

**Міністерство освіти і науки України
Херсонський державний університет**

СИДОРОВИЧ М.М.

НАУКОВО-ДОСЛІДНИЦЬКИЙ ПРАКТИКУМ З БІОТЕСТУВАННЯ

**навчальний посібник для підготовки магістрів
зі спеціальностей 014. Середня освіта
(Біологія та здоров'я людини), 091. Біологія**

**Херсон
ФОП Вишимирський В.С.
2019**

УДК

С 34

*Видання рекомендоване до публікації на засіданні Вченої ради
Херсонського державного університету
(протокол № 7 от 21.02.2019 г.)*

Автор:

СИДОРОВИЧ МАРИНА МИХАЙЛІВНА – доктор педагогічних наук, професор, професор кафедри біології людини та імунології, завідувач лабораторії активних форм навчання біології та екології Херсонського державного університету

Рецензенти:

НАКОНЕЧНИЙ І.В. – доктор біологічних наук, професор, професор кафедри екології та природоохоронних технологій Національного університету кораблебудування імені адмірала Макарова

ЦУРУЛЬ О. А. – кандидат педагогічних наук, доцент, доцент кафедри психолого-педагогічних дисциплін Національного педагогічного університету імені М.П. Драгоманова

С 34 Сидорович М.М.

Науково-дослідницький практикум з біотестування:
навчальний посібник для підготовки магістрів зі спеціальностей 014. Середня освіта (Біологія та здоров'я людини), 091. Біологія. – Херсон: ФОП Вишемирський В.С., 2019. – 80 с.
ISBN 978-617-7573-87-5

Видання – це навчальний посібник для проведення занять з магістрантами зі спеціальностей 014. Середня освіта (Біологія і здоров'я людини) і 091. Біологія. Він призначений для знайомства із сучасним методом екологічних досліджень – біотестуванням. Посібник складається з трьох частин: теоретичної, що забезпечує коротке знайомство з методом, робочого зошиту, який містить інструктивні картки для проведення лабораторних занять як міні наукових досліджень (проектів), і додатків або допоміжних матеріалів до таких занять. У виданні особлива увага під час виконання проектів приділена з'ясуванню клітинних механізмів дії чинників довкілля, що вивчає цитоекологія. Видання може використовуватися для дистанційного виконання практичних занять за допомогою Інтернет-ресурсу – сайту «Цитоекологія» (www.marisidorovich.ucoz.ua).

Рекомендовано для магістрантів, студентів і учнів, що зацікавлені сучасними екологічними методами виміру впливу довкілля на живі системи.

ISBN 978-617-7573-87-5

УДК

© Сидорович М.М., 2019

© ФОП Вишемирський В. С., 2019

ЗМІСТ

Розділ 1 БІОТЕСТУВАННЯ – СУЧАСНИЙ МЕТОД ЕКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ВИЗНАЧЕННЯ ДІЇ РІЗНОМАНІТНИХ ЧИННИКІВ ДОВКІЛЛЯ	5
1.1. Чинники довкілля та їх класифікація. Характеристика хімічних речовин як антропогенних чинників довкілля.....	5
1.2. Загальна характеристика методу біотестування	9
1.3. Фітотестування. Переваги рослин як модельних систем.	11
1.4. Водопостачання населення міста питною водою та методи визначення її якості. Фітотестування якості питної води.	13
1.5. Регулятори росту рослин. Рослинні модельні системи у моніторингу синтетичних фітогормонів.	20
Розділ 2 РОБОЧИЙ ЗОШИТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ З БІОТЕСТУВАННЯ.....	30
Практичне заняття №1. Біотестування – провідний метод дослідження чинників довкілля	30
Практичне заняття №2. Визначення якості питної води з пункту продажу засобами фітотесту «пророщене насіння пшениці озимої»	32
Практичне заняття №3. Визначення якості питної води з пункту продажу засобами фітотесту «культура ряски малої»	37
Практичне заняття №4. Визначення рівня токсичності питної води з пункту продажу за біометричними показниками фітотестів «культура ряски малої» і «пророщене насіння культури озимої»	40
Практичне заняття №5. Цитоекологія: вплив якості питної води з пунктів продажу на рівень клітинної проліферації в корені проростків цибулі ріпчастої (Allium test)	44

Практичне заняття №6. Цитоекологія: вплив якості питної води з пунктів продажу на мутаційний рівень клітин кореню проростків цибулі ріпчастої (Allium test)	48
Практичне заняття №7. Цитоекологія: рівень білкового синтезу в клітинах кореню проростків цибулі ріпчастої (Allium test) в умовах дії антропогенних чинників довкілля.....	53
Практичне заняття №8. Цитоекологія: порівняльна характеристика загальної метаболітичної активності клітин кореня проростків Allium test, що сформовані за дії двох різновидів питної води з пунктів продажу ..	58
Практичне заняття №9. Цитоекологія: вплив синтетичного регулятора росту рослин – спірокарбону – на морфологію еритроцитів ссавців	64
ДОДАТКИ	68
ДОДАТОК А.....	68
ДОДАТОК Б	71
ДОДАТОК В	72
ДОДАТОК Г	74
ДОДАТОК Д	76

РОЗДІЛ 1

БІОТЕСТУВАННЯ – СУЧАСНИЙ МЕТОД ЕКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ВИЗНАЧЕННЯ ДІЇ РІЗНОМАНІТНИХ ЧИННИКІВ ДОВКІЛЛЯ

1.1. Чинники довкілля та їх класифікація. Характеристика хімічних речовин як антропогенних чинників довкілля

Екологічні фактори або фактори середовища — це сукупність усіх чинників довкілля (температури, вологості, світла, гравітації, живих систем тощо), які діють на організм або надорганізмову систему (моноцен, демоцен, плейоцен, біом, біосферу). Не всі вони однакові за своїм значенням, вплив окремих компонентів іноді загалом незначний. У науковій літературі виокремлені певні різновиди дії екологічних чинників на організм. Найрозповсюдженою є їх класифікація за природою чинника, що розрізняє біотичні, абіотичні та антропогенні фактори довкілля. Біотичні чинники середовища, до яких входять живі системи, поділяють на фітогенні (рослинні організми), зоогенні (тваринні організми), мікробіогенні (віруси, бактерії, найпростіші, рикетсії). Абіотичні – це чинники неживої природи. Вони охоплюють хімічні (хімічний склад атмосфери, морських і прісних вод, ґрунту, харчових продуктів тощо), фізичні, або кліматичні (температура, вологість повітря, атмосферний тиск, вітер, течія води, радіаційний режим тощо) і орографічні (характер рельєфу). Температурний чинник – один з провідних факторів довкілля, що істотно впливають на обмін речовин у організмі. Під антропогенними чинниками розуміють сукупність факторів, які виникають як результат людської діяльності. Їх

поділяють на хімічні, фізичні, біологічні та психогенні. Вплив антропогенних чинників увесь час зростає .

У науковій літературі також існують інші класифікації чинників середовища. Так, наприклад, на основі рівня мінливості факторів розрізняють *постійні фактори і фактори, які не змінюються*. Фактори, які змінюються, у свою чергу, поділяються на *періодичні і неперіодичні*. Температуру, що, як вже вказано, є провідним абіогенним чинником довкілля, відносить до періодичних факторів. Всі живі організми планети по відношенню до температури розподіляють на три групи: пойкилотерні організми – організми, температура тіла яких залежить від температури навколишнього середовища, гомойотерні організми – організми, температура тіла яких не залежить від температури навколишнього середовища і гетеротермні організми – різновид гомойотермних. У несприятливий період останні впадають у сплячку, оціпеніння. В них гальмується обмін речовин.

Рослини — пойкилотермні організми. Проте ця відповідність неповна. Температура надземних частин рослин може суттєво відрізнятись від зовнішньої температури внаслідок енергообміну з навколишнім середовищем. Під час збільшення температури руйнуються ферменти, змінюється будова нуклеїнових кислот, відбуваються зміни в організації мембран; йде денатурація білків. Під час зниження температури, навпроти, уповільнюється обмін речовин. Стає неможливим здійснення основних життєвих функцій – порушується обмін речовин, а далі – загибель від замерзання. Рослини можуть пошкоджуватись за температури нижче нуля внаслідок утворення льоду в клітинах. Вивчення впливу людини та її господарської діяльності на зміни рослинного покриву входить до компетенцій фітоценології, що останнім часом звертає на себе значну увагу, зокрема, у зв'язку з питаннями охорони навколишнього середовища. Проте до розв'язання цих проблем усе більше підключаються екологи різних профілів.

Особлива увага цих вчених звернута до характеристики антропогенних чинників довкілля. Пов'язане вказане тим, що з моменту появи людини на Землі її вплив на природу, на всю біосферу наростав досить швидко. Тому В. І. Вернадський поряд з терміном «біосфера» вважав за необхідне ввести термін «ноосфера», або «середовище розуму людства, що призначено

зберегти життя на Землі». Людина створила для себе таке середовище існування, яке заповнене синтетичними речовинами. Їх вплив на людину, інші організми та навколишнє середовище часто невідомий і виявляється лише тоді, коли вони зазнали вже значного ушкодження. Так, наприклад, раптом з'ясовується, що при горінні цілком нейтральної речовини або матеріалу утворюються отруйні сполуки. Вчені наводять такі факти: «У масових масштабах зараз виробляється близько 5 тис. речовин, а в масштабах більше 500 т/рік – близько 13 тис. речовин. Число речовин на сьогодні, що пропонує ринок в помітних масштабах, з 50 тис. у 1980 р. зростає до 100 тисяч найменувань. З 1338 речовин, що виробляються у значних масштабах в країнах Організації економічного співробітництва та розвитку (ОЕСР), тільки для 147 є деякі дані про екологічну безпеку. З 65 тисяч хімічних речовин, що знаходяться в комерційному обороті, менше 1% мають токсикологічні характеристики». Зараз з низки причин залишаються невирішеними проблеми оцінки токсичності хімічних продуктів для людини. Водночас проведення ґрунтового дослідження з цієї проблеми можливе лише після отримання повної інформації про експозицію (діючу дозу) кожної хімічної речовини. У процесі своєї господарської діяльності людина виробляє різні речовини. Відходи виникають на всіх стадіях отримання кінцевого продукту, а будь-який кінцевий продукт після споживання або використання стає відходом, тому кінцевий продукт можна назвати відкладеним відходом. Всі відходи потрапляють у навколишнє середовище і входять до природного біогеохімічного колообігу речовин в біосфері. Людина, виробляючи нові хімічні речовини, ще більше збагачує ними цей колообіг. Наслідками накопичення глобальних забруднювачів в атмосфері є парниковий ефект; руйнування озонового шару; кислотні опади тощо. Друге місце за забрудненням навколишнього середовища займає транспорт, особливо автомобільний. На частку автомобілів припадає 25% палива, що спалюється. За час експлуатації, що дорівнює 6 років, один автомобіль викидає в атмосферу в середньому 9 т CO₂, 0,9 т С, 0,25 т NO₂ і 80 кг вуглеводородів. Звичайно, порівняно з енергетикою і транспортом глобальне забруднення біосфери хімічною промисловістю невелике, але воно все ж здійснює відчутний локальний вплив. Більшість органічних

напівпродуктів і кінцева продукція, що застосовується або виробляється в галузях хімічної промисловості, виготовляється з обмеженого числа основних продуктів нафтохімії. Отже, вплив саме хімічних речовин антропогенного походження є актуальною екологічною проблемою сьогодення.

Розглянемо детальніше такий вплив. Дослідженням впливу антропогенних хімічних речовин на біологічні об'єкти навколишнього середовища займається екотоксикологія. Її завданням є вивчення цього впливу на види, живі спільноти, абіотичні складові екосистем та їх функції. Під шкідливим впливом, що відчуває відповідна система, в екотоксикології розуміють суттєві зміни звичайних коливань чисельності популяції; довгострокові або незворотні зміни стану екосистеми. Хімічні речовини в залежності від властивостей та будови впливають на організми на різних рівнях його організації.

Безліч хімічних речовин взаємодіють з ферментами організму, змінюючи їх структуру. Виходячи з того, що ферменти каталізують тисячі хімічних реакцій, будь-яка зміна структури суттєво впливає на їх специфічність та регуляторні властивості. Останнє сприяє порушенню обміну речовин та регуляторних процесів у клітині загалом. Реагуючи з гормонами та іншими регуляторними чинниками, хімічні речовини викликають неконтрольовані перетворення, змінюють генетичний код. Так, наприклад, відомо, що причиною порушення реакцій окисного розщеплення вуглеводів може бути токсичний вплив тяжких металів. Описані вище процеси охоплюють так званий молекулярний рівень впливу хімічних речовин. Наступний рівень їх впливу – надклітинний, де вони можуть здійснювати мутагенну і канцерогенну дії. Такі речовини як ДДТ, ПХБФ, наприклад, потенційно володіють мутагенними і канцерогенними властивостями. Їх небезпечну дію на людину і тварин виявлено в результаті тривалого контакту із цими речовинами, що містяться в повітрі і харчових продуктах. Доведений цитотоксичний (на рівні клітини) і токсичний (на рівні цілісного організму) вплив хімічних речовин антропогенного походження. Отже, хімічні речовини, що виникають в результаті господарської діяльності людини, є однією з провідних складових чинників довкілля. Тому дослідження їх дії є актуальною проблемою сьогодення, а винахід ефективних

методів виміру такого впливу – нагальна проблема експериментальної екології.

1.2. Загальна характеристика методу біотестування

Біотестування саме такий метод дослідження впливу довкілля, що інтенсивно розробляється останнім часом як високоефективний засіб контролю якості довкілля загалом. Під цим методом вчені розуміють процес встановлення токсичності середовища за допомогою тест-об'єктів, котрі вказують на небезпеку незалежно від того, які чинники і в якому співвідношенні викликають зміни їх життєво важливих функцій. Для оцінки забруднення середовища використовують стандартизовані реакції живих організмів (рослин, тварин, грибів, мікроорганізмів тощо). З цією метою проводять фіксацію відхилення від норми анатомо-морфологічних, фізіологічних, біохімічних, генетичних, імунних та інших параметрів тест-організмів, які контрольний час перебували в умовах забруднення. Після цього тест-організм вилучають із забрудненого середовища і в лабораторних умовах проводять відповідний аналіз показників його зворотної реакції. Сутність методу біотестування полягає у визначенні дії комплексу чинників навколишнього середовища (природних та антропогенних) на спеціально відібрані організми за стандартних умов з реєстрацією різних показників цих модельних систем. Метод біотестування має низку переваг порівняно з іншими екологічними методами дослідження:

- швидкість, доступність та простота проведення експериментів;
- відтворювальність та достовірність отриманих результатів із застосуванням статистичних методів їх обробки;
- економічність;
- об'єктивність отриманих даних.

Біотестування можна проводити на молекулярному, клітинному і організменому рівнях. Цей метод є складовою біоіндикації, яка здійснює таку характеристику щодо результату забруднення не тільки на рівні організму, а і популяції та угруповання. Для рослин розрізняють лабораторне біотестування і «біотестування на ділянках».

