

Міністерство освіти і науки України
Чорноморський національний університет імені Петра Могили

Л. І. Григор'єва

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Навчальний посібник



Миколаїв – 2025

УДК 502.175:57.047.08](075.8)

Г 83

Рекомендовано до друку Вченою радою Чорноморського національного університету імені Петра Могили (протокол № 3 від 27 лютого 2025 р.).

Рецензенти:

Ракша-Слюсарєва О. А. – доктор біологічних наук, професор, Донецький національний медичний університет.

Чоботько Г. М. – доктор біологічних наук, професор, Інститут агроекології і природокористування НААН.

Григор'єва Л. І.

Г 83 Прикладні аспекти біоіндикації і біоре mediaції довкілля : навч. посіб. – Миколаїв : Вид-во ЧНУ імені Петра Могили, 2025. – 120 с.

ISBN 978-966-336-419-3

У навчальному посібнику викладено сучасні практичні підходи до використання біоіндикаційного методу при оцінюванні екологічного стану навколишнього середовища. Розглянуто загальні теоретичні положення біоіндикації та взаємозв'язок зміни параметрів розвитку організмів та їхніх угруповань з екологічними чинниками. Розглянуто біоіндикаційні особливості ландшафтно-деструктивних і параметричних змін у довкіллі. Також приведено відомі методи ремедіації довкілля, приклади ремедіаційних та фіторе mediaційних заходів.

Навчальний посібник призначений для студентів закладів вищої освіти, майбутнім біологам, екологам та фахівцям у галузі екології.

УДК 502.175:57.047.08](075.8)

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНА ІНДИКАЦІЯ ТА БІОТЕСТУВАННЯ	7
ТЕМА 1. БІОІНДИКАТОР І ОБ'ЄКТ ІНДИКАЦІЇ	7
§ 1.1 Класифікація біоіндикаторів	7
§ 1.2 Рівні біоіндикації. Біоіндикаційні ознаки забруднення екосистем.	9
§ 1.3 Математичні методи при біоіндикаційних дослідженнях	14
§ 1.4 Основні принципи застосування біоіндикації	16
§ 1.5 Методи біоіндикаційних досліджень	18
1.5.1. Біогеохімічний підхід в біоіндикаційних дослідженнях	19
1.5.2 Методи біомаркерів.....	21
1.5.3. Методи фітоіндикації екологічного стану природного середовища.....	21
ТЕМА 2. БІОІНДИКАЦІЯ ЛАНДШАФТНО-ДЕСТРУКТИВНИХ І ПАРАМЕТРИЧНИХ ЗМІН СТАНУ ДОВКІЛЛЯ	30
§ 2.1. Зміна водного режиму території	30
§ 2.2. Зміна світлових умов	31
§ 2.3. Зміна температурного режиму	37
§ 2.4. Зміна радіаційного фону	40
ТЕМА 3. БІОТЕСТУВАННЯ	51
§ 3.1. Біотестування і його роль при спостереженнях за станом довкілля	51
§ 3.2. Тест-об'єкти при екотоксикологічному тестуванні об'єктів довкілля	55
§ 3.3. Контроль екологічного стану за допомогою біоіндикаторів.....	58
РОЗДІЛ 2. РЕМЕДІАЦІЯ ДОВКІЛЛЯ. БІОРЕМЕДІАЦІЯ	66
ТЕМА 4. ПОНЯТТЯ І МЕТОДИ РЕМЕДІАЦІЇ	66
§ 4.1. Методи ремедіації довкілля. Ремедіація ґрунту.	66
§ 4.2. Біоремедіація. Фіторемедіація. Види і приклади.	72
ПРАКТИЧНІ РОБОТИ ТА МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО ЇХ ВИКОНАННЯ	85
ПРАКТИЧНА РОБОТА № 1. Визначення основних токсикологічних характеристик при дії солей важких металів на пророщування насіння	85

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 2. Вплив солей важких металів на активність мікроорганізмів ґрунту	87
ПРАКТИЧНА РОБОТА № 3. Біоіндикація токсичності ґрунту	88
ПРАКТИЧНА РОБОТА № 4. Визначення токсичності ґрунту мікробіологічним способом	89
ПРАКТИЧНА РОБОТА № 5. Визначення токсичності води та водних витяжок з ґрунтів, опадів стічних вод, відходів	91
ПРАКТИЧНА РОБОТА № 6. Біотестування методом проростків	99
ДОДАТКИ	101
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	115

ВСТУП

Охорона довкілля і контроль над рівнем його забруднення вимагають залучення ефективних і недорогих методів вивчення природних комплексів. Нині розроблено різні підходи до оцінки екологічного стану довкілля, серед яких одним із найбільш перспективних напрямів є біоіндикація забруднень, що ґрунтується на вивченні різних біологічних, фізіологічних, анатомічних та інших відхилень у розвитку організмів, а також їхніх угруповань, що виникають під дією зовнішніх чинників. Вона містить у собі низку відносно простих, дешевих та інформативних методів оцінки екологічного стану навколишнього середовища, що базуються на вивченні реакцій організмів, що виникають у відповідь на антропогенний вплив. Біоіндикація забруднень є складовою частиною загальної біоіндикації – галузі біологічної науки, яка вивчає ознаки біоти, що характеризують компоненти природного середовища та їхні особливості. Вона виникла як метод пізнання природи, спрямований на вивчення взаємозв'язків між її живими та неживими компонентами. Сама назва «біоіндикація» походить від латинського дієслова *indice* – «вказувати», що підкреслює її прикладний характер. Історично в біоіндикації намітився антропоцентричний підхід. Однак збереження оптимальних умов для життєдіяльності людини можливе тільки за умови забезпечення природного режиму існування всієї біоти і біосфери загалом. У зв'язку з цим зростає роль біоіндикаційних досліджень під час вирішення питань охорони природи та раціонального природокористування на екосистемному рівні.

Вважається, що для отримання адекватної оцінки екологічного стану довкілля необхідне проведення комплексних досліджень на різних рівнях організації біосистем – субклітинному, клітинному, організмовому, популяційному та біоценотичному. При цьому особлива увага має приділятися вивченню впливу антропогенних чинників на життєдіяльність біосистем різних таксономічних рангів, включно з людиною. Під час діагностики якості довкілля використовують параметри розвитку мікроорганізмів, рослин, ґрунтової мезофауни, птахів, представників іхтіофауни, різних ссавців, зокрема людини. Широко використовують такі показники, як захворюваність різних вікових груп, вроджені вади розвитку, смертність тощо. Через це перший розділ присвячено вивченню екотоксикокінетичних та екотоксикодинамічних властивостей ксенобіотиків довкілля.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Під час розв'язання низки прикладних завдань природокористування часто застосовують експрес-методи екологічної оцінки стану середовища. До них належать, насамперед, морфологічний, флористичний і фітоценотичний методи. Перевага цих методів зумовлена відносною простотою натурних досліджень і збору інформації, можливістю визначення сумарного впливу всього комплексу чинників у конкретних умовах.

Біоіндикація дає змогу оцінити комплексний антропогенний вплив як на природні об'єкти, так і на території урбо- та агроландшафтів. Поряд з інтенсивністю впливу виявляються екологічні наслідки порушень на різних рівнях організації біосистем. При цьому можна використовувати два підходи до оцінки реакцій організмів на вплив навколишнього середовища. Перший передбачає вивчення реакцій видів та їхніх угруповань, поширених на досліджуваній території, другий – вивчення реакцій тест-об'єктів, штучно розміщених (інтродукованих) на даній території або у випробовуваному середовищі.

Рациональне природокористування та вирішення питань екологічної безпеки вимагають від вищої школи підготовки фахівців, які володіють комплексом сучасних методів оцінки стану довкілля, серед яких біоіндикація посідає одне з провідних положень. У зв'язку з цим автор зробив спробу систематизувати накопичені знання так, щоб у студентів і фахівців, які працюють у сфері екології, було цілісне уявлення про біоіндикацію, про можливості використання тих чи інших біоіндикаційних підходів у різних галузях охорони навколишнього середовища та рационального природокористування.

Крім того, необхідно показати сильні сторони та проблеми біоіндикації, а також застерегти дослідників від спрощеного розуміння процесів взаємодії суспільства і природи.

При складанні даного посібника автором за основу окремих тем взято матеріали з посібників і монографій С. Куценко, В. Безеля зі співавт., Н. Іваненко, Ю. Саєта, Д. Орлова, С. Патина зі співавт. При викладанні тем із радіоекотоксикології наводяться матеріали з посібників і монографій Ю. Кутлахмедова, Г. Полікарпова. В окремих розділах наводяться матеріали з авторських монографій щодо екологічних та радіоекологічних досліджень у південному регіоні та практичних розробок авторів з питань фітореємедіації.

Автор висловлює глибоку подяку д-ру біол. наук, професору Ракші-Слюсаревій О. А. та д-ру біол. наук, професору Чоботьку Г. М. за цінні зауваження і пропозиції, які вони зробили під час рецензування рукопису.

РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНА ІНДИКАЦІЯ ТА БІОТЕСТУВАННЯ

ТЕМА 1. БІОІНДИКАТОР І ОБ'ЄКТ ІНДИКАЦІЇ

§ 1.1 Класифікація біоіндикаторів

Біотичний компонент геосистем, що перебуває під впливом літосфери й атмосфери і має велику чутливість до умов середовища проживання, можна розглядати як їхній індикатор. Крім того, сама біота інтенсивно впливає на навколишнє середовище, насамперед завдяки здійснюваному нею біологічному кругообігу речовини.

Основними вихідними поняттями в біоіндикації є «біоіндикатор» і «об'єкт індикації». Об'єктами індикації можуть бути різні природні тіла, їхні властивості та процеси, що протікають у них. Показники, які при цьому використовуються, називаються індикаторами.

Біоіндикаторами можуть бути живі організми, що мають добре виражену реакцію на зовнішній вплив: різні види бактерій, водоростей, грибів, рослин, тварин тощо. Провідна роль при цьому належить фітоіндикації – вивченню реакцій рослин на стресові впливи. Найчастіше як біоіндикатори використовують лишайники (*ліхеноіндикація*), мохи (*бриоіндикація*), судинні рослини, зокрема деревні (*дендроіндикація*).

Особливе становище рослин в екосистемі пов'язане з їхнім автотрофним живленням, здатністю створювати під дією енергії сонця з простих неорганічних сполук складні органічні речовини. Для підтримання біогеохімічних циклів біосфери та її гомеостазу необхідно насамперед забезпечити оптимальні умови для діяльності продуцентів. Перебуваючи на початку трофічного ланцюга, вони визначають кругообіг матерії та енергії в біосфері. У наземних екосистемах із лісовою рослинністю біомаса продуцентів становить 90% і більше від усієї біомаси біоценозу, тому рослинність визначає багато важливих параметрів екосистем. У зв'язку з цим якість середовища слід визначати головним чином за реакціями на зовнішній вплив автотрофних організмів – продуцентів. Інтенсивність фотосинтезу і запаси створеної при цьому біомаси не тільки відображають особливості екологічного стану території, а й є чутливими індикаторами їх змін. Рослини – невід'ємний компонент будь-якого ландшафту. Саме за характером рослинного покриву можлива безпомилкова оцінка інтенсивності забруднень і порушень геосистем. Особливості хімічного складу, процесів метаболізму, зовнішнього вигляду рослин, видового складу угруповань та інші флористичні й фіто-

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

ценотичні ознаки дають змогу визначити стан абіотичних компонентів та їх зміну під впливом антропогенного навантаження.

Узагальнену схему сучасної класифікації біоіндикаторів представлено на рис. 1. Біоіндикатори можуть бути прямими й непрямими. Якщо реакція живого організму спричинена безпосереднім впливом зовнішнього чинника, то говорять про пряму індикацію. У непрямих індикаторів реакція виникає через систему опосередкованих взаємопов'язаних реакцій і не зумовлена безпосередньо стресовим впливом.

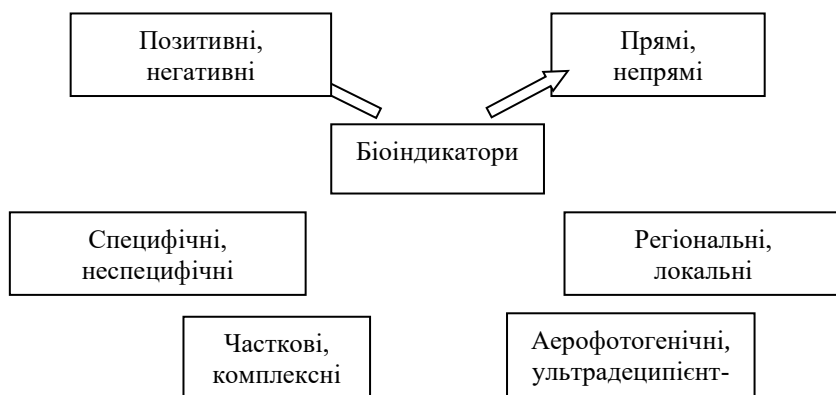


Рис. 1. Класифікація біоіндикаторів

Крім того, розрізняють позитивні та негативні біоіндикатори. Позитивні біоіндикатори характеризуються збільшенням реакції (кількісних характеристик) при наростанні стресу. Так, наприклад, позитивним індикатором вмісту токсичних газів у повітрі є збільшення концентрації політантів у біомасі. Наростання рекреаційного навантаження на екосистему індукується збільшенням кількості рудеральних видів рослин: кульбаби *Taraxacum officinale*, суріпиці *Barbarea vulgaris*, перстачу гусячого *Potentilla anserina* та ін. Прикладом негативних індикаторів забруднення атмосферного повітря є зменшення видового різноманіття, чисельності епіфітних лишайників та утворення так званої лишайникової пустелі в умовах постійно високого рівня викидів токсичних газів.

Залежно від реакції біоіндикатора на певний стресорний чинник виділяють специфічний і неспецифічний характер біоіндикації. У разі специфічної біоіндикації реакція організму є характерною для якогось певного стресора. Існують такі види, у яких можуть з'являтися явні симптоми впливу, що свідчать про присутність у навколишньому сере-

довищі однієї або кількох конкретних забруднювальних речовин. Вони можуть виявляти і специфічні симптоми, що дає змогу проводити також кількісні вимірювання рівня забруднення. Однак часто у біоіндикаторів, особливо рослин, одна й та сама реакція спричиняється різними стресорами або їх поєднанням. Здатність організмів однаково реагувати на зміну різних чинників середовища ускладнює виявлення справжніх причин прояву реакції. У такому разі говорять про неспецифічну індикацію. Ця властивість біоти ускладнює процес отримання інформації за принципом «вплив – реакція». Для виявлення причин порушень необхідні вивчення хімічного складу абіотичних компонентів екосистеми та оцінка накопичення полютантів у рослинах відносно фонових характеристик.

§ 1.2. Рівні біоіндикації. Біоіндикаційні ознаки забруднення екосистем.

Розвиток біоіндикації розпочався з вивчення властивостей рослинного покриву. Традиційно тут виокремлювали два напрями: ботанічний і геоботанічний. За Б. Виноградовим (1964 р.), перший із них фокусується на індикаторних ознаках рослинності, другий – на її індикаторних функціях. Ці два напрями одні дослідники розглядали як антагоністичні, інші – як співіснуючі, треті – як співіснуючі, але не цілком рівноцінні.

До індикаторних ознак рослинності належать ті її властивості, які є показниками будь-яких умов середовища. Індикаторні «критерії», за Ф. Клементсом (1920 р.), поділяються на індивідуальні та ценотичні. До індивідуальних належать: життєва форма, особливості будови окремих особин рослин у різних екологічних умовах. Ценотичні ознаки включають характеристики рослинних угруповань: будову ярусів, синузій, поєднання асоціацій. Б. Виноградов запропонував свою класифікацію індикаторних ознак. Він виділив флористичні, фізіологічні, морфологічні та фітоценотичні індикатори.

Спираючись на детальні дослідження в гістології, анатомії, фізіології, біохімії, говорять про те, що вплив зовнішніх чинників простежується на всіх рівнях організації живої речовини (рис. 2): ген – клітина – орган – вид – популяція – спільнота.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

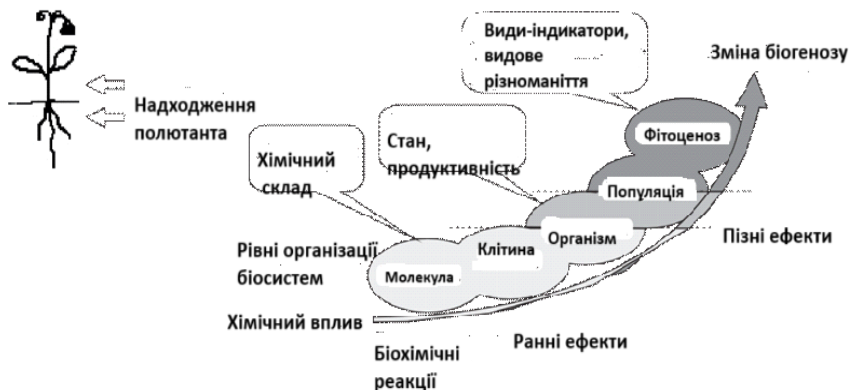


Рис. 2. Загальна схема біоіндикаційних ознак (за матеріалами S. Sanny і J. Beyer зі змінами)

Відповідно до рівнів організації біологічних систем встановлюються рівні біоіндикації. У книзі «Біоіндикація забруднень наземних екосистем» (1988 р.) за редакцією Р. Шуберта виділено шість рівнів біоіндикації:

- 1) біохімічні та фізіологічні реакції;
- 2) анатомічні, морфологічні, біоритмічні та поведінкові відхилення;
- 3) флористичні, фауністичні та хорологічні зміни;
- 4) ценотичні зміни;
- 5) біогеоценотичні зміни;
- 6) зміни ландшафтів.

На нижчих рівнях організації живої речовини найчастіше переважає пряма специфічна індикація. Біоіндикація на нижчих рівнях діалектично включається в біоіндикацію на вищих рівнях, набуваючи нових якісних рис. При цьому переважає непряма неспецифічна індикація.

Зупинимося детальніше на біоіндикаційних ознаках забруднень екосистем, використовуваних на тому чи іншому рівні біоіндикації.

Біохімічні та фізіологічні реакції. На цьому рівні об'єднані так звані невидимі ушкодження. Як синоніми в літературі широко використовують поняття «фізіологічні ушкодження», «латентні ушкодження», «тонкі ушкодження», «біомаркери». Багато живих організмів мають відносно високу чутливість до впливу забруднювальних речовин. Їх можна використовувати як індикатори для визначення рівня та виду забруднення, а також для проведення моніторингу стану атмосферного повіт-

ря, природних вод і ґрунтів. Якщо організми здатні накопичувати достатню кількість забруднювальних речовин без зміни їхніх метаболічних процесів і якщо ці забруднювальні речовини можуть бути легко виявлені та ідентифіковані в біомасі, то такі види можна використовувати для визначення загальної кількості забруднювальних речовин, накопичених в організмах за певний проміжок часу. За слабкої інтенсивності впливу стресора подібні пошкодження справді залишаються невидимими. Однак за досягнення певних значень кількісних параметрів стресора невидимі ушкодження призводять до зниження продуктивності, появи морфологічної мінливості або тератів тощо.

Перелічимо показові пошкодження цього рівня.

1. Порушення вибіркової проникності біомембран, що обмежують область певної біохімічної реакції або здійснюють спрямований транспорт усередині клітин. Це, як правило, подвійні білково-(фосфо)ліпідні шари.

2. Порушення процесу фотосинтезу. Показовими в цьому відношенні є: зниження активності ферментів, зниження вмісту хлорофілу, зменшення співвідношення хлорофілів *a* і *b*, збільшення вмісту феофітину. У природних умовах під впливом забруднення середовища на листках рослин часто спостерігаються хлорози, причиною чого є зміна вмісту пігментів, що слугує біоіндикаційною ознакою. Падіння концентрації зелених пігментів у листках може відбуватися внаслідок руйнування хлорофілів і перетворення їх на феофітини під дією токсиканта, а також унаслідок пригнічення синтезу хлорофілу через порушення обміну речовин і перебігу окремих етапів синтезу пігментів. Нині для детальної оцінки змін у фотосинтезі водоростей під впливом чинників середовища активно розробляють методи аналізу індукції флуоресценції (так званий JIP-тест (Strasser et al., 2004)) і методи реєстрації світлових залежностей флуоресцентних параметрів за різного імпульсного збудження (РАМ-флуорометрія).

3. Передчасний запуск механізмів старіння організму. Характерною ознакою є збільшення вмісту гормонів (етилен, абсцизова кислота та ін.), що регулюють дозрівання плодів, старіння й опадання листя тощо.

4. Руйнування білка та РНК.

5. Зниження енергетичного балансу; зміна активності ферментів. Загалом відзначається збільшення їхньої активності за низьких концентрацій забруднювальних речовин і зниження – за високих.

6. Зміна мінерального обміну; накопичення токсикантів.

7. Зміна вуглеводного та ліпідного обмінів. Можливе збільшення концентрації сахарози і фруктози в клітинному соку з метою захисту від замерзання. Зміна складу жирних кислот.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Анатомічні, морфологічні, біоритмічні та поведінкові відхилення. Одним із широко застосовуваних методів екологічної оцінки стану навколишнього середовища є аналіз особливостей морфологічної будови біологічних об'єктів. Накопичення полютантів у організмі під час емісійних впливів, порушення метаболізму, що виникають під час параметричних і ландшафтно-деструктивних змін екосистем, призводять до зміни будови тканин, органів і загалом до модифікації діагностичних ознак видів. Під час оцінювання екологічного стану довкілля за морфологічними відхиленнями як індикатори слід обирати найчутливіші види, що володіють добре вираженими, яскравими та легко розпізнаваними реакціями на певний антропогенний вплив. Слід, однак, враховувати, що, оскільки на чутливість живих організмів до полютантів впливають генетична структура, стадія їхнього (організмів) розвитку, умови зовнішнього середовища, концентрація полютанта, ця чутливість змінюється протягом вегетаційного сезону залежно від віку особи.

На практиці існують два основні підходи до вивчення таких відхилень. Перший – детальний візуальний підхід – охоплює вивчення анатомо-морфологічних ознак, другий – інтегральний – передбачає врахування біомаси індикаторних видів або їхніх груп.

Вивчення анатомо-морфологічних ознак, що не потребує великих матеріальних витрат, має особливе практичне значення для експрес-оцінки інтенсивності техногенного впливу на екосистеми. Ефективним виявляється застосування як індикаторних ознак морфологічних показників – висоти рослин, довжини і ширини листя, міжвузлів тощо. У деревних видів можливе вивчення таких морфологічних ознак, як висота стовбурів, висота прикріплення крони і першої живої гілки, висота кірки, що відшаровується, стан і розрідженість крони, суховершинність тощо. Наразі як показник стану природних популяцій тварин і рослин розглядають рівень флуктуаційної асиметрії морфологічних структур. Цей показник неспецифічно зростає внаслідок порушення стабільності розвитку за будь-яких стресових впливів як природного, так і антропогенного походження. Водночас потрібно приймати до уваги, що не завжди високий рівень забруднення супроводжується збільшенням рівня флуктуаційної асиметрії морфологічних утворень як у тварин (Гілева, Косарева, 1994; Вершинін та ін., 2007), так і в рослин (Ambo-Rappe et al., 2007; Єрофєєва та ін., 2009).

Можливість кількісної оцінки перелічених параметрів за порівняльного аналізу фонових і антропогенно порушених територій із застосуванням апарату математичної статистики підвищує надійність і достовірність прогнозу антропогенних сукцесій і висновків про сучасний стан екосистем.

Однією із форм прояву стресового впливу є виникнення хлорозу та некрозу. Морфологічну мінливість рослин вивчено в різних природно-кліматичних зонах як під впливом природних геохімічних аномалій, так і в умовах техногенного забруднення довкілля (Петруніна 1968, 2002; Скарлигіна-Уфимцева, 1976; Уфимцева, Терьохіна, 2000; Опікунова, Алексєєва-Попова, 2000; Опікунова, Алексєєва-Попова, 2001; Опікунова, Алексєєва-Попова, 2001).

Але такі яскраві відхилення в розвитку організму є лише якісною ознакою стресової ситуації. Використання ознакової системи «присутність – відсутність показника» не дає уявлення про інтенсивність впливу або частоту стресу. Перехід до кількісної характеристики досягається через використання бонітувальних шкал некрозів, хлорозів або, наприклад, шкали тривалості життя хвої (листя) деревних порід. Інтенсивність впливу діагностується ступенем ураження (% покриття) листя хлорозом або некрозом, представленим у вигляді відповідних класів. Таким чином, реалізуючи статистичний підхід, при порівняльній оцінці серії пробних площ можна одержати об'єктивну інформацію про ступінь порушення та екологічний стан довкілля. Картування біоіндикаційних ознак допомагає відновити просторову картину розподілу забруднення та його негативного впливу на ПТК.

Морфологічні показники деревостану можуть свідчити про погіршення середовища існування внаслідок порушень і (або) забруднень. Такі показники, як флуктуаційна асиметрія листя, висота, діаметр, зімкненість деревостану, середня відстань між деревами, висота мертвої відторгнутої кори, висота прикріплення крони, фаутність, сухостійність, наявність сухостою та пнів, порівнюються з відповідними фоновими характеристиками. Їх зміни порівняно з фоновими значеннями свідчать про несприятливі умови проживання деревних видів. Але слід пам'ятати, що умови місцезростання багато в чому залежать від природних чинників (освітленість, зволоження тощо), а останні можуть бути не завжди оптимальними, що й призводить до змін морфологічних характеристик. Отже, при використанні морфологічних ознак рослин для оцінки антропогенного впливу необхідно враховувати природну мінливість біоіндикаторних показників. Уникнути можливих помилок можна, насамперед працюючи з репрезентативними вибірками даних на фонових і випробовуваних площах або застосовуючи морфологічні характеристики в комплексі з іншими індикаторними ознаками.

Інтегральним показником екологічного стану навколишнього середовища є продуктивність біомаси. У трав'янистих угрупованнях найзручніше і найпростіше визначати її за запасами біомаси в період максимального розвитку травостою. Одним із найпоширеніших методів є

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

метод укосів, для реалізації якого на пробній площі розміром 20-25 м розміщують 20 майданчиків 0,25-0,25 м, 0,5-0,5 м або 1-1 м. Вибір оптимального розміру майданчиків визначається загальними запасами і багатством травостою.

Таким чином, під час біоіндикації використовують такі ознаки:

- 1) зміна забарвлення листя і тіла, окремих органів тварин;
- 2) передчасне пожовтіння листя рослин – хлороз, відмирання тканин – некроз. Виділяють різні форми хлорозу та некрозу: точковий, плямистий, міжжилковий, крайовий, тип «риб'ячого скелета», верхівковий, лінійний тощо;
- 3) передчасне в'янення та опадання листя (дефоліація);
- 4) зміна розмірів і продуктивності рослин і тварин;
- 5) зміна форми клітин, структури тканин. Під дією стресу відзначається зменшення розмірів клітин і тканин. Токсичні речовини нейтралізуються всередині клітин або зв'язуються у складі важкорозчинних сполук, які морфологічно проявляються у формуванні друз кристалів (наприклад, оксалатів кальцію), «конкрецій» та інших новоутворень;
- 6) флуктуюча асиметрія черепа, м'язів комах, ссавців, листової пластинки рослин тощо;
- 7) зміна форми росту, екобіоморфних ознак;
- 8) поява потворних форм – тератів. Морфологічні відхилення в розвитку є однією з найяскравіших біоіндикаційних ознак. Вони можуть виникати під впливом різних стресових чинників. Вроджені аномалії розвитку сільськогосподарських тварин спостерігаються під дією забруднення довкілля ТМ, ХОС, за радіаційного опромінення тощо. Широко відомі випадки утворення тератологічних форм рослин в умовах природних геохімічних аномалій;
- 9) біоритмічні зміни. Особливий інтерес становлять ритми, пов'язані із періодичністю геофізичних процесів (циркадіанні, навколомісячні, навколорічні, навколоприливні). Основними чинниками, що визначають циклічність, виступають освітленість, температура, вологість.

§ 1.3 Математичні методи при біоіндикаційних дослідженнях

Нині в практику біоіндикаційних досліджень широко увійшли математичні методи. Вони застосовуються для виявлення подібності кількісних і якісних параметрів екосистем, для оцінки індикаторності видів, індичіюваності градієнтів екологічних чинників тощо.

Функціонування природних екосистем характеризується стохастичними величинами й апроксимується системою ймовірнісних функцій. Тому для оцінювання достовірності зв'язку індикатора з об'єктом індикації потрібне залучення теорії статистичних рішень, зокрема широ-

кого класу завдань статистичного оцінювання, перевірки статистичних гіпотез, кореляційного та факторного аналізу тощо. Розрахунок статистичних параметрів здійснюють за стандартними формулами:

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

де $\bar{x}$ – вибіркве середнє значення, x_i – кількісне значення i -ого параметру, σ^2 – вибіркво дисперсія, K – коефіцієнт варіації, N – об'єм вибірки.

Для оцінки кількісних характеристик використовують статистичні критерії:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{N} + \frac{\sigma_2^2}{N}}},$$

t-критерій Стюдента:

$$F = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2}$$

F-критерій Фішера:

критерій χ^2 та інші. Згідно з центральною граничною теоремою в математичній статистиці середнє арифметичне за вибірки 5 і більше повторностей розподілено за нормальним законом, що дає змогу порівнювати за допомогою t-критерію непараметричні величини і будувати довірчі інтервали для середніх значень (Василевич, 2012).

ОЦІНКА ПОДІБНОСТІ ОБ'ЄКТІВ. Кількісна оцінка подібності об'єкта

дослідження з еталонами проводиться за допомогою різних коефіцієнтів подібності.

КОЕФІЦІЄНТ СЬОРЕНСЕНА.

$$K_s = \frac{2N_{A+B}}{N_A + N_B},$$

де N_{a+b} – кількість загальних видів в опису А і В; N_A і N_B – кількість видів в описах А і В відповідно.

Для кількісних характеристик K_v носить назву коефіцієнта І. Чекановського і має вигляд:

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

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

§ 1.4 Основні принципи застосування біоіндикації

Достовірність біоіндикаційних досліджень, правильність оцінки зв'язку біоіндикаторів з об'єктами індикації залежать від репрезентативності проведених досліджень. Наведемо основні вимоги до біоіндикаційних польових досліджень:

1. Відносна швидкість проведення досліджень. Біоіндикаційні дослідження мають охоплювати одну фенологічну фазу за порівняно однорідних метеорологічних умов. У разі випадання опадів необхідно перечекати кілька днів для відновлення рівня полутантів у біоті.

Біоіндикаційні дослідження з відбором проб на хімічний аналіз з метою вивчення біогеохімічних закономірностей міграції речовини харчовими ланцюгами рекомендується проводити в період максимальної біологічної продуктивності угруповань. Зазвичай у районах із гумідним кліматом оптимальним періодом для подібного роду досліджень вважається липень-початок серпня.

2. Отримання досить точних і відтворюваних матеріалів. Діапазон похибок порівняно з іншими методами тестування не повинен перевищувати 20%.

3. Відбір індикаторів з високим рівнем повторюваності. Біоіндикатори повинні бути добре вивчені та мати на всій території досліджень однорідні властивості. А. М. Степанов (1988) називає такі критерії при виборі біоіндикаторів:

- 1) широкий ареал;
- 2) еврипотність (еврібіотність);
- 3) осілість;
- 4) антисинантропність;
- 5) індикаційну пластичність;
- 6) достатню біомасу;
- 7) простоту добування та обліку;
- 8) вивченість виду і внутрішньовидових таксонів.

