

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна
Навчально-науковий інститут екології
Кафедра екологічної безпеки та екологічної освіти

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

бакалавра
на тему

УДОСКОНАЛЕННЯ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ РАКОПОДІБНИХ *CERIODAPHNIA AFFINIS LILLJEBORG*, ВІДНОСНО ЗМІН ПАРАМЕТРІВ СЕРЕДОВИЩА

Виконав: студентка 4 курсу, групи ДЕ-41
напряму підготовки 6.040106 Екологія,
охорона навколишнього середовища
та збалансоване природокористування
(шифр і назва напряму підготовки, спеціальності)

Карпенко О.Р.

_____ (прізвище та ініціали)
Керівник _____ / доц. Кривицька І. А.
/ _____
(підпис) (прізвище та ініціали)
Рецензент _____ / _____
(підпис) (прізвище та ініціали)

«До захисту допущено»

Зав. кафедри _____ / проф.Некос А. Н.
(підпис) (прізвище та ініціали)
Нормоконтролер _____ / інж. Дюкова В. В.
(підпис) (прізвище та ініціали)
Секретар ДЕК _____ / _____
(підпис) (прізвище та ініціали)

Харків – 2020 рік

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Каразінський навчально-науковий інститут екології
Кафедра екологічної безпеки та екологічної освіти
Рівень вищої освіти (освітньо-кваліфікаційний рівень) бакалавр
Напрямок підготовки 6.040106 «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

_____ проф. А. Н. Некос
підпис ініціали, прізвище

“ 28 ” травня 2020 року

З А В Д А Н Н Я
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ (ПРОЕКТ)

Карпенко Олена Русланівна
(прізвище, ім'я, по батькові студента)

1. Тема роботи Удосконалення умов культивування ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, відносно змін параметрів середовища

керівник роботи доцент Кривицька Іветта Анатоліївна
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом по університету від “ 20 ” травня 2020 року № _____

2. Строк подання студентом роботи _____

3. Перелік питань, які потрібно розробити

1. Аналіз та огляд літератури щодо використання ракоподібних;
2. Ознайомитись з методикою ДСТУ та стандартами, які діють в Україні;
3. Підібрати середовище культивування шляхом оптимізації жорсткості;
4. Провести експериментальні дослідження з культурою *Ceriodaphnia affinis*;
5. Визначити, яке модифіковане середовище найбільш сприятливе для подальшого використання;

6. Визначити чутливість ракоподібних до еталонної речовини $K_2Cr_2O_7$;
7. Дійти до заключної стадії роботи та зробити висновки.

4. План роботи

№ з/п	Назви етапів роботи
1	Огляд літературних джерел та оформлення структури диплому.
2	Опрацювання методики дослідження ракоподібних <i>Ceriodaphnia affinis</i> шляхом оптимізації жорсткості середовища.
3	Визначення виживаності та реакції на зміни жорсткості у модифікованому середовищі.
4	Аналіз процесу проведення експерименту.
5	Оформлення літературних джерел та додатків.

5. Дата видачі завдання _____

Студент _____
підпис

Керівник роботи _____
підпис

Карпенко О.Р.
ініціали, прізвище
Кривицька І.А.
ініціали, прізвище

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ЩОДО ВИКОРИСТАННЯ РАКОПОДІБНИХ.....	8
1.1 Використання методу біотестування у світі.....	8
1.2 Ракоподібні (<i>Crustacea</i>) як одні із найбільш відомих тест- об'єктів у біотестуванні.....	15
РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ РІЗНИХ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ <i>Ceriodaphnia affinis</i>	20
2.1 Методика біотестування на <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lilljeborg.....	20
РОЗДІЛ 3 АНАЛІЗ ПРОВЕДЕНИХ ЛАБОРАТОРНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ЩОДО МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ МОДИФІКОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА КУЛЬТИВУВАННЯ <i>Ceriodaphnia affinis</i>	25
3.1 Дослідження репродуктивності культури <i>Ceriodaphnia affinis</i> при культивуванні в різних за жорсткістю середовищах.....	25
3.2 Визначення чутливості ракоподібних <i>Ceriodaphnia affinis</i> до еталонної хімічної речовини $K_2Cr_2O_7$, які культивуються в стандартних лабораторних умовах та в досліджуваних модифікованих середовищах.....	27
ВИСНОВКИ.....	33
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	35
ДОДАТКИ.....	38

ВСТУП

Ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg найчастіше використовують як тест-об'єкт для визначення гострої токсичності хімічних речовин, рівня токсичності поверхневих та стічних вод. Цей вид відноситься до родини *Daphniidae*. Їм притаманна висока чутливість до різного походження хімічних речовин. В лабораторних умовах тест-об'єкт легко культивувати, тому його обширно використовують з екотоксикологічної точки зору. Даний вид *Ceriodaphnia affinis* застосовують для визначення токсичних властивостей відібраних проб води та встановлення максимально допустимої концентрації хімічних речовин тощо. Потреба в цьому тест-об'єкті завжди буде актуальною, через легкий спосіб культивування та дешевизну необхідного обладнання.

Біотестування на тест-об'єкті *Ceriodaphnia affinis* підпорядковується на пряму середовищу та умовам, в яких їх вирощують. Недотримання стандартних умов та зміна будь-яких їхніх характерних показників призведе до неточних та недосконалих результатів. Оскільки в залежності, наприклад, від параметру жорсткості у дослідній воді можуть бути отримані різні результати щодо впливу токсичних речовин на тест-об'єктів. Таким чином може бути недооцінена небезпека для водного середовища, в яке надходить ця токсична речовина.

Актуальність дослідження полягає у відсутності існування єдиної стандартної методики культивування, яка б задовольнила потреби наукових експериментів у сфері біотестування води ракоподібними *Ceriodaphnia affinis* і привела б до єдиної початкової точки подальших досліджень.

Таким чином, нами запропоновано отримати (убрать слово) модифіковане середовище культивування, шляхом оптимізації жорсткості середовища культивування ракоподібних при змішуванні у певному співвідношенні відстояної води з дистильованою водою. Це дозволить

уникнути використання синтетичних середовищ, які складні у приготуваннях та фінансово витратні.

Мета даного дослідження: визначення найбільш сприятливих умов культивування ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* шляхом оптимізації жорсткості середовища культивування.

Об'єкт дослідження: ракоподібні *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg.

Предмет дослідження: репродуктивність та чутливість ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg у досліджуваних середовищах культивування.

Основна гіпотеза полягає в тому, що модифіковане середовище культивування церіодафній може слугувати альтернативою для стандартних методів культивування, або навіть бути кращими для використання у майбутніх дослідженнях.

Завдання, які поставлені в дослідницькій роботі:

- дослідити репродуктивність культури *Ceriodaphnia affinis* при культивуванні в різних за жорсткістю середовищах (день отримання першої молоді, кількість молоді на 1 самку, виживаність в днях тощо).
- визначити чутливість ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* до еталонної хімічної речовини $K_2Cr_2O_7$, які культивуються в стандартних лабораторних умовах та в модифікованих середовищах;
- здійснити аналіз проведених лабораторних досліджень з наданням рекомендацій щодо можливості використання модифікованого середовища культивування *Ceriodaphnia affinis*.

У роботі представлені **методи** дослідження, а саме біотестування, критичний аналіз інформаційних систем, спостереження за аналогічними дослідями (на ракоподібних).

Інформаційною базою є національні законодавчі та нормативні акти, інформаційні звіти і методичні вказівки, дані особистих дослідів (за встановленими стандартами), інтернет ресурсів.

Наукова новизна заключається у тому, що розглядаються різні показники жорсткості протягом тривалого часу. В наслідок чого оцінюється вплив зміни даного параметру середовища на життєдіяльність планктону.

Практичне значення даного дослідження полягає в тому, що отримані результати можна використовувати більш легким способом та відійти від стандартизованого синтетичного середовища за методиками ISO, OECD.

РОЗДІЛ 1

ЗАГАЛЬНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Використання методу біотестування у світі

Сучасні реалії індустріального та промислового розвитку породили величезну кількість небезпечних викидів у навколишнє водне середовище. Якісними характеристиками інколи складно дослідити забруднення гідрологічного простору і можливий вплив безпосередньо на організм людини. Одним із методів оцінки якості води на її придатність до споживання та використання людством і досі залишається біотестування – спосіб дослідження, який безпосередньо описує вплив зміни концентрації тієї чи іншої речовини у воді та імпактну дію такого вимушеного симбіозу. Зважаючи на достатню згуртованість і максимально продуктивну обороноздатність організму людини до зовнішніх загроз, патологічні зміни у тілі *Homo sapiens* будуть свідчити про те, що досліджувати речовину на можливі майбутні негативні наслідки уже запізно. Зважаючи на це, для експериментів над водою, забрудненою небезпечними речовинами краще використовувати як тест-об'єкт найчутливіші види гідробіонтів, такі як *Ceriodaphnia affinis*.

Ракоподібні *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg уже десятки років служать тим самим першим рубежем (перша стадія перевірки) біотестування, який стає основою до подальших екологічних експериментів для виявлення можливих факторів, які можуть призвести до негативних наслідків у функціонуванні організму людини. Значущий етап таких досліджень – культивування маленьких гідробіонтів та забезпечення унікальної точності результатів, незалежно від кількості вимірів. Саме процес культивування і отримання тест-об'єктів ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg придатних до біотестування є найважливішим, а тому і найвідповідальнішим у експерименті. Якість виконання цього етапу і є фундаментом до отримання найбільш точних результатів. Незважаючи на це, пів століття розвитку біотестування не дало чіткої концепції зручного та «правильного» процесу

культивування ракоподібних, розбивши досліди летальної та хронічної токсичності на випадкові результати, які різняться у кожному варіанті. Не виникло і точної єдиної методики, за якою потрібно проводити вище наведений процес, а стандартні параметри жорсткості та концентрації дихромату калію ($K_2Cr_2O_7$) як еталонної речовини до кінця не досліджені як фактори дії на даного виду планктон.

Невпинний ріст об'єму та кількості небезпечних речовин, що вносяться у водне середовище антропогенними джерелами забруднення змушують людство шукати нові та вдосконалювати існуючі методи оцінки якості природних вод. Багаторічні дослідження науковців показують, що велика кількість ксенобіотиків, які знаходяться у ареалі існування гідробіонтів, здатні накопичуватися у організмах живих істот [9].

Нинішні хіміко-аналітичні методи, які застосовуються у світі для оцінки якості природних вод, можуть бути недієвими, тому що присутній рівень чутливості недостатній. Невелика кількість небезпечної речовини може бути непомічена таким способом аналізу, тому трансформаційні зміни в живому організмі залишаються не зафіксованими.

Окремі методики можуть охоплювати тільки свою локальну сферу, у якій використовується. У гідробіонтів можуть виникати патологічні зміни у функціонуванні організму, тому експериментальні методи дослідження дозволяють відтворити певний вміст токсичних речовин у водоймах та лабораторних умовах [7].

Галузі промисловості, які застосовуються людиною налічують більше 6 млн. назв токсичних забруднювачів за визначною оцінкою EPA (United States Environmental Protection Agency). Токсичні речовини, які потрапляють у стічні води, ґрунтові води та іншими способами у об'єкти водного середовища, повільно розкладаються та мають здатність акумулюватися у вигляді донних відкладів. Перелік ксенобіотиків поповнюється новими токсичними сполуками приблизно на 1 – 2 тис. з кожним наступним роком [7].

Донгерті вперше створив класифікацію речовин залежно від ступеня токсичності. Еталоном визначення було обрано LC_{50} (концентрацію токсичних речовин, яка викликає загибель 50% піддослідних організмів протягом 24 год) [7].

Класифікація Е.О. Веселова стосується трьох фаз обміну речовинами між водою скидів підприємств та природних водойм: 1) зміна фізичних, фізико-хімічних, хімічних властивостей води за рахунок перебігу хімічних реакцій; 2) токсична дія на гідробіонтів; 3) стабілізація стану водойми у результаті фізичних, хімічних і біологічних процесів самоочищення [7].

Водна токсикологія як напрям включає чотири основні методи перевірки стану та властивостей води. До них відносять біотестування, біоіндикацію, фізико-хімічні та хіміко-аналітичні методи.

