

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХЕРСОНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет біології, географії і екології
Кафедра біології людини та імунології

МОНІТОРИНГ БЕЗПЕЧНОСТІ БУТИЛЬВАНОЇ ВОДИ
РІЗНИХ РАЙОНІВ М. ХЕРСОНУ ЗА ДОПОМОГОЮ
ФІТОТЕСТУВАННЯ

Кваліфікаційна робота (проект)

на здобуття ступеня вищої освіти “бакалавр”

Виконала: студентка 411 групи

Спеціальності 091.Біологія

Освітньо-професійної програми Біологія

Краснова Тетяна Дмитрівна

Керівник д.б.н., проф.Сидорович М.М

Рецензент доц. Кундельчук О.П.

Херсон 2020
ЗМІСТ

ВСТУП.....	3
РОЗДІЛ 1. Використання ряски малої для тестування чинників довкілля	6
1.1. Ряска мала – вища рослина	6
1.2. Використання ряски малої для тестування чинників довкілля.....	9
1.3. Показники культури ряски малої як індикатор впливу довкілля....	14
РОЗДІЛ 2. Визначення якості бутильованої води різних районів м. Херсона засобами культури ряски малої	17
2.1. Матеріали і методи дослідження.....	17
2.2. Динаміка біометричних показників культури ряски малої щодо дії води марки “Моршинська” з різних мікрорайонів м. Херсона.....	24
2.3. Зміни ростових показників культури ряски малої під впливом води марки “Бон - Буасон” з різних мікрорайонів м. Херсона.....	31
2.4. Зміни інтенсивності фотосинтезу в культурі за впливом двох марок бутильованої води.....	34
ВИСНОВКИ.....	38
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	39

Актуальність теми. Якість питної води – одна з актуальніших екологічних проблем сьогодення. Саме вона є однією з важливих складових екологічної безпеки України, адже забезпечення населення якісною питною водою є одним з найбільш важливих завдань збереження здоров'я людини (зادля забезпечення населення якісною питною водою створена Загальнодержавна програма «Питна вода України» на 2006-2020 роки). При розв'язанні цієї проблеми нарівні із зміною інфраструктури водопостачання, яка передбачає виникнення нових форм водозабезпечення, в т. ч. використання популярної на сьогодні бутильованої води, необхідним є постійний контроль якості питної води на всіх етапах водопідготовки та водопостачання. Особливістю сучасного етапу існування українського суспільства є збільшення споживання природних вод, розфасованих у різні ємності.

На сьогодні для контролю якості питної води різного походження використовують мікробіологічний аналіз та фізико-хімічні методи визначення органолептичних, токсикологічних, фізіологічних показників. При цьому основними критеріями є визначення концентрацій домішок згідно стандартів та повноцінність складу води за макро- та мікроелементами [20]. Сучасні Держстандарти щодо якості питної води [10] містять ще одну групу методів контролю. До них віднесено біотестування. Цей метод у поєднанні з мікробіологічним аналізом повинен стати першим етапом визначення якості питної води і провідним у визначенні можливих наслідків її впливу на живі організми. Проте на практиці біотестування для визначення безпечності питної води практично не використовують.

У ґрунтовних працях з якості бутильованої води, що визначали методом біотестування, є класифікація марок таких вод за вказаним показником [9]. Проте питання підробок бутильованих вод України все ще залишається відкритим. У існуючих дослідженнях щодо безпечності

фасованих вод [2; 3; 5] ряска мала відсутня як фітотест. Водночас вона - водна рослина, що є індикатором I типу щодо полютантних властивостей чинника і за дослідженнями групи М.М.Сидорович її можна використати для біотестування безпечності питної води [30; 31; 32]. Отже, **метою дослідження** стало визначення безпечності фасованої питної води, що продається в різних мікрорайонах м. Херсону засобами культури ряски малої *Lemna minor L.*

Об'єкт дослідження – безпечність питної води.

Предмет дослідження – безпечність бутильованої питної води.

Мета, об'єкт і предмет зумовили формування завдань дослідження:

1. Проаналізувати літературні першоджерела з проблеми визначення якості питної води засобами біотестування для з'ясування стану її розроблення стосовно використання культури ряски малої як індикатор вказаного показника; встановити сучасний стан розроблення питання підробок бутильованої води. Відібрати параметри-індикатори ряски малої, що можна використати для виміру якості бутильованої води.
2. Визначити безпечності бутильованої води марки марок “Моршинська” та “Бон - Буассон” різних мікрорайонів м. Херсона засобами культури ряски малої.
3. Відпрацювати цитологічні і біохімічні методики: виготовлення тимчасового препарату кінчиків корення *Allium cepa L.*, визначення значення біомаркера на тимчасовому препараті, колориметричне визначення білка за методикою Лоурі.

Апробація:

1. Всеукраїнської студентської науково-практичної конференції “STEM–освіта як напрям модернізації методик навчання природничо-математичних дисциплін у середніх і вищих навчальних закладах” (Херсон, 2018).

2. II Всеукраїнська науково-практична конференція «Екологічна безпека: сучасні проблеми та пропозиції» (ХАРКІВ, 2019).
3. Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 80-річчю від дня народження д.б.н., проф. Явоненка О.Ф. та 75-річчю від дня народження д.б.н., проф. Яковенка Б.В. (Тернопіль, 2019).

Публікація:

1. Краснова Т.Д. Визначення підробок бутильованої води засобами фітотесту «культура ряски мала» / Т.Д. Краснова, М.М. Сидорович // Пошук молодих. Випуск 18: Збірник матеріалів Всеукраїнської студентської науково-практичної конференції [“STEM–освіта як напрям модернізації методик навчання природничо-математичних дисциплін у середніх і вищих навчальних закладах”], (Херсон, 26-27 квітня 2018 р.) / Укладач: В.Д. Шарко. – Херсон: Видавництво ХНТУ. – 2018. – С. 101-103.
2. Краснова Т.Д. Визначення політантних властивостей бутильованої води «культура ряски мала»/ Т.Д. Краснова, М.М. Сидорович // Національно наукового круглого столу та II Всеукраїнська науково-практичної конференції «Екологічна безпека: сучасні проблеми та пропозиції» (ХАРКІВ, 26 квітня 2019 р.) / ГО «Регіонал. Центр наук.-техніч. розвитку»; [укладач: І.В.Бондаренко]. – Харків: Видавництво Іванченко І.С. – 2019. – С.286 – 290.
3. Краснова Т.Д. Чутливість різних фітотестів до якості бутильованої води як показник її безпечності / Т.Д.Краснова, М.М. Сидорович // Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2019. Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 80-річчю від дня народження д.б.н., проф. Явоненка О.Ф. та 75-річчю від дня народження д.б.н., проф. Яковенка Б.В. (4-5 листопада 2019 р.) / Тернопіль: Вектор. - 2019. – С. 280-2

РОЗДІЛ 1 ВИКОРИСТАННЯ РЯСКИ МАЛОЇ ДЛЯ ТЕСТУВАННЯ ЧИННИКІВ ДОВКІЛЛЯ

1.1. Ряска мала – вища рослина

Ряска мала (*Lemna minor* L.) — багаторічна трав'яниста рослина родини ряскових. “Веgetативне тіло ряски малої в вигляді оберненояйцевидної пластинки, верхня сторона якої слабовипуклоє або з видатним горбиком, а нижня - плоска, частіше з трьома, рідше з чотирма або п'ятьма жилками. Довжина пластинки 2-7 мм, ширина 2-4 мм” [43].

Окрема рослина - маленька пластинка з одним висячим униз корінцем. Часто такі пластинки з'єднані у вигадливі "колонії", і тоді картина виходить зовсім фантастична. І вся ця маса вільно плаває на поверхні води, покриваючи її суцільно, а іноді й у кілька шарів. Пластинка хоча і схожа на лист, але насправді це стебло, сплющений за формою листа. Тому ботаніки назвали його листецем. Форма його зворотньоаяцевидна, а від листочків зберігаються лише сліди, і то не завжди .

Верхня частина пластинки смарагдово-зелена, хоча іноді зустрічаються червоні листеці (завдяки присутності антоціану); нижня її частина жовтувато-зелена. Нижня поверхня пластинки здійснює абсорбцію (поглинання) мінеральних речовин, а корінь утримує пластинку на поверхні води. “Платівка розділена на дистальну, розсічений жилками, і проксимальну зони вузлом, від якого відходить тонкий, нерозгалужені, напівпрозорий корінь. На вузлі розташовуються 2 ниркових кишеньки, в яких формуються суцвіття. Цікавий і корінець як тяж, що спускається у воду, а потовщений кінчик - своєрідний грузик. Єдина задача корінця - утримувати на плаву листець і додавати йому стійкість. А роль кореня - усмоктувати з води поживні речовини -

виконує сам листець. Кінець кореня укладений в округлу кишеньку. Настільки ж дивні її квіти, що з'являються далеко не щороку” [37].

