

**МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

**06.05 – МКР. 2158 «С». 2023.11.23. 25 ПЗ**

**КРЮЧКОВА АНТОНА МИКОЛАЙОВИЧА**

**2024 р.**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

**Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології**

**УДК 504.5:661.852:63**

**ПОГОДЖЕНО**

Декан факультету захисту  
рослин, біотехнологій та екології

\_\_\_\_\_ Юлія КОЛОМІЄЦЬ  
(підпис)

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 р.

**ДОПУСКАЄТЬ ДО ЗАХИСТУ**

Завідувач кафедри загальної  
екології, радіобіології та безпеки  
життєдіяльності

\_\_\_\_\_ Алла КЛЕПКО  
(підпис)

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 р.

**МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

**на тему «Екотоксикологічна оцінка свинцю у системі «агрохімікат-грунт-  
рослина»»**

Спеціальність 101 Екологія

Освітня програма Екологічний контроль і аудит

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

**Гарант освітньої програми**

Кандидат

сільськогосподарських

наук, доцент, доцент

кафедри екології агросфери

та екологічного контролю

\_\_\_\_\_ (підпис)

Марина ЛАДИКА

**Керівник магістерської кваліфікаційної роботи**

Кандидат

сільськогосподарських

наук, доцент кафедри

загальної екології,

радіобіології та безпеки

життєдіяльності, старший

науковий співробітник

\_\_\_\_\_ (підпис)

Валерія БОНДАРЬ

Виконав

\_\_\_\_\_ (підпис)

Антон КРЮЧКОВ

**КИЇВ - 2024**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

**Факультет захисту рослин, біоресурсів та природокористування**

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри загальної екології, радіобіології  
та безпеки життєдіяльності,  
доктор біологічних наук \_\_\_\_\_ Алла КЛЕПКО  
(підпис)

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 р.

**ЗАВДАННЯ  
ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ  
СТУДЕНТУ**

Крючков Антон Миколайович

Спеціальності «101» Екологія

Освітня програма Екологічний контроль і аудит

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

Тема магістерської кваліфікаційної роботи «Екотоксикологічна оцінка свинцю у системі «агрохімікат-грунт-рослина»

Затверджена наказом ректора НУБіП України від «23» листопада 2023р. №2158С

Термін подання завершеної роботи на кафедру «15» листопада 2024 р.

Вихідні дані до магістерської роботи: лабораторні дослідження

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Дослідити вплив агрохімікатів на поведінку свинцю у ґрунтах та вивчити особливості переходу та накопичення свинцю у рослинах;
2. Провести аналіз ризиків забруднення ґрунту свинцем внаслідок застосування агрохімікатів;
3. Встановити небезпечні рівні впливу свинцю на ґрунт за реакцією фітотестів.

Перелік графічного матеріалу – рисунки, схеми, таблиці

Дата видачі завдання «\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 р.

Керівник магістерської  
кваліфікаційної роботи

\_\_\_\_\_

(підпис)

Валерія БОНДАРЬ

Завдання прийняв до  
виконання

\_\_\_\_\_

(підпис)

Антон КРЮЧКОВ

## РЕФЕРАТ

Дипломна робота другого (магістерського) рівня вищої освіти на тему «Екотоксикологічна оцінка свинцю за результатами вивчення системи «агрохімікат – ґрунт – рослина» містить 13 таблиць, 10 рисунків, 4 формули.

**Метою** дипломної роботи є екотоксикологічна оцінка агрохімікатів за впливом на процеси забруднення ґрунту свинцем та переходу його у рослини.

**Об'єктом** дипломної роботи є свинець, агрохімікати, тест-рослини.

**Предмет дослідження:** екотоксикологічне оцінювання агрохімікатів за впливом на процеси міграції та акумуляції у системі “агрохімікат-ґрунт-рослина”.

Д

л 1) Дослідити вплив агрохімікатів на поведінку свинцю у ґрунтах та вивчити особливості переходу та накопичення свинцю у рослинах;

2) Провести аналіз ризиків забруднення ґрунту свинцем внаслідок застосування агрохімікатів;

о 3) Встановити небезпечні рівні впливу свинцю на ґрунт за реакцією фітотестів.

я Для виконання поставлених завдань будуть використовуватися загальні принципи біотестування токсичності хімічних речовин; методи оцінки агрохімікатів за вмістом токсичних речовин та методи побудови графіків, що в

н **Ключові слова:** свинець, забруднення, ґрунт, важкі метали, навколишнє природне середовище, агрохімікат, рослина, біоаккумуляція, фітотестування.

