

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«НАЦІОНАЛЬНИЙ ГІРНИЧИЙ УНІВЕРСИТЕТ»**



**ГІРНИЧИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра екології**

БІОІНДИКАЦІЯ.

**МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
ДО ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ**

студентами напряму підготовки

6.040106 «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування»

Дніпропетровськ
НГУ
2014

Біоіндикація. Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт студентами напряму підготовки 6.040106 «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування» / А.І. Горова, А.В. Павличенко, О.О. Борисовська, В.Ю. Грунтова, О.В. Деменко; – Д.: Національний гірничий університет, 2014. – 76 с.

Автори:

А.І. Горова, д-р біол. наук, проф.;

А.В. Павличенко, канд. біол. наук, доц.;

О.О. Борисовська, канд. техн. наук, доц.;

В.Ю. Грунтова, асистент;

О.В. Деменко, асистент.

Затверджено до видання методичною комісією з напряму 6.040106 «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування» (протокол № 2 від 06.10.2014 р.) за поданням кафедри екології (протокол № 2 від 29.09.2014 р.).

Подано методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Біоіндикація» студентами напряму підготовки 6.040106 «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування».

Відповідальна за випуск завідувач кафедри екології, д-р біол. наук, проф.
А.І. Горова.

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Методичні рекомендації призначені для формування у студентів практичних навичок застосування біоіндикаційних методів при дослідженні стану об'єктів навколишнього середовища.

Методичні рекомендації включають 8 лабораторних робіт, тексти яких викладено за типовою структурною схемою – тема, мета роботи, стисле подання теоретичних положень за темою, опис методу, приклад розрахунку, контрольне завдання, питання для самоконтролю.

Послідовність проведення лабораторних робіт відповідає темам лекційних занять, що сприяє практичному закріпленню теоретичних знань з даної дисципліни.

В результаті виконання лабораторних робіт студенти повинні:

- ❖ засвоїти методи відбору зразків об'єктів навколишнього природного середовища для біоіндикаційних досліджень;
- ❖ опанувати методику визначення токсичності природних та стічних вод, ґрунтів та ґрунтових витяжок за реакціями рослин-індикаторів, а також навчитися оцінювати вплив промислових підприємств за цим показником на стан компонентів довкілля;
- ❖ опанувати методику оцінки забруднення атмосферного повітря, яка ґрунтується на визначенні частоти зустрічальності різних видів лишайників та ступеня покриття ними дерев на досліджуваній території;
- ❖ опанувати методику оцінки якості атмосферного повітря за допомогою тесту «Стерильність пилку рослин» та навчитися оцінювати токсичну дію забруднювачів атмосферного повітря на рослини;
- ❖ опанувати методику визначення токсичності та мутагенності ґрунтів за результатами тестів «Аберантність хромосом» та «Величина мітотичного індексу» в меристематичних клітинах індикаторних рослин для оцінки впливу на них антропогенних факторів довкілля;
- ❖ опанувати методику оцінки токсичності водного середовища за зміною біологічних параметрів *Daphnia Magna S.*, а також навчитися розраховувати необхідну кратність розбавлення стічної води з метою визначення оптимальних показників виживаності в ній організмів;
- ❖ опанувати методику оцінки стабільності розвитку деревних рослин за рівнем асиметрії морфологічних структур;
- ❖ опанувати методику оцінки екологічного стану ґрунтового покриву за зміною видового біорізноманіття безхребетних тварин.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

ВІДБІР ПРОБ ОБ'ЄКТІВ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ БІОІНДИКАЦІЙНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

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

Вибір тест-полігонів. Для проведення біологічного моніторингу довкілля на досліджуваній території повинні бути виділені тест-полігони. Тест-полігони вибираються таким чином, щоб першочергово були досліджені найбільш небезпечні та техногенно-навантажені райони. Відбір проб проводять як в промислових зонах, так і в житлових масивах, віддалених від підприємств.

Загальні вимоги до відбору проб ґрунтів. Відбір проб здійснюється згідно «ГОСТ 17.4.3.01–83. Ґрунти. Відбір проб». Такі методи відбору проб ґрунту застосовуються для оцінки загального та локального забруднення навколо підприємств, поблизу автомобільних трас та ін.

При загальному забрудненні ґрунтів ділянки для відбору зразків вибирають у відповідності з координатною сіткою (указують номер і координати). При локальному забрудненні ґрунтів для визначення пробних ділянок використовують систему концентричних кіл, розташованих на диференційованих відстанях від джерела забруднення (указують номери кіл і азимут місця відбору зразків). При дослідженні забруднень ґрунтів проби відбирають пошарово з глибини 0–5; 5–20; 21–40; 41–60 см, в залежності від мети дослідження. Крім того визначається необхідний розмір досліджуваної ділянки, кількість і вид проби.

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

Обстеження земель навколо підприємств-забруднювачів та поблизу автомобільних трас. Навколо підприємств-забруднювачів обстеження земель проводиться за системою концентричних кіл, розташованих на відстані 0,5; 1; 1,5; 2,5; 5; 10 км від джерела забруднення, з урахуванням пануючих вітрів (рис. 1).

При відборі проб ґрунту з ділянок уздовж дорожніх смуг враховується те, що газопиловий струмінь автотранспорту викидається в повітря невисоко над ґрунтом, а відстань переносу викидних газів (в тому числі і аерозолів важких металів, сажі та інших речовин) не перевищує 100 м в напрямку пануючих вітрів. Ділянки для відбору зразків довжиною 200–500 м розмічають на відстанях 0–10, 10–50 і 50–100 м від полотна дороги, враховуючи рельєф, ґрунтовий і рослинний покрив, гідрологічні умови місцевості. На кожній з них відбирають 20–25 індивідуальних проб ґрунту для отримання змішаного

(середнього) зразка.

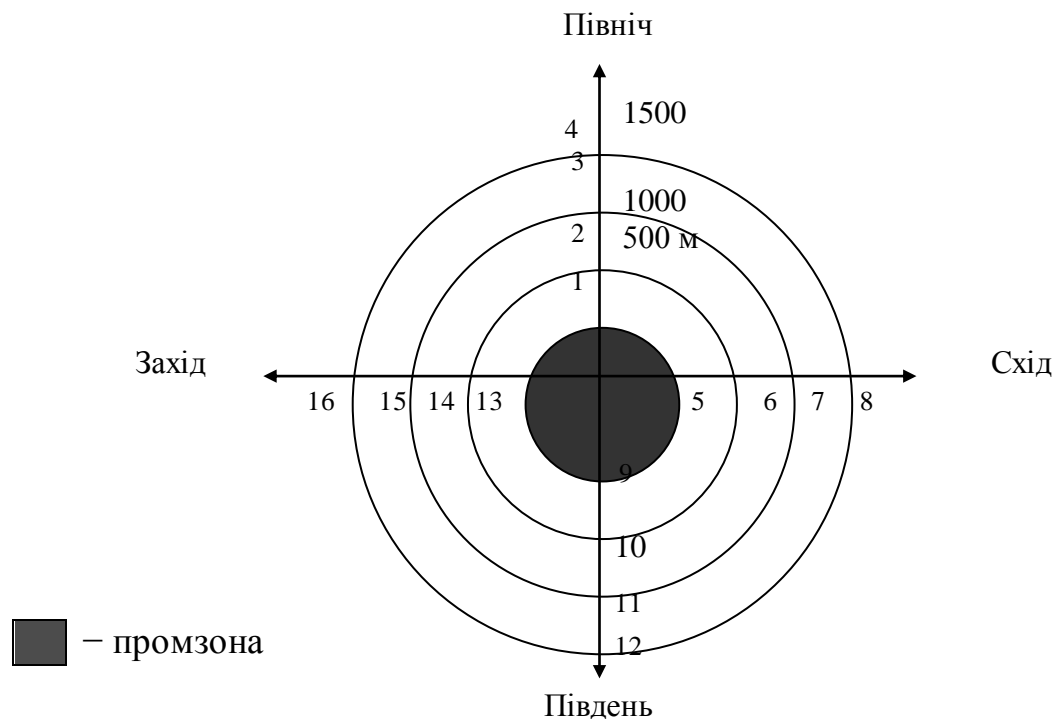


Рис. 1. Пункти відбору проб ґрунтів для визначення впливу промислового об'єкта на довкілля (1–16)

Відбір проб ґрунтів для біоіндикаційних досліджень. На першому етапі комплексного моніторингу навколишнього природного середовища із застосуванням біологічних методів оцінки рекомендується проводити великомасштабні рекогносцирувальні дослідження. Вони повинні бути прив'язані до стаціонарних постів спостереження Держкомгідромету та санітарно-епідеміологічної служби, а також включати найбільш екологічно небезпечні і умовно чисті контрольні території (за рекомендаціями обласних управлінь Міністерства екології та природних ресурсів України, санітарно-епідеміологічної служби тощо).

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

Великомасштабне картографування дозволяє встановити орієнтовані рівні мутагенного фону, а середньо- та маломасштабне картографування – диференціювати райони всередині окремих регіонів за ступенем мутагенного впливу та виявити джерела впливу на одиницю площі. При великомасштабному картографуванні за одиницю площі рекомендується приймати ділянку розміром 10000 км^2 , при середньо- та маломасштабному – 1000 і 100 км^2 , відповідно. На кожній одиниці площі повинно бути не менше 10 пунктів спостережень.

У випадку впливу окремих джерел забруднень (підприємств, електростанцій та ін.) на об'єкти навколишнього середовища, рекомендується

застосовувати метод концентричних кіл з шагом через 0,5 км (до 2,5 км).

При оцінці екологічного стану міста з населенням 1 млн. чоловік бажано поділити його територію на 20 умовних квадратів з виділенням у кожному від 10 до 20 пунктів спостережень залежно від рівня екологічної напруженості. У кожному пункті проби ґрунту відбирають за правилом «конверта» зі стороною 10–100 м. Об'єднана проба ґрунту формується з 9–12 проб, розміщується у відповідну тару, на яку ставиться печатка та наклеюється етикетка із супровідною відомістю.

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

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

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

Контрольне завдання

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

Контрольні запитання

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

Рекомендована література

1. ДСТУ ISO 5667-6-2001 Якість води. Відбір проб. Частина 6. Настанови щодо відбору проб води з річок та інших водотоків.

2. ГОСТ 12071-2000 Грунти. Відбір, упакування, транспортування і зберігання зразків.

3. ГОСТ 17.2.3.01-86 Охрана природы. Атмосфера. Правила контроля качества воздуха населенных пунктов.

4. ГОСТ 17.2.6.01-86 Охрана природы. Атмосфера. Приборы для отбора проб воздуха населенных пунктов.

5. Долина Л.Ф. Мониторинг окружающей среды и инженерные методы охраны биосферы.– Дн-вск.: Изд-во «Континент», 2002.– 208 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2

МЕТОДИКА ОЦІНКИ ТОКСИЧНОСТІ ВОДНИХ ДЖЕРЕЛ ТА ҐРУНТІВ ЗА ДОПОМОГОЮ «РОСТОВОГО ТЕСТУ»

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

Рослини – це найбільш зручні індикатори забруднення навколишнього середовища, тому що вони є первісними ланками трофічних ланцюгів і відіграють головну роль у поглинанні різного роду забруднювачів. Унаслідок цього, за допомогою рослин можна достатньо точно оцінити екологічну ситуацію на досліджуваній території.

Сутність ростового тесту полягає в обліку змін показників проростання індикаторної культури, вирощеної на досліджуваних зразках ґрунту, води, водних витяжок ґрунтів тощо. Цей метод дозволяє оцінити не тільки пригноблюючу дію різних забруднювачів на рослини, але і стимулюючий ефект.

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

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

1. Пророщування тест-культур у чашках Петрі

При оцінці токсичності проб *ґрунтів* в чашку Петрі кладуть аркуш фільтрувального паперу, на який насипають 1 грам висушеного та подрібненого ґрунту і рівномірно розподіляють по ємності. Потім додають 5–7 мл води (використовують кип'ячену питну воду, яку попередньо відстоюють кілька днів) і на ґрунт висаджують по 30–50 насінин індикаторної рослини (в залежності від крупності). Найбільш зручними культурами для тестування в чашках Петрі є рослини з дрібним насінням – редис, гірчиця, цибуля звичайна (рис. 2). Контрольним субстратом у цьому випадку є ґрунт, відібраний на умовно чистій території (заповідник, заказник, курортна зона та ін.).

При оцінці токсичності *водних* зразків (стічних та природних вод, питної

води тощо) в чашку Петрі кладуть аркуш фільтрувального паперу, зволожують його 5–7 мл водної проби і висаджують по 30–50 насінин. Через кожні шість годин проводять провітрювання чашок шляхом відкривання на декілька хвилин. Дослід триває 72–96 годин. Контрольним субстратом є кип'ячена відстояна питна вода.

Після закінчення експерименту рослини обережно виймають з чашок Петрі (при необхідності змивають з них ґрунт) та вимірюють довжину кореневої і стеблової системи паростків, а також сиру масу десяти найбільш типових проростків. Потім рослини поміщують у паперові пакети і висушують протягом декількох днів, після чого визначають їхню суху масу.

Дослідження всіх варіантів проводять у трьох повторностях.

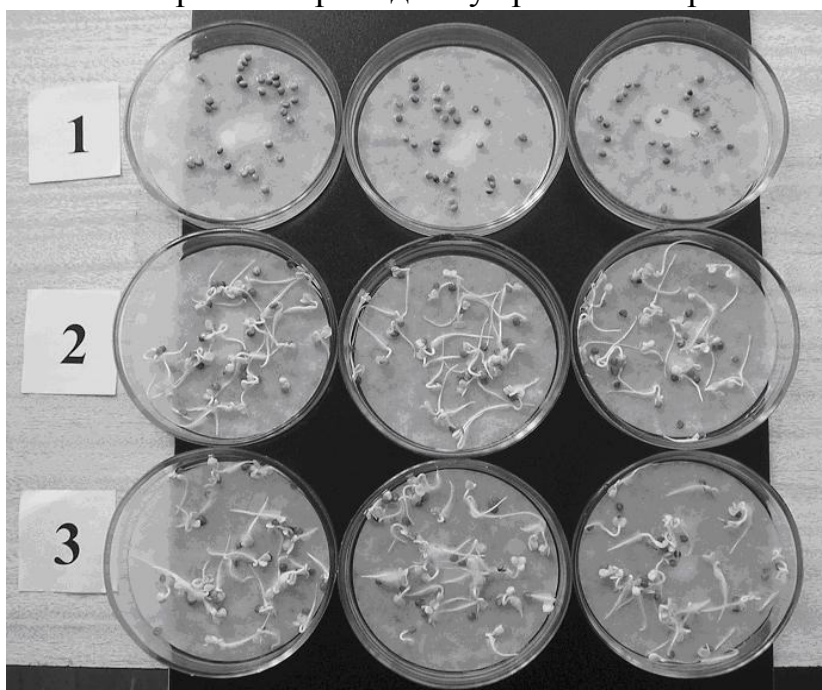


Рис. 2. Ростовий тест у чашках Петрі на насінні редису

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

При дослідженні токсичності проб води і водних витяжок за цим методом в лабораторні склянки наливають досліджувані проби води чи витяжки в об'ємі 250–500 мл. Насіння індикаторної культури (по 20–25 насінин) пророщують на спеціальних плаваючих кільцях з пінопласту, обтягнутих марлею. Для цього дослідження найбільш зручною культурою є пшениця (рис. 3). На перші кілька діб ємності з досліджуваними зразками накривають склом. Два-три рази на добу скло знімають на 10–15 хвилин для провітрювання.

На четверту добу ємності з насінням поміщують на полицю, де по можливості протягом 14-ти годин (з 6–00 до 20–00) підтримується постійне освітлення. Витримують рослини в таких умовах ще 2 тижні, фіксуючи наступні показники:

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



Рис.3. Ростовий тест на «плаваючих дисках» з насінням пшениці

При цьому звертають увагу на морфологічні особливості рослин (раннє пожовтіння, особливості розвитку кореневої системи та ін.). Дослідження всіх варіантів проводять у трьох повторностях. Контрольним субстратом є кип'ячена відстояна питна вода.

Через 2 тижні молоді рослини обережно звільняють із води та трохи підсушують на фільтрувальному папері. Потім проводять виміри довжини кореневої і стеблової системи (рис. 4) та визначають сиру масу десяти найбільш типових проростків. Після цього рослини поміщують у паперові пакети, висушують протягом декількох днів, а потім визначають суху масу.

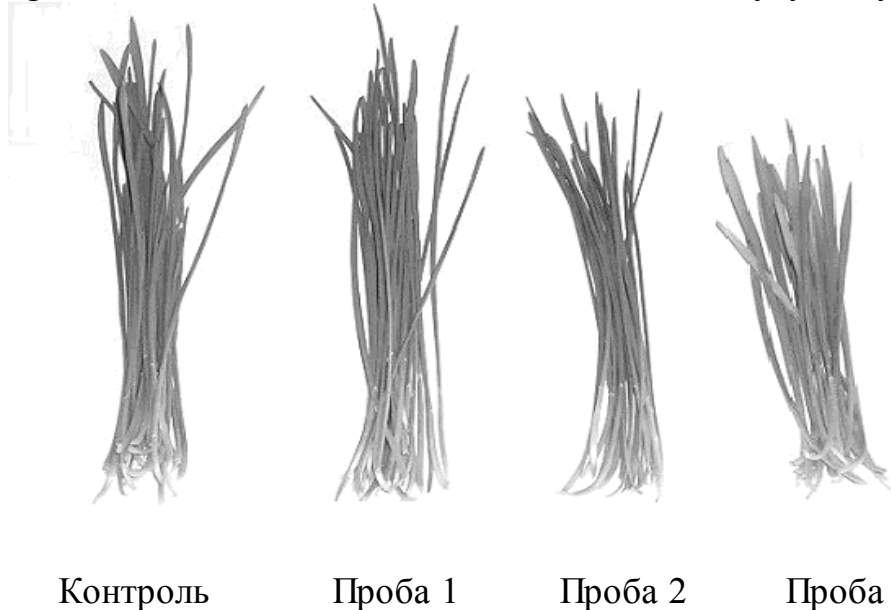


Рис. 4. Вимірювання довжини надземної частини паростків пшениці

3. Пророщування тест-культур у ємностях

При дослідженні токсичності проб ґрунту в кожному з посудин вносять по

50–100 г субстрату, зволоженого до 70% (використовують кип'ячену відстояну питну воду), і висівають по 15–20 пророслих насінин тест-культури. У даному випадку індикатором може слугувати будь-яка рослина. Для дослідження використовують лабораторний скляний простерилізований посуд, у разі його відсутності – чисті пластикові стакани, чашки та ін.

На перші кілька діб посудини з досліджуваними зразками накривають склом. Два-три рази на добу скло знімають на 10–15 хвилин для провітрювання. На четверту добу ємності з висадженим в них насінням поміщають на полицю, та створюють для них умови, аналогічні вказаним вище (п. 2).

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

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

В ході експерименту зважування періодично повторюють і компенсують утрату вологи шляхом поливу відповідною кількістю води.

Дослідження усіх варіантів проводять в трьох повторностях. Контрольним субстратом у цьому випадку є ґрунт, відібраний в екологічно чистій зоні (заповідник, заказник, курортна зона та ін.).

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

$$m = \sqrt{\frac{\sigma^2}{N}} \quad (1.1)$$

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

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N} \quad (1.2)$$

Достовірність різниці середніх арифметичних t розраховується за критерієм Стьюдента-Фішера:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}, \quad (1.3)$$

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

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

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

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

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

$$FE = \frac{M_0 - M_x}{M_0} \cdot 100, \% \quad (1.4)$$

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

Приклад розрахунку

При дослідженні токсичності проб річкової води, відібраної на відстані 500, 1000 і 1500 м від місця скиду стічних вод підприємства, були отримані наступні результати (табл. 1). В якості біоіндикатора використовували насіння озимої пшениці, пророщування якої проводилося на «плаваючих дисках». Контрольним субстратом була вода, відібрана на відстані 500 м вище місця скиду стічних вод підприємства.

Завдання: – оцінити токсичність зразків річкової води, відібраних на відстані 500, 1000 та 1500 м від місця скиду стічних вод промислового підприємства;

- встановити розмір зони впливу стічних вод підприємства на водний об'єкт;

- обчислити величину фітотоксичного ефекту від дії стічних вод підприємства.

