

ЗАТВЕРДЖЕНО  
Наказ Міністерства освіти і науки,  
молоді та спорту України  
29 березня 2012 року №384

Форма № Н-9.02

Львівський національний університет ветеринарної медицини  
та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Факультет харчових технологій та біотехнологій

(повна назва факультету)

Кафедра біотехнологій та радіології

(повна назва кафедри)

## КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА на здобуття освітнього ступеня бакалавра

на тему: “Екобіотехнологічний моніторинг водних екосистем  
шляхом біоіндикації та біотестування”

Виконала: студентка 4 курсу, групи 1  
спеціальності

162 «Біотехнологія та біоінженерія»


Гоцанюк Агафія-Богдана Володимирівна  
(прізвище та ініціали)

Керівник: проф. Музика В. П.  
(прізвище та ініціали)

Рецензент: доц. Періг Д.П.  
(прізвище та ініціали)

Робота заслухана на засіданні кафедри біотехнологій та радіології і  
рекомендована до захисту в ДЕК, протокол №25 від 01.06. 2023 р.

Завідувач кафедри біотехнологій та радіології

 проф. Василь БУЦЯК

Львів – 2023

ЗАТВЕРДЖЕНО  
Наказ Міністерства освіти і  
науки, молоді та спорту України  
29 березня 2012 року № 384  
Форма № Н-9.01

Львівський національний університет ветеринарної медицини та  
біотехнологій імені С.З. Гжицького  
(повне найменування вищого навчального закладу)

Інститут, факультет, відділення факультет харчових технологій та  
біотехнологій

Кафедра, циклова комісія кафедра біотехнологій та радіології

Освітньо-кваліфікаційний рівень бакалавр

(шифр і назва)

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ  
завідувач кафедри, голова циклової  
комісії Буцяк В.І.  
“ 06 ” “ 02 ” 2023 року

## ЗАВДАННЯ НА БАКАЛАВРСЬКУ КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧУ

**Гоцанюк Агафії-Богдани Володимирівни**

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема бакалаврської роботи “Екобіотехнологічний моніторинг водних екосистем шляхом біоіндикації та біотестування”

Керівник бакалаврської роботи

**Музика В.П. професор.**

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом вищого навчального закладу від 06 01 2023 року №31-4

2. Строк подання бакалаврської роботи 10.05.2023 року







3. Вихідні дані до бакалаврської роботи

Вихідні матеріали до виконання роботи: моніторинг, токсичні речовини, критерії оцінки чутливості організмів, ефективність біотестування та біоіндикації, якість поверхневих вод, біотест-об'єкти, екологічного стану водних об'єктів, фітопланктон, вищі рослини, зоопланктон.

4. Зміст бакалаврської роботи (перелік питань, які потрібно розробити) вступ, огляд літератури, матеріал та методи досліджень, результати власних досліджень, висновки, список використаної літератури та додатки.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): графіки, діаграми, рисунки, технологічні схеми, технологічні лінії), рисунки: методи оцінки якісних показників води, якісні показники питної води, критерії токсичності водного середовища на прикладі дафній як тест-об'єкту, гіллястовуса ракоподібна дафнія, тест-об'єкти гідробіонтів, які використовують для дослідження якості води, динаміка чутливості досліджуваних тест-об'єктів до гострої летальної токсичності стічних вод, динаміка досліджуваних показників проростків цибулі звичайної залежно від концентрації  $\text{CuSO}_4$  у водному розчині, динаміка індексу токсичності змодельованого водного середовища. схеми: фактори довкілля, які сприяють евтрофікуванню поверхневих водних об'єктів. схема експериментальних досліджень та основні тест-об'єкти, структурна схема оцінювання екологічного стану водних об'єктів за параметрами фітопланктону.

6. Консультанти розділів бакалаврської роботи

Розділ	Консультант ПІБ, посада	Підпис, дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
1. Літературний огляд.	Музика В.П.		
2. Методика експерименту та основні методи досліджень.	Музика В.П.		
3. Експериментальна частина.	Музика В.П.		
5. Висновки	Музика В.П.		

7. Дата видачі завдання 06.02.2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів магістерської роботи	Термін виконання	примітка
1.	Літературний огляд.		
	I атестація:	10.04.23р.	30%
2.	Методика експерименту та основні методи досліджень.		20%
3.	Експериментальна частина.		35%
	II атестація:	20.04.23р.	55%
5.	Висновки		5%
	III атестація:	02.05.23р.	15%
	Допущено до захисту.	10.05.23р.	100%

Здобувач



Гоцанюк А.Б. В.

Керівник дипломної роботи



(підпис)

(прізвище та ініціали)

Музика В.П.

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	3
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Сучасний стан і перспективи застосування біоіндикації та біотестування	8
1.2. Теоретичні аспекти токсикологічного тестування водних розчинів на дафніях	11
1.3. Особливості проведення біотестування за використанням фітопланктону як тест-об'єкту	14
1.4. Особливості використання вищих водних рослин, як біоіндикаторів довкілля	15
РОЗДІЛ 2. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ	18
2.1. Вибір проб поверхневої води для аналізу та методів для біотестування та біоіндикації	18
2.2. Статистична обробка результатів експериментальних досліджень	25
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	26
3.1. Чутливість біоіндикаційних тест-об'єктів до хронічної токсичності поверхневих вод та гострої летальної токсичності стічних вод	26
3.2. Вища водна рослинність як тест-об'єкт оцінки токсичності водного середовища	31
3.3. Біоіндикація водних об'єктів за допомогою фітопланктону	37
ВИСНОВКИ	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	43
ДОДАТКИ	47

## АНОТАЦІЯ

Робота написана на 50 сторінках комп'ютерного тексту. Складається із 3-ох розділів, вступу, висновку, списку використаної літератури, що містить 33 джерела та додатків Містить 25 рисунків, 13 таблиць та 4 додатки.

**Ключові слова:** моніторинг, токсичні речовини, критерії оцінки чутливості організмів, ефективність біотестування та біоіндикації, якість поверхневих вод, біотест-об'єкти, екологічного стану водних об'єктів, фітопланктон, вищі рослини, зоопланктон.

У виконаній кваліфікаційній роботі “Екобіотехнологічний моніторинг водних екосистем шляхом біоіндикації та біотестування” розглянуті питання щодо сучасного стану і перспектив використання біоіндикації та біотестування, теоретичних аспектів дослідження якісних показників водних розчинів за використанням в якості біотест-об'єктів ракоподібних.

Опрацьована загальна методика щодо чутливості біоіндикаційних тест-об'єктів (ракоподібних, інфузорій фітопланктону та вищих водних рослин) до хронічної токсичності поверхневих вод та гострої летальної токсичності стічних вод.

За порівняльного аналізу індексів токсичності було встановлено, що за змодельованого забруднення солями сульфату Купруму цибуля звичайна є більш достовірним тест-об'єктом порівняно із салатом посівним. Оскільки індекс токсичності для цибулі звичайної вже за концентрації  $\text{CuSO}_4$  в розчині 5 ГДК перевищує за 50%, а для салату посівного навіть за концентрації  $\text{CuSO}_4$  в розчині 10 ГДК не перевищує 50%

**Об'єкт дослідження** – оцінка забруднення водних екосистем за використанням біотехнологічних методів дослідження.

**Предмет дослідження** – моніторинг забруднення водних екосистем шляхом використання біоіндикації та біотестування

**Мета роботи** – аналіз сучасних методів та технічних засобів контролю якісних показників водних екосистем та оцінювання екологічного стану водних об'єктів за використанням біоіндикаційних експрес-методів.

Для досягнення поставленої мети були визначені наступні завдання:

- опрацювати доступну інформацію щодо застосування біоіндикаційних експрес-методів для дослідження якості поверхневих вод;
- обґрунтувати доцільність та методичні підходи щодо досліджень теоретичного та експериментального спрямування;
- дослідити чутливість тест-організмів та їх ефективність як біоіндикаторів для дослідження якості поверхневих стічних вод;
- провести біоіндикаційну оцінку експериментальної моделі водного середовища у процесі забруднення його йонами  $\text{CuSO}_4$ ;
- оцінити екологічного стану водних об'єктів за допомогою фітопланктону.

**Актуальність теми.** Сьогодні, одним із важливих напрямів досліджень є дослідження, які стосуються екологічно безпечних умов проживання, харчування, праці та місця відпочинку. Тому необхідно постійно проводити моніторинг екологічних показників якості довкілля.

Такі дослідження постійно проводяться із залученням значної кількості висококваліфікованих працівників за використанням дорогої апаратури, які використовують фізико-хімічні методи. Ці дослідження часто вимагають значних затрат реактивів та часу до отримання результатів.

На відміну від фізико-хімічних методів, на даний час широко використовуються біоіндикаційні методи. Вони мають значні переваги над фізико-хімічними та іншими методами, однак мають також незначні

недоліки. Метод біоіндикації та біотестування є зручним у використанні не вимагає апаратного забезпечення та реактивів, є інформаційним, дає загальну характеристику про якісні показники досліджуваного об'єкту.

Тому, широке використання методів біоіндикації та біотестування для оцінки якісних показників природного навколишнього середовища, в тому числі й водних об'єктів є одним із актуальних і перспективних напрямів дослідження.

**Науковий внесок роботи.** Теоретично обґрунтовано та експериментально доведена доцільність для визначення рівня токсичності стічних вод – тест-об'єкт на основі ракоподібних як найбільш чутливому до дії хімічних речовин та дафніях завдяки швидкості досліджень та для якісної оцінки поверхневої та питної води – тест-об'єкт на основі ракоподібних церіодафніях та прісноводних інфузоріях.

**Практична цінність роботи** зводиться до того, що в процесі експериментальних досліджень були встановлені незначні кореляційні зв'язки між концентрацією забруднюючих речовин у воді (йонами Хлору та Феруму) та концентрацією фітопланктону. Біоіндикаційний експрес-метод дослідження якості стічних вод за використанням фітопланктону дозволяє суттєво скоротити кількість фізико-хімічних вимірювань.

## ВСТУП

В умовах зростання техногенного навантаження на довкілля є актуальними питання щодо постійного моніторингу якісних показників зовнішнього природного середовища, а особливо якості водних об'єктів і джерел постачання питної води. Використання якісної води для населення, побутових та промислових цілей в певній мірі залежить від постійного контролю її якості.

На даний час в арсеналі державних лабораторій, які досліджують якісні показники води знаходяться біологічні, фізико-хімічні та інші методи. Перелічені методи мають свої переваги та недоліки. Коли брати фізико-хімічні чи хіміко-аналітичні методи, то за допомогою їх можна визначити лише один із показників, який проявляє негативний вплив популяцію гідробіонтів.

Зрозуміло, що в умовах техногенного пресу в поверхневій воді надходить різноманітна кількість токсичних речовин, і по мірі їх накопичення (збільшення концентрації) через синергічні взаємодії між собою вони проявляти токсичний вплив на біоту. Тому використання вищезгаданих методів контролю не дає повної, об'єктивної оцінки щодо якісних показників як поверхневих, так й стічних вод.

Через це, все частіше використовують біологічні (біоіндикацію та біотестування) методи контролю, використання яких дозволить мати повну об'єктивно картину про якісні показники досліджуваного об'єкту. Коли за використанням біологічних методів, не виявлено токсичної дії на тест-об'єкт, тоді відпадає необхідність проводити фізико-хімічні дослідження, в даному випадку на водних об'єктах [1].

Технологія біотестування забруднення води зводиться до того, щоб використовувати як засіб контролю, перевірених (стандартних) тест-організмів. Біотестування – методичний підхід щодо впливу факторів зовнішнього середовища на біоту в цілому та окремі метаболічні процеси організму [2].



