



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011123406/15, 08.06.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.06.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 08.06.2011

(43) Дата публикации заявки: 20.12.2012 Бюл. № 35

(45) Опубликовано: 10.09.2013 Бюл. № 25

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: Санитарные правила и нормыСанПиН 2.1.7.573-96 "Гигиенические
требования к использованию сточных вод и
их осадков для орошения и удобрения".Приложение 10. Утв. Постановлением
Госкомсанэпиднадзора РФ от 31.10.1996
№46. RU 2402765 C1, 27.10.2010. RU 2245367
C2, 27.01.2005. RU 2222003 C2, 20.01.2004. JP
0003035165 A, 15.02.1991. US 0006303027 B1,
16.10.2001.

Адрес для переписки:

424000, Республика Марий Эл, г.Йошкар-
Ола, пл. Ленина, 3, ГОУ ВПО Марийский
государственный технический университет,
отдел интеллектуальной собственности

(72) Автор(ы):

**Мазуркин Петр Матвеевич (RU),
Евдокимова Оксана Юрьевна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Государственное образовательное
учреждение высшего профессионального
образования Марийский государственный
технический университет (RU)****(54) СПОСОБ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ПО ПРОРАЩИВАНИЮ СЕМЯН**

(57) Реферат:

Изобретение относится к области экологии и может быть использовано для укладки семян в чашку Петри при биотестировании речной воды. Для этого проводят равномерную укладку семян редиса красного круглого с белым кончиком на фильтровальную бумагу в чашке Петри. В чашку наливают по 5 мл исследуемой пробы воды, при этом уровень жидкости в чашке должен быть ниже поверхности семян. При этом фильтровальная бумага принимается круглой формы по диаметру чашки Петри с меткой на краю, на нее укладывается шаблон с отверстиями для разметки мест посадки семян, причем одно из

отверстий ориентируется относительно метки фильтровальной бумаги. Далее размеченную фильтровальную бумагу помещают в чашку Петри с ориентацией ее метки в северном направлении по компасу, затем на чашке Петри по размеченным местам посадки на фильтровальную бумагу укладываются семена. Наливают исследуемую воду, после проращивания семян до взятия проростков с чашки Петри для измерения длины корня у каждого проростка измеряют по компасу угол направления его корня как показатель азимута корня. У непроросших семян азимут корня принимают за отсутствие количественного значения и в журнале измерений ставят

прочерк. В дальнейшем у всех проростков в чашке Петри измеряют длину корня, причем

эту длину у непроросших семян принимают равной нулю. 3 з.п. ф-лы, 12 ил., 5 табл., 1 пр.

RU 2 4 9 2 4 7 3 C 2

RU 2 4 9 2 4 7 3 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2011123406/15, 08.06.2011**(24) Effective date for property rights:
08.06.2011

Priority:

(22) Date of filing: **08.06.2011**(43) Application published: **20.12.2012 Bull. 35**(45) Date of publication: **10.09.2013 Bull. 25**

Mail address:

**424000, Respublika Marij Ehl, g.Joshkar-Ola, pl.
Lenina, 3, GOU VPO Marijskij gosudarstvennyj
tehnicheskij universitet, otdel intellektual'noj
sobstvennosti**

(72) Inventor(s):

**Mazurkin Petr Matveevich (RU),
Evdokimova Oksana Jur'evna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie
vysshego professional'nogo obrazovanija
Marijskij gosudarstvennyj tekhnicheskij
universitet (RU)**

(54) **METHOD OF BIOTESTING ON SEED GERMINATION**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: uniform stacking of seeds of round red radish with white tip is carried out on the filter paper in a Petri dish. 5 ml test sample of water is poured into the dish, and the liquid level in the dish must be lower than the surface of the seeds. At that the filter paper is taken of round shape with the diameter of the Petri dish with the mark on the edge, a pattern with holes for marking the places of planting seeds is placed on it. And one of the holes is oriented relative to the filter paper mark. Then the marked filter paper is placed in a Petri dish with the orientation of its mark in a northern direction on the compass, then the seeds are

laid in the Petri dish on the marked places of planting on the filter paper. The water under study is poured, after germination of seeds prior to taking seedlings from the Petri dish for measuring the length of the root in each seedling, the angle of direction of its root is measured by compass as a factor of the azimuth of the root. In undergerminated seeds the azimuth of the root is taken as the absence of a quantitative value and a dash is put in the log of measurements. Subsequently, in all the seedlings in a Petri dish the length of the root is measured, and this length in the undergerminated seeds is taken as zero.

EFFECT: improvement of the method.

15 cl, 5 tbl, 1 ex

RU 2 492 473 C2

RU 2 492 473 C2

Изобретение относится к инженерной экологии и может быть использовано при мониторинге качества проб воды рек и водоемов тестированием ростом корней различных видов тестовых растений, а также тестированием фильтратов из различных свалок и складов хранения твердых отходов.

Известен способ испытания загрязнения воды по времени роста корней растения (Пат. 2402765 Российская Федерация, МПК G01N 33/18. Способ испытания загрязнения воды по времени роста корней растения / Мазуркин П.М., Евдокимова О.Ю. (РФ); заявитель и патентообладатель Марийск. гос. тех. ун-т. - №2009133898/04; заявл. 09.09.2009; опубл. 27.10.10), в котором до основных экспериментов тестирования дополнительно проводят предварительный эксперимент по определению рационального срока проращивания семян тест-растения, при этом для каждого вида растения определяют свой срок рационального проращивания семян.

Недостатком является то, что способ учитывает только влияние времени проращивания семян в чашке Петри на рост корней растения, когда в чашке Петри растущие корни у 50 семян начинают мешать друг другу.

Известен также способ испытания загрязнения воды по росту корней растения в соответствии с методикой биотестирования по проращиванию семян (Приложение 10. Санитарные правила и нормы СанПиН 2.1.7.573-96 "Гигиенические требования к использованию сточных вод и их осадков для орошения и удобрения" (утв. постановлением Госкомсанэпиднадзора РФ от 31 октября 1996 г. №46), включающий равномерную укладку 30 или 50 штук семян редиса красного круглого с белым кончиком или белой горчицы (*Sinapis alba*) на фильтровальную бумагу в чашке Петри диаметром 10 см (Сводный доклад стран-членов СЭВ по теме 7.03.05. Будапешт, 1975, с.2-4). Причем в каждую чашку Петри наливают по 5 мл исследуемой и чистой воды при 4-8-кратной повторности, при этом уровень жидкости в чашках должен быть ниже поверхности семян, затем чашки покрывают и помещают в термостат при температуре 20°C. А при отсутствии термостата эксперимент возможен в комнатных условиях, но тогда из-за колебаний температуры затрудняется сопоставление результатов, проводимых в различное время. Перед использованием чашки Петри стерилизуют в автоклаве при 2 атм в течение 10 мин или в кипящей воде 30 мин. Эксперимент заканчивается через 72 часа. Измеряют длину корней, исключая из ряда данных пять наименьших значений, включая и не проросшие семена. Если, по сравнению с контрольными, семена в исследуемой воде вообще не проросли или же длина корней в процентах от контроля ниже 70%, то испытываемая вода непригодна для орошения. Порог 70% обосновывается тем, что почва, благодаря сорбционной способности, снижает ингибирующее воздействие исследуемой воды. При длине корней в опыте свыше 120% от контроля предполагается, что вода обладает стимулирующими свойствами. Примечание: Тест на проращивание семян можно провести и с семенами других растений и, в первую очередь, растений, которые планируется выращивать при орошении.

Недостатком является то, что способ не учитывает влияние сторон света на колебания волнового возмущения растений по длине корней, когда распределение длины корней связано с азимутом посадки семян, не учитываются региональные особенности водного объекта для тестирования семян других растений. Причем проростков через 72 часа переплетаются друг с другом, не только мешая проведению измерений, но и образуя взаимную сильную внутривидовую конкуренцию при развитии и росте корней. При этом непроросшие семена никак не учитываются в измерениях по прототипу.

Технический результат - повышение точности тестирования проб воды семенами растений за счет достижения оптимальных условий роста корней у каждого растения, учета в измерениях непроросших семян тестируемого растения, а также снижение трудоемкости при проведении измерений за счет сокращения количества семян от 50 до 12, то есть более чем в четыре раза, и оптимизации числа повторов чашки Петри для основных экспериментов по каждому водному объекту за счет проведения предварительных опытов.

