

МЕТОДИ

ГІДРОЕКОЛОГІЧНИХ

ДОСЛІДЖЕНЬ

ПОВЕРХНЕВИХ ВОД

Інститут гідробіології Національної академії наук України

МЕТОДИ ГІДРОЕКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ПОВЕРХНЕВИХ ВОД

За редакцією академіка НАН України
В. Д. Романенка

— 001335 —

Библиотека АЗЮНИИ

Київ – 2006

ББК 28.082.+26.22
УДК [(574.5:502.51):001.891] (28)

Рецензенти:

д. б. н., проф. М. О. Захарченко, д. б. н., проф. В. В. Серебряков

*Схвалено та рекомендовано до друку вченою радою
Інституту гідробіології НАН України*

Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод /
М54 О. М. Арсан, О. А. Давидов, Т. М. Дьяченко та ін.; За ред. В. Д. Романенка. – НАН України. Ін-т гідробіології. – К.: ЛОГОС, 2006. – 408 с.
ISBN 966-581-783-3

Видання є зібранням апробованих часом і новітніх методів визначення структурних і функціональних характеристик основних угруповань біоти водних екосистем (від водоростей до риб) та величин найважливіших екологічно значущих абіотичних факторів (гідрологічних, гідрофізичних, гідрохімічних, радіоекологічних, токсикологічних) у воді і донних відкладах водотоків і водойм України.

Наведено існуючі класифікації оцінки екологічного стану компонентів водних екосистем.

Видання розраховане на гідроекологів різного профілю, спеціалістів водного і рибного господарства, студентів вузів.

ББК 28.082.+26.22

ISBN 966-581-783-3

© Інститут гідробіології НАН України, 2006

~~7/11/06~~

Методи гідроекологічних досліджень та їх застосування для комплексної оцінки стану поверхневих вод

Однією з найбільш гострих екологічних проблем сучасності є забезпечення раціонального і невиснажливого використання водних об'єктів та їх охорона. За запасами водних ресурсів Україна займає одне з останніх місць серед європейських країн. На душу населення в Україні припадає близько 1,0 тис. м³ місцевих водних ресурсів, що значно менше, ніж середній показник водозабезпечення населення в Європі (4,6 тис. м³).

Дефіцит водних ресурсів та їх екстенсивне використання призводять до того, що здатність водойм до відновлення їх екосистем та якості води часто наближається до критичного рівня і поряд з цим зменшується біологічна різноманітність.

Підтримання задовільного стану поверхневих вод ускладнюється також природно-техногенними процесами, що відбуваються на значних площах на території України, серед яких:

- забруднення побутовими, токсичними та іншими відходами значних територій внаслідок їх техногенного навантаження, нераціональної структури виробництва та природокористування;
- забруднення стічними водами великих і малих річок як результат невиваженості і недалекоглядності в господарській діяльності;
- зарегулювання значної частини річкових систем, що зумовило порушення їх дренажної ролі, шляхів міграції риб та інших гідробіонтів, а на прилеглих територіях – підтоплення значних площ земель;
- радіонуклідне забруднення водозбірних територій басейнів Дніпра, Прип'яті та інших річок як результат Чорнобильської катастрофи.

В умовах, що склались, особливого значення набуває здійснення повсякденного моніторингу стану водних об'єктів як середовища існування живого населення (гідробіонтів) та ресурсу прісних вод для забезпечення питного водопостачання населення та різних галузей господарства. Дослідження стану континентальних водойм здійснюють фахівці різних природо- та водоохоронних організацій, наукових установ та вищих освітніх закладів.

У гідроекологічних дослідженнях для оцінки стану водних екосистем використовується багатий арсенал методичних підходів і методів. Це – спостереження в природі, пов'язані з вивченням видового складу живого населення,

кількісних показників окремих видів гідробіонтів, їх популяцій та біоценозів, а також натурний і лабораторний експеримент. Розглядаючи водну екосистему як складну структурну одиницю біосфери, гідроекологія користується різноманітними методами визначення її біологічної продуктивності (первинної і вторинної), з якою пов'язано вирішення практичних проблем аквакультури.

В умовах посиленого антропогенного пресу стан поверхневих водойм істотно погіршується. Цей процес безпосередньо пов'язаний з якістю води. Якість води – це характеристика її складу і властивостей, як компонента водної екосистеми і життєвого середовища гідробіонтів, а також її придатності для використання в народному господарстві. Якість води з екологічних позицій визначають за багатьма гідрофізичними, гідрохімічними та гідробіологічними показниками, які відображають особливості абіотичних і біотичних компонентів водних екосистем.

Для дослідження фізико-хімічних складових у гідроекології застосовуються методи визначення прозорості, вмісту біогенних і органічних речовин, компонентів сольового складу, активної реакції, розчиненого кисню, специфічних речовин токсичної та радіаційної дії та інших інгредієнтів. Біологічні методи оцінки якості води базуються на реакції планктону, бентосу, макрофітів і риб на вміст у водному середовищі хімічних речовин мінерального та органічного походження.

Ступінь забруднення водних об'єктів може оцінюватись за наявністю організмів-індикаторів на основі порівняння видової різноманітності, чисельності і біомаси водного населення забруднених і чистих зон. При цьому користуються абсолютними величинами та індексами видової різноманітності.

Метод оцінки якості води за видовим складом, показниками кількісного розвитку видів-індикаторів і структурою угруповань гідробіонтів називається біоіндикацією. Біоіндикатори – це організми або їх угруповання, наявність, кількість або особливість розвитку яких є показниками природних процесів або антропогенного впливу, що змінюють склад і властивості води як середовища існування гідробіонтів. За характеристиками водної флори і фауни, кількісним співвідношенням їх окремих представників можна судити про ступінь і характер забруднення водного середовища та стан водних об'єктів у цілому.

Біоіндикації за структурою та кількісними показниками угруповань гідробіонтів віддають беззаперечну перевагу перед іншими методами.

Для контролю токсичності вод річок, озер, водосховищ, морів та інших водних об'єктів, забруднених різними токсикантами, користуються методом біотестування. Біотестування – це встановлення токсичності окремих хімічних речовин або їх комплексів, які містяться у воді, стосовно гідробіонтів. Воно ґрунтується на кількісних оцінках зміни їх життєво важливих функцій або на

встановленні смертності (виживання) гідробіонтів (тест-об'єктів або тест-культур) під дією токсикантів. За технологією – це експеримент, що здійснюється з дотриманням певних методичних вимог. Досліди, в яких визначають токсичність води називають біотестами (англ. bioassay або biotesting).

У країнах Європейського Союзу в сучасний період широко запроваджується система оцінки стану водних об'єктів за біологічними показниками. Якість води значною мірою пов'язана з функціонуванням екосистеми водного об'єкта і тому прямо залежить від її екологічного стану.

Згідно з Директивою 2000/60/ЄС Європейського Парламенту та Ради Європи від 23 жовтня 2000 р. щодо водної політики запропонована принципова схема характеристики екологічного стану (status) водних об'єктів різного типу: природних (річок, озер, естуаріїв, прибережних ділянок моря), сильно змінених (водосховищ, опріснених лагун) і штучних (каналів, технічних водойм) на основі біологічних, гідроморфологічних і фізико-хімічних критеріїв.

Якщо раніше для оцінки стану водного об'єкта застосовувались переважно показники хімічного складу води, то в сучасній системі моніторингу пріоритетом є біологічний контроль, що здійснюється на основі характеристик угруповань біоти водних екосистем (фітопланктон, фітобентос, макрофіти, фауна донних безхребетних, іхтіофауна), які відображають сукупну дію антропогенних факторів на екологічний стан водних об'єктів. Такий підхід є більш інформативним і фінансово раціональнішим.

Необхідність урахування світового досвіду відображена у постанові Кабінету Міністрів України від 19 березня 1997 р. № 244 «Про заходи щодо поетапного впровадження в Україні вимог директив Європейського Союзу, санітарних, екологічних, ветеринарних, фітосанітарних норм та міжнародних і європейських стандартів».

За останній час досягнуто деяких успіхів щодо опрацювання сучасної методичної бази. Зокрема, розроблені «Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями» (1998); «Методика картографування екологічного стану поверхневих вод України за якістю води» (1998); «Методика встановлення і використання екологічних нормативів якості поверхневих вод суші та естуаріїв України» (2001). Що ж стосується методик оцінки екологічного стану водних об'єктів за біотичними компонентами екосистеми, то ці нормативні документи в Україні розробляються. Нагальна потреба в них об'єктивно існує, що засвідчується, зокрема, вимогами деяких офіційних природоохоронних документів. Наприклад, в «Державних будівельних нормах України (ДБН А.2.2–1–95. Склад і зміст матеріалів оцінки впливу на навколишнє середовище (ОВНС) при проектуванні і будівництві підприємств, будинків і споруд. Основні положення проектування)» вимагається, щоб при оцінці впливів очіку-

ваної діяльності цих об'єктів на стан поверхневих вод і гідробіоценози були розглянуті і проаналізовані основні біологічні характеристики, включаючи видовий склад, чисельність і біомасу гідробіонтів; а також біопродуктивність вододойм і водотоків (у тому числі рибопродуктивність). Проте класифікація на основі кількісних значень цих характеристик відсутня, без чого об'єктивне порівняння ретроспективних і прогнозованих змін компонентів біоти неможливе.

Постановою Кабінету Міністрів України від 20 липня 1996 р. № 815 затверджений «Порядок здійснення державного моніторингу вод», яким передбачається спеціальний моніторинг стану водних екосистем, проте не відомо за якими ознаками і критеріями. Певну вказівку щодо здійснення регулярних спостережень за біологічними показниками стану водних екосистем надало «Єдине керівництво по організації і здійсненню державного моніторингу вод», затверджене наказом Мінкоресурсів України 24.12.2001 р. № 485. Цим документом передбачається визначення найголовніших біологічних показників згідно з «Руководством по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений» (Под ред. В.А. Абакумова. – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – 239 с.), а також реєстрація незвичайних для акваторій явищ, таких як масовий розвиток і відмирання водоростей, загибель риб та інших тварин, викид молюсків на берег тощо.

З методичних посібників, котрі можуть прислужитися для оцінки стану водних екосистем, слід назвати такі: «Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов» (Под ред. Ф. Д. Мордухай-Болтовской. – К.: Миннаука, 1975. – 240 с.), а також «Унифицированные методы исследования качества вод» (I. Методы химического анализа вод. – 1977. – 832 с.; II. Методы радиохимического анализа вод. – 1976. – 52 с.; III. Методы биологического анализа вод. – 1976. – 185 с.).

В останні роки в Україні були видані спеціалізовані методичні посібники переважно щодо абіотичних характеристик поверхневих вод, а саме: «Руководство по исследованию качества вод» (К.: ТВМС, 1995. Т. 1: Гидрохимия, радиология. – 202 с.; Т. 2: Токсикология. – 183 с.), а також збірка методик «Якість вимірювань складу і властивостей об'єктів довкілля та джерел їх забруднення» за ред. В. Ф. Осики і М. С. Кравченка (К., 1997. – 664 с.). Деякі методи гідробіологічних досліджень якості води і стану водних екосистем увійшли до двох посібників для учнів старших класів і студентів вищих навчальних закладів: «Методичний посібник з визначення якості води» та «Методичні основи гідробіологічних досліджень водних екосистем» (К., 2002. – 51 с.).

Пропоноване методичне видання є найбільш повною збіркою методів гідроекологічних досліджень гідробіонтів та найважливіших гідрофізичних харак-

теристик і хімічних інгредієнтів водних екосистем, апробованих протягом багатьох років науковцями Інституту гідробіології НАН України, а також підходів стосовно оцінки стану водних об'єктів.

Збірник висвітлює методи гідробіологічних, мікробіологічних, іхтіологічних, паразитологічних, екотоксикологічних, гідрофізичних, гідрохімічних і радіоекологічних досліджень.

Достатньо повний набір методів і екосистемний принцип їх композиції спрямовані на те, щоб полегшити роботу гідроекологів різного профілю при виконанні ними комплексних досліджень континентальних водних об'єктів, дати цілісну характеристику стану екосистем, їх основних складових і найважливіших компонентів.

Існуюча система державного моніторингу вод зосереджена переважно на визначенні гідрофізичних, гідрохімічних і токсикологічних характеристик водних мас, тобто на показниках і критеріях абіотичної складової водних екосистем. Біота ж не охоплена достатнім обсягом спостережень і вивчення з боку відповідних природо- і водоохоронних державних органів.

Пропонований методичний збірник покликаний сприяти більш повному системному моніторингу водних екосистем не лише з урахуванням абіотичних, а й визначенням їх біологічних характеристик.

Окрім важливого значення в проведенні державного екологічного моніторингу вод, пропонуване видання, безумовно, буде сприяти організації і виконанню спеціального наукового моніторингу «задля розроблення комплексних оцінок стану вод, моделей прогнозування та алгоритмів підтримки рішень», на що орієнтує Постанова Кабінету Міністрів України від 20.VII.1996 р. № 815.

Упорядники і автори збірника є висококваліфікованими спеціалістами у відповідних галузях гідроекології. Підготовлені ними розділи ґрунтуються на критичному аналізі раніше опублікованих методів і набутому власному досвіді. Крім того, у збірник внесені дуже важливі корективи відповідно до сучасних здобутків гідроекологічної науки. Тому є впевненість, що викладені матеріали послужать надійною основою для оцінки стану водних об'єктів і екосистем за репрезентативними показниками.

Сподіваюсь, що запропонований методичний збірник буде цінним дороговказом і сприятиме впровадженню в природоохоронну політику держави сучасного системного моніторингу поверхневих вод.

Академік НАН України В. Д. Романенко

РОЗДІЛ І. МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ХАРАКТЕРИСТИК ГОЛОВНИХ УГРУПОВАНЬ ГІДРОБІОНТІВ ВОДНИХ ЕКОСИСТЕМ

І. Фітопланктон

І.І. Методи відбору та опрацювання проб

Відбір проб

Отримання репрезентативних даних для оцінки структурно-функціональних характеристик фітопланктону і динаміки їх змін вимагає подекадного відбору проб. Важливо, щоб він проводився у чітко встановлений час. Найбільш оптимальним є інтервал з десятої до дванадцятої години.

Для врахування вертикальної динаміки водоростей і мінімізації похибки, зумовленої їх міграцією в товщі води, проби, починаючи з поверхневого горизонту, слід відбирати через кожний метр водної товщі. Відібрані проби зливають в один посуд (як правило, це поліетиленове відро місткістю 10,0–12,0 дм³), з якого потім відбирають інтегровані проби (0,5–1,0 дм³). Об'єм інтегрованої пробки 0,5 чи 1,0 дм³ визначається попередньою візуальною оцінкою розвитку фітопланктону: а) при інтенсивному розвитку планктонних водоростей, особливо під час «цвітіння» води, достатньо аліквоти об'ємом 0,5 дм³; б) при незначній вегетації водоростей, зазвичай в зимовий чи ранньовесняний – пізньоосінній періоди, необхідно відбирати 1,0 дм³.

Одну пробу фіксують, а іншу використовують для вивчення водоростей у живому стані. Здійснювати ці роботи вкрай необхідно, оскільки при фіксуванні можливе пошкодження деяких морфологічних структур водоростевих клітин (джугтиків, різних виростів тощо), що є характерними систематичними ознаками, особливо у вольвоксових, криптофітових, евгленових і золотистих водоростей.

Проби для кількісного визначення фітопланктону відбирають батометром. Найпоширенішим є батометр Руттнера [24]. Детальний опис конструкції батометра та інших конструкцій наводиться у монографії І. А. Кисельова [7]. З огляду на те, що при дослідженні фітопланктону, як правило, відбирають гід-

рохімічні, мікробіологічні і 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 0,2–0,3 м. Проби фітопланктону відбирають і зберігають у скляних пляшках чи поліетиленових флагах, відкаліброваних на 0,5 і 1,0 дм³ і щільно закритих кришками. Ще в лабораторії посуд добре мнють з використанням миючих засобів (для поліетиленових флаг) чи хромової суміші (для скляних пляшок). Перед наповненням чистий посуд слід 2–3 рази промити (100–200 мл) відбраною пробою.

Всі пляшки (фляги) мають бути з етикетками. Можливо кілька варіантів: а) на посуд масляною або смалевою фарбою наносять шифрову нумерацію; б) на посуд наклеюють медичний пластир, на якому олівцем або кульковою ручкою роблять відповідний запис; в) перед відбором проби напис робиться безпосередньо на посуді стеклографом. Етикетку на флязі з пробою підписують на станції відбору проб. Окремо в карточці обов'язкових відомостей (польовий щоденник) дослідники записують всі необхідні дані щодо відбору проби: найменування водойми, номер станції, її координати на водоймі та відповідна географічна «прив'язка» станції, дата відбору проби (число, місяць, рік, час доби), прозорість води, об'єм проби, температура води і повітря, кількість кисню, гідрометеорологічні дані – стан погоди, наявність чи відсутність на поверхні води ознак «цвітіння», спричиненого масовим розвитком водоростей, плівок нафтопродуктів, сміття, візуально відмічених джерел надходження стічних вод у водойму, звалищ сміття в районі природоохоронних смуг досліджуваної водойми.

Консервація і згущення проб

Консервація формальдегідом. Найбільш поширеним консервантом є формальдегід. Для консервації у водні проби додають 40%-ний формальдегід з розрахунку 1:100, пляшку щільно закривають кришкою і ставлять у темний ящик. Незважаючи на простоту і доступність цього методу, дія формальдегіду, який є «жорстким» фіксатором, на водоростеві клітини може призводити до їх деформації, втрати джгутиків, виходження монадних форм (світленові, динофітові, золатисті) з будиночків, а у зелених хлорококових можливий і лізис клітин. Фактично до 20–25% вихідної кількості водоростей через 3–5 міс. руйнується під дією формальдегіду. Водночас фіксація ним не впливає на морфологічну структуру діатомових і синьозелених водоростей. Пояснюється це тим, що перші з них мають кремнеземний панцир, а у других – клітини огорнуті слизом.

Консервація розчином Люголя. Розчин Люголя є більш «м'яким» фіксатором, що не руйнує морфологічну структуру водоростей. Але він не завжди

«вбивас» водяну мікрофлору і водянні гриби. Це призводить до того, що через 1–2 міс. зафіксована проба починає «загнивати» і практично руйнуються клітинні структури.

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

Консервація хромовими квасцями. Комбінація розчину хромових квасців з розчином формальдегіду добре відображає морфологічну структуру планктонних водоростей і забезпечує тривале збереження альгологічних проб незалежно від видового складу фітопланктону [25].

Зушення проб

Всі існуючі методи зушення проб базуються на одному з трьох фізичних процесів: седиментації, центрифугуванні та фільтрації через мікропористі фільтри.

Метод седиментації. Пляшки (фляги) з альгологічними пробамі охайно, без струшування виставляють у темному прохолодному місці. Через 10–12 днів воду над водоростями, що осіли, збирають спеціальним сифоном, залишаючи над осадом шар води 5–8 см. Залишок проби (об'ємом не більш ніж 100 мл) переливають у посуд меншої місткості, відстоюють протягом 5–7 діб і повторно відсифонюють, доводячи кінцевий об'єм до 10 см³. Проби переливають у пенцилінові склянки, додають 2–3 краплі формальдегіду чи розчину Люголя і починають камеральне опрацювання.

Метод центрифугування. Найбільш швидкий метод зушення альгологічних проб. Для достатнього осадження фітопланктону потужність центрифуги має становити не менш як 1 500–3 000 об/хв. Але при цьому можлива втрата значної кількості водоростей різних таксонів через розчинення осаду та при його перенесенні до лічильної камери.

Метод фільтрації. Портативним, швидким методом зушення альгологічних проб (до 200 разів від об'єму відібраної проби) є метод їх фільтрації через дрібнопористі фільтри. Простота апаратного забезпечення: колба Бунзена місткістю 1,0–2,0 дм³, фільтрувальна воронка, дрібнопористі фільтри, вакуумна гумова трубка, вакуумний насос, що створює розрідження до 0,5–3,0 атм – дозволяє використовувати метод фільтрації в експедиційних умовах. Різновидністю методу фільтрації з використанням вакуумного розрідження є метод фільтрації під тиском. Недоліком обох методів є втрата при фільтруванні нано-

планктонних видів водоростей і можливе пошкодження їх морфологічних структур – основних систематичних ознак виду.

Камеральне опрацювання проб

У гідроекологічних дослідженнях для опрацювання альгологічних проб використовуються світлові та електронні скануючі і трансмісійні мікроскопи різних марок як вітчизняного, так і зарубіжного виробництва. Основна вимога до мікроскопа – це величина збільшення. Для отримання репрезентативних результатів окуляр повинен мати збільшення не менше як $K5^{\times}$, а об'єктив – $\times 20$.

Чисельність водоростей підраховують у спеціальних лічильних камерах. Найбільш поширеною в альгологічних дослідженнях є камера Нажотта об'ємом $0,01\text{--}0,05\text{ см}^3$. Використання інших камер, наприклад лічильної камери Горяєва, в якій підраховуються формені елементи крові, небажане, оскільки крупні водорості планктону, особливо колоніальні форми, не вміщуються на дні камери. При використанні камери Горяєва отримані результати значно занижені. Можливе також застосування «лічильних пластин» [17].

Визначення чисельності і біомаси

Для оцінки кількісної різноманітності фітопланктону обчислюють його чисельність і біомасу.

Чисельність фітопланктону розраховують на 1 дм^3 (1 л) води за формулою:

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

де N – кількість водоростей в 1 дм^3 води досліджуваної водойми (як правило, тис. кл/дм³ або млн. кл/дм³); k – коефіцієнт, що показує, у скільки разів об'єм використаної камери менший за 1 см^3 ; n – кількість клітин водоростей на проглянутих доріжках (квадратах) лічильної камери; A – кількість доріжок (квадратів) лічильної камери; a – кількість доріжок (квадратів), де підраховувалась кількість водоростей; V – об'єм проби фітопланктону, взятий на водоймі, см^3 ; v – об'єм концентрованої проби, з якого розраховуються показники фітопланктону, см^3 .

Біомаса фітопланктону визначається розрахунково-об'ємним методом. Його використання передбачає наявність даних по чисельності конкретного виду водоростей у пробі та лінійних розмірів його клітин. Для визначення розмірів водоростей їх прирівнюють до певних геометричних тіл, найбільш подібних до даної морфологічної форми: куля, паралелепіпед, циліндр, конус,

октаедр тощо. Далі вимірюють необхідні параметри: радіус, діаметр, висоту, довжину тощо. Для отримання репрезентативних даних необхідно виміряти параметри не менш як 30 водоростевих клітин одного виду. Одержані дані опрацьовують статистично [2].

Об'єм клітин визначають за відомими геометричними формулами, використовуючи лінійні розміри конкретної водорості, подібної до певної геометричної фігури. Припускають, що відносна щільність (до води) прісноводних водоростей становить 1,00–1,05. Обчислену біомасу кожного виду множать на його чисельність і наводять у мг/дм^3 , г/м^3 або г/м^2 .

1.2. Визначення первинної продукції фітопланктону і деструкції органічних речовин

Інтенсивність первинної продукції залежно від того, який з інгредієнтів процесу фотосинтезу ми вимірюємо (наприклад, вміст кисню чи фотосинтезованої органічної речовини), може суттєво відрізнятися. Для відносної формалізації показників, що характеризують первинну продукцію, умовно було виділено кілька її форм. Запропоновані форми первинної продукції – це відносно віртуальні характеристики, що визначають реально існуючі потоки енергії в екосистемах:

валова первинна продукція (A_B) – це вся енергія, що утворилась фітопланктоном у процесі фотосинтезу в екосистемі;

ефективна первинна продукція ($A_{E\Phi}$): $A_{E\Phi} = A_B - R_\Phi$, де R_Φ – енергетичні витрати на дихання (метаболізм) водоростей;

чиста первинна продукція, або фактично наявна в екосистемі біомаса (B) фітопланктону (A_q): $A_q = A_B - R$, де R – сумарні енергетичні витрати на дихання (метаболізм) усіх компонентів планктону: $R = R_\Phi + R_3 + R_E + R_I$, де R_Φ – енергетичні витрати на дихання водоростей; R_3 – енергетичні витрати на дихання зоопланктону; R_E – енергетичні витрати на дихання бактеріопланктону; R_I – енергетичні витрати на дихання джгутикових форм.

Важливим показником стану біоти є величина $A_B/R \cdot \text{добу}^{-1}$, яка характеризує співвідношення продукційно-деструкційних процесів і дозволяє визначати надходження алохтонних органічних речовин, а відповідно оцінювати ступінь антропогенного навантаження на екосистему, знаходити місцезоташування джерел забруднення і визначати величину енергетичної субсидії, що необхідна для функціонування конкретної екосистеми.

Поряд із широким використанням добового відношення A/R , можливий також аналіз цього показника протягом декади, місяця, року, що дозволяє більш повно характеризувати стан біоти за даний проміжок часу.

Розглянемо найбільш поширені в гідроекологічних дослідженнях методи визначення первинної продукції фітопланктону.

Визначення первинної продукції за кількістю клітин водоростей

Процедура цього методу така:

а) молібденові або кварцеві циліндри (об'єм води – від 1 до 5 л) наповнюють пробами фітопланктону. Отвори циліндрів щільно закривають млиновим газом № 76. Розмір вічка газу не дозволяє виходити водоростям з посуду. Застосування молібденового або кварцового скла запобігає поглинанню короткохвильової частини сонячного спектру, а отже наближає дослідні умови до природних. Необхідна місткість експериментальних циліндрів визначається інтенсивністю розвитку фітопланктону: чим більше в пробі водоростей, тим меншою має бути місткість посуду;

б) не менш ніж два циліндри використовуються як контрольні, в яких після їх заповнення і фіксації проб підраховують кількість фітопланктону: чисельність (N_0), тис. кл/дм³, або біомасу (B_0), мг/дм³, які є контролем даного досліді;

в) інші циліндри експонують у досліджуваній водоймі. Експозиція (t) становить, як правило, одну добу;

г) після закінчення експозиції вміст проби фіксують і камерально опрацьовують. Залежно від кількості використаних циліндрів середній вміст водоростей у досліді становитиме:

$$N_{\text{ср}} = \frac{N_1 + \dots + N_n}{n} \text{ або } B_{\text{ср}} = \frac{B_1 + \dots + B_n}{n},$$

де n – кількість експериментальних циліндрів;

д) первинну продукцію водоростей обчислюють за формулою:

$$A_N = \frac{N_{\text{ср}} - N_0}{t} \text{ або } A_B = \frac{B_{\text{ср}} - B_0}{t},$$

відповідно у тис. кл/дм³ або мг/дм³ протягом експозиції (t).

Результати, одержані за цим методом, найбільш повно характеризують числу первинну продукцію фітопланктону (A_v).

Визначення первинної продукції за динамікою вмісту біогенних елементів у воді

Метод базується на основному рівнянні фотосинтезу, біохімічного процесу, який відбувається з включенням у склад новоутвореної органічної речовини біогенних елементів. Відповідно чим більш інтенсивно формується продукція, тим більше біогенних елементів поглинається фітопланктоном. За різницею біогенних елементів в експериментальних і контрольних склянках можна оцінювати продукцію водоростей.

Вперше цей метод був запропонований В. Г. Дацко [5] при вивченні продуктивності екосистем Азовського і Чорного морів. Основні недоліки методу: швидка регенерація біогенних елементів при деструкції (лізису) рослинних клітин та адсорбція біогенних елементів (особливо фосфатів) на поверхні клітинної оболонки водоростей.

Визначення первинної продукції за добовою динамікою кисню

Суть методу полягає у тому, що формування первинної продукції протягом доби характеризується різною інтенсивністю [18]. Відповідно вміст розчиненого у воді кисню, що є одним з кінцевих продуктів фотосинтезу, змінюється пропорційно добовій динаміці останнього. Найменший вміст у воді кисню реєструється в кінці темного періоду доби, коли фотосинтетична аерація практично відсутня, найбільший, за даними наших спостережень, – між 13-ю і 16-ю годинами.

Отже, інтенсивність первинної продукції – це різниця між максимальними і мінімальними показниками, що характеризують вміст розчиненого у воді кисню протягом доби.

На жаль, незважаючи на простоту визначення продукції за добовою динамікою вмісту у воді кисню, цей метод має ряд недоліків, а саме: методично дуже важко встановити максимальний і мінімальний вміст у воді кисню; в процесі фотоаерації води при досягненні насичення її киснем 100% і більше відбувається дифузія кисню в атмосферу, особливо це характерно при високій температурі води. Встановити величину цього показника методично складно. А застосування певних коефіцієнтів знижує репрезентативність отриманих даних.

Очевидно, що метод найбільш оптимально може використовуватись при постійній автоматичній ресстрації вмісту кисню у воді за допомогою відповідних приладів.

*Визначення продукції фітопланктону за кількістю хлорофілу *a**

Біологічна суть методу полягає у тому, що кількість хлорофілу *a* – основного пігменту водоростей змінюється відповідно до інтенсивності первинної продукції.

Відбір проб, фільтрування, висушування. Для репрезентативного визначення пігментів їх концентрація має становити не менш ніж 0,5 мкг хл/дм³. Тому слід відбирати пробу об'ємом 1 дм³ і більше. Пробу фільтрують на фільтрі Зейтца великого діаметру за допомогою вакуумного насоса або завдяки наявності перепаду висот між фільтром і каністрою (сулією) з пробою [16]. Перед фільтруванням мембранні фільтри покривають шаром MgCO₃ (10 мг MgCO₃ на 1 см² поверхні фільтра) для запобігання руйнуванню пігментів. Фільтрування здійснюють при вакуумі не більш як 40–60 гПа, щоб виключити втрати хлорофілу. По закінченні фільтрації рекомендується негайно екстрагувати осад без підсушування фільтра. У виняткових випадках, коли немає можливості провести екстрено екстракцію і спектрофотометрування, фільтри з осадом сушать у ексікаторі із силікагелем, натронним вапном і лугом (1:1:1) і зберігають у темному ексікаторі із силікагелем при температурі не вище 1°C (звичайно у холодильнику) не більш як 1,5 міс.

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

До безекстрактних спектрофотометричних методів [13] відносять визначення концентрації пігментів у природних умовах (*in situ*) за допомогою спектрофотометра, що занурюється у воду, визначення вмісту пігментів проходить посередньо у зразках води, яку наливають у спеціальну кювету із дзеркальними стінками, а також методом визначення пігментів у клітинах фітопланктону, що знаходиться на мембранних фільтрах. Перед спектрофотометрією останні про-світлюють спеціальними розчинниками для оптичної прозорості.

Занурені спектрофотометри досить докладно описані [8, 9, 27]. Однак визначення хлорофілу з їх допомогою пов'язане з деякими труднощами, насамперед із наявністю у природній воді неорганічних і органічних суспензій, які

внаслідок розсіювання і поглинання світла впливають на спектр поглинання хлорофілу. Так, наприклад, показник ослаблення світла води прибережних ділянок моря і річкової води із значною кількістю суспензій в діапазоні 400–750 нм набагато перевищує поглинання хлорофілу [1].

Значний інтерес становить флуориметричний безекстрактний метод визначення хлорофілу безпосередньо у живих клітинах фітопланктону, що знаходяться у водоймі. Хоча інтенсивність флуоресценції хлорофілу водоростей набагато нижча, ніж у екстрактах, зазначений метод має високу чутливість, що дозволяє реєструвати низьку концентрацію хлорофілу у водоймі [6].

Розрахунок вмісту хлорофілу. Найбільш поширеним методом розрахунку концентрації хлорофілів a , b і c (мкг/дм³) є використання стандартних формул, рекомендованих робочою групою при ЮНЕСКО [13]:

$$C_{xa} = (11,64 \cdot E_{663} - 2,16 \cdot E_{645} - 0,1 \cdot E_{630}) \frac{V_1}{V_2},$$

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

$$C_{xc} = (-5,53 \cdot E_{663} - 14,81 \cdot E_{645} - 54,22 \cdot E_{630}) \frac{V_1}{V_2},$$

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

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

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

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

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

Визначення первинної продукції фітопланктону склянковим методом

Найбільш широко, як у вітчизняних, так і зарубіжних гідроекологічних дослідженнях використовується метод склянок у кисневій або радіовуглецевій модифікації, суть якого витікає з основного рівняння фотосинтезу і базується на визначенні його кінцевих продуктів: кисню, що виділяється у водну товщу і но-вофотосинтезованої органічної речовини.

Отже, з точки зору отримання репрезентативних показників первинної продукції, модифікації, які розглядаються, а відповідно і одержані результати, є рівнозначні.

Незалежно від використовуваної модифікації первинна продукція вимірюється на горизонтах 0,05, 0,25, 0,50, 1,00, 1,50, 2,00, 3,00 м і далі, через кожен метр до дна. На мілководних станціях кількість горизонтів обмежується глибиною. Експозиція становить, як правило, добу [18]. При інтенсивному розвитку фітопланктону, «цвітінні води», час експозиції рекомендується скоротити до 4–6 год [24], але при розрахунку первинної продукції за добу враховувати її динаміку протягом всього світлового періоду доби [18].

Використання для кріплення дослідних склянок «гірлянди», що є системою прикріплених на кожному горизонті кількох склянок і гнучких тросів відповідно до конструкції Л. І. Піріної [14], дозволяє протягом експозиції підтримувати в експериментальних склянках динамічність водного середовища, близьку до природної, що запобігає седиментації в замкнутих об'ємах (склянках) водоростей.

Киснева модифікація

На кожному з досліджуваних горизонтів використовують по дві світлі, темні і контрольні склянки місткістю 120–150 мл, виготовлені з молібденового або кварцового скла. Це дозволяє звести до мінімуму поглинання склом дослідних склянок сонячної фотосинтетично активної енергії.

Для визначення кисню за методом Вінклера на титрування відбирають 50 мл води з фітопланктоном, фіксують 1–2 мл $KJ + KOH$ та $MnCl_2 (MnSO_4)$. Через 1–2 год утворений осад розчиняють додаванням 2–4 мл $H_2SO_4 (1:1)$ і титрують 0,02 н. розчином гіпосульфиту чи близької концентрації. Як індикатор використовують 3–5 крапель крохмалю (1 г крохмалю розчиняють у 100 мл дистильованої води).

Кількість кисню, що знаходиться у воді, розраховують за формулою:

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

де n – нормальність гіпосульфїту, яка становить, як правило, 0,02 н.; x – об'єм гіпосульфїту, витрачений на титрування, мл; V_1 – об'єм взятої для титрування алїквоти, мл; V_2 – об'єм внесених в експериментальну склянку реактивів для фіксації розчиненого кисню – $KJ + KOH + MnCl_2 (MnSO_4)$ та H_2SO_4 – для розчинення осаду, що утворився після додавання у склянку фіксаторів, мл.

Валову первинну продукцію (A_B) розраховують за різницею вмісту кисню (O_2) у різних склянках:

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

Дихання (деструкцію, R_D) планктону розраховують таким чином:

$$R_D = (O_{2 \text{ контр}} - O_{2 \text{ тем}}) \cdot t.$$

Чисту продукцію (A_v) обчислюють за формулою:

$$A_v = (A_B - R_D) \cdot t,$$

де t – експозиція (години, доба).

Радіовуглецева модифікація

Для визначення первинної продукції склянковим методом у радіовуглецевій модифікації використовують розчини ^{14}C -карбонату або ^{14}C -бикарбонату натрію. Активність робочого розчину має становити близько $0,2 \cdot 10^6$ імп/хв. У дослідках на кожному з горизонтів розміщують чотири молібденові або кварцеві склянки по 120–150 мл, в яких міститься вода з фітопланктоном і 1 мл робочого розчину радіовуглецю. Після добової експозиції вміст склянок фіксують формалїном і по 50 мл фільтрують через мембранні вітчизняні фільтри, фільтри «Синпор» чи «Міліпор» або ядерні фільтри з діаметром пор 1,5 мкм.

Первинну продукцію розраховують за формулою:

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

де r – радіоактивність фільтру з осадженими водоростями; R – радіоактивність внесеного розчину ($NaH^{14}CO_3$ чи $Na_2^{14}CO_3$); c – сумарний вміст карбонатних сполук у воді, які визначають динаміку CO_2 , мг/дм³.

Врахування темної фіксації $^{14}CO_2$, визначення вільних карбонатів води з введенням поправочних коефіцієнтів на активність радіовуглецю, що вноситься в пробу, та на величину його самопоглинання здійснюється за методом В. І. Романенка [15].

Кількість асимільованого водоростями радіовуглецю визначається на перерахунковій установці ПСС-100 або на вітчизняних «Бета» чи на більш точних сцинтиляційних приладах, як правило закордонного виробництва.

При переході від однієї форми виміру продукції до іншої використовують дихальний коефіцієнт. Припускається, що він дорівнює 0,80, а 1 мг кисню відповідає 0,3 мг вуглецю [23].

Порядок врахування похибок визначення первинної продукції склянковим методом

Для того, щоб значно знизити похибки результатів визначення первинної продукції фітопланктону склянковим методом, рекомендуємо використати деякі методичні підходи, а саме такі:

а) Врахувати споживання кисню на дихання планктону в світлих і темних склянках. Вважається загальновизнаним, що дихання фітопланктону при світлі є незначним, але хоча світлове дихання і хімічне фотоокислення дуже мале у порівнянні з темновим, усе ж таки отримана склянковим методом валова продукція є дещо заниженою. Тому необхідне введення поправки на світлове дихання, яка складає, за нашими спостереженнями, до 5–7% від величини первинної продукції.

б) Вірно призначити час проведення дослідів. Виходячи з експериментально отриманих даних по добовій динаміці фотосинтезу фітопланктону необхідно початок дослідів проводити до сходу сонця (чи після його заходу). Обов'язкова експозиція повинна охоплювати період максимального фотосинтезу з 9 до 13 год.

в) Враховувати позаклітинні виділення метаболітів залежно від якісного та кількісного розвитку видів-домінантів, а також фаз росту водоростей. Особливо важливою ця процедура є при використанні склянкового методу в радіовуглецевій модифікації.

г) Важливим методичним питанням для отримання репрезентативних результатів є встановлення залежності величини експозиції від інтенсивності розвитку фітопланктону. Спеціальні дослідження показали, що під час інтенсивного розвитку фітопланктону, біомаса якого перевищує 20 г/м³, використання дого розв'язаної експозиції при застосуванні кисневої модифікації призводить до заниження отриманих даних, які характеризують первинну продукцію фітопланктону. Водночас, результати короткотермінових дослідів (тривалість 2, 4, 6, 8 годин) залежать від добової динаміки фотосинтезу і можуть або завищувати, або, навпаки, занижувати дані.

Для встановлення найбільш репрезентативних методичних підходів для визначення первинної продукції паралельно на одній і тій самій станції проводились досліді:

- а) при добовій експозиції;
- б) дискретні, з чотирьохгодинною експозицією, результати яких сумувалися протягом доби.

Було одержано такий основний висновок: при біомасах фітопланктону до 20 г/м^3 результати вимірювання продукції як при добовій експозиції, так і результати інтегрованих 4-годинних експозицій співпадають.

При вищих біомасах дані, отримані при інтегруванні протягом доби результатів 4-годинних дослідів більш репрезентативно характеризують формування первинної продукції фітопланктону.

Інтерпретація результатів визначення первинної продукції *in situ* різними продукційними методами свідчить про необхідність внесення поправок відповідно до загальних похибок. Врахування похибок при визначенні первинної продукції потребує великого фактичного матеріалу щодо структурно-функціональних характеристик фітопланктону, проте є необхідним і виправданним.

Визначення первинної продукції окремих видів методом авторадіографії

Удосконалення радіовуглецевої модифікації склянкового методу стало можливим при використанні поряд з газорозрядним (Гейгера – Мюллера) або сцинтиляційними лічильниками рідкої фотоемульсії. Це дозволило визначати не лише сумарну продукцію всього водоростевого угруповання, але й продукцію окремих видів і систематичних груп [19].

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

Основні процедури визначення первинної продукції окремих видів такі [19–23]:

1. Визначають видовий склад і чисельність фітопланктону з виділенням домінуючих видів.
2. Вимірюють валову первинну продукцію угруповання водоростей.
3. Концентрують завесь радіоактивного фітопланктону (необхідно не менш як 200–300 мкг) і наносять її на предметне скло у вигляді альгологічного препарату.

4. Препарати з радіоактивними водоростями (авторадіографи) покривають рідкою фотосмульсією. Одержані радіоавтографи експонують у темноті протягом кількох діб (експозиція залежить від чутливості фотосмульсії, яка використовується, і радіоактивності водоростей, зумовленої їх фотосинтетичною активністю).

5. На авторадіографах підраховують кількість відновлених зерен срібла навколо клітин водоростей (для отримання достовірних результатів необхідно дослідити 30–40 клітин видів, які формують основну частину досліджуваного угруповання).

6. Відносну продукцію (R_i) кожного виду водоростей обчислюють за формулою:

$$R_i = \frac{G_i N_i}{\sum G_i}$$

де G_i – середня кількість відновлених зерен срібла фотосмульсії на клітину водорості; N_i – кількість клітин даного виду в одиниці об'єму (1 дм^3).

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

$$A_i = R_i A,$$

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

Дослідження продукційних характеристик водоростей континентальних водойм України, виконані за допомогою методу авторадіографії, дозволили виявити цілу низку загальних закономірностей (таблиця). Наведені дані абсолютної первинної продукції водоростей за продукцією (A) основних систематичних відділів та їх питомої продукції ($P/B \cdot \text{добу}^{-1}$) можуть бути використані при розрахунку продуктивності фітопланктону континентальних водойм.

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

Об'єм клітин (V , мкм^3), швидкість продукції (A , $\text{пг С/кл.}\cdot\text{добу}$) та питома продукція (P/B - добу^{-1}) водоростей основних відділів континентальних водойм України

Відділи водоростей	Кількість видів	V		A		P/B	
Cyanophyta	16	2-268	(72,3)	1,4-163,3	(18,7)	0,3-19,7	(2,6)
Bacillariophyta	17	47-3846	(963,3)	7,8-698,5	(119,3)	0,3-10,1	(1,8)
Chlorophyta	32	77-400	(438,9)	21,4-580,3	(133,4)	0,6-9,4	(3,1)

Примітка. Наведено граничні та середні (у дужках) значення продукції.

Визначення первинної продукції фітопланктону флуоресцентним методом

Останнім часом поряд із склянковим методом для вимірювання первинної продукції фітопланктону використовують флуоресцентний метод, який базується на здатності хлорофілу, зокрема хлорофілу a до флуоресценції, світіння в певному діапазоні світла [10].

Спеціальні дослідження, виконані на Рибінському водосховищі з метою порівняння великої вибірки даних, отриманих паралельно двома методами (флуоресцентним і склянковим в кисневій модифікації), показали, що інтенсивність фотосинтезу в обох випадках статистично достовірно не відрізнялась, і кількісний зв'язок між показниками описувався рівнянням:

$$\Phi_{\text{фл}} = 0,019 \pm 1,11 \Phi_0 [10].$$

Перевищення даних, отриманих флуоресцентним методом ($\Phi_{\text{фл}}$), над результатами склянкового (Φ_0) спостерігалось при добових експозиціях, в період інтенсивного світлового насичення (до $135 \text{ Вт м}^2/\text{ФАР}$) і при значній концентрації хлорофілу a (100 мкг/л і вище). Обернена залежність ($\Phi_{\text{фл}} < \Phi_0$) мала місце навесні при низькій енергії світла, а також у перші чотири години світлового часу доби.

Таким чином, порівняльний аналіз даних, отриманих флуоресцентним і склянковим в кисневій модифікації методами на волзьких водосховищах, які характеризуються різними рівнями трофності, показав добре порівнянні результати. Більш широке використання флуоресцентного методу обмежується

відсутністю серійного, заводського виготовлення вітчизняних флуориметрів. Метод флуоресценції може бути використаний і для дистанційної оцінки продуктивності водойм, знову ж таки основна завада – брак приладів.

1.3. Оцінка різноманітності фітопланктону

Досліджуються такі структурні характеристики:

n – видова різноманітність – кількість видових і внутрішньовидових таксонів, включаючи номенклатурний тип виду, їх співвідношення і частка в загальній кількості таксонів;

n_1 – надвидова різноманітність – кількість таксонів рангом вище виду (рід, родина, порядок, клас, відділ), їх співвідношення в пробі (водоймі) на всіх рівнях зазначеної систематичної ієрархії.

При якісному визначенні видової і таксономічної належності різних видів чи внутрішньовидових таксонів фітопланктону та кількісної різноманітності для більш швидкого отримання попередніх натурних даних можна застосовувати експрес-оцінку частоти трапляння конкретних видів.

Однією з поширених у гідроекології є шкала С. М. Вислоуха [3]. Як аналог можна використовувати і шкалу Стармаха [26].

Шкала Вислоуха

Вид зустрічається масово, викликаючи «цвітіння» води	∞
Дуже часто	5
Часто, більше 10 разів у препараті	4
Не рідко, менше 10 разів у препараті	3
Рідко, 2–4 рази у препараті	2
Дуже рідко, 1–2 рази у препараті	1

Одержані за допомогою експрес-оцінок дані є попередніми і дозволяють швидко оцінити можливі зміни у видовій та кількісній різноманітності фітопланктону, спричинені негативним впливом одного чи кількох екологічних чинників.

Не менш інформативним при аналізі видової різноманітності, особливо при порівнянні таксономічного складу різних ділянок водойми, кількісному визна-

ченні спільностей та відмінностей, є коефіцієнт видової подібності фітопланктону (K) двох порівнюваних водойм чи двох ділянок однієї водойми:

$$K = \frac{2c}{a+b},$$

де a – кількість видів у першій водоймі (ділянці); b – кількість видів у другій водоймі (ділянці); c – кількість спільних видів.

Коефіцієнт видової подібності змінюється від 0 до 1. Якщо $K > 0,5$, то видова різноманітність (видове багатство) фітопланктону двох порівнюваних водойм (ділянок) досить схожа і відповідно негативний вплив екологічних чинників (не лише антропогенних, а і природних) незначний. Якщо $K < 0,5$, то видова різноманітність фітопланктону порівнюваних водойм суттєво відрізняється, а отже, і екологічні умови, що визначають розвиток фітопланктону, різні.

Важливими кількісними показниками, що дозволяють характеризувати таксономічну різноманітність, є співвідношення видової, внутрішньовидової, родової або різноманітності родин водоростевих угруповань:

- 1) відношення кількості видів і внутрішньовидових таксонів;
- 2) відношення кількості родів і видів;
- 3) відношення кількості родин і родів.

Вищенаведені показники характеризують зміну таксономічної різноманітності на відповідних рівнях систематичної ієрархії. Їх використання дозволяє оцінити вегетацію водоростевих угруповань залежно від впливу антропогенних або інших чинників у водних екосистемах.

Оцінка стану біоти за інформаційною різноманітністю фітопланктону

Інформаційна різноманітність визначається за індексом Шеннона (H) [11]. Для його розрахунку використовують два показники: кількість видів і чисельність (H_N) або кількість видів і біомасу (H_B). З огляду на різний об'єм клітин водоростей, що може відрізнитися на кілька порядків, інформаційну біорізноманітність слід визначати як за чисельністю, так і за біомасою.

При $H > 2$ фітопланктон більш різноманітний. Домінуючий комплекс представлений полідомінантними угрупованнями. Це свідчить про якість водного середовища, що наближається до оптимального для розвитку планктонних водоростей, а отже про відсутність або незначний негативний вплив антропогенних чинників, що не призводять до деградації фітопланктону.

При домінуванні 1–2 видів, коли чисельність (біомаса) домінуючого виду становить 50% і більше від сумарної фітопланктону, величина H знижується.

При $H \leq 1$ фітопланктон, як правило, представлений монодомінантним або олігодомінантним комплексом. Прикладом є «цвітіння» води синьозеленими водоростями та інтенсивний розвиток 1–2 видів, найбільш стійких до антропогенного впливу, спричиненого різними типами забруднювачів (неочищені господарсько-побутові стічні води, нафтопродукти, важкі метали, поверхнево-активні речовини тощо).

1.4. Оцінка стану водних об'єктів за рівнем розвитку фітопланктону

$N_{\text{заг}}$ – кількісна різноманітність за чисельністю, кл/дм³, тис. кл/дм³, млн. кл/дм³:

$\frac{N_i}{N_{\text{заг}}} \cdot 100\%$ – характеристика структури чисельності угруповань і частка

конкретної систематичної групи водоростей (N_i) у формуванні сумарної чисельності фітопланктону;

$B_{\text{заг}}$ – кількісна різноманітність за біомасою, мг/дм³, г/м³, г/м²:

$\frac{B_i}{B_{\text{заг}}} \cdot 100\%$ – характеристика структури біомаси, те ж саме, що і для чисель-

ності.

Угруповання фітопланктону розглядаються як один із найважливіших «біологічних елементів якості для класифікації екологічного статусу» водних об'єктів різного типу. Рекомендується використовувати для цього статусу такі характеристики фітопланктону, як таксономічний склад і чисельність (з урахуванням явища «цвітіння» води [28]). Чисельність фітопланктону (для змішаного складу та з домінуванням синьозелених водоростей), поряд з біомасою фітопланктону, а також функціональними показниками – вмістом хлорофілу a і добовою валовою первинною продукцією, була використана у дев'ятирядній кількісній класифікації стану континентальних водних об'єктів України за гідробіологічними показниками, розробленій в Інституті гідробіології НАН України [12]. Ця класифікація є складовою частиною класифікації стану водних об'єктів за гідробіологічними показниками (див. розділ III).

Ця класифікація важлива для оцінки стану водних екосистем за структурно-функціональною організацією фітопланктону і трофічністю.

Література

1. *Анонасенко А. Д., Франк Н. А., Сидько Ф. Я.* Дифференциальный спектрофотометр для гидрооптических исследований // *Океанология*. – 1976. – **1**, в. 5. – С. 924–927.
2. *Василевич В. И.* Статистические методы в геоботанике. – Л.: Наука, 1969. – 144 с.
3. *Вислоух С. М.* Биологический анализ вод // *Руководство по теоретической и практической медицине*. – 1916. – 7–8. – С. 225–304.
4. *Гольд В. М., Попельницкий В. А.* Определение фотосинтеза фитопланктона флуоресцентным методом // *Методические вопросы изучения первичной продукции планктона внутренних водоемов*. – СПб.: Гидрометеиздат, 1993. – С. 25–29.
5. *Дацко В. Г.* О некоторых изменениях в процессах продуцирования органического вещества в Азовском море после зарегулирования стока Дона // *Гидрохим. материалы*. – 1957. – **26**. – С. 49–64.
6. *Карабашев Г. С., Соловьев А. Н.* О возможности индикации изменчивости качественного состава фитопланктона в море по характеристике флуктуаций интенсивности флуоресценции хлорофилла // *Докл. АН СССР*. – 1975. – **220**, 4. – С. 958–960.
7. *Киселев И. А.* Планктон морей и континентальных водоемов. – Л.: Наука, 1969. – 657 с.
8. *Коновалов Б. В., Мордасова Н. В.* Методы и приборы современных океанологических исследований. – М.: ЦНИИ информ. и техн.-экон. исслед. рыб. хоз-ва, 1970. – 40 с.
9. *Копелевич О. В., Маштаков Ю. Л., Русанов С. Ю.* Аппаратура и методика исследования оптических свойств морской воды // *Гидрофизические и гидрооптические исследования в Атлантическом и Тихом океанах*. – М.: Наука, 1974. – С. 97–107.
10. *Мисеева Н. М., Попельницкий В. А.* Определение фотосинтеза фитопланктона Рыбинского водохранилища флуоресцентным и кислородным методами // *Биология внутренних вод: Информ. бюл.* – Л., 1990. – № 88. – С. 20–24.
11. *Одум Ю.* Экология. – М.: Мир, 1986. – Т. 1. – 328 с.
12. *Оксиук О. П., Жданова Г. А., Гусынская С. И.* и др. Оценка состояния водных объектов Украины по гидробиологическим показателям. 1. Планктон // *Гидробиол. журн.* – 1994. – **30**, № 3. – С. 26–31.
13. *Определение содержания хлорофилла в планктоне пресных водоемов / Сост. Л. А. Сиренко, А. В. Курейшевич* – Киев: Наук. думка, 1982. – 52 с.

14. *Пырина И. Л.* Свет как фактор продуктивности фитопланктона во внутренних водоемах: Автореф. дис. ... докт. биол. наук: – СПб., 1995. – 47 с.
15. *Романенко В. И.* Микробиологические процессы и их роль в биопродуктивности экосистем и самоочищении водохранилищ // *Водохранилища и их воздействие на окружающую среду.* – М.: Наука, 1986. – С. 138–149.
16. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений.* – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – С. 87–91.
17. *Топачевский А. В., Масюк Н. П.* Пресноводные водоросли Украинской ССР. – Киев: Вища шк., 1984. – 333 с.
18. *Щербак В.И.* Изучение суточной динамики образования первичной продукции фитопланктона // *Гидробиологические исследования водоемов юго-западной части СССР.* – Киев: Наук. думка, 1982. – С. 131–132.
19. *Щербак В.И.* Метод автораддиографии в гидробиологических исследованиях // *Вопросы гидробиологии водоемов Украины.* – Киев: Наук. думка, 1988. – С. 106–110.
20. *Щербак В. И.* Скляночные методы определения первичной продукции водорослей планктона и бентоса // *Тр. IV Поволж. конф.* – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1991. – 1. – С. 59–66.
21. *Щербак В. И.* Определение первичной продукции отдельных видов водорослей автораддиографическим методом // *Методические вопросы изучения первичной продукции планктона внутренних водоемов.* – СПб., 1993. – С. 47–51.
22. *Щербак В. И.* Продукционные характеристики доминирующих видов фитопланктона днепровских водохранилищ // *Альгология.* – 1998. – 8, № 3. – С. 286–294.
23. *Щербак В. И.* Фотосинтетическая активность доминирующих видов днепровского фитопланктона // *Гидробиол. журн.* – 1998. – 34, № 5. – С. 11–22.
24. *Щербак В. И.* Влияние продолжительности экспозиции на показатели первичной продукции фитопланктона евтрофных водоемов при использовании скляночного метода в кислородной модификации // *Там же.* – 2000. – 36, № 1. – С. 97–102.
25. *Щербак В. И.* Методи досліджень фітопланктону // *Методичні основи гідробіологічних досліджень водних екосистем.* – К., 2002. – С. 41–47.
26. *Starmach K.* *Metody botania plankton.* – Warszawa, 1956. – 135 s.
27. *Tyler I. E.* In situ detection and estimation of chlorophyll and their pigments in the ocean // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1961. – 47, N 11. – P. 1082–1090.
28. *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy // Official Journal of the European Communities.* – L 327, 22.12.2000. – 72 p.

2. Фітомікробентос

2.1. Методи відбору і опрацювання проб

Відбір, консервація та згущення проб фітомікробентосу

Специфіка фітомікробентосу як екологічної групи водоростей полягає в тому, що їх вегетація відбувається на м'якому субстраті (пісок, замулений пісок, мул та його різновиди, торф тощо) на розділі двох фаз: «рідина – м'який субстрат».

У зв'язку з цим основна вимога до використовуваних для відбору проб фітомікробентосу бентометрів (дночерпаків) – це повна герметичність відібраного моноліту субстрату, на якому вегетують донні водорості.

Для відбору проб фітомікробентосу можуть бути застосовані різноманітні дночерпаки: малий, середній і великий дночерпаки Петерсена (площа взятих донних відкладів – від $0,01 \text{ м}^2$ і більше), дночерпак В. В. Гурвіча і Я. Я. Цееба [4], різні види гідрологічних бентометрів. Основний їх недолік – можливість зміну із субстрату шару донних водоростей, а отже і значної похибки при відборі проб.

Найпоширенішим приладом, на думку провідних бентологів [3], який дає найбільш репрезентативні результати, є мікробентометр, розроблений в Інституті гідробіології НАН України, МБ-ТЕ [6].

На мілководних станціях з глибинами до 2 м використовується модифікація мікробентомента МБ-ТЕ, де замість мотузки (шлюпочного тросу діаметром 0,6–1,2 см), використовується дерев'яна штанга, за допомогою якої прилад опускають на дно і відбирають проби фітомікробентосу. Площа відбору проби складає $10\text{--}20 \text{ см}^2$. При вивченні фітомікробентосу основна увага повинна приділятися прибережним біотопам водойм, що лежать в межах евфотної зони, глибина якої не перевищує потроєну прозорість білого диску і складає, як правило, для водойм України 2,5–5,0 м [9]. За межами евфотної зони водної екосистеми фітомікробентос формується планктонними водоростями, що опустились із водної товщі, а також тих, що здатні до гетеротрофного живлення і, відповідно, суттєвого значення у формування первинних потоків енергії у водних екосистемах не мають.

При відборі проб слід дотримуватися умов, які попереджують скаламучування мулу. Після підйому бентометра на поверхню нижній кінець трубки приладу вставляється в наперед намічену вм'ятину в пластинці з пенопласту або

закривається корком. Після чого вода над колонкою ґрунту за допомогою ґруші повинна бути видалена.

Оскільки основну масу мікрофітобентосу складають форми водоростей з питомою густиною, близькою 1, мікрофітобентос відділяють від колонки ґрунту скаламучуванням її верхньої частини. При взятті проб на піщаних ґрунтах відбору проб, що залежить від ступеню замуленості ґрунтів, товщину скаламученого шару слід зменшити до кількох міліметрів, особливо це необхідно при відборі проб фітомікробентосу на тонких мулах. Відразу після скаламучування верхнього шару ґрунту здійснюють зливання або відсмоктування завису в темні склянки об'ємом 100–200 мл та фіксують формаліном. При використанні 40% формаліну його об'єм повинен складати десяту частину об'єму проби, що відповідає його концентрації в пробі близько 4%.

Враховуючи значну мозаїчність у розподілі різних типів донних відкладів, а відповідно і структурно-функціональної організації популяції водоростей фітомікробентосу, на одній станції необхідно брати не менше трьох різних проб. Проби, відібрані на одній станції, зливаються в загальний посуд (пляшку чи флягу).

Посуд (скляні пляшки чи пластикові фляги, що використовуються для інтегральної проби донних водоростей) повинен бути підготовлений заздалегідь в лабораторії таким чином, як і для зберігання проб фітопланктону (див. розділ I.1.1).

Згущення проб фітомікробентосу проводиться за методами, аналогічними для фітопланктону (див. розділ I.1.1).

Камеральне опрацювання проб

Подальші методи роботи з пробами фітомікробентосу: камеральне опрацювання, систематична ідентифікація, визначення чисельності та біомаси аналогічне опрацюванню проб фітопланктону, детальний опис якого наведено в розділі I.1.

Основною відмінністю є тільки те, що залежно від величин кількісного різноманіття (чисельність, біомаса) донних водоростей результати дослідження фітомікробентосу наводяться в таких одиницях: для чисельності – кл/10 см², кл/м², тис. кл/10 см², тис. кл/м², млн. кл/10 см², млн. кл/м², біомаси – мкг/10 см², мг/10 см², г/10 см², мг/м², г/м².

Враховуючи, що до складу водоростевих угруповань можуть входити великоклітинні форми водоростей, їх значні колоніальні агрегації, об'єм камери Накклітинні форми водоростей, їх значні колоніальні агрегації, об'єм камери Накжотта повинен складати не менше 0,05 мл. Також [5] рекомендується використання лічильних пластинок, на які штемпель-піпеткою наноситься 0,1 мл проби

донних водоростей. Згідно [5] розрахунок кількості фітомікробентосу проводиться за формулою:

$$N = \frac{n \cdot 10 \cdot v}{S} \cdot 10,$$

де N – кількість організмів на 10 см^2 поверхні субстрату; n – кількість організмів у прорихованій краплі води об'ємом $0,1 \text{ см}^3$; v – об'єм проби (см^3); S – площа перетину трубки в мікробентометрі. Отримані результати опрацьовуються статистично [1].

2.2. Визначення первинної продукції фітомікробентосу

Методичні підходи, що були наведені для визначення первинної продукції фітопланктону, в основному є такими, що можуть використовуватись і для оцінки продукційних характеристик фітомікробентосу, але, практично в кожній методології є хоча б незначні специфічні особливості. Тому при викладенні методів визначення первинної продукції донних водоростей, поряд з посиланням на загальні методичні підходи, характерні для фітопланктону (див. розділ I.1.2), основна увага буде приділятися специфічним методичним діям, виконання яких необхідно при визначенні продукційних характеристик фітомікробентосу. Це обумовлено тим, що для фітопланктону приведені вище визначення характеризують продукційні процеси в однорідному середовищі (водна товща), а для фітомікробентосу – на розділі двох фізичних фаз: «водне середовище – м'який субстрат».

Продукційні характеристики фітомікробентосу, як і для фітопланктону, визначаються тими самими показниками: валова первинна продукція (A_B), чиста первинна продукція (A_C), деструкція органічних речовин (R), співвідношення A/R , (див. розділ I.1.2).

Визначення первинної продукції фітомікробентосу за кількістю клітин водоростей

Для визначення продукції беруться чотири молібденові (чи кварцеві) циліндри, якими «вирізається» проба моноліту ґрунту з донними відкладами. Верхній отвір герметично закривається прищліфованою кришкою, нижній – гумовою прокладкою, що дозволяє не порушувати цілісність моноліту з вегетуючими водоростями. Два циліндри є контрольними (див. розділ I.1.2). Два циліндри на спеціальних штативах експонуються на тій самій глибині, з якої була взята проба, як правило, протягом доби. Після закінчення експозиції за допомогою сифона з циліндра обережно відсифонюється основна кількість води,

а її залишок разом з фітомікробентосом змивається в прокалібрований посуд, фіксується і камерально опрацьовується (див. розділ I.1.2.). Одержані показники продукції в $\text{мг}/\text{м}^2$, $\text{г}/\text{м}^2$ органічної речовини чи при відповідному перерахунку в енергетичні одиниці (калорії, джоулі) будуть характеризувати продукцію, близьку до чистої первинної продукції фітомікробентосу, що фактично є його біомасою.

Визначення продукції фітомікробентосу склянковим методом у кисневій модифікації

Для визначення первинної продукції донних водоростей найбільш вдало, на наш погляд, є запропонований К. С. Владимировою [2] склянковий метод у кисневій модифікації.

Його основною перевагою є збереження при проведенні досліду цілісності моноліту донних відкладів з водоростями, що розвиваються на ньому. Досягається це використанням спеціальних циліндрів з молібденового або кварцового скла діаметром 38–40 мм, висотою до 250 мм, з щільно притертими пробками.

Проби фітомікробентосу на мілководних станціях безпосередньо відбираються циліндром і експонуються у водоймі на тій самій глибині. На глибоководних станціях проби фітомікробентосу відбираються мікробентометром з діаметром вхідного отвору 550–600 мм з тим, щоб з нього скляним циліндром, не скаламучуючи пробу, «вирізати» необхідний для експозиції моноліт ґрунту [8].

Після експозиції, що триває добу, штатив із «світлим» та «темним» циліндрами виймається із водойми. За допомог труші з гумовим шлангом шар води, що знаходиться над ґрунтом із фітомікробентосом, висотою до 5 см і об'ємом 60–70 мл, відсифонується в склянки. Розчинений у воді проби кисень фіксується за аналогічною методикою, що використовується для фітопланктону.

Подальші дії дослідника з визначення продукції фітомікробентосу відповідають кисневій модифікації склянкового методу, що викладено вище для фітопланктону (див. розділ I.1.2.).

Література

1. Василевич В. И. Статистические методы в геоботанике. – Л.: Наука, 1969. – 144 с.
2. Владимирова К. С. Методика изучения первичной продукции донных водорослей // Гидробиол. журн. – 1969. – 5, № 4. – С. 128–130.

3. *Владимирова К. С.* Фитомикробентос Днепра, его водохранилищ и Днепро-Бугского лимана. – Киев: Наук. думка, 1978. – 232 с.
4. *Гурвіч В. В., Цеб Я. Я.* Мікробентометр для взяття кількісних проб мікробентосу // ДАН УРСР. – 1958. – 10. – С. 21–24.
5. *Топачевский А. В., Масюк Н. П.* Пресноводные водоросли Украинской ССР. – К.: Виша школа, 1984. – 333 с.
6. *Травяко В. С., Евдокимова Л. В.* Микробентометр БМ-ТЕ // Гидробиол. журн. – 1968. – 4, №1. – С. 94–95.
7. *Оксиюк О. П., Зимбалева Л. И., Протасов А. В.* Оценка состояния водных объектов Украины по гидробиологическим показателям // Гидробиол. журн. – 1994. – 30, № 4. – С. 31–35.
8. *Щербак В. И.* Скляночные методы определения первичной продукции водорослей планктона и бентоса // Труды IV Поволжской конференции. – Т. 1. – Казань: Изд-во Казанского университета, 1991. – С. 59–66.
9. *Щербак В. І.* Гідроекологічні аспекти вирішення проблеми оцінки та зниження загроз біорізноманіттю континентальних водойм України // Оцінка і напрямки зменшення загроз біорізноманіттю України. – К.: Імджест, 2003. – С. 237–348.

2.3. Оцінка стану водних об'єктів за рівнем розвитку фітомікробентосу

В число «біологічних елементів якості для класифікації екологічного статусу» річок, озер, естуаріїв включені такі характеристики фітомікробентосу як його таксономічний склад і чисельність [1]. Таксономічний склад як характеристика фітомікробентосу – компонента донного біоценозу – може бути використаний для обчислення трьох показників його таксономічного різноманіття подібно до того, як це робиться стосовно фітопланктону.

Щодо чисельності фітомікробентосу, то цей показник поряд з іншим структурним показником – біомасою фітомікробентосу групою фахівців Інституту гідробіології НАН України був включений до 9-розрядної класифікації стану поверхневих водних об'єктів України за гідробіологічними показниками (див. розділ III). Вона може слугувати критеріальною базою для кількісної оцінки стану донної біоти континентальних водних об'єктів України за характеристиками фітомікробентосу.

Література

1. *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy // Official Journal of the European Communities. – L 327, 22.12.2000. – 72 p.*

3. Епіфітні угруповання водоростей

Епіфітні угруповання водоростей (фітоепіфітон), які розвиваються на вищих водяних рослинах, відіграють значну роль у гідроекосистемах і є важливим біоіндикатором стану водних об'єктів та якості води. Використання їх в системі моніторингу водойм, що заростають вищою водяною рослинністю, не тільки бажане, але й необхідне. У «Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council...» [6] епіфітні водорості розглядаються як компонент угруповань макрофітів.

3.1. Методи відбору і опрацювання проб

Основна вимога до відбору проб епіфітних угруповань водоростей (ЕУВ) полягає у забезпеченні репрезентативності відібраної проби, яка повинна адекватно відображати якісний та кількісний склад угруповання. Залежно від поставленої задачі проби ЕУВ можуть відбиратися на кожному горизонті вищої водяної рослини по вертикалі, по трансекті масиву заростей тощо, або можна відібрати одну (чи декілька) осереднюючих проб, які репрезентують інтегральний результат.

У рослин з плаваючим листям зразки беруть окремо з листя і стебел, у занурених – з усієї рослини, у повітряно-водних – в основному зі стебла. Візуально визначається зовнішній вигляд обростань, їхня консистенція, колір.

У точці відбору проб необхідно встановити фітомасу вищих водяних рослин на 1 м^2 поверхні дна. На місці визначається сира маса макрофітів, згодом, після висушування – суха маса. Це необхідно для подальшого перерахунку чисельності та біомаси ЕУВ на площу заростей у водному об'єкті.

Процес відбору проб ЕУВ полягає у тому, що фрагменти вищих водяних рослин обережно зрізають, бажано під водою, і вміщують у широкогорлі склянки об'ємом 100 см^3 . Площа цих зразків залежно від виду макрофітів повинна становити $10\text{--}150 \text{ см}^2$, сира маса – $5\text{--}20 \text{ г}$. Для отримання репрезентативних даних з кожного виду макрофітів проби відбирають не менше ніж у трьох повторностях.

Консервація проб

Склянки зі зразками заливають дистильованою або водопровідною водою; у разі слабого розвитку фітопланктону проби можна заливати безпосередньо водою з водойми у місці відбору. Фіксують проби 40%-ним розчином формаліну у співвідношенні 1:10. Конче необхідно супроводжувати кожен пробку етикеткою, що закладається (або вставляється) під кришку (корок). Етикетку пишуть на невеликому клаптику паперу простим олівцем і ретельно згортають, щоб запобігти змиванню водою. На етикетці зазначають: порядковий номер, короткі відомості щодо розташування пункту відбору проби, назву вищої водної рослини, дату, прізвище оператора.

У пункті відбору проби робиться запис у польовому щоденнику, де крім відомостей, вміщених на етикетці, зазначаються додаткові дані спостережень щодо екологічних умов, а також результати визначення фітомаси вищих водних рослин.

Камеральне опрацювання проб

У стаціонарних умовах у лабораторії із зібраних зразків щіточкою ретельно змивають обростання; змив знову зливають у той же посуд, де раніше була проба [4, 1]. Об'єм змиву залежно від кількості водоростей в епіфітному угрупованні може коливатися в межах 25–100 см³.

Після цього обов'язково треба оглянути поверхню рослини під мікроскопом (або бінокляром), щоб переконатися, що водоростей на ній не залишилось.

Відмиті від епіфітів фрагменти рослин підсушують фільтрувальним папером і зважують для визначення сирої маси рослин [3]. За допомогою міліметрового паперу визначають, коли це можливо (наприклад, для повітряно-водних рослин, рослин з плаваючим листям, деяких видів рдесників тощо) поверхню зразків рослин, з яких змивали обростання. Після висушування визначається повітряно-суха, а іноді й абсолютно суха маса зразка рослини, з якої були змиті водорості.

Склад та кількісні показники визначаються шляхом мікроскопування проб ЕУВ, одержаних викладеним вище чином. Визначення видів водоростей епіфітних угруповань, аналогічно фітопланктону та фітобентосу, виконується за відповідними визначниками. З метою уточнення визначення діатомових водоростей необхідно виготовляти постійні препарати з використанням спеціального середовища [2, 5].

При якійсь обробці проб бажано здійснити приблизний кількісний облік шляхом визначення частоти трапляння окремих видів, використовуючи для

цього умовні позначення. Існують різноманітні шкали для оцінки частоти трапляння водоростей. Як приклад нижче наводиться шкала Стармаха [7]: + – дуже рідко (вид присутній не в кожному препараті); 1 – поодинокі (1–6 екземплярів у препараті); 2 – мало (7–16 екземплярів у препараті); 3 – помірно (17–30 екземплярів у препараті); 4 – багато (31–50 екземплярів у препараті); 5 – дуже багато, абсолютне переважання (понад 50 екземплярів у препараті).

3.2. Визначення чисельності та біомаси

Кількісному обліку можуть підлягати тільки кількісні проби ЕУВ. Підрахунок чисельності епіфітних водоростей проводять на лічильних пластинках у краплі об'ємом 0,1 мл, відібраної за допомогою штемпель-піпетки (рис. 3.1.1). Лічильна пластинка – це предметне скло, розліноване поперечними рисками на доріжки шириною трохи меншою за поле зору мікроскопу при окулярі $\times 10$ і об'єктиві $\times 40$ (рис. 3.1.2).

Щоб запобігти швидкому висиханню краплі на лічильну пластину наносять коло з гліцерину; в центр цього кола вміщується крапля із штемпель-піпетки, підсушується за допомогою електролампи й накривається покривним скельцем. Використання камери Нажотта для кількісного обліку ЕУВ недоцільне, оскільки можлива значна похибка в результатах через те, що частина водоростей (особливо великих, а також нитчастих форм) переміщується з краплі в борозенку, що оточує лічильну камеру для відтоку зайвої води.

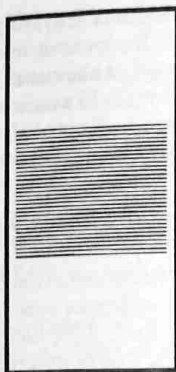
Розрахунок чисельності водоростей в епіфітних угрупованнях виконується за формулою:

$$N = n \frac{V_0}{V_1 \cdot m},$$

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

При великій кількості водоростей в пробі можна збільшити її розведення водою або рахувати не всі доріжки на лічильній пластині (наприклад, через 2, 3, 5 і т.д.), вносячи відповідні корективи в розрахункові формули.

Зазвичай, розрахунок виконують на 1 г сухої маси рослини, оскільки суха маса визначається з меншою похибкою, ніж сира. Однак важливо знати також



3.1. Прилади, що застосовуються при кількісному обліку водоростей: 1 – штемпель-піпетка (*a* – ручка; *b* – металева обойма; *c* – скляна трубка; *z* – котушка з виїмкою певного об'єму); 2 – лічильна пластина.

чисельність ЕУВ на 1 г сирої маси рослини. Для цього величину чисельності на 1 г сухої маси помножують на коефіцієнт, який дорівнює відношенню сухої маси до сирої. Його можна визначити на досліджуваному зразку вищої водної рослини. Однак коректніше використовувати середні значення такого коефіцієнта, встановлені шляхом багаторазових вимірів, здійснених на певній водоймі в результаті гідроботанічних досліджень.

Біомасу розраховують для кожного виду водоростей, які входять до складу епіфітних угруповань. Для цього дані щодо їх чисельності помножують на індивідуальний об'єм їх клітин, а питома маса водоростей здебільшого приймається рівною 1,0.

Об'єми клітин водоростей визначають за методом геометричної подібності і розраховують за відповідними формулами (наприклад, кулі, циліндра, конуса тощо). Винятком є діатомові водорості, які мають бісиметричні клітини різної конфігурації. Для них, наносячи контур стулки на міліметровку, визначають площу стулки. Помножуючи площу на товщину клітини, вираховують її об'єм. При цьому для деяких видів водоростей, об'єми клітин яких коливаються в дуже великих межах, доводиться виконувати розрахунки для декількох розмірних груп.

Біомасу кожного виду водоростей епіфітних угруповань вираховують за формулою:

$$B = N \cdot V_c \cdot 1,0 \cdot 10^{-9},$$

де B – біомаса водоростей (мг/г сухої або сирої маси рослини); N – чисельність водоростей (кл/г сухої або сирої маси рослини); V_c – індивідуальний об'єм клітини водорості (мкм³); $1,0$ – питома маса водоростей.

Після кількісного опрацювання необхідно додатково переглянути під мікроскопом осад проби для доповнення видового складу ЕУВ, оскільки в краплю, нанесену на лічильну пластину, деякі види могли не потрапити.

Література

1. *Вассер С. П., Кондратьева Н. В., Масюк Н. П. и др.* Водоросли. Справочник. – Киев: Наук. думка, 1989. – 608 с.
2. *Дiatомовий анализ.* Кн. 1 / Под ред. А. Н. Криштофовича. – Л. Гос. изд. геологич. лит-ры, 1949. – 273 с.
3. *Костикова Л. С.* Вивчення перифітону Кременчуцького водоймища. – Укр. ботан. журн., 1977. – **34**, № 3. – С. 351–356.
4. *Топачевський О. В., Масюк Н. П.* Пресноводные водоросли Украинской ССР. – К.: Вища школа, 1984. – 333 с.
5. *Топачевський О. В., Оксіюк О. П.* Діатомові водорості – Bacillariophyta (Diatomeae). – К.: Вид-во АН УРСР, 1960. – 412 с. – (Визначник прісноводних водоростей УРСР; Т. II).
6. *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy // Official Journal of the European Communities.* – L 327, 22.12.2000. – 72 p.
7. *Starmach K.* Metody badania planktonu. – Warszawa: PWN, 1955. – 135 s.

4. Макрофіти

4.1. Загальна характеристика, основні терміни

Під час роботи на водних об'єктах для оцінки стану макрофітів застосовуються традиційні методи, що детально описані в працях Г. К. Лепилової [24], В. М. Катанської [15,16], Г. П. Белавської [5,6], К. О. Кокіна [18], І. М. Распопова [34–36]. Сучасні підходи відображені у матеріалах школи з гідроботаніки [13].

Водяними вважають рослини, що анатомо-морфологічно та фізіологічно пристосовані до життя у воді та на вкритому водою ґрунті. До їх складу входять мікрводорості та макрофіти, яким і присвячений цей розділ. *Макрофітами* називають всі макроскопічні рослинні організми (незалежно від їх систематичного положення), встановлення родової (видової) належності яких не потребує застосування оптичних засобів з великим збільшенням [34]. В прісноводних водоймах це вищі водяні рослини, а також харові і зелені нитчасті водорості.

Вищі водяні рослини (higher aquatic plants, höhere Wasserpflanzen) об'єднують водяні мохоподібні (Bryophyta), плауноподібні (Lycopodiophyta), папоротьсподібні (Polypodiophyta) і покритонасінні (Magnoliophyta). Названі групи рослин, за винятком мохоподібних, відносяться до *водяних судинних рослин*. Під *водною флорою* розуміють сукупність таксонів водяних рослин на даній акваторії або в межах певного географічного простору. *Флора водного об'єкта*, чи *флора водойми* більш широка за складом. Вона включає усі рослини водойми [7], тобто окрім водяних ще і гідрогелофіти [28], гідрофіти та мезофіти, які вегетують біля урізу води, у зоні заплеску, на озерних сплавинах : образки болотні (*Calla palustris* L.), цикута отруйна (*Cicuta virosa* L.), види роду ситняг (*Eleocharis*), півники болотні (*Iris pseudacorus* L.), плакун верболистий (*Lythrum salicaria* L.), жовтець язиколістий (*Ranunculus lingua* L.), череда поникла (*Bidens cernua* L.), верба попеляста (*Salix cinerea* L.) та ін.

Між водяним середовищем та суходолом існує безперервний просторово-часовий континуум. Тому єдиних стандартів при визначенні об'єму гідрофільної флори, на жаль, не існує, різні дослідники відносять до її складу від 100 до 300 видів. В даному посібнику наводяться підходи, прийняті в гідробіологічних дослідженнях. При проведенні флористичних робіт для одержання результатів, які можна порівняти, слід аналізувати або всю флору водного об'єкта, або тільки флору «водяного ядра», тобто склад справжньо-водяних і

земно-водяних рослин [42], оскільки основні розбіжності пов'язані з проведенням межі між повітряно-водяними і прибережно-водяними рослинами. При [13] радить надавати видам певної «ваги» залежно від частоти їх трапляння або проективного покриття. Спеціалісти, які добре знають біологію та екологію роки у флористичних роботах широке застосування отримав метод парціального даного методу дозволяє зняти питання про об'єм гідрофільної флори, провести її екологічну диференціацію, порівняння регіональних списків та екологічної активності видів [23]. Для прісних водойм середньої Росії, наприклад, розроблена система з 13 екотопів [20, 22, 23], які відносно легко виокремлюються і піддаються типізації:

1. Захищені від вітру та хвиль прибережжя водойм із стабільним або незначним змінним рівнем з глибиною 250–90 см;
2. Те ж самі прибережжя із стабільним рівнем та глибиною 90–0 (10) см, що заселені повітряно-водяними рослинами;
3. Прибережжя з піщаними ґрунтами, що періодично заливаються;
4. Прибережжя з муловими та мулово-торф'янистими ґрунтами, що періодично заливаються;
5. Прибережжя з піщаними ґрунтами, які осушуються після спаду води;
6. Прибережжя з муловими та мулово-торф'янистими ґрунтами, які осушуються після спаду води;
7. Урізи. Екотопи уривчастих та крутих берегів на межі вода-суша;
8. Літораль зони прибою;
9. Болотисті води;
10. Болотисті прибережжя;
11. Сформовані сплавини;
12. Сплавини, що формуються;
13. Прибережжя, що заболочуються.

До складу водяних макрофітів входять *справжньо-водяні, повітряно-водяні і амфібійні* види. Перші для проходження життєвого циклу потребують постійного контакту з водним середовищем, більша частина вегетативного тіла цих рослин занурена у воду, на її поверхні чи над нею можуть бути розташовані листя та генеративні органи. У повітряно-водяних рослин у воді знаходиться лише нижня частина пагонів, а верхня – у повітрі. Представники цієї групи займають прибережні мілини до глибин 1 (2) м, зустрічаються вище урізу води та є звичайними для болотних екотопів. Оптимального розвитку вони набувають на

покритому водою ґрунті. Амфібійними є види, які в залежності від умов проходять свій життєвий цикл як за типом справжньо-водяних, так і суходільних рослин (*Elatine girospema* D u e b e n, *Callitriche verna* L., *Limosella aquatica* L. та ін.) [13].

В практиці гідроботанічних досліджень серед водяних рослин за ступенем контактування з водним і повітряним середовищами та донними відкладами звичай розрізняють такі екологічні групи:

– повітряно-водяні – рослини з пагонами, частина яких перебуває у водному середовищі, а частина піднімається над поверхнею води:

а) високотрав'яні (*Phragmites australis* (C a v.) T r i n e x S t e u d., *Typha angustifolia* L., *Schoenoplectus lacustris* (L.) P a l l a та ін.);

б) низькотрав'яні (*Butomus umbellatus* L., *Sagittaria sagittifolia* L., *Sparganium erectum* L., *Glyceria maxima* (C. H a r t m.) H o l m b. та ін.).

Частина видів низькотрав'яних повітряно-водяних рослин залежно від глибини, на якій вони ростуть, утворюють різні екобіоморфи (*Sagittaria sagittifolia*, *Butomus umbellatus* та ін.).

– з плаваючим листям – рослини, більша частина вегетативних пагонів і листя яких плаває на поверхні води; розрізняють укорінені (*Nymphaea alba* L., *Nuphar lutea* (L.) S m i t h, *Nymphoides peltata* (S.G. G m e l.) O. K u n t z e та ін.) і не укорінені чи вільно плаваючі (*Lemna minor* L., *Spirodela polyrrhyza* (L.) S c h l e i d, *Salvinia natans* (L.) A l l. та ін.). Деякі рослини з плаваючим листям здатні витримувати короткочасне осушення. Наприклад, глечики жовті формують наземну форму із щільним листям на коротких черешках. У тих самих глечиків на глибині більш, ніж 2 м чи на течії плаваюче листя майже не утворюється, воно все розташоване біля дна – тонке, напівпрозоре, світло-зелене, з коротенькими черешками;

– занурені – рослини, основна частина яких знаходиться у водній товщі, а генеративні пагони можуть здійматися над водою чи плавати на її поверхні. Занурені рослини також можуть бути укоріненими (*Potamogeton perfoliatus* L., *Myriophyllum spicatum* L., *Vallisneria spiralis* L. та ін.) і неукоріненими (*Lemna trisulca*, види родів *Ceratophyllum*, *Utricularia* та ін.).

Розподіл рослин на екологічні групи є дещо умовним, що пов'язано з перекриттям екоотопів, нестабільністю гідрологічних умов та особливостями видів.

Часто екологічним групам рослин надають інших, більш стислих назв. Наприклад – телофіти для повітряно-водяних, гідатофіти для занурених, плейстофіти для рослин з плаваючим листям [25, 34]. Різні вчені вкладають у ці терміни не однаковий зміст. Тому, вживаючи їх, слід робити посилання на ту роботу, у якій значення терміну пояснюється.

Дослідження рослинності проводяться на трьох рівнях структурно-функціональної організації біоти: популяційно-видовому (вивчення ценологічного стану рослин), ценотичному (структурній і функціональній характеристиці рослинних угруповань, класифікація рослинності) і інтраценотичному (просторові одиниці рослинності, районування водних об'єктів). Ценотичний рівень досліджень є центральним в гідроботаніці. Проте для розуміння закономірностей складу, структури, розподілу і динаміки рослинності необхідне знання екології та фізіології видів.

Перед початком роботи з вивчення водної рослинності необхідно чітко сформулювати її мету і завдання, оцінити власні можливості і визначити склад робочої групи. Залежно від цього застосовуються різні засоби і методи дослідження. Рекомендується ознайомитися з існуючими літературними даними і картографічними матеріалами об'єкту дослідження і провести рекогносційний об'їзд (на човні, машинні) чи обхід водного об'єкту для ознайомлення з характером рослинності і основними рисами її розподілу. При роботі на великій водоймі бажано здійснити аеровізуальні спостереження, скористатися матеріалами аерофото- чи космічної зйомки. Усе це дозволить скласти картину заростання і намітити ділянки для більш детального обстеження.

Зазвичай вивчення водної рослинності здійснюють у момент її оптимального розвитку (цвітіння, плодоношення). У середній смузі України це липень – початок серпня. Проте для з'ясування повного складу флори водного об'єкта і різноманіття водної рослинності бажано відвідати дану водойму також і на початку вегетаційного сезону (кінець травня – початок червня).

Під час гідроботанічного вивчення новостворених водних об'єктів з не-сформованою рослинністю увагу слід звернути на потенційні біотопи вищих водних рослин: мілководні ділянки з піщаними чи мулистими донними відкладами, де немає активного вітро-хвильового перемішування. На кам'янистих відкосах і донних відкладах з гравію у перші роки існування оселяються, в основному, макроскопічні водорості.

Для роботи на водних об'єктах необхідний невеликий стійкий човен, на якому зручно пересуватися акваторією і в заростях. На великих водоймах і в потоках – це моторний човен (з веслами і якорем) чи катер для пересування з надувним гумовим човном з цупкого матеріалу для роботи в заростях. На невеликих водних об'єктах достатньо весельного човна з невеликою осадкою. Крім того, для зручності пересування човна заростями і вузькими протоками, бажано мати жердину довжиною 2–3 м. Під час роботи на глибокому водному

об'єкті для його детального вивчення об'їзджають літоральну зону, на мілководному – всю акваторію, із заїздами у найбільш «глухі» затоки.

Основні абіотичні фактори, що зумовлюють розвиток макрофітів

Розвиток рослинності визначається комплексною дією багатьох факторів: глибиною водного об'єкту, кольоровістю і прозорістю води, характером руху водних мас та інтенсивністю водообміну, температурою, хімічним складом води і донних відкладів, механічним складом останніх. Визначальну роль у водних об'єктах різного типу можуть відігравати різні чинники. У річках, наприклад, це швидкість течії, ступінь рухливості донних відкладів і, безумовно, наявність мілководь. У водосховищах – існування рослинних зародків при заповненні, амплітуда коливань рівня води, швидкість стокових течій (на річкових ділянках) і наявність захищених від вітру мілководь (на озерних). Важливе значення мають хімічний склад води і особливості донних відкладів. Тому при вивченні водної рослинності слід здійснювати виміри параметрів водного середовища: температури води (при дні і на поверхні), прозорості, кольоровості, рН, глибин у нижній та верхній межах поширення угруповань, складу донних відкладів, швидкості течії, рівня води (у водосховищах). Бажано працювати у комплексі з гідрологами і гідрохіміками або ж фахово проводити виміри необхідних параметрів самостійно (див. відповідні розділи цього збірника). Суттєвими для розвитку макрофітів у річках та на річкових ділянках водосховищ є також водність року та характер повені.

4.2. Визначення видового складу і структури рослинних угруповань

Опис рослинності здійснюють на облікових майданчиках або на екологічних профілях. Кількість, розмір майданчиків та їх форма залежать від структури травостою, його щільності, однорідності і т.д. Вони повинні охоплювати всю різноманітність біотопів. Оптимальним вважається розмір майданчикова, що дорівнює площі, на якій виявляються усі види фітоценозу. Для маловодних водяних ценозів це 1–10 м² [48].

В кожному рослинному угрупованні у залежності від мети дослідження описують:

1. *Видовий (флористичний) склад* – перелік видів (угруповання може бути представлено одним, або ж багатьма видами) із зазначенням чисельності за

тією чи іншою шкалою [31], життєвості, морфологічних аномалій, фенологічного стану. Життєвість зазвичай оцінюють за 5-бальною шкалою:

1 – види пригнічені; 2 – вегетативний розвиток нижчий за норму, здатність квітнути та плодоносити не втрачено; 3 – види з повним циклом розвитку, нормально ростуть, квітнуть та плодоносять; 4 і 5 – види мають розвиток понад норму та гіпертрофований розвиток. Фази вегетації позначають окремими літерами: *ю* – ювенільна рослина, *б* – фаза бутонізації; *к* – квітання; *п* – наявність стиглих плодів та насіння; *вл* – вегетація після плодоношення; *в* – відмирання; *зб* – зимуючі бруньки.

На підставі вивчення флористичного складу рослинних угруповань або спеціально проведених флористичних розвідок складають списки водної та прибережно-водної флори чи списки парціальних флор. Якщо рослина невідома дослідникові, то її нумерують і закладають в гербарій для подальшого визначення. Збір рідкісних рослин можна здійснювати лише у тих випадках, коли це не завдає шкоди популяції. Для подальшого визначення бажано зібрати всі органи рослини від кореня до квітки або плоду. Висушування водних рослин здійснюють за певними правилами [13]: листя і квіти рослин розміщують на гербарному аркуші так, щоб кілька з них лежали нижньою стороною догори; у великих рослин для гербарію беруть лише частину кореня й стебла з нижнім листком, частину стебла зі стебловим листком і частину суцвіття; товсте і м'ясисте стебло або кореневище розрізають уздовж; у дрібних рослин для гербаризації беруть кілька екземплярів, щоб увесь аркуш був заповнений; ніжні, тендітні рослини, листя яких поза водою злипається, закладають на лист пергаменту у тазу з водою чи у фотокюветі; щоб м'ясисті квіти добре висохли і зберегли свої барви, їх пелюстки слід перекладати папірцями, які попередньо змочують у насиченому розчині солі, цукру або квасців і висушують. Гербарійний зразок повинен супроводжуватися етикеткою, на якій зазначають регіон досліджень, найближчий населений пункт, місце збору (бажано вказати глибидосліджень, прізвище колектора. Рослини висушують у гербарних сітках на повітрі, раз на добу потрібно змінювати матеріал для прокладки (газети, фільтрувальний папір, ватяні матрасики, сукно).

У польовому щоденнику обов'язково вказують визначники, які використовують у роботі;

2. *Вертикальна структура* угруповання визначає наявність і склад підводного, плаваючого та надводного ярусів в ньому;

3. *Горизонтальна структура* враховує тип розподілу ценопопуляцій в угрупованні (випадкове, рівномірне, групове і комбіноване), проективне покриття (площа горизонтальних проєкцій рослин на поверхню дна, що виражається у

відсотках від площі угруповання) для виду, ярусу, загальне проективне покриття (воно може перевищувати 100% з причини перекриття ярусів).

4.3. Визначення характеру заростання і розподілу рослинності

При вивченні характеру заростання і розподілу рослинності необхідні картографічні матеріали або плани водного об'єкту (бажано з глибининими відмітками), спираючись на які можна провести його попереднє районування і скласти схеми заростання, беручи до уваги, насамперед, морфометричні ознаки. Детальне вивчення рослинності здійснюють у виокремлених ділянках безпосередньо на водному об'єкті. При роботі на крупних водних об'єктах дуже допомагають аеровізуальні спостереження з невеликих маневрених літаків з незначною швидкістю польоту (типу ЯК-12, У-2) чи гелікоптерів [3]. Можна скористатися матеріалами великомаштабної (1:5000, 1:10000) аерофотозйомки, проведеної у вегетаційний сезон. За наявності коштів бажано використання спектрозональних космічних знімків і пакету комп'ютерних програм для їх обробки. Аерометоди є незамінними не тільки при рекогносційних роботах, з їх допомогою можна також визначати характер розміщення повітряно-водної рослинності і рослинності з плаваючим листям (іноді й зануреної) по акваторії водних об'єктів, визначати контури і структуру заростей, розраховувати площі заростання. У подальшому знімки повинні бути дешифровані, при візуальних спостереженнях мають бути складені картосхеми заростання.

Дешифрування знімків здійснюють безпосередньо на водному об'єкті. За розташуванням і формою контура, його структурою, фототонном іноді можна визначити тип заростей. Так, наприклад, зарості рогоза і очерету на знімках мають вигляд плям різного розміру і відрізняються інтенсивністю забарвлення контуру. За конфігурацією контура розпізнаються куга озерна і сусак зонтичний. Плаваюча рослинність відзначається світлим, майже білим забарвленням контурів, конфігурація яких змінюється залежно від складу заростей. Занурена рослинність на знімках має вигляд зернистих розмитих плям сірого кольору.

При складанні картосхем заростання межі заростей визначаються за допомогою помітних орієнтирів на березі чи в самому водному об'єкті. Потім на намічених ключових ділянках прокладають екологічні профілі, лінійні чи стрічкові трансекти, де описують і вивчають рослинність. При зміні заростей враховують, як правило, і фактори середовища (глибину, температуру води, характер донних відкладів, відбирають проби води і донних відкладів для наступного аналізу, в заростях занурених рослин вимірюють прозорість води), вста-

новлюють розміри зон чи поясів рослинності. При вивченні закономірностей розподілу рослинності профілі закладають із врахуванням спрямованості градієнтів факторів середовища. Кількість профілів, які потрібно прокласти у водному об'єкті для встановлення закономірностей розподілу рослинності, залежить від його величини, характеру заростання, а також від мети дослідження. У водних об'єктах з незначною кількістю біотопів і достатньо однорідною складним рельєфом берега і високим різноманіттям біотопів, профілі чи трансекти прокладають у найбільш показових частинах.

Екологічні профілі зазвичай прокладають за допомогою вимірного шнуру, що не розтягується при намоканні (бажано, щоб шнур був з поплавками), прокладають його під прямим кутом до лінії берега. Напрямок профілю встановлюють за компасом.

При вивченні рослинності важливо визначити глибину поширення заростей, їх розміщення і склад. Це здійснюють при об'їздах за допомогою грабелів з 4–5 зубцями (бажано загнутими) на довгому (2,5–3 м) держалі, або великими «кішками». Можна користуватися драгами та заростечерпаками, що описані в [16] та [36]. Більшість занурених рослин звичайно досягають глибини 2,5–3 м. Глибина їх поширення багато в чому залежить від прозорості води та пігментного складу рослин. Іноді водяний мох, слодя, молодильник, лобелія Дортмана, кушир занурюються на 8–12, а харові водорості – на 30 м. Рослини з плаваючим листям поширені до 1–4 (звичайно до 2) м, повітряно-водні зустрічаються від урізу води в середньому до 1–2 м. Щоб краще розвинути зосередження заростей на дні, особливо при неспокійній поверхні води, можна використати оглядову трубу, її виготовлення описано у [36]. Така труба удвічі проти неозброєного ока збільшує ефективність спостереження. Найбільш точний опис розподілу зануреної рослинності, її кількісні показники, екологічні особливості видів, склад фітоценозів можна отримати лише за допомогою водолазної техніки [32,35]. За час одного занурення (1 год. 10 хв.) в легкому водолазному спорядженні зазвичай візуально обстежують рослинність на площі близько 2000 м².

За даними досліджень складають картосхеми розподілу рослинності по акваторії водного об'єкту. Бажано також скласти екологічний розріз за глибиною. На них штриховкою позначають рослинність різних екологічних груп, або умовними знаками [16] вказують поширення кожного виду. За картосхемами вимірюють площі (м², га, км²) різного типу заростей, утворюючих їх видів, тих чи інших рослинних формацій (чи порядків та союзів), а також загальну площу заростання. Картосхеми та екологічні розрізи, складені за матеріалами спосте-

режень у різні роки, дозволяють описати зміни у характері заростання водойми за певні періоди часу.

4.4. Визначення ценотичного складу водної рослинності

Ценотичний склад вивчають під час класифікації рослинних угруповань (синтаксономії), яка на відміну від класифікації на рівні організмів (таксономії), відображає не історію розвитку рослинного світу, а «екологічну і сукцесійну диференціацію рослинного континууму» [27]. Розроблено чимало класифікацій, але більшість з них ґрунтуються на двох основних підходах: еколого-фізіономічному і еколого-флористичному (напрямок Браун-Бланке).

Еколого-фізіономічна класифікація передбачає виділення синтаксонів на підставі величин проєктивного покриття і біоморфологічних особливостей домінантних видів (виду). В ієрархічному відношенні класифікація виглядає таким чином: тип рослинності – клас формацій – група формацій – формація – асоціація. Основними одиницями класифікації є асоціація і формація. В. М. Сукачов [38] запропонував виділяти екологічні варіанти асоціацій, а А. П. Шенніков [41] – використовувати кліматичні, регіональні, сукцесійні і едафічні особливості для виділення різноманітних субасоціацій. В гідроботаніці такий поділ не був прийнятий, натомість, найменшою таксономічною одиницею вважається асоціація, що об'єднує фітоценози, однорідні за флористичним складом, будовою, синузальним устроєм та характером взаємовідносин між собою і з навколишнім середовищем. При виділенні асоціацій основну увагу приділяють 2–3 домінантним видам (одного чи різних рівнів). Формація – сукупність асоціацій зі спільним домінантом панівного ярусу. Назви формацій утворюють шляхом додавання до кореня латинської назви роду закінчення „eta” (*Potamogetoneta perfoliati*, *Nymphaeeta candidae*). Асоціації найменують звичайно за бінарною номенклатурою: перше слово складається з родової назви домінанта панівного рівня з додаванням до його кореня закінчення «etum», а друге – з родової назви домінанта другорядного рівня з додаванням закінчення «osum» – наприклад, *Nupharetum ceratophyllosum (demersi)*, *Typhetum (angustifoliae) potametosum (perfoliate)*. Якщо в пануючому ярусі переважають два домінанта, то їх обох використовують в назві (*Typheto-Phragmitetum*), те ж саме стосується і назви другої частини асоціації. У випадку одновидової асоціації до її назви додають слово «purum» (*Phragmitetum australis purum*). Оскільки у водних ценозах часто домінують декілька видів, більш простий спосіб полягає у перерахуванні їх латинських назв. При цьому знак «-» відокремлює види різних екологічних груп (рівнів), а «+» – види одного ярусу. Пе-

релік видів починають з повітряно-водяних, а закінчують зануреними (*Phragmites australis* + *Typha angustifolia* – *Nuphar lutea* – *Potamogeton pectinatus*). Вказують проєктивне покриття виду. В українських назвах приретьяно-рогозова означає угруповання рогозу з домішкою очерету. Така класифікація досить проста і зручна для попередньої орієнтації у матеріалі. Синтаксони встановлюють безпосередньо у процесі польових досліджень.

У наш час більшість фітоценологів світу надають перевагу еколого-флористичним класифікаціям, які побудовані на підставі схожості флористичного складу рослинних угруповань. Ця ознака краще за інші характеризує відношення видів до умов навколишнього середовища і один до одного [49]. Основною, але не найменшою синтаксономічною одиницею є також асоціація – об'єднання рослинних угруповань зі спільною комбінацією діагностичних видів. Асоціації на підставі блоку діагностичних видів із врахуванням додаткових критеріїв місця знаходження і зовнішнього вигляду об'єднують у більші синтаксони – союзи, порядки, класи. Так, наприклад, при виділенні класу на першому місці стоять фізіономічні ознаки, а флористичний склад – на другому (клас LEMNETEA R.Rx. 1955 об'єднує угруповання вільно плаваючих на поверхні і в товщі води рослин, що не вкорінюються, клас PHRAGMITMAGNOCARICETEA Klika in Klika et Novak 1941 – угруповання боліт, болотистих лук, прибережних мілководь). Порядок – варіант класу, що його виділяють на основі флористичних, фізіономічних та екологічних критеріїв; у класі LEMNETEA виділяють 3 порядки – Lemnetalia R.Tx 1955, що об'єднує угруповання дрібних плейстофітів мілководь з обмеженням водообміном; Hydrocharitetalia Rubel 1933 – угруповання більш крупних вільноплаваючих на поверхні та у товщі води видів переважно заболочених евтрофних слабо проточних водойм і Lemno-Utricularietalia Passarge 1978 – ценози плаваючих у товщі та на поверхні води видів заболочених, замкнених евтрофних та гіпертрофних водойм із обмеженням водообміном [14]. З урахуванням едафічних, евтрофних водойм із обмеженням водообміном [14]. З урахуванням едафічних, евтрофних водойм із обмеженням водообміном [14]. З урахуванням едафічних, географічних, кліматичних умов і сукцесійної стадії розвитку асоціації вона може бути поділена на більш дрібні підрозділи – субасоціації, варіанти та фації.

Синтаксони виділяють у процесі складної обробки фітоценотичних таблиць і тому це неможливе в польових умовах. Процедура вибору місця для геоботанічних описів, складання та обробки таблиць, встановлення таксонів різного рангу та їх назви детально описана у працях [1, 39, 49, 27]. Хоча асоціація і є «підвалиною» синтаксономії, не існує чітких критеріїв, які б дозволяли однозначно стверджувати, що дана сукупність описів (фітоценоз) є саме асоціацією, а не субасоціацією чи союзом. Встановити це можна лише порівнюючи одер-

жані дані з уже відомими. Будь-який синтаксон набуває своєї назви і чітко документується за допомогою валідно опублікованих фітоценотичних таблиць, що від початку містять не менш як 10 геоботанічних описів з повним переліком видів та мірою їх участі в угрупованні. Назва також супроводжується іменем автора та роком публікації. У зарубіжній літературі постійно відбувається типіфікація існуючих синтаксонів, з'являються нові синтаксономічні рішення. У нашій країні також більш-менш розроблений продромус для судинної водяної та водяно-болотної рослинності; з угрупованнями водяних мохів та макроскопічних водоростей справи стоять набагато гірше.

Система Браун-Бланке перебуває в постійному розвитку. Для будь-якого регіону можуть паралельно застосовуватися декілька варіантів класифікації. Кожна нова публікація регіональних списків таксонів може призвести до перегляду та ревізії класифікації: нові одиниці просто включаються у систему, або ж вся вона починає «рухатися», бо змінюються ранги синтаксонів. Головне при цьому – чітко керуватися «Кодексом фітоценологічної номенклатури» [4] та не перейменовувати раніше виділені одиниці при збереженні їх обсягу.

При класифікації водяних та прибережних угруповань зі збідненим флористичним складом головним є критерій домінантності. Проте цього недостатньо, тому використовують також ряд додаткових ознак – умови біотопу, географічне положення, динамічний статус асоціації, життєву форму рослин.

4.5. Визначення фітомаси і продукції рослинних угруповань

Хоч яким є важливим визначення продукції макрофітів, методично ця проблема ще остаточно не вирішена через складність і трудомісткість робіт. Існують «прямі» і «непрямі» методи. Усі модифікації прямого методу зводяться до визначення продукції за максимальною наземною фітомасою з використанням P/B коефіцієнтів. У більшості випадків визначають наземну фітомасу у сирому та повітряно-сухому вигляді.

Вивчення біології окремих видів засвідчує, що максимум біомаси вони досягають у різний час і у різні фенофази [21, 29]. Одні з них характеризуються значним приростом восени [43], інші – формуванням кількох генерацій протягом вегетаційного сезону [17, 40]. Однак для більшості видів максимум фітомаси припадає на час цвітіння, тобто на липень – початок серпня.

Наземну фітомасу найзручніше визначати на облікових майданчиках чи трансектах завширшки не більш як 0,5 м. Кількість контрольних ділянок і їх величини залежать від особливостей структури травостою і бажаної точності ре-

зультатів. Звичайно укоси збирають з площі 0,25, 0,5 і 1,0 м². В угрупованнях укорінених рослин з плаваючим листям розмір облікового майданчика збільшують до 2–4 м². Якщо для відбору кількісних проб рослинності користуються спеціальними приладами (драги, дночерпаки і т.п.), то кількість їх занурень повинна бути достатньою для покриття площі в 0,25 або 0,5 м². У багатовидових заростях мозаїчного складу з розрідженим травостоем укосів потрібно більше, ніж у монодомінантних угрупованнях з густим травостоем. Більш точні результати отримують при відборі великої кількості укосів з дрібних ділянок, ніж на кількості укосів для отримання середньої величини фітомаси з заданою точністю $N = v^2/p^2$, де N – кількість укосів, v – коефіцієнт варіації у вибірці, p – бажана точність. Згідно з цією формулою, для визначення сирової і повітряно-сухої фітомаси більшості рослин на Кременчуцькому водосховищі з точністю 10% потрібно збирати по 20 укосів з 1 м² [19]. При збільшенні точності до 15% кількість укосів збільшується до 25–40 (в деяких випадках – до 70–80). В. Г. Папченков [13] запропонував при вивченні водної рослинності регіону визначати середні величини фітомаси при різних класах проективного покриття (до 30%, від 30 до 60%, від 61 до 90%, вище 91%). В таких випадках в разі наявності геоботанічного опису водної рослинності із зазначенням проективним покриттям видів, можна розрахувати біомасу фітоценозів без відбору укосів.

При визначенні фітомаси ділянку, з якої вилучається рослинність, обмежують спеціальною розбірною рамкою, виготовленою з матеріалу, що не тоне, або шнуром, якщо її площа перевищує 1 м². На незначних глибинах (до 0,6–0,8 м) занурені рослини і рослини з плаваючим листям збирають руками, повітряно-водні – зрізають біля самого дна. Слід уважно слідкувати та прибирати рослини (особливо занурені та з плаваючим листям), які укорінюються далеко за межами облікової площі. Відбираючи укос на глибині, що перевищує 1 м, потрібно надійно закріпити рамку кілками по кутах, щоб не збільшити площу укосу. Це треба робити з човна, краще удвох. Для зрізання рослин на таких глибинах користуються косою з коротким лезом. Скошування починають з центру ділянки; після кожних 1–2 махів косою зрізані рослини вибирають руками або сачком. Скошувати рослини можна до глибини 1,5–2,5 м, при цьому бажано, щоб держак поставленої на дно коси здіймався над водою на 1,0–1,5 м [36]. Як зазначено вище, найбільш точні відбори занурених рослин на великих глибинах можливі лише за допомогою водолазної техніки, рамку в цьому випадку виготовляють з металу.

При відборі укосів гелофітів і плейстофітів на великих глибинах іноді користуються спрощеним методом: визначають середню масу одного пагона чи листа

з черешком і помножують на їх кількість на одиниці площі. Як правило, середню масу рослини визначають по 10–15 пагонах, для більш точного визначення можна скористатися вищенаведеною формулою В. І. Василевича.

У процесі *обробки* укосів рослини відмивають від бруду і звільняють, наскільки це можливо, від наростань. Для транспортування їх складають у поліетиленові мішки чи марлеві «пелюшки», зверху обгорнуті поліетиленом. Бажано розібрати укоси протягом 24 годин з часу відбору. Спочатку відділяють сухостій, «живі рослини» зважують (з точністю до 5–10 г), попередньо звільнивши їх від зайвої води. Потім укіс розкладають за основними видами, для кожного з них проводять зважування і різноманітні вимірювання залежно від встановлених завдань. Для більш точного визначення фітомаси і наступних розрахунків окрім сирої маси (СМ) визначають повітряно-суху (ПСМ) і абсолютно-суху (АСМ) масу. Висушування до ПСМ проводять на повітрі чи в приміщенні. Час просушування залежить від стану укосу, температури і вологості повітря (повітряно-водянні рослини сохнуть протягом тижня). Зважування здійснюють після повного висихання, що визначається візуально (листя при згинанні ламається) або шляхом кількаразового зважування до постійної маси. В лабораторії пробу подрібнених рослин зважують з точністю до 0,1 г і досушують у сушильній шафі за 65°C до постійної маси. За різницею маси визначають відсоток вільної вологи у рослинах. Після цього пробу чи її частину зважують на аналітичних вагівницях з точністю до 0,001 мг і висушують до постійної маси за 80–105°C. Так вираховують АСМ, а за різницею у масі до і після сушки – вміст зв'язаної вологи. Після цього наважку висушених рослин спалюють у муфельній печі і визначають вміст золи та органічної речовини у відсотках. Якщо рослини вкриті «карбонатною корою», для точного визначення фітомаси використовують поправочний коефіцієнт. Його розраховують, порівнюючи АСМ наважки з карбонатами з АСМ «відмитих» рослин, для чого останні на декілька хвилин вміщують у 3–5%-ний розчин соляної кислоти, а потім промивають водою.

У практиці гідробіологічних досліджень зазвичай вимірюють фітомасу в ПСМ. Якщо відома лише СМ, то для переведення у ПСМ користуються вже розрахованими для даного регіону чи отриманими самостійно перевідними коефіцієнтами. Фітомасу виражають у $г/м^2$, $ц/га$ і $т/км^2$.

Запаси наземної фітомаси (загальна фітомаса) визначають за середньою для виду фітомасою і зайнятою ним площею. При іншому способі розрахунку враховують фітомасу і площі різних за густиною заростей. Запаси фітомаси вимірюються у ПСМ і АСМ в $кг, ц, т$.

У сформованих заростях макрофітів підземна фітомаса часто у декілька разів перевищує наземну. Однак формується вона протягом кількох років і великої ролі у створенні загальної продукції за рік не відіграє. Стідно [50] коренери та очерету з комишу функціонують 4 роки, рогозу і їжачої голівки – 1,5–2 роки. Роботи з визначення підземної фітомаси технічно дуже складні [16,18] і проводяться тільки в спеціальних дослідженнях. Підземну фітомасу розраховують за наземною частиною з врахуванням орієнтовних відсотків, отриманих Д. Ветцелем [51].