Метод біотестування та біоіндикації разом з технічними методами використовуються в наступних напрямках [3]:

1. дослідження якісних показників поверхневої та питної води і порівняння їх з регламентними якісними екологічними вимогами;
2. дослідження гострої та летальної токсичності поверхневих та стічних вод;
3. комплексне дослідження на токсичність скидів стічних вод у форс-мажорних аварійних обставинах;
4. дослідження ймовірних техногенних навантажень каналізаційних стічних на стадії проектування очисних споруд;
5. моніторинг якості стічних вод, які скидаються в очисні споруди для запобігання впливу підвищеної концентрації токсичних речовин на мікроценоз активного мулу;
6. щодо надання інформації відповідним державним службам для проведення екологічного моніторингу водних об'єктів як в екологічно безпечних, так й техногенно забруднених районах;
7. дослідження динаміки якісних показників водних екосистем та гідробіонтів, зокрема.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Сучасний стан і перспективи застосування біоіндикації та біотестування

Біоіндикація (оцінка середовища на реакцію живих організмів) та біотестування (використання тест-об'єктів для інтегральної токсичних факторів середовища) відносяться до біологічних методів дослідження реакції відповіді біологічних об'єктів на умови зовнішнього середовища (умови існування) [4]. Суть даних методів зводиться до контролю досліджуваного середовища існування порівняно із поведінковими реакціями біологічних об'єктів в умовно чистому середовищі, зокрема водному середовищі (табл.1.1).

Таблиця 1.1

Методи оцінки якісних показників води за А. М. Никаноровим та ін.

Ознака	Хімічні методи	Біологічні методи	
		Біоіндикація	Біотестування
Тип індикації	Індикація	Індикація	Індикація
Об'єкт аналізу	Вода	Водяні спільноти	Вода
Мета аналізу	Виміри концентрації хімічних речовин	Оцінка стану природних спільнот	Інтегральна оцінка токсичності на тест-організмах
Показники токсичності	Перевищення встановлених регламентів	Негативні зміни у спільнотах	Розвиток патологічних (аж до загибелі) змін у тест-об'єктів
Регламенти	Гранично допустима концентрація	Не встановлені	Відсутність гострої хронічної токсичної дії

Біологічні методи мають значні переваги порівняно з технічними методами дослідження якісних показників довкілля, а саме вони дають через пригнічення росту та розвитку біоти цілісну інформацію про комплексне

забруднення того чи іншого природного об'єкту (повітря, ґрунту, води). Однак цей метод має незначні недоліки порівняно із іншими технічними методами.

За використанням біологічного методу, дослідник не має можливості визначити кількісні показники складу природного об'єкту, наприклад, поверхневих чи стічних вод. Однак, за використанням біологічних методів, дослідник може оцінити загальний вплив середовища на біологічний об'єкт безпосередньо в час дослідження та оцінити прогнозовані наслідки на перспективу [5, 6].

Що стосується досліджень стосовно водного середовища, а саме питної води, то за різних методів дослідження можна провести наступну характеристику (рис.1.1):



Рис.1.1. Якісні показники питної води

- технічні методи із апаратурним забезпеченням та за використання хімічних реактивів дають можливість якісно і кількісно дослідити окремих, заздалегідь визначену, біогенну чи токсичну речовину. За використанням цих методів не можливо прогнозувати їх безпосередній вплив на аборигенну біоту в час дослідження та на віддалену перспективу;

- метод, що ґрунтується на органолептичних дослідженнях питної води дає змогу візуально оцінити обмежену кількість показників (запах,

прозорість, каламутність, смак, вмістом завислих домішок тощо), які не можуть слугувати показниками токсичного впливу її на організм споживача. Іноді, питна вода за візуальною оцінкою може відповідати I класу, а за дією на організм вона може проявляти токсичні властивості і навпаки;

- біологічний метод (біоіндикація та біотестування) дає можливість досліджувати комплексний вплив біотичних та токсичних речовин на ріст та розвиток гідробіонтів присутніх у водному середовищі. В процесі короткотривалого спостереження за інтенсивністю росту та розвитку гідробіонтів можна зробити висновок про якість досліджуваної води. Однак, за використанням цього методу не можливо встановити, які з токсичних речовин та в якій концентрації присутні у водному середовищі.

У дослідженнях поверхневих вод, а особливо, питної води на першому місці стоїть визначення її токсичності – негативного впливу, пригнічення росту і розвитку гідробіонтів у водному середовищі (табл. 1.2-1.3). Токсичність води, без використання біологічних методів аналізу дуже важко визначити іншими аналітичними методами.

Таблиця 1.2

Критерії токсичності водного середовища на прикладі дафній як тест-об'єкту  
(за Л. П. Брагинським)

<b>Критерій токсичності</b>	<b>Токсичність</b>
Миттєва загибель дафній (протягом 1–2 год)	Надзвичайна
Загибель 60–80 % дафній протягом доби	Висока
Загибель менше 50 % дафній протягом 48 год	Гостра
Загибель менше 50 % дафній протягом 48–96 год	Помірна
Загибель вища за 10 %	Слабка
Відсутність будь-яких порушень	Відсутня

Оскільки, кількість поллютантів зростає, навіть біогенні елементи в підвищеній концентрації також можуть бути токсичними, тому гідрохімічні показники не можуть бути використані як маркери токсичності водного

середовища. Тому, метод біотестування є основним методом, використання якого може дати всебічну, об'єктивну оцінку якості води на предмет її токсичності та можливих наслідків її використання [7, 8].

Таблиця 1.3

Критерії токсичності стічних вод

Клас токсичності	Характеристика стічної води за рівнем гострої летальної токсичності	Тривалість біотестування, год	Кількість загиблих дафній, %
1	Не виявляє гострої летальної токсичності	96	Менше 50
2	Слаботоксична	96	50 і більше
3	Помірно токсична	48	50 і більше
4	Середньотоксична	24	50 і більше
5	Високотоксична	6	50 і більше
6	Надзвичайно токсична	1	50 і більше

## 1.2. Теоретичні аспекти токсикологічного тестування водних розчинів на дафніях

Серед гіллястовусих раків рід *Daphnia*, який є поширеним компонентом зоопланктону внутрішніх водойм, заслуговує особливої уваги. Представники цього роду трапляються у водоймах різноманітного типу. Їх можна знайти в невеликих калюжах і у великих озерах. Вони часто домінують у зоопланктоні літнього періоду. Переважно дафнії тримаються у товщі води і населяють пелагіаль. Іноді вони скупчуються на дні водойм. Вони як природні фільтри відіграють важливу роль у процесах самоочищення гідроекосистем і їх трофодинаміці.

Ракоподібні дафнії, одні із найбільш чутливих, особливо новонароджені, гідробіонтів до токсичних речовин місця проживання, тобто водних об'єктів. Оптимальний ріст та розвиток гіллястовусих ракоподібних дафній є основним маркером щодо якості та безпечності питної води (рис.1.2).



Рис. 1.2. Гіллястовуса ракоподібна дафнія

Ракоподібні дафнії дуже чутливі до умов проживання, за даними Щербаня, небезпека для дафній відбувається через нагромадження завислих частинок у фільтрувальному апараті, на тілі та антенах, що в кінцевому результаті призводить до пригнічення живлення та смерті [9, 10]. Дані представники гідробіонтів добре піддаються культивуванню у лабораторних умовах упродовж року за кімнатної температури.

За поширеністю дафнії є одним із найбільш представленим класом зоопланктону. За характером живлення вони є фільтраторами, чутливими до дії токсичних речовин, легко вводяться в культуру, доволі стійкі в лабораторних умовах (при культивуванні *in vitro*), дають цілий комплекс тест-реакцій і мають короткий життєвий цикл. Як критерій токсичності середовища запропоновано використовувати різні еколого-фізіологічні тести їхньої поведінки, такі як іммобілізація, подразливість, частота серцевих скорочень, дихальний ритм, інтенсивність споживання кисню [11-12]. Відомо також, що дафнії через зяброві мембрани постійно виділяють у навколишнє середовище продукти метаболізму – екзометаболіти, поглинаючи при цьому кисень і поживні речовини.

Практика використання дафній в якості біотестів для визначення якісних показників поверхневої річкової та питної води використовується давно як загальноприйнятий метод [13, 15]. Цей метод уніфікований та визнаний багатьма країнами. Процес біотестування за використанням дафній проходить за стандартною процедурою: взяття і підготовка проб для індикації, підготовка середовища та відповідних умов для культивування і сам процес дослідження [14].

Таблиця 1.4

Екологічна шкода (ЕШ) та екологічні ризики (ЕР), які виникають за забруднення токсичними речовинами поверхневих вод (за Жукінським В. М.)

Ступінь ЕШ та ЕР	Словесна характеристика ступеня ЕШ та ЕР	Перевищення значень показників якості води в сучасний період над значеннями ЕН - для обчислення ЕШ; перевищення прогнозованих значень над значеннями показників якості води в сучасний період - для обчислення ЕР
Перший (I)	Несуттєвий	На число, яке менше однієї категорії
Другий (II)	Суттєвий	На одну-дві категорії
Третій (III)	Неприпустимий (кризовий)	На три категорії
Четвертий (IV)	Катастрофічний	На число, яке більше трьох категорій

За допомогою дафній як тест-об'єкту можна спрогнозувати екологічну шкоду та екологічні ризики, які виникають за забруднення токсичними речовинами поверхневих вод (табл. 1.4). За гострої токсичності поверхневих вод, летальність популяції дафній повинна перевищувати 50% впродовж дослідного періоду порівняно аналогічними дослідженнями з дистильованої води як контролю [16, 17].

### 1.3. Особливості проведення біотестування за використанням фітопланктону як тест-об'єкту

Використання фітопланктону для біотестування водних екосистем має важливе значення, зокрема, для контролю фотосинтетичної продукції фітопланктону та впливу скиду каналізаційних вод у відкриті водойми, а також у прогнозуванні цвітіння відкритих водойм, яке залежить від фізичних і хімічних факторів довкілля [18-20].

Таблиця 1.5

Фактори довкілля, які сприяють евтрофікуванню поверхневих водних об'єктів

Фактори	Вплив
<b>Фізичні фактори</b>	
Температура	Температура > 15 °C сприяє зростанню мікроводоростей. Багато видів мають температурний оптимум > 20 °C.
Світло	Більшість родів синьо-зелених водоростей віддають перевагу/переносять інтенсивне світло. Деякі види пристосовані до тіні.
Швидкість течії	Більшість представників мікроводоросте віддіють перевагу малопроточним водоймам.
Водообмін	Слабкий водообмін спричиняє спалах розвитку синьо-зелених мікроводоростей.
<b>Хімічні фактори</b>	
Основні біогенні елементи (N і P)	Підвищення вмісту цих елементів у водоймі призводить до масового розмноження мікроводоростей, у тому числі й азотфіксуючих представників.
Fe та інші метали	Fe необхідний для фотосинтезу, фіксації N та є одним із лімітуючи факторів. Наявність інших металів ( Cu, Mo, Zn, Co) сприяють розвитку мікроводоростей, але не є лімітуючи ми факторами.
Розчинений неорганічний C	Виживання при низькому рівні розчиненого неорганічного C і високі значення рН забезпечують домінування синьо-зелених мікроводоростей.
Розчинений органічний C	Більшість представників здатні утилізувати розчинений органічний C. У водоймах, збагачених розчиненим органічним C, спостерігається явище «цвітіння».
Солоність	Деякі преставники (наприклад, <i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> ) не розвиваються в солоних водоймах. Представники роду <i>Nodularia</i> розвиваються в солоних водоймах.

Фітопланктон є головною та здебільшого початковою ланкою трофічного ланцюга, за рахунок енергії сонця він здатен шляхом фотосинтезу



синтезувати органічні сполуки, збільшуючи тим самим загальну біомасу водойми та здійснює регулювання кисневим режимом водойми [27].

