

## APLINKOS STEBĖSENOS NAUJOVĖS. BIOINDIKATORIAI IR BIOMONITORIAI: APIBRĖŽTYS, STRATEGIJOS IR TAIKYMAS<sup>1</sup>

Bernd Markert<sup>1</sup>, Simone Wünschmann<sup>2</sup>, Edita Baltrėnaite<sup>3</sup>

<sup>1, 2</sup>EISN institutas, Fliederweg 17, D-49733 Haren/Erika, Vokietija

<sup>3</sup>Aplinkos apsaugos katedra, Vilniaus Gedimino technikos universitetas, Saulėtekio al. 11, LT-10226 Vilnius, Lietuva

El. paštas: <sup>1</sup>markert@schlundmail.de; <sup>2</sup>wuenschmann@schlundmail.de;

<sup>3</sup>edita@vgtu.lt (corresponding author)

Iteikta 2011 09 11; priimta 2011 10 11

**Santrauka.** Jau keletą metų „klasikinės“ aplinkos stebėjimo programos yra papildomos bioindikacinėmis priemonėmis. Atliekami gyvųjų organizmų arba jų liekanų (pvz., durpių) tyrimai, siekiant nustatyti aplinkos būklę kokybiniais (bioindikacija) arba kiekybiniais (biostebėseną) požiūriais. Taip gáunama informacijos apie regiono aplinkos problemas tam tikru metu arba aplinkos pokyčius laikui bėgant (tendencijų analizė). Taikant klasikinę bioindikaciją dažnai stebimos ir organinės, ir neorganinės cheminės medžiagos, matuojamos jų koncentracijos tiksliai nustatytuose bioindikatoriniuose augaluose arba gyvūnuose (taip pat ir žmogaus organizme). Kalbant apie analizes procedūras ir rezultatus, pastebimos panašios bioindikatorių tobulinimo ir naujų analizinių metodų plėtojimo tendencijos. Bioindikacijos plėtrai vykstant jau beveik 30 metų, išskirtinos tam tikros tolesnės plėtotės tendencijos: 1) atliekant išsamius elementų biologinės sistemos tarpusavio sąsajų tyrimus dažniau pasirenkama kelių elementų bendroji analizė; 2) daugiau dirbama (analizinis darbas) sprendžiant naujų rūšių atsiradimo klausimus siekiant pereiti prie aplinkos mokslų, nukreiptų į tikrąjį poveikį; 3) daugiau dėmesio skiriama kompleksiniams bioindikacinėms metodams, nes esant daugybei aplinkos stebėsenos problemų, pavienis bioindikatorius daug vertingos informacijos neteikia. Kompleksinės koncepcijos, pavyzdžiui, daugiaženkls bioindikacijos koncepcija, remdamosi antrosios kartos bioindikacijos metodika, numato paprastų aplinkos apsaugos prevencijos priemonių. Šiame straipsnyje pateikiami tyrimų, atliktų Lietuvoje, pavyzdžiai iliustruoja kelis naujus aspektus formuojant kompleksinę bioindikacijos koncepciją.

**Reikšminiai žodžiai:** aplinkos stebėseną, biostebėseną, bioindikacija, elementų biologinė sistema, kompleksinė biostebėseną, daugiaženkls bioindikacijos koncepcija.

### 1. Įvadas

Aplinką tiriančių mokslų istorijoje buvo apytikriai trys skirtingi informacijos ir žinių, susijusių su mūsų aplinka ir aplinkos sąlygomis bei joje vykstančiais gamtiniais ir antropogeniniais pokyčiais, tarpiniai (jie sąlyginiai ir nėra tiksliai apibrėžti), tai:

- aprašomoji, stebimoji biologija iki maždaug 1950 m.;
- aplinkos mokslų plėtra antrojoje praėjusio amžiaus pusėje (1950–2000 m.);
- dabartinis „senosios“ ir „naujosios“ ekologijos, kurios mokslo objektas yra tvarumo principas, derinys, apimantis naujausią informaciją, ryšių priemonės ir biotechnologiją (Markert *et al.* 2003a).

Informacija apie aplinkos kokybę gali būti renkama paprastu būdu atitinkamai taikant bioindikaciją arba biostebėseną.

P. Mueller (1980) yra pateikęs vieną paprasčiausių, bet kartu ir reikšmingiausių bioindikacijos apibrėžčių: *Bioindikation ist die Aufschlüsselung des Informationsgehaltes von Biosystemen für die Bewertung von Räumen*<sup>2</sup> (naujesnės ir išsamesnės apibrėžties 2 sk.).

*Bioindikacija* (gr. *bios* – gyvybė + lot. *indicatio* – rodymas; angl. *bioindication*) yra aplinkos poveikio biologiniams objektams ar sistemoms vertinimas pagal jų reakciją į tą poveikį (Stravinskienė 2004, 2009). Ji iš esmės yra tradicinės biologijos priemonė. Indikatorių taksonai naudojami siekiant nustatyti aplinkos pokyčių padarinius bei arealų pokyčius arba skilimą. Prieš keletą metų papildomai imta atsižvelgti ir į klimato kaitos bei sparčių pokyčių įtaką. Indikatorinės rūšys gali būti naudojamos kitoms organizmų grupėms arba didesnėms bendrijoms reprezentuoti.

Pagrindinis šio straipsnio tikslas – supažindinti Lietuvos mokslo bendruomenę, besidominčią *bioindikacija* ir *biostebėseną*, su naujais aplinkos stebėjimo aspektais.

#### 1.1. Bendrojo pobūdžio informacija apie aplinką

*Bioindikacija* ir *biostebėseną* privalo suteikti informacijos apie ekosistemų užtaršos mastą arba degradaciją. Taikant bioindikaciją galima gauti dvejopos informacijos – bendrojo pobūdžio informacijos, rizikuojant pernelyg supaprastinti klausimus, ir specifinės, – kuri yra išsami, objektyvi, atkurama ir tiksli. Pavyzdžiui, siekiant gauti daugiau ben-

<sup>1</sup> Šis straipsnis iš dalies yra susijęs su B. A. Markert, A. M. Breure, ir H. G. Zechmeister (red.) darbu (2003b);

<sup>2</sup>Bioindikacija yra supaprastintos informacijos apie biosistemas kaupimas, leidžiantis įvertinti aplinką.

drojo pobūdžio informacijos apie aplinką, tam tikras teršalas gali būti susietas su viena fiziologine reakcija *bioindikatoriaus* organizme. Ekstrapoluojuojant *bioindikacijos* būdu gautus duomenis ir informaciją, subjektyvumo ir interpretavimo tikimybė tiek didesnė, kiek sudėtingesnė ir kaitesnė sistema. Ši subjektyvumo padidėjimą, siejamą su informacijos pagausėjimu, vaizduoja „žinių laiptai“ (1 pav.) (Roots 1992). Šių laiptų pirmojo laiptelio pastebėjimai ir matavimų rezultatai, patikrinti pagal sutartus standartus, tampa duomenimis.

Tinkamai surinkti, patikrinti ir su dalykine sritimi susieti duomenys gali būti laikomi informacija. Savo ruožtu susisteminta ir išaiškinta, nagrinėjamos arba svarbioms sritims pritaikyta informacija gali tapti pastoviomis žiniomis. Tokios įsisavintos logiškai įvertintos bei papildoma informacija pagrįstos žinios gali būti suvoktos ir siejamos su pirmiau gautais pagrindiniais faktais bei informacija, o pagal kai kuriuos matavimus vertinimo lemiamas supratimas gali virsti išmintimi. Apskritai, kylant „laiptais“ bei didėjant žmogiškųjų veiksmų įtakai, duomenų ir sąvokų subjektyvumas didėja (Roots 1996) (1 pav.).

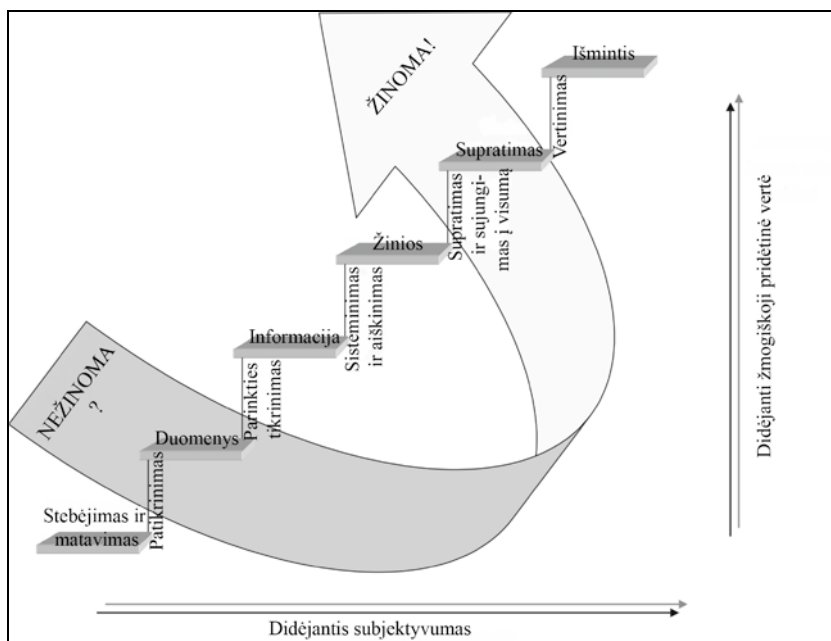
## 1.2. Specifinė informacija apie aplinką

*Bioindikacijoje*, siekiant padaryti aiškias išvadas, pvz., apie teršalą ir jo poveikį organizmams (*bioindikatoriams*), yra būtina specifinė ir išsami informacija apie sistemas. 2 pav. supaprastintai atvaizduotas tam tikros taršos poveikis sudėtingiems ekosistemos ryšiams bei *bioindikatorių* ir *biomonitorių* indikuotieji pokyčiai (Markert 1996). Paprastai tariama, jog teršalas paveikia organizmą, ir šis naudojamas tyrimams kaip *bioindikatorius* arba *biomonitorius*. Tiek organizmas, tiek teršalas kartu sąveikauja su kitomis ekosistemos dalimis (2 pav.). Taigi organizmo gyvavimui turi įtakos daugybė biotinių ir abiotinių veiksnių, jis gali priklausyti nuo bendrojo kelių teršalų poveikio, ypač natūraliomis sąlygomis (iš gausios literatūros šiuo klausimu

straipsnio autoriai subjektyviai parinko šiuos šaltinius: Adriano 1986, 1992; Markert, Weckert 1993; Cook 1999; Wuenschmann *et al.* 2001, 2002, 2008; Pla *et al.* 2000; Golan-Goldhirsh *et al.* 2004; Lux *et al.* 2004; Renella *et al.* 2004; Broadley *et al.* 2007, 2008; Fraenzle, Markert 2007; Fraenzle *et al.* 2007, 2008; Lepp, Madejon 2007; Markert 2007; Schroeder *et al.* 2007, 2008a, b; Quartacci *et al.* 2007; Cakmak 2008; Chaney *et al.* 2008; Gimbert *et al.* 2008; Greger 2008; Hanikenne *et al.* 2008; Hardley, Lepp 2008; Irtelli, Navari-Izzo 2008; Li *et al.* 2008; Marmiroli, Maestri 2008; Mench *et al.* 2006; Poschenrieder *et al.* 2008; Prasad 2008; Rezek *et al.* 2008; Schwitzguébel *et al.* 2008; Smeets *et al.* 2008; Trapp *et al.* 2008; Verkleij 2008; Verbruggen *et al.* 2009; Lietuvninkas 2012).

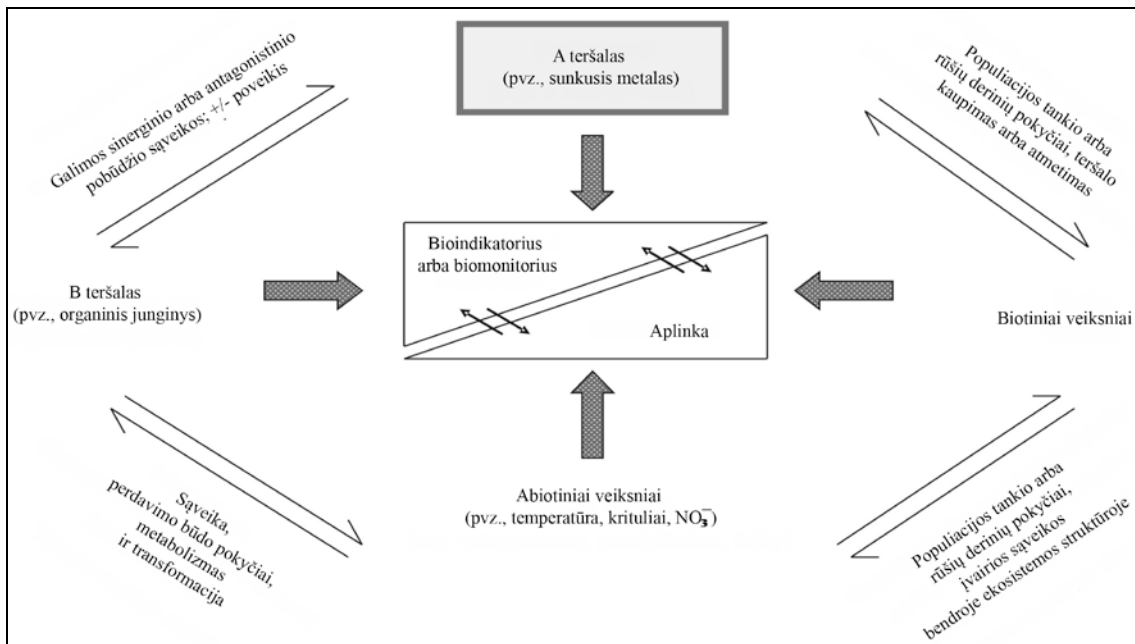
Aiškinant informaciją, gaunamą tiriant bioindikatorius ir biomonitorius, dažnai kyla klausimas, kas iš tikrųjų lemia pastebėtusius *bioindikatorių* ir *biomonitorių* ar iš jų nustatomus (išmatuojamus) pokyčius. Net atlikus bendrą daugiafunkcę ir daugiastrukūrę įvairių ekosistemos dalių peržiūrą, specifiniai veikimo mechanizmai dažnai likdavo nepaaiškinti. Tai, kad stebėti pasirinktas teršalas yra glaudžiai susijęs su visomis kitomis aplinkos dalimis, situaciją daro dar sudėtingesnę. Taigi yra abejotina, nors ir visai tikėtina, kad A teršalas nesąveikauja su B teršalu sinergiškai arba antagonistiškai (2 pav.).

Be to, nei A, nei B teršalo absorbcijos vyksmas, nei veikimo ir metabolizmo vietos dar nėra pakankamai aprašyta. Nepaisant to, A teršalas gali paveikti kitus gyvulius organizmus, o šie į A teršalą gali reaguoti dar jautriau negu pats *bioindikatorius*. Jeigu dėl to pakinta jautresnio organizmo populiacijos tankis, gali pakisti ir pačių *bioindikatorių* kiekis, bent jau dėl to, kad jautresnis organizmas tiesiogiai ar netiesiogiai konkuruoja su *bioindikatoriumi*. Klausimas, ar galima daryti išvadą apie esamą visos ekosistemos būklę tyrinėjant pavienį *bioindikatorių*, tebėra neatsakytas (Markert 1996).



1 pav. Pagal E. F. Roots modifikuoti „žinių laiptai“ (1996)

Fig. 1. The staircase of “knowing”, modified after E. F. Roots (1996)



2 pav. Sudėtingos su teršalu susijusios sąsajos ekosistemoje bei poveikis *bioindikatoriams* ir *biomonitoriams*, pateikiami supaprastintai (Markert 1996)

Fig. 2. Simplified representation of complex (eco)-system interrelations with regard to a pollutant, and consequences for bioindication and biomonitoring (Markert 1996)

Samprotaudamas apie informacinių technologijų amžių, H. Lieth (1998) bando parodyti, kad tiriant ekosistemas yra veiksmingesnis skaitmeninis bitų pasaulis. Pasak H. Lieth, turime atsakyti į klausimą, kokia yra ekosistemų tyrimų esmė, kokios informacijos suteikia ekosistema. Atsižvelgiant į informacijos apie visas ekosistemos dalis turinį, ekosistemą lengvai galima prilyginti intelektualiai sistemai. Toksikologinės išvados dažnai apima ir informacijos srautą, kaip esminių ir energijos pokyčių sistemoje priežastį. Augalai gali išskirti chemines medžiagas, kad apsaugotų nuo gyvūnų. Gyvūnai gali panaudoti savo išskiriamas nuodingąsias medžiagas kaip ginklą, o žmonės gali gaminti nuodingąsias chemines medžiagas siekdami žudyti vieni kitus. Kiekvieną ekosistemos procesą kontroliuoja „informacijos bitai“, vadinamieji biobitai, sklindantys iš vieno ekosistemos taško į kitą (Markert *et al.* 2002, 2003b). Išsamiai ši nesudėtinga koncepcija dėstoma H. Lieth straipsnyje (1998).