Хід розрахунків

Для кожного досліджуваного варіанта за формулою 1.2 обчислюємо середнє арифметичне висоти рослин і довжини корінців та дисперсію. Висота рослин у контрольному досліді:

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

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

Довжина корінців у контрольному досліді:

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

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

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

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

Помилку середніх арифметичних для кожного варіанта визначаємо за формулою 1.1:

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

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

Аналогічні розрахунки виконуємо для інших дослідів

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

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

Для варіанту 2 (1000 м від місця скиду):

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

Для варіанту 3 (1500 м від місця скиду):

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

Для визначення наявності чи відсутності токсичних властивостей у досліджуваних зразків, за формулою 1.3 визначимо достовірність отриманих результатів відрізняються від контрольного досліджу:

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

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

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

Для варіанту 2 (1000 м від місця скиду):

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

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

Для варіанту 3 (1500 м від місця скиду):

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

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

Результати розрахунків заносимо в табл. 2.

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

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

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

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

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

Таким чином, зона впливу стічних вод підприємства на річку поширюється на відстань до 1000 м від місця скиду стічних вод (рис. 5).

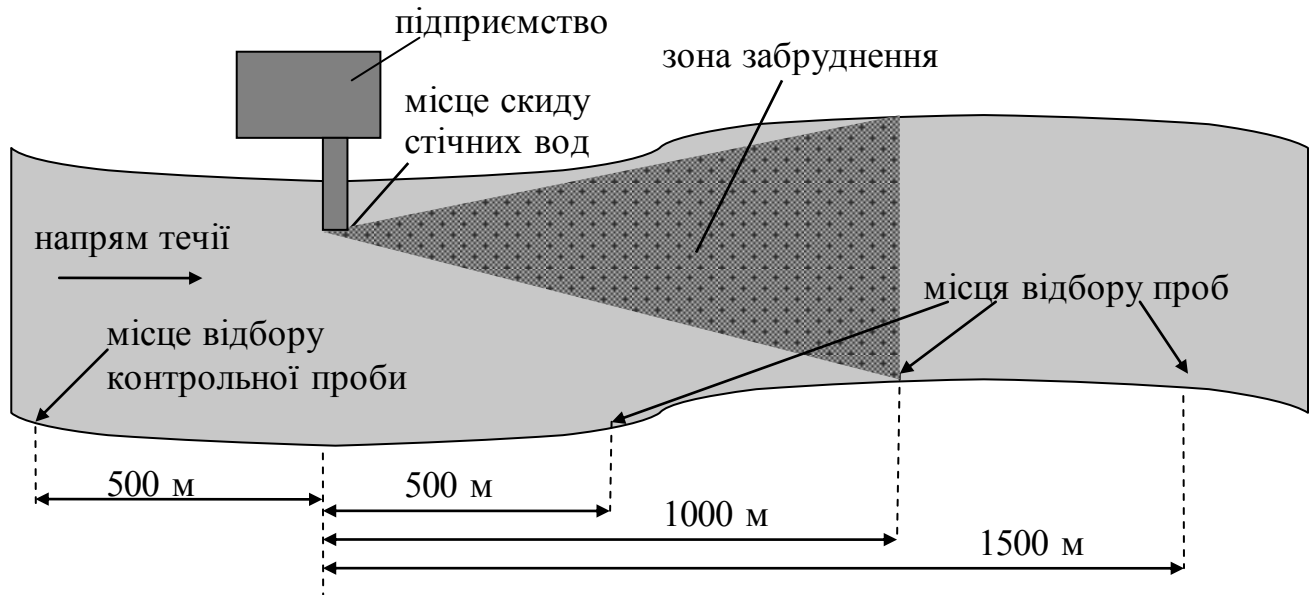


Рис. 5. Зона впливу стічних вод промислового підприємства на річку

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

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

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

Таблиця 3 – Фітотоксичний ефект від дії стічних вод підприємства

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

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

Висновки. У ході експерименту було встановлено, що:

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

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

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

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

Контрольне завдання

Оцінити вплив стічних вод промислового підприємства на якість природної води за результатами ростового тесту. Варіанти вихідних даних наведені в додатку 1 і обираються відповідно до порядкового номеру студента в списку академічної групи.

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

Контрольні запитання

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

Рекомендована література

1. Федорова А.И., Никольская А.Н. Практикум по экологии и охране окружающей среды: Учебное пос. – Воронеж: Воронеж. гос. ун-т, 1997. – 305 с.
2. Калінін М.І., Єлісеєв В.В. Біометрія: Підручник для студентів вузів біологічних та екологічних напрямків.– Миколаїв: Вид-во МФ НаУКМА, 2000.– 204 с.
3. Бурдин К.С. Основы биологического мониторинга. – М.: изд-во МГУ, 1985. - 160 с.
4. Руденко С.С., Костишин С.С., Морозова Т.В. Загальна екологія: практичний курс. Частина 1. Чернівці.: Рута, 2003. – 320 с.
5. Клименко М.О., Прищепя А.М., Вознюк Н.М. Моніторинг довкілля. – К.: Академія, 2006. – 360 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

ОЦІНКА ЗАБРУДНЕНОСТІ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ ЗА ДОПОМОГОЮ ЛИШАЙНИКІВ (ЛІХЕНОІНДИКАЦІЯ)

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

Лишайники – своєрідна група комплексних організмів – гриба (мікобіонта) й водорості (фікобіонта), які утворюють єдине симбіотичне співжиття, що відрізняється вільними морфологічними типами й особливими фізіолого-біохімічними процесами.

Вегетативне тіло лишайника, яке називають талломом або сланню, цілком складається з переплетення грибних гіфів. Водорості або розкидані безсистемно серед грибних гіфів у всій товщі слані (рис. 6а), або розташовані окремим диференційованим шаром трохи нижче її поверхні. (рис. 6б).

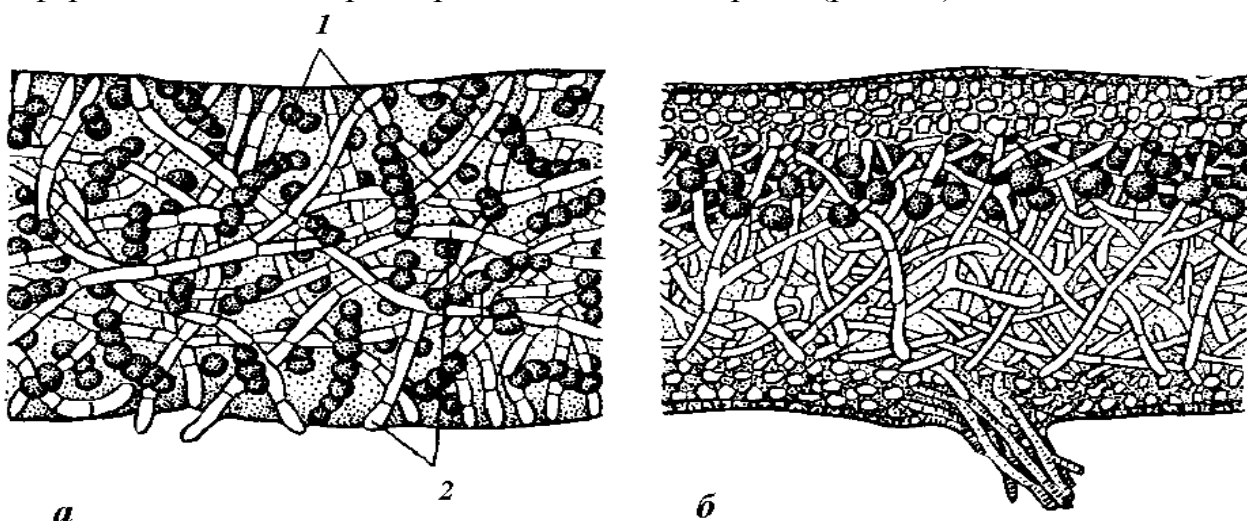


Рис. 6. Клітини водорості, охоплені гіфами гриба:
а – поперечний розріз гомеомірного таллому; б – поперечний розріз гетеромірного таллому (1 – клітини водорості, 2 – гіфи гриба)

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

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

1. *Накипні*, таллом яких являє собою скоринку, що міцно зчеплена зі субстратом (корою дерева, поверхнею каміння) (рис. 7). Такі лишайники неможливо відокремити від субстрату без ушкодження.

Як правило, накипні слані мають невеликі розміри, а їхній діаметр становить кілька міліметрів або сантиметрів (іноді може досягати й 20–30 см).

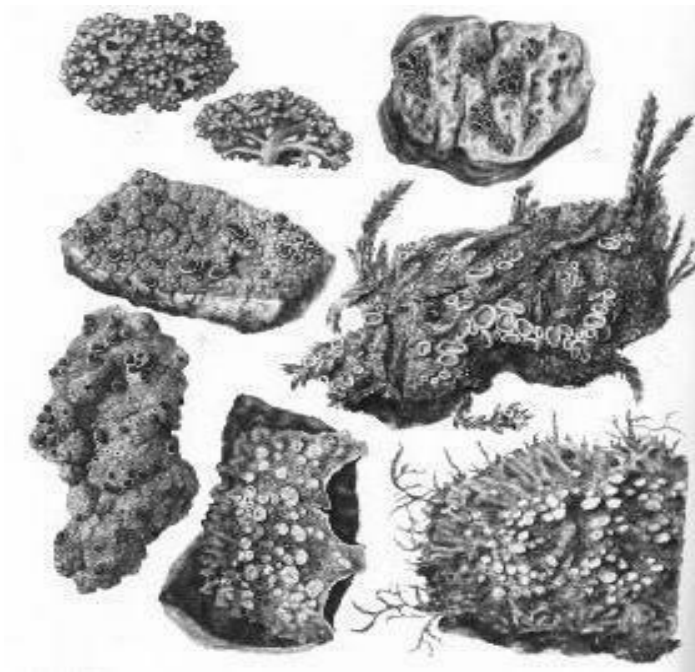


Рис. 7. Накипні лишайники

2. *Листуваті*, таллом яких має вигляд лусочок або листовидних пластинок (рис. 8). Найбільш проста слань листоватих лишайників має вигляд однієї великої округлої листовидної пластинки, що досягає в діаметрі 10–20 см. Слань, що складається з однієї листовидної пластинки, зветься *монофільною*. Монофільна пластинчаста слань звичайно прикріплюється до субстрату тільки у своїй центральній частині за допомогою товстої короткої ніжки, що називають *гомфом*. Більш складною за будовою є листовата слань, розсічена на безліч дрібних лопастей. Як правило, вони зібрані в округлі розетки, але іноді утворюють слані невизначених, нескінченно різноманітних форм.

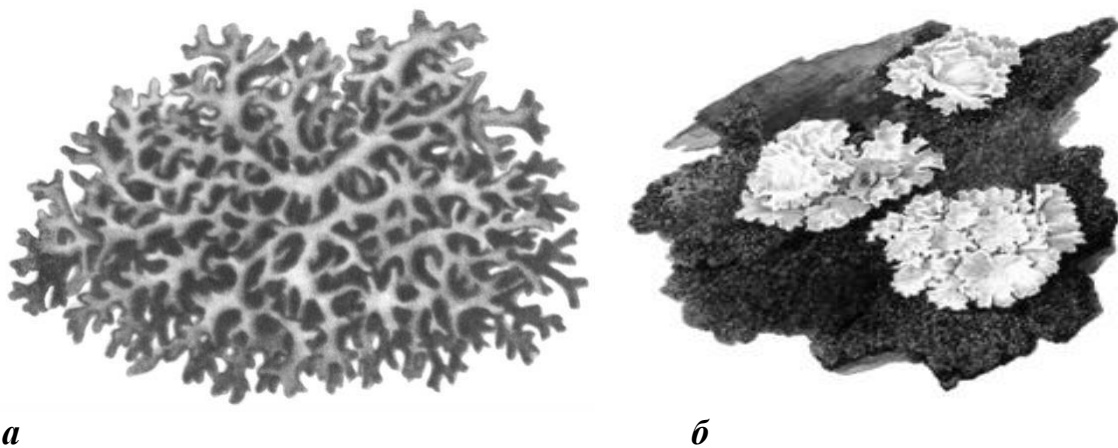


Рис. 8. Листуваті лишайники:
а – пармелія ; б – цетрарія

Характерною рисою нижньої поверхні листоватих лишайників є те, що вона майже завжди утворює особливі органи, за допомогою яких листоватий лишайник прикріплюється до субстрату. На відміну від накипних лишайників,

слань яких щільно зростається із субстратом, листуваті лишайники звичайно досить слабо з ним зв'язані й, у більшості випадків, можуть бути легко відділені від субстрату.

3. *Рунисті*, таллом яких складається з гілочок або звисаючих «борід» (рис. 9). За організаційним рівнем рунисті лишайники представляють собою вищий етап розвитку слані. На відміну від накипних і листуватих форм лишайників, для яких характерний горизонтальний ріст гіфів, у рунистих лишайників спостерігається вертикально спрямований ріст гіфів і верхівковий ріст сланей.

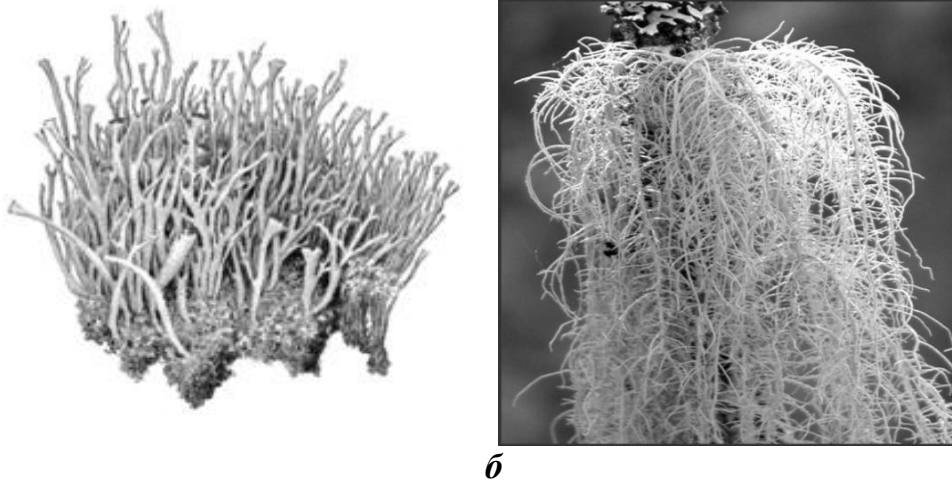


Рис. 9. Рунисті лишайники:
а – кладонія; б – уснея

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

Особливості використання лишайників для цілей біоіндикації. Все необхідне для життя лишайники отримують із повітря й атмосферних опадів, і при цьому не мають спеціальних пристосувань, що запобігають надходженню в їхні тіла різних забруднювачів. Таллом лишайника не має кутикули, тому поглинання елементів проходить дуже швидко, і шкідливі речовини легко накопичуються без можливості виділення. Надходячи в таллом, такі з'єднання руйнують хлоропласти водоростей, рівновага між компонентами лишайника порушується, і організм гине. Тому багато видів лишайників швидко зникають з територій, підданих значному забрудненню атмосферного повітря. Таким чином, лишайники є ідеальним об'єктом біоіндикації стану атмосферного повітря.

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

Метод оцінки забруднення атмосферного повітря за допомогою лишайників одержав назву *ліхеноіндикація*. У ліхеноіндикації використовуються методи пасивного й активного спостереження.

В процесі *пасивного* спостереження вивчають кількість лишайників та їх видів, а також розміри покриття лишайниками поверхні субстрату в природному біотопі. При *активному* спостереженні ступінь забруднення атмосферного повітря шкідливими речовинами оцінюють за кількістю ушкодженого таллому (% від загальної площі лишайника) і за вмістом забруднюючих речовин у слані лишайника.

Опис методу. Обирають район для дослідження й складають його карту з нанесенням ТЕС, заводів, потужних підприємств та великих автомагістралей. Розбивають досліджувану територію на квадрати розміром 10x10 м, 20x20 м, 50x50 м, 100x100 м (залежно від мети дослідження й розрідженості насаджень). У кожному квадраті вибирають 10 старих, але здорових дерев, що ростуть окремо. На кожному дереві підраховують кількість видів лишайників. При цьому, точну назву видів знати не обов'язково – досить відрізнити їх за формою таллому.

Потім проводять оцінку ступеня покриття деревного стовбура лишайником. Для цього на висоті 30–150 см на найбільш зарослу лишайниками частину кори дерева накладають рамку з розмірами 10x10 см і клітками 1x1 см (*палетку*). Підраховують, який відсоток загальної площі рамки займають лишайники.

Крім дерев, додатково можна досліджувати заростання лишайниками каменів, ділянок ґрунту, стін будинків і т.д. Отримані результати заносять в таблицю (табл.4.).

Таблиця 4 – Результати ліхеноіндикації

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

Потім підраховують частоту зустрічаємості кожного виду лишайників за формулою:

$$A^{виду} = \frac{m^{виду}}{n} \cdot 100, \% \quad (3.1)$$

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

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

$$S^{виду} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_i, \%, \quad (3.2)$$

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

Після цього кожному отриманому значенню частоти зустрічальності лишайників певного виду $A^{виду}$ й ступеню їхнього покриття $S^{виду}$ привласнюють свій умовний бал оцінки: відповідно $a^{виду}$ й $s^{виду}$ за шкалою, наведеною в табл. 5.

Таблиця 5 – Оцінка частоти зустрічальності й ступеня покриття лишайниками за п'ятибальною шкалою

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

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

$$M^{виду} = \frac{a_i^{виду} + S_i^{виду}}{2}. \quad (3.3)$$

Після цього визначають показник відносної чистоти атмосфери:

$$Q = \frac{M^H + 2 \cdot M^L + 3 \cdot M^K}{30}, \quad (3.4)$$

де M^H , M^L и M^K – середній умовний бал частоти зустрічаємості й ступеню покриття накипних, листуватих і рунистих лишайників, відповідно.

За даним показником згідно шкали, наведеної в табл. 6, роблять висновки щодо ступеня забруднення атмосферного повітря.

Таблиця 6 – Шкала оцінки забруднення атмосферного повітря за результатами ліхеноіндикації

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

Приклад розрахунку

При дослідженні території парку ім. Шевченка м. Дніпропетровська методами ліхеноіндикації були отримані наступні результати (табл. 7).

Таблиця 7 – Результати ліхеноіндикації парку ім. Шевченка

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

За формулою 3.1 підраховують частоту зустрічаємості кожного виду лишайників.

Частота зустрічаємості накипних лишайників:

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

Частота зустрічаємості листуватих лишайників:

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

Частота зустрічаємості рунистих лишайників:

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

За формулою 3.2 визначають середній ступінь покриття площі рамки лишайниками кожного виду.

Ступінь покриття накипних лишайників:

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

Ступінь покриття листуватих лишайників:

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

Ступінь покриття рунистих лишайників:

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

За шкалою оцінки, наведеною в табл. 5, отриманим значенням частоти зустрічальності лишайників певного виду $A^{виду}$ та ступеню їхнього покриття $S^{виду}$ привласнюють умовний бал оцінки $a^{виду}$ та $s^{виду}$:

$$A^H=120,0\% \quad \rightarrow \quad a^H=5 \quad (\text{дуже часто})$$

$$A^L=70,0\% \quad \rightarrow \quad a^L=5 \quad (\text{дуже часто})$$

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

Для кожного виду лишайників обчислюють середній умовний бал частоти зустрічальності й ступеню покриття за формулою 3.3.

Середній умовний бал для накипних лишайників:

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

Середній умовний бал для листоватих лишайників:

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

Середній умовний бал для рунистих лишайників:

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

Після цього за формулою 3.4 визначають показник відносної чистоти атмосфери:

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

Висновки: Згідно оціночної шкали (табл. 6) визначаємо, що атмосферне повітря на досліджуваній території парку ім. Шевченка має **середній рівень** забруднення.

Контрольне завдання

Виконати оцінку забруднення атмосферного повітря за результатами дослідження території методом ліхеноіндикації. Варіанти вихідних даних наведені в додатку 2.

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

Контрольні запитання

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

Рекомендована література

1. Бурдин К.С. Основы биологического мониторинга.- М.: изд-во МГУ, 1985.- 160 с.
2. Руденко С.С., Костишин С.С., Морозова Т.В. Загальна екологія: практичний курс. Частина 1. Чернівці.: Рута, 2003. – 320 с.

3. Клименко М.О., Прищепя А.М., Вознюк Н.М. Моніторинг довкілля. – К.: Академія, 2006. – 360 с.

4. Білявський Г.О., Бутченко Л.І. Основи екології: теорія та практикум. Навч. посібник. – К.: Лібра, 2004.– 368 с.

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

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

ОЦІНКА ТОКСИЧНОСТІ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ ЗА ТЕСТОМ «СТЕРИЛЬНІСТЬ ПИЛКУ РОСЛИН»

Мета роботи: навчитися визначати токсичність атмосферного повітря за допомогою рослин-індикаторів за тестом «Стерильність пилку рослин».

