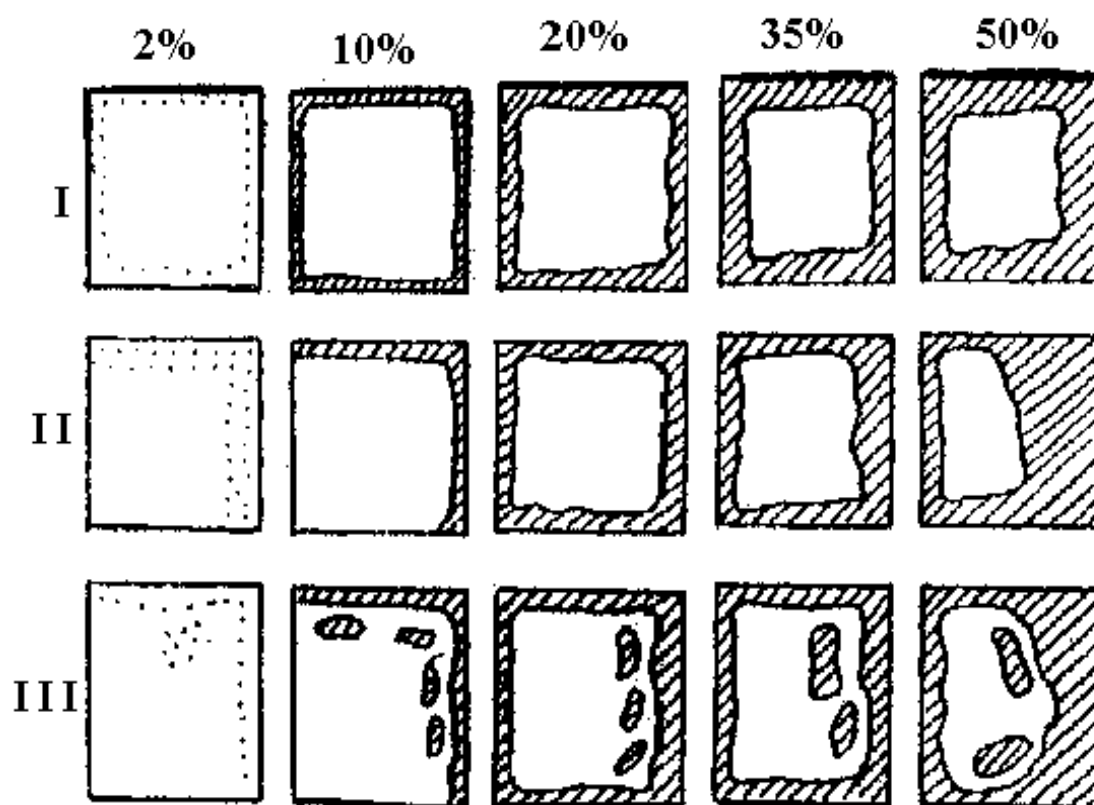


Рис.12.2. Схема заростання рослинністю (I,II, III)
 та площа проєктивного покриття (% від загальної площі водойми)
 I – рівномірне, II – нерівномірне, III – нерівномірне острівне.

Знаряддя для відбирання проб макрофітів розділяють на якісні й кількісні. Для якісного відбирання рослинності у водоймах завглибшки до 2 м використовують водяні грабельки трьох- та шестизубові (рис. 12.3).

Для добування донної рослинності з глибин понад 2 м застосовують якірці-кішки та двосторонні водяні грабельки завдовжки 30-35 см, прив'язані до довгої мотузки. Якірці-кішки –

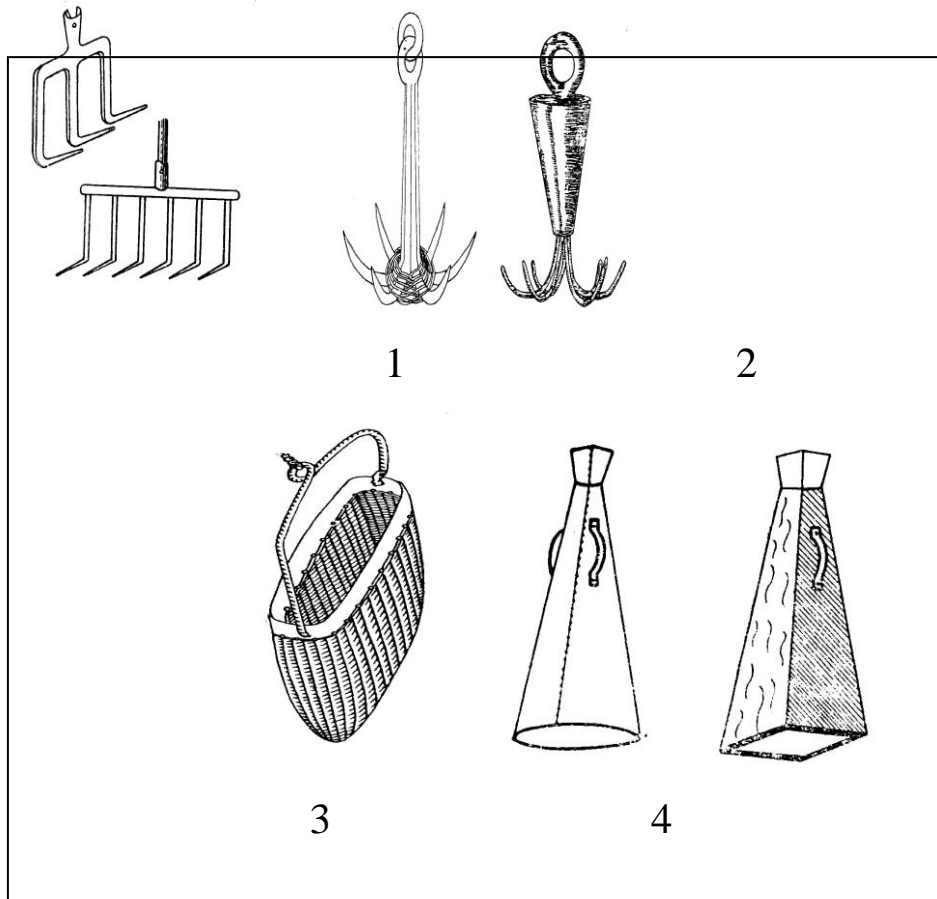


Рис. 12.3. Знаряддя для якісного відбирання проб макрофітів:
1 – водяні грабельки; 2 – якір-кішка; 3 – драга Раменського; 4 – оглядова труба.

це невеликого розміру якірці (10-15 см у висоту разом з петлею) з різною кількістю зубців (3-10) і масою близько 0,5-1 кг. Зубці в них можуть бути різної довжини. Довгі зубці мають чергуватися з короткими. Щоб краще утримати рослини на якірці, рекомендують намотувати на зубці дрід або мотузку.

Драга Раменського має раму овальної форми з мішком. Раму виготовляють із залізної смуги шириною 5-7 см. Довжина рами 35 см, ширина в середній частині 20 см. Ручку висотою близько 15 см з петлею для прив'язування мотузка закріплюють на рамі рухомо на її вузьких кінцях. Біля місця прикріплення ручки до рами роблять спеціальні упори, які дають змогу ручці коливатися лише в межах 45 градусів. На нижньому боці рами є отвори для прикріплення мішка із рідкої тканини. До рами (на верхньому боці) можна приварити зубці довжиною 3-3,5 см, трошки відтягнуті назовні. Щоб краще роздивитися зосередження заростей на дні, використовують оглядову трубу (особливо при неспокійній поверхні води), яка удвічі проти неозброєного ока збільшує ефективність спостереження

Наземну фітомасу найзручніше визначати на облікових діляках чи трансектах завширшки не більш як 0,5 м. Укоси рослинності збирають з площі 0,25, 0,5 і 1,0 м² кількісними знаряддями. Це в основному квадратні чи прямокутні, дерев'яні або металеві, розбірні чи суцільні *рамки*, площею 0,25-1 м² (рис.12.4). Всі види робіт з рамами можливі до глибини не більше 3 м. Залежно від кількісного обліку (підрахунок чисельності, визначення маси) прийоми встановлення рами в різних типах рослинних угруповань різні. При роботі в заростях дрібних придонних рослин на невеликих глибинах (до 1м) раму накладають на дно й накладають на рослини.