Одним з варіантів надійності отримання результатів першого різновиду є проведення комплексних досліджень, які базуються на різноманітні тест-об'єктів. Важливою умовою для проведення біотестування є використання генетично однорідних лабораторних культур. При цьому дослідження проводять впродовж певного періоду часу, тривалість якого залежить від поставлених цілей. Розрізняють гострі, короткотривалі хронічні та хронічні біотести. Перші, наприклад, для ракоподібних, базуються на показниках виживання і тривають від декількох хвилин до 24-96 годин. Другий різновид тестів триває 7 діб і закінчуються переважно одержанням першого покоління тест-об'єктів. Останні відображають народжуваність ракоподібних, яке охоплює 3 покоління. Зміни в стані організмів, котрі вказують на ті або інші порушення, можуть бути морфологічними або функціональними. Зміни першого типу виявляють візуально, біометричними вимірюваннями, гістологічними і цитологічними дослідженнями, іншого типу – фізіологічними, біохімічними та іншими біологічними методами. У залежності від різновиду тест-системи визначають різні показники його життєдіяльності. Так під час використання бактерій реєструються інтенсивність їх розмноження, рівень біолюмінесценції, активності окислювальних ферментів тощо. У біотесті з використанням пліснявих грибів і актиноміцетів відмічають ростову реакцію тест-об'єктів. У дослідженнях з використанням водоростей досліджують інтенсивність розмноження клітин, рівень їх біоелектричної реакції, наявність плазмолізу, рівень фотосинтетичної активності клітин, здатність клітин до диференційованого фарбування. Під час використання найпростіших відмічають інтенсивність розмноження, рухову активність і морфологічні зміни тіла. При використанні в якості біотестів дафній враховують їх виживання, плодючість, інтенсивність дихання і серцебиття. Щодо використання інших різноманітних безхребетних реєструють, наприклад, рівень регенерації підошви гідри, зміни поведінки медичної п'явки, морського гребінця. У риб як тест-функції враховують ступінь виживання, поведінкові реакції, рівень рухової активності, інтенсивність серцебиття і дихання, здатність до зміни пігментного забарвлення шкіряних покривів. Біотестування за допомогою ссавців (найчастіше лабораторні миші і пацюки) дозволяє оцінити

вплив чинника за змінами показників крові та морфо-функціональними параметрами інших тканин.

Складовою біотестування є фітотестування.

1.3. Фітотестування. Переваги рослин як модельних систем.

Під фітотестуванням розуміють різновид біотестування, у якому в якості тест-об'єкту використовують рослинну модельну систему. Найчастіше такими тест-об'єктами виступають вищі рослини. Висока ефективність їх застосування в якості модельних систем зумовлена низкою переваг порівняно з тестами на інших організмах. Серед них:

- тести відносно недорогі, недовготривалі, прості в застосуванні, мають високу чутливість;

- для них розроблено і стандартизовано чисельні відповідні методики;

- їх використання не вимагає складного лабораторного обладнання;

- під час тестування можна використовувати як окремі речовини, так складні комплекси сумішей за дії різних умов середовища;

- показник кореляції даних, отриманих на рослинних тестах, з результатами тестування на культивованих клітинах ссавців не нижчий від показника кореляції між результатами тестування на інших організмах;

- чутливі щодо впливу канцерогенних агентів;

- генотоксичність деяких сполук можна (потрібно!) визначити в кількох тест-системах одночасно (батареї тестів), що дає змогу, порівнюючи результати різних тестів, комплексно оцінювати вплив забруднення.

У рослин метаболізм відбувається інакше, ніж у людини і тварин. Така відмінність є основним недоліком застосування тест-систем вищих рослин під час визначення генотоксичності. Це частково гальмує її загальне вимірювання оскільки виникають ускладнення екстраполяції даних на інші організми, отриманих шляхом тестування за допомогою рослин. Дійсно, організми рослин і ссавців мають вагомні морфологічні, фізіологічні та біохімічні відмінності. Міцна целюозна оболонка рослинної клітини впливає на проникнення в клітину деяких речовин, тому між цими

клітинами можливі відмінності щодо типів абсорбованих молекул. Проте проблема переносу даних, отриманих на основі рослинних тестів на людський організм, як будь-яка екстраполяція з одного виду на інший загальнобіологічна. Тому незважаючи на окремі обмеження, рослинні тести активно застосовують для визначення цитотоксичності і мутагенності окремих факторів і комплексного забруднення довкілля.

Вищі рослини розглядаються в науковій літературі як модельні системи ще і тому, що загальновідомою є їх стійкість до несприятливих умов середовища. Вона залежить від віку і від фази життєвого циклу рослини. Перспективним напрямом фітотестування є застосування пророщеного насіння як тест-об'єкту. Проростання насіння найвразливіший етап індивідуального розвитку вищих рослин. Впродовж нього спостерігається мінімальна стійкість до несприятливих факторів, тобто максимальна чутливість до їхнього впливу. Саме тому рослини в цю фазу життєвого циклу є найпривабливішим об'єктом біотестування, а різноманітні біометричні параметри розглядають як ефективні показники впливу довкілля на організм. Прикладом вказаного є дослідження, в якому використали насіння кормових культур як біотести для визначення токсичної дії тяжких металів. В ньому вивчали такий вплив на процес формування проростка в буряків, озимого ріпака і люцерни. Дія на насіння кормових буряків розчинів важких металів сприяла певному зростанню швидкості проростання, проте дружність, енергія проростання, сила росту та лабораторна схожість знижувалася. Особливо відчутним було зниження цих показників під дією солей кадмію та свинцю. Негативний вплив важких металів спостерігався і на насінні озимого ріпаку. Він мав прояв у зниженні не тільки дружності, енергії проростання, сили росту та лабораторної схожості, а і швидкості проростання насіння. Найбільше пригнічення життєвості та життєздатності спостерігалось у варіантах з використанням солей цинку. Деяко іншою виявилася реакція насіння люцерни на дію солей важких металів. Вони справляли на нього стимулюючий вплив: життєвість та життєздатність насіння зростали. Було зроблено висновок про те, що насіння кормових буряків і озимого ріпаку можна успішно використовувати в якості біологічного тесту під час оцінки токсичності ґрунту, снігу, стічних вод тощо.

1.4. Водопостачання населення міста питною водою та методи визначення її якості. Фітотестування якості питної води.

Ще однією екологічною проблемою, у розв'язанні якої широко використовують фітотестування є визначення якості питної води. Вказаний показник, як свідчить наукова література, формується під впливом абіотичних і антропогенних чинників. Проте погіршення якості питної води найчастіше відбувається за рахунок збільшення навантаження другої складової. Водночас якість питної води має суттєве значення для життєдіяльності людини і стану здоров'я майбутніх поколінь. Отже, питна вода є найважливішим елементом всієї живої оболонки нашої планети – біосфери.

На прикладі міста Херсон розглянемо характеристику водопостачання його населення питною водою. Це місто хоча і розташоване на березі р. Дніпро, проте його мешканці не використовують воду з річки для свого питного забезпечення. Міськводоканал експлуатує водозабірні свердловини глибиною 40 – 100 м, які пробурені у водоносному Верхнесарматському горизонті Херсонського родовища підземних вод. Воно забезпечує херсонців якісною артезіанською питною водою. Херсонський водозабір є системою свердловин. Вона охоплює групові водозабори, лінійні ряди берегових водозаборів і поодинокі свердловини, що розташовані на території міста. Водозабір працює цілодобово. У літній час його продуктивність збільшується в 2 рази. Водозабір експлуатується з 1931 року, інтенсивне буріння свердловин велось наприкінці 60-х – початку 70-х років минулого сторіччя. Проте м. Херсон має на сьогодні чисельні причини погіршення якості питної води. До них відносять багаторічне техногенне навантаження на існуючий водозабір; технічний знос свердловин і перетікання неякісної води з верхніх горизонтів крізь зношені обсадні труби, які експлуатуються понад 20 років; формування депресійної лійки і «підтягування» неякісної води з вище розташованих горизонтів з водою високої мінералізації крізь «вікна» (місця відсутності водотривких глин) як результат перевищення допустимого водозабору підприємствами, що мають власні артезіанські свердловини. Забруднення питної води при цьому носять, зазвичай, не глобальний, а локальний

характер. Найнесприятливіші умови склалися в с. Комишани і на 1-му майданчику НСВ 1 (Центр). Лабораторія міськводоканалу щодня проводить аналіз питної води на свердловинах і в мережах водопостачання на відповідність державним санітарним нормам (ДСанПіН). Основний недолік херсонської води – її підвищена загальна жорсткість в окремих свердловинах. Науці відомі кілька методів пом'якшення води: магнітний і електромагнітний вплив і додавання різних "антинакипінів". Принцип дії цих методів – зв'язати солі жорсткості, щоб не дозволити їм впродовж певного часу випасти як накип. Але найбільш ефективним методом видалення з води солей жорсткості є застосування іонообмінних смол в автоматичних фільтрах-пом'якшувачах. У основі роботи таких фільтрів лежить іонообмінний процес, при якому розчинені "жорсткі" солі замінюються на «м'які», не утворюючи твердих відкладень. Досить ефективною є фільтрація води крізь фільтри на молекулярній основі (зворотний осмос). Проте, враховуючи, що 90% води з централізованої системи водопостачання міста використовується на господарсько-побутові потреби, з жорсткістю води для питних потреб можна боротися простим кип'ятінням. Як свідчить інформація на сайті міськводоканалу, щорічно ДКП «ВУВКГ м. Херсона» розробляє методи поліпшення якості води, які узгоджуються з міською СЕС. Виходячи з технічних можливостей, водоканал проводить роботу з перебудування свердловин, які відпрацювали нормативний термін експлуатації; ліквідації свердловин, що подають воду з відхиленням від стандарту; виконують роботу з підвищення продуктивності свердловин, ремонт або їх реконструкцію. Він також здійснює впровадження сучасного насосно – силового обладнання; перекладку старих мереж водопроводу, стан яких впливає на якість води; втілює технології знезараження води за допомогою гіпохлориту натрію; буріння нових свердловин. Так, у 2010 році за рахунок фонду екології міського бюджету виконано роботи з тампонажу 2-х і декальматациі 8-ми свердловин з неякісною водою. З метою поліпшення якості води в 2011 році передбачено виконання робіт з реконструкції 20 артезіанських свердловин. Зараз у районі селища Склотара проводиться буріння нової свердловини і вибір нового джерела водопостачання в районі с. Нікольске. Для цього проектується будівництво

Дніпровських водоочисних споруд з використанням існуючого водозабору. Окрім того, в місті існує мережа кіосків різних підприємств із продажу питної води, купуючи яку, споживач має право в будь-який момент отримати сертифікат якості цієї води. Населення міста споживає також і бутильовану воду з торгівельної мережі. Отже, м. Херсон як і кожне місто України, має три основні джерела постачання питної води: з міськводоканалу, мережі магазинів, що продають фасовану воду, і пунктів продажу розливної води. Необхідно зазначити, що якість води з останнього джерела не контролюється постійно лабораторією водоканалу. Тому надійність цього показника в даного різновиду води – велике питання.

Хімічний склад питної води та її фізичні показники мають вирішальне значення в практиці водопостачання. Результати аналізу дозволяють встановити придатність джерела для питного й технічного водопостачання, наявність у воді шкідливих для організму забруднень або сполук, які сприяють її корозійній активності, піненню, утворенню накипу тощо. До хімічних показників відносять встановлення активної реакції води, окислюваності, азотвмістних речовин, розчинених у воді газів, жорсткості та лужності, а також хлоридів, сульфатів, заліза, марганцю та інших елементів. Хімічні показники можуть бути загальними та специфічними. Серед фізичних показників якості води розрізняють температуру, прозорість, рН тощо. Отже, характеристика якісної питної води охоплює такі значення її показників: вода прозора; без запаху і неприємного смаку; має кислотність у межах 6,5-8,5 і жорсткість 1,5-7,0 ммоль/л; сумарна її мінералізацію в межах 0,2-0,5 г/л; шкідливі хімічні домішки складають або малу частину її ГДК, або відсутні загалом (їх концентрації настільки низькі, що знаходяться за межею можливостей сучасних аналітичних методів); не містить хвороботворних бактерій і вірусів (їх кількість не досягає порогу визначення сучасними методами).

Виходячи з того, що провідними параметрами якісної води є хімічні та фізичні, основними методами її визначають є хімічні, фізико-хімічні, фізичні та електрохімічні. Під час дослідження стану довкілля за допомогою хімічних методів кількісному визначенню часто передують якісний аналіз на наявність того чи іншого хімічного елемента, іона, сполуки. Серед хімічних методів використовують титрометричний і

гравіметричний. До фізико-хімічних методів відносять фотометричний і хроматографічний. Електрохімічні методи аналізу охоплюють потенціометрію, вольтметрію і кондуктометрію. Серед суто фізичних методів визначення якості питної води розрізняють спектральний аналіз, метод полум'яної фотометрії, масспектрометрію, метод ядерного магнітного резонансу, активаційний метод тощо. Окрім вказаного існують ще автоматизовані методи контролю якості питної води: пряме вимірювання концентрації забруднення за допомогою датчиків і спеціальні автоматизовані системи. У практиці контролю якості питної води, не зважаючи на існування вказаного потужного арсеналу методів, провідними є хімічні, що не потребують дорогого відповідного обладнання. Є вони провідними і в м. Херсоні. Так, міськводопровід проводить постійний контроль якості води саме за допомогою якісного і кількісного хімічного аналізу. Завдання якісного аналізу – встановлення хімічного складу домішок. Його виконують додаванням у дослідну пробу води реактиву (реагенту), який вступає в реакцію з цією домішкою води. Вказане супроводжується характерною зміною в системі (поява чи зміна забарвлення, помутніння). Часто проведення якісного аналізу буває достатнім, щоб установити придатність води для певних цілей. За допомогою даного аналізу було встановлено, що питна вода в більшості районів Херсону має підвищену мінералізацію, твердість, погіршені смакові якості. У воді більшості свердловин міста знайшли високі концентрації нітратів. Низка свердловин, що зосереджена на території напірних станцій №3 (Шуменський мікрорайон), №4 (Таврійські мікрорайони) має не тільки високі значення мінералізації, а і вмісту хлоридів та сульфатів. Водночас вода свердловини, що знаходиться на Карантинному острові та в деяких районах центра міста – площа Свободи, бульвар Мирний, початок вулиці 40-років Жовтня має високий ступінь якості. Тут загальна мінералізація становить 0,2-0,8 г/л, вміст хлоридів – 0,04-0,09 г/л, сульфатів – 0,01-0,08 г/л, тобто ця вода є придатною для питних потреб. Кількісний аналіз дає можливість оцінити кількісний вміст домішок у воді, тобто ступінь мінералізації та показник твердості даного зразку води, відповідно. Перевірка якості питної води з використанням кількісного аналізу відбувається в м. Херсоні також постійно, у тому числі й співробітниками кафедри

органічної та неорганічної хімії Херсонського державного університету. Нажаль в місті Херсоні майже не проводяться дослідження з якості бутильованої і розливної питної води (пунктів продажу). Тому наскільки вона відповідає нормативам, що прописані в етикетках та посвідченнях про такий показник, все ще залишається відкритим питанням. Ситуація ускладнюється ще й тим, що на сьогодні відсутні нормативні документи, які б встановлювали чіткі вимоги до якості такої води і технологічного процесу, що забезпечує її постачання населенню. Вказане складає вагомі передумови для порушення прав споживача на гарантований рівень споживання, належну якість товарів (робіт, послуг), торговельного та інших видів обслуговування, безпеку товарів (робіт, послуг), необхідну, доступну та достовірну інформацію про кількість, якість та асортимент товарів (робіт, послуг).