Квітка така мала, що без лупи її і не розглянеш. Квіти розвиваються в особливих сумочках і тільки під час цвітіння піднімаються над водою. В одній квітці - тичинка, в іншій - маточка, а разом вони утворюють суцвіття. Через 2-3 тижні після запліднення дозріває насіння, що незабаром опускається на дно. Квітки одностатеві, без оцвітини, складаються з одного маточкового і двох тичинкових квіток. Цвіте дуже рідко в травні - вересні. Плід - односім'яний розкритий горішок. Насіння білувате, з 10-16 помітними ребрами, після дозрівання залишається всередині плоду. Довжина насіння 0,7-1 мм, товщина - 0,4-0,6 мм.

Буває, що в одному скупченні зосереджені два-три покоління. Суцвіття складається з однієї маточкової і двох тичинкових квіток, які розвиваються в одній з кишеньок. Пагони цілокраї, зелені, плавають групами з 3-6 пагонів [40].

Ряска енергетично поглинає вуглекислоту, рясно виділяючи кисень і очищає воду від багатьох шкідливих речовин, зберігаючи життя тварин і рослин.

За своєю екологією ряска прихильна до стоячих евтрофних водойм зі слабколужною реакцією і багатими поживними речовинами. Тут і розмножується вона активніше, частіше і швидше виділяючи з материнських рослин дочірні; розмножується переважно вегетативно - відростками.

Поширена вона у всіх країнах з помірним кліматом. Ряску можна зустріти всюди: в калюжах, дрібних ставках, канавах та інших добре прогріваючих водоймах з прісною або повільно текучою, багатою органічними речовинами водою. Рослина не гине протягом 12, а іноді і 22 годин, перебуваючи на відкритому повітрі [38].

Ряску застосовують для очищення води, так як листець витягує з неї запасуючий азот, фосфор, калій, поглинає вуглекислий газ і збагачує воду киснем. На присутність забруднюючих речовин ряска реагує зміною кольору листця (щитка) і тому може використовуватися як індикаторний організм.

Ряска мала: корисні властивості. Ряска мала надає спазмолітичну, десенсибілізуючу, сечогінний, жарознижувальний, кровоспинний, в'язучий, противоглистне, загальнозміцнюючий, протигрипозне, протицинговий, жовчогінну, в'язучу та антимікробну дію. В цій якості діє водний настій лікарської рослини.

Народна медицина і ряска мала. Народна медицина ряску малу у вигляді водного відвару застосовує всередину при кропив'янці, різних алергічних захворюваннях, вітіліго і ангіоневрогічеських набряках, зовнішньо – при карбункулах, бешиховому запаленні, пухлинах, кон'юнктивітах і укусах змій [25].

Настій і водні відвари ряски використовують також при поліпах, бронхіальній астмі, бронхітах, фарингітах, ларингіті, ринітах. У вигляді припарок ряска використовується при подагрі, ревматизмі, ломота. Лікувальні припарки лікарської рослини ряски малої використовуються при геморої та кашлі, як пом'якшувальний засіб. Водний настій ряски малої використовують при диспепсії. Екстракти ряски малої борються з малярією. Настоянка ряски малої використовується у вигляді крапель при наполегливому хронічному нежиті, запаленні слизової оболонки верхніх дихальних шляхів, ревматизмі та жовтяниці, а також як жарознижувальний, противоглистне і жовчогінний засіб. Зовнішньо водним настоєм ряски малої змочують і обмивають виразки, рани і фурункули. Дерматологи застосовують лікарський препарат з ряски малої при екземі, кропивниці, набряку Квінке, бронхіальній астмі,

артритах, грипі, запаленні слизових оболонок дихальних шляхів, алергії [41].

Отже, ряска мала - вища рослина, яка широко розповсюджена у водоймах, добре пристосована до свого середовища існування і має корисні лікарські властивості.

1.2. Використання ряски малої для тестування чинників довкілля

В умовах інтенсивного забруднення необхідно контролювати стан середовища і виявляти фактори негативного впливу. Для цих цілей служить біологічний моніторинг навколишнього середовища. Він включає в себе низку методів такі, як біоіндикація і біотестування.

Біоіндикація – це оцінка стану середовища за допомогою живих об'єктів. Біоіндикація базується на спостереженні за складом та чисельністю видів-індикаторів.

Біотестування – це експериментальне визначення, оцінка дослідним шляхом впливу факторів чи групи шкідливих факторів на живі організми шляхом реєстрації змін того чи іншого біологічного показника, що спостерігається в піддослідному тест-об'єкті (індикаторі) у порівнянні з контрольним у чітко заданих умовах. Тест – об'єкт – це чутливий біологічний елемент, здатний реагувати на зовнішній вплив [29].

На сьогодні однією з провідних проблем середовища існування людини є якість питної води. Метод біотестування є ефективним та швидким способом проведення комплексного санітарно-токсикологічного оцінювання питної води [7;8]. Тому, певно, останній Держстандарт щодо вимог до водопостачання питної води [13] містить розділ, що присвячений біотестуванню її якості. У ньому до спектру біотестів віднесено гостру летальну токсичність на *Daphnia magna* Straus і *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg [14], хронічна токсичність хімічних речовин і води на *Daphnia magna* Straus і *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg

[15], хронічну токсичність на *Ceriodaphnia offinis*, токсичність на *Tetrahymena rugiformis*, цитотоксичність за лейцитарною формулою крові риби Даніо реріо (*Brachydanio rerio* Hamilton - Buchanan), генотоксичність на клітинах крові риби Даніо реріо (*Brachydanio rerio* Hamilton - Buchanan) [16].

Ряска мала широко використовується як тест- організм для оцінки забруднення вод важкими металами. До числа найбільш експресних методів оцінки фізіологічного стану рослин можна віднести інгібування фототаксису хлоропластів у листках, флуоресценцію хлорофілу, бі визначення кількості загиблих клітин за допомогою вітального забарвлення, фіксацію морфологічних відхилень [12].

Іони важких металів, такі як Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , необхідні для життєзабезпечення рослин та інших живих організмів, хоча у великих кількостях вони можуть викликати пригнічення росту і порушення метаболізму. Так, наприклад, надлишок міді може призвести до заміни іонів металу (магнію) в активних центрах ферментів, стати причиною хлорозу, некрозу й уповільнення росту [35].

За дії іонів міді та нікелю в концентраціях які дорівнюють середньому вмісту їх у природній воді, виживання рослин ряски зберігається на рівні контрольного. При цьому у рослин не спостерігається будь яких візуальних відхилень. Подальше збільшення концентрацій важких металів у воді призводило до припиненню росту та розмноженню рослин, зміни кольору листків, появи візуально фіксованих некротичних плям, розпаду щитків рослин на окремі лопаті, втрата тургору у рослин та до загибелі. Розпад щитків на окремі лопаті, як правило супроводжується зміною їх кольору та різко вираженим пригніченням росту рослин. На листках з'являються некротичні ділянки. Приріст дочірніх лопатей не спостерігається. Рослини, які зазнали розпаду не життєздатні [27].

При дослідженні впливу свинцю, питома швидкість росту ряски істотно підвищується (при конц. 0,01 мг/л) в порівнянні із контролем. Продуктивність ряски знижується, а при 10 мг/л ріст ряски зовсім припинився. Таким чином, проявляється ефект збільшення енергетичних затрат на обмінні процеси в токсичному середовищі, а обмеження величини доступної енергії посилює прояв токсичного ефекту. Це свідчить про збільшення енергетичних затрат організму в умовах інтоксикації середовищами іонами свинцю та про зрушення енергетичного балансу в сторону зростання інтенсивності дихання, що в цілому відповідає загальній тенденції до інтенсифікації деструктивних процесів в токсичному середовищі [44]. У праці А.Г.Ломагіна і Л.В.Ульянкової ряска мала представлена як новий тест на забруднення води [26].

Виявлено, що ряска мала здатна накопичувати важкі метали, причому вміст поллютантів у рослині залежить як від природи іонів, так і від їх концентрації в середовищі росту та від часу контакту рослини-токсикант. У таблиці 1.2 зображена реакція ряски малої (*Lemna minor L.*) на солі важких металів.