Приріс біомаси водоростей залежить не тільки від фотосинтетичних процесів, але також від вмісту поживних речовин у водоймі. За наявності надлишкової кількості елементів живлення, в першу чергу Фосфору і Нітрогену та підвищеної температури відбувається так званий процес цвітіння води, який згубно впливає на популяції інших гідробіонтів [21].

#### **1.4. Особливості використання вищих водних рослин, як біоіндикаторів довкілля**

Значна кількість видів рослин у процесі еволюції пристосувалася до умов проживання у воді. Широко розвинуті адаптаційні механізми в рослин дозволяють їм розширювати ареал місця зростання [22]. Однак, вплив факторів зовнішнього середовища: техногенних, антропогенних, природних факторів тощо на місця зростання рослин за певних умов проявляє негативний вплив на їх ріст та розвиток.

Надлишкове надходження як біогенних, так й токсичних речовин у концентраціях вищих за ГДК (гранично допустима концентрація) згубно впливає на водну рослинність. Враховуючи цю реакцію-відповідь вищих водних рослин на підвищену концентрацію токсичних речовин у водному середовищі, їх можна використовувати як тест-об'єкти в біоіндикаційних дослідженнях [33].

Застосування методів біотестування та біоіндикації за використанням вищих водних рослин щодо якісної оцінки водного середовища дає змогу:

- виявляти за рахунок пригнічення зростання рослин локації підвищеного забруднення водних об'єктів;
- прогнозувати у перспективі зміни локального забруднення водних

об'єктів та екосистеми в цілому;

- дослідити за допомогою тест-об'єктів екологічний профіль, категорій якості води та їх екологічної шкоди для біоти, в тому числі й для людей (табл. 1.6, рис. 1.3).

Таблиця 1.6

Категорій якості води залежно від концентрації токсичних речовин [22].

Категорії якості води	Значення диференціальної оцінки	Відношення концентрації до ГДК		
		метали, токсичні речовини	нафтопродукти, феноли	СПАР
Дуже чиста	5 - 4,75	0,25	0,3	0,3
Чиста	4,75 - 4	≤1	≤1	≤1
Помірно забруднена	4 - 3	1 - 2	1 - 3	1 - 2
Забруднена	3 - 2	2 - 5	3 - 10	2 - 4
Брудна	2 - 1	5 - 10	10 - 100	4 - 7
Дуже брудна	<1	>10	>100	>7

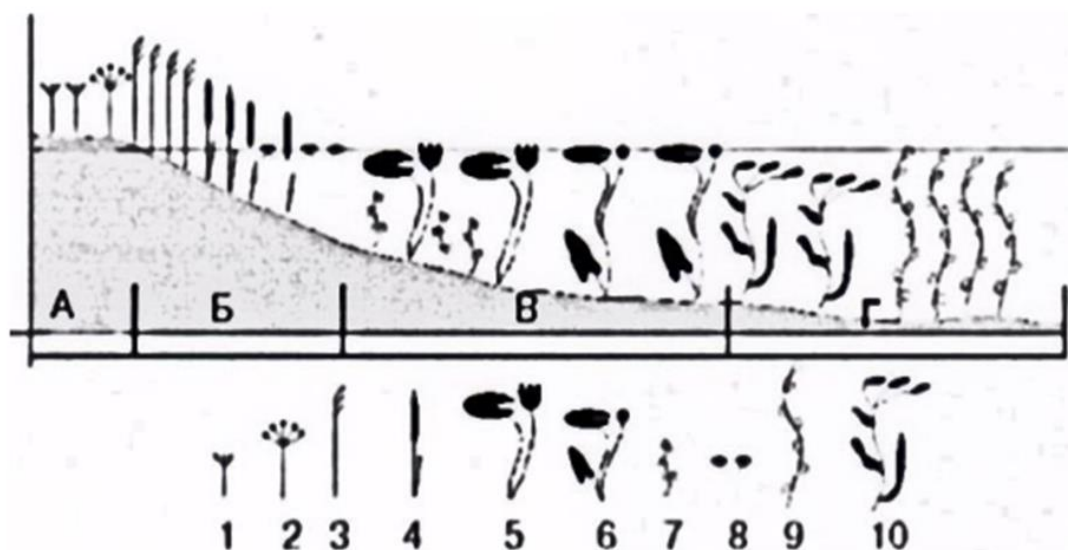


Рис. 1.3. Екологічний профіль водойми та характерні види макрофітів, притаманні для кожного поясу.

Використання вищих водних рослин як біологічних об'єктів біотестування показників якості водного середовища є економічно доцільним методом через мінімальність матеріальних затрат. Для дослідження водних

екосистем біоіндикаційним методом необхідно дотримуватися наступних рекомендацій [29]:

- тим вища концентрація токсичної речовини в розчині чи водному середовищі, тим буде швидшою реакція-відповідь живого організму на цю дію;

- підвищення концентрації токсичних речовин значно вище за ГДК як за умов лабораторних, так й польових дослідженнях зменшує час реакції-відповіді вищих водних рослин на забруднення.

Вищі водні рослини, як біоіндикатори є дуже чутливі до наявних у водному середовищі різних класів пестицидів, особливо, гербіцидів. Вони також використовуються в процесі дослідження та встановлення регламентів токсикологічних норм. Що стосується дослідження якісних показників стічних вод, то використання вищих водних рослин обмежується через досить тривалий час одержання відповідної реакції [23, 28].

## РОЗДІЛ 2. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 2.1. Вибір проб поверхневої води для аналізу та методів для біотестування та біоіндикації

Для ефективного дослідження якісних показників поверхневих вод шляхом біоіндикації необхідно, в першу чергу, провести відбір проб води із дотриманням вимог нормативних документів (табл.2.1).

Таблиця 2.1

Нормативні документи, щодо відбору проб води та їх зберігання

Вода	Нормативний документ
Поверхневі та підземні води	ДСТУ ISO 5667-1:2003. Якість води. Відбирання проб. Частина 1. Настанови щодо проекту програм проведення відбирання проб ДСТУ ISO 5667-2:2003. Якість води. Відбирання проб. Частина 2. Настанови щодо методів відбирання проб ДСТУ ISO 5667-3:2003. Відбір проб. Частина 3. Керівництво з методів консервування та зберігання проб ДСТУ ISO 5667-4:2003. Якість води. Відбирання проб. Частина 4. Настанови щодо відбирання проб із природних та штучних озер
Питна вода	ДСанПіН 2.2.4-171-10. Державні санітарні норми та правила «Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною»
Стічні і технологічні води	КНД 211.1.0.009-94. Гідросфера. Відбір проб для визначення складу і властивостей стічних і технологічних вод. Основні положення ДСТУ ISO 5667-10:2005 Якість води. Відбирання проб. Частина 10. Настанови щодо відбирання проб стічних вод.

Вибір ефективної методики біотестування для визначення рівня токсичності будь-якої категорії води – це важлива методологічна проблема, яка потребує вирішення за допомогою використання спеціальних критеріїв.

Однією із визначальних характеристик методів біотестування є чутливість організмів, які використовуються як тест-об'єкти, на присутність у середовищі їх мешкання хімічних речовин токсичної дії. Обговоренню питання щодо чутливості водних організмів до дії токсичних речовин присвячено чисельні роботи [25, 26].

У біоіндикаційних дослідженнях використовуються різноманітні тест-об'єкти гідробіонтів, які по-різному проявляють чутливість до певних токсичних речовин, розчинених у водному середовищі. Коли проводять дослідження значної кількості токсичних речовин у поверхневих водах, то визначають найтоксичніший із них, який найбільш пагубно впливає на ріст та розвиток тест-об'єкту.

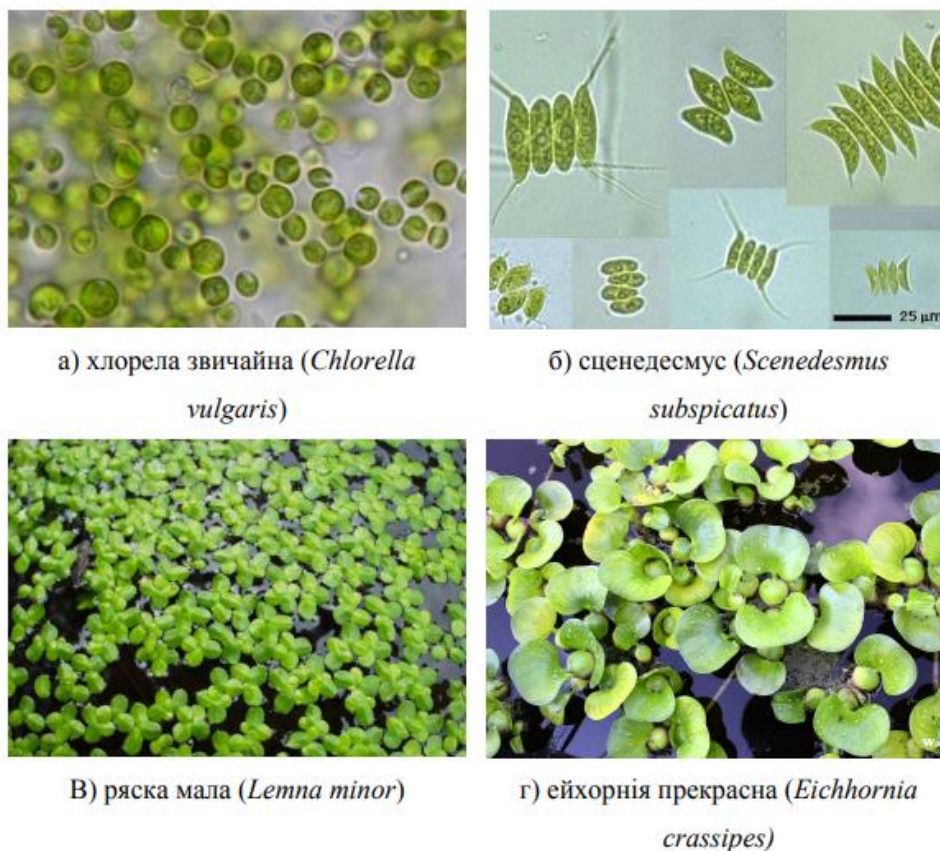


Рис. 2.1. Тест-об'єкти гідробіонтів, які використовують для дослідження якості води

Найчастіше для лабораторних досліджень якості поверхневих вод використовують тест-об'єкти гідробіонтів, які наведені на рис.2.1. Окрім цього, для біотестування широко використовуються як тест-об'єкти різноманітні гідробіонти (табл. 2.2).

Таблиця 2.2.

Основні тест-об'єкти гідробіонтів та методи дослідження

Тест-об'єкт	Тест-параметр	Метод вимірювання
Церіодафнії	Чисельність живих рухомих церіодафній	Автоматизована мікроскопія
	Середня частота рухів епіподіїв	Оптико-електронний метод
Інфузорії	Чисельність живих рухомих інфузорій	Автоматизована мікроскопія
	Середня швидкість руху	Лазерно-доплерівський
Біоломінесцентні бактерії	Інтенсивність біоломінесценції	Оптико-електронний метод
Бактеріопланктон	Координати кольору у системі RGB	Цифрова колориметрія
Молюски	Відносна кількість молюсків з закритими стулками	Цифровий таймер
Риби	Відносна кількість риб, що вийшли із зони переважного перебування	Оптико-електронний метод
	Біопотенціали інтенсивності дихання	Потенціометрія
	Теплопродукція	Калориметрія
Одноклітинні водорості	Чисельність клітин	Автоматизована мікроскопія
Ряска мала	Відносна частка рослин з морфологічними змінами	Автоматизована мікроскопія

Використання методів біотестування та біоіндикації якості поверхневих вод шляхом використання гідробіонтів як тест-об'єктів мають свої можливості, сильні та слабкі сторони та певні ризики, які наведені в табл. 2.3-2.7.

