

## ЗАНЯТТЯ № 6.

### БІОІНДИКАЦІЯ І БІОТЕСТУВАННЯ В АГРОЕКОЛОГІЇ

*Мета:* Ознайомлення з біологічними методом агроекологічного моніторингу – біоіндикацією.

*Завдання:* Законспектувати основні положення теми.

#### 6.1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Згідно з програмою ЮНЕСКО „Людина і біосфера” багатофункціональний комплекс екологічного моніторингу являє систему регулярних тривалих спостережень у просторі і у часі, які дають інформацію про стан навколишнього середовища з метою оцінки і прогнозу параметрів навколишнього середовища, що мають значення для людини.

До методів ведення моніторингу відноситься **біологічний метод**, що базується на використанні біоіндикаторів. **Біологічні індикатори (біоіндикатори)** – види, групи видів або суспільство живих організмів, за наявності, ступеню розвитку, зміною морфологічних, генетичних, біохімічних та інших ознак яких судять про стан, специфічні особливості і якості навколишнього середовища та його компонентів, про антропогенні зміни довкілля. В тому числі про склад ґрунту, присутність корисних копалин, забезпеченість території мікроелементами, вологою, поживними речовинами, про наявність, склад і концентрації в середовищі забруднюючих речовин.

Традиційно для еколого-токсикологічної оцінки застосовують *хімікоаналітичні* методи. Вони дають „миттєве” відображення картини забрудненості певних об’єктів (води, ґрунту, донних відкладень) конкретними токсикантами. Однак вони не можуть відобразити стан екосистеми в цілому, оцінити весь спектр забруднюючих речовин (полютантів) і їх взаємодію один з одним (ефект „коктейлю”). Крім того, суттєвий недолік цих методів – їх висока трудомісткість, необхідність придбання вартісного високоточного аналітичного обладнання. При цьому виявлення спектру забруднюючих речовин – компонентів навколишнього середовища – не завжди дозволяє судити про їх токсичність для теплокровних тварин і людини. Для багатьох хімічних речовин не розроблені гігієнічні нормативи (гранично допустимі концентрації, порогові дози і т.д.), за якими можна оцінити ступінь впливу на людину.

В той час, як прибори визначають лише ті речовини, для яких вони призначені, не реагуючи на речовини, концентрація яких нижче границі виявлення, біоіндикатор сприймає всі забруднюючі речовини. Очевидно, що можливості біоіндикаторів можуть служити важливим доповненням к фізичним і хімічним методам досліджень. Проте біодіагностика, базуючись на використанні

біоіндикації і біотестуванні має досить самостійне значення і дозволяє виявити причини або фактори зміни стану навколишнього середовища.

Біодіагностика виступає у якості засобу інтегральної оцінки впливу поллютантів, що дуже важливо, наприклад, для встановлення стійкості агроценозів до антропогенних дій.

Доступність, простота, експресивність і надійність цих методів контролю визначають перспективність біодіагностики.

Як було відмічено, біодіагностика включає біоіндикацію і біотестування. **Біоіндикація** – це оцінка якості середовища існування і його окремих характеристик по стану його біоти в природних умовах. Класичним прикладом біоіндикації є домашні бджоли. Ці комахи збирають нектар і пилок з рослин, розташованих на певній території біля вуликів. Зробивши хімічний аналіз отриманого меду, можна оцінити забруднення даної території важкими металами і хімічними речовинами (пестицидами, промисловими викидами тощо).

**Біотестування** – оцінка якості об'єктів навколишнього середовища (переважно в лабораторних умовах) з використанням живих організмів. Біотестування дозволяє за допомогою спеціально підібраних, високочутливих до забруднення тварин-біотестів визначити інтегральну токсичність проб з досліджуваних територій, оцінити еколого-токсикологічний стан агроценозів і можливі його наслідки.