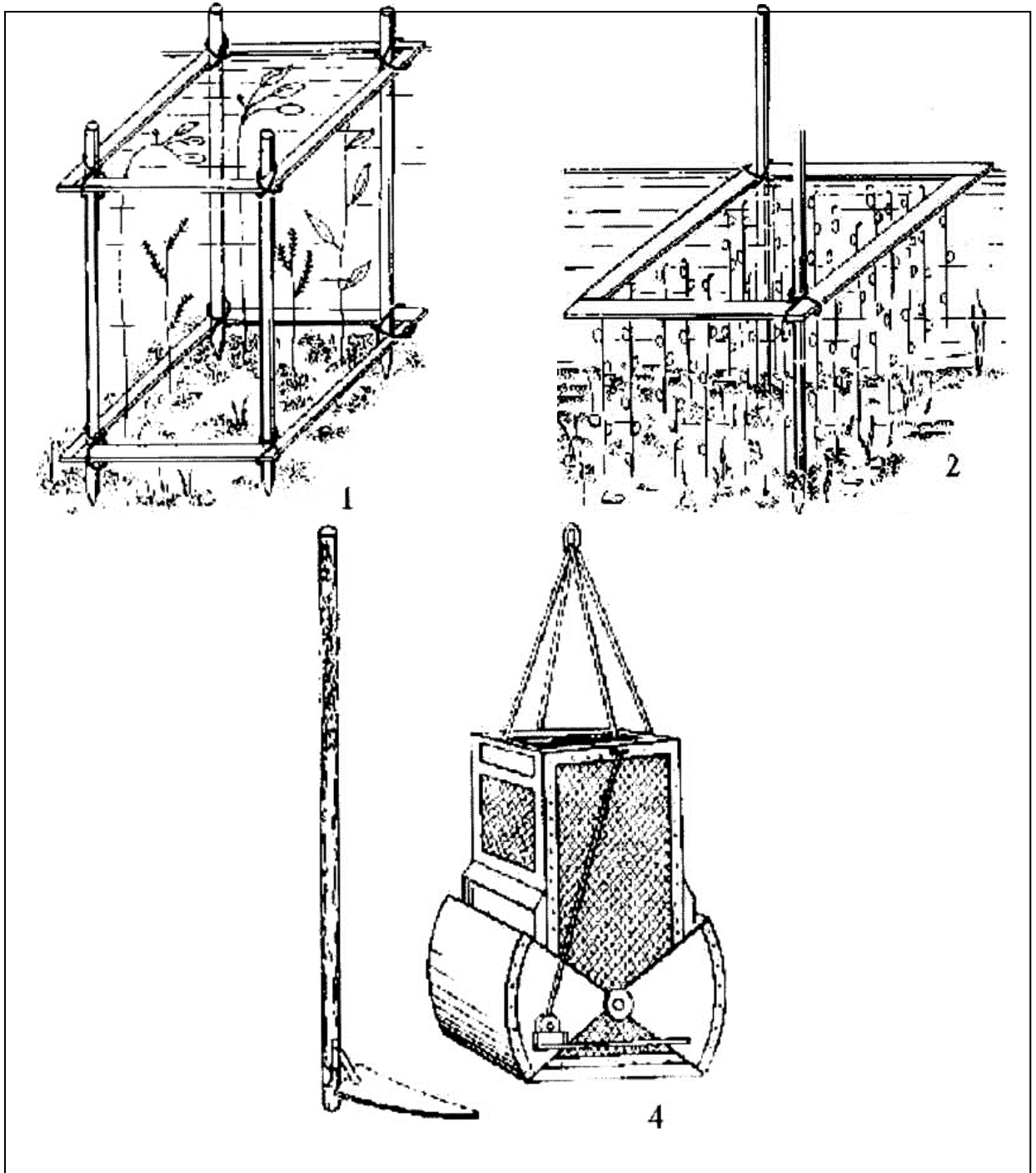


Рис.12.4. Знаряддя кількісного відбирання водяних рослин

1-2 – подвійна та одинарна деревяні рамки; 3 – коса; 4 – Прилад Ліпіних.

Для роботи на незначних глибинах у заростях різних екологічних груп використовують подвійну раму, за допомогою

якої можна одночасно вести облік занурених, плаваючих та повітряно-водних рослин, або накладають раму зверху і в плаваючому стані на поверхні води міцно укріплюють по діагоналі за допомогою спеціальних жердин. Вільноплаваючу рослинність з площі, обмеженою рамою, збирають руками або сачком. Для обліку маси рослин, які високо піднімаються над водою (очерет, рогіз, комиш), використовують розбірну раму. Її частинами оточують рослини. Для укосів рослин використовують різні прилади: а) сачки – для збору вільноплаваючої рослинності; б) грабельки або ручний збір рослин, які ростуть завглибшки до 1 м; в) косу з коротким лезом і прямим кінцем - для збору повітряно-водної рослинності.

Для відбирання проб макрофітів використовують прилад Ліпіних. Він має форму металевої коробки, стінки і верх якої затягнуті крупновічковою металевою сіткою. На нижньому боці коробки прикріплені рухливі ковші, нижні краї яких зазубрені і загострені. Площа захоплення приладу $0,1 \text{ м}^2$, маса – 15 кг. Заростечерпачем Ліпіних користуються в основному для збору занурених рослин на будь-яких глибинах.

У процесі *обробки укосів* рослини відмивають від бруду, обчищають від обростань, складають у поліетиленові мішки, прикріплюють етикетку з відповідною інформацією і транспортують у лабораторію. У лабораторії укоси розбирають протягом 24 годин з часу відбирання. У лабораторії відібрані укоси рослин опрацьовують у такій послідовності:

1 – очищення – укуси виймають із пакетів, ретельно очищають від, обсушують фільтрувальним чи газетним папером;

2 – розбирання – розкладають за видами або групами: повітряно-водні, плаваючі, занурені, підраховують їх чисельність та вимірюють;

3 – визначення систематичного складу рослин (за визначниками);

4 – визначення сирої маси – зважують на звичайних терезах у сирому вигляді з точністю до 5 г за групами або увесь укіс (залежно від мети досліджень). Високі повітряноводні рослини перед зважуванням зв'язують, а занурені та плаваючі зважують в мішках для просушування (мішок попередньо зважують). Результати зважування дописують в етикетку (маса сирої речовини);

5 – висушування рослин – для цього їх розкладають у приміщенні на сітках, папері чи підвішують на мотузках або на вулиці під навісом в марлевих мішках, завчасно переламавши довгі стебла, а м'ясисті й товсті розрізають уздовж. У процесі висушування мішки часто перевертають, а рослини в них ворують. Зважування здійснюють після повного висихання, що визначається візуально (листки при згинанні ламаються) або шляхом кількарязового зважування до постійної ваги. У лабораторії пробу подрібнених рослин зважують з точністю до 0,1 г і досушують у сушильній шафі за 65⁰ С до постійної ваги. За різницею ваги визначають відсоток вільної вологи у рослинах.

б – зважування рослин в абсолютно сухому вигляді - визначають після висушування середньої проби в сушильній шафі з температурою 105⁰С. Абсолютно суха маса середньої проби перераховується на вагу усього укусу для визначення абсолютно сухої маси.

Фітомаса виражається у сирій, повітряно-сухій та абсолютно сухій масах на одиницю площі в $г/м^2$, $кг/м^2$, $ц/га$, $т/км^2$; чисельність в $екз/м^2$.

Питання для самоперевірки.

1. Назвіть прилади для відбирання проб макрофітів
2. Які методи використовують для відбирання проб макрофітів
3. Які характеристики входять до візуальної оцінки заростей макрофітів
4. Назвіть методи опрацювання макрофітів
5. Назвіть послідовність опрацювання проб макрофітів

Використана література

1. *Гидробиотаника: методология, методы/* Материали школи по гидробиотанике (п. Борок, 8-12 апреля 2003 г.). – Рыбинск: ОАО «Рыбинский дом печати, 2003. – С. 5-146.
2. *Гроховська Ю.Р., Ходосовцев О.Є., Пилипенко Ю.В., Кононцев С.В.* Гідробіотаніка: навчальний посібник. – Херсон: ОЛДІ-ПЛЮС, 2013 – 376 с.
3. *Кражан С.А., Хижняк М.И.* Природна кормова база рибогосподарських водойм. Херсон: Олді-плюс, 2011. – 330 с.
4. *Катанская В. М.* Высшая водная растительность континентальных водоемов СССР. Методы изучения. – Л.: Наука, 1981. - 187 с.
5. *Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод/* О.М. Арсан, О.А. Давидов, Т.М. Дьяченко та ін.; За ред. В.Д. Романенка. – НАН України. Ін-т гідробіології. – К.: ЛОГОС, 2006. – 408 с.
6. *Мусієнко М.М., Ольхович О.П.* Методи дослідження вищих водних рослин. – Київ: Видавництво поліграфічний центр “Київський університет”, 2004. – 60 с.

7. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений* / Под ред. В.А.Абакумова. – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – 239 с.

Визначники:

1. *Макрофиты – индикаторы изменений природной среды* /С. Гейны, К .М. Сытник – К.: Наук. думка, 1993. – 434 с.
2. *Определитель высших растений Украины*/Отв. ред. Ю.Н. Прокудин. – К.: Наук. думка, 1987. – 548 с.
3. *Чорна Г.А. Рослини наших водойм (Атлас-довідник).* – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 134 с.

13. СТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОТИ ТА ОЦІНКА ЯКОСТІ ВОДИ

13.1. Деякі статистичні показники

Отримані результати досліджень компонентів біоти повинні бути об'єктивними і старанно опрацьованими, бо вони є основою для формування суджень, висновків та пропозицій. Результати досліджень біологічних угруповань водойм представляють у формі таблиць, що включають список видів із зазначенням їх чисельності, біомаси та даних про сумарну чисельність та біомаси із зазначенням похибки середнього значення. Аналіз досліджень біологічних угруповань водойм передбачає проведення статистичного опрацювання отриманого матеріалу. При наявності в дослідженні декількох повторностей (не менше 3-х) і обчисленні середнього значення (M) чисельності, біомаси або розмірів об'єкта необхідно приводити значення похибки середнього значення ($\pm m$) та стандартного відхилення (σ).

Стандартна похибка (середнього значення) – величина, на яку змінюються середні значення декількох різних експериментальних значень однієї й тієї ж вибірки при їх повторному розгляді. Відмінності між одержуваними середніми значеннями вважаються статистично значущими, якщо вони перевищують подвоєну стандартну помилку цих значень, а ймовірність появи такої відмінності (або відмінностей) у вибірці не перевищує 5%.

Стандартне відхилення – ступінь відхилення даних спостережень або множин від середнього значення. Невелике стандартне відхилення вказує на те, що дані групуються навколо середнього значення, а значне – що початкові дані розташовуються далеко від нього. Стандартне відхилення дорівнює квадратному кореню величини, званої дисперсією. Вона є середнім числом від суми зведених в квадрат різниць початкових даних, що відхиляються від середнього значення.

Обчислення помилки середнього значення здійснюється так:

1. Обчислюється середнє арифметичне (чисельності M або біомаси B) з ряду вимірювань.

2. Обчислюється стандартне відхилення за формулою:

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

Де, X_i – i -й елемент вибірки; n – обсяг вибірки; \bar{X} – середнє арифметичне вибірки.

3. Похибка середнього значення (m) вираховується за формулою:

$$\mu = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

де σ – стандартне відхилення, n – число вимірювань.

Статистичну обробку даних у сучасних дослідженнях проводять, використовуючи пакет програмного забезпечення *Statistica 5,5* та *Microsoft Office Excel 2003*.

13.2. Структурна характеристика біоти

Для характеристики стану водних об'єктів використовують основні структурні характеристики біологічних угруповань. Серед найбільш поширених структурних показників слід виділити:

$A_{\text{заг}}$ – видове різноманіття угруповання (загальна кількість видів, або видове багатство);

T – таксономічне різноманіття – кількість таксонів певного надвидового рангу: родів, родин тощо;

$A_{\text{дом}}$ – кількість видів домінуючого комплексу угруповання, якими є такі, що мають частоту трапляння 50 - 100%;

- види-еdifікатори, або види-домінанти першого порядку (перші два в домінуючому комплексі, ранжованому за біомасою або за індексом порівняння) ;

- види-субдомінанти (2 - 3 наступних за першими двома);

- флористичний та фауністичний спектр угруповання – процентне співвідношення основних систематичних груп за кількістю видів;

N – загальна чисельність угруповання;

B – загальна біомаса угруповання;

$T_{\text{дом}}/B$ – домінуючий за біомасою основний таксон;

$T_{\text{дом}}/N$ – домінуючий за чисельністю основний таксон;

- таксономічна структура – співвідношення основних систематичних груп планктону, бентосу, перифітону або окремих таксонів за біомасою у відсотках;

- структура домінування (оліго-, мезо- чи полідомінантність)
- частки біомаси видів домінуючого комплексу в загальній біомасі;
- трофічна структура – процентне співвідношення різних трофічних груп за біомасою;

p – частота трапляння виду – відсоток станцій, на яких зареєстрований даний вид, від загальної кількості обстежених станцій;

ЩЗ – індекс ценотичної значущості певного виду, який розраховується як \sqrt{bp} , де b – індивідуальна маса виду (іноді – індекс порівняння, або індекс щільності).

Більшість структурних показників можна представити в графічній інтерпретації – у вигляді спеціальних графіків-діаграм, ценограм тощо. Ценограми поєднують у собі криві, побудовані за індексами ценотичної значущості домінуючих видів у порядку їх зменшення. Крутизна або пологість таких кривих свідчить про певну структуру ценозу. Кругові діаграми віддзеркалюють співвідношення біомас таксономічних груп у ценозі.

Поряд з використанням абсолютних структурних показників конкретного угруповання для оцінки стану водних екосистем використовують різноманітні порівняльні індекси (Шенона, Менхініка, Сімпсона, Жакара, Шоригіна, Вайнштейна) та методи біологічної індикації.

Індекс Шеннона (загального, або інформаційного різноманіття) відображає ступінь різноманіття структури й базується на інтегральній оцінці кількості видів водоростей,

внутрішньовидових таксонів, їх чисельності та біомаси. Індекс Шеннона розраховують за окремими видами, за таксонами надвидового рангу або іншими елементами різноманіття. Зазвичай змінюється в межах від 1,5 до 3,5. Індекс Шеннона розраховують за формулою:

$$H = - \sum (n / N) \log (n / N)$$

де, N – загальна чисельність особин, n – число особин кожного виду.

Індекс Менхініка (видового різноманіття, або багатства), який є характеристикою кількості видів, що припадає на одиницю сумарної численності (рясноти) (в якості якої може бути взята загальна чисельність або біомаса):

$$M = A / \sqrt{N}$$

де, A – кількість видів, N – сумарна чисельність всіх видів угруповання;

Індекс Сімпсона (домінування, або концентрації):

$$C = \sum (n / N)^2,$$

де, n – чисельність одного виду;

Індекс Сімпсона (еквітабельності, або рівноможливості):

$$E = \sum n (n - 1) / N (N - 1)$$

Індекс Жакара (видової, або фауністичної схожості), який може бути розрахованим як між угрупованнями в цілому ($J_{\text{заг}}$), так і між домінуючими комплексами видів ($J_{\text{дом}}$):

$$J = c / (a + b - c),$$

де, a і b – кількість видів в порівнюваних угрупованнях, c – кількість спільних видів.

Індекс Шоригіна (схожості кількісної структури, або питомої рясноти):

$$Q = \sum (n / N)_{\min},$$

де, \min – мінімальна величина з двох порівнюваних.

Індекс Вайнштейна (біоценологічної схожості), що об'єднує два попередніх:

$$W = K \cdot J / 100$$

13.3. Методи біологічної індикації

Методи біологічної індикації використовуються для оцінки ступеня забруднення вод. Різні види організмів виявляють неоднакову чутливість до вмісту у воді органічних речовин. При цьому біологічними індикаторами виступають організми різних угруповань – планктону, бентосу, нектону, перифітону, макрофітів. Серед методів біоіндикації найчастіше використовують систему сапробності та біотичні індекси Вудівісса, Майєра, олігохетний, метод Пантле-Бука тощо.

Основні принципи біоіндикації були розроблені Кольквитцем і Марссоном на початку ХХ сторіччя, які ввели поняття сапробності. Протягом століття система сапробності розвивалась і удосконалювалась: розроблений кількісний індекс (Г.Пантле та Г. Бук), введено поняття сапробної валентності (М.Зелінка та П. Марван), розширений список організмів-індикаторів (Х. Лібманн та В. Сладечек). За ступенем забруднення органічними речовинами у водоймах виділяють зони сапробності: полі- (ρ), мезо- (α, β), оліго- (O), ксеносапробні- (X).

Метод Пантле і Букка в модифікації Сладечека. Це універсальний метод визначення сапробності за планктоном,

бентосом чи пери фітоном (табл. 13.1). Для його розрахунку необхідно мати частоту зустрічності видів-індикаторів або безпосередньо їх чисельність чи біомасу (h) та їх індивідуальний індекс сапробності (s). Для статистичної достовірності результатів необхідно, аби в пробі було не менше дванадцяти індикаторних організмів із загальним числом особин не менше тридцяти. Індекс сапробності визначають за формулою:

$$S = \sum (sh) / \sum h$$

де, s – індивідуальний індекс сапробності видів-індикаторів (визначається за спеціальними таблицями); h – відносна чисельність (біомаса) видів-індикаторів.

Таблиця 13.1.

Індекс сапробності, зони сапробності та клас якості води

Індекс сапробності	Зона сапробності	Клас якості води
0,0 – 0,5	ксеносапробна	1 - дуже чиста
0,51 – 1,5	олігосапробна	2 - чиста
1,51 – 2,5	β-мезосапробна	3 - помірно забруднена
2,51 – 3,5	α-мезосапробна	4 - забруднена
3,51– 4,0	Полісапробна	5 - брудна

Біотичний індекс Вудівісса використовують для визначення якості води у річках за структурними характеристиками зообентосу. Індекс враховує загальне різноманіття донних безхребетних та організмів, які належать до індикаторних груп. Для оцінки якості води за методом Вудівісса необхідно:

- оцінити загальне різноманіття зообентосу у пробі;
- визначити групи організмів-індикаторів у пробі;

- знайти бал індекса Вудівісса для водойми (табл. 13.2).

Бал індекса визначають за таблицею на перетині рядка (значення загальної кількості груп) і стовпчика (індикаторної групи), починаючи з личинок веснянок.

Таблиця 13.2.

