## ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ № 1

ТЕМА: Визначення рівнів біоіндикації та добір біоіндикаторів

**Теоретичні питання (підготувати презентації)**

1. Поняття біоіндикації та її основні рівні: молекулярний, клітинний, організмовий, популяційний, екосистемний.
2. Вимоги до біоіндикаторів: специфічність, чутливість та доступність для досліджень.
3. Переваги біологічних методів оцінки якості води над фізико-хімічними.
4. Приклади біоіндикаторів серед рослин, безхребетних і риб.
5. Вплив антропогенних факторів на водні біоіндикатори.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Притула Н.М. Біоіндикація : навчальний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Екологія» освітньо-професійної програми «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування». Запоріжжя : ЗНУ, 2020. 141 с.
2. Хижняк М.І., Євтушенко М.Ю. Методологія вивчення угруповань водних організмів : Навчальний посібник. Київ : Український фітосоціологічний центр, 2014. 269 с.
3. Хмелюк С. В., Хмелюк О. С., Карпушин Д. В. Методи біоіндикації екологічного стану водойм: Навч. посіб. К.: Вид-во НУБіП України, 2017. 160 с.

**Наукові статті на тему:**

* Біоіндикація як метод оцінки якості води.
* Класифікація біоіндикаторів у водних екосистемах.
* Вплив стресових факторів на біологічних індикаторів.
* Порівняльний аналіз біоіндикаторів на різних рівнях організації життя.
* Використання макрофітів та макрозообентосу у біоіндикації.
* Роль біоіндикаторів у моніторингу якості води.

# Практична робота

**Методи і знаряддя збору гідробіологічних проб води у водоймах різного типу**

***Мета роботи:*** *Ознайомитися з правилами та приладами відбору проб води для проведення гідробіологічного аналізу та методами обліку організмів фіто- та зоопланктону.*

# Основні поняття

**Фітопланктон.** Фітопланктон має велике значення в кругообігу речовин. Водорості разом з вищою водною рослинністю утворюють з мінеральних речовин органічні. Завдяки своїй життєдіяльності вони впливають на хімічний склад і газовий режим води, використовуючи біогенні речовини для побудови свого тіла, поглинаючи вуглекислий газ і виділяючи кисень. Ці автотрофні фото синтезуючі організми є основним джерелом живлення різних водних тварин, зоопланктон них, зообентос них та риб-фітопланктофагів. Відмираючи, водорості постачають харчовий субстрат для бактерій, утворюють детрит, сприяють розвитку консументів різних видів.

Негативне значення фітопланктону полягає в тому, що спад “цвітіння” води влітку, пов’язаний з масовим відмиранням синє-зелених водоростей у водоймах. Це викликає порушення кисневого режиму, задуху, пригнічення розвитку зоопланктону і зообентосу, погіршує загальний санітарний стан водойм.

Таким чином, роль фітопланктону визначається не тільки фактом наявності певних видів індикаторів, але й ступінню їх кількісного розвитку. Вивчення таких характеристик як видовий склад, чисельність, біомаса, розподіл водоростей у водоймі дає можливість здійснювати комплексну оцінку екологічного стану водойм.

***Методи збору***. Відбір кількісних проб фітопланктону на глибоководних водних об’єктах здійснюється батометром з глибин 0; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 м і т. д. потім проби, відібрані з кожної глибини, зливаються в чисте відро і добре перемішуються, після чого відбирається середня проба об’ємом 0,5 л. Додаючи у відібрану пробу 5 – 7 мл 40%-ного формаліну, який не повинен мати осаду, пробу фіксують.

На малих річках і мілководдях пробу фітопланктону відбирають простим черпанням води з глибини 0,3 – 0,5 м і заповненням нею 0,5 л пляшки. Пробу відразу ж фіксують 5 – 7 мл 40%-ного формаліну.

Для якісного відбору проб фітопланктону використовують планктонну сітку Апштейна (газ №77), яка має вигляд конуса. Верхня частина пришивається за рахунок бавовняної тканини до металічного кільця, а нижня частина прикріплюється до стаканчика. Перед початком роботи сітку промивають у воді і закривають затискачем.