я

б

р

а

ж

и

ю

д

и

п

## ЗМІСТ

Реферат .....	4
Зміст .....	5
Вступ.....	6
Розділ 1. Огляд літератури .....	7
1.1 Агрохімікати як джерело забруднення ґрунту важкими металами .....	7
1.2 Важкі метали та їх вплив на здоров'я .....	12
1.2.1. Свинець: характеристика та особливості .....	16
1.3 Загальний характер та принципи біотестування.....	18
1.3.1 Практичне застосування біотестування.....	21
1.4. Біоремедіація як засіб вилучення свинцю з забрудненого ґрунту.....	23
Розділ 2. Умови та методика проведення дослідження .....	26
2.1 Біотестування забруднення ґрунту свинцем за використання показника інгібіторної дії на N-мінералізацію ґрунту.....	26
2.2 Метод визначення токсичності препаратів за реакцією вищих рослин на прикладі салату кучерявого ( <i>Lactuca sativa</i> L.) .....	28
Розділ 3. результати експериментальних досліджень .....	32
3.1 Забруднення ґрунту свинцем внаслідок застосування агрохімікатів .....	32
3.2 Біотестування забруднення ґрунту свинцем за використання показника інгібіторної дії на N-мінералізацію ґрунту.....	34
3.3 Встановлення EC50 для свинцю за активністю N-мінералізації .....	37
3.4 Визначення токсичності свинцю за впливом на проростання насіння крес-салату ( <i>Lactuca sativa</i> L.).....	38
ВИСНОВКИ.....	45
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	47

## ВСТУП

Природне середовище є важливим елементом національного багатства, а також якості нашого життя. Виснаження природних ресурсів та зростаюче забруднення навколишнього середовища призвели до прояву різних форм ресурсної та екологічної кризи. Дослідження, проведені вченими, обґрунтовують їх негативні економічні та соціальні наслідки. Це питання також все більше підіймається суспільством, так як декілька останніх десятиліть в Україні дуже змінилось ставлення соціуму до навколишнього природного середовища, та його охорони в цілому.

Наразі ми спостерігаємо відхід від традиційної охорони навколишнього середовища на користь сталого розвитку. Основою стратегії сталого розвитку є узгодження технічного та економічного прогресу з вимогами охорони навколишнього середовища [1].

Ті очікування, які вимагає суспільство від сталого розвитку, розвивалися разом з посиленням законодавчих вимог, збільшенням навантаження на навколишнє середовище в результаті забруднення, неефективного використання ресурсів, утилізації відходів, змінами клімату, деградації екосистем і біорізноманіття тощо.

Збільшення забруднення навколишнього природного середовища також негативно впливає на здоров'я населення: скорочується середня тривалість життя, збільшується кількість захворювань та випадків смерті тощо.

Стале сільське господарство має на меті просування сталої системи землеробства, раціонального використання природних ресурсів та обмеження негативного впливу сільського господарства на навколишнє природне середовище. Багато питань, пов'язаних з цією проблемою, пов'язані, серед іншого, з технологією застосування агрохімікатів у рослинництві, методами вирощування та переробки сільськогосподарської продукції, її якістю, зберіганням та використанням [2-8].

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1 Агрохімікати як джерело забруднення ґрунту важкими металами

На сьогодні ведення інтенсивного сільського господарства призводить до постійного нераціонального застосування агрохімікатів з метою збільшення продуктивності сільськогосподарських культур.

До агрохімікатів належать органічні, мінеральні і бактеріальні добрива, хімічні меліоранти, регулятори росту рослин та інші речовини, що застосовуються для підвищення родючості ґрунтів, урожайності сільськогосподарських культур і поліпшення якості рослинницької продукції [9]. Усі вони містять різну кількість макро- та мікроелементів, у т.ч. та ряд токсичних речовин (табл. 1.1).

Таблиця 1.1 - Вміст токсичних елементів в агрохімікатах мг/кг сухої маси[10]

Елементи	Види добрив				Пестициди
	Фосфорні	Азотні	вапняні	органічні	
Миш'як	2-1200	2,2-120,0	0,1-24,0	3-25	22-60
Кадмій	0,1-170,0	0,05-8,50	0,04-0,10	0,3-0,8	-
Кобальт	1-12	5,4-12,0	0,4-3,0	0,3-24,0	-
Хром	66-245	3,2-19,0	10-15	5,2-55,0	-
Мідь	1-300	1-15	2,-125	2-60	12-50
Ртуть	0,01-1,20	0,3-2,9	0,05	0,09-0,20	0,8-42,0
Марганець	40-2000	-	40-1200	30-550	-
Молібден	0,1-60,0	1-7	0,1-15	0,5-3,00	-
Нікель	7-38	7-34	10-20	7,8-30,0	-
Свинець	7-225	2-27	20-1250	6,6-15,0	60
Селен	0,5-25,0	-	0,08-0,10	2-4	-
Цинк	50-1450	1-42	10-450	15-250	1,3-25,0

З наведених у табл. 1.1 агрохімікатів найчастіше використовуються мінеральні добрива, саме тому вони вимагають більш пильної уваги. У зв'язку з

цим їх слід розглядати як важливий чинник забруднення продукції, ґрунту та навколишнього середовища.

