

Міністерство освіти і науки, молоді та спорту України  
Херсонський державний університет  
Кафедра екології та географії

**Кундельчук О.П.**

## **МЕТОДОЛОГІЯ ЕКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Методичні рекомендації до практичних та семінарських занять

Для студентів напряму підготовки 0708.Екологія  
спеціальності 8.070801. Екологія та охорона навколишнього середовища.

Херсон – 2011

**Методологія екологічних досліджень. Методичні рекомендації до практичних та семінарських занять.**

Укладач: Кундельчук О.П. – кандидат біологічних наук, доцент кафедри екології та географії

Рецензенти:

- 1) Сидорович М.М., д.п.н., доцент кафедри фізіології людини і тварин
- 2) Давидов О.В., к.г.н., доцент кафедри екології та географії

Обговорено на засіданні кафедри екології та географії  
Протокол № 1 від 06.09.2010 р.

Розглянуто на засіданні науково-методичної ради Інституту природознавства  
Протокол № 8 від 16.03.2011 р.

Схвалено науково-методичною радою Херсонського державного університету  
(протокол № 2 від 17.01.2011 р.)

Рекомендовано до друку Вченою радою Херсонського державного університету  
(протокол № 6 від 31.01.2011 р.)

## ЗМІСТ

1. Авторська програма дисципліни «Методологія екологічних досліджень».....	4
2. Практичний модуль.....	8
Заняття № 1. Методи встановлення вмісту неорганічних та органічних речовин в пробах. води, повітря, ґрунтів та в зразках тканин організмів.....	8
Заняття № 2. Дослідження впливу мінеральних речовин на життєдіяльність організмів.....	12
Заняття № 3. Дослідження впливу органічних речовин на життєдіяльність організмів.....	15
Заняття № 4. Методика тестування харчових домішок та інших органічних речовин на токсичність та мутагенність.....	17
Заняття № 5. Методи виявлення трансгенних компонентів в продуктах харчування.....	20
Заняття № 6. Методи дослідження гіпоксії.....	22
Заняття № 7. Дослідження впливу температури навколишнього середовища на живі організми.....	24
Заняття № 8. Дослідження впливу електромагнітного поля на живі організми.....	27
Заняття № 9-10. Методи дослідження впливу іонізуючого випромінювання на живі організми та окремі клітини.....	30
Заняття № 11. Методи встановлення видової приналежності організмів.....	34
Заняття № 12. Методи дослідження взаємодій між популяціями.....	38
Заняття № 13. Дослідження сукцесій як механізму реалізації динамічних та еволюційних змін в екосистемах.....	46
Заняття № 14. Аналіз впливу антропогенного перетворення територій на інтенсивність функціонування геосистем.....	49
Заняття № 15. Методи вивчення стійкості геосистем.....	52
Заняття № 16. Дослідження геохімічної спеціалізації геосистем та антропогенного геохімічного навантаження на геосистеми.....	58
Заняття № 17. Дослідження факторів самоочищення геосистем.....	64
3. Рекомендована література. INTERNET-ресурси.....	69

## Авторська навчальна програма дисципліни «Методологія екологічних досліджень»

### Пояснювальна записка

**Мета курсу:** ознайомити студентів з методологічною основою екологічних досліджень та з сучасними методами проведення аутоекологічних, демекологічних, синекологічних та геоекологічних досліджень.

**Завдання курсу:**

Теоретичні: сформулювати діалектичний науковий світогляд фахівців-екологів; дати уявлення про загальні методологічні та методичні закономірності проведення екологічних досліджень.

Практичні: сформулювати навички використання різних методологічних та методичних підходів в практичних екологічних дослідженнях.

**Вимоги до знань студентів:** студенти повинні знати закономірності процесів, що відбуваються в екосистемах різного рівня складності, а також правила проведення сучасних аутоекологічних, демекологічних та синекологічних досліджень.

**Вимоги до вмінь студентів:** студенти повинні вміти використовувати різні методологічні підходи до рішення конкретних екологічних задач, грамотно ставити екологічний експеримент та інтерпретувати отримані результати.

**Міжпредметні зв'язки:** вивчення курсу «Методологія екологічних досліджень» базується на знаннях студентами наступних дисциплін: «Основи загальної та неоекології», «Екологія людини», «Основи наукових досліджень», тощо.

### Розподіл навчального часу (години):

Назва дисципліни:	Всього:	Лекції:	Практичні роботи та семінари	Самостійна робота:	Форма семестрового контролю:
Методологія екологічних досліджень	90	32	34	24	екзамен

### Зміст курсу Лекційний курс

**Методологічний аналіз науки.** Роль методології в науковому пізнанні. Наукова картина світу. Принципи формування предмета наукового дослідження. Пізнавальні завдання в науковому дослідженні. Основні характеристики і рівні наукових досліджень. Емпіричний і теоретичний рівні пізнання. Фундаментальні та прикладні дослідження. Метод наукового пізнання.

**Основні парадигми методології екологічного дослідження.** Холістичний (редукціоністський) та мерологічний (інтеграційний) методологічні підходи в екології. Принцип емерджентності. Синергетичний підхід до екологічних об'єктів і екологічних досліджень. Концепція міждисциплінарної методології екологічних досліджень. Взаємодія природничих і технічних наук. Можливості і перспективи міждисциплінарної методології.

**Предмет і об'єкт екологічних досліджень.** Екологічне середовище. Розвиток уявлень про об'єкт та предмет екології. Сучасні уявлення про простір і час. Просторово-часові аспекти екології. Суб'єкт екологічних досліджень. Логіко-пізнавальний апарат екологічного дослідження. Наукові факти в екологічному дослідженні. Фіксація екологічних фактів. Екологічна мова. Класифікації і типологія в екологічних дослідженнях. Екологічні моделі, теорії, гіпотези. Математизація екологічних знань.

**Методичні засади екологічних досліджень.**

**Базові методи екологічних досліджень в аутокології.** Мінеральні речовини. Використання атомно-абсорбційного аналізу для оцінки вмісту хімічних елементів в тканинах організмів. Експериментальне голодування або перевантаження мінеральними речовинами цілих організмів або клітин тварин і рослин в культурі *in vitro*. Методи виявлення мертвих клітин. Використання генно-інженерних технологій для встановлення механізмів накопичення хімічних елементів живими організмами і створення трансгенних рослин для фітореMediaції територій, забруднених важкими металами. Методика створення штучних бактеріальних систем для очищення придонних мулів від важких металів.

Вода. Використання ДНК-мікрочіп аналізу для визначення генів, які відповідають за формування стійкості організму до посухи. Отримання генетично-модифікованих сільськогосподарських рослин, стійких до посухи.

Органічні поживні речовини. Експериментальне голодування по органічним поживним речовинам у цілих організмів і в культурі клітин *in vitro* з метою визначення незамінних амінокислот, жирних кислот, вітамінів, тощо. Аналіз *in vivo* процесів аутофагії в клітинах за умов голодування за допомогою прижиттєвих флуоресцентних барвників. Використання Т-ДНК інерційного мутагенезу для встановлення ролі аутофагії у виживанні організмів за умов голодування по органічним речовинам.

Органічні токсичні речовини. Виявлення мішені дії природних токсинів нервово-паралітичної дії та добір протиотрут за допомогою методу петч-кламп. Визначення типу органічної токсичної речовини за допомогою тонкошарової хроматографії та рідинної хроматографії. Використання генно-інженерних технологій для створення бактерій-сенсорів забруднення навколишнього середовища нафтопродуктами, органічними та неорганічними токсинами. Встановлення токсичної та мутагенної дії харчових смакових домішок для людини за допомогою методів культури клітин *in vitro*. Використання методів математичної статистики для аналізу результатів екологічних досліджень на прикладі вивчення механізмів впливу пестицидів та регуляторів росту на поділ рослинних клітин. Виявлення генетично-модифікованих компонентів в продуктах харчування за допомогою ПЛР-реакції з наступним ДНК-електрофорезом. Встановлення потенційної небезпеки вживання генетично-модифікованих продуктів харчування за допомогою аналізу швидкості мутаційного процесу.

Кисень. Методика створення умов експериментальної гіпоксії під час дослідження рослин і тварин. Використання культури клітин людини *in vitro* для добору протиішемічних препаратів.

Температура навколишнього середовища. Використання методу білкового електрофорезу для визначення білків, що забезпечують адаптацію організмів до високих та низьких температур. Встановлення активних сайтів білків за допомогою сайт-спрямованого мутагенезу. Використання генно-інженерних технологій для перенесення генів білків-антифризів та білків теплового шоку в сільськогосподарські рослини для забезпечення їх стійкості до низьких та високих температур, відповідно. Метод палеотермометра в палеоекологічних дослідженнях температур навколишнього середовища в минулому та температури тіла викопних організмів.

УФ-В опромінення та іонізуюче опромінення. Аналіз механізму дії жорсткого УФ-В опромінення на живі організми шляхом дослідження процесів репарації ДНК. Вивчення впливу іонізуючого опромінення на живі організми за допомогою оцінки швидкості мутагенезу в клітинах.

Гравітація. Використання методу інтерферентних РНК для дослідження механізмів формування гравітропічних реакцій у рослин.

**Базові методи екологічних досліджень в демекології.** Дослідження ролі феромонів в поведінці тварин за допомогою метода нокаута генів. Вивчення ролі летких органічних сполук в житті рослинних популяцій. Аналіз типів життєвої стратегії у рослин: К-стратегі, R-стратегі, S-стратегі. Оцінка екологічного стану території за типом життєвої стратегії місцевих рослин. Оцінка стану навколишнього середовища за різноманіттям видів лишайників (ліхеноіндикація).

Спадковість в популяціях. Встановлення причин гібридної несумісності при природному неспорідненому схрещуванні організмів. Експериментальне об'єднання неспоріднених геномів методами клітинної інженерії. Дослідження міграції організмів. Встановлення механізмів просторової орієнтації організмів під час міграцій за допомогою магнітного поля Землі і сонячного

опромінення. Біоінвазії. Визначення видової приналежності вида-іммігранта за допомогою аналізу довжини фрагментів рестрикції ДНК (RFLP-аналіз).

Біологічний годинник. Вивчення роботи біологічного годинника в клітинах еукаріот *in vivo* шляхом індукції біолюмінесценції білків часу *Per*, *Clock* та інших. Реконструкція *in vivo* роботи біологічного годинника бактерій. Дослідження впливу магнітного поля Землі на роботу біологічного годинника. Старіння організмів. Використання Т-ДНК інерційного мутагенезу у рослин та нокаута генів у тварин для дослідження механізмів старіння організмів. Роботи по призупиненню старіння організмів. Дослідження причин безсмертя ракових клітин.

Мінливість в популяціях. Природна та штучна мінливість в популяціях. Дослідження впливу техногенного забруднення територій на накопичення мутацій в популяціях. Методи штучного неспрямованого мутагенезу (радіаційний, хімічний) та сайт-спрямованого мутагенезу в популяціях бактерій, рослин, тварин.

**Базові методи екологічних досліджень в синекології.** Вивчення внутрішньо-клітинного симбіозу та паразитизму методами мікрохірургії та лікування антибіотиками. Методи виявлення горизонтального переносу генів між симбіонтом/паразитом та його хазяїном на прикладі агробактерії *Agrobacterium tumefaciens*. Визначення механізмів взаємодії білка-токсина з білком його клітинної мішені за допомогою двогібридного аналізу. Експериментальне дослідження конкуренції між різними популяціями.

**Базові методи екологічних досліджень в геоекології.** Функціонування геосистем. Методи дослідження функціонування геосистем. Визначення коефіцієнтів вологообігу, обігу мінеральних речовин, біогенного обігу та обігу енергії в геосистемах природних та антропогенно-змінених.

Стійкість геосистем. Обчислення показників відмов та невідмов геосистем за певними ознаками. Методика прогнозування вірогідності заміни однієї геосистеми на іншу за матрицями Маркова. Обчислення дистанційного коефіцієнту між геосистемами та коефіцієнта контрастності геоекотона для визначення потенційної стійкості перехідних зон між сусідніми геосистемами. Оцінка екологічного благополуччя біоцентрів на підставі аналізу  $\alpha$ -,  $\beta$ - та  $\gamma$ -індексів зв'язності їх графу.

Біохімічна спеціалізація геосистем. Якісний та кількісний аналіз вмісту хімічних елементів в пробах ґрунту, води, в повітрі та в тканинах організмів за допомогою атомно-абсорбційного аналізу. Визначення коефіцієнту біологічного накопичення хімічних елементів. Методи встановлення причин розвитку мікроелементозів у рослин, тварин та людей, які мешкають на територіях з певним типом геохімічної спеціалізації. Визначення рівня геохімічного антропогенного навантаження на геосистеми: обчислення сумарного показника забрудненості природного компонента, встановлення коефіцієнта екологічної небезпеки хімічного елемента та показника сумарного забруднення середовища токсичними мікроелементами.

Самоочищення геосистем. Дослідження ізолювання хімічних речовин на геохімічних бар'єрах. Визначення контрастності геохімічних бар'єрів. Аналіз факторів, що впливають на фізико-хімічне та біологічне розкладання речовин в межах геосистеми та на винос речовин за межі геосистеми.

Динаміка та еволюція геосистем. Методи дослідження динамічних та еволюційних змін в геосистемах: багаторічні спостереження, аналіз палеонтологічних, геологічних та астрономічних даних. Дослідження сукцесійних змін в екосистемах. Методи прискорення та гальмування сукцесій.

## Практичний курс

### Тематика практичних та семінарських занять

№	Тема заняття:	Тип заняття:	Кількість годин
1.	Методи встановлення вмісту неорганічних та органічних речовин в пробах води, повітря, ґрунтів та в зразках тканин організмів.	Семінарське заняття	2
2.	Дослідження впливу мінеральних речовин на	Практичне заняття	2

	життєдіяльність організмів		
3.	Дослідження впливу органічних речовин на життєдіяльність організмів	Практичне заняття	2
4.	Методика тестування харчових домішок та інших органічних речовин на токсичність та мутагенність	Семінарське заняття	2
5.	Методи виявлення трансгенних компонентів в продуктах харчування	Семінарське заняття	2
6.	Методи дослідження гіпоксії	Практичне заняття	2
7.	Дослідження впливу температури навколишнього середовища на живі організми	Практичне заняття	2
8.	Дослідження впливу електромагнітного поля на живі організми	Практичне заняття	2
9-	Методи дослідження впливу іонізуючого випромінювання на живі організми та окремі клітини	Семінарське заняття	2
10.		Практичне заняття	2
11.	Методи встановлення видової приналежності організмів	Семінарське заняття	2
12.	Методи дослідження взаємодій між популяціями	Практичне заняття	2
13.	Дослідження сукцесій як механізму реалізації динамічних та еволюційних змін в екосистемах	Практичне заняття	2
14.	Аналіз впливу антропогенного перетворення територій на інтенсивність функціонування геосистем	Практичне заняття	2
15.	Методи вивчення стійкості геосистем	Практичне заняття	2
16.	Дослідження геохімічної спеціалізації геосистем та антропогенного геохімічного навантаження на геосистеми	Практичне заняття	2
17.	Дослідження факторів самоочищення геосистем	Практичне заняття	2

## ПРАКТИЧНИЙ МОДУЛЬ

### Заняття № 1

**Тема: Методи встановлення вмісту неорганічних та органічних речовин в пробах води, повітря, ґрунтів та в зразках тканин організмів.**

#### Теоретичні відомості.

#### 1. Методи встановлення вмісту металів в пробах води, повітря, ґрунтів та в зразках тканин організмів.

Вміст металів в пробах води, повітря, ґрунтів та в зразках тканин організмів встановлюють за допомогою атомно-абсорбційного аналізу.

Атомно-абсорбційний аналіз (атомна спектрометрія) – це метод аналізу присутності хімічних елементів в пробі по атомним спектрам поглинання (абсорбція). Атоми хімічних елементів здатні поглинати кванти світла. При цьому спектр поглинання – індивідуальний для кожного хімічного елементу, оскільки електромагнітна світлова хвиля поглинається електронами атомів, а атом кожного хімічного елементу має індивідуальну кількість електронів. Пробу води, повітря, ґрунту або зразок тканини організму поміщають в камеру атомізатора і нагрівають до температури  $+2000^{\circ}\text{C}+3000^{\circ}\text{C}$ . Якщо камера атомізатора забезпечена пальником, то температуру в камері підвищують за рахунок відкритого полум'я горіння суміші ацетилену і повітря. Температура в таких камерах, як правило, досягає  $+2000^{\circ}\text{C}$ . Атомізатор може бути забезпечений графітовою піччю і тоді температуру в камері можна підвищити до  $+3000^{\circ}\text{C}$ . Нагрівання проби до  $+2000^{\circ}\text{C}+3000^{\circ}\text{C}$  дозволяє перевести речовини, що знаходяться в молекулярних і кристалічних ґратах, в атомарний стан. Потім крізь атомізовану пробу пропускають світловий пучок в діапазоні довжин хвиль від  $\lambda=190$  нм до  $\lambda=850$  нм. В результаті поглинання квантів світла атоми переходять в збуджений стан. Цим переходам в атомних спектрах поглинання відповідають т.з. резонансні лінії, характерні для даного елементу. Пучок світла, що вийшов з камери атомізатора, передається на приймаючий пристрій, який аналізує його інтенсивність і спектральну область поглинання.

Згідно закону Бугера-Ламберта-Бера, мірою концентрації хімічного елементу служить оптична щільність (A):  $A=\lg(I/I_0)$ , де  $I_0$  і  $I$  - це інтенсивність випромінювання від джерела відповідно до і після його проходження крізь пробу.

Перевагами атомно-абсорбційного аналізу є його простота, висока селективність і малий вплив складу проби на результат аналізу. Обмеження методу – неможливість одночасного визначення декількох елементів при використанні лінійчатих джерел випромінювання.

Атомно-абсорбційний аналіз застосовують для визначення близько 70 елементів (головним чином – металів). Не визначають гази і деякі інші неметали, резонансні лінії яких лежать у вакуумній області спектру (довжина хвилі менше 190 нм). Якщо атомізацію проби здійснюють за допомогою графітової печі – то в таких пробах стає неможливим визначення Hf, Nb, Ta, W і Zr, які утворюють з вуглецем важколетючі карбіди.

Межі виявлення більшості елементів в розчинах при атомізації в полум'ї – 1-100 мкг/кг, в графітовій печі – 0,1-100 нг/кг. Відносне стандартне відхилення в оптимальних умовах вимірювань досягає 0,2-0,5% для відкритого полум'я і 0,5-1,0% для графітової печі.

В автоматичному режимі роботи полум'яний спектрометр дозволяє аналізувати до 500 проб в годину, а спектрометр з графітовою піччю – до 30 проб в годину.

#### Перелік питань для підготовки до першої частини семінарського заняття:

- 1) Яку роль виконують мінеральні речовини в клітинах організмів?
- 2) Які існують шляхи надходження мінеральних речовин до клітин?
- 3) За яких умов порушується селективність транспорту мінеральних речовин до клітин організмів?
- 4) До яких наслідків призводить надмірне накопичення важких металів в клітинах?
- 5) Які існують механізми самозахисту клітин живих організмів від надходження надлишкових кількостей металів?



- 6) На якому принципі засновано визначення присутності важких металів в пробах води, повітря, ґрунтів і в зразках тканин організмів?
- 7) Які типи атомізаторів використовують при проведенні аналізу?
- 8) Чому пробу необхідно переводити в атомізований стан?
- 9) Які обмеження має застосування методу атомно-абсорбційного аналізу?
- 10) Які переваги і недоліки використання графітових печей для атомізації проби?
- 11) Якою є чутливість даного методу?

### **Теоретичні відомості.**

#### 2. Методи виявлення органічних забруднюючих речовин в пробах води, повітря, ґрунтів, в тканинах організмів.

Органічні забруднюючі речовини, які потрапляють до води, повітря, ґрунтів або в живі організми, зазвичай, знаходяться у вигляді складних сумішей. Тому, першим етапом ідентифікації органічних поллютантів є розділення складних сумішей на їх компоненти. Хроматографія – це система методів, які дозволяють розділити суміші речовин. Принцип розділення сумішей полягає у тому, що різні речовини мають різну: розчинність, масу та розміри молекул, летючість, заряди молекул, різні хімічно активні групи і т.п.

#### Тонкошарова хроматографія:

- пористий матеріал виготовляють у вигляді тонкої пористої пластинки (зазвичай, використовують силікагель);
- на пластинку з адсорбенту наносять зразок проби води (або витяжку з ґрунту), а також – зразки тих токсичних речовин, присутність яких бажають визначити в пробі;
- пластинку вміщують в суміш розчинників (наприклад, в суміш ізооктану і піридину (7:3), або інші);
- розчинники підіймаються по капілярах адсорбента і несуть за собою речовини, які в них розчинились (при цьому швидкість міграції речовин залежить від їх молекулярної ваги та від розчинності в даних розчинниках);
- через декілька годин пластинку адсорбента обробляють спеціальними барвниками і за місцем знаходження на пластинці речовин з розчину, який тестується, та еталонних проб, визначають якісний склад суміші.

На наступному етапі, кожен пляму вирізають із пластинки, речовини переводять назад до розчину і методами кількісного хімічного аналізу встановлюють концентрацію кожної речовини, яка була присутня в пробі води (або ґрунтовій витяжці). В кількісній аналітичній тонкошаровій хроматографії детектування можливо також проводити за допомогою денситометра.

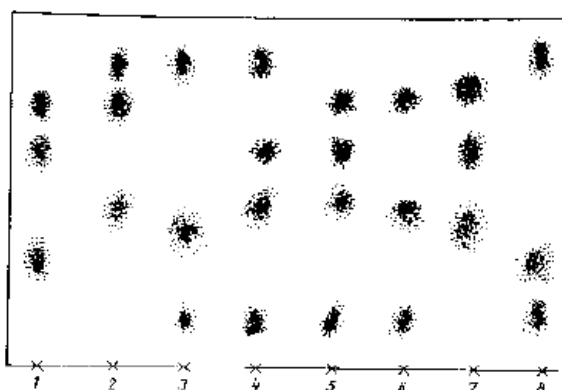


Рис. 1. Тонкошарова хроматограма розділення гербіцидів (зони зверху вниз): 1 – прометон, атразин, промазін; 2 – симетрин, пропазін, прометрин; 3 – атратон, симазин, прометрин; 4 – атратон, десметрин, атразин, прометрин; 5 – атратон, симетрин, атразин, промазін; 6 – атратон, десметрин, промазін; 7 – симазин, атразин, промазін; 8 – атратон, прометон, прометрин.

Високоєфективна рідинна хроматографія (англ. HPLC, High Performance Liquid Chromatography). Принцип рідинної хроматографії полягає в розділенні компонентів суміші, яке ґрунтується на відмінностях в розподіленні цих компонентів між двома фазами, які не змішуються, одна з яких

нерухома, а інша рухома. Особливістю високоефективної рідинної хроматографії є використання високого тиску (до 400 бар) і мілкозернистих сорбентів (зазвичай 3—5 мкм, зараз до 1,8 мкм). Це дозволяє розділяти складні суміші речовин швидко і повністю (середній час аналізу від 3 до 30 хв). В якості матриць в рідинній хроматографії використовуються неорганічні сполуки, такі як оксид кремнія (силікагель), оксид алюмінія, та інш., або органічні полімери, такі як полістирол (зшитий дивінілбензолом), поліметакрилат та інш.

Газова хроматографія. Газова хроматографія – це різновид хроматографії, метод розділення летких компонентів, при якому рухливою фазою є інертний газ (газ-носіє), який рухається крізь нерухома фазу з великою поверхнею. В якості рухливої фази використовують водень, гелій, азот, аргон, вуглекислий газ. Газ-носіє не реагує з нерухомаю фазою та з речовинами, які необхідно розділити. Розрізняють газо-твердофазну та газо-рідинну хроматографію. В першому випадку нерухомаю фазою є твердий носіє (силікагель, вуглець, оксид алюмінія), в другому – рідина, яка нанесена на поверхню інертного носія. Розділення оснований на відмінностях в летючості та розчинності (або адсорбуємості) компонентів суміші, яка розділяється.

Цей метод можливо використовувати для аналізу газоподібних, рідких та твердих речовин з молекулярною вагою меншою ніж 400, які повинні задовільняти певним вимогам, головні з яких – летючість, термостабільність, інертність. Цим вимогам, зазвичай, повною мірою задовільняють органічні речовини, тому, газову хроматографію широко використовують як серійний метод аналізу органічних сполук.

Головним приладом для проведення досліджень є газовий хроматограф:

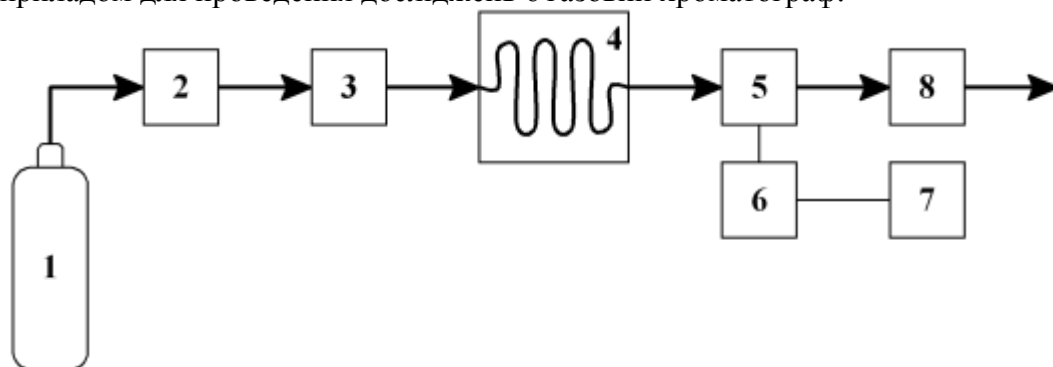


Рис. 2. Схема газового хроматографа: 1 — джерело газу-носія (рухливої фази); 2 — регулятор витрат газу носія; 3 — пристрій вводу проби; 4 — хроматографічна колонка в термостаті; 5 — детектор; 6 — електронний підсилювач; 7 — реєструючий пристрій (самописець, комп'ютер); 8 — витратомір.

Хроматографічна колонка – це ємність, довжина якої є значно більшою ніж її діаметр. Для газової хроматографії зазвичай використовують U-подібні або спіральні колонки. Внутрішній діаметр колонок – 2-15 мм, довжина – 1-20 м. В якості матеріалу для виготовлення колонок використовують скло, сталь, мідь, інколи фторопласт. Важливим є забезпечення незмінності температури колонки протягом всього процесу хроматографії. Точність підтримання температури повинна становити  $0,05^0-1^0\text{C}$ . Для точного регулювання і підтримки температури використовують термостати.

Методи ідентифікації індивідуальних речовин, які були віділені із складної суміші хроматографічними методами. Після розділення сумішей на прості компоненти – отримані індивідуальні речовини на виході аналізуються: а) за допомогою мас-спектрометрії (речовини іонізують і потім встановлюють їх індивідуальну хімічну приналежність за характером руху молекул цих речовин в магнітному полі, а цей рух в свою чергу залежить від молекулярної ваги і заряду речовини; б) за допомогою діодних матриць (пучок променів з довжиною хвилі, яка відповідає спектру дейтерія або ртуті (254 нм або 280 нм, відповідно) пропускають крізь речовину, яка тестується, і реєструють смуги поглинання, які є індивідуальними для кожної органічної речовини). Використовують також інші методи детекції. Якщо характеристики речовин, які тестуються, не співпадають з еталонними зразками, тоді хімічну будову невідомої речовини встановлюють за допомогою метода ядерного магнітного резонанса (ЯМР) або інш.

### Якісне і кількісне визначення пестицидів, гербіцидів та інших екоотоксикантів в об'єктах навколишнього середовища.

Контроль мікрокількостей пестицидів, гербіцидів та інш. екоотоксикантів в продуктах харчування, продукції рослинництва і тваринництва, ґрунтах, воді і повітрі, у зв'язку з високою токсичністю, селективною дією і здатністю накопичуватись в об'єктах навколишнього середовища, є важливим завданням для забезпечення безпеки населення. Найбільш надійним і точним методом контролю вмісту пестицидів є капілярна газова хроматографія високої роздільної здатності в поєднанні з високоселективною і високочутливою детекцією. Для цього успішно використовуються газові хроматографи, які входять до складу програмно-апаратного комплексу, що використовуються як в лабораторних, так і у виробничих умовах.

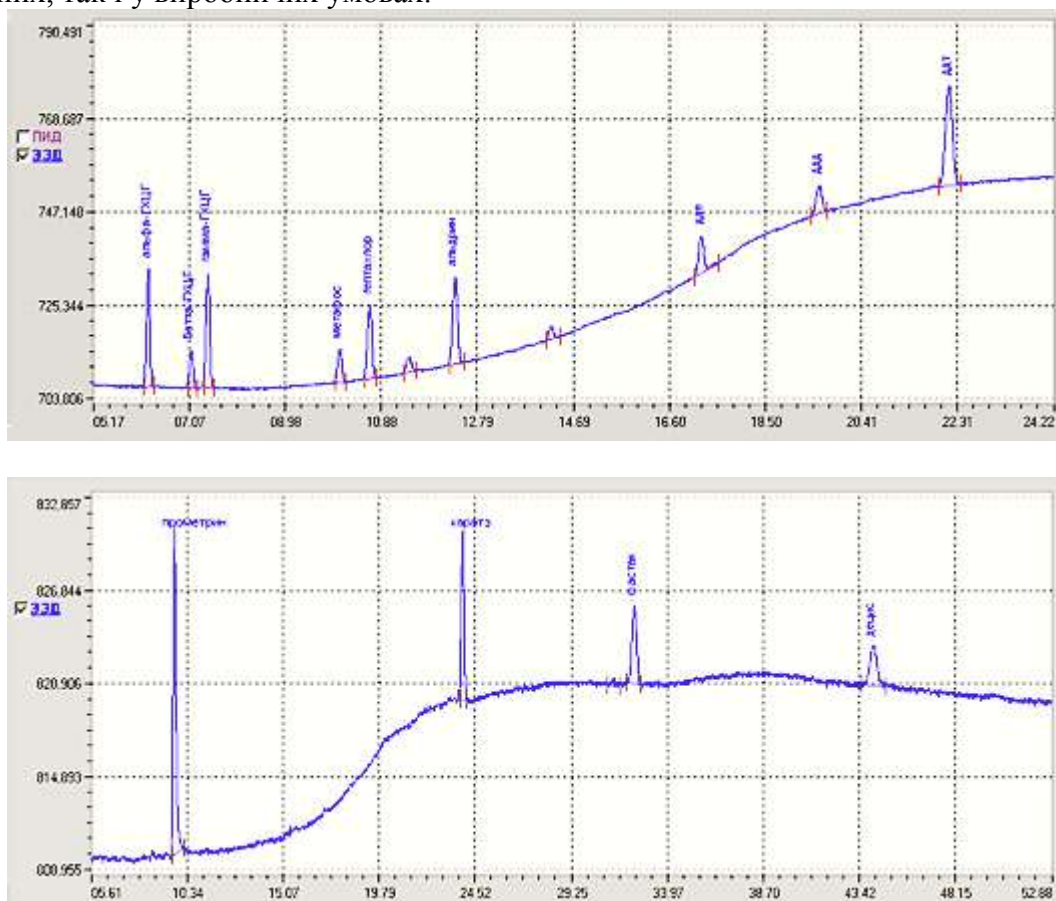


Рис. 3. Хроматограма аналізу суміші пестицидів і перитроїдів за допомогою капілярної колонки ZB-5 довжиною 30 м і електроно-захоплюючого детектора (ЕЗД).