Этот технический результат достигается тем, что способ биотестирования по проращиванию семян, включающий равномерную укладку 30 или 50 семян редиса красного круглого с белым кончиком на фильтровальную бумагу в чашке Петри, в которую наливают по 5 мл исследуемой или чистой пробы воды, при этом уровень жидкости в чашке должен быть ниже поверхности семян, затем чашку покрывают крышкой, после 72 часов проращивания измеряют длину корня каждого проростка, причем измерения проводят у проростков, исключая из ряда данных пять наименьших значений, причем тест на проращивание семян можно провести и с семенами других растений и, в первую очередь, растений, которые планируется выращивать при орошении, отличающийся тем, что фильтровальная бумага принимается круглой формы по диаметру чашки Петри с меткой на краю, на нее укладывается шаблон с отверстиями для разметки мест посадки семян, причем одно из отверстий ориентируется относительно метки фильтровальной бумаги, далее размеченную фильтровальную бумагу помещают в чашку Петри с ориентацией ее метки в северном направлении по компасу, причем аналогично поступают с другими чашками Петри в повторах эксперимента, затем на каждой чашке Петри по размеченным местам посадки на фильтровальную бумагу без шаблона укладываются семена, наливают исследуемую воду, после проращивания семян до измерения длины корня у каждого проростка измеряют угол его направления как показатель азимута корня, причем у непроросших семян азимут корня принимают за отсутствие количественного значения и в журнале измерений ставят прочерк, в дальнейшем у всех проростков измеряют длину корня, причем эту длину корня измеряют у всех семян, включая и непроросшие, у которых значение длины корня принимают равным нулю, после завершения испытания исследуемой воды и проведения измерений длины и азимута корней выявляют статистическим моделированием общую биотехническую закономерность распределения длины корней от азимута посадки семян по каждой чашке Петри и их совокупности, а впоследствии проводят расчеты коэффициента корреляции по всем пробам исследуемой воды и по их совокупности, затем сравнивают их с пробой контрольной воды, а для тестирования семян других растений и, в первую очередь, растений, которые планируется выращивать при орошении, вначале проводят региональные для каждого водного объекта предварительный и основные эксперименты.

Выявление методом идентификации биотехнической закономерности изменения длины корня каждого проростка растения в зависимости от азимута посадки проростков за 72 часа проращивания семян выполняют по обобщенной формуле:

$$L=L_1+L_2,$$

$$L_1=L_0, L_2=A\cos(\pi\varphi/p\pm a_7),$$

$$A = a_1 \exp(-a_2 \varphi^{a_3}), p = a_4 \pm a_5 \varphi^{a_6},$$

где L - длина корня каждого проростка растения в чашке Петри, мм;

L₁ - первая составляющая, учитывающая влияние загрязнения в чистом виде, мм;

L₀ - теоретическое независимое значение длины корня от азимута посадки семени,

показывает, что данное значение имеет зависимость от других факторов, мм;

L_2 - вторая составляющая колебательного возмущения растения по длине корня каждого проростка в чашке Петри за 72 часа, характеризующая влияние стороны света, мм;

А - половина амплитуды колебательного возмущения корней проростков, мм;

р - половина периода колебательного изменения по азимуту посадки семени, град.;

φ - азимут посадки семени, град.;

$a_1 \dots a_7$ - параметры готовой статистической модели, параметры модели принимают конкретные значения для конкретных условий проращивания семян с испытуемой водой для полива.

Остальные закономерности остаются еще недостаточно ясными по содержательной интерпретации.

Сущность технического решения заключается в том, что фильтровальная бумага принимается круглой формы по диаметру чашки Петри с меткой на краю, на нее укладывается шаблон с отверстиями для разметки мест посадки семян, причем одно из отверстий ориентируется относительно метки фильтровальной бумаги, при этом метки мест посадки семян наносят карандашом в виде точек, после нанесения разметки шаблон убирают, размеченную фильтровальную бумагу помещают в чашку Петри с ориентацией ее метки в северном направлении по компасу.

Сущность технического решения заключается в том, что шаблон с отверстиями для разметки мест посадки семян изготавливают в виде окружности по диаметру чашки Петри, причем отверстия для разметки мест посадки семян располагают по часовой стрелке через 30 градусов, при этом расстояние между отверстиями и центром шаблона составляет примерно 30 мм.

Сущность технического решения заключается в том, что у всех проростков измеряют длину корня, причем эту длину корня измеряют у всех семян, включая и непроросшие, у которых значение длины корня принимают равным нулю, причем измерение длины проростков проводят последовательно, начиная с первого проростка по ходу часовой стрелки от 30 до 360 градусов.

Сущность технического решения заключается также в том, что в предварительном эксперименте, при сравнении с контрольной пробой чистой воды семена в исследуемой загрязненной воде вообще не проросли, или же длина корней в процентах от контроля ниже 70, то вода не пригодна для орошения, причем по прототипу порог 70% обосновывается тем, что почва, благодаря сорбционной способности, снижает ингибирующее воздействие исследуемой воды, а при длине корней в опыте свыше 120% от контроля предполагается, что вода обладает стимулирующими свойствами, то для обоснования количества повторов чашек Петри в основных экспериментах выполняют корреляционный анализ проростков в каждой чашке Петри и по их совокупности из предварительного эксперимента, вычисляя статистический коэффициент корреляции.

Сущность технического решения заключается также и в том, что для речной воды водозабора города Йошкар-Ола основные эксперименты по проращиванию семян редиса красного круглого с белым кончиком включает равномерную укладку семян в чашку Петри в количестве 12 штук в месте через 30 градусов азимута посадки при четырех повторах чашек Петри.

Положительный эффект достигается тем, что определяют условия для наиболее благоприятного роста корней тестового растения с целью повышения точности испытания загрязнения воды, в особенности той природной и иной загрязненной воды

различного качества, которую планируется использовать для орошения растений сельскохозяйственных культур.

Новизна технического решения заключается в том, что эксперимент по проращиванию семян выполняют по изменению длины корня тест-растения в зависимости от азимута посадки семени и азимута корня каждого проростка.

Предлагаемое техническое решение обладает существенными признаками, новизной и значительным положительным эффектом. Материалов, порочащих новизну технического решения, нами не обнаружено.

На фиг.1 показана схема размещения 12 семян редиса красного круглого с белым кончиком в чашке Петри через 30 градусов (номерама обозначены места посадки семян); на фиг.2 приведен угол определения азимута посадки φ и азимута корня проростков φ_k ; на фиг.3 представлено изображение при определении азимута корня проростков φ_k ; на фиг.4 приведен график первой составляющей распределения длины корня 12 семян редиса красного круглого с белым кончиком от азимута посадки при росте в течение 72 часов в первой чашке Петри; на фиг.5 показан график второй составляющей колебательного возмущения растения по длине корня каждого проростка в чашке Петри в зависимости от азимута посадки семени; на фиг.6 приведен общий график по двухчленной математической модели в первой чашке Петри; 7 - то же на фиг.6 во второй чашке Петри; на фиг.8 - то же на фиг.6 в третьей чашке Петри; на фиг.9 - то же на фиг.6 в четвертой чашке Петри; на фиг.10 - то же на фиг.6 в пятой чашке Петри; на фиг.11 - то же на фиг.6 в шестой чашке Петри; на фиг.12 - то же на фиг.6 в седьмой чашке Петри.

Способ биотестирования по проращиванию семян в общем случае включает следующие действия.

Проводится отбор пробы воды, проводится ее консервация и подготовка для каждого испытания.

В лабораторных условиях проводится испытание по проращиванию семян. Для этого фильтровальная бумага принимается круглой формы по диаметру чашки Петри 10 см с меткой на краю, на нее укладывается шаблон с отверстиями для разметки мест посадки семян, причем одно из отверстий ориентируется относительно метки фильтровальной бумаги, при этом метки мест посадки семян наносят карандашом в виде точек.

Шаблон изготавливается в виде окружности по диаметру чашки Петри, причем отверстия для разметки мест посадки семян располагают по часовой стрелке через 30 градусов, при этом расстояние между отверстиями и центром шаблона составляет примерно 30 мм.

После нанесения разметки шаблон убирают, а размеченную фильтровальную бумагу помещают в чашку Петри с ориентацией ее метки в северном направлении по компасу. Аналогично поступают с другими чашками Петри по всем повторам эксперимента. Причем перед использованием чашки Петри стерилизуют в автоклаве при 2 атм в течение 10 мин или в кипящей воде 30 мин.