Відповідно до зазначених критеріїв при біоіндикаційних дослідженнях рекомендовано таких ссавців: кроти *Thalpa europaea*, *T. altaica*; бурузубка *Sorex arenius*; полівки *Clethrionomys glareolus*, *C. rutilus*; куниця *Martes lupus*; соболь *Martes ribellina*; козуля *Capreolus*

capreolus; лось *Alces alces*; лисиця *Vulpus vulpus*; песець *Alopex lagopus*; вовк *Canis lupus*; ведмідь *Ursus arctos*.

Найбільш показовими представниками ґрунтової мезофауни є: жу-желиці *Carabidae*, личинки жуків-коваликів – дротяники *Elateridae*, кістянки *Lithobiomorpha*, мертвожери *Silphidae*, лісові руді мурахи *Formica rufa*, дощові черв'яки *Lumbricus terrestris*, наземні молюски *Deroceras* sp. тощо.

Зі збільшенням антропогенного впливу на природне середовище біо-геоценози зазнають глибоких змін у своїй структурі, функціонуванні та розвитку, що призводять до порушення екологічної рівноваги і в особливо серйозних випадках – до повної деградації екосистем. Високою реакційною здатністю у відповідь на антропогенний або природний вплив має рослинний покрив. На вивченні відповідних реакцій рослинного покриву ґрунтуються методи фітоіндикації, що дають змогу встановити ступінь забруднення цього району або ступінь порушеності екосистеми. Як біоіндикатори використовують різні групи організмів, але найчастіше застосовують лишайники (ліхеноіндикація), мохи (бріоіндикація) і вищі рослини (особливо хвойні породи дерев).

Провідна роль у біоіндикації стану довкілля належить деревним рослинам. Вони здатні поглинати та нейтралізувати частину атмосферних полутантів, затримувати пилові частинки, а також індукувати особливості забруднення за допомогою різноманітності відповідних реакцій.

До числа переваг фітоіндикації перед інструментальними методами можна віднести її відносно низьку вартість, високу швидкість одержання інформації та можливість характеризувати стан середовища за тривалий проміжок часу.

Під час проведення фітоіндикаційних досліджень, поряд із зазначеними вище критеріями при виборі біоіндикатора, необхідно дотримуватися додаткових рекомендацій:

- 1) вивчати одновікові екземпляри;
- 2) відбирати середню пробу з декількох екземплярів рослин (8-10 екземплярів);
- 3) проводити відбір проб з однієї висоти і по всьому колу крони дерев;
- 4) оцінювати проєктивне покриття лишайників на стороні їх максимального розвитку;
- 5) проводити відбір проб на аналіз вмісту хімічних речовин за окремими органами: листям, гілками, корою, деревиною тощо.

Виходячи з названих критеріїв рекомендовано низку нижчеперелічених видів-фітоіндикаторів.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Деревні породи: сосна звичайна *Pinus sylvestris*; ялини *Picea abies*, *P. obovata*; берези *Betula pendula*, *B. pubescens*; липа *Tilia cordata*; дуб *Quercus robur*; тополя *Populus sp.*

Види чагарникового ярусу: верба *Salix sp.*, шипшина *Rosa sp.*, карликова берізка *Betula nana*.

Види трав'яно-чагарникового ярусу: брусниця *Vaccinium vitis-idaea*; чорниця *V. myrtillus*; багно *Ledum palustre*, *L. decumbens*. Із трав'янистих рослин найбільшу індикаторну достовірність мають представники родин родини складноцвітих *Asteraceae*, розоцвітих *Rosaceae*, губоцвітих *Lamiaceae*, норичникових *Scrophulariaceae*. Слід зазначити, що більшість видів осок (сім. *Cyperaceae*) та злаків (сім. *Poaceae*) індиферентні до поглинання хімічних елементів – пріоритетних полютантів. Тому їх не слід відбирати в проби при біоіндикаційних дослідженнях антропогенного забруднення. У степовій зоні видами-індикаторами можуть слугувати *Salvia stepposa*, *Veronica incana*, *V. spicata*, *Phlomis tuberosa*, *Artemisia austriaca*, *A. marschalliana* тощо.

Мохоподібні, або бріофіти (*Briophyta*). Найбільш чутливими та показовими є такі види мохів: *Hylocomium splendens*, *Pleurozium schreberi*, *Polytrichum formosum*, *Hypnum cupressiforme*, *Pseudoscleropodium purum*, *Rhytidiadelphus squarrosus*.

Надійними індикаторами антропогенних впливів зарекомендували себе лишайники – кладонії *Cladonia alpestris*, *C. rangiferina*, *Cetraria islandica* тощо.

§ 1.5 Методи біоіндикаційних досліджень

До теперішнього часу розроблено досить велику кількість прийомів оцінювання стану довкілля за індикаторними видами і різними параметрами структури та будови біоценозів.

Комплекс методів біоіндикації вкладається в існуюче уявлення про рівні організації живої речовини: ген – клітина – орган – вид – популяція – угруповання (див. рис. 3). Таким чином, усе розмаїття методів біоіндикації, дотримуючись уявлень Ю. Одума (1975) про підрозділи біології, можна представити у вигляді «пирога» біоіндикації. У ньому горизонтальні шари утворені індикаторними ознаками «фундаментальних» підрозділів: генетики, біохімії, морфології тощо. Вертикальні сегменти складені таксономічними підрозділами, до числа яких належать ботаніка, іхтіологія, ентомологія та ін.

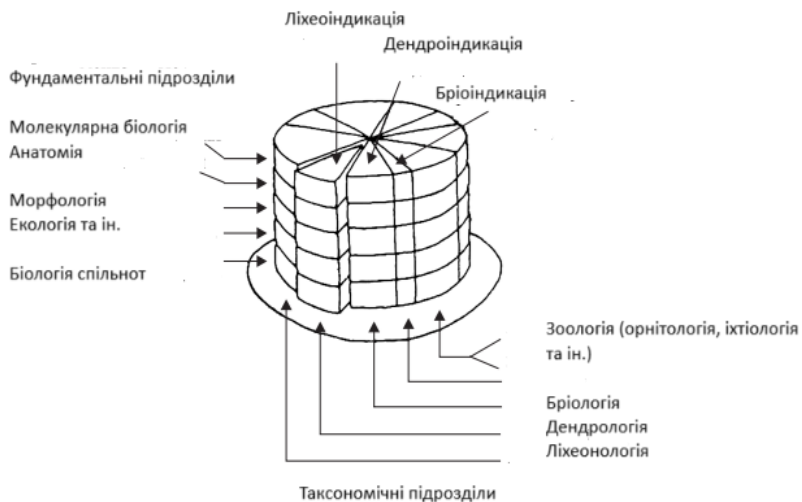


Рис. 3. Схема структурних підрозділів біоіндикації

Найпоширенішими методами біоіндикації є біогеохімічний, спектрофотометричний, методи біомаркерів, флуктуаційної асиметрії, мікробіологічний, фітоіндикаційний, зооіндикаційний, біоценотичний, біотестування та ін.

Стосовно оцінки токсичності вод слід виділити два методи – біоценотичний і біотестування. Перший спрямований на дослідження природних спільнот гідробіонтів. Він дає змогу встановлювати індекс сапробності, індекс видового розмаїття, показник біопродуктивності, які зручні та ефективні під час моніторингу водного середовища. Основними проблемами використання цього методу є необхідність залучення широкого кола фахівців, вибір «норми», що вельми важко в умовах повсюдного антропогенного впливу, і коректність перенесення результатів з одного об'єкта на інший. Біоценотичні дослідження найбільш ефективні при проведенні екологічного моніторингу.

У дослідженнях наземних екосистем застосовується широкий комплекс методів, склад яких залежить від інтенсивності та характеру забруднення, природних особливостей території, цілей і завдань геоecологічних вишукувань.

1.5.1. Біогеохімічний підхід в біоіндикаційних дослідженнях

Антропогенно порушені й забруднені території з біогеохімічних позицій можна розглядати як біогеохімічні провінції з різкою зміною хімічного складу компонентів навколишнього середовища. Тому під

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

час біоіндикації забруднень необхідне залучення біогеохімічної концепції. Основним завданням біогеохімії є вивчення процесів життя та геохімічного середовища в їхній єдності як умов, що визначають розвиток, будову та функції біосфери. Вивчаючи живу речовину (за термінологією В. І. Вернадського) та організми, що її складають, біогеохімія, як вказував В. В. Ковальський (1979), трансформує фізіологічне та біохімічне дослідження мікроелементів у біогеохімічне, біосферне і вводить його в коло проблем екологічної будови біосфери. Проблема біохімічної ролі мікроелементів була вперше поставлена Вернадським у 1926 р. Тоді ж було сформульовано кілька узагальнень про роль організмів у хімічних процесах Землі. Жива речовина, за Вернадським, формується як продукт хімічної взаємодії організмів і середовища, регуляторних процесів організмів, що створювалися у філо- та онтогенезі, які контролюють і спрямовують механізми хімічних відносин організму і середовища. Велику увагу при цьому приділяється особливостям залучення елементів у біологічний кругообіг та їх трансформації по ланцюгу живлення.

Схемою дослідження шляхів міграції хімічних елементів слугує біогеохімічний харчовий ланцюг (рис. 5). До складу біогенних циклів хімічних елементів входить низка малих циклів, що зв'язують окремі ланки біогеохімічного харчового ланцюга між собою. Прикладами таких малих циклів є системи «грунт – мікроорганізми», «грунт – рослини», «грунт – повітря», «харчові продукти – людина» тощо.

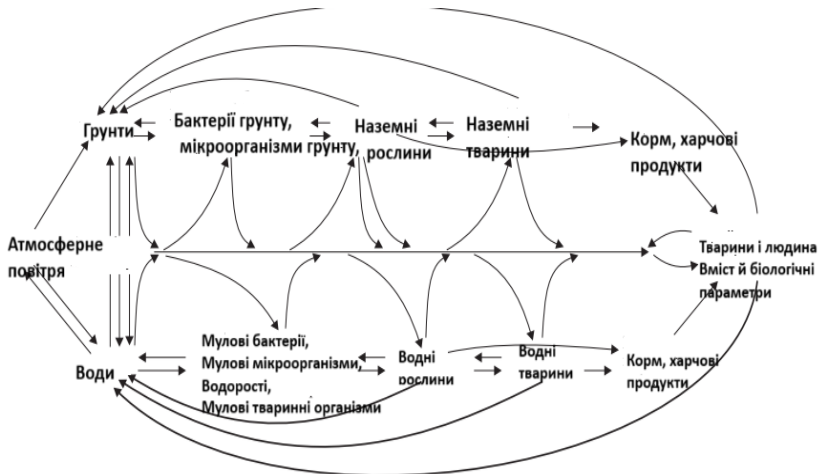


Рис. 5. Біогеохімічний ланцюг. Шляхи біогенної міграції хімічних елементів в біосфері та їх біогенні цикли

Нині біогеохімічна оцінка стану навколишнього середовища міцно увійшла в практику геоекологічних досліджень. В її основі лежить аналіз хімічного складу біомаси живих організмів і визначення інтенсивності акумуляції поллютантів. Вона дає змогу здійснити специфічну індикацію антропогенних впливів і визначити характер поведінки забруднювальних речовин у навколишньому середовищі.

1.5.2 Методи біомаркерів

Термін «біологічний маркер» («біомаркер») введено Національною академією наук США в 1989 р. для біологічного моніторингу населення. У широкому сенсі він охоплює різні показники, що характеризують взаємодію між біологічною системою та потенційно небезпечним для неї агентом, який може мати фізичну, хімічну або біологічну природу. У 2001 р. робоча група Національних інститутів здоров'я (США) стандартизувала визначення біомаркера як «характеристики, що об'єктивно вимірює та оцінює як індикатор нормальні біологічні процеси, патогенні процеси або фармакологічні відповіді на терапевтичне втручання», і визначила типи біомаркерів.

В екологічні дослідження термін прийшов із медицини, де під словом «біомаркер» зазвичай розуміють деяку вимірювану характеристику, яка відображає наявність, відсутність або тяжкість захворювання. У більш загальному вигляді біомаркером є будь-який індикатор певного захворювання або іншого фізіологічного стану організму. Однак, як вказується в низці досліджень, у багатьох випадках неясно, чи відображають біомаркери відповідний вплив на організм, процеси, пов'язані з даним впливом, індивідуальну чутливість або ранню стадію хвороби. А це ускладнює складання висновку про причини захворювання.

Біомаркери, так само як і біоіндикатори загалом, можуть бути специфічними і неспецифічними. Специфічні біомаркери вказують на біологічний ефект конкретного впливу. Неспецифічні маркери відображають загальний, комплексний ефект комбінованого впливу, а не конкретну причину ефекту. Крім того, вони можуть бути пов'язані як із наявністю різних поллютантів, так і з природними чинниками

1.5.3. Методи фітоіндикації екологічного стану природного середовища

Рослини і рослинні угруповання, що формуються в умовах комплексного впливу екологічних чинників, своєю будовою та особливостями структури відповідають сумарному впливу чинників середовища існування. Індикаторні можливості рослин здавна використовують у

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

вирішенні прикладних завдань. Зі збільшенням антропогенного навантаження на екосистеми розширюється сфера застосування фітоіндикаційного методу. Рослинний покрив чуйно реагує на зміну природних чинників довкілля та антропогенний вплив. Відповідні реакції рослин на екстремальні природні й антропогенні впливи багато в чому однотипні, тому для цілей моніторингу необхідне знання функціональних зв'язків біотичного та абіотичного компонентів екосистем, змін рослин та їхніх угруповань у конкретних умовах зростання за флюктуації зовнішніх впливів природного походження. Нині розроблено безліч методів оцінки стану навколишнього середовища за рослинами. Широко використовуються різні параметри розвитку живих організмів – від молекулярного до ландшафтного рівня. Вони передбачають як вивчення біоти в природних умовах їхнього проживання, так і проведення різного роду експериментальних і лабораторних досліджень. Досліджуються біохімічні, фізіологічні, анатомоморфологічні зміни, популяційні та видові особливості рослин, флористичний склад і структура угруповань, межі та просторовий розподіл фітоценозів. Найсуттєвішими на клітинно-організмовому рівні є зміна проникності мембран і активності ферментів, руйнування білка, порушення фотосинтетичної діяльності білка, порушення фотосинтетичної діяльності, мінерального, ліпідного та вуглеводного обмінів тощо. У таблиці 1 наведено показники стану рослинного покриву для виявлення надзвичайної екологічної ситуації, стану екологічного лиха, відносно задовільної ситуації.

Таблиця 1

Стан рослинності як індикатору екологічного стану території

Показники	Параметри		
	Екологічна біда	Надзвичайна екологічна ситуація	Відносно задовільна ситуація
Зменшення біорізноманіття (індекс різноманіття Сімпсона), % від норми	Більше 50	25 – 50	Менше 10
Щільність популяції виду – індикатора антропогенного навантаження, % від норми	Більше (менше) 50	Більше (менше) 20-50	Більше (менше) 20
Площа корінних або квазікорінних асоціацій, % від загальної площі	Менше 5	Менше 30	Більше 80

Показники	Параметри		
	Екологічна біда	Надзвичайна екологічна ситуація	Відносно задовільна ситуація
Видовий склад природної трав'яної рослинності	Зменшення великої кількості вторинних видів	Домінуючі види змінилися на вторинні	Природна зміна домінантів, субдомінантів й характерних видів
Віковий спектр цінопопуляції домінантів, оновлення, відн. один.	Менше 0,1	0,1 – 0,3	Більше 0,5
Лісистість, % від оптимальної (зональної)	Менше 10	Менше 30	Більше 90
Пошкодження травостоїв техногенними викидами, % від загальної площі	Більше 50	30 – 50	Менше 5
Пошкодження травостоїв техногенними викидами (пошкодження хвої), %	Більше 50	30 – 50	Менше 5
Захворювання дерево-станів, %	Більше 50	30-50	Менше 10
Загибель лісних культур, % від площі лісокультурних робіт	Більше 70	30 – 50	Менше 5
Загибель посівів, % від загальної площі	Більше 70	50 – 70	Менше 5
Продуктивність пасовищної рослинності, % від потенційної	Менше 5	5 – 30	Більше 80
Зміна ареалів рідких видів	Зникнення ареалів	Розділення й скорочення площі ареалу	Відсутня
Порушення рослинності заповідних територій	Зміна формаций	Зміна асоціацій	Фенотипічні, без зміни асоціацій

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Показники	Параметри		
	Екологічна біда	Надзвичайна екологічна ситуація	Відносно задовільна ситуація
Площа зелених насаджень (на людину) у великих містах та промислових центрах, % від нормативної	Менше 10	10 – 30	Більше 90

Існують різні класифікації біоіндикаційних показників (Л. Г. Рамєнський, Г. Елленберг, Р. Шуберт, Т. А. Работнов, В. Нобель та ін.).

До найпоширеніших методів оцінки стану довкілля за різними параметрами індикаторних видів, а також за структурою і будовою рослинних угруповань належать:

- аналіз хімічного складу рослин як невід’ємна частина біогеохімічного методу для оцінки взаємозв’язку хімічного складу живої та неживої природи, міграції хімічних елементів ланками харчового ланцюга тощо;

- метод біомаркерів – вивчення різних показників інтенсивності біохімічних і фізіологічних процесів, що відбуваються в організмі і свідчать про вплив стресу або його відсутність;

- морфологічний метод – вивчення зовнішнього вигляду рослин і його зміни під дією зовнішніх чинників;

- флористичний метод – дослідження особливостей видового складу, індикаторних видів, характеру поширення і динаміки ареалу; популяційний аналіз та ін;

- спектрофотометричний метод – дослідження спектрального відгуку рослин і рослинності на забруднення довкілля;

- фітоценотичний метод – низка методик вивчення складу, вертикальної і горизонтальної структури та будови рослинних угруповань: аналіз видового розмаїття, екобіоморфного складу, великої кількості та проєктивного покриття показових груп видів, аналіз продуктивності, життєвого стану рослин, аналіз продуктивності, життєвого стану ярусів та ін.;

- ліхеноіндикація – вивчення та аналіз лишайникового покриву рослинних угруповань;

- бріоіндикаційний метод – вивчення та аналіз мохового покриву;

- дендроіндикація – вивчення та аналіз деревної рослинності.

Дендроіндикація – це метод біоіндикації, що дає змогу на основі аналізу характеристик деревного ярусу та полога підросту (радіально-го та лінійного приросту, тривалості життя (віку) хвої, наявності некрозу і хлорозу, життєвого стану деревостану тощо) судити про стан природного середовища. Деревні рослини найчастіше вибираються для біоіндикаційних досліджень через їхню високу індикаторну значущість.

Провідна роль у біоіндикації стану довкілля належить деревним рослинам. Вони здатні поглинати й нейтралізувати частину атмосферних поллютантів, затримувати пилові частинки, а також індикувати особливості забруднення за допомогою різноманітності відповідних реакцій. Реакції різних деревних порід на забруднення довкілля істотно різняться. Найбільшою стійкістю до антропогенного забруднення навколишнього середовища характеризуються листяні породи. Голонасінні більш чутливі до впливу поллютантів і пошкоджуються першими, хоча і серед них є досить стійкі види, які широко використовуються в озелененні міст.

Прикладом може слугувати *Pinus nigra*, яку часто застосовують для посадок на селітебних територіях Західної Європи.

До числа деревних порід, які найчастіше використовують з метою біологічного моніторингу, належать: сосна звичайна *Pinus sylvestris*; ялина європейська *Picea abies*, ялина сибірська *P. obovata*; береза повисла *Betula pendula*, береза пухнаста *B. pubescens*; липа *Tilia cordata*; дуб *Quercus robur*; тополя *p. Populus*.

Хімічний склад деревних рослин нині добре вивчений. Під дією антропогенних забруднень вміст ТМ у деревах істотно змінюється, що дає змогу застосовувати їх у біоіндикаційних дослідженнях. У практиці біомоніторингу широко використовується хімічний аналіз листя, гілок, кірки та деревини. Однак слід врахувати, що акумулювальна здатність різних тканин значно різниться. Максимальні концентрації забруднювальних речовин виявляються в корі дерев, що володіє безбар'єрним типом акумуляції хімічних елементів. Мінімальні вмісти ТМ фіксуються зазвичай у гілках і деревині. Хорошими індикаторними властивостями володіють листя і хвоя дерев, але хімічний склад листя характеризується великою погодною флюктуацією і багато в чому залежить від конкретних погодних умов поточного і попереднього років.

Для оцінки інтенсивності випадання кислотних дощів широко використовується визначення величини рН кори деревних порід.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Таблиця 2

Чутливість деревних порід до тривалого забруднення повітря (Dassler, 1981)

Види рослин	SO ₂	HF	NH ₃	HCl, Cl ₂	Види рослин	SO ₂	HF	NH ₃	HCl, Cl ₂
<i>Abies alba</i>	+++	+++	++	+++	<i>Picea sitchensis</i>	++	.	.	.
<i>Acer campestre</i>	—	—	—	.	<i>Pinus contorta</i>	+	++	.	.
<i>Acer negundo</i>	—	+	+	.	<i>Pinus mugo</i>	+	+	+	.
<i>Acer platanoides</i>	—	—	+	++	<i>Pinus nigra</i>	+	++	+	+
<i>Acer pseudoplatanus</i>	+	+	++	.	<i>Pinus strobus</i>	++	++	.	++
<i>Aesculus hippocastanum</i>	.	+	.	.	<i>Pinus sylvestris</i>	+++	+++	++	+++
<i>Alnus glutinosa</i>	.	+	.	+++	<i>Platanus acerifolia</i>	—	+	+	.
<i>Betula pendula</i>	++	+	+++	.	<i>Populus alba</i>	++	.	.	.
<i>Betula pubescens</i>	++	++	.	.	<i>Populus tremula</i>	+	.	.	+
<i>Buzus sempervirens</i>	—	+	.	.	<i>Prunus armeniaca</i>	.	++	.	.
<i>Carpinus betulus</i>	++	++	+++	+++	<i>Prunus avium</i>	.	++	.	.
<i>Catalpa bignonoides</i>	—	+	.	.	<i>Prunus domestica</i>	.	+++	.	.
<i>Chenomeles japonica</i>	++	+	.	.	<i>Prunus persica</i>	.	+++	.	.
<i>Cornus alba</i>	—	+	.	.	<i>Prunus serotina</i>	—	+	.	.
<i>Corylus avellana</i>	.	++	.	.	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	++	.	.	.
<i>Crataegus monogyna</i>	+	+	.	.	<i>Ptelea trifoliata</i>	—	+	—	.
<i>Elaeagnus angustifolia</i>	—	—	.	.	<i>Pyracantha coccinea</i>	—	—	—	.
<i>Elaeagnus commutata</i>	—	—	—	.	<i>Quercus petraea</i>	—	+	—	++
<i>Erica carnea</i>	—	—	—	.	<i>Quercus robur</i>	—	—	—	++
<i>Euonimus europaeus</i>	—	.	—	.	<i>Quercus rubra</i>	—	+	—	++
<i>Fagus sylvatica</i>	+	+	++	++	<i>Robinia pseudacacia</i>	—	+	+	+
<i>Forsythia intermedia</i>	—	—	—	.	<i>Rosa canina</i>	+	+	.	.
<i>Hedera helix</i>	—	.	—	.	<i>Rosa rugosa</i>	—	—	.	.
<i>Juglans regia</i>	.	+++	.	.	<i>Sambucus nigra</i>	—	—	—	.
<i>Juniperus sabina</i>	—	.	.	.	<i>Sambucus racemosa</i>	—	—	—	.
<i>Juniperus squamata</i>	—	.	.	+	<i>Sorbus aucuparia</i>	++	.	.	.
<i>Larix decidua</i>	++	++	++	++	<i>Syringa vulgaris</i>	+	+	.	.
<i>Larix leptolepis</i>	++	++	++	++	<i>Tamarix tetrandra</i>	—	—	—	.
<i>Licium halimifolium</i>	—	—	—	.	<i>Taxus baccata</i>	++	++	.	.
<i>Ligustrum vulgare</i>	—	—	.	.	<i>Thuja plicata</i>	—	.	.	+
<i>Malus domestica</i>	.	++	.	.	<i>Tilia argentea</i>	++	.	+++	.
<i>Metasequoia</i>	+	.	.	.	<i>Tilia cordata</i>	++	++	+++	.
<i>glistrostroboides</i>					<i>Tilia platyphyllos</i>	++	.	+++	.
<i>Picea abies</i>	+++	+++	++	+++	<i>Tsuga canadensis</i>	+++	.	.	.
<i>Picea engelmannii</i>	—	.	.	+	<i>Ulmus glabra</i>	+	.	.	.
<i>Picea omorica</i>	+++	.	.	++	<i>Weigela florida</i>	—	.	+	.
<i>Picea pungens</i>	+	+	.	.					

— нечутлива або майже нечутлива, + малочутлива, ++ чутлива, +++ дуже чутлива, · реакція недостатньо відома.

Індикаторні можливості видів трав'яно-чагарничкового ярусу визначаються наявністю або відсутністю верхніх ярусів фітоценозів, і насамперед деревостану. Древа та чагарники утворюють своєрідний екран, що перешкоджає проникненню основної маси поллютантів у приземну частину лісової спільноти. Екологічний стан рослин, розташованих під пологом лісу, більшою мірою залежить від рекреаційного навантаження та низових пожеж. Звісно, не йдеться про ситуацію, коли антропогенний вплив настільки великий, що призводить до часткового або повного знищення деревостану. У цьому випадку стан трав'яно-чагарничкового ярусу явно вказує на екологічну ситуацію. Високу індикаторність цей ярус має в біогеоценозах, більшою або меншою мірою позбавлених деревного ярусу, – у степах, лісостепах, тундрах.

Під час вивчення стану трав'яно-чагарничкового ярусу доцільним є врахування біомаси рослин, видового розмаїття, ступеня складення фітоценозу тим чи іншим видом. Необхідні знання і виділення в угрупованні рослин-індикаторів. Так, наприклад, для помірної зони добрими індикаторами різної давності є мучниця *Arctostaphylos uva-ursi*, орляк *Pteridium aquilinum*, верес звичайний *Calluna vulgaris*, конвалія *Convallaria majalis*, зніт *Chamaenerion angustifolium*, кунічник *Calamagrostis epigeios*, луговик звивистий *Avenella flexuosa*. У степовій зоні видами-індикаторами можуть слугувати рослини - концентратори хімічних елементів, що індикують антропогенне забруднення: шавлія степова *Salvia stepposa*, вероніка сіра *Veronica incana* і *V. spicata*, зопник бульбоносний *Phlomis tuberosa*, полин австрійський *Artemisia austriaca*, полин Маршалла *A. marschalliana* та ін.

Зміни у видовому складі трав'яно-чагарничкового ярусу пов'язані насамперед із трьома антропогенними чинниками: віддаленістю від джерела викидів, давністю останньої пожежі, інтенсивністю рекреаційного навантаження. Видовий склад різко змінюється після пожежі, оскільки змінюється характер місцезростання (освітленість, вологість, конкурентність видів тощо) і ґрунт додатково збагачується поживними речовинами. Під час біоіндикаційних досліджень емісійних впливів розглянутий метод рекомендується застосовувати насамперед для територій, позбавлених деревної рослинності.

Інший аспект біоіндикації – це висока сорбувальна здатність мохоподібних. Вони позбавлені покривних тканин, тому можуть вбирати вологу всією поверхнею. З цим пов'язана їхня підвищена здатність поглинати хімічні елементи з атмосферного повітря (якщо ці елементи в субстраті відсутні).

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Крім того, швидко і у великих кількостях поглинання хімічних елементів полегшується також завдяки тому, що у мохів дуже велика площа поверхні відносно об'єму.

Мохи мають здатність концентрувати елементи у більших кількостях, ніж інші вищі рослини. У різних видів бріофітів концентрування відбувається з різною активністю. Експериментальні дослідження уточнюють процес поглинання ТМ мохами і свідчать про деяку їхню вибірковість щодо металів у цьому процесі. За ступенем зменшення сорбційної здатності і утримання в тканинах мохів *Hylocomium splendens* ТМ розташовують у такий ряд: Cu, Pb > Ni > Co > Zn, Mn, Cd (Rühling, Tyler, 1970).

Найбільш чутливими до хімічного забруднення є такі види мохів: *Hylocomium splendens*, *Pleurozium schreberi*, *Polytrichum formosum*, *Hypnum cupressiforme*, *Pseudoschleropodium purum*, *Rhytidiadelphus squarrosus*. У мохах визначають концентрації різних поліутантів – ТМ, пестицидів, радіоактивних елементів, ПАВ і ХОС тощо.

Лихеноіндикація. Біологічні реакції на антропогенний вплив чітко простежуються при дослідженні лишайників. Практичне значення цієї групи організмів визначається їхньою високою чутливістю до зміни хімічного складу атмосферного повітря. Вони відповідають основним вимогам, що висуваються до індикаторних видів. Перш за все, лишайники поширені по всій поверхні суші, хоча й нерівномірно. Вони відіграють домінуючу роль у багатьох екосистемах полярних і жарких пустель, субнівальних і нівальних поясів високогір'їв. Наґрунтові та епіфітні лишайники – важливий компонент лісових бореальних угруповань. Вони часто утворюють велику біомасу і займають чільне місце в кругообігу речовин у біогеоценозах.

Відсутність кутикулярного шару забезпечує вільне поглинання води і хімічних сполук практично всією поверхнею лишайника. Серед лишайників є чутливі види, що зникають уже за невеликого забруднення, а є види із середньою і відносно високою стійкістю до забруднення. Стійкі до антропогенних впливів лишайники накопичують у своїх сланях різні хімічні елементи, що вказує на забруднення середовища цими елементами. Порівняно з вищими рослинами лишайники акумулюють у 5 разів більше Fe, у 2-3 рази більше Pb, Cd, Hg та інших хімічних елементів.

Крім того, лишайники є досить добре вивченим таксоном нижчих рослин, хоча багато з них важко піддаються визначенню в польових умовах. Лишайники здавна використовуються в моніторингових дослідженнях екологічного стану міст і антропогенно порушених терито-

рій. У літературі накопичено великий матеріал про стан епіфітного лишайникового покриву (епіпокрова) територій. Визначено основні чинники, що зумовлюють залежність розвитку лишайникового епіпокрова від умов місцезростання. До них належать розташування на стовбурі, висота над землею та експозиція, кут нахилу і вік дерева (оскільки в міру його зростання відбувається збільшення поверхні стовбура і часу для заселення його лишайниками), а також умови зволоження.

Найчастіше метод лишеноіндикації застосовується для оцінки рівня аеротехногенного забруднення. Під впливом полютантів у лишайників відзначається низка змін на різних рівнях.

На біохімічному та фізіологічному рівні відбувається гальмування фотосинтезу, зниження інтенсивності дихання, зменшення життєздатності діаспор лишайника тощо. Унаслідок впливу полютантів спостерігається не тільки руйнування хлорофілу, а й порушення проникності мембран, поглинання вуглекислого газу, іонного обміну. Із життєво важливих функцій особливо страждає процес спороношення, а також формування статевих і вегетативних органів грибним компонентом. Зміни, що відбуваються на цьому рівні, важко визначити і не використовуються при польових дослідженнях

ТЕМА 2. БІОІНДИКАЦІЯ ЛАНДШАФТНО-ДЕСТРУКТИВНИХ І ПАРАМЕТРИЧНИХ ЗМІН СТАНУ ДОВКІЛЛЯ

§ 2.1. Зміна водного режиму території

Вода є найважливішим екологічним чинником. Ступінь забезпеченості вологою і зміна водного режиму проявляються на всіх рівнях організації біологічних систем. У природі спеціалізація видів відносно певного водного режиму чітко виражена. Біоіндикацію зміни водного режиму екосистем найзручніше проводити за рослинами. Відповідно до потреби рослин у волозі, виділяють такі екологічні групи: ксерофіти, мезофіти, гігрофіти. До числа постійних індикаторів ґрунтових вод належать фреатофіти.