## 2. Apibrėžtys

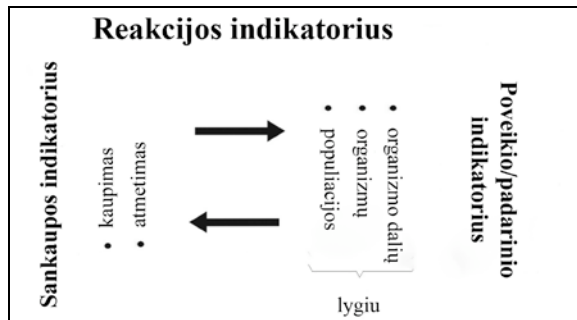
Akivaizdu, kad *bioindikacija* ir *biostebėseną* yra perspektyvūs (ir bene pigūs) būdai išorinių veiksnių poveikiui ekosistemai, jų raidai per ilgą laikotarpį stebėti arba lyginti vieną vietovę (pvz., neužterštą) su kita (užterštą) (Markert *et al.* 2002, 2003a, b). Dėl didelio entuziazmo plėtoti šiuos metodus kilo iki šiol neišspręsta problema – tarptautinė mokslo bendruomenė niekada nepriėjo prie vienos nuomonės dėl *bioindikacijos* ir *biostebėsenos* apibrėžčių ir su šiais metodais susijusių lūkesčių. Vienu metu egzistuoja skirtingos apibrėžtys (ir lūkesčiai) (Markert *et al.* 2002, 2003a, b). R. Wittig (1993) pateikia išsamią įvairių apibrėžčių apžvalgą. Kilus sunkumų dėl bioindikacinių metodų taikymo, pirmiausia gali padėti ši literatūra (šaltiniai straipsnio autorių parinkti subjektyviai): Stoepler *et al.* 1982; Arndt

1992; Fraenzle 1993; Markert 1993; Jeran *et al.* 1993; Farago 1994; Wolterbeek *et al.* 1995; Breulmann *et al.* 1997; Herpin *et al.* 1997; Saiki *et al.* 1997; Bargagli 1998; Breulmann *et al.* 1998; Carreras *et al.* 1998; Garty 1998; Lieth 1998; Siewers, Herpin 1998; Freitas *et al.* 1999; Cook 1999; Bacchi *et al.* 2000; Bode *et al.* 2000; Djingova, Kuleff 2000; Fraenzle, Markert 2000a, b, 2002; Klumpp *et al.* 2000; Loppi, Bonini 2000; Siewers *et al.* 2000; Figueiredo *et al.* 2001, 2007; Genßler *et al.* 2001; Herpin *et al.* 2001; Kostka-Rick *et al.* 2001; Vtorova *et al.* 2001; Vutchkov 2001; Markert *et al.* 2002, 2008; Wolterbeek 2002; Altenburger, Schmitt 2003; Pacheco *et al.* 2003; França *et al.* 2005, 2007; Shtangeeva *et al.* 2005; Elias *et al.* 2006; Freitas *et al.* 2006; Suchara *et al.* 2007; Zechmeister *et al.* 2007; Schroeder W. *et al.* 2008; Lietuvninkas 2011, 2012; Kupčinskienė 2011; Afanasev *et al.* 2001; Rozenberg 1994; Melekhova 2010; Burdin 1985; Zakharov, Klark 1993; Zakharov *et al.* 2000; Nikolaevskij 1989; Opekunova 2004.

Pateiksime keletą apibrėžčių, sukurtų ir vartojamų per pastaruosius 20 metų (Markert *et al.* 1999, 2003b). Jose aiškiai atskiriama *bioindikacija* ir *biostebėseną*, pagrįstos kokybiniu ir kiekybiniu požiūriu į aplinkoje esančias chemines medžiagas. Tai leidžia tiesiogiai palyginti bioindikatorius su instrumentinėmis matavimo sistemomis (Markert *et al.* 2003a, b; taip pat žr. 3 sk.). Šiuo požiūriu galima aiškiai išskirti *aktyviąją* ir *pasyviąją bioindikaciją* (*biostebėseną*). Apibūdinant indikatorius arba monitoriaus reakciją į aplinkos sąlygų pokyčius (ypač kalbant apie metalų bioindikaciją), literatūroje dažnai skiriami *sankaupos indikatoriai* ir *poveikio ar padarinio indikatoriai*. Reikia atkreipti dėmesį į tai, kad šis skyrimas nereiškia priešybių poros, o tik atspindi dvi analizės puses. Kadangi medžiagos sankaupos organizme rodo reakciją į šią medžiagą, bent jau tais atvejais, kai

sankaupa yra didelė, šių medžiagų tam tikru mastu žymi bent vienas parametras, įeinantis į sampratą *poveikio indikatorius* arba *monitorius* (pvz., morfologiniai pokyčiai ląstelių lygmeniu; junginių su metalais susidarymas daugelio bestuburių ląstelėse, vykstant metalų kaupimo procesams).

Dažnai poveikio arba padarinio stebėseną galima tik tada, kai organizmų ląstelėse medžiagos susikaupia tiek, kad pastebimas poveikis (3 pav.).



3 pav. Sąvokų *reakcijos*, *sankaupos* ir *poveikio* arba *padarinio indikatoriai* sąsajos (Markert et al. 1997)

Fig. 3. Illustration of the terms reaction, accumulation and effect/impact indicator (Markert et al. 1997)

Skiriamos kelios dažnai pasitaikančios bioindikacijos formos: *nespecifinė* ir *specifinė*, *tiesioginė* ir *netiesioginė* bei *pirminė* ir *antrinė*. Jas savo vadovylyje plačiau aptaria Stravinskienė (2009). Pereinant prie apibrėžčių, svarbu paminėti, kad jos pirmiausia buvo apibendrintos B. Markert ir kitų (1997, 1999) moksliniuose darbuose.

*Bioindikatorius* (gr. *bios* – gyvybė + lot. *indicator* – rodytojas; angl. *bioindicator*) yra organizmas (arba organizmo dalis, arba organizmų bendrija), kuriame sukaupta informacijos apie aplinkos (arba aplinkos komponento) kokybę. Kitu apibrėžimu nusakoma, kad *bioindikatorius* – labai jautrus biologinis objektas, pagal kurio reakcijas (fiziologines, biochemines ir kt.) bei požymius (morfologinius, anatominius ir kt.) galima spręsti apie aplinkos būklę ir jos pokyčius; organizmų bendrija, kurios būklė ir gyvybingumas glaudžiai susiję su tam tikromis aplinkos sąlygomis ir kuri gali būti tų sąlygų kokybės rodiklis (Stravinskienė 2004, 2005, 2009).

*Biomonitorius* yra organizmas (arba organizmo dalis, arba organizmų bendrija), sukaupęs informacijos apie aplinkos kokybės kiekybinius aspektus. *Biomonitorius* visada yra ir *bioindikatorius*, tačiau *bioindikatorius* nebūtinai atitinka *biomonitoriui* keliamus reikalavimus.

*Aktyvioji bioindikacija* (biomonitoringas (biostebėseną) esti tuomet, kai laboratorijose išauginti standartizuotos formos *bioindikatoriai* (biologiniai monitoriai) nustatytam laikotarpiui yra perkeliama į natūralias sąlygas, o pasibaigus šiam laikotarpiui fiksuojamos reakcijos arba analizuojami organizmo sukaupiti ksenobiotikai. *Pasyviojo biomonitoringo* metu tiriama ekosistemoje natūraliai aptinkamų organizmų reakcijos.

Šiuo atveju organizmai (arba jų bendrijos) klasifikuojami pagal jų kilmę.

Organizmų (arba jų bendrijų) klasifikavimo pagal jų reakcijas į medžiagą pobūdį (3 pav.) pagrindas: *sankau-*

*py indikatoriai* arba *monitoriai* (angl. *accumulation indicators/monitors*) yra organizmai, kurie kaupia vieną ar daugiau elementų arba junginių iš aplinkos. *Poveikio* arba *padarinių indikatoriai* arba *monitoriai* (angl. *effect or impact indicators/monitors*) yra organizmai, iš kurių akivaizdi specifinė arba nespecifinė reakcija į tam tikrą elementą, jų junginį arba keletą medžiagų. Šios reakcijos gali apimti organizmų morfologijos, histologijos, ląstelių struktūros, metabolinių ir biocheminių procesų, elgsenos arba populiacijos struktūros pokyčius. Apskritai sąvoka *reakcijos indikatorius*, kaip minėta, taip pat apima *sankaupos indikatorius* arba *monitorius* bei *poveikio* arba *padarinių indikatorius* arba *monitorius*.

Tyrinėjant kaupimo procesus, būtų tikslinga skirti vietas, kuriose organizmuose susikaupia elementų arba jų junginių. *Bendrajį kaupimąsi* (biologinis kaupimas/*bioakumuliacija*) veikia įvairūs procesai, priklausantys nuo su rūšimis susijusios sąveikos tarp indikatorių arba monitorių ir jų biotinės ar abiotinės aplinkos. *Biologinis medžiagos koncentracijos didėjimas* (angl. *biomagnification*) dėl tam tikrų procesų yra sąvoka, nusakanti maistinių medžiagų dalelių įsiurbimo su maistinėmis medžiagomis pro žarnų epitelį mastą. Tai būdinga tik heterotrofiniams organizmams, ir yra vienas svarbiausių sausumos gyvūnų užsiteršimo būdų, išskyrus metalus ir metaloidus, sudarančius lakiuosius junginius (pvz., Hg, As) ir patenkančius į organizmą pro kvėpavimo organus (trachėją, plaučius). *Biokoncentravimas* reiškia tiesioginį medžiagų pasisavinimą iš aplinkos, t. y. fizinės aplinkos, pro audinius arba organus (įskaitant kvėpavimo organus). Be augalų, kurie medžiagas gali įsisavinti tik tokiu būdu (daugiausia pro šaknis arba lapus), *biokoncentravimas* yra būdingas ir vandens gyvūnams, taip pat mažai saulės šviesos gaunantiems dirvožemio bestuburiams, turintiems sąlytį su dirvožemio vandeniu.

Neskaitant klasikinių floros, faunos ir biocenozės tyrinėjimų, kai pirmiausia stebimos gana nebūdingos aukštesnio biologinės sistemos lygmens organizmų reakcijos į teršalą, *bioindikacijos* tikslams pasiekti taikomi įvairūs naujesni metodai. Dauguma jų yra *biologiniai žymenys* ir *biologiniai jutikliai*.

*Biologiniai žymenys* – tai matuojamieji organizmų dalių (genetiniu, fermentų, fiziologiniu, morfologiniu lygmenimis), kurių struktūriniai arba funkciniai pokyčiai rodo bendrą aplinkos įtaką bei teršalo veikimą (ypač kiekybiniu ir kartais kiekybiniu požiūriais), biologiniai parametrai. Pavyzdžiui, įvairūs halogeniniai angliavandeniliai, indukuojantys P-450 citochromo ir kitus I fazės fermentus arba substratus; oro užterštumą rodančių melanizmo atvejų paplitimas pramonės rajonuose; žmogaus odos parudavimo nuo ultravioletinių spindulių laipsnis; organizmų morfologiniai, histologiniai ir ultrastruktūros pokyčiai (pvz., kepenų, užkrūčio liaukos, sėklidžių) paveikus teršalams.

*Biologinis jutiklis* yra matavimo prietaisas, kuris per tam tikrą biologinės sistemos darinį (pvz., fermentą, antikūną, membraną, organelę arba audinį) skleidžia signalą, atitinkantį nustatytos medžiagų grupės koncentraciją. *Biologinis jutiklis* taip pat yra ir fizinio perdavimo prietaisas (pvz., potenciometrinis arba amperometrinis elektrodas,

optinis arba optoelektroninis imtuvas). Pavyzdžiui, bakterijų toksinų matuoklis *Toxiguard*, bakterijų elektrodas *EuCyano*. *Biotestas* (angl. *bioassay*) – įprasta toksikologinė-farmakologinė procedūra, paprastai atliekama laboratorijoje arba natūraliomis standartizuotomis sąlygomis (atsižvelgiant į biotinius arba abiotinius veiksnus), siekiant nustatyti medžiagų (aplinkos cheminių medžiagų, medikamentų) poveikį organizmui. Plačiaja prasme ši apibrėžtis apima pavyzdinėse ekologinėse sistemose (pvz., mikrokosmai ir mezokosmai) atliekamus pavienių arba kelių rūšių mikroorganizmų ar augalų ir gyvūnų ląstelių bei audinių kultūrų, fermentų tyrimus. Siauresniąja prasme ši apibrėžtis apima tik pavienių rūšių ir pavyzdinėse sistemose tyrimus, o kitos procedūros gali būti vadinamos organizmo dalių tyrimais. *Biotestuose* naudojami tam tikri biologiniai žymenys arba kartais specifiniai biologiniai jutikliai. *Biotestas* gali būti taikomas *bioindikacijos* arba *biomonitoringo* (*biostebėsenos*) metu. Pagal testuojamų organizmų dydį išskiriami *makrobiotestai* ir *mikrobiotestai*. Kumuliacinių savybių turinčios medžiagos tiriamas *biokoncentracijos testais*. *Bioakumuliacijos testais* tiriamas bendras biokoncentracijos ir cheminių medžiagų, patenkančių į organizmą su maistu, bioakumuliacijos procesas. Plačiau *biotestavimo* metodus aptaria V. Stravinskienė (2009).

Kalbant apie organizmų ir bendrijų genetinį bei ne-genetinį prisitaikymą prie aplinkos pokyčių, išskirtini trys terminai: *tolerancija*, *atsparumas* ir *jautrumas*.

*Tolerancija* (Oehlmann, Markert 1997) – pageidautinas organizmo arba bendrijos *atsparumas* nepalankiems abiotiniams veiksniams (klimatui, spinduliutei, teršalams) arba biotiniams veiksniams (parazitams, patogenams), kuriam esant pastebimi fiziologiniai prisitaikymo pokyčiai (pvz., fermentų indukcija, imuninis atsakas).

*Atsparumas* (angl. *resistance*), priešingai nei *tolerancija*, yra genetiškai įgyta geba atlaikyti stresą (Oehlmann, Markert 1997). V. Stravinskienė (2004) *atsparumą* įvardija kaip organizmo gebą išlikti atspariam žalingam aplinkos poveikiui, padedančią jam prisitaikyti. Tai reiškia, kad visi tolerantiški organizmai yra atsparūs, bet ne visi atsparūs organizmai yra tolerantiški. Beje, ekologinėje toksikologijoje *tolerancija* ir *atsparumas* ne visada aiškiai skiriami. Pavyzdžiui, taršos paskatinta organizmų bendrijos *tolerancija* yra toks reiškinys, kai veikiant teršalams organizmų bendrija tampa tolerantiškesnė. Taip esti, kai rūšis ar populiacija genetiškai arba fiziologiškai prisitaiko arba kai jautresnius organizmus pakeičia atsparesni organizmai (Blanck *et al.* 1988; Rutgers *et al.* 1998).

Organizmo arba bendrijos *jautrumas* (angl. *sensitivity*) reiškia jų jautrumą biotiniams arba abiotiniams pokyčiams. Mažas *jautrumas* esti, kai būdinga didelė *tolerancija* ar *atsparumas* aplinkos stresoriui. Didelis *jautrumas*, jei *tolerancija* arba *atsparumas* maži.

### 3. Principai. Instrumentinio matavimo ir bioindikacijos arba biostebėsenos metodų palyginimas

Dėl didelio terminų panašumo, kalbant apie instrumentinę cheminę analizę (kokybinius ir kiekybinius matavimus) bei

bioindikatorius (kokybinį požūrį į taršos kontrolę) ir biomonitorius (kiekybinį požūrį), būtina metodus palyginti.

#### 3.1. Instrumentai ir bioindikatoriai

Instrumentinės analizės proceso loginė schema pateikta 4 paveiksle. Atvaizduotos tipinės cheminių medžiagų, fermentų aktyvumo arba kitų ekosistemai svarbių parametrų matavimo spektrometrais arba fotometrais procedūros. Daugeliu spektrometrinių metodų signalui gauti naudojama konkretaus ilgio banga, o į kiuvetę (fotometrą), liepsną (AAS), grafitinę kiuvetę (AAS), plazmą (ICP/MS ar ICP/OES) įdėtas mėginys analizuojamas naudojantis foto-daugintuvu, stiprintuvu ir kita įranga.

