

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	4
Організація практики .....	5
Правила техніки безпеки при проходженні літньої навчальної практики .....	8
<b>2 ОРГАНІЗАЦІЯ І МЕТОДИ ПОЛЬОВИХ І ЛАБОРАТОРНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ В ГІДРОБІОЛОГІЇ .....</b>	<b>12</b>
2.1 Планування досліджень .....	12
2.2 Загальні методи визначення основних абіотичних параметрів.....	15
2.3 Основи вивчення угруповань пелагіалі і нейсталі.....	19
2.3.1 Методики дослідження нейстону.....	20
2.3.2 Методики дослідження планктону.....	26
2.4 Основи вивчення угруповань бенталі і перифіталі.....	44
2.4.1 Методики дослідження мікро- і мейобентосу.....	44
2.4.2 Методики дослідження макробентосу.....	51
2.4.3 Методи дослідження фітофільної фауни і танатоценозів.....	57
<b>3 АНАЛІЗ ДАНИХ.....</b>	<b>59</b>
3.1 Загальні положення.....	59
3.2 Видове різноманіття та методи його оцінки. $\alpha$ -різноманіття.....	60
3.3 Міри подібності. $\beta$ -різноманіття.....	69
3.4 Принципи аналізу і інтерпретації даних досліджень.....	72
<b>ЛІТЕРАТУРА .....</b>	<b>76</b>

## ВСТУП

Методичні матеріали до літньої навчальної практики з дисципліни «Гідробіологія».

Літня навчальна практика являє собою невід'ємну частину та безпосереднє завершення дисципліни «Гідробіологія» і проводяться після закінчення навчання на другому курсі. Тривалість практики складає 90 годин (2 тиждень), база практики – навчально-наукова лабораторія ВБР кафедри водних біоресурсів та аквакультури ОДЕКУ.

Метою проведення практики є закріплення та розширення знань студентів, отриманих при вивченні теоретичної частини та лабораторних робіт, а також у формуванні навичок науково-дослідної роботи.

Особлива увага приділяється опануванню методами досліджень різноманіття та кількісних показників найважливіших угруповань гідробіонтів і методи оцінки якості водного середовища на їх основі. Оцінювання студентів з модулю навчальної практики складається з двох частин: 1) виконання робіт та оформлення звіту студентом на протязі практики згідно з навчальною програмою; 2) захист бригадного звіту. Якість проходження практики перевіряється при поточному і рубіжному контролі. Забезпечується рейтингова система набору балів.

Навчальна включає наступні види робіт: екскурсійно-підготовчий, польовий і камеральний. Докладний зміст кожного з видів робіт наводиться у робочій програмі навчальної практики з дисципліни «Гідробіологія».

Метою і задачами практики є:

- закріпити, розширити та поглибити теоретичні знання, отримані студентами під час аудиторних занять;
- набути практичного вміння та навичок самостійного освоєння методичних прийомів роботи з живими водними об'єктами.

Під час практики студенти повинні оволодіти:

- вмінням розпізнавати водні живі об'єкти у їх типовому середовищі та проводити опис гідробіоценозів;
- вмінням оформлення гербарію, колекцій гідробіонтів, списків видового складу різних угруповань гідробіонтів;
- навичками використання основних засобів для відбору проб гідробіонтів у польових умовах та обробки гідробіологічних проб у лабораторних умовах.

Завершуючи практику студенти повинні подати письмові звіти, до яких додаються протоколи обробки проб та зібраний польовий матеріал у вигляді фіксованих проб та/або колекцій, препаратів. Звіти виконуються бригадами (3-5 студентів) і подаються на заключній конференції.

Підсумкова оцінка – залік. Виставляється викладачем після перевірки

зключного звіту і зібраного колекційного матеріалу.

Звіт виконується за наступною структурою:

1. У звіті вказується інформація про авторів (П.І.Б. студента, курс, група, спеціальність), місце і терміни проходження практики.
2. Дається опис екскурсій, наводяться списки таксонів зібраних та ідентифікованих гідробіонтів у вигляді протоколів обробки проб чи проведених експериментів, а також коротка характеристика досліджуваних угруповань за основними структурними показниками.
3. Додається колекційний матеріал – фіксовані проби, мікропрепарати, вологі або сухі макропрепарати (водорості, безхребетні, риби).

### **Організація практики**

Основними формами проходження практики з гідробіології є польові екскурсії на узбережжя Чорного моря (м. Одеса) і камеральна обробка зібраного матеріалу.

Польові екскурсії – це вихід в природні екосистеми в складі групи з керівником практики. Місцями проведення екскурсій є різноманітні пляжі в околицях м. Одеси. Під час екскурсій виконуються планові спостереження та відбір гідробіологічних проб методами, що відповідають завданням екскурсій.

Екскурсії завжди тематичні, плануються відповідно з програмою і графіком проходження практики. Розрізняють екскурсії оглядові та екскурсії для конкретних самостійних тематичних досліджень.

Оглядові екскурсії мають на меті загальне ознайомлення з районом практики, особливостями природного середовища і типовими для нього біоценозами. У результаті конкретизуються індивідуальні теми, методики і графіки виконання робіт.

Екскурсії для виконання самостійних робіт плануються і виконуються згідно з індивідуальними (для бригад) темами. Завчасно, перед польовим виходом, керівник практики проводить інструктаж, який містить план майбутньої екскурсії та її мету, маршрут, порядок руху та техніку безпеки на маршруті і при виконанні робіт. Відповідно до завдань екскурсії студентами попередньо готується інструментарій та польове спорядження.

Камеральні роботи – це обробка проб у стаціонарних (лабораторних) умовах. Їхня суть полягає в систематизації польового матеріалу, кількісному обліку окремих видів, формуванні колекцій окремих видів чи тотальних проб у вигляді фіксованих проб, сухих або вологих макро- і мікропрепаратів, які в подальшому використовуватимуться як наочний матеріал при вивченні теоретичного та лабораторного курсів дисципліни «Гідробіологія».

Загальними пунктами гідробіологічної камеральної обробки є

наступне:

- з прибуттям на базу (кафедра, лабораторія) упорядковуються записи у польовому щоденнику;
- зібрані проби готуються до подальшої обробки, згідно методик;
- виконується таксономічна діагностика зібраного матеріалу;
- здійснюється кількісний облік окремих видів;
- матеріал сортується, якщо потрібно;
- виготовляються постійні препарати та наочні матеріали.

При польових зборах матеріал скрупульозно етикетують і вживаються заходи для запобігання псування зібраних проб при транспортуванні в лабораторію. Надалі проби необхідно негайно систематизувати і прийняти відповідні заходи для їхньої подальшої обробки та довгострокового зберігання або монтування до наочного матеріалу.

Методи збору, обробки, зберігання та статистичної обробки матеріалів наводяться окремо в розділах, присвячених методиці вивчення окремих угруповань.

Основною вимогою до виконання завдань є щоденне присутність і активна робота студента на екскурсії і при камеральній обробці матеріалів.

Тема індивідуальної роботи для бригад обирається після першої ознайомчої екскурсії на організаційному обговоренні і надалі виконується під керівництвом викладача. Індивідуальна тема обговорюється з кожним студентом, узгоджується зміст майбутньої роботи, пропонується список основної літератури, доступної в даний період роботи. При нерегулярному відвідуванні занять з поважних причин студент повинен відпрацювати теми самостійно або в складі іншої групи (за погодженням з викладачем). В разі відсутності поважних причин практика не зараховується.

В процесі роботи над темою кожен студент повинен виготовити колекційний матеріал, придатний для використання в ході теоретичних або лабораторних занять з гідробіології, зоології та інших дисциплін. Крім того, кожен повинен навчитись розпізнавати і знати латинські назви не менше як 50 видів безхребетних з різних угруповань, 20 видів макрофітів (водоростей та вищих квіткових рослин), по 20 видів одноклітинних представників протистів (фіто- і зоопланктону та фіто- і зообентосу), 20 видів риб.

Навчальна польова практика з гідробіології охоплює наступні напрямки:

- експерименти з окремими гідробіонтами;
- дослідження складу і кількісних характеристик планктону і нейстону;
- дослідження складу і кількісних характеристик мікро- і мейобентосу;
- дослідження складу і кількісних характеристик макрзообентосу і зооперіфітону;

- дослідження складу, кількісних характеристик і морфо-функційних параметрів макрофітобентосу.
- дослідження танатоценозів супраліторалі.

Місцевість, де проходить практика, – це різнотипні пляжі в околицях м. Одеса, які відрізняються розмірами, популярністю серед відпочиваючих (різний рівень антропогенного навантаження), наявністю на дні твердих субстратів (камні, валуни), механічним складом ґрунтів (пісок), кількістю гідротехнічних споруд. Прибережна смуга являє собою екосистему, де внаслідок «крайового ефекту» спостерігається скупчення життя, а процеси взаємодії живого і неживого компонентів екосистеми набувають найбільшої потужності. Різноманіття умов на межі взаємодії моря, суші і повітря сприяють утворенню своєрідних угруповань пелагіалі, бенталі і перифіталі. Серед кожного типу гідроценозів за особливостями абіотичних умов і їх біотичної складової, в свою чергу, розрізняють окремі види біотопів. Наприклад, в ділянках каменистих або піщаних ґрунтів як на суші (супралітораль), так і у водному середовищі обов'язково формуються специфічні абіотичні умови, слідством яких є особливий видовий склад гідробіоти.

В період проходження практик об'єктами досліджень будуть піщане та каменисте дно, товща і поверхня води, поверхня гідротехнічних споруд, зони заплеску. Останні цікаві тим, що в них формуються викиди гідробіонтів – молюсків та водоростей, які являють собою, хоча і тимчасові біоценози (т.з. танатоценози), але такі, що надають притулок багатьом водним і наземним організмам, які там не тільки успішно існують а й приймають участь у розкладі органічної речовини, тим самим сприяючи очищенню пляжів.

Особливе місце під час проходження практик займає виконання вимог техніки безпеки при польових роботах та дотримування правил поведінки на воді.

### **Правила техніки безпеки при проходженні літньої навчальної практики**

Будь який вихід на узбережжя – це додатковий ризик, пов'язаний з небезпекою для життя та здоров'я. Цей ризик має бути зведений до мінімуму, що можливо лише за умов чітких знань та виконання правил безпеки. Без чітких знань цих правил керівник практики не має права допускати студента до виконання робіт. Вимоги техніки безпеки важливіше вимог до виконання роботи. При будь-якій події, що становить загрозу безпеці, роботи припиняються. Перед початком практики всі її

учасники повинні пройти відповідний інструктаж з дотримання правил безпеки і розписатися в спеціальному журналі з техніки безпеки.

Кожен з учасників практики повинен навчитися надавати першу допомогу (робити штучне дихання, накладати пов'язки і т.д.).

Кожна бригада повинна мати загальну групову аптечку з необхідною добіркою ліків, яку потрібно обов'язково брати з собою в маршрути.

Під час переїзду до узбережжя і назад, незалежно від того, на якому транспорті доводиться добиратися до місця, всі учасники практики зобов'язані дотримуватися тих правил, які встановлені на цьому транспорті. При нещасному випадку або будь-якому (!) погіршенні самопочуття потерпілий або очевидець негайно повідомляє про це викладача, який терміново організує першу допомогу потерпілому і доставку його до найближчої лікувальної установи. Якщо викладача негайно сповістити неможливо, першу допомогу потерпілому надають присутні. Взуття та одяг повинні відповідати погоді. При негоді (сильний дощ, буря) вихід до моря заборонений. Якщо негода застала вже на місці, роботи припиняються і група повертається до лабораторії, або переміщується в укритті.

Роботи на узбережжі дозволяється проводити тільки в світлий час доби.

Купання дозволяється тільки з дозволу керівника. Для спостереження і надання допомоги керівник або його заступник повинні знаходитися на березі. Одночасно можуть купатися не більше 10 осіб. Стрибки з гідротехнічних споруд заборонені. Дозволяється запливання від місця входу у воду в межах, дозволених на даному пляжі (до буїв), а в разі їх відсутності – не більше 50-60 метрів, при тривалості купання не більше 15-20 хвилин. Використання легководолазного спорядження дозволяється тільки студентам, які пройшли спеціальну підготовку, в межах дозволеної для купання зони під суворим контролем викладача. Під час грози купатися **категорично** забороняється.

Під час грози також забороняється залишатися на відкритих місцях (пляж, траверси), слід триматися поодаль від окремо розташованих дерев, металевих предметів та споруд (у тому числі роздягалень, навісів, стаціонарних сонцезахисних парасоль тощо).

Загрозу при польових роботах також можуть становити інструменти та приладдя, що застосовується під час роботи на березі – гострі краї шкребків чи рамок, скляні уламки піпеток, термометрів. При роботі з таким приладдям слід дотримувати обережності. При роботі з концентрованим розчином формаліну також слід бути обережним: не нюхати і не вдихати парів рідини, користуватися гумовими рукавичками.

Зазвичай, гідробіологічна практика проходить в місцях, де не мешкають активно отруйні гідробіонти, зокрема риби (скат, дракон), але

загрозу можуть становити деякі великі екземпляри медуз – аурелії або корнерота. В разі контакту з цими тваринами необхідно ретельно омийти такі місця великою кількістю води. В разі виникнення подразнення чи алергійних реакцій – негайно повернутися до лабораторії і звернутися до лікаря. Треба також остерігатися брати медуз до рук, а в разі необхідності – ретельно їх промити і ні в якому разі протягом 30 хвилин не торкатися такими руками очей! Для відловлювання медуз краще використовувати відро або таз.

Інші ризики пов'язані із роботою в лабораторії, тому слід дотримуватись наступних вимог:

1. У лабораторії забороняється шуміти, бігати, приймати їжу і напої, відволікатись і відволікати інших студентів сторонніми чинниками і діями.
2. Без дозволу викладача не брати прилади, препарати та різне устаткування з інших робочих місць.
3. Не виносити з лабораторії і не вносити до неї будь які прилади, препарати, живі об'єкти, а також не допускати без дозволу викладача під час проведення роботи сторонніх осіб.
4. При отриманні травм або поганому самопочутті звернутись до викладача для одержання першої медичної допомоги.
5. Лабораторне устаткування розташовувати в центрі стола в лотку, прибрати зі столу сторонні предмети, перевірити лабораторне устаткування (чи немає сколів на склі, укомплектованість устаткування).
6. Під час виконання роботи необхідно точно виконувати вказівки викладача, без його дозволу забороняється проводити будь які дослідження.
7. Дотримуватись обережності при роботі з використанням інструментів, що колять і ріжуть, не направляти їх гострою частиною на себе і оточуючих, на робоче місце класти гострою частиною від себе.
8. Обережно поводитись з лабораторним посудом. Не натискати на крижкі стінки пробірок, стаканів. Якщо розбився посуд, не збирати осколки руками. Забороняється самостійно мити скляний посуд.
9. Виготовляючи препарати для розгляду їх під мікроскопом, обережно брати покривне скло великим і вказівним пальцем лівої руки за краї, розташувати його на предметному столі під кутом над препаратом, потім притримуючи край покривного скла препарувальною голкою плавно опустити на препарат.
10. При роботі з фіксованим матеріалом необхідно напередодні заняття витягнути його з розчину і ретельно промити під сильним струменем води.
11. Щоб уникнути отруєнь і алергічних реакцій не нюхати і не пробувати

матеріал на смак. Негайно повідомляти викладача про розлив розчинів, води, не прибирати самостійно будь-які речовини.

12. По закінченню роботи зібрати залишки розчинів в спеціальний посуд. Привести в порядок робоче місце, здати на зберігання устаткування, прилади і препарати.
13. Ретельно вимити руки.
14. При виникненні аварійної ситуації негайно припинити роботу і повідомити викладача



## 2 ОРГАНІЗАЦІЯ І МЕТОДИ ПОЛЬОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ В ГІДРОБІОЛОГІЇ

Практика з гідробіології складається з двох розділів – загальне ознайомлення з водними і прибережними біотопами та виконання самостійної дослідницької теми. Збір матеріалу відбувається як на екскурсіях, так і індивідуально. Його визначення і камеральна обробка виконуються студентами самостійно, викладач виконує роль консультанта.

Кожна тема практики проводиться за наступним планом:

- вступна бесіда;
- екскурсія всією групою разом з керівником;
- камеральна обробка зібраного матеріалу.

Всі роботи підпорядковані єдиному методичному комплексу польових вибірок і камеральної обробки гідробіологічного матеріалу за тематичним загальним планом практики з гідробіології:

1. Організаційна частина – вивчення техніки безпеки, підготовка обладнання, загальне ознайомлення з методиками роботи.
2. Вступ. «Водні біотопи та їх характеристика» (характеристика абіотичних параметрів поверхні та товщі води, ґрунту, методи визначення основних абіотичних параметрів – температури, солоності, вмісту кисню)
3. Тема 1. «Угруповання пелагіалі і нейстали» (товща води як життєве середовище, життєві форми пелагобіонтів і нейстонів, методи відбору планктону і нейстону, таксономічне визначення та облік фіто- і зоопланктону).
4. Тема 2. «Угруповання бенталі і перифіталі» (ґрунт як життєве середовище, життєві форми бентонітів і перифітонів, методи відбору та камеральної обробки бентосу і перифітону).
5. Тема 3. «Рослинні угруповання – водорості-макрофіти та вища водна рослинність» (водні фітоценози, зарості макрофітів як середовище для фітофільної фауни, методи досліджень макрофітів).
6. Тема 4. «Фітофільна фауна і танатоценози» (методи збору фітофільної фауни, пристосування гідробіонтів до життя на макрофітах, поняття про танатоценози та їхнє значення).

В межах загальної тематики практики з гідробіології студенти обирають тему для самостійної дослідницької роботи, яка може стати фундаментом для курсових та дипломних робіт.

### 2.1 Планування досліджень

Перш, аніж приступити до самостійної дослідницької роботи, слід заздалегідь скласти план робіт. Такий план повинен включати в себе:

- визначення об'єкту і предмету дослідження;
- формулювання мети дослідження;
- постанову задач, які необхідно вирішити для досягнення поставленої мети;
- складання схеми відбору матеріалу;
- обрання необхідних методик;
- очікувані результати.

Перш за все треба визначитися з *об'єктом* та *предметом* дослідження. Згідно одному з трактувань, об'єкт дослідження – це та частина об'єктивної реальності, яку досліджує вчений, а сукупність знань про цей об'єкт і сам об'єкт в процесі дослідження – це предмет дослідження.

Об'єктом гідробіологічних досліджень в ході літньої навчальної практики можуть бути обрані різні угруповання гідробіонтів – від популяцій молюсків (мідія, мітілястер) чи ракоподібних (ідотея, гамариди тощо), до цілісних угруповань пелагіалі або бенталі – зоопланктону, фітопланктону, перифітону, і т.д. Предметом дослідження, відповідно, можуть бути різноманітні властивості угруповань, такі як структура популяцій, просторовий розподіл, якісний склад і кількісні показники тощо. Об'єкт і предмет досліджень перш за все повинні відповідати меті та задачам, які спрямовані на вирішення конкретної наукової проблеми.

В ході консультацій з керівником практики зі студентів зазвичай формуються дослідницькі групи згідно з обраним об'єктом і предметом досліджень. Кожен студент, за бажанням може обрати власний об'єкт і досліджувати його самостійно, особливо якщо в подальшому така дослідницька робота має перерости в курсову чи дипломну роботу.

Формулювання *цілей* дослідження – чине найважливіший етап роботи, від якого залежить успіх подальших дій. По-перше, цілі дослідження мають бути спрямовані на вирішення якогось теоретичного чи практичного питання. Наприклад, вивчення просторового розподілу зоопланктону в акваторії пляжу, обмеженого гідротехнічними спорудами, дозволить з'ясувати, як впливають організми перифітону на кількісні характеристики зоопланктону. Вочевидь, мета дослідження завжди перекликається з очікуваними результатами. Таким чином, формулювання цілі – це постановка гіпотези, а очікувані результати – предмет аналізу для ймовірного її підтвердження чи спростування. По-друге, слід оцінити власні можливості щодо здійснення задумок, зокрема наявність матеріально-технічної бази, і, головне, часу. Для оптимізації останнього слід дотримуватись наступних етапів плану досліджень, зокрема чітко сформулювати *задачі* дослідження. Постанова задач повинна бути спрямована на вирішення певних питань, сукупність відповідей на які у вигляді висновків складає зміст цілі дослідження. Інакше кажучи,

розв'язання певного наукового питання (проблеми), яка є метою дослідження, складається з вирішення поставлених задач. Формулювання задач – досить складний процес і в кожному випадку потребує узгодження і консультацій з керівником практики. Тим не менш навички, отримані в ході цього процесу сприяють формуванню у студентів наукового підходу до вирішення тих чи інших питань в ході виконання курсових і дипломних робіт.

Складання схеми робіт та обрання необхідних методик – наступні етапи планування самостійної науково-дослідницької роботи. Ці пункти передбачають мобілізацію знань та навичок, отриманих в ході вивчення як теоретичної, так і практичної складової курсу «гідробіологія». Зокрема, треба визначитися, який тип відбору матеріалу (проб) слід застосовувати. Під час загального ознайомлення з водними і прибережними біотопами складається карта-схема ділянки, яку планується досліджувати. Далі на таку карту-схему накладають сітку (розкреслюють) і визначають кількість станцій згідно обраного типу відбору проб (систематичного, рендомізованого, інтегрального, пропорційного). Обрання методик передбачає вибір оптимальних методів збору, фіксації та камеральної обробки матеріалу, а також визначення необхідного математичного апарату, який буде застосовано при обробці отриманих емпіричних даних. З урахуванням останнього, коротко формулюються очікувані результати досліджень. Цей етап підготовки плану передбачає лише характеристику даних, які планується отримати. Наприклад «Будуть зіставлені кількісні, якісні характеристики і структура угруповань (АВС-індекс, індекс домінування, індекс різноманіття) зоопланктону в різних ділянках пляжу, обмеженого гідротехнічними спорудами». Власне, самі характеристики, інтерпретація даних, висновки – це частина звіту, а не плану досліджень.

Після складання плану та узгодження його з керівником розпочинається підготовка необхідного обладнання згідно обраних методик. Перш за все, треба визначитися, які абіотичні характеристики доречно дослідити, або вимірювати під час відбору матеріалу. Далі треба підготувати обладнання, яке знадобиться для польових робіт, зокрема перевірити стан приладів та визначити необхідну кількість тари, підготувати, якщо потрібно, відповідні фіксатори. Особливу увагу слід приділити устаткуванню, що буде задіяно в лабораторії під час камеральної обробки матеріалу. Це лабораторний посуд, прилади (мікроскопи, лампи, вимірювальні прилади тощо), визначники. Вимірювання деяких абіотичних показників передбачає роботи в хімічних лабораторіях. Якщо існує така можливість (або необхідність), керівник практики заздалегідь домовляється з керівництвом інших суміжних кафедр щодо проведення зазначених робіт з дотриманням всіх вимог техніки безпеки.

