

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КРЕМЕНЧУЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ МИХАЙЛА ОСТРОГРАДСЬКОГО**



**В. В. НИКИФОРОВ, С. В. ДІГТЯР,
О. В. МАЗНИЦЬКА, Т. Ф. КОЗЛОВСЬКА**

Біоіндикація та біотестування

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК



Кременчук 2016

УДК 57(075.8)

ББК 28с я73

Никифоров В. В., Дігтяр С. В., Мазницька О. В., Козловська Т. Ф. Біоіндикація та біотестування : навчальний посібник. – Кременчук : Видавництво ПП Щенбатих О. В., 2016. – 76 с.

Навчальний посібник містить теоретичні основи та методологію елементів контролю якості довкілля – біоіндикації та біотестування.

У навчальному посібнику викладено екологічні засади біоіндикаційних досліджень, особливості використання тварин, рослин та мікроорганізмів у якості біоіндикаторів, характеристику біологічних методів оцінки якості різних складових довкілля – води, ґрунту, атмосферного повітря, теоретичні засади та практичне застосування методології біотестування.

Навчальний посібник призначений для студентів, які навчаються за освітнім ступенем «Бакалавр» зі спеціальності «Біотехнології та біоінженерія».

Навчальний посібник може використовуватися в процесі навчання студентами інших напрямів – екологія, біологія.

© В. В. Никифоров, С. В. Дігтяр,
О. В. Мазницька, Т. Ф. Козловська 2016
© КрНУ, 2016

ЗМІСТ

ВСТУП.....

РОЗДІЛ 1

БІОІНДИКАЦІЯ ТА БІОТЕСТУВАННЯ ЯК ЕЛЕМЕНТИ
МОНІТОРИНГУ ДОВКІЛЛЯ.....

- 1.1 Історія виникнення та розвитку біоіндикації
і біотестування.....
- 1.2 Екологічні засади біоіндикаційних досліджень.....
- 1.3 Біоіндикація на різних рівнях організації живої
матерії.....
- 1.4 Стратегія вибору тест-організмів і тест-операцій.....
Питання для самоконтролю.....

РОЗДІЛ 2

ОСОБЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ ПРЕДСТАВНИКІВ
РІЗНИХ ТАКСОНОМІЧНИХ ГРУП В БІОІНДИКАЦІЙНИХ
ДОСЛІДЖЕННЯХ.....

- 2.1 Особливості використання рослин як біоіндикаторів.....
- 2.2 Особливості використання тварин як біоіндикаторів.....
- 2.3 Специфічність використання мікроорганізмів
як біоіндикаторів.....
- 2.4 Симбіотичні методи в біоіндикації.....
Питання для самоконтролю.....

РОЗДІЛ 3

ОЦІНКА ЯКОСТІ ДОВКІЛЛЯ БІОЛОГІЧНИМИ МЕТОДАМИ.....

- 3.1 Оцінка якості повітря.....
- 3.2 Оцінка якості води.....
- 3.3 Діагностика ґрунтів.....
- 3.4 Біологічні індекси і коефіцієнти, що застосовуються
при індикаційних дослідженнях.....
Питання для самоконтролю.....

РОЗДІЛ 4

СУТНІСТЬ МЕТОДІВ БІОТЕСТУВАННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ У МОНІТОРИНГУ ДОВКІЛЛЯ.....	
4.1 Задачі та прийоми біотестування якості середовища.....	
4.2 Сутність методики біотестування. Вимоги до методів біотестування.....	
4.3 Основні підходи біотестування.....	
4.4 Практичне застосування методології біотестування.....	
4.5 Біотестиування ксенобіотиків.....	
4.6 Біологічні маркери.....	
4.7 Використання комп'ютерної техніки в біотестуванні.....	
4.8 Математичні методи в біоіндикаційних дослідженнях.....	
Питання для самоконтролю.....	
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	

ВСТУП

Розвиток промисловості, розширення транспортного сполучення в поєднанні з інтенсивними способами виробництва в сільському та лісовому господарстві – все це призводить до підвищення експлуатації природних ресурсів і до серйозного втручання у навколишнє середовище.

На наш час практично не залишилося біоценозів, які прямо чи опосередковано не відчували б впливу людини. Антропогенні компоненти середовища в більшій чи меншій мірі викликають забруднення біологічних систем, які або пристосовуються до нових умов, витримуючи їх, або приречені на вимирання.

Отже виникає потреба вчасно виявляти зумовлену антропогенними стресорами деградацію екосистем, щоб зміни життєво необхідних параметрів середовища існування людини не зайшли занадто далеко.

У той же час чітке усвідомлення всієї складності структури біосфери як багатокомпонентної системи вимагає від людства з усією відповідальністю поставитися до збереження різноманіття форм живих організмів, що населяють нашу планету, запобігти їх масовому винищенню в результаті уніфікації і порушення заселених ними ландшафтів.

У даному навчальному посібнику здійснено спробу систематизувати знання про тісний взаємозв'язок між біологічними системами та їх реакцією на зовнішні чинники впливу, у тому числі й антропогенні. Застосовуючи такий підхід, можна робити висновки про вплив антропогенних стресорів з нового боку, недоступного для методів, пов'язаних з фізичними чи хімічними вимірами в природі. При цьому вдається встановлювати довготривалі тенденції та буферну здатність біологічних систем відносно різноманітних, більшою мірою одночасно діючих порушувальних чинників.

Окремо у навчальному посібнику розглянуті математичні методи, що застосовуються у біоіндикації та біотестуванні.

Навчальний посібник розрахований не лише на вузьких спеціалістів в галузі біоіндикації та біотестування, а й на викладачів природничих дисциплін, студентів відповідних напрямків навчання, а також усіх небайдужих громадян, які прагнуть до створення стабільного, продуктивного, екологічно здорового ландшафту.

РОЗДІЛ 1

БІОІНДИКАЦІЯ ТА БІОТЕСТУВАННЯ ЯК ЕЛЕМЕНТИ МОНІТОРИНГУ ДОВКІЛЛЯ

Біоіндикація – це оцінка стану середовища за допомогою живих об'єктів.

Живі об'єкти (системи) – клітини, організми, популяції й угруповання, з їх допомогою може проводитися оцінка абіотичних чинників (температура, вологість, кислотність) та біотичних (життєва здатність мікроорганізмів).

Біотестування це експеримент визначення оцінки дослідним шляхом впливу чинників (фізичних, хімічних та фізико-хімічних) або групи шкідливих чинників на живі організми шляхом реєстрації біопоказника, що спостерігається на тест-об'єкті (індикаторі).

Переваги живих індикаторів:

- в умовах хронічних антропогенних впливів можуть реагувати навіть на відносно слабкі взаємодії внаслідок кумулятивного ефекту;

- реакції проявляються при накопиченні деяких критичних значень сумарних дозових впливів;

- сумують вплив всіх без виключення біологічно важливих взаємодій, які відображають стан навколишнього середовища в цілому, включаючи його забруднення та інші антропогенні зміни;

- виключають необхідність реєстрації хімічних і фізичних параметрів, що характеризують стан навколишнього середовища;

- фіксують швидкість змін, що відбуваються;

- вказують шляхи та місця скупчення в екологічних системах різного роду забруднень та отрут, можливі шляхи їх потрапляння в їжу людини;

- дозволяють робити висновки про ступінь шкідливості будь-яких речовини, що синтезуються людиною, для живої природи і

для неї самої; при чому дають можливість контролювати їх вплив.

Індикатор – це група особин одного виду або співтовариства, за наявністю, станом і поведінкою якої/яких судять про зміни в середовищі, в тому числі про присутність і концентрацію забруднювачів.

Спільнота індикаторів – це спільнота, за швидкістю розвитку, структурою та благополуччям окремих популяцій мікроорганізмів, грибів, рослин і тварин якої, можна судити про загальний стан середовища, включаючи її природні та штучні зміни.

Біоіндикація – це визначення біологічно значимих навантажень на організми та їх спільноти. Повною мірою це стосується антропогенних забруднень.

1.1 Історія виникнення та розвитку біоіндикації і біотестування

Становлення біоіндикації йшло паралельно з розвитком біології. Ще в античні часи зустрічалися посилання на можливість оцінки властивостей ґрунтів і ступеню їх зволоженості за станом рослинного покриву. У XIX ст. розвивалося вчення про зв'язок рослинності з умовами місцеперебування (роботи А.Гумбольдта).

Перші схеми рослин-індикаторів гірських порід були складені А.П. Карпинським в кінці XIX ст., виділено новий напрямок вчення про комплексні індикатори – природні рослинні угруповання.

На початку XX ст. біоіндикатори широко використовувалися при вивченні клімату, сільськогосподарських угідь, гірських порід, ареалів ґрунтових вод, пошуку корисних копалин (роботи Ф. Клементса, А.Г. Раменського, В.Н. Сукачова, Б.В.Виноградова та ін.).

Розвиток природоохоронної індикації почався з другої половини XX ст. На початку 60-х рр. сформувався поняття рекреаційної дигресії – зміни природного середовища в місцях масового відпочинку, почалося використання лишайників при

оцінці забруднення атмосферного повітря; в 70-і рр. досліджувався вплив випасу на травостої. У кінці ХХ в. істотно зріс інтерес до вирішення екологічних проблем, були встановлені і широко використовуються в наш час групи видів-індикаторів різних антропогенних впливів – евтрофікації водних об'єктів, хімічного забруднення ґрунтів, впливу на біоту рекреаційного навантаження, впливу на живі організми пріоритетних полютантів, у тому числі ксенобіотиків.

У якості індикаторів антропогенного впливу вивчені порушення репродуктивних функцій, динаміка чисельності і зміни структури популяцій, видового різноманіття, зміна мікробіологічної активності ґрунтів і багато інших показників. В даний час біоіндикація забруднень знаходить все більше застосування в галузі охорони навколишнього середовища та раціонального природокористування.

Окремі методи біотестування з'явилися ще на початку ХХ ст. і стали використовуватися для оцінки токсичності промислових стічних вод і ступеня забруднення природних водойм, однак інтенсивно біотестування стало розвиватися тільки з 60-х рр. У наступні роки в ряді провідних країн світу було розроблено велику кількість різноманітних біологічних методів, які контролюють забруднення водного середовища. У більшості західних країн біотестування широко впроваджується практично всіма організаціями і відомствами, які здійснюють охорону і контроль за станом навколишнього середовища. Розроблено стандарти на біотести, що використовують рачків, риб і низку інших гідробіонтів. Створені досить надійні науково методичні основи для застосування біологічних методів в практиці контролю токсичного забруднення вод.

Як першочергові біотести для контролю стічних вод в установленому режимі і для виявлення потенційно небезпечних джерел забруднення водних об'єктів токсикантами рекомендовані методи, які використовують ракоподібних *Daphnia magna*.

1.2 Екологічні засади біоіндикаційних досліджень

Відомо, що усі живі організми висувають до умов існування певні вимоги. Вони були вироблені в процесі розвитку виду і визначають його існування в умовах відповідної екологічної ніші. На живий організм завжди діє сукупність екологічних чинників. Широко розповсюджений поділ чинників на абіотичні (фізико-географічні чинники екотопа – кліматичні, едафічні, орографічні, хімічні і т. д.) і біотичні (фітогенні, зоогенні, антропогенні і т.д.).

Усі біологічні системи (організми, популяції або біоценози) в ході свого розвитку пристосувалися до комплексу умов мешкання. Кожен організм має генетично закріплений фізіологічний поріг толерантності (витривалості) до певного чинника, в межах якого цей чинник є для нього стерпним. Реакція організму, його пригнічення або процвітання залежить від ступеня впливу чинника, тобто кожен вид пристосований до певної інтенсивності кожного екологічного чинника і до певного діапазону його мінливості. Згідно із «законом мінімуму» Ю. Лібиха і «закону толерантності» Шелфорда, існування виду визначається лімітуючими чинниками в області песимуму в максимальних і мінімальних значеннях. Поблизу точок максимуму і мінімуму лежать сублетальні величини екологічного чинника, а за межами зони толерантності – летальні. Оптимальне значення чинника визначити важко, тому прийнято вести мову про зону оптимуму, коли спостерігається найвища продуктивність виду. Умови середовища, що виходять за межі оптимальної зони, називаються екстремальними і складають зону пригнічення. За межами зони толерантності лежать летальні значення, що викликають загибель організму.

Основними сигнальними методами, призначеними для оперативного безперервного контролю стічних вод, були визнані методи, засновані на реакції догляду риб з небезпечної зони. В даний час розроблено велику кількість біотестів, що використовують в якості тест-організмів різноманітних

гідробіонтів, таких, як найпростіші (інфузорії, джгутикові), кишковопорожнинні (гідри), черви (планарії, п'явки), молюски (пластинчастозяброві, черевоногі), ракоподібні (дафнії, гамарус) і риби. У ряді європейських країн прийнято стандарт на біотестування стічних вод і визначення токсичності окремих хімічних речовин за допомогою *Daphnia magna*. Методи з використанням дафній дозволяють порівнювати токсичність вод, що містять різноманітні забруднювачі, проте в зв'язку з розведенням в лабораторіях культур дафній різного походження вони дають значний розкид в результатах, що досягає 35 % і більше. Таким чином, біотести з дафніями не можуть претендувати на універсальність і уніфікованість, використання їх передбачається в комплексі з іншими біологічними і гідрохімічними методами. Велика частина розроблених в нашій країні і за кордоном біотестів не має достатньо високого рівня надійності і чутливості і не може використовуватися на водах з широким діапазоном токсичності. З метою вирішення даної проблеми в ряді випадків використовують методи біотестування з декількома тест-організмами або розробляються спеціальні системи – «блоки» з кількох самостійних біотестів. Такі методи можуть бути використані як сигнальні для постійного проточного біотестування стоків і екологічного моніторингу як в лабораторних, так і в польових умовах.

Біоіндикаційні методи та передумови їх застосування

Біоіндикаторами можуть бути живі організми, що мають добре виражену реакцією на зовнішній вплив: різні види бактерій, водоростей, грибів, рослин, тварин і т.п. Істотною властивістю біоіндикаторів є чутливість. Прояв реакції організму при незначних відхиленнях характеризується як рання індикація. Частина видів, навпаки, накопичує вплив без швидкого прояву. Такі біоіндикатори називаються акумулятивними. Якщо біоіндикатор реагує зі значним відхиленням життєвих проявів від норми, то він є чутливим біоіндикатором. Залежно від часу

розвитку індикаційних реакцій можна виділити 6 типів чутливості.

До чутливих біоіндикаторів відносяться лишайники, мохи, ґрунтові й водні мікроорганізми (водорості, бактерії, мікроскопічні гриби). У ролі біоіндикаторів можуть бути використані пилок рослин, хвоя сосни звичайної та ін. Серед тварин також виділяються групи організмів, що позитивно чи негативно реагують на різні форми антропогенної трансформації середовища (ракоподібні, хірономіди, молюски, личинки волохокрильців, одноденок, веснянок та ін.).

Чутливими біоіндикаторами можуть бути як окремі процеси в клітині й організмі (зміна ферментативної активності, зміна в пігментному комплексі), так і морфологічні зміни (зміни форми та розміру листової пластинки, зменшення тривалості життя хвої).

Важливою характеристикою будь-якого індикатора є його достовірність. Єдиних загальноприйнятих способів оцінки достовірності не розроблено. У ботанічних і геоботанічних дослідженнях з цією метою використовуються різні шкали, що оцінюють ступінь спряженості (спільного трапляння) індикатора і об'єкта індикації.

Одним з широко застосовуваних методів біоіндикації є метод еталонів. Суть його полягає в порівнянні досліджуваних екосистем з деякою фоною, прийнятою за зразок по параметрах. Метод особливо актуальний під час індикації забруднень, коли порівняння ведеться з природними показниками і характеристиками, не порушеними антропогенним впливом.

В біоіндикації надзвичайно важливим є правильний вибір біоіндикатора. При біоіндикації забруднення найкращим індикатором вважається організм, що показує лінійну кореляцію між рівнем забруднення середовища і вмістом (акумуляцією) забруднювача та/або реакцією організму. Основні вимоги, що висуваються до організмів, які використовуються в цілях біоіндикації, можна підсумувати наступним чином:

– присутність об'єктів біоіндикації в досліджуваній екосистемі по можливості у великій кількості і з однорідними властивостями;

– широке представництво організму-біоіндикатора в різних місцях мешкання і широке географічне розповсюдження;

– легкість ідентифікації та доступність в отриманні матеріалу;

– відсутність сезонних відмінностей у доступності і використанні біоіндикатора;

– його відносна стійкість до впливу і нагромадження стресора;

– наявність кореляції між реакцією організму і рівнем впливу стресора на екосистему.

Об'єктами біоіндикації, залежно від конкретних завдань екологічного дослідження, можуть виступати різні групи живих організмів – тварини, рослини і мікроорганізми.

Тварини в цій якості цікаві як об'єкт, фізіологічно близький людині. За їх реакцією можна передбачати санітарні наслідки забруднень не тільки для природи, але і для людей.

Мікроорганізми – найбільш швидко реагуючі біоіндикатори, вони також найкраще підходять для екотоксикологічних експериментів і розшифровки біохімічних механізмів дії окремих забруднювачів на живий організм.

Рослинам відводиться особливе місце при біоіндикаторній оцінці стану навколишнього середовища. У зв'язку з автотрофним характером метаболізму рослини дуже чутливо реагують на забрудненість навколишнього середовища, виявляючи високу чутливість, особливо до дії газоподібних токсикантів, а також важких металів. На відміну від тварин, рослини, як наземні, так і багато прісноводних, міцно пов'язані зі своїм місцеперебуванням, що полегшує завдання обліку чинників, що діють на рослинний організм з боку кореневої системи, і дозволяє широко використовувати рослини з метою фітоіндикації і контролю

забруднення як повітряного середовища, так і ґрунту та гідросфери. Разом з тим, зважаючи на автотрофність і прикріпленість більшості рослин на субстраті, вони є важливою складовою будь-якого біогеоценозу, в найбільшій мірі піддається впливу локальних і глобальних забруднень, що є також важливим для їх успішного застосування в цілях біоіндикації.

Завдання біоіндикації

Умови застосування біоіндикаційних методів:

- чинник не може бути вимірний (для минулих епох);
- коли чинник важко виміряти (деякі пестициди так швидко розпадаються в ґрунті, що їх залишок майже неможливо виміряти через декілька годин);
- чинники легко виміряти, але важко інтерпретувати.

Категорії вибору індикатора: швидка відповідь; надійність (помилка менше 20 %); простота; моніторингові можливості; постійно присутній у природі об'єкт.

На даний час при оцінці стану навколишнього середовища провідна роль відводиться фізичним і хімічним методам екологічного контролю. Їх суть зводиться до порівняння забруднення окремих компонентів природних комплексів з ГДК або ГДР. Однак існуючі системи нормативів не забезпечують екологічної безпеки екосистем.

Діюча сьогодні у практиці природокористування регламентація антропогенного впливу на природне середовище призводить до того, що екосистема навіть в ідеальних випадках контролю часто піддається надмірним навантаженням. При виявленні забруднених зон аналітичний підхід є пріоритетним, але в практиці більш широкомасштабних досліджень – оцінки екологічного стану середовища – він має ряд недоліків. Крім зазначеного вище, а також високу вартість отримання репрезентативних даних, до недоліків відносять:

- неможливість обліку в практичній діяльності синергічного і антагоністичного ефектів політантів;
- нерозв'язність проблеми оцінки впливу на токсичність або

інші лімітуючі властивості полютантів різноманітних природних чинників;

– неможливість отримання інформації про вторинних ефектах дії полютантів, викликаних їх накопиченням і трансформацією в різних ланках екосистем.

Вивчення наслідків антропогенного впливу на навколишнє середовище неможливо без застосування прийомів біологічної індикації, яка дає пряму інформацію про реакцію організмів на стресові чинники.

Біоіндикація – це визначення біологічно значущих навантажень на основі реакцій на них живих організмів і їх спільнот. Повною мірою це відноситься до всіх видів антропогенних забруднень.

Основним завданням біоіндикації є розробка методів і критеріїв, які могли б адекватно відображати рівень антропогенних впливів з урахуванням комплексного характеру забруднення і діагностувати ранні порушення в найбільш чутливих компонентах біотичних угруповань.

Організми або співтовариства організмів, життєві функції яких тісно корелюють з певними чинниками середовища і можуть застосовуватися для їх оцінки, називаються біоіндикаторами.