Для з'ясування питання щодо використання культури ряски малої як індикатора якості бутильованої води здійснили аналіз відповідної наукової літератури. Так в працях В.В.Гончарука, В.В.Архипчука застосовували комплексний аналіз різних питних фасованих вод. Проаналізувавши 30 найпоширеніших марок питної фасованої води, науковці розділили ці марки на три категорії і визначили, які з них відповідають стандартам гігієнічних норм. Так, марка «Моршинська» віднесена до вищої категорії, а «Бон-Буассон» - нищої категорії якості [9]. Проблеми визначення якості фасованих вод присвячена ціла низка робіт цих вчених [5;3;4]. Водночас ряска мала як тест- об'єкт у них не задіяна.

Таблиця 1.2

Реакція ряски малої на солі важких металів [34]

Метал і його концентрація	Показники по тестам			
	специфічне забарвлення листецю	роз'єднання листеців	коефіцієнт росту	Реакція
Еталон	інтенсивно зелена	Ні	1,55	Ні
Cu 0,1-0,25	Біла	Ні	Ні	Ні
0,025	Біла	100%	Ні	Ні
0,001-0,0001	втрата забарвлення від периферії до центру	100%	Ні	Ні
Fe 0,1-0,25	Біла	100%	Ні	коріння біле
0,025	--	--	--	--
0,001	світло-зелена	Ні	1,2	
0,0001	Біла	Ні	1,55	
Zn 0,1-0,25	обесцветились от периферии к центру	Ні	Ні	коріння біле
0,025	--	Ні	Ні	Ні
0,001	Зелена	Ні	1,2	Ні
0,0001	світло-зелена	Ні	1,1	Ні
Ba 0,1-0,25	від білої до темно-жовтої	100%	Ні	Ні
0,025	біла, але кінці листеця зелені	100%	Ні	Ні
0,001	біла, зелена тільки точка росту	70%	Ні	Ні
0,0001	Зелена	Ні	1,4	Ні
Co 0,1-0,025	біла, зелені тільки жилки	100%	Ні	Ні
0,001	світло-зелена	100%	Ні	Ні
0,0001	блідно-зелена, місцями біла	Ні	Ні	листеці підсохли
Mn 0,1-0,25	зелена, по краям пожовтіння	100%	Ні	корни отпали
0,025	зелена, трішки жовта	Ні	Ні	Ні
0,001	жовто-зелена	Ні	1,4	Ні
0,0001	світло-зелена	Ні	1,5	Ні

У ґрунтовній праці Г.С.Антонова і Т.А.Засядько метою роботи стало з'ясування виживання кісткових риб у фасованій воді.

Об'єктом дослідження стали акваріумні риби. Результати цього дослідження засвідчили, що причиною загибелі тварин були токсичні речовини, які перевищували допустимий рівень [1]. Якість бутильованої води як елемент моніторингу стану екологічної безпеки досліджувалась у праці О.О.Єфремова [19]. У науковій літературі є дослідження, що містять аналіз якості питної води різного походження в місті Херсоні [22; 33], де ряску малу не використовували як біотест.

У іншій низці праць з біотестування якості води з пунктів продажу *Lemna minor L.* була провідною модельною системою [23; 24; 30; 31; 32;]. Так в праці О.Л.Прокопець та інших [31] досліджено якість води з пунктів продажу. У ньому надійно доведена можливість її використання як тест-об'єкту для контролю якості питної води.

У декількох подальших роботах вказаних науковців щодо моніторингу токсичності міської питної води з нецентралізованого водопостачання засобами культури ряски малої [30;31;32] не тільки підтверджено таку можливість, а і розроблено експрес-методику для проведення вказаного. Моніторингове фітотестування питної води показало, що:

- всі фірми постачають неякісну питну воду для пунктів продажу в м.Херсоні;
- культуру ряску малу можна використовувати як тест-об'єкт для виміру рівня токсичності цієї води;
- є вода, яка має близькі властивості до поллютантів;
- найбільш чутливими показниками є ростові параметри;
- всі показники фітотесту можуть бути використанні для розроблення експрес-методики визначення токсичності нефасованої питної води.

Проведений аналіз літературних першоджерел засвідчив, що *Lemna minor L.* застосовують у якості тест-об'єкту для визначення рівня

токсичності і оцінки забруднення вод важкими металами, а також визначення якості води з пунктів продажу. Проте у працях з біотестування бутильованої води цей фітотест не використовувався.

1.3. Показники культури ряски малої як індикатор впливу довкілля

Як вже наголошено, ряскі вперше як фітотести стали використовувати для тестування забруднення води пестицидами. При цьому оцінювали динаміку певних показників: довжину та кількість коренів, площу лопаті. Водночас виміряли інші фізіологічні та біохімічні параметри [21].

Важливою перевагою ряски як тест-об'єкту є висока швидкість розмноження і простота морфологічної будови. Тому під час біоіндикації водного середовища додатково використовують інші показники : кількість і розміри лопатей, специфічний колір лопатей на кожен забрудник, вміст хлорофілу, кількість хлоропластів в епістрोфному стані після дії сильного освітлення [28].

Інший спектр показників ряски малої як індикатора довкілля наведено на сайті Ряскі. До їх складу входять окрім біометричних показників зміни забарвлення листецю: пожовтіння, побуріння, втрата інтенсивності забарвлення; кількість мертвих клітин, що визначаються методом вітального фарбування [42].

Використання таких якісних показників як специфічна забарвлення і специфічна реакція дає можливість оцінити специфічну індивідуальну реакцію біоіндикаторів на кожен окремий гербіцид [36]. Для показника специфічна забарвлення нами були виділені наступні ознаки: пожовтіння листеців (зміна зеленого забарвлення жовтої) зустрічається як реакція практично на всі гербіциди; побуріння листеців (зміна зеленого забарвлення на буру) (рис. 1 - 6). спостерігається у всіх видів-тестерів як реакція на гербіцид раундап; збереження незмінною забарвлення тест-об'єкта при всіх концентраціях гербіциду бурифена.

Реакція на пестициди

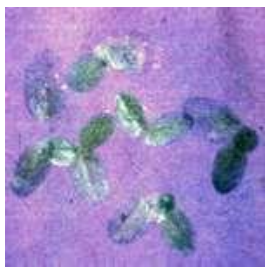


Рис. 1.1. Lemna minor. Нурел - 0,04 мг / л (реакція на 2 добу). Листеці зібрані в групи, світло-зелені. 40% відмирають.



Рис.1.2. Lemna minor. Децис - 0,01мг / л (реакція на 2 добу).

Листеці світло-зелені. 30% відмирають.



Рис. 1.3. Lemna minor. Суми - L. - 0,03 мг / л (реакція на 2 добу). Листеці світло-зелені. 40-50% відмирають. Втрата забарвлення йде від периферії до центру.



Рис. 1.4. Lemna minor. Антіо - 0,005 мг / л (реакція на 2 добу). Проникнення препарату йде по апопласту, викликає посветление всього листеця. 50% Листеці зелені, 50% втратили забарвлення.



Рис. 1.5. Lemna minor. Дерозал - 0,12 мг / л (реакція на 2 добу). Листеці зелені, зібрані в групи. Просвітлення тканин йде уздовж судинних пучків, Листець стає "перфорованим".



Рис. 1.6. Lemna minor. Омайт - 0,1 мг/ л (реакція на 2 добу). Листеці мляві, відмирає 40%.

Таблиця 1.3

Опис різновидів вітального забарвлення листеців для визначення мертвих клітин на прикладі ряски малої

№ різновиду	Опис забарвлення
1	«сітчасте» забарвлення, яке пов'язане з проникненням барвника по апопластичним сітям
2	«сітчасте» забарвлення, яке сполучається з ушкодженням краю листеця, а також з частковим пошкодженням молодого листеця
3	сполучення «сітчастого» забарвлення з локальним проникненням барвника
Незабарвлені листеці	листеці природного зеленого кольору, забарвлення відсутнє

Наукова література містить детальний опис різновидів забарвлення листеців ряски малої за дії питної води з пунктів продажу [30]. У таблиці 1.3 наведений їх опис.

Отже, аналіз літературних першоджерел засвідчив, що для тестування впливу чинника довкілля засобами ряски малої використовують низку показників, що відображають зміни ростових процесів в різних органах рослин і рівня фотосинтезу. Для визначення підрбок бутильованої води можна використати кількісні параметри ряски малої: біометричні показники і концентрацію хлорофілу. Додатковими індикаторами впливу бутильованої води на культуру ряски малої можуть бути її якісні показники: різновиди забарвлення листеців для визначення мертвих клітин.