Затем в каждой чашке Петри по размеченным местам посадки на фильтровальную бумагу укладываются семена тест-растения. После чего в каждую чашку Петри наливают по 5 мл исследуемой пробы воды при 4-8-кратной повторности, при этом уровень жидкости в чашках должен быть ниже поверхности семян. Далее чашку покрывают крышкой и помещают в термостат при температуре 20°C, а при отсутствии термостата эксперимент возможен в комнатных условиях, но тогда из-за колебаний температуры затрудняется сопоставление результатов, проводимых в

различное время.

После 72 часов проращивания семян до измерения длины корня у каждого проростка измеряют угол его направления как показатель азимута корня, причем у непроросших семян азимут корня принимают за отсутствие количественного значения и в журнале измерений ставят прочерк.

В дальнейшем у всех проростков измеряют длину корня, причем эту длину корня измеряют у всех семян, включая и не проросшие, у которых значение длины корня принимают равным нулю, причем измерение длины проростков проводят последовательно, начиная с первого проростка по ходу часовой стрелки от 30 до 360 градусов.

После завершения испытания исследуемой воды и проведения измерений длины и азимута корней выявляют статистическим моделированием общую биотехническую закономерность распределения длины корней от азимута посадки семян по каждой чашке Петри и их совокупности.

Выявление методом идентификации биотехнической закономерности изменения длины корня каждого проростка растения в зависимости от азимута посадки проростков за 72 часа проращивания семян выполняют по обобщенной формуле:

$$L=L_1+L_2,$$

$$L_1=L_0, L_2=A\cos(\pi\varphi/p\pm a_7),$$

$$A = a_1 \exp(-a_2 \varphi^{a_3}), p = a_4 \pm a_5 \varphi^{a_6},$$

где L - длина корня каждого проростка растения в чашке Петри, мм;

L_1 - первая составляющая, учитывающая влияние загрязнения в чистом виде, мм;

L_0 - теоретическое независимое значение длины корня от азимута посадки семени, показывает, что данное значение имеет зависимость от других факторов, мм;

L_2 - вторая составляющая колебательного возмущения растения по длине корня каждого проростка в чашке Петри за 72 часа, характеризующая влияние стороны света, мм;

A - половина амплитуды колебательного возмущения корней проростков, мм;

p - половина периода колебательного изменения по азимуту посадки семени, град.;

φ - азимут посадки семени, град.;

$a_1 \dots a_7$ - параметры готовой статистической модели, параметры модели принимают конкретные значения для конкретных условий проращивания семян с испытуемой водой для полива.

После выявления биотехнической закономерности изменения длины корня растения в зависимости от азимута посадки определяют значимости каждой составляющей статистической модели.

По коэффициенту приспособляемости, равному отношению волновой второй составляющей к первой составляющей модели, при значении этого коэффициента меньше единицы принимают оценку, что приспособляемость растений к поливаемой воде сомнительна, а при условии превышения единицы - достаточно надежна.

Затем проводят расчеты коэффициента корреляции по всем пробам исследуемой воды и по их совокупности, и сравнивают их с пробой контрольной воды, а для тестирования семян других растений и, в первую очередь, растений, которые планируется выращивать при орошении, вначале проводят региональные для каждого водного объекта предварительный и основные эксперименты.

В предварительном эксперименте, при сравнении с контрольной пробой чистой воды семена в исследуемой загрязненной воде вообще не проросли или же длина корней в процентах от контроля ниже 70, то вода непригодна для орошения, причем

по прототипу порог 70% обосновывается тем, что почва, благодаря сорбционной способности, снижает ингибирующее воздействие исследуемой воды, а при длине корней в опыте свыше 120% от контроля предполагается, что вода обладает стимулирующими свойствами, то для обоснования количества повторов чашек Петри в основных экспериментах выполняют корреляционный анализ проростков в каждой чашке Петри и по их совокупности из предварительного эксперимента, вычисляя статистический коэффициент корреляции.

Способ биотестирования по проращиванию семян, например, редиса красного круглого с белым кончиком при тестировании проб речной воды, включает следующие действия.

Проводится отбор пробы речной воды, затем ее консервация и подготовка для каждого испытания.

В лабораторных условиях проводится испытание по проращиванию семян редиса красного круглого с белым кончиком.

Для этого фильтровальная бумага принимается круглой формы по диаметру чашки Петри 10 см с меткой на краю, на нее укладывается шаблон с отверстиями для разметки мест посадки семян, причем одно из отверстий ориентируется относительно метки фильтровальной бумаги, при этом метки мест посадки семян наносят карандашом в виде точек.

Шаблон изготавливается в виде окружности по диаметру чашки Петри, причем отверстия для разметки мест посадки семян располагают по часовой стрелке через 30 градусов, при этом расстояние между отверстиями и центром шаблона составляет примерно 30 мм.

После нанесения разметки шаблон убирают, а размеченную фильтровальную бумагу помещают в чашку Петри с ориентацией ее метки в северном направлении по компасу. Аналогично поступают с другими чашками Петри в 4 повторах эксперимента. Причем перед использованием чашки Петри стерилизуют в автоклаве при 2 атм в течение 10 мин или в кипящей воде 30 мин.

Затем в каждой чашке Петри по размеченным местам посадки на фильтровальную бумагу укладываются 12 семян редиса красного круглого с белым кончиком. После чего в каждую чашку Петри наливают по 5 мл исследуемой пробы воды при 4-8-кратной повторности, при этом уровень жидкости в чашках должен быть ниже поверхности семян. Далее чашку покрывают крышкой и помещают в термостат при температуре 20°C, а при отсутствии термостата эксперимент возможен в комнатных условиях, но тогда из-за колебаний температуры затрудняется сопоставление результатов, проводимых в различное время.

После 72 часов проращивания семян редиса красного круглого с белым кончиком до измерения длины корня у каждого проростка измеряют угол его направления как показатель азимута корня, причем у непроросших семян азимут корня принимают за отсутствие количественного значения и в журнале измерений ставят прочерк.

В дальнейшем у всех проростков измеряют длину корня, причем эту длину корня измеряют у всех семян, включая и непроросшие, у которых значение длины корня принимают равным нулю, причем измерение длины проростков проводят последовательно, начиная с первого проростка по ходу часовой стрелки от 30 до 360 градусов.

После завершения испытания исследуемой воды и проведения измерений длины и азимута корней выявляют статистическим моделированием общую биотехническую закономерность распределения длины корней от азимута посадки семян по каждой

чашке Петри и их совокупности.

Выявление методом идентификации биотехнической закономерности изменения длины корня каждого проростка растения в зависимости от азимута посадки проростков за 72 часа проращивания семян выполняют по обобщенной формуле:

$$L=L_1+L_2,$$

$$L_1=L_0, L_2=A\cos(\pi\varphi/p\pm a_7),$$

$$A = a_1 \exp(-a_2 \varphi^{a_3}), p = a_4 \pm a_5 \varphi^{a_6},$$

где L - длина корня каждого проростка растения в чашке Петри, мм;

L₁ - первая составляющая, учитывающая влияние загрязнения в чистом виде, мм;

L₀ - теоретическое независимое значение длины корня от азимута посадки семени, показывает, что данное значение имеет зависимость от других факторов, мм;

L₂ - вторая составляющая колебательного возмущения растения по длине корня каждого проростка в чашке Петри за 72 часа, характеризующая влияние стороны света, мм;

A - половина амплитуды колебательного возмущения корней проростков, мм;

p - половина периода колебательного изменения по азимуту посадки семени, град.;

φ - азимут посадки семени, град.;

a₁...a₇ - параметры готовой статистической модели, параметры модели принимают конкретные значения для конкретных условий проращивания семян с испытуемой водой для полива.

После выявления биотехнической закономерности изменения длины корня растения в зависимости от азимута посадки определяют значимости каждой составляющей статистической модели.

По коэффициенту приспособляемости, равному отношению волновой второй составляющей к первой составляющей модели, при значении этого коэффициента меньше единицы принимают оценку, что приспособляемость растений к поливаемой воде сомнительна, а при условии превышения единицы - достаточно надежна.

Затем проводят расчеты коэффициента корреляции по всем пробам исследуемой воды и по их совокупности и сравнивают их с пробой контрольной воды, но при этом вначале проводят региональные для каждого водного объекта предварительный и основные эксперименты.