Одним із нових і досить точних та ефективних методів визначення якості питної води є метод біотестування. Його застосування передбачено ДенСанПіном, але, як правило, лабораторії міськводоканалу його не застосовують. Водночас у наукових дослідженнях визначення якості води, зокрема, питної є одним з провідних питань сучасного біотестування. Найчастіше використовують для цього тест – організм дафнію (*Daphnia magna* Staus). Недоліком цього тесту є недостатня стійкість дафній до дії токсикантів різної природи і тому токсичність води оцінюється опосередковано. Для такого біотестування також застосовується стандартний набір біотестів на гостру токсичність з використанням бактерій з роду *Pseudomonas* (інгібування розмноження на 99% впродовж 48 годин); водоростей з роду *Scenedesmus* (зниження чисельності на 50% за 5 діб); риб (загибель 50% осіб за 24 години). Токсичність води поділяють на декілька типів – гостру та хронічну, генну та цитотоксичність. Перші дві визначають стосовно цілісного організму. Останні два різновиди – за допомогою аналізу змін на клітинному рівні, що відображається в певних структурних і функціональних змінах. Існуючі чисельні методики щодо визначення якості води засобами біотестування різняться головним чином використанням тест-об'єктів. Як доведено в таких дослідженнях, якість бутильованих вод не завжди відповідає її цінній категорії. Детальніше результати одного з досліджень наведені далі. У ньому за допомогою гуппі

протестовано продукцію сімох виробників бутильованої води: «Утренняя роса», «Біола», «Березівська», «Зінківське джерело», «Бон-Буассон», «Малятко», «Aqua life». Вживання тест-об'єктів у зразках «Утренняя роса», «Березівська», «Зінківське джерело» і «Бон-Буассон» становила 50%, при чому гинути мальки починали з середини терміну проведення експерименту (на 13-й день). Це свідчить про ймовірний хронічний токсичний вплив на них даної води. Існували різновиди бутильованої води, де спостерігалось 100% витривалість риб впродовж 96 годин експерименту. Отже, такі зразки води не мають гострої токсичної дії. Вживання мальків у воді виробника «Біола» становило 20%, «Aqua life» – 10%, «Малятко» – 30%, при чому в ТМ «Малятко» та ТМ «Aqua life» тест-об'єкти почали гинути в перші 96 годин, що свідчило про ймовірну гостру токсичну дію води на організми. В якості контролю використовували воду з водопровідної мережі, яка пройшла процес дехлорування шляхом дводобового відстоювання. По закінченню процедури біотестування всі піддослідні риби в контрольних акваріумах залишилися живими, що свідчило про достатньо високу достовірність отриманих результатів. (Прийнято: результати вважати вірними, якщо загибель тест об'єктів у контролі порівняно з досліджуваними зразками не перевищує 10%).

Серед рослинних тест-систем, що використовують для тестування питної води, найпоширенішим вважається *Allium test*. Ця модельна система створена А.Леваном у 1938 році для вивчення ефекту впливу колхіцину на мітоз в клітинах *Allium cepa L.*, у процесі якого він показав високу ефективність. Цьому передували роботи Генрі Шаффнера, що були опубліковані в 1894-1898 рр. і присвячені з'ясуванню цитоструктури мітозу в корневих меристемах цибулі звичайної. Зараз *Allium test* продовжують широко використовувати, не зважаючи на постійно зростаючу кількість нових рослинних тест-об'єктів для аналізу токсичності різних чинників (наприклад, горох *Pisum sativum L.* і боби *Vicia faba L.* – це модельні системи, що часто зустрічаються в подібних дослідженнях). Даний тест-об'єкт має 8 пар великих хромосом добре помітних в мікроскоп, чіткі хромосомні аберації і тому, є простим, економічним і досить чутливим для визначення мутагенності чинника. Цій модельній системі притаманне широке поле застосування, наприклад, для

перевірки хімічної чистоти питної і природної води, а також промислового збитку тощо. Аналіз літературних першоджерел засвідчив, що *Allium test* вважається найефективнішою тест-системою не тільки серед рослинних, але і серед живих тест-систем загалом. Зумовлено вказане особливостями метаболізму *Allium cepa L.*, які дозволяють реєструвати впливи довкілля, що мають навіть незначну негативну дію на організм. Ці особливості забезпечують підсилення такої дії і, як результат, більш наочний її прояв в *Allium test*.

Наведемо приклад дослідження з визначенні якості питної води, метою якого було на основі порівняння реакції рослин, їхніх біометричних параметрів з'ясувати вплив різній за походженням питній воді на пророщення насіння. Насіння пшениці, ячменю, жита та інших культурних рослин пророщували і поливали дистильованою водою і питною водою з різних джерел (водопроводу і криниці). У чашки Петрі висаджували на фільтрувальний папір насіння шарами. Поливали рослини однаковою кількістю води різної якості. Якість води оцінювали за станом рослин, що визначали кожні 5 днів. При цьому ураховували висоту рослин, їх зовнішній вигляд, наявність хвороб, тривалість вегетації і приріст сухої біомаси. Висоту рослин визначали лінійкою. Суху біомасу оцінювали після висушування в сушильній шафі при $t = 105^{\circ}\text{C}$. Проведене дослідження на яровому ячмені показало, що ззовні рослини, що поливались дистильованою водою виглядали найслабшими та найменшими. На другому місці за даним параметром знаходилися рослини, що поливали водопровідною водою; і найкращими, тобто найбільшими, найсильнішими та найшвидшими в темпах розвитку були рослини, які вирощували на криничній воді. При цьому особливих захворювань виявлено не було. Загалом дослідження показало, що якість води сприяє підвищенню значень біометричних показників і порівняно з іншими живими об'єктами, наприклад, лабораторними пацюками і комахами цей метод на порядок дешевший.

1.5. Регулятори росту рослин. Рослинні модельні системи у моніторингу синтетичних фітогормонів.

Синтетичні хімічні речовини, як вже вказано, є складовою антропогенних чинників довкілля, котрі потребують контролю на екологічну безпеку. Значною мірою це стосується препаратів, що вживаються для підвищення ефективності сільського господарства. Провідними серед них є синтетичні регулятори росту або фітогормони.

Регулятори росту рослин – органічні сполуки, що викликають (в досить низьких концентраціях) стимуляцію або пригнічення росту і морфогенезу рослин. До *природних* регулятори росту рослин відносяться фітогормони (ауксини, гібереліни, цитокініни, етилен, абсцизова кислота) та інгібітори негормональної природи (деякі феноли, похідні сечовини тощо). Серед *синтетичних* препаратів відповідного напрямку розрізняють *стимулятори типу ауксинів* (індолилмасляна, індолілоцтова, нафтілоцтова кислоти) і *синтетичні інгібітори* (морфактіни, ретарданту, дефоліанти тощо). Застосування регуляторів росту рослин призводить до зрушень в обміні речовин, аналогічних тим, які виникають під впливом потужності зовнішніх умов (тривалість дня, температура тощо); до прискорення утворення генеративних органів; посилення або гальмування зростання і інших чисельних змін у рослинному організмі. Чим далі розвивається експериментальна ботаніка, тим глибше вона дозволяє заглянути всередину рослини і зрозуміти, як регулюється її життя. До систем, що здійснюють вказане відносяться фітогормони. Їх вивчення дає ключ до розумінню регуляції росту і розвитку, а також багатьох інших процесів в житті рослин. Дослідження властивостей фітогормонів лягло в основу нового напрямку фізіології рослин – культури ізольованих клітин, тканин і органів. Фітогормони знаходять широке застосування в сільському господарстві і біотехнології. Нові досягнення в галузі вивчення механізму дії фітогормонів привели до відкриття їх клітинних рецепторів, які поставили загальнобіологічне питання про систему рецепції і передачі гормональних сигналів в клітинах рослин. Його розв'язання потрібно як для розробки теоретичних основ регуляції життя

рослин, так і для практичного застосування наукових результатів в генній інженерії, біотехнології та сільському господарстві.

Природні регулятори росту рослин.

Ауксин. Хімічна структура першого відкритого гормону рослин – ауксину – була встановлена в 1934 р. Цей фітогормон активує ріст клітин, викликає утворення коренів і регулює безліч інших процесів. Його здатність викликати корнеутворення широко використовується для вкорінення живців. У рослині ауксин утворюється у верхівці стебла і рухається в розташовані нижче частини, досягаючи кореневої системи, де він забезпечує нормальний ріст коренів. На своєму шляху донизу рослини ауксин затримує ріст бічних бруньок, розташованих в пазухах листків. Якщо зрізати верхівку стебла, надходження ауксинів до пазушні бруньки припиниться і почнеться їх зростання. При цьому сформується рослина з бічними пагонами.

Цитокінін. Природний цитокінін виділено в 1964 р. Д.Літамом в Австралії. Щоб одержати 1 мг речовини і встановити його структуру переробили 60 кг насіння кукурудзи в стадії молочної стиглості. У цей час насіння особливо багате цитокінінами. Наведений приклад демонструє, наскільки малі концентрації природних гормонів містяться в клітинах рослин. Саме в край низьких концентраціях гормони і здійснюють свою регуляторну дію. Якщо діяти фітогормоном на рослинні тканини або органи, які його не синтезують і тому дають на нього чітку відповідь, легко з'ясувати, що вловити дію гормону вдається в межах концентрації 10^{-7} - 10^{-8} М, а іноді навіть 10^{-10} М. Пропорційне збільшення реакції рослин на гормон зазвичай виявляється в межах концентрації гормону від 10^{-8} до 10^{-5} М. Цитокініни активують ріст листя і сім'ядоль дводольних рослин, стимулюють формування хлоропластів, затримують старіння листя. Якщо розчином цитокініна обприскати одну половину листя, це затримає її пожовтіння і старіння, тоді як інша половина пожовтіє. Цитокініни викликають приплив поживних речовин до місця їх нанесення. У дорослої рослини цитокініни синтезуються в зростаючих кінчиках коренів, а потім по судинах ксилеми надходять разом з пасоком (розчином, котрий коріння нагнітає в пагони) в надземні

органи, де і беруть участь в регуляції різних фізіологічних процесів.

Гібереліни. Дослідження хвороби рису, що викликається грибок *Gibberella fujikuroi*, привело до виділення речовини, за допомогою якої грибок посилює ріст стебла зараженої рослини. Структура цієї речовини, названої гібереліном, встановив Б.Кросс в 1955 р. Було доведено, що гібереліни є гормонами рослин, які активують ріст стебла і викликають цвітіння. За їх допомогою можна викликати пробудження зі стану спокою бульб і насіння рослин. Паразитичний грибок, синтезуючий гібереліни в значній кількості, використовує його для ураження хворої рослини. Як з'ясувалося, гібереліни відіграють вкрай важливу роль в переході рослин до цвітіння, або, як прийнято говорити, в індукції цвітіння у рослин. Це пристосування виникло еволюційно як захист квіток і плодів, що розвиваються, від весняних заморозків. Теплі дні можуть змінитися холодними, а подовження дня з переходом від зими до літа абсолютно стабільний фактор. Тому еволюційний добір щодо рослин, які зацвітають тільки після певного числа довгих днів, забезпечив північним рослинам стабільне відтворення потомства. Перехід рослин «довгого дня» до цвітіння також спричинюють гібереліни. Саме їх синтез затримується в листі рослин в умовах короткого дня і відбувається в умовах довгого дня. Гібереліни, що утворилися в листі, транспортуються у верхівку пагону і викликають ріст стебла і формування квіток. В умовах короткого дня такі рослини залишаються в формі розетки, але якщо на їх верхівку пагону капати розчином гібереліну, почнеться ріст стебла, потім формування квіткових зачатків і рослина зацвіте .

Абсцизова кислота (АБК) виділена вперше в 1963 р. з листя берези і явора та молодих коробочок бавовнику. Її формулу встановили в 1965 р. АБК пригнічує ростові реакції рослин, викликані ауксином, цитокинином і гібереліном. Вона гальмує диференціювання хлоропластів, яке активується цитокініном. АБК викликає спокій бульб, насіння, бруньок рослин. Саме її накопичення в дозріваючому насінні, бруньках і бульбах рослин восени забезпечує стан спокою їх клітин впродовж зимового періоду. Зниження вмісту АБК – умова їх пробудження і зростання на весні.

АБК регулює не тільки ріст і диференціювання нових органів у рослин, але також і багато інших фізіологічних

процесів, що не мають відношення до зростання. Наприклад, за її допомогою можна закрити продихи рослин – спеціалізовані отвори, через які лист випаровує воду і здійснює газообмін. Відкриті продихи забезпечують надходження CO₂ в листя, необхідне для фотосинтезу. Окрім того вони також підтримують випаровування води (транспірацію), що забезпечує її пересування вгору по рослині. Ця вода надходить з коренів. Разом з нею до пагонів транспортуються елементи мінерального живлення і різних органічних речовин, включаючи цитокініни, що синтезовані в корені. У регуляції руху продихів, як і в багатьох інших фізіологічних процесах, у рослин чітко простежується антагонізм двох гормонів: АБК закриває продихи при нестачі води, тим самим зберігаючи її резерв в рослині, а надходження з кореню цитокінінів при відновленні водопостачання викликає відкривання продихів. АБК грає вкрай важливу роль у відповіді рослин на стресовий вплив – зневоднення, засолення, дію низьких температур. У відповідь на перелічені дії в рослинах починається посилений синтез АБК, яка в свою чергу різко змінює експресію генетичних програм в клітинах. Спочатку вона пригнічує синтез мРНК і відповідних їм білків, характерних для нормальних умов, після цього індукує роботу генів і синтез специфічних білків, які називають білками відповіді на АБК.

Етилен був відкритий Д.Н. Нелюбовим в 1901 р. в Санкт-Петербурзькому університеті. Цей вчений показав, що світільний газ (в який входить етилен) здійснює певну дію на проростки гороху: пригнічує ріст стебла, викликає його потовщення і змінює орієнтацію стебла в просторі. Далі було доведено, що і рослини синтезують етилен і встановили шлях його біосинтезу. Етилен викликає вкорочення і потовщення стебла, змінюючи напрямок росту клітин. Це властивість етилену вкрай важливо для боротьби з поляганням хлібів. У районах з родючим ґрунтом і вологим кліматом стебло не витримує ваги колоса і лягає на землю. Це завдає величезної шкоди сільському господарству. Отримання низькорослих сортів, зокрема, пов'язано зі зміною гормональних характеристик рослин, що забезпечують формування короткого, міцного стебла. Етилен викликає опадання листя і плодів рослин. Обробка етилен-продуцентами допомагає видалити листя бавовнику для подальшого машинного збору дозрілих коробочок. Етилен викликає старіння листя і

прискорює дозрівання плодів. Цим пояснюється той факт, що загорнуті плоди помідорів або бананів швидше дозрівають, ніж ті, які знаходяться на повітрі. Причина встановленого явища у виділенні ними етилену, який зберігається в штучно створеній папером атмосфері. Завдяки цій атмосфері плоди і прискорюють своє дозрівання. Вирощування томатів в умовах короткого літа засноване на зборі зелених плодів і їх подальшій обробці етилен-продуцентами.

Синтетичні регулятори росту рослин

В сільському господарстві широко використовують синтетичні регулятори росту рослин, наприклад, *ретардант* – речовину, що пригнічує ріст стебла і запобігає вилягання рослин. Він утворюється під час застосування таких препаратів як хлорхолінхлорид, тур, кампозан, гидрелом тощо.

Хлорхолінхлорид застосовують для запобігання вилягання озимої пшениці, збільшення насіння багаторічних мятликових трав, поліпшення якості та приживлюваності розсади томатів, прискорення плодоношення яблунь, для обмеження зростання вусів суниці і підвищення її врожайності. Збільшуючи загальний потенціал життєздатності рослин, хлорхолінхлорид підвищує їх стійкість до надлишку солей, низьких і високих температур, захворювання кореневими гнилями, а також сприяє більш економному витрачання рослинами вологи з ґрунту.