## 6.2. Біоіндикація

Біоіндикація дозволяє безпосередньо спостерігати на певній території реакцію живих організмів протягом тривалого часу. При цьому зміни, що відбуваються в природних системах фіксуються наче на кіноплівці. Живі організми чуйно реагують на комбіновану дію токсикантів, що надходять до екосистеми, яку важко оцінити за результатами хімічного аналізу. Біоіндикація, відображаючи рівень забрудненості екотоксикантами, дає інформацію про стан екосистеми в цілому.

Серед біологічних індикаторів доцільно розрізняти *біоіндикатори рівня забруднення* і *біоіндикатори стану екосистеми*. **Біоіндикатори рівня забруднення** являють собою організми-концентратори. В них відбувається інтенсивне накопичення (концентрація) певних поллютантів. У цьому випадку оцінку забрудненості середовища існування (і біологічної доступності токсикантів) здійснюють за відкликом організмів, що відображається в певних фізіологічних реакціях і в накопиченні токсикантів в певних органах і тканинах. Накопичення в організмах тварин чи рослин тих або інших забруднюючих речовин істотно різняться. Підбравши біоіндикатори, що активно акумулюють в своєму організмі речовину, яка цікавить нас в цілях моніторингу, можна цілеспрямовано вивчати на різних територіях рівні антропогенного забруднення. У цьому відношенні досить

переконливі результати отримані при використанні у якості біоіндикаторів нижчих рослин, особливо епіфітних лишайників. Лишайники гірше, ніж вищі рослини, захищені покривною тканиною, тому особливо чутливі до забруднюючих речовин. За їх допомогою визначають утримання екотоксикантів у об'єктах навколишнього природного середовища. Здатність індикаторних організмів до біонакопичення забруднюючих біокомпонентів спрощує їх визначення традиційними хіміко-аналітичними методами. Раціональніше визначати ліпофільний токсикант (наприклад, діметилртуть або ТХДД), що перебуває у водній екосистемі в ультрамалих кількостях, аналізуючи не саму воду, і жирову тканину хижацької риби, яка знаходиться на одному з більш високих трофічних рівнів цієї системи. Таким чином, виявлення біоконцентраторів служить в першу чергу рішенням екоаналітичних завдань.

**Біоіндикатори стану екосистем** здавна використовуються людиною: в районах з підвищеною сейсмічною активністю поведінка домашніх тварин (кішок, собак) допомагає передбачити виникнення землетрусів та виверження вулканів. Велика кількість в травостой кінського щавлю, осоки, лютикових свідчить про значну кислотність ґрунтів. Біоіндикатори стану найбільш повно і адекватно відповідають кінцевим завданням екологічного моніторингу. Вважається, що індикаторний організм стає монітором, якщо може слугувати як для якісної, так і для кількісної оцінки стану середовища існування або екосистеми. Наприклад, молоді рослини тютюну дуже чутливі до присутності у повітрі фітооксидантів – озону та органічних пероксидів: ступінь зміни пігментації листків лінійно залежить від утримання у повітрі цих токсикантів. Таким чином, використовуючи рослини тютюну, можна зробити висновок про виникнення і ступінь важкості „смогової ситуації”.

Успішне застосування в якості біоіндикаторів знаходять дикоростучі тест-об'єкти, зокрема із родини ряскових. Інтенсивність фототаксису хлоропластів в листочках ряски, що оцінюється за зміною кількості хлоропластів у епістофному положенні, можна розглядати як чутливий показник, який свідчить про ступінь забруднення елементів агро ландшафту.

### **6.3. БІОТЕСТУВАННЯ**

В системі контролю стану природних середовищ і екосистем важливу і самостійну роль грає біотестування. Суть цього методу полягає у визначенні дії токсикантів на спеціально обрані організми в стандартних умовах з реєстрацією різних показників: поведінка тест-об'єктів, їх фізіологічний стан та біохімічний склад. Біотестування широко застосовують для контролю якості природних та токсичності стічних вод, при проведенні екологічної експертизи нових технологій очищення стоків, при обґрунтуванні нормативів гранично допустимих концентрацій забруднюючих компонентів.