Рослини, залежно від умов водопостачання, характеризуються особливими анатомо-морфологічною структурою та перебігом основних фізіологічних процесів. Так, наприклад, до анатомо-морфологічних і фізіологічних рис мезофітів відносяться негуста мережа жилок і помірні величини осмотичного тиску (до 2000-2500 кПа). Вміст води в листках сягає 65-75%, продихи розташовані на нижньому боці листка. Для мезофітів характерні середній розвиток покривних тканин із можливим рідкісним опушенням, диференціювання листка на більш-менш щільну палісадну тканину та пухку губчасту паренхіму із системою міжклітинників, помірно розвинена коренева система різного типу як інтенсивного, так і екстенсивного характеру.

Група мезофітів численна і різноманітна за складом. О. П. Шенніков (1950) виділив такі підгрупи мезофітів:

- 1) вічнозелені мезофіти;
- 2) зимово-зелені дерев'яністі мезофіти (тропофіти);
- 3) літньо-зелені дерев'яністі мезофіти;
- 4) літньо-зелені багаторічні трав'яністі мезофіти;
- 5) ефемери та ефемероїди.

Серед них виділяються типові мезофіти (тимофіївка лучна *Phleum pratensis*, конюшина лучна *Trifolium pratense*, грястиця збірна *Dactylis glomerata*, костриця лучна *Festuca pratensis*), гігромезофіти (лисохвіст лучний *Alopecurus pratensis*) і ксеромезофіти (тонконіг лучний *Poa pratensis*, люцерна посівна *Medicago sativa*, конюшина гірська *Trifolium montanum*).

Збільшення або зменшення вологості місцезростань сприяє формуванню відповідно гідроморфної або ксероморфної структури рослин, зміні видового складу рослинних угруповань. На посушливих місцез-

ростаннях формуються угруповання ксерофітів – склерофітів або сукулентів. Вони різняться стратегією пристосування до екстремального водного режиму. Перші характеризуються комплексом пристосувань, що знижує водовіддачу в несприятливий посушливий період, другі здатні запасати вологу і повільно витрачати її в процесах життєдіяльності.

§ 2.2. Зміна світлових умов

Світло є найважливішим екологічним чинником. Його роль для живих організмів важко переоцінити. Водночас поняття «світло» відносне, оскільки сприйняття різних ділянок спектра різними організмами може відрізнятися.

Людське око сприймає світло з довжинами хвиль (λ) 0,4-0,7 мкм, а, наприклад, око бджоли – 0,3-0,6 мкм і ультрафіолетове випромінювання.

Джерелом світла є Сонце. Пройшовши відстань понад 150 млн км, до поверхні Землі доходить лише 2-10% променистої енергії Сонця (сонячна постійна). Спектральний склад світла, що досягає поверхні Землі, включає: ультрафіолетову радіацію, $\lambda < 400$ нм (10%); видиму радіацію, $\lambda = 400-750$ нм (45%); ближню інфрачервону радіацію, $\lambda = 750-4000$ нм (45%).

Найкоротші хвилі – ультрафіолетові – мають і найбільш високу енергію – до 100 еВ, видиме світло – < 5 еВ, а інфрачервоне випромінювання є найслабшим з енергетичного погляду.

Екологічне значення мають сумарна радіація, освітленість, частка фотосинтетично активної радіації (ФАР), явище фотоперіодизму.

Світловий режим місцезростань визначається сумарною радіацією та освітленістю. Сумарна радіація – сума прямої та розсіяної радіації. Інтенсивність радіації вимірюється в Дж/см², Вт/см².

Вплив випромінювання на організми визначається як довжиною електромагнітних хвиль, які на них впливають, так і поглинанням цих хвиль тканинами.

Дія світла на клітини неоднозначна. Кутикула деяких зелених рослин забезпечує виразну вибірковість поглинання променів. Видиме випромінювання поглинається на 90%, інфрачервоне – лише на 30%. Частка сонячної радіації виявляється відбитою від поверхні рослин. Крім того, не все випромінювання, що проникає всередину рослини, поглинається нею. Частина електромагнітних хвиль може вільно проходити крізь листя. У діапазоні видимого випромінювання, що вельми інтенсивно поглинається рослинами, радіація з довжиною хвилі 0,5 мкм майже вільно проникає крізь листя деяких рослин.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Електромагнітні хвилі, з якими організми взаємодіють у природних умовах, належать до трьох різних ділянок спектра, являючи собою або ультрафіолетову радіацію, або видиме світло, або інфрачервоне випромінювання. Вплив цих хвиль на біоту різниться залежно від їхньої приналежності до тієї чи іншої ділянки спектра

Вплив ультрафіолетової радіації. В екологічних і біологічних аналізах виділяють два діапазони ультрафіолетового випромінювання. Перший – ультрафіолет «а» з довжиною хвилі від 0,31 до 0,38 мкм – охоплює близько 90% загального ультрафіолетового випромінювання в середовищі. Це випромінювання легко проникає в глибину тканин організмів. Другий – ультрафіолет «б» із довжиною хвилі 0,29-0,31 мкм – є важливою складовою частиною безпосереднього сонячного опромінення. Інтенсивність ультрафіолетового опромінення залежить від кута падіння сонячних променів і висоти над рівнем моря. Це випромінювання використовується зеленими рослинами для синтезу вітаміну D і зумовлює наявність у рослинах деяких пігментів.

Ультрафіолетове випромінювання по-різному впливає на вищі та нижчі організми. Нижчі (мікроорганізми та гриби) чітко реагують на дію цих променів, оскільки майже абсолютно прозорі для них. Сильне поглинання ультрафіолетових променів високомолекулярними сполуками призводить до того, що всі дрібні організми через короткий час гинуть під дією цих променів. Уся ділянка ультрафіолетової радіації є згубною для бактерій, і кінцевий результат визначається лише тривалістю опромінення. Анабіотичні форми, наприклад, спори бактерій, майже вдвічі стійкіші до дії ультрафіолетового випромінювання, ніж вегетативні клітини. Ця властивість ультрафіолетового випромінювання використовується на практиці для стерилізації: достатньо 7-хвилинного опромінення, щоб повністю знищити бактерії та їхні спори. Подібну летальну дію ультрафіолетові промені чинять також на гриби та яйця нематод.

Знищувальна дія посилюється за наявності в середовищі кисню. Руйнування хімічних сполук у клітинах створює додаткові можливості для їхнього окислення, тому в опромінених органічних речовинах можна спостерігати великі кількості оксидів і пероксидів. Деякі з них посилюють згубний вплив ультрафіолетових променів через свою токсичність.

Ультрафіолетове випромінювання гальмує розвиток грибів і вбиває їхні спори, причому короткочасне опромінення, як правило, діє стимулюючим чином, а тривале – летально. Плоди лимона, що опромінюються ультрафіолетовими променями, не піддаються грибковим захворюванням, і тому їхня лежкість при зберіганні збільшується.

Відсутність у грибів стійкості до значних доз ультрафіолетового опромінення створює можливість лікування мікозів у тварин і людини. Ефективність дії ультрафіолетових променів на бактерії та гриби посилюється з підвищенням температури та кислотності субстрату.

Вплив інфрачервоного випромінювання на організми. Інфрачервоне випромінювання – це електромагнітні хвилі довжиною понад 0,75 мкм. Зелені рослини пропускають або відбивають більшу частину променів цього діапазону, вони не поглинаються хлорофілом, і це дало підставу вважати, що інфрачервоні промені не відіграють ролі у фотосинтезі. Однак додавання інфрачервоного випромінювання значно посилює процеси продукування сухої маси рослин. Вплив інфрачервоного випромінювання має велике екологічне значення, головним чином через викликаний ним тепловий ефект. Вплив на тварин проявляється в дії теплової енергії.

Вплив видимого світла. Різноманітний вплив на живі організми чинить середня частина спектра сонячного випромінювання з довжинами хвиль 0,4-0,75 мкм.

Більша частина енергії, що надходить на Землю із сонячним випромінюванням, припадає саме на цей діапазон хвиль.

Видиме випромінювання, досягаючи поверхні Землі, піддається зміні як протягом доби, так і протягом року. Його вплив залежить від реакції різних організмів на інтенсивність видимого випромінювання. Воно визначає перебіг і тривалість процесу фотосинтезу – джерела первинної продукції біосфери, впливає на рівень обміну речовин у багатьох організмів, стимулює процеси розмноження і розвитку в рослин і тварин, а циклічність освітленості значною мірою визначає циклічність явищ, що відбуваються в біосфері. Видиме випромінювання є для організмів джерелом енергії, носієм інформації про середовище, а також летальним фактором середовища.

Кількість світла, яку отримують окремі організми, що займають різні місцеперебування в екосистемах, дуже різна. За різних кутів падіння умови освітлення неоднакові для різних біологічних об'єктів, що особливо важливо враховувати в дослідженнях впливу видимого випромінювання на рослини. Кількість світла, що досягає лісової підстилки або дна водойм, іноді виявляється вельми обмеженою. Організми, що зустрічаються в цих місцях, – якщо світло необхідне для їхнього життя – повинні бути пристосовані саме до таких умов освітлення. Рослини виробляють постійні адаптації до певних умов сонячного освітлення, що існують у цьому місці. Тварини можуть змінювати місце перебування на ті, в яких вони знаходять відповідні їм умови, або

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

періодично змінювати активність, посилюючи її в найбільш сприятливі періоди.

Потреби рослин у світлі можуть змінюватися з віком і географічною широтою. Так, наприклад, клен *Acer platanoides* в умовах Норвегії потребує для нормальної життєдіяльності в 10 разів більше світла, ніж в околицях Відня.

Багато видів лісових дерев у молодому віці добре ростуть під зімкнутими кронами інших дерев, проявляючи широку толерантність до освітленості, але в дорослому стані вони можуть бути дуже світлолюбними.

Використання світла рослинами залежить як від цілої низки чинників, супутніх певній інтенсивності фотосинтетично активного світла, так і від властивостей самої рослини. Вегетативні та генеративні органи багатьох видів рослин виявляють здатність орієнтуватися під певним кутом до падаючого сонячного світла залежно від його інтенсивності.

Рослини відкритих місцезростань і тропічних широт у природних умовах отримують надлишкові дози сонячного випромінювання. Ослаблення впливу опромінення на вегетативні органи ці рослини досягають вертикальним розташуванням листя. Таке розміщення при високому положенні Сонця знижує дози опромінення до мінімальних значень. Багато трав, а також цибуля, часник та інші городні рослини мають тонке листя, розташоване вертикально. Найбільш сприятливе положення фотосинтезуючих органів по відношенню до сонячних променів у цих рослин буває в ранкові та вечірні години. У полуденний час лише невелика частина прямого видимого випромінювання потрапляє на їхнє листя. Вертикальне положення листя призводить, однак, і до деяких обмежень, особливо для рослин, що утворюють куртини. Кількість сонячного випромінювання, що досягає окремих рослин, у цьому випадку залежить від густоти куртини. При занадто сильному загущенні рослин інтенсивність освітлення може бути досить низькою, що, своєю чергою, позначається не тільки на ефективності фотосинтезу, а й і на інших процесах, що залежать від процесу асиміляції.

Сонячне світло впливає на численні біологічні явища двома шляхами – зміною інтенсивності опромінення протягом доби та зміною тривалості дня протягом річного циклу.

Однією з найбільш яскраво виражених адаптацій організмів є їхнє пристосування до тривалості дня. Значні зміни тривалості дня і ночі, що настають у міру віддалення від екватора, спричиняють різні впливи на організми. У Північній Європі через більш тривалий день в літній

час спостерігається скорочення періоду вегетації культурних рослин: у Норвегії, наприклад, цей період для ячменю на 12 днів коротший, ніж у Польщі.

Зміна процесів життєдіяльності організмів під впливом тривалості освітлення виражається в явищі фотоперіодизму. Фотоперіодизм (актинометризм) – реакції організмів на зміну дня і ночі, що проявляються в коливаннях інтенсивності фізіологічних процесів, – відкрито в 1920 р. американськими вченими К. Е. Гартнером і Г. А. Аллардом. Одним із проявів фотоперіодизму в рослин є фотоперіодична реакція цвітіння. Види, що виявляють фотоперіодичні реакції, мають специфічну для кожного тривалість дня. Залежно від реакції на довжину дня всі рослини поділяються на три групи:

- *довгоденні* – рослини, цвітіння яких не настає або затримується, якщо тривалість дня менше 12 годин. Представниками цієї групи є овес, льон, морква, редис;
- *короткоденні* – рослини, цвітіння яких не настає або затримується, якщо тривалість дня понад 12 годин. До цієї групи входять жоржини, капуста, хризантема, цибуля, амарант;
- *нейтральні* – рослини, процеси життєдіяльності яких не залежать від тривалості світлового дня. До них належать виноград, чорнобривці, флокси, бузок, гречка.

Зміна тривалості дня для рослин з фотоперіодичними реакціями є сигналом, що сприймається листям і бруньками. Процеси, що відбуваються після цього, мають гормональний характер і передаються іншим органам рослини. У рослин короткого дня, вирощених в умовах довгого дня, проявляються гігантизм вегетативних частин і затримка розвитку генеративних органів. Для багатьох рослин недостатнє освітлення є чинником, що гальмує цвітіння і, отже, розмноження. Мохи, що ростуть в умовах світлового дефіциту, розвивають тільки вегетативні органи. Гриби для свого розвитку не потребують світла, проте утворення спорифітів пов'язане з позитивним впливом видимого випромінювання. У деяких деревних і чагарникових порід довжина дня визначає скидання листя і початок періоду спокою.

Фотоперіодизм зумовлює географічне поширення рослин. Індиферентні види (сосна звичайна, грестиця збірна) є космополітами.

Коротко- і довгоденні рослини не можуть виходити за межі географічної зони, що визначає їхню здатність до цвітіння за відповідної довжини дня.

Загалом у короткоденних рослин перевищення тривалості дня певного критичного значення спричиняє збільшення вегетативної маси

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

(гігантизм) і пригнічення цвітіння. Для рослин цієї групи характерне скорочення життєвого циклу з укороченням критичного періоду. Наприклад, короткоденна соя за 12-годинного фотоперіодизму зацвітає на сотий день, а за 5-годинного – на 37-й день.

У довгоденних рослин, вирощуваних в умовах коротшого дня, ніж критичний період, коротшають міжвузля, може виникати розеткова форма, пригнічуються цвітіння і плодоношення. Якщо короткоденні буряк і цибуля утворюють найбільші коренеплоди в умовах довгого світлового дня, то в картоплі, яка належить до рослин довгого дня, найбільші бульби з'являються восени, коли тривалість світлового дня перебуває нижче мінімуму для надземних органів цієї рослини. Тип фотоперіодичної залежності рослин певною мірою узгоджується з часом їхнього цвітіння. Рослини, що цвітуть навесні і наприкінці літа, зазвичай відносять до групи короткого дня. Ті ж, які цвітуть влітку, як правило, є рослинами довгого дня. Рослини екваторіального поясу зазвичай не виявляють фотоперіодичних реакцій, їхня фізіологічна циклічність визначається ритмікою інших чинників середовища. Північні рослини, що ростуть на широтах вище 60°, як правило, є рослинами довгого дня або не мають розвинених фотоперіодичних реакцій.

Критична довжина дня рослин залежить від температури. За низьких температур довгоденним рослинам необхідний коротший день, щоб зацвісти.

Довгоденні рослини, перенесені в субтропіки і тропіки, не зацвітають через короткий день. Але на тій самій географічній широті при зниженні температури в гірських районах вони можуть зацвісти.

Підвищення температури до 27-29°C протягом 5-10 днів при замочуванні насіння короткоденного проса знімає потребу в короткому дні. У довгоденних рослин провокації повторного цвітіння попереджаються укороченням дня і зниженням температури наприкінці вегетації. У разі теплої осені часто спостерігається повторне цвітіння літньоквітучих рослин, спричинене підвищенням температури.

Зменшення тривалості дня в багатьох випадках є стимулом, що викликає у рослин процеси підготовки до зимового періоду, що настає. Це явище спостерігається не тільки у рослин, що походять з Півночі. Завдяки цим реакціям стала можлива акліматизація в околицях Санкт-Петербурга таких рослин, як абрикос, волоський горіх, біла акація. Північні види дерев також вимагають періоду підготовки до зими. Відомі факти вимерзання сибірських дерев, перенесених в околиці Парижа, в більш щадні кліматичні умови.

Зміна тривалості дня на широті Парижа виявилася несприятливою для включення процесу підготовки цих дерев до зимового спокою.

Явище фотоперіодизму характерне і для тварин. Наприклад, денні тварини за Полярним колом значно збільшують період активності. Для птахів зменшення протяжності дня є сигналом до початку міграцій з півночі до районів зимівель, розташованих на півдні. Скорочення дня настає значно раніше періоду холодів, завдяки чому створюється можливість підготуватися до міграції та здійснити її у відповідну пору. У багатьох видів тварин, що розмножуються в літній час безстатевим шляхом, наприклад у попелиць *Macrosiphon solanifolii*, зміна тривалості дня призводить до появи окрилених форм самців і самок і вимкнення циклу статевого розмноження.

Вплив сонячного світла на розвиток рослин відрізняється від його впливу на тварин. Це визначається характером фотоперіодичних реакцій у тварин і рослин. Початок процесів розвитку в рослин відбувається з проростанням насіння. Реакція насіння на дію світла може бути різною. Сухе насіння, що перебуває у стані спокою, не реагує на дію світла. Вплив видимого світла на вологе насіння у багатьох рослин є необхідною умовою його проростання. Необхідна тривалість впливу світлового стимулу у різних видів рослин різна. Для насіння тютюну *Nicotiana tabacum* достатньо спалаху світла тривалістю 0,01 секунди, щоб спонукати насіння до проростання. Водночас насіння тонконога *Poa sp.* потребує тривалого освітлення, тому в природних умовах воно може прорости тільки в тому разі, якщо лежить на поверхні ґрунту. Однак насіння багатьох рослин може сходити і без дії світла, але при освітленні його видимими променями процес проростання відбувається краще. Це, наприклад, морква *Daucus carota*, щавель *Rumex crispus* і ялиця *Abies sibirica*. Для деяких видів світло чинить гальмівну дію на проростання. До їх числа належать багаття покрівельне *Bromus tectorum*, американський в'яз *Ulmus americana* і багато видів гарбузових. Насіння більшості лілійних *Liliaceae* вимагає для проростання повної темряви. Розвиток рослин під дією світла відбувається залежно від фотоперіодичних реакцій.

§ 2.3. Зміна температурного режиму

Температура є важливим абіотичним чинником, що визначає процеси, які відбуваються в екосистемі. Для характеристики температурного режиму місцезростань необхідний облік тепла, що надходить до біологічного об'єкта з навколишнього середовища. При цьому враховуються такі параметри, як тепло, радіаційний режим, теплообмін, конвекційні потоки, альbedo, температура тіла тощо.

Важливими екологічними характеристиками є:

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

- альbedo – відношення кількості відбитої теплової енергії до кількості тієї, що падає на денну поверхню, виражене у відсотках;

- температура – рівень молекулярної активності тіла (якісна характеристика).

Тепло, на відміну від температури, – кількісний термін, що визначає кількість енергії, отриманої тілом.

На земній поверхні існує регіональний розподіл тепла; за А. Декан-долом, виокремлюються п'ять теплових зон: екваторіальна, тропічна, субтропічна, помірна, полярна. Кожна кліматична зона відрізняється загальнокліматичними показниками теплового режиму. Найбільш важливими в екологічному відношенні є середньорічна температура повітря, абсолютний максимум і абсолютний мінімум, середня температура найтеплішого і найхолоднішого місяця. Крім того, необхідно враховувати розподіл температур у часі і суму ефективних температур – суму щоденних перевищень середньодобової температури повітря над певною умовною величиною - нижнім порогом вегетації; нижній поріг вегетації у холодостійких видів – 5°, у більшості культурних рослин помірної зони – 10°, у теплолюбних – 15°. Відомо, що швидкість сезонного розвитку пропорційна накопиченій сумі температур. Так, наприклад, сума ефективних температур, необхідна для нормального росту, розвитку і плодоношення ячменю, становить 1600-1900°, бавовнику – 2000-3000°, рису – 3500-4000°.

Поряд із загальними зональними характеристиками велике значення має врахування мікрокліматичних особливостей, від яких залежить функціонування біоти в різних місцезростаннях.

Тепло і температурний режим ПТК визначають основні процеси життєдіяльності організмів. При цьому мають враховуватися такі показники, як температурні межі життя, температурний діапазон для достатнього балансу речовин, оптимум і температурні межі для дисиміляції та асиміляції, а також потреба в теплі для репродуктивних процесів. Здатність організмів переносити низькі та високі температури протягом певного терміну визначають відповідно їхню холодостійкість і жаростійкість. На відміну від холодостійкості виділяють ще зимостійкість – витривалість біоти по відношенню до всього комплексу несприятливих чинників, пов'язаних із зимовим періодом. При оцінці впливу температурного режиму на живі організми необхідно враховувати, чи належать організми до пойкилотермних, які не мають власної стабільної температури, або ж вони є теплокровними – мають здатність підтримання постійної температури тіла.

У природі чітко виражена пристосованість організмів до певних температурних умов. Виділяють види: 1) термофільні, мегатермні, або

теплолюбні; 2) кріофільні, мікротермні, або холодолюбні; 3) мезотермні.

Кожна з цих груп видів характеризується набором специфічних властивостей, що дають змогу організмам існувати у відповідних температурних умовах і переносити в певному діапазоні екстремальні температури. У захисних пристосуваннях живих організмів використовуються різні шляхи адаптації. Так, наприклад, у рослин існує система анатомо-морфологічних характеристик і особливостей перебігу фізіологічних процесів, що послаблює надходження радіації до тканин надземних частин і запобігає їхньому перегріванню. До числа таких належать: блискуча поверхня і густе опушення, що надають листю світлого забарвлення і підсилюють їхню здатність до відбиття; зменшення поверхні, що поглинає радіацію, вертикальне або меридіональне розташування листя або загальна редукція листової поверхні; згортання листя тощо. Одним із основних механізмів терморегуляції та зниження температури надземної біомаси слугує транспірація. На випаровування 1 г води йде 2438 Дж (582 кал.). В адаптації рослин до високих температур беруть участь механізми на клітинному і субклітинному рівнях, такі як зрушення температурного оптимуму активності найважливіших ферментів, зміна структури білкових молекул.

Своєрідним фізіологічним пристосуванням до екстремальної температури, що лежить за межами адаптаційних можливостей, є перехід у стан анабіозу, формування тимчасових синузій (весняні або осінні ефемери і ефемероїди) та інших явищ, пов'язаних зі зміною активності організму. В. Я. Александров (1975) розрізняє первинну і загальну теплостійкість. Первинна теплостійкість визначається за різними порушеннями роботи клітини за 5-хвилинного нагрівання. Загальна теплостійкість визначається за тривалих впливів, коли встигають увімкнутися адаптаційні та реparatorні механізми. Встановлено два способи модифікаційної зміни теплостійкості: теплове налаштування – виражене у водоростей і відрізняється зміною теплостійкості відповідно до температури середовища; теплове загартування – трапляється в мохоподібних і квіткових. Стабільна теплостійкість зберігається в межах оптимуму і близьких до нього умовах. Теплостійкість підвищується за короточасних впливів супероптимальних високих температур.

Мороз, низькі температури навколишнього середовища здійснюють на живі організми як прямий, так і непрямий вплив. Для рослин, наприклад, прямий вплив низьких температур проявляється насамперед у замерзанні води в міжклітинниках і клітинах, що призводить до зневоднення і механічного пошкодження оболонок клітин, коагуляції біл-

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

ків і руйнування протоплазми. Крім того, можливе утворення морозобійних тріщин і різного роду механічних пошкоджень.

§ 2.4. Зміна радіаційного фону

Незважаючи на великий обсяг інформації про реакції природних екосистем і складових їхніх компонентів на радіоактивне забруднення, використання цієї інформації ускладнене. Насамперед це зумовлено складністю визначення значущості багатьох біологічних реакцій на тлі їхніх аналогічних природних змін у часі під впливом кліматичних та інших чинників. Крім того, в умовах хронічного впливу іонізуючих випромінювань у малих дозах екологічні наслідки можуть проявитися не відразу, а через тривалий час.

Як біологічні індикатори можуть використовуватися як рослини, так і тварини. З метою біоіндикації забруднення радіонуклідами можна вибрати кілька показників; основні з них – вміст радіонуклідів в об'єктах біоти, видове розмаїття в угрупованні, присутність або відсутність у ньому конкретного виду, загальна велика кількість організмів на забрудненій території, зміна біохімічних і фізіологічних реакцій, анатомічні, морфологічні та поведінкові відхилення. Але не всі наземні тварини підходять для цілей біоіндикації. Так, наприклад, птахи численні влітку, а на зиму більшість із них мігрує, великі ссавці рідкісні, а дрібні схильні до різких змін чисельності. Тому найбільш показовою групою біоіндикаторів є ґрунтова фауна.

Існують два шляхи надходження радіонуклідів у біоту – атмосферний, аераційний шлях, що супроводжується поверхневим забрудненням, і кореневий шлях надходження з ґрунту і забруднених вод.

За атмосферних випадінь затримка рослинами радіоактивних речовин залежить від фізичних властивостей випадінь (частинки, пари, роса, дощ або туман), дисперсності матеріалу, що випав, і швидкості росту рослин. Природний травостій утримує 30-40% кількості гамма-випромінюючих нуклідів, що випала, і близько 30% ^{137}Cs , сіяні багаторічні трави – відповідно 20-40% і 7-15%.

Накопичення радіонуклідів у біоті. Специфічною реакцією на забруднення середовища радіонуклідами є їх накопичення в організмах, що мешкають на забрудненій території. Однак при порівнянні вмісту радіонукліда в організмі з отриманою дозою або викидом радіонукліда необхідно враховувати цілу низку чинників, що визначають особливості його біологічного накопичення і міграції.

До найбільш значущих належать: коефіцієнт накопичення і період напіврозпаду радіонукліда; його шлях потрапляння в організм – аераційний або через ґрунт; особливості міграції радіонукліда в ґрунті;

обмінні особливості ґрунту; міграція організму, його індивідуальні, статеві, вікові особливості, швидкість процесів метаболізму, а також те, в якій тканині або органі проводиться вимірювання вмісту радіонукліда.

При оцінці радіаційного навантаження через аераційне надходження радіонуклідів в екосистеми репрезентативним біоіндикатором виступають сфагнові мохи. Це особливо важливо для територій, схильних до впливу підприємств із захоронення радіоактивних відходів, оскільки їхня специфіка визначається високим вмістом у відходах ^{137}Cs (до 90%) і, відповідно, великим виходом цього ізотопу в повітряне середовище. Крім того, експериментально було встановлено високу резистентність лишайників до іонізуючої радіації, особливо видів роду *Cladonia*: навіть за дуже високих доз γ -опромінення (понад 1000 Р/добу) не відбувається масової загибелі слані лишайників і їх випадання зі складу угруповань. Акумуляування радіонуклідів у сланях залежить як від характеристик радіоізотопів (форма випадання, кількість, розчинність у воді, рухливість у середовищі), так і від особливостей лишайника (життєва форма, розміри та вік рослини) і місця існування (субстрат, експозиція, кількість опадів). Період виведення з лишайників ^{137}Cs імовірно становить понад 17 років, а представники окремих видів лишайників живуть до сотень і тисяч років, тому їхні слані можуть містити сліди багатьох викидів радіонуклідів в атмосферу. Високою акумуляцією радіонуклідів вирізняються гриби.

Серед рослин тенденція до високого накопичення радіонуклідів спостерігається у представників родин маренових *Rubiaceae*, товстолистих *Crassulaceae*, норичникових *Scrophulariaceae* і бобових *Fabaceae*, а до низького – у злакових *Poaceae*.

При оцінці вмісту радіонукліда в різних організмах необхідно враховувати основні закономірності накопичення радіонуклідів у різних елементах біоценозів. Так, наприклад, під час переходу в рослинність ^{90}Sr і ^{137}Cs їхня концентрація знижується, проте у видів із поверхневою кореневою системою (полуниця, суниця та ін.) їхня концентрація близька до ґрунтової. Є великі відмінності у концентрації радіонуклідів у тілі тварин, мешканців одного біогеоценозу, а також представників одного виду, що живуть у різних місцях. Накопичення радіонуклідів у тілі тварин залежить насамперед від: щільності забруднення ґрунту, тривалості й тісноти контактів тварин із ним; трофічного рівня даного виду тварин і займаної ним екологічної ніші; ступеня біологічної доступності радіонукліда. Колективом дослідників під керівництвом Д. А. Криволуцького встановлено, що:

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

- максимальні кількості ^{90}Sr і ^{137}Cs накопичуються у тварин, тісно пов'язаних у процесі життєдіяльності з верхнім шаром ґрунту, – дощових черв'яків, мурах, мишоподібних гризунів, жаб (проникнення радіонуклідів відбувається через шкірні покриви);
- ^{90}Sr , будучи остеотропом, концентрується в значних кількостях у скелеті хребетних тварин, безхребетні накопичують його незначно;
- ослі види тварин накопичують радіонукліди більше, ніж тварини, які здійснюють добові та сезонні міграції;
- статеві відмінності в накопиченні радіонуклідів мають місце у тварин, які живуть постійно на забрудненій території лише в період розмноження, що пов'язано з посиленням обміну речовин у самок; загалом, інтенсивність накопичення радіонуклідів залежить від швидкості обмінних процесів;
- концентрація ^{90}Sr і ^{137}Cs в організмі молодих тварин вища, ніж у дорослих, що зумовлено активними процесами життєдіяльності та скелетоутворення;
- при спільній міграції пар елементів-аналогів $^{90}\text{Sr} - \text{Ca}$ і $^{137}\text{Cs} - \text{K}$ у харчових ланцюгах тварин спостерігається: у парі $^{90}\text{Sr} - \text{Ca}$ на всіх трофічних рівнях дискримінація радіонукліда (виняток становлять комахи, у яких відбувається збільшення вмісту ^{90}Sr відносно Ca); у парі $^{137}\text{Cs} - \text{K}$ збільшення концентрації ^{137}Cs по відношенню до K у середньому в 1,5-8 разів на кожному наступному трофічному рівні;
- міграційна здатність ^{239}Pu мала, через утворення в ґрунті нерозчинних комплексів його доступність дуже незначна для рослин і тварин, за винятком дощових черв'яків.

Часто для біоіндикації забруднення використовують визначення вмісту радіонуклідів у ґрунтовій мікро- та мезофауні, а також чисельність окремих видів на різних стадіях розвитку та їх співвідношення (личинки та німфи мікрофауни, личинки комах, дорослі кокциди, дощові черв'яки видів *Dendrobaena octaedra*, *Eisenia nordenskioldi*, молюски).

Здатність проникнення радіонуклідів через поверхню листя і стебел було встановлено шляхом нанесення розчинів радіонуклідів на рослини. При цьому було показано залежність поглинання радіонуклідів рослинами від фізико-хімічних властивостей елементів. Високу рухливість у рослинах мають радіонукліди Cs , I і Th , низьку – радіонукліди Sr , Ce , Ba . Через листя в рослини проникає від 20 до 60% поверхнево нанесеного розчину ^{137}Cs і всього лише соті частки відсотка ^{90}Sr .