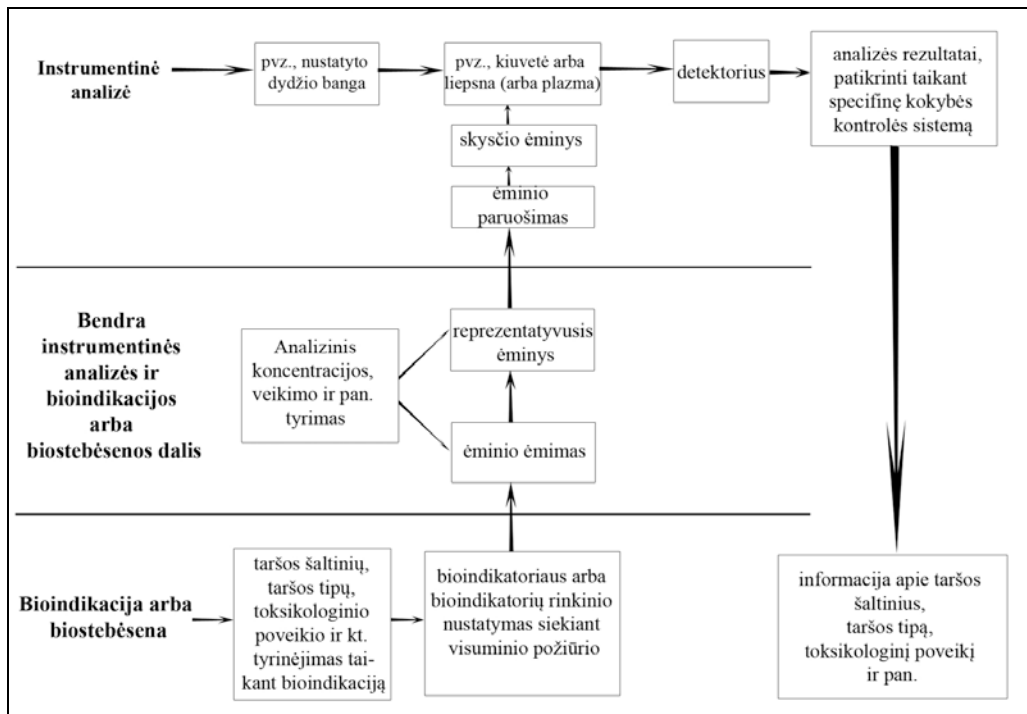
Galutinis vertinimas atliekamas detektoriais. Instrumentinio matavimo kokybės kontrolė atliekama naudojant standartines etalonines medžiagas. Pagrindinės klaidos daromos ėminių ėmimo procedūrų metu (iki 1000 %) bei ruošiant bandinius ir mėginius (iki 300 %). B. Markert (1996) išsamiai aptaria būdingas klaidas didėjimo tvarka.

Iš 4 pav. pateikto tiesioginio aplinkos kokybės matavimo prietaisu ir bioindikatoriumi palyginimo akivaizdu, kad visas instrumentinio matavimo procesas labai dažnai esti įtrauktas į bioindikaciją, bent jau tada, kai mėginiai analizuojami siekiant nustatyti juose esančius cheminius junginius. Tai reiškia, kad, norint gauti papildomos informacijos iš bioindikatoriaus, darbas laboratorijoje su bioindikatoriais labai priklauso nuo instrumentinės matavimo įrangos. Taigi klausimas, ką pasirinkti – bioindikaciją ar tiesioginį matavimą prietaisais, rodo, kad jų sąsaja ne visai suprasta. Problemos, su kuriomis biostebėsenos metu susiduriama laboratorijoje, dažnai esti tos pačios kaip ir atliekant cheminę analizę (Toelg 1976; Saiki *et al.* 1997; Quevauviller, Maier 1999; Bacchi *et al.* 2000; Bode *et al.* 2000; Quevauviller *et al.* 2008). Pavyzdžiui, ėminių ėmimo proceso pirmoji paradigma *Paimti ėminiai turi būti būdingi nagrinėjamam moksliniam klausimui* (Markert 1996). Ėminiai stebėsenai ir (arba) prietaisais matuoti turi būti imami itin rūpestingai. Ši būtina sąlyga minima ir aiškinama daugelyje straipsnių ir vadovėlių, todėl čia išsamiai neaptariama (Keith 1988; Wagner 1992; Markert 1994; Klein, Paulus 1995; Rasemann, Markert 1998).

#### 3.2. Tikslumas (angl. *precision*) ir atkartojamumas (angl. *accuracy*)

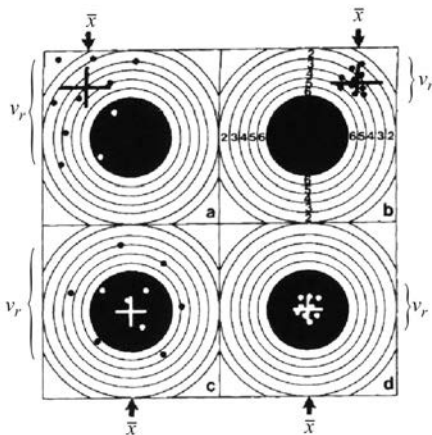
Analizuojamo arba bioindikacijos tikslams naudojamo mėginio kokybė turi būti nepriekaištinga. Be to, vykdam biostebėseną, svarbu atsižvelgti ir į bendriausias taisykles ir cheminės analizės kokybės kontrolei būtinas sąlygas.

Cheminėje analizėje per pastaruosius 20 metų sąvokos *tikslumas* (atkuriamumas) ir *taisyklingumas* buvo griežtai atskirtos. Toks atskyrimas leidžia nustatyti „tikrąjį“ arba faktinį X medžiagos kiekį Y mėginyje. Siekiant nustatyti ir pašalinti klaidas, kurių gali pasitaikyti, pavyzdžiui, dėl ilgai trunkančio matavimo prietaiso nestabilumo (prietaiso nesureguliuavimo), analizinis signalas duomenims patikslinti matuojamas pakartotinai.



**4 pav.** Aplinkos kokybės matavimų spektrometrais ir *bioindikatoriais* arba *biomonitoriais* palyginimas. Instrumentiniai matavimai dažnai įeina į *bioindikaciją* (Markert et al. 2003b). Visa aplinkos mėginių instrumentinės cheminės analizės schema yra pateikta B. Markert (1996)

**Fig. 4.** Comparison of measurements performed by spectrometers and bioindicators / biomonitoring. In practice, instrumental measurements are often an integral part of bioindication (from Markert et al. 2003b). A full instrumental flow chart for instrumental chemical analysis of environment samples can be found in Markert (1996)



**5 pav.** Analizinėje chemijoje vartojamų terminų *tikslumas* (atkuriamumas) ir *taisyklingumas* (*tikroji* vertė) iliustracija (pagal G. Toelg (1976); iš B. Markert (1996): a) netikslus ir netaisyklingas; b) tikslus ir netaisyklingas; c) netikslus ir taisyklingas; d) tikslus ir taisyklingas;  $\bar{x}$  – aritmetinis vidurkis,  $v_r$  – pokyčio koeficientas

**Fig. 5.** Illustration of the terms "precision" (reproducibility) and "accuracy" (the "true" value) in analytical chemistry (after Toelg 1976 from Markert 1996): a) Poor precision and poor accuracy, b) good precision and poor accuracy, c) poor precision and good accuracy, d) good precision and good accuracy,  $\bar{x}$  – arithmetic mean,  $v_r$  – coefficient of variation

Jei analizinės procedūros nėra itin sudėtingos, *tikslumas*, siekiantis nuo 1 iki 5 %, yra pakankamas sprendžiant daugelį analizinių klausimų. Beje, negalima daryti

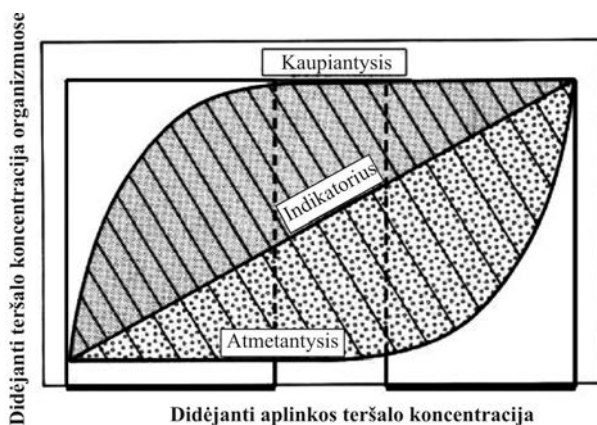
jokios išvados apie signalo *taisyklingumą* remiantis vienu, jį signalas yra lengvai atkuriamas. Net labai tikslūs duomenys gali būti nemažai nukrypę nuo mėginio „tikrojo“ kiekio (pvz., elemento) (5 pav.). Žinoma, tyrinėjant bioindikatorius ir siekiant nustatyti jų pastovumą kintant vietai ir laikui, ėminius galima imti pakartotinai. Atliekant ėminių ėmimo procedūras, *taisyklingumas* yra kur kas sudėtingesnė problema, nes kol kas nėra tokios sertifikuotos nuorodų sistemos kaip kalibravimas, būdingojo ėminių ėmimo *taisyklingumui* nustatyti.

Paprastai lyginamos „užterštos“ ir „neužterštos“ sistemos, bet nėra užtikrintumo, ar darbas atliktas taisyklingai. Šiuo atveju vienintelė galima strategija yra taikyti „nepriklausomuosius“ metodus, kai skirtingos tyrimų grupės dirba toje pačioje vietovėje su tais pačiais indikatoriais, kad vėliau galėtų palyginti nepriklausomai gautus duomenis. Tai labai brangus metodas, jį galima taikyti tik gavus specialius bioindikacijos užsakymus, kai metodo plėtojimas yra visuotinės svarbos, pvz., pagal ES arba JAV direktyvas.

### 3.3. Kalibravimas

Apskritai patys bioindikatoriai kelia didelių problemų, kurių paprastai nebūna taikant instrumentinio matavimo būdus, pavyzdžiui, biologinės sistemos kalibravimą (6 pav.). Organizmų savybės atspindėti teršalo poveikį pasireiškimo ribos paašškėja siekiant įvertinti aplinkos kokybę kiekybiškai, pavyzdžiui, atliekant biostebėseną tiksliausia šio termino prasme (Markert et al. 1997). Nors

galimų bioindikatorių skaičius didėja kone kas valandą, gamtoje sunku rasti organizmų, kurie atitiktų aktyviojo ir pasyviojo biomonitoriaus kriterijus. Pavyzdžiui, pavienių indikatorių analizė, siekiant nustatyti tam tikrų medžiagų susikaupimą organizme, nebūtinai leidžia daryti išvadą apie tų medžiagų koncentraciją aplinkoje (5 pav.). Daugelyje augalų ir gyvūnų organizmų susikaupia dideli tam tikrų medžiagų kiekiai, nors tų medžiagų koncentracija aplinkoje nėra didelė. Sankaupos rodikliai žymiai mažesni, kai medžiagų koncentracija aplinkoje yra didesnė. 6 pav. teršalo koncentracija aplinkoje arba organizme žymima plokščiąja kreive. Kita vertus, daugelis organizmų sukaupia labai mažai nuodingųjų medžiagų, nors medžiagų koncentracija aplinkoje esti labai įvairi (Markert *et al.* 1997). Kai nuodingųjų medžiagų koncentracija aplinkoje labai didelė, reguliacijos mechanizmai nebeveikia, ir organizmai sukaupia didelį medžiagų kiekį (6 pav.).



6 pav. Stebimo teršalo koncentracijų aplinkoje ir organizme santykis. Medžiagas kaupiančių ir atmetančių organizmų tiesinis kalibravimo diapazonas yra labai ribotas (Markert *et al.* 1997)

**Fig. 6.** Correlation between the environmental concentration of the pollutant to be monitored and the concentration in the organism. Linear ranges for calibration are very limited for accumulators and rejectors (from Markert *et al.* 1997)

Žinoma, yra išimčių, kai nevyksta aktyvus medžiagų kaupimas, bet medžiagos patenka į kūną dėl difuzijos procesų. Tai, be abejo, yra retas reiškinys neorganinių metalų junginių atveju, ir dažnai reiškia, kad *bioindikatoriaus* arba *biomonitoriaus* bei jo aplinkos kaupiamo junginio koncentracijų santykis yra ne tiesinis, o logaritminis. Net atlikus matematinį perskaičiavimą ir taip logaritminę funkciją pavertus tiesine, dviejų matų tiesinio santykio diapazonas yra mažas. Organizmai gali suteikti tikslios informacijos apie jų aplinką tik jei yra tiesinis santykis, kurį galima palyginti su matavimo prietaisų kalibravimo linija.

Palyginti su spektrometriniais instrumentiniais analiziniais metodais, pavyzdžiui, kai tiesinis kalibravimo diapazonas paprastai apima kelias dydžio eiles, bioindikatorių tiesinį diapazoną nustatyti sunkiau, nes dėl biologinių ir gyvavimo procesų nuolat kinta gyvųjų organizmų „saugoma informacija“. Todėl kol kas bioindikatorių standartizavimas atrodo neįmanomas, o tai reiškia, kad tų pačių indikatorių naudotojams ateityje bus ypač svarbus harmonizavimas.

### 3.4. Tyrimų harmonizavimas

Daugelį metų skirtingos laboratorijos, atlikdamos tarplaboratorinius tyrimus, galėjo naudoti tikrus mėginius, siekdamas optimizuoti tyrimų kokybę analizinės chemijos srityje. „Kalibruojant“ bioindikatorius turėtų būti skiriama daugiau dėmesio tų pačių indikatorių naudojimo principams skirtingose vietose harmonizuoti. Tai ne itin tinka darbui laboratorijoje, nes *biotestas*, kaip procedūra chemikalams nustatyti, yra labai standartizuotas ir, vadinas, atkuriamas. Tai taikytina daugiausia visais bioindikatorių naudojimo natūralioje aplinkoje atvejais. Pirmiausia, siekiant palyginti atskirų darbo grupių rezultatus, būtina daugiau bendradarbiauti kuriant programos planą. Tai gana nesunku pasiekti šalyse ir regionuose, tačiau, kalbant apie pasaulį arba žemynus, geografiniai atstumai tarp tyrimo grupių kartais kelia problemų. Pavyzdžiui, Tarptautinė atominės energijos agentūra (International Atomic... 2001) siekia vykdyti elementų biostebėseną skirtinguose žemynuose, todėl reikia atsižvelgti į dideles išlaidas susitikimams, organizuojamiems dalytis patirtimi. Tam tikros trūkmės (pvz., savaitės) mokymai ir intensyvūs kursai – bene pirmasis ir tinkamiausias žingsnis mokslo ir, kartais, kultūrinių skirtumų harmonizavimo link. To nereikėtų nuvertinti globalejančiame pasaulyje, nes bioindikaciją įvairiais aspektais ir skirtingais mokslo lygmenimis iš esmės gali vykdyti bet kas. Turėtume susilaikyti nuo per didelio optimizmo, tačiau „bioindikacija gali būti laikoma vartais į tarpkultūrinį supratimą bei taikaus tarptautinio bendradarbiavimo katalizatoriumi“. Tarp klausimų, kuriuos reikia atsakyti besikeičiant informacija, gali būti ir klausimas, kaip susieti skirtingais būdais gautus (pavyzdžiui, nuotoliniais jutikliais ir vietoje renkant informaciją) to paties reiškinio stebėjimo rezultatus (Roots 1996; Smodis 2003).

Masto nustatymas erdvėje ir laike iš dalies priklauso nuo programos projekto. Programos projektas apima jutiklių, matavimų, fiksavimo ir informacijos pateikimo būdų bei informacinių technologijų pasirinkimą. Klausimų, į kuriuos reikia atsakyti prieš pradėdant darbą, gerų pavyzdžių galima rasti daugybėje nacionalinių ir tarptautinių ėminių ėmimo kampanijų, vykdytų aplinkos stebėsenos tikslams, bei literatūroje, kurioje aprašomi būtent šie harmonizavimo principai (pvz., Schroeder *et al.* 1996; Bosch, Pinborg 2003; Lazorchak *et al.* 2003; Matthiessen 2003; Parris 2003).

### 4. Kompleksinės bioindikacijos ir biostebėsenos strategijos ir jų taikymas

Atliekant cheminių elementų *bioindikaciją* ir *biostebėseną*, kiekvienai elementų rūšiai būtina taikyti specifinį būdą bei visapusiškai nustatyti bendrąsias savybes. Būtent tai ir įvertinta *Elementų biologinėje sistemoje* (7 pav.). *Elementų biologinė sistema* yra sudaryta iš koreliacinės analizės duomenų, duomenų apie įvairių gyvojo organizmo dalelių fiziologinę funkciją, evoliucionavimą iš neorganinės aplinkos, atsižvelgiant į tai, kokia forma augalas juos įsisavina – kaip neutralią molekulę ar krūvį turintį joną. Biologinėje sistemoje tokie cheminiai elementai kaip vandenilis (H) ir natrias (Na) atlieka įvairias

funkcijas, todėl jos nėra galutinai apibrėžtos. Apskritimu apjungtus cheminius elementus (7 pav.) šiuo metu galima apibendrinti tik kaip cheminių elementų, kurių fiziologinės funkcijos panašios, grupes, nes trūksta koreliacijos duomenų, arba šie duomenys netikslūs.