Ефективним синтетичним регулятором росту, що підвищує морозо- і посухостійкість, попереджає вилягання озимої і ярової пшениці, є *тур*. *Гидрелом* використовують для запобігання проростання бульб картоплі, підвищення дружності досягання плодів томата тощо. Новий регулятор росту рослин *морфонол* прискорює дозрівання коробочок бавовнику і тим самим скорочує термін перебування на полях цієї культури. Після її збирання висіваються трави на зелений корм, що в умовах Азії сприяє поліпшенню структури ґрунту і підвищенню врожайності покоління бавовнику.

Спірокарбон та його похідні. У Херсонському державному університеті під керівництвом доцента Речицького О.Н. синтезований новий спектр синтетичних регуляторів росту рослин – *похідних спірокарбону*. Спірокарбон є спіросполукою, що складається з двох гетероциклів, кожен з яких містить два атоми Нітрогену та чотири атоми Карбону, один з яких є

спільним. Кожне кільце містить карбонільну групу. Цикли перебувають в трансконфігурації відносно спільного атома карбону у зв'язку із стеричними перешкодами та взаємним відштовхуванням неподілених пар електронів атомів Нітрогену приспільному атомі Карбону. У ХДУ синтез спірокарбону здійснили двома шляхами. Кожен з них ґрунтувався на взаємодії сечовини з кетонами або їх похідними у присутності сильної мінеральної кислоти. В основі *методу А* лежить взаємодія сечовини з ацетоном у співвідношенні 2:3 в присутності концентрованої сульфатної кислоти. В результаті реакції одержується сульфатнокисла сіль спірокарбону. Спірокарбон одержують нейтралізацією його сульфатнокислої солі концентрованим розчином лугу із подальшою перекристалізацією з води. Спірокарбон також одержали *методом Б*, який ґрунтується на взаємодії сечовини з формоном у співвідношенні 2:1 в присутності концентрованої сульфатної кислоти.

Бурштинова кислота (бутандіова кислота, етан – 1, 2 – дикарбонових кислот) $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$ – двоосновна гранична карбонова кислота. Безбарвні кристали, розчинні у воді і спирті. Міститься в невеликих кількостях у багатьох рослинах і бурштині. Її розглядають як природний фітогормон. Стимулює ріст і підвищує врожай рослин, прискорює розвиток кукурудзи. У промисловості бурштинову кислоту отримують головним чином гідруванням малеїнового ангідриду. Вперше ця речовина отримана штучно в XVII столітті перегонкою бурштиную. У в процесі органічного синтезу спірокарбон утворив з бурштиною кислотою єдину хімічну речовину – комплексну сполуку. Ще одним складовим похідного спірокарбону була борна кислота. З нею хіміками ХДУ також одержана комплексна сполука, яка спроможна регулювати ріст рослин.

Біологічні властивості похідних спірокарбону як синтетичних регуляторів росту рослин на живих модельних системах вивчали декілька груп вчених. Так, існує низка досліджень впливу препаратів даного класу щодо тваринного організму і організму людини. Наукова література містить опис біологічних властивостей похідних спірокарбону засобами фітотестування, яку розпочали хіміки ХДУ (керівник доцент О.Н. Речицький). Ці властивості стосувалися рістрегулюючої активності похідних спірокарбону щодо проростків томату

(*Lycopersicon esculentum* Mill.) та озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.). Вчені в експериментальній роботі використали лише 2 концентрації – 0,1% та 0,01% – комплексів спірокарбону з неорганічними і органічними складовими. У цих дослідженнях керувалися такими вихідними положеннями: як відомо, природні або синтетичні органічні сполуки активно регулюють фізіологічні та морфогенетичні програми росту та розвитку рослинного організму. Їх використовують для прискорення росту рослин та дозрівання, збільшення і поліпшення якості врожаю, а також для захисту рослин від хвороб шляхом покращання їх імунітету. Тому, вчені вимірювали такі біометричні параметри: висота пагону, довжина кореня, маса проростків. В результаті проведення дослідження хіміки ХДУ з'ясували, що:

- комплекс спірокарбону з його похідними має не однаковий вплив на рослини різних видів: на проростки томату досліджувані речовини впливали сильніше, ніж на проростки озимої пшениці;

- різні концентрації речовини продемонстрували неоднаковий рістрегулюючий ефект: при більшій концентрації речовин до 0,1 % спостерігали частіше інгібування росту проростків, ніж стимуляцію, при зменшенні концентрації до 0,01 % у більшості варіантів підвищувалися значення майже усіх досліджуваних параметрів.

Вчені зробили висновок про те, що дводольні рослини (томати) більш чутливі до обробки спірокарбоном та його похідними, ніж однодольні (озима пшениця). Спірокарбон та його комплекс з кальцій хлоридом стимулювали два з трьох вимірюваних біометричних показників, при цьому більш дієвою була менша концентрація 0,01% .

Таж саме група вчених ХДУ проводила порівняльні дослідження рістрегулюючого впливу спірокарбону та його сумішей і комплексів спірокарбону з кислотами на проростках озимої пшениці (*Triticum aestivum* L). У сумішах і комплексах із спірокарбоном поєднали бурштинову і борну кислоти. Ріст і розвиток проростків оцінювали за такими біометричними показниками: висота пагону, довжина кореню, маса проростків. Одержані результати довели, що:

- суміші спірокарбону з борною та бурштиною кислотами викликали достовірне збільшення усіх біометричних

показників, що свідчить про синергізм дії цих речовин на проростки озимої пшениці;

- суміш борної кислоти зі спірокарбоном та їх комплекс сприяв збільшенню показника «маса проростку» ; при цьому борна кислота дещо зменшувала досліджувані показники при концентрації- 10^{-3} моль/дм³;

- суміш спірокарбон з борною кислотою при концентрації - 10^{-3} моль/дм³ виявилась оптимальною для росту проростків в цих дослідах: достовірно зростали усі досліджувані біометричні показники.

Більш детальніші біологічні властивості похідних спірокарбону представлені у моніторингових дослідженнях наукової групи з проблем цитоекології (керівник проф. М.М. Сидорович) ХДУ. Її члени найдетальніше описали їх для комплексу спірокарбону з бурштиною кислотою. Вченим цієї групи вдалося скласти характеристику біологічних властивостей цього комплексу завдяки використанню батареї фітотестів (Allium test, пророщене насіння пшениці озимої та ярової, культура ряски малої). Особлива увага фахівців була приділена насамперед виміру екологічної безпеки вказаного препарату. Результати їх праці дозволили скласти опис таких властивостей за різними рівнями організації рослинного організму. Так,

на організмовому рівні препарат

- не продемонстрував полютантні властивості;
- не мав суттєвого токсичного ефекту: тільки найменша його концентрація мала слабку ушкоджуючу дію;
- спроможний підвищити енергію пророщення насіння, прискорити ріст проростку і змінити координацію росту органів, збільшити кількість лістеців у ряски малої ;
- має видо- і сортоспецифічні біостимулюючі властивості відносно формування проростку у деяких вищих рослин;
- володіє певними температуропротекторними властивостями, зокрема, здатний покращувати адаптаційні можливості пшениці озимої при її пророщенні при низьких позитивних температурах, а насінню *A. сера* забезпечило стійке пророщення при коливанні значень цього фактора впродовж доби в межах від +25°C до +35°C.

на клітинному рівні препарат:

- не чинив цитотоксичного впливу (навпаки, міг стимулювати проліферацію і ріст клітин);

- не продемонстрував мітозмодифікуючого ефекту;
на субклітинному рівні комплекс:

- не володів генотоксичністю, тобто не був мутагеном.

- на молекулярному рівні препарат:

- міг викликати стан метаболічного стресу, який швидше за все відображає розвиток реакцій неспецифічного адаптаційного клітинного синдрому, ніж негативний вплив препарату на тест-систему;

- не підвищує рівень каталази в клітинах, що свідчило про відсутність оксидантного стресу і підтверджувало припущення про розвиток неспецифічних адаптивних процесів в *Allium test* на мінімальне дію фактора середовища, а саме комплексу спірокарбону з бурштиною кислотою.

Наступним етапом дослідження групи М.М. Сидорович стало складання порівняльної характеристики біологічних властивостей спірокарбону та його похідних засобами модельних систем однодольних. Так, моніторингове дослідження комплексу спірокарбону з бурштиною кислотою засобами батареї фітотестів «пророщення насіння пшениці» (озимої і ярової) довело, що:

- препарат на відміну від спірокарбону може регулювати (і гальмувати, і стимулювати) ріст проростку пшениці;

- провідна складова комплексу – бурштинова кислота – спричинює виникнення біостимулюючих властивостей тільки відносно пшениці озимої; ці властивості комплексу більш виражені стосовно колеоптилю (стебла), ніж головного кореню.

Далі ті ж вчені провели порівняльне дослідження біологічних властивостей двох похідних спірокарбону – його комплексів с бурштиною (СБ) і борною кислотами (СБор). Узагальнення одержаних даних дозволило ним виокремити загальні і відмінні властивості в двох комплексних сполук спірокарбону.

Загальні властивості: відсутній високий рівень токсичності; мають видоспецифічні біологічні властивості відносно процесу пророщення насіння і росту проростку; притаманні рістрегулюючі властивості: обидва змінюють ріст проростка.

Відмінні властивості: мають різний рівень і різну спрямованість рістстимулюючих властивостей: СБ спроможний і гальмувати, і прискорювати, а СБор тільки гальмувати ростові процеси в проростку; притаманна різна

спроможність до біостимуляції ростових процесів; вони притаманні тільки комплексу спірокарбону з бурштиною кислотою відносно пшениці.

Отже, бурштинова кислота більш, ніж борна, сприяє підвищенню рістрегулюючих властивостей похідних спірокарбону. Вказане спричинено певно тим, що вона є природним регулятором росту рослин.

В останні роки група під керівництвом М.М. Сидорович провела моніторингові дослідження, що суттєво розширили уявлення про біологічні властивості похідних спірокарбону. В них встановлена нові особливості їх виразу. Одним з аспектів вказаного є з'ясування питання залежності рістрегулюючих властивостей комплексу спірокарбону з бурштиною кислотою від низки характеристик фітотестів. Його розв'язання показало, що:

- індивідуальні особливості фітотестів, а саме якість насіння, різновид модельної системи і етап її життєвого циклу впливають на прояв рістрегулюючого ефекту препарату;
- кожна з них визначає кількість і напрям дії концентрацій, що регулюють пророщення насіння і ріст проростку; вираз його біостимулюючих властивостей;
- найменший вплив на досліджувані властивості препарату здійснює характеристика «етапи життєвого циклу фітотесту».

Проведені дослідження засобами Allium test виявили наявність нових властивостей досліджених препаратів – протекторні щодо дії стічної промислової води. У них з'ясовано, що препарат в умовах її дії суттєво підвищує енергію пророщення насіння і забезпечує ріст кореня проростку подібний до контролю. Ці властивості супроводжуються відсутністю змін у проліферативній активності, зниженням рівню аберацій і білкового синтезу в клітинах кореня проростків Allium test.

РОЗДІЛ 2

РОБОЧИЙ ЗОШИТ

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

З БІОТЕСТУВАННЯ

Практичне заняття №1

Тема: Біотестування – провідний метод дослідження чинників довкілля.

Мета дослідження: Ознайомитися з особливостями методу фітотестування як способу визначення дії чинників довкілля на живу систему.

Обладнання: насіння пшениці озимої, пінцети, лінійки, бинт, ножиці, нитки, чашки Петрі, фільтри для чашок Петрі, коректор для підпису чашок.

Завдання 1. Самостійно вдома підготувати невеликі повідомлення (на 2-2,5 хв. не більше) за наступними питаннями. Роботу можна розподіли по підгрупах (по 2-3 студенти). При підготовці повідомлення за «своїм» питанням виокремити 3 провідні речення для запису на занятті під час складання конспекту з теми «Фітотестування як ефективний метод визначення екологічної безпеки антропогенних чинників довкілля».

Перелік питань

1. Загальна характеристика методу біотестування.
2. Провідна класифікація чинників довкілля, моніторинг дії чинників довкілля.
3. Характеристика антропогенних чинників довкілля, навести приклади груп таких чинників.

4. Вказати причини, з яких необхідно визначати рівень екологічної безпеки, насамперед, антропогенних чинників довкілля.

5. Характеристика фітотестування. Переваги рослин як модельних систем.

6. Параметри фітотестів, що використовуються в наукових дослідження для визначення рівня екологічної безпеки чинника.

7. Характеристика фітотестів «ряска мала» і «пророщене насіння пшениці»: будова рослин, ростові біометричні показники.

Завдання 2. У процесі презентації повідомлень за питаннями скласти конспект на тему «Фітотестування як ефективний метод визначення екологічної безпеки антропогенних чинників довкілля».

Текст конспекту

САМОСТІЙНА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА РОБОТА

Завдання 4. (робота в парах). Підготувати постановку експериментального дослідження з фітотестом «пророщене насіння пшениці озимої» щодо визначення якості питної води з пункту продажу за наступною методикою

*Методика постановки експерименту
з фітотестом «Пророщене насіння пшениці озимої»*

1. Відрахувати по 50 насінин пшениці озимої для 2 варіантів експерименту і зав'язати кожний в марлевий мішечок: 1-й – контроль (питна вода «Малятко»), 2-й – експериментальний варіант (вода з пункту продажу).

Кількість насінин рахувати уважно!!!

2. Підписати 2 чашки Петрі (**свої позначки + К або Е**).

3. Покласти в кожну чашку фільтр.

4. Мішечки покласти в середину «своїх» чашок Петрі і віддати лаборанту.

Примітка: 1. Відбирати тільки цілі та здорові насінини.
2. За 3 дні до заняття прийти і поставити за допомогою лаборанта «свій» експеримент у термостат при $t = 26^\circ \text{C}$.

Практичне заняття №2

Тема: Визначення якості питної води з пункту продажу засобами фітотесту «пророщене насіння пшениці озимої».

Мета дослідження: За наявності достовірних змін біометричних показників експериментальних проростків пшениці порівняно з аналогічними параметрами контролю зробити висновок про якість питної води з пункту продажу.

Обладнання: пророщене насіння пшениці озимої у чашках Петрі, маточна культура ряски малої, пляшка води «малятко», пляшка води з пункту продажу, пінцети, лінійки, чашки Петрі, маркер для підпису чашок, шпатель.

САМОСТІЙНА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА РОБОТА

Завдання 1 (робота в парах). Одержати результати моніторингу якості питної води з пункту продажу засобами фітесту «пророщене насіння пшениці озимої» за наступною методикою.

Методика закриття експерименту

з фітотестом «Пророщене насіння пшениці озимої»

1. В кожній чашці Петрі окремо для контролю і окремо для експерименту визначити значення таких біометричних показників для насінин, що проросли:

- довжина колеоптиля (стебла –**Лстеб.**);
- довжина головного кореню (**Лгол.кор.**);
- максимальна довжина бічних коренів (**Лбіч.кор.**).

2. Дані контролю занести до таблиці 1,

Таблиця 1

Первинні дані моніторингу ростових біометричних показників насіння пшениці озимої, що пророщене на питній воді «малятко» (контроль)

№№	Лстеб.	Лгол.кор.	Лбіч.кор.	№№	Лстеб.	Лгол.кор.	Лбіч.кор.
1				26			
2				27			
3				28			
4				29			
5				30			
6				31			
7				32			
8				33			
9				34			
10				35			
11				36			
12				37			
13				38			
14				39			
15				40			
16				41			
17				42			
18				43			
19				44			
20				45			
21				46			
22				47			
23				48			
24				49			
25				50			

3. Дані експерименту занести до таблиці 2.