Накопичення радіонуклідів у рослинах залежить від віку та фази розвитку особин. З радіоактивних продуктів поділу в перший період розвитку найбільшу небезпеку становлять ізотопи йоду внаслідок най-

вищого відносного їхнього вмісту та значної біологічної токсичності. У подальшому основну роль відіграють ^{90}Sr і ^{137}Cs через їхню порівняно високу енергію випромінювання, великого періоду напіврозпаду та здатності активно включатися в біологічний кругообіг речовин (грунт – рослини – тварини – людина). Ці ізотопи здатні надовго затримуватися в організмі людини і тварин. Під час надходження з кормом в організм тварин ^{90}Sr його постійним неізотопним носієм слугує кальцій, а для ^{137}Cs – калій. В організмі тварин калій і кальцій представлені як макроелементи. Під час дослідження закономірностей пересування ^{90}Sr і ^{137}Cs від одного біологічного об'єкта до іншого було помічено, що перший поводить себе подібно до кальцію, другий – до калію. Ця обставина має важливе значення для радіоекологічних біоіндикаційних досліджень. Встановлено, що за рівних умов максимальна концентрація ^{90}Sr завжди виявляється в органах (продуктах), фізіологічно багатих кальцієм (кістки, яєчна шкаралупа тощо), а максимальна концентрація ^{137}Cs – у багатих калієм (наприклад, м'язах). Зважаючи на певну пропорційність накопичення в біологічних об'єктах ^{90}Sr і кальцію, а також ^{137}Cs і калію, кількість радіоактивного стронцію або радіоактивного цезію виражають у стронцієвих одиницях, під якими розуміють відношення активності (нКи) ^{90}Sr , що міститься в 1 кг досліджуваного зразка, до концентрації в ньому кальцію (г/кг).

Аналогічно розраховують вміст ^{137}Cs по відношенню до калію в цезієвих

одиницях. Однак останнім часом ними практично перестали користуватися, оскільки з'ясувалося, що в процесі переходу по деяких ланках харчових ланцюгів ^{137}Cs не завжди подібний до калію і пов'язаний з ним менше, ніж ^{90}Sr з кальцієм.

Під час біоіндикації забруднення радіонуклідами застосовують такі показники, як рівні вмісту радіонуклідів у біотечі, видове розмаїття, присутність – відсутність виду, велика кількість організмів тощо. Дослідженнями А. В. Канєва та ін. (2013) показано, що морфологічні параметри черв'яків родини *Lumbricidae* не можуть бути використані як індикаторні критерії радіаційного впливу, оскільки ці показники, розраховані для контрольних і техногенно забруднених територій, достовірно ($p < 0,05$) не відрізнялися. Водночас чисельність безхребетних була достовірно вищою ($p < 0,05$) на контрольних ділянках, ніж на майданчиках із підвищеним вмістом радіонуклідів у ґрунті.

Абсолютними індикаторами радіаційних навантажень у лісових екосистемах є підстилки. Добрими показниками радіаційного забруднення виступає накопичення радіонуклідів у мохах і лишайниках. Друге місце за значимістю посідають гриби – підстилкові сапрофіти і мі-

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

коризоутворювачі. Трав'янисті рослини можуть використовуватися в індикації ^{90}Y , ^{90}Sr . Ксилофіти і трав'янисті рослини погано індукують ^{137}Cs і ^{134}Cs . О. В. Маркелов зі співавторами (1990) під час біоіндикації радіаційного забруднення рекомендує використовувати гриби. У лісових екосистемах ^{90}Y , ^{90}Sr , ^{137}Cs і ^{134}Cs , що надходять кореневим шляхом, відзначені у 100% сапрофітів і 95,6% ксилофітів. ^{137}Cs і ^{134}Cs , що надходять аераційним шляхом, акумулюються в підстилкових сапрофітах і коризоутворювачах слабкіше, ніж у мохах, але інтенсивніше, ніж у ксилофітах. Вміст радіонуклідів у грибах європейської провінції підзони хвойно-широколистяних лісів до кінця 1987 р. (після аварії на Чорнобильській АЕС) зріс порівняно з 1976-1983 рр. за ^{90}Sr у 1100 разів, за ізотопами Cs – у 100 разів.

Вибіркове поглинання ^{137}Cs характерне для лишайників роду *Cladonia* і *Cetraria islandica*. Інтерес представляє трансформація речовини в ланцюзі «лишайник – олень – людина». А. І. Нижников та ін. (1979) відзначають яскраво виражені сезонні коливання концентрацій ^{137}Cs в оленині. У зимовий період вона в 15-18 разів вища, ніж улітку. Сезонні коливання пояснюються зміною раціону харчування оленів. У зимовий період тварини повністю переходять на харчування лишайниками, тоді як у літній період олені практично повністю виключають їх із раціону. Сезонній зміні вмісту ^{137}Cs сприяє також короткий біологічний період напіввиведення радіонукліда з організму оленів – 21-35 днів.

Поширення радіонуклідів по ланцюгу харчування залежить від раціону тварин.

За даними Б. П. Кругликова (1969), вміст радіоцезію в м'язах благородних оленів, лосів і козуль був відповідно в 3, 10 і 20 разів вищим, ніж у м'язовій тканині корів з тієї ж місцевості. У м'ясоїдних хижаків вміст цезію перевищує такий у травоядних тварин у 2-3 рази.

При вивченні радіаційного забруднення враховується трансформація ^{90}Sr – Ca і ^{137}Cs – K. Для першого трофічного рівня безхребетних і хребетних тварин характерне зниження концентрації Sr і Cs порівняно з Ca і K. У хижих безхребетних і некрофагів збільшується концентрація ^{90}Sr , іноді ^{137}Cs . В. Є. Соколов, І. А. Рябцев і А. Д. Покаржевський (1985) ввели термін «спостережуване відношення» – СВ:

$$\text{СВ}_{\text{кістка-раціон}} = \text{Sr/Ca (у кістках)} \div \text{Sr/Ca (в раціоні)}$$

У рослино- і комахоїдних ссавців СВ близькі. У вищих ланках трофічного ланцюга знижується частка Sr по відношенню до Ca і збільшується співвідношення Cs:K.

А. І. Таскаєв і Д. А. Криволуцький (1985) серед хороших індикаторів іонізуючого випромінювання називають малорухомих ґрунтових

безхребетних з відносно довгим періодом індивідуального розвитку. До них, зокрема, належать дощові черв'яки та багатоніжки.

Під час оцінки радіаційного забруднення водних екосистем Н. В. Куликовим (1978) пропонується використовувати донні відкладення, а також відмерлі рослини. Крім того, практично всі гідробіонти, особливо прісноводні рослини, можуть бути біоіндикаторами радіаційного забруднення. Більшість представників прісноводної флори і фауни мають здатність накопичення радіоактивних ізотопів ^{238}U , ^{226}Ra , ^{232}Th до рівня, що в 100 і 1000 разів перевищує їхню концентрацію у воді.

У роботі І. К. Кравченка, О. М. Семенова, С. М. Дедиш та ін. (1999) було показано, що закономірне зменшення кількості бактерій при збільшенні дози особливо чітко проявляється для горизонтів підстилки (роди *Bacillus*, *Pseudomonas*) і меншою мірою характерне для нижчих мінеральних субстратів. При збільшенні дози опромінення кількість актиноміцетів зростала, проте спостерігалось утворення мутантів зі збільшеною фазою вегетативного росту гіфів.

Мікроміцети є однією з найбільш чутливих до впливу радіації груп ґрунтових мікроорганізмів. Дія радіації докорінно видозмінює корінне мікроміцетне співтовариство; збільшення видового розмаїття в досліджених забруднених ґрунтах відбувається переважно за рахунок роду *Penicillium*. Н. Н. Ждановою, А. І. Василевською, В. О. Захарченком (1999) запропоновано сім видів мікроміцетів як біоіндикатори низького ($3,7\text{--}3,7\cdot 10^3$ Бк/кг ґрунту), середнього ($3,7\cdot 10^3\text{--}3,7\cdot 10^5$ Бк/кг ґрунту) і високого ($3,7\cdot 10^5\text{--}3,7\cdot 10^7$ Бк/кг ґрунту) рівнів забрудненості ґрунтів радіонуклідами. Види *Myrothecium roridum*, *Metarrhizium anisopliae*, *Penicillium roseo-purpureum*, *Arthrrium phaeospermum* – індикатори низького рівня, *Acremonium strictum* – низького та середнього, *Chaetomium aureum* і *Paecilomyces lilacinus* – середнього та високого рівнів радіаційного забруднення.

Часто як біоіндикатори використовують також черепашкові кореніжки

(Protozoa, Testacida). В умовах радіаційного забруднення спостерігаються зниження видового різноманіття найпростіших і прагнення до монодомінантності.

Кількість ґрунтових водоростей у ґрунтовій підстилці при збільшенні дози опромінення знижується. Найбільш інформативним показником є флористичний склад альгоценозів, оскільки різні водорості значно різняться за ступенем стійкості до радіації. Наприклад, культури ціанобактерій (*Microcoleus*, *Phormidium*, *Synechococcus*) мають дуже високий ступінь стійкості до опромінення – до 1280 кР, тоді як одноклітинні зелені водорості *Chlorococcum* sp. витримують не більше 160

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

кР, хоча серед зелених водоростей ступінь резистентності до радіації значно варіюється. Ще більш чутливі до радіації нитчасті зелені водорості, що пов'язано з їхньою більшою активністю в акумуляції різних сполук, у тому числі ^{90}Sr і ^{137}Cs .

Найбільша роль з усіх безхребетних у біоіндикації належить дощовим черв'якам *Oligochaeta*, *Lumbricidae*, які трапляються практично у всіх природних і антропогенних системах помірного поясу і домінують у їхній біомасі. Відмінності в радіочутливості особин одного й того ж виду зумовлені комплексом чинників. Найстійкішим до радіоактивного забруднення видом є *Dendrobaena octaedra*. Радіопатології дощових черв'яків виникають при десятих частках LD_{50} і виражаються в сильному пошкодженні сперматогоніїв.

Біологічні наслідки впливу радіоактивного забруднення середовища на земноводних і плазунів вивчені слабо. Однак низка біологічних особливостей цих тварин – тісний зв'язок із субстратом, осілий і відкритий спосіб життя, відносно високі показники тривалості індивідуального життя і щільності населення, високий трофічний рівень, тривалий період ембріонального розвитку, зміна середовища проживання під час онтогенезу і наявність високочутливої фази розвитку – роблять їх і, в першу чергу, лускатих плазунів *Scuamata*, перспективними біоіндикаторами радіаційних забруднень.

Під час розгляду рослинності як індикатора радіаційних забруднень можна використовувати, крім вмісту радіонуклідів в окремих частинах рослин, різні характеристики: радіочутливість виду та зміну видового складу угруповання, фенологічні та морфологічні зміни опромінених рослин.

Загальні закономірності полягають у тому, що ліси помірної зони мають вищу чутливість до радіоактивного забруднення порівняно, наприклад, із тропічними лісами. За даними колективу авторів під керівництвом Д. А. Криволуцького, найбільш чутливими є трав'янисті однорічні види рослин. Багаторічники, що мають багаторічні підземні бруньки, захищені від опромінення, більш стійкі до радіаційного впливу. Фенологічні зрушення виникають за доз 100-200 Гр, численні й різноманітні морфологічні зміни в рослин (перстач повзучий, лисохвіст роздутий) – за доз від 25 до 73 Гр. За весняного опромінення доза вище 25 Гр спричиняє суттєві зміни складу угруповання, а доза понад 200 Гр призводить до руйнування фітоценозу – чим вищою є доза опромінення, тим простіша структура угруповання, що залишається на місці корінного опроміненого. Місце, що звільняється в угрупованні радіочутливими видами, займають більш радіорезистентні (наприклад, *Calamagrostis epigeios* і види роду *Carex*).

Досліджуючи деревну рослинність як біоіндикатор, потрібно враховувати, що при опроміненні в летальних і сублетальних дозах їхня загибель розтягнута в часі і триває протягом п'яти років. Яскравим показником радіоактивного забруднення є ураження листя, хвої та камбію деревних рослин. Найдетальніше ефекти опромінення вивчені в сосні звичайної *Pinus sylvestris* і берези бородавчастої *Betula pendula*. Специфіка променевого ураження деревних рослин проявляється в ушкодженні листя, хвої та апікальної меристеми, насамперед у середній і нижній частині крон, що пов'язано зі швидким очищенням верхньої частини крон від радіонуклідів під дією вітру та атмосферних опадів. Стійкість деревних рослин до опромінення істотно залежить від їхнього фізіологічного стану: летальні дози опромінення в стадії фізіологічного спокою в 1,5 рази вищі, ніж у період вегетації.

Для трав'янистих рослин радіаційно забруднених територій як показник ушкодження може фіксуватися неповноцінність насінневого потомства, що формується на опромінених рослинах, але причиною цих несприятливих змін можуть бути токсичні властивості таких радіонуклідів, а не їхні іонізуючі властивості. Мешкання популяцій рослин у середовищі з підвищеним фоном іонізуючих випромінювань приводить у дію адаптаційні механізми, спрямовані на пристосування популяцій до цих змінених умов. Один із проявів адаптації – збільшення радіорезистентності популяцій.

У ссавців найбільш вразливими системами організму до дії іонізуючої радіації є клітини статевих органів і кровотворна система. У тварин, що мешкають у районах родовищ радіоактивних руд (наприклад, самців полівок), виявлено хромосомні аберації, дегенерацію в зародковому епітелії статевих залоз, загальмоване статеве дозрівання і стерильність статевозрілих самців. Однак, оскільки дослідження радіочутливих клітин статевих органів у масовому порядку ускладнені, то дедалі більшого поширення набувають аналізи крові та кровотворної тканини кісткового мозку, селезінки, лімфовузлів. Остаточний висновок роблять на підставі аналізу якості клітин кровотворного червоного кісткового мозку. За необхідності проводять додаткове визначення клітинного складу селезінки та лімфовузлів. Цим обумовлено застосування гематологічних методів, часто доповнених методом дослідження цитогенетичних ушкоджень, що дає змогу вимірювати розриви хромосом і втрату цілих хромосом у клітинах крові (мікроядерний тест, наприклад, визначення мікроядер у популяціях лімфоцитів периферичної крові, здатних накопичувати цитогенетичні пошкодження протягом кількох років).

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Хорошим індикатором можуть бути дрібні ссавці: руда, звичайна і темна полівки, полівка-економка, жовтогруда, лісова і домові миші, що відповідають вимогам, які висувають до видів-індикаторів. Для них характерні постійно висока чисельність, обмеженість індивідуальних ділянок, доступність здобичі в природі тощо. Однак часто застосовувані екологічні показники стабільності та нормального розвитку популяцій (чисельність дрібних ссавців і фактична плодючість) у даному випадку не можуть бути індикатором впливу шкідливого чинника на популяції гризунів і землерийок. Фактори, що залежать від щільності, «затіняють» дію радіаційного фону. Єдиним достовірним і надійним свідченням порушення нормального стану популяції гризунів може вважатися ембріональна смертність.

У результаті численних досліджень було з'ясовано, що найнадійнішими показниками ембріональної смертності є патологія вагітності (наявність каліцтв, резорбції ембріонів), нерівномірність розвитку ембріонів в одному виводку, редукційні аномалії скелета і кінцівок ембріонів, аномалії в розвитку головного мозку, вади розвитку очей. Але, як правило, ембріон несе в собі цілий комплекс відхилень, зумовлених сукупністю тератогенних і мутагенних ефектів.

Гематологічні методи використовують у тих випадках, коли не спостерігається відхилень у зовнішньому вигляді тварин, забарвленні шерсті та очей від норми, тобто видимих мутацій. При цьому гематологічні зрушення досить добре відповідають ступеню радіоактивного забруднення місцевості. Для всіх гризунів, які перебувають під впливом радіації, характерні відхилення морфологічного складу крові та кісткового мозку, ступінь тяжкості яких імовірно залежить від віку. Особливо небезпечними для життя тварин є алейкемічні лейкози, передлейкози та апластичні стани лейкопоезу, що виникають під час опромінення у 0,8-1,2 Гр/рік.

Слід враховувати, що мишоподібні гризуни завдяки умовам життя (норне і наземно-гніздове розміщення) тісніше пов'язані з притаманним даній місцевості радіоактивним забрудненням, ніж великі ссавці. Їхнє тіло, на відміну від середніх і великих тварин, більше піддається впливу β -випромінювання ^{90}Sr та інших радіонуклідів, яке може пронизувати його наскрізь. Тому результати досліджень на мишоподібних гризунах не можуть бути повністю перенесені на більших тварин, особливо з широким ареалом проживання, у яких β -частинками уражаються лише окремі ділянки шкіри, шлунково-кишкового тракту і скелета. Спостереження за порівняно великими ссавцями (зайці, копитні) на територіях із сильним локальним забрудненням показали, що відбувається не тільки реєстроване накопичення радіонукліда, а й порушен-

ня популяційної структури. Так, Л. В. Богатов (1997) і Д. А. Криволуцький, Ф. А. Тихомиров, А. Д. Покаржевський (1988) відмічають затримку розвитку та статевого дозрівання тварин, зменшення тривалості життя та стійкості до несприятливих впливів середовища, зниження плодючості через ранню загибель та розсмоктування ембріонів, морфометричні зміни внутрішніх органів (печінка, селезінка, сім'яники, нирки, надниркові залози), більшу ураженість хворобами та паразитами звірів і птахів на забруднених ділянках. Про радіаційне забруднення свідчить і стан кровотворної системи тварин.

Радіоактивне забруднення великих площ сільськогосподарських угідь викликало необхідність вивчення впливу різних рівнів радіації на різних сільськогосподарських тварин, причому визначальне значення мали відомості про зміни системи крові. Основні висновки з проведених досліджень зводяться до такого:

- в умовах хронічного надходження ^{90}Sr при дозі на кістковий мозок нижче 1 мГр/добу і сумарній поглиненій цим органом дозі не вище 1 Гр відхилення від нормальних показників крові (кількість лейкоцитів, величина деструкції клітин і біохімічних показників) взагалі не спостерігаються;

- сумарна поглинена доза в межах до 1 Гр при потужності дози вище 3 мГр/добу може викликати тимчасове незначне зниження числа лейкоцитів у крові. Статистично значущі зміни морфологічного складу крові та кісткового мозку можуть проявитися у сільськогосподарських тварин через 4-18 місяців з моменту надходження в організм ^{90}Sr , якщо потужність дози дорівнюватиме 3 мГр/добу або вище за сумарної поглиненої дози 1,5-2,5 Зв;

- ґрунтове забруднення ^{90}Sr , що не перевищує 185 кБк/м², не спричиняє у великої та дрібної рогатої худоби будь-яких змін у системі крові;

- велика і дрібна рогата худоба витримує накопичення високих сумарних доз радіації в критичних органах (до декількох Гр) за порівняно невеликого зменшення продуктивності.

Під час опромінення біогеоценозів вплив іонізуючих випромінювань насамперед відбивається на популяціях ссавців і птахів як особливо радіочутливих компонентах спільноти. Дещо стійкіші до опромінення хвойні деревні рослини та листяні породи. Ще більші дози витримують багато види комах і трав'янистих рослин, гриби, мохи, лишайники і більшість мікроорганізмів. Відповідно, за кількістю видів, що випали зі спільноти, за складністю структури угруповання, що залишається на місці опроміненого корінного, можна судити про ступінь радіаційного впливу. Однак, розглядаючи поєднання окремих елемен-

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

тів біогеоценозу, необхідно враховувати біогенну міграцію радіонуклідів трофічними ланцюгами та існування біогенної акумуляції окремими видами організмів.

Найбільш чутливими до дії іонізуючих випромінювань є лісові біогеоценози (особливо хвойні). Радіаційне пошкодження лісу відбувається під дією таких доз, які не спричиняють помітних порушень у біогеоценозах інших типів, зокрема в угрупованні трав'янистих рослин. Опромінення безпосередньо впливає насамперед на окремі компоненти лісового біогеоценозу, особливо на яруси деревної рослинності, які характеризуються найбільшою радіочутливістю. За досить великих доз цей вплив виявляється летальним і призводить до випадання радіочутливих видів зі складу опроміненого біогеоценозу. Такі ефекти є первинними, оскільки вони зумовлені прямою дією іонізуючих випромінювань. Але наслідки опромінення лісу не обмежуються цими первинними ефектами. Випадання видів зі складу угруповання призводить до порушення сформованих раніше взаємовідносин між різними групами організмів. Це спричиняє подальшу перебудову лісового біогеоценозу і зміну його структури.

ТЕМА 3. БІОТЕСТУВАННЯ

§ 3.1. Біотестування і його роль при спостереженнях за станом довкілля

Під **біотестуванням** зазвичай розуміють *процедуру встановлення токсичності середовища за допомогою тест-об'єктів, котрі сигналізують про небезпеку незалежно від того, які речовини і в якій комбінації викликають зміни життєво важливих функцій у тест-об'єктів*. Завдяки простоті, оперативності та доступності біотестування отримало широке визнання у всьому світі, і його все частіше використовують поряд з методами аналітичної хімії.

Тест-об'єкт (*test organism*) – це організм, який використовується при оцінці токсичності хімічних речовин, природних і стічних вод, ґрунтів, донних відкладень, кормів та ін. Тест-об'єкти, за визначенням Л. П. Брагинського, це «датчики» сигнальної інформації про токсичність середовища і замітники складних хімічних аналізів, котрі дозволяють оперативно констатувати факт токсичності (отруйності, шкідливості) водного середовища

Тест-об'єкти з певною величиною наближення дають кількісну оцінку рівня токсичності забруднення водного середовища. Реакції рослин, тварин і мікроорганізмів на дію токсикантів широко використовуються при екотоксикологічній оцінці об'єктів довкілля.

Біотестування, як метод оцінки токсичності водного середовища, використовується:

- при проведенні токсикологічної оцінки промислових, стічних побутових, сільськогосподарських, дренажних, забруднених природних та інших вод з метою виявлення потенційних джерел забруднення;
- при контролі аварійних викидів високотоксичних вод;
- при оцінці рівня токсичності стічних вод, котрі подаються на очисні споруди біологічного типу, з метою попередження проникнення небезпечних речовин у біоценоз;
- при визначенні рівня безпечного розбавлення стічних вод для гідробіонтів з метою врахування результатів біотестування при коректуванні і встановленні гранично допустимих скидів речовин, що потрапляють у водойми зі стічними водами;
- при проведенні екологічної експертизи нових матеріалів, технологій очищення, проєктів очисних споруд.

В останні десятиліття в багатьох країнах біотестування стало загальноновизнаним прийомом в системі контролю забруднення водного середовища токсичними речовинами. У ряді країн біотестування вже

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

стало обов'язковим елементом системи контролю забруднення водних об'єктів токсичними речовинами.

Для біотестування застосовується стандартний набір біотестів на гостру токсичність з використанням бактерій з роду *Pseudomonas* (інгібування розмноження на 99% протягом 48 годин); водоростей з роду *Scenedesmus* (зниження чисельності на 50% за 5 діб); дафній та риб (загибель 50% осіб за 24 години).

При біотестуванні оцінюють гостру та хронічну токсичність. Методика визначення гострої і хронічної токсичності питних, ґрунтових, поверхневих, стічних вод, а також водних фракцій ґрунтів, опадів стічних вод та відходів заснована на визначенні смертності тест-об'єктів при впливі токсичних речовин [38]. Гостра токсична дія досліджених проб води або водних витяжок з ґрунту, опадів стічних вод та відходів на тест-об'єкти визначається за їхньою летальністю за певний період експозиції. Критерієм гострої токсичності виступає загибель 50% та більше тест-об'єктів за 96 годин у досліджуваній пробі в умовах, що у контрольному експерименті загибель не перевищує 10%.

В експериментах з визначення гострої токсичної дії встановлюють:

- середню летальну концентрацію окремих речовин (кратність розбавлення вод або водної витяжки з ґрунтів, опадів стічних вод і відходів, які містять суміші речовин), що викликають загибель 50% й більше тест-організмів (ЛК₅₀₋₉₆);

- безпечну (яка не викликає ефекту гострої токсичності) концентрацію речовин у воді або водній витяжці з ґрунтів, опадів стічних вод та відходів, що викликає загибель не більше 10% тест-організмів (БК₁₀₋₉₆, БКР₁₀₋₉₆).

На основі вивчення особливостей реагування гідробіонтів різних екологічних і систематичних груп на вплив токсичних компонентів промислових, міських і сільськогосподарських стічних вод (фенолів, аміно- та нітросполук, важких металів, нафтопродуктів, синтетичних поверхнево активних речовин (СПАР) та інших) розроблена велика кількість методів біотестування та їх модифікацій. Як тест-об'єкти використовують: бактерії, гриби і актиноміцети, водорості, найпростіші, безхребетні, риби.

Для біотестування стану водних екосистем використовуються різні гідробіонти – водорості, мікроорганізми, безхребетні, риби. Найбільш популярні об'єкти – планктон ракоподібних-фільтраторів *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia affinis*.

Важливою умовою правильного проведення біотестування є використання генетично однорідних лабораторних культур, бо вони проходять перевірки чутливості, містяться у спеціальних, згідно стандартів, лабо-

раторних умовах, котрі забезпечують необхідну збіжність і оновленість результатів досліджень, а також максимальну чутливість до токсичних речовин.

Тривалість біотестування залежить від задачі, яка поставлена дослідником. Гострі біотести, які виконуються на різних тест-об'єктах за показниками виживаємості, тривають від декількох хвилин – до 24-96 годин. Короткотривалі хронічні тести тривають протягом 7 діб і закінчуються, як правило, після отримання першого покоління тест-об'єктів. Хронічні тести на загальну плодовитість ракоподібних, які охоплюють 3 покоління, тривають до народження молоді у третьому поколінні.

Рівень токсичності оцінюється методами біотестування, а також за показниками перевищення ГДК у досліджуваному середовищі. Для надійності контролю токсичності забруднювачів невизначеного складу потрібно задіяти одночасно декілька тест-об'єктів.

У методах біотестування з використанням бактерій реєструються інтенсивність розмноження клітин, біolumінісценція, активність окислювальних ферментів бактерій активного мулу.

У біотесті з використанням пліснявих грибів і актиноміцетів реєструються ростова реакція тест-об'єктів.

У біотестах на водоростях використовуються різні реакції: інтенсивність розмноження клітин, біоелектрична реакція, плазмоліз, фотосинтетична активність клітин, здатність клітин до диференційованого фарбування.

У методах із використанням найпростіших реєструються інтенсивність розмноження, рухова активність і морфологічні зміни тіла.

У біотестах на дафніях враховуються виживання, плодючість, інтенсивність дихання і серцебиття. У методах із використанням інших безхребетних реєструються регенерація підшви гідри, зміни поведінки медичної п'явки, морського гребінця.

У риб як тест-функції використовуються виживання, поведінкові реакції, рухова активність, інтенсивність серцебиття і дихання, здатність до зміни пігментації шкіряних покривів.

Зміни в стані живих організмів, які вказують на ті або інші порушення, можуть бути морфологічними або функціональними. Зміни першого типу виявляють візуально, біометричними вимірюваннями, гістологічними і цитологічними дослідженнями, а іншого типу – фізіологічними, біохімічними і біологічними методами.

В останні роки розроблені нові методи для оцінки присутності токсикантів у природних і стічних водах і їх біологічної дії. Ці тести пов'язані із ембріологічними спостереженнями над ікромі риб, жаб, молюсків.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Основні методи, що рекомендуються для першочергового застосування в контролі стічних вод і перспективні для оцінки рівня забруднення природних вод наведені в таблиці 18.

Таблиця 2

Перелік методів біотестування, що рекомендуються для першочергового застосування в контролі якості вод і перспективних для оцінки рівня токсичного забруднення природних вод

Назва методу	Прийом або пристрій для здійснення методу	Застосування при контролі вод
Вживання та плодючість рачка <i>Daphnia magna</i>	Візуальні спостереження неозброєним оком	Стічні і природні води
Рухова активність вживання та темп росту інфузорій	Мікроскопіювання	Стічні і природні води
Імобілізація клітин водорості дуналієла саліна	Мікроскопіювання	Стічні і природні води
Рівень загальної і уповільненої флуоресценції водоростей	Флуориметр	Стічні і природні води
Ростова реакція бактерій	Фотоелектроколориметр	Природні води
Вживання і регенерація у гідри	Мікроскопіювання, візуальні спостереження	Природні води

Метод біотестування з використанням рачків *Daphnia magna* рекомендований як першочерговий для контролю стічних вод у сталому режимі і виявлення потенційно небезпечних джерел забруднення водних об'єктів токсичними речовинами.

Дафнія, як живий організм, відповідає цілому ряду умов, які пред'являють до тест-об'єкта: доступність, швидкість отримання в масовій кількості і простота лабораторного культивування, невеликий, і в той же час достатній розмір тварини. До токсичних речовин молодь дафній більш чутлива, ніж дорослі особини, тому як тест-об'єкт рекомендовано використовувати молодь дафній у віці менше ніж 24 години.

Біотестування природних вод має ряд відмінностей від простого біотестування стоку чи окремої хімічної сполуки, оскільки треба враху-

вати більше екологічних факторів і хімічних сполук. При біотестуванні природних вод вирішуються дві задачі:

1) отримання систематичної інформації про можливу токсичність води (водної товщі та придонних шарів) і донних відкладів водойми та її конкретних ділянок;

2) отримання експрес-інформації про токсичність окремих проб або токсичне забруднення водойми чи її окремої ділянки в зв'язку з аварійною ситуацією.

§ 3.2. Тест-об'єкти при екотоксикологічному тестуванні об'єктів довкілля

Daphnia magna Straus відноситься до нижчих ракоподібних, загону ветвистоусих. Дафнії мешкають у планктононерухливих і слабопроточних прісноводних водоймах.

Тіло дафній овальної форми, стиснуте з боків, у прозорому панцирі. Голова покрита щитом, передній край котрого витягнутий, утворюючи рострум. Під рострумом розташовані дві пари кінцівок: антенули і антени, останні сильно розвинуті і задіяні при скачкоподібному переміщенні у товщі води. П'ять пар грудних кінцівок сильно розчленовані, оснащені щетинками, служать для фільтрації води, харчування, дихання. У головному відділі, не покритому раковиною, розташоване око. Під панциром дафній легко помітні серце, кишечник, виводкова камера, яка знаходиться у спинній частині тулуба. У виводковій камері протікає ембріональний розвиток дафній. Оптимальне харчування забезпечує подвоєння розмірів рачків у проміжку між линьками. Після настання статевої зрілості зростання дафній сповільнюється, знижується і частота линьок. Всього протягом життя дафнія може линяти до 24 разів. Молодь має довжину 0,7-0,9 мм, статевозрілі самки – 2,2-2,4 мм, самці – 2,0-2,1 мм. Період дозрівання рачків при оптимальній температурі (20 ± 2°C) і хорошому харчуванні – 5-8 діб, тривалість ембріонального розвитку – 3-4 доби, при підвищеній температурі до 25°C – 46 год. У лабораторних умовах при оптимальному режимі дафнії живуть 3-4 місяці і більше.

При температурі понад 25°C тривалість життя може скорочуватися до 25 діб. Голодування збільшує тривалість життя, але затримує зростання і линьку. За характером харчування вони відносяться до фільтраторів. У природі дафнії харчуються завислими у воді бактеріями, одноклітинними водоростями, детритом, органічними речовинами.