#### 4.1. Kompleksinių priemonių rinkinio modelis, taikomas atliekant profilaktinę sveikatos priežiūrą

*Bioindikacija* ir *biostebėseną* turi suteikti informacijos apie užterštumo lygį arba ekosistemų degradaciją. Kompleksinių metodų požiūriu, vertinant specifinę veiksnų grupę, *bioindikacija* nėra „aplinkos stebėjimo prietaisas“. Geriausia atveju tai yra kompleksinis įvairių bioindikacinių tyrimų sistemų vertinimas, kurio tikslas – atsižvelgus ir į kitus aplinkos parametrus susidaryti aiškų vaizdą apie taršą ir jos kitimą, siekiant apsaugoti sveikatą ir aplinką. 8 pav. atvaizduota visa aplinkos stebėsenos sistema, kai taikoma *biostebėseną*. Šios sistemos matavimo parametrai gali būti pertvarkyti atsižvelgiant į konkrečią stebimą sistemą arba mokslo pažiūrų sistemą. Du pagrindiniai kompleksinės aplinkos stebėsenos objektai – žmogus ir aplinka. Iš čia kilusios dvi mokslo sritys – toksikologija ir ekotoksikologija yra susijusios su įvairiais priemonių rinkiniais ir tyrimų grupėmis (priemonėmis, pvz., *biotestas*).

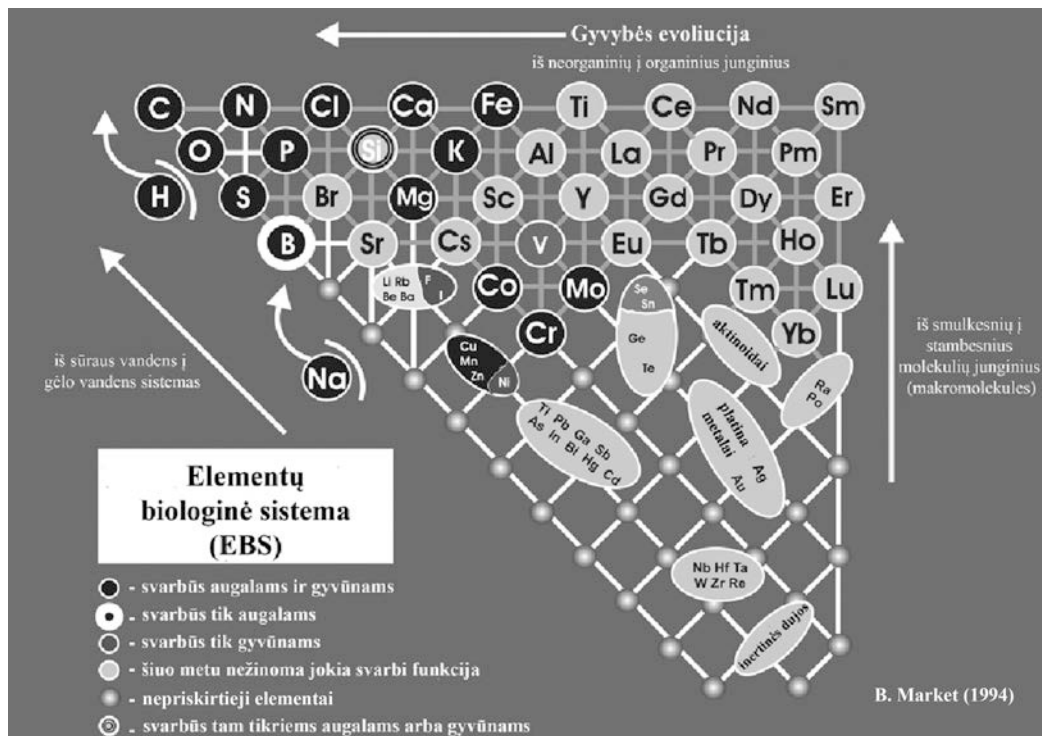
8 pav. pavaizduotą sistemą sudaro 6 priemonių rinkiniai. Pirmieji du – *DAT* (duomenys) ir *TRE* (tendencijos) gauti daugiausia iš aplinkos tyrimų. *DAT* rinkinys apima visus tyrinėjamos ekosistemos duomenis, t. y. įskaitant vien instrumentinėmis priemonėmis gautus, pavyzdžiui, meteorologijos, duomenis. *DAT* taip pat apima duomenis apie didžiausią leistiną medžiagų koncentraciją geriamajame vandenyje, maiste ar darbo vietoje bei duomenis apie leistiną paros normą (angl. *ADI* – *acceptable daily intake*) ir

nepastebėto neigiamojo poveikio lygmenį (angl. *NO(A)EL* – *no observed (adverse) effect level*). *TRE* priemonių rinkinys apima duomenis apie tendencijas. Šie duomenys buvo gauti apibendrinus ilgalaikių nacionalinių ar tarptautinių tyrimų ar tyrimų, kuriuos keletą metų vykdė nacionaliniai aplinkos mėginių bankai, rezultatus (pvz., Duvigneaud 1973; Likens et al. 1977; Ellenberg et al. 1986).

Specifines išvadas ir tendencijų prognozes vėliau galima daryti naudojant žmogaus organizmo mėginių banko (*HSB*) bei aplinkos objektų pavyzdžių banko (*ESB*) priemonių rinkinius (taip pat žr. A. Kettrup (2003)).

*MED* (medicinos) priemonių rinkinys apima visus įprastinius metodus, taikomus atliekant hematologijos ir chemijos klininius tyrimus chroniškam ir subchroniškam toksiškumui nustatyti. *ECO* daugiausia sudaro visi ekosistemoms svarbūs monitoriai ir bioindikacinio testavimo sistemos, kuriuos galima jungti derinant pagal konkrečią stebimą situaciją.

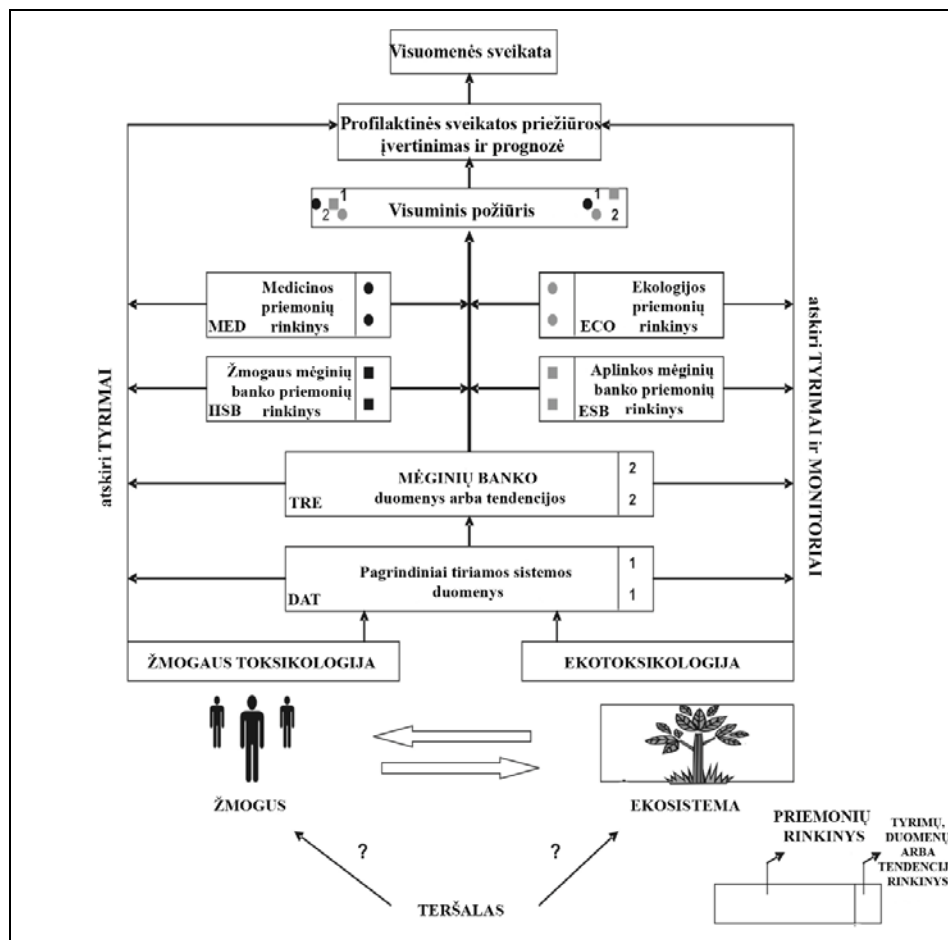
Visų priemonių rinkinių duomenys turi būti taip susiję, kad suformavus tinklą būtų galima įvertinti vidutinę teršalų konkrečios gyventojų grupės sveikatai keliamą riziką arba nustatyti būsimą viršutinę rizikos ribą. Taip vertinant riziką, remiamasi visomis toksikologinėmis normomis, kuriose atsižvelgiama į poveikio ir dozės poveikio santykio pobūdį, vadovaujantis nūdienos mokslu. Kadangi toksikologiniai tyrimai negalimi su žmonėmis, norint atlikti rizikos vertinimą, remiamasi darbo vietos vertinimo duomenimis arba apsinuodijimo atvejais. Be pavienių aprašytų atvejų nagrinėjimo, dar būtina atlikti epidemiologinius tyrimus, t. y. paveiktas grupes lyginti su kontroline grupe, siekiant atskleisti medžiagų, kaip ligų sukėlėjų, poveikį. Čia svarbus imitacinių modelių



7 pav. Sausumos augalų cheminių elementų biologinė sistema (glikofitai) (Markert 1994)

Fig. 7. The Biological System of the Elements for Terrestrial Plants (Glycophytes) (Markert 1994)





8 pav. Galimą bioindikatorinio priemonių rinkinio modelio hierarchinę struktūrą, taikant kompleksines metodikas toksikologijoje ir ekotoksikologijoje (Markert *et al.* 2003b)

Fig. 8. Possible hierarchical structure of a bioindicative toolbox model for integrative approaches in human- and ecotoxicology (Markert *et al.* 2003b)

kūrimo ir naudojimo, taikant informacines technologijas, vaidmuo. Kuriant šiuos modelius atsižvelgiama į visus surinktus duomenis, nes būtina suderinti didelį kiekį tiesiogiai nesusijusių parametrų. Jie apima įvairius epidemiologijos, mutageniškumo, toksikokinetikos (angl. *toxicokinetics*), metabolizmo bei struktūros ir poveikio santykio tyrimų duomenis.

Nūdienos elektroninėje eroje naujasis kompiuterinės toksikologijos požiūris, siekiant gerinti aplinkos kokybę tampa vis svarbesnis. Šis daugiadisciplinis požiūris jungia tokias mokslo sritis, kaip bioinformatika, molekulinė biologija, kompiuterinėmis sistemomis paremta biostebėseną, cheminės informacijos duomenų bazės, fiziologija grįstas farmakokinetinis modeliavimas (angl. *physiologically-based pharmacokinetic (PB/PK) modelling*), didelio našumo paieškos metodas (angl. *high-throughput screening, HTS*)<sup>2</sup>, proteomika<sup>3</sup> (angl. *proteomics*), metabonomika<sup>4</sup> (angl. *metabonomics*) ir genomika<sup>5</sup> (angl. *genomics*). Kartu veikiant šioms naujoms technologijoms yra

galimybė aiškiau suprasti organizmų atsaką į įvairaus pobūdžio stresą, taigi ir aplinkos stresorius.

Sąsajos, sudarytos tarp tokių skirtingų priemonių rinkinių, gali būti naudojamos apskritai visai bioindikacijos koncepcijai, vadinamajai *Daugiaženklės bioindikacijos koncepcijai* (angl. *Multi-Marker Bioindication Concept (MMBC)*) (aprašyta B. Markert ir kitų (2002, 2003b)), apibrėžti.

#### 4.2. Aplinkos mėginių bankai

Taikant kompleksinį priemonių rinkinio modelį, aplinkos pavyzdžių bankuose mėginiai saugomi skystajame azote pagal mėginio cheminės sudėties patvarumą. Tai yra tikslinga siekiant nustatyti teršalo koncentracijos ir poveikio santykį. Vadovaujantis elementų biologinės sistemos holistiniu požiūriu, buvo sukurta pažangi žmogaus gyvenamosios aplinkos stebėsenos metodika, kurią svarbu toliau moksliskai plėtoti.

Aplinkos mėginių bankų tikslas – gauti ekotoksikologinės informacijos teikiančių mėginių ir ilgą laiką juos išlaikyti nepakitusių, kad vėliau būtų galima atlikti jų retrospektyvius tyrimus ir įvertinti aplinkos užtaršą tokiomis medžiagomis, kurių nebuvo galima iširti arba kurių tyrimas neatrodė svarbus tuo metu, kai buvo imami

<sup>2</sup> HTS – tai sistema, kuri leidžia greitai ir efektyviai testuoti didelius cheminių medžiagų kiekius, biologinį aktyvumą molekulinės biologijos ir ląstelių tyrimams naudojant robotus ir taikant automatizavimą.

<sup>3</sup> Proteomika – visiškas visų tam tikro organizmo sintetinių baltymų ištyrimas.

<sup>4</sup> Metabonomika – tam tikro organizmo medžiagų apykaitos ištyrimas.

<sup>5</sup> Genomika – tam tikro organizmo genomo ištyrimas.

mėginiai (Wagner 1992). Kai kurie aspektai ir prielaidos pateikti A. Kettrup (2003). Aplinkos mėginių bankų tikslai ir uždaviniai (Klein 1999):

- nustatyti koncentraciją tų medžiagų, kurios nebuvo laikomos teršalais, kai buvo kaupiami mėginiai, arba kurių nebuvo galima tiksliai iširti (retrospektyvioji stebėseną);
- patikrinti dabartinių arba būsimų draudimų ir ribojimų aplinkos srityje pagrįstumą arba nepagrįstumą;
- tęsti nuolatinę jau prieš mėginių archyvavimą (taikant sisteminių apibūdinimą) nustatytų teršalų koncentracijos stebėseną;
- numatyti vietas, regiono ir pasaulio taršos tendencijas;
- aprašyti standartizuotus ėminių ėmimo būdus;
- aprašyti ėminių saugojimo sąlygas, kad rezultatus būtų galima palyginti.

Daugiau informacijos apie mėginių bankų principus galima rasti straipsniuose (Berlin et al. 1979; Luepke 1979; Lewis et al. 1983; Rossbach et al. 1992; Stoeppler, Zeisler 1993). Tik tinkamų *bioindikatorių* rinkinys gali teikti informacijos apie ekosistemoje esančius teršalus.

Rūšių, kurių pavyzdžiai imami, atrankos kriterijai išsamiai aptarti R. Klein ir M. Paulus straipsnyje (1995). 9 pav. atvaizduotos tikėtinosios funkcinės ekosistemų sąsajos.

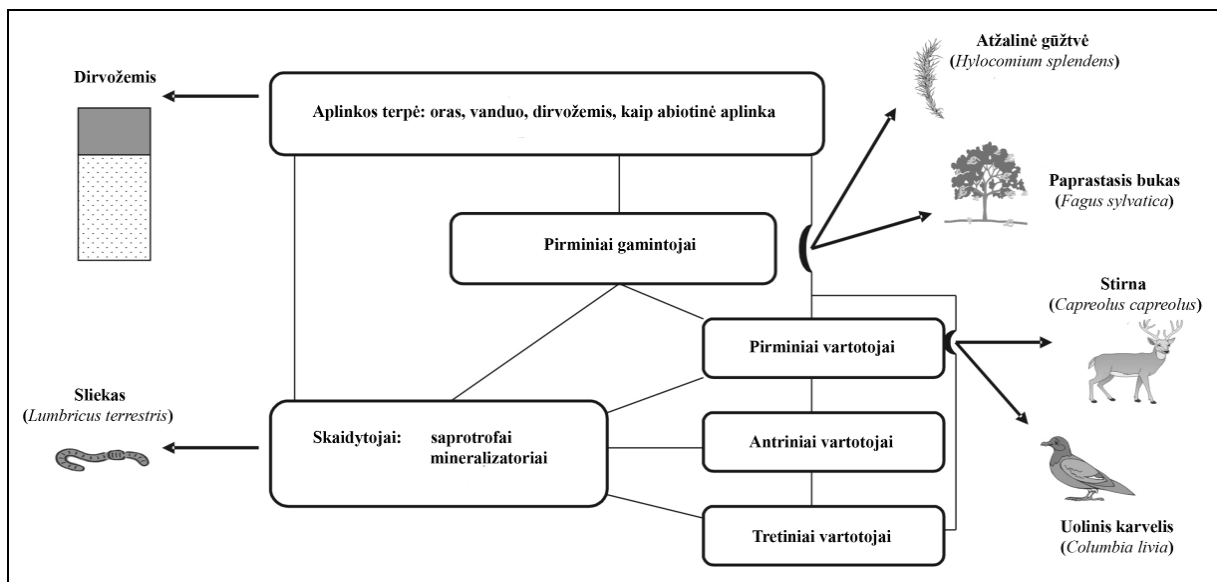
Aplinkos mėginius rūpestingai saugant užšaldytus skystajame azote, labai didelės esti įrangos veikimo sąnaudos, bet to, mokslininkai, kurių darbas susijęs su aplinkos mėginių banku, turi būti labai patyrę. Taip pat siek tiek trūksta lankstumo imant arba tvarkant bioindikatorinį organizmą, kuris buvo tyrinėjamas anksčiau ir net keletą metų. Dėl išskirtinio mėginių ėmimo metodikos savitumo dažnai sunku esti duomenis lyginti su rezultatais, gautais

laikantis įprastinių ėminių ėmimo taisyklių. Šias problemas būtų galima išspręsti sujungiant aplinkos mėginių banko rezultatus su kitų *bioindikacijos* tyrimų duomenimis (pvz., 8 pav. pavaizduotu kompleksiniu priemonių rinkinio modeliu).