Стерильність – нездатність або знижена здатність організму продукувати нормальні гамети. Відомо, що *стерильні* (нежиттєздатні) пилкові клітини або новоутворення в пилку індукуються хімічними і фізичними забруднювачами атмосфери. Результатом дії забруднювачів навколишнього середовища є зміна *фертильності* пилку (від лат. *фертиліс* – родючий), що несприятливо позначається на життєздатності всієї фітопопуляції. На рис. 10 та 11 зображені фертильні та стерильні клітини пилку індикаторних рослин.

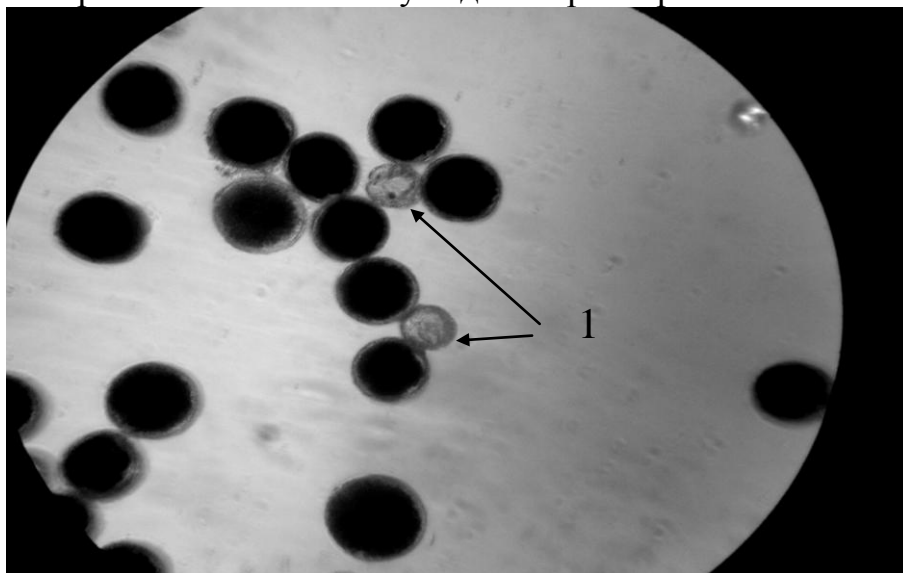


Рис. 10. Клітини пилку Лапчатки прямостоячої (*Potentilla anserine* L.)
1 – стерильні клітини, усі інші клітини пилку є фертильними

Опис методу. Метод визначення рівнів токсичності атмосферного повітря ґрунтується на встановленні різниці між рівнем стерильності пилку рослин-індикаторів, що ростуть на досліджуваній території, та аналогічним показником в екологічно чистих умовах (контроль).

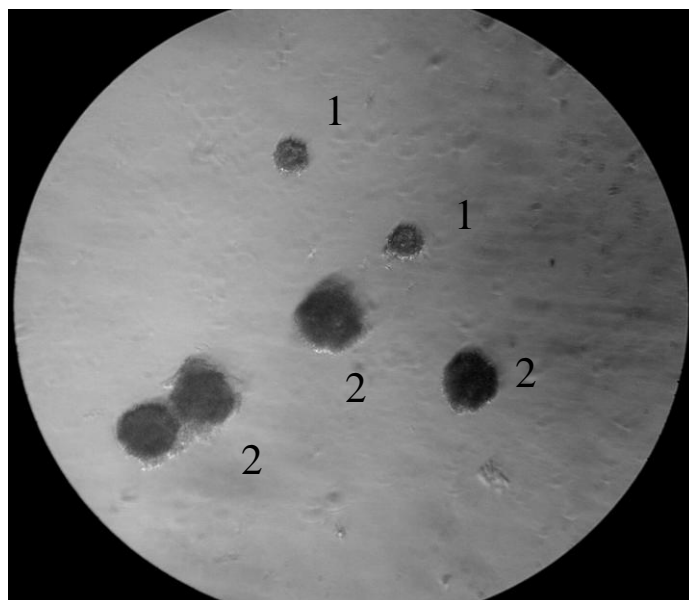


Рис. 11. Клітини пилку Кульбаби лікарської (*Taraxacum officinalis* Webb.),
1 – стерильні клітини пилку, 2 – фертильні клітини пилку.

Для визначення загальної токсичності (або потенційної мутагенності) повітряного басейну застосовується тест «Стерильність пилку рослин». В якості індикаторів рекомендується застосовувати види рослин, приведені в табл. 8. Відбір проб пилку проводять згідно методики, представленої у лабораторній роботі №1.

Встановлено, що фертильні і стерильні клітини пилку рослин відрізняються за вмістом крохмалю. Нормальний його вміст відповідає стадії завершення формування сперміїв. Фертильні пилкові зерна цілком заповнені крохмалем, а стерильні – не містять його або мають його сліди.

Забарвлення препаратів проводять йодним розчином за Грамом, для приготування якого необхідно розчинити 2 г йодистого калію в 5 мл дистильованої води при нагріванні з наступним додаванням 1 г металевого йоду. Об'єм готового до використання розчину доводять до 300 мл і зберігають у темному посуді.

Фертильні пилкові зерна забарвлюються в охристо-коричневі кольори, а стерильні – зовсім не забарвлюються, або фрагментарно (на 20–30%) набувають слабого, майже прозорого жовтого тону.

Зрілі бутони квіток мішаної проби після фіксації у 70%-му етанолі (або без нього) препарують на предметному склі. Тичинки відокремлюють від усіх елементів квітки за допомогою пінцету і препарувальної голки та переносять у краплю йодного розчину. Пильовики дрібних квітів розкривають препарувальною голкою на предметному склі в краплі йодного розчину, видаляють зайві тканини і накривають покривним склом. При необхідності додають ще 1–2 краплі йодного розчину. Через 2–3 хвилини готовий препарат аналізують під мікроскопом.

У кожному препараті під мікроскопом зі збільшенням 7x20 чи 7x40 переглядають від 1000 до 3000 пилкових зерен. Серед них підраховують стерильні і фертильні клітини із застосуванням лічильника.

Стерильність пилкових зерен визначають у відсотках за формулою:

$$M = \frac{G}{N} \cdot 100, \quad (4.1)$$

де G – кількість стерильних пилкових зерен; N – кількість досліджених пилкових зерен.

Потім знаходять помилку розрахунку за виразом:

$$m = \pm \sqrt{\frac{M \cdot (100 - M)}{N}}, \% \quad (4.2)$$

При цьому повинна виконуватися умова $3 \cdot m < M$. У противному разі необхідно збільшувати кількість спостережень, щоб зменшити помилку.

Для оцінки стану атмосферного повітря за рівнем стерильності пилку рослин використовують умовний показник ушкодженості:

$$УПУ_i = \frac{|P_{реал.} - P_{комф.}|}{|P_{крит.} - P_{комф.}|}, \quad (4.3)$$

де $P_{комф.}$ і $P_{крит.}$ – значення стерильності пилку рослин в комфортних та критичних умовах, відповідно; $P_{реал.}$ – значення стерильності пилку рослин на досліджуваній території (М, %); i – номер проби (варіанту).

Оскільки індикаторні види рослин характеризуються різними рівнями спонтанної стерильності пилку, яка спостерігається в екологічно чистих комфортних умовах ($P_{комф.}$), і різними рівнями ушкодження гамет в критичних умовах ($P_{крит.}$), була проведена класифікація індикаторів за п'ятьма класами: 1 – високостійкі; 2 – стійкі; 3 – середньої стійкості; 4 – чутливі; 5 – високочутливі.

Характеристика цих класів необхідна для визначення умовних показників ушкодженості клітин пилку або індикаторних рослин за цитогенетичним статусом і подальшої інтегральної оцінки стану навколишнього середовища (табл. 8).

Таблиця 8 – Класифікація індикаторів за стійкістю пилку до дії несприятливих екологічних факторів

Біоіндикатор	Група стійкості	
<i>Tilia platyphyllos</i> Soop.	Липа широколиста	1
<i>Prunus spinosa</i> L.	Слива колюча	1
<i>Calendula officinalis</i> L.	Календула лікарська	1
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	Берізка польова	1
<i>Betula pendula</i> Roth.	Береза повисла	2
<i>Barbarea vulgaris</i> R. Br.	Суріпиця звичайна	2
<i>Chelidonium majus</i> L.	Чистотіл великий	2
<i>Cichorium intibus</i> L.	Цикорій звичайний	2
<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam.	Абрикос звичайний	3
<i>Castanea vulgaris</i> Lam.	Каштан кінський	3
<i>Berberoa incana</i> L.	Гикавка сіра	3
<i>Sambucus nigra</i> L.	Бузина чорна	3
<i>Trifolium repens</i> L.	Конюшина повзуча	4

Біоіндикатор	Група стійкості
<i>Cerasus vulgaris</i> Mill.	Вишня звичайна
<i>Rosa ucrainica</i> Chrshan.	Шипшина українська
<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	Акація біла
<i>Percica vulgaris</i> Mill.	Персик звичайний
<i>Polygonum fagopyrum</i> moench L.	Гречка їстівна
<i>Solanum tuberosum</i> L.	Паслін бульбистий
<i>Fraxinus excelsior</i> L.	Ясень звичайний

В залежності від групи чутливості біоіндикаторів, встановлюються наступні рівні стерильності пилку на екологічно чистих ($P_{комф.}$) та максимально забруднених ($P_{крит.}$) територіях (табл. 9).

Таблиця 9 – Нормативні значення цитогенетичних показників біоіндикаторів

№ групи	Групи стійкості (чутливості)	Стерильність пилку, %	
		$P_{комф}$	$P_{крит}$
1	Високо стійкі	0,2	10,0
2	Стійкі	0,5	20,0
3	Середні	1,0	30,0
4	Чутливі	1,5	40,0
5	Високочутливі	2,0	50,0

Інтегральний показник, що характеризує рівень токсичності атмосферного повітря на досліджуваній ділянці, обчислюється за формулою:

$$IУПУ_i = \frac{1}{n} \cdot (УПУ_1 + УПУ_2 + \dots + УПУ_n) = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n УПУ_i \quad (4.4)$$

де $УПУ_1, УПУ_2, \dots, УПУ_n$ – умовні показники ушкодження рослин-індикаторів на досліджуваній ділянці, n – кількість проаналізованих рослин-індикаторів на досліджуваній ділянці.

Середній інтегральний умовний показник ушкодження біоіндикаторів на досліджуваній території обчислюють за формулою:

$$IУПУ_{заг} = \frac{1}{m} \cdot (IУПУ_1 + IУПУ_2 + \dots + IУПУ_n) = \frac{1}{m} \cdot \sum_{i=1}^m IУПУ_i \quad (4.5)$$

де $IУПУ_1, IУПУ_2, \dots, IУПУ_n$ – інтегральні показники ушкодження рослин-індикаторів на досліджуваних ділянці, m – кількість досліджених ділянок.

Значення умовних показників ушкодження ($УПУ$ та $IУПУ$) змінюються в межах від 0 (комфортні для життєдіяльності умови) до 1 (критичні умови). Для оцінки рівня ушкодження біоіндикаторів, стану біоіндикаторів та екологічної ситуації використовують єдину уніфіковану шкала (табл. 10).

Приклад розрахунку

В результаті дослідження стерильності пилок зерен рослин-індикаторів, які ростуть на території промислової зони підприємства, а також

на відстані 500 та 1500 м від нього, були отримані наступні результати (табл. 11).

Таблиця 10 – Шкала оцінки екологічної ситуації та рівнів ушкодженості біоіндикаторів

Діапазон чисельних значень УПУ	Рівень ушкодженості біоіндикаторів	Стан біоіндикаторів	Екологічна ситуація
0,000 ÷ 0,150	Низький	Сприятливий	Еталонна
0,151 ÷ 0,300	Нижче середнього	Насторожуючий	Задовільна
0,301 ÷ 0,450	Середній	Конфліктний	Незадовільна
0,451 ÷ 0,600	Вище середнього	Загрозливий	Незадовільна
0,601 ÷ 0,750	Високий	Критичний	Катастрофічна
0,751 і вище	Максимальний	Небезпечний	Катастрофічна

Таблиця 11 – Результати дослідження рівня стерильності пилку рослин-індикаторів

Місце відбору зразків	Біоіндикатор	Кількість клітин	
		досліджених	стерильних
Промислова зона підприємства	Липа широколиста	3000	188
	Суріпиця звичайна	1500	175
	Бузина чорна	1200	235
	Акація біла	1000	262
	Ясень звичайний	2000	567
500 м від підприємства	Слива колюча	2000	102
	Береза повисла	2100	224
	Гикавка сіра	1550	268
	Шипшина українська	1000	201
	Паслін бульбистий	1000	275
1500 м від підприємства	Берізка польова	2500	68
	Цикорій звичайний	1100	51
	Абрикос звичайний	2300	215
	Конюшина повзуча	1500	147
	Персик звичайний	1600	178

Для оцінки стану атмосферного повітря на території промислової зони підприємства визначаємо рівень стерильності пилку липи широколистої за формулою 4.1:

$$M^1 = \frac{G^1}{N^1} \cdot 100 = \frac{188}{3000} \cdot 100 = 6,27\%$$

Після цього обчислюємо помилку за формулою 4.2:

$$m^1 = \pm \sqrt{\frac{M^1 \cdot (100 - M^1)}{N^1}} = \pm \sqrt{\frac{6,27 \cdot (100 - 6,27)}{3000}} = 0,44 \%$$

$3 \cdot m^1 = 3 \cdot 0,44 = 1,33 < 6,27$; тобто кількість досліджених пилкових зерен достатня.

Для суріпиці звичайної отримаємо:

$$M^2 = \frac{G^2}{N^2} \cdot 100 = \frac{175}{1500} \cdot 100 = 11,67\%$$

$$m^2 = \pm \sqrt{\frac{M^2 \cdot (100 - M^2)}{N^2}} = \pm \sqrt{\frac{11,67 \cdot (100 - 11,67)}{1500}} = 0,83$$

$$3 \cdot m^2 = 3 \cdot 0,83 = 2,49 < 11,67.$$

Аналогічно визначаємо рівень стерильності пилку для усіх інших індикаторних рослин. Результати розрахунків заносимо в табл. 12.

Таблиця 12 – Стерильність пилку рослин-індикаторів

Місце відбору зразків	Біоіндикатор	Стерильність пилку, $M \pm m$, %
Промислова зона підприємства	Липа широколиста	6,27±0,44
	Суріпиця звичайна	11,67±0,83
	Бузина чорна	19,58±1,15
	Акація біла	26,20±1,39
	Ясень звичайний	28,35±1,01
500 м від підприємства	Слива колюча	5,10±0,49
	Береза повисла	10,67±0,67
	Гикавка сіра	17,29±0,96
	Шипшина українська	20,10±1,27
	Паслін бульбистий	27,50±1,41
1500 м від підприємства	Берізка польова	2,72±0,33
	Цикорій звичайний	4,64±0,63
	Абрикос звичайний	9,35±0,61
	Конюшина повзуча	9,80±0,77
	Персик звичайний	11,13±0,79

Далі переходимо до оцінки якості повітря за умовними показниками ушкодженості.

Для оцінки стану атмосферного повітря на території промислової зони підприємства визначаємо $УПУ_1$ липи широколистої за формулою 4.3. Згідно табл. 8 та 9 липа широколиста відноситься до першої групи чутливості (високо стійкі) та має значення стерильності пилку в комфортних умовах $П_{комф.} = 0,2\%$, а в критичних умовах $П_{крит} = 10\%$. Таким чином, маємо:

$$УПУ_1 = \frac{|П_{реал.1} - П_{комф.1}|}{|П_{крит1} - П_{комф.1}|} = \frac{|6,27 - 0,2|}{|10 - 0,2|} = 0,619$$

Суріпиця звичайна відноситься до другої групи чутливості (стійкі), значення стерильності пилку в комфортних умовах дорівнює $П_{комф.} = 0,5\%$, в критичних умовах $П_{крит} = 20\%$. Звідси:

$$УПУ_2 = \frac{|П_{реал.2} - П_{комф.2}|}{|П_{крит2} - П_{комф.2}|} = \frac{|11,67 - 0,5|}{|20 - 0,5|} = 0,573$$

Аналогічним чином обчислюємо умовні показники ушкодженості для інших біоіндикаторів.

Далі визначаємо інтегральний показник, що характеризує стан атмосферного повітря на території промислової зони за формулою 4.4:

$$\begin{aligned} ІУПУ_1 &= \frac{1}{5} \cdot (УПУ_1 + УПУ_2 + УПУ_3 + УПУ_4 + УПУ_5) = \\ &= \frac{1}{5} \cdot (0,619 + 0,573 + 0,641 + 0,642 + 0,549) = 0,605 \end{aligned}$$

Аналогічно визначаємо ІУПУ для територій, що знаходяться на відстані 500 м і 1500 м від підприємства, та заносимо результати в табл. 13.

Таблиця 13 – Результати розрахунків умовних показників ушкодженості біоіндикаторів

Місце відбору зразків	Біоіндикатор	УПУ	ІУПУ
Промислова зона підприємства	Липа широколиста	0,619	0,605
	Суріпиця звичайна	0,573	
	Бузина чорна	0,641	
	Акація біла	0,642	
	Ясень звичайний	0,549	
500 м від підприємства	Слива колюча	0,500	0,519
	Береза повисла	0,521	
	Гикавка сіра	0,562	
	Шипшина українська	0,483	
	Паслін бульбистий	0,531	
1500 м від підприємства	Берізка польова	0,257	0,233
	Цикорій звичайний	0,212	
	Абрикос звичайний	0,288	
	Конюшина повзуча	0,216	
	Персик звичайний	0,190	
Середнє на досліджуваній території			0,452

Потім обчислюємо середній інтегральний умовний показник ушкодженості біоіндикаторів на досліджуваній території за формулою 4.5:

$$ІУПУ_{заг} = \frac{1}{3} \cdot (0,605 + 0,519 + 0,233) = 0,452$$

Після цього, за допомогою оціночної шкали (табл. 10) визначаємо стан атмосферного повітря на території промислової зони підприємства і на різних відстанях від нього та заносимо результати у табл. 14.

Таблиця 14 – Інтегральна оцінка загальної токсичності атмосферного повітря на території підприємства та на різних відстанях від нього

Місце відбору зразків	Рівень ушкодженості біоіндикаторів	Стан біоіндикаторів	Екологічна ситуація
Промислова зона підприємства	Високий	Критичний	Катастрофічна
500 м від підприємства	Вище середнього	Загрозливий	Незадовільна
1500 м від підприємства	Нижче середнього	Насторожуючий	Задовільна
Досліджувана територія	Вище середнього	Загрозливий	Незадовільна

Висновки:

1. Аналіз даних табл. 12 вказує на те, що стерильність пилку індикаторних рослин на досліджуваній території змінюється в значних інтервалах. Найбільші значення стерильності пилку від 6,27 до 28,35%, спостерігаються на території промислової зони підприємства, найнижчі – на території, яка знаходиться на відстані 1500 м від підприємства (змінюються від 2,72 до 11,13%).

2. Числові значення умовних показників ушкодженості клітин пилку рослин-індикаторів на досліджуваній території змінюються від 0,190 до 0,642 у.о., що вказує на зміну стану біоіндикаторів від «насторожуючого» до «критичного». На території промислової зони підприємства практично всі біоіндикатори мають «загрозливий» та «критичний» стан, а на відстані 500 м від підприємства біоіндикатори знаходяться у «загрозливому» стані. Стан рослин, що ростуть на відстані 1500 м від підприємства, оцінений як «насторожуючий» та «конфліктний».

3. Аналіз інтегральних показників ушкодженості біоіндикаторів виявив:

- «критичний» стан біоіндикаторів на території промислової зони;
- «загрозливий» стан біоіндикаторів на відстані 500 м від підприємства;
- «насторожуючий» стан біоіндикаторів на відстані 1500 м від підприємства.

4. Екологічна ситуація на досліджуваній території за рівнем токсичності атмосферного повітря наступна: «катастрофічна» – промзона підприємства; «незадовільна» – відстань 500 м і «задовільна» – відстань 1500 м від нього.

5. Загальна екологічна ситуація на території, що зазнає впливу промислового підприємства, оцінена як «незадовільна» із «загрозливим» станом біоіндикаторів та рівнем їх ушкодженості «вище середнього».

Таким чином, промислове підприємство негативно впливає на стан атмосферного повітря на території промислової зони підприємства та на відстані 500 м від нього.

Контрольне завдання

Оцінити токсичність атмосферного повітря в зоні впливу промислового підприємства за результатами тесту «Стерильність пилку рослин». Вихідні дані

наведені в додатку 3.