### Якісне і кількісне ізомерспецифічне визначення поліхлорованих біфенілів (ПХБ) в харчових продуктах.

Контроль присутності мікрокількостей ПХБ в харчових продуктах є важливим завданням, оскільки біфеніли спроможні накопичуватись в різних компонентах харчового ланцюга і характеризуються високою стабільністю в навколишньому середовищі. Довготривалий вплив навіть малих доз ПХБ може індукувати розвиток пухлин, несприятливо впливати на репродуктивну функцію організмів. Організації, які здійснюють контроль якості і безпеки харчової продукції, зобов'язані проводити лабораторні дослідження продуктів (молока, жирової тканини і т.н.) при оцінці навантаження ПХБ на організм. Найбільш надійним та точним методом контролю при цьому є капілярна газова хроматографія високої роздільної здатності з наступним високоселективним та високочутливим детектуванням.

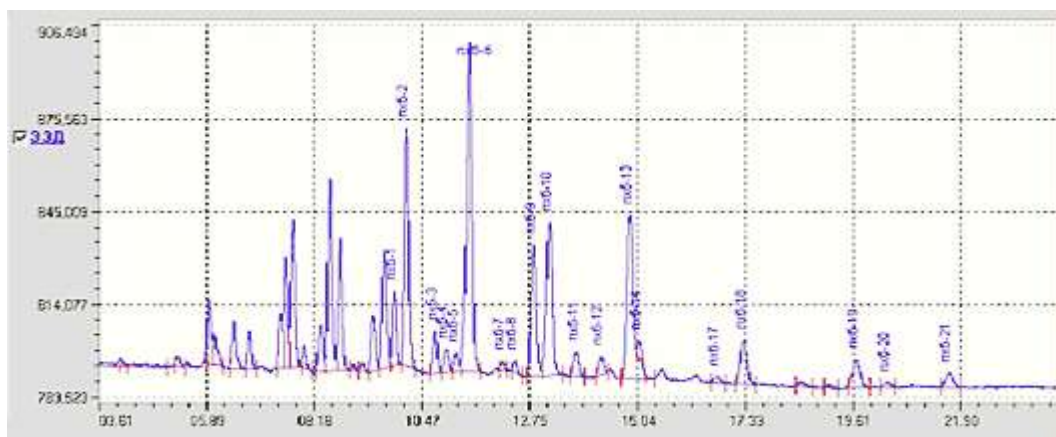


Рис. 4. Аналіз вмісту поліхлорованих біфенілів в продуктах харчування.

До складу комплексу входять: газовий хроматограф «Кристаллюкс-4000М» з аналітичним модулем ПИД/ЕЗД/ТИД (слід відзначити, що за допомогою термоіонного детектора можливо аналізувати додатково присутність фосфорорганічних та азоторганічних пестицидів), хроматографічні колонки, програма обробки хроматографічної інформації «NetChrom», персональний комп'ютер, принтер і прилади для формування і подачі газів. Аналіз підготовленої проби пестицидів становить не більше 45-и хвилин.

Перелік питань для підготовки до другої частини семінарського заняття:

1. Тонкошарова хроматографія.
2. Високоєфективна рідинна хроматографія.
3. Газова хроматографія.
4. Використання методів хроматографії для розділення сумішей органічних токсичних речовин.
5. Мас-спектрометрія.
6. Метод діодних матриць.

#### Література:

1. Алемасова А.С., Роқун А.Н., Шевчук И.А. Аналитическая атомно-абсорбционная спектроскопия. Учебное пособие. Донецк, 2003. – 327.
2. Прайс В. Аналитическая атомно-абсорбционная спектроскопия. М.: Мир, 1976. – 356 с.
3. Ермаченко Л.А. Атомно-абсорбционный анализ в санитарно-гигиенических исследованиях. Методическое пособие. Чебокс.: Узд. «Чувашия», 1997. – 208 с.
4. Винарский В.А. Хроматография. Курс лекций в двух частях: часть 1. Газовая хроматография. Минск.: Научно-методический центр Электронная книга БГУ, 2003. – 192 с.
5. Карасек Ф., Клемент Р. Введение в хромато-масс-спектрометрию. Пер. С англ.. – М.: Мир, 1993. – 237 с.
6. Лисенко О.М., Набиванець Б.Й. Вступ до хроматографічного аналізу. Навчальний посібник. 2005. – 187 с.

## Заняття № 2

**Тема: Дослідження впливу мінеральних речовин на життєдіяльність організмів**

**Частина 1. Голодування організмів по мінеральним поживним речовинам. Надлишковий транспорт мінеральних речовин в клітини.**

**Завдання 1. Наслідки сірчаного голодування для культури клітин**

Культуру клітин ендокринної залози щура (*corpus luteum*, жовте тіло), вирощували в стандартних умовах і в умовах сірчаного голодування протягом 48 годин. Для оцінки життєспроможності, контрольні і дослідні клітини обробляли трипановим блакитним. Живі клітини з непошкодженими мембранами не пропускають цей фарбник всередину клітин, тому в результаті, забарвлюються тільки мертві клітини. В досліді підраховували кількість забарвлених клітин через 0, 24 і 48 годин сірчаного голодування. Отримані дані представлені в таблиці (по Goyeneche et al., 2006):

Таблица.

Умови культивування клітин:	Кількість мертвих клітин, %	
	24 години інкубації:	48 годин інкубації:
Контроль	2,1 ± 0,5	3,5 ± 0,7
Сірчане голодування	13,2 ± 2,3	32,7 ± 3,4

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Як впливає сірчане голодування на життєспроможність клітин?
- 2) На чому заснований метод виявлення мертвих клітин, використаний в даному дослідженні?
- 3) Чому в експерименті проводили фарбування не тільки голодних, але і контрольних (не голодних) клітин?
- 4) Чому в контрольному варіанті також виявляються мертві клітини?
- 5) Який тип програмованої смерті може запускати клітина в умовах сірчаного голодування?

**Завдання 2.** Порівняння накопичення металів дикими і трансгенними рослинами, які гіперекспресують ген транспортера важких металів у вакуоль.

М. Morel і колеги (2009) методом агробактеріальної трансформації отримали рослини арабідопсиса, в яких гіперекспресується ген AtHMA3, що кодує білок транспортера важких металів у вакуоль рослинної клітини. Дикі і трансформовані рослини арабідопсису вирощували на рідких поживних середовищах у присутності 30 мкМ кадмію протягом 11 днів. Потім рослини висушували і визначали вміст кадмію в корінні і пагонах рослин за допомогою атомно-абсорбційного аналізу. Отримані дані наведені в таблиці (по Morel et al., 2009).

Таблиця. (по Morel et al., 2009).

Лінія рослин арабідопсису:	Вміст кадмію в рослинах арабідопсису, мкг/кг сухої ваги	
	коріння:	пагони:
Дика лінія	40 ± 5	160 ± 10
Трансгенна лінія	110 ± 8	315 ± 17

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Як провести агробактеріальну трансформацію рослин арабідопсису?
- 2) Як провести експеримент, що дозволяє порівняти накопичення важких металів в тканинах рослин?
- 3) Проаналізуйте дані таблиці. В яких органах рослин найбільше накопичується кадмієм? Чому? Яка лінія – дика або трансгенна - накопичує більше кадмію? Чому?
- 4) Якщо ген AtHMA3, що знаходиться під активним 35S промотором, в природних умовах буде горизонтально перенесений в культурні сільськогосподарські рослини (за допомогою вірусів або бактерій), до яких наслідків це може призвести?
- 5) Чому не є небезпечним горизонтальне перенесення дикого гена AtHMA3?
- 6) Активність гена AhHMA3 в рослинах *Arabidopsis halleri* в 100 разів вище, ніж активність аналогічного гена (гена-ортолога) AtHMA3 в рослинах *Arabidopsis thaliana*. Яка кількість кадмію може бути накопичена листям і корінням рослин *Arabidopsis halleri* в аналогічному експерименті?
- 7) Чому така висока концентрація токсичного металу усередині клітин – не вбиває рослини?

**Завдання 3.** Псевдогени білків-транспортерів важких металів в клітині.

Робочий стан гена AtHMA3, що кодує білок-транспортер важких металів до вакуолі у рослин арабідопсису, оцінювали у 15 екотипів арабідопсису, що зростають на різних територіях. Результати досліджень наведені в таблиці (по Morel et al., 2009).

Таблиця. (по Morel et al., 2009). Стан гена AtHMA3 у рослин *Arabidopsis thaliana*, що зростають на різних територіях: робочий «+» і неробочий «-» стан гена.

Місце зростання:	Ген «+»	Місце зростання:	Ген «+»
	Псевдоген «-»		Псевдоген «-»

Беншейм, Німеччина	+	Ландсберг, Німеччина	+
Чампекс, Швейцарія	+	Фрайденсвіль, Пенсільванія	-
Колумбія, Нью Йорк	-	Остамер, Швеція	+
Острови Зеленого мису	+	Плай де Оро, Іспанія	+
Граз, Австралія	+	Річмонд, Британія	+
Грінвіль, Міссісіпі	+	Колумбія, Канада	+
Хоненсис, Денмарк	-	Тоledo, Охіо	+
Хілверсум, Нідерланди	+	ст. Василівська, Білорусь	+

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Що таке псевдоген? Як ген перетворюється на псевдоген?
- 2) Які можливі наслідки перетворення гена транспортера важких металів AtHMA3 в псевдоген для рослин арабідопсису, що виростають в Колумбії, Пенсільванії і Денмарі?
- 3) Які механізми спроможні захистити дані рослини при забрудненні навколишнього середовища важкими металами?

#### Література:

1. Goyeneche A.A., Harmon J.M., Telleria C.M Cell death induced by serum deprivation in luteal cells involves the intrinsic pathway of apoptosis // *Reproduction*. 2006. – Vol. 131. – P. 103-111.
2. Tomatsu H., Takano J., Takahashi H., Watanabe-Takahashi A., Shibagaki N., Fujiwara T. An *Arabidopsis thaliana* high-affinity molybdate transporter required for efficient uptake of molybdate from soil // *PNAS*. – 2007. – Vol. 104, No. 47. – P. 18807-18812.
3. Morel M., Crouzet J., Gravot A., Auroy P. Leonhardt N., Vavasseur A., Richaud P. AtHMA3, a P1B-ATPase allowing Cd/Zn/Co/Pb vacuolar storage in Arabidopsis // *Plant Physiology*. – 2009. – Vol. 149. – P. 894-904.

## Частина 2. Природні токсини, які порушують транспорт мінеральних речовин в клітинах.

**Завдання 1.** Два види павуків-тарантулів з південного Китаю – *Selenocosmia huwena* і *Selenocosmia hainana* – продукують отрути, які є сумішшю пептидних токсинів. Серед них дослідники за допомогою хроматографії виділили два нові нейротоксини - хьювентоксин-III і хайнантоксин-VI (Wang et al., 2010). Ці отрути викликають тимчасовий (декілька годин) параліч у комах і у щурів. R.-I. Wang з колегами (2010) виділили нервові клітини з таргана *Periplaneta americana*, помістили їх в поживне середовище і провели вивчення впливу нових отрут на роботу іонних каналів за допомогою методики петч-кламп (patch-clamp). Результати досліджень наведені в таблиці (Wang et al., 2010).

Таблиця. (по Wang et al., 2010).

Концентрація хьювентоксину-III, моль/л:	Сила струму в Na <sup>+</sup> -потенціал-залежних каналах % порівняно з контролем:
$1 \cdot 10^{-8}$	100%
$1 \cdot 10^{-7}$	96%
$1 \cdot 10^{-6}$	73%
$1 \cdot 10^{-5}$	41%
$1 \cdot 10^{-4}$	15%

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) На підставі даних таблиці, зробіть висновок про механізм дії хьювентоксину-III на нервові клітини.
- 2) Яка протиотрута може бути ефективною в даному випадку?

**Завдання 2.** Дослідження показали, що тропічні морські ціанобактерії *Lyngbya majuscula* продукують невідомий раніше нейротоксин – антилатоксин (Li et al., 2001). В культурі *in vitro* нервові клітини щура вмирають у присутності цієї отрути.

- 1) Як провести експеримент, що дозволяє встановити механізм дії цього токсину на нервові клітини?

2) Дослідження, проведені W. Li з колегами (2001) показали, що обробка клітин тетродотоксином – рятує їх від смерті, викликаній антилатоксином, а обробка батрахотоксином – прискорює смерть клітин від антилатоксину. Який механізм дії нового токсину?

**Завдання 3.** Для виявлення можливої небезпеки для людей, різні штами ціанобактерій з водосховища перевіряли на продукування ними токсинів (за допомогою хроматографії) і на наявність генів, що забезпечують синтез токсинів (за допомогою ПЛР-аналізу) (Baker et al., 2002). Результати проведених досліджень наведені в таблиці.

Дайте відповіді на наступні запитання:

1) Як провести рідинну хроматографію?

2) Як провести ПЛР?

3) Чому хроматографічний аналіз дозволяє виявити актуальну небезпеку даного штаму ціанобактерій, а ПЛР-аналіз – потенційну небезпеку? Свою відповідь підтвердите даними з таблиці.

Таблиця. (по Baker et al., 2002).

Штам ціанобактерій:	Присутність токсину за результатами хроматографії, мкг/л		Наявність гена, що відповідає за синтез токсину за результатами ПЛР-аналіза:	
	мікроцистин	сакситоксин	мікроцистину	сакситоксина
MD-34	-	-	+	-
MD-78	-	-	-	-
MD-80	-	-	-	+
MD-84	-	33	-	+
MD-87	-	5	-	+
MD-90	32	40	+	+
MD-93	1	135	+	+
MD-96	8	6	+	+
MD-103	80	4	+	+
MD-109	-	-	-	-



Рис 1. Виявлення гена мікроцистин синтази (*mcyA*) в зразках «квітучої» води і в контрольних зразках. В контрольних зразках тільки *M. aeruginosa* HCC 7806 є продуцентом мікроцистину (по Baker et al., 2002).

### Література:

1. Wang R.-I., Yi S., Liang S.-P. Mechanism of action of two insect toxins huwentoxin-III and hainantoxin-VI on voltage-gated sodium channels // Biomed & Biotechnol. – 2010. – Vol. 11, No. 6. – P. 451-457.
2. Li W.I., Berman F.W., Okino T., Yokokawa F., Shiori T., Gerwick W.H., Murray T.F. Antillatoxin is a marine cyanobacterial toxin that potently activates voltage-gated sodium channels // PNAS. – 2001. – Vol. 98, No. 13. – P. 7599-7604.
3. Baker J.A., Entsch B., Neilan B.A., McKay D.B. Monitoring changing toxigenicity of a cyanobacterial bloom by molecular methods // Applied and Environmental Microbiology. – 2002. – Vol. 68, No. 12. – P. 6070-6076.

### Заняття № 3

**Тема: Дослідження впливу органічних речовин на життєдіяльність організмів**

**Частина 1. Накопичення запасних органічних речовин організмами. Ожиріння.**

**Завдання 1.** Переселенці з Африки в США порівняно з переселенцями з Європи, в 2,5-5 разів частіше страждають на хвороби порушення обміну речовин: на ожиріння та діабет.

- 1) Як провести ДНК-мікрочіп аналіз для порівняння роботи генів у афроамериканців і євроамериканців?
- 2) Проведення такого ДНК-мікрочіп аналізу показало відмінності в роботі 151 гена. Результати аналізу частково наведені в таблиці 1 (по Schisler et al., 2009). Як відрізняється робота генів вуглеводного обміну у афро- і євроамериканців?
- 3) До яких наслідків для афроамериканців призводять виявлені відмінності в роботі генів вуглеводного обміну?
- 4) Яке пристосовне значення може мати такий вуглеводний обмін для корінного населення жарких пустель Африки?

Таблиця 1. Відмінності в роботі генів глюкозного метаболізму у афроамериканців порівняно з євроамериканцями (по Schisler et al., 2009).

Код проби:	Назва гена:	Рівень експресії у афроамериканців порівняно з євроамериканцями:
Гени первинного карбогідратного метаболізму:		
NM_000189	HK2	- 1,49
NM_002863	PYGL	-1,33
NM_005309	GPT	-1,65
NM_002633	PGM1	-2,08
Гени пентозофосфатного переходу:		
NM_002631	PGD	-1,49
Гени гликозилювання білків і ліпідів:		
NM_198596	SULF2	-1,48
NM_015892	GALAC4S-6ST	-1,30
NM_018371	ChGn	-1,32

### Література:

1. Schisler J.C., Charles P.C., Parker J.S., Hilliard E.G., Mapara S., Meredith D., Lineberger R.E., Wu S.S., Alder B.D., Stouffer G.A., Patterson C. Stable patterns of gene expression regulating carbohydrate metabolism determined by geographic ancestry // PLOS One. – 2009. – Vol. 4. e8183.
2. Olson D.P., Pulinilkunnil T., Cline G.W., Shulman G.I., Lowell B.B. Gene knockout of Acc2 has little effect on body weight, fat mass, or food intake // PNAS. - 2010. – Vol. 107, No. 16. – P. 7598-7603.

## Частина 2. Органічні токсини (отрути)

**Завдання 1.** Механізми стійкості комах до інсектицидів. Москіти *Aedes aegypti* при укусі заражають людей вірусом, що викликає жовту лихоманку. Щорічно реєструють до 100 мільйонів знов інфікованих людей. Основним методом боротьби з розповсюдженням цього захворювання є знищення дорослих москітів та їх личинок за допомогою інсектицидів. У будинках жителів французької західної Індії виявили москітів (різновид *Vauclin*), стійких до різних класів інсектицидів: піретроїдних, карбаматних і органофосфатних (див. таблицю). За допомогою біохімічних методик вивчили активність ферментів детоксикації у стійкого до отрут різновиду москітів *Vauclin* і у чутливого різновиду москітів *Bora-Bora*.

Таблиця. Дані по токсичних концентраціях двох інсектицидів, що належать до різних груп препаратів (по Marcombe et al., 2009).

Інсектицид:	Летальна концентрація препарату, LD95 (мкг/л)	
	чутливий різновид москітів <i>Bora-Bora</i> :	стійкий різновид москітів <i>Vauclin</i> :
Темефос (органофосфатний препарат)	5,7 мкг/л (5,5-6,0 мкг/л)	1000 мкг/л (870-1180 мкг/л)
Делтаметрін	55 мкг/л	4210 мкг/л



(піретроїдний препарат)	(47-69 мкг/л)	(3470-5380 мкг/л)
-------------------------	---------------	-------------------

Вивчіть метод біохімічної оцінки активності роботи ферментів детоксикації:

«...Активність ферменту детоксикації цитохром-Р450-монооксигенази оцінювали у дорослих москітів та у їх личинок. Один грам личинок на 4-ій стадії розвитку або 3-х денних дорослих москітів гомогенізували в спеціальному буфері, центрифугували і відокремлювали мікросомальну фракцію білків. Потім до 20 мкг мікросомальних білків додавали 7-етоксикумарин (субстрат) в спеціальному буфері. Інкубували протягом 15 хвилин при +30<sup>0</sup>С. За наявності активного білка цитохром-Р450-монооксигенази, субстрат перетворювався на флуоресцентний продукт – 7-гідроксикумарин (довжина хвилі екситації - 380 нм, довжина хвилі емісії – 460 нм):

[ P450]

**7-етоксикумарин → 7-гідроксикумарин (флуорохром)**

Кількість флуорохромного продукту реакції (7-гідроксикумарину), що утворюється, залежить від активності ферменту Р450. Інтенсивність флуоресценції вимірювали за допомогою спеціального спектрофлуориметра.

Активність ферменту детоксикації глутатіон-S-трансферази (GST) оцінювали таким чином: 200 мкг цитозольних білків інкубували з субстратом – 1-хлоро-2,4-динітробенzenом (CDNB) у присутності зредукованого глутатіона. У присутності активного ферменту GST утворюється флуоресцентний продукт реакції...». Дані кількісного біохімічного аналізу наведені в таблиці (по Marcombe et al., 2009).

Таблиця. (по Marcombe et al., 2009).

Ферменти детоксикації:	Конститутивна активність ферментів детоксикації, мкмоль/мг білку/хвил			
	у личинок москітів		у дорослих москітів	
	різновид <i>Bora-Bora</i> :	різновид <i>Vauclin</i> :	різновид <i>Bora-Bora</i> :	різновид <i>Vauclin</i> :
P450, Cytochrome P450 monooxygenases	90 ± 5	145 ± 7	95 ± 6	171 ± 10
GST, Glutathione-S-transferases	204 ± 6	290 ± 15	194 ± 8	300 ± 11

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Який принцип використовується для оцінки активності ферментів в живих організмах?
- 2) На підставі результатів проведених біохімічних досліджень поясніть причини стійкості москітів різновиду *Vauclin* до інсектицидів.
- 3) Як Ви думаєте, чому стійкий різновид москітів з'явився в будинках людей, а не в природніх умовах? Які можливі механізми появи стійкості даного типу?

#### Література:

1. Marcombe S., Poupardin R., Darriet F. et al. Exploring the molecular basis of insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti*: a case study in Martinique island (French West Indies) // BMC Genomics. – 2009. 10:494.

#### Заняття № 4

**Тема: Методика тестування харчових домішок та інших органічних речовин на токсичність і мутагенність**

#### Теоретичні відомості.

Нові харчові добавки, фарбники, ароматизатори, стабілізатори, консерванти і т.п. перед впровадженням у виробництво обов'язково проходять контроль на токсичність і мутагенність. Як правило, використовуються наступні тестові системи: (а) лабораторні тварини (щури, миші, хом'яки, морські свинки); (б) культура клітин людини, тварин і рослин *in vitro*; (в) культура клітин бактерій *in vitro*: бактерії кишкової мікрофлори людини, спеціальні мутантні штами бактерій, які є гіперчутливими до певних типів мутагенів.

**Метод культури клітин *in vitro*.** Клітини організму здатні жити поза організмом на спеціальних поживних середовищах (рідких або твердих), які містять воду, мінеральні хімічні елементи, цукор, гормони, вітаміни і т.п. Метод культури клітин дозволяє вивчати живі клітини, їх поведінку за межами організму. Така модельна система зручна для проведення медичних, екологічних, біотехнологічних і т.п. досліджень. При тестуванні нових харчових або косметологічних препаратів на їх токсичність, оцінюється відсоток клітин, що вижили на поживних середовищах після додавання до них речовини, яка тестується.

Метод 1. Виявлення мертвих клітин в культурі *in vitro* в ході експериментального тестування речовин на токсичність. До поживних середовищ, на яких культивують клітини людини, додають тестовану речовину в різних концентраціях. Після періоду інкубації, який становить 24, 48 і 72 години – відбирають зразки клітин і проводять специфічне фарбування, що дозволяє відрізнити живі клітини від мертвих. На сьогоднішній день використовується три основні принципи фарбування клітин:

а) до культурального середовища додають розчин спеціального флуоресцентного фарбника, який входить в клітини і вибірково забарвлює живі мітохондрії (тобто мітохондрії, у яких на мембранах підтримується високий мембранний потенціал). Клітини з незабарвленими мітохондріями – мертві. Для такого типу фарбування, як правило, використовують фарбник DiOC6 та ін. препарати з аналогічним механізмом дії (Рис. 1);

б) до культурального середовища додають розчин фарбника, який вибірково зв'язується з особливим фосфоліпідом – фосфатидил серином. Цей фосфоліпід в живих клітинах знаходиться тільки на внутрішній поверхні плазматичної мембрани, тому, дана група фарбників ніколи не забарвлює мембрани живих клітин. Проте, вмираючі клітини виводять на зовнішню мембрану цей фосфоліпід, тому мембрани вмираючих клітин починають забарвлюватись фарбниками даної групи. Для такого типу фарбування, як правило, використовують АннексинV–ФІЦ\* та ін. препарати з аналогічним механізмом дії (Рис. 2).

в) до культурального середовища додають фарбник, який ніколи не входить в середину живих клітин внаслідок вибіркової проникності плазматичної мембрани. Вмираючі і мертві клітини втрачають напівпроникність плазматичної мембрани і фарбник вільно входить в клітини та, накопичується в ядрі; для такого типу фарбування, як правило, використовують фарбники пропідіум йодид та ін. препарати з аналогічним механізмом дії (Рис. 3).

Метод 2. Тестування нових харчових або косметологічних препаратів на їх мутагенність

Мутації бувають точковими і програмними. Точкова мутація – це точкова заміна одного нуклеотида на інший в молекулі ДНК. Така заміна призводить до того, що закодований в даній ділянці ДНК білок або не синтезується взагалі, або синтезується його видозмінена форма, яка або не може виконувати свої функції, або виконує їх не правильно. Наприклад, фенілкетонурія – це захворювання, яке супроводжується розвитком розумової недостатності у дитини. Причина розвитку захворювання – надмірне накопичення в клітинах амінокислоти фенілаланіну внаслідок дисфункції білка, що забезпечує розщеплення цієї амінокислоти. Причина дисфункції даного білка – точкова мутація.

Програмна мутація – це перемикання програми роботи організму або програми його розвитку, викликане сильним стресом. Згідно дослідженням, проведеним Стюартом Кауфманом (США), всі складні системи можливо розділити на три типи:

а) складні системи з невеликою кількістю регуляторів їх роботи: якщо така система при стресі виходить зі стану рівноваги, то після зняття стресу система повертається в початковий рівноважний стан;

б) складні системи з дуже великою кількістю регуляторів їх роботи: якщо така система при стресі виходить зі стану рівноваги, то після зняття стресу система не може повернутись в рівноважний стан і руйнується;

в) складні системи з деякою певною кількістю регуляторів їх роботи: якщо така система при стресі виходить зі стану рівноваги, то після зняття стресу система приходить в стан рівноваги, проте –

це інший рівноважний стан, відмінний від початкового (тобто змінюється програма роботи системи).

Дослідження С. Кауфмана показали, що біологічні системи відносяться до систем третього типу, і, таким чином, після припинення дії достатньо сильного стресора, клітинні системи організму повертаються не в початковий, а у видозмінений рівноважний стан, який, як правило, в цілому, погіршує функціонування організму.

Стандартні методики для вивчення потенційної мутагенної дії речовин:

а) об'єкт дослідження - клітини людини, тварин і рослин в культурі *in vitro*, що діляться (для цих цілей використовують клітини кісткового мозку, фібробласти і др). В культуру клітин вносять тестовану речовину і після певного періоду інкубації проводять тотальне або диференційне забарвлення хромосом. Поява на мікропрепаратах хромосомних мостів, відривів хромосом, мікроядер, зміна характеру смужок забарвлення хромосом свідчить про мутагенну дію тестованої речовини.

б) об'єкт дослідження - спеціальні штами бактерій, дефектні за ферментами репарації ДНК. Якщо речовина, яка тестується, є мутагеном певного типу, то після обробки цього штаму бактерій даним препаратом – бактерії гинуть внаслідок накопичення в їх клітинах значної кількості пошкоджень молекул ДНК.

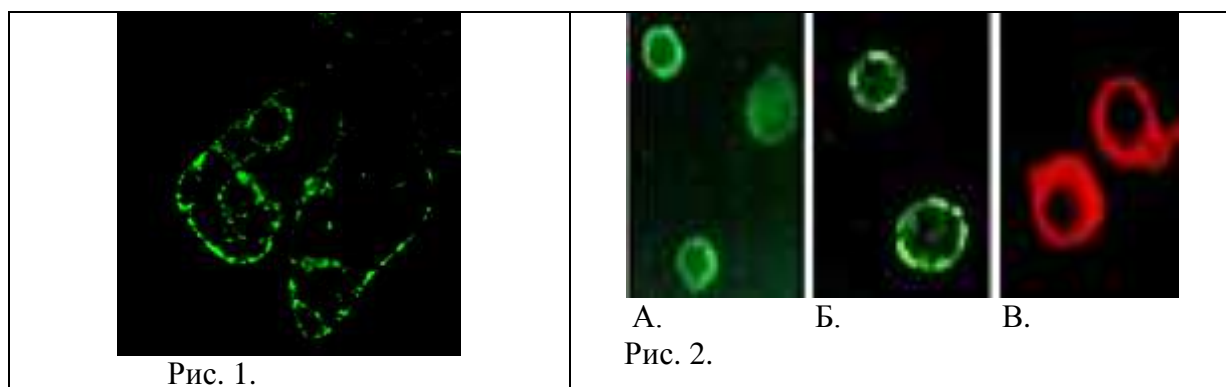


Рис. 1. В живих клітинах суспензійної культури тютюну *Nicotiana tabacum* (лінія ВУ-2) фарбник DiOC6(3) забарвлює мітохондрії.

Рис. 2. Вмираючі клітини на поверхні плазматичної мембрани експонують фосфоліпід – фосфатидил серин, який вибірково пізнається молекулами аннексина. Забарвлення вмираючих клітин за допомогою: А - Аннексина V-FITC\*; Б - Аннексина V-EGFP\*; В - Аннексина V-Cy3\*.

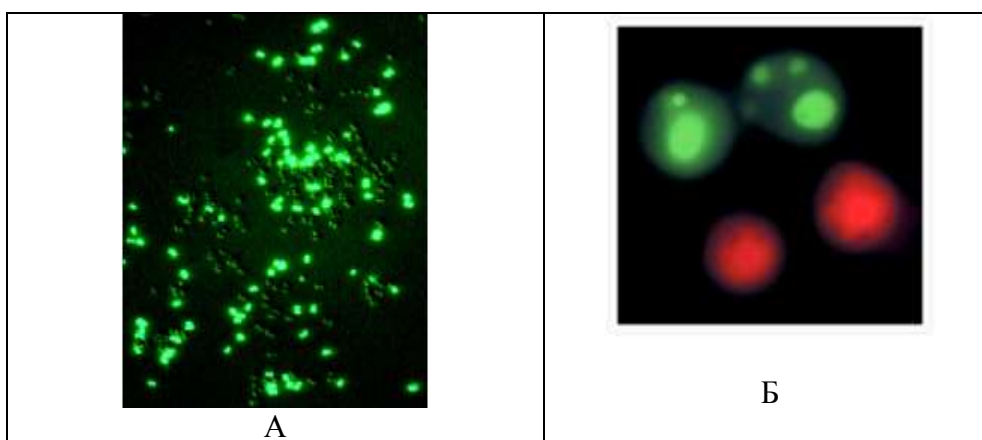


Рис. 3. Мікроскопічні методи виявлення мертвих клітин. А – Змішана популяція живих і вбитих ізопропіловим спиртом клітин бактерій *Micrococcus luteus*, забарвлених ядерним фарбником SYTOX Blue. Цей фарбник не проникає крізь плазматичну мембрану живих клітин. На мікропрепараті яскраво флуоресціюють мертві клітини. Б – Культуру клітин *Jurkat cells* обробили токсином каптотецином для індукції подій програмованої загибелі клітин. Клітини з апоптозними ядрами забарвлені YO-PRO-1

фарбником (зелена флуоресценція). Клітини з некротичними ядрами забарвлені пропідіумом йодидом (червона флуоресценція).