#### 4.3. Paprastųjų pušų (*Pinus sylvestris* L.) ir kitų medžių panaudojimo metalų *biostebėsenai* aspektai

Medžiai vertinami kaip jautrūs aplinkos būklės indikatoriai (Stravinskienė 2002). Paprastosios pušys (*Pinus sylvestris* L.) tarp jų gentainių yra labiausiai išplitusios. Visa Lietuvos teritorija patenka į paprastųjų pušų arealą (Navasaitis et al. 2003; Navasaitis 2008). Dėl plataus paplitimo ir paprastai nebarjerinio tipo *Pinus sylvestris* L. tinka aplinkos pokyčiams stebėti. Akademikas L. Kairiūkštis (Cook, Kairiūkštis 1999) yra paminėjęs, kad dendrochronologiniai ir dendroindikaciniai aplinkos tyrimo metodai – tai teorinis antropogeninio poveikio miško ekosistemoms ir medžių augimui vertinimo kriterijų paieškų pagrindas.

Didėjant aplinkos užtaršos mastui ir plačiau pradėjus nagrinėti aplinkos taršos problemas, keliant ksenobiotikų poveikio organizmams, taršos pernašos mitybos grandine problemas, augalų naudojimą aplinkos apsaugos inžineriniams sprendimams (fitotechnologijos) svarbą, pabrėžtinai išskirti tokie teršalai kaip sunkieji metalai – t. y. ilgą laiką aplinkoje išliekantys cheminiai elementai, kurių nemažai pagal biogeocheminį vaidmenį yra toksiški. Daug dėmesio metalams skirta arptautinėse mokslo programose *COST 859 Phytotechnologies to Promote Sustainable Land Use and Improve Food Safety*, *COST FA 0905 Mineral Improved Crop Production for Healthy Food and Feed*, *SETAC*, *TRACEL*, *ICOBTE* mokslinėse konferencijose.



9 pav. Vokietijos Federaliniam aplinkos mėginių bankui atrinkti ekosistemų lygmens rūšių mėginių rinkiniai (Klein 1999)

Fig. 9. Selected sets of sample species at the ecosystem level for the German Federal Environmental Sample Bank (Klein 1999)

Lietuvoje 2001 m. atliktame sunkiųjų metalų pernašos iš dirvožemio į pušies medieną tyrimuose Ruklos–Gaižiūnų (Jonavos raj.) ir Kairių (Klaipėdos raj.) kariniuose poligonuose įvertinti keli svarbesni metalų (nikelio (Ni), vario (Cu) ir cinko (Zn)) pernašos į pušį keliai: oras – pušies žievė; oras – dirvožemis – pušies mediena bei dirvožemis – pušies mediena). Apie 4 kartus didesnė negu vidutinė Zn koncentracija medienos ėminiuose buvo nustatyta pušyse, augusiose netoli šaudyklos. Tai paaiškintų faktas, kad šaudyklos dirvožemyje Zn koncentracija nustatyta apie 3 kartus didesnė negu vidutinė toje teritorijoje. Apie 5 kartus didesnė Ni ir apie 3 kartus didesnė Cu koncentracija pušies medienos ėminiuose buvo netoli karinėms reikmėms naudoto telkinio. Ni ir Cu galėjo patekti į aplinkos orą ir nusėsti ant medžių žievės kaip vieni iš kuro sudėtinių dalių bei su krituliais patekti ant dirvožemio, o šaknimis – į medieną (Butkus, Baltrėnaitė 2004, 2007a). Lokalųjį metalų koncentracijos padidėjimą aplinkoje patvirtina ir tai, kad vandens telkinyje buvo aptikta apie 19 kartų viršytos didžiausiosios Cu ir 22 kartus Ni geriamajam vandeniui leistinos koncentracijos (Baltrėnas *et al.* 2005). Šioje vietoje augusios pušies žievės ėminiuose aptikta ir apie 1,3 kartus didesnė (negu vidutinė tirtų pušų) Cu koncentracija ( $1,75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) bei apie 2 kartus didesnė Ni koncentracija ( $4,56 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) (Butkus, Baltrėnaitė 2007a). Tai pagrindžia įvairiose šalyse – Portugalijoje, Jordanijoje, Vokietijoje, Suomijoje, Čekijoje, Jungtinėje Karalystėje – jau paplitusį pušies savybės gausiau kaupti metalus žievėje taikymą biostebėsenos tikslams (Machado 2006; Schulz *et al.* 1999; Harju *et al.* 2002). Tai tiriama ir Lietuvoje (Butkus, Baltrėnaitė 2007a; Pundyte *et al.* 2011a, b; Pundyte, Baltrėnaitė 2011).

2005 m. atlikti tyrimai buvusio miško teritorijoje, praėjus septyneriems metams po sunkiaisiais metalais užteršto nuotekų dumblo nutekimo į dirvožemį ir šešeriems metams po apsočinimo medžiais (*Pinus sylvestris* L.; *Betula pendula*; *Alnus glutinosa*). Teritorijoje aplinkos oro užtarša metalais nenustatyta, todėl pagrindinė metalų pernaša buvo tikėtina sistemoje *dirvožemis – medis*. Cu ir švino (Pb) koncentracijos apie 6 kartus didesnės bei Ni 4 kartus didesnės nustatytos paprastojoje pušyje negu juodalksnyje. Apie 2,5 kartus didesnės Cu, 4 kartus Pb ir 3 kartus didesnės Ni koncentracijos buvo pušyje, palyginti su karpotuoju beržu. Palyginti su kontroliniais ėminiais, šių metalų koncentracija paprastojoje pušyje buvo apie 5 kartus didesnė. Šie tyrimai padėjo įsitikinti, kad metalais užteršto nuotekų dumblo paskleidimas ant dirvožemio skatina metalų kaupimąsi medžių sodinukuose per pirmuosius šešerius metus po jų pasodinimo. Ni, Pb ir Cu koncentracijos *Pinus sylvestris* L. vidutiniškai gali siekti 5 kartus didesnes vertes, palyginti su kontroliniais medžiais, ir nuo 2 iki 6 kartų – palyginti su *Betula pendula* bei *Alnus glutinosa* (Butkus, Baltrėnaitė 2007b; Baltrėnaitė, Butkus 2007).

Šie rezultatai skatina ir toliau medžius vertinti kaip potencialų pasirinkimą esant fitoremediacijos poreikiams, siekiant pašalinti ar stabilizuoti užtaršą. Jie yra efektyvūs *bioindikatoriai* esant mažos užtaršos sąlygoms. Kita vertus, pastebėta, kad nuotekų dumblas, užterštas sunkiaisiais

metalais, neskatina spartaus medienos biomasės prieaugio. Po 10 metų toje pačioje teritorijoje įvertinus medžių biomasės prieaugį skirtumas tarp kontrolinių ir dirvožemyje su nuotekų dumblo augusių pušų (ir kitų medžių) nebuvo statistiniu požiūriu reikšmingas. Nustatyta, kad pušies biomasės prieaugis 87 % didesnis negu beržo, o pušies biomasėje sukauptos Cu, kadmio (Cd) ir Pb koncentracijos apie 60 % didesnės negu beržo. Šis tyrimas padėjo išskirti dvi paprastosios pušies ir karpotojo beržo funkcinių bruožų grupes: geresnes dirvožemio maistines savybes įrodo specifinio (lyginamojo) šaknų ilgio (angl. *specific root length, SRL*) padidėjimas, šaknų ir ūglių santykio sumažėjimas (angl. *root:shoot ratio*) bei didesnis šaknų išsišakojimas, o potencialų sunkiųjų metalų poveikį – mažesni medžių aukštis, kamieno skersmuo ir sausoji biomasė (Vaitkutė *et al.* 2010).

Cheminių elementų (Pb, Cu, Zn, kalio (K) ir magnio (Mg)) koncentracijų *Pinus sylvestris* L. medienoje tyrimai, atlikti buvusioje intensyvioje pramonės teritorijoje (Panevėžyje), patvirtino pušies, kaip *bioindikatoriaus*, aerogeninių metalų aplinkoje savybes. Palyginti su kontroline teritorija, paprastosios pušies medienoje nustatytos apie du kartus didesnės Cd ( $p < 0,05$ ), 1,5 karto didesnė Zn ( $p < 0,001$ ) ir Cu ( $p < 0,05$ ) koncentracijos, 1,3 karto didesnė K ( $p < 0,05$ ) ir 1,9 karto didesnė Mg ( $p < 0,05$ ) koncentracijos (Pundyte *et al.* 2011a, b).

Medžius veikia ne tik antropogeniniai, bet ir gamtiniai (abiotiniai ir biotiniai) veiksniai, dažnai virstantys stresoriais. Kaip minėta, *bioindikacijos* ir *biostebėsenos* metu svarbu įvertinti ir sukaupti žinių apie *bioindikatorius* bei *biomonitorius* sąveiką su aplinka, parinkti būdingus ir tinkamus ėminius ir plėsti mėginių bankus ateities tyrimams.

Medžių ligos, kaip biotinio veiksnio/stresoriaus pavyzdys, medžio ir ligos sukėlėjo sąveika įgauna aktualumą siekiant suprasti natūralų atsparumą ir šios sąveikos biogeochemijos aspektus. *H. annosum* yra žinomas kaip pavojingas spygliuočių medžių pagrindinių šaknų puvinio sukėlėjas, toliau pažeidžiantis ir spygliuočio medieną. 1999 m. jis buvo pažeidęs apie 1,2 tūkst. ha pušynų (Navasaitis *et al.* 2003). Tiriant pažeistos pušies medienos sudėtį, 1959–1960 m. rievėje nustatytos apie 5 kartus didesnės negu kitose metinėse rievėse Ni ir chromo (Cr) koncentracijos. Šioje rievėje pagal grybienos mikromorfologinius požymius išskirta ir medienos puvinio sukėlėjo *Heterobasidion annosum* grybiena. Pažeistoje medienoje padidėjusios Ni ir Cr koncentracijos gali būti paaiškinamos medžio pakantumui ligai, kai padidinamos cheminių elementų koncentracijos kovai su ligos sukėlėjais (Poschenrieder *et al.* 2006). Ligos sukėlėjas, patekęs į medieną, ardo jos sudėtinę dalį ligniną, kad pasiektų ląstelių sienelėse esančią celiuliozę, nes ji – labai svarbus energijos šaltinis. Šių procesų sukeltas stresas signalais paskatina medžio apsauginės savybes. Tikėtina, kad metalai taip pat dalyvauja apsauginėse reakcijose. Žinoma, kad Ni gerina medžiagų apykaitą, nes, besikaupdamas ant ląstelių sienelių, didina jų pralaidumą, o Cr yra būtinas gliukozei, iš kurios vėliau susiformuoja gliukozidai ir ligninas, gaminti. Šie duomenys, nors ir pirminiai, leidžia manyti, kad pagal metalų koncentracijų pokyčius galima identifikuoti me-

džius veikiančius biotinius ir abiotinius veiksnius (Baltrėnaitė, Butkus 2006; Vaitkutė, Baltrėnas 2011).

Kitų teršalų poveiks pušims ir kitiems medžiams Lietuvoje aptartas šiuose darbuose: Stravinskienė, Dičiūnaitė 1999; Juknys et al. 2003, 2006; Kupčinskienė 2011; Ozolinčius et al. 2005; Augustaitis et al. 2007a, b; Augustaitis, Bytnerowicz 2008; Butkus et al. 2008; Stravinskienė, Šimatonytė 2008; Stravinskienė, Erlickytė-Marčiukaitienė 2009; Pliopaitė Bataitienė, Butkus 2010; Stravinskienė 2010, 2011; Baltrėnas, Vaitkutė 2011.

## 5. Perspektyvos

Kompleksinė stebėseną kelia didelį susidomėjimą. Jai vykdyti ir tyrimams atlikti ateityje prireiks suformuoti tarpdalykines tyrimo grupes. Tai leistų darbo grupėms greitai ir lanksčiai prisitaikyti prie konkrečios mokslo pažiūrų sistemos ir sparčiai keistis įvairių disciplinų informacija. Siekiami suartinti ekotoksikologus ir medicinos gydytojus profilaktinės sveikatos priežiūros srityje, turėtume veikti kartu, o ne dirbti atskirai, kaip dažniausiai buvo daroma pastaruosius 20 metų.

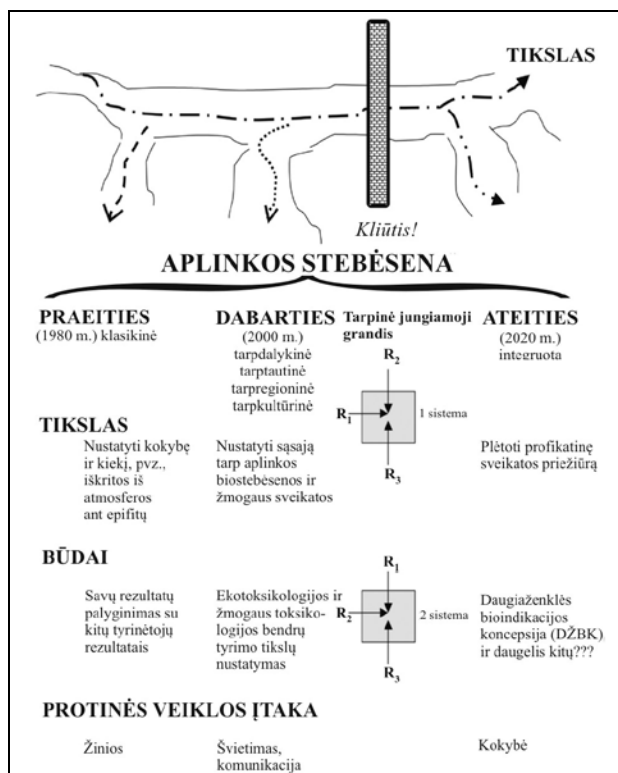
Tam tikslui verta panagrinėti ankstesnius ketinimus siekti geomokslinės ekologijos ir medicinos mokslo sąsajų bei kai kurias su tuo susijusias kraštovaizdžio ekologijos tradicijas (Jusatz, Flohn 1937; Jusatz 1958; Mueller 1974; Schweinfurth 1974).

10 pav. pavaizduotos nūdienos kliūtys, trukdančios dabartinius ekotoksikologijos ir žmogaus toksikologijos bioindikacijos metodus greitai perorientuoti į kompleksiškesnius. Akivaizdu, kad ekologai ir medicinos specialistai glaudžiai nebendradarbiauja ir nediskutuoja. Praeityje atotrūkis tarp analizinius tyrimus atlikdavusių mokslininkų, ekotoksikologų ir specialistų, susijusių su aplinkos medicina (žmogaus toksikologija), buvo akivaizdus. Dabar tai galima išspręsti glaudžiau bendradarbiaujant, bendraujant ir nubrėžiant bendrus tyrimo ir švietimo tikslus. Ateityje siekiant bendrų mokslo tikslų panašioms problemoms spręsti reikia rinktis skirtingus specifinius tyrimo metodus, o tai reiškia bendrą mokymąsi tyrinėjant tuos pačius tarpdalykinius klausimus (tai 10 pav. simbolizuoja vidurinis stulpelis tarp dabartinės situacijos ir jos ateityje). Daugiaženklės bioindikacijos koncepcija (angl. *Multi-Marked Bioindication Concept (MMBC)*) yra nauja tarpdalykinė sistema, apimanti kompleksines ir funkcines profilaktinės sveikatos priežiūros dalis.

Galima pateikti vieną paprastą pavyzdį iš savo kasdienio darbo. Naujausiame H. Marquard ir S. Schaefer leidinyje (2004) pateikiama apie 100 mokslininkų darbų, įskaitant aktualiausias temas iš įprastų mokslo sričių, tačiau į mokslines ekotoksikologų išvadas (pvz., Aplinkos toksikologijos ir chemijos organizacijos (*SETAC*) susistemintas nacionalinio ir tarptautinio lygmens išvadas) neatsižvelgta. Siekiant pašalinti šį neatitikimą, būtina apsvarstyti du svarbius klausimus:

1. Bendrą toksikologų rengimą universitetuose, naudojant suderintus vadovėlius (pvz., 2003 m. išleista A. Fomin ir bendraautorių vadovėlių apie praktinį biotestų taikymą),

2. Bendrų mokslo projektų vykdymą. Pastarajam klausimui įgyvendinti būtina išplėtoti tarpdalykinį dialogą, apibrėžti bendrus tikslus, numatyti metodus bei pradėti tyrimus.