Як правило, абсолютно чисту річну продукцію макрофітів визначають, перемножуючи величини загальної фітомаси на P/B -коефіцієнт, що враховує втрати при опаданні і поїданні гетеротрофними організмами. Для отримання точних значень P/B -коефіцієнта для різних видів і волойім, протягом вегетаційного сезону проводять спеціальні дослідження на постійних майданчиках; методика таких робіт детально описана Е. В. Боруцьким [8]. Зазвичай при продукційних дослідженнях вищих водяних рослин користуються коефіцієнтом 1,2, виведеним І. М. Распоповим [33]. В. Г. Папченко [13] пропонує використовувати цей коефіцієнт лише для високотрав'яних гелофітів, для лепехи та осоки – 2,0; для низькотрав'яних гелофітів – 2,3; для гідрофітів стійких озерних біотопів – 2,5, а в умовах водотоку та у водосховищах – 4,0; для нитчастих водоростей приймається коефіцієнт, рівний 10 [10].

Підземна продукція молодих заростей та крайніх ділянок зрілих угруповань гелофітів наближена до їхньої фітомаси; у середньовікових вона складає приблизно 50% від підземної фітомаси, а у старих – 20–25%. Таке ж співвідношення характерне для лататтєвих. У підрахунках для занурених кореневих рослин краще вживати коефіцієнт 0,5 для старих заростей і 0,8 – для молодих.

Фітопродукцію краще представляти в енергетичних одиницях, для цього її попередньо переводять в одиниці органічної речовини чи вуглецю. У повітряно-водяної рослинності вміст органічної речовини складає 92% від АСМ, в рослинності з плаваючим листям – 90%, а у зануреній – 85% [19]. Згідно [47] 1 грам абсолютно сухої речовини відповідає приблизно 0,4 г вуглецю чи 4 ккал (у міжнародній системі одиниць СІ 1 кал = 4,19 Дж). Це середня величина, оскільки енергетичний еквівалент рослинної маси залежить від виду рослини і оскільки енергетичний еквівалент рослинної маси залежить від виду рослини і стадії її розвитку. У харових і нитчастих водоростей, а також мохів 1 г АСМ орієнтовно прирівнюється до 1,2–2,9 ккал, у рдесників, слодєї і хвоща болотно-орієнтовно прирівнюється до 3,3–4,0. Під час гідробіологічних досліджень зазвичай розраховують загальну фітопродукцію, продукцію органічної речовини, вуглецю, продукцію в енергетичних одиницях в перерахунку на одиницю площі водойми, мілководь, заростей, а також на одиницю об'єму.

Непрямі методи визначення продукції засновані на вимірюванні величини фотосинтезу за одиницю часу. Це роблять шляхом виміру динаміки вмісту розчиненого кисню (кисневий метод) чи споживання міченої вуглецевої кислоти (радіовуглецевий метод) у замкнених посудинах за певний період експозиції. Використання склянок для вимірювання фотосинтезу фітопланктону детально розроблено в Г. Г. Вінбергом [11, 12], а радіовуглецева модифікація для прісної води, що має більш високу чутливість, запропонована Ю. І. Сорокіним [37].

Кисневий метод полягає в тому, що пагони рослин (чи їх частини), попередньо відмиті від перифітону і мінеральних домішок, розмішують у прозорій посудині, яку заповнюють водою. У цій воді визначають початковий вміст розчиненого кисню. Посудину герметично закривають корком (щоб під ним не було пухирів повітря), занурюють на глибину росту рослини і експонують. Одночасно роблять дослід з аналогічною навіскою даного виду в темній склянці для визначення дихання. Окрім цього необхідно поставити на експозицію ще світлу й темну склянки з водою без рослин для введення поправки на фотосинтез фітопланктону і на дихання всього планктону. По закінченні експозиції, яка триває від 20–30 хв до декількох годин, за різницею вмісту кисню, що виділився в процесі фотосинтезу, і спожитого при диханні, визначають продукцію [2, 30].

При *радіовуглецевому методі* продукцію рослин визначають за кількістю вуглецевої кислоти, спожитої в процесі фотосинтезу. Кількість асимільованої вуглекислоти при цьому розраховують за величиною швидкості споживання міченого мінерального вуглецю ^{14}C та загальним вмістом мінерального вуглецю у воді. Як і при кисневому визначенні, попередньо очищену від перифітону і відмиту від домішок рослину розмішують в герметичному посуді, в який додають певну кількість $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ і експонують у світлих і темних склянках протягом певного часу. Знаючи загальний вміст мінерального вуглецю у воді, взятій для дослід, активність внесеної мітки і радіоактивність ^{14}C в рослинах в кінці експерименту, можна за формулами розрахувати і загальну кількість асимільованого вуглецю [18].

Обидва методи досить трудомісткі, потребують уваги і акуратності при виконанні, спеціальної апаратури (радіовуглецевий метод), більшої кількості перевірок.

ня водойми аж до зміни характеристик його продукційно-функціональної організації при збереженні або збільшенні антропогенного тиску [44].

Індикаторами швидкості течії води можуть бути *Glyceria fluitans* (L.) R.Br., *Spartanium emersum* R e h m., занурені форми *Butomus umbellatus*, *Sagittaria sagittifolia*, деякі види рдестів (*Potamogeton perfoliatus*, *P. natans*). Для водних об'єктів з мінералізованою водою характерні *Zostera marina* L., *Z. noltii* Н о г п е т, *Schoenoplectus litoralis* (S c h r a d.) P a l l a, *S. triquetus* (L.) P a l l a, *S. tabernaemontani* (C. G. G m e l.) P a l l a та ін. Добре витримують засолення і еврибіонти – *Phragmites australis*, *Najas marina*, *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton pectinatus* та ін. В цілому зростання мінералізації води збіднює видовий склад рослин. В мінералізованій воді майже не зустрічаються види з плаваючим листям.

Чергування різких знижень і підйомів рівня води спричиняє масову появу і проходження повного життєвого циклу таких видів як *Polygonum amphibium*, *Sagittaria sagittifolia*. Індикатор постійного рівня води і відсутності течій – види роду *Utricularia*.

Підвищені температури добре переносять *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton perfoliatus*, *Vallisneria spiralis*, *Najas marina*.

При зменшенні величини рН зарості очерету та куги стають більш рідкими, на їх місці розвиваються осоки, хвощ болотний, лепешняк. При зниженні рН до 6,8 починають зникати рдесники [18].

Видовий склад, характер поширення, структура рослинних угруповань, показники фітомаси і площі зарослої акваторії є маркерами, які візуально виявляють екологічний стан водних об'єктів. Спостереження за динамікою якісних і кількісних показників розвитку водної рослинності дозволяють визначити напрямок сукцесії водних екосистем. Матеріали про зміни рослинності можуть бути отримані в результаті спостережень за акваторією всього водного об'єкта або його частини. Досліди проводять на стаціонарних майданчиках або трансектах з чітко фіксованими кордонами (щоб можна було відтворити їх у наступні роки). Закладаються вони на різних за типом заростання ділянках в місцях контакту фітоценозів. Трансекти прокладаються звичайно від берега до центра водного об'єкта. Майданчики (трансекти) регулярно (декілька разів на місяць, сезон або щорічно – залежно від задач дослідження) картуються з точним нанесенням кордонів угруповань, детальним їх описом, врахуванням фенологічних особливостей видів, кількісними їх вимірами і беручи до уваги фактори середовища. В середину ділянки або трансекти заходять (запливають) не рекомендується, щоб не пошкодити рослин. Укоси відбирають на розташованих поряд схожих ділянках.

Порівняння проводять за всіма параметрами, що характеризують угруповання: по зарослих площах (загальних, зайнятих видом, екологічною групою, калюною або горизонтальною), за видовим складом, структурою (вертикальною або горизонтальною), за продукційними характеристиками. Їх зміни можуть носити сезонний (фенологічні зміни) або різнорічний характер (флуктуації), що викликається змінами кліматичних умов, особливостями біологічних ритмів рослин, масовим розвитком тварин, що впливають на них, або ж антропогенним тиском на водойму і водозбірну площу. Сезонні зміни та флуктуації є хаотичними, але зворотними. Вони розглядаються як тимчасова зміна структури угруповань і протиставляються екологічним сукцесіям – спрямованим змінам, що спричинені зовнішніми або внутрішніми чинниками і мають незворотній характер. Для того, щоб зрозуміти, які саме зміни відбуваються в угрупованнях, потрібні довготривалі (не менше 5–10 років) спостереження.

Зміни в угрупованнях водної рослинності можуть бути оцінені за допомогою спеціальних математичних індексів: число видів в описах незалежно від їх кількісного представництва враховують індекси Жаккара і Серенсена.

$$\text{Індекс Жаккара: } K = \frac{c}{a+b-c};$$

$$\text{Індекс Серенсена: } K = \frac{2c}{a+b},$$

де K – коефіцієнт спільності, a, b – число видів в порівнюваних описах, c – кількість спільних видів. Значимість видів (група оцінок, за якими види в угрупованнях можуть порівнюватись – проективне покриття, поширеність, АСМ) врахована в коефіцієнті відносної схожості або в індексі Шоригіна:

$$BC = 1 - 0,5 \sum |p_a - p_b| = \sum \min(p_a \text{ чи } p_b),$$

де p_a – виражене у десяткових значення виду в описі А; p_b – значення того ж виду в описі В [39].

Література

1. *Александрова В. Д.* Классификация растительности. – Л.: Наука, 1969. – 273 с.
2. *Астапович И. Т.* Фотосинтез макрофитов в неглубоких водоемах // Вопросы рыбного хозяйства Белоруссии. – 1972. – Т. 8. – С. 88–97.
3. *Аэрометоды в природных исследованиях.* – М.; Л.: Наука, 1960. – 256 с.
4. *Баркман Я., Моравец Я., Раушерт Г.* Кодекс фитосоциологической номенклатуры // Бюл. МОИП. – Отд. биол. – 1988. – 93, № 6. – С. 845–849.

5. *Белавская А. П.* Ботанические наблюдения с вертолета и самолета на Рыбинском водохранилище // Ботан. журн. – 1961. – 46, № 1. – С. 107–108.
6. *Белавская А. П.* К методике изучения водной растительности // Ботан. журн. – 1979. – 64, № 1. – С. 32–41.
7. *Белавская А. П.* Основные проблемы изучения водной растительности СССР // Ботан. журн. – 1982. – № 10. – С. 1313–1320.
8. *Боруцкий Е. В.* Методика изучения динамики биомассы макрофитов водохранилищ // Тр. совещ. по проблемам биологии внутренних вод. – М.: Л., 1959. – С. 580–588.
9. *Василевич В. И.* Требования, необходимые для получения достоверных данных в работах по биологической продуктивности // Ботан. журн. – 1969. – 54, № 1.
10. *Величко И. В.* Продукция перифитона и зеленых нитчатых водорослей // Мелководья Кременчугского водохранилища. – Киев: Наук. думка, 1979. – С. 133–146.
11. *Винберг Г. Г.* К вопросу о балансе органического вещества в водоемах // Труды Лимнологической станции в Косине. – 1934, Вып. 18. – С. 5–24.
12. *Винберг Г. Г.* Первичная продукция водоемов. – Минск, 1960. – 329 с.
13. *Гидрботаника: методология, методы /* Материалы школы по гидрботанике. – Борок, 8–12 апреля 2003 г. – Рыбинск: Б. и., 2003. – 87 с.
14. *Дубина Д. В., Шеляг-Сосонко Ю. Р., Жмуд О. Л., Дзюба Т. П.* Класифікація та характеристика рослинності // Дунайський біосферний заповідник. Рослинний світ. – К.: Фітосоціоцентр, 2003. – С. 78–290.
15. *Катанская В. М.* Методика исследования высшей водной растительности // Жизнь пресных вод. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1956. – Т. 4, Ч. 1. – С. 160–182.
16. *Катанская В. М.* Высшая водная растительность континентальных водоемов СССР. Методы изучения. – Л.: Наука, 1981. – 187 с.
17. *Козина С. Я.* К фенологии основных видов высших водных растений // Мелководья Кременчугского водохранилища. – Киев: Наук. думка, 1979. – С. 82–90.
18. *Кокки К. А.* Экология высших водных растений. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1982. – 160 с.
19. *Корелякова И. Л.* Растительность Кременчугского водохранилища – Киев: Наук. думка, 1977. – 197 с.
20. *Краснова А. Н.* Структура гидрофильной флоры техногенно-трансформированных водоемов Северо-Двинской водной системы – Рыбинск: Рыбинский Дом печати, 1999. – 200 с.
21. *Ксенофротова Т. Ю.* Роль тростниковых зарослей в круговороте веществ водоема // Растительный покров водно-болотных угодий Приморской Прибалтики. – Таллин, 1986. – С. 44–62.
22. *Кузьмичев А. И., Краснова А. Н.* Парциальные флоры пресных водоемов Европейской России // Ботан. журн. – 2001. – № 1. – С. 65–72.

23. Кузьмичев А. И., Славгородский А. В. Развитие теорий и методов сравнительной флористики в изучении структуры гидрофильного компонента растительного покрова // Гидрофильный комплекс в сравнительной флористике – Рыбинск: Рыбинский Дом печати, 2004. – С. 5–40.
24. Лещилова Г. К. Инструкция для полевого исследования высшей водной растительности // Инструкции по биологическим исследованиям вод. – Л.: Наука, 1934. – Ч. 2, Разд. А, Вып. 5. – С. 1–48.
25. Лукина Л. Ф., Смирнова Н. Н. Физиология высших водных растений. – Киев: Наук. думка, 1988. – 183 с.
26. Макрофиты – индикаторы изменений природной среды / С. Гейны, К. М. Сытник – Киев: Наук. думка, 1993. – С. 21–28.
27. Миркин Б. М., Наумова Л. Г., Соломец А. И. Современная наука о растительности. – М.: Логос, 2001. – 262 с.
28. Папченков В. Г. О классификации макрофитов водоемов // Экология. – 1985. – № 6. – С. 8–13.
29. Папченков В. Г., Довбня И. В. О продуктивности сусака зонтичного в разных биотопах // Четвертая Всерос. конф. по водным растениям: Тез. докл. Борок, 1995. – С. 63–64.
30. Покровская Т. Н. О фотосинтезе макрофитов в озерах // Типология озерного накопления органического вещества. – М., 1976.
31. Понятовская В. М. Учет обилия и особенности размещения видов в естественных растительных сообществах // Полевая геоботаника. – М.; Л.: 1964. – Т. 3.
32. Распопов И. М. О применении водолазной аппаратуры при изучении высшей водной растительности заливов северной Ладоги // Биология внутренних водоемов Прибалтики. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1962. – С. 241–244.
33. Распопов И. М. Фитомасса и продукция макрофитов Онежского озера // Микробиология и первичная продукция Онежского озера. – Л.: Наука, 1973. – С. 123–142.
34. Распопов И. М. Высшая водная растительность больших озер северо-запада СССР. – Л.: Наука, 1985. – 199 с.
35. Распопов И. М., Белавская А. П. Основные понятия продукционной биологии и методы определения продукции макрофитов пресноводных озер // Вопросы современной лимнологии. – Л.: Наука, 1973. – 183 с.
36. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений / В. А. Абакумов. – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – 24 с.
37. Сорокин Ю. И. О применении радиоуглерода для изучения первичной продукции водоемов // Труды ВГБО. – 1956. – Вып. 7. – С. 271–286.
38. Сукачев В. Н. Растительные сообщества. Введение в фитоценологию // Избр. труды, 1975. – Т. 3.
39. Уиттекер Р. Сообщества и экосистемы. – М.: Прогресс, 1980. – 326 с.

40. Цаплина Е. Н. Динамика биомассы рдеста произеннолистного и урути колосистой в канале Днепр-Донбасс // Гидробиол. журн. – 1990. – 26, № 6. – С. 71–75.
41. Шенников А. П. Введение в геоботанику. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1964.
42. Щербаков А. В. Флора водоемов Московской области: Автореф. дис. ... канд. биол. наук – М., 1991. – 25 с.
43. Экзерцева В. В. Большой манник (*Glyceria maxima* (Hartm.) Holmb) на волжских водохранилищах: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 1972. – 24 с.
44. Экосистемы в критических состояниях / Ю. Г. Пузаченко – М.: Наука, 1989. – 156 с.
45. Юрцев Б. А., Семкин Б. И. Изучение конкретных и парциальных флор с помощью математического метода // Ботан. журн. – 1980. – № 12. – С. 1706–1718.
46. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy // Official Journal of the European Communities. – L 327, 22.12.2000. – 72 p.
47. Lieth H., 1965 – цит. за Катанская, 1981.
48. Tixen, 1970 – цит. за Westhoff V., Maarel E.
49. Westhoff V., Maarel E. The Braun-Blanquet approach: handbook of vegetation science. – Hague, 1973. – Pt. 5. – P. 619–726.
50. Westlake D. Primary production of freshwater macrophytes // Photosynthesis and production in different environments. – Cambridge: Cambr. University press, 1975. – P. 189–216.
51. Wetzel R. G. Lymnology. – Philadelphia, 1983.

5. Бактеріопланктон і бактеріобентос

Бактерії, що населяють водну товщу і донні відклади водойм, відіграють надзвичайно важливу роль у функціонуванні водних екосистем, зокрема: в трофічних зв'язках – як компонент кормової бази різноманітних груп безхребетних тварин, в процесах перетворення органічних і неорганічних речовин, формуванні якості води та її біологічної повноцінності. Бактеріопланктон і бактеріобентос приймають участь в циклах усіх біологічно важливих елементів і забезпечують кругообіг речовин у водних екосистемах, що є головною умовою їх існування.

Оцінка ролі бактерій у функціонуванні водних екосистем спирається на різноманітні методичні підходи, що складають методичну базу водної мікробіології. Серед них важливе значення мають методи визначення загальної чисельності бактерій, їх біомаси, вмісту сапрофітних бактерій у воді і донних відкладах – вихідних показників, за допомогою яких досліджують участь і значення бактерій у багатьох біологічних процесах, формуванні екологічного стану водойм.

5.1. Бактеріопланктон

5.1.1. Мікроскопічний облік загальної чисельності бактерій у воді

Загальну кількість мікроорганізмів у воді можна визначити лише прямим мікроскопічним аналізом.

Існує ряд методів визначення чисельності бактеріопланктону з використанням світлооптичної і епіфлуоресцентної мікроскопії. Загальноприйнятим є метод, розроблений А.С. Разумовим [3]. Суть його полягає в концентруванні мікроорганізмів із води на поверхні мембранних фільтрів і їх фарбуванні відповідними барвниками. Перевагою прямого мікроскопічного аналізу є облік в пробах води чисельності всіх клітин мікроорганізмів незалежно від їх фізіолого-трофічних особливостей.

5.1.1.1. Відбір, транспортування та підготовка проб води для мікробіологічного аналізу

Відбір і транспортування проб води

1. Для відбору проб води використовують стерильні склянки, пляшки місткістю 0,5 л з притертою, каучуковою чи корковою пробкою, або стерильні поліетиленові пакети Baks, Steril, Whirl-Pak (Hach Europe-S.A/N.V) згідно ISO 9001.

2. Для стерильного відбору проб води у водоймі з глибини від 0 до 30 м можна використовувати батометр, в якому закріплюється затискачами стерильна пляшка. Після відбору проби пляшка знімається, верхній шар води зливається з шийки і вона закривається стерильною пробкою. Пробка покривається стерильним паперовим ковпачком і обв'язується ниткою.

3. Відібрані проби повинні супроводжуватись документом, в якому зазначають:

- найменування водного об'єкту і станції відбору проби, дату відбору проби;
- особливі обставини, які мали місце при відборі проб (екологічні, гідрологічні, гідрометеорологічні тощо).

4. У випадку транспортування проб більше як 2-3 год з охолодженням, їх безпосередньо після відбору фіксують 40%-м розчином формаліну (0,5 мл формаліну на 100 мл води).

Прилади, матеріали, реактиви

Для проведення аналізу застосовуються такі прилади, реактиви та посуд [1, 5-7]:

- флакони (склянки, пляшки) для відбору проб з притертими пробками або без них місткістю 120-500 мл;
- піпетки місткістю 1, 2, 5, 10 мл з ціною поділок 0,1 мл на повне випорожнення;
- піпетки Мора місткістю 50 і 100 мл;
- піпетки-дозатори та кінцівки до них місткістю 10-1000 мкл;
- фільтри Зейтца з діаметром фільтруючої поверхні 32 мм та колби Бунзена для фільтрування під вакуумом (або апарат для фільтрування фірми Millipore);
- спиртівки;
- стакани лабораторні;

- скельця предметні для мікропрепаратів;
- скельця покривні для мікропрепаратів;
- чашки Петрі;
- насос водоструменевий скляний лабораторний або вакуум-насос;
- автоклав електричний;
- мікроскоп біологічний;
- мікроскоп епіфлуоресцентний Axioskop фірм Zeiss, Opton чи Olympus, Nikon;
- пенали металеві для піпеток;
- шафа сушильна лабораторна;
- олія імерсійна для мікроскопії;
- олія імерсійна нефлуоресційна для мікроскопії;
- спирт етиловий ректифікований;
- фільтри мембранні ацетатцелюлозні або нітроцелюлозні з діаметром пор 0,17–0,35 мкм;
- фільтри мембранні полікарбонатні чорні: Nucleopor або Isopor з діаметром пор 0,2 мкм;
- пінцет;
- еритрозин основний;
- акридиноранж;
- 4,6-діамідино-2-фенілоїндол (DAPI);
- фенол;
- дистильована вода;
- вата гігроскопічна медична;
- папір фільтрувальний.

Підготовка до аналізу

1. Увесь бактеріологічний посуд повинен бути перед стерилізацією ретельно вимитий і просушений.
2. Флакони для відбору проб повинні бути заткнуті ватними пробками і зазакреплені паперовими ковпачками. Добре підібрані притерті, каучукові або коркові пробки загортають у папір і прив'язують до шийки флаконів.
3. Чашки Петрі укладають в металеві пенали або загортають у папір.
4. В кінець піпетки, який береться в рот, вкладають шматочок вати. Піпетки уміщують в металеві пенали не більше 6–10 шт. в кожний або загортають у папір.

5. Ретельно вимиті кінцівки для дозаторів загортають в папір або алюмінієву фольгу;

6. Підготовлений посуд стерилізують в автоклаві при $126 \pm 2^\circ\text{C}$ ($1,5 \text{ кгс/см}^2$) 30 хв.

5.1.1.2. Підрахунок бактерій на фільтрах з фарбуванням еритрозином

Недоліки методу:

- еритрозином барвляться, а отже, відповідно підраховуються як живі, так і мертві клітини;
- має місце неповний облік дрібних клітин, які складають значну частину угруповань бактеріопланктону.

Метод [2]

1. Зважують 5 г свіжоперегнаного фенолу. В склянку до фенолу приливають 100 мл дистильованої води і після перемішування вносять 5 г еритрозину. Після перемішування фарба настоюється протягом доби.

2. 40%-й розчин формаліну попередньо фільтрують через мембранний фільтр з діаметром пор $0,3 \text{ мкм}$ для очистки від бактерій.

3. Безпосередньо перед аналізом мембранні фільтри необхідно прокип'ятити в дистильованій воді (не допускаючи бурхливого кипіння), яку міняють декілька разів.

4. Взятю для аналізу воду пропускають через нітроцелюлозний мембранний фільтр з діаметром пор $0,17\text{--}0,23 \text{ мкм}$ у фільтрувальній лійці. Для рівномірного розподілу бактерій по площі фільтра вакуум у приймальній колбі (Буизена) повинен бути слабким ($0,1\text{--}0,2 \text{ атм.}$).

5. Фільтруюча пластинка у лійці повинна бути дрібнопористою. На неї краще покласти один або два шари фільтрувального паперу (вирізаного по діаметру лійки).

6. Об'єм води (в мл), що фільтрується через мембранний фільтр, залежить від водного джерела:

артезіанські води, джерела

– 50–200 мл;

чисті райони річок, озер, водосховищ

– 10–20 мл;

забруднені водойми

– 0,1–1 мл.

7. Після фільтрації мембранний фільтр висушують на повітрі і по краю кульдовою ручкою маркують дату, об'єм профільтрованої води, номер проби. Кла-змоченої кількома краплями формаліну. В такому вигляді фільтри можна довго зберігати.

8. Перед кожною процедурою фільтрування нової проби води внутрішню поверхню фільтрувальної лійки і фільтруючу пластинку, на яку накладається фільтр, фламбують (обпалюють) ватним тампоном, змоченим у спирті, накрученим на металеву паличку.

9. Фільтр фарбують, накладаючи його догори поверхнею з осадженими на ній мікроорганізмами на фільтрувальний папір в чашці Петрі, просякнутій 5%-м розчином еритрозину на 5%-й карболовій воді, протягом 3–4 год при температурі 50–60°C в термостаті або залишають на ніч при кімнатній температурі.

10. Після закінчення фарбування зайвий еритрозин з мембранних фільтрів відмивають, перекладаючи їх пінцетом на аркуші фільтрувального паперу, змоченого дистильованою водою, поки мембранні фільтри не набудуть рожевого кольору. Фільтри висушують на повітрі і зберігають у паперових пакетиках.

11. Для підрахунку мікроорганізмів на предметне скло наноситься крапля імерсійної олії, на нього накладається частина забарвленого фільтра фільтруючою поверхнею до окуляра мікроскопа; при цьому фільтр стає прозорим. Зверху ще наносять краплю олії і, використовуючи імерсійний об'єктив (90x) і окуляр (10x) з сітчастим мікрометром, підраховують кількість бактерій не менше як в 20 полях зору.

12. Підрахунок бактерій проводиться за формулою [2]:

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

де x – кількість бактерій в 1 мл води; S – площа фільтра, мм²; 10^6 – коефіцієнт для переведення мм² у мкм²; a – кількість бактерій, підрахована в n полях зору; n – число полів зору; s – площа окулярної сіточки, в якій були підраховані бактерії, мкм²; v – об'єм профільтрованої води, мл.

5.1.1.3. Визначення загальної чисельності бактерій у воді при забарвленні акридиноранжем

Найстаршим флуорохромом, який у 70–80-х роках найширше використовувався в дослідженнях з водної мікробіології, є акридиноранж [5]. Цей флуорохром, що утворює комплекси з ДНК і РНК клітини, барвить бактерії в жовтий або

зелений колір в залежності від концентрації барвника, складу стінки клітини та співвідношення РНК до ДНК в цитоплазмі.

Недоліками методу забарвлення акридиноранжем є:

- деяка канцерогенність барвника;
- здатність акридиноранжу адсорбуватися на завислих у воді частках мулу, що перешкоджає отриманню достовірної інформації про чисельність бактеріопланктону.

Метод [6]

1. Проби води можуть бути використані безпосередньо після відбору, або зафіксовані 40% формаліном з розрахунку його кінцевої концентрації в пробі 5%. Такі проби можуть зберігатися при +2–4°C кілька тижнів. Однак оптимальний термін подальшої обробки зафіксованих проб – кілька днів після відбору.

2. Готують 0,1% водний розчин акридиноранжу на дистильованій воді, профільтований попередньо через полікарбонатний чорний мембранний фільтр з діаметром пор 0,2 мкм. Розчин може зберігатися у холодильнику кілька місяців. Перед кожним використанням його необхідно профільтовувати через вищевказаний фільтр з збереженням умов стерильності.

3. До певного об'єму досліджуваної проби води (1–2 мл) додають 0,1 мл 0,1% розчину акридиноранжу і барвлять протягом 2–5 хв.

4. На фільтрувальний апарат накладають паперовий фільтр, злегка змочують його стерильною водою і на нього кладуть блискучою стороною догори чорний полікарбонатний фільтр.

5. Пробу з акридиноранжем вносять до фільтрувального апарату і фільтрують при 0,2–0,4 атм. Після того, як проба відфільтрується, через фільтр фільтрують 2 мл стерильної води з метою усунення надлишку барвника. Фільтр знімають і ретельно висушують на повітрі.

6. На предметне скельце наносять тонкий шар нефлуоресційної імерсійної олії і на ньому приклеюють фільтр догори поверхнею з осадженими на ній мікроорганізмами.

7. Фільтри зберігають в темноті.

8. На поверхню препарату наносять краплю нефлуоресційної імерсійної олії і досліджують препарат в епіфлуоресцентному мікроскопі з використанням об'єктиву 100 \times , окуляру 10 \times і системи фільтрів: збуджуючого – 410–485 нм, запирюючого – 515 нм та дихроматичного люстерка – 505 нм.

9. Розрахунок чисельності бактерій проводять згідно формули, приведеної в методі забарвлення еритрозином.

5.1.1.4. Визначення загальної чисельності бактерій у воді при забарвленні 4,6-діамідино-2-фенілоїндолом (DAPI)

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

Метод [7, 8]

1. Фіксація відібраних проб проводиться згідно з п. 1 методу забарвлення акридиноранжем.

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

3. З концентрованого розчину барвника готують робочий розчин (50 мкг/мл), використовуючи для розведення дистильовану профільтовану воду (див. п. 2). Цей розчин повинен зберігатися при $+2-4^{\circ}\text{C}$ і може бути використаний протягом двох тижнів. Після двотижневого збереження розчин перет кожним його використанням необхідно профільтувати через мембранний фільтр (\varnothing 0,2 мкм).

4. Забарвлення проводять додаючи до певного об'єму проби таку кількість робочого розчину барвника, щоб його кінцева концентрація в пробі становила 5 мкг/мл DAPI. Пробу з барвником залишають у темноті на 7–10 хв.

5. По експозиції забарвлену пробу фільтрують через полікарбонатний чорний мембранний фільтр (приготування приладу до фільтрації проводимо згідно п. 4 методу забарвлення акридиноранжем).

6. Фільтр з профільтованою пробою промивають 1–2 мл дистильованої води. Після відфільтрування води через фільтр пропускають 1–2 мл 80% етилового спирту.

7. Фільтр знімають з фільтрувального апарату і ретельно сушать на фільтрувальному папері в темноті.

8. На предметне скельце наносять тонкий шар спеціальної олії СТ-Fluor і на ньому наклеюють фільтр догори поверхню з осадженими мікроорганізмами. На СТ-Fluor до препарату приклеюють покривне скельце.

9. Препарати зберігають в темноті при температурі -20°C .

10. Перед мікроскопією препарати треба витримати до прийняття ними кімнатної температури. Після того на покривне скельце наносять краплину нефлуоресційної імерсійної олії і оглядають препарат в епіфлуоресцентному мікроскопі, підраховуючи кількість бактерій. Використовують об'єктив $100\times$, окуляр $10\times$ і систему фільтрів для екстинції з $\lambda = 365$ нм, емісії $\lambda = 420$ нм.

11. Чисельність бактерій розраховують згідно п. 9 методу забарвлення акридиноранжем.

Література

1. Вода питьевая. Методы анализа. – М.: Изд-во стандартов, 1976. – 191 с.
2. Кузнецов С. И., Дубинина Г. А. Методы изучения водных микроорганизмов. – М.: Наука, 1989. – 288 с.
3. Разумов А. С. Прямой метод учета бактерий в воде. Сравнение его с методом Коха // Микробиология. – 1932. – Т. 1, вып. 2. – С. 131–146.
4. Choi J. W., Sherr E. B., Sherr B. S. Relation between presence-absence of visible nucleoid and metabolic activity in bacterioplankton cells // Limnol. Oceanogr., 41, 1996. – P. 1161–1168.
5. Hobbie J.E., Daley R., Jasper S. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy // Appl. Environ. Microbiol., 33, 1977. – P. 1225–1228.
6. Methods in Microbiology. – USA: Academic Press, 30, 2001. – P. 131–134.
7. Methods in Microbiology. – Там же. – P. 135–136.
8. Porter R. W., Feig Y. S. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora // Limnol. Oceanogr., 25 (5), 1980. – P. 943–948.

5.1.2. Визначення чисельності сапрофітних бактерій

Чисельність сапрофітних бактерій, що ростуть на стандартних живильних середовищах, є чутливим індикатором вмісту і якості органічних речовин у водних доймах. Оцінка кількості життєздатних сапрофітних бактерій, значну частину яких становить алохтонна мікрофлора, тобто така, що надходить до водних об'єктів із різних джерел, дозволяє отримати корисну інформацію для спостереження за якістю води. Ті мікроорганізми, котрі здатні вижити у воді, краще ростуть в лабораторних умовах при температурі близько 22°C . Навпаки, мікроорганізми, що добре ростуть в лабораторних умовах при 37°C , мають більш на-

пружені умови для виживання у водоймах [3]. Висока кількість останніх свідчить про наявність свіжого антропогенного забруднення водою.

Суть методу полягає у внесенні певного об'єму досліджуваної проби води в стандартне живильне середовище агара в чашках Петрі шляхом змішування (глибинний засів) з подальшим інкубуванням засіву при 22°C протягом 72 год, або (та) при 37°C протягом 24 чи 48 год та підрахунком колоній бактерій, що утворюються, на одиницю об'єму води [1, 2].

5.1.2.1. Відбір, транспортування та підготовка проб води до аналізу

Відбір, зберігання і транспортування проб води

Відбір проб води для аналізу чисельності сапрофітних бактерій здійснюється згідно пп. 1–3 для визначення загальної чисельності бактеріопланктону.

Проба води повинна бути досліджена на пізніше як через 2 год після її відбору. При неможливості виконання зазначених умов аналіз допускається проводити не пізніше як через 6 год після відбору проби, зберігаючи при цьому пробу при температурі від 1 до 5°C.

Якщо неможливо дослідити проби на місці, допускається транспортувати їх в межах часу, зазначеного у п. 2.

Посуд з пробами повинен бути запакований в сумки-холодильники або ящики з теплоізоляційною прокладкою.

Прилади, матеріали, реактиви, живильні середовища

1. Для проведення аналізу застосовуються наступні прилади, реактиви та живильні середовища [1, 2]:

- флакони скляні місткістю 100–250 мл;
- піпетки місткістю 1 і 10 мл з ціною поділок 0,1 мл на повне випорожнення;
- пробірки бактеріологічні;
- спиртівки;
- чашки Петрі скляні або пластикові (діаметр 90 або 100 мм);
- автоклав електричний;
- ogrівач водяний;
- дистиллятор;
- лупа;
- пенали металеві для піпеток;

- рН-метр;
- прилад для підрахунку колоній бактерій;
- термостати електричні з автоматичним терморегулятором до 50°C і з термометром з ціною поділок 0,2°C для вирощування бактерій;
- холодильник електричний;
- сумка-холодильник або ящики для транспортування проб з термоізоляцією;
- шафа сушильна лабораторна;
- агар-агар;
- агар сухий живильний;
- вата гігроскопічна медична;
- вода дистильована;
- марля медична;
- пептон сухий для бактеріологічних цілей;
- спирт етиловий ректифікований;
- пробки гумові різних розмірів для флаконів.

2. Середовища для сапрофітних бактерій:

- м'ясо-пептонний агар (МПА):
- м'ясний екстракт – 3 г,
- пептон – 5 г,
- агар-агар – 20 г,
- вода водопровідна – 1000 мл.

Реакцію середовища доводять до 6,8–7,2.

Сухий живильний агар («сухой питательный агар» – СПА). Це живильне середовище рівноцінне МПА і складається з триптичного гідролізату рибного борошна.

За методиками, затвердженими Міжнародною організацією по стандартизації (ІСО), рекомендується наступне живильне середовище.

- Агарове середовище (ІСО 8199):
- триптон – 6 г,
- зневоднений екстракт дріжджів – 3 г,
- агар у порошку або в гранулах – 12 г,
- вода – до 1000 мл.

рН середовища після стерилізації доводиться до $7,2 \pm 0,2$ при 25°C.

Підготовка до аналізу

1. Увесь бактеріологічний посуд повинен бути перед стерилізацією ретельно вимитий та просушений.

2. Пробірки повинні бути заткнуті ватними пробками і загорнуті у папір.

3. Флакони для відбору проб повинні бути заткнуті ватними пробками й забезпечені паперовими ковпачками. Добре підібрані притерті каучукові або коркові пробки загортають у папір і прив'язують до шийки флакона.

4. Пробки для пробірок і флаконів готують із вати, обертають шаром марлі і зав'язують ниткою на вільному кінці.

5. Чашки Петрі (скляні) укладають в металеві пенали або загортають у папір.

6. В кінець піпетки, який береться в рот, вкладають шматочок вати. Піпетки уміщують в металеві пенали не більше 6–10 шт. в кожній або загортають у папір.

7. Підготовлений посуд стерилізують сухим жаром в сушильній шафі при $160 \pm 5^\circ\text{C}$ протягом 1 год, або в автоклаві при $126 \pm 2^\circ\text{C}$ ($1,5 \text{ кгс/см}^2$) 30 хв. За цих же умов в автоклаві стерилізують флакони з прив'язаними до них каучуковими пробками.

8. Приготування стерильної води.

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

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

5.1.2.2. Проведення аналізу

1. Живильний агар розплавляють у водяному отримачі і охолоджують до температури $43\text{--}45^\circ\text{C}$.

2. Стерильні чашки Петрі розкладають на столі і підписують на кришках номер проби, дату висіву і об'єм висіяної води.

3. Із кожної проби необхідно посіяти не менше 2-х різних об'ємів, вибраних з таким розрахунком, щоб на чашках виросло від 30 до 300 колоній. Усі маніпуляції, пов'язані з посівами, виконують над полум'ям спиртівки.

4. З флаконів з пробою води знімають паперові ковпачки. Виймають пробки, шийки обпалюють на полум'ї спиртівки, після чого воду ретельно перемішують обережним продуванням повітря через стерильну піпетку.

терій приймають середнє арифметичне результату підрахунку на 2-х паралельних чашках або різних розведень.

12. Кількість колоній враховують, орієнтуючись на одну чашку у випадках: якщо на другій чашці при посіві із розведення виросло менше 20 колоній; при повзучому рості бактерій, що розповсюдився на всю поверхню чашки або на значні частини і маскує ріст інших колоній; при кількості колоній більше 300.

13. Кінцевий результат заносять до протоколу аналізу або до журналу реєстрації, де повинні бути наведені дані із супровідного документа до проб води.

Література

1. *Вода питьевая. Методы анализа.* – М.: Изд-во стандартов, 1976. – 191 с.
2. *Кузнецов С. И., Дубинина Г. А.* Методы изучения водных микроорганизмов. – М.: Наука, 1989. – 288 с.
3. *Фоллин Г. С.* Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам. Энциклопедический справочник. – М.: Изд-во «Протектор», 1995. – 624 с.

5.1.3. Визначення біомаси бактерій

Визначення біомаси бактерій є необхідною умовою для оцінки ролі бактеріального населення в продукційних процесах, трофічних зв'язках і процесах самоочищення у водних екосистемах. Найчастіше показники біомаси застосовуються при визначенні продукції бактерій, їх виїдання безхребетними тваринами, при розрахунках витрат асимільованої бактеріальним населенням енергії на дихання і конструктивний обмін [1]. Показники біомаси бактерій також використовують в системах класифікацій, пов'язаних з встановленням трофічного статусу водойм [3].

Проведення аналізу

1. Визначають загальну чисельність бактерій у воді (в 1 мл) методом прямого підрахунку. Бактеріальному населенню водойм притаманне велике різноманіття морфологічних типів: палички, коки, азотобактероподібні бактерії, сіркобактерії тощо. Тому необхідно проводити прямий підрахунок бактерій окремих морфологічних типів.

2. Визначають середній об'єм бактеріальних клітин шляхом виміру їх довжини і ширини за допомогою окуляр-мікрометра на фільтрах або на мікрофотографіях. При розрахунках загальної біомаси бактерій доводиться приймати

одні (середні) розміри для усіх паличок, що знаходяться у водоймі, коків і т. д. Розміри бактерій у водоймах, в залежності від фізико-хімічних умов середовища і вмісту поживних речовин, коливаються в широких межах. Тому для одержання середніх розмірів клітин кожного типу бажано проводити значну кількість вимірів.

3. Об'єм паличковидних клітин розраховують за формулою циліндра:

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

де d – товщина, h – довжина палички.

Об'єм коковидних клітин визначають за формулою кулі:

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

де D – діаметр коковидної клітини.

Об'єм овальних клітин отримують за допомогою формули еліпсоїда:

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

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

Необхідно враховувати, що на висушених і фіксованих препаратах об'єм клітин зменшуються в 1,5–2 рази. Тому потрібно вводити поправочний коефіцієнт, що дорівнює 1,6 [2]. Об'єм бактеріальних клітин спочатку отримують в мкм^3 і далі перераховують в мм^3 .

4. Визначають загальну біомасу бактерій, яку подають в одиницях маси на певний об'єм води (в мг/л). Загальна волога біомаса дорівнює сумі маси клітин різних морфологічних типів. Приймається, що питома маса бактерій дорівнює питомій масі води, тобто дорівнює 1; маса 1 мм^3 біомаси бактерій становить 1 мг .

Приклад розрахунку біомаси бактерій [4]. Об'єм однієї коковидної клітини в даній водоймі, наприклад, становить 0,53 мкм^3 , кількість коків в 1 мл води – 200000. Біомаса коків в 1 мл дорівнює

$$0,52 \times 200000 = 104000 \text{ мкм}^3,$$

або

$$\frac{104000}{1000^3} = 0,000104 \text{ мм}^3.$$

Біомаса бактерій в 1 л води має об'єм 0,104 мм^3 і дорівнює 0,104 мг . Отже, для визначення біомаси бактерій в мг/л води необхідно середню масу однієї

клітини помножити на число тисяч клітин, встановлених прямим підрахунком у 1 мл, і отриманий результат розділити на 1000. В наведеному вище прикладі:

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

Для визначення біомаси бактерій у донних відкладах необхідно середній об'єм однієї клітини помножити на число клітин у 1 г ґрунту і отриманий добуток розділити на 1000^3 .

5. Для визначення сухої маси від отриманої величини береться 15%, приймаючи, що бактерії містять 85% води.

6. Приймається, що вуглець становить 50% за масою від сухої біомаси бактерій. Тоді [2]:

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

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

7. При автоматичному підрахунку чисельності бактерій (забарвлених акридиноранжем чи DAPI) з використанням програми Multi-Scan визначення розмірів клітин різних морфологічних типів виконується системою в кожному полі зору. На основі отриманого середнього об'єму клітин розрахунок біомаси бактерій виконують за формулою [5]:

$$B = ((104,5 \times V^{0,59}) \times 0,86) \times N \times 10^{-5}, \text{ мкг С/л,}$$

де B – біомаса бактерій, мкг С/л; V – середній об'єм клітин бактерій, $\mu\text{м}^3$; N – загальна кількість бактерій, кл/мл (у воді) чи кл/г (в донних відкладах).

Література

1. Гак Д. З. Бактериопланктон и его роль в биологической продуктивности водохранилищ. – М.: Наука, 1975. – 254 с.
2. Кузнецов С. И., Дубинина Г. А. Методы изучения водных микроорганизмов. – М.: Наука, 1989. – 288 с.
3. Окснюк О. П., Жданова Г. А., Гусынская С. Л., Головки Т. В. Оценка состояния водных объектов Украины по гидробиологическим показателям. I. Планктон // Гидробиол. журн. – 1994. – 30, № 3. – С. 26–31.
4. Родина А. Г. Методы водной микробиологии. Практическое руководство. – М.–Л.: Наука, 1965. – 363 с.

5. Simon M., Tilzer M. M. Bacterial response to seasonal changes in primary production and phytoplankton biomass in Lake Constance // J. Plankton Res., 9, 1987. – P. 535–552.

5.1.4. Оцінка трофності водних об'єктів за рівнем розвитку бактеріопланктону

Класифікацію водойм (озер) за ступенем їх трофності було запропоновано Тінсманом [7] і Науманом [6]. В її основу покладені такі інтегруючі показники, як динаміка вмісту та розподілу кисню у товщі води, наявність індикаторних організмів, інтенсивність розвитку фітопланктону.

Водойми, багаті на біогенні елементи, з різкою зміною вмісту кисню по сезонах і глибині, та із значним розвитком фітопланктону, були названі евтрофними; збіднені на біогени, фітопланктон і з незначними змінами концентрації кисню у воді протягом року – оліготрофними. Пізніше було виділено дистрофний тип озер, вода яких забарвлена гумусовими сполуками.

В подальшому, спираючись на досвід вивчення фізико-хімічних властивостей води, компонентів біоти і біологічних процесів у водоймах, було виявлено велике різноманіття перехідних типів між евтрофними і оліготрофними водоймами.

Кількісний розвиток організмів, що населяють водойми, інтенсивність біологічних процесів залежать від умов зовнішнього середовища, а тому в інтегрованому вигляді характеризують ступінь трофності водних об'єктів. Дослідженнями Г.Г. Вінберга і В.І. Романенка [1, 5] було показано, що за показниками чисельності бактеріопланктону, інтенсивності процесів фотосинтезу, деструкції органічної речовини та ін., можна досить адекватно визначити тип водойми.

Переважає більшість видів мікроорганізмів, що входять до складу бактеріопланктону, властивий хемоорганогетеротрофний обмін речовин. Тобто, для них основним джерелом енергії і вуглецю є органічна речовина. Під дією бактерій відбувається трансформація складних органічних сполук та їх подальша мінералізація, зміна хімічного складу води, газового режиму, потоку біогенів. Діяльність бактеріального населення є одним із ключових чинників, що визначають збалансованість процесів первинного продукування і деструкції органічної речовини, а отже – екологічний стан водойм.

Таким чином, бактеріопланктон, його чисельність і біомаса адекватно відображають загальний рівень накопичення органічної речовини у водоймі, а чисельність сапрофітних бактерій (складової бактеріопланктону), крім того, є

чутливим індикатором наявності у воді легкодоступної органіки автохтонного та алохтонного (в т. ч. – антропогенного) походження.

Кількісний розвиток бактеріопланктону пов'язаний трофічними зв'язками з іншими компонентами планктону, а отже, опосередковано характеризує розвиток і фізіологічний стан фітопланктону, вміст та харчові потреби зоопланктону.

Враховуючи трофічну роль, фізіологічні та індикаторні властивості бактеріопланктону, його показники широко використовують в різноманітних класифікаціях і типологічних схемах, пов'язаних з визначенням трофічного статусу водойм [2–4]. Зокрема, в роботі О.П. Оксіюк та ін. [2] для характеристики водних об'єктів України серед інших гідробіологічних показників запропоновані основні показники бактеріопланктону – загальна чисельність бактерій, їх біомаса, вміст сапрофітних бактерій. Кожна градація величин даних показників відповідає певному трофічному статусу водойм (див. розділ III).

В умовах України, як зазначають О.П. Оксіюк і Т.В. Головка [2], середній рівень кількісних показників біоти, зокрема бактеріопланктону, зазвичай відповідає евтрофним водним об'єктам, величини нижче середніх – мезотрофним, а низькі – оліготрофним.

В згаданій класифікації стану водних екосистем та рівня їх трофності [2] використані такі мікробіологічні показники: загальна чисельність бактерій, їх біомаса, вміст сапрофітних бактерій. В умовах антропогенного впливу для ідентифікації змін стану бактеріопланктону суттєве значення мають його функціональні показники, наприклад, швидкість розмноження та питома продукція [2]. Однак, для практичного використання важливо мати обмежений набір репрезентативних показників – таких, що здатні відображати реальну екологічну ситуацію у водоймах та їх трофічний рівень.

Література

1. Винберг Г. Г. Первичная продукция водоемов. – Минск: Изд-во АН БССР, 1960. – 329 с.
2. Оксіюк О. П., Жданова Г. А., Гусынская С. Л., Головка Т. В. Оценка состояния водных объектов Украины по гидробиологическим показателям. I. Планктон // Гидробиол. журн. – 30, № 3. – 1994. – С. 26–31.
3. Романенко В. Д., Оксіюк О. П., Жукинський В. М., Стальберг Ф. В., Лаврик В. И. Экологическая оценка воздействия гидротехнического строительства на водные объекты. – К: Наук. думка, 1990. – 256 с.
4. Романенко В. Д., Жукинський В. М., Оксіюк О. П. та ін. Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями. – К: Символ-Т, 1998. – 28 с.

5. Романенко В. И. Микробиологические процессы в водохранилищах различных типов: Автореф. дис. канд. биол. наук. – М., 1964. – 19 с.
6. Naumann E. Einige Grundlinien der regionalen Limnologie. – Lunds univ., – 1921. – Bd. 17(8). – s. 1–122.
7. Thienemann A. Die Binnengewässer Mitteleuropas. – Binnengewässer. – 1925. – Bd 11. – s. 1–210.

5.2. Бактеріобентос

5.2.1. Відбір проб донних відкладів для мікробіологічного аналізу

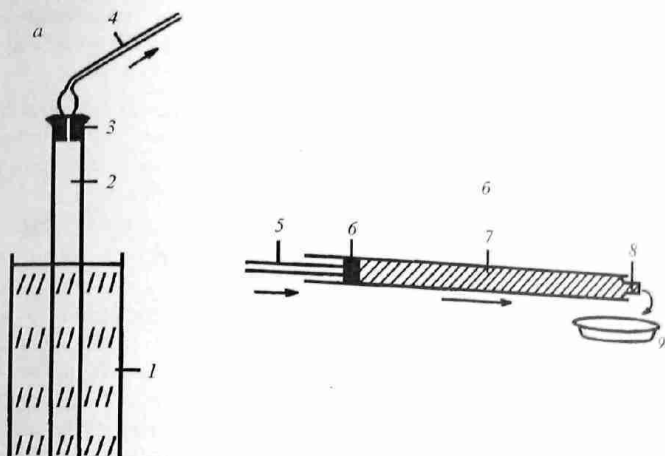
Проби донних відкладів можна відбирати стратометром різноманітної конструкції. Попередньо в лабораторії заготовляють серію скляних трубочок діаметром близько 1 см і довжиною 15–20 см кожна. Трубочки закривають ватними пробками і стерилізують у сушильній шафі. Окремо в автоклаві стерилізують гумові пробки в паперових пакетах по 2–4 шт. При відборі проби ґрунту із стратометра у верхній кінець скляної трубки вставляють гумову пробку з гумовим шлангом; протилежний кінець трубки ставлять по центру моноліту ґрунту, що знаходиться в стратометрі, і поступово вводять в нього так, щоб поверхня ґрунту в моноліті і трубці залишалась на одному рівні. Для цього ротом витягують повітря з верхньої частини скляної трубки за допомогою гумового шлангу. Потім трубку виймають з моноліту і затикають з обох сторін гумовими пробками. В такому вигляді проба донних відкладів може зберігатись в холодильнику (3–4°C) декілька годин [4].

Для відбору проб для мікробіологічного аналізу гумові пробки із скляної трубки виймають, з нижнього кінця в неї вводиться поршнева пробка. За допомогою скляної палички моноліт ґрунту пересувають до протилежного кінця трубки і відбирають необхідну порцію з відповідної глибини для аналізу (рис. 5.1).

5.2.2. Обробка проб донних відкладів та визначення чисельності бактеріобентосу

В основу визначення загальної чисельності бактерій в донних відкладах водних об'єктів покладено прямий підрахунок бактеріальних клітин з використанням світлооптичної або епіфлуоресцентної мікроскопії.

Для практичного застосування цілком прийнятним є облік бактерій в світловому мікроскопі на пофарбованих карболовим еритрозином мембранних фільтрах [4]. Точність підрахунку бентосних бактерій суттєво залежить від



5.1. Стерильний відбір проб донних відкладів із стратометра (а) та з скляної трубки (б) (за С.И. Кузнецов, Г.А. Дубинина [4]): 1 – стратометрична трубка з монолітом ґрунту; 2 – скляна трубка, в яку асептично відбирається колонка ґрунту; 3 – гумова пробка з скляною трубкою; 4 – гумова трубка; 5 – скляна паличка; 6 – поршневая пробка; 7 – моноліт ґрунту; 8 – ніж; 9 – приймач для ґрунту.

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

В практиці водної мікробіології набули застосування експериментально визначені умови обробки проб ґрунту для мікробіологічного аналізу, запропоновані А. Дзюбаном та ін. [2]. Вони базуються на ультразвуковій обробці проб, а також на підборі оптимального розведення ґрунту безбактеріальною водою у співвідношенні не менше ніж 1:500.

Визначення загальної кількості бентосних бактерій з одноразовим застосуванням ультразвукової обробки включає наступні процедури.

1 г вологого ґрунту вносять в бюкс, додають 19 мл 0,5% розчину K_2SO_4 , при-

через азбестовий фільтр Зейтца, під який накладається мембранний фільтр з діаметром пор 0,45 мкм [5]). Суспензію гомогенізують на ультразвуковій установці УЗДН-2Т протягом 2 хв (сила струму 0,015 А, частота 22 кГц) з метою десоорбції бактерій на частинках ґрунту.

5 мл гомогенату переносять в чисту колбу на 200 мл і розводять розчином K_2SO_4 в 25 разів. 20 мл отриманої суспензії центрифугують при 750 g. Відбирають 1 мл супернатанта і фільтрують через мембранний фільтр з діаметром пор 0,17 мкм. Для більш рівномірного розподілу бактерій по поверхні фільтра у лійку доцільно попередньо внести 4 мл безбактеріального розчину K_2SO_4 .

Подальша процедура обробки мембранних фільтрів – фарбування еритрозинном, відмивання від фарби, облік бактерій в світловому мікроскопі – виконується за умов, викладених для визначення чисельності бактеріопланктону. Розрахунок кількості бактеріобентосу також проводять за формулою для визначення чисельності бактерій у воді з урахуванням розведення початкової проби в 500 разів. Кінцевий результат виражають у кількості бактерій на 1 г вологого ґрунту. Як показали останні дослідження щодо оптимізації методу тотального обліку бентосних бактерій [3], наведений вище метод все ж недооцінює істинну кількість бентосних бактерій. Пропонуються більш складні і трудомісткі схеми обробки проб і підрахунку бентосних бактерій, але вони потребують більш широкої апробації на різних водоймах з різномісними донними відкладами.

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

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

5.2.3. Визначення чисельності сапрофітних бактерій

Чисельність сапрофітних бактерій, що ростуть на стандартних живильних середовищах – м'ясо-пептонному агарі (МПА), сухому живильному агарі (СПА – «сухой питательный агар»), або на агаровому середовищі (ГО 8199), є чутли-

вим індикатором вмісту і якості органічних речовин як у воді, так і в донних відкладах водойм.

Донні відклади оліготрофних водойм збіднені на органічні речовини. Вміст останніх зростає в мезотрофних і евтрофних водоймах; підвищується і поживна цінність органічних речовин для бактеріобентосу і, зокрема, сапрофітних бактерій.

Вміст органічних речовин, а отже чисельність сапрофітних бактерій може коливатись в широких межах також у донних відкладах різного типу в одній водоймі, зростаючи від піску, слабо замуленого піску до мулів.

1. Відбір проб донних відкладів.

Відбір проб донних відкладів для наступного засіву на живильні середовища та обліку кількості сапрофітних бактерій виконується за схемою, викладеною для загальної чисельності бактеріобентосу з дотриманням умов асептики.

2. Зберігання, транспортування проб ґрунтів, матеріали, що використовуються, агарові живильні середовища та їх підготовка для засіву ґрунтовим матеріалом мають загальні вимоги, викладені для обліку сапрофітних бактерій у воді.

3. Проведення аналізу.

На годинниковому склі, яке попередньо протирається спиртом та обпалюється на полум'ї спиртівки, на вагах готується навашка ґрунту 100 мг, який змивається стерильною водопровідною водою у колбу до досягнення об'єму 100 мл (одразу отримують третє розведення). Вміст колби перемішують протягом 10 хв. З колби відбирається 1 мл рідини і переноситься у пробірки з 9 мл стерильної водопровідної води і т. д. Тобто, проводиться серія десятикратних розведень. Висіви на живильне середовище проводять з 5–8-го розведень. З кожного розведення по 1 мл матеріалу висівають у дві чашки Петрі. Інкубацію чашок з висівами проводять при температурі 20–25°C протягом 7–10 днів. Кількість колоній враховується в тих розведеннях, де їх виростає не менше 30 і не більше 300 на одній агаровій платівці [5].

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

5.2.4. Загальні зауваження до визначення чисельності бактерій в донних відкладах

В практиці досліджень бактеріобентосу і, зокрема, загальної чисельності бактерій та вмісту сапрофітів найчастіше обмежуються аналізом верхнього 1

см шару ґрунту, збагаченого на органічні та мінеральні частинки, що осідають на поверхню донних відкладів з водної товщі водойм. Саме в цьому шарі відмічається найбільш висока концентрація бактерій і активно протікають процеси перетворення органічних і неорганічних речовин. З глибиною мікробіологічні процеси уповільнюються в результаті збіднення ґрунту на легкодоступні фракції органічних речовин, біогенні елементи та внаслідок дії інших чинників.

Існує прямий зв'язок між первинною продукцією фітопланктону і збагаченням донних відкладів на органічні речовини. Тобто, продуктивність (трофість) водойм є одним з провідних чинників, що впливають на формування донних ґрунтів та процеси, що в них відбуваються. Чисельність бактеріобентосу зростає від оліготрофних водойм до евтрофних; в комплексі з іншими біотичними показниками вона може характеризувати рівень трофності водних об'єктів.

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

Слід відмітити, що стратифікація донних ґрунтів (по глибині) за фізико-хімічними властивостями, неоднакова кількість і якість поживних речовин створюють умови для розвитку різноманітних видів мікроорганізмів та багатоступінчастого процесу біохімічних перетворень органічних і неорганічних речовин природного і антропогенного походження. Тобто, донні ґрунти та організми, що їх населяють, виконують важливу функцію самоочищення водойм. Хронічне антропогенне забруднення водних об'єктів, в т.ч. донних відкладів призводить до поступового порушення структури бактеріобентосу, підвищення ролі анаеробних процесів трансформації органічних і неорганічних речовин, посилення дифузії відновлених сполук з донних відкладів у придонні шари води, врешті – до вторинного забруднення водойм та погіршення їх екологічного стану.

Загальновизнаної системи оцінки екологічного стану водойм за критеріями бактеріобентосу немає; дослідження в цьому напрямку продовжуються і на сьогодні вже пропонуються до апробації і застосування відповідні схеми [1].

Література

1. Дзюбан А. Н. Оценка экологического состояния водохранилищ по критериям бактериобентоса // Гидробиол. журн. – 2004. – 40, № 4. – С. 73–79.
2. Дзюбан А. Н., Горбенко А. Ю. Оптимизация метода прямого счета бактерий в донных отложениях водоемов // Микробиология. – 1989. – 58, вып. 5. – С. 871–875.
3. Дзюбан А. Н., Горбенко А. Ю., Буторин А. Н., Кузнецова И. А. Оптимизация метода тотального учета бентосных бактерий // Гидробиол. журн. – 2001. – 37, № 4. – С. 102–107.
4. Кузнецов С. И., Дубинина Г. А. Методы изучения водных микроорганизмов. – М.: Наука, 1989. – 288 с.
5. Романенко В. И. Микроорганизмы воды и грунтов // Методика изучения биоценозов внутренних водоемов. – М.: Наука, 1975. – С. 51–72.

5.3. Визначення метаболічно активних бактерій у воді і донних відкладах водоєм

5.3.1. Визначення кількості клітин, які містять недеградований нуклеоїд

Комплекси DAPI з неспецифічним ДНК цитоплазми і клітинної стінки бактерій є нестійкими сполуками. Натомість комплекси DAPI з нуклеоїдом клітини більш стійкі. Для того, щоб визначити клітини з недеградованим нуклеоїдом (метаболічно активні) препарати, приготовані у відповідності з процедурою підрахунку загальної кількості бактерій, обробляються гарячим ізопропанолом. Ізопропанол руйнує і вимиває сполуки DAPI з неспецифічним ДНК, але не викликає вимивання барвника з комплексів DAPI з ДНК нуклеоїда.

Метод [2, 6]

1. Проби води і донних відкладів повинні бути зафіксовані 40% формаліном з розрахунку його кінцевої концентрації в пробі 10% (при додаванні меншої кількості формаліну аналіз неможливий).
2. Приготування барвника (DAPI) і забарвлення препаратів проводиться згідно пп. 2–5 методу визначення загальної кількості бактерій.
3. Фільтр з осадженими і забарвленими бактеріями промивають 2 мл гарячого (65–70°C) ізопропанолу.

4. Далі аналіз і розрахунки виконують згідно пп. 7–11 методу визначення загальної кількості бактерій при забарвленні DAPI.

5.3.2. Визначення стану цитоплазматичної мембрани бактерій

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

Метод [1, 3]

1. Проби води фіксуються 40% формаліном до кінцевої концентрації 5% і до аналізу зберігаються при +4°C.
2. SYTO 9 і PI, які повинні зберігатися при –20°C, змішують у рівних кількостях і добре перемішують на шутелі безпосередньо перед початком аналізу.
3. До 1 мл проби додають 3 мкл суміші реагентів і протягом 15 хв вимішують на шутелі при кімнатній температурі у темноті.
4. Забарвлену суспензію бактерій фільтрують згідно пп. 4–5 методу забарвлення акридиноранжем.
5. Препарат готують і зберігають згідно з пп. 7–9 методу DAPI визначення загальної кількості бактерій.
6. Перед мікроскопією препарати треба витримати до прийняття ними кімнатної температури. Після того на покривне скельце наносять краплину нефлуоресційної імерсійної олії. Мікроскопію виконують в епіфлуоресцентному мікроскопі з об'єктивом 100x, окуляром 10x. При підрахунку клітин, забарвлених в зелений, використовують фільтри NB (блакитний), а з фільтром WG (зеленим) лічать бактерії, забарвлені в червоний колір.

5.3.3. Визначення клітин бактерій з активним транспортом електронів

При обробці суспензії бактерій 5-ціано-2,3-дитоліл тетразоліумхлоридом (СТС) з подальшим забарвленням DAPI в препаратах на чорних полікарбонатних мембранних фільтрах виявляють бактерії з активним транспортом електронів (клітини, які активно дихають). Безкольоровий СТС при відновленні в клітині внаслідок відриву електронів переходить в червоний формазан. В клітині внаслідок включення червоно-помаранчевого кольору, і такі бактерії визначаються як СТС+. Цей метод дає можливість отримати інформацію про співвідношення загальної чисельності до кількості СТС+ клітин в бактеріальному угрупованні.

Метод [4, 5]

1. Особливістю методу є дослідження тільки живої проби.
2. Готують 50 мМ розчин СТС на деіонізованій, профільтрованій через мембранний фільтр (\varnothing 0,2 мкм) воді і зберігають розчин при +4–5°C у темноті.
3. До нефіксованої проби додають розчин СТС у співвідношенні 10:1 і перемішують на шутелі при кімнатній температурі у темноті протягом 1–3 год.
4. По експозиції пробу фіксують 40% ультрафільтрованим формаліном до кінцевої концентрації 5%.
5. Пробу барвлять DAPI і препарат готують згідно з вищевикладеним методом визначення загальної кількості бактерій.
6. Мікроскопія виконується в епіфлуоресцентному мікроскопі з використанням двох систем фільтрів:
 - а) для DAPI (згідно з п. 10 методу обліку загальної кількості клітин, забарвлених DAPI);
 - б) світло-блакитного фільтру (підрахунок клітин, в яких накопичений формазан у вигляді червоно-помаранчевих включень).

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

Література

1. Berman T., Kaplan B., Chara S., Viner Y., Sherr B. F., Sherr E. B. Metabolically active bacteria in Lake Kinneret // *Aquat. Microb. Ecol.*, 23, 2001. – P. 213–224.

2. *Methods in Microbiology*. – USA: Academic Press, **30**, 2001. – P. 183–185.
3. *Methods in Microbiology*. – Там же. – P. 191–194.
4. *Methods in Microbiology*. – Там же. – P. 146–151.
5. *Rodrigues G. G., Phipps D., Ishiguro K., Ridgway H. F.* Use of the fluorescent redox probe for direct visualization of activity respiring bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**(6), 1992. – P. 1801–1808.
6. *Zweifel U. L., Hagström A.* Total counts of marine bacteria include a large fraction of non-nucleoid-containing bacteria (ghosts) // *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 1995. – P. 2180–2185.

6. Зоопланктон

6.1. Методи та знаряддя польового збору матеріалу

Під зоопланктоном найчастіше мають на увазі мезозоопланктон – сукупність водяних тварин мезо- і частково мікророзміру (від 0,2 до 3,5 мм), що пасивно дрейфують (ширяють), або, за визначенням автора терміну Гензена, «носяться водою, не маючи сили ухилитись від улову сіткою». На протязі всього минулого століття тривали наукові суперечки щодо того, що вважати планктоном, а що ні, які організми є справжніми планктонними, а які такими, що випадково потрапили до його складу і тому не повинні бути врахованими. Широке розуміння поняття «планктон» веде до уявлення про нього як про угруповання або зооценоз, яке населяє біотоп товщі води, тобто про сукупність всіх без винятку організмів, відловлених у воді.

При вузькому тлумаченні цього терміну беруться до уваги тільки ті гідробіонти, які мають морфо-функціональні та етологічні пристосування до життя в товщі води, інакше кажучи, є представниками планктичної (пелагічної) життєвої форми. Інша справа, що для відображення екологічного різноманіття зоопланктонного угруповання, його поділяють на різні частини – *облігатний (постійний), факультативний (тимчасовий) і випадковий зоопланктон*, або на різні екологічні групи, основними з яких є *придонно-фітофільна, прибережно-фітофільна та пелагічна* [2, 8].

Традиційно до зоопланктону прісних вод відносять представників трьох великих таксономічних груп, які вважаються основними, – класу коловороток (Rotatoria (Rotifera) з типу круглих або первиннопорожнинних червів (Nemathelminthes) і двох таксонів класу ракоподібних (Crustacea) з типу членистоногих (Arthropoda) – підряду гіллястовусих (Cladocera) і ряду веслоногих (Copepoda) з трьох підрядами (Calanoida, Cyclopoidea і Harpacticoida). Також у складі зоопланктону враховують гідробіонтів з декількох додаткових груп: підкласу черепашкових ракоподібних (Ostracoda) і личинок деяких двостулкових моллюсків (з типу Mollusca) – велигерів дрейсен і глохідіїв уніонід, яким властивий планктичний спосіб життя.

Іноді до зоопланктону включають нібито зовсім не характерних для нього безхребетних, але яким насправді властива гетеротопність, тобто здатність до зміни місцеперебування: черепашкових корененіжок, турбеларій, нематод,

олігохет, личинок хірономід, – чийм постійним біотопом є ґрунт або водяна рослинність. Цих тварин може бути особливо багато у водоймах з дуже швидкою течією, яка піднімає їх з дна або виносить з прибережних заростей, зокрема в річках і каналах.

Вибір станцій спостережень

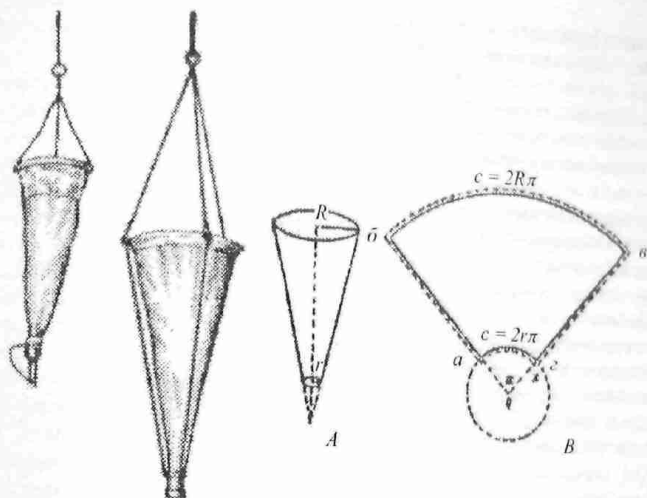
На початку польових досліджень зоопланктону слід чітко визначити кількість і місцезнаходження на водоймі станцій, на яких згідно з метою та завданнями роботи буде збиратись матеріал [6, 9]. Для глибокого та всебічного вивчення всіх аспектів розвитку та просторового розподілу зоопланктону дослідженнями мають бути охоплені всі або більшість основних біотопів – пелагіаль, літораль, як незаросла, так і заросла вищою водяною рослинністю різних екологічних типів (повітряно-водяною, зануреною та з плаваючим листям), затоки, заплавної водойми, а також по можливості гирлові ділянки бічних притоків. При цьому відбір проб треба здійснювати з різних глибинних горизонтів, в тому числі і з придонних шарів води.

Для вивчення часової динаміки зоопланктону збір матеріалу має проводитись у різні сезони року та на протязі кількох років. Якщо дослідження проводяться на водоймі, що перебуває в умовах певного антропогенного впливу, з метою гідробіологічного контролю за якістю води та станом гідроекосистеми, станції спостережень обов'язково мають бути розташовані і в місцях, де реєструється наявність антропогенне забруднення, і там, де воно практично не відмічається (контроль).

Відбір проб

На водоймі відбір проб проводиться двома основними способами, які характеризуються простотою та доступністю. Перший спосіб являє собою зачерпування води з поверхні водойми за допомогою спеціального кувала (так званої планктонної «кружки» Кольквітця), відра або іншої посудини та подальше відокремлення планктону від води. Це здійснюється або шляхом процідження (профільтрування) її певного об'єму (25–100 л) через планктонну сітку або сито, або шляхом відстоювання чи центрифугування. Для зачерпування води з певної глибини використовуються спеціальні прилади – батометри, з яких найвідомішими є батометри Рутнера та Молчанова.

Другий спосіб відбору проб полягає в безпосередньому обловлюванні сіткою певного об'єму води, для чого вона протягується через потрібну відстань (за бажанням дослідника) або вертикально – між різними глибинними



6.1. Якісна планктонна сітка Апштейна.

горизонтами чи між дном і поверхнею (тотальний лов), або горизонтально – між різними точками акваторії водойми. Таким чином обловлюється або стовп води певної висоти, або поверхневий шар певної довжини. Зрозуміло, що це можна здійснити тільки за допомогою плавзасобу.

При роботі на прісних водоймах для профільгування води найчастіше використовується якісна конічна планктонна сітка Апштейна (більшість відомих сіток є її різновидами та модифікаціями) (рис. 6.1). Вона складається з мішка, що має форму усіченого конуса, який своєю широкою стороною прикріплюється до металевого (обов'язково нержавіючого, наприклад, алюмінієвого або латунного) кільця або обруча, а на протилежному вузькому кінці містить стаканчик, в якому концентрують спіймані зоопланктони. Мішок виготовляється з млинового сита (мюллерівського газу) – дуже міцної та щільної шовкової або синтетичної тканини з рівномірним розподілом ниток і однаковим розміром пор, через яку легко проходить вода. Промисловість виробляє газ за номерами, які відповідають кількості пор в 1 см^2 тканини. Для відбору проб зоопланктону застосовуються номери газу від 62 до 72. Для за-

побігання передчасному пошкодженню газовий мішок прикріплюється до металевого кільця не безпосередньо, а спочатку пришивається до смужки цупкої матерії.

Стаканчик для сітки також має бути зробленим з нержавіючих матеріалів, найчастіше з алюмінію, і прив'язується до вузького кінця сітки, попередньо та кож обшитого цупкою тканиною, кількома обертами мотузки, а краще – будь-якою клейкою стрічкою. На кінці стаканчика міститься короткий патрубок з насадженою на нього гумовою трубкою, що перекривається спеціальним металевим затискачем (затискачем Мора) або закривається корком. До металевого кільця на рівних відстанях одна від одної прикріплюються три міцні вірвовки (стропи), вільні кінці яких зв'язуються між собою над вхідним отвором сітки вузлом, який у свою чергу з'єднується з тросом, на якому сітка опускається у воду з судна або з берега та утримується під час роботи. За допомогою таких самих строп до кільця має бути прикріпленим і стаканчик, інакше сітка може порватися під вагою води, що її наповнює. Приблизні розміри малої моделі якісної сітки такі: довжина боку – 55 см, діаметр вхідного отвору – 25 см, діаметр стаканчика – 4 см; розміри середньої моделі – відповідно 100, 40 та 6 см.

Для обловлювання певних об'ємів води найвідомішим знаряддям для прісних водойм є кількісна планктонна сітка Апштейна (більшість сіток, таких як сітки Гензена, Джеді та ін. створені за тим самим принципом). Її головна відмінність від якісної сітки полягає в наявності в її конструкції надставки у вигляді ще одного усіченого конуса, виготовленого з водонепроникної цупкої тканини та приєднаного своєю широкою основою до першого кільця, а вузькою – до ще одного металевого кільця, яке в цьому випадку являє собою вхідний отвір. Основна функція надставки – запобігати утворенню зворотних потоків води, що виникають при протягуванні сітки та заважають її роботі. Для кількісної сітки Апштейна довжина боку надставки має складати приблизно половину довжини боку сітки, а діаметр її другого кільця – бути в півтора рази меншим за діаметр першого. Ще однією деталлю є грузило, яке прив'язується до низу сітки для тотального лову зоопланктону. Трос, до якого прикріплюється кількісна сітка, має бути розміченим на метри за допомогою пришитих до нього клаптиків кольорової тканини.

Фіксація проб

Сконцентрований у стаканчику сітки зоопланктон зливається по трубці в невелику скляну або пластмасову банку об'ємом 100–200 мл, яка має кришку з прокладкою, що запобігає розлиттю проби. Якщо проба зоопланктону не оброблюється зразу в живому вигляді, її треба швидко зафіксувати однією з кон-

сервуючих речовин. Найпоширенішим консервантом (фіксатором) проб прісноводного зоопланктону є формальдегід 40%-ї концентрації (формалін), який доливається в посудину до появи відчутного характерного запаху. При необхідності в якості фіксатора можна використовувати також і етиловий спирт (при його концентрації в пробі не менше 70%). Але якщо «формалінові» проби можуть зберігатись на протязі кількох років, то «спиртові» мають бути оброблені якомога швидше.

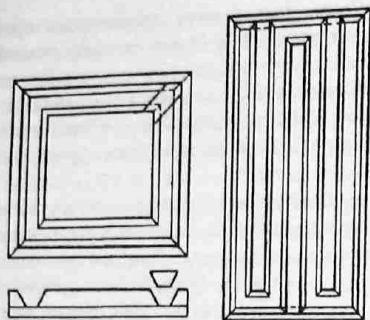
Кожна відібрана та зафіксована проба має бути наділена етикеткою, яка пишеться на щільному папері простим олівцем і вкладається під прокладку кришки. На етикетці записуються всі необхідні для дослідника дані, а саме місце та дата відбору проби, знаряддя лову, об'єм води, профільованої через якісну планктонну сітку, або відстань, через яку була протягнута кількісна сітка під час лову зоопланктону, температура води та повітря, глибина на станції, а також при необхідності наявність і характер заростей водної рослинності, тип донних відкладів тощо. На кришку банки або на її бік наклеюється шматочок паперу або лейкопластиру, на якому пишеться номер проби. Усі ці дані, а при бажанні й інші (наприклад, час доби, погодні умови), ретельно записуються в польовий щоденник.

6.2. Методи, прилади та знаряддя лабораторного опрацювання проб

Камеральне опрацювання проб

Лабораторні дослідження зоопланктону починаються з опрацювання відібраних на водоймі проб за допомогою оптичних приладів, основними з яких є бінокляри та мікроскопи. Для цього проба або її частина наливається в спеціальну лічильну камеру з органічного скла (найбільш уживаною з яких є камера Богорова) і в ній поміщається на предметний столик оптичного приладу для подальшого перегляду (рис. 6.2). Замість камери можна взяти будь-які скляні ванночки або чашки Петрі, дно яких розграфлене паралельними лініями на доріжки (наприклад, кристалізатор Цееба).

Іншими необхідними знаряддями є препарувальні голки та зонди для переміщення або препарування зоопланктонних безхребетних, а також предметні, покривні та скельця з лунками, на які за допомогою скляних трубочок або медичних піпеток переносяться окремі екземпляри. Також для роботи потрібні хімічні проградуйовані склянки, колби та піпетки різного об'єму, гумові груші, пеніцилінові пляшечки, штемпель-піпетки (дозатори), сифони з грушею, дис-



6.2. Камера Богорова.

тильована вода для розведення проби, салфетки та фільтрувальний папір для просування скляних поверхонь, торзійні терези, а також робочий журнал і ручка для ведення записів.

Найбільш розповсюдженим методом обробки проб зоопланктону для одержання його якісних і кількісних характеристик є лічильно-ваговий – найдавніший і найнадійніший, але водночас і найбільш трудомісткий [3]. Суть цього методу полягає в точному визначенні видової

приналежності всіх організмів зоопланктону в пробі за допомогою визначників [1, 4, 5, 7, 10–13] та в ретельному підрахунку кількості особин кожного виду під час перегляду їх під мікроскопом або бінокляром. Сумарна кількість усіх полічених екземплярів, або сумарна чисельність усіх видів дає чисельність зоопланктону в пробі.

Для визначення біомаси зоопланктону в пробі чисельність кожного виду перемножується на його індивідуальну масу, а одержані біомаси видів підсумовуються. Для отримання індивідуальних мас існує кілька шляхів. Найчастіше використовуються стандартні індивідуальні маси, представлені в літературі або існуючі в рукописному вигляді в більшості наукових закладів. Значно рідше проводиться безпосереднє визначення сирової ваги зоопланктонів, для чого кілька десятків або сотень особин певного виду швидко просушуються фільтрувальним папером і в маленькому бюксі, вага якого відома, зважуються на надточних торзійних терезах. Крім того, в останній час все більшого поширення набуває розрахунковий спосіб, що базується на застосуванні співвідношення між довжиною тіла зоопланктонного організму та його масою (формули наведені в ряді робіт, зокрема [2]). Довжину зоопланктонта можна легко виміряти за допомогою окуляр-мікрометра під мікроскопом або бінокляром. Останнім словом є використання з цією метою сучасних комп'ютерних програм (наприклад, WaCo – Water Communities, розроблена в Інституті гідробіології НАН України).

Підрахунок усіх зоопланктонних організмів є технічно можливим і доцільним лише за умови бідності проби. Якщо проба багата, зоопланктонти лічаються лише в її певній частині (порції), після чого їх кількість у порції пере-проградується на всю пробу. Порція береться за допомогою штемпель-піпетки або проградуйованої піпетки з насадженою на неї гумовою грушею об'ємом 10 мл з відрізаним кінчиком (для потрапляння в неї гідробіонтів усіх розмірів) після якомога більш ретельного перемішування та збовтування проби. Перед роботою вся проба або її окрема порція згущується (для чого зайва вода зливається або відсмоктується за допомогою сифона) або розбавляється чистою дистильованою чи відстояною водопровідною водою до зручного об'єму та необхідної щільності організмів.

Порційний підрахунок найчастіше здійснюється в такому порядку: в першій найменшій порції проби (наприклад, в 1/100) лічать найчисленніших зоопланктонтів, в другій порції, більшій за першу на порядок (в 1/10 проби), – організмів, що не зустрілись у першій, і, нарешті, в усій пробі – поодинокі екземпляри, що не зустрілись у двох перших порціях.

Розрахунок кількості зоопланктону

Дані з кількісного розвитку зоопланктону звичайно представляються в перерахунку на одиницю об'єму води, найчастіше – на кубічний метр, рідше – на кубічний дециметр, або літр. При відборі проби шляхом процідження води через якісну планктонну сітку загальна кількість зоопланктону в 1 м³ розраховується за формулою:

$$X = \frac{x \cdot 1000}{v},$$

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

Якщо ж проба зоопланктону відібрана кількісною сіткою, то обчислення проводяться за формулою:

$$X = \frac{x \cdot 1000000}{\pi \cdot R^2 \cdot h},$$

де R – радіус вхідного отвору сітки в сантиметрах; h – висота обловленого стовпа води в сантиметрах.

Описаний лічильно-ваговий метод обробки проб зоопланктону порівняно з іншими (об'ємним, ваговим, хімічним тощо) має як переваги, так і недоліки. Безсумнівною перевагою є визначення переважної більшості як масових, так і одиничних зоопланктонтів до виду або хоча б до роду. Це надзвичайно важли-

во, зокрема тому, що робить можливим застосування окремих видів або інших таксонів як біологічних індикаторів якості води або стану біоти та водної екосистеми в цілому, не говорячи вже про можливість проведення найрізноманітніших детальних досліджень складу та структури зоопланктонного угруповання. Основним недоліком цього методу є велика роль суб'єктивного фактору (особистості працівника), починаючи від ретельності взяття порції проби та закінчуючи точністю визначення організмів зоопланктону. Тому бажано, щоб матеріал для одного дослідження опрацьовувався однією особою.

Слід пам'ятати, що в планктології при опрацюванні проб лічильно-ваговим методом звичайно не треба намагатись отримати абсолютно точні цифри. Справа в тому, що точність лабораторної обробки має бути адекватною точності польового збору матеріалу, тобто не повинна перевищувати її, а проби зоопланктону, відібрані в одній точці та в один і той же час, можуть суттєво розрізнятись між собою за кількістю відловлених особин (в 1,5–2,0 рази). Це обумовлюється природньою нерівномірністю розподілу зоопланктону в товщі води та його постійними переміщеннями та міграціями. Найголовнішою умовою є дотримання однотипності як методів відбору, так і методів обробки проб.

Література

1. *Боруцкий Е. В., Степанова Л. А., Кос М. С.* Определитель Calanoida пресных вод СССР. – С.-П.: Наука, 1991. – 504 с.
2. *Киселев И. А.* Планктон морей и континентальных водоемов. – Л.: Наука, 1969. – Т. 1. – 658 с.
3. *Кожова О. М., Мельник Н. Г.* Инструкция по обработке проб планктона счетным методом. – Иркутск, 1978. – 51 с.
4. *Кутикова Л. А.* Коловратки фауны СССР. – Л.: Наука, 1970. – 744 с.
5. *Мануйлова Е. Ф.* Ветвистоусые рачки фауны СССР. – Л.: Наука, 1964. – 328 с.
6. *Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зоопланктон и его продукция / Под ред. Г. Г. Винберга и Г. М. Лаврентьевой.* – Л., 1982. – 33 с.
7. *Монченко В. І.* Щелепнороти циклопоподібні, циклопи (Cyclopidae) // Фауна України. – К.: Наук. думка, 1974. – Т. 27, Вип. 3. – 452 с.
8. *Ривьер И. К.* Зоопланктон и нейстон // Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. – М.: Наука, 1975. – С. 138–157.
9. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений / Под ред. В. А. Абакумова.* – Л.: Гидрометеоздат, 1983. – 239 с.
10. *Рылов В. М.* Пресноводные Calanoida СССР. – Л. – 1930. – 288 с.

11. Рылов В. М. Cyclopoidea пресных вод // Фауна СССР. Ракообразные. – М.–Л.: Изд-во АН СССР, 1948. – Т. 3, Вып. 3. – 320 с.
12. Смирнов Н. Н. Chydoridae фауны мира // Фауна СССР. Ракообразные. – Л.: Наука, 1971. – Т. 1, Вып. 2. – 530 с.
13. Смирнов Н. Н. Macrothricidae и Moinidae фауны мира // Фауна СССР. Ракообразные. – Л.: Наука, 1976. – Т. 1, Вып. 3. – 238 с.

6.3. Оцінка стану водних екосистем за структурними характеристиками зоопланктону

Екологічний аналіз, що проводиться при оцінці стану біоти та її окремих компонентів, базується на дослідженні найрізноманітніших якісних і кількісних структурних і функціональних характеристик угруповань гідробіонтів і особливостей їх динаміки на певному просторі та за певний проміжок часу. Основними при аналізі зоопланктонних угруповань є характеристики їх якісного складу, кількісного розвитку, співвідношення складових частин, а також їх просторовий розподіл (горизонтальний і вертикальний) і часова динаміка (добова, міжсезонна та міжрічна). Найбільш поширені із структурних показників наведені нижче:

$A_{\text{зг}}$ – видове різноманіття угруповання (загальна кількість видів, або видове багатство).

T – таксономічне різноманіття – кількість таксонів певного надвидового рангу: родів, родин тощо.

$A_{\text{дом}}$ – кількість видів домінуючого комплексу угруповання, якими є такі, що мають частоту трапляння 50–100% та найбільшу біомасу.

Види-едифікатори, або види-домінанти першого порядку (перші два в домінуючому комплексі, ранжованому за біомасою або за індексом порівняння).

Види-субдомінанти (2–3 наступних за першими двома).

Фауністичний спектр угруповання (так само домінуючого комплексу видів) – процентне співвідношення основних систематичних груп, якими в зоопланктоні є Rotatoria, Cladocera і Copepoda, за кількістю видів.

N – загальна чисельність угруповання, тис. екз/м³.

B – його загальна біомаса, мг/м³.

$T_{\text{дом/В}}$ – домінуючий за біомасою основний таксон.

$T_{\text{дом/Н}}$ – домінуючий за чисельністю основний таксон.

Таксономічна структура – процентне співвідношення основних систематичних груп зоопланктону (коловертки / гіллястовусі / веслоногі), або окремих

таксонів (коловертки / ракоподібні; гіллястовусі / веслоногі; каляноїди / цикло-поїди тощо) за біомасою.

Структура домінування (оліго-, мезо- чи полідомінантність) – частки біомаси видів домінуючого комплексу в загальній біомасі.

Екологічний спектр угруповання (так само домінуючого комплексу видів) – процентне співвідношення різних екологічних груп (придонної, придонно-фітофільної, фітофільної, прибережно-фітофільної, пелагічної) за кількістю видів їх представників.

Екологічна структура – їх процентне співвідношення за біомасою.

Трофічна структура – процентне співвідношення різних трофічних груп (мирних, всеїдних, хижих зоопланктонів) за біомасою.

$b_{\text{ср}}$ – середня індивідуальна біомаса (загальна біомаса, поділена на чисельність) як показник розмірно-вагової структури зоопланктону.

p – частота трапляння виду – відсоток станцій, на яких зареєстрований даний вид, від загальної кількості обстежених станцій.

ЩЗ – індекс ценотичної значущості певного виду, який розраховується як \sqrt{bpr} , де b – індивідуальна маса виду (іноді – індекс порівняння, або індекс щільності).

Крім описового підходу, який ґрунтується на застосуванні всіх цих показників, дуже інформативним є метод графічної інтерпретації даних, що базується на створенні спеціальних графіків-діаграм, або ценограм. Ценограма поєднує в собі криву, побудовану за індексами ценотичної значущості домінуючих видів у порядку їх зменшення, та кругову діаграму співвідношення біомас таксономічних груп у ценозі [3, 5]. Крутизна або пологість цієї кривої (яку іноді називають кривою домінування) свідчить про певну структуру ценозу.

При дослідженні зоопланктону можна оперувати не тільки описаними абсолютними показниками складу, розвитку та структури конкретного угруповання, але і відносними, а також порівняльними індексами та коефіцієнтами, зокрема такими, як приведені в численних публікаціях і посібниках з біометрії [1, 4, 6, 7, 9, 11, 17].

Індекс Менхініка (видового різноманіття, або багатства), який є характеристикою кількості видів, що припадає на одиницю сумарної численності (рясности) (в якості якої може бути взята загальна чисельність або біомаса):

$$M = \frac{A}{\sqrt{N}}$$

де A – кількість видів, N – сумарна ряснота всіх видів угруповання.

Індекс Сімсона (домінування, або концентрації):

$$C = \sum \left(\frac{n}{N} \right)^2,$$

де n – ряснота одного виду.

Індекс Сімпсона (еквітабельності, або рівноможливості):

$$E = \sum \frac{n(n-1)}{N(N-1)}.$$

Індекс Шенона (загального, або інформаційного різноманіття), який дає уявлення відразу про обидва аспекти різноманіття: кількість видів і рівномірність їх кількісної представленості, і тому може слугувати інтегральною оцінкою стану ценозу та біоценозу в цілому (його складності, організованості, стійкості). Може бути розрахований як за окремими видами, так і за таксонами надвидового рангу або іншими елементами різноманіття:

$$H = -\sum \left(\frac{n}{N} \right) \log \left(\frac{n}{N} \right).$$

Індекс Жакара (видової, або фауністичної схожості), який може бути розрахованим як між угрупованнями в цілому ($J_{\text{заг}}$), так і між домінуючими комплексами видів ($J_{\text{дом}}$):

$$J = \frac{c}{a+b-c},$$

де a і b – кількість видів в порівнюваних угрупованнях, c – кількість спільних видів.

Індекс Шоригіна (схожості кількісної структури, або питомої рясноти):

$$Q = \sum \left(\frac{n}{N} \right)_{\min},$$

де \min – мінімальна величина з двох порівнюваних.

Індекс Вайнштейна (біоценологічної схожості), що об'єднує два попередніх:

$$W = \frac{K \cdot J}{100},$$

Коефіцієнт стійкості Федорова-Соколової, який характеризує величину відхилення перемінної від її середнього значення і може бути розрахованим як для окремого показника (S_i), так і для їх сукупності ($S_{\text{заг}}$):

$$S_i = \frac{\sum \left| \frac{\Sigma i}{x} - i \right|}{\Sigma i};$$

$$S_{\text{ар}} = \frac{\Sigma S_i}{X},$$

де i – значення показника в момент виміру, x – кількість вимірів, X – кількість показників.

Показник варіабельності динаміки біомаси:

$$\text{ВДБ}_1 = \frac{B_{\text{max}} - B_{\text{min}}}{B_{\text{m}}};$$

$$\text{ВДБ}_2 = \frac{B_{\text{min}}}{B_{\text{max}}},$$

де B_{max} , B_{min} і B_{m} – максимальна, мінімальна та середня за сезон (рік) біомаса.

Коефіцієнт варіації показників розвитку (cV).

Відносна похибка середньої арифметичної показників (k).

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

1. У стоячій водоймі збір гідробіологічних матеріалів слід проводити на станціях спостережень, розташованих на таких ділянках акваторії, де вплив антропогенного фактору наявний і де він відсутній.

2. У водоймі з течією станції спостережень необхідно розміщувати вище, в місці та нижче дії антропогенного фактору.

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

1. Для порівняння взяти гідробіологічні матеріали, зібрані перед і після початку антропогенної дії.

2. При відсутності таких матеріалів можлива так звана експертна оцінка, яка може бути здійснена тільки досвідченим спеціалістом і полягає в порівнянні досліджуваної водойми з водоймами такого ж лімнологічного типу, але які на відміну від неї не зазнають антропогенного пресу і перебувають у природному екологічному стані.

3. І нарешті – проведення багаторічного моніторингу для відстеження динаміки змін, їх наростання, стабілізації або спаду.

З літератури відомо [2, 3, 5, 8, 9], що при зниженні рівня благополуччя водної екосистеми та погіршенні стану її біотичної компоненти, які можуть наста-

ти внаслідок антропогенного забруднення різного роду (евтрофікації, сапробізації, токсифікації тощо) в зоопланктоні відбувається ряд процесів, зокрема:

1. Зменшення загальної кількості видів спільноти, причому за рахунок видів з особинами великих розмірів і з довгими та складними життєвими циклами (*K*-стратегів), а також менш резистентних стенобіонтних ендемічних і реліктових видів. Натомість в ценозі залишаються широко розповсюджені еврибіонти та дрібні короткоживучі *r*-стратегі.

2. Різка зміна домінуючого комплексу видів.

3. Зниження кількісного розвитку.

4. Перехід від полі- та мезодомінантності до олігодомінантності.

5. Зменшення частки гіллястовусих ракоподібних і збільшення часток коловерток та веслоногих.

6. Збільшення частки хижаків і всеїдних і зменшення часток мирних фільтраторів і збирачів.

7. Зниження інформаційного різноманіття та підвищення концентрації домінування.

8. Зменшення середньомісячної продукції та середньомісячного *P/V* коефіцієнту угруповання, значне переважання деструкції над продукцією.

9. Зміна хорологічної структури та виникнення аномалій просторового розподілу за рахунок утворення агрегацій зоопланктонів та їх міграції з забруднених місць.

10. Порушення природнього ходу сезонної динаміки за рахунок утворення максимумів та мінімумів розвитку в нетиповий час.

В якості найбільш адекватних і репрезентативних гідробіологічних класифікаційних критеріїв у вітчизняних і зарубіжних системах були використані показники кількісного розвитку основних угруповань гідробіонтів. Але якщо в європейській класифікації, яка міститься в Директиві Європейського Союзу з водної політики [18], зоопланктон не задіяний, то в українську систему комплексної оцінки стану водних об'єктів він як компонент біоти включений і «працює» досить успішно [10, розділ III цієї збірки]. Так, загальні чисельність і біомаса зоопланктону, на думку переважної більшості дослідників, з підвищенням рівня трофії водойми збільшуються в певній пропорції [12, 14]. Конкретні межі коливань кількості зоопланктону, за якими визначається рівень його розвитку у водах різних класів якості, були встановлені на основі багатого фактичного матеріалу з різних типів прісних водойм України (табл. 6.1).

У наш час продовжуються пошуки інших адекватних класифікаційних критеріїв стану біоти, зокрема рівня трофії водного об'єкту. Так, ними можуть слу-

6.1. Категорії якості вод за деякими класифікаційними критеріями (за [10, 16])

Критерій	Категорії якості вод						
	1	2	3	4	5	6	7
Стан	Відмінні	Дуже добрі	Добрі	Задовільні	Посередні	Погані	Дуже погані
Ступінь чистоти	Дуже чисті	Чисті	Досить чисті	Слабко забруднені	Помірно забруднені	Брудні	Дуже брудні
Трофність	Оліготрофні-олігомезотрофні	Мезотрофні	Мезоевтрофні	Евтрофні	Евполітрофні	Політрофні	Гіпертрофні
Сапробність	β -олігосапробні	α -олігосапробні	β' -мезосапробні	β'' -мезосапробні	α' -мезосапробні	α'' -мезосапробні	Полісапробні
S	< 1,0	1,0–1,5	1,6–2,0	2,1–2,5	2,6–3,0	3,1–3,5	> 3,5
Розвиток зоопланктону	Дуже низький	Низький	Нижче середнього	Середній	Вище середнього	Високий	Дуже високий
$B, \text{г/м}^3$	< 0,3	0,3–1,0	1,1–5,0	5,1–10,0	10,1–20,0	20,1–30,0	> 30,0
$N, \text{тис. екз/м}^3$	< 5	5–50	51–250	251–500	501–1000	1001–2500	> 2500

Примітка. S – індекс сапробності.

гувати такі показники як видове та таксономічне різноманіття та інформаційне різноманіття за Шеноном [13]. Але якщо залежність чисельності та біомаси зооценозів від величини органічного забруднення є прямолінійною, то у випадку кількості видів і індексу Шенона ця залежність буде криволінійною, а саме унімодальною, при якій ці показники матимуть один максимум, що припадати-ме на середні (мезо-) класи трофії та два мінімуми – на нижчих (оліго-) і вищих (полі-) класах. Іншими словами, при середньому трофічному статусі водойми зоопланктонна спільнота матиме найскладнішу, оптимальну, «найгармонічнішу» мезо- або полідомінантну структуру з притатаманними їй високим інформаційним різноманіттям та низькою концентрацією домінування [14].

Також здебільшого вважається, що в оліготрофних водах порівняно з евтрофними зоопланктоценози мають більшу кількість видів-домінантів, доміну-

ючим таксоном є веслоногі ракоподібні (а не гіллястовусі або коловертки), біомаса ракоподібних більша за таку коловерток в 25 разів (проти 8), серед колепод кількість каляноїд більша, майже вдвічі вище інформаційне різноманіття, в трофічній структурі набагато більша частка хижаків, на порядок меншим є співвідношення літньої та зимньої загальної біомаси, розміри та індивідуальна маса статевозрілих особин втричі більші тощо [2, 12].

Взагалі, на відміну від угруповань прикріплених до субстрату гідробіонтів (таких як зообентос і зооперифітон), використання зоопланктону має певні особливості. Так, непогані результати дає застосування показників його розвитку в просторовому аспекті, тобто при одночасних спостереженнях на різних водоймах або їх частинах. Але якщо в стоячих водоймах зоопланктон достатньо чутливий до дії різноманітних забруднювачів, то в проточних водоймах з великою самоочисною здатністю його реакція набагато слабша. Більш складно інтерпретувати дані за різні роки, бо характеристикам зоопланктону властиві суттєві коливання в часовому аспекті, причому у водоймах різного типу.

За Директивою ЄС екологічний статус поверхневих водних об'єктів може бути п'яти рівнів: високим, добрим, посереднім, бідним і поганим [15].

За іншою класифікацією стан водної екосистеми в умовах антропогенного пресу може бути рівноважним (стан гомеостазу), розхитаним, трансформованим, деградованим (стан хаосу) і мертвим. За ними настає стан реанімації. Якщо перший стан відповідає нормі, то другий, третій і четвертий – різним ступеням патології, а п'ятий – клінічній смерті [3].

Очевидно, нормальним екологічним станом (первинним для природних і типовим для штучних і сильно змінених водойм і водотоків) є такий, при якому водна екосистема має такі структуру, функціонування та відтворення основних компонентів, які забезпечують її стан рівноваги, незважаючи на дію антропогенних і природних чинників. Нормі в цьому розумінні має відповідати високій, добрий і почасти посередній рівень екологічного благополуччя [15, 16].

Література

1. Алимов А. Ф. Элементы теории функционирования водных экосистем (Тр. ЗИН РАН, 283). – С.-П.: Наука, 2000. – 148 с.
2. Андроникова И. Н. Структурно-функциональная организация зоопланктона озерных экосистем разных трофических типов: Автореф. дис....докт. биол. наук. – Л., 1989. – 39 с.
3. Брагинский Л. П. Принципы классификации и некоторые механизмы структурно-функциональных перестроек пресноводных экосистем в условиях антропогенного пресса // Гидробиол. журн. – 1998. – 34, № 6. – С. 72–94.

4. *Вайтштейн Б. А.* Об оценке сходства между биоценозами // *Тр. ИБВВ.* – 1976. – Вып. 31(34). – С. 156–163.
5. *Гідроекологічна токсикометрія та біоіндикація забруднень (Теорія, методи, практика використання) /* За ред. І.Т.Олексіва, Л.П.Брагинського. – Львів: Світ, 1995. – 440 с.
6. *Дедю И. И.* Экологический энциклопедический словарь. – Кишинев: Гл. редакция МолдСЭ, 1989. – 407 с.
7. *Зимбалева Л. Н., Плисин Ю. В., Хороших Л. А. и др.* Структура и сукцессии литоральных биоценозов днепровских водохранилищ. – Киев: Наук. думка, 1987. – 204 с.
8. *Научные основы контроля качества вод по гидробиологическим показателям //* Тр. Всесоюз. конф., Москва, 1–3 нояб. 1978 г. – Л.: Гидрометеоздат, 1981. – 208 с.
9. *Одум Ю.* Основы экологии. – М.: Мир, 1975. – 740 с.
10. *Оксюк О. П., Жданова Г. А., Гусынская С. Л., Головка Т. В.* Оценка состояния водных объектов Украины по гидробиологическим показателям. 1. Планктон // *Гидробиол. журн.* – 1994. – **30**, № 3. – С. 26–31.
11. *Песенко Ю. А.* Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. – М.: Наука, 1982. – 288 с.
12. *Пидгайко М. Я.* Зоопланктон водоемов Европейской части СССР. – М.: Наука, 1984. – 208 с.
13. *Протасов А. А., Павлюк Т. Е.* Использование показателей биоразнообразия для оценки состояния водных объектов и качества воды // *Гидробиол. журн.* – 2004. – **40**, № 6. – С. 3–17.
14. *Рогозин А. Г.* Особенности структурной организации зоопланктонного сообщества в озерах разного трофического статуса. Видовые популяции // *Экология.* – 2000. – № 6. – С. 438–443.
15. *Романенко В. Д., Жуковский В. Н.* Актуальные проблемы и достижения украинской гидроэкологии в области экологической оценки состояния поверхностных водных объектов // *Гидробиол. журн.* – 2003. – **39**, № 1. – С. 3–20.
16. *Романенко В. Д., Жуковский В. М., Оксюк О. П. та ін.* Методика встановлення і використання екологічних нормативів якості поверхневих вод суші та естуарій України. – К., 2001. – 48 с.
17. *Федоров В. Д., Соколова С. А.* Опыт оценки устойчивости водной экосистемы // *Гидробиол. журн.* – 1973. – **9**, № 2. – С. 11–14.
18. *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy //* Official Journal of the European Communities. – L 327, 22.12.2000. – 72 p.

7. Макрозообентос

Макрозообентосом, або донною чи бентичною макрофауною називають безхребетних тварин завбільшки 5 мм, що живуть на поверхні та в товщі ґрунту (у бенталі) водоюм різного типу. Крім макрозообентосу виділяють *мікрозообентос* (менші за 0,5 мм), *мейзообентос* (0,5–10 мм), *мезозообентос* (1,5–2,0 мм), та іноді *мега(ло)зообентос*. Слід зазначити, що границі цих груп досить умовні, строгої, загальноприйнятої класифікації немає. До мезозообентосу відносять річкових раків та великих молюсків – уніоніди, аноднти, дрейссени тощо, до макрозообентосу – організми, які достатньо повно можна вибрати з ґрунту без допомоги оптичних приладів і які утримуються газом № 9–11. Це представники багатьох класів прісноводних тварин: черви, молюски, ракоподібні, личинки комах тощо. Організми мезозообентосу утримуються газом з отвором вічка 0,2 мм (газ № 33), вони здебільшого представлені тими ж таксонами що й макробезхребетні і досить часто потрапляють до макрозообентосних проб [27, 28]. Деякі автори [17] для промивки кількісних проб макрозообентосу рекомендують використовувати газ № 21–23 і навіть більших номерів.

У широкому сенсі під *бентичною макрофауною* розуміють тварин, що вільно живуть на поверхні каміння, рослин або інших занурених під воду предметів, або ж таких, що активно зариваються у товщу ґрунту [30], при більш строгому підході виділяють окремо *зообентос*, *зооперифітон*, *зоофітос*, а також *пелагобентос* та *псамон* [13, 27]. Донну макрофауну підрозділяють також на *інфауну*, організми, що мешкають у товщі ґрунту, *оіфауну* – ті, що перебувають на поверхні донних відкладень та *епіфауну* – ті, що живуть на поверхні твердого субстрату (камінні, занурених стеблах вищих водяних рослин, ланцирах відмерлих молюсків тощо) [27]. Донні безхребетні внутрішніх водоюм заселяють переважно верхні шари донної товщі, занурюючись на 20–30, винятково на 50 см у рідкі мули. На більш твердих субстратах глибина проникнення тварин зовсім невелика: 1–5 см для твердих глин та глинисто-піщаних ґрунтів.

За біологічними особливостями життєвого циклу бентосні організми розділяють на дві групи: організми, пов'язані з донним середовищем на протязі всього життя (*перманентна фауна*), та тварин, що живуть на дні лише на провсього життя (*темпоральна фауна*). Останні – гетеротопні тязі деяких стадій свого розвитку (*темпоральна фауна*). Останні – гетеротопні організми, які в своєму життєвому циклі змінюють одне середовище на інше (ґрунт та вода), а також тварини, частина життєвого циклу яких проходить поза

межами водного середовища – амфібіонтні види личинок комах, бабок, одноде-
нок, комарів-дзвіниці тощо.

З точки зору відбору проб найбільш важливими є тип водойми та її водних
мас, їх морфометричні характеристики. Треба зважати на швидкість течії, при-
роду котловини, зрізаність берегів, різновиди ґрунтів тощо. Сітка станцій по-
роду охоплювати усі біотопи в кількості, що відповідає їх відсотку в загальній
площі водойми і забезпечує можливість статистичної обробки одержаних ма-
теріалів. В малих озерах (площею менш ніж 100 га), де переважають мулисті
ґрунти достатньо 4–5 станцій, з яких 2–3 розташовують у основній частині во-
дойми. У більших водоймах з добре вираженою літораллю та наявністю вели-
ких заток або відособлених плес необхідно у кожному плесі та затоні, що скла-
дає не менше 5 % площі водойми, встановити 3–4 станції таким чином, щоб
охопити прибережну та центральну зони, що різняться типами ґрунтів (зробити
«розріз») [17].

Кількість станцій може бути зменшена чи збільшена залежно від ступеня
неоднорідності водойми та мети дослідження. При детальному вивченні зоо-
біотосу на протязі вегетаційного сезону, року чи ряду років, що проводиться з
метою з'ясування таксономічного складу, характеристик видового різно-
маніття, просторово-часового розподілу, показників чисельності і біомаси,
особливостей поширення тощо, необхідно обрати постійні станції спостере-
жень, на яких проводити систематичні збори, тобто організувати моніторинг.

7.1. Методи та знаряддя відбору проб

Відбір проб проводиться головним чином впродовж вегетаційного сезону,
тобто з весни (після сходу льоду) до глибокої осені. У деяких випадках, в разі
необхідності провадиться і зимовий (навіть підлідний) відбір проб. Термін про-
ведення польових робіт визначається відповідно до завдань досліджень і зазвичай
становить від одного–трьох обстежень на рік, до декадного – при деталь-
них дослідженнях. У глибоких частинах водойм зі стабільно низькими темпе-
ратурами, а також раною весною та пізно восени, проби можна брати рідше,
навпаки, у водоймах чи їх частинах, що швидко прогріваються, інтервали
відбору треба скорочувати. Це пов'язане з можливістю реєстрації тут ряду
амфібіонтних видів, які мають досить короткі терміни перебування у донній
товщі [17]. За можливості місця станцій відмічають буйками, або на березі вста-
новлюються мітки направляючих створів, місця станцій можна також досить
точно зазначити за допомогою навігаційних сектантів. Впровадження в прак-
тику гідробіологічних досліджень сучасних технологій, таких як GPS (Global

Point System) та GIS (Geographic Information System), дозволяє вирішувати питання визначення координат на новітньому рівні.

Необхідна кількість проб залежить передусім від тієї точності, яку ми хочемо отримати. Для більшості прісноводних водойм реально отримати середні показники чисельності та біомаси з помилкою 10–20%. Оскільки при агрегованому розподілі бентосу, що спостерігається зазвичай, дані з близько розташованих станцій не є незалежними, а скоріше скориговані, не завжди доцільно брати на одній станції по декілька проб, краще збільшити кількість станцій (але це не стосується продукційних досліджень) [28].

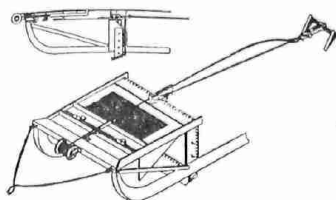
Макрофауну стоячих та повільно проточних водойм на глибинах збирають за допомогою спеціальних дночерпаків і драг. Відомо багато типів цих приладів. Їх конструкції описані в багатьох роботах, з яких найбільш відомими, базовими слід вважати методичні посібники В. І. Жадіна [11, 12]. Основні конструкції дночерпаків і драг подано на рисунку. Їх використовують для взяття проб як зі значних глибин шляхом занурення на тросі, так і на мілинах, закріплюючи прилади на тичині. Певні розміри робочої поверхні дночерпаків забезпечують відбір кількісних проб, якісні матеріали збирають за допомогою драг. З багатьох відомих конструкцій бентологами досить часто застосовується дночерпак Петерсена та ряд його модифікацій, проте його неправильне використання може суттєво занижувати дані як на м'яких, так і на твердих грунтах. При різкому зануренні цей прилад має суттєву розмивну дію, тому його треба опускати на дно досить повільно, зі швидкістю, що забезпечує неушкодженість ґрунту, особливо це стосується робіт на рідких мулах. Стандартний дночерпак Екмана (у модифікації Берджа – з посилюючим тягарем) має перевагу на м'яких мулах. Але мала висота коробка і відносно невелика вага обмежують можливості його використання, на щільних грунтах він працює цілком незадовільно. Поліпшена конструкція втілена у моделі СДЧ-100 – секційний дночерпак з робочою поверхнею 100 см², яка доповнена можливістю пошарового відбору ґрунту з корпусу приладу. На жаль і ця конструкція не позбавлена певних недоліків – подовжений короб призводить до збільшення парусності, що особливо проявляється з підвищенням сили течії, дночерпак несе потоком, великих сить важко занурити в ґрунт. У водоймах з високою швидкістю течії, на кам'янистих ґрунтах – з посилюючими пружинами, а на великих глибинах і сильній течії – модифікації з підвищеною вагою, так звані «бомби» масою 50 кг і більше. Зрозуміло, що за таких умов відбір проб здійснюється з плавзасобів, обладнаних відповідними механізмами.

Щодо вибору площі робочої поверхні захвату дночерпака, то для внутрішніх водойм зазвичай використовують конструкції від 50 до 400 см², найбільш часто – 100–250 см². Треба мати на увазі, що при однаковій загальній площі відбору, мала площа захвату дає більшу точність за рахунок збільшення кількості проб [28].

