

## БІОІНДИКАЦІЙНІ МЕТОДИ СПОСТЕРЕЖЕНЬ ЗА СТАНОМ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

Крайнюков О.М., Стріян К.О., Крайнюков О.О.

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Показано наявні методи біологічних досліджень стану навколишнього середовища. Проведено експериментальні біоіндикаційні дослідження на вівсі *Avena sativa* L., який вирощувався у лабораторних умовах та на сільськогосподарських ділянках у пгт. Липці Харківського району та у м. Харків в районі Коксохімзаводу в липні 2017 року. У витяжці пігментів визначали оптичну щільність витяжки на спектрофотометрі ULAB-102 та концентрацію хлорофілів а і b і каротиноїдів. Встановлено, що в витяжці пігментів із зерен вівса, які було пророщено у лабораторних умовах у термолюміністаті співвідношення  $\text{Chl a} / \text{Chl b}$  та  $(\text{Chl a} + \text{b}) / \text{car}$  є найвищим у порівнянні із іншими двома ділянками, що може бути обумовлено більш сприятливими умовами при проростанні зерен вівса, а також відсутністю антропогенного впливу.

**Ключові слова:** біоіндикації, поллютанти, пігменти, хлорофіл, каротиноїди.

**Постановка проблеми.** Одним із ефективних шляхів попередження забруднення навколишнього середовища хімічними речовинами токсичної дії є використання методу біотестування, який застосовується для розробки стандартів якості різних компонентів природного середовища, визначення токсичних властивостей середовища.

Починаючи з 70-х років минулого століття у ряді розвинених країн проблема запобігання токсичному забрудненню природного середовища вирішується досить ефективно шляхом використання біологічних методів моніторингу навколишнього середовища.

Однією із глобальних проблем сучасності є проблема забрудненості довкілля, у тому числі атмосферного повітря. Ця проблема з кожним роком загострюється, оскільки посилюється антропогенний вплив на навколишнє середовище і тому потрібно здійснювати постійний моніторинг за станом довкілля та давати йому екологічну оцінку. Ступінь чистоти повітря можна визначити багатьма методами, але більшість з них дуже складні або дорогі. Економічна ситуація в Україні зумовлює необхідність пошуку альтернативних варіантів для визначення забруднення атмосферного повітря.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Рослинні організми відіграють ключову роль у більшості наземних екосистем. Рослини, які є первинними продуцентами, визначають усі природні статті балансу речовини та енергії. Завдяки асиміляційному апарату рослини пристосовані до значно більш низьких концентрацій кисню в атмосфері, ніж тварини і людина, тому вони більш чутливі до концентрацій шкідливих речовин у повітрі і особливо придатні для виявлення початкових екологічно небезпечних змін складу повітря біосфери [1-3]. Чутливість рослин до такого розповсюдженого полютанту, як двоокис сірки, на порядок вище, ніж у людини і тварин.

У ряді країн морфологічні фітоіндикатори використовуються у національній системі моніторингу атмосфери, у тому числі у Нідерландах вже більше 10 років. За допомогою методів біоіндикації, що ґрунтуються на морфології рослин, одержано більшу частину картосхем антропогенного впливу полютантів повітряного середовища.

Перспективними для біомоніторингу промислових викидів є показники фізіолого-біохімічних процесів рослинних організмів, тому що функціональна діагностика стану рослин дозволяє більш оперативно одержувати інформацію про небезпеку атмосферних забруднень для живих організмів [4].

Крім організменного рівня, в методах біоіндикації антропогенних забруднень повітря використовуються популяційний і біоценотичний рівні. Під впливом полютантів змінюється продуктивність рослин, відбувається їх загибель, що змінює щільність популяцій. У крайньому випадку це може призвести до зникнення популяції, вимирання виду. Наприклад, токсичний легкий пил, що містить оксиди металів поблизу металургійних заводів, а також калійний пил і викиди в атмосферу HCl навкруги підприємств по виробництву калійних добрив викликають значне пошкодження лісу, а у випадках утворення димових прогалин – значне скорочення деревостоїв і відмирання видів нижнього ярусу [5].

Особливу роль у біоіндикації стану атмосфери відіграють методи ліхеноіндикації. Кількісна оцінка і картографування лишайників дають досить чітку картину якісного стану повітря і точно вказують на джерела викидів. Застосування ліхеноіндикації дає хороші результати для реєстрації вмісту у повітрі сірчанистого ангідриду, фторидів, важких металів, кальційвміщуючого пилу, таке інше. Лишайники, що є однією з найбільш чутливих складових екосистем, можуть бути використані для ранньої діагностики порушень, коли реакції інших компонентів ще не виражені [6-8]. Під впливом забруднюючих речовин у лишайників з'являються порушення пігментного апарату, дихання, ферментативної активності, обезбарвлювання таломів, тріщини та некротичні плями, відставання лопастей від субстрату та ін.