Існує два основних види біоіндикації: пасивна та активна.

Пасивна біоіндикація – дослідження у вільноживучих організмів видимих або непомітних пошкоджень і відхилень від норми, які є ознаками несприятливого впливу.

Активна індикація або біотестування – дослідження тих же впливів у стандартних умовах на найбільш чутливі до даного чинника тест-організми. Під біотестуванням зазвичай розуміють процедуру встановлення токсичності середовища за допомогою тест-об'єктів – спеціально відібраних і вирощуваних живих організмів, що сигналізують про небезпеку незалежно від того, які речовини і в якому поєднанні викликають зміни їх життєво важливих функцій.

Методами біоіндикації і біотестування визначається присутність в навколишньому середовищі того чи іншого

забруднювача за наявністю або станом певних організмів, найбільш чутливих до зміни екологічної обстановки, тобто виявлення і визначення біологічно значущих антропогенних навантажень на основі реакції на них живих організмів і їх спільнот. Таким чином, застосування біологічних методів для оцінки середовища – це виділення видів тварин або рослин, що чутливо реагують на той чи інший тип впливу. Методами біоіндикації з використанням відповідних індикаторних організмів у певних умовах може здійснюватися якісна й кількісна оцінка (без визначення ступеня забруднення) ефекту антропогенного і природного впливу на навколишнє середовище.

Перевагою методів біоіндикації і біотестування перед фізико-хімічними методами є інтегральний характер відповідних реакцій організмів, які:

- підсумовують всі без винятку біологічно важливі дані про навколишнє середовище і відображають її стан в цілому;
- виявляють наявність в навколишньому природному середовищу комплексу забруднювачів;
- дозволяють судити про ступінь шкідливості тих чи інших речовин для живої природи і людини;
- дають можливість контролювати дію багатьох синтезованих людиною сполук;
- в умовах хронічного антропогенного навантаження можуть реагувати на дуже слабкі впливи в силу акумуляції дози;
- фіксують швидкість змін, що відбуваються в навколишньому середовищі;
- вказують джерела надходжень і місця скупчень різного роду забруднень в екологічних системах і можливі шляхи потрапляння цих речовин в організм людини;
- допомагають нормувати допустиме навантаження на екосистеми, що розрізняються за своєю стійкістю до антропогенного впливу, так як однаковий склад і обсяг забруднень може призвести до різних реакцій природних систем у різних географічних зонах;

– роблять необов'язковим застосування дорогих, трудомістких фізичних і хімічних методів для вимірювання біологічних параметрів.

Живі організми постійно присутні в навколишньому середовищі і реагують на короточасні і залпові викиди токсикантів, які може не зареєструвати автоматизована система контролю з періодичним відбором проб на аналізи.

На даний час можна вважати загальноприйнятим, що основним індикатором сталого розвитку в кінцевому підсумку є якість середовища існування. Будь-які сучасні технології спрямовані на все більш ефективне використання природних ресурсів і, тим самим, на перебудову навколишнього середовища. В результаті відбувається його деформація, що виникає локальні, регіональні і глобальні порушення.

Антропогенні впливи є, з одного боку, новими параметрами середовища, з іншого – обумовлюють антропогенну модифікацію вже наявних природних чинників і, тим самим, змінюють властивості біологічних систем.

Методи фізико-хімічного та аналітичного контролю якості навколишнього середовища, що використовуються в виробничих лабораторіях, не завжди можуть дати адекватну картину дії тієї чи іншої речовини на цілісний організм. Окрім того, багато речовин як природного, так і синтетичного походження, є багатокomпонентними, що ускладнює їх фізико-хімічну стандартизацію.

Попри всю важливість проведення оцінки якості середовища на всіх рівнях із застосуванням різних підходів (включаючи фізичні, хімічні, соціальні та інші аспекти) пріоритетною виявляється біологічна оцінка. Найбільш простим поясненням цьому може бути те, що саме стан різних видів живих істот і самої людини є кінцевою метою усіх природоохоронних заходів.

Перевагою фізико-хімічного контролю є міцна нормативна (документи стандартизації) і організаційна (мережі хіміко-аналітичних лабораторій) бази. Їх недолік – висока трудомісткість, низька оперативність.

У різних галузях промисловості виникає все більша потреба в проведенні різноманітних біологічних тестів, пов'язана з наростанням екологічних проблем, а також зростанням використання біологічних об'єктів на практиці.

Біологічні методи контролю в деяких ситуаціях дозволяють швидко оцінювати якість навколишнього середовища і наявність деяких забруднень, які не виявляються хімічними методами. Біоіндикація і біотестування належать до біологічних методів контролю.

1.3 Біоіндикація на різних рівнях організації живої матерії

Метод біоіндикації ґрунтується на оцінці якості середовища існування або її окремих характеристик за станом біоти у природних умовах. Використовуючи біоіндикацію можна оцінити ступінь забруднення навколишнього середовища, здійснювати постійний контроль (моніторинг) його якості та змін.

Головна мета біоіндикації – діагностика стану екосистем шляхом встановлення здатності організмів до адаптації у відповідних умовах довкілля.

Основним завданням біоіндикації є виявлення видів біоіндикаторів, які реагують на зміни у стані довкілля, що виникли під дією природних і антропогенних чинників, і добір індикаторів-тестерів з високим порогом чутливості до змін у стані довкілля.

Біоіндикатори – види, групи видів або угруповання, за наявністю, ступенем розвитку, зміною морфологічних, структурно-функціональних, генетичних характеристик яких роблять висновок про стан довкілля. Як біоіндикатори часто виступають лишайники та мохоподібні, у водних екосистемах – угруповання бактеріопланктону, фітопланктону, зоопланктону, зообентосу, фітобентосу, перифітону.

Біоіндикаційні дослідження поділяються на два рівні:

видовий і біоценотичний.

Видовий рівень включає констатацію присутності організму, облік частоти його трапляння, вивчення його анатомо-морфологічних, фізіолого-біохімічних властивостей.

При біоценотичному моніторингу враховуються різні показники різноманітності видів, продуктивність цього угруповання.

На нижчих рівнях біоіндикації прямі й специфічні, на вищих прямі й специфічні. Саме останні дають комплексну оцінку антропогенних впливів.

Рівні: клітинний рівень, субклітинний рівень.

Біоіндикація на цих рівнях заснована на вузьких межах протікання біотичних та фізіологічних реакцій. Переваги: висока чутливість до порушень, що дозволяє дуже швидко виявити незначні концентрації полютантів.

Результат дії полютантів:

- порушення проникності біомембран;
- зміна концентрацій та активності макромолекул;
- акумуляція шкідливих речовин;
- порушення фізіологічних показників клітини, зміна розміру клітини.

Вплив полютантів на клітини на прикладі рослин.

Сірчаний газ руйнує клітинну мембрану, у результаті знижується буферна ємність цитоплазми клітини, змінюється її кислотність.

Озон та інші окислювачі – порушують проникність мембран. Цей ефект посилюється в присутності йонів важких металів.

Дія полютантів на ферменти: порушується процес нормального приєднання ферменту до субстрату, це може відбуватися трьома різними способами:

1) до ферменту замість субстрату приєднується полютант-інгібітор з утворенням комплексу Ф-І (отруєння CO₂);

2) полютант інгібує фермент, розчеплюючи його зв'язок з субстратом;

3) приєднуючись до субстрату з ферментом, полютанти інгібує його активність – утворюється стійкий комплекс С-Ф-І. У підсумку порушуються різні процеси, наприклад, асиміляція вуглекислого газу в процесі фотосинтезу.

Вплив полютантів на біомембрани на прикладі клітин рослин.

Сірчистий газ. SO₂ проникає в лист через продихи, потрапляє у міжклітинний простір, розчиняється у воді з утворенням SO₃²⁻/HSO₃-іонів, що руйнують клітинну мембрану. У результаті знижується буферна ємність цитоплазми клітини, змінюються її кислотність і редокс-потенціал.

Озон та інші окисники, наприклад, пероксиацетилнітрат порушують проникність мембран. Цей ефект посилюється в присутності йонів важких металів. У всіх випадках особливому впливу піддаються тилакоїдні мембрани хлоропластів. Їх руйнування – основна причина зниження фотосинтезу під впливом полютантів. Процес фотосинтезу дуже чутливий і служить для біоіндикації забруднення середовища. При цьому оцінюють інтенсивність фотосинтезу, флуоресценцію хлорофілу.

Як тест-організм часто використовують мох мніум.

Двооксид сірки зв'язується з активним центром ключового ферменту фотосинтезу (рибулозодифосфаткарбоксилази) замість CO₂ і гальмує фіксацію CO₂ в циклі Кальвіна. Газообмін CO₂ гіпотетично є придатним для біоіндикації; взаємодія SO₂ з HS-групами білків, призводить до руйнування ферментів (доведено для малатдегідрогенази). Синтез захисних речовин в клітині. У клітинах рослин під дією різних порушень накопичуються певні захисні речовини.

У клітин рослин під дією різних порушень накопичуються певні захисні речовини: пролін, аланін, пероксидаза і супероксиддисмутаза, пігменти, аденозинтрифосфорна кислота,

білки, вуглеводи, ліпіди.

Пролін – амінокислота, яка вважається індикатором стресу. Її концентрація зростала в листях тису поблизу доріг з інтенсивним рухом транспорту, в листі каштана внаслідок засолення ґрунту.

Аланін – амінокислота, накопичувалася в клітинах водорості требоуксії, сосни та кукурудзи при забрудненні.

Пероксидаза і супероксиддисмутаза. Під впливом стресових агентів утворюються токсичні пероксиди, які знешкоджуються пероксидазою. Наприклад, SO₂ викликає збільшення активності пероксидази і поява ізоферментів супероксиддисмутази. Ці зміни можна виявити за допомогою гель-електрофорезу.

Пігменти. При забрудненні в клітинах рослин відбуваються такі зміни пігментів: зменшується вміст хлорофілу, який послідовно руйнується (до феофетину, феофорбіді, розпадається пірольне кільце); знижується відношення хлорофіл а/хлорофіл в. Відзначається, що, зокрема, у ялини внаслідок хронічного задимлення SO₂; сповільнюється флуоресценція хлорофілу. При біоіндикації всі ці зміни фіксують за допомогою приладів: хроматографа, спектрофотометра і флуориметра.

Аденозинтрифосфорна кислота. Значення АТФ – універсального джерела енергії в клітині – важливий показник її життєздатності. Для його кількісної оцінки запропонований показник «енергетичного заряду». АДФ і АМФ – менш насичені енергією молекули аденозиндифосфорної та аденозинмонофосфорної кислот. Показано, що з ростом концентрації SO₂ в повітрі енергетичний заряд клітин рослин (сосна, водорість требоуксія) знижується.

Білки. При забрудненні в клітинах зменшується концентрація розчинних білків.

Вуглеводи. З метою біоіндикації може бути використано спостереження зміни вмісту глюкози і фруктози в листі гороху за дії автомобільних викидів.

Ліпіди. Газові викиди ведуть до зменшення вмісту міристинової, пальмітинової і лауринової кислот та до збільшення

лінолевої і ліноленової кислот у складі ліпідів.

Акумуляція шкідливих речовин.

Показником забруднення середовища може служити підвищена концентрація полутантів в клітинах живих організмів. Так, виявлена кореляція між вмістом свинцю в листках тису і інтенсивністю автомобільного руху в містах. Накопичення ртуті в пір'ї птахів дозволило за допомогою опудал простежити динаміку забруднень ртуттю. Виявлено, що з початку 40-х років ХХ століття вміст ртуті в пір'ї фазана, куріпок, сапсана та інших збільшилася в 10–20 разів, у порівнянні з 1840–1940 рр.

Зміна розмірів клітин.

Показано, що за газодимового забруднення:

- збільшуються клітини смоляних ходів у хвойних дерев;
- зменшуються клітини епідермісу листя.

Порушення фізіологічних процесів в клітині. Плазмоліз.

У клітинах рослин під дією кислот і SO_2 цитоплазма відшаровується від клітинної стінки.

1.4 Стратегія вибору тест-організмів і тест-операцій

Можливість створення універсальних стандартних біотестів, що дозволяють давати оцінку загальної токсичності води, забезпечується тим, що викликане дією різних токсикантів патологічний стан організму залежить від інтенсивності неспецифічної стресової реакції. Стереотипність розвитку цієї реакції у досить високоорганізованих тварин зумовлює значну однаковість їх реагування на дію токсикантів різної природи, що дозволяє оцінювати загальну токсичність забруднених вод за допомогою універсальних (інтегруючих) критеріїв, що встановлюються відповідно до змін тих чи інших тест-функцій. Так, методи визначення токсичності вод в допомогою біотестування за програмними цілями можна розділити на дві групи: методи оцінки загальної токсичності вод і методи індикації

в воді визначених забруднювачів, наприклад, фенолів, ряду важких металів і т.п. Методи оцінки загальної токсичності води ґрунтуються на даних, що характеризують інтенсивність розвитку стресової реакції тест організмів. У біотестах, розрахованих на встановлені наявності у воді конкретних забруднювачів, токсичність доцільно оцінювати за зміною параметрів функціонування будь-якого специфічно чутливого до впливу визначається токсиканти органу, тканини або системи органів тест-організму, так званої «мішені» або «біомаркери». У цьому випадку тест-організмом може виступати будь-який біологічний об'єкт, що володіє досить чутливою «мішенню», важливо тільки, щоб реакція цієї «мішені» легко реєструвалася і не маскувалася змінами, що відбуваються в інших анатомо-фізіологічних системах організму. Цього найлегше досягти, використовуючи як тест-організми просто організовані гідробіонти, такі, як найпростіші (інфузорії), плоскі черви, моховатки і т.п.

Стратегія вибору оптимального тест-організму для визначення загальної токсичності води повинна ґрунтуватися на тому, що загальна токсичність може бути встановлена тільки відповідно до зміни функціонального стану всього організму, яке обумовлюється характером взаємодії його основних анатомо-фізіологічних систем. З цього випливає, що для визначення загальної токсичності може бути використаний тільки такий тест-організм, який має ті ж основними системами, порушення функціонування яких можуть призводити до розвитку стресу, як і у організмів, на яких передбачається поширювати результати тестування. Наприклад, якщо необхідно встановити загальну токсичність вод господарсько-питного призначення, інакше кажучи, результати біотестування повинні бути поширені на людину і сільськогосподарських тварин, то в якості тест-організмів недоцільно використовувати таких низькоорганізованих тварин, як кишковопорожнинні, моховатки,

плоскі черви, неприпустимо застосування найпростіших і бактерій. Багато гідробіонтів, які відносяться до хребетних, також не можуть служити оптимальними тест-організмами для оцінки загальної токсичності вод, хоча їх організація найбільш близька до організації вищих тварин і людини. Причина небажаність використання хребетних тварин в якості тест-організмів полягає в тому, що у них в лабораторних умовах виникає сильний стрес на проведені з ними операції, що може маскувати їх реакції на оцінюваний токсикологічний чинник і, відповідно, спричинить зниження точності і достовірності отриманих результатів. Перш за все, це відноситься до риб, узятим з природних популяцій. Оптимальними для оцінки загальної токсичності води тест організмами є вищі безхребетні тварини, що мешкають у водному середовищі – молюски, членистоногі і т.п. Вони володіють всіма основними, характерними для вищих тварин анатомо-фізіологічними системами і в той же час легше і без істотних стресових реакцій пристосовуються до умов експериментів. Іншим важливим питанням, що виникають при розробці методів біотестування, є вибір оптимальних термінів проведення експерименту.

Необхідно також визначення найбільш показових критеріїв оцінки функціонального стану тест-організму. При виборі оптимального тест-організму необхідно також враховувати його чутливість і резистентність до токсичної дії зовнішнього середовища. Як відомо, чутливість організму визначається такими мінімальними концентраціями токсикантів, при впливі яких можуть бути зареєстровані будь-які відповідні реакції тест організму. Навпаки, резистентність визначається максимальними концентраціях токсикантів, при впливі яких організм ще може вижити. У сукупності чутливість і резистентність тест організму визначають діапазон токсичності, в межах якого буде можлива її оцінка. Вибір тест-організмів може бути успішним лише при

обліку природного місця існування виду і є одним з найважливіших чинників, що визначають можливість використання конкретного виду для біотестування. Аналіз основних закономірностей процесу адаптації живих організмів, фізіологічних, поведінкових і екологічних особливостей гідробіонтів дає можливість сформулювати ряд положень про тест-організмах і тест-операціях, які можуть полегшити розробку уніфікованих універсальних біологічних методів оцінки загальної токсичності водного середовища. Так, оптимальні тест-організми повинні відповідати таким вимогам:

- використовувані для тестування особини повинні бути генетично однорідними, що забезпечить схожість їх чутливості і резистентності, а також однаковість відповідних реакцій на вплив токсикантів, що гарантують високу відтворюваність результатів тестування і можливість стандартизації методу;

- функціональна активність тест-організму не повинна мати сезонної періодичності, що дозволить отримувати одні і ті ж результати незалежно від пори року;

- види, які використовуються як тест-організми, повинні мати високий рівень метаболізму, що забезпечить швидкість виникнення у них відповідних реакцій на дію токсикантів і, отже, експресному біотесту. Тест-організми повинні бути стресостійкими до операцій, пов'язаних з процедурою тестування, тобто їх розташування в експериментальних камерах і проведення необхідних спостережень і вимірів не повинно само по собі викликати у них чітко виражених стресових реакцій. Виконання всіх цих вимог можна забезпечити тільки в разі культивування чистих ліній тест-організмів у стандартних, «екологічно чистих», оптимальних для даного виду умовах. При створенні чутливих експресних біотестів найбільш перспективним є використання в якості тест-функцій поведінкових реакцій тварин. Оскільки біотестування може дати достовірні результати тільки при обліку

декількох незалежних чинників (тест-функцій), вибрані тест-організми повинні мати здатність до реалізації в умовах експерименту досить широкого набору легко реєстрованих поведінкових реакцій.

Біоіндикація – це оцінка стану середовища за допомогою живих об'єктів. Живі об'єкти (або системи) – це клітини, організми, популяції, спільноти. З їх допомогою може проводитися оцінка як абіотичних чинників (температура, вологість, кислотність, солоність, вміст полутантів тощо), так і біотичних (життєва здатність організмів, їх популяцій і угруповань). Термін «біоіндикація» частіше використовується в європейській науковій літературі, а в американській його зазвичай заміняють аналогічним за змістом назвою «екотоксикологія».

Біоіндикація базується на спостереженні за складом та чисельністю видів-індикаторів.

Метод біоіндикації заснований на вибірковому біологічному накопиченні речовин з навколишнього середовища організмами рослин і тварин. Найбільш небезпечними для біотичних спільнот є антропогенні забруднення ґрунту та водойм важкими металами, радіонуклідами, деякими хлорорганічними похідними, оскільки накопичення цих речовин в живих організмах (як усім організмом, так і його окремими частинами) порушує нормальний метаболізм, впливає на біохімічні, цитологічні і фізіологічні процеси, та в цілому погіршує стан і відтворюваність популяції.

Ідеальний біологічний індикатор повинен задовольняти ряд потреб:

- бути типовим для даних умов;
- мати високу чисельність в досліджуваному екотопі ;
- мешкати в даному місці і на протязі багатьох років, що дає можливість простежити динаміку забруднень;
- знаходитись в умовах, які зручні для відбору проб;
- давати можливість проводити прямі аналізи без

попереднього концентрування проб;

- характеризуватися позитивною кореляцією між концентрацією забруднюючих речовин в організмі-індикаторі і об'єкта дослідження;

- використовувати в природних умовах цього існування;

- має короткий період онтогенеза, щоб була можливість відслідковувати вплив чинника на наступні покоління.

Критерії вибору біоіндикатора:

- швидка відповідь;

- надійність (помилка <20 %);

- простота;

- моніторингові можливості (постійно присутній в природі об'єкт).

Методи біоіндикації поділяються на два види: реєструвальна біоіндикація і біоіндикація за акумуляцією.

Реєструвальна біоіндикація дозволяє робити висновок про вплив чинників середовища за станом особин виду або популяції, а біоіндикація за акумуляцією використовує властивість рослин і тварин накопичувати ті чи інші хімічні речовини.

Відповідно до цих методів розрізняють реєструвальні і накопичувальні індикатори.

Реєструвальні індикатори реагують на зміни стану навколишнього середовища зміною чисельності, пошкодженням тканин, соматичними проявами (в тому числі повторюваність), зміною швидкості росту та іншими добре помітними ознаками.