В предварительном эксперименте, при сравнении с контрольной пробой чистой воды семена в исследуемой загрязненной воде вообще не проросли или же длина корней в процентах от контроля ниже 70, то вода не пригодна для орошения, причем по прототипу порог 70% обосновывается тем, что почва, благодаря сорбционной способности, снижает ингибирующее воздействие исследуемой воды, а при длине корней в опыте свыше 120% от контроля предполагается, что вода обладает стимулирующими свойствами, то для обоснования количества повторов чашек Петри в основных экспериментах выполняют корреляционный анализ проростков в каждой чашке Петри и по их совокупности из предварительного эксперимента, вычисляя статистический коэффициент корреляции.

Пример. Эксперименты были проведены в феврале 2009 - ноябре 2010 года. Пробу воды отбирали из поверхностного водоемщика перед городским водозабором - река М. Кокшага.

В таблице 1 приведены данные проращивания в комнатных условиях (семена были посажены в 18 часов 3 февраля 2010 г.) независимых выборок из 12 семян редиса красного круглого с белым кончиком в семи повторах чашек Петри.

Таблица 1

Длина корней редиса красного круглого в семи чашках Петри, мм

Азимут посадки φ, град.	№1		№2		№3		№4		№5		№6		№7	
	L, мм	φ _к , град.												
30	43	315	5	225	5	135	26	180	11	270	15	315	15	225
60	15	45	18	180	36	135	37	45	41	315	19	225	36	270
90	21	225	8	0	5	315	40	135	25	180	6	45	13	45
120	37	315	25	270	26	315	35	45	18	270	24	90	13	45
150	25	315	9	270	0	-	0	-	20	135	38	225	18	315
180	14	225	21	90	44	225	0	-	35	180	29	315	26	225
210	32	315	0	-	17	225	36	45	23	135	27	45	4	315
240	26	315	15	0	0	-	13	225	21	135	41	135	33	135
270	24	315	29	135	22	315	0	-	17	45	24	135	3	225
300	27	315	38	225	19	315	22	135	5	0	0	-	27	315
330	20	45	3	225	0	-	21	135	0	-	19	135	33	45
0	43	45	53	225	22	45	0	-	0	-	11	0	17	315

При проведении эксперимента на фильтровальную бумагу круглой формы с меткой на краю укладывался шаблон с отверстиями для разметки мест посадки семян (фиг.1), которую затем помещали в чашку Петри с ориентацией ее метки в северном направлении по компасу. Аналогично поступали по всем повторам чашек Петри, после проводили укладку семян через каждые 30 градусов азимута посадки φ.

После 72 часов проращивания семян до измерения длины корня у каждого проростка измеряли угол его направления как показатель азимута корня, причем у непроросших семян азимут корня принимают за отсутствие количественного значения и в журнале измерений ставили прочерк.

Далее у всех проростков проводили измерение длины корня, причем эту длину корня измеряли у всех семян, включая и непроросшие, у которых значение длины корня принимают равным нулю.

При поливе семян речной водой в одной чашке Петри (график показан фиг.6) была получена двухчленная биотехническая закономерность

$$L = L_1 + L_2 \quad (1)$$

$$L_1 = 25,51866,$$

$$L_2 = 35,83023 \exp(-0,096491 \varphi^{0,51390}) \cos(\pi \varphi / (55,91559 - 0,00050888 \varphi^{1,73960}) - 1,05930).$$

Первая составляющая показывает стабильное распределение длины корней растений, то есть характеризуется устойчивым законом (фиг.4). Наиболее значимой является вторая составляющая (фиг.5), которая характеризует колебательное возмущение популяции семян редиса красного от азимута посадки семян.

Максимум волнового возмущения проростков редиса красного круглого 17,54 мм наблюдался при азимуте посадки семени равном 0 градусов.

По остальным повторам графики распределения длины корня редиса красного круглого от азимута посадки представлены на фигурах 7-12.

Результаты расчетов по формуле (1) приведены в таблице 2.

Таблица 2

Изменение длины корня по статистической (математической) модели (1), мм

Азимут посадки φ, град.	Фактическое значение длины корня	Расчетные значения длины корня, мм			Составляющие модели (1)			
		L	ε	Δ, %	L ₁	A	P	L ₂
30	43	42,13	0,87	2,02	25,52	20,59	55,73	16,61
60	15	14,10	0,90	6,00	25,52	16,24	55,28	-11,42
90	21	17,92	3,08	14,67	25,52	13,52	54,64	-7,60

120	37	36,45	0,55	1,49	25,52	11,58	53,81	10,93
150	25	25,42	-0,42	-1,68	25,52	10,09	52,81	-0,10
180	14	17,55	-3,55	<u>-25,36</u>	25,52	8,91	51,65	-7,97
210	32	32,41	-0,41	-1,28	25,52	7,95	50,34	6,90
240	26	23,90	2,10	8,08	25,52	7,14	48,88	-1,62
270	24	23,02	0,98	4,08	25,52	6,46	47,28	-2,50
300	27	29,67	-2,67	-9,89	25,52	5,87	45,54	4,15
330	20	21,38	-1,38	-6,90	25,52	5,36	43,67	-4,14
0	43	43,06	-0,06	-0,14	25,52	35,83	55,92	17,54
Примечание. Максимальная относительная погрешность подчеркнута.								

Максимум длины корня проростков редиса красного круглого с белым кончиком наблюдается при азимуте посадки равном 0 и 30 градусов, минимум приходится на 180 градусов.

Амплитуда колебания для наилучшей особи растения всегда равна нулю, то есть самая сильная особь не волнуется. Большой размах амплитуды, что видно из таблицы 2, показывает расширение изменчивости параметров растения по отдельным особям, так как речная вода расширяет адаптационные возможности изменчивости в росте корней редиса красного. При этом амплитуда принимает высокие значения, когда семена тест-растения расположены в восточной части чашки Петри, здесь семена испытывают сильное волнение. При 180° азимута посадки амплитуда уменьшается, достигает минимума при 330 градусах, при этом семена испытывают меньшее волнение.

Причем наименьшее значение половина амплитуды принимает при 330 градусах, здесь растение практически не волнуется, наибольшие колебания испытывает на северном меридиане, где значение амплитуды равно 35,83.

Чем больше период колебания, то тем легче происходит адаптация популяции к внешним условиям из-за того, что частота колебательного возмущения убывает. Из таблицы 2 видно, что частота колебательного возмущения возрастает от северного конца меридиана от 0 до 360 градусов.

Максимальная относительная погрешность в таблице 2 подчеркнута и составляет 14,67%. Поэтому доверительная вероятность формулы (1) будет не ниже 74,64%. Формула выше 70% адекватности принимается имеющей сильную связь между сопоставляемыми факторами. Поэтому формула (1) может быть применена при параметрической идентификации по данным измерений и по другим растениям.

Коэффициент корреляции 0,9814 высок (фиг.6), что убеждает в высокой адекватности полученной статистической модели.

Поэтому для описания распределения длины корней растения от азимута посадки семени предлагается обобщенная формула

$$L = L_1 + L_2,$$

$$L_1 = L_0, L_2 = A \cos(\pi\varphi/p \pm a_7), A = a_1 \exp(-a_2\varphi^{a_3}), p = a_4 \pm a_5\varphi^{a_6}, \quad (2)$$

где L - длина корня каждого проростка растения в чашке Петри, мм;
 L_1 - первая составляющая, учитывающая влияние загрязнения в чистом виде, мм;
 L_0 - теоретическое независимое значение длины корня от азимута посадки семени, показывает, что данное значение имеет зависимость от других факторов, мм;
 L_2 - вторая составляющая колебательного возмущения растения по длине корня каждого проростка в чашке Петри за 72 часа, характеризующая влияние стороны света, мм;

A - половина амплитуды колебательного возмущения корней проростков, мм;

p - половина периода колебательного изменения по азимуту посадки семени, град.;

φ - азимут посадки семени, град.;

$a_1 \dots a_7$ - параметры готовой статистической модели, параметры модели принимают конкретные значения для конкретных условий проращивания семян с испытуемой водой для полива.

Сравнение результатов нескольких испытаний проводят по нескольким критериям, количественно получаемым из опытов и последующего статистического моделирования.

По данным таблицы 3 проанализируем предельные значения отдельных составляющих и компонентов полученной формулы (2) по результатам эксперимента, проведенного в феврале 2010 года в 7 чашках Петри.