10 pav. Galimi požiūriai, siejant aplinkos stebėseną ir žmogaus sveikatos problemas

Fig. 10. Possible approaches linking environmental monitoring and human health

## Padėka

Dėkojame visiems kolegoms, draugams ir daugybės tyrimų užsakovams visame pasaulyje už pastabas ir dalykiškas diskusijas bioindikacijos ir biostebėsenos tema. Straipsnyje atsižvelgta į daugelį jų minčių. Dėkojame prof. Arvydui Lietuvninkui ir prof. habil. dr. Vidai Stravinskienei už pastabas ir patarimus.

## Literatūra

- Adriano, D. C. 1986. *Trace Elements in the Terrestrial Environment*. Berlin: Springer.
- Adriano, D. C. (Ed.). 1992. *Biogeochemistry of Trace Metals*. Boca Raton: Lewis.
- Afanasev, Iu. A.; Galkin, S. F.; Kuznetsov, N. A.; Mashkovich, K. I.; Menshikov, V. V.; Fomin, S. A. 2001. *Monitoring i metody kontrolia okruzhaiushchej sredy: uchebnoe posobie v 2-kh chastiakh. Ch. 2. Spetsialnaia*. Moskva: Izd-vo MNEPU. 337 s.
- Altenburger, R.; Schmitt, M. 2003. Predicting toxic effects of contaminants in ecosystems using single species investigations, in B. Markert; A. Breure; H. Zechmeister (Eds.). *Bioindicators & Biomonitoring. Principles, Concepts and Applications*. Amsterdam: Elsevier, 153–198.
- [http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80135-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80135-2)

- Arndt, U. 1992. Key reactions in forest disease used as effects criteria for biomonitoring, in D. H. McKenzie; D. E. Hyatt; V. J. McDonald (Eds.). *Ecological Indicators*. Proc. Int. Symp. Fort Lauderdale USA. Oct. 16–19, 1990. London: Elsevier, Applied Science Publishers, 829–840.
- Augustaitis, A.; Augustaitienė, I.; Kliučius, A.; Girgždienė, R.; Šopauskienė, D. 2007a. Contribution of ambient ozone to changes in Scots pine defoliation. Step II of Lithuanian studies, *Scientific World Journal* 7 (Supplement 1): 47–57. <http://dx.doi.org/10.1100/tsw.2007.54>
- Augustaitis, A.; Augustaitienė, I.; Cinga, G.; Mažeika, J.; Deltuvas, R.; Juknys, R.; Vitas, A. 2007b. Did the ambient ozone affect stem increment of Scots pines (*Pinus sylvestris* L.) on territories under regional pollution load? Step III of Lithuanian studies, *Scientific World Journal* 7 (Supplement 1): 58–66.
- Augustaitis, A.; Bytnerowicz, A. 2008. Contribution of ambient ozone to Scots pine defoliation and reduced growth in the Central European forests: A Lithuanian case study, *Environmental Pollution* 155(3): 436–445. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2008.01.042>
- Bacchi, M. A.; De Nadai Fernandes, E. A.; Oliveira, H. 2000. Brazilian experience on  $K_0$ -standardized neutron activation analysis, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 245(1): 217–222. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1006766923721>
- Baltrėnaitė, E.; Butkus, D. 2004. Investigation of heavy metals transport from the soil to the pine tree, *Water Science and Technology* 50(3): 239–244.
- Baltrėnaitė, E.; Butkus, D. 2006. Heavy metals in *Pinus Sylvestris* L. wood infected with *Heterobasidion annosum*, in 1<sup>st</sup> Scientific Meeting of WG1 Root to Shoot Translocation of Pollutants and Nutrients of COST Action 859. June 22–24, 2006, Santiago de Compostela, Spain. Poster presentation.
- Baltrėnaitė, E.; Butkus, D. 2007. Modelling of Cu, Ni, Zn, Mn and Pb transport from soil to seedlings of coniferous and leafy trees, *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management* 15(4): 200–207.
- Baltrėnas, P.; Ignatavičius, G.; Idzelis, R.; Greičiūtė, K. 2005. *Aplinkos apsauga kariniuose poligonuose*. Vilnius: Technika. 302 p.
- Baltrėnas, P.; Vaitkutė, D. 2011. Investigation and evaluation of copper and zinc concentration tendencies in *Pinus sylvestris* L. tree rings, *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management* 19(4): 278–286. <http://dx.doi.org/10.3846/16486897.2011.634418>
- Bargagli, R. (Ed.). 1998. *Trace Elements in Terrestrial Plants – An Ecophysiological Approach to Biomonitoring and Biorecovery*. Berlin: Springer.
- Berlin, A.; Wolff, A. H.; Hasegawa, Y. (Eds.). 1979. The use of biological specimens for the assessment of human exposure to Environmental Pollutants, in *Proc. of the International Workshop at Luxembourg*. April 18–22, 1977. The Hague: Martinus Nijhoff Publishers.
- Blanck, H.; Wängberg, S. A.; Molander, S. 1988. Pollution-induced community tolerance. A new ecotoxicological tool, in J. J. Cairns; J. R. Pratt (Eds.). *Functional Testing of Aquatic Biota for Estimating Hazards of Chemicals*, ASTM STP 988. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 219–230. <http://dx.doi.org/10.1520/STP26265S>
- Bode, P.; De Nadai Fernandes, E. A.; Greenberg, R. R. 2000. Metrology for chemical measurements and the position of INAA, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 245(1): 109–114. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1006752509734>
- Bosch, P.; Pinborg, U. 2003. Bio-indicators and the indicator approach of the European Environment Agency, in B. Markert; A. Breure; H. Zechmeister (Eds.). *Bioindicators & Biomonitoring. Principles, Concepts and Applications*. Amsterdam: Elsevier, 903–916.
- Breulmann, G.; Markert, B.; Leffler, U.; Weckert, V.; Herpin, U.; Lieth, H.; Ogino, K.; Ashton, P. S.; La Frankie, J. V.; Hua Sang Lee, Ninomiya, I. 1997. Multielement analysis in different compartments of Euphorbiaceae species from a tropical rain forest ecosystem in Sarawak, Malaysia, *Tropical Ecology* 38(2): 181–191.
- Breulmann, G.; Ogino, K.; Ninomiya, I.; Ashton, P. S.; La Frankie, J. V.; Leffler, U.; Weckert, V.; Lieth, H.; Kon-schak, R.; Markert, B. 1998. Chemical characterisation of Dipterocarpaceae by use of chemical fingerprinting – A multielement approach at Sarawak, Malaysia, *Science of the Total Environment* 215: 85–100. [http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697\(98\)00116-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697(98)00116-8)
- Broadley, M. R.; White, P. J.; Hammond, J. P.; Zelko, I.; Lux, A. 2007. Zinc in plants, *New Phytologist* 173(4): 677–702. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.01996.x>
- Broadley, M. R.; Hammond, J. P.; King, G. J.; Astley, D.; Bowen, H. C.; Meacham, M. C.; Mead, A.; Pink, D. A. C.; Teakle, G. R.; Hayden, R. M.; Spracklen, W. P.; White, P. J. 2008. Shoot calcium and magnesium concentrations differ between subtaxa, are highly heritable, and associate with potentially pleiotropic loci, *Brassica oleracea*. *Plant Physiology* 146(4): 1707–1720. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.107.114645>
- Burdin, K. S. 1985. *Osnovy biologicheskogo monitoringa*. Moskva: Izd-vo MGU. 158 s.
- Butkus, D.; Baltrėnaitė, E. 2007a. Transport of heavy metals from soil to *Pinus sylvestris* L. and *Betula pendula* trees, *Ekologija* 53(1): 29–36.
- Butkus, D.; Baltrėnaitė, E. 2007b. Accumulation of heavy metals in tree seedlings from soil amended with sewage sludge, *Ekologija* 53(4): 68–76.
- Butkus, D.; Pliopaitė Bataitienė, I.; Bataitis, T. 2008.  $^{90}\text{Sr}$  kaupimosi paprastosis pušies (*Pinus sylvestris* L.) medienoje tyrimas, *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management* 16(3): 121–127. <http://dx.doi.org/10.3846/1648-6897.2008.16.121-127>
- Cakmak, I. 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification?, *Plant and Soil* 302(1–2): 1–17. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-007-9466-3>
- Carreras, H. A.; Gudino, G. L.; Pignata, M. L. 1998. Comparative biomonitoring of atmospheric quality in five zones of Cordoba city (Argentina) employing the transplanted lichen *Usnea* sp., *Environmental Pollution* 103: 317. [http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491\(98\)00116-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491(98)00116-X)
- Chaney, R. L.; Chen, K. Y.; Li, Y. M.; Angle, J. S.; Baker, A. J. M. 2008. Effects of calcium and nickel tolerance and accumulation in Alyssum species and cabbage grown in nutrient solution, *Plant and Soil* 311(1–2): 131–140. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-008-9664-7>
- Cook, E.; Kairiūkštis, L. (Eds.). 1999. *Methods of Dendrochronology. Applications in the Environmental Sciences*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 394 p.
- Dansereau, P. 1971. *Dimensions of Environmental Quality*. Montréal.

- Djingova, R.; Kuleff, I. 2000. Instrumental techniques for trace analysis, in B. Markert, K. Friese (Eds.). *Trace Elements, Their Distribution and Effects in the Environment*. Amsterdam: Elsevier, 137–185.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215\(00\)80008-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215(00)80008-9)
- Duvigneaud, P.; Denayer-De Smet, S. 1973. Biological cycling of minerals in temperate deciduous forests, *Ecol. Stud.* 1: 199.  
[http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-85587-0\\_14](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-85587-0_14)
- Elias, C.; De Nadai Fernandes, E. A.; França, E. J.; Bacchi, M. A. 2006. Seleção de epifitas acumuladoras de elementos químicos na Mata Atlântica, *Biota Neotropica* 6(1). [cited 29 May 2006] Available from Internet: [www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?article+bn021106012006](http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?article+bn021106012006).
- Ellenberg, H.; Mayer, R.; Schauermann, J. 1986. *Ökosystemforschung, Ergebnisse des Solling Projektes*. Stuttgart: Ulmer.
- Farago, M. E. (Ed.). 1994. *Plants and the Chemical Elements*. Weinheim: VCH.
- Figueiredo, A. M. G.; Saiki, M.; Ticianelli, R. B.; Domingos, M.; Alves, E. S.; Markert, B. 2001. Determination of trace elements in *Tillandsia usneoides* by neutron activation analysis for environmental biomonitoring, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 249(2): 391–395.  
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1013274721149>
- Figueiredo, A.; Nogueira, C.; Markert, B.; Heidenreich, H.; Fraenzle, S.; Liepelt, G.; Saiki, M.; Domingos, M.; Millian, F.; Herpin, U. 2007. The use of an epiphyte (*Tillandsia usneoides* L.) as bioindicator of heavy metal pollution in Sao Paulo, Brazil, in Morrison, G.; Rauch, S. (Eds.). *Highway and Urban Environment. Proc. of the 8<sup>th</sup> Highway and Urban Symposium*. Berlin: Springer, 249–257.
- Fomin, A.; Oehlmann, J.; Markert, B. 2003. *Praktikum zur Ökotoxikologie*. Grundlagen und Anwendungen biologischer Testverfahren. Landsberg: Ecomed Verlagsgesellschaft. 240 p.
- Fraenzle, O. 1993. *Contaminants in Terrestrial Environments*. Berlin: Springer.  
<http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-77366-2>
- Fraenzle, S.; Markert, B. 2000a. The biological system of the elements. Part II: a theoretical model for establishing the essentiality of chemical elements. The application of Stoichiometric Network analysis to the Biological of the Elements, *Science of the Total Environment* 249: 223–241.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00520-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00520-3)
- Fraenzle, S.; Markert, B. 2000b. Das Biologische System der Elemente: Eine modelltheoretische Betrachtung zur Essentialität von chemischen Elementen. Die Anwendungen der Stöchiometrischen Netzwerkanalyse auf das Biologische System der Elemente, *UWSF-Z Umweltchem Ökotox* 12(2): 97–103.
- Fraenzle, S.; Markert, B. 2002. The Biological System of the Elements (BSE) – a brief introduction into historical and applied aspects with special reference on “ecotoxicological identity cards” for different element species (e.g. As and Sn), *Environmental Pollution* 120(1): 27–45.
- Fraenzle, S.; Markert, B. 2007. Metals in biomass: From the biological system of elements to reasons of fractionation and element use, *Env. Sci. Pollut. Res.* 6: 404–413.
- Fraenzle, S.; Markert, B.; Wuenschmann, S. 2007. Dynamics of trace metals in organisms and ecosystem: Prediction of metal bioconcentration in different organisms and estimation of exposure risks, *Environmental Pollution* 150: 22–33.
- Fraenzle, S.; Markert, B.; Fraenzle, O.; Lieth, H. 2008. The biological system of elements: Trace element concentration and abundance in plants give hints on biochemical reasons of sequestration an essentiality. Chapter 1, in M. N. V. Prasad (Ed.). *Trace Elements – Nutritional Benefits, Environmental Contamination, and Health Implications*. London: Wiley & Sons, 1–22.
- França, E. J.; De Nadai Fernandes, E. A.; Bacchi, M. A.; Rodrigues, R. R.; Verburg, T. G. 2005. Inorganic chemical composition of native trees of the Atlantic Forest, *Environmental Monitoring and Assessment* 102: 349–357.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10661-005-6032-4>
- França, E. J.; De Nadai Fernandes, E. A.; Bacchi, M. A.; Tagliaferro, F. S.; Saiki, M. 2007. Soil-leaf transfer of chemical elements for the Atlantic Forest, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 271(2): 405–411.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10967-007-0223-0>
- Freitas, M. C.; Reis, M.; Alves, L. C.; Wolterbeek, H. T. 1999. Distribution in Portugal of some pollutants in the lichen *Parmelia sulcata*, *Environmental Pollution* 106: 229.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00071-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00071-8)
- Freitas, M. C.; Pacheco, A. M. G.; Vieira, B. J.; Rodrigues, A. F. 2006. Neutron activation analysis of atmospheric biomonitors from the Azores: A comparative study of lower and higher plants, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 270: 21–27.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10967-006-0304-5>
- Garty, J. 1998. Airborne elements, cell membranes, and chlorophyll in transplanted lichens, *Journal of Environmental Quality* 27: 973.  
<http://dx.doi.org/10.2134/jeq1998.00472425002700040035x>
- Genßler, L.; Rademacher, J.; Rammert, U. 2001. Arbeitskreis der Landesanstalten und -Ämter: Konzeption der künftigen Aufgabenbereiche, *Z Umweltchem Ökotox* 13(6): 375.
- Gimbert, F.; Mench, M.; Coeurdassier, M.; Badot, P. M.; de Vaufléury, A. 2008. Kinetic and dynamic aspects of soil-plant-snail transfer of cadmium in the field, *Environmental Pollution* 152(3): 736–745.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.044>
- Golan-Goldhirsh, A.; Barazani, O.; Nepovim, A.; Soudek, P.; Smrcek, S.; Dufkova, L.; Krenkova, S.; Yrjala, K.; Schroeder, P.; Vanek, T. 2004. Plant response to heavy metals and organic pollutants in cell culture and at whole plant level, *Journal of Soil and Sediments* 4: 133–140.  
<http://dx.doi.org/10.1007/BF02991058>
- Greger, M. 2008. Trace elements and radionuclides in edible plants. Chapter 6, in M. N. V. Prasad (Ed.). *Trace Elements – Nutritional Benefits, Environmental Contamination, and Health Implications*. London: Wiley & Sons, 121–136.
- Hanikenne, M.; Talke, I. N.; Haydon, M. J.; Lanz, C.; Nolte, A.; Motte, P.; Kroymann, J.; Weigel, D.; Kraemer, U. 2008. Evolution of metal hyperaccumulation required cis-regulatory changes and triplication of HMA4, *Nature* 453(7193): 391–396.  
<http://dx.doi.org/10.1038/nature06877>
- Harju, L.; Saarela, K. E.; Rajander, J.; Lill, J. O.; Lindroos, A.; Heselius, S. J. 2002. Environmental monitoring of trace elements in bark of Scots pine by thick – target PIXE, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* 189: 163–167.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0168-583X\(01\)01031-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-583X(01)01031-X)
- Hartley, W.; Lepp, N. W. 2008. Remediation of arsenic contaminated soils by iron-oxide application, evaluated in terms of plant productivity, arsenic and phytotoxic metal uptake, *Science of the Total Environment* 390(1): 35–44.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.09.021>