Таблиця для визначення біотичного індексу Вудівісса

Індикаторні групи та організми	Видове різноманіття	Число груп Вудівісса в пробі				
		0-1	2-5	6-10	11-16	>16
Личинки веснянок Plecoptera	>1 виду	-	7	8	9	10
	1 вид	-	6	7	8	9
Личинки одnodенок Ephemeroptera	>1 виду	-	6	7	8	9
	1 вид	-	5	6	7	8
Личинки волохокрилець Trichoptera	>1 виду	-	5	6	7	8
	1 вид	-	4	5	6	7
Бокоплави, рід Gammarus	Усі відсутні	3	4	5	6	7
Рівноногі раки Asellus aquaticus	Те ж саме	2	3	4	5	6
Трубочник (Tubifex) або личинки комарів (Chironomidae)	Те ж саме	1	2	3	4	-
Усі групи відсутні	деякі присутні	0	1	2	-	-

Значення індекса Вудівісса вимірюється в балах від 0 до 15:

- 0 - 2 бали – значне забруднення;
- 3 - 5 балів – середнє забруднення;
- 6 - 7 балів – незначне забруднення;
- 8 - 10 балів і вище – чиста водойма.

При оцінці якості води за індексом Вудівісса достатньо визначити виловлені тварини до індикаторних груп. При цьому за індикаторну групу приймаються: личинки веснянок, одноденок (за винятком *Baetis rodani*), волохокрильців, бокоплати (рід *Gammarus*), рівноногі раки (*Asellus aquaticus*), малощетинкові черви (рід *Tubifex*), личинки комарів-дзвінців. До інших індикаторних груп відносяться плоскі черви, двостулкові та легеневі молюски, п'явки, водяні кліщі, личинки жуків, сітчастокрилих, мошок, бабак, водяні клопи.

За біотичним індексом Вудівісса, у міру підвищення рівня забруднення вод відбувається зміна видової структури бентосних організмів, яка призводить до відмирання індикаторних таксонів, що досягли межі толерантності.

Біотичний індекс Майєра – найбільш проста методика біоіндикації. Його використовують для визначення якості води у водоймах будь-яких типів з різним рівнем забруднення. Метод заснований на тому, що різні групи донних безхребетних мешкають у водоймах з певним ступенем забруднення. При цьому організми-індикатори відносять до одного з трьох груп: чистих вод, помірно забруднених і забруднених вод (табл.13.3).

Визначення якості води за методом Майєра:

- відмітити виявлені індикаторні групи у пробах;
- кількість виявлених груп-індикаторів чистих вод помножити на 3, кількість виявлених груп-індикаторів помірного забруднення

- на 2, кількість груп-індикаторів забруднених вод – на 1; отримані числа додати;
- значення суми характеризує ступінь забруднення водойми.

Таблиця 13.3.

Індикаторні групи донних організмів

Організми чистих вод	Організми помірного забруднення	Організми забруднених вод
Лич. веснянок Лич. одnodенок Лич. волохокрилець Лич. вислокрилок Двостулкові молюски	Бокоплави Річковий рак Лич. бабок Лич. комарів довгоніжок Молюски-живородки	Лич. комарів-дзвінців П'явки Водяний ослик Малощетинкові черви Ставковики Личинки мошки

Якщо сума балів більша від 22 – водойма дуже чиста і відноситься до перший класу якості води; 17- 21 – водойма чиста і другий клас якості води, 11-16 – помірно забруднена, третій клас якості води, менше 11 – характеризують водойму як брудну (4-5 клас якості).

Простота та універсальність методу Майєра дають можливість швидко оцінити стан водойми. Точність методу невисока, але якщо проводити дослідження якості води регулярно протягом якогось часу і порівнювати отримані результати, можна вловити, у який бік змінюється якість води.

Олігохетний індекс Гуднайта-Уітлея показує частку олігохет від загальної кількості зообентосу у %. Шкала вимірювань – від 0 до 100%. Чим більше значення індексу, тим вищий ступінь

забруднення (табл.13.4). Індекс від 60 до 100% відповідає забрудненим водам.

Таблиця 13.4.

Відповідність індексів Гуднайта-Уітлея зонам сапробності

Індекс Гуднайта-Уітлея	Зона сапробності
до 30,0	ксеносапробна
30,0-60,0	Олігосапробна
61,0-70,0	Бета-мезосапробна
71,0 – 80,0	Альфа-мезосапробна
> 80,0	Полісапробна

Олігохетний індекс Пареле. Це відношення чисельності олігохет родини тубіфіцид до сумарної чисельності усіх олігохет.

Метод Ніколаєва використовується для оцінки якості вод малих та великих річок і є спрощеним варіант методу Пантле-Бука. За цим методом якість води річок поділяється на 6 класів і в основному відповідає зонам сапробності: дуже чисті (ксеносапробні), 2 – чисті (олігосапробні), 3 – помірно забруднені (β -мезосапробні), 4 – забруднені (α -мезосапробні), 5 – брудні (β -полісапробні), 6 – дуже брудні (α -полісапробні). Оцінка якості води за методом Ніколаєва проводиться за виявленими таксонами за табл.13.5:

- число виявлених таксонів перемножити на значимість таксона;
- вибрати клас якості води, що набрав найбільше число балів.

Модифікований індекс Майєра (для макрофітів). Для попередньої оцінки екологічного стану водойми або окремої її ділянки з добре розвинутою водною рослинністю використовують

Таблиця 13.5.

Визначення якості води за Ніколаєвим

Таксономічні одиниці	Класи якості вод				
	1	2	3	4	5
личинки волохокрилець: Rhyacophila	+	+			
личинки веснянок, окрім Nemoura	+	+			
личинки мухи: Atherix	+	+			
бокоплавці: Gammarus	+	+	+		
губки Shongia	+	+	+		
беззубки: Anodonta, Pseudoanodonta		+	+		
зяброві молюски: Viviparus, Bithynia, Valvata		+	+		
річкові раки: Astacus, Pontastacus		+	+		
лич. волохокрилець: Neureclipsis, Mollana, Brachycentrus		+	+		
бабки: Calopteryx, Plathycnemis		+	+		
одноденки: Ephemera, Polymitarcys		+	+		
п'явки: Glossiphoniidae		+	+	+	
перлівниці: Unio, Crassiana		+	+	+	
водяні клопи:		+	+	+	
одноденки: Heptageniidae		+	+	+	
вислокрилка Sialis		+	+	+	
мошки Simuliidae		+	+	+	
волохокрильці Hydropsyche, Anabolia			+	+	
бабки Gomphidae			+	+	
п'явки Erpobdella, Haemopis, Piscicola			+	+	
горошинки і шаровки Pisidiidae			+	+	
водяний віслучок Asellus aquaticus			+	+	+
трубочник Tubificidae, масово				+	+
мотиль Chironomidae, масово				+	+
личинка мухи Eristalis (криска)				+	+
значимість кожного таксона	25	6	5	7	20

модифікований індекс Майєра. У його основу покладено поділ видів-індикаторів водяних рослин на три групи відповідно до ступеня забруднення водойми: індикатори чистих водойм (група А), індикатори водойм помірного забруднення (В) та індикатори забруднених водойм (С) (табл. 13.6).

Індикаторні групи макрофітів

Організми чистих вод, А	Організми помірного зобруднення, В	Організми забруднених вод, С
-водопериця черговоквіткова -молодильник озерний -рдесник альпійський -рдесник гостролистий -харові водорості* -водні мохи* -альдрованда пухирчаста -пухирник малий -водяний жовтець плаваючий	-широколисті рдесники* -вузьколисті рдесники (окрім гребінчастого)* -рдесники з плаваючими листками* -латаття, глечики, водяний горіх плаваючий* - елодея канадська - водопериця кільчаста -ряска три борозенчаста -жабурник звичайний -наяда морська	-кушир занурений -водопериця колосиста -рдесник гребінчастий -ниткуваті водорості* -ряска та сальвінія плаваючі * (>60%) -різак алое видний -пухирник звичайний -водяний жовтець закручений

* збірні групи макрофітів

Для оцінки екологічного стану водойми необхідно визначити чисельність видів кожної групи (А, В, С) під час обстеження водойми чи її окремої ділянки.

Під час розрахунку індексу Майєра кожна група (харові водорості, водні мохи, широколистяні рдесники, лататтеві, ряски тощо) приймається за «1». Тобто, якщо у водоймі є кілька видів харових водоростей чи рясок, то при розрахунках до загального числа видів відповідної колонки необхідно додати 1.

До розрахунків приймаються як окремі види, так і збірні групи (харові водорості, водні мохи тощо). Якщо у водоймі відмічені види, які належать до однієї індикаторної групи (наприклад, гірський потічок, де крім 1-2 видів водних мохів (група А) нічого

не розвивається, або, навпаки, дуже забруднена водойма, де трапляються лише види групи (С) – бали рахувати немає потреби, це вода відповідної якості.

Індекс Майєра (I_M) розраховується за формулою:

$$I_M = A \times 5 + B \times 2 + C \times 1,$$

де, А, В та С – кількість видів (чи груп) із відповідних індикаторних груп, що відмічені у водоймі.

