

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ЗБІРНИК
МЕТОДИЧНИХ ВКАЗІВОК
до лабораторних робіт з дисципліни
«ГІДРОБІОЛОГІЯ»

Одеса
2010

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ЗБІРНИК
МЕТОДИЧНИХ ВКАЗІВОК

до лабораторних робіт
з дисципліни
«Гідробіологія»

для студентів першого курсу природоохоронного факультету
Спеціальність: водні біоресурси і аквакультура

«Затверджено»
на засіданні методичної комісії
природоохоронного факультету
Протокол № ____ від _____ 2010 р.

Одеса
2010

Методичні вказівки для лабораторних робіт по вивченню дисципліни «Гідробіологія» для студентів 1 курсу денної форми навчання за напрямом «Водні біоресурси і аквакультура»./ Курілов О.В./ – Одеса, ОДЕКУ, 2010.
– 60 с.

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	4
Правила техніки безпеки та охорона праці.	6
Лабораторна робота № 1 Загальні методи колекціонування гідробіологічного матеріалу. Проби і їх маркування. Фіксатори.	7
Лабораторна робота № 2 Принципи та методи цифрової обробки емпіричного матеріалу. Видове різноманіття та його оцінка.	12
Лабораторна робота № 3 Пристосування гідробіонтів до життя у пелагіалі і нейсталі.	17
Лабораторна робота № 4 Методи збору планктону і нейстону.	22
Лабораторна робота № 5 Методи камеральної обробки проб планктону та нейстону.	26
Лабораторна робота № 6 Пристосування гідробіонтів до життя у бенталі і перифіталі.	33
Лабораторна робота № 7 Методи відбору проб бактеріо-, зообентосу та зооперифітону.	36
Лабораторна робота № 8 Методи камеральної обробки проб бентосу і перифітону.	40
Лабораторна робота № 9 Типи водної рослинності. Методи відбору мікрофітобентосу і макрофітів.	43
Лабораторна робота № 10 Методи обробки проб мікрофітобентосу і макрофітів. Визначення морфо-функціональних показників.	47
Лабораторна робота № 11 Методи збору та обробки фітофільної фауни.	52
Лабораторна робота № 12 Загальні методи визначення абіотичних параметрів. .	55
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	59

Передмова

Збірник методичних вказівок до лабораторних робіт з дисципліни «Гідробіологія» включає такі розділи, що передбачені робочою програмою курсу: «Загальні принципи і методи колекціонування та збору гідробіологічного матеріалу. Гідробіологічні проби», «Загальні математичні методи обробки емпіричного матеріалу. Оцінка видового різноманіття», «Пристосування гідробіонтів до життя в пелагіалі, нейсталі та бенталі», «Методи збору та камеральної обробки проб планктону, нейстону, бентосу та перифітону», «Методи дослідження макрофітів та вищої водної рослинності», «Методи дослідження фітофільної фауни» та «Методи визначення основних абіотичних параметрів водного середовища».

Методи видобування гідробіологічного матеріалу ґрунтуються на використанні спеціального обладнання, розрахованого на роботу як в прибережній зоні, так і з використанням плавзасобів. Збереження та камеральна обробка проб або зразків потребує вміння роботи з оптичними приладами, а також елементарних навичок приготування розчинів реактивів та барвників. Цифрова обробка емпіричного матеріалу здійснюється з використанням математичного апарату і базується на вмінні вести розрахунки, зокрема з використанням інженерного калькулятора та стандартного ПЗ на ПК.

Виходячи з цього, метою проведення лабораторних занять є: 1) ознайомлення студентів із сучасним обладнанням і приладами, що використовуються при проведенні гідробіологічних досліджень, принципами та методами роботи з ними; 2) опанування студентами основних засобів збереження та колекціонування отриманого матеріалу; 3) оволодіння елементарними методами роботи з цифровим матеріалом і принципами його біологічної інтерпретації.

Після виконання всіх лабораторних робіт з дисципліни «Гідробіологія» студенти повинні знати загальні методи збору, препарування, консервації та камеральної обробки проб основних угруповань пелагіалі та бенталі – бактеріопланктону, різнорозмірних угруповань фіто- та зоопланктону, нейстону, мікро-, мейо- та макроформ рослинного і тваринного бентосу й перифітону; вміти працювати з визначниками. Студенти повинні знати принцип роботи та вміти працювати зі спеціальними приладами – оптичною технікою (мікроскопи), батометрами, бентометрами, дночерпачами, рамками, планктонними та нейстонними сітками й тралами різних конструкцій. Також студенти повинні опанувати найпростіші розрахунки чисельності, біомаси, видового багатства та різноманіття гідробіонтів у пробі, надавати інтерпретацію отриманих даних.

Ця методична робота є допоміжним матеріалом для виконання студентами лабораторних робіт і складається з окремих тем. Кожна робота містить загальні теоретичні та конструктивні пояснення і практичну частину, в якій наведено завдання, перелік необхідних матеріалів і детально описаний порядок роботи. По закінченні кожної лабораторної роботи студенти повинні стисло, у вигляді висновків, зробити звіт, який повинен включати короткий опис виконаної роботи, отримані результати, їхню інтерпретацію або доробки, отримані в ході роботи. Наприкінці кожної теми наведені контрольні питання. На останніх сторінках методичних вказівок наведений перелік рекомендованої основної та додаткової літератури. Оформлення кожної роботи здійснюється на аркушах формату А4, які складаються в окрему папку-файл.

В якості форми поточного контролю лекційних модулів дисципліни «Гідробіологія» використовується проведення контрольних робіт з кожного змістовного модуля, практичних модулів – усне опитування при захисті виконаних лабораторних робіт, наукового модулю – виступ на університетських, всеукраїнських студентських конференціях та публікація матеріалів тез доповідей цих виступів. Оцінювання студентів з модулю навчальної практики складається з двох частин: 1) виконання робіт та оформлення звіту студентом на протязі практики згідно з навчальною програмою; 2) захист бригадного звіту.

Критерії оцінки

Максимальна сума балів з ЗМ-П1 – 10 балів

Максимальна сума балів з ЗМ-П2 – 10 балів

Максимальна сума балів з ЗМ-П3 – 10 балів

Максимальна сума балів з ЗМ-П4 – 10 балів

Максимальна сума балів з ЗМ-П5 – 10 балів

Пропуски: мінус 1 бал за кожний пропуск заняття (2 години)

Оцінювання лабораторної роботи включає правильно виконані лабораторні роботи та усне опитування.

Правила техніки безпеки та охорона праці.

1 Загальні вимоги.

- 1.1 До виконання лабораторних робіт з дисципліни «Гідробіологія» допускаються студенти, що пройшли ввідний, первинний (повторний) інструктаж, придатні за станом здоров'я.
- 1.2 У лабораторії забороняється шуміти, бігати, приймати їжу і напої.
- 1.3 Без дозволу викладача не брати прилади, препарати та різне устаткування з інших робочих місць, не вставати зі свого місця і не ходити по лабораторії.
- 1.4 Не виносити з лабораторії і не вносити до неї будь – які прилади, препарати, живі об'єкти, а також не допускати без дозволу викладача під час проведення роботи сторонніх осіб.
- 1.5 При отриманні травм або поганому самопочутті звернутись до викладача для одержання першої медичної допомоги.

2 Вимоги безпеки перед початком роботи.

- 2.1 Лабораторне устаткування розташовувати в центрі стола в лотку.
- 2.2 Перед початком роботи необхідно уважно вивчити зміст і порядок виконання роботи, а також безпечні прийоми її виконання.
- 2.3 Прибрати зі столу сторонні предмети.
- 2.4 Перевірити лабораторне устаткування (чи немає сколів на склі, укомплектованість устаткування).

3 Вимоги безпеки під час роботи.

- 3.1 Під час виконання роботи необхідно точно виконувати вказівки викладача, без його дозволу забороняється проводити будь – які дослідження.
- 3.2 Дотримуватись обережності при роботі з використанням інструментів, що колять і ріжуть, не направляти їх гострою частиною на себе і оточуючих, на робоче місце класти гострою частиною від себе.
- 3.3 Обережно поводитись з лабораторним посудом. Не натискати на крихкі стінки пробірок, стаканів. Якщо розбився посуд, не збирати осколки руками.
- 3.4 Виготовляючи препарати для розгляду їх під мікроскопом, обережно брати покривне скло великим і вказівним пальцем лівої руки за краї, розташувати його на предметному столі під кутом над препаратом, потім притримуючи край покривного скла препаративною голкою плавно опустити на препарат.
- 3.5 Для проведення лабораторних робіт з фіксованим матеріалом необхідно напередодні заняття витягнути його з розчину і ретельно промити під сильним струменем води.
- 3.6 Не відволікатись і не відволікати інших студентів сторонніми чинниками і діями.

- 3.7 Щоб уникнути отруєнь і алергічних реакцій не нюхати і не пробувати матеріал на смак.
- 3.8 Негайно повідомляти викладача про розлив розчинів, води, не прибирати самостійно будь-які речовини.
- 4 Вимоги безпеки по закінченню роботи.**
- 4.1 Зібрати залишки розчинів і роздаткового матеріалу в спеціальний посуд.
- 4.2 Забороняється самостійно мити скляний посуд.
- 4.3 Привести в порядок робоче місце, здати на зберігання устаткування, прилади і препарати.
- 4.4 Ретельно вимити руки.
- 5. Вимоги безпеки при аварійній ситуації.**
- 5.1 Негайно припинити роботу.
- 5.2 Негайно повідомити викладача.

Лабораторна робота № 1

Загальні методи колекціонування гідробіологічного матеріалу.

Проби і їх маркування. Фіксатори.

Метою збору гідробіологічного матеріалу є дослідження якісного складу гідробіонтів в угрупованні, що вивчається, а також розподіл кількісних характеристик елементів якісного складу. Під якісним складом розуміється набір видів, вибірка особин одного виду, що відрізняються за розміром, віком, стадією статевої зрілості, чи іншими показниками, сукупність (список) морфологічних або фізіологічних форм та ін. Під кількісними характеристиками розуміється чисельність або маса вищезазначених елементів, наприклад, чисельність особин кожного виду, маса особин одного віку тощо. Зрозуміло, що фізично неможливо порахувати загальну кількість або чисельність видів чи виміряти їхню масу в окремій водоймі (за виключенням деяких великих тварин, наприклад китів чи інших ссавців, облік яких можливий з літака або гелікоптера). Тому при гідробіологічних дослідженнях зазвичай обмежуються точковими оцінками, або **вибірками**. Якщо все населення водойми, або її певної частини можна охарактеризувати як **генеральну сукупність**, то вибірка являє собою фактично досліджувану сукупність елементів (об'єктів), що в достатній мірі характеризують генеральну сукупність. Для того, щоб результати, отримані вибірковою методом можна було переносити на всю генеральну сукупність, вибірка повинна бути **репрезентативною**. Для забезпечення репрезентативності необхідно, по-перше, охопити дослідженнями таку ділянку, на якій якісний склад можна визначити досить повно. По-друге, забезпечити такий об'єм вибірки, в якому кількісна представленість якісних елементів (концентрація на одиницю біотопу) відповідала їх представленості в природі. Якщо за мету

ставиться дослідження ясного складу, то такі збори матеріалу зазвичай мають назву *колекції*, або *якісні проби*. Якщо метою дослідження є кількісні оцінки ясного складу, то такі збори мають назву *кількісні проби*, або просто проби. Проба являє собою ділянку біотопу певного об'єму чи розміру, що виймається з досліджуваної водойми або її ділянки. Об'єм чи розмір проби визначається розміром досліджуваних організмів, а також їх концентрацією. В залежності від останнього фактору проби можуть бути *нативними*, або згущеними за допомогою певних засобів (наприклад, планктонних сіток). Нативні проби зазвичай рідко використовуються, бо концентрація більшості гідробіонтів досить низька, за виключенням мікроорганізмів. Для репрезентативності більшості проб їх об'єм мав би складати кубометри води або центнери ґрунту, взяті з площі кількох м². Для запобігання цього використовують різні методи згущення, сутність яких полягає у відокремленні організмів від біотопу. При цьому обов'язково повинен враховуватися об'єм (площа) біотопу, з якого були зібрані організми. Такі спеціальні методи будуть розглянуті нижче у відповідних розділах.

Репрезентативність у більшості випадків не може бути забезпечена однією пробюю. Наприклад, розподіл окремих гідробіонтів у товщі води вкрай нерівномірний і може з часом суттєво змінюватися внаслідок міграцій організмів. Поверхня дна майже ніколи не буває рівномірно заселеною. Для врахування просторового розподілу організмів, як правило відбирають *серію* проб. При більш-менш рівномірному розподілі організмів використовують *рєндомізований* (випадковий) відбір проб, коли на карту досліджуваної ділянки накладають решітку з пронумерованими квадратами. Ті квадрати, де планується відбір визначають методом випадкових чисел. При нерівномірному розподілі організмів використовують *систематичний* відбір проб, коли визначають місця відбору за обраною схемою (т.з. сіткою станцій) при рівномірній відстані проб між собою, наприклад уздовж якогось градієнту факторів (глибина, солоність, температура тощо). Одним з різновидів систематичного відбору є *пропорційний* відбір проб, коли кількість проб визначається пропорційно розподілу організмів. Наприклад, у скупченнях донних гідробіонтів відбирається більша кількість проб ніж поза ними. Іноді при гідробіологічних дослідженнях не ставиться за мету вивчення просторового розподілу організмів. Тоді для характеристики населення застосовують *інтегральний* відбір проб. Сутність цього методу полягає в тому, що на місці відбирається необхідна репрезентативна сукупність проб, які потім обєднуються в одну велику, яка ретельно перемішується. З цієї «великої» проби відбирається одна того ж об'єму, що і окремі. Це значно економить час та трудові витрати на обробку великої кількості проб, які потім усереднюються. Окрім того такий метод за короткий час

дозволяє дослідити одразу декілька ділянок водойми. В залежності від цілей дослідження серія проб може бути відібрана впродовж певного відрізка часу (години, доби, тижня, місяця, років) в одному й тому ж місці. Такі дослідження називають *моніторинговими*, а серію проб, відібрану впродовж періодичної зміни основних абіотичних факторів називають *циклом*.

Маркування та етикетування проб. Кожна відібрана проба супроводжується унікальною інформацією, яка потрібна для її подальшої ідентифікації. Така інформація включає наступні пункти:

1. Дата відбору проби.
2. Район робіт із зазначенням (по можливості) географічних координат.
3. Точне місце відбору (станція) із зазначенням її номеру в сітці станцій згідно з планом відбору.
4. Горизонт (для проб планктону) і глибину (для проб бентосу та перифітону).
5. Субстрат, з якого відбираються проби (для бентосних та перифітонних проб).
6. Об'єм проби (у мл або л) чи площу рамки (бентометру, дночерпача).
7. Температуру води у місці відбору та (по можливості) її солоність і вміст кисню.
8. Примітки, в яких вказується додаткова важлива інформація, наприклад про стан погоди, висоту хвиль, швидкість та напрямління вітру, інші явища.
9. Метод консервації проби – обраний фіксатор та (при необхідності) його концентрація у пробі.
10. П.І.Б. особи, що відбрала пробу.

Етикетка виготовляється з вощеного паперу (пергаменту), або іншого матеріалу, що не розмокає у воді. З тією ж метою всі написи робляться графітовим олівцем. Етикетку кладуть у попередньо промарковану ємність із відповідною пробою.

Фіксація проб. За одну гідробіологічну зйомку, як правило, відбирається багато проб, або навіть серій проб, які одразу практично неможливо обробити, особливо в експедиційних (польових) умовах. Для попередження псування матеріалу, або зміни кількісних характеристик внаслідок виїдання одних організмів іншими, здійснюють *фіксацію проб*, мета якої – не тільки попередити розвиток гнилісних мікроорганізмів і вмертвити гідробіонтів, але й зберігти їх у непошкодженому стані, придатному для визначення до виду в умовах лабораторії. У якості фіксаторів здебільшого використовують розчини альдегідів – формальдегіду або глютарового діальдегіду, а також розчини етилового спирту та деякі інші реактиви. Для окремих організмів, або груп організмів використовують для кращого збереження складні багатокомпонентні

суміші. Фіксацію здійснюють одразу після відбору проби, додаючи у ємність з пробєю необхідну кількість фіксатору. В деяких випадках фіксацію не застосовують, тоді проби якнайшвидше транспортують у лабораторію де негайно вивчають у живому вигляді.

Нижче наведені рецепти найбільш поширених фіксаторів та їх застосування.

Розчин Люголю:

1. Йод кристалічний – 10 г
2. Йодид калію – 20 г
3. Води дистильованої – 100 мл
4. Льодяної оцтової кислоти – 30 мл, або натрію ацетату – 20 г.

Розчин додають у проби мікропланктону (фіто- або зоо-) до забарвлення води у колір міцного чаю. Йод, окрім фіксуючих властивостей, підфарбовує джгутики та крохмальні зерна у мікроводоростей, що полегшує їх визначення. Термін придатності проб – не більше 1 – 2 місяців, після чого їх можна перефіксувати, зокрема формальдегідом.

Розчин формальдегіду:

1. Розчин формальдегіду 37% (формаліну) – 1 л
2. Ацетат натрію – 50 г
3. Гліцерин – 50 г

Найпоширеніший фіксатор. Формальдегід – нестійка сполука, яка легко окислюється під дією кисню до мурашиної кислоти, яка руйнує деякі тверді структури – панцирі ракоподібних, черепашки молюсків тощо. Для нейтралізації її дії в розчин додають лужний буфер (ацетат натрію, карбонат натрію або кальцію). Додавання гліцерину значно зменшує крихкість зафіксованих гідробіонтів. Розчин додають до рідини проби у співвідношенні 1:8 – 1:4 (для зоопланктону) або попередньо розводять водою у такому ж співвідношенні і заливають пробу, з якої перед цим зливають рідину (для мейо- та макрзоо- і макрофітобентосу).

Фіксатор Буена:

1. Насиченого розчину пікринової кислоти – 15 масових частин
2. Формаліну (37%) – 5 масових частин
3. Льодяної оцтової кислоти – 1 масова частина.

Один з найкращих фіксаторів, особливо коли планується гістологічне чи цитологічне дослідження зафіксованого матеріалу (наприклад риб чи молюсків). Додається у пробу з попередньо зливою рідиною.