Накопичувальні індикатори концентрують забруднювальні речовини в своїх тканинах, певних органах і частинах тіла, які в подальшому використовуються для визначення ступеня забруднення навколишнього середовища за допомогою хімічного аналізу. Прикладом подібних індикаторів можуть служити хітинові

покриви ракоподібних і личинок комах, що живуть у воді, мозок, нирки, селезінка, печінка ссавців, черепашки молюсків, мохи.

Біоіндикаційне діагностування стану навколишнього середовища має ряд переваг перед хімічними та фізико-хімічними методами дослідження, а саме:

- вирізняється високою чутливістю до надслабких антропогенних змін якості середовища;

- дозволяє своєчасно виявляти наслідки впливу техногенних чинників на якісні показники довкілля (наприклад, передбачити «цвітіння» води, запобігати токсикозам, пов'язаним з цим явищем та з впливом стічних вод);

- дає можливість оцінити рівень забруднення в умовах великого різноманіття ситуацій;

- забезпечує вчасне виявлення наслідків та надання характеристики антропогенних впливів на екосистему, які мали місце в минулому (або напередодні аналізу), та прогнозування їх післядії.

Біоіндикація може здійснюватися на всіх рівнях організації живого: біологічних макромолекул, клітин, тканин і органів, організмів, популяцій (просторова угруповання особин одного виду), спільнот, екосистем і біосфери в цілому.

На нижчих рівнях біоіндикації можливі прямі і специфічні форми біоіндикації, на вищих – лише непрямі і неспецифічні. Однак саме останні дають комплексну оцінку впливу антропогенних впливів на природу в цілому.

Ряд рослин-індикаторів певним помітним способом реагують на підвищення або зниження концентрації мікро-тамакроелементів у ґрунті. Це явище використовується для попередньої оцінки ґрунтів, виявлення можливих місць пошуку корисних копалин.

Розглядаються й аналізуються ці ознаки на різних рівнях

організації. Відгуки на нижчих рівнях організації характеризуються високою чутливістю й специфічністю, тоді як на вищих рівнях найкращі з екологічної точки зору.

Як приклади чутливих біоіндикаторів атмосферного забруднення можна навести епіфітні лишайники, чутливі до якості повітря – багата флора лишайників свідчить про якісне повітря, тоді як відсутність лишайників указує на забруднення повітря SO₂. Відомо, що сільськогосподарські бур'яни проростають на ґрунтах певної якості. Так, *Teesdalia nudicaulis* можна зустріти лише на кислих ґрунтах, тоді як *Mercurialis annua* – на основних.

Література до розділу: [4; 5; 6; 7; 16; 17; 19; 23; 26].

Питання для самоконтролю

1. Що таке біоіндикація?
2. В чому полягають переваги біоіндикаційних методів перед традиційними?
3. Розкрити поняття «біоіндикатор».
4. Яка головна мета біоіндикації?
5. Можливості застосування біоіндикації на різних рівнях організації живої матерії.
6. Критерії вибору біоіндикатору.
7. Методи біоіндикації. Їх класифікація.
8. Рівні біоіндикаційних досліджень.
9. Прояв дії полютантів на біоіндикатори.
10. Завдання біоіндикації.

РОЗДІЛ 2

ОСОБЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РІЗНИХ ТАКСОНОМІЧНИХ ГРУП В БІОІНДИКАЦІЙНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

2.1 Особливості використання рослин як біоіндикаторів

За допомогою рослин можна проводити біоіндикацію усіх природних середовищ. Індикаторні рослини застосовуються при оцінюванні механічного і кислотного складу ґрунтів, їх родючості, зволоженості та засолення, ступеню мінералізації ґрунтових вод і ступеню забруднення атмосферного повітря газоподібними сполуками, а також при виявленні трофічних властивостей водойм і ступеню їхнього забруднення полутантами. Наприклад, на вміст у ґрунті свинцю вказують види костриці (*Festuca ovina*), мітлиці (*Agrostis tenuis*), Цинку – відділ фіалки (*Viola tricolor*), талабану (*Thlaspi alpestre*), Купруму та Кобальту – смольовка (*Silene vulgaris*), багато злаків та мохи.

Чутливі індикатори вказують на присутність забруднюючої речовини в повітрі або в ґрунті ранніми морфологічними реакціями – зміною забарвлення листя (поява хлорозів; жовте, буре чи бронзове забарвлення), різні форми некрозів, передчасне ув'ядання та опадання листя. У багаторічних рослин забруднюючі речовини викликають зміну розмірів, форму та кількість органів, напрямок росту пагонів або зміну плодючості. Подібні реакції зазвичай неспецифічні.

Деякі природні чинники можуть викликати симптоми подібні до антропогенних порушень. Так, наприклад, хлороз листя може бути викликаний нестачею заліза в ґрунті або раннім заморозком. Тому при визначенні морфологічних змін у рослин необхідно враховувати можливість дії інших вражаючих чинників.

Індикатори іншого типу являють собою рослини-біоіндикатори.

Вони накопичують у своїй тканині забруднюючі речовини або шкідливі продукти метаболізму, що утворилися під дією забруднюючих речовин, без видимих змін. При перевищенні порогу токсичності отруйної речовини для даного виду проявляються різні відповідні реакції, які виражаються у зміні швидкості росту і тривалості фенологічних фаз, біометричних показників і за кінцевим розрахунком, знижені продуктивно.

Отримані точні кількості дані про динаміку і величину стресових впливів на основі морфологічних змін неможливо, але можна досить точно визначити величину стресового впливу.

Б.В. Виноградов класифікував індикаторні ознаки рослин, як флористичні, фізіологічні, морфологічні і фітоценотичні. Флористичними ознаками є розбіжності складу рослинності ділянок, що досліджуються, які сформувалися внаслідок певних екологічних умов. Індикаторне значення має як наявність, так і відсутність виду. До фізіологічних ознак відносять особливості обіму речовин рослин, до анатомо-морфологічних ознак – особливості внутрішньої і зовнішньої будови, різного роду анатомії розвитку і новоутворення, до фітоценотичних ознак – особливості структури рослинного покриву, ярусності та розсіяності видів рослин, ярусності, мозаїчності, ступень зімкненості.

Дуже часто з метою біоіндикації використовують різні аномалії росту і розвитку рослин – відхилення від загальних закономірностей. Вчені систематизували їх у три основні групи, пов'язані:

- з гальмуванням чи стимулюванням нормального росту (карликовість і гігантизм);
- з деформацією стебел, листя, коренів, плодів, суцвіть;
- з виникненням новоутворень (до цієї групи відносять аномалії росту, а також пухлини).

Гігантизм і карликовість багато вчених вважають каліцтвом. Наприклад, надлишком у ґрунті міді вдвічі зменшує розміри каліфорнійського маку, а надлишок свинцю призводить до карликовості смілки.

Для біоіндикації становлять інтерес наступні деформації рослин:

- фасціації – стрічкоподібні сплюснення і зростання стебел, коренів і квітконосів;
- махровість квіток, в яких тичинки перетворюються на пелюстки;
- проліфікації – проростання квіток і суцвіть;
- асцидія – воронкоподібні, чашоподібні і трубчасті листя рослин з пластинчастими листям;
- редукція – зворотній розвиток органів рослин, виродження;
- ниткоподібність – нитчаста форма листкової пластини;
- фітоподії тичинок – перетворення в перетворення в пласке листове утворення.

Біомоніторинг може здійснюватись шляхом спостереження за окремими рослинами – індикаторами, популяцією певного виду та станом фітоценоза загалом. На рівні виду зазвичай виробляють специфічну індикацію якогось одного забруднювача, але на рівні популяції чи фітоценоза – загального стану природного стану довкілля.

2.2 Особливості використання тварин в якості біоіндикаторів

Особливості, завдяки яким тварин зручно використовувати в якості біоіндикаторів:

- будучи консументами вони знаходяться на різних трофічних рівнях екосистем і акумулюють через харчові ланцюги забруднені речовини;

– мають активних обмін речовин, що сприяє швидкому прояву, впливу негативних чинників середовища на організм;

– мають добре диференційовані органи, які мають різну здатність до накопичення токсичних речовин та неоднозначний фізіологічний відгук, що дозволяє досліднику мати широкий набір тестів на рівні тканин, органів і функцій;

– складні пристосування тварин до умов середовища і чіткі поведінкові реакції, найбільш чутливі до антропогенних змін, що дає можливість безпосередньо спостерігати і аналізувати швидкі відгуки на вплив, що чиниться;

– тварин з коротким циклом розвитку і чисельним потомством можна використовувати для проведення ряду тривалих спостережень і прослідкувати вид чинників на наступні покоління, для довго живучих тварин можна обрати чутливі тести відповідно до особливо вразливих етапів онтогенезу.

Основна перевага використання хребетних тварин в якості індикаторів полягає їх фізіологічної близькості до людини.

Основні недоліки пов'язані зі складністю їх виявлення в природі, відлову, визначення виду.

Поведінкові та фізіологічні параметри особливо чутливі до змін зовнішнього середовища. Токсиканти проникають у кістки чи кров хребетних тварин відразу впливають на функції, що забезпечують життєдіяльність. Навіть при вузько специфічному впливі токсиканта на певну функцію її зсуви відображаються на стані всього організму внаслідок взаємної пов'язаності в процесі життєдіяльності.

Досить чітко присутність токсикантів проявляється в порушенні ритму дихання, серцевих скорочень, швидкості травлення, ритму виділень, тривалості циклів розмноження.

Для того щоб мати можливість порівнювати матеріал зібраний різними дослідниками у різних районах, набір видів індикаторів повинен бути єдиним і невеликим.

Критерії придатності різних видів ссавців для біондикаційних досліджень:

- приналежність до різних ланок трофічного ланцюга;
- осілість або відсутність великих міграцій;
- широкий ареал розповсюдження (порівняльно висока евритопність); не використовує у якості індикаторів ендеміків;
- приналежність до природних угруповань (виключає синантропні види, що харчуються коло житла людини і неефективно характеризувати елементний стан забруднення);
- чисельність виду повинна забезпечувати достатній матеріал для аналізу;
- доступність і простота добування виду.

2.3 Особливості використання мікроорганізмів у якості біоіндикаторів

Мікроорганізми – найбільш швидко реагують на зміну навколишнього середовища біоіндикатори. Їх розвиток і активність знаходяться в прямому зв'язку з складом органічних і неорганічних речовин у середовищі, так як мікроорганізми здатні руйнувати сполуки природного і антропогенного походження. На цьому засновані принципи біоіндикації з використанням мікроорганізмів. Необхідно мати відомості про склад, кількість і функціональну активність останніх.

При прямому мікроскопіюванні, наприклад води, кількість мікроорганізмів виявляється невелика, тому для вивчення морфологічного розмаїття і оцінок їх загального числа в одиниці об'єму проводять концентрування проб. Для фільтрації води використовують фільтри Зейтца або іншої конструкції з розміром пор 0,35; 0,5; 0,23; 0,3; 0,4 мкм. Обсяг фільтрованої води може бути від 10 до 20 см³ в залежності від типу водойми. Для підрахунку чисельності мікроорганізмів фільтр профарбовують,

переносять на предметне скло в краплю імерсійного масла і мікроскопіюють з переміщенням сітчастого мікрометра. Прораховується 20 полів зору; в кожному полі зору повинно бути не менше 50 мікробів.

Число колонієутворюючих клітин бактерій в 1 см³ води розраховують за формулою:

$$N = \frac{K_n}{V}, \quad (2.1)$$

де $K_n = 5/5$, (5 – площа фільтра, мкм²; 5, – площа, на якій прораховуються клітини, мкм²); n – середня кількість бактерій в одному полі зору; V – об'єм профільтрованої води, см³.

Для визначення біомаси бактерій необхідно визначити розмір клітин за допомогою мікрометра.

Виявлення мікроорганізмів та їх облік можна здійснити шляхом висіву проб на рідкі і агаризовані поживні середовища. Для обліку сапрофітів використовують м'ясопептонний агар, оліготрофних бактерій вирощують на агаризованому середовищі з досліджуваної водойми.

Найчастіше для оцінки якості вод використовують показник мікробного числа – це числа клітин сапрофітних аеробних організмів в 1 см³ води. У водопровідній воді згідно з ДСТУ мікробне число не повинно перевищувати 100. У чистих водоймах кількість сапрофітів може обчислюватися десятками і сотнями, а в забруднених і брудних водоймах цей показник досягає сотень тисяч і мільйонів.

Крім мікробного числа використовуються дані за видовим складом мікроорганізмів. У полісапробній зоні спостерігається масовий розвиток нитчастих бактерій. У забрудненої фекаліями воді високий коли-індекс, що характеризує наявність у середовищі ентеробактерій *Escherichia coli* – умовних патогенів і постійних мешканців кишечника людини і тварини. Визначення коли-індексу ведеться в середовищі Ендо (фуксин-сульфатний агар)

підрахунком колоній *Escherichia coli*. Іноді роблять перерахунок, визначаючи колі-титр – найменший об'єм води (в см³), що містить одну кишкову паличку. Колі-титр = 1000/колі-індекс.

2.4 Симбіотичні методи в біоіндикації

Симбіоз широко поширений в природі, а симбіотичні асоціації часто відіграють ключову роль у підтримці нормального функціонування наземних, прісноводних і морських екосистем. Симбіоз грибів і азотфіксуючих бактерій з вищими рослинами і водоростей з грибами забезпечив процвітання цих асоціацій у наземному середовищі. Лишайники, симбіотична асоціація водоростей і грибів, дуже чутливі до якості середовища і вже давно використовуються як традиційні біомаркери стану атмосферного повітря. Мадрепорові корали (склерактинії) – симбіоз одноклітинних водоростей зооксантел з кишковопорожнинними тваринами, що визначає важливу ландшафтоутворюючу роль цієї асоціації в тропічних морях. Прямо або опосередковано регулюючи чисельність своїх господарів, симбіонти істотно впливають на їх динаміку чисельності й структуру популяції. Біорізноманіття симбіонтів, як правило, значно перевищує різноманітність їх господарів. Так, на Великому Бар'єрному рифі (коралова споруда) водиться близько 2 000 видів риб, а їх паразитофауна представлена більш ніж 20000 видів, три види австралійських промислових креветок як симбіонтів мають 38 видів організмів різних систематичних груп.

Крім уточнення оцінки біорізноманіття за кількістю видів облік симбіонтів дозволяє отримувати достовірну інформацію про якість середовища, так як ступінь інтенсивності інвазії (відносна кількість господарів, які мають симбіонтів) і екстенсивність інвазії (середня кількість симбіонтів на господаря) безпосередньо залежать від умов, в яких знаходиться популяція господарів.

Багато симбіонтів чутливі до змін зовнішнього середовища, зокрема симбіонти водних організмів – до забруднення і опріснення, а симбіонти наземних організмів – до радіонуклідів. При оцінці різноманітності фауни симбіонтів широко використовують статистичні методи. Облік симбіотичних, в тому числі і паразитичних, організмів, а також дослідження стану симбіотичних асоціацій дозволяють більш точно оцінити різноманіття і характер динамічних процесів в екосистемах і можуть бути рекомендовані в якості важливих елементів екодіагностичних досліджень.

Література до розділу: [1–3; 5; 9–12; 15; 23; 25]

Питання для самоконтролю

1. Методи фітоіндикації.
2. Індикаційні деформації рослин.
3. Застосування симбіотиків в біоіндикації.
4. Індикаторні види бактерій.
5. Переваги використання в якості біоіндикаторів тварин.
6. Критерії придатності видів ссавців для використання в якості індикаторів.
7. Мікробне число як важливий біоіндикаційний показник.
8. Індикація з використанням *Escherichia coli*.
9. Біоіндикація з застосуванням рослин-акумуляторів токсичних речовин.
10. Основна перевага використання хребетних тварин в якості індикаторів.

РОЗДІЛ 3

ОЦІНКА ЯКОСТІ ДОВКІЛЛЯ БІОЛОГІЧНИМИ МЕТОДАМИ

3.1 Оцінка якості повітря

Одним з найбільш поширених видів забруднень природного середовища є викиди в атмосферу токсичних газоподібних сполук. Основними з них вважаються: двоокис сірки, окис вуглецю, фтористий водень, сірководень, окиси азоту, хлористий водень і ін. Надходження їх в атмосферу пов'язано з діяльністю різних підприємств, спалюванням сміття та викидами автотранспорту. Екологічні наслідки забруднення атмосферного повітря обумовлені впливом газоподібних сполук, що проникають в організм, і випаданням кислотних опадів, що утворюються при з'єднанні токсикантів з водою.

Добрими індикаторами забруднення повітряного середовища є рослини, оскільки вони більшою мірою уражаються забрудненим повітрям і сильніше реагують на ті концентрації більшості шкідливих домішок, які у людей і тварин не залишають видимих явищ отруєння. Дія газових полутантів на рослини залежить від виду шкідливих речовин, концентрації забруднюючих речовин, тривалості впливу, відносної сприйнятливості видів рослин до дії газів і стадії фізіологічного розвитку, в якій знаходиться рослина в момент впливу шкідливих речовин. Перші порушення в анатомічній будові простежуються у будові хлоропластів. Надалі відзначаються руйнування цитоплазми і стискання клітини. Виділяють три стадії ушкоджень хвої ялини і сосни: пошкоджуються тільки хлоропласти, пошкоджуються і інші органи, органи зникають або перетворюються в безструктурну масу.

Інтенсивність впливу кислотних опадів залежить від

змочуваності поверхні рослин. Ступінь пошкодження фітомаси змінюється в залежності від видової приналежності. При біоіндикаційних дослідженнях і аналізі реакції організму на вплив забруднення повітря слід розрізняти газостійкість і газочутливість рослин.

Газостійкість – здатність зберігати властиві організму процеси життєдіяльності і насінневого відтворення в умовах забруднення газами і парами атмосферного повітря. Рівень газостійкості виду або особини оцінюється у розмірі граничної концентрації токсичної речовини, які не викликають функціональних і структурних порушень в організмі в період найвищої фізіологічної активності і чутливості до діючих атмосферних домішок.

Газочутливість – реакція організму на вплив забруднюючої речовини в певний період його розвитку. У біоіндикаційних дослідженнях необхідно враховувати систематичну приналежність видів і зміна ступеня їх газостійкості. Як біоіндикаційних ознак можна використовувати різні специфічні і неспецифічні ознаки. Неспецифічна індикація аеротехногенного забруднення може проводитися за різними біохімічним і фізіологічним реакцій. Основними індикаторними ознаками, що відображають стресове навантаження, є: зміна активності ферментів; руйнування пігментів в листках рослин під дією аеротехногенного забруднення. Добре вивчено зниження кількості хлорофілу, перш за все хлорофілу «а». Як індикатор використовується зміна співвідношення хлорофіл «а» / хлорофіл «b»; зміна кількості і співвідношення каротиноїдів. При впливі SO₂ збільшується вміст лютеїну і зменшується кількість р-каротину; передчасне поява гормонів старіння – етилену і абсцизової кислоти; зміна мінерального обміну. Індикаторними ознаками є зміна вмісту жирних кислот, збільшення вмісту сахарози і глюкози. До числа найбільш показових ознак специфічної індикації відноситься

зміна хімічного складу біомаси і накопичення полютантів.

Спостерігається залежність змісту полютантів від віку листя. Неспецифічна індикація проводиться за різними морфологічними, анатомічним і поведінковим параметрами. Широко розповсюдженими індикаторними ознаками є наявність хлорозів і некрозів, в результаті ураження ними надземної маси рослин відбувається передчасне опадання листя – дефоліація. Біоіндикаційними ознаками слугують: зміна розмірів клітин тканин, смоляних ходів, листя, трансформація розмірів стебел і в цілому організмів. Порушення процесів життєдіяльності під впливом токсичних газів може призводити до зміни будови тканин, окремих органів і в цілому форми росту рослин. Крайнім випадком прояву впливу токсикантів є утворення тератому. Часто відбувається деформація листових пластинок деревних порід і чагарників – виникають потворні перетягування, здуття або викривлення листових пластин, змінюється форма слані лишайників. У комах можуть виникати зміни структури поверхні тіла.