#### Перелік питань для підготовки до семінарського заняття:

- 1) Типи токсичних речовин. Поняття летальної та напівлетальної концентрації речовини.
- 2) Метод виявлення мертвих клітин в культурі *in vitro* в ході експериментального тестування речовин з невідомим механізмом дії на їх токсичність.
- 3) Типи мутагенних речовин. Точкові і програмні мутації.
- 4) Методи тестування нових харчових або косметологічних препаратів на їх мутагенність

#### **Література:**

1. Никитина Е.В., Решетник О.А. Биобезопасность пищевых продуктов: Учебное пособие. КГТУ, 2006. – 90 с.
2. Биологический контроль окружающей среды: генетический мониторинг: Учебное пособие для студ высш. проф. образования / С.А. Гераськин, Е.И. Сарапульцева, Л.В. Цаценко и др.; под ред С.А. Гераськина и Е.И. Сарапульцевой. – М.: Издательский центр «Академия», 2010. – 208 с.
3. Коросов А.В., Калинкина Н.М. Количественные методы экологической токсикологии: учебно-методическое пособие. ПетрГУ, Кнц. – Петрозаводск, 2003. – 56 с.
4. Незнамова Е.Г. Экологическая токсикология. Томск, 2007. – 133 с.
5. Оценка мутагенной активности химических веществ микроядерным методом. – М.: МЗ СССР, 1984. – 13 с.

#### **Заняття № 5**

#### **Тема: Методи виявлення трансгенних компонентів в продуктах харчування**

##### **Теоретичні відомості.**

Отримання генетично модифікованих організмів. На сьогоднішній день повністю розшифровані послідовності ДНК людини, арабідопсису, рису та інших організмів. Генний банк може надати інформацію про будову практично будь-якого гену (тобто його повну нуклеотидну послідовність). Для синтезу гена-інтересу, в прилад ДНК-синтезатор вводиться програма збірки нуклеотидів і чотири типи нуклеотидів: аденін, гуанін, тимін, цитозін. Через декілька годин прилад видає готовий ген. NB: у програму збірки гену обов'язково вводиться стартова і стоп ділянка для коректного прочитування гена. Слід зазначити, що для отримання активної конститутивної експресії гена-інтересу, в якості промотору використовують послідовності вірусних промоторів або промотори генів, які активно конститутивно експресуються в клітинах даного організму (як правило, це промотори генів білків цитоскелету – тубуліна або актину).

Ген-інтереса вбудовують в клітини нового господаря за допомогою вектора. Вектор – це, як правило, вірус або бактеріальна плазміда, які можуть вбудовуватися в клітини даного типу. Перед проведенням генно-інженерних робіт з вектора видаляють послідовності, що забезпечують патогенність даного вектора. Наприклад, з бактеріальної Ті-плазміди видаляють гени синтезу опінів, ауксинів, цитокінінів і т.п.

Вектор вводять в клітини нового господаря або шляхом простого інфікування організму, або за допомогою методів мікроін'єкції, електоропорації, мікробомбардмента.

##### Сфери застосування генно-інженерних технологій.

- 1) У наукових дослідженнях. Наприклад, для вивчення роботи генів білків часу в біологічному годиннику і ін.
- 2) У прикладних дослідженнях. Наприклад, для створення бактерій-біосенсорів забруднення навколишнього середовища нафтопродуктами, важкими металами і т.п.
- 3) У біотехнології. Наприклад, для отримання великих кількостей корисних білків: інсуліну, інтерферону, гормону росту, білкових вакцин, білків згортання крові і т.н.

4) У тваринництві, птахівництві, рибному господарстві і т.д. Наприклад, для отримання курей, стійких до вірусних хвороб, лососевих риб гігантського розміру, корів, що продукують молоко, яке не містить молочний цукор лактозу і т.н.

5) У сільському господарстві. Наприклад, для отримання рослин стійких до гербіцидів, до комах-шкідників, до заморозків і т.н.

#### Небезпека генно-інженерних робіт.

А) Під час синтезу і перенесення генів – можлива поява поломок в ДНК (точкових мутацій). В результаті, продукт роботи гена може стати небезпечним для організму. Крім того, в процесі синтезу білка-інтересу в чужому організмі можливий інший характер пост-трансляційного дозрівання білка-інтересу, що також може призвести до отримання токсичного продукту.

Наприклад: у 1989 році в США померли 33 людини і ще 1537 людей стали інвалідами (повний параліч рук і ніг), унаслідок використання в їжу амінокислотної добавки, синтезованої генетично-модифікованими бактеріями.

Наприклад: методами генної інженерії отримана Vt-кукурудза, стійка до комах-шкідників, в наслідок вбудовування в геном рослини гена-токсину з ґрунтової бактерії *Bacillus thuringiensis*. Цей токсин зв'язується з рецепторами епітеліальних клітин шлунково-кишкового тракту комах і утворює в мембранах дірки, що призводить до загибелі комах. Токсин видо-специфічен: одні штами *B. thuringiensis* продукують отруту проти жуків, другі – проти ос, треті – проти мурашок і тому подібне. Ця отрута, що синтезується в природних умовах ґрунтовими бактеріями, не пошкоджує клітини тварин. Проте, згодовування трансгенної кукурудзи, що синтезує дану отруту, лабораторним мишам призвело до розвитку патології печінки і нирок у піддослідних тварин.

Наприклад: рослини квасолі не пошкоджуються комахами внаслідок синтезу в клітинах квасолі специфічного глікопротеїну. Генно-інженерне перенесення гену цього глікопротеїну в клітини гороху дозволило отримати рослини гороху, стійкі до пошкодження комахами. Проте, згодовування трансгенного гороху лабораторним мишам призвело до загибелі тварин внаслідок розвитку гіпер-алергічної реакції.

Б) При отриманні трансгенних організмів, ген-інтереса переноситься в клітини нового господаря за допомогою вірусних або бактеріальних векторів. Вектор, як правило, не спроможний до саморозмноження в клітинах нового господаря, оскільки перед проведенням генно-інженерних робіт з нього віддаляються ділянки, що відповідають за самокопіювання. Більш того, сучасні вектори після вбудовування в ДНК нового господаря спроможні вищеплювати ділянки, що відповідають за вбудовування в ДНК, і, таким чином, ген-інтереса перестає бути мобільним елементом, який здатний переміщуватись по молекулі ДНК і викликати її пошкодження. Проте, годування лабораторних мишей трансгенною соєю призвело до безпліддя популяції вже в другому поколінні. Причина зупинки репродуктивного циклу – накопичення пошкоджень в молекулах ДНК. Загадка була вирішена в ході нещодавніх досліджень, які показали, що промотор, який широко використовується в генній інженерії рослин, - промотор вірусу мозаїки цвітної капусти – сам поводить як активний мобільний генетичний елемент.

#### Етапи проведення аналізу харчових продуктів або тканин організмів на присутність трансгенних компонентів.

1) З рослинних або тваринних тканин виділяють ДНК.

2) Виділену ДНК ріжуть на фрагменти за допомогою спеціальних ферментів-рестриктаз.

3) З отриманими фрагментами молекул ДНК проводять ПЛР-реакцію. При цьому в якості ДНК-затравки використовується ділянка ДНК, комплементарна ділянці генно-інженерної конструкції. Якщо в тканинах, які досліджуються, присутні трансгенні компоненти, то в ході ПЛР-реакції відбувається вибіркоче накопичення цих фрагментів.

4) Після проведення ПЛР-реакції пробу розділяють на окремі ДНК-фрагменти за допомогою гель-електрофорезу. Оскільки молекули ДНК заряджені негативно, то під дією електричного поля фрагменти ДНК починають рухатись до «+» зарядженого електроду. Чим важчим є фрагмент ДНК, тим повільніше він рухається в електричному полі. Таким чином, в результаті проведення гель-електрофорезу, фрагменти ДНК розділяються по масі.

5) Пластинку гель-електрофореза забарвлюють бромистим етидієм і досліджують в ультрафіолетовому світлі. В якості контролю використовуються фрагменти ДНК, що не пройшли ПЛР-ампліфікацію. Надмірне накопичення фрагментів ДНК певної маси порівнянно з контрольною доріжкою свідчить про присутність трансгенного матеріалу в пробі, яка досліджувалась.

Перелік питань для підготовки до семінарського заняття:

- 1) Синтез гена-інтересу. Поняття промотора. Типи промоторів.
- 2) Вектор. Типи векторів.
- 3) Методи перенесення генно-інженерної конструкції в клітини нового хазяїна.
- 4) Використання трансгенних організмів в медицині, біотехнології, сільському господарстві, тваринництві, птахівництві, тощо.
- 5) Небезпека споживання трансгенних продуктів харчування.
- 6) Метод виявлення трансгенних компонентів в продуктах харчування.
- 7) Принципи, на яких засновано проведення полімеразної ланцюгової реакції.
- 8) Проаналізуйте пластинки гель-електрофорезу фрагментів ДНК, виділеної з рослин (Рис. 1). Який зразок містить трансгенні продукти?

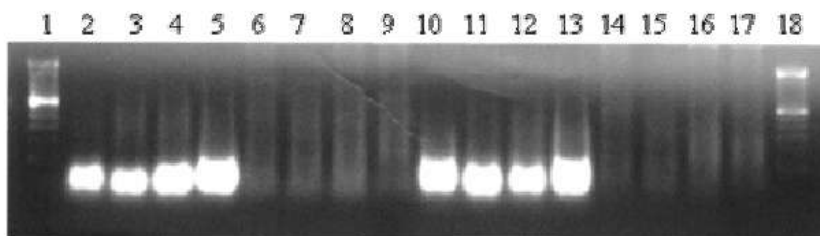


Рис. 1. Гель-електрофорез фрагментів ДНК з різних ліній кукурудзи. Перед проведенням електрофорезу, зразки ДНК пройшли ПЛР ампліфікацію з ДНК-затравкою, що виявляє ген *Bt* з бактерій *Bacillus thuringiensis*. Продукт даного гена забезпечує синтез білка, токсичного для шкідників кукурудзи, але, теоретично, безпечного для людей. Лінії кукурудзи 6-9 і 14-17 – не містять трансгенних компонентів. Лінії кукурудзи 2-5 і 10-13 – містять чужорідний ген. Лінії 1 і 18 – стандарти (по Danson et al., 2006).

### Література:

1. Danson J.W., Kimani M., Mbogori M. Detection of *Bacillus thuringiensis* genes in transgenic maize by the PCR method and FTA paper technology // African. J. Biotechn. – 2006. – Vol. 5(22). – P. 2345-2349.
2. Глазко В.И., Глазко Г.В. Введение в генетику, биоинформатика, ДНК-технология, генная терапия, ДНК-экология, протеомика, метаболика. / Под ред проф. Т.Т. Глазко. – К.: КВЦ, 2—3. – 640 с.
3. Сорочинський Б.В., Данильченко О.О., Кріпка Г.В. Біотехнологічні (генетично-модифіковані) рослини. – Київ: КВЦ, 2006. – 220 с.
4. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная біотехнологія. Принципы и применение. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
5. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Біотехнологія рослин: Підручник. – К.: ПоліграфіяКонсалтинг, 2003. – 520 с.
6. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Учеб.-справ. Пособие. / Сибирское университетское издательство, 2004. – 496 с.

### Заняття № 6

#### Тема: Методи дослідження гіпоксії

Завдання 1. Гіпоксія у тварин. Вивчіть методику проведення гіпоксичних експериментів на щурах (див. нище) і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Для чого в схемі експерименту передбачено знаходження в камері лужного поглинача?
- 2) Що може відбутися з випробовуваними тваринами при недотриманні швидкості компресії і декомпресії?
- 3) Як провести експеримент для вивчення гострої і хронічної гіпобаричної гіпоксії?  
«...Моделювання гіпобаричної гіпоксії здійснювали в проточній камері, забезпеченій манометром і запобіжним клапаном, а також – оглядовим віконцем. Для поглинання вуглекислого газу, що

видихається тваринами, до камери вносили лужний поглинач. Швидкість компресії і декомпресії – 0,005 МПа/хвил. При гострій гіпоксії в камері створювали атмосферний тиск 0,029 МПа, що відповідало «підйому» на висоту 9000 м над рівнем моря. Час експозиції 3 години. Періодичній гіпоксії, яка відповідає висоті 5000 м над рівнем моря (0,054 МПа), тварин піддавали щодня по 4 г протягом 3 і 10 діб. Заздалегідь тварин «підіймали» на висоту 2000 м і 4000 м...».

**Завдання 2. Гіпоксія у рослин.** Вивчіть методику проведення гіпоксичних експериментів на рослинах: «...Для з'ясування адаптивних можливостей сіянців модрина сибірської в умовах кореневого анаеробіозу був проведений вегетаційний дослід, в якому вивчали вплив затоплення коріння рослин на активність ряду ферментів у пагонах і корінні сіянці. Об'єктом дослідження служили сіянці модрина сибірської, вирощені в звичайному вегетаційному досліді. У піддослідних рослин, коріння 15-денних проростків було повністю затоплене впродовж всього експерименту. В якості контрольних використовували рослини, що виростили при 60-70%-й вологості від повної вологості ґрунту. Дослід проводили в умовах природного освітлення. Активність ферментів визначали спектрофотометрично у відповідних буферних екстрактах тканин. Дані по накопиченню етанолу в тканинах контрольних та експериментальних рослин наведені у таблиці...» (Романова, 2004).

Проаналізуйте дані таблиці і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Про що свідчить накопичення етанолу в органах рослин?
- 2) Які органи рослини більше накопичують етанолу і чому?
- 3) Як впливає тривалість підтоплення рослини на кількість етанолу в його органах?

Таблиця. Вміст етанолу в органах сіянців модрина в умовах затоплення, мкМ/г сухої речовини (Романова, 2004)

Дні затоплення:	Орган	Контроль	Дослід	% від контролю
12 днів	Коріння	1,2 ± 0,18	2,1 ± 0,14	175,0
	Стовбур	0,6 ± 0,03	1,2 ± 0,09	200,0
	Хвоя	1,3 ± 0,11	1,4 ± 0,12	107,0
35 днів	Коріння	2,5 ± 0,13	6,1 ± 0,17	244,0
	Стовбур	0,9 ± 0,05	2,6 ± 0,21	288,8
	Хвоя	1,7 ± 0,12	1,9 ± 0,14	111,8

**Завдання 3. Гіпоксія клітин ссавців в культурі *in vitro*.** Вивчіть методику постановки гіпоксичного експерименту в культурі клітин ссавців *in vitro* (див. нище) і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Як провести експеримент по дослідженню впливу гіпоксії на клітини в культурі *in vitro*?
- 2) Які переваги та недоліки має даний метод порівняно з роботою з тваринами?
- 3) Як провести експериментальне тестування лікарських протиішемічних (тобто протигіпоксичних) препаратів на культурі клітин *in vitro*?

«...Гіпоксія неонатальних кардіоміоцитів щурів в експериментальних умовах відтворювалась заміною кисню в культуральному середовищі інертним газом (N<sub>2</sub> 95%, CO<sub>2</sub> 5%) на 60, 120 і 180 хвил культивування в середовищі з обмеженням культурального об'єму (у 2 рази) і сироватки (1% телячої сироватки). У кожній групі експериментів проведено по 10-15 спостережень. В якості контролю використовували неонатальні кардіоміоцити, отримані методом ферментативної дисоціації фрагментованих шлуночків щурів і культивовані в середовищі з додаванням 5% телячої сироватки. Механізми дії цитофлавина і неотону вивчали на моделі гострої гіпоксії культури в процесі додавання препаратів в середовище культивування за дві доби до експерименту і потім щодня - неотону в дозі 0,2 міліграм/мл або цитофлавину в дозі 2 мкг/мл середовища. В експериментах з хронічною гіпоксією препарати додавалися щодня протягом 7 діб культивування. Зміна середовища проводилася 1 раз в 2-3 діб. Результати проведених досліджень наведені в таблиці...» (Бульйон і ін., 2006).

**Завдання 4.** Проаналізуйте фрагмент із звіту «Про стан навколишнього середовища в Херсонській області» за 2009 рік. У чому причина масової загибелі товстолобика і коропа? Обґрунтуйте Вашу відповідь. «...В травні 2009 року у зв'язку із загибеллю товстолобика і коропа відділом інструментально-лабораторного контролю Державної екологічної інспекції проведено відбір проб в пониззях Дніпра (Збур'євський Кут і р. Кошовий) і в Дніпро-Бузькому лимані (с. Софіївка і с. Широка Балка) на чотирьох ділянках. Виявлено перевищення гранично допустимих концентрацій (ГДК) для рибогосподарських водоймищ за вмістом загального заліза (до 1,8 разів), БСК (до 5,6 разів). На трьох ділянках спостерігався підвищений рівень рН (до 8,83 одиниць рН). Фахівцями обласної санітарно-епідеміологічної станції і обласної державної лабораторії ветеринарної медицини проведені іхтіопатологічні і токсикологічні дослідження проб загиблої риби. Перевищення вмісту важких металів і пестицидів в тканинах і органах не виявлено...».

**Завдання 5.** Використовуючи дані таблиці, поясните, в чому полягає причина літніх заморів риби у водоймищах? А в чому полягає причина зимових заморів риби?

Таблиця.

Температура, °С	Розчинність кисню у воді, міліграми/л	Розчинність вуглекислого газу у воді, міліграми/л
0° З	69,48	3347
10° З	53,70	2319
20° З	43,39	1689
40° З	30,81	974

#### Література:

1. Романова Л.І. Метаболічна реакція сіянцив модрина сибірської на затоплення коріння // Лісознавство. – 2004. - № 1. - С. 31-37.
2. Бульон В.В. і ін. Оцінка метаболічних змін при гіпоксії на молекулярно-клітинному рівні і можливості їх медикаментозної корекції // Медичні науки. 2006. № 12. - С. 29-32.

#### Заняття № 7

#### Тема: Дослідження впливу температури навколишнього середовища на живі організми

**Завдання 1.** Личинки яблуневої молі *Cydia pomonella* здатні витримувати дуже суворі зими. Для вивчення механізмів морозостійкості, личинки яблуневої молі збирали в садах в різні пори року і переносили в лабораторію для проведення експериментальних досліджень. Результати проведених робіт наведені в таблиці (по Khani et al., 2007).

Таблиця. Вплив 24-годинної експозиції при температурі -20°С на виживання личинок яблуневої молі, зібраних в різні пори року (по Khani et al., 2007).

Час збирання личинок:	Кількість личинок, що вижили %	Вміст цукру трегалози в личинках, міліграм/грам свіжої ваги личинки
Серпень	0,0 ± 0,0	4,8 ± 1,5
Листопад	40,0 ± 4,2	7,4 ± 1,0
Січень	56,3 ± 4,2	18,4 ± 0,8

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Як залежить кількість личинок, що вижили при T= -20°С, від пори року збирання личинок? З чим пов'язана така закономірність?
- 2) Які типи молекул-антифризів Вам відомі?
- 3) Як молекули антифризів захищають клітини від низьких негативних температур?
- 4) У чому причина стійкості осінньо-зимових личинок до сильних заморозків?



**Завдання 2.** У теплолюбні рослини тютюну (*Nicotiana tabacum*) методами генної інженерії був вбудований ген AFP з рослин моркви (*Daucus carota*). Цей ген кодує білок-антифриз, який забезпечує морозостійкість даної рослини (по Fan et al., 2002). У теплолюбні рослини томатів методами генної інженерії був перенесений ген *afa3*, що кодує білок-антифриз з арктичної камбали (*Pseudopleuronectes americanus*). Цей білок забезпечує стійкість риб до значних морозів (цитовано по Lemaux, 2008). Дослідження показали, що білок-антифриз в отриманих трансгенних рослинах томату синтезувався, проте, рослини стійкості до замороження не придбали. Виявилось, що в рослинах томату з білка-попередника не вирізувалися пробілкові послідовності. Тому надалі, методами генної інженерії з гена білка-антифризу арктичної камбали видалили про-послідовності і такий оптимізований ген вбудували в геном ранньої пшениці (Khanna & Daggard, 2006).

Для доказу формування морозостійкості у отриманих трансгенних рослин, був проведений тест на наявність пошкоджених клітин після низькотемпературного стресу. Відомо, що у чутливих до заморожувань організмів, при негативних температурах навколишнього середовища в клітинах утворюються кристали льоду, які пошкоджують клітинні мембрани. Після відтавання – вміст таких клітин виливається крізь розриви в мембрані. Під час експериментів дослідники порівнюють електропровідність двох розчинів: а) електропровідність розчину, в якому знаходилося листя рослин, під час дії на них низьких негативних температур (S1); б) електропровідність розчину, в якому знаходилося повністю пошкоджене листя даної рослини (наприклад, після їх кип'ятіння) (S2). Якщо рослина сильно пошкоджується при заморожуванні, то величина S1 буде близькою до величини S2, і обчислення за розрахунковою формулою дасть ступінь пошкоджень близьку до 100%:

$$L = \frac{S1}{S2} \cdot 100\%$$

Де L – коефіцієнт виходу електролітів з клітин %. Отримані результати досліджень внесені до таблиці.

Таблиця.

Досліджені рослини:	Коефіцієнт виходу електролітів з клітин, $L = S1/S2 \cdot 100\%$	
	при $T = +25^{\circ}\text{C}$	при $T = -2^{\circ}\text{C}, 2 \text{ год}$
Вихідні теплолюбні рослини тютюну	$1,7 \pm 0,3$	$75,2 \pm 15,1$
Трансгенні рослини тютюну з геном білка-антифризу з моркви	$1,9 \pm 0,8$	$31,4 \pm 12,7$
Вихідні теплолюбні рослини томату	$1,1 \pm 0,7$	$81,6 \pm 19,3$
Трансгенні рослини томату з геном білка-антифризу з арктичної камбали	$1,6 \pm 0,5$	$84,9 \pm 17,2$
Вихідні морозочутливі рослини ранньої пшениці	$0,9 \pm 0,3$	$69,4 \pm 11,2$
Трансгенні рослини ранньої пшениці з оптимізованим геном білка-антифризу з арктичної камбали	$0,8 \pm 0,2$	$12,7 \pm 2,5$

Проаналізуйте дані таблиці і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Чому в контрольних умовах, при  $T = +25^{\circ}\text{C}$ , у листя рослин коефіцієнт виходу електролітів не дорівнює нулю?
- 2) Чому після інкубації листя рослин при  $T = -2^{\circ}\text{C}$  протягом 2 годин коефіцієнт виходу електролітів з клітин збільшується порівняно з інкубацією листя при  $T = +25^{\circ}\text{C}$ ?
- 3) Яка з отриманих трансгенних рослин, згідно з результатами тесту, придбала стійкість до заморожування? Чому перші досліди перенесення гена від арктичної камбали до рослин - виявилися не ефективними?
- 4) Чому в умовах експериментального замороження навіть у стійких до замороження рослин коефіцієнт виходу електролітів є достатньо високим? У якому випадку значення цього коефіцієнта при  $T = +25^{\circ}\text{C}$  і при  $T = -20^{\circ}\text{C}$  – будуть однаковими?

**Завдання 3.** Вплив підселення симбіотичних ризобактерій *Burkholderia phytofirmans* на холодостійкість рослин винограду.

Відомо, що симбіотичні гриби і бактерії підвищують холодостійкість своїх господарів, виділяючи регуляторні речовини, які активують захисні механізми організму-господаря. Рослини винограду відрізняються високою чутливістю до холоду. Деякі сорти гинуть при зниженні температури повітря до +4<sup>0</sup>С.

В ході експерименту рослини винограду були заражені симбіотичними ризобактеріями *Burkholderia phytofirmans*. Стійкість вихідних і експериментальних рослин винограду до низьких позитивних температур перевіряли за допомогою методу аналізу виходу електролітів з клітин. Результати проведених досліджень наведені в таблиці (по Barka et al., 2006).

Таблиця. Вплив низьких позитивних температур на вихід електролітів з клітин вихідних і експериментальних проростків винограду (по Barka et al., 2006).

Рослини винограду:	Обробка:	Вихід електролітів (% від загального вмісту електролітів в клітинах)
Вихідні контрольні	+26 <sup>0</sup> С	13,00 ±1,07
	+4 <sup>0</sup> С	39,00 ±2,79
Заражені симбіотичними бактеріями	+26 <sup>0</sup> С	14,00 ±1,12
	+4 <sup>0</sup> С	19,05 ±2,15

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Як провести експеримент по аналізу виходу електролітів з клітин?
- 2) Проаналізуйте дані таблиці. Чому в умовах оптимальних температур (+26<sup>0</sup>С), у рослин винограду вихід електролітів з клітин не дорівнює нулю?
- 3) На підставі даних по величині виходу електролітів з клітин, зробіть висновок про те, які рослини більше ушкоджуються при низьких позитивних температурах (+4<sup>0</sup>С) – контрольні або заражені симбіотичними бактеріями?
- 4) У чому причина виявлених відмінностей в чутливості до холоду у вихідних і заражених симбіотичними ризобактеріями рослин винограду?

**Завдання 4.** Оцінка стану коралів Великого бар'єрного рифу (Австралія) по інтенсивності флуоресценції хлорофілу. В районі Великого бар'єрного рифу з глибини 0,5-1 м були підняті гілочки колоній коралів *Stylophora pistillata* (Jones et al., 1998). Гілочки завдовжки 50-60 мм були вмонтовані в пластикові носії і залишені на глибині 2 м в лабораторній лагуні на ніч. Експеримент проводили протягом 4-х годин у великому акваріумі, в якому за допомогою акваріумних нагрівачів підвищували температуру води до +28<sup>0</sup>С, +30<sup>0</sup>С, +32<sup>0</sup>С, +34<sup>0</sup>С. Флуоресценцію хлорофілу коралових поліпів, що експонувались при різних температурах, вимірювали за допомогою флуориметра. Результати досліджень наведені в таблиці (по Jones et al., 1998).

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Що таке флуоресценція?
- 2) Як отримати показник нульової флуоресценції F<sub>0</sub>? Який фізичний зміст має показник F<sub>0</sub>?
- 3) Як отримати показник максимальної флуоресценції F<sub>m</sub>? Який фізичний зміст має показник F<sub>m</sub>?
- 4) Як обчислити показник варіабельної флуоресценції хлорофілу F<sub>v</sub>?
- 5) Як обчислити активність роботи фотосистеми II?
- 6) Чому даний метод дозволяє обчислити активність роботи фотосистеми II, а не фотосистеми I?
- 7) Проаналізуйте дані таблиці. Як впливає підвищення температури навколишнього середовища на активність роботи фотосистеми II?
- 8) Чому підвищення температури навколишнього середовища інгібує роботу фотосистеми II?

Таблиця. Вплив температури води на активність роботи фотосистеми II у коралових поліпів *Stylophora pistillata* (по Jones et al., 1998).

Температура води:	Активність роботи фотосистеми II коралів (F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub> )
+28 <sup>0</sup> С	0,55 ± 0,02
+30 <sup>0</sup> С	0,56 ± 0,02

+32 <sup>0</sup> C	0,47 ± 0,04
+34 <sup>0</sup> C	0,35 ± 0,05

### Література:

1. Khani A., Moharramipour S., Barzegar M. Cold tolerance and trehalose accumulation in overwintering larvae of the codling moth, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) // Eur. J. Entomol. – 2007. – Vol. 104. – P. 385-392.
2. Fan Y., Liu B., Wang H., Wang S., Wang J. Cloning of an antifreeze protein gene from carrot and its influence on cold tolerance in transgenic tobacco plants // Plant Cell Rep. – 2002. – Vol. 21. – P. 296-301.
3. Lemaux, P. Genetically Engineered Plants and Foods: A Scientist's Analysis of the Issues (Part I) // Annual review of plant biology. – 2008. – Vol. 59. – P. 771–812.
4. Khanna H.K., Daggard G.E. Targeted expression of redesigned and codon optimised synthetic gene leads to recrystallisation inhibition and reduced electrolyte leakage in spring wheat at sub-zero temperatures // Plant Cell Reports. 2006. – Vol. 25, No. 12. – P. 1336-1346.
5. Barka E.A., Nowak J., Clement C. Enhancement of chilling resistance of inoculated grapevine plantlets with a plant growth-promoting rhizobacterium, *Burkholderia phytofirmans* strain PSJN // Appl. Environm. Microbiol. – 2006. – Vol. 72, No. 11. – P. 7246-7252.
6. Jones R.J., Hoegh-Guldberg O., Larkum A.W.D., Schreiber U. Temperature-induced bleaching of corals begins with impairment of the CO<sub>2</sub> fixation mechanism in zooxanthellae // Plant, Cell & Environm. – 1998. – Vol. 21. – P. 1219-1230.

### Заняття № 8

#### Тема: Дослідження впливу електромагнітного поля на живі організми

**Завдання 1.** Добовий ритм магнітної сприйнятливості клітин тварин. Проаналізуйте дані таблиці і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Як змінюється магнітна сприйнятливість клітин селезінки і печінки мишей в нічний і денний час?
- 2) Чому вдень магнітна сприйнятливість клітин нижча, ніж вночі?

Таблиця. Добова динаміка магнітної сприйнятливості органів і тканин гризунів («Біомагнітні ритми», 1991)

Субстрат	- $\chi \cdot 10^{-6}$ , M ± m			
	Ранок (8 ч)	День (14 ч)	Вечір (20 ч)	Ніч (24 ч)
Печінка мишей (n=60)	0,460 ± 0,003	0,371 ± 0,010*	0,442 ± 0,05*	0,470 ± 0,005
Селезінка мишей (n=60)	0,474 ± 0,002	0,476 ± 0,003	0,494 ± 0,005*	0,503 ± 0,004*

Примітка: M – середня арифметична величина магнітної сприйнятливості з n визначень; m – дисперсія; \* - дані достовірно відрізняються від показників на 8 годину ранку.

**Завдання 2.** Сезонна динаміка магнітної сприйнятливості рослин

- 1) Використовуючи дані таблиці, встановіть, в які місяці року спостерігається найменша і найбільша магнітна сприйнятливості у досліджуваних груп рослин.
- 2) Обчисліть амплітуду коливань магнітної сприйнятливості рослин протягом вегетаційного періоду для кожної групи рослин (як різницю між найбільшим і найменшим значенням магнітної сприйнятливості для даної групи рослин).
- 3) Для яких груп рослин амплітуда коливань магнітної сприйнятливості найбільша? Найменша? Чому?

Таблиця. Магнітна сприйнятливості рослин по місяцях вегетації («Біомагнітні ритми», 1991)

Рослини	- $\chi \cdot 10^{-6}$ , M ± m				
	Травень	Червень	Липень	Серпень	Вересень
Широколистяні дерева (n=7)	0,571 ± 0,018	0,587 ± 0,012	0,499 ± 0,023*	0,497 ± 0,027*	0,530 ± 0,031

Хвойні дерева (n=4)	0,624 ± 0,006	0,545 ± 0,044	0,527 ± 0,038*	0,503 ± 0,016*	0,521 ± 0,014
Трав'янисті (n=5)	0,576 ± 0,011	0,510 ± 0,028	0,396 ± 0,064*	0,434 ± 0,070	0,511 ± 0,045

Примітка: позначення такі ж, як і в попередній таблиці.

### **Завдання 3.** Вплив постійного і змінного магнітних полів низької інтенсивності на поділ клітин людини в культурі *in vitro*.

Для оцінки можливості використання електромагнітних полів для регенерації пошкоджень тканин був проведений наступний експеримент. Клітини сполучної тканини легенів людини (фібробласти легенів) в культурі *in vitro* опромінювали електромагнітними полями різного типу.

В досліді використовували універсальний електромагнітний випромінювач, який генерував: а) змінне електромагнітне поле з частотою коливань поля 50 Гц; б) постійне електромагнітне поле напруженістю 80 мкТл; в) циклотронне електромагнітне поле, яке поєднувало обидва типи полів відповідної частоти і напруженості. Для контролю рівня магнітної складової поля використовували магнітометри.