Перед дослідженням всі проби ретельно відмивають від фіксатора (окрім проб води)!

Завдання

Зібрати колекцію черепашок молюсків у штормових викидах на узбережжі Одеси. Проетикетувати пробу відповідним чином.

Спланувати відбір та зібрати репрезентативні кількісні проби черепашок молюсків у штормових викидах на узбережжі Одеси. Протестувати проби відповідним чином.

Визначити якісний та кількісний склад відібраної серії проб.

Матеріал і обладнання: рулетка або дротова рамка 25x25 см, Визначник «*Определитель фауны Чёрного и Азовского морей /Ф.Д. Мордухай-Болтовской.* – Киев: «Наукова думка». – 1972. – С.65 – 178.», ваги, лупа або стереомікроскоп, лінійка, пластикові пакети, пергамент, олівець.

Порядок роботи

Збір колекції черепашок проводять під час екскурсії до узбережжя моря. Обстежують зазвичай всю приурізову смугу пляжу. Кожен знайдений вид кладеться в окремий пластиковий пакет. Серед черепашок відбирають неушкоджені. При зборі приділяють увагу формі черепашок, їх розміру. Різний колір однакових за формою черепашок зазвичай не свідчить про належність до різних видів. Значна кількість видів мають дрібні розміри (5 – 10 мм), тому особливу увагу слід приділяти дрібним черепашкам. На групу студентів збирається одна колекція, яка може потім бути доповнена з кількісних проб.

При відборі кількісних проб приділяють увагу розподілу викидів на узбережжі пляжу, в залежності від чого планують місця для відбору окремих проб. Окремі проби збирають шляхом накладання на ділянку берегу дротової рамки, або таку рамку окреслюють, користуючись рулеткою. Всі черепашки що знаходяться всередині рамки збираються в пластиковий пакет та проба етикетується на місці.

Обробка проби здійснюється в лабораторії. При цьому черепашки сортуються за видами, визначаються, перелічуються та зважуються. Результати обробки проби записуються у таблицю з переліком знайдених видів, навпроти яких в окремих стовпчиках записується їхня кількість та вага вперерахунку на 1 м². Перед таблицею записують дані з етикетки. Така таблиця має назву **протокол**. Далі таблиці кожного студента об'єднують в одну, до якої записується загальний видовий склад з серії проб та усереднені дані чисельності та загальної маси кожного виду.

Контрольні питання

1. Що таке проба? Які види проб існують?
2. Які існують способи відбору проб і коли їх застосовують?
3. Яка мета ставиться при етикетуванні проби?
4. Для чого фіксуються проби?
5. Які види молюсків переважають за чисельністю та біомасою у штормових викидах на одеському узбережжі?

Лабораторна робота №2

Принципи та методи цифрової обробки емпіричного матеріалу. Видове різноманіття та його оцінка.

Першим етапом цифрової обробки отриманого матеріалу є аналіз окремої проби у вигляді протоколу. Такі дані називають первинними. По-перше, визначають кількість видів, яка позначається літерою S . Чисельність та біомаса i -го виду у пробі (у екземплярах на m^3 води чи m^2 субстрату та у грамах (міліграмах) на m^3 чи m^2) позначається, відповідно як n_i та b_i . Звідси загальна чисельність N організмів у пробі дорівнює

$$N = \sum_{i=1}^S n_i,$$

а загальна біомаса B дорівнює

$$B = \sum_{i=1}^S b_i.$$

Ці дані надалі застосовують при порівнянні між собою окремих проб.

Якщо порівняти між собою дані по чисельності та біомасі окремих видів у пробі $n_1, n_2, n_3 \dots n_S$ або $b_1, b_2, b_3 \dots b_S$, то можна помітити, що вони досить відрізняються. Ця відмінність проявляється у тому, що є види більш, або менш численні. Найбільш численні види називаються **домінантними**, далі йдуть види субдомінантні, звичайні та рідкісні. Домінантних та субдомінантних видів звичайно набагато менше ніж інших. якщо ранжувати види у пробі від найчисленного до найрідкісного та побудувати графік у координатах чисельність (або біомаса) виду по осі Y та ранг виду по осі X , ми отримаємо криву, яка має назву **кривої рангового розподілу (PP)**, або кривої **домінування – різноманіття**. В залежності від виміру координат (звичайна або логарифмічна шкала) такі графіки є предметом аналізу і дозволяють порівнювати їх з модельними, які відображають певні екологічні взаємини між видами в різних типах угруповань. Порівняння вигляду кривих в різних пробах, наприклад у циклі проб дозволяють виявити зміни видової структури під впливом факторів довкілля, навіть при незмінному видовому складі.

Іншою характеристикою, яку можна отримати, досліджуючи окрему пробу є **видове різноманіття (BP)**. Видове різноманіття – одна з найважливіших характеристик угруповання, що відображає складність його видової структури. Як характеристика структурної складності BP пов'язане зі стійкістю біоценозу й може відбивати ступінь його порушення, забезпеченість енергією, ступінь стабільності середовища та ін. Зменшення BP даного угруповання свідчить про спрощення його видової структури та про порушення співвідношень між видами за численністю. BP містить у собі два компоненти **видове багатство** (насиченість угруповання видами) і **вирівненість** видової структури (ступінь рівномірності розподілу видів за численністю). Кількісними мірами BP є різні індекси BP .

Індекси BP . Існує безліч різних індексів для виміру тих або інших

аспектів ВР. Декілька з них найбільш добре зарекомендували себе на практиці і є прийнятими в якості нормативних показників у системах природоохоронних служб деяких держав. При обчисленні індексів ***α-різноманіття*** (точкові оцінки) використовується число видів у вибірці (пробі) S і величини їх численності (чисельності, біомаси або інші міри численності).

Видове багатство. Найпростішим показником видового багатства є загальне число знайдених видів S . Однак цей показник залежить від обсягу вибірки й загального числа врахованих організмів N , що робить його мало придатним у якості індексу ВР. Наприклад, ймовірність поповнити видовий склад новими видами зростає, якщо об'єм проби збільшиться. Тобто проаналізувавши замість 1 л проби планктону 10 л ми отримаємо більші показники N та S в тому самому місці відбору проби. Більш раціонально якимось чином нормувати число видів на кількість особин в пробі. Цю обставину враховують:

$$\text{індекс Менхеника: } M = \frac{S}{\sqrt{N}}$$

$$\text{та індекс Маргалєфа: } d = \frac{S-1}{\log_2 N}$$

Значення обох індексів збільшуються із зростанням числа видів у вибірці.

Видове різноманіття. Індеси цієї групи враховують обидва компоненти ВР – кількість видів та їх вирівненість.

Індекс Сімпсона це «ймовірність міжвидових зустрічей» (probability of interspecific encounter (**PIE**) %), тобто ймовірність того, що дві випадково взяті особини з проби належать до різних видів:

$$PIE = 1 - \sum_{i=1}^S \frac{n_i(n_i-1)}{N(N-1)}, \quad 0 \leq PIE \leq 1$$

Індекс Шеннона (інформаційний індекс):

$$H' = - \sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \log \frac{n_i}{N}$$

В якості міри численності в даному випадку можна використовувати не тільки чисельність (n_i та N), але й інші міри численності (наприклад, b_i та B). В якості логарифму може використовуватися логарифм з основою e (**ln**), тоді одиницею виміру індексу Шеннона буде «**natural bel**», або «**nat**» («**nit**») на особину (чи одиницю маси, наприклад, мг). Іноді використовують логарифм з основою **10** (**lg**), тоді одиниця виміру буде мати назву «**decimal digit**», або «**decit**» («**bel**») на особину (або одиницю маси). В теорії інформації, як правило, використовується логарифм з основою **2** (**log₂**), а індекс Шеннона вимірюють в одиницях інформації – **bitmax** («**binary digit**», або «**bit**») на особину (одиницю маси тощо). Записується так: **bit·особина⁻¹**, або **bit·мг⁻¹**.

Індекс Сімпсона більш чутливий до зміни численності найбільш масових видів, індекс Шеннона – навпаки, до змін у численності більш

рідкісних видів. Перший переважніше застосовують, якщо у першу чергу цікавить характеристика угруповання по домінуючій групі видів. Другий рекомендується, якщо необхідно вивчати повний видовий склад, зокрема численність рідких видів і якщо дані усереднені в часі чи в іншій серії проб. Слід зауважити, що при обчисленні індексу Сімпсона треба оперувати цілими числами (абсолютними значеннями).

Вирівненість. Індокси цієї групи чутливі лише до рівномірності розподілу численності окремих видів, але не до їхньої загальної кількості S , тобто фактично характеризують у цифровому вигляді криві домінування. Ступінь вирівненості («*equitability*») обчислюється як частка різноманіття від максимального BP при даних значеннях S і N (B , тощо):

$$E = BP/BP_{max}(S, N(B)),$$

де BP_{max} досягається при рівному достатку всіх видів. Ці індокси змінюються від 0 (абсолютна неvirівненість, коли всі особини належать одному виду) до 1 (усі види рівночисленні).

Найбільш часто використовують наступні індокси, які відповідають вищезазначеним індоксам BP :

$$PIE/PIE_{max} = N(S - 1)/S(N - 1) \text{ та} \\ H'/H'_{max} = H'/\log S.$$

Останній також має назву **індекс Пайлоу (J')**.

ABC-метод. Метод зіставлення чисельності й біомаси («*Abundance–Biomass Comparison*», *ABC*) запропонований Р. Варвік для індикації порушень у структурі угруповань. Відомо, що біомаса B , як носій консервативної інформації повільніше реагує на зміни середовища, а чисельність популяцій N – більш динамічний показник реакції угруповання. У стабільних зрілих угрупованнях звичайно переважають великорозмірні види з порівняно тривалим циклом розвитку, тоді як в порушених угрупованнях, з нестабільним середовищем домінують, як правило, більш дрібні форми, які швидко розмножуються, з високою, але мінливою чисельністю. На цьому й заснований *ABC*-метод зіставлення кривих. По осі X відкладаються (у логарифмічній чи простій шкалі) ранги (номери) видів у порядку зменшення чисельності (біомаси), а по осі Y – відповідний накопичений відсоток чисельності (біомаси) угруповання. У стабільних угрупованнях крива для чисельності лежить **нижче** кривої для біомаси, в сильно порушених навпаки **вище**. Стану хиткої рівноваги або відновлення угруповань після стресу, коли відбувається перебудова розмірної структури, відповідають приблизно **співпадаючі** або **пересічні** криві. На додаток до графічної інформації запропонований цифровий індекс:

$$ABC = \sum_{i=1}^S \frac{b_i \cdot n_i}{S}$$

де b_i і n_i – накопичені % біомаси й чисельності видів за порядком їх зменшення. **Позитивні** значення індексу відповідають непорушеним, **негативні** – порушеним угрупованням. Метод є досить чутливим індикатором природних порушень довкілля й антропогенних стресів (забруднення, замори, дампінг ґрунту тощо). Може бути корисний при моніторингу відновлення угруповань після катастрофічних забруднень або стресового впливу. Метод слід з обережністю застосовувати в ситуаціях, коли в нормі переважають дрібні організми з високою, але мінливою чисельністю, а також у районах з постійним стресовим впливом середовища; слід брати до уваги сезонні ефекти, пов'язані з коливаннями чисельності молоді деяких видів; істотне значення відіграють граничні розміри організмів, що аналізуються (наприклад, спільний розгляд мікро- і макроорганізмів може привести до некоректних висновків).

Завдання. Використовуючи відібрані під час попередньої лабораторної роботи проби молюсків, або табличний матеріал з протоколами обробки проб, що містить список видів із зазначеними параметрами n та b :

1. Обчислити загальну чисельність (N) та біомасу (B) організмів і кількість видів S .
2. Побудувати графіки домінування-різноманіття для чисельності N та біомаси B .
3. Розрахувати індекси видового багатства, різноманіття, вирівненості.
4. Побудувати ABC графік накопичення чисельності та біомаси.
5. Розрахувати ABC -індекс.
6. Надати інтерпретацію отриманим результатам.

Матеріал та обладнання: таблиці (протоколи) з даними обробки проб, калькулятор, олівці, лінійка.

Порядок роботи:

1. Підраховують кількість видів S , підсумовують значення n_i та b_i , отримуючи, відповідно, значення N та B .
2. Окремо ранжують значення n_i та b_i у порядку зменшення, та заносять в таблицю. Дані нумерують від 1 до S .
3. Будують графіки, де по осі X відкладають ранг виду (1, 2, 3... S) в порядку зменшення, а по осі Y відкладають значення чисельності (біомаси) від 0 до максимального (N , B), або відносні значення (%). Розташовують відповідні значення в отриманих координатах та об'єднують кривою.
4. Підставляючи у формули відповідні значення N , та S розраховують індекси видового багатства.
5. Підставляючи у формули відповідні значення розраховують індекси видового різноманіття та вирівненості. При цьому звертають увагу на те, що при розрахунку індексу Сімпсона усі дрібні значення

чисельності переводять у цілі числа, наприклад 0,1 тис. екз. \cdot м⁻² дорівнює 100 екз. \cdot м⁻². Для розрахунку індексу Шеннона використовують усереднені значення чисельності та біомаси, отримані в серії проб (для попередньо зібраних проб моллюсків), або дані однієї проби (в разі використання готового табличного матеріалу). В залежності від використання основи логарифму записати розмірність отриманих індексів. Порівняти між собою отримані індекси, визначивши проби з мінімальними та максимальними показниками.

6. Розрахувати % накопичення чисельності та біомаси для побудови відповідного графіку. Для цього використовують раніше створену таблицю (див. п. 2.). Розрахунок ведуть наступним чином: спочатку визначають % найчисленнішого за чисельністю вида 1 шляхом поділу його чисельності на N та помноженню на 100%. Потім визначають % перших двох видів, сумуючи їх та ділячи на N . Далі визначають % для перших трьох видів і т.д. Дані записують у таблицю. Так само поступають і з біомасою.
7. Відкладають графіки для % накопиченої чисельності та % накопиченої біомаси в координатах ранг виду від 1 до S (вісь X) – %% накопичення від 0 до 100% (вісь Y).
8. Розраховують ABC -індекс сумуючи попарну різницю даних таблиці з п. 6 та ділячи отриману суму на кількість видів S .
9. Роблять висновок щодо стану угруповання, порівнюючи криві та враховуючи значення та знак ABC -індексу.
10. Роблять загальний висновок про виконану роботу.

Приклади розрахунку. Маємо пробу, яка складається з 5 видів ($S = 5$):

ВИД	n_i , екз. \cdot м ⁻²	b_i , г \cdot м ⁻²
1	100	25
2	10	40
3	5	10
4	20	3
5	30	18

$$N = 100+10+5+20+30=165 \text{ екз.}\cdot\text{м}^{-2}; B = 25+40+10+3+18=96 \text{ г}\cdot\text{м}^{-2}$$

Індекси багатства: $M = 5/\sqrt{165} = 0,389$; $d = (5-1)/\log_2 165 = 4/7,4 = 0,543$.

Індекси ВР: PIE =

$$1 - \left\{ \frac{100(100-1)}{165(165-1)} + \frac{10(10-1)}{165(165-1)} + \frac{5(5-1)}{165(165-1)} + \frac{20(20-1)}{165(165-1)} + \frac{30(30-1)}{165(165-1)} \right\} =$$

$$= 1 - \left\{ \frac{9900}{27060} + \frac{90}{27060} + \frac{20}{27060} + \frac{380}{27060} + \frac{870}{27060} \right\} =$$

$$1 - \left\{ \frac{9900+90+20+380+870}{27060} \right\} = 1 - 0,42 = 0,58.$$

$$H'(N) = - \left\{ \frac{100}{165} \log_2 \left(\frac{100}{165} \right) + \frac{10}{165} \log_2 \left(\frac{10}{165} \right) + \frac{5}{165} \log_2 \left(\frac{5}{165} \right) + \frac{20}{165} \log_2 \left(\frac{20}{165} \right) + \frac{30}{165} \log_2 \left(\frac{30}{165} \right) \right\} =$$

$$= - \left\{ 0,611 \log_2 0,61 + 0,061 \log_2 0,061 + 0,031 \log_2 0,03 + 0,12 \log_2 0,12 + 0,18 \log_2 0,18 \right\} =$$

$$= - \left\{ (-0,44) + (-0,245) + (-0,153) + (-0,369) + (-0,447) \right\} = 1,652.$$

ABC-індекс:

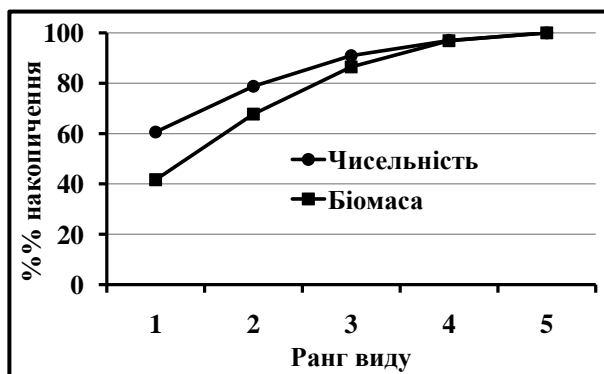
Етап 1. Ранжування (використовується також для графіків домінування).

№ виду	n_i , екз. \cdot м ⁻²	b_i , г \cdot м ⁻²
1	100	40
2	30	25
3	20	18
4	10	10
5	5	3

Етап 2. Обчислення кумулят (%%)

№ п/п	n_i	%	b_i	%
1	100/165	60,6	40/96	41,7
2	(100+30)/165	78,8	(40+25)/96	67,7
3	(100+30+20)/165	90,9	(40+25+18)/96	86,5
4	(100+30+20+10)/165	97,0	(40+25+18+10)/96	96,9
5	(100+30+20+10+5)/165	100	(40+25+18+10+3)/96	100

Етап 3. Побудова графіку.



У даному прикладі крива для чисельності лежить вище за криву для біомаси, що відповідає угрупованню, що знаходиться під впливом негативних умов навколишнього середовища. Про це свідчить також негативне значення розрахованого ABC-індексу.