Таблиця 2.3

## Перелік можливостей методів біотестування якості поверхневих вод

№ п/п	Можливості
1.	Провести порівняння якості води різних ділянок водного об'єкта.
2.	Оцінити динаміку зміни якості водних об'єктів у часі.
3.	Встановити фонові показники природних рибогосподарських об'єктів.
4.	Надати можливість удосконалити та покращити зони нересту, місця зариблення.
5.	Провести оцінку динаміку природних змін якості водних об'єктів по сезонам та узгодити динаміку антропогенного навантаження.
6.	Покращити процес для відновлення рибогосподарського потенціалу та підтримання сталих запасів риби у водоймах.
7.	Встановити рівень самоочищення водних об'єктів, їх здатність до трансформації забруднюючих речовин в умовах постійного техногенного навантаження.

Таблиця 2.4

## Переваги методів біотестування якості поверхневих вод гідробіонтами як тест-об'єктами

Фактори	Бали
1. Популярність використання	4
2. Впровадження системи екологічного керування	7
3. Імідж надійного методу	10
4. Співпраця з іншими підприємствами	3
5. Екологічно безпечне виробництво	12
6. Конкурентоспроможність	10
7. Високі технічні можливості	9
8. Високоякісна продукція як наслідок	10
9. Цінові переваги	9
10. Сталий попит	4
11. Відносно низький рівень собівартості	9
12. Висока точність	9
13. Автоматизація	3

Таблиця 2.5

Недоліки методів біотестування якості поверхневих вод гідробіонтами  
як тест-об'єктами

Фактори	Бали
1. Висока конкурентність з боку іноземних фірм	9
2. Ресурсозалежність методу	3
3. Потреба інформаційного забезпечення всіх структурних підрозділів	10
4. Утворення відходів	2
5. Високі затрати на експлуатацію	8
6. Високий рівень енергоємності та ресурсоємності	5
7. Шкідливість методу	2
8. Використання новітнього обладнання	10
9. Відсутність впровадження інновацій	3
10. Невисокий рівень використання на підприємствах	10
11. Використання великої кількості води для перевірки	3
12. Специфічна цільова аудиторія	9
13. Неefективна система мотивації та стимулювання	8

Таблиця 2.6

Оцінка можливостей методів біотестування якості поверхневих вод

Фактори	Бали
1. Підвищення рівня екології	10
2. Тенденція надання переваги продукції вітчизняних виробників	7
3. Вдосконалення законодавчих актів	8
4. Підвищення якості виробництва	5
5. Зростання грошових доходів населення	2
6. Формування «зеленого» іміджу підприємств	8
7. Контроль технологічних процесів	9
8. Вдосконалення системи очищення стічних вод	11
9. Активізація інвестиційних процесів	5
10. Впровадження інновацій	6
11. Вихід на нові ринки	8
12. Розробка та практична реалізація стратегічних рішень	10
13. Розширення виробництва підприємств на яких діє цей метод	3



Оцінка недоліків методів біотестування якості поверхневих вод  
гідробіонтами як тест-об'єктами

Фактори	Бали
1. Відсутність фінансування наукових досліджень	9
2. Збільшення собівартості продукції	3
3. Мінливість та суперечливість законодавства	5
4. Конкуренція	7
5. Приведення в випадку не спрацювання до катастрофи	2
6. Високий рівень податків	4
7. Скорочення не «екологічних підприємств»	9
8. Вплив кліматичних змін	5
9. Боротьба за сировинні зони	10
10. Зниження репутації підприємств	8
11. Банкрутство	2

Як видно із наведених таблиць переваги використання біотестування та біоіндикації якості поверхневих вод гідробіонтами як тест-об'єктами, мають переваги за відносною бальною шкалою у 99 балів, недоліки – у 82 бали, можливості – у 92 бали та загрози – у 64 бали. Дані результати теоретичного аналізу підтверджуються роботами науковців щодо неефективності використання біоіндикаційних методів дослідження якості поверхневих, а особливо стічних вод, через поєднання багатьох антропогенних чинників, які сумісно впливають на тест-об'єкт проявляючи синергізм.

Тому зустрічаються невідповідності в оцінці поверхневих водних об'єктів за використанням біологічних методів досліджень порівняно із фізико-хімічними методами. Іноді біологічні методи досліджень дають хибні результати.

Для експериментальних досліджень нами було вибрано схему та основні тест-об'єкти рис. 2.2.

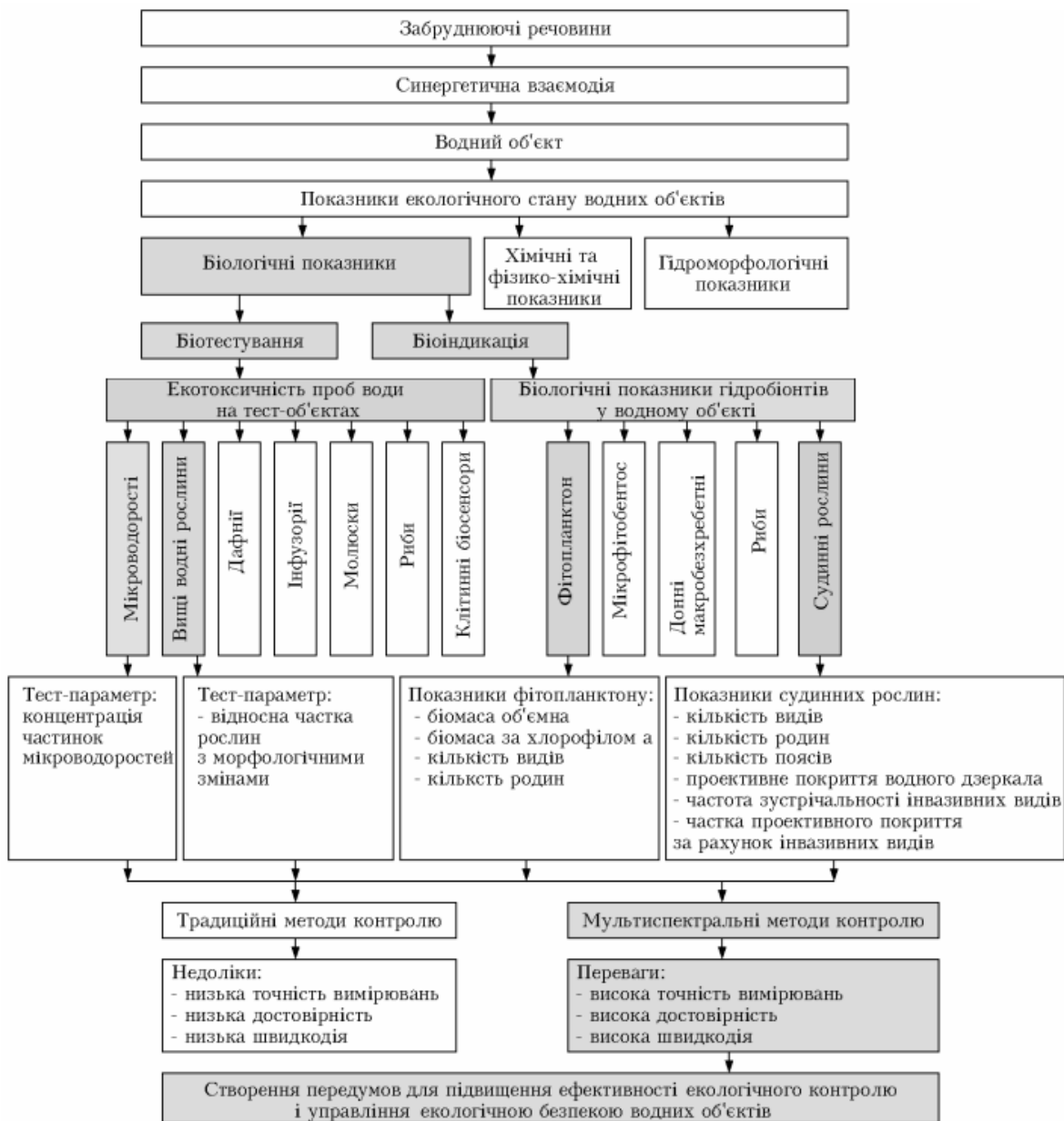


Рис. 2.2. Схема експериментальних досліджень та основні тест-об'єкти

## **2.2. Статистична обробка результатів експериментальних досліджень**

Вихідними даними для розрахунків були статистичні дані результатів досліджень якості поверхневих вод спеціалізованою лабораторією екологічної інспекції у Жовківському районі Львівської області у річці Свиня у місці скидання стічних вод з молокозаводу проведені у 2022 р. У кожному досліджуваному зразку у лабораторії досліджували 11 показників, за якими проводили оцінку поверхневої води.

Біоіндикаційні дослідження проводили згідно методики описаної в науковій літературі [30, 31, 32]. До досліджуваних зразків води та контролю додавали по 0,5 мл суспензії фітопланктону. Культивували в колбах впродовж 2-ох та 4-ох діб за інтенсивності освітлення в 2000 Лк. Після закінчення культивування за допомогою спектрополяриметра досліджували оптичну густину розчинів, а потім визначали відношення оптичної густини фітопланктону дослідних зразків до контролю.

## РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 3.1. Чутливість біоіндикаційних тест-об'єктів до хронічної токсичності поверхневих вод та гострої летальної токсичності стічних вод

Дослідження чутливості біоіндикаційних тест-об'єктів до токсичних речовин поверхневих і стічних вод басейну Західного Бугу вивчали на різних ділянках річки Свиня м. Жовкви. У зразках поверхневої та стічної води визначали хронічну та летальну токсичність за допомогою класичних методів із використанням ракоподібних (дафній), інфузорій та водоростей (рис 3.1).

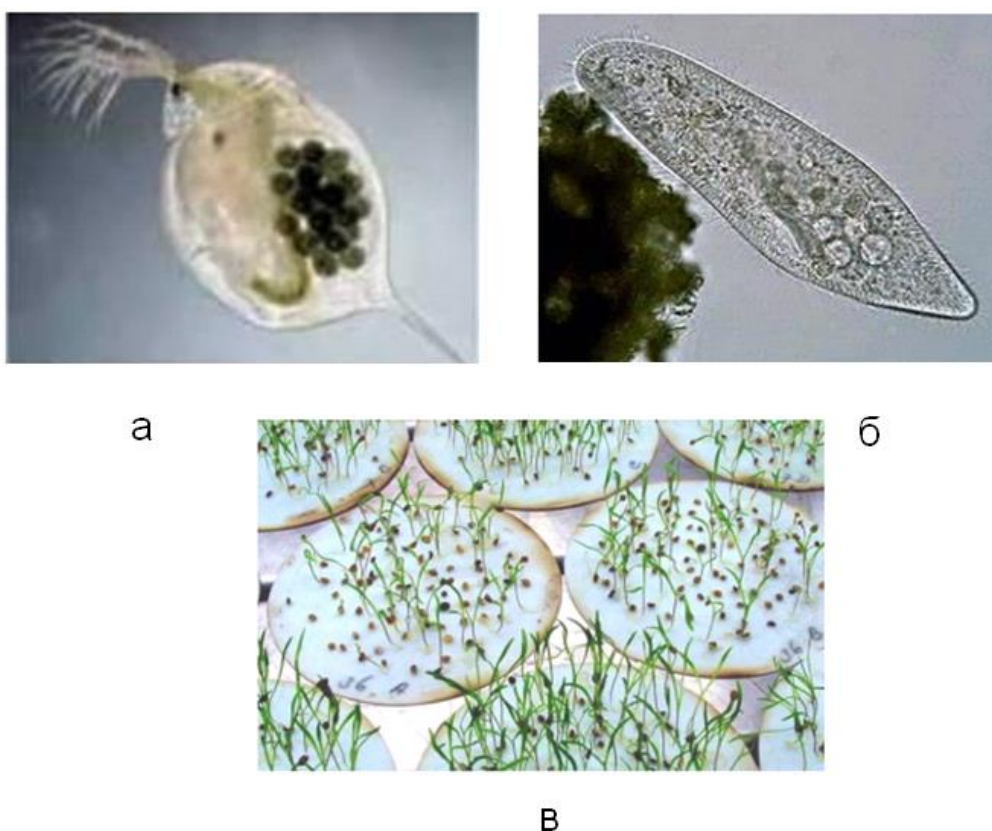


Рис. 3.1. Тест-об'єкти для дослідження якості поверхневих та стічних вод:  
а – ракоподібні (дафнії); б) – інфузорії; в) – мікроводорості.