Контрольні запитання

1. Сутність тесту «Стерильність пилку рослин».
2. Чим відрізняються стерильні клітини пилку рослин від фертильних?
3. Яким методом визначають фертильність пилку рослин?
4. Принцип обробки експериментальних даних.
5. Як і для чого обчислюються умовні показники ушкодження біоіндикаторів?
6. Групи стійкості рослин до дії несприятливих екологічних факторів.

Рекомендована література

1. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.
2. Горова А.І. Методологічні аспекти оцінки генетичних наслідків техногенезу Зб. наук. праць «Екологія і природокористування». Вип.3, Дніпропетровськ, 2001.– С. 143-152.
3. Руденко С.С., Костишин С.С., Морозова Т.В. Загальна екологія: практичний курс. Частина 1. Чернівці.: Рута, 2003. – 320 с.
4. Мэннинг У.Дж., Фредер У.А. Биомониторинг атмосферы с помощью растений.– Л.: Гидрометеиздат, 1985.–144 с.
5. Методичні рекомендації «Обстеження та районування території за ступенем впливу антропогенних чинників на стан об'єктів довкілля з використанням цитогенетичних методів» для студентів напряму підготовки 6.040106 / А.І. Горова, С.А. Риженко, Т.В. Скворцова та ін. Д.:НГУ, 2007. - 25 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5

ВИЗНАЧЕННЯ ЯКОСТІ ҐРУНТІВ ЗА ТЕСТАМИ «АБЕРАНТНІСТЬ ХРОМОСОМ» ТА «ВЕЛИЧИНА МІТОТИЧНОГО ІНДЕКСУ»

Мета роботи: навчитися оцінювати якість ґрунтів за допомогою тестів «Аберантність хромосом» та «Величина мітотичного індексу» в меристематичних клітинах індикаторних рослин.

Токсичність — це отрутість, здатність деяких хімічних елементів та сполук, а також речовин біогенної природи, чинити негативний вплив на організм людини, тварин, рослин, грибів і мікроорганізмів. Такі речовини називають токсикантами. *Мутагенність* – це здатність викликати мутації, тобто спадкові зміни структури молекул ДНК, що змінюють морфологічні та (або) фізіолого-поводжувальні ознаки організмів. Якщо під впливом деяких речовин у живих організмів виникають мутації – це мутагени.

Меристема (від грец. *meristos* – ділений) – це утворювальна тканина рослин, що довго зберігає здатність до ділення та виникнення нових клітин, а також відрізняється високою метаболічною активністю. Відомо, що

меристематичні клітини, які активно поділяються, дуже вразливі до дії будь-яких негативних факторів. Якщо в ґрунті та воді присутні токсиканти, інтенсивність клітинного поділу в меристемах індикатора пригноблюється. Тобто, зниження величини мітотичного індексу в клітинах рослини свідчить про *токсичність* ґрунту або води.

Якщо в досліджуваних зразках присутні мутагени, у меристематичних клітинах фітоіндикаторів виникають *хромосомні аберації* (від лат. *aberratio* – відхилення) – патологічні, аномальні фігури мітозу. Це кільця і фрагменти в метафазах, мости і фрагменти в анафазах і телофазах, а також злипання і пульверизація хромосом у метафазі, що представлені на рисунках 12–15.

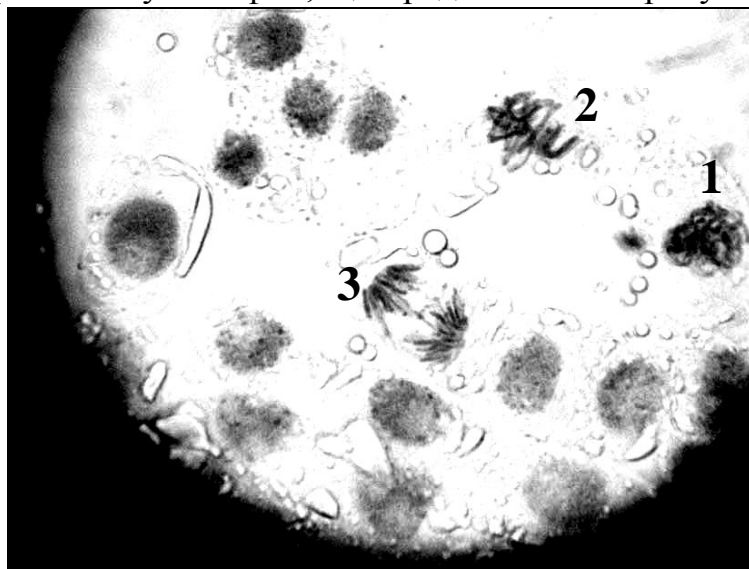


Рис.12. Клітини кореневої меристеми *Allium cepa* L.: 1 – нормальна профаза, 2 – нормальна метафаза, 3 – нормальна анафаза; усі інші клітини знаходяться в інтерфазі

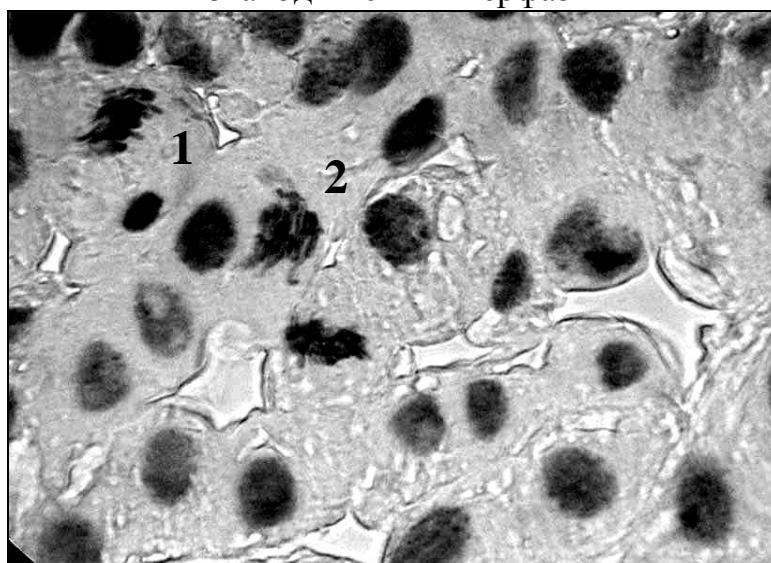


Рис. 13. Клітини кореневої меристеми *Allium cepa* L.: 1, 2, 3 – злипання хромосом у метафазі; усі інші клітини знаходяться в інтерфазі

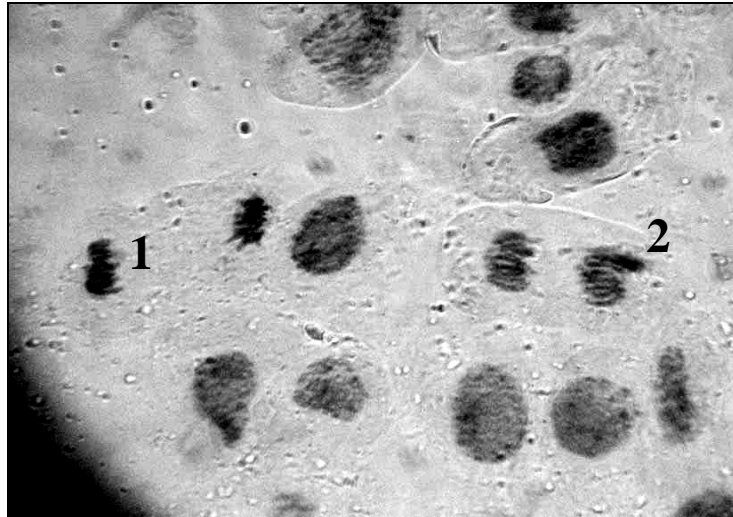


Рис 14. Клітини кореневої меристеми *Allium cepa* L.: 1 – нормальна телофаза; 2 – фрагмент у телофазі; усі інші клітини знаходяться в інтерфазі

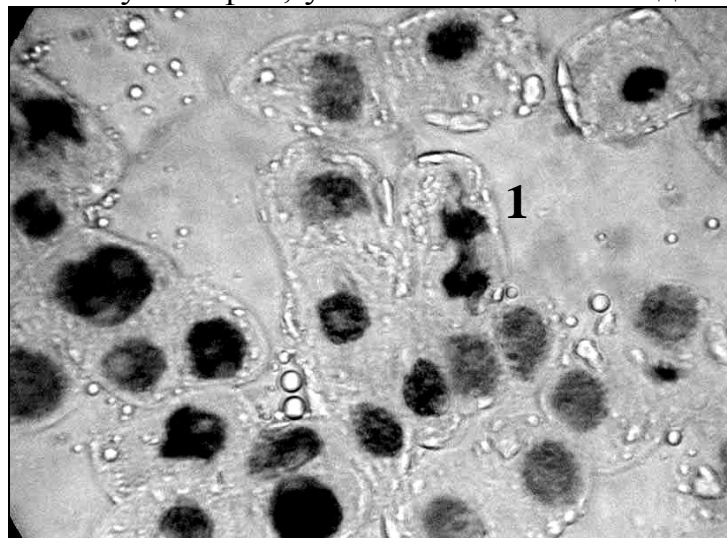


Рис. 15. Клітини кореневої меристеми *Allium cepa* L.: 1 – міст у телофазі; усі інші клітини знаходяться в інтерфазі

Між величиною мітотичного індексу і частотою зустрічаємості хромосомних аберації існує сильний зворотно пропорційний зв'язок. Тобто, якщо мітотичний індекс знижується, кількість клітин з хромосомними патологіями зростає, і навпаки. Тому низький мітотичний індекс, водночас із високим рівнем зустрічаємості хромосомних аберацій, свідчить про токсико-мутагенну активність ґрунту чи води.

Під *мутагенним фоном* розуміється сукупність фізичних, хімічних і біологічних мутагенних факторів природного чи антропогенного походження, від спільного впливу яких залежить рівень мутаційної мінливості організмів на даній території.

Токсико-мутагенний фон визначають за загально-токсичними і мутагенними проявами у клітинах біоіндикаторів, що виникають під впливом шкідливих факторів, присутніх в навколишньому середовищі.

Для біоіндикації токсикантів та мутагенів в ґрунтах чи водних джерелах

найбільш широко застосовується цитогенетичний аналіз клітин таких тест-об'єктів, як сільськогосподарські рослини – *Allium cepa* L. (цибуля звичайна), *Pisum sativum* (горох), *Vicia Faba* (боби), *Sinapis alba* (гірчиця біла), *Triticum sativum* (пшениця) та ін.

Класичним об'єктом для вивчення цитогенетичного впливу фізичних, хімічних та інших факторів навколишнього середовища є меристематичні клітини первинних корінців цибулі звичайної – *Allium cepa* L.

Опис методу. Для визначення токсико-мутагенної активності зразків різних субстратів (води, мулу, суспендованих у воді зразків ґрунту та ін.), на них проводять пророщування насіння цибулі на фільтрувальному папері в чашках Петрі при температурі 25°C.

При оцінці якості проб ґрунтів в чашку Петрі кладуть аркуш фільтрувального паперу, на який насипають 1 грам висушеного та подрібненого ґрунту і рівномірно розподіляють по чашці. Потім ґрунт зволожують 5 мл дистильованої води і на нього висаджують по 50 насінин індикаторної рослини.

При оцінці якості водних зразків в чашку Петрі кладуть аркуш фільтрувального паперу, зволожують його 5 мл проби водного зразка і також висаджують по 50 насінин. Через кожні шість годин проводять провітрювання, відкривши на кілька хвилин чашки. Дослід триває 72 години. В якості контролю використовується дистильована вода.

При появі первинних корінців довжиною 7-9 мм, їх фіксують в ацетоалкоголі протягом 1 години, а потім переносять у етанол 70° концентрації для зберігання.

Фіксатор готують шляхом змішування 96° етилового спирту і крижаної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1 безпосередньо перед фіксацією біооб'єктів.

Фарбування корінців проводять реактивом Шиффа за Фельгеном з попереднім гідролізом у 0,1 н соляній кислоті при температурі 60°C. Після фарбування біопроби промивають у трьох порціях сірчаних вод і закріплюють фарбування під проточною водою. Пофарбовані корінці зберігають у 70° етиловому спирті.

Цитологічні препарати готують із 1 мм кінчиків корінців (меристем), поміщених у краплю 45%-ної оцтової кислоти. Препарат накривають накривним склом для отримання моношлюю клітин. Краї покривного скла заливають розплавленим парафіном. Препарат готовий до мікроскопічних досліджень. Приготовлений таким чином препарат використовують для мікроскопічного аналізу на мікроскопі («Біолам» Р-14) зі збільшенням 15х60.

На цитологічних препаратах враховують усі фігури мітозу: профазу, метафазу, анафазу, телофазу, що зустрічаються серед 5-6 тис. переглянутих меристематичних клітин.

Величину мітотичного індексу визначають як відношення кількості клітин, що діляться, до загальної кількості переглянутих клітин, та виражають у промілях:

$$MI = \frac{m}{n} \cdot 1000, \quad \% \quad (5.1)$$

де n – кількість досліджуваних клітин; m – кількість клітин, що діляться.

Абсолютний розкид визначається за формулою

$$\text{Абсолютний розкид} = MI \cdot A, \% \quad (5.2)$$

де A – відносна помилка, яка визначається за формулою

$$A = 1,385 \cdot \sqrt{\frac{2 \cdot (n - m)}{n \cdot m}}, \quad (5.3)$$

де 1,385 – коефіцієнт при вимірах більше 100.

Зниження мітотичного індексу, в порівнянні з контролем, вважається результатом загально-токсичної дії забруднювачів ґрунтів.

На цих же препаратах враховуються клітини з аберантними (патологічними) хромосомами:

Загальну аберантність хромосом визначають у відсотках за формулою 5.4.

$$\text{Абер.хром.} = \frac{G}{m} \cdot 100, \% \quad (5.4)$$

де G – кількість аберантних клітин; m – кількість клітин, що діляться.

Абсолютний розкид визначається, виходячи з величини відносної помилки, яку обчислюють за формулою:

$$\text{Абс.розкид} = \sqrt{\frac{\text{Абер.хром.} \cdot (100 - \text{Абер.хром.})}{m}}, \% \quad (5.5)$$

По зростанню кількості патологічних фігур мітозу, в порівнянні з контролем, судять про збільшення мутагенності ґрунтів.

Таким чином, якість ґрунтів за токсико-мутагенним фоном може бути оцінена за частотою зустрічальності меристематичних клітин з хромосомними аберациями та рівнем їх мітотичної активності. Але ці показники мають різні одиниці виміру (% та ‰). Тому для інтегральної оцінки якості ґрунтів їх необхідно привести до єдиної безрозмірної форми умовних показників ушкодженості:

$$УПУ^i = \frac{|P_{\text{реал.}} - P_{\text{комф.}}|}{|P_{\text{крит.}} - P_{\text{комф.}}|}, \quad (5.6)$$

де $УПУ^i$ – умовний показник ушкодженості біопараметру; $P_{\text{комф.}}$ і $P_{\text{крит.}}$ – значення біопараметру в комфортних та критичних умовах, відповідно; $P_{\text{реал.}}$ – реальне значення біопараметра; i – номер проби (варіанта).

Інтегральний показник, що характеризує стан ґрунтів за загальним токсико-мутагенним фоном, обчислюється за формулою:

$$ІУПУ^i = \frac{1}{2} (УПУ^i_{\text{токс}} + УПУ^i_{\text{мутаг}}), \quad (5.7)$$

де $УПУ^i_{\text{токс.}}$ – умовний показник ушкодженості біопараметра, спричинений токсичною дією ґрунту; $УПУ^i_{\text{мутаг}}$ – умовний показник ушкодженості біопараметра, спричинений мутагенною дією ґрунту.

Середній інтегральний умовний показник ушкодженості, спричинений токсичною та мутагенною дією ґрунту, обчислюється за формулами

$$ІУПУ_{\text{токс}} = \frac{1}{n} (УПУ^1_{\text{токс}} + УПУ^2_{\text{токс}} + \dots + УПУ^n_{\text{токс}}) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n УПУ^i_{\text{токс}}, \quad (5.8)$$

$$IУПУ_{мутаг} = \frac{1}{n} (УПУ^1_{мутаг} + УПУ^2_{мутаг} + \dots + УПУ^n_{мутаг}) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n УПУ^i_{мутаг}, \quad (5.9)$$

де n – кількість проб (варіантів).

Середній інтегральний умовний показник ушкодженості біосистем досліджуваної території обчислюється за формулою:

$$IУПУ = \frac{1}{n} (IУПУ^1 + IУПУ^2 + \dots + IУПУ^n) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n IУПУ^i. \quad (5.10)$$

Значення умовних показників ушкодженості ($УПУ$ та $IУПУ$) змінюються в межах від 0,000 (комфортні для життєдіяльності умови) до 1,000 (критичні умови). За нормативні значення показників ушкодженості, які задовольняють умовам стійкого розвитку території, приймають 30% від їх комфортних значень (тобто 0,300 – нормативне значення показників ушкодження).

Для оцінки рівня ушкодженості біосистем, стану біосистем та екологічної ситуації використовується єдина уніфікована шкала (табл. 15).

Таблиця 15 – Шкала оцінки екологічної ситуації

Діапазон числових значень $УПП$	Рівень ушкодженості біосистем	Стан біосистем	Оцінка екологічної ситуації
0,000 ÷ 0,150	Низький	Сприятливий	Еталонна
0,151 ÷ 0,300	Нижче середнього	Насторожуючий	Задовільна
0,301 ÷ 0,450	Середній	Конфліктний	Незадовільна
0,451 ÷ 0,600	Вище середнього	Загрозливий	Незадовільна
0,601 ÷ 0,750	Високий	Критичний	Катастрофічна
0,751 і вище	Максимальний	Небезпечний	Катастрофічна

Приклад розрахунку

Для збагачувальних фабрик, як підприємств третього класу небезпеки, встановлюється розмір санітарно-захисної зони 300 м. Для дослідження якості ґрунту на території, прилеглої до Орджонікідзевської збагачувальної фабрики, були відібрані проби на відстані 300 м від будівлі фабрики та на кордоні санітарно-захисної зони. Для більш детального аналізу проби відбиралися у восьми напрямках світу за правилом конверта. На зразках ґрунту пророщували насіння цибулі звичайної *Allium cepa L.* та отримали наступні результати (табл. 16).

Для першої проби (північ) за формулою 5.1 обчислюємо величину мітотичного індексу. Для цього вираховуємо m .

$$m = 313 + 107 + 66 + 291 = 777;$$

$$MI = \frac{m}{n} \cdot 1000 = \frac{777}{6000} \cdot 1000 = 129,50\%.$$

За формулою 5.3 знаходимо відносну помилку A .

$$A = 1,385 \cdot \sqrt{\frac{2 \cdot (n - m)}{n \cdot m}} = 1,385 \cdot \sqrt{\frac{2 \cdot (6000 - 777)}{6000 \cdot 777}} = 0,066.$$

За формулою 5.2 визначаємо абсолютний розкид.

$$Абс.розкид = MI \cdot A = 129,50 \cdot 0,066 = 8,49\%$$

За формулою 5.4 визначаємо загальну аберантність хромосом, для чого вираховуємо G .

$$G = 18 + 25 + 0 = 43;$$

$$\text{Абер.хром.} = \frac{G}{m} \cdot 100 = \frac{43}{777} \cdot 100 = 5,53\% .$$

Таблиця 16 – Результати тестів «Величина мітотичного індексу» та «Аберантність хромосом» в меристематичних клітинах *Allium cepa L.*

№ п/п	Місце відбору зразків	Кількість досліджених клітин	Кількість клітин, що діляться за фазами мітозу / з них аберантних			
			Профаза	Метафаза	Анафаза	Телофаза
1	Північ	6000	313	107/18	66/25	291/0
2	Північний схід	5600	352	125/25	64/15	164/1
3	Схід	4800	203	94/21	67/18	205/4
4	Південний схід	6000	304	69/35	52/14	254/6
5	Південь	6000	178	108/21	78/24	191/5
6	Південний захід	7800	304	127/55	40/23	188/1
7	Захід	8000	199	100/53	43/24	256/2
8	Північний захід	6000	138	37/21	21/20	119/4
9	Контроль (дистильована вода)	9600	470	256/15	232/10	388/2

За формулою 5.2 розраховуємо абсолютний розкид для аберантності.

$$\text{Абс.розкид} = \sqrt{\frac{\text{Абер.хром.} \cdot (100 - \text{Абер.хром.})}{m}} = \sqrt{\frac{5,53 \cdot (100 - 5,53)}{777}} = 0,82\% .$$

Аналогічні розрахунки виконуємо для всіх наступних варіантів, враховуючи контроль.