За значенням індексу оцінюють екологічний стан водойми:

> 25 балів – вода чиста, 1-2 класів якості;

24-15 балів – вода помірно забруднена, 3 клас якості;

< 15 – вода брудна, 4-5 клас якості води.

Простота цього методу дозволяє швидко, проте орієнтовно оцінити стан водойми. Модифікований індекс Майєра можна використовувати на перших етапах визначення екологічного стану водойми.

Насьогодні існують набагато складніші системи оцінки якості води, де використовується комплекс фізико-хімічних і біологічних показників. Найбільшої уваги заслуговує комплексна оцінка якості води за еколого-санітарними показниками, розроблена вченими Інституту гідробіології НАН України. Найважливішими показниками, взятими для класифікації, є кількісні характеристики планктону, бентосу, перифітону і зоофітосу. Класифікація поверхневих водних об'єктів дозволяє безпосередньо оцінювати рівень розвитку цих угруповань біоти, а також ступінь трофності та якості води відповідних водних об'єктів у певний відрізок

вегетаційного періоду (сезон, місяць, декада) щорічно або через певні інтервали років з метою виконання гідроекологічного моніторингу. У спрощеному вигляді цю систему можна представити табл. 13.7.

Таблиця 13.7.

Оцінка якості води за біологічними показниками

Класи якості води	I	II		III		IV	V
Назва класів і категорій якості вод за ступенем їх чистоти	дуже чисті	чисті		забруднені		брудні	дуже брудні
	дуже чисті	чисті	досить чисті	слабко забруднені	помірно забруднені	брудні	дуже брудні
Біомаса фітопланктону, мг/дм ³	<0,5	0,5-1,0	1,1-2,0	2,1-5,0	5,1-10,0	10,1-50,0	>50,0
S (індекс)	<1,0	1,0-1,5	1,6-2,0	2,1-2,5	2,6-3,0	3,1-3,5	>3,5
Сапробність	олігосапробні		бетамезосапробні		альфа-мезосапробні		полісапробні

Питання для самоперевірки.

1. Які основні статистичні показники використовують у аналізі гідробіологічних угруповань?
2. Які структурні характеристики біоти використовують для характеристики стану водних об'єктів?
3. Які порівняльні індекси використовують для характеристики стану водних об'єктів?
4. Які методи біологічної індикації використовують для характеристики стану водних об'єктів?

Використана література

1. Мальцев В.І., Карпова Г.О., Зуб Л.М. Визначення якості води методами біоіндикації: науково-методичний посібник. – К.: Науковий центр екомоніторингу, 2011. – 112 с.

2. *Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод*/О.М. Арсан, О.А. Давидов, Т.М. Дьяченко та ін.; За ред. В.Д. Романенка. – НАН України. Ін-т гідробіології. – К.: ЛОГОС, 2006. – 408 с.
3. *Оксиюк О. П., Жданова Г. А., Гусынская С. Л., Головки Т. В.* Оценка состояния водных объектов Украины по гидробиологическим показателям. 1. Планктон // *Гидробиол. журн.* – 1994. – 30, № 3. – С. 26–31.
4. *Песенко Ю. А.* Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. – М.: Наука, 1982. – 288 с.
5. *Протасов А. А., Павлюк Т. Е.* Использование показателей биоразнообразия для оценки состояния водных объектов и качества воды // *Гидробиол. журн.* – 2004. – 40, № 6. – С. 3–17.
6. Романенко В. Д., Жукинський В. М., Оксиюк О. П. та ін. *Методика встановлення і використання екологічних нормативів якості поверхневих вод суші та естуаріїв України.* – К., 2001. – 48 с.
7. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений /* Под ред. В.А.Абакумова. – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – 239 с.
8. *Унифицированные методы исследования качества вод.* – Часть III. Методы биологического анализа. Приложение 2. Атлас сапробных организмов. – М.: Изд-во СЭВ, 1977.

14. ВИЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ ВОДОЙМ

Біологічна продуктивність водойм – це властивість живих організмів відтворювати органічну продукцію (біомасу) на 1 м кв площі (або в 1 м куб об'єму) за одиницю часу. Вона виражається найчастіше в грамах вуглецю чи сухої органічної речовини. У гідробіології поняття "біологічна продуктивність водойм" та "біологічна продукція" аналогічні поняттям "родючість ґрунтів" та "врожай" в агробіології.

В основі біологічної продуктивності водойм лежать процеси утворення первинної продукції автотрофними організмами й перетворення її в трофічних ланцюгах гетеротрофними організмами. При цьому гетеротрофи (тварини та бактерії) перетворюють частину первинної продукції у вторинну продукцію – масу власного тіла, а частину використовують для дихання. У процесі життєдіяльності організмів та при їх відмиранні органічні речовини в розчиненому стані виділяються в навколишнє середовище (ґрунт, воду), де руйнуються бактеріями-редуцентами до мінеральних речовин, які знову включаються в кругообіг речовин.

Біологічна продуктивність залежить від місця розташування водойми, кліматичних особливостей району та конкретних погодних умов року, водозбірної площі, підстилаючих ґрунтів, температурних, гідрологічних, гідрохімічних, гідробіологічних особливостей, складу іхтіофауни, наявності захворювань риби

тощо. Серед факторів, що впливають на загальну рибопродуктивність водойми, є меліорація водойм (очищення їх ложа, знищення заростей, відлов непромислових видів риби тощо), удобрення, вапнування, годівля риби, вселення й акліматизація риби, їх вилов, щільність зариблення, віковий і видовий склад іхтіофауни, породний склад риби тощо.

Методи визначення потенційної рибопродуктивності водойм базуються на визначенні кількісних та продукційних показників основних гідробіологічних угруповань, коефіцієнтів засвоєння й перехідних коефіцієнтів з урахуванням втрат речовини і енергії на різних рівнях трофічного ланцюга. Серед них виділяють три групи методів:

- метод орієнтованого визначення потенційної рибопродуктивності за рівнем первинної продукції планктону за В.В. Бульоном і Г.Г. Вінбергом (1981);
- метод спрощеного розрахунку потенційної й промислової рибопродуктивності за рівнем розвитку основних угруповань фітопланктону і безхребетних тварин;
- метод розрахунку потенційної й промислової рибопродуктивності на основі біотичного балансу.

Можливість рибогосподарського освоєння водойми різного цільового призначення визначається комплексом екологічних факторів та біологічною продуктивністю усіх угруповань гідробіонтів. Це передбачає визначення потенційної

продуктивності угруповань гідробіонтів (фітопланктону, зоопланктону, зообентосу, вищої водної рослинності) даних щодо кормових коефіцієнтів та коефіцієнтів їх вилучення.

14.1. Визначення біологічної продуктивності гідробіологічних угруповань

Для визначення потенційної продуктивності угруповань гідробіонтів передусім необхідно мати дані щодо величини біомаси кожного з угруповань у середньому за вегетаційний період за багаторічними даними (в г/м^3 чи г/м^2 з перерахунком в кг/га). Показники біомаси фіто- та зоопланктону в різних континентальних водоймах коливаються в широких межах і залежать в основному від рівня трофності водойм й характеристик їх гідрологічного режиму. Для визначення величин показників річної продукції фіто-зоопланктону та зообентосу використовують Р/В-коефіцієнт (відношення річної питомої продукції до їх питомої біомаси).

Величини Р/В-коефіцієнта фітопланктону в різних зонах рибництва України за літературними даними змінюються від 100 (у Поліссі) до 150 (Лісостеп) та 200 (у Степу) (табл.14.1).

Для точнішого визначення Р/В-коефіцієнта фітопланктону необхідно мати середні за вегетаційний період показники первинної продукції за багаторічними даними. Залежно від погодних умов кожного вегетаційного сезону вони можуть мати суттєві відмінності. Кормовий коефіцієнт фітопланктону показує

відношення якості засвоєного корму до приросту іхтіомаси і становить 50. Величина вилучення фітопланктону рибами

Таблиця 14.1.

Основні коефіцієнти для визначення біологічної продуктивності водойм

<i>Зона рибництва</i>	<i>Р/В-коефіцієнт</i>				<i>Кормовий коефіцієнт</i>				<i>Коефіцієнт вилучення</i>			
	<i>ФП</i>	<i>ЗП</i>	<i>ЗБ</i>	<i>МФ</i>	<i>ФП</i>	<i>ЗП</i>	<i>ЗБ</i>	<i>МФ</i>	<i>ФП</i>	<i>ЗП</i>	<i>ЗБ</i>	<i>МФ</i>
<i>Полісся</i>	100											
<i>Лісостеп</i>	150	20	6	1,1	50	(6) 7	5	50	0,5	0,5- 0,8	50	50
<i>Степ</i>	200											

фітопланктофагами становить 50. Р/В-коефіцієнт зоопланктону в різних континентальних водоймах змінюється від 10 до 45 у мирних видів і від 4 до 32 – у хижих видів планктонних ракоподібних. Загальний для зоопланктону Р/В-коефіцієнт залежить від умов вторинного продукування і співвідношення в планктоні інфузорій, коловерток, мирних і хижих гіллястовусих й веслоногих ракоподібних. У рибогосподарських розрахунках за літературними даними він приймається за 20. Кормовий коефіцієнт зоопланктону показує відношення якості засвоєного корму до приросту іхтіомаси і складає 5 - 10. Величина вилучення зоопланктону рибами зоопланктофагами становить 50 - 80%.