Етап 4. Розрахунок ABC-індексу.

$$ABC = \{(41,7 - 60,6) + (67,7 - 78,8) + (86,5 - 90,9) + (96,9 - 97,0) + (100 - 100)\} / 5 = -6,9$$

Контрольні питання

1. Яку інформацію можна отримати за допомогою точкових оцінок?
2. Які компоненти містить поняття «видове різноманіття»?
3. Чому кількість видів S є назадовільною оцінкою видового багатства?
4. Що таке моделі рангового розподілу?
5. Що таке вирівненість?
6. Охарактеризуйте ABC-метод.

Лабораторна робота №3

Пристосування гідробіонтів до життя у пелагіалі і нейсталі.

Пелагіаль та нейсталь є одними з найбільших біотопів Світового океану. Планктонні організми не здатні чинити опір зовнішнім механічним рухам водних мас (течії, конвекційні токи) внаслідок відсутності або досить слабого розвитку в них органів руху. Для

існування у воді у зваженому стані в планктерів в процесі еволюції утворився цілий ряд пристосувань, які допомагають їм зберігати *плавучість*. Вона може розглядатися як занурення з найменшою швидкістю, і тоді формула плавучості набуває такого вигляду:

$$a = b/(c \cdot d),$$

де a – швидкість занурення, b – залишкова вага (різниця між вагою організму й вагою витиснутої їм води), c – в'язкість води, d – опір форми. Із цієї формули виходить, що організми можуть збільшувати плавучість, зменшуючи залишкову вагу підвищуючи тertia об воду. Пристосування для зменшення залишкової ваги можна поділити на декілька груп.

1. Редуція скелетних утворень. Всі планктонні організми позбавлені важкого скелету і тому значною мірою відрізняються від близьких видів, що ведуть донний спосіб життя. Наприклад, планктонні діатомові водорості мають більш легкий кремнеземний панцир ніж бентосні, пелагічні гіллястовусі ракоподібні мають значно більш легку хітинову раковину у порівнянні з бентичними. Те саме спостерігається і в інших представників ракоподібних, включаючи вищих десятиногих раків. У молюсків спостерігається витончення черепашок, або повна їх редуція, як у представників головоногих, крилоногих та кіленогих.

2. Просочення тіла водою. Більшість представників планктону відрізняються дуже високим вмістом води у тканинах тіла. Кількість її часто перевищує 90%, що має велике значення для зменшення остаточної ваги, тому що питома вага клітинної плазми, у середньому, дорівнює 1,05, тоді як густина навіть морської води становить 1,02 – 1,04. Просочення водою призводить до утворення желеподібних речовин, особливо сильно розвинених у медуз, сифонофор, деяких пелагічних молюсків та інших тварин. У прісноводних форм здебільшого спостерігається утворення прозорого слизу, що вкриває тіло, наприклад в деяких синьо-зелених, зелених водоростей, коловерток. Найпростіші утворюють вакуолі, вміст яких у порівнянні із морською водою має меншу густину.

3. Жирові включення. Ліпідні включення у тканинах (жири, віски, масла), головним чином є резервними енергетичними запасами, але водночас сприяють значному зменшенню остаточної ваги. Більшість фототрофних найпростіших замість важкого крохмалю відкладають більш легке масло (дінофітові та діатомові водорості). В деяких веслоногих раків існують спеціальні жирові органи, в інших тваринах (гіллястовусі раки, коловертки) жир спостерігається у вигляді великих крапель всередині тіла.

4. Газові включення. В протилежність жировим включенням, газові включення мають здатність змінювати свій об'єм в залежності від температури і тиску. Цю здатність гідробіонти використовують не тільки для збереження плавучості, але й для зміни розташування у водній товщі. Такі включення можуть бути ззовні у вигляді пухирців повітря чи кисню,

які утримуються за допомогою щетинок чи кінцівок, як у багатьох личинок комах, зокрема комарів, бабок, у водних жуків і клопів. Внутрішні газовмісні утворення притаманні синьо-зеленим водоростям, сифонофорам (великі утворення – пневматофори), макрофітам (макроцистис, саргассум) та іншим гідробіонтам.

Опір, якого зазнає тіло, що поринає у воду, залежить від питомої поверхні та величини вертикальної проекції. Такий опір має загальну назву **опором форми**. Питома поверхня найменша у кулі і зменшується із зростанням її діаметру. Якщо збільшити одну чи дві осі тіла, питома поверхня зростає. Цьому також сприяє збільшення кількості виростів тіла. Вертикальна проекція залежить від розташування площини тіла по відношенню до вертикалі. Якщо тіло набуває форму платівки, величина її вертикальної проекції максимальна при розташуванні платівки у площині що перпендикулярна дії сили тяжіння. Пристосування для підвищення опору форми (тертя об воду) також розподіляються на декілька груп.

1. **Видовження однієї осі.** Багато рослинних і тваринних форм мають видовжену форму тіла. Більшість планктичних діатомових мають паличкоподібну форму, а деякі низькоциліндричні форми об'єднуються у видовжені колонії. Серед тварин видовжені колонії утворюють сальпи. Видовжена форма притаманна багатьом ракоподібним, всім хетогнатам, хробакам. Якщо під впливом зовнішніх рухів організм, який у нормі тримається у воді горизонтально, змінює положення, то за допомогою додаткових виростів (наприклад, плавців у хетогнат чи рухів тіла у хробаків) тіло швидко набуває вихідного стану.

2. **Видовження двох осей.** При видовженні двох осей тіло набуває вигляд платівки чи диску. Спостерігається в багатьох тварин і одноклітинних організмів, які до того ж здатні утворювати платівкоподібні колонії. Сплюснена форма тіла властива медузам, пелагічним поліхетам, веслоногим ракоподібним.

3. **Утворення виростів.** Практично у всіх планктонних організмів спостерігаються різноманітні шипи, щетинки, крилоподібні вирости та інші подібні утворення. Створений ними опір форми сприяє не тільки більш повільному осіданню на дно, але й служить для використання конвекційних потоків води, які піднімають організм у верхні горизонти. Особливо важливі в цьому сенсі утворення у фототрофних одноклітинних, які таким чином опановують найбільш сприятливі для фотосинтезу умови. У багатьох тварин різноманітні вирости служать у якості тактильних органів а також як своєрідне «кермо» для збереження та корегування напрямку руху.

Нейстон існує в дуже складних абіотичних умовах, випробовуючи на собі дію інтенсивної сонячної радіації, різкі перепади температури, солоності. Складність біотичних умов визначається тим, що нейстони

існують під впливом «подвійного преса» хижаків, тому що піддаються нападу з боку аеробіонтів (птахи, кажани та ін.) і гідробіонтів. Захист від хижаків обмежений високою освітленістю води, відсутністю екранів і укриттів а також зниженими можливостями відходу від переслідування гідробіонтами (неможливість руху нагору). Умови існування організмів на верхній стороні плівки натягу води різко відрізняються від таких у приповерхньому шарі. Тому епінейстони-аеробіонти і гіпонеїстони-гідробіонти, власне кажучи, утворюють різні життєві форми.

Епінейстон. По верхній стороні плівки натягу в прісних водоймах бігають клопи-водомірки, жуки-вертячки, подури, мухи, на поверхні океанів численні клопи-водомірки *Halobates*. Плівка під ногами комах, що бігають, прогинається, але не рветься, чому сприяє **незмочуємість** їхнього тіла і дозволяє використовувати вертикальну складову сили поверхневого натягу води.

Гіпонеїстон. До гіпонеїстону відносять сукупність організмів, що населяють верхній шар води товщиною 5 см. Специфічні особливості абіотичних і біотичних умов існування гіпонеїстону обумовлюють вироблення в його представників своєрідних адаптацій. До них, зокрема, відносяться **змочуваність зовнішніх покривів, розвиток пігментації**, що захищає організми від згубного впливу ультрафіолетових променів, **позитивний фототропізм, криптичний окрас або прозорість**, ряд пристосувань до харчування органічними частками, що падають на поверхню води з повітря. Деякі організми гіпонеїстону, зокрема молюски, як опора використовують нижню поверхню плівки.

Плейстон. Для представників плейстона найбільш характерна **подвійність адаптації**, оскільки частина їхнього тіла перебуває у воді, а частина – у повітрі. У фітоплейстонів дихання відбувається як за рахунок поглинання кисню з атмосфери, так і розчиненого у воді. Устячка утворюються тільки на верхній стороні листової пластинки, а запобігання заливанню їх водою сприяє відповідна **зігнутість листової пластинки й восковий наліт**, що забезпечує її **незмочуваність**. Із плейстонних тварин атмосферне дихання мають сифонофори-дисконанти.

Багато представників плейстона (сифонофори, деякі риби) для свого руху **використовують вітер**.

Завдання. На постійних та тимчасових препаратах ознайомитися з пристосуваннями гідробіонтів до життя в пелагіалі та нейсталі.

Матеріал та обладнання: проби зоопланктону та фітопланктону, постійні макропрепарати представників макропланктону (медузи, гребневики, саргассум), таблиці із зображенням представників макропланктону, плейстону та нейстону, покривні та предметні скельця, препарувальні голки, піпетки, мікроскоп.

Порядок роботи.

1. Приготувати тимчасовий мікропрепарат проби фітопланктону.
2. Під мікроскопом знайти представників зелених водоростей – сценедесмуса (*Scenedesmus quadricauda*), педіаструма (*Pediastrum spp.*), монорафідіума (*Monoraphidium arcuatum*). Замалювати ценобії та окремі клітини. Знайти характерні пристосування до пелагічного способу життя. Знайти представників дінофітових найпростіших – дінофізисів (*Dynophysis spp.*), церациумів (*Ceratium fusus*, *C. furca*, *C. tripos*), протоперидиніумів (*Protoperidinium spp.*), ноктилюку (*Noctiluca scintillans*), замалювати клітини, визначити пристосування до життя в пелагіалі. Звернути увагу на жирові включення в плазмі, гігантські вакуолі в ноктилюки. Знайти представників діатомових водоростей – псевдосоленію (*Pseudosolenia calcar-avis*), діатому (*Diatoma vulgare*), скелетонему (*Skeletonema cf. costatum*), ніцшию (*Pseudonitzschia seriata*), косцинодіскус (*Coscinodiscus spp.*), таласіозиру (*Thalassiosira spp.*), хетоцерос (*Chaetoceros spp.*). Замалювати клітини та колонії. Визначити пристосування до пелагічного способу життя. Звернути увагу на форму колоній, жирові включення та вакуолі в плазмі. Знайти представників синьо-зелених водоростей – осциляторію, мікроцистис, анабену (*Oscillatoria spp.*, *Microcystis spp.*, *Anabaena spp.*). Замалювати трихоми та колонії. Звернути увагу на газові включення в плазмі у вигляді цяток чорного кольору та на будову колоній.
3. Приготувати тимчасовий мікропрепарат проби зоопланктону.
4. Під мікроскопом знайти представників веслоногих ракоподібних – акарцію (*Acartia spp.*), копеподитні стадії інших веслоногих, личинок поліхет (*Polydora ciliata*), личинок баянусів (*Balanus improvisus*), велігери молюсків, апендикулярії (*Oikopleura dioica*), коловерток (різні види), морських стрілок-хетогнат (*Sagitta setosa*) та інших представників морського планктону. Замалювати знайдених представників. Визначити та вказати пристосування для життя в пелагіалі. Звернути увагу на органи руху та вирости, що корегують положення тіла у товщі води.
5. Розглянути готові вологі макропрепарати медуз (*Aurelia aurita*), гребневиків (*Beroe ovata*), саргассуму (*Sargassum sp.*). Замалювати організми. Визначити пристосування до пелагічного способу життя.
6. Розглянути таблиці із зображенням представників нейстону та плейстону. Замалювати представників. Визначити пристосування для життя у нейстоні та плейстоні.

Контрольні питання

1. Які 2 типи пристосувань для життя в пелагіалі існують у гідробіонтів?
2. В яких умовах існують організми нейстону та плейстону?
3. Які адаптації сформувалися у організмів плейстону?

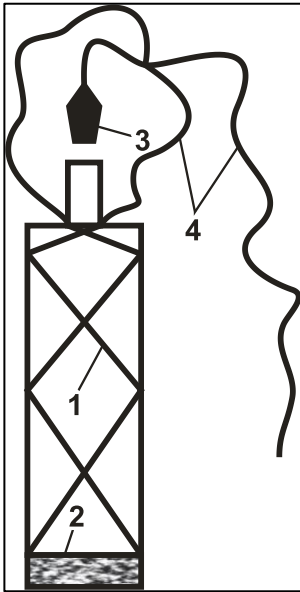
Лабораторна робота №4

Методи збору планктону і нейстону.

Планктонні і нейстонні організми досить розсіяно представлені у відповідних біотопах. Виключення складають деякі мікроорганізми – бактерії, ціанобактерії (синьо-зелені водорості), найпростіші, коловертки, інші дрібні планктонти які іноді дають спалахи масового розвитку. Дуже часто при цьому змінюється колір води, набуваючи синього, зеленого, бурого, червоного чи молочно-білого забарвлення. Якщо таке забарвлення зумовлено розвитком фототрофних чи міксотрофних організмів, говорять про «*цвітіння*» води. В більшості випадків «цвітіння» обумовлюється одним, рідше двома чи більше видами, тоді як решта організмів значно менш численні. Все це накладає відбиток на особливості відбору проб планктону та нейстону. Для забезпечення репрезентативності дослідженнями треба охопити досить великий об'єм біотопу. Звичайно, в лабораторних умовах такі обсяги води дослідити неможливо. Виходячи з цього в ході відбору проб удаються до різних способів концентрації планктонних та нейстонних організмів. Виключення складають проби бактеріо-, нано- та мікропланктону, концентрування яких здійснюється в ході первинної обробки проб і буде розглянуто нижче.

Важливим моментом при відборі проб є визначення об'єму води, з якого колекціонуються гідробіонти (V_1) та визначення об'єму видобутої сконцентрованої проби (V_2). Знаючи ці об'єми відповідними перерахунками визначають істинну концентрацію організмів у природних умовах. Дещо менше це стосується якісних проб, де на перший план виходять показники площі акваторії чи горизонтів які обстежувалися. В залежності від цілей дослідження до уваги беруться такі параметри як глибина (горизонт) відбору проб, прозорість, інтенсивність хвилювання поверхні водойми, розподіл температури, солоності, вмісту кисню та інші абіотичні параметри. Зазвичай їх вимірюють паралельно або в тих самих пробах, обов'язково заносючи в протокол при подальшій обробці проб.

Планктон. Відбір проб дрібних організмів, для яких репрезентативний об'єм проби обчислюється кількома мілілітрами або кількома (зазвичай до 5) літрами здійснюється за допомогою спеціальних приладів – *батометрів*. Проби, відібрані за допомогою батометру називають *батометричними*. Батометр являє собою прилад, функція якого – забір певного об'єму води з певної глибини. Існує багато конструкцій батометрів різного об'єму, призначених як для роботи з великих суден так і для роботи з малих човнів чи прибережних гідротехнічних конструкцій. Найпростіший батометр – посуд Майєра (дивись рис.) легко виготовити власноруч. Він являє собою оплетену міцною мотузкою (1) скляну пляшку з грузилом (2), прилаштованим до дна у вигляді свинцевої пластини, що забезпечує занурення у воду закритої



резиноюю пробкою (3) пляшки (з повітрям). До мотузки та пробки прилаштується лін (4) таким чином, щоб при різкому ривку пробка висмикувався з горловини пляшки. Лін, попередньо замочений у воді, в натягнутому стані розмічається за допомогою кольорової нитки на відтинки по 0,5 та 1 м. Перед зануренням пляшку та лін ополіскують водою з водойми, пробку щільно встромляють у горловину так, щоб при піднятті посуду він не висмикувався. Занурюють батометр на необхідну глибину (за мітками), потім різким ривком висмикують пробку. Витримавши достатній час для наповнення посуду його виймають з води. Отриману пробу переливають у відповідну ємність.

Батометри для відбору мікробіологічних проб мають деякі конструктивні особливості, пов'язані із дотриманням стерильності. Перед роботою їх стерилізують в автоклаві або етиловим спиртом та герметизують за допомогою запаювання скляної трубки, через яку надходить вода в батометр. Коли прилад занурюють на необхідну глибину, за допомогою спеціальних пристроїв скляну трубку розбивають. Після заповнення батометра його якомога швидше виймають з води та в стерильних умовах отриману пробу переливають у стерильну ємність яку щільно закорковують і направляють на дослідження.

Відбір проб мезопланктону завжди пов'язаний з необхідністю концентрування організмів. Це може бути досягнуто двома шляхами: а) забором необхідного обсягу води та його фільтрацією на судні; б) використанням спеціальних сіток, які занурюють у воду з подальшим дрейфом їх у товщі води. Проби, отримані шляхом фільтрації називають **сітковими**.

Забір води здійснюється за допомогою шлангу та помпи. При цьому один кінець шлангу занурюють на необхідну глибину, інший розташовують на судні нижче рівня води у водоймі. Для заповнення шлангу водою використовують насос чи помпу, далі вода надходить без допомоги насоса за принципом сифону. Перший об'єм води, що дорівнює об'єму шлангу, зливають, бо деякі ніжні форми під дією насоса руйнуються. Далі воду, що надходить, в необхідному обсязі фільтрують крізь пластикове сито з розміром вічка, який відповідає розмірному складу організмів що цікавлять дослідника. По закінченню фільтрації організми змивають з сита струменем води з гумової груші у відповідну ємність. Пробу етикетують, вимірявши її об'єм та об'єм профільтрованої води, і фіксують, якщо потрібно.

Відбір проб за допомогою спеціальних планктонних сіток є найбільш поширеним методом. Конструктивні особливості існуючих моделей сіток полягають у тому, щоб забезпечити повне проходження крізь сітку необхідного обсягу води при певній швидкості дрейфу, тобто має значення швидкість фільтрації та співвідношення площі вхідного отвору сітки та площі усіх вічок сита, скрізь які фільтрується проба. Якщо остання менше ніж потрібно, частина води буде виштовхуватися сіткою і вимір профільтрованого об'єму води буде неможливий. Щоб сітка не забивалася желеподібними організмами (медузи, гребневики) вхідний отвір сіток обладнують сіткою з крупним вічком. Інші конструктивні особливості полягають у тому, щоб забезпечити замкнення вхідного отвору сітки, коли це потрібно, наприклад, при обловлюванні певного горизонту товщі води. Для цього використовують різні замикаючі пристрої, які часто приводять у дію за допомогою посилюючих грузил, що в необхідний момент з'єднують з мотузкою, по якій під дією сили тяжіння ці грузила досягають замикаючих пристроїв. Для забезпечення необхідної глибини занурення сіток використовують різноманітні види грузил зі стабілізаторами.