Білий еніхтрей – один із видів безхребетних тварин, що піддаються культивуванню у відносно простих умовах. Культивують еніхтрей у ґрунті, на битій цеглі, шлаку, гальці, між листами фільтрувального паперу, між полотнищами тканини, роґожі або мішковини, серед заги-

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

блого листя водних рослин. Культивують деякі види енхітреїд у чашках Петрі на агарі, що містить двовідсотковий ґрунтовий екстракт. Поверхня агару покривається невеликим шаром ґрунту, в якому житимуть тест-об'єкти, харчуючись мікрофлорою, що розвивається на агарі. Найбільш сприятливими для розведення черв'яків такі умови: температура – 17-18°; вологість ґрунту з гарною структурою – 23-25%; активна реакція середовища – нейтральна або слабкокисла. До ґрунту вносять достатню кількість хробаків (не менш 20 г на площу 0,2 м²). Протягом перших 3-4 днів черві освоюють нове середовище, починають розмножуватися, з яєць у скинутих коконах народжується молодь, яка також підрастає. Користування культурою слід починати в період максимального приросту біомаси, тобто через 45-50 днів з моменту початку розведення. Харчуються такою їжею: різні крупи, борошно, овочі, зелені трав'янисті рослини, ягоди, плоди, дріжджі, головним чином гідролізатні (кормові) у завареному і подрібненому вигляді. У незвареному вигляді вживають лише кормові дріжджі, попередньо розведені теплою водою.

Олігохети – малоцетинкові черв'яки (*Oligochaeta*) водні і ґрунтові (земляні) – це численний підклас у класі пояскових (*Clitellata*) кільчастих хробаків (*Annelida*), які широко поширені у прісних і морських водах, у ґрунті. Хробаки з циліндричним тілом довжиною від десятих часток міліметра до 20 см у водних і до 2,5 м у наземних олігохет. Тіло сегментоване, складається з кілець-сегментів кількістю від 3-5 до декількох сотень. На передньому кінці хробаків є головна (передротова) лопасть (простоміум) різної форми, рот (перистом) і перший сегмент – ротовий (перистоміум). У деяких олігохет може бути пара очей з боків головної лопасті. Хробаки гермафродитні. Розмноження статеве, але може бути безстатеве (паратомічне – утворення зооїдів в одному тілі). При статевому розмноженні хробаки відкладають коконі, в яких відбувається розвиток молоді.

Олігохети відіграють важливу роль у трофоценотичній структурі донних біоценозів, виступаючи активними деструкторами і мінералізаторами органічних речовин з донних відкладень. Складаючи у біоценозах до 70-90% це виражається сотнями і тисячами екз./м² і десятками і сотнями г/м². Олігохети не сприяють значному накопиченню на дніщі органічних опадів і, тим самим, збереженню на дніщі і в ґрунтах високого вмісту кисню навіть на максимальних глибинах. Олігохети виступають кормом для багатьох риб і хижих безхребетних – п'явок і планарій.

Тетрахімени піріформіс. Перевага їх перед іншими тваринами полягає у тому, що корм, який введено у рідке середовище, де мешкає інфузорія, впливає на неї не лише з середини (внаслідок його заковту-

вання і перетравлення), а й ззовні: бо, на відміну від вищих тварин, інфузорія харчується також шляхом всмоктування простих харчових речовин (амінокислот, солей, вітамінів) через свої мембрани, які вкриті численними порами. На ці ж оболонки діють і шкідливі речовини, що присутні у досліджуваному продукті. В результаті не лише різко скорочується час виявлення токсичної дії їжі, а й зменшується її кількість, яка потрібна для таких цілей аж до мінімальних рівнів, що не вловлюються організмом вищих тварин, котрі мають більш потужні механізми захисту від багатьох шкідливих факторів зовнішнього середовища. Найбільш близькими до інфузорій за цими властивостями є культури тканин і личинки комах.

Інфузорія тетрахімени піріформіс має довгу грушовидну форму з більш плоским і злегка загостреним кінцем. Довжина 20-50 нм, вага $1,5 \cdot 10^{-9}$ мг. Клітина вкрита подвійним шаром мембрани з численними порами: до 200 на 1 мкм^2 . Має ротовий отвір з чотирма мембранами, глотку, травні вакуолі, скоротливу вакуоль. Штам у лабораторних умовах мікроядра не має. Розмножується поділом через кожні 2,5-6 годин. Тип травлення – кислотно-лужний. Оптимум рН для зростання – 6,5-7,0. Під час розмноження рН зсувається у лужний бік, досягаючи 7,5-8,0. Межі температури для життя – 13-28°C. При температурі нижче +18°C зростання різко сповільнюється, при температурі вище +30°C – інфузорія гине. У лабораторних умовах добре культивується при кімнатній температурі $22 \pm 3^\circ\text{C}$.

Інфузорія добре переносить 1% розчин NaCl, але гине при 2% розчині.

Культуральне середовище: 2 г пептону бактеріологічного; 0,5 г глюкози; 0,1 г дріжджового екстракту; 0,1 г морської солі аптечної (або 0,1 г NaCl) на 100 мл дистильованої води. Середовище піддають автоклавуванню при 0,5 атм. протягом 30 хв., або на водяній бані 1 год. Зберігають у темному місці, тому що на світлі поживні компоненти розкладаються. Інфузорія – це аероб, тобто потребує кисню, тому шар середовища не повинен перевищувати 1,5-2,0 см. Культуру підтримують шляхом пересівання кожні 7-10 діб на нове середовище.

Як тест-об'єкти широко використовуються також мікроорганізми різних таксономічних груп, однак і самі мікроорганізми здатні виробляти сполуки, які є токсичними як для вищих організмів, так і щодо інших мікроорганізмів (в т. ч. мікотоксини – цвілеві гриби роду *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Dendrodochium*, що виділяють афлатоксини, дендродохіни, міротеціум, фузаріум та ін.).

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

§ 3.3. Контроль екологічного стану за допомогою біоіндикаторів

Постійний екологічний контроль за чистотою навколишнього середовища здійснюють там, де є можливість його забруднення рідкими, твердими або газоподібними відходами, що містять токсичні речовини. Основним змістом цих робіт є своєчасне й повне виявлення джерел забруднення, можливих шляхів перенесення поллютантів.

Напрямки, в яких здійснюється контроль, можуть бути різними. Вони визначаються, головним чином, шляхами надходження поллютантів у довкілля. Зважаючи на особливості міграції різних поллютантів у навколишньому середовищі, під контроль повинне підпадати не тільки те середовище, куди безпосередньо надходять хімічні речовини, але й те, в якому вони можуть частково або повністю мігрувати в результаті сорбції, обмінних процесів тощо.

Забруднення важкими металами контролюють за їхнім валовим вмістом у ґрунтах і рослинах (табл. 3). При цьому важливо визначати у ґрунті рухомі форми елементів-забруднювачів. При оцінюванні агроекологічного стану ґрунтів і рослин щодо наявності у них важких металів використовують такі показники:

- кларки (валовий фоновий вміст);
- ГДК валового вмісту важких металів у ґрунті;
- ГДК рухомих форм важких металів у ґрунті;
- ГДК вмісту важких металів у рослинній продукції.

Таблиця 3

Валовий фоновий вміст і ГДК важких металів у ґрунтах і врожаї

Назва металу	Ґрунт		Рослинницька продукція, ГДК, мг/кг	
	Валовий вміст	Рухомі форми		
	Кларк, мг/кг	ГДК, мг/кг	Овочі	Зерно
Цинк	50	100	10	50
Кадмій	0,5	1	0,03	0,03
Свинець	10	32	0,5	0,3
Мідь	20	55	5,0	10
Хром	75	100	0,3	0,2
Ртуть	0,02	2,1	0,02	0,03
Кобальт	8	50	1	1
Марганець	850	1500	20	44
Залізо	–	–	50	50
Нікель	40	85	1,5	0,5

На території України встановлено наявність кількох геохімічних аномалій, пов'язаних із перевищенням, порівняно з природним фоном, вмісту певних хімічних речовин у природному середовищі. Природні геохімічні аномалії важких металів у кристалічних породах з перевищенням у 10 кларків є на території Рівненської, Житомирської, Хмельницької та Вінницької областей у межах виходів кристалічних порід Українського щита на заході, а також у районі м. Кіровограда та Донецько-Дніпропетровського промислового району. На цих територіях і в ґрунтових водах постійно реєструють перевищення ГДК ртуті, урану, берилію та інших металів.

При контролі за територією, що оточує об'єкти, на яких проводяться роботи з відкритими радіоактивними джерелами, здійснюються дозиметричні заміри над поверхнею землі, відбираються проби ґрунту, наземних рослин і повітря для радіометричних та радіохімічних досліджень (рис. 6).

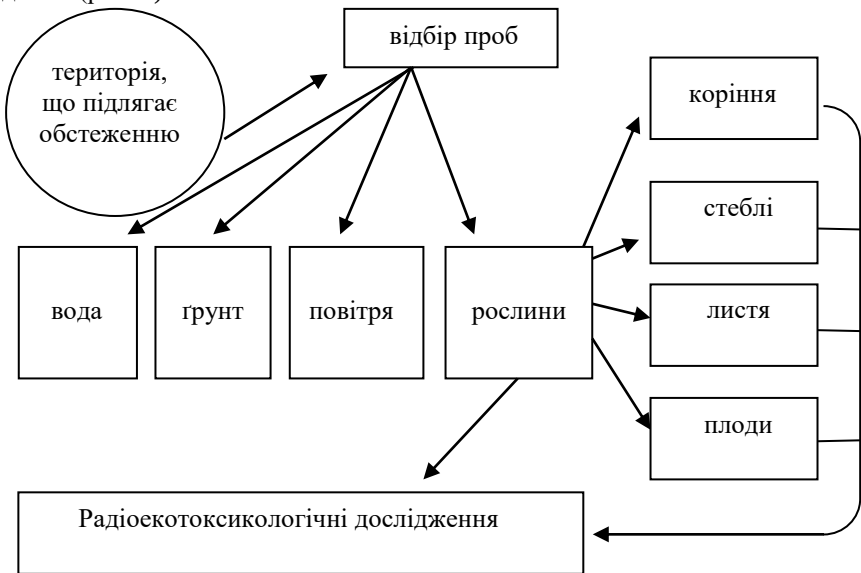


Рис. 6. Схема радіаційно-гігієнічного обстеження території навколо об'єкту, який є потенційним забруднювачем довкілля радіоактивними речовинами

Контроль, який здійснюється за цією схемою, дає можливість характеризувати не лише кількість радіоактивних опадів, а також і їх нако-

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

пичування у ґрунті, у рослинах, у воді. Аналогічна схема обстеження водойм зображена на рис. 7.

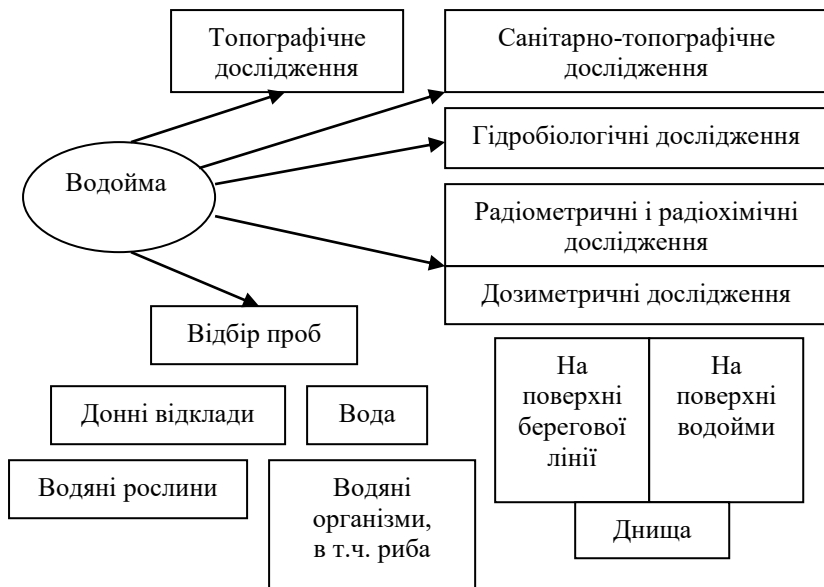


Рис. 7. Схема радіаційно-гігієнічного обстеження водойми

На підставі результатів проведених досліджень здійснюють гігієнічну оцінку території і вносять пропозиції щодо розробки профілактичних та оздоровчих заходів.

Забезпечення радіоекотоксикологічної безпеки територій через радіонуклідне забруднення навколишнього середовища досягають виконанням вимог санітарно-гігієнічного законодавства. Залежно від виду і потужності джерел, масштабів розповсюдження радіоактивних речовин та характеру обумовленого ними забруднення довкілля підходи до організації поточного контролю можуть бути різними. Однак у всіх випадках кінцева його мета – це попередження негативного впливу певного чинника на здоров'я населення, що досягається такими способами:

1. контроль за відходами, що видаляються у навколишнє середовище підприємствами та установами, які видобувають, виробляють або використовують радіоактивні матеріали;
2. контроль за вмістом радіоактивних речовин в об'єктах зовнішнього середовища (атмосферне повітря, ґрунт, вода, харчові продукти й ін.); виявлення основних шляхів їх впливу на людину;

3. контроль за надходженням радіонуклідів до організму людини за відповідними шляхами (пероральний, інгаляційний), а також за дозами при зовнішньому і внутрішньому опроміненні; визначення дози опромінення, яку отримує населення;

4. оцінка радіаційної обстановки, що формується в окремих місцевостях і на території усієї країни, є можливою при використанні періодичних досліджень (в якості тестів) інших елементів зовнішнього середовища, які не мають безпосереднього відношення до опромінення людини, але дозволяють виявити наявність тривалих забруднень. Наприклад, визначення у динаміці рівнів радіонуклідного забруднення водоростей, листя дерев і інших об'єктів.

Виконання першого завдання досягається:

- безпосереднім вимірюванням радіоактивності відходів у місцях їх видалення;
- визначенням кількості радіоактивних речовин, що надходять у навколишнє середовище з відходами, а також їх нуклідного, а за необхідності і хімічного складу;
- виявленням радіонуклідів, що спричинюють основний внесок у дозу опромінення населення.

Здійснення другого завдання забезпечується:

- відбором і дослідженням проб відповідних об'єктів зовнішнього середовища на вміст радіонуклідів із врахуванням характеру відходів, умов їх видалення та особливостей поширення стосовно конкретної обстановки;
- вимірюванням доз іонізуючого випромінювання на місцевості (за наявності гамма-випромінювачів).

Розв'язок третьої задачі забезпечується наступними способами:

- визначенням кількості радіоактивних речовин, що надходять до організму людини з відповідних об'єктів зовнішнього середовища інгаляційним і пероральним шляхами з урахуванням місцевих особливостей харчування, водопостачання відповідних контингентів, тривалості надходження і ін.;
- визначенням вмісту відповідних радіоактивних нуклідів в організмі людей (за необхідності);
- безпосереднім вимірюванням або розрахунком доз зовнішнього випромінювання.

Постановка четвертої задачі здійснюється, виходячи з необхідності завжди мати відомості про динаміку радіаційної обстановки, зумовленої забрудненням навколишнього середовища як в окремих пунктах, регіонах, так і в масштабі всієї країни. Здійснення її забезпечується

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

безперервним накопиченням відомостей у практичних установах, що займаються питаннями контролю, потім – концентрування її у наукових центрах з наступним узагальненням, аналізом і періодичною видачею інформації. На підставі вивчення узагальненої інформації здійснюється оцінка рівня ймовірного ризику виникнення віддалених наслідків опромінення, а за необхідності – розробка відповідних профілактичних заходів.

Система контролю при аваріях спрямована на оперативне виявлення інтенсивності і масштабів забруднень, що представляють небезпеку для життя і здоров'я людей, які опинилися у певній зоні, для вжиття термінових заходів щодо усунення цієї небезпеки. Надалі роботи з контролю передбачають обґрунтування заходів, спрямованих на ліквідацію наслідків аварії. При аварійній ситуації, що виникає внаслідок викиду радіонуклідів з атомної електростанції, екстренне дозиметричне обстеження виконують за аварійним планом, який повинен бути складений завчасно на кожній АЕС.

Забруднення зовнішнього середовища радіоактивними відходами зазвичай носить локальний характер, що визначає схему розташування мережі контрольних пунктів. Предметами контролю є:

- джерела виникнення радіоактивних відходів і безпосередньо відходи в місцях їх видалення в навколишнє середовище;
- об'єкти зовнішнього середовища, куди надходять відходи (водойма, атмосфера та ін.), з яких відбувається міграція радіоактивних речовин до організму людини (харчові продукти та ін.), або ті, які в результаті забруднення стають джерелом зовнішнього опромінення населення.

Масштаби, обсяг і характер контролю визначаються залежно від потужності джерел, кількості і природи радіоактивних відходів, умов їх видалення, особливостей середовища, куди надходять відходи, характеру їх використання, звичок і умов життя місцевого населення. Як орієнтовна оцінка радіаційної обстановки таких територій використовується схема ВООЗ:

1. У тих випадках, коли кількість радіоактивних відходів, які видаляються у навколишнє середовище, є незначною (наприклад, установи, що працюють з невеликою кількістю нуклідів), контроль може бути обмежений епізодичними дослідженнями проб відходів, що підлягають видаленню, та перевіркою документів установи на реєстрацію їх кількості і активності. Необхідності у проведенні контролю за зовнішнім середовищем у таких випадках, як правило, немає. Виняток можуть становити випадки, коли сумарна кількість радіоактивних речо-

вин, які видаляються з відходами невеликих установ, сконцентрованих у даному районі, досягає значних величин (більше 10 Кі на рік).

2. У пунктах із широким використанням нуклідів для промислових та інших цілей, а також у районах розташування дослідницьких реакторів, прискорювачів і ін. контроль включає систематичне вимірювання доз випромінювання на місцевості, відбір і дослідження проб відповідних об'єктів зовнішнього середовища у зоні поширення відходів. Якщо результати контролю, проведеного протягом досить тривалого періоду (не менше року) свідчать про те, що дози, які одержуються критичною групою населення, складають мізерну частку від границі дози, встановленої для населення, то в подальшому при безаварійній роботі зазначених об'єктів і стабільних масштабах використання нуклідів, систематичний контроль може бути замінений епізодичними перевірками відходів та об'єктів зовнішнього середовища, де можна очікувати накопичення радіоактивних речовин.

3. У районах розташування великих енергетичних реакторів, радіохімічних підприємств з переробки опромінених ТВЕЛів і інших потужних потенційних джерел забруднення, контроль містить у собі повний комплекс спостережень: проведення систематичних вимірювань радіоактивності усіх видів радіоактивних відходів у місцях їх видалення, дози випромінювання на місцевості (переважно під факелом), відбору та дослідження проб відповідних об'єктів навколишнього середовища, а при наявності показань – і безпосередні визначенні вмісту радіоактивних нуклідів в організмі найбільш вразливих контингентів населення.

Поряд зі здійсненням дозиметричного контролю у всіх випадках, що представляють потенційну небезпеку забруднення об'єктів зовнішнього середовища радіоактивними речовинами, повинні бути зібрані (і в подальшому періодично оновлюватися) відомості, що характеризують особливості умов певної місцевості та населення. Сюди відносяться дані про природні умови (топографічні, ґрунтово-кліматичні та ін.), про економіку району (питома вага сільського господарства, його переважаючі напрямки, використання мінеральних добрив, система постачання місцевого населення продуктами харчування і ін.), про чисельність, національний склад населення і санітарні умови його життя (структура харчування, водопостачання, тип житла і ін.).

У всіх випадках при поточному контролі в центрі уваги повинні перебувати радіонукліди, що дають головний внесок у дозу опромінення, та найважливіші шляхи їх надходження до організму людини. Виходячи з цього, на підставі відомостей про властивості радіонуклідів, закономірності їх поведінки у відповідних об'єктах зовнішнього

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

середовища з урахуванням конкретної обстановки, необхідно ідентифікувати як ці нукліди, так і відповідні групи населення. Такий прийом дозволить зменшити непродуктивні витрати сил і часу на здійснення контролю, а також підвищити його дієвість.

При різних ситуаціях як «основні» можуть бути різні нукліди, так само як склад найбільш уразливих груп населення може бути представлений різними контингентами. Наприклад, до числа нуклідів, що містяться у викидах реакторів АЕС, які видаляються в атмосферу, зазвичай відносять ^{131}I і групу радіоактивних інертних газів (^{41}Ar , ^{85}Kr , ^{133}Xe). Перший небезпечний як джерело внутрішнього опромінення щитоподібної залози у дітей, які в цьому випадку є найбільш уразливою групою. Інші є джерелом зовнішнього опромінення – тому їхньому впливу піддаються контингенти, які включають різні вікові групи людей, які мешкають на місцевості, що знаходиться під факелом зазначених газів. Отже, радіаційний санітарно-токсикологічний контроль за викидами АЕС в атмосферу повинен бути спрямований переважно на визначення вмісту ^{131}I і радіоактивних інертних газів безпосередньо у викидах (^{131}I у траві і молоці молочної худоби, що випасаються поблизу розташованих АЕС), а також на вимірювання гамма-випромінювання на території в межах поширення цього факелу.

З роками обсяг і характер контролю потребує корегування з урахуванням можливих змін кількості радіоактивних відходів, характеру використання середовища, куди видаляють відходи, умов життя населення, а також застосування більш досконалих методів контролю. Так, за результатами радіоекологічної оцінки прісноводних екосистем півдня України [54] (у пониззі річок Дніпра і Південного Бугу, технологічних водоймищах Південноукраїнської і Запорізької АЕС, райони будівництва Кримської АЕС, мережах Інгuleцької, Південно-Бузької, Білоусівської, Каховської і Краснознаменської зрошувальних систем) встановлено наявність характерних рис формування радіаційної ситуації у цих водних екосистемах:

- наявність особливостей міграції радіонуклідів у водних об'єктах, які суттєво залежать від екологічних, гідрологічних та фізико-хімічних умов водойми;

- у прісноводних екосистемах постійно протікають взаємно протилежні процеси: депонування радіонуклідів донними відкладеннями, особливо у місцях водойм з повільною або відсутньою течією, де мули мають значний об'єм органічної маси, та поступове перенесення радіонуклідів униз за течією під впливом різних природних і антропогенних факторів;

– суттєва участь зрошувальних систем у перерозподілі присутніх в системі радіонуклідів: після надходження з річок, радіонукліди зі зрошувальною водою включаються у хіміко-біологічні процеси агроценозів, а потім частина з них потрапляє у сільськогосподарські культури, частина затримується у ґрунті, а частина знов надходить у прилеглі до зрошуваних угідь водойми.

Тому при здійсненні оцінки і прогнозуванні радіаційної та радіоекотоксикологічної ситуації потрібно враховувати наявність характерних рис щодо формування радіаційного стану в кожній водоймі. Це важливо при складанні програми радіоекологічного та радіоекотоксикологічного моніторингу та обсягу заходів щодо дезактивації технологічних водоймищ.

РОЗДІЛ 2. РЕМЕДІАЦІЯ ДОВКІЛЛЯ. БІОРЕМЕДІАЦІЯ.

ТЕМА 4. ПОНЯТТЯ І МЕТОДИ РЕМЕДІАЦІЇ

Ремедіація – це процес виведення забруднювачів із навколишнього середовища, зокрема з ґрунту, підземних, поверхневих вод та атмосфери з метою захисту здоров'я людини та довкілля. Слово *remedy* (від латин. *remedium* – лікувати) означає застосовувати щось, що знімає біль, лікує, або позбавляє порушень [1].

§ 4.1. Методи ремедіації довкілля. Ремедіація ґрунту.

Питання ремедіації довкілля займають провідне місце у розв'язку сучасних екологічних проблем.

Є два підходи до ремедіації довкілля – *in situ* та *ex situ*.

Перший підхід передбачає очищення середовища на місці; він більш дешевий та позбавлений ризику для персоналу, який реалізує цю технологію. Другий підхід ґрунтується на транспортуванні частини забрудненого середовища у спеціальні місця, де воно обробляється з метою очищення [3].

Ґрунт містить надзвичайно велику кількість металів та радіонуклідів, які знаходяться у розчинах завдяки різноманітним процесам сорбції або іонобмінним реакціям. Основними забруднюючими речовинами є нафта, азбест (більш, ніж 1 %), пестициди, діоксин, компоненти ракетного палива (перхлорати), леткі органічні сполуки, важкі метали. Розчинені забруднюючі речовини мігрують у підземних водах, поступають у рослини чи водні організми. Найбільш поширеними неорганічними речовинами у ґрунті та підземних водах є свинець, хром, цинк, арсен, кадмій. На відміну від органічних забруднюючих речовин та короткоіснуючих радіонуклідів, метали вважаються консервативними речовинами, які не розпадаються у ґрунті. Хоча є метали, такі як миш'як та кадмій, які завдяки процесам перетворення та сорбції можуть змінювати свої рухливості та відносну токсичність. Забруднення ґрунту призводить до руйнування екосистем, зменшення продуктивності сільського господарства, порушення харчових ланцюгів, захворювань людей та тварин.

Незважаючи на користь, яку можна отримати від очищеного ґрунту, процедура ремедіації ґрунту часто сповільнюється через високу вартість та трудомісткість. Ґрунтові компоненти та забруднюючі речовини, які взаємодіють завдяки силам електричного притягання, дуже

важко роз'єднати. Крім того, ґрунт є механічно густим середовищем, що ускладнює та здорожчує процес розкопування та транспортування ґрунту з метою подальшого очищення. Саме через це увага звертається до технології фіторе mediaції.

Поширеним підходом є викопування забрудненого ґрунту. Але цей метод передбачає контакт робітників із забрудненим ґрунтом; він є дорогим, оскільки вимагає подальшої обробки ґрунту; він може застосовуватися для невеликих ареалів забруднення. Недоліки: небезпека для робітників, що працюють із забруднюючими речовинами; забруднений ґрунт вимагає обробки, що характеризується високою вартістю; ця технологія може бути застосована для невеликих та неглибоких ділянок. За сьогоднішніми даними близько 400 робітників гинуть щорічно та тисячі отримують поранення у США через інциденти з викопуванням ґрунту. Не слід забувати, що густина сухого ґрунту становить близько 1300 кг/м^3 ; отже 1 кубометр важить 1350 кг!

Поширеним є також метод відкачування та обробки забруднених ґрунтових вод. Забруднена вода відкачується для подальшої обробки, тоді як замість неї у забруднену зону накачується чиста вода. Замість води у ґрунт може накачуватися повітря; оскільки в'язкість повітря менша, ніж води, такий метод вимагає менше енергії та є менш дорогим. Недоліки методу відкачування та обробки: 1) метод не завжди ефективний; рівень видалення забруднюючих речовин залежить від хімічної природи цих речовин та геології простору, що обробляється; оптимальними умовами для застосування методу є мобільність та розчинність забруднень, мінімальна сорбція до оточення; 2) серйозну проблему становить наявність у ґрунтових водах рідин неводної фази (Non-Aqueous Phase Liquids або NAPL), густина яких перевищує густину води та які не змішуються і не розчинюються у воді. До цих рідин слід віднести ВТЕХ (*benzene, toluene, ethylbenzene та xylene*) – суміш летких органічних сполук, що знайдені у нафтопродуктах, та бензин, які менш густі, ніж вода; а також трихлоретан та хлорбензол, густина яких більша, ніж у води. Ці рідини захоплюються порами ґрунту та розглядаються як довготривалі джерела забруднення. Всі ці сполуки знайдено у багатьох водоносних шарах США; 3) забруднення, що знаходяться у вадозній¹ (ненасиченій) зоні, не підлягають відкачуванню; після припинення відкачування води мігрують у водоносний шар. Вартість методу відкачування та обробки варіює від 50000 до 5 мільйонів

¹ Вадозна зона – це недонасичена частина ґрунту, яка лежить над рівнем ґрунтових вод. Ґрунт і порода в вадозній зоні не повністю насичені водою; тобто пори всередині них містять повітря, а також воду.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

доларів США, хоча в екстремальних випадках витрати можуть бути більшими. У цілому, варто зазначити, що ефективність методу не дуже висока: лише дві третини рідин неводної фази вилучаються з водоносного шару; навіть прискорена промивка підвищує ефективність цього процесу до 50-80 %.

Електрокінетичний метод. В основі електрокінетичних методів лежить збільшення рухливості забруднюючих речовин за рахунок прикладання електричних полів: у забруднену зону занурюються металеві електроди, до яких прикладена напруга 50-150 В (рис. 8).

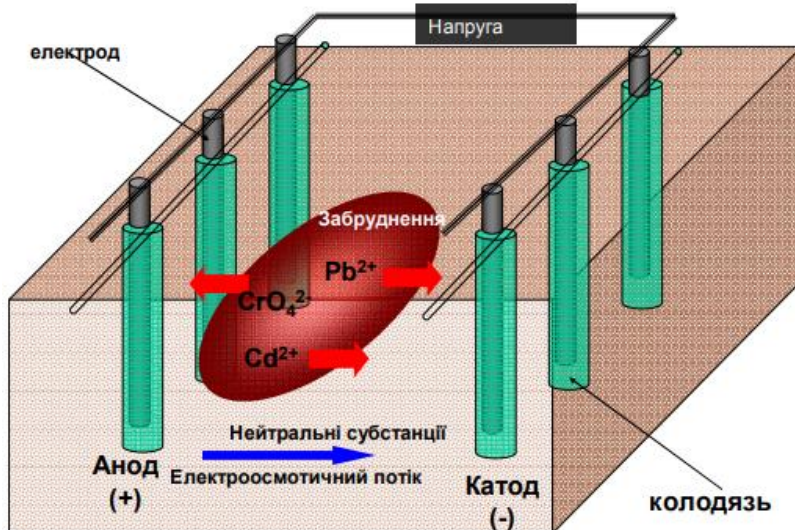


Рис. 8. Електрокінетичний метод ремедіації

Відрізняють такі електрокінетичні методи як [2, 4, 5,6, 7]: електроосмос – це рух води (вологи) у ґрунті під впливом прикладеного електричного поля; електрофорез – це рух твердих частинок або краплин, завислих у електроліті, під впливом прикладеного електричного поля; електроміграція – це перенесення іонів або іонних комплексів до електроду протилежного заряду. Електрокінетичні методи застосовуються для очищення ґрунту від важких металів, радіонуклідів, нітратів та сульфатів, залишків нафтопродуктів. Ці методи успішно використовуються для очищення ґрунтів з високим рівнем вологості, глини; вони характеризуються невисокою собівартістю.

Метод електрокінетичної ремедіації дає можливість видаляти з ґрунту такі забруднювачі як важкі метали, радіоізотопи (^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{60}Co , уран), токсичні аніони (нітрати та сульфати), рідини неводної фази, ціаніди, вуглеводні нафтопродуктів (дизельне паливо, бензин, керосин), вибухові матеріали.

Переваги: 1) характеризується високою ефективністю; 2) видаленню підлягає багато різних забруднюючих речовин; 3) можливість обробляти ґрунти з низькою проникністю (глину); 4) можливість застосування як у насиченій, так і в ненасиченій зонах; 5) невисока собівартість. Таким чином, електрофізичні методи ремедіації ґрунту і ґрунтових вод характеризуються незаперечними перевагами, які обумовлюють застосування цих методів для позбавлення ґрунту і ґрунтових вод від тих забруднюючих речовин, видалення яких неможливо за допомогою традиційних методів.

Ремедіація ґрунту, забрудненого нафтопродуктами. Біотехнологія передбачає використання біологічного препарату – іммобілізовані за спеціальною технологією на комплексному органічному субстраті непатогенні бактерії-деструктори роду *Pseudomonas*. Біопрепарат виявляє сорбційну і деструктивну активність стосовно вуглеводнів нафти. Метод призначений для використання в природоохоронних біотехнологіях біоремедіації забруднених нафтою ґрунтів. Розроблена біотехнологія очищення ґрунтів від нафтопродуктів передбачає виконання наступних заходів:

I етап – застосування механічних методів, спрямованих на максимальний збір нафтопродуктів.