Вищезгаданими біоіндикаційними тест-об'єктами досліджували токсичну активність поверхневих вод. Найбільш виражену хронічну токсичність досліджуваного зразка виражали в умовних одиницях, яка було відношенням кратності величини її розведення, за якого хронічна токсичність не проявлялася.

Як видно із рис. 3.2, можна стверджувати, що в процесі дослідження зразків поверхневих вод на хронічну токсичність за використанням різних тест-об'єктів було встановлено, що тест на ракоподібних має найвищу кратність розведення повеневої води, за якої хронічна токсичність не була виявленою.

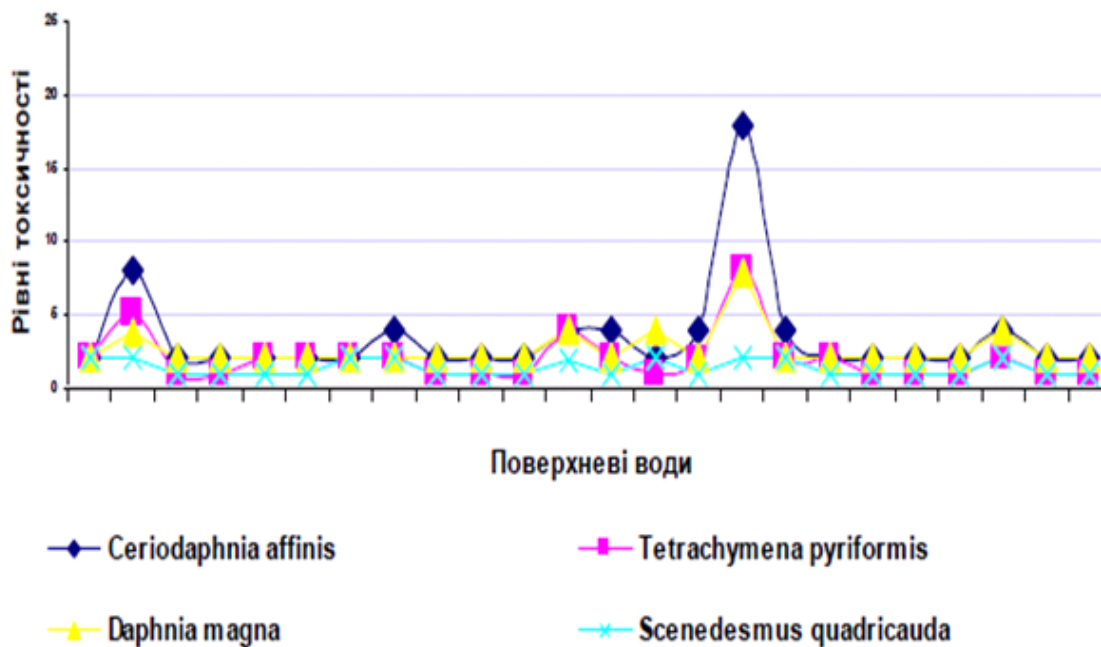


Рис. 3.2. Порівняльна чутливість тест-об'єктів за результатами біотестування з визначення хронічної токсичності поверхневих вод

Наступним етапом наших досліджень було вивчення гострої летальної токсичності стічних вод за допомогою біоіндикаційних тест-об'єктів (ракоподібні, інфузорії та фотобактерії), які використовувалися для дослідження хронічної токсичності зразків поверхневих вод.

Порівняльна оцінка чутливості тест-об'єктів здійснювалась за результатами біотестування, на основі яких визначали рівні гострої летальної токсичності стічних вод в умовних одиницях, виражених величиною кратності їх розбавлення, за якою забезпечується виживаність близько 100% тест-об'єктів.

Таблиця 3.1

Оцінка токсичності стічних вод за даними біотестування на дафніях

(за Л. П. Брагинським)

Розбавлення води	Токсичність (бал)	Клас	Словесне позначення
1:1 – 1:2	1–2	1	Слаботоксична
1:5 – 1:10	5–10	2	Помірнотоксична
1:25 – 1:50	25–50	3	Гостротоксична
1:100 – 1:200	100–200	4	Високотоксична
1:500 та вище	500	5	Надзвичайно токсична

Дослідження щодо вивчення гострої летальної токсичності забруднених вод підприємств м. Жовкви та чутливість окремих тест-об'єктів представлено на рис. 3.3.

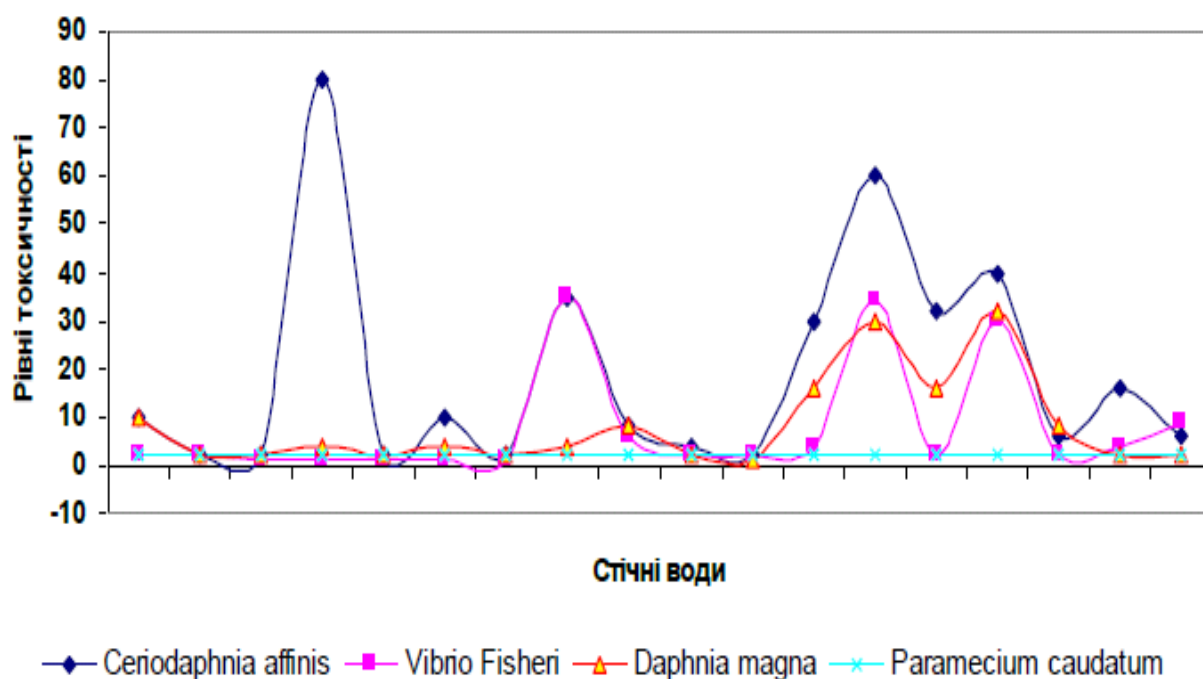


Рис. 3.3. Динаміка чутливості досліджуваних тест-об'єктів до гострої летальної токсичності стічних вод

Як видно із даних результатів досліджень (рис.3.3), використання зоокультури дафнії як тест-об'єкту виявився найбільш чутливим до гострої летальної токсичності стічних вод.

Так, при біотестуванні стічної води молокозаводу (м. Жовква) кратність розбавлення стічної води, за якою гостра летальна токсичність достовірно не виявлялась, складала (рази): для біотесту на *Ceriodaphnia affinis* – 60,0; на *Daphnia magna* – 32,0; на *Vibrio fischeri* – 38,6; на *Paramecium caudatum* – 2,0. При біотестування стічної води заводу будівельних матеріалів кратність розбавлення стічної води, за якою гостра летальна токсичність достовірно не виявлялась, складала 30,0; 16,0; 4,5; 1,0 відповідно.

При впровадженні біотестування в водоохоронну практику, окрім чутливості тест-об'єктів, важливого значення набувають такі характеристики, як експресність отримання результатів, економічність та трудомісткість токсикологічних аналізів, вірогідність результатів та відповідність вимогам встановлених для них метрологічних характеристик та ін.

Ефективність використання біоіндикаційних тест-об'єктів (ракоподібних, інфузорій та водоростей) щодо визначення хронічної та летальної токсичності поверхневих та стічних вод наведено в табл. 3.2.

Таблиця 3.2.

#### Підсумкова оцінка ефективності біотестів

	Біотести з використанням						
	<i>Vibrio fischeri</i>	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	<i>Daphnia magna</i>	<i>Limnea stagnalis</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Poecillia reticulata</i>
Бали	86	79	76	90	62	69	62

Як видно із таблиці, найбільш ефективним виявився біотест з використанням ракоподібних *Ceriodaphnia affinis*, *Daphnia magna* і бактеріях *Vibrio fischeri*. Отримані результати підтверджуються даними, наведеними в публікаціях зарубіжних авторів.

В умовах України, при впровадженні біотестів в систему оцінки, нормування і контролю поверхневих та стічних вод доцільним і достатнім слід вважати використання біотеста на дафніях, оскільки його значною перевагою, порівняно з іншими, є можливість визначати рівень гострої і хронічної токсичності в оперативному режимі, що необхідно для контролю відповідності якості стічних вод встановленому нормативу токсичності та оцінки їх впливу на якість води водних об'єктів.



### 3.2. Вища водна рослинність як тест-об'єкт оцінки токсичності водного середовища

Важливе значення для підтримання внутрішнього середовища водойм має вища водна рослинність або макрофіти. Вони регулюють вміст  $O_2$  та  $CO_2$  водного середовища, сприяють інтенсифікації процесів нітрифікації, активно асимілюють органічні та мінеральні речовини, акумулюють на нагромаджують рухомі форми важких металів та інших поллютантів.

У 2023 році нараховувалось 14 видів макрофітів у водоймі річки Свиня. З них до надводних належить 6 видів: стрілолист звичайний, манник водяний, хвощ, осока звичайна, рогіз широколистий, очерет звичайний.

До гідрофітів належить 8 видів: рдест гребінчастий, рдест нитковидний, елодея канадська, роголистник, ряска мала і тридольна. Внаслідок проведених досліджень було визначено, що площа заростання водойми річки складає 7%, а біомаса  $430 \text{ г/м}^3$ . За розрахунком індексу фітоіндикації  $I_f = 13,3$  якість поверхневих вод водойми річки Свиня відноситься до IV класу якості і характеризується як погана (табл.3.3).

Таблиця 3.3

Класифікація екологічного статусу річок у відповідності з вимогами ВРД

Статус	Клас	Категорія	Колір картування	Ступінь відхилення
Відмінний	I - дуже чиста, (high), (extented natural biological quality)	Дуже чиста	Синій	Відсутні або незначні зміни характерні для об'єкта в непорушеному стані.
Добрий	II - чиста, (good), (slighttly impaired biological quality)	Чиста. Достатньо чиста	Зелений	Низький рівень порушень та мале відхилення від значень характерних для об'єкта в непорушеному стані.
Задовільний	III - забруднена, (moderate), (moderately impaired quality)	Слабо забруднена. Помірно забруднена	Жовтий	Помірне відхилення від значень характерних для об'єкта в непорушеному стані.