Вміст мікроелементів у ґрунті залежить від природи його материнських порід. Найбільш «багатими» за вмістом домішок важких металів є фосфоровмісні добрива: подвійний суперфосфат, амофоси, амофоски, нітрофоси, нітрофоски, рідкі комплексні добрива [11].

До основних шкідливих важких металів належать свинець, кадмій, миш'як, ртуть.

Найнебезпечнішими формами, в яких зустрічаються важкі метали, є їх розчинені форми, осаджені спільно з оксидами металів, адсорбовані або пов'язані з біологічними залишками [12].

Першопричиною високого вмісту у фосфорних добривах важких металів є природні фосфорити, що використовуються для добрив. Як приклад можна навести фосфорити, що видобуваються в Австралії, в яких міститься 5–225 мг/кг свинцю, північноамериканські – 7–630 мг/кг, трапляються фосфорити із вмістом свинцю 1500 мг/кг [13].

Також багато авторів відзначають підвищений вміст свинцю в добривах, що досягає 75 мг/кг у простому суперфосфаті, 155 мг/кг – у подвійному, 126 мг/кг – у діамфосі [14]. Особливо велика ймовірність забруднення ґрунтів та продукції при використанні добрива з підвищеним вмістом свинцю протягом кількох років.

Крім свинцю фосфатні руди мають у своєму складі домішки кадмію (до 980 мг/кг) та інших металів [15].

Практично всі фосфатні руди також містять великі кількості рідкісноземельних та радіоактивних елементів, які також здатні негативно впливати на якість продукції, наприклад, урану, радію, стронцію тощо [11].

Аналіз фосфорних добрив показав, що у їх складі серед 6 найбільш небезпечних елементів найбільшу частину посідає свинець. Так, його валовий вміст у подвійному гранульованому суперфосфаті становить 60,3 мг/кг. На другому місці знаходиться нікель, за ним йдуть миш'як, хром, кадмій та ртуть.

Така ж послідовна залежність зберігається і за вмістом розчинних форм у 1N HCl та ацетатно-амонійному буферному розчині з рН 4,8 (табл. 1.2). При використанні мінеральних добрив, особливо фосфорних, відзначається значне надходження легкозасвоюваних рухомих форм свинцю та нікелю [16].

Таблиця 1.2 - Вміст важких металів в мінеральних добривах, мг/кг

Показники	Хром	Миш'як	Нікель	Свинець	Ртуть	Кадмій
Валовий вміст:	6,46	8,17	18,70	60,3	1,42	1,72
-Подвійний гран. суперфосфат						
- Хлористий калій	1,181	2,20	5,25	8,79	0,05	0,24
Кислотнo-розчинні в 1N HCl:	2,16	4,70	6,35	18,70	0,75	0,300
- Подвійний гран. суперфосфат						
- Хлористий калій	0,29	1,08	0,39	1,51	0,05	0,006
Розчинні в ацетатно-амонійному буфері з рН 4,8:	0,78	2,5	6,03	7,90	0,19	0,190
- Подвійний гран. суперфосфат						
- Хлористий калій	0,15	0,25	0,26	0,80	0,5	0,005

Добрива, що виробляються на основі такої сировини, справді є потенційними джерелами забруднення. Внаслідок надмірного використання таких добрив відбувається локальне “зафосфачування” ґрунтів через низьку розчинність ґрунтових сполук, тобто ґрунт збагачується засвоюваними фосфатами і нові порції добрив не надають ефекту. Також основний геохімічний напрямок фосфорного глобального кругообігу спрямований у бік підземних та

поверневих вод. Протягом багатьох років спостерігається забруднення фосфатами океанів, морів, річок, озер тощо [17].

Також у фосфорних добривах є небезпечним вміст фтору: в суперфосфаті досягає 1-1,5, амофосі 3-5%. У середньому з кожної тонної необхідного рослин фосфору на поля надходить близько 160 кг фтору [17].

У добривах, на відміну природних фосфатних руд, фтор перебуває у вигляді розчинних сполук і легко надходить у рослину. Підвищене накопичення фтору в рослинах порушує обмін речовин, ферментативну активність (інгібує дію фосфатази та ін), негативно діє на фото- та біосинтез білка, розвиток плодів. Підвищені дози фтору пригнічують розвиток тварин, призводять до отруєння; у людини при вмісті у воді фтору більше 2 мг/л руйнується емаль зубів, а за 8 мг/л розвивається остеосклероз [18].