II етап – реабілітація забрудненого ґрунту із використанням біотехнологічних методів і біопрепарату для зниження концентрації нафтопродуктів у ґрунті, її реструктуризації, відновлення водного й аераційного режимів – необхідних умов для біологічних процесів в ґрунті. Завершенням II етапу є засів ділянки трав'янистими рослинами. Для закріплення ефекту очищення і рекультивації ґрунтів проводиться сидерація, що сприяє збільшенню комплексу гетеротрофних мікроорганізмів, що беруть участь у розкладанні рослинних залишків і, таким чином, насичують забруднений ґрунт не лише кінцевими продуктами розкладання органічних сполук, але й активною ґрунтовою мікробіотою. Зазначений комплекс заходів створює оптимальні умови для деструкції вуглеводнів нафти, відновлення структурованого ґрунтового покриву з рослинним компонентом, зниження рівня нафтопродуктів більш ніж на 90% за 80 діб. Розробка відноситься до пріоритетних не тільки в Україні, але й у світовій практиці. Порівняльний аналіз, зроблений на основі патентного пошуку, показує, що по сукупності істот-

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

них ознак технічних рішень розроблена екологічно безпечна біотехнологія перевершує існуючі аналоги по ступеню і швидкості очищення ґрунту від нафтового забруднення, особливо в екстремальних ситуаціях. Розробка може бути реалізована для впровадження на нафтовидобувних, нафтопереробних, хімічних та металургійних підприємствах, а також приватним та державним екологічним і природоохоронним організаціям, підприємствам з утилізації відходів та ліквідації забруднень, аграрним підприємствам. Розробка може бути використана на очисних спорудах, в торгівельних портах.

НААН пропонує вирощувати міскантус для відновлення ґрунтів після бойових дій. Національна аграрна академія України (НААНУ) розробила спосіб фітомеліорації та ремедіації ґрунтів, що деградували внаслідок російського вторгнення, шляхом вирощування на ній міскантуса гігантського.

Також міскантус є дешевою у вирощуванні енергетичною біосировиною, і, крім відтворення родючості ґрунтів, його вирощування може вирішити потреби громад в енергоресурсах, повідомляється на сайті НААН у п'ятницю.

«Ця посухостійка енергетична культура на ґрунтах лісостепу України не потребує щорічної оранки протягом 25-28 років, зростає за відсутності використання засобів захисту рослин, а також без застосування добрив і здатна забезпечити відносно дешевою енергетичною сировиною в обсязі 17-25 тонн/га сухої маси на третій рік вирощування», – зазначено в повідомленні академії.

НААН уточнює, що вирощування гігантського міскантуса може відновити ґрунтовий покрив і родючість ґрунтів протягом десятка років, залежно від площі руйнування.

Крім того, використання рослинної біомаси міскантуса для отримання енергії вигідне відсутністю негативного впливу на баланс вуглекислого газу в атмосфері, адже у процесі його згоряння у твердопаливних котлах викидається менше CO₂, ніж поглинається рослинами під час фотосинтезу. Також під час згоряння паливної тріски та пелет із міскантуса в атмосферу виділяється у 20-30 разів менше оксиду сірки порівняно з вугіллям, а золи – у 3-4 рази.

За даними НААН, саме це дуже важливо для забезпечення енергетичною сировиною окремих територіальних громад та є одним зі шляхів розвитку «зеленої» енергетики для досягнення енергетичної незалежності держави.

«Відновлення ґрунтового покриву та родючості ґрунтів шляхом вирощування міскантуса гігантського на території окремої територіальної громади вирішує її енергетичні потреби, створює унікальні можли-

вості забезпечення її мешканців робочими місцями, соціального розвитку громад та покращення життя населення, що дуже важливо у повоненний період», – підсумувало відомство у повідомленні.

До сучасних методів зменшення токсичного впливу на живі організми відносять наступні:

- **блокації** – при використанні засобів, котрі зменшують надходження екотоксикантів до організму (екосистеми), включення до метаболізму і накопичення у певних тканинах і органах;

- **декорпорації** – коли вводяться певні речовини, котрі можуть утворювати з токсикантами міцні, добре розчинні сполуки, котрі, беручи участь в обміні речовин, прискорюють їх виведення;

- **дезактивації** – при використанні певних засобів досягається зниження або зовсім нівелюється вплив токсикантів на екосистему.

Так, захист від ^{90}Sr і ^{137}Cs потрібно будувати на принципі збільшення надходження до організму їх хімічних аналогів, відповідно, кальцію та калію, які, вступаючи в антагоністичні взаємодії з радіонуклідами зменшують їх надходження до організму. Блокуванню сприяє застосування ентеросорбентів і комплексонатів, типу альгінатів, пектинатів, фероцину, які поглинаючи і зв'язуючи токсиканти, не дозволяють включитись у процеси метаболізму.

Як адсорбенти найбільш розповсюджені деякі природні матеріали, які мають високу сорбуючу здатність щодо радіонуклідів, зокрема, цеоліти. Міцно і у великих кількостях сорбують ^{90}Sr і ^{137}Cs вермикуліти, дещо слабкіше – монтморилоніти та каолініти. Ефективними сорбентами вважаються такі метали, як флігопіти, глауконіти, асаканіти, бентоніти. При внесенні у ґрунт до 0,5-1,0% до об'ємного шару мінералу (10-12 т/га) вдається знизити надходження радіонуклідів у рослини в 1,5-3,0 рази протягом декількох наступних років. Іноді ці мінерали відносять до меліорантів, бо їх внесення суттєво покращує механічні властивості ґрунту, створюючи більш сприятливі умови для росту і розвитку рослин.

Послаблення дії екотоксикантів досягається і за рахунок прискорення процесів природної їх декорпорації. Відомі препарати-комплексони – деякі природні речовини (антоціани) і штучні препарати (альгісорб, пентацид, цинкацид), які можуть утворювати з радіонуклідами міцні, добре розчинні сполуки, котрі, беручи участь в обміні речовин, прискорюють їх виведення з організму. Виділяють групу протирадіаційних речовин – радіовідновники або радіомітигатори. Це велика кількість, як правило, неспецифічних речовин, які діють на системному рівні шляхом індукції процесів дерепресії і репресії геному,

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

стимуляції чи, навпаки, гальмування окремих ланок метаболізму, прискорення поділу клітин, приводячи в цілому до активації процесів післярадіаційного відновлення, дезактивації токсичних продуктів, прискоренню їх виведення з організму. До них відносяться, зокрема, цитокіни і цитостатики – препарати тривалої дії, котрі застосовуються як у ранні періоди після опромінення до розвитку клінічних проявів радіаційного ураження, так і в більш пізні часи.

§ 4.2. Біоремедіація. Фіторемедіація. Види і приклади.

Сьогодні розроблені різні технологічні прийоми очищення об'єктів довкілля від поллютантів. До них відносять методи *рекультивациі* техногенних масивів і, зокрема, біологічної рекультивациі – *фітомеліорації*, який є одним з методів екологічної рекультивациі деградованих земель, і *фіторемідації*. Фітомеліорація – це комплекс заходів із покращення умов навколишнього середовища за допомогою культивування або підтримки природних об'єктів. У результаті широкомасштабної видової та внутрішньо видової селекції знайдено 15 перспективних видів і екотипів, котрі придатні як біомеліоранти для використання на засоленних ґрунтах та в умовах зрошення солоною водою. [34] Фітомеліоративні заходи дозволяють керувати інтенсивністю процесу ерозії, який досягає мінімуму під посівами багаторічних трав. Фітомеліорантами є рослини (рапс, гірчиця, кормове просо, віко-вівсянова суміш) сидеральних і так званих комбінованих парів, котрі дозволяють зберегти цінні якості рослин як вологонакопичувачів, так і збагатити ґрунт органічними речовинами, різко знизити загрозу ерозії, дефляції ґрунту.

Але не завжди відомі методи фіторекультывації можуть бути застосовані у повній мірі. Це виявляється в умовах, коли необхідне повторне розкриття поверхні рекультивованих техногенних масивів. Наприклад, це є актуальним для шламосховищ червоних шламів Миколаївського глиноземного заводу, бо червоні шлами являють собою джерело багатьох цінних компонентів: залізо до 40 %, алюміній до 16 %, а також кальцій, кремній, титан, цирконій, галій і золото. Через це додатковою вимогою до покриття поверхонь таких хвостосховищ є можливість розкриття їх поверхні і після відбирання шламів – відновлення покриття. Одним із методів фіторекультывації, який дозволяє вирішувати цю задачу, є *біологічний метод пригнічення пилоутворення* на хвостосховищах переробних підприємств, розроблений у Науковому Інституті радіаційної та техногенно-екологічної безпеки ЧНУ імені Петра Могили. Цей метод, на відміну існуючих (зрошення поверхні хвостосховищ водою з добавками хімічно активних речовин, закріплення бітумною емульсією, латексом, гідропосів), характеризується як

високими показниками пилопригнічення, так і стійкості до метеорологічних умов та агресивних умов середовища шламосховищ, відмінною рисою яких є висока лужність червоних шламів ($\text{pH} = 10-12$). Основу його складають засоби пилопригнічення з рослинної сировини (очерет і дернина), які не здійснюють додаткового навантаження на технобіогеоценоз хвостосховища й біогеоценоз територій навколо хвостосховища та дозволяють вторинне використання відходів після їх захоронення (рис. 9).



Рис. 9. Закріплення ділянки поверхні шламосховища №1 червоних шламів МГЗ засобами з рослинної сировини.

Сучасні фіторе mediaційні технології можуть ґрунтуватися на різних методологічних підходах – це *фітоекстракція*, *ризofільтрування*, *фітодеградація*, *фітоволоталізація* тощо. Перш ніж використати ту або іншу технологію, варто провести ретельний аналіз місця, яке підлягає відновленню, установити тип токсичного з'єднання, його концентрацію, глибину проникнення в ґрунт, тип ґрунту, наявність ґрунтових вод, кількість опадів у період вегетації тощо.

Фотоліз, тобто розкладання речовин під дією світла, використовується для очистки ґрунтів від хлорпохідних бензолу в умовах їхнього поливу й додавання осаду переробки стічних вод. Якщо в природних умовах витяг хлорпохідних на 50% досягається за 13-622 діб, то при фотолізі необхідний строк скорочується до 11-181 доби.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Флотація успішно застосована для відновлення якості землі, пошкодженої при пожежі великого гуртового складу-сховища пестицидів у Швейцарії. Після пожежі ділянка виявилася забрудненою різними хімічними сполуками, у тому числі органортутними. Селективною екскавацією було знято 14200 т забрудненого ґрунту, який відправили на спеціально побудований завод з її збагачення. Технологія очищення ґрунту включала його просівання й здрібнювання із флотацією, за якої було вилучено 95% забруднювачів. Очищений ґрунт повернули на колишнє місце. Забруднену фракцію обробили вапном, потім завантажили в контейнери й розмістили в підземних похованнях у Німеччині.

Фітоекстракцію звичайно використовують для очищення ґрунтів і водойм, забруднених важкими металами й радіонуклідами. Особливістю фітоекстракції є поглинання забруднювачів кореневою системою рослин разом із живильними речовинами й транслокація їх у надземні органи. По завершенню вегетації й транслокаційних процесів надземні органи рослин скошуються й підлягають відповідній переробці. Наприклад, після озолення зібраної біомаси зола стає джерелом кольорових металів. Якщо одержання металів із золи обходиться дорожче їхньої собівартості, то біомасу рослин компостують. Ефективність фітоекстракції визначається коефіцієнтом біоаккумуляції, що дорівнює відношенню концентрації металів у рослинах до концентрації їх у ґрунті або в забрудненій воді.

Ризофільтрація – здатність рослин створювати навколо кореневої системи мікросередовище, що сприяє концентрації й проникненню речовин у рослини. Безумовна перевага ризофільтраційної технології полягає в її дешевизні й можливості використати широко розповсюджені рослини, у тому числі й деревні. Для застосування даної технології рослини повинні відповідати наступним вимогам: відрізнятися швидким ростом, інтенсивно накопичувати біомасу, мати потужну кореневу систему. В основному, це широколисті, однодольні багаторічні рослини, що добре ростуть в умовах і теплого, і холодного клімату. Цим вимогам відповідають багато водних і болотних рослин. Рослини перебувають у тісній взаємодії з мікроорганізмами, що заселяють ґрунт. Рослинний організм у ході фотосинтезу акумулює сонячну енергію у вуглеводах (цукрах). Від 10 до 20% всієї накопиченої в процесі фотосинтезу енергії витрачається рослиною на синтез і виділення речовин (цукру, спирти, органічні кислоти) у прикореневу зону, що сприяє розвитку мікроорганізмів. Тому безпосередньо поруч із поверхнею в одному кубічному сантиметрі кореня міститься близько 130 млрд мікроорганізмів, а в 10 дм³ їх присутність падає до 20 млрд. Найважливішим механізмом «фіторемедіації» ґрунту є біодеградація

вуглеводнів нафти мікроорганізмами, чий розвиток стимулюється виділеннями коренів.

Фітодеградація або фітотрансформація – «внутрішнє» руйнування вуглеводнів рослиною – після поглинання розкладання їх у ході метаболічних процесів або «зовнішнє», коли нафтопродукти розкладаються під дією кореневих виділень – безсумнівно, один із основних технологічних прийомів фіторемедіації. Метод заснований на можливості рослин разом із ґрунтовою мікрофлорою здійснювати ферментативне розщеплення органічних токсикантів ґрунту. У процесі деградації органічних речовин, відбувається видалення із ґрунту й неорганічних токсичних забруднювачів, таких як важкі метали й радіонукліди. Фітодеградаційна технологія виявилася ефективною у випадках забруднення ґрунту високими концентраціями аліфатичних, ароматичних, і поліциклічних вуглеводнів, фенолів, пестицидів тощо. Зазвичай всі рослини володіють деградаційною токсикантною властивістю. Однак найбільш високі фітодеградаційні характеристики проявляють такі однолітні трав'янисті рослини, як вівсяниця, хрін, люцерна й деревні рослини: дуб, тополя, верба, кипарис. Багато водоростей так само активно метаболізують органічні токсиканти.

Фітоволоталізація. Сутність її полягає в здатності рослин до газообміну й транспірації, тобто випару води листами. При цьому токсиканти, що надійшли через кореневу систему, виділяються в атмосферу із транспіраційним струмом. Ця технологія виявилася досить придатною для очищення ґрунтів і водойм від органічних і навіть неорганічних з'єднань на основі селену і ртуті. Однак у цієї технології в ряді випадків є серйозні обмеження – нетрансформовані токсиканти, що виділилися в атмосферу, можуть бути залучені в харчовий ланцюг і бути причиною вторинного забруднення навколишнього середовища.

При забрудненнях водної поверхні або викидах більших кількостей поліютантів, коли з'являються так звані «калюжі», необхідно використати інші методи очищення. Разом із тим, для випадків забруднень, коли поліютанти не утворюють суцільного шару або плівки на поверхні, а проникають углиб ґрунту й попадають у підґрунтові води, найбільш ефективним з технічної й економічної точки зору методом ліквідації забруднення є фіторемедіація. З ризосфери обраних рослин виділяють й тестують штами-деструктори нафтопродуктів. На лабораторних тваринах дають токсикологічну оцінку перспективних штамів на безпеку для теплокровних тварин.

Наступним етапом досліджень є відпрацювання способів інтенсифікації процесів фіторемедіації (за допомогою рослин і мікрооргані-

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

змів-деструкторів) шляхом підбору стимулюючих добавок. Далі технологія фітореємедіації випробовується в мікропольових умовах.

Фітостабілізація являє собою нагромадження, або іммобілізацію рослиною забруднюючих речовин із ґрунту або ґрунтових вод. При цьому можливі різні механізми процесів – абсорбція поллютантів корінням й нагромадження їх в рослині. На жаль, із всіх видів рослин, що вивчалися, жоден не показав значного ефекту відносно нафти й нафтопродуктів, хоча деякі добре зарекомендували себе для видалення із ґрунту й ґрунтових вод важких металів.

Фітовипар – здатність рослини поглинати нафту або нафтопродукти в процесі підтримки свого водного балансу, тобто разом з водою «викачують» із ґрунту забруднюючу речовину. Ця здатність хоча й може бути використана для очищення забруднень, разом із тим є півзаходом, тому що в цьому випадку забруднююча речовина виводиться в атмосферу в процесі транспірації.

Таким чином, можна зробити висновок, що рослини є не тільки джерелом кисню, їжі й тепла для людини, кормом для худоби й птахів, матеріалом для будівництва тощо, але як фітореємедіанти беруть активну участь у підтримці екологічного балансу на нашій планеті шляхом засвоєння й метаболічної деградації антропогенних отрут.

Найбільш ефективні види фітореємедіації. Більш ефективним є очищення, коли рослина сполучає здатність до фітовипару й фітodeградациі, тоді в повітря виводяться тільки безпечні продукти розкладання нафтопродуктів.

Як об'єднуючий, проміжний між вищевказаними властивостями є так званий гідралічний контроль, коли рослина одержує доступ до ґрунтових вод і споживає разом із вологою забруднюючу речовину. Згодом вона може або руйнувати, або випаровувати забруднювач.

Здатність рослин до ризodeградациі, ще називають ризосфернопошиленою біodeградациєю або рослинопошиленою біodeградациєю. Принцип цього механізму полягає в тому, що розкладання забруднюючих вуглеводнів виконується не самою рослиною, а мікроорганізмами, що живуть у безпосередній близькості до її коріння, тобто в ризосфері. Роль рослини полягає в значному посиленні ефективності роботи мікроорганізмів за рахунок біологічно активних кореневих виділень, хоча результати окремих досліджень показали, що рослини крім стимуляції мікробів можуть і самі брати безпосередню участь у розкладанні вуглеводнів.

Переваги фітореємедіації порівняно з традиційними методами очищення. Відомі різні способи відновлення порушених екосистем. Існують фізичні й хімічні (електрокінетичні, промивання, стабілізація,

окислювання або відновлення) методи очищення навколишнього середовища. Слід зазначити, що ці способи найчастіше малоефективні й надмірно дорогі, до того ж вони, як правило, приводять до вторинного забруднення навколишнього середовища. Крім того, згадані підходи можуть бути ефективні на невеликих локальних територіях забруднення. Для хімічного й фізичного редукування сміття й забруднень потрібні великі фінансові витрати, що ускладнює реалізацію «зелених» програм. Щоб знищити гори індустріального сміття, очистити заражений ґрунт і отруєні води, вчені пропонують вийти з матеріально обтяженого положення, скориставшись доступними природними засобами. Ідея полягає у висаджуванні на уражених територіях рослин, які здатні до фітореMediaції, що набагато дешевше, ніж будівництво спеціальних очисних споруджень, і до того ж максимально екологічно. Економічна ефективність фітореMediaції є, мабуть, найбільш вагомим аргументом на користь даної технології. Біологічний спосіб відновлення антропогенно порушених екосистем є найбільш економічним і безпечним. Наприклад, індійський вчений-еколог М. Н. Прасад підрахував, що вартість очищення ґрунтів забруднених важкими металами, радіонуклідами, нафтою й пестицидами за допомогою рослин, що використовують тільки енергію сонця, становить усього 5% від витрат на інші способи відновлення екосистем. Американські дослідники також підраховали, що відновлення звичайним способом одного акра (0,4 га) ґрунту, забрудненого ртуттю до глибини 50 см, у середньому обходиться від 400 тис. до 1 млн 700 тис. доларів США, тоді як застосування фітореMediaційної технології коштує від 60 до 100 тис. Різниця в ціні красномовна. Отже, виявлення із природної флори регіонів видів рослин, здатних до акумуляції ксенобіотиків, є перспективним завданням, що стоїть й перед ученими нашої країни. Існують види рослин, що накопичують надлишок важких металів, а також види, що акумулюють пестициди й руйнують їх до нешкідливого стану. Відомі так звані рудеральні рослини, що виростають на забруднених, непридатних територіях: сарептська гірчиця, буряк, коноплі, лобода тощо. Виявлено, що деякі дикі злакові рослини також пристосовані до забруднених умов ґрунту важкими металами.

Методи фітореMediaції полягають у використанні хімічних речовин, що покращують фізико-хімічний стан ґрунтів; мінеральних та органічних добрив як постачальників головних елементів живлення рослин в умовах забруднення ґрунту токсикантами. В умовах кваліфікованого застосування у певних формах, кількостях та співвідношеннях за їх допомогою можна у багато разів зменшити надходження полютантів до рослин. Методи фітореMediaції лежать в основі *агротехнічних* і

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

агромеліоративних заходів, котрі сприяють зменшенню тиску екотоксикантів на довкілля. Найважливішими серед цих заходів, що сприяють зменшенню надходження радіонуклідів у продукцію рослинництва, є :

- вапнування кислих ґрунтів,
- внесення мінеральних добрив,
- залуження та перезалуження лук і пасовищ,
- застосування кормових домішок (зі збагаченим вмістом мікроелементів).

Розглянемо ці заходи.

Вапнування кислих ґрунтів – це один з ефективних заходів зниження коефіцієнтів переходу радіонуклідів і важких металів у рослинну продукцію й одночасно поліпшення кислотно-лужної рівноваги у ґрунтовому середовищі. Крім цього, цей агромеліоративний прийом пом'якшує негативний вплив фізіологічно кислих добрив, значно підвищує якість ґрунтів. Так, радіоактивні речовини надходять у навколишнє середовище у вигляді нерозчинних і важкорозчинних необмінних форм, але з часом при контакті з водою та киснем вони переходять у розчинний та обмінний стан. Цьому особливо сприяє кисла реакція середовища. У зв'язку з цим спосіб вапнування ґрунтів сприяє не тільки поліпшенню умов росту рослин, але й зниженню надходження у них радіонуклідів.

Головним компонентом вапна є кальцій – хімічний аналог стронцію у вигляді окису, гідроокису, вуглекислої солі. Тому, внаслідок конкуренції та антагонізму між ними, надходження та засвоєння кореневими системами рослин ^{90}Sr зменшується, як правило, у більшій мірі, ніж ^{137}Cs . Вапнування застосовують зазвичай на підзолистих, дерново-підзолистих, кислих малородючих, бідних на елементи мінерального живлення та торф'яних ґрунтах, значно менше на сірих лісових. ^{137}Cs надходить у більшій кількості у рослини з кислих ґрунтів. Тому нейтралізація кислотності ґрунтового розчину вапнуванням зменшує накопичення ^{137}Cs рослинами у 2-4 рази.

На ґрунтах із підвищеною кислотністю це є найефективним прийомом зниження накопичення радіонуклідів у врожаї – про це свідчили результати вапнування усіх радіонуклідно забруднених територій після аварії на ЧАЕС. Внесений у ґрунт CaCO_3 з часом перетворюється на $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ і $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Залежно від фізико-хімічних властивостей ґрунту період перетворення CaCO_3 на $\text{Ca}(\text{OH})_2$ становить від кількох місяців до 2-3 років. Дисоціюючи у ґрунтовому розчині $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ і $\text{Ca}(\text{OH})_2$ утворюють катіони кальцію, які й витісняють катіони водню та переводять у неактивну форму іони алюмінію, заліза і марганцю.

Надлишок катіонів кальцію вповільнює надходження у рослини його хімічного аналога – стронцію (у тому числі і його радіоактивного ізотопу). Завдяки цьому, а також через ефект розбавлення вмісту радіонуклідів на одиницю маси продукції, знижується забруднення радіонуклідами рослинницької продукції у 1,5-2,5 рази і більше, а в поєднанні з добривами – у 2,5-5 разів. Під впливом $\text{Ca}(\text{OH})_2$ знижується також розчинність мінералів, які містять бор і фосфор. Вапнування знижує також доступність рослинам ^{65}Zn , ^{60}Co та інших нуклідів наведеної активності, оскільки їх рухливість у ґрунті зменшується при нейтральній і слаболужній реакціях ґрунтового розчину. Згідно даних, отриманих за 20 років після аварії на Чорнобильській АЕС, цей захід дозволяє зменшувати вміст ^{90}Sr в картоплі до 5 разів, у сіні бобових трав – у 6-8 разів, в овочах – у 4-6 разів, в ягодах – у 3-5 разів. Для ^{137}Cs ці кратності, як правило, декілька нижчі.

Кислі ґрунти можуть бути нейтралізовані не тільки вапняковими матеріалами, основу яких складає вуглекислий кальцій, але й іншими вуглекислими солями, зокрема вуглекислим калієм. Внесення його у кислі ґрунти знижує надходження радіонуклідів у рослини так само, як і вапно. Більш того, на слабо-кислих ґрунтах, в яких вапно практично не впливає на інтенсивність переходу ^{90}Sr з ґрунту в рослини, вуглекислий калій помітно зменшує нагромадження радіонукліду. Водночас під його впливом, аналогічно до хлористих, азотних та інших солей калійних добрив, у рослинах зменшується і вміст ^{137}Cs .

З метою зменшення кількості ^{90}Sr та ^{137}Cs у рослинах можна вносити не тільки вапно, але й інші вапняні матеріали: різноманітні вапняки, доломіт, мергель, сланцевий та торф'яний попіл, деякі відходи целюлозно-паперових підприємств, металургійної промисловості. Добрим вапняним матеріалом є металургійні шлаки. Встановлена навіть їхня більша ефективність порівняно з вапном. Це пов'язано з тим, що шлаки значно збільшують засвоєння рослинами кальцію (за рахунок великої кількості різних мікроелементів), внаслідок чого співвідношення ^{90}Sr до кальцію у рослинах різко зменшується. Так, якщо абсолютне нагромадження ^{90}Sr на одиницю маси біоти під впливом шлаків знижується приблизно у 2-3 рази, то накопичення його на 1 г кальцію зменшується майже у 5 разів. При дії ж вапна останній показник знижується усього в 3 рази. Зрозуміло, що внесення вапна та вапняних матеріалів можливе лише на кислих ґрунтах. Що стосується лужних ґрунтів, то збагачення їх кальцієм може проводитися за рахунок гіпсування. На нейтральних ґрунтах можна вносити збалансовані кількості вапняних матеріалів та гіпсу. Але слід відзначити, що досвід гіпсуван-

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

ня ґрунтів з метою зменшення надходження радіонуклідів в рослини значно скромніший, ніж вапнування.

Вапнування є ефективним заходом щодо зниження надходження кадмію у рослини на кислих малородючих та бідних на гумус ґрунтах: в результаті вапнування підвищується рН ґрунту, і зменшується поглинання кадмію корінням рослин.

Одним із дієвих заходів підвищення продуктивності агроценозів, в тому числі і на забруднених радіонуклідами і хімічними токсикантами територіях, а отже, і ефективності управління їх продукційним процесом, є **внесення мінеральних добрив**. За даними *FAO (Food and Agriculture Organization* – продовольча і сільськогосподарська організація ООН) країни Західної Європи лише за рахунок ефективного використання мінеральних добрив отримують третину врожаю сільськогосподарських культур.

Зниження концентрації радіонуклідів та хімічних токсикантів (в першу чергу, важких металів) при внесенні добрив обумовлено низкою причин:

- покращення умов живлення рослин, що пов'язано із збільшенням біомаси і, як наслідок, «розбавлення» токсикантів;
- підвищенням концентрації у ґрунті обмінних катіонів, в першу чергу, калію та кальцію;
- підсилення антагонізму між іонами полютантів та іонами солей, що вносяться при кореновому засвоєнні;
- зміна доступності полютантів для корневих систем внаслідок їх переведення у важкодоступні сполуки та обмінної фіксації в результаті реакцій радіонуклідів та добрив.

Радіоекологічна ефективність внесених мінеральних добрив залежить від ґрунтово-кліматичних умов, мінерального складу забрудненого радіонуклідами ґрунту, а також від вирощуваної у сівозміні культури. Ефективним є використання добрив для зменшення переходу радіонуклідів у рослини на ґрунтах з низькою природною родючістю (дерново-підзолисті, світло-сірі). На ґрунтах із середньою і підвищеною забезпеченістю азотом (чорноземи типові, південні, лучно-чорноземні ґрунти) повне мінеральне добривання (азотно-фосфорно-калійні добрива) призводить до збільшення накопичення в урожаї ^{90}Sr і підвищення надходження у рослини ^{137}Cs . На таких ґрунтах рекомендується вносити лише фосфоркалійні добрива. Крім того, при збільшенні врожаю сільськогосподарських культур за рахунок використання мінеральних добрив вміст ^{137}Cs та ^{90}Sr на одиницю маси рослинницької продукції значно знижується.

На низькородючих дерново-підзолистих ґрунтах ефективним засобом зниження рівнів радіоактивного забруднення врожаю є калійні добрива: максимальна практично значима ефективність калійних добрив досягається при дозах 300-400 кг/га. Є результати, що азотні добрива сприяють підвищеному переходу радіоцезію у рослини, а при застосуванні їх у складі повного добрива знижують ефективність калійних добрив. Для зниження забруднення врожаю необхідно, щоб у складі добрива доза калію була в 2-3 рази вища, ніж азоту.

Основним *агрохімічним прийомом*, що обмежує надходження ^{137}Cs з ґрунтів у рослини, є використання калійних добрив. За рахунок їх внесення, надходження ^{137}Cs у сільськогосподарські рослини з ґрунтів різних типів зменшується від 2 до 20 разів. Від використання фосфорних добрив позитивний ефект простежується, в основному, на ґрунтах, які слабо забезпечені К і Р. Внесення гною і підвищення доз калію на дерново-підзолистому ґрунті знижувало надходження радіоцезію у бульби картоплі і в зерно вівса у 2 рази. На торф'яних ґрунтах позитивний результат був встановлений для ярових і зернових.

Крім цих традиційних хімічних меліорантів, для підвищення якості продукції рослинництва пропонується використання вермикуліту, який володіє високими сорбційними, іонообмінними і меліоративними властивостями, а також гуматів амонію або натрію, як стимуляторів росту, і радіопротекторів, які використовуються з меліоративними сорбентами.

Залуження, як агроеліоративний захід, дає значний ефект, якщо проводиться 1 раз на 3-5 років. Залуження й перезалуження зменшує виніс радіонуклідів із кормовими травами і знижує дозу внутрішнього опромінення людини більше, ніж у 2 рази. Крім того, можна зменшити колективну дозу опромінення населення забруднених територій через забезпечення худоби комбікормами з домішками фероцину та мікроеlementів або інших сорбентів.

Коли концентрація важких металів у ґрунті перевищує допустимі межі, їх токсичність можна блокувати шляхом зміни рН ґрунту до нейтральної або слабколужної реакції, застосовуючи вапнування кислих ґрунтів. Так, накопичення рослинами кадмію залежить від типу та рН ґрунту: кислі ґрунти утримують важкі метали у меншій кількості, ніж нейтральні та лужні. Поглинання кадмію рослинами знижується зі збільшенням рН ґрунту, що пов'язано зі зниженням розчинності металу і досяжності його для рослин. При великих значеннях рН кадмій переходить у форму карбонатів. Внесення перекису водню у ґрунт призводить до адсорбції кадмію.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Поглинання і транспорт кадмію рослинами пригнічуються при внесенні цинку в високі концентрації (цинк:кадмій – 10:1). Аналогічний ефект спостерігається з додаванням заліза. Високими властивостями детоксикації характеризуються гній, торф, компости, а також цеоліти.

Застосування кормових домішок. У період після аварії на ЧАЕС проведено чимало досліджень щодо використання сорбентів у тваринництві. На сьогодні речовиною, яка істотно знижує надходження ^{137}Cs у продукцію тваринництва, є фероцин. За даними багатьох досліджень, проведених як в Україні, так і за кордоном, фероцин, який додається до кормів, практично блокує всмоктування ^{137}Cs у шлунково-кишковому каналі і знижує дозу внутрішнього опромінення у 30-35 разів. Численними дослідженнями доведено, що при згодовуванні тваринам корвосумішей і мінерально-соляних брикетів із вмістом фероцину у шлунково-кишковому каналі худоби утворюються нерозчинні сполуки цезію, які виводяться з організму природним шляхом. Сьогодні в Українському науково-дослідному інституті сільгоспрадіології (УкрНДІСГР) приділяється висока увага вивченню метаболізму радіонуклідів в організмі основних видів сільськогосподарських тварин з метою оперативної розробки та впровадження контрзаходів. Цей обумовлено необхідністю спеціального технологічного виробництва цих сорбентів з пристосуванням їх для кормів.