Не дивно, що найпопулярнішим із цих чотирьох став саме метод біотестування, який становить основу усіх токсикологічних досліджень. Базисно під ним розуміють виявлення будь-яких фізіологічних змін у функціонуванні водного організму, порушення його гомеостазу або навіть передчасної загибелі шляхом експериментальних досліджень впливу модифікованого середовища існування, яке найчастіше є дослідними зразками поверхневих, підземних чи стічних вод, які зазнали зміни хімічного складу та фізичних властивостей через діяльність певного об'єкту промисловості. В якості піддослідних зазвичай використовуються види гідробіонтів, які одними з перших реагують на будь-яку зміну їх середовища життя та з низьким діапазоном толерантності. Такими організмами більше за всіх інших є гіллястовусі ракоподібні, найпростіші водорості, рідше риби та молюски. Найпоширенішим критерієм, для якого проводиться біотестування є гранично допустимі концентрації (ГДК) невластивих для природної екосистеми речовин, які вимушено або випадково вносяться антропогенними джерелами[7].

Згідно цієї концепції була сформована дефініція поняттю біотестування води – експериментальне визначення токсичності води (водного середовища) за зміною певного показника життєдіяльності тест-об'єкта [10].

Забруднення хімічними елементами призводить до низки побічних наслідків, визначити які стандартними методами хімічного аналізу не є можливим. Тут за справу береться біотестування яке, на відміну від схожого за поняттям методу біоіндикації, являє собою визначення ступеня впливу середовища на біоценози. Токсичність конкретної проби води, ґрунту, що зазнали вимушеного симбіозу з вищими за норму концентраціями хімічних сполук і є тими самими критеріями, які можна отримати при застосуванні методу біотестування [3].

Екологічні стандарти якості сформовані у більшості країн, що відносяться до класу високорозвинених, та у певній кількості держав, що розвиваються. Такі стандарти є обов'язковою ланкою будь-якої суверенної території Європейського Союзу, і обов'язково включають у себе нормування якості ґрунтових та поверхневих вод. Зазвичай вони подаються у вираженні концентрацій окремих хімічних речовин та сполук у водному просторі, донних відкладах, накопичених речовинах у біоті, перевищення яких призведе до змін у роботі і людського організму. Саме Водна Рамкова Директива 2000/60/ЄС (ВРД) зазначає такі інструменти для підтримання безпечного стану водойм. За цією ж директивою здійснюється і контроль за дотриманням норм і стандартів якості водних об'єктів, які зазнають впливу перевищення концентрацій конкретних хімічних речовин, для яких ці норми були встановлені окремою місцевістю або країною. Допустимі значення концентрацій забруднюючих хімічних речовин встановлюються відповідно до положень ВРД 2000/60/ЄС та технічного керівництва № 27.

Існує три окремі блоки встановлення екологічних стандартів якості хімічних речовин та сполук: 1) інформаційна складова хімічного елементу та його «життєдіяльності» у природному середовищі; 2) лабораторні експерименти з практичної перевірки ступеню токсичності речовини на

попередньо встановлених та прокультивованих тест-об'єктах; 3) Визначення можливості імплементації результатів досліджень до природних умов шляхом екотоксикологічних інструментів, після чого робляться загальні висновки про дослідження і формується екологічний стандарт якості. Поведінку хімічної речовини у навколишньому природному середовищі описує ряд фізико-хімічних показників: температура плавлення, константа Генрі, розчинність тощо. Отримані значення цих показників з різних джерел, оцінюються на предмет їх актуальності та надійності [12].

Біотестування отримало широке використання також при проведенні гідрологічного моніторингу якості вод. Токсикологічна перевірка є обов'язковою ланкою контролю якості води, так само, як і гідрохімічних аналізів у більшості розвинених країнах. Такі держави, як Данія, Франція, Ірландія, Нідерланди, Великобританія, Норвегія, Бельгія, Швеція, Швейцарія, Канада, США, Австралія, Бразилія, Японія, Німеччина застосовують показник токсичності задля контролю якості стічних вод та видачі дозволів на їх скид у природні водойми [3].

Недоліками біометоду часто виступають неоднозначність відповідей різних систем тест-організму; принципова різниця метаболізму водних рослин і тварин, що використовуються в якості тест-об'єктів; розбіжність результатів тестування при використанні різних тест організмів і різних тест реакцій [18].

Відповідно цієї концепції сутністю методології біотестування є встановлення оптимального контрольного рівня, будь-які відхилення від якого свідчать про стресовий стан організму. Зазвичай при оцінці оптимуму по якомусь одному параметру виникає питання про те, чи будуть дані умови оптимальними також і для інших характеристик істоти [18].

Станом на 2020 рік головними напрямками водної токсикології є боротьба із забрудненням водойм, розпізнавання токсичності водного середовища і діагностика отруєння риб, з'ясування механізму дії токсичних речовин і метаболізму токсикантів в організмі гідробіонтів. Основними проблемами кожного окремо відповідно порядку перерахування є :

1) Обчислення та пошук гранично допустимих концентрацій скиду стічних вод у природні водойми, наукова обґрунтованість таких лімітів, аналіз води на токсичність і вирішення виявленого показника токсичності;

2) Розробка та експериментальне дослідження практичного застосування діагностики порушення нормальної життєдіяльності гідробіонтів;

3) Боротьба з «нетиповими» видами водних організмів, які можуть зашкодити нормальному існуванню місцевої гідрологічної екосистеми; встановлення усіх можливих причин, наслідків та характеристик перебігу процесу отруєння хімікатами на п'яти рівнях існування живої системи – молекулярному, клітинному, тканинному, організменному і популяційному.

Основним завданням усіх напрямів комплексно є обдумане і практично пояснене використання хімічних сполук для запобігання інтенсифікації шкідливих біологічних процесів (зокрема процесу евтрофікації, який починає свій життєвий розвиток з поступленням до водойми втору та азоту), ліквідації збудників недуг, непромислових видів риби [7].

Отже, метод біотестування має свої переваги, бо на відміну від інших методів (хімічних, фізико-хімічних і т.д.), вони показують реальну оцінку та визначають на ранніх етапах вплив хімічної речовини [3].

Метод біотестування дає змогу вирішити деякі практичні завдання, які пов'язані з утилізацією, обробкою та скиданням промислових вод. При такому виді аналізу можуть використовувати ракоподібних або тканини більших істот в якості досліджуваного об'єкту. Найбільш широкого значення при використанні даного методу мають гідробіонти: ракоподібні (дафнія, гаммаріус), риби, найпростіші, молюски, а також представників різних груп рослин та водоростей [19].

Перший хто почав проводити токсикологічні дослідження – Рено Трухаут. Він запровадив термін "екотоксикологія" в 1969 році.

Для конкретного прикладу можна розглянути використання риби. Перші експрес-методи проводились саме за допомоги риби та дали

комплексний аналіз токсичності водного середовища. Достатньо довгий час використовувались тільки ці методи, а згодом почали модернізуватися і підлаштовуватись до сучасного світу. Використання цього тест-об'єкту було засновано на реакціях риб, а саме фізіологічних проявах та поведінці даної культури.

Метод, який використовується на рибах полягає в тому, що досліджуване середовище, а саме проточна вода, в яку поміщають тест-об'єкт, має переймати дію токсиканта за всіма ознаками. З роками метод почав удосконалюватись і еволюціонувати завдяки таким вченим, як А.Л. Бурковский, А.А. Сахаров та іншим.

За новими ознаками спостереження було вдосконалено, додавши критерії серцебиття та дихального ритму. Проведення експерименту проводились на таких видах риб, як річний окунь (*Perca fluviatilia*), карп (*Cyprinus carpio*) та гольян (*Phoxinus phoxinus*). Біотестування з рибами широко використовуються в США та Великобританії для перевірки гострої токсичності водних об'єктів і встановлення спеціального розбавлення [19].

У Канаді спеціально існує створений центр з міжнародних наукових досліджень, де втілена програма під назвою «Water Tox», що передбачає певний перелік вимог, які будуть аналізуватися. До цих вимог відносять: короткий процес розвитку тест-об'єкта (щоб самка була плодovита та давала багато молоді), висока чутливість, доступність в економічному плані, характерна однорідність, що дає змогу досягти найбільшої варіативності між повторюваністю, оцінка якісних та кількісних змін відмінних видів біологічної активності [15].

Завдяки цій програмі «Water Tox», яка уже є стандартною процедурою для визначення екотоксичності вод, було створено низку вимог до майбутніх досліджень:

- 1) Біотестування варто проводити на організмах, які вже розмножились мінімум до другого покоління та мають необхідний рівень чутливості до впливу хімічних сполук;

2) Організми, які знаходяться в процесі біотестування мають виявляти високу здатність чутливості до токсичних речовин;

3) Проходження процедури має бути послідовним, технічним, простим у виконанні, а результати чітко сформульовані і однозначні;

4) Під час дослідження реакція тест-об'єкту має бути очікуваною, сама хімічна речовина специфічна, головна вимога – можливість дати характеристику за допомогою візуального аналізу та спеціалізованих приладів.

5) Обробка результатів має займати не більше 5 діб з моменту проведення біотестування [9].

Довготривалий вплив токсичних речовин у малих та середніх концентраціях викликає різноманітні патологічні зміни у функціонуванні організму, що частіше за все пов'язані із втратою чутливості рецепторів зовнішніх подразнень, погіршенням процесу метаболізму, зміною деяких принципових реакцій у поведінці істоти, порушенням роботи внутрішніх та зовнішніх органів, перевищенням або критичним зниженням рівнів утворенням деяких ферментів або ферментативних систем, виходом за межі норми біохімічних показників [7].

Відповідно цієї концепції сучасному антропогенному середовищі, де тиск діяльності людини на природні системи знаходиться на своєму історичному піку, значущим завданням є підбір необхідних тест-об'єктів та максимально точна система їх використання відповідно до вибраної методики.

Ракоподібні найоптимальніше збалансовані для експериментів, що потребують високої чутливості організму. Вони є основою вітчизняних токсикологічних досліджень водних об'єктів та становлять фундаментальну ланку у прогнозуванні впливу забрудненої речовини на організм людини [7].

1.2 Ракоподібні (*Crustacea*) як одні із найбільш відомих тест-об'єктів у біотестуванні

Одним із найбільш відомих різновидів є ракоподібні (Crustacea), які включають в себе різноманітний спектр видів цих членистоногих. На даний момент клас ракоподібних виявився одним із найбільш численних на Землі. Станом на початок 2020 року виявлено більше ніж 25 000 видів. Вони мешкають практично у всіх водоймах, морях і океанах, та через різноманітність виду їх прийнято називати «морськими блохами».

Завдяки біотестуванню, у якому використовують ракоподібних, а саме дафній та церіодафній, ці істоти стали найбільш популярними тест-об'єктами завдяки своїй чутливості до хімічних речовин. Ці організми широко використовують у світовій практиці за методиками ISO та OECD. Найбільші країни світу використовують даний клас для визначення токсичності водних об'єктів. Дослідження проводяться за методиками, які найбільше підходять до їхніх сучасних лабораторій. Наприклад, в Україні використовують методику ДСТУ [6]. Саме через легкі умови культивування та доступність у фінансовому плані, високій чутливості, цей клас ракоподібних застосовують у експериментах для визначення якості вод [5].

Карцинологія – це розділ зоології, що вивчає один із підтипів членистоногих, а саме ракоподібних або зябродистичних [14]. Ж.Б. Ламарк у 1801 році виділив ракоподібних як самостійний клас, досліджуючи їх структуру тіла, особливості розмноження у водному ареалі, різноманітності будови та процесу життєдіяльності [14].

Відомі науковці, які досліджували цей розділ зоології: Чарльз Дарвін, Олександр Прокопович Маркевич, Монченко Владислав Іванович, Отто Михайлович Паульсон, Совинський Василь Карлович, Грезе Іраїда Іванівна та інші [14].

Щодо розвитку в Україні даного наукового напрямку можна визначити таких вчених, як В.О. Караваєв (ракоподібні, які входять у водний ареал України та вивчення видового складу), О.П. Маркевич (паразитолог, зробив значний внесок у дослідженнях ракоподібних), С.Я. Бродський (досліджував

річкових раків в Україні), В.І. Монченко (зоогеограф, український зоолог та еколог, фахівець з ракоподібних).

Сучасні зарубіжні науковці, які працюють у напрямі карцинологія і засновники «Crustacean Issues» в 1983 році, Ф.Р. Шарм, Дж.В. Мартін та Дж.Е. Девіс. В Америці та Японії відбуваються з'їзди карцинологів, які пропонують нові дослідження, відкривають нові межі у сфері ракоподібних та відкривають нові види [14].

Вагомою складовою являється те, що ракоподібні служать трофічною ланкою для харчового ланцюга великої кількості риб і китоподібних. Нижчі гідробіонти мешкають у товщі водного простору і входять до складу планктону.