Для контролю маємо:

$$m = 470 + 256 + 232 + 388 = 1346;$$

$$MI = \frac{m}{n} \cdot 1000 = \frac{1346}{9600} \cdot 1000 = 140,21\% ;$$

$$A = 1,385 \sqrt{\frac{2 \cdot (n - m)}{n \cdot m}} = 1,385 \sqrt{\frac{2 \cdot (9600 - 1346)}{9600 \cdot 1346}} = 0,050 .$$

$$\text{Абс.розкид} = MI \cdot A = 140,21 \cdot 0,050 = 6,94\% ;$$

$$G = 15 + 10 + 2 = 27;$$

$$\text{Абер.хром.} = \frac{G}{m} \cdot 100 = \frac{27}{1346} \cdot 100 = 2,01\% .$$

$$\text{Абс.розкид} = \sqrt{\frac{\text{Абер.хром.} \cdot (100 - \text{Абер.хром.})}{m}} = \sqrt{\frac{2,01 \cdot (100 - 2,01)}{1346}} = 0,38\% .$$

Щоб визначити наскільки досліджені параметри відрізняються від контролю, значення мітотичного індексу та аберантності хромосом у контролі приймаємо за 100%, і визначаємо ці параметри пропорційно у відсотках від контролю. Для першого варіанту (північ):

$$MI(\% \text{контр}) = \frac{129,50 \cdot 100}{140,21} \approx 92\% ;$$

$$\text{Абер.хром.}(\% \text{контр}) = \frac{5,53 \cdot 100}{2,01} \approx 276\% .$$

Аналогічні розрахунки виконуємо для всіх наступних варіантів. Результати розрахунків заносимо у табл. 17.

Таблиця 17 – Результати тестів «Величина мітотичного індексу» та «Аберантність хромосом» у меристематичних клітинах *Allium cepa L.*

№ п/п	Місце відбору зразків	Загальний мітотичний індекс		Аберантні клітини	
		‰	% від контролю	%	% від контролю
1	Північ	129,50±8,49	92	5,53±0,82	276
2	Північний схід	125,89±8,68	90	5,82±0,88	290
3	Схід	118,54±9,14	85	7,56±1,11	377
4	Південний схід	113,17±8,01	81	8,10±1,05	404
5	Південь	92,50±7,33	66	9,0±1,22	449
6	Південний захід	84,49±6,17	60	11,99±1,27	598
7	Захід	74,75±5,76	53	13,21±1,38	659
8	Північний захід	52,50±5,64	37	14,29±1,97	712
9	Контроль	140,21±6,94	100	2,01±0,38	100

Із табл. 17 бачимо, що мітотичний індекс знижений відносно контролю у всіх досліджуваних варіантах (у діапазоні від 8 до 63%). Тобто інтенсивність клітинного поділу в меристематичних клітинах цибулі звичайної, вирощеної на ґрунті санітарно-захисної зони Орджонікідзевської збагачувальної фабрики, набагато нижча, ніж в контролі.

Так, у варіанті з ґрунтом, відібраним у північно-західному напрямку, мітотичний індекс складає лише 37% від контролю; у західному напрямку – 53%, удвічі менше, ніж у контролі; у південно-західному напрямку – 60% і т.д. Це вказує на те, що ґрунт у цій зоні має токсичні властивості і негативно впливає на процеси клітинного поділу у меристемах біоіндикатора.

Частота зустрічаємості клітин з хромосомними абераціями в кілька разів перевищує контроль в у всіх досліджуваних варіантах. Таким чином, аберантність в меристемах клітин *Allium cepa L.*, вирощеної на ґрунтах санітарно-захисної зони Орджонікідзевської збагачувальної фабрики, значно вище, ніж в контролі. У варіанті з ґрунтом, відібраним у північно-західному напрямку, аберантність хромосом перевищує контроль у 7 разів, у західному напрямку – у 6 разів, у південно-західному – також у 6 разів і т.д. Це вказує на

те, що ґрунт на межі СЗЗ має мутагенні властивості та викликає суттєві порушення у хромосомного апарату біоіндикатора.

Для інтегральної оцінки токсико-мутагенного фону ґрунтів досліджуваної території обчислюємо умовні показники ушкодженості за токсичністю та мутагенністю для кожного варіанту за формулою 5.6.

Для умовного показника ушкодженень, спричинених токсичною дією ґрунту $УПУ_{токс}$ значення біопараметру в комфортних умовах $П_{комф}$ дорівнює 140%. Тобто в оптимальних для біоіндикатора умовах величина мітотичного індексу складає 140%, а в критичних умовах значення цього біопараметра $П_{крит}$ майже втричі менше та становить 50%. $П_{реал}$ в цьому випадку – це реальна величина мітотичного індексу в першому досліджуваному варіанті (північ).

Таким чином, отримуємо:

$$УПУ^i = \frac{|129,5 - 140,0|}{|50,0 - 140,0|} = 0,117.$$

Для умовного показника ушкодженості, спричинених мутагенною дією ґрунту $УПУ_{мутаг}$ значення біопараметра в комфортних умовах $П_{комф}$ становить 2%. Тобто в сприятливих умовах у меристемах біоіндикатора зустрічається 2% клітин з хромосомними абераціями. У критичних умовах значення цього біопараметра $П_{крит}$ дорівнює 20%, тобто вдесятеро більше. $П_{реал}$ у цьому випадку – це реальна частота зустрічаємості хромосомних аберацій у першому варіанті. Звідси:

$$УПП^i_{мутаг} = \frac{|П_{реал} - П_{комф}|}{|П_{крит} - П_{комф}|} = \frac{|5,53 - 2,0|}{|20,0 - 2,0|} = 0,196.$$

Інтегральний показник, що характеризує стан ґрунтів за загальним токсико-мутагенним фоном, обчислюємо за формулою 5.7.

$$ІУПУ^1 = \frac{1}{2}(0,117 + 0,196) = 0,157$$

Таким чином, скориставшись оціночною шкалою, встановлюємо, що на території, прилеглої до СЗЗ Орджонікідзевської збагачувальної фабрики з півночі, рівень ушкодження біосистем «нижче середнього», стан біосистем «насторожуючий», а загальна екологічна ситуація «задовільна».

Аналогічні розрахунки виконуємо для всіх наступних варіантів, після чого обчислюємо середнє $ІУПУ_{токс}$ та $ІУПУ_{мутаг}$ за формулами 5.8 та 5.9, а також інтегральний показник ушкодженості $ІУПУ$ для досліджуваної території за формулою 5.10:

$$ІУПУ_{токс} = \frac{1}{8}(0,117 + 0,157 + \dots + 0,972) = 0,457;$$

$$ІУПУ_{мутаг} = \frac{1}{8}(0,196 + 0,212 + \dots + 0,683) = 0,413;$$

$$ІУПУ = \frac{1}{8}(0,157 + 0,184 + \dots + 0,827) = 0,435.$$

Результати розрахунків заносимо у табл. 18 та відображаємо на рис.16.

Таблиця 18 – Оцінка токсико-мутагенного фону території, що прилягає до санітарно-захисної зони Орджонікідзевської збагачувальної фабрики

Місце відбору зразків	$УПП^i_{токс}$	$УПП^i_{мутаг}$	$ІУПП^i$	Рівень ушкодження біосистем	Стан біосистем	Оцінка екологічної ситуації
Північ	0,117	0,196	0,157	Нижче середнього	Насторожуючий	Задовільна
Північний схід	0,157	0,212	0,184	Нижче середнього	Насторожуючий	Задовільна
Схід	0,238	0,309	0,274	Нижче середнього	Насторожуючий	Задовільна
Південний схід	0,298	0,339	0,319	Середній	Конфліктний	Незадовільна
Південь	0,528	0,389	0,459	Вище середнього	Загрозливий	Незадовільна
Південний захід	0,617	0,555	0,586	Вище середнього	Загрозливий	Незадовільна
Захід	0,725	0,623	0,674	Високий	Критичний	Катастрофічна
Північний захід	0,972	0,683	0,827	Максимальний	Небезпечний	Катастрофічна
Середнє	0,457	0,413	0,435	Середній	Конфліктний	Незадовільна
Контроль	0,002	0,000	0,001	Низький	Сприятливий	Еталонна

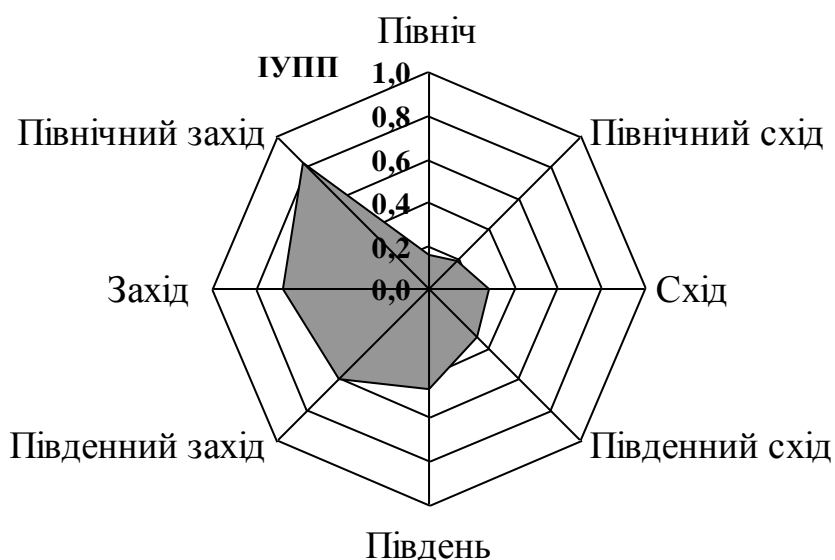


Рис. 16. Екологічний стан ґрунтів, відібраних на відстані 300 м від Орджонікідзевської збагачувальної фабрики, за їх токсико-мутагенним фоном

Висновки:

1. Значення умовних показники ушкодження, що характеризують токсичність (табл. 18), свідчать про те, що у чотирьох напрямках світу (південь,

південний захід, захід, північний захід) вони значно перевищують нормативне значення ($УПУ=0,300$). Найбільша токсичність спостерігається у північно-західному напрямку, де рівень ушкодженості біосистем «максимальний», їх стан «небезпечний», а екологічна ситуація за показником токсичності — «катастрофічна». Також «катастрофічна» екологічна ситуація відмічена на заході та південному заході, але рівень ушкодженості біосистем тут «високий» із «критичним» їх станом. У південному напрямку екологічний стан ґрунтів «незадовільний» із «загрозливим» станом біосистем. У північному напрямку відмічено низький рівень ушкодженості біосистем із «еталонним» станом ґрунтів. У всіх інших напрямках стан ґрунтів «задовільний» із «насторожуючим» станом біосистем і рівнем ушкодження «нижче середнього».

В цілому стан території санітарно-захисної зони збагачувальної фабрики за токсичністю оцінено як «незадовільний» із «загрозливим» станом біосистем та рівнем їх ушкодженості «вище середнього».

2. Результати оцінки мутагенності свідчать про те, що найбільші її прояви спостерігається у ґрунтах на західному та північно-західному напрямку. Тут екологічна ситуація «катастрофічна» із «високим» рівнем ушкодженості біоіндикаторів. Найменша мутагенність відмічена на північному та північно-східному напрямках, де екологічна ситуація «задовільна» із «насторожуючим» станом біосистем та рівнем ушкодженості «нижче середнього». У всіх інших напрямках екологічна ситуація «незадовільна» із «конфліктним» станом біосистем та «середнім» рівнем ушкодженості. Виключення складає південно-західний напрям, де стан біосистем «загрозливий», а рівень ушкодженості «вище середнього». Стан території за мутагенною активністю «незадовільний» з «середнім» рівнем ушкодженості та «конфліктним» станом біосистем.

В цілому стан території санітарно-захисної зони збагачувальної фабрики за мутагенністю оцінено як «незадовільний» із «конфліктним» станом біосистем та «середнім» рівнем їх ушкодженості.

3. Аналіз інтегральних умовних показників ушкодженості (рис. 16), що характеризують загальну токсико-мутагенну активність ґрунтів, виявив «катастрофічну» екологічну ситуацію у північно-західному і західному напрямках. Причому, у північно-західному напрямку рівень ушкодженості біосистем «максимальний» із «небезпечним» їх станом, а в західному напрямку - «високий» із «критичним» станом біосистем. «Незадовільна» екологічна ситуація із «загрозливим» станом біосистем та рівнем ушкодженості «вище середнього» відмічена на півдні і південному заході. На південному сході рівень ушкодженості біосистем «середній», екологічна ситуація «незадовільна». У всіх інших напрямках екологічна ситуація «задовільна», стан біосистем «насторожуючий», а рівень їх ушкодженості «нижче середнього». Слід відмітити, що в північному напрямку екологічна ситуація близька до «еталонної» ($ІУПУ=0,157$).

Загальний стан території, що прилягає до санітарно-захисної зони Орджонікідзевської збагачувальної фабрики за токсико-мутагенним фоном оцінено як «незадовільний» із «середнім» рівнем ушкодженості біосистем та «небезпечним» їх станом.

Контрольне завдання

Виконати оцінку якості ґрунтів, що прилягають до промислового об'єкта, за результатами тестів «Величина мітотичного індексу» та «Аберантність хромосом» у меристематичних клітинах *Allium* сера *L.*. Вихідні дані приведені в додатку 4.

Контрольні запитання

1. Що таке токсичність?
2. Що таке мутагенність?
3. Що таке меристема?
4. Що таке хромосомні аберації? Наведіть приклади.
5. Що таке токсико-мутагенний фон?
6. У чому полягає сутність тестів «Величина мітотичного індексу» та «Аберантність хромосом» у меристематичних клітинах *Allium* сера *L.*?
7. Про що свідчить зниження або збільшення величини мітотичного індексу, у порівнянні з контролем?
8. Про що свідчить зниження або збільшення частоти зустрічаємості хромосомних аберацій, у порівнянні з контролем?
9. Для чого обчислюється умовний показник ушкодженості УПП?
10. Що характеризує середній інтегральний умовний показник ушкодженості ІУПУ?

Рекомендована література

1. Бурдин, К.С. Основы биологического мониторинга / К.С. Бурдин. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1985. – 158 с.
2. Криволицкий, Д.А. Биоиндикация и биомониторинг / Д.А. Криволицкий. – М.: Наука, 1991. – 288 с.
3. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.
4. Горова А.І. Методологічні аспекти оцінки генетичних наслідків техногенезу Зб. наук. праць «Екологія і природокористування». Вип.3, Дніпропетровськ, 2001. – С. 143-152.
5. Руденко С.С., Костишин С.С., Морозова Т.В. Загальна екологія: практичний курс. Частина 1. Чернівці.: Рута, 2003. – 320 с.
6. Методичні рекомендації «Обстеження та районування території за ступенем впливу антропогенних чинників на стан об'єктів довкілля з використанням цитогенетичних методів» для студентів напряму підготовки 6.040106 / А.І. Горова, С.А. Риженко, Т.В. Скворцова та ін. Д.:НГУ, 2007. - 25 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6

БІОТЕСТУВАННЯ ЯКОСТІ ВОДИ З ВИКОРИСТАННЯМ РАЧКІВ ВИДУ *DAPHNIA MAGNA S.*

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

Одними з найбільш чутливих до токсичних речовин різної природи серед гідробіонтів є прісноводні ракоподібні роду *Daphnia* загону *Cladocera*, що включає понад 20 видів (серед них звичайні *Daphnia magna* Straus, *D. pulex* de Geer, *D. longispina* O. F. Muller і *D. carinata* King). Оскільки вони володіють значною фільтраційною здатністю, то в більшості випадків зазнають впливу розчинних та дрібнодисперсних завислих компонентів стічних вод. З цієї причини дафнії частіше обирають в якості тест-об'єкта для токсикологічних дослідів. При цьому, вони є організмами з коротким біологічним циклом розвитку, що дає можливість простежити дію токсичних речовин на ряді поколінь при відносно невеликій тривалості досліду (до 1-2 місяців).

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

У природі в літню пору, а в лабораторії при сприятливих умовах цілий рік, дафнії розмножуються без запліднення – партеногенетично (причому народжуються тільки самки). При різкій зміні умов існування (нестача їжі, зниження температури та ін.) в популяції дафній з'являються самці. З цього моменту дафнії переходять до статевого розмноження, відкладаючи після запліднення «зимові яйця» (1-2 шт.), які розміщуються в спеціальній виводковій камері (ефіпіумі). Навесні з яєць з'являються самки, що надалі дають партеногенетичні покоління дафній. В природі дафнії живуть у середньому 40-60 днів (в залежності від температури), а в лабораторії при оптимальному режимі – 3-4 місяця і більше. При високих температурах (понад +25°C) тривалість життя дафній може скорочуватися до 25 днів.

Дафнія стійка до зміни кисневого режиму, що пов'язано зі здатністю синтезувати гемоглобін. При зниженні концентрації розчиненого кисню (що є біоіндикаційною ознакою) спостерігається підвищений вміст гемоглобіну в дафнії. Вони стають яскраво-червоними і загальна чисельність збільшується. При оптимальному ж вмісті у воді розчиненого кисню рачки мають рожево-жовтий колір.

Опис методу. Культивування дафній і біоіндикаційні досліді проводять у термолюміністаті з оптимальним температурним режимом $20 \pm 2^\circ\text{C}$ та світловим днем 10-12 год., що підтримується лампами денного світла. Воду для культивування рачків відбирають із незабруднених природних водойм або використовують вистояну водопровідну воду, дехлоровану шляхом аерації

протягом 7-10 діб. Кормом для рачків слугують протокові зелені водорості.

Гострий дослід – це короткочасне біотестування (до 96 год.), що дозволяє визначити гостру токсичну дію води на дафній за показником їх виживаності. Облік дафній, що вижили, проводять через 1, 6, 24, 48, 72 і 96 год. У гострому досліді досліджуються 5-7 розведень стічної води або концентрації речовини. Коефіцієнт розведення складає 2-20 в залежності від токсичності досліджуваних вод. Токсичність хімічних сполук випробовують також з концентраціями 10-100 мг/л.

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

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

Якщо загибель контрольних дафній в період тестування перевищить 10%, то гострий дослід припиняють і повторюють знову.

За результатами гострих дослідів визначають:

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

2) LKp_0 – гранична концентрація (мінімально діюча), при якій організми не гинуть;

3) TL_{50} – середній час виживання 50% дафній у ряді розведень.

Найбільш простим і часто застосовуваним методом визначення LKp_{50} є графічний метод. На осі абсцис відкладають логарифми величин кратності розведення води, що тестується, а на осі ординат – середні арифметичні величини виживаємості дафній у відсотках до контролю.

Отримані крапки з'єднують лінією. Від крапок на осі ординат, що відповідають 50 і 100% виживаності, проводять лінії, паралельні осі абсцис. З крапок перетинання цих ліній з експериментальною прямою опускають перпендикуляри на вісь абсцис і знаходять логарифми величин кратності розведення, що будуть відповідати величинам LKp_{50} і LKp_0 . Чим більше величини LKp_{50} і LKp_0 , тим більше токсичність стічних вод (речовини).

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

Для визначення середнього часу виживання TL_{50} будують графіки: на осі абсцис відкладають час, на осі ординат – виживаність у % для кожного розведення (концентрації). Чим менше величина TL_{50} , тим більше токсичність досліджуваної води.

Хронічний дослід з дафніями слугує для глибокого дослідження властивостей природних вод і окремих речовин. Дозволяє визначити хронічну токсичну дію води на дафній по показниках їх виживаності і плодючості. *Показником виживаності* служить середня кількість самок дафній, що вижили протягом біотестування, *показником плодючості* – середня кількість молоді, яка була виметана під час біотестування (у перерахуванні на одну самку, що вижила). *Критерієм токсичності* є достовірна відмінність від контролю показника виживаності або плодючості дафній.

Умови проведення хронічних дослідів аналогічні описаним вище гострим дослідом: постійний температурний і світловий режим, а також щоденне внесення корму – водорості хлорела. Тривалість досліду 20 і більше діб.

Оцінка результатів досліду (у % відносно контролю) проводиться за наступною формою: виживаність під час досліду; плодючість (реальна і потенційна, в перерахуванні на одну дафнію під час досліду); розміри дафній; кількість линьок.

Таким чином, використання дафній в якості тест-організмів дозволяє визначити ступінь токсичності досліджуваних вод, а також оцінити кратність розведення стічних вод.

Приклад розрахунку

При дослідженні токсичності стічних вод підприємства на рачках *Daphnia magna* S. були отримані наступні результати (табл. 19).