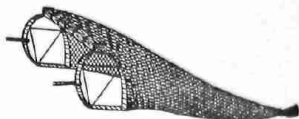
В останні роки в практиці гідробіологічних досліджень широкого поширення набувають водолазні методи проведення досліджень та збору матеріалів. Використання аквалангів та іншої легководолазної техніки надає дослідникові ряд переваг у порівнянні з традиційними підходами, бо дозволяє візуально оцінити біотопічну ситуацію у водоймах та безпосередньо контролювати якість відбору проб. Такий підхід потребує розробки нових за своїми конструкціями пробовідбірників, що дозволяють активно використовувати переваги дослідника, озброєного аквалангом. Для відбору проб бентосу і перифітону нами був сконструйований, побудований і на протязі багатьох років успішно використаний універсальний пробовідбірник (УП), що складається з короба виготовленого із органічного скла, або пластмаси розміром основи 10×10 см з ножем із нержавіючої сталі з одного боку та сітчастим мішечком з другого (див. рис. 7.1) [31]. На боковій стінці корпусу, висота якої може варіювати в залежності від потреб дослідження і вимог дослідника, закріплена сантиметрова шкала-лінійка, що дозволяє регулювати глибину занурення пробовідбірника в субстрат. Для полегшення роботи на стінках корпусу укріплені ручки. В нижній частині на двох протилежних сторонах корпусу вирізані пази. Після занурення пробовідбірника у субстрат під ніж підводиться совок, що виконує функцію покриття. Верхні краї його бокових стінок загнуті до середини. Пересуваючись в пазах короба, покриття-совок забезпечує щільне замикання нижньої частини пробовідбірника. Запропонована модель добре зарекомендувала себе в роботі на ґрунтах з різними фізичними характеристиками – від рідких мулів до гальки та щебеню.

7.2. Методи фіксації та опрацювання проб

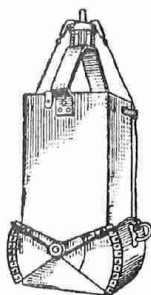
Хоч би яким методом був відібраний матеріал, перш за все він потрапляє у таз. Звідси він іде на промивку та вибірку. Якщо проба відібрана на мулистому ґрунті, після обмивання та відбору великих камінців, корчів тощо її переливають з тазу до промивалки, яка являє собою звичайний невеликий сачок (іноді для зручності встановлений на тринозі), закросний та зшитий без усяких кутів, де могли затримуватись та травмуватись гідробіонти. Для промивки нижню частину сачка занурюють у воду і обережно коливають (так, щоб вода не по-



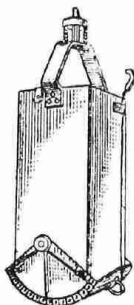
a



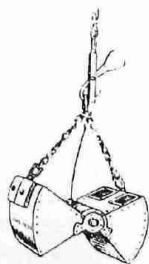
б



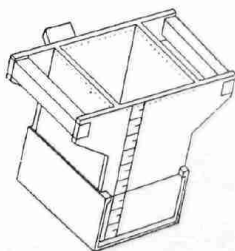
в



г



д



е

7.1. Різні конструкції приладів для збору проб донних безхребетних: *a* – бімтрал, *б* – драга Гордєєва, *в* – дночерпак Екмана–Берджа, *г* – штанговий безпружинний дночерпак Заболотького, *д* – дно черпак Петерсена, *е* – універсальний пробовідбірник; *a–г* [12], *д* [11], *е* [31].

трапляла зверху – з водойми). Якщо вода у сачку-промивальні застоюється і це лляється крізь вічка, треба зробити ззовні по дну сита легкі погладжуючі рухи – це підсилить фільтрацію води і прискорить промивку. Достатньо промитий матеріал (що визначається за зменшенням каламуті у воді всередині промивальки) переноситься в мілку тарілку (бажано мати тарілку, пофарбовану павиіл у білий та чорний кольори). Звіди тварини відловлюються пінцетом, тонким загнутим та гнучим, а найбільш дрібні та рухомі – піпеткою. Найменші організми вибішпателем, а найбільш дрібні та рухомі – піпеткою. Найменші організми вибішпателем, а найбільш дрібні та рухомі – піпеткою. Якщо безпосередній розбір проби у польових умовах неможливий, матеріал фіксується для тривалого зберігання.

Інший спосіб розбору матеріалу застосовують на піщаних (чистих або замулених) грунтах, фауна у цьому випадку відділяється способом «відмучування». З цією метою у таз наливається вода (приблизно 1/2–1/3 висоти тазу), що розкручується разом з грунтом рукою, дощечкою чи іншим способом. При цьому усі легкі органічні речовини і самі організми потрапляють у водну коловерть. Разом з водою вони якомога швидко виливаються у промивальку. Цей процес «відмучування» повторюється стільки разів, скільки необхідно, щоб вода в тазу при повторних виливаннях не ставала каламутною. Після цього мінеральний грунт, що залишився в тазу, переглядається, вибираються усі молюски та інші організми, що випадково залишилися, відібраний матеріал промивається описаним вище способом, підробіонти переносяться для вибірки фауни до плоскої тарілки або фіксується.

Окремі камінці, фрагменти деревини тощо переглядаються окремими порціями. Матеріал з промивальки переноситься частинами у тарілку, де в невеликій кількості води вибирається за допомогою пінцету, піпетки чи іншим способом. Якщо залишок дуже великий і його розбір таким чином буде тривати довгий час, можна застосувати метод флотажі – відбору організмів з використанням соляного розчину (NaCl), чи краше цукру з питоною вагою 1,13–1,14 г/мл (зауважимо, що при наявності великої кількості детриту ці методи вірачають свої переваги). Залишок після промивки в промивальці складають у посудину і заливають водою. Звіден матеріал невеликими порціями переноситься до широкогорлої склянки об'ємом до 0,5 л, куди попередньо наливають відповідний розчин. Якщо матеріал тримається грудкою, розчин злегка помішують, при цьому організми (крім молюсків) легко спливають на поверхню від солі. Рослинний детрит, що залишається на дні, зливається разом з водою крізь сито для відбору молюсків. Великі рослинні залишки і окремі камінці переглядаються на наявність прикріплених форм та тих, що мінують. Після ро-

боти з сіллю усі металеві прилади та інструменти повинні бути ретельно промиті та протерті, щоб запобігти їх іржавінню.

Хоча фіксація нерозібраних проб використовується в гідробіологічній практиці систематично, її не можна рекомендувати. Слід зауважити, що розбір великими тинками тощо забирає набагато більше часу та сил, ніж робота з живими організмами. Фіксація проводиться 4–10%-ним розчином формаліну [11, 17, 28]. Оскільки формалін руйнує черепашки молюсків та хітиновий панцир ракоподібних, цих тварин поміщають в окремі склянки з 70%-ним спиртом. Деякі автори [28] рекомендують нейтралізувати 10%-ний формалін зубним порошком (1 чайна ложка на літр формаліну).

Відомо, що фіксація змінює вагу організмів, величина цих змін залежить від багатьох факторів [4, 8, 9]. Для деяких точних розрахунків (наприклад продукційних) ці зміни ваги необхідно враховувати. Щоб запобігти похибкам при роботі з фіксованим матеріалом розрахунки ваги проводять за відомими формулами співвідношення довжини тіла та ваги організмів, специфічними для представників різних таксономічних груп [2, 5, 6, 15, 17, 21, 29, 33, 35 тощо].

Усі організми, знайдені в пробі, розбираються за систематичними групами (нематоди, олігохети, ракоподібні, личинки різних комах тощо і далі провадиться визначення окремих видів), у кожному таксоні (види та надвидові систематичні групи до рівня яких проводилося визначення) підраховується загальна кількість тварин. Отримані дані сумуються і таким чином визначається чисельність усіх організмів у пробі. Далі проводиться перерахунок на один квадратний метр площі дна.

Біомаса окремих таксономічних груп зообентосу визначається зважуванням після обсушування на фільтрувальному папері до зникнення мокрих слідів на торзійних терезах (великі організми зважують на аптекарських або технічних терезах з точністю до 0,01 г). Личинки волохокрильців зважують окремо від їх хатинок (останні зберігаються разом з личинками). Загальна біомаса організмів, знайдених у пробі, визначається додаванням ваг кожного біонта або систематичної групи, якщо маса окремих особин не визначалась. Отримана величина перераховується на квадратний метр площі дна.

Чисельність і біомасу донних безхребетних визначають в середніх та середньоозважених величинах ($\text{екз}/\text{м}^2$, $\text{г}/\text{м}^2$). Середньоозважені розраховуються виходячи із площ, що займають окремі біотопи або зони водойми (літораль, сублітораль, профундаль, рипаль, медіаль тощо). При цьому біотоп або зона, що займає найменшу площу, умовно приймається за одиницю. Далі визначається величина інших біотопів в одиницях найменшого. Середня чисельність і біомаса

організмів, розрахована для кожного біотопа або зони (як середня арифметична), помножується на число одиниць, визначене для відповідного біотопа або зони. Отримані величини додаються, і сума ділиться на загальну кількість одиниць. Підсумковий результат є середньозваженою чисельністю або біомасою зообентосу за зйомку [17].

Наступним етапом обробки матеріалу є камеральне опрацювання. Воно розпочинається з визначення видової приналежності організмів під бінокуляром або візуально (великих молюсків, раків тощо). Визначення видової приналежності гідробіонтів вимагає знання систематики відповідних груп та морфології видів, причому дослідники звичайно спеціалізуються на певних систематичних групах донних безхребетних. Надалі складаються списки зареєстрованих видів обстежених водойм (зон, біотопів тощо), визначається видова структура, яку характеризують кількісне та якісне співвідношення різних видів.

7.3. Оцінка стану водних об'єктів за структурними характеристиками макрозообентосу

Стан біоти водних екосистем за структурними характеристиками макрозообентосу може бути оцінений в кількісному і якісному вираженні трьома шляхами:

- на підставі диференційованої оцінки основних показників усього угруповання у водних об'єктах різного типу (кількісна оцінка);
- на підставі обчислення видового різноманіття та стійкості і уразливості усього угруповання в аспекті видового різноманіття (кількісна оцінка);
- на підставі використання окремих видів донних безхребетних у водних об'єктах різного типу як біологічних індикаторів екологічного стану водних екосистем і їх біот зокрема (якісна оцінка).

Диференційована характеристика макрозообентосу з метою визначення екологічного стану поверхневих водних об'єктів всіх шести типів передбачена Директивою 2000/60/ЄС (Додаток V) [37]. Як основні показники структурної організації угруповання донних безхребетних взяті таксономічний склад і чисельність макрозообентосу. Як додаткові показники взяті чутливість і схожість ред донних безхребетних видів-індикаторів забруднення естуаріїв і прибережних морських вод. Проте кількісної класифікації цих характеристик макрозообентосу, тобто критеріїв його стану (розвитку) Директива 2000/60/ЄС не містить, пропонуючи країнам-членам ЄС розробити національні п'ятирозрядні класифікації, погоджені щодо транскордонних ділянок водних об'єктів.

Фахівцями Інституту гідробіології НАН України ще в 1994 р. була запропонована кількісна класифікація [20], що дозволяє за показниками чисельності та біомаси угруповання взагалі, або окремих таксонів (олігохети і хірономіди) визначати ступінь його розвитку та трофність водних об'єктів. Градації величин від гранично малих до гранично великих, що властиві водним об'єктам України, були поділені на 9 розрядів та встановлена їх відповідність переважючим типам трофності [20, див. також розділ III]. Головне значення для зообентону має біомаса. Нерівномірний розподіл великих двостулкових молюсків – уніонід змушує виключити їх з розрахунків біомаси. У ряді випадків для встановлення трофності водойм доцільно використовувати показники біомаси та чисельності тільки олігохет та хірономід, зростаючий ряд значень біомаси цих організмів у водних об'єктах України позитивно коригує зі шкалою трофності.

Основним показником видової структури водойми та її біоценозів є видове різноманіття, тобто кількісне співвідношення окремих таксонів гідробіонтів. Із загальної кількості видів не всі відіграють однакову роль, характеризуються значною кількістю особин і великою біомасою, інакше кажучи, є домінантами. Таких зазвичай в біоценозі небагато. Деяко більше видів, показники щільності (чисельність, біомаса) яких і роль в екосистемних процесах менші, називають субдомінантами. До складу біоценозів входять також види, що відіграють другорядну роль, це другорядні, або адомінанти, а також випадково занесені організми (випадкові) [27]. Іноді домінантні види відсутні, проте інші характеризуються проміжними показниками. Видове різноманіття складається із двох компонентів: видового багатства, або кількості видів, яке характеризується загальним числом таксонів, та рівномірністю їх розподілу, оснований на відносній кількості або іншому показникові значущості виду та його положенні (місці) в структурі домінування [19].

Питання визначення видового різноманіття та його складових є одним з найважливіших у сучасній екології, парадигмою сьогодення якої слід визнати вивчення біорізноманіття світу в усій його різнобічності, багатоплановості та багатогранності. З великої кількості запропонованих в останні десятиріччя аспектів визначення біорізноманіття найбільш широкого застосування набув індекс Шеннона [27, 36]. У той же час Ю. О. Песенко [22], проаналізувавши з математичної і біологічної точок зору властивості шести широко вживаних функцій, що характеризують різноманіття, запропонував вважати найбільш відповідною загальним вимогам прийнятої концепції – різноманіття тим вище, чим більше видів включає угруповання (біоценоз) і чим більше вони вирівняні за показником значущості (чисельності, біомаси тощо) – модифікований індекс різноманіття Сімпсона [19, 38, 39] у одному з двох його варіантів. Нижче наво-

димо формули для розрахунків цього індексу, що різняться діапазоном визначеності: перша змінюється від одиниці до нескінченності, друга – від нуля до одиниці. Заслугує уваги також індекс Менхініка [42], що досить широко застосовується в гідроекологічних дослідженнях, і який цікавий тим, що, як зазначив автор, менше за інші показники залежить від об'єму вибірки (розміру проби).

$$\text{Індекс Менхініка: } M = \frac{S}{\sqrt{N}};$$

$$\text{Індекс Сімпсона: } S_{\lambda} = \left(\sum_i p_i^2 \right)^{-1} = S_{\lambda} = \frac{1}{\sum \left(\frac{n_i}{N} \right)^2};$$

$$\text{— " — } S_{\lambda_1} = 1 - \sum_i p_i^2 = S_{\lambda_1} = 1 - \sum \left(\frac{n_i}{N} \right)^2;$$

$$\text{Індекс Шеннона: } H = -\sum_i p_i \log p_i = -\sum_i \left(\frac{n_i}{N} \right) \log \left(\frac{n_i}{N} \right),$$

де S – число видів, N – сумарний показник значущості виду, n_i – показник значущості i -го виду. Наведені в попередньому розділі структурні показники, що використовують при екологічному аналізі угруповань зоопланктону, застосовують і при дослідженнях макрозообентосу.

Зрозуміло, що всі ці індекси мають різні розмірності та розрізняються за величинами за однакових похідних обчислення. Тобто можна порівнювати тільки результати розрахунків, виконаних за однаковими формулами. Найбільш застосовуваний у сучасних гідроекологічних дослідженнях індекс Шеннона запозичений з теорії інформації і являє собою формалізацію, що широко використовується при оцінці складності і вмісту інформації в системах будь-якого типу. Він краще від інших відповідає цілям порівняння у тих випадках, коли не є на меті вивчення окремих складових різноманіття (кількість елементів та рівномірність їх представлення). Коли використовується логарифм з основою 2, тоді результати отримують в бітах на елемент, екземпляр, грам тощо. Можливо використання й інших основ логарифму, тоді результати будуть отримані в десятках (decimal digit, decit), при використанні основи 10, або нітах (natural bel, nit), при натуральних логарифмах; їх можна порівнювати з використанням відповідних коефіцієнтів перерахування.

Використання індексу Шеннона, як втім і багатьох інших індексів різноманіття, викликає певні труднощі при інтерпретації отриманих результатів розрахунків: що за інформація стоїть за тим чи іншим показником. По-перше, необхідне чітке розуміння діапазону визначеності застосованої формули та мак-

симально можливого значення при певній кількості елементів. Індекс Шеннона визначений в межах від нуля до нескінченості, але його зміни в реальних природних системах більш обмежені. Як зазначає О. О. Протасов [25], використання логарифму з основою 2 призводить до того, що збільшення числа елементів системи на 2 порядки, лише потроєє різноманітність. Максимальне різноманіття для системи, що складається із 10^6 елементів (ця цифра відповідає кількості видів на нашій планеті [25]), дорівнює 20,5 біт/елемент. А в реальних угрупованнях, де розподіл елементів не буває рівномірним і їх кількість рідко перевищує кілька десятків, видове різноманіття не буде перевищувати 6–7 біт/екз. Р. Маргалєф [41] вказує на величину, що дорівнює 5 біт/екз, а О. Ф. Алімов [1] вважає що на практиці, у реальних розрахунках, вона, зазвичай, не перевищує 4,5 біт/екз. Зважаючи на ці цифри фахівець, має реальну шкалу порівняння, оціночний діапазон, що надає можливість визначати стан екосистеми (чи її частини, підсистеми, угруповання), його зміни, тенденції внутрішньосистемних процесів.

Зв'язок видового біорізноманіття та стану екосистеми, тобто комплексу біотичних і абіотичних показників у певному просторово-часовому діапазоні, не є однозначним визначенням. Це питання сьогодні підлягає різнобічному вивченню, дослідженню кореляцій між індексами різноманіття, структурно-функціональними та фізико-хімічними характеристиками. Ю. Одум зазначав у своїх роботах [18, 19], що видове різноманіття збільшується зі збільшенням розмірів облікової площі та з просуванням від високих широт до екватора, а також, що в угрупованнях, які зазнали стресового впливу, воно досить невелике, може знижуватися внаслідок конкуренції в старих ценозах, які існують у стабільному фізичному середовищі. З ростом біоценотичного прогресу біорізноманіття збільшується [40], тобто найбільш різноманітними є екосистеми на клімаксі стадіях розвитку. Це підтверджує О. Ф. Алімов [3], показавши на великому емпіричному матеріалі, що продукція угруповання і його біомаса перебувають у зворотній залежності від різноманіття. Водночас існує і ряд протилежних тверджень [18, 10]. Більшу єдність зазначаємо сьогодні щодо визначення стану екосистеми за показниками різноманіття, більшість дослідників погоджуються з твердженням про зниження різноманіття з погіршенням умов існування та забрудненням середовища: евтрофікація, ацидифікація, терміфікація тощо призводять до загибелі ряду видів в угрупованнях, підвищенню ступеня домінування та зниження індексів видового різноманіття. Залишається не визначеним характер взаємозв'язків різноманіття та факторів впливу: лінійний, унімодальний чи інший, досить вірогідно, що різні чинники мають різну природу взаємодії.

Досить важливим з загальнонаукових позицій, з точки зору охорони природи, організації моніторингу навколишнього середовища тощо є також вивчення стійкості та вразливості біоценозів та угруповань в контексті видового біорізноманіття. Зауважимо, що термінологія понятійних груп «стабільність» та «стійкість» в сучасній науці ще остаточно не визначені [26]. Сстійкість екосистеми полягає в її здатності залишатися відносно незмінною протягом певного періоду всупереч зовнішнім і внутрішнім впливам. У разі перевищення сили зовнішніх впливів над потенціалом стійкості екосистеми, вона, як правило, деградує або руйнується. Це її здатність на відповіді, пропорційні за величинами силі впливів. Нестійкість, хиткість екосистеми – невідповідно велика її відповідь на відносно слабкий вплив. Уразливість – якість зворотна стійкості – неспроможність протистояти зовнішнім впливам. Сстійкість угруповання – це зміна його кількісних показників протягом певного часу, що не призводить до змін у ролі в біоценозі, наприклад, зберігається ієрархія видів при певних змінах факторів довкілля, зокрема протягом року. Навпаки, якщо відбувається зміна домінантів та інших структурно-функціональних характеристик, говорять про перебудову угруповання, новий етап існування біотичної спільноти, стадію сукцесії. З позицій дослідження взаємозв'язків структурних і функціональних характеристик угруповань водних організмів О. Ф. Алімов [1] пропонує розрізнити поняття стійкості та стабільності. Сстійкістю угруповання як системи слід розуміти відхилення її характеристик від середнього рівня властивого цьому угрупованню як історично обумовленому в певних умовах. Мірою стійкості угруповання тварин (S) може бути співвідношення мінімальної та максимальної за рік (період, термін) біомаси тварин угруповання ($S = B_{\min}/B_{\max}$), що характеризує мінливість біомаси на протязі року. Найбільш стійкі ті угруповання, де переважають стенобіонтні, тобто більш спеціалізовані види. Угруповання з більш високим різноманіттям також виявляються більш стійкими, цей зв'язок за О. Ф. Алімовим [1] описує рівняння $S = 0,45^{e^{0,511D}}$. З рівняння неважко розрахувати, що максимальною стійкістю ($S = 1$), яка є недосяжною за реальних умов, могли б мати угруповання, в яких різноманіття сягає 6,1 біт/екз.

Вразливість екосистеми чи її біотичних складових можна також розглядати з точки зору наявності та збереження рідкісних, вразливих та цінних видів, при цьому необхідно спиратися на екосистемні засади, коли охоронними заходами охоплюються не окремі види і форми рослин і тварин, а біоценотичні комплекси з абіотичними складовими в їх структурно-функціональній єдності загалом. Такий підхід особливо важливий по відношенню до безхребетних тварин, місцю яких у сучасних національних та міжнародних червоних списках

приділяється недостатньо уваги. Так Червона книга України містить лише 28 видів прісноводних безхребетних донної фауни [35]:

Плоскі п'явки (Glossiphoniidae)

1. Жабоп'явка алжирська (*Ratracobdella algira* (Moquin-Tandon, 1846))

Щелпні п'явки (Hirudinidae)

2. П'явка медична (*Hirudo medicinalis* Linnaeus, 1758)

Глоткові п'явки (Erpobdellidae)

3. Археобдела каспійська (*Archaeobdella esmonti* Grimm, 1876)
4. Глотківка Щоголева (*Erpobdella stschegolewi* (Lukin et Epstein, 1960))
5. Псевдотрохета п'ятикільчаста (*Fadejewobdella quinqueannulata* Lukin, 1929)
6. Трохета потайна (*Trocheta subviridis* Dutrochet, 1817)

Мізиди (Mysidacea)

7. Мізида аномальна (*Hemimysis anomala* G. O. Sars, 1907)
8. Мізида Варпаховського (*Katamysis warpachowskyi* G. O. Sars, 1893)
9. Мізида зубчаста (*Hemimysis serrata* Bacescu, 1938)

Бокоплавові (Gammaridae)

10. Гмеліна Кузнецова (*Gmelina kusnetzowi* (Sowinskyi, 1894))
11. Гмеліна маленька (*Gmelina pusilla* G. O. Sars, 1896)
12. Іфігенела Андрусова (*Iphigenella andrusowi* (G. O. Sars, 1896))
13. Іфігенела колючконога (*Iphigenella acanthopoda* G. O. Sars, 1896)
14. Іфігенела шаблінська (*Iphigenella shablensis* (Carausu, 1943))
15. Ніфарг середній (*Niphargoides intermedius* Carausu, 1943)

Десятиногі раки (Decapoda)

Річкові раки (Astacidae)

16. Широкопалий рак (*Astacus astacus* (Linnaeus, 1758))

Прісноводні краби (Potamonidae)

17. Прісноводний краб (*Potamon tauricium* Czerniavsky, 1884)

Бабки (Odonata)

Красуні (Calopteryidae)

18. Красуня блискуча кримська (*Calopteryx splendens taurica* Selys, 1853)
19. Красуня-діва (*Calopteryx virgo* (Linnaeus, 1758))

Стрілка (Coenagrionidae)

20. Стрілка Ліндена (*Coenagrion lindeni* (Selys, 1840))
21. Стрілка Меркурія (*Coenagrion mercuriale* (Charpentier, 1840))

Коромисла (Aeschnidae)

22. Дозорець-імператор (*Anax imperator* Leach, 1815)

Кордулегастериди (*Cordulegasteridae*)

23. Кордулегастер кільчастий (*Cordulegaster annulatus annulatus* (Latreille, 1805))

Веснянки (*Plecoptera*)

Перліди (*Perlidae*)

24. Веснянка велика (*Perla maxima* Scopoli, 1763)

Волохокрили (*Trichoptera*)

Гідроптиліди (*Hydroptilidae*)

25. Окситира жовтовуса (*Oxyethira flavicornis* (Pictet, 1834))

Ставковиковоподібні (*Lymnaeiformes*)

Ставковикові (*Lymnaeidae*)

26. Ставковик булавоподібний (*Lymnaea clavata* Westerlund, 1885)

27. Ставковик потовщений (*Lymnaea pachyta* Westerlund, 1890)

Рисоїподібні (*Rissoiformes*)

Піргулідові (*Pyrgulidae*)

28. Турикаспія лінка (*Turricaspia lincta* Milashevitch, 1908)

Слід додати, що на думку А. В. Корнюшина [14] охорони потребують 10 з 30 видів двостулкових молосків України: *Euglesa lilljeborgi* (Clessin, 1886) – вид під загрозою зникнення, *Pseudanodonta complanata* (Rossmassler, 1835), *Batavusiana crassa* (Philipsson, 1788), *Euglesa pulchella* (Jenyns, 1832), *Euglesa pseudosphaerium* (Westerlund, 1894) – уразливі, *Anodonta cygnea* (Linnaeus, 1758), *Neopisidium moitessierianum* (Paladilhe, 1866), *Euglesa personata* (Malm, 1855), *Euglesa hibernica* (Westerlund, 1894) – рідкісні, *Sphaerium solidum* (Normand, 1844) – вид з невизначеним статусом, *Sphaerium nucleus* (Studer, 1820), *S. ovale* (Ferussac, 1807) і *Euglesa globularis* (Clessin in Westerlund, 1877) потребують подальшого вивчення.

Окремо слід зупинитися на реліктових та ендемічних видах і формах гідробіонтів, якими багаті водойми України. В першу чергу це понто-каспійські релікти, до комплексу яких входять як гідроїдні поліпи, поліхети, гамариди, кузові ракоподібні, молоски тощо, так і вищі раки й риби. Усі ці види гідробіонтів ще півтора мільйони років тому еволюційним шляхом виникли, сформувались і почали заселяти стародавню безстічну водойму, що простягалась від Аралу до Середземного моря (Сарматська водойма) [24, 32]. Саме такі реліктові види, що походять від Сарматського моря, притаманні у теперішній час опрісненим морським акваторіям і солонуватоводним затокам України. Внаслідок інтродукційних заходів, виконаних у 50–70 рр. минулого сторіччя [7], вони значно розширили свій ареал, заселили штучні дніпровські водосховища та річки басейну і є в теперішній час основними гідробіонтами, що форму-

ють кормову базу риб Дунаю, Дністра, Дніпра та інших річок. Види цього комплексу в значній кількості представлені також в прибережних ценозах та ще розповсюдження і їх ареали вийшли за межі указаних басейнів [23, 24].

Ендеміки, тобто види з обмеженими арсалами, – ще одна група гідробіонтів, на яку треба звертати увагу при обмірковуванні питань вразливості і проведенні гідроекологічних робіт та організації природоохоронного моніторингу. Генезис і філогенетичні зв'язки багатьох з них не встановлено, або вони сулише викопні рештки деяких можна простежити в різних геологічних шарах [23]. Ці організми безумовно становлять великий інтерес у загальнонауковому сенсі, але їх цінність з точки зору ролі у житті людини неоднозначна, наприклад тому, що серед них є види, які викликають біоперешкоди.

Найбільш відомі організми, які викликають біоперешкоди – молоски дрейсени (*Dreissena polymorpha* Pall. та *D. bugensis* Andr.). Протягом останніх десятиріч минулого сторіччя вони стали масовими організмами бентосу і перифітону не тільки України та Європи, але й перетнули Атлантику і заселили північно-американські водойми США та Канади. Ці молоски за засобом живлення є фільтраторами-седиментаторами, а за формою існування – перифітонними, тобто мешканцями границі фаз вода – твердий субстрат, обростання. Для їх масового розвитку (нами були зареєстровані біомаси до 50 кг/м² [16]) необхідна наявність течії, органічних речовин у вигляді сестону, температура води від 5 до 28°C та достатня поверхня твердих підводних субстратів для прикріплення мікроскопічної (до 100 мкм) личинки, яка згодом перетворюється у дорослу особину, що може жити протягом понад 10 років [2]. Розвиваючись у масі, спричиняють біоперешкоди й інші гідробіонти цього комплексу, наприклад гідроїдні поліпи *Cordilophora caspia* Pall.; з іншого боку багато полнто-каспійських реліктів є цінними кормовими об'єктами, тому оцінка їх ролі та вразливості в екосистемах повинна робитись досить виважено.

Література

1. Алимов А. Ф. Введение в продукционную гидробиологию. – Л.: Гидрометеоздат, 1989 – 152 с.
2. Алимов А. Ф. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков. – Л.: Наука, 1981. – 248 с.
3. Алимов А. Ф. Элементы функционирования водных экосистем. – СПб.: Наука, 2000. – 147 с.

4. *Баканов А. О.* О репрезентативности данных по кормовой базе рыб-бентофагов. – Вопросы ихтиол., т. 19, вып. 6 – 1979, – с. 1133–1136.
5. *Балуцкина Е. В.* Функциональное значение личинок хирономид в континентальных водоемах. — Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — Л., 1985. — 27 с.
6. *Балуцкина Е. В.* Функциональное значение личинок хирономид в континентальных водоемах. — Л.: Наука, 1987. — 180 с.
7. *Беспозвоночные и рыбы Днепра и его водохранилищ / Зимбалевская Л. Н., Сухойван П. Г., Черногоренко М. И. и др.* — К.: Наук. думка, 1989. — 248 с.
8. *Боруцкий Е. В.* К вопросу о технике количественного учёта донной фауны. III. К методике обработки озёрного бентоса. Сравнение живого и формалинового весов. — Тр. Лимнол. ст. в Косине, т. 3, вып. 18 — 1934 — с. 109–120.
9. *Боруцкий Е. В.* К вопросу о технике количественного учёта донной фауны. V. Стандартные методы фиксации и количественной обработки озёрного бентоса. — Тр. Лимнол. ст. в Косине, вып. 19 — 1935 — с. 105–125.
10. *Емельянов И. Г.* Разнообразие и его роль в функциональной устойчивости и эволюции экосистем. — Киев: Б. и., 1999. — 168 с.
11. *Жадин В. И.* Изучение донной фауны водоёмов. — Изд-во АН СССР, М.-Л., 1950. — 32 с.
12. *Жадин В. И.* Методы гидробиологического исследования. — Изд-во «Высшая школа», М., 1960. — 192 с.
13. *Константинов А. С.* Общая гидробиология. — М.: Высш. школа, 1986. — 472 с.
14. *Корнюшин А. В.* О видовом составе пресноводных двустворчатых моллюсков Украины и стратегии его охраны // Вестн. зоологии. — 2002. — 36, №1. — С. 9–23.
15. *Ляшенко А. В.* Линейные размеры и масса тела двустворчатых моллюсков Саянского водохранилища // Гидробиол. журн. — 1991. — 27, № 3. — с. 102 — 107.
16. *Ляшенко А. В., Харченко Т. А.* Структурно-функциональные характеристики поселений дрейссены в связи с их участием в формировании качества воды в канале. // Гидробиол. журн. — 1988. — Т. 24, № 2. — с. 44 — 51.
17. *Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах: Зообентос и его продукция / Под ред. Г. Г. Винберга, Г. Н. Лаврентьевой.* — Л.: ГосНИОРХ, 1984. — 51 с.
18. *Одум Ю.* Основы экологии. — М.: Мир, 1975. — 740 с.
19. *Одум Ю.* Экология. Т. 2. — М.: Мир, 1986. — 376 с.
20. *Оксиук О. П., Зимбалевская Л. Н., Протасов А. А., Плигин Ю. Н., Ляшенко А. В.* Оценка состояния водных объектов Украины по гидробиологическим показателям. Бентос, перифитон и зоофитос // Гидробиол. журн., 30, 1994, № 4, с. 31–35.
21. *Паикратова В. Я., Балуцкина Е. В.* Зависимость массы тела от длины и интенсивности обмена от массы тела у личинок хирономид. — Основы изучения преснов. экосистем. — Л.: Наука, 1981. — С. 92–97.

22. *Песенко Ю. А.* Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. – М.: Наука, 1982. – 188 с.
23. *Поліщук В. В.* Гідрофауна пониззя Дунаю в межах України. – К.: Наук. думка, 1974. – 420 с.
24. *Поліщук В. В., Шена В. В.* Исторична біогеографія Дунаю або Нагальні проблеми сьогодення в світлі особливостей великої європейської ріки. – К.: Вид-во «Краса і мода», «Бруклін-Київ ЛДТ». – 512 с.
25. *Протасов А. А.* Биоразнообразие и его оценка. Концептуальная диверсикология. – Киев, 2002. – 105 с.
26. *Реймерс Н. Ф.* Природопользование / Словарь-справочник. – М.: Мысль, 1990.
27. *Романенко В. Д.* Основи гідроекології: Підручник. – К.: Обереги, 2001. – 728 с.
28. *Соколова Н. Ю., Баканов А. И.* Методика количественного учёта и выявления пространственного распределения бентоса (хириномид) / Методическое пособие по изучению хириномид // Отв. ред. Ф. Ахроров. – Изд. «Дониш», Душанбе, 1982. – С. 3–19.
30. *Тодераш И. К.* Функциональное значение хириномид в экосистемах водоемов Молдавии. — Кишинев, Штиинца, 1984. — 181 с.
31. *Унифицированные методы исследования качества вод: Методы биол. анализа вод.* – М.: СЭВ, 1976. – Ч. 3. – 186 с.
32. *Харченко Т. А., Ляшенко А. В., Бойко С. Е.* К методикам изучения бентоса // Гидробиол. журн. – 1988. – 24, № 5. – С. 76–81.
33. *Харченко Т. А., Тимченко В. М., Иванов О. І. та ін.* Екологічні проблеми пониззя Дунаю, біорізноманіття та біоресурси озерно-болотного ландшафту дельти. – К.: Інтерекоцентр, 1998. – 108 с.
34. *Цалолыхин С. Я.* Зависимость между длиной тела и весом у пресноводных нематод. – Основы изучения пресноводных экосистем. – Л.: Наука, 1981. – С. 105–106.
35. *Червона книга України. т. 1, Тваринний світ.* – Українська енциклопедія. – Київ, 1994 р.
36. *Шевцова Л. В.* Определение веса *Dreissena polymorpha* Pall. и *bugensis* Andr. по их размерам. – Гидробиол. журн., 1971, т.7, № 1. – с. 123–125.
37. *Шеляг-Сосонко Ю. Р., Ємельянов І. Г.* Концепція біорізноманіття в аспекті функціонування та охорони біосистем і ландшафтів // Біорізноманіття Карпатського біосферного заповідника. Київ: ІНТЕРЕКОЦЕНТР, 1997 С. 478–495.
38. *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy // Official Journal of the European Communities.* – L 327, 22.12.2000. – 72 p.
39. *Gibson L. B.* Some unifying characteristics of species diversity. – *Contribs Cushman Foundat. Foraminiferal Res.*, 1966, vol. 17, № 4, p. 117–124.
40. *Hill M. O.* Diversity and evenness: A unifying notation and its consequences. – *Ecology*, 1973, vol. 54, N 2, p. 427–432.

41. *Kratochwil A.* Biodiversity in ecosystems: some principles // Biodiversity in ecosystems; principles and case studies of different complexity levels. – Dordrecht; Boston London : Kluwer Acad. Publ., 1999. – P. 5–38.
42. *Margalef R.* Diversity and stability: a practical proposal and model of interdependence. Diversity and stability in ecological systems. – Brookhaven symposia, 1969. Brookhaven, 1973 – p. 25–37.
43. *Menchinick E. F.* A comparison of some species – individuals diversity indices applied to samples of field insects. – Ecology, 1964, vol. 45, № 4, p. 859.

8. Зооперифітон

8.1. Загальна характеристика

Перифітон – це екологічне угруповання гідробіонтів, що мешкають на межі фаз вода – твердий субстрат. Останній може бути будь-якого походження та природи – каміння, гідротехнічні споруди, деревина, металеві конструкції, рослини та ін. Технічний терміц, яким називають організми цієї групи – обростання.

Особливістю структури угруповань перифітону, а саме зооперифітону, є те, що основну роль відіграють прикріплені організми, що можуть прикріплюватися тимчасово (гіллястовусі ракоподібні, гідри) або постійно (молюски, мохуватки, губки). Деякі форми личинок комах (Chironomidae, Trichoptera) можуть мінувати м'які рослинні тканини та деревину. Серед прикріплених організмів (молюсків чи ниткуватих зелених та синьозелених водоростей) чисельні рухомі організми – малощетинкові та круглі черви, личинки комах, червононогі молюски, ракоподібні. До складу безхребетних, що зустрічаються в перифітоні, входять представники не менш як 19 класів з 7 типів тварин.

Найпростіші (Protozoa) здатні швидко та інтенсивно заселяти субстрати, що дозволяє розглядати їх як одну з важливих груп гідробіонтів, але вивчення цієї групи потребує специфічних методик (винятком є такі великі колоніальні форми як *Zoothamnion*, *Epistilis*, що можуть реєструватися при вивченні безхребетних мезо- та макроперифітону).

Прісноводні губки (Spongia), перифітоспецифічні форми, дуже поширені в угрупованнях перифітону. Колонії губок можуть мати дуже різноманітний вигляд – від корковидних до деревовидних, високо піднятих над субстратом. Колонії губок можуть слугувати життєвим середовищем для інших форм. Як фільтратори, губки значно впливають на якість води у водоймах.

Серед прісноводних Hydrozoa є поодинокі та колоніальні форми, це одна з небагатьох груп перифітону, всі представники якої є хижачками. Поліпи гідр можуть сягати високої чисельності, а колонії *Cordilophora* можуть покривати суцільною щіткою увесь субстрат, де можуть знайти притулок рухомі форми.

Коловертки (Rotatoria) як правило, не відіграють значної ролі у формуванні угруповань перифітону, хоча серед них є прикріплені, але досить дрібні форми.

Малощетинкові черви (*Oligochaeta*) – одна з найбільш багатих видами груп перифітону, представлена рухомими формами. Олігохети одними з перших заселяють субстрат та можуть досягати високих значень чисельності.

Серед ракоподібних, що населяють прісні води, немає прикріплених форм, але такі рухомі організми як різноногі (*Amphipoda*) є постійною складовою угруповань перифітону і можуть досягати значної чисельності і біомаси.

Рухомі форми є також дуже численними – личинки комах, таких як личинки волохокрильців (*Trichoptera*), одноденок (*Ephemeroptera*), хірономід (*Chironomidae*) та інші. Велике значення в угрупованнях перифітону можуть мати черевоногі молюски (*Gastropoda*), які є активними споживачами водоростей перифітону. З двостулкових молюсків (*Bivalvia*) значну роль відіграють тільки прикріплені форми з родини *Dreissenidae*. За певних умов значного розвитку у прісноводному перифітоні досягають мохуватки (*Bryozoa*).

Щодо хребетних (наприклад риби бички *Gobiidae*), то вони можуть бути активними споживачами організмів перифітону або використовувати твердий субстрат для прикріплення ікри.

Таким чином, угруповання перифітону є дуже багатими як за таксономічним складом, так і за складом різноманітних життєвих форм, що потрібно враховувати при використанні тих чи інших методичних підходів.

Важливим фактором існування перифітонних організмів є наявність у водоймі твердих субстратів. Саме тому водойми технічного призначення, як правило, є дуже привабливими для організмів перифітону. Вони поселяються не тільки на гідропоруках у самих водоймах, але й проникають за межі водойм, утворюючи поселення у трубопроводах, системах водопостачання тощо. Також інтенсивно можуть розвиватися організми перифітону в озерах з кам'яною літораллю, і з мілководдями, де значного розвитку досягає вища водяна рослинність.

Серед факторів водного середовища можна виділити декілька найважливіших для організмів перифітону. Серед гідродинамічних – це швидкість течії. Середня швидкість – до 0,6–0,8 м/с не лімітує розвиток прикріплених форм, але при більш високих значеннях швидкості течії перифітонні поселення з високою чисельністю малоймовірні. Наприклад, *Dreissena* не може закріпитися на субстраті у водотоках, де швидкість течії перевищує 2 м/с. Істотним фактором для організмів перифітону, що мешкають на незначних глибинах, є коливання рівня води. У зонах постійного коливання рівня води, наприклад, нижче гребель з регульованим водовипуском, організми перифітону, особливо прикріплені, є дуже малочисельні або відсутні.

Серед гідрохімічних факторів слід зазначити рівень вмісту кисню, в цілому організми перифітону можна вважати більш оксифільними, ніж бентичні.

8.2. Етапи і методи дослідження

Дослідження зооперифітону поділяються на декілька етапів:

- вибір характерних біотопів у водоймі для досліджень та відбору проб;
- вибір адекватних методів відбору та приладів;
- відбір проб в польових умовах з описом необхідної супутньої інформації;
- фіксування проб;
- первинна обробка проб;
- кінцева обробка проб; проведення розрахунків кількісно-якісних показників;
- занесення результатів до бази даних; робота з базою даних, проведення аналізу.

На вибір тих чи інших методів впливає характер мети та завдань дослідження:

- вивчення розподілу та розвитку популяцій та угруповань у просторі;
- вивчення розвитку популяцій та угруповань у часі;
- вивчення цих параметрів у градієнті фактора, що вивчається.

Також слід враховувати, що існує два типи або варіанти дослідження перифітону [14, 15]:

- методи прямого збирання;
- методи експериментальних субстратів.

Перший тип методів базується на принципі зняття з поверхні твердого субстрату, зануреного у воду, всіх організмів з подальшим їх дослідженням. Другий – потребує встановлення у водне середовище на певний термін різноманітних експериментальних субстратів, що мають різні властивості.

Пряме збирання організмів перифітону може бути диференційоване на два типи методів:

- збір із різноманітних субстратів, які можливо вилучити з води, та зняти з них організми;
- збір організмів з субстрату біля поверхні води або під водою за допомогою підводного обладнання.

При використанні методів експериментальних субстратів також можна виділити два напрями:

- вивчення динаміки формування угруповань, тобто дослідження у часі;

– вивчення впливу якості субстрату, його глибини та місця розташування у водоймі.

Ці методи можуть бути якісними і кількісними. Перші, на відміну від других, не потребують урахування площі, з якої були зняті організми перифітону.

Вибір стації збору проб

Необхідно виявити характерні для даної водойми біоти розитку перифітону (стебла вищих водяних рослин (живі і мертві), гілля прибережних дерев, каміння, штучні споруди, бетонні, кам'яні, гравійні та інші укріплення берегів) та оцінити їх відносну площу.

Відбір проб з субстрату, що може бути вилучений з води

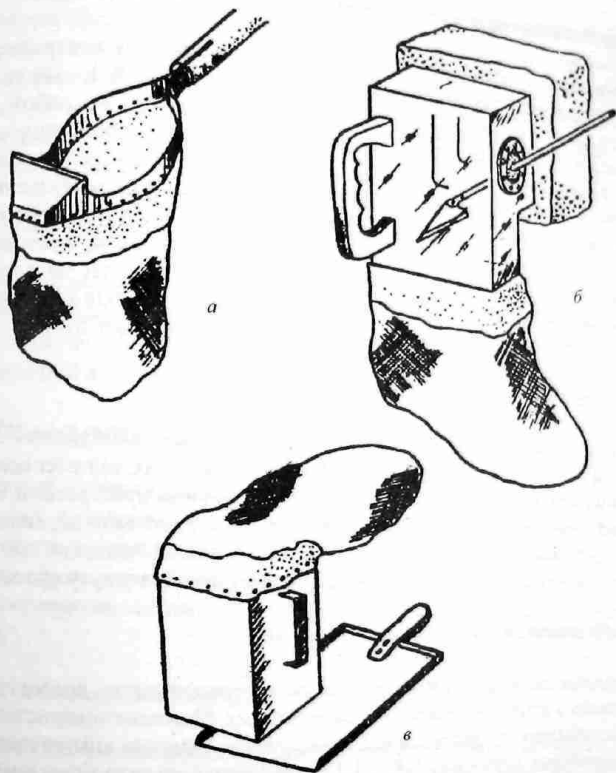
Такі субстрати (каміння, гілки та інше) після вилучення з води необхідно помістити в кювету відповідного розміру з водою (щоб запобігти висиханню організмів) і далі щіткою та скальпелем від'єднати всі організми з певної, заздалегідь оконтуреної площі чи з усього субстрату разом з детритом, ниткуватими водоростями. Верхні, нижні, бокові поверхні, розташовані під різним кутом до течії, можуть мати різний характер поселень гідробіонтів. Тому необхідно відбирати декілька варіантів або зупинитися на одному, характерному для поселень гідробіонтів, що вивчаються, наприклад, на бокових сторонах каміння, і стандартизувати цей підхід на протязі всього дослідження на даній водоймі. Площа, з якої відібрана проба, може бути виміряна лінійкою або розрахована за аналогією з простими геометричними тілами (наприклад, площа проби з гілки розраховується виходячи з поверхні циліндра).

Якщо субстрат неможливо відібрати з берега при відносно великій глибині, використовуються спеціальні прилади: донні кліщі або прилад для діставання каміння [8].

Використовується також збирання невеликих субстратів (камінчиків, фрагментів рослин, деревини) і їх зберігання у відповідних ємностях у зафіксованому стані для подальшої обробки (змивання організмів, урахування поверхні) в лабораторних умовах.

Відбір проб з субстрату, що не може бути вилучений з води

З таких субстратів з берега або з човна проби відбираються шкребками різної конструкції. Найбільш ефективним є шкребок (рис. 8.1, а), що має лезо під гострим кутом до повздовжньої осі [15]. Практично доведено, що оптималь-



8.1. Пристрої для відбору проб перифітону: а – шкребок, б – пробовідбірник ПСП, в – пробовідбірник коробчатий.

на ширина леза шкребка становить 5–6 см. До шкребка приєднується мішок з сита № 30–40 або інших номерів в залежності від розмірів організмів, що досліджуються. На заглиблених поверхнях, наприклад на металевих конструкціях, шкребком з поверхні можна відбирати пробу з глибини від 50 см до урізу води.

Методи відбору проб з використанням підводного спорядження

Відбір проб з глибини більш як 0,5 м потребує візуального контролю, тому необхідне використання підводного спорядження (комплект № 1 – маска, трубка, ласті; комплект № 3 – маска ласті, аквалапг) [17]. При роботі водолазів-дослідників відбір проб слід проводити шкребками або спеціальними пробовідбірниками ПСП (рис. 8.1, б) [15]. Якщо біомаса поселень організмів перифітону досить велика (понад $0,5 \text{ кг/м}^2$ як у поселеннях прикріплених моллюсків *Dreissena*), треба використовувати пробовідбірник коробчатої конструкції (рис. 8.1, в) [15]. Коробчатий пробовідбірник встановлюється на обраному місці та заглиблюється у поселення організмів перифітону до контакту з субстратом. Потім спеціальною лопаткою поселення моллюсків підрізається і при перевертанні пробовідбірника проба потрапляє до мішка з сітки.

Методи експериментальних субстратів

В основі використання цих методів лежить принцип дослідження формування угруповань перифітону на різноманітних субстратах, що спеціально експонуються у водному середовищі певний час. Такими субстратами можуть бути невеликі за розміром пластини, відрізки плівки, фрагменти деревини, а також заздалегідь цілеспрямовано підготовлені очищені поверхні, що знаходяться у воді (камені, поверхні штучних споруд, ділянки корпусу судна тощо).

Вибір субстрату за його властивостями

Експериментальні субстрати необхідно використовувати аналогічні тим, що існують і домінують у водоймі, що вивчається. Можливе використання інертного субстрату, наприклад скла. Скляні пластини широко використовуються в дослідженнях перифітону [18, 22]. Крім мінерального скла може використовуватись органічне скло, нетоксичний пластик, поліетиленова плівка. Остання до того ж деякою мірою імітує властивості стебел водяних рослин. У водоймах, де домінують антропогенні субстрати, можуть використовуватись бетонні, керамічні блоки, металеві субстрати.

Методи закріплення субстратів

Існує багато методичних прийомів закріплення субстрату у водному середовищі в необхідному положенні на фіксованій глибині [14, 15, 18, 22]. Технічне вирішення закріплення експериментального субстрату повинно забезпечувати

легкість зняття організмів або зняття самого експериментального субстрату для подальшого обстеження у лабораторних умовах, кріплення не повинно заважати осіданню на субстрат личинок гідробіонтів і подальшому їх розвитку (рис. 8.2, а-в). Для визначення рівня метаболізму перифітону у різноманітних умовах використовуються циліндричні камери з кришкою, що різноманітним способом для перемішування води (рис. 8.2, з). Камера встановлюється на субстрат, що забезпечує мінімальні зміни в угрупованнях [15].

Вибір глибини експонування субстратів

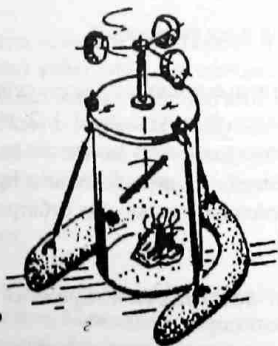
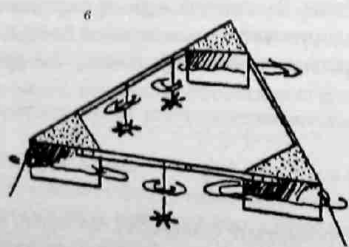
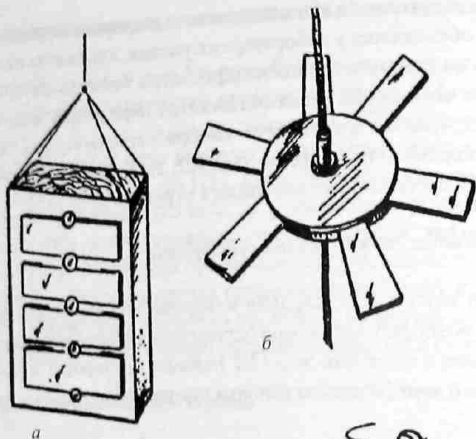
За умови відсутності завдання вивчення особливостей вертикального поглибінного розподілу організмів перифітону експериментальні субстрати слід розташовувати в фотичній зоні (1/2 глибини прозорості за диском Секкі) та в олігофотичній зоні (подвійна глибина прозорості).

Вибір часу експозиції

Достатньо показове для структурних досліджень різноманітне угруповання перифітону формується за 1–2 декади. За короткий відрізок часу (години – доба) можуть сформуватися тільки угруповання, в яких присутні бактерії, найпростіші. Дуже довгий термін (декілька місяців, рік) збільшує ймовірність втрати експериментальних субстратів та не дає змоги встановити сезонні особливості.

Опис польових спостережень

У польових умовах необхідно зареєструвати температуру, прозорість води, рівень та характер динаміки вод, та ін., а також інформацію щодо умов життя та характеру угруповань, мозаїчність та поясність розподілу рослин та тварин від урізу води до можливої для огляду глибини, наявність макроскопічних організмів (ниткуваті водорості, молюски, губки) та оцінку їх розвитку, розташування організмів залежно від течії та хвильового процесу). Підводне спостереження дає значно більше інформації, але умови підводної роботи не дозволяють занотовувати вербальний опис, тому може використовуватися піктограмна система опису отриманої інформації на спеціальній картці [15, 18]. Запис під водою здійснюється олівцем на пластиковій картці, дані якої потім переносяться на стандартні паперові картки.



8.2. Способи встановлення експериментальних субстратів (а – в) та ізолююча камера для визначення кисневого метаболізму перифітону (г).

Фіксування і розбирання проб та первинний аналіз даних

Фіксування проводиться 4% розчином формальдегіду – проба об'ємом води близько 100 мл (не враховуючи об'єм організмів) повинна містити близько

10 мл розчину формальдегіду. При обробці пробу слід ретельно промити. Використовується також фіксування проб за допомогою 70%-ного розчину спирту.

Якщо проби відібрано за допомогою шкребка, їх розбирання з виділенням для подальшого таксономічного вивчення та встановлення розміру та маси організмів проводиться під бінокулярним мікроскопом розміру та маси (збільшення 16x). Якщо проба відібрана у вигляді окремого субстрату (камінець, фрагмент рослини, експериментальний субстрат), то на першому етапі проводиться огляд та облік прикріплених організмів, відмічається їх агрегованість, взаєморозташування. Слід занотовувати ці дані у вигляді малюнка чи схеми. Далі, якщо субстрат не має стандартної площі, необхідно виміряти її. Після цього щіткою проводиться змив, зчищення організмів для подальшого обліку організмів під бінокулярном.

8.3. Визначення маси деяких гідробіонтів за розміром

Якщо пряме вимірювання маси організмів шляхом зважування на терезах неможливе, слід використовувати залежності між лінійними параметрами тіла організму та його масою, що має вигляд: $W = aL^b$, де W – маса в мг, L – лінійний розмір (частіше довжина тіла, мм), a , b – коефіцієнти рівняння. В таблиці 8.1 подано коефіцієнти рівняння для деяких організмів зооперифітону, відомі із літературних джерел.

8.4. Визначення споживання кисню організмами перифітону

Кількість споживання кисню є еквівалентом деструкованої органічної речовини, тобто є дуже важливим показником участі організмів в процесах самоочищення водойм. Залежність швидкості споживання кисню від маси організму має вигляд: $R = aW^b$, де W – маса тіла в грамах. В таблиці 8.2 наведено коефіцієнти рівняння a і b .

8.5. Оцінка трофності водних об'єктів за рівнем розвитку зооперифітону

Первинні дані, одержані при обробці проб, перераховуються для представлення у стандартних розмірностях: чисельність – у екз./м², біомаса – у г/м², дес-

трукція або споживання кисню – $\text{mgO}_2/\text{m}^2\cdot\text{год}$ або $\text{Дж}/\text{m}^2\cdot\text{год}$. Для обчислення чисельності і біомаси використовуються залежності:

$$N(B) = N_{\text{пр}}(B_{\text{пр}}) \cdot 1 \text{ м}^2/S_{\text{пр}},$$

де $N_{\text{пр}}(B_{\text{пр}})$ – чисельність (біомаса) організмів в пробі; $S_{\text{пр}}$ – площа відібраної проби, м^2 . Для обчислення споживання кисню дані, отримані для кожного виду сумуються.

8.1. Коефіцієнти рівняння $W = aL^b$ для деяких організмів зооперифітону

Групи тварин	Коефіцієнти		Літературні джерела
	<i>a</i>	<i>b</i>	
Nematoda	0,00042	2,63	[21]
<i>Stylaria lacustris</i>	0,0346	2,10	[12]
<i>Gammarus lacustris</i>	0,084	2,50	[12]
<i>Sialis fluvilata</i>	0,080	2,70	
<i>Coenagrion</i>	0,0228	2,695	[12]
<i>Aeschna grandis</i>	0,056	2,639	
Baetidae (<i>Cloeon</i> sp.), <i>Procloeon ornatum</i>	0,0169	2,95	
Trichoptera	0,0156	2,992	
Plecoptera	0,0251	2,80	
<i>Tanytus punctipennis</i>	0,021	2,46	
<i>Endochironomus</i>	0,0128	2,602	
<i>Cryptochironomus defectus</i>	0,0056	2,967	
<i>Procladius</i>	0,013	2,639	
<i>Chironomus</i>	0,0117	2,704	
<i>Glyptotendipes</i>	0,0030	3,422	[13]
<i>Cladotanytarsus mancus</i>	0,009	2,738	
<i>Stictochironomus</i>	0,0035	3,229	
<i>Limnochironomus nervosus</i>	0,0101	2,783	
Chironomidae	0,0095	2,781	[4]
Dreissenidae	0,18	2,87	[12]

8.2. Коефіцієнти степеневої залежності $R = aN^b$ (мг O_2 /екз.(г*)·год) швидкості споживання кисню від маси тіла для деяких організмів перифітону

Групи тварин	Коефіцієнти		Літературні джерела
	<i>a</i>	<i>b</i>	
<i>Spongilla lacustris</i> *	0,900		
<i>Cordilophora caspia</i> *	0,295	0,940	[20]
<i>Hydra</i> sp.	0,203	0,900	[11]
Turbellaria	0,175	0,750	[6]
Nematoda	0,041	0,815	[9]
Oligochaeta	0,105	0,720	[5]
Polychaeta	0,186	0,750	[9]
Hirudinea	0,147	0,810	
Crustacea	0,179	0,820	
Cladocera	0,204	0,759	[19]
Copepoda	0,286	0,803	
Isopoda	0,204	0,777	
Amphipoda	0,203	0,825	
Hydracarinae	0,203	0,790	
Odonata	0,159	0,750	[6]
Ephemeroptera	0,235	0,904	[7]
Trichoptera	0,263	0,785	
Plecoptera	0,227	0,818	
Chironomidae	0,126	0,767	[3]
Gastropoda	0,141	0,750	[2]
Limnaeidae	0,167	0,770	
Bivalvia (без Dreissenidae)	0,094	0,750	[1]
Dreissenidae	0,035	0,721	[10]
		0,750	

Обробка та розрахунки можуть виконуватися за допомогою обчислювальної техніки або з допомогою програми «WaCo» [16], розробленої в Інституті

гідробіології НАН України. Накопичення даних може проводитися як на паперових носіях (журнали обробки проб, таблиці), так і в електронному вигляді (електронні файли).

Оцінка рівня розвитку зооперифітону

У зв'язку з тим, що організми перифітону розвиваються на твердих субстратах, вони можуть бути досить помітні візуально, що дозволяє зробити приблизну оцінку рясності угруповань. Для таких оцінок може бути запропоновано 4-бальну шкалу:

Бали	Оцінка	Опис угруповань	Орієнтовна біомаса, г
1	Низький рівень розвитку	Перифітон у вигляді плівок, зустрічаються рухомі організми (олігохети, личинки хірономід)	< 1
2	Середній рівень	У перифітоні помітні невеликі колонії (губки, мохуватки) та окремі особини дрейсени, із рухомих організмів – червоногі моллюски	10–100
3	Високий рівень	Масивні поселення дрейсени, губок, мохуваток, зрідка – червоногих моллюсків	100–1000
4	Дуже високий рівень	Дуже масивні колонії дрейсени, зрідка – губок і мохуваток	> 1000

В залежності від складу організмів зооперифітону при систематичних дослідженнях в окремих водоймах ця шкала може уточнюватися.

Для оцінки розвитку угруповань зооперифітону при наявності даних з чисельності та біомаси може бути використана запропонована таблиця ([16], розділ III), в якій весь діапазон можливих показників розділено на 9 градацій: від мінімальних значень біомаси ($< 0,1 \text{ г/м}^2$) і чисельності (500 екз./м^2) до максимальних, які перевищують 3000 г/м^2 та $300\,000 \text{ екз./м}^2$, відповідно.

Слід звернути увагу, що в цьому послідовному ряді збільшується середня маса особини від часток міліграма до десятків міліграмів. Маса великих особин дрейсени може сягати декількох грамів.

Угруповання з низькою рясністю формуються на окремих малих за розміром субстратах, на стеблах макрофітів, в мезотрофних умовах.

Угруповання з середньою рясністю можуть бути локалізовані на різних субстрахах, у тому числі й на антропогенних, у мезотрофних, з ознаками політрофності умовах.

Угруповання з високою рясністю відмічаються при домінуванні червононогих моллюсків (*Viviparus*), мохуваток (*Plumatella emarginata*, *P. fungosa*), прикріплених моллюсків дрейсен (поселення типу щітки). Існують у мезо- та політрофних умовах.

Дуже високий рівень рясності характерний для поселень дрейсени (*Dreissena bugensis*, *D. polymorpha*) у мезотрофних умовах, у політрофних умовах може домінувати мохуватка *Plumatella fungosa*.

Винятково високий рівень рясності може бути при розвитку угруповань дрейсени, в деяких випадках – мохуваток.

Література

1. Алимов А. Ф. Функциональная экология пресноводных двусторчатых моллюсков. – Л., 1981. – 248 с.
2. Аракелова Е. С. Количественные закономерности обмена, роста и питания пресноводных брюхоногих моллюсков. – Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Л., 1986. – 22 с.
3. Балушкина Е. В. Зависимость скорости потребления кислорода от массы тела и температуры у личинок хирономид // Гидробиол. журн. – 1984. – 20, № 5. – С. 66–72.
4. Балушкина Е. В. Функциональное значение личинок хирономид в континентальных водоемах. – Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Л., 1985. – 27 с.
5. Баталова Ф. М. Дыхание нематод // Основы изучения пресноводных экосистем. – Л.: ЗИН, 1981. – С. 102–104.
6. Винберг Г. Г. Зависимость энергетического обмена от массы тела у водных пойкилотермных животных // Журн. общ. биол. – 1976. – 37, № 1. – С. 56–69.
7. Голубков С. М. Зависимость скорости потребления кислорода водными личинками насекомых от массы их тела // Гидробиол. журн. – 1986. – 22, № 4. – С. 78–87.
8. Жадин В. И. Методика изучения донной фауны водоемов и экологии донных беспозвоночных // Жизнь пресных вод СССР. – Изд-во АН СССР. – 1956. – 4. – Ч. 1. – С. 279–382.
9. Камлюк А. В. Энергетический обмен у свободноживущих плоских и кольчатых червей и факторы его определяющие // Журн. общ. биол., 1974. – 35, № 6. – С. 874–885.

10. Ляшенко А. В., Воликов Ю. Н. Сапробиологическая характеристика экологического состояния озера-лимана Ялпуг по организмам макрозообентоса // Гидробиол. журн. – 2001. – 37, № 3. – С. 74–81.
11. Ляшенко А. В., Харченко Т. А. Годовая динамика энергетического обмена у дрейссены // Гидробиол. журн. – 1989. – 25, № 3. – С. 31–38.
12. Ляшенко А. В., Харченко Т. А. Потребление кислорода пресноводным гидридом // Гидробиол. журн. – 1989. – 25, № 6. – С. 87–90.
13. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зообентос и его продукция. – Л., 1983. – 52 с.
14. Методы биологического анализа вод // Унифицированные методы исследований качества вод. – Ч. 3. Москва, 1976. – С. 45–68.
15. Олексив И. Т. Показатели качества природных вод с экологических позиций. – Львов: Світ, 1992. – 234 с.
16. Оксенок О. П., Зимбалевская Л. Н., Протасов А. А. и др. Оценка состояния водных объектов Украины по гидробиологическим показателям. Бентос, перифитон, зоофитос // Гидробиол. журн. – 1994. – 30, № 4. – С. 31–35.
17. Панкратова В. Я., Балушкина Е. В. Зависимость массы тела от длины и интенсивности обмена от массы тела у личинок хирономид. – Основы изучения преснов. экосистем. – Л.: Наука, 1981. – С. 92–97.
18. Протасов А. А. Методы исследования перифитона. – Рук. деп. в ВИНТИ, 1987, № 2164-B87. – 35 с.
19. Протасов А. А. Пресноводный перифитон. – Киев: Наук. думка. – 1994. – 307 с.
20. Протасов А. А., Синицина О. О., Коломиец А. В. Использование программного пакета WaCo (Water Communities) для обработки гидробиологических проб и создания баз данных по зоологии и альгологии (FoxPro) // Информационно-поисковые системы в зоологии и ботанике. Тез. докл. междунар. симпоз. – Тр. ЗИН. – СПб. – 1999. – 278. – С. 132.
21. Протасов А. А., Стародуб К. Д., Афанасьев С. А. Водолазный метод исследования пресноводного перифитона // Гидробиол. журн. – 1982. – № 4. – С. 91–93.
22. Родина А. Г. Метод пластинок обрастания // Жизнь пресных вод СССР. – Изд-во АН СССР. – 1956. – 4. – Ч. 1. – С. 28–32.
23. Суцень Л. М. Интенсивность дыхания ракообразных. – Киев, 1972. – 172 с.
24. Харченко Т. А., Ляшенко А. В. Потребление кислорода пресноводными губками // Гидробиол. журн. – 1986. – 22, № 3. – С. 98–100.
25. Цалотхин С. Я. Зависимость между длиной тела и весом у пресноводных нематод. – Основы изучения пресноводных экосистем. – Л.: Наука, 1981. – С. 105–106.
26. Sladecková A. Limnological investigation methods for the periphyton (Aufwuchs) communities // Botan. Rev. – 1962. – Vol. 28, N 2. – P. 286–350.

9. Паразитичні організми біоти водних екосистем

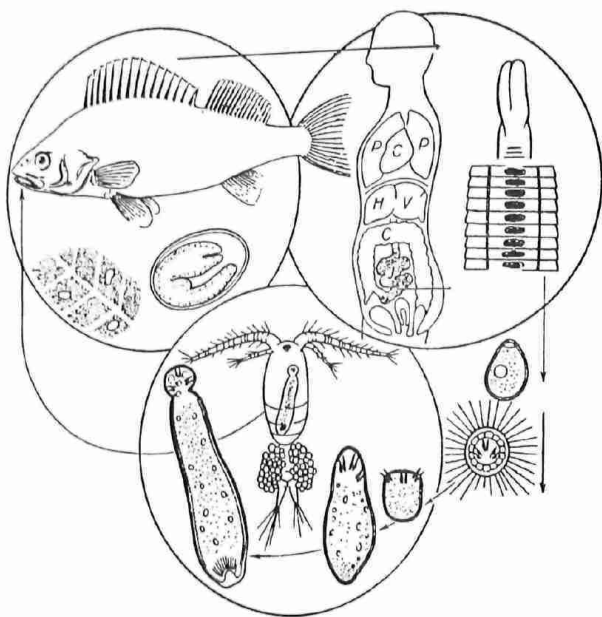
Гідропаразитологія – наука, що досліджує паразитів гідробіонтів та усі аспекти взаємовідносин паразитів та їхніх хазяїв на рівнях організмів, популяцій, угруповань, екосистем. Гідропаразитологія є частиною паразитології, в якій активно розвивався і розвивається екологічний підхід до дослідження різних за масштабом визначення паразитарних систем. Об'єктами дослідження цієї науки є не лише окремі види паразитів та їхні життєві цикли, а й паразитоценози (системи «паразит – хазяїн», що охоплюють різні рівні організації хазяїв та пов'язаних з ними паразитичних організмів). Гідропаразитологія є теоретичною базою боротьби з паразитами гідробіонтів та багатьма паразитарними хворобами людини. Засновником цієї науки був видатний український зоолог, паразитолог акад. О. П. Маркевич. Саме він сформулював основи її теорії та методології. За визначенням акад. О. П. Маркевича [7], гідропаразитологія є новою наукою про об'єктивні закони життя екопаразитарних систем та їх ролі у розвитку біогідроценозів.

Паразитична компонента біоценозів є складовою, що пронизує усі підсистеми та екосистему в цілому, більше того – паразитарні системи часто виходять за межі водних екосистем у зв'язку із реалізацією складних життєвих циклів паразитів зі зміною хазяїв, що мешкають у воді та на суходолі (рис. 9.1, 9.2, 9.3).

Сталий розвиток суспільства та раціональне природокористування потребує дослідження паразитологічної ситуації у водоймах та за їх межами з метою контролю стану середовища та розробки і застосування своєчасних заходів з попередження спалахів небезпечних хвороб тварин та людини.

Під *паразитологічною ситуацією* слід розуміти якісний склад, кількісне співвідношення та розміщення в конкретний період паразитичних організмів, які вражають людину, свійських та диких тварин, сезонну та вікову динаміку паразитофауни та динаміку чисельності популяцій окремих видів паразитів, шляхи циркуляції збудників інвазійних хвороб та механізми їх передачі на певній акваторії (території), сприятливі фактори, ступінь спричиненої паразитами шкоди [6].

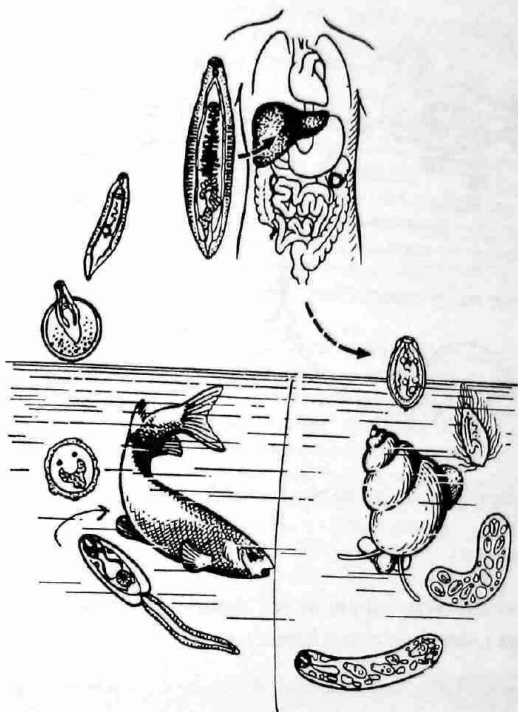
Пошук збудників небезпечних хвороб людини у водоймі складається із дослідження декількох основних блоків (елементів):



9.1. Схема життєвого циклу стьожака широкого (Jirovec, 1960, модифіковано).

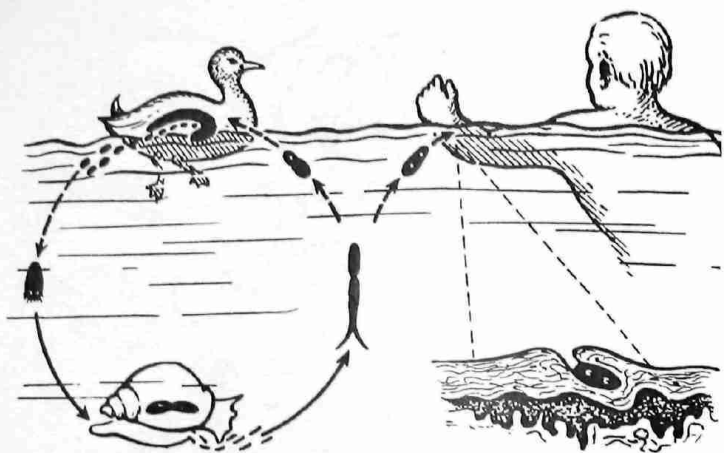
1. Пошук цист патогенних найпростіших та яєць і личинок гельмінтів у воді.
2. Дослідження моллюсків на наявність партеногенетичних поколінь та церкарій трематод – збудників хвороб людини.
3. Дослідження іхтіофауни на наявність проміжних стадій паразитів людини (іхтіопаразитологічні дослідження).

Дослідження наявності у водоймі збудників паразитарних хвороб господарсько-цінних тварин (птахи та риби) потребує щонайменше додаткового вивчення ракоподібних на зараженість личинками гельмінтів. Результатом об'єднання двох типів досліджень є комплексне дослідження водойм за основними показниками гідропаразитологічної ситуації.



9.2. Схема життєвого циклу опісторху (Jigovcs, 1960, модифіковано).

На нашу думку саме комплексні паразитологічні дослідження водойм з урахуванням патогенних, непатогенних та умовно патогенних паразитів людини, господарсько-цінних тварин, гідробіонтів загалом, найбільш адекватно відображають паразитологічну ситуацію в її екологічному сенсі. Нижче наводимо основні елементи досліджень паразитологічної ситуації, керуючись вищезгаданими поділом паразитологічних досліджень на блоки.



9.3. Схема розвитку трематод, що викликають церкаріоз людини (Haemmeri, 1953, модифіковано).

9.1. Метод пошуку цист патогенних найпростіших та яєць і личинок гельмінтів у воді

Метод наведено за схемою, запропонованою російськими дослідниками [9].

Принцип і чутливість методу

Цисти патогенних найпростіших кишечника і яйця гельмінтів виявляються при мікроскопічному дослідженні осаду, який отримують після центрифугування не менш ніж 4-кратно розведеного розчину флотанту, у який паразитарні агенти, що визначаються, потрапляють з осаду, який змивають з мембранних фільтрів після фільтрації через них визначених об'ємів досліджуваної води. Осадження цист найпростіших і яєць гельмінтів відбувається за рахунок різкого зниження щільності флотанту, яка після розведення стає нижчою, ніж у паразитарних агентів.

Паразитарні патогени (цисти лямблій, амеби дизентерійної, балантидія кишкового, яйця гельмінтів) можуть бути виявлені при наявності їх у кількості не менше 1 екземпляру в 25 дм³ води з джерел водопостачання.

Відбір та зберігання проб

Відбір проб води проводиться в чисті (бажано стерильні) ємності.

Проби необхідного об'єму можуть доставлятися в паразитологічну лабораторію без обробки, або з метою полегшення їх транспортування – після попередньої обробки – концентрування матеріалу шляхом фільтрування на місці відбору проб, у лабораторії водопровідної станції та ін. Проби, що не пройшли попередню обробку, можуть зберігатися при температурі 15–20°C не більше 2 діб.

У випадку, якщо первинна обробка води проби (фільтрування) проводилася поза паразитологічною лабораторією, використані фільтри поміщають у широкогорлий флакон, додають 10–15 мл вихідної води, закривають флакон, що загнувчується, або притертою кришкою, маркують, указуючи дату, місце відбору, кількість профільтрованої води, і транспортують у паразитологічну лабораторію для подальшого дослідження. При неможливості дослідження в день відбору матеріал зберігають при 4°C не більше доби; а якщо не є необхідним визначення життєздатності цист кишкових найпростіших і яєць гельмінтів, то матеріал зберігають не більше 3–4 діб після додавання до нього формальдегіду з такого розрахунку, щоб концентрація його в суспензії складала 2%.

Хід дослідження

Питна вода досліджується в обсязі 50 дм³, вода джерел водопостачання – в обсязі 25 дм³. Досліджуваний обсяг води за допомогою фільтрувального пристрою пропускають через мембранні фільтри (діаметр пор – 1–4 мкм). Перед початком фільтрації мембранні фільтри треба прокип'ятити 10 хв. в дистильованій воді для видалення сторонніх часток із пор фільтрів, що перешкоджають оптимальному проведенню процесу фільтрації.

В міру уповільнення процесу фільтрації через забруднення фільтру, його заміняють новим, а використані фільтри з осадом поміщають у широкогорлу ємність за допомогою стерильного пінцета і заливають досліджуваною водою в кількості 10–50 мл для зберігання їх у вологому стані.

По закінченні фільтрації всієї проби здійснюють змив осадку з фільтрів. Кожний фільтр стерильним пінцетом опускають у склянку із дистильованою водою. Притримуючи пінцетом фільтр, обережно змивають осад за допомогою м'якої

шіточки, потім фільтр ще раз прополоскують в іншій порції дистильованої води. По закінченні відмивання усіх фільтрів шіточку також старанно прополоскують у невеликому об'ємі дистильованої води (5–10 мл). Процедура відмивання фільтрів і шіточки потребує особливої ретельності, щоб уникнути можливих втрат цист найпростіших і яєць гельмінтів.

Весь отриманий змив центрифугують у пробірках смістю 10 мл протягом 5 хв. при 1500 об./хв. (600 g). Надосадкову рідину зливають. При відсутності необхідності визначення життєздатних цист і яєць гельмінтів осад ресуспензують у 6–8 мл 2%-ного водяного формаліну. Якщо передбачається визначення життєздатності паразитарних патогенів, до осаду додають воду.

Суспензії знову центрифугують у старому режимі, після чого видаляють надосадкову рідину, а до осаду додають 3 мл одного з флотантів (краще 33%-ний водяний розчин семиводного сульфату цинку). Центрифугують 5 хв. при 2000 об./хв., після чого надосадкову рідину переливають у центрифужну пробірку, розбавляють дистильованою водою у 4 рази і більше. Центрифугують у старому режимі, видаляють надосадкову рідину, а з осаду готують препарати на предметних скельцях.

У залежності від завдань дослідження препарат або не фарбують, або піддають фарбуванню. Якщо потрібно провести підрахунок паразитарних агентів без визначення їхньої життєздатності, або потрібно візуальне визначення ймовірної життєздатності цист кишкових найпростіших і яєць гельмінтів, препарат не фарбують, або його фарбують однією краплею 2%-ного розчину Люголя. Ймовірну життєздатність цист лямблій можна визначати, фарбуючи препарат однією краплею 1%-ного водяного еозину.

Готові препарати накривають покривним склом і мікроскопують із використанням 100–600-кратного збільшення (об'єктиви – 10 \times , 40 \times , окуляри – 10 \times , 15 \times) сухої оптичної системи або водяної імерсії. У такий спосіб мікроскопується весь обсяг отриманого осаду. При необхідності проводять візуальну оцінку ймовірної життєздатності цист лямблій та інших найпростіших, а також яєць гельмінтів.

Оцінка результатів дослідження

При мікроскопії підраховують число паразитарних патогенів у всьому обсязі осаду, що відповідає їх чисельності у всій досліджуваній пробі, перераховують їх на вміст у 1 л (дм³), одночасно визначають систематичну приналежність виявлених паразитичних організмів. Ідентифікація деяких найбільш поширених патогенів може бути здійснена за наступними ознаками:

Найпростіші

Цисти лямблій – овальної форми, розміри 10–14 мкм у довжину і 6–10 мкм у ширину; незрілі цисти містять 2 ядра; зрілі – 4 ядра, що знаходяться коло переднього полюса цисти. Оболонка цисти чітко виражена і здебільшого відстає від інших найпростіших. Усередині цисти уздовж по середній лінії проходять дві опорні нитки – аксостилі; у косому або поперечному напрямках знаходяться характерні парабазальні тіла (2 – у незрілих і 4 – у зрілих цистах), нерідко помітний складно згорнутий джгутиковий апарат.

Цисти амеби дизентерійної – округлої, рідко овальної форми, розміри від 10 до 16 мкм; молоді цисти містять 1–2 ядра з центрально розташованою зірчастою каріосоною, зрілі цисти містять 4–6 ядер; у зрілих чотириядерних та незрілих двоядерних цистах ядра розташовані в різноманітних площинах; оболонка цист двоконтурна у вигляді світлого прозорого обідка. Одноядерні цисти майже завжди містять у великій кількості глікоген, що у вигляді великої вакуоли з нечіткими обрисами займає звичайно більше половини цисти і фарбується розчином Люголя в темно-коричневий колір.

Цисти балантидія кишкового – правильної круглої форми. Щільна двоконтурна оболонка. Середній розмір біля 50 мкм. Усередині цист є значне бобовидне ядро. Протоплазма однорідна, глікоген у ній розпилений рівномірно. Під оболонкою в деяких цистах помітно поглиблення, що є редукованим цитостомом (клітинним ротом). Війчастий покрив відсутній.

Гельмінти

Яйця аскариди людської (свинячої) – запліднене яйце овальної або кулястої форми. Зовнішня оболонка великобугриста, товста, коричневого кольору (іноді зустрічаються яйця без зовнішньої горбистої оболонки). Розмір яєць 50–70 × 40–50 мкм. Яйцеклітина дрібнозерниста й куляста, розташована в центрі яйця. Інвазійне яйце (спроможне заразити при заковтуванні), що знаходиться на останній стадії дозрівання, містить усередині живу рухливу личинку, що згорнулася кільцевидно або перехресно.

Яйця токсокари (аскариди собачої) – майже круглі, 65–75 мкм у діаметрі, із комірчастою зовнішньою грубою оболонкою темно-коричневого кольору. Усередині яйця помітна округла зародкова клітина. Зрілі інвазійні яйця містять усередині рухливу личинку, що згорнулася кільцевидно або перехресно.

Яйця волосоголовця – симетричні, мають лимоноподібну або бочкоподібну форму. Оболонка темно-коричнева, груба. На обох полюсах є світлозабарвлені

корковидні утворення. Розміри яєць $50-54 \times 23-26$ мкм. У зрілих інвазійних яйцях помітна рухлива личинка.

Яйця гострика – асиметричні, одна сторона помітно сплюснена, інша випукла. Розміри $50-60 \times 30-32$ мкм. Оболонка тонка, гладка і безбарвна. Яйця можуть бути на різноманітних стадіях дозрівання, до пуголовкоподібної личинки включно.

Яйця ців'яка карликового – оболонка яйця безбарвна, тонка, гладка. Форма овальна. Розмір яєць 40×50 мкм, ембріофора (зародок) майже кулевидна (29×30 мкм), із довгими нитковидними придатками на полюсах.

Онкосфери тенїїд – овальна форма, розміри $31-40 \times 2-30$ мкм; мають тонку зовнішню оболонку і товсту радіально-покреслену внутрішню оболонку темно-коричневого кольору. Усередині онкосфери знаходиться зародок – ембріофора із шістьма зародковими гачками.

При необхідності можливо провести візуальну оцінку ймовірної життєздатності цист патогенних найпростіших кишечнику і яєць гельмінтів за такими критеріями:

- цілісність зовнішньої оболонки (відсутність її розривів, вдавлень, набухання, зморщування);
- чітка внутрішня структура цисти або яйця: для цист – чітко видні ядра, відсутня зернистість (для цист лямблій додатково повинні бути помітні аксостилі, джутиковий апарат, медіальне тіло); для яєць гельмінтів – наявність зародкової клітини, що дробиться, або рухливої личинки (для аскарид, токсокар, волосоголовців, гостриків), попарне розташування зародкових гачків у живих і безладне в мертвих онкосфер тенїїд і яєць карликового ців'яка;
- при фарбуванні препарату 1%-ним водяним розчином еозину життєздатні цисти лямблій не сприймають фарбування протягом перших 5 хв., мертві фарбуються відразу ж у рожевий колір. Тому зазначене фарбування варто використовувати до мікроскопії лише у випадку, коли на вивчення препарату буде потрібно не більше 5 хв. Часто перегляд мазка триває 15–30 хвилин, тоді 1%-ний водяний еозин можна вводити акуратно, не зрушуючи препарат, під покривне скло піпеткою у точці, де при попередньому перегляді вже виявлені цисти лямблій;
- життєздатність онкосфер тенїїд і яєць аскарид, що містять личинку, визначають шляхом фарбування препарату сумішшю, що містить метиленовий синій. Живі онкосфери і личинки, що містяться усередині яєць аскарид, не фарбуються протягом перших 15 хв. Мертві фарбуються одразу в синій колір. Життєздатність онкосфер тенїїд можна також визначити за рухом зародків при впливі на них травними ферментами. Для цього досліджува-

ний осад, що містить онкосфери, поміщують на годинникове скло в штучний дуоденальний сік. Скло ставлять у термостат при 36–38°C на 4 год. Живі зародки звільняються від оболонок, а мертві – ні.

Оболонки життєздатних онкосфер розчиняються також у підкисленому пепсині та в лужному розчині трипсину через 6–8 годин при температурі 38°C.

9.2. Дослідження молюсків на наявність партеногенетичних поколінь та церкарій трематод

Основні риси методики дослідження молюсків на наявність личинок трематод наводимо (із деякими сучасними модифікаціями) за роботою В. І. Здуна [2].

Збір і визначення щільності популяцій водяних і наземних молюсків проводять методами, що звичайно застосовуються при малакологічних та гідробіологічних дослідженнях [1, 3, 11].

Водяних молюсків розміщують за видовою приналежністю у кристалізатори з водою і звичайно досліджують у день збору або наступного дня. Наземних молюсків вміщують також у кристалізатори, на дно яких кладуть траву або листя; їх можна відсаджувати також у садки. Кристалізатори покривають шматком скла.

Через можливість виникнення артефактів рекомендовано збирати в один прийом таку кількість (50–100) молюсків, яка може бути досліджена за один–два дні.

Для дослідження трематодофауни водойми бажано, за можливості, досліджувати не менше 100 екз. кожного виду молюсків. Проте звичайно для виявлення рідкісних паразитів кількість досліджуваних молюсків одного виду потрібно збільшувати до декількох сотень екземплярів. При вивченні трематодофауни специфічних хазяїв відомих видів трематод, наприклад, малого ставковика, бажано досліджувати ще більшу кількість молюсків.

Перед паразитологічним розтином необхідно точно визначити видову приналежність досліджуваного молюска, виміряти його розміри, охарактеризувати вгодованість молюска і стан його черепашки, визначити стать (переважно під час розтину представників роздільностатевих видів). Всі ці дані варто занести до протоколу дослідження (у щоденник).

Виявлення личинок трематод

Партеніт (спороцисти, редії) та личинок трематод (церкарій, метацеркарій) одержують для дослідження шляхом розтину молюсків і наступного витягнен-

ня їх із внутрішніх органів останнього. Зрілих церкарій молосків відловлюють піпеткою з води кристалізатора, куди вони виходять із зараженого хазіяна.

Для виявлення личинок трематод беруть з акваріума або садка одного молоска і кладуть його на дно кювети. Залежно від виду молоска і будови черепашки розтин черепашки ножицями роблять так, щоб витягти внутрішні органи. Звичайним місцем локалізації паразитів у червоногих молосків є гепатопанкреас, розташований у верхівці черепашки. У зв'язку з цим верхівку черепашки відокремлюють трохи навекіс відносно шва (лімнієди), по шву (у живо-родок) або поперек (у плапурбід). Іноді тверді черепашки водяних молосків можна розбивати молотком або розрізати ножицями. Внутрішні органи варто виймати голками або піпеткою.

Крім гепатопанкреасу, личинки трематод заселяють (хоча і рідше) і інші органи червоногих молосків (легені, зябра, статеві органи). Початкові стадії паразитів, що розвилися з мірацилія, можна виявити в серці молоска.

У великих двостулкових молосків розрізають замикаючі м'язи. Паразитів у них варто шукати, крім гепатопанкреасу, ще й в гонаді.

У дрібних молосків (малий ставковик, кульки і горошинки) паразитів виявляють компресорним засобом: черепашки роздавлюють піпеткою або між двома покривними або предметними склами. Тіло молоска виймають з осколків черепашки піпеткою. Заражені органи переглядають під лупою або під мікроскопом, потім відокремлюють їх голкою або відтягають піпеткою і переносять у сільнички з водою.

Метод розтину дає можливість швидко виявити зараженість молоска личинковими формами трематод. При розтині детально розглядають усі сторонні утворення, що зустрічаються в органах молоска.

У тому випадку, коли потрібно одержати зрілі церкарії для морфологічних або біологічних досліджень, молосків, відсаджених у кристалізатори з водою, варто тримати декілька годин на сонячному світлі, щоб із них почали виходити церкарії. Зимою воду у кристалізаторі підігрівають електричною лампою до 25–26°C. Після того, як у воді з'являться церкарії – білі цяточки, що активно рухаються, – молосків варто розсадити по одному в сільнички або чашки Петрі. Проте застосування тільки одного цього засобу не дає правильного уявлення про дійсний стан зараженості молоска личинками трематод. Цим способом не можна виявити трематод, що знаходяться в стадії партеніт і не цілком сформованих церкарій. Застосовувати його можна лише в літні й осінні місяці, коли велика кількість зрілих церкарій виходить із молосків у воду. Таким чином, цей засіб використовується як додатковий до методу розтинів.

Вивчення партеніт та личинок трематод на різних стадіях розвитку, їхньої локалізації у внутрішніх органах молосків, патологічних змін уражених ними

Техніка повного паразитологічного розтину риби

Для повного іхтіопаразитологічного обстеження водойми беруть живу або цілком свіжу рибу, слідкуючи за тим, щоб вона була найменше ушкоджена рибальськими знаряддями, не підсохла, не була прим'ята і т.п. Перед паразитологічним обстеженням необхідно насамперед точно визначити вид риби, завласти її, виміряти меристичні характеристики (довжину, висоту і т.п.), узяти матеріал для визначення віку. У протоколі обстеження необхідно записати стать риби, дату обстеження, назву водойми і, якщо водойма маловідома, місце її розташування. Після цього рибу кладуть у препарувальну ванночку (емальовану кювету) із водою і починають обстеження, слідкуючи за тим, щоб риба і її окремі органи не підсихали. Спочатку роблять зовнішній огляд риби – її луски, плавців шкіри – і збирають виявлених там ектопаразитів. Паразитів, залежно від їхнього систематичного положення (клас, ряд) розміщують по окремих, спеціально призначених для цієї мети лабораторних сільничках, а потім на тимчасовій етикетці записують назву органа, у якому вони були виявлені.

При зовнішньому огляді на рибі можна виявити різного вигляду і походження виразки, шрами, пухлини і т.п. Такі ненормальні утворення варто відпрепарувати і частково досліджувати у свіжому стані, частково ж законсервувати. Іноді, щоб досліджувати рибу в лабораторних умовах або залишити зразок для музею, рибу фіксують цілком.

На тілі риб, особливо в ставкових господарствах, часто спостерігається блакитнувато-сірий наліт (слиз), що нерідко утворюється під впливом паразитів. При дослідженні слизу під мікроскопом часто доводиться спостерігати дрібних ектопаразитів, у більшості випадків – найпростіших (*Costia*, *Trichodina*, *Chilodonella*) і моногеней роду *Gyrodactylus*. На плавцях, а також на поверхні тіла риби дуже часто можна виявити п'явок і різноманітних паразитичних рачків (*Ergasilus*, *Lernaea*, *Trachelistes*, *Argulus*).

Для цитологічних досліджень інфузорій беруть краплю слизу зі шкіри або зябер, розмазують її на поверхні предметного або покривного скла, готують сухі мазки, або фіксують у вологому стані (рідина Шаудіна або Ценкера) і поміщують у 70%-ний спирт для зберігання. Сухі мазки фарбуються методом сухої імпрегнації по Кляйну. Фіксований матеріал можливо фарбувати залізним гематоксином.

При розгляданні на світлі розправлених плавців на них легко можна помітити паразитичних личинок (глохидіїв) прісноводних перлівницевих і цистого, на тілі коропових риб часто спостерігаються чорні плями, що утворюють-

ся під впливом метацеркарій *Posthodiplostomum (Neascus) cuticola*, що живуть у шкірі.

Уважно оглянувши зовнішні покриви, записавши в протоколі обстеження всі відхилення (аномалії) і зібравши паразитів, приступають до обстеження зябрового апарату. Відзначимо, що зябровий апарат, подібно кишковопорошковому, особливо часто вражений паразитами. На зябрах можна виявити білуваті цисти різноманітних мікроспоридій, інфузорій, моногеней (*Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Ancyrocephalus*, *Tetraonchus*, *Diplozoon*), метацеркарій веслоногих (*Ergasilus*, *Lamproglena*, *Achtheres*), а також нетваринних паразитів (*Saprolegnia*, *Branchiomyces* і ін.). Зяброві кришки для обстеження відпрепарують цілком, після чого одну за другою вирізають зяброві дуги з зябровими пелюстками і розглядають їх на великому препарувальному склі (фотопластинці) розміром 6×9 см або 9×12 см. Зябра ретельно оглядають за допомогою лупи, користуючись при цьому препарувальними голками. Виявлених під час такого огляду паразитів поміщають (по групах) у різні сільнички з водою або краще з фізіологічним розчином повареної солі. Збір паразитів роблять препарувальною голкою, щіточкою, добре загостреним пінцетом або тонко відтягнутою піпеткою.

Оглянувши зябра під лупою, ножицями або скальпелем відрізають від дуги зяброві пелюстки біля їхньої основи, і препарувальними голками перебирають одну пелюстку за одною, щоб виявити паразитів, що знаходяться на них. При цьому необхідно пам'ятати, що змочені водою тканини значно легше досліджувати на наявність паразитів. Потім на роз'єднані пелюстки поверх кладуть велике предметне скло, здавлюють об'єкт до прозорості і розглядають його під мікроскопом. У такий спосіб можна додатково виявити тих паразитів, яких не вдалося побачити під лупою (інфузорії, окремі спори мікроспоридій, характерне трикутне яйце сангвінікол, дрібних моногеней, гриби і т.п.). Так, поступово, по одній досліджують усі зяброві дуги по обидва боки голови. При виявленні великої кількості паразитів якого-небудь одного виду збирати всіх їх не потрібно. Звичайно відбирають для фіксації лише два-три десятки, а інших тільки точно підраховують і число їх записують у журнал (протокол, щоденник) розтинів.

Після зябер досліджують порожнину рога, де звичайно знаходять собі при- тують деякі рачки (*Salmincola lotae* – у минька, *Achtheres percarum* – в окуня і су- дака), а також п'явки. У коропових риб іноді можна зустріти ще темні плями з метацеркаріями *Posthodiplostomum cuticola*. Знімати паразитичних рачків потрібно дуже обережно, щоб не відірвати важливого для їхнього визначення

прикріплювального апарату, що часто сидить досить глибоко в тканині хазяїна. Паразитів із ворожнини рота кладуть окремо від паразитів з інших органів.

Оглянувши зябра і порожнину рота, приступають до розтину риби. Під час ліво кишечник і сечовий міхур. Стінку тіла розрізають уздовж серединної лінії черева, починаючи від анального отвору і закінчуючи (приблизно) ділянкою серця, і вирізають її (звичайно лівий бік) із тим, щоб можна було добре оглянути внутрішні.

У порожнині тіла риб інколи можна виявити ознаки запальних процесів у внутрішніх органах, зокрема запалення очеревини (перитоніт), пухлини (фіброма, саркома, фібросаркома, лімфосаркома), а крім того, і деяких паразитів як із властивою локалізацією, так і випадкових, що потрапляють сюди з інших органів. Звичайними мешканцями порожнини тіла є плероцеркоїди ремнеців *Ligula sp.* – у багатьох, переважно в королових, риб. У очеревині і на верхніх внутрішніх органів деяких риб, у першу чергу окуневих, досить часто можна виявити невеличкі (0,4–0,6 мм) білуваті цисти, що містять у собі небезпечних для риб паразитичних личинок трематод, збудників тетракотильозу (роди *Tetracotyle*, *Ichthyocotylurus*, *Apatemon* та ін.). Порожнинну рідину переглядають під мікроскопом і у випадку виявлення найпростіших готують із неї мазки.

Оглянувши порожнину тіла, потрібно відпрепарувати окремі системи органів, розміщуючи кожну з них в особливій судині або на окремому предметному склі.

З внутрішніх органів насамперед варто оглянути серце. Ще краще досліджувати його, а головне кров, на зовсім свіжій рибі, перед обстеженням зябер. Сучасні методи дослідження кровепаразитів узагальнені в роботі дослідників Інституту гідробіології НАН України [10].

Серце разом із великими судинами переносять у чашку Петрі або в годинникове скло з фізіологічним розчином, де його і розкривають. Осад розглядають під малим збільшенням мікроскопа. У серці можна виявити небезпечних кров'яних трематод (*Sanguinicola sp.*), метацеркарії деяких видів, у рідкісних випадках міксоспоридій і т.д.

Після серця зручніше усього досліджувати сечовий міхур. Для цього міхур вирізають коло самої основи, після чого його розрізають або розривають голками на предметному склі й уважно оглядають стінки міхура і сечу. У сечовому міхурі шук часто виявляється міксоспоридія *Muxidium lieberkuehni*; у більшості прісноводних риб можна виявити ще деякі види трематод (*Phyllodistomum sp.*) і деякі види інфузорій (*Trichodina sp.*). Сечовий міхур можна досліджувати компресорним методом, здавлюючи його між двома скельцями і розглядаючи за

разити стають помітнішими, і ще раз оглядають під бінокляром або мікроскопом. При виявленні нових паразитів знімають верхнє предметне (або покривне) скло і вибирають їх м'якою шіточкою, тонким пінцетом або піпеткою. Таким способом чинно корисно оглянути і стінки кишечника, акуратно розправивши їх певним чином корисно оглянути і стінки кишечника, акуратно розправивши їх певним чином корисно оглянути і стінки кишечника, акуратно розправивши їх певним чином корисно оглянути і стінки кишечника. Особливо обережно потрібно досліджувати пілоричні придатки, щоб не ушкодити гелмінтів і насамперед цестод, що досить часто тут виявляються. У кишках риб спостерігається досить різноманітна фауна паразитів, серед яких перше місце займають черви: трематоди, стьожкові і круглі черви, скріблянки. Крім того, тут можна виявити і найпростіших: джгутиконосців (*Octomitus*), кокцидій (*Eimeria*) і ін. Паразитів із різних відділів кишечника рекомендується класти в окремі пробірки з відповідними етикетками.

Після дослідження усіх вищезгаданих органів відпрепаровують і розглядають статеві органи риб. Розміри останніх залежать від ступеня статевої зрілості і тому дуже варіюють. Досліджують їх тим же компресорним засобом, як і печінку. З найбільш звичайних паразитів, яких можна знайти в статевих органах наших прісноводних риб можна назвати: личинок червів – *Ichthyocotilurus*, *Diphyllbothrium*, *Triaenophorus* і ін., а також мікроспоридій, наприклад *Henneguya oviperda* (яечник щуки).

Після статевих органів досліджують плавальний міхур, де можна виявити цисти мікроспоридій (*M. ellipsoides*, *M. muelleri*, *M. permagnus*), інцистованих личинок *Ichthyocotilurus*.

Із внутрішніх органів останніми досліджуються нирки. Вони настільки пухкі, що звичайно не вдається відпрепарувати їх цілком, а доводиться витягати шматочками, які і розглядають, стискаючи між двома скельцями. Особливо старанно варто оглядати вивідні каналці і сечоводи, в яких частіше усього живуть паразити. Серед них насамперед слід назвати трематод роду *Phyllodistomum*.

Після нирок зручніше всього досліджувати м'язи. Для цього з риби здирають шкіру й оглядають її внутрішню поверхню, а також оголену мускулатуру. Далі, гострим скальпелем розрізають м'язи на тоненькі пластики, які оглядають одну за одною компресорним способом. При цьому в мускулатурі риб можна виявити мікроспоридій, інцистованих метацеркарій різноманітних трематод, плероцеркоїди стьожкових червів, личинки нематод і т.д.

Очі й мозок оглядають в останню чергу. Очі вирізають маленькими (краще зігнутими) ножицями, потім на предметному склі розрізають оболонки, звільняючи у такий спосіб кристалик і скловидне тіло. Вже під лупою в кристалику і скловидному тілі можна виявити личинок роду *Diplostomum* і його між двома предметними скельцями і досліджують. У мозку (втім, надзвичайно рідко) можна виявити деяких трематод.

9.4. Дослідження ракоподібних на зараженість личинками гельмінтів

Загальна схема досліджень наведена за роботами В. І. Монченка [7, 8].

Серед водяних членистоногих найбільше значення в поширенні збудників паразитарних захворювань тварин мають такі ракоподібні: бокоплави, рівноногі, гіллястовусі, почасти черепашкові рачки і головним чином веслоногі. З останніх проміжними хазяїнами гельмінтів є різноманітні види підрядів Cyclopoidea і Calanoida. При санітарному обстеженні водою варто шукати личинок гельмінтів у порожнині тіла всіх груп ракоподібних. Виявлення личинок полегшується тим, що на відміну від більшості інших водяних членистоногих дрібні ракоподібні мають прозорі покрови, тому виявляти личинкові форми гельмінтів можна без розтину проміжного хазяїна.

Відоме значне число гельмінтозів качок, гусей і інших водоплаваючих птахів, збудники яких у початковий період свого життя паразитують у порожнині тіла ракоподібних, частіше всього веслоногих. Серед цих захворювань найбільш часто спостерігаються гіменолепідози. Рідко можна зустріти качку або гуску, не заражених цестодами із родини Hymenolepididae, проміжними хазяїнами яких є головним чином веслоногі рачки. Найбільші збитки в птахівницьких господарствах завдає *Drepanidotaenia lanceolata* – збудник дрепанідотеніоза гусей. Проміжними хазяїнами цієї цестоди є веслоногі ракоподібні з родин Cyclopidae та Diaptomidae (*Diaptomus gracilis*). У птахівницьких господарствах, розташованих у лісостеповій зоні України, понад 50% качок уражені червом *Dicranotaenia collaris*, проміжними хазяїнами якого є чотири види циклопів, *Diaptomus coeruleus* і бокоплав – *Gammarus pulex*. Широко поширеним паразитом качок є *Dicranotaenia coronula*, личинкові стадії якої паразитують у остракод. Часті епізоотії качок викликають нематоди, що розвиваються в порожнині тіла бокоплавів і гіллястовусих ракоподібних. Бокоплави є проміжними хазяїнами сріблянки *Polymorphus magnus*, що паразитує у домашніх качок.

У кишечнику собак і кішок, а також людини нерідко паразитують представники роду *Diphyllobothrium*, проміжними хазяїнами якого є веслоногі ракоподібні родів *Diaptomus*, *Cyclops* і *Acanthocyclops*.

Обстеження ракоподібних на зараженість личинками гельмінтів, що передаються сільськогосподарським тваринам, варто проводити в теплий час року, коли температура води перевищує 10°C. Пізньої осені і навесні водоплаваючі птахи менше часу проводять на воді. Отже, водою менше забруднюється яйцями гельмінтів, а при температурі нижче 10°C личинки гельмінтів у тілі ракоподібних не розвиваються зовсім або розвиваються дуже повільно. Висока тем-

температура (30°C) негативно впливає на личинок гельмінтів, викликаючи навіть їхню дегенерацію. Оптимальною температурою для їхнього розвитку є температура 16–25°C. При цьому личинки цестод досягають інвазійної стадії через 10–12, іноді через 30 днів, нематоди розвиваються 18–25 днів, при підвищенні температури до 26–28°C – 8–9 днів. Таким чином, у літню пору при частих відвіданнях водойми водоплавними гельмінтів.

Необхідно також враховувати розміри водойми, площу його поверхні і глибину. Як свідчить досвід, найбільш зараженими личинковими формами гельмінтів є невеликі й дрібні водойми – постійні калюжі, канави, дрібні і слабо проточні струмки і навіть джерела (зрозуміло, якщо їх відвідують гуси і качки). У цих водоймах число заражених рачків досягає 10, 20 і навіть 50% (наприклад, у випадку з *Drepanidotaenia lanceolata*). Великі ставки й озера містять значно менший відсоток рачків, інвазованих гельмінтами. Звичайно в таких водоймах рачки, що містять личинок гельмінтів, складають 0,5–1, дуже рідко 2%. Проте й ці водойми далеко не рівномірно заселені інвазованими рачками. Вони частіше зустрічаються в місцях, що заростали водяними макрофітами. Саме ці місця найчастіше відвідують водоплаваючі птахи. Виникає вогище розвитку захворювання, де є збудник (гельмінт і його яйце), проміжний хазяїн (рачки) і остаточний хазяїн (птахи). Таким чином, слід рекомендувати обстежувати мілководні прибережні ділянки водойм, що суттєво заросли макрофітами. При сприятливому сполученні чинників інвазованість бокоплавів личинками *Tatrameres fissispina* може досягати 90%.

Для відлову дрібних ракоподібних застосовують планктонні сітки з мельничного газу (шовкове сито) із середніми комірками (№ 46 і нижче). Поряд із якісним обловом водойми планктонною сіткою варто проводити кількісний облік планктонних ракоподібних (шляхом проціжування визначеного об'єму води). У записі, що робиться на місці взяття проби, обов'язково слід зазначити дату, область, район, пункт узяття проби, стислий опис водойми, обловленої стації (чиєта вода, зарості макрофітів, які саме, характер дна водойми і т. д.), кількість проціженої води. Не рекомендується фіксувати пробу відразу ж після її взяття, тому що рачки швидко втрачають свою прозорість і при подальших пошуках личинок гельмінтів неминучі пропуски.

Пробу потрібно відразу ж переглянути під мікроскопом. Застосовувати для перегляду проб біокуляр не завжди можливо, бо великих збільшень, що найчастіше вимагаються при цьому (наприклад, для виявлення онкосфер у кишечка рачків, невеликих бокоплавів поміщають на предметне скло і накривають покривним склом, після чого вони припиняють рух. Для економії часу під одне по-

кривне скло можна поміщати до 10 дрібних рачків. Якщо при цьому будуть виявлені інвазовані рачки, їх варто відокремити від неінвазованих. Личинок гельмінтів у порожнині тіла ракоподібних виявляють без особливих труднощів. Живий рачок майже завжди прозорий, у нього дуже добре помітний кишечник, що скорочується, у якому міститься одна-дві харчові грудки зеленого, бурого або іншого кольорів. Личинки нематод звичайно бувають кільцеподібно згорнутими, акантели скріблянок мають вигляд потовщених паличок, добре помітних завдяки буруватому забарвленню. Паразити звичайно добре помітні при малому збільшенні мікроскопа. Проте для виявлення яєць у кишечнику рачків, а також тільки щойно вийшовших онкосфер варто застосувати велике збільшення. Онкосфери цестод досягають у середньому 0,03 мм у діаметрі. Проте, можливі, відхилення. Так, яйце *Drepanidotaenia lanceolata* має довжину 0,046–0,106 мм і ширину 0,037–0,103 мм. Довжина личинок нематод коливається (у залежності від стадії розвитку) від 0,14 до 4,8 мм при ширині 0,064 мм і більше.

Ступінь природної інвазованості ракоподібних личинками гельмінтів залежить не лише від вже зазначених екологічних чинників. Її визначають також видовий склад ракоподібних і видова приналежність паразита. Для точного вивчення приуроченості паразитів до того або іншого проміжного хазяїна необхідно вести точний кількісний облік заражених і незаражених ракоподібних. Звичайно лише один-два види ракоподібних є головними проміжними хазяїнами паразита. Інші близькі види рачків відіграють роль допоміжних проміжних хазяїв в поширенні даної інвазії.

Слід зазначити, що не всі личинки досягають у порожнині тіла рачка нормального розвитку. Чимало з них, почавши розвиватися, потім дегенерують. Підрахунок нормальних личинок гельмінтів і тих, що дегенерували, також є матеріалом для визначення ступеня специфічності системи паразит-хазяїн.

При проведенні спеціальних досліджень зараженості ракоподібних личинками гельмінтів варто з'ясувати такі питання:

- 1) видова приналежність рачка (із вказівкою літератури, використаної при визначенні рачка);
- 2) стать рачка (перший і другий пункт можуть бути проблемними для неспеціаліста, тому хоча б частину матеріалу краще переслати у відповідну установу для перевірки);
- 3) кількість рачків даного виду, що містять у порожнині тіла паразитів, у відсотках від загального числа особин (екстенсивність інвазії);
- 4) максимальна та середня інтенсивність інвазії личинок у порожнині тіла;
- 6) кількість нормально розвинених личинок по відношенню до загальної кількості личинок (%).

Рачків із виявленими в них паразитами варто зафіксувати. Веслоногих, гіллястовусих та бокоплавів можна фіксувати формаліном, доливаючи в пробу 1/10 об'єму проби 40%-ного формаліну, або ж спиртом, переносячи рачків у 70%-ний спирт. Черепашкових рачків варто фіксувати в 96%-ному спирті. У спирті меншої концентрації і формаліні черепашкові рачки щільно стискають свої стулки, що згодом утруднює їхнє визначення і препарування личинок гельмінтів.

9.5. Висновок

За умов зростаючого антропогенного навантаження на біосферу загалом і, зокрема, на гідроекосистеми, постає питання з'ясування закономірностей формування паразитологічної ситуації в екосистемах різного типу і масштабу, зокрема водних екосистем.

Зараз, коли практично усі водні екосистеми зазнали впливу діяльності людини визначення «норми» у паразитологічній ситуації є проблематичним. Водночас, вводячи поняття «норми» необхідно відразу зазначати для кого, чи для чого вона визначається. З медичної точки зору нормальною паразитологічною ситуацією є така, що мінімізує можливість захворювання людини паразитарними хворобами під час комплексного використання водних об'єктів. З рибогосподарської чи тваринницької (спортивно-мисливської) точки зору нормальною паразитологічною ситуацією є така, що мінімізує можливість захворювання та загибелі живих організмів – об'єктів господарювання. З екологічної точки зору питання визначення «норми» та «відхилення від норми» у паразитологічній ситуації можливо вирішити із застосуванням підходів, що пропонуються Водною рамковою директивою ЄС для визначення еталонних за станом середовища водних екосистем, хоча паразитологічна складова, попри її очевидну важливість, не увійшла до біологічного блоку з оцінки якості водних об'єктів у даному документі. На нашу думку, нормою за паразитологічними показниками може вважатись ситуація, коли усі паразито-хазяїнні системи у водоймі стабільно і тривало функціонують з притаманною їм сезонною та часовою динамікою (циклічністю, що пов'язана із впливом провідних абіотичних та біотичних чинників, реалізацією у просторі та часі життєвих циклів). Відхилення від норми проявляється у зміні видового складу паразито-хазяїнних систем, непередбачених спалахах епізоотій, змінах у показниках кількісного та просторового розподілу паразитичних організмів у водоймі та ін.

Природною реакцією біоценозів на антропогенний вплив є зміна в їх складі та структурно-функціональних показниках. Не існує екосистем, до складу яких

не входять паразитичні організми. Вплив паразитарного чинника може посилювати або послаблювати негативну дію забруднюючих речовин, шляхом взаємодії з організмом хазяїна на біохімічному, фізіологічному, генетичному рівнях. Самі паразити зазнають негативного, фізіологічного, генетичного впливу, або опосередковано (через організм хазяїна). Таким чином, одним з показників, що може відображати прояв антропогенного впливу на живі системи різного рівня (від клітини до екосистеми) може бути паразитологічний показник (різноманіття таксонів, що входять до складу паразитичних угруповань, патогенність впливу паразиту на організм хазяїна, взаємодія складових паразитоценозу між собою та ін.).