Саме тому, для нівелювання можливості залучення до біологічного кругообігу токсичних елементів, застосування фосфорних добрив має перебувати під постійним контролем [18].

Аналіз фосфорних добрив показав, що у їх складі серед 6 найбільш небезпечних елементів найбільшу частину посідає свинцю. Так, його валовий вміст у подвійному гранульованому суперфосфаті становить 60,3 мг/кг. На другому місці знаходиться нікель, за ним йдуть миш'як, хром, кадмій та ртуть. Така ж послідовна залежність зберігається і за вмістом розчинних форм у 1N HCl та ацетатно-амонійному буферному розчині з рН 4,8 (табл. 4). При використанні мінеральних добрив, особливо фосфорних, відзначається значне надходження легкозасвоюваних рухомих форм свинцю та нікелю [16].

Нині на ринку України представлені такі види мінеральних добрив:

- фосфорні
- азотні
- калійні
- комплексні тощо [19].

Правильне внесення добрив у рекомендованих дозах з урахуванням потреб рослин та вмісту поживних речовин у ґрунті дозволяє отримувати високе та

повноцінне забезпечення суспільства у якісній рослинній продукції і не становить загрози для навколишнього середовища. З іншого боку, надмірно високі дози, неправильні пропорції поживних речовин або невикористання рослинами добрив можуть призвести до забруднення навколишнього середовища або його деградації: забруднення ґрунтів, сільськогосподарської продукції, підземних вод, водойм, річок, атмосфери тощо [19].

Наприклад, застосування азотних добрив дозволяє підвищити врожайність сільськогосподарських культур і частково підвищити природну родючість ґрунту, особливо під час першого вегетаційного періоду.. Але надмірне їх використання призводить до забруднення ґрунту нітратами, які не сорбуються ґрунтом, легко мігрують за профілем і потрапляють в ґрунтові води [20].

У крові організмів, т.ч. і людини, нітрати, з'єднуючись з гемоглобіном, перешкоджають перенесенню кисню та викликають тяжке захворювання спричиняє таке захворювання як метабологічне - кисневе голодування.

Підвищена концентрація нітратів у питній воді на рівні до 40-50 мг/л є досить актуальною для підземних вод Київської області протягом довгих років [20].

Збільшення забруднення навколишнього середовища призводить до того, що все більше і більше сполук додається до переліку пріоритетних речовин і пріоритетних небезпечних речовин.

У свою чергу, пріоритетними небезпечними речовинами є «речовини або групи речовин, які є токсичними, стійкими та сприйнятливими до біоаккумуляції, а також інші речовини чи групи речовин, рівень яких досягає рівня занепокоєння, який слід поступово видаляти з водного середовища. з метою їх ліквідації» [21].

Токсичні речовини, що зустрічаються в природі і використовуються в господарській діяльності людини, негативно впливають на весь спектр біологічних систем. Однією з найбільш значних груп токсичних речовин є важкі метали. Токсичні властивості важких металів відомі досить давно. Однак лише останні кілька десятиліть їм стали приділяти достатньо уваги. Це пов'язано, насамперед, з посиленням ролі цих елементів у біологічних процесах,

обумовленим збільшенням надходження їх у навколишнє середовище у ході антропогенної діяльності.

Враховуючи, що в загальній структурі земельного фонду України площа сільськогосподарських угідь становить 41,5 млн га, і лише близько 40% цих площ щорічно обробляється мінеральними добривами, а також постійно зростаючий попит на мінеральні добрива, який порівняно з 2011 р. збільшився майже вдвічі (без урахування окупованих територій), ринковий потенціал мінеральних добрив нового покоління становить 90% [22]. Це свідчить про високу ймовірність того, що необхідна екологізація сільського господарства - зменшення руйнівного впливу мінеральних добрив на навколишнє середовище - еволюційний перехід до прогресивної системи біосферного землекористування, адаптованої до умов середовища.

## **1.2 Важкі метали та їх вплив на здоров'я**

Зрошення стічних вод, утилізація твердих побутових відходів, нанесення мулу, вихлопні гази автомобілів, хімічна промисловість, металургія та енергетика є основними джерелами забруднення ґрунтів важкими металами. Однак використання агрохімікатів у сільському господарстві є основним джерелом забруднення сільськогосподарських ґрунтів важкими металами. Хоча важкі метали зустрічаються в природних умовах у низьких концентраціях, вони є однією з пріоритетних груп забруднювачів, які є факторами деградації навколишнього середовища [23]. Важкі метали - це хімічні елементи, щільність яких перевищує 5 г/см<sup>3</sup>. До важких металів відносять понад 40 елементів, атомна маса яких перевищує 50 а.о.м. [24].