Відомо, що серед ракоподібних зустрічаються такі види, як паразити (наприклад, *Cymothoa exigua*). До них належать достатня кількість істот, які живляться часточками детриту (завислі речовини), бактеріями, водоростями та частинами язика своїх жертв (риб)., хоча цей організм входить до раціону багатьох риб.

Дафнії й церіодафнії відносяться до ракоподібних (підряд Cladocera в загоні листоногих - Phyllopoda). Нижчі ракоподібні практично всі різностатеві, причому самець може значно відрізнятися від особини жіночого полу, за винятком вусоногих раків [4].

Ці гідробіонти мешкають у всіх типах водного середовища в Європі, Північній Америці, Азії, Південній Америці. У невеликих водоймищах зустрічаються рідше, проте інші дафнії спокійно перебувають і в таких середовищах, а в озерах та глибоких водосховищах майже не зустрічаються. Місця, в яких комфортно перебувати церіодафніям, знаходяться у відкритій місцевості серед очерету та поряд з водоростями.

Тест-об'єкт, який використовується у дослідях, зазначених нижче, являється вид *Ceriodaphnia affinis*. Вони розповсюджені майже у всіх водоймах планети. На рис.1 можна побачити, як виглядає цей вид і які є відмінності. Різницю можна побачити візуально.

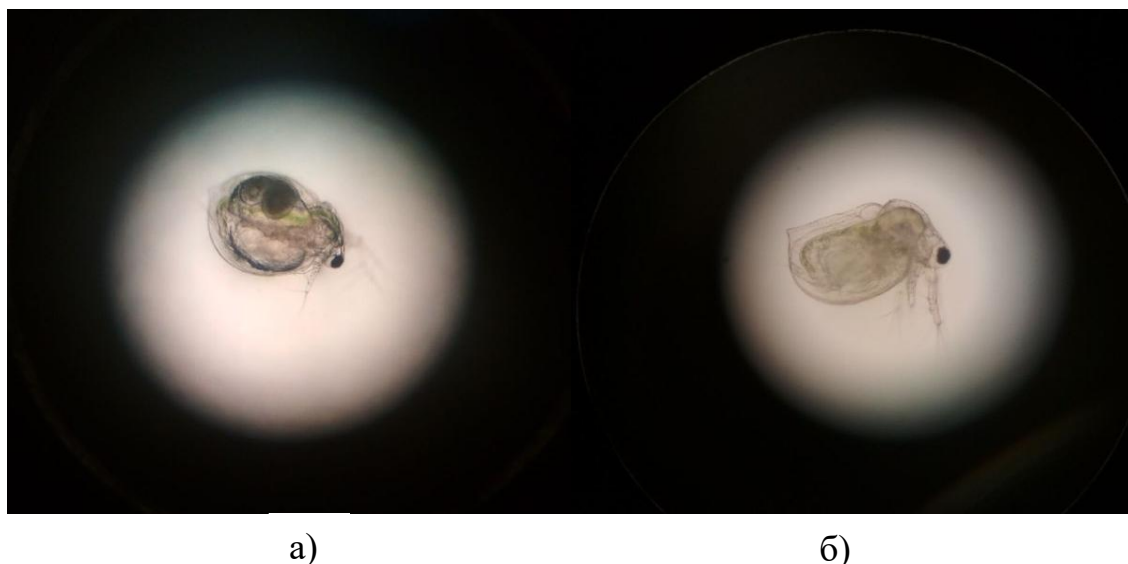


Рис.1 – *Ceriodaphnia affinis* під мікроскопом: а) – самка з заплідненими яйцями, б) – самка

Для підтримання культури в синтетичному середовищі необхідно дотримуватись стандартних умов, а саме забезпечити циліндр водою та достатньою кількістю *Ceriodaphnia affinis* у стані партеногенезу (здатності розмножуватись без статевого запліднення). Це робиться для того, щоб у культурі, яка розмножається, не було самців, бо вони спотворюють результати під час хронічних досліджень [17].

Ceriodaphnia dubia найбільш наближена до *Ceriodaphnia affinis*, місця їх мешкання так само знаходяться у болотах, прісноводних водоймах. Фізіологічна відмінність самок від самців – самка за розмірами значно більша. Особливість заключається лише у реагуванні на ультрафіолетове випромінювання. Найчастіше цих церіодафній пов'язують між собою та застосовують у аналогічних дослідженнях [16].

Також, у деяких дослідженнях гіллястовусих використовують для визначення ендокринних патологій гідробіонтів. Добре сформована ендокринна система, чутливість до різних гормональних факторів сприяє достовірним результатам у біотестуванні, фенотипічні зміни показують ступінь відхилення за нормативними ознаками і характер дії подразника [13].

За даними попередніх досліджень відомо, що у ракоподібних найбільш розвинута ендокринна система і чуттєвість до подразників. Для даного виду гідробіонтів у них специфічно розвинуті гормони, що дозволяють переносити високий діапазон концентрацій забрудненої речовини. Важливим і ключовим висновком є те, що фізіологічна розвиненість церіодафній дає змогу пристосовуватись до різних середовищ завдяки їхньому гормональному стану та розвиненому хребту. Проте такі дослідження проводяться не часто, бо всіх даних, які відомі, досить для того, щоб використовувати цей вид як об'єкт для біотестування. *Daphnia magna* та *Ceriodaphnia affinis* відносяться до одного сімейства, тому і використовуються у подібних дослідженнях [13].

Для прикладу можна представити використання ракоподібних *Daphnia magna* Str. (Cladocera, Crustacea) віком від 2 до 3 днів, розмірами від 0,8 до 1,2 мм. Протягом 28 днів проводився експеримент. Тенденція, яка була доведена, що препарат, який додавався до біотесту вплинув на репродуктивну активність та соматичний ріст. Ракоподібні, у яких був ефект гормону в наступних поколіннях, проявили відповідні реакції і відмінності з попереднім потомством. Саме ці фізіологічні відмінності були об'єктом для подальших експериментів.

Комплекс виражених фізіологічних відмінностей свідчить про те, що у даного виду високий рівень гормональної чуттєвості. Зміна відбулась у репродуктивності, м'язовій системі і серцевій активності. За даними цього дослідження виявлено, що додаткові препарати, які вносяться невеликими дозами, можуть вплинути на гормональний стан, як наслідок нормальне функціонування організму буде порушено.

Цей дослід доводить те, що *Daphnia magna* підходить в якості досліджуваного об'єкту за ендокринними порушеннями у гідробіонтів [13].

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ РІЗНИХ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ *CERIODAPHNIA AFFINIS*

2.1. Методика біотестування на *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg

Методика біотестування є важливим інструментом для спостереження за станом водних об'єктів. Біотестування є важливим етапом у дослідженні водного середовища, екотоксикологічний аналіз показує ранню діагностику токсичності, для майбутнього і більш детального спостереження за досліджуваним середовищем. Основною метою є збереження життя людей і нижчих організмів.

В першу чергу для того, щоб почати біотестування, варто перевірити культуру на її придатність. Загальноприйнята в Україні методика біотестування на ракоподібних [11] рекомендує до використання *Daphnia magna* та *Ceriodaphnia affinis*, в даному дослідженні було використано саме *Ceriodaphnia affinis*.

Утримують ракоподібних у скляному посуді та за спеціальними встановленими нормами дотримання. Задовільна температура, яка має бути у середовищі їх існування становить $(25 \pm 2)^{\circ}\text{C}$, освітлення має бути від 400 – 600 лк. Світловий день у середовищі має бути (16 ± 1) годин, а темрява має тривати (8 ± 1) годин. Прямий потік сонячного світла не має бути допущеним до тест-об'єктів.

Процедура розпочинається після того, як все необхідне обладнання буде підготоване та ракоподібні будуть підпадати параметрам ДСТУ. В основному випробування проводять для визначення гострої летальної токсичності поверхневих, підземних, питних, зворотних вод та інших об'єктів гідрологічного значення.

Процес визначення гострої летальної токсичності:

1. Встановлення гострої летальної токсичності води полягає у різниці між кількістю загиблих осіб та кількістю померлих у водному

середовищі, яке досліджується. Основним пунктом із дотримання вимог є встановлення контролю (вода у яку не додається хімічний реагент). Вживаність тест-об'єктів у контролі повинна бути не менше 10 %.

2. Критерієм гострої летальної токсичності являється гибель більше 50 відсотків церіодафній.

3. Важливим етапом у досліді є коефіцієнт похибки, який встановлюється згідно формулою та становить $P=0,95$.

4. Для точності експерименту визначним фактором є відбір, зберігання, приготування різних розчинів (особливо малих концентрацій), підготовка проб води та інший ряд аналізів, який стосується ґрунту [11].

Для культивування ракоподібних відповідно до методик використовують дехлоровану, відстояну водопровідну воду, яка повинна задовольняти наступним вимогам: рН 7,0-8,2, загальна жорсткість 1,3-2,0 мг екв/л, вміст розчиненого кисню – не менше 5,0 мг/л. Якщо такі вимоги не виконуються, методиками ISO, OECD пропонується використовувати синтетичні середовища для культивування тест-об'єктів. Їх головною вадою є складність приготування, яка полягає в роботі з низькими концентраціями хімічних речовин.

Найважливішими складовими успішного проведення біотестування є відбір культури, підготування спеціальних умов утримання та точність отриманих результатів під час біотестування. Для цього використовують *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg віком до 24 годин. Їх отримують наступним чином. Дорослих самок церіодафній спеціально пересаджують в окрему скляну ємність та чекають на молодь протягом 20 годин. Отримані організми використовують у якості тест-об'єктів для біотестування. Еталонною речовиною, яка використовується при визначенні придатності культури до біотестування є $K_2Cr_2O_7$. Встановлений діапазон реагування культури церіодафній відповідно до методик ДСТУ [6] складає від 0,9-3,3 мг/дм³ [11].

Процес проведення біотестування:

1. Суміш речовин розливають у десять посудин (пробірок) по 15 см³. Об'єм води у пробірках має бути згідно з контролем, тобто таким самим рівнем води змішаним з еталонною речовиною.

2. У скляному посуді знаходиться контроль та розбавлена суміш, далі в це середовище мають переносити церіодафній. Дані пробірки мають бути діаметром від 5 до 7 мм.

Під час проведення цієї процедури ракоподібних не годують. Загалом тривалість випробування сягає 48 годин (за стандартною методикою).

3. Після проведених вище зазначених дій візуально обчислюють живу кількість тест-об'єктів, які у звичайному режимі продовжують свою життєдіяльність без обмежень. Також після струшувань вони мають вільно рухатися.

4. У досліді необхідно визначити концентрацію кисню, який розчинився у водному середовищі.

Церіодафній утримують у скляному посуді, який знаходиться у місці без шкідливих газів та випарів. Особлива рекомендація: утримання тест-об'єктів у боксі або кліматостаті (люміністат).

Посуд, у якому проводяться випробування, мають мити спеціальними розчинами з питної соди або соляної кислоти, після ж омивають звичайною та дистильованою водою (для безпеки рук, варто вдягати гумові рукавиці, щоб хімічний розчин після його використання не потрапив на шкіру) [11].

Застосування синтетичних миючих засобів заборонено для використання, бо після поганого миття залишки від хімічних засобів можуть зіпсувати експеримент.

Культивування ракоподібних проходить у питній воді, насиченою киснем та згідно встановлених вимог якості.

На 1 дм³ води, щільність церіодафній має становити від 10 до 15 молоді. Пересаджувати молодь потрібно 2 рази на тиждень зі свіжою водою та насиченим киснем. Щоб не травмувати молодих особин треба обережно переносити їх з одного середовища в інше. Це можуть бути скляні трубки або

пластмасові піпетки. Також, щоб перевірити, чи культура розмножувалась в добрих умовах, можна використати шлях перевірки на мікроскопі. Якщо у культурі присутні тільки особини жіночого полу, то умови культивування є задовільні. Адже, поява чоловічих особин являє собою те, що умови, при яких відбувалося культивування, не були наближені до стандартних вимог.

Разом з цим і етап годування церіодафній має свої тонкощі. До раціону гідробіонтів додають раз на добу суспензію із дріжджів, а один раз за тиждень – суміш із зелених водоростей. Особливості приготування дріжджового корму полягає в додаванні 1 г свіжих або 0,5 сухих дріжджей, 100 см³ дистильованої води і перемішують до повного їх розчинення. Кормовий розчин перемішують та залишають на 30 хвилин. Піпеткою додають розчин готової суміші залежно від розміру скляного посуду. Зазвичай на 1 дм³ води – 5 см³ корму [11].