Одним із нових і провідних на сьогодні методів очищення об'єктів довкілля від забруднення важкими металами і радіонуклідами є **методи фітодезактивації**. Ідея даного методу полягає в тому, що при використанні оптимальних засобів впливу і чергування вирощуваних культур рослин можна досягти ефективного виносу радіонуклідів рослинами з біомасою (зокрема, з врожаєм). Різні види рослин з різною інтенсивністю поглинають і накопичують у своїх органах окремі радіонукліди та важкі метали. Тому при плануванні контрзаходів слід звертати увагу на вибір видового складу рослин. Кальцієфільні рослини, у першу чергу бобові – люпин, люцерна, горох, квасоля, формуючи свої органи, разом із кальцієм накопичують і його хімічні аналоги – стронцій-89, стронцій-90, кадмій. Інші види рослин, наприклад злаки, поглинають кальцій у порівняно невеликих кількостях, тому менше нагромаджують Cd і ^{90}Sr . Аналогічно калієфільні рослини: кукурудза, картопля, гречка та інші разом із калієм у великих кількостях накопичують його хімічні аналоги з першої групи періодичної системи – цезій, ^{134}Cs і ^{137}Cs . Отже, накопичення радіонуклідів та важких металів різними видами рослин, при вирощуванні в однакових умовах, може відрізнитись у десятки разів.

Вегетативні органи рослин, як правило, нагромаджують ^{90}Sr і ^{137}Cs у багато разів більше, ніж плоди. Деякі з рослин разом із великою кількістю калію можуть накопичувати і багато цезію. Найбільш характерний приклад – кукурудза. Саме тому, при використанні методу біотестування за параметрами радіоемності екосистеми, як радіоактивний трасер зручно використовувати радіонуклід ^{137}Cs , який легко детектується і дозволяє використовувати мінімальні концентрації, котрі не створюють інгібуючих доз опромінення біоти, а як модельну екосистему – водну культуру рослин кукурудзи.

Міжвидові відмінності сільськогосподарських рослин у накопиченні цих радіонуклідів сягають багатьох десятиків разів. Так, різниця у накопиченні ^{137}Cs у зерні гречки і кукурудзи досягає 60 разів. Кількість ^{90}Sr у сні бобових трав у 2-10 разів є вищою, ніж в злакових. На луках, де радіонукліди переважно зосереджуються у верхньому шарі ґрунту, максимальна кількість ^{90}Sr відзначається у бобових травах, а з різнотрав'я – у жовтці їдкому, який є відомим кальцефілом. Злакові трави нагромаджують ^{90}Sr у декілька разів менше, ніж усі інші види лучної рослинності, але й серед них спостерігаються суттєві відмінності в його вмісті. Так, щільно кущові злаки, такі як костриця овеча і тонконіг польовий, акумулюють у 1,5-3 рази більше ^{90}Sr , ніж кореневищні злаки – пірій повзучий і стоколос безостий.

Метод фітодезактивації застосовується для зниження вмісту радіонуклідів не тільки у наземних, а і у водних екосистемах. Так, розроблений в науковому Інституті радіаційної та техногенно-екологічної безпеки Чорноморського державного університету імені Петра Могили **біологічний метод дезактивації і розсолення технологічних водойм** [11] дозволяє, за допомогою виділених видів вищих водяних рослин: рдест плаваючий (*Potamogeton natans*) і нитчасті водорості (*Cladophora fracta*), здійснювати ефективну дезактивацію і розсолення² технологічних водойм АЕС природним біологічним способом: біомасою цих водяних рослин можна за достатньо короткий час (за 2-3 вегетативних періоди) вивести з водоймища до 75% активності основних дозостворюючих радіонуклідів та їх солей, а значить і підвищити екологічну ємність екосистеми водоймища. Потрібно зауважити, що це сприяє не лише дезактивації екосистеми прісноводних водоймищ, а дозволяє підвищити радіаційну і технологічну безпеку АЕС, радіоекологічну безпеку прилеглої до АЕС водної системи, бо, як відомо, за-

² У технологічних водоймах АЕС радіонукліди знаходяться переважно у вигляді солей, тому при дезактивації таких водойм досягається ефект розсолення.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

безпечення останніх вимагає дотримання певних норм технічного стану (в першу чергу дотримання певного солевого режиму) технологічних водоймищ АЕС.

ПРАКТИЧНІ РОБОТИ ТА МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО ЇХ ВИКОНАННЯ

Підготовка до проведення біотестування. Для проведення біотестування необхідно попередньо підготувати посуд, пробовідбірники, місця збереження відібраних проб, а також робочі місця для обробки проб і дослідження на токсичність. Усі процедури попередньої підготовки повинні виключати потрапляння токсичних, органічних та будь-яких інших речовин з оточуючих предметів або середовища у досліджувану воду або витяжки з ґрунту, опадів стічних вод і відходів.

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 1

Визначення основних токсикологічних характеристик при дії солей важких металів на пророщування насіння

Одним з найважливіших завдань токсикології є визначення токсикологічних параметрів шкідливих речовин, тобто ГДК і LD₅₀ (або LC₅₀). Вони необхідні для зіставлення зі знайденими в результаті аналізів кількості (концентрації) шкідливої речовини і визначення міри можливого збитку, що наноситься здоров'ю цим токсикантом. Робота дозволяє на прикладі рослин набути значення ГДК і LC₅₀ для різних токсикантів на прикладі солей важких металів.

Мета роботи – навчитися визначати токсикологічні характеристики (на прикладі дії солей важких металів на проростки насіння).

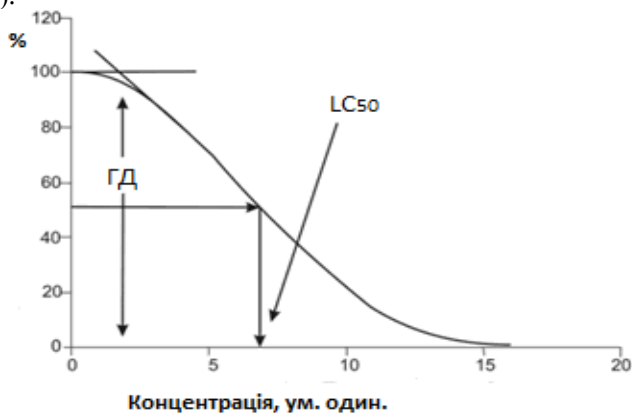
Устаткування, реактиви, матеріали – чашки Петрі, циліндри, пробірки, фільтрувальний папір, дистильована вода, солі важких металів, насіння рослин.

Хід роботи

Готується первинний розчин (1 М) і розчиняється в розрахунковій кількості дистильованої води. Методом послідовних розбавлень дистильованою водою готують розчини з концентрацією 0,3 М, 0,1 М, 0,03 М, 0,01 М, 0,003 М, 0,001 М, 0,0003 М, 0,0001 М, 0,00003 М, 0,000001 М і т. д., з тим, щоб охопити чималий діапазон концентрацій досліджуваної речовини. Приготовані розчини, а також як контроль – дистильована вода, наливаються у чашки Петрі по 5 мл, потім туди ж поміщаються вирізані округлі форми фільтрувального паперу. Відбирають насіння рослини з коротким часом проростання і поміщають у кількості 50 або 100 зернин у кожен чашку Петрі. Кожен варіант готується у кількості трьох паралельних повторів.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Чашки Петрі закривають кришками і поміщають у темне місце. При висиханні до них додають порції дистильованої води до первинного об'єму. Через 7-8 діб роблять підрахунок пророслого насіння, довжину корінців, вагу рослин, заздалегідь підсушених на фільтрувальному папері. Отримані результати записують у таблицю, і на їх підставі будують графік (на графіку у % відкладають ступінь проростання насіння).



На рисунку зображено криву впливу чинника на проростання насіння. Видно, що при збільшенні концентрації речовини зменшується величина проростання насіння. На рисунку приведені методи визначення ГДК як точки, де перетинаються лінії, які паралельні осі абсцис, і продовження кривої залежності. LC₅₀ визначається як концентрація, при якій спостерігається половина пророслого насіння від первинної кількості.

Завдання.

1. Приготувати первинний розчин солей важких металів та різні концентрації металів.
2. Провести дослід із визначення основних параметрів при дії солей важких металів на пророщування насіння.
3. Визначити ГДК досліджуваних речовин та описати їх вплив на рослини.
4. Побудувати графік залежності токсичного чинника на проростання насіння.
5. Зробити висновок щодо визначення токсичності важких металів.

Зміст звіту. Мета роботи, графічна залежність та аналіз впливу токсичного фактора на пророщування насіння.

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 2.

Вплив солей важких металів на активність мікроорганізмів ґрунту

Одне з найважливіших місць у ґрунтових екосистемах займають мікроорганізми. Вони є останньою ланкою у більшості харчових ланцюгів, тобто виступають редуцентами. Такі організми, як плісняві грибки, використовують як їжу органічні речовини залишків рослин і тварин. При цьому вони мінералізують ці органічні речовини і, в результаті мінералізації, елементи стають доступними для рослин. Важкі метали можуть сильно інгібувати (пригнічувати) активність цих живих організмів.

Мета роботи – визначити активність мікроорганізмів ґрунту при дії токсичного фактору.

Устаткування, реактиви, матеріали – чашки Петрі, циліндри, пробірки, розчин солі важкого металу з концентрацією 0,5 М, фільтрувальний папір, зразок ґрунту.

Хід роботи

З первинного розчину солі важкого металу методом послідовних розбавлень у п'ять разів готують розчини з концентрацією 0,1 М, 0,02 М, 0,004 М, 0,0008 М, 0,00016 М, 0,000032 М і води в якості контролю. 8 мл цих розчинів додаються в чашки Петрі, ґрунти шаром 0,5 см. Поверх ґрунту накладають диски фільтрувального паперу. Чашки Петрі встановлюються у темне місце. Регулярно поверхня паперу змочується, щоб уникнути висихання. Експеримент триває до тих пір, доки у контрольному варіанті жовта пліснява грибків *Aspergillus* або темно-зелена *Trichoderma* не займуть велику частину дисків папіру.

Тоді паперові диски виймають, обережно звільняючи від грудочок ґрунту. Плісняві грибки в ході своєї життєдіяльності виділяють різні забарвлені речовини, що поглинаються папером, і за розміром зафарбованої ділянки можна визначати активність пліснявих грибків: зображення плям переноситься на кальку, і визначається площа фарбування.

На підставі отриманих результатів складається графік залежності активності мікроорганізмів від концентрації важких металів у ґрунті.

Завдання

1. Приготувати первинний розчин солі важких металів та різні концентрації металів.
2. Провести дослід із визначення впливу солей важких металів на активність мікроорганізмів ґрунту.
3. Проаналізувати та виміряти розмір фарбування плям активності пліснявих грибків.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

4. Побудувати графік залежності активності мікроорганізмів від концентрації важких металів в ґрунті.

5. Зробити висновок щодо впливу важких металів на активність мікроорганізмів ґрунту.

Зміст звіту. Мета роботи, графічна залежність та аналіз впливу токсичного фактора на активність мікроорганізмів ґрунту.

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 3 **Біоіндикація токсичності ґрунту**

Ґрунтові мікроорганізми здатні утворювати речовини різної хімічної природи, що пригнічують зростання рослин, – фітотоксини. Окрім цього, токсичність ґрунту може дуже сильно збільшуватися за рахунок екотоксикантів. Накопичення у ґрунті токсинів, що мають різну природу і походження, обумовлює токсичні властивості ґрунти, які визначаються наступним методом.

Мета роботи – визначити токсичні властивості ґрунту методом біоіндикації.

Устаткування, реактиви, матеріали: чашки Петрі, циліндри, пробірки, розчин солі важкого металу з концентрацією 0,5 М, диски фільтрувального папіру, зразки ґрунту.

Хід роботи

Заздалегідь відбирають зразки ґрунту з верхнього горизонту, схильного до різної міри антропогенного навантаження. Проби ґрунту у повітряно-сухому стані за допомогою пінцета звільняють від великих корених залишків, розтирають у ступці і просіюють через сито з вічками в 1 мм. Навішування по 100-200 г розміщують у склянки (нестерильний дослід) і зволожують дистильованою водою до 60% , ретельно перемішують, потім за допомогою шпателя ущільнюють до гладкої поверхні.

На поверхні ґрунтової пластинки шпателем роблять борозенки глибиною близько 0,5 см і розкладають у них 5-10 насіння дослідної рослини (залежно від їх розміру), яке було попередньо замочене у водопровідній воді протягом доби. Зазвичай використовують насіння культур, що обробляються у певному регіоні. Контрольне насіння розкладають на зволоженій ваті, вкритою фільтрувальним папером. Приготовані зразки інкубують в термостаті при 25°C протягом 2-3 днів до повного проростання, фіксуючи щодня кількість насіння, яке проросло. Потім ємності переносять у кімнату зі стабільним кліматом на 4-5 діб до повного розвитку проростків.

Міру токсичності ґрунту визначають за різницею у швидкості проростання, у кількості пророслого насіння, у довжині проростків і їх коріння, у кількості продукції у досліді і в контролі. Токсичними вважають ґрунти, що викликають пригніблення проростання насіння на 20-30% і більше. Визначення токсичності ґрунту рекомендується проводити на свіжих зразках ґрунту, оскільки після тривалого зберігання зразків токсичність їх може значно змінюватися.

Отримані результати обробити статистично і зробити висновок.

Завдання

1. Відібрати зразки поверхневого шару ґрунту на забруднених територіях.
2. Підготувати наважки ґрунту до проведення експерименту.
3. Відібрати насіння культур, що обробляються у забрудненому регіоні.
4. Статистично обробити та проаналізувати отримані результати досліджень.
5. Зробити висновок щодо біоіндикації токсичності ґрунту.

Зміст звіту. Мета роботи, статистично оброблені результати та аналіз біоіндикації токсичності ґрунту.

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 4

Визначення токсичності ґрунту мікробіологічним способом

Ґрунт є акумулятором не тільки корисних, але й токсичних елементів, які пригнічують процеси самоочищення ґрунту (біологічні, фізико-хімічні та інші), а також потенційно можуть впливати на різні складові трофічного ланцюга.

Мета роботи – дослідження ґрунту на токсичність мікробіологічним методом.

Реактиви, посуд, прилади: культури мікроорганізмів (*E.Coli*, *Bas. Subtillis*, дріжджі, грампозитивні бактерії). Середовища МПА, Ешбі. Чашки Петрі, шпатель, целофан, пробірки, піпетки на 1 і 10 мл, мікропіпетки на 0,1 мл, трубчасте свердло 8 мм, термостат, холодильник, диски з фільтрувального паперу 8 мм.

Підбір тест-культур, вибір і приготування середовищ студенти самостійно виконують до початку лабораторного заняття.

Хід роботи.

Свіжоприготовлене агарове середовище розливають у стерильні чашки Петрі і після застигання середовища покривають стерильними плівками целофану, яке ретельно розправляють на поверхні агару металевим шпателем. Целофан попередньо вирізають кружками з діамет-

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

ром, який дорівнює діаметру чашки Петрі, змочують водою і в такому стані стерилізують в автоклаві. На поверхню целофану у центр чашки Петрі з агаром накладають грудочки ґрунту діаметром 3 см, також зволоженого водою. Можна розташувати не один, а до 4 грудочок ґрунту на однаковій відстані одна від одної, тоді діаметр буде декілька меншим (близько 1 см). Після накладення грудочок ґрунту на целофан чашки витримують у термостаті протягом доби. Через добу целофан з ґрунтом знімають з агару, а середовище засівають дослідною культурою.

При наявності у ґрунті токсичних речовин на газоні тест-культури на поверхні агару утворюються стерильні зони. Кількісною оцінкою фітотоксичності служить діаметр стерильної зони, яка утворилась.

Варіант ґрунту	Зона просвітлення, мм
1 ґрунт + токсикант	
2	
3	

Завдання

1. Підібрати тест-культури для лабораторної роботи
2. Приготувати та підготувати культуральне середовище
3. Результати експерименту занести до таблиці
4. Кількісно оцінити фітотоксичність ґрунту та побудувати графічну залежність.
5. Зробити висновок щодо фітотоксичності ґрунту.

Зміст звіту. Мета роботи, статистично оброблені результати, графічна залежність фітотоксичності ґрунту та висновки щодо отриманих результатів.

Контрольні питання:

1. Що таке культуральне середовище?
2. Яким вимогам повинні відповідати тест-об'єкти?
3. Відношення мікроорганізмів до різних факторів зовнішнього середовища

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 5.

Визначення токсичності води та водних витяжок з ґрунтів, опадів стічних вод, відходів

Гостру токсичну дію досліджуваної води або водної витяжки з ґрунтів, опадів стічних вод і відходів визначають за смертністю присутніх нижчих ракоподібних дафній за певний період експозиції. Критерієм гострої токсичності служить загибель 50% і більше дафній за 96 годин у досліджуваній воді за умови, що в контрольному експерименті загибель не перевищує 10%.

Мета роботи – визначити гостру токсичність питних, ґрунтових, поверхневих, стічних вод, а також водних витяжок з ґрунтів, опадів стічних вод і відходів з використанням як тест-об'єкт нижчих ракоподібних дафній.

Реактиви, посуд, прилади: сита, витяжна шафа, скляний кристалізатор, бюкси, терези, ексикатори, воронка Бюхнера, паперові фільтри

Хід роботи

Приготування водної витяжки з ґрунтів

Відібрані на токсикологічний аналіз ґрунти спочатку розпушують вручну металевим шпателем і звільняють від матеріалу, який відноситься до випадкових механічних домішок (можливі промислові, будівельні побутові відходи і т. п.), а також гальки, уламків каменів, кореневищ, гілок. Рішення про вилучення таких домішок з проби роблять на основі вивчення польового опису конкретного місця її відбору; ці відомості повинні стати обов'язковою частиною супровідної документації до проб, спрямованих на токсикологічний аналіз.

Перед біотестуванням проби ґрунту просівають крізь сито з розміром вічок 1 мм і доводять до повітряно-сухого стану: для цього пробу підсушують у витяжній шафі або у добре провітрюваному приміщенні, розмішуючи її (залежно від маси і природної вологості у скляних кристалізаторах відповідної місткості, на склі або на чистих аркушах зі щільного паперу).

Розміщені таким чином проби ґрунту витримують відкритими не менше 2-х годин при кімнатній температурі і вологості повітря (ГОСТ 5180-84 «ґрунти. Методи лабораторного визначення фізичних характеристик»). Підготовлену пробу розподіляють до гладкої поверхні з шаром завтовшки не більше 1 см, і відбирають ложкою або шпателем наважки проби з 5-ти точок методом конверту. Не допускається призначені для дослідження на токсичність проби ґрунтів піддавати тепловій обробці, тому гігроскопічна вологість ґрунту визначається в окремому досліді.

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Проба масою приблизно 400 г поділяється на дві однакові частини: для біотестування та для визначення гігроскопічної вологості після висушування до постійної маси, що необхідно для перерахунку повітряно-сухої проби на абсолютно-суху масу за формулою:

$$\Delta M_{\text{пов.-сух.}} = \Delta M_{\text{абс.сух.}} / K_{\text{сер}}, \quad (1)$$

де $\Delta M_{\text{пов.-сух.}}$ – маса абсолютно-сухого зразка (г); $\Delta M_{\text{абс.сух.}}$ – маса повітряно-сухого зразка ґрунту (г); $K_{\text{сер}}$ – коефіцієнт перерахунку маси повітряно-сухої проби на масу абсолютно-сухої проби (середнє розрахункове значення з трьох вимірів).

Для визначення масової частки ґрунту у повітряно-сухій пробі необхідно:

1. Зважити три порожніх висушених бюкса з кришками і зафіксувати їх маси (M_0), потім зважити ці ж бюкси з навішеннями повітряно-сухої проби (близько 1 г) і зафіксувати їх маси ($M_{\text{пов.-сух.}}$).

2. Встановити відкриті бюкси з повітряно-сухими пробами в сушильну шафу. Після витримати в сушильній шафі протягом 3 год при температурі від 105 до 115°C. Закрити бюкси притертими кришками, перенести їх в ексікатор і витримати там до повного охолодження (близько 40 хв). Зважити бюкси з навішеннями абсолютно-сухої проби і зафіксувати їх маси ($M_{\text{абс.сух.}}$). Після зважування проби ґрунту слід повторно висушити протягом 2 год, потім охолодити в ексікаторі і знову зважити. Після першого і другого висушування допустима розбіжність в масі не повинна перевищувати 0,005 м. В іншому випадку висушування повторити. Точність зважування для всіх експериментів повинна становити 0,001 м.

3. Розрахувати значення коефіцієнта перерахунку K_i для кожного експерименту за формулою:

$$K_i = (M_{\text{абс.сух.}i} - M_{0i}) / (M_{\text{пов.-сух.}i} - M_{0i})$$

де K_i – коефіцієнт перерахунку в i -ому вимірі;

$M_{\text{абс.сух.}i}$ – маса бюкси з абсолютно сухим зразком в i -ому вимірі, г;

$M_{\text{пов.-сух.}i}$ – маса бюкси з повітряно-сухим зразком в i -ому вимірі, г;

M_{0i} – маса порожньої бюкси в i -ому вимірі, г.

4. Через те, що за результатами вимірювань отримано три значення коефіцієнта, проводять розрахунок його середньо-арифметичного значення $\bar{K}$. Далі серед трьох величин дорозраховують розмах (R) отриманих значень з урахуванням максимальної (K_{max}) і мінімальної (K_{min}) величин за формулою:

$$R = \frac{K_{\text{max}} - K_{\text{min}}}{\bar{K}} \cdot 100\%$$

Якщо отримане значення $R > 10\%$, то експеримент повторюють, усунувши причини незадовільних результатів.

Водну витяжку з ґрунту для біотестування готують у співвідношенні: 1 частина ґрунту (з урахуванням гігроскопічної вологості) і 4 частини культивацийної води (допускається використання дистильованої води). Вода не повинна містити CO_2 , тому що в його присутності розчиняються карбонати кальцію і магнію через утворення розчинних бікарбонатів, які збільшують сухий залишок і загальну лужність водної витяжки і тим самим спотворюють результати біотестування.

Для приготування водної витяжки з ґрунту зважують 100-200 г проби ґрунту в повітряно-сухому стані, перерахувавши її масу на масу абсолютно-сухої ваги. Маса проби на стадії перед приготуванням водної витяжки повинна бути достатньою для одержання необхідного обсягу екстракту при проведенні біотестування у всіх передбачуваних розведеннях з урахуванням контрольних випробувань. Наважку ґрунту поміщують в колбу ємністю 1000 см^3 і додають 4-кратну кількість культивацийної води.

Далі на апараті для струшування рідини отриману суміш протягом 2-х годин струшують, після чого відстоюють протягом 30 хв. Надосадова рідина сифонується, а потім фільтрується через паперові фільтри («біла стрічка») або через мембранні фільтри з діаметром пор $3,5 \text{ мкм}$ (фільтри попередньо промивають і кип'ятять у дистильованій воді не менше 10 хв). Паперовий фільтр поміщають у воронку Бюхнера діаметром 15-20 см.

Перед тим як вилити витяжку на фільтр, склад склянки або колби струшують, щоб скаламутити присутні завислі частинки ґрунту. На фільтр намагаються перенести всю суспензію. При виливанні потік суспензії направляють на бічну подвійну стінку паперового фільтру, але не на дно фільтру, бо при виливанні на днище, папір може легко порватися. Фільтрація здійснюється за допомогою вакуумного водяного або електричного насоса. Для фільтрації застосовується слабкий вакуум (не більше 20 мм рт. ст.). Перші порції фільтрату часто бувають каламутними, і їх потрібно кілька разів перефільтровувати до прозорого розчину. При підвищеній мутності водної витяжки з ґрунтів допускається відстоювання в холодильнику до 5 діб. Потім рідину над осадом сифонують. Витяжка з ґрунтів повинна мати величину рН в діапазоні 7,0-8,2. При необхідності витяжку перед серійним розведенням попередньо нейтралізувати. Після нейтралізації проба аерується 10-20 хв для стабілізації рН. Безпосередньо перед початком біотестування проби доводять до температури $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Проба водної витяжки

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

з ґрунтів повинна мати концентрацію розчиненого кисню не нижче 6 мг/дм³, в іншому випадку проба аерується.

Приготування розведень водної витяжки для біотестування проводять як при приготуванні розведення досліджуваних вод для біотестування.

Приготування водної витяжки з осадів стічних вод, відходів

Водна витяжка з осадів стічних вод і відходів готується зі співвідношення тверда фаза: рідина – 1: 10. Як рідина використовується культиватійна вода (допускається використання дистильованої води).

Тверді відходи та опади стічних вод. Проба добре перемішується перекошуванням на гладкій, гнучкій і щільній підстилці, потім – совком. Для підготовки проби відходів потрібно 2,5 кг, проби опадів стічних вод – 1 кг. Загальний об'єм відібраної проби (5 кг відходів або 2 кг опадів) поділяється на представницькі половини, одна з частин повертається в посудину для зберігання, решта розпушується і ретельно проглядається. У разі виявлення частинок більше 10 мм, їх обережно подрібнюють за допомогою металевого шпателя до розміру менше 10 мм. Недопустимо механічно розмелювати суміш. Потім проба висушується до повітряно-сухого стану. При поганому висиханні відходу експозицію висушування допускається збільшувати до 24 годин.

Після цього проба скорочується в 3-4 рази методом квадрату. Ретельно перемішану пробу розрівнюють на гладкій поверхні на папері, клейонці або поліетиленовій плівці, і за допомогою лінійки або спеціальної решітки поділяють на однакові квадрати. Потім з квадратів в шаховому порядку відбирають порції, забезпечуючи захоплення всієї товщини шару; далі об'єднуючи порції в пробу з мінімальною абсолютно-сухою масою 200 г формують представницьку пробу, яка поділяється на дві частини і призначається для біотестування і визначення вологості. Вологість опадів і відходів визначається за методикою, вказаною у п. «Приготування водної витяжки з ґрунтів». Виміряна характеристика вологості використовується для розрахунку маси повітряно-сухої проби, призначеної для приготування водної витяжки. Зазвичай потрібно 120-200 г повітряно-сухої маси проби. Після вилуговування 100 г абсолютно-сухої маси проби буде отримано приблизно 900 см³ водної витяжки. Тому слід розрахувати загальну необхідну мінімальну кількість відібраної порції з урахуванням процедури скорочення проби. Маса проби на стадії перед приготуванням водної витяжки повинна бути достатньою для отримання необхідного обсягу екстракту для проведення біотестування у всіх передбачуваних розведеннях. Проба опадів, відходів у повітряно-сухому стані зважується так, щоб абсолю-

тно-суха маса була 100 ± 1 г. Маса і вміст вологи записується і поміщається в посудину для вилуговування.

Шлами. Шлами з великим вмістом твердої фази обробляються також як тверді відходи. Окремо визначається вміст вологи. Маса шламу, що є еквівалентною 100 ± 1 г абсолютно-сухої маси, використовується для приготування водної витяжки.

Шлами з великим вмістом рідини (вологість більше 70%) обробляються наступним чином. Рідина фільтрується через вакуумний фільтр (0,45 мкм) і збирається 300 г волого-твердого матеріалу. Якщо такої кількості проби недостатньо для отримання 200 г абсолютно-сухої речовини, збирається стільки, скільки необхідно. Проби висушуються до повітряно-сухого стану за методикою, вказаною у п. «Приготування водної витяжки з ґрунтів». При поганому висушуванні експозицію допускається збільшити до 24 годин.

Проба поділяється на дві частини, в одній визначається вміст вологи, а інша частина з 100 ± 1 г абсолютно-сухої маси переноситься в посудину для вилуговування. Реєструється маса залишку та вміст в ньому вологи. Тверді шлами вилуговуються культивацийною водою в пропорції 1:10.

Рідкі відходи. Відходи і опади стічних вод, рідкі відходи і ті, котрі містять менше 1% завислого матеріалу, не піддаються вилуговуванню, а випробовуються безпосередньо на екотоксичність методами біотестування після фільтрації.

Виконання процедури підготовки екстракту вилуговування. У посудину для вилуговування, де знаходиться зважена повітряно-суха маса відходів або осаду стічних вод з абсолютно-сухою масою 100 ± 1 г, додається вода, що використовується для культивування (або дистильована вода). Вода додається в посудину для вилуговування в співвідношенні суха маса: рідина – 1:10. Зазвичай це 1000 см^3 води на 100 г абсолютно-сухої маси. Якщо використовується менша кількість проби, то зменшується і кількість рідини. Не можна використовувати для вилуговування менш ніж 20 г твердої речовини і 200 см^3 води.

Об'єми води більше 10 см^3 вимірюються мірним циліндрами, об'єми менше 10 см^3 – мірною піпеткою.

Суміш повинна перемішуватись на мішалці протягом 7-8 годин таким чином, щоб тверда речовина перебувала в завислому стані. Неприпустимо зменшення частинок відходів або опадів при перемішуванні. Використовується велика лопасть механічної мішалки або магнітна мішалка. Швидкість перемішування повинна бути найменшою з тих, коли матеріал підтримується у завислому стані (не більше 70 об/хв).

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Після закінчення перемішування розчин з осадом залишають на ніч (12-18 год) для відстоювання. Потім рідину над осадом сифонують.

Якщо після відстоювання рідина стає прозорою, фільтрування можна не проводити; якщо ж є будь-який видимий завислий матеріал, то рідина повинна бути профільтрована. Фільтрацію проводять через фільтр «біла стрічка» або на воронці Бюхнера. Для фільтрації застосовується слабкий вакуум (не більше 20 мм рт. ст.) за допомогою водяного або електричного насоса такої ж потужності. Вакуум потрібно вимкнути негайно після проходження всієї рідини через фільтр, щоб уникнути дегазації фільтрату. У деяких випадках, при підвищеній мутності водної витяжки з відходу після фільтрації, допускається її відстоювання в холодильнику до 5 діб. Потім рідина над осадом сифонується.

Отриманий екстракт вилуговування досліджують на токсичність. Процедура біотестування необхідно розпочати не пізніше, ніж через 6 годин після приготування витяжки з осаду, відходів. Якщо це неможливо, то допускається зберігання екстракту в холодильнику не більше 48 год. при $t=4^{\circ}\text{C}$.

Якщо опади стічних вод або відходи були розділені на рідку і тверду фракції, результати дослідження рідкої фракції і екстракту вилуговування з твердої фракції повинні бути вказані в звіті окремо. Якщо одна з цих частин була визнана екотоксичною, то екотоксичним визнається уся проба.

Встановлення гострої екотоксичної дії

Для визначення гострої екотоксичної дії проводиться біотестування вихідної досліджуваної води або водної витяжки з ґрунтів, опадів стічних вод, відходів і декількох їх розбавлень, приготованих за методикою, вказаною у п. «Приготування розбавлень досліджуваних вод для біотестування».

Визначення токсичності кожної проби без розбавлення і кожного розведення проводиться в трьох паралельних серіях. Як контроль використовуються три паралельні серії з культиватійною водою.

Біотестування проводиться в хімічних стаканах об'ємом 150-200 см³, які заповнюються 100 см³ досліджуваної води; у стакани поміщають по десять дафній у віці 6-24 год. Чутливість дафній до токсикантів залежить від віку рачків, тому в протоколі зазначають вік молоді.