На суспензію клітин легенів впливали різними типами електромагнітних полів впродовж 1, 2, 4 і 6 годин. Потім клітини висівали на тверді поживні середовища і поміщали в термостат при +37<sup>0</sup>С на 24 години, тобто в умови, оптимальні для росту і поділу клітин. Через 24 години в кожному варіанті опромінювання підраховували кількість живих і мертвих клітин. Для розрізнення живих і мертвих клітин, клітини забарвлювали 0,2% трипановим блакитним. Отримані результати наведені в таблицях 1 і 2.

**Таблиця 1.** Кількість живих клітин в % по відношенню до неопроміненого контролю (контроль прийнятий за 100%) (по Afinogenov et al., 2009)

Тривалість експозиції, години	Тип електромагнітного поля:		
	постійне	змінне	постійне + змінне
1 г	130 ± 17	85 ± 11	154 ± 12
2 г	152 ± 22	98 ± 14	206 ± 22
4 г	117 ± 5	81 ± 25	160 ± 16
6 г	62 ± 6	80 ± 22	133 ± 25

**Таблиця 2.** Кількість мертвих клітин в % по відношенню до неопроміненого контролю (контроль прийнятий за 100%) (по Afinogenov et al., 2009)

Тривалість експозиції, години	Тип електромагнітного поля:		
	постійне	змінне	постійне + змінне
1 г	115 ± 27	67 ± 4	68 ± 3
2 г	60 ± 26	54 ± 5	79 ± 3
4 г	80 ± 32	29 ± 3	31 ± 3
6 г	142 ± 28	85 ± 3	61 ± 3

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) За допомогою яких методів можливо відрізнити живі клітини від мертвих?
- 2) Як Ви вважаєте, чому до постійного магнітного поля клітини адаптуються за 2 години, а до змінного – за 6 годин?
- 3) Який з варіантів експериментальної дії найбільш сприяв розмноженню клітин?
- 4) В чому полягає механізм дії електромагнітного поля на клітини?
- 5) Як вплинула обробка слабкими електромагнітними полями на життєспроможність клітин?
- 6) Як Ви вважаєте, як може вплинути на життєспроможність клітин повне екранування електромагнітного поля?

### **Завдання 4.** Вплив постійного магнітного поля на роботу біологічного годинника у грибів *Penicillium claviforme*

У грибів *Penicillium claviforme* біологічний ритм дозрівання конідій зі спорами складає близько 30 годин (при вирощуванні грибів в лабораторних умовах в режимі день/ніч). Зовні цей ритм виявляється як формування кілець на поверхні грибного міцелія (див. рис 1а) (Piskorz-Binczycka et al., 2003). При вирощуванні грибів в повній темряві споруляція не відбувається і кільця на зростаючому міцелії відсутні (Рис. 1б).

Для вивчення впливу постійного магнітного поля на формування біологічних ритмів, гриби *Penicillium claviforme* вирощували в контрольних магнітних умовах і при дії постійного магнітного поля напруженістю 60-70 мТл впродовж 12 днів в умовах постійного освітлення або в темряві. Постійне магнітне поле напруженістю 60-70 мТл створювали за допомогою постійного електромагніту. Результати досліджень представлені в таблицях 1 і 2.

Тривалість споруляції ( $\tau$ ) обчислювали за наступною формулою:  $\tau = \frac{24 \cdot b}{v}$

Де:  $\tau$  – тривалість періоду споруляції, в годинах;  $b$  – відстань між зонами споруляції, мм;  $v$  – швидкість росту гіфів грибів, мм за 24 години.

**Таблиця 1.** Вплив постійного магнітного поля (60-70 мТл) на ріст міцелію і ритм споруляції гриба *Penicillium claviforme* в умовах постійного освітлення (по Piskorz-Binczycka et al., 2003).

Умови вирощування грибів:	Швидкість росту гіфів грибів ( $v$ ) (мм за 24 ч)	Кількість зон споруляції	Відстань між зонами споруляції, мм:				Тривалість періода споруляції (години)
			між 1 і 2 зоною (b)	між 3 і 4 зоною	між 5 і 6 зоною	між 11 і 12 зоною (b)	
Контроль + постійне освітлення	2,0	12	2,5	3,0	3,0	3,0	
Магнітне поле + постійне освітлення	2,2	13	2,5	3,0	3,5	3,5	

**Таблиця 2.** Вплив постійного магнітного поля (60-70 мТл) на ріст і біологічні ритми у гриба *Penicillium claviforme* при вирощуванні в умовах повної темряви (12 діб) (по Piskorz-Binczycka et al., 2003).

Умови вирощування грибів:	Швидкість росту гіфів грибів (мм за 24 ч)	Кількість зон споруляції	Відстань між зонами споруляції, мм:			Тривалість періода споруляції (години)
			між 1 і 2 зоною, (b)	між 2 і 3 зоною, (b)	між 3 і 4 зоною, (b)	
Контроль + постійна темрява	2,3	-	-	-	-	
Магнітне поле + постійна темрява	2,4	3	5,0	10,0	10,0	

Використовуючи дані таблиць 1 і 2:

- 1) Обчисліть тривалість біологічного ритму споруляції у грибів *Penicillium claviforme* при постійному освітленні і в постійній темряві в контрольних магнітних умовах і при дії постійного магнітного поля.
- 2) Як вплинула експозиція при постійному освітленні на тривалість періоду споруляції гриба порівняно з експозицією в звичайних світлових умовах день/ніч ( $\tau = 30$  г)?
- 3) Як змінилась тривалість споруляції при дії постійного магнітного поля в умовах безперервного освітлення грибів?
- 4) Як вплинула експозиція в умовах постійної темряви на споруляцію гриба?

5) Як вплинуло постійне магнітне поле в умовах постійної темряви на здатність грибів до споруляції?

б) Чи є справедливим наступне твердження: «...Постійне магнітне поле діє на біологічний годинник грибів *Penicillium claviforme* аналогічно видимому світлу...»? Підтвердіть свою відповідь результатами, отриманими в ході експерименту.

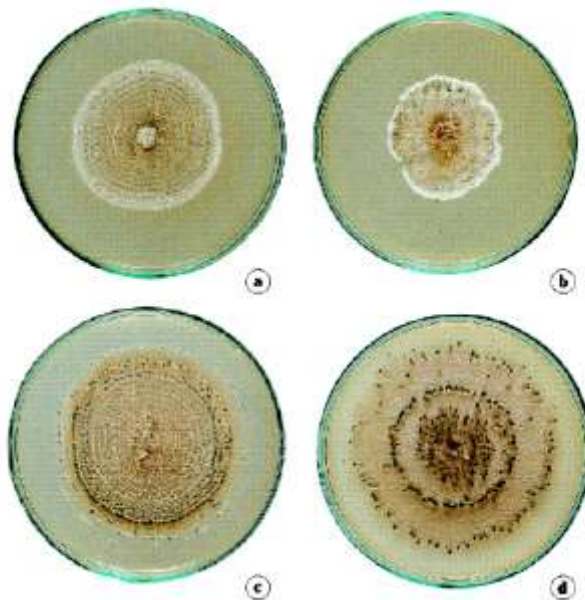


Рис. 2. Культура гриба *Penicillium claviforme*. Функціонування біологічного годинника. (a-b) Контрольні культури: а – при вирощуванні в умовах освітлення має місце формування кореміальних зон, що свідчить про функціонування біологічного годинника; б – при вирощуванні гриба в темряві кореміальні зони відсутні. (c-d) Культури гриба, вирощені в умовах постійного магнітного поля напруженістю 60-70 мТл: с – при вирощуванні в умовах освітлення і d – при вирощуванні в темряві. В обох випадках видно формування кореміальних зон, що свідчить про функціонування біологічного годинника (по Piskorz-Binczycka et al., 2003).

#### Література:

1. Павлович Н.В., Павлович С.А., Галліулін Ю.І. Біомагнітні ритми. Мн.: Університетське, 1991. – 136 с.
2. Paul A.-L., Ferl R.J., Meisel M.W. High magnetic field induced changes of gene expression in Arabidopsis // BioMagnetic Research and Technology. – 2006. – Vol. 4, No. 7.
3. Afinogenov G., Afinigenova A., Kalinin A. Influence of constant, alternating and cyclotron low-intensity electromagnetic fields on fibroblast proliferative activity *in vitro* // GMS. – 2009 – Vol. 4(2).
4. Piskorz-Binczycka B., Fiema J., Nowak M. Effect of the magnetic field on the biological clock in *Penicillium claviforme* // Acta Biol. Cracoviensia. – 2003.

### Заняття № 9-10

**Тема: Методи дослідження впливу іонізуючого випромінювання на живі організми**

**Частина 1. Методи, які дозволяють виявити накопичення в клітинах мутацій після дії іонізуючого випромінювання (семінарське заняття, 2 год)**

#### Теоретичні відомості.

##### Метод 1. Мітохондріальний тест:

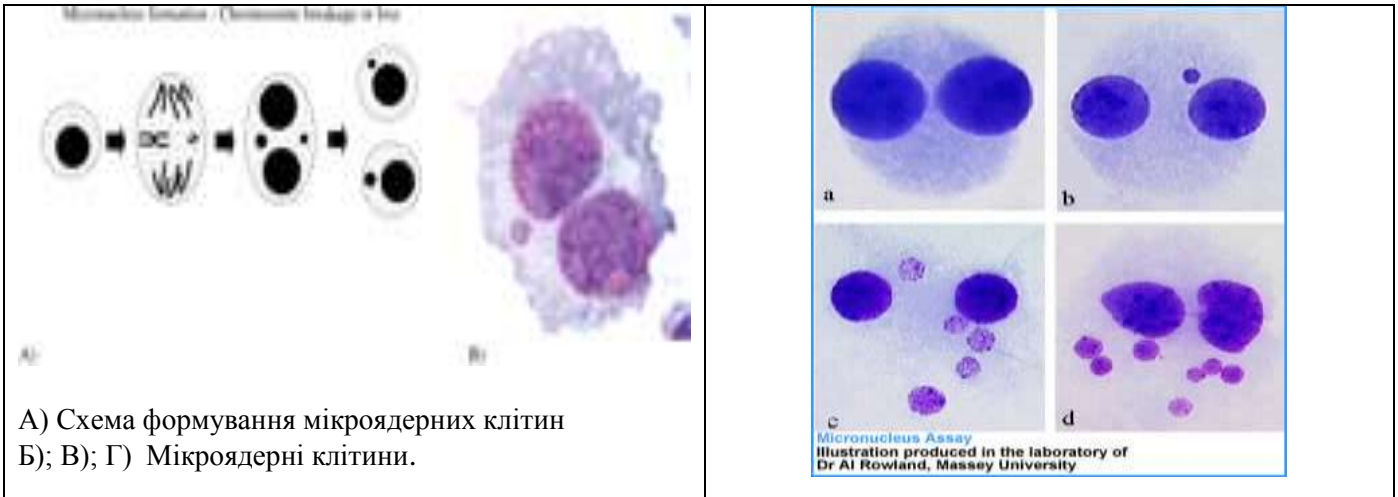
- паличкою з ватяно-марлевым тампоном беруть зскрібок клітин слизової оболонки з внутрішньої сторони щок і з отриманих клітин виділяють мітохондріальну ДНК;
- за допомогою ДНК-секвенатора аналізують послідовність нуклеотидів в мітохондріальній ДНК, порівнюють її з еталонними послідовностями і виявляють кількість нуклеотидних замін в кодуєчій і не кодуєчій петлях мітохондріальної ДНК.

Так, мітохондріальний тест, проведений серед жителів півострова Керала (Індія), на території якого має місце локальний вихід до поверхні природних родовищ моназита – мінералу, що на 10%

складається з радіоактивного фосфату торія, показав значне накопичення мутацій в некодуючій петлі мітохондріальної ДНК жителів даного півострова порівняно з жителями інших територій Індії.

**Метод 2. Мікроядерний тест:**

- паличкою з ватяно-марлевым тампоном беруть зскрібок слизової оболонки з внутрішньої сторони щоки і зразок клітин переносять на наочне скло;
- клітини фіксують в спеціальній суміші реактивів, забарвлюють ацетокарміном і під світловим мікроскопом підраховують кількість клітин з мікроядрами (Рис. 1) і порівнюють з нормативами для населення, що проживає на даній території. Мікроядра утворюються в клітинах в результаті розривів в молекулах ДНК, а також в результаті втрати однієї або декількох хромосом в процесі мітоза із-за пошкодження мікротрубочкових ниток веретена поділу.



**Метод 3. Оцінка накопичення мутацій в організмі тварин з використанням модельного об'єкту – мушки дрозофіли *Drosophila melanogaster*:**

- варять поживну суміш, що складається з цукру, манної крупи, агару; суміш розливають в банки, закривають марлевою сіткою і виносять на тестовану територію;
- протягом 2 днів мушки дрозофіли їдять поживну суміш і відкладають яйця;
- потім банки забирають, видаляють дорослих мух і банки виставляють в термостат при  $T=+25^{\circ}\text{C}$ ;
- через 1 добу з яєць з'являються личинки; через 4 дні личинки після двох линьок перетворюються на лялечки; ще через 4 дні – з лялечок виходять молоді мухи.

Дослідники підраховують коефіцієнт смертності яєць, личинок і лялечок, а також за допомогою лупи вивчають фенотип молодих мух, яких заздалегідь усипляють ефіром. Найбільш типові мутації, що реєструються у молодих мушок дрозофіл: відсутність пігментації очей, недорозвинення крил, поява кінцівок замість антен (Рис. 2), збільшення розмірів тіла (у нормі довжина тіла – 2 мм), зміна статевих ознак – половина тіла набуває ознак іншої статі (у самця – черевце закінчується однією темною смужкою, у самок – серія смуг і самка в 1,5 рази більша за самця) і т.д.



Метод 4. Оцінка мутагенності чинників навколишнього середовища за допомогою спеціального штаму бактерій *Salmonella typhimurium*, дефектного по репарації молекул ДНК:

- культуру спеціального штаму бактерій *Salmonella typhimurium* лінії Та1535 опромінюють різними дозами і типами іонізуючого випромінювання або в поживні середовища додають речовини, які є необхідним протестувати на мутагенність;
- якщо тестовані дози випромінювання або хімічного препарату мають мутагенну дію, це призводить до загибелі бактеріальних клітин, оскільки у бактерій даного штаму не функціонують ферменти репарації поломок ДНК. Недолік методу полягає в тому, що чинники, мутагенні для клітин людини, не завжди є такими для бактеріальних клітин і навпаки.

Перелік питань для підготовки до семінарського заняття:

- 1) Поняття «іонізуюче випромінювання». Типи іонізуючого випромінювання.
- 2) Природні і штучні джерела іонізуючого випромінювання.
- 3) Вплив природних доз іонізуючого випромінювання на живі організми.
- 4) Вплив на живі організми іонізуючого випромінювання в дозах, які дещо перевищують природний фон. Поняття «радіаційний гормезис».
- 5) Вплив на живі організми середніх та високих доз іонізуючого випромінювання.
- 6) Методи виявлення накопичення мутацій в клітинах після дії іонізуючого випромінювання:
  - мітохондріальний тест;
  - мікроідерний тест;
  - метод оцінки накопичення мутацій в організмі тварин з використанням модельного об'єкту – мушки дрозофіли *Drosophila melanogaster*;
  - метод оцінки мутагенності чинників навколишнього середовища за допомогою спеціального штаму бактерій *Salmonella typhimurium*, дефектного по репарації молекул ДНК.

**Частина 2. Дослідження впливу іонізуючого випромінювання на живі організми та окремі клітини (практичне заняття, 2 год)**

Завдання 1. Залежність радіорезистентності організму від його віку

- 1) Що означає показник LD50 (летальна доза 50)?
- 2) Як з віком змінюється радіочутливість мишей? Чому?

Таблиця. Залежність величини LD50 від віку мишей лінії SAS/4 («Радіобіологія.»)

LD50, Гр	Вік мишей, тижні:									
	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90
	7 Гр	8,2 Гр	9 Гр	9,5 Гр	9,6 Гр	9,5 Гр	9,1 Гр	8,5 Гр	7,8 Гр	6,6 Гр

Завдання 2. Залежність радіорезистентності від типу клітин і від типу опромінення

У таблиці наведені дані виживання стоволових клітин кишковика і стоволових кровотворних клітин мишей при  $\gamma$ -опроміненні і при опроміненні нейтронами. Проаналізуйте дані таблиці і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) При якому типі опромінення –  $\gamma$ -опроміненні або нейтронному опроміненні - нижче виживаність клітин? Чому?
- 2) Які клітини – ствові клітини кишковика або ствові кровотворні клітини – є найбільш чутливими до радіаційного пошкодження?

Таблиця. Виживання стоволових клітин кишковика і ствових кровотворних клітин мишей при  $\gamma$ -опроміненні і нейтронному опроміненні («Радіобіологія.»)

Виживання клітин %	$\gamma$ -опромінення, Гр:		Нейтронне опромінення, Гр:	
	Стовові клітини кишковика	Стовові крово- творні клітини	Стовові клітини кишковика	Стовові кровотворні клітини



100 %	0	0	0	0
10 %	8 Гр	3 Гр	2 Гр	1 Гр
1 %	10 Гр	5 Гр	2,5 Гр	2 Гр
0,1 %	13 Гр	8 Гр	3,5 Гр	2,5 Гр

**Завдання 3.** Залежність середньої тривалості життя тварин і людини від дози опромінення.

- 1) Використовуючи дані таблиці, дайте графічне зображення залежності середньої тривалості життя людини і мавп (вісь ОУ) від дози опромінення (вісь ОХ).
- 2) Який характер носить отримана крива доза-ефект? Якому діапазону доз відповідають платові ділянки побудованої кривої?
- 4) Поясніть, який біологічний зміст мають платові ділянки на кривій виживання організмів, якщо відомо, що при дозах опромінення до 10 Гр – смерть організмів настає від пошкодження стоволових кровотворних клітин, при дозах 10-32 Гр – від пошкодження стоволових клітин кишковика, при дозах опромінення, що перевищують 32 Гр – від порушення роботи центральної нервової системи.

Таблиця. Залежність середньої тривалості життя людини і мавп від дози опромінення («Радіобіологія.»)

Тривалість життя, доба	Доза опромінення, Гр											
	2	4	6	8	10	12	16	24	32	40	64	72
	72	40	40	40	10	8	8	8	8	4	2	1

**Завдання 4.** Відмінності в радіочутливості для різних таксонів.

Проаналізуйте дані таблиці і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Для яких груп організмів показана мінімальна і максимальна радіочутливість?
- 2) Для яких груп організмів показані найбільші і найменші амплітуди радіочутливості в межах таксона? З чим можуть бути зв'язані подібні відмінності?
- 3) Які механізми радіостійкості Вам відомі?

Таблиця. Радіочутливість різних груп організмів до доз  $\gamma$ -опромінення, що викликають 50%-у смертність (LD50) («Радіологія.»)

Біологічний вид	Доза, Гр	Біологічний вид	Доза, Гр
Вівця	1,5-2,5	Птахи	8,0-20,0
Віслюк	2,0-3,8	Риби	8,0-20,0
Собака	2,5-3,0	Кролик	9,0-10,0
Людина	2,5-3,5	Хом'як	9,0-10,0
Мавпи	2,5-6,0	Змії	80,0-200,0
Миші	6,0-15,0	Комахи	10,0-100,0
Щури	7,0-9,0	Рослини	10,0-1500,0

**Завдання 5.** Включення радіонуклідів в біологічний колообіг

Проаналізуйте дані таблиці і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Чому коефіцієнти накопичення радіонуклідів в тканинах організмів – мешканців прісноводних екосистем на два порядки вище, ніж в тканинах організмів – мешканців морських екосистем?
- 2) Як проявляються видові особливості накопичення радіонуклідів?
- 3) У чому причини видової специфічності накопичення радіонуклідів живими тканинами?

Таблиця. Коефіцієнти накопичення радіонуклідів в деяких компонентах морських і прісноводних екосистем

Компонент екосистеми:	Коефіцієнт накопичення радіонуклідів в екосистемах:			
	<sup>137</sup> Cs		<sup>90</sup> Sr	
	прісноводних:	морських:	прісноводних:	морських:
Молюски	600	8	600	1

Риби	3000	15	200	0,1
Ракоподібні	4000	23	200	1

### **Завдання 6.** Онкогенна дія іонізуючого опромінення

1) Використовуючи дані таблиці, побудуйте криву залежності частоти розвитку міелоїдної лейкемії у мишей (вісь ОУ) від дози рентгенівського опромінення (вісь ОХ).

2) Який характер має отримана крива доза-ефект?

3) Як Ви розумієте термін «парадоксальний ефект» середніх доз іонізуючого випромінювання?

Таблиця. Частота розвитку міелоїдної лейкемії у мишей самців лінії RF, після загального рентгенівського опромінення («Радіобіологія.»)

Частота захворювання мишей %	Доза опромінення, Гр:										
	0,2	0,5	0,8	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5
	3%	6%	10%	15%	28%	35%	39%	38%	34%	28%	22%

### **Література:**

1. Ярмоненко С.П., Вайсон А.А. Радиобиологія человека и животных: Учебное пособие для биол. спец. вузов. – М.: Высш. шк., 1988. – 424 с.: ил.
2. Руденко С.С., Костишин С.С., Морозова Т.В. Загальна екологія: практичний курс. Частина 1. Чернівці: Рута, 2003. – 320 с.
3. Смирнов С.Н., Герасимов Д.Н. Радиационная екологія. Фізика іонізуючих злучень: ученик для студентів вузов. 2006. - 326 с.

## **Заняття № 11**

### **Тема: Методи встановлення видової приналежності організмів**

#### **Теоретичні відомості.**

**RFLP-аналіз.** Одним з сучасних методів встановлення видової приналежності організмів є метод виявлення довжини фрагментів рестрикції молекул ДНК, виділених з клітин організму (т.з. RFLP-аналіз, від латинської скороченої назви методу - Restriction Fragment Length Polymorphism). В ході дослідження, вчені працюють з білками–рестриктазами, які синтезують бактерії для самозахисту від чужорідної ДНК. Кожна рестриктаза розпізнає певну послідовність нуклеотидів чужорідної ДНК і ріже ДНК в цьому місці. В результаті ДНК розпадається на фрагменти різних розмірів. Утворення фрагментів ДНК різної довжини в результаті рестрикції пов'язане з тим, що в молекулах ДНК немає закономірності в розподілі сайтів розпізнавання для рестриктаз. Слід зазначити, що в процесі рестрикції власна ДНК бактерії не пошкоджується, оскільки в даних сайтах розпізнавання рестриктаз вона захищена від розщеплювання метиловими хвостиками. За відкриття рестриктаз Даніель Натан, Вернер Арбер і Гамільтон Сміт в 1978 р отримали Нобелівську премію по фізіології і медицині, оскільки відкриття ферментів рестрикції дозволило розробити і впровадити нові методи, використання яких кардинально змінило рівень, молекулярно-біологічних досліджень.

Для встановлення видової приналежності організму – з його клітин виділяють ДНК і ріжуть її на фрагменти різної довжини за допомогою рестриктаз. Потім суміш фрагментів ДНК розділяють по масі за допомогою електрофорезу. Оскільки молекули ДНК заряджені негативно, то під дією електричного поля, вони починають рухатись до позитивно зарядженого електроду. Чим менше маса фрагмента ДНК – тим швидше він рухається в електричному полі. Таким чином, через деякий час відбувається розділення фрагментів молекул ДНК за масою. Потім пластинку гель-електрофореза забарвлюють бромистими етидием і в ультрафіолетовому світлі спостерігають світіння смуг ДНК на гелі.

Оскільки різні види організмів мають різну структуру ДНК, то і рестриктази ріжуть їх молекули ДНК на різні фрагменти. В наслідок чого, на гель-електрофорезній пластинці для кожного виду формують свій набір смуг. Цей метод точно і швидко дозволяє встановлювати видову приналежність будь-якого організму. Сьогодні – це основний метод, яким користуються екологи,

еволюційні біологи, медики, ветеринари, криміналісти, експерти по породах тварин та інші фахівці для встановлення видової приналежності того чи іншого організму. Для реалізації програми «Штрих-код життя» запропоновано проводити забарвлення не всіх фрагментів ДНК, а тільки еталонних. Наприклад, в якості еталонний маркеру для аналізу видової приналежності тварин сьогодні використовують 5'-фрагмент першої субодиниці мітохондріального гена, що кодує білок цитохром-С-оксидазу, як одного з найбільш консервативних генів у тварин. До цього фрагмента приєднується флуоресцентна мітка. Після проведення електрофорезу, на пластинку гелю наносяться марковані флуорохромом еталонні фрагменти РНК-зондів, що дозволяє візуалізувати на гелі тільки ДНК-смужки, які містять ділянки гену білка цитохром-С-оксидази. На сьогоднішній день за допомогою даної методики отриманий ДНК-штрих код для 7604 видів метеликів, 2828 видів риб, 1260 видів птахів і так далі. Слід зазначити, що для рослин, грибів і прокариот використовують інші маркери.

**Мітохондріальний тест для вивчення міграції організмів по материнській лінії.** Практично у всіх еукаріот – мітохондрії успадковуються тільки по материнській лінії (через небезпеку розвитку ядерно-цитоплазматичної несумісності материнських і батьківських мітохондрій). Спермій або відразу при заплідненні відправляє в яйцеклітину тільки своє ядро, залишаючи хвіст і мітохондрії за межами яйцеклітини, або злиття відбувається разом з мітохондріями (у деяких видів), проте, незабаром батьківські мітохондрії знищуються. Якщо внаслідок збою в генетичній програмі мітохондрії батька не знищуються, тоді зародок хворіє або навіть гине внаслідок недостатності функцій мітохондрій в клітинах.

Мітохондрії, як нащадки бактеріальних клітин, мають свою кільцеву ДНК. Молекула мітохондріальної ДНК складається з двох петель: великої - кодуючої петлі (з 581 по 16000 нуклеотид) і малої - некодуючої петлі (з 1 по 580 нуклеотид і з 16001 по 16569 нуклеотид). Мутації – це точкові заміни однієї азотистої основи на іншу. Мутації в кодуючій петлі ДНК, як правило, летальні (тобто призводять до загибелі мітохондрії). Тоді як мутації в некодуючій петлі не є небезпечними і можуть передаватися з покоління в покоління по материнській лінії. Аналіз мутацій (точкових замін нуклеотидів) в мітохондріальній ДНК дозволяє виявити спорідненість між організмами по материнській лінії і таким чином – шляхи міграції організмів. Слід зазначити, що аналіз по ядерній У-хромосомі дозволяє виявити спорідненість і шляхи міграції організмів по батьківській лінії.

Методика аналізу: 1) роблять зскрібок з внутрішньої поверхні щоки людини; 2) виділяють мітохондріальну ДНК; 3) за допомогою приладу ДНК-секвенатора визначають послідовність нуклеотидів в мітохондріальній ДНК і порівнюють її з еталонною послідовністю; 4) результати аналізу записують у вигляді мітохондріальної карти, в яку вносять тільки мутації. Наприклад, мітохондріальна карта Марії-Антуанетти, королеви Франції, обезголовленої в 1793 році у віці 37 років, дружини Людовіка XVI:

16519 Ц – в положенні 16519 замість стандартного нуклеотида з'явився цитозин;

152 Ц – в положенні 152 замість стандартного нуклеотида з'явився цитозин;

194 Т – в положенні 194 замість стандартного нуклеотида з'явився тимін;

263 Г – в положенні 263 замість стандартного нуклеотида з'явився гуанін;

315.1 Ц – в положенні 315 після стандартного нуклеотида з'явився додатковий нуклеотид цитозин.

Швидкість накопичення нуклеотидних замін в гіперваріабельній ділянці мітохондріальної ДНК людини складає 1 нуклеотид в 18-20 тисяч років. Повний збіг мутацій в гіперваріабельних ділянках говорить про те, що у двох людей впродовж останніх 700 років була спільна бабуся. Максимальні відмінності між мітохондріальною ДНК у двох різних людей – 22 нуклеотиди. У еволюційно спорідненій групі – таких відмінностей буде значно менше. Наприклад, серед людей російської національності ці відмінності складають всього 4 нуклеотиди.

Перелік питань для підготовки до семінарського заняття:

1) Природні та техногенні причини розселення організмів на нові території.

2) Поняття «біоінвазії». Причини інвазивності видів-мігрантів. Засоби боротьби з інвазивними видами.

3) Методи встановлення видової приналежності видів-мігрантів:

- аналіз довжини фрагментів рестрикції ДНК (RFLP-аналіз);
- використання мітохондріального тесту для вивчення міграції організмів по материнській лінії.

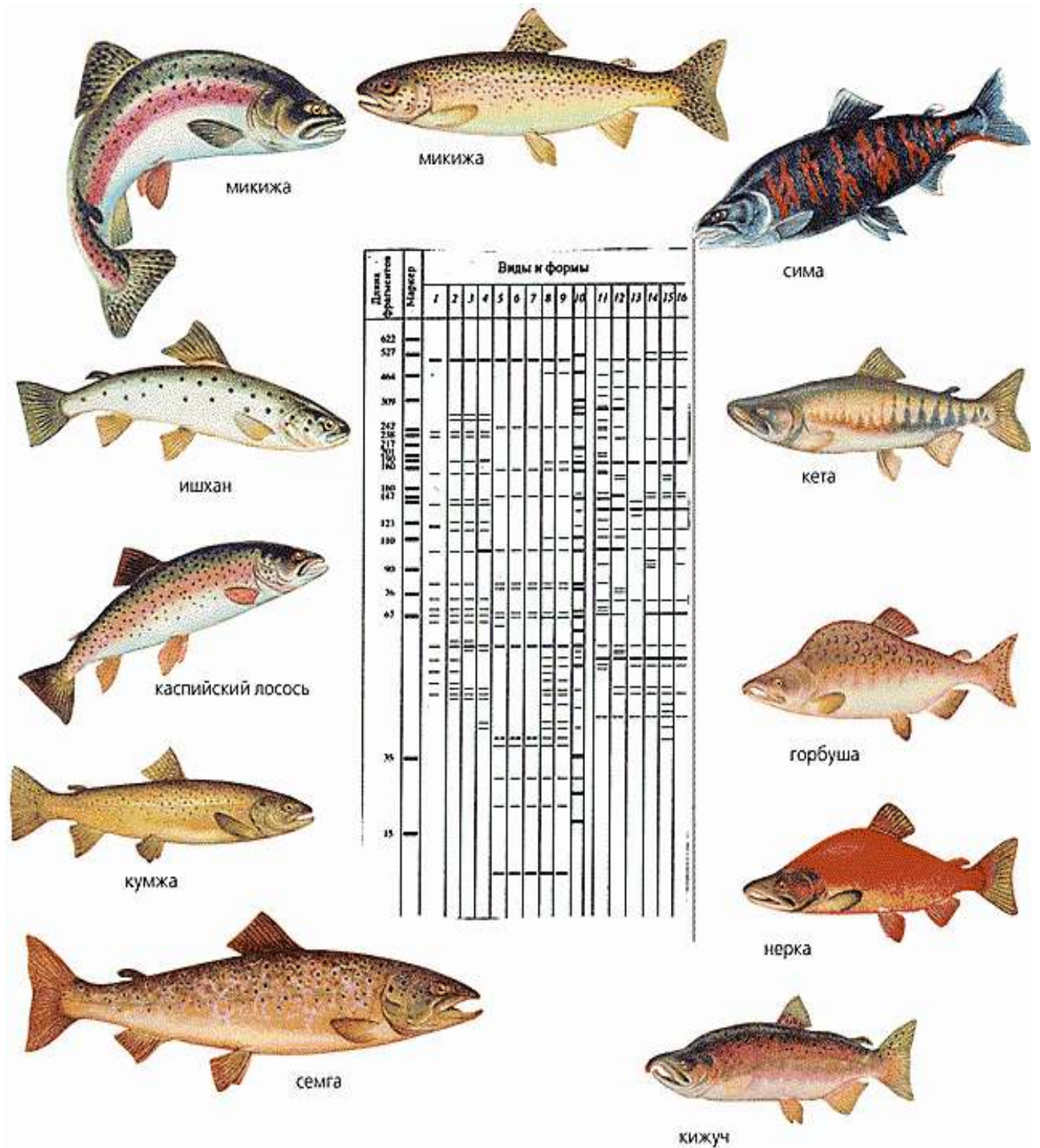


Рис. 1. Таксопінт ДНК атлантичних і тихоокеанських лососів і форелі. Для фрагментації послідовностей, що повторюються, використаний фермент Tag I. 1 — сьомга; 2 — кумжа; 3 — каспійський лосось; 4 — ішхан (форель Севана); 5 — мікіжа (вгорі зліва); 6 — мікіжа, схожа з лососем Кларка; 7 — житлова форма мікіжи; 8 — веселкова форель; 9 — мікіжа північноамериканська; 10 — лосось Кларка; 11 — сіма; 12 — кета; 13 — горбуша; 14 — нерка; 15 — кижуч; 16 — чавича. Для кожного виду і навіть форми цих риб набір фрагментів ДНК специфічний, тільки у двох форм мікіжи (6, 7) він ідентичний.