Дослідження показали, що вплив зовнішніх чинників на формування та ступінь розвитку паразитоценозів гідробіонтів не призводить до однозначних наслідків.

Так, катастрофічні зміни в екосистемі Рибинського водосховища в басейні Волги внаслідок аварії на очисних спорудах Череповецького металургійного комбінату (у воду потрапила величезна кількість фенолів, нафталіну, нафтопродуктів, близько 1000 м³ концентрованої сірчаної кислоти, що вивільнили важкі метали з донних відкладів) було прослідковано і на паразитологічній ситуації у водоймі [4]. Рівень інвазії риб одними видами паразитів знизився, внаслідок загибелі проміжних хазяїв та безпосередньої дії забруднювачів (моногеней роду *Dactylogyrus*, ракоподібні *Ergasilus sieboldi*, п'явки *Caspiobdella fadejewi*), іншими – підвищився, внаслідок ослаблення організму хазяїна, наявності у водоймі проміжних хазяїв резистентних до високих концентрацій забруднювачів (цестоди *Caryophylleus laticeps*), чи власної високої резистентності (моногеней *Diplozoon*), третій – дещо знизився, або залишився на тому ж рівні (цестоди *Diphyllobothrium*, *Triaenophorus*, *Proteocephalus*).

При дослідженні паразитоценозів безхребетних Сасицького водосховища – водойми, що перебуває під значним антропогенним тиском, було виявлено, що паразитичні угруповання гідробіонтів характеризуються бідним видовим складом та зростанням показників інвазії деяких патогенних організмів з прямими циклами розвитку (аспідогастри, мікроспоридії) [12].

Паразитичні організми зазнають, хоча і опосередкованого (через організм хазяїна), але впливу несприятливих чинників зовнішнього середовища. Особливо це стосується ектопаразитів та так званих мезобіонтів – мешканців мантийної порожнини молюсків. Крім значно біднішого видового складу (порівняно з біоценозами пониззя Дніпра) моноксенний паразитоценоз молюсків *Dreissena polymorpha* у Сасицькому водосховищі характеризується значно меншою інтенсивністю інвазії коменсальними інфузоріями з мантийної порожнини *Conchophthirus acuminatus*. Інфузорії цього виду є облигатними

симбіонтами моллюсків дрейсен з високими показниками інвазії та поширенням у різноманітних водоймах Європи.

Для більшості видів симбіотичних організмів існують певні види хазяїв, в яких розвивається більша частина популяції паразита або коменсала. При сутність цих видів хазяїв у екосистемі веде до зростання поширеності їх симбіонтів. З іншого боку, зникнення проміжних хазяїв паразитів з ценозу веде до елімінації частини популяції паразита, що пов'язана із даним видом хазяїв, або із зникненням виду в цілому з даної екосистеми (у випадку вузької гостальної (хазяїнної) специфічності). Таким чином, паразитичні організми можуть бути використані як індикатори забруднення водойм. Паразитологами запропоновано декілька груп паразитичних організмів, переважно риб, прийнятних для цього.

Отже паразитологічна ситуація у водоймі є одним із критеріїв стану екосистеми. На нашу думку, наявність у різних складових біоценозу різноманітних симбіотичних організмів на різних стадіях своїх життєвих циклів може свідчити про те, що в біоценозі не порушені структурні зв'язки між його складовими компонентами.

Література

1. Жадин В. И. Моллюски пресных и солоноватых вод СССР. – М.; Л., 1952. – 374 с.
2. Здун В. И. Обследование моллюсков на зараженность личинками дигенетических трематод // Методы изучения паразитологической ситуации и борьба с паразитами сельскохозяйственных животных. – Киев: Изд-во АН УССР, 1961. – С. 96–135.
3. Каратаев А. Ю., Ляхнович В. П., Резниченко О. Г. Количественный учет численности и биомассы, изучение динамики обилия // Тр. Зоол. ин-та, 1990. – 219. – С. 172–179.
4. Куперман Б. И. Паразиты рыб как биоиндикаторы загрязнения водоёмов // Паразитология. – 1992. – 26, № 6. – С. 479–482.
5. Маркевич А. П. Паразитофауна пресноводных рыб УССР. – Киев: Изд-во АН УССР, 1951. – 376 с.
6. Методы изучения паразитологической ситуации и борьба с паразитами сельскохозяйственных животных / Под ред. А.П. Маркевича. – Киев: Изд-во АН УССР, 1961. – 352 с.
7. Маркевич А. П. Гидропаразитология, её истоки и горизонты // Тезисы докладов симпозиума гидропаразитологов. – Киев: Наук. думка, 1981. – С. 3–8.
8. Молченко В. І. Обследование ракообразных на зараженность личинками гельминтов, передающихся сельскохозяйственным животным // Методы изучения

- паразитологической ситуации и борьба с паразитами сельскохозяйственных животных. – Киев: Изд-во АН УССР, 1961. – С. 135–141.
9. Моченко В. И. Свободноживущие циклопообразные копеподы Понто-Каспийского бассейна. – Киев: Наук. думка, 2003. – 350 с.
 10. Новосильцев Г. И., Романенко Н. А., Рябенко В. А., Горяинова Г. С. Методические указания МУК 4.2.668–97 по Санитарно-паразитологическому исследованию вод (утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным доктором Российской Федерации 19.06.1997 г.).
 11. Лосев А. А., Овчаренко Н. А. Методические основы изучения кровепаразитов рыб // Гидробиол. журн. – 2003. – 39, N 6. – С. 105–114.
 12. Стадниченко А. П. Перлівницеві, кулькові (Unionidae, Cicladidae) // Фауна України, т. 29, вип. 9. – Київ: Наукова думка, 1984. – 384 с.
 13. Yuryshynets V. I. Bivalve mollusks of Sasyk-reservoir and their parasites // Limnological Reports (Proceedings of the 34th IAD Conference in Tulcea, Romania, 2002). – 2002. – Vol. 34. – P. 395–399.

Додаткова довідкова і методична література

1. Гаєвська А. В. Паразитологія та патологія риб. Енциклопедичний словник-довідник. – Київ: Наук. думка, 2004. – 366 с.
2. Быховская-Павловская И. Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. – Л.: Наука, 1985. – 121 с.
3. Давыдов О. Н., Исаева Н. М., Куровская Л. Я. Ихтиопатологическая энциклопедия. – К., 2000. – 164 с.

10. Риби (нектон)

10.1. Вступ

Риби (Pisces) – найбільша група хребетних тварин. За різними оцінками, вона нараховує понад 20 тисяч видів, що становить близько половини усіх хребетних. Переважна більшість риб (96%) належить до класу кісткових (Osteichthyes). Кісткові риби населяють різноманітні водні об'єкти, дуже різноманітні за вимогами до умов існування, особливостями живлення, і розмноження. Риби відіграють важливу роль у формуванні корисної біопродуктивності поверхневих водних об'єктів і є цінним харчовим продуктом.

Чисельність і продуктивність риб у природних і штучних водних об'єктах регулюється цілим рядом чинників. Серед них: забезпеченість кормом і харчові взаємовідносини риб, ріст, тривалість життя та рівень їх смертності, плодючість, структура популяцій, механізми регуляції чисельності риб тощо.

Розпочинаючи вивчення іхтіофауни, слід спочатку з'ясувати гідроекологічні характеристики водного об'єкта та умови існування в ньому риб. Опис водного об'єкта має включати його морфометричні параметри (площу, довжину, ширину, глибину, загальну конфігурацію), дані про тип (ріка, водосховище, став тощо), місцезнаходження, особливості гідрологічного і гідрохімічного режимів, а також характеристики біоти [29].

Серед інших відомостей про водний об'єкт корисно володіти інформацією стосовно наявності гідротехнічних споруд (гребель, запруд, водозаборів), судноплавства, сільськогосподарських і побутових підприємств, обсягів скидів їх стічних вод тощо.

Безпосереднє вивчення іхтіофауни водойми розпочинається із складання списку усіх видів риб, які в ній зустрічаються. Для цього користуються як власними матеріалами, так і літературними джерелами, інформацію про улови місцевих рибалок та аматорів, а також результатами опитування населення. Щодо кожного виду риб визначають таксономічну та місцеву назви, частоту зустрічання та інше. Також збирають дані про те, в яких місцях тримається той чи інший вид риб в різні сезони року, протягом доби, особливо під час зимівлі (для визначення розташування зимувальних ям).

Занотовуються дані про промислове значення окремих видів риб, їх максимальні і середні розміри (довжина і маса тіла), місця концентрації, строки не-

ресту, розташування основних нерестовищ, акліматизацію і риборозведення. Усі отримані в такий спосіб матеріали записують у польовий щоденник досліджень, який є первинним документом при вивченні іхтіофауни.

Обробка даних розпочинається з аналізу улову, визначальним у якому є біологічний аналіз. При цьому встановлюють видовий склад уловів, розміри риб, віковий склад популяцій, співвідношення статей, стадії статевої зрілості, вгодованість, жирність та інші показники [11].

На основі зібраних у польових умовах матеріалів можна надалі дослідити ступінь зрілості статевих залоз і плодючість риб, їх вік і темп росту, живлення і харчові стосунки, особливості поведінки і міграцій, чисельність і біомасу, смертність і продуктивність популяцій.

Кінцевим результатом досліджень іхтіофауни є оцінка її рибогосподарських якостей і водойми в цілому. У підсумку за сукупністю усіх даних встановлюють критерії оцінки та проводять рибогосподарську класифікацію різнних водойм.

10.2. Термінологія

Тлумачення найважливіших іхтіологічних і рибогосподарських термінів і понять наведено з урахуванням літературних джерел [6, 7, 30].

Іхтіофауна – сукупність видів риб певного водного об'єкту, басейну, зоогеографічної зони, геологічного періоду тощо.

Ареал – зона географічного поширення популяцій риб певної систематичної групи, в межах якої відбувається повний цикл їх розвитку.

Морфометрія – кількісна характеристика основних морфологічних ознак риб.

Нерест – процес відтворення, який включає активне відкладання плідниками риб і круглоротих статевих продуктів дозрілої ікри (яць) та сперми (молок) з наступним заплідненням і ембріональним розвитком.

Нерестовище – місце (місця) з придатним для нересту риб субстратом.

Нерестовий субстрат – природна або штучна основа (матеріал), зокрема галька, щєбінка, пісок, коріння, стебла водяних рослин для відкладання ікри риб тощо.

Гонади – статеві залози у риб (у самок – яєчники з ікрою, у самців – сім'яники із сперматозоїдами).

Ікра – жіночі статеві клітини риб (яйцеклітини).

Нагул – активне живлення (годівля) риб у літньо-осінній період, під час якого відбувається основний приріст довжини і маси тіла, збільшення вгодованості, формування гонад для чергового нересту.

Ріст – збільшення вагових і лінійних розмірів тіла риб.
Личинка – молодь риб з моменту переходу на зовнішнє (екзогенне) живлення і до малькового періоду.

Мальок – молодь риб, яка набула форми і зовнішніх ознак дорослої особини.
Раціон (кормовий) – кількість і склад корму, спожитого рибою за певний проміжок часу (добу, місяць, рік тощо).

Коефіцієнт кормовий (КК) – відношення з'їденого рибою корму до приросту її маси.

Коефіцієнт вгодованості – відношення маси тіла риби до куба її довжини.

Жиристість – вміст жиру в тілі, нутрощах риби, виражений у відсотках до маси тіла.

Луска – жорсткі метамерні пластинки шкіряного скелета, що виконують захисну функцію.

Кільце річне – щорічні прирости на окремих структурних елементах риб (лусці, отолітах, променях плавців, зябрових кришках).

Міграція – закономірне масове сезонне переміщення риб, яке здійснюється з метою нересту, нагулу, зимівлі або під дією несприятливих факторів водного середовища.

Іхтіомаса загальна – маса особин одного виду або сукупності риб, які знаходяться на одиниці площі або об'єму водного об'єкта.

Чисельність (абсолютна) – сумарна чисельність риб у водному об'єкті, визначена тим чи іншим методом.

Чисельність (відносна) – чисельність риб виражена в умовних або непрямих показниках (вилов на одиницю площі, на промислове зусилля, індекси урожайності).

Чисельність (промислова) – допустима кількість особин риб одного виду, яку може освоїти промисел без підриву відтворювальної здатності популяції.

Урожайність – ефективність відтворення популяції риб (кількість молоді нових генерацій).

Флуктуація – виражене коливання урожайності (чисельності) окремих поколінь видів риб.

Рибальство – галузь виробничої діяльності людей, яка займається виловом риб з природних водойм (річок, озер, водосховищ, морів та океанів).

Промисел – вилучення певної частини біомаси риб та інших водяних організмів у вигляді корисної для людей продукції.

Промислова міра – мінімально допустимий розмір (см) риби і раків при їх вилові.

Рибопродуктивність – відносна величина сумарної біомаси риб протягом певного періоду (зазвичай, року) на певній площі водних об'єктів (кг/га).

Інтродукція – переселення окремих видів риб поза межі їх природного ареалу (початкова фаза акліматизації).

Смертність (загальна) – зменшення рибного стада за певний проміжок часу по відношенню до умовної кількості особин (зазвичай, 100 або 1000 екз.), %.

Смертність природна – зменшення чисельності риб через природні причини (хвороби, старіння, хижаки тощо).

Смертність промислова – зменшення чисельності риб внаслідок промислового вилову.

Основні буквені позначення та скорочення, які застосовуються в іхтіології:

A (analis) – анальний плавець;

C (caudalis) – хвостовий плавець;

D (dorsalis) – спинний плавець;

P (pectorales) – грудні плавці;

V (ventrales) – черевні плавці;

L – абсолютна довжина тіла риби, см;

l – неповна або стандартна (мала) довжина тіла риби без хвостового плавця (до кінця лускового покриву), см;

l₁, l₂, l₃ і т. д. – те саме у віці 1, 2, 3 і більше років;

C – відносна довжина луски від центру до зовнішнього краю;

C₁, C₂, C₃ – те ж від центру до 1, 2, 3-го річного кільця і т. д.;

H – найбільша висота тіла, см;

h – найменша висота тіла, см;

l. l. (linea lateralis) – бічна лінія;

sq (squame) – кількість поперечних рядів лусок уздовж тіла риби;

♀ – самка;

♂ – самець;

W – маса тіла риби, мг (г, кг);

A III, (21) 22–28 (29)(30) – формула анального плавця, де римськими цифрами позначені кісткові нерозгалужені промені, а арабськими – м'які розгалужені;

1.1.3.–3.1.1. – формула глоткових зубів (їх кількість на правій і лівій глотковій кістці у коропа).

10.3. Вибір проб і фіксація риби

При відборі проб та обробці іхтіологічних матеріалів для наукових досліджень необхідна акуратність і забезпечення прийнятної вірогідності отриманих результатів [25].

Репрезентативність проб має забезпечувати надійні результати вивчення розподілу, складу і чисельності риби, відносного значення кожного окремого виду, оцінки стану запасів та обґрунтування прогнозів їх вилову.

10.3.1. Основні типи відбору проб

Існують три основні типи відбору проб [17]: 1) систематичний (спрямований) – за заздалегідь складеним планом; 2) випадковий (рєндомізований); 3) комбінований (поєднання систематичного і випадкового).

Систематичний відбір. Передбачає взяття проб через певні інтервали в часі та просторі. Застосовується при вивченні співвідношення «довжина-маса», темпу росту риби тощо і лише тоді, коли випадковий відбір використати неможливо або він є дорогим.

Випадковий відбір. Заснований на однаковій для усіх елементів генеральної сукупності вірогідності показання до вибірки. Він є найбільш поширеним (проста випадкова вибірка, стратифікована випадкова вибірка).

Простий рєндомізований (випадковий) відбір проб проводиться без обмежень шляхом простої випадкової вибірки, елементи якої відбираються незалежно один від одного з однаковою вірогідністю попадання у вибірку. Випадковий відбір виключає можливість появи суб'єктивних систематичних помилок.

Стратифікований відбір проб застосовується при обмеженні рєндомізації (випадковості) та розподілі сукупності на декілька зон, класів або шарів залежно від особливостей досліджуваного об'єкта чи ознаки. Вибірка проводиться окремо з кожного шару, а величина ознаки в кожному шарі обчислюється незалежно. При цьому стратифікований відбір проб можна здійснювати пошарово (при наповненні корзин) за розмірними групами риби, групуванням або змішуванням тощо [20].

Іхтіологічні матеріали відбирають на спостережних пунктах, промислових і науково-дослідних суднах, під час стандартних розрізів. Головне джерело цих матеріалів – контрольні та промислові улови, їх наступний аналіз. Число середніх проб, які забезпечують необхідну точність, залежить від кількості розмірних і вікових груп риби. Наприклад, для визначення вікового складу ляща слід зібрати луску 150–200 риби, а тюльки – луску з 30 екз. Промислові риби, які

в улові представлені поодинокими екземплярами, досліджуються усі без винятку. При вивченні іхтіофауни необхідно збирати та фіксувати усіх риб із змінами видових ознак, каліцтвом, нетиповою пігментацією тіла і плавців, пухлинами, паразитами, іншими хворобами, а також тих, які зустрічаються у водоїмі випадково або досить рідко.

Виміри і підрахунок морфологічних ознак риб слід проводити в польових умовах (на свіжому матеріалі), а при відсутності такої можливості – в лабораторних умовах на консервованому (фіксованому) матеріалі. Риби, що залишені для обробки в лабораторії або для зберігання в колекції, мають бути нем'якими, зберігати в цілому зовнішній вигляд, цілі плавці, луску, а також бути надійно законсервованими.

Розмір проби для звичайних біологічних досліджень визначається довірчою вірогідністю (довірчим рівнем) – 95% (0,95) або рівнем значимості – 5% (0,05). Однак для більш точних іхтіологічних досліджень використовують і більш високі показники довірчої вірогідності.

Кількість необхідного іхтіологічного матеріалу для оцінки стану іхтіофауни за біологічними і продукційними показниками визначається довірчою вірогідністю, яка має становити 99% (0,99), або рівнем значимості – 0,01 (1%) при показникові надійності (t) 2,58 [21, 22].

Таким чином, для забезпечення статистичної вірогідності отриманих результатів досліджень іхтіофауни мінімальна кількість риб повинна сягати в середньому 25 екз. кожного виду і кожної окремо взятої вікової групи з різних екологічних ділянок водного об'єкта. З урахуванням вікової структури риб для досліджень відбирають середню пробу кількістю не менш 100 екз. кожного виду, що дозволяє отримати статистично-вірогідні дані щодо кожної окремої ознаки.

При великій кількості риб в улові в пробу відбирають лише 25 екз. кожного виду. При цьому спочатку здійснюють повний аналіз видового складу, підрахунок чисельності, необхідні виміри (масові) та зважування риб тощо.

10.3.2. Фіксація риби

Для фіксації риби зазвичай використовують формалін (36–40%-ний розчин формальдегіду у воді). Консервацію риб здійснюють у 2–4%-ному розчині формальдегіду.

Для отримання 4%-ного розчину формаліну необхідно додати до 1 частини 40%-ного формальдегіду 9 частин води, а для 2%-ного – 19 частин води. Інколи для тривалого зберігання іхтіологічних матеріалів рибу консервують у

суміші формаліну і спирту (5–10 частин формаліну, 20 частин спирту (90°) і 75–80 частин води).

Консервувати рибу слід таким чином. У скляну або металеву банку з широким горлом (спеціальні оцинковані ящики або алюмінієві бідони) наливають 4%-ний розчин формаліну. У цей розчин опускають рибу, бажано ще живою. При цьому риба заковтує у нутрішні частину формаліну, який консервує внутрішні органи. Для консервації снулих і великих риб з правого боку тіла роблять надріз, через який формалін проникає у середину риби. Фіксація відбувається протягом 6–8 год. перебування риби в розчині [6, 23].

При фіксації окремих екземплярів кожна риба супроводжується етикеткою з пергаментного паперу, в яку простим олівцем вписують назву риби, дату і місце вилову, порядковий номер запису в щоденнику, знаряддя лову, назву судна чи спостережного пункту, прізвище дослідника. Етикетку скручують у трубочку і засовують риби в рот чи під зяброву кришку (у разі необхідності прив'язують ниткою до хвостового стебла). При закладанні окремих екземплярів риб у посуд слід уникати придавлювання, внаслідок якого риба може втратити свою природну форму, що знизить можливість її ідентифікації.

Риб, яких мають пересилати, витримують у формаліні 6–7 діб, потім загортають у просякнуті ним ганчірки, кладуть у герметичну посудину, не залишаючи при цьому вільних місць. Після термінової пересилки проби знову вмішують у розчин формаліну для тривалого зберігання.

Кожну окрему середню пробу, яка знаходиться у посудині, супроводжують загальною етикеткою, яка містить такі відомості: дата вилову, місце відбору, знаряддя вилову, назва видів і кількість риб, номер проби, назва водного об'єкта, назва судна чи спостережного пункту, прізвище дослідника.

При необхідності подібну загальну етикетку прикріплюють до посудини з пробою зовні.

Працюючи з формаліном, слід пам'ятати про дотримання необхідних вимог техніки безпеки роботи із шкідливими і токсичними речовинами, до яких він належить.

Формалін спричиняє появу сухості шкіри рук і хворобливу подразливість, особливо під нігтями. При роботі з формаліном рекомендується користуватись гумовими рукавичками та спеціальними щипцями для виймання проб і окремих риб. Особливо слід уникати попадання крапель в очі, на слизову оболонку носа і на обличчя.

Обробку формалінових проб здійснюють після вимочування їх у воді протягом 1–1,5 год. під витяжною шафою.

10.4. Знаряддя лову для відбору іхтіологічних проб

Знаряддя лову, якими користуються для відбору іхтіологічного матеріалу або для промислового лову, з якого теж беруть проби на аналіз, специфічні для кожного з водних об'єктів. Слід пам'ятати, що конструкція і принцип роботи для лову (сітки) вилучають з водного об'єкта рибу певної величини, що відповідає розміру вічка, тоді як активні (тралі, неводи) характеризуються незначною вибірковою властивістю щодо співвідношення розмірів вічка і риби. Однак для проведення певних досліджень (живлення риб) потрібні лише активні знаряддя лову, щоб отримати репрезентативні достовірні матеріали.

Усі наявні знаряддя лову можна розділити на промислові та контрольні (останні використовуються переважно у наукових цілях).

10.4.1. Промислові знаряддя лову

До промислових знарядь лову належать різноманітні ставні сітки (рамкові, поріжні, дрефтерні), неводи (берегові закидні, обкидні, рівнокрилі, дрібновічкові та кошелькові), волокуші (неводи без кутця), тралі (пелагічні, близнюкові), пастки (ятері, мережі, канавні жаки, ставні неводи) та гачкові знаряддя лову (рис. 10.1–10.4).

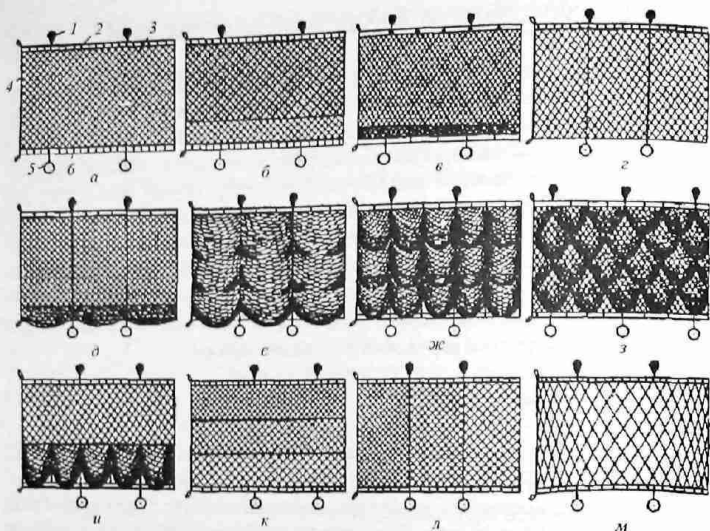
Відбір проб з допомогою промислових знарядь лову проводять під час офіційного промислу. При цьому аналіз улову може бути вибіркоким і повним (тотальним), залежно від величини улову та чисельності риб.

Слід зауважити, що при відборі проб із промислових уловів, результати, як правило, не відзначаються високою точністю і вірогідністю і через різні обставини практично не підлягають коригуванню. У зв'язку з цим зростає актуальність іхтіологічного матеріалу, який відбирають еталонними контрольними знаряддями лову [5].

10.4.2. Контрольні знаряддя лову

До контрольних знарядь лову належать сачки, скребки, драги, іхтіопланктонні сітки, ікорні сітки, пелагічні і донні тралі, різноманітні пастки, тканки, малькові волокуші, лампари, дрібновічкові неводи тощо.

Іхтіопланктонні сітки. Зазвичай для лову ікри і личинок риб використовують сітки іхтіопланктонні конічні (ІКС) і обернено – конічні сітки (ОКС) (рис. 10.5).



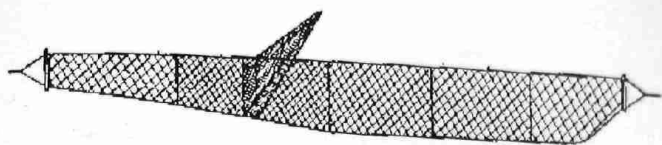
10.1. Типи ставних сіток: *a* – одностінна (1 – поплавок, 2 – верхня підбора, 3 – полотно, 4 – клячова пожилина, 5 – грузило, 6 – нижня підбора), *б* – двостінна, *в* – тристінна, *г*, *д*, *е* – одностінні різних типів, *ж* – рамкова, *з* – ромборамкова, *и* – спрощена рамкова, *к*, *л*, *м* – різні комбіновані.

Основу іхтіопланктонної сітки ІКС-80 складає металевий обруч, надставка із б'язі з шістьма лопастями, сітний конус із газу, середній поясок сітного конуса, зашморги, стаканний поясок, відтяжка, кільце сітки і кільце нижнє.

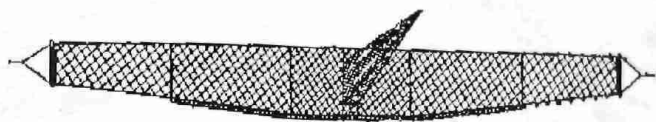
Конструктивно схоже побудовані і інші типи сіток (ОКС, Джеді, Богорова – Расса та ін.). Обернено – конічні сітки (ОКС) мають два металеві обручі, діаметр вхідного отвору 56,5 – 80 см та площу облову 0,25–0,5 м².

Малькові трали. Для лову пелагічної молоді риб застосовують мальковий трал конструкції АзЧорНІРО, різноглибинний трал Айзекса – Кіда, нейстонний трал, полозковий донний трал, бімтрал Жадіна, бімтрал Расса та ін. (рис. 10.6).

Малькові волокуші. Поділяються на два типи залежно від розміру. До перших належать волокуші з газу № 15: загальний розмах 3,50 м, висота 0,90 м, мотня у вигляді піраміди з основою 1,6×0,9 м, глибина мотні 0,5 м, у вершині

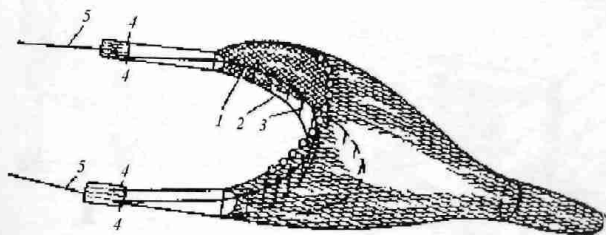


a



b

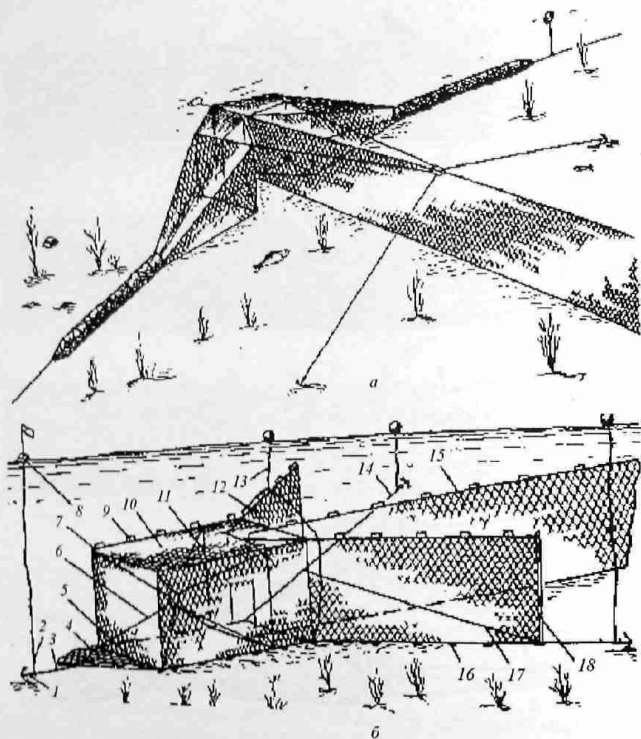
10.2. Типи промислових неводів: a – річковий, б – озерний.



10.3. Промисловий близнюковий пелагічний трал: 1 – верхня підбора, 2 – нижня підбора, 3 – повідки, 4 – запобіжники на рамах, 5 – ваєри.

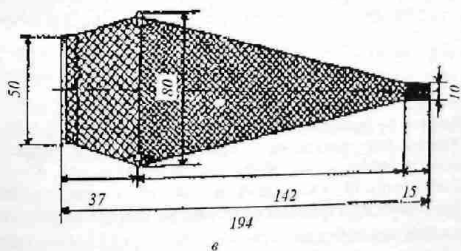
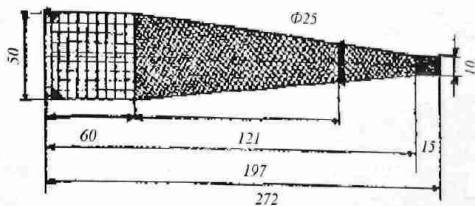
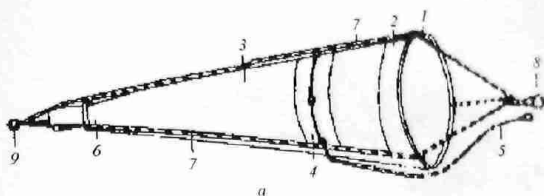
вмонтовано планктонну склянку; волокуша може обмежувати ділянку діаметром 1,13 м (площею 1 м^2) для обліку передличинок риб. Другий тип характеризується такими параметрами: загальний розмах 6,15 м, висота 0,9 м, мотня тих же розмірів, що й у попередньої моделі; волокуша може обмежувати ділянку діаметром 1,96 м (площею 3 м^2) для обліку личинок.

Малькові волокуші із капронового сита можуть використовуватись не лише як активні знаряддя лову а й як стінка облікових ділянок.



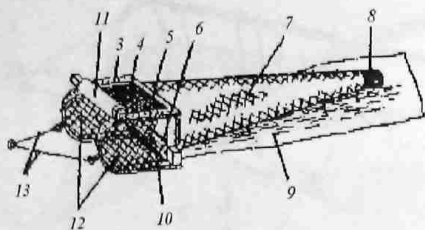
10.4. Подвійний ятір (закол) (а) і спрощена донна пастка (б): 1 – якір, 2 – повідок буйковий, 3 – відтяжка центральна, 4 – фальш-куток, 5 – труба металева розпірна, 6 – відтяжка горла, 7 – брус дерев'яний розпірний, 8 – буй, 9 – поплавок, 10 – котел в пастці, 11 – горло, 12 – відкрилок, 13 – повідок підйомний, 14 – віддяжка відкрилка, 15 – крило центральне, 16 – грузила, 17 – обмежувач-канат, 18 – брус вертикальний.

Для лову дорослішої молоді риб доцільно застосовувати комбіновані малькові волокуші з загальною довжиною полотна від 15 до 50 м, які мають крила з делі з комірками 5 мм і мотню завдовжки 3 м з крупнокомірчатого газу. Крила по висоті скошені біля нижньої підбори від 3 до 1 м ближче до кляч (рис. 10.7).

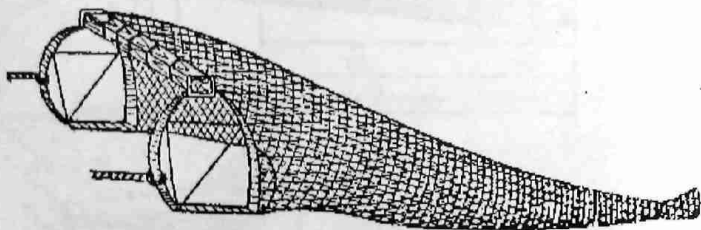


10.5. Типи іхтіопланктонних сіток: *a* – ІКС-80 (1 – обруч металевий, 2 – надставка із бязі, 3 – сітний конус, середній поясок, 4 – зашморг, 5 – стаканний поясок, 7 – відтяжки, 8 – верхнє кільце, 9 – нижнє кільце); *б, в* – Нансена в модифікації Ширда (*б*) і Гензена (*в*).

Пастки для лову молоді риб. На мілководних ділянках і в заростях водяних рослин водойм молодь риб відловлюють пастками різних конструкцій (рис. 10.8).



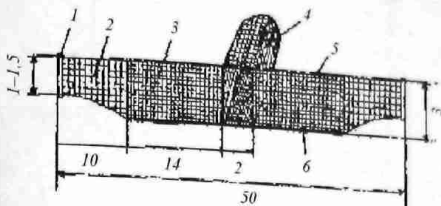
a



b

10.6. Малькові бімтрали: *a* – Рацца (1 – фільтруюча частина, сітка ІКС – 80, 2 – рама, 3 – чобіт рами, 4 – вертикальна перекладина, 5 – горизонтальна верхня перекладина, 6 – горизонтальна нижня перекладина, 7 – конус із капронового сита, 8 – планктонна склянка, 9 – захисний фартух, 10 – каток з труби на півосях, 11 – бім, кругле дерево, 12 – дель (комірка 10 – 15 мм), 13 – вуздечка двоповідкова) і *б* – Жадіна.

Для кількісного обліку ранньої молоді дуже ефективна спливаюча сітка Бедженела. Вона складається із занурюючого кільця масою 7,2 кг (діаметром 110–115 см) і конічної сітки довжиною 140 см (діаметром 100 см) із полотна – газ № 15 і крупніше. Занурююче кільце, на яке натягнена сітка з великою позитивною плавучістю (5–6 кг), кріпиться до неї за допомогою «замка». Із човна сітку опускають на дно і він відпливає з місця робіт. Через 0,5–2 год. «замок» звільняє плавучу сітку, яка, спливаючи, обловлює вертикальний стовп води. Сітка особливо приваблива тим, що зводить нанівець можливість суб'єктивної оцінки у підрахунку чисельності молоді риб у заростях водяних рослин. При



10.7. Комбінована малькова волокуша (розміри в метрах): 1 – кляча, 2 – крила (комірка 26 мм), 3 – полотно (комірка 6 мм), 4 – мотня (крупний газ), 5 – верхня підбора, 6 – нижня підбора.

використанні кількох сіток, розставлених у «вікнах» мілководдя, можна отримати достовірний результат розподілу молоді на цих ділянках.

Для обліку молоді риб на акваторіях, що мають густу рослинність, з успіхом застосовують метод контрольних облікових ділянок. На досліджуваній ділянці, яку обмежують обліковою рамкою з дроту (діаметром 8 мм) розміром 0,5×0,5 м, в межах невеликої площі здійснюється облік і відлов молоді.

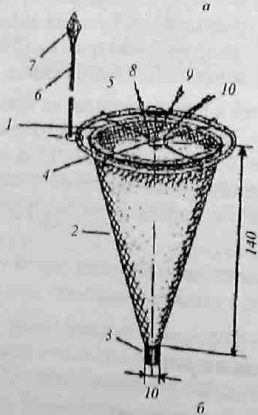
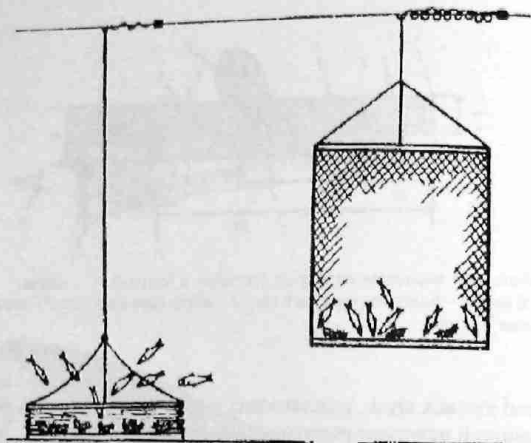
Для облову ранньої молоді риб в густих заростях на мілководді використовують обліковий куб Кузнецова. Це каркас з жорсткого матеріалу, обтягнутий тканиною, або коробка з основою 0,5×0,5 м і висотою 0,8 м, виготовлена з металу. Після накидання куба на ділянку з рослинністю його донний край вдавлюють у ґрунт, потім викошують всю рослинність з окультуреної зони і проводять облік молоді.

Крім описаних, використовують і інші знаряддя лову з урахуванням мети і завдань конкретного етапу робіт, а також матеріальних можливостей [14].

10.5. Методи дослідження риб

10.5.1. Дослідження риб у польових умовах

У польових умовах, як правило, проводять відбір і первинну обробку іхтіологічного матеріалу. Залежно від завдань наукового дослідження, побутових та інших умов (наявність обладнаної лабораторії), часу проведення експедиційного виїзду первинна обробка може бути різною за кількістю показників.



10.8. Пастка для лову молоді риб на мілководді (а) і спливаюча сітка Бедженела (б): 1 – кільце з позитивною плавучістю, 2 – конус з капронового сита, 3 – планктонна склянка, 4 – занурююче кільце, 5 – замковий механізм, 6 – лин, 7 – буй, 8 – здвоєна пластина, 9 – одиночна пластина, 10 – стержень з розчинного у воді матеріалу – сіль, карамель, цукор, хлібний м'якуш тощо.

Однак, неодмінно вона передбачає повний аналіз улову, який включає такі обов'язкові етапи [9]: 1) встановлення складу іхтіофауни (визначення видів) і співвідношень кількості і маси риб окремих видів в улові (*видовий аналіз*); 2) визначення довжини якомога більшої кількості екземплярів тих риб, які не будуть відібрані до середньої проби та не розтинаються (*масові проміри довжини тіла*); 3) визначення статі, стадії зрілості, довжини, загальної маси тіла і без нутрошів, маси статевих продуктів, вмісту жиру, ступеня візуального наповнення кишково-шлункового тракту кожного окремого екземпляра самців і самок риб (*повний біологічний аналіз*); 4) відбір матеріалів для подальшого визначення віку риб різних видів і розмірів, їх живлення, плодючості, темпу росту, жирності, вгодованості, біологічних індексів: гонадо-соматичного, печіночно-го, наповнення кишково-шлункового тракту, тілобудови тощо (*для лабораторних досліджень*).

Видовий аналіз улову. На спостережних пунктах видовий аналіз здійснюється шляхом обліку усіх видів риб, які потрапляють до улову протягом доби, а також дослідження середньої проби, відібраної з улову.

Середня проба – це частина улову за добу, відокремлена від нього будь-якою тарою (відром, кошиком, корзиною тощо) випадково без будь-якого відбору.

Відомості про улови риб за певний період (добу), які заносять на окремі картки, мають містити таку інформацію: назва наукової організації і спостережного пункту, дата лову, знаряддя лову, місце лову, глибина, маса улову по видах і категоріях, кількість знарядь і тривалість лову, характеристика умов лову (температура, ґрунти, вітер та ін.). У підсумку відомості окремих карток заносять до єдиної картки улову риб за добу [9].

Щоденно для аналізу улову беруть середню пробу риб у кількості 150–200 екз. кожної промислової категорії. Результати дослідження заносять до картки аналізу видового складу риб промислової категорії, що містить позначення району, знаряддя лову, глибину, дату лову, загальну масу прийнятої чи виловленої риби та масу риби кожної промислової категорії окремо.

Первинна обробка матеріалів, відібраних для видового аналізу, передбачає таке.

1. Обчислення середнього загального улову, середнього улову по видах на одиницю знарядь лову. При лові сітками отриману масу риб ділять на їх кількість і множать на 100 (середня кількість сіток у сітному порядку). При лові неводами улов розраховують на одне притонення, а тралами – на одну годину траління.

2. Щоденні статистичні дані в абсолютних показниках заносять до спеціальної картки, в якій підсумовують матеріали за певний період (п'ятиденку, декаду, місяць тощо).

На науково-дослідних суднах видовий аналіз улову кожного окремого знаряддя лову є обов'язковим. Результати аналізу збирають в окремих картках, а потім заносять до спеціальної картки аналізу улову відціджуючих знарядь лову. При використанні великої кількості сіток аналіз улову проводять окремо для кожної їх категорії (17–26 мм, 28–32 мм, 34–50 мм і т. д.). Одержані результати заносять до картки аналізу улову обвічкованими знаряддями лову. Середня проба при цьому має становити не менше 300 екз. риб. Середній улов розраховують на одиницю знаряддя лову або на 100 сіток окремої категорії.

Під час проведення контрольних ловів риби різними знаряддями лову отримані дані заносять до журналу аналізу контрольних ловів. Надалі на основі промірів і визначення віку встановлюють розмірний склад риби з контрольних уловів та розмірно-вікову структуру риб.

При відборі проб з контрольних уловів молоді риб визначають кількість цьоголіток і риб старших вікових груп, їх розміри, а отримані дані заносять до журналу відбору проб молоді риб.

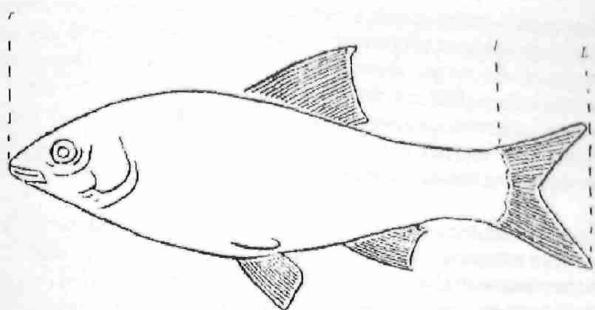
Аналіз складу улову молоді риб полягає у встановленні видової належності та підрахунку цьоголіток і старших особин в улові, окремо в пробі, а також у перерахунку чисельності на 100 м² облову чи на іншу площу (екз/225 м², екз/м² тощо).

Біологічний аналіз улову. Залежно від кількості контрольованих біологічних показників аналіз може бути повним або неповним. Останній полягає у масових вимірах риби – переважно довжини, зрідка ще і маси окремих екземплярів.

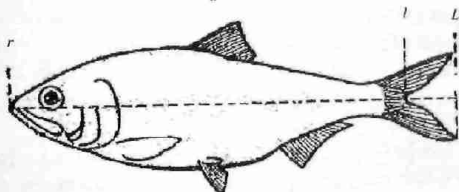
Вимірювання риб різних таксономічних груп має певні відмінності. У більшості видів риб неповну або стандартну (малу) довжину тіла (*l*) вимірюють від початку рила (*r*) до кінця лускового покриву, в оселедцевих, лососевих, сомових, скумбрієвих та інших – до виїмки хвостового плавця через наявність криловидних лусок, у осетрових – теж до виїмки (рис. 10.9). У камбалових і бичкових риб довжину тіла риб вимірюють до кінця хребта, а у скатових замість довжини – ширину тіла між кінцями найдовших променів грудних плавців.

Велику (абсолютну), або зоологічну, довжину тіла риб (*L*) вимірюють до кінця лопатей хвостового плавця (див. рис. 10.9).

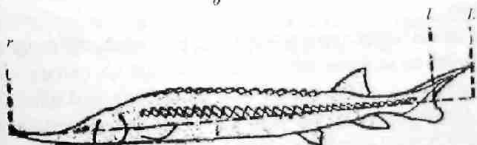
Промислову довжину вимірюють від середини ока риби до кінця найдовшого (переднього чи заднього) променя анального плавця – «червоного пера».



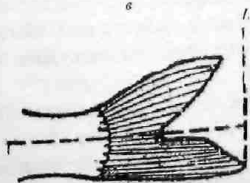
a



б



в



г

10.9. Вимірювання довжини у риб: а – коропових, б – оселедцевих, в – осетрових; г – виміри великої (зоологічної) довжини.

Точність вимірів риби залежить від конкретних завдань і від довжини риби. Усіх риби, розміри яких перевищують 10–15 см, вимірюють з точністю до 1 см, а дрібних риби – до 0,5–0,1 см. Личинок риби під бінокляром вимірюють ще з більшою точністю – до 0,01 мм. Це стосується і вимірювання ікри риби.

Приладами і пристосуваннями для вимірювання риби є мірні дошки різних конструкцій, рейки, стрічки, рулетки, лінійки, штангенциркулі тощо. Швидкі масові виміри проводять з допомогою дошки з точністю 1–0,5 см, а більш точні – до 1 мм.

Вимірювальна дошка, довжина якої, як правило, не перевищує 60–110 см, має два бортики (по ширині та повздовжній) для упору риби. По всій довжині дошки нанесені сантиметрові поділki, пофарбовані в різні кольори (чорні – непарні десятки, червоні – парні), а також коротші – 5 і довші – 10-сантиметрові.

На промислових суднах використовують мірні корита, а для осетрових, сомових та інших великих риби – мірну рейку, що складається з двох дерев'яних брусків (короткого і довгого), скріплених між собою ребром жорсткості.

Зважування риби. Спочатку зважують весь улов або його частину (середню пробу), потім кожну окрему групу видів.

При проведенні видового аналізу кількість риби більших розмірів (тріска, оселедець, лящ) для взяття наважки, встановлення співвідношення статей і масових вимірювань має бути не меншою 200 екз., а дрібних (хамса, тюлька, верховодка) – до 400 екз.

Для здійснення біологічного аналізу кількість риби кожного виду в середній пробі мусить становити не менш як 100 екз. Зважування, як і вимірювання довжини, проводять індивідуально для кожної окремої риби, роздільно для самців і самок до розтину і після розтину без внутроців. Окремо зважують внутрішні органи та складові внутроців (кишковий жир тощо).

Для визначення співвідношення довжини та маси тіла риби проводять зважування окремих груп риби (по 20–25 екз.) приблизно однакової довжини і встановлюють середню масу риби. Таких групових зважувань за вегетаційний сезон слід провести не менше п'яти.

Рибу зважують на різних терезах механічних, електронних та ін. з точністю 100 г (масові проміри великих риби) і з більшою. Існує правило, що при індивідуальному зважуванні необхідна точність мас становити не менше 1% маси тіла риби. Найточніше зважування (з точністю 0,1–0,001 мг) потрібне для ікри, личинок і мальків риби. Таке зважування можливе на чутливих торсійних (ВТ 100, 500, 1000) та електронних терезах.

Для визначення статі, ступеня зрілості статевих продуктів риби, їх маси без внутроців і маси самих внутроців роблять повздовжній розтин черевця риби від

анального отвору до голови. Отримані результати заносять до журналу біологічного аналізу риб та до картки біологічного обліку. Окрім цього, результати вимірів поряд з даними про стать і ступінь зрілості статевих продуктів, масу та іншими обов'язково записують у спеціальний бланк вимірів риб.

При масових вимірюваннях довжини без визначення статі кількість риб певної довжини і виду записують до бланку аналізу довжини середньої проби. При цьому визначають число самців і самок, їх питому частку та масу у пробі, масу 1000 риб, середню довжину тощо.

Варіаційні ряди кожного виду риб зрештою відображають у бланку якісного складу улову. Потім ці ряди розподіляють по статі і сумують в один загальний ряд. Сказане стосується і рядів стадій зрілості риб. Окрім цього, встановлюють масу риби по статі і підраховують наважки, для кожного ряду – кількість екземплярів, середній розмір риби, співвідношення статей і різних стадій зрілості в пробі (у відсотках). На зворотному боці бланку записують дані про улов, з якого була взята проба, а також кількість риб, їх масу тощо. Картки біологічного обліку проб зберігають для окремих видів риб.

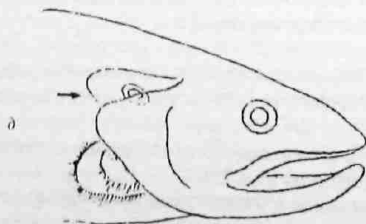
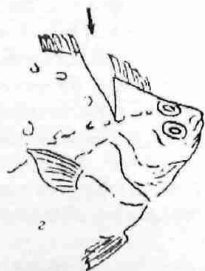
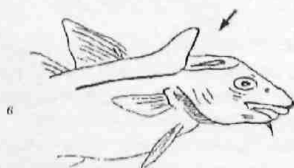
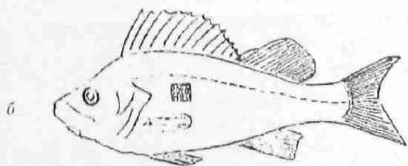
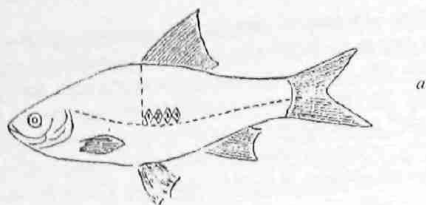
При вивченні сезонної динаміки біологічних показників риб певних вікових груп проводять біологічний аналіз на початку і в кінці нагулу. Отримані матеріали заносять до картки сезонної динаміки біологічних показників вікової групи популяції виду риб з різних частин ареалу.

Методи збору та польових досліджень риб. Методи для визначення віку і росту. Послідовність відбору луски [28]:

1. Заготовити лускові книжки різного зразка для окремих видів риб.
2. Очистити риб, в яких відбиратимуть луску, від бруду, слизу і приліплених чужих лусок.
3. Виміряти рибу. Дрібну рибу розміром до 50 см вимірюють з точністю до 1 мм, а велику (понад 50 см) – з точністю до 0,5 см.
4. Зважити рибу. Рибу масою понад 250 г зважують з точністю до 2–3 г, від 40 до 250 г – до 1 г, меншою масою – до 0,5 г.
5. Правильно визначити місце взяття луски для кожної риби.
6. Взяти пробу луски.
7. Після взяття проби (якщо одразу продивлятися або монтувати луску у препарати) протерти її від слизу (промити у слабому розчині аміаку), або скласти у лускову книжку без обробки.

Послідовність відбору отолітів (інших реєструючих структур):

1. На голові досліджуваних риб знайти отоліти, зробивши поздовжній (поперечний) розріз, або розріз з-під зябрової кришки (рис. 10.10).



10.10. Місця взяття луски у коропових (а) і окуневих (б) риб та отолітів у тріски (в), камбали (г) і лосося (д).

2. Промити отоліти в розчині аміаку і у гарячій воді. Скласти зібрані отоліти у лускову книжку, оформити запис даних.

3. На крупних екземплярах риб акуратно вирізати промені плавців, у дрібних риб – цілі плавці.

4. Скласти промені і плавці риб у лускову книжку.

5. Зробити написи та приготувати етикетки лускової книжки з препаратами.

Титульна сторінка лускової книжки містить номер, назву риби, дату, місце збирання, номер станції, знаряддя лову. Відомості щодо кожної окремої риби, яку досліджують, заносять до лускової книжки, а саме: номер риби, зоологічна (велика) та неповна або стандартна (мала) довжина, маса тіла, стать, стадія статевої зрілості, жирність і наповнення шлунково-кишкового тракту. Такі ж відомості записують і на етикетку.

Методи для визначення плодючості та живлення риб

Матеріали для визначення цих показників відбирають одночасно із взяттям проб для встановлення віку і росту. Нумери проб для визначення віку, живлення і плодючості повинні збігатися, як і усі інші дані записів та етикеток.

Проте кількість взятих проб, особливо по вивченню живлення, буде значно меншою, через що номери можуть набиратись з пропусками. Після вимірювання і взяття луски (чи іншого структурного елемента визначення віку) рибу розтинають для визначення статі, відбору проб для встановлення плодючості і живлення.

Послідовність відбору ікри риб:

1. Добути яєчник (сім'яник) із розітнутої риби, видалити з нього жир.

2. Зважити яєчники самок і сім'яники самців риб. Яєчники і сім'яники масою більше 1000 г зважують з точністю до 1 г, 500–1000 г – до 0,5 г, менше 500 г – до 0,1 г.

3. Взяття наважки для підрахунку ікри риб. Масу наважки, яку беруть із середини гонади, залежить від розміру ікри. При діаметрі ікри 0,4–0,7 мм (мінюк) наважка становить 0,25–0,50 г, при діаметрі 1–2 мм (ляш, окунь) – 0,5–1,0 г (500–700 ікринок в наважці), при діаметрі близько 5 мм (лососі) – 10–20 г (50–200 ікринок у наважці).

4. Наважку у порційно-нерестуючих риб (тюлька, верховодка) беруть з кожної порції. При діаметрі ікри 1 мм наважка з першої порції становить 0,5–1,0 г, з другої (маса яєчників зменшується) – наважку зменшують до 0,3–0,5 г.

5. Яєчники і сім'яники риб слід зважувати з точністю до 0,1 г. Наважку з яєчників зважують з точністю до 0,001 г, у великих риб – з точністю до 0,005 г.

6. Наважку етикетують з відповідними записами, загортають у марлю і поміщають в ізотонічний розчин 4%-ного формаліну (100 мл формальдегіду, 900 мл води і 7 г NaCl).

Послідовність відбору шлунково-кишкових трактів риб:

1. Акуратно виїняти з риби шлунково-кишковий тракт, не допускаючи розткання його вмісту, і очистити від жиру.

2. Загорнути його в марлю, поклавши етикетку, на якій слід записати назву риби, місце і дату лову, зняряддя лову і номер риби в лусковій книжці.

3. Помістити запаковану пробу в посудину з розчином 2–4%-ного формаліну для зберігання.

При зборі матеріалів для визначення живлення риб необхідно виконувати такі рекомендації:

- проби по живленню методично правильно відбирати активними зняряддями лову;
- для точної характеристики живлення відбір проб слід здійснювати в різних ділянках водних об'єктів, різні сезони року та час доби;
- молодь риб невеликих розмірів фіксують у формаліні цілком (без розтину).
- живлення хижих риб слід досліджувати зразу після розтину в польових умовах. У разі неможливості швидкого визначення компонентів їжі вміст шлунка фіксують.

Шкала визначення зрілості статевих продуктів риб.

Для визначення стадії зрілості статевих продуктів краще користуватись універсальною шкалою Г. В. Нікольського [24], яка є зручною за польових умов.

I стадія. Ювенальна. Молоді, статевонезрілі особини.

II стадія. Підготовки (або спокою). Статеві залози дуже дрібного розміру, ікра простим оком майже непомітна.

III стадія. Дозрівання. Ікра помітна простим оком, спостерігається надзвичайно швидко збільшення маси статевих залоз, молочко із прозорого стає блідо-рожевим.

IV стадія. Зрілість. Ікра і молоки дозрівають, статеві залози досягають максимальної маси, але при легкому надавлюванні статеві продукти ще не витікають.

V стадія. Розмноження (текучість). Статеві продукти витікають навіть при легкому дотику до черевця, маса гонад від початку ікрометання до його закінчення зменшується.

VI стадія. Вибій. Статеві продукти витекли, і статевий отвір припухлий (червонуватого кольору). Статеві залози у вигляді порожніх мішків, у самок звичайно з поодинокими залишковими ікринками, у самців із залишками сперми.

Шкала визначення жирності риб.

Жирність риби встановлюють за кількістю ожирків на кишечнику і оцінюють візуально в балах.

Шкала М. Л. Прозоровської [16] для оцінки жирності, бали:

- 0 – жиру на кишечнику немає. Іноді кишечник вкритий тонкою білою сполучною плівкою. Між петлями кишечника видно нитковидні утворення цієї плівки;
- 1 – тонка шнуровидна смужка жиру розташована між другим і третім відділами кишечника. Іноді верхній край другого відділу облямовує дуже вузька переривчаста смужка жиру;
- 2 – неширока смужка досить щільного жиру між другим і третім відділами кишечника. По верхньому краю другого відділу розташована вузька безперервна смужка жиру. По нижньому краю третього відділу де-не-де видно окремі невеликі ділянки жиру;
- 3 – широка смужка жиру посередині між другим і третім відділами кишечника, яка у петлі між ними розширюється. Верхній край другого відділу і нижній край третього оточують широкі жирові смужки. У першому вигині кишечника, якщо рахувати від головного кінця, є жировий виріст у вигляді трикутника. Анальний кінець кишечника здебільшого залитий тонким шаром жиру;
- 4 – кишечник майже цілком вкритий жиром, за винятком маленьких просвітів, де видно кишку. Ці просвіти звичайно бувають на другій петлі і на третьому відділі кишечника. Іноді їх можна зустріти і на другому відділі. Жирові вирости на обох петлях міцні;
- 5 – весь кишечник залитий товстим шаром жиру, без жирових просвітів. Міцні жирові вирости на обох петлях.

Шкала визначення ступеня наповнення шлунка та кишечника.

Ступінь наповнення шлунково-кишкового тракту оцінюють візуально у балах. Розроблено кілька шкал для визначення ступеня наповнення шлунково-кишкового тракту риб.

Шкала М. В. Лебедева [8], бали:

- 0 – пусто;
- 1 – поодинокі;
- 2 – невелике наповнення;
- 3 – середнє наповнення;
- 4 – багато, повний шлунок або відділ кишечника;
- 5 – велика кількість, розтягнутий шлунок або кишечник.

Шкала визначення перетравлення їжі рибами.

Ступінь перетравлення їжі в різних відділах шлунково-кишкового тракту риб визначають візуально.

Шкала К. Р. Фортунатової [4], бали:

- 1 – кормові організми добре збереглися, без будь-яких ознак порушення;
- 2 – кормові організми трішки перетравлені, визначення видів та їх підрахунок не викликають труднощів;
- 3 – кормові організми напівперетравлені, визначення і підрахунок по окремих частинах тіла можливі;
- 4 – кормові організми дуже перетравлені, але визначення і підрахунок по окремих частинах тіла (кістки, очі, кінцівки, панцер, частини ротового отвору, отоліти тощо) можливі;
- 5 – кормові організми зовсім перетравлені, мають вигляд гомогенної маси. Визначення і підрахунок видів неможливі.

10.5.2. Дослідження риб у лабораторних умовах

Методи морфометричного аналізу риб

Повний морфометричний аналіз передбачає вимірювання великої кількості пластичних і меристичних ознак, запис про які оформляють у вигляді протоколу.

Пластичні ознаки – це ознаки, які змінюються у риб з віком і під впливом зовнішнього середовища. Ці ознаки встановлюють шляхом вимірювання (довжини тіла, голови, висоти тіла, маси і т. ін.).

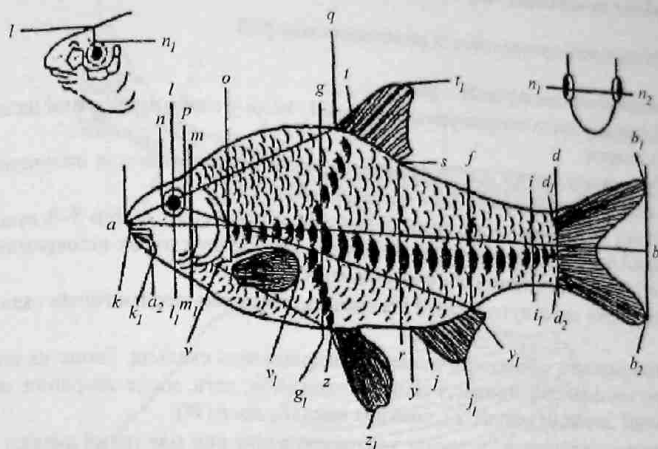
Меристичні ознаки – це видоспецифічні сталі ознаки, характерні для окремих видів і популяцій риб. Їх встановлюють шляхом підрахунку (кількості хребців, променів, пілоричних придатків, лусок у бічній лінії тощо).

Методики та схеми вимірювання риб достатньо повно висвітлені в методичній літературі [12]. Для прикладу наведено схему вимірювання коропових риб (рис. 10.11).

Важливою складовою морфометричного аналізу риб є математична обробка його результатів. Середню арифметичну (M) визначають діленням суми значень варіант (x_i) на їх кількість (n): $M = x_i / n$.

Окрім середньої арифметичної (M) обчислюють середнє квадратичне відхилення (σ), середню похибку вимірів ($\pm m$) та коефіцієнт відмінностей Майра (CD).

Для порівняння мінливості різних ознак обчислюють відносний показник варіації або коефіцієнт варіації (CV): $CV = \sigma / M \cdot 100\%$.



10.11. Схема вимірювань коропових риб (Cyprinidae): Ab – довжина всієї риби (L); ad – довжина без хвостового плавця, стандартна (l); od – довжина тулуба ($lcor$); an – довжина рила (lr); np – діаметр ока (do); po – позаочна відстань (po); ln_1 – висота лоба (ho); ln_2 – ширина лоба (io); aa_2 – довжина верхньої щелепи (mx); kk_1 – довжина нижньої щелепи (mn); ao – довжина голови (lc); mm_1 – висота голови біля потилиці (hc); ll_1 – висота голови через середину ока (hc_1); gg_1 – найбільша висота тіла (H); ii_1 – найменша висота тіла (h); aq – антедорсальна відстань (aD); zd – постдорсальна відстань (pD); fd – довжина хвостового стебла (pl); av – антепектральна відстань (aP); az – антевентральна відстань (aV); ay – антеанальна відстань (aA); qs – довжина основи спинного плавця (ID); tt_1 – найбільша висота спинного плавця (hD); yy_1 – довжина основи анального плавця (IA); jj_1 – найбільша висота анального плавця (hA); vv_1 – довжина грудного плавця (IP); zz_1 – довжина черевного плавця (IV); vz – пектровентральна відстань (PV); zu – вентроанальна відстань (VA); d_1b_1 – довжина верхньої лопаті хвостового плавця (IC_1); d_2b_2 – довжина нижньої лопаті хвостового плавця (IC_2).

Реальність відмінностей морфометричних показників риб з різних виборок визначають за t -критерієм Стьюдента: $t = (M_1 - M_2) / \sqrt{(m_1 + m_2)}$, де M_1, M_2 – середня арифметична і m_1, m_2 – середня похибка двох виборок.

Методи визначення віку та росту риб

Виготовлення препаратів для визначення віку риб

Виготовлення препаратів з луски:

1. Відібрану луску витримують протягом 1–10 хв у слабкому розчині нашатирного спирту.

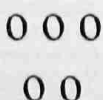
2. Протирають луску між пальцями або м'якою ганчіркою для вилучення слизу і плівки епідермісу.

3. Огляд лусок при невеликому збільшенні мікроскопа і відбір 5–8 лусок правильної форми з незруйнованими краями. З відібраних лусок відокремлюють 3–4 з найбільш чіткими річними кільцями.

4. Не даючи висохнути лусці, її поміщають між двома предметними скельцями.

5. Оформляють на препарат етикетку і закріплюють скельця. Запис на етикетці має містити такі відомості: назва і номер риби, дата, місце збирання, номер станції, довжина велика (L), довжина мала (l), маса (W).

6. Зразок оформлення препарату з визначення віку риб має такий вигляд:

	Плітка, № 16, 16.07.05., Київське водосховище, ст. 18, $L - 19,6$; $l - 16,7$; $W - 0,700$.
---	---

7. До препарату прилаштовують загальний номер за журналом реєстрації і зберігають його у коробці.

Виготовлення препаратів з отолітів:

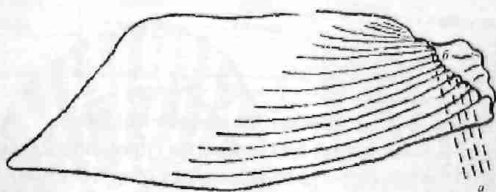
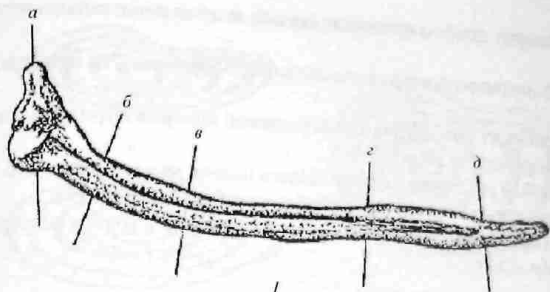
1. Приклеюють цілий отоліт на предметне скло канадським або смерековим бальзамом.

2. Шліфують отоліт на дрібнозернистому точильному камені, притримуючи його м'якою пробкою. Можна попередньо помістити отоліт у краплю розтопленої каніфолі і після того, як вона застигне, розпочати шліфування.

3. Приклеюють шліф отоліта на предметне скло.

4. Шліф отоліта накривають покривним скельцем, на препарат оформляють етикетку.

5. До препарату прилаштовують порядковий номер за журналом реєстрації і зберігають у коробці.



2

10.12. Розпили променів і плавців риб: 1 – правильне визначення віку дають розпили по лініях а, б, в, неправильне – по лініях г, д; 2 – правильний напрям розпилу плавця а, б.

Виготовлення препаратів з променів плавців:

1. Розпилюють промінь плавця, розташовуючи пилку ближче до зчленованої голівки променя (рис. 10.12).
2. Відшліфовують поверхню розпилу, розташовуючи промінь перпендикулярно до поверхні шліфувального каменя.
3. Закріплюють виготовлений шліф променя в кубуку з пластиліну, встроївши в нього вістря променя.
4. Заготовляють ще один екземпляр розпилу променя і після шліфування приклеюють його відшліфованою поверхнею до предметного скла за допомогою розтопленої каніфолі.
5. Після застигання каніфолі обломлюють промінь біля неї.
6. Відшліфовують другу поверхню променя.

7. Наклеюють шліф на предметне скельце за допомогою канадського бальзаму.
8. Шліф накривають покривним скельцем, оформляють на препарат етикетку.
9. До препарату прилаштовують порядковий номер за журналом реєстрації і кладуть у коробку для зберігання.
10. У дрібної риби роблять розріз цілого плавця двома паралельно встановленими пилюками по металу і оформляють у препарат (рис. 10.12).
11. Дані про усі виготовлені препарати заносять до журналу реєстрації препаратів (табл. 10.1).

10.1. Журнал реєстрації препаратів

Номер препарату	Вид риби	Номер риби	Дата вилову	Назва препарату	Хто готував препарат

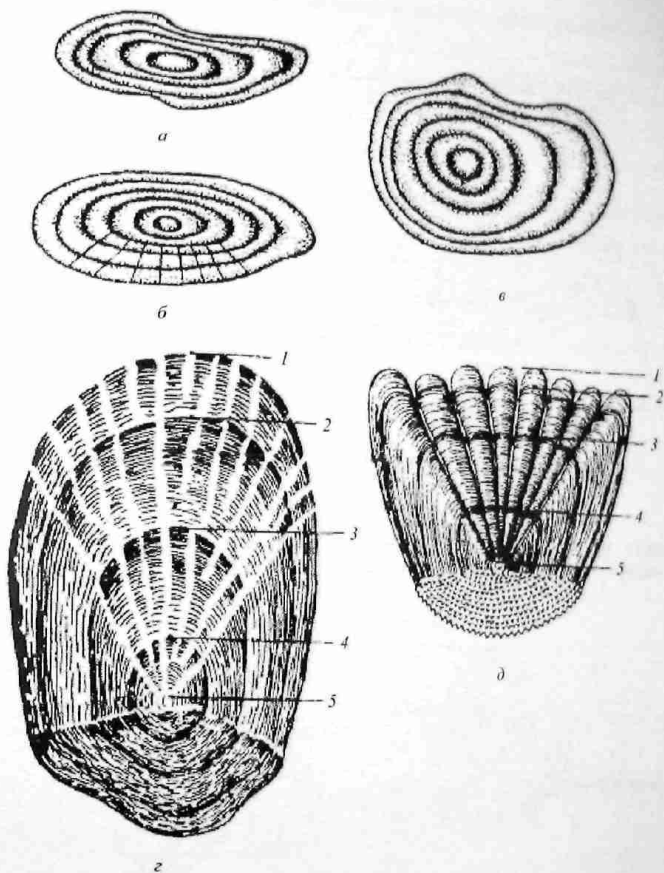
Визначення віку риб по лусці, отолітах і променях плавців:

1. Користуючись схемами будови луски, отолітів і променів плавців, вивчають будову цих реєструючих структур на препаратах (рис. 10.13–10.15).
2. Навчаються на готових препаратах (на яких вже визначений вік риб) розрізняти річні і додаткові кільця.
3. За допомогою барвників і освітлюючих рідин поліпшують видимість річних позначок на лусці, отолітах, променях плавців.
4. Визначають вік риб по лусці, отолітах і променях плавців [1]: візуально, під бінокулярним мікроскопом, за допомогою діапроектора. Одержані дані записують в таблицю (табл. 10.2).
5. Для уточнення правильності визначення віку риб підраховують кількість склеритів у кожній річній зоні луски (табл. 10.3).
6. Підрахунок склеритів проводять на кількох лусках однієї й тієї ж риби для порівняння одержаних результатів [2, 3, 13].
7. Визначені вікові групи риб позначають залежно від сезону року, як показано в таблиці 10.4.

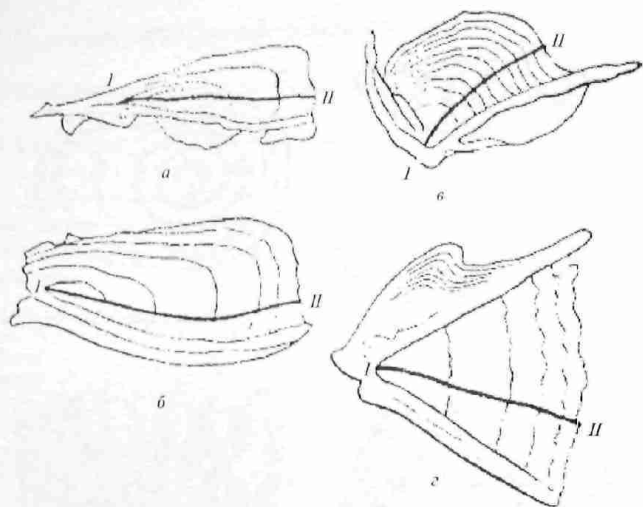
Послідовність визначення показників росту риб.

Ріст риб. Ріст риб – це збільшення їх маси і лінійних розмірів тіла. Розрізняють лінійний ріст (Lr) та ріст маси (ваговий) (Pr).

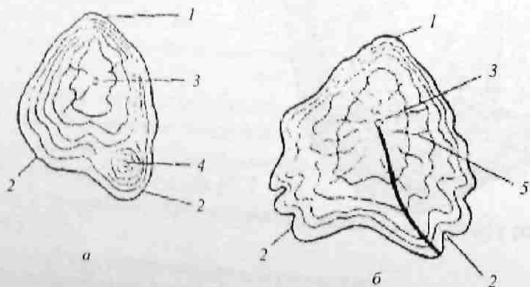
Абсолютний приріст довжини (Rl) та маси (Rp) тіла риб – це різниця між кінцевою і початковою довжиною (масою) протягом сезону (періоду спостережень): $Rl = l_n - l_{n-1}$; $Rp = P_n - P_{n-1}$.



10.13. Відшліфовані злами отолітів 5-річного минька (а), 6-річної тріски (б), 6-річної камбали (в) і кісткова луска циклоїдна (г) у коропових і ктеноїдна (д) у окуневих риб: 1 – вершина луски; 2, 3, 4, – межі річних кілець; 5 – центр луски.



10.14. Деякі реструкуючі елементи для визначення віку риб: клейтруми плітки (а), ляша (б) і осетра (в), зяброва кришка окуня (г); I-II – лінія вимірювання.



10.15. Стіл маргінального променя грудного плавця севрюги (а) і осетра (б): 1 – верхня частина, 2 – бокова лопать, 3 – центр променя, 4 – додатковий центр, 5 – радіальні ривчачки.

10.2. Результати визначення віку риб і вимірювань річних позначок на різних реєструючих структурах

№ п/п	Реєструюча структура	Вид риби	Вік	Вікова група	Спосіб визначення	Розмір річних кілець			
						1	2	3	4

10.3. Результати підрахунку склеритів у річних кільцях різних лусок однієї й тієї ж риби

№ п/п	Вид риби	Номер луски	Кількість склеритів у річних кільцях												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		

10.4. Схема позначення вікових груп риб

Вікові групи	Кількість річних кілець	Позначення вікових груп	
		Весна	Осінь
Личинка, мальок	Немає	0	–
Цьоголіток	Немає	–	0+
Однорічка	Одне	1	–
Дволітка	Одне	–	1+
Дворічка	Два	2	–
Трилітка	Два	–	2+
Трирічка	Три	3	–

Відносний приріст довжини (Cl) і маси (Cp) тіла риб – це відношення річного приросту довжини (маси) тіла до загальної довжини (маси):

$$Cl = \frac{Rl}{l}; Cp = \frac{Rp}{p}$$

Характеристика росту риб – це відносний приріст довжини (маси) тіла риб виражений у відсотках:

$$Clr = Cl \cdot 100\% = \frac{Rl}{l} \cdot 100\%; Cpr = Cp \cdot 100 = \frac{Rp}{p} \cdot 100\%$$

Темп росту довжини (Wl) та маси (Rp) тіла риби – це ріст довжини (маси) тіла за певний проміжок часу (добу, місяць, рік):

$$Wl = \frac{Rl}{t(j,m,a)}; Rp = \frac{Rp}{t(j,m,a)}$$

де j – доба; m – місяць; a – рік.

Методи визначення плодючості риби

Підрахунок ікринок. Ікрички роздівають іррентувальними голками і підраховують у чашці Петрі з темним дном або на спеціальному столику з канавками. Кількість ікринок у наважці записують, а у 20 шт. вимірюють діаметр. Для визначення сирої маси ікри 100 ікринок підсушують і зважують на торсійними терезах з точністю до 0,0005 г. Для порційно-перестуючих риби від першої (основної) наважки відділяють її частину (наважку), а потім з неї беруть 1/2–1/5 частину для вимірів.

Під бінокулярним мікроскопом (МБС-10) за допомогою окуляр-мікрометра вимірюють діаметр 200 ікринок, інші підраховують, але не більше ніж 500–1000 шт. Ікру, що залишилась після підрахунку 1000 шт., підсушують, зважують і підраховують ваговим методом (за середньою масою ікринок).

Після підрахунку кількості ікринок у наважці визначають загальну кількість ікринок у тонадах, або *індивідуальну абсолютну плодючість (LAP)*:

$$LAP = \frac{\text{кількість ікринок в наважці}_2, \text{ шт.} \cdot \text{наважка}_2, \text{ г}}{\text{наважка}_2, \text{ г} \cdot \text{наважка}_1, \text{ г}} \cdot \text{маса тонад, г.}$$

Індивідуальна абсолютна плодючість (LAP) – кількість ікринок, підготовлених до відкладання однією самкою риби.

Абсолютна плодючість (AP) – середня кількість ікринок у самок риби певної групи (розмірної, вікової тощо) за перестовий сезон.

Відносна плодючість (BP) – середня кількість ікринок, яка припадає на одиницю маси (довжини) тіла самки риби.

Робоча, або фізіологічна, плодючість (PP) – кількість ікринок, дійсно відкладених самкою за перестовий сезон (в рибистві її вимірюють кількістю ікри в 1 г або 1 см³ наважки для конкретної самки). Всі інші показники плодючості (видова, популяційна тощо) є похідними від абсолютної.

Два показники плодючості є досить інформативними для характеристики ефективності відтворення популяції риби. Це відтворювальна здатність риби та показник популяційної плодючості.

Відтворювальна здатність (BZ) риби характеризується залежністю між масою самок та їх плодючістю: $BZ = a + b \cdot Q$; де, BZ – кількість ікринок, тис. шт.;

Q – загальна маса риб, г; a і b – параметри, які розраховують методом найменших квадратів, маючи достатню кількість дат відбору [АП (не менше 10–20 на вікову групу нерестової популяції)].

Популяційна плодючість (ПП) за В. С. Івлевим [18] відображає відтворювальну здатність стада риб. Популяційну плодючість за В. Д. Спановською і В. А. Григораш [27] обчислюють за такою формулою: $ПП = \sum_{t', t''} f \cdot АП / 100$ (тис. ікринок); де, t' , t'' – вікові групи в нерестовій популяції; f – питома вага самок в кожній віковій групі, у % (від загальної кількості особин в популяції); $АП$ – середнє число ікринок у самок кожної вікової групи, тис. ікринок.

Методи визначення живлення риб

Живлення риб у лабораторних умовах вивчають у такій послідовності:

1. Для видалення їжі з кишечника (шлунка) риб його розрізають і за допомогою препарувальних голочок відділяють вміст, який називається харчовою грудкою.

2. Харчову грудку обсушують фільтрувальним папером до зникнення слідів вологи і зважують на аптекарських чи торсійних терезах. Дані про масу грудки заносять до картки обробки матеріалу.

3. Встановлюють, по можливості, видову належність організмів у харчовій грудці. Для цього її переносять на підрахункову пластинку, де визначають окремі види кормових організмів і підраховують їх кількість. За допомогою окуляр-мікрометра їх вимірюють для реконструкції та встановлення маси тіла. При значному перетравленні їжі підрахунки проводять за фрагментами. Дані також заносять до картки.

4. Підраховують частоту зустрічання кормових організмів риб, кількість екземплярів, об'єм та масу харчових компонентів.

Частота зустрічання кормового організму – це відношення кількості шлунково-кишкових трактів риб, у яких знайдено кормовий організм, до загальної кількості в усіх досліджених особин, %.

Кількісне визначення – підрахунок кількості окремих кормових організмів і встановлення їх питомої ваги у харчовій грудці риб, %.

Об'ємне визначення – візуальний підрахунок і відношення маси кожного компонента їжі риб до маси всієї харчової грудки, % [16].

Вагове визначення – встановлення загальної маси харчової грудки шляхом зважування, а маси окремих кормових організмів – за її реконструюванням. Відновлену масу усіх харчових компонентів сумують, і по відношенню до сумарної маси вираховують питоме значення кожного компонента, %. При цьому

маса відновлена (реконструйована) завжди більша ніж фактична (з урахуванням, що частина їжі перетравлена).

5. Встановлюють загальний і спеціальний індекси наповнення шлунково-кишкових трактів і споживання їжі рибами.

Загальний індекс наповнення (Ін.з.) – відношення маси вмісту усієї харчової грудки до маси риби збільшене у 10 000 разів і виражене у промілі (‰):

$$Ін.з. = P_{х.з.}(мг) / P_{риби}(мг) \cdot 10\ 000 (‰).$$

Спеціальний індекс наповнення (Ін.с.) – відношення маси окремого компонента в харчовій грудці до маси риби, виражене в промілі.

Індекс споживання їжі (загальний і спеціальний) – відношення маси компонентів їжі у харчовій грудці до швидкості перетравлювання маси їжі з урахуванням інтервалів у живленні риб. Використовується при розрахунках раціонів.

Раціон риби (R) – кількість їжі, яку з'їдає риба за одиницю часу (добу, місяць, рік): $R = A \cdot (24 - T) / n$; де, T – час, протягом якого риба не живиться, год.; A – середньодобове наповнення шлунково-кишкового тракту, % від маси тіла; n – тривалість перетравлювання їжі, год. Раціон вимірюється у відсотках від сирової маси тіла риби [4].

Для риб з одним періодом рівномірного живлення протягом доби раціон визначають за формулою: $R = (I_{max} - I_{min}) / t \cdot 24$; де, R – величина добового раціону, %; I_{max} та I_{min} – максимальний і мінімальний індекс споживання або наповнення.

Раціон розраховують за балансовим рівнянням Г.П. Вінберга та В.С. Івлева [4, 5], якщо відомі приріст риби за певний проміжок часу і трати на обмін: $R = 1,25 (P + T)$, де R – величина раціону, %; P – приріст риби за добу, % (відносний приріст); T – трати на обмін, %. Ці розрахунки здійснюють лише для статевозрілих риб з одночасним нерестом.

Приріст риби складається із суми приросту всієї маси тіла без гонад і маси всієї відкладеної ікри. Масу ікри визначають експериментально або множенням абсолютної плодючості на середню масу однієї ікринки.

Окрім вказаних основних індексів і характеристик живлення, є ряд показників які характеризують харчові взаємини риб: індекс вибору їжі, ступінь харчової схожості їжі, гострота конкуренції тощо.

Методи визначення окремих біологічних показників риб

1. Коефіцієнт вгодованості риб:

K_{ϕ} (за Фултоном) = $P \cdot 100 / l^3$, де P – загальна маса, г; l – довжина риби, см.

K_k (по Кларк) = $(P - p) \cdot 100 / l^3$, де P – маса нутрощів риби, г;

K_n (по Сальнікову, Кравченко) = $P \cdot 100 / l \cdot H \cdot O$, де H – найбільша висота тіла, см; O – обхват риби, см [26].

2. Коефіцієнт жирності риби:

$K_{жс} = \frac{a \cdot 100}{P}$, де a – маса жиру на внутрішніх органах, г; P – загальна маса тіла

риби, г.

3. Індекс печінки риби – печіночно-соматичний індекс (ПСІ):

$ПСІ = \frac{P_n \cdot 100}{P}$, де P_n – маса печінки риби, г; P – загальна маса риби, г.

4. Індекс зрілості – гонадо-соматичний індекс (ГСІ):

$ГСІ = (P_z \cdot 100) / P$, де P_z – маса гонад самок і самців риби; P – загальна маса риби, г.

5. Індекс висоти тіла риби (ІВТ):

$ІВТ = \frac{l}{H}$, де l – довжина тіла риби, см; H – висота тіла риби, см.

6. Індекс відносної товщини тіла риби (ІТТ):

$ІТТ = \frac{m}{l} \cdot 100\%$, де m – найбільша товщина тіла риби, см; l – довжина тіла риби, см.

7. Індекс великоголовості риби (ІВ):

$ІВ = \frac{C}{l} \cdot 100\%$, де C – довжина голови риби, см; l – довжина тіла риби, см.

8. Індекс компактності риби (ІК):

$ІК = \frac{O}{l} \cdot 100\%$, де O – обхват тіла риби, см; l – довжина тіла риби, см.

9. Індекс м'ясистості риби (ІМ):

$ІМ = \frac{l}{P}$, де l – довжина тіла риби, см; P – маса тіла риби, г.

10. Середній індекс смертності риби (ІС):

$Rd (ІС) = \frac{m}{N}$, де m – кількість особин риби, які загинули за певний період на певній акваторії і N – умовна кількість особин у популяції (100 або 1000).

11. Коефіцієнт масонакопичення риби:

$K_M = \frac{3(M_k^{1/3} - M_0^{1/3})}{t}$, де M_k – кінцева маса риби, г; M_0 – початкова маса риби, г; t – період спостережень (доба).

Література

1. Брюзгин В. Л. Методы изучения роста рыб по чешуе, костям и отолитам. – К.: Наукова думка, 1969. – 187 с.
2. Ваганов Е. А. Склеритограммы как метод анализа сезонного роста рыб. – Новосибирск: Наука, 1978. – 137 с.
3. Визначення віку рыб по лусці, кістках, отолітах та променях плавців. Методичні вказівки для проведення лабораторних занять по вивченню віку рыб для студентів спеціальності 31.16 «Водні біоресурси і аквакультура» (іхтіологія та рибицтво) / Ю. В. Пилипенко, Б. І. Правоторов. – Херсон: ХСПУ, 1996. – 14 с.
4. Григорян В. А., Спановская В. Д. Изучение питания и пищевых отношений вида // Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах их ареалов. – Вильнюс: Мокслас, 1976. – Ч. 2. – С. 93–103.
5. Дюка Л. А., Сизикова В. И. Руководство по изучению питания личинок и мальков морских рыб в естественных и экспериментальных условиях. – Киев: Наукова думка, 1976. – 135 с.
6. Жуков П. И. Справочник по ихтиологии, рыбному хозяйству и рыболовству в водоемах Беларуси: В 2-х т. – Минск: ОАО «Тонпик», 2004. – Т. 2. – 168 с.
7. Захаренко М. О., Андрюченко А. І., Алимов С. І. та ін. Українсько-російський словник-довідник із прісноводної аквакультури та екології водного середовища (основні терміни та поняття). – К.: Арістей, 2005. – 684 с.
8. Инструкция по сбору и обработке материала для исследования питания рыб в естественных условиях. – М.: ВНИРО, 1971. – Ч. 1–2.
9. Инструкция по сбору и первичной обработке ихтиологических материалов. – М.; Л.: Издспроиздат, 1938. – 40 с.
10. Кублицкас А. К. Методика изучения жировых запасов, мясисности и весовых соотношений частей тела рыб // Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах их ареалов. – Вильнюс: Мокслас, 1976. – Ч. 2. – С. 104–109.
11. Лягина Т. Н., Спановская В. Д. Изучение сезонной динамики биологических показателей половозрелых рыб // Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах ареалов. – Там же. – С. 76–81.
12. Методичні вказівки до вивчення іхтіології (розділ «Морфометричний аналіз рыб») для студентів біологічного факультету / В. Р. Алексієнко, А. В. Подобайло. – К.: Вид-во Київ. ун-ту, 1998. – 37 с.
13. Методичні вказівки до вивчення курсу «Іхтіологія» (розділ «Визначення віку рыб. Обернені обчислення росту рыб») для студентів біологічного факультету / Н. К. Соломонова. – К.: Вид-во Київ. ун-ту, 1992. – 43 с.
14. Методичні поради до вивчення іхтіології (розділ «Молодь рыб дніпровських водосховищ: видовий склад і розподіл») для студентів біологічного факультету. – К.: Вид-во Київ. ун-ту, 1993. – 42 с.

15. *Методическое пособие по изучению питания и пищевых отношений рыб в естественных условиях.* – М.: Наука, 1974. – 253 с.
16. *Методические указания по ихтиологии (кормовые организмы и питание молоди рыб) для студентов биологического факультета / М.Ф. Поливанная, Н.К. Соколомова.* – К.: Изд-во Киев. ун-та, 1984. – 34 с.
17. *Методические указания по сбору и обработке ихтиологического материала в малых озёрах / А.С. Печников, И. И. Терешенков.* – Л.: Промрыбвод, 1986. – 65 с.
18. *Методические указания по сбору материалов для определения удельной продукции икры / Ф.Е. Алексеев, Е. И. Алексеева.* – Калининград: Атлантиро, 1988. – 12 с.
19. *Мина М. В.* Рост рыбы (методы исследования в природных популяциях) // *Рост животных.* – М.: 1973. – Т.4. – С. 66–116.
20. *Наумов В. М., Мусатов А. П.* Методы сбора и обработки ихтиологических проб. Обзор. информ. Сер. I: Рыбохозяйственное использование ресурсов Мирового океана. – М.: ЦНИТЭИРХ, 1976. – Вып. 1. – 48 с.
21. *Плохинский Н. А.* Достаточная численность выборки // *Биометрический анализ в биологии.* – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1982. – С. 152–157.
22. *Плохинский Н. А., Маркелова И. О.* Определение достоверности расхождения двух эмпирических распределений // *Методы современной биометрии.* – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1978. – С. 188–193.
23. *Правдин И. Ф.* Руководство по изучению рыб. – М.; Л.: Гос. изд-во с.-х. и колхоз.-коопер. лит., 1931. – 135 с.
24. *Правдин И. Ф.* Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). – М.: Пищ. пром-сть, 1966. – 376 с.
25. *Руденко П. П.* Методика определения численности рыб, ихтиомассы и рыбопродукции в малых озёрах, обработанных ихтиоцидом // *Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах ареалов.* – Вильнюс: Мокслас, 1976. – Ч. 2. – С. 15–24.
26. *Сальников Н. Е., Кравченко.* К методике определения упитанности рыб. – М.: Рыб. хоз-во, 1978. – № 6. – С. 16–18.
27. *Спановская В. Д., Григораш В. А.* К методике определения плодовитости одновременно и порционно икротечущих рыб // *Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах ареалов.* – Вильнюс: Мокслас, 1976. – Ч. 2. – С. 54–62.
28. *Чугунова Н. И.* Руководство по изучению возраста и роста рыб. – М.: Изд-во АН СССР, 1959. – 164 с.
29. *Шапошникова Г. Х.* Изучение ихтиофауны водоемов. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1950. – 28 с.
30. *Шерман I. М., Пилипенко Ю. Б.* Ихтиологичний російсько-український тлумачний словник. – К.: ВД «Альтернативи», 1999. – 272 с.

Розділ II. Методи визначення характеристик основних абіотичних компонентів водних екосистем

Підрозділ I. Водні маси

II. Гідрологічні та гідрофізичні характеристики

II.1. Вимірювання рівнів води у водних об'єктах

Рівень води – одна з основних характеристик водного режиму поверхневих водних об'єктів різного типу: річок, водосховищ, ставків, лиманів, каналів, озер. Дані про рівні води на річках дозволяють обчислити одну з найважливіших характеристик стоку – витрату води. Між рівнем і витратами води тут існує здебільшого пряма залежність, яка дає змогу за даними щоденних рівнів обчислювати щоденні витрати води незалежно від того, що останні фактично не вимірювалися [1–3].

Крім зазначеної причини, на висоту рівнів води можуть впливати такі чинники, як деформація русла, заростання русла, льодові явища, згони і нагони води та наявність гідротехнічних споруд (гребель, насосних станцій тощо). Вплив цих чинників на зміну висоти рівнів води є складним і несталим. Тому для повної характеристики режиму рівнів води у водних об'єктах потрібно мати результати безперервних спостережень за тривалий період. За даними багатолітніх і безперервних спостережень можна встановити загальний характер зміни рівнів води у досліджуваному водному об'єкті біля певного пункту спостережень, а також характерні їх значення: амплітуду коливання рівнів, повторюваність і тривалість стояння рівнів певної висоти, найвищі і найнижчі рівні на протязі року, а також в окремі характерні періоди року. Всі ці параметри режиму рівнів мають важливе екологічне значення, особливо у вегетаційний період.

Водомірні пости

Водомірним постом (водпостом) називається пункт спостереження із спеціальним устаткуванням для систематичного вимірювання висоти рівня води. Кожний водпост має певне устаткування для вимірювання висоти рівня та

постійні знаки – *репери*, за допомогою яких перевіряється незмінність висотно-положення устаткування водпоста.

Водомірні пости бувають постійні і тимчасові. Постійні водомірні пости влаштовують для вивчення режиму водного об'єкта протягом тривалого часу. Це основні водомірні пости державної мережі.

Тимчасові водомірні пости організують для проведення спеціальних спостережень на відносно короткий термін (сезон, рік, кілька років). До тимчасових належать також пересувні водпости, які відкривають при проведенні певних наукових та інженерно-пошукових досліджень на водному об'єкті лише на період цих досліджень.

За способом побудови водомірні пости поділяють на прості, передаточні і самописні.

Прості водомірні пости у залежності від устаткування поділяють на рейкові, пальові і змішані. Вибір відповідного типу простого водомірного поста залежить від амплітуди коливання рівнів води, будови і крутості берега водного об'єкта, наявності мостів, гідротехнічних споруд та інших місцевих умов.

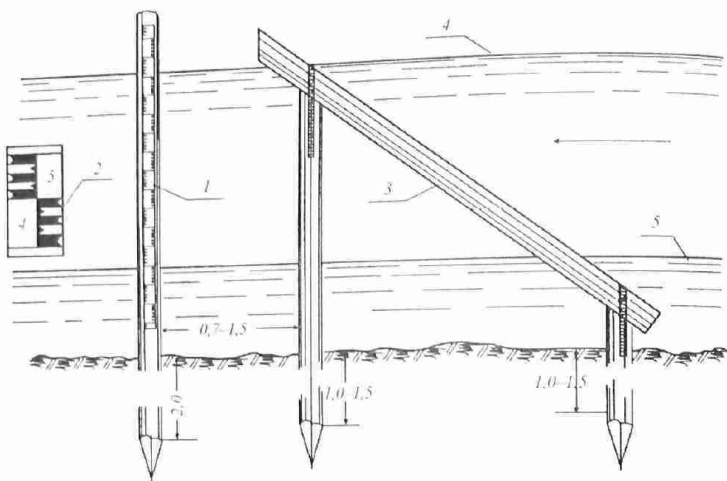
Рейкові водомірні пости складаються з однієї чи кількох рейок, закріплених на березі. За своєю будовою рейкові пости бувають з вертикальної або похилою рейкою.

Водомірний пост з вертикальною рейкою влаштовують на ділянках водних об'єктів з крутими берегами або там, де є споруди – містки, греблі тощо. Рейку встановлюють в такому місці, де вона не була б пошкоджена льодом, плавзасобами чи різними предметами, що плывуть по воді. У залежності від конфігурації берега та амплітуди коливання рівнів води на водомірному посту можуть встановлювати одну чи більше вертикальних рейок (рис. 11.1). Прикріплюють рейки з таким розрахунком, щоб нульова поділка на них була нижчою від можливого найнижчого рівня води приблизно на 0,5 м, а верх рейок – на 0,5 м вищою від можливого найвищого рівня.

Водомірні рейки бувають дерев'яні і металеві. На передній стороні рейок через кожні 2 см фарбою наносять поділки. Через кожний дециметр надписують цифри.

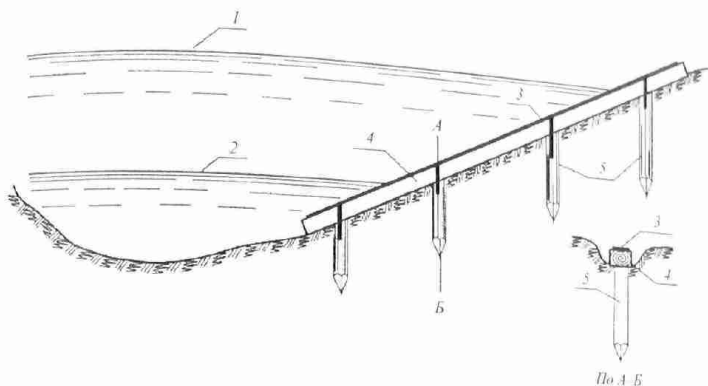
Водомірні пости з похилою рейкою (рис. 11.2) встановлюють на ділянках водних об'єктів, берег яких має ухил в межах 20–60°, не розмивається і не замулюється. Такі водомірні пости краще захищені від пошкоджень, вимірювання рівнів на них більш зручне і точніше, але їх влаштування складніше і дорожче. Через це пости з похилою рейкою встановлюють рідко.

Пальові водомірні пости встановлюють на водних об'єктах з похилими берегами і значною амплітудою коливання рівнів. Пальовий водомірний пост



11.1. Водомірний пост з вертикальною рейкою: 1 – рейка, закріплена на палі; 2 – частина водомірної рейки; 3 – огороження рейки (від пошкодження льодоходом і предметами, що пливають по річці); 4 – рівень високих вод; 5 – рівень низьких вод.

складеться з репера і кількох паль (рис. 11.3). Кількість паль залежить від амплітуди коливання рівнів і крутості берегів. Палі (дерев'яні або металеві) встановлюють так, щоб головка першої палі була на 0,5 м вище від можливого найвишого рівня, а головка останньої палі – на 0,5 м нижче від найнижчого рівня. Проміжні палі встановлюють так, щоб перевищення між їх головками було в межах 0,2–0,8 м. Перевищення 0,2 м беруть для частини берега з помірним ухилом, а 0,8 м – для крутої частини берега. Після того, як палі встановлено, їх нумерують від репера вниз і заміряють відстань між ними. Всі палі поста нівелюються, дістають відмітку і перевищення над нулем графіка поста. Висоту рівнів води на пальному водомірному посту вимірюють переносною водомірною рейкою (дерев'яною або металевією), яку встановлюють на головку найближчої до берега затопленої палі. Поділки на переносних водомірних рейках наносять через 1 см, а цифри – через 10 см.



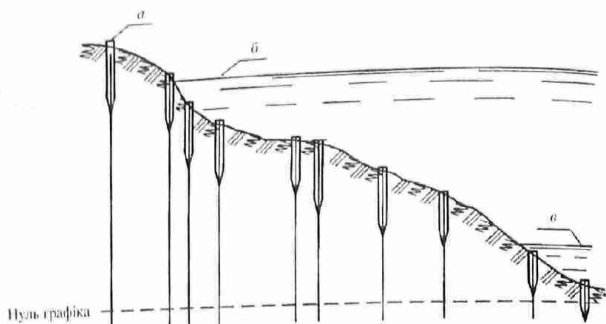
11.2. Водомірний пост з похилою рейкою: 1 – рівні високих вод; 2 – рівні низьких вод; 3 – похила рейка; 4 – брус; 5 – палі.

Змішані водомірні пости являють собою поєднання елементів рейкового і пального постів. Їх встановлюють на водних об'єктах з різними перепадами схилів берега: на крутій частині берега – рейка, а на похилій – палі, або ж навпаки, залежно від місцевих умов у створі водомірного поста.

Після побудови змішаного поста головки паль і нулі рейок за допомогою нівеліра прив'язують до репера і підраховують перевищення над нулем графіка.

Передаючі водомірні пости влаштовують тоді, коли підхід до води утруднений (круті береги чи інші причини). Передаючий водомірний пост влаштовують як на березі, так і на гідротехнічній споруді. До передаючих водомірних постів належать: мостовий пост, пост із стрілою і стрілочний показник рівня Р-52 (рис. 11.4).

Мостовий водомірний пост влаштовують на містку або іншій споруді, розташованій над водою. Для цього збоку на містку (чи споруді) вибирають і закріплюють зарубкою або цвяхом постійну точку (нуль спостережень). Висотне положення цієї точки визначають нівелюванням від репера. Щоб визначити рівень води, досить заміряти відстань від нуля спостережень до поверхні води. Для цього використовують переносну рейку, тонкий розмічений трос або рулетку з гиркою. На мостовому посту високим рівням води відповідатимуть малі відмітки, а низьким – великі. Щоб мати відмітку рівня води, потрібно шоразу величину проведеного відліку відняти від відмітки нуля спостережень.



Номери паль		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Відстань від постійного початку	0,00	10,31	13,92	17,39	30,50	33,62	38,01	42,53	51,81	52,05
Відмітки головок паль	11,32	10,43	9,59	8,78	8,50	8,06	7,38	6,65	5,30	5,00
Перевищення над нулем графіка	5,32	5,43	4,59	3,78	3,50	3,06	2,38	1,65	0,80	0,10

11.3. Пальовий водомірний пост: а – репер; б – рівень високих вод; в – рівень низьких вод.

Передаючий *пост із стрілою* влаштовують на водних об'єктах з крутими берегами за відсутності споруд. Пост являє собою дерев'яну або металеву стрілу, яка горизонтально закріплена на палях, забитих в землю. На стрілі горизонтально закріплюють рейку, нуль якої обернено до водного об'єкта. На кінці стріли пристосовано коліщатко, через яке проходить тонкий трос (або ланцюг) з важком на кінці. Для спуску або підйому троса на березі встановлюють барабан, на який намотується трос. Трос має покажчик, який закріплюють на ньому проти нульової поділки рейки при положенні важка, зануреного у воду на 0,5 м нижче від найнижчого рівня води.

Для вимірювання рівня води важок опускають до поверхні води і в цей момент роблять відлік по рейці проти покажчика. Точність вимірювання рівнів води на передаючих постах із стрілою становить 1–3 см.

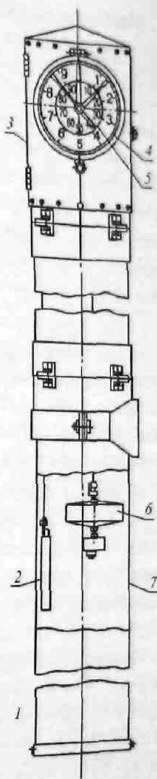
11.4. Стрілочний показчик рівня води (Р-52): 1 – дірчасте дно; 2 – противага; 3 – циліндричний кожух; 4, 5 – шкали; 6 – поплавок; 7 – захисна труба.

Спостереження за рівнем води на водомірних постах проводять зазвичай двічі на добу, і тому не завжди можна зафіксувати крайні значення рівнів, що безперервно змінюються. У зв'язку з цим для вимірювання максимальних і мінімальних величин рівнів води на водомірних постах встановлюють *додаткові спеціальні рейки*.

Рейка Близняка використовується для вимірювання максимальних рівнів води. Вона має вигляд труби, збитої з чотирьох дощок з отворами. На одній стінці труби прикріплена рейка з поділками, нуль якої прив'язаний до нуля графіка водомірного поста. Трубу прикріплюють до палі або до якоїсь споруди. Внутрішню поверхню труби покривають крейдою або вугіллям. Під впливом води така фарба легко змивається на висоту максимального рівня, який міг статися між датами спостережень. Перевищення цього рівня над нулем графіка визначають по рейці з поділками. Після запису висоти максимального рівня внутрішню поверхню труби знову фарбують.

Рейки Фролова застосовують для вимірювання крайніх значень рівнів води між датами спостережень. Їх виготовляють із дубових дощок перерізом 2×10 см завдовжки 2 м. Крім розмітки, рейка з боків має зубці через 1–2 см. Надітий на зубчасту рейку легкий поплавок пересувається за рівнем води лише вгору – на максимальній рейці і вниз – на мінімальній і залишається в такому положенні до приходу спостерігача. Змінити положення поплавку заважають пружини, які спираються на зубці рейки.

Рейки Фролова закріплюють на палі, а нулі їх прив'язують нівелюванням до репера поста. Після запису крайніх значень рівнів поплавки обох рейок слід поставити на висоту рівня в даний момент і залишити в такому положенні до наступного строку спостереження.



Максимальна рейка в металевій трубі на палі має діаметр 5 см, довжину 2 м і отвори в нижній частині. Трубу прикріплюють до палі або якоїсь споруди. В трубу вставляють побілений розведеною у воді крейдою залізний стержень діаметром 10–15 мм з поділками через 1 см. Вода через отвори заходить в трубу і змиває крейду на висоту, яка відповідає максимальному рівню між датами спостережень. Висоту підраховують за поділками на стержні. Нуль на стержні прив'язують нівелюванням до репера поста.

Рейка Проксова відрізняється від попередньої лише тим, що її не прикріплюють до споруди, а загвинчують у землю на глибину 75 см за допомогою гвинтового наконечника. Після встановлення рейки потрібно нівеліром визначити висоту її головки і обчислити відмітку нуля її спостережень.

Рейка (паля) в ковші. На гірських річках з великою швидкістю течії вода набігає на рейку водомірного поста і не дає змоги точно заміряти рівень води. В таких випадках рейку (палю) влаштовують у ковші, які викопують на березі і з'єднують з річкою каналом або трубою. Якщо ковша немає, то хвилю води навколо рейки можна погасити ще простішим способом: ящиком без дна, трубою з отворами внизу тощо.

Водомірна *переносна рейка ГР-23* має поділки через 1 см і цифри через 10 см. Загальна довжина її 1,25 м, а робоча 1 м. В середині рейки встановлена трубка з отворами внизу, які закриваються клапанами. Під час вимірювання рівня рейку ставлять на палю, відкривають клапан, і вода входить у трубку. Коли рівень у трубці встановиться, клапан закривають і роблять відлік по рейці з точністю до 1 см.

Гачкова рейка призначена для вимірювання рівня з точністю до 1 мм на висоту до 1,5 м. Вона складається з лагунової трубки діаметром 10 мм. На трубці через 1 см нанесені поділки. В середині трубки встановлено стержень з гачком на кінці. За допомогою кронштейна трубку прикріплюють до палі (стінки) над водою. Кронштейн має планку з поділками (ноніус), затискильний гвинт і мікрометричну гайку. Для вимірювання висоти рівня опускають гачок на 1–2 мм нижче від поверхні води, закріплюють затискильний гвинт, мікрометричною гайкою піднімають гачок на рівень з поверхнею води і записують висоту рівня: відлічують сантиметри на рейці, а міліметри – по планці з поділками (ноніусу).

Голшиста рейка відрізняється від гачкової тим, що замість гачка вона має голку, поділки нанесені через 1 мм, а по ноніусу можна брати відліки з точністю до 0,1 мм. Загальна довжина рейки становить 0,5 м.

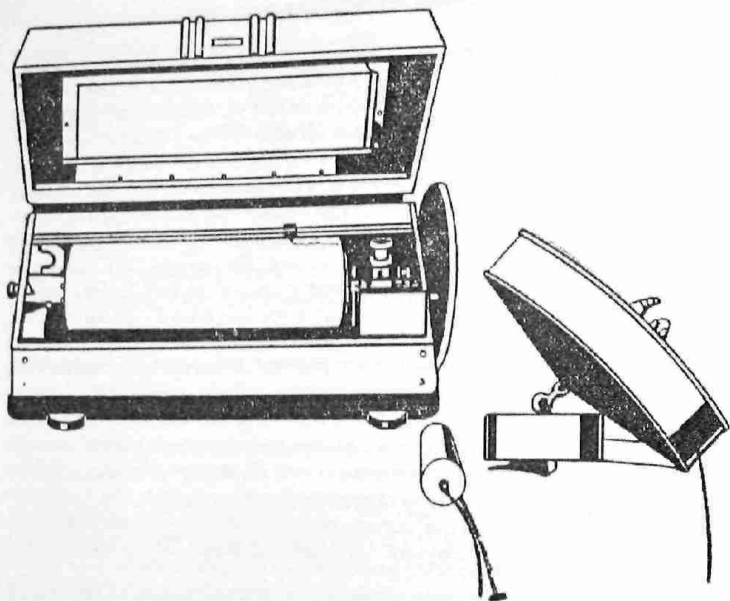
Прилади для автоматичного вимірювання рівня води

Стрілочний покази́чик рівня (Р-52) (рис. 11.4) може бути одночасно переда- точним водомірним постом, який автоматично фіксує максимальні і мінімальні рівні між датами спостережень. На зміну рівнів реагує поплавков, який міститься в захисній металевій трубці. Трубка має діаметр 300 мм і складається з дво- метрових секцій. Нижню частину трубки з дірчастим дном встановлюють на 0,5 м нижче від найнижчого рівня. Прикріплюють захисну трубу до палі, містка чи стінки набережної. Загальна довжина труби залежить від амплітуди коливан- ня рівнів. До верхньої частини захисної труби прикріплюється кожух, в якому міститься редуктор з циферблатом і стрілками. На вихідну вісь редуктора надіто поплавкове колесо, через яке перекинута трос, з'єднаний одним кінцем з поплавком, а другим – з противагою. Редуктор має дві основні стрілки (коротка показує на циферблаті метри, а довга – сантиметри) і дві додаткові стрілки, що фіксують максимальні і мінімальні рівні. Під час спостережень запісують по- ложення рівня по основних і додаткових стрілках, а потім додаткові зсувають до основної (короткої) стрілки.

Самописці. На водних об'єктах з різкою зміною рівнів води протягом доби встановлюють водомірні пости, які автоматично і безперервно запісують коли- вання рівнів. Основним приладом самописного поста є самописець, який скла- дається з двох основних частин: датчика рівнів і запісуючого пристрою. Само- писні пости доцільно влаштувати, насамперед, в місцях, віддалених від насе- лених пунктів.

Типів самописців є багато, але на водпостах в колишньому СРСР і в су- часній Україні переважають *самописці типу «Валдай»* (рис. 11.5) з добовим за- водом годинникового механізму. Він складається з приймально-передавальної системи і механізму для запису. До приймально-передавальної системи нале- жить порожнистий металевий поплавок діаметром 250 мм з важком, що при- кріплюється під поплавком. Рух поплавка залежно від рівня води передається на поплавкове колесо за допомогою тонкого троса завдовжки 8 м з противагою. Барабан самописця з паперовою стрічкою закріплюють горизонтально на тій самій осі, що й поплавкове колесо. Під час обертання барабана перо запісує на стрічці рівень води в масштабі 1:1, якщо трос надіто на малий диск, і в масштабі 1:2, якщо трос надіто на великий диск. Модернізована модель самописця «Вал- дай» має ще одну вісь, яка дає змогу запісувати зміну рівнів у масштабі 1:5 та 1:10. Щоб забезпечити нормальну роботу самописця, слід своєчасно заводити його годинниковий механізм і замінювати стрічку.

За способом встановлення самописці рівня води поділяють на два типи: острівний і береговий.



11.5. Самописець рівня «Валдай».

Острівний тип установки самописця використовують при незначній амплітуді коливання рівнів води, коли немає загрози руйнування установки від хвиль, льодоходу чи плавзасобів. Острівний самописець встановлюють на спеціальній споруді в руслі річки, на водосховищі або озері. Установка самописця основного типу складається з опори, яку будують у водному об'єкті, будки для самописця на цій опорі і труби для поплавка. Як опору для самописця використовують наявні гідротехнічні споруди (містки, греблі, стінки набережних), а також скелясті круті береги.