Індикатором забруднення повітря є високий рівень смертності бджоли медоносною і інших комах. Інтегральним ознакою токсичного впливу є зниження біопродуктивності і запасів біомаси. Хорошим індикатором забруднення атмосферного повітря є зниження проективного покриття або повне зникнення епіфітних лишайників. Як індикатор може бути використано зміна плодючості організмів. При забрудненні повітря відбувається зменшення утворення плодових тіл у лишайників, збільшення кількості стерильних квіток в суцвіттях рослин. При хронічному забрудненні повітря відбуваються зміни в складі, структурі і будову фіто- і зооценозів. При сильному забрудненні відзначається деградація лісових угруповань.

Як відомо, повітря являє собою суміш певних газів, всюди на Землі представлених приблизно в рівних об'ємних частках.

Забруднення повітря має місце в тому випадку, якщо в суміші є речовини в таких кількостях і так довго, що створюють небезпеку для людини, тварин, рослин або майна. Від забруднення повітря страждають всі живі організми, але особливо рослини. З цієї причини рослини, в тому числі нижчі, найбільш придатні для виявлення початкової зміни складу повітря. Відповідні індекси дають кількісне уявлення про токсичний ефект забруднюючих повітря речовин.

Лишайники є симбіотичними організмами. Багатьма дослідниками показана їх придатність для цілей біоіндикації. Вони мають досить специфічні властивості, так як реагують на зміну складу атмосфери, володіють відмінною від інших організмів біохімією, широко поширені по різних типах субстратів, починаючи зі скель і кінчаючи корою і листям дерев, зручні для експозиції в забруднених районах.

Виділяють чотири основні екологічні групи лишайників: епіфітні – зростаючі на корі дерев і чагарників; епіксільні – зростаючі на оголеній деревині; епігейні – на ґрунті; епілітні – на каменях. З них найбільш чутливі до забруднення повітря епіфітні види. З допомогою лишайників можна отримувати цілком достовірні дані про рівні забруднення повітря. При цьому можна виділити групу хімічних сполук і елементів, до дії яких лишайники мають підвищену чутливість: оксиди Сульфуру і Нітрогену, фторо- і хлороводень, а також важкі метали. Багато лишайників гинуть при невисоких рівнях забруднення атмосфери цими речовинами. Процедура визначення якості повітря за допомогою лишайників носить назву ліхеноіндикація.

Оцінку чистоти повітря можна проводити з допомогою вищих рослин. Наприклад, голонасінні – відмінні індикатори чистоти атмосфери. Можливо також вивчення мутацій у волосках тичинкових ниток традесканції. Французькі вчені помітили, що при збільшенні у повітрі окису вуглецю та азоту, що викидаються

двигунами внутрішнього згоряння, забарвлення її тичинкових ниток змінюється від синього до рожевого. Наслідки порушень в індивідуальному розвитку рослин можуть бути виявлені також за частотою зустрічальності морфологічних відхилень (фенодевіантів), величиною показників флюктуючої асиметрії (відхилення від досконалої білатеральної і радіальної симетрії), методом аналізу складноорганізованих комплексних структур (фрактал-аналіз). Рівні будь-яких відхилень від норми виявляються мінімальними лише при оптимальних умовах і зростають при будь-яких стресових впливах.

3.2 Оцінка якості води

Гідросфера слугує природним акумулятором більшості забруднюючих речовин, що надходять безпосередньо в атмосферу і літосферу. Можна виділити найбільш суттєві проблеми, пов'язані з антропогенним впливом на водні об'єкти: евтрофікування, надмірне надходження органічних речовин, закислення, забруднення токсичними хімічними речовинами, вплив гідротехнічних робіт. Показниками евтрофікації є: послідовна зміна популяцій водоростей і переважання в евтрофних екосистемах синьо-зелених і зелених водоростей; значне збільшення біомаси фітопланктону; зниження видового різноманіття; збільшення кількості нитчастих водоростей в прибережній зоні; збільшення чисельності, біомаси і зміна складу зоопланктону і бентосу; збільшення їх біомаси; підвищення зараженості паразитами. Зростає первинна продукція фітопланктону (оцінюється за інтенсивністю фотосинтезу). Відзначається тенденція до зменшення середніх розмірів організмів всіх екологічних груп.

Забруднення органічними речовинами виражається в зміні видового складу біоценозу. Кількість видів зменшується, у тварин

переважають види, стійкі до дефіциту кисню, підвищується чисельність сапрофітної мікрофлори. Для оцінки рівня забруднення водних об'єктів органічною речовиною створена система сапробності, що дозволяє розділити водні об'єкти та їх окремі ділянки на зони (ксено-, оліго-, мезо- або полісапробної). Складені списки організмів – індикаторів сапробності – рослин і тварин, показових для того чи іншого рівня забруднення акваторії органічною речовиною.

Закислення (ацидифікація) водойм супроводжується глибокими перебудовами водних біоценозів на всіх трофічних рівнях. Водойми з різною природною кислотністю водного середовища населяють гідробіонти, адаптовані до певних інтервалах концентрацій водневих йонів (еврибіонтні організми пристосовані до найбільш значних коливань рН водного середовища, стенобіонти, навпаки, життєздатні при незначних коливаннях рН). По відношенню до рН водні організми підрозділяються на ацидофіли (віддають перевагу кисле середовище), індиферентний і алкаліфіли (віддають перевагу лужне середовище). У міру підвищення кислотності водного середовища зменшується видове різноманіття водних організмів, відбувається зміна домінантних видів, знижується інтенсивність продукційних процесів.

Хімічне забруднення водних об'єктів відбувається в результаті надходження токсичних речовин із стічними водами і атмосферними опадами, а також в результаті техногенних аварій.

Індикаторним показником хімічного забруднення є накопичення стійких токсикантів в гідробіонтах (переважно в рибі і організмах бентоса). Під впливом токсичних речовин відзначається зменшення видового різноманіття, зниження чисельності і біомаси гідробіонтів, зміна структури спільнот фітопланктону, зоопланктону, зообентосу, переважання токсикорезистентних видів. У водних організмів відзначається

збільшення частоти появи тератому. У риб спостерігаються ознаки хронічного токсикозу, що виражаються в патологічних змінах органів і тканин. Виявляється збільшення частоти змін генетичного матеріалу гідробіонтів (генотоксичний вплив). Гідротехнічні роботи, що викликають збільшення надходження зважених речовин у водну товщу, призводять до зменшення чисельності організмів – фільтраторів. Відзначаються зміни складу фітопланктону, зокрема, зменшення чисельності нитчастих форм водоростей.

Насамперед треба пам'ятати, що біологічне дослідження вивчає не воду, а водойму в цілому як єдину екосистему. М.С. Строганов визначив водну токсикологію як науку про токсичність середовища існування гідробіонтів на всіх рівнях організації живого, яка вивчає всі реакції гідробіонтів на забрудненні будь-якого походження.

Для того щоб оцінити рівень токсичного забруднення водного об'єкта промисловими або іншими стоками, потрібно відповісти на питання: чи токсична вихідна вода, що надходить у водойми зі стічними водами; яка ступінь її токсичності; на якій відстані від джерела забруднення токсичність знижується до мінімального значення. В якості еквівалента було використано розведення стічної рідини, при якій ще спостерігається пошкоджуючий ефект по застосованому біотесту. Орієнтуючись як на основний показник токсичності хімічних речовин для гідробіонтів на величину медіальної летальної концентрації (LC_{50}), прийняту в загальній (медичної) токсикології для теплокровних тварин, М.С. Строганов запропонував кількісне визначення токсичності як величини, зворотної медіальної летальної концентрації, яка встановлюється в 48-годинному досліді:

$$T = \frac{1}{LC_{50}^{48}}. \quad (3.1)$$

Розвиваючи цей підхід, А.П. Брагінський запропонував

визначення токсичності природних вод як величини зворотної до розведення досліджуваної води, при якому проявляється однозначна токсична відповідь за обраним (бажано, стандартизованому) біотесту:

$$T_n = \frac{1}{d}, \quad (3.2)$$

де T_n – токсичність, d – коефіцієнт розведення.

Наприклад, якщо $d = 1:1; 1:2; 1:5; 1:10; 1:25; 1:50; 1:100; 1:500$ і т. п., то токсичність відповідно виражається величинами 1; 2; 5; 10; 25; 50; 100; 500 і т. п, тобто цілими числами, зручними для порівняння. Величину, обернену розведенню, назвали балом інтегральної токсичності – БІТ.

Для біологічної індикації якості вод можуть бути використані практично всі групи організмів, що населяють водойми: планктонні і бентосні безхребетні, найпростіші, водорості, макрофіти, бактерії і риби. Кожна з них, виступаючи в ролі біологічного індикатора, має свої переваги і недоліки, які визначають межі її використання при вирішенні завдань біоіндикації, так як всі ці групи відіграють провідну роль у загальному круговороті речовин у водоймі. Організми, які зазвичай використовують у якості біоіндикаторів, відповідальні за самоочищення водойми, беруть участь у створенні первинної продукції, здійснюють трансформацію речовин і енергії у водних екосистемах. Будь-який висновок за результатами біологічного дослідження будується на підставі сукупності всіх отриманих даних, а не на підставі одиничних знахідок індикаторних організмів. При виконанні дослідження, так і при оцінці отриманих результатів необхідно мати на увазі можливість випадкових, місцевих забруднень в точці спостереження. Наприклад, розкладаються рослинні залишки, труп жаби або риби можуть викликати місцеві зміни в характері населення водойми. Найбільш розробленою оцінкою ступеню забрудненості вод за

індикаторними організмів є система сапробності.

Метод враховує відносну частоту трапляння гідробіонтів h (від 1 до 9 або від одиничних примірників, наприклад інфузорій, у полі зору мікроскопа і до дуже частого трапляння, коли їх багато в кожному полі зору) і їх індикаційну значимість S . Для статистичної достовірності результатів необхідно, щоб в пробі містилося не менше 12 видів індикаторних організмів з однієї зони сапробності $\sum_{i=1}^{12} hi \geq 30$.

Індикаторні значимості S для відповідних зон сапробності табульовані для багатьох організмів. По розрахованій величині S можна судити про стан водоймища. Висновок про ступінь забрудненості води дають зазвичай за системою балів від одного до шести.

Якість води можна оцінити за допомогою біотичного індексу по системі Ф. Вудівіса.

Вищі водні рослини серед вищевказаних груп організмів-індикаторів є найменш вивченою ланкою, хоча мають ряд переваг. Вони являють собою видимий неозброєним оком і тому дуже зручний об'єкт для спостереження, а також дають можливість при рекогносціювальному гідробіологічному огляді водойм в першому наближенні візуально оцінити їх екологічний стан. Макрофіти дозволяють визначити трофічні властивості води, а іноді і специфіку її хімізму, що має істотне значення при біоіндикації чистих вод.

3.3 Діагностика ґрунтів

Ґрунт – це єдиний компонент ландшафту, який виникає в результаті взаємодії всіх інших його компонентів: гірських порід, клімату, природних вод, рослинності, мікроорганізмів і тварин. Будучи основним депонуючим середовищем, ґрунти самі можуть

розглядатися як інтегральний індикатор забруднення природно-територіального комплексу. Забруднені ґрунти є джерелами вторинного забруднення приземного шару повітря, поверхневих і ґрунтових вод; з ґрунтів рослини поглинають мінеральні речовини, залучаючи їх у біологічний круговорот. Таким чином, ґрунтовий покрив визначає міграцію хімічних елементів по ланцюгу харчування, тому вивчення його стану є істотною частиною робіт по оцінці впливу антропогенних чинників на природне середовище. Основні характеристики ґрунтів, які є об'єктом біоіндикації, – кислотність, механічний склад, вологість, вміст поживних речовин. За ступенем накопичення деяких токсичних речовин в рослинах (аккумулятивна біоіндикація) судять про ступінь забруднення ними ґрунту.

Біоіндикація процесів закислення, нейтралізації або підлужнення ґрунтових розчинів проводиться з використанням фітоіндикаторів кислотності ґрунтів, а також зміни видового складу біоценозу і його динаміки в часі. По відношенню до рН навколишнього середовища виділяються ацидофіли – рослини, які ростуть на кислих ґрунтах; базифіли – рослини, які ростуть на лужних ґрунтах; нейтрофіли – рослини ґрунтів з нейтральною реакцією. Залежно від ставлення до великої кількості поживних речовин в ґрунтах рослини поділяються на: оліготрофи – рослини, які ростуть на бідних ґрунтах; мезотрофи – рослини, які ростуть на ґрунтах із середнім рівнем вмісту біогенних речовин; мегатрофи – рослини, які ростуть на багатих ґрунтах. Залежно від ставлення до засоленості ґрунтів у рослин виділяються галофіти – рослини засолених місцезростань і галофоби (глікофіти) – види рослин, що уникають засолених ґрунтів. Виділяють факультативні і облігатні галофіти, евригалінні і стеногалінні види, здатні виростати в умовах широкої або вузької амплітуди концентрації солей і переносити різне за складом засолення або адаптовані до певного виду засолення. Рослини можуть служити індикаторами

підвищеного вмісту в ґрунті різних елементів. Виділяють рослини кальцефіли і силіцифіли. У районах з природним підвищеним вмістом важких металів виникають металофітні флори (мідна, кобальтова і т.д.), що складаються зі специфічних видів.

В основі принципу біологічної діагностики ґрунтів лежить уява про те, що ґрунт як середовище являє собою єдину систему з популяціями різних організмів, що її населяють.

Краще за все розроблені ботанічні методи фітоіндикації і діагностики ґрунтів. Наприклад, шляхом аналізу складу і структури рослинних спільнот, розповсюдження рослин індикаторів або визначення індикаційних ознак в окремих видах рослин можна встановити тип ґрунту, ступінь його гідроморфізму, розвиток процесів заболочення, та інше.

Еврибіонти малоприсадибні для індикаційних цілей, тоді як стенобіонти слугують хорошими індикаторами певних умов середовища й властивостей субстрату. Це положення являє собою загальний теоретичний принцип в біологічній діагностиці. Однак використання для індикації одного виду не дає повної впевненості в правильності висновків. Краще досліджувати весь комплекс організмів, з яких одні можуть бути індикаторами на вологість, другі – на температуру, треті – на хімічний або механічний склад.

Особливо цінні та зручні для індукційних робіт спільноти крупних безхребетних (дощові черви, багатоніжки, личинки комах). Так, стафілініди роду *Bledius* та чорнотілки роду *Belopus* показові для солончаково-солонцевих ґрунтів, багатоніжки-ківсяки, деякі мокриці й легеневі молюски слугують індикаторами на вміст у ґрунті вапняку. Дощові черви *Octolasion lacteum* та деякі види проволочників являються показниками високого вмісту кальцію в ґрунтових водах.

Методологічна та біохімічна характеристика ґрунтів – це найбільш складні розділи ґрунтової біодіагностики. Мікроорганізми – дуже чутливі індикатори, що різко реагують на

різні зміни в середовищі. Ґрунт характеризується не тільки складом і чисельністю різних груп біоти, але і їх сумарною активністю, а також активністю біохімічних процесів, що обумовлені наявністю визначеного типу ферментів, які виділені в результаті життєдіяльності рослин, тварин та мікроорганізмів, а також акумульованих ґрунтом після руйнування клітин.

Показниками біологічної активності ґрунтів, що застосовуються в біоіндикації, можуть слугувати кількісні характеристики чисельності і біомаси різних груп ґрунтової біоти, їх загальна продуктивність, деякі енергетичні дані, активність основних процесів пов'язаних з кругообігом елементів, ферментативна активність ґрунтів, а також кількість та швидкість накопичення деяких продуктів життєдіяльності організмів що знаходяться в ґрунтах.

Для визначення розмірів мікробіологічної біомаси і продуктивності використовують не тільки прямий підрахунок числа клітин, але є непрямі методи – біохімічні та фізіологічні. Наприклад біомасу водоростей запропоновано визначати кількістю хлорофілу, бактерій – за специфічною для прокариот мурамовій кислоті, грибів – за хітином який входить в склад їх клітинної стінки. Мікробну активність в ґрунті визначають також за рівнем АТФ та полі фосфатів, вмісту ДНК, РНК та амінокислот.

Найбільш загальними являється методи, що дозволяють оцінити сумарні біологічні процеси по вихідним або кінцевим продуктам: методи визначення дихання ґрунтів за поглинанням кисню або виділенням вуглекислого газу; врахування активності азотфіксації за відновленням ацетилену; мікрокалориметричні виміри для встановлення рівня термостійкості, аплікаційні методи з використанням спеціальних матеріалів (целюлози, хроматографічного паперу, целофану) для оцінки швидкості й ступеню їх розкладання і накопичення продуктів метаболізму, наприклад амінокислот. Особливу групу складають методи

визначення потенціальної активності окремих ферментів в ґрунтах (саме активності, а не кількісного складу).

3.4 Біологічні індекси і коефіцієнти, що застосовуються при індикаційних дослідженнях

Достовірність – це ступінь спряження індикатора з об'єктом індикації. Абсолютно достовірним вважається індикатор, якому об'єкт індикації відповідає в 100 % випадків. Якщо спряженість перевищує 90 %, а показник достовірності більше 9, то індикатор вважається надійним.

Задовільним індикатор буде в тому випадку, якщо спряження дорівнює 75-90 %. Показник достовірності знаходиться в межах 3-9. Сумнівним індикатор вважається, коли спряженість становить 60-70 %, а показник достовірності дорівнює 1,5-3. Коли спряженість менше 60 %, а показник достовірності менше 1,5, індикація неможлива. Для індикаторів введено показник *значущості*, який дає уявлення про те, наскільки часто індикатор зустрічаються разом з об'єктом індикації. Значення виражається відношенням (у %) кількості еталонних ділянок, де об'єкт індикації присутній разом з індикатором, до загальної кількості еталонних ділянок з об'єктом індикації. Наприклад, об'єкт індикації виявлений на 60 еталонних ділянках, до того ж на 42 ділянках він присутній разом з індикатором; Отже значимість даного індикатора складає: $\frac{42}{60} \cdot 100\% = 70\%$.

Коефіцієнти достовірності і значущості є важливими характеристиками індикаторних властивостей рослин. Якщо вони достатньо високі можна починати фітоіндикацію. При біоіндикації забруднення атмосферного повітря або ґрунтового покриву застосовують *коефіцієнт Жакара*, який визначається як кількість видів, загальних для двох майданчиків, виражений у відсотках від загального числа видів:

$$K_j = \frac{c}{a+b+c} \cdot 100\%, \quad (3.3)$$

де a – число видів на першому майданчику; b – число видів на другому майданчику; c – кількість спільних видів для цих двох майданчиків. Узагальненням коефіцієнта Жакара є *індекс біотичної дисперсії Коха*, що слугує для оцінки загального ступеня подібності деякого числа видових списків. Якщо n списків включають відповідно $S_1, S_2 \dots S_n$ видів і загальне число відмінних видів дорівнює S , то індекс Коха:

$$I_k = \frac{(n-1)S}{(\tau - S)} \cdot 100\%. \quad (3.4)$$

Інший широко використовуваний коефіцієнт спільності, коефіцієнт Серенсена K_s дорівнює числу видів, спільних для двох ділянок c , вираженому у відсотках від середнього числа видів на ділянках a і b :

$$K_s = \frac{2c}{a+b} \cdot 100\%. \quad (3.5)$$

Цей індекс можна застосовувати для реєстрації змін в біогеоценозі за певний проміжок часу. При цьому потрібно знати число видів у момент початку спостереження і в момент узятий для порівняння.

Якщо оцінка зміни ступеня проєктивного покриття важливіша, ніж оцінка зміни числа видів, застосовують дещо інший коефіцієнт спільності. При цьому зміна ступеня проєктивного покриття враховується за допомогою *відсоткової подібності (ВП)*:

$$ВП = \frac{2 \sum \min(x_i \cdot y_i)}{\sum (x_i \cdot y_i)} \cdot 100\%, \quad (3.6)$$

де $\min(x_i \cdot y_i)$ – найменший ступінь покриття виду, загального для описів x і y .

Важливою вимогою при проведенні порівняльних оцінок

біоценозів є використання статичних критеріїв, тому питання про число повторень порівнюваних майданчиків або про збільшення площ повинен бути вирішений за допомогою статистичних критеріїв.

Індекс поліотолерантності виду (ІП) відповідає певній концентрації газоподібних сполук, які забруднюють атмосферу, і з нього можна скласти карту середньорічних концентрацій забруднюючих речовин на певній території:

$$ІП = \sum_{i=1}^n \frac{a_i \cdot c_i}{c_n}, \quad (3.7)$$

де c_n – загальне проективне покриття; a_i – клас поліотолерантності i -го виду, що визначається за довідниковою таблицею у відповідності з видом лишайника; c_i – проективне покриття i -го виду.