**Завдання 1.** Проаналізуйте результати ДНК типування атлантичних і тихоокеанських лососів і форелі (Рис. 1) і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Як встановити видову приналежність промислових риб за допомогою ДНК-аналізу?
- 2) Серед 16 варіантів ДНК-доріжок встановіть доріжки, що належать риbam одного виду (Рис. 1).
- 3) ДНК-доріжка № 10 належить лососеві Кларка. З тканин риби, зовні схожої на лосося Кларка, виділили ДНК і провели ДНК-аналіз. Результати цього аналізу приведені на ДНК-доріжці № 6. Чи відноситься виловлена риба до лососів Кларка? Обґрунтуйте свою відповідь.

**Завдання 2.** Проаналізуйте мітохондріальну карту мумії, знайденої в льодах, людини, що жила 5300 років тому (т.з. снігової людини Отци): 16224 Ц; 16311 Ц.

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Як отримати мітохондріальну карту?
- 2) Чому мітохондріальна карта дозволяє встановлювати спорідненість і шляхи міграції організмів тільки по материнській лінії?
- 3) Розшифруйте мітохондріальну карту снігової людини.

**Завдання 3.** 15 жовтня 2001 року терористи надіслали в поштовому конверті спори бактерій сибірки *Bacillus anthracis* сенатору Tom Daschle (Вашингтон, США). 21 жовтня помер від сибірки один з робітників Вашингтонської пошти. Зразки повітря з небезпечних зон були проаналізовані на можливий вміст відповідної бактеріальної ДНК. При цьому для проведення ПЛР-реакції використовували фрагменти ДНК, які відповідали гену *capA* – специфічному для бактерій *Bacillus anthracis*. Результати аналізу ДНК наведені на рис. 2 (за Higgins et al., 2003).

Дайте відповідь на наступні запитання:

- 1) На якому принципі оснований проведення ПЛР-реакції?
- 2) Чому в даному дослідженні для проведення ПЛР-реакції використовували фрагмент гена *capA*?
- 3) Результати аналізу ДНК представлені на рис. 1. В якій з проб була виявлена присутність ДНК бактерій, які викликають сибірку виразку?
- 4) Яку молекулярну вагу мають фрагменти ДНК, які містять ген *capA* бактерії сибірки?

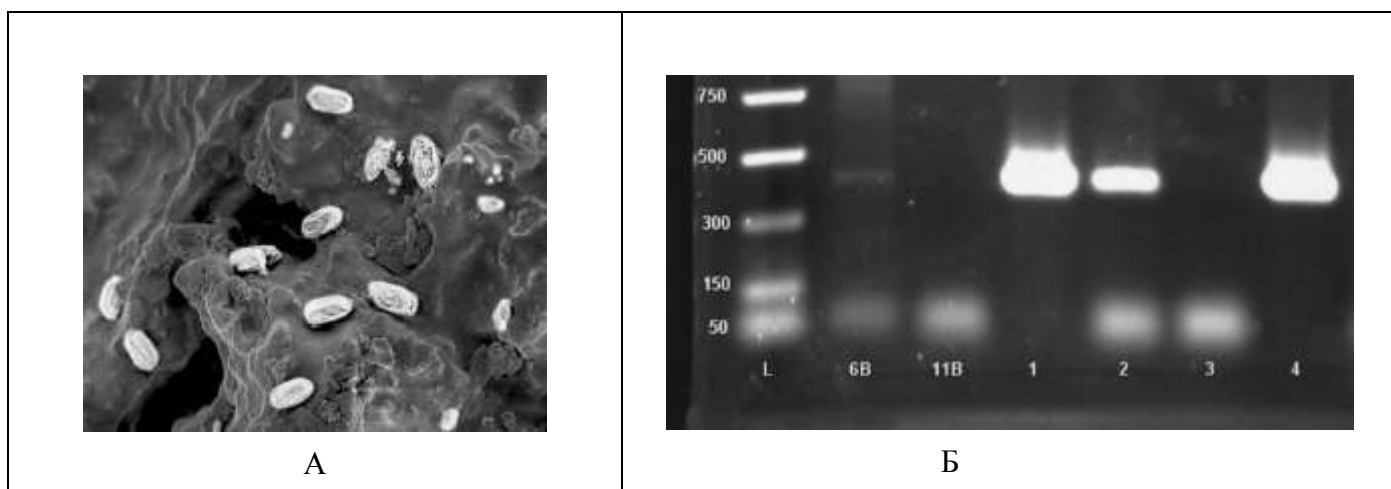


Рис. 2А. Скануюча електрона мікрофотографія спор бактерій сибірки *Bacillus anthracis* (за Edmonds et al., 2009)

Рис. 2Б. Результати ДНК аналізу зразків, контрольних та підозрілих на присутність спор бактерій сибірки *Bacillus anthracis*. Смуга L – індикатор молекулярної ваги фрагментів ДНК; смуга 3 – контроль, який не містить спори бактерій сибірки; смуга 4 – контроль, який містить спори бактерій сибірки; 6В, 11В, 1 та 2 – зразки, які тестувались, підозрілі на присутність спор бактерій сибірки (за Higgins et al., 2003).

## Література:

1. Higgins J.F., Cooper M., Schroeder-Tucker L., Black S., Miller D., Karns J.S., Manthey E., Breeze R., Perdue M.L. A field investigation of *Bacillus anthracis* contamination of U.S. Department of Agriculture and other Washington, D.C., buildings during the anthrax attack of October 2001 // *Appl. Env. Microbiol.* – 2003. – Vol. 69, No. 1. – P. 593-599.
2. Edmonds J.M., Collett P.J., Valdes E.R., Skowronski E.W., Pellar G.J., Emanuel P.A. Surface sampling of spores in dry-deposition aerosols // *Appl. Env. Microbiol.* – 2009. – Vol. 75, No.1. – P. 39-44.
3. Глазко В.И., Глазко Г.В. Введение в генетику, биоинформатика, ДНК-технология, генная терапия, ДНК-экология, протеомика, метаболика. / Под ред проф. Т.Т. Глазко. – К.: КВІЦ, 2—3. – 640 с.

## Заняття № 12

### Тема: Методи дослідження взаємодій між популяціями

#### Частина 1.

**Завдання 1.** Конкуренція і кооперація між організмами. Проаналізуйте дані таблиці.

- 1) Як впливають хімічні речовини, які продукують гриби і бактерії, на життєдіяльність інших організмів?
- 2) Використовуючи таблицю «Типи міжвидових біотичних взаємодій» (див. нижче), встановите тип взаємодії між організмами в кожному варіанті експерименту.

**Таблиця.** Приклади летючих органічних речовин, що утворюються грибами і бактеріями, і їх вплив на інші організми («Біологія ґрунтів»)

Продуцент:	Продукують летючу органічну речовину:	Випробовуваний організм:	Характер дії
<b>Гриби:</b> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Rhizopus stolonifer</i>	Альдегіди, спирти, органічні кислоти, ефіри	<b>Гриби:</b> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Cunninghamella elegans</i>	Пригнічують проростання спор
<b>Гриб</b> <i>Trichoderma sp.</i>	Ацетальдегід, етанол, ацетон, етилен	<b>Різні гриби і бактерії</b>	Пригнічують ріст грибів, не впливають на бактерії
<b>Гриби:</b> <i>Phomes scutellatus</i> <i>Marasmius oreacles</i> <i>Pholiota aurea</i> <i>Clitocybe geotropa</i>	Ціаністий водень	<b>Різні гриби і бактерії</b>	Пригнічують ріст і спороутворення у деяких грибів, зазвичай не впливають на бактерії
<b>Гриб</b> <i>Aureobasidium pullulans</i>	Етанол	<b>Гриб</b> <i>Armillaria mellea</i>	Стимулює утворення ризоформ
<b>Бактерії:</b> <i>Agrobacterium radiobacter</i> , <i>A. rhizogenes</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	Не ідентифіковані	<b>Гриби:</b> <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. conglutinans</i> , <i>Gelasinospora cerealis</i> , <i>Penicillium viridicatum</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Zygorhynchus vuilleminii</i>	Пригнічують ріст і спорування у грибів, викликають зміни в морфології колоній і гіфів грибів

**Таблиця.** Типи міжвидових біотичних взаємодій («Біологія ґрунтів»)

Тип взаємодії:	Види:		Загальний характер взаємодії:
	1	2	
1. Нейтралізм	0	0	Популяції не впливають одна на одну
2. Конкуренція, безпосередня взаємодія	-	-	Пряме взаємне пригнічення обох видів
3. Конкуренція, взаємодія через	-	-	Опосередковане пригнічення, що виникає, коли

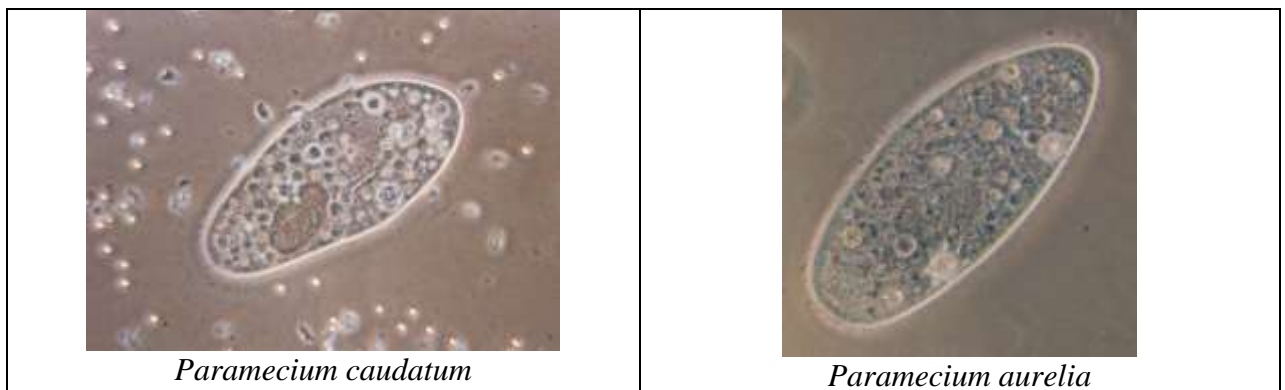
ресурси			з'являється нестача в певному чиннику середовища, який використовується обома видами
4. Аменсалізм	-	0	Популяція 2 пригнічує популяцію 1
5. Паразитизм	+	-	Популяція паразита 1 зазвичай більша, ніж популяція жертви 2
6. Хижацтво	+	-	Особини хижаків 1 зазвичай крупніші, ніж особини жертви 2
7. Коменсалізм	+	0	Користь від об'єднання отримує тільки популяція 1
8. Протокооперація	+	+	Взаємодія сприятлива для обох видів, але вона не є обов'язковою
9. Мутуалізм	+	+	Взаємодія сприятлива для обох видів і вона є обов'язковою

### Завдання 2. Конкуренція між близькоспорідними видами

1) Проаналізуйте динаміку росту популяцій двох видів інфузорій при їх сумісному культивуванні. Яке екологічне правило виявляється в даному експерименті?

**Таблиця.** Динаміка популяцій двох видів інфузорій *Paramecium* при їх сумісному культивуванні («Біологія ґрунтів»)

Число особин:	Доба сумісного культивування:									
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
<i>P. caudatum</i>	20	52	54	48	36	23	16	8	2	0
<i>P. aurelia</i>	25	49	75	102	126	143	149	152	152	153



### Завдання 3. Взаємодія популяцій

1) Проаналізуйте динаміку сумісного росту популяцій трьох видів бактерій: *Curtobacterium* (1), *Mycoplasma sp.* (2) і *Pseudomonas sp.* (3) у ризосфері пшениці. Який тип взаємодії має місце між 1 і 2 видами? Між 2 і 3 видами? Для відповіді використовуйте дані таблиці «Типи міжвидових біотичних взаємодій» (див. вище).

Таблиця. Динаміка чисельності популяцій *Curtobacterium* (1), *Mycoplasma sp.* (2) і *Pseudomonas sp.* (3) у ризосфері пшениці («Біологія ґрунтів»)

Кількість особин, lgN	Доба:								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Curtobacterium</i> (1)	3	3,5	2	1	-	-	-	-	-
<i>Mycoplasma sp.</i> (2)	3	4	5	6	6	6	6	6	6
<i>Pseudomonas sp.</i> (3)	3	5,5	6,5	7	7	7	7	7	7

#### **Завдання 4. Симбіоз комах з бактеріями**

Бактерія вольбахія *Wolbachia* є внутрішньоклітинним симбіонтом багатьох безхребетних. Серед них *Diabrotica virgifera virgifera* – комаха, що мешкає в ґрунті і пошкоджує коріння кукурудзи. Лічинки цієї комахи є одним з найбільш успішних видів-агресорів. Припускають, що основною причиною успішності цього виду-шкідника є симбіоз з бактерією вольбахією. Для відповіді на це питання, частину комах вилікували від бактерій вольбахій за допомогою антибіотиків. Потім в окремі ростові камери з рослинами кукурудзи підсаджували вилікуваних і заражених комах-шкідників. Через певний час вивчали експресію генів в об'єдненому корінні кукурудзи за допомогою методики ДНК-мікрочіп аналізу. Отримані результати наведені в таблиці (Barr et al., 2010).

Проаналізуйте дані таблиці і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Гени яких білків активуються у рослин, об'єднаних вилікуваними черв'яками?
- 2) Що відбувається з активністю цих же генів у рослин, які були об'єднані черв'яками, зараженими вольбахіями?
- 3) Чому симбіоз з бактеріями-вольбахіями забезпечує черв'якам успішність захоплення їх кормової бази на корінні рослини?

Таблиця.

ДНК-проба на мікрочіпі:	Коріння рослин кукурудзи:			Характеристика генів:
	не об'єднані рослини	об'єднані інфікованими кореневими черв'яками	об'єднані вилікуваними кореневими черв'яками	
MZ00042168	0.27636	-2.00827	1.73191	Білок, пов'язаний з патогенезом
MZ00043035	0.29500	-1.26578	0.97078	Хитиназа - білок, пов'язаний з патогенезом
MZ00000977	-0.14194	-0.37386	0.51580	Противірибковий тауматин-подібний білок
MZ00013547	-0.03908	-1.00381	1.04289	Противірибковий тауматин-подібний білок
MZ00018372	-0.09187	-0.50369	0.59556	Хитиназа класу III RCB4 - білок, пов'язаний з патогенезом
MZ00043949	0.08557	-1.05327	0.96771	Попередник дефензину – білка, пов'язаного з патогенезом
MZ00032776	0.02366	-0.30412	0.28045	Білок стійкості до захворювань

#### **Завдання 5. Формування мікоризи – симбіозу між ґрунтовими грибами і корінням рослин**

Симбіоз розпочинається після обміну біохімічними сигналами між грибами і рослинами. Рослина виділяє в ґрунт стріголактони (т.з. «чинники галуження»), які індують галуження гіфів гриба і збільшують вірогідність контакту гриба з корінням рослини. Гриб теж виділяє речовини, т.з. *Мус-фактори*. В ході колонізації рослини-господаря, гриби входять всередину кореня і утворюють усередині клітин кореня і в міжклітинному просторі розгалужену деревоподібну грибну структуру, яка називається арбускула. Крім того, гриби утворюють розгалужену грибну систему і на поверхні кореня і далеко за межами кореня, що дозволяє грибу збирати мінеральні поживні речовини для своєї рослини-господаря з достатньо великої території.

В процесі колонізації коріння рослини грибами задіяна велика кількість генів. Серед них – гени білків CASTOR і POLLUX. Обидва білки утворюють K<sup>+</sup>-трансмембранні канали в плазматичній мембрані клітин. Причому, канал працює тільки за наявності двох повноцінних білків - CASTOR і POLLUX).

Для встановлення ролі рослинних білків CASTOR і POLLUX в процесі утворення мікоризи, Chen C. і колеги (2009) провели наступний експеримент: вони блокували роботу генів білків CASTOR і POLLUX у рослин рису за допомогою методу RNAi-інтерференції. Потім, вихідні і мутантні рослини рису були інокульовані (заражені) мікоризними грибами *Glomus intraradices*. Через 35



днів після інокуляції, рослини рису дикого типу були повністю колонізовані грибами *G. intraradices* з утворенням внутрішньоклітинної і екстраклітинної мережі гифів (60-85% коріння було колонізовано). Проте, зі всіх рослин рису, мутантних по генах *castor* або *pollux*, – жодне не було колонізовано грибами. Гриби були на поверхні коріння, але жоден гіф не зміг проникнути всередину кореня за межі епідермісу. Таким чином, рослини мутантів, у яких була заблокована робота одного з генів, - *CASTOR* або *POLLUX* – абсолютно втратили здатність до утворення мікоризи. Цей результат був підтверджений цитологічно: мікроскопічне дослідження не показало присутності гифів грибів в клітинах.

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Що таке мікориза? Яку користь гриби і рослини отримують з симбіозу?
- 2) За допомогою яких методів можливо встановити участь того або іншого гена в утворенні мікоризи?
- 3) Як провести RNAi замовчування роботи генів?
- 4) За допомогою яких методів можливо підтвердити успішність утворення мікоризи?

### Література:

1. Біологія ґрунтів. / Звягинцев Д.Г., Бабйова І.П., Зенова Г.М. Видавництво Московського університету.
2. Barr K.L., Hearne L.B., Briesacher S., Clark T.L., Davis G.E. Microbial symbionts in insects influence down-regulation of defense genes in maize // PLoS ONE. 2010. – Vol.5(6). e11339. doi:10.1371/journal.pone.0011339.
3. Chen C., Fan C., Gao M., Zhu H. Antiquity and function of *CASTOR* and *POLLUX*, the twin ion channel-encoding genes key to the evolution of root symbioses in plants // Plant Physiology. – 2009. – Vol. 149. – P. 306-317.



Схема формування арбускулярної мікоризи в клітинах кореня



Арбускулярна мікориза у конюшини (арбускули в клітині кортекса кореня). Фото з сайту <http://www.biology.ed.ac.uk>

## Частина 2. Взаємодія між організмами за допомогою летких органічних речовин. Феромони.

**Завдання 1.** Під час нападу хижака, попелиця виділяє в навколишнє середовище феромон небезпеки - *E*-β-фарнезин. Це призводить до того, що сусідні особини попелиці припиняють харчування і залишають дану територію. Деякі рослини (дика картопля, м`ята) серед інших летючих речовин продукують також достатню кількість *E*-β-фарнезину і, таким чином, відлякують попелицю. Тому, для захисту від попелиці, було запропоновано методами генної інженерії перенести ген синтезу *E*-β-фарнезину від рослин - активних продуцентів *E*-β-фарнезину - в сільськогосподарські рослини. Для відпрацювання методики, М. Beale з колегами (Beale et al., 2006) перенесли ген синтезу *E*-β-фарнезину з рослин м`яти в рослини резушки Таля (*Arabidopsis thaliana*).

Дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) За допомогою якого методу можливо встановити, який тип летких органічних речовин продукує рослина?
- 2) На якому принципі базується визначення типу летких органічних речовин за допомогою газової хроматографії + мас-спектрометрії?

3) Порівняйте результати газової хроматографії складу феромонів, які продукують дикі і трансгенні рослини резушки Таля (Рис. 1 а,б). Синтезують чи ні *E*- $\beta$ -фарнезин дикі рослини резушки Таля? Як вплинуло вбудування гену синтеза *E*- $\beta$ -фарнезина на кількість *E*- $\beta$ -фарнезину і  $\beta$ -каріофіліну, які виділяють трансгенні рослини резушки Таля?

4) Використовуючи результати, наведені на Рис.2, зробіть висновок про те, якою була відповідь колонії попелиці *Myzus persicae* на леткі речовини, які продукують дикі і трансгенні рослини резушки Таля, а також на синтетичний *E*- $\beta$ -фарнезин?

5) На підставі результатів проведених досліджень, зробіть висновок про те, до якого типу феромонів відноситься *E*- $\beta$ -фарнезин.

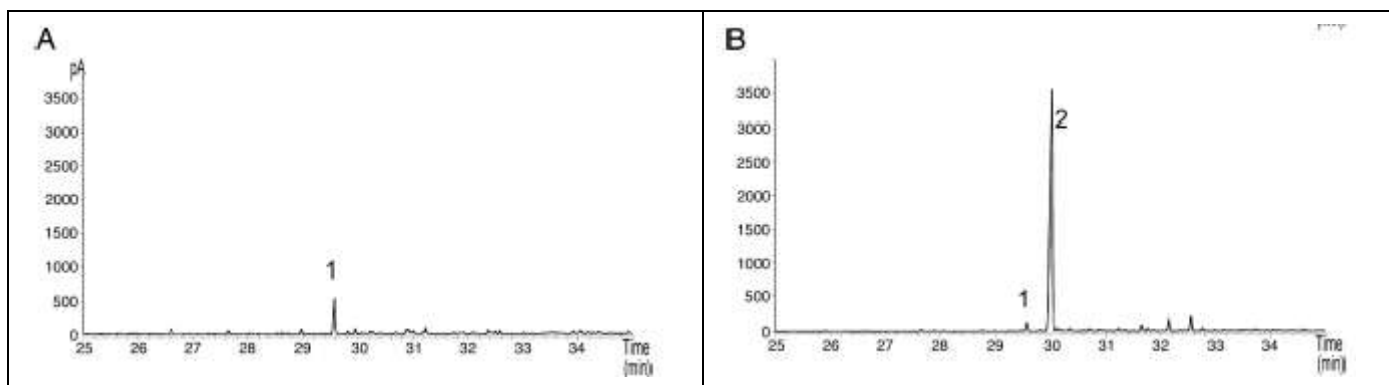


Рис. 1. Результати газової хроматографії летких компонентів, які продукують дикі (А) та трансгенні (Б) рослини резушки Таля. Смуга 1 на газовій хроматограмі відповідає  $\beta$ -каріофіліну, смуга 2 – відповідає *E*- $\beta$ -фарнезину. По вісі ОХ – час утримання речовини в колонці газового хроматографа; по вісі ОУ – концентрація речовини.

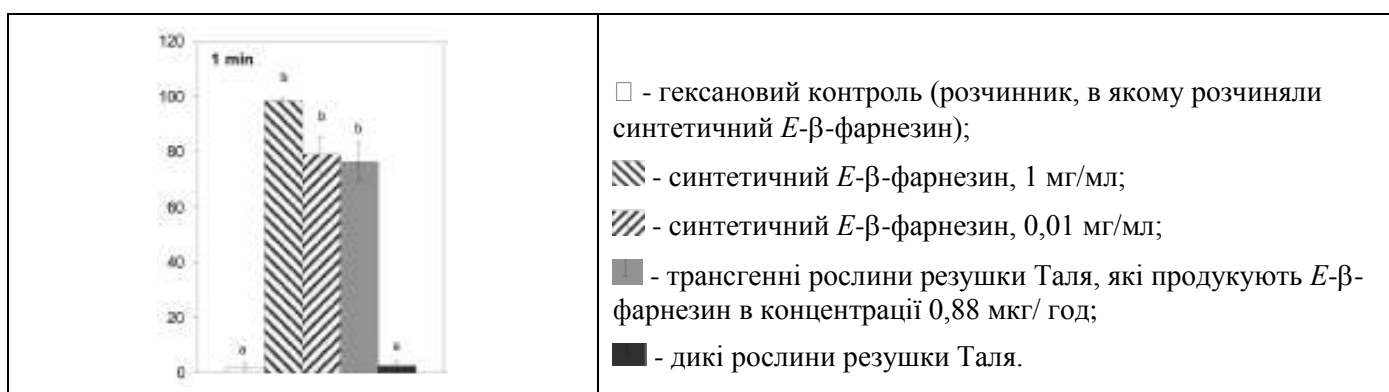


Рис. 2. Відповідь колонії попелиці *Myzus persicae* на леткі речовини, які виділяють дикі та трансгенні рослини резушки Таля, а також на синтетичний *E*- $\beta$ -фарнезин в концентрації 1 мг/мл і 0,01 мг/мл. По вісі ОУ – відсоток попелиць, що покинули територію протягом першої хвилини експерименту.

**Завдання 2.** Колонію горіхових попелиць (*Acyrtosiphon pisum* Harris) обробляли синтетичним *E*- $\beta$ -фарнезином в польових умовах і в лабораторних умовах в кліматичній камері три рази на день протягом п'яти діб в концентрації 0,2 мг/мл (Hatano et al., 2010). Результати впливу *E*- $\beta$ -фарнезину на нащадків попелиць, оброблених даним препаратом, наведені на рис. 3.

NB: У горіхової попелиці, якщо материнський організм знаходиться в стресових умовах (погані харчові умови, перенаселення рослин особинами попелиць, поїдання хижаками та інш.), нащадки народжуються з крилами, що надає їм можливість для переміщення на іншу рослину.

Проаналізуйте дані, наведені на рис.3, і дайте відповіді на наступні запитання:

1) Яким ефектом, окрім ефекту відлякування попелиць, володіє феромон *E*- $\beta$ -фарнезин?

2) За польових чи лабораторних умов експерименту, вплив обробки *E*- $\beta$ -фарнезином на нащадків попелиць був виражений сильніше? Чому?

3) До якого класу феромонів відносяться речовини з подібним механізмом дії?

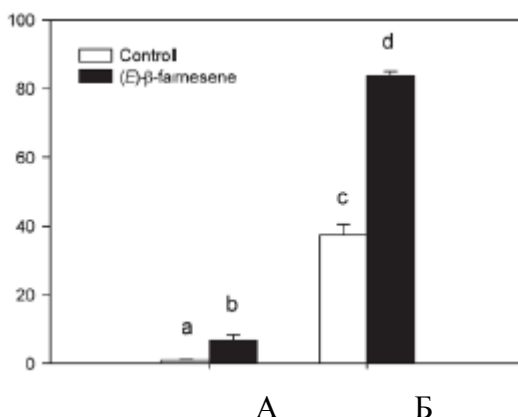


Рис. 3. Індукція формування крил у нащадків контрольної колонії попелиць та у нащадків колонії попелиць, обробленої *E*- $\beta$ -фарнезином.

Де: А – польові умови; Б – лабораторні умови експерименту; □ - нащадки контрольної колонії попелиць (стовпчики гістограми a і c); ■ - нащадки колонії попелиць, обробленої *E*- $\beta$ -фарнезином (стовпчики гістограми b і d); по вісі ОУ – відсоток крилатих нащадків у попелиць.

**Завдання 3.** Кастова диференціація особин в колонії суспільних комах визначається специфічними феромонами. Matsuura К. з колегами (Matsuura et al., 2010) дослідили хімічний склад феромонів, які продукують різні особини в популяції термітів *Reticulitermes speratus*, які широко розповсюджені в Японії. Отримані результати газової хроматографії летких компонентів наведені на рис. 4. Виділені феромони ідентифікували, синтезували аналогічні синтетичні феромони і провели обробку термітів, що розвиваються, як індивідуальними речовинами, так і сумішшю феромонів. Результати проведених досліджень наведені на рис. 5.

Проаналізуйте дані, отримані дослідниками (рис. 4-5), і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Як вплинула суміш синтетичних феромонів *n*-бутил-*n*-бутирата (*n*BnB) та 2-метил-1-бутанола (M1B), у співвідношенні 1:2, на розвиток нових самок в колонії термітів?
- 2) Як впливають індивідуальні феромони *n*BnB та 2M1B на розвиток нових самок в колонії термітів?
- 3) Чому результативним виявилось використання в експерименті суміші феромонів, а не окремих речовин?
- 4) Як Ви гадаєте, чи можливо отримати в експерименті аналогічний ефект, якщо використовувати суміш даних феромонів в іншому співвідношенні, наприклад, 2:1?

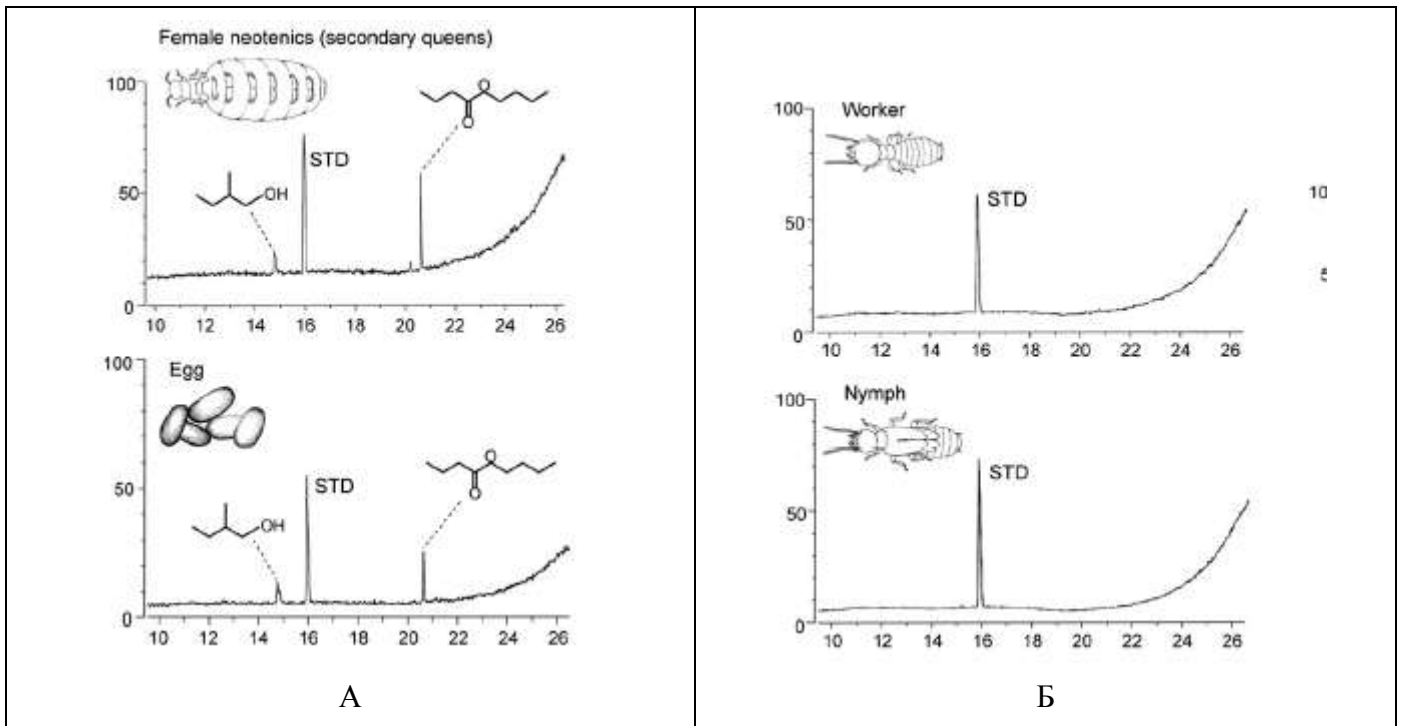


Рис. 4. Результати газової хроматографії летких компонентів, які виділяють в навколишнє середовище: А – неотенічні самки (вторинні королеви) та яйця термітів; Б – робочі терміти та німфи.