## 2.2 Загальні методи визначення основних абіотичних параметрів

Будь яке дослідження водного населення того чи іншого біотопу повинно розпочинатись із складання загальної характеристики досліджуваного біотопу, де мешкає те чи інше угруповання, яке цікавить дослідника. При цьому слід звернути увагу, які саме з таких характеристик мають найбільше значення для того чи іншого угруповання. Наприклад, для мікро- і мейозообентосу ключовими параметрами будуть механічний склад ґрунтів і вміст в них органічної речовини, для планктону – наявність течій та гідрологічний режим водойми, перифітону – наявність та властивості субстратів, фітопланктону – вміст поживних речовин, течії тощо. Зазвичай, для цього притягуються фахівці відповідної спеціалізації. Тим не менш, деякі загальні параметри, такі як температура ( $T$ ), вміст кисню ( $Co_2$ ), солоність ( $S$ ), активна реакція ( $pH$ ), окисно-відновний потенціал ( $rH$  або  $Eh$ ), прозорість ( $I$ ), колір води і деякі інші вимірюються безпосередньо гідробіологом при кожному відборі проб. В наш час існують багато компактних приладів для визначення цих показників на місці, у тому числі мультиметричних, що дозволяють одним приладом вимірювати декілька параметрів. За відсутністю таких, можна скористатися звичайним приладдям. Нижче наведені методи визначення основних абіотичних параметрів такими засобами.

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

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

Визначення  $pH$ . При визначенні використовують польовий прецизійний  $pH$ -метр або індикаторний папір. У деяких випадках визначення  $pH$  проводять за допомогою колориметричного методу з використанням готових кислотно-основних індикаторів, що міняють колір при певних значеннях  $pH$ , наприклад, за допомогою приладу Алямовського, призначеного для виміру активної реакції природних вод та ґрунтів. Для калібрування  $pH$ -метра й індикаторів використовують готові буферні розчини зі значеннями  $pH$  4, 7, 9. Після визначення обов'язково

промивають електроди дистильованою водою.

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

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

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

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

#### Хід аналізу:

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

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

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

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

Метод Вінклера також застосовують при вимірюванні первинної продукції, тобто новоствореної фітопланктоном органічної речовини. Кількість кисню, що виділяється в процесі фотосинтезу еквівалентна кількості синтезованої органіки, тому зафіксувавши цей кисень вищезазначеним методом можна судити про рівень первинної продукції. Цей метод одержав назву «визначення первинної продукції методом склянок». В його основі лежить визначення кількості кисню, що утворюється у світлих склянках в процесі фотосинтезу і той, що поглинається в темних склянках у процесі дихання гідробіонтів. Проби води, відібрані батометром, експонують у водному об'єкті на певній глибині в герметично замкнених склянках – світлих (прозорих) і темних. У світлій склянці одночасно відбуваються процеси фотосинтезу й дихання організмів планктону. У темній склянці протікають тільки процеси дихання (деструкції), при яких кисень поглинається. Щоб встановити приріст або зменшення вмісту кисню протягом експерименту, перед експозицією склянок визначають його вихідний вміст у воді водного об'єкту. Темні склянки фарбують у чорний колір або занурюють у чорні непрозорі мішечки. Об'єм склянок залежить від численності фітопланктону й може коливатися від 50 до 500 мл. Склянки підвішують на тресах або спеціальних підставках. Після закінчення експозиції зі склянок відбирають

пробу об'ємом 50–100 мл і фіксують у ній кисень як зазначено вище. У результаті проведеного в такий спосіб експерименту одержують три основних показники: а) вихідну, або контрольну, концентрацію кисню (К); б) концентрацію кисню в прозорих склянках (С); в) концентрацію кисню в темних склянках (Т). Валова первинна продукція  $A$  розраховується в міліграмах кисню на 1 дм<sup>3</sup>:  $A = C - T$ . Деструкція ( $R$ ) і чиста продукція ( $P$ ) обчислюються відповідно по формулах  $R = K - T$  і  $P = C - K$ . Визначають звичайно добову продукцію, експонуючи склянки протягом 24 годин, що пов'язано з добовим циклом сонячного освітлення: фотосинтез найбільш інтенсивний з 10 до 16–18 годин, у темний час доби підсилюється деструкція, а за добу одержують середню величину. Однак, при деяких умовах час експозиції доводиться значно зменшувати (до 2–4 годин). Така більш коротка експозиція застосовується у випадку «цвітіння» води, коли внаслідок інтенсивного фотосинтезу водоростей реакція середовища зміщується в лужний бік, падає вміст біогенних елементів, через це фотосинтетична активність фітопланктону зменшується, і починають переважати процеси деструкції.

Загальна характеристика ґрунтів. Як вже зазначалось, для деяких угруповань бенталі ключовими характеристиками біотопу є властивості ґрунту. Перш за все це гранулометричний (механічний) склад, під яким розуміється масова доля часток ґрунту певного розміру. Як правило, така характеристика складається для так званих м'яких ґрунтів – глини, мулу, піску, ракуші. Якісна характеристика надається за перевагою тієї чи іншої фракції, наприклад: «глинистий мул», «пісок з домішкою ракуші», «мул з ракушею» і т. д. Зазвичай, додають також колір ґрунту, який залежить від вмісту сірководню в ньому – сірий (невеликий вміст  $H_2S$ ), або чорний (містить істотну кількість  $H_2S$ ). Якщо ознак сірководню немає, колір ґрунту не вказують. Кількісну характеристику ґрунтів дають після дослідження його в лабораторії. Існують декілька методів визначення механічного складу, серед яких найпростішим є гравіметричний. Для цього навіску ґрунту, попередньо промитого дистильованою водою і висушеного, просіюють скрізь систему сит з вічками розміром 10, 7, 5, 3, 2, 1, 0,25 мм. Потім на вагах зважують масу решток на кожному з сит і масу залишку, що пройшов крізь останнє сито. Обчислюють масову частку (%) кожної фракції. Зручно такі дані графічно візуалізувати (рис. 2.1.1).

Іншою важливою характеристикою рихлих ґрунтів є *пористість*  $\phi$ , яка визначається як відношення тотального об'єму пор  $V_1$  в певному об'ємі ґрунту  $V_2$  до цього об'єму, тобто  $\phi = V_1/V_2$ . Найпростіший спосіб вимірювання цього параметру полягає в насиченні заздалегідь вимірюного об'єму сухого ґрунту ( $V_2$ ) надлишком дистильованої води певного об'єму. Коли ґрунт повністю просочитися водою, надлишок останньої видаляють і вимірюють за допомогою мірного циліндру.

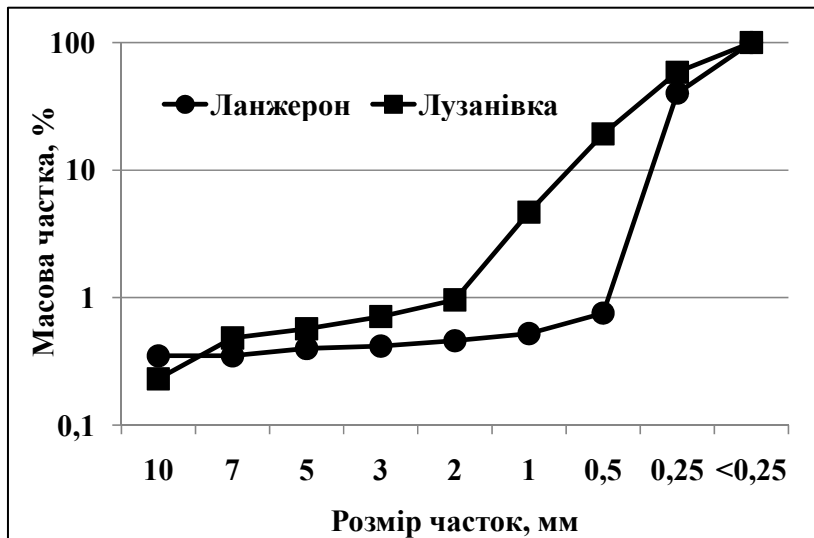


Рис. 2.2.1 Приклад графічного подання даних по механічному складу ґрунтів одеських пляжів Ланжерон і Лузанівка.

Віднімаючи цей об'єм від первинного отримують значення  $V_1$ . Пористість ґрунтів залежить від вмісту найменших фракцій,

лінійних розмірів часточок ґрунту і ступінню їх компактування. Чим більше  $\phi$ , тим більш сприятливі умови існування для гідробіонтів, що мешкають в ґрунтах (інфауни, інтерстиціальної фауни, найпростіших та мікрободоростей).

Інші фізико-хімічні параметри ґрунтів, такі як проникність, вміст органічної речовини, хімічний склад порових вод, вміст карбонатів тощо потребує залучення відповідних фахівців і виконується згідно загальноприйнятих методик в спеціалізованих лабораторіях.

### 2.3 Основи вивчення угруповань пелагіалі і нейсталі

Пелагіаль є найбільшим водним біотопом у світі, де мешкають різноманітні угруповання гідробіонтів, від найменших істот – вірусів, бактерій і найпростіших до велетенських китів. Таке біорізноманіття обумовлене, з одного боку, великим життєвим простором, з іншого – вкрай багатим різноманіттям умов, властивим різним куточкам водного простору. Існує безліч методів дослідження населення цього біотопу.

Одним з найважливіших компонентів біоти морів і океанів є мікроскопічні організми, перш за все фотосинтезуючі одноклітинні – фітопланктон, що створюють органічну речовину (первинну продукцію), завдяки якій існують інші гідробіонти, причому не тільки пелагічні, а й донні. Інший, не менш важливий компонент населення пелагіалі – первинні споживачі продукції фітопланктону – зоопланктон, який, переробляючи рослинну біомасу створює тваринні білки, забезпечуючи, тим самим, харчові потреби наступних трофічних рівнів – ссавців, риб, великих безхребетних. Вивчення угруповань фіто- і зоопланктону, таким чином, є невідомою складовою будь-яких комплексних гідробіологічних досліджень. Опанування методами кількісного та якісного вивчення автотрофних і гетеротрофних організмів планктону – обов'язкова складова



курсу «гідробіологія». Викладені нижче методики збору та обліку найбільш важливих угруповань в складі фіто- і зоопланктону є базовими. Більшість сучасних методів являють собою лише більш-менш вдосконалені базові, за винятком опосередкованих засобів спостереження за допомогою спеціальних приладів (електронні лічильники, фізико-хімічні методи оцінки складу та кількості планктону, аерокосмічні спостереження тощо). Питання про їхні переваги досить дискусійні.

### 2.3.1. Методики дослідження нейстону

Нейстонні організми в морі зазвичай мешкають у відкритих районах, а відбір проб для їх дослідження здійснюється за допомогою спеціальних нейстонних сіток і тралів. Такі роботи ведуться з великих суден або катерів і в умовах літньої практики практично нездійсненні. Тим не менш, нейстонні мікроорганізми (найпростіші, мікроводорості, коловертки тощо) зустрічаються і в прибережних водах, тому знайомство із цим угрупованням цілком можливе і не потребує особливих знарядь лову. Виключенням є бактерії, кількісний облік яких здійснюється за умов стерильності в спеціалізованих лабораторіях.

#### Якісне дослідження епібактеріонейстону

Бактеріальні організми характеризуються розмаїттям форм і розмірів. Визначити, які з них утворюють плівку на поверхні води досить легко. Для цього використовують ретельно вимиті та знежирені предметні скельця. Знежирити скельця можна прокип'ятивши їх в 5 % розчині кальцинованої соди ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) протягом 10 – 15 хвилин. Скельця також перед використанням можна простерілізувати, завернувши їх у фольгу та прожаривши в духовці при температурі 180 – 200°C протягом 20 хвилин. Виймати з фольги такі скельця треба безпосередньо перед відбором проби. Якісне дослідження епібактеріонейстону здійснюють методом так званих кляч-препаратів (препарати-«відбитки»). Для цього скло виймають з фольги, швидко опускають його однією стороною на поверхню води і одразу виймають. Після цього скельця висушують на повітрі і в такому стані доставляють у лабораторію. Фіксацію отриманих таким чином мазків здійснюють над полум'ям спиртівки, проводжуючи скельця крізь полум'я кілька разів. Нагрів препаратів контролюють прикладаючи кожного разу скельця чистою стороною до тильної поверхні долоні: скло повинно мати температуру достатньо високу, але не опікати шкіру. Мазки охолоджують на повітрі до кімнатної температури. Замість фіксації спиртівкою можна скористатися медичним препаратом «формідрон», зануривши в склянку з розчином мазки на 15 хвилин. Після цього мазки занурюють послідовно у

3 склянки з дистильованою водою, витримуючи кожного разу близько 5 хвилин, після чого висушують на повітрі. Для забарвлення бактерій та полегшення їх мікроскопічної візуалізації використовують різні методи, серед яких найбільш поширені забарвлення лужним фуксином Циля та забарвлення по Граму.

Для приготування розчину лужного фуксину за Цилем у порцеляновій ступці ретельно розтирають 1 г фуксину лужного та 5 г фенолу кристалічного, по краплинам додаючи 10 мл етилового спирту і 20 мл дистильованої води до повного розчинення кристалів. Після цього додають 80 мл води і зберігають у темній склянці. Для забарвлення мазків цей розчин розводять водою у співвідношенні 1÷9. На висушений мазок у кюветі або чашці Петрі наливають розчин і лишають на 3 хвилини. Після цього змивають фарбу струменем води зі склянки до відходження хмаринок фарби з препарату. Скло висушують на повітрі і досліджують під мікроскопом.

Забарвлення мікропрепаратів за Грамом дозволяє виявити грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми, які відрізняються, відповідно, великим, або низьким вмістом у кліткових стінках пептидогліканів – речовин, що зміцнюють зовнішній скелет клітин та впливають на властивості бактеріальних клітин, зокрема їх стійкість до негативних впливів зовнішнього середовища. Найпростіший метод забарвлення за Грамом (у модифікації Г. П. Каліни) здійснюється наступним чином.

1. Готують два розчини: а) 0,5 % спиртовий розчин діамантового зеленого або кристалічного фіолетового; б) у 96 мл етанолу розчиняють 0,5 г КЛ, 0,5 г лужного фуксину і додають 2 мл 5 % розчину йоду. Можна скористатися медичними препаратами, відповідно діамантового зеленого та йоду.
2. На препарат у чашці Петрі, або кюветі капають кілька крапель розчину а) і висушують на повітрі.
3. Додають на висушений препарат розчин б) і витримують 1 – 2 хвилини.
4. Змивають водою зі склянки до відхлдження хмаринок фарби.
5. Висушують препарат на повітрі.

Мікроскопіювання препаратів здійснюють, використовуючи імерсійний об'єктив мікроскопу ( $90\times$ , або  $100\times$ ). Обов'язково знайдені мікроорганізми замальовують, або фотографують. Досліджують декілька полів зору, підраховуючи в кожному кількість тих чи інших морфологічних форм. Результати зводять у таблицю, де для кожного дослідженого поля зору вписують кількість знайдених морфологічних форм бактеріальних клітин. В останньому рядку таблиці вписують середньоарифметичні за полями зору значення для кожної групи. Таким чином визначають відсоткове співвідношення різних морфологічних груп.

Таблиця 2.3.1. Приклад таблиці для занесення даних дослідження епібактеріонейстону.

№ поля зору	Грам+	Грам–	Кокоїдні	Бацили	Вигнуті
В середньому					

### Відбір проб епімікронейстону

Відбір мікроорганізмів епінейстону зручно здійснювати за допомогою приладу, який має назву «вічковий екран» (рис. 2.3.1).

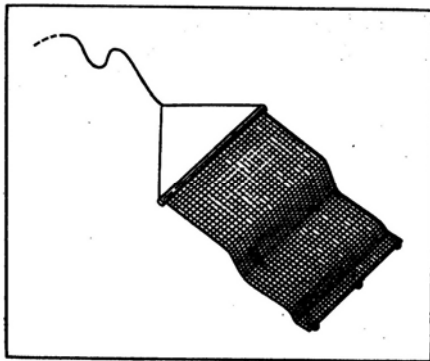


Рис. 2.3.1 Вічковий екран

Виготовляється такий екран з пластикової сітки (можна використовувати антимоскітну віконну сітку), розміром, зазвичай, 25×40 см. До верхнього краю сітки прилаштовується дерев'яна паличка, до якої, за допомогою двох відтинків рибальської ліски прив'язують тонку мотузку (обо ліску), на якій екран плавно опускають на поверхню води. Як тільки вся поверхня сітки доторкнеться поверхні води, її негайно виймають, і, доторкнувшись нижнім кутом сітки до внутрішньої стінки приймальної склянки, спускають воду. Так повторюють декілька разів, опускаючи сітку на різні ділянки поверхні води. Отриману рідку пробу якомога швидше доставляють в лабораторію і досліджують.

Іншим варіантом відбору епімікронейстону є збор піни з поверхні води. Велика кількість піни у водоймі свідчить, або про наявність великої кількості розчиненої органічної речовини, або про забруднення водного середовища детергентами. Піну збирають за допомогою великої ложки чи черпака у великі пластикові пакети і доставляють у лабораторію, де перекладають у великі стакани чи інші придатні ємності і дочікуються, доки піна осяде, перетворившись на рідину, яку потім досліджують.

### Відбір проб мікронейстону

Звичайні проби мікронейстону відбирають за допомогою будь-якої придатної ємності – пляшки, склянки тощо. Для цього пляшку напівзанурюють у воду горизонтально і чекають, доки вона не заповниться водою з поверхневого шару. Таким чином у пробі виявляються як епі-, так і гіпонейстонні організми. Отриману пробу також якомога швидше

доставляють у лабораторію і досліджують.

Організми мікронейстону (як епі-, так і гіпонейстону) представлені, в основному, найпростішими фото- і гетеротрофними організмами, а також коловертками та личинками безхребетних. Фіксація таких форм, навіть з використанням складних швидкодіючих фіксаторів, дає зазвичай незадовільні результати, оскільки, інфузорії, коловертки, деякі джгутикові руйнуються, або зморщуються і стають непридатними для подальшого визначення. Таким чином, роботи зі збору мікронейстону слід чітко планувати заздалегідь, враховуючи час на обробку таких проб у лабораторії. Окрім того, слід зауважити, що відбір проб необхідно проводити у тиху суху погоду, коли угруповання нейстонних організмів найменш порушене. Найкращий час для колекціонування матеріалу – ранок. В цей час як правило, мінімум відпочиваючих і найменша вилогідність вітряної погоди.

### Камеральна обробка проб мікронейстону

Як було відзначено вище, проби мікронейстону досліджують у нативному стані – без згущення і фіксації.

Пробу епімікронейстону, відібрану за допомогою вічкового екрану невеликими порціями наливають у маленьку пластикову чашку Петрі таким чином, щоб шар води становив приблизно 1 мм. Під стереомікроскопом досліджують поверхню води. Якщо спостерігається достатня кількість епінейстонних організмів, за допомогою пінцету доторкаються поверхні води кільцем з тонкого дроту, діаметром 0,5 см. Бажано, щоб таке кільце мало «ніжки» з тонкого дроту, висотою приблизно 1 мм. Таке кільце з поверхневою плівкою встановлюють ніжками на предметне скло і під мікроскопом досліджують поверхневу плівку. Інший спосіб отримання препарату – на поверхню води в чашці кладеться покривне скло, потім обережно виймається за допомогою пінцету і кладеться вологою стороною донизу на предметне скло. Препарат вивчають під мікроскопом: спочатку на малому збільшенні (об'єктиви  $4^{\times}$  -  $10^{\times}$ ); потім – на великому ( $40^{\times}$ ). В цей спосіб вивчають нерухомі, або малорухомі об'єкти, зазвичай мікроводорості. Підрахунок особин чи колоній здійснюється т.з. човниковим методом. При цьому полем зору мікроскопу на певному збільшенні об'єктиву «вирізають» стежку на препараті. Досягнувши одного з країв покривного скла (або кільця), зміщують препарат на одне поле зору вбік і «ведуть» препарат за допомогою механізму мікроскопу до іншого краю скла. Таким чином, зигзагоподібно, досліджують все покривне скло (кільце). Перерахунок на площу поверхні природної води здійснюють наступним чином. Наприклад, на покривному склі  $18 \times 18$  мм, площею, відповідно,  $324 \text{ мм}^2$  було знайдено

$N$  організмів певного виду. Площа маленької чашки Петрі (діаметром 37 мм), дорівнює  $\approx 1075 \text{ мм}^2$ , тобто на поверхні чашки кількість зазначених організмів складає  $N \times (1075/324) = 3,317N$ . Помноживши отриману кількість на кількість чашок, на яку було поділено пробу що досліджується, вираховують кількість організмів з екрану (екранів), площа яких заздалегідь відома (в нашому випадку це  $250 \times 400 = 10^5 \text{ мм}^2$ ). Далі кількість організмів перераховують на  $1 \text{ дм}^2$  площі поверхні води. Дані заносять у таблицю:

Таблиця 2.3.2. Приклад таблиці для занесення даних дослідження епімікронейстону.

Вид	Численність, екз. $\cdot \text{дм}^{-2}$	Біомаса, мг $\cdot \text{дм}^{-2}$
Всього		

Оскільки більшість дрібних тварин мікронейстону (епі- і гіпо-) – достатньо рухливі, для їх підрахунку використовують метод прямого підрахунку. Для цього використовують ті самі засоби, що і при підрахунку мікро- і мезозоопланктону. В якості сосуда використовують камеру Богорова (рис. 2.3.2).

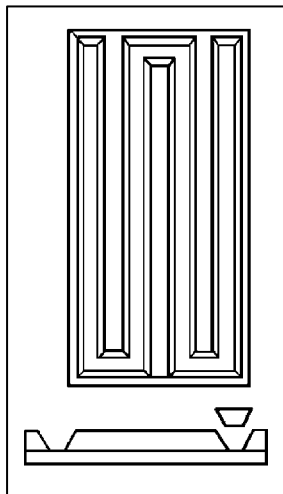
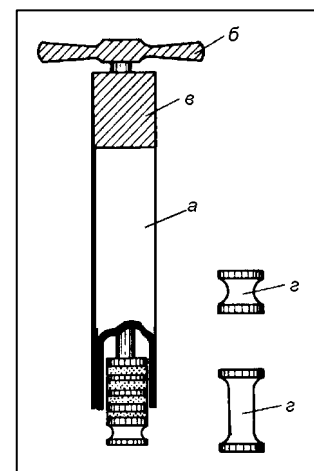


Рис. 2.3.2 Камера Богорова: вид зверху та в розрізі.

Рис. 2.3.2 Камера Богорова: вид зверху та в розрізі.