- Herpin, U.; Markert, B.; Weckert, V.; Berlekamp, J.; Friese, K.; Siewers, U.; Lieth, H. 1997. Retrospective analysis of heavy metal concentrations at selected locations in the Federal Republic of Germany using moss material from herbarium, *Science of the Total Environment* 205: 1–12. [http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697\(97\)05403-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697(97)05403-X)
- Herpin, U.; Siewers, U.; Kreimes, K.; Markert, B. 2001. Bio-monitoring – Evaluation and assessment of heavy metal concentrations from two German moss surveys, in C. A. Burga; A. Kratochwil (Eds.). *General and Applied Aspects on Regional and Global Scales*. Tasks for Vegetation Science 35: 73–95.
- IAEA (International Atomic Energy Agency). 2001. *Coordinated Research: Project on Validation and Application of Plants as Biomonitors of Trace Elements Atmospheric: Pollution, Analyzed by Nuclear and Related Techniques*. Vienna: IAEA, NAHRES-63.
- Irtelli, B.; Navari-Izzo, F. 2008. Uptake kinetics of different arsenic species by *Brassica carinata*, *Plant and Soil* 303(1): 105–113. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-007-9491-2>
- Jeran, Z.; Smodis, B.; Jacimovic, R. 1993. Multielemental analysis of transplanted lichens (*Hypogymnia physodes*, L. Nyl.) by instrumental neutron activation analysis, *Acta Chimica Slovenica* 40: 289–299.
- Juknys, R.; Vencloviene, J.; Stravinskiene, V.; Augustaitis, A.; Bartkevicius, E. 2003. Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) growth and condition in a polluted environment: From decline to recovery, *Environmental Pollution* 125 (2): 205–212. [http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00070-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00070-8)
- Juknys, R.; Vencloviene, J.; Jurkonis, N.; Bartkevicius, E.; Šepetienė, J. 2006. Relation between individual tree mortality and tree characteristics in a polluted and non-polluted environment, *Environmental Monitoring and Assessment* 121(1–3): 519–542. <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-005-9152-y>
- Jusatz, H. J.; Flohn, H. 1937. Geomedizin und geographie, in *Petermanns Geographische Mitteilungen* 83: 1–5.
- Jusatz, H. J. 1958. Die Bedeutung der landschaftsökologischen Analyse für geographisch-medizinische Forschung, *Erdkunde* XII: 284–289.
- Keith, L. H. (Ed.). 1988. *Principles of Environmental Sampling*. Washington, DC: ACS Professional Reference Book, American Chemical Society.
- Kettrup, A. 2003. Environmental specimen banking, in B. Markert; A. Breure; H. Zechmeister (Eds.). *Bioindicators and Biomonitors. Principles, Concepts and Applications*. Amsterdam: Elsevier, 775–796. [http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80151-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80151-0)
- Klein, R.; Paulus, M. (Eds.). 1995. *Umweltproben für die Schadstoffanalytik im Biomonitoring*. Stuttgart: Gustav Fischer.
- Klein, R. 1999. Retrospektive Wirkungsforschung mit lagerfähigen Umweltproben, in J. Oehlmann, B. Markert (Eds.). *Ökotoxikologie – Ökosystemare Ansätze und Methoden*. Landsberg: Ecomed, 285–293.
- Klumpp, A.; Domingos, M.; Pignata, M. L. 2000. Air pollution and vegetation damage in South America – State of knowledge and perspectives, in S. B. Agrawal; M. A. Agrawal. *Environmental Pollution and Plant Responses*. Boca Raton: Lewis.
- Kostka-Rick, R.; Leffler, U. S.; Markert, B.; Herpin, U.; Lusche, M.; Lehrke, J. 2001. Biomonitoring zur wirkungsbezogenen Ermittlung der Schadstoffbelastungen in terrestrischen Ökosystemen. Konzeption, Durchführung und Beurteilungsmaßstäbe im Rahmen von Genehmigungsverfahren, *UWSF-Z Umweltchem Ökotox* 13 (1): 5–12.
- Kupčinskienė, E. 2011. *Aplinkos fitoindikacija*. Kaunas. 752 p.
- Lazorchak, J.; Hill, B.; Brown, B.; McCormick, F.; Engle, V.; Lattier, D.; Bagley, M.; Griffith, M.; Maciorowski, A.; Toth, G. 2003. USEPA biomonitoring and bioindicator concepts needed to evaluate the biological integrity of aquatic systems, in B. Markert, A. Breure, H. Zechmeister (Eds.). *Bioindicators & Biomonitors. Principles, Concepts and Applications*. Amsterdam: Elsevier, 831–874. [http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80153-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80153-4)
- Lepp, N. W.; Madejon, P. 2007. Cadmium and zinc in vegetation and litter of a voluntary woodland that has developed on contaminated sediment-derived soil, *Journal of Environmental Quality* 36(4): 1123–1131. <http://dx.doi.org/10.2134/jeq2006.0218>
- Lewis, R. A.; Stein, N.; Lewis, C. W. (Eds.). 1983. Environmental specimen banking and monitoring as related to banking, in *Proc. Int. Workshop Saarbrücken, FRG*. May 10–15, 1982 (BMI, UBA, US-EPA). Boston: Martinus Nijhoff Publ. 358.
- Li, H. F.; McGrath, S. P.; Zhao, F. J. 2008. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite, *New Phytologist* 178(1): 92–102. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02343.x>
- Lieth, H. 1998. Ecosystem principles for ecotoxicological analyses, in G. Schüürmann, B. Markert (Eds.). *Ecotoxicology – Ecological Fundamentals, Chemical Exposure and Biological Effects*. New York: John Wiley & Sons and Spectrum Akademischer Verlag, 17–73.
- Lietuvninkas, A. 2012. *Aplinkos geochemija*. Vilnius: Technika. 309 p.
- Likens, G. E.; Bormann, F. H.; Pierce, R. S.; Eaton, J. S.; Johnson, N. M. 1977. *Bio-geochemistry of a Forested Ecosystem*. Berlin: Springer. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-9993-7>
- Loppi, S.; Bonini, I. 2000. Lichens and mosses as biomonitors of trace elements in areas with thermal springs and fumarole activity (Mt. Amiata, central Italy), *Chemosphere* 41: 1333–1336. [http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00026-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00026-6)
- Luepke, N. P. (Ed.). 1979. *Monitoring Environmental Materials and Specimen Banking*. The Hague.
- Lux, A.; Šotníková, A.; Opatrná, J.; Greger, M. 2004. Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of Cd accumulation and sensitivity, *Physiologia Plantarum* 120: 537–545. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0031-9317.2004.0275.x>
- Machado, A.; Šlejkovec, Z.; Van Elteren, J. T.; Freitas, M. C. 2006. Arsenic speciation in transplanted lichens and tree bark in the framework of a biomonitoring scenario, *Journal of Atmospheric Chemistry* 53: 237–249. <http://dx.doi.org/10.1007/s10874-006-9013-2>
- Markert, B. (Ed.). 1993. *Plants as Biomonitors – Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment*. Weinheim: VCH.
- Markert, B.; Weckert, V. 1993. Time-and-site integrated long-term biomonitoring of chemical elements by means of mosses, *Toxicological and Environmental Chemistry* 40: 43–56. <http://dx.doi.org/10.1080/02772249309357930>
- Markert, B. 1994. The Biological System of the Elements (BSE) for terrestrial plants (glycophytes), *Science of the Total Environment* 155: 221–228. [http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697\(94\)90501-0](http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697(94)90501-0)
- Markert, B. (Ed.). 1996. *Instrumental Element and Multi-Element Analysis of Plant Samples*. Weinheim: Wiley-VCH.

- Markert, B.; Oehlmann, J.; Roth, M. 1997. General aspects of heavy metal monitoring by plants and animals, in G. Subramanian, V. Iyengar (Eds.). *Environmental Biomonitoring – Exposure Assessment and Specimen Banking*, ACS Symp. Ser. 654. Washington DC: American Chemical Society. <http://dx.doi.org/10.1021/bk-1997-0654.ch002>
- Markert, B.; Wappelhorst, O.; Weckert, V.; Herpin, U.; Siewers, U.; Friese, K.; Breulmann, G. 1999. The use of bioindicators for monitoring the heavy metal status of the environment, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 240(2): 425–429. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02349387>
- Markert, B.; Fraenzle, S.; Fomin, A. 2002. From the biological system of the elements to biomonitoring, in E. Merian, M. Anke, M. Ihnat, M. Stoeppler. *Elements and Their Compounds in the Environment* (2<sup>nd</sup> ed.). Weinheim: Wiley-VCH.
- Markert, B.; Breure, A.; Zechmeister, H. (Eds.). 2003a. *Bioindicators and Biomonitors. Principles, Concepts and Applications*. Amsterdam: Elsevier.
- Markert, B.; Breure, A.; Zechmeister, H. 2003b. Definitions, Strategies and Principles for Bioindication/Biomonitoring of the Environment, in B. Markert, A. Breure, H. Zechmeister (Eds.). *Bioindicators and Biomonitors. Principles, Concepts and Applications*. Amsterdam: Elsevier, 3–39. [http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80131-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80131-5)
- Markert, B. 2007. Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 21(S1): 77–82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2007.09.015>
- Markert, B.; Wuenschmann, S.; Fränze, S.; Wappelhorst, O.; Weckert, V.; Breulmann, G.; Djingova, R.; Hrpín, U.; Lieth, H.; Schroeder, W.; Siewers, U.; Steiness, E.; Wolterbeek, B.; Zechmeister, H. 2008. On the road from environmental biomonitoring to human health aspects: Monitoring atmospheric heavy metal deposition by epiphytic/epigeic plants: Present status and future needs, *International Journal of Environment and Pollution* 32(4): 486–498. <http://dx.doi.org/10.1504/IJEP.2008.018412>
- Marmiroli, N.; Maestri, E. 2008. Health implications of trace elements in the environment and the food chain. Chapter 2, in M. N. V. Prasad (Ed.). *Trace Elements – Nutritional Benefits, Environmental Contamination, and Health Implications*. London: Wiley & Sons, 23–54.
- Marquard, H.; Schaefer, S. (Eds.). 2004. *Lehrbuch der Toxikologie*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH. 1348 p.
- Matthiessen, P. 2003. Critical assessment of international marine monitoring programmes for biological effects of contaminants in the North-East Atlantic area, in B. Markert, A. Breure, H. Zechmeister (Eds.). *Bioindicators & Biomonitors. Principles, Concepts and Applications*. Amsterdam: Elsevier, 917–939. [http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80156-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80156-X)
- Melekhova, O. P.; Egorova, E. I. (Red.). 2010. *Biologicheskij kontrol okružhaiushchej sredy: bioindikatsiia i biotestirovanie: uchebnoe posobie*. Moskva: I. TS Akademiia. 288 s.
- Mench, M.; Vangronsveld, J.; Beckx, C.; Ruttens, A. 2006. Progress in assisted natural remediation of an arsenic contaminated agricultural soil, *Environmental Pollution* 144(1): 51–61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2006.01.011>
- Mueller, P. 1980. *Biogeographie*. Stuttgart: UTB, Ulmer-Verlag.
- Mueller, P. 1974. *Beiträge der Biogeographie zur Geomedizin und Ökologie des Menschen. Fortschritte der geome-dizinischen Forschung*. Beihefte: Geographische Zeitschrift, 88–109.
- Navasaitis, M.; Ozolinčius, R.; Smaliukas, D.; Balevičienė, J. 2003. *Lietuvos dendroflora*. Kaunas: Lututė. 576 p.
- Navasaitis, M. 2008. *Dendrologija*. Vilnius: Margi raštai. 856 p.
- Nikolaevskij, V. S. 1989. *Ekologicheskaja otsenka zagriazneniia sredy i sostoianii nazemnykh ekosistem metodami fitoindikatsii*. Moskva: MGU. 165 s.
- Oehlmann, J.; Markert, B. 1997. *Humantoxikologie. Eine Einführung für Apotheker, Ärzte, Natur- und Ingenieurwissenschaftler*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.
- Opekunova, M. G. 2004. *Bioindikatsiia zagriaznenij*. Izd-vo SPbGY. 265 s.
- Ozolinčius, R.; Stakėnas, V.; Serafinavičiūtė, B. 2005. Meteorological factors and air pollution in Lithuanian forests: possible effects on tree condition, *Environmental Pollution* 137(3): 587–595. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2005.01.044>
- Pacheco, A. M. G.; Freitas, M. C.; Reis, M. A. 2003. Trace-element measurements in atmospheric biomonitors – a look at the relative performance of INAA and PIXE on olive-tree bark, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A* 505: 425–429. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9002\(03\)01113-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9002(03)01113-6)
- Parris, K. 2003. Some concepts and future developments: developing agri-biodiversity indicators as a tool for policy makers, in B. Markert, A. Breure, H. Zechmeister (Eds.). *Bioindicators & Biomonitors. Principles, Concepts and Applications*. Amsterdam: Elsevier, 797–829. [http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80152-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80152-2)
- Pla, R. R.; Moreno, M. A.; Adler, M. 2000. The use of biomonitors and neutron activation analysis in the study of air pollution of Buenos Aires city, in *Biomonitoring of Atmospheric Pollution (with Emphasis on Trace Elements)* – BioMAP. IAEA (ed.). Lisbon: IAEA, 122–128.
- Pliopaitė Bataitienė, I.; Butkus, D. 2010. Investigation of <sup>137</sup>Cs and <sup>90</sup>Sr transfer from sandy soil to Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) rings, *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management* 18(4): 281–287. <http://dx.doi.org/10.3846/jeelm.2010.32>
- Poschenrieder, Ch.; Tolrà, R.; Barceló, J. 2006. Can metals defend plants against biotic stress?, *Trends in Plant Science* 11(6): 288–295. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2006.04.007>
- Poschenrieder, C.; Allué, J.; Tolra, R.; Llugany, M.; Barcelo, J. 2008. Trace elements and plant secondary metabolism: Quality and efficacy of herbal products. Chapter 5, in M. N. V. Prasad (Ed.). *Trace Elements – Nutritional Benefits, Environmental Contamination, and Health Implications*. London: Wiley & Sons, 99–120.
- Prasad, M. N. V. (Ed.). 2008. *Trace Elements as Contaminants and Nutrients. Cosequences in Ecosystems and Human Health*. London: Wiley & Sons.
- Pundytė, N.; Baltrėnaitė, E. 2011. Tree bark ability to accumulate metals, in *14-oji Lietuvos jaunųjų mokslininkų konferencija „Mokslas – Lietuvos ateitis“*, įvykusi Vilniuje 2011 m. balandžio 14 d. Stendinis pranešimas.
- Pundytė, N.; Baltrėnaitė, E.; Pereira, P.; Paliulis, D. 2011a. Anthropogenic effects on heavy metals and macronutrients accumulation in soil and wood of *Pinus sylvestris* L., *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management* 19(1): 34–43. <http://dx.doi.org/10.3846/16486897.2011.557473>