Таблиця 2

Первинні дані моніторингу ростових біометричних показників насіння пшениці озимої, що пророщене на питній воді з пункту продажу (експеримент)

№№	Лстеб.	Лгол.кор.	Лбіч.кор.	№№	Лстеб.	Лгол.кор.	Лбіч.кор.
1				26			
2				27			
3				28			
4				29			
5				30			
6				31			
7				32			
8				33			
9				34			
10				35			
11				36			
12				37			
13				38			
14				39			
15				40			
16				41			
17				42			
18				43			
19				44			
20				45			
21				46			
22				47			
23				48			
24				49			
25				50			

4. Обчислити середні значення показників (довжини стебла, головного кореню, бічного кореню) за формулою Formula8. v. 60.xls (Методику роботи див. Додаток А). Одержані дані занести до таблиці 3.

Примітка: Можна працювати у парах за комп'ютором. (всі формули містить сайт «Цитоекологія» www.marisidorovich.ucoz.ua)

5. Знайти достовірні відмінності між контролем і експериментальними даними за формулою Formula1,96.xls (Методику роботи див. Додаток Б) для кожного з показників фітотесту. Одержані дані занести до таблиці 3.

Таблиця 3

Узагальнені дані щодо моніторингу біометричних показників насіння пшениці озимої пророщеного на питній воді

Варіант	Ростові показники проростків пшениці озимої					
	Лстеб.		Лгол.кор.		Лбіч.кор.	
	$X_{\text{ср.}} \pm \delta t$	t	$X_{\text{ср.}} \pm \delta t$	t	$X_{\text{ср.}} \pm \delta t$	t
контроль						
експеримент						

Завдання 5. На основі даних таблиці 3 зробити висновок про вплив питної води з пункту продажу на ріст стебла, головного і бічних коренів проростків пшениці озимої. Висновок повинен містити узагальнення (зв'язаний текст) про те:

А) є чи ні вплив чинника на фітотест загалом;

Б) на який орган цей вплив більший, якщо таке явище має місце;

В) висловити свої міркування з приводу одержаних результатів фітотестування чинника довкілля (якості питної води з пункту продажу).

Висновок (про якість воді з пункту продажу):

Примітка: Під час формулювання висновку спиратися на значення коефіцієнту t, висновок повинен відповідати сутності теми заняття і давати відповідь на його мету.

Завдання 6 (робота в парах). Користуючись маточною культурою фітотесту «Культура ряски малої», поставити експеримент на робочій культурі цього фітотесту щодо визначення токсичних властивостей питної води з пункту продажу за наступною методикою.

Методика постановки експерименту з фітотестом «Культура ряски малої»

1. Налити в 2 чашки Петрі питну воду: 1-а – контроль (питна вода «Малятко»), 2-а – експериментальній варіант (вода з пункту продажу).

Примітка: Уважно знайдіть «дно» і «кришку» чашки Петрі. Наливати воду в «дно»!!!!

2. З маточної культури до кожного «дна» чашки покласти **здорові та зелені рослини ряски з маточної культури**: в кожній чашці повинно бути по 50 листиків (**ОНл.**). Рахувати уважно!!!!

3. В кожній чашці Петрі ще перевірити відсутність хлорозів:– **ОХл.**

4. Одержані дані записати до таблиці 4.

Таблиця 4

Моніторинг ростових параметрів культури ряски малої за дії питної води з пункту продажу

	0 доба (вихідні дані)		15 доба				
	ОНл	ОХл	15Нл	15Нр	15Нк.ср	15Лк	15Хл
Контр.(К)	50	-					
Експерт.(Е)	50	-					

5. Чашки Петрі закрити їх «кришками»!!!! і підписати (**свої позначки + К або Е**).

6. Поставити всі чашки на 15 діб до установки «ФЛОРА», що забезпечує їх освітлення 6-8 годин щодобово.

Примітка: штучне освітлення можна створити будь-яким іншим аналогічним приладом; час експозиції може бути менший.

Практичне заняття №3

Тема: Визначення якості питної води з пункту продажу засобами фітотесту «культура ряски малої».
Мета дослідження: За наявності достовірних змін біометричних показників експериментальної культури ряски порівняно з аналогічними параметрами контролю зробити висновок про якість питної води з пункту продажу.

Обладнання: культура ряски малої у чашках Петрі, піпетти, лінійки.

САМОСТІЙНА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА РОБОТА

Завдання 1 (робота в парах). Одержати результати моніторингу якості питної води з пункту продажу засобами фітесту «культура ряски малої» за наступною методикою.

Методика закриття експерименту з фітотестом «Культура ряски малої»

1. В кожній чашці Петрі підрахувати:
 - кількість листків (**15N_л**);
 - кількість рослин (**15N_{р.}**);
 - середню кількість коренів на чашку (**15N_{к.ср.}**): загальна кількість коренів / загальна кількість рослин;
 - максимальна довжина кореню (**15L_к**)
 - кількість хлорозів на чашку (**15X_л**).
2. Одержані дані занести до Таблиці 4 (Заняття 2).

Завдання 2. Винести на дошку таблицю 5 і оформити її.
Для цього:

- звести в таблицю 5 одержані дані всієї групи (див. таблицю 4).
- за ними в кожній підгрупі обчислити середні значення показників за формулою Formula4. v. 8 xls (Методику роботи див. Додаток А).

**Узагальнені дані моніторингу ростових параметрів
культури ряски малої за дії питної води з пункту
продажу**

Доба	0 доба (вихідні дані)		15 доба (прикінцеві дані)				
	ON _Δ	OХЛ.	15N _Δ	15N _р	15N _{к.ср}	15L _к	15ХЛ.
№К	КОНТРОЛЬ						
1	50	-					
2.	50	-					
3	50	-					
4	50	-					
5	50	-					
6	50	-					
7	50	-					
8	50	-					
9	50	-					
10	50	-					
X ср. к.	50	-					
№Е	ЕКСПЕРИМЕНТ						
1.	50	-					
2	50	-					
3	50	-					
4	50	-					
5	50	-					
6	50	-					
7	50	-					
8	50	-					
9	50	-					
10	50	-					
X ср. ек.	50	-					

Завдання 3. Знайти достовірні відмінності між контролем і експериментальними середніми даними за формулою Formula1,96.xls (Методику роботи див. Додаток Б) для кожного з показників фітотесту. Одержані дані занести до таблиці 6.

Таблиця 6

**Значення коефіцієнту t між контрольною
і експериментальною культурами ряски малої**

Значення коефіцієнту	значення t між середніми ростовими показниками культури ряски малої				
	15N Δ . (К і Е)	15Nр. (К і Е)	15Nк.ср. (К і Е)	15Lк. (К і Е)	15XЛ. (К і Е)
t					

Завдання 4. На основі даних таблиці 6 зробити висновок про вплив питної води з пункту продажу на ріст листків, кореню і вміст хлорофілу (якісний висновок) ряски малої. Висновок повинен містити узагальнення про те:

А) є чи ні вплив чинника на фітотест загалом;

Б) на який орган цей вплив більший, якщо таке явище має місце;

В) висловити свої міркування з приводу одержаних результатів фітотестування чинника довкілля (якості питної води з пункту продажу).

Висновок (про якість води з пункту продажу):

Примітка: Під час формулювання висновку спиратися на значення коефіцієнту t , висновок повинен відповідати сутності теми заняття і давати відповідь на його мету.

Практичне заняття №4

Тема: Визначення рівня токсичності питної води з пункту продажу за біометричними показниками фітотестів «культура ряски малої» і «пророщене насіння культури озимої»

Мета дослідження: Порівняти чутливість фітотестів щодо якості питної води з пунктів продажу за рівнем токсичності (значеннями T і IT) або його відсутності, що пов'язана зі стимулюючою дією чинника на модельну (-і) системи.

Завдання 1. Самостійно вдома підготувати невеликі повідомлення (на 2-2,5 хв. не більше) за наступними питаннями (роботу можна розподіли по підгрупах з 2-3-х студенти). При підготовці повідомлення за «своїм» питанням виокремити 3 провідні речення для запису на занятті під час складання конспекту з теми « Фітотестування питної води – ефективний метод визначення її якості ».

Перелік питань

1. Значення якісної питної води в житті людини.
2. Якими чинниками докільця створюється якість питної води і чому?
3. Загальна характеристика методів визначення якості питної води
4. Описати провідні джерела водопостачання населення міста.
5. Обґрунтувати необхідність контролю якості питної води с пунктів продажу.
6. Обґрунтувати ефективність використання біотестування для визначення якості питної води.
7. Довести можливість використання саме фітотестів для визначення якості питної води.

Завдання 2. У процесі презентації повідомлень за питаннями скласти конспект на тему «Фітотестування питної води – ефективний метод визначення її якості».

Текст конспекту

САМОСТІЙНА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА РОБОТА

Завдання 3 (робота в парах). За даними, що одержані на попередніх заняттях скласти узагальнюючу таблицю 7 середніх значень біометричних показників двох фітотестів, засобами яких тестували якість води з пункту продажу.

Таблиця 7

Середні значення біометричних показників двох фітотестів у моніторингу якості питної води з пункту продажу

№	Пророщене насіння пшениці озимої			Культура ряски малої				
	Лстебло	Лгол.кор.	Лбічн.кор.	15Nл	15Nр.	15Nк.ср.	15Lк	15ХЛ
К								
Е								

Завдання 4. За даними таблиці 7 і наведеною формулою обчислити значення індексу токсичності (**T**) питної води з пункту продажу для кожного показника фітотесту. (**T** обчислюється, якщо контрольні значення більше за експериментальні)

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

T – індекс токсичності;

M дос. – середнє значення кількісного показника в експерименті

M к. – середня значення кількісного показника в контролі.

Дані занести до таблиці 8.

Таблиця 8

Значення індексу токсичності за біометричними показниками двох фітотестів в моніторингу якості питної води з пункту продажу

№	Пророщене насіння пшениці озимої			Культура ряски малої				
	Лстебло T₁	Лгол.кор. T₂	Лбічн.кор. T₃	15Nл T₁	15Nр. T₂	15Nк.ср. T₃	15Lк T₄	15ХЛ T₅
T								
IT								

Завдання 5. За значеннями **T** таблиці 8 і наведеною формулою обчислити середнє значення індексу токсичності (**IT**) питної води з пункту продажу для кожного фітотесту.

$$IT = (T_1 + T_2 + \dots) / n, \text{ де}$$

IT – середнє значення індексу токсичності варіанту води;

T₁, T₂, ..., T_n – індекси токсичності, що розраховані для кожної тест-функції (значення ростового показника токсичності);

n – кількість тест-відгуків або показників токсичності, що задіяні для варіанту води.

Одержані дані занести до таблиці 8.

Завдання 5. Скористуйтеся шкалою оцінки токсичності води, середніми значеннями індексу токсичності і зробіть висновок про:

- ступінь чутливості двох фітотестів до якості питної води;
- можливі причини такої чутливості;
- рівень токсичності питної води с пункту продажу за **IT** ряски і **IT** пшениці (за наявності токсичного впливу);

або

- (за відсутності токсичного впливу) причини відмінності від еталону загалом обох фітотестів.

Рівні пригнічення ростових процесів (фітотоксичних ефект), %	Рівень токсичності (IT)
0 – 20	Відсутня
20,1 – 40	слабка токсичність
40,1 – 60	Середня
60,1 – 80	Висока
80,1 – 100	Максимальна

Шкала оцінки токсичності води за IT

Джерело: Біоіндикаційна оцінка токсичності поверхневих водойм в зоні впливу Червоноградської групи шахт //Збірник матеріалів II-го Всеукраїнського з'їзду екологів з міжнародною участю <http://eco.com.ua/content/bioindikatsiina-otsinka-toksichnosti-poverkhnevikh-vodoim-v-zoni-vplivu-chervonogradskoi-gru>

Висновок:

- 1.
- 2.
- 3.

Примітка: Під час формулювання висновку спиратися на значення коефіцієнтів T , IT або їх відсутність, що пов'язана із стимулюючою дією води; висновок повинен відповідати сутності теми заняття і давати відповідь на його мету.

Практичне заняття №5

Тема: Цитоекологія: вплив якості питної води з пунктів продажу на рівень клітинної проліферації в корені проростків цибулі ріпчастої (*Allium test*).

Мета: Керуючись наявністю достовірних змін мітотичного індексу в коренях експериментальних проростків цибулі порівняно з аналогічними параметрами контролю, зробити висновок про вплив якості води з пунктів продажу на клітинну проліферацію.

Обладнання: комп'ютерна підтримка: електронний атлас «Атлас нормальних і мутантних клітин», фото тимчасових препаратів кінчика кореня цибулі (сайт «Цитоекологія» – Каталог файлів – Експеримент – Експеримент 1, Експеримент 2); відіопроектор.

Завдання 1. Самостійно вдома підготувати невеликі повідомлення (**на 2-2,5 хв. не більше**) за наступними питаннями. Роботу можна розподіли по підгрупах (по 2-3 студента). При підготовці повідомлення за «своїм» питанням виокремити 3 провідні речення для запису на занятті під час складання конспекту з теми «Мітоз та вплив на нього чинників навколишнього середовища».

Перелік питань

1. Мітоз та його фази: презентація з фото фаз мітозу.
2. Характеристика клітинного циклу і поняття клітинної проліферації.
3. Визначення рівня проліферації (мітотичного індексу).
4. Вплив факторів довкілля на проліферативну активність клітин.
5. Фазні індекси, їх зміни як індикатори впливу довкілля на події мітозу.
6. Інші цитологічні показники – індикатори впливу довкілля.

Завдання 2. У процесі презентації повідомлень за питаннями скласти конспект на тему «Мітоз та вплив на нього чинників навколишнього середовища».

Текст конспекту

САМОСТІЙНА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА РОБОТА

Завдання 3. Самостійно опрацювати «Атлас нормальних і мутантних клітин» за допомогою відіопроектору. Зробити в альбомі декілька малюнків кожної фази мітозу. (Для повторення фаз мітозу можна використати будь-який інтернет-ресурс щодо опису мітозу).

Інтерфаза

Профаза

Метафаза

Анафаза

Телофаза

Завдання 4 (робота в парах). На фото тимчасових препаратів кінчиків коренів засобами Allium test визначити мітозомодифікуючу дію (вплив на проліферацію клітин) якості питної води з пунктів продажу засобами Allium test. Для цього **в кожній підгрупі:**

1. Продивитися по 300 клітин кінчика кореню цибулі на фото давленого препарату у варіантах експерименту (експеримент 1 і експеримент 2 – прорости сформовані на воді з різних пунктів продажу).

2. Підрахувати на ці 300 клітин окремо для кожного експерименту кількість клітин в мітозі. Одержані дані кількість клітин в мітозі (**N м.**) і загальну кількість клітин (**N з.**) занести до таблиці 9 (**у «свою» строку**). Таблиця 9 повинна міститися на дошці.

3. Заповнити таблицю 9 повністю по значенням **N з. і N м.** інших студентів.

4. Кожний студент обчислює значення мітотичного індексу за формулою

$$MI, \% = \frac{N_m}{N_z} * 100\%,$$

де **N м** – сума клітин, що знаходяться на стадії мітозу.;
Nз. – загальна кількість проаналізованих клітин.

Таблиця 9

**Значення мітотичного індексу в клітинах кінчика цибулі
в умовах дії питної води з пунктів продажу**

№№ п\гру- пи	Кількість клітин					
	N з.		N м.		MI,%	
	Експери- мент 1	Експери- мент 2	Експери- мент 1	Експери- мент 2	Експери- мент 1	Експери- мент 2
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
Серед- ній MI	-		-		+	

5. Кожній підгрупі самостійно обчислити всі значення MI і занести до таблиці 9.

6. За формулою FORMULA 4. v. 8 xls (ДОДАТОК А) обчислити середнє значення MI для експерименту 1 і експерименту 2 і також занести до таблиці 9.