Вона являє собою пластину з плексигласу, в якій зроблена зигзагоподібна канавка, що в розрізі має форму трапеції. В камеру поміщають частину проби певного об'єму – аліквоту, розподіляючи її рівномірно по канавці. Камеру з пробю досліджують під стереомікроскопом, продивляючись канавку від одного кінця до іншого, та підраховуючи організми. Така форма сосуду для кількісного підрахунку має перевагу над чашками Петрі оскільки рухливість тварин значно обмежується. Аліквота проби береться за допомогою іншого приладу – штемпель-піпетки (рис. 2.3.3).

Рис. 2.3.3 Штемпель-піпетка: а – трубка, б – ручка, в – передня металева обойма, г – металеві змінні катушки з виїмкою певного об'єму, що визначають об'єм аліквоти.



Замість камери Богорова, або штемпель-піпетки можна скористатися саморобними приладами. Саморобна лічильна камера (рис.2.3.4) виготовляється із звичайного предметного скла, всі краї якого занурюють у розплавлений парафін таким чином, щоб всередині утворилась канавка шириною приблизно 5 мм.

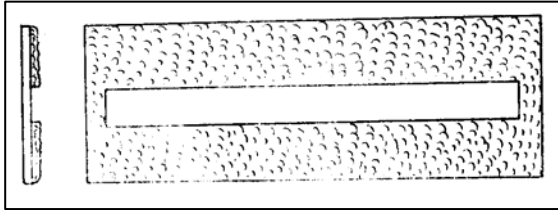


Рис. 2.3.4 Саморобна лічильна камера

Замість штемпель-піпетки цілком можна використовувати звичайну скляну градуйовану піпетку на 10 мл, загострений кінець якої відрізають. До іншого кінця за допомогою гумової трубки прилаштовують одноразовий шприц на 5 – 10 мл, яким відміряють об'єм затягнутої рідини.

Якщо підрахунок організмів в камері Богорова ускладнюється дуже сильною рухомістю організмів, їх можна видаляти з камери за допомогою мікропіпетки, переносячи в мікроакваріум або невелику ємність із фіксатором (наприклад, годинникове скло, або скло з лункою для препаратів «висяча краплина») для подальшої ідентифікації та вимірювання. Мікропіпетка являє собою витончений на одному кінці скляний капіляр. З іншого кінця може бути ПВХ трубка, яка використовується в якості мундштука для затягування в капіляр організмів, або скляна порожня кулька. В останньому випадку затягування організма в капіляр здійснюється регулюванням нагріву кульки за допомогою тепла пальців рук. Обидва типи мікропіпеток досить легко виготовити в лабораторних умовах в необхідній кількості (капіляри дуже ламкі!). Етапи виготовлення включають нагрівання скляної трубки діаметром 3 – 5 мм в полум'ї спиртівки з подальшим розтягуванням пом'якшеної трубки до потрібного діаметру (рис. 2.3.5).

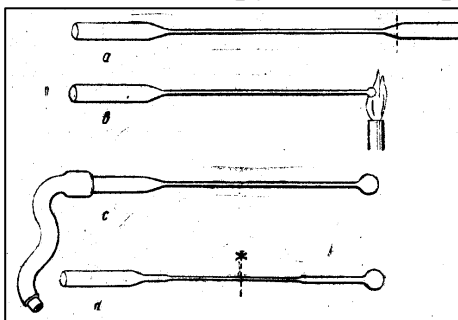


Рис. 2.3.5 Виготовлення мікропіпетки.

Після охолодження витягнуту частину розламують, отримуючи 2 мікропіпетки. Якщо необхідно зробити кульку, відтягнутий кінець однієї з піпеток оплавляють в полум'ї спиртівки і за допомогою ПВХ трубки обережно видують кульку. Далі повторюють ті самі операції, що і при виготовленні звичайної мікропіпетки. Слід зауважити, що скляну трубку для рівномірного прогріву треба постійно обертати навколо осі, а розламувати капіляр тільки після повного охолодження трубки (2 – 3 хв.). Робочий діаметр кінця мікропіпетки, зазвичай, становить 50 – 100 мкм. Якщо кінець товще – слід виготовити нову піпетку, якщо занадто тонкий – обламати вище.

Дані з підрахунку нейстонних організмів заносять у стандартну таблицю (див. табл. 2.3.2) з тією різницею, що перерахунок мікронейстонних організмів ведеться на 1 дм<sup>3</sup> води. Методи обчислення біомаси будуть розглянуті окремо нижче.

### 2.3.2 Методики дослідження планктону.

Планктонні організми за розмірними категоріями поділяються на *фемтопланктон* – віруси та найдрібніші прокаріоти, розміром менше 0,2 мкм; *пикопланктон* – більшість прокаріот (автотрофні й гетеротрофні бактерії, прохлорофіти, ціанопрокаріоти і найдрібніші представники евкаріот), розміром 0,2 – 2 мкм; *нанопланктон* – ціанопрокаріоти, джгутикові найпростіші (фото- і гетеротрофні), діатомеї, дрібні амебоїдні, плазмодіальні та війчасті найпростіші, розмір яких складає 2 – 20 мкм; *мікропланктон* – дрібні багатоклітинні організми (коловертки, нематоди, личинки хробаків і ракоподібних тощо) та більшість одноклітинних – інфузорії, дінофлагеляти, колоніальні ціанопрокаріоти, діатомеї, колоніальні фото- і гетеротрофні джгутикові, сонцевики, радіолярії, пелагічні форамініфери та інші, розмір яких складає 20 – 200 мкм; *мезопланктон* – деякі найбільші найпростіші (*Noctiluca*) і багатоклітинні організми (ракоподібні, стрілки, личинки бентонтів, хордові, хробаки), розміром 0,2 – 20 мм; *макропланктон* (крилоногі і кіленогі моллюски, гребневики, дрібні сцифомедузи, гідромедузи, хробаки, ракоподібні тощо), розміром 2 – 20 см і *мегалопланктон* (переважно медузи) – розміром вище 20 см.

Інший поділ планктонних організмів на фіто- і зоопланктон склався історично, коли всі живі організми поділяли на тварин і рослин. Тим не менш, в наш час такий поділ не втратив актуальність, оскільки автотрофний компонент планктону (фіто-) відповідає за створення первинної продукції і його облік дозволяє оцінювати інтенсивність продукування органічної речовини, потік біогенів та створення сировинної бази для інших гідробіонтів, зокрема зоокомпоненту планктону (зоо-). Нижче будуть розглянуті методики дослідження організмів, переважно з врахуванням розмірних класів. Додатково акцент буде зроблено на деякі особливості обліку фітопланктону. Оскільки за умов літньої практики увесь спектр планктонних організмів розглянути неможливо, базові методи більш детально будуть дані для нано-, мікро- та мезозоопланктону.

#### Відбір проб нано- і мікропланктону

Оскільки більшість представників цих розмірних категорій планктону руйнуються при відборі планктонними сітками, їх якісне і кількісне

дослідження ведеться в нативних пробах, відібраних за допомогою склянок, або батометрів. Найпростіший спосіб відбору проб полягає в заборі певної достатньої кількості води (приблизно 1 літр) з водою за допомогою відра або пляшки. Найзручніше це робити з гідротехнічних споруд. До ручки відра прив'язують міцний шнур, або мотузку і зачерпують воду, яку переливають у пластикову пляшку і доставляють в лабораторію. Якщо за мету ставиться дослідження вертикального розподілу організмів, використовують батометр. Найпростіший прилад можна виготовити самостійно (рис. 2.3.6).

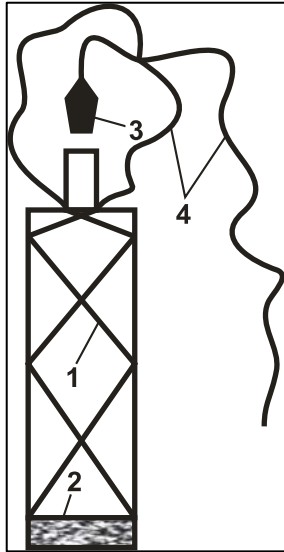


Рис. 2.3.6 Сосуд (батометр) Майера

Він являє собою оплетену міцною мотузкою (1) скляну пляшку з грузилом (2), прилаштованим до дна у вигляді свинцевої пластини, що забезпечує занурення у воду закритої резиновою пробкою (3) пляшки (з повітрям). До мотузки та пробки прилаштовується лін (4) таким чином, щоб при різкому ривку пробка висмикувалася з горловини пляшки. Лін, попередньо замочений у воді, в натягнутому стані розмічається за допомогою кольорової нитки на відтинки по 0,5 та 1 м. Перед зануренням пляшку та лін ополіскують водою з водою, пробку щільно встромляють у горловину так, щоб при піднятті посуду він не висмикувалася. Занурюють батометр на необхідну глибину (за мітками), потім різким ривком висмикують пробку. Витримавши достатній час для наповнення посуду його виймають з води. Отриману пробу переливають у відповідну ємність.

### Камеральна обробка проб гетеротрофного нанопланктону

Гетеротрофний нанопланктон представлений різними видами джгутикових одноклітинних і колоніальних організмів, деякими амебоїдними формами та дрібними інфузоріями. Це досить ніжні форми, які руйнуються при дії більшості фіксаторів та спробі сконцентрувати пробу фільтрацією. Їх прозорість, рухливість та дрібність (5 – 20 мкм) разом із здатністю змінювати форму тіла значно ускладнюють їх підрахунок та визначення.

Вивчення гетеротрофного нанопланктону здійснюється в живому неконцентрованому стані. Відібрані проби вивчаються одразу після відбору. Їх розливають в чашки Петрі шаром 1 – 2 мм. Звичайно в чашку діаметром 6 см наливають 5 см<sup>3</sup> проби води. Далі пробу лишають на 20 – 30 хвилин. За цей час більшість нанофлагелат перестають хаотично



плавати та осідають на дно або концентруються в поверхневому шарі (нейстон). Для підрахунку чисельності використовують об'єктиви мікроскопу  $10^{\times}$  або  $20^{\times}$ , бажано фазово-контрастні, підраховуючи організми в полях зору (20 – 30) на дні чашки та в поверхневій плівці. Для уточнення видової приналежності користуються більш потужними імерсійними об'єктивами з водною імерсією ( $40^{\times}$  –  $75^{\times}$  ВІ), які занурюють у чашку. Організми вимірюють за допомогою окуляр-мікрометра (окуляр з вбудованою лінійкою). Слід звернути увагу, що обробку проб треба проводити якомога швидше, бо вже через кілька годин при температурі 18 – 20°C деякі види зникають, а деякі сильно розмножуються. Паралельно з підрахунком та визначення проби висівають на рідкі мінеральні поживні середовища (Прата, Лозини-Лозинського та інші) з додаванням органічних речовин. Найпростіше середовище – кип'ячена мінеральна вода з додаванням попередньо прокип'ячених зерен рису або пшениці. В якості органічної речовини також можна використовувати знежирене молоко, додаючи по 1 краплині на кожні 50 мл середовища. Якщо визначення деяких видів потребує часу або при цьому використовуються якісь стадії життєвого циклу, проби можна пересівати, зберігаючи досить тривалий час.

Якщо пробу взято в місці підвищеного органічного забруднення (наприклад, стічні води) де нанофлагелят багато, їх можна досліджувати, користуючись предметним та покривним склом, попередньо за допомогою піпетки взявши аліквоту (0,025 – 0,05 мл) з проби.

При визначенні цієї складної групи організмів враховують такі опосередковані, але важливі характеристики, як здатність утворювати колонію, змінювати форму клітини, утворювати псевдоподії, характер руху, присутність або відсутність домику, його текстура і колір.

Дещо в інший спосіб підраховують амебоїдні організми. Їхня мала численність і прозорість, а також нездатність швидко рухатися майже унеможливають застосування вищеописаних методів. Для кількісного обліку цих форм використовують імунологічний планшет, який попередньо протирають спиртом, або стерилізують в окропі. В кожну лунку додають по зерну прокип'яченої пшениці або рису і вливають по 1 мл води з проби. Наступного дня краплину з кожної лунки досліджують під мікроскопом і відмічають присутність або наявність амеб. Перерахунок здійснюють на  $1 \text{ дм}^3$  виходячи з того, що наявність амеби в лунці означає наявність як мінімум однієї її особини цьому 1 мл проби. Наприклад, якщо із 100 лунок амеби реєструвалися в 20, то численність амеб дорівнюватиме  $200 \text{ екз.} \cdot \text{дм}^{-3}$ .

Дані обробки кожної проби заносять у протокол-таблицю (див. табл. 3.2.3). з перерахунком численності в екземплярах на  $\text{дм}^3$ .

## Камеральна обробка проб гетеротрофного мікропланктону

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

Обробку нативних нефіксованих проб здійснюють в камерах Богорова (див. рис. 2.3.2, 2.3.4) порціями об'ємом 5 – 10 мл. За допомогою штемпель-піпетки (див. рис. 2.3.3), або градуйованої піпетки з широким отвором в камеру поміщають 5 (10) мл проби і рахують організми під стереомікроскопом. Збільшення підбирають таким чином, щоб ширина канавки камери відповідала діаметру поля зору. Рухливі організми виловлюють за допомогою мікропіпетки (див. рис. 2.3.5). Виловлені організми визначають та вимірюють окуляр-мікрометром під мікроскопом (об'єктиви  $40\times$ – $100\times$ ) у невеличкій краплині, яку можна накрити покривним склом з восковими ніжками, які роблять царапаючи кутами покривного скла воскову свічку або пластилін. Натискуючи на покривне скло можна злегка притиснути організм, обмежуючи його рух, що полегшує визначення. Іноді в краплину додають барвник для суправітального забарвлення органел чи органів (у коловерток), які мають важливе діагностичне значення при визначенні (ядра, трихоцисти). Рідше використовують «метод висячої краплі»: виловлений мікропіпеткою організм переміщують в невелику краплину на покривне скло, яке потім перевертають і розташовують на спеціальному предметному склі з лункою. В краплину також можна додавати барвники або речовини, що обмежують рухливість організму, наприклад клей з айвових кісточок. Для його виготовлення декілька сухих зерен айви заливають невеликою кількістю води (щоб тільки покривала кісточку) і через декілька годин отримують в'язку рідину, яку і використовують.

Визначення таких груп як інфузорії та динофлагеляти потребує виготовлення постійних, або тимчасових препаратів з фіксованого матеріалу. Для цього використовують годинникове скло, або предметне

скло з лункою для препаратів «висяча краплина». В таку лунку, або годинникове скло наливають фіксатор, в який при підрахунку з камери Богорова мікропіпеткою переносять відловлені організми. Така швидка фіксація допомагає зберегти більшість найніжніших форм. Для інфузорій в якості фіксатора використовують найчастіше рідину Буена, яка складається з 15 частин насиченого водного розчину пікринової кислоти, 5 частин 37% розчину формальдегіду і 1 частини льодяної оцтової кислоти. Для динофлагелят використовують звичайний розчин формальдегіду (5%). Для ідентифікації інфузорій фіксований матеріал за допомогою мікропіпетки відмивають від фіксатора, переносячи клітини в лунку з чистою водою 4 – 5 разів. В останню лунку замість води додають розчин білка курячого яйця з гліцерином. Для приготування розчину суміш білка з гліцерином (1÷1) розводять з дистильованою водою у співвідношенні 1÷9. Далі інфузорій мікропіпеткою переносять в цій рідині на знежирене предметне скло. Залишок рідини видаляють мікропіпеткою. Отриманий таким чином мазок висушують на повітрі. Оскільки процедура виготовлення мазку досить складна і потребує часу, зазвичай спочатку обробляють проби кількісно, залишаючи інфузорій у фіксаторі, де вони можуть зберігатися тривалий час. Для цього годинникові скельця, або скельця з лунками лишають у закритих чашках Петрі на шарі фільтрувального паперу, змоченого водою.

Висушені на повітрі мазки 5 хвилин фіксують у спирті з додаванням 10% об'єму розчину формальдегіду (37%), після чого ретельно відмивають водою. Відмиті мазки обробляють послідовно 0,2% розчином перманганату калію (1 хвилина), сполискують водою (декілька секунд до зникнення рожевого забарвлення), 1 – 2 хвилини 2,5% розчином оксалатної кислоти і знов відмивають водою (3 рази по 5 хвилин). Оброблені таким чином препарати занурюють у 1% розчин протарголу і лишають на добу, або експонують 1 годину в термостаті при 60°C. Після експозиції на мазки (не відмиваючи від протарголу!) наливають на кілька секунд проявитель, розбавлений водою у 5 разів. Проявитель являє собою 1% розчин гідрохінону на 5% розчині сульфату натрію ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ). Проявитель відмивають дистильованою водою (1 хвилину), після чого на препарат наливають на кілька секунд закріпитель – 2,5% розчин тіосульфату натрію ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ). Далі препарат відмивають дистильованою водою (3 рази по 5 хвилин) і висушують на повітрі. Досліджують під мікроскопом з імерсійною системою (об'єктив 100<sup>x</sup>).

Динофлагелят, які мають панцир досліджують, використовуючи хімічні речовини, які розчиняють протопласт. Це дозволяє більш детально дослідити структуру покривів, на базі якої цих організмів визначають до виду. В якості розчинячого агенту використовують жавелеву воду – розчин гіпохлориту натрію. Зазвичай, використовують комерційний препарат

(наприклад, чистячий та дезинфікуючий засіб) «Білизна». З годинникового скла з фіксованим матеріалом мікропіпеткою вибирають окремі клітини динофлагелят і переносять їх на предметне скло, або в лунку із чистою водою. За допомогою тієї ж мікропіпетки на клітину капають розчин гіпохлориту до знебарвлення клітини. Увесь процес контролюють під стереомікроскопом. Знебарвлені клітини (насправді – панцирі) відмивають в годинникових скельцях, або в лунках дистильованою водою до зникнення запаху хлору. Досліджують клітини в краплині води під мікроскопом (об'єктиви  $40\times$  –  $100\times$ ), покривши препарат покривним склом з восковими «ніжками». Для контрастування окремих платівок панцирю в краплину можна додати трохи розчину Люголю з гліцерином (можна використовувати медичний препарат).

При низькій концентрації мікропланктону іноді доводиться концентрувати пробу. Якщо при дослідженні 20 – 30 мл. проби організми не трапляються, застосовують метод зворотної фільтрації (див. нижче), або осадковий метод.

Фіксація проб мікропланктону здійснюється на місці відбору проб, оскільки це додаткова гарантія збереження кількісного співвідношення організмів. У якості фіксатору частіше за все використовують концентровану рідину Буена. Для її виготовлення приблизно 50 г пікринової кислоти заливають гарячим 37% розчином формальдегіду об'ємом 1 літр і ретельно перемішують. При цьому частина кристалів кислоти не розчиняється, а надлишок їх випадає після охолодження розчину до кімнатної температури. Таким чином отримують насичений базовий розчин, який наливають у ємність для проби так, щоб після приливання проби співвідношення фіксатору і проби було 1÷15. Одразу після змішування проби і фіксатору додають льодяну оцтову кислоту до кінцевої концентрації 1% у пробі. Наприклад, до 30 мл фіксатору додають 450 мл проби, після чого – 9,6 мл оцтової кислоти. Така фіксація сприяє найкращому збереженню більшості мікропланктонів, до того ж організми (зокрема інфузорії) цілком придатні до подальшого препарування і забарвлення.

На другому місці за якістю фіксації стоїть суміш Люголю, яку готують у двох варіантах – лужному і кислому. Для приготування лужного розчину у 400 мл дистильованої води розчиняють 100 г КJ, додають 50 г ретельно розтертого в ступці кристалічного йоду і перемішують до повного розчинення. Після цього додають 50 г безводного ацетату натрію ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) і перемішують до повного розчинення солі. Для кислого розчину замість ацетату натрію додають 50 г льодяної оцтової кислоти. Кислий розчин не застосовують коли в планктоні велика ймовірність трапляння організмів із вапняковими скелетами. В інших випадках застосування будь якого з двох розчинів дає приблизно однакові

результати. Для фіксації розчин наливається в ємність для проби в кількості 3 – 5 мл на літр проби безпосередньо перед додаванням проби, оскільки йод легко випаровується.

Дуже близький за якістю фіксації кислотний реактив Хофкера (суміш 1÷1 насиченого водного розчину трихлороцтової кислоти та чистої оцтової кислоти), який додається в пробу в пропорції 5 мл на літр проби.

Взагалі, для фіксації проб мікропланктону, особливо, якщо акцент ставиться на його гетеротрофний компонент, існує єдине правило: *завжди пробу додають до фіксатору, а не навпаки!* Це забезпечує швидкий контакт організмів з фіксатором, і як наслідок – рівномірну фіксацію всіх мікропланктонів.

Слід зауважити, що проби, фіксовані реактивами, що не містять формалін, мають обмежений термін зберігання. Тому рекомендується після фіксації цими реактивами, додавати у пробу формалін до кінцевої концентрації 2%.

Обробку фіксованих проб здійснюють методом відстоювання проб. Ємності з пробами витримують в темному місці, оберігаючи від поштовхів деякий час (від 2 до 5 – 7 діб). Потім за допомогою сифону обережно зливають верхній шар проби, лишаючи нижній, 1 см шар з осілими гідробіонтами, неушкодженим. Після зливання верхнього шару (об'єм якого вимірюють, якщо початковий об'єм проби невідомий), нижній шар ретельно перемішують і зливають в окрему ємність, визначивши попередньо його об'єм. З цієї згущеної проби беруть піпеткою аліквоту рідини (0,05 мл) та виготовляють тимчасовий мікропрепарат з використанням покривного скла з восковими ніжками. Препарат повністю досліджують під мікроскопом на збільшенні об'єктиву  $20\times$  –  $40\times$  човниковим методом: полем зору мікроскопу «вирізають» вздовж покривного скла «смужки» від краю до краю, зміщуючи в кінці кожної препарат на одне поле зору вбік. Підраховують кількість організмів і визначають їх. Якщо репрезентативність проби мала, досліджують кілька мікропрепаратів, додаючи кожного разу в протокол-таблицю кількість врахованих особин кожного виду та об'єм аліквоти.

Метод зворотної фільтрації надає можливість сконцентрувати «живу» пробу, мінімально ушкоджуючи організми. Для цього використовують спеціальний прилад (рис. 2.3.7), який отримав назву «воронка зворотної фільтрації». Він складається з двох плексигласових камер, між якими вставляється саме фільтр. Фільтром у разі дослідження мікропланктонних організмів служить відріз мельничного газу з розміром вічка до  $10\times 10$  мкм, який зажимається між двома камерами за допомогою гвинтів. Для запобігання прилипання фільтру до стінки верхньої камери служить дротова хрестовина, яку виготовляють із неіржавіючого металу. Для забезпечення герметичності служить гумова прокладка (можна

використовувати прокладку з кришок для консервування). Зазвичай об'єм верхньої камери роблять таким, що не перевищує 30 мл. Це дорівнює 6 порціям проби по 5 мл, або трьом по 10 мл, що зручно в разі використання камери Богорова.