Макро- та мегалопланктон досліджують безпосередньо, без відбору проб. Окремі особини відловлюють за допомогою сачків та інших засобів, запобігаючи травмування тварин, зважаючи на те, що більшість представників макро- та мегалопланктону – желеподібні організми. Для їх дослідження в природних умовах використовують дистанційну підводну фото- та відеозйомку та зйомку з літаків, гелікоптерів чи супутників.

Нейстон. Відбір проб нейстону також залежить від розміру організмів, що досліджуються. Дрібні організми вивчають в нативній воді без згущення, більш великі збирають за допомогою сіток та тралів.

Бактеріонейстон вивчають, відбираючи за допомогою стерильних склянок поверхневий шар води. При цьому склянку в горизонтальному положенні напівзанурюють у воду. Після отримання необхідного об'єму води склянки виймають, герметизують та негайно переправляють у лабораторію для дослідження. Іноді використовують склянку з двома горловинами, розташованими горизонтально по обидва боки. Таку склянку на мотузці плавно опускають на поверхню води. Коли нижня частина склянки заповнюється поверхневою водою її виймають.

Найпростіших та інших дрібних організмів, які не потребують згущення, або руйнуються сітками, вивчають, відбираючи поверхневий шар води за допомогою вічкового екрану. Він являє собою прямокутник (розміром, наприклад, 20x40 см) з тонкої пластикової сітки з вічком до 2x2 мм. Такий екран плавно опускають на поверхню води за допомогою тонкої мотузки чи рибальської ліски і одразу ж обережно виймають. Приставивши кут екрану до краю приймальної склянки, дочікуються, поки вся вода не стече у склянку. Процедуру повторюють кілька разів, доки не

отримають необхідний для дослідження об'єм води. Пробу при необхідності фіксують та етикетують. Вивчення мікроорганізмів нейстону також проводять в живому стані, накладаючи покривне чи предметне скло на поверхню води, після чого скло негайно досліджують під мікроскопом.

Крупних нейстонів збирають за допомогою нейстонних сіток, планктонно-нейстонних сіток (для вивчення вертикального розподілу) та нейстонних тралів (для іхтіонейстону). Сітки протягують по поверхні води певну відстань, враховуючи обсяг профільованої води. Сконцентровану на ситі пробу змивають резиновою грушею у ємність для проб, етикетують та при необхідності фіксують. Конструктивні особливості нейстонних сіток полягають у тому, щоб пристрій був напівзанурений у воду на глибину до 5 см. Це досягається шляхом обладнання сіток поплавцями, полегшенням стакану, де концентрується проба, який виконують з пластику, а дно, замість штуцера облаштовують ситом. Для зменшення перемішування верхнього шару води замість лину використовують міцну рибальську ліску, або використовують якомога тонкий та міцний лін. Як і для планктонних сіток важливим є співвідношення площі вхідного отвору до площі всіх вічок, що приймають участь у фільтрації.

Завдання. Ознайомитись з конструктивними особливостями та принципом дії батометрів різних конструкцій. Ознайомитись з конструктивними особливостями та принципом дії планктонних та нейстонних сіток і тралів різних конструкцій. Ознайомитись зі схемою шлангового відбору проб з суден. Ознайомитися з методами відбору проб з суден планктонними та нейстонними сітками і тралами.

Матеріал та обладнання: Батометр Майера, вічковий екран, склянки для відбору проб бактеріонейстону. Різні моделі батометрів, планктонних та нейстонних сіток або таблиці з їх зображеннями та конструктивними схемами. Таблиці зі схемами шлангового (помпового) відбору проб з суден. Таблиці зі схемами роботи планктонними та нейстонними сітками з суден. Таз і глибоке відро з водою.

Порядок роботи:

1. Розглянути батометр Майера, випробувати його відкривання у відрі з водою або великому акваріумі. Замалювати прилад, вказати його конструктивні особливості.
2. Ознайомитися з іншими моделями батометрів, їх принципом відкривання-замикання, замалювати та вказати їх конструктивні особливості.
3. Ознайомитися з різними моделями планктонних та нейстонних сіток. Випробувати дію посилочного грузила та замикачів. Замалювати прилади, вказавши їх принцип дії та конструктивні особливості.
4. Замалювати схеми роботи помпового відбору води та роботи

планктонними та нейстонними сітками з суден.

5. Використовуючи таз із водою випробувати відбір проб бактеріонейстону та мікронейстону за допомогою склянок, предметних і покривних скелець та вічкового екрану. Замалювати прилади, вказавши їх конструктивні особливості та принцип дії.

Контрольні питання.

1. Чому для організмів різних розмірів відрізняються способи відбору проб?
2. В чому полягають конструктивні особливості нейстонних сіток у порівнянні з планктонними?
3. Які недоліки помпового відбору проб планктону?
4. Для чого в планктонних сітках передбачені замикачі?
5. На чому заснований принцип відбору мікронейстону вічковим екраном?
6. Який принцип роботи різних конструкцій батометрів?
7. З якою метою використовують ротацію судна?

Лабораторна робота №5

Методи камеральної обробки проб планктону та нейстону.

Камеральна обробка проб планктону та нейстону здійснюється в лабораторії. Метою обробки будь-якої проби є визначення якісного (видового) складу гідробіонтів та кількісні показники елементів якісного складу – їх концентрація в біотопі. Мірою концентрації в більшості випадків є чисельність (в екземплярах) та біомаса (в одиницях маси) в перерахунку на об'єм чи площу біотопу. Поряд з кількісними показниками визначають, в залежності від цілей дослідження, деякі інші – морфологічні та функціональні показники, спектри живлення, раціони, фізіологічний стан тощо. Останні розглядаються при вивченні відповідних спеціалізованих курсів.

В залежності від особливостей організмів проби досліджують у *живому* або *фіксованому* стані. Деякі типи неконцентрованих проб в ході обробки додатково згущують. Концентровані проби, або нативні проби, відібрані під час «цвітіння», іноді додатково розбавляють для комфортного підрахунку чисельності та визначення організмів. Використовуючи дані про ступінь згущення чи розбавлення чисельність та біомасу перераховують на одиницю виміру біотопу.

Обробка проб бактеріопланктону та бактеріонейстону. Отримані мікробіологічні проби зазвичай не підлягають фіксації. Їх обробка здійснюється в спеціалізованих сертифікованих бактеріологічних лабораторіях за умов стерильності та дотримання правил безпеки при роботі з умовно-патогенною мікробіотою. Загальні принципи обробки таких проб полягають у підрахунку чисельності бактеріальних клітин та визначенні їх складу (морфологічного, біохімічного, видового тощо). Концентрацію

бактеріальних клітин визначають *прямим підрахунком*, або *методом розведення* з подальшим висівом на тверді поживні середовища. При прямому підрахунку аліквоти проби води (кілька мл) концентрують на мембранному фільтрі певної площі з середнім діаметром пор 0,45 – 0,22 мкм у лійці Зейтца. Фільтри фіксують парами формальдегіду і підфарбовують 1% розчином еритрозину на 5% водному розчині фенолу. Після висушування фільтри мікроскопують з використанням масляної імерсії, підраховуючи кількість клітин в полі зору, або його частині (половині чи чверті). Іноді для цього використовують спеціальний окуляр з вбудованою сіткою, всередині якої здійснюють підрахунок. При перерахунку на об'єм води враховують площу фільтру, де сконцентровані клітини, об'єм профільтрованої води, площу поля зору або окулярної сітки. Сутність методу розведення полягає в тому, що аліквоту проби води, наприклад 1 мл розводять стерилізованою водою (9 мл), бажано з тієї ж водойми, отримуючи перше розведення 1÷10. Далі з цього розведення беруть 1 мл, розводячи новою порцією стерильної води (9 мл) і отримують розведення 1÷100. Таким чином роблять розведення 1÷1000, 1÷10000 чи більше, висіваючи на стерильні тверді поживні середовища у чашках Петрі з кожного розведення по 0,1 мл. Чашки інкубують у термостаті при 37°C. Через певний час чашки досліджують, підраховуючи кількість колоній, їхню форму, колір та інші властивості, що використовуються при визначенні видової приналежності. Додатково мікробіологічною петлею з кожного виду колоній відбирають взірці для мікроскопування. Визначивши якісний склад та кількість колоній обчислюють концентрацію бактерій у воді, враховуючи ступінь розведення та виходячи з того, що одна колонія відповідає одній клітині у нативній пробі. Недолік методу полягає в тому, що немає універсального поживного середовища для всіх видів бактерій. Для уточнення якісного складу застосовують елективні поживні середовища. Останнім часом все більше використовують спеціальні біохімічні та генетичні методи. Існує багато модифікацій вищезазначених методів дослідження бактеріопланктону та бактеріонейстону.

Обробка проб джгутикового гетеротрофного нанопланктону. Гетеротрофні нанофлагеляти – один з найменш вивчених компонентів біоти водойм. Це досить ніжні форми, які руйнуються при дії більшості фіксаторів та спробі сконцентрувати пробу фільтрацією. Їх прозорість, рухливість та дрібність (5 – 20 мкм) разом із здатністю змінювати форму тіла значно ускладнюють їх підрахунок та визначення. Відбір проб здійснюється батометрами, вивчення – в живому неконцентрованому стані. Відібрані проби вивчаються одразу після відбору. Їх розливають в чашки Петрі шаром 1 – 2 мм. Звичайно в чашку діаметром 6 см наливають 5 см³ проби води. Далі пробу лишають на 20 – 30 хвилин. За цей час більшість

нанофлагелят перестають хаотично плавати та осідають на дно або концентруються в при поверхневому шарі (нейстон). Для підрахунку чисельності використовують об'єктиви мікроскопу 10^X або 20^X , бажано фазово-контрастні, підраховуючи організми в полях зору (20 – 30) на дні чашки та в при поверхневій плівці. Для уточнення видової приналежності користуються більш потужними імерсійними об'єктивами (40^X – 75^X ВИ), які занурюють у чашку. Організми вимірюють за допомогою окуляр-мікрометра (окуляр з вбудованою лінійкою). Слід звернути увагу, що обробку проб треба проводити якомога швидше, бо вже через кілька годин при температурі 18 – 20°C деякі види зникають, а деякі сильно розмножуються. Паралельно з підрахунком та визначення проби висівають на рідкі мінеральні поживні середовища (Прата, Лозини-Лозинського та інші) з додаванням органічних речовин. Якщо визначення деяких видів потребує часу або при цьому використовуються якісь стадії життєвого циклу, проби можна пересівати, зберігаючи досить тривалий час. В умовах судна замість чашок Петрі використовують *камеру-пенал* – пластикову або скляну прямокутну камеру визначеного об'єму глибиною 1,5 – 2 мм, яка зверху покривається покривним склом. Її заповнюють пробою, запобігаючи при цьому утворення пухирців повітря. Якщо пробу взято в місці підвищеного органічного забруднення (наприклад, стічні води) де нанофлагелят багато, їх можна досліджувати, користуючись предметним та покривним склом, попередньо за допомогою піпетки взявши аліквоту (0,025 – 0,05 мл) з проби. Дані обробки проби заносять у протокол.

Обробка проб гетеротрофного мікропланктону. До гетеротрофного мікропланктону належать, головним чином, інфузорії та коловертки, а також флагеляти різних систематичних груп та ранні стадії личинок представників мезозoopланктону. Окрім останніх, мікропланктонти дуже погано переносять фіксацію. Особливо це стосується більшості інфузорій, які при використанні формаліну руйнуються, змінюються в об'ємі чи значно змінюються морфологічно. Більшість коловерток, окрім деяких панцирних округлюються, стають непрозорими, що також унеможлиблює їх визначення. В зв'язку з цим проби мікропланктону бажано вивчати в живому вигляді. Якщо проб багато і обробити їх в найкоротші терміни не є можливим, застосовують фіксацію спеціальними фіксаторами. На жаль, це мало придатне для коловерток, тому в такому випадку обмежуються підрахуванням їх чисельності та диференціюванням за морфологічними ознаками чи розмірами.

Обробку нативних нефіксованих проб здійснюють в *камерах Богорова* об'ємом 5 – 10 мл. За допомогою градуйованої піпетки з широким отвором (тонкий кінець обрізають діамантовим надфілем) в камеру поміщають 5 (10) мл проби і рахують організми під

стереомікроскопом (бінокуляром). Збільшення підбирають таким чином, щоб ширина канавки камери відповідала діаметру поля зору. Рухливі організми виловлюють за допомогою *мікропіпетки*. Її виготовляють з тонких скляних трубочок, нагріваючи їх над полум'ям спиртівки та розтягуючи в різні сторони. Далі тонку середню частину розрізають діамантовим надфілем, отримуючи, таким чином, дві мікропіпетки. Товстий край з'єднують з мундштуком (резинова чи каучукова трубка довжиною 30 – 40 см). Виловлені організми визначають та вимірюють окуляр-мікрометром під мікроскопом (об'єктиви 40^X – 90^X – 100^X) у невеличкій краплині, яку можна накрити покривним склом з восковими ніжками, які роблять царапаючи кутами покривного скла воскову свічку або пластилін. Натискуючи на покривне скло можна злегка притиснути організм, обмежуючи його рух, що полегшує визначення. іноді в краплину додають барвник для суправітального забарвлення органел чи органів (у коловерток), які мають важливе діагностичне значення при визначенні (ядра, трихоцисти). Рідше використовують «метод висячої краплі»: виловлений мікропіпеткою організм переміщують в невелику краплину на покривне скло, яке потім перевертають і розташовують на спеціальному предметному склі з лункою. В краплину також можна додавати барвники або речовини, що обмежують рухливість організму, наприклад клей з айвових кісточок. Для його виготовлення декілька сухих зерен айви заливають невеликою кількістю води (щоб тільки покривала кісточки) і через декілька годин отримують в'язку рідину, яку і використовують.

При низькій концентрації мікропланктону іноді доводиться концентрувати пробу. Якщо при дослідженні 20 – 30 мл. проби організми не трапляються, застосовують метод зворотної фільтрації (див. нижче). При масовому розвитку найпростіших виловлені організми одразу кладуть у спеціальний фіксатор, налитий у лунку предметного скла для «висячої краплини», або годинникове скло. Далі організми переносять мікропіпеткою у таку саму ємність з водою (2 – 3 рази) для відмивання від фіксатора, потім виготовляють тимчасовий мікропрепарат в гліцерині на предметному склі, покриваючи краплину покривним склом з восковими ніжками. В якості фіксатора використовують складні суміші на основі пікринової кислоти, сулеми або чотириокису осмію. Для уточнення видової приналежності найпростіших використовують складні цитологічні методики.

Обробку фіксованих проб здійснюють методом відстоювання проб. Ємності з пробами витримують в темному місці, оберігаючи від поштовхів деякий час (від 2 до 5 – 7 діб). Потім за допомогою сифону обережно зливають верхній шар проби, лишаючи нижній, 1 см шар з осілими гідробіонтами неушкодженим. Після зливання верхнього шару (об'єм якого вимірюють, якщо початковий об'єм проби невідомий), нижній шар

ретельно перемішують і зливають в окрему ємність, визначивши попередньо його об'єм. З цієї згущеної проби беруть піпеткою аліквоту рідини (0,05 мл) та виготовляють тимчасовий мікропрепарат з використанням покривного скла з восковими ніжками. Препарат повністю досліджують під мікроскопом на збільшенні об'єктиву 20^{\times} – 40^{\times} човниковим методом: полем зору мікроскопу «вирізають» вздовж покривного скла «смужки» від краю до краю, зміщуючи в кінці кожної препарат на одне поле зору вбік. Підраховують кількість організмів і визначають їх. Якщо репрезентативність проби мала, досліджують кілька мікропрепаратів, додаючи кожного разу в протокол кількість врахованих особин кожного виду та об'єм аліквоти.

У якості фіксатору використовують концентровану рідину Буена (насичений розчин пікринової кислоти на 37% розчині формальдегіду додається до проби в пропорції від 1÷10 для океанічних вод, до 1÷20 для прісних, потім додається оцтова кислота до кінцевої концентрації 1% у пробі), розчин Люголю (додається до забарвлення проби у колір міцного чаю), суміш Хофкера (суміш 1÷1 насиченого водного розчину трихлороцтової кислоти та чистої оцтової кислоти додається в пробу в пропорції 5 мл на літр проби) та інші складні суміші.

Обробка проб фітопланктону. До складу фітопланктону входять представники різних систематичних груп одноклітинних та колоніальних організмів з хроматофорами. Розмірний склад фітопланктону охоплює організми від найдрібніших (пікопланктон) до мікропланктонних форм. Оскільки більшість представників фітопланктону мають досить міцний екзоскелет (черепашки діатомових, панцири динофлагеллят), вони добре переносять фіксацію, навіть розчином формаліну. Кращі результати дає використання фіксаторів як для гетеротрофного мікропланктону.

Обробка фіксованих проб не відрізняється від обробки проб гетеротрофного мікропланктону. Для більш достовірного урахування мікропланктонних форм їх можна вивчати живому стані в камері Богорова, як це було описано вище.

Часто для фітопланктону застосовують згущення і дослідження в живому вигляді, якщо є така можливість. Більшість навіть найкращих фіксаторів не в змозі замінити дослідження живого матеріалу. Концентрування проби здійснюють за допомогою приладу зворотної фільтрації. Фільтрами служать мембрани з лавсану (т. з. «ядерні» фільтри) з густо розташованими отворами діаметром 1 – 5 мкм, в залежності від марки. Фільтр (екран) щільно закріплюється між двох пластикових камер, кожна із 2 штуцерами. в нижню камеру поступає вода з проби під тиском 0,04 атмосфери. Для цього пробу розташовують на висоті 40 см над приладом. У верхню камеру потрапляє відфільтрована вода, яка через штуцер подається в мірний циліндр. Коли вода перестає фільтруватися, в

верхній камері відкривають другий штуцер, куди потрапляє повітря, витискуючи фільтровану воду з камери в циліндр. Штуцер нижньої камери, через який потрапляла вода проби перекривають. Прилад обережно струшують для змивання ймовірно прилиплих до фільтру організмів. Відкриваючи обидва штуцери в нижній камері згущену пробу зливають у ємність. Прилад розбирають, фільтр обережно виймають і за допомогою маленької гумової груші або шприца промивають струменем води, взятої з відфільтрованої частини, так щоб ця вода потрапила у ємність з пробєю. Вимірюють об'єм відфільтрованої води та отриманої проби. Виготовлення мікропрепарату та мікроскопіювання здійснюють як для фіксованих проб мікрогетеротрофів. Отриману згущену пробу також можна зафіксувати для подальшого вивчення, або для колекції. При цьому значення об'єму доданого фіксатора (в мл) віднімають від об'єму відфільтрованої води.