Щоб додати до церіодафній корм із водоростей, їх спочатку вирощують у колбах при спеціальному оснащенні або природному світлі, уникаючи потрапляння сонячного випромінювання. Інтенсивність освітлення має бути рівномірною та коливатися від 2500 до 5000 лк.

Вирощування водоростей має відбуватися при температурі (22±4)°C, а знизу повинні бути розміщені лампи, що мають притримувати середовище теплоти. Важливо, щоб збоку на 30-40 см було прикріплене додаткове освітлення.

До початку культивування колби стерилізують у спеціальній сушильній шафі при температурі 180°C протягом 2 годин. Посуд має бути зі спеціальними паперовими ковпачками або закриватися ватяно-марлевими затичками.

Щоб дізнатися придатність культури гідробіонтів до біотестування, потрібно визначити середню летальну концентрація за 24 години (ЛК50-24) суміші хімічного реагенту [11].

Фізико-хімічні характеристики еталонної суміші мають відповідати за стандартам, подібними до ГОСТ, а саме стабільність розчинів за час дослідження та добра розчинність у водному середовищі.

До початку експерименту приблизно за 2-3 години у посудину з ракоподібними додають корм і вилучують із середовища дорослих самок.

Придатність культури мають перевіряти один раз на місяць для подальшого використання у біотестуванні. Якщо ж під час проведення такого дійства визначиться, що дана культура не придатна, її вилучають і створюють нові умови за стандартом та розводять нове потомство. Краще всього вивести потомство до 3-го покоління, аби прослідкувати за виживаністю та плодовитістю *Ceriodaphnia affinis*. Головне виявити, які були причини погіршення стану середовища, де вирощувалась культура [11].

Якщо умови, закладені у даній методиці, не підходять для біотестування з причин утримання культури в такому середовищі, можна звернутися до методики іноземного походження, а саме ISO або OECD [1,2]. Різниця хоч і не значна, та краще, коли впевненість у майбутніх дослідженнях буде непохитною, задля отримання більш чітких та достовірних результатів.

РОЗДІЛ 3

АНАЛІЗ ПРОВЕДЕНИХ ЛАБОЛАТОРНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ЩОДО МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ МОДИФІКОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА КУЛЬТИВУВАННЯ *Ceriodaphnia affinis*

3.1. Дослідження репродуктивності культури *Ceriodaphnia affinis* при культивуванні в різних за жорсткістю середовищах

На основі проведених лабораторних випробувань, які розпочалися з 03.10.2018 р., нами було зроблено наступні заключення, які представлені в розділі 3.

Спершу спостереження **проводились** за стандартних умов культивування відповідно до методик ДСТУ [6]. Дійшовши до висновку, що у методиках біотестування, які використовуються в різних країнах світу [3], умови культивування ракоподібних відрізняються між собою (хоч і не значними відмінностями), було розпочато розроблення модифікованого середовища, яке могло б бути їм альтернативним. Саме через те, що результат біотестування на пряму залежить від якості культури та в яких умовах вона була отримана, основною прерогативою була зміна жорсткості середовища.

Таким чином нами була запропонована наступна гіпотеза, яка в результаті проведених досліджень перевірялась: отримання середовища шляхом змішування відстояної води з дистильованою водою призведе до зниження жорсткості води, яка використовується для культивування ракоподібних, до встановлених нормативних вимог (1,3-2,0 мг екв/л) та буде відповідати встановленим вимогам для їх культивування (зменшення загальної жорсткості середовища та рН) відповідно до вимог міжнародних методик. Це дозволить уникнути застосування синтетичних середовищ, які складні у створенні та фінансуванні [8].

Співвідношення «відстояна вода: дистильована вода» виглядає у досліді наступним чином:

1. Відстояна вода – 350 ppm (6,9 – 7 мг екв/л), не розбавляється;
2. 1:1 (відстояна вода: дистильована вода) – сер. значення 190 ppm (3,8 – 3,9 мг екв/л);
3. 1:2 (відстояна вода: дистильована вода) – сер. значення 127 ppm (2,5 – 2,6 мг екв/л);
4. 1:3 (відстояна вода: дистильована вода) – сер. значення 98 ppm (2 – 2,1 мг екв/л).

Завдяки методиці біотестування та культивування ракоподібних, яка ґрунтується на різних показниках, дотримання всіх вимог, що задані у нормативах та зміні жорсткості середовища, ми розмножили ракоподібних до 3-го покоління. Це дало змогу прослідкувати, як саме тест-об'єкти адаптувались. Процес проходив стабільно, адже всі показники утримання культури співпадали для адаптивного існування (температура, світло рН, лужність, концентрація розчиненого кисню, жорсткість тощо). Дане дослідження проводилось у лабораторії та має свої підтвердження у додатку 1 [8].

Також, на розмноження і пристосування до нового середовища впливає годування *Ceriodaphnia affinis*. Коли до тест-об'єкту додавались дріжджі, вони реагували більш спокійно та давали потомство межі яких коливались від 3 – 4 новонароджених на 1 самку. При додаванні водоростей у раціон ракоподібних їх потомство збільшувалось від 4 – 6 новонароджених на 1 самку.

Виконавши ряд певних вимог до статистичних даних, було отримано наступні результати - найбільшу плодовитість церіодафній мають у 2 поколіннях. У дистильованій воді об'єкти померли, що свідчить про нестачу у воді біогенних речовин. Найкраще розмножувались організми у варіанті співвідношення 1:2 (відстояна вода: дистильована вода). Це означає, що кількість та якість елементів, яка знаходилась у воді, підходить для оптимального розмноження.

Зробивши даний експеримент, можна дійти до висновку, що середовище, яке пропонується для культивування 1:2 не несе негативного

впливу на репродуктивність ракоподібних. Використання дистильованої води під час розведення відстояної води до допустимих меж сприяє зниженню жорсткості у середовищі культивування і не спричиняє негативної дії на тест-об'єкт [8].

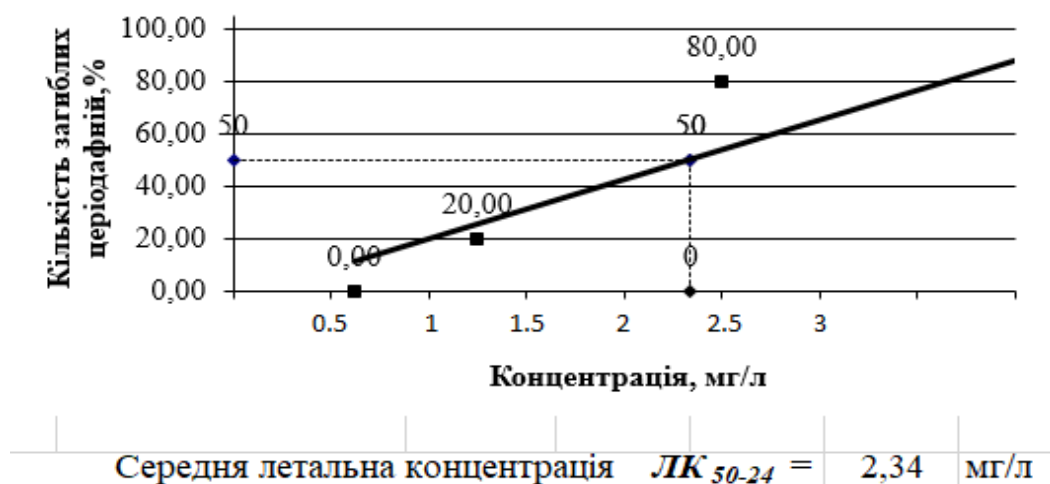
3.2. Визначення чутливості ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* до еталонної хімічної речовини $K_2Cr_2O_7$, які культивуються в стандартних лабораторних умовах та в досліджуваних модифікованих середовищах

Початок експерименту почався із визначення придатності культури *Ceriodaphnia affinis* до біотестування, яку отримали в середовищі зі стандартними умовами культивування та в середовищі з модифікованими умовами культивування. Еталонною речовиною, яку вибрали для даного досліджу, став калій двохромовоокислий ($K_2Cr_2O_7$). Дана рідина дуже стабільна, погано розкладається, тому його і використовують як еталон. Було зроблено серію розчинів на різних випробувальних середовищах з концентраціями $K_2Cr_2O_7$ від 0,5 до 4,0 мг/дм³. Розчинами наповнювали пробірки (по 15 см³), в які потім переносили тест-об'єкти - *Ceriodaphnia affinis* у віці до 24 год. Повторність – 10-кратна. Під час проведення дослідження ракоподібних не годували. Через 24 години фіксували виживаність досліджуваних тест-об'єктів, на основі чого знаходили ЛК₅₀₋₂₄ $K_2Cr_2O_7$.

Якщо отримане значення ЛК₅₀₋₂₄ перебуває від 0,9-3,3 мг/дм³, то це означає, що дані умови, в якій знаходиться культура *Ceriodaphnia affinis*, підходящі для біотестування. Проте, якщо отримане значення ЛК₅₀₋₂₄ (сполуки $K_2Cr_2O_7$) не входить у встановлений діапазон реагування, потрібно перевірити культуру та з'ясувати причини такого результату.

У графіках 1–4 наведено залежність гибелі церіодафній від концентрації $K_2Cr_2O_7$ за 24 години у різних умовах жорсткості. У додатках 2–5 наведені результати згідно протоколам, які зроблені у лабораторії.

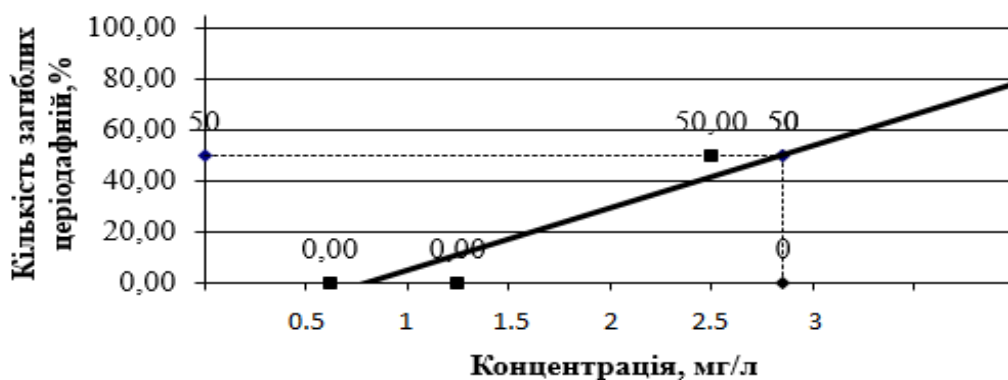
В таблиці 1 наведений вплив еталонної речовини $K_2Cr_2O_7$ на *Ceriodaphnia affinis* при використанні модифікованого середовища та стандартного за 24 години. В таблиці 2 наведений той самий експеримент, але за 48 годин.