Принцип роботи приладу полягає в створенні тиску за рахунок різності рівнів води між воронкою і сосудом, де знаходиться проба.

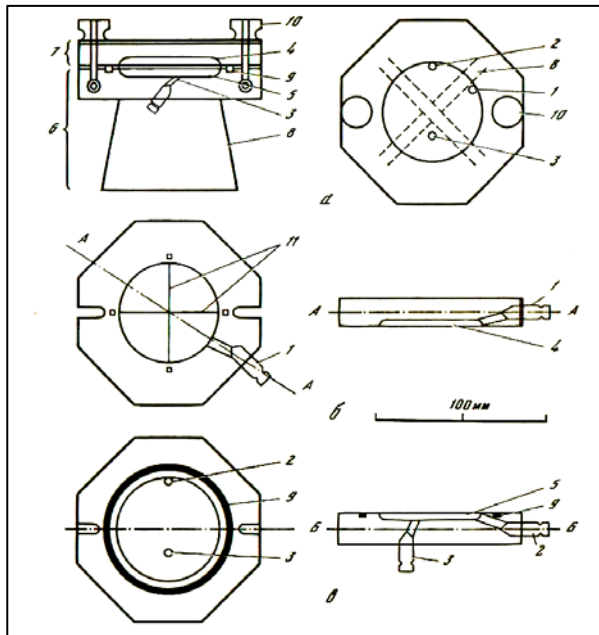


Рис. 2.3.7 Схема приладу «воронка зворотної фільтрації»: а – загальний вигляд збоку (зліва) і зверху (зправа); б – вигляд кришки зверху (зліва) і збоку (зправа); в – корпус без підставки – вигляд зверху (зліва) і збоку (зправа). 1 – штуцер верхньої камери, 2 – боковий штуцер нижньої камери, 3 – штуцер в днищі нижньої камери, 4 – верхня камера, 5 – нижня камера, 6 – корпус, 7 – кришка, 8 – підставка, 9 – гумова прокладка, 10 – гайка, 11 – дротова хрестовина.

Цього легко досягнути, встановивши ємність з пробєю на підставці висотою 30 – 40 см, що забезпечує тиск 0,03 – 0,04 атмосфери (рис. 2.3.8).

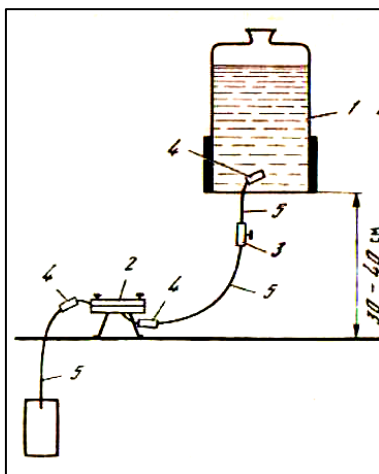


Рис. 2.3.8 Схема фільтраційної системи: 1 – ємність із пробєю, 2 – воронка, 3 – штуцери або зажими, 4 – скляні трубки, 5 – гумові трубки.

Ємність за допомогою гумового шлангу під'єднується до нижньої камери, після чого відкривають зажими/штуцери, що ведуть до воронки, та відповідний штуцер у верхній камері, з'єднаний із приймальною склянкою для профільтрованої води. Фільтрацію здійснюють до тих пір, поки вода не почне повільно крапати у приймальну склянку. Подальша фільтрація не є ефективною, оскільки потребує багато часу, що впливає на стан організмів у пробі. По припиненню фільтрації перекривають штуцер від ємності із пробєю і зливають остаточну відфільтровану воду з верхньої камери воронки. Струснувши кілька разів воронку, зливають зконцентровану пробу в окрему ємність. Після фільтрації вимірюють об'єм

зконцентрованої проби ( $V_2$ ) та відфільтрованої води, сума яких відповідає загальному об'єму досліджуваної проби  $V_1$ . Коефіцієнт згущення проби дорівнює відношенню  $V_1 \div V_2$  і використовується в подальшому при перерахунку кількості організмів на  $1 \text{ дм}^3$  води.

Отриману таким чином зконцентровану пробу одразу досліджують під стереомікроскопом у камері Богорова, як описано вище. Для перерахунку на об'єм нативної води використовують коефіцієнт згущення. Ця величина застосовується при будь-якому згущенні проб – методом відстоювання, зворотної чи прямої фільтрації. В разі відстоювання фіксованих проб вимірюють об'єми зконцентрованої проби та зливої води, сума яких, як і в разі фільтрації дорівнює об'єму досліджуваної проби. Дані, отримані при мікроскопіюванні таких проб перераховують наступним чином. Наприклад, при підрахунку трапилося  $N$  екземплярів певного виду у 5 мл зконцентрованої проби. Об'єм згущеної проби – 50 мл, загальний об'єм досліджуваної проби – 1 л (950 мл зливої з воронки або сифоном води). Коефіцієнт згущення дорівнює  $1000 \text{ мл} / 50 \text{ мл} = 20$ . Якщо у 5 мл проби знайдено  $N$  організмів, тоді у всій згущеній пробі, їхня кількість дорівнюватиме  $N \times (50/5) = 10N$ . Але ми згустили нативну пробу у 20 разів, тобто реальна кількість особин у 20 разів менша за  $10N$ , або дорівнює  $10N/20 = 0,5N$ .

### Камеральна обробка проб фітопланктону

Під фітопланктоном розуміють сукупність організмів (ціанопрокаріоти, діатомеї та фото- і міксотрофні найпростіші), здатних в присутності світла синтезувати органічні речовини за допомогою фотосинтезу. Вважається наразі, що чисто автотрофних організмів не існує, оскільки практично всі гідробіонти здатні в тій чи іншій мірі засвоювати різні форми розчиненої та зваженої у воді органічної речовини. Деякі таксономічні групи містять спектр видів від типово гетеротрофних і навіть хижаків до майже облігатних автотрофів (наприклад, динофлагелати). Це іноді призводить до того, що в складі фітопланктону деякі дослідники розглядають всі трофічні форми, орієнтуючись на їхню таксономічну приналежність, тоді як інші дослідники не включають туди навіть міксотофів. Компромісним варіантом, який підтримують більшість дослідників, є включення до складу фітопланктону всіх здатних до фотосинтезу одноклітинних і колоніальних форм не зважаючи на їхню таксономічну приналежність. Оскільки розмірний спектр таких гідробіонтів охоплює досить великий діапазон, найбільш придатним методом обробки фітопланктону є осадковий метод, що описано вище. Він дозволяє отримати в одній пробі всі розмірні фракції фототрофних організмів, а метод підрахунку з використанням різних об'єктивів

мікроскопу ( $20\times - 40\times$ ) дозволяє врахувати всіх представників. Тим не менш доля фототрофних мікропланктонів може бути дещо переоцінена, тому дослідження живої нативної проби при дослідженні фітопланктону є обов'язковим для підрахунку таких форм (див. попередній розділ).

На відміну від гетеротрофного мікро- і нанопланктону, при дослідженні фітопланктону менш жорсткі вимоги до фіксації матеріалу. Більшість фотосинтетиків мають ригідні целюлозні оболонки і при фіксації менше деформуються. Це дозволяє замість складних фіксаторів використовувати звичайний формалін: 37% розчин просто додають у пробу в кількості, необхідній для досягнення кінцевої концентрації приблизно 4%. Часто використовують розчини Люголя (особливо лужний варіант). Для прискорення осідання у зафіксовану пробу додають детергент (2 – 3 краплини господарського миючого рідкого засобу), що дозволяє отримати згущену пробу протягом 2-х діб. При концентруванні проби після відстоювання за допомогою сифону, останній виготовляють із загнутим догори кінцем. Для його виготовлення скляну трубку діаметром до 5 мм нагрівають, постійно бортаючи, на одному кінці в полум'ї спиртівки і після пом'якшення загинають в протилежний бік відрізок довжиною приблизно 1 см отвором до іншого кінця трубки. Після охолодження на цей загнутий кінець прилаштовують відрізок газу ( $10\times 10$  мкм), який закріплюється за допомогою гумового кільця. Длину скляної трубки підбирають таким чином, щоб забезпечити її занурення в ємність, де відстоювалася проба, до її дна загнутим кінцем. Трубку-сифон встановлюють на лабораторному штативі, на вільний кінець прилаштовують гумову, або ПВХ трубку із зажимом. Зливають налосадкову рідину таким чином, щоб загнутий кінець завжди був всередині шару рідини, регулюючи занурення переміщенням трубки на штативі. Швидкість зливання регулюють зажимом так, щоб краплина відривалася від краплини. В такий спосіб лишаються неушкодженими як осад, так і поверхневий шар, де можуть концентруватися деякі ціанопрокаріоти, що містять газові вакуолі.

По можливості, для згущення проби використовують метод зворотної фільтрації, який дозволяє з отриманої проби досліджувати як мікропланктонні форми (в камері Богорова), так і нанопланктонні і пікопланктон човниковим методом. Таку згущену пробу також можна зафіксувати формаліном. Відмінність для фітопланктону, в цьому випадку, полягає у використанні замість сіткового газу так званого ядерного фільтру. Останні використовуються в промисловості для тонкого очищення води. Їх виготовляють на спеціалізованих підприємствах з лавсану. Діаметр пор може варіювати від сотих долей мікрометра до 5 мкм. Найбільш придатні фільтри з порами 1 – 2 мкм. Нажаль, висока ціна таких фільтрів обмежує використання цього методу.



Перерахунок організмів фітопланктону ведеться на 1 дм<sup>3</sup> води. Дані заносять у стандартну таблицю-протокол.

Визначення деяких фітопланктонів до виду не завжди вдається при обробці проб мікроскопіюванням, тому існує декілька методів спеціальної обробки матеріалу для виявлення таксономічно значущих структур. Деякі методи було розглянуто вище (для мікропланктонних дінофлагеллят). Для більш дрібних форм, з якими досить трудно працювати навіть мікропіпеткою, існує метод тотальної обробки проби гіпохлоритом натрію. Він дозволяє отримати не тільки целюлозні панцирі дінофлагеллят, а і кремневі стулки діатомових водоростей, текстура яких має діагностичне значення.

Зконцентровану пробу фітопланктону додатково концентрують в центрифугі (приблизно 5 хвилин). Верхній шар надосадкової рідини зливають піпеткою, або сифоном і заливають осад розчином гіпохлориту натрію (жавелевою водою) до половини центрифужної пробірки. Після 30 хвилин експозиції сильним струменем дистильованої води заповнюють пробірку і центрифугують до осадження матеріалу. Після цього надосадкову рідину зливають, а пробірку знов заповнюють дистилатом і центрифугують. Таку відмивку повторюють тричі, до зникнення запаху хлору. Осад, який складається з панцирів дінофлагеллят і стулок діатомових досліджують при великих збільшеннях мікроскопу, визначаючи ці групи.

### Визначення біомаси планктону

Для обчислення об'єму як одноклітинних чи колоніальних найпростіших, ціанопрокаріот і мікроводоростей, так і деяких багатоклітинних істот з простою формою тіла використовують загальноприйнятий метод «істинного об'єму». Суть методу полягає в тому, що організм прирівнюють до близької йому за формою геометричній фігурі або до комбінації фігур, а потім розраховують її об'єм за відомими формулами. Щільність організмів прирівнюють до густини води (оскільки відмінності для планктонних організмів і води не істотні). Таким чином отримують масу організму. Складаючи маси знайдених у пробах організмів обчислюють загальну біомасу гідробіонтів у пробі.

Для розрахунку об'єму фігур необхідно знати їхні ключові параметри – довжину, ширину, діаметр тощо. Такі вимірювання здійснюються під час обробки проб за допомогою окуляр-мікрометра – приладу, який являє собою окуляр мікроскопу із вбудованою скляною лінійкою.

Перед вимірюванням за допомогою мікроскопу необхідно дізнатися ціну ділення шкали окуляр-мікрометра при різних збільшеннях мікроскопу. Для цього існує калібрувальний прилад – об'єкт-мікрометр,

ціна діління якого заздалегідь відома, і зазвичай становить 10 мкм. Він являє собою спеціальне предметне скло, в центрі якого влаштована скляна лінійка довжиною 1 мм. Якщо зіставити в мікроскопі обидві шкали, то можна обчислити, скільком мікрометрам відповідає ціна діління окуляр-мікрометру при тому чи іншому збільшенні мікроскопу (рис. 2.3.9).

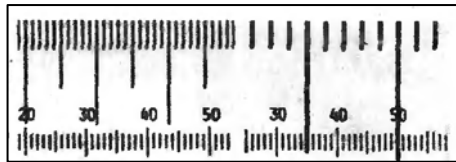


Рис. 2.3.9 Вигляд шкал об'єкт-мікрометру (зверху) та окуляр-мікрометру при різних збільшеннях мікроскопу (зліва і справа).

Нижче наведені формули для розрахунку, об'єму геометричних фігур, що відповідають найбільш поширеним у природі формам тіла чи їх частинам у гідробіонтів (табл. 2.3.3, рис. 2.3.10).

### Відбір проб мезозоопланктону

До складу мезозоопланктону входять здебільшого безхребетні різноманітних таксонів – від найпростіших (джгутиконосці *Noctiluca*, деякі крупні види черепашкових інфузорій – тінтинід), до личинок досить крупних бентонтів, таких як молюски, ракоподібні, хробаки. Основою їхнього харчування є більш дрібні організми – від бактерій і фітопланктону до мікроскопічних безхребетних. В свою чергу, мезозоопланктон – основа харчування багатьох пелагічних видів риб і їх молоді, які є основою промислу. Все це робить мезозоопланктон одним з ключових об'єктів у гідробіологічних дослідженнях. Правильна оцінка кількісного і якісного розподілу цих організмів у товщі води дозволяє дістати уявлення про існуючу кормову базу у водоймі, її динаміку, давати прогностичні оцінки, виявляти фактори, що впливають на стан угруповань планктону. Мезозоопланктон поділяється на гідробіонтів, що постійно мешкають у товщі води і не пов'язані із дном (*голопланктон*), та гідробіонтів, що мешкають у планктоні тимчасово – деякі личиночні стадії бентонтів і перифітонтів (*меропланктон*). Останні, осідаючи на дно, або поверхню твердих субстратів, занурених у воду, таким чином, залишають пелагіаль. Це треба враховувати при плануванні досліджень зоопланктону, оскільки численність планктону може дуже сильно варіювати в певні терміни, пов'язані із розмноженням бентонтів і перифітонтів. Оскільки мезозоопланктонні організми мешкають досить розсіяно у товщі води, порівняно із мікропланктоном, для отримання репрезентативної проби потрібен більший обсяг біотопу, який треба дослідити. У зв'язку із цим звичайні батометричні проби непридатні для камеральної обробки, а згущення матеріалу здійснюється безпосередньо на водоймі.

Таблиця 2.3.3 Формули для розрахунку, об'єму геометричних фігур, наведених на рис. 2.3.10. Номер формули співпадає з номером фігури на малюнку

№	Назва фігури	Формула для розрахунку об'єму
1	Куля	$0,5236D^3$
2	Конус (у т. ч. подвійний)	$0,2618D^2H$
3	Циліндр (у т. ч. еліптичний)	$0,7854DHL$
4	Півкуля+зрізаний конус	$0,2618(D^3+(H-0,5D)\times(D^2+Dd+d^2))$
5	Подвійний зрізаний конус	$0,2618H(D^2+Dd+d^2)$
6	Півкуля+конус	$0,2618D^2(0,5D+H)$
7	Еліпсоїд видовжений	$0,5236DHL$
8	Параболоїд	$0,3927DHL$
9	«Протоперідініум»	$0,2618(H(D^2+Dd+d^2)+0,0655LD^2);$ $d_1=d_2=0,5D; h_1+h_2=L$
10	«Цераціум»	$0,2618(H(D^2+Dd+d^2)+H_1(D_1^2+D_1D+D^2)+Ld^2);$ $d_1=d_2; h_1+h_2=L$
11	Сегмент еліпсоїду	$0,5236H(H^2+0,75DHL)$
12	Напівеліпсоїд +параболоїд	$0,5236DL(H_1+0,75H)$
13	Конус+параболоїд	$0,2618DL(H_1+1,5 H)$
14	Конус+параболоїд однакової довжини	$0,327DLH$
15	Напівеліпсоїд +конус однакової довжини	$0,3927DLH$
16	Напівеліпсоїд +конус	$0,5236DL(0,5H+H_1)$
17	Циліндр+параболоїд	$0,3925DL(2H+H_1)$
18	Циліндр+півкуля	$0,1309D^2(6H-D)$
19	Циліндр+напівеліпсої	$0,5236D^2(1,5H+H_1)$
20	Зрізаний циліндр+параболоїд	$0,1309H(2,5D+Dd+d^2)$
21	Напівкуля+параболоїд	$0,2618D^2(1,5H+0,25D)$

Основними приладами для збору мезозоопланктону є планктонні сітки, мета яких – відфільтрувати певний об'єм води в певному шарі (горизонті) води. Існує безліч модифікацій сіток, обладнаних замикачами, що дозволяють занурювати сітку в «зачиненому» стані на потрібну

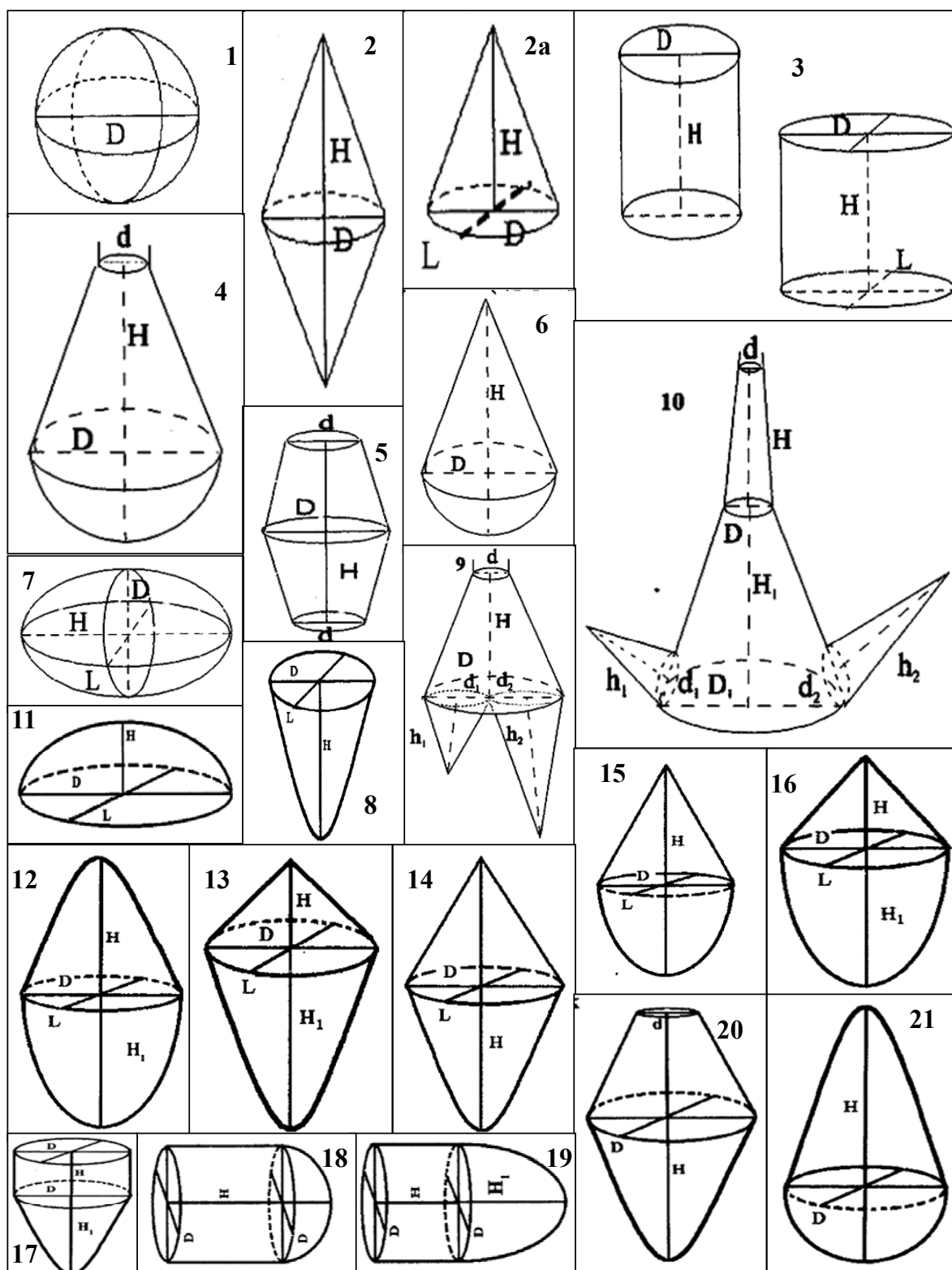


Рис. 2.3.10 Деякі геометричні фігури, що відповідають найбільш поширеним формам тіла, або їх частинам у гідробіонтів.

глибину, відкривати її на потрібній глибині, а потім знову «замикати». Оскільки в умовах літньої практики для дослідження доступний тільки прибережний планктон, де глибини незначні, а розподіл мезопланктонів більш-менш рівномірний, можна використовувати спрощені варіанти сіток без замикачів (рис. 2.3.11).

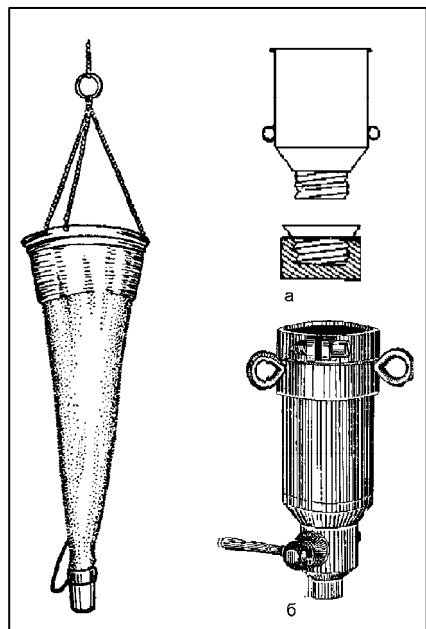


Рис. 2.3.11 Мала сітка Апштейна (зліва): довжина сторони сітки 55 см, діаметр вхідного отвору – 25 см, діаметр стакану 3,5 – 4 см; стакани для сітки (зправа): а – саморобний стакан з пластикової пляшки, б – металічний стакан.