В глибоких місцях проводять тотальний лов від дна до поверхні, а на мілководдях ємкістю (літрова кружка, відро, банки тощо) з горизонту 0,3 – 0,5 м на відстані більше 1 м від берега. Зачерпують не менше 30 л води і проціджують її крізь планктонну сітку Апштейна, де проходить її фільтрація і збирання фітопланктону у стаканчику. Черпати слід по течії води середнім темпом з невеликими перервами. Після того, як через сітку профільтрували на менше 30л води, осад з планктонного стаканчика переливають в посудину для відбору проби, відкриваючи затискач. Потім затискач закривається і сітку знову занурюють у водойму або у відро з водою для споліскування. Змиті організм знову переносять в пробу. Необхідно слідкувати, щоб при споліскуванні в сітку не потрапила нова порція води крізь вхідний отвір. Проба фіксується 5 – 7 мл 40%-ного формаліну.

Для кожної відібраної проби заповнюється етикетка: Назва проби. 1. Назва водойми. 2. Назва пункту відбору. 3.

Назва створу. 4. Дата відбору (число, місяць, рік). 5. Об’єм профільтрованої проби.

***Обробка проб у лабораторії***. Пляшка з пробою повинна відстоятись в затемненому місці. Всі синьо-зелені водорості концентруються у поверхневому шарі, а інші, більш важки види, осідають на дно. Після відстоювання відціджується сифоном середній порожній шар води. Ця операція проводиться дуже обережно. Щоб не збовтати пробу вода випускається дуже повільно краплями. Осад концентрується до об’єму 20 – 50 – 100 мл і зберігається до обробки.

Для проведення обробки проб використовується обладнання: мікроскоп, окуляр-мікрометр, штемпель-піпетка з об’ємом відбору зразка проби 0,1 мл, лічильна камера визначеного об’єму або поліноване предметне скло, покривне скельце, мірні склянки ємкістю 50, 100 і 200 мл, гліцерин.

Згущена проба виливається в мірний посуд, добре перемішується і штемпель-піпеткою відбирається зразок, що поміщається на предметне скло, або в лічильну камеру, голкою додається гліцерин і накривається покривним скельцем. Препарат спочатку продивляються під мікроскопом з метою встановлення видового складу, користуючись відповідними визначниками.

***Розрахунок чисельності*** водоростей в 1 л води проводиться за формулою С.А. Кражан і Л.І. Лупачової:

(1.1)

де N – кількість водоростей в 1 л; n – кількість водоростей в 0,1 мл; V1 – об’єм проби після згущення; V – первинний об’єм проби.

***Розрахунок біомаси*** фітопланктону проводиться методом складання біомас окремих популяцій. Більшість видів водоростей мають форму кулі, циліндра, еліпсоїда або двох конусів. Знайдений для кожної клітини об’єм (в мкм3) помножується на її чисельність. Значення біомаси одержують в мг/л або г/м3 з точністю до 0,01. Питома вага водоростей умовно приймається рівною одиниці.

***Оперативний контроль***. Розвиток фітопланктону у водоймах можна також визначити за кольором води, опускаючи індикаторний диск Секкі на половину індикаторної прозорості. При цьому керуються таким відношенням кольору і екологічних умов:

1. Вода має зеленуватий відтінок – це добрий фізіологічний стан фітопланктону і нормальні екологічні умови водойми.
2. Вода чиста, блакитна з високою прозорістю – означає низький вміст фіто- і зоопланктону.
3. У воді зеленувато-сині хлоп’я при низькій прозорості – означає початок масового відмирання синьо-зелених водоростей, загрозу задухи вищих форм гідробіонтів, незадовільний екологічний стан.
4. Пожовтіння води при малій прозорості – дефіцит кисню, загроза задухи або задуха.
5. Оранжево-жовта вода з прозорістю вище норми свідчить про нестачу планктону та погані гідрохімічні показники.

**Зоопланктон**. Роль зоопланктону в трансформації енергії і біотичному кругообігу речовин, що визначають продуктивність водойм дуже велика. Мирні зоопланктонні безхребетні тварини живляться бактеріями, детритом та водоростями. Таким чином, зоопланктон діє як природний бактеріальний фільтр. Він помітно впливає на чисельність фото синтезуючих водоростей фітопланктону, регулюючи кисневий режим. Крім того, зоопланктонні організми – це основний корм для личинок риб, молоді та дорослих риб-зоопланктофагів.

***Методи збору***. Для відбору проб на зоопланктон також використовують планктонну сітку Апштейна (газ №77). Перед початком роботи сітку промивають у річці і закривають затискачем.

Відбір проб зоопланктону здійснюється таким чином: літровою кружкою або відром з глибини 0,3 – 0,5 м на відстані більш ніж 1 м від берега зачерпують 50 л води. Воду виливають в сітку Апштейна, де і проходить її фільтрація і концентрація зоопланктону в планктонному стаканчику. Черпають по течії річки, середнім темпом з невеликими перервами.