Графік 1 – Залежність загибелі періодафній за 24 години від концентрації $K_2Cr_2O_7$ у стандартному середовищі

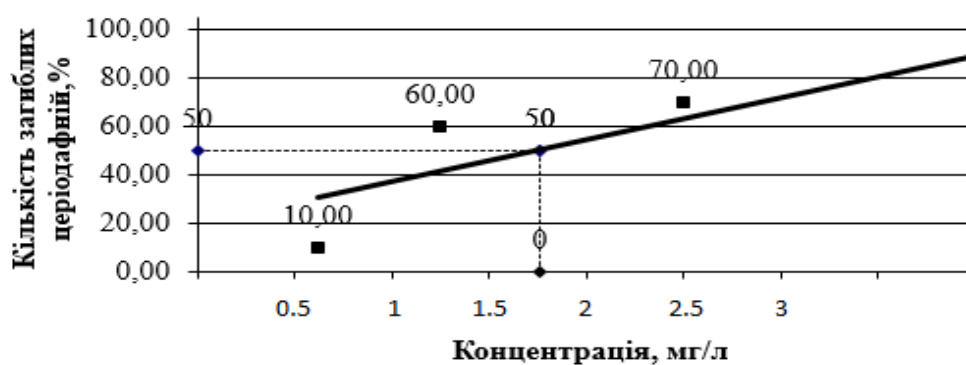


Графік 2 – Залежність загибелі періодафній за 24 години від концентрації $K_2Cr_2O_7$ у модифікованому середовищі (1:1)



Середня летальна концентрація $LK_{50-24} = 2,86$ мг/л

Графік 3 – Залежність загибелі періодафній за 24 години від концентрації $K_2Cr_2O_7$ у модифікованому середовищі (1:2)



Середня летальна концентрація $LK_{50-24} = 1,76$ мг/л

Графік 4 – Залежність загибелі періодафній за 24 години від концентрації $K_2Cr_2O_7$ у модифікованому середовищі (1:3)

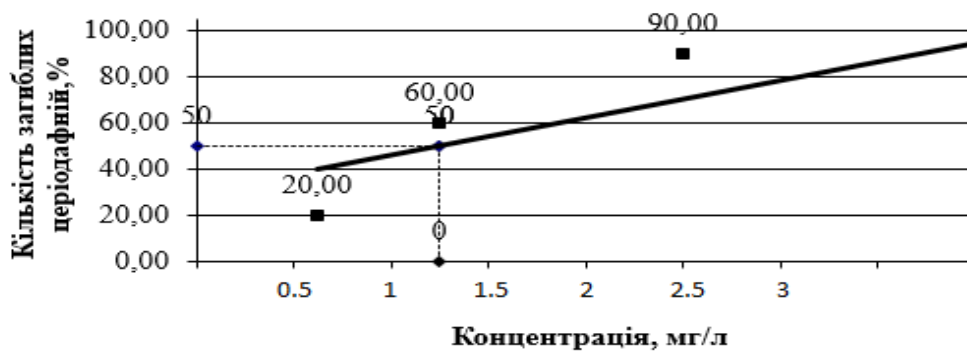
Таблиця 1

Вплив еталонної речовини $K_2Cr_2O_7$ на *Ceriodaphnia affinis* при використанні у досліді різних середовищ за 24 години

Назва	Стандартне середовище	Модифіковане середовище (1:1)	Модифіковане середовище (1:2)	Модифіковане середовище (1:3)
Середня летальна концентрація, мг/л	3,18	2,34	2,86	1,76

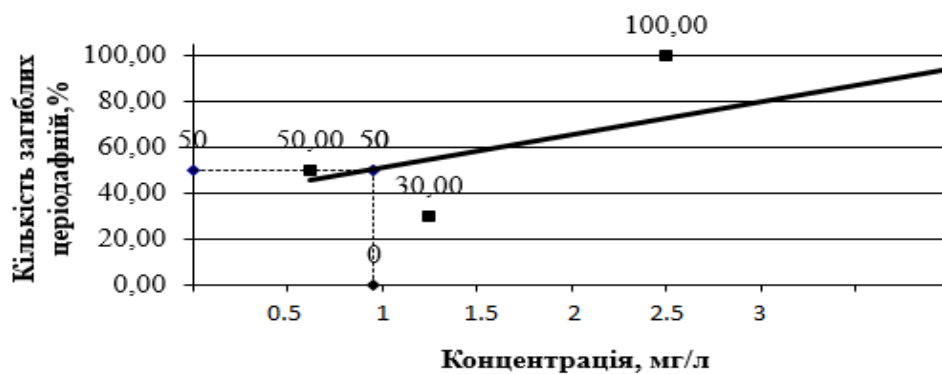
Там, де середня летальна концентрація становить більший показник, організми більше стійкі до еталонної речовини $K_2Cr_2O_7$. Модифіковане середовище (1:2) більш стабільне по відношенню до інших модифікованих середовищ і сходиться за результатами зі стандартними умовами. Тобто, штучно створене середовище також підходить для досліджень з еталонними хімічними сполуками.

У графіках 5–8 наведено залежність гибелі церіодафній від концентрації $K_2Cr_2O_7$ за 48 години у різних умовах жорсткості. У додатках 6–9 наведені протоколи згідно роботи у лабораторії.



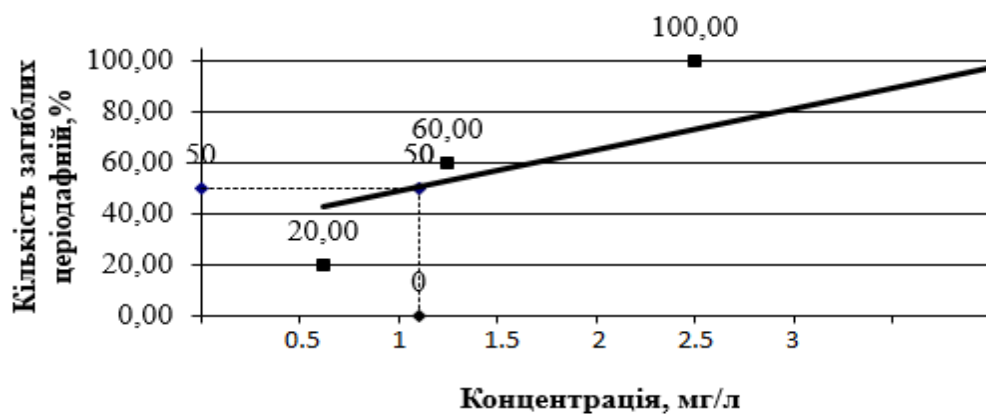
Середня летальна концентрація	LK_{50-24}	=	1,25	мг/л
-------------------------------	--------------	---	------	------

Графік 5 – Залежність загинів церіодафній за 24 години від концентрації $K_2Cr_2O_7$ у стандартному середовищі



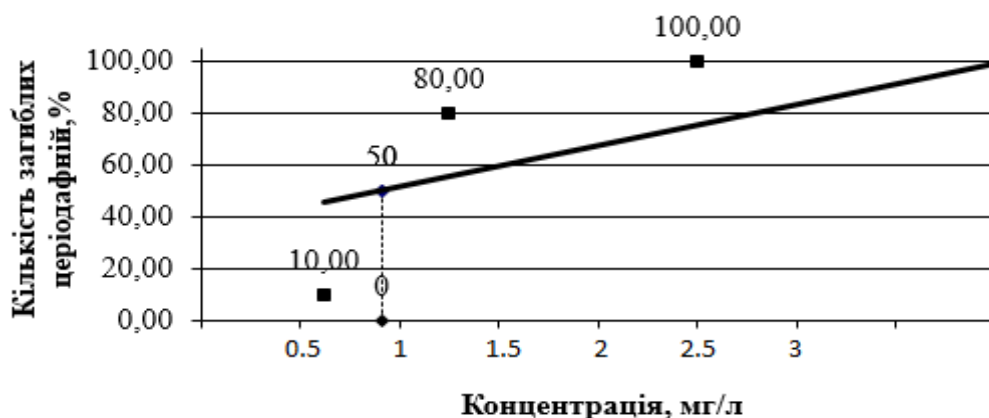
Середня летальна концентрація	LK_{50-24}	=	0,96	мг/л
-------------------------------	--------------	---	------	------

Графік 6 – Залежність загинів церіодафній за 24 години від концентрації $K_2Cr_2O_7$ у модифікованому середовищі (1:1)



Середня летальна концентрація $LK_{50-24} = 1,10$ мг/л

Графік 7 – Залежність загибелі періодафній за 24 години від концентрації $K_2Cr_2O_7$ у модифікованому середовищі (1:2)



Середня летальна концентрація $LK_{50-24} = 0,91$ мг/л

Графік 8 – Залежність загибелі періодафній за 24 години від концентрації $K_2Cr_2O_7$ у модифікованому середовищі (1:3)

Таблиця 2

Вплив еталонної речовини $K_2Cr_2O_7$ на *Ceriodaphnia affinis* при використанні у досліді різних середовищ за 48 годин

Назва	Стандартне середовище	Модифіковане середовище (1:1)	Модифіковане середовище (1:2)	Модифіковане середовище (1:3)
Середня летальна концентрація, мг/л	1,25	0,96	1,1	0,91

За результатами виконаних за 48 годин тестування досліджень, було попередньо встановлено, що модифіковане середовище (1:2) найбільше підходить до використання даного тест-об'єкту. Жорсткість оновленого середовища (1:2) становить 2,6 мг екв/л, а стандарті умови становлять 7 мг екв/л.

Отже, порівнявши здатність до плодючості та виживаності у експериментах з різними показниками жорсткості та вмісту еталонної речовини $K_2Cr_2O_7$ можна зробити висновок, що модифікація середовища існування організмів є перспективним шляхом розвитку технологій біотестування, так як у деяких випадках [20] удосконалене модифіковане середовище культивування є зручнішим для використання в експериментальному плані, аніж стандартне.

ВИСНОВКИ

Біотестування як метод перевірки стану та властивостей води активно почав розвиватися пів століття тому, і за цей час пройшов багато модифікацій і вдосконалень. Виконувалися різноманітні експерименти з різними видами тест-об'єктів, їхніми рівнями чутливості, середовищем культивування, характеристиками забруднюючих речовин, які ставали об'єктом досліджень. За цей період клас ракоподібних не втратив своїх цінних властивостей у вигляді високої чутливості до небезпечних хімічних речовин, дешевизни і зручності проведення дослідів.

Методики досліджень водних об'єктів шляхом проведення біотестування на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* включають у себе експерименти з вивчення та аналізу репродуктивних функцій тест-об'єктів, їх чутливості до зовнішніх подразників, які здатні призвести до порушенні різних функціональних процесів, передчасної загибелі особин. Залежно від вибору мети експерименту існує ряд різнопланових методик, які за своєю концепцією дають змогу визначити потрібний показник.

В ході проведеного наукового експерименту було досліджено репродуктивну здатність *Ceriodaphnia affinis* при культивуванні в різних за жорсткістю середовищах (день отримання першої молоді, кількість молоді на 1 самку, виживаність в днях тощо). За результатами виконаного досліді було зроблено висновок, що модифіковане середовище, яке пропонується для культивування в пропорції «відстояна водна: дистильована вода - 1:2» не несе негативного впливу на репродуктивність ракоподібних. Використання дистильованої води під час розведення відстояної води до допустимих меж сприяє зниженню жорсткості у середовищі культивування і не спричиняє негативної дії на тест-об'єкт. Також можна додати, що урізноманітнення харчового раціону тест-об'єктів водоростями позитивно впливає на народжуваність організмів.

Було досліджено чутливість ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* до еталонної речовини $K_2Cr_2O_7$ (дихромат калію) в стандартних та модифікованих умовах культивування. Модифіковане середовище (1:2) за 24 години більш стабільне по відношенню до інших модифікованих середовищ і сходиться за результатами зі стандартними умовами. Тобто, штучно створене середовище також підходить для досліджень з еталонними хімічними сполуками. Під час виконаних за 48 годин тестування досліджень, було попередньо встановлено, що модифіковане середовище (1:2) найбільше підходить до використання даного тест-об'єкту.

Модифіковане середовище існування, яке було створене у ході експериментів, показало ряд переваг над середовищем, виготовленим згідно стандартних методик ДСТУ: була зменшена початкова жорсткість води, збільшена її живильна якість, що позитивно сказалася на продуктивності тест-об'єктів, покращена репродуктивна здатність представників ракоподібних. Усе це доводить той факт, що стандартні методики культивування тест-об'єктів не є оптимізованими та уніфікованими для різного роду експериментів, маючи в собі явні прогалини та шляхи подальшої модифікації. Відповідно цих фактів було доведено, що вдосконалення середовища існування організмів є перспективним шляхом розвитку технологій біотестування, так як у деяких випадках удосконалене модифіковане середовище культивування є зручнішим для використання в експериментальному плані, аніж стандартне синтетичне.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. ISO 6341:2012(E) Water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – Acute toxicity test. [Чинний від 2012-10-15]. 2012. 1–4 с.
2. Test No. 202: *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test: OECD. URL: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-202-daphnia-sp-acute-immobilisation-test_9789264069947-en;jsessionid=zMUMsjmhlfti3HgcMcct6qyg.ip-10-240-5-72 (дата звернення: 15.04.2020).
3. Бондарчук І. Ю., Ізюмова О. Г. Застосування методів біотестування при оцінці якості довкілля : тези доп. XII всеукр. наук. on-line конф. (м. Житомир, 17 трав. 2016 р.). Житомир, 2016. С. 19.
4. Вищі і нижчі раки. Загальна характеристика класу ракоподібні - Crustacea. Дафнії, або водяні блохи, 2019. URL: <https://footyclub.ru/uk/kompyutery/vysshie-i-nizshie-raki-obshchaya-harakteristika-klassa-rakoobraznye---crustacea/> (дата звернення: 17.04.2020)
5. Дмитруха Н. М. Еколого–токсикологічний моніторинг стану води різних джерел України: д-ра біолог. наук: 03.00.16 Дніпро, 2019. 4 с.
6. ДСТУ 4174:2003 Якість води. Визначення хронічної токсичності хімічних речовин та води на *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 10706:2000, MOD). [Чинний від 2004-07-01]. Вид. офіц. Київ : Держспоживстандарт України, 2004.
7. Дудник С. В. Водна токсикологія: Частина 1. Загальні основи водної токсикології: навч.-метод. посіб. Київ : НУБіП, 2014. 6–124 с.
8. Карпенко О. Р. Удосконалення середовища культивування церіодафній : матеріали VI міжн. наук. конф. (Харків 29–30 лист. 2018 р.). Харків, 2018. С. 167–168.