Серед організмів зообентосу найбільший інтерес представляє «м'який» зообентос, який найбільше доступний риbam і складає кормову базу риб-зообентофагів. Показники біомаси для

м'якогозообентосу коливаються у межах 0,1 - 200 г/м² і залежать від рівня трофності, характеру ґрунтів, гідрологічного і газового режимів та виїдання рибами. Величина Р/В коефіцієнта макрозообентосу в різних водоймах змінюються від 1,5 до 12 у мирних, і від 3 до 24 у хижів видів донних безхребетних. Для для молюсків, олігохет і личинок хірономід Р/В становить відповідно 0,3-1,5; 3-4; 4-5. Риби-бентофаги у природних водоймах використовують 0,1-0,5 продукції макрозообентосу, у рибницьких ставах цей показник іноді сягає 1. Кормовий коефіцієнт зообентосу залежить від видових особливостей і хімічного складу (калорійності) і в середньому становить 5.

Продукція вищих водяних рослин (макрофітів) у водоймах рибогосподарського призначення відповідає її біомасі, визначеній у період «цвітіння», збільшеній на 10%, відповідно Р/В-коефіцієнт макролітів становить 1,1, кормовий коефіцієнт – 50, коефіцієнт вилучення макрофітофагами – 50%.

Таким чином, для розрахунків загальної потенційної рибопродуктивності водойм необхідно визначити біологічну продуктивність гідробіологічних угруповань.

Біологічну продукцію фітопланктону визначаємо за формулою:

$$P_{\text{фп}} = B \times P/V \times h \times S : 1000 \text{ (кг/га)},$$

- де, $P_{\text{фп}}$ – продукція фітопланктону (кг/га);
- B – середньосезонна біомаса фітопланктону;
- P/V – продукційно-біомасовий коефіцієнт фітопланктону;
- h – величина фотичного шару, м;
- S – площа 1 га в м² (10000); 1000 – перерахунок з в кг.

Біологічна продуктивність зоопланктону:

$$P_{зп} = B \times P/B \times h \times S : 1000 \text{ (кг/га)},$$

де, $P_{зп}$ – продукція зоопланктону (г/га);

B – середньосезонна біомаса зоопланктону;

P/B – продукційно-біомасовий коефіцієнт зоопланктону;

h – величина фотичного шару, м;

S – площа 1 га в m^2 (10000); 1000 – перерахунок g в kg .

Біологічна продуктивність «м'якого» зообентосу:

$$P_{зб} = B \times P/B \times S : 1000 \text{ (кг/га)},$$

де, $P_{зб}$ – продукція зообентосу (г/га);

B – середньосезонна біомаса зоопланктону;

P/B – продукційно-біомасовий коефіцієнт зообентосу;

S – площа 1 га в m^2 (10000); 1000 – перерахунок g в kg .

Біологічна продуктивність макрофітів:

$$P_{мф} = B \times P/B \times S : 1000 \text{ (кг/га)}$$

де, $P_{мф}$ – продукція макрофітів (г/га);

B – маса макрофітів в період найбільшої вегетації;

P/B – продукційно-біомасовий коефіцієнт макрофітів;

S – площа 1 га в m^2 (10000); 1000 – перерахунок g в kg .

При вирощуванні риби у рибницьких ставках та водоймах рибогосподарського призначення у моно- та полікультурі ймовірний умовний перерозподіл природної кормової бази залежно від складу та віку об'єктів культивування (табл.14.2).

Спектри живлення ставових риб в моно- і полікультурі

№	Склад моно- або полі- культури риб	Спектр живлення риб, % від потенційної природної кормової бази ставу							
		цьоголітки				дорослі риби			
		Фп+Д	Зп+Д	ВВР	ЗБ	Ф+Д	З+Д	ВВР	ЗБ
1	К+БТ+СТ+БА	100	100	100	100	100	100	100	100
2	К+БТ+БА	60	60	40	100	100	100	100	100
3	К+СТ+БА	60	100	40	100	60	100	100	100
4	БТ+СТ+БА	80	100	40	–	100	100	100	–
5	К+БТ	60	100	–	100	100	60	–	100
6	К+СТ	60	100	–	100	60	100	–	100
7	К+БА	–	100	40	100	–	100	100	100
8	БТ+СТ	80	100	–	–	100	100	–	–
9	БТ+БА	80	80	–	40	100	40	100	–
10	СТ+БА	60	100	40	–	60	100	100	–
11	К	–	80	–	100	–	60	–	100
12	БТ	80	40	–	–	80	20	–	–
13	СТ	30	800	–	–	50	100	–	–
14	БА	–	70	40	–	–	20	100	–

14.2. Метод орієнтовного розрахунку потенційної рибопродуктивності

В.В. Бульоном та Г.Г. Вінбергом встановлена залежність між величиною первинної продукції фітопланктону та потенційною рибопродуктивністю водойм. Ця залежність апроксимується степеневим рівнянням:

$$P_{\text{заг}} = (1,8 \pm 0,9) \cdot 10^{-3} P_{\text{фп}},$$

де, $P_{\text{заг}}$ – потенційна промислова рибопродуктивність ($\text{ккал} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{рік}^{-1}$);
 $P_{\text{фп}}$ – продукція фітопланктону ($\text{ккал} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{рік}^{-1}$).

Розмірність загальної потенційної рибопродуктивності, виражена у $\text{Ккал} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{рік}^{-1}$ перераховують у $\text{кг} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{рік}^{-1}$, виходячи з того, що 1 г риби (сира маса) відповідає 1Ккал, тобто $1\text{ккал} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{рік}^{-1} = 10 \text{кг} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{рік}^{-1}$.

Орієнтовно величину потенційної і промислової рибопродуктивності можна розрахувати за допомогою коефіцієнтів ($k_{\text{фп/р}}$), які виражають співвідношення первинної продукції водойм і очікуваних уловів риби (0,1-0,3):

$$P_{\text{р-реал}} = P_{\text{фп}} \cdot 0,02; \quad P_{\text{р-реал}} = \frac{P_{\text{р-реал}}}{k_{\text{р}}}$$

де, $P_{\text{заг}}$ – потенційна промислова рибопродуктивність ($\text{ккал} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{рік}^{-1}$);
 $P_{\text{фп}}$ – продукція фітопланктону ($\text{ккал} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{рік}^{-1}$).

14.3. Визначення потенційної рибопродуктивності

Розрахунок потенційної рибопродуктивності за продуктивністю гідробіологічних угруповань включає дані з продукції фіто-, зоопланктону, зообентосу, макролітів, кормові коефіцієнти кожного з угруповань, коефіцієнти їх вилучення та поправку на використання детриту.

Потенційна продуктивність риб-фітопланктофагів:

$$P_{\text{фп}} = P_{\text{фп}} \times 0,5 : K_{\text{фп}} \times 1,5 \text{ (кг/га)},$$

де, $P_{\text{фп}}$ – потенційна рибопродуктивність за фітопланктоном;
 $P_{\text{фп}}$ – продукція фітопланктону (кг/га);
 0,5 – коефіцієнт вилучення продукції фітопланктону;

K_f – кормовий коефіцієнт фітопланктону;
1,5 – збільшення рибопродуктивності за рахунок детриту;

Потенційна продуктивність риб-зоопланктофагів:

$$P_{зп} = P_{зп} \times 0,7 : K_{зп} \times 1,5 \text{ (кг/га)},$$

де, $P_{зп}$ – потенційна рибопродуктивність за зоопланктоном;
 $P_{зп}$ – продукція зоопланктону (кг/га);
0,7 – коефіцієнт вилучення продукції зоопланктону;
 $K_{зп}$ – кормовий коефіцієнт зоопланктону;
1,5 – збільшення рибопродуктивності за рахунок детриту;

Потенційна продуктивність риб-зообентофагів:

$$P_{зб} = P_{зб} \times 0,8 : K_{зб} \times 1,5 \text{ (кг/га)},$$

де, $P_{зб}$ – потенційна рибопродуктивність за зообентосом;
 $P_{зб}$ – продукція зообентосу (кг/га);
0,8 – коефіцієнт вилучення продукції зообентосу;
 $K_{зб}$ – кормовий коефіцієнт зообентосу;

Потенційна продуктивність риб-макрофітофагів:

$$P_{мф} = P_{мф} \times 0,5 : K_{мф} \text{ (кг/га)},$$

де, $P_{мф}$ – потенційна рибопродуктивність за макрофітами;
 $P_{мф}$ – продукція макрофітів (кг/га);
0,5 – коефіцієнт вилучення продукції макрофітів;
 $K_{мф}$ – кормовий коефіцієнт макрофітів (50);

Якщо розрахунки проводяться для рибницьких ставів чи водойм рибогосподарського призначення, то додатково у формули вводяться поправні коефіцієнти на:

- підстилаючі ґрунти, що приймаються для середніх за родючістю ґрунтів як 0,1; галькових – 0,4; торф'яних – 0,5; піщаних і солончакових – 0,6; чорноземів – 1,2;
- вік риб – для старших вікових груп (дволітки і старші

- риби) – 1,0; для цьоголітків – 1,2;
- вік ставу – до 5 років – 1,2; 5-20 – 1,0; > 20 років – 0,8;
- полікультуру риб – 1,0 (монокультура); 1,1 (полікультура із 2-3 видів риб); 1,2 (полікультура із 4 і більше риб);
- на породний склад коропа – 1,1-1,2.