Після того, як профільтрували 50 л води, відкривають затискач і осад з планктонного стаканчика переноситься в підготовлений для відбору проби посуд. Потім затискач закривають і сітку занурюють у водойму або у відро з водою, коли мала глибина або сильна течія, але так, щоб у вхідний отвір не потрапила нова вода. Змиті зі стінок залишки проби, зливаються в ту ж посуду.

Консервація зоопланктон них проб проводиться 4%-ним формаліном (1 частина чистого формаліну на 9 частин води). Кожна проба етикетується (зразок етикетки наведений вище), її дані записують у щоденник або польовий журнал.

Посуд з пробами зберігається в захищеному від попадання прямих сонячних променів приміщенні при температурі не нижче 10˚С.

***Обробка проб.*** Якісний і кількісний склад зоопланктону визначається в лабораторії під мікроскопом. Кількісний облік планктону проводять об’ємним або лічильним методом.

Об’ємний метод – це експрес-метод визначення біомаси зоопланктону безпосередньо під час зйомок на водоймах.

Один з прийомів експрес-методу полягає в тому, що зафіксовану пробу виливають в мірний циліндр і визначають об’єм осаду. Вміст зоопланктону в 1 м3 розраховують шляхом множення об’єму осаду (см3) на відповідний коефіцієнт (К): К=40 при проціджуванні у водоймі 25 л води, К=20 при проціджуванні 50 л, К=10 при проціджуванні 100 л води.

Другий спосіб розрахований на обробку матеріалу в лабораторних умовах.пробу зоопланктону проціджують крізь сито №70-76. Осад підсушують на фільтрувальному папері до зникнення мокрих плям, зважують на терезах разом з шматком сита. Масу шматка вологого сита визначають заздалегідь. По різниці мас визначають біомасу планктону. Знаючи об’єм профільтрованої через планктонну сітку води, можна визначити біомасу зоопланктону в 1 м3.

Основний метод камеральної обробки зібраного матеріалу

* це лічильний. Пробу зоопланктону переливають у мірний циліндр, доводять її об’єм до 100 см3, перемішують штемпель- піпеткою, відбирають зразок 0,5 або 1,0 мл і виливають в камеру Богорова, або на лічильне скло. Рахують кількість організмів різних видів. Ця операція проводиться двічі. Якщо результати мають близькі показники, беруть середню величину для розрахунків. При великих розходженнях вивчають третю порцію. Після цього всю пробу продивляються під бінокулярним мікроскопом для визначення видового складу та підрахунку одиничних екземплярів.

***Розрахунок чисельності***. Дані з чисельності зоопланктону повинні бути представлені як кількість організмів в одиниці об’єму (екз/м3) або в стовпі води (наприклад, кількість під м2 поверхні – екз/м2). Як правило, при порівнянні чисельності зоопланктону в різних водоймах, використовуються дані з кількості екземплярів в одиниці об’єму, а при зіставленні результатів визначення чисельності зоопланктону та фітопланктону, кількості риб і т. ін., використовуються величини середньої чисельності під м2 поверхні.

Розрахунок кількості організмів в 1 м3, якщо проба відібрана шляхом проціджування певного об’єму води через сітку Апштейна, проводиться за формулою:

 (1.2)

де N – кількість організмів в 1 м3 води, екз/м3; n – кількість організмів у пробі, екз.; V – об’єм води, процідженої через сітку, л.

***Розрахунок біомаси***. Наступним етапом кількісної обробки проб зоопланктону є одержання даних з біомаси. Сумарна вага безхребетних визначається множенням середньої індивідуальної маси кожного організму на його чисельність. Дані індивідуальних мас зоопланктерів наведені в роботах І.А. Кисельова та Ф.Д. Мордухай-Болтовського.

Визначення і підрахунок організмів проводять по трьох основних групах: коловертки (Rotatoria), веслоногі (Copepoda) та гіллястовусі (Cladocera) ракоподібні. До групи “інші” відносяться види, що не входять до вказаних систематичних одиниць.

**Зообентос**. Видова різноманітність організмів зообентосу в кожному конкретному випадку свідчить про деякі особливості даної водойми, наприклад солоність води, проточність, характер донного ґрунту. Бентосні безхребетні входять до складу організмів-індикаторів забруднення водойми.

***Відбір кількісних проб*** зообентосу на малих і середніх річках здійснюється трубчастим донним черпаком або сачком чи шкрібачкою. В декількох точках з різним характером дна трубчастим донним черпаком на доступній глибині вирізається шар ґрунту на 2/4 – 3/4 об’єму трубки (7-8 см).на кожному створі відбирається 2 – 4 трубки. Кількість трубок, які відбираються на створі, залежить від типу ґрунту і кількості організмів в пробі.