Важкі метали, на відміну від органічних сполук, за своєю природою не підлягають природному процесу деградації і стають постійним компонентом природи, тобто можуть залишатися в ґрунтах десятиліттями і навіть століттями. Через процеси, що відбуваються в ґрунті, частина важких металів переходить у біологічно доступні форми, надходить рослинами і призводить до забруднення

посівів. Загалом, наявність важких металів в організмах свідчить про їх біодоступність [25].

Важкі метали завдяки своїй токсичності, стабільності та біодоступності є серйозним і небезпечним забруднювачем сільськогосподарського ґрунту. Це стало актуальною проблемою, оскільки важкі метали здатні забруднювати ґрунт і воду через вплив на фізико-хімічні критерії, знижує біологічну активність ґрунту, зменшує одержання ґрунтом біологічних поживних речовин, а також здатен накопичуватися в рослинах і тваринах, що становить велику загрозу для екосистем, агросистем, а також здоров'я людей [25]. Вони також можуть підвищувати хронічну токсичність харчового ланцюга завдяки біодоступності. Важкі метали можуть знаходитися в різних хімічних формах, де кожна форма має свою власну рухливість, доступність для живих істот, хімічні реакції та токсичність. Таким чином, використовуючи просторову форму і тип зв'язку важких металів, можна вивчати їх доступність для живих істот і форм, що потрапляють у навколишнє середовище з часом. Фактично рухливість важких металів у навколишньому середовищі залежить від їх хімічної форми та типу зв'язку [26-27].

Для деяких металів найбільш токсичною є форма, яка має алкільні групи, приєднані до металу, оскільки більшість таких сполук розчинні в тканинах тварин і можуть проходити через біологічні мембрани [28].

Параметри, які визначають величину переходу важких металів із ґрунту:

- вихідний валовий вміст хімічного елемента у ґрунті;
- рухома частка елементів у ґрунті;
- поглинальна здатність ґрунту, вміст мулистої фракції;
- кислотність та буферна здатність ґрунту, окисно-відновний потенціал;
- стійкість мікроорганізмів ґрунту по відношенню до концентрації хімічного елемента у ґрунті;
- тривалість взаємодії хімічних елементів із ґрунтом;
- вид рослини, сорт, фаза розвитку;
- толерантність рослин до надлишку важких металів у ґрунті;

– властивості хімічних елементів (атомний номер, заряд ядра, атомна маса, радіус атома, радіус іона, потенціал іонізації, поляризація тощо) [29].

Серед забруднених важкими металами ґрунтів забруднення свинцем (Pb) та кадмієм (Cd) є світовою екологічною проблемою, особливо в Китаї [30], через експлуатацію та виплавку шахт, осадження, скидання стічних вод та надмірне використання добрива [31].

У таблиці 1.3 наведено фонові та гранично допустимі концентрації забруднюючих речовин у ґрунті [32]:

Таблиця 1.3 - Фонові та гранично допустимі концентрації шкідливих речовин у ґрунті

<b>Назва речовини</b>	<b>Ф ш.р., мг/кг</b>	<b>ГДКш. Р.,мг/кг</b>
Кадмій(Cd)	0,5	3,0
Свинець(Pb)	10	32
Цинк(Zn)	50	100
Мідь(Cu)	20	55
Хром(Cr)	75	100
Нікель(Ni)	40	85
Кобальт(Co)	8	50
Фтор(F)	200	330

Такі небезпечні елементи, як свинець (Pb), миш'як (As), кадмій (Cd), селен (Se) та метиловані форми ртуті (Hg), вважаються одними із основних джерел забруднення ґрунтів, а також включені Агентством з реєстрації токсичних субстанцій і хвороб (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, ATSDR) у список 20 найбільш небезпечних для людини.

Ці метали не вважаються необхідними для росту рослин, оскільки вони не виконують жодної відомої фізіологічної функції в рослинах. Крім того, повідомляється, що вони не мають відомого біологічного значення для

біохімічних або фізіологічних функцій людини. Їх вживання навіть у дуже низьких концентраціях може бути токсичним для людини [33].

Інші метали, такі як кальцій (Ca), кобальт (Co), магній (Mg), мідь (Cu), залізо (Fe), марганець (Mn), молібден (Mo), нікель (Ni) і цинк (Zn) є основні елементи, необхідні для нормального росту та метаболізму рослин, а також, як повідомляється, мають біологічне значення для людей для підтримки їх оптимальної життєдіяльності. Однак ці елементи можуть легко призвести до отруєння, коли їх концентрація перевищує допустимі межі або оптимальні значення внаслідок поглинання важких металів системою ґрунт-культура, що є основним способом завдати шкоди здоров'ю людини [34].