Сума розрахованої рибопродуктивності за кожною ланкою природної кормової бази з урахуванням поправних коефіцієнтів на підстилаючи ґрунти, вік риб, полікультуру риб та вік ставу буде вважатися загальною потенційною рибопродуктивністю.

14.4. Розрахунок потенційної промислової рибопродуктивності

У різних водних об'єктах рибогосподарського призначення вилучення риб залежить від інтенсивності промислу. При цьому коефіцієнт вилучення може змінюватися в діапазоні від 0,02 до 0,5 (2–50%). Вилучена рибна продукція кваліфікується як потенційна промислова рибопродуктивність (або квота вилову). Вона в основному становить половину розрахованої потенційної рибопродуктивності за кожним видом, інша зараховується у перехідний залишок.

$$P_{\text{прп}} = 0,5 \times P \text{ (кг/га)},$$

де, $P_{\text{прп}}$ – потенційна промислова рибопродуктивність за кожним видом риб.

Для визначення кількості кожного виду риб, яких можна виловити з 1 га водойми, необхідно величину промислової продуктивності за

кожним видом риб поділити на середню масу одного екземпляра (4-5 кг):

$$K_{\text{прп}} = \Pi_{\text{прп}} : m \text{ (екз/га)},$$

де, $K_{\text{прп}}$ – кількість виду, яку можна виловити з 1 га;
 m – середня маса 1 екземпляра товарної риби (4 - 5 кг).

Для визначення щільності посадки дволіток певного виду на 1 га водойми збільшують $K_{\text{прп}}$ з урахуванням коефіцієнту промислового повернення:

$$\text{Щ} = K_{\text{прп}} : \lambda$$

де, Щ – щільність зариблення дволітками певного виду (на 1 га);
 λ – коефіцієнту промислового повернення (0,25).

Розрахунок кількості рибопосадкового матеріалу певного виду риб, необхідного для зариблення водойми, визначають за формулою:

$$N = \text{Щ} \times S$$

де, N – кількість рибопосадкового матеріалу певного виду риб (екз);
 S – площа водойми (га).

14.5. Розрахунок рибопродуктивності на основі біотичного балансу.

Розрахунок потенційної та промислової рибопродуктивності на основі біотичного балансу відображає біологічний кругообіг речовин і енергії у водоймах. Метод розроблений засновником продукційної гідробіології Г.Г. Вінбергом. Він включає дані про автотрофні та гетеротрофні гідробіологічні угруповання водних

екосистем. Загальна схема складання біотичного балансу водойм полягає у складанні матриці (таблиці). По вертикалі матриці виписуються автотрофні (фітопланктон, мікрофітобентос, фітоперифітон, вищі водяні рослини) та гетеротрофні угруповання гідробіонтів (бактеріопланктон, зоопланктон, зообентос, зоофітос, іхтіофауна).

По горизонталі матриці біотичного балансу водойм розміщені основні структурно-функціональні показники перерахованих угруповань гідробіонтів, що дозволяє розрахувати і записати біомасу, продукцію, деструкцію автотрофів і гетеротрофів в еквівалентних енергетичних одиницях (Ккал/м²) (табл. 14.3).

Для перерахунку величин біомаси із масових одиниць (маса,г) в енергетичні (Ккал) необхідно знати калорійність організмів, що належать до основних угруповань гідробіонтів. Для уніфікованих розрахунків біотичного балансу водних екосистем прийняті наступні величини калорійності маси (1 г) організмів (в Ккал): фітопланктон -0,8-1,4; мікрофітобентос -0,8-1,0; нитчасті водорості -0,4; вищі водяні рослини -0,4; бактеріопланктон -1; зоопланктон -0,6; зообентос -0,4; риби -1.

Біотичний баланс може служити фундаментальною основою для розрахунку потенційної та промислової рибопродуктивності водойм ,не зважаючи на неминучі припущення, спрощення і неповні дані або їх відсутність з окремих угруповань гідробіонтів (перифітон, мікрозообентос, бактеріобентос).

**Структура горизонтальної координати матриці біотичного балансу
водних екосистем**

Структурно-функціональні показники	Умовні позначення
Біомаса в середньому за вегетаційний сезон, ккал/м ²	<i>B</i>
Продукція в середньому за вегетаційний сезон, ккал/м ²	<i>P</i>
Коефіцієнт відношення продукції до біомаси (середня швидкість приросту)	<i>P/B</i>
Коефіцієнт енергії, використаної на пластичний обмін, P/A	<i>k₂</i>
Деструкція (трати на обмін) в середньому за вегетаційний сезон, ккал/м ²	<i>R</i>
Коефіцієнт відношення величин енергії, витраченої на обмін-до біомаси-коефіцієнт інтенсивності метаболізму	<i>R/B</i>
Асимільована енергія (засвоєна їжа) в середньому за вегетаційний сезон $A=P+T$, ккал/м ²	<i>A</i>
Раціон (спожиття їжі) за вегетаційний сезон $R=U \cdot A$ (1/u-засвоєність їжі ккал/м ²)	<i>r</i>

Питання для самоперевірки.

1. Які процеси лежать в основі біологічної продуктивності водойм?
2. Від яких факторів залежить біологічна продуктивність водойм?
3. Які фактори визначають рибопродуктивність водойм?
4. На чому базуються методи визначення потенційної рибопродуктивності водойм?
5. Назвіть методи визначення потенційної рибопродуктивності водойм?
6. Які показники використовують при визначенні біологічної продуктивності гідробіологічних угруповань?

7. Які показники використовують при визначенні потенційної рибопродуктивності?
8. Які показники використовують при визначенні потенційної рибопродуктивності на основі біотичного балансу?

Використана література

1. *Балтаджи Р.А.* До питання визначення природної продуктивності водойм//Рибне господарство. – 2005. Вип.64. – с. 49-55.
2. *Романенко В.Д., Оксіюк О.П., Жукинський В.Н.* и др. Экологическая оценка воздействия гидростроительства на водные объекты. Киев: Наук. Думка, 1990. – 256 с.
3. *Шерман І.М., Краснощок Г.П., Пилипенко Ю.В.* та ін. Ресурсозберігаюча технологія вирощування риби у малих водосховищах. – Миколаїв: МП “Возможности Киммерии”, 1996. – 42 с.

15. ПЕРЕЛІК ДЕРЖАВНИХ СТАНДАРТІВ ГАРМОНІЗОВАНИХ ДО МІЖНАРОДНИХ СТАНДАРТІВ

№	Ідентифікаційний стандарт	Повна назва	Короткий опис	З якими міжнародними гармонізовано (ідентифікатор міжнародного стандарту)
1	ДСТУ ISO 5667-1-2003	Якість води. Відбір проб. Частина 1. Методичні вказівки за проектом проведення відбору проб	Описує принципи вибору пунктів відбору проб води в природних водоймах, та рекомендації щодо пристроїв і засобів, які використовуються для відбору проб планктону, бентосу, перифітону, рослин, риби.	ISO 5667-1-1980 IDT Water quality -- Sampling -- Part 1: Guidance on the design of sampling programmes
2	ДСТУ ISO 5667-2-2003	Якість води. Відбір проб. Частина 2. Методичні вказівки з методів відбору проб	Цим стандартом визначають певні особливості щодо правил відбору проб води, донних відкладів та біоти у водоймах різного типу	ISO 5667-2:1991, IDT Water quality -- Sampling -- Part 2: Guidance on sampling techniques
3	ДСТУ ISO 5667-3-2003	Якість води. Відбір проб. Частина 3. Керівництво по зберіганню і поводженню з пробами.	Цей стандарт встановлює методи фіксації проб води з метою збереження відповідних показників, її якості, хімічного складу в процесі тривалого зберігання проб і їх транспортування до стаціонарних лабораторій	ISO 5667-3:1994 IDT Water quality. Sampling. Guidance on the preservation and handling of samples
4	ДСТУ ISO 5667-4-2003	Якість води. Відбір проб. Частина 4. Керівництво по відбору проб з природних і штучних озер.	Даний міжнародний стандарт визначає особливості відбору проб води і донних відкладів з природних і штучних водойм, у тому числі і з озер.	ISO 5667-4:1987, Water quality – Sampling – Part 4: Guidance on sampling from lakes, natural and manmade. IDT