На мулистих ґрунтах береться 2-3 трубки, так як там, в основному, багато організмів. На бідних піщаних відбирається 3-4 трубки.

Відібраний ґрунт переносять в таз. Потім проводять промивку проби. Грунт переносять в сачок-промивалку або скребок і промивають водою поки промивні води не стануть світлими. Залишок зі скребка (організми разом з частиною ґрунту) переносять за допомогою пінцета в банку.

Для відбору зразка з піщаного ґрунту річок треба пробу перед промивкою через сачок або скребок піддати відмочуванню. Для цього пробу з донного черпака переносять в таз, наливають води до 1/3 – 1/2 об’єму глибини тазу. Рукою вода з ґрунтом приводиться в стан руху так, щоб підняти в воду

зоофауну, не даючи організмам осісти на дно. Воду з тазу швидко виливають в сачок-промивалку чи скребок. Так продовжують робити до тих пір, поки промивні води не стануть світлими. Після цього залишок ґрунту в тазу оглядається. Всі організми, які залишились, відбираються, а залишок відкидається.

Після промивки організми з сачка-промивалки чи скребка переносять в банку, консервують і забезпечують етикетками. Об’єм консервованого матеріалу не повинен перевищувати 1/2 - 2/3 об’єму банки, вільний об’єм заповнюється водою і 40%-ним формаліном з розрахунку 1/10 частина банки – 50 мл на банку 0,5 л.

***Відбір якісних проб*** зообентосу здійснюється сачком або скребком. Тварин на водній рослинності ловлять скребком чи вручну. Скребком проводять проти течії річки декілька разів по рослинності в зоні її повного занурення у воду. Відцідивши воду, відбирають з скребка виловлених тварин пінцетом і переносять в банку (попередньо банку на 1/4 об’єму заповнюють водою).

Декілька екземплярів різних рослин, занурених повністю в воду, виривають з коренем і промивають в тазу. Таким чином знімаються рухомі тварини. Потім рослину і особливо кореневу систему уважно обстежують і пінцетом чи вручну збирають прикріплених тварин. Воду з тазика можна процідити через скребок і вміст скребка перенести в банку.

Рухомі організми бентосу, які можуть можуть знаходитись в товщі води, вловлюють скребком, здійснюючи плавні рухи вперед по дну проти течії річки, кожний раз після чергового змаху виймаючи скребок з води і оглядаючи його.

Більших тварин з сачка в банку переносять пінцетом, а дрібних змивають зі стінок скребка струменем води (з кружки) і концентрують в нижній округлій частині скребка. Вивернувши мішок, переносять тварин безпосередньо в банку, занурюючи частину мішка з фауною в банку з водою.

При зборі тварин з ґрунту в декількох точках з різним характером ґрунту скребком на достатній глибині зрізується шар ґрунту на глибину ріжучої пластинки, при цьому скребок притискають до ґрунту і приводять по дну на відстань 0,5 м або менше. Грунт з скребка переносять в таз, наповнивши його до половини. Якщо ґрунт являє собою мул (при розтиранні пальцями не відчувається пісок), то його переносять в сачок- промивалку, де промивають до світлої води.

Залишок у сачку-промивалці змивають в центральну частину мішка, поливаючи з кружки водою внутрішню поверхню мішка. Потім мішок вивертають над банкою і, занурюючи центральну частину сачка в банку, змивають залишки тварин з ґрунту в банку.

Зібраний матеріал в банках, разом з ґрунтом повинен займати не більше 1/2 – 2/3 вмісту банки і, тому якщо весь матеріал не входить в одну банку його можна розмістити в дві – три. Залишковий простір банки заповнюють водою і 40%-ним формаліном.

З каменів тварин збирають вручну на доступній глибині. Камені різних розмірів обережно відділяють від ґрунту, так як рухомі організми швидко втікають, і переносять в таз з водою. Частина тварин з каменів переходить у воду, яку потім проціджують через сачок. Камені над тазом уважно оглядають і всіх виявлених тварин переносять в банку з водою. Уважно оглядають і нарости на каменях, які можуть бути домівками для ручейників і трубками личинок хірономід. Таким чином, оглядають не менше 5 каменів різного розміру, потім воду з тазика профільтровують через сачок-промивалку і переносять в банку для фіксації. Ємкості з відібраними пробами забезпечуються етикетками з лейкопластиру. Запис роблять олівцем або кульковою ручкою.