Береговий тип установки самописця застосовують при значній амплітуді коливання рівнів води, складних умовах льодового режиму, наявності судноплавства. Для установки берегового типу на березі водного об'єкту споруджують колодязь з таким розрахунком, щоб верх колодязя був на 0,5–1,0 м вище від

найвищого, а низ – нижче на 0,5–1,0 м від найнижчого рівня води. Над колодязем встановлюють будку з самописцем. Колодязь з'єднують з водним об'єктом трубою діаметром 5–20 см на глибині на 0,5–1,0 м нижчій від найнижчого рівня води.

За роботою самописців встановлюється обов'язковий і чіткий порядок спостережень. Під час відвідування водомірного поста, обладнаного самописцем, спостережники повинні замінити стару, заповнену інформацією стрічку (із записом часу), на нову, завести годинниковий механізм і перевірити правильність роботи самописця.

Репери водомірних постів. На кожному водомірному посту встановлюються два репери – основний і контрольний. *Основний* репер призначений для перевірки висоти контрольного репера. Встановлюють його потаємним недалеко від поста в безпечному місці. *Контрольний* репер встановлюють у створі поста для систематичних перевірок висоти нулів рейок, головок паль та інших водомірних пристроїв. Репери слід встановлювати в місцях незаболочених, які не затоплюються водою, де немає зміщення ґрунту. Низ репера повинен бути на 0,5 м нижче від лінії промерзання ґрунту.

Основний репер поста прив'язують нівелюванням до репера державної опорної геодезичної мережі, який має абсолютну відмітку. Якщо такого репера немає, то основному реперу надається умовна відмітка.

Система відміток і відліків на водомірних постах

Спостереження за рівнем води на водомірних постах повинні бути організовані так, щоб матеріали постів за весь період їх роботи можна було порівнювати. Ця вимога може бути виконана лише при умові, що результати спостережень будуть приведені до однієї постійної для даного водпоста умовної площини порівняння, яку прийнято називати *нулем графіка* водомірного поста. Висотна відмітка нуля графіка залишається незмінною на весь період існування поста.

Висотне положення нуля графіка встановлюють при відкритті водомірного поста в прийнятих відмітках з таким розрахунком, щоб площина нуля графіка була не менш як на 0,5 м нижче від можливого найнижчого рівня води в створі поста. На річках з несталим руслом площину нуля графіка слід вибирати з урахуванням можливого розмиву русла. На малих річках відмітку нуля графіка вибирають на рівні найглибшої точки дна річки в створі поста. Площину нуля графіка поста зручно визначити на накресленому профілі поперечного перерізу річки, на якому нанесені всі пристрої або рейки тощо. Положення нуля графіка

бажано вибирати так, щоб відмітка його становила цілі метри або дорівнювала нулю.

Висотне положення площини нуля графіка визначається її відстанню по вертикалі від репера поста. Ця відстань буде умовною відміткою (або перевищенням) репера над нулем графіка водомірного поста. Якщо репер має абсолютну відмітку, то для визначення абсолютної відмітки нуля графіка потрібно від абсолютної відмітки репера відняти перевищення його над нулем графіка.

Перевищення нулів рейок водомірного поста або головок паль над нулем графіка поста називається *приведенням* цих точок до нуля графіка. Приведення дається у сантиметрах.

Спостереження на водомірному посту можна розпочинати після того, як виконані такі роботи:

- 1) встановлені відмітки (умовна або абсолютна) нулів рейок або головок паль шляхом нівелювання від репера;
- 2) визначена відмітка нуля графіка поста;
- 3) визначені і записані у польову книжку приведення нулів рейок або головок паль, оскільки точність вимірювання рівнів дається до 1 см, то й приведення обчислюється у сантиметрах.

Процес спостережень за рівнем води є таким:

- 1) записують у польову книжку дату і час спостереження, номер рейки (палі), по якій проводять спостереження, роблять відлік рівня води на рейковому посту по постійній рейці, а на пальовому – по перекоській, яка ставиться на головку палі; відлік рівня записують у польову книжку в сантиметрах;
- 2) у довідковій таблиці польової книжки знаходять величину приведення нуля рейок або паль, по яких було зроблено відлік рівня води;
- 3) обчислюють висоту (в сантиметрах) зафіксованого рівня води над нулем графіка поста як суму відліку рівня по рейці або палі і приведення даної рейки або палі.

Література

1. Быков В. Д., Васильев А. В. Гидрометрия. – Л.: Гидрометеиздат, 1977. – 448 с.
2. Пустовойт С. П. Гидрометрия. – Київ: Вища школа, 1974. – 208 с.
3. Яцик А. В. Водогосподарська екологія. Т. 1, Книга 2 «Гідрометрія». – К.: Генеза, 2003. – С. 149–398.

11.2. Вимірювання швидкості течії у водотоках

Швидкість течії є важливим абіотичним екологічним фактором, до якого гідробіоти пристосовуються по різному у залежності від його величини і характеру. В річках рух води відбувається нерівномірно і має надзвичайно складний характер. Залежно від окреслення русла, зміни глибин, характеру берегів, наявності водяної рослинності і льоду розподіл швидкостей в річці може бути дуже різноманітним. Якщо є виступи в руслі річки або значні розширення ширини русла, то можуть виникнути завихрення або навіть зворотні течії. Складність характеру руху води в річках полягає ще й у тому, що в кожній точці швидкість весь час змінюється за величиною і напрямком. Це явище називається пульсацією швидкості, що властиве водотокам з турбулентним режимом течії. Зазвичай пульсація швидкості збільшується від поверхні до дна, а по ширині річки зростає від її середини до берегів.

У кожній точці потоку у зв'язку з пульсацією виділяють миттєву швидкість і місцеву швидкість. *Миттєва швидкість* – це швидкість потоку в даній точці у даний момент. Якщо взяти миттєву швидкість за якийсь період часу і обчислити за результатами середню величину, то одержимо швидкість, яка називається *місцевою швидкістю* в даній точці.

У розподілі швидкості по глибині і ширині існують деякі загальні закономірності. При відкритому руслі максимальна швидкість спостерігається біля поверхні води, а мінімальна – біля дна. В той же час, коли річка вкрита льодом, найбільша швидкість переміщується вниз від поверхні води.

Найпростіші способи вимірювання швидкості течії води [1, 3, 4]

Поплавки. Залежно від будови і призначення поплавки поділяються на поверхневі, глибинні і поплавки-інтегратори.

Поверхневі поплавки використовують для вимірювання швидкості і напрямку течії на поверхні річки. Для малих річок завширшки до 100 м використовують дерев'яні кружки або пляшки, частково наповнені водою із яскравим прапорцем, прикріпленим до корка. Для широких річок застосовують поплавки з дощок, скріплених нахрест. Вимірювати швидкість поверхневими поплавками треба тоді, коли немає вітру.

Глибинні поплавки застосовують для вимірювання швидкості і напрямку течії на певній глибині. Поплавок складається з двох зв'язаних шнуром частин: нижнього поплавка, який знаходиться на заданій глибині, і верхнього, який знаходиться на поверхні води. Верхній поплавок виготовляють з корка або дошки,

а нижній – з дерев'яної кульки, просякненої рідинним жиром або нафтопродуктами; скляної порожнистої кульки або із скріплених навхрест пластикових пластинок. Якщо обидва поплавки є однаковими за формою і розміром, то швидкість течії дорівнюватиме півесумі поверхневої і глибинної швидкостей.

Поплавки-інтегратори використовують для вимірювання середніх швидкостей на вертикалі. Принцип застосування поплавка-інтегратора полягає в тому, що поплавок, занурений по вертикалі в точці біля дна в стоячій воді, спливає на поверхню вертикально, а у воді, яка тече – на якійсь відстані від місця пуску. Ця відстань пропорційна швидкості течії на вертикалі.

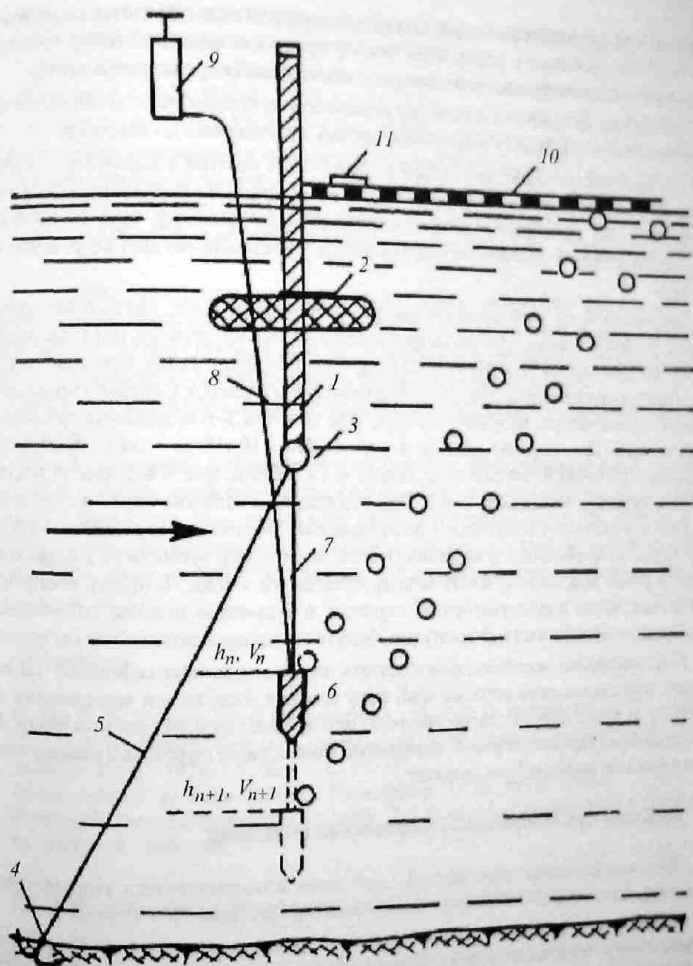
Як поплавок-інтегратори використовують дерев'яні чи пластикові кульки діаметром 3–4 см з невеликим кільцем. Щоб виміряти швидкість течії, кульку прикріплюють ниткою до штанги. Потім штангу з кулькою ставлять на дно на даній вертикалі, а на поверхню води по течії кладуть рейку нульовою поділкою до штанги. Для вимірювання швидкості треба обірвати нитку, до якої прив'язано кульку, і в цей момент включити секундомір. У момент появи кульки на поверхні секундомір зупиняють, а по рейці роблять відлік відстані. На кожній вертикалі пускають кілька поплавків (4–5 екземплярів).

Поплавки-інтегратори застосовують при малих швидкостях течії (до 0,2 м/с).

Пневматичний спосіб вимірювання швидкості течії води (метод Пікуша)

Оригінальною модифікацією поплавків-інтеграторів є розроблений в Інституті гідробіології НАН України М.В.Пікушем пневматичний спосіб вимірювання величини і напрямку середньої по глибині швидкості течії води та в будь-якому шарі водної маси [2]. В даному разі як поплавок використовуються повітряні бульбашки. Для застосування пневматичного способу вимірювання швидкості течії води необхідний досить простий устрій (рис. 11.6). Він складається із плаваючої тички 1 з поплавком 2 і кільцем 3, до якого вірвовкою 5 прив'язують якор 6, а також шнур 3 з виском. До виска прикріплений нижній кінець гумової трубки 8, верхній кінець якої з'єднаний з насосом 9. На верхній кінець тички надіто кільце плаваючої рейки 10 з поділками, на якій укріплений компас 11.

В робочий стан устрій приводиться таким чином. Вимірюючи глибину, до кінця тички прив'язують шнур якоря так, щоб поплавок занурювався у воду на 20–50 см. До нижнього кінця тички прикріплюють висок і з'єднують з нижнім кінцем гумової трубки так, щоб її вихідний отвір знаходився на заданій глибині. Верхній кінець гумової трубки з'єднують з насосом. Після занурення якоря



11.6. Схема пристрою для вимірювання течії води пневматичним способом (позначки в тексті).

тичка займає вертикальне положення над поверхнею води. До тички за напрямком течії прикріплюють рейку. При такому кріпленні вихідний отвір трубки і нуль горизонтальної рейки знаходяться на одній вертикальній лінії.

При роботі на судні, обладнаному лебідкою з вантажем, можна обійтися без плаваючої тички. В цьому разі гумову трубку присднують до вантажу.

При значних швидкостях і глибинах бульбашки повітря віддалені від рейки. В цьому випадку до нульового кінця рейки прикріплюють розмічений на метри шнур і під час вимірювань випускають необхідну довжину, щоб бульбашки повітря виходили в зоні розташування рейки, за допомогою якої відраховують відстань.

Для визначення середньої швидкості течії в шарі води, який знаходиться вище вихідного отвору трубки, за допомогою насоса нагнітають повітря, визначають час спливання повітряної бульбашки (t) і горизонтальну віддаль від точки потрапляння повітря в воду до точки виходу її з води (L). Середню швидкість течії (v) обчислюють, поділивши L на t . При глибині 5–6 м зазвичай достатньо одного поштовху поршня насосу, а при глибині 10–12 м – двох поштовхів. Кількість поштовхів залежить не тільки від глибини, але й від якості насосу, трубки, досвіду виконавця тощо. Тому дослідним шляхом варто встановити мінімальну кількість поштовхів і по останньому включати секундомір. При виході першої, найбільшої повітряної бульки секундомір зупиняють і відраховують по рейці відстань до місця виходу бульбашки з води. Точність вимірів не знизиться, якщо користуватися не першою, а будь-якою пізніше спливаючою повітряною бульбашкою. В цьому разі будуть однаково завищені час і відстань.

Гідрометричні жердини застосовують для вимірювання середньої на вертикалі швидкості течії води по лінії руху жердин. Результати вимірювань можуть бути досить високі, якщо занурити цей предмет на 0,94 глибини річки. Користуватися гідрометричними жердинами можна лише на річках з рівним дном, без виступів, валунів і рослинності.

Прилади для вимірювання швидкостей течії води

Для вимірювання швидкостей течії води використовують гідрометричні млиники, батометри-тахіметри і гідродинамометри [1, 3, 4].

Гідрометричний млинок є найбільш поширеним приладом для вимірювання швидкостей течії води. Ротор гідрометричного млинка у вигляді лопатевого гвинта (крилець) або турбінки під впливом течії води обертається із швидкістю, пропорційною швидкості течії води. При вимірюванні швидкості течії гідрометричним млинком визначають кількість обертів лопатевого гвинта за певний

час, що дає змогу обчислити кількість обертів за одну секунду і за тарувальною кривою млинка визначити швидкість течії води.

Існує кілька типів гідрометричних млиноків: млинки з горизонтальними осями обертання – Ж-3, ВЖМ-3, ГР-11, ГР-55 та інші; млинки з вертикальними осями обертання – тип САНДІРІ та інші. Найбільш поширеним і універсальним гідрометричним млинком є млинок конструкції Жестовського (Ж-3) (рис. 11.7). Для використання гідрометричного млинка будь-якого типу необхідно визначити залежність між швидкістю течії води і кількістю обертів лопатевого гвинта за одну секунду. Цю залежність подають у вигляді графіка, таблиці або рівняння.

Батометр-тахіметр застосовують для вимірювання швидкості течії і для забору проби води на каламутність. Для вимірювання швидкості течії батометр-тахіметр треба протарувати задля визначення залежності між швидкістю течії і об'ємом води, яка потрапляє в батометр за одну секунду.

Найбільш відомий у практиці гідрометричних робіт є батометр-тахіметр В.Г.Глушкова.

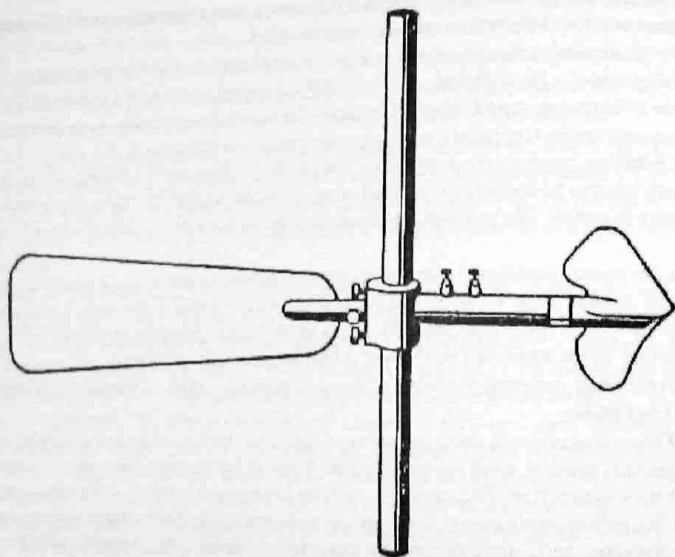
Гідродинамометр (гідрометричний флюгер). Цей прилад для вимірювання швидкості потоку, який ґрунтується на фіксації силового впливу потоку на занурене в нього тіло. Між швидкістю течії і величиною тиску, що чинить потік на тіло, розміщене в ньому, існує залежність, яка описується певним рівнянням. Вимірявши тиск потоку на датчик гідродинамометра, можна визначити швидкість течії.

Література

1. *Быков В. Д., Васильев А. В.* Гидрометрия. – Л.: Гидрометеиздат, 1977. – 448 с.
2. *Пикуш Н. В.* Пневматический способ измерения скорости течения воды / Гидробиол. журн., 1971. – 7, № 4. – С. 97–105.
3. *Пустовойт С. П.* Гидрометрия. – Київ: Вища школа, 1974. – 208 с.
4. *Яцик А. В.* Водогосподарська екологія. Т. 1. Книга 2 «Гідрометрія». – К.: Генеза, 2003. – С. 149–398.

11.3. Вимірювання витрат води на водотоках

Витратою води називається кількість води (її об'єм), яка протікає через переріз водотоку за одиницю часу. За одиницю об'єму прийнято 1 м^3 (для малих витрат 1 дм^3), а за одиницю часу – 1 секунду. Витрата води є однією з основних характеристик режиму водотоків, з якою тісно пов'язані рівень води, швидкість



11.7. Гідрометричний млинок Ж-3.

течії та інші параметри. Витрату води можна визначити як безпосереднім вимірюванням, так і встановленням залежності між рівнем і витратою води $Q = f(H)$. За цими даними можна обчислити середньодобові, середні за місяць і за рік витрати або об'єм стоку за добу, місяць, рік чи інший інтервал часу.

Існуючі способи визначення витрат води поділяються на дві основні групи [1-3]: а – безпосереднє вимірювання; б – опосередковане визначення. Вибір будь-якого способу залежить від режиму водотоків, потрібної точності вимірювання і технічних можливостей.

а) До першої групи належить об'ємний метод, за якого витрата води вимірюється за допомогою мірних посудин з фіксацією часу їхнього заповнення.

Об'ємний спосіб застосування на малих водотоках (струмках, джерелах, свердловинах). Позитивною рисою даного способу є велика точність вимірювання.

б) До опосередкованих способів визначення витрати води належать такі:

1) визначення витрати за вимірними швидкістю течії і площею поперечного перерізу водотоку (скорочено спосіб «швидкість–площа»);

2) визначення витрати за допомогою мірних пристроїв і обладнання: водозливи, гідрометричні лотки, контрольні русла. Вимірюється напір, а витрату обчислюють за гідравлічними залежностями (гідравлічний спосіб);

3) спосіб змішування, який має кілька різновидів – електролітичний, тепловий, калориметричний. Використовують переважно на гірських річках з великими швидкостями течії, невеликими глибинами і складним рельєфом дна.

Найпоширенішим способом гідрометрії водотоків є метод «швидкість–площа». Площу поперечного перерізу потоку знаходять за результатами вимірювання глибин, а швидкості в окремих точках перерізу водотоку вимірюють гідрометричним млинком, рідше поверхневими і глибинними поплавками.

Література

1. *Быков В. Д., Васильев А. В.* Гидрометрия. – Л.: Гидрометеиздат, 1977. – 448 с.
2. *Пустовойт С. П.* Гідрометрія. – Київ: Вища школа, 1974. – 208 с.
3. *Яцик А. В.* Водогосподарська екологія. Т. 1. Книга 2 «Гідрометрія». – К.: Генеза, 2003. – С. 149–398.

11.4. Спостереження за вітровим хвилюванням

Хвильові (коливальні) рухи водних мас, які є характерним елементом гідродинаміки водних об'єктів, впливають на процеси формування якості води і життєдіяльність практично усіх видів гідробіонтів. За екологічним значенням провідним серед усіх видів коливальних рухів у водних об'єктах є вітрове хвилювання. Методи спостережень за вітровим хвилюванням на водних об'єктах поділяються на інструментально-візуальні, інструментальні і візуальні [1].

Інструментально-візуальні спостереження за хвилюванням є в даний час основним джерелом одержання масової інформації про розміри хвиль. При та основних спостереженнях елементи хвиль визначаються спостерігачем за допомогою найпростіших вимірювальних пристроїв, наприклад хвилемірних віх. При глибині до 5–7 м хвилемірні віхи встановлюють безпосередньо на дно. На великих глибинах застосовують плавучі хвилемірні віхи.

У швидкоперебігаючому процесі, яким є хвилювання, при наявності хвиль різних систем і розмірів спостерігач не в змозі зафіксувати кожну хвилю. Тому визначають різницю між висотою хвильових горизонтів за час проходження через точку спостережень (віху) певної кількості хвиль або між висотою окремих вибіркового хвиль. При цьому результати вимірів певною мірою залежать від досвідченості спостерігача.

Інструментальні спостереження за хвилюванням передбачають використання приладів різного типу і принципу дії для ресстрації хвиль без участі спостерігача (оператор-спостерігач лише включає прилад). Інструментальні виміри виконуються самописами хвилювання (хвильографами) різних конструкцій або фотографічними способами. До інструментальних можуть бути віднесені також спостереження, що здійснюються за допомогою автономно діючих установок, які фіксують граничні хвильові горизонти у визначених точках водних об'єктів за деякий проміжок часу (максимально-мінімальні віхи).

Візуальні спостереження проводяться без приладів на око із застосуванням відповідних шкал для оцінки стану поверхні водного об'єкта під дією вітру або для наближеної характеристики висоти хвиль.

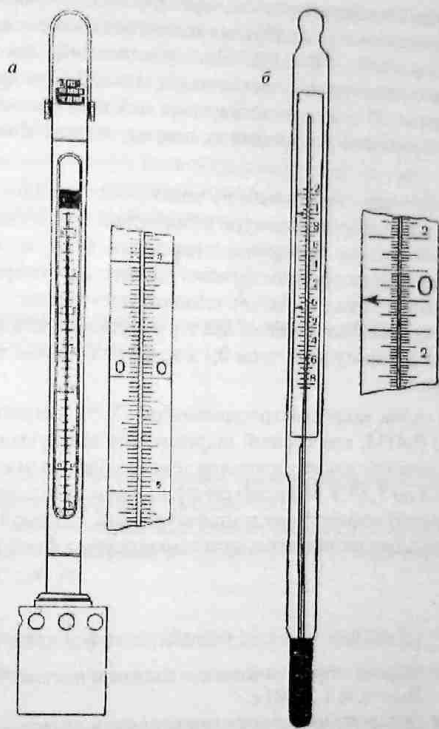
Література

1. *Наставление гидрометеорологическим станциям и постам.* – Л.: Гидрометеориздат, 1978. – Вып. 7, ч. 1. – 476 с.

11.5. Оцінка температурного режиму водних об'єктів

Спостереження за температурою води мають на меті одержати дані, що характеризують її зміни в часі по акваторії і глибині водних об'єктів. Такі дані необхідні для кількісної оцінки накопичення і витрати тепла водною масою в результаті її теплообміну з навколишнім середовищем – атмосферою і ложем водних об'єктів; у розрахунках теплового балансу озер і водосховищ, а також при розробці методів розрахунку і прогнозу змін теплового стану і строків скресання і замерзання водойм. Дані про температуру води широко використовують при оцінці, розрахунках і прогнозах екологічного стану природних водних об'єктів і їхньому рибпромисловому освоєнні.

Для вимірювання температури поверхневого шару води застосовуються *платинні термометри в металевій оправі* (рис. 11.8). Звичайно використовуються водяні термометри зі шкалою від -10 до 30°C і ціною ділення 0,2° [1], що дозволяє робити відліки з точністю до 0,1°. Застосовуються також мікротермомет-



11.8. Термометри для виміру температури води: *a* – водний термометр (в оправі); *б* – мікротермометр (без оправі).

ри зі шкалою від $-0,8$ до $1,2^{\circ}\text{C}$ и ціною ділення $0,01^{\circ}$. Для робіт з обома типами термометрів застосовується одна й та стандартна оправа, що складається з двох металевих трубок з подовжніми прорізами, вставлених одна в другу. На нижній кінець внутрішньої трубки нагвинчений стаканчик з отворами.

Для вимірювання температури води, окрім ртутних, широко застосовуються різні *електричні термометри*. Найбільш поширений з них електротермометр гідрологічний польовий (ГР-41М). Він призначений для дистанційного вимірювання температури води в діапазоні від -1 до 35°C у верхньому 40-метровому шарі водних об'єктів. Застосовується для спостережень на акваторії озер і водосховищ у вільний від крижаного покриву період. Ціна ділення шкали приладу $0,1^{\circ}$ [2].

Принцип дії приладу заснований на властивості металів змінювати свій електричний опір при зміні температури навколишнього середовища. Електротермометр є рівноважним електровимірювальним мостом, живлення якого здійснюється перемінним струмом звукової частоти від генератора, зібраного на напівпровідникових тріодах. Датчик температури – тонкостінний металевий циліндр, у середині якого знаходяться два термочутливі елементи. Перший виготовлений з мідного дроту діаметром $0,1$ мм, другий – з манганінового дроту такого ж діаметра.

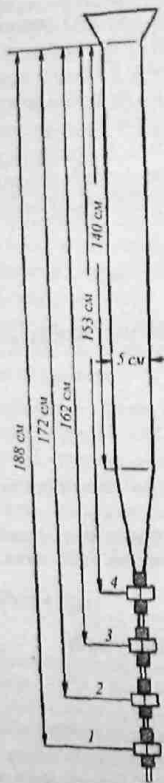
Принципова схема мікроелектротермометра ГР-51 аналогічна схемі електротермометра ГР-41М, але перший відрізняється від другого в деталях конструкції і призначений для вимірювання температури води в більш вузькому діапазоні (від $-0,2$ до $1,2^{\circ}\text{C}$). Мікроелектротермометр застосовується для спостережень підвищеної точності при температурі води, близькій до нуля. Шкала мікротермометра дозволяє відряховувати температуру з точністю до $0,01^{\circ}$.

Література

1. *Наставление гидрометеорологическим станциям и постам.* – Л.: Гидрометеоздат, 1978. – Вып. 6, ч. 1. – 384 с.
2. *Наставление гидрометеорологическим станциям и постам.* – Л.: Гидрометеоздат, 1978. – Вып. 7, ч. 1. – 476 с.

11.6. Визначення вмісту завислих у воді речовин

Метод визначення масової концентрації завислих речовин полягає у фільтруванні проб води з використанням паперових або мембранних фільтрів, висушуванні відфільтрованих частинок протягом 2 год (для паперового фільтра) або 1 год (для мембранного фільтра) при $t = 105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ і зважуванні висушеного осаду [1, 2]. Маса висушених завислих частинок має знаходитись у межах $10\text{--}250$ мг.



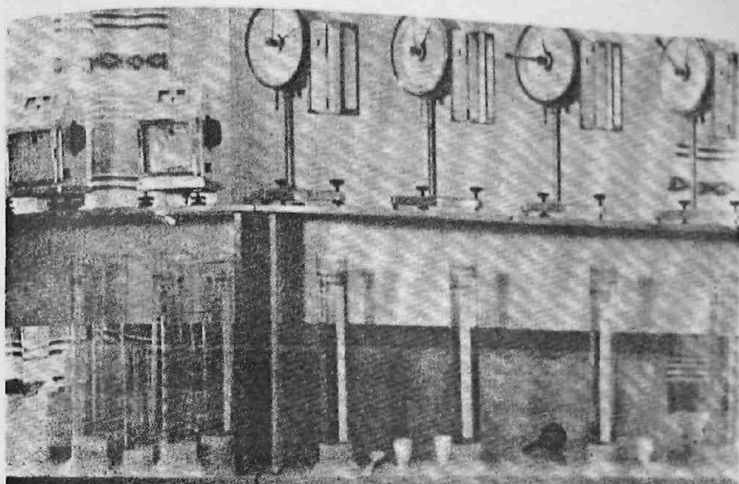
11.9. Фракціометр.

Застосування зазначеного методу для аналізу фракційного складу зависів пов'язано з низкою труднощів. Головна з них полягає у необхідності приготування наважки масою 0,5–5,0 г. Одержати таку кількість вихідного матеріалу при незначній каламутності можна лише шляхом відбору і попередньої обробки великого об'єму води. Так, для аналізу цим методом зависів дніпровських водосховищ, каламутність води в яких становить близько 2–5 мг/л, об'єм проб має досягати 100–1000 л. Крім цього, у процесі аналізу способом «піпетка-фракціометр» слід виконувати цілу низку операцій: кількаразове відстоювання проб, випарювання, висушування, розмочування, механічну обробку, зважування та ін. Це не лише робить зазначений метод трудомістким, а й призводить до непередбачених змін у складі досліджуваної речовини.

Зазначені обставини змусили звернутися до так званих вагових методів седиментаційного аналізу. Суть їх полягає у вимірюванні за допомогою вагових приладів швидкості накопичення осаду на дні посудини. Труднощі у використанні вагових методів для седиментаційного аналізу з моменту їхньої появи (початок минулого століття) були пов'язані в основному з розробкою конструкції ваг. Тепер технічна сторона цього питання вирішена.

Методика визначення фракційного складу завислих речовин на установці, розробленій в лабораторії гідрології Інституту гідробіології НАН України (рис 11.10), базується також на використанні вагового методу [2]. Елементами конструкції установки (вагового седиментометра) (рис. 11.11) є: скляний циліндр (1), торсійні ваги ВТ-500 або ВТ-1000 (2) і пластиковий екран (3), прикріплений до коромисла ваг капроною (дедероною) ниткою (4).

Визначення фракційного складу зависей за допомогою вагового седиментометра здійснюється у такий спосіб. Відібрані і зафіксовані 10%-ним розчином формаліну чи хлороформу проби (звичайно 3–5 л) відстоюються у скляних по-



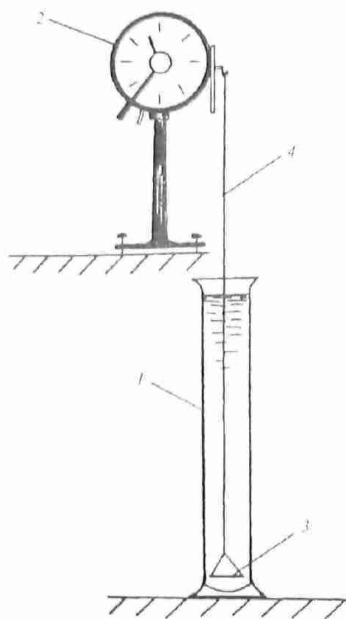
11.10. Седиментаційна установка Інституту гідробіології НАН України.

судинах протягом 2–3 діб. В окремих випадках, коли потрібен детальний аналіз тонкодисперсних фракцій і дозволяють умови (не виявляється процес коагуляції), відстоювання здійснюють більш тривалий час. Освітлену частину проби відсифонюють, а залишок (близько 10–15 мл) збовтують. Отримана суспензія є вихідним матеріалом для аналізу.

Дисперсійним середовищем, тобто середовищем осідання, є дистильована вода, яку з метою запобігання утворенню пухирців повітря на екрані попередньо кип'ятять. Температуру води фіксують і протягом дослідів зберігають на постійному рівні.

Перед початком дослідів екран опускають у воду, прикріплюють ниткою до ваг і зважують (P_0). Потім вихідну суспензію акуратно наливають у циліндр і включають секундомір. Щоб уникнути утворення вихорів у циліндрі, можна використати спеціальним ситовим екраном-гасителем, який має отвори з діаметром, що перевищує розмір найбільш великих часток зависів.

Через певні проміжки часу фіксують масу осаду, що накопичується на екрані. За результатами зважування загальноприйнятими способами будують се-



П.11. Ваговий седиментометр розроблений в Інституті гідробіології НАН України.

диментаційну криву, за допомогою якої легко встановити співвідношення часток будь-якого розміру. Обробка результатів аналізу спрощується, якщо зважувати тоді, коли осаджуються найбільш дрібні частки заданих фракцій. При цьому строк зважування, тобто тривалість періоду від початку досліду до моменту відліку, встановлюють за співвідношенням, що випливає із закону Стокса:

$$t_i = 0,0112K_0 \frac{H_g}{d_i^2},$$

де H_g – висота стовпа рідини в циліндрі (від поверхні до екрана), см; d_i – найменший розмір часток i -ї фракції, мм; K_0 – коефіцієнт, що враховує вплив температури дисперсійного середовища. З урахуванням відомого співвідношення між температурою і в'язкістю води цей коефіцієнт може бути визначений за емпіричною формулою:

$$K_0 = 1,53 - 0,025\theta,$$

де θ – температура води, °С.

Розрахункова формула

дійсна при аналізі фракційного складу зависів мінерального походження. Вміст кожної фракції (p_i) у відсотках встановлюють за співвідношенням:

$$p_i = \frac{(P_i - P_{i-1}) \cdot 100}{\sum_1^m (P_i - P_{i-1})}$$

Приклад обробки даних фракційного аналізу зависей на седиментометрі Інституту гідробіології НАН України ($H_g = 35$ см, $P_0 = 0,080$ г)

Номера фракцій	Найменування фракцій	Розмір (діаметр) частинок, мм	Строк зважування (t_i), с	Відлік по вагах (P_i), г	Маса у воді зависей фракцій ($P_i - P_{i-1}$), г	Відносний вміст фракцій (p_i), %
1	Пісок	Більше 0,15	18	0,100	0,020	4,8
2	Мул крупний	0,15–0,05	157	0,175	0,075	17,5
3	Мул середній	0,05–0,015	1750	0,361	0,186	43,4
4	Мул дрібний	0,015–0,005	15680	0,493	0,132	30,8
5	Глина	0,005–0,0015	175000	0,508	0,015	3,5

де: P_i – відлік у момент часу t_i , тобто в момент осадження найменших часток даної i -ї фракції; P_{i-1} – попередній відлік (при $i = 1$ відліком є маса у воді чистого екрана з ниткою P_0); m – кількість фракцій. У таблиці наводиться форма запису, що рекомендується при обробці матеріалів фракційного аналізу.

При підвищеному вмісті органічної речовини у складі завислого матеріалу фракційний аналіз (при будь-якому методі, включаючи описаний) фіксує лише швидкість осідання зависей, але мало що може сказати про їх фракційний склад. Якщо в таких ситуаціях необхідно визначити фракційний склад мінеральної складової зависей, проби додатково обробляють, а саме: після відстою освітлену воду зливають, залишок випарюють і прожарюють у муфельній печі протягом 1,5 год при температурі 450°C. Таким чином із проби практично цілком видаляються органічні частки, але залишаються карбонати. Далі наважку протягом двох діб розмочують дистильованою водою в порцеляновій чашці, розтирають і отриману при цьому суспензію аналізують на седиментометрі.

Варто відзначити, що в практиці екологічних досліджень водних об'єктів найчастіше все ж з'являється необхідність в оцінці седиментаційної здатності завислих речовин незалежно від їх походження. У таких випадках аналіз проб здійснюється без попередньої обробки. Одержані при цьому результати характеризують не геометричні, а гідравлічні показники завислих часток, і їхня диференціація здійснюється за певними градаціями швидкості осадження.

У порівнянні з методом «піпетка-фракціометр» запропонований метод фракційного аналізу зависів на седиментометрі, розробленому в Інституті

гідробіології НАН України має ряд істотних переваг. Основна з них полягає в тому, що для визначення фракційного складу мінеральної частини зависів не потрібні проби великого об'єму. У водних об'єктах уповільненого стоку цей метод найчастіше є єдиною можливим способом вирішення цієї задачі. До інших переваг можна віднести простоту установки і методики аналізу. Відсутність переваг можна віднести простоту установки і методики аналізу. Відсутність переваг можна віднести простоту установки і методики аналізу. Відсутність переваг можна віднести простоту установки і методики аналізу. Відсутність переваг можна віднести простоту установки і методики аналізу. Відсутність переваг можна віднести простоту установки і методики аналізу.

Література

1. *Наставление гидрометеорологическим станциям и постам.* – Л.: Гидрометеоздат, 1978. – Вып. 7, ч. 1. – 476 с.
2. *Тимченко В. М. Эколого-гидрологические исследования водоемов Северо-Западного Причерноморья.* – Киев: Наук. думка, 1990. – 240 с.

11.8. Визначення показників опромінення природних вод сонячним світлом

Кількісне визначення інтенсивності сонячної енергії, що поглинається водою і використовується у біологічних процесах, які відбуваються у гідроєко-системах, проводять двома методами. Перший – безпосередні вимірювання в натурних умовах, другий – розрахунки поглинання сонячної енергії водою і гідробіонтами. Частіше обидва методи застосовують у комбінації, використовуючи при розрахунках формули і параметри, встановлені в результаті натурних досліджень.

Безпосередні систематичні актинометричні вимірювання на водних об'єктах не проводяться. Про кількість сонячної енергії, що надходить на земну (водну) поверхню, можна судити за даними спостережень мережі актинометричних станцій гідрометеослужби. В Україні за рік на 1 м^2 водної поверхні надходить у середньому від 3 400 до 5 000 МДж сонячного тепла [1].

Інтенсивність сонячної радіації, що проникає у водне середовище ($E_{\downarrow(-)}$), визначається зазвичай співвідношенням [3]:

$$E_{\downarrow(-)} = E_{\downarrow(+)}(1 - A_0),$$

де $(E_{\downarrow(z=0)})$ – інтенсивність сонячної радіації, що надійшла на водну поверхню; A_0 – альbedo (відбивна здатність) водної поверхні.

Сумарне сонячне випромінювання в діапазоні фотосинтетично активної частини спектра (ФАР) складає приблизно половину всього потоку сонячної енергії оптичного діапазону [4].

Утилізація сонячної енергії, що надійшла у воду, її участь у біологічних процесах багато в чому залежать від оптичних властивостей водної товщі. Відомо, що фотосинтез, наприклад, відбувається лише в досить освітленому шарі води – у межах так званої евфотної зони. Припускають, що ця зона в середньому у півтора рази більша за фотичний шар. Нижньою межею останнього є глибина, якої сягає 1% сонячної радіації, що проникла у воду. Товщина евфотної зони і фотичного шару є дуже важливими показниками біологічної продуктивності водойм. Щоб оцінити їх у конкретному водному об'єкті, слід знати характеристики ослаблення світла у водному середовищі даного водного об'єкта.

У загальному випадку ослаблення світла у воді відбувається за законом Бугера-Ламберта [3]:

$$E_{\downarrow(z)} = E_{\downarrow(z=0)} e^{-\alpha z},$$

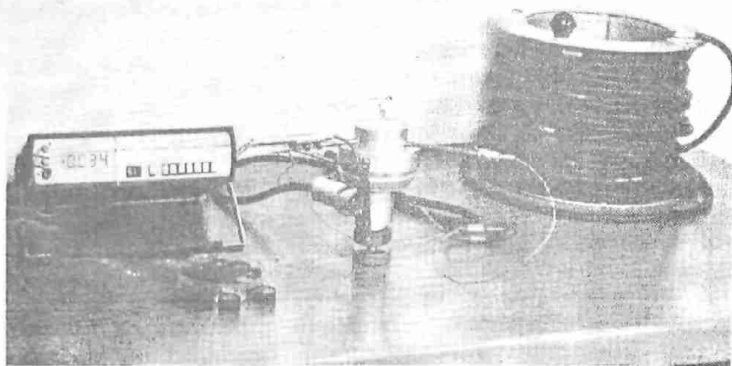
де $E_{\downarrow(z)}$ – опромінення зверху на глибині z ; α – коефіцієнт ослаблення (екстинції).

Коефіцієнт ослаблення у природних водах змінюється в дуже широких межах і залежить від висоти сонця, хмарності, вмісту розчиненої і завислої речовини, у тому числі у планктонних організмах. Усе вищезазначене стосується і показника ослаблення сонячного світла в діапазоні ФАР.

Для оцінки умов фотосинтезу у водному об'єкті слід визначити коефіцієнт ослаблення сонячного світла ($\alpha_{\downarrow\text{ФАР}}$) у воді. На жаль, відсутність необхідної серійної вимірювальної апаратури ускладнює натурні роботи. А застосування приладів різної конструкції часто призводить до одержання погано порівнюваних результатів спостережень.

В Інституті гідробіології НАН України вимірювання підводної освітленості на водних об'єктах регіону здійснюється з використанням вимірювача підводної освітленості, розробленого і виготовленого в лабораторії гідрології інституту (рис. 11.12) [2]. Прилад відкалібровано за абсолютним значенням в НПВ ВНДІ оптико-фізичних вимірів Держстандарту.

Дані фактичних вимірювань використовуються також при визначенні широкого застосовуваного в гідробіології коефіцієнта підводної освітленості. Він є відношенням інтенсивності опромінення сонячним світлом водної маси на глибині 1 м до щільності потоку сонячної енергії під поверхнею води.



11.12. Вимірювач підводної освітленості розроблений в Інституті гідробіології НАН України.

У масових гідроекологічних оцінках і прогнозах як показник гідрооптичних властивостей водного середовища дуже часто використовується відносна прозорість – дальність видимості білого диска діаметром 300 мм (диска Секкі). Ця характеристика легко вимірювана і цілком інформативна, саме вона представляє у різних нормативних документах і класифікаціях якості води її гідрооптичні властивості.

Характерними оптичними властивостями природних вод є кольоровість і колір. Перша вимірюється в пробах води в градусах і визначається вмістом завислих і гумусових речовин. Кольоровість води у водоймах з малою каламутністю і тих, що не містять забарвлювальних речовин, змінюється від синьої до зеленувато-жовтої. При наявності завислих речовин вода набуває зеленого і жовтого відтінків, при великій їх кількості – кольору зависів. Жовтувато-буре і коричневе забарвлення води спричинюється гумусовими речовинами.

Колір поверхневого шару води визначають звичайно стандартною шкалою кольорів води (ШКВ). Її застосування ґрунтується на окомірному підборі відтінку шкали до кольору води. Шкала складається з 22 скляних запаяних пробірок, заповнених кольоровими розчинами з поступовим переходом від синього до коричневого. Спостереження за кольором води здійснюються на тлі

диска Секкі, опущеного у водойму на глибину, рівну приблизно половині величини прозорості.

Під час спостереження за прозорістю і кольором води очі спостерігача мають бути обов'язково захищені від дії прямого і відбитого сонячного світла, а шкала – знаходитися в тіні

Література

1. *Клімат України* / За ред. В.М.Ліпінського, В.А.Дячука, В.М.Бабіченко. – К.: Вид-во Раєвського, 2003. – 343 с.
2. *Сидерский А. В.* Портативный прибор для измерения подводной облученности // Технические средства и методы исследования Мирового океана: Тез. докл. Всесоюз. школы-семинара. – М.: Б. и., 1987. – С. 14.
3. *Чехин А. П.* Световой режим водоемов. – Петрозаводск: Изд-во КФ АН СССР, 1987. – 132 с.
4. *Шмаков В. М.* Гидролого-экологические аспекты режима солнечной энергии в водохранилищах днепровского каскада. – Киев: Наук. думка, 1988. – 167 с.

11.9. Визначення прозорості води

Прозорість води залежить від її кольору та каламутності. Мірою прозорості є висота водяного стовпа, крізь який можна ще спостерігати зафарбовану у білий колір дощечку певного розміру або диск Секкі, або прочитати друкарський шрифт певного типу [1]. Візуальний метод дає лише орієнтовні результати.

Вимірювання прозорості за допомогою дощечки виконується в поверхневих водах на місці відбору проби, а за допомогою шрифту – під час дослідження поверхневих вод у лабораторних умовах. Результати виражають у сантиметрах, відзначаючи при цьому спосіб вимірювання.

Вимірювання за стандартною дощечкою або диском Секкі. Цей метод полягає у встановленні глибини, на якій занурена біла дощечка або диск Секкі перестають бути видимими. Вимірювання слід проводити за відсутності прямого сонячного світла. Дощечку або диск Секкі закріплюють на підвісці, на якій позначені сантиметри. При розсіяному денному світлі дощечку або диск Секкі занурюють у воду і визначають глибину, на якій вони перестають бути видимими. Вимірювання повторюють кілька разів і розраховують середнє значення.

Вимірювання за допомогою шрифту. Визначають висоту водяного стовпа, крізь який друкарський шрифт починає втрачати чіткість. Скляний прозорий

циліндр, під дно якого підкладають папір з добре освітленим шрифтом, заповнюють пробую води до такої висоти, на якій літери, що проглядаються зверху, починають погано розпізнаватися. Пробу розглядають при розсіяному денному освітленні. Визначення повторюють кілька разів і розраховують середнє значення висоти водяного стовпа в сантиметрах.

Література

1. *Руководство по определению прозрачности / Руководство по методам исследования качества вод.* – Т. 1: Гидрохимия. Радиология. – Киев, 1995. – С. 25–26.

12. Загальні гідрохімічні характеристики

12.1. Визначення загальної мінералізації води (суми іонів)

Мінералізація води – це кількість розчинених у ній мінеральних речовин, яка виражається або загальною мінералізацією, або сухим залишком [2–4]. Загальна мінералізація є сумою компонентів мінеральних речовин, визначених за допомогою аналізів; сухий залишок отримують шляхом випарювання певного об'єму води, висушування з дальшим зважуванням. Значення цих характеристик можуть дещо відрізнятись, бо сухий залишок складається не лише з мінеральних, але й органічних речовин, що містяться у досліджуваній природній воді. Загальну мінералізацію та сухий залишок виражають для прісних і солонуватих вод у міліграмах на 1 дм³ або у грамах на 1 дм³, для розсолів – у грамах на 1 дм³ або на 1 кг (‰).

Сума іонів Σ_i (близьке до мінералізації поняття) – сума всіх видів іонів, у мг/дм³ або г/кг; концентрація яких більша за 0,1 мг/дм³.

Сухий залишок – загальна маса речовини, отримана після випарювання фільтрованої води і дальшого висушування осаду при температурі 105°C до постійної маси (мг/дм³, ‰).

Визначення загальної маси розчинених речовин полягає у випарюванні проби води, яку попередньо фільтрують через мембранний або паперовий фільтр [2]. Фільтрат випарюють у зваженій порцеляновій чашці на водяній бані насуха, а залишок висушують при 105°C до постійної маси і після охолодження в ексікаторі знову зважують. Масу розчинених речовин (мг/дм³) розраховують за формулою:

$$m_k = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 1000}{V}$$

де m_1 – маса чашки, мг; m_2 – маса чашки з висушеним залишком, мг; V – об'єм проби води, см³.

Одержана маса, як було вже зазначено, складається з маси як мінеральних, так і органічних речовин. Отже, вона буде відрізнятись від величини мінералізації. Якщо ж сухий залишок прожарити у муфелі при 600°C, то одержане значення маси буде близьке до величини мінералізації. Тому дуже часто сухий залишок прожарюють у муфелі при 600°C до постійної маси і після охолодження в ексікаторі знову зважують. Якщо проба містить велику кількість

органічних речовин, то залишок після прожарювання іноді буває темного кольору. В таких випадках після охолодження чашки залишок зволожують дистильованою водою, висушують і знову прожарюють. Цю процедуру, якщо необхідно, повторюють кілька разів. Масу залишку після прожарювання (мг/дм³) знаходять за формулою:

$$m_y = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 1000}{V},$$

де m_1 – маса чашки, мг; m_2 – маса чашки із залишком після прожарювання, мг; V – об'єм проби води, см³.

Значення втрат при прожарюванні (мг/дм³) розраховують таким чином:

$$m_x = \frac{(m_2 - m_3) \cdot 1000}{V},$$

де m_2 – маса чашки з висушеним залишком, мг; m_3 – маса чашки із залишком після прожарювання, мг; V – об'єм проби води, см³.

На підставі цієї характеристики оцінюють (з певним наближенням) загальну масу розчинених органічних речовин у досліджуваній природній воді.

Важливе значення має еквівалентна форма вираження результатів. У еквівалентній формі всі речовини описують тими хімічно рівноцінними одиницями, пропорційно яким вони вступають між собою в реакцію і зв'язані в солях, перебуваючи у твердому стані. При порівнянні складу природних вод слід знати і співвідношення між іонами. Для цього використовують відносний вміст кількості речовини еквівалентів (КРЕ) від загальної суми іонів у воді. Припускають, що сума аніонів і катіонів становить 100%. Звідси відносний еквівалентний вміст будь-якого з іонів визначається виразом:

$$\text{КРЕ}_a = \frac{i \cdot 100}{\Sigma_a}; \text{КРЕ}_k = \frac{i \cdot 100}{\Sigma_k},$$

де i – вміст іона, ммоль/дм³.

Еквівалентна форма дає змогу розраховувати кількість деяких головних іонів без аналітичного визначення. Наприклад: $\text{Na}^+ + \text{K}^+ = (\text{HCO}_3^- + \text{SO}_4^{2-} + \text{Cl}^-) - (\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+})$.

12.2. Визначення концентрації у воді хлорид-іонів

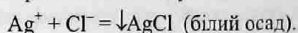
Хлориди є невідмінною складовою природних вод. У річкових та озерних прісних водах вміст хлорид-іонів коливається в досить широких межах – від часток міліграма до десятків, сотень, а іноді й тисяч міліграмів в 1 дм³. Підви-

шений вміст хлоридів погіршує смакові якості води, робить її малопридатною для питного водопостачання та обмежує застосування для багатьох технічних і господарських цілей, а також для зрошування сільськогосподарських угідь. На відміну від сульфатних і карбонатних іонів, хлорид-іони не здатні до утворення асоційованих іонних пар. Вони характеризуються найбільшою міграційною здатністю, оскільки добре розчинні у воді, слабо адсорбуються зависею та мало споживаються водяними організмами.

Концентрація хлорид-іонів та її коливання, у тому числі добові, можуть бути одним із критеріїв забруднення водойми господарсько-побутовими стічними водами.

Для визначення хлоридів у поверхневих водах рекомендується об'ємний аргентометричний метод (метод Мора) з використанням хромату калію (K_2CrO_4) як індикатора [2, 5–7]. Цей метод визнано міжнародним стандартом ISO 9297. Методика придатна для безпосереднього визначення хлорид-іонів у концентрації від 10 до 500 мг/дм³. Найбільш надійні результати одержують при концентрації хлоридів ≥ 40 мг/дм³.

Метод базується на відомій реакції взаємодії хлорид-іона з іонами аргентуму (Ag^+) з утворенням нерозчинного осаду:



Після повного осадження хлорид-іонів надлишок іонів аргентуму вступає в реакцію з хромат-іонами з утворенням осаду хромату аргентуму Ag_2CrO_4 , забарвленого в червоний колір. Значення рН від 5,0 до 9,5 є оптимальними для осадження Ag_2CrO_4 .

Відбір і зберігання проб

Проби не консервують і зберігають при кімнатній температурі. Каламутні проби перед аналізом фільтрують через мембранний фільтр з діаметром пор 0,45 мкм. За відсутності мембранних фільтрів допускається використання беззольних фільтрів «синя стрічка», попередньо промитих безаміачною водою.

Заважаючий вплив

На результати визначення хлорид-іонів можуть впливати іони інших галогенів (Br^- , I^-). Однак вміст останніх у більшості природних поверхневих вод невеликий і ним можна знехтувати. Заважаючий вплив забарвлених речовин води усувають, пропускаючи її через колонку з активованим вугіллям БАВ ($d = 1,5\text{--}2$ см; $h = 25\text{--}30$ см) із швидкістю 2 см³/хв. Перші 150 см³ води відкидають.

Для уникнення заважаючого впливу аміаку при його високій концентрації (5 мг/дм^3) рН проби води доводять до 12 додаванням розчину гідроксиду натрію (2 моль/дм^3), повільно нагрівають у витяжній шафі до повного вилучення NH_3 .

Реактиви

Слід використовувати реактиви лише аналітичної чистоти та дистильовану воду.

Нітрат аргентуму, стандартний титрований розчин з концентрацією $0,05 \text{ моль/дм}^3$. Наважку $8,4937 \text{ г AgNO}_3$ (висушеного при температурі 105°C) переносять у мірну колбу місткістю 1 дм^3 і розчиняють у дистильованій воді. Об'єм розчину доводять до позначки, ретельно перемішуючи. Точну концентрацію розчину встановлюють шляхом титрування атестованим розчином NaCl . Розчин зберігають у склянці з темного скла. Його концентрацію слід перевіряти щомісячно.

Хлорид натрію, стандартний розчин з концентрацією $0,05 \text{ моль/дм}^3$. Наважку $2,9221 \text{ г NaCl}$, попередньо прожареного при температурі $500\text{--}600^\circ\text{C}$ до повного вилучення вологи, розчиняють у дистильованій воді і доводять об'єм розчину в мірній колбі до 1 дм^3 .

Хромат калію (K_2CrO_4), індикатор, розчин 100 г/дм^3 . Розчиняють $10 \text{ г K}_2\text{CrO}_4$ у воді і доводять об'єм дистильованою водою у мірній колбі до 100 см^3 .

Хід визначення

У конічну колбу місткістю 200 см^3 вносять піпеткою необхідний об'єм досліджуваної води, додають 1 см^3 розчину K_2CrO_4 (якщо об'єм проби менший за 100 см^3 , його доводять до 100 см^3) і титрують розчином AgNO_3 , неперервно перемішуючи пробу. При невеликому вмісті хлорид-іонів титрування проводять повільно, доливаючи розчин AgNO_3 по одній краплині. При значному вмісті хлоридів спочатку випадає білий осад AgCl . При наближенні титрування до кінця, з'являється бурувате забарвлення, швидкість зникнення якого уповільнюється при подальшому титруванні. Для встановлення кінцевої точки титрування доцільно використовувати «свідка», тобто недотитровану пробу з таким же вмістом хлорид-іонів, що й в досліджуваній пробі води.

Кінець титрування визначають за незникаючим при перемішуванні забарвленням буруватого кольору, що з'являється від однієї краплини AgNO_3 . Одночасно визначають холосту пробу титруванням дистильованої води (100 см^3).

Розрахунок хлоридів (C_y) у ммоль/дм³ або (C_x) у мг/дм³ здійснюють за формулами:

$$C_y = \frac{(V_1 - V_2)C_{\text{AgNO}_3} \cdot 1000}{V};$$

$$C_x = \frac{(V_1 - V_2)C_{\text{AgNO}_3} \cdot 35,45 \cdot 1000}{V},$$

де C_{AgNO_3} – концентрація робочого розчину AgNO_3 , ммоль/дм³; V_1 і V_2 – об'єм робочого розчину AgNO_3 , витрачений на титрування відповідно проби та холостого розчину, см³; V – об'єм проби води, взятої для визначення, см³.

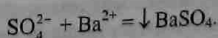
12.3. Визначення концентрації у воді сульфат-іонів

Сульфат-іони належать до найпоширеніших аніонів і завжди наявні у помітній кількості у всіх поверхневих водах. Їх вміст у річкових та озерних прісних водах становить від 5–10 до 60 мг/дм³. Концентрація сульфатів у поверхневих водах зазнає помітних сезонних коливань і зазвичай корелює із змінами загальної мінералізації води.

Для визначення сульфатів розроблено кілька методів: гравіметричний, титриметричний та турбидиметричний. Найбільш високоточним є гравіметричний, що використовується головним чином як арбітражний. Однак він дуже трудомісткий і тривалий. Титриметричний метод базується на титруванні проб води різними розчинами, зокрема розчином $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ у присутності індикатора дитизону або розчином BaCl_2 у присутності індикатора органілового К. Турбидиметричний метод придатний для аналізу вод з невеликим вмістом іонів SO_4^{2-} (1–15 мг/дм³).

Найбільшого поширення набули титриметричні методики, що базуються на прямому титруванні сульфатів зазначеними розчинами солей. Перевага надається титриметричному визначенню з допомогою розчину BaCl_2 , бо розчинність BaSO_4 значно нижча від розчинності PbSO_4 [5, 6].

Принцип методу титриметричного визначення сульфат-іонів з використанням розчину BaCl_2 базується на здатності сульфатних іонів утворювати слабко розчинний осад BaSO_4 при їх взаємодії з солями барію:



Відбір і зберігання проб

Визначення сульфатів зазвичай здійснюється у фільтрованих пробах після аналізу на нестійкі компоненти. Проби можна консервувати і зберігати при кімнатній температурі. Для консервування використовують хлороформ з розрахунку $2-4 \text{ см}^3 \text{ CHCl}_3$ на 1 дм^3 води. Законсервовану пробу зберігають при температурі $3-4^\circ\text{C}$.

Заважаючий вплив

Для зменшення розчинності осаду BaSO_4 титрування здійснюють у водно-спиртовому середовищі. Визначенню заважають забарвлені і завислі речовини та катіони, що здатні реагувати з ортаніловим К (особливо іони Ca^{2+} і Mg^{2+}). Заважаючого впливу забарвлених речовин, зокрема гумусових, позбуваються пропусканням проби води через колонку з активованим вугіллям БАВ ($d = 1,5-2 \text{ см}$; $h = 25-30 \text{ см}$) із швидкістю $2 \text{ см}^3/\text{хв}$. Завислі речовини вилучають шляхом попереднього фільтрування проб води (мембранний фільтр з діаметром пор $0,45 \text{ мкм}$). Заважаючий вплив катіонів усувають шляхом струшування води з катіонітом КУ-2 в H^+ -формі. Для цього аликвоту досліджуваної води об'ємом до 100 см^3 вносять в кожну плоскодонну колбу місткістю 250 см^3 і додають $5-10 \text{ г}$ катіоніту КУ-2 в H^+ -формі. Суміш в колбі струшують $6-8$ разів протягом $5-10 \text{ хв}$ і дають її осісти.

Хід визначення

Відбирають піпеткою $10-50 \text{ см}^3$ відстояної води в конічну плоскодонну колбу місткістю 100 см^3 (в пробі повинно бути $1-3 \text{ мг}$ іонів SO_4^{2-}). Якщо об'єм проби перевищує 10 см^3 , її випарюють до цього об'єму на електроплитці, уникаючи розбризкування. При аналізі проб з високим вмістом іонів SO_4^{2-} (більше $300 \text{ мг}/\text{дм}^3$) їх розбавляють, враховуючи кратність розбавлення при проведенні розрахунків. Величину рН природної води в колбі для титрування доводять до 4 (за забарвленням індикаторного папірця) $2 \text{ ммоль}/\text{дм}^3$ розчином NaOH . Додають 10 см^3 етилового спирту, $0,3 \text{ см}^3$ (10 краплин) $0,05\%$ -ного водного розчину ортанілового К і обережно титрують розчином BaCl_2 за постійного перемішування до переходу забарвлення з фіолетового в яскраво-голубе.

На початковій стадії титрування, особливо в пробах з невисоким вмістом сульфатів, вже після додавання перших краплин хлориду барію фіолетове за-

барвлення змінюється на голубе. Тому титрування слід здійснювати повільно за умови енергійного перемішування і продовжувати до того часу, поки в таких умовах фіолетове забарвлення не буде відновлюватись протягом 2–3 хв.

Реактиви

1. Розчин хлориду барію $BaCl_2$, кваліфікації «х.ч.», з молярною концентрацією еквівалента $0,02$ моль/дм³ готують шляхом розчинення $2,0524$ г $BaCl_2$, попередньо висушеного при температурі $120^\circ C$ до постійної маси, в бідистильованій воді. Об'єм розчину доводять до позначки у мірній колбі місткістю 1 дм³ і ретельно перемішують.

2. Ортаніловий K , $0,05\%$ -ний водний розчин, готують розчиненням 50 мг препарату в бідистильованій воді і доводять об'єм до позначки у мірній колбі місткістю 100 см³, ретельно перемішуючи.

3. Розчин гідроксиду натрію з молярною концентрацією 2 і 1 моль/дм³ готують розчиненням відповідно 8 і 4 г $NaOH$ в 1 дм³ бідистильованої води в мірних циліндрах.

4. Розчин соляної кислоти з молярною концентрацією 4 і 1 моль/дм³ готують шляхом розбавлення HCl бідистильованою водою у співвідношенні $1:3$ та $1:12$ в мірних циліндрах.

Розрахунки

Вміст сульфат-іонів (C_y) у ммоль/дм³ або (C_x) у мг/дм³ знаходять за формулами:

$$C_y = \frac{V_1 C \left(\frac{1}{2} BaCl_2 \right) \cdot 1000}{V};$$

$$C_x = \frac{48,03 V_1 C \left(\frac{1}{2} BaCl_2 \right) \cdot 1000}{V},$$

де V_1 – об'єм робочого розчину $BaCl_2$, витрачений на титрування, см³;
 $C \left(\frac{1}{2} BaCl_2 \right)$ – молярна концентрація еквівалента хлориду барію, моль/дм³, V – об'єм проби, взятої для титрування (після контакту з катіонітом), см³.

12.4. Визначення концентрації у воді гідрокарбонат-іонів

Переважаюча частина (близько 80%) поверхневих вод належить до гідрокарбонатного класу, тому що серед головних аніонів у них переважають гідрокарбонатні [3, 4]. Вмістом гідрокарбонатних і карбонатних іонів значною мірою зумовлюється лужність води. Співвідношення між концентрацією гідрокарбонатних і карбонатних іонів залежить від концентрації іонів водню, а тому визначається величиною рН природної води. В інтервалі рН 6–10 гідрокарбонат-іони є основною формою похідних вугільної кислоти (їх максимальний вміст відзначається при рН 8,3–8,4).

Вміст іонів HCO_3^- знаходять титриметричним методом, попередньо встановивши вільну та загальну лужність [2, 6]. Лужність води визначають титруванням природної води розчином соляної або сірчаної кислоти. Якщо вода має рН > 8,3, то титруванням по фенолфталеїну до рН $\approx 8,3$ знаходять вільну лужність (n), зумовлену наявністю у воді іонів CO_3^{2-} та аніонів інших міцних основ. Для визначення загальної лужності (q) титрування кислотою проводять до рН $\approx 4,5$ у присутності метилоранжу. Вільна лужність є частиною загальної лужності. Різниця $q - n$ дорівнює вмісту гідрокарбонат-іонів.

Визначення вільної лужності (n), загальної лужності (q) та гідрокарбонат-іонів ($q - n$). Якщо вода має рН > 8,3, то до 100 см³ проби додають 2–3 краплі фенолфталеїну і титрують 0,1 моль/дм³ НСІ до знебарвлення розчину. При рН-метричному визначенні пробу титрують до встановлення рН 8,3. У іншу колбу відбирають 100 см³ води, додають 2 краплі метилоранжу і титрують 0,1 моль/дм³ НСІ до переходу жовтого кольору в оранжевий. При рН-метричному визначенні пробу титрують до встановлення рН 4,5.

Розрахунки

Вільну лужність (n) та загальну лужність (q), ммоль-екв/дм³, визначають за формулами:

$$n = \frac{CV_1 \cdot 1000}{V}; q = \frac{CV_2 \cdot 1000}{V},$$

де C – концентрація робочого розчину соляної кислоти, моль/дм³; V – об'єм проби води, см³; V_1 – об'єм робочого розчину кислоти, витрачений на титрування до встановлення рН 8,3, см³; V_2 – об'єм робочого розчину кислоти, витрачений на титрування до встановлення рН 4,5, см³.

Концентрацію іонів HCO_3^- (C_y) у ммоль-екв/дм³ або (C_x) у мг/дм³ обчислюють за формулами:

$$C_y = q - n; C_x = M(q - n),$$

де M – молярна маса еквівалента HCO_3^- , $M(\text{HCO}_3^-) = 61,02$.

Відбір і зберігання проб

Лужність води визначають згодом після відбору проб (не пізніше 1 доби). Каламутні проби попередньо фільтрують через мембранний фільтр з діаметром пор 0,45 мкм. Пляшку слід заповнювати водою повністю. Для відбору та зберігання проб необхідно використовувати поліетиленовий посуд, оскільки гідрокарбонати, карбонати та інші аніони слабких кислот можуть в значних кількостях вилуджуватись із скла.

Реактиви

0,1 моль/дм³ HCl готують з фіксаналу або 8,4 см³ концентрованої HCl розбавляють бідистилятом до 1 дм³. Концентрацію соляної кислоти перевіряють за точно приготовленим розчином бури $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$.

Індикатори: фенолфталеїн і метилоранж (спиртові розчини).

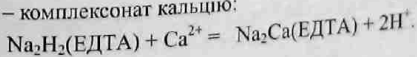
12.5. Визначення концентрації у воді іонів Ca^{2+}

Головним джерелом надходження кальцію в поверхневій воді є процеси хімічного вивітрювання та розчинення мінералів, насамперед вапняків, доломітів, гіпсу, кальцій-вмісних силікатів та ін. Концентрація іонів кальцію в природних водах залежить від стану хімічної рівноваги карбонатної системи. У водах з високою твердістю при порушенні карбонатної рівноваги і зменшенні концентрації діоксиду вуглецю карбонат кальцію може випадати в осад.

Концентрація кальцію в поверхневих водах зазнає помітних сезонних коливань і, як правило, корелює з величиною загальної мінералізації.

Для визначення іонів Ca^{2+} в поверхневих водах найбільшого поширення набув метод комплексонометричного титрування з використанням трилону Б [2, 5, 6]. Методика дозволяє визначати масову концентрацію кальцію від 0,5 до 100 мг/дм³. Для вод з вмістом Ca^{2+} більшим ніж 100 мг/дм³ слід використовувати розбавлену пробу.

Комплексонометричне визначення ґрунтується на здатності іонів Ca^{2+} утворювати з трилоном Б малодисоційовану, стійку в лужному середовищі (рН 12–13), сполуку – комплексонат кальцію:



Кінцева точка титрування визначається за зміною забарвлення індикатора – суміші мурексиду з нафтоловим зеленим Б (з брудно-зеленого в синє). Магній в цих умовах осаджується у вигляді гідроксиду і не заважає визначенню. Мінімальна концентрація кальцію, що визначається – $0,5 \text{ мг/дм}^3$.

Відбір і зберігання проб

Визначення кальцію здійснюють у фільтрованій воді, для чого пробу попередньо пропускають через мембранний фільтр з діаметром пор $0,45 \text{ мкм}$. Проби можна не консервувати і зберігати при кімнатній температурі. Якщо в профільтрованій пробі в період зберігання випав осад, що містить карбонат кальцію, його розчиняють додаванням соляної кислоти. Перед титруванням таку пробу нейтралізують розчином NaOH .

Заважаючий вплив

Визначенню кальцію заважають іони деяких металів, наприклад купруму, феруму, мангану, цинку, свинцю, які утворюють забарвлені комплексні сполуки з мурексидом. Однак їх концентрація в природних водах значно менша, ніж концентрація кальцію, тому у більшості випадків впливом цих іонів можна нехтувати. Для їх маскування при високій концентрації до проби води додають $0,5\text{--}1 \text{ см}^3$ 25%-ного водного розчину триетаноламіну. Іони Mg^{2+} заважають визначенню при концентрації понад 3 мг/дм^3 , тому що гідроксид магнію адсорбує частину індикатора. Впливу магнію можна позбутися розбавленням проби дистильованою водою.

Для усунення заважаючого впливу аніонів (HCO_3^- , CO_3^{2-} , PO_4^{3-} , SiO_3^{2-}) пробу слід відтитрувати зразу ж після додавання лугу.

Заважаючого впливу кольоровості води позбуваються пропусканням проби перед аналізом через колонку з активованим вугіллям БАВ ($d = 1,5\text{--}2 \text{ см}$; $h = 25\text{--}30 \text{ см}$) із швидкістю $2 \text{ см}^3/\text{хв}$.

Хід визначення

У конічну колбу місткістю $150\text{--}200 \text{ см}^3$ відбирають піпеткою $25\text{--}100 \text{ см}^3$ води залежно від вмісту кальцію, додають 2 см^3 2 моль/дм³ розчину NaOH для створення рН $12\text{--}13$, $10\text{--}15 \text{ мг}$ сухого змішаного індикатора і титрують робочим розчином комплексопу III (ЕДТА) з $C\left(\frac{1}{2} \text{H}_2\text{Y}^{2-}\right) = 0,02 \text{ моль/дм}^3$ до переходу за-

барвлення розчину з брудно-зеленого в синє. Концентрацію кальцію розраховують за такими формулами:

$$C_y = \frac{V_1 C \cdot 1000}{V}, \text{ ммоль/дм}^3;$$

$$C_x = \frac{V_1 C M \cdot 1000}{V}, \text{ мг/дм}^3,$$

де V_1 – об'єм робочого розчину комплексону III, витрачений на титрування, см^3 ; C – його концентрація, моль-екв/дм³; V – об'єм проби води, см^3 ; M – молярна маса еквівалента кальцію, $M\left(\frac{1}{2}\text{Ca}^{2+}\right) = 20,04$.

Реактиви

1. *Розчин комплексону III* з молярною концентрацією еквівалента, що дорівнює 0,02 моль/дм³. У 1000 см^3 бідистилату в мірній колбі розчиняють 3,75 г комплексону III (натрієва сіль дигідрату ЕДТА – $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Точну концентрацію встановлюють за стандартним розчином хлориду цинку. Розчин комплексону III з молярною концентрацією еквівалента 0,01 моль/дм³ готують розбавленням попереднього розчину у співвідношенні 1:1.

2. *Змішаний індикатор*. Зважують на технічних вагах 0,2 г мурексиду і 0,5 г нафтолового зеленого Б. Наважки змішують і ретельно розтирають у ступці із 100 г хлориду натрію. Одержану суміш зберігають у склянці з темного скла.

3. *Розчин NaOH*, х. ч., 2 моль/дм³. У мірній колбі на 1 дм³ розчиняють у дистильованій воді 80 г NaOH і доводять об'єм до позначки.

4. *Розчин хлориду цинку ZnCl₂*, х. ч. У мірну колбу місткістю 1 дм³, в яку попередньо було налито 10–15 см^3 бідистилату та 3 см^3 концентрованої HCl, вносять 0,33 г металічного цинку. Після розчинення об'єм розчину доводять до позначки бідистилатом і ретельно перемішують.

12.6. Визначення концентрації у воді іонів Mg^{2+}

Солі магнію є невід'ємною складовою ґрунтових і поверхневих вод. Їх вміст визначається геологічними умовами водоносних шарів. У поверхневих прісних водах концентрація магнію, як правило, не перевищує вмісту кальцію.

Для швидкого визначення магнію при його концентрації у воді $> 5 \text{ мг/дм}^3$ застосовують комплексонометричне титрування. Але при цьому неможливо відокремити кальцій, який титрується разом з магнієм. Тому із суми необхідно

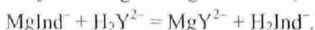
віднімати вміст кальцію, що визначається окремо. В питних і поверхневих водах для визначення суми обох елементів часто використовуються дані про загальну твердість води, а вміст магнію визначають за різницею між загальною твердістю води і вмістом Ca^{2+} [2, 6].

Метод визначення твердості води базується на титруванні проби розчином ЕДТА (комплексон III, трилон Б, скорочена формула $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$) у лужному середовищі при $\text{pH} \approx 10$ з хромогеном чорним (еріохром чорний Т) як металохромним індикатором (скорочена формула NaH_2Ind). Комплексон III утворює з іонами кальцію та магнію у лужному середовищі безбарвні комплексні сполуки за схемою:



Комплексонат кальцію міцніший, ніж комплексонат магнію, тому при титруванні утворюється в першу чергу.

Хромоген чорний утворює з іонами магнію комплексну сполуку червоно-фіолетового кольору, яка при додаванні розчину комплексону III знебарвлюється внаслідок утворення міцнішого комплексонату магнію складу MgY^{2-} :



При цьому червоно-фіолетовий колір комплексу з металохромним індикатором MgInd^- зникає і розчин набуває голубого кольору, що свідчить про появу вільного індикатора H_2Ind^- .

Хід аналізу

В конічну колбу на 150–200 cm^3 відбирають піпеткою 10–100 cm^3 води залежно від очікуваної величини твердості, розбавляють при необхідності до 100 cm^3 дистильованою водою, додають 5 cm^3 аміачного буферного розчину з $\text{pH} \approx 10$ (20 г хлориду амонію розчиняють у воді, додають 100 cm^3 концентрованого аміаку і доводять об'єм суміші до 1 dm^3), 10–15 мг сухого індикатора (0,5 г індикатора хромогену чорного розтирають у порцеляновій ступці з 50 г хлориду натрію), збовтують і титрують розчином комплексону III з молярною концентрацією еквівалента 0,02 моль/дм^3 до переходу червоно-фіолетового кольору розчину в голубий.

Твердість води виражають у мілімолях кількості речовини еквівалента Ca^{2+} і Mg^{2+} , що містяться в 1 дм^3 води. 1 ммоль/дм^3 твердості відповідає:

$$M\left(\frac{1}{2}\text{Ca}^{2+}\right) = 20,04 \text{ мг/дм}^3 \text{ і } M\left(\frac{1}{2}\text{Mg}^{2+}\right) = 12,16 \text{ мг/дм}^3,$$

де M – молярна маса еквівалента відповідно кальцію і магнію.

Загальну твердість води C_x , що характеризується сумою молярної концентрації еквівалентів (ммоль/дм³), знаходять за формулою:

$$C_x = \frac{CV_1 \cdot 1000}{V},$$

де C і V_1 – відповідно концентрація робочого розчину комплексону III (моль/дм³) і його об'єм, витрачений на титрування, см³; V – об'єм проби води, см³.

Відбір і зберігання проб

Проби води для визначення її твердості можуть бути проаналізовані згодом після їхнього відбору або після тривалого зберігання. Попередня обробка цих проб полягає лише у мембранному фільтруванні (діаметр пор фільтра 0,45 мкм). Проби не консервують. Якщо в період зберігання випадає осад карбонату кальцію, його розчиняють, попередньо відсифонивши прозорий шар над осадом додаванням 2 см³ розбавленої (1:1) НСІ. Потім відсифонений розчин і рідину з розчиненим осадом зливають разом, нейтралізують і розпочинають аналіз.

Реактиви

Розчин комплексону III готують так, як викладено у методиці визначення кальцію. Буферний розчин NH₄Cl + NH₄OH та індикатор готують, як описано вище.

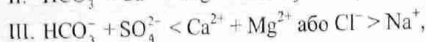
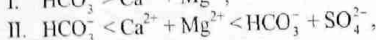
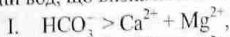
12.7. Встановлення іонного складу води

Існує кілька десятків класифікацій природних вод за їх хімічним складом. Найбільшого поширення набула класифікація О. О. Альокіна, в основу якої покладено два принципи: переважаючих іонів і співвідношень між ними [3, 4]. Переважаючими вважаються іони з найбільшим відносним вмістом у відсотках в перерахунку на кількість речовини еквівалента.

Всі природні води за переважаючим аніоном поділяються на три класи: 1) гідрокарбонатних вод; 2) сульфатних вод і 3) хлоридних вод. До гідрокарбонатного класу належить переважна частина маломінералізованих вод річок, озер і деяких підземних вод. Клас хлоридних вод об'єднує головним чином висодіючі підземні води. Клас сульфатних вод об'єднує головним чином висодіючі підземні води океану, морів, соляних озер, підземні води закритих

структур та ін. Води сульфатного класу за поширенням і мінералізацією є проміжними між гідрокарбонатними і хлоридними водами.

Кожний клас поділяється за переважаючим катіоном на три групи вод: кальцієву, магнієву та натрієву. Кожна група в свою чергу поділяється на чотири типи вод, що визначаються співвідношенням між іонами в еквівалентах:



Води першого типу є лужними, м'якими, утворюються при розчиненні продуктів вивітрювання вивержених порід, що містять значну кількість натрію і калію. Ці води найчастіше мало мінералізовані, хоча у безстічних озерах можуть мати дуже високу мінералізацію. Води другого типу формуються при взаємодії з різними породами і продуктами вивітрювання корінних порід. До цього типу належить більшість вод річок, озер і підземних вод малої та помірної мінералізації. Третій тип характеризує метаморфізовані води, що включають певну частину сильно мінералізованих вод або вод, що зазнають катіонного обміну Na^+ на Ca^{2+} або Mg^{2+} . До цього типу належать води океану, морів, лиманів, багатьох соляних озер. Четвертий тип об'єднує кислі води. Це в основному болотні, шахтні та вулканічні води, а також води, сильно забруднені промисловими стоками.

Для позначення класів, груп і типів у згаданій класифікації застосовуються символи. Клас позначається символом відповідного аніона: C – HCO_3^- , S – SO_4^{2-} , Cl – Cl^- ; група – символом катіона: Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} ; тип – римською цифрою. Символи пишуться таким чином: $\text{C}_{II}^{\text{Ca}}$ (гідрокарбонатний клас, група кальцієва, тип другий), $\text{S}_{II}^{\text{Na}}$ (сульфатний клас, група натрієва, тип другий) або для більш складного випадку: $\text{Cl}_I, \text{S}_{III}^{\text{Na, Mg}}$ (сульфатно-хлоридний клас, група натрію та магнію, тип третій). Наявність другого аніона або катіона у символі означає, що його вміст лише незначно (в межах 5% в перерахунку на кількість речовини еквівалента) поступається вмісту першого іона.

У символі може також відобразитися мінералізація (внизу, з точністю до $0,1 \text{ г/дм}^3$) і загальна твердість (вгорі, з точністю до цілих одиниць речовини еквівалента, ммоль/дм^3), наприклад $\text{C}_{II,0,4}^{\text{Ca},5}$ (клас гідрокарбонатний, група кальцієва, тип другий, мінералізація $0,4 \text{ г/дм}^3$, твердість 5 ммоль кількості речовини еквівалента на 1 дм^3 ; цю воду можна назвати так: гідрокарбонатна кальцієва другого типу).

12.8. Визначення концентрації водневих іонів (рН води)

Величину рН визначають колориметричними та електрометричними методами, вимірюючи потенціал, що з'являється на індикаторному (вимірювальному) електроді. Найбільш точним є електрометричний метод визначення за допомогою рН-метрів із скляним електродом [2, 6]. Визначати рН води слід одразу ж після відбору проби, тому що внаслідок хімічних і біохімічних процесів, що відбуваються в ній, концентрація водневих іонів може значно змінюватись. Якщо визначення рН на місці відбору проби неможливе, її транспортують у лабораторію в спеціальній склянці, уникаючи контакту води з повітрям, і одразу ж визначають рН.

Потенціометричне визначення рН з використанням скляного електрода ґрунтується на тому, що зміна рН розчину на одиницю викликає зміну електродного потенціалу на 58,16 мВ при 20°C. Діапазон лінійної залежності потенціалу від рН зумовлений властивостями скляного електрода.

Результат визначення рН залежить від температури, вплив якої можна регулювати спеціальним компенсатором у приладі. Якщо такого компенсатора немає, то пробу підігрівають або охолоджують до потрібної температури (20°C). Якщо температура проби значно відрізняється від 20°C і не доведена до цього значення, то її відзначають у записі результатів визначення.

Потенціометричному визначенню рН не заважають кольоровість і каламутність води, наявність у ній суспендованих речовин, вільного хлору, окисників і відновників, а також концентрація солей у пробі. Деякі помилки у вимірюванні рН спостерігаються при підвищеному вмісті солей натрію або при $\text{pH} > 10$. У таких випадках необхідно користуватися спеціальними електродами для вимірювання рН або вводити поправки, зазначені в інструкції до електрода.

Точність потенціометричного визначення рН залежить також від чистоти поверхні електрода. Для дослідження забруднених проб води доцільно користуватись спеціально виділеним для цього електродом. Для регенерації електрода його занурюють на 2 год у 2%-ний розчин HCl, а потім промивають дистильованою водою. Електрод слід зберігати в дистильованій воді.

Методика визначення

Перед початком вимірювання електрод промивають дистильованою водою, потім досліджуваною водою і лише після цього занурюють у пробу. Перед цим пробу води слід перемішати, щоб її склад безпосередньо біля поверхні електрода відповідав її загальному складу. Разом з електродами у пробу занурюють

термометр для вимірювання температури і внесення, за необхідності, поправок. Величину потенціалу скляного електрода вимірюють у мілівольтах або одиницях рН, що залежить від типу приладу, яким користуються.

Градувальний графік

Якщо прилад має лише шкалу у мілівольтах, то необхідно провести його калібровку з використанням буферних розчинів з відомими значеннями рН. Для цього будують графік залежності потенціалу від величини рН буферних розчинів і знаходять рН досліджуваної проби. Якщо прилад має шкалу рН, то його калібрують за стандартними буферними розчинами, які додаються у комплекті з приладом (рН таких розчинів становить 1,68; 4,03; 6,86; 9,22).

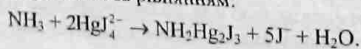
12.9. Визначення концентрації у воді амонійного азоту

У поверхневих водах амонійний азот знаходиться головним чином у вигляді іонів амонію (NH_4^+) та недисоційованих молекул NH_4OH . Кількісне співвідношення цих форм має важливе екологічне значення і визначається величиною рН і температурою води.

Наявність у незабруднених поверхневих водах іонів амонію зумовлена насамперед процесами біохімічної деградації білкових речовин. Збільшення вмісту іонів NH_4^+ спостерігається, як правило, в періоди відмирання водяних організмів, особливо в зонах їх скупчення. Іони амонію можуть утворюватись внаслідок анаеробних процесів відновлення нітратів і нітритів. Значна їх кількість може надходити в природні води з поверхневим стоком, побутовими стічними водами, промисловими стоками підприємств харчової, коксохімічної та хімічної промисловості. Підвищений вміст іонів NH_4^+ свідчить про погіршення санітарного стану водойми.

Для визначення амонійного азоту в поверхневих водах найбільшого поширення набув фотометричний метод з реактивом Неслера ($\text{K}_2\text{HgI}_4 + \text{KOH}$) [2, 5, 7, 8].

Суть методу. У лужному середовищі аміак взаємодіє з тетраїодомеркура-том (II) калію, утворюючи різні жовто-коричневі сполуки, які випадають в осад або переходять у колоїдний стан. Світлопоглинання вимірюють при $\lambda = 425$ нм (або з фіолетовим світлофільтром). В умовах фотометричного визначення реакція в основному відбувається за рівнянням:



Чутливість визначення дорівнює $0,05 \text{ мг NH}_4^+/\text{дм}^3$, що значно нижче від ГДК. Без розведення можна визначати не більше $4 \text{ мг NH}_4^+/\text{дм}^3$.

Відбір і зберігання проб

Об'єм проби, що відбирають, повинен бути не меншим 500 см^3 . Аналіз здійснюють у день відбору проби. Якщо це неможливо, пробу консервують додаванням 1 см^3 концентрованої H_2SO_4 на 1 дм^3 проби. Консервована проба може зберігатись 2 доби.

Заважаючий вплив

Безпосередньому визначенню аміаку у воді без його відгонки заважає багато речовин (аміни, хлораміни, альдегіди, спирти та деякі інші органічні сполуки), що взаємодіють з реактивом Неслера. Вплив твердості води усувають додаванням сегнетової солі або комплексону ІІІ. Великої кількості феруму, сульфідів і каламутності води позбуваються за допомогою солі цинку. До 100 см^3 проби додають 1 см^3 розчину сульфату цинку ($100 \text{ г ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в 1 дм^3 бідистилату), суміш перемішують і 25%-ним розчином KOH або NaOH доводять рН до $\approx 10,5$. Після утворення осаду його відокремлюють фільтруванням. При цьому збільшується об'єм розчину, який необхідно враховувати при розрахунках.

Хід аналізу

При аналізі використовують бідистилат. До 50 см^3 або меншого об'єму проби води, доведеного до 50 см^3 бідистилатом, додають 1–2 краплини 50%-ного розчину комплексону ІІІ або 50%-ного розчину сегнетової солі і перемішують. Якщо вода має велику твердість, то приливають $0,5$ – 1 см^3 зазначених реагентів. Потім додають 1 см^3 реактиву Неслера і добре перемішують. Через 10 хв вимірюють оптичну густину при $\lambda = 425 \text{ нм}$ на фоні холостого розчину.

Концентрацію NH_4^+ знаходять за градувальним графіком, для побудови якого використовують розчин хлориду амонію ($5 \text{ мг NH}_4^+/\text{дм}^3$). У мірні колби якоїм використовують розчин хлориду амонію ($5 \text{ мг NH}_4^+/\text{дм}^3$). У мірні колби об'ємом 50 см^3 наливають 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 і 12 мл робочого розчину хлориду амонію із зазначеною вище концентрацією NH_4^+ і безаміачною водою доводять до позначки. Вміст іонів NH_4^+ в одержаних розчинах становить 0, 0,005, 0,010, 0,015, 0,020, 0,025, 0,030, 0,040, 0,050 і $0,060 \text{ мг}$. Градувальний графік будують в координатах: «світлопоглинання (оптична густина) – концентрація іонів амонію, мг, з урахуванням поправки на холосту пробу.

Вміст іонів амонію (C), $\text{мг}/\text{дм}^3$, обчислюють за формулою:

$$C = \frac{C_{\text{ГР}} \cdot 1000}{V},$$

де $C_{\text{ГР}}$ – вміст іонів амонію, встановлений за градууювальним графіком, мг; V – об'єм проби, взятий для аналізу, см³. Для обчислення вмісту азоту амонійного (N_{NH_4}) одержану величину концентрації слід помножити на коефіцієнт 0,78.

Реактиви

1. *Основний розчин хлориду амонію.* У мірній колбі на 1 дм³ розчиняють 2,9650 г NH₄Cl, висушеного при 100–105°C і доводять розчин до позначки бідистиллятом. Концентрація NH₄⁺ в такому розчині становить 1 г/дм³. Робочий розчин NH₄Cl з концентрацією 5 мг NH₄⁺/дм³ одержують розбавленням 1 см³ основного розчину безаміачною водою у мірній колбі на 200 см³.

2. *Боратний буферний розчин з рН 9,5.*

3. *Реактив Неслера.* Використовують промисловий реактив (ТУ 6-09-2089). За його відсутності готують у лабораторних умовах з оксиду ртуту (II).

12.10. Визначення концентрації у воді нітритного азоту

Нітрити (NO₂⁻) є проміжним продуктом біохімічного окиснення аміаку або відновлення нітратів. Їх наявність у водоймах свідчить про фекальне забруднення вод.

Для визначення нітритів у питних, поверхневих і стічних водах використовується фотометричний метод з сульфаніловою кислотою та α-нафтиламином (реактив Гріса) [2, 5–8]. Зазначений метод базується на діазотуванні сульфанілової кислоти нітритами та взаємодії одержаної солі з α-нафтиламином з утворенням червоно-фіолетового азобарвника. Оптимальне значення рН для цієї реакції становить 2,5–3,0. Світлопоглинання вимірюють із світлофільтрами, близькими до λ = 520 нм.

Відбір і зберігання проб

Нітрити є нестійкими сполуками, тому їх необхідно визначати одразу після відбору проб води. Якщо це неможливо, їх консервують додаванням 1 см³ концентрованої H₂SO₄ або 2–4 см³ хлороформу на 1 дм³ води. Можна також охолодити проби води до 3–4°C.

Заважаючий вплив

Визначенню нітрит-іонів заважають завислі речовини та каламутність води, тому пробу перед аналізом фільтрують. При необхідності проби освітлюють за допомогою гідроксиду алюмінію. Для цього до 100 см³ проби води додають 0,5 г активованого вугілля, 1 см³ 12,5%-ного розчину $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ і розчин аміаку до рН 5,8. Після збовтування тверда фаза випадає в осад, і після повного освітлення розчину його фільтрують через фільтр «синя стрічка». Для визначення відбирають частину фільтрату. Заважають сильні окиснювачі та відновники. Ферум (III), меркурій (II), аргентум (I), бісмут (III), п्लумбум (II), стибій (III) в умовах визначення випадають в осад. Впливом багатьох з них, крім феруму (III), можна знехтувати, бо їх концентрації в поверхневих водах незначні. Іони Cu^{2+} знижують результати аналізу через каталітичну дію на розклад діазотованої сульфанілової кислоти. Проте концентрація каталітично активного купруму (II), як правило, незначна.

Для забарвлених вод слід проводити холостий дослід, в якому до окремої проби води приливають лише розчин сульфанілової кислоти. Отримане значення оптичної густини віднімають від величини оптичної густини досліджуваної проби.

Хід аналізу

У мірну колбу місткістю 50 см³ відбирають 25 см³ або інший об'єм профільтрованої проби води, додають 1 см³ сульфанілової кислоти (0,6%-ний розчин у 4,4 моль/дм³ оцтової кислоти) і ретельно перемішують. Через 5 хв додають 1 см³ розчину α -нафтиламіну (0,6%-ний розчин у 4,4 моль/дм³ оцтової кислоти). Розчин перемішують, доводять водою до позначки і знову перемішують. Через 35–40 хв вимірюють оптичну густину при 520 нм у кюветах з товщиною шару 1 або 5 см. За допомогою градуального графіка знаходять вміст нітрит-іонів. Для побудови цього графіка готують серію із восьми стандартних розчинів з концентрацією нітрит-іонів 0,0–0,2 мг N/дм³. Для цього в мірні колби місткістю 50 см³ вносять 0, 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0, 1,5 і 2,0 см³ робочого стандартного розчину і доливають дистильовану воду до об'єму приблизно 45 см³. Додають 1 см³ розчину сульфанілової кислоти і ретельно перемішують. Через 5 хв додають 1 см³ розчину α -нафтиламіну, суміш перемішують і доводять об'єм до позначки дистильованою водою. Через 35–40 хв вимірюють оптичну густину. Концентрація одержаних розчинів дорівнює 0, 0,01, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08, 0,10, 0,15 і 0,20 мг N/дм³.

Концентрацію азоту нітрит-іонів, мг N/дм³, розраховують за формулою:

$$C = \frac{C_{\text{ГР}} \cdot 1000}{V},$$

де $C_{\text{ГР}}$ – концентрація азоту нітритів, знайдена за градууювальним графіком, мг N_{NO_2} ; V – об'єм проби, см^3 . Щоб отримати концентрацію нітрит-іонів в мг/дм^3 , одержану величину (мг N/дм^3) слід помножити на коефіцієнт 3,29.

Реактиви

1. *Розчин сульфанілової кислоти.* Розчиняють 6,0 г сульфанілової кислоти кваліфікації ч. д. а. у 750 см^3 гарячої дистильованої води. До цього розчину додають 250 см^3 льодяної оцтової кислоти.

2. *Розчин α -нафтиламіну.* У дистильованій воді розчиняють 1,2 г α -нафтиламіну, додають 50 см^3 льодяної оцтової кислоти і доводять об'єм дистильованою водою до 200 см^3 .

3. *Розчин натрію азотистокислого NaNO_2 , х. ч.:*

а) запасний стандартний розчин, 250 мг N/дм^3 . У мірній колбі місткістю 500 см^3 розчиняють дистильованою водою $0,6157 \text{ г NaNO}_2$, висушеного при температурі 105°C і охолодженого в ексикаторі над хлористим кальцієм.

б) робочий стандартний розчин, 5 мг N/дм^3 . У мірній колбі на 250 см^3 розбавляють дистильованою водою 5 см^3 запасного стандартного розчину.

12.11. Визначення концентрації у воді нітратного азоту

Наявність нітратних іонів у природних водах пов'язана з внутріводоймними процесами нітрифікації амонійних іонів у присутності кисню під впливом нітрифікуючих бактерій. Другим важливим джерелом є атмосферні опади. Значна кількість нітрат-іонів може надходити з промисловими та господарсько-побутовими стічними водами і стоком із сільськогосподарських угідь, на яких застосовуються азотні добрива.

Нітрати визначають фотометричним методом з фенолдисульфоною кислотою, саліцилатом натрію або з реактивом Гріса після відновлення нітрату амальгамою кадмію до нітриту. Використовують також потенціометричний метод з нітрат-селективним електродом [2, 5–8].

Нижче наводиться методика фотометричного визначення NO_3^- -іонів з саліциловою кислотою [2]. Суть її полягає в тому, що в сірчанокислому середовищі нітрат-іони утворюють з саліцилатом натрію суміш 3- та 5-нітросаліцилових кислот, солі яких у лужному середовищі мають жовтий колір. Світлопоглинання вимірюють при $\lambda = 410 \text{ нм}$, користуючись кюветами з товщиною шару 2

см. Чутливість фотометричного визначення за цією реакцією становить 0,1 мг NO_3^- в 1 дм³ води.

Відбір і зберігання проб

Якщо проби не були оброблені у день відбору, то їх зберігають у холодильнику. Консервують проби додаванням 1 см³ концентрованої H_2SO_4 або 2–4 см³ хлороформу на 1 дм³ води.

Заважаючий вплив

Визначенню нітратів заважають забарвлені органічні сполуки, які вилучають обробкою води суспензією гідроксиду алюмінію. Заважаючий вплив завислих речовин усувають фільтруванням проб води через фільтр «сеня стрічка» або через мембранний фільтр з діаметром пор 0,45 мкм.

Визначенню заважають також хлориди в кількості понад 200 мг/дм³; їх можна позбутися обробкою проб води сульфатом аргентуму. Іони феруму заважають при концентрації понад 5 мг/дм³. Впливу феруму та інших катіонів можна уникнути після пропускання проби через катіоніт. Нітрити при концентрації понад 2 мг/дм³ видаляють випарюванням проби насухо на водяній бані в присутності 0,05 моль/дм³ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Хід аналізу

До 10 см³ або іншого об'єму проби води (після попередньої обробки 100 см³ проби з метою усунення заважаючого впливу речовин) додають 2 см³ саліцилової кислоти і випарюють у порцеляновій чашці на водяній бані насухо. Після охолодження сухий залишок перемішують з 2 см³ сірчаної кислоти і залишають на 10 хвилин. Потім вміст чашки розводять 10–15 см³ дистильованої води, додають 15 см³ розчину NaOH і сегнетової солі, переносять кількісно в мірну колбу місткістю 50 см³, обмиваючи стінки чашки дистильованою водою, охолоджують колбу в холодній воді до кімнатної температури і доводять дистильованою водою до позначки. Отриманий кольоровий розчин відразу фотометрують при $\lambda = 410$ нм у кюветтах з товщиною шару 2 см проти дистильованої води. Окремо вимірюють поглинання холостого розчину, віднімаючи потім його значення від значення поглинання проби.

Для побудови градууювального графіка готують стандартні розчини, які містять 0, 0,005, 0,01, 0,02, 0,05, 0,10 і 0,20 мг NO_3^- . Для цього відбирають 0, 0,5, 1,0, 2,0, 5,0, 10,0 і 20,0 см³ робочого розчину нітрату калію з концентрацією 0,01 мг NO_3^- /дм³, доводять дистильованою водою або випарюють приблизно до

10 см³. Потім чинять, як зазначено вище, і будують градувальний графік у координатах «оптична густина – вміст нітрат-іонів у пробі, мг».

Концентрацію нітрат-іонів, мг/дм³, розраховують за формулою:

$$C = \frac{C_{\text{ГР}} \cdot 1000}{V},$$

де $C_{\text{ГР}}$ – вміст нітрат-іонів, знайдений за градувальним графіком, мг; V – об'єм досліджуваної проби, см³. Щоб розрахувати вміст у воді азоту нітратів (мг N/дм³), одержану величину множать на 0,226.

Реактиви

1. *Основний розчин калію азотнокислого.* У мірну колбу на 1 дм³ переносять 0,1631 г KNO₃, попередньо висушеного при температурі 105°C до постійної маси, розчиняють у малому об'ємі дистильованої води, потім доводять до позначки дистильованою водою. В 1 см³ розчину міститься 0,1 мг нітрат-іонів. Робочий розчин KNO₃ одержують розбавленням 10 см³ основного розчину до 100 см³ дистильованою водою. В 1 см³ розчину міститься 0,01 мг нітрат-іонів.

2. *Розчин саліцилової кислоти.* Розчиняють 1 г саліцилової кислоти у 100 см³ етилового спирту.

3. *Розчин гідроксиду натрію та сегнетової солі.* Розчиняють 400 г NaOH і 60 г сегнетової солі у малому об'ємі дистильованої води і після охолодження до кімнатної температури об'єм доводять до 1 дм³.

12.12. Визначення концентрації у воді фосфору фосфатів

Фосфати надходять у поверхневі води головним чином з ґрунтів, різних стічних вод або з органічної маси після її розкладу. Широке застосування синтетичних миючих засобів стало причиною забруднення поверхневих вод поліфосфатами, які повільно гідролізують з утворенням ортофосфатів.

Для визначення фосфору фосфатів широкого застосування набув фотометричний метод з молібдатом амонію (NH₄)₂MoO₄ [2, 5, 6]. Внаслідок взаємодії ортофосфатів з молібдатом амонію у кислому середовищі (рН 0,80–0,95) у присутності аскорбінової кислоти утворюється інтенсивно забарвлена у синій колір сполука. Ця реакція відбувається при нагріванні. При введенні в розчин

* Спочатку утворюється забарвлена у жовтий колір фосфорно-молібденова гетерополікислота H₃[P(Mo₃O₁₀)₄]. При дії відновника (аскорбінової кислоти) молібден (VI) у гетерополікислоті відновлюється до середнього ступеня окиснення +5,5, який відповідає суміші еквівалентної кількості Mo(VI) і Mo(V). Внаслідок цього утворюється сполука синього кольору – «молібденова синь».

солі стибію (III) утворюється більш складна забарвлена сполука, до складу якої входить стибій у співвідношенні $Sb:P = 1:1$. У цьому випадку реакція відбувається швидко за кімнатної температури. Чутливість визначення становить $0,02 \text{ мг PO}_4^{3-}/\text{дм}^3$. Поліфосфати та складні ефіри фосфорної кислоти за цих умов в реакцію не вступають. Оптичну густину розчинів вимірюють при $\lambda = 690 \text{ нм}$ (червоний світлофільтр).

Заважаючий вплив

Визначенню фосфатів заважають арсенати, а також значна кількість силікатів (понад $100 \text{ мг}/\text{дм}^3$) та іонів феруму (III) (понад $1 \text{ мг}/\text{дм}^3$). Однак арсенати в природних водах, як правило, відсутні. Вплив силікатів і багатьох інших елементів можна усунути розбавленням проби води перед аналізом, а вплив $Fe(III)$ – додаванням еквівалентної кількості комплексону (III). Вплив нітритів усувають сульфаміновою кислотою.

Відбір і зберігання проб

Розчинені форми фосфатів і поліфосфатів необхідно визначати безпосередньо після відбору проб води. Пробу фільтрують через щільний паперовий фільтр на місці її відбору. Біохімічні процеси у пробі гальмують додаванням $2-4 \text{ см}^3$ хлороформу на 1 дм^3 . Не рекомендується консервувати пробу додаванням кислоти.

Хід аналізу

До 50 см^3 профільтрованої води додають 2 см^3 розчину молібденової суміші і через кілька хвилин $0,5 \text{ см}^3$ 10%-ного розчину аскорбінової кислоти. Суміш перемішують. Одночасно проводять холостий дослід з 50 см^3 води. Через 15 хв вимірюють оптичну густину розчину при $\lambda = 690 \text{ нм}$. Вміст фосфору знаходять за градувальним графіком, для побудови якого у мірні колби на 50 см^3 вносять $0, 1, 0, 2, 5, 5, 0, 10, 0$ і $25, 0 \text{ см}^3$ стандартного розчину ($0,01 \text{ мг PO}_4^{3-}/\text{см}^3$) і доводять об'єм водою до позначки. Далі роблять, як зазначено вище. В одержаних розчинах концентрація фосфатів у перерахунку на досліджувану пробу води дорівнює $0, 0, 2, 0, 5, 1, 0, 2, 0$ і $5, 0 \text{ мг PO}_4^{3-}/\text{дм}^3$. Вимірюють оптичну густину цих розчинів, вносять поправку на холостий дослід з дистильованою водою і будують графік залежності оптичної густини від концентрації іонів фосфорної кислоти.

Вміст ортофосфатів PO_4^{3-} (C_x) у мг/дм^3 знаходять за формулою:

$$C_x = \frac{CV_1}{V}$$

де C – концентрація фосфат-іонів, визначена за градуювальним графіком, мг/дм^3 ; V – об'єм проби, взятий для аналізу, см^3 ; V_1 – об'єм, до якого при необхідності розбавлено відібрану пробу. Щоб розрахувати концентрацію фосфору фосфатів, мг P/дм^3 , одержану величину необхідно помножити на 0,3263.

Реактиви

1. *Молибденова суміш*. Її готують так: до 300 см^3 дистильованої води додають при перемішуванні 144 см^3 концентрованої H_2SO_4 . Після охолодження при перемішуванні послідовно доливають розчини 10 г сульфанілової кислоти в 100 см^3 води, $12,5 \text{ г}$ молибдату амонію у 200 см^3 дистильованої води, $0,235 \text{ г}$ хлориду стибію та $0,6 \text{ г}$ винної кислоти (або $0,345 \text{ г}$ антимонілтартрату калію) в 100 см^3 води і одержану суміш розбавляють до 1 дм^3 . Реактив зберігають у склянці з темного скла.

2. *10%-ий розчин аскорбінової кислоти*. Розчиняють 10 г аскорбінової кислоти в 90 см^3 дистильованої води.

3. *Фосфат калію, стандартний розчин*.

Основний розчин. Розчиняють у дистильованій воді $0,7165 \text{ г}$ KH_2PO_4 кваліфікації ч. д. а., попередньо висушеного протягом 2 годин при температурі 105°C . Додають 2 см^3 хлороформу, об'єм доводять дистильованою водою до 1 дм^3 . В 1 см^3 розчину міститься $0,50 \text{ мг PO}_4^{3-}$.

Робочий розчин. Розбавляють 20 см^3 основного розчину дистильованою водою до 1 дм^3 . Розчин готують кожного разу свіжий. В 1 см^3 розчину міститься $0,01 \text{ мг PO}_4^{3-}$.

12.13. Визначення концентрації розчиненого у воді кисню

Вода при контакті з повітрям насичується киснем, рівноважна концентрація якого залежить від атмосферного тиску, температури та концентрації розчинених у воді солей, а також від інтенсивності процесів, що відбуваються у водочисненні, – хімічних, біологічних і мікробіологічних. Вміст кисню має велике значення для оцінки якості поверхневих вод і коливається здебільшого у межах $6\text{--}10 \text{ мг/дм}^3$. Однак у сильно забруднених водах концентрація кисню може

зменшуватись майже до нуля, а в період інтенсивного фотосинтезу при «цвітінні» води досягати 15–16 мг/дм³ у поверхневих шарах.

Кисневий режим виявляє значний вплив на життя водойми. Найменший вміст розчиненого кисню, що забезпечує нормальний розвиток риб, становить близько 5 мг/дм³. Зниження його до 2 мг/дм³ спричинює масову загибель риб.

Концентрацію розчиненого у воді кисню, яку виражають в мг/дм³ або у відсотках насичення, обчислюють за формулою:

$$O_2, \% = \frac{C_x \cdot 100 \cdot 760}{C_0 \cdot P},$$

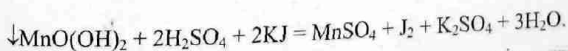
де C_x – концентрація кисню, знайдена експериментально, мг/дм³; C_0 – нормальна концентрація при даній температурі, атмосферному тиску 760 мм рт. ст. і по правці на мінералізацію; P – атмосферний тиск на момент аналізу.

Розчинений у воді кисень визначають титриметрично йодометричним методом Вінклера або полярографічним методом одразу після відбору проб води. Аналіз складається з двох етапів: фіксації розчиненого кисню, яку слід провести на місці відбору проби, і титрування, яке можна виконати через деякий час у стаціонарних умовах.

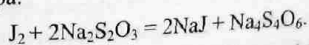
Титриметричне визначення вмісту розчиненого у воді кисню йодометричним методом Вінклера ґрунтується на взаємодії кисню з гідроксидом мангану у лужному середовищі [2, 5–7]:



При цьому відбувається фіксація розчиненого кисню. При розчиненні виділеного осаду $MnO(OH)_2$ у кислоті ($pH < 1$) в присутності надлишку йодистого калію утворюється йод, кількість якого еквівалентна вмісту розчиненого кисню:



Йод, який виділився, титрують розчином тіосульфату натрію у присутності крохмалю як індикатора:



За кількістю витраченого на титрування тіосульфату можна розрахувати вміст кисню у воді. Мінімальна його кількість, що може бути визначена цим методом, становить 0,05 мг/дм³.

Зважаючий вплив

Визначенню кисню у воді заважає велика кількість зависі. Її видаляють, додаючи до 1 дм³ проби перед фіксацією кисню 10 см³ 10%-ного розчину алюмокалієвого галуноу та 2 см³ концентрованого розчину аміаку. Після відстоювання пробу за допомогою сифона переносять у кисневу склянку. Якщо проба містить органічні зависі, що погано осідають, її освітлюють, додаючи 10 см³ суміші сульфамінової кислоти та хлориду ртуту (32 г сульфамінової кислоти та 56 г хлориду ртуту розчиняють в 1 дм³ води).

За високого вмісту у воді органічних сполук (якщо величина хімічного споживання кисню – ХСК перевищує 15 мг О/дм³) вводять поправку на їхнє окиснення йодом. Для цього до окремої порції води додають надлишок робочого розчину йоду, який відтитрують тіосульфатом. Об'єм розчину тіосульфату, витрачений на титрування, віднімають від об'єму, використаного на титрування після фіксації кисню.

Якщо в пробі вміст нітритного азоту перевищує 0,05 мг/дм³, то перед розчиненням осаду гідроксиду мангану (IV) в кислоті, вносять у склянку кілька краплин 5%-ного розчину сульфамінової кислоти.

Іони феруму (III) в кількості, меншій за 1 мг/дм³, не заважають визначенню кисню. Для усунення впливу високої концентрації Fe(III) додають 1 см³ 40%-ного розчину фториду калію на 1 дм³ води.

Методика визначення

Калібровка кисневих склянок. Суху склянку з пробкою зважують з точністю до 0,01 г. Потім її заповнюють по вінці дистильованою водою і закривають пробкою так, щоб не залишилось пухирців повітря, витирають і знову зважують. Об'єм склянки V , см³, розраховують за формулою:

$$V = \frac{m_1 - m_2}{\rho}$$

де m_1 і m_2 – відповідно маса склянки з водою та без неї; ρ – густина води при температурі зважування, г/см³ (при 15–20°C припускають, що $\rho = 1$).

Склянку заповнюють природною водою по вінця, щоб не залишалось пухирців повітря, і окремими піпетками вводять 1 см³ розчину сульфату мангану та 1 см³ лужного розчину йодистого калію (15 г КJ розчиняють у 20 см³ дистильованої води і 50 г NaOH розчиняють у 50 см³ дистильованої води; одержані розчини змішують і розбавляють до 100 см³; якщо розчин каламутний, його фільтрують через скляну вату). Піпетку занурюють до половини склянки і в

міру витікання розчину піднімають. Потім швидко закривають склянку пробкою так, щоб не залишилось пухирців повітря, і перемішують. При цьому утворюється осад гідроксиду Mn(II), який частково окиснюється до MnO(OH)₂ розчинним у воді киснем. Осад залишають відстоюватись протягом не менше ніж 10 хв і додають із піпетки 5 см³ H₂SO₄ (1:4).

Піпетку спочатку занурюють майже до поверхні осаду і в міру витікання розчину її повільно піднімають так, щоб осад не скаламутився. Частина прозорого розчину, який при цьому виливається із склянки, не впливає на результат аналізу. Склянку закривають пробкою і розчин перемішують. При цьому йодид окиснюється до йоду, а осад гідроксиду мангану розчиняється. Відбирають піпеткою 50 см³ розчину, переносять у конічну колбу на 250 см³ і титрують тіосульфатом, поки розчин не стане світло-жовтим. Додають 1 см³ 0,5%-ного розчину крохмалю і продовжують титрувати до зникнення синього кольору.

Вміст розчиненого кисню (C_x), мг O₂ /дм³, знаходять за формулою:

$$C_x = \frac{VCM \cdot 1000V_1}{50(V_1 - 2)},$$

де C – концентрація тіосульфату в молях екв/дм³, $C \left(\frac{1}{2} \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \right)$; V – об'єм розчину тіосульфату, витрачений на титрування, см³; V₁ – об'єм склянки, в яку відбиралась вода, см³; 2 – об'єм води, яка вилілась при фіксації розчиненого кисню, см³; M – молярна маса еквівалента кисню, $M \left(\frac{1}{2} \text{O} \right) = 8,00$.

Реактиви

1. *Розчин сульфату мангану.* Зважують на технічних вагах 240 г сульфату мангану (MnSO₄·4H₂O) і розчиняють у 200 см³ дистильованої води. Розчин фільтрують у мірну колбу місткістю 500 см³, доливають дистильованою водою до позначки на колбі і перемішують.

2. *Розчин йодиду калію.* Умови приготування цього розчину розглянуто вище.