Багато дослідників повідомляють про значну токсичність свинцю, нікелю, хрому, кадмію, кобальту та цинку, які можуть завдати шкоди нервовій системі, внутрішнім органам, а також їх небезпечність як канцерогенного фактора, особливо для маленьких дітей [35].

Кадмій є дуже токсичним елементом. Розчинні сполуки кадмію після всмоктування в кров уражують центральну нервову систему, печінку та нирки, порушують фосфорно-кальцієвий обмін. Хронічне отруєння призводить до анемії та руйнування кісток. Токсичність кадмію для рослин проявляється у порушенні активності деяких ферментів, відповідальних за фотосинтез амінокислот, а також у порушенні транспірації та фіксації азоту бобовими культурами. Тим самим, вживання забрудненої кадмієм продукції викликає у тварин і людини порушення функціонування серцево-судинної системи та часто стає причиною утворення різноманітних злоякісних пухлин [36].

Надлишок хрому в рослинах інгібує надходження фосфору, калію, заліза, марганцю, бору та міді, що проявляється у вигляді сильного хлорозу і в кінцевому підсумку призводить не тільки до в'янення надземних частин, але і до відмирання кореневої системи. При тривалому вигодовуванні тварин кормами з високим вмістом цього елемента знижується імунітет, падає активність ферментів, уражається печінка тощо [37].

Отруєння миш'яком та його сполуками веде до серйозних порушень діяльності нирок, печінки, легенів, шлунково-кишкового тракту та серцево-судинної системи людини. При гострому отруєнні миш'яком спостерігаються пригнічення центральної нервової системи. У людей, які проживають на територіях, де в ґрунті міститься надлишок миш'яку, він накопичується в щитовидній залозі та викликає ендемічний зоб [34].

Нікель належить до мікроелементів, необхідних для нормального розвитку живих організмів. Відомо, що нікель бере участь у ферментативних реакціях рослин та тварин. Підвищений вміст нікелю в ґрунтах призводить до ендемічних захворювань: у рослин з'являються потворні форми, у тварин – захворювання очей, пов'язані з накопиченням нікелю в рогівці [34].

Ртуть та її сполуки є високотоксичними речовинами, здатними накопичуватися в організмі і довго не виводитися, внаслідок чого уражаються нервова система, печінка, нирки та шлунково-кишковий тракт [34].

Сільськогосподарські культури є основним джерелом надходження важких металів в організм людини та тварин з вирощеною на забруднених ґрунтах продукцією через потрапляння в харчовий ланцюг, що впливає на якість та безпеку харчових продуктів. Таким чином, скринінг низьких рівнів важких металів у харчовій сфері сільськогосподарських культур є практичною технікою для зниження ризику для здоров'я забрудненого важкими металами ґрунту [31].

### **1.2.1. Свинець: характеристика та особливості**

Серед важких металів свинець (Pb) є одним із найнебезпечніших забруднювачів навколишнього середовища.

Вміст свинцю в навколишньому середовищі, що перевищує природні кількості – так званий геохімічний фон, найчастіше обумовлений антропогенною дією. Цей елемент належить до групи важких металів, що мають високий потенційний екологічний ризик [38].

Шкідливість свинцю пояснюється його високою токсичністю для людей та інших живих організмів, здатністю накопичуватися та забруднювати повітря, води та сільськогосподарські ґрунти [39].

Свинець як забруднювач ґрунту є широко поширеною проблемою; з віком накопичується в кістках, аорті, нирках, печінці та селезінці. Імовірність надходження свинцю (Pb) в організм людини з їжею становить 65%, водою 20%, повітрям 15% [40].

Рослини є першою ланкою трофічного ланцюга, в якому накопичується свинець. Свинець не має жодних фізіологічних функцій у рослинах, оскільки демонструє негативний вплив на ріст та розвитку, і в цілому його можна охарактеризувати як чисто токсичний [40]. Високі концентрації цього металу у тканинах можуть впливати на фізіологічні процеси рослин: призвести до порушення фотосинтезу, обміну речовин, або взагалі до пригнічення росту рослин і навіть загибелі [28]. Свинець поглинається в основному корінням рослин, і зазвичай вважається, що в цих органах він і накопичується. У рослин з можливістю адсорбції цих елементів через їх листя (наприклад, вирощування поблизу джерел викиду металів в атмосферу), високі концентрації важких металів також реєструються в надземних частинах [41].