Де: CC(C)CO - пік на хроматограмі, який дає 2-метил-1-бутанол (М1В); CCCC(=O)OCCCC - пік на хроматограмі, який дає n-бутил-n-бутират (nBnB); STD – пік на хроматограмі, який дає толуен (використовується як внутрішній стандарт). По вісі ОХ – час утримання речовин в колонці хроматографа; по вісі ОУ – відносна кількість речовини.

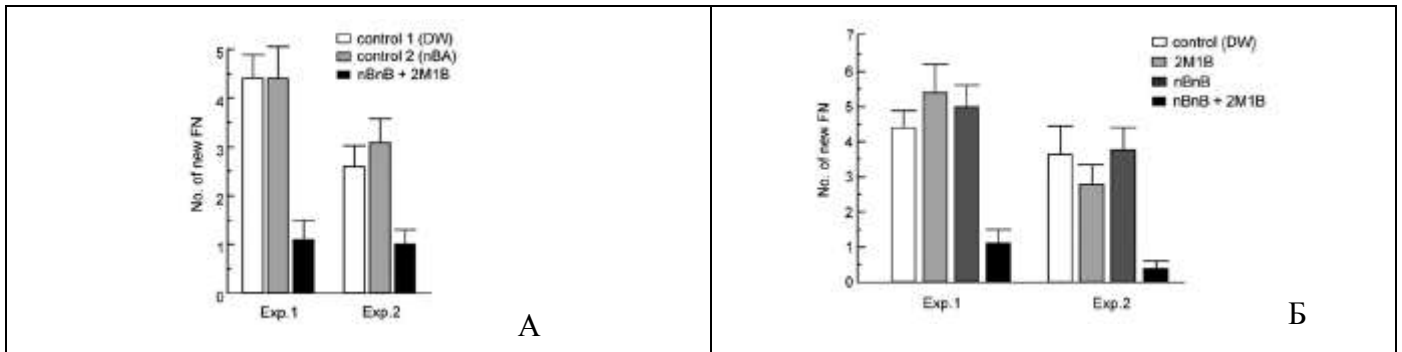


Рис. 5А. Блокування процесу диференціації нових самок термітів сумішшю синтетичних феромонів n-бутил-n-бутирата (nBnB) та 2-метил-1-бутанола (М1В) у співвідношенні 1:2. Де: □ - контроль 1, дистильована вода; ■ - контроль 2, n-бутилацетат (речовина, близька за хімічною будовою до n-бутил-n-бутирату); ■ - суміш феромонів nBnB+2M1B у співвідношенні 1:2. По вісі ОУ – кількість з'явившихся нових самок термітів. На гістограмах представлені результати двох експериментів.

Рис. 5Б. Відсутність ефекту блокування розвитку нових самок термітів за умов обробки колонії термітів окремо одним з синтетичних феромонів: n-бутил-n-бутиратом (nBnB) або 2-метил-1-бутанолом (М1В). Де: □ - контроль, дистильована вода; ■ - феромон 2-метил-1-бутанол, М1В; ■ - феромон n-бутил-n-бутират, nBnB; ■ - суміш феромонів nBnB+2M1B у співвідношенні 1:2. По вісі ОУ – кількість з'явившихся нових самок термітів. На гістограмах представлені результати двох експериментів.

**Завдання 4.** Комахи-кровососи знаходять свою жертву за запахом. Для того, щоб встановити, які саме леткі речовини приваблюють комах-кровососів, Verhulst N. з колегами (Verhulst et al., 2009) за допомогою газової хроматографії дослідили, які леткі речовини потрапляють в навколишнє

середовище від тіла людини і які з них найбільшою мірою приваблюють африканських малярійних москітів *Anopheles gambiae sensu stricto*. Досліджувались не лише леткі компоненти тканевих рідин людини (кров), але й леткі речовини, які виділяють шкірні бактерії (зокрема, бактерія *Staphylococcus epidermalis*). Результати проведених досліджень наведені на рис. 6-7 (за Verhulst et al., 2009).

Проаналізуйте дані, наведені на рис. 6-7, і дайте відповіді на наступні запитання:

1) Порівняйте результати газової хроматографії летких речовин, які продукують шкірні бактерії *Staphylococcus epidermalis*, що були вирощені на поживних середовищах, які містили кров людини (верхня дзеркальна частина хроматограми, рис. 6), і леткі речовини, які формуються над поживним середовищем, яке містить лише кров людини (нижня дзеркальна частина хроматограми, рис. 6). Перерахуйте, які речовини переважають над поживним середовищем з бактеріями? (використовуйте для цього дані, наведені на рис.7).

2) Які леткі речовини найбільш приваблюють москітів до їх жертв – запах крові жертви або запах її шкірної мікрофлори? Як Ви вважаєте, чому спостерігається подібна закономірність?

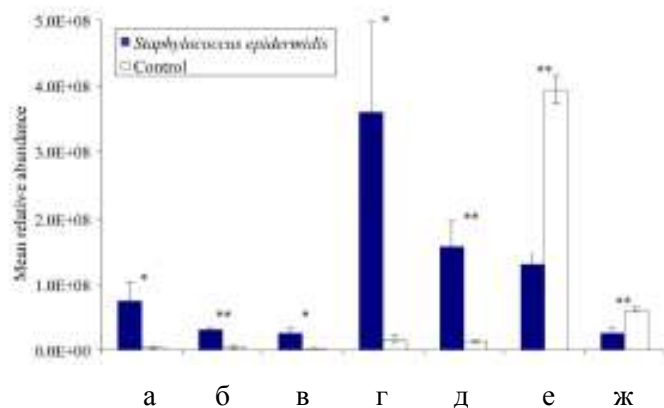
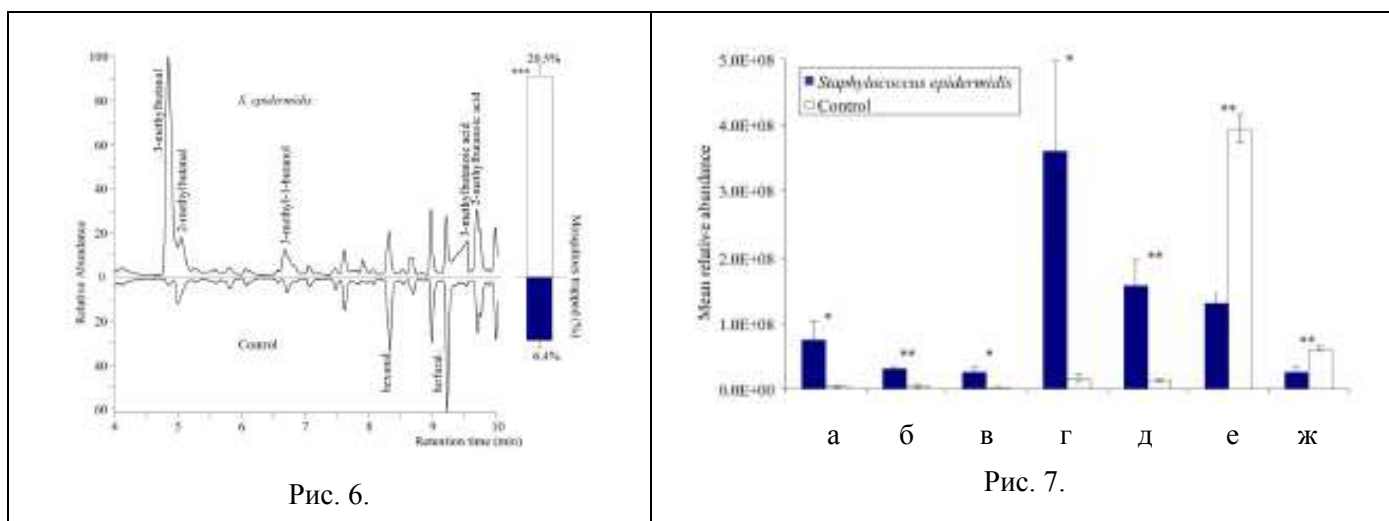


Рис. 6. Газова хроматограма летких компонентів крові людини (нижня дзеркальна частина хроматограми) та летких компонентів, які виділяють шкірні бактерії *Staphylococcus epidermalis* (верхня дзеркальна частина хроматограми). На стовпчатій діаграмі справа від хроматограми наведені дані по кількості москітів, які були приваблені до відповідних поживних середовищ. Де: □ - кількість москітів, що були приваблені до поживних середовищ, які містили мікроорганізми та кров людини (20,5%); ■ - кількість москітів, що були приваблені до поживних середовищ, які містили лише кров людини (6,4%).

Рис. 7. Стовпчаті діаграми присутності летких компонентів над поживними середовищами, які містили: □ - лише кров людини, контроль; ■ - бактерії *Staphylococcus epidermalis* та кров людини. Де: а – 2-метилбутанол; б – 2-метилбутанолова кислота; в – 3-метил-1-бутанол; г – 3-метилбутанол; д - 3-метилбутаноловая кислота; е – фурфурол; ж - гексанол

### Література:

1. Beale M.H., Birkett M.A., Bruce T.J.A., Chamberlain K., Field L.M., Huttly A.K., Martin J.L., Parker R., Phillips A.L., Pickett J.A., Prosser I.M., Shewry P.R., Smart L.E., Wadhams L.J., Woodcock C.M., Zhang Y. Aphid alarm pheromone produced by transgenic plants affects aphid and parasitoid behavior // PNAS. – 2006. – Vol. 103, No. 27. – P. 10509-10513.
2. Hatano E., Kunert G., Weisser W.W. Aphid wing induction and ecological costs of alarm pheromone emission under field condition // PLOS One. - 2010. – Vol. 5. Iss 6. e11188.
3. Matsuura K., Himuro C., Yokoi T., Yamamoto Y., Vargo E.L., Keller L. Identification of a pheromone regulating caste differentiation in termites // PNAS. – 2010. – Vol. 107, No. 29. – P. 12963-12968.

### Заняття № 13

#### Тема: Дослідження сукцесій як механізму реалізації динамічних та еволюційних змін в екосистемах

##### Завдання 1. Первинні і вторинні сукцесії.

Використовуючи інформацію, наведену в таблиці 1, дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Як і чому відрізняється тривалість первинної сукцесії модринової тайги на лавах і темнохвойної тайги на лавах на п-ові Камчатка?
- 2) Чому тривалість первинної сукцесії темнохвойної тайги на лавах на Камчатці і на пісках на Валдайській височині – схожа?
- 3) У чому полягає відмінність первинної сукцесії від вторинної?
- 4) Як і чому відрізняється тривалість первинної сукцесії модринової тайги на лавах від тривалості вторинної сукцесії модринової тайги на відвалах?
- 5) Як і чому відрізняється тривалість первинної сукцесії дубових лісів на алювіальних ґрунтах від вторинної сукцесії дубових лісів після рубки?
- 6) Чому тривалість первинної сукцесії в лугових степах на річкових терасах в п'ять разів вище, ніж тривалість вторинної сукцесії злакового степу на покладі?
- 7) Чому найбільша тривалість первинної і вторинної сукцесії відмічена в арктичній тундрі?

Таблиця 1. (по Тішков, 1994; «Стан біорізноманітності.», 2004)

Типи рослинних сукцесій:	Тривалість сукцесії:
<b>1. Первинні сукцесії:</b>	
- арктична тундра	1000-3000 років (узбережжя Льодовитого океану)
- модринова тайга на лавах	800-1200 років (Камчатка)
- темнохвойна тайга на лавах	150-200 років (Камчатка)
- темнохвойна тайга на пісках	150-200 років (Валдайська височина)
- дубові ліси на алювії	300-500 років (долина р. Ворскли)
- лучні степи на річкових терасах	150 років (тераси рр. Ворскли і Псла)
<b>2. Вторинні сукцесії:</b>	
- арктична тундра на відвалах	400-500 років (острови і узбережжя Льодовитого океану)
- модринова тайга на відвалах	350-400 років (Колимське нагір'я)
- темнохвойна тайга (поклад)	120-150 років (Валдайська височина)
- темнохвойна тайга (після пожежі)	150 років (Валдайська височина)
- дубові ліси після рубки	100-200 років (Московська область)
- степ злаковий, поклад	35-45 років (центр Російської рівнини)

##### Завдання 2. Характеристика сукцесійних і клімакських співтовариств.

Використовуючи дані таблиці 2, дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Що означають поняття сукцесійне і клімакське співтовариства?
- 2) Чому в сукцесійному співтоваристві низька видова різноманітність порівняно з клімакським співтовариством?
- 3) Чому в клімакському співтоваристві краще виражена ярусність порівняно з сукцесійним співтовариством?
- 4) Чому в сукцесійних співтовариствах показана широка спеціалізація по нішах, а в клімакських – вузька?
- 5) Чому для організмів, що входять в сукцесійні співтовариства не характерні довгі і складні життєві цикли?
- 6) Чому тиск природного добору в сукцесійних і клімакських співтовариствах має різну спрямованість?
- 7) Яку функцію виконують зворотні зв'язки в клімакських співтовариствах?

8) Чому в суцесійних співтовариствах має місце низька стійкість до зовнішніх збурень порівняно з клімаксними співтовариствами?

9) Яку перевагу отримує екосистема із закритим колообігом мінеральних речовин?

Таблиця 2. (по «Сукцесії», 1993)

Показники:	Співтовариства:	
	Сукцесійні:	Клімактичні (зрілі):
Видова різноманітність	Мало	Велике
Ярусність і просторова гетерогенність	Слабо організовані	Добре організовані
Спеціалізація по нішах	Широка	Вузька
Розміри організмів	Невеликі	Великі
Життєві цикли	Короткі і прості	Довгі і складні
Характер зростання:		
- тиск добору спрямований	На швидке зростання, г-відбір	На регуляцію зворотнього зв'язку, К-відбір
Трофічна структура:		
- харчові ланцюги	В основному пасовищні	В основному детритні
- внутрішній симбіоз	Не розвинений	Розвинений
Стабільність:		
- стійкість до зовнішніх збурень	Низька	Висока
Структура потоків енергії і біологічного колообігу:		
- NPP/ResP	> або < 1	1
- NPP/B	Високе	Низьке
- B/E	Низьке	Високе
- загальне Сорг	Мало	Багато
- колообіги мінеральних речовин	Відкриті	Закриті
- швидкість обміну біогенних речовин між організмами і середовищем	Висока	Низька
- роль детриту в регенерації біогенних речовин	Незначна	Значна

Примітка: NPP – чиста первинна продукція, RESP – гетеротрофне дихання, B – біомаса, E – доступна енергія.

### Завдання 3. Методика дослідження сукцесій.

Вивчіть методику дослідження сукцесій, наведену нижче («Сукцесії», 1993):

«...Об'єктами дослідження були самозаростаючі відвали техногенного відсіпання в яких мала місце первинна неповночленна сукцесія. Породи відвалів не токсичні і є третинними і четвертинними супісками, суглинками, глинами, алевролітами і аргілітами. На кожному відвалі були обрані три позиції: на вершині – елювіальна (Ель), на схилі – транзитна (Транс), біля підніжжя – акумулятивна (Ак). В якості еталонних термінальних співтовариств були обрані два луки, характерні для північної частини лісостепової зони, в якій розташовувались об'єкти дослідження. Перший – остепнений лук (ОЛ) на лучно-чорноземному ґрунті, розташований на природній катені в елювіально-транзитній позиції. Другий – мезофітний злаково-різнотравний лук на чорноземно-лучному ґрунті, приурочений до високої тераси р. Чулим. Для геоботанічних описів на кожному об'єкті була обрана ділянка 200 x 50 м, в якій закладалися десять квадратів розміром 10 x 10 м. Описи проводились або три рази в сезон (червень, липень, серпень), або один раз – в липні. Чисельність життєспроможних клітин мікроорганізмів визначали методом посіву на агаризовані поживні середовища: м'ясопептонний агар – для тих мікроорганізмів, що використовують органічні джерела азоту, крахмал-амміачний агар – для тих, що потребують неорганічних джерел азоту, голодний агар – для оліготрофів, агар Чапека – для грибів. Ґрунтові зразки на протистофауну відбирали за загальноприйнятою методикою мікробіологічних аналізів. Визначення ґрунтових найпростіших проводили методом граничних розведень навісок ґрунту рідким поживним середовищем (сінний настій з ґрунтовою витяжкою). Для визначення дрібних

грунтових амеб використовували тверді агаризованні поживні середовища. Культури інкубували в термостаті при температурі  $+22^0+24^0\text{C}$ , проглядання розведень під мікроскопом починали після трьох діб інкубації і продовжували його протягом місяця. Робота з панцирними кліщами (орибатидами) проводилась по загальноприйнятій методиці. Вигнання кліщів з проб ґрунту проводили в термоеклекторах Тульгрена-Берлезе: під дією світла електричних ламп ґрунтові зразки поступово висушувалися зверху вниз, внаслідок чого термофобні орибатиди витіснялись у фіксуєчу рідину, з якої потім виймалися, заливалися рідиною Фора в постійні препарати на наочних скельцях. Видову ідентифікацію проводили під мікроскопом...» («Сукцесії», 1993).

#### **Завдання 4. Аналіз фітоценотичної структури сукцесійних співтовариств**

Як один з параметрів, що характеризують хід сукцесії, використовують фітоценотичну структуру видового складу співтовариств. Фітоценотичні групи включають смітні види, характерні для початкових стадій сукцесії, види покладів, які домінують на проміжних стадіях, і термінальні види, тобто види, що складають зональні незасмічені співтовариства, – степові, лучно-степові, лучні, лучно-лісові, лісові, лучно-болотні, болотні. За близькістю кількісних значень структури співтовариства до параметрів, що характеризують термінальні стадії, можливо судити про швидкість і просунутість сукцесії і про схожість трендів рослинності в різних сукцесійних серіях.

Використовуючи дані таблиці, дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) Як змінюється в процесі сукцесії кількість смітних видів, видів покладів і термінальних видів в кожному типі досліджуваних екосистем?
- 2) В якому з фітоценозів – Ель, Транс або Ак – швидше проходить сукцесія в напрямі термінального клімаксного стану і чому?

Таблиця 3. (по «Сукцесії», 1993) Характеристика рослинних співтовариств

Еко-системи:	Вік співтовариства, років:	Співтовариство:	Кількість видів на 1000 м <sup>2</sup>	Види-домінанти:
Ель	7-9	Бур`янисте	28	<i>Tussilago farfara</i> , <i>Artemisia vulgaris</i> , <i>Cirsium setosum</i>
Транс	7-9	Бур`янисте	23	<i>Tussilago farfara</i> , <i>Artemisia vulgaris</i> , <i>Cirsium setosum</i> , <i>Elutrigia repens</i>
Ак	7-9	Злаково-очеретяне	35	<i>Typha angustifolia</i> , <i>Elytrigia repens</i> , <i>Tussilago farfara</i> , <i>Cirsium setosum</i>
Ель	25-27	Злакове	14	<i>Elutrigia repens</i> , <i>Poa pratensis</i> , <i>Calamagrostis epigeios</i>
Транс	25-27	Різотравно-бобово-злакове	43	<i>Elutrigia repens</i> , <i>Equisetum pratense</i> , <i>Trifolium pratense</i> , <i>Achillea millefolium</i>
Ак	25-27	Злаково-осокове	27	<i>Carex capitata</i> , <i>Poa pratensis</i> , <i>Calamagrostis epigeios</i> , <i>Trifolium pratense</i>

Примітка: Ель – елювіальна екосистема, Транс – транзитна екосистема, Ак – акумулятивна екосистема.

Таблиця 4. (по «Сукцесії», 1993) Зміна фітоценотичного складу видів і фітомаси при первинному заростанні відвалів %

Види:	Вік катен, років						МЛ	ОЛ
	7-9 років			25-27 років				
	Ель	Транс	Ак	Ель	Транс	Ак		
Кількість видів:								
Смітні	25	45	30	-	18	16	13	9
Покладів	20	24	15	-	30	25	30	14
Термінальні	55	31	55	-	52	59	57	77
Частка фітомаси:								
Смітні	33	33	12	2	7	4	1	1
Покладів	67	62	45	69	44	39	25	11



Термінальні	1	5	43	29	49	57	74	88
-------------	---	---	----	----	----	----	----	----

Де: МЛ – мезофітний лук, ОЛ – остепнений лук (еталонні термінальні екосистеми)

### **Завдання 5. Динаміка рослинної сукцесії**

Для оцінки швидкості сукцесійних змін, вводять показник динамічності D:  $D = \frac{n2 + n3}{n1}$

де: n1 – кількість видів, що збереглися, n2 – кількість тих видів, що випали і n3 – кількість видів, що з'явилися за певний час. Якщо D>1, то кількість видів, що змінюють склад співтовариства, більше кількості видів, що зберігають цей склад. Якщо D<1, то має місце протилежна ситуація. Показник  $A = n3/n2$  відображує накопичення (при A>1) або втрату (при A<1) видів в співтоваристві.

Проаналізуйте дані таблиці 5 і дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) У якій з екосистем - Транс, Ель або Ак – показник динамічності первинних сукцесії найвищий в період початку заростання (7-9 років) і чому?
- 2) Чому з віком відвала динамічність первинної сукцесії на транзитній позиції знижується, а на акумулятивній – зростає?
- 3) Який тип кореляції можливий між показником динамічності і показником накопичення видів в екосистемах?
- 4) Як і чому змінюється показник накопичення видів в транзитній екосистемі на ранніх (7-9 років) і пізніх (25-27 років) етапах сукцесії?
- 5) Як і чому змінюється показник накопичення видів в акумулятивній екосистемі на ранніх (7-9 років) і пізніх (25-27 років) етапах сукцесії?

Таблиця 5. (по «Сукцесії», 1993) Показники динамічності і напряму сукцесії

Показники:	Первинне заростання, вік катен, роки				
	7-9			25-27	
	Ель	Транс	Ак	Транс	Ак
Кількість зареєстрованих видів	43	37	51	60	43
Показник динамічності	2,3	6,0	2,6	1,7	3,3
Показник накопичення	1,5	0,8	5,0	1,2	0,8

### **Література:**

1. Тішков А.А. Географічні закономірності природних і антропогенних сукцесій. Дисертація у формі доповіді на здобуття вченого ступеня доктора географічних наук. –М.: Інститут географії РАН, 1994. – 81 с.
2. Сукцесії і біологічний круговорот /А.А. Тітлянова, Н.А. Афанасьєв, Н.Б. Наумов і ін. – Новосибірськ: У «Наука». Сибірська видавнича фірма, 1993. – 157 с.
3. Стан біорізноманітності природних екосистем Росії / Під ред. В.А. Орлова і А.А.Тішковаю М.: НІА. – Природа, 2004. - 116 с.

### **Заняття № 14**

#### **Тема: Аналіз впливу антропогенного перетворення територій на інтенсивність функціонування геосистем**

#### **Теоретичні відомості.**

Інтенсивність функціонування геосистем визначається за інтенсивністю обміну речовин і енергії в геосистемах. Інтенсивність обігу води в геосистемі оцінюється на підставі аналізу значень коефіцієнтів транспірації/випаровування і стоку води:

$$K_{\text{транспірації/випаровування}} = \frac{\text{Річний обсяг транспірації і випаровування}}{\text{Річна кількість опадів}}$$

$$K_{\text{стоку води}} = \frac{\text{Обсяг річного стоку}}{\text{Річна кількість опадів}}$$

Інтенсивність обігу мінеральних речовин в геосистемі оцінюється на підставі аналізу значень коефіцієнтів твердого стоку і стоку розчинених речовин:

$$K_{\text{твердого стоку}} = \frac{\text{Маса твердих речовин, які виносяться за межі геосистеми}}{\text{Площа геосистеми}}$$

$$K_{\text{стоку розчинених речовин}} = \frac{\text{Маса розчинених речовин, які виносяться за межі геосистеми}}{\text{Площа геосистеми}}$$

Інтенсивність обігу біотичних речовин в геосистемі оцінюється на підставі аналізу значень коефіцієнту біологічної продуктивності геосистеми і коефіцієнту виносу біоти за межі геосистеми:

$$K_{\text{біопродуктивності}} = \frac{\text{Первинна фітопродукція в геосистемі} \times 100\%}{\text{Загальна фітомаса геосистеми}}$$

$$K_{\text{виносу біоти}} = \frac{\text{Біомаса, яка виноситься за межі геосистеми} \times 100\%}{\text{Загальна біомаса геосистеми}}$$

Інтенсивність обігу сонячної енергії в геосистемі оцінюється на підставі аналізу значень коефіцієнтів відбивання сонячної енергії (альbedo) і теплової трансформації сонячної енергії в геосистемі.

$$K_{\text{відбивання}} = \frac{\text{Відбита сонячна радіація}}{\text{Сумарна сонячна радіація на поверхні Землі}}$$

$$K_{\text{теплової трансформації E}} = \frac{\text{Енергія Сонця, яка була витрачена на теплове нагрівання поверхні}}{\text{Сумарна сонячна радіація на поверхні Землі}}$$

Тимчасові зміни показників функціонування геосистеми в межах  $\pm 10\%$  від базового рівня зазвичай спостерігаються під час надрічних коливань кліматичних показників на даній території і, як правило, не супроводжуються розбалансуванням геосистеми в цілому. Тоді як господарське перетворення території зазвичай призводить до тривалих і значних змін показників функціонування геосистеми, що, в цілому, сприяє дестабілізації геосистеми і її поступовій заміні на геосистему іншого типу.

**Завдання 1.** На підставі даних, наведених в таблицях 1 і 2:

- 1) Розрахуйте значення коефіцієнтів інтенсивності функціонування геосистем для природних і антропогенних ландшафтів, які знаходяться в однакових ландшафтних зонах.
- 2) Отримані дані внесіть до таблиці 3.
- 3) Розрахуйте % відхилення значень показників функціонування геосистеми, які виникли внаслідок антропогенного перетворення геосистем.
- 4) Зробіть висновок про характер впливу антропогенного перетворення територій на інтенсивність обміну речовин і енергії в геосистемах, якщо відомо, що зміна інтенсивності обігу речовин і енергії в геосистемі в межах 10% не призводить до дестабілізації геосистеми. Тривалі зміни більшої амплітуди – як в бік прискорення, так і гальмування процесів – спроможні розбалансувати геосистему.

$$\% \text{ відхилення значень} = \frac{(K_B - K_A)}{K_A} \times 100\%$$

де:  $K_A$  – значення відповідного коефіцієнту для геосистеми А;  $K_B$  - значення відповідного коефіцієнту для геосистеми В.

Таблиця 1.

Основні характеристики геосистеми	Тип геосистеми	
	Широколистяний ліс	Поля злакових посівів на місці вирубки широколистяного лісу
Річна кількість опадів, мм	650 мм	630 мм
Річний обсяг транспірації і випаровування, мм	520 мм	390 мм
Річний стік води, мм	130 мм	240 мм
Маса твердих речовин, які виносяться за межі геосистеми, тонн в рік	4320 т/рік	106800 т/рік
Маса розчинених мінеральних речовин, які виносяться за межі геосистеми, тонн в рік	410 т/рік	1522 т/рік
Площа геосистеми, км <sup>2</sup>	216 км <sup>2</sup>	267 км <sup>2</sup>

Первинна фітопродукція в геосистемі, тонн в рік на гектар	13 т/га	14 т/га
Загальна фітомаса геосистеми, тонн на гектар	380 т/га	14 т/га
Фітомаса, яка виноситься за межі геосистеми, тонн в рік з гектару	1,9 т/га (природний винос)	14 т/га (господарський винос)
Сумарна сонячна радіація у поверхні Землі, МДж/м <sup>2</sup> в рік	1550 МДж/м <sup>2</sup>	1550 МДж/м <sup>2</sup>
Відбита сонячна радіація, МДж/м <sup>2</sup> в рік	217 МДж/м <sup>2</sup>	378 МДж/м <sup>2</sup>
Енергія Сонця, яка була витрачена на тепловий нагрів поверхні Землі, МДж/м <sup>2</sup> в рік	1323,7 МДж/м <sup>2</sup>	1168,9 МДж/м <sup>2</sup>
Енергія Сонця, яка була витрачена на фотосинтез, МДж/м <sup>2</sup> в рік	9,3 МДж/м <sup>2</sup>	3,1 МДж/м <sup>2</sup>

Таблиця 2.

Основні характеристики геосистеми	Тип геосистеми	
	Північностепова природня геосистема	Гірськорудні розробки на території північностепової геосистеми
Річна кількість опадів, мм	550 мм	578 мм
Річний обсяг транспірації і випаровування, мм	480 мм	384 мм
Річний стік води, мм	70 мм	194 мм
Маса твердих речовин, які виносяться за межі геосистеми, тонн в рік	14700 т/рік	261000 т/рік (природний винос) 10 млн т/рік руди (господарський винос)
Маса розчинених мінеральних речовин, які виносяться за межі геосистеми, тонн/рік	1235 т/рік	4385 т/рік
Площа геосистем, км <sup>2</sup>	196 км <sup>2</sup>	174 км <sup>2</sup>
Первинна фітопродукція в геосистемі, тонн в рік на гектар	19 т/га	0,5 т/га
Загальна фітомаса геосистеми, тонн на гектар	17 т/га	0,47 т/га
Фітомаса, яка виноситься за межі геосистеми, тонн в рік з гектару	0,07 т/га	0,0017 т/га
Сумарна сонячна радіація біля поверхні Землі, МДж/м <sup>2</sup> в рік	1800 МДж/м <sup>2</sup>	1800 МДж/м <sup>2</sup>
Відбита сонячна радіація, МДж/м <sup>2</sup> в рік	414 МДж/м <sup>2</sup>	90 МДж/м <sup>2</sup>
Енергія Сонця, яка була витрачена на тепловий нагрів поверхні Землі, МДж/м <sup>2</sup> в рік	1383,2 МДж/м <sup>2</sup>	1710 МДж/м <sup>2</sup>
Енергія Сонця, яка була витрачена на фотосинтез, МДж/м <sup>2</sup> в рік	2,8 МДж/м <sup>2</sup>	0,0003 МДж/м <sup>2</sup>

Таблиця 3.