9. Ковальова С. О., Майборода О. І., Лазебник В. В. Застосування методів біотестування для оцінки якості природних вод : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Київ, 18-19 лист. 2015 р. С. 38–39.
10. Крайнюкова А. М., Крайнюков О. М., Еколого-токсикологічна оцінка якості поверхневих вод та донних відкладень : навч. посіб. Харків : ХНУ, 2011. 4 с.
11. Крайнюков О. М., Крайнюкова А. М. Еколого-токсикологічна оцінка якості поверхневих вод та донних відкладень : навч.-метод. посіб. Харків, 2011. 6–50 с.
12. Крайнюков О. М., Якушева А. В. Етапи встановлення екологічних стандартів якості в країнах ЄС : зб. наук. стат., (м. Харків, 12 квіт. 2018 р.). Харків, 2018. С. 90–91.
13. Кудикина Н. П. *DAPHNIA MAGNA STRAUS* (1826) (*CLADOCERA*, *CRUSTACEA*) как тест-объект для оценки эндокринных нарушений у гидробионтов : Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. 2015. С. 122–123. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/daphnia-magna-straus-1826-cladocera-crustacea-kak-test-obekt-dlya-otsenki-endokrinnyh-narusheniy-u-gidrobiontov/viewer>
14. Монченко В. І., Балан П. Г., Трохимець В. М. : Енциклопедія сучасної України. URL: http://esu.com.ua/search_articles.php?id=10203
15. Підкопайло С.Ф., Корж О.П. Порівняльний аналіз чутливості різних тест-об'єктів до дії розчинників $K_2Cr_2O_7$: вісн. наук. стат., м. Запоріжжя, 22 черв. 2009 р. Запоріжжя, 2016. С. 117–118.
16. Применение *Ceriodaphnia dubia* для испытаний токсичности целых сточных вод в бассейне реки Хоксбери-Непин, Новый Южный Уэльс, Австралия: разработка и валидация метода. URL: <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/etc.5620190110>
17. Рябухина Е. В., Зарубин С. Л. Биотестирование : Биологические методы определения токсичности водной среды : навч.-метод. посіб. Ярославль : ЯрГУ, 2006. 5–6 с.

18. Цаценко Л. В. Биологическое тестирование почвы : навч.-метод. посіб. Краснодар : КубГАУ, 2016. 10–11 с.
19. Чеснокова С. М., Чугай Н. В. Биологические методы оценки качества объектов окружающей среды : навч.-метод. посіб. част. 2. Владимир, 2008. С. 8–17.
20. Якушева А. В. Розвитку культури *Daphnia magna* Straus у модифікованому середовищі культивування. *Екологічні науки*. 2019. 22 січ. № 1(24). С. 150.

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені В. Н. КАРАЗІНА
ЕКОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ



Екологія, неоекологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування

Матеріали VI Міжнародної наукової конференції
молодих вчених

29 – 30 листопада 2018 р., м. Харків, Україна

Харків – 2018

Карпенко О. Р.

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна
Крайніков О. М., д-р геогр. наук, проф., кафедри екологічної безпеки та екологічної освіти

УДОСКОНАЛЕННЯ СЕРЕДОВИЩА КУЛЬТИВУВАННЯ ЦЕРІОДАФІЙ

Наведено результати культивування періодифіт у різних штучно створених середовищах (відстоювана вода та дистильована вода), шляхом підбору оптимального значення жорсткості води. Встановлено, що у дистильованій воді тест-організми гинуть, а нормальне розмноження відбувається у середі зі співвідношенням 1:2 (відстоювана вода та дистильована вода).

Ключові слова: жорсткість води, біотестування, середовище культивування

Приведены результаты культивирования церидофитов в различных искусственно созданных средах (отстоявшаяся вода и дистиллированная вода), путем подбора оптимального значения жесткости воды. Установлено, что в дистиллированной воде тест-организмы гибнут, а нормальное размножение происходит в среде с соотношением 1:2 (отстоявшаяся вода и дистиллированная вода).

Ключевые слова: жесткость воды, биотестирование, среда культивирования

The results of cultivation of ceriodaphnia in various artificially created media (settled water and distilled water) are given, by choosing the optimal value of water hardness. It has been established that test-organisms die in distilled water, and normal reproduction takes place in the medium with a ratio of 1:2 (settled water and distilled water).

Key words: rigidity of water, biotesting, cultivation environment

Актуальність. Ракоподібні *Ceriodaphnia affinis* – це організми, які широко використовуються у біотестуванні для визначення токсичних властивостей води та встановлення максимально допустимої концентрації хімічної речовини, що нормується [2].

Біотестування організмів на пряму залежить від якості культури та в яких умовах вона була вирощена. Недотримка різних нормативів та зміна характеристик буде причиною недостоєрного та неточного результату.

Середовище культивування має дуже важливе значення. В залежності від якості водного середовища, яке задане у прикладі, організми можуть по різному реагувати на вплив різних абіотичних факторів. Існує безліч штучних середовищ, які так само використовуються для культивування.

Необхідні показники для утримання культури наступні: температура, світло рН, лужність, концентрація розчиненого кисню, електропровідність, жорсткість тощо.

Для культивування періодифіт використовують деклоровану, відстоювану водопровідну воду, яка має задовольняти наступні вимоги: рН 7,0-8,2, загальна жорсткість 1,3-2,0 мг екв/л, вміст розчиненого кисню – не менше 5,0 мг/л [1].

Жорсткість у відстоюваній воді, яку ми використовуємо для культивування складала 350 ррп (6,9 мг екв/л). Як показує С. Густафссон у своїх публікаціях, то від жорсткості залежить біодоступність (поглинання речовини) метали. При високій мінералізації доступність металів набагато нижче, таким чином може не враховуватися небезпека для поверхневих вод [3].

Результати. Отримання середовища шляхом змішування відстоюваної води з дистильованою водою, призведе до зниження жорсткості води, яка використовується для культивування ракоподібних до встановлених нормативних вимог (1,3-2,0 мг екв/л) та буде відповідати встановленим вимогам до культивування ракоподібних (зменшення загальної жорсткості середовища та рН). Це дозволить уникнути застосування синтетичних середовищ, які складні у створенні та фінансуванні.

Дука Я. В. м. Харків	
ВІПЛИВ КЛІМАТИЧНИХ ТА ПРИРОДНИХ УМОВ, НА ГОСПОДАРСКУ ДІЯЛЬНІСТЬ	
МАСТИВ КОЗАЦЬКОЇ СТАРИШИНИ СЛОБОЖАНЩИНИ.....	164
Загородний А. О. м. Харків	
ЕКОЛОГІЧНА ЯКІСТЬ РІЧКОВОЇ РИБИ ТА ПРОДУКТІВ ЇЇ ПЕРЕРОБКИ.....	165
Карпенко О. Р. м. Харків	
УДОСКОНАЛЕННЯ СЕРЕДОВИЩА КУЛЬТИВУВАННЯ ЦЕРІОДАФІЙ.....	167
Катуна Т. О. м. Харків	
ФОРМАЛЬДЕГІД І ЕГО ВПЛИВ НА ОРГАНІЗМ ЧЕЛОВЕКА.....	168
Кудрявцев І. М. м. Харків	
ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ПРОЕКТУВАННЯ ЕКОЛОГІЧНОГО МІСЬКОГО ТРАНСПОРТУ.....	170
Ліпін Е. Р. м. Харків	
ОЦІНКА ВПЛИВУ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ПЕСТИЦИДІВ НА БІОЛОГІЧНУ	
АКТИВНІСТЬ ҐРУНТОВИХ ЕКОСИСТЕМ.....	172
Максимов О. М., Шевчук К. В. м. Харків	
ВІПЛИВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ВИЖИВАЛІСТЬ РАКОПОДІБНИХ.....	173
Мельникова Ю. В. м. Харків	
ОЦІНКА НЕБЕЗПЕКИ КОНТАМІНАЦІЇ КОМПОНЕНТІВ ПРИРОДНОГО СЕРЕДОВИЩА	
ЗА КРИТЕРІЄМ ЕКОЛОГІЧНОГО РИЗИКУ.....	174
Мельник В. В. м. Житомир	
РАДІОАКТИВНЕ ЗАБРУДНЕННЯ ¹³⁷ CS ЛІСОВОЇ ПІДШІЛКИ СВІЖИХ БОРІВ ТА	
СУБОРІВ УКРАЇНСЬКОГО ПОЛІССЯ.....	177
Місайлов В. Л., Ульянов Ю. М. м. Харків	
ІНФОРМАЦІЙНІ МОЖЛИВОСТІ СИСТЕМ АКУСТИЧНОГО ЗОНДУВАННЯ ПО	
ВІМІРЮВАНОМУ ПАРАМЕТРІВ ГРАНІЧНОГО ШАРУ АТМОСФЕРИ.....	179
Ніколішин В. О. м. Одеса	
АНАЛІЗ СУЧАСНОГО ЕКОЛОГО-АГРОХІМІЧНОГО СТАНУ ҐРУНТІВ ДЕЯКИХ	
РАЙОНІВ ЗАКАРПАТСЬКОЇ ОБЛАСТІ.....	180
Орленко Т. А., Гусєва А. В. м. Київ	
НАСЛІДКИ ВПЛИВУ НА СТІЙКІСТЬ ЗЕМНОЇ ПОВЕРХНІ В ЗОНІ ФУНКЦІОНУВАННЯ	
ВИДОБУВНОГО ПІДПРИЄМСТВА З ВИКОРИСТАННЯМ ДЗЗ.....	182
Орліська В. В. м. Харків	
ЕКОЛОГІЧНА БЕЗПЕКА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА ПРИ СКІДІ	
ІНЕРЦІЙНИХ СТІЧНИХ ВОД В НЕВЕЛИКИХ НАСЕЛЕНИХ ПУНКТАХ.....	184
Поліщук Т. О. м. Черкаси	
ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЛІСОВИРОЗВЕДЕННЯ ТА ЛІСОВИДНОВЛЕННЯ ЧЕРКАЩИНИ.....	186
Попомаренко П. Р. м. Харків	
ОЦІНКА СТАНУ АТМОСФЕРНОГО ЗАБРУДНЕННЯ В КИТАЇ.....	187
Семіко А. С., Батісєва К. В., Лукісєва К. С. м. Харків	
ЗАБРУДНЕННЯ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ СЕЛЬБИЩНОЇ ТЕРИТОРІЇ МІСТА.....	189
Сироватина Н. Л. м. Кременчук	
АНАЛІЗ СТАТИСТИЧНИХ ДАНИХ ЗАБРУДНЕННЯ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ ВІД	
СТАЦІОНАРНИХ ТА ПЕРЕСУВНИХ ДЖЕРЕЛ У М. КРЕМЕНЧУК.....	191
Старченко Ю. С. м. Одеса	
ПРОБЛЕМА ЗАБРУДНЕННЯ РІЧКОВИХ ВОД ПІВДЕННОГО БУГУ В МЕЖАХ	
МІКОЛАЙВСЬКОЇ ОБЛАСТІ.....	193
Федорченко О. О. м. Харків	
ОЦІНКА ВПЛИВУ ДІЯЛЬНОСТІ ХІМІЧНОГО ПІДПРИЄМСТВА НА СТАН АТМОСФЕРНОГО	
ПОВІТРЯ (НА ПРИКЛАДІ ПРАТ «ХАРКІВСЬКИЙ КОКСОВИЙ ЗАВОД»).....	195
Фурман О. М. м. Луцьк	
АГРОХІМІЧНІ АСПЕКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ РАДІОАКТИВНО ЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ	
Храмова А. О. м. Київ	
КОНЦЕПТУАЛЬНІ ЗАСАДИ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ РЕСУРСНО-ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ УКРАЇНИ.....	199
Черкас А. Ю. м. Полтава	

Екологія, неоекологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування

Метою даної роботи було удосконалити середовище культивування ракоподібних *Ceriodaphnia affinis*, щоб зробити оптимальне співвідношення «відстоювана вода : дистильована вода».