РОЗДІЛ 2

ВИЗНАЧЕННЯ ЯКОСТІ БУТИЛЬОВАНОЇ ВОДИ РІЗНИХ РАЙОНІВ М. ХЕРСОНА ЗАСОБАМИ КУЛЬТУРИ РЯСКИ МАЛОЇ

2.1. Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження була культура ряски малої *Lemna minor L.*, що підтримували в лабораторних умовах на акваріумній воді. Таку культуру вважали маточною. Ще одним об'єктом дослідження був *Allium test*.

Постановка експерименту культурою ряски малої. Підготували шість варіантів чашок Петрі: з локальної свердловини (еталон) та з бутильованою питною водою марки «Моршинська» (табл. 2.1.) і марки «Бон-Буассон» (табл.2.1) з різних мікрорайонів м. Херсона.

Таблиця 2.1

Вихідні дані варіанти фасованої води марок «Моршинська» та «Бон - Буассон» з різних мікрорайонів м. Херсону

Варіант води, мікрорайон м. Херсона	Адрес магазину
Еталон, водопровідна вода	Локальна свердловина, вул. Чорноморська, 22
М1 «Моршинська» Центральний р-н	вул.Дружби, 10 магазин «Попелюшка»
М2 «Моршинська» Шуменський р-н	вул. Ілліча, 7 магазин «Гурман»
М3 «Моршинська» ХБК	вул. Миру, 17 магазин «АТБ»
М4 «Моршинська» Таврійський р-н	вул. Гвардійської Дивізії, 10А магазин «АТБ»
М5 «Моршинська» Острів	вул.Патона, 17 магазин «Продуктовий»
Б1 «Бон Буассон» Центральний р-н	вул.Дружби, 10 магазин «Попелюшка»
Б2 «Бон Буассон» Шуменський р-н	вул. Ілліча, 7 магазин «Гурман»
Б3 «Бон Буассон» ХБК	вул. Миру, 17 магазин «АТБ»
Б4 «Бон Буассон» Таврійський р-н	вул. Гвардійської Дивізії, 10А магазин «АТБ»
Б5 «Бон Буассон» Острів	вул.Патона, 17 магазин «Продуктовий»

Кожен варіант води містив по п'ять чашок Петрі. В них з маточної культури відраховували по 50 листеців *L. minor* для кожної чашки і підраховували кількість рослин. Далі на 15 діб чашки поставили до приладу «ФЛОРА» для щодобового освітлення 6-8 годин. На 15 добу визначали кількість листеців ($N_{л}$), кількість рослин ($N_{р}$), виміряли максимальну довжину кореня ($L_{к}$, $V_{\text{вибірки}} = 70$), кількість коренів ($N_{л}$). Визначили кількість хлорозів в кожній чашці.

Постановка експерименту з модельною системою «проростки Allium test». Відраховували по 100 насінин цибулі для кожної чашки Петрі, які далі зав'язали в марлевий мішечок і замочили в різних варіантах бутильованої води (табл.2.1) на одну добу. Після цього кожен порцію розклали на зволожувальному фільтрувальному папері в чашки Петрі. На 5 – у добу пророщення у 2 чашках Петрі кожного варіанту визначали такі біометричні показники: енергію пророщення насіння (ЕП), довжину проростка (L), довжину кореня ($L_{к}$) і показник відношення довжини стебла до довжини кореня ($L_{ст}/L_{к}$).

*Насіння ячменю звичайного *Hordeum vulgare L.*, що пророщене на плаваючих дисках.* Відраховували по 10 насінин ячменю звичайного для кожного стаканчика, які зав'язали в марлевий мішечок і замочили в бутильованій воді з різних мікрорайонів м. Херсона на одну добу. Після цього кожен порцію насінин розклали на плаваючий диск, щоб кожна насінина лежала окремо. Кожний варіант експерименту пророщували в 6-ти кратній повторюваності, впродовж 5-ти діб, при 6-8 год. освітленні. Експеримент закривали на 6-ту добу пророщення. В кожному варіанті визначали біометричні показники: довжину стебла ($L_{ст}$), довжину кореня ($L_{кор}$), кількість стебла ($N_{ст}$), кількість коренів ($N_{кор}$), масу стебла ($m_{ст}$), масу кореня ($m_{кор}$), а також концентрацію хлорофілу.

Методика відбору матеріалу для цитологічних досліджень

Для проведення цитологічних досліджень від проростків, що були найчисельнішими, відрізали корені, довжиною приблизно 10 мм. Після цього занурювали їх у розчин фіксатора (оцтовий алкоголь: 3 частини 96% спирту + 1 частина льодової оцтової кислоти) на 1 добу. Далі фіксовані кінчики коренів переносили до 70° спирту для зберігання в холодильнику. Безпосередньо перед проведенням досліджень кінчики клали до розчину ацетоорсеїну (барвник) не менш, ніж на 24 години.

Методика обчислення індексу токсичності культури ряски малої за біометричними даними [9]

Визначення фітотоксичної дії препарату проводилось шляхом зіставлення показників тест-функції (Lcp.) в контрольних і досліджуваних групах:

$$T = ((L_k - L_{дос.}) / L_k) * 100\%, \text{ де}$$

T – індекс токсичності;

L_{дос.} – середнє значення кількісного показника в досліджуваній групі;

L_{к.} – середня значення кількісного показника в контролі.

Токсична дія спостерігається якщо $T > 20\%$.

Методика визначення частки листеців з хлорозами:

Визначення частки листеців з хлорозами обчислили за формулою:

$$(N/n) * 100\%, \text{ де}$$

N - загальна кількість хлорозів у варіанті води;

n – кількість чашок Петрі на варіант.

За одержаними даними склали таблицю динаміки хлорозів в культурі ряски малої на 15 добу культивування.

*Методика колориметрування хлорофілу *Letna minor* L. [6]*

Перш ніж приступити до виконання даного дослідження треба створити умови, яких необхідно дотримуватися при проведенні

визначення концентрації хлорофілу в рослинних об'єктах, пророщених на питній воді різного походження. Під час відпрацювання даної методики були запропоновані наступні пропозиції, щодо її проведення:

- *рослинний матеріал повинен бути однакової маси для всіх варіантів дослідження;*
- *на кожен варіант дослідження потрібно зробити не менше трьох досліджень для достовірного визначення результатів;*
- *електролампа колориметра повинна бути нагрітою, що займає не менше 30 хв після включення апарату;*
- *до початку експерименту необхідно відкалібрувати прилад (обнулити відносно контрольного розчину).*

Перед проведенням визначення необхідно приготувати стандартний розчин Гентрі, який відповідає вмісту 85 мг омиленого хлорофілу в 1 л та нагріти лампу колориметра.

1. Особини *Letna minor L.* пророщували за стандартною методикою. Концентрацію хлорофілу визначали для ряски на п'ятнадцяту добу пророщення. Для кожного варіанту ставили на пророщування по 5 чашок Петрі

2. Ряску поміщали на фільтрувальний папір до максимального підсушування рослин кожного варіанту.

3. Кожну пробу на фільтрувальному папері зважували на електровагах.

4. Урегульовували для всіх варіантів спільну вагу.

5. Листеці кожного варіанту почергово ретельно розтирали в ступці із невеликою кількістю спирту (2-3мл), який додавали поступово у ході розтирання.

6. Отриманий зелений розчин обережно через фільтр, який був вкладений до воронки, переливали зі ступки до конічної колби (носик ступки перед процедурою обмазати вазеліном).

7. Розчин екстрагували до повного вивільнення пігментів.
8. До витяжки в колбі доливали спирт до мітки (до 25 мл).
9. Обережно перемішували вміст колби, закривши пальцем її отвір, що змочений у спирті.
10. Вміст кожної колби по чергово вливали у стаканчик колориметра до мітки.
11. Поміщали стаканчик до ФЕКу та здійснювали виміри (методику таких вимірів див. Техніка роботи на ФЕКу). Для кожного варіанту досліджу виміри на приборі робили 3 рази.
12. Результати вимірів занотовували та обчислювали за формулою:
13. Для кожного розчину обчислювали середнє арифметичне із всіх розрахунків(C , C_1).
14. Концентрація розчину хлорофілу знаходиться за формулою:

$$C = \frac{C_1 E_1}{E}$$

де C_1 -концентрація стандартного розчину;

E -показник прибору для досліджуваного розчину;

E_1 - показник прибору для стандартного розчину.