У результаті застосування ліхеноіндикаційних методів були складені карти, на яких відображені зони деградації лишайникових угруповань, що відповідають зонам з різним ступенем забруднення повітряного середовища.

Не меншу чутливість у порівнянні з лишайниками мають мхи, насамперед епіфітні, у зв'язку з чим їх також використовують у біоіндикаційних методах виявлення атмосферних забруднень [9].

Таким чином, рослини на всіх рівнях організації і систематичної приналежності є біоіндикаторами стану повітряного середовища.

Як реакції на вплив поллютантів повітря використовуються також фізіологічні (зміни стану кров'яної плазми і клітин крові, активності ферментів), поведінкові реакції, зміни в популяціях, ґрунтуються на скороченні чисельності або зникненні тваринного виду [10].

Так, схильні до масового розмноження комахи-шкідники у забруднених димовими викидами лісах відчувають вплив цього забруднення за рахунок фізіологічного ослаблення дерев, на яких вони паразитують. У результаті зростає щільність комах (різних видів попелиць, клопів-підкорників, молей-пістрянок, листовертков, златок і короїдів) [3].

У епігейних і мешкаючих на трав'янистих рослинах членістоногих, навпаки, щільність популяції знижується під впливом вихлопних газів у районах автошляхів з інтенсивним рухом. Особливо чутливими до вихлопних газів виявляються жулички.

У цілому реакції тварин на антропогенні забруднення атмосфери трудніше піддаються інтерпретації, ніж рослин. Тварини у природних умовах відчувають вплив багаточисельних природних факторів, які змінюють їх стан. У комах-шкідників рослин вплив забруднюючих повітря речовин частіше є опосередкованим і залежить від стану рослини-господаря, який погіршується у присутності поллютантів [11].

У теперішній час на основі багатократних спостережень за відгуками рослинних і тваринних організмів на забруднення атмосфери складені списки біоіндикаторів шкідливих речовин, що містяться у промислових викидах і вихлопних газах, з вказівкою на характерні зміни, які викликані певними поллютантами.

На даний час дослідження впливу забруднюючих речовин на вміст хлорофілу у рослинах зустрічається у багатьох працях науковців. Зокрема, у роботі [12], досліджено стан рослин *Picea pungens* Engelm. при зростанні на різних відстанях від міської магістралі з високою інтенсивністю автомобільного руху. Найвища кількість хлорофілу а у хвої ялини колючої виявлена у травні, надалі вона знижується в літні місяці, а потім дещо зростає у вересні в усіх варіантах досліду. Подібна закономірність характерна і для змін вмісту хлорофілу б. Це свідчить про те, що за сильного стресу хвоя проявляє чутливість до негативного впливу викидів автомобілів, але зі збільшенням відстані від магістралі цей вплив суттєво ослаблюється.

У статті [13] досліджено вплив застосування гербіциду Трофі 90 на вміст фотосинтетичних пігментів у листках кукурудзи та на показник чистої продуктивності посівів культури. У ході робіт встановлено, що норми препарату мають різний вплив на величину досліджуваних показників. Проведений регресійного аналізу виявив тісний кореляційний зв'язок між вмістом суми хлорофілів (а+б) та показником чистої продуктивності фотосинтезу.

У роботі [14] обговорюються основні методологічні підходи та параметри, які використовують в дослідженнях флуоресценції хлорофілу,

а також їхнє застосування у фундаментальних і прикладних дослідженнях з фізіології рослин. Будучи принципово неінвазивним, аналіз флуоресценції хлорофілу дозволяє проводити дистанційний моніторинг фізіологічного стану інтактних рослин та раннє виявлення стресового стану за умов *in situ*.

**Виклад основного матеріалу.** Метою даної роботи було визначення вмісту основних пігментів фотосинтетичного апарату у листках вищих рослин.

Якісний і кількісний склад пігментів є (в фізіологічному сенсі) показником пристосованості рослини до умов навколишнього середовища.

Так, кількість хлорофілу і каротиноїдів більше у тінювитривалих рослин. Співвідношення хлорофілів а і б (Chl a / Chl b) також є показником хроматичної адаптації і змінюється в ряду рослин тінювитривалі → світлолюбні → альпійські: 2,5 → 3,5-3,9 → до 5,5.

Часто вміст хлорофілу в досліджуваному зразку необхідно знати, щоб розрахувати питому інтенсивність будь-якої фотосинтетичної реакції.