Обробка проб мезозoopланктону. З попередньо збовтаної проби відбирають за допомогою спеціальної штемпель-піпетки або піпетки з широким отвором аліквоту (5 – 10 мл), яку переносять у камеру Богорова. Під біокуляром підраховують кількість гідробіонтів, визначають їх склад, вимірюють за допомогою окуляр-мікрометра. Для уточнення видової приналежності окремі особини переносяться за допомогою тонкої препарувальної голки у невеличку краплину води і досліджуються на малих збільшеннях мікроскопа (об'єктив $4^X - 10^X - 20^X$).

Обробка проб мікронейстону принципово не відрізняється від обробки проб мікропланктону.

Обробка проб нейстону. Обробка нейстону принципово не відрізняється від обробки проб мезозoopланктону. Іноді замість камери Богорова використовують чашки Петрі, дно яких розкреслюється на сегменти. Пробу (аліквоту) нейстону наливають у чашку, далі за допомогою гумової груші, кінець якої зтягнутий дрібним ситом (вічко до 100 мкм) відбирають більшу частину води, розподіляючи пробу рівномірно по чашці. кількість організмів підраховують в окремих секторах; організми також визначаються та вимірюються.

Визначення біомаси планктонних гідробіонтів. Більшість планктонних гідробіонтів мають дуже дрібні розміри і не можуть бути безпосередньо зважені. В таких випадках застосовують *об'ємно-масовий* метод визначення біомаси. Сутність методу полягає у порівнянні форми тіла гідробіонту з простими геометричними фігурами, або їх комбінацією. Визначивши за математичними формулами об'єм відповідної фігури (фігур) за лінійними розмірами та прийнявши, що щільність тіла організму приблизно дорівнює густині води, тобто $1 \text{ г} \cdot \text{см}^3$, визначають масу об'єкта. На перший погляд, цей процес досить трудомісткий, але використання ПК значно полегшує розрахунки. Складання рівнянь алометричних

залежностей маси від лінійних параметрів для багатьох організмів із складною формою тіла також полегшує визначення їхнього об'єму (біомаси). Отриману сиру масу, знаючи калорійність гідробіонту (або групи подібних гідробіонтів), іноді перераховують на органічний вуглець (C_{org}), або, калорії (джоулі).

Завдання.

1. Виготовити мікропіпетку.
2. Дослідити під мікроскопом та виміряти гетеротрофних та автотрофних мікропланктерів (в живому вигляді).
3. Обробити пробу фітопланктону в живому або фіксованому вигляді.
4. Обробити фіксовану пробу мезозoopланктону.
5. Обчислити біомасу представників фіто- та зоопланктону.

Матеріал та обладнання: Проби води, фіксовані проби мезозoopланктону, фіксатор (розчин Люголю), камера зворотної фільтрації, мембранний ядерний фільтр, піпетки різного об'єму, гумова груша, камера Богорова, скляні трубки, спиртівка, ПВХ трубки медичні, предметні скельця з лункою для «висячої краплі», віск, покривні скельця, препарувальні голки, мірні циліндри на 1 л та 100 мл, стереомікроскоп, мікроскоп.

Порядок роботи.

1. Виготовити мікропіпетку: повертаючи в полум'ї спиртівки навколо осі тонку скляну трубку, нагрівають її до розм'якшення. Не виймаючи з полум'я, розтягнути трубочку в різні боки. Зрізати тонкі кінці так, щоб їх діаметр був 0,1 – 0,2 мм (контролюють під бінокуляром).
2. Аліквоту живої проби (5 мл) піпеткою помістити в камеру Богорова. Користуючись мікропіпеткою, обережно відловити декілька організмів і помістити у воду в скло з лункою.
3. Виготовити тимчасовий мікропрепарат «висяча крапля», або на воскових ніжках.
4. Дослідити препарат під мікроскопом на малому та великому збільшенні.
5. Замалювати та виміряти представників мікропланктону.
6. Зібрати камеру зворотної фільтрації.
7. Зануливши один кінець трубки з нижньої камери в пробу, розташовану на 40 см вище камери, за допомогою гумової груші в трубці з верхньої камери створити розрядження до потрапляння води у камеру.
8. Відфільтрувати пробу, зливаючи фільтровану воду в великий мірний циліндр. Виміряти об'єм відфільтрованої води V_1 .
9. Злити з камери пробу в малий мірний циліндр, виміряти її об'єм V_2 .
10. Дослідити згущену пробу або зафіксувати її розчином Люголю.

11. Виготовити мікропрепарат з аліквоти ($V_3 = 0,05$ мл) проби на склі з восковими ніжками.
12. Переміщуючи під мікроскопом препарат в прямокутних координатах порахувати кількість клітин одного з видів фітопланктону.
13. Замалювати та виміряти організми.
14. Провести перерахунок кількості організмів на літр нативної води за формулою: $n_i = 1000 \cdot (n \cdot V_2 / V_3) / (V_1 + V_2)$, де n – кількість врахованих організмів.
15. Прирівняти замальовані організми до геометричних фігур.
16. Користуючись формулами та лінійними вимірами обчислити об'єм фігур і перерахувати на масу.
17. Обчислити біомасу організму на літр нативної води.
18. Помістити аліквоту (5 мл) проби зоопланктону в камеру Богорова.
19. Підрахувати кількість представників одного з видів у камері.
20. Користуючись даними з етикетки проби про об'єм профільтрованої води обчислити чисельність організмів на 1 м^3 нативної води (п. 14).
21. Обчислити біомасу організму (див. пп. 15 – 17) на м^3 нативної води.
22. Зробити висновки.

Контрольні питання

1. Чому проби нанопланктону вивчають наживо?
2. Якими методами користуються при дослідженні фітопланктону?
3. Для чого при дослідженні бактеріопланктону та нейстону використовують розведення?
4. Які геометричні фігури найчастіше використовують при обчисленні біомаси?
5. В чому переваги та недоліки обробки живих проб?
6. В чому переваги та недоліки обробки фіксованих проб?

Лабораторна робота №6

Пристосування гідробіонтів до життя в бенталі і перифіталі.

Бентос та перифітон складається з організмів, які мешкають на дні водойм, або на субстратах, занурених у товщу води і не здатні тривалий час плавати у воді. Бентос (перифітон) поділяється на фітобентос – водорості-макрофіти і вищі квіткові рослини та зообентос – тварини різних систематичних груп. Окрему групу складають мікроорганізми – найпростіші, гриби, личинки та дорослі форми Metazoa, які в залежності від здатності до фотосинтезу поділяють на фітомікробентос (діатомові водорості, дінофітові, синьо-зелені) та мікобентос (нижчі та вищі гриби) і зоомікробентос (гетеротрофні джгутикові і в'їчасті найпростіші, дрібні коловертки та деякі інші безхребетні).

На відміну від планктичних організмів бентосні форми *не потребують полегшення питомої ваги*. На перший план виходять такі пристосування, як закріплення на субстраті та збільшення маси тіла за рахунок відкладень вапна в тілі та екзоскелеті.

Будова тіла бентонтів та перифітонтів дуже залежить від характеру субстрату, освітлення, сили хвилювання, течій та інших факторів. Тому, навіть у близьких споріднених форма спостерігаються відмінності в будові, якщо вони заселяють різні субстрати. По відношенню до субстрату бентичні гідробіонти поділяються на кілька груп.

1. **Прикріплені (сесильні і седентарні) організми (епіфауна).** До цієї групи належить переважна більшість представників макрофітобентосу, які закріплюються на твердому чи сипкому ґрунті за допомогою *ризоїдів* (водорості) та *коренів і кореневищ* (вищі водні рослини). Серед зообентосу та перифітону найчастіше трапляються губки, гідроїди, моховинки, корали, молюски (двостулкові та черевоногі), ракоподібні, голкошкірі, хробаки, хордові (асцидії та ін.). Їх загальна *форма тіла зазвичай видовжена*. Багато бентосних, і, особливо, перифітонних форм здатні утворювати величезні *колонії* (наприклад, коралові рифи). *Органи руху редуковані*, або змінюють свою функцію. Навколо тіла дуже *розвинений міцний екзоскелет* (трубки, панцири тощо). Для всіх сидячих організмів властиві *меропланктонні стадії розвитку*. До прикріплених тварин також відносяться ті, що обмежено здатні рухатися (седентарні організми) – п'явки, актинії, голкошкірі, личинки деяких комах та інші. Для закріплення на субстраті в таких форм дуже розвинуті *присоски* та *гачкоподібні кінцівки*, особливо у реофільних форм.
2. **Лежачі організми (онфауна).** Тварини, які лежать на м'якому ґрунті відрізняються дуже *розпластаним та низьким тілом*, іноді утворюють *численні вирости в однієї площині* (морські їжаки, зірки).
3. **Організми, що закопуються в ґрунт (інфауна).** Багато організмів занурюються в ґрунт в захисних цілях. Вони при цьому будують ходи в ґрунті, стінки яких часто закріплюють виділеннями. Для них характерна *видовжена форма тіла*. Кінцівки та вирости мешканців товщі ґрунту часто перетворені на *органи копання*. *Черепашки молюсків видовжуються, гладшають та тоншають*, нога досить рухома і розвинута, позбавлена бісусної залози. Для зв'язку із поверхнею дна служать різноманітні видовжені *сифони*. Деякі безхребетні використовують ґрунт не тільки для захисту, але й поглинають ґрунт в харчових цілях. Хижі форми відшуковують в ґрунті здобич. Для просування в товщі ґрунту в деяких хробаків та личинок комах сформувалася *особлива форма руху*, подібна до метаболії у найпростіших.

4. **Свердлярчі організми.** Особлива група гідробіонтів, здатних занурюватися в твердий субстрат, механічно чи хімічно руйнуючи його для цього. до таких форм належать водорості, губки, хробаки, молюски та ракоподібні. Органи свердління представлені *виростами раковин* (молюски), сильно розвиненими *ротовими придатками* (ракоподібні). Для руйнування субстрату водорості, губки, хробаки та деякі молюски *використовують кислоту*, що виділяється спеціальними клітинами, органами і залозами.
5. **Рухливі організми (вагильний бентос).** Ці організми мають достатньо *розвинені кінцівки* (ракоподібні, комахи, кліщі) *амбулакральні ножки* (голкошкірі), *ноги* в молюсків. Найпростіші просуваються по ґрунті та в його товщі *метаболією, ковзанням*, за допомогою *війок* чи *псевдоподій*.

Завдання На постійних сухих та вологих препаратах ознайомитися з представниками різних угруповань бентосу та перифітону. Визначити пристосування до життя в бенталі.

Матеріал та обладнання: постійні вологі та сухі препарати бентосних і перифітонних організмів.

Порядок роботи

1. Розглянути препарати (колекцію) крабів Чорного моря, вологі препарати рухомих безхребетних. Замалювати представників. Визначити та охарактеризувати пристосування до бентичного способу життя вагильного бентосу.
2. Розглянути сухі колекції молюсків інфауни (на прикладі двостулкових *Lentidium mediterraneum*) та вологі препарати *Mya arenaria*. Розглянути сухі препарати молюсків епі- та онфауни (мідії, устриці). Визначити пристосування, замалювати.
3. Розглянути сухі колекції лежачих організмів (голкошкірі) та вологі препарати нектобентосу (чорноморські камбали та скати). Замалювати представників. Визначити пристосування для життя на дні.
4. Розглянути колекції сидячих організмів (губки, корали, балянуси, моховинки). Замалювати представників. Визначити пристосування для сидячого способу життя на дні та в обростаннях.
5. Розглянути зразки природного каменю, черепашок молюсків та деревини, ушкоджених свердлярчими організмами. Замалювати зразки. Замалювати представників з ілюстрацій. Визначити пристосування для свердління.
6. Зробити висновки.

Контрольні питання

1. Як поділяються представники бентосу по відношенню до субстрату?
2. Які пристосування в сидячих організмів до життя в бентосі та

- перифітоні?
3. Які пристосування до життя в бенталі та перифіталі спостерігаються в представників інфауни та онфауни?
 4. Які пристосування до донного життя спостерігаються у вагильного бентосу?
 5. Які пристосування є у свердлярних організмів?

Лабораторна робота № 7

Методи відбору проб бактеріо-, зообентосу та зооперифітону.

В залежності від розміру організмів, бентос та перифітон поділяються на *мікробентос*, *мейобентос* та *макробентос*. До першої групи відносяться найпростіші, коловертки, дрібні личинки більш крупних бентонтів (до 0,1 мм в найменшому вимірі). Особливу групу складає мейобентос (від 0,1 мм – до 10 мм завдовжки), куди окрім личинок входять найрізноманітніші представники хробаків, кліщи, ракоподібні та інші систематичні групи безхребетних. Мейобентос поряд з мікробентосом – найважливіший компонент водних екосистем, основа харчування багатьох безхребетних та риб. Разом з бактеріями та грибами мікро- та мейобентосу належить провідна роль в трансформації органічної речовини ґрунту. До складу макрозообентосу входять організми, розміром від 1 мм до найбільших представників безхребетних – деяких червононогих, головоногих та двостулкових молюсків і вищих ракоподібних. Сюди ж відносяться колоніальні організми – губки, корали, моховинки тощо.

Бактеріобентос. Відбір проб здійснюється шляхом забору певної кількості ґрунту з проб, відібраних для дослідження інших угруповань бентосу. Для цього користуються стерильними скляними або пластиковими ємностями для проб і стерильними шпателями або скляними трубками. Верхній шар ґрунту з проби видаляють і за допомогою шпателя чи трубки відбирають ґрунт у ємності, прикриваючи їх кришкою для запобігання занесенню спор та бактерій з повітря. Проби негайно закорковують та доставляють в лабораторію для дослідження.

Мікробентос. Відбір проб здійснюється спеціальними трубками з певним діаметром (1 – 2 до 6 – 7 см) для подальшого перерахунку на см^2 , дм^2 чи м^2 дна. На мілководдях з цією метою використовують звичайні шприци з відрізаною кінцевою частиною. Шприц (трубку) вдавлюють в поверхню ґрунту на глибину, яка цікавить дослідника, після чого виймається вирізаний kern ґрунту, який на поверхні може бути розділений ножем чи ниткою пошарово на відтинки певної товщини. Для цього часто користуються поршнем (від шприца). Кожну порцію ґрунту поміщають в окрему ємність. Існує багато модифікацій трубкового відбору у вигляді т. з. *мікробентометрів* (*стратометрів*). Принцип їх роботи полягає в вийманні трубкою, край якої загострюється ззовні, kernу ґрунту з дна

водойми. Верхня частина трубки після вдавнення її в ґрунт закривається спеціальним корком для запобігання вимиванню керну з трубки. Перед підняттям з води нижній край трубки закривають рукою. За таким принципом працює *мікробентометр Володимирової*, який кріпиться до штанги, довжиною 3 – 4 м, за допомогою якої трубка втискується в ґрунт. Мотузкою приводиться в дію верхній клапан (корок), яких замикає трубку. Ця конструкція використовується для роботи з човна на глибині до 2 – 2,5 м. Для більш глибоких ділянок використовують *мікробентометр системи Трав'янка-Євдокимової*. До трубки приладнюються стабілізатори (крильця), які сприяють суворо вертикальному зануренню приладу, та грузило достатньої маси, щоб під дією її ваги трубка вдавлювалася в ґрунт на необхідну глибину. Прилад опускають у воду на ліні. Після врізання його в ґрунт мікробентометр виймають, при цьому спрацьовує верхній конічний або кульковий клапан. Існують модифікації бентометрів, в яких замикаються обидва кінця трубки (для сипких ґрунтів). В океанічних дослідженнях зазвичай використовують складні автоматичні прилади у вигляді рами з багатьма трубками (*Multicorer*). **Проби не фіксують!**

Якісні проби мікробентосу отримують, збираючи за допомогою будь-яких придатних ємностей верхній шар ґрунту. Іноді (для роботи з човнів) використовують мулосос Перфільєва. Він складається з U-подібної перевернутої трубки з різним розміром колін. Коротша герметично (гумовим корком) приєднується до скляної ємності разом з металічною трубкою, до якої приєднується довга тонка ПВХ трубка із затискачем. Інше коліно косо зрізується та обладнується грузилом для занурення приладу у воду. По досяганні дна косий кінець врізається в шар ґрунту, дослідник відкриває затискач і верхній шар мулу із водою потрапляє у ємність.

Мейобентос. Відбір проб мейобентосу принципово не відрізняється від такого для мікробентосу. Проби зазвичай не фіксують і досліджують у живому вигляді. Іноді доводиться брати більші об'єми ґрунту, бо концентрація мейобентонтів нижче ніж в мікробентосу, а також багато проб (наприклад, в експедиційних умовах). При цьому для зменшення маси проби (позбавлення баласту у вигляді ґрунту) іноді використовують **метод флотації**. Відібраний керн ґрунту **відповідного діаметру та товщини** збовтують з фільтрованою водою з тієї ж водойми. Швидкість осідання часток ґрунту вища, ніж гідробіонтів. Для запобігання тигмотаксису у воду додають кілька крапель 37% формаліну, міцного розчину $MgCl_2$ або інші наркотизуючі речовини. Одразу після осідання основної маси ґрунту верхній шар води з організмами зливають у ємність і процедуру повторюють кілька разів (визначають дослідним шляхом). Далі, якщо треба, пробу концентрують на пластиковому ситі (вічко 0,08 – 0,1 мм), дофіксують та підфарбовують розчином **бенгальського рожевого**,

що полегшує подальшу обробку проб (організми контрастні на фоні часток ґрунту). Вимірюють об'єми чи розміри кернів, які відмивалися та об'єм отриманої рідкої проби. Етикетують.