Кількісне визначення білка за методикою Лоурі [45]

Перш ніж приступити до виконання даного дослідження треба створити умови, яких необхідно дотримуватися при проведенні визначення концентрації білку в рослинних об'єктах, пророщених на питній воді різного походження:

1. Насіння ячміню пророщували за стандартною методикою. Для кожного варіанту ставили 6 стаканчиків для пророщування.
2. Для колориметрування білку брали корінці ячменю.
3. Кожну пробу поміщали на фільтрувальний папір до максимального підсушування корінців кожного варіанту, а потім зважували на електровагах.

4. Корінці кожного варіанту почергово ретельно розтирали в ступці із невеликою кількістю спирту (2-3 мл), який додавали поступово у ході розтирання.
5. Отриманий розчин потрібно профільтрувати через фільтр, який був вкладений до воронки. Переливали розчин зі ступки до конічної колби.
6. До витяжки в колбу доливали спирту до мітки (25мл).
7. Обережно перемішували вміст колби, закривши пальцем її отвір.
8. Вміст концентрації білку для кожного варіанту визначали за методикою Лоурі.

Перед проведенням необхідно приготувати розчин. Для цього змішують 49 см³ розчину А з 1см³ розчину В. Початковий розчин білку потрібно розвести в 5 (1мл розчину + 4 мл дистильованої води) або 10 (1 мл розчину + 4 мл дистильованої води) разів. До 1 см³ досліджуваного білкового розчину додають 4 см³ суміші розчинів А і В. Перемішують і залишають на 10 хв. при кімнатній температурі. Потім додають з піпетки 0,4 см³ реактиву Фоліна, перемішують і залишають на 30-90 хв. для розвитку забарвлення. Колориметрування проводять проти дистильованої води. Колориметрують через 1-1,5 год після забарвлення (воно розвивається).

*Методика виготовлення тимчасових давлених препаратів кінчиків
коренів *Allium cepa* L. [29a]*

Для одержання давлених препаратів зафарбований фрагмент кореня дістали з фарбника і під мікроскопом знайшли на ньому кінчик. Далі на предметному склі лезом відрізали кінчик кореня довжиною 1-2 мм і крапали на нього декілька крапель молочної кислоти. Через декілька хвилин накривали відрізаний кінчик покривним скельцем і негострим

кінцем олівця роздавлювали. Контроль виготовлення препарату здійснили під великим збільшенням мікроскопу.

Методика визначення ядер з різною кількістю ядерць (ядерцевого біомеркера) на тимчасовому препараті

Виготовлений препарат кінчика кореня цибулі сканували з метою урахування окремо ядер з 1-м, 2-а, 3-а і 4-а ядерцями. Попередні дослідження довели, що для кожного варіанту необхідно продивитися 3000 клітин з ядрами, які містять 3 давлені препарати. Одержані кількісні дані для кожного препарату заносили до таблиці.

Статистична обробка кількісних даних

Кількісні дані одержані на репрезентативних об'ємах вибірок з $p=0,07$. Статистична обробка здійсненна з використанням ресурсу Excel.

1. Середнє значення кількісних параметрів обчислили за загальною формулою $\bar{x} \pm t_{st} * S_{\bar{x}}$, де

- а) \bar{x} - середнє значення;
- б) t_{st} - значення t- критерію Ст'юдента;
- в) $S_{\bar{x}}$ - середнє квадратичне відхилення, яке розраховується за формулою

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum \Delta x_c^2}{n(n-1)}}$$

1. Визначення достовірності відмінностей між двома вибірками за середніми значеннями робили за формулою:

$$t_{екс} = \frac{|\bar{x}_{сп1} - \bar{x}_{сп2}| \sqrt{\bar{x}_{сп1} - \bar{x}_{сп2}}}{\sqrt{Sx_1^2 + Sx_2^2} \sqrt{Sx_1^2 + Sx_2^2}}$$

$t_{екс} \geq t_{st}$ $t_{експ} \geq tst$ – відмінності достовірні між 2 вибірками

$t_{екс} < t_{st}$ $t_{експ} \geq tst$ – відмінності не достовірні,

$t_{st} t_{експ} \geq tst$ – = 1,98 при $n > 61$; $t_{експ} \geq tst$ –

$$t_{st} = 1,96 \text{ при } n > 121;$$

$$t_{st} = 2,31 \text{ при } n=8 \text{ з } p=0,07.$$

2. Для статистичної обробки кількісних даних використаний ресурс Excel.

2.2. Динаміка біометричних показників культури ряски малої щодо дії води марки “Моршинська” з різних мікрорайонів м. Херсона

Для виміру змін біометричних показників фітотесту щодо дії вказаної марки здійснили 2 моніторинги у 2017 і 2018 роках.

Моніторинг I

Зміни біометричних показників культури ряски малої за дії бутильованої води марки “Моршинська” у моніторингу I містять таблиці 2.4 – 2.8. У таблиці 2.4 наведені результати динаміки листеців за експериментальних умов. Як свідчить ця таблиця культивування ряски малої у всіх варіантах води кількість листеців достовірно не збільшується.

Таблиця 2.4

Динаміки листеців ряски малої, що культивована на бутильованій питній воді марки “Моршинська” з різних мікрорайонів м.Херсона

Доба \ Варіант	0	15
Еталон	50±0	87±18
M1	50±0	88±5
M2	50±0	81±6
M3	50±0	80±6
M4	50±0	79±12
M5	50±0	76±8

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

У таблиці 2.5 наведені результати динаміки росту особин ряски малої за експериментальних умов. Як свідчить статистична обробка одержаних результатів, не один з варіантів води марки “Моршинська” не сприяє зміні кількості рослин.

У таблиці 2.6 наведені результати динаміка довжини кореня і значення фітотоксичного ефекту варіантів М1-М5. Виходячи з даних цієї таблиці стає ясно, що відбувається суттєве зменшення довжин коренів у всіх досліджуваних варіантах. Більш того, всі вони містять токсичну воду: варіанти М1, М2, М4 і М5 – слаботоксичну, М3 – середньої токсичності.

Таблиця 2.5

**Динаміка росту особин ряски малої, що культивована на
бутильованій питній воді марки “Моршинська” з різних
мікрорайонів м. Херсона**

Доба Варіант	0	15
Еталон	24±3	26±7
М1	25±3	27±4
М2	23±3	25±3
М3	22±2	26±2
М4	24±1	24±3
М5	23±4	23±3

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

Таблиця 2.7 відображає результати динаміки кількості коренів, що культивована на бутильованій воді марки “Моршинська”. Наведені в ній дані свідчать, що кількість коренів достовірно зменшилася лише у варіанті М2.

Таблиця 2.6

**Динаміка довжини кореня ряски малої, що культивована на
бутильованій воді марки “Моршинська” з різних мікрорайонів
м.Херсона**

Варіанти Показники	Еталон	М1	М2	М3	М4	М5
Середня довжина кореня	0,4±0,04	0,3±0,04*	0,3±0,02*	0,2±0,04*	0,3±0,02*	0,3±0,04*
Індекс токсичності (Т)		25% +	25% +	50% +	25% +	25% +

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

*Примітка: нетоксична - $T < 20\%$; слаботоксична – $T = 21-40\%$;
середньотоксична – $T = 41-60\%$; вище 60% - сильнотоксична вода [46].*

Таблиця 2.7

**Динаміка кількості коренів ряски малої, що культивована на
бутильованій воді з нецентралізованого водопостачання марки
“Моршинська” з різних мікрорайонів м. Херсона**

Варіанти № монітор	Еталон	М1	М2	М3	М4	М5
I	1,6±0,1	1,6±0,1	1,4±0,1*	1,7±0,1	1,5±0,1	1,6±0,1

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

Таблиця 2.8

Динаміка кількості хлороз ряски малої протестованої на різній питній воді марки “Моршинська” з різних мікрорайонів м.Херсона

Варіант \ Доба	Кількість хлорозів на 1 чашку	
	0	15
Еталон	0	0,6
М1	0	0
М2	0	0,4
М3	0	0,8
М4	0	1,2
М5	0	0,6

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

У таблиці 2.8 наведені результати динаміка кількості хлорозів на чашку Петрі за дії варіанті М1-М5. Як свідчить ця таблиця, можна припустити, що вода марки “Моршинська” може сприяти збільшенню кількості хлорозів в *Lemma minor L.* проте таке припущення потребує подальшої перевірки.

Отже, моніторинг I якості бутильованої води марки «Моршинська» з різних мікрорайонів м. Херсону за біометричними показниками культури ряски малої довів, що:

- більшість біометричних показників не зазнали змін;
- виключення складає лише довжина кореню; її зменшення продемонстрували наявність токсичності у всіх варіантах води від слаботоксичної до токсичності середнього рівня.