Експеримент було здійснено на вівсі *Avena sativa* L., який вирощувався у лабораторних умовах та на сільськогосподарських ділянках у пгт. Липці Харківського району та у м. Харків в районі Коксохімзаводу в липні 2017 року. У лабораторних умовах 30 зерен вівса розміщували в чашках Петрі у термолюміностаті з рівномірним освітленням інтенсивністю від 2500 до 5000 лк. Лампи денного світла розташовують над чашками Петрі на відстані 30-40 см. та за допомогою реле часу освітлення зерен вівса продовжувалось 16 годин на добу, температура у термолюміностаті підтримувалась у діапазоні (22±4)° С.

Через три тижні на всіх ділянках було зібрано пророщену зелену масу вівса і проведено наступну пробо підготовку: наважку рослинного матеріалу 100 мг подрібнювали ножицями і ретельно розтирали в ступці з невеликою кількістю осушувача, кварцового піску (на кінчику шпателя) і 80% ацетону (2-3 мл) та настоювали 2-3 хв. Отриманий гомогенат фільтрували. Ступку і товкач обполоскували невеликою кількістю розчинника та зливали на фільтр. Екстракцію пігментів з гомогенату на фільтрі невеликими порціями чистого розчинника повторювали до тих пір, поки фільтрат не став безбарвним. Екстракт з пробірки кількісно переносили у мірну колбу на 25 мл, довели до мітки чистим розчинником.

Для розрахунку концентрації хлорофілів а і б і каротиноїдів в витяжці пігментів визначали оптичну щільність витяжки на спектрофотометрі ULAB-102 при довжинах хвиль, відповідних максимумів поглинання визначених пігментів в даному розчиннику:  $\lambda = 663, 646$  і  $470$  нм. Контроль – чистий розчинник (80% ацетон),  $l$  кув. = 1 см.

Концентрацію пігментів в витяжці розраховують за формулою (формула Lichtenthaler, 1987 для визначення хлорофілів і каротиноїдів у 80% ацетоні):

$$\text{Chl a [мг/л]} = 12,21 \cdot D_{663} - 2,81 \cdot D_{646} \quad (1)$$

$$\text{Chlb [мг/л]} = 20,13 \cdot D_{646} - 5,03 \cdot D_{663} \quad (2)$$

$$\text{Scar [мг/л]} = (1000 \cdot D_{470} - 3,27 \cdot \text{CX}_{\text{л а}} - 100 \cdot 3 \text{X}_{\text{л б}}) / 229 \quad (3)$$

де, D470, D646 і D663 – оптична щільність витяжки при 470, 646 і 663 нм. відповідно;

C – концентрація пігменту в витяжці, [мг/л].

Встановивши концентрацію пігменту в витяжці, визначали його вміст в досліджуваній тканині з урахуванням обсягу витяжки та маси проби:

$$F [\text{мг} / \text{г сир.масси}] = (V \cdot C) / P \quad (4)$$

де, F – вміст пігменту в рослинному матеріалі, [мг / г сир. маси];

V – об'єм витяжки, [л];

C – концентрація пігменту, [мг/л];

P – навішування рослинного матеріалу, [г].

Розраховували співвідношення пігментів Chl a / Chl b і (Chl a + b) / car.

Кількість пігментів представляли в міліграмах на одиницю сирової або сухої маси, на одиницю площі листа і в % від сухої (сирової) маси.

За результатами проведених експериментів було отримано наступні результати: в витяжці пігментів із зерен вівса, які було пророщено у лабораторних умовах у термолюміностації співвідношення Chl a / Chl b та (Chl a + b) / car є найвищим у порівнянні із іншими двома ділянками, що може бути обумовлено більш сприят-

ливими умовами при проростанні зерен вівса, а також відсутністю антропогенного впливу.

Таблиця 1  
Результати вимірювання вмісту хлорофілів a і b в зразках вівса *Avena sativa* L., які було вирощено в різних умовах

	Сільськогосподарська ділянка, пгт. Липці	Сільськогосподарська ділянка, м. Харків, район Коксохімзаводу	Термолюміностація
Chl a, мг/л	44,97	31,27	26,94
Chl b, мг/л	14,15	21,75	8,33
car, мг/л	19,31	16,19	9,01
Chl a / Chl b	3,17	1,43	3,23
(Chl a + b) / car	3,06	3,27	3,91

Джерело: розроблено автором

**Висновки.** На основі результатів досліджень показано, що при вирощуванні вівса *Avena sativa* L. у лабораторних умовах спостерігається більша інтенсивність фотосинтетичної реакції.