продовження табл. 3.3

Поганий	IV- брудна, (poor), (severely impaired biological quality)	Брудна	Оранжевий	Значні зміни значень та відсутність невеликої частини біологічних популяцій характерних для об'єкта в непорушеному стані.
Дуже поганий	V - дуже брудна, (bad), (no macroinvertebrates present, Indicating excessive toxicity)	Дуже брудна	Червоний	Дуже сильні зміни значень та відсутність великої частини біологічних популяцій характерних для об'єкта в непорушеному стані.

Враховуючи вищенаведене, про здатність водної рослинності акумулювати і нагромаджувати значну кількість рухомих форм важких металів, наші дослідження були спрямовані на вивчення впливу змодельованих водних розчинів сульфату купруму (1,0 – 10 ГДК) на насіння цибулі та салату як тест-об'єктів біоіндикаційних досліджень.



Рис.3.4. Вирощування цибулі звичайної як тест-об'єкту досліджень якості водного розчину

Дослідження проводили за загальною схемою: було підготовлено чотири розчини сульфату Купруму із концентрацією відповідно (1, 2, 5 і 10 ГДК для рибогосподарського використання) та дистильована вода, яка слугувала контролем. Дослідні цибулини поміщали в пробірки із різною концентрацією сульфату Купруму, а контрольні – в дистильовану воду (рис. 3.4).

З метою одержання середньозважених даних проводили по п'ять досліджень у кожному варіанті. По закінченню культивування, через 96 годин, проводили органолептичний огляд проростки та кореневу систему цибулин, а також знімали із них проміри.

Аналогічну процедуру щодо впливу зазначеної вище концентрації сульфату Купруму проводили на салаті посівному (рис. 3.5). В чашки Петрі на фільтрувальний папір змочений розчином сульфату Купруму в концентрації (1, 2, 5 і 10 ГДК для рибогосподарського використання) висівали по 30 насінин салату посівного. Контролем служила чашки Петрі з дистильованою водою. Після інкубування за кімнатної температури продовж 96 годин, оглядали проростки та визначали довжину корінців. Отримані дані дослідних зразків порівнювали з контролем та заносили до табл. 3.4-3.5.



Рис. 3.5. Вирощування салату посівного як тест-об'єкту досліджень якості водного розчину.

Таблиця 3.4

Динаміка досліджуваних показників проростків цибулі звичайної залежно від концентрації  $\text{CuSO}_4$  у водному розчині

Варіант	Загальна кількість корінців (n)	Середня довжина корінців (M)	Середнє квадратичне відхилення ( $\pm m$ )	Коефіцієнт варіації, (Cv)	Відношення до контролю (%)	Індекс токсичності (T)
Контроль	88	13,7	0,72	49,08	100	-
1 ГДК	99	9,63	0,34	35,84	70,26	29
2 ГДК	71	8,83	0,41	38,42	64,43	36
5 ГДК	81	5,04	0,24	44,22	36,75	63
10 ГДК	34	4,76	0,19	38,69	42,06	57

Таблиця 3.5

Динаміка досліджуваних показників проростків салату посівного залежно від концентрації  $\text{CuSO}_4$  у водному розчині

Варіант	Загальна кількість корінців (n)	Середня довжина корінців (M)	Середнє квадратичне відхилення ( $\pm m$ )	Коефіцієнт варіації, (Cv)	Відношення до контролю (%)	Індекс токсичності (T)
Контроль	30	9,78	0,72	36,2	100	-
1 ГДК	32	8,24	0,65	24,11	95,1	5
2 ГДК	28	6,73	0,44	31,72	68,57	31
5 ГДК	26	5,20	0,26	24,82	53,06	47
10 ГДК	29	3,69	0,36	32,99	40,4	49

На основі експериментальних досліджень (табл. 3.4-3.5) видно, що підвищення концентрації сульфату Купруму у розчині негативно впливає на розвиток кореневої системи досліджуваних тест-об'єктів, середня довжина корінців цибулі звичайної за навантаженням (1, 2, 5 і 10 ГДК) відповідно

зменшилась на 29,7, 33,6, 63,2 та 68,0%, а середня довжина салату посівного, за умов експерименту, також знизилась відповідно на 4,9, 31,4, 46,9 та 59,6%.

Із отриманих експериментальних даних, нами було вираховано індекс токсичності для досліджуваних тест-об'єктів (цибулі звичайної та салату посівного), за формулою:

$$T = (I_k - I_o) : I_k \times 100,$$

де: T – індекс токсичності проби досліджуваної води;

$I_k$  – величина тест-реакції у контрольній пробі;

$I_o$  – величина тест-реакції у досліджуваній пробі.

Індекс токсичності зростав зі збільшенням концентрацій йонів сульфату Купруму. Щоправда, у варіанті із цибулею звичайною, обрахунок виявив зменшення токсичності води при концентрації 10 ГДК. Це, вочевидь, пояснюється похибкою вимірювань довжини і кількості корінців на насінні. Повністю чітку картину закономірної зміни індексу токсичності проявив тест-об'єкт – салат посівний. Для обох тест-об'єктів, зміна індексу токсичності відносно ГДК проявила достатньо високі значення величини апроксимації:

- цибуля звичайна 0,8;

- салат посівний 0,9.

За порівняльного аналізу індексів токсичності було встановлено, що за змодельованого забруднення солями сульфату Купруму цибуля звичайна є більш достовірним тест-об'єктом порівняно із салатом посівним. Оскільки індекс токсичності для цибулі звичайної вже за концентрації  $\text{CuSO}_4$  в розчині 5 ГДК перевищує за 50%, а для салату посівного навіть за концентрації  $\text{CuSO}_4$  в розчині 10 ГДК не перевищує 50% (рис. 3.6).

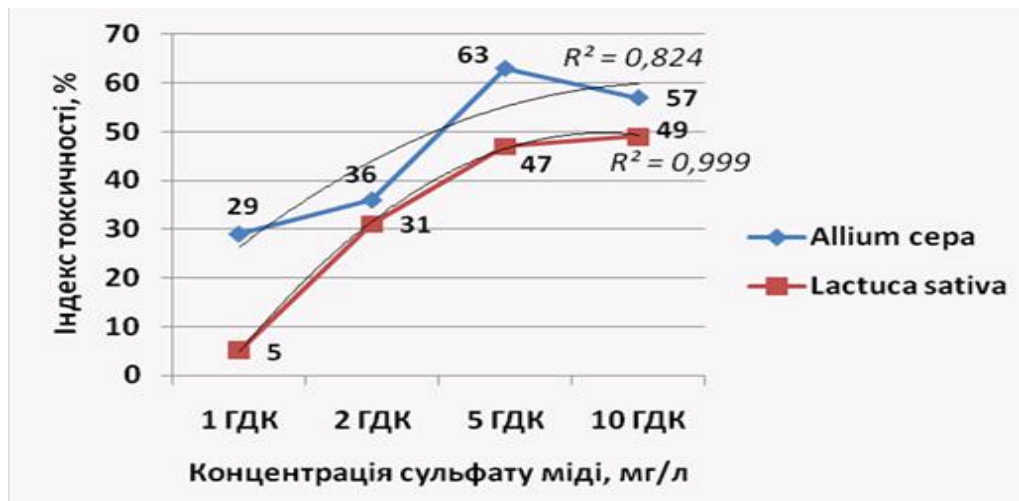


Рис. 3.6. Динаміка індексу токсичності змодельованого водного середовища

### 3.3. Біоіндикація водних об'єктів за допомогою фітопланктону

Фітопланктон як тест-об'єкт біоіндикації водних об'єктів широко використовується для оцінки її якості, через його інтегральну оцінку, що дає можливість врахувати цілий спектр токсичних речовин та інших техногенних факторів. Особливості оцінки екологічного стану водних об'єктів за параметрами фітопланктону наведені на рис.3.7.



Рис. 3.7. Структурна схема оцінювання екологічного стану водних об'єктів за параметрами фітопланктону

Дослідженнями фітопланктону в товщі води річки Свиня було встановлено близько 70 видів із загальною чисельністю понад 38,9 млн. кл/л (табл. 3.7). Наступним етапом наших досліджень було вивчити вплив біогенних елементів як компонентів живлення на приріст біомаси фітопланктону. Для цього, річковою водою наповнювали посудини місткістю 150 л, додавали амонійні й фосфатні солі та здійснювали інкубування за сталої температури і освітленні впродовж 3-ох – 4-ох діб. Динаміку росту

фітопланктону щоденно досліджували. Об'єктом дослідження були одноклітинні зелені водорості (рис.3.8 - 3.9).

Таблиця 3.7.

Динаміка зростання фітопланктону в товщі води річки Свиня, тис.кл/м<sup>3</sup>

Основні групи	Місця відбору проб		
	Початок річки	Середина річки	Гирло річки
Суанопhyta	<u>80480</u> 3,86	<u>56704</u> 2,72	<u>3361,7</u> 0,16
Chlorophycophyta	<u>39,04</u> 0,04	<u>27,23</u> 0,02	<u>40</u> 0,08
Bacillariophyta	<u>7,51</u> 0,01	<u>5,6</u> 0,01	<u>30</u> 0,06
Всього	<u>80526.5</u> 3,88	<u>56709.6</u> 2,73	<u>3391.7</u> 0,22
Середнє		<u>38964</u> 1,895	



Рис. 3.8. Зображення частинок фітопланктону (*Scenedesmus subspicatus*), який вибраний для біотестування



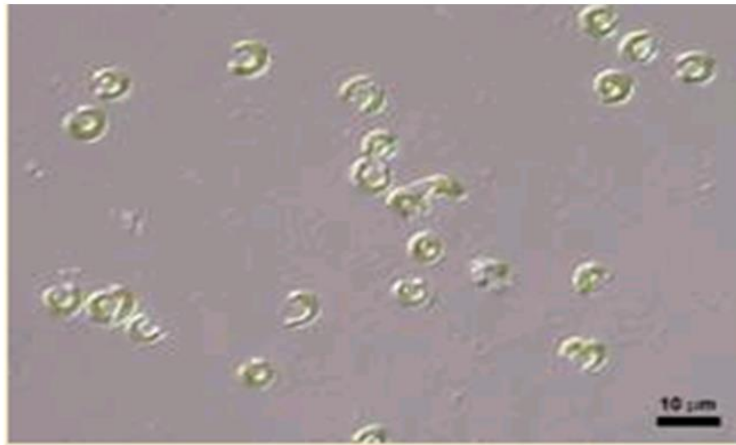


Рис. 3.9. Зображення частинок фітопланктону (*Pseudokirchneriella subcapitata*), який вибраний для біоіндикації

Після інкубування мікродоростей, як було описано вище, із резервуарів відбирали зразки води із фітопланктоном та проводили біоіндикаційний тест на вплив токсичних речовин на ріст і розвиток тест-об'єкту. Порівняння проводили з контролем, де культивували фітопланктон виключно на поживному середовищі. Культивування проводили за стандартних умов упродовж 3-ох – 4-ох діб, з досягнення умов, за яких популяція клітин фітопланктону повинна знаходитися в стадії експоненційного росту.

В експериментальних дослідженнях визначали ту концентрацію токсичних речовин, наявність яких буде пригнічувати ріст та розвиток мікродоростей на 50% ( $EC_{50}$ ) порівняно до контролю. Ріст та розвиток популяції дослідних і контрольних проб фітопланктону досліджували спектрофотометрично із визначенням кількості хлорофілу а, b і c ( $мкг/дм^3$ ) в них за формулами:

$$C_{\text{хлор. а}} = (11,64 \times E_{663} - 2,16 \times E_{645} - 0,1 \times E_{630}) \times (V_1 : V_2),$$

$$C_{\text{хлор. b}} = (-3,94 \times E_{663} + 20,97 \times E_{645} - 3,66 \times E_{630}) \times (V_1 : V_2),$$

$$C_{\text{хлор. c}} = (-5,53 \times E_{663} - 14,81 \times E_{645} - 54,22 \times E_{630}) \times (V_1 : V_2),$$

де  $V_1$  – об'єм екстракту, мл;

$V_2$  – об'єм проби,  $дм^3$ ;

$E_{663}$ ,  $E_{645}$ ,  $E_{630}$  – оптична густина за відповідних довжин хвиль.