Моніторинг II

Зміни біометричних показників культури ряски малої за дії бутильованої води марки “Моршинська” у моніторингу II містять таблиці 2.9 – 2.13.

У таблиці 2.9 наведені результати динаміки листеців за експериментальних умов. За даними цієї таблиці лише варіант М5 сприяє збільшенню кількості листеців.

Таблиця 2.9

Динаміки листеців ряски малої, що культивована на бутильованій питній воді марки “Моршинська” різних постачальників м.Херсона

Доба \ Варіант	0	15
Еталон	50±0	76±4
М1	50±0	78±8
М2	50±0	84±10
М3	50±0	88±8
М4	50±0	81±11
М5	50±0	91±6*

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

У таблиці 2.10 наведені результати динаміки росту особин ряски малої в умовах дії варіантів М1-М5. З 5-ти експериментальних аріантів тільки 2 (М3 і М5) сприяли збільшенню кількості рослин порівняно з еталоном.

Таблиця 2.10

Динаміка росту особин ряски малої, що культивована на бутильованій питній воді марки “Моршинська” різних постачальників м.Херсона

Доба \ Варіант	0	15
Еталон	16±1	21±1
М1	18±2	21±2
М2	18±1	21±2
М3	16±2	24±2*
М4	17±1	24±2*
М5	19±2	26±3*

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

Таблиця 2.11

**Динаміка довжини кореня ряски малої, що культивована на
бутильованій питній воді марки “Моршинська” різних
постачальників м.Херсона**

Варіанти Показники	Еталон	М1	М2	М3	М4	М5
Середня довжина кореня	0,53±0,02	0,51±0,03	0,51±0,02	0,61±0,03*	0,52±0,02	0,55±0,06*
Індекс токсичності (Т)		0%	0%	15% +	0%	0%

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

Примітка: нетоксична - $T \leq 20\%$; слаботоксична - $T=21-40\%$; середньотоксична - $T=41-60\%$; вище 60% - сильнотоксична вода [46].

Таблиця 2.11 містить результати динаміка довжини кореня і розрахованого за нею значень фітотоксичного ефекту за експериментальних умов. За даними таблиці лише варіанти М3 і М5 збільшують довжину коренів. Всі варіанти води є нетоксичними.

Таблиця 2.12

**Динаміка кількості коренів ряски малої на чашку Петрі, що
культивована на питній воді, що культивована на бутильованій
питній воді марки “Моршинська” різних постачальників м.Херсона**

Варіанти № монітор.	Еталон	М1	М2	М3	М4	М5
II	2,7±0,1	2,4±0,2*	2,7±0,2	2,7±0,2	2,7±0,2	2,2±0,2*

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

Таблиця 2.13

**Динаміка кількості хлороз ряски малої , що культивована на
бутильованій питній воді марки “Моршинська” різних
постачальників м.Херсона**

Варіант \ Доба	Кількість хлорозів на 1 чашку	
	0	15
Еталон	0	14,6
М1	0	14,8
М2	0	15
М3	0	14,4
М4	0	18,4
М5	0	19

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

У таблиці 2.12 наведені результати динаміки кількості коренів ряски малої в умовах дії варіантів М1-М5. Дані цієї таблиці засвідчили суттєве зменшення кількості коренів лише у варіантах М1 і М5.

Таблиця 2.13 містить результати динаміка кількості хлорозів на чашку Петрі за експериментальних умов. Дані цієї таблиці показали, що наявно лише 2 варіанти води (М4 і М5) суттєво збільшували хлорози.

Отже, моніторинг II якості бутильованої води марки «Моршинська» різних мікрорайонів м. Херсону за біометричними показниками культури ряски малої довів:

- біометричні показники щодо різних варіантів продемонстрували неоднакові зміни;
- 2 із 5 варіантів сприяли достовірній зміні різних параметрів дії фітотесту.

Таким чинном, у всіх мікрорайонах м. Херсону продають підробки води марки “Моршинська”, що є безпечною бутильованою водою за літературними даними [3; 4; 5;].

2.3 Зміни ростових показників культури ряски малої під впливом води марки “Бон - Буасон” з різних мікрорайонів м. Херсона

Зміни біометричних показників культури ряски малої за дії бутильованої води марки “Бон - Буасон” у моніторингу I містять таблиці 2.14 – 2.18.

Таблиця 2.14

Динаміки листеців ряски малої, що культивована на воді марки “Бон-Буасон” з різних мікрорайонів м. Херсона

Доба \ Варіант	0	15
Еталон	50±0	79±5
Б1	50±0	89±5*
Б2	50±0	88±5*
Б3	50±0	81±4
Б4	50±0	87±6
Б5	50±0	96±6*

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

У таблиці 2.14 наведені результати динаміки листеців за експериментальних умов. Виходячи з даних таблиці, вода досліджуваної марки може збільшувати кількість листеців: 3 із 5 варіантів достовірно відрізняється від еталону.

У таблиці 2.15 наведені результати динаміки кількості рослин ряски малої в умовах дії варіантів Б1-Б5. Дані цієї таблиці свідчить про суттєве збільшення кількості рослин ряски малої лише у 3 варіантах води (Б1, Б2 і Б5).

У таблиці 2.16 наведені результати динаміка довжини кореня і фітотоксичний ефект за експериментальних умов. Наведені нижче дані таблиці свідчать про збільшення довжини коренів. Виключення складає варіант Б1.

Таблиця 2.15

Динаміка кількості рослин ряски малої, що культивована на воді марки “Бон-Буассон” з різних мікрорайонів м. Херсона

Доба \ Варіант	0	15
Еталон	23±4	28±3
Б1	23±2	27±1
Б2	23±3	28±5
Б3	21±1	27±1
Б4	24±3	26±1
Б5	23±3	29±4

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

Таблиця 2.16

Динаміка довжини кореня ряски малої, що культивована на питній воді марки “Бон-Буассон” з різних мікрорайонів м.Херсона

Варіанти Показники	Еталон	Б1	Б2	Б3	Б4	Б5
Середня довжина кореня	0,5±0,03	0,5±0,07	0,4±0,07*	0,6±0,05*	0,6±0,07*	0,4±0,07*
Індекс токсичності (Т)		0%	20% +	0%	0%	20% +

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

Примітка: нетоксична - $T \leq 20\%$; слаботоксична – $T=21-40\%$; середньотоксична – $T=41-60\%$; вище 60% - сильнотоксична вода [46].

Таблиця 2.17 містить результати динаміки кількості коренів, що культивована на бутильованій воді за експериментальних умов. Дані цієї таблиці свідчить, що лише 1 варіант (Б3) сприяв зменшенню кількості коренів.

У таблиці 2.18 наведені результати динаміка кількості хлорозів на чашку Петрі за експериментальних умов. Одержані дані не можна

однозначно трактувати для відповіді на питання стосовно дії варіантів Б1-Б5 на фотосинтез.

Таблиця 2.17

**Динаміка кількості коренів ряски малої, що культивована на
бутильованій воді марки “Бон-Буассон” з різних мікрорайонів м.
Херсона**

Варіанти № монітор.	Еталон	Б1	Б2	Б3	Б4	Б5
I	2,2±0,2	2,1±0,2	2,3±0,2	1,9±0,1*	2,2±0,1	2,3±0,1

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

Таблиця 2.18

**Динаміка кількості хлороз ряски малої протестованої на різній
питній воді марки “Бон-Буассон” з різних мікрорайонів м.Херсона**

Варіант \ Доба	Кількість хлорозів на 1 чашку	
	0	15
Еталон	0	3
Б1	0	1,6
Б2	0	2
Б3	0	3,4
Б4	0	2,2
Б5	0	2,2

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

Таким чином, бутильована вода марки “Бон - Буассон”, що продають у різних районах м. Херсону є нетоксичною, але відрізняється за якістю. Не один з варіантів не відповідає якісній воді.

2.4. Зміни інтенсивності фотосинтезу в листецях ряски малої, що культивована на воді марки “Бон-Буассон” з різних мікрорайонів м.Херсона

Для уточнення відповіді на питання про вплив бутильованої води на процес фотосинтезу: аналіз динаміки кількості хлорофілів не сприяв однозначному його розв'язанню, застосували метод фотоколориметрування.