## Список літератури:

1. Меннинг У. Д. Биомониторинг загрязнения атмосферы с помощью растений. – Л.: Гирометеоиздат, 1985. – 143 с.
2. Заплатин Б. П. Биотестирование атмосферных загрязнений по содержанию хлорофилла и активности полифенолоксидазы. – Известия ПГПУ им. В. Г. Белинского. – 2008. – № 10(14). – С. 82-87.
3. Николаевский В. С. Экологическая оценка загрязнения среды и состояние наземных экосистем методами фитоиндикации. Пушкино: ВНИИЛМ, 2002. – 220 с.
4. Verna A. & Singh S. N. Biochemical and ultrastructure changes in plant foliage exposed to auto-pollution Environmental Monitoring and Assessment, 120, (2006). – 585-602 pp.
5. Davies L., Bates J. W., Bell J. N. B. et al. Diversity and sensitivity of epiphytes to oxides of nitrogen in London // Environmental Pollution. – 2007. – 146. – P. 299-310.
6. Geebelen W., Hoffman M. Evaluation of bio-indication methods using epiphytes by correlating with SO<sub>2</sub>-pollution parameters // Lichenologist. – 2001. – 33(3). – P. 249-260.
7. Giordani P. Is the diversity of epiphytic lichens a reliable indicator of air pollution? A case study from Italy // Environmental Pollution. – 2007. – 146. – P. 317-323.
8. Herben T., Liska J. A simulation study on the effect of flora composition, study design and index choice on the predictive power of lichen bioindication // Lichenologist. – 1986. – 18. – P. 349-362.
9. Отнюкова Т. Н., Дутбаева А. Т., Жижаев А. М. Особенности биоразнообразия эпифитного покрова и элементного состава древесного субстрата и мхов в условиях различного уровня загрязнения // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2012. – № 3. – С. 85-90.
10. Бойчук Ю. Д. Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах: Матеріали IV Міжнародної наукової конференції. – Дніпропетровськ: Вид-во ДНУ, 2007. – С. 236-239.
11. Канарський Ю. Біоіндикаційна роль денних лускокрилих (Lepidoptera, Papilionoidea) у дослідженні трансформаційних процесів рослинного покриву заповідних територій / І. Царик, Ю. Канарський // Вісн. Львів. ун-ту. Серія біологічна. – Львів, 2002. – Вип. 29. – С. 85-92.
12. Bessonova V. P. & Ponomaryova O. A. Morphometric characteristics and the content of plastid pigments of the needles of *Picea pungens* depending on the distance from the highways. Biosystems Diversity, 25(2), 2017. – 96-101 pp.
13. Заболотний О. І., Леонтюк І. Б., Голодрига О. В., Заболотна О. В. Фотосинтетична продуктивність кукурудзи при застосуванні гербіциду Трофі 90 / О. І. Заболотний // Вісн. Уман. нац. ун-ту садівництва. – Умань, 2014. – Вип. 2. С. 85-90.
14. Поліщук О. В. Методи лабораторних і польових досліджень флуоресценції хлорофілу. Укр. бот. журн., 2017, 74(1): 86-93 с.

**Крайнюков А.Н., Стриян К.А., Крайнюков А.А.**  
Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

## **БИОИНДИКАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ НАБЛЮДЕНИЙ ЗА СОСТОЯНИЕМ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

### **Аннотация**

Показано имеющиеся методы биологических исследований состояния окружающей среды. Проведены экспериментальные биоиндикационные исследования на овсе *Avena sativa* L., который выращивался в лабораторных условиях и на сельскохозяйственных участках в пгт. Липцы Харьковского района и в г. Харькове в районе Коксохимзавода в июле 2017 года. В вытяжке пигментов определяли оптическую плотность вытяжки на спектрофотометре ULAB-102 и концентрацию хлорофиллов а и b и каротиноидов. Установлено, что в вытяжке пигментов из зерен овса, которые были пророщенные в лабораторных условиях в термолуминостае соотношение Chl a / Chl b и (Chl a + b) / car является самым высоким по сравнению с другими двумя участками, что может быть обусловлено более благоприятными условиями при прорастании зерен овса, а также отсутствием антропогенного воздействия.

**Ключевые слова:** биоиндикация, поллютанты, пигменты, хлорофилл, каротиноиды.

**Krainsiukov A.N., Striiian K.A., Krainsiukov A.A.**  
V.N. Karazin Kharkiv National University

## **BIOINDICATION METHODS FOR ENVIRONMENTAL MONITORING**

### **Summary**

The available methods of biological studies of the state of the environment are shown. Experimental bioindicative studies have been carried out on oats of *Avena sativa* L., which was grown in laboratory conditions and on agricultural plots in town Liptsi of the Kharkiv region and in Kharkiv in the district of by-product coke plant in July 2017. In the extraction of pigments, the optical density of the extraction was determined on a spectrophotometer ULAB-102 and concentration of chlorophyll a and b and carotenoids. It was established that in the extraction of pigments from oat grains, which were sprouted under laboratory conditions in a thermoluminescent system, the Chl a / Chl b ratio (Chl a + b) / car is the highest compared to the other two sites, which may be due to more favorable conditions for germination of oats, as well as the absence of anthropogenic influence.

**Keywords:** bioindication, pollutants, pigments, chlorophyll, carotenoids.