3. *Розчин соляної кислоти.* В мірний циліндр вносять 340 см³ концентрованої HCl і при перемішуванні додають цей об'єм до 170 см³ дистильованої води. Замість соляної кислоти можна використовувати сірчану. Для цього 100 см³ концентрованої H₂SO₄ додають невеликими порціями до 400 см³ дистильованої води.

4. *Розчин крохмалю.* Зважують на технічних вагах 0,5 г розчинного (рисовий, пшеничний) крохмалю, розчиняють у 100 см³ холодної дистильованої води і нагрівають до кипіння. Розчин крохмалю готують щоденно перед роботою.

5. *Розчин двохромової кислоти калію* з молярною концентрацією еквівалента 0,02 моль/дм³. На аналітичних вагах зважують 0,9808 г перекристалізованого K₂Cr₂O₇. Наважку кількісно переносять у мірну колбу місткістю 1000 см³ і розчиняють у бідистилляті, доводять розчин до позначки на колбі і перемішують. Розчин зберігають у склянці з притертою пробкою в захищеному від світла місці.

6. *Розчин тіосульфату натрію* з молярною концентрацією еквівалента 0,02 моль/дм³. На аналітичних вагах зважують 5 г Na₂S₂O₃. Наважку розчиняють у 1000 см³ дистильованої води, яку попередньо кип'ячать протягом 1,5 год і охолоджують до кімнатної температури. До розчину додають 10 см³ амілового або ізобутилового спирту (або 1–2 см³ ксенолу чи хлороформу). Точну концентрацію розчину Na₂S₂O₃ встановлюють шляхом титрування в кислому середовищі розчином K₂Cr₂O₇ з використанням розчину крохмалю як індикатора.

Для визначення насичення води киснем користуються розрахунками за такою формулою:

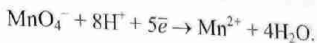
$$O_2, \% = \frac{C_x \cdot 100 \cdot 760}{C_0 P},$$

де C_x – концентрація кисню, що знайдена шляхом аналізу, мг/дм³; C_0 – нормальна концентрація кисню для температури відбору проби і атмосферного тиску 760 мм рт. ст. (значення береться з таблиці залежності рівноважної концентрації кисню (C_0) у воді від температури при атмосферному тиску 760 мм рт. ст.); P – атмосферний тиск в момент аналізу, мм рт. ст.

12.14. Визначення перманганатної окисності води

Перманганатна окисність води використовується для оцінки вмісту органічних речовин і характеризує загальну концентрацію атомарного кисню, що відповідає кількості перманганату, який витрачається при обробці цим окисником в певних умовах певної проби води [2, 5–8]. Метод рекомендується для аналізу поверхневих вод з вмістом хлорид-іонів, що не перевищує 300 мг/дм³. Перманганатну окисність не можна розглядати як міру загального вмісту органічних речовин, оскільки багато з них у цьому випадку окиснюється лише частково [3, 4].

Метод ґрунтується на окисненні речовин, що знаходяться в пробі води, 0,002 моль/дм³ розчином перманганату калію в сірчаноокислому середовищі при кип'ятінні:



Без розбавлення можна визначати окисність до 10 мг О/дм³. Найвище допустиме розбавлення проб – десятикратне. Це означає, що метод можна використовувати лише для проб, окисність яких нижча за 100 мг О/дм³.

Заважаючий вплив

До неорганічних сполук, що заважають визначенню перманганатної окисності, належать хлориди, сульфіді, нітрити, ферум (II). Тому зазначені сполуки слід визначати окремо, а результат, перерахований на окисність (мг О/дм³), відняти від знайденої величини окисності проби: 1 мг Н₂С = 0,47 мг О/дм³; 1 мг NO₂⁻ = 0,35 мг О/дм³; 1 мг Fe²⁺ = 0,14 мг О/дм³. Однак у поверхневих водах концентрація сульфідів і нітритів, як правило, значно нижча від зазначених величин, тому впливом цих сполук можна знехтувати. Що ж до впливу феруму (II), то ця форма його знаходження є мало характерною, оскільки ферум знаходиться в окисненому стані або зв'язаний в комплекси з розчиненими органічними речовинами.

Відбір і зберігання проб

Зразу після надходження проб в лабораторію додають 5 см³ Н₂SO₄ (7,5 моль/дм³) на 1 дм³ води (якщо це не зроблено при відборі проби). Кислоту додають незалежно від того, чи буде проба зберігатись до аналізу. Пробу слід аналізувати якомога швидше, не пізніше ніж через 2 доби після відбору, і зберігати в темному місці при 0–5°C, якщо тривалість зберігання перевищує 6 год.

Хід визначення

У колбу для кип'ятіння вносять кілька скляних кульок і 100 см³ проби або меншу її кількість (25 см³), доведену до 100 см³ дистильованою водою для розбавлення. Додають 5 см³ розбавленої (1:3) сірчаної кислоти і 20 см³ 0,002 моль/дм³ розчину перманганату калію. Суміш нагрівають так, щоб вона закипіла через 5 хв, і кип'ятять точно 10 хв. До гарячого розчину додають 20 см³ обезбарвлену суміш титрують, коли вона ще гаряча (краще при 80–90°C), 0,002 моль/дм³ розчином перманганату

калію до блідо-рожевого забарвлення, що зберігається протягом 30 с. Температура суміші при титруванні має бути не нижчою ніж 80°C. Витрачену кількість розчину перманганату калію відраховують з точністю до 0,05 см³. Паралельно з основним визначенням проводять холосте за цією ж методикою, замінивши пробу, що аналізується, 25 см³ дистильованої води.

Якщо розчин у процесі кип'ятіння знебарвиться або побуріє, визначення повторюють з розбавленою пробой. Визначення повторюють і тоді, коли перманганату витрачається більше ніж 60% доданої кількості, тобто витрата на титрування перевищує 12 см³. При титруванні розбавлених проб має бути витрачено щонайменше 20% доданої кількості перманганату, тобто близько 4 см³.

Окисність за Кубелем (x), мг О/дм³, розраховують за формулою:

$$x = \frac{(a-b)k \cdot 0,01 \cdot 8 \cdot 1000}{V} = \frac{(a-b)k \cdot 80}{V},$$

де a – кількість 0,002 моль/дм³ розчину перманганату, витрачена на титрування проби, см³; b – кількість 0,002 моль/дм³ розчину перманганату, витрачена на титрування холостої проби, см³; k – поправочний коефіцієнт для приведення молярної концентрації розчину перманганату до точно 0,002 моль/дм³; V – об'єм проби, взятої для визначення, см³.

Результати округлюють з точністю до 0,1 мг при значеннях окисності від 0 до 10 мг О/дм³ і до 1 мг – при значеннях від 10 до 100 мг О/дм³.

Реактиви

1. *Сірчана кислота*, розбавлений розчин (1:3). Один об'єм Н₂SO₄ (ч. д. а.) при перемішуванні додають до трьох об'ємів дистильованої води.

2. *Розчин щавлевої кислоти*. Розчиняють 6,3030 г Н₂C₂O₄·2Н₂O (ч. д. а.) в розведеній (1:15) сірчаній кислоті і сірчаною кислотою доводять об'єм при 20°C до 1 дм³. Таким чином одержують основний розчин з концентрацією 0,05 моль/дм³. Для приготування 0,005 моль/дм³ розчину, 100 см³ основного розчину доводять до 1 дм³ розбавленою (1:15) сірчаною кислотою.

3. *Основний розчин перманганату калію*, приблизно 0,02 моль/дм³. Розчиняють 3,2 г КМnO₄ в 1 дм³ дистильованої води. Зберігають у темній склянці. Розчин можна застосовувати не раніше ніж за 2-3 тижні. Приготування 0,002 моль/дм³ розчину здійснюють розбавленням основного. Точну концентрацію основного розчину КМnO₄ встановлюють за розчином щавлевої кислоти.

відновників, оскільки вони окиснюються разом з органічними речовинами, і відняти одержані результати від знайдених значень ХСК. Дихроматом не окиснюються або повільно окиснюються піридин і його гомологи – пірол, піролідин, нікотинова кислота та інші азотовмісні вуглеводні, парафін і нафталін.

Заважаючий вплив

Якщо в пробі є неорганічні відновники, то їх концентрацію визначають окремо іншими методами і віднімають (у перерахунку на кисень) від результату визначення ХСК ($1 \text{ мг H}_2\text{S} = 0,47 \text{ мг O/дм}^3$; $1 \text{ мг NO}_2^- = 0,35 \text{ мг O/дм}^3$; $1 \text{ мг Fe}^{2+} = 0,14 \text{ мг O/дм}^3$).

Слід зазначити, що вміст H_2S та SO_2 при цьому враховувати не потрібно, оскільки при додаванні H_2SO_4 (перед $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) вони видаляються.

Хлорид-іони в умовах реакції окиснюються до елементарного хлору, тому хлорид маскують сульфатом ртуті(II) з утворенням малодисоційованої сполуки HgCl_2 . Варто пам'ятати, що на 1 мг Cl^- іонів витрачається $0,23 \text{ мг}$ кисню. Визначенню заважають нітрити, тому для їхнього видалення додають 10 мг сульфанілової кислоти на кожні 3 мг NO_2^- .

Відбір і зберігання проб

Визначення ХСК проводять у свіжовідібраних пробах. Якщо аналіз не буде здійснено протягом 48 год, проби консервують, додаючи 2 см^3 розведеної (1:2) H_2SO_4 на 100 см^3 проби.

Хід аналізу

Сильно забруднену воду розводять так, щоб на окиснення органічних сполук витрачалось не більше як 50% стандартного розчину $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ з концентрацією $C\left(\frac{1}{6}\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7\right) = 0,25 \text{ моль/дм}^3$. Відбирають 20 см^3 проби (меншій об'єм доводять до 20 см^3 дистильованою водою) і переносять у конічну колбу на шліхах місткістю 250 см^3 . Вливають невеликими порціями $30 \text{ см}^3 \text{ H}_2\text{SO}_4$ ($D = 1,84 \text{ г/дм}^3$), додають $0,4\text{--}0,5 \text{ г Ag}_2\text{SO}_4$, 10 см^3 стандартного розчину $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, кілька кипілок і нагрівають із зворотним холодильником до слабкого кипіння протягом 2 годин. Після охолодження колби змивають стінки холодильника 100 см^3 дистильованої води. Реакційну суміш знову охолоджують. У колбу додають 3–4 краплини розчину фероїну ($1,485 \text{ г}$ 1,10-фенантроліну і $0,695 \text{ г}$

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ розчиняють у воді і розводять водою до 100 см^3 або 15 краплин N-фенілантранілової кислоти і відтитрують надлишок дихромату калію розчином солі Мора з концентрацією $0,25 \text{ моль/дм}^3$. У випадку титрування з індикатором N-фенілантраніловою кислотою забарвлення змінюється з червоно-синього на синювато-зелене.

Холостий дослід: відбирають 20 см^3 дистильованої води і виконують усі зазначені вище операції.

Дихроматну окисність (C_x), мг O/дм³, розраховують за формулою:

$$C_x = \frac{(V_1 - V_2)CM \cdot 1000}{V}$$

де V_1 – об'єм розчину солі Мора, витрачений на титрування холостого розчину, см³; V_2 – об'єм розчину солі Мора, витрачений на титрування проби, см³; C – молярна концентрація еквівалента розчину солі Мора, моль/дм³; V – об'єм проби води, см³; M – молярна маса еквівалента кисню, $M\left(\frac{1}{2}\text{O}\right) = 8,00$.

Реактиви

1. *Стандартний розчин дихромату калію $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$* , кваліфікації «х. ч.», з молярною концентрацією еквівалента $0,25 \text{ моль/дм}^3$. Зважують на аналітичних вагах $12,258 \text{ г}$ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, висушеного при температурі 105°C протягом 2 год у сушильній шафі; розчиняють у бідистилаті і доводять до 1 дм^3 . Розчин $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ з молярною концентрацією еквівалента $0,025 \text{ моль/дм}^3$ одержують розбавленням стандартного розчину.

2. *Розчин солі Мора (залізоамонійних галунів) $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$:*

а) молярна концентрація еквівалента $0,25 \text{ моль/дм}^3$. Розчиняють 98 г солі Мора бідистилатом у мірній колбі на 1 дм^3 , обережно додаючи 20 см^3 концентрованої H_2SO_4 . Після охолодження об'єм розчину доводять до позначки;

б) розчин з молярною концентрацією еквівалента $0,025 \text{ моль/дм}^3$ готують розбавленням основного розчину в 10 разів.

3. *Розчин фероїну* готують, як зазначено вище.

4. *Розчин фенілантранілової кислоти.* У мірну колбу на 250 см^3 переносять $0,25 \text{ г}$ фенілантранілової кислоти і розчиняють у 12 см^3 розчину NaOH з концентрацією $0,1 \text{ моль/дм}^3$. Об'єм розчину доводять до позначки бідистилатом.

5. *Сірчана кислота, концентрована, х. ч.*

6. *Сірчаноокислий меркурій HgSO_4 , ч. д. а.*

7. *Сірчаноокислий аргентум Ag_2SO_4 .*

12.16. Визначення біохімічного споживання кисню (БСК) в природних водах

БСК – показник забруднення води органічними речовинами як природного, так і антропогенного походження, характеризується кількістю кисню, витраченого на окиснення забруднювальних речовин в одиниці об'єму (як правило $\text{мг O}_2/\text{дм}^3$) при 20°C за певний проміжок часу: дві доби (БСК₂), п'ять діб (БСК₅), двадцять (БСК₂₀) чи до повного окислення всієї органічної речовини проби (БСК_{пов.}). Експериментально доведено, що чим більше у воді органічних речовин, тим значнішу кількість кисню необхідно для їх окиснення, а відповідно і вищими є величини БСК.

В наукових і практичних дослідженнях водних екосистем, як правило, використовують БСК₅ [5, 6].

Наприклад, в континентальних поверхневих водах діапазон мінливості величин БСК₅ є дуже широким: від $0,1 \text{ мг O}_2/\text{дм}^3$ до $12,0 \text{ мг O}_2/\text{дм}^3$. Більшість величин БСК₅ коливається в межах $0,5\text{--}4,0 \text{ мг O}_2/\text{дм}^3$. Більші величини БСК₅ відповідають водам з високим ступенем їх забруднення легко окиснюваними органічними речовинами: $4,1\text{--}7,0$ («помірно брудні»); $7,1\text{--}12,0$ («брудні») і більше $12,0$ («дуже брудні»).

Результати визначення БСК використовують для оцінки вмісту біохімічно лабільних органічних речовин, умов стану водного середовища, що є мешканням гідробіонтів, і характеристики ступеня забруднення водойм. Важливо застосовувати даний показник для контролю ефективності роботи очисних споруд.

Відбір проб

Проби відбирають у чисту кисневу склянку таким чином, щоб не було пухирців повітря. Пробу необхідно обробити негайно ж. Якщо це неможливо, то при доставці в лабораторію її обкладають міхуром з льодом і до аналізу зберігають у холодильнику при 0°C .

Принцип методу

Величину БСК₅ визначають за різницею між вмістом кисню перед і після інкубації проб у темряві протягом 5 діб при 20°C без доступу повітря.

Хід визначення

Реєструють величину рН у пробі; якщо значення не відповідає діапазону 6,0–8,0, то воду потрібно нейтралізувати додаванням розчину соляної кислоти чи лугу. При цьому необхідну кількість кислоти (лугу) визначають титруванням аліквотного об'єму води. Досліджувану воду переливають у колбу і доводять до 20°C (нагріванням на водяній бані чи охолодженням). За допомогою гумової трубки наповняють 3 склянки з притертими корками, без пухирців повітря. У першій визначають розчинений кисень. Дві інші (інкубаційні) витримують у темряві в термостаті горілиць 5 діб. Після 5-ї доби в них визначають розчинений кисень і розраховують середнє значення. Різниця між початковим і кінцевим вмістом розчиненого кисню, перерахована на 1 дм³, дасть величину кількості кисню, витраченого на окиснення. Сильно забруднену воду необхідно розбавляти, щоб витрата кисню за 5 діб була не меншою 2 мг/дм³ і щоб залишок його після закінчення 5-ї доби не був нижчим 2 мг/дм³. Для приблизного визначення норми розведення можна використовувати дані щодо перманганатної окисності. Якщо значення БСК зовсім невідоме, то необхідно робити кілька розведень, наприклад, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4. Розведену воду донасичують киснем повітря, розливають у склянки і визначення ведуть таким чином, як це було зазначено вище. Для контролю визначають БСК₅ самої води, якою розбавляють зразок, з доданими реактивами; його значення не повинно перевищувати 0,3 мг О₂/дм³. Отриману поправку вводять у розрахунки. Якщо у воді містяться токсичні для біоти речовини, то надійність результатів визначення БСК₅ знижується; у цьому випадку роблять багаторазове розведення води.

Необхідні процедури для мінімізації похибки визначення БСК:

- визначення БСК необхідно проводити відразу ж після взяття проби води;
- навіть за короткочасного зберігання взята проба повинна знаходитись на холоді в темному місці (в польових умовах – в чорному мішечку);
- рН проби повинно знаходитись в межах 6–8, тому кислі води нейтралізують 1 моль/дм³ розчином NaOH, лужні – 1 моль/дм³ розчином HCl;
- проби, у воді яких знаходиться вільний хлор, перед визначенням БСК повинні оброблятись сульфідом натрію;
- проби, в яких знаходиться багато водоростей («цвітіння води»), фільтрують через планктонну сітку (млинове сито № 76), при цьому обов'язково роблять відповідні нотатки в експедиційному (польовому) щоденнику.

Розрахунок

Величину БСК₅ (X) у мг О₂/дм³ розраховують за формулою:

$$X = \frac{\left[(O_1 - O_2) - O_3 \left(\frac{1000 - P}{1000} \right) \right]}{P} \cdot 1000,$$

де O_1 – вміст кисню в день визначення БСК, мг/дм³; O_2 – те ж саме, через 5 діб; O_3 – БСК₅ води, що використовується для розведення; P – кількість мілілітрів досліджуваної води в літрі суміші досліджуваної і води для розведення.

Реактиви

1. Ті ж реактиви, що необхідні при визначенні кисню.
2. Дистильована вода без домішок міді, хлору, неорганічних сполук азоту.
3. Розчин соляної кислоти HCl, ч.д.а., 1 моль/дм³.
4. Розчин їдкого натру NaOH, ч.д.а., 1 моль/дм³.

Устаткування

1. Кисневі склянки, піпетки, мірні циліндри, оброблені сірчано-хромовою сумішшю і багаторазово вимиті.
2. Термостат, що регулюється у межах $\pm 1^\circ\text{C}$.

Література

1. Набиванець Б. И., Линник П. Н., Удовиченко В. В. Методы определения химического потребления кислорода в природных водах // Гидробиол. журн. – 2000. – 36, № 4. – С. 84–99.
2. Набиванець Б. Й., Сухан В. В., Калабіна Л. В. Аналітична хімія природного середовища. – К.: Либідь, 1996. – 304 с.
3. Никаноров А. М. Гидрохимия. – Л.: Гидрометеоиздат, 1989. – 352 с.
4. Пелешенко В. І., Хільчевський В. К. Загальна гідрохімія. – К.: Либідь, 1997. – 384 с.
5. Руководство по методам исследования качества вод. Т. 1. Гидрохимия. Радиология. – Киев, 1995. – 202 с.
6. Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши / Под ред. А. Д. Семенова. – Л.: Гидрометеоиздат, 1977. – 542 с.
7. Фомин Г. С. Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам: Энциклопедический справочник. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Протектор, 1995. – 624 с.
8. Якість вимірювань складу та властивостей об'єктів довкілля та джерел їх забруднення / За ред. В. Ф. Осики, М. С. Кравченко. – К., 1997. – 664 с.

13. Визначення вмісту у воді неорганічних речовин токсичної дії

13.1. Визначення концентрації у воді ртуті (меркурію)

Метод безполуменевого атомно-абсорбційного визначення меркурію, який рекомендовано міжнародним стандартом ІСО 5666, полягає в окисненні сполук меркурію до Hg^{2+} з подальшим відновленням хлоридом стануму (II) до металічного меркурію (Hg^0), видуванням його потоком повітря і вимірюванням атомної абсорбції резонансного випромінювання атомів меркурію при 253,7 нм [5, 7]. Найнижча концентраційна межа визначення становить 0,03 мг меркурію в 1 дм³ проби. Метод складається з трьох частин, що відрізняються між собою способами підготовки проб для усунення заважаючого впливу органічних речовин залежно від їхньої концентрації в різних типах вод (міжнародний стандарт ІСО 5666).

Частина 1 передбачає аналіз після мінералізації перманганатом-персульфатом калію. Метод може бути придатним для аналізу природних, промислових, стічних вод та вод, призначених для господарсько-побутових потреб.

Частина 2 базується на аналізі проб після їх мінералізації ультрафіолетовим опроміненням. Метод придатний для аналізу питних вод та вод, призначених для приготування напоїв і харчових продуктів.

Частина 3 заснована на аналізі проб після їх мінералізації бромом. Метод придатний для аналізу прісних, солоних і питних вод, а також інших типів вод з невеликою кількістю органічних речовин.

Метод 1 передбачає мінералізацію (хімічне озолення) аналізованої проби перманганатом, потім пересульфатом калію при 95°C з метою видалення всіх органічних сполук. Надлишок окиснювача зменшують обробкою проби солянокислим гідроксиламіном і відновлюють меркурій (II) до металічного стану обробкою хлоридом стануму (II). Меркурій відганяють потоком газу при кімнатній температурі і аналізують в моноатомному пароподібному стані методом безполуменевої атомно-абсорбційної спектроскопії.

Суть методу 2 полягає в мінералізації проби води УФ-опроміненням протягом 10 хв. з метою руйнування органічних речовин і меркурійорганічних сполук та зведення всього меркурію до Hg^{2+} . Відновлюють меркурій (II) таким же чином, як і у методі 1.

За методом 3 мінералізацію проби води здійснюють додаванням бромю при 45°C. Надлишок окиснювача видаляють додаванням солянокислого гідроксид-ламіну і відновлюють меркурій (II) до металічної ртуті хлоридом стануму (II).

Зважаючи вплив інших речовин, зокрема природних органічних, усувається в процесі хімічної обробки проби.

Відбір і зберігання проб

Проби води консервують додаванням 1 см³ концентрованої HNO₃ до 1 дм³ води.

Методика визначення меркурію [5] передбачає практично ті ж самі етапи обробки проб, але є дещо спрощеною. Суть її така. До 100 см³ проби води, внесеної в конічну колбу, додають концентровану азотну кислоту до рН 1–2. Доливають ще 5 см³ концентрованої HNO₃, 3 см³ концентрованої HCl і 1 см³ 4%-ного розчину дихромату калію. Суміш кип'ятять протягом 5 хв так, щоб зберігався жовтий колір розчину, який свідчить про наявність достатнього надлишку дихромату. У випадку зникнення забарвлення додають ще 0,5 см³ розчину дихромату калію. Одночасно готують контрольну пробу, для чого у конічну колбу наливають 100 см³ дистильованої води і проводять ті самі операції, що і з досліджуваною пробою.

Вмикають атомно-абсорбційний аналізатор «Ртуть-101» відповідно до інструкції. Розчин проб пропускають послідовно, починаючи з контрольної. Лійку і реактор аналізатора попередньо промивають розчином для розбавлення (в 1 дм³ дистильованої води міститься 50 см³ концентрованої HNO₃ і 5 см³ 4%-ного розчину дихромату калію) і водою, а потім вносять проби. Додають 0,5 см³ 20%-ного розчину хлориду стануму (II) у 3 моль/дм³ соляної кислоти і здійснюють вимірювання відповідно до інструкції.

Концентрацію меркурію (C_x), мг/дм³, розраховують за формулою:

$$C_x = \frac{(I_1 - I_2) \cdot 10^{-3} \cdot 1 \cdot 1000}{100 \cdot 1000} = (I_1 - I_2) \cdot 10^{-5},$$

де I₁, I₂ – середнє арифметичне показників аналізатора при вимірюванні відповідно проби і контрольного розчину; 1/1000 – ціна поділки шкали аналізатора, мкг.

13.2. Визначення концентрації у воді цинку, кадмію, свинцю (плюмбуму) та міді (купруму) методом анодної інверсійної вольтамперометрії

Для екологічної класифікації якості поверхневих вод суші та естуаріїв за критеріями вмісту специфічних речовин токсичної дії важливе значення має не стільки загальний (сумарний) вміст того чи іншого металу у воді, скільки форма його знаходження [2]. Це зумовлено тим, що важкі метали (ВМ) у поверхневих водах існують у вигляді низки різних форм, що відрізняються між собою біологічною і хімічною активністю та ступенем токсичності щодо гідробіонтів. Загальновідомо, що найбільш вираженою токсичністю характеризуються вільні (гідратовані) іони ВМ та деякі продукти їхнього гідролізу. Адсорбція іонів металів на завислих частинках та зв'язування їх у комплекси, особливо з природними органічними лігандами, – це ті процеси, що зумовлюють здебільшого істотне зниження токсичності металів або практично повну її відсутність.

Отже, загальна концентрація металу у воді дозволяє оцінити лише рівень забруднення водного середовища і практично є малоінформативною для екологічної оцінки стану поверхневих вод. Оскільки концентрації ВМ у поверхневих водах є дуже низькими, виникає необхідність в залученні для їх визначення високочутливих аналітичних методів. Але крім високої чутливості і селективності, важливим є визначення окремих співіснуючих форм ВМ, включаючи співвідношення токсичних і нетоксичних. Кількість методів, що відповідали б таким критеріям, надзвичайно обмежена. Результати багаторічних досліджень свідчать про те, що цим вимогам найбільше відповідають каталітичні (хемілюмінесцентні) методи та метод інверсійної вольтамперометрії. Зазначені методи характеризуються достатньо високою чутливістю (10^{-8} – 10^{-10} моль/дм³) і, що найважливіше, дозволяють визначати концентрацію вільних (гідратованих) іонів металів як найбільш токсичної форми безпосередньо у воді без концентрування проб і спеціальної їх обробки. Концентрацію ВМ, зв'язаних у комплекси з природними органічними лігандами, можна визначати цими ж методами, але за умови попереднього руйнування комплексних сполук металів і деструкції розчинених органічних речовин.

Для визначення концентрації вільних і зв'язаних у комплекси іонів цинку (II), кадмію (II), плюмбуму (II) та купруму (II) в природних водах найбільш придатний метод анодної інверсійної вольтамперометрії. Відповідні методики розроблено у відділі гідрохімії Інституту гідробіології НАН України [3, 9].

У більшості методик інверсійно-вольтамперометричного визначення аналіз здійснюють у кислому та слабкокислому середовищі (рН 2–4), не характерному для природних вод, що може бути причиною значного порушення рівноваги між різними формами металу і отримання неадекватних результатів.

Розроблена нами методика має перевагу перед існуючими, бо дозволяє проводити аналіз при рН 8,0–8,5, що властиво поверхневим водам. Іони металів концентрують на твердому плівковому електроді (ртутно-срібний). Електроліз здійснюють за умови інтенсивного перемішування розчину протягом 5–10 хв. при потенціалі катоду значно більш від'ємному, ніж потенціали полярографічних напівхвиль визначуваних іонів металів. При цьому досягається практично повне виділення та концентрування на катоді іонів металів у вигляді атомів нульового ступеня окиснення. Після закінчення концентрування проводять електрохімічне (анодне) розчинення концентрату виділених металів з поверхні електрода шляхом поступового накладання на нього змінного потенціалу і реєструють вольт-амперну залежність. На полярограмі « $I_{\text{диф}} - E$ » з'являються піки анодного розчинення, величина потенціалів яких якісно характеризує природу металу, а висота піків пропорційна концентрації металу у воді. Отже, метод інверсійної вольтамперметрії дозволяє здійснювати багатоеlementний аналіз.

Реагенти і апаратура

Як стандартні використовували розчини сульфатів цинку (II) і купруму (II) та нітратів кадмію (II) і плюмбуму (II) з початковою концентрацією металів 1,0 мг/дм³. Зазначені розчини одержували розчиненням відповідних наважок солей у бідистильованій воді, яку попередньо підкислювали до рН 2–3. Робочі розчини з концентрацією металів 1,0 мкг/дм³ готували щоденно розбавленням основних розчинів бідистилатом.

Фоновим електролітом служив боратний буферний розчин (рН \approx 8,5). Використовувались також 0,01 моль/дм³ розчин лимоннокислого натрію, насичений розчин сульфату натрію (Na₂SO₃), азотна кислота – концентрована і розбавлена (1:10), 0,2%-ний розчин желатини. Всі реактиви кваліфікації «х. ч.».

Реєструючий прилад – полярограф PA-2 із самописцем «XY recorder» (Laboratorní přístroje Praha, Czech Republic).

Електролітична комірка двоелектродна. Як індикаторний (робочий) електрод використовували ртутно-срібний електрод на срібній основі (довжина – 12–15 мм, діаметр – 0,7–0,8 мм), як електрод порівняння – хлорсрібний. Індикаторний електрод досить простої конструкції і легко виготовляється в лабораторних умовах.

Підготовку електрода до роботи здійснюють таким чином. Срібну дротину обробляють концентрованою азотною кислотою протягом 1 с, а потім 0,1 моль/дм³ розчином цієї ж кислоти протягом 2–3 хв. Далі дротину промивають бідистильованою водою і занурюють на 30 с у металеву ртуть. Електрод витримують у бідистильованій воді протягом 1–2 год, після чого він готовий до роботи. Оброблена таким способом срібна дротина має дзеркально-блискучу поверхню. Помутніння і втрата поверхнею блиску свідчать про вихід робочого електроду з ладу і необхідність його регенерації, яка передбачає обробку дротини концентрованою HNO₃ до повного зняття плівки ртуті. Електрод придатний для 25–30 полярографічних вимірювань.

Хід визначення

До задалегідь відфільтрованої проби природної води об'ємом 5–15 см³, внесеної в електролітичну комірку, додають 1 см³ 0,01 моль/дм³ розчину лимоннокислого натрію, 5 см³ боратного буферного розчину, 1 см³ 0,2%-ного свіжо-приготовленого розчину желатини і 0,4 см³ насиченого розчину Na₂SO₃ для зв'язування розчиненого кисню. Бідистильованою водою доводять об'єм суміші до 25 см³.

Попереднє електроосадження металів на електроді здійснюється при безперервному перемішуванні розчину магнітною мішалкою протягом 5 хв при потенціалі -1,5 В відносно хлорсрібного електрода. Після закінчення електролізу перемішування припиняють і дають розчину відстоятись протягом 30 с. Піки анодного розчинення Zn(II), Cd(II), Pb(II) та Cu(II), що відповідають потенціалам їх напівхвиль, реєструють при лінійному зниженні потенціалу зі швидкістю 5 мВ/с. Потенціали напівхвиль для цинку, кадмію, свинцю та купруму становлять відповідно -1,12, -0,60, -0,38 і -0,08 В.

Вміст металів знаходять за градувальним графіком, який будується в координатах «висота піку анодного розчинення металу, мм – концентрація металу». Межі визначення Zn(II), Cd(II), Pb(II) і Cu(II) становлять відповідно $2,3 \cdot 10^{-8}$, $1,2 \cdot 10^{-10}$, $1,4 \cdot 10^{-8}$ і $1,3 \cdot 10^{-9}$ моль/дм³.

13.3. Визначення концентрації у воді хрому загального

Суть методу. Хром у діапазоні концентрацій 0,01 – 1,00 мг/дм³ визначають фотометричним методом з дифенілкарбазидом. Метод ґрунтується на взаємодії хрому (VI) у слабкокислому середовищі (рН ≈ 3) з дифенілкарбазидом з утворенням розчинного червоно-фіолетового комплексу, в якому ступінь окиснення

хрому дорівнює +3 [5, 7, 8]. В процесі реакції дифенілкарбазид відновлює хромат- або дихромат-іони до Cr(III) з утворенням окисної форми реагенту – дифенілкарбазону, який з іонами хрому (III) дає забарвлений комплекс. Оптичну густину забарвленого розчину вимірюють при 540 нм. Чутливість методу становить 10 мкг Cr/дм³. Зазначений фотометричний метод визначення хрому рекомендовано міжнародним стандартом ІСО 11083.

У процесі взаємодії іонів Cr(VI) з дифенілкарбазидом утворюються негідролізовані, здатні до комплексоутворення з дифенілкарбазоном, іони Cr (III). На протилежність цьому, іони Cr (III) у природних водах гідролізовані або зв'язані в комплексні сполуки з органічними речовинами, і тому забарвлений комплекс з дифенілкарбазоном не утворюється. Отже, з'являється потреба у попередньому окисненні іонів хрому (III) до хрому (VI), який надалі вступає в реакцію з дифенілкарбазидом. Слід зауважити, що в поверхневих водах переважають органічні комплексні сполуки хрому (III) та вільні іони Cr³⁺ (≈ 25–30%). Як показує практика, Cr(VI) зазвичай не зустрічається. Отже, перед визначенням хрому необхідно не лише окиснити Cr(III) до Cr(VI), але й зруйнувати органічні комплекси Cr(III).

Заважаючий вплив

Визначенню заважають іони Hg₂²⁺ та Hg²⁺ із вмістом понад 200 мг/дм³, а також ванадій (V) і молибден (VI). Однак їх впливом за тих концентрацій, в яких вони зустрічаються у природних водах, можна знехтувати.

Хід визначення

У конічну колбу на 100 см³ переносять 40 см³ або менший об'єм проби, додають 2 см³ H₂SO₄ (1:1), 1 см³ 1,3%-ного розчину сульфату натрію і залишають на 10 хв. Потім вставляють у горло колби пробку-холодильник, нагрівають до виділення парів і знову витримують протягом 10 хв.

Після цього доливають по краплях 0,6%-ний розчин перманганату калію до появи слабо-рожевого забарвлення, знімають пробку-холодильник і кип'ятять розчин не менше 10 хв. До гарячої суміші додають по краплях 0,5%-ний розчин азиду натрію (для видалення надлишку перманганату) до зникнення забарвлення. Розчин охолоджують, переносять у мірну колбу на 50 см³, нейтралізують розчином NH₄OH (1:1) за універсальним індикаторним папірцем і доводять об'єм до позначки. Далі доливають 0,15 см³ концентрованої фосфорної кислоти, перемішують, додають 2,5 см³ розчину дифенілкарбазиду і знову перемішу-

ють. Через 15 хв. вимірюють оптичну густину розчину при 540 нм у кюветі з товщиною шару 5 см проти бідиствляту.

Вміст хрому (мг/дм^3) знаходять за градувальним графіком, для побудови якого у мірні колби на 50 см^3 наливають 0, 0,5, 1,0, 5,0 і $10,0 \text{ см}^3$ стандартного розчину дихромату калію з концентрацією $0,001 \text{ мг Cr(VI)/дм}^3$ і доводять об'єм до позначки. Вміст хрому (VI) у цих розчинах становить відповідно 0, 0,0005, 0,0010, 0,0050 і $0,0100 \text{ мг}$. Далі проводять визначення, як описано вище. Концентрацію хрому (C_x), мг/дм^3 , розраховують за формулою:

$$C_x = \frac{a \cdot 1000}{V},$$

де a – кількість хрому, знайдена за градувальним графіком, мг ; V – об'єм проби води, см^3 .

Реактиви

1. *Стандартний розчин I хрому (VI)*. Розчиняють 2,829 г дихромату калію $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ у мірній колбі на 1 дм^3 і доводять водою до позначки. В 1 см^3 цього розчину міститься 1 мг хрому (VI). *Стандартний розчин II хрому (VI)*. У колбу на 1 дм^3 вносять 1 см^3 розчину I і доводять водою до позначки. Такий розчин готують щоденно. В 1 см^3 одержаного розчину міститься 1 мкг хрому (VI).

2. *Розчин 1,5-дифенілкарбазиду*. Розчиняють 0,1 г дифенілкарбазиду у 50 см^3 етанолу і доливають $20 \text{ см}^3 \text{ H}_2\text{SO}_4$ (1:9). Розчин стійкий протягом місяця при температурі $3\text{--}5^\circ\text{C}$.

3. *0,6%-ний розчин перманганату калію*. Розчиняють 0,6 г KMnO_4 у мірній колбі на 100 см^3 і об'єм доводять водою до позначки.

4. *0,5%-ний розчин азиду натрію*. Розчиняють 0,5 г азиду натрію у мірній колбі на 100 см^3 і об'єм доводять водою до позначки.

5. *Розчин NH_4OH (1:1)*.

6. *Концентрована фосфорна кислота H_3PO_4* .

7. *Сірчана кислота H_2SO_4 (1:1)*.

8. *1,3%-ний розчин сульфату натрію*. Розчиняють 1,3 г Na_2SO_3 у мірній колбі на 100 см^3 і об'єм доводять водою до позначки.

13.4. Хемілюмінесцентний метод визначення концентрації у воді хрому тривалентного Cr (III)

Суть методу полягає в тому, що іони Cr^{3+} каталізують реакцію окиснення люмінолу пероксидом водню при $\text{pH } 10,3$ [1, 4]. Заважаючий вплив катіонів

інших металів маскують введенням в аналізовану систему комплексону III (ЕДТА), з яким іони Cr(III) утворюють комплекси дуже повільно. Чутливість методу становить приблизно $2 \cdot 10^{-8}$ моль/дм³.

Хід визначення

В кювету хемілюмінесцентного фотометра вносять 0,5 см³ розчину I (0,1 моль/дм³ КОН + 0,005 моль/дм³ ЕДТА), 1,5 см³ розчину II (0,0001 моль/дм³ люмінолу + 0,005 моль/дм³ ЕДТА) і 6,0–6,5 см³ бідистильованої води. Потім додають 1 см³ 0,1 моль/дм³ розчину пероксиду водню, вміст кювети ретельно перемішують і при закритій шторці хемілюмінесцентного фотометра витримують 1 хв. Цю операцію здійснюють з метою зниження фону, оскільки реакція відбувається за відсутності іонів Cr³⁺. Після цього вносять 0,5–1 см³ проби природної води і через 5 с відкривають шторку. Суму світла (I_{Σ}) вимірюють через 60 с. Концентрацію Cr³⁺ знаходять за градууювальним графіком, побудованим в координатах « I_{Σ} (в поділяках шкали приладу) – концентрація хрому (III)».

Хемілюмінесцентний метод дозволяє визначати безпосередньо у воді лише концентрацію вільних іонів Cr³⁺. Загальну концентрацію Cr(III) знаходять за умови руйнування комплексних сполук з природними органічними лігандами шляхом фотохімічного окиснення під впливом УФ-опромінення (рН \approx 1, тривалість опромінення 2,5–3 год). Отже, хемілюмінесцентний метод дозволяє визначати як загальну концентрацію Cr(III), так і вміст вільних іонів Cr³⁺ як найбільш біологічно активної форми.

Реактиви

1. *Розчин I:* 0,1 моль/дм³ КОН + 0,005 моль/дм³ ЕДТА. *Розчин II:* 0,0001 моль/дм³ люмінолу + 0,005 моль/дм³ ЕДТА.
2. *Розчин пероксиду водню H₂O₂,* 0,1 моль/дм³.
3. *Стандартний розчин хрому (III),* 0,1 г Cr³⁺/дм³. Робочий розчин з концентрацією 50 нг/см³ готують розбавленням 0,1 см³ стандартного розчину бідистильованою водою у мірній колбі місткістю 200 см³.

13.5. Визначення концентрації у воді нікелю

Нікель у природних водах при концентрації 0,2–5,0 мг/дм³ визначають фотометричним методом з диметилглюксимом, а при 0,01 мг/дм³ і вище – полярографічним. Для визначення нікелю у розчиненій і нерозчиненій формах пробу

води перед консервуванням фільтрують і аналізують відповідно нефільтровану і профільтровану пробу. Слід зазначити, що полярографічний метод характеризується більшою чутливістю, ніж фотометричний.

Суть полярографічного визначення полягає в тому, що іони Ni^{2+} відновлюються на ртутному краплинному електроді до металу на фоні суміші 1 моль/дм³ NH_3 і 1 моль/дм³ NH_4Cl при потенціалі -1,09 В відносно насиченого каломельного електрода. Чутливість визначення становить 0,01 мг $Ni/дм^3$ [5].

Відбір і зберігання проб

Якщо необхідно визначити загальний вміст нікелю у воді, проби консервують додаванням 2–5 см³ концентрованої азотної кислоти на 1 дм³ води. При визначенні різних форм нікелю, у тому числі вільних іонів Ni^{2+} , проби слід зберігати в замороженому стані або якомога швидше транспортувати їх в лабораторію.

Хід визначення

У мірну колбу на 50 см³ вносять 25 см³ проби води. Якщо з'являється потреба у попередньому концентруванні нікелю у пробі, то у порцелянову чашку відбирають більший об'єм води, додають 1 см³ концентрованої соляної кислоти і випарюють на водяній бані насухо. Сухий залишок змочують соляною кислотою, розчиняють у 25–30 см³ бідистильованої води і переносять у мірну колбу на 50 см³.

Одержаний розчин нейтралізують аміаком за метиловим оранжевим, додають 10 см³ електроліту (267 г NH_4Cl розчиняють у 300 см³ концентрованого розчину аміаку і доводять об'єм бідистильованою водою до 1 дм³), 1 см³ 0,5%-ного розчину желатини і 1 см³ насиченого розчину сульфату натрію (Na_2SO_3). Доводять об'єм бідистильованою водою до позначки і перемішують. Одержаний розчин вводять у полярографічну комірку і знімають вольт-амперну криву при потенціалі від -0,8 до -1,4 В. Вимірюють висоту полярографічної хвилі, яка має потенціал півхвилі -1,09 В.

Концентрацію нікелю знаходять за градуовальним графіком, для побудови якого у кілька мірних колб на 50 см³ вносять 0, 1, 2, 4, 6, 10, 15, 20 і 25 см³ стандартного розчину сульфату нікелю з концентрацією 0,005 мг $Ni/дм^3$ і далі діють, як зазначено в методиці аналізу. Градуовальний графік будують у координатах «висота полярографічної хвилі, мм – вміст $Ni(II)$, мг».

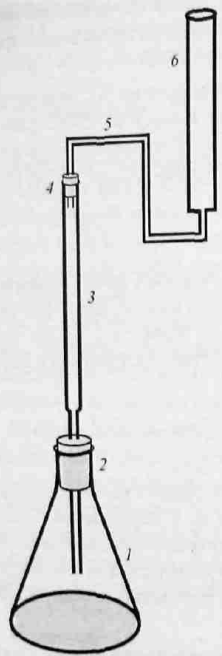
Концентрацію нікелю (C_x), мг/дм³, розраховують за формулою:

$$C_x = \frac{a \cdot 1000}{V}$$

де a – кількість нікелю, знайдена за градувальним графіком, мг; V – об'єм проби води, см³.

13.6. Визначення концентрації у воді миш'яку (арсену)

Для визначення арсену в природних водах застосовується фотометричний метод з діетилдитіокарбамінатом аргентуму. Метод ґрунтується на відновленні арсену воднем у присутності йодиду калію і хлористого стануму (SnCl₂) до арсину AsH₃, який поглинається хлороформним розчином ефедрину і діетилдитіокарбамінату аргентуму з утворенням розчинного комплексу червоного кольору [5, 7, 8]. Оптичну густину розчинів вимірюють при 540 нм. Лінійна залежність між оптичною густиною розчинів і концентрацією арсену зберігається в межах 10–300 мкг As/дм³. Чутливість методу становить 10 мкг As/дм³, що дає можливість визначати арсен у концентрації нижчій за ГДК (0,05 мг As/дм³). Арсен аналізують у спеціальному приладі (рис. 13.1).



13.1. Прилад для фотометричного визначення арсену в природних водах. 1 – реакційна колба; 2, 4 – шліф; 3 – скляна трубка з шліфом; 5 – з'єднувальна трубка; 6 – поглинальна трубка.

Заважаючий вплив

Визначенню арсену заважають сірководень, який знебарвлює комплекс, і стибій (сурма) при концентрації понад 0,01 мг/дм³. В цьому разі утворюється сурм'янистий водень, який при взаємодії з реагентом дає сполуку трояндового кольору. Сірководень поглинають, якщо в цьому є потреба, шматочком вати, змоченої оцетатом плумбуму Pb(CH₃COO)₂, яку вміщують у трубку приладу. Впливом стибію можна знехтувати, оскільки його концентрація в природних водах дуже низька.

який при взаємодії з реагентом дає сполуку трояндового кольору. Сірководень поглинають, якщо в цьому є потреба, шматочком вати, змоченої оцетатом плумбуму Pb(CH₃COO)₂, яку вміщують у трубку приладу. Впливом стибію можна знехтувати, оскільки його концентрація в природних водах дуже низька.

Відбір і зберігання проб

Проби води консервують додаванням 5 см^3 концентрованої HCl на 1 дм^3 .

Хід визначення

У конічну колбу 1 приладу (див. рис. 13.1) вносять 100 см^3 проби води, доливають 15 см^3 концентрованої соляної кислоти, додають 6 см^3 15%-ного свіжовиготовленого розчину йодиду калію та $0,5 \text{ см}^3$ 40%-ного розчину хлориду стануму (II) у концентрованому розчині HCl . Суміш перемішують і залишають на 15 хв для відновлення As(V) до As(III) . У трубку 3 приладу вміщують вату, змочену 10%-ним розчином $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. У трубку 6 з 5–6 скляними кульками для кращого поглинання арсену наливають 2 см^3 хлороформного поглинального розчину діетилдитіокарбамінату аргентуму і ефедрину. Після цього з'єднують всі частини приладу. В реакційну колбу 1 додають 5 г металевого цинку (~ 10 гранул) і одразу ж приєднують до останньої частини приладу. Реакцію відновлення і поглинання здійснюють протягом 1 год, після чого хлороформний розчин поглинальної суміші переносять у кювету з товщиною шару $0,5 \text{ см}$ і вимірюють оптичну гуштину при 540 нм відносно хлороформного поглинального розчину.

Вміст арсену, мкг/дм^3 , знаходять за градувальним графіком, для побудови якого у реакційну колбу 1 вносять 0, 1, 2, 5, 10, 20 і 30 см^3 стандартного сірчано-кислого розчину арсеніту натрію з концентрацією $1,0 \text{ мкг As/см}^3$. Потім додають бідистильовану воду до 100 см^3 і одержують розчини з концентрацією арсену відповідно 0, 10, 20, 50, 100, 200 і 300 мкг As/дм^3 . Визначення арсену далі проводять згідно з методикою. За одержаними результатами залежності оптичної густини від концентрації арсену будують градувальний графік.

Концентрацію арсену (C_x), мкг/дм^3 , розраховують за формулою:

$$C_x = \frac{C \cdot 100}{V},$$

де C – концентрація арсену, мкг/дм^3 , знайдена за градувальним графіком; 100 – об'єм стандартних розчинів, см^3 ; V – об'єм проби, см^3 .

Реактиви

1. Розчин діетилдитіокарбамінату аргентуму. Розчиняють 2,25 г діетилдитіокарбамінату натрію у 100 см^3 бідистильату і доливають 100 см^3 1,7%-ного розчину AgNO_3 . Виділяється світло-жовтий осад діетилдитіокарбамінату ар-

гентуму, який відфільтровують, промивають кілька разів бідистилятом і висушують в ексикаторі.

Розчин 1-ефедрину у хлороформі. До 20 см³ 3%-ного розчину ефедрину додають 10%-ний розчин NaOH до рН 10–11 і екстрагують ефедрин 100 см³ хлороформу двічі порціями по 50 см³. В одержаному хлороформному розчині ефедрину розчиняють 225 мг діетилдитіокарбамінату аргентуму. Розчин зберігають у скляниці із темного скла при кімнатній температурі протягом кількох місяців.

2. *Розчин ацетату плумбуму Pb(CH₃COO)₂.* Розчиняють 2,5 г реактиву у 25 см³ бідистильованої води.

3. *Цинк металічний «без арсену».*

4. *Соляна кислота HCl концентрована, х. ч. або ос. ч.*

5. *Розчин йодиду калію KI.* Розчиняють 0,75 г KI у 5 см³ бідистиляту.

6. *Розчин хлориду стануму SnCl₂·2H₂O, 40%-ний розчин.*

7. *Розчин NaOH, кваліфікації «х. ч.».* Розчиняють 1 г NaOH у 25 см³ бідистиляту.

7. *Стандартний розчин арсену, 100 мкг As/дм³.* Розчиняють 0,1320 г As₂O₃ кваліфікації «ч.д.а.» (отрута!) у мірній колбі на 1 дм³ у 25 см³ розчину NaOH і доводять бідистилятом до позначки. *Робочий стандартний розчин арсену, 1 мкг As/см³,* готують розведенням основного стандартного розчину арсену бідистилятом (1 см³ до 100 см³).

13.7. Визначення концентрації у воді заліза (феруму) загального

Ферум є неодмінним компонентом природних вод, в яких він знаходиться в розчиненій, колоїдній та завислій формах. Розчиненому у воді феруму властиві іонна форма та гідросокомплекси і комплекси з неорганічними та органічними комплексоутворюючими речовинами природних вод. Полімерні і зв'язані з органічними сполуками форми феруму перед аналізом переводять в іонний стан кип'ятінням проби води з кислотою. Іонні форми феруму на рівні ГДК визначають фотометрично з тіоціанатом, сульфаніловою кислотою та 1,10-фенантроліном. Залежно від мети дослідження, окремо визначають розчинені Fe(II) та Fe(III) або загальний вміст розчиненого і завислого феруму. Методи визначення цих форм відрізняються лише додатковими операціями щодо їхнього переведення в ступінь окиснення +2 та пробопідготовкою.

Методика визначення феруму в поверхневих водах фотометричним методом з 1,10-фенантроліном, яка прийнята як міжнародний стандарт ISO 6332, полягає в тому, що іони феруму (II) з 1,10-фенантроліном утворюють при рН

2–9 інтенсивно забарвлену у червоно-оранжевий колір комплексну сполуку з максимумом світлопоглинання при 510 нм, придатну для фотометричного визначення. Іони феруму (III) з цим реактивом утворюють сполуку, що не заважає фотометричній реакції з іонами феруму (II) [5–8].

При аналізі води на загальний вміст іонів феруму (II) і (III) спочатку визначають за допомогою фенантроліну ферум (II). Потім в окремії пробі відновлюють гідроксиламіном ферум (III) до ступеня окиснення +2 і проводять фотометричне визначення. Вміст феруму (III) розраховують за різницею.

Найпоширенішим реагентом для фотометричного визначення іонів феруму є 1,10-фенантролін, який у присутності комплексону (III) як маскувального реагенту є практично специфічним реактивом на ферум (II). Комплексна сполука стійка у водних розчинах протягом кількох місяців. Молярний коефіцієнт світлопоглинання при 510 нм дорівнює 11 000. Чутливість визначення феруму становить 0,05 мг/дм³.

Заважаючий вплив

Визначенню феруму цим методом заважають манган, органічні сполуки, сильні окисники, нітрити, поліфосфати, хром, цинк у концентрації, що перевищує концентрацію феруму у 10 разів, купрум і кобальт у концентрації, що перевищує 5 мг/дм³, і нікель – понад 2 мг/дм³. Бісмут, кадмій, меркурій, аргентум та молібдат-іони осаджують фенантролін. Концентрація більшості із зазначених металів у поверхневих водах значно нижча від наведених величин, а тому впливом цих металів можна знехтувати.

При наявності органічних сполук, мангану, нітрит-іонів, хрому пробу попередньо обробляють 2 см³ концентрованої HNO₃ та 2 см³ концентрованої H₂SO₄, кип'ятять розчин до появи густої білої пари сірчаної кислоти. Потім розчин охолоджують до кімнатної температури і додають дистильовану воду до розчинення солей, що випали в осад.

Відбір і зберігання проб

У разі необхідності визначення загального вмісту феруму у пробі її консервують концентрованою соляною кислотою (2 см³ на кожні 100 см³ проби) або концентрованою азотною кислотою (2,5 см³ на кожні 100 см³ проби). Для визначення розчиненого феруму пробу після відбору зразу фільтрують через мембранний фільтр у колбу з концентрованою соляною кислотою (1 см³ на кожні 100 см³ проби). Відібрані проби слід аналізувати не пізніше, ніж через 2 доби.

Хід визначення

Для визначення концентрації розчиненого феруму (II) до 40 см³ або меншого об'єму проби, яка містить не більше 0,15 мг Fe(II), додають 1 см³ 0,28%-ного водного розчину 1,10-фенантроліну і по краплях концентрованої розчин аміаку до рН 3–4 (контроль з індикаторним папірцем). Суміш переносять у мірну колбу на 50 см³, доводять об'єм водою до позначки, перемішують і вимірюють оптичну густину розчину при 510 нм в кюветі з товщиною шару 1 см проти холостої проби води. За градувальним графіком знаходять вміст Fe(II).

Для побудови цього графіка у мірні колби на 50 см³ наливають 0,0, 1,0, 2,5, 5,0, 7,5, 10,0 і 15 см³ стандартного розчину солі феруму (II) з концентрацією 0,01 мг/см³ і діють, як зазначено вище. В цих розчинах вміст феруму дорівнює відповідно 0, 0,10, 0,025, 0,050, 0,075, 0,10 і 0,15 мг/50 см³.

Концентрацію феруму (II), (C_x , мг/дм³), розраховують за формулою:

$$C_x = \frac{a \cdot 1000}{V},$$

де a – кількість феруму (II), знайдена за градувальним графіком, мг; V – об'єм проби, см³.

Визначення загального вмісту феруму (II) та (III). До 50 см³ або меншого об'єму проби води додають 1 см³ розбавленої соляної кислоти (1:9), кип'ятять і випарюють до об'єму приблизно 40 см³. Якщо проба каламутна, її фільтрують і охолоджують до кімнатної температури. Доливають 1 см³ 10%-ного розчину гідроксиламіну і далі діють, як описано вище. Таким чином знаходять загальний вміст Fe(II, III). Вміст феруму (III) розраховують як різницю між загальним вмістом феруму і концентрацією іонів Fe(II).

Пряме визначення концентрації загального феруму, включаючи завислу форму. Для визначення беруть 50 см³ підкисленої до рН 1 проби. Якщо в ній міститься нерозчинений ферум, його окисли або комплекси, цю порцію води вносять в колбу місткістю 100 см³ і здійснюють попередню обробку. Додають в пробу 5 см³ розчину переульфату калію і кип'ятять на повільному вогні протягом 40 хв, стежачи за тим, щоб об'єм розчину був не меншим 20 см³. Потім розчин охолоджують і вносять в мірну колбу на 50 см³ і доводять водою до позначки. Якщо розчин каламутний, то після окиснення перед розбавленням його слід негайно профільтрувати через мембранний фільтр у мірну колбу. Фільтр промивають невеликою кількістю води, додаючи промивну воду до фільтрату, а потім доводять водою до позначки. Для відновлення до феруму (II) розчин вносять у колбу місткістю 100 см³, додають 1 см³ розчину солянокислого гідроксиламіну і

ретельно перемішуюють. Потім встановлюють рН, як рекомендовано вище, додають 1 см³ розчину 1,10-фенантроліну і вимірюють оптичну густина при 510 нм.

Реактиви

1. *Розчин залізоамонійних галунів з концентрацією іонів феруму 100 мг/дм³.* Розчиняють 0,8634 г залізоамонійних галунів NH₄Fe(SO₄)₂·12H₂O у дистильованій воді, яка містить 2 см³ концентрованої НСІ, протягом доби, об'єм розчину доводять до позначки в мірній колбі на 1 дм³. Розчин з концентрацією 10 мг/дм³ одержують розбавленням основного розчину дистильованою водою в мірній колбі на 100 см³.

2. *Розчин 1,10-фенантроліну.* У мірну колбу на 100 см³ переносять 0,28 г 1,10-фенантроліну, розчиняють у дистильованій воді і об'єм доводять до позначки.

3. *10%-ний розчин гідроксиламіну солянокислого.* Розчиняють 10 г гідроксиламіну солянокислого у дистильованій воді і об'єм доводять до 100 см³.

4. *Буферний розчин.* Замість концентрованого розчину аміаку можна скористатись ацетатним буфером, який готують розчиненням 250 г ацетату амонію у 150 см³ дистильованої води з наступним додаванням 700 см³ оцтової кислоти і доведенням об'єму до 1 дм³ дистильованою водою.

13.8. Визначення концентрації у воді марганцю (мангану) хемілюмінесцентним методом

Для визначення концентрації вільних іонів Mn²⁺ найбільш придатним є хемілюмінесцентний метод [4]. Його суть полягає в тому, що іони Mn²⁺ при рН ≈ 9,6 каталізують реакцію окиснення люмінолу пероксидом водню. Про концентрацію іонів Mn²⁺ судять за величиною сумарного світіння (I_{Σ}), що виділяється в результаті реакції за певний проміжок часу, яке реєструють з допомогою хемілюмінесцентного фотометра. Чутливість методу $1,8 \cdot 10^{-8}$ моль/дм³.

Хід визначення

До досліджуваної проби води (як правило, 1–2 см³), що внесена в кювету хемілюмінесцентного фотометра, додають 0,5 см³ 0,003 моль/дм³ розчину люмінолу, 0,5–1 см³ 0,01 моль/дм³ розчину *o*-фенантроліну, 2 см³ буферного розчину з рН 9,6 (Na₂B₄O₇ + NaOH), 1 см³ 0,3 моль/дм³ розчину лимоннокисло-го натрію та бідистильованої води до об'єму 9,5 см³. Вміст кювети ретельно пе-

ремішують і вносять $0,5 \text{ см}^3 0,03 \text{ моль/дм}^3$ розчину пероксиду водню. Величину I_{Σ} реєструють через 10 с після додавання останнього компонента (H_2O_2) протягом 30 с і потім вимірюють. Концентрацію мангану знаходять за градууювальним графіком, побудованим в координатах « I_{Σ} (в поділках шкали приладу) – концентрація мангану (II)».

Серед низки важких металів манган характеризується найменшою здатністю до комплексоутворення з природними органічними лігандами. В поверхневих водах України ступінь його зв'язування в комплекси не перевищує 25–30% від загального вмісту розчинених форм. Виняток становить Київське водосховище, де органічні комплексні сполуки цього металу можуть становити 40–60%. Отже, без попередньої обробки проб в досліджуваній воді можна знайти лише концентрацію вільних іонів Mn^{2+} . Щоб визначити вміст мангану у складі комплексних сполук з природними органічними речовинами, необхідно проби води опромінити УФ-світлом для фотохімічної деструкції останніх (рН 1,0–1,5, тривалість опромінення 2,5–3,0 год). Після фотолізу знаходять сумарну концентрацію $\text{Mn}_{\text{розч}}$, а за різницею між нею та вмістом вільних іонів Mn^{2+} – концентрацію органічних комплексних сполук.

Всі розчини, перераховані в розділі «Хід визначення», готують на бідистиляті. Слід використовувати реактиви високої чистоти (не нижче кваліфікації «х. ч.») з метою зниження фонового світіння. При необхідності додаткової їх очистки користуються методом перекристалізації.

13.9. Визначення концентрації у воді фторид-іонів

Визначення іонів фтору дуже важливе при аналізі питної води. Оптимальний вміст фторид-іонів у питній воді становить приблизно 1 мг/дм^3 . Аналіз на фториди можна здійснювати за допомогою фторидселективного електрода (ІСО 10359–1), який виявляє селективну функцію стосовно фторид-іонів у широких межах їх активності (від $1 \cdot 10^{-7}$ до 1 моль/дм^3) [5, 8].

Суть методу полягає у визначенні за допомогою фторидселективного і еталонного електродів різниці потенціалів, яка пропорційна логарифму активності іона фтору згідно з рівнянням Нерста. Селективність до фториду у мембрані з фториду лантану така, що навіть 1000-кратний надлишок іонів галогенів, а також сульфат-, нітрат-, фосфат-, борат- і гідрокарбонат-іонів не впливає на електродну функцію електрода. Однак деякі іони можуть впливати на величину електродного потенціалу внаслідок зміни рН, іонної сили розчину або через утворення фторидних комплексів з іонами алюмінію, феруму, хрому, берилію

та інших металів і малорозчинних фторидів, наприклад CaF_2 . У кислому і лужному середовищах аналіз також неможливий.

Хід аналізу

Концентрацію фторид-іонів можна визначати за градувальним графіком. Для цього штекер фторидселективного електрода підключають до гнізда «Ізм.», а хлорсрібного – до гнізда «Всп.» будь-якого іономера або рН-метра-мілівольметра. Перед початком роботи електрод витримують у $1 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³ розчині NaF 20–30 хв.

Вимірювання електрорушійної сили (ЕРС) електродної пари у стандартних розчинах NaF $5 \cdot 10^{-5}$, $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-2}$ та $1 \cdot 10^{-1}$ моль/дм³ розпочинають з найменшої концентрації. Необхідно також, щоб умови, в яких визначають ЕРС цих розчинів, були максимально наближеними до умов аналізу проб (температура, освітленість, час встановлення рівноваги).

У поліетиленову скляночку на 100 см³ піпеткою вносять 25 см³ ацетатно-цитратного буферного розчину з рН $5,0 \pm 0,5$ та 25 см³ стандартного розчину NaF і здійснюють вимірювання. Після кожного вимірювання електроди промивають дистильованою водою. За одержаними даними будують градувальний графік залежності ЕРС від молярної концентрації іонів фтору. Для одержання прямолінійної залежності замість концентрації слід відкладати логарифм концентрації стандартних розчинів (pC_{F^-}).

В 1 дм³ ацетатно-цитратного буфера міститься 0,15 моль оцтової кислоти, 0,45 моль ацетату натрію, 0,085 моль цитрату натрію, 0,0008 моль комплексону (III) та 0,1 моль хлориду натрію.

Аналогічно вимірюють концентрацію фторид-іонів у досліджуваній воді. Для цього у склянку на 50 см³ вносять 27 см³ досліджуваної води та 3 см³ буферного розчину (у 5 разів більш концентрованого, ніж для побудови градувального графіка).

Концентрацію фториду (C_x), мг/дм³ води, розраховують за формулою:

$$C_x = 2,1 \cdot 10^{4 - pC_{F^-}},$$

де pC_{F^-} знаходять за градувальним графіком.

Література

1. *Линник П. Н., Лецинская А. А., Набиванец Б. И.* О методических особенностях исследования сосуществующих форм хрома в природных водах // Гидробиол. журн. – 1989. – 25, № 2. – С. 88–93.

2. *Линник П. Н., Набиванец Б. И.* Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах. – Л.: Гидрометеониздат, 1986. – 270 с.
3. *Линник П. Н., Набиванец Ю. Б.* Применение метода инверсионной вольтамперометрии для определения свободных и связанных в комплексы ионов цинка и свинца в природных водах // Гидробиол. журн. – 1988. – **24**, № 1. – С. 68–71.
4. *Набиванец Б. И., Линник П. Н., Калабина Л. В.* Кинетические методы анализа природных вод. – Киев: Наук. думка, 1981. – 140 с.
5. *Набиванец Б. И., Сухан В. В., Калабина Л. В.* Аналітична хімія природного середовища. – К.: Либідь, 1996. – 304 с.
6. *Руководство по методам исследования качества вод. Т. 1. Гидрохимия. Радиология.* – Киев, 1995. – 202 с.
7. *Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши / Под ред. А. Д. Семенова.* – Л.: Гидрометеониздат, 1977. – 542 с.
8. *Фомин Г. С.* Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам: Энциклопедический справочник. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Протектор, 1995. – 624 с.
9. *Linnik P. N., Iskra I. V.* Application of anodic stripping voltammetry to the investigation of the physicochemical state of cadmium in surface water in the Ukraine // *Microchem. J.* – 1994. – **50**, № 4. – P. 184–190.

14. Визначення вмісту у воді органічних речовин токсичної дії

Антропогенний вплив на водні об'єкти спричинив до їх забруднення токсичними речовинами різної хімічної природи, які зумовлюють глибокі, а іноді й незворотні зміни у водних екосистемах. Це призводить часто до непридатності народногосподарського використання водних об'єктів. Забруднення водою носить комплексний характер, і не завжди можливий повний хімічний аналіз різних токсикантів. Тому для оцінки якості води і стану водних екосистем слід визначати вміст основних, пріоритетних токсикантів. До них, в першу чергу, належать нафтопродукти, феноли, хлороганічні пестициди, синтетичні поверхнево активні речовини (СПАР) та ін.

14.1. Визначення вмісту нафтопродуктів у воді

Суть методу. Нафтопродукти визначають методом інфрачервоної спектроскопії (ІЧС). Метод ґрунтується на лінійній залежності між оптичною густиною (D) і концентрацією нафтопродуктів (C) ($C = KD$) в ділянці (зоні) поглинання асиметричних валентних коливань метиленових груп [3, 7, 11].

Відбір і зберігання проб води

Проби води консервують додаванням 1 см^3 концентрованої соляної кислоти, 2 г хлористого натрію та 20 см^3 тетрахлориду вуглецю CCl_4 на 1 дм^3 .

Хід визначення

Пробу води 1 дм^3 підкислюють 1 см^3 концентрованої соляної кислоти до $\text{pH} = 2$, добавляють 2 г NaCl на кожний дм^3 рідини та здійснюють екстракцію тетрахлоридом вуглецю в ділільній лійці. Потім додають окремими порціями екстракт урахлорид вуглецю, чекають 10 хвилин до розшарування та збирають екстракт у колбу із скляною пробкою. Всього на екстрагування витрачають 60 см^3 CCl_4 .

З метою обезводнення екстракту, до нього добавляють 30 г прожареного сульфату натрію. Екстракт висушують прожареним сульфатом натрію, відбирають аліквотну порцію 50 см^3 та пропускають її через колонку з оксидом алюмінію. Збирають елюат в мірну колбу місткістю 100 см^3 . Пропускають через

колонку ще 45 см³ чистого ССІ₄ та доводять тим же розчинником об'єм розчину в колбі до позначки 100 см³.

Знімають ІЧ-спектр отриманого розчину, користуючись кюветою з товщиною шару 50 мм. Вимірюють оптичну густину при довжині хвилі 2926 см⁻¹.

Розрахунок

Вміст нафтопродуктів (X) в мг/см³ визначають за формулою:

$$X = \frac{K \cdot D \cdot 100 \cdot 60}{l \cdot V \cdot 50},$$

де K – коефіцієнт, що дорівнює 0,437 при аналізі вод, які не містять летких нафтопродуктів, та 0,542 при аналізі вод, які містять як нелеткі, так і леткі нафтопродукти; D – оптична густина; 100 і 60 см³ – об'єм ССІ₄ відповідно після розбавлення і взятій для екстракції, см³; l – товщина шару в кюветі, см; V – об'єм води для аналізу, дм³; 50 – об'єм аліквотної частини, см³.

14.2. Визначення вмісту у воді летких фенолів

Феноли – похідні бензолу з однією або кількома гідроксильними групами. Феноли поділяють на 2 групи – леткі з паром феноли (фенол, крезолі, ксиленолі, гваякол, тимол) і нелеткі (резорцин, пірокатехін, гідрохінон, пірогалол).

Феноли в природних умовах утворюються в процесі метаболізму у водяних організмів, при біохімічному розпаді і трансформації органічних речовин у водній товщі та донних відкладах. Феноли є одними з найбільш поширених забруднюючих речовин, які надходять у поверхневі води із стоками підприємств нафтопереробної, лісохімічної, коксохімічної промисловості та ін.

У поверхневих водах феноли можуть знаходитись у розчиненому стані у вигляді фенолят-іонів і вільних фенолів. Леткі феноли більш токсичні, ніж нелеткі.

Суть методу. Феноли визначають фотометричним методом. Останній ґрунтується на визначенні утворених у присутності гексаціаноферату або персульфата амонію при рН 10 забарвлених сполук фенолу та його похідних з диметил-аміноантипірином. Практично не реагують з 4-аміноантипірином *p*-крезол та паразаміщені феноли, в яких заміщуючі групи карбоксил-, галоген-, метоксил- і сульфогрупи реагують з 4-аміноантипірином [1, 6, 8, 11].

Заважаючий вплив

Визначенню фенолів заважають окиснювачі, зокрема вільний хлор або гіпохлорити. Їх видаляють на самому початку при відборі проби додаванням над-

лишку солі заліза (II) або арсенату натрію. Заважаючий вплив визначенню фенолів справляє також велика кількість нафтопродуктів і смол. За присутності цих речовин рекомендують проводити попередню їх екстракцію тетраклоридом вуглецю.

Відбір, попередня обробка і зберігання проб

Визначення фенолів слід проводити відразу після відбору проб, але не пізніше, ніж через 4 год. Якщо аналіз не може бути виконаний у зазначений строк, пробу консервують додаванням 4 г NaOH на 1 дм³ води. Зберігають при температурі 2–4°C протягом 3–4 діб.

Об'єм проби для відгонки летких фенолів встановлюють залежно від їх концентрації у воді. При наявності у воді фенолів у кількості 1–5 мкг/см³ об'єм проби має становити 1000 см³, а об'єм відгону – 800 см³. При наявності у воді 5–50 мкг/см³ фенолів пробу води беруть 500 см³, а відгону – 450 см³, відповідно.

До проби води, налитій в колбу приладу для перегонки, доливають розчин сульфату міді (100 г сульфату міді розчиняють у дистильованій воді і доводять об'єм у мірній колбі до 1 дм³) і концентровану сірчану кислоту з розрахунку 1 см³ на кожні 100 см³ проби. У прийомну колбу наливають 10 см³ 0,05 н. розчину NaOH і встановлюють її так, щоб нижній кінець трубки скляного холодильника був занурений у цей розчин. Відганяють при повільному, несильному нагріванні (не допускають сильного кипіння). Якщо відгін буде кислий, його нейтралізують за індикаторним папірцем кількома краплями 1 н. розчину їдкого натрію.

Визначення сумарного вмісту летких фенолів із застосуванням диметиламіноантипірину

Хід визначення

Відгін (450 см³) доводять дистильованою водою до 500 см³, переносять у ділільну лійку на 1 дм³ і додають 10 см³ буферного розчину (рН 9,3; 50 г хлориду амонію марки х. ч. розчиняють у 900 см³ дистильованої води, додають 40 см³ концентрованого розчину аміаку і доводять об'єм дистильованою водою до 1000 см³), 1,5 см³ диметиламіноантипірину (3,5 г диметиламіноантипірину у вигляді порошку) розчиняють у дистильованій воді в мірній колбі на 100 см³ і доводять об'єм до позначки. Зберігають при температурі 3–5°C протягом 3–5 днів) і 15 см³ розчину персульфату амонію (50 г персульфату амонію розчиняють у 200 см³ дистильованої води в мірній колбі на 250 см³, нейтралізують кон-

центрованим розчином аміаку за лакмусовим папірцем, доводять об'єм до 250 см³ і фільтрують).

Вміст ділільної лійки перемішують після додавання кожного реактиву і залишають на 45 хв. Потім доливають 20 см³ хлороформу і енергійно струшують протягом 2 хв. Після розшарування рідини екстракт відділяють і фільтрують через паперовий фільтр. Оптичну густину екстракту вимірюють на фотоселектор-колориметрі із синім світлофільтром в кюветах з товщиною шару 10 мм. Вміст фенолів знаходять за калібрувальним графіком. Слід стежити за тим, щоб проба води і шкала стандартних розчинів мали однакову величину рН і температуру.

Побудова калібрувального графіка

У мірні колби на 500 см³ наливають 0,0, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 15,0 і 25,0 см³ робочого стандартного розчину, який містить 1 мг/дм³ фенолу, і доводять дистильованою водою об'єм до позначки. Отримані розчини з концентрацією 0; 2; 5; 10; 20; 30 і 50 мкг/дм³ фенолу обробляють так само, як і проби. Оптичну густину вимірюють проти екстракційної суміші. Будують калібрувальний графік, відкладаючи на осі ординат значення оптичної густини, а на осі абсцис – концентрацію фенолів, мкг/дм³.

Розрахунок

Вміст фенолів C_* , мкг/дм³, знаходять за формулою:

$$C_* = C \cdot n,$$

де C – концентрація фенолів, знайдена за калібрувальним графіком, мкг/дм³;
 n – ступінь розбавлення досліджуваної проби.

Реактиви

1. Їдкий натр.
2. Розчин сульфату міді (100 г сульфату міді розчиняють у дистильованій воді і доводять об'єм у мірній колбі до 1 дм³).
3. Концентрована сірчана кислота.
4. Розчин їдкового натру, 0,05 н.
5. Розчин їдкового натру, 1 н.
6. Буферний розчин (рН 9,3). 50 г хлориду амонію (хч) розчиняють в 900 см³ дистильованої води, прибавляють 40 см³ концентрованого розчину аміаку і доводять об'єм дистильованою водою до 1000 см³.

7. Розчин диметиламіноантипірину (3,5 г диметиламіноантипірину розчиняють у дистильованій воді в мірній колбі на 100 см^3 і доводять об'єм до 100 см^3 .)

8. Розчин персульфату амонію (50 г персульфату амонію розчиняють у 200 см^3 дистильованої води в мірній колбі на 250 см^3 , нейтралізують концентрованим розчином аміаку, доводять об'єм до 250 см^3) і фільтрують.

9. Хлороформ, ч. д. а.

10. Стандартний розчин фенолу. У дистильованій воді розчиняють 1 г фенолу (ч. д. а.) в колбі і доводять об'єм нею до 1000 см^3 .

11. Робочий розчин фенолу. Розбавляють 50 см^3 стандартного розчину фенолу дистильованою водою і доводять нею об'єм до 500 см^3 .

14.3. Визначення вмісту у воді пестицидів

Хлорорганічні пестициди є хлорпохідними багатоядерних вуглеводнів (ДДТ), циклопарафінів (гексахлорциклогексан (ГХЦГ) та ін.

Суть методу. Вміст пестицидів у воді визначають методом газоріднинної хроматографії. Метод базується на визначенні залишкової кількості хлорорганічних пестицидів за допомогою детектора постійної швидкості рекомбінації. Як газ-носії використовують азот особливої чистоти.

У високотемпературну камеру детектора надходить потік газу-носія, де на нього впливає потік β -частинок радіоактивного джерела (нікель-63). В результаті азот іонізується: $\beta + \text{N}_2 \leftrightarrow \text{N}_2^+ + e^-$.

Під впливом напруги електрони рухаються до анода і дають фоновий струм детектора. Молекули речовини, яка аналізується і володіє спорідненістю до субстрату, при появі їх у газі-носії поглинають вільні електрони. Це зумовлює зниження фонового струму детектора, яке залежить від кількості речовини, що аналізується. Безперервний запис сигналу детектора забезпечує реєстратор КСП-4. Зміна струму на стрічці реєструється у вигляді піку, площа і висота якого залежать від кількості речовини, що реєструється [4, 5, 9].

Відбір проб води

Проби води відбирають у скляні пляшки на 1 дм^3 з притертою скляною пробкою та використовують для визначення пестицидів.

Хід визначення

У ділильну лійку об'ємом 2 дм³ поміщають 1 дм³ досліджуваної води та додають 10–15 г хлористого натрію. Скляну пляшку, в яку відбирали проби води, промивають спочатку 15 см³ ацетону, а потім 75 см³ гексану, щоб змити пестициди зі стінок. Цю кількість ацетону і гексану переносять у ділильну лійку з пробою води і вміст струшують протягом 10–15 хвилин. Потім ділильну лійку залишають у спокої на 15 хв. для розділення шарів.

Після розподілу шарів гексанів шар переносять у колбу для збору екстракту, фільтруючи його через паперовий фільтр з безводним сірчаноокислим натрієм. Зразок води знову переносять у ділильну лійку і екстрагують ще 2 рази гексаном по 10 хв. порціями по 50 см³, фільтруючи кожний раз через сірчаноокислий натрій. Шар сірчаноокислого натрію промивають 10 см³ гексану і віджимають скляною пробкою. Об'єднані гексанові екстракти поміщають в апарат для відгонки гексану до об'єму 3–5 см³.

Екстракт 2–5 мм³ вносять у хроматограф.

Розрахунок вмісту ХОП

Вміст кожного пестициду в пробі, що аналізується (мг/кг або мкг/дм³) знаходять за висотою піку на хроматограмі відповідно до градуйованих кривих, побудованих за результатами аналізу серії стандартних розчинів, за формулою:

$$X = \frac{A \cdot V_1}{V_2 \cdot P}$$

де A – кількість пестициду, знайдена за градуйованою кривою, мг; V_1 – об'єм розчину, з якого відбирають аліквоту для хроматографування, см³; V_2 – об'єм аліквоти, який вводиться в хроматограф, мкл; P – об'єм проби води або наважка зразка, відповідно в дм³ або грамах.

Реактиви

1. Хлористий натрій, ч. д. а.
2. Ацетон, х. ч.
3. Гексан, х. ч.
4. Сірчаноокислий натрій безводний, х. ч.

14.4. Визначення вмісту пестицидів у рибі

Хід визначення

Наважку риби (10 г) гомогенізують протягом 5 хв. у суміші 20 см³ ацетону і 10 см³ гексану. Посуд з гомогенатом поміщають у центрифугу, центрифугують 15 хв (3000 об/хв) і надосадову рідинну частину зливають у ділильну лійку на 250 см³. Фільтр промивають сумішшю 5 см³ гексану і 1 см³ етилового ефіру. До залишку біологічного матеріалу в посуді додають 20 см³ гексану і 2 см³ діетилового ефіру, гомогенізують 5 хв., центрифугують, рідинну частину приєднують до першої порції, залишок в посуді промивають сумішшю 10 см³ гексану і 1 см³ етилового ефіру.

До об'єднаних екстрактів в ділильну лійку додають 60 см³ 0,9%-ного розчину хлористого натрію і вміст збовтують 2–5 хв.

Відділяють гексановий шар, водно-ацетоновий екстрагують ще двома порціями гексану по 10 см³. Гексановий шар сушать, фільтруючи через безводний сульфат натрію, концентрують до повного випарювання гексану і постійної маси жиру. До жиру додають 3–5 см³ гексану.

Концентрований екстракт поміщають у ділильну лійку, додають 5–7 см³ концентрованої сірчаної кислоти і вміст обережно збовтують 5–10 разів. Після розподілу шарів нижній шар, оброблений сірчаною кислотою, зливають. Очистку проводять до отримання прозорого шару сірчаної кислоти. Очищений екстракт промивають двома порціями 1%-ного розчину бікарбонату натрію по 5 см³, а потім дистильованою водою до нейтральної реакції промивних вод. Відмитий екстракт сушать, фільтруючи через безводний сірчано-кислий натрій (10–15 г). Висушений шар промивають 3–7 см³ гексану і віджимають скляною пробкою. Висушений екстракт випарюють при кімнатній температурі на повітрі до об'єму 2–4 см³. 2–5 мкл екстракту вносять в хроматограф [4, 5].

Розрахунок вмісту ХОП

Вміст кожного пестициду в пробі, що аналізується (мг/кг або мкг/дм³), знаходять за висотою піку на хроматограмі відповідно до градуированих кривих, побудованих за результатами аналізу серії стандартних розчинів, за формулою:

$$X = \frac{AV_1}{V_2P},$$

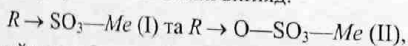
де A – кількість пестициду, знайдена за градуїрованою кривою, мг; V_1 – об'єм розчину, з якого відбирають аліквоту для хроматографування, см³; V_2 – об'єм аліквоти, який вводиться в хроматограф, мм³; P – об'єм проби води або наважка зразка, відповідно в дм³ або грамах.

Реактиви

1. Ацетон, ч. д. а.; х. ч.
2. Гексан, ч. д. а.; х. ч.
3. Етиловий ефір, ч. д. а.; х. ч.
4. Розчин 0,9%-ного хлористого натрію.
5. Безводний сульфат натрію, ч. д. а.
6. Сірчана кислота концентрована, ч. д. а.
7. Розчин 1%-ного бікарбонату натрію.

14.5. Визначення вмісту аніонних поверхнево-активних речовин (АПАР) з метиленовим блакитним у природних водах

Синтетичні АПАР належать переважно до двох класів. Це або солі органічних сульфокислот (I), або солі сірчаноокислих ефірів органічних спиртів (II). Їх узагальнені формули мають такий вигляд:



де R – радикал, який може бути алкільним або алкіларильним, Me – метал.

У водному розчині синтетичні АПАР дисоціюють з утворенням негативно заряджених органічних аніонів.

Синтетичні АПАР широко використовуються в промисловості і побуті, як основні компоненти синтетичних миючих та очищувальних засобів. Синтетичні АПАР негативно впливають на органолептичні якості води. Вони характеризуються високою здатністю до піноутворення. У піні на поверхні водойми концентруються як власне АПАР, так і інші забруднюючі речовини і мікроорганізми, в тому числі й патогенні. Піна погіршує аерацію водойм, що призводить до сповільнення процесів самоочищення, пригнічує життєдіяльність гідробіонтів.

Суть методу визначення синтетичних АПАР базується на утворенні з метиленовим блакитним забарвленої комплексної сполуки, яку можна екстрагувати

хлороформом з водного середовища. Оптична густина цієї сполуки прямо пропорційна концентрації АПАР у воді [2, 10].

Заважаючий вплив

Визначенню заважають сульфіді, полісульфіді та тіосульфати. Їх усувають окисненням при додаванні лужного буфера і пероксиду водню. Крім того, перешкоджаючого впливу не аніонних ПАР позбавляються пропусканням проби води через іонообмінну колонку, заповнену катіонітом КУ-2.

Відбір проб

Проби води для визначення синтетичних АПАР відбирають у скляні пляшки місткістю 0,5–1 дм³ за допомогою батометра, що запобігає попаданню у пробу поверхневої плівки та піни. Аналіз бажано виконувати в день відбору проби, оскільки синтетичні АПАР біохімічно нестійкі. Якщо це неможливо, пробу консервують додаванням 2 см³ хлороформу на 1 дм³ води. Її зберігають при температурі 3–5°C не більше тижня.

Хід визначення

У ділильну лійку на 250 см³ вливають 100 см³ досліджуваної води, 10 см³ боратного буферного розчину, 5 см³ 20%-ного розчину пероксиду водню, 5 см³ розчину нейтрального метиленового блакитного і 15 см³ хлороформу. Ділильну лійку струшують 1 хв. Суміш відстоюють і зливають шар хлороформу в іншу ділильну лійку, де вже знаходиться 110 см³ дистильованої води та 5 см³ кислого розчину метиленового блакитного. Другу лійку струшують 1 хв. і після розширення відфільтровують шар хлороформу через вату, змочену хлороформом, у мірну колбу на 50 см³. В обох ділильних лійках екстрагування повторюють ще двічі, струшуючи їх з порціями хлороформу по 10 см³.

Екстракти зливають разом, хлороформом доводять до позначки і ретельно перемішують. Вимірюють густину на фотоколориметрі із світлофільтром 650 нм у кюветях з товщиною шару 5 см.

Одночасно виконують холосте визначення, де замість досліджуваної води використовують дистильовану воду. Одержану оптичну густину даного визначення віднімають від оптичної густини досліджуваної води.

У разі присутності помітної кількості завислих часток пробу води аналізують після центрифугування або фільтрування через паперовий фільтр.

Вміст синтетичних АПАР у пробі встановлюють за градуювальним графіком.

Побудова градуювального графіка

У діляльну ліжку місткістю 250 см³ вливають 100 см³ дистильованої води і піпеткою місткістю 10 см³ вносять 0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0 і 8,0 см³ розчину лаурилсульфату натрію (5 мг/дм³). Вміст лаурилсульфату натрію у пробах становитиме відповідно: 0; 0,0050 мг; 0,01 мг; 0,0150 мг; 0,02 мг; 0,03 мг і 0,04 мг. Фотоколориметром визначають густину кожної проби та будують калібрувальний графік.

Розрахунок

Вміст АПАР у пробі встановлюють за градуювальним графіком. Концентрацію АПАР у воді визначають за формулою:

$$C_{\text{АПАР}} = \frac{C_x \cdot 1000}{V},$$

де C_x – вміст аніонних ПАВ у пробі, знайдений за градуювальним графіком, мг;
 V – об'єм проби, яку аналізують, см³.

Реактиви

1. *Розчин лаурилсульфату натрію.* Зважують 0,1003 г лаурилсульфату натрію, переносять у мірну колбу місткістю 100 см³, доливають 50 см³ етилового спирту, додають 40–45 см³ дистильованої води, охолоджують до 20°C, доводять дистильованою водою до позначки і перемішують. Розчин зберігають у склянках зі щільно притертими пробками при температурі 3–5 °C не більше 8–9 тижнів.

2. *Розчин лаурилсульфату натрію з концентрацією 100 мг/дм³.* Вносять піпеткою 10 см³ розчину лаурилсульфату натрію з концентрацією 1000 мг/дм³ у мірну колбу на 100 см³, доводять дистильованою водою до позначки, перемішують і зберігають не більше тижня.

3. *Розчин лаурилсульфату натрію, 5 мг/дм³ для градуювання.* У мірну колбу на 100 см³ піпеткою вносять 5 см³ розчину лаурилсульфату натрію, доводять дистильованою водою до позначки і перемішують. Зберігають не більше доби.

4. *Розчин тетраборату натрію, 0,05 моль/дм³.* У мірну колбу на 1000 см³ вміщують 2,367 г борної кислоти, розчиняють у 100 см³ розчину гідроксиду натрію і доводять дистильованою водою до позначки.

5. Боратний буферний розчин рН 11. Змішують рівні об'єми розчинів 0,1 моль/дм³ гідроксиду натрію та 0,05 моль/дм³ тетраборату натрію.
6. Нейтральний розчин метиленового блакитного. У мірну колбу на 1000 см³ вмішують 0,35 г метиленового блакитного, додають 500 см³ дистильованої води, струшують та доводять дистильованою водою до позначки.
7. 20%-ний розчин пероксиду водню.
8. Хлороформ, ч. д. а.

Література

1. *Временные методические рекомендации по контролю загрязнения почв / под ред. С.Г.Малахова.* – М.: Гидрометеоиздат, 1984. – 29 с.
2. *КНД 211.1.4.017-95. Методика екстракційно-фотометричного визначення аніонних поверхнево-активних речовин (АПАР) з метиленовим блакитним у природних та стічних водах // Якість вимірювань складу та властивостей об'єктів довкілля та джерел їх забруднення.* Під ред. В.Ф.Осики, М.С.Кравченко. – Київ: Мінбезпеки України, 1997. – С. 155–174.
3. *Лур'є Ю. Ю.* Аналитическая химия промышленных сточных вод. – М.: Химия, 1984. – 448 с.
4. *Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде.* – Киев: Укргосхимкомиссия, 1995. – Сб. № 18–22. – С. 33–38.
5. *Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. Справочник / сост. М.А. Клисенко, А.А. Калинина, К.Ф. Новикова и др.* – М.: Колос, Госхимкомиссия, 1995. – Т. 1. – 335 с. – Т. 2. – 385 с.
6. *Новиков Ю. В., Ласточкина К. С., Болдина З. Л.* Методы исследования качества воды водоемов. – М.: Медицина, 1990. – 431 с.
7. *Определение нефтепродуктов в воде методом колоночной хроматографии с ИК-спектрометрическим окончанием // Унифицированные методы исследования качества вод.* – М.: СЭВ, 1987. – Ч. 1. – С.355–359.
8. *РД 118.02.6-88 Методика ускоренного экстракционно-фотометрического определения летучих фенолов в природных и сточных водах.*
9. *РД 52.24.66-88 Методические указания по определению содержания галогенорганических пестицидов и их метаболитов в поверхностных водах.*
10. *РД 52.24.98-90 Методические указания по тестопределению анионных синтетических поверхностно-активных веществ (АСПАВ) в поверхностных водах суши.*
11. *Унифицированные методы анализа вод / Под ред. Ю.Ю. Лурье.* – М.: Химия, 1973. – 375 с.

15. Екологічна оцінка якості води за специфічними показниками радіаційної дії

Відповідно до «Порядку здійснення державного моніторингу вод», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 20 липня 1996 р. № 815, задачі моніторингу радіоактивного забруднення поверхневих вод такі:

1) фоновий моніторинг, що здійснюється на водних об'єктах у місцях мінімального антропогенного навантаження;

2) загальний моніторинг, що складається з моніторингу на державній мережі пунктів спостережень, моніторингу антропогенного впливу на водні об'єкти, моніторингу водних об'єктів у місцях їх використання та спеціальних видів моніторингу;

3) кризовий моніторинг, що здійснюється у зонах підвищеного ризику та у зонах впливу аварій і надзвичайних ситуацій.

До об'єктів моніторингу поверхневих вод належать: природні водойми (озера, лимани); водотоки (річки, ручаї); штучні водойми (водосховища, ставки); канали та інші водні об'єкти.

У поверхневих водах визначають вміст розчинених у воді, а також сорбованих на зависях радіонуклідів. Водночас проводять спостереження за гідрологічним і гідрохімічним режимом поверхневих вод.

Пріоритет визначення радіонуклідів у моніторингу зумовлений, з одного боку його видом (фоновий, кризовий, контроль промислових об'єктів), з іншого – властивостями окремих радіонуклідів, в першу чергу їх потенційною небезпечкою для стану екосистем або людини.

Так, у фоновому моніторингу поверхневих вод основна увага приділяється визначенню концентрації стронцію-90 і цезію-137, які потрапляють у водойми внаслідок змиву чорнобильських та глобальних випадіннь з площ водозбору.

З рідкими стоками АЕС та інших ядерно небезпечних об'єктів у водойму надходять тритій, цезій-134 та -137, кобальт-58 та -60, хром-51, шник-65, марганець-54, залізо-59, йод-131 та ін. При спостереженнях у зонах впливу АЕС слід, в першу чергу, звергати увагу на наявність у пробах короткоживучих радіонуклідів, що може свідчити про свіже забруднення. Якщо кількість радіонуклідів у пробах води недостатня для вимірювання на приладах, вимірюється їх сумарна радіоактивність.

Для того щоб проби були репрезентативними, необхідно правильно визначити станції для відбору проб. Останні повинні характеризувати весь попереч-

ний переріз водного потоку, якщо це водотік (річка, струмок, канал), або водну масу або її певну частину – якщо це водойма (стайл, озеро, водозимниці). Це досягається вибором репрезентативних створів, вертикалей і горизонтів для вибору проб води. По можливості ці стайли повинні збігатися з довжинами і профілями і стічних вод.

Водотоки. За наявності локального джерела забруднення встановлюють не менше двох створів. Перший створ (фоновий) розташовують вище джерела забруднення (фоновий створ), другий (контрольний) – нижче джерела або струви джерел. Фоновий створ спостережень знаходиться вище джерела забруднення на відстані 0,5–1,0 км, яка виключає вплив радіонуклідів, що надходять зі стічними водами.

Контрольний створ (створ повного змішування) слід встановлювати вище за течією ріки на значному віддаленні від локальних бокових джерел радіоактивного забруднення. Це може бути місце, де в результаті повного змішування забруднених вод з більш чистими відбувається вирівнювання концентрацій радіонуклідів по перерізу водного потоку.

Водойми. За наявності локального джерела забруднення створи на водоймах встановлюють з урахуванням умов їх водообміну. На водоймах з інтенсивним водообміном (понад 5,0 за ГОСТ 17.1.1.02) розташовують створи таке, як і на водотоках: один створ встановлюють вище джерела забруднення (приблизно за 1 км), інший – нижче (на відстані 0,5 км від місця скиду стічних вод і безпосередньо за кордоном зони забруднення). На водоймі з помірним (від 0,1 до 5,0) і уповільненим (до 0,1) водообміном один створ встановлюють в не забрудненій частині водойми, другий – послідує із створом скиду стічних вод, інші розташовують паралельно йому по обидва боки (не менше двох на відстані 0,5 км від місця скиду стічних вод і безпосередньо за межею зони забруднення).

Для визначення фонових радіоактивного забруднення води у водоймах, які зазнають впливу скидів АЕС, для порівняння відбирають контрольні проби з ізольованої водойми, розташованої на відстані більш ніж 15 км від АЕС у напрямках, що не забруднені її скидами.

При проведенні фонових режимних спостережень у непроточних водоймах рекомендується відбирати одну змішану по створам і вертикалі пробу води для визначення середньої по водоймі концентрації будь-якого радіонукліду.

Остаточне рішення стосовно кожної окремої водойми може бути різним: 1) в центральній точці водойми (або в зоні максимальних глибини) з поверхневого шару; 2) на одній репрезентативній вертикалі з кількох горизонтів з наступним об'єднанням в одну пробу; 3) в кількох точках з наступним об'єднанням в одну пробу; 4) кілька змішаних по вертикалі проб води та ін.

При каскадному розташуванні водосховищ створ, розміщених на виході з розташованого вище водосховища, може вважатися вхідним нижче розташованого. У цьому разі відбір проб води здійснюється у верхніх б'єсах ГЕС біля водоскидних споруд – на тих ділянках, де під час попусків води спостерігається стабільний однонаправлений рух води у напрямку греблі. У нижніх б'єсах гідровузлів проби відбирати не рекомендується, оскільки під час попусків води потік може містити велику кількість скаламученого донного матеріалу.

Оскільки вміст радіонуклідів у поверхневих водах змінюється в широких межах, для підготовки проби в достатній для аналізу кількості слід правильно вибрати її об'єм. Важливо знайти розумний баланс між необхідним для достовірного аналізу об'ємом проби і ступенем її репрезентативності. Головним лімітуючим фактором є обмежені можливості виміральної техніки, її чутливість. Для достовірної кількісної реєстрації радіонукліду його вміст у пробі має перевищувати так звану нижню межу детектування.

У загальному випадку об'єм проби води, необхідний для аналізу обчислюють за формулою:

$$V = \frac{atC}{Afr e}$$

де t – час набору спектру; C – мінімальна швидкість лічби, що може бути виміряна детектором за час t ; A – мінімальна активність, що може бути кількісно визначена; f – частина проби (аліквота), що була використана для вимірів; r – квантовий вихід радіонукліду, що визначається; e – абсолютна ефективність детектора для квантів даної енергії (відношення лічби імпульсів до розпаду); a – коефіцієнт розмірності.

Наведене рівняння дає можливість розрахувати мінімальний об'єм проби, необхідний для радіонуклідного аналізу і дальшого розрахунку вмісту радіонукліду з деякою похибкою. Для її зменшення рекомендується відбирати якомога більший об'єм проби – наскільки це дозволяють технології пробовідбору та підготовки проб до аналізу. Особливо це важливо при визначенні низьких фонових значень концентрації радіонуклідів у воді [4].

Відбір проб води

Відбір засобів пробовідбору визначається необхідним об'ємом проби, гідродинамічними умовами водоюми, формою міграції радіонуклідів (у розчині чи на зависі) та деякими іншими чинниками.

Не існує універсального засобу відбору проб води та зависей на радіонуклідний аналіз. У різних методичних посібниках найчастіше рекомен-

дується використовувати, крім звичайних відер або каністр, стандартні гідрологічні батометри.

Батометр-пляшка ГР-16 М є стандартним гідрометричним приладом для відбору проб води і зависей. Його об'єм становить один літр. Конструкція приладу забезпечує надходження води у пляшку з найменшим порушенням природних умов течії, що дуже важливо для відбору проб зависей. Батометр-пляшку занурюють у воду на штанзі або прикріпленою до тросу гідрологічної лебідки.

Вакуумний батометр ГР-61 застосовують для взяття проб на глибині до 20 м при швидкості течії 0,5 м/с, до 10 м – при швидкості течії до 1 м/с і до 5 м – при швидкості до 2,5 м/с. Висота розміщення камери над поверхнею води – не більше 3–4 м. Відбирати проби можна з човна, катера, понтона, містка. При ширині річки менше 20 м камеру батометра можна встановлювати на березі.

Батометр-пляшку і вакуумний батометр слід застосовувати під час відбору змішаних по перетину водного потоку проб води і зависей на радіонуклідний аналіз при їх об'ємі до 10 л.

Батометри миттєвого наповнення можуть використовуватися при відборі проб води у непроточних і слабопроточних водоймах, де відсутня течія або її швидкість незначна (до 0,05 м/с.).

Проби води для визначення розчинених радіонуклідів при рівномірному їх розподілі по перерізу потоку у безльодовий період відбирають на стрижневій вертикалі з поверхневого горизонту відром з подальшим виливанням в каністру, а під час льодоставу – з горизонту 0,5–1,0 м від нижньої поверхні льоду.

При нерівномірному розподілі радіонуклідів по перерізу потоку в створі встановлюють не менше трьох вертикалей: на стрижні і на відстані 0,15 ширини річки від обох берегів. Кількість горизонтів на вертикалях визначають залежно від глибини водотоку в місці відбору. При глибині до 3 м пробу на вертикалі відбирають з одного горизонту – 0,6 глибини, від 3 до 30 м – з двох (0,2 і 0,8 глибини). Одиначні проби, відібрані на окремих вертикалях і горизонтах, об'єднують в одну сумарну по всьому перерізу річкового потоку пробу.

При визначенні радіонуклідів у зависях до відбору проб ставляться суворіші вимоги. Гідрологічна практика показує, що розподіл зависей по живому перерізу потоку відзначається нерівномірністю. Максимальні концентрації зависей спостерігаються у стрижневій частині потоку. Вертикальний їх розподіл характеризується максимумом в придонному шарі. Концентрація завислих наносів біля берега може бути на порядок нижче, ніж в стрижневій частині ріки. Тому при відборі проб з поверхні води біля берега відбувається значний їх недо-

облік. У зв'язку з цим на річках з досить високим рівнем радіоактивного забруднення проби відбираються у двох точках і більше на кожній швидкісній вертикалі батометром-пляшкою.

У непроточних водоймах змішані за об'ємом водної маси проби одержують шляхом об'єднання одиничних проб, відібраних на окремих вертикалях. Кількість таких проб визначається для кожної конкретної водойми. При спостереження у проточних водоймах батометром миттєвого наповнення відбирають змішані окремо в кожному створі.

При фоновому та загальному моніторингу радіоактивного забруднення поверхневих вод на водотоках періодичність відбору проб встановлюється залежно від гідрологічного режиму і може не збігатися на окремих водоймах. Протягом весняної повені здійснюється не менш як 4–5 відборів проб, по можливості рівномірно розподілених за фазами підйому і спаду водопілля. У межений період проби відбирають один раз на місяць.

Періодичність відбору проб води у непроточних водоймах встановлюється залежно від рівневого режиму водойми: влітку – одна проба при мінімальному рівні води (вдень без опадів); восени – одна проба перед льодоставом; в кінці зими – одна проба до початку сніготанення; навесні – дві проби під час водопілля (при максимальному рівні води і відразу ж після його спаду).

У водоймах і водотоках у зонах впливу АЕС відбір проб води слід здійснювати один раз на місяць при безаварійній роботі. При планових скидах радіоактивних відходів та продувках водойм-охолоджувачів відбирати проби рекомендується частіше.

У разі аварії, що супроводжується надходженням радіоактивних продуктів до водойми, проби слід відбирати не рідше одного разу на добу, з таким розрахунком, щоб зареєструвати наявність піку концентрацій радіонуклідів у контрольних створах. Після спаду рівня радіоактивності у воді проби можна відбирати рідше: один раз на тиждень, а потім і один раз на місяць.

Зберігання, консервація, попередня обробка та ідентифікація проб

Проби води для визначення розчинених у воді та сорбованих на завислях радіонуклідів зберігають і транспортують в темному поліетиленовому посуді з горловиною, що герметично закривається. Внутрішній діаметр горловины має бути не менше 8 см. Це дозволяє повністю видаляти частки завислих наносів, які можуть осідати на внутрішню поверхню стінок та дно, а також очищати його внутрішню поверхню від нальоту зависей, що утворюється при тривалому зберіганні проб.

Перед кожним пробовідбором посуд ретельно очищають з використанням миючих засобів, а після цього промивають водопровідною водою, а потім дистильованою. Під час пробовідбору посуд ополіскують водою з водоїми, з якої береться проба. Проби для визначення одночасно розчинених у воді і сорбованих на зависях радіонуклідів не фіксуються. Вони відстоюються до повного осадження зависей. Далі воду сифонують, а її залишок із зависями фільтрують через фільтр «синя стрічка», який попередньо зважують. Після висушування фільтру на сонці або в сухому приміщенні його складають наносами всередину спочатку вчетверо, а потім ще раз так, щоб кут утвореного сектора дорівнював 45° . Закруглений край сектора перегинають і фіксують канцелярською скріпкою. Для пакування фільтру можна використовувати поліетиленові пакети для харчових продуктів. У пакеті має міститися супровідний талон. Відфільтровану і просифоновану воду виливають у той же поліетиленовий посуд і консервують азотною кислотою до рН 1 для запобігання сорбції радіонуклідів на стінках посуду. Вимірювання проб проводять якнайшвидше, особливо якщо присутні короткоіснуючі радіонукліди. Консервування проб для вимірювання стронцію-90 здійснюється за методом [4], суть якого полягає в тому, що у посуд з водою додають концентровану соляну кислоту з розрахунку 3 мл на 20 л води. Цю пробу транспортують в лабораторію разом з супровідним талоном, в якому вказується: 1 – шифр проби (написаний на етикетці тари); 2 – дата і час відбору проби (рік, місяць, число і час); 3 – найменування водного об'єкту; 4 – координати місця відбору; 5 – глибина у місці відбору; 6 – спосіб відбору (змішана по перерізу, змішана по вертикалі, горизонт відбору, якщо одинока проба); 7 – засіб відбору; 8 – тип проби (вода чи зависі); 9 – вид аналізу, для якого призначена проба; 10 – об'єм води (для випадку зависей – їх повітряно-суха маса); 11 – ступінь хвилювання водної поверхні; 12 – температура води та інші показники; 13 – особливі примітки; 14 – ким відібрана проба [4, 5].

Визначення сумарної бета-радіоактивності води

У разі, коли у воді поряд із стронцієм-90 та цезієм-137 можуть бути й інші радіонукліди, але їх кількість набагато нижча від мінімальної, що реєструється спектрометром, визначають її сумарну бета-радіоактивність. Оскільки основна частка у ній припадає на калій-40, її враховують за його вмістом у воді, який у природній суміші ізотопів становить 0,0118% по масі. Питома активність природного калію дорівнює 29,6 Бк/г К.

Для вимірювання сумарної бета-активності проб використовують радіометри типу УМФ-1500 М, РКБ4-1сМ, РУБ-01П, УМФ-2000 та ін. Як детектор може бути використаний торцевий газорозрядний лічильник типу СБТ-13, або сци-

тиляційній на основі сцинтиляційної пластмаси і фотоселектронного помножувача.

Процес вимірювання препарату проби полягає у встановленні середньої лічби імпульсів, що реєструються установкою за одиницю часу. Для оцінки сумарної бета-радіоактивності швидкість лічби проби порівнюють із швидкістю лічби калібрувального зразка. Для цього слід визначити ефективність реєстрації вимірювальної установки. Ця величина показує, яка частина бета-розпадів, що проходять у вимірювальному приладі за одиницю часу, реєструється вимірювальним пристроєм у вигляді імпульсів за ту ж одиницю часу. Таким чином, ефективність реєстрації може бути визначена як відношення зареєстрованої кількості імпульсів установкою до активності калібрувального препарату. Останній складається з рівноважної суміші стронцію-90 та ітрію-90, максимальна енергія якої перебиває практично весь діапазон енергій випромінювачів, які визначають сумарну бета-активність проби.

Для підготовки до вимірювання законсервовану соляною кислотою пробу нейтралізують безвугільним аміаком до нейтрального значення рН і повільно випарюють на підлощі при температурі 60–70°C в сушильній шафі. Кількість води, необхідна для вимірювання, встановлюється за показником установки: число імпульсів проби має бути не меншим ніж $3(N_f)^{1/2}$ (N_f – кількість фонових імпульсів за той же час). Сумарну бета-радіоактивність проби розраховують за формулою:

$$A_{\beta} = \frac{N - N_f}{t \eta_{\beta}},$$

де t – час лічби (набору спектру), с; η_{β} – ефективність реєстрації детектора, (імп/с)/Бк; N – кількість імпульсів від препарату разом з фоном за час t ; N_f – кількість фонових імпульсів за час t [4].

Визначення розчищених у воді стронцію-90 та цезію-137

Першим етапом є операція по концентруванню радіонуклідів з води. Для цього можна використовувати синтетичні органічні смоли (іоніти) або волокнисті чи целюлозно-неорганічні сорбенти. Нині існують селективні сорбенти, які можуть концентрувати на собі лише певні радіонукліди. Використання сорбентів передбачає концентрування радіонуклідів безпосередньо при відборі води, коли вона припускається через фільтрувальні установки для відокремлення зависей, або після відбору води і відокремлення зависей. Після пропускання води через сорбент у ньому визначають концентрацію радіонуклідів на спектрометрі. Недоліки застосування сорбентів такі: 1) мала швидкість пропускан-

ня води (не більше 3–10 л/год) через іонообмінні колонки обмежує їх використання для невеликих за об'ємом проб з високою активністю; 2) невелика тягнєння радіонуклідів з води; 4) тривала і досить трудомістка процедура підготовки сорбенту. Тому для концентрування стронцію-90 та цезію-137 з води краще використовувати давно існуючі методи радіохімічного визначення цих радіонуклідів [1, 3]. Основна перевага цих методик полягає в тому, що контролюється вихід кінцевого продукту, який вимірюється.

Радіохімічне визначення розчиненого у воді стронцію-90 і цезію-137

Осадження радіонуклідів здійснюється у тому ж посуді, в якому транспортувалася підкислена соляною кислотою проба. У воду додають стабільні носії цезію (з розрахунку 150–200 мг кінцевого продукту стибіййодиду цезію), стронцію (з розрахунку 50 мг/мл), лантану (з розрахунку 20 мг/мл) та ітрію (з розрахунку 100 мг кінцевого продукту оксиду ітрію). Пробу ретельно перемішують і вносять 0,1 М розчин нітрату нікелю і 0,1 М розчин фероціаніду калію (жовта кров'яна сіль). Пробу інтенсивно перемішують і залишають відстоюватися до наступного дня. При цьому утворюються змішані разом із цезієм фероціаніди металів, які, крім цього ще є і сорбентами цезію. Таким чином досягається повнота концентрування радіонуклідів цезію з води. Воду над осадом сифонують, залишки води з фероціанідами зливають у склянку, відфільтровують або центрифугують. Звільнену воду додають до відсифонованої води і використовують для концентрування стронцію-90, ітрію-90 та інших металів у вигляді карбонатів. Змішані фероціаніди розкладають шляхом мокрого спалення концентрованою сірчаною кислотою або спалюють в муфельній печі у фарфорових тиглях при температурі 450°C протягом 2,0–2,5 годин. Після цього їх змивають 50 мл гарячої дистильованої води у термостійку склянку і випарюють до 20 мл при кип'ятінні на електроплиті. Пробу відфільтровують через фільтр «синя стрічка», промивають невеликою кількістю гарячої дистильованої води і у фільтрат доливають 17 мл концентрованої соляної кислоти. Після охолодження розчину в нього додають шпатель сухого йодистого амонію, а надлишок виділеного йоду зв'язують тіосульфатом натрію. У розчин краплями вносять насичений в оцтовій кислоті хлорид стибію. Для кращого виділення стибіййодиду цезію склянку паличкою труть по стінках склянки для утворення центрів кристалізації і залишають пробу на 1 год на холоді. Після цього її відфільтровують через фільтр «жовта стрічка», промивають спочатку льодяною оцтовою кислотою для видалення надлишку хлориду стибію, а потім етиловим спиртом для видалення йоду та швидкого просушування. Суху пробу стибіййо-

диду цезію переносять з допомогою пензлика на зважену підложку і, зваживши, розраховують вихід носія цезію, порівнюючи з тією кількістю, що була внесена на початку аналізу. Стийбийодид цезію фіксують на підложці спиртовим розчином шелаку або розчином клею БФ-6. Вимірювання здійснюється на радіометричній установці типу УМФ-1500М з торцевим лічильником СБТ-13. Вміст цезію-137 у воді розраховують за формулою:

$$A_{Cs} = \frac{N - N_f}{m_{Cs} V a},$$

де A_{Cs} – питома активність Cs-137, Бк/л; t – час лічби (набору спектру), с; η_{Cs} – ефективність реєстрації β -часток цезію-137, (імп/с)/Бк; N – кількість імпульсів від препарату разом з фоном за час t ; N_f – кількість фонових імпульсів за час t ; V – об'єм проби, л; a – хімічний вихід носія цезію, частки від одиниці [1, 4].