Застосування біотестування має ряд переваг перед фізико-хімічним аналізом: не завжди вдається виявити нестійкі сполуки або кількісно визначити ультрамалі концентрації екотоксикантів фізико-хімічним методом. Доволі часто відбуваються випадки, коли виконаний сучасними заходами хімічний аналіз не виявляє наявності токсикантів, в той час як використання тест-об'єктів свідчить про їх присутність у дослідному середовищі. Біотестування дає можливість отримати інтегральну оцінку токсичності, що робить дуже привабливим його застосування при досліджах.

На відміну від біоіндикаторів (однією з головних вимог до яких є толерантність), тест-об'єкти звичайно обирають серед видів, найбільш чутливих до забруднюючих компонентів. По-друге, вплив токсиканта на тест-об'єкт повинний викликати у відповідь реакцію, аналогічну або близьку до реакцій лабораторних тварин. Знання механізмів специфічної токсичної дії дозволяє послабити або підсилити дію токсиканта за допомогою спеціально підібраних фармакологічних засобів. Якщо останні володіють селективністю, то у ряді випадків стає можливим за допомогою тест-об'єктів не тільки виявити токсичний ефект, але й виконати групову ідентифікацію токсиканта. Посилення дії за допомогою фармакологічних засобів дозволяє знизити поріг виявлення токсиканта, не концентруючи його (прийом, звичайний при інструментальному фізико-хімічному аналізі домішок).

За чуттєвістю та ступенем вивченості серед інших тест-об'єктів виділяють дафнії (*D. Magna*, *D. Pulex*), декілька видів мікроскопічних одноклітинних водоростей з класу протококові (*Scenedesmus quadricauda*, *Chlorella sp.*) і п'ять – шість видів риб, як акваріумних (гуппі, даніо-реріо), так і мілких аборигенних (голець, гольян). Досвід токсикологічного нормування показує, що при використанні цих видів біотестуванням може бути охоплене більше 80% хімікатів, що забруднюють воду і підлягають контролю.

Крім того, для біотестування використовують бактерії, водорості (у тому числі за ступенем зустрічаємості, по співвідношенню живих та мертвих клітин), вищі рослини, молюски, п'явки, риби (головним чином на ранніх стадіях розвитку) та інші організми. Кожний з цих об'єктів має свої переваги і межі, та ні один з організмів не може бути універсальним „тестером”, однаково чуттєвим до всіх забруднюючих речовин. Проте недоцільно нескінченно розширювати коло біологічних тест об'єктів.

Для біотестування ґрунтових зразків застосовують дощових черв'яків, олігохет (кільчастих черв'яків) та різних комах. Розмноження дощових черв'яків в значному ступені залежить від наявності у субстраті пестицидів, важких металів та інших поллютантів.

При наявності у пробі, що підлягає аналізу, певної кількості шкідливих речовин, тварини сигналізують про токсичність, змінюючи свій фізіологічний стан або загибеллю.

#### **6.4. Біоіндикація стану ґрунтового покриву**

Роль ґрунтового покриву в біосфері і господарській діяльності людини загальновідома. Тим більшого значення набуває своєчасно обґрунтована оцінка якісного стану ґрунтів.

Своєчасна діагностика ґрунтів використовує досягнення різних розділів ґрунтознавства (мінералогії, морфології, фізики і хімії). Треба враховувати, що фізичні і хімічні показники характеризують відносно консервативні ознаки і властивості ґрунтів, які потребують тривалого часу для свого проявлення. Крім того, визначення відповідних показників вимагають використання досить працемістких і дорогих методик, а отримані результати не завжди адекватно відображають ступінь впливу поллютантів на таку складну систему, як ґрунт.

Біологічний спосіб індикації стану навколишнього середовища і його компонентів (у тому числі і ґрунту) включає ботанічні, зоологічні, мікробіологічні та біохімічні методи.

БОТАНІЧНІ МЕТОДИ ІНДИКАЦІЇ І ДІАГНОСТИКИ (МЕТОДИ ФІТОІНДИКАЦІЇ).

Фітоіндикація заключається в використанні як рослинного покриву, так і окремих видів в якості показника (індикатора) стану досліджуваних компонентів середовища.