Таблица 3

Значимость и приспособляемость проростков в речной воде							
Номер повтора	Азимут посадки φ , град.	Составляющие модели (2), мм		L, мм	Коэффициент значимости		Коэффициент приспособляемости k
		L ₂	L ₁		α_1	α_2	
1	30	25,52	16,61	43	0,59	0,39	0,6509
	60	25,52	-11,42	15	1,70	-0,76	-0,4475
	90	25,52	-7,60	21	1,22	-0,36	-0,2978
	120	25,52	10,93	37	0,69	0,30	0,4283
	150	25,52	-0,10	25	1,02	-0,00	-0,0039
	180	25,52	-7,97	14	1,82	-0,57	-0,3123
	210	25,52	6,90	32	0,80	0,22	0,2704
	240	25,52	-1,62	26	0,98	-0,06	-0,0635
	270	25,52	-2,50	24	1,06	-0,10	-0,0980
	300	25,52	4,15	27	0,95	0,15	0,1626
2	330	25,52	-4,14	20	1,28	-0,21	-0,1622
	0	25,52	17,54	43	0,59	0,41	0,6873
	30	18,22	-1,33	5	3,64	-0,27	-0,0730
	60	18,22	-14,64	18	1,01	-0,81	-0,8035
	90	18,22	-7,33	8	2,28	-0,92	-0,4023
	120	18,22	9,93	25	0,73	0,40	0,5450
	150	18,22	12,70	9	2,02	1,41	0,6970
	180	18,22	-2,68	21	0,87	-0,13	-0,1471
	210	18,22	-13,71	0	-	-	-0,7525
	240	18,22	-4,24	15	1,21	-0,28	-0,2327
3	270	18,22	11,32	29	0,63	0,39	0,6213
	300	18,22	9,02	38	0,48	0,24	0,4951
	330	18,22	-7,42	3	6,07	-2,47	-0,4072
	0	18,22	14,32	53	0,34	0,27	0,7859
	30	16,93	-2,01	5	3,39	-0,40	-0,1187
	60	16,93	-3,34	36	0,47	-0,09	-0,1973
	90	16,93	-2,84	5	3,39	-0,57	-0,1677
	120	16,93	-0,77	26	0,65	-0,03	-0,0455
	150	16,93	1,72	0	-	-	0,1016
	180	16,93	3,26	44	0,38	0,07	0,1926
4	210	16,93	3,01	17	1,00	0,18	0,1778
	240	16,93	1,10	0	-	-	0,0650
	270	16,93	-1,41	22	0,77	-0,06	-0,0833
	300	16,93	-3,15	19	0,89	-0,17	-0,1861
	330	16,93	-3,15	0	-	-	-0,1861
	0	16,93	0,43	22	0,77	0,02	0,0254

5	4	30	18,12	2,57	26	0,70	0,10	0,1418
		60	18,12	20,67	37	0,49	0,56	1,1407
		90	18,12	24,19	40	0,45	0,60	1,3350
		120	18,12	7,02	35	0,52	0,20	0,3874
		150	18,12	-18,22	0	-	-	-1,0055
		180	18,12	-18,38	0	-	-	-1,0143
		210	18,12	15,60	36	0,50	0,43	0,8609
		240	18,12	6,22	13	1,39	0,48	0,3433
		270	18,12	-13,07	0	-	-	-0,7213
		300	18,12	-2,15	22	0,82	-0,10	-0,1187
		330	18,12	5,51	21	0,86	0,26	0,3041
10	0	18,12	-17,36	0	-	-	-0,9581	
15	5	30	19,28	-3,79	11	1,75	-0,34	-0,1966
		60	19,28	12,51	41	0,47	0,31	0,6489
		90	19,28	6,42	25	0,77	0,26	0,3330
		120	19,28	-5,40	18	1,07	-0,30	-0,2801
		150	19,28	-5,65	20	0,96	-0,28	-0,2930
		180	19,28	1,38	35	0,55	0,04	0,0716
		210	19,28	3,85	23	0,84	0,17	0,1997
		240	19,28	0,45	21	0,92	0,02	0,0233
		270	19,28	-2,17	17	1,13	-0,13	-0,1126
		300	19,28	-0,99	5	3,86	-0,20	-0,0513
		330	19,28	0,98	0	-	-	0,0508
20	0	19,28	-22,90	0	-	-	-1,1878	
25	6	30	15,23	-2,11	15	1,02	-0,14	-0,1385
		60	15,23	0,37	19	0,80	0,02	0,0243
		90	15,23	3,40	6	2,54	0,57	0,2232
		120	15,23	7,04	24	0,63	0,29	0,4622
		150	15,23	11,29	38	0,40	0,30	0,7413
		180	15,23	15,87	29	0,53	0,55	1,0420
		210	15,23	19,80	27	0,56	0,73	1,3001
		240	15,23	20,17	41	0,37	0,49	1,3244
		270	15,23	10,21	24	0,63	0,43	0,6704
		300	15,23	-15,40	0	-	-	-1,0112
		330	15,23	3,78	19	0,80	0,20	0,2482
30	0	15,23	-4,15	11	1,38	-0,38	-0,2725	
35	7	30	19,19	-0,91	15	1,28	-0,06	-0,0474
		60	19,19	5,04	36	0,53	0,14	0,2626
		90	19,19	0,79	13	1,48	0,06	0,0412
		120	19,19	-8,00	13	1,48	-0,62	-0,4169
		150	19,19	6,14	18	1,07	0,34	0,3200
		180	19,19	4,14	26	0,74	0,16	0,2157
		210	19,19	-14,69	4	4,80	-3,67	-0,7655
		240	19,19	18,59	33	0,58	0,56	0,9687
		270	19,19	-14,06	3	6,40	-4,69	-0,7327
		300	19,19	3,20	27	0,71	0,12	0,1668
		330	19,19	10,84	33	0,58	0,33	0,5649
40	0	19,19	-3,32	17	1,13	-0,20	-0,1730	

Приспособляемость популяции семян редиса красного (табл.3) к внешним воздействиям показывается коэффициентом k . При этом приспособляемость может быть кризисно-негативной или кризисно-позитивной. При условии $k > 1$ будем считать приспособляемость растений к поливаемой воде сомнительной, а при условии $k < 1$ достаточно надежной.

Из данных табл.3 видно, что наибольшую приспособляемость 1,3350 в направлении позитивной адаптации семена редиса красного круглого имеют при азимуте

посадки 90 градусов. Коэффициент приспособляемости, вычисляемый по формуле $k = L_{\max 2} / L_{\max 1}$, равен при таком расположении семени 1,3350. Наименьшее позитивное влияние 0,0039 наблюдается при 150°.

Максимальный кризис для проростков наблюдается при 0 градусов с негативным приспособлением к условиям роста с коэффициентом приспособляемости $k = -1,1878$, то есть когда семена редиса красного круглого располагались в северной части чашки Петри. Однако он меньше позитивного максимума 1,3350.

Для обоснования количества повторов чашек Петри в основных экспериментах выполним корреляционный анализ проростков в каждой чашке Петри по известным стандартным методикам.

В таблице 4 представлено количество взошедших семян по результатам эксперимента по проращиванию семян редиса красного круглого с белым кончиком по четырем месяцам.

Таблица 4					
Количество проросших семян от азимута их посадки по четырем месяцам					
№	Азимут посадки φ , град.	Число проросших семян			
		02.12.09	05.04.10	10.08.10	13.10.10
1	30	7	7	7	7
2	60	5	7	4	7
3	90	7	5	6	6
4	120	5	6	5	6
5	150	7	7	5	7
6	180	6	7	5	7
7	210	6	6	4	7
8	240	6	6	6	6
9	270	6	7	2	6
10	300	7	5	4	7
11	330	6	7	6	6
12	0	6	7	6	7

Проведем расчет показателей описательной статистики для последующего обоснования необходимого объема выборки.

Результаты статистической обработки представлены в таблице 5.

Коэффициент вариации V_{σ} составил меньше 33%, то есть все совокупности однородны, колебания длины корня редиса красного круглого незначительны.

По полученным результатам $E < 0$, то есть данные более равномерно распределены по всей области значений от x_{\max} до x_{\min} .

При этом распределение плосковершинное.

Для августа $E > 0$, данные сконцентрированы около среднеарифметического значения. Так как $As < 0$, то наблюдается асимметрия левосторонняя.

Сущность способа вычисления необходимого числа наблюдений заключается в том, что совокупности значений факторов принимаются в качестве статистических выборок. Для любого количества факторов справедливо соотношение

$$n = m \cdot m',$$

где n - общее количество семян в чашке Петри по всем повторам проводимого эксперимента,

m - количество взошедших семян во всех повторам чашек Петри,

m' - число повторов чашек Петри.