Макрозообентос. Для відбору з використання водозаплавної обладнання, або на мілководді (до 0,5 м) використовують різноманітні сталеві квадратні або прямокутні *рамки*, розміром 10×10 або 25×25 см облаштовані мішками з сита (вічко 0,1 – 0,2 мм). Рамки накладають на ділянку дна і за допомогою шпателя підрізають верхній шар ґрунту, переміщуючи його в сітчастий мішок. Для сипких ґрунтів використовують високі (15 см) рамки меншого розміру (10×10 см), заглиблюючи їх в ґрунт на 10 см.

Для роботи з човна або судна використовують спеціальні прилади – *дночерпачі*. Існує багато модифікацій, які відрізняються розмірами та деякими незначними конструктивними особливостями. Вони являють собою дві з'єднані віссю сталеві важкі порожні губки (ковші), нижні краї яких (ножі) мають певну довжину і загострені. Перед роботою губки розводять і фіксують спеціальним замикачем. Прилад опускають у воду на лині чи тросі лебідкою. Після падіння на дно замикач звільняється і губки при вийманні приладу під власною масою змикаються, зрізуючи загостреними краями шар ґрунту. Для стікання води у верхніх стінках губок є віконця, затягнуті металевим ситом. На борту губки роз'єднують, виймаючи пробу у таз або ванну.

Відібрані за допомогою рамок або дночерпачів проби промивають водою з відра або шлангу (на судні) від баластного ґрунту і водночас фракціонують на системі металевих ґрунтових сит з отворами різного діаметру (10 мм, 7 мм, 5 мм, 3 мм, 2 мм, 1 мм, 0,5 мм, 0,25 мм). Кожну фракцію змивають в окрему ємність, фіксують та етикетують.

Перифітон. Відбір проб перифітону здійснюють також *рамками*, обладнаними пластиковим ситом, яке для зручності іноді роблять з рукавом. В рукаві рукою шпателем чи ножем зрізують обростання в мішок. Для вертикальних поверхонь одну з сторін рамок роблять під кутом, розташовуючи її знизу, що полегшує скоочування зрізаних гідробіонтів в мішок. На невеликих глибинах (до 4 м) з вертикальних поверхонь (наприклад, гідротехнічних споруд) зручно користуватися шкребок – рамкою із загостреним нижнім краєм, яка кріпиться до міцної штанги, довжиною 3 – 5 м. Штангу розмічують на відтинки 5 та 10 см для урахування площі, з якої зібрано перифітон (помножують довжину ножа на висоту притягнення шкребка за відтинками). Зазвичай проба перифітону не містить баластного ґрунту, тому відмивають її для окремого вивчення мейобентосних та макроорганізмів. Для цього використовують ґрунтове сито з отворами 1 мм, на якому лишаються макроорганізми, решту відфільтровують на пластиковому ситі для мейобентосу.

Мікроперифітон вивчають, зрізуючи скальпелем усередині невеликої рамки (1×1 см або більше), виготовленої з фольги чи пластика, обростання та переносячи в невеликі ємності з фільтрованою водою. Для цього необхідно винести субстрат (наприклад, камінь) з води. Коли це неможливо, використовують мікрошкребок, який являє собою прозору невелику (50 – 100 мл) пластикову прямокутну ємність з 1 – 2 мм щілиною уздовж меншого нижнього ребра. До краю щілини прилаштовують невелику загострену металеву пластинку (ніж), якою зрізують під водою обростання. Для того, щоб зрізаний шар всмоктувався в щілину, в протилежному кінці ємності (зазвичай в кришці) роблять невеличкий (Ø 5 – 10 мм) отвір. Прилад із затиснутим пальцем отвором під водою притискають лезом до поверхні, що вивчається, і за допомогою лінійки зрізують певну відстань обростання, відкривши отвір. Отриману пробу переливають в ємності і етикетують. Вивчають мікроперифітон переважно в живому вигляді.

Дуже часто для дослідження перифітону використовують метод експериментальних субстратів (ЕС). У воду водойми занурюють ті чи інші субстрати (предметні чи покривні скельця, гуму, пластик тощо), які експонують певний час, після якого виймають з води і досліджують. Таким чином, наприклад, досліджують мікроорганізми обростання чи динаміку осідання личинок перифітонів.

Для перифітонів, що утворюють величезні щільні колонії (корали, моховинки, губки) стандартні методи дослідження замінюють підводним спостереженням з використанням відео- та фотозйомки.

Завдання:

1. Ознайомитися з принципом роботи мікробентометрів та поршневіх трубок. Виготовити з шприца найпростіший прилад.
2. Розглянути різні типи бентосних та перифітонних рамок і шкребків. Визначити особливості застосування. Ознайомитися з принципом роботи рамками та шкребками.
3. Розглянути дночерпач, визначити його конструктивні особливості, випробувати дію (замикання – розмикання).
4. Ознайомитися із системою ґрунтових сит.
5. Виготовити мулосос, випробувати його дію.
6. Розглянути мікрошкребок, випробувати його дію.

Матеріал і обладнання: Поршневі трубки, таблиці з зображенням мікробентометрів різних конструкцій, одноразові шприци на 10–20 см³, товстостінна скляна трубка, Ø 5 мм, діамантовий надфіль, склянка на 100 мл лабораторна, спиртівка, свинець листовий, мотузка, гумова пробка з 2-ма отворами Ø 5 мм, ПВХ трубка медична із затискачем, мікрошкребок, дночерпач Петерсона, ґрунтові сита, ніж, таз або відро з водою.

Порядок роботи

1. Розглянути таблиці із зображенням мікробентометрів, замалювати та помітити основні конструктивні особливості.
2. З одноразового пластикового шприца зрізати кінець, за допомогою надфілю довести діаметр поршню до легкості ходу всередині шприца.
3. Розглянути рамки та шкребки. Замалювати прилади.
4. Розглянути дночерпач Петерсона. Замкнути замикач в розгорнутому стані. Злегка підняти дночерпач і плавно опустити на пол. до розмикання замикача. Злегка підняти прилад. Замалювати прилад у розгорнутому та закритому стані, відзначивши його конструктивні особливості.
5. Замалювати окреме сито та систему сит.
6. Виготовлення мулососу. Скляну трубку (піпетку), довжиною 30 см розрізати у співвідношенні 1÷4 за допомогою діамантового надфілю. Меншу частину встромити в один з отворів гумової пробки та з'єднати з медичною ПВХ трубкою і затискачем. Більшу трубку, повертаючи навколо осі, нагріти на спиртівці в 1/3 від краю. Коли трубка достатньо розм'якне плавно зігнути її. Менше коліно встромити в другий отвір пробки. Більше коліно під гострим кутом заточити діамантовим надфілем. Обгорнути загострений кінець смужкою листового свинцю, відступивши 0,5 см від загостреного краю. Відкалібрувати прилад, змінюючи вагу свинцю і домагаючись занурення приладу з повітрям під воду. Занутивши прилад у відро, відкрити затискач. Спостерегти дію приладу. Замалювати прилад.
7. Випробувати дію мікрошкребка у відрі або тазу з водою. Замалювати прилад, визначивши конструктивні особливості і принцип дії.
8. Зробити висновки.

Контрольні питання

1. Які загальні методи збору мікро- та мейобентосу?
2. Що таке метод флотації і коли його використовують?
3. Чим відрізняються методи збору бентосу та перифітону?
4. Коли використовують дночерпач, а коли – рамки?
5. Для чого використовують мулосос?
6. Для чого і коли використовують мікрошкребок?
7. В чому переваги методу ЕС?

Лабораторна робота №8

Методи камеральної обробки проб бентосу і перифітону.

Проби зообентосу та зооперифітону, окрім випадків, коли необхідний ґрунт (дослідження бактерій, мікро- та мейобентосу в живому

вигляді), являють собою скупчення організмів різних систематичних груп. Методи їх обробки спільні для макроформ.

Макрозообентос та макрозооперифітон. Фіксовані проби відмиваються від фіксатору до зникнення запаху формаліну. Для цього гумовою грушею із затягнутим ситом кінцем видаляють рідину і заливають пробу водопровідною водою, лишаючи на годину. Процедуру повторюють кілька разів, в залежності від розміру організмів. Промиту пробу порціями чи повністю переносять в кювету із водопровідною водою, при цьому масу з організмами та їх рештками ложкою чи шпателем зміщують до одного, протилежного від себе краю кювети. За допомогою препарувальних голок та тонкого пінцету поступово розбирають скупчення гідробіонтів, відокремлюючи від решток (биті та пусті черепашки молюсків тощо). Організми сортують за видами по чашках Петрі з водою. Після розбору проби чашки досліджують під стереомікроскопом, визначаючи, і, якщо потрібно, додатково сортуючи організми. Підраховують чисельність кожного виду. Після підрахунку організми зважують на технічних та торсійних вагах (дрібні форми). Перед зважуванням організми позбавляють води, осушуючи їх на фільтрувальному папері до зникнення на папері плям води. Дані вносять до протоколу, перераховуючи отримані чисельність та масу на 1 м² субстрату.

Бактеріобентос. Пробу ґрунту розводять стерильною водою в стерильних умовах до отримання рідкої суспензії, яку досліджують методом розведень (див. лабораторну роботу №5). Перераховують кількість бактерій на 1 г ґрунту. Для виділення анаеробних бактерій використовують спеціальні середовища в пробірках, ізольовані від повітря шаром вазелінового масла.

Мікро- та мейзообентос. Дослідження мейобентосних проб, отриманих методом флотації принципово не відрізняється від дослідження проб мезозоопланктону. Коли на меті стоїть вивчення проб в живому вигляді, а проби являють собою керни ґрунту, використовують метод екстракції організмів з субстрату за *методом Уліга*. Зазвичай дослідження живих проб здійснюють на сипких субстратах (пісок). Пробу поміщають в спеціальну ємність (циліндр) відповідного до керну ґрунту розміру, дно якого затягнуто ситом з вічком 0,1 – 0,3 мм, в залежності від розміру організмів та механічного складу ґрунту. Зверху на ґрунт накладають шар змоченої бавовни (вати) або фільтрувального паперу. На вату кладуть шар розмеленого льоду, заздалегідь виготовленого з фільтрованої води з місця відбору проб. Кількість льоду визначають дослідним шляхом. Циліндр розміщують над кристалізатором або чашкою Петрі і лишають до повного

танення льоду. По закінченні танення поверхню сита ретельно промивають струменем фільтрованої води з піпетки, змиваючи організми, що можуть лишатися на ситі в чашку з пробою. Об'єм отриманої проби вимірюють циліндром. Таким чином отримують рідку пробу, дослідження якої принципово не відрізняється від дослідження мікро- чи мезозоопланктону. Дослідження якісного складу можна проводити, збовтавши пробу ґрунту з фільтрованою водою, додавши до води розчин $MgCl_2$ (концентрацію вибирають дослідним шляхом) для наркотизації організмів і зменшення тигмотаксису. Окремі організми виловлюють мікропіпеткою і на тимчасових мікропрепаратах досліджують під мікроскопом. Дослідження кількісних живих проб на мулистих ґрунтах проводять, вивчаючи верхній шар намулку над керном. Зазвичай щільний ґрунт не заселяється мікроорганізмами, тому обмежуються вивченням намулку, якій повністю переносять піпеткою з широким отвором в камеру Богорова і досліджують звичайним способом. Проби для цього повинні транспортуватися в суворо вертикальному стані в трубках з шаром води над ґрунтом. Перед вивченням пробу відстоюють кілька хвилин, воду за допомогою піпетки видаляють, лишаючи шар 0,5 – 1 см.

Завдання.

1. Обробити пробу макрзообентосу.
2. Обробити фіксовану пробу мейобентосу, отриману флотаційним методом.
3. Обробити пробу методом екстракції та дослідити її.

Матеріал і обладнання: проба макрзообентосу, проба мейобентосу, свіжа проба (кern) ґрунту, кювети, гумова груша з ситом на кінці, пінцети, препарувальні голки, шпатель, чашки Петрі, технічні та торсійні ваги, мірні циліндри, фільтрувальний папір, вата, крига, розчин $MgCl_2$ (30%), камера Богорова, піпетка з широким отвором, циліндри з ситом для екстракції, мікропіпетка з мундштуком, стереомікроскоп, мікроскоп, предметні та покривні скельця, віск або пластилін.

Порядок роботи.

1. Помістити промиту пробу в кювету з водою, відгорнути шпателем скупчення до протилежного краю кювети. Надлишок води відібрати грушею, залишивши шар 0,5 – 1 см.
2. Розібрати пробу за допомогою голок та пінцетів по чашках.
3. Дослідити чашки під бінокляром. замалювати окремих представників зообентосу.
4. Обсушити на фільтрувальному папері вміст кожної чашки та зважити організми.
5. Занести дані в протокол та перерахувати кількість організмів на 1 м^2 .

6. Піпеткою з широким отвором помістити аліквоту проби мейобентосу (5 мл) в камеру Богорова.
7. Підрахувати кількість організмів мейобентосу (забарвлені в рожевий колір).
8. За допомогою мікропіпетки або тонкої голки перенести окремі організми на предметне скло та дослідити під мікроскопом на малому збільшенні. Замалювати та виміряти окремих представників мейобентосу.
9. Перерахувати кількість мейобентосу на 1 м² та занести дані в протокол.
10. Помістити kern ґрунту в циліндр для екстракції.
11. Помістити на поверхню керну вату та льод (приблизно 1 столову ложку)
12. Помістити циліндр в чашку Петрі й дочекатися повного танення льоду.
13. Виміряти циліндром об'єм отриманої проби.
14. Див. п. 6.
15. Підрахувати організми мейобентосу.
16. Мікропіпеткою або голкою помістити виловлені організми (мейо- або мікробентосу) на предметне скло, покрити покривним склом з ніжками. Дослідити мікропрепарат під мікроскопом.
17. Виміряти та замалювати живих представників мікро- та мейобентосу.
18. Занести дані в протокол, перерахувавши кількість мейобентосу на 1 м².

Контрольні питання.

1. Чому при обробці макрозообентосу використовують різні ваги?
2. Для чого використовують підфарбування мейобентосних організмів?
3. Чому проби мікробентосу вивчають в живому вигляді?
4. Для чого наркотизують дрібних бентичних організмів?
5. Перелічить переваги та недоліки флотаційного методу.
6. Перелічить переваги та недоліки екстракційного методу.

Лабораторна робота №9

Типи водної рослинності. Методи відбору мікрофітобентосу і макрофітів.

Серед автотрофів у водоймах виділяють як мікро-, так і макроформи. Обидві ланки відіграють дуже важливу роль в продукції органічної речовини у водоймах і служать початковим елементом більшості трофічних ланцюгів.

Мікрофітобентос. Основним компонентом мікрофітобентосу у водоймах різних типів є одноклітинні та колоніальні організми, які ще називають мікроводорості, хоча більшість з них (за сучасними даними) із справжніми водоростями не мають нічого спільного окрім здатності до

фотосинтезу. Відбір проб мікрофітів принципово не відрізняється від такого для мікробентосу (див. лабораторну роботу №7).

Макрофітобентос. До складу макрофітобентосу відносять водорості-макрофіти та вищі водні рослини. Перші переважають у морях, другі – в континентальних прісних водоймах. Більшість водоростей є перифітонними формами, тому відбір проб істотно не відрізняється від збору зооперифітону. Незначні відмінності полягають в тому, що кількість проб макрофітів з певної ділянки дна або гідротехнічних споруд зазвичай більше внаслідок того, що макрофіти розподілені вкрай нерівномірно і здатні утворювати зарості з домінуванням того чи іншого виду. З іншого боку макрофіти – нерухомі об'єкти, що значно полегшує роботу водолазів. Також для полегшення роботи можна використовувати спеціальну пінопластову пластину із крізними отворами, дно яких затягнуто ситом, куди поміщають окремі проби без потреби кожного разу виносити пробу на берег. Пластина просто буксується на мотузці за пловцем-збиральником. Проби макрофітів загортаються кожна в окрему марлю з етикеткою. Кожна зв'язана таким чином проба поміщається в велику ємність (бідон чи банку з широким горлом) з фіксатором якщо це необхідно. Для коректної оцінки розподілу окремих видів макрофітів на одиницю виміру субстрату використовують візуальні оцінки, зокрема площу проективного покриття дна (у %). Цінну інформацію про склад та розподіл макрофітів дають фото- та відеозйомка, особливо дистанційні у випадках, коли використання водолазної техніки неможливо.

Вища водна рослинність. При вивченні вищої рослинності водойм дослідник має справу з різними за екологією та відношенням до води рослинами. Розрізняють *гідрофіти* – справжні водні рослини, повністю, або більшою частиною занурені в воду, *гігрофіти* – рослини надлишкового зволоження та перехідну між ними групу – *гідрогігрофіти*, або *гелофіти* – болотні (земноводні) рослини. Інтерес для гідробіолога складають гідрофіти та гелофіти, а також ті з гігрофітів, які здатні утворювати у воді стійкі зарості. У свою чергу гідрофіти та гелофіти поділяють на декілька груп.

Гідрофіти поділяють на **занурені** та **плаваючі**. Занурені поділяють на **повністю занурені**, увесь цикл розвитку яких проходить під водою, які, в свою чергу, можуть бути **вкорінені** й **невкорінені**; та **частково занурені**, які мають надводні генеративні органи (квітки) і теж представлені формами що вкорінюються та такими що не вкорінюються. Плаваючі на поверхні води рослини можуть бути **вільноплаваючими** та **вкоріненими**. Іноді рослинність поділяють на **м'яку** (більшість гідрофітів з нижнім листям) та **жорстку** (більшість гелофітів). Для якісного та кількісного збору вищої водної рослинності застосовують різні пристосування та прилади, сконструйовані згідно із специфікою об'єкту.

Якісний відбір. Щоб добути рослини з глибини 2 – 3 м використовують грабельки (3-х чи 6-зубчасті) на дерев'яній штанзі, довжиною 3 – 4 м. Для глибин перевищуючих 2,5 – 3 м використовують якорі та кітви з різною кількістю зубців та різними їх розмірами, масою не більше 0,5 – 1 кг. Для кращого зачеплення рослин на зубці іноді намотують м'який дріт або мотузку. На мотузці або лінії, довжина якого мінімум в 6 разів повинна перевищувати глибину місця відбору, його волочуть за човном по дну. Іноді використовують звичайні граблі (металеву частину), зв'язані між собою зубцями назовні. Рідше для якісних зборів використовують різноманітні драги – прямокутні або овальні низькі (15 – 20 см) металеві рамки завширшки 35 – 40 см з мішком. Довгі краї рам інколи оздоблюють зубцями. Драгу також тягнуть за човном. Для візуального спостереження (визначення складу, проективного покриття тощо) також використовують водолазну та легководолазну техніку, або користуються спеціальними оглядовими тубами. Їх виготовляють з жести, фанери або пластика у вигляді зрізаної піраміди чи конусу, до основи яких герметично прилаштовують скло, а в верхній частині – ручки.