Співвідношення «відстоювана вода : дистильована вода» виглядає у досліді так:

1. Відстоювана вода – 350 ррп (не розбавляється);
2. 1:1 (відстоювана вода : дистильована вода) – сер. значення 190 ррп;
3. 1:2 (відстоювана вода : дистильована вода) – сер. значення 127 ррп;
4. 1:3 (відстоювана вода : дистильована вода) – сер. значення 98 ррп.

Залежні методи біотестування та культивування ракоподібних, які ґрунтуються на різних показниках, дотримання всіх вимог, що задані у нормативах, ми змогли реалізувати ракоподібних до 3-го покоління.

Виконання ряд певних вимог до статистичних даних, було отримано наступні результати - найбільшу кловидність періодифіт мають у 2 покоління. У дистильованій воді об'єкти померли, що свідчить про нестачу у воді біогенних речовин. Найкраще розмножувались організми у варіанті співвідношення 1:2 (відстоювана вода : дистильована вода). Це означає, що кількість та якість елементів, яка знаходилась у воді, підходить для оптимального розмноження.

Підсумуючи всі експериментальні дані щодо тест-об'єктів можна зробити висновок, що використання дистильованої води для розбавлення відстоюваної води сприяє зниженню жорсткості води до нормативних меж і не спричиняє негативної дії на об'єкт, що культивується.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. КНД 211.14.056-91. Методика визначення хронічної токсичності води на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Liljeborg. Затв. наказом Мінприроди України від 21.05.97 № 68.
2. Церидофиты Аффинис ООО "Европолитест". 2018. URL: http://eurpolitest.com/information/testobjects/testobjects_13.html
3. S. Gustafsson, M. Hallberg, R.I. Figueroa, K. Rengfors. // Harmful Algae [Електронний ресурс] –2009.

УДК 504.054

Катуна Т.А.

Харківський національний університет стратегії та архітектури
Ошпенко Н.Т., ас. кафедри безпеки життєдіяльності та інженерної екології

ФОРМАЛЬДЕГІД І ЕГО ВПЛИВ НА ОРГАНІЗМ ЧЕЛОВЕКА

У публікації розглянуто теоретичну інформацію про формальдегід, його застосування та шкідливий вплив на здоров'я людини.

Ключові слова: формальдегід, бактеріальні властивості, пари формальдегіду, острое отравление, ГДК формальдегіду.

В публикации рассмотрены теоретическая информация о формальдегиде, его применении и вредном воздействии на здоровье человека.

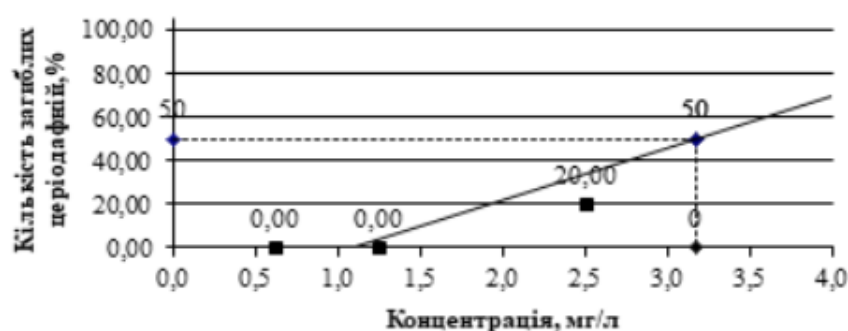
Ключевые слова: формальдегид, бактериальные свойства, пары формальдегида, острое отравление, ГДК формальдегида.

The publication deals with theoretical information on formaldehyde, its use and harmful effects on human health.

Keywords: formaldehyde, bactericidal properties, formaldehyde pair, acute poisoning, formaldehyde MAC.

ПРОТОКОЛ №					
визначення придатності <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lilljeborg					
до біотестування					
за КНД 211.1.4.055-97					
Еталонна речовина: $K_2Cr_2O_7$					
Дата і час початку біотестування: 08.11.2018 10-00					
Тривалість біотестування (години): 24					
Повторність	Кількість живих церіодафній, екз.				
	Контроль	Дослід,			
		концентрація $K_2Cr_2O_7$, мг/л			
		0,6	1,3	2,5	5,0
1	1	1	1	1	0
2	1	1	1	1	0
3	1	1	1	1	0
4	1	1	1	1	0
5	1	1	1	1	0
6	1	1	1	0	0
7	1	1	1	1	0
8	1	1	1	0	0
9	1	1	1	1	0
10	1	1	1	1	0
Середнє арифметичне	1,00	1,00	1,00	0,80	0,00
Стандартне відхилення	0,00	0,00	0,00	0,42	0,00
Похибка станд. відхилення	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00
Дисперсія	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00
Критерій t- Ст'юдента		-	-	1,50	-
Кількість загинувших церіодафній, %		0,00	0,00	20,00	100,00

Графік залежності загинувших церіодафній від концентрації $K_2Cr_2O_7$



Середня летальна концентрація $LK_{50-24} = 3,18$ мг/л

Оператор

Карпенко

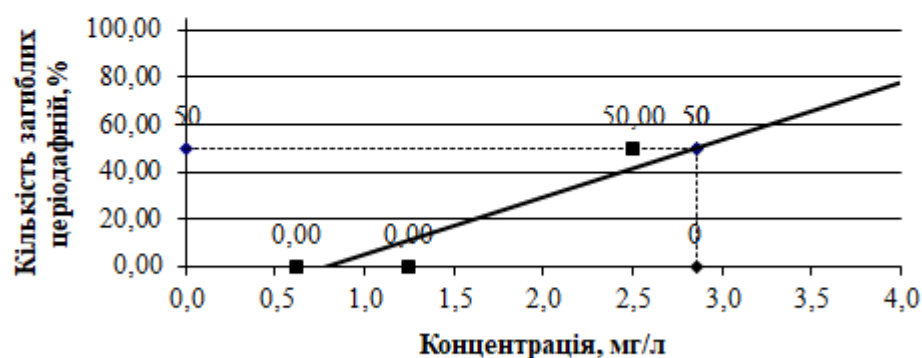
ПРОТОКОЛ № 2						
визначення придатності <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lilljeborg						
до біотестування						
за КНД 211.1.4.055-97						
Еталонна речовина:		$K_2Cr_2O_7$				
Дата і час початку біотестування:		08.11.2018		10-00		
Тривалість біотестування (години):		24				
Повторність	Контроль	Кількість живих церіодафній, екз.				
		Дослід, концентрація $K_2Cr_2O_7$, мг/л				
		0,6	1,3	2,5	5,0	
1	1	1	1	0	0	
2	1	1	1	0	0	
3	1	1	1	1	0	
4	1	1	1	0	0	
5	1	1	1	0	0	
6	1	1	1	1	0	
7	1	1	0	0	0	
8	1	1	0	0	0	
9	1	1	1	0	0	
10	1	1	1	0	0	
Середнє арифметичне		1,00	1,00	0,80	0,20	0,00
Стандартне відхилення		0,00	0,00	0,42	0,42	0,00
Похибка станд. відхилення		0,00	0,00	0,13	0,13	0,00
Дисперсія		0,00	0,00	0,18	0,18	0,00
Критерій <i>t</i> -Стюдента		-		1,50	6,00	-
Кількість загиблих церіодафній, %		0,00	20,00	80,00	100,00	
Графік залежності загибелі церіодафній від концентрації $K_2Cr_2O_7$						
<p>Детальний опис графіка: Вісь абсцис (горизонтальна) позначена як 'Концентрація, мг/л' і має шкалу від 0,0 до 4,0 з інтервалами 0,5. Вісь ординат (вертикальна) позначена як 'Кількість загиблих церіодафній, %' і має шкалу від 0,00 до 100,00 з інтервалами 20,00. На графіку нанесено п'ять точок: (0,0, 0,00), (0,6, 0,00), (1,3, 20,00), (2,5, 80,00), (5,0, 100,00). Точки (0,6, 0,00) та (2,5, 80,00) позначені чорними квадратами, інші – чорними колами. Через точку (2,5, 80,00) проведено вертикальну пунктирну лінію до осі абсцис. Через точку (0,0, 50) та точку (2,34, 50) проведено горизонтальну пунктирну лінію. Точка (2,34, 50) позначена чорним колом. Лінійна регресія проходить через всі точки.</p>						
Середня летальна концентрація $ЛК_{50-24} = 2,34$ мг/л						
Оператор		Карпенко				

ПРОТОКОЛ № 3
визначення придатності Ceriodaphnia affinis Lilljeborg
до біотестування
за КНД 211.1.4.055-97

Еталонна речовина: $K_2Cr_2O_7$
 Дата і час початку біотестування: 08.11.2018 10-00
 Тривалість біотестування (години): 24

Повторність	Кількість живих церіодафній, екз.				
	Контроль	Дослід, концентрація $K_2Cr_2O_7$, мг/л			
		0,6	1,3	2,5	5,0
1	1	1	1	1	0
2	1	1	1	0	0
3	1	1	1	1	0
4	1	1	1	0	0
5	1	1	1	1	0
6	1	1	1	0	0
7	1	1	1	0	0
8	1	1	1	1	0
9	1	1	1	1	0
10	1	1	1	0	0
Середнє арифметичне					
Стандартне відхилення					
Похибка станд. відхилення					
Дисперсія					
Критерій <i>t</i> -Ст'юдента					
Кількість загиблих церіодафній, %					

Графік залежності загибелі церіодафній від концентрації $K_2Cr_2O_7$



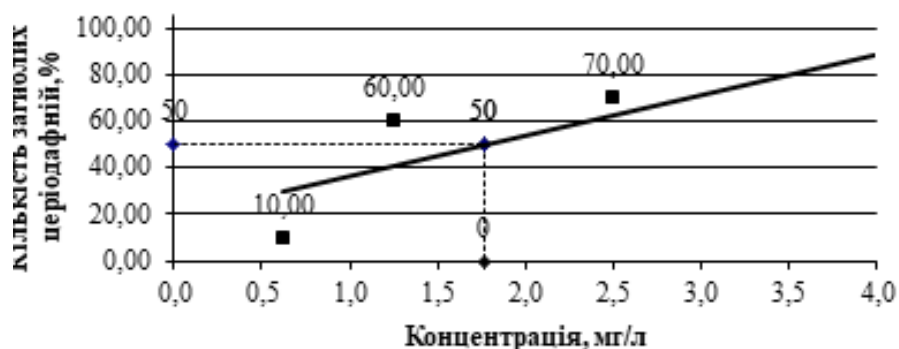
Середня летальна концентрація $LK_{50-24} = 2,86$ мг/л

Оператор

Карпенко

ПРОТОКОЛ № 4					
визначення придатності <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lilljeborg					
до біотестування					
за КНД 211.1.4.055-97					
Еталонна речовина:	$K_2Cr_2O_7$				
Дата і час початку біотестування:	08.11.2018	10-00			
Тривалість біотестування (години):	24				
Повторність	Кількість живих періодафній, екз.				
	Контроль	Дослід, концентрація $K_2Cr_2O_7$, мг/л			
		0,6	1,3	2,5	5,0
1	1	1	0	0	0
2	1	1	0	0	0
3	1	1	0	0	0
4	1	1	1	0	0
5	1	0	1	1	0
6	1	1	1	0	0
7	1	1	0	1	0
8	1	1	0	0	0
9	1	1	1	1	0
10	1	0	0	0	0
Середнє арифметичне	1,00	0,90	0,40	0,30	0,00
Стандартне відхилення	0,00	0,32	0,52	0,48	0,00
Похибка станд. відхилення	0,00	0,10	0,16	0,15	0,00
Дисперсія	0,00	0,10	0,27	0,23	0,00
Критерій t-Ст'юдента		1,00	3,67	4,58	-
Кількість загинувших періодафній, %		10,00	60,00	70,00	100,00

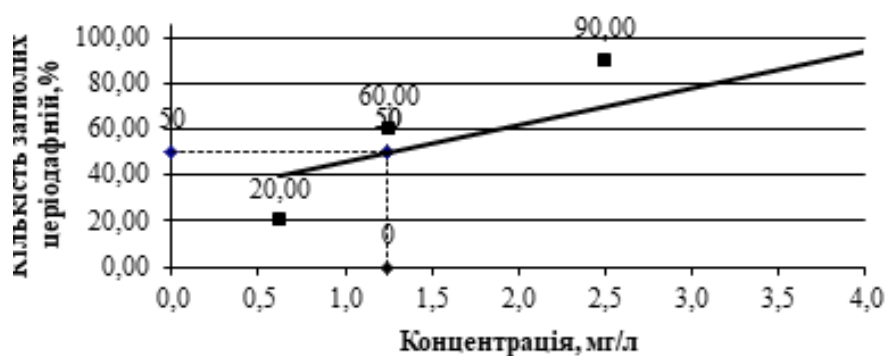
Графік залежності загинувших періодафній від концентрації $K_2Cr_2O_7$