Мала сітка Апштейна являє собою прилад, який, зазвичай, використовують для якісних ловів зоопланктону. В даному випадку вона цілком може застосовуватися для кількісного обліку, якщо її не буксувати в товщі води, а фільтрувати воду з відра, утримуючи сітку зануреною у воду до рівня верхнього металічного обручу. Для виготовлення сітки використовують спеціальну тканину – так званий млиновий газ. Він являє собою сітку з капрону, або іншого синтетичного матеріалу, причому розмір вічка такої сітки суворо витриманий по всій поверхні тканини. Газ визначається за номерами, які вказують на кількість ниток у 1 см тканини (табл. 2.3.4)

Таблиця 2.3.4 Відповідність між деякими номерами млинового газу і розміром сторони вічка

Номер сита	Довжина сторони вічка, мм
7	1,364
15	0,569
23	0,333
34	0,203
46	0,145
55	0,099
68	0,076
77	0,064

Конструкція сітки досить проста. Зрізаний конус із млинового газу широким отвором, за допомогою щільної тканини пришивають до металевого обручу діаметром 25 см. На вузький отвір пришивають

проміжне кільце із щільної тканини, до якого за допомогою металевого хомута, або мотузки (у разі саморобного пластикового стакану) прикріплюють стакан. Замість металевого важкого стакану можна використовувати відрізок пластикової пляшки, отвір якої закривають кришкою, або корком. Зручніше замість кришки прилаштувати звичайний водопровідний кран на півоберту, який при цьому також служить і грузилом.

Викрійка сітнього конусу здійснюється згідно схемі (рис. 2.3.12), де довжина бокової поверхні  $x$  та кут розкрою  $a$  обчислюється за формулами:  $x=ri/(R-r)$ ;  $a=360r/x$ , де  $R$  – радіус металевого обручу,  $r$  – радіус стакану  $i$  – довжина утворюючої боки зрізаного конусу,  $x$  – довжина частини утворюючої бокової поверхні конусу, яку зрізають,  $a$  – кут при верхівці розгорнутої бокової поверхні конусу.

При виготовленні конусу сітки необхідно дотримуватись наступних правил:

1. Перед шиттям сито необхідно протерти вологою губкою і злегка пропрасувати негарячою праскою.
2. Щільну лляну або бавовняну тканину перед шиттям вимочити, висушити і пропрасувати.
3. Мотузки попередньо змочити і висушити в натягнутому стані.

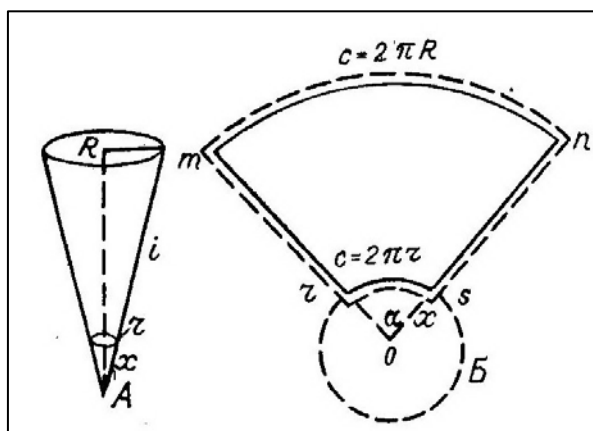


Рис. 2.3.12 Викрійка сіткового конусу. А – викрійка у згорнутому вигляді, Б – у розгорнутому вигляді.  $R$  – радіус металевого обручу,  $r$  – радіус стакану  $i$  – довжина боку зрізаного конусу,  $x$  – довжина частини утворюючої бокової поверхні конусу, яку зрізають,  $a$  – кут при верхівці розгорнутої бокової поверхні конусу;  $mnsr$  – поверхня зрізаного конусу, розгорнутого на площині;  $ors$  – частина, що має бути відрізана; пунктирна лінія навколо розгорнутого зрізаного конусу – надлишок (приблизно 1 см), необхідний для швів.

зрізаного конусу, розгорнутого на площині;  $ors$  – частина, що має бути відрізана; пунктирна лінія навколо розгорнутого зрізаного конусу – надлишок (приблизно 1 см), необхідний для швів.

Отже, відбір проб такою сіткою, як було зазначено вище, можна здійснювати, не буксуючи її в товщі води. Об'єм води, що фільтрують крізь сітку може варіювати. Зазвичай, приблизно 100 л води буває достатньо для отримання репрезентативної проби в умовах одеського узбережжя. Після фільтрації пробу зливають зі стакану в ємність, після чого промивають додатково сітку, занурюючи кілька разів у воду до рівня верхнього обручу та кожного разу повільно піднімаючи. При цьому слідкують, щоб у отвір

сітки не потрапляла навколишня вода. Після такого промивання знову зливають воду в ту саму ємність із пробною. Бажано кількісний облік проводити в той самий день на живому матеріалі, одразу після відбору проб. Якщо пробу досліджувати в той самий день не планується, її необхідно зафіксувати. Для цього використовують нейтралізований харчовою содою, або крейдою концентрований розчин формальдегіду (37%), який додають у пробу в потрібній кількості для досягнення кінцевої концентрації формаліну у пробі приблизно 4%. Для нейтралізації формаліну приблизно за добу до використання в нього додають крейду (мармур, арагоніт тощо), або кілька крапель концентрованого розчину харчової соди до нейтральної реакції (контролюють паперовим індикатором *pH*). Корисно додавати у формалін гліцерин у концентрації до 10%. Це попереджає ушкодження крихких форм під час обробки проб, а також уповільнює висихання проби у разі негерметичності тари. Кожну пробу обов'язково етикетують. Етикетка є своєрідним «паспортом» відібраної проби. Як правило, незалежно від угруповання, що досліджується, етикетка має стандартний вигляд. До етикетки включають наступні пункти:

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

Етикетка виготовляється з вошеного паперу (пергаменту), або іншого матеріалу, що не розмокає у воді. З тією ж метою всі написи робляться графітовим олівцем. Етикетку кладуть під прокладку кришки у попередньо промарковану ємність із відповідною пробною. Можна вкласти етикетку у поліетиленовий пакет із застібкою, який безпосередньо кладуть у пробу.

## Камеральна обробка проб мезозоопланктону

Метою камеральної обробки проб мезозоопланктону є кількісний і якісний облік планктонів у згущеній пробі, визначення їх біомаси з подальшим перерахунком на  $1 \text{ м}^3$  нативної води. Перш за все в лабораторії вимірюють об'єм згущеної проби за допомогою мірного циліндру. Обчислення коефіцієнту згущення здійснюють так само, як і при обробці проб мікропланктону чи фітопланктону. Для підрахунку численності зоопланктонів використовують штемпель-піпетку (або піпетку з вдрізаним загостреним кінцем із шприцем на іншому кінці) та камеру Богорова. Відібрану аліквоту проби наливають у камеру і підраховують організми. Відповідно до концентрації планктону корегують її об'єм. Якщо, наприклад, проба густа (містить багато зоопланктонів), беруть 1 мл проби, яку розводять у 4 або 9 мл води (залежно від об'єму камери), попередньо наливої в камеру Богорова. Перед відбиранням аліквоти пробу потрібно ретельно перемішати. Роблять це досить обережно, оскільки деякі ніжні форми можуть руйнуватися, а деякі кладоцери, що містять багато жиру, концентруються на поверхні. Перемішують пробу у ємності для проби, зазвичай штемпель-піпеткою, не торкаючись стінок і описуючи піпеткою криву, що нагадує «вісімку». Для достовірності підрахунку враховують не менше 100 екземплярів кожного виду, що трапляється. По досягненні урахування 100 чи більше особин (головне, щоб кількість аліквот складала ціле число), підрахунок даного виду припиняють, записуючи в протокол кількість аліквот, де ці особини були враховані. Так само здійснюють підрахунок інших видів. Для уточнення видової приналежності окремі екземпляри можуть бути виловлені з камери за допомогою препарувальної голки, тонкої дротової петлі або мікропіпетки із достатнім отвором. Їх досліджують у краплині води чи гліцерину під малим збільшенням мікроскопу ( $4\times - 20\times$ ).

Визначення біомаси зоопланктонів з використанням наведених вище геометричних фігур подібності є досить трудомістким і може застосовуватись лише для організмів із простою формою (деякі хробаки, коловертки у фіксованому стані, найпростіші). Вимірюють організми під стереомікроскопом, використовуючи окуляр-мікрометр ( $8\times$  в більшості моделей мікроскопів), який попередньо калібрують за допомогою об'єкт-мікрометру. Більш зручним методом визначення біомаси зоопланктерів є використання рівнянь ступеневої залежності індивідуальної маси організму від його довжини:  $w = bL^a$ , де  $w$  – маса організму (мг),  $L$  – довжина тіла (мм),  $a$  – ступінь,  $b$  – коефіцієнт. В обох випадках вимірюють не менше 30 особин кожного виду. Параметри рівнянь можна знайти в спеціальній літературі. Оскільки визначення зоопланктону саме по собі досить трудомістке, при виконанні літньої практики можна обмежитися



визначенням більшості організмів до роду або родини. Кількісний облік рекомендується обмежити визначенням лише численності організмів, а біомаси – по можливості, при наявності відповідної літератури, або прирівнюючи складні форми гідробіонтів до більш простих геометричних фігур.

## 2.4 Основи вивчення угруповань бенталі і перифіталі

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

### 2.4.1 Методики дослідження мікро- і мейобентосу

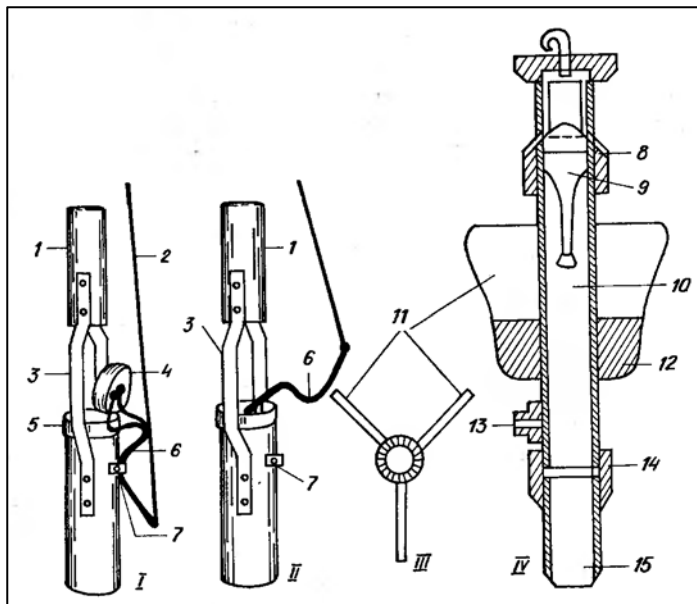
Організми мікро- і мейобентосу мають ряд спільних рис, що обумовлює подібність методів відбору матеріалу в природі. З іншого боку, мікробентосні форми, які представлені, головним чином, найпростішими чи колоніальними організмами, які здебільшого не мають твердого зовнішнього скелету й дрібніші, потребують більш складних методів камеральної обробки.

#### Відбір проб мікро- і мейобентосу

Хоча мікро- і мейобентосні організми мешкають і у ґрунті і на поверхні твердих субстратів, зазвичай останні розглядаються у складі перифітону, дослідження якого має деякі особливості. Нижче розглянуті методи вивчення саме мешканців інфауни, зокрема псамону, де вони відіграють ключову роль в трансформації органічних речовин. До того ж псамон – найбільш поширений біотоп в прибережних зонах морів, океанів, річок, водосховищ і деяких озер. Простір між піщинками, заповнений водою, або *інтерстиціаль*, сягає навіть за межі водоїм і є крайовим

біотопом, де взаємодія між водою, ґрунтом і повітрям створює своєрідні умови, а контакт із мешканцями ґрунтів суходолу (*едафоном*) посилює інтенсивність екологічних взаємодій що має наслідком зростання енерго- і масообміну між водоймою і сушею.

Основна мета при відборі проб – не пошкодити певну ділянку ґрунту, що виймається. Для цього використовують спеціальні трубки з певним діаметром (від 1 – 2 до 6 – 7 см) для подальшого перерахунку на  $\text{см}^2$ ,  $\text{дм}^2$  чи  $\text{м}^2$  дна. На мілководдях з цією метою використовують звичайні шприци з відрізаною кінцевою частиною. Шприц (трубку) вдавлюють в поверхню ґрунту на глибину, яка цікавить дослідника. Перед підняттям з води нижній край трубки закривають рукою. Після виймання вирізаного керну ґрунту на поверхню він може бути розділений ножом чи ниткою пошарово на відтинки певної товщини. Для цього часто користуються поршнем (від шприца). Кожну порцію ґрунту поміщають в окрему ємність. Існує багато модифікацій трубкового відбору у вигляді так званих *мікробентометрів* (*стратометрів*)(рис. 2.4.1).



Мал. 2.4.1 Мікробентометри: Володимирів (зліва) у відкритому (I) і замкненому (II) стані; Трав'янко-Євдокимової у поперечному (III) і подовжньому (IV) розрізі. 1 – залізна трубка, що з'єднується із штангою, 2 – лин, 3 – кронштейн, 4 – кришка-замікач, 5 – втулка із конусом, 6 – важіль, 7 – зажим-пружина, 8 – коробка замикача, 9 – замикач, 10 – корпус мікробентометру, 11 – лопаті стабілізатору, 12 – свинцеве грузило, 13 – штуцер для зливання придонного шару води, 14 – перехідна муфта, 15 – трубка-ніж.

корпус мікробентометру, 11 – лопаті стабілізатору, 12 – свинцеве грузило, 13 – штуцер для зливання придонного шару води, 14 – перехідна муфта, 15 – трубка-ніж.

Принцип їх роботи полягає в вийманні трубкою-ножем, край якої загострюється ззовні, керну ґрунту з дна водойми. Верхня частина трубки після вдавнення її в ґрунт закривається спеціальним корком для запобігання вимиванню керну з трубки. За таким принципом працює *мікробентометр Володимирів*, який кріпиться до штанги, довжиною 3 – 4 м, за допомогою якої трубка втискується в ґрунт. Мотузкою приводиться в дію верхній клапан (корок), який замикає трубку. Ця конструкція

використовується для роботи з човна на глибині до 2 – 2,5 м. Для більш глибоких ділянок використовують *мікробентометр системи Трав'янка-Євдокимової*. До трубки приладнюються стабілізатори (крильця), які сприяють суворо вертикальному зануренню приладу, та грузило достатньої маси, щоб під дією її ваги трубка вдавлювалася в ґрунт на необхідну глибину. Прилад опускають у воду на ліні. Після врізання його в ґрунт мікробентометр виймають, при цьому спрацьовує верхній конічний або кульковий клапан. Існують модифікації бентометрів, в яких замикаються обидва кінця трубки (для сипких ґрунтів). В океанічних дослідженнях зазвичай використовують складні автоматичні прилади у вигляді рами з багатьма трубками (Multicorer).

Якісні проби мікробентосу отримують, збираючи за допомогою будь-яких придатних ємностей верхній шар ґрунту. Іноді, при роботі з човнів або гідротехнічних споруд використовують *мулосос Перфільєва* (рис.2.4.2).

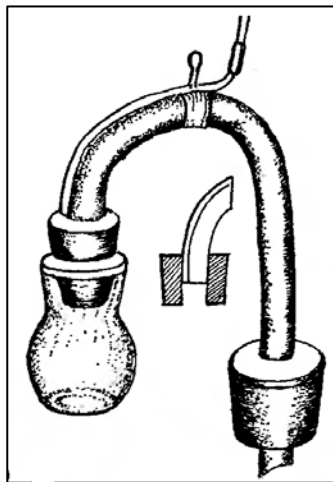


Рис. 2.4.2 Мулосос Перфільєва

Він складається з U-подібної перевернутої трубки з різним розміром колін. Коротша герметично (гумовим корком) приєднується до скляної ємності разом з металічною трубкою, до якої приєднується довга тонка ПВХ трубка із затискачем. Інше коліно косо зрізується та обладнується грузилом для занурення приладу у воду. По досяганні дна косий кінець врізається в шар ґрунту, дослідник відкриває затискач і верхній шар мулу із водою потрапляє у ємність. Даний прилад легко виготовити в лабораторних умовах. Кількісні і якісні проби мікробентосу, як правило, не фіксують, оскільки більшість нижніх форм руйнуються. Шар ґрунту, видобутий трубкою бажано в цій же трубці у суворо вертикальному стані якомога швидше доставити в лабораторію. Трубки (шприци) краще транспортувати у термосі з широким отвором, або у скляній банці, обгорнутій шаром вати. Якщо за мету ставиться дослідження мікрофітобентосу, основу якого складають діатомові водорості і деякі колоніальні ціанопрокаріоти, проби ґрунту можна зафіксувати звичайним розчином формаліну. Для цього керн виймають із трубки в ємність для проб, приливають туди фільтровану воду і додають концентрований формалін (37%), ретельно перемішуючи пробу. Кінцева концентрація фіксатора повинна бути не меншою за 4% (за об'ємом).

Відбір проб мейобентосу принципово не відрізняється від такого для мікробентосу. Проби по можливості не фіксують і досліджують у живому вигляді. Іноді доводиться брати більші об'єми ґрунту, бо концентрація

мейобентонтів нижче ніж в мікробентосу, а також багато проб (наприклад, в експедиційних умовах). При цьому для зменшення маси проби (позбавлення баласту у вигляді ґрунту) використовують *метод флотації*. Відібраний керн ґрунту відповідного діаметру та товщини збовтують з фільтрованою водою з тієї ж водойми. Швидкість осідання часток ґрунту вища, ніж гідробіонтів. Для запобігання тигмотаксису у воду додають кілька крапель 37% формаліну, міцного (33%) розчину  $MgCl_2$ , або інші наркотизуючі речовини. Одразу після осідання основної маси ґрунту верхній шар води з організмами зливають у ємність і процедуру повторюють кілька разів (визначають дослідним шляхом). Далі, якщо треба, пробу концентрують на пластиковому ситі (вічко 0,08 – 0,1 мм), дофіксують та підфарбовують розчином *бенгальського рожевого*, що полегшує подальшу обробку проб (організми контрастні на фоні часток ґрунту). Вимірюють об'єми чи розміри кернів, які відмивалися та об'єм отриманої рідкої проби для подальшого перерахунку численності організмів на  $1\text{ см}^2$ , або  $1\text{ дм}^2$  ґрунту. Проби етикетують.

#### Камеральна обробка проб мікро- і мейобентосу

Мікрофітобентос представлений різними систематичними групами одноклітинних та колоніальних організмів, більшість з яких у якості пристосувань до життя в товщі ґрунту та на поверхні субстратів мають досить міцну поверхню клітин та різноманітні засоби прикріплення до субстрату, зокрема здатність до тигмотаксису і органели прикріплення. Ці фактори враховуються при обробці проб мікрофітобентосу. Методика кількісної обробки проб передбачає отримання рідкої проби з проби ґрунту чи іншого субстрату. Отримана рідка проба обробляється подібно згущеної проби фітопланктону. Для відмивання мікрофітів від ґрунту чи субстратів використовують різні засоби, серед яких найбільш поширеним є метод флотації.

Пробу ґрунту збовтують з фільтрованою водою з водойми до стану густої рідини. Отриману суміш піддають дії ультразвуку у спеціальних ваннах для відокремлення клітин від часток ґрунту. Після осідання ґрунту поверхневий шар зливають в окрему ємність. Процедуру повторюють кілька разів (визначають дослідним шляхом) з новими порціями води. Отриману рідку пробу фіксують. якщо потрібно, та згущують відстоюванням. Оскільки в мікрофітобентосі переважають діатомові із важкими панцирами, відстоювання проб минає дуже швидко. В затемненому приміщенні процес триває кілька годин і надає змогу вивчати живий матеріал. Можна також використовувати метод зворотної фільтрації. Після згущення вимірюють об'єм проби. Для прискорення

осідання ґрунту, особливо якщо в ньому переважають дрібні фракції застосовують кругове відмивання у конічних колбах або годинникових скельцях. Порцію обробленої ультразвуком проби переносять у колбу чи скло і круговими рухами, або за допомогою піпетки (на склі) створюють водяний вихор, який сприяє швидкому осіданню в центрі дна колби або скла часток ґрунту. Процедуру повторюють кілька разів, мінімізуючи кількість мулу, який заважає подальшій мікроскопії проби. Треба зауважити, що повністю позбавитися дрібних часток, розміри яких співпадають або близькі до розмірів клітин не вдається.

Визначення багатьох представників мікробентосу засновано на будові зовнішніх покривів, зокрема стулках діатомей, панцирах десмідієвих та динофлагелят. Після кількісної обробки проби для вивчення якісного складу проби обробляють реактивами, що розчиняють клітини, лишаячи при цьому зовнішні оболонки. Для діатомових, доля яких за чисельністю та біомасою часто складає понад 95% найчастіше використовують метод спалення протопласту сірчаною кислотою. Рідку пробу спочатку відмивають центрифугуванням від води і формаліну. Для цього спочатку центрифугують рідкі проби (5 хвилин при 1500 обертах центрифуги). Надосадкову рідину зливають і додають дистильовану воду, ретельно перемішуючи осад скляною паличкою. Знов центрифугують і зливають надосадкову рідину. Осад обробляють 10 хвилин 10% розчином HCl для видалення карбонатів. Після відмивання на центрифугі (не менше 3-х разів як зазначено вище), заливають концентрованою H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> на кілька годин, ретельно перемішавши скляною паличкою. Далі у пробу додають кілька кристаликів K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> і перемішують до позеленіння маси. Масу виливають у пробірку з водою і одразу ретельно перемішують. Відмивають очищені стулки від кислоти водою на центрифугі (не менше 5 разів!). Зберігають у 70% етанолі для подальшого виготовлення постійних препаратів.

Інший метод, розглянутий вище для планктонних форм, придатний і для мікрофітобентосу. Пробу згущують на центрифугі, зливають воду і заливають на 30 хвилин розчином гіпохлориту натрію (комерційної концентрації для побутової хімії). Далі 5 – 6 разів відмивають водою на центрифугі до зникнення запаху хлору. Досліджують стулки та панцири на тимчасових або постійних препаратах.

Існує також більш складний метод обробки, що використовується для вивчення спочиваючих стадій (цист) динофлагелят. Ці найпростіші організми відомі здатністю викликати «цвітіння» води, яке при високій інтенсивності ще називають «червоним припливом». Такі явища частіше за все мають згубні наслідки для гідробіонтів, і навіть людини, викликаючи віжки отруєння. Тому вивчення якісного складу спочиваючих стадій

динофлагелят, які осідають на дно з товщі води і є потенційно небезпечними, має велике практичне значення.