Таблиця 19 – Виживаність дафній у гострому досліді зі стічною водою підприємства

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

В першу чергу знаходимо середнє значення кількості дафній, що вижили, у кожному варіанті і виражаємо у відсотках відносно контролю (табл. 20).

Таблиця 20 – Вживаність дафній відносно контролю

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

Потім визначаємо логарифми кратності розведення стічної води:

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

Будуємо графік, на якому по осі y відкладаємо вживаність дафній через 96 год. у відсотках стосовно контролю, а по осі x – логарифми концентрацій (табл. 21).

Таблиця 21– Вихідні дані для побудови графіка залежності вживаності від кратності розведення

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

З'єднуємо отримані крапки і продляємо отриману пряму до перетинання з горизонталями, що відповідають 50 і 100% вживаності (рис.17).

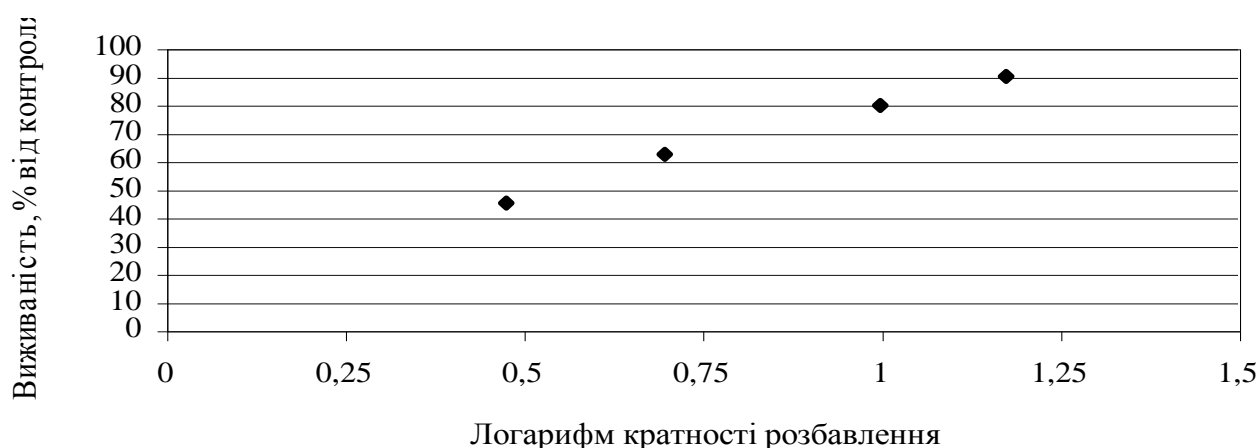


Рис.17. Графік залежності вживаності від кратності розбавлення

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

Визначаємо саму величину кратності розведення:

$$\lg n_{50} \approx 0,52 ; \quad \lg n_{100} \approx 1,35;$$

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

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

Визначення ступеня токсичності стічної води. Стічна вода даного підприємства відноситься до середнього класу токсичності промислових вод, тому що токсичний ефект знімається при розведенні в 22 рази ($10 < 22 < 100$).

Для визначення середнього часу виживання ТЛ_{50} будуємо графіки для кожного варіанта розведення (рис. 18). Для цього на осі абсцис відкладаємо час, а на осі ординат – виживаність у % для кожного розведення (табл. 22).

Таблиця 22 – Вихідні дані для побудови графіків залежності виживаності дафній від часу

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

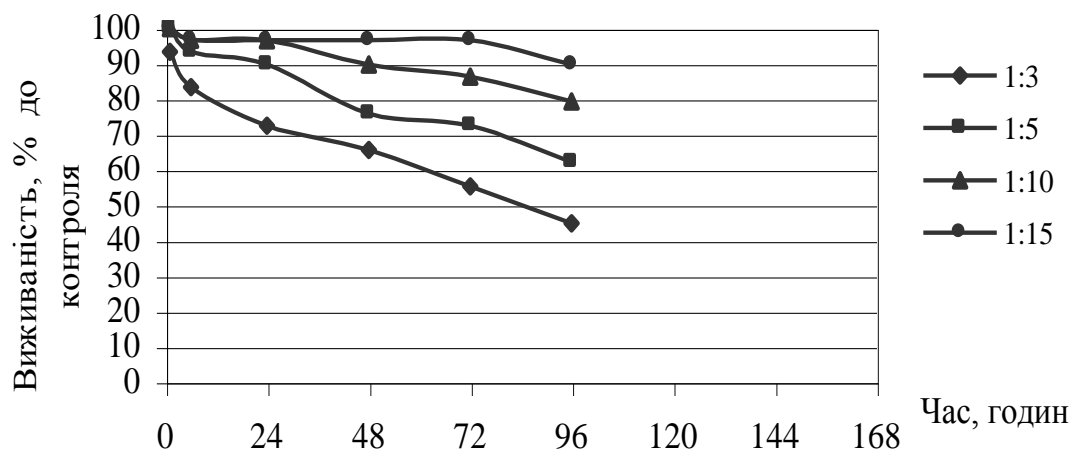


Рис. 18. Графіки залежності виживаності від часу

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

У даному випадку для варіанта розведення 1:3 $\text{ТЛ}_{50} \approx 84$ год,

для варіанта розведення 1:5 $\text{ТЛ}_{50} \approx 120$ год,

для варіанта розведення 1:10 $\text{ТЛ}_{50} \approx 150$ год,

для варіанта розведення 1:15 $\text{ТЛ}_{50} > 150$ год.

Очевидно, що найбільшим ступенем токсичності володіє концентрована

стічна вода (варіант розведення 1:3), а найменшою – найбільш розведена (варіант 1:15).

Висновки:

1. Стоки підприємства чинять у різному ступені токсичний вплив на живі організми при всіх досліджених кратностях розведення (тому що загибель дафній спостерігалася у всіх варіантах).

2. Найбільш вагомий токсичний вплив стічна вода чинить на дафній у першому варіанті розведення – 1:3 (загинуло більше 50% дафній – 55,17%). При цьому загибель організмів у контролі не перевищила 10% і склала 3,3% (вижило в середньому 9,67 особин з 10).

3. Найменший час загибелі 50% тварин – 84 год. спостерігається при розведенні стоків 1:3, найбільший (> 150 год.) – при розведенні 1:15.

4. $LK_{P50}=3,3$, $LK_{P0}=22,4$; тобто кратність розведення, при якій гине 50% дафній, складає приблизно 1:3, а концентрація стічних вод, що не чинить негативного впливу на живі організми, відповідає розведенню 1:22.

5. Стоки даного підприємства відносяться до середнього ступеня токсичності, тому що токсичність знімається при розведенні 1:22.

Контрольне завдання

Виконати оцінку ступеня токсичності шахтних вод за результатами, отриманими при біотестуванні за допомогою рачків *Daphnia magna* S. Варіанти вихідних даних наведено в додатку 5.

Контрольні запитання

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

Рекомендована література

1. Методики биологических исследований по водной токсикологии / Сборник, Наука, М.: Гидрометеиздат – 1971. – 300 с.
2. Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. – Сб. научн. трудов. Л.: Гидрометеиздат, 1987. - 212 с.
3. Федорова А.И., Никольская А.Н. Практикум по экологии и охране окружающей среды: Учебное пособие. – Воронеж: Воронеж. гос. ун-т, 1997. – 305 с.
4. Калінін М.І., Єлісеєв В.В. Біометрія: Підручник для студентів вузів біологічних та екологічних напрямків. – Миколаїв: Вид-во МФ НаУКМА, 2000. – 204 с.
5. Унифицированные методы исследования качества вод. Часть 3. Москва. – 1983. – 372 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7

ОЦІНКА СТАБІЛЬНОСТІ РОЗВИТКУ ДЕРЕВНИХ РОСЛИН ЗА РІВНЕМ АСИМЕТРІЇ МОРФОЛОГІЧНИХ СТРУКТУР (НА ПРИКЛАДІ БЕРЕЗИ ПОВИСЛОЇ *BETULA PENDULA L.*)

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

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

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

2 – *антисиметрія* – характеризується більшим розвитком структури то на одній, то на іншій стороні тіла, що відповідає негативному зв'язку прояву ознаки на різних сторонах тіла. Як приклад, «лівша» і «правша» у популяції людини;

3 – *флуктуюча асиметрія* – незначні ненаправлені відхилення (розходження) між правою й лівою (R-L) сторонами різних морфологічних структур від строгої білатеральної симетрії.

З різних форм асиметрії білатеральних ознак живих організмів особливо виділяється *флуктуюча асиметрія* (ФА), що дозволяє оцінити нестабільність розвитку цілого організму або його частини. При флуктуючій асиметрії розходження між сторонами не є строго генетично детермінованими. Такі розходження, зазвичай, є результатом помилок в ході розвитку організму. Флуктуюча асиметрія (на відміну від інших типів асиметрії) не має самостійного адаптивного значення, а є вираженням незначних ненаправлених порушень симетрії, які перебувають у межах певного люфту. Це допускається природним добром і не впливає на життєздатність. Значні розходження між сторонами можуть мати місце в природі лише в тому випадку, якщо вони носять пристосувальний характер. При нормальних умовах їхній рівень мінімальний, а зростає тільки при будь-якому стресовому впливі, що і призводить до збільшення асиметрії.

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

Відстань між площадками залежить від потужності джерела забруднення. Якщо це великий населений пункт із промисловими підприємствами й численним автотранспортом, то відстані між площадками можуть бути в межах

1 км. У випадку невеликої котельні відстані між площадками можуть бути в межах 400-800 метрів, автотраси – 20-200 метрів (залежно від інтенсивності потоку автотранспорту).

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

Вимоги до досліджуваних ділянок:

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

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

Об'єкти дослідження. Теоретично дослідження флуктуючої асиметрії можна проводити на будь-яких білатеральних (симетрично організованих) об'єктах – будь то тварини або рослини. Однак, чим простіше влаштований організм і чим він крупніше, тим простіше проводити виміри. Виходячи з цього, зручним для організації подібних досліджень модельним об'єктом є листя листопадних дерев. Це можуть бути такі види дерев, як клени, тополі або берези.

В якості основного об'єкту для вивчення рівнів флуктуючої асиметрії пропонується використати один з її видів: березу повислу (*Betula pendula* Roth.) або березу пухнату (*B. alba* L.). Якщо в місцевості, де планується виконувати дослідження, немає даних видів берези, можна провести оцінку на інших видах листопадних дерев.

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

1. При виборі дерев враховується чіткість визначення приналежності рослини до досліджуваного виду. За даними деяких авторів береза повисла здатна схрещуватися з іншими видами та утворювати міжвидові гібриди, які мають ознаки обох видів. Для запобігання помилок варто вибирати дерева із чіткими ознаками виду.

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

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

Період збору матеріалу. Збір матеріалу варто проводити після зупинки інтенсивного росту листя до періоду його опадання (у середній смузі це приблизно період з кінця травня до кінця серпня).

Збір листя з рослини. У берези повислої збирають листи з нижньої частини

крони дерева на рівні піднятої руки, з максимальної кількості доступних гілок рівномірно навколо дерева (рис. 19). При цьому, намагаються задіяти гілки різних напрямків, умовно – з півночі, півдня, заходу й сходу.

У берези збирають листя тільки з укорочених пагонів (рис. 20). Тип пагонів не повинен змінюватися в серії порівнюваних вибірок.

Листя намагаються відбирати приблизно одного, середнього для даного виду розміру. Ушкоджені листки можуть бути використані в дослідженні тільки в тому випадку, якщо не порушені ділянки, з яких будуть зніматися значення промірів (рис. 21). Однак, щоб уникнути помилок, ушкоджені листи краще оминати.

Обсяг вибірки. Збір листів проводиться з 10 поблизу зростаючих дерев, по 10 листків з кожного дерева (усього – 100 листів з однієї площадки). Варто брати трохи більше листків, чим потрібно, на той випадок, якщо частина листків через ушкодження не зможе бути використана для аналізу.

Підготовка (лабораторна обробка) та зберігання матеріалу. Всі листки, зібрані для однієї вибірки, поміщають в поліетиленовий пакет, який помічається етикеткою: вказують дату, місце збору (максимально докладна прив'язка на місцевості), номер площадки, а також автора (авторів) збору.

Листки з однієї рослини зберігаються окремо, щоб надалі можна було проаналізувати отримані результати індивідуально для кожної особини (зібрані з одного дерева листки зв'язують ниткою за черешки).

Зібраний матеріал бажано почати обробляти відразу ж, поки листки не зів'яли. Для нетривалого зберігання зібраний матеріал слід упакувати в поліетиленовий пакет та помістити на нижню полицю холодильника (максимальний строк зберігання – тиждень). Для більш тривалого зберігання використовують фіксатор – спирт, розведений на 1/3 гліцерином або водою.

Виконання досліджень (вимірювання). Для обробки зібраного матеріалу необхідні: лінійка, циркуль-вимірник, транспортир, бланки для записів результатів вимірів, рахункове устаткування (калькулятор або комп'ютер).

При виконанні досліджень виконують наступні операції. Для виміру листок берези поміщають перед собою черевною стороною нагору. Черевною стороною листка називають сторону, повернену до верхівки пагону. З кожного листка знімають показники по п'яти промірах (параметрах) з лівої та правої сторін листа (рис. 22):

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

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

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

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

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

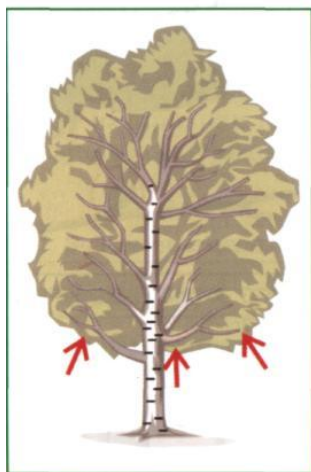


Рис.19. Місце збору листів у кроні дерева

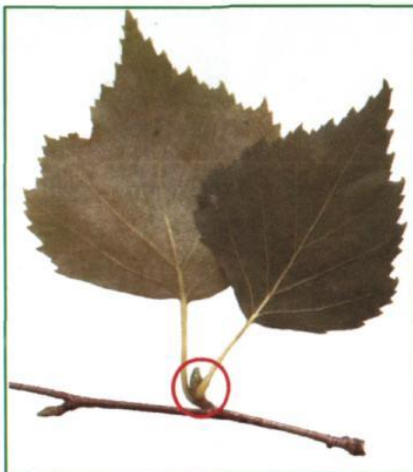


Рис. 20. Укорочений пагін берези

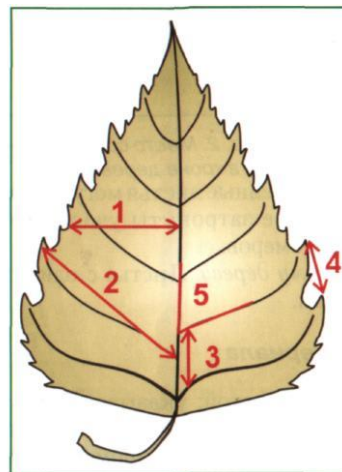


Рис.21. Морфологічні ознаки для оцінки стабільності розвитку

Параметри 1-4 знімаються циркулем-вимірником (якщо його немає – виміри можна проводити лінійкою із чіткими міліметровими розподілами), кут між жилками (ознака 5) вимірюється транспортиром (рис. 22). Зручно використовувати прозорі пластмасові транспортири.

При вимірі кута транспортир (поз. 1 рис. 22) розташовують так, щоб центр основи віконця транспортира (поз. 2 рис. 22) сполучався із точкою відгалуження другої жилки другого порядку від центральної жилки (поз. 4 рис. 22). Ця точка відповідає вершині кута.

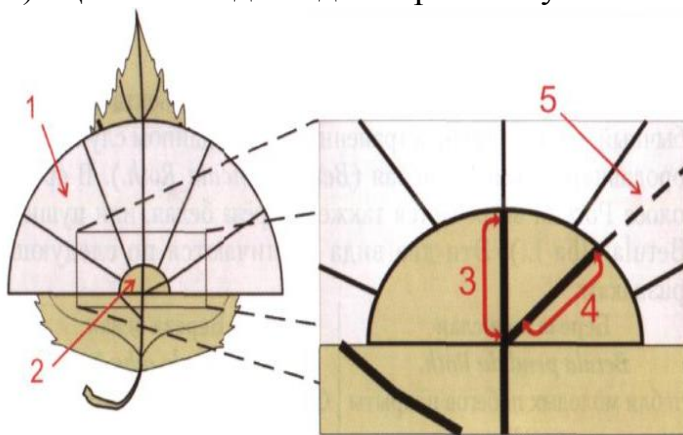


Рис. 22. Вимір кута між жилками листа берези повислої

Виходячи з того, що жилки не прямолінійні, а звивисті, кут вимірюють у такий спосіб: ділянку центральної жилки (поз. 3 рис. 22), що перебуває в межах віконця транспортира (поз. 2 рис. 22), сполучають із центральним променем транспортира, що відповідає 90° , а ділянку жилки другого порядку (поз. 4 рис. 22) продовжують до градусних значень транспортира (поз. 5 рис. 22), використовуючи лінійку.

Бажано, щоб всі листи з однієї вибірки вимірялися однією людиною – для запобігання впливу суб'єктивних помилок. Якщо виміри проводять декілька людей (одна вибірка обробляється однією людиною), то необхідно простежити щоб лінійки й транспортири були однаковими.

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

Обробка й оформлення результатів досліджень.

Для мірних ознак величина асиметрії у рослин розраховується як розходження в промірах ліворуч і праворуч, віднесене до суми промірів на двох сторонах.

Інтегральним показником стабільності розвитку для комплексу мірних ознак є середня величина відносного розходження між сторонами на ознаку. Цей показник розраховується як середнє арифметичне суми відносної величини асиметрії за всіма ознаками у кожної особини, віднесене до числа використовуваних ознак.

У табл. 23 та 24 на прикладі берези повислої приводиться розрахунок середньої відносної величини асиметрії на ознаку для 5 промірів листа у 10 рослин.

Таблиця 23 – Зразок таблиці для обробки даних з оцінки стабільності розвитку рослини з використанням мірних ознак (проміри листа)

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

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

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

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

Наприклад: лист №1, ознака 1 (див. табл. 23),

$$|Л-П| / |Л+П| = |18-20| / |18+20| = 2/38 = 0,052$$

Отримані величини заносяться в допоміжну таблицю 24 у графи 1-6.

2. Потім обчислюють показник асиметрії для кожного листа. Для цього підсумовують значення відносних величин асиметрії за кожною ознакою і ділять

на їх число.

Наприклад, для листа 1 (див. табл. 24): $(0,052+0,015+0+0+0,042)/5=0,022$

Результати обчислень заносять у графу 7 таблиці 24.

3. На останньому етапі обчислюється інтегральний показник стабільності розвитку – величина середнього відносного розходження між сторонами на ознаку. Для цього обчислюють середню арифметичну всіх величин асиметрії для кожного листа (графа 7 табл. 24), значення якої округляється до третього знаку після коми.

У нашому випадку ця величина дорівнює:

$$X = (0,022+0,015+0,057+0,061+0,098+0,035+0,036+0,045+0,042+0,012)/10=0,042$$

Таблиця 24 – Зразок заповнення допоміжної таблиці для розрахунку інтегрального показника флуктуючої асиметрії берези повислої у вибірці

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

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

Для оцінки ступеня виявлених відхилень від норми та їх місця в загальному діапазоні можливих змін показника використовується шкала (табл. 25). Весь діапазон між граничними рівнями в таблиці ранжується в порядку зростання значень показника.

Діапазон значень інтегрального показника асиметрії, що відповідає умовно нормальному фоновому стану, приймається як перший бал (умовна норма). Він відповідає даним, отриманим в природних популяціях при відсутності видимих несприятливих впливів (наприклад, на природно-заповідних територіях). Однак треба звернути увагу на той факт, що на практиці при оцінці якості середовища в регіоні з підвищеним антропогенним навантаженням фоновий рівень порушень у вибірці рослин або тварин (навіть в точці умовного контролю), не завжди перебуває в діапазоні значень, що відповідають першому балу.

Таблиця 25 – Шкала оцінки відхилень стану організму від умовної норми за величиною інтегрального показника стабільності розвитку

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

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

Контрольне завдання

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

Контрольні запитання

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

Рекомендована література

1. Захаров В.М., Чубинишвили А.Т., Дмитриев С.Г., Баранов А.С. и др. Здоровье среды: практика оценки. М.: Изд. Центра экол. политики России, 2000. – 318 с.
2. Кряжева Н.Г., Чистякова Е.К., Захаров В.М. Анализ стабильности развития берёзы повислой в условиях химического загрязнения // Экология, 1996. №6. С.441-444.
3. Методическими рекомендациями по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ (оценка стабильности развития живых организмов по уровню асимметрии морфологических структур). Утверждено Распоряжением Росэкологии от 16.10.2003 № 460-р. – 28 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8

ОЦІНКА ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ ҐРУНТІВ ЗА ЗМІНАМИ ВИДОВОГО БІОРІЗНОМАНІТТЯ ҐРУНТОВИХ БЕЗХРЕБЕТНИХ ТВАРИН

Мета роботи: навчитися оцінювати екологічний стан ґрунтового покриву на досліджуваній території за зміною видового біорізноманіття безхребетних тварин.