Завдання 5. Порівняти одержані значення середнього MI з еталонним. **Значення MI для варіанту з якісною питною водою становить $5,0 \pm 0,8$.** Знайти достовірні відмінності між еталонним значенням і експериментальними за FORMULA 1,96. Xls (ДОДАТОК Б).

$t_1 =$

$t_2 =$

Зробити висновок про те, як якість питної води впливає на клітинну проліферацію. Який з варіантів води менш якісний і здійснює більшу мітозомодифікуючу дію?

Висновок:

1.

2.

Примітка: Під час формулювання висновку спиратися на значення коефіцієнту t , висновок повинен відповідати сутності теми заняття і давати відповідь на його мету.

Практичне заняття №6

Тема: Цитоекологія: вплив якості питної води з пунктів продажу на мутаційний рівень клітин кореню проростків цибулі ріпчастої (*Allium test*).

Мета: Виходячи зі значень частоти хромосомних аберацій в клітинах експериментальних проростків цибулі порівняно з аналогічним параметром контролю, зробити висновок про мутагенний вплив води з пунктів продажу.

Обладнання: комп'ютерна підтримка: електронний атлас «Атлас нормальних і мутантних клітин», фото тимчасових препаратів кінчика кореня цибулі (сайт «Цитоекологія» – Каталог файлів – Експеримент – Експеримент 1, Експеримент 2); відеопроектор.

Завдання 1. Самостійно вдома підготувати невеликі повідомлення (на **2-2,5 хв. не більше**) за наступними питаннями. Роботу можна розподіли по підгрупах (по 2-3 студента). При підготовці повідомлення за «своїм» питанням виокремити 3 провідні речення для запису на занятті під час складання конспекту з теми «Чинники і наслідки мутагенезу для організму».

Перелік питань

1. Мутагенез та його чинники.
2. Спонтанний та індукований мутагенез.
3. Хромосомні аберації та їх різновиди .

4. Цитологічні параметри – індикатори рівня мутаційного впливу.
5. Наслідки хромосомних аберацій для організму.
6. Якість питної води як мутагенний чинник довкілля.

Завдання 2. У процесі презентації повідомлень за питаннями скласти конспект на тему «Чинники і наслідки мутагенезу для організму».

Текст конспекту

САМОСТІЙНА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА РОБОТА

Завдання 3. Самостійно опрацювати «Атлас нормальних і мутантних клітин» за допомогою відіопроектору. Зробити в альбомі малюнків таких хромосомних аберацій (Для повторення різновидів хромосомних аберацій можна використати будь-який інтернет-ресурс щодо їх опису).

Фрагменти

Поодинокий

Подвійний

Потрійний

Втрата хромосоми

Відставання хромосоми

Мости

В анафазі

В телофазі

Мікроядра

Завдання 4. На фото тимчасових препаратів кінчиків коренів засобами Allium test визначити ана-телофазним методом мутаційну дію якості питної води з пунктів продажу.

Для цього **кожній підгрупі:**

1. Продивитися всі фото 2-х експериментальних варіантів для з'ясування, які різновиди хромосомних аберацій вони містять.

Висновок: (про різновиди хромосомних аберацій, що зустрічаються на фото)

2. Після цього продивитися такі ж самі фото і на кожному урахувати кількість анафаз (**Na**), кількість телофаз (**Nt**) і кількість анафаз і телофаз з хромосомними абераціями (**n**). Одержані дані занести до таблиці 10 Таблицю 10 містить дошка.

Таблиця 10.

Визначення рівня мутагенної дії питної води с пункту продажу засобами Allium test

№№ фото	Кількість клітин					
	Na		Nt		N	
	Експеримент1	Експеримент2	Експеримент1	Експеримент2	Експеримент1	Експеримент2
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
Загальна кількість клітин						

3. Підрахувати частоту хромосомних аберацій (**ХА**) за формулою

$$ХА, \% = \frac{N}{(A + T)} * 100,$$

де *N*– загальна кількість абераційних ана- і телофаз у варіанті;

(*A + T*)– загальна кількість ана- і телофаз у варіанті.

4. Одержані значення ХА 2-х варіантів експерименту занести до *Висновку*. В ньому ж зробити підсумок про рівень мутагенної дії питної води, скориставшись таблицею 11. Значення контролю ХА= 0,9%

Висновок:

1. Значення ХА експерт.1 =

2. Значення ХА експерим.2 =

3. (про порівняння рівня мутагенного ефекту двох варіантів; висловити своє судження з приводу того, який з варіантів має вищий мутагенний вплив)

Примітка: Під час формулювання висновку спиратися на значення експериментальних ХА порівняно з контрольним ХА; висновок повинен відповідати сутності теми заняття і давати відповідь на його мету.

Таблиця 11.

Оцінка виразу мутагенного ефекту

Вираз мутагенного ефекту	Рівень мутагенного ефекту
Відсутні достовірні відмінності з контролем	Відсутній (0)
Перевищення контрольного рівня мутацій до 5 разів	Слабкий (1)
Перевищення контрольного рівня мутацій від 5 до 10 разів	Середній (2)
Перевищення контрольного рівня мутацій більше, ніж в 10 разів	Сильний (3)

Джерело: Прохорова И.М. *Пространственная и временная динамика мутагенной активности воды оз. Неро* / И.М. Прохорова, М.И. Ковалева, А.Н. Фомичева и др. — М.: Наука, 2008. — 59 с.

Практичне заняття №7

Тема: Цитоекологія: рівень білкового синтезу в клітинах кореню проростків цибулі ріпчастої (*Allium test*) в умовах дії антропогенних чинників довкілля.

Мета: За наявності достовірних змін у значеннях ядерцевого біомаркери в клітинах кореня одного варіанту експериментальних проростків цибулі порівняно з іншим варіантом зробити висновок про дію двох антропогенних чинників на білковий синтез.

Обладнання: фото тимчасових препаратів кінчика кореня цибулі (сайт «Цитоекологія» – Каталог файлів – Експеримент – Експеримент 1, Експеримент 3); комп'ютери, лічильники формули крові.

Завдання 1. Самостійно вдома підготувати невеликі повідомлення (на **2-2,5 хв. не більше**) за наступними питаннями. Роботу можна розподіли по підгрупах (по 2-3 студента). Для роботи необхідно використати навчальний матеріал з молекулярної біології, тема «Трансляція, фолдинг білка». При підготовці повідомлення за «своїм» питанням виокремити 3 провідні речення для запису на занятті під час складання конспекту з теми «Вплив довкілля на синтез білка в організмі».

Перелік питань

1. Структура і функції білка в клітині.
2. Білоксинтезуючий комплекс і білоксинтезуюча система клітини: риси відмінності.
3. Трансляція і фолдинг білкової молекули в клітині: поняття, сутність, місце локалізації.
4. Роль ядерця в синтезі білка в клітині.
5. Синтез білка і вплив зовнішнього середовища на рослинний організм.
6. Клітинні показники рівня білкового синтезу, ядерцевий біомаркер.
7. Використання в наукових дослідженнях з біотестування клітинних показників білкового синтезу (праці В.В. Архипчука і В.В. Гончарука, Вєялкіної Н. М. та ін.): навести приклади досліджень з їх використанням.

8. Чому значення ядерцевого біомаркеру можна використовувати як показник рівня білкового синтезу в клітині?

Завдання 2. У процесі презентації повідомлень за питаннями скласти конспект на тему «Вплив довкілля на синтез білка в організмі».

Текст конспекту

САМОСТІЙНА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА РОБОТА

Завдання 3. Самостійно опрацювати «Атлас нормальних і мутантних клітин» за допомогою відеопроектору. Знайти в ньому клітини з різною кількістю ядерців. Співвідношення таких груп клітин і називають **ядерцевим біомаркером**. Визначити, скільки і яких груп клітин з різною кількістю ядерців містять корінь цибулі звичайної. Відповідь записати до альбому.

Відповідь: Ядерцевий біомаркер клітин кореню цибулі звичайної складається з клітин, що мають.....

Завдання 4 (робота в парах). На фото тимчасових препаратів кінчиків коренів засобами Allium test визначити значення ядерцевого біомаркера в проростків, що сформовані в умовах дії двох антропогенних чинників. Для цього **кожній підгрупі:**

1. Продивитися по 300 клітин кінчика кореню цибулі на фото давленого препарату у варіантах експерименту (експеримент 1 – проростки сформовані на воді з пункту продажу, експеримент 3 – проростки сформовані за дії синтетичного регулятора росту рослин).

2. Підрахувати серед цих 300 клітин **окремо** клітини, що містять 1 ядерце (**N₁**); 2 ядерця – (**N₂**); 3 ядерця – (**N₃**) і 4 ядерця – (**N₄**). Одержані дані занести до таблиць 12 і 13, відповідно (**у «свою» строку**). Під час такої операції можна скористатися лічильником для підрахунку формули крові.

3. Кожній підгрупі самостійно за всіма кількісними даними обчислити відсотки у загальному значенні ядерцевого біомаркера. Одержані значення занести до табл. 12 і 13.

4. У кожній підгрупі самостійно обчислити середні значення ядерцевого біомаркера за дії двох антропогенних чинників на формування проростку фітотесту.

Таблиця 12.

**Значення ядерцевого біомаркера в клітинах проростків
Allium test за дії питної води з пункту продажу
(Експеримент 1)**

№№ п/гр	Клітини з різною кількістю ядерць							
	N ₁		N ₂		N ₃		N ₄	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1								
2								
3								
4								
5.....								
Серед. знач.								

Таблиця 13.

**Значення ядерцевого біомаркера в клітинах проростків
Allium test за дії синтетичного регулятора росту рослин
(Експеримент 3).**

№№ п/гр	Клітини з різною кількістю ядерць							
	N ₁		N ₂		N ₃		N ₄	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1								
2								
3								
4								
5....								
Серед. знач.								

Завдання 5. (робота в парах). Занести обчислені середні значення ядерцевого біомаркеру до таблиці 14.

Таблиця 14.

Середні значення ядерцевого біомаркера в клітинах проростків *Allium test* за дії антропогенних чинників

Чинник	Клітини з різною кількістю ядерць							
	N ₁		N ₂		N ₃		N ₄	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Питна вода з пункту продажу								
Синтетичний регулятор росту рослин								

За даними таблиці 14:

1. За FORMULA 2 (Див. ДОДАТОК В) визначити достовірність відмінностей одержаних середніх значень ЯБ.

$\Lambda =$

2. Зробити висновок про:

- дію питної води с пункту продажу і синтетичного регулятора росту рослин (однаковий чи ні) на рівень білкового синтезу в клітинах фітотесту за значеннями ядерцевого біомаркеру (*достовірні відмінності ураховуються обов'язково*);

- ступінь впливу цих двох антропогенних чинників на провідний метаболітичний процес рослинної клітини цибулі звичайної – синтез білка (за значеннями ядерцевого біомаркеру); за наявності достовірних відмінностей, вказати за рахунок яких часток ядер (з 1, 2 або 3... ядерцями) у складі ЯБ ці відмінності виникають.

Висновок:

1.

2.

Примітка: Під час формулювання висновку спиратися на значення коефіцієнту Λ , висновок повинен відповідати сутності теми заняття і давати відповідь на його мету.

Практичне заняття №8

Тема: Цитоекологія: порівняльна характеристика загальної метаболітичної активності клітин кореня проростків *Allium test*, що сформовані за дії двох різновидів питної води з пунктів продажу.

Мета: За наявності достовірних відмінностей клітинних показників метаболітичної активності в проростках цибулі, що сформовані на 2-х варіантах води з пунктів продажу, зробити висновок про порівняльний вплив цих різновидів на білковий синтез і метаболізм загалом кліти кінчиків коренів.

Обладнання: фото тимчасових препаратів кінчика кореня цибулі (сайт «Цитоекологія» – Каталог файлів – Експеримент – Експеримент 1, Експеримент 2); комп'ютери.

САМОСТІЙНА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА РОБОТА

Завдання 1. Ознайомитися з комп'ютерною програмою для морфометрії клітин (програмний комплекс ImageJ для обробки зображення). Визначити, які кількісні клітинні показників пов'язані з метаболітичними процесами загалом, а які відображають тільки рівень білкового синтезу в них і чому. Занотувати визначення.

ЯЦВ – це.....

ЯЯВ – це...

Ядерцевий біомаркер – це.....

Завдання 2 (робота в підгрупах). На мікрофото тимчасових препаратів кінчиків коренів проростків, що сформовані на питній воді з 2-х пунктів продажу (експеримент 1 і експеримент 2, відповідно), в 12 клітина виміряти площу клітини (**Sk**), площу ядра (**Sя**) і площу ядерця (**Sяд**). Зробити це за допомогою комп'ютерної програми ImageJ. **Клітини повинні мати 1 ядерце, що чітко видно на препараті.** Одержані дані занести до таблиць 15 і 16 (**у «свою» строку**). Показати в значеннях один знак після зап'ятої (наприклад, **Sk** =23,4 ум.од.)

Примітка: На дошці міститься таблиця розподілу студентів за підгрупами і таблиця 15.

Таблиця 15.

Первинні дані експерименту 1

№ п/гр	№к-ни	Sk (A)	Sя (B)	Sяд (C)	№к-ни	Sk (A)	Sя (B)	Sяд (C)
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Фото № 1 jpg ; фото № 2 jpg							
	1				7			
	2				8			
	3				9			
	4				10			
	5				11			
	6				12			
2	Фото № 3 jpg ; фото № 4 jpg							
	13				19			
	14				20			
	15				21			
	16				22			
	17				23			
	18				24			
3	Фото № 5 jpg ; фото № 6 jpg							
	25				31			
	26				32			
	27				33			
	28				34			
	29				35			
	30				36			
4	Фото № 8 jpg ; фото № 9 jpg							
	37				43			
	38				44			
	39				45			
	40				46			
	41				47			
	42				48			

Продовження табл. 15

1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	Фото № 15 jpg ; фото № 16 jpg							
	49				55			
	50				56			
	51				57			
	52				58			
	53				59			
	54				60			

Таблиця 16.

Первинні дані експерименту 2

№ п/гр	№к-ни	Ск (А)	Ся (В)	Сяд (С)	№к-ни	Ск (А)	Ся (В)	Сяд (С)
1	Фото № А jpg ; фото № 1 tif							
	1				7			
	2				8			
	3				9			
	4				10			
	5				11			
	6				12			
2	Фото № 2 tif ; фото № 3 tif							
	13				19			
	14				20			
	15				21			
	16				22			
	17				23			
	18				24			
3	Фото № 4 tif ; фото № 9 tif							
	25				31			
	26				32			
	27				33			
	28				34			
	29				35			
	30				36			
4	Фото № 10 tif ; фото № 13 tif							
	37				43			
	38				44			
	39				45			
	40				46			
	41				47			
	42				48			
5	Фото № 15 tif ; фото № 19 tif							
	49				55			
	50				56			
	51				57			
	52				58			
	53				59			
	54				60			

Завдання 3. За даними таблиць 15 і 16 обчислити значення ядерно-цитоплазматичного відношення (**ЯЦВ**) і ядерно-ядерцевого відношення (**ЯЯВ**) клітин проростків, що сформовані під час впливу двох антропогенних чинників і занести їх до таблиць 17 і 18, відповідно. Скористайтеся для цього FORMULA ABC (ДОДАТОК Г).

Таблиця 17.

