**Практична робота № 1-2**

**Дослідження фітопланктону**

*Мета:* Ознайомитися з основними видами фітопланктону Житомирської області.

**Теоретичні відомості**

Ф**ітопланктон** – угруповання мікроскопічних водоростей, що вегетують у водній товщі.

Незважаючи на багаточисельні наукові дискусії, тлумачення терміну «фітопланктон», а відповідно і його біологічної суті різними спеціалістами розуміється по-різному. Одні з них до угрупування «фітопланктон» включають тільки типово планктонні форми і виключають бентосні, перифітонні види водоростей. Інші вчені, незважаючи на екологічну характеристику водоростей, включають до «планктону» всі види, що в період відбору проб знаходилися у товщі води.

Вважаємо, що незалежно від екологічної характеристики водоростей, всі форми, що знаходяться у товщі води і формують відповідні структурно-функціональні показники фітопланктону як водоростевого угруповання, необхідно враховувати як планктонні.

**1. Методика відбору проб фітопланктону**. Відбір проб фітопланктону з метою проведення моніторингу здійснюється у місцях постійних гідробіологічних спостережень і, як правило, проводиться паралельно з відбором гідрохімічних проб. Спостереження повинні охопити всі біологічні сезони.

Отримання репрезентативних даних для оцінки структурно-функціональних характеристик фітопланктону, динаміки їх змін вимагає подекадний відбір проб. Важливо, щоб відбір проводився в чітко встановлений час. Найбільш оптимальним є часовий інтервал з десятої ранку до дванадцятої години дня.

На водосховищах і озерах для врахування вертикальної динаміки водоростей і мінімізації похибки, викликаної їх міграцією в товщі води, проби, починаючи з поверхневого горизонту, необхідно відбирати через кожен метр водної товщі. Відібрані проби зливаються в один посуд (як правило, це поліетиленове відро об'ємом 10,0-12,0 дм3), з якого потім відбираються інтегровані проби об'ємом 0,5-1,0 дм3. Об'єм інтегрованої проби 0,5 чи 1,0 дм3 визначається попередньою візуальною оцінкою розвитку фітопланктону:

* при інтенсивному розвитку планктонних водоростей (особливо при «цвітінні» води) достатньо аліквоти в об'ємі 0,5 дм3;
* при незначній вегетації водоростей, особливо в зимовий чи ранньовесняний-пізньоосінній періоди, необхідно відбирати 1,0 дм3.

Одна проба фіксується, а інша використовується для вивчення водоростей у живому стані. Проводити ці роботи вкрай необхідно, тому що при фіксуванні можливо пошкодження деяких морфологічних характеристик водоростевих клітин (джгутиків, виростів тощо), що є характерними систематичними ознаками, особливо для вольвоксових, перидинієвих, евгленових, золотистих водоростей. У разі декількоденних експедиційних виїздів для підтримання життєдіяльності водоростей зібрані проби переливають в скляні пляшки чи колбочки з білого скла та періодично (на декілька годин) виставляють на світло для підтримання фотосинтетичної активності водоростей і відповідно насичення води киснем. В разі, коли дослідження проводяться на річках чи каналах, які характеризуються значною турбулентністю водних мас і швидкістю течії від 0,5 м/с і вище, достатньо відбирати пробу з одного горизонту – 0,2-0,5 м.

Якщо потрібно взяти пробу з конкретної глибини, то використовують батометр(пляшка Мейєра, батомерт Рутнера). Враховуючи, що, як правило, паралельно з відбором фітопланктону відбираються гідрохімічні, мікробіологічні, токсикологічні проби – найбільш прийнятним є об'єм батометра 3-5 дм3. На мілководних станціях, де глибини не перевищують 2,0 м, можливий відбір лише з одного горизонту, як правило, 0,2-0,5 м.