Для визначення стронцію-90 у воду, що залишилася після відокремлення змішаних фероціанідів, додають 50 мл розчину хлориду кальцію (40 мг Ca^{2+} /мл) як стабільного носія, на якому осаджується стронцій та ітрій, доливають гарячий розчин соди і залишають відстоюватися кілька годин. Після цього перевіряють повноту осадження, декантують воду над осадом, а залишок переносять в склянку, ретельно вимивши осад, і фільтрують через фільтр «жовта стрічка». Одержаний осад розчиняють у розбавленій азотній кислоті і доводять об'єм дистильованою водою до 300 мл. Розділяють стронцій-90 та ітрій-90. Для цього вносять 5 мл 0,5%-ного розчину хлорного заліза і осаджують гідроксид ітрію безвугільним аміаком. Суміш нагрівають до повної коагуляції осадку, фільтрують через фільтр «синя стрічка», промивають гарячою водою з кількома краплями розчину аміаку і осад видаляють. Розчин підкислюють, знову вносять розчин хлориду заліза і проводять повторне осадження гідроксиду заліза. Підкислений розчин стронцію переносять у мірну колбу на 50 мл, доводять до позначки і відбирають 2 мл для визначення виходу носія стронцію трилометрично або на полум'яному фотометрі. Після додавання стабільного носія ітрію розчин залишають на 14 днів для встановлення рівноваги між стронцієм-90 та ітрієм-90. Потім його переносять в термостійку склянку, нагрівають до кипіння і осаджують гідроксид ітрію безвугільним аміаком. Осад відфільтровують, промивають гарячою водою з кількома краплями розчину аміаку і розчин відкидають. Осад гідроксиду ітрію розчиняють у кислоті і осаджують його у вигляді оксалату. Для цього додають насичений розчин оксалату амонію і доводять рН до 2. Суміш нагрівають, а утворений оксалат ітрію відфільтровують через фільтр «жовта стрічка», промивають водою з кількома краплями насиченого розчину оксалату амонію і прожарюють у фарфоровому тиглі в муфельній печі

при 900°C до постійної маси. Одержаний оксид ітрію після охолодження в скені-каторі переносять на зважену підложку і за його масою визначають вихід носія ітрію. Якщо у воді багато заліза, то осадження оксалату ітрію проводять двічі. Оксид ітрію фіксують на підложці спиртовим розчином шелаку або клею БФ-6. Вимірюють дочірній продукт ітрію-90, а концентрацію стронцію-90 обчислюють за формулою:

$$A_{Sr} = \frac{N - N_f}{t \eta_e V b c f_1 f_2}$$

де A_{Sr} – питома активність Sr-90, Бк/л; t – час лічби (набору спектру), с; η_e – ефективність реєстрації β -частинок ітрію-90, (імпл/с)/Бк; N – кількість імпульсів від препарату разом з фоном за час t ; N_f – кількість фонових імпульсів за час t ; V – об'єм проби, л; b – хімічний вихід носія стронцію, частка одиниці; c – хімічний вихід носія ітрію, частка одиниці; f_1 – коефіцієнт, що враховує накопичення ітрію-90 від моменту гідроксидного очищення до відокремлення гідроксиду ітрію; f_2 – коефіцієнт, що враховує розпад ітрію-90 від моменту відокремлення гідроксиду до моменту вимірювання бета-випромінювання [3, 4].

Визначення сорбованих на зависях стронцію-90 та цезію-137

Зібрані на фільтрі зависі сушать при 60°C у сушильній шафі до постійної маси, зважують, а потім спалюють у фарфоровій чашці в муфельній печі при 450°C. Спалену пробу переносять у термостійку склянку, вносять носії тих же стабільних елементів і в тій же кількості, що і при визначенні у воді, а потім заливають невеликою кількістю концентрованої соляної кислоти і ретельно перемішуємо склянкою паличкою. Через деякий час у склянці на піщаній бані випарюють соляну кислоту. Вилуговування радіонуклідів із стабільними носіями проводять шляхом кип'ятіння проби з 40 мл розчину соляної кислоти 1:1 протягом 15 хв. Пробу фільтрують через фільтр «синя стрічка» на воронці Бюхнера з гом 15 хв. Пробу фільтрують через фільтр промивають розбавленою допомогою вакуумного насоса. Залишок на фільтрі промивають розбавленою кислотою, розчин заливають у склянку, а сухий залишок ще раз заливають соляною кислотою 1:1 для повторного вилуговування. Після фільтрування розчину об'єднують і проводять концентрування цезію з дальшим його виділенням, як і при визначенні розчиненого у воді цезію, у вигляді стибійодиду. Кінцевий продукт вимірюють, як описано вище, тільки замість об'єму води у формулі використовують наважку зависей, кг. Активність виражається у Бк/кг повітряно-сухої маси. З розчину, який залишився після відокремлення фероціанідів, осаджують оксалати стронцію та ітрію, відфільтровують і прожарюють у му-

фельній печі при 900°C протягом 1,5 год. Суміш оксидів розчиняють у розбавленій соляній кислоті 1:1 (якщо суміш погано розчиняється, її підігривають). Відокремлюють стронцій від ітрію з допомогою безвугільного аміаку, відфільтровують гідроксид ітрію на воронці Бюхнера, розчиняють його в розбавленій соляній кислоті 1:1 і осаджують у вигляді оксалату з дальшим прожарюванням у муфельній печі при 900°C. Оксид ітрію переносять на зважену підложку, визначають вихід стабільного ітрію, фіксують і вимірюють на радіометрі. Вихід стронцію визначають з фільтрату, що залишився в колбі Бунзена після відокремлення гідроксиду ітрію. Для цього його переносять у мірну колбу і відбирають аліквоту, як і у дослідах з водою. Концентрацію стронцію-90 розраховують за тією ж формулою, що й для води, але замість об'єму води беруть наважку зависей, кг сухої маси. Активність зависей вимірюють у Бк/кг повітряно-сухої маси [1, 3].

Екологічна оцінка якості води

З 1 січня 1999 р. в Україні впроваджено нову природоохоронну норму – екологічний норматив якості поверхневих вод, яким регламентується сумарна бета-активності води, вміст в ній стронцію-90 та цезію-137 [6]. Ця методика уточнена і використовується в новій редакції [7]. Згідно з цією методикою за сумарною бета-активністю, вмістом стронцію-90 та цезію-137 у воді поверхневі води поділяють на такі класи та категорії: I клас з однією категорією (1) – «дуже чиста»; II клас з двома категоріями – «чиста» (2) та «досить чиста» (3); III клас з двома категоріями «слабко забруднена» (4) та «помірно забруднена» (5); IV клас з однією категорією – «брудна» (6) та V клас з однією категорією «дуже брудна» (7). Рівні вмісту радіонуклідів для відповідних класів і категорій наведено у відповідній таблиці в розділі III.2.

Методологічні підходи для створення цієї класифікації та її використання в умовах України описані в роботі [2].

Література

1. Гольфман А. Я., Калмыков Л. З. Определение радиоактивного цезия ферроцианидным способом // Радиохимия. – 1963. – 4, № 10. – С. 107–109.
2. Кленус. В. Г. Опыт использования экологической классификации и обоснования экологических нормативов качества поверхностных вод Украины по критериям специфических показателей радиационного действия // Гидробиол. журн. – 2002. – 38, № 4. – С. 93–102.

3. *Лаврухина А. К., Мальшева Т. В., Павлоцкая Ф. И.* Радиохимический анализ. – М.:Изд-во АН СССР, 1963. – 220 с.
4. *Методичні рекомендації для ведення спостережень за радіоактивним забрудненням навколишнього середовища / За ред. О.В.Войцеховича і В.В.Канівця.* – К.: УкрНДГМІ, 2001. – 218 с.
5. *Національний стандарт України. Якість води. Відбирання проб. Частина 3. Нас-танови щодо зберігання та поводження з пробами (ISO 5667-3: 1994, IDT) ДСТУ ISO 5667-3-2001.* – К.: Держстандарт України, 2002. – 33 с.
6. *Романенко В. Д., Жукинський В. М., Оксіюк О. П. та ін.* Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями. – К.: Символ – Т, 1998. – 28 с.
7. *Романенко В. Д., Жукинський В. М., Оксіюк О. П. та ін.* Методика встановлення і використання екологічних нормативів якості поверхневих вод суші та естуаріїв України. – К., 2001. – 48 с.

Підрозділ 2. Оцінка якості води за біологічними показниками

16. Оцінка якості води за структурно-функціональними характеристиками фітопланктону

Біомаса фітопланктону

Важливим структурним показником біоти для екологічної оцінки якості води є біомаса фітопланктону. Це обумовлено тим, що біомаса водоростей планктону є матеріально-енергетичною основою, що визначає якість води. Відповідно до величин біомаси фітопланктону проводиться ранжування якості води. Біомаса фітопланктону виражається в мг/дм^3 , г/м^3 , г/м^2 (табл. 16.1). При цьому важливо враховувати, що залежно від впливу природних чинників, основним з яких ми вважаємо сезонну динаміку, чи антропогенних чинників, інтенсивність розвитку фітопланктону, а відповідно і його біомаси навіть однієї й тієї самої водойми можуть суттєво відрізнятись. Це може впливати на характеристику екологічної оцінки якості води. Тому необхідно, щоб при проведенні натурних досліджень, в тому числі і моніторингу, враховувалась сезонна динаміка розвитку фітопланктону.

Індекс самоочищення-самозабруднення (A/R)

Оцінку сучасного стану якості води неможливо розглядати без вивчення інтенсивності продукційно-деструкційних процесів та їх співвідношення. У природних умовах формування первинної продукції та якості води водосховищ як середовища існування гідробіонтів різних трофічних рівнів і екологічних груп в основному визначається функціонуванням угруповань планктонних і бентосних водоростей. Вміст у воді кисню, основна маса якого виділяється в процесі фотосинтезу, визначає умови життя гідробіонтів і перебіг окисно-відновних процесів.

Отже, однією з важливих характеристик трофічного статусу водної екосистеми (біопродукційного потенціалу), інтенсивності процесів самоочищення (самозабруднення), можливістю оцінки визначення впливу природних чи антропогенних чинників є відношення A/R .

16.1. Екологічна класифікація якості поверхневих вод суші та естуаріїв за біомасою фітопланктону

Клас якості вод	I		II		III		IV	V
Категорія якості вод	1	2	3	4	5	6	7	
Показники								
Біомаса фітопланктону, мг/дм ³	< 0,5	0,5–1,0	1,1–2,0	2,1–5,0	5,1–0,0	10,1–50,0	> 50,0	
Трофність (переважаючий тип)	Оліготрофні	Мезотрофні		Евтрофні		Політрофні	Гіпертрофні	
	Оліготрофні, оліго-мезотрофні	Мезотрофні	Мезо-евтрофні	Евтрофні	Ев-політрофні	Політрофні	Гіпертрофні	

Особливістю використання відношення A/R при екологічній оцінці якості води є системний підхід, тому що при аналізі продукційних характеристик фітопланктону (A) та сумарної деструкції всіх компонентів планктону (R) оцінюється якість води водної товщі, а фітомікробентосу, відповідно, – на розділі двох різних гідрофізичних фаз: «рідина – м'який субстрат».

Новизна запропонованого методичного підходу полягає в тому, що подальше порівняння відношення A/R , отриманого на одній і тій самій станції (водоймі чи водотоці), дозволить характеризувати якість води в усьому стовпі води, включаючи і процеси, що відбуваються на розділі різних гідрофізичних фаз.

$A/R < 1$ – мінералізація перевищує продукцію, це може визначатись низькою продукцією чи надходженням алохтонної енергетичної субсидії. Також можливі і інтенсивний вплив на водну екосистему антропогенних чинників, в тому числі і токсичного характеру. У цьому випадку істотно зростає роль бактеріопланктону як редуцента органічних речовин.

$A/R > 1$ – характеризує інтенсивні процеси утворення автохтонної органічної речовини, що спостерігається, наприклад, в період «цвітіння» води, викликано-го масовим розвитком водоростей, подальше відмирання і розклад яких може призвести до самозабруднення водойми.

$A/R \approx 1$ – водна екосистема перебуває у збалансованому стані, кількість фотосинтезованої продукції дорівнює мінералізованій, а надходження алохтонних речовин не має істотного значення.

Відповідно до «Методики екологічної оцінки...» оцінка якості води та її трофності відповідає така градація (табл. 16.2).

16.2. Оцінка якості поверхневих вод суші та естуаріїв за індексом самоочищення-самозабруднення

Клас якості вод	I		II		III		IV	V
Категорія якості вод	1	2	3	4	5	6	7	
Показники								
A/R	1,0	0,9–1,1	0,8–1,2	0,7 1,3–1,5	0,6 1,6–2,0	0,5 2,1–2,5	< 0,5 > 2,5	
Трофність (переважаючий тип)	Оліготрофні	Мезотрофні		Евтрофні		Політрофні	Гіпертрофні	
	Оліготрофні, оліго-мезотрофні	Мезотрофні	Мезоевтрофні	Евтрофні	Ев-політрофні	Політрофні	Гіпертрофні	

17. Оцінка якості води за мікробіологічними показниками

Існуючі методичні та методологічні підходи до розробки критеріїв оцінки екологічного стану водних екосистем тяжіють до створення класифікацій, в основу яких покладено перелік репрезентативних показників, що характеризують якість води. В екологічному розумінні основна властивість води як продукту і середовища існування, а саме – її біологічна повноцінність – формується гідробіонтами. Не важко припустити, що кількість різноманітних біотичних показників, за допомогою яких можна було б зробити певний висновок про якість води та стан водної екосистеми, дуже велика. В цьому полягає одна з причин, що ускладнює створення якої-небудь однієї загальноєвизнаної системи класифікації якості поверхневих вод. Однак, кількість принципів, покладених в основу способів індикації якості вод, вочевидь не може бути великим. Досвід практичної роботи багатьох дослідників свідчить, що пріоритет у розробці тієї чи іншої класифікації повинен бути зосереджений на виборі і застосуванні таких біотичних показників, які мають вагоме індикаторне значення, адекватно та інтегровано відображають екологічний стан водойми і якість води.

Бактеріальне населення водойм, порівняно з іншими компонентами біоти, найбільш стійке до несприятливого впливу зовнішнього середовища і, водночас, найбільш швидко і дуже чутливо реагує на його зміни. Завдяки цьому (окрім інших причин) бактеріопланктон відносять до числа пріоритетних індикаторних угруповань гідробіонтів. Його показники широко використовуються в різноманітних класифікаціях якості поверхневих вод. Серед них є системи, в основу побудови яких покладено мікробіологічні показники води [1, 6], а також системи комплексної оцінки якості поверхневих вод, до яких серед абіотичних і біотичних показників входять і мікробіологічні [2, 4].

Ще перші дослідники, які визначали загальну чисельність бактерій у воді водойм методом прямого підрахунку бактерій під мікроскопом, звернули увагу на дуже значні розбіжності між загальною чисельністю та вмістом сапрофітних бактерій, які виростили на стандартному живильному середовищі (МПА) [3, 5]. В чистих і особливо чистих водах оліготрофних і мезотрофних водойм кількість сапрофітних бактерій від загального вмісту мікроорганізмів становила 0,003–0,03%. Це дало змогу вказаним авторам запропонувати для індикації чистоти води величину відношення загального числа бактерій до вмісту сапрофітних бактерій.

17.1. Стан води водних об'єктів за показником відношення числа сапрофітних бактерій до загального числа мікроорганізмів*

Стан води	Відношення, %
Особливо чиста	0,003 і менше
Чиста	0,03
Брудна	0,3
Особливо брудна	3 і більше

* за В. І. Романенко [6].

рофітів. Щоб уникнути великих чисел, що при цьому отримуються, В. І. Романенко запропонував використовувати обернене відношення, подаючи його у відсотках [6].

На основі аналізу чисельності бактеріопланктону та вмісту сапрофітних бактерій в різних озерах, водосховищах, річках та колекторах стічних вод В. І. Романенко запропонував відповідну схему визначення чистоти води (табл. 17.1).

Звичайно, запропонована класифікація не дає повного уявлення про якість води у водоймах, що досліджуються. Але в багатьох практичних цілях її застосування дозволяє швидко отримувати попередню інформацію про стан водного середовища і трофічний статус водойми.

Проект першої комплексної уніфікованої системи для характеристики континентальних водойм та її застосування для аналізу якості вод було розроблено ученими Інституту гідробіології НАН України [2]. До складу системи класифікації увійшов перелік репрезентативних абіотичних і біотичних, в тому числі мікробіологічних, показників. Запропонована класифікація, в основу якої було покладено екосистемний принцип, пройшла практичну апробацію на різних водних об'єктах України та за її межами, постійно удосконалювалась і, врешті послугувала основою для створення «Екологічної класифікації якості поверхневих вод суші та естуаріїв за трофосапробіологічними (еколого-санітарними) критеріями». На сьогодні ця класифікація є складовою частиною «Методики екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями», що має статус міжвідомчого керівного нормативного документу в Україні [4].

До складу класифікації входять такі групи показників: гідрфізичні, гідрохімічні, гідробіологічні, бактеріологічні, біоіндикація сапробності.

До бактеріологічних показників входять чисельність бактеріопланктону та сапрофітних бактерій.

В даній класифікації конкретні гідрофізичні, гідрохімічні, гідробіологічні та бактеріологічні кількісні показники мають значення елементарних ознак якості вод. Інтегрування останніх дає уяву про комплексні кількісні ознаки, або узагальнюючі ознаки якості вод. В класифікації за цими ознаками визначені 5 класів і 7 категорій якості вод, що відображають природний стан, а також ступінь антропогенного забруднення водойм України (див. розділ III).

Серед гідробіологічних показників якості поверхневих вод важливе значення має індекс самоочищення-самозабруднення (A/R), що характеризує співвідношення двох ключових процесів у водоймах – первинного продукування і деструкції органічної речовини у воді. Бактеріопланктону належить провідна роль у процесах деструкції. Отже, величина індексу значною мірою залежить від функціональної активності бактеріального населення товщі води.

Екологічна оцінка якості води у водному об'єкті, проведена за бактеріологічними показниками, матиме лише орієнтовний характер. Грунтова оцінка проводиться, як уже зазначалось, на основі узагальнюючого аналізу усіх груп показників, що входять до складу екологічної класифікації якості поверхневих вод.

Література

1. Амбразене Ж. П. Классифицирование речных вод по степени загрязненности на основе микробиологических показателей // Водные ресурсы. – 1974. – №5. – С. 102–110.
2. Жукинський В. Н., Окснюк О. П., Цеб Я. Я., Георгієвський В. Б. Проект унифікованої системи для характеристики континентальних водоемів і водотоків і її застосування для аналізу якості вод // Гідробіол. журн. – 1976. – 12, № 6. – С. 103–111.
3. Кузнецов С. И. Роль микроорганизмов в круговороте веществ в озерах. – М., 1952. – 300 с.
4. Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями / В. Д. Романенко, В. М. Жукинський, О. П. Окснюк та ін. – К.: Символ-Т, 1988. – 28 с.
5. Разумов А. С. Прямой метод учета бактерий в воде. Сравнение его с методом Коха // Микробиология. – 1932. – 1, вып. 2. – С. 131–146.
6. Романенко В. И. Микробиологические процессы продукции и деструкции органического вещества во внутренних водоемах. – Л.: Наука, 1985. – 205 с.

Підрозділ 3. Донні відклади

18. Вивчення донних відкладів

Донними відкладами називають тимчасово нерухомі наноси, які формують рельєф дна водних об'єктів. Донні відклади можуть бути як мінерального, так і органічного походження. Мінеральні ґрунти складаються з продуктів вивітрювання і репрезентовані твердими частинками (гравій, галька, пісок, глина та ін.) різної крупності. Органічні ґрунти утворюються внаслідок руйнування рослинних і тваринних організмів.

Вивчення донних відкладів у водних об'єктах проводять в основному за спеціальною програмою, яка передбачає місце, строки і кількість взяття проб.

Прилади для відбору проб донних відкладів залежно від наявності або відсутності структури ґрунту можна поділити на дві групи [1]. В екологічних дослідженнях з першої групи приладів найчастіше використовуються дночерпак, драга і відбірник проб донних відкладів.

Дночерпак (рис. 18.1) складається з двох металевих стулок (1), які обертаються на одній осі. Прилад на тросі з відкритими стулками за допомогою гачка (2) опускають на дно. При піднятті дночерпака тонкий трос натягується, стулки закриваються і захоплюють ґрунт. На поверхні стулок прикріплено важок (3), що допомагає їх закриванню при підйомі приладу. Маса приладу – 13,2 кг.

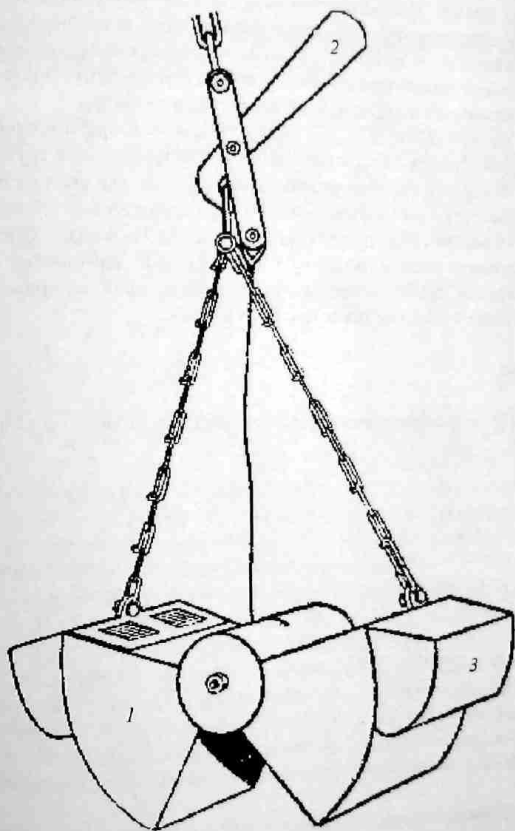
Драга складається з металеві рами у вигляді двох похило розташованих пластин із загостреними краями і мішка для забору ґрунту. Драгу на тросі з човна, який пливе, опускають на дно водного об'єкта і тягнуть по дну,

При цьому загострений край пластини зшкрібає дно, а ґрунт через щілину рами потрапляє в мішок.

Відбірник проб донних відкладів (ГР-86) призначений для відбору проб ґрунту з поверхневого (товщиною 50 мм) шару дна. Об'єм проби ґрунту при заповненій забірній ємності становить 300 см³, маса відбірника – 43,5 кг. Прилад підвішується на тросі і опускається лебідкою.

До другої групи належать наступні прилади, які використовуються у гідроекології.

Донний щуп ДГІ складається з двох відкритих знизу металевих циліндрів, які входять один у другий. Внутрішній циліндр діаметром 4 см і заввишки 10 см призначений для взяття проб ґрунту. Зовнішній циліндр запобігає вимиванню



18.1. Дночерпак.

грунту з малого циліндра при піднятті щупа. Для взяття проб ґрунту щуп прикріплюють до штанги. При вдавлюванні щупа в дно внутрішній циліндр входить у ґрунт і забирає пробу, а зовнішній циліндр у цей час вільно піднімається вгору. При піднятті щупа на поверхню води зовнішній циліндр під тиском пружини опускається і займає попереднє положення. Проба ґрунту із внутрішнього циліндра видавлюється поршнем, який міститься в циліндрі.

Ґрунтова трубка ДОІН (ТГ-1, ТГ-1,5) дозволяє відбирати колонки ґрунту висотою 1–1,5 м. Трубка опускається на тросі і занурюється в ґрунт під дією власної ваги. В середині трубки розташована укладка, яка складається з двох половинок і притримується наконечником, накрученим на нижній кінець трубки. Наконечник має гострий край для врізання в ґрунт. На верхній кінець трубки нагвинчується важок із стабілізатором. Для запобігання вимиванню і випаданню колонки ґрунту трубка оснащується клапаном, який відкривається при опусканні приладу та закривається при його підйомі.

Література

1. *Наставление гидрометеорологическим станциям и постам.* – Л.: Гидрометеоиздат, 1978. – Вып. 7, ч. 1. – 476 с.

19. Визначення вмісту деяких важких металів ($\text{Cr}_{\text{заг}}$, Mn , $\text{Fe}_{\text{заг}}$, Cd і Pb) у донних відкладах

Визначення важких металів у донних відкладах базується на використанні тих же методик, що й при аналізі проб води. Відмінність полягає лише у пробопідготовці донних відкладів до аналізу. На відміну від природних вод, хімічний склад донних відкладів стабільніший у часі і просторі, особливо щодо вмісту в них основних компонентів. І тому для їх визначення немає потреби часто відбирати проби в багатьох місцях.

Для визначення антропогенних забруднюючих речовин проби донних відкладів відбирають у місцях найбільш інтенсивного забруднення.

Пробопідготовка донних відкладів до аналізу [1]. Відібрані для аналізу донні відклади висушують на повітрі протягом кількох діб. Повітряно-сухі донні відклади масою 600–750 г розміщують на чистому папері і вилучають з них корені рослин, каміння та інші включення. Великі грудки донних відкладів розтирають у порцеляновій ступці і перемішують з основною масою.

Середню пробу готують до аналізу способом квартування. Для цього ретельно перемішану пробу розміщують на чистому папері у вигляді квадрата і шпателем ділять по діагоналі на чотири рівні частини. Дві протилежні об'єднують і з них відбирають проби для аналізу, а інші дві висипають у коробку, закривають і зберігають для можливих повторних аналізів.

Щоб одержати однорідні зразки, середню пробу перед аналізом просіюють через сито з діаметром дірочок 0,25 мм. Частинки, які залишилися на ситі, розтирають у ступці і знову просіюють. Просіювати через сито треба з закритою кришкою і відкривати її не раніше ніж через 2–3 хв після закінчення просіювання для того, щоб надати можливість осісти пилу і не втратити найбільш активну частину донних відкладів – мулисту фракцію. Така підготовка середньої проби необхідна для проведення валового аналізу. При підготовці донних відкладів для одержання витяжки досить просіяти пробу через сито з діаметром дірочок 1 мм.

Для відбору *лабораторної проби* просіяну середню пробу розміщують на аркуші чистого паперу, перемішують і розстеляють шаром завтовшки приблизно 0,5 см. Потім ділять шпателем на малі квадрати і відбирають ложкою або шпателем з кожного квадрата або через один невелику порцію зразка і ретельно перемішують. Для аналізу треба відібрати 5–6 г дрібно розтертої і добре перемішаної проби донних відкладів.

При визначенні загального вмісту важких металів її розкладають дією суміші концентрованих азотної, соляної та сірчаної кислот і пероксиду водню при нагріванні. Для розкладання 1 г проби потрібно 1,2 см³ H₂SO₄, 2 см³ HNO₃, 2 см³ HCl та 1,5 см³ 30%-ного розчину H₂O₂. Надлишок кислот випарюють до виділення густих парів SO₃, залишок розчиняють у бідистиляті, переносять у мірну колбу на 100 або 200 см³ і доводять об'єм до позначки. З цього розчину відбирають аліквоти для визначення важких металів за вищеписаними методами. Для розкладання донних відкладів використовують також суміш концентрованих кислот HF, HCl, HNO₃.

Використання високочутливих методів аналізу (хемілюмінесцентних, інверсійної вольтамперометрії та ін.) для визначення концентрації металів у донних відкладах, яка значно вища, ніж у воді, є недоцільним з таких причин. По-перше, для аналізу проб зазначеними методами необхідне багаторазове розбавлення розчинів, одержаних після розкладу донних відкладів. По-друге, дуже важко усунути заважаючий вплив матриці і деяких іонів металів, наприклад феруму (III) та алюмінію (III), концентрація яких набагато вища, ніж інших важких металів, які необхідно визначати. Нейтралізація кислих розчинів супроводжується гідролізом і утворенням малорозчинних осадів феруму та алюмінію. При цьому дуже важко уникнути співосадження під час формування таких осадів, внаслідок якого частина досліджуваних важких металів може захоплюватись частинками гідроксидів Fe(III) і Al(III), що осаджуються.

Тому для визначення валового вмісту важких металів у донних відкладах доцільнішим і надійнішим є використання методу атомно-абсорбційної спектроскопії.

Атомно-абсорбційний метод аналізу передбачає атомізацію елементів, що визначаються, за різними способами:

- а) розпиленням розчину у полум'я крізь спеціальну форсунку за допомогою стиснутого повітря або іншого газу, який використовується як окиснювач;
- б) використанням спеціальних кювет (типу кювет Львова), у яких атомізація відбувається в середовищі інертного газу під дією електричного струму;
- в) використанням атомізаторів, у яких атомізація відбувається в спеціальних лоточках, наприклад виготовлених з танталу, у полум'ї або у полум'ї за допомогою електронагрівання (атомізатори типу «піч – полум'я»).

Слід зауважити, що в процесі аналізу донних відкладів на вміст важких металів відпадає потреба в їх екстракційному концентруванні, як це передбачено аналізом проб води.

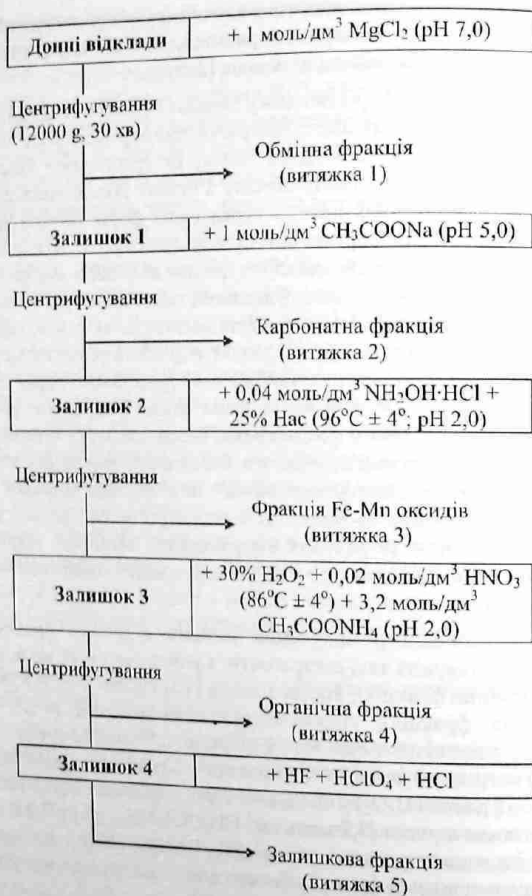
З екологічної точки зору більш важливими є дані щодо вмісту різних форм металів у твердих субстратах донних відкладів та в порових розчинах. Це зу-

мовлено тим, що здатність важких металів до обміну між донними відкладами і контактуючою з ними водою значною мірою залежить від їх форм знаходження в зазначених компонентах донних відкладів [2, 3].

Для визначення різних форм металів у твердих субстратах донних відкладів використовують метод поетапного екстрагування окремих форм з допомогою різних хімічних екстрагентів. Завдяки такому екстрагуванню забезпечується вилучення в певній послідовності металів з різних геохімічних фракцій. Це дозволяє встановити розподіл металів серед таких форм: обмінної, карбонатної, оксидної і гідроксидної, органічної та залишкової [2, 3]. Зазначений підхід до вивчення форм знаходження металів у донних відкладах імітує ті природні умови, за яких метали можуть стати рухливими та доступними. Безумовно, точного відтворення природних умов і процесів досягти не вдається, а одержані результати не можуть адекватно характеризувати дійсний розподіл металів серед різних фракцій донних відкладів. Найбільшою рухливістю характеризуються метали, що входять до складу перших трьох форм. Порушення рівноваги на межі розподілу твердої і рідкої фаз, зокрема, внаслідок зростання мінералізації води, зниження рН і окисно-відновного потенціалу, зростання концентрації органічних речовин-комплексоутворювачів – це ті важливі чинники, що сприяють збільшенню міграційної здатності металів у системі «донні відклади – вода» (головним чином за рахунок вищезгаданих обмінної, карбонатної та оксидної форм) та їх надходженню у водне середовище, зумовлюючи його вторинне забруднення.

Для п'ятиступінчастого вилучення металів з різних фракцій донних відкладів використовують такі екстрагенти: хлорид магнію ($1 \text{ моль/дм}^3 \text{ MgCl}_2$) при рН 7,0 (обмінна фракція); ацетат натрію ($1 \text{ моль/дм}^3 \text{ CH}_3\text{COONa}$) при рН 5,0 (карбонатна фракція); гідроксиламін солянокислий ($4 \cdot 10^{-2} \text{ моль/дм}^3 \text{ NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$) у поєднанні з оцтовою кислотою (25%-ний розчин CH_3COOH) при рН 2,0 та нагріванні до $96 \pm 4^\circ\text{C}$ (оксидна і гідроксидна фракція); пероксид водню (30%-ний розчин H_2O_2) у поєднанні з азотною кислотою ($2 \cdot 10^{-2} \text{ моль/дм}^3 \text{ HNO}_3$) та ацетатом амонію ($3,2 \text{ моль/дм}^3 \text{ CH}_3\text{COONH}_4$) при рН 2,0 (органічна фракція); суміш концентрованих кислот (HF , HClO_4 і HCl) для вилучення металів із складу залишкової фракції. Послідовність вилучення металів з різних фракцій донних відкладів наведено на рис. 19.1.

Однак інтенсивність обміну залежить значною мірою від форм знаходження металів у порових розчинах донних відкладів, головним чином від співвідношення вільних іонів металів і комплексних сполук з природними органічними лігандами різної молекулярної маси. Для визначення концентрації саме цих форм у порових розчинах найбільш придатними є хемілюмінесцентні методи



19.1. Схема послідовної п'ятиступінчастої екстракції важких металів із донних відкладів.

(Cr³⁺, Mn²⁺, Fe³⁺) та метод анодної інверсійної вольтамперометрії (Zn²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Cu²⁺), суть яких і можливості детально описані при викладенні відповідних методик.

Порові розчини одержують із свіжовідібраних донних відкладів центрифугуванням при 5–8 тис. об/хв протягом 30–40 хв або відокремленням від твердої фази віджиманням з допомогою спеціальних пристроїв і зразу ж аналізують на вміст різних форм металів зазначеними методами. Валову концентрацію металів у поровому розчині знаходять після фотохімічної деструкції розчинених органічних речовин у кислому середовищі (рН ~ 1) при додаванні 2–3 краплин 30%-ного розчину H₂O₂ протягом 3,5–4 год УФ-опромінення.

Література

1. *Набиванець Б. Й., Сухан В. В., Калабіна Л. В.* Аналітична хімія природного середовища. – К.: Либідь, 1996. – 304 с.
2. *Нахишина Е. П., Белокопць В. Н.* Формы нахождения тяжелых металлов в донных отложениях водохранилищ Днепра. I. Марганец // Гидробиол. журн. – 1990. – 26, № 1. – С. 76–81.
3. *Tessier A., Campbell P. G. C., Bisson M.* Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals // Anal. Chem. – 1979. – 51. – P. 844–851.

20. Визначення вмісту нафтопродуктів і пестицидів у донних відкладах

20.1. Визначення вмісту нафтопродуктів у донних відкладах

Відбір і зберігання проб донних відкладів

Мулисті донні відклади відбирають дночерпаком Петерсена, а піщані та піщанисті донні відклади – секційним або штанговим дночерпаком. Відібрані донні відклади висушують при кімнатній температурі.

Хід визначення

Наважку донних відкладів 50 г роздрібнюють у фарфоровій ступці. Екстракцію нафтопродуктів та очистку елюату від домішок полярних сполук проводять одночасно у хроматографічній колонці. Для цього у підготовлену скляну колонку закладають ватний тампон, насипають 3–5 г оксиду алюмінію, змочують його тетрахлоридом вуглецю, висипають наважку донних відкладів та заливають тетрахлоридом вуглецю. Процес екстракції нафтопродуктів з донних відкладів проводять при кімнатній температурі із швидкістю протікання елюату 0,1–0,2 см³/хв. Для повної екстракції нафтопродуктів достатньо пропустити 40–50 см³ тетрахлориду вуглецю. Об'єм елюату ретельно заміряють та вимірюють інтенсивність поглинання на інфрачервоному спектрофотометрі при довжині хвилі 2926 см⁻¹, користуючись кюветою з товщиною шару 50 мм [4].

Розрахунок

Вміст нафтопродуктів у донних відкладах (C), мг/кг сухої маси, знаходять за формулою:

$$C = \frac{K \cdot D \cdot V}{L \cdot M},$$

де M – маса донних відкладів, в кг; D – оптична густина; V – об'єм тетрахлориду вуглецю після екстракції, см³; L – товщина шару в кюветі; K – коефіцієнт, який дорівнює 0,437 або 0,542 (див. Визначення вмісту нафтопродуктів у воді).

Реактиви

1. Оксид алюмінію, ч. д. а.; х. ч.
2. Тетрахлорид вуглецю, ч. д. а.

20.2. Визначення вмісту пестицидів у донних відкладах

Хід визначення

Висушені при кімнатній температурі донні відклади (10 г) розтирають у фарфоровій ступці, переносять у конічну колбу на 250 см³, додають 20 см³ дистильованої води. Колбу залишають закритою на добу. Потім доливають 50 см³ суміші гексану і ацетону (відповідно, 40 см³ гексану і 10 см³ ацетону). Суміш у колбі енергійно перемішують протягом години на апараті для струшування. Після цього суміш із колби переносять у центрифужні пробірки, центрифугують 15 хв (2000 об/хв). Надосадову рідину зливають у ділильну воронку на 500 см³.

До осаду донних відкладів у центрифужних пробірках доливають 10 см³ дистильованої води і 10 см³ ацетону і переносять у першу колбу для струшування. Потім доливають 40 см³ гексану і струшують 30 хв. та центрифугують 15 хв. (2000 об/хв.). Надосадову рідину зливають у ділильну лійку до першої порції екстракту. До вмісту в ділильній лійці додають 80 см³ дистильованої води і струшують 10 хв. Водно-ацетоновий шар зливають у склянку, а гексановий – у колбу для збору екстракту, фільтруючи його через паперовий фільтр з безводним (20–30 г) сульфатом натрію, попередньо змоченим гексаном (20–30 г безводного сульфату натрію поміщають у хімічну лійку з підкладкою із знежиреної вати, сульфат натрію промивають 5–7 см³ гексану і віджимають скляною пробкою).

Водно-ацетоновий шар екстрагують ще 10 і 5 см³ гексану по 2 хв. Об'єднані гексанові екстракти концентрують, випарюючи гексан на водяній бані при температурі 72–75°C. Кінцевий об'єм концентрованого екстракту 3–5 см³ переносять в ділильну лійку на 50 см³, додають 3–5 см³ концентрованої сірчаної кислоти і суміш обережно перемішують рухами вверх – вниз, залишають для розти і поділу шарів і нижній шар відпрацьованої сірчаної кислоти зливають. Очистку повторюють до отримання безколірного шару сірчаної кислоти. До гексанового екстракту у ділильній лійці додають 2–4 см³ 2%-ного розчину NaHCO₃, обережно перемішують, нижній шар зливають, а гексановий шар промивають дистильованою водою.

Екстракт сушать шляхом фільтрування через лійку з безводним сульфатом натрію (3–5 г безводного сульфату натрію), який попередньо змочують гексаном. Після фільтрування сульфат натрію промивають 2–3 см³ гексану і віджи-

мають скляною пробкою. Потім екстракт випарюють на водяній бані при температурі 40–50°C до 3–5 см³. Перед хроматографуванням заміряють його об'єм. Аліквотну (гексанову) частину цього екстракту вводять у хроматограф [1, 2, 3].

Стандартні розчини пестицидів у гексані, що містять 0,02; 0,1 і 0,2 мкг/см³ готують із стандартного розчину пестициду в гексані, що містить 100 мкг/см³ пестициду.

Розрахунок вмісту пестицидів

Кількісне визначення пестицидів проводять методом співвідношення зі стандартом за висотою піків. Вміст пестицидів (C , мкг/кг) розраховують за формулою:

$$C = \frac{AV_1}{V_2P},$$

де A – кількість пестициду у стандартному розчині, мкг; V_1 – об'єм розчину, з якого відбирають аліквоту для хроматографування, см³; V_2 – об'єм аліквоти, який вводиться в хроматограф, мм³; P – наважка донних відкладів, г.

Реактиви

1. Гексан, ч. д. а.; х. ч.
2. Ацетон, ч. д. а.; х. ч.
3. Сульфат натрію безводний, ч. д. а.
4. Концентрована сірчана кислота, ч. д. а.
5. 2%-ний розчин NaHCO_3 .
6. Стандартний розчин пестициду (100 мкг/см³) у гексані.

Література

1. Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. – Киев: УкрГосхимкомиссия, 1995. – Сб. № 18–22. – С. 33–38.
2. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. Справочник / сост. М.А. Клисенко, А.А. Калинина, К.Ф. Новикова и др. – М.: Колос, Госхимкомиссия, 1995. – Т. 1. – 335 с. – Т. 2. – 385 с.
3. РД 52.24.71–88. Госкомгидрометеорологии СССР. Методические указания по определению хлорорганических пестицидов и их метаболитов в донных отложениях.
4. РД 52.24.80–89. Госкомгидрометеорологии СССР. Методические указания по определению нефтепродуктов в донных отложениях.

21. Визначення вмісту специфічних речовин радіаційної дії в гідробіонтах різного трофічного рівня

Відбір проби гідробіонтів здійснюють за гідробіологічними методиками [2, 3]. Вищі водяні рослини викопують разом з корінням, а незакріплені відбирають спеціальними граблями. Молюсків, що прикріплюються до рослин (живородка, ставковик) збирають вручну, а тих, що прикріплюються до твердих субстратів (дрейсена) – за допомогою скребків. Молюсків дна (беззубка, перлівниця, дрейсена) збирають пробовідбірниками, призначеними для відбору донних відкладів. Проби фітопланктону та зоопланктону збирають за допомогою планктонних сіток. Рибу виловлюють сітками, волокушами та іншими знаряддями лову.

Проби рослинного походження висушують на повітрі до постійної маси, а далі озонують в муфельній печі спершу при температурі 200°C, а потім – при 450°C. Проби тваринного походження висушують фільтрувальним папером і зважують. Проби спалюють в муфельній печі поступово підвищуючи температуру до 450°C і витримують до повного озонення (досягнення однорідного забарвлення).

Вміст гамма-радіонуклідів в озонених пробах гідробіонтів, як і у донних відкладах, проводять з допомогою гамма-спектрометрів. Якщо проба малоактивна, то цезій-137 визначають радіохімічним методом, як і у зависях. Стронцій-90 оцінюють так само радіохімічним методом за дочірнім ітрієм-90 [1, 4].

Розрахунки проводять за формулами (див. розділ II, підрозд I, 15) з урахуванням виходу стабільних носіїв.

Екологічні нормативи вмісту радіонуклідів у гідробіонтах не розроблено. Існують лише допустимі рівні вмісту цезію-137 (150 Бк/кг) і стронцію-90 (35 Бк/кг) у рибі, затверджені Міністерством охорони здоров'я України в 1997 р. [5].

Література

1. Гольфман А. Я., Калмыков Л. З. Определение радиоактивного цезия ферроцианидным способом // Радиохимия, 1963, Т. 4, № 10. – С.107 – 109.
2. Жадин В. И. Методы гидробиологического исследования. – М.: Высшая школа, 1960. – 191 с.

3. *Зеров К. К.* Формирование растительности и зарастание водохранилищ днепровского каскада. – К.:Наук.думка, 1976. – 140 с.
4. *Лаврухина А. К., Мальничева Т. В., Павлоцкая Ф. И.* Радиохимический анализ. М.:Изд-во АН СССР. – 1963. – 220 с.
5. *Міністерство охорони здоров'я України, Національна комісія з радіаційного захисту населення України.* Допустимі рівні вмісту радіонуклідів ^{137}Cs і ^{90}Sr у продуктах харчування та питній воді (ДР-97). – К., 1997. – 6 с.

22. Визначення вмісту специфічних речовин радіаційної дії у донних відкладах

Донні відклади є важливим компонентом водної екосистеми, а інколи, зокрема при радіоактивному забрудненні, вони визначають її екологічний стан. Вміст радіонуклідів у донних відкладах значно вищий, ніж у інших компонентах водних екосистем і залежить від типу ґрунтів, що утворюють дно. Найбільшими сорбційними можливостями і поглинальною здатністю володіють дрібнодисперсні глинисті, або мулисті частинки-завісії. Вони осідають на ділянках з великими глибинами і уповільненим рухом води і уворюють місця з більшим забрудненням, ніж на руслових ділянках річок, дно яких сформоване з чистих, добре промитих пісків, гальки та скелястих порід.

Важливим етапом у вивченні радіоактивного забруднення дна водойми є встановлення місць відбору проб. Для цього слід ознайомитися з матеріалами, що висвітлюють гідрологічний режим водойми та її геоморфологічні дані. Найкращу інформацію з цього питання надають карти розподілу типу ґрунтів, що складають дно, оскільки максимальна концентрація більшості радіонуклідів приурочена до місць інтенсивного накопичення мулисто-глинистих наносів. Якщо такі карти відсутні, то наявність зон інтенсивної акумуляції завислих наносів можна припустити на глибоководних ділянках, якщо це водойма, або у затоках та малопроточних рукавах річок.

Відбір проб донних відкладів проводять по створах. На проточних водоймах створи розташовують перпендикулярно до результуючого переносу води, на непроточних - перпендикулярно до подовжньої осі водойми. Якщо водойма має складну конфігурацію, то створи повинні проходити як через найширші її ділянки, так і через найвужчі. Особливу увагу треба звернути на ділянки із застійними гідродинамічними умовами (затони, затоки) та з максимальними глибинами, оскільки саме в цих місцях найінтенсивніше накопичуються наноси та забруднюючі речовини. В місцях різкого зменшення швидкості течії також відбувається інтенсивне накопичення зависей, а значить і радіонуклідів.

Якщо результати контролю за вмістом радіонуклідів у донних відкладах водойм свідчать про відсутність їх підвищеної концентрації, то проби відбирають один раз на рік у кінці літа. Якщо ж є дані про інтенсивне надходження радіонуклідів, то проводять позачерговий відбір проб. Проби відбирають кожного разу на одній і тій же ділянці водойми, точне розташування якої познача-

ють установленням буя, забиттям шпунта або визначенням азимута і відстані від реперної точки на березі.

За результатами площинної зйомки радіоактивного забруднення донних відкладів будують карту-схему розподілу концентрацій того чи іншого радіонукліду по площі дна водойми в ізолініях КБк/км² або Бк/кг. Для побудови таких карт проби донних відкладів мають бути відібрані на всій глибині поширення радіоактивного забруднення у товщі донного ґрунту.

Методи відбору проб наведені у методичних рекомендаціях і настановах [3, 4]. Вибір пристроїв для відбору проб донних відкладів залежить від типу ґрунтів. Так, якщо дно складається з гравію, використовують системи у вигляді ковшів, якщо з піску або щільних ґрунтів – можна застосувати як захоплюючі, так і трубкові системи, але вони повинні бути досить важкими. Якщо дно складається з нещільних ґрунтів, то краще використовувати трубкові системи, але не за принципом вільного падіння. Такі системи повинні мати додатковий вантаж, повільно опускається на дно і заглиблюється під дією власної ваги.

Частота відбирання проб відкладів впливає на інтерпретацію результатів лише тоді, коли сподіваються на велику інтенсивне надходження радіонуклідів у водну екосистему. Вона визначається метою конкретного проекту, але має бути не меншою ніж два рази на рік.

Один раз на 2–3 роки проводять відбір донних відкладів на ділянках інтенсивного мулонакопичення для оцінки вмісту радіонуклідів у верхньому шарі та визначення темпів їх накопичення по глибині донних відкладів.

Вибір засобів для відбору проб донних відкладів на радіонуклідний аналіз зумовлений, з одного боку, характером і властивостями ґрунтів, характером і специфікою радіоактивного забруднення донних відкладів, гідрологічними умовами на ділянці, що вивчається, а з іншого – технічними характеристиками пробовідбірного обладнання та допоміжних пристроїв.

Специфіка радіоактивного забруднення донних відкладів водойм полягає в тому, що часто значна кількість радіонуклідів міститься у верхньому шарі. Крім того, вони сорбуються переважно дрібними фракціями дна, які можуть бути частково втрачені, якщо пробовідбірник недостатньо герметичний. Конструкція пробовідбірника має забезпечувати непорушність колонки донних відкладів при відборі і вилученні проби із нього, як наприклад у пробовідбірниках колонкового типу. Для цього:

- 1) діаметр ріжучої кромки пробовідбірного циліндра і його внутрішній діаметр мають бути однаковими. Це запобігає розмиванню верхньої рідкої частини донних відкладів, в якій, як показує досвід, зосереджена основна кількість радіонуклідів;

2) пробовідбірний циліндр має бути виготовлений з прозорого матеріалу (полікарбонат, органічне скло та ін.);

3) при спуску пробовідбірника на дно не повинна утворюватися хвиля тиску, яка може перемістити верхній рідкий шар відкладів при наближенні пробовідбірника до поверхні дна;

4) при занурюванні пробовідбірного циліндра у товщу відкладів не повинно відбуватись зминання (стиснення) шарів. Для цього діаметр циліндра має бути не дуже великим, а його стінки – більш тонкими;

5) конструкція пробовідбірника має забезпечувати герметичне закриття циліндра (для запобігання втратам проби, особливо вимиванню мулистій, найбільш забрудненої фракції);

6) всі пробовідбірники повинні бути укомплектовані спеціальними пристроями для виштовхування колонки при вертикальному положенні пробовідбірного циліндра та інструментом для поділу проби на шари.

Для відбору проб донних відкладів рекомендується використовувати комплект пробовідбірних засобів, який складається з кількох пробовідбірників і пристосувань для розподілу колонок донних відкладів на горизонтальні шари.

Серед доступних в Україні пробовідбірників можна назвати комплект засобів, що виготовляє науково-впроваджувальна фірма «Екотехніка» (м. Ювілейне, Московської обл., Росія). У комплект входять: пробовідбірник ДТ-3 (штанговий варіант); пробовідбірник ДТ-3 (тросовий варіант з додатковим вантажем); пробовідбірник ДА-3 (автоматичний). Це пробовідбірники колонкового типу, до яких додається екструдер механічний ЕМ-300р, призначений для розподілу колонок ґрунту на горизонтальні шари будь-якої товщини. Крім цих пробовідбірників, можна рекомендувати як складніші (пневмотичний системи Mackereth Mini Corer, виробництва Англії), так і більш прості типу СДЧ-100, -250.

Користуватися пробовідбірником СДЧ можна з човна, катера або теплохода. Попередньо, в точці відбору, з допомогою лота визначають глибину і підготований для захвату відбірник плавно опускають на трасі або фалі на глибину менше 1 м від дна. Далі прилад рухається у вільному падінні, вривається в ґрунт і пуском грузка закривається. Обмеження висоти вільного падіння обумовлено тим, що в рідкому мулі відбірник може зануритись на глибину, яка перевищує його висоту і верхній шар донних відкладів може бути втраченим. Крім того, пробовідбірник може входити в мул під кутом, що ускладнює розподіл проби на шари. Підйом приладу проводиться повільно, особливо при переході через дзеркало води, для зниження інтенсивності витікання придонної води та розмиву проби. Прилад ставиться на дно

пластмасового тазу і пластинками проводиться розділення проби по шарах, потім розкриваються і фіксуються щелепи відбірника, а проба нижнього шару випадає під власною вагою, а якщо не випадає, то вона вибирається шпателем. Наступний шар проби збирається в новому посуді при видаленні наступної пластинки [1].

Для пакування проб донних відкладів використовують звичайні поліетиленові пакети, придатні для зберігання харчових продуктів. При цьому слід вжити заходів для запобігання зовнішньому забрудненню і втратам вмісту. Кожну пробу упаковують послідовно в два або навіть у три пакети. Етикетку для ідентифікації проби наклеюють на зовнішню сторону першого пакету. Супровідний талон має містити таку інформацію: 1) опис місця відбору проби (назва регіону); 2) позиція місця відбору, що може бути легко визначена; 3) дата і час відбору проби; 4) погодні умови (вітер, хвилі, рух води); 5) температура повітря, води на глибині відбору і донних відкладів; 6) устаткування для відбору; 7) тип відібраної проби (одинична чи змішана); 8) глибина проби від поверхні; 9) геологічний і кількісний опис прошарків всередині проби; 10) колір; 11) запах; 12) наявність фауни; 13) глибина проникання під час відбору проби і висота колонки; 14) ким відібрана проба. Кожний пакет окремо зав'язують або запаюють.

Попередня обробка проб донних відкладів полягає у визначенні їх водно-фізичних властивостей, висушуванні, гомогенізації та відбиранні аліквоти. Для визначення водно-фізичних властивостей пробу природної вологості поміщають у заздалегідь зважений алюмінієвий бюкс і відомим об'ємом, сушать у сушильній шафі при 105–110°C до постійної маси. Встановлення втрат при просушуванні проби дає можливість визначити природну вологість і об'ємну масу скелета донних відкладів, що дозволяє переводити їх геометричну (об'ємну) характеристику у вагову. Об'ємну масу скелета визначають за масою сухої речовини у заданому об'ємі проби з непорушеною природною структурою, а також за формулою:

$$\delta = \frac{\gamma}{1 + 0,01W\gamma}$$

де δ – об'ємна маса скелета, г/см³; γ – середня густина, г/см³; W – природна вологість, % [5].

Висушуванню та зважуванню підлягають усі проби донних відкладів або їх аліквоти, відібрані для радіонуклідного аналізу. Їх сушать у термостаті при 105–110°C. Перед цим пробу звільняють від каменистих включень, залишків рослинного і тваринного походження. Потім пробу просіюють через сито з отворами діаметром 6–10 мм. Після висушування пробу гомогенізують з допомо-

гою дробарки, мішалки, міксеру або ступки, а далі ретельно перемішують протягом 15–30 хв. і відбирають для аналізу необхідну кількість.

Вміст гамма-випромінюючих радіонуклідів проводять за допомогою напівпровідникових гамма-спектрометрів. Для цього пробу упаковують в одну із стандартних посудин (геометрій), для якої визначена ефективність реєстрації, і записують спектр. За допомогою калібрування шкали з енергії визначають енергію гама-випромінювання, що відповідає кожному піку. Далі знаходять межі потрібних піків повного поглинання, підраховують їх площу з урахуванням фону та п'єдесталу і розраховують вміст радіонукліду з допомогою комп'ютерної програми, або самостійно за формулою:

$$A_j = \frac{S_{ij} e^{\frac{0,693}{T_{1/2}} \Delta t} \cdot D_p}{\eta_E k_{ij}}$$

де A_j – активність j -го радіонукліду на момент закінчення відбору проби, Бк; S_{ij} – площа піка повного поглинання з енергією E_i j -го радіонукліду, імпл/с; k_{ij} – квантовий вихід гамма-лінії з енергією E_i j -го радіонукліду, кількість гамма-квантів на один акт розпаду ядра; $T_{1/2}$ – період напіврозпаду j -го радіонукліду, доба; Δt – час з моменту закінчення відбору проби до її вимірювання, доба; D_p – коефіцієнт, що враховує зменшення площі піку повного поглинання за рахунок складання енергії декількох гамма-квантів при їх одночасному потраплянні в об'єм детектора.

Якщо в апаратурному спектрі радіонукліду є кілька піків повного поглинання, то активність розраховують по кожному піку з наступним визначенням середньої.

Вміст стронцію-90 в пробах донних відкладів оцінюють з допомогою бета-спектрометра або радіохімічно. Радіохімічний метод визначення вмісту стронцію-90 полягає в переведенні стронцію-90 та ітрію-90 із стабільними носіями в розчинений стан кислотною обробкою (кип'ятінням протягом години в соляній кислоті 1:1) з дальшим їх відокремленням від інших радіонуклідів і осадженням у вигляді оксалатів. Остаточне вимірювання вмісту стронцію-90 проводиться за його дочірнім продуктом ітрієм-90 у вигляді оксиду на установці малого фону, як описано для зависей. При розрахунку активності враховують хімічний вихід носіїв стронцію та ітрію.

При аналізі проб донних відкладів, відібраних після свіжих викидів (до 4 міс.), потрібне радіохімічне розділення стронцію і барію. Для цього у розчин, отриманий після розчинення карбонатів або оксалатів, вносять стабільний носій барію (30 мг у розрахунок на метал). Розчин нейтралізують аміаком до рН

4,0–5,0 і додають 50 см³ буферної суміші (10 мл 6 моль/л оцтової кислоти і 40 мл 3 моль/л ацетату амонію). До розчину додають 2 мл 3 моль/л хромовокислого натрію і нагрівають протягом 20–30 хв до коагуляції осаду (потираючи скляною паличкою стінки склянки). До розчину з осадом хромату барію знову додають 1 мл хлористого барію і нагрівають протягом 20–30 хв. Пробу охолоджують, осад відфільтровують, промивають 3 рази дистильованою водою, яку відкидають. Розчин підкислюють і осаджують стронцій з ітрієм у вигляді оксалатів, як описано вище, з подальшим їх розділенням і вимірюванням стронцію-90 за дочірнім ітрієм-90 [2].

Література

1. Кузьменко М. И., Новиков Б. И., Насвит О. И., Тимченко В. М. Методика отбора, предварительной обработки и подготовки донных грунтов для определения содержания радионуклидов // Гидробиол. журн. – 1989. – 25, № 4. – С. 91–93.
2. Лаврухина А. К., Мальшева Т. В., Павлоцкая Ф. И. Радиохимический анализ. М.: Изд-во АН СССР, – 1963. – 220 с.
3. Методичні рекомендації для ведення спостережень за радіоактивним забрудненням навколишнього середовища / За ред. О. В. Войцеховича і В. В. Канівця. – К.: УкрНДГМІ, 2001. – 218 с.
4. Національний стандарт України. Якість води. Відбирання проб. Частина 12. Настанови щодо відбирання проб донних відкладів (ISO 5667-12:1995, IDT). ДСТУ ISO 5667-12-2001. – К.: Держстандарт України, 2002. – 30 с.
5. Новиков Б. И. Донные отложения днепровских водохранилищ. Киев: Наук. думка, 1985. – 168 с.

Підрозділ 4. Біоіндикація та біотестування води і донних відкладів

23. Тест А-Z за Кньопом для орієнтовного визначення токсичності води

Метод визначення токсичності стічних вод, їх компонентів або окремих речовин, описаний Кньопом [2], включає досліди по вивченню біохімічного споживання кисню бактеріями та фотосинтезу фітопланктону (мікроскопічних планктонних водоростей). Гальмування вказаних процесів свідчить про наявність токсичних домішок, які можуть надходити у водойму із стічними водами. Цей метод модифікований таким чином, щоб можна було встановити концентрацію, при якій досліджувана речовина є токсичною для життєдіяльності бактерій та фітопланктону.

Апаратура і реактиви

Кисневі склянки місткістю 110–130 см³ з притертою скляною пробкою.

Піпетки на 1 і 2 см³ з поділками 0,1 см³.

Піпетка з гумовою грушею.

Апарат для фільтрування через мембранні фільтри.

Мембранні фільтри.

Термоізоляція, який може забезпечувати температуру 10–22°C та освітленість 4–5 клк.

Акваріумна вода, не забруднена токсичними сполуками, або дехлорована водопровідна вода.

Розчин поживних солей за Кньопом¹ або поживне середовище Фітцджеральда² для вирощування культур водоростей [1].

¹ KNO₃ – 0,1%; Ca(NO₃)₂ – 0,01%; K₂HPO₄ – 0,02%; MgSO₄·7H₂O – 0,01%; FeCl₃ – 0,0001%.

² NaNO₃ – 0,496 г/дм³; K₂HPO₄ – 0,039 г/дм³; MgSO₄·7H₂O – 0,075 г/дм³; CaCl₂ – 0,036 г/дм³; Na₂CO₃ – 0,02 г/дм³; залізо лимоннокисле – 0,006 г/дм³; лимонна кислота – 0,006 г/дм³; трилон Б – 0,001 г/дм³; стандартний розчин мікроелементів – 0,08 см³/дм³.

Нестерильні змішані культури різних протококових водоростей або лабораторні монокультури мікроводоростей (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus quadricauda*, *Selenastrum gracile*).

Пептон, 1%-ний розчин.

Колоїдний розчин траганту.

Необхідні реактиви для визначення кисню за методом Вінклера в модифікації Альєстерберга (для визначення кисню у присутності нітритів).

Порядок роботи

1. *Одержання культур водоростей.* Використовують чисті культури різних видів зелених протококових водоростей – *Chlorella vulgaris* В е і ј е г, *Scenedesmus quadricauda* (Т у г р.) В г е b. (= *Desmodesmus communis* (Hegew.) Hegew.), *Selenastrum gracile* R е і n s c h. Використання певних моновидових культур водоростей з відомою реакцією дає можливість одержати порівнювані результати тестування, на відміну від нестерильних змішаних культур, які можуть значно відрізнитись за складом, а отже й за реакцією.

2. *Визначення оптимальної щільності культур водоростей.* Залежність між щільністю культури водоростей та кількістю виділеного кисню не лінійна внаслідок виділення газу при пересиченні киснем. Лінійна залежність спостерігається при щільності культури в межах 0,1–1 млн кл/см³, тому саме ця концентрація клітин у дослідних склянках є оптимальною.

3. *Визначення оптимального віку культури водоростей.* Кількість кисню, який виділяють культури однакової щільності, коливається залежно від їх віку. Більш молоді культури (лаг-фаза, початок логарифмічної фази) активніші, але мають меншу концентрацію клітин, тому для одержання певної щільності у досліді необхідно брати більшу кількість інокуляту. Активність більш старих культур (кінець логарифмічної або, ще в більшій мірі, початок стаціонарної фази) швидко падає, і для одержання однакового приросту кисню необхідно вносити більшу кількість водоростей.

У дослід слід брати культуру, яка перебуває на логарифмічній стадії росту. Тому оптимальний вік культури – 8–9 діб.

Досліди по вивченню біохімічного споживання кисню

Сім – вісім кисневих склянок заповнюють насиченою киснем акваріумною водою, що не містить токсичних сполук, або відстояною водопровідною водою. Споживання кисню у воді має бути незначним. В одній з проб (контроль) кисень негайно фіксують (за Вінклером). У інших (дослідних) склянках добове

споживання кисню має становити близько 5 мг. Цього досягають шляхом додавання визначеної кількості 1%-ного розчину пептону. На практиці встановлено, його вносять уже при розведенні. Навіть незначна неточність при внесенні піпеткою розчину пептону може бути причиною істотних помилок.

Одну з дослідних склянок залишають незмінною як холосту пробу. У решту досліджуються етічні води, їх розбавляють аналізовану речовину. Якщо водою у співвідношенні 1:20–1:1000.

Всі дослідні склянки закривають пробками (при цьому слід стежити, щоб під пробкою не лишались пухирці повітря), добре струшують і залишають у темряві на 24 год при температурі 20–22°C.

Досліди по вивченню фотосинтезу

Наповнюють 13–15 (залежно від кількості досліджуваних концентрацій) кисневих склянок акваріумною або дехлорованою водопровідною водою, що не містить токсичних речовин. В одній склянці кисень негайно фіксують, після чого її зберігають у темряві (температура близько 20°C) для одночасного титрування з іншими дослідними склянками. Решту 12–14 склянок розділяють на дві серії дослідних парних проб.

У разі відсутності моновидових культур водоростей, якщо використується нестерильна змішана культура зелених протококових водоростей, через мембранний фільтр фільтрують таку її кількість, щоб фільтр після фільтрації був забарвлений в інтенсивний зелений колір. При цьому не слід допускати повного відсмоктування води, фільтр має лишатися достатньо вологим. Для утримання водоростей на фільтрі в культуру водоростей до фільтрації необхідно додати кілька мілілітрів колоїдного розчину траганду (приблизно 3 см³ на 1 фільтр діаметром 40 мм). Одержаний фільтр розрізають гострими ножицями на 8 рівних частин і 1/8 фільтра вносять у кожную дослідну склянку.

Замість методу мембранної фільтрації можна застосовувати центрифугування культури протококових водоростей протягом 3–10 хв при 1600–8000 об/хв. У дослідні склянки вносять однакову кількість зконцентрованої культури.

При використанні чистих культур водоростей рекомендується, щоб кількість клітин становила близько 3 млн/см³. Культуру водоростей у потрібній кількості вносять безпосередньо у дослідні склянки. Дослідна склянка з водоростями її склянка без водоростей складають одну пару подвійної серії.

У дослідні пари склянок додають у зростаючій концентрації досліджувану речовину, причому у кожні дві склянки однієї пари вносять однакову її

кількість. Одна пара склянок залишається як холоста проба, в них досліджувану речовину не вносять.

Якщо досліджують стічні води, їх розбавляють акваріумною або дехлорованою водопровідною водою у співвідношенні 1:20–1:1000.

Всі проби закривають пробками (з обов'язковою умовою, щоб не було пухирців повітря), перемішують і ставлять у термоміністат на 24 год при температурі 20–22°C і освітленості 4–5 клк. Слід стежити за тим, щоб протягом періоду інкубації у всіх склянках водорості, якщо їх вносили на фільтрах, були повернені до світла. Після закінчення досліду у всіх склянках визначають кисень за Вінклером.

Результати і розрахунки

Оцінка дослідів по біохімічному споживанню кисню. Кількість залишкового кисню у дослідних склянках порівняно з контрольною пробкою показує його споживання. Зміни у споживанні кисню під впливом внесених стічних вод або токсичних речовин розраховують за формулою:

$$\Delta x = 100 \frac{O_b - O_s}{O_k - O_b},$$

де Δx – зміна споживання кисню бактеріями при даній кількості стічних вод або токсичних речовин, %; O_k – вміст кисню у контрольній пробі; O_b – вміст кисню у холостій пробі після інкубації; O_s – вміст кисню у дослідній пробі з певною кількістю стічної води чи токсичних речовин.

Разом з цим визначають біохімічне споживання кисню (БСК₁) холостої проби з пептоном: $Z_b = O_k - O_b$; БСК₁ проб з пептоном і стічною водою: $Z_x = O_k - O_s$; БСК₁ стічної води чи токсичної речовини, яку додано у дослідну склянку: $Z_t = Z_b - Z_x$.

Від'ємне значення Δx вказує на токсичний вплив стічної води або окремих речовин. Позитивні значення Δx спостерігаються у тих випадках, коли досліджувані стічні води чи їх компоненти мають істотне значення БСК і одночасно є нешкідливими речовинами.

Оцінка дослідів по фотосинтезу. Продукцію фотосинтезу обчислюють за різницею між вмістом кисню кожної пари склянок з водоростями і без них. Зміни у фотосинтезі внаслідок додавання стічних вод або токсичних речовин визначають за формулою:

$$\Delta x = 100 \frac{(O_x - O_s) - (O_b - O_b)}{(O_b - O_b)},$$

де Δx – зміна продукції фотосинтезу при даній кількості доданих стічних вод чи токсичних речовин порівняно з такою холостою проби, %; O_B – вміст кисню у холостій пробі з водоростями після інкубації; O_b – вміст кисню у холостій пробі без водоростей після інкубації; O_x – вміст кисню у пробі з водоростями та певною кількістю стічної води чи токсичних речовин після інкубації; O_c – те ж саме, але без водоростей.

Від'ємні значення Δx свідчать про токсичний вплив досліджуваних речовин. Позитивні значення Δx мають місце в тих випадках, коли внесені стічні води або їх інгредієнти нешкідливі і окиснюються біохімічним методом.

Зміну продукції фотосинтезу можна встановити також за допомогою графіка, на осі абсцис якого вказані розведення стічної води або кількість доданої речовини, а на осі ординат – значення Δx .

Література

1. *Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике.* – Киев: Наук. думка, 1975. – 247 с.
2. *Унифицированные методы исследования качества вод.* Ч.3. Методы биологического анализа вод. – М.: СЭВ, 1975. – С. 86–98.

24. Біотестування токсичності води та витяжок донних відкладів за допомогою вищих рослин

Allium cepa L.

Метод біотестування на цибулі звичайній – простий і чутливий спосіб визначення інтегральної токсичності води за показником пригнічення росту корінців [3]. Завдяки можливості додаткового проведення цитогенетичних досліджень метод дозволяє визначити не тільки токсичність водного середовища, а й його мутагенні властивості.

Метод придатний для оцінки токсичності проб води поверхневих водних об'єктів різного типу (річки, озера, естуарії, водосховища, канали тощо).

Оскільки клонований тест-матеріал важкодоступний, у більшості вітчизняних лабораторій використовують генетично неоднорідний матеріал, що має широку природну варіабельність показників. Її можна компенсувати шляхом збільшення кількості паралельних дослідів. Таку цибулю можна придбати на ринку, однак з ризиком, що вона може бути оброблена гербіцидами. Цей можливий недолік може бути виявлений порівнянням із контрольними зразками. Крім того, від популяції набагато легше одержати велику кількість маленьких цибулинок приблизно однакового розміру.

Цибулини *A. cepa* добре зберігаються в сухих умовах при температурі 10–12°C. Цибулини можуть зберігатися більше року, доки не надійде новий матеріал вже наступного сезону. Однак, деякі цибулини висихають або ушкоджуються, тому кількість запасеної цибулі повинна бути приблизно в 3 або 4 рази більшою, ніж необхідно для експериментів.

Ріст корінців пригнічується під впливом токсичних речовин в водному середовищі із зміненою рН, або у випадках, коли нерозчинні речовини ускладнюють живлення рослин. Тому для оцінки ефектів впливу певної речовини або суміші речовин невідомого складу необхідно, щоб їх компоненти розчинилися, а рН змінювалося в межах від 4 до 10.

Перед тестуванням маленькі цибулини ретельно очищають від лусочок і розміщують на верхньому зрізі дослідних пробірок, заповнених досліджуваними зразками води. Тест на цибулі необхідно виконувати за умов нормальної кімнатної температури (близько 20°C) і захищеності від прямого сонячного світла. Облік росту проводять за період 48 або 72 години. Оскільки різниця між дослідними і контрольними корінцями краще виявляється пізніше цих періодів,

то рекомендується більш тривалий період. За результатами наших досліджень тестування достатньо продовжити до 96 год. [1].

Як середовище для росту контрольних зразків найзручніше використовувати звичайну водопровідну воду. Водопровідна вода повинна бути високої якості з рН біля 7 і вмістом кальцію і магнію в сумі приблизно 50–70 мг/дм³, без залишок будь-яких токсичних іонів. Шкідливого впливу заліза можна уникнути, спустивши воду протягом декількох хвилин перед тим, як наповнить нею пробірки.

Згідно вимог Всесвітньої організації охорони здоров'я (1971), «найбільш високий допустимий рівень» іонів Cu в питній воді для людини складає 0,05 мг/дм³ і це узгоджується з результатами тестування на цибулі, оскільки ріст корінців гальмується при концентраціях Cu вище 0,05 мг/л.

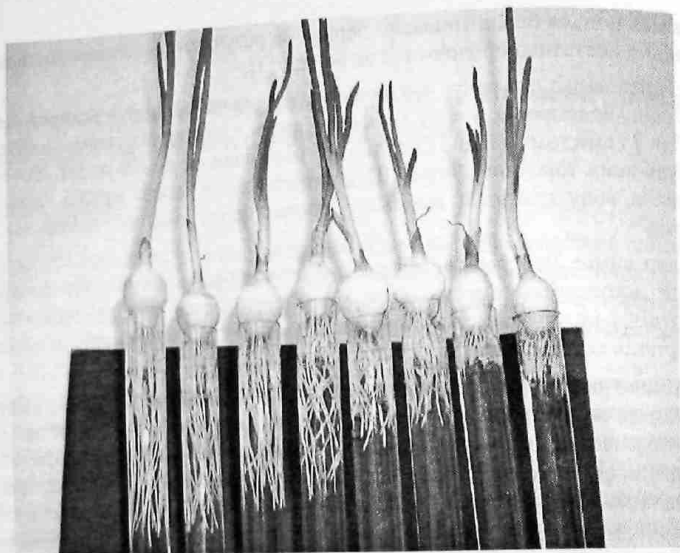
Ступінь токсичності досліджуваних зразків води оцінюють вимірюванням довжини кожного корінця із загальної кількості корінців. Для кожного досліджуваного зразка розраховують середній показник довжини корінців від 10 цибулин. Приблизно 20% цибулин, пошкоджених з різних причин, можуть погано рости. Тому починати треба з 12 цибулин в кожному ряді, з них кращих 10 цибулин відбирають вже після культивування протягом одного-двох днів як в дослідних зразках, так і в контрольних. Лише тоді коли у наявності невелика кількість зразків, то в кожній серії використовують 5–6 цибулин.

При рості кінчики корінців внаслідок різних впливів можуть приймати форму крюків, спіралей, або пухлин. Такі спостереження дають інформацію щодо специфічності впливу окремих хімічних компонентів досліджуваних зразків води. Ступінь токсичності речовини або зразків води оцінюється за інгібуванням росту корінців цибулі у порівнянні з контролем.

EK_{50} (ефективна концентрація, при якій пригнічення росту корінців складає 50% у порівнянні з контролем) може бути отримана через побудову графіку залежності росту у відсотках до контролю (ордината) проти логарифму розведення дослідних проб води (абсциса).

Результати тесту на *A. сера* можуть також демонструватися фотографічно (рис. 24.1). Дані про токсичність, отримані в цьому експерименті, мають кількісний характер: ступень токсичності, викликаной певним впливом.

Може бути проведено також тестування донних відкладів та ґрунтових зразків: цибулю вирощують в ємностях з брудними донними відкладами або забрудненим ґрунтом, щодня поливаючи. Після закінчення 10–14 днів, все коріння зрізують, обполіскують, і свіжа або суха маса коріння, вирощеного в зразках, що тестуються порівнюється з корінням, вирощеним у контролі.



24.1. Тестування токсичності на *A. cerea*.

Випробування може бути на цьому зупинено. Однак з метою вивчення можливої оборотності впливу дослідження може бути виконане продовження дослідження: через 72 години слід замінити досліджувані рідини в 5 дослідних пробірках в ряді з 10, і заповнити інші 5 пробірок водою контролю (або з поживним середою, якщо вона використовується).

Через додаткові 24 години можна побачити, чи поліпшується зростання корінців в 5 заповнених водою дослідних пробірках в порівнянні з 5-тю випробуваними зразками. Якщо так, то це означає, що ці корінці відновилися, і таким чином вплив більш або менш оборотний. Це може мати місце для всіх, декількох, або жодній з проб у ряду.

Lactuca sativa L.

Запропонований тест-об'єкт – салат посівний *Lactuca sativa* L. Даний біотест аналізує ріст корінців та оцінює ранні стадії росту і виживання рослин. На відміну від традиційних біотестів по проростанню насіння короткостроковий



24.2. Тестування токсичності на *L. sativa*.

(96–120 годин) тест по зростанню корінців оцінює тільки водорозчинні компоненти зразку (поверхнева вода, підземна вода, витяг з ґрунту або осаду). Як правило, зростання корінців інгібується при більш низьких концентраціях токсиканту, ніж проростання насіння. Тому воно є більш чутливим індикатором біологічних впливів [2].

Тестування за допомогою *L. sativa* проводять у великих чашках Петрі, попередньо засланих фільтрувальним папером (переважно в 2 шари). Приблизно 5–7 мл проби дослідної або контрольної води зволожують папір в кожній ємності. Об'єм проби води повинен бути таким, щоб папір фільтру зволожився, але без надлишку вологи (без води, яка б залишилась не усмоктаною). Відбирають насіння однакового розміру, форми і кольору для тестування, використовуючи 20–25 насінин для одної чашки Петрі (рис. 24.2). Чашки Петрі впродовж 120 годин витримують в темному, вологому термостаті при температурі $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Після інкубації фіксують кількість насінин, які проросли, та вимірюють довжину корінців в мм. Довжину кореня вимірюють від потовщення (гіпокотеля) до його кінця. Корінці мають незначні вигини і помітно відрізняються за розмірами.

Стандартне відхилення довжини корінців для кожного зразку вираховують за формулою:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n-1}}$$

Якщо стандартне відхилення довжини корінців у досліді більші ніж вдвічі перевищує контрольне, випробування необхідно повторити для підтвердження їх достовірності.

Обчислення EK_{50} і EK_{20} (ефективна концентрація, яка зменшує довжину корінця на 50 і 20 % від контролю відповідно) виконують графічним способом. На осі абсцис відкладають логарифми величин розведень, а на осі ординат – відсоток пригнічення росту корінців, виражених у пробітних величинах. Через одержані точки проводять пряму. Потім з точки на осі ординат проводять лінію, паралельну осі абсцис, до перетину з лінією графіка. З точки перетину опускають перпендикуляр на вісь абсцис. Точка перетину перпендикуляра та осі абсцис відповідає логарифму EK .

Lemna minor L.

Біотестування за допомогою сімейства ряскових можна проводити на декількох рівнях:

- на рівні клітки (метод на підставі реакцій інгибування фототаксису);
- на рівні органів (облік морфологічних відхилень рослин ряски);
- на рівні організму і популяції (метод підрахунку реалізації репродуктивного потенціалу).

Як тест-об'єкт частіше за все використовують ряску малу (*Lemna minor* L.), оскільки на відміну від інших вона невибаглива в утриманні, достатня площа листеца в порівнянні з іншими видами.

При використуванні методу підрахунку реалізації репродуктивного матеріалу для оцінки дії забруднювача вибирають час подвоєння чисельності ($t_{удв.}$), що розраховується за допомогою коефіцієнту миттєвого зростання популяції (r), зміна якого відображає вплив середовища, тобто характеризує суму всіх лімітуючих чинників середовища, перешкоджаючих реалізації репродуктивного потенціалу (r_{\max}), який розраховується відносно контролю.

По закінченні часу експозиції в контролі і в кожній концентрації прораховується загальна кількість листеців, включаючи материнські особини і листеці, що відділилися від материнської особини.

В контролі і в кожній концентрації на підставі отриманих результатів розраховується коефіцієнт миттєвого зростання популяції (r):

$$r = \frac{\ln(N_t) - \ln(N_0)}{t}$$

де N_0 – початкова чисельність листеців; N_t – кінцева чисельність листеців, t – час експозиції (доба).

Далі по кожному розраховується час подвоєння чисельності ($t_{\text{подв}}$):

$$t_{\text{подв}} = \frac{\ln 2}{r} = \frac{0,6931}{r}$$

Показник зміни часу подвоєння чисельності ряски в досліджуваних розчинах по відношенню до контрольного, виражається у відсотках (D_t):

$$D_t = \frac{t_{\text{подв.к}} - t_{\text{подв.оп.}}}{t_{\text{ув.к}}} \cdot 100\%$$

D_t свідчить про якість випробовуваного водного розчину. При $D_t \leq 10\%$ тестована проба не токсична. Статистично достовірним слід рахувати відхилення більше 20% від часу подвоєння в контролі. Відхилення у бік збільшення при токсикологічному аналізі можливо у виняткових випадках підпорогової дії токсиканта, при біомоніторингу – свідцтво присутності токсикантів. При $D_t \geq 50\%$ тестована проба має гостру токсичну дію.

Важливим моментом при проведенні біотестування з системою біологічного контролю є вибір параметрів оцінки. На підставі проведених експериментів запропоновані наступні параметри оцінки:

1) час експозиції (від 7 до 14 днів);
2) коефіцієнт зростання (підрахунок листеців проводиться на 3, 5, 7, 10 і 14 дні). Ряска в перші дні набирає максимальний темп зростання, потім його припиняє;

3) облік морфологічних відхилень:

- хлорози – втрата пігменту (листеці стають жовтими);
- некрози – локалізовані відмерлі області тканини (коричневі або білі);
- підсихання, в'янення листеців;
- корені – наявність або відсутність.

Умови утримання тест-культури:

1. Температура: $24 \pm 2^\circ\text{C}$.
2. Середовище для культивування готується на дистильованій воді (табл. 24.1). Для уникнення утворення осаду в розчині, кожний його компонент заздалегідь готується в концентрованому вигляді окремо в 100 см^3 дистильованої

24.1. Склад живильного середовища для культивування ряски

Мікроелементи	Молярна маса	мг/дм ³
KNO ₃	101,12	350,0
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	236,15	295,0
KH ₂ PO ₄	136,09	90,0
K ₂ HPO ₄	174,18	12,6
MgSO ₄ ·7H ₂ O	246,37	100,0
H ₃ BO ₃	61,83	120,0
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	287,43	180,0
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	241,92	44,0
MnCl ₂ ·4H ₂ O	197,84	180,0
FeCl ₃ ·6H ₂ O	270,21	760,0
Трілон Б*	372,24	1500

* Стерильний розчин етілендіамінтетраоцетової кислоти дінатрієвої солі в концентрації 0,037 г/дм³.

води. Отримані розчини концентрованих солей кип'ятять кожний по 10–15 хвилин, охолоджують, після чого вони можуть бути придатні для приготування розчину протягом місяця за умови зберігання при температурі 2–4°C. Кожна судина з розчином солей має бути підписана з вказівкою складу, концентрації, часу приготування і щільно закрита, щоб уникнути випаровування.

3. Чистота тест-об'єкту. Оскільки всі ряскові розмножуються переважно вегетативним шляхом, то популяції рослин є клонами (генетично однорідні рослини). Для тестування беруть колонії ряски, тобто материнська рослина і дочірні листці.

4. Контрольний розчин. Перед тестуванням колонії ряски поміщають в контрольний розчин на 2 доби. Контрольний розчин готується як поєднання дистильованої води (1/2) і живильного середовища. Загальний об'єм складає 200 мл.

Переваги рослинних біотестів:

- необмежене число тестованих розчинів та речовин;
- можливість проведення як гострих, так і хронічних експериментів;
- інформативні;
- можуть бути легко тиражовані;

- культури біоіндикаторів легко підтримується в лабораторних умовах;
- можливість використання для аналізу на генотоксичність;
- методи відповідають міжнародним стандартам оцінки якості води [4].

Література

1. Кіппіс Л. С., Ситник Ю. М., Коновець І. М. Біотестування якості води озер міської зони Києва. Наукові записки. Періодичне видання. 3(14). 2001. – С. 198–199.
2. Dutka B. Short-term root elongation toxicity bioassay // Methods for toxicological analysis of waters, wastewaters and sediments. – National Water Research Institute (NWRI), Environment Canada, 1989.
3. Fiskesjo, G. 1985a. The Allium. test as a standard in environmental monitoring. Hereditas 102: 99–112.
4. ISO/CD 15799 1999. Soil quality – Guidance on the ecotoxicological characterizations of soil and soil materials.

25. Біотестування токсичності поверхневих вод та донних відкладів за допомогою гіллястовусих ракоподібних *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg

Біотестування ґрунтується на визначенні змін у виживанні та плодючості гіллястовусих ракоподібних внаслідок дії токсичних речовин, що містяться у дослідній воді, у порівнянні з цими показниками в контрольних умовах.

Короткочасове тестування (24–96 год.) дозволяє визначити гостру токсичну дію води та водних витяжок донних відкладів на гіллястовусих ракоподібних за показником їх виживання. Критерієм токсичності при цьому є загибель 50% та більше піддослідних тварин протягом певного часу (48 та 96 год. для *Ceriodaphnia affinis* і *Daphnia magna* відповідно) [5, 6, 18]. Для порівняння токсичності особливо забруднених проб води поміж собою або ж токсичності проб з однієї точки в різний час встановлюють середнє летальне розведення (LP_{50}) за певний термін дії.

При більш тривалому тестуванні (7 діб для *C. affinis* та 21 доба для *D. magna*) визначають хронічну дію за показниками виживання та плодючості тест-об'єктів [7, 19]. Показником виживання є відсоток самиць, що вижили за час експерименту, а показником плодючості – середня кількість молоді у перерахунку на одну самицю. Критерієм токсичності є достовірність різниці середніх величин показника у досліді в порівнянні з контролем.

Оскільки способи підтримки культур *D. magna* і *C. affinis* та вимоги до їх стану, визначення придатності культур до біотестування, а також проведення і обчислення результатів гострих та хронічних дослідів мають багату спільних рис, упорядники вирішили не розділяти описи біотестування за ознакою видової приналежності тест-об'єктів. Видоспецифічні прийоми та умови при проведенні біотестування пояснюються окремо.

Тестування проб поверхневих вод та водних витяжок донних відкладів за допомогою *D. magna* і *C. affinis* та інші необхідні матеріали будуть подані за такою схемою.

Культивування *D. magna* та *C. affinis* у лабораторних умовах:

1. Стислий опис біології *D. magna* та *C. affinis*.

2. Підтримка культур.

3. Середовище для культивування.

4. Годівля.

5. Вимоги до стану культур та визначення їх придатності для біотестування.
Відбір, зберігання та підготовка проб для біотестування:

1. Поради щодо відбору проб поверхневих вод.

2. Відбір донних відкладів та приготування водних витяжок.

3. Зберігання та підготовка проб до біотестування.

Проведення гострих дослідів:

1. Умови біотестування.

2. Проведення біотестування.

3. Способи порівняння гострої токсичності проб та постановка досліду з визначення середнього летального розведення (ЛР₅₀).

Проведення хронічних дослідів:

1. Умови біотестування.

2. Проведення біотестування.

Обчислення та оцінка результатів:

1. Гострі досліді.

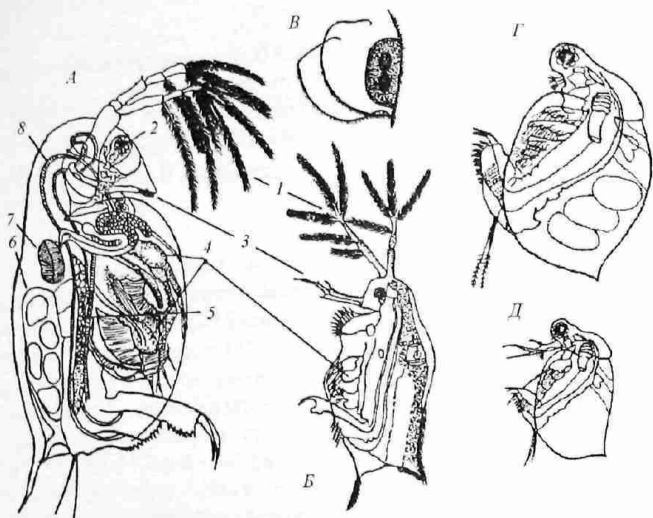
2. Хронічні досліді.

Культивування *D. magna* та *C. affinis* у лабораторних умовах

1. Стислий опис біології *D. magna* та *C. affinis*

За своїм систематичним положенням ці види належать до типу Arthropoda, класу Crustacea, ряду Cladocera, родини Daphniidae. Населяють стоячі та слабопроточні водойми (озера, ставки, річки з уповільненою течією, водосховища) [9, 10]. Тіло овальної форми довжиною до 6 мм у *D. magna* та до 2 мм у *C. affinis*, поміщене у хітиновий прозорий панцир, який на черевній стороні не з'єднаний і утворює щілину. Тіло нечітко сегментоване на головний, грудний та черевний відділи. Голова покрита щитом, передній край якого утворює рostrum. Під рostrumом чітко вирізняються дві передні маленькі антени – антенули. Вони більш розвинені в самців і є зручним критерієм визначення останніх при перевірці культури за допомогою біокуляра. Про присутність самців у культурі може свідчити також наявність ефіпіумів (зимуючих яєць) у виводкових камерах самиць.

В основі голови з боків розташовані дві дуже розвинені антени, які сприяють пересуванню тварин у товщі води. Ротовий отвір розташований у передній частині. У грудному відділі містяться п'ять пар сильно розчленованих грудних ніжок, щетинки яких утворюють густе сито. Їхні функції пов'язані з процесами фільтрації води, живлення та дихання. Забивання грудних ніжок завислими ре-



25.1. Загальний вигляд *D. magna* та *C. affinis*: А, Б – самиця та самець *D. magna* відповідно: 1 – антени; 2 – складне око; 3 – антенули; 4 – грудні ніжки; 5 – яєчник; 6 – виводкова камера; 7 – серце; 8 – кишечник; В – вигляд ефіпіуму; Г, Д – самиця та самець *C. affinis* відповідно. Рисунок приведено зі змінами за [11].

човинами негативно впливає на життєздатність рачків і може бути причиною нестабільного стану і навіть загибелі їх культури.

На спинному боці грудного відділу поза кишечником міститься серце, яке скорочується 200–300 разів за хвилину. Статова система представлена парними гонадами – яєчниками у самиць і сім'яниками у самців, які розташовані з обох боків кишечника. Між спинною частиною тулуба та панциром міститься виводкова камера, в якій відбувається ембріональний розвиток рачків. Ріст гіллястувих ракоподібних протягом життя нерівномірний, що пов'язано з періодичним линнянням. Перші три проходять у середньому раз на добу. При достатній годівлі розміри молодих тварин після линняння збільшуються удвічі.

За сприятливих умов ці види розмножуються без запліднення – партеногенетичним шляхом. При цьому народжуються лише самиці. За несприятливих умов (нестача корму, перенаселення, зниження температури, зміна умов освітлення тощо) в популяції з'являються самці, і тварини переходять до статевих

вого розмноження, продукуючи зимуючі яйця, розмішені в ефіпіумах. За сприятливих умов середовища з них народжуються самиці, які дають в подальшому партеногенетичні генерації.

Період дозрівання рачків *D. magna* при температурі $20 \pm 2^\circ\text{C}$ – близько 6 діб, *C. affinis* при температурі $25 \pm 2^\circ\text{C}$ – 3 доби.

2. Підтримка культур

Культури *D. magna* та *C. affinis* утримують в скляному посуді, який розташовують у приміщенні без шкідливих випарів і газів [11]. Рекомендується використовувати кліматостат, люміностат або бокс. У приміщенні, де перебувають тест-організми, не проводять обробку інсектицидами, не зберігають леткі речовини і не працюють з ними. Оптимальна температура для культивування становить: для *D. magna* – $20 \pm 2^\circ\text{C}$; для *C. affinis* – $25 \pm 2^\circ\text{C}$, освітленість – від 400 до 600 лк при тривалості світлового періоду 16 ± 1 годин, темряви – 8 ± 1 годин. Не допускається освітлення культури прямим сонячним промінням.

Посуд мийуть питною содою або соляною кислотою і ретельно споліскують дистильованою водою. Не можна застосовувати для миття посуду синтетичні мийучі засоби і органічні розчинники. Для культивування рачків використовують природну, питну або реконструйовану воду, яку готують згідно з пунктом 1.3.

Рекомендується підтримувати одночасно 4 різновікові культури рачків у 2–3 повторностях кожену. Культури мають відрізнятися між собою за віком – 1 тиждень для *D. magna* і 0,5 тижня для *C. affinis*. Таким чином, максимальний вік *D. magna* у найстаршій культурі може становити 4 тижні, а *C. affinis* – 2 тижні. Після цього найстарші культури поновлюються з молоді.

Початкова щільність посадки рачків повинна складати до 20 особин молоді на 1 дм^3 води. Для культивування рекомендується використовувати скляні ємності об'ємом 1–3 дм^3 . Двічі на тиждень рачків переносять у чисті ємності, середовище в яких має бути повністю свіжим, або ж, задля економії середовища, на 30–50% складатися із старого. При цьому новонароджену молодь відбирають і використовують для біотестування, для поновлення культур (якщо є потреба), а зайву використовують для інших цілей. Для щільних культур *C. affinis* молодь рекомендується відбирати щодоби.

Для пересаджування рачків використовують скляні трубки з витягнутим кінцем і гумовою грушею на другому кінці або пластикові піпетки комерційного виробництва. Рачків пересаджують обережно, щоб не травмувати. Діаметр трубки для пересадження *D. magna* складає 6–8 мм, для *C. affinis* – 3 мм. Для

зручності при пересадці молоді можна використовувати трубки або піпетки, що мають діаметр в 2–3 рази менше зазначених.

Не допускається попадання повітря під панцирі. Для цього при пересадці кінець трубки з рачками занурюють під поверхню води. Аерувати воду у посуді з рачками не рекомендується.

3. Середовище для культивування

Для культивування можна використовувати водопровідну воду, яку відстоюють та насичують киснем протягом тижня, природну воду з незабруднених водойм [4, 13] та реконструйовану воду [20].

Рекомендується підтримувати наступні гідрохімічні показники: вміст розчиненого кисню – не менше 4 мг/дм^3 (переважно 6 мг/дм^3), рН – 6,0–8,5 (переважно 7,0–8,5), твердість води за вмістом CaCO_3 – 15–350 мг/дм^3 (переважно 100–250 мг/дм^3) загальна мінералізація 0,1–1 г/л (переважно 0,2–0,8 г/дм^3).

Культивування у природній воді дає найбільш стійкі результати. Перед використанням її пропускають через 60 мк фільтр для видалення конкуруючих та хижих видів планктонних організмів та аерують до 90–95% насичення киснем. Фільтрація не гарантує повного усунення зайвих організмів (наушлії циклопів, коловертки, найпростіші тощо), тому при підтримці культури таким способом необхідно особливо дбати про її чистоту. Допускається фільтрування води через фільтрувальний папір з розміром пор 3,5–10 мкм.

Зважаючи на те, що водопровідна вода навіть після тижневої підготовки може проявляти токсичну дію на культури (особливо це стосується *C. affinis*), а джерело чистої природної води може бути недоступним, то в деяких лабораторіях використовують реконструйовану воду [20]. Її готують на дистильованій воді з додаванням до неї відповідної кількості солей (табл. 25.1). Оскільки твердість природних вод коливається в широких межах, використання реконструйованої води дозволяє проводити преадаптацію тест-матеріалу до твердості досліджуваної проби води, щоб отримати коректні результати. Така преадаптація проводиться з ювенільних стадій особин, від яких буде одержаний матеріал для дослідів.

Рекомендується готувати 50-кратні розчини індивідуальних солей, які можна зберігати протягом 2–3 місяців при температурі 2–4°C. Після їх змішування у порядку, наведеному у таблиці, з відповідною кількістю дистильованої води, підготовлене середовище потребує 24-годинного аерування перед його використанням. Для отримання більш стійких результатів, крім перерахованих солей, рекомендується додавання до штучного середовища 2–5 мкг/дм^3 селену та 1–2 мкг/дм^3 вітаміну B_{12} .

25.1. Приготування реконструйованої води заданої твердості

Тип води	Солі, мг/дм ³				Характеристика	
	NaHCO ₃	CaSO ₄ ·2H ₂ O	MgSO ₄	KCl	Твердість*	pH**
Дуже м'яка	12,0	7,5	7,5	0,5	10–13	6,4–6,8
М'яка	48,0	30,0	30,0	2,0	40–48	7,2–7,6
Середньої твердості	96,0	60,0	60,0	4,0	80–100	7,4–7,8
Тверда	192,0	120,0	120,0	8,0	160–180	7,6–8,0
Дуже тверда	384,0	240,0	240,0	16,0	280–320	8,0–8,4

Примітка: * – виражена у мг/дм³ CaCO₃; ** – після 24-годинного аерування.

Для культивування можна також використовувати відстоюну протягом 2–3 діб водопровідну воду, пропущену крізь вугільний фільтр побутових приладів очищення води (окрім перших 20–30 дм³).

У лабораторіях Агенції США з охорони природного навколишнього середовища за середовище для підтримки *S. affinis* використовують комерційну мінеральну воду Perrier™ [21], яку розводять для цього дистильованою водою до 20%. Пошук мінеральних вод національного виробництва, які б задовольняли цим вимогам, міг би значно покращити внутрішньо- та міжлабораторну відтворюваність результатів біотестування. Рекомендується, щоб загальна мінералізація такої води після розведення коливалася в межах 0,2–0,8 г/дм³.

4. Годівля

Годують рачків один раз на добу суспензією хлібопекарних дріжджів і шотихня – суспензією зелених водоростей. Якщо для культивування використовують штучне середовище або водопровідну воду, то годівлю зеленими водоростями рекомендується проводити частіше.

Дріжджі

Для приготування дріжджового корму 1 г свіжих або 0,3 г сухих дріжджів заливають 100 см³ дистильованої води. Після набухання дріжджів суспензію ретельно перемішують і відстоюють протягом 30 хвилин. Надсадову рідину додають у посудини з рачками у кількості 3 см³ на 1 дм³ води. Можливе зберігання дріжджової суспензії 1–2 доби при температурі 2–4°C. Використовуючи дріжджі як корм для гіллястовусих ракоподібних треба пам'ятати: краще недогодувати культуру, а ніж її перегодувати. Особливо це стосується намаган-

25.2. Склад живильного середовища Прата

Реактив	Концентрація, г/дм ³
Калій азотнокислий (KNO ₃)	0,100
Магній сірчаноокислий (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0,010
Калій фосфорнокислий двозаміщений (K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O)	0,010
Залізо хлорне (FeCl ₃ ·6H ₂ O)	0,001
Розчин мікроелементів*	1 дм ³

Примітка: * – H₃BO₃ – 2,86; MnCl₂·4H₂O – 1,81; ZnSO₄·7H₂O – 0,222 г/дм³; MoO₃ – 17,64; NH₄VO₃ – 22,96 мг/дм³ (готується окремо).

ня забезпечити нормальні умови живлення для культури на вихідні і святкові дні.

Мікроводорості

Водорості вирощують у колбах, які розміщують у люміностації або за природного освітлення, уникаючи попадання прямого сонячного проміння [11]. Освітлення повинно бути рівномірним з інтенсивністю від 2500 до 5000 лк. Лампи денного світла розміщують знизу й збоку колб на відстані 30–40 см. Водорості вирощують при температурі 22±4°C.

Для культивування водоростей використовують плоскодонні колби смкстію 1 дм³, які закривають ватяно-марлевіми пробками і паперовими ковпачками. Попередньо колби стерилізують у сушильній шафі 2 години при температурі 180°C і заповнюють живильним середовищем Прата за стерильних умов (табл. 25.2).

Для приготування живильного середовища відповідні наважки кожної солі, крім хлорного заліза, розчиняють окремо у 300 см³ дистильованої води, змішують у тій послідовності, у якій вони вказані у таблиці, і стерилізують в автоклаві при тиску 1 атм протягом 45–60 хвилин. Наважку хлорного заліза розчиняють окремо у 100 см³ дистильованої води кип'ятінням, потім охолоджують і приливають до охолодженого середовища за стерильних умов.

Культуру водоростей вносять у колбу з живильним середовищем у кількості, що дає світло-зелене забарвлення. Після посіву колбу закривають ватяно-марлевою пробкою і паперовим ковпачком. Культуру водоростей періодично перемішують, струшуючи 1–2 рази на добу.

фільтр, але токсичність еталонної речовини може бути все ж занижена (показник ЛК₅₀²⁴ завищений) за рахунок взаємодії останньої з розчиненою органічною речовиною.

Якщо одержана величина ЛК₅₀²⁴ потрапляє в експериментально встановлений діапазон реагування тест-об'єкта, який становить: для *D. magna* – 0,9–2,5 мг/дм³; для *C. affinis* – 0,9–3,3 мг/дм³, то культура визнається придатною для біотестування.

Якщо ЛК₅₀²⁴ К₂Сг₂О₇ не вміщується у згадані діапазони реагування, то перевіряють умови культивування, щоб виявити причини погіршення стану культури. При необхідності замінюють культуру на нову.

Відбір, зберігання та підготовка проб для біотестування

При відборі проб забруднених поверхневих і підземних вод, приготуванні водних витяжок з ґрунтів, відходів та донних відкладів, а також під час біотестування необхідно дотримуватись вимоги безпеки, затверджені у встановленому порядку. Цю роботу може виконувати оператор, що засвоїв методи і пройшов інструктаж з техніки безпеки.

1. Поради щодо відбору проб поверхневих вод

Проби природних вод відбирають, керуючись [1, 14, 15]. Для відбору проб на поверхні водних об'єктів застосовують відкриті пробовідбірники – звичайні ємності з широкою шийкою. Якщо на поверхні плавають різні речовини, то репрезентативні проби відібрати неможливо.

Для відбору проб на глибині застосовують закриті бутелі, заповнені повітрям або інертним газом. Пробовідбірники занурюють на необхідну глибину й заповнюють водою. З цієї метою застосовують також відкриті з обох боків циліндри або труби, які закривають під водою.

У звіті про відбір проб мають бути наведені такі дані: назва водойми; місце відбору з докладним описом; точка відбору; дата і час відбору; прізвище спеціаліста, який проводив відбір проб; метеорологічні дані (температура, кількість опадів тощо) в час відбору проб; умови течії; характеристика відбраного зразка (запах, кольоровість, прозорість, наявність суспензій тощо); тип пристрою для відбору проб; умови зберігання та транспортування зразків.

Річки і водні потоки

Для визначення впливу місця скидання стічних вод і вод притоки річки проби відбирають вище по течії річки та у місці, де відбулося повне змішання вод.

Проби відбирають по глибині, від берега до берега та вздовж течії. Якщо забруднення розподілене рівномірно за потоком річки, для відбору проб придатне практично будь-яке місце. При нерівномірному розподілі забруднення рекомендують відбір змішаних проб з різних точок. Частоту і час відбору проб встановлюють залежно від мети досліджень.

Природні і штучні водойми

Для непроточних водних об'єктів різного типу просторовий розподіл місць відбору проб може бути правильно встановлений тільки після попередньої роботи, у ході якої використана велика кількість точок відбору для отримання інформації, до якої можна застосувати статистичний аналіз. Зібрані попередні дані дозволяють найефективніше визначити кількість і місця відбору проб.

Якість води в природних і штучних водоймах може бути неоднорідною по глибині внаслідок стратифікації. Причиною цього є фотосинтез у поверхневій зоні, перепад температури та вплив донних відкладів. Помітна різниця якості вод найчастіше спостерігається при наявності термокліну. Тому рекомендується зменшувати відстань відбору проб по глибині в гетерогенних зонах. Попередні дослідження краще виконувати з використанням пробовідбірників, обладнаних приладами вимірювання температури, концентрації розчиненого кисню, електропровідності тощо. При розробці програми досліджень треба пам'ятати, що якість води природних і штучних водойм змінюється протягом доби і в окремі сезони вегетаційного періоду.

Для моніторингу якості води використовують, як правило, серії поодиноких проб, але можуть використовуватися й змішані проби. Змішані проби полегшують дослідження, але дають тільки усереднені результати і не показують екстремальних значень та діапазону змін якості води.

2. Відбір донних відкладів та приготування водних витяжок

Правила відбору проб донних відкладів встановлює [16]. Проби донних відкладів відбирають дночерпаками (моделі Петерсона, Екмана, Берджа тощо). Обрання місця відбору визначається програмою досліджень. Частоту та час відбору визначають залежно від мети досліджень, але треба мати на увазі, що зміни у донних відкладах відбуваються значно повільніше, ніж у водній товщі.

Для приготування водної витяжки пробу донних відкладів сушать до сухого стану при температурі $20 \pm 5^\circ\text{C}$, усувають рештки рослин, каміння тощо, подрібнюють у ступці та просівають через сито з діаметром вічок 1 мм. Необхідну кількість донних відкладів зважують і заливають водою у співвідношенні 1:4. Суміш струшують протягом години. Потім її відстоюють для осад-

ження великих часток, надосадову рідину переносять у центрифужні склянки і центрифугують 15 хвилин при 3000 обертів на хвилину, далі надосадову рідину зливають і використовують для біотестування.

Якщо центрифуги немає, то цю операцію можна замінити фільтруванням через паперовий фільтр з великим розміром пор. У будь-якому разі, ці операції не замінюють 3,5–10 мкм фільтрування перед проведенням досліджень.

При аналізі проб донних відкладів, що містять нафтопродукти або інші леткі сполуки, сушіння проб не рекомендується. При цьому з ретельно перемішаної проби відбирається аликвота, по якій встановлюється вологість проби і робиться перерахунок на кількість води, потрібної для додавання. Вода додається безпосередньо до вологої проби, але співвідношення «сухі донні відклади : вода» має складати 1:4.

3. Зберігання та підготовка проб до біотестування

Проби, відібрані для біотестування при гострій схемі дослідів, не підлягають консервуванню хімічними речовинами чи заморожуванню. Біотестування проводять не пізніше 6 годин після відбору проб води або приготування витяжки донних відкладів. Якщо це неможливо, проби води або витяжки донних відкладів охолоджують до 2–4°C і зберігають в темряві до 72 годин. Посуд повинен бути щільно закритий і наповнений доверху. Об'єм проби води або водної витяжки для визначення гострої токсичності повинен бути не менше 1 дм³.

Для проведення хронічних досліджень бажано використовувати свіжі проби. Зміни на місці відбору проб включають у схему визначення. Труднощі, що можуть виникати при цьому, пов'язані з необхідністю регулярної заміни вмісту середовища у дослідних посудинах – щоденно протягом 6–8 діб для *S. affinis* та тричі на тиждень протягом 21 доби для *D. magna*. У випадках, коли використання свіжих проб неможливе, рекомендується заморожування і зберігання проб при температурі нижче –18°C [17]. Заморожені проби можуть бути проаналізовані протягом 2 місяців з моменту відбору. Усі порції повинні бути оброблені однаково (тобто заморожують всі порції, включно з тими, що використають у перший день досліджень). Мінімальний обсяг заморожених порцій залежить від токсичності аналізованої проби.

Перед біотестуванням пробу води (водну витяжку) перемішують і фільтрують через фільтрувальний папір з розміром пор 3,5–10 мкм (якщо цього потребує мета біотестування, проби не фільтрують) і доводять до потрібної темпера-

Проведення гострих дослідів

1. Умови біотестування

Біотестування проводять безпосередньо або не пізніше як за 6 годин після відбору проби або приготування водної витяжки [5, 6]. За відсутності такої зберігались за умов згідно з описом у пункті «Зберігання та підготовка проб до біотестування».

Біотестування проводять у приміщенні без шкідливих випарів і газів, при розсіяному світлі, тривалості світлового періоду 16 ± 1 годин, темряви – 8 ± 1 годин. Температура середовища при біотестуванні повинна становити: для *D. magna* – $20 \pm 2^\circ\text{C}$; для *C. affinis* – $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

У пробах води або водних витяжках перед біотестуванням визначають концентрацію розчиненого кисню. Якщо його концентрація нижче 6 мг/дм^3 , воду аерують. Повітря повинно даватись рівномірно до досягнення концентрації кисню 6 мг/дм^3 . У ході біотестування проби не аерують.

Молодь, яку використовують для біотестування, повинна бути віком до 24 годин, тому за добу перед проведенням дослідів всю молодь з культур забирають. Для цього самиць тимчасово пересаджують у невелику ємність, а середовище фільтрують через планктонний газ (сито) з розміром вічка $80\text{--}100 \text{ мкм}$ для видалення молоді.

2. Проведення біотестування

Вимоги до процедури біотестування для *D. magna*

Пробу води (водну витяжку) наливають по 100 см^3 у скляний посуд (дослід). Контрольні ємності теж заповнюють 100 см^3 води (свіже середовище для культивування без додавання їжі). У досліді і контролі проводять по три паралельних визначення. У кожну з дослідних і контрольних посудин вміщують по 10 дафній віком до 24 годин. Їх швидко переносять скляною трубкою, зануривши її під поверхню води. Тривалість біотестування становить 96 годин. Під час біотестування дафній не годують [5, 18].

Вимоги до процедури біотестування для *C. affinis*

Пробу води (водну витяжку) наливають по 15 см^3 у десять посудин (дослід). Десять контрольних посудин заповнюють таким самим об'ємом води (свіже середовище для культивування). У кожну з дослідних і контрольних посудин вміщують по 1 особині церіодафній віком 4–8 годин. Тривалість біотестування становить 48 годин. Під час біотестування церіодафній не годують [6].

Треба зауважити, що розміщення церіодафній по одній особині в маленькі об'єми при проведенні дослідів зумовлено тільки міркуваннями зручності спостереження за ними неозброєним оком (новонароджена молодь церіодафній має розмір близько 100 мкм). Досвідченим операторам можна рекомендувати проведення дослідів у посуді об'ємом 50 см³ (у трьох повторностях), в які вміщують по 5–10 особин молоді *C. affinis*. Важливою умовою при цьому є мінімальна товщина і максимальна прозорість матеріалу, з якого зроблено посуд для тестування.

Загальні положення

За 2–3 години до проведення біотестування рачків годують. У протилежному випадку результати визначення токсичності проб можуть бути завищені.

При проведенні біотестування візуально підраховують кількість живих рачків. Живими вважають рачків, які вільно рухаються у товщі води або спливають із дна посудини після її легкого струшування. Решту вважають загиблими. Після підрахунку рачків у контролі та досліді у кожній посудині визначають концентрацію розчиненого у воді кисню.

Результати враховують, якщо наприкінці біотестування концентрація кисню у воді була не менше 2 мг/дм³, кількість загиблих рачків у контролі не перевищувала 10%, а вихідна культура задовольняла вимогам, описаним на с. 347. Якщо будь-яка з перелічених умов не була дотримана, біотестування повторюють.

3. Способи порівняння гострої токсичності проб та постановка дослідів по визначенню середнього летального розведення (ЛР₅₀)

Для порівняння токсичності проб поверхневих вод та водних витяжок донних відкладів можна використати класифікацію, розроблену для стічних вод (табл. 25.3) [12]. Класифікація базується на показнику виживання *D. magna* за умов проведення стандартного гострого дослідів. Облік живих дафній проводять через 1, 6, 24, 48, 72 і 96 годин. Якщо у будь-який з періодів часу спостережень у досліді гине 50 і більше відсотків дафній, то біотестування закінчують.