Таблица 5	
Описательная статистика по количеству взошедших семян редиса красного круглого по месяцам	

Статистические показатели	Значения описательной статистики по месяцам			
	02.12.09	05.04.10	10.08.10	13.10.10
Размах R, мм	2,00	2,00	5,00	1,00
Минимум x_{\min} , мм	5,00	5,00	2,00	6,00
Максимум x_{\max} , мм	7,00	7,00	7,00	7,00
Среднее арифметическое \bar{x} , мм	6,17	6,42	5,00	6,58
Средняя ошибка выборки, мм	0,21	0,23	0,39	0,15
Среднее квадратическое отклонение σ , мм	0,72	0,79	1,35	0,51
Дисперсия выборки σ^2	0,52	0,63	1,82	0,27
Коэффициент вариации V_{σ} , %	11,64	12,36	29,97	7,82
Экссесс E	-0,69	-0,46	0,92	-2,26
Асимметричность As	-0,26	-0,99	-0,80	-0,39
Предельная ошибка выборки при $P=0,954 \Delta_x$	0,46	0,50	0,86	0,33

15 Для вычисления интервала Δx применим формулу Г.А. Стреджеса

$$\Delta x = \frac{x_{\max} - x_{\min}}{1 + 3.3221 \lg n}, \quad (3)$$

где x_{\max} , x_{\min} - максимальное и минимальное количество взошедших семян.

20 Выражение в знаменателе (3) характеризует число групп наблюдений m . Для вычисления числа наблюдений используем формулу

$$n \geq l \cdot [m'], \quad (4)$$

где $[m']$ - число повторений чашек Петри в проведенном нами эксперименте.

25 Например, текущее число наблюдений n_m составило 84. Тогда число групп наблюдений $l=7$. Нами проведен эксперимент при семи повторах, поэтому $[m']$ примем равным семи. Тогда получаем $n \geq 7 \times 7 = 49$. Так как $n_m > n$, то исходных данных достаточно, условие $n \geq l \cdot [m']$ выполнено для данного фактора. Пусть $n_m = 48$, следовательно $l=7$. Количество повторов примем равным четырем. Так как $n_m = 7 \times 4 = 28$,
30 то условие $n \geq l \cdot [m']$ выполняется.

Отсюда следует, что основные эксперименты по биотестированию речной воды водозабора города Йошкар-Ола достаточно проводить при проращивании семян редиса красного круглого с белым кончиком в количестве 12 штук при четырех
35 повторах в чашках Петри.

Таким образом, способ биотестирования по проращиванию семян для речной воды водозабора города Йошкар-Ола основные эксперименты по проращиванию семян редиса красного круглого с белым кончиком включают равномерную укладку семян в чашку Петри в количестве 12 штук в месте через 30 градусов азимута посадки при
40 четырех повторах чашек Петри.

Предложенный способ с высокой точностью описывает влияние азимута на распределение длины корня проростка при определении загрязнения речной воды. Он обладает простотой проведения испытаний речной воды, а также фильтрационных вод, что значительно повышает точность соотнесения измерений загрязнения в реках
45 и водоемах с результатами тестирования качества воды растениями. Поэтому предлагаемый способ позволяет на некоторое время отказаться от дорогостоящих методов анализа проб воды и заменить их предлагаемым способом комплексной оценки качества воды.

50 Применение предложенного способа расширяет возможности территориального экологического мониторинга загрязнения простыми средствами у тех водотоков речной сети, на которых расположены населенные пункты и земельные участки сельскохозяйственного назначения, свалки и склады хранения твердых отходов.

Формула изобретения

1. Способ укладки семян в чашку Петри при биотестировании речной воды, включающий равномерную укладку семян редиса красного круглого с белым кончиком на фильтровальную бумагу в чашке Петри, в которую наливают по 5 мл исследуемой пробы воды, при этом уровень жидкости в чашке должен быть ниже поверхности семян, отличающийся тем, что фильтровальная бумага принимается круглой формы по диаметру чашки Петри с меткой на краю, на нее укладывается шаблон с отверстиями для разметки мест посадки семян, причем одно из отверстий ориентируется относительно метки фильтровальной бумаги, далее размеченную фильтровальную бумагу помещают в чашку Петри с ориентацией ее метки в северном направлении по компасу, затем на чашке Петри по размеченным местам посадки на фильтровальную бумагу укладываются семена, наливают исследуемую воду, после проращивания семян до взятия проростков с чашки Петри для измерения длины корня у каждого проростка измеряют по компасу угол направления его корня как показатель азимута корня, причем у не проросших семян азимут корня принимают за отсутствие количественного значения и в журнале измерений ставят прочерк, в дальнейшем у всех проростков в чашке Петри измеряют длину корня, причем эту длину у не проросших семян принимают равным нулю.

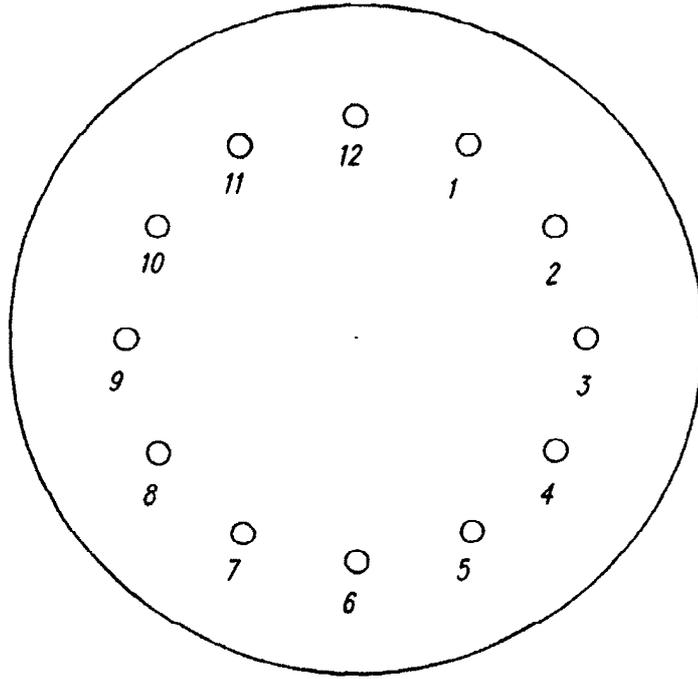
2. Способ укладки семян в чашку Петри при биотестировании речной воды по п.1, отличающийся тем, что на фильтровальную бумагу круглой формы по диаметру чашки Петри с меткой на краю укладывается шаблон с отверстиями для разметки мест посадки семян, причем одно из отверстий ориентируется относительно метки фильтровальной бумаги, при этом метки мест посадки семян наносят карандашом в виде точек, после нанесения разметки шаблон убирают, размеченную фильтровальную бумагу помещают в чашку Петри с ориентацией ее метки в северном направлении по компасу.

3. Способ укладки семян в чашку Петри при биотестировании речной воды по п.1, отличающийся тем, что шаблон для посадки семян изготавливают в виде окружности по диаметру чашки Петри, например, из прозрачного тонкого листа пластика, причем отверстия для разметки мест посадки семян располагают по часовой стрелке через 30° с написанием цифр около отверстий, при этом для чашек Петри диаметром 100 мм расстояние между центрами отверстий и центром шаблона принимают равным примерно 30 мм, а диаметры отверстий принимают большими по сравнению с диаметрами семян редиса красного круглого с белым кончиком.

4. Способ укладки семян в чашку Петри при биотестировании речной воды по п.1, отличающийся тем, что у всех проростков измеряют длину корня, причем эту длину корня измеряют у всех семян, включая и не проросшие, у которых значение длины корня принимают равным нулю, причем измерение длины проростков проводят последовательно по часовой стрелке, начиная с первого проростка по часовой стрелке от 30° до 360° .