Відмиту попереднім способом рідку пробу обробляють 10 хвилин 10% розчином HCl для видалення карбонатів. Відмивають від кислоти відстоюванням або на центрифугі. Далі проба обробляється 1% KOH протягом 3 хвилин при 70°C для видалення органічних речовин і знову відмивається на центрифугі до нейтральної реакції. Дрібні піщинки розчиняють в пластикових пробірках концентрованою HF (під тягою!) при 70°C. Далі пробу відмивають від залишків кислоти в центрифугі (не менше 5 – 6 разів!) і виготовляють тимчасові або постійні (в гліцерин-желатині) мікропрепарати. Описана методика демонструє стійкість цист до агресивного середовища.

Дослідження мейобентосних проб, отриманих методом флотації принципово не відрізняється від дослідження проб мезозoopланктону. Коли на меті стоїть вивчення проб в живому вигляді, а проби являють собою керни піщаного ґрунту, використовують метод екстракції організмів з субстрату за *методом Уліга*. Зазвичай дослідження живих проб здійснюють на сипких субстратах (пісок). Пробу поміщають в спеціальну ємність (циліндр) відповідного до керну ґрунту розміру, дно якого затягнуто ситом з вічком 0,1 – 0,3 мм, в залежності від розміру організмів та механічного складу ґрунту. Зверху на ґрунт накладають шар змоченої бавовни (вати) або фільтрувального паперу. На вату кладуть шар розмеленого льоду, заздалегідь виготовленого з фільтрованої води з місця відбору проб. Кількість льоду визначають дослідним шляхом. Циліндр розміщують над кристалізатором або чашкою Петрі і лишаять до повного танення льоду. По закінченні танення поверхню сита ретельно промивають струменем фільтрованої води з піпетки, змиваючи організми, що можуть лишатися на ситі в чашку з пробєю. Об'єм отриманої проби вимірюють циліндром. Таким чином отримують рідку пробу, дослідження якої принципово не відрізняється від дослідження мікро- чи мезозoopланктону. Дослідження якісного складу можна проводити, збовтавши пробу ґрунту з фільтрованою водою, додавши до води розчин  $MgCl_2$  (концентрацію вибирають дослідним шляхом) для наркотизації організмів і зменшення тигмотаксису. Окремі організми виловлюють мікропіпеткою і на тимчасових мікропрепаратах досліджують під мікроскопом. Дослідження кількісних живих проб на мулистих ґрунтах проводять, вивчаючи верхній шар намулку над керном. Зазвичай щільний ґрунт не заселяється мікроорганізмами, тому обмежуються вивченням намулку, якій повністю переносять піпеткою з широким отвором в камеру Богорова і досліджують звичайним способом. Проби для цього повинні транспортуватися в суворо

вертикальному стані в трубках з шаром води над ґрунтом. Перед вивченням пробу відстоюють кілька хвилин, воду за допомогою піпетки видаляють, лишаючи шар 0,5 – 1 см.

### Дослідження мікро- і мейобентосу на твердих субстратах

Стандартні методи вивчення зоомікроперіфітону ще до кінця не розроблені. Методи, що застосовуються для мікроводоростей не завжди дають позитивний результат, оскільки механічне відмивання від субстрату ушкоджує більшість ніжних форм (найпростіші, коловертки, гастротрихи тощо). При цьому використовують різноманітні щітки, пензлики, шматочки пластикового сита чи інші матеріали, якими змивають обростання у кювету чи чашку Петрі, використовуючи фільтровану воду з місця відбору проб. Якщо проба у вигляді шматка субстрату (талом макрофіту, камінець, покривне чи предметне скло тощо) його можна попередньо піддати дії ультразвуку. Іноді мікроперіфітон вивчають, зрізуючи скальпелем усередині невеликої рамки (1×1 см або більше), виготовленої з фольги чи пластика, обростання та переносячи в невеликі ємності з фільтрованою водою. Для цього необхідно винести субстрат (наприклад, камінь) з води. Коли це неможливо, використовують мікрошкребок, який являє собою прозору невелику (50 – 100 мл) пластикову прямокутну ємність з 1 – 2 мм щілиною уздовж меншого нижнього ребра. До краю щілини прилаштовують невелику загострену металеву пластинку (ніж), якою зрізують під водою обростання. Для того, щоб зрізаний шар всмоктувався в щілину, в протилежному кінці ємності (зазвичай в кришці) роблять невеличкий (Ø 5 – 10 мм) отвір. Прилад із затиснутим пальцем отвором під водою притискають лезом до поверхні, що вивчається, і за допомогою лінійки зрізують певну відстань обростання, відкривши отвір. Отриману пробу переливають в ємності і етикетують. Звісно, що для використання цього приладу необхідна досить рівна поверхня, що в природі зустрічається дуже рідко. Вивчають зоомікроперіфітон переважно в живому вигляді, фітомікроперіфітон можна фіксувати формаліном. Кількісний облік здійснюється тими самими методами, що й кількісний облік мікропланктону чи мікробентосу, тобто підраховують кількість організмів у рідкій пробі і перераховують на 1 см<sup>2</sup> чи 1 дм<sup>2</sup> субстрату. Для вимірювання площі субстрату, з якої зроблено змив використовують лінійку, чи накладають рамку заздалегідь відомого розміру. Інша справа, коли поверхня субстрату дуже рельєфна. В такому випадку використовують площинно-ваговий метод. На висушений субстрат накладається листок м'якої харчової алюмінієвої фольги, який за допомогою ватного тампону розправляють по поверхні. Зморшки, що утворюються, а також краї листка обережно зрізають тонкими ножицями.

Далі фольгу обережно знімають і зважують на лабораторних вагах з якомога більшою точністю. Після цього з нового листка фольги точно вирізають еталонний квадрат, наприклад, 10×10 см, який теж зважують. Поділивши масу квадрату на 100, обчислюють масу 1 см<sup>2</sup> фольги. Зіставляючи масу фольги, що пішла на вкривання субстрату і масу 1 см<sup>2</sup> обчислюють площу субстрату.

Дуже часто для дослідження перифітону використовують метод експериментальних субстратів (ЕС). У воду водойми занурюють ті чи інші субстрати (предметні чи покривні скельця, гуму, пластик тощо), які експонують певний час, після якого виймають з води і досліджують. Таким чином, наприклад, досліджують мікроорганізми обростання чи динаміку осідання личинок перифітонтів. Метод придатний як для мікроорганізмів, так і для більш крупних перифітонтів. Переваги методу в тому, що субстрат може бути занурений на різну глибину, поблизу або на відстані від гідротехнічних споруд, за умов різного ступеню освітленості, в акваторіях із різним рівнем забруднення тощо. Відбір проб може здійснюватися в будь який час за бажанням дослідника.

Для дослідження мікроперифітону зручніше за все використовувати предметні скельця. Після бажаного терміну експозиції, скельця під водою кладуть у чашки Петрі, або склянки чи банки із кришками і обережно виймають на поверхню так, щоб скло завжди було під шаром води. В такому вигляді скельця якомога швидше доставляють у лабораторію. Підрахунок численності здійснюють під стереомікроскопом на склі, зануреному у чашку Петрі. Рухомі форми виловлюють мікропіпеткою і досліджують як і інші організми мікропланктону чи мікробентосу. Сидячі організми підраховують у полях зору з подальшим перерахунком на все скло.

Мейобентосні організми перифітону досліджують, зазвичай, промиваючи пробу макрозообентосу з твердих субстратів, або макрозооперифітону (див. нижче). Їх камеральна обробка принципово не відрізняється від обробки проб, отриманих з інших субстратів.

#### 2.4.2 Методики дослідження макробентосу

До складу макробентосу входять рослинні і тваринні організми. Відповідно до цього прийнято розрізняти макрофітобентос і макрозообентос. До складу макрофітобентосу відносять водорості-макрофіти та вищі водні рослини. Перші переважають у морях, другі – в континентальних, здебільшого прісних водоймах. До макрозообентосу відносять тварин, які живуть на дні – в його товщі і на поверхні, а також таких, що поселяються на субстратах, занурених у воду (перифітон), і розмір яких не дозволяє їм проходити крізь сито з розміром вічка 1 мм.



## Відбір проб макрозообентосу

Відбір проб макрозообентосу і перифітону пов'язаний з необхідністю використання підводних робот. Без спеціальної техніки відбір проб можливий лише на мілководдях (до глибини 0,5 м), або з гідротехнічних споруд.

Для відбору як з використанням водолазного обладнання, так і на мілководді (до 0,5 м) використовують різноманітні сталеві квадратні або прямокутні рамки, розміром 10×10 або 25×25 см облаштовані мішками з сита (вічко 0,1 – 0,2 мм). Виготовляють рамки з товстого (1 – 2 мм) листового неіржавіючого металу, вигинаючи стрічку шириною 6 – 7 см у вигляді квадрату чи прямокутника і скріплюючи заклепками чи гвинтами. З одного боку на відстані 1 – 2 см роблять отвори, для пришивання мішку з газу. Мішок роблять такої величини, щоб забезпечити місткість проби. На дні мішку роблять отвір з манжетою для руки. Для сипких ґрунтів виготовляють високі (15 см) рамки меншого розміру (10×10 см) з мішком без отвору для руки. Рамки накладають на ділянку дна і рукою, просунутою в манжету, за допомогою шпателя підрізають верхній шар ґрунту, переміщуючи його в сітчастий мішок. Високі рамки заглиблюють в ґрунт на 10 см і вивертають рамку отвором на поверхню, затискаючи отвір рукою. Рамки з пробами виносять в мішку на поверхню, де промивають на ситах (див. нижче).

Для роботи з човна або судна використовують спеціальні прилади – *дночерпачі*. Існує багато модифікацій, які відрізняються розмірами та деякими незначними конструктивними особливостями (рис. 2.4.3).

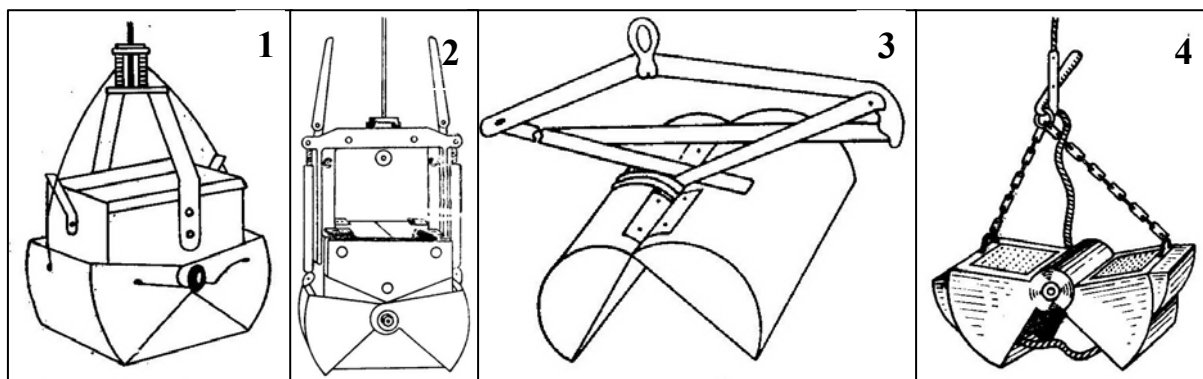


Рис. 2.4.3 Дночерпачі: 1 – Екмана-Берджа, 2 – той самий, модифікований, 3 – Петерсена, 4 – той самий, модифікований.

Вони являють собою дві з'єднані віссю сталеві важкі порожні губки (ковші), нижні краї яких (ножі) мають певну довжину і загострені. Перед роботою губки розводять і фіксують спеціальним замикачем. Прилад

опускають у воду на лині чи тросі лебідкою. Після падіння на дно замикач звільняється і губки при вийманні приладу під власною масою змикаються, зрізуючи загостреними краями шар ґрунту. Для стікання води у верхніх стінках губок є віконця, затягнуті металевим ситом. На борту губки роз'єднують, виймаючи пробу у таз або ванну.

Відібрані за допомогою рамок або дночерпачів проби промивають водою з відра або шлангу (на судні) від баластного ґрунту і водночас фракціонують на системі металевих ґрунтових сит з отворами різного діаметру (10 мм, 7 мм, 5 мм, 3 мм, 2 мм, 1 мм). Кожну фракцію змивають в окрему ємність, фіксують та етикетують. Якщо потрібно зібрати мейобентосні форми, рамку, підняту на поверхню спочатку викладають в таз, а потім викладають на верхнє сито. Під систему сит підставляють ведро. Всю воду, якою промивають пробу, збирають в те саме ведро. Потім воду з відра фільтрують крізь сачок (рис. 2.4.4), фільтруючу частину якого виготовляють з газу з розміром вічка не більше 0,1 мм.

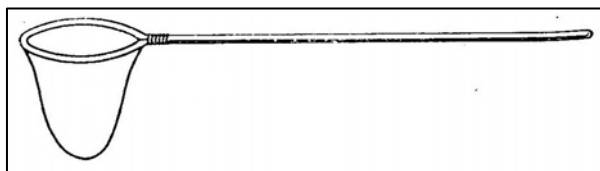


Рис. 2.4.4 Гідробіологічний сачок.

Після фільтрації сачок вивертають в ємність для проб з фільтрованою водою з місця відбору, і, якщо потрібно, фіксують.

Відбір проб з твердих поверхонь здійснюють також рамками, обладнаними пластиковим ситом, яке для зручності іноді роблять з рукавом, який пришивають до манжети. В рукаві рукою шпателем чи ножом зрізують обростання в мішок. Для вертикальних поверхонь одну з сторін рамок роблять під кутом, розташовуючи її знизу, що полегшує скочування зрізаних гідробіонтів в мішок. На невеликих глибинах (до 4 м) з вертикальних поверхонь (наприклад, гідротехнічних споруд) зручно користуватися шкребком (рис. 2.4.5) – рамкою із загостреним нижнім краєм, яка кріпиться до міцної штанги, довжиною 3 – 5 м.

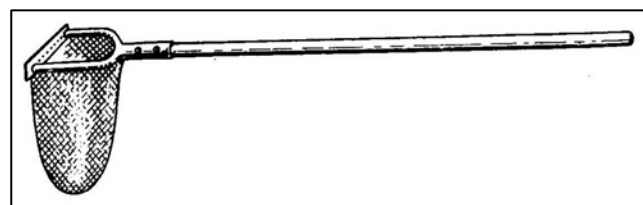


Рис. 2.4.5 Гідробіологічний шкребок.

Штангу розмічують на відтинки 5 та 10 см для урахування площі, з якої зібрано перифітон (помножують довжину ножа на висоту притягнення шкребка за відтинками). Зазвичай проба перифітону не містить баластного ґрунту, тому відмивають її для окремого вивчення мейобентосних та макроорганізмів. Для цього використовують ґрунтове сито з отворами 1

мм, на якому лишаються макроорганізми, решту відфільтровують на пластиковому ситі для мейобентосу.

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

### Відбір проб макрофітобентосу

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

### Методи камеральної обробки проб макробентосу і перифітону

Проби зообентосу та зооперифітону являють собою скупчення організмів різних систематичних груп. Методи їх обробки спільні для макроформ. Фіксовані проби відмиваються від фіксатору до зникнення запаху формаліну. Для цього гумовою грушею із затягнутим ситом кінцем видаляють рідину і заливають пробу водопровідною водою, лишаючи на годину. Процедуру повторюють кілька разів, в залежності від розміру організмів. Промиту пробу порціями чи повністю переносять в кювету із водопровідною водою, при цьому масу з організмами та їх рештками ложкою чи шпателем зміщують до одного, протилежного від себе краю кювети. За допомогою препарувальних голок та тонкого пінцету поступово розбирають скупчення гідробіонтів, відокремлюючи від решток (биті та

пусті черепашки молюсків тощо). Організми сортують за видами по чашках Петрі з водою. Після розбору проби чашки досліджують під стереомікроскопом, визначаючи, і, якщо потрібно, додатково сортуючи організми. Підраховують чисельність кожного виду. Після підрахунку організми зважують на технічних та торсійних вагах (дрібні форми). Перед зважуванням організми позбавляють води, осушуючи їх на фільтрувальному папері до зникнення на папері плям води. Дані вносять до протоколу, перераховуючи отримані чисельність та масу на 1 м<sup>2</sup> субстрату.

#### Методи обробки проб макрофітобентосу.

Фіксований матеріал необхідно замочити у водопровідній воді, яку змінюють кілька разів до зникнення запаху формаліну. Обробка проб полягає у розборі пінцетом та голками скупчення макрофітів у кюветі на окремі види, які розкладають по чашках Петрі, підраховуючи кількість таломів (якщо це можливо). Особливу увагу слід звернути на те, що багато дрібних водоростей є епіфітами на більш крупних, які, в свою чергу теж можуть заселяти інші макрофіти. Такі випадки обов'язково відмічають у протоколі. Макрофіти зважують, обсушивши на фільтрувальному папері до зникнення на ньому плям води. Дані вносять до протоколу, перераховуючи отримані чисельність та масу на 1 м<sup>2</sup> субстрату. Визначають макрофіти на тимчасових мікропрепаратах шматочків таломів, або користуються лупою, бінокляром, лінійкою, штангенциркулем, мікрометром. Тимчасові препарати виготовляють зануривши шматочки таломів у краплину води з гліцерином, або розчином Люголю з гліцерином. Свіжий або фіксований матеріал також використовується в подальшому для визначення морфо-функційних показників. Вищі водні рослини (наприклад, зостеру) визначають та зважують як і інші рослини.

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

## Визначення структурно-функційних показників.

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

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

Визначення середніх показників  $d_x$  та  $h_x$  великих таломів та у вищих рослин здійснюється виміром їх лінійкою, штангенциркулем, мікрометром, або під біноклем окуляр-мікрометром. Для дрібних таломів виготовляють тимчасові мікропрепарати з цілих таломів чи їх частин, або роблять зрізи окремих елементів. Для цього використовують серцевину бузини, куди за щеплюється частина талому (наприклад, пластина *Enteromorpha spp.*) і лезо безпечної бритви чи мікротомний ніж. Зріз роблять якомога тонким, рухаючи лезо в напрямку до себе і трохи вбік.

Зрізи поміщають на предметне скло, покривають покривним і вимірюють під мікроскопом за допомогою окуляр-мікрометра.

#### 2.4.3 Методи дослідження фітофільної фауни і танатоценозів

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

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

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

Дослідження угруповань заростей макрофітів, як правило, проводять

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

В морських водах, де переважають водорості-макрофіти, якісний склад вивчають, обов'язково виймаючи макрофіти на поверхню.

Особливим угрупованням, дуже подібним до угруповань заростей макрофітів є угруповання, що населяють штормові викиди. Зазвичай, такі викиди на узбережжі морів складаються із скупчень відірваних водоростей-макрофітів чи вищих квіткових рослин (зостера, рдести), іноді вони цілком складаються з відірваних штормом молюсків (в Чорному морі – мідії, мітілястер тощо). Оскільки скупчення знаходяться під впливом нахату хвиль, повітря, сонця, в них складається своєрідний біоценоз з гідробіонтів, які в умовах постійного зволоження здатні існувати поза водоймою, аеробіонтів – комах, а також деяких наземних, або земноводних тварин. Такі викиди є своєрідним «пасовиськом» для багатьох видів птахів – мартинів, горобців, голубів, гав та інших. Біоценози штормових викидів являють собою так звані танатоценози (від грецького *thanatos* – смерть). Саме завдяки спільній роботі тварин, повітря, води і сонця штормові викиди досить швидко розкладаються і не засмічують прибережну зону тривалий час навіть взимку. Вивчення населення танатоценозів і процесів утилізації викидів має велике практичне значення, оскільки енергія органічних речовин, синтезованих у водоймі розподіляється між населенням інтерстиціалі в супраліторалі, самою водоймою (звив продуктів розкладу) і сушею. В зоні заплеску, куди потрапляють продукти розкладу викидів і організми, що приймають участь у цьому процесі, спостерігається скупчення життя і привабливі умови для харчування молоді риб і інших гідробіонтів.

Для дослідження штормових викидів можна скористатися методиками визначення макрофітів з метою оцінки внеску окремих видів у формування валів. Для оцінки загальної потужності викидів їх фотографують, вимірюють і зважують, відібравши еталонні ділянки за допомогою рамок для макрозообентосу. Гідробіонтів, що мешкають серед останків водоростей досліджують, змиваючи їх з відібраних рамками проб. Для цього зручно використовувати таз. Організми концентрують за допомогою сачка і фіксують, якщо потрібно, формаліном. Мікрогідробіонти, що заселяють маси викидів, досліджують, ретельно прополіскуючи навіску, або ділянку певної площі в невеличкій кюветі чи склянці з фільтрованою водою. Після змивання, водорості обов'язково віджимають в ту саму ємність. Об'єм отриманої рідкої проби вимірюють для подальшого перерахунку на масу викидів, або їх площину. При дослідженні мікро- і мейобентосу інтерстиціалі під викидами, обов'язково беруть контрольні

проби поблизу, на тій самій відстані від урізу води, в місцях, де викидів немає.

Комах та інших негідробіонтів досліджують загальноприйнятими методами, розробленими спеціально для цих груп. Такі методи можна знайти в спеціальній літературі з зоології безхребетних або зоології хордових.

Слід зауважити, що загальні методи для дослідження танатоценозів на даний час знаходяться на стадії розробки. Участь студентів в таких дослідженнях допоможе удосконалити такі методи та зробити внесок в знання про процеси, що проходять в штормових викидах з моменту їх утворення і до повної їх елімінації.

### 3 АНАЛІЗ ДАНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження того чи іншого угруповання не обмежується збором та камеральною обробкою гідробіологічного матеріалу. Відомо, що розмаїття життя визначається комплексом взаємовідносин між організмами та навколишнім середовищем і значною мірою є відображенням стану останнього. Інформація, що міститься в отриманих даних з численності та біомаси того чи іншого угруповання має бути розкрита з метою оцінки видового різноманіття та різних аспектів взаємодій організмів між собою та довкіллям. Порівняльний аналіз таких оцінок надає, в свою чергу, змогу виявити ті чи інші тенденції змін в угрупованнях, а головне з'ясувати причини таких змін.

Одним з ключових понять в гідробіології і екології взагалі є *видове різноманіття*. Насправді це не просто характеристика набору видів, що зустрічаються в тому чи іншому помешканні. Методи його оцінки базуються на теоретичних припущеннях і концепціях, які в порівнянні з отриманими емпіричними даними дають цілісну картину стану угруповань гідробіонтів. Це, в свою чергу, дозволяє зробити певні інтерпретативні висновки щодо умов їх існування. Емпіричні дані потребують попередньої обробки з використанням математичного апарату. Звісно, це вимагає вміння вести розрахунки, зокрема з використанням інженерного калькулятора та стандартного ПЗ на ПК.