Видимі симптоми некрозу коренів у культурах, що зазнають підвищеної концентрації свинцю такі, як хлоротичні плями, некротичні ураження на поверхні листя та зменшення довжини коренів та довжини рослин (ті ж результати Гупти та Чакрабарта, 2013). Хлороз листя - один із фізіологічних симптомів дії Pb на рослини. Хлороз викликається пригніченням синтезу фотосинтетичних пігментів [42]. Загалом, у випадку свинцю було відзначено збільшення накопичення його в наступних ланках харчового ланцюга. На думку багатьох дослідників, саме діяльність людини призвела до забруднення навколишнього середовища свинцем, тому слід контролювати його мобільність та зменшувати негативний вплив на довкілля та здоров'я [40].

Найважливішими антропогенними джерелами свинцю є вихлопні гази автомобілів, промислові викиди, спалювання сміття, агрохімікати та неорганічні

добрива. Незважаючи на те, що виробництво тетраалкілового свинцю як добавки до бензину значно скоротилося за останні десятиліття, свинець є одним з найпоширеніших забруднювачів у всіх містах [43].

### **1.3 Загальний характер та принципи біотестування**

Біотестування – експериментальне дослідження впливу чинників або їх груп на живі організми, оцінка їх токсичності, шляхом фіксації поведінкових, фізіологічних та біохімічних показників їх життєдіяльності. Шляхом біотестування встановлюють токсичність досліджуваного середовища за допомогою спеціальних тест-об'єктів з вузьким діапазоном чутливості [44].

Тест-об'єкт (організм - індикатор) - організм або угруповання організмів, за ступенем впливу на які судять про якість (наприклад, токсичність) середовища [44].

Тест-реакція - фізіологічний або поведінковий відгук організму на зміну якості середовища [44].

Методи біотестування, які використовуються для оцінки стану довкілля, повинні відповідати вимогам сучасного біомоніторингу: вони повинні бути придатними до застосування оцінки будь-яких змін у середовищі мешкання живих організмів; характеризувати найбільш загальні і важливі параметри життєдіяльності біоти; бути досить чутливими до виявлення навіть невеликих змін; бути адекватними до будь-якого вигляду живих істот і до будь-якого типу впливу; бути зручними не лише для лабораторного моделювання, а також для досліджень у природі; бути відносно простими і не дуже затратними для широкого використання [45].

У таблиці 1.4. наведено тест-об'єкти та їх відповідні тест-реакції [44]:

Таблиця 1.4 - Перелік організмів- індикаторів та їх реакцій

Тест-об'єкт	Тест-реакція
<b>Бактерії</b> <i>Bacillus cereus</i> <i>Benecke harveyi</i>	Інтенсивність розмноження, біолюмінесценція, активність окислювальних ферментів, проникність мембран, механічна міцність
<b>Гриби й актиноміцети</b> <i>Aspergillus niger</i> <i>Streptomyces otivaceus</i>	Реакція росту
<b>Водорості</b> <i>Scenedesmes quadricuada</i> <i>Sc.acuminates</i> <i>Chlorella vulgaris</i> <i>D.viridis</i> <i>Nitela flexilis</i> <i>Phaedactylum tricormuctan</i> <i>Chladophora Fracta</i>	Інтенсивність розмноження, рухлива активність, іммобілізація клітин, біоелектричні реакції, фотосинтетична активність клітин, імпеданс суспензії, проникність мембрани, активний транспорт
<b>Найпростіші</b> <i>Tetrdrymena pyroformes</i> <i>Spirostomun ambiguten</i> <i>Euplotes sp.</i>	Інтенсивність розмноження, рухлива активність, морфологічні зміни тіла, інтенсивність дихання, активний транспорт
<b>Безхребетні</b> <i>Daphnia magna</i> <i>Hydra allenuate</i> <i>Hirudo medicinales</i> <i>Unio tumidies</i> <i>Myzuchopecten yessoensis</i>	Виживання, інтенсивність дихання та серцебиття, поведінкова реакція

<b>Риби</b> <i>Perca</i> <i>Cyprinus</i> <i>Phaximes phaximes</i>	<i>fluviatilis</i> <i>carpio</i>	Поведінкова реакція, рухлива активність, інтенсивність дихання та серцебиття, зміна пігментації шкіри
--	-------------------------------------	---

В основі токсикологічних досліджень лежить взаємозв'язок «доза-ефект», тобто залежність між дозою даної токсичної речовини та ймовірністю виникнення специфічного біологічного ефекту в організмів-індикаторів. У дослідженнях використовуються лабораторні токсикологічні дослідження.

Термін «токсичність» визначається як ознака хімічних сполук, що викликають дисфункцію в організмі, в який ці речовини потрапили. Розрізняють гостру та хронічну токсичність.