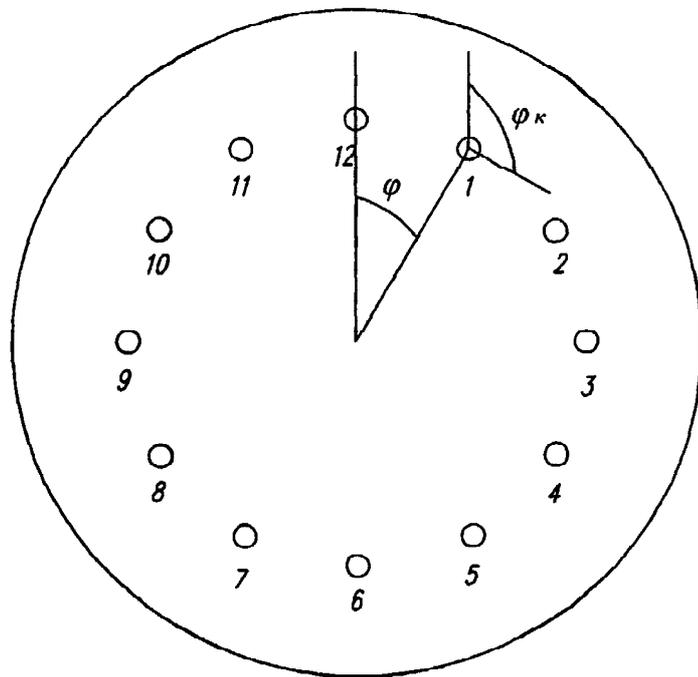
50

C

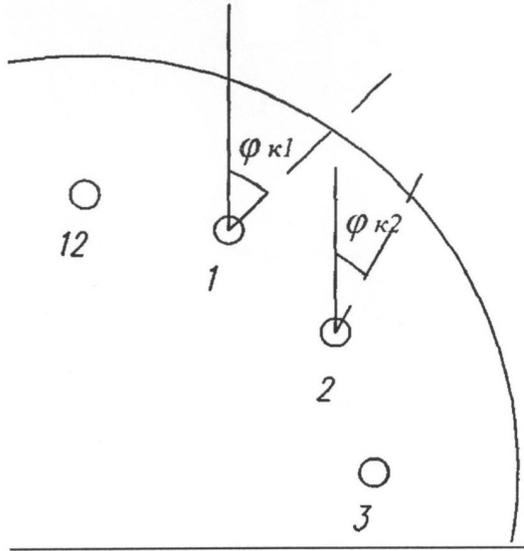


Фиг. 1

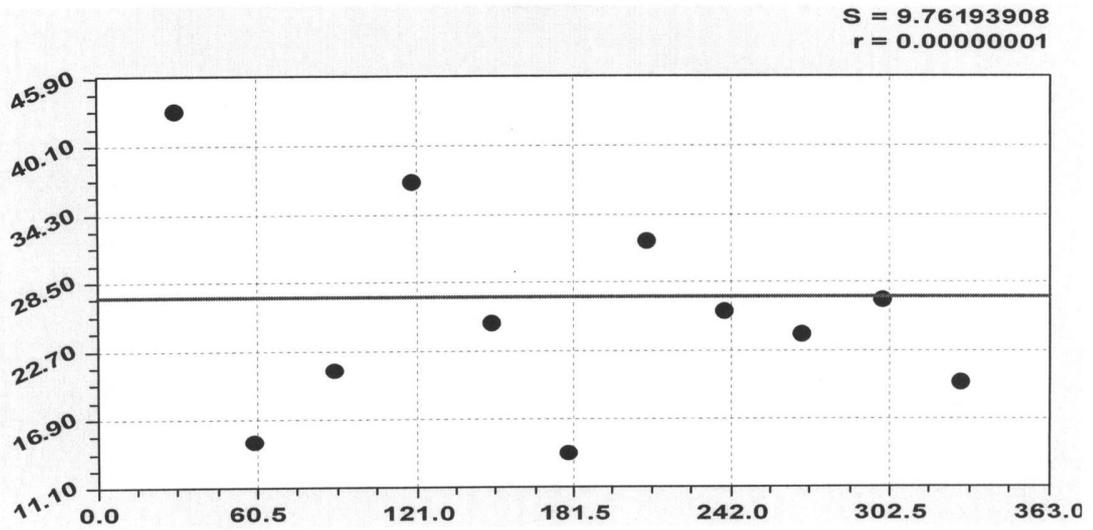
C



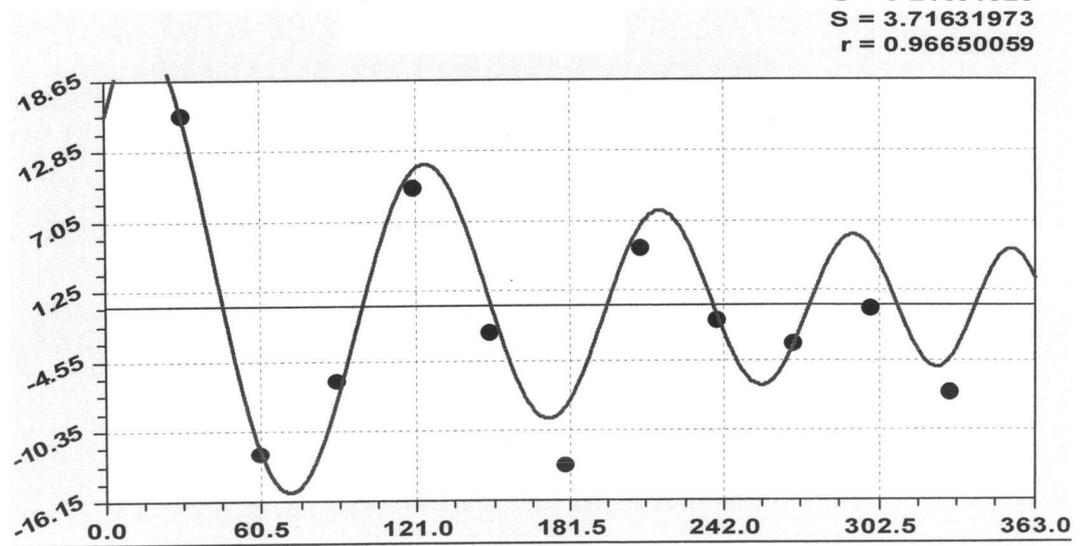
Фиг. 2



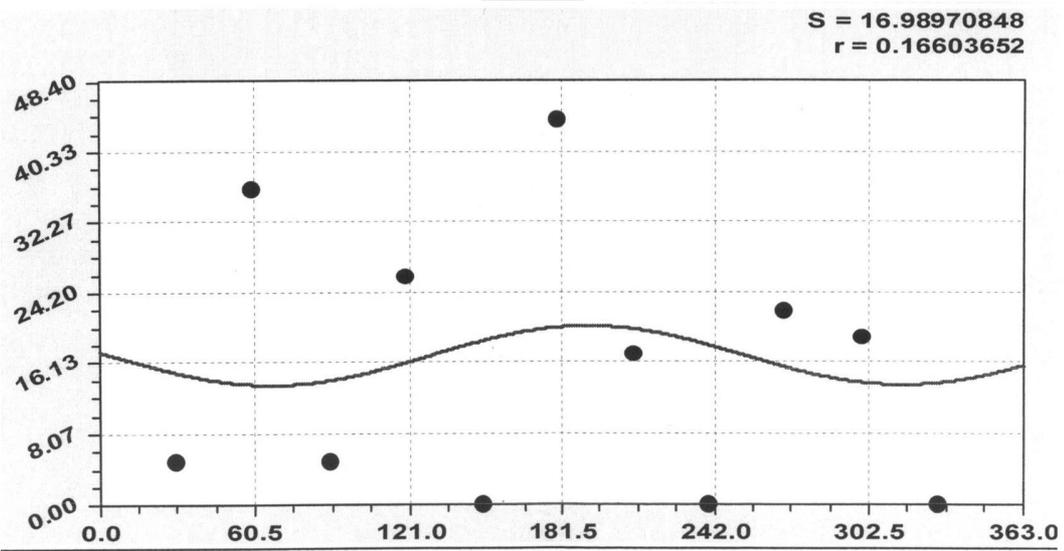
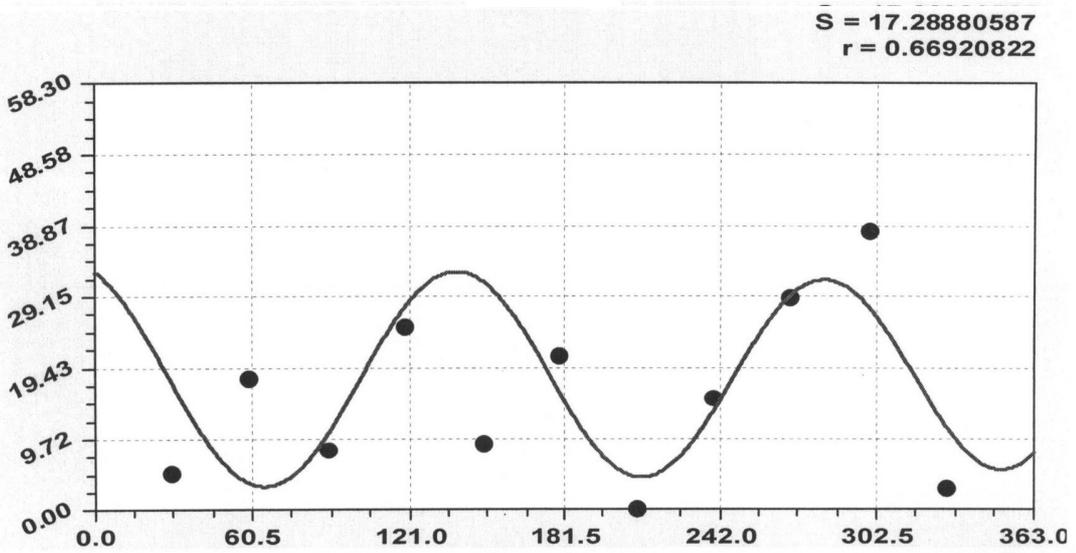
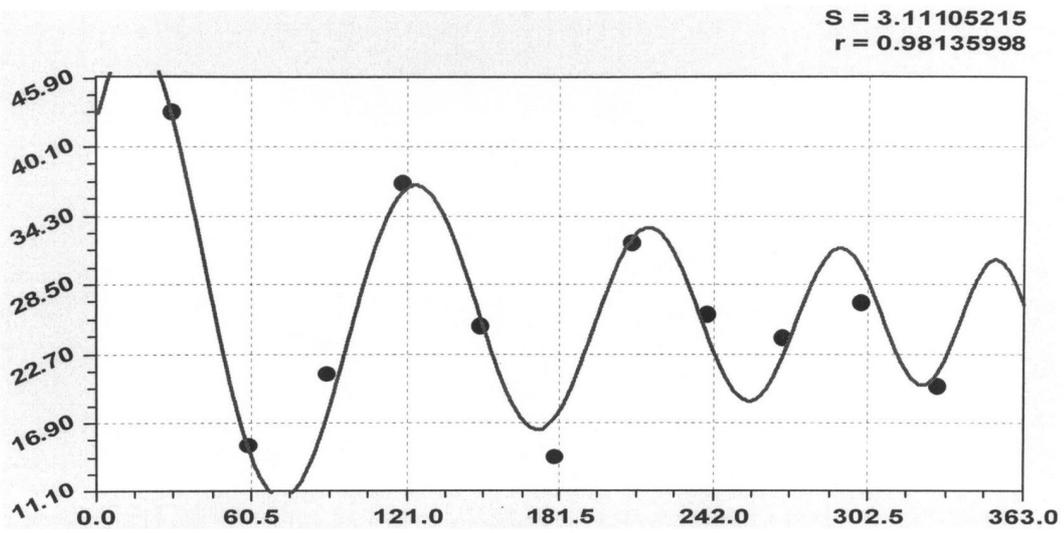
Фиг. 3