#### 3.1 Загальні положення

Одиницею вимірювання емпіричних гідробіологічних даних при дослідженні угруповань є *проба*. Розрізняють проби *якісні* (іноді їх називають *колекціями*), коли за мету ставиться охарактеризувати якісний склад угруповання (за видовим, розмірним складом чи за будь-якими



іншими показниками) та проби *кількісні*, коли враховуються не тільки якісні характеристики, але й міри *численності* кожного елемента (вида або таксону іншого рангу, розмірної або вікової категорії тощо). В якості міри численності найчастіше в гідробіології використовують дані за чисельністю та за масою (біомасою) віднесених на одиницю об'єму чи площі субстрату (біотопу). Така кількісна проба містить три параметри: кількість видів (таксонів чи інших якісних параметрів)  $S$ , їх чисельність  $N$  та їх біомасу  $B$ . Кількісні показники кожного  $i$ -го виду позначаються, відповідно,  $n_i$  та  $b_i$ . Звідси:

$$N = \sum_{i=1}^s n_i \quad (3.1)$$

та

$$B = \sum_{i=1}^s b_i \quad (3.2)$$

Ці показники відображають загальні характеристики репрезентативності тих чи інших видів в угрупованні і є базовими при розрахунках інших показників, які умовно можна поділити на точкові оцінки, побудовані на інформації, яка міститься в окремій пробі, та на групові, побудовані на інформації, яка міститься в сукупності проб. Такі 2 типи показників є, зокрема, складовою  $\alpha$ - та  $\beta$ -різноманіття.

### 3.2 Видове різноманіття та методи його оцінки. $\alpha$ -різноманіття.

Видове різноманіття, або скорочено  $BP$ , одна з найважливіших характеристик угруповання, що відібражає складність його видової структури. Як характеристика структурної складності  $BP$  пов'язане зі стійкістю біоценозу й може відбивати ступінь його порушення, забезпеченість енергією, ступінь стабільності середовища та ін.

Сучасні подання про  $BP$  передбачають, що такий показник, як  $S$ , тобто кількість видів у складі угруповання, є хоч і основною, але не єдиною мірою його різноманіття. Видове різноманіття є функцією багатства видами і вирівненості, або «рівноможливості», з якою особини розподілені по видах. Інакше кажучи,  $BP$  містить у собі два компоненти: *видове багатство* (насиченість угруповання видами) і *вирівненість* видової структури (ступінь рівномірності розподілу видів за численністю). Видове різноманіття угруповання тим вище, чим більша кількість видів входить до його складу та чим більше види вирівнені за численністю. Навпаки, зменшення  $BP$  даного угруповання свідчить про спрощення його

видової структури та про порушення співвідношень між видами за численністю. При оцінці видового різноманіття слід мати на увазі те, що такі властивості, як багатство і різноманіття не пов'язані між собою. Так, вибірка з небагатьма видами і високим рівнем вирівненості може мати таке саме різноманіття, як і вибірка з низьким рівнем вирівненості, але з високим багатством. Тому використання тільки одних показників без всебічного аналізу компонентів *BP* може призвести до помилкової інтерпретації та невірних висновків. В якості кількісних мір оцінки різних аспектів *BP* застосовуються різноманітні індекси.

Існує безліч різних індексів для виміру тих або інших аспектів *BP*. Декілька з них найбільш добре зарекомендували себе на практиці і є прийнятими в якості нормативних показників у системах природоохоронних служб деяких держав. При обчисленні індексів  $\alpha$ -різноманіття використовується число видів у вибірці (пробі) *S* і величини їх численності (чисельності, біомаси або інші міри численності).

*Видове багатство.* Найпростішим показником видового багатства є загальне число знайдених видів *S*. Однак цей показник залежить від обсягу вибірки й загального числа врахованих організмів *N*, що робить його мало придатним у якості індексу *BP*. Наприклад, ймовірність поповнити видовий склад новими видами зростає, якщо об'єм проби збільшиться. Тобто проаналізувавши замість 1 л проби планктону 10 л ми отримаємо більші показники *N* та *S* в тому самому місці відбору проби. Більш раціонально якимось чином нормувати число видів на кількість особин в пробі. Е. Менхініком у 1964 р. було показано, що серед інших, співвідношення:

$$M = \frac{S}{\sqrt{N}} \quad (3.3)$$

(*індекс Менхініка*) найменшою мірою залежить від обсягу вибірки. Інший показник, запропонований раніше геоботаніком Г. Глісоном у 1922 р. та гідробіологом Р. Маргалефом у 1958 р. також дістав широкого розповсюдження, особливо в гідробіологічних дослідженнях:

$$d = \frac{S-1}{\log_2 N} \quad (3.4)$$

(*індекс Глісона-Маргалефа*) При  $S = N$  цей показник досягає найвищого значення, тоді як  $d = 0$  досягається при  $S = 1$ . Значення обох індексів також зростають із зростанням кількості видів у вибірці. Ці показники,

зокрема, дуже часто використовують у спеціалізованих комп'ютерних програмах з аналізу екологічного стану угруповань.

*Видове різноманіття.* Індекси цієї групи враховують обидва компоненти *BP* – як кількість видів, так і їх вирівненість. У 1949 р. Е. Сімпсоном було запропоновано визначати різноманіття як міру концентрації особин ( $\lambda'$ ) в угрупованні за формулою:

$$\lambda' = \sum_{i=1}^S p_i^2; 0 \leq \lambda' \leq 1 \quad (3.5)$$

де  $p_i$  – доля  $i$ -го виду, тобто  $p_i = n_i/N$ , або ймовірність зустріти цей вид в угрупованні серед  $S$  видів. Цей показник змінюється від 0 при  $S = 0$ , або  $S \rightarrow \infty$  до 1 при  $S = 1$ . Для виключення ймовірності зустріти одну й ту саму особину, Сімпсон модифікував формулу для кінцевих вибірок (= проб):

$$\lambda = \sum_{i=1}^S \frac{n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}; 0 \leq \lambda \leq 1 \quad (3.6)$$

Недоліки останньої формули полягають у тому, що види, представлені в пробі однією особиною не враховуються. Обидва показники застосовуються при екологічних дослідженнях і здебільшого відомі як «індекси домінування Сімпсона».

Оскільки вірогідність того, що дві будь-які особини, взяті з проби належать до одного виду тим вище, чим менше різноманіття, то вище наведені формули характеризують «одноманіття». Тому, для визначення *BP* використовують доповнення до цієї міри, а саме величини  $1 - \lambda'$  та  $1 - \lambda$ , що відповідають "ймовірності міжвидових зустрічей" (*probability of interspecific encounter, PIE*), тобто вірогідність того, що дві будь-які особини, взяті з проби належать до різних видів. Як вже було зазначено вище, індекси Сімпсона чутливі до розподілу численних видів. Якщо проби містять велику кількість одиничних представників видів, то інтерпретація різноманіття буде невірною. Слід також зауважити, що індекси Сімпсона нечутливі до розміру вибірок (проб), що робить їх привабливими для порівняльних оцінок. На їх основі останнім часом були розроблені інші показники *BP*, зокрема побудовані на таксономічній структурі, до того ж вільні від помилок, зумовлених присутністю одиничних та дуже рідких (екзотичних) видів.

Іншим найбільш популярним методом оцінки *BP* є застосування інформаційних показників, зокрема індексу, запропонованого у 1948 р. К. Шеноном для цифрового визначення кількості інформації що припадає на

один з  $S$  елементів з різною частотою трапляння. В даному випадку – кількість інформації на особину в угрупованні з  $S$  видів, частки яких ( $p_i$ ) складають  $n_i/N$  ( $i = 1, 2, 3 \dots S$ ). Формула має вигляд:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i \quad (3.7)$$

або для окремої проби:

$$H = - \sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \log_2 \frac{n_i}{N} \quad (3.8)$$

Зазвичай інформація вимірюється в *бітах* (біт · особина<sup>-1</sup>), але при застосуванні інших основ логарифмів ( $e$  або  $10$ , відповідно  $\ln$  або  $\lg$ ), розмірність має назву, відповідно, «*нит*» та «*децит*». Оскільки в інформатиці прийнятий двійковий код для виміру інформації, слід дотримуватися оригінальної формули, або (для запобігання незрівненості даних) використовувати корегуючий коефіцієнт. Наприклад,  $\log_2 p_i = 3,321928 \times \lg p_i$ .

Індекс Шенона придатний не тільки для визначення біорізноманіття, але також для визначення структури сукупних об'єктів. Наприклад у вигляді інформаційного показника можна оцінювати та порівнювати спектри харчування виду, трофічну структуру угруповання і т.п. Індекс чутливий до розподілу всіх видів в угрупованні (або інших визначених груп, що сукупно досліджуються – трофічних, вікових, типів харчових об'єктів тощо), і може використовуватись коли за мету ставиться вивчення повного видового складу, особливо при порівнянні угруповань за усередненими в часі (просторі) даними. В наш час з використанням інформаційних показників розроблені інші модифіковані методи оцінки *ВР*, в тому числі і компонентів  *$\beta$ -різноманіття*. Індекс Шенона, зокрема входить до складу деяких складних біотичних індексів, що відображають ті чи інші аспекти екології та функціонування природних угруповань.

*Вирівненість.* У будь-якому природному угрупованні є види, що представлені великою кількістю особин (масові), є види менш численні, рідкі та дуже рідкі. Існують багато різновидів градацій видів (або інших визначених груп) за численністю, наприклад – бальні оцінки, коли ті чи інші значення численності відповідають балу. Наприклад, *шкала Мюленберга*:

Бал	1	2	3	4	5
Кількість особин виду, % від загальної кількості	0 – 2	2 – 6	6 – 16	16 – 40	40 – 100

шкала Етля:

Евдомінант: 32 – 100%  
Домінант: 10 – 31,9%  
Субдомінант: 3,2 – 9,9%  
Резидент: 1 – 3,1%  
Субрезидент: 0,32 – 0,99%  
Спорадичний < 0,32%

В найпростішому випадку порівнюють численність об'єктів  $n_i$  (або  $b_i$  чи інше), їхні частки  $p_i$ ,  $p_i = n_i$  (або  $b_i$  чи інше)/ $N$  ( $B$ , чи інше).

Іноді, особливо при дуже нерівномірному розподілі, дані з численності або часток трансформують в їхні логарифми, квадратні корені і т.п. Така трансформація дозволяє перетворювати лінійні шкали розподілу в криві, зменшує різницю в оцінках варіювання масових та рідких видів, полегшує інтерпретацію графічних даних. Наприклад, в пробі маємо 6 видів ( $S = 6$ ) загальною чисельністю  $N = 140$  особин, та показниками  $n_i$ , відповідно 100, 20, 11, 4, 3 і 2. На графіках зліва (рис. 3.2.1) відображені абсолютні показники і частки ( $n_i$  та  $p_i = n_i / N$ ). На відповідних графіках праворуч – трансформовані дані ( $lg$  та квадратні корні).

Ступінь вирівненості видів за численністю може бути виражена двома методами. Перший метод – інтегральна характеристика вирівненості видів, яку можна охарактеризувати, як долю різноманіття від максимально можливого при даних значеннях  $N$  і  $S$ , яке, в свою чергу досягається при однакових значеннях  $n_i$ . Відповідно до вищевказаних індексів  $BP$ , вирівненість може бути обчислена за формулами:

$$\frac{PIE}{PIE_{max}} = \frac{PIE}{N(S-1)/S(N-1)} \quad (3.9)$$

та

$$J = \frac{H}{H_{max}} = \frac{H}{\log_2 S} \quad (3.10)$$

Останній індекс, відомий як індекс Пайлоу набув великої популярності і входить до складу багатьох прикладних екологічних програм для ПК.

Вищезазначені індекси чутливі лише до рівномірності розподілу численності окремих видів, але не до їхнього загального числа. Ці індекси змінюються від 0 (абсолютна неvirівненість, коли всі особини належать до одного виду) до 1 (усі види рівночисленні).

Другий метод аналізу полягає в більш детальному аналізі кривих розподілу численностей окремих видів та порівнянні цих кривих з модельними, які базуються на теоретично обґрунтованих посиланнях.

Оскільки при побудові цих кривих види, або інші виділені групи (наприклад, трофічні групи чи особини одного розміру, віку, морфотипи в популяціях), спочатку *ранжуються* (зазвичай, від більш до менш численного), такі криві дістали назву «кривих рангового розподілу» (*PP*), або «кривих домінування – різноманіття» (див. рис. 3.2.1).

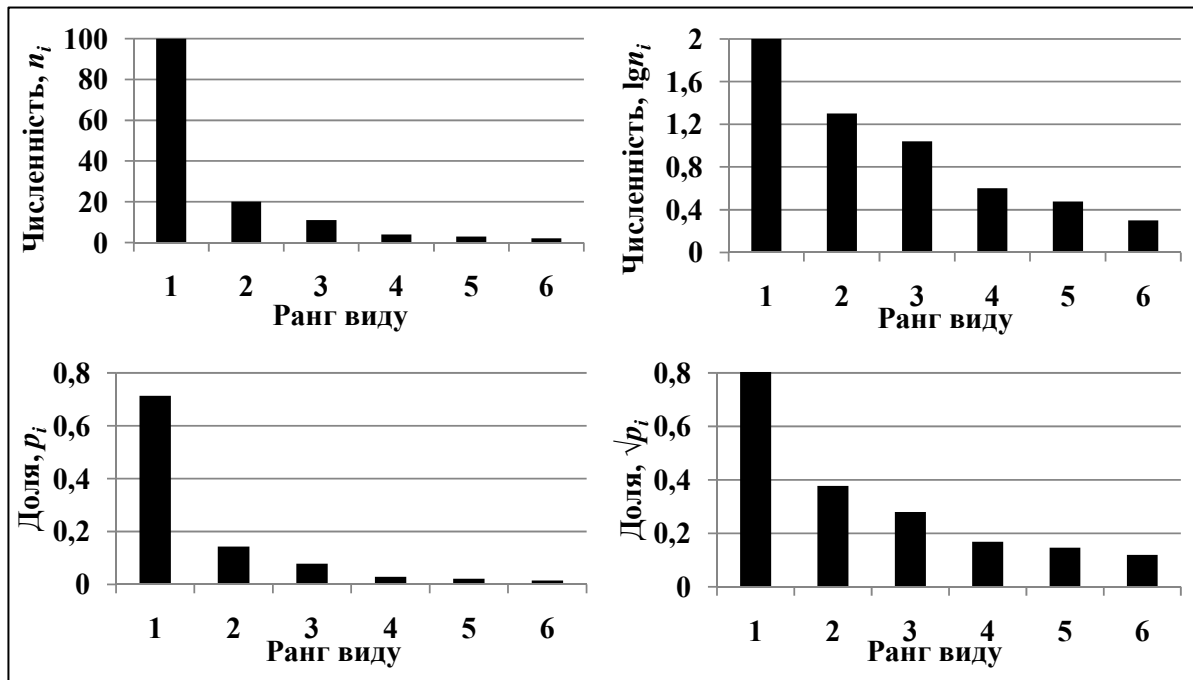


Рис. 3.2.1 Приклад графічного відображення вирівненості численності видів в одній пробі за абсолютними показниками і долями та їх трансформаціями.

*Моделі рангового розподілу.* Вид *PP* являє собою емпіричний закон, який відповідає природі екологічного об'єкту, що досліджується. Для пояснення розподілів численності, що спостерігаються у природі, в наш час запропоновано досить багато моделей, які базуються на різних поданнях. За виглядом моделі і значенням її параметрів намагаються судити про процеси формування даної видової (чи іншої) структури, тобто про причини співвідношення видів (чи інших груп), яке спостерігається в природі. Слід мати на увазі, що теоретичні подання, що лежать в основі більшості моделей *PP* (як і більшості моделей в екології взагалі), не занадто чіткі, а точність вихідних даних зазвичай недостатня для того, щоб зробити певний вибір між тією чи іншою моделлю. Проте *PP* можуть бути використані в якості зручного інструменту для порівняння та оцінки стану угруповань.

Кожній теоретичній моделі відповідає певна форма кривої *PP* і, відповідно, певний тип видової структури. Різні сукупності видів

породжують різні криві  $PP$ . Порівнюючи ці криві, можна зафіксувати зміни видової структури. Безпосереднім об'єктом аналізу може бути форма  $PP$  або при незмінній загальній формі – кількісні значення його параметрів. Параметри  $PP$  мають певний зміст – ступінь рівномірності розподілу особин по видах у даній вибірці (пробі). Форма й ступінь рівномірності  $PP$  можуть залежати від різних причин: тип угруповання, об'єм вибірки, сезонні зміни і стадія сукцесії, ступінь порушень довкілля. У ряді випадків  $PP$  виявляється більш чутливим, ніж традиційні методи. Зазвичай, параметри  $PP$  менш лабільні за інші характеристики, такі як  $S$ ,  $N$  або  $B$ . Однак іноді вдається виявити порушення в структурі угруповання раніше (або при менших концентраціях забруднювача), в порівнянні з іншими показниками. Звичайно, спочатку потрібно встановити форму та межі мінливості  $PP$  для непорушених угруповань.

Нижче наведені деякі з моделей  $PP$ , які досить прості, припускають однозначну апроксимацію за даними спостережень і описують різні типи рангових розподілів, які зустрічаються в природі

*Модель розламаного стрижня.* Відома з багатьох підручників з екології модель запропонована Р. Макартуром у 1957 році при дослідженні птахів. Цим автором розглядалися три варіанти розподілу видів, з яких найбільш досліджений перший, заснований на наступних поданнях:  $S$  видів випадково ділять середовище між собою так, що займають екологічні ніші, що не перекриваються, але тісно прилягають одна до одної (інші моделі припускають перекривання ніш, або проміжки між ними). Численність кожного виду  $n_i$  пропорційна ширині його ніші. Якщо середовище представити у вигляді відрізка одиничної довжини, на частку кожного виду випаде один з  $S$  сегментів цього відрізка, розділеного випадково в  $S-1$  крапках. Тоді очікувана численність  $n$  виду  $r$  в угрупованні видів від найменш значущого ( $i=1$ ) до найбільш значущого ( $i=S$ ) дорівнює:

$$n_r = \frac{N}{S} \sum_{i=1}^r \frac{1}{S+1-i} \quad (3.11)$$

Графік такого  $PP$  являє собою пряму в координатах «численність – логарифм рангу», при цьому види ранжуються від найменш численного до найбільш численного. Кут нахилу прямої визначається тільки загальним числом видів  $S$ . Інтерпретація моделі базується на наступному: численність видів визначається випадковим поділом якогось одного параметру ніши (ресурсу, або фактору середовища) в однорідному біотопі. Модель добре описує рівноважні угруповання одного трофічного рівня із спрощеною структурою. Найбільш придатна для видів з великими розмірами й



тривалими життєвими циклами, а також для невеликих екологічно однорідних груп видів, які лімітовані дією якогось одного фактору або випадково поділяють важливий ресурс.

*Модель геометричних рядів* І. Мотомури. Уперше запропонована Ісао Мотомурою у 1932 році. Модель заснована на гіпотезі «перехоплення» екологічних ніш: найчисленніший вид (домінант) займає  $k$ -ту частку певного ресурсу (ресурсів), другий за численністю вид –  $k$ -ту частку ресурсу, не зайнятих першим видом, і так далі. Численність виду пропорційна частині ресурсів, що йому лишаються. Розподіл численності видів утворює геометричну прогресію, де:

$$n_i = n_1 \cdot K^{(i-1)}; K = \frac{n_i}{n_{(i-1)}} \quad (3.12)$$

Графік цієї функції являє собою пряму лінію в координатах «логарифм численності – ранг виду». Модель містить два параметри:  $n_1$  – очікувана численність 1-го виду (найбільш численного) і  $K$  – частка численності  $i$ -го виду від численності попереднього. Описує результат конкуренції по захопленню середовища між невеликим числом видів із сильно вираженим домінуванням. Може бути застосовна до простих угруповань тварин або рослин на ранніх стадіях сукцесії або таким, що існують у суворих умовах середовища. Вказує на ієрархічний принцип поділу ресурсів (домінування – підпорядкування). Параметр  $K$  моделі відбиває ступінь вирівненості видової структури і може служити відповідним індексом.

*Гіперболічна модель* О. П. Левіча. Теоретично виводиться з моделі структури угруповання, лімітованого ресурсами, що споживаються при логарифмічному розподілі потреб у них окремих видів. Очікувана численність  $i$ -го виду дорівнює:

$$n_i = n_1 \cdot i^{-\beta}; 0 \leq \beta < \infty \quad (3.13)$$

де  $\beta$  – міра вирівненості видів за численністю. Графік цього  $PP$  являє собою пряму в координатах «логарифм численності – логарифм рангу». Інтерпретація моделі аналогічна моделі геометричних рядів, однак згідно гіперболічній моделі численність перших видів знижується більш різко в порівнянні з більш рідкими видами (перша припускає лінійну, а друга – логарифмічну залежність потреби у лімітуючих факторах. У порівнянні з попередньою, гіперболічна модель краще описує більш складні, «цілісні» угруповання, вибірки великого обсягу або усереднені за часом або у просторі дані.



*ABC метод.* Для аналізу видової структури, окрім звичайних кривих домінування – різноманіття, використовують також графіки, або функції, що відображають накопиченні значення численності видів у вибірці, або *кумуляти*. Одним з прикладів застосування таких кривих є метод порівняння кумулят чисельності і біомаси в одній вибірці (пробі). Відомо, що біомаса як носій консервативної інформації повільніше реагує на зміни середовища, натомість чисельність популяцій – більш динамічний показник реакції угруповання. У стабільних зрілих угрупованнях зазвичай переважають порівняно крупні види тварин с «повільною» динамікою, в яких переважає ріст над розмноженням (*K*-стратегі), тоді як в порушених угрупованнях, в нестабільному середовищі домінують, як правило, більш дрібні форми з високою швидкістю розмноження, з вираженими здібностями до колонізації, з високою, але мінливою чисельністю («види-піонери», або *r*-стратегі). На цьому й заснований *ABC* метод зіставлення кумулят накопиченої чисельності  $N_{i\%}$  і біомаси  $B_{i\%}$  (*Abundance-Biomass Comparison*). Метод запропонований Р. Варвіком для індикації порушень у структурі угруповань макрзообентосу внаслідок забруднення. По осі *X* відкладаються (в оригіналі – у логарифмічній шкалі) ранги (номери) видів у порядку зменшення чисельності (біомаси), а по осі *Y* – відповідний накопичений відсоток чисельності (біомаси) угруповання, що вивчається. У стабільних непорушених угрупованнях крива для чисельності лежить *нижче* кривої для біомаси, в сильно порушених – *вище*. Стану хиткої рівноваги або відновлення угруповань після стресу, коли відбувається перебудова розмірної структури, дають приблизно співпадаючі або пересічні криві. На додаток до графічної інформації П. Мейер і Дж. Діро при дослідженні макробентосу та угруповань птахів був запропонований цифровий індекс:

$$ABC = \frac{1}{S} \sum_{i=1}^S (B_{i\%} - N_{i\%}) \quad (3.14)$$

Позитивні значення індексу відповідають непорушеним, негативні – порушеним угрупованням. Недолік вищевказаного індексу в тому, що він не має масштабу (границь), тобто не досить придатний для порівняння з іншими угрупованнями з іншими параметрами *S*. Авторами методу був запропонований масштабований індекс *W* (названий на честь Р. М. Варвіка):

$$W = \frac{1}{50(S-1)} \sum_{i=1}^S B_{i\%} - N_{i\%}; -1 \leq W \leq 1 \quad (3.15)$$

$W \rightarrow +1$  при рівній чисельності, але домінуванням по біомасі одного виду, і навпаки. Метод є досить чутливим індикатором природніх порушень довкілля й антропогенних стресів (забруднення, замори, дампінг ґрунту і т.п.). Він може бути корисний при здійсненні моніторингу відновлення угруповань після катастрофічних забруднень або стресового впливу. Метод фіксує зміни в структурі угруповань більш швидко й чітко, аніж інші, засновані на консервативних показниках – видовому багатстві та різноманітті, простий, не потребує детального вивчення екології конкретних видів; для аналізу досить 10 – 15 масових видів, що виключає необхідність у кропітких таксономічних дослідженнях. Натомість метод слід з обережністю використовувати в ситуаціях, коли в нормі переважають дрібні організми з високою, але мінливою численністю, а також у районах з постійним стресовим впливом на довкілля. Треба також брати до уваги сезонні ефекти, пов'язані з коливаннями чисельності молоді деяких видів; істотне значення відіграють граничні розміри організмів, що розглядаються (наприклад, спільний розгляд мікро- і макроорганізмів може призвести до помилкових результатів).