Більш простим для використання є індекс чистоти атмосфери (ІЧА), що не вимагає спеціальних таблиць і складних розрахунків:

$$ІЧА = \sum_{i=1}^n Q_i \cdot f_i. \quad (3.8)$$

Недолік цих індексів у тому, що при їх використанні необхідно враховувати площу дослідження, Оскільки індекс значною мірою залежить від величини.

Найбільш широко в біомоніторингу використовують *індекс Шеннона-Вінера* – *індекс* H . Розмаїття H по Шеннону-Вінеру математично характеризує два параметра ценозу – число наявних видів і рівномірність розподілу їх популяцій (чисельність особин або їх кількісну частку):

$$H = \sum_{i=1}^S h_i, \quad (3.9)$$

де $h_i = p_i \ln p_i^{-1}$.

Величина індексу різноманітності Шеннона-Вінера зазвичай укладається в інтервалі від 1,5 до 3,5 і дуже рідко перевищує 4,5.

Застосування цього індексу для екологічного аналізу водойми показало, що його величина різко падає в місці скиду стічних вод незалежно від того, чи оцінюється він на рівні видів, родів, сімейств чи класів гідро біонтів на різних трофічних рівнях.

Індекс видового різноманіття Маргалефа d був запропонований для оцінки забруднення водойм, які зазвичай характеризуються зменшенням біорізноманіття: $d=(S-1)\ln N$, де S – кількість видів; $\ln N$ – натуральний логарифм кількості особин.

Коефіцієнт приймає максимальне значення, якщо всі особини належить до різних видів, і дорівнює нулю, коли всі особини належать до одного виду.

Протічні водойми можуть бути оцінені за допомогою біотичного індексу. Визначення біологічного індексу ведеться по робочій шкалі, в якій використана послідовність зникнення бентосних безхребетних по мірі збільшення забруднення, що найчастіше зустрічається.

Загальний індекс біологічної якості має ряд переваг: диференційований відбір проб з ідентифікацією розведених зон, стандартна таблиця завдяки корекціям і уточненням, внесених у списки таксонів і в їх класифікацію, більш зручна у використанні. Паралельно з узагальненим індексом біологічної якості було запропоновано *індекс потенціальної біологічної якості*, зручний для вивчення великих глибин. Досконалішим є *біологічний індекс загальної якості*, який відрізняється тим, що вдосконалений відбір проб дає мозаїчну картину населення зони; у списку з 135 таксонів 38 є індикаторами.

Загальний рівень забруднення часто оцінюють за *індексом сапробності* Пантле і Букка:

$$S = \frac{\sum_{i=1}^n (S_i \cdot h_i)}{\sum_{i=1}^n h_i}, \quad (3.10)$$

де S – індекс значущості виду; h – частота трапляння організмів.

Забруднення призводить не лише до зниження видового різноманіття, а і до збільшення домінування певних видів. При цьому надмірність властива невеликому числу видів, які можна оцінити *індексом неоднорідності Сімпсона*:

$$D = \sum \left(\frac{n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)} \right), \quad (3.11)$$

де n_i – число особин i -го виду; N – загальне число особин.

Величина індексу в більшій мірі залежить від присутності в пробі найбільших видів, але в меншій – від видового розмаїття.

При оцінці водойм, що забруднені органічними сполуками, може використовуватися *олігохетний індекс*, або *індекс Гуднайта і Уитлея*. У зібраній пробі підраховується загальна кількість організмів і окремо число олігохет: $(N_{\text{олігохет}}/N_{\text{загальна}}) \cdot 100$, де N – чисельність (екз./м²).

Значення коефіцієнта збільшується по мірі погіршення якості води. Так, високу концентрацію забруднення характеризує олігохетний індекс > 80 %; сумнівним забруднення вважаються при індексі 60-80 %; стан водного середовища хороший, коли індекс < 60 %.

Крім олігохет в бентосі континентальних водойм широко представлені личинки комарів-звонців, що належать до трьох підродин: *Chironominae*, *Orphocladinae*, та *Tanypodinae*. Орфокладіни мешкають в основному в чистих водах, таниподіни – в забруднених, хірономіди витримують відносно невисокі ступені забруднення. Таким чином, по відношенню до чисельності представників цих підродин можна судити про якість води. Е.В. Балущкина запропонувала індекс K , який може служити для цієї мети:

$$K = \frac{dr + 0,5_{Ch}}{d_{Or}}, \quad (3.12)$$

де $d_r=N_r+10$, $d_{Ch}=N_{Ch}+10$, $d_{Or}=N_{Or}+10$; N_T ; N_{Ch} ; N_{Or} – виражені у відсотках відношення чисельності личинок однієї з підродин до загальної чисельності личинок цього сімейства. Величина 10 – верхня межа значень індексу. Нижня межа його дорівнює нулю.

Література до розділу: [1; 3; 6; 8; 10; 11; 13; 15; 16; 18; 21; 23; 26].

Питання для самоконтролю

- 1.** Поняття «газостійкість» і «газочутливість».
- 2.** Застосування ліхеноіндикаційних методів в діагностиці якості повітря.
- 3.** Коефіцієнт Жакара.
- 4.** Індекс поліотелерантності.
- 5.** Індекс різноманітності Шеннона.
- 6.** Роль еврибіонтних та стенобіонтних видів в біоіндикаційних дослідженнях.
- 7.** Коефіцієнт спільності Серенсена.
- 8.** Індекс неоднорідності Сімпсона.
- 9.** Індекс сапробності.
- 10.** Олігохетний індекс.

РОЗДІЛ 4

СУТНІСТЬ МЕТОДІВ БІОТЕСТУВАННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ У МОНІТОРИНГУ ДОВКІЛЛЯ

4.1 Задачі та прийоми біотестування якості середовища

У виявленні антропогенного забруднення середовища поряд з хіміко-аналітичними методами застосовуються й прийоми, що базуються на оцінці стану окремих особин, які піддаються впливу забрудненого середовища, а також їх органів, тканин і клітин. Їх застосування викликано технічною ускладненістю та обмеженістю інформації, яку можуть надавати хімічні методи. Крім того, гідрохімічні та хіміко-аналітичні методи можуть виявитися неефективними з причини недостатньо високої їх чутливості. Живі організми здатні сприймати більш низькі концентрації речовин, ніж будь-який аналітичний датчик, у зв'язку з чим біота може бути піддана токсичним впливам, що не реєструються технічними засобами.

Біоіндикація передбачає виявлення забруднення, яке вже сталося або накопичується, за індикаторними видами живих організмів та екологічними характеристиками угруповань організмів. На пильну увагу в наш час заслуговують методи біотестування, тобто використання в контрольованих умовах біологічних об'єктів в якості засобу виявлення сумарної токсичності середовища. Біотестування являє собою методичний прийом, заснований на оцінці дії чинника середовища, в тому числі і токсичного, на організм, його окрему функцію або систему органів і тканин.

Окрім вибору біотесту істотну роль відіграє вибір тест-реакції – того параметру організму, який вимірюється при тестуванні.

Найбільш ефективні інтегральні параметри, що характеризують загальний стан живої системи відповідного рівня. Для окремих організмів до інтегральних параметрів відносять

характеристики виживання, росту, плодючості, тоді як фізіологічні, біохімічні, гістологічні та інші параметри відносять до окремих. Для популяцій інтегральними параметрами є чисельність і біомаса, а для екосистеми – характеристики видового складу, активності продукції і деструкції органічної речовини.

Збільшенням інтегральності тест-реакції підвищується «екологічний реалізм» тесту, але зазвичай знижується його оперативність і чутливість. Функціональні параметри виявляються більш лабільними, ніж структурні, а параметри клітинного і молекулярного рівнів програють у відношенні екологічної інформативності, але виграють у відношенні чутливості, оперативності і відтворюваності.

4.2 Вимоги до методів біотестування

Пропонована система біомоніторингу являє собою комплекс різних підходів для оцінки стану різних організмів, що знаходяться під впливом комплексу як природних, так і антропогенних чинників. Фундаментальним показником їх стану є ефективність фізіологічних процесів, що забезпечують нормальний розвиток організму. За оптимальних умов організм реагує на вплив середовища за допомогою складної фізіологічної системи буферних гомеостатичних механізмів. Ці механізми підтримують оптимальне протікання процесів розвитку. Під впливом несприятливих умов механізми підтримання гомеостазу можуть бути порушені, що призводить до стану стресу. Такі порушення можуть відбуватися до появи змін зазвичай використовуваних параметрів життєздатності. Отже, методологія біотестування, заснована на дослідженні ефективності гомеостатичних механізмів, дозволяє вловити присутність стресуючого впливу раніше, ніж більшість зазвичай використовуваних методів.

Для того, щоб бути придатними для вирішення комплексу сучасних задач, методи біотестування, що використовуються для оцінки середовища, повинні відповідати наступним вимогам: бути

придатними до застосування для оцінки будь-яких екологічних змін середовища існування живих організмів; характеризувати найбільш загальні й важливі параметри життєдіяльності біоти; бути достатньо чутливими для виявлення навіть початкових зворотних екологічних змін; бути адекватними для будь-якого виду живих істот та будь-якого типу впливу; бути зручними не лише для лабораторного моделювання, але також і для досліджень в природі; бути достатньо простими і не занадто дорогими для широкого вжитку.

Однією з найважливіших вимог при оцінці стану середовища є чутливість методу, що застосовується. Потреба в таких методах особливо зростає в наш час, коли в силу підвищеної уваги до проблем охорони природи і у зв'язку з розвитком природоохоронних заходів стає необхідним оцінювання не лише і не стільки істотних, як правило, вже незворотних змін у середовищі, але первісних незначних відхилень, коли ще можливо повернути систему до попереднього нормального стану.

Інша важлива вимога – універсальність, як по відношенню до фізичного, хімічного чи біологічного впливу, що оцінюється, так і типу екосистем та виду живих істот, відносно яких така оцінка здійснюється. При цьому це необхідно як відносно окремих агентів, так і кумулятивного впливу будь-якого їх поєднання (включаючи весь комплекс як антропогенних так і природних чинників).

Система повинна бути відносно простою і доступною, придатною для широкого використання.

На сьогодні існує низка сучасних молекулярно-біологічних тестів якості середовища, але в силу високої технологічної складності й вартості їх застосування виявляється обмеженим. При цьому виникає питання: чи потрібно звертатися до таких складних методів при вирішенні загальної задачі моніторингу стану середовища і чи не можна отримати подібну інформацію більш доступними способами.

4.3 Основні підходи до біотестування

Біохімічний підхід

«Підходами» можна умовно назвати групи методів, що характеризують подібні процеси, які відбуваються з тест-об'єктами під впливом антропогенних чинників.

Стресовий вплив середовища можна оцінювати за ефективністю біохімічних реакцій, рівнем ферментативної активності і накопиченням певних продуктів обміну. Зміна вмісту в організмі певних біохімічних сполук (наприклад, терпеноїдів), показників базових біохімічних процесів (наприклад, концентрації хлорофілу у фотосинтезуючих рослин) і структури ДНК в результаті біохімічних реакцій (наприклад, при оксидантному стресі) можуть забезпечити необхідну інформацію про реакцію організму у відповідь на стресовий вплив.

Вимірювання адаптаційного стресу

Кожний фізіологічний процес потребує певних затрат енергії, тому будь-яка зміна фізіологічного стану негайно відображається на енергетичному обміні. Біоенергетичні показники живих систем дозволяють виявляти наслідки стресового впливу середовища до настання незворотних змін в організмі.

Кількість енергії, необхідна організму в одиницю часу для забезпечення всіх фізіологічних процесів, характеризує інтенсивність енергетичного обміну. На реалізацію одного й того ж фізіологічного процесу в несприятливих умовах організму треба більше енергії ніж в оптимальних, так як необхідна компенсація несприятливих впливів середовища.

У процесі життєдіяльності всіх аеробних організмів в ході нормальних реакцій кисневого метаболізму утворюються вільні радикали (ВР) супероксид та інші форми вільного кисню. В нормі рівень ВР регулюється системою антиоксидантного захисту клітини, так як ці радикали і продукти їх перетворення являють серйозну загрозу: пригнічують активність ферментів, руйнують нуклеїнові кислоти, викликають деградацію біополімерів,

змінюють проникливість мембран. Високий рівень утворення супероксидних радикалів токсичний і може викликати загибель організму. Рівень їх утворення, що злегка перевищує базовий, може стимулювати ріст клітин і відіграє важливу роль в процесі канцерогенезу. Одним з універсальних механізмів стресу є розвиток окислювальних ВР-реакцій. Під впливом окислювального стресу може відбуватися пошкодження ДНК. Один з механізмів такого пошкодження включає пряме окислення нуклеїнових кислот, другий – перетравлювання ДНК. Утворення супероксидних радикалів збільшується при різних видах опромінювання, зміні парціального тиску кисню під впливом ксенобіотиків та при інших зовнішніх діях.

Метаболічні вільні радикали – це велика група високоактивних інтермедіаторів, що відіграють важливу роль в окислювально-відновлювальних біохімічних реакціях. В тваринних клітинах загально визнана участь ВР-реакцій при дії окислювальних ферментів в системах цитохромів та інших гемопротеїдів, НАД, флавопротеїдів, убіхінону, що здійснюються за допомогою ферментів-переносників електронів.

Вільнорадикальні стани виникають також в процесі аутоокислення біологічно важливих сполук, особливо ліпідів. В останньому випадку частіше за все має місце утворення ліпідних гідро перекисів, розпад яких також призводить до утворення активних радикалів. Особливо піддані такому аутоокисленню ненасичені жирні кислоти – компоненти ліпідів біологічних мембран.

Поява ВР-станів у ліпідах клітинної мембрани призводить до модифікації її фізико-хімічного стану і активності мембранно-зв'язаних ферментів. При пошкоджуючих впливах на клітини процеси перекисного окислення ліпідів розвиваються тим активніше, чим вище ступінь пошкодження клітини. При цьому перекисні радикали можуть взаємодіяти з молекулами білків чи нуклеїнових кислот, пов'язаних з мембраною, змінюючи біологічні властивості цих молекул і клітини в цілому.

Стрессова реакція біотестів може бути виміряна за зміною в них рівня вільних радикалів в порівнянні з контролем. Відомо, що швидкі зміни інтенсивності ВР-реакцій в живих об'єктах типові для початкових стадій різних патологічних станів, в тому числі для первинних процесів променевого ураження. У значній мірі це залежить від розвитку перекисного окислення ліпідів мембран і визначає неспецифічний окислювальний стрес клітини. При цьому порушується гомеостатична рівновага, клітини переходять у нестійкий стан, підвищується їх реактивність.

Дослідження ферментативної активності ґрунтового мікробіоценозу.

Різні види антропогенного впливу на ґрунт можуть змінювати умови існування ґрунтових мікроорганізмів, порушувати нормальне протікання в ґрунтах процесів мікробної трансформації і, відповідно, відображаються на процесах трансформації речовин в біосфері. Ґрунтові мікроорганізми приймають участь у циклах життєво важливих елементів, таких як N, P, S, Fe, Mn та ін. Вони відіграють унікальну роль в очистці біосфери від забруднень, так як саме мікроорганізми мають високу здатність до адаптації і можуть швидко трансформувати забруднюючі речовини, як природні для біосфери, так і чужорідні.

Дослідження сукцесій та особливостей функціонування мікробних комплексів в техногенних екосистемах являє значний науковий і практичний інтерес. Такі екосистеми можуть слугувати моделлю для досліджень швидкості і напрямку мікробіологічних та біохімічних процесів.

Методи ензимології широко застосовуються при вирішенні екологічних задач. Вони дозволяють оцінити біохімічну активність ґрунтового мікроценозу. Ферменти, що виділяються мікроорганізмами в результаті їх життєдіяльності, здатні іммобілізуватися і накопичуватися в ґрунті в активному стані і за відповідних умов проявляти специфічні біокаталітичні функції.

На наш час розроблені методи визначення активності великої кількості ферментів, що приймають участь у різноманітних

ґрунтових процесах.

За типом реакцій, що каталізуються, всі відомі ферменти розділені на шість класів: оксидоредуктази, які каталізують окислювально-відновні реакції; гідролази, що каталізують реакції гідролітичного розщеплення внутрішньо молекулярних зв'язків у різних сполуках; трансферази – каталізують реакції міжмолекулярного або внутрішньомолекулярного переносу хімічної групи та залишків з одночасним перенесенням енергії, що міститься у хімічних зв'язках; лігази (синтетази), що каталізують реакції з'єднання двох молекул, супряжених з розщепленням пірофосфатних зв'язків АТФ або іншого аналогічного три фосфату; ліази, які каталізують реакції негідролітичного відщеплення або приєднання різних хімічних груп органічних сполук за подвійними зв'язками; ізомерази – каталізують реакції перетворення органічних сполук в їх ізомери.

У ґрунті широко розповсюджені і досить детально досліджені оксидоредуктази і гідролази, які мають досить велике значення у ґрунтовій біодинаміці.

Генетичний підхід

Наявність і ступінь прояву генетичних змін характеризує мутагенну активність середовища, а можливість збереження генетичних змін в популяціях відображає ефективність функціонування імунної системи організмів.

В нормі більшість генетичних порушень розпізнаються й елімінуються клітиною, наприклад, шляхом апоптозу за рахунок внутрішньоклітинних систем або через імунну систему. Достовірне перевищення спонтанного рівня таких порушень є індикатором стресу. Генетичні зміни можуть виявлятися на генному, хромосомному і геномному рівні. Прийнято виділяти наступні типи мутацій. Генні, або точкові, – їх поділяють на дві групи: заміни основ в ДНК і вставки або випадіння нуклеотидів, що призводить до зсуву рамки зчитування генетичного коду. Генні мутації поділяють також на прямі і зворотні (реверсії). Мутації

типу зсуву рамки зчитування значно менш схильні до спонтанних реверсій, ніж мутації типу заміни основ. Хромосомні перебудови (аберації) полягають в різних порушеннях структури хромосом. Геномні мутації – зміни кількості хромосом в ядрі.

Відносно прості, добре відтворювані і високочутливі генетичні тести, що базуються на оцінці зміни хромосом в соматичних клітинах (зміни каріотипу, хромосомні аберації, сестринські хроматидні обміни, мікроядра та ін.).

Для виявлення канцерогенів застосовуються короткочасні генетичні тести.

Завдяки значним успіхам, досягнутим в галузі застосування тестів з використанням мікроорганізмів і клітин ссавців, рослинні об'єкти стали застосовуватися в таких дослідженнях значно рідше, ніж раніше. Однак деякі рослини, наприклад, кінські боби (*Vicia faba*), цибуля (*Allium cepa*), традесканція (*Tradescantia paludosa*), кукурудза (*Zea mays*), ячмінь (*Hordeum vulgare*), соя (*Glycine max*) можуть мати суттєві переваги в порівнянні з іншими тест-системами, зокрема під час скринінгу хімічних речовин на мутагенність. Дослідження генетичних змін як на генному так і на хромосомному рівнях можна проводити на рослинах без використання складного лабораторного обладнання, необхідного для постановки інших тестів, що за деяких обставин може виявитися значною перевагою. Можливим недоліком цих тестів є суттєва розбіжність метаболізму рослин і ссавців.

Морфологічний підхід

В умовах техногенного впливу на природні екосистеми зниження чисельності популяцій відбувається в значній мірі за рахунок ембріональної та личинкової смертності. Ембріони і личинки – найбільш чутливі до пошкоджуючих чинників фази життєвого циклу гідробіонтів. Вплив на організм стресуючих чинників призводить до відхилення від нормальної будови різних морфологічних ознак. Процеси відтворення організмів – це складний ланцюг взаємообумовлених подій, будь-яка з ланок якого

може бути порушена впливом токсичного середовища.

Для діагностики впливу забруднень на морфологічні характеристики застосовуються методи оцінки флуктуючої асиметрії.

Симетрія як вид узгодженості окремих частин живих організмів має загально біологічне значення. При роботі з біологічними об'єктами в наш час використовується класифікація асиметрій (порушень симетрії) за Л. Ван Валеном (Van Valen, 1962), згідно якої вони поділяються на три типи:

1) спрямована асиметрія, коли якась структура розвинена на одному боці більше ніж на іншому (серце ссавців);

2) антиасиметрія – більший розвиток структури на одному боці (правші й шульги в популяції людини);

3) флуктуюча асиметрія – незначні неспрямовані відхилення від чіткої білатеральної симетрії.