Для більш повного якісного вивчення видового і таксономічного (кількість родів, родин, порядків, класів, відділів) різноманіття водоростей, а також аналізу рідкісних видів чи видів-індикаторів забруднення проводиться відбір проб за допомогою планктонної сітки. Найчастіше використовують сітку Аптштейна (мала) – довжина конусу 55 см, діаметр вхідного отвору 25 см. Матеріалом сітки є шовковий або млиновий газ. Їх нумерація відповідає кількості вічок у см2. Наприклад, найбільш щільніші з них, №68 має 4624 пор/см2 з розміром кожної з них 0,076 мм, а №77 – 5929 пор/см2 і 0,066 мм відповідно. Можливо два варіанти якісного відбору проб фітопланктону:

* через планктонну сітку проціджується певний об'єм води (як правило, 50 чи 100 дм3). Об'єм проб визначається інтенсивністю розвитку фітопланктону. Чим менш інтенсивно розвиваються водорості, тим об'єм більший і навпаки;
* відбір проби виконують простим відловом. При цьому для розрахунку процідженого об'єму води враховують або час відлову, або глибину, на яку опускалась сітка.

Проби фітопланктону відбирають і зберігають в скляних пляшках чи поліетиленових флягах, відповідно відкаліброваних на 0,5 і 1,0 дм3, щільно закритих кришками. Пляшки (фляги) повинні ще в лабораторії бути добре вимиті з використанням миючих засобів (для поліетиленових фляг) чи хромованої суміші – для скляних пляшок. Перед наповненням чистий посуд необхідно 2-3 рази промити (100-200 мл) відібраною пробою. Всі пляшки (фляги) повинні мати етикетки. Можливо декілька варіантів:

* на весь посуд масляною чи емалевою фарбою наноситься цифрова нумерація;
* на посуд наклеюють медичний пластир, на якому олівцем або кульковою ручкою робиться відповідний запис.

На створі заповнюється етикетка на флязі з пробою. Окремо в щоденник обов'язкових відомостей записуються всі необхідні дані по відбору проби (найменування водойми, пункту, створу, дата відбору, число, місяць, рік, час відбору проби, прозорість, об'єм проби, температура води і повітря, кількість кисню, гідрометеорологічні дані – стан погоди та час відбору проби, наявність чи відсутність на поверхні води ознак «цвітіння», викликаного масовим розвитком водоростей, плівок нафтопродуктів, різних видів сміття тощо.

Після закінчення роботи на водоймі всі записи картки обов'язкових відомостей переносяться до прошнурованого і пронумерованого лабораторного журналу, який зберігається в лабораторії і фактично є офіційним документом, що засвідчує проведення польових досліджень.

**2. Методика визначення фітопланктону у воді.** Метод проведення гідробіологічного аналізу полягає в концентрації гідробіонтів на мембранних фільтрах № 6 і подальшого визначення кількісного вмісту фітопланктону в кл./см3 з визначенням до роду в рахунковій камері Ножотта або Горяєва. Оцінка якості річкової та питної води приводиться згідно нормативних документів, що регламентують вимоги на якість води джерела та питної води. Перелік основних гідробіонтів р. Тетерів та їх вплив на органолептичні показники якості води приведено в дод. 1 і 3.

Необхідні такі матеріали та реактиви для визначення фітопланктону: мікроскоп біологічний – Біолам, з імерсійним об’єктивом, з збільшенням не менше 300х з освітлювачем; камера для підрахунку фітопланктону типу Ножотта або Горєва; покривні скляні пластинки; мембранні фільтри № 6; посуд для кип’ятіння мембранних фільтрів – емальована кружка або каструля з кришкою; фільтрувальний столик з вакуумним насосом для концентрації проб; піпетки мірні 5; 10 см3; бактеріальна петля; стакан мірний 5; 10 см3; ємності обсягу 0,25; 0,5 дм3; дистильована вода.

Перед проведенням безпосереднього самого аналізу необхідно:

1. Підготувати фільтрувальну установки (перевіряється працездатність манометра, обпалюються лійки Гольдмана).

2. Обробити рахункові камери, покривні пластинки розчином спирту ректифікату.

3. Підготувати проби на визначення фітопланктону (фільтр за концентратом фітопланктону переноситься в бюкс з 5-10 мл дистильованої води).

Проведення аналізу: концентрат водоростей з фільтра щіточкою або бактеріальною петлею переносять у воду. Перемішують і піпеткою відбирають краплю концентрату, поміщають у рахункову камеру, щільно накривають покривною пластинкою, ретельно витісняючи зайву воду. Підрахунок клітин водоростей проводять на мікроскопі у 2-х площинах.