Результати коефіцієнтів кореляції та лінійної регресії щодо чутливості вибраного тест-об'єкту до токсичних речовин (підвищеної концентрації хлоридних йонів) водного середовища та вмісту фітопланктону в них наведено на рис. 3.10, 3.11.

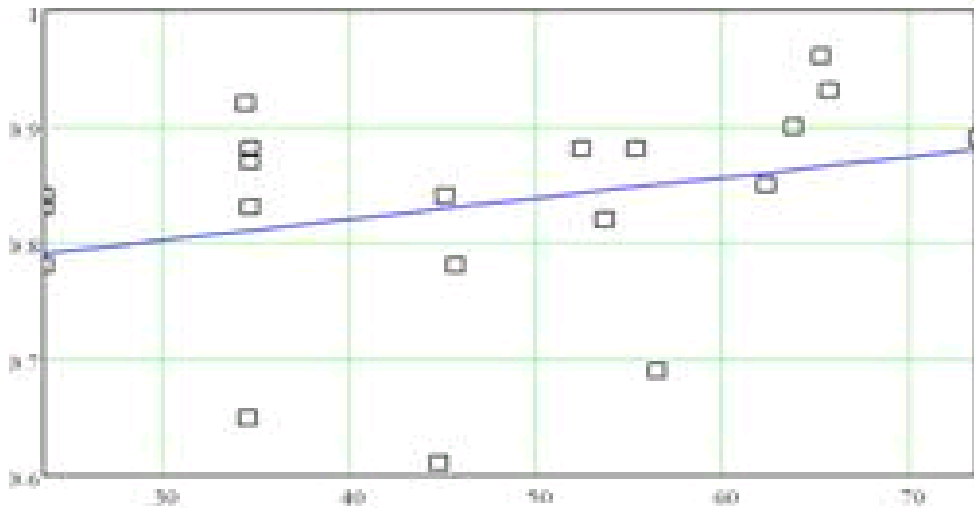


Рис. 3.10. Вплив хлорид-йонів на досліджуваний тест-об'єкту (культивування впродовж 48 годин).

Шляхом аналізу одержаних даних, був визначений коефіцієнт кореляції, який дорівнював 0,298 та 0,138, що має незначний зв'язок між концентраціями фітопланктону та йонами Хлору.

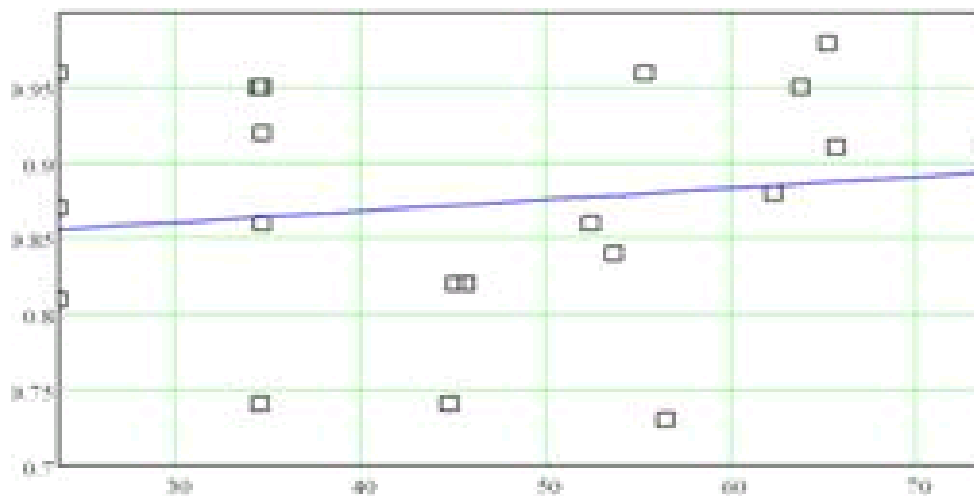


Рис.3.11. Вплив хлорид-йонів на досліджуваний тест-об'єкту (культивування впродовж 96 годин).

Результати коефіцієнтів кореляції та лінійної регресії щодо чутливості вибраного тест-об'єкту до токсичних речовин (підвищеної концентрації Феруму) водного середовища та вмісту фітопланктону в них наведено на рис. 3.12, 3.13.

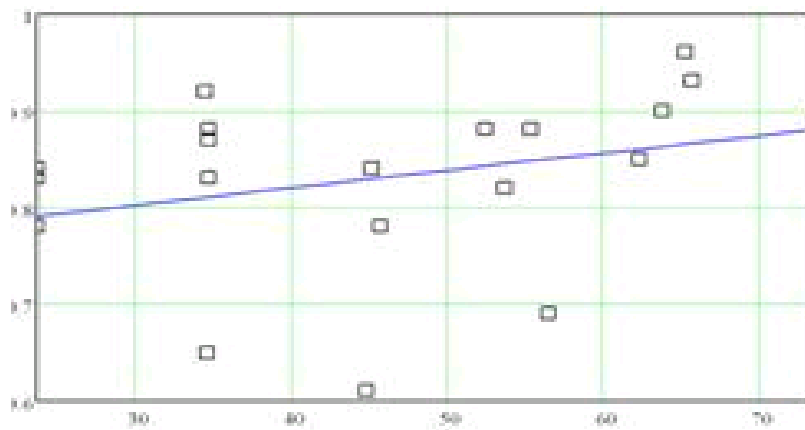


Рис. 3.12. Вплив Феруму на досліджуваний тест-об'єкту (культивування впродовж 48 годин).

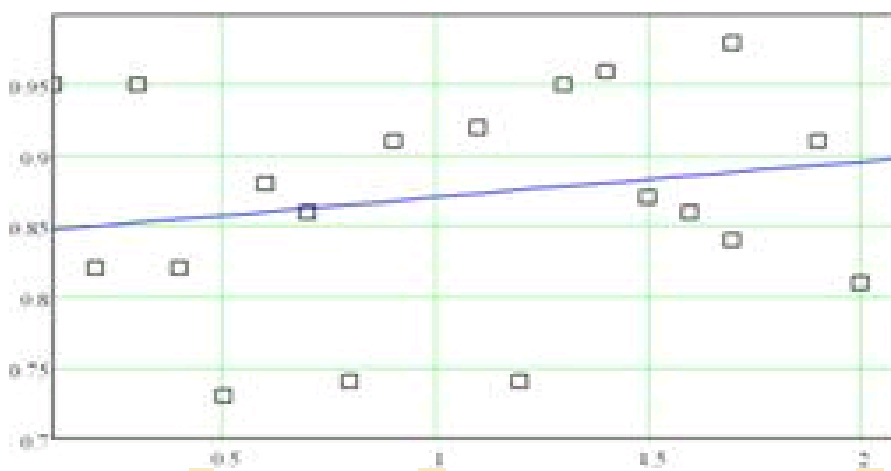


Рис. 3.13. Вплив Феруму на досліджуваний тест-об'єкту (культивування впродовж 96 годин).

Із отриманих даних (рис. 3.12-3.13) ми визначили коефіцієнт кореляції, який був на рівні 0,124 та 0,217, що вказує на слабкий зв'язок між концентраціями фітопланктону та йонами Феруму.

## ВИСНОВКИ

1. На основі опрацювання наукової інформації було вивчено сучасний стан і перспективи застосування біоіндикації та біотестування для дослідження якісних показників поверхневих та стічних вод.

2. На основі результатів власних досліджень та враховуючи пропозиції фахівців з регіональної лабораторії для дослідження якісних показників поверхневих та стічних вод рекомендовано наступні тест-об'єкти:

- для визначення рівня токсичності стічних вод – тест-об'єкт на основі ракоподібних як найбільш чутливого до дії хімічних речовин та дафніях завдяки швидкості досліджень.

- для якісної оцінки поверхневої та питної води – тест-об'єкт на основі ракоподібних церіодафніях та прісноводних інфузоріях.

3. Встановлено, що за змодельованого забруднення досліджуваних зразків води солями сульфату Купруму цибуля звичайна є більш достовірним тест-об'єктом порівняно із салатом посівним.

4. Кореляційні зв'язки між концентрацією забруднюючих речовин у воді (йонами Хлору та Феруму) та концентрацією фітопланктону є незначними. Біоіндикаційний експрес-метод дослідження якості стічних вод за використанням фітопланктону дозволяє суттєво скоротити кількість фізико-хімічних вимірювань.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Никифоров В.В., Дігтяр С.В., Мазницька О.В., Козловська Т.Ф. Біоіндикація та біотестування: навчальний посібник. Кременчук: Видавництво ПП Щербатих О.В. 2016. 76 с.
2. Маслова О.В. Біоіндикація водного середовища за допомогою вищої водної рослинності //Вісник Запорізького національного університету. № 1, 2011. С. 111-117.
3. Kovalenko V. F., Zlatskii I. A., Goncharuk V. V. // J. Of Water Chem. And Technol. 2016 Vol. 38, N 1. P. 56-61.
4. Моделювання і прогнозування стану довкілля: підручник / [В. І. Лаврик, В. М. Боголюбов, Л. М. Полетаєва, С. М. Юрасов, В. Г. Ільїна] ; під. ред. В. І. Лаврика. К.: ВЦ Академія, 2010. 400 с.
5. Безусяк Я. І., Кватернюк С. М. Обґрунтування заходів екологічної безпеки та впливу небезпечних відходів на водні об'єкти методом біоіндикації по фітопланктону. Екологія : матеріали наук.-практ. конф. всеукр. конкурсу студ. наук. робіт. (м. Полтава, 28–30 березня 2018 р.). Полтава, 2018. С. 7.
6. ДСТУ 3959-2000. Охорона довкілля та раціональне поводження з ресурсами: Методики біотестування води. Настанови. Введ. 2001.01.01 Офіц. вид. К.: Держстандарт України. 2000. IV. 5 с.
7. Петрук В. Г., Кватернюк С. М., Безусяк Я. І. Визначення видової різноманітності фітопланктону. VI-й Всеукраїнський з'їзд екологів з міжнародною участю : зб. наук. праць. (м. Вінниця, 20–22 вересня 2017 р.). Вінниця, 2017. С. 129.
8. Goncharuk V. V. Formation of a test systems and selection of test criteria in natural waters bioassay / Goncharuk V. V., Syroeshkin A.V., Kovalenko V.F., Zlatskiy I. A // J. Of Water Chem. And Technol. 2016. Vol. 2
9. Гриценко А. В. Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями / А. В. Гриценко, О. Г. Васенко, Г. А. Верніченко та ін. Х.: УкрНДІЕП. 2012. 37 с.

10. ДСТУ 4074-2001. Якість води: Визначення гострої летальної токсичності хімічних речовин та води на прісноводній рибі [Brachydontoderio Hamilton – Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] (ISO 7346-3:1996, MOD)/ Крайнюкова (розроб.). Офіц. вид. Чинний від 01.07.2003. К.: Державний комітет України з питань технічного регулювання та споживчої політики. 2003. IV. 20 с.

11. Степова О. В. Навчальний посібник «Моніторинг поверхневих вод» / О. В. Степанова, Рома В. В. Полтава: ПолтНТУ. 2017. 82 с.

12. Кучеренко Т. В. Використання біотесту ALLIUM CEPA L. (Цибуля звичайна) для оцінювання антропогенного забруднення навколишнього середовища / Т. В. Кучеренко, Є. О. Головатюк // Агроекологічний журнал. 2008. № 4. С. 79– 83.