Таблиця 2.19

Динаміка показників концентрації хлорофілу культури *Letna minor* L. в умовах дії води марки “Бон-Буассон” з різних мікрорайонів м.Херсона

		Повторюваність			Середнє значення
Еталон	Густина експер.р-ну	0,60	0,70	0,75	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	102,00	119,00	132,8	117,9±24,7
Б1	Густина експер.р-ну	0,70	0,75	0,72	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	119,00	127,5	127,5	124,6±7,8
Б2	Густина експер.р-ну	0,60	0,63	0,67	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	102,00	107,1	118,6	109,2±13,6
Б3	Густина експер.р-ну	0,72	0,72	0,70	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	122,4	122,4	123,9	122,9±1,4
Б4	Густина експер.р-ну	0,60	0,70	0,65	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	102,00	119,00	115,1	112,00±14,3
Б5	Густина експер.р-ну	0,70	0,65	0,70	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	119,00	110,5	123,9	117,8±10,8

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

У таблиці 2.19 наведені узагальнені дані динаміки показників густини і концентрації хлорофілу ряски малої, що культивована на воді марки “Бон - Буассон”. Як свідчать дані цієї таблиці, всі варіанти води не відрізняються достовірності від еталону. Вказане свідчить про відсутність цитотоксичного ефекту у всіх варіантів цієї марки, що продається в різних мікрорайонах м. Херсону.

Таблиця 2.20

Динаміка показників концентрації хлорофілу культури *Letna minor* l. В умовах дії води марки “Моршинська” з різних мікрорайонів м.Херсона

		Повторюваність			Середнє значення
Еталон	Густина експер.р-ну	0,30	0,29	0,31	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	32,27	31,78	32,13	32,06±0,4
М1	Густина експер.р-ну	0,27	0,29	0,28	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	29,05	31,78	29,02	29,95±2,5
М2	Густина експер.р-ну	0,27	0,29	0,28	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	29,05	31,78	29,02	29,95±2,5
М3	Густина експер.р-ну	0,29	0,30	0,28	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	31,20	32,69	29,02	30,97±2,9
М4	Густина експер.р-ну	0,28	0,29	0,29	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	30,13	31,78	30,06	30,65±1,6
М5	Густина експер.р-ну	0,30	0,29	0,29	
	Конц. хлорофілу (мл/л)	32,27	31,78	30,06	31,37±1,9

*достовірно відрізняється від еталону при $p=0,05$

У таблиці 2.20 наведені узагальнені дані динаміки показників густини і концентрації хлорофілу ряски малої, що культивована на воді марки “Моршинська”. Як свідчать дані цієї таблиці, варіанти води цієї марки також не впливали на процес фотосинтезу в культурі ряски малої. Отже, як і попередня марка не здійснювали цитотоксичну дію на фітотест.

Таким чином, визначення молекулярного показника – концентрації хлорофіла – культури ряски малої в умовах обох тестованих марок з

різних мікрорайонів м. Херсона засвідчило про відсутність у всіх варіантах цитотоксичного ефекту.

Таблиця 2.21.

Узагальнені дані щодо тестування води марки “Моршинська” за моніторингами I і II засобами культури ряски малої

Показники моніторингові Варіанти	Кількісні показники фітотесту							
	Nл		Nр		Lк		Nк	
	I	II	I	II	I	II	I	II
M1					aT			a
M2					aT		a	
M3				a	aT	a		
M4					aT			
M5		a		a	aT	a		a

Примітки: a – достовірно відрізняється від еталону; T – фітотоксичний ефект.

Таблиця 2.22.

Узагальнені дані щодо тестування води марки “Бон - Буассон” засобами культури ряски малої

Показники моніторингу Варіанти	Кількісні показники фітотесту				
	Nл	Nр	Lк	Nк	
B1	a				
B2	a		a		
B3			a	a	
B4			a		
B5	a		a		

Примітки: a – достовірно відрізняється від еталону; T – фітотоксичний ефект.

Таблиці 2.21 і 2.22 містять узагальнені результати тестування двох марок фасованої води за динамікою біометричних і молекулярних показників фітотесту “культура ряски малої”. Складені вони з метою виявлення підробок цих марок.

Аналіз даних таблиць свідчить, що:

- всі тестовані варіанти містять неякісну бутильовану воду, що відрізняється від еталону (води з локальної свердловини);
- всі варіанти марки “Моршинська” токсичні, водночас вода марки “Бон - Буассон” такої властивості не має;
- варіанти обох марок можна проранжувати за кількістю параметрів – індикаторів, що зазнали змін. Для марки “Моршинська” ранжування таке:

еталон >M4>M1,M2>M3>M5

Для марки “Бон - Буассон” –

еталон>B1,B4>B2,B3>B5.

Отже, не зважаючи на те, що дві марки тестованої бутильованої води відносяться до різних класів її якості, населення м. Херсона споживає воду, що відрізняється від еталону.

ВИСНОВОК

1. З'ясовано, що ряска мала є вищою рослиною, що чутлива до зміни стану довкілля. Її можна використати для визначення якості питної води. Проте в біотестуванні цього показника стосовно бутильованої води цей фітотест не використовується. Відібрано спектр параметрів культури ряски малої, що можна застосувати як індикаторів якості бутильованої води. Серед них: біометричні (ростові) і концентрація хлорофілу як кількісні показники якості бутильованої води.

2. Доведено засобами культури ряски малої, що: всі тестовані варіанти містять неякісну бутильовану воду, яка відрізняється від еталону є (вода з локальної свердловини):

- різні райони міста Херсону споживають воду марки “Моршинська”, яка має гіршу якість, ніж марка “Бон - Буассон”: всі варіанти марки токсичні;
- варіанти обох марок можна проранжувати за кількістю параметрів – індикаторів, що зазнали змін. Для марки “Моршинська” ранжування таке:

еталон >M4>M1,M2>M3>M5

Для марки “Бон - Буассон” –

еталон>B1,B4>B2,B3>B5.

3. Відпрацьовано спектр цитологічних і біохімічних методик, а саме виготовлення тимчасового препарату *Allium cepa L.*, визначення значення біомаркера на тимчасовому препараті, колориметричне визначення білка за методикою Лоурі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антонова Г.С., Визначення рівня токсичності фасованої води методом біотестування / Г.С. Антонова, Т.А Засядько - [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://intkonf.org/antonova-gs-zasyadko-ta-viznachennya-rivnya-toksichnostifasovanoyi-vodi-metodom-biotestuvannya/>
2. Антонова Г.С. Результати біотестування бутильованої питної води з використанням риб / Г.С. Антонова, Т.А Засядько - [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://intkonf.org/zasyadko-ta-antonova-gs-rezultati-biotestuvannya-butilovanoyi-pitnoyi-vodi-z-vikoristannyam-rib/>
3. Архипчук В.В. Проблемы качества питьевых бутылированных вод /В.В. Архипчук, В.В. Гончарук // Химия и технология воды. - 2004. - Т.26, №4.- С. 403 - 414.
4. Архипчук В.В. Оценка качества питьевых бутылированных вод методами биотестирования / В.В. Архипчук, В.В. Гончарук // Химия и технология воды.- 2004(а). - Т. 26, № 5. - С. 485-525.
5. Архипчук В.В. Біотестування як метод оцінки якості питних вод /В.В. Архипчук, В.В. Гончарук // Вісник НАН України.- 2006.- №10 - С. 54 -57.
6. Войтович О.М. Лабораторний практикум з фізіології та біохімії рослин для студентів денної форми навчання спеціальності 6.070400 – Біологія. /О.М. Войнович, В.О. Лях, Г.М. Левчук - [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.studfiles.ru/preview/5081128/>
7. Гаранько Н.М. Оцінка питної води за допомогою методів біотестування / Н.М.Гаранько, В.О. Ісламов // Екологія довкілля та безпеки життєдіяльності.– 2003. - № 5. – С.34 -37.
8. Гарипова Р.Ф. Способ комплексного биотестирования воды, почвы, биологическиактивных веществ в фитотестах / Р.Ф. Гарипова. - [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<http://www.sibpatent.ru/patent.asp?nPubl=2322669&mpkcls=G01N033&ptnc ls=G01N033/24&page=2&sort=2>

9. Гончарук В.В. Комплексна оцінка якості фасованих вод / В.В. Гончарук, В.В. Архипчук, Г.В. Тарлецька та ін. // Вісник НАН України. – 2005. - № 3. – С. 47-57.
10. Государственные санитарные нормы и правила "Гигиенические требования к воде питьевой, предназначенной для потребления человеком" (ГСанПиН 2.2.4-171-10).
11. Гродзінський А.М. Лікарські рослини/ Енциклопедичний довідник / А.М.Гродзінський - [Электронный ресурс]– Режим доступа: <https://choice.nethouse.ua/static/doc>
12. Дударева Г. Ф. Фітоіндикація навколишнього середовища: навчально- методичний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра напрямів підготовки «Біологія», «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування» / Г.Ф. Дударева, О.В. Дубова, О.М. Войтович. – Запоріжжя : ЗНУ, 2016. – 91 с.
13. ДСТУ 3959-2000 Охорона довкілля та раціональне поводження з ресурсами: Методики біотестування води. Настанови. – Введ.2001. 01. 01. – Офіц. Вид. - К: Держстандарт України, 2000. – IV. – 5 с.
14. ДСТУ 4173-2003. Качество воды. Определение острой летальной токсичности на *Daphnia magna* Straus и *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO6341:1996, MOD).
15. ДСТУ 4174-2003. Качество воды. Определение хронической токсичности химических веществ и воды на *Daphnia magna* Straus и *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 10706:2000, MOD).
16. ДСТУ 7525:2014 Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості. – К: Мінекономрозвитку України, 2014. – 25 с.