Кількісний облік вищої водної рослинності. Для цього використовують різнотипні конструкції, основна мета яких – обмежити певну площу ділянки, де ростуть рослини. В подальшому з цієї площі рослинність зрізують або скошують. В практиці широко використовують різноманітні *рами* з площею 1, 0,5 та 0,25 м² чи інших розмірів, квадратні, прямокутні або круглі. Виготовляються такі рами з дерева, алюмінію, пластику, синтетичних труб з розрахунком на їхню плавучість. Такі рами можна обладнати масштабною сіткою з ліски (для накладання на поверхню води). Для низьких рослин на дні такі рами можна занурювати, закріплюючи на дні металевими скобами. Якщо рослини досить високо здіймаються над водою, використовують розбірні рами, які виготовляють з двох частин у вигляді двох рейок під прямим кутом. Іноді в кути вертикально приєднують шести для встромлення їх в ґрунт. Двома половинами рами ніби оточують зарості, з'єднують половини, якщо потрібно, закріплюють в ґрунті і отримують досліджувану ділянку. Такі рами використовують для глибин до 2м. Роботи проводять зазвичай в тиху погоду.

Подвійна кругла рама для визначення покриття, трапляння та чисельності водних рослин складається з металічної штанги і двох рухомих муфт на ній. В муфтах робляться радіально отвори з різьбою, куди вгвинчуються стрижені такої довжини, щоб окружність, яка їх описує мала певну площу (від 0,1 м² до 1 м²). Зібрану раму занурюють у підводні зарості, встромлюючи штангу в ґрунт. Нижня муфта повинна бути дещо над дном. Верхню муфту закріплюють на поверхні води. Підраховують рослини всередині секторів, на поверхні враховують плаваючі рослини та

листя вкорінених форм. Раму для кращої видимості фарбують у білий чи інший яскравий колір.

Рама-вила завширшки 0,5 м має 3 довгих зубці та обмежує площу 0,25 м². Іноді її роблять плавучою. Обмеживши вилкою ділянку скошують рослинність всередині. Укіс здійснюють за допомогою звичайної коси, в якої вкорочують лезо до 20 – 25 см.

Каркасна рама використовується на течії. Виготовляється у вигляді кубічного каркасу, бокові стінки якого затягнуті протимоскітною сіткою для попередження зносу викошених рослин течією. Нижні кути обладнуються загостреними штифтами для встромляння каркасу в ґрунт.

Заростечерпачі. Ці прилади сконструйовані за типом дночерпачів, але ковші (губки) робляться досить широкими і більш легкими, з сітчастими стінками. Ножі оздоблюються зубцями, які при з'єднанні ковшів входять один поміж одного. Існує багато модифікацій заростечерпачів. Найбільш поширеним є **заростечерпач Бернатовича**, який має площу збору 1/6 м². Для збору рослинності з 1 м² треба взяти 6 проб, що дає можливість репрезентативно дослідити рослинність. Вага приладу – 6,5 кг. Принцип роботи – аналогічний дночерпачам системи Екмана-Берджа, які замикаються не під власною вагою, а під дією пружин, які спрацьовують за допомогою посильного грузила. **Заростечерпач Бута** використовується не тільки для дослідження водної рослинності, але й фітофільної фауни. Він являє собою трикутну сітчасту призму (мішок), яка на штанзі занурюється у воду догори дном. Нижня частина мішку виготовлена у вигляді великих ножиців, якими зрізують накриту мішком рослинність. Дуже простий у використанні та виготовленні **прилад Говарда-Вільямса та Лонгмана** для кількісного обліку водної рослинності. На штанзі з опірним штирем внизу та ручкою в верхній частині приладнані над штирем кілька серпоподібних ножів (довжина їх довільна, залежить від площі, яка потрібна досліднику), розташованих у вигляді пропелера. На деякій відстані над ними розташовані (теж у вигляді пропелера) серпоподібні стрижні такого ж розміру, як і ножі. Обертаючи штангу навколо осі, скошують рослини, які намотуються на стрижні.

Кожна отримана проба загортається у марлю або кладеться у ємність відповідних розмірів та етикетується.

Принципи роботи з вивчення водних фітоценозів повинні відповідати репрезентативності з урахуванням кількості проб та просторового розподілу рослинності. Часто використовують метод гідроботанічних трансект. Перпендикулярно до берега планують розрізи на відстані 0,5 – 1 км один від одного. На кожному розрізі планують стандартні глибини (станції): 0, 1, 2, 3, 10, 20, 30, 40, 50 і 60 м. Глибини вище 10 м актуальні для моря і досліджуються за допомогою спеціальної техніки. На кожній станції збирають по 4 рамки, площею 0,25 м², тобто 1 м².

Завдання.

1. Ознайомитися з приладами для збору макрофітів
2. Ознайомитися з представниками різних типів вищої водної рослинності, використовуючи живий, гербарний та табличний матеріал.
3. Ознайомитися з приладами для кількісного та якісного дослідження вищої водної рослинності. Визначити принцип їх дії.

Матеріал та обладнання: Рамки та шкребки для збору макрофітів, пластина для проб, оглядова туба, таблиці з зображенням приладів для збору вищої водної рослинності. Таблиці з зображенням представників різних типів водної рослинності. Гербарій гідрофітів. Акваріуми з різними гідрофітами.

Порядок роботи.

1. Розглянути рамки та шкребки для збору водоростей-макрофітів. Замалювати прилади.
2. Розглянути оглядову тубу та пластину з отворами. Замалювати прилади, визначивши їх конструктивні особливості.
3. Використовуючи гербарний та табличний матеріал замалювати представників гідрофітів, записати латинську назву, визначити пристосування вищих рослин до життя у воді.
4. Розглянути живі акваріумні гідрофіти. Замалювати рослини, визначити пристосування для життя у воді, записати латинську назву розглянутих видів, визначити, до якого типу рослинності вони належать.
5. Ознайомитися з конструктивними особливостями рамок та заростечерпачів на табличному матеріалі. Замалювати прилади та описати принцип їх дії.

Контрольні питання.

1. Які прийоми застосовують при дослідженні макрофітів.
2. Для чого важливі візуальні оцінки стану угруповань заростей макрофітів та гідрофітів?
3. Які типи водної рослинності складають флору водойм?
4. Які прилади використовують для якісного дослідження гідрофітів?
5. Які прилади застосовують для кількісного обліку гідрофітів?
6. Які принципи використовують при плануванні досліджень водних фітоценозів?

Лабораторна робота №10

Методи обробки проб мікрофітобентосу і макрофітів. Визначення морфо-функціональних показників.

Мікрофітобентос представлений різними систематичними групами

одноклітинних та колоніальних організмів, більшість з яких у якості пристосувань до життя в товщі ґрунту та на поверхні субстратів мають досить міцну поверхню клітин та різноманітні засоби прикріплення до субстрату, зокрема здатність до тигмотаксису і органи прикріплення. Ці фактори враховуються при обробці проб мікрофітобентосу. Методика кількісної обробки проб передбачає отримання рідкої проби з проби ґрунту чи іншого субстрату (макрофіти, ЕС тощо). Отримана рідка проба обробляється подібно згущеній пробі фітопланктону. Для відмивання мікрофітів від ґрунту чи субстратів використовують різні засоби.

Флотація. Пробу ґрунту збовтують з фільтрованою водою з водоюми. Отриману суміш піддають дії ультразвуку у спеціальних ваннах для відокремлення клітин від часток ґрунту. Після осідання ґрунту поверхневий шар зливають в окрему ємність. Процедура повторюють кілька разів (визначають дослідним шляхом) з новими порціями води. Отриману рідку пробу фіксують та згущують відстоюванням. Вимірюють об'єм проби. Для прискорення осідання ґрунту, особливо якщо в ньому переважають дрібні фракції застосовують кругове відмивання у конічних колбах або годинникових скельцях. Порцію обробленої ультразвуком проби переносять у колбу чи скло і круговими рухами, або за допомогою піпетки (на склі) створюють водяний вихор, який сприяє швидкому осіданню в центрі дна колби або скла часток ґрунту. Процедуру повторюють кілька разів, мінімізуючи кількість мулу, який заважає подальшій мікроскопії проби. Треба зауважити, що повністю позбавитися дрібних часток, розміри яких співпадають або близькі до розмірів клітин не вдається.

Фільтрація. Подібно до відмивання макрозообентосу, використовують систему сит, але розміри та вічка сит набагато менші. Рідку суміш ґрунту з водою, оброблену ультразвуком обережно фільтрують крізь сита з вічком 250 мкм, далі – 100 мкм і концентрують на ситі з вічком 20 мкм. З цього сита проб змивають у ємність і вимірюють її об'єм.

Розчинення ґрунту. Цей палеонтологічний метод використовується для вивчення спочиваючих стадій (цист) дінофітових найпростіших. Збовтану пробу ґрунту, попередньо відфільтровану скрізь пластикове сито з вічком 120 – 250 мкм, або відмиту попереднім способом рідку пробу обробляють 10 хвилин 10% розчином HCl для видалення карбонатів. Відмивають від кислоти відстоюванням. Далі проба обробляється 1% КОН протягом 3 хвилин при 70°C для видалення органічних речовин і знову відмивається до нейтральної реакції. Дрібні піщинки розчиняють в пластикових пробірках концентрованою HF (**під тягою!**) при 70°C. Далі

пробу відмивають від залишків кислоти в центрифугі і виготовляють тимчасові або постійні (в гліцерин-желатині) мікропрепарати. Описана методика демонструє стійкість цист до агресивного середовища.

Механічне відмивання від субстрату. Для цього використовують різноманітні щітки, пензлики, шматочки пластикового сита тощо. Якщо проба у вигляді шматка субстрату (талом макрофіту, камінець, покривне чи предметне скло тощо) його також можна попередньо піддати дії ультразвуку.

Визначення багатьох представників мікробентосу засновано на будові зовнішніх покривів, зокрема стулках діатомей, панцирах десмідієвих та динофлагелят. Після кількісної обробки проби для вивчення якісного складу проби обробляють реактивами, що розчиняють клітини, лишаючи при цьому зовнішні оболонки. Для діатомових, доля яких за чисельністю та біомасою часто складає понад 95% найчастіше використовують метод спалення протопласту сірчаною кислотою. Пробу спочатку обробляють 10 хвилин 10% розчином HCl для видалення карбонатів. Після відмивання заливають концентрованою H₂SO₄ на кілька годин, ретельно перемішавши. Далі у пробу додають кілька кристаликів K₂Cr₂O₇ і перемішують до позеленіння маси. Масу виливають у пробірку з водою і одразу ретельно перемішують. Відмивають очищені стулки від кислоти водою на центрифугі. Зберігають у етанолі для подальшого виготовлення постійних препаратів. Інший метод придатний одночасно для діатомових і динофлагелят. Пробу згущують на центрифугі, зливають воду і заливають на 30 хвилин розчином гіпохлориту натрію (комерційної концентрації для побутової хімії). Далі 5 – 6 разів відмивають водою на центрифугі до зникнення запаху хлору. Досліджують стулки та панцири на тимчасових або постійних препаратах.

Макрофітобентос. Обробка проб полягає у розборі пінцетом та голками скупчення макрофітів у кюветі на окремі види, які розкладають по чашках Петрі, підраховуючи кількість таломів (якщо це можливо). Особливу увагу слід звернути на те, що багато дрібних водоростей є епіфітами на більш крупних, які, в свою чергу теж можуть заселяти інші макрофіти. Такі випадки обов'язково відмічають у протоколі. Макрофіти зважують, обсушивши на фільтрувальному папері до зникнення на ньому плям води. Визначають макрофіти на тимчасових мікропрепаратах шматочків таломів, або користуються лупою, бінокляром, лінійкою, штангенциркулем, мікрометром. Свіжий або фіксований матеріал також використовується в подальшому для визначення морфо-функційних показників. Вищі водні рослини визначають та зважують як і інші рослини.

Для збереження зразків таломів чи окремих рослин для подальшого

вивчення використовують *гербаризацію* матеріалу. Гербаризація вищих водних рослин не відрізняється від такої для інших рослин. Водорості гербаризують наступним чином. В кюветі з водою голками та пінцетом розправляють талом. Обережно підводять під нього лист щільного білого паперу і злегка притискуючи талом до листа разом плавно виймають з кювети. Лист підсушують в тіні і закладають між листів фільтрувального паперу у ботанічний прес. Листи паперу замінюють кілька разів на добу до повного висихання препарату (талом становиться дуже крихким), яке здійснюється протягом кількох діб.

Визначення структурно-функційних показників. До найбільш важливих морфо-функційних показників належить комплекс параметрів, пов'язаний з поверхнею водоростей та квіткових гідрофітів. Розрахунки *питомої поверхні S/W* (площа поверхні відносно маси макрофіту) поділяють на прямі та розрахункові, що базуються на алометричних залежностях. Пряме обчислення цього параметру досить трудомістка задача, тому в сучасній гідробіології використовують розрахункові методи. Все морфологічне різноманіття макрофітів – таломів, рослин та їх окремих частин можна звести до трьох основних геометричних форм – циліндру, пластині і кулі. Кожна форма має параметр, від якого залежить питома поверхня: для кулі та циліндру – це діаметр, для пластини – її товщина. Кожну рослину можна представити як сукупність таких елементів. В залежності від наявності елементів, таломи (або рослини) можна поділити на *прості* (циліндричний або пластинчастий) та *складні* (циліндричний, пластинчастий або змішаний). До простого типу належить талом з одним структурним елементом в якого залежні параметри відрізняються не більше ніж у 5 разів. До складного типу належать таломи в склад яких входять різні структурні елементи, або залежні параметри одного елементу відрізняються більше ніж в 5 разів. Складний змішаний талом містить структурні елементи трьох типів (циліндр, пластина, куля).

Для визначення *S/W* талому спочатку визначають *S/W* його структурних елементів. Для циліндричного типу він обчислюється за формулою $S/W = 3334 \cdot d_x^{-0,916}$, для пластини та кулі, відповідно, $S/W = 2000 \cdot h_x^{-0,988}$ та $S/W = 6058.87 \cdot d_x^{-1,0026}$, де d_x – середній діаметр структурного елементу, h_x – середня товщина пластини. Питома поверхня *S/W* вимірюється в $\text{м}^2 \cdot \text{кг}^{-1}$. Для простих таломів *S/W* обчислюється простою підстановкою виміряних параметрів у формулу. Для складних спочатку обчислюється *S/W* різних елементів, потім вони окремо зважуються і обчислюється їх поверхня помноженням *S/W* кожного елементу на його вагу. Далі поверхні складають та ділять на масу всього талому.

Визначення середніх показників d_x та h_x великих таломів та у вищих

рослин здійснюється виміром їх лінійкою, штангенциркулем, мікрометром, або під бінокляром окуляр-мікрометром. Для дрібних таломів виготовляють тимчасові мікропрепарати з цілих таломів чи їх частин, або роблять зрізи окремих елементів. Для цього використовують серцевину бузини, куди за щеплюється частина талому (наприклад, пластина *Enteromorpha spp.*) і лезо безпечної бритви чи мікротомний ніж. Зріз роблять якомога тонким, рухаючи лезо в напрямку до себе і трохи вбік. Зрізи поміщають на предметне скло, покривають покривним і вимірюють під мікроскопом за допомогою окуляр-мікрометру.

Завдання.

1. Відмити одним із способів пробу мікрофітобентосу і дослідити її під мікроскопом.
2. Розібрати пробу макрофітобентосу.
3. Визначити морфо-функційні показники (S/W) для окремих таломів макрофітів та вищих квіткових рослин.

Матеріал та обладнання: Проба ґрунту (морський пісок), проба макрофітів свіжа (*Ceramium rubrum*, *Urospora penicilliformis*, *Enteromorpha intestinalis*), екземпляри валіснерії спіральної або елодеї (*Vallisneria spiralis*, *Elodea canadensis*), фільтрувальний папір, препарувальні голки, пінцети, ваги лабораторні технічні, предметні та покривні скельця, серцевина бузини (шматочки 5 – 7 см), лезо безпечної бритви, мікроскоп, віск або пластилін, циліндри мірні, стакани, піпетки, чашки Петрі, інженерний калькулятор.

Порядок роботи.

1. Відмити пробу піску методом флотації: помістити пробу в стакан і ретельно перемішати з фільтрованою або водопровідною водою. Злити верхній шар у інший стакан після осідання ґрунту. Повторити процедуру, додавши нову порцію відмитої проби до попередньої. Виміряти об'єм отриманої проби.
2. Аліквоту проби (0,05 мл) помістити на предметне скло, покрити покривним склом з восковими ніжками.
3. Під мікроскопом виміряти довжину покривного скла у полях зору.
4. Підрахувати кількість клітин діатомових та інших водоростей в 5 або 10 смужках від краю до краю скла. Помножити кількість кожного виду на коефіцієнт, отриманий поділом довжини скла на 5 (10).
5. Перерахувати кількість клітин на см² поверхні чи об'єм (см³) ґрунту.
6. Замалювати та виміряти окремих представників мікрофітів.
7. В кювету помістити пробу макрофітів.

8. Пінцетом та голкою розділити таломи окремих видів по чашках.
9. Визначити та зважити макрофіти, обсушивши їх на фільтрувальному папері. Перерахувати кількість та масу макрофітів на м² дна (чи поверхні субстрату). Дані занести в протокол.
10. Обрати один з таломів макрофіту для визначення S/W .
11. Визначити тип структурних елементів та тип талому.
12. Виготовити мікропрепарат структурних елементів.
13. Виміряти під мікроскопом 20 – 30 параметрів кожного структурного елементу. Обчислити середнє арифметичне.
14. Зважити структурні елементи, розчленувавши на них талом.
15. Користуючись відповідними рівняннями обчислити S/W талому.
16. Обрати вищу водну рослину для визначення S/W .
17. Див. пп. 11 – 15.
18. Зробити висновки.