13. Правила охорони поверхневих вод від забруднення зворотними водами. Затверджено постановою Кабінету Міністрів України № 465 від 25.03.1999. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/ru/465-99-%D0%BF> (дата звернення: 15.11.2017).

14. Соломенко Л. І. Екологічна оцінка впливу токсичних речовин на агрофітоценози / Л. І. Соломенко, Ю. О. Петрова // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Агрономія. 2013. Вип. 183(2). С. 230-235.

15. Чухрій Ю.П. Біоіндикація. Біотестування. Біомоніторинг: Конспект лекцій.: Одеса: ОНАХТ, 2014. 41 с.

16. Погребенник В. Д. Методи та засоби експрес-аналізу забруднення водного середовища / В. Д. Погребенник, А. В. Романюк // Національний університет “Львівська політехніка”. Львів: Видавництво Національного університету “Львівська політехніка”. 2009. 52 с.

17. Мальцев В. І. Визначення якості води методами біоіндикації: науково-методичний посібник. / В. І. Мальцев, Г. О. Карпова, Л. М. Зуб. К.: Науковий центр екомоніторингу та біорізноманіття мегаполісу НАНУ, Недержавна наукова установа Інститут екологів (ІНЕКО) Національного

екологічного центру України, 2011. 112 с.

18. ISO 21427-1:2006. Water quality – Evaluation of genotoxicity by measurement of the induction of micronuclei – Part 1: Evaluation of genotoxicity using amphibian larvae. URL: <https://www.iso.org/standard/39680.html>. (дата звернення: 15.11.2017)

19. Петрук В. Г. Контроль стану водних об'єктів як полідисперсних середовищ на основі методу спектрополяриметричних зображень / В. Г. Петрук, С. М. Кватернюк, А. П. Іванов [та ін.] // Екологія та промисловість. 2010. №2. С. 77-81.

20. Глухов О.З. Фітоіндикація металпресингу в антропогенно трансформованому середовищі/ О.З. Глухов, А.І. Сазонов, Н.А. Хижняк. Донецьк: Норд-Прес. 2006. 360 с.

21. Trach I., Petruk V., Kvaternyuk S., Titov T. Mathematical modelling of the population dynamics of hunting mammals based on recurrent equation system. Environmental problems. 2016. Vol. 1, No. 2. P. 145–148

22. Карпова Г., Зуб Л., Мельничук В., Проців Г. Оцінка екологічного стану водойм методами біоіндикації. Перші кроки до оцінки якості води. – Бережани. 2010. 32 с.

23. Карпова Г., Зуб Л., Мельничук В., Проців Г. Таблиці для визначення якості води методом біоіндикації. Бережани, 2010

24. Клименко М. О. Моніторинг довкілля. К.: Академія, 2006. 360 с

25. Спосіб оцінки якості поверхневих вод: пат.25354 Україна. № 64027; заявл. 11.05.11; опубл. 25.10.11, Бюл. № 20.

26. Шматько В. Г., Нікітін Ю. В. Екологія і організація природоохоронної діяльності. КНТ, 2008. 304 с.

27. Сигналізатори токсичності природних та стічних вод біологічні. Загальні технічні вимоги та методи випробування: ДСТУ 4004–2000. [Чинний від 2000-07-01]. К.: Держстандарт України, 2001. 16 с. (Національний стандарт України).

28. Quinn B. Hydra, a model system for environmental studies / B. Quinn,

F. Gagné, C. Blaise // The International Journal of Developmental Biology. 2012. № 56. P. 613-625.

29. Федоренко О.І. Моніторинг навколишнього середовища / О.І.Федоренко, О.І.Бондар, А.В.Кудін // Основи екології: підручник / О.І. Федоренко, О.І. Бондар, А.В. Кудін. К. 2006. С. 306-318.

30. Добровольський В. В. Екологічний ризик: оцінка і управління: Навчальний посібник / В. В. Добровольський Миколаїв: Видавництво ЧДУ ім. Петра Могили, 2010. 216 с.

31. Спосіб визначення асиміляційного потенціалу у водній системі річки: пат. 94025 Україна: МПК G02N31/28. №U201405131; заявл. 15.05.14; опубл. 27.10.14, Бюл. № 27. 10 с

32. Державний водний кадастр: Щорічні дані про якість поверхневих вод суші. Частина 2. Водосховища. Випуск 2. Басейн Дніпра (2015). Київ: ДСНС ЦГО, 2016

33. Громова Ю. Ф., Мантурова О. В. Фіто- і зоопланктон р. Іква (басейн р. Прип'ять). Наукові записки Тернопільського нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер.: Біол. Тернопіль, 2015. № 3-4 (64). С. 143–146.

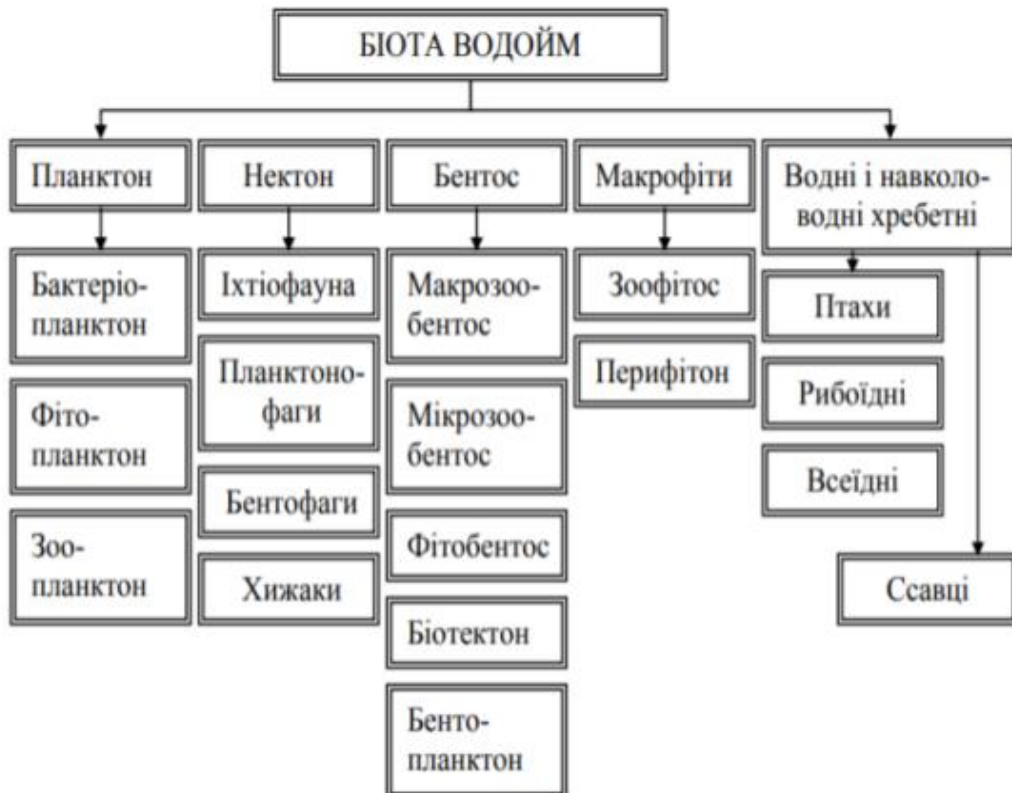


## ДОДАТКИ

### Додаток А



Схема визначення загального статусу водного об'єкта



Ієрархічна структура біоти водойм



Джерела забруднення водойм та основні групи токсикантів

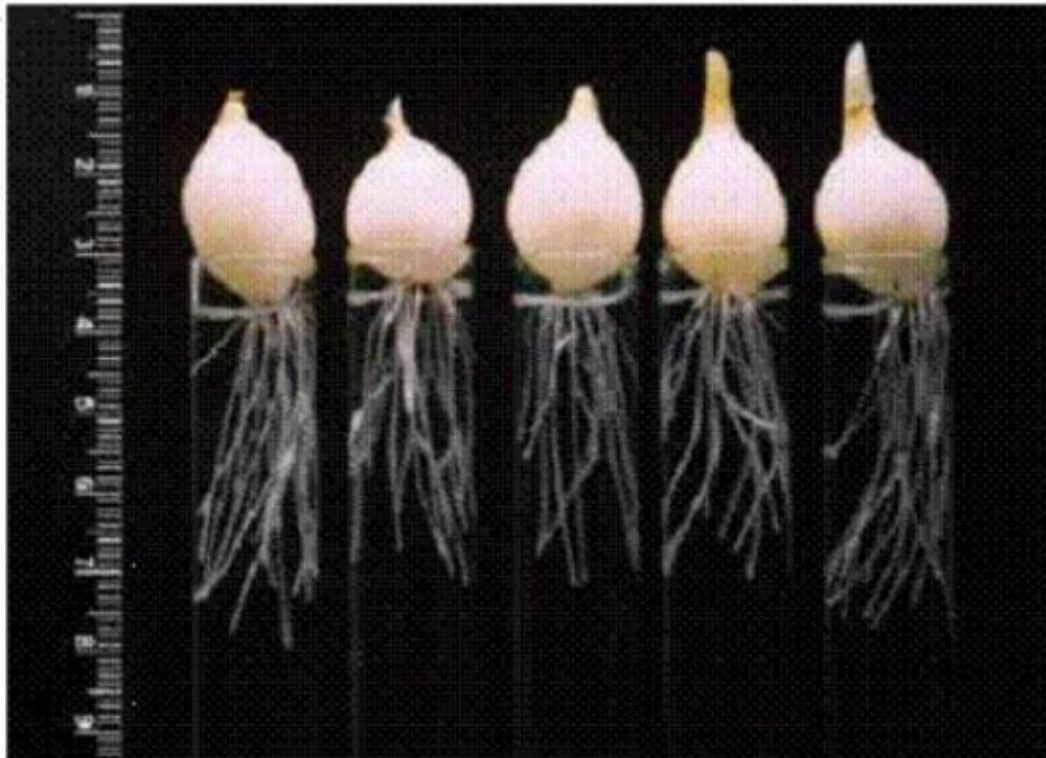


Рисунок 2 – Біотестування за допомогою цибулин[3]



а)

б)

Рисунок 3 – Зображення прикладу біоіндикації (б) за допомогою гіллястовусих ракоподібних дафній (а)

Таксономічні одиниці	Класи якості вод				
	1	2	3	4	5
личинки волохокрилець: Rhyacophila	+	+			
личинки веснянок, окрім Nemoura	+	+			
личинки мухи: Atherix	+	+			
бокоплав: Gammarus	+	+	+		
губки Shongia	+	+	+		
беззубки: Anodonta, Pseudoanodonta		+	+		
зяброві моллюски: Viviparus, Bithynia, Valvata		+	+		
річкові раки: Astacus, Pontastacus		+	+		
личинки волохокрилець: Neureclipsis, Mollana, Brachycentrus		+	+		
бабки: Calopteryx, Plathycnemis		+	+		
одноденки: Ephemera, Polymitarcys		+	+		
п'явки: Glossiphoniidae		+	+	+	
перлівниці: Unio, Crassiana		+	+	+	
водяні клопи:		+	+	+	
одноденки: Heptageniidae		+	+	+	
вислокрилка Sialis		+	+	+	
мошки Simuliidae		+	+	+	
волохокрильці Hydropsyche, Anabolia			+	+	
бабки Gomphidae			+	+	
п'явки Eprobodella, Haemopis, Piscicola			+	+	
горошинки і шаровки Pisidiidae			+	+	
водяний віслучок Asellus aquaticus			+	+	+
Трубочник Tubificidae, масово				+	+
мотиль Chironomidae, масово				+	+
личинка мухи Eristalis (криска)				+	+
значимість кожного таксона	25	6	5	7	20

Оцінка якості води згідно методу Ніколаєва