17. Єфремова О. О. Використання методів біотестування для визначення токсичності водних розчинів / О. О. Єфремова, Т. Ф. Петренко // Екологічна освіта на Хмельниччині. – Кам'янець – Подільський: «Абетка». - 2001. – С. 132 – 142.
18. Єфремова О. О. Біотестування бутильованої води / О. О. Єфремова, І. П. Крайнов, В. В. Власенко // Вісник Кременчуцького державного політехнічного університету. - 2005. – №4. – С. 28 – 29.
19. Єфремова О. О. Біотестування питної води у моніторингу стану екологічної безпеки: автореф. дис. канд. техн. наук: (21.06.01) / Державна екологічна академія після дипломної освіти і управління Мінприроди України. - К., 2009. – 22 с.
20. Капарова А.Д. Оценка биологических свойств питьевой воды, обработанной различными способами, методом биоиндикации / А.Д Капарова, Н.М. Сафронова, Е.А. Пятов. // Питьевая вода. - 2009. - N 1(49). - С.24-30.
21. Крайнюкова А.Н. Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов / А. Н. Крайнюкова, В. В. Кузьмич, С. А. Соколова – М. : РЭФИА, НИА-Природа, 2002. – 117 с.
22. Кузнєцов Ю.М. Аналіз якості питної води в місті Херсоні / Ю.М.Кузнєцов, В.В.Жужа, О.О.Макова, П.П.Борисов - [Електронний ресурс]– Режим доступу: <http://hidrotechnik.ru/perspektiva7/perspekt30.htm>
23. Кузнєцова Д. О. Порівняльна характеристика чутливості ряскових щодо токсичності питної води з пунктів продажу м. Херсона / Д. О. Кузнєцова, М. М. Сидорович // Збірник матеріалів Міжнародної наукової конференції молодих вчених «Регіональні проблеми охорони довкілля», (Одеса, 30 травня – 1 червня 2018р.), Одеса: ОДЕУ, 2018. – С.171 – 173.

24. Кузнєцова Д. О. Визначення цитотоксичності питної води з системи нецентралізованого водопостачання міста засобами культури ряски малої *Lemna minor* L. / Д. О. Кузнєцова, М. М. Сидорович // Матеріали V Міжнародної наукової конференції молодих вчених «Екологія, неоекологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування», (Харків, 29-30 листопада 2017р.). – Харків: ХНУ, 2017. – С. 189 – 190.
25. Лікарська рослина ряска мала, 2016.- [Електронний ресурс] - Режим доступу: <http://mednarodna.com.ua/776-lekarstvennoe-rastenie-ryaska-malaya.html>
26. Ломагин, А.Г., Новый тест на загрязненность воды с использованием ряски - *Lemna minor* (L) / А.Г Ломагин, Л.В Ульянова // Физиология растений - 1993. - № 2 - С. 327-328.
27. Малюга Н.Г. Биоиндикация загрязнения воды тяжелыми металлами с помощью представителей семейства рясковых - *Lemnaceae*. / Н.Г. Малюга, Л.В. Цаценко, Л.Х. Аветянц // Экологические проблемы Кубани. - Краснодар. КГАУ, 1996. - С.153 - 155.
28. Методики биотестирования - Краснодар, 2002.- [Электронный ресурс] - Режим доступу: <http://duckweed.kubagro.ru/method.htm>
29. Мучкин И.П. Ряска малая в оперативном контроле токсичности водной среды / И.П.Мучкин, А.И.Рогальский - [Электронный ресурс] - Режим доступу: https://rou.neicon.ru/xmlui/bitstream/handle/rou/25359/s03_030.pdf?sequence=1&isAllowed
- 29.а) Паушева З.П. Практикум по цитологии растений / З.П.Паушева // 4-е изд., перераб. и доп. – М: Агропромиздат, 1988. – 271 с.
30. Прокопєць О.Л. *Lemna minor* L. – фітотест для визначення токсичності і полютантності міської питної води з нецентралізованого водопостачання (пунктів продажу) / О.Л.Прокопєць, М.М.Сидорович,

- О.П.Кундельчук, Д.О.Кузнецова // Научный взгляд в будущее. – Выпуск 2(2). Том.12. – Одесса: КУПРИЕНКО С.В.,2016. – С.80-87.
31. Прокопеч О.П. Тестування якості розливної питної води різних постачальників міста Херсону засобами культури ряски малої / О.П. Прокопеч, М.М. Сидорович// Пошук молодих. Випуск 14: матеріали Всеукраїнської студентської наук.- прак. конференції [«Технології компетентнісно-орієнтовного навчання природничо-математичних дисциплін»], (Херсон 23-24 квітня 2015 р.) – Херсон: ПП В.С. Вишемирський., 2015. – С.172-174.
32. Сидорович М.М. Моніторинг токсичності міської питної води з нецентралізованого водопостачання (пунктів продажу) засобами культури ряски малої/ М.М.Сидорович, О.Л.Прокопеч, Д.О.Кузнецова// Пошук молодих. Випуск 15: Збірник матеріалів Всеукраїнської студентської наук.-прак. конференції [«Технології компетентнісно-орієнтовного навчання природничо-математичних дисциплін»], (Херсон, 14-15 квітня 2016 р.) – Херсон: ПП В,С, Вишемирський., 2016. – С.145-147.
33. Скок С.В. Оцінювання якості питної води м.Херсона методами біотестування / С.В.Скок // Агроєкологічний журнал. – 2015.- №2. – С.26-30.
34. Реакция на соли тяжелых металлов - Краснодар, 2000.- [Электронный ресурс] - Режим доступа: [http:// duckweed. kubagro . ru /heavymetal.htm](http://duckweed.kubagro.ru/heavymetal.htm).
35. Реакция на тяжелые металлы - Краснодар,2002.- [Электронный ресурс] - Режим доступа: <http://duckweed.kubagro.ru/pesticid.htm>.
36. Реакция на пестициды. - Краснодар, 2000.- [Электронный ресурс] - Режим доступа: <http://duckweed.kubagro.ru/pesticid.htm>.
37. Родина Ряскові [Электронный ресурс] - Режим доступа: www.novaecologia.org

38. Ряска мала [Электронный ресурс] - Режим доступа: <http://infoherbs.com.ua/ryaska-mala-lemna-minor/>
39. Рясковые - Биоиндикаторы Агроценоза.- Краснодар, 2000.- [Электронный ресурс] - Режим доступа: <http://duckweed.kubagro.ru/index-rus.htm>.
40. Ряска – лечебные свойства, травы и противопоказание.- [Электронный ресурс] - Режим доступа: <http://herbarium.iar.sumy.org>
41. Рясковые - как биоиндикаторы. - Краснодар, 2000.- [Электронный ресурс] - Режим доступа: <http://duckweed.kubagro.ru/biocont.htm>
42. Ряска малая, лечебные свойства, применение - [Электронный ресурс] - Режим доступа: http://www.spravlektrav.ru/or/ryaska_malaya.html
43. Флора вільноплаваючих рослин Чернігівщини- [Электронный ресурс] - Режим доступа: <https://ukrbukva.net/page,6,27726-Flora-v-l-noplavayuchih-roslin-Chern-g-vshini.html>
44. Цаценко Л.В. Чувствительность различных тестов на загрязнение воды тяжелыми металлами и пестицидами с использованием ряски малой. *Lemna minor L.* /Л.В. Цаценко, Н.Г. Малюга // Экология. - 1998. - №5. - С.407-409.
45. Шевряков М.В. Практикум з біохімії для аграрних університетів / М.В.Шевряков, Д.О.Мельниченко. - Київ, 2011.
46. Яковлев В. В. Биотестирование природных вод Харьковской области для оценки их токсичности / В. В. Яковлев, С. А. Мацюк // Коммунальное хозяйство городов. – 2008. - №84. – С.102-110.