Флуктуюча асиметрія є результатом нездатності організмів розвиватися за чітко визначеним планом. Розбіжності між боками не є генетично детермінованими і не мають адаптивного значення. Виступаючи в якості міри стабільності розвитку, флуктуюча асиметрія характеризує стан морфогенетичного гомеостазу – здатності організму до формування генетично детермінованого фенотипу при мінімальному рівні онтогенетичних порушень. Таким чином флуктуюча асиметрія може бути охарактеризована як один з найбільш звичайних і доступних для аналізу проявів випадкової мінливості розвитку.

Можливість використання асиметрії в біоіндикації показана багатьма авторами, які переконливо довели на прикладі різних видів рослин і тварин, що величина асиметрії реагує на різні стресори антропогенного характеру і може бути мірою порушення розвитку організму. Флуктуюча асиметрія – це один із загальних онтогенетичних показників, що характеризує стабільність індивідуального розвитку, який дає оцінку стану природних популяцій і залежить від стану середовища. Величина флуктуючої асиметрії та її залежність від певних чинників може бути

визначена лише на популяційному рівні. Крім того В.М. Захаровим показано, що флюктуюча асиметрія є практично єдиною формою фенотипової мінливості з відомою причиною обумовленості.

Фізіологічний підхід

Одна з найважливіших характеристик, високочутлива до стресового впливу середовища, – енергетика фізіологічних процесів. Найбільш економічний енергетичний обмін має місце лише за чітко визначених умов середовища, які можуть бути охарактеризовані як оптимальні.

Інтенсивність енергетичного обміну аеробного організму може бути визначена шляхом вимірювання швидкості споживання кисню. За оптимальних умов організм знаходиться на найнижчому енергетичному рівні, за будь-яких негативних змін середовища існування потреба в кисні буде збільшуватися. Для характеристики енергетичного обміну дві величини є фундаментальними – основний обмін і максимальний обмін. Основний обмін відображає мінімальний рівень споживання енергії, необхідний для забезпечення нормального функціонування організму за відсутності будь-яких зовнішніх впливів. Максимальний обмін відповідає граничній кількості енергії, яку організм здатний виробити у випадку необхідності. Різниця між цими величинами є енергетичним ресурсом адаптації конкретного виду тварин, оскільки основний і максимальний рівень обміну є видоспецифічними величинами. Інша базова характеристика перспективна для оцінки стресових впливів, – темп і ритміка ростових процесів. Важливою характеристикою фізіологічних процесів є поведінкова активність живих організмів. Як тест-функції застосовуються фізіологічні параметри прісноводних безхребетних гідробіонтів різних рівнів філогенезу.

Біофізичний підхід

Біофізичні методи контролю якості середовища завжди

базуються на інструментальному визначенні порушень біохімічних і біофізичних процесів тест-організмів. Одні з них реєструють зміни функцій мембранних структур клітин, інші оцінюють показники електропровідності тканин, треті – здатність генерувати електричні потенціали і т.д.

Для контролю стану найважливіших функціональних систем організмів найбільше розповсюдження отримали люмінесцентні та флюорометричні методи. Вони мають високу чутливість, дозволяють проводити кількісні вимірювання в режимі реального часу, а в ряді випадків і автоматизувати процес вимірювання. Люмінесцентні та флюорометричні методи в ряді випадків дають можливість не лише експресно тестувати якість середовища, але й проводити, наприклад, детальний аналіз стану фітопланктонного угруповання, а також прогнозувати його розвиток. Висока швидкість вимірювання дозволяє аналізувати отримувану інформацію безпосередньо по ходу експедиційних робіт і вносити корективи у плани дослідження. Запропонована методологія і комплексне використання люмінесцентної та флюорометричної апаратури можуть дати інформацію про просторово-часову мінливість біофізичних і фізіологічних процесів, що визначають нормальне функціонування біосистем, а також можуть слугувати складовою частиною системи екологічного моніторингу. Особливо слід відзначити перспективи використання даних флюорометричного аналізу фітоценозу локальних територій (як опорних точок) в поєднанні зі супутниковою інформацією про кольоровість й аерокосмічним контролем середовища.

Імунологічний підхід

В доповнення до цитогенетичного підходу, що характеризує ефективність імунної системи організму відносно елімінації клітин з генетичними порушеннями, можливі розгорнута оцінка змін імунореактивності тварини, дослідження параметрів імунітету, таких як склад крові і гемолімфи, визначення наявності антитіл

урідинах організму, концентрації білків плазми, пери вісцеральної рідини і гемолімфи, оцінка динаміки клітинного складу.

Основна функція імунної системи полягає у підтриманні сталості внутрішнього середовища організму. Імунна система одна з найлабільніших, тому будь-які серйозні зміни у середовищі існування впливають на функціональну активність імунокомпетентних клітин. Значні за величиною і тривалістю несприятливі впливи призводять до перенапруги, виснаження і неузгодженості у функціонуванні окремих ланок імунітету і, як наслідок, до розвитку імунодефіциту. Всі імунологічні тести з оцінки імунного статусу ссавців дають інформацію про три основні клітинні популяції імунної системи. До них відносяться:

1) фагоцитуючі клітини, що забезпечують захоплення і перетравлення чужорідних або змінених власних клітинних структур;

2) Т-лімфоцити, які регулюють взаємодію клітин всередині системи за допомогою цитокінів; вони здійснюють розпізнавання і знищення генетично чужорідних і змінених клітин організму, дають сигнал В-лімфоцитам до продукції антитіл;

3) В-лімфоцити, що продукують антитіла імуноглобулінової природи, які нейтралізують дію чужорідних агентів і полегшують фагоцитоз.

Імунологічний підхід при оцінці стану навколишнього середовища полягає у вивченні змін вродженого і набутого імунітету у безхребетних і хребетних тварин.

Передбачається використовувати параметри імунітету тварин як критерій стану організмів, їх популяцій і угруповань екосистем в нормі й при техногенному впливі. Крім того, розробляються технології виробництва нових антимікробних та імунотерапевтичних препаратів на основі імуномодельючих речовин, виділених із клітин і біологічних рідин гідро біонтів.

4.4 Практичне застосування методології біотестування

Серед можливостей застосування підходів біотестування слід відзначити їх придатність в моніторингу районів з інтенсивним розвитком промисловості та сільського господарства. Крім того, біотестування дозволяє провести швидке сканування великих просторів з метою ранньої діагностики екологічних порушень. В даному випадку достатньо обмежитися найпростішими, але ефективними методами, заснованими, наприклад, на морфологічних або фізіологічних показниках. Узагальнити результати, отримані методами біотестування можливо:

за всіма методами в межах кожного підходу;

за всіма підходами для кожного виду або групи видів живих організмів;

для екосистеми в цілому, що дає надійну сумарну оцінку стану середовища і виключає помилковий висновок, цілком можливе при використанні одиничних показників у відношенні окремих видів.

Підсумковий висновок повинен містити характеристику якості середовища в досліджуваному районі (оцінку ступеня відхилення від норми і фоновому стану) і оцінку середовища для людини. Комплексна оцінка якості середовища проживання крім використання різних підходів і тест-об'єктів біотестування включає організацію спостережень за всіма природними середовищами, у першу чергу за повітряним, водним і ґрунтовим.

Організація спостережень за забрудненням атмосфери. Такі спостереження проводяться на стаціонарних, маршрутних і пересувних постах. Стаціонарні та маршрутні пости служать для проведення систематичних спостережень, пересувні – для разових спостережень в зонах безпосереднього впливу промислових підприємств. Спостереження під факелами димових труб підприємств проводяться з метою отримання матеріалів з

розподілу шкідливих речовин від окремих джерел викидів в залежності від метеорологічних умов і для отримання оцінки їх впливу на забруднення атмосфери. Згідно з міжнародними стандартами ISO 14000 «Системи управління охорони навколишнього середовища», відбір проб повітря здійснюється за напрямком вітру на відстанях від джерела викидів 0,2–0,5; 1–4; 6; 8; 10; 15 і 20 км, на висоті 1,5 м від поверхні землі протягом 20–30 хв. за спеціальними методиками.

Організація спостережень за забрудненням поверхневих вод. Для правильної оцінки якості води у водоймі, характеристики його хіміко-біологічного стану, ступеня забруднення необхідно провести відбір репрезентативних проб води з даної водойми. Під цим розуміється їх відповідність поставленої задачі за кількістю, обсягом, обраним точкам, часу відбору, а також з техніки відбору, попереднім обробленням, умов зберігання і транспортування. Розрізняють прості і змішані (усереднені) проби. прості проби, тобто відібрані в повному обсязі у визначений момент часу, характеризують якість води в даному пункті водойми під час відбору. Змішані проби являють собою об'єднану по тим або іншим принципам серію простих проб.

Змішані проби характеризують середній вміст визначених компонентів або властивостей за деякий проміжок часу або середнє значення для деякого ділянки водойми. Залежно від мети дослідження відбір проб може бути разовим або регулярним. Місце відбору вибирають відповідно з цілями аналізу і на підставі дослідження місцевості. Згідно ISO 14000 «Системи управління охорони навколишнього середовища», проби відбирають з глибини 20-30 см від поверхні. Обсяг проб може варіювати від 1–2 до 15–20 дм³ і більше. Для відбору проб використовують спеціальні пристрої – батометри. Проби води для біологічного аналізу зберігають не більше доби в холодильнику при +4 °С у поліетиленовій або скляній посуді.

Організація спостережень за забрудненням ґрунтів. У зв'язку з тим що в твердих середовищах (ґрунтах) токсиканти рідко розподілені рівномірно, існують певні методики відбору проб, що дозволяє нівелювати наслідки мозаїчності. Для визначенні забруднень промислового походження відбір проб ґрунту проводиться один раз на рік в літній період. Як правило, для контролю вибираються ґрунти, зайняті культурними рослинами. Для визначення точок відбору застосовується азимутний метод. Щороку проби відбираються навколо промислових центрів по чотирьом румбам на відстані 1; 2; 3; 5 і 10 км. Один раз в п'ять років обстеження ґрунту проводять більш детально по всіх 16 румбам і на відстанях 0; 0,2; 0,5; 1; 1,5; 2–5; 8; 10; 20; 30; 50 км. Положення точок пробовідбору відзначається на карті.

Методика відбору ґрунтових зразків визначається поставленими перед дослідником завданнями. У всіх випадках зразки повинні найбільш повно характеризувати досліджувану площу. Аналізуються індивідуальні та змішані зразки. Для характеристики біологічної активності ґрунтів на кожній стометровій ділянці беруть п'ять змішаних зразків конвертним способом. Кожен зразок складають з 5–7 індивідуальних проб. Якщо ділянка менше 100 м², достатньо брати три змішаних зразка по діагоналі, складених з 3–5 індивідуальних проб. Всі зразки аналізуються окремо. Роблять записи в щоденнику із зазначенням району досліджень, описом обраного місця закладки розрізу, ділянки поля (рельєф, рослинність, попередні культури, агротехніка, внесення добрив) і докладною характеристикою ґрунту. Обов'язково записують час взяття зразка. Проби ґрунту для біохімічного аналізу беруть спеціальними пробовідбірниками. Зазвичай вони представляють собою круглі трубки з міцного нейтрального матеріалу, пластмаса – діаметром 5 см з кришками. У відкритому стані пробовідбірник акуратно вганяють в ґрунт на максимально можливу глибину. Після цього трубка щільно

закривається зверху кришкою і відразу (якщо дозволяє ґрунт) знизу закривається іншою кришкою. Якщо щільність ґрунту велика, то для закриття взятого зразку трубку необхідно дуже акуратно нахилити, щоб не порушити його всередині трубки, і потім закрити нижню кришку. При відборі проб ґрунту буром змішаний зразок представляється з 20 кернів (уколів), відібраних через рівні проміжки по діагоналі пробних майданчиків, приблизно через 7-10 м. Всі відібрані керни змішуються в окремій ємності (Відрі або банці). Звідси береться аналізований згодом зразок і поміщається в хімічно активну ємність (чиста скляна банка, пластикова ємність). Кожен зразок помічається етикеткою із зазначенням району взяття проби, шифру і номером керна, дати, прізвища дослідника.

4.5 Біотестування ксенобіотиків

До ксенобіотиків належать, як правило, штучні та синтетичні сполуки: похідні вуглеводнів, металоорганічні сполуки, пестициди, поверхнево-активні речовини (ПАР), пластмаси тощо. Ксенобіотики – будь-яка чужорідна для живого організму або угруповання організмів сполука, яка може спричиняти порушення природних процесів у біосфері, в тому числі захворювання і загибель живих організмів. Співвідношення обсягу впровадження нових чужорідних сполук у практику людської діяльності, а отже, у біосферу, й обсягу впровадження нових знань про біологічні наслідки дії цих сполук характеризуються принципом «піщаного годинника», де піщинки символізують нові хімічні сполуки. Верхня сфера цього годинника – зона, де створюються ці нові хімічні сполуки, нижня – частина, де вони застосовуються. Вузький перешийок – зона, де визначається біологічна активність речовин. Перетікають лише ті піщинки-сполуки, які перейшли цей перешийок, іншого шляху немає. Час накопичення чинного хімічного потенціалу країни має визначитися пропускнуою

здатністю «перешийка», тобто потужністю системи біологічних випробувань. У практику повинні вводитися тільки ті сполуки, які піддалися біологічним випробуванням. Таким чином біологічні випробування мають проходити всі синтезовані ксенобіотики, тобто необхідно створити продуктивну систему їх випробувань на різні види біологічної активності. Призначення системи випробувань – формування інформаційного масиву фундаментальних наукових знань про біологічну активність та паспортизація кожного з ксенобіотиків за видами біологічної активності.

Відомо, що досить часто у новій речовині в процесі використання відкриваються нові, зовсім несподівані властивості (як корисні, так і шкідливі). Це свідчить про необхідність максимально повно визначити в них увесь спектр видів біологічної активності в процесі пошуку речовин з конкретними видами біологічної активності.

4.6 Біологічні маркери

Біологічний маркер (біомаркер) – термін, що позначає вимірювання події, яка відбувається в біологічній системі (організм тварини або людини).

Біомаркери використовуються в дослідженнях *in vitro* та *in vivo* на організмах тварин або людини. Як правило, виділяють три конкретні види біологічних маркерів: біомаркери впливу, біомаркери ефекту та біомаркери чутливості.

Таблиця 4.1 – Приклади біомаркерів впливу або біомаркерів ефекту, що використовуються в токсикологічних дослідженнях

Зразок	Вимірювання	Мета
1	2	3
Біомаркери впливу		
Жирова тканина	Діоксин	Вплив діоксину
Кров	Свинець	Вплив свинцю

1	2	3
Кість	Алюміній	Вплив алюмінію
Повітря, що вдихається	Толуол	Вплив толуолу
Волосся	Ртуть	Вплив метил ртуті
Сироватка	Бензол	Вплив толуолу
Сеча	Фенол	Вплив фенолу
Біомаркери ефектів		
Кров	Карбоксигемоглобін	Вплив окису вуглецю
Еритроцити	Цинк-протопорфірину	Вплив свинцю
Сироватка	Холінестераза	Вплив фосфорорганічних сполук
Сеча	Мікроглобуліни	Нефротоксичний вплив
Лейкоцити	Аддукти ДНК	Вплив мутагенів

Метод біотестування за допомогою біомаркерів є досить достовірним і використовується з кількома цілями. На рівні окремого організму за допомогою біомаркерів можна підтвердити або спростувати діагноз конкретного виду отруєння або іншого негативного ефекту, викликаного хімічними речовинами. У здорової людини за допомогою біомаркерів можна визначити індивідуальну гіперчутливість до конкретних хімічних впливів і, таким чином, прогнозувати ризик та надати необхідну консультацію.

Біомаркери впливу

Як біомаркери впливу можуть виступати: екзогенні сполуки, метаболіт всередині організму. Зазвичай біомаркери впливу стабільних сполук, наприклад, металів, включають вимірювання концентрації металу у відповідних зразках, таких як кров, сироватка або сеча. У разі легколетючих хімічних речовин, можна

оцінити їх концентрацію у повітрі, що видихається (після інгаляції повітря, що не містить забруднювачів). Якщо сполука метаболізується в організмі і один або декілька метаболітів можуть бути обрані як біомаркери впливу, то метаболіти часто визначаються у зразках сечі.

Дію мутагенних сполук можна визначити шляхом оцінки мутагенності сечі людини, що піддалася впливу. Зразки сечі культивують з використанням штаму бактерії, в якому специфічна точкова мутація виражена в такий спосіб, що дозволяє провести просте вимірювання. Якщо мутагенні хімічні речовини присутні у зразку сечі, швидкість мутації бактерій збільшується.

Біомаркери ефекту

Як маркер ефекту може виступати зовнішній чинник або вимірювання функціональної здатності або інший індикатор стану рівноваги організму або системи органів, на які зроблений вплив. Такі маркери ефекту, як правило, є доклінічними індикаторами аномалій.

Ці біомаркери можуть бути специфічними і неспецифічними. Специфічні біомаркери корисні, оскільки вказують на біологічний ефект конкретного впливу. Неспецифічні маркери не вказують на конкретну причину ефекту, але відображають загальний, комплексний ефект комбінованого впливу. Таким чином, обидва види біомаркерів можуть широко використовуватися як біотести.

Окрема група параметрів ефекту належить до генотоксичних ефектів (зміни в структурах генів, хромосом, геному). Такі ефекти можуть бути виявлені за допомогою мікроскопа в лейкоцитах, в яких проходить поділ клітин. Серйозне ураження хромосом – хромосомні аберації або утворення мікроядер – може бути виявлене за допомогою мікроскопа. Ураження також можна визначити, додаючи в клітини барвник під час їхнього

розмноження. Вплив генотоксичності агента можна спостерігати у вигляді посиленого обміну барвника між двома хроматидами кожної хромосоми (сестринський обмін хроматид).

Більш складний метод оцінки генотоксичності заснований на конкретній точці мутацій в соматичних клітинах, а саме: білі кров'яні тільця або клітини епітелію, отримані з слизової оболонки рота. Як альтернативу можна провести оцінку конкретного генетичного продукту (наприклад, концентрації в сироватці або тканини онкобілків, закодованих конкретними онкогенами).

Біомаркери чутливості

Незалежно від того, спадковий він або індукований, маркер чутливості є індикатором того, що людина чутлива до ефекту дії ксенобіотиків або ефектів, що викликається групою подібних сполук. Хоча особлива увага приділялася генетичної чутливості, інші чинники можуть відігравати не менш важливу роль. Гіперчутливість може бути викликана спадковими причинами, конституцією людини або чинниками навколишнього середовища.

Важливою проблемою є визначення спільного ефекту комбінованого впливу різних токсикантів. Окрім того, індивідуальні звички і прийняті людиною ліки можуть викликати підвищену сприйнятливість. Наприклад, при курінні цигарок у організм зазвичай потрапляє велика кількість кадмію. Таким чином, при професійній дії кадмію у курця, в організмі якого накопичилася достатня кількість цього металу, буде підвищений ризик розвитку захворювань нирок, пов'язаних із впливом кадмію.

Біомаркери, що використовуються з метою біологічного моніторингу або діагностики, відповідні лабораторії, повинні мати сертифіковані методики з чітко визначеними характеристиками продуктивності, при цьому доступ до документації має бути вільним для підтвердження результатів.

Іншою вимогою, що пред'являється до біомаркерів –

специфічність, як мінімум обумовлена дослідженням конкретного типу впливу в чіткій залежності від ступеня даного впливу. Це означає, що для кожного вимірювання біопараметрів організму людини або тварини має бути спеціальна методика з використанням відповідних біомаркерів. У іншому випадку результати вимірювання біомаркерів буде важко інтерпретувати. Для правильної інтерпретації результатів впливу біомаркерів має бути відома діагностична вірогідність (тобто трансляція величини біомаркерів у ступінь ймовірного ризику для здоров'я людини).

Отже, використання біомаркерів є ефективним методом біотестування на рівні окремих організмів (тварини, людини).

Ксенобіотики – чужорідні для живого організму або біоценозу хімічні сполуки (пестициди, миючі засоби, лікарські препарати, гума, пластмаси тощо), що здатні спричиняти паталогічні зміни в організмах, у тому числі, їх загибель.

Біотестування ксенобіотиків є обов'язковою умовою запровадження в практику нових синтетичних сполук шляхом перевірки їх біологічної активності (скринінг).