Первинні дані експерименту 1

№ п/гр	№к-ни	Значення ЯЦВ	№к-ни	Значення ЯЯВ
1	Фото № 1 jpg ; фото № 2 jpg			
	1		7	
	2		8	
	3		9	
	4		10	
	5		11	
	6		12	
2	Фото № 3 jpg ; фото № 4 jpg			
	13		19	
	14		20	
	15		21	
	16		22	
	17		23	
3	Фото № 5 jpg ; фото № 6 jpg			
	25		31	
	26		32	
	27		33	
	28		34	
	29		35	
4	Фото № 8 jpg ; фото № 9 jpg			
	37		43	
	38		44	
	39		45	
	40		46	
	41		47	
5	Фото № 15 jpg ; фото № 16 jpg			
	49		55	
	50		56	
	51		57	
	52		58	
	53		59	
	54		60	

Первинні дані експерименту 2

№ п/гр	№к-ни	Значення ЯЦВ	№к-ни	Значення ЯЯВ
1	Фото № А jpg ; фото № 1 tif			
	1		7	
	2		8	
	3		9	
	4		10	
	5		11	
	6		12	
2	Фото № 2 tif ; фото № 3 tif			
	13		19	
	14		20	
	15		21	
	16		22	
	17		23	
	18		24	
3	Фото № 4 tif ; фото № 9 tif			
	25		31	
	26		32	
	27		33	
	28		34	
	29		35	
	30		36	
4	Фото № 8 jpg ; фото № 9 jpg			
	37		43	
	38		44	
	39		45	
	40		46	
	41		47	
	42		48	
5	Фото № 15 tif ; фото № 19 tif			
	49		55	
	50		56	
	51		57	
	52		58	
	53		59	
	54		60	

Завдання 4. Скориставшись первинними значеннями **ЯЦВ і ЯЯВ** та FORMULA 4. v. 8 xls (ДОДАТОК А) обчислити середні значення (**Серед.ЯЦВ + Серед.ЯЯВ**) цих двох цитологічних кількісних показників для експерименту 1 і експерименту 2 (див. табл.17 і 18.). Одержані дані занести до таблиці 19.

Завдання 5. За FORMULA 1,96. Xls (ДОДАТОК Б). Обчислити значення коефіцієнту **t** щодо **Серед.ЯЦВ** і **Серед.ЯЯВ** для експерименту 1 і експерименту 2, занести їх до таблиці 19.

Таблиця 19.

Середні значення ЯЦВ і ЯЯВ клітин проростків фітотесту, що сформовані за дії двох антропогенних чинників

Чинник	Значення клітинних показників			
	Серед. ЯЦВ	t	Серед. ЯЯВ	t
Експеримент1				
Експеримент2				

Завдання 6. За даними таблиці 19 з обов'язковим урахуванням значень **t** зробити висновок про:

- дію двох варіантів питної води з пунктів продажу на загальний рівень метаболітичних процесів в клітинах проростків фітотесту (*однакова чи ні*);
- те, наскільки зміни синтезу білка (за значеннями серед.ЯЯВ) пов'язані зі змінами в загальному рівне метаболізму (за значеннями серед.ЯЦВ) клітин проростку, що сформовані на питній воді з різних пунктів продажу.

Висновок:

1.

2.

Примітка: Під час формулювання висновку спиратися на значення коефіцієнту **t**, висновок повинен відповідати сутності теми заняття і давати відповідь на його мету.

Практичне заняття №9

Тема: Цитоекологія: вплив синтетичного регулятора росту рослин – спірокарбону – на морфологію еритроцитів ссавців.

Мета: За наявності відмінностей між значеннями рівня поїкілоцитозу в крові експериментальних і контрольних мишей зробити висновок про вплив спірокарбону на порушення морфології еритроцитів ссавців.

Обладнання: комп'ютерна підтримка: електронний атлас «Атлас поїкілоцитів» (Додаток Д), фото мазків крові контрольних і експериментальних мишей (сайт «Цитоекологія» – Каталог файлів – Експеримент – Експеримент 4).

Завдання 1. Самостійно вдома підготувати невеликі повідомлення (**на 2-2,5 хв. не більше**) за наступними питаннями. Роботу можна розподіли по підгрупах (по 2-3 студента). При підготовці повідомлення за «своїм» питанням виокремити 3 провідні речення для запису на занятті під час складання конспекту з теми «Порушення у морфології еритроцитів та їх чинники».

Перелік питань

1. Загальна характеристика крові: клітинні елементи і компоненти плазми.
2. Функції клітинних елементів крові.
3. Особливості будови еритроцитів у ссавців.
4. Порушення будови еритроцитів: поїкілоцитоз.
5. Чинники, що викликають поїкілоцитоз.
6. Різновиди поїкілоцитів як індикатори впливу чинників довкілля на організм ссавців.

Завдання 2. У процесі презентації повідомлень за питаннями скласти конспект на тему «Порушення у морфології еритроцитів та їх чинники».

Текст конспекту

САМОСТІЙНА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА РОБОТА

Завдання 3. Самостійно опрацювати «Атлас пойкилоцитів» (Додаток Д). Зробити малюнки нормального еритроциту і різновидів пойкилоцитів (вказати особливості морфології кожного різновиду).

Нормальний еритроцит

Кулеподібний еритроцит

Еритроцити серпоподібної форми

Мишенеподібний еритроцит

Ехіноцит (акантоцит)

Овалоцит

Завдання 4. На фото мазків крові ссавців (білих мишей) визначити різновиди пойкилоцитів, що зустрічаються в нормі (контроль) та за дії біостимулятора (експеримент). Назви записати до альбому.

Кров білих мишей може містити такі різновиди пойкилоцитів:

Завдання 5. (робота в парах) На кожному фото мазків крові контрольних і експериментальних білих мишей підрахувати кількість пойкилоцитів і кількість еритроцитів загалом. (Загальна кількість проаналізованих на всіх фото еритроцитів в контролі і експерименті не повинна перевищувати **700** клітин). Одержані дані занести до таблиці 20.

Примітка: У експерименті фото 87-95ВМР не опрацьовувати. У контролі лише 5 фото, які необхідно опрацьовувати.

Таблиця 20.

Пойкілоцитоз в крові білих мишей за дії спірокарбону

№№ фото	Кількість пойкилоцитів (Nп)		Загальна кількість еритроцитів (Ne)	
	контроль	експеримент	контроль	експеримент
1				
2				
3				
4				
5				
6	-		-	
7	-		-	
8	-		-	
9	-		-	
10	-		-	
Всього клітин	Nп.з +	Nп.з +	Ne.з +	Ne.з +

Завдання 6. За даними таблиці 20. обчислити рівень пойкилоцитозу в контрольних і експериментальних тварин за формулою. Порівняти одержані результати і зробити висновок за ними.

$$PP, \% = \frac{N_{п.з}}{N_{e.з}} * 100$$

де PP – рівень пойкилоцитозу, Nп.з – загальна кількість пойкилоцитів;

Ne.з – загальна кількість еритроцитів на всіх фото.

PP контролю =

PP експеримент. =

Висновок: (про вплив спірокарбону – синтетичного регулятора росту рослин – на порушення морфології еритроцитів у ссавців).

Примітка: Під час формулювання висновку керуватися результатами порівняння значень PP експерименту і PP контролю; висновок повинен відповідати сутності теми заняття і давати відповідь на його мету.

ДОДАТКИ

(ВСІ ФОРМУЛИ МІСТЯТЬ САЙТ «ЦИТОЕКОЛОГІЯ» www.marisidorovich.ucoz.ua)

ДОДАТОК А. Покрокова робота з ФОРМУЛА 4. v. 8 x1s

1. Вихідний вигляд

№	X _i	X _{ср}	X _{ср} -X _i	(X _{ср} -X _i) ²	$\Sigma(X_{ср} - X_i)^2 / (n(n-1))$	$2.31 \sqrt{\Sigma(X_{ср} - X_i)^2 / (n(n-1))}$	N	X _{ср}
1	4		0,73	0,53		0,3081	225	4,7289
1	3		1,73	2,99				
1	5		-0,27	0,07				
1	5		-0,27	0,07				
1	6		-1,27	1,62				
1	2		2,73	7,45				
1	7		-2,27	5,16				
1	3		1,73	2,99				
1	5		-0,27	0,07				
1	4		0,73	0,53				
1	6		-1,27	1,62				
1	2		2,73	7,45				
1	8		-3,27	10,70				
1	6		-1,27	1,62				
	4		0,73	0,53				
1	3		1,73	2,99				
1	2		2,73	7,45				
1	7		-2,27	5,16				
1	3		1,73	2,99				
1	5		-0,27	0,07				
1	4		0,73	0,53				
1	6		-1,27	1,62				

2. Прибрати акуратно всі цифри з таблиці і в стовпчику № залишити кількість одиниць, що відповідає кількості вимірів (6 або 8, або 10 як показано в таблиці).

№	X_i	$X_{\text{ср}}$	$X_{\text{ср}} - X_i$	$(X_{\text{ср}} - X_i)^2$	$\Sigma(X_{\text{ср}} - X_i)^2 / (n(n-1))$	$2.31 \sqrt{\Sigma(X_{\text{ср}} - X_i)^2 / (n(n-1))}$	N	$X_{\text{ср}}$
1						0,3081	225	4,7289
1								
1								
1								
1								
1								
1								
1								
1								
1								

3. У стовпчик X_i внести одержані дані.

№	X_i	$X_{\text{ср}}$	$X_{\text{ср}} - X_i$	$(X_{\text{ср}} - X_i)^2$	$\Sigma(X_{\text{ср}} - X_i)^2 / (n(n-1))$	$2.31 \sqrt{\Sigma(X_{\text{ср}} - X_i)^2 / (n(n-1))}$	N	$X_{\text{ср}}$
1	10					0,3081	225	4,7289
1	11							
1	13							
1	14							
1	12							
1	11							
1	13							
1	16							
1	17							
1	12							

4. На вільному полі поставити позначку. Знайти на верхній панелі МАКРОСИ і використати їх: МАКРОСИ (панель)----МАКРОСИ (меню)-----Выполнить (Рамка)

№	X_i	$X_{\text{ср}}$	$X_{\text{ср}} - X_i$	$(X_{\text{ср}} - X_i)^2$	$\Sigma(X_{\text{ср}} - X_i)^2 / (n(n-1))$	$2.31 \sqrt{\Sigma(X_{\text{ср}} - X_i)^2 / (n(n-1))}$	N	$X_{\text{ср}}$
1	10		2,90	8,41	1,6316	1,6316	10	12,90
1	11		1,90	3,61				
1	13		-0,10	0,01				
1	14		-1,10	1,21				
1	12		0,90	0,81				
1	11		1,90	3,61				
1	13		-0,10	0,01				
1	16		-3,10	9,61				
1	17		-4,10	16,81				
1	12		0,90	0,81				

5. У двох вікнах таблиці визначити $X_{\text{ср}}$ - середнє значення (наприклад, дорівнює 12,9); довірчий інтервал у вікні $(2.31 \sqrt{\Sigma(X_{\text{ср}} - X_i)^2 / (n(n-1))}$) (наприклад, дорівнює 1,6)

6. Записати одержані середні значення показника з довірчим інтервалом до таблиці в інструктивній картці до практичного заняття (наприклад, $12,9 \pm 1,6$)

ДОДАТОК Б. Покрокова робота з FORMULA 1,96. X1s

1. Вихідний вигляд

x1	x2	x1-x2	результат
0,23	0,21	0,02	1,39
0,02	0,0001041		
0,02	0,0001041	0,0144308	

- В таблиці нічого не прибирають, а лише вставляють значення $X_{\text{ср. к. і X ср. ек}}$
- Значення $X_{\text{ср. к}}$ вставляють у вікно x1; значення $X_{\text{ср. ек}}$ – у вікно x2; довірчий інтервал контролю вставляють у вікно ts1; експерименту – у вікно ts2.
- Результат визначають у вікні «результат».
- Одержане значення порівнюють з табличним значенням коефіцієнту t (Таблиця коефіцієнту Ст'юдента): для 6 показників ($N_E + N_K - 2$) - 2,44;
8 - 2,31; 60 - 2,00;
10 - 2,23; 100 - 1,99
18 - 2,10 120 - 1,96
- Якщо одержане в дослідженні значення t *перебільшує табличне значення*, то *має місце достовірні відмінності між контролем і експериментальними даними.*
Якщо вказане відсутнє, то контроль і експеримент не відрізняються: чинник не має впливу на тест – об'єкт

ДОДАТОК В. Покрокова робота з ФОРМУЛА 2. XI₁

1. Вихідний вигляд

№	f ₁	f ₂	Σf ₁	Σf ₂	Σf ₁ /n ₁	Σf ₂ /n ₂	d = Σf ₁ /n ₁ - Σf ₂ /n ₂	λ = d _{max} * √(n ₁ n ₂ / (n ₁ +n ₂))	N	n ₁	n ₂	d _{max}
1	6	13	253	182	1,00	1,00	0,000	1,7551	9	253	182	0,171
1	69	72	247	169	0,98	0,93						
1	82	53	178	97	0,70	0,53						
1	50	21	96	44	0,38	0,24						
1	25	11	46	23	0,18	0,13						
1	10	9	21	12	0,08	0,07						
1	9	3	11	3	0,04	0,02						
1	1	0	2	0	0,01	0,00						
1	1	0	1	0	0,00	0,00						
1			0	0	0,00	0,00						

2. Прибрати акуратно всі цифри з таблиці і в стовпчику № залишити кількість одиниць, що відповідає кількості вимірів (4 або 8, або 10 як показано в таблиці).

№	f ₁	f ₂	Σf ₁	Σf ₂	Σf ₁ /n ₁	Σf ₂ /n ₂	d = Σf ₁ /n ₁ - Σf ₂ /n ₂	λ = d _{max} * √(n ₁ n ₂ / (n ₁ +n ₂))	N	n ₁	n ₂	d _{max}
1								1,7551	9	253	182	0,171
1												
1												
1												

3. У стовпчик f_1 і f_2 внести одержані дані (f_1 – це значення n біомаркера одного чинника, f_2 – це значення n біомаркера іншого чинника)

№	f_1	f_2	Σf_1	Σf_2	$\Sigma f_1/n_1$	$\Sigma f_2/n_2$	$d = \Sigma f_1/n_1 - \Sigma f_2/n_2 $	$\lambda = d_{\max} \cdot \sqrt{n_1 n_2} / (n_1 + n_2) $	N	n_1	n_2	d_{\max}
1	23	43						1,7551	9	253	182	0,171
1	58	58										
1	34	34										
1	81	76										

4. На вільному полі поставити позначку. Знайти на верхній панелі МАКРОСИ і використати їх: МАКРОСИ (панель)----МАКРОСИ (меню)-----Виполнить (Рамка)

№	f_1	f_2	Σf_1	Σf_2	$\Sigma f_1/n_1$	$\Sigma f_2/n_2$	$d = \Sigma f_1/n_1 - \Sigma f_2/n_2 $	$\lambda = d_{\max} \cdot \sqrt{n_1 n_2} / (n_1 + n_2) $	N	n_1	n_2	d_{\max}
1	23	43	196	211	1,00	1,00	0,000	0,8714	4	196	211	0,086
1	58	58	173	168	0,88	0,80	0,086					
1	34	34	115	110	0,59	0,52	0,065					
1	81	76	81	76	0,41	0,36	0,053					
			0	0	0,00	0,00	0,000					

5. У вікні λ знайти значення коефіцієнту Колмогорова-Смірнова.

Якщо значення λ перебільшує 1,36, то два розподіли достовірно відрізняються.

Якщо значення λ менше за 1,36, то вони не різняться один від одного.

ДОДАТОК Г. Покрокова робота з FORMULA 2. X1s

1. Вихідний вигляд

A	B	C	V/(A-B)	C/V
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!
			#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!

2. У вільні стовпчики внести одержані дані: А – дані Ск; В – Ся; С – Сяд.