5	ДСТУ ISO 5667-6:2001	Якість води. Відбір проб. Частина 6. Керівництво з відбору проб води з річок інших водотоків.	У цьому стандарті детально викладена методика з відбору проб води з річок та інших водотоків, її особливості.	ISO 5667-6:1990, Water quality – Sampling – Part 6: Guidance on sampling of rivets and streams. IDT
6	ДСТУ ISO 5667-10: 2005	Якість води. Відбір проб. Частина 10. Керівництво з відбору проб стічних вод.	Цей стандарт встановлює методи, якими необхідно керуватись при відборі проб стічних вод при проведенні токсикологічних досліджень та при вивченні стандартного стану водойм	ISO 5667-10: 1992, IDT Water quality -- Sampling -- Part 10: Guidance on sampling of waste waters
7	ДСТУ ISO 5667-12:2001	Якість води. Відбір проб. Частина 12. Керівництво з відбору проб донних відкладень.	Цим стандартом визначається методика відбору проб донних відкладень, яке пов'язано з оцінкою якості води й екологічного стану водойм різного типу.	ISO IDT 5667-12: 1995. Water quality – Sampling – Part 6: Guidance on sampling of bottom sediments.
8	ДСТУ ISO 5667-13: 2005	Якість води. Відбір проб. Частина 13. Керівництво з відбору проб мулів на спорудах по очищенню стічних вод і для водопідготовки	Вказаний стандарт передбачає застосування представлених в ньому методів відбору проб донних відкладень, зокрема, намулу на гідроспорудах з очищення стічних вод, а також на станціях водопідготовки	ISO 5667-13:1997 Water quality. Sampling. Guidance on sampling of sludges from sewage and water treatment works IDT
9	ДСТУ ISO 5667-14: 2005	Якість води. Відбирання проб. Частина 14. Настанови щодо забезпечення якості відбирання та оброблення проб природних вод.	У стандарті представлені методичні вказівки, які передбачають забезпечення якісного відбору зразків проб води та їх оброблення в стандартних лабораторіях.	ISO 5667-14: 1998, IDT Water quality -- Sampling -- Part 14: Guidance on quality assurance of environmental water sampling and handling

10	ДСТУ ISO 9308-1-2005	Якість води. Виявлення та підрахування <i>Escherichia coli</i> та коліформних бактерій. Частина 1. Метод мембранних фільтрів.	Описано мікробіологічний метод виявлення та підрахунку <i>Escherichia coli</i> та коліформних бактерій шляхом мембранного фільтрування проб води.	ISO 9308-1:2000 Water quality. Detection and enumeration of <i>Escherichia coli</i> and coliform bacteria in surface and waste water. Membrane filtration method IDT
11	ДСТУ ISO 9308-3-2001	Якість води. Визначення і підрахунок <i>Escherichia coli</i> і коліформ в поверхневих і стічних водах. Частина 3. Міні-атюризований метод інокуляції (посіву) в рідкому середовищі (метод найбільш вірогідного числа).	Рекомендовано мініатюризований метод інокуляції (посіву) в рідкому середовищі з метою визначення і підрахунку <i>Escherichia coli</i> і коліформних бактерій у поверхневих і стічних водах.	ISO 9308-3:1999 Water quality. Detection and enumeration of <i>Escherichia coli</i> and coliform bacteria in surface and waste water. Miniaturized method (most probable number) for the detection and enumeration of <i>E. coli</i> in surface and waste water IDT
12	ДСТУ ISO 4080-2001	Якість води. Оцінка здатності до повного аеробного біологічного розкладання органічних сполук у водному середовищі. Статистичне випробування (метод Уана-Велленса).	Описана методика визначення ступеню органічного забруднення водою шляхом оцінки здатності органічних сполук у водному середовищі до повного аеробного біологічного розкладання.	ISO 9888:1999 Water quality. Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium. Static test (Zahn-Wellens method) MOD

13	ДСТУ ISO 5815-2004	Якість води. Визначення біохімічного споживання кисню після 5 діб. Розведення і метод засіву.	Стандартом рекомендовано оцінювати рівень органічного забруднення водою шляхом визначення показника споживання кисню протягом 5 діб (БСК5).	ISO 5815: 1989, IDT Water quality -- Determination of biochemical oxygen demand after 5 days (BOD 5) -- Dilution and seeding method
14	ДСТУ ISO 4166-2003	Якість води. Випробування з пригнічення росту прісноводних водоростей <i>Scenedesmus subspicatus</i> , <i>Scenedesmus quadricauda</i> , <i>Selenastrum carpicornutum</i>	Рекомендований метод визначення ступеню токсичності поверхневих вод шляхом вивчення реєстрації процесів пригнічення зростання прісноводних водоростей.	ISO 8692: 1989, MOD. Water quality -- Fresh water algal growth inhibition test with <i>Scenedesmus subspicatus</i> and <i>Selenastrum carpicornutum</i>
15	ДСТУ ISO 4173-2003	Якість води. Визначення гострої летальної токсичності на <i>Daphnia magna</i> Straus та <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lilljeborg (Cladocera, Crustacea)	З метою визначення гострої летальної токсичності хімічних речовин у воді стандартом рекомендовано застосовувати метод біотестування з використанням дафній або церіодафній.	ISO 6341:1996 Water quality. Biological methods. Water quality. Determination of the inhibition of the mobility of <i>Daphnia magna</i> Straus (Cladocera, Crustacea). Acute toxicity test MOD
16	ДСТУ ISO 4174-2003	Якість води. Визначення хронічної токсичності хімічних речовин і води на тест-об'єктах (<i>Daphnia magna</i> Straus та <i>Ceriodaphnia affinis</i> lilljeborg (Cladocera, Crustacea)	Описано метод визначення хронічної дії токсичних речовин у воді шляхом біотестування з використанням тест-об'єкта дафнії або церіодафнії.	ISO 10706: 2000, IDT Water quality -- Determination of long term toxicity of substances to <i>Daphnia magna</i> Straus (Cladocera, Crustacea)

17	ДСТУ ISO 4075-2001	Якість води. Визначення гострої летальної токсичності хімічних речовин і води на прісноводній рибі (Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae). Напівстатичний метод.	Рекомендовано оцінку ступеню токсичності води і хімічних речовин шляхом застосування напівстатичного методу рибної проби, який передбачає встановлення гострої летальної токсичності певних речовин або води на прісноводній рибі.	ISO 7346-2:1998 Water quality. Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]. Semi-static method MOD
18	ДСТУ ISO 4076-2001	Якість води. Визначення гострої і летальної токсичності хімічних речовин на прісноводній рибі. (Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae).	Стандарт передбачає встановлення гострої летальної токсичності певних речовин або води на прісноводних рибах сімейства коропових за допомогою проточного методу біотестування.	ISO ISO 7346-3:1996 Water quality. Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]. Flow-through method MOD
19	ДСТУ ISO 10229-2005	Якість води. Визначення пролонгової токсичності речовин на прісноводних рибах. Методика оцінки дії речовин на темп зростання райдужної форелі. (Oncorhynchus mykiss walbaum (Teleostei, Salmonidae).	Описано метод визначення пролонгованої токсичності речовин у воді шляхом застосування методу оцінки дії цих речовин на темп росту популяції райдужної форелі після її витримування протягом 14 і 28 діб.	ISO 10229: 1994, IDT Water quality -- Determination of the prolonged toxicity of substances to freshwater fish -- Method for evaluating the effects of substances on the growth rate of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum (Teleostei, Salmonidae)

20	ДСТУ ISO 10260:2007	Якість води. Вимірювання біохімічних параметрів. Спектрометричний метод визначення концентрації хлорофілу-а	З метою визначення ступеню строфічності поверхневих вод стандартом запропоновано застосування спектрометричного методу визначення концентрації хлорофілу-а.	ISO 10260:1992, IDT Water quality -- Measurement of biochemical parameters -- Spectrometric determination of the chlorophyll-a concentration
21	ДСТУ ISO 12890:2005	Якість води. Визначення токсичності на ембріонах та ікрі прісноводних риб. Напівстатичний метод.	Стандарт визначає визначення ступеню токсичності стічних вод шляхом застосування напівстатичного методу і личинках прісноводних риб сімейства коропових <i>Danio rerio</i> .	ISO 12890:1999, IDT Water quality -- Determination of toxicity to embryos and larvae of freshwater fish -- Semi-static method

Навчальне видання
ХИЖНЯК МЕЛАНІЯ ІВАНІВНА
ЄВТУШЕНКО МИКОЛА ЮРІЙОВИЧ

**МЕТОДОЛОГІЯ ВИВЧЕННЯ УГРУПОВАНЬ ВОДНИХ
ОРГАНІЗМІВ**

Навчальний посібник

Друкується в авторській редакції
Технічний редактор – І.В. Соломаха

Видавництво Українського фітосоціологічного центру
03028, пр. Науки, 15, кв. 40, тел./факс (044) 524-11-61

Підписано до друку 22.11.2013 р. Формат 60x84 1/16
Друк ризографічний. Папію офсетний. Гарнітура Times.
Умовн. друк. арк. Умовн.вид. арк..
Наклад 300 прим. Зам №

Надруковано в друкарні
Українського фітосоціологічного центру