Біотестування ксенобіотиків здійснюється, головним чином, як пошук нових ксенобіотиків із заданими властивостями (наприклад, стійкість до руйнування, відсутність побічних ефектів, вибірковість дії тощо). Постійно зростаюче виробництво нових ксенобіотиків потребує індустріалізації процесу біотестування, тобто виявлення їх біологічної активності по відношенню до організму людини, тварин і рослин.

Існує система автоматизованого біотестування ксенобіотиків, яка включає, зокрема, кілька етапів і рівнів біологічних випробувань. Біомаркери – сполуки, за допомогою яких можна вимірювати різні фізіологічні реакції організму (гіперчутливість до конкретних хімічних впливів, оцінка мутагенності або генотоксичності тощо).

4.7 Використання комп'ютерної техніки в біотестуванні

Під час проведення біотестування перед дослідником постає проблема оцінити стан об'єкта дослідження (тест-організму). З цією метою вибирається ряд параметрів, наприклад, концентрація хімічних сполук; фарбування об'єкту та його частин; розмір листків, плодів, квітів; ступінь їх асиметрії тощо. Використання комп'ютерної техніки потребує інформацію, представлену у вигляді чисел. Тому дослідникові необхідно вибирати спосіб представлення змінного параметра в цифровій формі. Важливим моментом використання сучасної комп'ютерної техніки є попереднє визначення діапазону значень, якій має приймати та чи інша величина. Це означає, наприклад, що треба вибрати точність визначення концентрацій хімічних сполук, кількість відтінків забарвлення клітин у тканині тощо.

Методи отримання інформації при біотестуванні параметрів довкілля полягають у впорядкуванні і опрацюванні бази даних. Результати фіксують у вигляді карт, таблиць, графіків, гісторгам. Для оброблення бази даних, оцінювання і прогнозування стану довкілля застосовують метод аналогій (досліджувальний об'єкт – тест-організм – оцінюється відповідно до його типової моделі), емпіричного узагальнення (вивчення зв'язків між явищами і процесами тест-організма), моделювання (побудова фізичних, математичних, цифрових моделей).

Для акумулювання й узагальнення інформації функціонують географічні інформаційні системи (ГІС) – комп'ютерні бази даних, поєднані з певними аналітичними засобами для робіт із просторовою інформацією.

Нагромаджені в процесі біотестування дані інформують про стан довкілля на певний час, основні процеси, тенденції, що відбуваються в ньому. Ці відомості допомагають спрогнозувати його розвиток, передбачити надзвичайні ситуації природного та техногенного характеру, а також спланувати науково обґрунтовані природоохоронні заходи для створення безпечних умов

життєдіяльності.

Технологія обробки інформації під час біотестування є складним процесом і включає багато стадій, наведених на рис. 4.1.

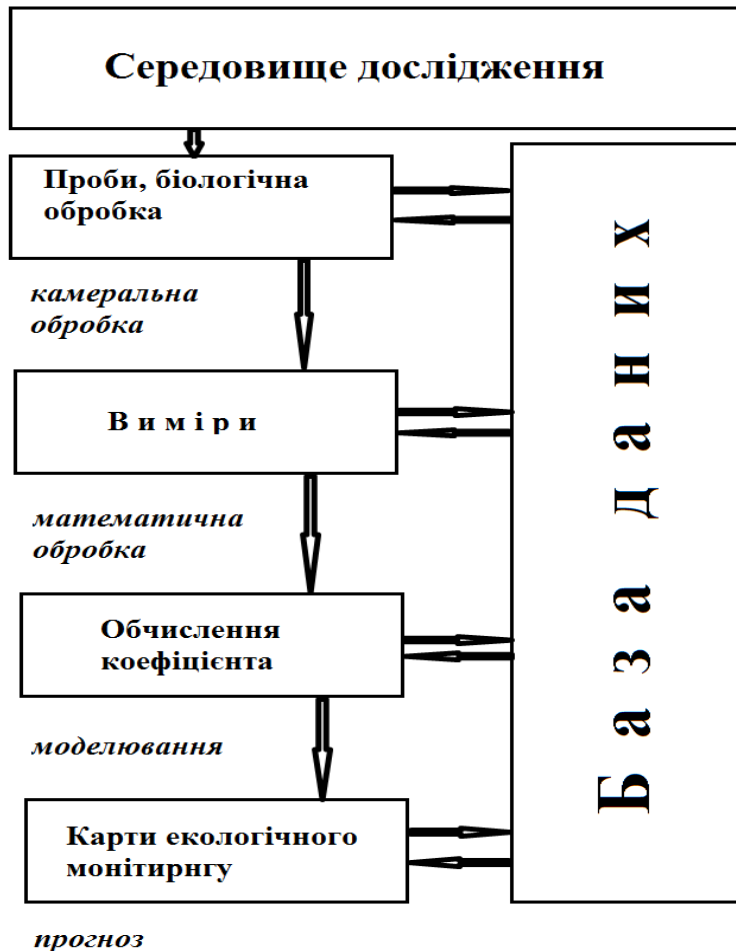


Рисунок 4.1 – Принципова схема технологічного процесу біотестування

Як видно з рис. 4.1, переведення цифрових даних у комп'ютерну форму неминуче призводить до втрати частини інформації, що є дуже суттєвим моментом у обробці даних біотестування.

Особливості перетворення тексту та фізичних параметрів

Представлення тексту в цифровій формі полягає в заміні послідовності символів послідовністю чисел, що повністю і

однозначно відповідають один одному.

Представлення фізичних параметрів, наприклад, величина асиметрії, може бути здійснено різними способами. Найбільш поширеним є спосіб візуальної реєстрації. Дослідник сам читає показання приладу і вручну вводить їх у ту чи іншу комп'ютерну програму. Такій спосіб є найменш точним та ефективним. У деяких випадках застосування цього способу неминуче, наприклад, при проведенні одиничних вимірів, коли витрати на розробку і впровадження комп'ютеризованої системи не виправдані.

Проте в усіх інших випадках, особливо при проведенні серійних вимірювань, можна рекомендувати застосування *аналогово-цифрового перетворювача (АЦП)*. Аналоговим сигналом називають будь-який безперервний сигнал: наприклад, коливання стрілки спектрофотометра відбуваються без стрибків, безперервно.

На противагу аналогового сигналу цифровий сигнал відбиває зміни величини не безперервно. АЦП являє собою пристрій, що перетворює аналоговий сигнал в цифровий. Багато моделей сучасного наукового обладнання забезпечені АЦП, який дозволяє відображати дані на цифрових дисплеях або виводити дані на друк.

Точність оцифровки даних АЦП зазвичай виражають у його бітової розрядності. Так, 8-бітові АЦП дозволяють представити весь діапазон можливих значень на вході як діапазон цілих чисел від 0 до 255 ($2^8 = 256$), а 12-бітові від 0 до 4 095 ($2^{12} = 4 096$). Таким чином, якщо на вході 12-бітового АЦП напруга сигналу може коливатися в межах 0-1 В, то чутливість установки складе - 0,24 мВ ($1 / 4096$ В). Вартість АЦП зазвичай тим вище, чим вище його розрядність.

У багатьох випадках існує можливість виведення оцифрованих даних на зовнішній принтер або передачу їх у персональний комп'ютер, для чого найчастіше використовується

стандартний комунікаційний кабель RS-232. При реалізації такого способу підключення вимірювальний прилад зазвичай пересилає дані у вигляді текстових рядків. Це є зручним при використанні принтера і дозволяє в простому випадку обходитися звичайними програмами емуляції терміналу. У більш складному випадку, наприклад для автоматичної передачі даних в електронні таблиці, необхідно передбачати програмну можливість аналізу текстових рядків. Часто АЦП розраховані на одночасне обслуговування кількох каналів, так що можливе підключення декількох приладів до одного персонального комп'ютера.

Підходи для чисельного опису кольору існують різні. З одного боку, можна визначити, що кількість квітів у зображенні є обмеженою і напівтонами можна знехтувати. У такому випадку можна кожному з квітів привласнити деяке числове значення з діапазону. Наприклад, при поданні чорно-білих фотографій всьому діапазону кольорів – від чорного до білого – найчастіше присвоюють числа від 0 (чорний) до 255 (білий). Чим менше діапазон можливих значень, тим менше місця може зайняти інформація про зображення в пам'яті комп'ютера і тим швидше може відбуватися його обробка. При збереженні інформації про малюнок тушшю достатньо обмежити діапазон двома кольорами – чорним (0) і білим (1). Якщо малюнок виконаний червоною фарбою, то парою кольорів буде червоний (0) і білий (1), а при використанні червоної та чорної туші палітра буде складатись з трьох кольорів: білого (2), чорного (0) і червоного (1). У всіх цих випадках співвідношення тих чи інших чисел з кольором умовно, однак при подальшій математичній обробці зображення вибрані числа якимось чином мають характеризувати колір. Так, у випадку палітри з трьох названих кольорів, білий колір найбільш яскравий, чорний найменш яскравий, а червоний займає проміжне положення, тому чорному кольору відповідає найменше, а білому – найбільше число.

Відомо, що перетворення зображення в цифрову форму зумовлює втрату частини інформації (точності). Окрім того,

втрачаються деталі зображення при растризації, з іншого – навіть при використанні досконалих алгоритмів передачі кольору нескінченну безліч відтінків буде описано кінцевим набором можливих значень. Таким чином, підбір параметрів оцифровки зображення вимагає відповідального підходів.

Для зберігання зображень у цифровій формі часто використовують спеціальні способи стиснення. Стислі дані займають істотно менше місця в пам'яті комп'ютера. Одні алгоритми дозволяють досягати хорошого стиснення зображень без втрати інформації за рахунок пошуку і видалення повторів, інші дають можливість суттєво зменшувати розмір зображення за рахунок виключення з нього другорядної інформації.

Стиснення даних, що використовується в стандарті GIF, призначене тільки для зображень з палітрою до 256 кольорів і забезпечує повністю оборотне стиснення даних. З розвитком стандарту GIF поступово завойовує все більшу популярність стандарт PNG, що забезпечує стиснення без втрати якості зображень як з палітрою, так і в інших форматах. Такі стандарти стиснення раціонально застосовувати для зображень, в яких важливі дрібні деталі.

Для роботи із зображеннями природних об'єктів раціонально застосовувати стандарт JPEG, який дозволяє домагатися гарного стиснення за рахунок видалення з зображення малозначних деталей і фону.

Описані способи перетворення даних дозволяють представити деякі дані у формі, доступній для обробки комп'ютером. Не слід, однак, забувати, що в основі перетворення будь-яких даних лежить умовність. Наприклад, зображення текстової сторінки, переведене у цифрову форму за допомогою сканера, є не текстом, а зображенням, і щоб підійти до його обробки як до обробки тексту, потрібно зробити додаткові дії (здійснити розпізнавання за допомогою спеціальних програмних засобів).

Використання геоінформаційного екологічного картографування в моніторингових дослідженнях

Геоінформаційні системи (ГІС) і технології в екомоніторингових дослідженнях швидко займають вагоме місце. У більшості випадків ці системи мають практичне спрямування і містять серії взаємоузгоджених карт та багатопланові бази даних. Такий підхід дозволяє в оперативному режимі проводити аналіз екологічної ситуації. Екологічні ГІС розробляються як на адміністративно-територіальні одиниці (регіони, великі промислові центри, адміністративні райони), так і на локальні об'єкти, які часто належать до потенційно небезпечних об'єктів (гірничо-видобувні і нафтогазовидобувні підприємства, басейни річок і водоймищ тощо).

Розвинені ГІС включають автоматизовані картографічні системи, бази картографічних даних. Основні особливості географічних інформаційних систем картографування – автоматизація, системність, цілеспрямованість, оперативність і багатоваріантність. Геоінформаційне картографування – це, перш за все, системне, серійне створення і використання карт, орієнтованих на конкретні завдання управлінського характеру. Структура, зміст та сюжети карт у ГІС багатопланові, підходи до їх складання відображають використовуване програмне середовище, цільову вивченість об'єкта картографування та технічні можливості творців.

Поміщаючи інформативні дані на карту можна вловити закономірність розподілу об'єктів або явищ, простежити їх зміну в просторі і в часі, зіставляючи різні дані виявити викликають і супутні процеси, зробити певні висновки і створити математичну модель. При цьому графічне представлення даних, поміщених на карту, сприймається набагато краще, ніж велика кількість різних графіків та діаграм. Тому багато дослідників екологів прийшли до необхідності використання комплексних картографічних систем (ГІС технологій) як основного інструменту у своїй діяльності.

Будь-які карти містять інформацію, корисну для екологічних

досліджень, яку можна інтерпретувати в «екологічному аспекті». Це, однак, не означає, що будь-яку карту можна назвати екологічною. Зміст екологічних карт має відображати різносторонні зв'язки рослин, тварин і людини з природним середовищем. Іншими словами, вони повинні давати оцінку впливу компонентів зовнішнього середовища на організм і оцінку стану організмів як результат цього впливу. З іншого боку, ГС можуть відображати види і ступінь впливу організмів на компоненти зовнішнього середовища і оцінювати стан компонентів.

Отже, за допомогою ГС можна вносити і зберігати дані біотестування певної території або потенційно небезпечного в екологічному відношенні об'єкту.

Картографічні бази даних

Сучасна електронна карта представляє собою аналог звичайної карти, але існує в комп'ютерному середовищі і містить всю інформацію, необхідну для автоматичного відтворення карти. Її основу складає цифровий запис просторових координат всіх елементів карти і їх закодованих якісних і кількісних характеристик. За змістом, математичній основі, рівнем узагальнення, точності та іншими параметрами цифрові й електронні карти відповідають паперовим картами того ж масштабу і призначення.

У основі цифрових технологій лежить формування картографічних баз даних – сукупностей взаємопов'язаних просторових даних, наприклад, дані фітотоксичного ефекту ґрунтів певної території. Дані в базах є в єдиних цифрових форматах, тобто вказані їх координати, кількісні та якісні атрибути. Вони призначені для багатьох користувачів, які займаються складанням карт, і не залежать від характеру використовуваних при цьому прикладних програм. Відповідно до прийнятої моделі (схеми) побудови, картографічні бази можуть

бути ієрархічними, побудованими на основі дерева класифікації даного явища або реляційними, тобто передають зв'язки об'єктів між собою. Окрім того, бази даних можуть бути централізованими, в цьому випадку вони розміщуються в одному місці у вигляді єдиного інформаційного масиву і розподіленими, децентралізованими. Тоді вони фізично розосереджені, знаходяться в різних, нерідко досить віддалених місцях, але завдяки єдиним комп'ютерним мережам доступні для спільного використання.

Карти у цифровому форматі зручно зберігати, передавати по мережах і вводити в комп'ютер, обробляти, перетворювати, а за запитом картографа моментально візуалізувати на екрані у вигляді зображення в заданій проекції, в обраній системі умовних знаків. На відмінність від традиційних, електронні карти програмно керовані, за необхідністю можна зробити їх друковані копії або викреслити зображення на планшеті за допомогою швидкісних і високоточних автоматичних креслярських пристроїв – графобудівників.

Але найголовніша особливість полягає в тому, що наявність баз даних принципово змінює сам процес картоскладання. Відпадає, наприклад, необхідність суворого поділу карт на листи, оскільки користувач може замовити зображення будь-якої ділянки території (наприклад, району польових робіт або території майбутнього будівництва). Картограф має можливість варіювати масштаб карти, вільно змінювати проекцію, вибирати будь-які комбінації умовних знаків, колірних шкал і фонів. Складання зазвичай виконується в діалоговому режимі, і тут можливі проби, експерименти, перегляд альтернативних варіантів.

За цифровими даними легко побудувати не тільки пласке зображення, а й об'ємну модель, наприклад тривимірну карту масиву забруднення ґрунтових вод або блок-діаграму розподілу водних мас різного ступеня забруднення. При необхідності можна поєднати карту з космічними знімками, нанести поточні

метеорологічні показники (це важливо для морських навігаційних карт), дані оперативних спостережень (наприклад, площі, охоплені лісовими пожежами, або зони сходження лавини), нові статистичні відомості тощо. Більш того, появилась можливість виводити на екран і на друк окремі шари картографічного зображення або комбінації шарів, наприклад тільки рельєф або лише дорожню мережу з населеними пунктами. У багатьох випадках користувачі бувають зацікавлені саме в такій виборчій інформації.

Дуже важливо те, що при цьому спрощується процес оновлення (актуалізації) карт, підтримки їх на сучасному рівні. Будь-яка нова інформація, всі зміни, що відбулися на місцевості, результати останніх досліджень одразу заносяться до бази даних. Завдяки цьому оновлена електронна карта може бути побудована миттєво.

Функціонально тематичні дані можна розділити на дві групи:

- містять інформацію про забруднювачі навколишнього середовища;
- відображають реакцію середовища на забруднення.

У роботі з ГІС найбільш раціональним є комплексний підхід – з'ясування просторових характеристик стану середовища і, потім, виявлення причин, через які цей стан де-небудь погіршується. Усі отримані дані зберігаються в базі даних. Аналіз даних проводиться періодично (щорічно, щоквартально) внутрішньою структурою ГІС, позначеної як «Екологічний моніторинг». Аналіз даних проводиться у кілька етапів:

- поділ даних за тематикою;
- тематичний аналіз зі створенням звіту і тематичної карти;
- аналіз загального стану за сукупністю тематичних карт;
- виявлення динаміка стану території за результатами поточного та попередніх аналізів;
- виведення загального висновку про стан середовища за результатами проведених аналізів;

– вироблення рекомендацій щодо поліпшення цього стану.

Графічні дані об'єктів об'єднані за тематикою в шари, певні комбінації шарів у сукупності утворюють карту (рис. 4.2).

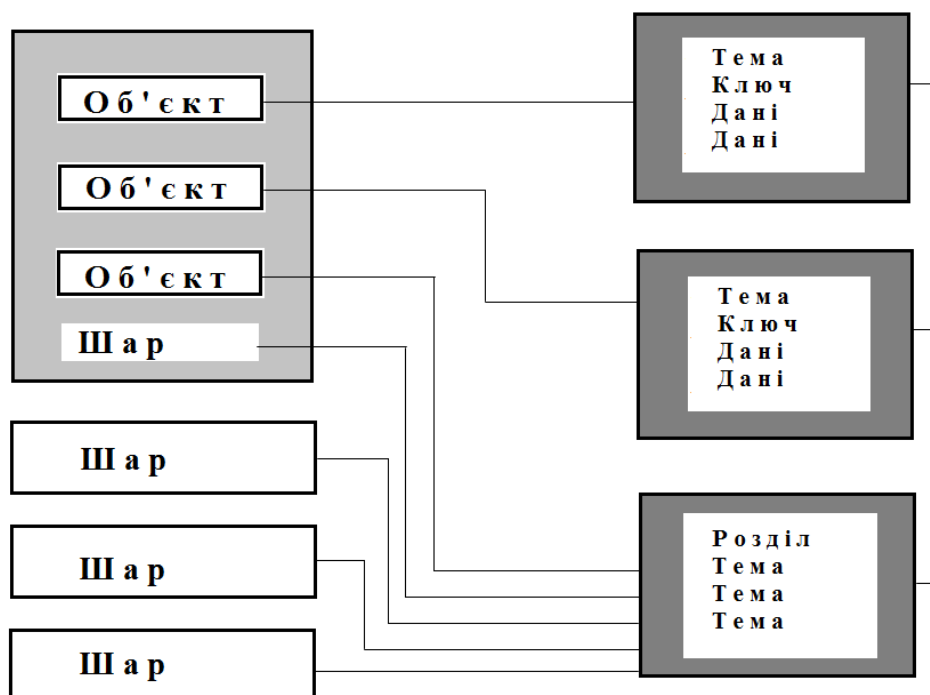


Рисунок 4.2 – Схема зв'язку графічних та атрибутивних даних

На основі географічних координат точок збору і розрахункових біологічних показників методом інтерполяції обчислюється цифрова матриця математичної поверхні розподілу робочого показника на обстежуваній території. Отримана обчислена поверхня накладається на географічну (топографічну) карту території у вигляді ізолій. Такий підхід дозволяє порівнювати між собою просторові розподіли показників, розраховані на точки, що збігаються у просторі. Це, у свою чергу, дає можливість здійснення інтегральної оцінки якості середовища.

Динамічність біологічних систем будь-якого рівня організації у часі дозволяє використовувати їх для вирішення низки завдань прикладного характеру. Тому періодичні спостереження за динамікою якості природного середовища (біомоніторингове спостереження) з пріоритетом оцінки біологічних параметрів мають важливе теоретичне і практичне значення.