Контрольні питання.

1. Які методи використовують для дослідження мікрофітобентосу?
2. Для чого макрофіти перед зважуванням обсушують?
3. Які бувають типи таломів? Чим вони відрізняються?
4. Які основні структурні елементи в будові макрофітів?
5. В чому переваги розрахункових методів обчислення S/W ?
6. В чому особливості визначення S/W таломів складного типу?

Лабораторна робота №11 **Методи збору та обробки фітофільної фауни.**

Заростеві угруповання фітофільної фауни представлені безхребетними, які в період вегетації рослинності використовують її як субстрат, а деякі як джерело їжі. Субстрат-макрофіт набагато складніше, ніж субстрат-грунт, бо це живий організм, який постійно змінюється і кондиціонує середовище, виділяючи кисень, органічні речовини та метаболіти, які сприяють осіданню на них личинок донних тварин. Роль макрофіту в угрупованні не менш важлива за інші компоненти – взаємодії між рослиною та тваринами не обмежуються лише *тонічними зв'язками*. Заселення заростей макрофітів безхребетними представляє процес, який щорічно відновляється й може варіювати в залежності від різних факторів, зокрема від стадії вегетації рослини. Значну частину населення макрофітів складають личинки комах, які протягом літа завершують свій розвиток у водоймі й залишають його. Тобто біоценози заростей макрофітів є *відкритими системами*.

Більшість тварин-фітофілів мають пристосування для існування на рослинах. Перш за все це *спеціальні органи прикріплення* – слизові та павутинні залози, секрет яких використовується або безпосередньо для прикріплення, або використовується для склеювання решток рослин та інших матеріалів для побудови трубкоподібних домиків (*фабричні зв'язки*). Будова кінцівок багатьох ракоподібних та комах найкраще відповідає закріпленню на таломач чи пагонах. До рослин, або інших тварин-фітофілів прикріплюються сидячі тварини. Прикріплюючись до рухливих тварин, сесильні форми здатні обживати більший життєвий простір (*форичні зв'язки*). Молюски та ракоподібні, поверхня яких заселена нерухомими організмами менш помітні для хижаків та потенційних жертв. *Трофічні зв'язки* базуються на включенні до раціону тварин живих або відмерлих частин макрофіту а також інших фітофілів.

Епібіонтні тварини отримують ще цілий ряд переваг. У заростях, завдяки гнучкості таломів чи пагонів менше відчувається руйнівна сила хвиль; прикріплені до рослин безхребетні підносячись над ґрунтом менш травмуються, запобігають перегріву та переохолодженню в мілководній зоні; тварини використовують переваги найліпшої освітленості, або, навпаки, мають змогу оселятися на затінених ділянках. В заростях гідробіонти (не тільки безхребетні, але й риби) ховаються від хижаків, приймаючи відповідне *маскуюче забарвлення*. Деякі оселяються, або проводять личинкові стадії всередині рослин (*мінуючі форми*).

Дослідження угруповань заростей макрофітів, як правило, проводять водночас з дослідженням самих макрофітів або вищих квіткових рослин. Використовують для цього ті самі прилади та принципи. Отриману кількісну пробу фіксують, або в живому вигляді розбирають в лабораторії, ретельно обстежуючи кожен талом, або кожену рослину.

В морських водах, де переважають водорості-макрофіти, якісний склад вивчають, обов'язково виймаючи макрофіти на поверхню. Вилов тварин для якісного аналізу в прісних водоймах проводиться сачком або шкребком у зоні занурених у воду рослин (для якісного аналізу біоценозів). При цьому, у річках проти течії збиральник здійснює кілька плавних рухів сачком або шкребком, щораз після чергового змаху виймаючи сачок з поди, інакше тварини будуть вимиті з мішка. Великих тварин із сачка вибирають пінцетом і переносять і банку з формаліном чи мікроакваріум. Більш дрібних змивають зі стінок мішка струменем води (з кухля, гумової груші) і концентрують у нижній частині мішка, звідки переносять тварин безпосередньо в банку, вивернувши й зануривши частину мішка з фауною в банку з водою або 4-10%-ним розчином формаліну.

Напівзанурену, тверду рослинність, таку як очерет, рогоз, важко обловити сачком. Тому частину макрофітів із зони жорсткої рослинності

виривають із коренем, причому попередньо ножицями можна зрізати надводну частину рослин. Рослини поміщають у таз із водою, промивають, щоб змити рухливих тварин, і оглядають для виявлення прикріплених форм і тварин-мінерів. З таза воду відфільтровують через сачок, а залишок поміщають у банку з формаліном. Ретельно оглядають кореневу систему, тому що тут можна виявити личинок поденок, двостулкових молюсків, п'явок, олігохет. Необхідно подібним чином оглянути й кілька екземплярів м'якої рослинності, щоб виявити прикріплені форми, мінерів, а також мешканців кореневої системи.

При роботі на річці збір фітофільної фауни проводять у прибережній зоні обох берегів. Вилов тварин, які можуть залишати субстрат (рослинність, поверхня ґрунту тощо), проводиться одночасно зі збором фауни заростей під час облову рослинності сачком або шкребком. У більш глибоких місцях застосовують спеціальні знаряддя лову організмів планкто-бентосу – трали, а також заростечерпачі Бута та інші.

Завдання. Ознайомитися з представниками фітофільної фауни. Визначити пристосування для життя на рослинах. Розібрати свіжу пробу макрофітів. Визначити і замалювати знайдених представників, відмітивши пристосування для життя на макрофітах.

Матеріал та обладнання: Табличний матеріал з зображенням представників фітофільної фауни. Постійні макропрепарати і колекції фітофільних видів. Проба макрофітів з узбережжя моря. Кювети, чашки Петрі, препарувальні голки, пінцети, скальпелі, піпетки, стереомікроскоп.

Порядок роботи.

1. Розглянути таблиці і макропрепарати окремих видів фітофільної фауни. Замалювати представників, записати їх латинську назву.
2. З фіксованих колекцій піпеткою чи пінцетом відібрати організми в чашки Петрі і роздивитися під бінокуляром.
3. Визначити знайдені види, замалювати, записати латинську назву, визначити та відмітити пристосування для життя на рослинах.
4. Пробу макрофітів помістити в кювету з морською водою.
5. Пінцетом та голками розібрати пробу на окремі види макрофітів, розклавши їх по чашках Петрі.
6. З кожної чашки макрофіти перенести в окрему кювету.
7. За допомогою голки, скальпелю та пінцету ретельно дослідити кожний талом та фрагмент талому, переносячи знайдені організми у чашку Петрі.
8. Дослідити організми під бінокуляром, визначити і підрахувати окремих представників.

9. Замалювати окремих представників фітофільної фауни, записати латинську назву, визначити пристосування для життя на рослинах.
10. Зробити висновки.

Контрольні питання.

1. Охарактеризуйте біоценоз заростей макрофітів.
2. Які пристосування у представників фітофільної фауни до умов існування на рослинах?
3. Які зв'язки мають місце в біоценозах заростей макрофітів?
4. Які методи і принципи використовуються під час відбору фітофільної фауни?
5. Які відмінності у прісноводної та морської фітофільної фауни?
6. Які особливості відбору фітофільної фауни в морських, стоячих прісних водах та річках?

Лабораторна робота №12

Загальні методи визначення абіотичних параметрів.

Більшість параметрів, які в першу чергу цікавлять гідробіологів, вимірюється в польових умовах. Більш складні аналізи абіотичних параметрів, такі як концентрація солей азоту, фосфору, важких металів, вуглекислоти та інші виконуються в хімічній лабораторії і розглядаються у відповідних спецкурсах.

Визначення прозорості й освітленості водойми. Прозорість водойми визначається за допомогою диска Секі або білого кола з порцеляни, пластмаси (Ø 15 – 20 см). На мотузці опускають диск у воду й відзначають момент зникнення диска. По довжині мотузки визначають глибину проникнення сонячного світла. Значення освітленості визначають за допомогою люксметра.

Визначення температури. Температуру визначають за допомогою ртутного або спиртового скляного термометра або електронного сенсорного термометра. Калібрування приладу проводять по температурі води з льодом (0°C) і киплячої води (100°C, 1 атм). Визначення температури в поверхневих шарах водойми проводять безпосередньо на місці, у пробах з товщі води – відразу після відбору. Для цього часто використовують ртутний термометр в спеціальному футлярі з емністю, що оточує колбу з ртуттю (термометр Шпіндлера).

Визначення *pH*. При визначенні використовують польовий прецизійний *pH*-метр або індикаторний папір. У деяких випадках визначення *pH* проводять за допомогою колориметричного методу з використанням готових кислотно-основних індикаторів, що міняють колір

при певних значеннях pH . Для калібрування pH -метру й індикаторів використовують готові буферні розчини зі значеннями pH 4, 7, 9. Після визначення обов'язково промивають електроди дистильованою водою.

Визначення мінералізації. Використовують польовий прецизійний кондуктометр. Калібрування проводять із використанням розчину $NaCl$ різної концентрації. При високій мінералізації воду розбавляють дистильованою водою й визначають значення мінералізації. Потім за графіком залежності показань приладу й концентрації $NaCl$ записують значення мінералізації з урахуванням розведення. Після визначення обов'язково промивають електроди дистильованою водою.

Визначення окисно-відновного потенціалу (ОВП). ОВП (або Eh) визначають за допомогою польового прецизійного визначника редокс-потенціалу. Визначення ОВП проводиться в пробах води і ґрунту одразу після відбору або *in situ*. До показання приладу додається +200 мВ (потенціал електрода в порівнянні до водневого) і результат записується як значення ОВП (Eh) у мВ. Після визначення обов'язково промивають електроди дистильованою водою. Для калібрування електродів готують розчин Зобелла: 0,003 М $K_3[Fe(CN)]_6$ і 0,003 М $K_4[Fe(CN)]_6$ в 0,1М KCl . Цей стандартний розчин при 25°C показує значення ОВП (Eh) = 430 мВ.

Визначення розчиненого у воді кисню за методом Вінклера. Сутність методу полягає в тому, що гідрат закису марганцю в лужному розчині окислюється за рахунок розчиненого кисню з утворенням гідрату окиси марганцю. Для цього використовують наступні реактиви.

1. Розчин хлористого або сірчаноокислого марганцю: 42,5 г $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ або 48 г $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ розчиняють в 100 мл дистильованої води.
2. Лужний розчин йодистого калію: 75 г KOH або 50 г $NaOH$ і 15 г KI розчинити в 100 мл дистильованої води. Луги не повинні містити домішки нітратів, що виділяють йод з йодистого калію при підкисленні.
3. Розчин тіосульфату натрію 0,02 N. Готують розведенням 0,2N розчину $Na_2S_2O_3$.
4. Кислота соляна концентрована або кислота сірчана (1:1).
5. Розчин крохмалю 0,5%: 0,5 г розчинного крохмалю розмішати в невеликій кількості холодної води, влити приготовлений розчин в 100 мл киплячої води, кип'ятити протягом 1 – 2 хвилин, остудити.

Хід аналізу:

1. Воду з водойми наповнюють кисневі склянки, при цьому зливальну трубку або сифон опускають до дна склянки. Воду переливають через горловину склянки, щоб через воду не проскакували пухирці повітря. Склянки для аналізу беруть одного об'єму – 65 або 150 мл.
2. Після заповнення склянки водою в неї відразу ж вносять 0,5 мл розчину сірчаноокислого марганцю і 0,5 мл розчину йодистого калію з розрахунку на 100 мл води. Склянку закривають притертим корком так,

щоб не залишилося пухирців повітря, і вміст склянки ретельно збовтують.

3. Дають осаду осісти протягом приблизно 30 хв. Потім додають 0,5 мл кислоти, закривають склянку пробкою й ретельно збовтують так, щоб осад повністю розчинився. Зі склянки відбирають 50 мл рідини, вносять в конічну колбу й титрують тіосульфатом до блідо-жовтого кольору, після чого вносять кілька крапель крохмалю й титрують до знебарвлення.
4. Розрахунки кількості розчиненого у воді кисню визначають з формули: $C_{\text{кисню}} = N \cdot M \cdot 8 \cdot 1000 / V$, де $C_{\text{кисню}}$ – кількість розчиненого кисню, мг/л; M – кількість тіосульфату, що пішов на титрування 50 мл проби, мл; 8 – еквівалент кисню; N – нормальність тіосульфату (близько 0,02); 1000 – коефіцієнт для перерахування результатів на 1 л; V – кількість розчину, узятого для титрування, мл.

Перші два етапи зазвичай виконують на місці відбору проб, а титрування проводять в умовах лабораторії. Існують сучасні прилади, які одразу показують значення розчиненого кисню.

Визначення біологічного споживання кисню (БПК)₅. Пробу води набирають у три кисневі склянки із притертою пробкою. В одній одразу визначають вміст розчиненого кисню за методом Вінклера. Дві склянки інкубують у місці добору або в термостаті в лабораторії. Через 5 діб в них визначають концентрацію розчиненого кисню за методом Вінклера. Різниця між початковою й кінцевою концентрацією кисню дає величину біохімічного споживання кисню.

Завдання. Виміряти прозорість морської води. Виміряти температуру води. Виміряти pH та Eh . Виміряти солоність води. Відібрати проби на кисень в приурізовій зоні та на відстані кількох метрів, зафіксувати кисень. Визначити вміст кисню в лабораторії.

Матеріал та обладнання: Диск Секі на розлінованій мотузці, термометр Шпіндлера, батометр Майера, іономер польовий, індикаторний папір, склянки для визначення кисню, розчин солей марганцю, лужний розчин йодистого калію, розчин соляної кислоти, бюретка, стакани, конічні колби, розчин тіосульфату з фіксаналу, дистильована вода.

Порядок роботи.

1. З траверсу занурити диск Секі у воду до зникнення його з поля зору.
2. Виміряти глибину зникнення диску. Записати дані в польовий блокнот.
3. Занурити термометр Шпіндлера у воду в приурізовій зоні. Витримати 5 хвилин. Зняти показання температури і занести в блокнот.
4. Повторити те саме на відстані кількох метрів від урізу, зануривши термометр до дна.

5. Відібрати проби води склянкою в приурізовій зоні та батометром на відстані кількох метрів.
6. Налагодити іономер: промити електроди дистильованою водою, потім водою з проби. Спеціальним термометром виміряти температуру води в пробі. Внести температурну поправку відповідною ручкою приладу На портативному штативі занурити по черзі спеціальні електроди у стакан з пробєю, знімаючи показання pH , Eh , мінералізації. Після кожного вимірювання ополіскувати електроди дистиллятом. Занести показання в блокнот.
7. Відібрати проби води у кисневі склянки в приурізовій зоні, заповнивши доверху.
8. Піпеткою відібрати необхідну кількість розчинів солі марганцю та йодистого калію.
9. Зануривши піпетку до дна впустити по чергово розчини в склянку.
10. Одразу щільно закрити склянку корком так, щоб не залишалося пухирців повітря і ретельно збовтати склянку.
11. Повторити процедуру, відібравши пробу в кількох метрах від урізу батометром Майєра.
12. В лабораторії, відтитрувати пробу, згідно з вищеприведеною методикою та обчислити вміст кисню в пробах.
13. Перенести дані польових досліджень в таблицю і порівняти результати, отримані в приурізовій зоні та на віддаленні від берега.
14. Зробити висновки.

Контрольні питання.

1. Для чого вимірюється прозорість води?
2. Для чого термометр оснащують спеціальним футляром?
3. Що характеризують параметри pH та Eh ? В чому вони вимірюються?
4. Яке значення має мінералізація (солоність) води для гідробіонтів?
1. 5 Як змінюється вміст кисню з глибиною?
5. Що таке біологічне споживання кисню?

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Основний

1. *Бранцевич Л.Г., Лысенко Л.Н., Овод В.В., Гурбик А.В.* Микробиология: практикум. – Киев: «Вища школа», 1987. – 200 с.
2. *Брянцева Ю.В., Курилов А.В.* Расчет объемов клеток микроводорослей и планктонных инфузорий Черного моря // Методическое руководство. – Севастополь, ИнБЮМ: Препринт. – 20 с.
3. *Миничева Г.Г., Зотов А.Б., Косенко М.Н.* Методические рекомендации по определению морфофункциональных показателей одноклеточных и многоклеточных форм водной растительности.
4. *Песенко Ю.А.* Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. – М.: Наука, 1982. – 288 с.
5. *Руководство по методам биологического анализа морской воды и донных отложений* /под ред. А. В. Цыбань. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1980. – 177 с.
6. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений* /под ред. В.А. Абакумова. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1983. – 240 с.
7. *Яшинов В.А.* Практикум по гидробиологии. – М.: Высшая школа, 1969. – 428 с.

Додатковий

1. *Жуков Б.Ф.* Атлас пресноводных гетеротрофных жгутиконосцев. – Рыбинск, 1993. – 160 с.
2. *Зайцев Ю.П.* Введение в экологию Чёрного моря. – Одесса: «Эвен», 2006. – 224 с.
3. *Маккавеева Е.Б.* Беспозвоночные зарослей макрофитов Чёрного моря. – Киев: «Наукова думка». – 1979. – 228 с.
4. *Пианка Э.* «Эволюционная экология». – М.: Мир, 1981. – 400 с.
5. *Северо-западная часть Чёрного моря: биология и экология* / под ред. Зайцева Ю.П., Александрова Б.Г., Миничевой Г.Г. – Київ: «Наукова думка». – 703 с.
6. *Киселёв И.А.* Планктон морей и континентальньк водоемов. – Л.: Наука. – 1969. – 657с.
7. *Определитель фауны Черного и Азовского морей* / Под ред. Мордухай-Болтовского Ф.Д. – К.: Наукова думка. – Т.1. 1968, 436 с; Т.2. – 1969, 532 с; Т.3, – 1972, 336 с.

ЗБІРНИК МЕТОДИЧНИХ ВКАЗІВОК
ДО ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ З ДИСЦИПЛІНИ
«ГІДРОБІОЛОГІЯ»

Укладач: Курілов О.В.

Підписано до друку . .2010. Формат 60x84 / 16. Папір офсетний.
Друк офсетний. Ум. друк. арк. 9,0
Тираж 50 прим. Зам. №

Надруковано з готового оригінал – макета

Одеський державний екологічний університет
65016, м. Одеса, вул. Львівська, 15.