Для дослідження стану ґрунтового покриву використовуються переважно представники мезо- і макрофауни.

Мезофауна об'єднує різноманітну і численну частину ґрунтового тваринного населення з розмірами, які дозволяють бачити цих тварин неозброєним оком, або під лупою, і збирати вручну. Основну масу мезофауни складають членистоногі: дрібні види комах, багатоніжки-сімфіли, мокриці, павуки, а також дрібні черви енхітреїди. Живуть вони в ґрунтових порожнинах і здатні до вертикальної міграції по пустотах і крупних порах.

Макрофауна представлена в ґрунті дощовими хробаками, багатоніжками і личинками комах. Для них ґрунт виступає у якості щільного середовища, при пересуванні в якому необхідно активно прокладати собі ходи. Ці тварини риють норки, або ж просуваються по природним пустотам, розширюючи їх простір.

Опис методу. Вибірка тварин проводиться за методом ґрунтових розкопок. Розміри обраної пробної площадки залежать від ступеня зволоженості ґрунту (найчастіше 0,5×0,5 м, в сухих районах до 1-2 м²). Чим більше закладено ґрунтових розкопок, тим точніше виявлення видового складу та кількості тварин. Відстань між розкопками 5-10 м. Глибина розкопок складає 30-50 см, в сухих місцях на легких ґрунтах – до 100 см і більше. Ґрунт вибирається пошарово.

Розкопки проводять наступним чином: визначають розміри майданчика, забивають по кутах кілочки, натягують між ними мотузку. Потім від кордонів відведених майданчиків прибирають опад та підстилку (якщо проба береться у лісі) або суху землю поверхневого шару. Поруч з майданчиком поміщають клейонку або щільну тканину, на яку кладуть вибраний з розкопки ґрунт. Спочатку з майданчика знімають опад та інші рослинні залишки, які ретельно вручну перебирають, враховуючи всіх знайдених при цьому тварин, а траву вищипують для того, щоб полегшити розбірку ґрунту з верхнього шару. Тварин, знайдених на поверхні ґрунту, враховують окремо від тих, яких вибирають безпосередньо з нього.

Після видалення розібраних рослинних залишків приступають до викопування ґрунту лопатою. Невеликі порції ґрунту, що викидаються на розкладену поруч з майданчиком клейонку, ретельно перетираються руками, розбиваються великі грудки, розривається дерновини. Весь ґрунт з шару порція за порцією перетирають між долонями, ретельно вибираючи тварин. Тварин збирають окремо з кожної проби і кожного шару.

Видове біорізноманіття – найбільш часто використовуваний показник, що враховує два компоненти – видове різноманіття (кількість видів, які спостерігаються в природних умовах проживання на певній площі або об'ємі) і кількісний розподіл за видами.

Кількісно видове різноманіття (ВР) характеризують за допомогою індексів. Найбільш широко використовують індекс Сімпсона, при обчисленні якого використовують чисельність організмів i -го виду n_i , знайдених на майданчику біоіндикації, і загальну чисельність всіх видів N .

Методика забезпечує виявлення зон екологічних аномалій на місцевості з імовірною помилкою не більше 20%. Величина похибки гарантується при дотриманні наступних норм біоіндикації:

- кількість майданчиків, що обстежуються – 3-5;
- розмір площадки біоіндикації ґрунтового покриву не менше 1 м²;
- розміри ґрунтової прикопки: 0,25×0,25 м на глибину зустрічальності безхребетних 20 см.

Індекс Сімпсона розраховується за формулою

$$D_i = 1 / (P_1^2 + \dots + P_i^2), \quad (8.1)$$

де D_i – індекс Сімпсона, розрахований для кожної площадки біоіндикації;

$P_1 \dots P_i$ – частка кожного виду в сумарному біорізноманітті, взятому за одиницю.

P_i розраховують таким чином:

$$P_i = \frac{n_i}{N}, \quad (8.2)$$

де n_i – чисельність i -го виду на майданчику біоіндикації;

N – загальна чисельність всіх видів на майданчику біоіндикації.

Відносний показник видового біорізноманіття на майданчику біоіндикації досліджуваної території розраховують за формулою:

$$D_i = \frac{D_i}{D_{\text{контр}}} \cdot 100. \quad (8.3)$$

Для проведення оцінки необов'язково використовувати дані по всій фауні, можна обмежитися аналізом характерних груп видів, за якими отримана надійна інформація.

Шляхом порівняння отриманих значень відносного показника видового біорізноманіття з критеріальними параметрами (табл. 26), отримуємо оціночний показник екологічної обстановки на досліджуваній території.

Таблиця 26 – Критерії оцінки екологічного стану ґрунтового покриву

Показник	Параметр		
	Екологічне лихо	Надзвичайна екологічна ситуація	Відносно задовільна ситуація
Відносні зміни видового біорізноманіття, D_i	менше 25	25-50	більше 50

Приклад розрахунку.

Результати дослідження чисельності та видового складу безхребетних тварин на досліджуваних територіях приведені в табл. 27.

Таблиця 27 – Чисельність і видовий склад ґрунтових безхребетних тварин на досліджуваній та «умовно чистій» (контрольній) території

Номер прикопки	Дощові черв'яки		Молюски (слимаки, равлики)		Багатоніжки (геофіли)		Павукоподібні		Рівноногі (мокриці)		Комахи	
	К	Д	К	Д	К	Д	К	Д	К	Д	К	Д
1	9	9	4	3	5	2	5	1	4	5	5	4
2	10	8	5	2	4	2	4	1	5	3	4	1
3	8	8	3	3	4	0	6	0	7	1	6	2

Примітка: К – контроль; Д – дослід.

Використовуючи данні таблиці 27, розрахуємо показник зміни видового біорізноманіття (індекс Сімпсона) для *контрольної території*.

Майданчик № 1.

Розраховуємо частку кожного виду у сумарній кількості тварин на майданчику за формулою 8.2.

Кількість *дощових черв'яків* на майданчику біоіндикації – 9. Загальна кількість усіх тварин на майданчику біоіндикації контрольної території – 32. Звідси $P_1=9/32=0,28$.

Кількість *молюсків* на майданчику – 4, звідси $P_2=4/32=0,126$.

Кількість *багатоніжок* на майданчику – 5, звідси $P_3=5/32=0,156$.

Кількість *павукоподібних* на майданчику – 5, звідси $P_4=5/32=0,156$.

Кількість *мокриць* на майданчику – 4, звідси $P_5=4/32=0,126$.

Кількість *комах* на майданчику біоіндикації – 6, звідси $P_6=6/32=0,1875$.

Підставляємо знайдені значення у формулу 8.1:

$$D_1=1/(0,28^2+0,126^2+0,156^2+0,156^2+0,126^2+0,1875^2)=5,45.$$

Аналогічно розраховуємо показник зміни видового біорізноманіття на інших майданчиках біоіндикації.

Отримані результати екологічного обстеження контрольної території представлені в табл. 28.

Таблиця 28 – Результати біоіндикації контрольної території

Номер майданчику біоіндикації	1	2	3
Показник зміни видового біорізноманіття (індекс Сімпсона D_0)	5,45	5,17	5,50

Далі аналогічним чином розраховується відносний показник зміни видового біорізноманіття *для досліджуваної території*.

Відносний показник зміни видового біорізноманіття на даному майданчику біоіндикації розраховують за формулою 8.3:

$$D=(4,45/5,45)\times 100=77,7.$$

Отримане значення показника видового біорізноманіття згідно критеріальної шкали (табл. 26) свідчить про «відносно задовільну ситуацію» по відношенню до якості досліджених ґрунтів.

По інших майданчиках біоіндикації розрахунки проводяться аналогічним чином. За результатами розрахунку проводиться оцінка екологічного стану ґрунтового покриву на досліджуваній території. Отримані значення заносяться в табл. 29.

Таблиця 29 – Результати оцінки екологічного стану ґрунтового покриву за видовим біорізноманіттям

Номер майданчика	1	2	3
Відносний показник зміни видового біорізноманіття D_i	77,7	67,3	45,7
Параметри екологічного стану ґрунту	Відносно задовільна ситуація	Відносно задовільна ситуація	Надзвичайна екологічна ситуація

Висновки. Екологічний стан досліджуваних ґрунтів за показником зміни видового біорізноманіття безхребетних тварин на першій та другій ділянці характеризується як «відносно задовільний». На третій ділянці виявлено «надзвичайний» екологічний стан ґрунтів.

Контрольне завдання

Виконати оцінку екологічного стану ґрунтового покриву за результатами дослідження видового різноманіття. Вихідні дані приведені в додатку 6.

Контрольні запитання

1. Яких тварин відносять до мезофауни?
2. Яких тварин відносять до макрофауни?
3. Що розуміється під видовим біорізноманіттям?
4. Як проводиться вибірка безхребетних тварин для оцінки стану ґрунтового покриву за видовим біорізноманіттям?
5. Основні положення методики оцінки стану ґрунтового покриву за видовим біорізноманіттям
6. Принцип обробки експериментальних даних.

Рекомендована література

1. Биологические методы оценки качества объектов окружающей среды : учеб. пособие. В 2 ч. Ч. 1. Методы биоиндикации / С. М. Чеснокова ; Владим. гос. ун-т. – Владимир : Издво Владим. гос. ун-та, 2007. – 84 с.
2. Биоиндикация и биомониторинг / под ред. Д. А. Криволучкого. – М. : Наука, 1991. – 288 с. – ISBN 5-02-005419-4.
3. Бабьева, И. П. Биология почв / И. П. Бабьева, Г. М. Зенова ; под ред. Д.Г. Звягинцева. – М. : Изд-во МГУ, 1989. – 336 с.

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 2

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

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

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 2

Місце відбору проб	Варіант									
	6		7		8		9		10	
	В*	Д*	В*	Д*	В*	Д*	В*	Д*	В*	Д*
Контроль (500 м до місця скиду)	12,3	9,9	13,7	14,0	13,7	14,0	12,9	16,5	12,8	13,8
	5,1	8,7	12,9	13,7	12,9	13,7	14,8	13,8	13,2	15,2
	12,9	6,3	14,8	12,9	14,8	12,9	13,0	15,2	14,1	12,9
	7,2	7,5	13,0	14,8	13,0	14,8	13,8	12,9	13,2	10,3
	8,9	8,7	13,8	13,0	13,8	13,0	15,2	10,3	11,9	9,9
	9,8	6,2	15,2	9,8	15,2	9,8	12,9	13,8	13,8	13,8
	10,3	9,8	12,9	15,2	12,9	15,2	14,1	15,2	14,1	15,2
	8,9	13,2	9,9	12,9	9,9	12,9	9,9	12,9	9,9	12,9
	7,9	13,6	11,9	10,3	11,9	10,3	11,9	10,3	11,9	10,3
	10,0	9,8	13,8	9,9	13,8	9,9	13,8	9,9	13,8	9,9
Суша маса 10 проростків, мг	212		301		250		242		237	
500 м від місця скиду	9,2	9,9	9,2	7,4	9,2	8,0	10,1	7,7	9,2	7,5
	8,3	8,7	8,3	7,2	8,3	9,2	12,3	9,1	8,3	7,9
	7,4	6,3	7,4	7,0	7,4	9,0	9,9	7,2	7,4	8,3
	7,2	7,5	7,2	7,9	7,2	9,3	8,1	7,0	7,2	9,0
	7,0	7,9	7,0	9,2	7,0	8,8	7,9	9,8	7,0	11,2
	9,8	8,3	9,8	9,0	9,8	8,7	7,0	8,3	9,8	11,3
	10,3	9,0	6,6	9,3	10,3	12,8	10,3	9,0	10,3	10,3
	8,9	7,7	8,9	7,7	8,9	8,8	8,9	7,7	8,9	8,9
	7,9	7,6	7,9	7,6	7,9	8,7	7,9	7,6	7,9	7,6
	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8
Суша маса 10 проростків, мг	170		160		170		195		155	
1000 м від місця скиду	10,0	8,0	9,8	7,9	9,8	12,8	14,6	14,1	10,3	8,0
	10,1	8,7	9,3	8,3	9,3	8,3	10,1	9,9	10,1	9,2
	12,3	7,9	8,9	9,0	8,9	9,0	12,3	11,9	12,3	9,0
	9,9	8,0	8,9	8,0	8,9	8,0	12,8	12,8	9,9	9,3
	8,1	9,2	7,4	9,2	7,4	14,1	13,1	9,2	8,1	8,8
	7,9	9,0	9,8	9,0	9,8	9,0	12,3	11,7	7,9	8,7
	7,0	9,3	7,0	9,3	7,0	9,3	11,9	9,3	7,0	12,8
	8,9	8,8	8,9	8,8	8,9	8,8	12,4	8,8	8,9	8,8
	7,9	8,7	7,9	8,7	7,9	8,7	10,9	8,7	7,9	8,7
	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8
Суша маса 10 проростків, мг	185		185		190		228		171	
1500 м від місця скиду	8,2	9,9	9,3	6,6	12,3	9,9	12,3	16,4	7,9	7,9
	9,8	8,7	8,9	8,9	14,6	8,7	14,6	8,7	8,3	8,3
	12,3	6,3	8,9	7,9	12,9	9,1	12,9	6,3	9,0	9,0
	8,7	7,5	15,2	7,5	7,2	7,5	15,7	17,0	6,1	7,7
	8,3	7,4	12,9	7,9	7,8	8,3	11,4	14,0	7,6	7,6
	9,8	9,8	10,3	9,2	9,8	13,7	16,1	13,7	9,8	8,8
	9,7	11,0	7,9	9,0	10,3	12,9	10,3	12,9	10,3	12,9
	8,9	12,0	8,9	14,8	8,9	8,4	13,8	14,8	8,9	8,1
	7,9	8,6	7,9	13,0	7,9	9,9	14,7	13,0	15,3	13,0
	9,4	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	12,5	10,0	9,8
Суша маса 10 проростків, мг	203		203		205		234		182	

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

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 2

Місце відбору проб	Варіант									
	11		12		13		14		15	
	В*	Д*	В*	Д*	В*	Д*	В*	Д*	В*	Д*
Контроль (500 м до місця скиду)	7,0	6,3	15,2	14,1	11,7	17,3	15,3	16,5	11,3	15,1
	9,8	7,5	12,9	9,9	13,2	13,8	13,4	13,7	13,4	13,7
	10,3	8,6	10,3	11,9	14,1	15,2	14,6	12,9	10,8	12,9
	8,9	8,3	9,9	13,8	13,2	12,9	13,2	14,8	12,9	14,8
	8,1	9,0	13,8	13,0	11,9	10,3	12,8	17,1	12,8	13,0
	7,9	8,7	15,2	13,8	13,2	13,8	13,2	13,8	13,2	13,8
	7,0	12,8	12,9	15,2	14,1	15,2	14,1	15,2	14,1	15,2
	8,9	8,8	9,9	12,9	9,9	12,9	15,5	12,9	10,5	12,9
	7,9	8,7	11,9	10,3	11,9	10,3	16,3	10,3	11,9	10,3
	10,0	9,8	13,8	9,9	13,8	9,9	13,8	16,9	13,8	10,5
Суша маса 10 проростків, мг	241		240		275		219		204	
500 м від місця скиду	8,2	9,2	9,2	9,9	7,0	9,2	10,4	10,9	9,2	10,0
	8,3	8,3	8,3	8,7	9,8	9,0	8,3	8,7	8,3	8,7
	7,4	7,4	7,4	6,3	10,3	9,3	9,2	10,2	7,4	6,3
	7,2	7,2	7,2	7,5	8,9	8,8	9,3	7,5	7,2	7,5
	7,0	7,0	7,0	7,9	7,9	8,7	8,8	7,9	7,0	8,6
	9,8	9,8	9,8	8,3	9,8	9,8	9,8	8,3	9,8	8,3
	10,3	6,6	10,3	9,0	10,3	9,0	10,3	9,0	9,3	9,0
	8,9	8,9	8,9	7,7	8,9	7,7	9,2	11,2	8,9	7,7
	7,9	7,9	7,9	7,6	7,9	7,6	8,4	11,3	7,9	7,6
	6,3	10,0	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8
Суша маса 10 проростків, мг	215		155		160		160		160	
1000 м від місця скиду	5,3	4,1	10,3	8,3	13,6	8,0	12,3	12,1	12,5	11,6
	8,7	8,7	10,1	8,7	7,0	9,2	11,4	8,7	10,1	8,7
	7,9	8,3	12,3	7,9	8,9	9,0	12,3	14,3	12,3	12,8
	8,0	8,8	9,9	8,0	7,9	9,3	9,9	12,3	9,9	8,0
	9,2	8,7	8,1	9,2	12,4	8,8	8,1	11,0	8,9	9,2
	9,0	9,8	7,9	9,0	7,9	8,7	7,9	9,0	7,9	9,0
	6,2	9,3	7,0	9,3	7,0	9,3	7,0	9,3	7,0	9,3
	8,8	8,8	8,9	8,8	8,9	8,8	8,9	8,8	8,9	8,8
	8,7	8,7	7,9	8,7	7,9	8,7	12,1	8,7	7,9	8,7
	9,8	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	9,2	9,8	10,0	9,8
Суша маса 10 проростків, мг	236		198		185		189		175	
1500 м від місця скиду	5,9	8,4	12,3	9,0	12,9	9,8	11,9	9,9	10,3	9,9
	7,7	8,7	9,9	7,7	14,0	7,5	14,6	9,3	9,2	12,1
	9,1	6,3	8,1	9,8	13,7	14,0	12,9	6,3	9,5	10,1
	7,2	7,5	7,2	9,0	12,9	13,7	7,2	11,3	11,5	10,3
	7,0	9,6	9,9	7,7	14,8	12,9	7,0	12,3	12,1	11,4
	9,8	8,3	9,8	13,7	13,0	14,8	9,8	13,7	10,3	13,7
	8,9	9,7	10,3	12,9	7,9	13,0	10,3	12,9	10,3	12,9
	8,9	5,4	8,9	9,7	8,9	14,8	8,9	11,3	8,9	11,5
	7,9	13,0	7,9	9,2	7,9	13,0	8,7	11,7	7,9	9,9
	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	9,8	10,0	10,2
Суша маса 10 проростків, мг	225		202		250		197		185	

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

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 3

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

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 3

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

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 3

Варіант	Ознаки лишайників	Дерева									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10	Кількість накипних	0	1	2	1	1	1	1	1	1	0
	Кількість листуватих	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0
	Кількість рунистих	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	Ступінь покриття площі рамки накипними лишайниками, %	0	50	90	60	60	50	40	80	60	0
	Ступінь покриття площі рамки листуватими лишайниками, %	0	30	30	0	40	30	40	20	0	0
	Ступінь покриття площі рамки рунистими лишайниками, %	0	0	0	0	0	0	0	20	0	40
11	Кількість накипних	1	1	3	1	1	1	3	1	1	2
	Кількість листуватих	1	1	1	2	1	1	1	1	0	2
	Кількість рунистих	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1
	Ступінь покриття площі рамки накипними лишайниками, %	60	50	90	60	60	50	40	80	60	70
	Ступінь покриття площі рамки листуватими лишайниками, %	20	30	30	30	40	30	40	20	0	20
	Ступінь покриття площі рамки рунистими лишайниками, %	10	0	15	5	0	0	30	5	0	10
12	Кількість накипних	2	1	2	1	1	1	1	1	1	2
	Кількість листуватих	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Кількість рунистих	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1
	Ступінь покриття площі рамки накипними лишайниками, %	80	50	90	60	60	50	10 0	80	60	100
	Ступінь покриття площі рамки листуватими лишайниками, %	50	30	30	45	40	30	40	20	50	60
	Ступінь покриття площі рамки рунистими лишайниками, %	15	0	0	0	0	0	0	15	20	15
13	Кількість накипних	1	1	2	1	1	1	1	1	1	0
	Кількість листуватих	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0
	Кількість рунистих	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Ступінь покриття площі рамки накипними лишайниками, %	60	20	40	60	60	50	40	20	60	0
	Ступінь покриття площі рамки листуватими лишайниками, %	0	0	30	0	40	30	40	20	0	0
	Ступінь покриття площі рамки рунистими лишайниками, %	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0
14	Кількість накипних	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
	Кількість листуватих	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0
	Кількість рунистих	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
	Ступінь покриття площі рамки накипними лишайниками, %	30	50	50	60	60	50	50	30	60	0
	Ступінь покриття площі рамки листуватими лишайниками, %	0	30	10	0	20	30	10	5	0	0
	Ступінь покриття площі рамки рунистими лишайниками, %	0	0	0	0	0	5	0	5	0	10