Показник інтенсивності функціонування геосистеми	Тип геосистеми:		% відхилення значень	Причини відхилення значень показників в антропогенно-перетвореній геосистемі
Ктранспірації/випаровування				
Кстоку води				
Ктвердого стоку				
Кстоку розчинених речовин				
Кбіопродуктивності				

Квиносу біотичних речовин				
Квідбивання				
Ктепловой трансформації <i>E</i>				

Перелік питань для підготовки до семінарського заняття:

1. Поняття інтенсивності функціонування геосистем.
2. Методи оцінки інтенсивності обігу води в геосистемах.
3. Вплив господарської діяльності людини на величину транспірації/випаровування і стока води.
4. Твердий стік і стік розчинених речовин для різних природних територій і територій, освоєних людиною.
5. Біогенний обіг в геосистемі. Квазізамкнений характер біогенного обігу в природних геосистемах. Порушення квазізамкненості біогенного обігу внаслідок господарського освоєння територій.
6. Оцінка інтенсивності обігу біогенних речовин в геосистемі: коефіцієнти біопродуктивності і виносу біотичних речовин за межі геосистеми.
7. Перетворення сонячної енергії в інші типи енергії: теплову енергію, механічну енергію, енергію хімічних зв'язків.
8. Поняття альbedo. Значення альbedo для різних ландшафтів. Вплив господарської діяльності людини на величину альbedo поверхні геосистеми.

**Література:**

1. Исаченко А.Г. Ландшафтоведение и физико-географическое районирование. – М.: Высш. Школа, 1991. – 366 с.
2. Соболева Н.П. Ландшафтоведение: учебное пособие / Н.П. Соболева, Е.Г. Языков. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2010. – 175 с.
3. Мамай И.И. Динамика и функционирование ландшафтов. Учебное пособие. – М.: Узд-во Московського унівеситета, 2005. – 138 с.

**Заняття № 15**

**Тема: Методи вивчення стійкості геосистем**

**Частина 1. Методи кількісної оцінки стійкості геосистем до антропогенних навантажень**

**Теоретичні відомості.**

Кількісна оцінка стійкості геосистем проводиться за наступними показниками:

1) вірогідність відмови геосистеми: 
$$q_{i(\Delta t)} = \frac{n_{i(\Delta t)}}{N}$$

де:  $q_{i(\Delta t)}$  – вірогідність відмови геосистеми за  $i$ -ознакою за час  $\Delta t$ ;  $n_{i(\Delta t)}$  – кількість виявлених геосистем з  $i$ -відмовою за час  $\Delta t$ ;  $N$  – загальна кількість обстежених геосистем.

2) вірогідність не відмови геосистеми:

$$p_{i(\Delta t)} = 1 - q_{i(\Delta t)}$$

де:  $p_{i(\Delta t)}$  – вірогідність невідмови геосистеми за  $i$ -ознакою за час  $\Delta t$ ;  $q_{i(\Delta t)}$  – вірогідність відмови геосистеми за  $i$ -ознакою за час  $\Delta t$ .

3) вірогідність заміни однієї геосистеми на іншу – розраховують шляхом множення вірогідностей відмов за одними ознаками і невідмов за іншими ознаками в геосистемі.

Наприклад, обстеження зрошуваних територій в пониззях річки Дністр через 11 років після початку зрошення, показало наступне: з 100 плоскорівнинних урочищ типу  $P_1$  – в 40 урочищах розпочалось осолонцювання ґрунтів, в 10 урочищах – засолення ґрунтів і в 20 урочищах – підтоплення територій. За формулою № 1 розраховується вірогідність появи відмов різного типу в геосистемах і отримані дані заносять до таблиці А:

Таблиця А

Тип вихідної	Вірогідність появи відмов різного типу в геосистемах після 11 років експлуатації:
--------------	---

геосистеми	відмова осолонцювання, a	відмова засолення, g	відмова підтоплення, h	відмова ерозії ґрунтів, es, el
Плоскорівнинні урочища, P <sub>1</sub>	0,4	0,1	0,2	0

На наступному етапі розраховують вірогідність заміни однієї геосистеми на іншу – шляхом множення вірогідностей відмов в геосистемі за одними ознаками і невідмов за іншими ознаками.

Наприклад,

1) Вірогідність збереження геосистем типу P<sub>1</sub> незмінними буде дорівнювати множенню вірогідностей невідмов геосистем типу P<sub>1</sub> за усіма ознаками:

$$P_1 \rightarrow P_1 = (1 - 0,4) \cdot (1 - 0,1) \cdot (1 - 0,2) = 0,43$$

2) Вірогідність заміни геосистеми P<sub>1</sub> на геосистему P<sub>2</sub> (з осолонцюванням ґрунтів) дорівнює множенню вірогідностей відмов по осолонцюванню на невідмови за усіма іншими параметрами:

$$P_1 \rightarrow P_2 = 0,4 \cdot (1 - 0,1) \cdot (1 - 0,2) = 0,29$$

3) Вірогідність заміни геосистеми P<sub>1</sub> на геосистему P<sub>3</sub> (з засоленням ґрунтів) дорівнює множенню вірогідностей відмов геосистем за засоленням на невідмови за усіма іншими параметрами:

$$P_1 \rightarrow P_3 = 0,1 \cdot (1 - 0,4) \cdot (1 - 0,2) = 0,05$$

4) Вірогідність заміни геосистеми P<sub>1</sub> на геосистему P<sub>4</sub> (з засоленням ґрунтів і підтопленням територій) дорівнює множенню вірогідностей відмов геосистем за засоленням і підтопленням на невідмови за іншими параметрами:

$$P_1 \rightarrow P_4 = 0,1 \cdot 0,2 \cdot (1 - 0,4) = 0,01$$

5) Вірогідність заміни геосистеми P<sub>1</sub> на геосистему P<sub>5</sub> (з засоленням, підтопленням і осолонцюванням ґрунтів) дорівнює множенню вірогідностей відмови геосистем за усіма цими ознаками:

$$P_1 \rightarrow P_5 = 0,4 \cdot 0,1 \cdot 0,2 = 0,01$$

Отримані дані заносять до таблиці Б:

Таблиця Б. Матриця вірогідностей заміни однієї геосистеми на іншу:

Тип геосистеми:	P <sub>1</sub> - - вихідні плоско- рівнинні урочища	P <sub>2</sub> - - урочища з осолонцю- ванням	P <sub>3</sub> - - урочища з засоленням	P <sub>4</sub> - - урочища з засоленням і підтопленням	P <sub>5</sub> - - урочища з засоленням, підтопленням і осолонцюванням
P <sub>1</sub> – вихідні плоско- рівнинні урочища	0,43	0,29	0,05	0,01	0,01

Спеціальні комп'ютерні програми дозволяють на підставі експериментальних даних отриманих через 11 років після початку зрошення територій спрогнозувати вірогідність заміни одного типу геосистем на інший через проміжок часу, кратний 11 рокам, т.т. через 22, 33, 44, 55 років і т.п. після початку зрошення територій.

В цілому, оцінка вірогідностей заміни геосистеми одного типу на геосистеми інших типів є важливою в ситуації, коли дослідник не має можливості отримати емпіричні експериментальні дані - зокрема, при підготовці довгострокових прогнозів впливу антропогенних навантажень на геосистеми.

**Завдання 1.** Використовуючи картосхему Рис. 1, охарактеризуйте геосистеми степової зони України за найбільш вірогідними типами відмов.



Рис. 1. Картосхема стійкості геосистем степової зони України. Типи геосистем за найбільш вірогідними типами відмов: D-A-2, E-BB-5, E-GG-5, A-DG-4, A-G-4, A-HG-5, H-G-3.

**Завдання 2.** Обстеження зрошуваних територій через 11 років після початку зрошення показало наступне: з 100 схилових урочищ типу  $C_1$  – у 20 урочищ було виявлено плоскі стну ерозію (змив ґрунтів) і у 10 урочищ - лінійну ерозію схилів (утворення борізд ерозії).

1. Розрахуйте вірогідність появи відмов за площинною та за лінійною ерозією.
2. Розрахуйте вірогідність не появи відмов за цими ознаками.
3. Розрахуйте вірогідність заміни геосистеми типу  $C_1$  (похилі схили з нееродованими чорноземами) на геосистеми типу  $C_2$  (похилі схили зі смитими ґрунтами) і на геосистеми типу  $C_3$  (похилі схили зі смитими ґрунтами і бороздами ерозії).

**Завдання 3.** Використовуючи дані таблиць А і Б, а також дані, отримані Вами під час виконання завдання № 2, розрахуйте прогнозні збитки від зрошення територій за 11 років їх експлуатації:

- 1) від осолонцювання ґрунтів (заміна геосистем типу  $P_1$  на геосистеми типу  $P_2$ );
- 2) від змиву ґрунтів (заміни геосистем типу  $C_1$  на геосистеми типу  $C_3$ ) за формулою:

$$S = P \times (q_1 \times S_1 + q_2 \times S_2 + \dots + q_n \times S_n),$$

де:  $S$  – прогнозні збитки внаслідок заміни однієї геосистеми на іншу;  $P$  – вірогідність заміни однієї геосистеми на іншу;  $q_1$  – вірогідність появи в геосистемі відмови 1-го типу;  $S_1$  – вартість відмови 1-го типу;  $q_2$  – вірогідність появи в геосистемі відмови 2-го типу;  $S_2$  – вартість відмови 2-го типу;  $q_n$  – вірогідність появи в геосистемі відмови  $n$ -го типу;  $S_n$  – вартість відмови  $n$ -го типу.

**NB:** в лабораторній роботі прийміть вартість відмови осолонцювання ґрунтів рівною 10000 грив/га і відмов змиву ґрунтів і появи борізд ерозії рівною 170 000 грив/га.

Перелік питань для підготовки до семінарського заняття:

1. Інертність геосистем. Пластичність геосистем. Відновлюваність геосистем.
2. Поняття відмови геосистеми. Типи відмов в геосистемах.
3. Міжнародна номенклатура геосистем за рівнем стійкості і типами відмов.
4. Розрахунок вірогідності відмови геосистеми. Розрахунок вірогідності невідмови геосистеми.
5. Прогнозування вірогідностей заміни однієї геосистеми на іншу за матрицями Маркова.

## Частина 2. Стійкість до антропогенних навантажень перехідних територій між природною і господарською підсистемами

### Теоретичні відомості.

Рівень нестабільності геоекотонних територій визначається контрастністю умов в суміжних геосистемах. Кількісно, контрастність перехідної території між суміжними геосистемами розраховується за наступною формулою:  $K_{ab} = \frac{D_{ab}}{l_{ab}}$

де:  $K_{ab}$  – контрастність перехідної території між двома суміжними геосистемами а і b,  $D_{ab}$  – дистанційний коефіцієнт між геосистемами а і b,  $l_{ab}$  – ширина перехідної території між геосистемами а і b.

Дистанційний коефіцієнт – це сума відмінностей між геосистемами за температурою, зволоженням, складу біоти, ґрунтів і т.п. Дистанційний коефіцієнт розраховується за формулою:

$$D_{ab} = \sum a_i \cdot \frac{(x_{ai} - x_{bi})^2}{(x_{ai} + x_{bi})}$$

де:  $D_{ab}$  - дистанційний коефіцієнт між геосистемами а і b;  $a_i$  – коефіцієнт, який відображує рівень значення даного фактору для функціонування геосистем а і b;  $x_{ai}$  і  $x_{bi}$  – значення параметру і для геосистем а і b, відповідно.

Наприклад, величина дистанційного коефіцієнту між Лужсько-Оредежським (I) і Іжорським (II) ландшафтами розраховується наступним чином (первинні дані наведені у таблиці 1; коефіцієнт  $a_i$  - значення даного фактору для функціонування геосистем - дорівнює 1):

$$D_{I-II} = (1672 - 1585 / 1672 + 1585)^2 + (757 - 708 / 757 + 708)^2 = \dots$$

Таблиця 1. Порівняльні кліматичні характеристики ландшафтів

Ландшафт	Пункт спостереження	Температура °С			Річна сума активних температур	Безморозний період, дні	Річна сума опадів
		січень	липень	мін			
I. Лужсько-Оредежський	Білогорка	-8,7	+16,7	-43	1672	126	708
II. Іжорський	Волосово	-8,8	+16,3	-42	1585	117	757

**Геосистеми-агресори і геосистеми-донори.** До явища територіальної агресії відносять: ріст ярів, руйнування берегової смуги зсувами і розмивання водою, наступ пустель, наступ болот на ліси і навпаки, відкладання сельових, вулканічних, річкових та інш. наносів на територію геосистеми-донора, розповсюдження техногенних геоекотонів внаслідок явища геоecологічної трансмісії.

Для кількісної оцінки інтенсивності переміщення між геосистемами-агресорами і геосистемами-донорами використовується модифікована формула Ч. Мак-Джилкрайста:

$$K_{i \rightarrow j} = 0,5 \cdot (S_{i1} - S_{i0} + 0,5 \cdot (S_{j1} - S_{j0}))$$

де:  $K_{i \rightarrow j}$  – показник територіального тиску геосистеми і на геосистему j;  $S_{i0}$  і  $S_{j0}$  – площі геосистем і · і j в початковий момент часу;  $S_{i1}$  і  $S_{j1}$  – площі геосистем і · і j через певний проміжок часу.

### Завдання 1. Встановлення значень дистанційного коефіцієнту і контрастності перехідних територій між природними і антропогенно-трансформованими геосистемами

Використовуючи дані таблиці 1, розрахуйте значення дистанційного коефіцієнту і контрастність перехідних територій між:

- природними геосистемами середньостепової і північностепової ландшафтних підзон;
- природною геосистемою і техносистемою (гірськопромисловий комплекс) на території північностепової ландшафтної підзони.

Таблиця 1. Порівняльні кліматичні характеристики природних і антропогенно-трансформованих геосистем

Геосистема	Середня річна кількість опадів, мм	Річна сума активних температур (більше +10°С)
Природний середньостеповий ландшафт	538 мм	3207

Природний північностеповий ландшафт	550 мм	2915
Гірськопромисловий комплекс на території північностепової ландшафтної підзони	578 мм	3147

Ширина перехідної території:

- між середньостеповою і північностеповою ландшафтними підзонами дорівнює 15 км;
- між природною і антропогенно-трансформованою геосистемами на території північностепової ландшафтної підзони – 0,5 км.

Проаналізуйте отримані дані (значення дистанційних коефіцієнтів і контрастності перехідних територій) і зробіть висновок про можливі наслідки впливу техногенних об'єктів на стійкість перехідних територій між природною і антропогенно-трансформованою геосистемами, на території яких вони розташовані.

### **Завдання 2. Явище територіальної агресії. Територіальний тиск геосистем.**

Розрахуйте показник очікуваного територіального тиску геосистеми-агресора (рівнинна геосистема з активними ярами) на геосистему-донор (рівнинна геосистема), використовуючи модифіковану формулу Ч. Мак-Джилкрайста, якщо відомо, що в початковий момент часу: довжина рівнинної геосистеми становила 100 км; ширина рівнинної геосистеми становила 100 км; довжина межі між рівнинною геосистемою і геосистемою з активними ярами становила 100 км; ширина рівнинної геосистеми з активними ярами становила 70 км. Швидкість розповсюдження ярів на територію суміжної геосистеми становить, в середньому, 10 м в рік.

Хід роботи:

- а) Дайте схематичне зображення геосистем. Вкажіть початкові параметри їх територій.
- б) Розрахуйте значення площ обох ландшафтів в початковий момент проведення дослідження.
- в) Розрахуйте можливі значення площ обох ландшафтів через 100 років (середня швидкість розповсюдження ярів на територію суміжної геосистеми становить 10 м в рік).
- г) Розрахуйте показник очікуваного територіального тиску однієї геосистеми на іншу, використовуючи модифіковану формулу Ч. Мак-Джилкрайста.

Перелік питань для підготовки до семінарського заняття:

1. Поняття геоекотону. Природні геоекотони.
2. Встановлення контрастності перехідних територій між суміжними геосистемами. Визначення дистанційного коефіцієнту між геосистемами.
3. Техногенні геоекотонні зони. Причини небезпечності формування техногенних геоекотонів.
4. Геосистеми-агресори. Геосистеми-донори. Техногенні геосистеми-агресори. Поняття геоecологічної трансмісії.

### **Частина 3. Стійкість природних геосистем за умов оточення техногенними системами**

**Завдання 1.** Використовуючи картосхему (Рис. 1) побудуйте граф біоцентрично-сітьової ландшафтно-територіальної структури Керченського напівостріву.

**Завдання 2.** Використовуючи дані таблиці № 1 і формулу гравітаційної моделі:

- 1) розрахуйте інтенсивність біотичних міграцій: а) між біоцентрами № 2 і № 1; б) між біоцентрами № 2 і № 3; в) між біоцентрами № 2 і № 4; г) між біоцентрами № 3 і № 4;
- 2) отримані дані внесіть до таблиці № 1 і на ребра побудованого Вами графу біоцентрично-сітьової ландшафтно-територіальної структури Керченського напівостріву;
- 3) зробіть висновок про те, які умови сприяють біотичній міграції між біоцентрами.

Формула гравітаційної моделі для умовної оцінки інтенсивності біотичних міграцій між біоцентрами:

$$C_{ij} = k \cdot \frac{S_i \cdot S_j}{d_{ij}^2}$$



де:  $C_{ij}$  – умовна оцінка інтенсивності біотичних міграцій між біоцентрами  $i$  і  $j$ ;  $k$  – коефіцієнт едафічного різноманіття біокоридору;  $S_i$  і  $S_j$  – площі біоцентрів  $i$  і  $j$ ;  $d_{ij}$  – довжина біокоридору, який з'єднує біоцентри  $i$  і  $j$ .

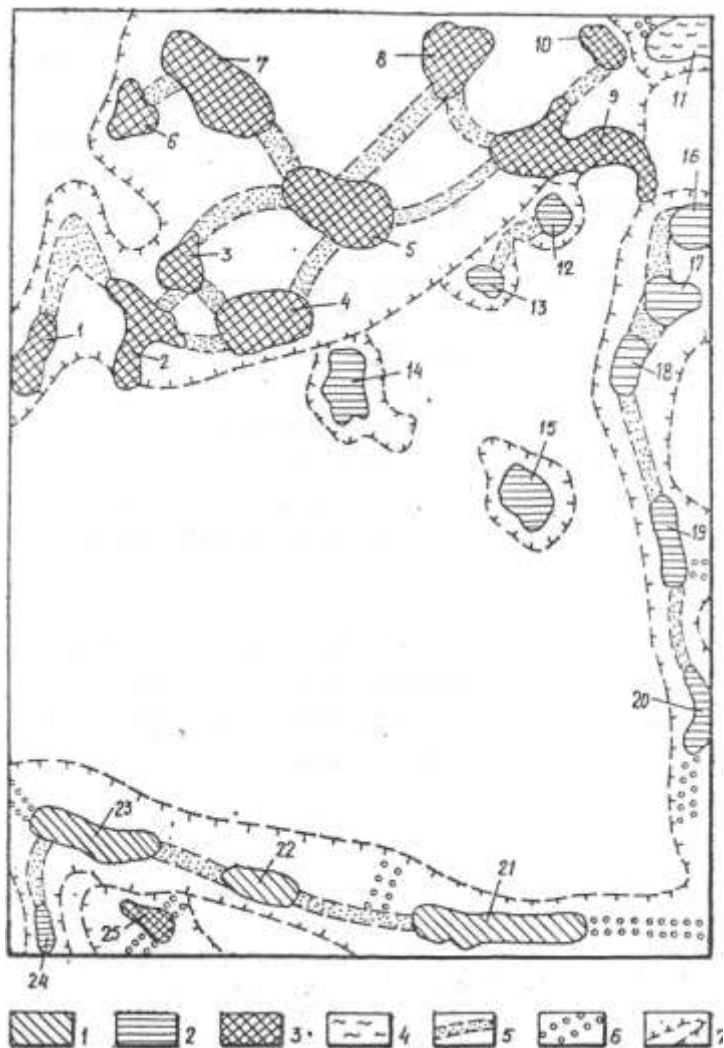


Рис. 1. Картохема біоцентрично-сітьової ландшафтно-територіальної структури Керченського напівостріву (фрагмент). Біоцентри: 1 – ксерофітно-степові і петрофітностепові; 2- ксерофітно-кустарничково-лісові; 3 - галофітно-лучні; 4 – псамофітно-лісові; 5 – біокоридори; 6 – інтерактивні елементи; 7 – зони впливу біотичних елементів. Цифри на схемі (1-25) – номери біоцентрів.

Таблиця 1. Параметри деяких біоцентрів і біокоридорів Керченського напівостріву.

Біоцентри і біокоридори	$S$ – площа біоцентру, $\text{км}^2$	$k$ – коефіцієнт едафічного різноманіття біокоридору	$d_{ij}$ – довжина біокоридору, $\text{км}$	$C_{ij}$
Біоцентр № 1	0,61 $\text{км}^2$	-	-	-
Біоцентр № 2	0,76 $\text{км}^2$	-	-	-
Біоцентр № 3	0,38 $\text{км}^2$	-	-	-
Біоцентр № 4	0,82 $\text{км}^2$	-	-	-
Біокоридор № 2-1	-	1,4	2,0 $\text{км}$	
Біокоридор № 2-3	-	1,4	0,3 $\text{км}$	
Біокоридор № 2-4	-	0,2	0,6 $\text{км}$	
Біокоридор № 3-4	-	1,0	0,4 $\text{км}$	

**Завдання 2.** Використовуючи побудований Вами граф біоцентрично-сітьової ландшафтно-територіальної структури Керченського напівостріву:

1) розрахуйте  $\alpha$ -,  $\beta$ - і  $\gamma$ -індекси зв'язності графу:

$$\alpha = \frac{K - B + 1}{2 \cdot B - 5}$$

$$\beta = \frac{K}{B}$$

$$\gamma = \frac{K}{3 \cdot (B - 2)}$$

Де: К – кількість біокоридорів; Б – кількість біоцентрів.

2). На підставі отриманих даних і інформації про оптимальні значення цих коефіцієнтів, зробіть висновки про екологічний стан біоцентрів Керченського напівостріву (для  $\alpha$ -індексу – оптимальні значення  $\alpha=1$ ; для  $\beta$ -індексу – оптимальні значення  $\beta=3$ ; для  $\gamma$ -індексу – оптимальні значення  $\gamma=1$ ).

Перелік питань для підготовки до семінарського заняття:

1. Поняття «біоцентр». Умови збереження біоцентрів.
2. Біокоридори. Едафічні умови біокоридорів.
3. Оцінка інтенсивності міграції організмів між біоцентрами з використанням гравітаційної моделі.
4. Ефективність міграції між біоцентрами. Поняття «ецезис».
5. Структура назви біоцентрів і біокоридорів.
6. Побудова карти біоцентрично-сітьової ландшафтної структури територій.
7. Вплив біоцентрів на оточуючі території.
8. Побудова графу біоцентрично-сітьової ландшафтно-територіальної структури.
9. Оцінка екологічного стану біоцентрів на підставі аналізу значень  $\alpha$ -,  $\beta$ - і  $\gamma$ -індексів зв'язності їх графу.

#### Література:

1. Гродзинський М.Д. Стійкість геосистем до антропогенних навантажень. – К.: Лікей, 1995. – 233 с.
2. Гродзинський М.Д. Методика оцінки устойчивости геосистем к антропогенным воздействиям // Физическая география и геоморфология. – 1986. – Вып. 33. – С. 32-38.
3. Гродзинський М.Д. Основи ландшафтної екології. – К.: Либідь, 1993. – 224 с.
4. Гродзинский М.Д., Шищенко П.Г. Ландшафтно-экологический анализ в мелиоративном природопользовании. – К.: Либідь, 1993. – 225 с.

#### Заняття № 16

##### Тема: Дослідження геохімічної спеціалізації геосистем та антропогенного геохімічного навантаження на геосистеми

**Частина 1. Геохімічна спеціалізація природних територій. Ендемічні захворювання, пов'язані з геохімічною спеціалізацією територій.**

Завдання 1. Використовуючи дані таблиць 1 і 2, дайте відповіді на наступні запитання:

- 1) В якій біогеохімічній зоні розташована Херсонська область?
- 2) Формування яких типів біогеохімічних провінцій є можливим в даній біогеохімічній зоні за умов відповідного складу підстелюючих гірських порід?
- 3) Дайте стислу характеристику цих біогеохімічних провінцій (таблиця 2).

Завдання 2. Біогеохімічна формула - відображає біологічно важливе співвідношення між хімічними елементами у навколишньому середовищі. У чисельник формули виноситься елемент, який знаходиться у нестачі, а у знаменник формули виноситься елемент, який знаходиться у надлишку. Якщо нестача або надлишок хімічного елемента є відносним, то відповідний хімічний елемент заключається в дужки.

Наприклад, біогеохімічна формула:  $\frac{\Gamma}{\dots\dots\dots}$

- відображує ситуацію абсолютного дефіциту йоду у живих клітинах.

Наприклад, біогеохімічна формула:  $\frac{(\Gamma), \text{Co}^{2+}, \text{Cu}^{2+}}{\dots\dots\dots}$

.....  
 - відображує ситуацію відносного дефіциту йоду у клітинах внаслідок абсолютного дефіциту кобальту і міді у навколишньому середовищі (за відсутності кобальта і міді не працюють ферментні системи, які забезпечують включення йоду до внутрішньоклітинних процесів).

Використовуючи інформацію, яка міститься в біогеохімічній формулі, і дані таблиці 2, поясніть можливі причини розвитку ендемічних захворювань на території наведених нище ландшафтів:

- 1) ендемічний зоб:  $\frac{(I), Co^{2+}, Cu^{2+}}{.....}$
- 2) ендемічний гемохроматоз:  $\frac{Mn^{2+}}{(Fe^{2+})}$
- 3) ендемічна залізна анемія:  $\frac{(Fe^{2+})}{Mn^{2+}, Cu^{2+}}$
- 4) ендемічне борне і цинкове голодування:  $\frac{(B^{3+}), (Zn^{2+})}{Ca^{2+}}$
- 5) ендемічний гіпокупроз:  $\frac{(Cu^{2+})}{Al^{3+}}$
- 6) ендемічна мідна атаксія:  $\frac{(Cu^{2+})}{Mo^{2+}, SO_4^{2-}, Pb^{2+}}$
- 7) ендемічна уровська хвороба:  $\frac{Ca^{2+}}{(Sr^{2+}), Ba^{2+}}$
- 8) ендемічний селеноз:  $\frac{S^{2-}}{(Se^{2-})}$
- 9) ендемічна молібденова подагра:  $\frac{Cu^{2+}}{(Mo^{2+})}$

**Завдання 3.** Природні води селищ Алексіївка і Мала Буча містять селен (Se) в концентрації 7 мг/кг (ГДК=10 мг/кг). Відомо також, що ландшафти селища Мала Буча є дефіцитними за вмістом сірки. Зробіть висновок про екологічне благополуччя природних вод в даних населених пунктах, використовуючи правило взаємодії елементів однієї хімічної групи в клітинах.

**Завдання 4.** Після аварії на Чорнобильській АЕС значні території були забруднені радіоактивним стронцієм-90 (Sr-90). Обстеження однієї з областей Білорусії виявило присутність стронцію-90 в пробах ґрунтів в концентрації 900 мг/кг (ГДК=1000 мг/кг). За яких умов ці території будуть вважатись екологічно благополучними за стронцієм? Під час підготовки відповіді використовуйте правило взаємодії елементів однієї хімічної групи в клітинах.

Таблиця 1.

Вміст рухомих форм хімічних елементів в ґрунтах і воді:	Типи біогеохімічних провінцій:
<b>I. Тайогово-лісова</b>	<b>нечерноземна біогеохімічна зона</b>
<b>Нестача елементів:</b>	
Кальція (Ca)	-
Фосфору (P)	-
Кобальту (Co)	Провінції з гіпокобальтозами
Міді (Cu)	Провінції з гіпокупрозами
Йоду (I)	Провінції ендемічного зобу
Молібдену (Mo)	Провінції з дефіцитом молібдену
Бору (B)	Провінції борного голодування
Цинку (Zn)	Провінції з дефіцитом цинку
Селену (Se)	Провінції з дефіцитом селену
<b>Надлишок елементів:</b>	
Стронцій (Sr)	Провінції уровської хвороби
<b>II. Лісостепова і</b>	<b>степова черноземна біогеохімічна зона</b>

<b>Нестача елементів:</b>	
Марганець (Mn)	Провінції з дефіцитом марганцю
<b>III. Сухостепова, напівпустельна, пустельна біогеохімічна зона</b>	
<b>Нестача елементів:</b>	
Міді (Cu)	Провінції з гіпокупрозами
Кобальту (Co)	Провінції з гіпокобальтозами
Йоду (I)	Провінції ендемічного зобу
Марганцю (Mn)	Провінції дефіцитні за марганцем
<b>Надлишок елементів :</b>	
Сульфати (SO <sub>4</sub> )	-
Бор (B)	Провінції ендемічного борного ентериту
Цинк (Zn)	Провінції цинкової анемії
Стронцій (Sr)	Провінції уровської хвороби
Молібден (Mo)	Провінції ендемічного молібденового токсикозу
Натрій (Na)	-
Нітрати (NO <sub>3</sub> )	Провінції ендемічної метгемоглобінемії
<b>IV. Гірська біогеохімічна зона</b>	
<b>Нестача елементів:</b>	
Йоду (I)	Провінції ендемічного зобу
Кобальту (Co)	Провінції з гіпокобальтозами
Міді (Cu)	Провінції з гіпокупрозами
Цинку (Zn)	Провінції з дефіцитом цинку (провінції ендемічні за паракератозом)
<b>Надлишок елементів:</b>	
Свинцю (Pb)	Провінції ендемічні за свинцевим токсикозом
Міді (Cu)	Провінції з ендемічними мідними анеміями
Цинку (Zn)	Провінції з ендемічними цинковими анеміями
Кобальту (Co)	Провінції ендемічні за кобальтовим токсикозом
Молібдену (Mo)	Провінції ендемічні за молібденовим токсикозом і молібденовою подагрою
Стронцію (Sr)	Провінції уровської хвороби

Таблиця 2.