Фітопланктон розраховується в рахунковій камері Ножотта (дод. 2) об’ємом 0,02 см3 та кількістю полос 40. Розрахунок клітин у пробі розраховується за формулою:



де N – число клітин фітопланктону у 1 см3 води;

n – число клітин, знайдених при рахунковій камері;

b – об’єм концентрату, см3;

k – коефіцієнт камери з урахуванням числа визначених смуг;

V – об’єм проби, см3.

**Завдання 1**. Дати визначення фітопланктону. Ознайомитися з переліком нижчих водоростей, що найбільш часто зустрічаються у річці Тетерів (див. додаток 3).

**Завдання 2**. Заздалегідь провести відбір проб фітопланктону у 2-3 різних створах річки або струмка (або у різних водних об’єктах). Занотувати методику за якою проводився відбір проб зразків. Заповнити етикетку за зразком.

***Етикетка проби***

Водойма \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Пункт \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Створ \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Дата відбору \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**Завдання 3**. Підготувати та розглянути зразки води. Дати органолептичну характеристику запахів води кожного зразка в залежності від виду водоростей (див. додаток 1), а також колір, мутність.

**Завдання 4**. Ознайомитися та занотувати методику ідентифікації та підрахунку кількості фітопланктону у зразках води.

**Завдання 5**. За допомогою мікроскопу розглянути наявні у зразках види фітопланктону та замалювати їх.

**Завдання 6**. Скласти звіт і захистити роботу.

Додаток 1

Органолептична характеристика запахів води в залежності від виду водоростей

|  |  |
| --- | --- |
| Вид водоростей | Характеристика запахів |
| **Діатомові**  Стефанодискус  Астеріонела  Табелярія  Мелозіра, циклотела  **Зелені**  Сценедесмус, пандорина, еудорина  **Синьо-зелені**  Афанзомен  Осціляторія, мікроцістіс  **Золотисті**  Дінобріон  Передініум  Сінура  Маломонас  Цераніум | Фіалковий, ароматичний, землистий, геранієвий, рибний.  Слабовиражений землистий, при значних кількостях – запах герані, при великих кількостях – сильний рибний запах.  Ароматичний, геранієвий, рибний.  Ароматичний, землистий, геранієвий, фіалковий, рибний.  Трав’янистий, болотний, рибний.  Трави чи цвілі, настурції.  Гнильний, болотний, гнойовий.  Фіалковий, рибний.  Рибний, устричний.  Огірковий, рибний.  Фіалковий, ароматичний, рибний.  Смердючий. |

Додаток 2

Камера для підрахунку фітопланктону типу Ножотта

V=0,02 см3 (40 полос)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Об’єм концентрата | Вся камера  40 площин | ½ камера  20 площин | ¼ камера  10 площин | 1/40 камера  1 площина | ½ ряда |
| 5 | к = 25 | к = 50 | к = 100 | к = 1000 | к = 2000 |
| 10 | 0,5 | 1 | 2 | 20 | 40 |
| 20 | 1 | 2 | 4 | 40 | 80 |
| 30 | 1,5 | 3 | 6 | 60 | 120 |
| 40 | 2 | 4 | 8 | 80 | 160 |

Додаток 3

Фітопланктон

Перелік нижчих водоростей, що найбільш часто зустрічаються у р. Тетерів

|  |  |
| --- | --- |
| Відділ | Вид |
| Діатомові  Динофітові  Євгленові  Зелені  -хламідомонадові  -протококові  -конюгати  Синьо-зелені | Астеріонела  Нітцшія  Навікула  Мелозіра  Стефанодискус  Сінедра  Фрагіларія  Перидиніум  Євглена  Трахеломонос  Факус  Хламідомонос  Анкістродесмус  Ооцистіс  Педіаструм  Тетраедрон  Тетраструм  Сценедесмус  Целяструм  Десмідіум  Космаріум  Анабена  Афанізомен  Глеокапса  Мікроцистіс  Мерісмопедія  Осцилаторія  Формідіум |