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 4

Місце відбору зразків	Біоіндикатор	Варіант						
		1	2	3	4	5	6	7
Промислова зона підприємства	Липа широколиста	<u>3000</u> 200	<u>3200</u> 210	<u>3200</u> 190	<u>2800</u> 221	<u>3200</u> 250	<u>4200</u> 210	<u>3000</u> 111
	Суріпиця звичайна	<u>1600</u> 145	<u>1300</u> 145	<u>1300</u> 125	<u>1300</u> 150	<u>1200</u> 190	<u>1300</u> 149	<u>1600</u> 125
	Бузина чорна	<u>1200</u> 235	<u>1200</u> 257	<u>1200</u> 201	<u>1300</u> 247	<u>1100</u> 280	<u>1500</u> 245	<u>1200</u> 156
	Акація біла	<u>1000</u> 262	<u>1100</u> 275	<u>1100</u> 225	<u>1100</u> 287	<u>1000</u> 312	<u>1300</u> 272	<u>1100</u> 200
	Ясень звичайний	<u>2100</u> 600	<u>1800</u> 589	<u>1800</u> 504	<u>1700</u> 514	<u>2000</u> 680	<u>1800</u> 503	<u>1800</u> 468
500 м від підприємства	Календула лікарська	<u>2000</u> 82	<u>2500</u> 124	<u>2500</u> 104	<u>2800</u> 135	<u>2600</u> 152	<u>2500</u> 104	<u>3000</u> 108
	Чистотіл великий	<u>1600</u> 123	<u>4200</u> 448	<u>4200</u> 405	<u>4500</u> 452	<u>1400</u> 157	<u>4200</u> 404	<u>4500</u> 345
	Каштан кінський	<u>1500</u> 178	<u>3500</u> 560	<u>3500</u> 526	<u>3500</u> 512	<u>1500</u> 247	<u>3500</u> 525	<u>3700</u> 421
	Вишня звичайна	<u>1100</u> 155	<u>2200</u> 400	<u>2050</u> 380	<u>2100</u> 421	<u>1300</u> 278	<u>2200</u> 412	<u>2500</u> 374
	Гречка їстівна	<u>1500</u> 270	<u>2000</u> 500	<u>2000</u> 489	<u>2000</u> 478	<u>1500</u> 358	<u>2000</u> 504	<u>2200</u> 405
1500 м від підприємства	Берізка польова	<u>2200</u> 72	<u>2500</u> 100	<u>2900</u> 121	<u>2700</u> 78	<u>2200</u> 78	<u>2400</u> 82	<u>2900</u> 45
	Цикорій звичайний	<u>1000</u> 70	<u>1600</u> 121	<u>1600</u> 135	<u>2500</u> 142	<u>1000</u> 68	<u>1600</u> 111	<u>2000</u> 75
	Абрикос звичайний	<u>2300</u> 250	<u>2400</u> 258	<u>2900</u> 325	<u>2500</u> 205	<u>5000</u> 500	<u>2400</u> 207	<u>2900</u> 150
	Конюшина повзуча	<u>1400</u> 168	<u>3000</u> 405	<u>3000</u> 405	<u>2800</u> 378	<u>1400</u> 195	<u>3000</u> 385	<u>3000</u> 201
	Персик звичайний	<u>1400</u> 214	<u>1600</u> 302	<u>1600</u> 288	<u>1700</u> 268	<u>1400</u> 238	<u>1600</u> 267	<u>1600</u> 152

Примітка: у чисельнику – загальна кількість досліджених клітин, у знаменнику – кількість стерильних клітин

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 4

Місце відбору зразків	Біоіндикатор	8	9	10	11	12	13	14	15
Промислова зона підприємства	Липа широколиста	<u>3000</u> 198	<u>3000</u> 202	<u>4000</u> 225	<u>4500</u> 420	<u>3000</u> 146	<u>2800</u> 165	<u>3000</u> 222	<u>7800</u> 542
	Суріпиця звичайна	<u>1250</u> 165	<u>1000</u> 127	<u>1250</u> 124	<u>1200</u> 200	<u>1600</u> 142	<u>1250</u> 142	<u>1000</u> 154	<u>1250</u> 157
	Бузина чорна	<u>1350</u> 245	<u>1300</u> 254	<u>1400</u> 225	<u>1000</u> 278	<u>2000</u> 365	<u>1350</u> 204	<u>1300</u> 276	<u>2000</u> 280
	Акація біла	<u>1200</u> 302	<u>1100</u> 287	<u>1400</u> 245	<u>1300</u> 502	<u>1000</u> 194	<u>1250</u> 279	<u>1100</u> 287	<u>1200</u> 304
	Ясень звичайний	<u>1750</u> 523	<u>1800</u> 645	<u>1900</u> 458	<u>1200</u> 468	<u>4000</u> 911	<u>1750</u> 523	<u>1700</u> 600	<u>1700</u> 470
500 м від підприємства	Календула лікарська	<u>3100</u> 152	<u>3800</u> 178	<u>3000</u> 101	<u>2500</u> 124	<u>2700</u> 78	<u>3000</u> 152	<u>3800</u> 147	<u>2800</u> 88
	Чистотіл великий	<u>4500</u> 407	<u>1600</u> 127	<u>4000</u> 378	<u>4200</u> 436	<u>4500</u> 345	<u>4250</u> 407	<u>1600</u> 137	<u>4100</u> 378
	Каштан кінський	<u>3500</u> 471	<u>1700</u> 204	<u>3600</u> 503	<u>3400</u> 512	<u>3700</u> 421	<u>3500</u> 471	<u>1700</u> 168	<u>3600</u> 503
	Вишня звичайна	<u>2100</u> 387	<u>1200</u> 254	<u>2300</u> 400	<u>1000</u> 124	<u>2200</u> 324	<u>2100</u> 387	<u>1200</u> 214	<u>2500</u> 400
	Гречка їстівна	<u>2200</u> 502	<u>1250</u> 306	<u>2100</u> 456	<u>2300</u> 563	<u>1800</u> 369	<u>22500</u> 475	<u>1100</u> 306	<u>2100</u> 423
1500 м від підприємства	Берізка польова	<u>3500</u> 78	<u>2300</u> 65	<u>2500</u> 76	<u>2000</u> 76	<u>2500</u> 63	<u>7000</u> 178	<u>2300</u> 65	<u>2600</u> 84
	Цикорій звичайний	<u>3000</u> 142	<u>2000</u> 125	<u>2000</u> 124	<u>1200</u> 101	<u>1900</u> 78	<u>3000</u> 142	<u>2000</u> 114	<u>2000</u> 124
	Абрикос звичайний	<u>3000</u> 215	<u>2800</u> 250	<u>2200</u> 205	<u>2400</u> 264	<u>2700</u> 165	<u>3000</u> 215	<u>2800</u> 216	<u>2200</u> 205
	Конюшина повзуча	<u>2800</u> 324	<u>1800</u> 211	<u>3100</u> 345	<u>2600</u> 345	<u>2400</u> 205	<u>2800</u> 305	<u>1800</u> 207	<u>3000</u> 323
	Персик звичайний	<u>1750</u> 245	<u>2000</u> 287	<u>1700</u> 241	<u>1600</u> 278	<u>1400</u> 163	<u>1600</u> 214	<u>2000</u> 235	<u>1800</u> 324

Примітка: у чисельнику – загальна кількість досліджених клітин, у знаменнику – кількість стерильних клітин

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 5

Варіант	Місце відбору зразків	Кількість досліджених клітин	Кількість клітин, що діляться за фазами мітозу / з них аберантних							
			Профаза		Метафаза		Анафаза		Телофаза	
1	Північ	8100	300	51	10	66	15	199	0	
	Північний схід	6500	412	125	25	64	15	164	13	
	Схід	5000	203	94	10	67	18	205	3	
	Південний схід	6100	304	69	35	52	21	254	6	
	Південь	6200	178	108	21	78	24	191	5	
	Південний захід	7800	304	127	55	40	36	188	1	
	Захід	8500	354	100	53	43	24	256	43	
	Північний захід	7000	412	37	21	21	20	119	25	
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2	
2	Північ	7200	313	181	18	66	1	291	11	
	Північний схід	6900	353	125	10	64	0	164	2	
	Схід	6300	203	94	21	67	18	205	27	
	Південний схід	7500	304	69	35	52	32	101	6	
	Південь	6200	178	108	21	78	24	100	51	
	Південний захід	7800	304	127	55	40	36	188	1	
	Захід	8500	354	151	3	55	11	256	43	
	Північний захід	7000	412	111	8	99	20	119	4	
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2	
3	Північ	5000	200	181	18	66	1	100	11	
	Північний схід	6900	353	125	10	64	0	164	10	
	Схід	5900	203	141	12	101	5	205	9	
	Південний схід	6100	304	125	25	52	32	101	6	
	Південь	6200	178	199	21	78	24	100	51	
	Південний захід	7800	199	156	35	40	36	56	1	
	Захід	8500	354	108	21	55	11	256	43	
	Північний захід	7000	412	111	8	99	20	119	4	
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2	
4	Північ	6900	200	181	18	66	1	59	11	
	Північний схід	6900	353	125	10	64	0	164	10	
	Схід	5900	203	141	12	101	5	205	9	
	Південний схід	5200	304	125	25	52	32	101	6	
	Південь	5000	178	199	21	78	24	100	51	
	Південний захід	7800	199	156	35	40	36	56	1	
	Захід	8100	156	108	21	55	11	142	43	
	Північний захід	8500	140	111	8	99	20	119	4	
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2	

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 5

Варіант	Місце відбору зразків	Кількість досліджених клітин	Кількість клітин, що діляться за фазами мітозу / з них аберантних						
			Профаза	Метафаза	Анафаза	Телофаза			
5	Північ	6900	300	51	21	66	15	60	29
	Північний схід	8950	412	125	51	64	45	164	29
	Схід	5900	203	94	21	67	18	205	27
	Південний схід	5200	304	69	35	52	21	254	47
	Південь	5000	178	108	21	78	24	191	5
	Південний захід	7800	304	127	21	40	19	188	1
	Захід	8100	354	100	19	43	16	256	23
	Північний захід	6750	412	37	21	21	20	119	25
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2
6	Північ	8300	291	51	21	66	15	60	29
	Північний схід	6500	139	125	25	64	15	164	13
	Схід	5900	203	94	21	67	18	205	27
	Південний схід	6100	304	69	35	52	21	254	6
	Південь	5000	178	108	21	78	24	191	5
	Південний захід	5200	304	127	21	40	19	188	1
	Захід	6500	354	199	19	43	16	256	23
	Північний захід	7000	412	37	21	21	20	119	25
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2
7	Північ	7900	300	51	21	66	15	60	29
	Північний схід	7150	412	125	51	64	15	164	29
	Схід	5650	203	94	21	67	18	205	27
	Південний схід	6100	304	69	35	52	21	254	6
	Південь	5000	178	108	21	78	24	191	5
	Південний захід	6750	304	127	21	40	19	188	1
	Захід	8550	354	100	19	43	16	256	23
	Північний захід	7650	412	37	21	21	20	119	25
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2
8	Північ	7950	291	51	21	66	15	60	29
	Північний схід	6500	139	125	25	64	40	164	29
	Схід	5900	203	94	21	67	18	205	27
	Південний схід	6100	304	69	21	52	17	254	31
	Південь	5000	178	108	21	78	24	191	5
	Південний захід	5100	304	127	21	40	19	188	1
	Захід	6250	354	199	19	43	16	256	23
	Північний захід	5450	412	37	21	21	20	119	11
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 5

Варіант	Місце відбору зразків	Кількість досліджених клітин	Кількість клітин, що діляться за фазами мітозу / з них аберантних						
			Профаза	Метафаза	Анафаза		Телофаза		
9	Північ	7950	300	51	21	65	15	39	29
	Північний схід	6500	139	125	25	64	40	164	29
	Схід	5900	203	94	21	67	18	205	27
	Південний схід	6100	299	69	21	52	17	254	31
	Південь	5000	178	108	21	78	24	191	5
	Південний захід	5100	308	127	21	40	19	188	1
	Захід	6250	354	199	19	43	16	256	23
	Північний захід	5450	412	37	21	21	20	119	11
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2
10	Північ	7950	300	51	21	65	15	39	29
	Північний схід	6500	139	125	25	49	40	164	29
	Схід	7800	142	56	21	67	18	132	27
	Південний схід	8150	122	69	21	52	17	143	31
	Південь	6000	178	108	21	78	24	191	5
	Південний захід	6700	308	127	21	40	19	188	1
	Захід	7200	354	199	19	43	16	256	23
	Північний захід	5450	412	37	21	21	20	119	11
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2
11	Північ	6900	200	181	18	66	1	59	11
	Північний схід	7900	200	125	39	64	31	164	25
	Схід	6850	171	100	41	101	39	205	18
	Південний схід	6770	304	125	25	52	32	101	6
	Південь	5000	178	199	21	78	24	100	51
	Південний захід	7800	199	156	35	40	36	56	1
	Захід	8100	156	108	21	55	11	142	43
	Північний захід	8500	140	111	8	99	20	119	4
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2
12	Північ	7950	155	112	54	66	11	154	26
	Північний схід	8100	200	69	15	55	21	121	34
	Схід	6300	203	94	21	67	18	205	27
	Південний схід	7500	304	69	35	52	32	101	6
	Південь	6200	178	108	21	78	24	100	51
	Південний захід	7800	304	127	55	40	36	188	1
	Захід	8500	354	151	3	55	11	256	43
	Північний захід	7890	322	99	33	78	20	119	4
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 5

Варіант	Місце відбору зразків	Кількість досліджених клітин	Кількість клітин, що діляться за фазами мітозу / з них аберантних						
			Профаза	Метафаза	Анафаза	Телофаза			
13	Північ	7950	155	112	54	66	11	154	26
	Північний схід	8100	200	69	15	55	21	121	34
	Схід	6300	203	94	21	67	18	205	27
	Південний схід	5200	304	100	35	77	32	101	6
	Південь	5000	255	144	12	78	11	100	11
	Південний захід	5150	304	127	11	69	33	188	1
	Захід	6500	354	151	3	55	11	256	43
	Північний захід	7890	322	99	33	78	20	119	4
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2
14	Північний схід	6500	139	125	25	64	40	164	29
	Схід	5900	203	94	21	67	18	205	27
	Південний схід	6100	304	69	21	52	17	254	31
	Південь	5000	178	108	21	78	24	191	5
	Південний захід	5100	304	127	21	40	19	188	1
	Захід	6250	354	199	19	43	16	256	23
	Північний захід	5450	412	37	21	21	20	119	11
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2
15	Північ	5350	291	99	10	66	8	89	11
	Північний схід	5000	222	125	10	79	9	200	15
	Схід	5100	203	94	9	88	18	205	18
	Південний схід	6100	304	69	21	52	17	254	31
	Південь	5000	178	108	21	78	24	191	5
	Південний захід	5100	304	127	21	40	19	188	1
	Захід	6250	354	199	19	43	16	256	23
	Північний захід	5450	412	37	21	21	20	119	11
	Контроль	9600	470	256	15	232	10	388	2

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 6

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

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 6

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

Варіанти завдань до лабораторної роботи № 7

Варіант	Номер прикопки	Дошові черв'яки		Моллюски (слимаки, равлики)		Багато-ніжки (геофіли)		Павуко-подібні		Рівноногі (мокриці)		Комахи	
		К*	Д*	К	Д	К	Д	К	Д	К	Д	К	Д
1	1	5	1	8	3	8	2	5	7	6	1	8	2
	2	1	5	2	7	1	7	3	6	2	3	1	4
	3	4	0	4	1	2	9	3	0	3	4	1	2
2	1	5	1	0	3	8	2	5	7	5	1	7	2
	2	1	2	2	0	4	7	3	5	6	3	8	4
	3	4	0	4	0	2	9	3	1	4	3	2	2
3	1	5	1	0	3	3	2	2	0	6	1	5	2
	2	2	2	4	1	5	7	3	6	6	0	8	3
	3	10	0	8	2	7	9	5	0	6	1	8	2
4	1	5	1	0	3	4	2	2	1	5	1	4	0
	2	3	2	4	1	5	5	3	6	4	0	8	2
	3	11	0	9	2	7	9	7	0	6	1	8	1
5	1	8	1	0	3	4	1	2	1	3	0	5	1
	2	7	2	4	0	8	5	3	5	4	0	4	1
	3	10	0	8	1	7	10	5	0	6	1	9	0
6	1	8	1	7	2	6	1	1	4	2	3	5	1
	2	7	1	5	2	8	9	5	5	4	0	4	1
	3	9	0	7	1	7	10	5	0	5	1	8	0
7	1	5	1	6	2	4	2	2	4	2	1	5	3
	2	6	1	4	2	8	8	5	3	4	1	6	2
	3	8	0	7	1	6	9	6	0	6	1	7	0
8	1	5	2	6	2	1	2	2	4	2	7	5	0
	2	6	1	5	2	4	8	5	3	6	1	7	1
	3	9	0	5	10	5	0	6	1	6	1	8	0
9	1	5	2	3	2	1	3	2	5	2	7	5	1
	2	6	1	5	1	4	7	5	1	7	1	5	1
	3	7	0	5	11	5	0	5	1	6	1	8	0
10	1	5	1	3	2	0	3	3	5	1	8	6	1
	2	6	1	4	1	4	7	5	1	7	1	4	1
	3	5	0	5	12	5	0	5	0	5	1	6	1
11	1	5	1	3	2	3	3	2	6	1	7	0	1
	2	4	1	4	2	4	7	5	1	6	0	4	2
	3	3	0	5	11	6	0	4	1	5	1	7	0
12	1	2	1	3	5	3	4	2	5	1	6	2	1
	2	5	1	4	2	6	7	4	1	4	0	4	2
	3	4	0	6	10	6	0	6	1	5	1	7	0
13	1	9	1	2	5	2	7	2	4	5	2	6	1
	2	6	1	4	2	5	7	4	1	3	0	4	2
	3	3	0	6	10	5	0	5	1	4	0	6	1

Примітка: К* – контроль; Д* – дослід.

ЗМІСТ

	Стор.
ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ	3
Лабораторна робота № 1. Відбір проб об'єктів навколишнього середовища для біоіндикаційних досліджень.....	4
Лабораторна робота № 2. Методика оцінки токсичності водних джерел та ґрунтів за допомогою «Ростового тесту».....	7
Лабораторна робота № 3. Оцінка забрудненості атмосферного повітря за допомогою лишайників (ліхеноіндикація).....	16
Лабораторна робота № 4. Оцінка токсичності атмосферного повітря за тестом «Стерильність пилку рослин».....	23
Лабораторна робота № 5. Визначення якості ґрунтів за тестами «Аберантність хромосом» та «Величина мітотичного індексу».....	31
Лабораторна робота № 6. Біотестування якості води з використанням рачків виду <i>Daphnia Magna S.</i>	43
Лабораторна робота № 7. Оцінка стабільності розвитку деревних рослин за рівнем асиметрії морфологічних структур (на прикладі берези повислої <i>Betula Pendula</i>).....	49
Лабораторна робота № 8. Оцінка екологічного стану ґрунтів за змінами видового біорізноманіття ґрунтових безхребетних тварин.....	56
Додаток 1. Варіанти завдань до лабораторної роботи № 2.....	60
Додаток 2. Варіанти завдань до лабораторної роботи № 3.....	63
Додаток 3. Варіанти завдань до лабораторної роботи № 4.....	66
Додаток 4. Варіанти завдань до лабораторної роботи № 5.....	68
Додаток 5. Варіанти завдань до лабораторної роботи № 6.....	72
Додаток 6. Варіанти завдань до лабораторної роботи № 8.....	74

Горова Алла Іванівна
Павличенко Артем Володимирович
Борисовська Олена Олександрівна
Грунтова Валентина Юріївна
Деменко Ольга Володимирівна

БІОІНДИКАЦІЯ.

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
ДО ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ
студентами напряму підготовки

6.040106 «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування»

Друкується в редакційній обробці авторів.

Підписано до друку 15.10.2014. Формат 30 x 42/4.
Папір офсет. Ризографія. Ум. друк. арк. 4,2.
Обл.-вид. арк. 4,2. Тираж 50 прим. Зам. №

Державний ВНЗ «Національний гірничий університет»
49005, м. Дніпропетровськ, просп. К. Маркса, 19.