Отже, використання комп'ютерної техніки при проведенні біотестування дозволяє автоматизувати процеси отримання і обробки даних та створити геоінформаційні системи (ГІС) у вигляді цифрових карт екологічного моніторингу середовища.

Використання комп'ютерної техніки у біотестуванні передбачає оцифрування отриманих даних. При цьому є необхідним визначення діапазону значень, якій має набувати та чи інша величина (концентрація токсичних речовин, маса і розміри біологічних об'єктів, фізіологічні параметри тощо). Оцифрування даних біотестування призводить до втрати частини інформації (відтінки кольорів, проміжні та другорядні дані тощо). Геоінформаційні системи (ГІС) дозволяють створити цифрові багаторівневі електронні карти. Використання таких карт дозволяє концентрувати великий масив інформації (про екологічний стан середовища) на базі однієї карти, а також дані соціально-екологічного та соціально-економічного характеру.

4.8 Математичні методи в біоіндикаційних дослідженнях

На теперішній час у практиці біоіндикаційних досліджень знайшли широке застосування математичні методи. Вони застосовуються для виявлення подібності кількісних і якісних параметрів екосистем, для оцінки індикаторності видів, індицируемості градієнтів екологічних чинників і т.п.

Функціонування природних екосистем характеризується стохастичними величинами й апроксимується системою імовірнісних функцій. Тому для оцінки імовірності зв'язку індикатора з об'єктом індикації потрібно залучати теорії статистичних розв'язків, у тому числі широкого класу задач статистичного оцінювання, перевірки статистичних гіпотез, кореляційного й факторного аналізу та ін.

Розрахунок статистичних параметрів здійснюється за стандартними виразами:

$$\bar{x} = \frac{1 \sum_{i=1}^N x_i}{N}, \sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N-1}, K = \frac{\sigma^2}{\bar{x}} \cdot 100\%, \quad (4.1)$$

де \bar{x} - вибірковий середній вміст, x_i - кількісне значення i -го параметру, σ^2 - вибіркова дисперсія, K - коефіцієнт варіації, N - обсяг вибірки.

Для оцінки кількісних характеристик використовують статистичні критерії:

$$\text{t-критерій Ст'юдента} \quad t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{N} + \frac{\sigma_2^2}{N}}}, \quad (4.2)$$

$$\text{F-критерій Фишера} \quad F = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2}, \quad (4.3)$$

критерій χ^2 та ін.

Оцінка подібності об'єктів. Кількісна оцінка подібності об'єкта дослідження до еталонів проводиться за допомогою різних коефіцієнтів подібності.

Коефіцієнт С'єренсена

$$K_S = \frac{2N_{A+B}}{N_A + N_B}, \quad (4.4)$$

де N_{A+B} - кількість загальних видів в описах A і B ; N_A і N_B - кількість видів відповідно в описах A і B .

При використанні значень чотирипольної таблиці коефіцієнт спільності набуває вигляду:

$$K_S = \frac{2a}{2a+b-c}, \quad (4.5)$$

де a - кількість спільних зустрічей видів, b - кількість випадків зустрічі виду B , c - кількість випадків зустрічі виду A .

Для кількісних характеристик K_S має назву *коефіцієнта І. Чекановського* і описується як

$$K_S = \frac{\sum_{i=1}^N \min(A_i, B_i)}{\sum_{i=1}^N A_i + \sum_{i=1}^N B_i}, \quad (4.6)$$

де A_i і B_i – кількісні значення виду i в описах A і B , N – загальна кількість видів.

Коефіцієнт Жакара.

$$K_i = \frac{N_{A+B}}{N_A + N_B - N_{A+B}}, \quad (4.7)$$

де N_{A+B} – кількість загальних видів в описах A і B ; N_A і N_B – кількість видів відповідно в описах A і B .

Для кількісних характеристик коефіцієнт набуває вигляду:

$$K_S = \frac{\sum_{i=1}^N \min(A_i, B_i)}{\sum_{i=1}^N [A_i + B_i - \min(A_i, B_i)]}, \quad (4.8)$$

де A_i і B_i – кількісні значення виду i в описах A і B , N – загальна кількість видів.

Коефіцієнт Коха (індекс біотичної дисперсії):

$$K_k = \frac{T - N}{(M - 1)N}, \quad T = \sum_{i=1}^M n_i^2, \quad (4.9)$$

де M – загальна кількість описів, N – загальна кількість видів в усіх описах, n_i – кількість видів в i -му описі.

Коефіцієнт Морисита:

$$C_{1,2} = \frac{2 \sum_{i=1}^N n_{1i} n_{2i}}{(C_1 + C_2) N_1 N_2}, \quad C_i = \frac{M \sum_{i=1}^M n_i (n_i - 1)}{N(N - 1)}, \quad (4.10)$$

де n_{1i} і n_{2i} – кількісні характеристики i -го виду співтовариств «1» і «2», які порівнюються; N – загальна кількість видів, C_i – індекс Морисита (показник нерівномірності розподілу виду), M – загальна кількість площадок, n_i – кількість особин виду на i -й площадці, $N = \sum_{i=1}^M n_i$ – загальна кількість особин виду на усіх площадках.

Міра відстані дозволяє проводити оцінку різниці незалежних

об'єктів за кількісними і якісними ознаками. Найбільш поширеними різновидами є:

міра відстані Евкліда – для кількісних ознак:

$$ED = \left[\sum_{i=1}^N (A_i - B_i)^2 \right]^{1/2}, \quad (4.11)$$

для якісних ознак:

$$ED = \sqrt{b+c}, \quad (4.12)$$

де A_i і B_i – значення кількісних ознак для об'єктів опису; N – загальна кількість ознак, b і c – значення чотирьохпольної таблиці, кількість зустріч тільки вуду A чи B .

Міра відстані Дженжереллі :

$$D_1(A, B) = \left[\sum_{i=1}^N (A_i - B_i)^2 + 2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{k=i+1}^N (A_i - B_i)(A_k - B_k) r_{ik} \right]^{1/2}. \quad (4.13)$$

Міра відстані Макнаутон–Сміта:

$$D_2(A, B) = \left[\sum_{i=1}^N (A_i - B_i)^2 \sum_{j \neq i} r_{ij}^2 \right]^{1/2}. \quad (4.14)$$

Міра відстані Уільямса:

$$D_3(A, B) = \left[\sum_{i=1}^N (A_i - B_i)^2 \sum_{j \neq i} x_{ij}^2 \right]^{1/2}. \quad (4.15)$$

Міра відстані між об'єктами у факторному просторі:

$$D_4(A, B) = \left[\sum_{i=1}^N (A_i - B_i)^2 \sum_{j=1}^M a_{ij}^2 \right]^{1/2}. \quad (4.16)$$

Міра канберрська:

$$D_5(A, B) = \sum_{i=1}^N \frac{[A_i - B_i]}{A_i + B_i}, \quad (4.17)$$

де A_i , B_i – значення i -ї ознаки для порівняння об'єктів A і B ; r_{ij} –

коефіцієнт лінійної кореляції між ознаками i та j ; N – розмірність простору ознак, x_{ij}^2 – значення ймовірності зв'язку ознак, яке визначається як для лінійного коефіцієнта кореляції і еквівалентне йому; a_{ij}^2 – значення навантаження об'єктів на вісь j для виду i ; M – кількість виділених осей максимального варіювання видів у варіанті аналізу R .

Рівняння Престона застосовується для оцінки подібності двох флор або співтовариств:

$$\left[\frac{N_A}{N_{A+B}} \right]^{1/z} + \left[\frac{N_B}{N_{A+B}} \right]^{1/z} = 1, \quad (4.18)$$

де N_A і N_B – кількість видів в кожному з об'єктів, які порівнюються, N_{A+B} – кількість загальних видів для об'єктів-ознак; z – величина, яка визначає міру різниці об'єктів, які порівнюються. Граничне значення $Z_0 = 0,27$. Якщо $Z < Z_0 (< 0,27)$, об'єкти подібні, при $Z > Z_0$ – різні.

Відсоткова подібність.

$$\hat{A}i = \frac{2 \sum \min(x_i, y_i)}{\sum (x_i + y_i)} \cdot 100\%, \quad (4.19)$$

де $\min(x_i, y_i)$ – найменше значення ознаки, подібне для опису X і Y .

ІНДЕКСИ РІЗНОМАНІТНОСТІ.

Індекс Шеннона-Вінера:

$$H_1 = \sum_{i=1}^S h_i h_i = \rho_i \ln \frac{1}{\rho_i} \quad \rho_i = \frac{n_i}{N} \quad N = \sum_{i=1}^S n_i, \quad (4.20)$$

де S – кількість видів, n_i – кількість (численність або маса особин) i -го виду, N – загальна кількість, ρ_i – відносна частота зустрічаємості i -го виду, h_i – часткова міра інформації i -го виду.

Індекс Маргалефа:

$$H_2 = -\frac{1}{S} \log \frac{S!}{U_1! U_2! \dots U_n!}. \quad (4.21)$$

Індекс Сімпсона:

$$H_3 = \sum_{i=1}^N \left(\frac{U_i}{S} \right)^2. \quad (4.22)$$

Індекс Рен'ї-Рао:

$$H_4 = -\log H_3 = -\log \sum_{i=1}^N \left(\frac{U_i}{S} \right)^2. \quad (4.23)$$

Індекс Макінтоша:

$$H_5 = \sqrt{\sum_{i=1}^N U_i^2}, \quad (4.24)$$

де U_i – численність виду i , N – загальна кількість видів в співтоваристві, $S = \sum_{i=1}^N U_i$.

Різноманітність або багатство видів.

$$d = S / \log A, \quad (4.25)$$

де S – кількість видів в описі на площадці стандартного розміру, A – площа облікової площадки.

Питома вага впливу видів – це оцінка значимості індикаторів у лінійному рівнянні множинної регресії :

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i \cdot x_i, \quad (4.26)$$

де Y – значення об'єкта індикації, x_i – значення індикаторів, n – їх кількість, a_i – коефіцієнт регресії, який визначається методом найменших квадратів.

Показник питомої ваги впливу i -го індикатора визначається за формулою:

$$v_i = \frac{|a_i \cdot C_{Y,i}| \cdot R^2}{\sum_{k=1}^n |a_i \cdot C_{Y,k}|}, \quad (4.27)$$

де R – коефіцієнт множинної кореляції, $C_{Y,i}$ – коефіцієнт коваріації між об'єктом індикації Y_i індикатором i . Величина v_i змінюється від 0 до 1. Імовірність різниці v_i від нуля перевіряється критерієм Фішера.

Прямий градієнтний аналіз. Здійснюється при наявності провідного чинника розвитку видів або співтовариств. При цьому види або співтовариства розташовуються на градієнті відповідно до їх вимог до чинника, який аналізується. У результаті аналізу встановлюються:

екокліни– розподіл видів уздовж градієнтів екологічних чинників;

хронокліни– розподіл видів по осі часу;

топокліни – розподіл видів по осях просторових градієнтів;

ценокліни– розподіл видів по осях чинників окремих рослинних співтовариств.

Основним недоліком методу є суб'єктивність при виборі осей ординації.

Гаусова ординація. Передбачає вибір координат , який описується вздовж вісі ординації так, щоб мінімізувати вираз

$$G_l(\{Y_{lj}\}) = \sum_{i=1}^R \sum_{j=1}^n \left[x_{ij} - W_i(Y_{lj}) \exp \left\{ \frac{|Y_{lj} - \bar{x}_i(Y_{lj})|}{2\delta_i^2(Y_{lj})} \right\} \right]^2, \quad (4.28)$$

де $\bar{x}_i(Y_{lj})$ і $2\delta_i^2(Y_{lj})$ – середньозважена і дисперсія розподілу виду i ; $W_i(Y_{lj})$ – максимально можлива величина розподілу виду при

порядку співтовариства $\{Y_{ij}\}$; R – кількість найбільш інформативних видів, x_{ij} – значення ознаки виду i в співтоваристві j .

Розміщення видів по полярних осях ординації можливе за допомогою *факторного аналізу*, що поєднує методи оцінки розмірності множини змінних, які спостерігаються шляхом дослідження структури кореляційних і коваріаційних вторинних матриць. У методі головних компонентів досліджується матриця коефіцієнтів лінійної кореляції з одиницями на головній діагоналі. Власне при факторному аналізі на головній діагоналі кореляційної матриці знаходяться значення спільностей, які оцінюються коефіцієнтом множинної кореляції подібних змінних даних.

Методи оцінки індикаторності видів дозволяють оцінити ефективність застосування індикаторів, інформативність видів і оптимізувати процес оцінки стану навколишнього середовища за допомогою рослинності.

Метод Хілла. Вісь ординати ділиться на дві частини. Визначається кількість описів, які потрапляють в кожну з частин градієнта – M_1 і M_2 – і кількість описів, в яких зустрічався вид m_{1i} і m_{2i} . N – загальна кількість видів. Індикаційне значення I_i :

$$I_i = \left| \frac{m_{1i}}{M_1} - \frac{m_{2i}}{M_2} \right| \quad I = \sum_{i=1}^N I_i / N. \quad (4.29)$$

Інформативність тим вища, чим ближче значення I_i до 1.

Метод В.І. Василевича є узагальнення методу Хілла. Вісь ординації розбивається на k частин. Індикаційне значення H_i :

$$H_i = \frac{1}{\log k} \left[- \sum_{j=1}^k \frac{m_{ij}}{M_j} \cdot \log \frac{m_{ij}}{M_j} \right]. \quad (4.30)$$

Кількість описів m_{ij} може бути замінені величинами численності виду, проективного покриття або інших кількісних характеристик, а M_j – загальною величиною відповідного

показника для даної групи описів. H_i розглядається як ступінь евритопності виду. Евритопний наскрізний вид має $H_i = 1$; стенотипний вид, який зустрічається тільки в межах одного відрізка вісі, характеризується $H_i = 0$.

Література до розділу: [1; 2; 9–14; 16; 18–25; 27].

Питання для самоконтролю

1. Сутність методів біотестування.
2. Основні підходи у біотестуванні.
3. Принципова схема процесу біотестування.
4. Вибір біотесту і тест-реакції.
5. Короткочасне та тривале біотестування. Традиційні тест-об'єкти.
6. Біомаркери впливу, чутливості та ефекту.
7. Картографування на основі даних, отриманих за допомогою біоіндикації та біотестування.
8. Поняття «біомаркер».
9. Поняття «ксенобіотики».
10. Що таке геоінформаційні системи (ГІС)? Яка роль біоіндикації та біотестування в їх формуванні?

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Атабекова А.И. Цитология растений: учебник для студ-в.-изд. 4-е, перераб. и доп. / А. И. Атабекова, Е. И. Устинова. – М.: Агропромиздат, 1987. – 246 с.
2. Баландин С.А. Общая ботаника с основами геоботаники: учеб. пособие для вузов. – 2-е изд., исправл. и доп. / С. А Баландин, Л. И. Абрамова, Н. А. Березина. – М. : Академкнига, 2006. – 293 с.
3. Березина Н.А. Экология растений: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / Н. А. Березина, Н. Б. Афанасьева. – М. : Академия, 2009. – 400 с.
4. Бигон М. Экология. Особи, популяции и сообщества: В 2-х т., Т. 1 / М. Бигон, Дж. Харпер, К. Таунсенд [Пер. с англ.]. – М. : Мир, 1989.–667 с.
5. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / О.П.Мелехова, Е.И. Сарапульцева, Т.И. Евсеева и др.; под ред.О.П. Мелеховой и Е.И. Сарапульцевой.–2-е изд., испр.–М.: Академия, 2008.–288 с.
6. Биологический энциклопедический словарь / Гл. ред. М.С. Гиляров; Ред. кол.: А.А. Баев, Г.Г. Винберг, Г.А. Заварзина. 2-е изд., исправл.– М. : Советская энциклопедия, 1989. – 864 с.
7. Бродский А.К. Введение в проблемы биоразнообразия: Иллюстрированный справочник / Андрей Константинович Бродский. – Спб. : Санкт-Петербургский университет, 2002. – 144 с.
8. Вайнерт Э., Вальтер Р., Ветцель Т. и др. Биоиндикация загрязнений наземных экосистем: Пер. с нем. / Под ред. Р. Шуберта. – М. : Мир, 1998. – 350 с.
9. Веселова Т.В. Стресс у растений (Биофизический подход) / Т. В. Веселова, В. А. Веселов, Д. С. Чернавский. – М. : МГУ, 1993. – 144 с.
10. Герасимов И.П. Научные основы современного мониторинга окружающей среды / И.П. Герасимов // Известия Академии наук СССР: Серия географическая. – 1975. – № 3. – С. 13–25.
11. Глухов О.З. Фітоіндикація метал пресингу в антропогенно

трансформованому середовищі / О.З. Глухов, А.І. Сазонов, Н.А. Хижняк. – Донецьк : Норд-Прес, 2006. – 360 с.

12. Гродзинский Д.М. Биофизика растения: Монография / Д. М. Гродзинский. – К. : Наукова думка, 1972. – 256 с.

13. Гродзинський Д.М. Радіобіологія: підручник/Д. М. Гродзинський. – К. : Либідь, 2001. – 448 с.

14. Гуляев Г.В. Генетика/ Г. В. Гуляев. – М. : Колос, 1984. – 351 с.

15. Гуральчук Ж.З. Фітотоксичність важких металів та стійкість рослин їх дії: монографія / Ж.З. Гуральчук. – К. : Логос, 2006. – 208 с.

16. Евгенъев М.И. Тест-методы и экология / М.И. Евгенъев // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 11. – С. 29 – 34.

17. Захаров В.М. Мониторинг здоровья среды на охраняемых территориях / В.М. Захаров, А.Т. Чубинишвили. – М. : Центр экологической политики России, 2001. – 78 с.

18. Злобін Ю.А. Основи екології: Підручник / Ю. А. Злобін. – К. : Лібра, 1998. – 248 с.

19. Исидоров В.А. Введение в химическую экотоксикологию: Учеб. пособие / В. А. Исидоров. – СПб : Химиздат, 1999. – 144 с.

20. Кассандрова О.Н. Обработка результатов наблюдений: Практическое руководство / О. Н. Кассандрова, В. В. Лебедев. – М.: Наука, 1970. – 109 с.

21. Кизель В.А. Физические причины диссимметрии живых систем : Проблемы современной физики / В.А. Кизель. – М. : Наука, 1985. – 120 с.

22. Клименко М.О. Моніторинг довкілля: Підручник / М. О. Клименко, А. М. Прищепа, Н. М. Вознюк. – К. : Академія, 2006. – 360 с.

23. Кортэ Ф., Бахадир М., Клийн В., Лай Я.П., Парлар Г., Шойнерт И. Экологическая химия: Учеб. пособие. [Пер с нем. Ф. Кортэ]. – М.: Мир, 1997. – 396 с.

24. Красильникова Л.А. Биохимия растений: Учеб. пособие / Л. А. Красильникова, О. А. Евсентьева, В. В. Жмруко, Ю. А. Садовниченко; Под ред. Л.А. Красильниковой. – Ростов н/Д. :

Феникс, Харьков : Торсинг, 2004. – 224 с.

25. Кучерявий В.П. Екологія : Підручник / В. П. Кучерявий. – Львів : Світ, 2001. – 500 с.

26. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для спец. вузов. – 4-е изд.; перераб. и доп./ Г. Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.

27. Опекунова М. Г. Биоиндикация загрязнений : учебное пособие / М. Г. Опекунова. – СПб : Издательство Санкт-Петербургского университета, 2004. – 266 с.

Никифоров В. В., Дігтяр С. В., Мазницька О. В., Козловська Т. Ф.
Біоіндикація та біотестування : навчальний посібник. – Кременчук :
КрНУ, 2016. – 100 с.

Укладачі професор, д.б.н. Никифоров В. В.,
ст. викл. Дігтяр С. В., доцент, к.т.н. Мазницька О. В.,
доцент, к.х.н. Козловська Т. Ф.

Кафедра біотехнологій та біоінженерії

Відповідальний за випуск Пасенко А. В.

Підписано до друку “___” _____2017. Формат 60 90/16

Ум.друк.арк._____ Замовлення №_____

Тираж_____прим.

39600 м. Кременчук, вул. Першотравнева, 20,
КРЕМЕНЧУЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ
МИХАЙЛА ОСТРОГРАДСЬКОГО
Видавничий відділ КрНУ

Кременчук 2016