Середня летальна концентрація	$LK_{50-24} =$	1,76	мг/л
Оператор		Карпенко	

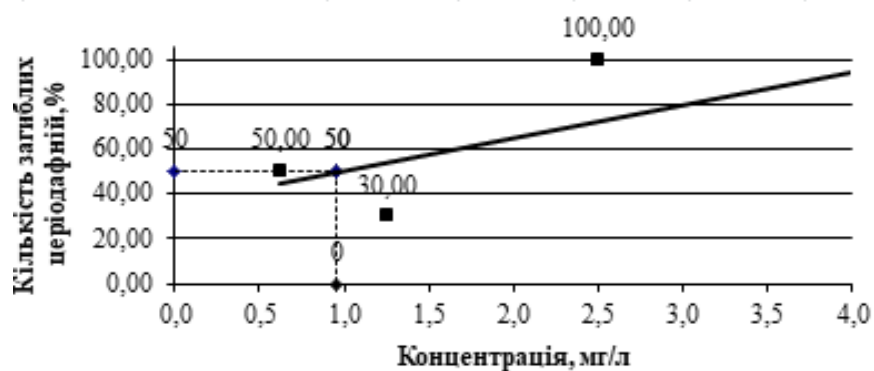
ПРОТОКОЛ № 5 визначення придатності <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lilljeborg до біотестування за КНД 211.1.4.055-97					
Еталонна речовина:	$K_2Cr_2O_7$				
Дата і час початку біотестування:	09.11.2018	10-00			
Тривалість біотестування (години):	24				
Повторність	Кількість живих періодафній, екз.				
	Контроль	Дослід, концентрація $K_2Cr_2O_7$, мг/л			
		0,6	1,3	2,5	5,0
1	1	1	1	0	0
2	1	1	0	0	0
3	1	1	1	0	0
4	1	0	0	0	0
5	1	1	0	1	0
6	1	1	1	0	0
7	1	0	0	0	0
8	1	1	1	0	0
9	1	1	0	0	0
10	1	0	0	0	0
Страница 1					
Середнє арифметичне	1,00	0,80	0,40	0,10	0,00
Стандартне відхилення	0,00	0,42	0,52	0,32	0,00
Похибка станд. відхилення	0,00	0,13	0,16	0,10	0,00
Дисперсія	0,00	0,18	0,27	0,10	0,00
Критерій <i>t</i> -Ст'юдента		1,50	3,67	9,00	-
Кількість загиблих періодафній, %		20,00	60,00	90,00	100,00

Графік залежності загибелі періодафній від концентрації $K_2Cr_2O_7$



Середня летальна концентрація LK_{50-24}	=	1,25	мг/л
Оператор		Карпенко	

ПРОТОКОЛ № 6 визначення придатності <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lilljeborg до біотестування за КНД 211.1.4.055-97					
Еталонна речовина:	$K_2Cr_2O_7$				
Дата і час початку біотестування:	09.11.2018	10-00			
Тривалість біотестування (години):	24				
Повторність	Кількість живих періодафній, екз.				
	Контроль	Дослід, концентрація $K_2Cr_2O_7$, мг/л			
		0,6	1,3	2,5	5,0
1	1	1	1	0	0
2	1	1	1	0	0
3	1	0	0	0	0
4	1	1	1	0	0
5	1	0	0	0	0
6	1	1	1	0	0
7	1	0	1	0	0
8	1	0	1	0	0
9	1	0	1	0	0
10	1	0	0	0	0
Середнє арифметичне	1,00	0,50	0,70	0,00	0,00
Стандартне відхилення	0,00	0,53	0,48	0,00	0,00
Похибка станд. відхилення	0,00	0,17	0,15	0,00	0,00
Дисперсія	0,00	0,28	0,23	0,00	0,00
Критерій <i>t</i> -Ст'юдента		3,00	1,96	-	-
Кількість загиблених періодафній, %		50,00	30,00	100,00	100,00

Графік залежності загибелі періодафній від концентрації $K_2Cr_2O_7$ 

Середня летальна концентрація LK_{50-24}	=	0,96	мг/л
Оператор		Карпенко	

ПРОТОКОЛ № 7					
визначення придатності <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lilljeborg					
до біотестування					
за КНД 211.1.4.055-97					
Еталонна речовина:		$K_2Cr_2O_7$			
Дата і час початку біотестування:		09.11.2018		10-00	
Тривалість біотестування (години):		24			
Повторність	Контроль	Кількість живих періодафній, екз.			
		Дослід,			
		концентрація $K_2Cr_2O_7$, мг/л			
		0,6	1,3	2,5	5,0
1	1	1	0	0	0
2	1	1	0	0	0
3	1	1	1	0	0
4	1	0	0	0	0
5	1	1	1	0	0
6	1	1	1	0	0
7	1	0	0	0	0
8	1	1	1	0	0
9	1	1	0	0	0
10	1	0	0	0	0
Середнє арифметичне		1,00	0,80	0,40	0,00
Стандартне відхилення		0,00	0,42	0,52	0,00
Похибка станд. відхилення		0,00	0,13	0,16	0,00
Дисперсія		0,00	0,18	0,27	0,00
Критерій t- Ст'юдента			1,50	3,67	-
Кількість загинув періодафній, %		20,00	60,00	100,00	100,00

Графік залежності загинув періодафній від концентрації $K_2Cr_2O_7$

Графік залежності загинув періодафній від концентрації $K_2Cr_2O_7$. Осьові: по горизонтальній осі - Концентрація, мг/л (0,0 до 4,0); по вертикальній осі - Кількість загинув періодафній, % (0,00 до 100,00). Дані з таблиці: (0, 100), (0,6, 20), (1,3, 60), (2,5, 100), (5,0, 100). Лінійна інтерполяція між 0,6 і 1,3 мг/л показує, що при концентрації 1,10 мг/л виживання становить 50%.

Середня летальна концентрація		LK_{50-24}	=	1,10	мг/л
Оператор		Карпенко			

ПРОТОКОЛ № 8 визначення придатності Ceriodaphnia affinis Lilljeborg до біотестування за КНД 211.1.4.055-97					
Еталонна речовина:	$K_2Cr_2O_7$				
Дата і час початку біотестування:	09.11.2018	10-00			
Тривалість біотестування (години):	24				
Повторність	Кількість живих періодафній, екз.				
	Контроль	Дослід, концентрація $K_2Cr_2O_7$, мг/л			
		0,6	1,3	2,5	5,0
1	1	1	0	0	0
2	1	0	0	0	0
3	1	1	1	0	0
4	1	1	0	0	0
5	1	1	1	0	0
6	1	1	0	0	0
7	1	1	0	0	0
8	1	1	0	0	0
9	1	1	0	0	0
10	1	0	0	0	0
Середнє арифметичне	1,00	0,90	0,20	0,00	0,00
Стандартне відхилення	0,00	0,32	0,42	0,00	0,00
Похибка станд. відхилення	0,00	0,10	0,13	0,00	0,00
Дисперсія	0,00	0,10	0,18	0,00	0,00
Критерій t-Стюдента		1,00	6,00	-	-
Кількість загиблих періодафній, %		10,00	80,00	100,00	100,00
Графік залежності загибелі періодафній від концентрації $K_2Cr_2O_7$					
Середня летальна концентрація $LK_{50-24} = 0,91$ мг/л					
Оператор			Карпенко		

АНОТАЦІЯ

УДОСКОНАЛЕННЯ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ РАКОПОДІБНИХ
CERIODAPHNIA AFFINIS LILLJEBORG, ВІДНОСНО ЗМІН ПАРАМЕТРІВ
СЕРЕДОВИЩА

Карпенко Олена Русланівна

Основною метою даного дослідження є удосконалення середовища культивування ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* шляхом змін жорсткості середовища культивування. Ракоподібні *Ceriodaphnia affinis* за десятки років експериментів (а саме біотестування) і досі є найбільш актуальними тест-об'єктами, максимально стабільними для дослідження найменших змін складу та властивостей довкілля.

У кваліфікаційній роботі представлені такі дослідження, як д репродуктивності культури *Ceriodaphnia affinis* при культивуванні в різних за жорсткістю середовищах. Також визначення чутливості ракоподібних, які культивуються в модифікованому та стандартному середовищі з еталонною хімічною речовиною $K_2Cr_2O_7$. Надання рекомендацій щодо використання модифікованого середовища у майбутніх лабораторних дослідженнях.

За результатами біотестування використання дистильованої води для розбавлення відстояної води сприяє зниженню жорсткості води до нормативних меж і не спричиняє негативної дії на об'єкт, що культивується. Разом з цим була показана залежність виживаності *Ceriodaphnia affinis* від концентрацій $K_2Cr_2O_7$. Експериментально встановлено, що кількість даної речовини обернено пропорційно впливає на життєдіяльність тест-об'єктів.

БІОТЕСТУВАННЯ, РЕПРОДУКТИВНІСТЬ, КУЛЬТИВУВАННЯ,
ЖОРСТКІСТЬ, ВИЖИВАНІСТЬ, ТОКСИЧНІСТЬ.

ANNOTATION

IMPROVEMENT OF THE *CERIODAPHNIA AFFINIS* LILLJEBORG
CULTIVATION CULTIVATION CONDITIONS CONCERNING THE
CHANGE OF ENVIRONMENTAL PARAMETERS

Karpenko Olena Ruslanovna

The main purpose of this study is to improve the culture environment of crustaceans *Ceriodaphnia affinis* by changing the stiffness of the culture medium. Crustaceans of *Ceriodaphnia affinis* for decades of experiments (namely biotesting) are still the most relevant test objects, the most stable for the study of the smallest changes in the composition and properties of the environment.

The qualification work presents such studies as the reproduction of the culture of *Ceriodaphnia affinis* when cultured in different stiffening media. Also determine the susceptibility of crustaceans cultured in a modified and standard medium with the reference chemical $K_2Cr_2O_7$. Provide guidance on the use of the modified environment in future laboratory studies.

According to the results of biotesting, the use of distilled water to dilute the settling water helps to reduce the rigidity of the water to regulatory limits and does not have a negative effect on the cultivated object. However, the dependence of *Ceriodaphnia affinis* survival on $K_2Cr_2O_7$ concentrations was shown. It has been experimentally found that the amount of this substance inversely affects the life of the test objects.

BIOTESTING, REPRODUCTIVITY, CULTIVATION, RURALITY,
SURVIVAL, TOXICITY.

АННОТАЦИЯ

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ
РАКООБРАЗНЫХ *CERIODAPHNIA AFFINIS* LILLJEBORG,
ОТНОСИТЕЛЬНО ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ СРЕДЫ

Карпенко Елена Руслановна

Основной целью данного исследования является усовершенствование среды культивирования ракообразных *Ceriodaphnia affinis* путем изменений жесткости среды культивирования. Ракообразные *Ceriodaphnia affinis* за десятки лет экспериментов (а именно биотестирования) до сих пор являются наиболее актуальными тест-объектами, максимально стабильными для исследования малейших изменений состава и свойств окружающей среды.

В квалификационной работе представлены такие исследования, как репродуктивности культуры *Ceriodaphnia affinis* при культивировании в разных по жесткости средах. Также определение чувствительности ракообразных, которые культивируются в модифицированной и стандартной среде с эталонным химическим веществом $K_2Cr_2O_7$. Предоставление рекомендаций по использованию модифицированной среды в будущих лабораторных исследованиях.

По результатам биотестирования использования дистиллированной воды для разбавления отстоявшейся воды способствует снижению жесткости воды до нормативных пределов и не вызывает негативного воздействия на объект, что культивируется. Вместе с этим была показана зависимость выживаемости *Ceriodaphnia affinis* от концентраций $K_2Cr_2O_7$. Экспериментально установлено, что количество данного вещества обратно пропорционально влияет на жизнедеятельность тест-объектов.

БИОТЕСТИРОВАНИЕ, РЕПРОДУКТИВНОСТЬ,
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ, ЖЕСТКОСТЬ, ВЫЖИВАЕМОСТЬ,
ТОКСИЧНОСТЬ.