### 3.3 Міри подібності. $\beta$ -різноманіття

До цього розглядалися методи т. з. «точкових оцінок», що відповідали стану угруповання в якийсь один момент часу і базувалися на кількості видів та їх співвідношенню в окремій вибірці (пробі). В рамках сучасних концепцій видового різноманіття такі оцінки характеризують  $\alpha$ -різноманіття. Поряд з  $\alpha$ -різноманіттям існують засоби оцінки мінливості стану угруповань уздовж якогось градієнту довкілля – часового, просторового, факторного тощо. При цьому предметом аналізу є характер розподілу та диференціювання параметрів угруповання, зокрема визначених за допомогою точкових оцінок, а також на основі порівняльних оцінок. Отримані таким чином дані характеризують різні аспекти  $\beta$ -різноманіття, тобто ступінь відмінностей між різними вибірками (пробами). Інакше кажучи, ця характеристика виражає ступінь гетерогенності (мозаїчності) досліджуваної сукупності проб. Для його виміру запропонований цілий ряд показників, або *мір подібності*.

Існує безліч способів порівняння різноманітних об'єктів. Різні підходи до порівняння й класифікації об'єктів розкривають їхні різні властивості й різні сторони їх взаємин. При цьому кожній порівнюваній парі об'єктів ставиться у відповідність якась величина – *індекс подібності*, як міра відповідності (близькості) між ними. За допомогою індексів можна аналізувати як подібність між видами (*R-аналіз*), так і між пробами (*Q-аналіз*). Обидва ці завдання можуть бути зведені до єдиної схеми: аналіз відповідності між деякими об'єктами за деякою кількістю ознак. У

першому випадку, об'єктами аналізу є види, а ознаками – їх знаходження в тому чи іншому описі. У другому випадку об'єктами є проби, а ознаками – численність видів у них. Традиційно ці два підходи розглядаються в екології окремо. Однак, незважаючи на відмінний біологічний зміст обох завдань, їх математична сутність однакова: аналіз таблиці «об'єкти – ознаки». Тому для розв'язання цих двох завдань можна застосовувати одні й ті ж методи, використовуючи одні й ті самі індекси подібності. У якості таких індексів в екології запропонована велика кількість показників відповідності (у широкому сенсі), що мають різноманітну математичну природу. Усі індекси поділяють на 2 основні групи: індекси подібності за якісними і за кількісними даними. Перші враховують лише факт наявності/відсутності виду в пробі, другі враховують також численність видів. У свою чергу індекси якісної подібності діляться на такі, що враховують і не враховують «негативний збіг», тобто одночасну відсутність ознаки в обох об'єктах. При порівнянні видів це буде число проб, що не містять ні того, ні іншого виду. При порівнянні проб – число видів, які не трапились у жодній із двох проб (але входять у загальний список видів). Залежно від властивостей вихідних даних і від конкретного завдання дослідження слід враховувати або не враховувати такі «негативні збіги». Так, наприклад, збіг як за присутністю, так і за відсутністю стенобіонтного виду у вибірках з біотопів що порівнюються несе важливу інформацію про зв'язки між цими біотопами. З іншого боку, одночасна відсутність двох рідкі видів у великій кількості проб – ще не підстава привласнювати їм високу ступінь подібності. Тому при високому  $\beta$ -різноманітті (у кожній окремій пробі зустрічається лише невелика частина загального числа видів) врахування негативних збігів при оцінці подібності навряд чи виправдано. Аналогічна проблема постає й при виборі індексів подібності для кількісних даних: яку вагу надавати рідким ознакам (види з низькою численністю в  $Q$ -аналізі й проби з низькою численністю даного виду – в  $R$ -аналізі). Зазвичай, збігам по рідких ознаках надається мало значення (наприклад, при класифікації описів за домінуючими видами або видів – по розташуванню максимумів численності). Однак, у ряді випадків саме такі співпадіння мають велике значення. Наприклад, стенобіонтні види-індикатори, присутність яких – важлива характеристика угруповання, зазвичай рідкі. У таких випадках виправданий вибір індексів подібності, чутливих до збігів за рідкісними ознаками.

*Індекси подібності за якісними ознаками.* Обчислення будь якого індексу подібності потребує, як мінімум, 2 вибірки, які порівнюють між собою. Якщо таких вибірок багато (наприклад, треба порівняти багато проб), механізм порівняння складається з зіставлення всіх можливих пар вибірок зі всієї їх сукупності. Індекси подібності за якісними ознаками

передбачають порівняння списків видів на предмет присутності, або відсутності виду у даному списку (вибірці) чи в загальному списку, який складається зі всіх вибірок. Прийняті наступні позначення:  $a$  – число видів, присутніх в обох списках  $j$  і  $k$  (загальні види), що порівнюються,  $b$  – число видів, присутніх лише у першому списку ( $j$ ),  $c$  – число видів, які є тільки в другому списку ( $k$ ),  $d$  – число видів, відсутніх в двох списках, що порівнюються, але наявні в інших списках з сукупності проб, що необхідно порівняти між собою. Звідси:  $a+b$  – число видів у списку  $j$ ,  $a+c$  – число видів у списку  $k$ . відповідно  $c+d$  і  $b+d$  – число видів, відсутніх, відповідно, у списках  $j$  і  $k$ . Сума  $a+d$  – число збігів якісних ознак,  $b+c$  – число незбігів,  $a$  – число позитивних і  $d$  – число негативних збігів. В двох порівнюваних списках кількість видів складає  $a+b+c$ , загальна кількість видів –  $a+b+c+d$ .

Як було показано вище, такі індекси можна поділити на 2 групи – ті, що враховують і ті, що ігнорують негативні спів падіння, тобто параметр  $d$ . Найбільш поширені в гідробіологічних (та інших екологічних) дослідженнях індекси другої групи, наприклад *Індекс Чекановського-Серенсена* (запропонований вперше у 1909 р. Я. Чекановським у формі для кількісних даних (див. нижче) та модифікований Т. Серенсеном для якісних даних у 1948 р.):

$$I_{CS} = \frac{2a}{2a + b + c} \quad (3.16)$$

*Індекс Шимкевича-Сімпсона:*

$$I_{SS} = \frac{a}{a + c}; b \geq c, \quad \text{або} \quad \frac{a}{a + b}; c \geq b; \quad (3.17)$$

відомий також як «міра включення Сімпсона».

*Індекс Жакара:*

$$I_J = \frac{a}{a + b + c} \quad (3.18)$$

Серед індексів, що враховують негативні збіги, найбільше уваги заслуговують:

*Коефіцієнт простого збігу:*

$$I_{SM} = \frac{a + d}{a + b + c + d} \quad (3.19)$$

Індекс Бароні-Урбані і Бюсера:

$$I_{BB} = \frac{a + \sqrt{ad}}{a + b + c + \sqrt{ad}} \quad (3.20)$$

Індекси подібності за кількісними ознаками. Серед таких показників існує велика кількість коефіцієнтів та індексів, які зазвичай використовуються в статистиці та інших дослідженнях, не пов'язаних з біологією. Всі вони тією чи іншою мірою придатні для порівняння вибірок (проб), наприклад різноманітні коефіцієнти кореляції. З іншого боку, деякі показники, запропоновані для біометрії, знайшли своє місце серед інших наук, завдяки їх привабливим статистичним властивостям. Один з них, а саме *індекс Чекановського* у вихідній формі, запропонований для антропологічних досліджень у 1909 р. став одним з найпоширеніших інструментів в порівняльному аналізі. На його основі розроблено багато похідних індексів з тими чи іншими особливостями застосування. Найбільш проста в застосуванні наступна форма цього індексу:

$$I_{Cz} = \sum_{i=1}^S \min\{p_{ij}, p_{ik}\} \quad (3.21)$$

де  $p_{ij}$  і  $p_{ik}$  – відповідно долі видів  $i$  ( $p_{ij} = n_{ij}/N_j$   $p_{ik} = n_{ik}/N_k$ ) з кожного списку. При цьому  $S$  дорівнюватиме  $a$ , бо види, відсутні в тому чи іншому списку мають відповідно нульову долю.

### 3.4 Принципи аналізу і інтерпретації даних досліджень

Зазвичай кількість вибірок (проб), які треба порівняти, набагато більша ніж дві. Якщо ми маємо  $M$  порівнюваних вибірок, то кількість всіх можливих комбінацій попарного порівняння дорівнює  $M(M-1)/2$ . Наприклад, якщо потрібно порівняти 10 проб, кількість коефіцієнтів подібності складе 45. Це призводить до складностей в інтерпретації отриманих даних. Необхідно якось згрупувати вибірки для візуалізації загальної картини розподілу проб за визначеними ознаками. Першим етапом такого групування може служити побудова прямокутної матриці «*види – проби*» (табл. 3.1) Замість чисельності  $N$  в матриці можуть бути використані будь які міри численності, наприклад біомаса  $B$  тощо. Такий формат вихідних даних є стандартним для більшості прикладних комп'ютерних програм, як спеціалізованих екологічних, так і статистичних. Якщо якийсь вид відсутній в даній пробі, дані з його численності теж приводяться, але нульові. Для якісних даних замість

значень численності вписують, або «1», якщо вид присутній, або «0» в разі його відсутності.

Таблиця 3.3.1 Вигляд прямокутної матриці для організації даних досліджень

ВИД	ПРОБА $j$	ПРОБА $k$	ПРОБА $l$	ПРОБА $M$
Вид 1	$n_{1j}$	$n_{1k}$	$n_{1l}$	і т.д.
Вид 2	$n_{2j}$	$n_{2k}$	$n_{2l}$	і т.д.
Вид 3	$n_{3j}$	$n_{3k}$	$n_{3l}$	і т.д.
Вид 4	$n_{4j}$	$n_{4k}$	$n_{4l}$	і т.д.
Вид $i$	$n_{ij}$	$n_{ik}$	$n_{il}$	і т.д.
і т.д.	і т.д.	і т.д.	і т.д.	і т.д.
S	$N_j$	$N_k$	$N_l$	$N_M$

Після процедур попарного порівняння проб між собою, дані заносять в трикутну таблицю – матрицю подібності «проби – проби» ( $M \times M$ ), яка, відповідно містить  $M(M-1)/2$  індексів подібності (табл. 3.3.2). Звісно, що подібність між одними й тими самими пробами дорівнюватиме 1, тому діагональ з одиничними значеннями зазвичай опускають.

Табл. 3.3.2 Вигляд трикутної таблиці індексів подібності

	ПРОБА $j$	ПРОБА $k$	ПРОБА $l$	ПРОБА $M$
ПРОБА $j$	1			
ПРОБА $k$	$I_{j,k}$	1		
ПРОБА $l$	$I_{j,l}$	$I_{k,l}$	1	
ПРОБА $M$	$I_{jM}$	$I_{kM}$	$I_{lM}$	1

*Аналіз прямокутних матриць «види – проби».* Зрозуміло, що кожний стовпчик такої матриці може бути використаний для обчислення загальних параметрів –  $N$ ,  $B$  тощо, а також компонентів  $\alpha$ -різноманіття – індексів  $BP$ , побудування графіків  $PP$ , дані по кожній пробі за чисельністю й біомасі (з двох матриць, відповідно по  $N$  та  $B$ ) – для  $ABC$  методу і т. д. Отримані дані можуть бути включені в графічний аналіз шляхом побудування діаграм розподілу між пробами мір численності, показнику  $S$  та індексів  $BP$ . Одним з показників розподілу окремих видів у серії проб може служити частота трапляння виду – відношення кількості проб (у %), де вид присутній до загальної кількості проб. Також можна вчислити середню кількість видів у кожній пробі  $\bar{S}$ . Більш складним завданням є обчислення кумуляти, що відображає зростання кількості видів із зростанням кількості вибірок (проб). При цьому обчислюють середню кількість видів на одну

будь яку пробу, потім на дві, на три і т. д. Зазвичай таку процедуру здійснюють за допомогою ПК. Для матриць, де замість показників численності вказані присутність, або відсутність виду спочатку визначають показники  $a$ ,  $b$ ,  $c$  і  $d$ , які необхідні для обчислення якісних мір подібності. Поряд з кількісними даними проводять попарне порівняння вибірок, а отримані значення вносять до трикутної матриці.

*Аналіз матриць подібності «проби – проби».* Існує досить багато способів аналізу трикутних матриць. Деякі з них досить складні і реалізуються в спеціалізованому ПЗ (прикладні програми для роботи з екологічними даними). Всі методи можна умовно поділити на 3 групи: *впорядкування матриць, класифікація й ординація об'єктів* (вбірок, проб, списків видів, або виділених груп). Останні дві групи є найпопулярнішими інструментами аналізу структури угруповань, але потребують використання досить складного математичного апарату і в наш час здійснюються виключно з використанням комп'ютерної техніки. Впорядкування матриць, як метод візуалізації картини розподілу об'єктів, був запропонований ще у 1909 р. Я. Чекановським. Він полягає у групуванні в класи індексів подібності за їхніми значеннями, до того ж, кожному класу можна надати кодовий знак, зокрема за допомогою кольору чи штриховки, наприклад:

Значення індексів	0–0,1	0,1–0,2	0,3–0,4	0,5–0,6	0,7–0,8	0,9–1,0
Клас	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>

Після цього трикутну матрицю можна впорядкувати так (змінити положення порівнюваних пар), щоб пари були розташовані від найбільш подібної до менш подібної, тоді відповідні клітки (з найбільшими індексами) будуть розташовані якнайближче до головної діагоналі матриці. Наприклад, матриця до трансформації:

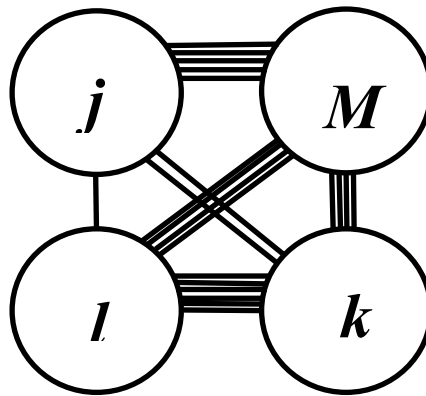
	ПРОБА $j$	ПРОБА $k$	ПРОБА $l$	ПРОБА $M$
ПРОБА $j$				
ПРОБА $k$	<b>II</b>			
ПРОБА $l$	<b>I</b>	<b>VI</b>		
ПРОБА $M$	<b>V</b>	<b>IV</b>	<b>III</b>	

і після впорядкування:

	ПРОБА $k$	ПРОБА $l$	ПРОБА $M$	ПРОБА $j$
ПРОБА $k$				
ПРОБА $l$	<b>VI</b>			
ПРОБА $M$	<b>IV</b>	<b>III</b>		
ПРОБА $j$	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>V</b>	

Такий процес трансформування також має назву *діагоналізація*. Завдяки цій процедурі можна візуально виділити наявність будь якого градієнту факторів, згідно якого проби будуть розташовані після впорядкування. Навпаки, якщо розташувати проби вздовж якогось відомого градієнту, можна зробити висновки щодо впливу цього градієнту на подібність між собою проб.

Інший спосіб впорядкування – т. з. «сітковий» аналіз, або аналіз методом сплетіння – іноді більш ефективний і наочний. При цьому будують так звані «*графи*» – діаграми, де об'єкти (проби) відображаються у вигляді крапок (кружків) – *вершин графу*, які об'єднуються лініями, або «*ребрами графу*». Ступінь відповідності між об'єктами відображається характером взаєморозташування, або довжиною чи типом об'єднуючих ліній, наприклад:



Окрім вищезгаданих, існує багато інших засобів наочного подання даних, в тому числі інші типи графів, заснованих на різних мірах подібності (графи включення, орієнтовані графи, графи похідних та інші).

Слід зауважити, що при оформленні результатів, зазвичай, допоміжні таблиці, такі як прямокутні чи трикутні матриці не наводяться. Формули та методи, що були використовані для аналізу і інтерпретації даних, з відповідними посиланнями входять до розділу «Матеріали і методи». Самі ж результати і інтерпретацію треба описувати у вигляді тексту. Цифровий матеріал подається у вигляді таблиць або діаграм та графіків.



## ЛІТЕРАТУРА

1. *Бранцевич Л.Г., Лысенко Л.Н., Овод В.В., Гурбик А.В.* Микробиология: практикум. – Киев: «Вища школа», 1987. – 200 с.
2. *Брянцева Ю.В., Курилов А.В.* Расчет объемов клеток микроводорослей и планктонных инфузорий Черного моря // Методическое руководство. – Севастополь, ИнБЮМ: Препринт. – 20 с.
3. *Бурковский И. В.* Структурно-функциональная организация и устойчивость морских донных сообществ. – М.: МГУ, 1992. – 208 с.
4. *Водоросли. Справочник /* Вассер С.П., Кондратьева Н.В., Масюк Г.М. и др. – Киев: «Наукова думка». – 608 с.
5. *Глаголев С.М., Харитонов Н.П., Чертопруд М.В., Ямпольский Л.Ю.* Летние школьные практики по пресноводной гидробиологии. Методическое пособие. – М.: Добросвет, МЦНМО, 1999. – 288 с.
6. *Джиллер П.* Структура сообществ и экологическая ниша. – М.: Мир, 1988. – 184с.
7. *Зайцев Ю.П.* Введение в экологию Чёрного моря. – Одесса: «Эвен», 2006. – 224 с.
8. *Килимник А.Н.* Методическое руководство для летних практик и лабораторных работ по гидроэкологии и гидробиологии [Текст]/ А.Н.Килимник . – Одесса: ОГЭУ, – 2006. – 240 с.
9. *Киселёв И.А.* Планктон морей и континентальньк водоемов. – Л.: Наука. – 1969. – 657с.
10. *Левич А. П.* Структура экологических сообществ. – М.: МГУ, 1980. – 181 с.
11. *Маккавеева Е.Б.* Беспозвоночные зарослей макрофитов Чёрного моря. – Киев: «Наукова думка». – 1979. – 228 с.
12. *Миничева Г.Г., Зотов А.Б., Косенко М.Н.* Методические рекомендации по определению морфофункциональных показателей одноклеточных и многоклеточных форм водной растительности // ГЭФ ПРООН. Проект по восстановлению экосистемы Чёрного моря. – Одесса, 2003. – 32 с.
13. *Одум Ю.* Экология. – М.: Мир, 1986. – 741 с.
14. *Песенко Ю. А.* Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. – М.: «Наука», 1982. – 288 с.
15. *Пианка Э.* Эволюционная экология. – М.: Мир, 1981. – 400 с.
16. *Роскин Г.И.* Микроскопическая техника. – М.: «Советская наука», 1946. – 328 с.
17. *Руководство по методам биологического анализа морской воды и донных отложений /*под ред. А. В. Цыбань. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1980. – 177 с.

18. *Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений* / под ред. В.А. Абакумова. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1983. – 240 с.
19. *Северо-западная часть Чёрного моря: биология и экология* / под ред. Зайцева Ю.П., Александрова Б.Г., Миничевой Г.Г. – Київ: «Наукова думка». – 703 с.
20. *Современные методы количественной оценки распределения морского планктона* / под ред. М.Е. Виноградова. – М.: «Наука», 1983. – 279 с.
21. *Яшинов В.А.* Практикум по гидробиологии. – М.: Высшая школа, 1969. – 428 с.
22. *Clarke K.R., Warwick R. M.* Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. – Natural Environment Council, UK, 1994. – 144 p.
23. *Foissner W., Berger H., Shaumburg J.* (1999) Identification and Ecology of Limnetic Plankton Ciliates. – Munich: Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, Heft 3/99: P. 9 – 26.
24. *Margalef R.* Information theory in biology // Trans. Soc. Gen. Syst. Res. – 1958. – Vol. 3. – P. 36 – 71.
25. *Meire, P. M., Dereu, J.* Use of the abundance / biomass comparison method for detecting environmental stress: some considerations based on intertidal macrozoobenthos and bird communities // J. Appl. Ecol. – 1990. – Vol. 27, № 1. – P. 210 – 223.
26. *Pielou E. C.* Ecological diversity. – N. Y.: Wiley, 1975. – 166 p.
27. *Shannon C. E., Weaver W.* The mathematical theory of communication. – Urbana: Univ. Illinois Press, 1949. – 117 p.
28. *Uhlig G.* (1964) Eine einfache Methode zur Extraktion der vagilen mesopsammalen Mikrofauna. – Helgoland. wiss. Meeresuntersuch., 11: P. 178 – 185.

#### Основні визначники та керівництва з визначення окремих груп гідробіонтів

1. *Жуков Б.Ф.* Атлас пресноводных гетеротрофных жгутиконосцев. – Рыбинск, 1993. – 160 с.
2. *Определитель фауны Черного и Азовского морей* / Под ред. Мордухай-Болтовского Ф.Д. – К.: Наукова думка. – Т.1. 1968, 436 с; Т.2. – 1969, 532 с; Т.3. – 1972, 336 с.
3. *Зинова А.Д.* Определитель зелёных бурых и красных водорослей южных морей СССР. – Л.: «Наука», 1967. – 397 с.
4. *Larink O., Westheide W.* Coastal plankton. Photo guide for the European seas. – Verlag Dr.Friedrich Pfiel. – Munchen, 2006. – 140 p.