Перші записи о рослинах-індикаторах можна зустріти у „батька” ботаніки – Теофраста (IV...III вв. до н.е.).

У стародавніх римлян був вислів: „Гірку землю впізнають за чорною, звироднілою травою, холодну – за тією, що криво зростає, вологу – за некрасивою” (Катон Старший, III...II вв. до н.е.)

Російський ботанік Б.Виноградов розподілив індикаторні ознаки рослин на флористичні, морфологічні, фізіологічні і фітоценотичні.

**Флористичні ознаки** відображують відмінності у флористичному складі досліджуваних ділянок. Вони є наслідком пристосування окремих видів рослин до певного комплексу екологічних умов. Індикаторні властивості виявляються як в наявності, так і у відсутності того чи іншого виду.

Накопичення великого фактичного матеріалу дозволяє судити про ступінь гідроморфності, засоленості, кислотності або лужності, а також про збагачення ґрунтів поживними елементами.

Наприклад, по відношенню рослин до *кислотності ґрунтів* (рН) встановлені групи рослин, що пристосовані до певних значень рН.

На дуже кислих ґрунтах з рН 3,0...4,5 ростуть журавлина крупноплідна, в'юнок польовий, хвощ польовий, щавель.

Слабкокислі ґрунти з рН 4,5...6,0 можна визначити за чорниця, брусниця, багно, калюжниця болотна.

Окрему групу складають рослини нейтральних ґрунтів, які добре розвиваються при рН 6,0...7,3: яглиця європейська, полуниця зелена, конюшина: гірська, лучна, цикорій тощо.

До *засолених ґрунтів* пристосовані рослини – галофіти (верблюжа колючка, саксаул, деякі види полину), на незасолених територіях ростуть гликофіти.

По відношенню до *гранулометричного складу* ґрунтів рослини поділяються на псамофіти (рослини пісків) і пелітофіти (рослини глин). На каменистих і щербенистих субстратах ростуть рослини–петрофіти (наприклад, каменеломка).

Прикладом індикатора збагачених *поживними речовинами* ґрунтів є кропива.

**Морфологічні ознаки** виявляються в змінах забарвлення і форми листків,

будови кореневої системи, ширини річних кілець дерев; в особливостях будови тканин і окремих кліток

Данні про зовнішній прояв деяких з вказаних ознак подані у таблиці 6.1.

Таблиця 6.1

**Зміни морфологічних ознак рослин при порушенні поживного режиму ґрунту**

Елемент	Симптоми дефіциту
N	Рослини відстають у рості, листки дрібнішають, стають блідозеленими, потім темними і відмирають.
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Листки становляться вузькими, набувають синювато-зеленого, фіолетового і навіть червонуватого кольору.
K <sub>2</sub> O	Забарвлення листя темно-зелене з блакитним відтінком.
Ca	Затримується ріст коренів; скручуються листя, на них з'являються хлоротичні плями.
Mg	Міжжилкове пожовтіння старих листків, їх відмирання і опадання
Fe	Листя плодкових і молодих дерев, а також хвоя становляться жовтуваті, навіть білі.
Cu	Хлороз (побіління) і загортання листків унаслідок відмирання їх кінчиків; посилення кущення.
Zn	Короткі міжвузля і хлоротичні області в старих листках, дрібні жовті крапки.

При вирощуванні ячменю на ґрунтах, засмічених міддю, його листки втрачають нормальне забарвлення і стають хлоротичними. Подібна реакція спостерігається у рослин ячменю, помідорів і картоплі при надлишку бору. При надмірній кількості марганцю листя ячменю і стебла картоплі покриваються бурими плямами і т.д.

*Фізіологічні ознаки* передбачають облік особливостей хімічного складу і обміну речовин (пігменти, білки, жири, розмір осмотичного тиску, водоутримуюча здатність, інтенсивність транспірації).

*Фітоценотичні ознаки* пов'язані з особливостями структури рослинного покриву (рясність і розсіяність, ярусність, мозаїчність).