- Pundyte, N.; Baltrėnaitė, E.; Pereira, P.; Paliulis, P. 2011b. Heavy metals and macronutrients transfer from soil to *Pinus sylvestris* L., in 8<sup>th</sup> International Conference “Environmental Engineering”: Selected papers, vol 1. May 19–20, 2011. Vilnius: Technika, 308–312.
- Quartacci, M. F.; Irtelli, B.; Baker, A. J. M.; Navari-Izzo, F. 2007. The use of NTA and EDDS for enhanced phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by *Brassica carinata*, *Chemosphere* 68(10): 1920–1928. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.02.058>
- Quevauviller, P.; Maier, E. A. 1999. *Interlaboratory Studies and Certified Reference Materials for Environmental Analysis – The BCR approach*. Amsterdam: Elsevier.
- Quevauviller, P.; Borchers, U.; Thompson, C.; Simonart, T. (Eds.). 2008. *The Water Framework Directive. Ecological and Chemical Status Monitoring Water Quality Measurements*. London: Wiley & Sons.
- Rasemann, W.; Markert, B. 1998. Industrial waste dumps – Sampling and analysis, in R. Meyers. *Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation*, Vol. 4. London: Wiley & Sons, 2356–2373.
- Renella, G.; Mench, M.; Van der Lelie, D.; Pietramellara, G.; Ascher, J.; Ceccherini, M. T.; Landi, L.; Nannipieri, P. 2004. Hydrolase activity, microbial biomass and community structure in long-term Cd-contaminated soils, *Soil Biology Biochemistry* 36: 443–451. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.10.022>
- Rezek, J.; Wiesche, C.; Mackova, M.; Zadrazil, F.; Macek, T. 2008. The effect of ryegrass (*Lolium perenne*) on decrease of PAH content in long term contaminated soil, *Chemosphere* 70(9): 1603–1608. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.08.003>
- Roots, E. F. 1992. Environmental information – A step to knowledge and understanding, *Environmental Monitoring and Assessment* 50(4): 87–94. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00407497>
- Roots, E. F. 1996. Environmental information – Autobahn or maze?, in W. Schroeder, O. Fraenzle, H. Keune, P. Mandy. *Global Monitoring of Terrestrial Ecosystem*. Berlin: Ernst & Sohn für Architektur und technische Wissenschaften GmbH, 3–31.
- Roszbach, M.; Schladot, J. D.; Ostapczuk, P. (Eds.). 1992. *Specimen Banking, Environmental Monitoring and Modern Analytical Approaches*. Berlin: Springer.
- Rozenberg, G. S. (Red.). 1994. *Bioindikatsiia: Teoriia, Metody, Prilozhenie*. Toliatti. 105 s.
- Rutgers, M.; Van 't Verlaat, I.; Wind, B.; Posthuma, L.; Breure, A. M. 1998. Rapid method for assessing pollution-induced community tolerance in contaminated soil, *Environmental Toxicology and Chemistry* 17: 2210. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.5620171111>
- Saiki, M.; Chaparro, C. G.; Vasconcellos, M. B. A.; Marcelli, M. P. 1997. Determination of trace elements in lichens by instrumental neutron activation analysis, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 217(1): 111–115. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02055358>
- Schroeder, P.; Navarro-Avino, J.; Azaizh, H.; Golan-Goldhirsh, A.; Di Gregorio, S.; Komives, T.; Langergraber, G.; Lenz, A.; Maestri, E.; Memon, A. R.; Ranalli, A.; Sebastiani, L.; Smrcek, S.; Vanek, T.; Vuilleumier, S.; Wissing, F. 2007. Using phytoremediation technologies to upgrade waste water treatment in Europe, *Environmental Science Pollution Research* 14 (7): 490–497. <http://dx.doi.org/10.1065/espr2006.12.373>
- Schroeder, P.; Daubner, D.; Maier, H.; Neustifter, J.; Debus, R. 2008a. Phytoremediation of organic xenobiotics – Glutathione dependent detoxification in Phragmites plants from European treatment sites, *Bioresource Technology* 99(15): 7183–7197. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.081>
- Schroeder, P.; Herzig, R.; Bojinov, B.; Ruttens, A.; Nehnevajova, E.; Stamatiadis, S.; Memon, A.; Vassilev, A.; Caviezel, M.; Vangronsveld, J. 2008b. Bioenergy to save the world – Producing novel energy plants for growth on abandoned land, *Environmental Science and Pollution Research* 15(3): 196–204.
- Schroeder, W.; Fraenzle, O.; Keune, H.; Mandy, P. (Eds.). 1996. *Global Monitoring of Terrestrial Ecosystems*. Berlin: Ernst & Son Verlag.
- Schroeder, W.; Hornsmann, I.; Pesch, R.; Schmidt, G.; Fraenzle, S.; Wuenschmann, S.; Heidenreich, H.; Markert, B. 2008. Moosmonitoring als Spiegel der Landnutzung? Stickstoff- und Metallakkumulation zweier Regionen Mitteleuropas. *Z. Umweltchem, Ökotox* 20 (1): 62–74.
- Schulz, H.; Popp, P.; Huhn, G.; Stärk, H.J.; Schüürmann, G. 1999. Biomonitoring of airborne inorganic and organic pollutants by means of pine tree barks. I. Temporal and spatial variations, *Science of the Total Environment* 232: 49–55. [http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00109-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00109-6)
- Schweinfurth, U. 1974. *Geoökologische Überlegungen zur geomedizinischen Forschung. Fortschritte der geomedizinischen Forschung*. Beihefte: Geographische Zeitschrift, 30–43.
- Schwitzguébel, J. P.; Braillard, S.; Page, V.; Aubert, S. 2008. Accumulation and transformation of sulfonated aromatic compounds by higher plants – Toward the phytotreatment of wastewater from dye and textile industries. Chapter 16, in N. A. Khan, S. Singh, S. Umar. (Eds.). *Sulfur Assimilation and Abiotic Stress in Plants*. Verlag: Springer, 335–353. ISBN 978-3-540-76325-3.
- Shtangeeva, I.; Ayrault, S.; Jain, J. 2005. Thorium uptake by wheat at different stages of plant growth, *Journal of Environmental Radioactivity* 81: 283–293. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvrad.2004.01.041>
- Siewers, U.; Herpin, U. 1998. Schwermetalleinträge in Deutschland. Moos-Monitoring 1995/96, *Geol. Jb. Sonderheft SD 2*: 1–200.
- Siewers, U.; Herpin, U.; Strassburg, S. 2000. Schwermetalleinträge in Deutschland. Teil 2: Moos-Monitoring 1995/1996, *Geol. Jb. Sonderheft SD (3)*: 1–121.
- Smeets, K.; Ruytinx, J.; Van Bellegem, F.; Semane, B.; Lin, D.; Vangronsveld, J.; Cuypers, A. 2008. Critical evaluation and statistical validation of a hydroponic culture system for *Arabidopsis thaliana*, *Plant Physiology and Biochemistry* 46(2): 212–218. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.09.014>
- Smoldis, B. 2003. IAEA approaches to assessment of chemical elements in atmosphere, in B. Markert, A. Breure, H. Zechmeister (Eds.). *Bioindicators and Biomonitors. Principles, Concepts and Applications*. Amsterdam: Elsevier, 875–902.
- Stravinskienė, V.; Dičiūnaitė, B. 1999. Health condition and dendrochronological study of the lime trees Kaunas City, *Baltic Forestry* 5(2): 37–44. <http://dx.doi.org/10.3846/1648-6897.2008.16.57-64>
- Stravinskienė, V. 2002. *Klimato veiksmų ir antropogeninių aplinkos pokyčių dendrochronologinė indikacija*: monografija. Kaunas: Lututė. 175 p.
- Stravinskienė, V. 2004. *Ekologijos ir aplinkotyros žodynėlis*. Kaunas: Šviesa. 238 p.

- Stravinskienė, V. 2005. *Bioindikaciniai aplinkos vertinimo metodai*: mokomoji knyga. Kaunas: Vytauto Didžiojo universitetas. 215 p.
- Stravinskienė, V.; Šimatonytė, A. 2008. Dendrochronological research of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) growing in Vilnius and Kaunas forest parks, *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management* 16(2): 57–64
- Stravinskienė, V. 2009. *Aplinkos bioindikacija*: bendrasis vadovėlis aukštosios mokyklos. Kaunas: Vytauto Didžiojo universitetas. 332 p.
- Stravinskienė, V.; Erlickytė-Marčiukaitienė, R. 2009. Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) radial growth dynamics in forest stands in the vicinity of “Akmenės cementas” plant, *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management* 17(3): 140–147.
- Stravinskienė, V. 2010. Medžių būklės stebėseną ir vertinimą Kauno miesto aplinkoje, *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management* 18(3): 217–225. <http://dx.doi.org/10.3846/jeelm.2010.25>
- Stravinskienė, V. 2011. Pollution of “Akmenės cementas” vicinity: alkalizing microelements in soil, composition of vegetation species and projection coverage, *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management* 19(2): 130–139. <http://dx.doi.org/10.3846/16486897.2011.579449>
- Stoeppler, M.; Duerbeck, H. W.; Nuernberg, H. W. 1982. Environmental specimen banking, *Talanta* 29: 963. [http://dx.doi.org/10.1016/0039-9140\(82\)80237-3](http://dx.doi.org/10.1016/0039-9140(82)80237-3)
- Stoeppler, M.; Zeisler, R. (Eds.). 1993. Biological environmental specimen banking, *Science of the Total Environment* (Special Issue): 139–140.
- Suchara, I.; Sucharova, J.; Hola, M. 2007. Bio-Monitoring of the atmospheric deposition of elements using moss analysis in the Czech Republic, *Acta Pruhoniciana* 87: 186.
- Toelg, G. 1976. Spurenanalyse der Elemente – Zahlenlotto oder exakte Wissenschaft, *Naturwissenschaften* 63: 99–110. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00600484>
- Trapp, S.; Feifcova, D.; Rasmussen, N. F.; Bauer-Gottwein, P. 2008. Plant uptake of NaCl in relation to enzyme kinetics and toxic effects, *Environmental and Experimental Botany* 64(1): 1–7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.05.001>
- Vaitkutė, D.; Baltrėnaitė, E.; Booth, C. A.; Fullen, M. A. 2010. Does sewage sludge amendment to soil enhance the development of Silver birch and Scots pine?, *Hungarian Geographical Bulletin* 59(4): 393–410.
- Vaitkutė, D.; Baltrėnas, P. 2011. Manganese trends in tree rings of *Pinus sylvestris* L. monitoring soil chemical changes, in 8<sup>th</sup> International Conference “Environmental Engineering”: Selected papers, vol 1. May 19–20, 2011. Vilnius: Technika, 425–431.
- Vtorova, V.; Kholopova, L.; Markert, B. 2001. Bli-elemental composition of tropical plants and bioindication of the environmental status, in *Biogeochemistry and Geochemical Ecology. Selected Presentations of the 2nd Russian School of Thought Geochemical Ecology and the Biogeochemical Study of Taxons of the Biosphere*. January 25–29, 1999, Moscow, 177–189.
- Vutchkov, M. 2001. Biomonitoring of air pollution in Jamaica through trace-element analysis of epiphytic plants using nuclear and related analytical techniques, in *Co-ordinated Research Project on Validation and Application of Plants as Biomonitors of Trace Element Atmospheric Pollution, Analyzed by Nuclear and Related Techniques*. Vienna: IAEA, NAHRES-63.
- Verbruggen, N.; Hermans, Ch.; Schat, H. 2009. Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation and tolerance in plants, *New Phytology* 181: 759–776. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02748.x>
- Verkleij, J. A. C. 2008. Mechanisms of metal hypertolerance and (hyper)accumulation in plants, *Agrochimica* 52(3): 167–188.
- Wagner, G. 1992. Einsatzstrategien und Meßnetze für die Bioindikation im Umweltmonitoring, *Ecoinforma*: 1–8.
- Warren, A.; Harrison, C. M. 1984. People and the ecosystem, Biogeography as a study of ecology and culture, *Geoforum* 15: 365–381. [http://dx.doi.org/10.1016/0016-7185\(84\)90045-9](http://dx.doi.org/10.1016/0016-7185(84)90045-9)
- Wittig, R. 1993. General aspects of biomonitoring heavy metals by plants, in B. Markert (Ed.). *Plants as Biomonitors – Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment*. Weinheim: VCH, 3–27.
- Wolterbeek, H. T.; Kuik, P.; Verburg, T. G.; Herpin, U.; Markert, B.; Thöni, L. 1995. Moss interspecies comparisons in trace element concentrations, *Environmental Monitoring and Assessment* 35: 263–286. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00547636>
- Wolterbeek, B. 2002. Biomonitoring of trace element air pollution: principles, possibilities and perspectives, *Environmental Pollution* 120: 11–21. [http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00124-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00124-0)
- Wuenschmann, S.; Oehlmann, J.; Delakowitz, B.; Markert, B. 2001. Untersuchungen zur Eignung wildlebender Wanderratten (*Rattus norvegicus*) als Indikatoren der Schwermetallbelastung, Teil 1. UWSF-Z Umweltchem, *Ökotox* 13(5): 259–265.
- Wuenschmann, S.; Oehlmann, J.; Delakowitz, B.; Markert, B. 2002. Untersuchungen zur Eignung wildlebender Wanderratten (*Rattus norvegicus*) als Indikatoren der Schwermetallbelastung, Teil 2. UWSF-Z Umweltchem, *Ökotox* 14(2): 96–103.
- Wuenschmann, S.; Fränze, S.; Markert, B.; Zechmeister, H. 2008. Input and transfer of trace metals from food via mothermilk to the child: Bioindicative aspects to human health. Chapter 22, in M. N. V. Prasad (Ed.). *Trace Elements – Nutritional Benefits, Environmental Contamination, and Health Implications*. London: Wiley, 555–592.
- Zakharov, V. M.; Klark, D. M. (Red.). 1993. *Biotest: Integralnaia otsenka zdorovia ekosistem i otdelnykh vidov*. Moskva: Mosk. otdelenie MF biotest. 67 s.
- Zakharov, V. M.; Chubinishbili, A. T.; Dmitriev, S. G. 2000. *Zdorove sredi: Praktika otsenki*. Moskva: Tsentr ekologicheskoy politiki Rossii. 320 s.
- Zechmeister, H. G.; Dullinger, S.; Hohenwallner, D.; Riss, A.; Hanus-Illy, S. 2007. Pilot study on road traffic emissions (PAHs, heavy metals) measured by using mosses in a tunnel experiment, Austria, *Environmental Science and Pollution Research* 13: 398–404. <http://dx.doi.org/10.1065/espr2006.01.292>

**INNOVATIVE OBSERVATION OF THE ENVIRONMENT. BIOINDICATORS AND BIOMONITORS: DEFINITIONS, STRATEGIES AND APPLICATIONS<sup>7</sup>****B. Markert, S. Wünschmann, E. Baltrėnaitė****Abstract**

For a number of years “classical” programs for environmental monitoring are being supplemented by bioindication measures. Investigations on living organisms or their remains (e.g. peat) are used to indicate the environmental situation in either qualitative (bioindication) or quantitative (biomonitoring) terms. This provides pieces of information on environmental burdens of a region at a given point of time or on its changes with time (trend analysis). Classical bioindication often deals with observation and measurements of chemical noxae (both inorganic and organic ones) in well-defined bioindicator plants or animals (including man). In terms of analytical procedures and results there are parallel developments between progresses in bioindication and innovation in analytical methods. After some 30 years of development in bioindication there are now the following newer lines for further development: 1) more frequent inclusion of multi-element total analyses for a thorough investigation of mutual correlations in the sense of the Biological System of Elements; 2) more work on (analytical) speciation issues to proceed into real effect-oriented environmental sciences; and 3) there should and must be a focus on integrative bioindication methods because for a large number of environmental monitoring problems a single bioindicator will not provide any meaningful information: a single bioindicator is about as good as none at all. Integrative concepts such as the Multi-Marked Bioindication Concept (MMBC) provide basic means to get into precautionary environmental protection effects drawing upon such a second-generation bioindication methodology. The selected case studies in Lithuania illustrate some new aspects for the development of integrative bioindication concept.

**Keywords:** Environment Monitoring, Biomonitoring, Bioindication, Biological System of the Elements, Integrative Biomonitoring, Multi-Marked Bioindication Concept (MMBC).

**Bernd MARKERT.** Univ.– Prof. Dr Habil, natural scientist. Studies in Chemistry and Biology, Ludwig Maximilian University of Munich, Germany. PhD in 1986 and habilitation for ecology in 1993 at the University of Osnabrueck (Germany). Former head of the International Graduate School Zittau and Professor for Environmental High Technology. Currently structuring an “Environmental Institute of Scientific Networks” in Haren, Germany. Publications: author/co-author of about 400 scientific papers and 18 scientific books. Research interests: Biochemistry of trace substances in the water/soil/plant system; Instrumental analysis of chemical elements; Developing the “Biological System of the Elements”; Eco- and human-toxicological aspects of hazardous substances; Pollution control by use of bioindicators and technologies for waste management, environmental restoration and remedial action on soils; Different interdisciplinary working fields of economic and social sciences.

**Simone WUENSCHMANN.** Dr, natural scientist. Former scientific assistant at the International Graduate School Zittau, Germany, Department of Environmental High Technology; head of the working group for Human- and Ecotoxicology. Degree of a Diploma Engineer for Ecology and Environmental Protection in 2001 at the University of Applied Sciences Zittau/Görlitz; PhD in Environmental Sciences in 2006 at the University of Vechta, Germany. Publications: author/co-author of 35 scientific papers and 3 scientific books. Participant of about 50 international conferences. Research interests: Pollution control; human- and ecotoxicology; ecology and environmental protection; environmental engineering with emphasis on renewable energy.

**Edita BALTRĖNAITĖ.** Dr, Assoc. Prof., Dept of Environmental Protection, Vilnius Gediminas Technical University (VGTU). She gained her Environmental Engineering and Landscape Management PhD in 2007 from Vilnius Gediminas Technical University (Lithuania). Publications: author/co-author of ~38 scientific papers, participant of about 20 international conferences. She is the Deputy member of the Management Committee of COST FA0905 *Mineral-Improved Crop Production For Healthy Food and Feed*. Main research visits: Latvian State Institute of Wood Chemistry under FP7 project *The Implementation of Research Potential of the Latvian State Institute of Wood Chemistry in the European Research Area (WOOD-NET) (FP7-203459)*; University of Ljubljana (Slovenia) under FP7 project *SPIRIT Support of Public and Industrial Research Using Ion Beam Technology*; short-term scientific mission at Norwegian University of Life Sciences, in the framework of COST 859 action *Phytotechnologies to Promote Sustainable Land Use and Improve Food Safety (COST-859-STSM-04824)*. Research interests: metal uptake by higher plants, biogeochemistry.

<sup>7</sup> This article is in parts related to B. A. Markert, A. M. Breure, and H. G. Zechmeister (Eds.). 2003b: *Bioindicator and Biomonitoring*. Elsevier, Amsterdam, New York, Tokyo, p. 3–39.