Хімічний елемент	Ендемічні захворювання	
	нестача рухомих форм елементу в ґрунтах, воді:	надлишок рухомих форм елементу в ґрунтах, в воді:
Кобальт (Co)	Гіпокобальтози: порушення еритропоезу, розвиток анемії, розвиток авітамінозу B12, захворювання «сухоткою» молодняка і його загибель, кісткова дистрофія і виснаження організму	Пригнічення синтезу вітаміну B12
Молібден (Mo)	Строкатість листя томату і їх згортання, нитчатість листя цвітної капусти	Молібденовий токсикоз у тварин: діарея, виснаження організму, остеопороз. Ендемічна молібденова подагра у людей: порушення метаболізму АТФ, дистрофія печінки, нирок, серця.
Мідь (Cu)	Гіпокупрози: ендемічна анемія, зниження імунітету, атаксія у тварин (порушення координації рухів, парези, паралічі), суховерхів'я плодівих дерев.	Ендемічні анемії. Гемолітична жовтяниця, ураження печінки. Хлорози у рослин.
Бор (B)	Борне голодання у рослин: не утворюються квіти, знижується імунітет – рослини хворіють серцевинною та сухою гниллю,	Ендемічний борний ентерит, діарея, ураження нирок, мозку. Внаслідок порушення роботи протеолітичних ферментів починається самоотруєння організму. Рослини –

	бактеріозом.	низькорослі, розпластані або кустисті форми.
Йод (I)	Ендемічний зоб (затримка фізичного і психічного розвитку)	-
Селен (Se)	Дистрофія підшлункової залози і печінки, порушення обміну жирів, розвиток т.з. білом'язової хвороби – дистрофія м'язів.	Деформація копит, облісіння овець, артрити, дегенерація печінки, гастроентерити, нервові розлади
Цинк (Zn)	Припинення росту тварин, карликовість, гальмування полового дозрівання, паракератоз (потовщення шкіри) тварин, облісіння. Розеткова хвороба плодів дерев, строкатість листя у цитрусових.	Анемії у тварин
Марганець (Mn)	Порушення репродуктивної функції, деформація кісток і суглобів (т.з. ковзаючий суглоб). Некрози і хлорози у рослин.	Захворювання кісткової системи. Інтоксикації у рослин.
Стронцій (Sr)	-	Потворні форми у рослин. Уровська хвороба (рахіти, ламкість кісток). Хондро- і остеодистрофії.
Фтор (F)	Карієс зубів. Дистрофічні зміни кісток.	Флюороз (руйнування емалі зубів). Порушення роботи печінки і ендокринних залоз. Викривлення хребту і кінцівок.
Літій (Li)	Маніакально-депресивні психози, шизофренія та інш. психічні захворювання.	-
Нікель (Ni)	Активація природних очагів вірусу сказу і збудника ку-ліхорадки.	Захворювання очей (нікелева сліпота, кератокон'юктивити, катаракта). Розвиток аутоімунних захворювань усіх органів. Тромбоутворення. Очагове омертвіння тканин.
Титан (Ti)	Активація природних очагів вірусу сказу і збудника ку-ліхорадки.	Активація природних очагів збудника сибірки.
Цирконій (Zr)	Активація природних очагів вірусу сказу.	-
Бром (Br)	-	Захворювання шлунково-кишкового тракту.
Залізо (Fe)	Анемії (зниження рівню гемоглобіну і кількості еритроцитів крові).	Гемохроматоз (відкладання заліза в клітинах і тканинах).
Свинець (Pb)	-	Розлади роботи нервової системи (цефалгії, міалгії)
Нітрати (NO <sub>3</sub> )	-	Ендемічна метгемоглобінемія.

Перелік питань для підготовки до семінарського заняття:

1. Поняття біогеохімічної спеціалізації ландшафту.
2. Медичні аспекти біогеохімічної спеціалізації ландшафтів: мікроелементози, хронічні і інфекційні ендемічні захворювання.
3. Мікроелементози. Типи мікроелементозів: природні, техногенні, аліментарні.
4. Поняття абсолютного і відносного дефіциту/надлишку мікроелементу в навколишньому середовищі.
5. Біогеохімічна формула. Інформація, яка міститься в біогеохімічній формулі.
6. Порушення оптимального співвідношення між мікроелементами під час виникнення мікроелементозів.
7. Правило взаємодії елементів однієї хімічної групи в клітинах.
8. Принципи розділення територій на біогеохімічні зони.
9. Принципи розділення біогеохімічних зон на біогеохімічні провінції.

### Література:

1. Авцын А.П., Жаворонков А.Я., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека. – М.: Медицина, 1991.
2. Ноздрюхина Л.Р. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. – М.: Мир, 1997.
3. Перельман А.И. Геохимия. – М.: Высшая школа, 1989.
4. Добровольский В.В. Основы биогеохимии: Учебное пособие для геогр., биол., с.-х. спец Вузов. – М.: Высш. Шк., 1998. – 413 с.

## Частина 2. Антропогенне геохімічне навантаження на геосистеми

### Завдання 1. Розрахунок коефіцієнтів концентрації хімічних елементів у ґрунтах.

Використовуючи значення показника місцевого фону (Сф, таблиця 1.) і значення вмісту хімічних елементів у ґрунтах м. Чернівці (Сі, таблиця 1):

1) розрахуйте коефіцієнти концентрації хімічних елементів у ґрунтах м. Чернівці за формулою:

$$K_{ci} = C_i / C_{\phi}$$

де  $K_{ci}$  – коефіцієнт концентрації і-го хімічного елементу, який досліджується;  $C_i$  – вміст і-го хімічного елементу в геокомпоненті, який досліджується;  $C_{\phi}$  – природний фон (природна концентрація) і-го хімічного елементу.

2) отримані дані внесіть до таблиці 1.

### Завдання 2. Розрахуйте сумарний показник забрудненості ґрунтів.

1) Розрахуйте значення сумарного показника забрудненості ґрунтів в м. Чернівці, використовуючи формулу:

$$Z_c = (\sum K_{ci}) - (n - 1)$$

де  $Z_c$  – сумарний показник забрудненості природного компоненту (ґрунту, води, повітря, біоти);  $K_{ci}$  – коефіцієнт концентрації і-го хімічного елементу;  $n$  – загальна кількість врахованих хімічних елементів.

2) Зробіть висновок про рівень сумарної забрудненості ґрунтів м. Чернівці, якщо у нормі, значення показника  $Z_c$  не повинні перевищувати одиниці, т.т.  $Z_c \leq 1$ .

### Завдання 3. Розрахуйте коефіцієнти екологічної небезпеки хімічних елементів, які містяться в ґрунті.

1) Використовуючи значення гранично допустимих концентрацій хімічних елементів у ґрунтах (ГДК, таблиця 1) і дані вмісту цих елементів у ґрунтах м. Чернівці ( $C_i$ , таблиця 1), розрахуйте коефіцієнти екологічної небезпеки хімічних елементів ґрунтах м. Чернівці за допомогою наступної формули:

$$K_{эн} = C_i / ГДК_i$$

де  $K_{эн}$  – коефіцієнт екологічної небезпеки і-го хімічного елементу;  $C_i$  – вміст і-го хімічного елементу в геокомпоненті, якій досліджується;  $ГДК_i$  – гранично допустима концентрація і-го хімічного елементу в геокомпоненті, якій досліджується.

2) Отримані дані внесіть до таблиці 1.

3) Зробіть висновок про екологічну небезпечність вмісту хімічних елементів у ґрунтах м. Чернівці, якщо в нормі, сума коефіцієнтів екологічної небезпеки хімічних елементів не повинна перевищувати одиниці, т.т., в нормі:  $\sum K_{эн} \leq 1$  або

$$C_i / ГДК_i + C_j / ГДК_j + \dots + C_k / ГДК_k \leq 1.$$

### Завдання 4. Розрахуйте сумарний показник інтенсивності забруднення ґрунтів токсичними хімічними елементами.

1) Використовуючи отримані Вами дані по коефіцієнтам концентрації хімічних елементів ( $K_{ci}$ ) і значення індексів токсичності хімічних елементів ( $M_i$ , таблиця 1), розрахуйте сумарний показник

інтенсивності забруднення ґрунтів м. Чернівці токсичними хімічними елементами (**P<sub>j</sub>**) за формулою:

$$P_j = \sum(K_{ci} \times M_i)$$

де **P<sub>j</sub>** – сумарний показник інтенсивності забруднення ґрунтів токсичними хімічними елементами;  
**K<sub>ci</sub>** – коефіцієнт концентрації і-го хімічного елемента; **M<sub>i</sub>** – індекс токсичності і-го хімічного елемента.

2) Отримані дані - значення **K<sub>ci</sub> x M<sub>i</sub>** для кожного хімічного елемента - внесіть до таблиці 1.

3) Зробіть висновок про інтенсивність забруднення ґрунтів м. Чернівці токсичними хімічними елементами, якщо прийняті нормативи значень **P<sub>j</sub>** складають: 15 і нище – допустимий рівень забруднення, 16-31 – помірно небезпечне забруднення, 32-50 – небезпечне забруднення, 50 і вище – дуже небезпечне забруднення токсичними хімічними елементами.

Таблиця 1.

№	Хімічний елемент	Ci	Cф	Kci	ГДКi	Kэо	Mi	Kci x Mi
1	Свинець (Pb)	50	20		30		4	
2	Цинк (Zn)	200	100		100		4	
3	Мідь (Cu)	50	30		55		3	
4	Стронцій (Sr)	120	20		1000		2	
5	Берилій (Be)	1,5	3,5		-		-	
6	Олово (Sn)	6,3	3		-		-	
7	Титан (Ti)	2500	5520		-		-	
8	Марганець (Mn)	500	800		1500		2	
9	Хром (Cr)	63	80		100		3	
10	Нікель (Ni)	20	35		85		3	
11	Кобальт (Co)	4	12		50		3	
12	Молибден (Mo)	12	2		-		3	
13	Ванадій (V)	15	50		150		2	

Примітка: Ci – вміст і-го хімічного елемента в геокомпоненті, який досліджується (мг/кг); Cф – природний фон (природна концентрація) і-го хімічного елемента (мг/кг); Kci – коефіцієнт концентрації і-го хімічного елемента; ГДКi – гранично допустима концентрація і-го хімічного елемента в геокомпоненті, який досліджується (мг/кг); Kэо – коефіцієнт екологічної небезпеки і-го хімічного елемента; Mi – індекс токсичності і-го хімічного елемента.

Рішення задач по оцінці екологічного стану геосистем.

**Задача 1.** Встановіть санітарний стан повітря, використовуючи правило сумарності негативного впливу забруднюючих речовин, якщо у відібраних пробах повітря одночасно містяться випаровування фенолу в концентрації 0,008 мг/м<sup>3</sup> (ГДК=0,01 мг/м<sup>3</sup>) і ацетону в концентрації 0,24 мг/м<sup>3</sup> (ГДК=0,35 мг/м<sup>3</sup>).

**Задача 2.** В пробах води, відібраних з озера, містяться нітрати в концентрації 5 мг/л (ГДК=10 мг/л), тринітротолуол – 0,3 мг/л (ГДК=0,5 мг/л) і толуол – 0,1 мг/л (ГДК= 0,5 мг/л). Дайте оцінку санітарного стану цього водоймища.

**Задача 3.** В пробі ґрунтів с.м.т. Захарівка був виявлений свинець в концентрації 20 мг/кг, при цьому рухомі форми свинцю становили 5 мг/кг. Чи є ґрунти в межах с.м.т. Захарівка екологічно благополучними? Для підготовки відповіді використовуйте дані таблиці 2.

Таблиця 2.

Хімічний елемент	Гранично допустимі концентрації хімічних елементів в ґрунтах, ГДК мг/кг:	
	загальний вміст в пробі	вміст рухомих форм
Свинець (Pb)	30	2
Хром (Cr)	100	6
Мідь (Cu)	55	3

Нікель (Ni)	85	4
Цинк (Zn)	100	23
Марганець (Mn)	1500	50
Кобальт (Co)	50	5
Кадмій (Cd)	1	0,7

**Задача 4.** В пробі ґрунтів за межами санітарної зони машинобудівного заводу виявили рухомі форми свинцю в концентрації 0,5 мг/кг, хрому – 2 мг/кг, цинку – 10 мг/кг, кадмію – 0,3 мг/кг. Чи є екологічно безпечним вирощування сільськогосподарських культур на даній території? Для розрахунку значень коефіцієнтів екологічної небезпеки використовуйте дані таблиці 2.

Перелік питань для підготовки до семінарського заняття:

1. Коефіцієнт концентрації хімічного елемента. Яку екологічну інформацію надає цей показник?
2. Сумарний показник забрудненості природного компонента.
3. Коефіцієнт екологічної небезпеки хімічного елемента. Поняття гранично допустимої концентрації хімічного елемента.
4. Класи екологічної небезпеки забруднюючих речовин.
5. Сумарний показник забрудненості середовища токсичними хімічними елементами.
6. Методика оцінки екологічного стану ландшафту за умов одночасної присутності в навколишньому середовищі декількох забруднюючих речовин.
7. Екологічна доцільність розрахунку загальної концентрації хімічного елемента і концентрації його рухомих форм під час проведення оцінки забрудненості ґрунтів.
8. Залежність величини гранично допустимої концентрації речовини від присутності у навколишньому середовищі інших хімічних елементів даної групи.

#### Література:

1. Гуцуляк В.М. Ландшафтна екологія. Геохімічний аспект: Посібник. – Чернівці: Рута, 2002. – 272 с.
2. Гуцуляк В.М., Присакар В.Б. Геохімія: Методичні вказівки. – Чернівці: ЧНУ, 2003. – 32 с.
3. Алексеенко В.А. Экологическая геохимия. Учебник. Изд. «Логос», Учебник для XXI века, 2000. – 627 с.
4. Тарасова В.В., Малиновський А.С., Рибак М.Ф. Екологічна стандартизація і нормування антропогенного навантаження на природне середовище / заг. ред. проф. В.В. Тарасової. Навч. посібник. – К.: Центр учбової літератури, 2007. – 276 с.

### Заняття № 17

#### Тема: Дослідження факторів самоочищення геосистем

#### Частина 1. Природні і штучні геохімічні бар'єри

**Завдання 1.** Використовуючи дані таблиці 1, вкажіть, які елементи будуть накопичуватись: а) на кислому геохімічному бар'єрі за умов проходження крізь нього нейтральних і слаболужних вод; б) на кислому бар'єрі за умов проходження крізь нього сильнолужних вод; в) на лужному бар'єрі за умов проходження крізь нього сильнокислих вод; г) на лужному бар'єрі за умов проходження крізь нього сильнолужних вод; д) на сорбційному бар'єрі за умов проходження крізь нього сильнокислих вод.

**Завдання 2.** На одному з підприємств хімічної промисловості в наслідок технологічної аварії в ґрунти попала значна кількість технічних вод, які містили мідь, свинець, миш'як. 1. Дайте прогноз вірогідного розповсюдження токсичних хімічних елементів на навколишній території з ґрунтовими водами, якщо: а) підприємство розташоване на вапняках (лужний геохімічний бар'єр); б) кислотність аварійних вод не відома.

Для виконання завдання використовуйте дані таблиці 1:

Порівняйте результати проходження лужного бар'єру (рН 8,5):

- а) сильнокислими водами (рН 2,5), які містять мідь (Cu), свинець (Pb),



миш`як (As);

б) слабокислими водами (рН 6,0), які містять мідь, свинець, миш`як;

в) слаболужними водами (рН 8,0), які містять мідь, свинець, миш`як.

2. Розрахуйте значення контрастності бар`єру для усіх трьох варіантів, використовуючи формулу:

$$S = m_i/m_j$$

де: S – контрастність бар`єру;  $m_i$  і  $m_j$  - умови міграції хімічних елементів в геогоризонтах і та j, відповідно. В даній роботі в якості головної умови міграції елементів прийміть значення рН для геогоризонтів і та j, відповідно.

Підтверджують чи спростовують отримані Вами значення контрастності бар`єрів Ваш попередній висновок стосовно вірогідного розповсюдження міді, свинцю та миш`яку на оточуючі території?

Таблиця 1. Класифікація геохімічних бар`єрів (фрагмент таблиці) (за Перельманом О.І., 1989)

Фізико-хімічні умови	Склад вод, що надходять до геохімічного бар`єра			
Окисно-відновні	Кисневі води:			
Лужно-кислотні	I. Сильнокислі	II. Кислі і слабокислі	III. Нейтральні і слаболужні	IV. Сильно лужні (содові)
Межі рН у зоні гіпергенезу	< 3	3 – 6,5	6,5 – 8,5	> 8,5
	1	2	3	4
Елементи, рухливі у водах будь-якого складу				
Пара генна асоціація	Li, Tl, F, Mg, Ca, Ra, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Hg, Be, Al, Ga, In, Sc, Y, Tr, Si, Ge, Sn, Ti, Zr, Th, Cr, Mo, W, U, P, As, V, Nb, Ta	Li, Tl, F, Mg, Ca, Sr, Ba, Ra, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, Ag, Au, Be, Al, Ga, In, Sc, Y, Tr, Si, Ge, Sn, Ti, Zr, Th, Cr, Mo, W, U, P, As, V, Nb, Ta	Li, Tl, Mg, Ca, Sr, Zn, Se, Cr, Mo, W, U, Re	Li, F, B, Zn, Cu, Ag, Be, Al, Sc, Y, Si, Ge, Sn, Ti, Zr, Th, Cr, Mo, W, U, Re, V, Nb
Кисневий бар`єр А	A1 Fe	A2 Fe, Mn, Co	A3 Mn	A4 -
Сульфідний бар`єр (сірководневий) В	B1 Tl, Cu, Hg, Pb, Cd, Bi, Sn, As, Sb, Mo, W, U	B2 Tl, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, Sn, Cr, Mo, U	B3 Tl, Cr, Mo, U, Se, Re, V	B4 Cu, Ag, Zn, Cr, Mo, U, V, As
Глейовий бар`єр С	C1 Cu, U, Mo	C2 Cu, U, Mo	C3 Cu, Cr, U, Mo, Re, Se, V	C4 Cu, Ag, Cr, Mo, U, Re, Se, V, As
Лужний бар`єр D	D1 Mg, Ca, Sr, Ba, Ra, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, Be, Al, Ga, Y, Tr, Cr, P, As, U	D2 Mg, Ca, Sr, Ba, Ra, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, Be, U	D3 -	D4 -
Кислий бар`єр E	E1 -	E2 -	E3 Si, Mo	E4 (Cu), (Zn), Ag, Be, Al, Ga, Sc, Y, Tr, Si, (Ge), Zr, (Ti), Mo, Cr,

				V
Випаровувальний бар'єр F	F1 Na, K, Rb, Tl, Cl, Mg, Ca, Sr, S, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Al, Mo, U	F2 -	F3 Li, Na, K, Rb, Tl, N, B, F, Cl, Br, I, Mg, Ca, Sr, S, Zn, Mo, U, V, Se	F4 Li, Na, K, Rb, Tl, N, B, F, Cl, Br, I, Cu, Zn, Mo, U, Se
Сорбційний бар'єр G	G1 Al, Sc, Ga, Si, Ge, P, V, As	G2 Si, Ba, Zn, Cd, Ni, Co, Pb, Cu, U, Cl, Br, I, F, S, P, V, Mo, As	G3 Li, Na, K, Rb, Cs, Tl, Zn, (Cl, Br, I, F, B, S, P, V, Mo, As)	G4 Li, Na, K, Rb, Cs, Tl, (Cl, Br, I, B, F, S, P, V, Mo, As)
Термодинамічний бар'єр H	H1 -	H2 Mg, Ca, Sr, Ba, Mn, Zn, Pb, Co, Ni	H3 (Li), Mg, Ca, Sr, Ba, Zn, Pb	H4 Zn, (Cu), (U)

**Завдання 3.** Використання природних і штучних геохімічних бар'єрів для обмеження розповсюдження техногенних забруднюючих речовин за межі ландшафтів.

**NB:** Для вирішення задач цієї частини лабораторної роботи використовуйте дані таблиці 2.

**Задача 1.** Обробка мідним купоросом виноградників на одних територіях не викликає побічних ефектів, тоді як на інших територіях - призводить до забруднення ґрунтових вод і, як наслідок, сусідніх територій міддю (Cu). Який склад ґрунтів може сприяти міграції міді?

**Задача 2.** Одним з головних типів забруднюючих речовин, які викидаються у навколишнє середовище підприємствами кольорової металургії, є молібден (Mo). На яких ґрунтах розташування підприємства дного типу може сприяти розповсюдженню токсичної речовини?

**Задача 3.** Підприємства по виробництву лінолеуму викидають у навколишнє середовище у формі важких аерозолів значну кількість марганцю (Mn). На яких типах ґрунтів є небажаним розміщення вище названих підприємств? Чому?

**Задача 4.** Ставкове рибне господарство бля с.м.т. Садове кожен рік несе значні збитки внаслідок підвищеної захворюваності і загибелі молодняка риб. Аналіз води в ставках господарства виявив підвищений вміст в пробах кадмію (Cd). Найбільш вірогідним джерелом кадмієвого забруднення водоймищ рибного господарства було визнано використання на прилеглих полях суперфосфатних добрив, разом з якими в ґрунти попадає значна кількість кадмію. Запропонуйте можливі засоби захисту ставків від попадання надлишкової кількості кадмію.

**Задача 5.** В наслідок аварії на Чорнобильській АЕС в навколишнє середовище попали частки, які містять радіоактивні елементи: цезій (Cs-134, Cs-137), барій (Ba-140), йод (I-131), стронцій (Sr-89, Sr-90) та інші радіонукліди. Геохімічні дослідження показали наявність декількох латеральних і радіальних ландшафтних геохімічних бар'єрів в межах зони забруднення: а) сорбційний бар'єр; б) глейовий бар'єр; в) сорбційно-лужний бар'єр; г) сорбційно-глейовий бар'єр; д) сорбційно-лужно-глейовий бар'єр. Які з виявлених геохімічних бар'єрів спроможні ефективно зупинити міграцію названих вище радіонуклідів?

**Задача 6.** Згідно плану розвитку теплоенергетики на території України заплановано будівництво декількох теплоелектростанцій (ТЭС). Відомо, що головними забруднюючими компонентами під час роботи ТЭС є викиди, які містять сполуки фтору (F), миш'яку (As), ванадію (V), ртуті (Hg), свинцю (Pb). На яких ґрунтах – кислих або лужних – будівництво ТЭС буде екологічно більш безпечним? Чому?

**Задача 7.** Досвід підготовки місця для складування твердих побутових відходів свідчить про те, що в ґрунти і ґрунтові води територій, прилеглих до ділянок захоронення твердих побутових відходів, можуть попадати цинк (Zn), мідь (Cu), нікель (Ni), миш'як (As), молібден (Mo), ітрій (Y). Чи є необхідним закладання штучних геохімічних бар'єрів в основі полігону твердих побутових відходів, якщо відомо, що підстелюючі породи на даній території складені вапняками (лужні породи)?

**Задача 8.** Шламосховище Пашийського металургійного цементного заводу (Пермська область, Росія) розташоване на лужних вапнякових породах. Оскільки лужні геохімічні бар'єри повинні затримувати мідь (Cu), кадмій (Cd), свинець (Pb), цинк (Zn), нікель (Ni), миш'як (As), то під час проектування шламосховища у фундамент не були закладені додаткові штучні геохімічні бар'єри. Проте, несподівано, експлуатація шламосховища призвела до забруднення ґрунтових вод органічними сполуками вищезазначених елементів. Яку помилку було допущено під час проектування шламосховища? Який штучний геохімічний бар'єр було необхідним закласти в основі шламосховища?

Таблиця 2.

Типи природних і штучних геохімічних бар'єрів	Хімічні елементи, які осідають на даних геохімічних бар'єрах
<b>Лужні бар'єри</b> (технологічний варіант – роздріблені вапняки, доломіти, мергелі, карбонатні горизонти ґрунтів, відходи содового виробництва і т.п.)	Mg, Ca, Sr, Ba, Ra, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, Be, Al, Ga, Y, Tr, Cr, P, As, U та інш. <b>NB:</b> Крім органічними сполуками цих елементів.
<b>Кислі бар'єри</b>	Si, Mo, Ag, Be, Al, Ga, Sc, Y, Tr, Ge, Zr, Ti, Cr, V, Se та інш.
<b>Глейові бар'єри</b>	Cu, U, Mo, Cr, Re, Se, V, Ag, As та інш.
<b>Сульфідні бар'єри</b> (технологічний варіант – використання піритних огарків і т.п.)	Tl, Cu, Hg, Pb, Cd, Bi, Sn, As, Sb, Mo, W, U, Co, Ni, Zn, Cr, U, Se, Re та інш.
<b>Окислювальні бар'єри</b>	Fe, Mn, Co, Al та інш.
<b>Сорбційні бар'єри</b> (технологічний варіант – використання торфу, глини і т.п.)	Rb, Cs, Tl, Si, Ba, Zn, Cd, Ni, Co, Pb, Cu, U, I, F, Mo, As, Se, Cr, Sb та інш.

## Частина 2. Біологічні бар'єри

**Завдання 1.** Використовуючі дані таблиці 3:

1) Розрахуйте коефіцієнт біологічного поглинання хлороганічних інсектицидів морквою під час вирощування її на різних типах ґрунтів.

$$K_{bp} = \frac{C_{біол}}{C_{середовища}}$$

де  $K_{bp}$  – коефіцієнт біологічного поглинання речовини,  $C_{біол}$  – концентрація речовини, яка досліджується, в біологічному об'єкті,  $C_{середовища}$  – концентрація речовини, яка досліджується, в навколишньому середовищі.

2) На яких типах ґрунтів, забруднених пестицидами, вирощування с/г культур є більш небезпечним? Чому?

Таблиця 3.

Інсектицид	Пісчані ґрунти		Торф'яні ґрунти			
	Концентрація інсектициду, мг/кг:		К <sub>bp</sub>	Концентрація інсектициду, мг/кг:		К <sub>bp</sub>
	морква	ґрунт		морква	ґрунт	
ГХЦГ	0,0249	0,095		0,0225	0,693	
Гептахлор	0,0063	0,066		0,0170	4,563	

**Завдання 2.** Використовуючи дані таблиці 4:

- 1) Розрахуйте коефіцієнт біологічного поглинання свинцю і міді злаковими рослинами роду *Graminea*, під час вирощування їх в різних ґрунтових умовах.
- 2) Які форми забруднюючих речовин Ви враховували під час обчислення коефіцієнтів біологічного поглинання – загальні чи рухомі? Поясніть свою відповідь.
- 3) Як вплинуло меліоративне вапнування ґрунтів на коефіцієнт біологічного поглинання свинцю і міді рослинами? З яким фактором очищення геосистем пов'язана ця зміна в поглинанні?

Таблиця 4.

Хімічний елемент	Кислі ґрунти			Кбп	Кислі ґрунти з меліоративним вапнуванням		
	Концентрація хімічного елементу, мг/кг:				Концентрація хімічного елементу, мг/кг:		
	росли на	ґрунт			росли на	ґрунт	
		всього	рухомі форми			всього	рухомі форми
Свинець	31,24	26,3	4,10	1,34	35,7	1,02	
Мідь	33,22	37,5	5,24	1,87	40,1	1,73	

### Частина 3. Самоочищення геосистем шляхом деструкції забруднюючих речовин

**Задача 1.** В морській бухті, з площею поверхні води 0,43 км<sup>2</sup> (або 430000м<sup>2</sup>), відбувся аварійний скид 1 тонни нафти. Скільки часу знадобиться для самоочищення акваторії бухти:

- а) тільки за рахунок деструкції вуглеводнів нафти мікроорганізмами (швидкість деструкції за даних кліматичних умов - 2 мг/м<sup>2</sup> за добу).
- б) під час одночасної деструкції вуглеводнів нафти і мікроорганізмами, і шляхом фотохімічного розкладання (швидкість фотохімічного розкладання за даних кліматичних умов - також становить біля 2 мг/м<sup>2</sup> за добу).

**Задача 2.** У відповідності до виробничого циклу, текстильне підприємство раз у три доби скидає в озеро (площа поверхні якого становить біля 70 000 м<sup>2</sup>), стічні води, які містять синтетичні поверхнево-активні речовини, і зокрема – алкілсульфати в концентрації 0,25 кілограм. Виконуються чи ні підприємством санітарні норми скиду алкілсульфатів у складі стічних вод, якщо відомо, що швидкість деструкції цієї речовини мікроорганізмами у воді озера становить біля 0,64 мг/м<sup>2</sup> за добу. При цьому слід відзначити, що за кліматичних умов даної місцевості не відбувається інтенсивного розкладання алкілсульфатів за рахунок фізико-хімічних факторів навколишнього середовища.

**Задача 3.** На територію санітарної зони нафтокомбінату (площа зони біля 122500 м<sup>2</sup>) щорічно попадає значна кількість аерозольних викидів неметалевих органічних сполук. Серед яких – канцерогенний поліароматичний вуглеводень бензапирен (викиди цієї речовини становлять, у середньому, біля 0,5 кг в рік). Чи спроможний природний механізм самоочищення геосистеми повністю забезпечити деструкцію бензапирену, який попадає у навколишнє середовище:

- а) в геосистемах з недостатньою річною інсоляцією (т.т., тільки за рахунок роботи мікроорганізмів);
- б) в геосистемах з достатньою річною інсоляцією (т.т. за рахунок одночасної роботи мікроорганізмів і фотохімічного розкладання бензапирену) - якщо відомо, що швидкість деструкції бензапирену мікроорганізмами становить 2,3 нг/м<sup>2</sup> за добу, а швидкість фотохімічного розкладання цього канцерогену – 9,2 нг/м<sup>2</sup> за добу.

#### Перелік питань для підготовки до семінарських занять:

1. Основні шляхи самоочищення геосистем.
2. Умови, які впливають на самоочищення геосистем.

3. Поняття «геохімічний бар'єр». Розрахунок контрастності геохімічного бар'єру.
4. Фізико-хімічні бар'єри: адсорбційні, термодинамічні, випаровувальні.
7. Геохімічні бар'єри: окислювальні, відновлювальні, лужні, кислі та сольові бар'єри.
8. Біологічні бар'єри. Коефіцієнт біологічного поглинання.
9. Основні шляхи деструкції техногенних забруднюючих речовин в геосистемах.
10. Фізико-хімічне розкладання техногенних забруднюючих речовин.
11. Біологічне розкладання техногенних забруднюючих речовин.
12. Фактори, які впливають на швидкість деструкції техногенних забруднюючих речовин в геосистемах.
13. Винесення забруднюючих речовин за межі геосистеми з вітром, з підземними і поверхневими водами.

#### **Література:**

1. Перельман А.И. Геохимия. – М.: Высшая школа, 1989.
2. Остроумов С.А. Загрязнение, самоочищение и восстановление водных экосистем. – М.: МАКС Пресс, Учебное пособие, 2005. – 100 с.
3. Винник В.В., Овчаров С.Н. Самоочищение почв, загрязнённых сырой нефтью в присутствии местных форм дождевых червей / Сб. науч. труд. «Актуальные проблемы биологии, медицины, экологии», под ред. проф. Ильинских Н.Н. - 2004 (выпуск 1).

#### **РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА**

1. Берков В.Ф. Философия и методология науки. Мн., 2004.
2. Лакатос И. Фальсификация и методология научно-исследовательских программ. М., 1995.
3. Карпенков С.Х. Концепции современного естествознания. М., 2001.
4. Синергетическая парадигма. Многообразие поисков и подходов. М., 2000.
5. Білявський Г.О., Бутенко Л.І., Навроцький В.М. Основи екології: теорія та практикум. Навч. посібник. – К.: Лібра, 2002. – 352 с.
6. Джигирей В.С. Екологія та охорона навколишнього природного середовища: Навч. Посіб. – 2-ге вид., стер. - К.: КОО, 2002.- 203 с.
7. Новиков Ю.В. Экология, окружающая среда и человек: учеб. пособ. для вузов.- М.: Высш. шк., 2002. – 560 с.
8. Дрейер О.К., Лось В.А. Экология и устойчивое развитие. М., 1997.
9. Карпинская Р.С., Лисеев И.К., Огурцов А.П. Философия природы: коэволюционная стратегия. – М., 1995.
10. Юдин Б.Г. Методология науки. Системность. Деятельность. М., 1997.
11. Судьбы естествознания: современные дискуссии. М., 2000.
12. Философия естествознания: ретроспективный взгляд. М., 2000.

#### **INTERNET-ресурси:**

<http://www.dissercat.com/>; <http://www.djerele.com>; <http://www.gaudeamus.omskcity.com/>; <http://chitalka.info/> ;  
<http://readbookz.com/>; <http://orel.rsl.ru>; <http://www.ukrntec.com>; <http://www.ecoline.ru>; <http://www.ecolife.org.ua>;  
<http://www.waste.com.ua/law/index.html>; <http://www.ic-chernobyl.kiev.ua>; <http://www.ucewp.kiev.ua>;  
<http://www.waste.ru>; <http://zelenyshluz.narod.ru/>