**ГРУНТОВО-ЗООЛОГІЧНА ІНДИКАЦІЯ**

Ще у 1837 р. Чарльз Дарвін, спостерігаючи за життєдіяльністю дощових черв'яків, вважав, що для ґрунту термін "тваринний шар" не менш виправданий, ніж звичайно застосований „рослинний шар”.

В середині 20 століття академік М.С.Гіляров прийшов до висновку про доцільність використання тварин, що живуть у ґрунті, для діагностики ґрунтових умов і напрямку ґрунтоутворного процесу під впливом господарської діяльності людини.

Структура тварин, що живуть у ґрунті, а саме такі її показники, як загальна кількість безхребетних, їх трофічні групування, видовий склад і, особливо, кількісні сполучення окремих груп ґрунтових тварин, можуть служити досить

вірогідними критеріями для ландшафтної характеристики регіонів.

Зоомаса мезофауни (тіл великої кількості комах, хробаків, багатоніжок та інших ґрунтоутворювачів) є активним компонентом ґрунтоутворного комплексу. У певній мірі вона може бути характеристикою особливостей ґрунтоутворного процесу. Для багатьох ґрунтів показники чисельності безхребетних і їх зоомаси, вираженій у г/м<sup>2</sup> або кг/га, вірогідно корелює з утриманням гумусу.

Реакції поведінки різних представників тваринного світу також можуть бути індикаторами стану навколишнього середовища і окремих його компонентів. Наприклад, у дослідях по впливу на бджіл інсектициду дельтаметрину було встановлено, що при дозі у 27 разів меншій за ЛД<sub>50</sub> бджоли втрачали просторову орієнтацію. Вони не поверталися до улів через 30 с після контрольного випуску, що в тричі перевищує середній час повернення контрольних особин.

Своєрідним індикатором може бути продуктивність сільськогосподарських культур, що характеризується кількістю біомаси на одиницю площі.

#### МІКРОБІОЛОГІЧНА ІНДИКАЦІЯ

Серед біологічних методів індикації найбільш чутливими є мікробіологічні, що пояснюється особливостями мікробіоти, які обумовлені виключно високою чутливістю мікроорганізмів до будь-яких змін стану природного середовища і його компонентів.

В останні роки значну увагу приділяють індикації стану екосистем, що зазнають антропогенного забруднення. При цьому вивчають такі показники, як біохімічні, фізіологічні і морфологічні зміни мікробіоти; динаміка чисельності мікроорганізмів; видовий склад; інтенсивність функціонування; мутагенні ефекти і т.д.

Зміни морфологічних і біохімічних ознак всередині виду досить адекватно відображують порушення у стані навколишнього середовища. Так, при наявності в ґрунті високих доз свинцю (більше 8000 мг/кг) змінюється морфологічна будова *B. tuscoides*. Скручені, хвилясті гіфоподібні вирости розпрямляються й становляться витягнутими.

В цих же умовах змінюється енергія проростання мікроскопічних грибів. Вона знижується приблизно у п'ять разів. Замість 2...3 діб, по проходженню яких гриби проростають у нормальних умовах, тривалість покою збільшується до 10...15 діб.

Для цілей індикації цікавими є показники наявності у ґрунті різних біологічно активних речовин, у тому числі мікотоксинів – продуктів життєдіяльності мікроорганізмів.

Необхідно відзначити, що використання біоіндикації і біотестування в агроєкології для аналізу і оцінки стану агроєкосистем не повинне обмежуватись лише виявленням потенційних забруднюючих речовин. За допомогою біодіагностики можна оцінювати ефективність технології вирощування сільськогосподарських культур, збереження стійкості агроєкосистем, їх біологічного і генетичного різноманіття.

### **Питання для самоперевірки**

1. Порівняйте біологічний і хімікоаналітичний методи еколого-токсикологічної оцінки забруднення навколишнього середовища.
2. Які існують методи біоіндикації стану екосистеми ґрунту.
3. Назвіть основні групи індикаторних ознак рослин.
4. Розкрийте принцип ґрунтово-зоологічної індикації.
5. На чому засновується метод мікробіологічної індикації стану ґрунту.