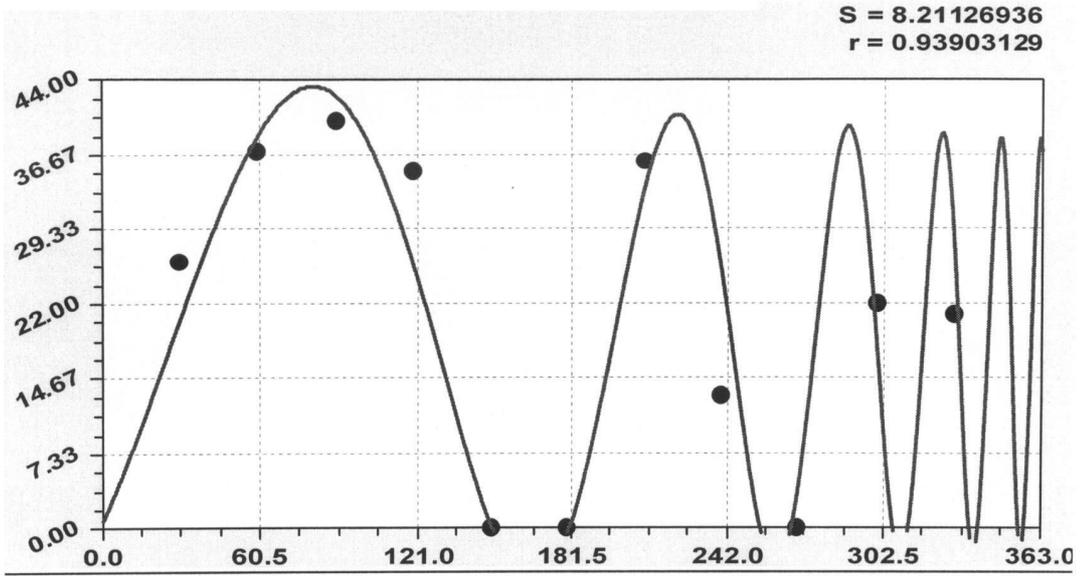


Фиг. 4

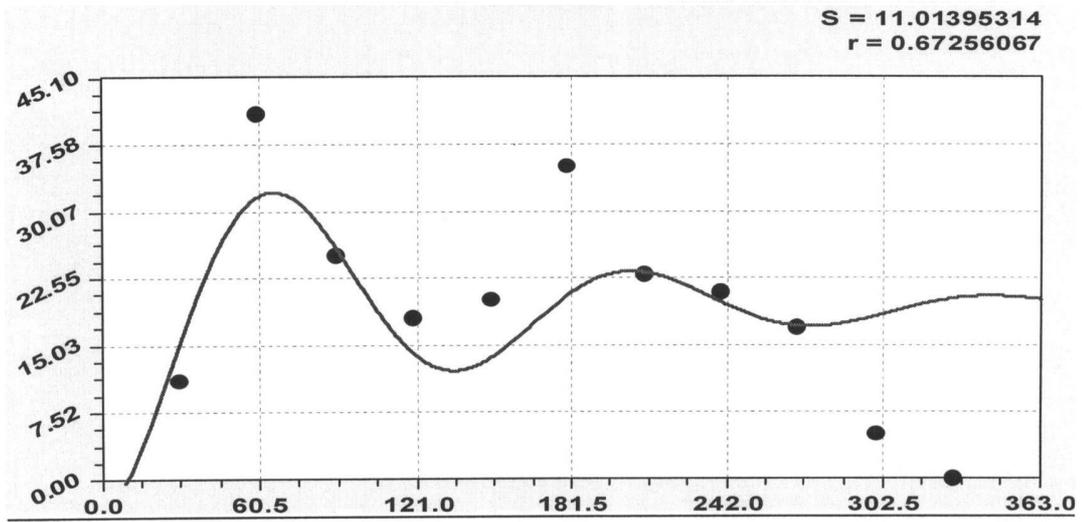


Фиг. 5

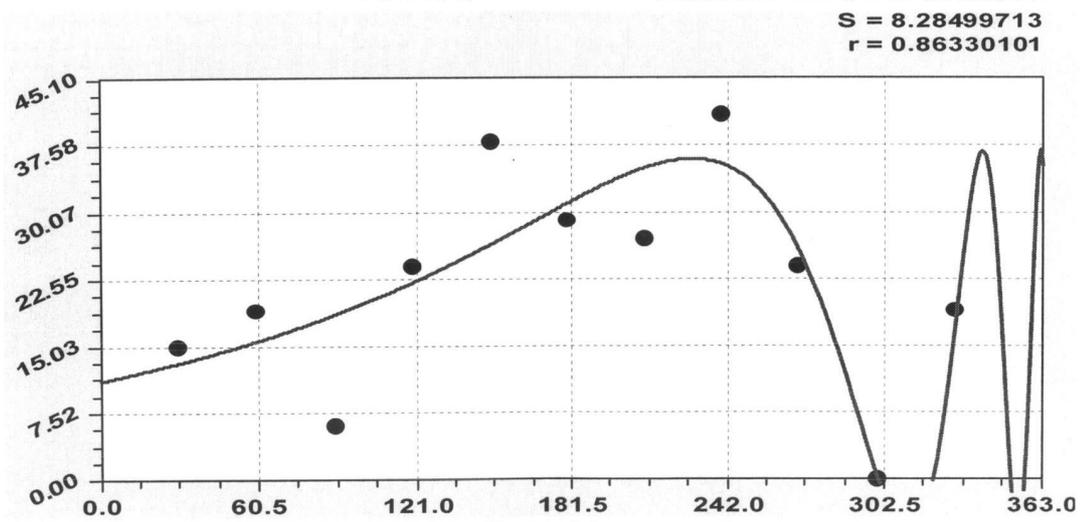




Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11