Якщо для порівняння ступені токсичності різних проб води або водних витяжок використовується показник середньолетального розведення (ЛР₅₀), то для проведення дослідів за загальною схемою готують не менше п'яти розведень вихідної води або водної витяжки (наприклад, 50, 25, 10, 5, 1% вмісту проби у розчині). Для проведення точного розрахунку ЛР₅₀ бажано, щоб у двох розведеннях (або у вихідній пробі і найменшому розведенні) було досягнуто більше 50% смертності тест-організмів.

25.3. Класифікація токсичності стічних вод

Клас токсично сті	Характеристика стічної води за рівнем гострої летальної токсичності	Час закінчення біотестування, година	Кількість загиблих дафній, відсоток
1	не виявляє гострої летальної токсичності	96	менше 50
2	слаботоксична	96	50 і більше
3	помірно токсична	48	50 і більше
4	середньо токсична	24	50 і більше
5	високо токсична	6	50 і більше
6	надзвичайно токсична	1	50 і більше

Для розведення проб води або водних витяжок використовують свіже середовище для культивування.

Проведення хронічних дослідів

1. Умови біотестування

Ті самі, що і при проведенні біотестування у гострому досліді.

2. Проведення біотестування

Вимоги щодо процедури біотестування для D. magna

Проби води (водної витяжки) або приготовлені розведення аналізованої проби наливають по 50–100 см³ у десять судин (дослід). Інші десять судин заповнюють таким самим обсягом культивативної води (контроль). У кожній з дослідних і контрольних посудин вміщують по 1 особині дафній віком до 24 годин.

Тричі на тиждень у кожній посудині проводять заміну проби на свіжу. Для цього готують нову серію дослідних судин і переносять в них самиць трубною з витягнутим кінцем і діаметром від 6 до 8 мм. Рееструють наявність та новонароджену молодь.

Корм рекомендується вносити щодня (суспензію дріжджів або водоростей пропорційно раціону для культур). Тривалість біотестування становить 21 добу [19].

Вимоги до процедури біотестування для *C. affinis*

Проби води (водної витяжки) або приготовлені розведення аналізованої проби наливають по 15–30 см³ у десять судин (дослід). Інші десять судин заповнюють таким самим обсягом культивуваної води (контроль).

У кожній з дослідних і контрольних посудин вміщують по 1 особині церіодафній віком до 24 годин. Їх переносять із посудин для культивування трубкою з витягнутим кінцем і діаметром від 3 до 5 мм.

Щодоби у кожній посудині проводять заміну проби на свіжу. Для цього вміст посудини рекомендується перелити у додаткову ємність (наприклад, чашку Петрі, бюкс або іншу плоску посудину відповідного розміру). При цьому реєструють наявність церіодафній (самиць та новонароджену молодь). Звільнену посудину заповнюють свіжою пробою, куди й пересаджують самиць церіодафній і вносять корм (суспензію дріжджів або водоростей пропорційно раціону для культури).

Новонароджену молодь підраховують і вилучають. Біотестування закінчують після того, як 60% самиць у контролі дадуть по три послідовних вимети. Тривалість біотестування становить 7±1 діб [7].

Загальні положення

Результати визначення враховують, якщо наприкінці біотестування смертність в контролі не перевищує 20%, середня кількість живих нащадків в контролі у перерахунку на живу материнську особину становить не менше: для *D. magna* – 60 екз.; для *C. affinis* – 15 екз., а вихідна культура задовольняла вимогам, описаним у пункті 1.5. Якщо будь-яка з перелічених умов не була дотримана, то біотестування повторюють.

Обчислення та оцінка результатів

1. Гострі досліді

На підставі підрахунку кількості живих рачків у контролі та досліді визначають середні арифметичні величини, які використовують для розрахунку кількості загиблених рачків у досліді відносно контролю за формулою:

$$A = \frac{\bar{X}_{\text{контр}} - \bar{X}_{\text{досл}}}{\bar{X}_{\text{контр}}} \cdot 100, \quad (1)$$

де A – кількість загиблених рачків у досліді відносно контролю, %; $\bar{X}_{\text{контр}}$ – середнє арифметичне кількості живих рачків у контролі, екз.; $\bar{X}_{\text{досл}}$ – середнє арифметичне кількості живих рачків у досліді, особин.

Вода (водна витяжка) виявляє гостру летальну токсичність, якщо отримана величина A становить 50% і більше. У цьому випадку для кількісної оцінки токсичності проби води (водної витяжки) встановлюють її середнє летальне розведення (LP_{50}) за певний час дії: для *D. magna* – 96 год.; для *C. affinis* – 48 год. [11].

Для розрахунку середнього летального розведення (LP_{50}) відсоток загиблих рачків у досліді відносно контролю виражають в умовних одиницях – пробітах, а розведення – у десяткових логарифмах. Переведення відсотка загиблих рачків у пробіти наведено у табл. 25.4.

Обчислення LP_{50} проби води (водної витяжки) виконують графічним способом (рис. 25.2). На осі абсцис відкладають логарифми величин розведень, а на осі ординат – кількість загиблих рачків, виражених у пробітних величинах. Розведення перед логарифмуванням зручно представити у концентрації вихідної проби у розчині (наприклад, вихідна проба – 100%, розведення 1 об'єм вихідної проби до 1 об'єму середовища для культивування – 50%, розведення 1:4 – 20% тощо).

Концентрації проби води (водної витяжки), що мають показники смертності 0 та 100%, для розрахунків LP не використовуються. Через одержані точки проводять пряму. Потім з точки на осі ординат, що відповідає 5 пробітам, проводять лінію, паралельну осі абсцис, до перетину з лінією графіка. З точки перетину опускають перпендикуляр на вісь абсцис. Точка перетину перпендикуляра та осі абсцис відповідає логарифму LP_{50} . За антилогарифмом знаходять LP_{50} .

Обчислення можна виконати також за допомогою програми Microsoft Excel. Будують графік залежності десяткового логарифму розведення (вісь ординат) від пробітних величин смертності рачків (вісь абсцис). Вид діаграми – точковий (рис. 25.3). Концентрації, що дають 0 або 100% смертності тест-об'єктів, не враховуються.

За дослідними точками будують лінійний тренд, за рівнянням якого розраховують логарифм розведення, беручи пробітну величину рівну 5 (50% смертності). За антилогарифмом знаходять LP_{50} .

Використовуючи властивості нормального розподілу показника виживання при гострій схемі дослідів можна приблизно розрахувати середнє квадратичне відхилення для LP_{50} :

$$\sigma = \frac{LP_{84} - LP_{16}}{2}, \quad (2)$$

де LP_{84} та LP_{16} розрахункові розбавлення, в яких за той же час загинуло 84 та 16 відсотків (5,99 та 4,01 пробітних величин відповідно) тест-об'єктів [8].

25.4. Переведення відсотка загибелі (%) у пробітні величини (П)

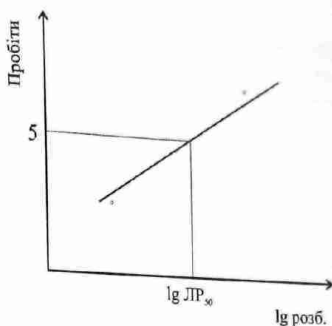
%	П	%	П	%	П	%	П
1	2,67	26	4,36	51	5,03	76	5,71
2	2,95	27	4,39	52	5,05	77	5,74
3	3,12	28	4,42	53	5,08	78	5,77
4	3,25	29	4,45	54	5,10	79	5,81
5	3,35	30	4,48	55	5,13	80	5,84
6	3,45	31	4,50	56	5,15	81	5,88
7	3,52	32	4,53	57	5,18	82	5,92
8	3,59	33	4,56	58	5,20	83	5,95
9	3,66	34	4,59	59	5,23	84	5,99
10	3,72	35	4,61	60	5,25	85	6,04
11	3,77	36	4,64	61	5,28	86	6,08
12	3,83	37	4,67	62	5,31	87	6,13
13	3,87	38	4,69	63	5,33	88	6,18
14	3,92	39	4,72	64	5,36	89	6,23
15	3,96	40	4,75	65	5,39	90	6,28
16	4,01	41	4,77	66	5,41	91	6,34
17	4,05	42	4,80	67	5,44	92	6,41
18	4,08	43	4,82	68	5,47	93	6,48
19	4,12	44	4,84	69	5,50	94	6,55
20	4,16	45	4,87	70	5,52	95	6,64
21	4,19	46	4,90	71	5,55	96	6,75
22	4,22	47	4,92	72	5,58	97	6,88
23	4,26	48	4,95	73	5,61	98	7,05
24	4,29	49	4,97	74	5,64	99	7,32
25	4,33	50	5,00	75	5,67		

мані величини можна використати для статистичного порівняння $ЛР_{50}$ у різних проб води або водних витяжок (див. далі, формула 6).

Пробітний аналіз дозволяє зробити точне обчислення довірчих (95%) інтервалів величин летальних розведень. За отриманням комп'ютерної програми аналізу (EPA Probit Analysis Program, Version 1.5), що має мінімальні системні вимоги, можна звертатися до авторів цієї статті.

2. Хронічні досліді

Показниками токсичності у хронічних дослідіах є достовірний негативний вплив проби води (водної витяжки) на виживання та плодючість тест-об'єктів у порівнянні з контролем. Обчислення достовірності різниці середніх величин за цими показниками суттєво відрізняються за статистичними критеріями, що застосовуються, не має простого алгоритму розрахунків і потребує знання азів варіаційної статистики [2, 3 або ін.].



25.2. Побудова графіка для розрахунку середнього летального розведення.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Смертність, %	Пробіти	Десятковий логарифм концентрації	Концентрація вихідної проби, %	lg розв.	$y = 0,3121x - 0,0033$			
2	100	-	2,00	100	2,00				
3	71	5,55	1,70	50	1,50				
4	23	4,26	1,40	25	1,00				
5	5	3,35	1,00	10	0,50				
6	0	-	0,70	5	0,00				
7									
8									
9									
10									
11									
12									

$$\lg \text{розв.} = 0,3121 \cdot 5 - 0,0033 = 1,5275$$

$$LP_{50} = 10^{1,5275} = 33,7 (\%)$$

25.3. Приклад розрахунку LP_{50} у Microsoft Excel.

Для вибору розведень при проведенні хронічного дослідження є корисними попередні дані про гостру токсичність проби води або водних витяжок. Мінімальне розведення вибирається з розрахунку $0,3-0,5 LP_{50}$ гострого дослідження.

Оцінка результатів за показником виживання

Після закінчення біотестування підраховують кількість вихідних самиць, що вижили. Оскільки показник виживання при схемі проведення хронічних дослідів не підлягає нормальному розподілу, t -критерій Стьюдента не може бути застосований для обчислення достовірності впливу. Для цього рекомендується використовувати непараметричні критерії (хі-квадрат, Колмогорова-Смирнова тощо). Автори не ставлять перед собою мети докладного викладення принципів цих тестів (з ними можна ознайомитись у спеціальній літературі), але можна зробити наступні зауваження: 1) якщо жодна з 10 контрольних тварин не загинула, вплив проби можна вважати статистично достовірним при смертності більше 30%; 2) якщо за час дослідів загинула одна контрольна тварина, достовірною дією проби води (водної витяжки) або її розведення за цим показником досягається тільки за умов 50% смертності.

Оцінка результатів за показником плодючості

Цей показник визначає збереження виду і відіграє визначальну роль при оцінці токсичності вод. Після закінчення біотестування підраховують кількість молоді, що з'явилася у розрахунку на одну вихідну самицю в контролі й досліді. Якщо самиця загинула і не дала жодного вимету, у протокол заносять нуль.

Якщо дотримані основні вимоги щодо підтримки культур і умови проведення дослідів можна прийняти, що показник плодючості підлягає нормальному розподілу. Достовірність різниці між дослідом і контролем за показником плодючості встановлюють за критерієм Стьюдента. Для цього обчислюють величину фактичного значення критерію достовірності різниці середніх величин ($t_{\text{факт}}$) і порівнюють його з критичним значенням ($t_{\text{крит}}$).

Перевірка гіпотези щодо рівності дисперсій

Залежно від достовірності різниці дисперсій наступне порівняння середніх арифметичних при малих вибірках проводять різними способами. Для порівняння дисперсій застосовують критерій Фішера:

$$F_{\text{факт}} = \frac{\sigma_{\text{max}}^2}{\sigma_{\text{min}}^2}, \quad (3)$$

де σ_{\max}^2 та σ_{\min}^2 – дисперсії досліду та контролю (в чисельник береться більша з дисперсій).

Дисперсії обчислюються за формулою:

$$\sigma^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n-1}, \quad (4)$$

де x_i – кількість молоді від i -тої самиці; \bar{X} – середня кількість молоді на одну самицю; n – кількість самиць (повторностей) у досліді (контролі).

Розрахована величина $F_{\text{факт}}$ порівнюється з табличним значенням $F_{\text{крит}}$. Число ступенів свободи визначається за формулою $\nu = n - 1$. Наприклад, якщо $n_{\text{контр}} = 10$, $n_{\text{досл}} = 9$ і величина дисперсії показника середньої кількості молоді на самицю у досліді виявилась більшою, то $\nu_1 = 9 - 1 = 8$, $\nu_2 = 10 - 1 = 9$ і $F_{\text{крит}} = 3,23$ (табл. 25.5).

Якщо $F_{\text{факт}} > F_{\text{крит}}$ приймають гіпотезу про різнорідність дисперсій. Якщо $F_{\text{факт}} < F_{\text{крит}}$ дисперсії вважаються однаковими.

Розрахунок $t_{\text{факт}}$ при однакових дисперсіях

Якщо за якихось причин $n_{\text{контр}} \neq n_{\text{досл}}$, $t_{\text{факт}}$ розраховують за наступною формулою:

$$t_{\text{факт}} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{\left(\frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}\right) \cdot \left(\frac{(n_1 - 1)\sigma_1^2 + (n_2 - 1)\sigma_2^2}{n_1 + n_2 - 2}\right)}} \quad (5)$$

з кількістю ступенів свободи $\nu = n_1 + n_2 - 2$

При $n_{\text{контр}} = n_{\text{досл}}$ формула (5) спрощується:

$$t_{\text{факт}} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}{n}}} \quad (6)$$

з кількістю ступенів свободи $\nu = 2 \cdot n - 2$

25.5. Значення одностороннього F-критерію ($P = 95\%$); v_1 – число ступенів свободи чисельника; v_2 – число ступенів свободи знаменника

$v_2 \backslash v_1$	7	8	9	10
7	3,79	3,73	3,68	3,64
8	3,50	3,44	3,39	3,35
9	3,29	3,23	3,18	3,14
10	3,14	3,07	3,02	2,98

25.6. Значення критерію Стьюдента ($P = 0,95$) при різних кількостях ступенів свободи

v	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$t_{\text{теор}}$	12,7	4,30	3,188	2,78	2,57	2,45	2,37	2,31	2,26	2,23
v	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
$t_{\text{теор}}$	2,20	2,18	2,16	2,14	2,13	2,12	2,11	2,10	2,09	2,09

Розрахунок $t_{\text{факт}}$ при різних дисперсіях:

$$t_{\text{факт}} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}} \quad (7)$$

з кількістю ступенів свободи $v = (n_1 + n_2 - 2) \cdot \left(\frac{1}{2} + \frac{1}{\frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2} + \frac{\sigma_2^2}{\sigma_1^2}} \right)$

Величину $t_{\text{теор}}$ знаходять за таблицею відповідно до кількості ступенів свободи (табл. 25.6).

Якщо $t_{\text{факт}} > t_{\text{теор}}$, то різниця середніх величин показників біотестування в досліді та контролі вважається статистично достовірною. На цій підставі роб-

	A	B	C	D		E	F
1	Самиця №	Кількість молоді Контроль	Дослід	Двухвыборочный F-тест для дисперсии			
2							
3	1	87	63				
4	2	66	68	Среднее	Переменная 1	Переменная 2	
5	3	74	66	Дисперсия		73,5	61,55555556
6	4	71	49	Наблюдения		50,05555556	102,2777778
7	5	69	60	df		10	9
8	6	78	50	F		9	8
9	7	64	77	P(F<=f) одностороннее		0,48940793	
10	8	80	50	F критическое одностороннее		0,153848896	
11	9	77	71			0,309637549	
12	10	69					

Двухвыборочный F-тест для дисперсии

Входные данные:

Интервал переменной 1:

Интервал переменной 2:

Метки

Альфа:

Параметры вывода:

Выходной интервал:

Новый рабочий лист:

Новая рабочая книга

25.4. Перевірка гіпотези щодо рівності дисперсій у Microsoft Excel.

лять висновок про те, що проба води (водна витяжка) спричиняє хронічну токсичну дію. Якщо $t_{\text{факт}} < t_{\text{теор}}$, то різниця середніх величин показників біотестування в досліді та контролі вважається статистично недостовірною. У цьому випадку роблять висновок про те, що проба води (водна витяжка) не чинить хронічної токсичної дії.

Використання програми Microsoft Excel значно полегшує статистичний аналіз даних. Перевірка гіпотези щодо рівності дисперсій на гіпотетичному прикладі наведена на рис. 25.4. Для цього у меню вибирають *Сервіс / Аналіз даних¹ / Двовибірковий F-тест для дисперсії* і позначають інтервали перемінних та вихідний інтервал. Якщо значення $P(F \leq f)$ одностороннє (виділено чорним)

¹ Якщо у меню *Сервіс* пункту *Аналіз даних* немає, його потрібно установити додатково через пункт *Сервіс / Надбудови / Пакет аналізу*.

	A	B	C	D	E	F
1	Самця	Кількість молоді		Двухвыборочный t-тест с одинаковыми дисперсиями		
2	№	Контроль	Дослід		Переменная 1	Переменная 2
3	1	87	63	Среднее	73,5	61,55555556
4	2	66	68	Дисперсия	50,05555556	102,2777778
5	3	74	66	Наблюдения		10
6	4	71	49	Объединенная дисперсия	74,63071895	9
7	5	69	60	Гипотетическая разность средних		0
8	6	78	50	df		17
9	7	64	77	t-статистика	3,009203764	
10	8	80	50	P(T<=t) одностороннее	0,003949073	
11	9	77	71	t критическое одностороннее	1,739606432	
12	10	69		P(T<=t) двухстороннее	0,007898145	
13				t критическое двухстороннее	2,109818524	

Двухвыборочный t-тест с одинаковыми дисперсиями [?] [X]

Входные данные

Интервал переменной 1: \$B\$3:\$B\$12

Интервал переменной 2: \$C\$3:\$C\$11

Гипотетическая средняя разность:

Метки

Альфа:

Параметры вывода

Выходной интервал: \$D\$1

Новый рабочий лист:

Новая рабочая книга

OK
Отмена
Справка

25.5. Порівняння середніх значень за допомогою t-тесту у Microsoft Excel.

менше або дорівнює 0,05, приймається гіпотеза про нерівність дисперсій. У приведеному прикладі дисперсії рівні.

Залежно від результатів F-тесту на рівність дисперсій, для проведення тесту Стьюдента для середніх з меню *Аналіз даних* вибирають *Двовибірковий t-тест з однаковими дисперсіями* або *Двовибірковий t-тест з різними дисперсіями*. Для наведеного вище гіпотетичного прикладу треба застосувати перший (рис. 25.5).

Якщо величина $P(T \leq t)$ *двостороннє* (виділено чорним) менше або дорівнює 0,05, різниця середніх значень достовірна. У нашому прикладі можна

констатувати, що досліджувана проба спричиняє достовірну токсичну дію на показник плодючості.

Визначення додаткових показників ефективної дії

При потребі визначити недіяльне розведення, зона розведень повинна включати як мінімум одне розведення, що супроводжується видимою дією і одне розведення, що не викликає дії. Найбільше з розведень, що викликає статистично достовірну дію, називається ефективним розведенням (EP).

При потребі визначити середноефективне розведення (EP₅₀) проби води або водної витяжки за впливом на продуктивність рачків, бажано мати два розведення (наприклад, вихідну пробу і найменше розведення), що мають більш ніж 50%-ною дію. Інакше довірчий інтервал показника EP₅₀ буде дуже високим. Розрахунок EP₅₀ проводять за аналогічними методами до розрахунку LP₅₀ (див. «Обчислення та оцінка результатів»), однак замість пробітних величин смертності використовують пробітні величини плодючості у різних розведеннях, виражені у % до контролю.

Література

1. ГОСТ 17.1.5.05-85. Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков.
2. Зайцев Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. – М.: Наука, 1984.
3. Закс Л. Статистическое оценивание. – М.: Статистика, 1976.
4. Исакова Е. Ф., Колоскова Л. В. Метод биотестирования с использованием дафний. // Методы биотестирования вод. – Черноголовка, 1988. – С. 50–57.
5. КНД 211.1.4.054-97. Визначення гострої летальної токсичності води на ракоподібних *Daphnia magna* Straus. К., 1997.
6. КНД 211.1.4.055-97. Визначення гострої летальної токсичності води на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. К., 1997.
7. КНД 211.1.4.056-97. Визначення хронічної токсичності води на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg.
8. Лесников Л. А. Разработка нормативов допустимого содержания вредных веществ в воде рыбохозяйственных водоемов // Вопр. метод. в водн. токсикол. – Труды ГОСНИОРХ. – Л., 1979. – Вып. 144. – С. 3–41.
9. Мануйлова Е. Ф. Фауна СССР. Ветвистоусые рачки. – Л.: Наука, 1962.
10. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР / Под ред. Кутиковой Л. А., Старобогатова Я. И. – Л.: Гидрометеоиздат, 1977.
11. РД 118-02-90. Методическое руководство по биотестированию воды.

12. РД 211.1.7.049-96. Методичні вказівки по контролю токсичності промислових стічних вод на різних етапах технологічного процесу
13. Флеров Б.А., Жмур Н.С., Очирова М.Н., Чалова И.В. Метод биотестирования природных и сточных вод с использованием рачка *Ceriodaphnia dubia*. // Методы биотестирования вод. – Черноголовка, 1988. – С. 111–114.
14. ISO 5667-4:1987. Water quality – Sampling – Part 4: Guidance on sampling from lakes, natural and manmade.
15. ISO 5667-6:1990. Water quality – Sampling – Part 6: Guidance on sampling of rivers and streams.
16. ISO 5667-12:1995. Water quality – Sampling – Part 12: Guidance on sampling of bottom sediments.
17. ISO 5667-16:1998. Water quality – Sampling – Part 16: Guidance on biotesting of samples.
18. ISO 6341:1996. Water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – Acute toxicity test.
19. ISO 10706:2000. Water quality – Determination of long term toxicity of substances to *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea).
20. U.S. EPA. Short-term methods for estimation the Chronic Toxicity of effluents and receiving Waters to freshwater organisms. – Report EPA/600/4-85/014. – 1985.
21. U.S. EPA. Short-term methods for estimation the Chronic Toxicity of effluents and receiving Waters to freshwater organisms / 2-nd ed. – Report EPA/600/4-89/001. – 1989.

26. Визначення цитогенотоксичності води та витяжок донних відкладів за допомогою риб

Мікроядерний аналіз як спосіб визначення цитогенотоксичності поверхневих вод

Екологічна оцінка якості поверхневих вод України в сучасний період дається на підставі «Системи екологічних класифікацій якості поверхневих вод суші та естуаріїв України», зокрема на підставі «Екологічної класифікації якості поверхневих вод суші та естуаріїв за критеріями вмісту специфічних речовин токсичної дії», «Екологічної класифікації прісних гіпо- та олігогалінних та солонуватих β-мезогалінних вод за рівнем токсичності» і «Екологічної класифікації якості поверхневих вод суші та естуаріїв за критеріями специфічних показників радіаційної дії» (а, б). Проте доцільно, а в ряді випадків конче необхідно визначати також мутагенність води і донних відкладів для водяних організмів, які існують у водах, забруднених токсичними та радіоактивними речовинами. Мутагенність може бути свідченням загрози існуванню гідробіонтів не лише наявних генерацій, але і їх нащадкам, тобто наступних генерацій внаслідок накопичення пошкоджень у генеративних клітинах [8, 9, 17].

Основними мутагенами у водному середовищі можуть виступати такі чинники: 1) іонізуюче випромінювання; 2) природні неорганічні речовини – окисли азоту, нітрати, нітроти, свинець, радіонукліди та ін.; природні речовини органічного походження – алкалоїди, гормони та ін.; 3) перероблені природні сполуки – нафтопродукти, продукти спалювання вугілля та деревини, сполуки важких металів, харчові відходи; 4) хімічні продукти, що не зустрічаються у природі (ксенобіотики) – пестициди, промислові відходи, синтетичні сполуки, у тому числі лікарські препарати, алкілюючі агенти. Чимало з перелічених факторів не виявляють гострої токсичності, проте є супермутагенами [3].

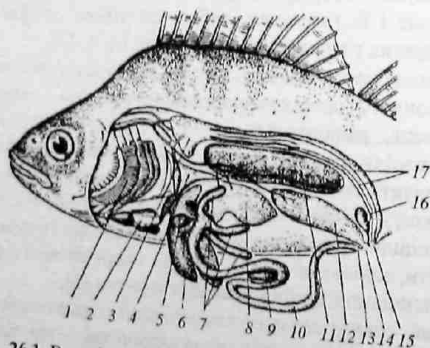
На сьогодні існує широкий спектр методів визначення мутагенності, а об'єкти дослідження охоплюють практично всі групи організми – від бактеріофагів і бактерій до ссавців і клітин людини *in vivo* та *in vitro*. Серед цитогенетичних методів найбільш перспективним вважається мікроядерний тест, вперше описаний у 1975 р. [18] на поліхроматофільних червоних клітинах кісткового мозку *in vivo*. На той час він був, напевно, кращим з наявних методів скринінгу. Мікроядра (МЯ) виникають внаслідок різних причин, включаючи хромосомний розрив, порушення центромери чи веретена поділу, і тому вони є

свідченням цитогенетичних порушень. Крім того, МЯ здатні накопичуватися у тканинах, отже можуть деякою мірою характеризувати минулі генетичні події в організмі. Особливо придатними для використання мікроядерного тесту є риби. Вони мають систему метаболічної активації, схожу на таку в людини [14]. На сьогодні цей тест залишається чудовим методом першого етапу скринінгу на мутагенність, оскільки може бути виконаний достатньо швидко і з меншими витратами, ніж інші методи [7].

Приготування препаратів тканин риб для мікроядерного аналізу

Відбір тканин. Для цитологічного аналізу на наявність мікроядер придатні і зручні такі тканини риб: кров, печінка, селезінка, зябра, епітелій плавців (рис. 26.1). Першою відбирають кров. Шприцем, промитим 2%-им гепарином для запобігання згортанню, відбирають кров із серця риби (рис. 26.2). Краплину крові наносять на сухе, знежирене спиртом предметне скельце: покривне скельце, вужче за предметне, під гострим кутом підводять до краплини, дають їй розтектися вздовж його краю і тягнуть краплину за покривним скельцем (а не перед ним) по предметному скельцю до повного вичерпання краплини. Мазки повинні бути тонкі, вужчі за скельце і не доходити до його краю, мати жовтуватий колір і закінчуватися «щіточкою». Для цього краплина для мазка повинна бути

невеликою. Якщо на скельце потрапило забагато крові, можна покривне скельце підвести до краплини, зачекати доки вона розпливється вздовж ребра скельця і відступити пару міліметрів, знов приставити покривне скельце до предметного і зробити мазок (рис. 26.3). Після приготування мазків їх швидко висушують на повітрі доки не зникне вологий блиск. Мазки слід оберегати від мух, які їх швидко з'їдають. Для цього мазки, що сохнуть, можна накрити чашками Петрі, а сухі скласти мазками все-



26.1. Внутрішня будова кісткової риби (на прикладі окуня) [11]. 1 – зябра; 2 – серце; 3 – нирки; 4 – стравохід; 5 – жовчний міхур; 6 – печінка; 7 – пілоричні придатки; 8 – шлунок; 9 – селезінка; 10 – кишечник; 11 – плавальний міхур; 12 – статеві залози; 13 – анальний отвір; 14 – статевий отвір; 15 – сечовий отвір; 16 – сечовий міхур; 17 – сечоводи.

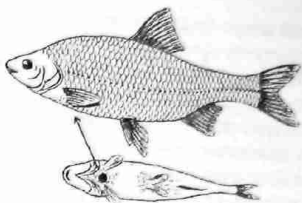
редину. Після висихання мазки фіксують [1].

Після відбору крові риб розтинають, розрізаючи гострими ножицями від анального отвору до голови, виймають внутрішні органи і розбирають. Печінка – найбільший з внутрішніх органів риби, має цегляно-червоний, або більш золотавий чи темний колір залежно від умов живлення риби, лежить уздовж кишечника, безпосередньо біля печінки розташований жовчний міхур, що в риби розміром 10 см сягає 0,5 см діаметру і може мати колір від золотавого до темно-зеленого. Уздовж хребта лежить довгастий парний орган темно-червоного кольору – нирки. До кишечника прилягає ще одна залоза – селезінка – невеликий, криваво-червоний орган у серозній оболонці. Уздовж червоного боку риби можуть лежати гонади – парний довгастий орган, залежно від того, самиця це чи самець, він буде чи не буде мати комірчасту структуру відповідно. У головному відділі за зябровими кришками знаходяться зябра. Їх виривають пінцетом, відокремлюють зяброву пелюстку. Після відокремлення шматочки тканини промивають у дистильованій воді для змивання слизу та крові, подрібнюють на шматочки близько 1 см³ (зябра дрібнити не треба) для кращого проникнення фіксатора і фіксують.

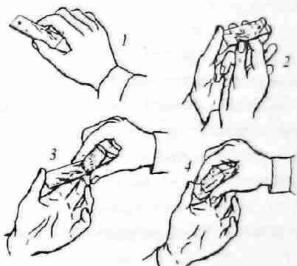
Крім того, можна використовувати для дослідження клітини зони регенерації плавців, що дозволить провести аналіз цінних екземплярів риб, не забуваючи їх. Для цього кайму плавців до кісток основних променів обрізають за допомогою гострих ножиців, промивають і фіксують [10, 13].

Фіксація тканин

Фіксація мазків крові риб. Фіксатором для мазків крові може бути один з наявних реактивів: хімічно чистий метиловий чи етиловий спирт, денатурова-



26.2. Місце та напрямок введення голки шприца для взяття крові з серця риби [2].



26.3. Техніка приготування мазка крові [6].

ний спирт, чи суміш Нікіфорова, що складається з рівної кількості етилового спирту та сірчанокислого ефіру. Найкращим фіксатором є метиловий спирт. Отже, висохлі на повітрі мазки крові складають попарно (мазками назовні), опускають пінцетом у склянки висотою 6–6,5 см, заповнені фіксатором. Між попарно складеними скельцями прокладають предметні скельця, що спираються на верхній край стакана ребром, щоб забезпечити вільний доступ фіксатора до намазаних сторін. Витримують мазки у метиловому спирті не менше 5 хв., а в етиловому спирті, денатурованому спирті чи суміші Нікіфорова не менше 30 хв. Після фіксації препарати виймають пінцетом і по одному ставлять на фільтрувальний папір вертикально. Після висихання препарати забарвлюють [1, 10].

Фіксація зябер. Деякі автори рекомендують зябра риб після промивки фіксувати 15 хв. у 45%-й холодній оцтовій кислоті. Оцтова кислота швидко проникає у тканину і не викликає її затвердіння. Після фіксації таким чином зябра прикладають до предметного скельця на якому залишається відбиток – клітини зяберного епітелію, і висушують [1, 10].

Фіксація інших тканин. Після відбору тканини переносять у холодний свіжо приготований фіксатор (суміш абсолютного етанолу та льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1 – оцтовий алкоголь) на 30 хв. після чого фіксатор замінюють на свіжий і тканини зберігають у ньому в холодильнику, ще через 30 хв. тканини вже можна фарбувати. Оцтова кислота у цьому фіксаторі може бути замінена на пропіонову у тому ж співвідношенні [1, 10].

Фарбування тканин

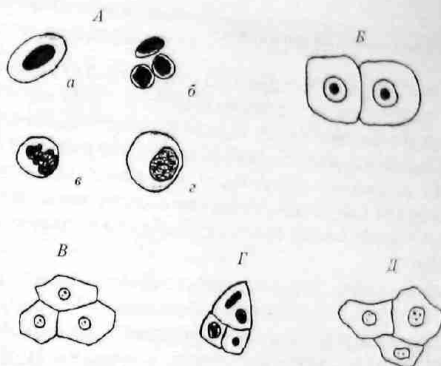
Фарбування мазків крові та відбитків зябер. Мазки забарвлюють фарбою Романовського (або барвник Гімза (Giemsa)). У продажу є готовий розчин барвника Романовського такого складу: азур II – 3 г; еозин водорозчинний жовтий – 0,8 г; метиловий спирт – 250 мл; гліцерин – 250 мл. Щойно отриманий розчин барвника перед застосуванням потрібно відтитрувати, тобто фарбувати декілька фіксованих мазків крові протягом 25–40 хв. барвником різного розведення (1–2 краплини барвника на 1 мл дистильованої води). На добре пофарбованому препараті зазначають необхідне розведення барвника і час фарбування.

Фіксовані мазки викладають на місток для фарбування, що являє собою скляні палички, покладені на протилежні краї кювети. Потім мазки заливають фарбою у розведенні, яке визначили титруванням. Фарбу наливають на мазок якомога більш високим шаром і забарвлюють залежно від визначеного титруванням часу і температури. Якщо температура у приміщенні низька чи є потреба у більш швидкому фарбуванні мазка, розведену фарбу можна підігріти до

60–70 °С (до кипіння доводити не можна). По закінченні фарбування фарбу змивають (проте не зливають) сильним струменем води і ставлять вертикально для просушування. Розведеною фарбою можна користуватися протягом лише одного дня [10, 12].

Фарбування печінки, селезінки, зябер, епітелію плавця. Для фарбування тканину подрібнюють на маленькі шматочки 0,5–1 мм³ у краплині профільтрованого оцтокарміну чи оцтоорсеїну у годин-

никовому скельці і залишають на 20–40 хв., промивають у 45%-му розчині оцтової кислоти, переносять на чисте знежирене предметне скельце (під яке кладуть декілька шарів фільтрувального паперу) і у краплині 45%-го розчину оцтової кислоти розривають ще на якомога менші шматочки, потім накривають покривним скельцем і легким натисканням на нього у суворо вертикальному напрямку роздавлюють шматочки тканини до стану забарвленої хмаринки. Після цього покривне скельце повинно прилигнути до предметного і досить щільно триматися. Під мікроскопом визначають, чи достатньо роздавленням є препарат (рис. 26.4), і якщо ні, то добиваються моношару клітин постукуючи по шматочках від центру до країв препарату щільним, проте не твердим предметом (наприклад, сірником). Якщо видавалося забагато рідини, то за допомогою голки її трохи підпускають під скельце. Після того, як препарат готовий, надлишок рідини вилучають з препарату фільтрувальним папером, а для запобігання висихання країв скельця обводять лаком для нігтів. Крім того роздавлювати тканини можна в краплині гліцерину. У ньому препарат не такий контрастний, проте він стає напівпостійним, покривне скельце добре прилипає до предметного, і те замазування лаком вже не потрібне, отже після аналізу препарату скельця можна легко відмити і використовувати повторно [10, 12].



26.4. Схема нормальних клітин тканин кісткових риб. (А – кров (а – еритроцит; б – тромбоцити; в – лімфоцит; з – базофіл); В – печінка; В – зябра; Г – селезінка; Д – епітелій плавця.

Приготування барвників

Оцетокармін. Розчиняють 1 г (краще 2–4 г) карміну – забарвлююча речовина, що складається з кармінової кислоти, – у 45 мл льодяної оцтової кислоти та 55 мл дистильованої води. Розчиняють його у колбі зі зворотнім холодильником на водяному огрівачі близько 3 год. При відсутності зворотного холодильника у колбу вставляють ліжку. Після вистигання темно-червоний розчин карміну фільтрують і зберігають у посудині з притертим корком. Для роботи його розливають у крапельниці. Залишки карміну на фільтрі можна використовувати повторно.

Оцетоорсеїн. Готують орсеїн з орсеїна – барвної основи природної фарби, що отримують з лишайників. Розчиняють 1–2 г орсеїну у 45 мл гарячої оцтової кислоти і додають 55 мл дистильованої води, кип'ятять на водяному огрівачі протягом 3 год., дають вистигнути, фільтрують. Потім можна додати 1 н. HCl (на 9 частин барвника 1 частина кислоти). Перед кожним використанням фільтрують.

Барвник Романовського-Гімза. Азур II – 3 г; еозин водорозчинний жовтий – 0,8 г; метиловий спирт – 250 мл; гліцерин – 250 мл. Суху частину барвника розчиняють у чистому метиловому спирті (чи етиловому, але він гірший). Розчин залишають на 3–5 діб, часто збовтуючи для кращого розчинення. Потім додають гліцерин і знову залишають на 3–5 діб, періодично збовтуючи. Приготований таким чином барвник добре зберігається тривалий час у темних бутлях у шафі, де немає кислот чи лугів, без збовтування. Перед забарвленням свіжий барвник титрують на декількох мазках крові (визначають найкращий час та найкраще розведення за найкраще забарвленим препаратом – приблизно це 20–25 хвилини та 1, 2 та 3 краплини барвника на 1 мл дистильованої води). Готовий розчин барвника Романовського є у продажу [10, 12].

Обчислення та оцінка результатів

У цитологічних препаратах досліджуваних тканин підраховують під мікроскопом при збільшенні $\times 400$ чи $\times 1000$ від 1000 до 3000 клітин, серед яких визначають кількість клітин з мікроядрами. Цю кількість зазвичай виражають у проміле:

$$МЯ = \frac{Сп}{Мп} \cdot 1000 \%, \quad (1)$$

де *МЯ* – середня кількість мікроядер на 1000 клітин; *Сп* – загальна кількість проглянутих клітин, *Мп* – кількість клітин з мікроядром.

Кількість $МЯ$ добре описується розподілом Пуассона, що зазвичай використовують для вирішення задач розрахунку відносно рідких, випадкових, взаємно незалежних подій в одиниці часу чи простору. Розподіл Пуассона повністю характеризується параметром «середнє значення», яке одночасно для нього є й дисперсією. 95%-й довірчий інтервал для середнього значення розподілу Пуассона можна знайти приблизно за формулою (2) і користуючись таблицею 26.1 [5]:

$$\left(\frac{196}{2} - \sqrt{МЯ}\right)^2 \leq МЯ \leq \left(\frac{196}{2} + \sqrt{МЯ+1}\right)^2. \quad (2)$$

Порівняти два середніх значення $МЯ_1$ та $МЯ_2$ (при $МЯ_1 > МЯ_2$) можна за допомогою критерію Фішера за співвідношенням, користуючись таблицею 26.2 [4]:

$$F = \frac{МЯ_1}{МЯ_2 + 1}, \quad (3)$$

для якого число ступенів свободи дорівнює: $\nu_2 = 2(МЯ_2 + 1)$, $\nu_1 = 2МЯ_1$.

Середні вважаються нерівними, якщо F дорівнює чи більше за табличне значення (табл. 26.2). Слід зазначити, що таблиці F -критерію побудовані для односторонніх довірчих інтервалів.

Наприклад, на 3000 клітин у контролі була 1 клітина з мікроядром, а у досліді – 3. Значить середні $МЯ_1 = 1\%$, а $МЯ_2 = 0,33\%$. Отже, 95%-й довірчий інтервал для $МЯ_1$ за формулою (2) складає $0,0004 \leq МЯ_1 \leq 5,73\%$, а для $МЯ_2$ – $0,1681 \leq МЯ_2 \leq 4,5509\%$. Оцінімо, чи можна вважати середні нерівними. За формулою (3) знаходимо $F = 0,75$, та $\nu_2 = 2,66 \approx 3$, $\nu_1 = 2$, і за таблицею віднаходимо, що здобуте нами значення F -критерію значно менше за табличні значення 19,16. Отже, середні не можна вважати різними, тобто вони відрізняються не достовірно. Для цього прикладу дослідну кількість $МЯ$ можна вважати достовірно відмінною від контрольної тільки при $МЯ_{досл.} = 5\%$.

26.1. Довірчі 95%-і інтервали для середніх значень розподілу Пуассона

Сер.	Інтервал	Сер.	Інтервал	Сер.	Інтервал	Сер.	Інтервал
0	0	3,285	25	16,768	36,030	50	37,67 64,95
1	0,051	5,323	26	16,77	37,67	51	37,67 66,76
2	0,355	6,686	27	17,63	38,16	52	38,16 66,76
3	0,818	8,102	28	19,05	39,76	53	39,76 68,10
4	1,366	9,598	29	19,05	40,94	54	40,94 69,62
5	1,970	11,177	30	20,33	41,75	55	40,94 71,09
6	2,613	12,817	31	21,36	43,45	56	41,75 71,28
7	3,285	13,765	32	21,36	44,26	57	43,45 72,66
8	3,285	14,921	33	22,94	45,28	58	44,26 74,22
9	4,460	17,768	34	23,76	47,02	59	44,26 75,49
10	5,323	17,633	35	23,76	47,69	60	45,28 75,78
11	5,323	19,050	36	25,40	48,74	61	47,02 77,16
12	6,686	20,335	37	26,31	50,42	62	47,69 78,73
13	6,686	21,364	38	26,31	51,29	63	47,69 79,98
14	8,102	22,945	39	27,73	52,15	64	48,74 80,25
15	8,102	23,762	40	28,97	53,72	65	50,42 81,61
16	9,598	25,400	41	28,97	54,99	66	51,29 83,14
17	9,598	26,306	42	30,02	55,51	67	51,29 84,57
18	11,177	27,735	43	31,67	56,99	68	52,15 84,67
19	11,177	28,966	44	31,67	58,72	69	53,72 86,01
20	12,817	30,017	45	32,28	58,84	70	54,99 87,48
21	12,817	31,675	46	34,05	60,24	71	54,99 89,23
22	13,765	32,277	47	34,66	61,90	72	55,51 89,23
23	14,921	34,048	48	34,66	62,81	73	56,99 90,37
24	14,921	34,665	49	36,03	63,49	74	58,72 91,78
						99	79,98 120,36

26.2. Верхні довірчі границі F -розподілу для рівня значимості $P = 0,05$ (довірчого рівня $S=95\%$); v_1 – число ступенів свободи чисельника; v_2 – число ступенів свободи знаменника

$v_2 \backslash v_1$	1	2	3	4	5	6	8	12	16	24	50	∞
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	238,9	243,9	246,5	249,0	251,8	254,3
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,37	19,41	19,43	19,45	19,47	19,50
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,84	8,74	8,69	8,65	8,58	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,04	5,91	5,84	5,77	5,70	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,82	4,68	4,60	4,53	4,44	4,36
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,15	4,00	3,92	3,84	3,75	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,73	3,57	3,49	3,41	3,32	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,4	3,28	3,20	3,12	3,03	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,23	3,07	2,98	2,90	2,80	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,07	2,91	2,82	2,74	2,64	2,54
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	2,95	2,79	2,70	2,61	2,50	2,40
12	4,75	3,88	3,49	3,26	3,11	3,00	2,85	2,69	2,60	2,50	2,40	2,30
13	4,67	3,80	3,41	3,18	3,02	2,92	2,77	2,60	2,51	2,42	2,32	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,70	2,53	2,44	2,35	2,24	2,13
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,64	2,48	2,39	2,29	2,18	2,07
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,59	2,42	2,33	2,24	2,13	2,01
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,55	2,38	2,29	2,19	2,08	1,96
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,51	2,34	2,25	2,15	2,04	1,92
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,48	2,31	2,21	2,11	2,00	1,88
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,45	2,28	2,18	2,08	1,96	1,84
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,42	2,25	2,15	2,05	1,93	1,81
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,40	2,23	2,13	2,03	1,91	1,78
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,38	2,20	2,11	2,00	1,88	1,76
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,36	2,18	2,09	1,98	1,86	1,73
25	4,24	3,38	2,99	2,76	2,60	2,49	2,34	2,16	2,07	1,96	1,84	1,71
26	4,22	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,32	2,15	2,05	1,95	1,82	1,69

n_1	1	2	3	4	5	6	8	12	16	24	50	∞
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,30	2,13	2,03	1,93	1,80	1,67
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,44	2,29	2,12	2,02	1,91	1,78	1,65
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,54	2,43	2,28	2,10	2,00	1,90	1,77	1,64
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,27	2,09	1,99	1,89	1,76	1,62
35	4,12	3,26	2,87	2,64	2,48	2,37	2,22	2,04	1,94	1,83	1,70	1,57
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,18	2,00	1,90	1,79	1,66	1,51
50	4,03	3,18	2,79	2,56	2,40	2,29	2,13	1,95	1,85	1,74	1,60	1,44
60	4,00	3,15	2,76	2,52	2,37	2,25	2,10	1,92	1,81	1,70	1,56	1,39
70	3,98	3,13	2,74	2,50	2,35	2,23	2,07	1,89	1,79	1,67	1,53	1,35
80	3,96	3,11	2,72	2,49	2,33	2,21	2,06	1,88	1,77	1,65	1,51	1,32
90	3,95	3,10	2,71	2,47	2,32	2,20	2,04	1,86	1,76	1,64	1,49	1,30
100	3,94	3,09	2,70	2,46	2,30	2,19	2,03	1,85	1,75	1,63	1,48	1,28
125	3,92	3,07	2,68	2,44	2,29	2,17	2,01	1,83	1,72	1,60	1,45	1,25
150	3,90	3,06	2,66	2,43	2,27	2,16	2,00	1,82	1,71	1,59	1,44	1,22
200	3,89	3,04	2,65	2,42	2,26	2,14	1,98	1,80	1,69	1,57	1,42	1,19
300	3,87	3,03	2,64	2,41	2,25	2,13	1,97	1,79	1,68	1,55	1,39	1,15
400	3,86	3,02	2,63	2,40	2,24	2,12	1,96	1,78	1,67	1,54	1,38	1,13
500	3,86	3,01	2,62	2,39	2,23	2,11	1,96	1,77	1,66	1,54	1,38	1,11
1000	3,85	3,00	2,61	2,38	2,22	2,10	1,95	1,76	1,65	1,53	1,36	1,08
∞	3,84	2,99	2,60	2,37	2,21	2,09	1,94	1,75	1,64	1,52	1,35	1,00

Література

1. *Альтгаузен А. Я.* Лабораторные клинические исследования. – М.: Медгиз, 1951. – 408 с.
2. *Баклашова Т. А.* Ихтиология. – М.: Пищ. пром., 1980. – 320 с.
3. *Дубинин Н. П.* Мутагены среды и наследственность человека // Генетические последствия загрязнения окружающей среды. – М.: Наука, 1977. – С. 3–20.

4. *Зайцев Г. Н.* Математическая статистика в экспериментальной ботанике. – М.: Наука, 1984. – 424 с.
5. *Закс Л.* Статистическое оценивание. – М.: Статистика, 1976. – 598 с.
6. *Иванова Н. Т.* Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб). – М.: Легк. и пищ. пром-сть, 1982. – 184 с.
7. *Ильинских Н. Н., Новицкий В. В., Варгунова Н. И., Ильинских И. Н.* Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. – Томск: Изд-во Томского ун-та, 1991. – 272 с.
8. *Методика встановлення і використання екологічних нормативів якості поверхневих вод суші та естуаріїв України (проект) / Романенко В. Д., Жукинський В. М., Оксіюк О. П. та ін.* – К.: Віпол, 2001. – 47 с.
9. *Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями / Романенко В. Д., Жукинський В. М., Оксіюк О. П. та ін.* – К.: Символ-Т, 1998. – 28 с.
10. *Методы биологии развития / Отв. ред. Т. А. Детлаф.* – М.: Наука, 1974. – 619 с.
11. *Моисеев П. А., Вавилин А. С., Куранова И. И.* Ихтиология и рыбководство. – М.: Пищ. пром., 1975. – 280 с.
12. *Паушева З. П.* Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.
13. *Стойка Ю. О., Гаранько Н. М., Архитчук В. В.* Розробка прижиттєвого мікроядерного тесту на рибах // Наукові записки держ. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія, № 4 (15) Спец. випуск: Гідроекологія. – 2001. – С. 153–154.
14. *Al-Sabti, K.* Handbook of Genotoxic Effects and Fish Chromosomes. – ISBN 39, 61111 Ljubljana, Slovenia, 1991. – 230 p.
15. *Chemical Mutagens. Principles and methods for their detection / Hollander A. (ed.)* // New York, Plenum Press. – 1971. – v. 1, 2. – 380 p.
16. *De Serres F.* Evaluation of Genetic Risks of Environmental Chemicals // Ambio Spec. Report. – 1973. – 3, 23.
17. *Fundamentals of aquatic toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment / Ed. by Gary M. Rand.* – Ecological Services Inc. North Palm Beach, Florida, 1995. – 1125 p.
18. *Schmidt W.* The micronucleus test // Mutation Res. – 1975. – 31. – P. 9–15.
19. *Vogel F., Rohrborn L.* Chemical Mutagenesis in Mammals and Man. – Heidelberg, Springer-Verlag, 1970. – 447 p.

РОЗДІЛ III. ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ ГІДРОЕКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ПРИ КОМПЛЕКСНІЙ ОЦІНЦІ СТАНУ ПОВЕРХНЕВИХ ВОД

Підрозділ 1. Методологічні підходи до екологічної оцінки стану водних об'єктів

Необхідність пошуку способів комплексної оцінки стану водних екосистем, що зазнають впливу антропогенних чинників, була усвідомлена вітчизняними гідробіологами ще на початку 70-х років минулого століття. Про це свідчать, зокрема, відомі монографії, збірники та окремі публікації з цієї проблеми («Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов» под ред. Ф. Д. Мордунхай-Болтовского [12]; «Проблема оценки нормы и патологии состояния экосистем» В. Д. Федорова [25]; «Общие основы изучения водных экосистем» под ред. Г. Г. Винберга [18]; «Оценка и индикация состояния водных экосистем в условиях антропогенного воздействия» А. С. Константинова [9]; «Экологическая оценка воздействия гидротехнического строительства на водные объекты» В. Д. Романенко, О. П. Окснюк, В. Н. Жукинского и др. [23]; «Гидробиологический мониторинг поверхностных вод» В. А. Абакумова [1]; «Проблемы комплексной оценки качества природных вод (экологические аспекты)» В. Н. Максимова [10]), та ін.

Об'єктивна узагальнююча оцінка екологічного стану поверхневих водних об'єктів різного типу є справою настільки ж складною, наскільки необхідною і нагальною. Складність пошуку надійного шляху комплексної узагальнюючої оцінки екологічного стану водних об'єктів полягає в тому, що йдеться про кількісну характеристику цілісних водних екосистем, багатокomпонентна структурно-функціональна організація яких важко піддається будь-якій формалізації.

Найбільш точно і повне уявлення про екологічний стан водних об'єктів може дати лише достатньо обґрунтована кількісна оцінка найважливіших компонентів біотичної та абіотичної складових їх екосистем. Звідси випливає необхідність мати надійну критеріальну базу для об'єктивної оцінки стану угруповань біоти, водних мас і донних відкладів за кількісними і якісними характе-

ристиками. При цьому важливо розуміти, що загальний стан водних екосистем визначається як константними або ж порівняно постійними параметрами водних об'єктів (тип, площа, глибина, проточність, рівневий режим), так і вельми мінливими характеристиками водних мас і живого населення водойм і водотоків. Для розв'язання повсякденних завдань водного та рибного господарств і природоохорони мінливі характеристики часто є важливішими, ніж константи і порівняно постійні.

На сьогодні найбільш важливим нормативним документом, який регламентує оцінку екологічного стану водних об'єктів різного типу, є Директива 2000/60/ЄС Європейського парламенту і Ради Європи [27] щодо упорядкування діяльності співтовариства в галузі водного господарства.

У Директиві містяться принципи положення і схеми характеристики біотичних і абіотичних компонентів цілісних екосистем поверхневих водних об'єктів різного типу: природних (річок, естуаріїв, прибережних морських ділянок), а також штучних (наприклад, канали різного призначення, технічні водойми) і сильно змінених (наприклад, водосховища, каналізовані річки, опріснені морські лагуни) водойм і водотоків. З метою стандартизованої характеристики екологічного стану водних об'єктів і їх порівняння між собою для кожного типу встановлені обов'язкові показники основних угруповань гідробіонтів, а також гідроморфологічних параметрів і фізико-хімічних інгредієнтів. Для оцінки екологічного стану (status) водних об'єктів різного типу запропонована п'ятирівнева класифікація природних та екологічного потенціалу штучних і сильно змінених водних об'єктів: високий (high), гарний (good), посередній, або задовільний (moderate), убогий, або незадовільний (poor) і поганий (bad).

Прийнятій Директивою 2000/60/ЄС положення і схеми мають дві важливі особливості. Перша полягає в тому, що запропонована класифікація екологічного стану різнотипних водних об'єктів є лише принциповою схемою визначення їх реального стану в країнах-членах ЄС, оскільки вона не містить критеріїв якості, тобто кількісних значень показників цього стану: біологічних, фізико-хімічних і гідроморфологічних. Передбачається, що кожна держава-член ЄС забезпечує поділ шкали з п'яти рангових класів екологічного стану за кількісними значеннями показників. Межі між класами мають встановлюватися шляхом інтеркалібрації, з урахуванням екологічних умов у басейнах окремих річок чи озерних систем і на основі міждержавної кооперації в транс-кордонних водах.

Другою важливою особливістю прийнятої класифікації екологічного стану водних об'єктів є те, що кількісні значення біологічних показників є переважно

відносними, а не абсолютними величинами. Це пов'язано з тим, що класифікація побудована на реєстрації відхилень під впливом антропогенних чинників величин якісного і кількісного складу угруповань, які спостерігаються на середніх і нижчих рівнях екологічного стану, від таких на найвищому рівні екологічного стану, якому відповідають оптимальні гідроморфологічні параметри і фізико-хімічні інгредієнти. Окремі угруповання гідробіонтів і гідробіоценозів у цілому, які віднесені до найвищого рівня екологічного стану (першого класу якості) і забезпечені оптимальними гідроморфологічними і фізико-хімічними умовами існування, вважаються зразковими, еталонними. Гідроморфологічні і фізико-хімічні характеристики умов існування біологічних компонентів підпорядковані оцінці стану останніх і відповідно класифікуються, тобто біотична складова у визначенні стану водних екосистем є вирішальною [24, 27, 28].

Директивою 2000/60/ЄС передбачається, що реалізація її основних положень, зокрема щодо організації і проведення гідроекологічного моніторингу та цільових програм оздоровлення водних об'єктів і підвищення їх екологічного стану, має здійснюватися за принципом річкових басейнів. Досягнення «гарного» екологічного стану водних об'єктів можна забезпечити лише на основі гідроекологічного моніторингу усього річкового басейну за умов організації на ньому мережі еталонних створів. До категорії останніх можуть бути віднесені лише не порушені антропогенним впливом ділянки річок з еталонними характеристиками біологічних, фізико-хімічних і гідроморфологічних «елементів якості» водних екосистем. Рівні екологічного стану на всіх інших ділянках басейну річок порівнюють з такими на еталонних створах і відповідно класифікують. Таким чином, основним положенням гідроекологічного моніторингу поверхневих вод з визначенням екологічного стану окремих ділянок річкових басейнів є оцінка ступеня порушення водних екосистем порівняно з еталонними характеристиками біотичних і абіотичних компонентів.

Таким чином, методологічною основою Директиви 2000/60/ЄС є концепція порівняння (компаративної оцінки) гідробіоценозів та умов їх існування, які класифікуються як еталонні, оптимальні і мають найвищий екологічний стан, з відповідними біотичними і абіотичними характеристиками водних екосистем, які мають нижчий статус, тобто гірший стан. Порівняння здійснюється на основі визначення ступеня порушення екологічного благополуччя під впливом антропогенних чинників за особливостями і силою відхилень від еталонних зразків.

Враховуючи реалії сучасності, Директива 2000/60/ЄС націонале держави-члени ЄС на забезпечення «гарного» екологічного стану водних екосистем («good status»), а не майже недосяжного найвищого рівня їх екологічного благо-

получчя – «високого» стану («high status»), адекватного тому природному екологічному стану водних об'єктів, який існував чи може існувати за відсутності чи незначного впливу людської діяльності.

З огляду на сказане вище, пошук і кількісна характеристика «еталонних», «срязкових» гідробіоценозів, існування яких забезпечується оптимальними параметрами їх біотопів, є досить складною і відповідальною науковою справою і потребують цілеспрямованих досліджень.

Такий підхід вимагає охоплення спостереженнями і розробку методик оцінки всіх найголовніших угруповань біоти водних екосистем, їх основних гідрохімічних інгредієнтів, а також гідроморфологічних параметрів, включно з константними (площа, глибина, водообмін, витрати води тощо). Для здійснення такої багатосторонньої оцінки необхідні надійна методологічна основа і арсенал адекватних методів. Достатньо широкий арсенал апробованих методів, представлений у цьому збірнику, дозволяє одержувати надійну багато-профільну інформацію.

Що ж до способів оцінки і використання одержаної за допомогою наведених методів інформації, то необхідно спиратися на вже відомі і перевірені практикою класифікації стану окремих компонентів біотичної і характеристик абіотичної складових водних екосистем; на деякі новітні нормативні документи України з охорони поверхневих вод; на модернізовані (стосовно України) нормативні документи колишнього СРСР та на інші можливості об'єктивної оцінки стану водних екосистем України.

Підрозділ 2. Методики комплексної екологічної оцінки стану поверхневих водних об'єктів України

Класифікації та оцінка стану водних екосистем за рівнем розвитку основних угруповань біоти

Фахівцями Інституту гідробіології НАН України [6, 19, 20] запропонована методика для характеристики водних об'єктів України за гідробіологічними критеріями – величинами кількісних показників фітопланктону, зоопланктону, бактеріопланктону [19], фітомікробенту, макрофітів, зообентосу, зоопланктону, зоофітосу [20]. Діапазони мінливості величин кількісних характеристик цих угруповань поділені на дев'ять градацій – від гранично низьких до практично високих, яким приблизно відповідали дев'ять розрядів (п'ять класів) трофності – від оліготрофних до гіпертрофних. Запропонований розподіл градацій величин виконаний експертним шляхом і ґрунтується на великому науко-

вому досвіді фахівців. Ця методика, апробована на водних об'єктах України, може бути покладена в основу їх характеристики за рівнем розвитку угруповань гідробіонтів і оцінки трофності водних об'єктів.

Класифікація континентальних водних об'єктів України за показниками розвитку угруповань планктонних організмів представлена в таблиці I. Найважливішими з показників для класифікації, є біомаса фітопланктону, біомаса зоопланктону, загальна чисельність бактеріопланктону і чисельність сапрофітних бактерій, оскільки ці характеристики найбільш адекватно відображають переважачі класи трофності водних об'єктів. Чисельність фітопланктону і зоопланктону в цьому відношенні є менш надійним показником, проте вона необхідна для оцінки розвитку планктонних угруповань.

Класифікацію континентальних водних об'єктів України за характеристиками розвитку угруповань донних організмів, а також перифітону і зоофітосу наведено в таблиці II. Макрофіти тут представлені макроскопічними водоростями і вищими водяними рослинами. Рівень розвитку макрофітів є важливою характеристикою екологічного стану водних об'єктів. Проте встановлення відповідності рівнів розвитку макрофітів за величинами їх фітомаси і ступенем заростання водних об'єктів певним класам їх трофності не є коректним. Трапляються ситуації, коли рівень трофності водних об'єктів за умов збільшення рівня їх заростання не підвищується, а навпаки, знижується внаслідок дистрофікації. Серед показників розвитку зообентосу в умовах України найчастіше корелює зі шкалою трофності водних екосистем біомаса таких донних безхребетних тварин, як олігохети і хірономіди.

Розглянуті класифікації стану екосистем поверхневих водних об'єктів за кількісними характеристиками планктону, бентосу, перифітону і зоофітосу дозволяють безпосередньо оцінювати рівень розвитку цих угруповань біоти, а також ступінь трофності відповідних водних об'єктів – в певний відрізок вегетаційного періоду (сезон, місяць, декада) щорічно або через певні інтервали років з метою виконання гідроecологічного моніторингу. Ці класифікації дозволяють також використовувати чисельні ретроспективні дані. На підставі багаторічних матеріалів можна віднайти, зареєструвати і докладно охарактеризувати в якісному і кількісному вираженні ті рівні розвитку угруповань гідробіонтів, що за цілком конкретних абіотичних умов (параметри яких реєструватимуться) виявляться об'єктивно найкращими (оптимальними). Таким чином можна наблизитися до з'ясування наявності «елітних» гідробіоцелів і біотопів у кожній з досліджуваних водних екосистем і визначити їх кількісні характеристики.

1. Характеристика водних об'єктів України за гідробіологічними показниками. Планктон (за: О. П. Оксюк та ін. [19])

Градаций величин	Фітопланктон				Зоопланктон		Бактеріопланктон			Категорії трофічності (переважаючий тип)		
	Біомаса, мг/лм ³	чисельність, тис. кл/лм ³		хлорофл a, мкг/лм ³	вагова первинна продукція, мг О ₂ /лм ³ за добу	біомаса, г/м ³	чисельність, тис. екз/лм ³	загальна чисельність, млн. кл/см ³	загальна біомаса, мг/лм ³	чисельність сапробних бактерій, тис. кл/см ³	розряди	класи
		змішаний склад	домінуювання синьо-зелених водоростей									
1. Гранично низька	<0,1	≤20	> 100	<3	<0,2	<0,1	<1	<0,3	<0,25	<0,1	Оліготрофна	Оліготрофна
2. Дуже низька	0,1–0,5	20–50	100–500	3–7	0,2–0,3	0,1–0,3	1–5	0,3–0,5	0,25–0,50	0,1–0,5	Оліго-мезотрофна	Оліготрофна
3. Низька	0,6–1,0	60–100	510–1000	8–12	0,4–0,6	0,4–1,0	6–50	0,6–1,5	0,51–0,75	0,6–1,0	Мезотрофна	Мезотрофна
4. Нижча за середню	1,1–2,0	110–500	1010–5000	13–20	0,7–1,0	1,1–5,0	51–250	1,6–2,5	0,76–1,50	1,1–3,0	Мезо-евтрофна	Мезо-евтрофна
5. Середня	2,1–5,1	510–1000	5010–10000	21–40	1,1–3,0	5,1–10,0	251–500	2,6–5,0	1,51–2,50	3,1–5,0	Евтрофна	Евтрофна
6. Вища за середню	5,1–10,0	1010–5000	10010–50000	41–75	3,1–5,0	10,1–20,0	501–1000	5,1–7,0	2,51–5,00	5,1–7,0	Ев-політрофна	Ев-політрофна
7. Висока	10,1–50,0	5010–10000	50010–100000	76–150	5,1–7,5	20,1–30,0	1001–2500	7,1–10,0	5,01–8,00	7,1–10,0	Політрофна	Політрофна
8. Дуже висока	50,1–100,0	10010–50000	100010–500000	151–250	7,6–10,0	30,1–50,0	2501–5000	10,1–20,0	8,01–10,00	10,1–100,0	Полі-гіпертрофна	Гіпертрофна
9. Гранично висока	>100,0	>50000	>500000	>250	≥ 10,0	≥50,0	>5000	>20,0	≥ 10,00	> 100,0	Гіпертрофна	Гіпертрофна

II. Характеристика водних об'єктів України за гідробіологічними показниками.

Градаций величин	Мікрофітобентос		Мікрофітоперіфитон		Макрофіти ^{1) 2)}		
	біомаса, мг/10 см ²	чисельність, млн. кл/10 см ²	біомаса, мг/10 см ²	чисельність, млн. кл/10 см ²	біомаса, фітомаса, кг/м ²	ступінь заростання	
						в цілому стосовно водного об'єкта, %	в зоні заростання, %
1. Гранично низька	<0,05	<0,05	<0,1	<0,1	<0,05	<1	<2
2. Дуже низька	0,05–0,10	0,05–0,10	0,1–0,5	0,1–0,5	0,05–0,10	1–2	2–5
3. Низька	0,11–0,25	0,11–0,25	0,6–1,0	0,6–1,0	0,11–0,25	3–5	6–10
4. Нижча за середню	0,26–1,00	0,26–1,00	1,1–5,0	1,1–5,0	0,26–0,50	6–10	11–20
5. Середня	1,01–5,00	1,01–5,00	5,1–25,0	5,1–25,0	0,51–1,00	11–20	21–40
6. Вища за середню	5,01–25,00	5,01–25,00	25,1–50,0	25,1–50,0	1,01–2,50	21–30	41–50
7. Висока	25,01–50,00	25,01–50,00	50,1–100,0	50,1–200,0	2,51–5,00	31–40	51–70
8. Дуже висока	50,01–100,00	50,01–100,00	100,1–300,0	200,1–500,0	5,01–10,00	41–60	71–90
9. Гранично висока	> 100,00	> 100,00	> 300,00	> 500,00	> 10,00	61–100	91–100

1) Показники, градаций величин яких не відповідають категоріям трофності.

2) Макрофіти включають макрофітобентос (в тому числі зелені нитчасті водорості) та вищі водні рослини. Показником для перших є біомаса, для других – фітомаса, в сирій масі.

Класифікація та оцінка екологічного стану водних об'єктів за якістю води

Якість води, як у фокусі, відображає всю складність водних екосистем, їх абіотичних і біотичних компонентів. Вона є результатом функціонування водних екосистем, в першу чергу біоти. В той же час вода водотоків і водойм є єдиним можливим середовищем життя водяних рослин і тварин [15, 21]. З огляду на це, а також на наявність розробленої в Україні сучасної «Методики екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями» [13], кот-

Бентос, перифітон, зоофітон (за: О. П. Окснюк та ін. [20])

Зообентос				Зооперифітон		Зоофітон ¹⁾		Категорії трофічності (переважаючий тип)	
біомаса, г/м ²			чисельність (загальна), тис. екз/м ²	біомаса, г/м ²	чисельність, тис. екз/м ²	біомаса ¹⁾ , г/м ²	чисельність, екз/м ²	розряд	класи
загальна	без моллюсків («м'який»)	олігохет і хірономид							
<1,5	<1,5	<0,1	<0,2	<0,1	<0,5	<5	<0,10	Оліготрофна	Оліготрофна
1,5-5,0	1,5-3,0	0,1-0,2	0,2-0,5	0,1-0,3	0,5-2,0	5-10	0,10-0,25	Оліго-мезотрофна	Оліготрофна
5,1-15,0	3,1-7,5	0,3-0,6	0,6-1,0	0,4-1,0	2,1-3,0	11-50	0,26-0,50	Мезотрофна	Мезотрофна
15,1-50,0	7,6-15,0	0,7-1,5	1,1-2,0	1,1-5,0	3,1-10,0	51-100	0,51-1,00	Мезо-евтрофна	Мезотрофна
50,1-150,0	15,1-25,0	1,6-3,0	2,1-5,0	5,1-30,0	10,1-30,0	101-250	1,01-2,50	Евтрофна	Евтрофна
151,1-300,0	25,1-50,0	3,1-7,5	5,1-10,0	30,1-100,0	30,1-50,0	251-500	2,51-5,00	Ев-політрофна	Евтрофна
300,1-1000,0	50,1-75,0	7,6-15,0	10,1-20,0	100,1-500,0	50,1-110,0	501-1000	5,01-10,00	Політрофна	Політрофна
1000,1-3000,0	75,1-150,0	15,1-25,0	20,1-40,0	500,1-3000,0	110,1-300,0	1001-2000	10,01-50,00	Полі-гіпертрофна	Гіпертрофна
>3000,0	>150,0	>25	>40,0	>3000,0	>300,0	>2000	>50,0	Гіпертрофна	Гіпертрофна

ра містить систему екологічних класифікацій поверхневих вод суші та естуаріїв, найдоцільніше екологічний стан поверхневих вод визначати за даною методикою. Ця методика прийнята як чинний міжвідомчий нормативний документ і є обов'язковою для всіх відомств при організації та здійсненні державного моніторингу вод [5, 13].

Шість з восьми класифікацій якості поверхневих вод поділені на п'ять класів і сім підпорядкованих їм категорій. Дві класифікації (за критеріями мінералізації та іонного складу води) є дуже спеціалізованими, а тому побудовані за іншим принципом поділу на класи, категорії, групи і типи [13, 15, 22].

*Система екологічних класифікацій якості поверхневих вод суші та естуаріїв України
(за: «Методика екологічної оцінки...» [13])*

І. Група класифікацій за критеріями сольового складу

Класифікація якості поверхневих вод суші та естуаріїв за критерієм мінералізації

Клас якості вод	Прісні води – I		Солонуваті води – II			Солоні води – III	
	Гіпогалінні -1	Олігогалінні -2	β-мезогалінні -3	α-мезогалінні -4	Полігалінні -5	Еугалінні -6	Ультрагалінні -7
Величина мінералізації, г/дм ³ , ‰/100	<0,50		1,01–5,00	5,01–18,00	18,01–30,00	30,01–40,00	> 40,00

Класифікація якості поверхневих вод суші та естуаріїв за критеріями іонного складу*

Клас	Гідрокарбонатні (С)		Сульфатні (S)			Хлоридні (Cl)		
	Ca	Mg	Ca	Mg	Na	Ca	Mg	Na
Група	I, II, III		II, III, IV			I, II, III		
Тип	I, II, III		II, III, IV			II, III, IV		
	I, II, III		II, III, IV			I, II, III		

* Класифікація розроблена О. А. Альокінім (1948)

Класифікація якості прісних гіпо- та олігогалінних вод за критеріями забруднення компонентами сольового складу

Клас якості вод	I	II	III	IV	V		
Категорія якості вод	1	2	3	4	5	6	7
Показники, мг/дм ³							
Сума іонів	≤ 500	501-750	751-1000	1001-1250	1251-1500	1501-2000	>2000
Хлориди	≤ 20	21-30	31-75	76-150	151-200	201-300	>300
Сульфати	≤ 50	51-75	76-100	101-150	151-200	201-300	>300

Класифікація якості солонуватих β-мезогалінних вод за критеріями забруднення компонентами сольового складу

Клас якості вод	I	II	III	IV	V		
Категорія якості вод	1	2	3	4	5	6	7
Показники, мг/дм ³							
Сума іонів	1000-1500	1501-2000	2001-2500	2501-3000	3001-3500	3501-4000	>4000
Хлориди	≤ 200	201-400	401-600	601-800	801-1000	1001-1200	> 1200
Сульфати	≤ 400	401-800	801-900	901-1000	1001-1100	1101-1200	> 1200

II. Екологічна класифікація якості поверхневих вод суші та естуаріїв за трофо-сапробіологічними (еколого-санітарними) критеріями

Клас якості вод	I	II	III	IV	V		
Категорія якості вод	1	2	3	4	5	6	7
Показники							
<i>Гідрохімічні:</i>							
Прозорість, м	> 1,50 1,50	1,00– 1,50	0,65– 0,95	0,50– 0,60	0,35– 0,45	0,20– 0,30	< 0,20
Завислі речовини, мг/дм ³	< 5	5–10	11–20	21–30	31–50	51–100	> 100
<i>Гідрохімічні:</i>							
pH	6,9–7,0 7,1–7,5	6,7–6,8 7,6–7,9	6,5–6,6 8,0–8,1	6,3–6,4 8,2–8,3	6,1–6,2 8,4–8,5	5,9–6,0 8,6–8,7	< 5,9 > 8,7
Азот амонійний, мг N/дм ³	< 0,10	0,10–0,20	0,21–0,30	0,31–0,50	0,51–1,00	1,01–2,50	> 2,50
Азот нітритний, мг N/дм ³	< 0,002	0,002–0,005	0,006–0,010	0,011–0,020	0,021–0,050	0,051–0,100	> 0,100
Азот нітратний, мг N/дм ³	< 0,20	0,20–0,30	0,31–0,50	0,51–0,70	0,71–1,00	1,01–2,50	> 2,50
Фосфор фосфатів, мг P/дм ³	< 0,015	0,015–0,030	0,031–0,050	0,051–0,100	0,101–0,200	0,201–0,300	> 0,300
Розчинений кисень, мг O ₂ /дм ³	> 8,0	7,6–8,0	7,1–7,5	6,1–7,0	5,1–6,0	4,0–5,0	< 4,0
Насичення киснем, %	96–100 101–105	91–96 106–110	81–90 111–120	71–80 121–130	61–70 131–140	40–60 141–150	< 40 > 150

Клас якості вод	I	II	III	IV	V		
Категорія якості вод	1	2	3	4	5	6	7
Показники							
Перманганатна окисність, мг O ₂ /дм ³	<3,0	3,0-5,0	5,1-8,0	8,1-10,0	10,1-15,0	15,1-20,0	>20,0
Біхроматна окисність, мг O/дм ³	<9	9-15	16-25	26-30	31-40	41-60	>60
БСК ₅ , мг O ₂ /дм ³	<1,0	1,0-1,6	1,7-2,1	2,2-4,0	4,1-7,0	7,1-12,0	>12,0
Гідробіологічні:							
Біомаса фітопланктону, мг/дм ³	<0,5	0,5-1,0	1,1-2,0	2,1-5,0	5,1-10,0	10,1-50,0	>50,0
Індекс самоочищення-самозабруднення (A/R)	1,0	0,9 1,1	0,8 1,2	0,7 1,3-1,5	0,6 1,6-2,0	0,5 2,1-2,5	<0,5 >2,5
Бактеріологічні:							
Чисельність бактеріопланктону, млн. кол/см ³	<0,5	0,5-1,5	1,6-2,5	2,6-5,0	5,1-7,0	7,1-10,0	>10,0

		II		III		IV	V
		1	2	3	4	5	6
		1	2	3	4	5	6
Клас якості вод							
Категорія якості вод							
Показники							
Чисельність сапрофітних бактерій, тис. кл/см ³	<1,0	1,0-3,0	3,1-5,0	5,1-10,0	10,1-25,0	25,1-100,0	> 100,0
<i>Біоіндикація сапробності (індекси сапробності):</i>							
за Пантлє-Букком	<1,0	1,0-1,5	1,6-2,0	2,1-2,5	2,6-3,0	3,1-3,5	>3,5
за Гуднайтом-Уїтлєс	1-20	21-45	46-60	61-70	71-80	81-90	91-100
Сапробність	Олігосапробні		β-мезосапробні		α-мезосапробні		Полісапробні
	β-олігосапробні	α-олігосапробні	β'-мезосапробні	β''-мезосапробні	α'-мезосапробні	α''-мезосапробні	Полісапробні
	Оліготрофні		Мезотрофні		Евтрофні		Гіпертрофні
	Оліготрофні	Мезотрофні	Мезо-евтрофні	Ев-політрофні		Політрофні	Гіпертрофні
Трофність (переважуючий тип)	Оліготрофні	Мезотрофні	Мезо-евтрофні	Евтрофні	Ев-політрофні	Політрофні	Гіпертрофні

III. Група класифікацій за критеріями вмісту специфічних речовин токсичної і радіаційної дії та за рівнем токсичності

Екологічна класифікація якості поверхневих вод суші та естуаріїв за критеріями вмісту специфічних речовин токсичної дії

Клас якості вод	I		II		III		IV	V
	1	2	3	4	5	6	7	
Категорія якості вод								
Показники, мкг/дм ³								
Ртуть	<0,02	0,02-0,05	0,06-0,20	0,21-0,50	0,51-1,00	1,01-2,50	>2,50	
Кадмій	<0,1	0,1	0,2	0,3-0,5	0,6-1,5	1,6-5,0	>5,0	
Мідь	<1	1	2	3-10	11-25	26-50	>50	
Цинк	<10	10-15	16-20	21-50	51-100	101-200	>200	
Свинець	<2	2-5	6-10	11-20	21-50	51-100	>100	
Хром (загальний)	<2	2-3	4-5	6-10	11-25	26-50	>50	
Нікель	<1	1-5	6-10	11-20	21-50	51-100	>100	
Миш'як	<1	1-3	4-5	6-15	16-25	26-35	>35	
Залізо (загальне)	<50	50-75	76-100	101-500	501-1000	1001-2500	>2500	
Марганець	<10	10-25	26-50	51-100	101-500	501-1250	>1250	
Фториди	<100	100-125	126-150	151-200	201-500	501-1000	>1000	
Цянді	0	1-5	6-10	10-25	26-50	51-100	>100	
Нафтопродукти	<10	10-25	26-50	51-100	101-200	201-300	>300	
Феноли (леткі)	0	<1	1	2	3-5	6-20	>20	
СПАР	0	<10	10-20	21-50	51-100	101-250	>250	

Екологічна класифікація якості прісних гіпо- та олігогаліних і солодуватих β-мезогаліних вод за рівнем токсичності

Клас якості вод	I		II		III		IV	V
	Категорія якості вод		2	3	4	5	6	7
Токсичний ефект	1		2	3	4	5	6	7
Смертність <i>Daphnia magna</i> Str., <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lill. та інших тест-об'єктів протягом 48 та 24 годин біотестування, % [2]*	Смертність відсутня		Смертність менша 10 % протягом 48-годинної експозиції	Смертність відсутня або менша 10 % протягом 48-годинної експозиції	Смертність відсутня або менша 10 % протягом 48-годинної експозиції	Смертність відсутня або менша 10 % протягом 48-годинної експозиції	Смертність дорівнює 50% і більше протягом 48-годинної експозиції	Смертність дорівнює 50% і більше протягом 24-годинної експозиції
Смертність <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lill. протягом 48 год., одиниці гострої летальної токсичності**	Відсутня		Відсутня	Відсутня	Відсутня	Відсутня	I	> I
Біохімічне споживання кисню бактеріями протягом однієї доби (БСК ₁) за методом Кньоппа, % (Метод определения..., 1983 [11])	0		0	< 10,0	10,0-30,0	31,0-50,0	51,0-70,0	> 70,0

Клас якості вод	I	II	III	IV	V
Категорія якості вод	1	2	3	4	5
Токсичний ефект					
Вживання або плодучість <i>Seriodaphnia affinis</i> Lill. протягом 7-10 діб біотестування, одиницях хронічної токсичності ***	<1	1	1	2	4
				8	>8

* У розробці цієї класифікації брала участь А. М. Крайнюкова (УкрНДІЕП). ** Одиниця гострої летальної токсичності – це кратність розбавлення води, при якій гине 50% і більше особин тест-об'єкту (КНД 211.1.4.055-97) [7]. *** Одиниця хронічної токсичності – це найбільше значення мінімальної кратності розбавлення води, в якій хронічна токсичність не виявляється (КНД 211.1.4.056-97) [8].

Екологічна класифікація якості поверхневих вод суші та естуаріїв за критеріями вмісту специфічних показників радіаційної дії, Бк/дм³

Клас якості вод	I	II	III	IV	V
Категорія якості вод	1	2	3	4	5
Показники, Бк/дм ³					
Сумарна β-активність	< 0,163	0,163-0,206	0,207-0,279	0,280-0,390	0,391-5,550
⁹⁰ Sr	< 0,023	0,023-0,028	0,029-0,036	0,037-0,111	0,112-1,43
¹³⁷ Cs	< 0,0044	0,0044-0,0095	0,0096-0,0185	0,0186-0,185	0,186-5,55
					5,560-9,99
					1,44-3,33
					5,56-55,5
					> 9,99
					> 3,33
					> 55,5

Класи та категорії якості поверхневих вод суші та естуаріїв України за екологічною класифікацією

Клас якості вод	I		II		III		IV	V
	1	2	3	4	5	6	7	
Категорія якості вод	I	2	3	4	5	6	7	
Назва класів і категорій якості вод за їх станом	Відмінні	Добрі	Добрі	Заловільні	Погані	Дуже погані	Дуже погані	
	Відмінні	Дуже добрі	Добрі	Заловільні	Посередні	Погані	Дуже погані	
Назва класів і категорій якості вод за ступенем їх чистоти (забрудненості)	Дуже чисті	Чисті	Чисті	Забруднені	Брудні	Дуже брудні	Дуже брудні	
	Дуже чисті	Чисті	Досить чисті	Слабко забруднені	Помірно забруднені	Брудні	Дуже брудні	
Трофність (переважуючий тип)	Оліготрофні	Мезотрофні	Мезотрофні	Евтрофні	Політрофні	Гіпертрофні	Гіпертрофні	
	Оліготрофні олиго-мезотрофні	Мезотрофні	Мезо-евтрофні	Евтрофні	Ев-політрофні	Політрофні	Гіпертрофні	
Сапробність	Олігосапробні		β-мезосапробні		α-мезосапробні		Полісапробні	
	β-олігосапробні	α-олігосапробні	β'-мезосапробні	β''-мезосапробні	α'-мезосапробні	α''-мезосапробні	Полісапробні	

Класифікація водних об'єктів України за морфометричними і гідрологічними параметрами

Для класифікації водних екосистем за категоріями і класами, які об'єктивно відображають фізико-хімічні, морфометричні і режимні характеристики відповідних їм поверхневих об'єктів, тобто за переважно константними і відносно мінливими параметрами абіотичної складової екосистеми, доцільно скористатися стандартом колишнього СРСР «Охрана природи. Гидросфера. Класифікація водних объектов. – ГОСТ 17.1.1.02 – 77» [3], скоротивши його за рахунок вилучення характеристик підземних вод і льодовиків. Загальна класифікація водних об'єктів, прийнята для реалій України, наведена в таблиці 1.

Відмінності між водотоками за основними характеристиками гідрологічного режиму в період низького стоку зазначені в таблиці 2.

Розмір водотоків та їх водність наведені в таблиці 3.

Припускають, що площа водозбору для досліджуваної ділянки водотоку – це вся площа водозбору впритул до створу, який замикає цю ділянку. Для каналу цією категорією є – середні багаторічні витрати води за період низького стоку.

Гирлові ділянки річок класифікуються за загальними ознаками (табл. 4). У багаторукавній дельті кількість рукавів перевищує п'ять, а в малорукавній – менша за п'ять, при безрукавній дельті ріка впадає в море одним руслом.

Відмінності між гирловими ділянками річок за основними характеристиками гідрологічного режиму в маловодну фазу стоку представлені в таблиці 5.

Основні морфометричні характеристики водойм наведені в таблиці 6.

При розробці водоохоронних заходів для ділянок річок, розташованих нижче каскаду водосховищ або ставів, категорію і розряд водосховищ чи ставів визначають за їх сумарними морфометричними характеристиками. Для водосховищ визначають загальну площу поверхні і об'єм.

З основними параметра гідрологічного режиму водойм, які впливають на кількість і якість водими, знайомить таблиця 7. Коливання рівня води в озерах і водосховищах багаторічного регулювання визначають за різницею між найбільшими і найменшими його величинами, які спостерігаються за багаторічний період в озерах і в середній за водністю рік у водосховищах, а у водосховищах сезонного, тижневого і добового регулювання – за різницею рівнів щорічного спрацювання.

Припускають, що тривалість льодоставу для даної водойми або території (для невивчених водойм) – це середня кількість днів льодоставу за багаторічний період, а температура води – середня з добових величин за літній період середнього за кліматичними умовами року.

1. Загальна класифікація водних об'єктів України

Тип	Вид
Водоток	Річка, канал, рівчак (струмок)
Водойма	Озеро, водосховище, став
Море	Внутрішнє, територіальне

2. Класифікація водотоків за гідрологічним режимом

Градация	Швидкість течії		Колитвання рівня		Температура води	
	категорії	значення, м	категорії	значення, м	категорії	значення, °С
1	Мала	До 0,2	Велике	Понад 2	Висока	Понад 15
2	Середня	0,2-10,0	Середнє	Від 1 до 2	Середня	Від 10 до 15
3	Велика	Понад 10,0	Мале	До 1	Низька	До 10

3. Класифікація водотоків за розміром і водністю

Градация	Категорії	Площа водозбору, км ²	Витрати води, м ³ /с
1	Великий	Понад 50000	Понад 100
2	Середній	Від 2000 до 50000	Від 5 до 100
3	Малий	До 2000	До 5

4. Класифікація гирлових ділянок річок

Градації	Характер гирлової ділянки річки	Характер гирлового узмор'я		Довжина гирлової ділянки		Переважаючий режим
		за глибиною	за відособленістю від моря	категорії	значення, км	
1	Багаторукавна дельта	Глибоке	Відкрите	Велика	Понад 200	Стоковий
2	Малорукавна дельта	Мілке	Закрите	Середня	Від 50 до 200	Припливно-відпливний
3	Безрукавне гирло	–	Естуарій, лиман	Мала	До 50	Згібно-нагінний

5. Класифікація гирлових ділянок річок за гідрологічним режимом

Градації	Витрати води		Швидкість течії		Температура води	
	категорії	значення, м ³ /с	категорії	значення, м/с	категорії	значення, °С
1	Великі	Понад 100	Мала	До 0,2	Висока	Понад 15
2	Середні	Від 5 до 100	Середня	Від 0,2 до 1,0	Середня	Від 10 до 15
3	Малі	До 5	Велика	Понад 1,0	Низька	До 10

6. Класифікація водойм за морфометричними параметрами

Градації	Площа поверхні		Об'єм		Максимальна глибина	
	категорії	значення, км ²	категорії	значення, км ³	категорії	значення, м
1	Дуже велика	Понад 1000	Дуже великий	Понад 10,0	Велика	Понад 50
2	Велика	Від 101 до 1000	Великий	Від 1,1 до 10,0	Середня	Від 11 до 50
3	Середня	Від 10 до 100	Середній	Від 0,5 до 1,0	Мала	Від 5 до 10
4	Мала	До 10	Малий	До 0,5	Дуже мала	До 5

7. Класифікація водам за гідрологічним режимом

Градуси	Коливання рівня		Температура води		Тривалість льодоставу	
	категорії	значення, м	категорії	значення, ЕС	категорії	значення, місяці
1	Велике	Понад 20	Висока	Понад 25	Тривалий	Понад 5
2	—	—	Середня	Від 20 до 25	Середній	Від 2 до 5
3	Середнє	Від 3 до 20	Низька	До 20	Короткий	До 2
4	—	—	—	—	—	—
5	Мале	До 3	—	—	—	—

8. Класифікація водам за умовами водообміну

Градуси	Стратифікація	Вертикальна циркуляція		Характер озера	Характер регулювання стоку водосховища	Водообмін	
		категорії	значення, раз на рік			категорії	значення, раз на рік
1	Стратифікована	Слабка	До 2	Нестічне	Багаторічне	Повільний	До 0,1
2	Не стратифікована	Помірна	2	Стічне	Сезонне	Помірний	Від 0,1 до 5,0
3	—	Інтенсивна	Понад 2	Проточне	Тижневе, добове	Інтенсивний	Понад 5,0

Класифікація водойм за умовами водообміну з урахуванням характеру переміщення і зміни водних мас представлена в таблиці 8.

Припускають, що величиною водообміну озера є відношення середнього притоку води в озеро до його об'єму, а водообмін водосховища – відношення об'єму стоку води через гідровузол в середній за водністю рік до повного його об'єму.

Вертикальна циркуляція вважається інтенсивною при вертикальному переміщенні вод більше ніж два рази на рік.

Оцінка стану водних екосистем за характеристиками донних відкладів

Донні відклади є невід'ємним компонентом водних екосистем і одним з найважливіших чинників процесу формування якості води. За рівнем і характером забруднення донних відкладів специфічними речовинами токсичної та радіаційної дії можна скласти об'єктивне уявлення про загальний стан водних екосистем, які зазнають впливу техногенних факторів. Донні відклади накопичують неорганічні й органічні забруднюючі речовини, в тому числі радіоактивні, які за певних умов стають джерелом вторинного забруднення води.

А. М. Никаноров та А. В. Жулідов [16] склали таблицю, в якій наведено концентрації (мг/кг маси сухої речовини) шістдесяті одного елемента в донних відкладах прісноводних екосистем, стан яких близький до фонового, тобто вони мало спотворені антропогенним впливом. Таку таблицю фонових концентрацій неорганічних речовин у донних відкладах континентальних водних об'єктів можна розглядати як основу для розробки класифікації забруднення донних відкладів, водойм і водотоків неорганічними речовинами.

Актуальними є створення і узагальнення класифікації і нормативних документів з оцінки стану донних відкладів поверхневих водних об'єктів стосовно складу і вмісту в них неорганічних і органічних речовин, зокрема токсичної дії. Перші такі нормативні документи регіонального значення були розроблені і затверджені в двох провінціях Канади – Онтаріо і Квебек. Обидва нормативи були застосовані канадськими експертами при дослідженні водних об'єктів у Європі, зокрема на словацькій ділянці Дунаю в 1991 р при вирішенні проблеми гідроконкомпексу «Габчиково» і на українській ділянці басейну Дніпра в 1994 р. під час першої українсько-канадської екологічної експедиції.

Типізацію донних відкладів внутрішніх водних об'єктів України розробив Б. І. Новіков [4, 17] на прикладі дніпровських водосховищ. Він виділив чотири основні типи донних відкладів, які розрізняються гранулометричним складом: пісок, пісок замулений, мул піщаний, мул глинистий. Донні відклади цих чотирьох типів мають різні сорбційні властивості, що важливо з екологічних по-

зцій. Вміст органічних речовин, біогенних елементів, мікроелементів збільшується від піску до мулу [4, 17].

Від фізичних властивостей донних відкладів залежить розподіл організмів фіто- і зообентосу.

Ступінь забруднення донних відкладів специфічними неорганічними і органічними речовинами оцінюють за рівнем токсичності водних витяжок з них для кожного типу донних відкладів окремо, тобто диференційовано, а не загальною. Водні витяжки з донних відкладів різного типу, забруднених специфічними неорганічними і органічними речовинами токсичної дії, одержують за «Методикою одержання водних витяжок з донних відкладів для їх біотестування» [26]. Рівень токсичності водних витяжок з донних відкладів різного типу (пісок, пісок замулений, мул піщаний, мул глинистий) визначається за «Методикою екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями» [13].

Токсичність водних витяжок з донних відкладів різного типу, вочевидь, відрізняється. Найімовірніше, що одиниць гострої і особливо хронічної токсичності за стандартних умов біотестування з *Ceriodaphnia affinis* Lill. виявиться більше при оцінці токсичного забруднення мулів глинистого і піщаного порівняно з піском чистим і замуленим. Без урахування типу донних відкладів екологічна оцінка їх стану в поверхневих водних об'єктах не може вважатися коректною.

Форми подання результатів комплексної оцінки стану поверхневих вод

Одержані результати оцінки стану водних об'єктів доцільно подавати в лаконічній формі резюме в такій послідовності: біота за всіма угрупованнями; якість води за всіма компонентами; морфометричні і гідрологічні характеристики водних об'єктів, а також характеристика донних відкладів і ступінь їх забруднення. Змістом лаконічного запису може бути кількісна і вербальна характеристика.

Результати екологічної оцінки стану поверхневих вод України можуть бути картографовані і забарвлені відповідно до оригінальної методики [14].

Література

1. Абакумов В. А. Гидробиологический мониторинг поверхностных вод // Гидро-биол. журн. – 1991. – 27, № 3. – С. 3–8.

2. Брагинский Л. П. Некоторые принципы классификации пресноводных экосистем по уровням токсической загрязненности // Гидробиол. журн. – 1985. – 21, № 6. – С. 65–74.
3. ГОСТ 17.1.1.02–77. Охрана природы. Гидросфера. Классификация водных объектов. – М.: Госстандарт СССР, 1977. – 19 с.
4. Денисова А. И., Тимченко В. М., Нахшина Е. П. и др. Гидрология и гидрохимия Днепра и его водохранилищ. Грунтовый комплекс водохранилищ. – Киев: Наук. думка, 1989. – С. 59–91.
5. Єдине міжвідомче керівництво по організації та здійсненню державного моніторингу вод. – К.: Мінекоресурсів України, 2001. – 55 с.
6. Жукинский В. Н., Оксіюк О. П., Цеев Я. Я., Георгиевский В. Б. Проект унифицированной системы для характеристики континентальных водоёмов и водотоков и её применение для анализа качества вод // Научные основы контроля качества вод по гидробиологическим показателям – Л.: Гидрометеиздат, 1977. – С. 43–53.
7. Керівний нормативний документ Мінекобезпеки України – КНД 211.1.4.055-97. «Визначення гострої летальної токсичності води на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Методика».
8. Керівний нормативний документ Мінекобезпеки України – КНД 211.1.4.056-97. «Визначення хронічної токсичності води на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Методика».
9. Константинов А. С. Оценка и индикация состояния водных экосистем в условиях антропогенного воздействия // Тр. Всесоюз. конф. – Л.: Гидрометеиздат, 1981. – С. 75–89.
10. Максимов В. Н. Проблемы комплексной оценки качества природных вод (экологические аспекты) // Гидробиол. журн. – 1991. – 27, № 8. – С. 8–13.
11. Метод определения влияния токсичности на скорость ассимиляции и десимиляции (А-Z-тест по Кнёппу) // Унифицированные методы исследования качества вод. – Методы биологического анализа вод. Часть 3. – М.: Изд. СЭВ, 1983. – С. 168–180.
12. Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов / Под ред. Ф. Д. Мордухай-Болтовского. – М.: Наука, 1975. – 240 с.
13. Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями / В. Д. Романенко, В. М. Жукинський, О. П. Оксіюк та ін. – К.: Сим-вол-Т, 1998. – 28 с.
14. Методика картографування екологічного стану поверхневих вод України за якістю води / Л. Г. Руденко, В. П. Разов, В. М. Жукинський та ін. – К.: Сим-вол-Т, 1998. – 43 с.
15. Методика встановлення і використання екологічних нормативів якості поверхневих вод суші та естуарій України / В. Д. Романенко, В. М. Жукинський, О. П. Оксіюк та ін. – К.: ВІПОЛ, 2001. – 48 с.

16. *Никаноров А. М., Жулидов А. В.* Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах. – Л.: Гидрометеониздат, 1991. – 312 с.
17. *Новиков Б. И.* Донные отложения днепровских водохранилищ. – Киев: Наук. думка, 1986. – 170 с.
18. *Общие основы изучения водных экосистем / Под редакцией Г. Г. Винберга.* – Л.: Наука, 1979. – 273 с.
19. *Оксюк О. П., Жданова Г. А., Гусынская С. Л., Головки Т. В.* Оценка состояния водных объектов Украины по гидробиологическим показателям. 1. Планктон // Гидробиол. журн. – 1994. – 30, № 3. – С. 26–31.
20. *Оксюк О. П., Зимбалева Л. Н., Протасов А. А. и др.* Оценка состояния водных объектов Украины по гидробиологическим показателям. Бентос, перифитон и зоофитос // Гидробиол. журн. – 1994. – 30, № 4. – С. 31–35.
21. *Оксюк О. П., Жукинський В. Н., Брагинський Л. П. и др.* Комплексная экологическая классификация качества поверхностных вод суши // Гидробиол. журн. – 1999. – 29, № 4. – С. 62–72.
22. *Оксюк О. П., Жукинський В. М., Лаврик В. І., Чернявська А. П.* Методики екологічної оцінки та нормування якості поверхневих вод України // Екологія довкілля та безпека життєдіяльності. – 2003. – № 3. – С. 18–28.
23. *Романенко В. Д., Оксюк О. П., Жукинський В. Н. и др.* Экологическая оценка воздействия гидротехнического строительства на водные объекты. – Киев: Наук. думка, 1990. – 256 с.
24. *Семенченко В. П.* Принципы и системы биоиндикации текущих вод. – Минск: Орех, 2004. – 124 с.
25. *Федоров В. Д.* Проблемы оценки нормы и патологии состояния экосистем // Научные основы контроля качества поверхностных вод по гидробиологическим показателям. – Л.: Гидрометеониздат, 1977. – С. 6–12.
26. *Щербань Э. П., Арсан О. М., Шаповал Т. Н. и др.* Методика получения водных вытяжек из донных отложений для их биотестирования // Гидробиол. журн. – 1994. – 30, № 4. – С. 100–111.
27. *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy // Official Journal of the European Communities.* – L 327, 22.12.2000. – 72 p.
28. *Overall approach to the classification of ecological status and ecological potential.* – ECOSTAT, 27 November 2003. – 47 p.

Зміст¹

Методи гідроекологічних досліджень та їх застосування для комплексної екологічної оцінки стану поверхневих вод (В. Д. Романенко)	3
РОЗДІЛ I. Методи визначення характеристик головних угруповань гідробіонтів водних екосистем	8
1. Фітопланктон (В. І. Щербак).	8
1.1. Методи відбору та опрацювання проб	8
1.2. Визначення первинної продукції фітопланктону і деструкції органічних речовин	12
1.3. Оцінка різноманітності фітопланктону	23
1.4. Оцінка стану водних об'єктів за рівнем розвитку фітопланктону	25
2. Фітомікробентос (В. І. Щербак)	28
2.1. Методи відбору та опрацювання проб	28
2.2. Визначення первинної продукції фітомікробентосу	30
2.3. Оцінка стану водних об'єктів за рівнем розвитку фітомікробентосу	32
3. Епіфітні угруповання водоростей (О. А. Давидов)	33
3.1. Методи відбору та опрацювання проб	35
3.2. Визначення чисельності та біомаси	38
4. Макрофіти (Т. М. Дьяченко)	38
4.1. Загальна характеристика, основні терміни	42
4.2. Визначення видового складу і структури рослинних угруповань	44
4.3. Визначення характеру заростання і розподілу рослинності	46
4.4. Визначення ценотичного складу водної рослинності	48
4.5. Визначення фітомаси і продукції рослинних угруповань	53
4.6. Оцінка стану екосистем водних об'єктів за структурно-функціональними характеристиками макрофітів	59
5. Бактеріопланктон і бактеріобентос (В. М. Якушин, Г. М. Олійник)	

¹ В дужках наведені прізвища авторів та упорядників.

5.1. Бактеріопланктон	59
5.1.1. Мікроскопічний облік загальної чисельності бактерій у воді	59
5.1.1.1. Відбір, транспортування та підготовка проб води для мікробіологічного аналізу (В. М. Якушин).	60
5.1.1.2. Підрахунок бактерій на фільтрах з фарбуванням еритрозином (В. М. Якушин)	62
5.1.1.3. Визначення загальної чисельності бактерій у воді при забарвленні акридиноранжем (Г. М. Олійник)	63
5.1.1.4. Визначення загальної чисельності бактерій у воді при забарвленні 4,6-діамідино-2-фенілоїндолом (DAPI) (Г. М. Олійник).	65
5.1.2. Визначення чисельності сапрофітних бактерій (В. М. Якушин).	66
5.1.2.1. Відбір, транспортування та підготовка проб води до аналізу	67
5.1.2.2. Проведення аналізу	69
5.1.3. Визначення біомаси бактерій (В. М. Якушин, Г. М. Олійник)	71
5.1.4. Оцінка трофності водних об'єктів за рівнем розвитку бактеріопланктону (В. М. Якушин).	74
5.2. Бактеріобентос	76
5.2.1. Відбір проб донних відкладів для мікробіологічного аналізу (В. М. Якушин)	76
5.2.2. Обробка проб донних відкладів та визначення чисельності бактеріобентосу (В. М. Якушин, Г. М. Олійник)	76
5.2.3. Визначення чисельності сапрофітних бактерій (В. М. Якушин)	79
5.2.4. Загальні зауваження до визначення чисельності бактерій в донних відкладах (В. М. Якушин)	80
5.3. Визначення метаболічно активних бактерій у воді і донних відкладах водойм (Г. М. Олійник)	81
5.3.1. Визначення кількості клітин, які містять недеградований нуклеоїд	81
5.3.2. Визначення стану цитоплазматичної мембрани бактерій	82
5.3.3. Визначення клітин бактерій з активним транспортом електронів	83
6. Зоопланктон (О. В. Пащикова)	85

6.1. Методи та знаряддя польового збору матеріалу	85
6.2. Методи, прилади та знаряддя лабораторного опрацювання проб	89
6.3. Оцінка стану водних екосистем за структурними характеристиками зоопланктону	
7. Макрозообентос (<i>А. В. Ляшенко</i>)	93
7.1. Методи та знаряддя відбору проб	101
7.2. Методи фіксації та опрацювання проб	102
7.3. Оцінка стану водних об'єктів за структурними характеристиками макрозообентосу	104
8. Зооперифітон (<i>О. О. Протасов, А. А. Силаєва</i>).	108
8.1. Загальна характеристика	119
8.2. Етапи і методи дослідження	119
8.3. Визначення маси деяких гідробіонтів за розміром	121
8.4. Визначення споживання кисню організмами перифітону	127
8.5. Оцінка трофності водних об'єктів за рівнем розвитку зооперифітону	127
9. Паразитичні організми біоти водних екосистем (<i>В. І. Юришинець</i>)	133
9.1. Метод пошуку цист патогенних найпростіших та яєць і личинок гельмінтів у воді	136
9.2. Дослідження молюсків на наявність партеногенетичних поколінь та церкарій трематод	141
9.3. Методи іхтіопаразитологічних досліджень	143
9.4. Дослідження ракоподібних на зараженість личинками гельмінтів	149
9.5. Висновок	152
10. Риби (нектон) (<i>М. Ю. Євтушенко, П. Г. Шевченко</i>)	156
10.1. Вступ	157
10.2. Термінологія	160
10.3. Відбір проб і фіксація риби	160
10.3.1. Основні типи відбору проб	161
10.3.2. Фіксація риби	163
10.4. Знаряддя лову для відбору іхтіологічних проб	163
10.4.1. Промислові знаряддя лову	163
10.4.2. Контрольні знаряддя лову	169
10.5. Методи дослідження риби	169
10.5.1. Дослідження риби у польових умовах	180
10.5.2. Дослідження риби у лабораторних умовах	

РОЗДІЛ II. Методи визначення характеристик основних абіотичних компонентів водних екосистем	194
Підрозділ I. Водні маси	194
II. Гідрологічні та гідрофізичні характеристики	194
11.1. Вимірювання рівнів води у водних об'єктах (В. М. Тімченко).	194
11.2. Вимірювання швидкості течії у водотоках (В. М. Тімченко).	205
11.3. Вимірювання витрат води на водотоках (В. М. Тімченко).	209
11.4. Спостереження за вітровим хвилюванням (В. М. Тімченко).	211
11.5. Оцінка температурного режиму водних об'єктів (В. М. Тімченко).	212
11.6. Визначення вмісту завислих у воді речовин (П. М. Линник).	214
11.7. Визначення фракційного складу завислих у воді речовин (В. М. Тімченко).	215
11.8. Визначення показників опромінення природних вод сонячним світлом (В. М. Тімченко).	220
11.9. Визначення прозорості води (П. М. Линник).	223
12. Загальні гідрохімічні характеристики	225
12.1. Визначення загальної мінералізації (суми іонів) (П. М. Линник).	225
12.2. Визначення концентрації у воді хлорид-іонів (П. М. Линник).	226
12.3. Визначення концентрації у воді сульфат-іонів (П. М. Линник).	229
12.4. Визначення концентрації у воді гідрокарбонат-іонів (П. М. Линник).	232
12.5. Визначення концентрації у воді іонів Ca^{2+} (П. М. Линник).	233
12.6. Визначення концентрації у воді іонів Mg^{2+} (П. М. Линник).	235
12.7. Встановлення іонного складу води (П. М. Линник).	237
12.8. Визначення концентрації водневих іонів (рН води) (П. М. Линник).	239
12.9. Визначення концентрації у воді амонійного азоту (П. М. Линник).	240
12.10. Визначення концентрації у воді нітритного азоту (П. М. Линник).	242
12.11. Визначення концентрації у воді нітратного азоту (П. М. Линник).	244
12.12. Визначення концентрації у воді фосфору фосфатів (П. М. Линник).	246
12.13. Визначення концентрації розчиненого у воді кисню (П. М. Линник).	248

12.14.	Визначення перманганатної окисності води (П. М. Линник)	252
12.15.	Визначення дихроматної окисності води (П. М. Линник)	252
12.16.	Визначення біохімічного споживання кисню (БСК) в природних водах (В. І. Щербак)	255
13.	Визначення вмісту у воді неорганічних речовин токсичної дії (П. М. Линник)	258
13.1.	Визначення концентрації у воді ртуті (меркурію)	261
13.2.	Визначення концентрації у воді цинку, кадмію, свинцю (плюмбуму) та міді (купрум) методом анодної інверсійної вольтамперометрії	261
13.3.	Визначення концентрації у воді хрому загального	263
13.4.	Хемільюмінесцентний метод визначення концентрації у воді хрому тривалентного Cr (III)	265
13.5.	Визначення концентрації у воді нікелю	267
13.6.	Визначення концентрації у воді миш'яку (арсену)	268
13.7.	Визначення концентрації у воді заліза (феруму) загального	270
13.8.	Визначення концентрації у воді марганцю (мангану) хемільюмінесцентним методом	272
13.9.	Визначення концентрації у воді фторид-іонів	275
14.	Визначення вмісту у воді органічних речовин токсичної дії (О. М. Арсан, Ю. М. Ситник, Т. М. Шаповал)	276
14.1.	Визначення вмісту нафтопродуктів у воді	279
14.2.	Визначення вмісту у воді летких фенолів	280
14.3.	Визначення вмісту у воді пестицидів	283
14.4.	Визначення вмісту пестицидів у рибі	285
14.5.	Визначення вмісту аніонних поверхнево-активних речовин (АПАР) з метиленовим блакитним у природних водах	286
15.	Екологічна оцінка якості води за специфічними показниками радіаційної дії (В. Г. Кленус)	290
	Підрозділ 2. Оцінка якості води за біологічними показниками	302
16.	Оцінка якості води за структурно-функціональними характеристиками фітопланктону (В. І. Щербак)	302
17.	Оцінка якості води за мікробіологічними показниками (В. М. Якушин)	305
	Підрозділ 3. Донні відклади	308
18.	Вивчення донних відкладів (В. М. Тімченко)	308
19.	Визначення вмісту деяких важких металів (Cr _{зар} , Mn, Fe _{зар} , Cd і Pb) у донних відкладах (П. М. Линник)	311
		405

20. Визначення вмісту нафтопродуктів і пестицидів у донних відкладах (О. М. Арсан, Ю. М. Ситник, Т. М. Шаповал)	316
20.1. Визначення вмісту нафтопродуктів у донних відкладах	316
20.2. Визначення вмісту пестицидів у донних відкладах	317
21. Визначення вмісту специфічних речовин радіаційної дії в гідробіонтах різного трофічного рівня (В. Г. Кленус)	319
22. Визначення вмісту специфічних речовин радіаційної дії у донних відкладах (В. Г. Кленус)	321
Підрозділ 4. Біоіндикація та біотестування води і донних відкладів	327
23. Тест А-Z за Кньопом для орієнтовного визначення токсичності води (Н. І. Курченко)	327
24. Біотестування токсичності води та витяжок донних відкладів за допомогою вищих рослин (Л. С. Кінніс, Ю. О. Стойка, І. М. Коновець)	332
25. Біотестування токсичності поверхневих вод та донних відкладів за допомогою гіллястовусих ракоподібних <i>Daphnia magna</i> Straus та <i>Ceriodaphnia affinis</i> Liljeborg (І. М. Коновець, Л. С. Кінніс)	340
26. Визначення цитогенотоксичності води та витяжок донних відкладів за допомогою риб (Ю. О. Стойка, Л. С. Кінніс, І. М. Коновець)	365
РОЗДІЛ III. Використання методів гідроекологічних досліджень при комплексній оцінці стану поверхневих вод (В. М. Жукинський)	376
Підрозділ 1. Методологічні підходи до екологічної оцінки стану водних об'єктів	376
Підрозділ 2. Методики комплексної екологічної оцінки стану поверхневих водних об'єктів України	379
Зміст	401

Наукове видання

Національна академія наук України

Інститут гідробіології

О. М. Арсан, О. А. Давидов, Т. М. Дьяченко, М. Ю. Євтушенко,
В. М. Жукинський, Н. І. Кирпенко, Л. С. Кіпніс, В. Г. Кленус, І. М. Коновець,
П. М. Линник, А. В. Ляшенко, Г. М. Олійник, О. В. Пашкова, О. О. Протасов,
А. А. Силаєва, Ю. М. Ситник, Ю. О. Стойка, В. М. Тімченко, Т. М. Шаповал,
П. Г. Шевченко, В. І. Щербак, В. І. Юришинець, В. М. Якушин

МЕТОДИ ГІДРОЕКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ПОВЕРХНЕВИХ ВОД

За редакцією академіка НАН України В. Д. Романенка

Комп'ютерна верстка та макетування *В. Г. Домашлинець*
Технічний редактор *Л. І. Калініна*

Підп. до друку 03.07.2006. Формат 70×90 1/16. Папір. офс.
Гарнітура "Таймс". Друк. офс. Ум. друк. арк. 29,84. Обл.-вид. арк. 30,4.
Наклад 500 прим. Зам. 6-142.

Віддруковано з оригіналів автора у видавництві "ЛОГОС"
Свідоцтво ДК № 201 від 27.09.2000 р.
01030, Київ-30, вул. Богдана Хмельницького, 10, тел. 235-60-03.

Віддруковано у книжковій друкарні ТОВ «Бізнесполіграф»
Україна, 04080, м. Київ, вул. Вікентія Хвойки, 15/15