Дафній відловлюють з культиваторів, в яких вирощується синхронізована культура. Для цього в окремий хімічний стакан відсаджують однодітних рачків після фільтрації їх через набір сит; відловлюють по одному піпеткою об'ємом 2 см³ з гумовою грушею, поміщають рачків по одному на сачок, через який вода зливається в окремий хімічний

стакан; після цього дафнії сачком вносять в стакани з досліджуваною водою.

Посадку рачків починають з контрольної серії. В експериментальний розчин дафній поміщають, починаючи з більших розведень (менших концентрацій забруднюючих речовин) – до менших розведень. Після кожної посадки в досліджувані розчини сачок ретельно промивається в посудині об'ємом 2 дм³ з культивацийною водою. Для роботи з серією для контролю повинен бути окремий сачок.

Для кожної серії досліджуваної води використовують 3 хімічних склянки. Загальна кількість стаканів, яка використовується в досліджах, дорівнює потрібній сумі всіх розбавлень плюс 3 для початкової води і 3 для контролю.

В експериментах з визначення гострої екотоксичності розчини не змінюють.

Облік смертності дафній у досліді і контролі проводять через кожну годину до кінця першого дня досліді, а потім – 2 рази на добу щодня до закінчення 96 год. Нерухомі особини вважаються загиблими, якщо не починають рухатися протягом 15 с після легкого покачування склянки.

Результати спостережень фіксують. Якщо загибель дафній в контролі перевищує 10%, результат не враховують, і експеримент повинен бути повторений.

Після того, як результати експерименту враховані, всі дафнії зі склянок викидають, і в кожному стакані проводять вимірювання рН, температури, вмісту розчиненого кисню за допомогою оксиметру. Вміст розчиненого кисню наприкінці експерименту має бути не нижчим 2 мг/дм³, рН – в діапазоні 7,0-8,2. Усі відхилення від встановлених норм, а також дані за кожною серією розбавлень, вихідної води і контролю також фіксують у протоколі результатів експерименту.

Експерименти з визначення гострої екотоксичності

При визначенні гострої екотоксичності питних, стічних, поверхневих, ґрунтових вод, а також водних витяжок з ґрунтів, опадів стічних вод, відходів та їх розбавлень встановлюють:

– середню летальну кратність розбавлення вод, водних витяжок, що викликає загибель 50% тест-об'єктів за 96-годинну експозицію (ЛКП₅₀₋₉₆),

– нешкідливу кратність розбавлення вод, водних витяжок, що викликає загибель не більше 10% тест-об'єктів за 96-годинну експозицію (НКР₁₀₋₉₆).

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Для визначення гострої токсичності досліджуваних вод, водної витяжки розраховується відсоток дафній, які загинули у тестованій воді (А,%), порівняно з контролем:

$$A = \frac{X_K - X_T}{X_K} \cdot 100\%,$$

де X_K – кількість виживших дафній в контролі; X_T – кількість дафній, які вижили в тестованій воді.

При $A < 10\%$ – тестова вода або водна витяжка не надає гострої токсичної дії (нешкідлива кратність розбавлення).

При $A > 50\%$ – тестова вода, водна витяжка надає гостру токсичну дію (середня летальна кратність розбавлення).

Завдання

1. Відібрати проби ґрунту, осад стічних вод, тверді відходи та червоний шлам для проведення практичної роботи.
2. Приготувати водну витяжку з ґрунтів.
3. Визначити масову частку ґрунту в повітряно-сухій пробі.
4. Розрахувати значення коефіцієнта перерахунку K_i для кожного експерименту.

5. Приготувати водну витяжку з осаду стічних вод.
6. Приготувати водну витяжку з шламових відходів.
7. Приготувати водну витяжку з твердих відходів.
8. Визначити гостру токсичності отриманого розчину.
9. Встановити середню летальну концентрацію окремих речовин (кратність розбавлення вод або водної витяжки з ґрунтів, опадів стічних вод і відходів, що містять суміші речовин), що викликає загибель 50% і більше тест-організмів (LK_{50-96} , LKP_{50-96}).

10. Встановити безпечну концентрацію окремих речовин (кратність розбавлення вод або водної витяжки з ґрунтів, опадів стічних вод і відходів, що містять суміші речовин), які викликають загибель не більше 10% тест-організмів (BK_{10-96} , BKP_{10-96}).

11. Зробити висновок щодо токсичності води та водних витяжок з ґрунтів, опадів стічних вод, відходів

Зміст звіту. Мета роботи, статистично оброблені результати, графічна залежність токсичності води та водних витяжок з ґрунтів, опадів стічних вод, відходів. Результати дослідження рідкої фракції і екстракту вилуговування з твердої фракції повинні бути вказані в звіті окремо. Висновки та аналіз отриманих результатів.

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 6

Біотестування методом проростків

Одним із найбільш перспективних методів біотестування є метод проростків, перевагою якого є експресність і відносна не трудомісткість.

Мета роботи – вивчення реакції тест-культур на забруднене токсикантами поживне середовище (вода, ґрунт).

Устаткування, реактиви, матеріали: чашки Петрі, пробірки, проби води або ґрунту, насіння кукурудзи або горох, фільтрувальний папір, термостат.

Хід роботи

Метод заснований на реакції тест-культур (кукурудза *Zea mays* L. сорту Дніпровська 247 або м'якої пшениці *Triticum aestivum* L.), і дозволяє визначити токсичну дію тих чи інших забруднюючих речовин. Для даного методу бажано брати тест-культуру, характерну для конкретного регіону. Кукурудза – це культура, яка широко розповсюджена на території України і характеризується високими коефіцієнтами накопичення речовин (500-800 од.).

У досліді використовують 4-х добові проростки, пророщені в термостаті при температурі 24°C в чашках Петрі на зволоженому фільтрувальному папері (протягом 72 годин). Для досліді відбирають проростки, довжини головних коренів яких досягають 20-30 мм.

Насіння тест-культур висаджують у вегетаційні судини, заповнені ґрунтом або водою, взятої в різних місцях. Оскільки одним із основних забруднювачів атмосферного повітря і ґрунту є автомобільний транспорт, для проведення аналізу можна брати ґрунт уздовж автомобільної дороги і з ділянки, віддаленої від останньої.

Під час проведення досліді фіксують схожість, енергію проростання, довжину наземної і кореневої системи, масу сухої речовини. Дослід проводиться на світлових стелажах при підтримці постійної вологості ґрунту. На кожній посудині висівають певну кількість тест-культур. Протягом певного часу (десяти днів) ведуться спостереження за проростками за наступними показниками:

- час появи сходів та їх число на кожну добу;
- загальна схожість;
- довжина наземної частини сходів.

Після закінчення досліді рослини обережно виймають із землі, просушують, ретельно струшують залишки ґрунту і вимірюють остаточну довжину наземної частини рослин і довжину коренів (якщо проростки висаджені на ємності з водою, то вимірювання коріння і наземної частини потрібно проводити кожного дня). Потім висушують рос-

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

лини на повітрі і окремо зважують біомасу надземних частин та коренів. Отримані результати вимірювань довжини та ваги надземної і підземної частин експериментальних рослин заносять у таблицю.

Таблиця. Результати вимірювань довжини та ваги надземної і підземної частин дослідних рослин

Назва	Проростки, відібрані на _____ відстані від дороги	Проростки, відібрані поблизу дороги
Довжина кореня, см		
Довжина надземної частини, см		
Вага надземної частини, мг		
Вага коріння, мг		

Фітотоксичний ефект ФЕ (%) розраховують за формулою:

$$FE = \left| \frac{M_{\kappa} - M_x}{M_{\kappa}} \right| \cdot 100\%$$

де M_{κ} - маса контрольної рослини (або всіх контрольних рослин на посудину); M_x - маса рослин, які вирощені на фітотоксичному середовищі.

Завдання

1. Відібрати тест-культури на різних відстанях від дороги (в межах санітарно-захисної зони різних підприємств).
2. Підготувати проби води та ґрунту.
3. Поставити насіння для пророщування в термостат
5. Висадити проростки на воду або ґрунт.
6. Провести вимірювання наземної та кореневої частини проростків.
7. Висушити рослини та зважити наземну частину та коріння рослин (результати занести у таблицю).
8. Розрахувати фітотоксичний ефект.
9. Статистично обробити результати досліджень.

Зміст звіту. Мета роботи, статистично оброблені результати, графічна залежність фітотоксичності ґрунту (води) та висновки щодо отриманих результатів.

ДОДАТКИ

Приклади проєктів розроблених біоре mediaційних заходів в ЧНУ імені Петра Могили.

Додаток А

Приклади задіяння біотехнологій у гідротехнічних спорудах міської урбоекосистеми, які пропонувалися м. Миколаєву на конференції у Берліні, лютий 2024 р.



WATER TECH BOOTCAMP
RESILIENCE & RECOVERY OF URBAN
BERLIN 19 - 22 FEBRUARY 2024

6.1 Core area - exhibition space

Sponge city open-air exhibition



- місто-губка: збирання дощової води та використання чистої дощової води у садовому парковому будівництві/реконструкції;
- поливі комунальних насаджень

Відсутність каналів RW; Всі опади інфільтруються, обробляються та тимчасово зберігаються децентралізовано

Привабливий дизайн дренажних елементів

Впроваджено у м. Берлін, Німеччина, м. Chande та ін., Китай

Приклади задіяння біотехнологій у гідротехнічних спорудах міської урбоєкосистеми, які пропонувалися м. Миколаєву на конференції у Берліні, лютий 2024 р.

Екологічно оформлені береги ставків
6-3. Ecologically designed pondhores

Wasserbau
Hansover
Wasserbau
Wasserbau

PARKLANDSCAPE_CAR PARK

- Ефективне використання зелених насаджень з вищих рослин (дерева, кустарники) не лише для екодизайну, а й у:
- міських гідротехнічних спорудах,
- при біоочищенні вод міської каналізації,
- укріпленні берегів, тощо

Впроваджено у м. Chande
Китай



42

Приклади застосування біотехнологій у гідротехнічних спорудах міської урбоекосистеми, які пропонувалися м. Миколаєву на конференції у Берліні, лютий 2024 р.

Wasser-Nursch
 Design für nachhaltige
 Wassermanagement

AQUATIC PLANT NURSERY

РОЗПЛІДНИК ВОДЯНИХ РОСЛИН

- Масове вирощування водних рослин для цілей ефективного їх використання для біоочищення міських вод,
- Використання водних рослин у міському екодизайні

AQUATIC PLANT NURSERY

IMAGES FOR ECOFOR AND CLIMB



Впроваджено у м. Chande
 Китай

44

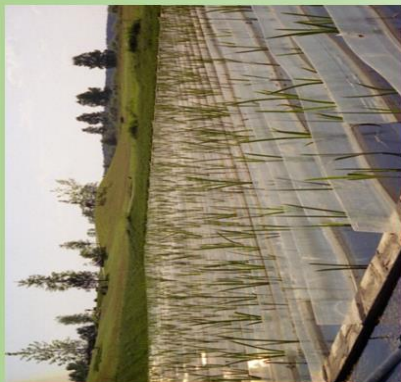
Сьогодні перспективними є гідробіотехнологічні системи, в яких використовують біоценози різноманітних видів водяних організмів – вищих водяних рослин, водоростей, наземних вищих рослин.

Це – фітотехнології (фіторе mediaції) – методи очищення забруднених вод, які передбачають процеси природного самоочищення водних систем з використанням вищої водної/наземної рослинності, водної мікрофлори і мікроорганізмів.

ПРИКЛАДИ ПЛАВАЮЧИХ БІОПЛАТО

Типи гідрофітних споруд:

- ботанічні майданчики;
- фільтраційні пристрої;
- біологічні ставки з ВВР;
- штучно заболочені площі;
- біоплато;
- біоінженерні споруди.



РОЗРОБКИ ФІТОРЕМЕДІАЦІЙНИХ ЗАХОДІВ у ЧНУ імені Петра Могили

1. Макрофіти (вищі водні рослини) у технологічній системі дезактивації й розсолоння технологічних водойм (АЕС, ТЕС, тощо)

на підставі багаторічних (1982-2002, 2010-2018 рр.) радіоекологічних досліджень у технологічних водоймах ПУ АЕС



2. Ембріофіти (наземні вищі рослини) у системі біоплагу для очищення каналізаційних стічних вод (наприклад, дощової міської каналізації)

на підставі спільних досліджень з відділом біофізики та радіобіології Інституту клітинної біології та генної інженерії НАН України



3. Ремедіація техногенних масивів з агресивною поверхнею за допомогою спеціально підібраних ембріофітів

на підставі багаторічних (2004-2010 рр., 2014-2018 рр.) екологічних досліджень на шламосховищах ТОВ «Миколаївський глиноземний завод»



МАКРОФІТИ У СИСТЕМІ ДЕЗАКТИВАЦІЇ Й РОЗСОЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ВОДОЙМ (АЕС, ТЕС, ТОЩО)

Виділено місцеві вищі водні рослини – МАКРОФІТИ, які мають високі акумуляційні властивості щодо утримання металів: кобальту (Co), сурми (Sb), ванадію (V), лантану (La), вольфраму (W) та радіоактивних речовин (^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{54}Mn , ^{60}Co):

Коефіцієнти акумуляції

$$k_{\text{algae}}^i = \frac{C_{\text{algae}}^i \left(\frac{\text{Bк}}{\text{Bк}} \right)}{C_{\text{water}}^i \left(\frac{\text{Bк}}{\text{Bк}} \right)}$$

	^{137}Cs , ^{134}Cs	^{90}Sr	^{54}Mn	$^{108\text{m}}\text{Ag}$, $^{110\text{m}}\text{Ag}$	^{103}Ru , ^{106}Ru	^{57}Co , ^{60}Co
Water						
Cooling pond	1200	1500	2500	3800	4300	4200
3 rd rate of bio purification of OS	1250	1200	3500	6200	5200	4000
Alexander Reservoir	980	120	–	–	–	–
Trikrat Reservoir	1100	70	–	–	–	–
Taboriske reservoir	1100	70	–	–	–	–

1 МІСЦЕ за акумуляційними властивостями серед МАКРОФІТІВ:

Рдест (*potamogeton natans*)

Нитчасті водорості (*Cladophora frasta*)



2 МІСЦЕ за акумуляційними властивостями серед МАКРОФІТІВ:

Ряска (*Lemna minor* L.,
Lemna trisulca L.)

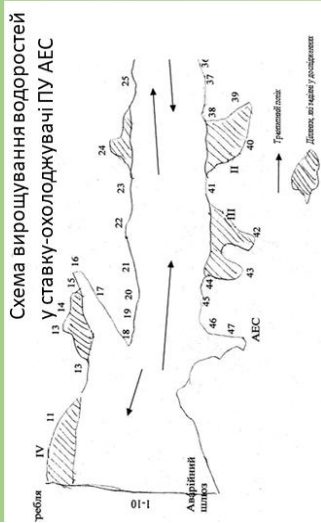
Роголистник (*Ceratophyllum platyacanthum* Cham., *Ceratophyllum submersum* L.),



Елодея (*Eloдея bifoliata* H. St. John, *Eloдея callitrichoides* (Rich.) Casp., *Eloдея canadensis* Michx)



Апробація методу здійснено у ставку-охолоджувачі Південно-Української АЕС з результатами:



за 2-3 вегетаційних періода виноситися 75% активності основних дозостворюючих радіонуклідів та їхніх солей

Метод є економічно привабливим і безвідходним:

використовує поширені у
поверхневих водоймах
водні рослини

передбачає утилізацію водяних рослин:

-через спалювання з послідовним використанням попелу (після радіометричного контролю) в якості сольової домішки до харчового раціону домашньої худоби,

- використання для отримання біогазу.

ЕМБРЮФІТИ У ГІДРОФІТНІЙ СИСТЕМІ БІОПЛАТО ДЛЯ ОЧИЩЕННЯ КАНАЛІЗАЦІЙНИХ СТИЧНИХ ВОД (НАПРИКЛАД, ДОЩОВОЇ МІСЬКОЇ КАНАЛІЗАЦІЇ)

спільно з відділом біофізики та радіобіології Інституту клітинної біології та генної інженерії НАН України

1. Створення гідрофітної системи

Основа:

- гранулований пінопласт,
- агроперліт (- покращує доступ повітря до коріння рослин, - вбирає і поступово віддає вологу, - покращує доступ поживних речовин до рослин, - покращує аерацію і дренаж ґрунту, - сприяє зниженню кислотності, засоленості ґрунту, - підвищує опірність мікробному гниттю),
- підтримуюча сітка по периметру біоплато.



2. Виділення рослин з високими ризофільтруючими властивостями щодо іонів хрому, цинку та кадмію-137



Ячмін' звичайний
(*Hordéum vulgare*),



Тимофівка лучна
(*Phleum pratense* L.),



Вівсяниця лучна
(*Lolium pratense*)

3. Створення біоплато з рослинами-ризодільтрами



Вигляд міні-біоплато з
рослинами тимофіївки на 12-ту
добу пророщування

"ГРІНПАРК" – КОМБІНОВАНЕ БІОПЛАТО З РОСЛИН РИЗОФІЛЬТРІВ ТА ПІДВОДНИХ МАКРОФІТІВ



&



Переваги запропонованого біоплато:

- для будівництва не потрібні додаткові земельні ділянки;
- низькі витрати на будівництво та видалки при експлуатації;
- експлуатація не потребує витрат електроенергії, хімічних реактивів;
- в період експлуатації споруд та нагляду за ними може виконувати працівник з середнім рівнем кваліфікації;
- екологічна безпечність;
- низька вартість очищення;
- високий ступінь очищення.

Інші можливі напрямки практичного застосування запропонованого типу біоплато

Укріплення берегів за допомогою біоплато, в якому в якості фітокомпонту використані деревні види



РЕМЕДІАЦІЯ ТЕХНОГЕННИХ МАСИВІВ З АГРЕСИВНОЮ ПОВЕРХНЕЮ ЗА ДОПОМОГОЮ СПЕЦІАЛЬНО ПІДІБРАНИХ ЕМБРІОФІТІВ

Шламосховище №1 -

Проектна потужність шламосховища №2 – 1,5 млн. куб м шламу на рік.

Орієнтовано зараз
накопичено 43,5 млн.
тонн червоного шламу

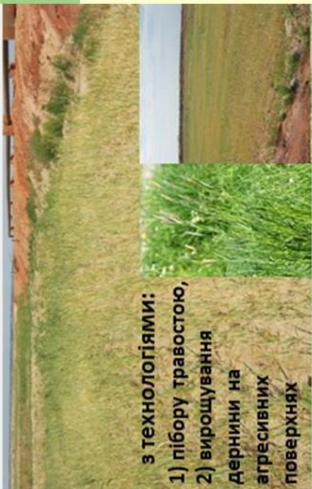


Відмінною рисою хвостосховищ глиноземних заводів, при цьому, є:

- висока лужність червоних шламів (рН шламів МГЗ – від 8 до 12),
- присутність токсичних полотногнів: токсичними солями, що впливають на рослини, є NaCl , CaCl_2 , CaF_2 , Na_2SO_4 , NaHCO_3 , Na_2CO_3 .

При вмісті токсичних солей 0,8–1,5 % та при рН більше 9 і вище рослини гинуть.

Фіторе mediaція поверхонь техногенних масивів



з технологіями:

- 1) пібору травостою,
- 2) вирощування дернини на агресивних поверхнях

Технологія пібору травостою для дернини і її укладання

1. Компоненти травостою для дернини потрібно відбирати з запропонованої групи для відповідності вимогам:
 1. Природні травостої
 2. Стійкі до солей
 3. Засухо- та морозостійкі
 4. Здатні до корототривалого затоплення (навесні - за рахунок такої вод. влітку - під час літа)
 5. Здатні до комбінованого використання поживних речовин
 6. Здатні до утворення довготривалої дернини.



-бекманію лучну
(*Beckmannia eruformis*),



-китник лучний
(*Alopecurus pratensis*),
-тонконіг лучний (*Poa pratensis*),



-пожитницю багаторічну
(*Lolium perenne*),



-кострицю лучну (*Festuca pratensis* L. var. *Arundinacea*),

2. Після розкошування і закріплення рулонів дернини на пляжах і оазах – регулярне (1 раз на тиждень) дощування протягом 1-2 місяців.
3. Перед поверненням дернини на місце у випадку підняття дернини для виїмки шлангу – обов'язкове локальне підкислення поверхні



-пір'я повзучий
(*Agropyrum repens*),



-куколицю білу
(*Melandrium album*),



-берізку польову
(*Convolvulus arvensis*),

Технологія пібору травостою для дернини і її укладання

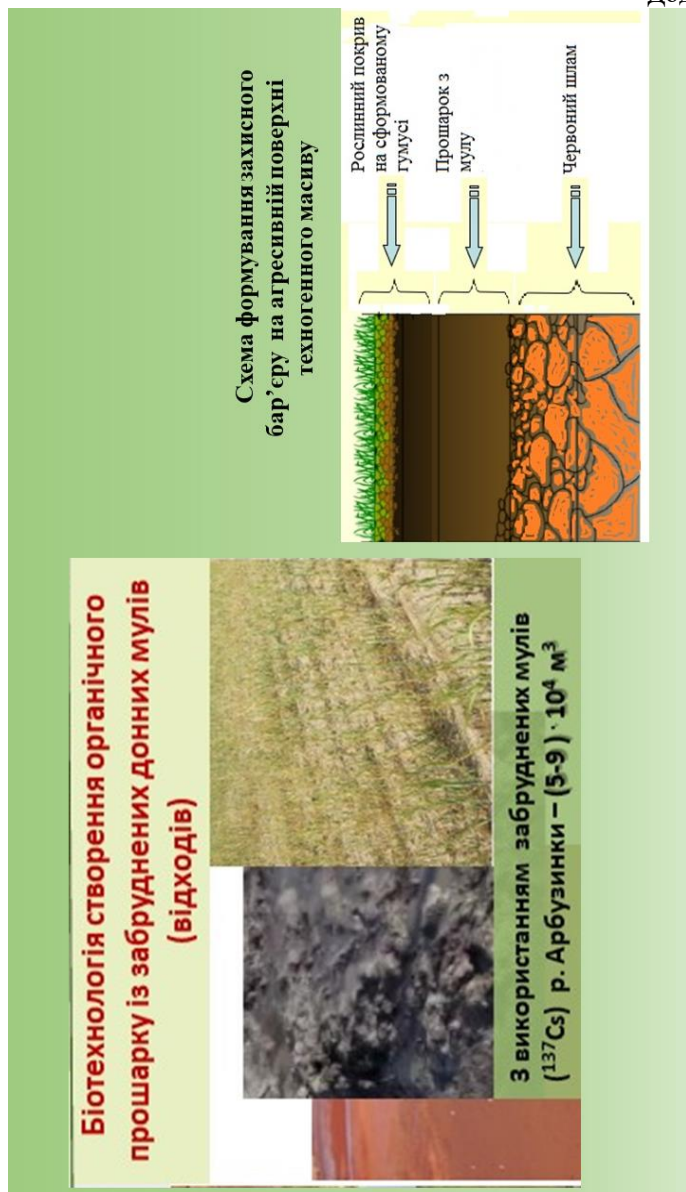
1. Компоненти травостою для дернини потрібно відбирати з запропонованої групи для відповідності вимогам:
 1. Природні травостої
 2. Стійкі до солей
 3. Засухо- та морозостійкі
 4. Здатні до корототривалого затоплення (навесні - за рахунок такої вод. влітку - під час літа)
 5. Здатні до комбінованого використання поживних речовин
 6. Здатні до утворення довготривалої дернини.

- бекманію лучну (*Beckmannia eruformis*),
- китник лучний (*Alopecurus pratensis*),
- тонконіг лучний (*Poa pratensis*),
- пожитницю багаторічну (*Lolium perenne*),
- кострицю лучну (*Festuca pratensis* L. var. *Arundinacea*),

- пір'я повзучий (*Agropyrum repens*),
- куколицю білу (*Melandrium album*),
- берізку польову (*Convolvulus arvensis*),

2. Після розкошування і закріплення рулонів дернини на пляжах і оазах – регулярне (1 раз на тиждень) дощування протягом 1-2 місяців.
3. Перед поверненням дернини на місце у випадку підняття дернини для виїмки шлангу – обов'язкове локальне підкислення поверхні

113



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Abas A., Awang A., Aiyub K. // *Applied Ecology & Environmental Research*. 2020. 18(1): 1175-1182.
2. Acar, Y. B., and Alshawabkeh, A. N. (1993). «Principles of electrokinetic remediation.» *Environ.Sci.Technol.*, 27(13), 2638.
3. Anderle M., Brambilla M., Angelini L., Guariento E., Paniccia C., Plunger J., Seeber J., Stifter S., Tappeiner U., Tasser E., Hilpold A. // *Ecological Indicators*. 2024. 158: 111569.
4. Artiola J.F. *Environmental Monitoring and Characterization/* Artiola J.F., Pepper I.L., Brusseau M.L. Elsevier Academic Press, San Diego, 2004. – 410 p.
5. Baron EJ Classification. In: *Baron's Medical Microbiology* (Baron S et al., eds.). – 4th. – Univ of Texas Medical Branch, 1996. – ISBN (via NCBI Bookshelf) ISBN 0-9631172-1-1]
6. Celli, G. i Maccagnani, B. (2003). Мед бджоли як біоіндикатори забруднення навколишнього середовища. *Бюлетень інсектології* 56 (1): 137-139.
7. Conesa Fdez-Vitora, V. (2010). Методичний посібник для оцінки впливу на навколишнє середовище. Четверте видання. Видання Mundi-Press. pp. 864.
8. De Battisti, A., and Ferro, S. (2007). Electrokinetic remediation. *Electrochem Acta*. 52(10), 3345.
9. Gadzala-Kopciuch, R., Berecka, B., Bartoszewicz, J. and Buszewski, B. (2004). Деякі міркування про біоіндикатори в екологічному моніторингу. *Польський журнал екологічних досліджень*, т. 13, № 5, 453-462.
10. Lancefield RC (1933). «A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci» (abstract). *J Exp Med* 57 (4): 571–95. DOI:10.1084/jem.57.4.571. PMID 19870148
11. Markert, B. (2007). Визначення та принципи біоіндикації та біомоніторингу мікроелементів у навколишньому середовищі. *Журнал мікроелементів в медицині та біології*, 21, 77-82. doi: 10.1016 / j.jtemb.2007.09.015
12. Market, B.A., Breure, A.M. та Zechmeister, H.G. (2003). Визначення, стратегії та принципи біоіндикації / біомоніторингу навколишнього середовища. В: *Біоіндикатори і біомонітори*. Market, B.A., Breure, A.M. та Zechmeister, H.G. редактори. Elsevier Science Ltd.
13. Pacific Northwest Laboratory., (U.S.), and United States. (1994). «In situ soil remediation using electrokinetics.» Pacific Northwest National

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Laboratory (U.S.) ;distributed by the Office of Scientific and Technical Information, U.S. Dept. of Energy, Richland, Wash. :Oak Ridge, Tenn.. – 34 p.

14. Reddy, K. R., Cameselle, C., (2009). Electrochemical remediation technologies for polluted soils, sediments and groundwater. Wiley, Hoboken, N.J.

15. Ryan KJ; Ray CG (editors) Sherris Medical Microbiology 4th ed.. – McGraw Hill, 2004. ISBN 0-8385-8529-9.

16. Ryan KJ; Ray CG (editors) Sherris Medical Microbiology. – 4th. – McGraw Hill, 2004. – ISBN 0-8385-8529-9

17. Thakur M., Bhardwaj S., Kumar V., Rodrigo-Comino J. // Total Environment Advances. 2024. 9: 200085. 5. Abas A., Awang, A. // Pollution research. 2017. 36(2): 242-249.

18. Virkutyte J. Electrokinetic soil remediation – critical overview/ Virkutyte J., Sillanpää M. Sci Total Environ. 2002. – Apr 22. – 289(1-3). – P.:97 – 121.

19. Білявський Г.О., Падун М.М., Фурдуй Р.С. Основи загальної екології. – К.: Либідь, 1993. – 303с.

20. Григор'єва Л.І. Радіаційна екологія та радіаційна безпека: Навчальний посібник. – Миколаїв: Вид-во ЧНУ ім. Петра Могили, 2023. 227 с.

21. Григор'єва Л.І., Томілін Ю.А. Нормування антропогенного навантаження на навколишнє середовище: Навчальний посібник. – Миколаїв: Вид-во МДГУ ім. Петра Могили, 2005. – 174 с.

22. Гродзинський Д.М., Шиліна Ю.В., Михеев О.М. Застосування рослинних тест-систем для оцінки комбінованої дії факторів різної природи // Методичні рекомендації по оцінці допустимих рівнів радіонуклідного та хімічного забруднення за їх комбінованої дії. – Київ: Фітосоціо-центр, 2006. – 60 с.

23. Джигирей В.С. Екологія та охорона навколишнього природного середовища: навч. посіб. – 2-ге вид. – К.: Т-во «Знання», КОО, 2002. – 203 с.

24. Директива Європейського Парламенту і Ради 2009/147/ЄС від 30 листопада 2009 року про збереження диких птахів. Режим доступу: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/984_001-09#Text

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

26. Огородник А.М. Запобігання дефляції на хвостосховищах підприємств видобувної і переробної промисловості комплексним методом пило-

пригнічення // Дисертація. – ДЕА післядипломної освіти та управління. – Київ, 2012. – 196 с.

27. Салівон А.Г., Кутлахмедов Ю.О., Леньшина А.М. Проблеми екологічного нормування допустимих стресів від радіонуклідів в екосистемах // Науковий вісник МДУ ім. В.О. Сухомлинського – Серія: Біологічні науки, 2008. – Вип. 23. – № 3. – С. 82-86.

28. Салівон А.Г., Леньшина А.М., Біліченко І.А. Дослідження ролі процесів адаптації та відновлення у ефектах радіації та важких металів на модельній екосистемі // Науковий вісник МДУ ім. В.О. Сухомлинського – Серія: Біологічні науки, 2007. – Вип. 7 – С. 227 – 230.

29. Татаріко Ю. О. Еколого-енергетична оцінка ґрунтів / Ю. О. Татаріко, О.Є. Несмашна // Агроєкологія і біотехнологія. – 2008. – Вип.2. – 412 с.

30. Томілін Ю.А., Григор'єва Л.І. Радіонукліди у водних екосистемах південного регіону України: міграція, розподіл, накопичення, дозове навантаження на людину і контрзаходи. / Монографія. – Миколаїв: Видавничий центр МДГУ ім. Петра Могили, 2008. – 270 с.

ДЛЯ НОТАТОК

ДЛЯ НОТАТОК

Навчальне видання

Людмила Іванівна ГРИГОР'ЄВА

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ БІОІНДИКАЦІЇ І БІОРЕМЕДІАЦІЇ ДОВКІЛЛЯ

Навчальний посібник

Редактор *О. Михайлова*

Комп'ютерна верстка, дизайн обкладинки *К. Гросу-Грабарчук*
Друк *С. Волинець*. Фальцювальні-палітурні роботи *О. Мішалкіна*.

Підп. до друку 23.05.2025.

Формат 60х84 ¹/₁₆. Папір офсет.

Гарнітура «Times New Roman». Друк різнограф.

Ум. друк. арк. 6. Обл.-вид. арк. 5,3.

Тираж 100 пр. Зам. № 6981.

Видавець і виготовлювач: ЧНУ ім. Петра Могили.

54003, м. Миколаїв, вул. 68 Десантників, 10.

Тел.: 8 (0512) 50–03–32, 8 (0512) 76–55–81, e-mail: rector@chmnu.edu.ua.

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 6124 від 05.04.2020.