	А	В	С	В/(А-В)	С/В
4	5	2		-5,00	0,40
5	6	2		-6,00	0,33
4	5	2		-5,00	0,40
3	5	1		-2,50	0,20
4	5	2		-5,00	0,40
5	6	2		-6,00	0,33
4	5	2		-5,00	0,40
3	5	1		-2,50	0,20
4	5	2		-5,00	0,40
5	6	2		-6,00	0,33
4	5	2		-5,00	0,40
3	5	1		-2,50	0,20
4	5	2		-5,00	0,40
5	6	2		-6,00	0,33
4	5	2		-5,00	0,40
3	5	1		-2,50	0,20

3. У стовпчику В/(А-В) ви одержали значення ЯЦВ, у стовпчику С/В – значення ЯЯВ.
4. Створить окремий файл и перенесіть значення ЯЦВ і ЯЯВ для експерименту 1 і експерименту 2.

ДОДАТОК Д

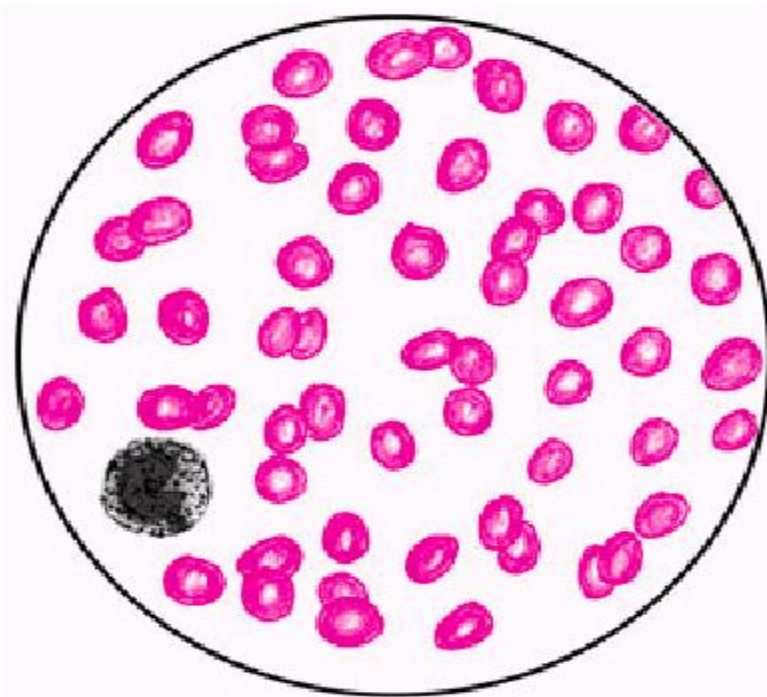


Рис. 1. Морфологія нормальних еритроцитів при мікроскопії фарбованих мазків крові

Зміни форми еритроцитів

Пойкілоцитоз – це різноманітні зміни форми еритроцитів, які можуть ставати витягнутими, зірчастими, грушоподібними тощо. Пойкілоцитоз зустрічається при всіх типах анемій, причому в деяких випадках форма еритроцитів може служити важливим критерієм діагностики певного їх типу.

Куляста форма еритроцитів, які зазвичай мають зменшений розмір (**микроцитоз**) і інтенсивне забарвлення (**мікросфероцити**), найбільш характерна для спадкової мікросфероцитарної анемії (хвороби Мінковського-Шоффара) (рис. 2).

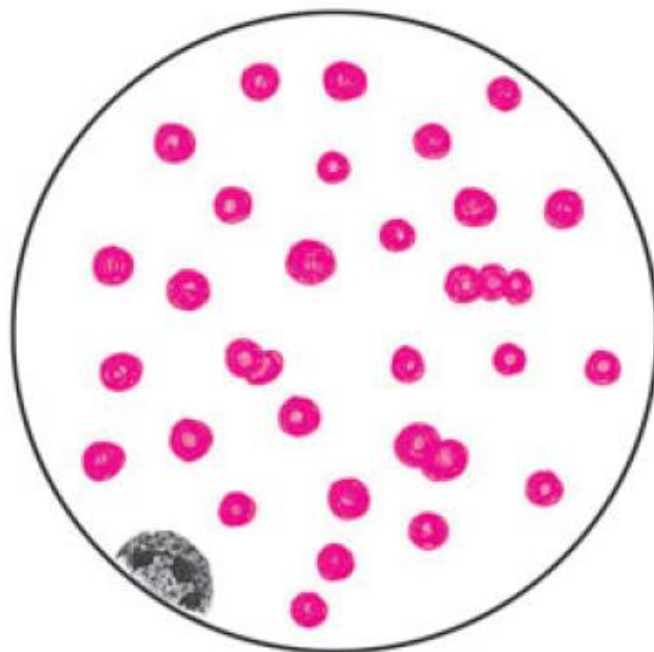


Рис. 2. Микросфероцити в периферичній крові при хворобі Минковського-Шоффара

Еритроцити серпоподібної форми зустрічаються під час спадкової серпоподібно-клітинної гемолітичної анемії, що розвивається в зв'язку з наявністю в еритроцитах патологічного різновиду гемоглобіну (S-гемоглобіноз) (рис. 3).

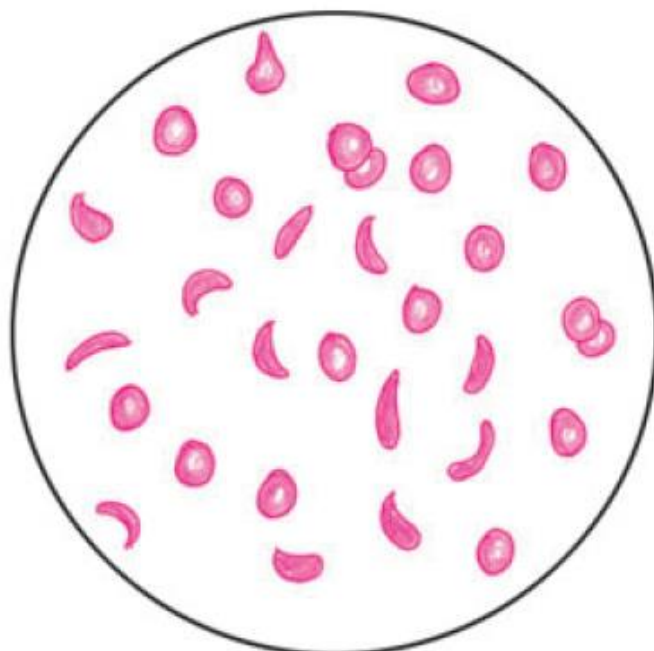


Рис. 3. Зміни форми еритроцитів під час серпоподібно-клітинної анемії

Еритроцити овальної форми (овалоцити) в невеликій кількості (близько 10%) зустрічаються і у здорових людей.

Збільшення числа овалоцитів на препараті до 80-90% спостерігається при спадковому овалоцитозі, еліпсоподібній клітинній анемії (рис. 4).

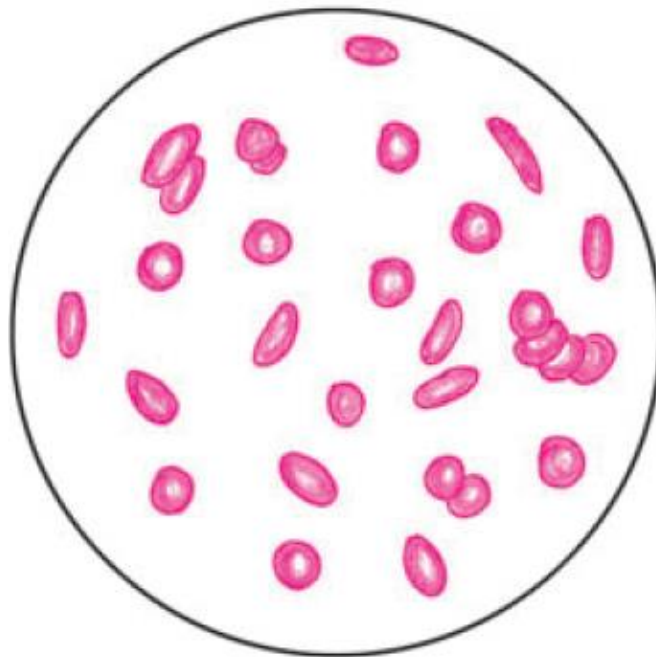


Рис. 4. Овалоцити в периферичній крові при еліпсоподібно-клітинній анемії

Мішенеподібні еритроцити – клітини з інтенсивно забарвленим центром і незафарбованою периферією – притаманні таласемії, важким залізодефіцитним анеміям, захворюванням печінки, свинцевому отруєнню (рис. 5).

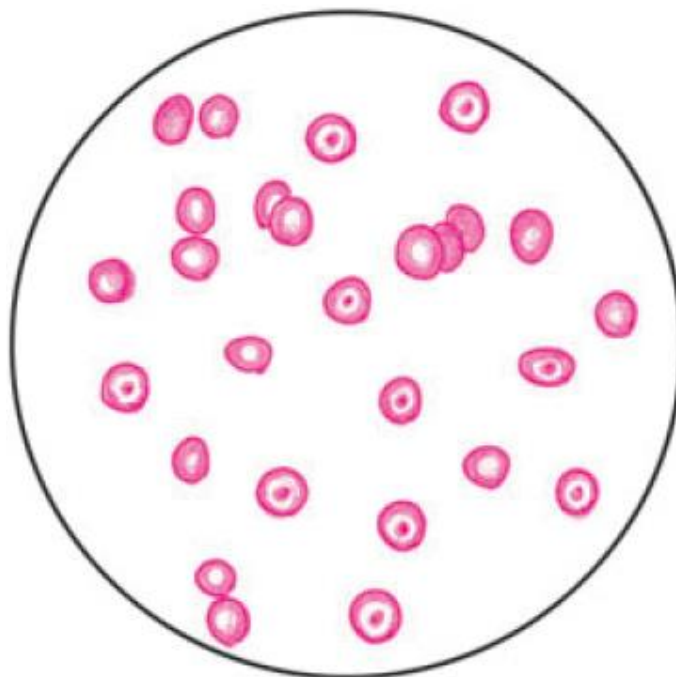


Рис. 5. Мішенеподібні еритроцити при таласемії

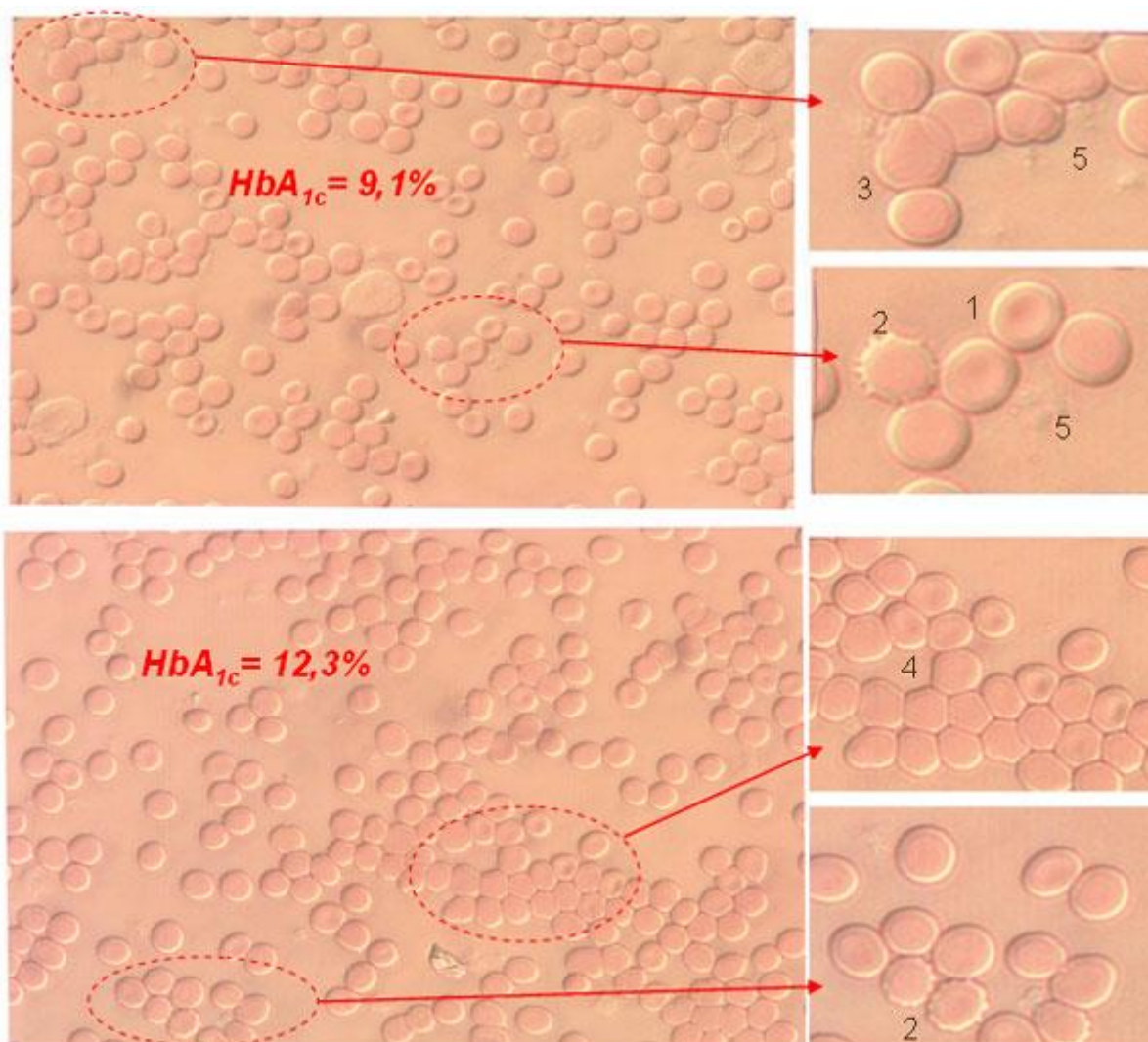


Рис. 6. Сканограма структури формених елементів червоної крові у хворих на МС з різною концентрацією HbA_{1c} :
 1 – нормальний еритроцит, 2 – **ехіноцет (акантоцит)**,
 3 – **овалоцит**, 4 – **пойкілоцити**, 5 – агреговані тромбоцити.

При мікроскопічному дослідженні цільної крові у хворих на МС виявляється збільшення кількості циркулюючих в крові деформованих еритроцитів (**ехіноцети, овалоцити, пойкилоцити, акантоцити**) і еритроцитарно – тромбоцитарних агрегатів. Вираз змін морфології капілярної крові при мікроскопічному гемоскануванні знаходиться в прямо пропорційній залежності від рівня HbA_{1c} %. (Рис.6).

Навчально-методичне видання

СИДОРОВИЧ М.М.

НАУКОВО-ДОСЛІДНИЦЬКИЙ ПРАКТИКУМ З БІОТЕСТУВАННЯ

**навчальний посібник для підготовки магістрів
зі спеціальностей 014. Середня освіта
(Біологія та здоров'я людини), 091. Біологія**

ISBN 978-617-7573-87-5

Підписано до видання _____ р. Формат 60×84/16.
Гарнітура Bookman Old Style. Наклад 100 прим.
Ум. друк. арк. _____. Обл.-вид. арк. _____.
Замовлення № _____.

Книжкове видавництво ФОП Вишемирський В.С.
Свідоцтво про внесення до державного реєстру видавничої справи:
серія ХС № 48 від 14.04.2005
видано Управлінням у справах преси та інформації
73000, Україна, м. Херсон, вул. Соборна, 2.
Тел. (050) 133-10-13, (050) 514-67-88
e-mail: printvvs@gmail.com