Гостра токсичність (хронічна) визначається як несприятливі ефекти (наслідки), викликані в організмі, що виникають незабаром після перорального прийому або при контакті зі шкірою [46]. Тести на гостру токсичність були розроблені для оцінки негативного впливу хімічної речовини в різних концентраціях на виділені організми під час впливу тривалістю до 96 годин.

Випробування на гостру токсичність дозволяють зібрати інформацію про вплив на організми хімічних сполук, сумішей речовин, стічних вод, фільтрату та вод, призначених для споживання людиною.

Найбільш часто виконуваним тестом на гостру токсичність є визначення середньої смертельної дози LD50 і медіанної смертельної концентрації LC50 [47].

LD50 зазвичай виражається як доза речовини, яка при одноразовому введенні викликає загибель 50% досліджуваної популяції тварин [47].

Термін LC50 відноситься до конкретної концентрації (наприклад, у воді або ґрунті), яка викликає аналогічний ефект [47].

Хронічна токсичність виражається як шкідливі зміни, що відбуваються в досліджуваних організмах, викликані тривалим впливом і після багаторазового

або постійного впливу хімічної сполуки. Випробування на хронічну токсичність включають оцінку несприятливого впливу факторів, органічних і неорганічних сполук на індивідів і населення в умовах тривалого впливу сублетальних концентрацій або доз. Використовуються менші за смертельні дози речовини. Потім зміни фізіологічної активності, напр. спостерігаються дисфункції травної, репродуктивної, генетичної та органної. У тестах цього типу організми піддаються впливу речовини протягом усього життєвого циклу, починаючи від ембріональної та підліткової фаз до зрілої фази. Тести, що охоплюють неповний життєвий цикл, включають лише кілька найбільш чутливих періодів життя (розмноження, зростання), але зазвичай без його ранніх стадій [48].

На підставі результатів, отриманих під час випробувань, можна визначити максимально переносиму концентрацію токсичної речовини, найвищу концентрацію ( $E_{max}$ ), при якій не спостерігається жодних шкідливих ефектів (NOEC – No Observed Effect Concentration), і найнижча концентрація, при якій спостерігаються негативні ефекти (LOEC – Lowest Observed Effect Concentration) [47].

### **1.3.1 Практичне застосування біотестування**

Збільшення забруднення навколишнього середовища призводить до того, що все більше і більше сполук додається до переліку пріоритетних речовин і пріоритетних небезпечних речовин.

У свою чергу, пріоритетними небезпечними речовинами є «речовини або групи речовин, які є токсичними, стійкими та сприйнятливими до біоаккумуляції, а також інші речовини чи групи речовин, рівень яких досягає рівня занепокоєння, який слід поступово видаляти з середовища. з метою їх ліквідації» [49].

Присутність людини в навколишньому середовищі визначає, що речовини, що становлять загрозу здоров'ю та життю людини, потрапляють у всі екосистеми. Ці речовини, які часто зустрічаються в низьких концентраціях (нг/дм<sup>3</sup>, мкг/дм<sup>3</sup>), виявляють як токсичні ефекти, які виникають після короткого часу впливу, так і розглядаються з точки зору довгострокових наслідків для

здоров'я, таких як можлива канцерогенна, тератогенна та ембріотоксична дії, а також порушення функціонування репродуктивної системи [49].

Біологічний аналіз використовується для вивчення та оцінки несприятливого або шкідливого впливу хімічних речовин та інших факторів на організми, а також аналізу ймовірності їх виникнення в різних умовах впливу. Біологічні аналізи дають вичерпну інформацію про масштаби токсичності більшою мірою, ніж хімічні аналізи. Використання біологічного аналізу для оцінки впливу різних речовин на живі організми дозволяє, тобто ідентифікувати такі властивості, як токсичність, мутагенність, канцерогенність, тератогенність та алергенність [50].

При оцінці впливу хімічних речовин на організми слід враховувати різну чутливість до токсичних речовин у групах організмів і між видами, і навіть у різних штамів одного виду. Важливе також регулярне, тимчасове та просторове спостереження за живими організмами, оскільки лише так можна визначити стан екологічної системи та біотичні та абіотичні параметри її компонентів, у тому числі речовин та антропогенні взаємодії. Розроблено багато лабораторних методів визначення взаємозв'язків і впливу токсичних сполук на живі організми, методів швидкого визначення токсичності або наявності в навколишньому середовищі речовин, що мають значне значення для біологічної активності організмів [51].

Токсичність забруднень ґрунту можна перевірити за допомогою ґрунтових мікроорганізмів, рослин, олігохет, включаючи дощових черв'яків, ґрунтових членистоногих та інших організмів [52].

Вимірювання життєдіяльності ґрунтових мікроорганізмів є чутливим індикатором хімічного стресу, викликаного забруднювачами. Стандартні тести з використанням мікрофлори ґрунту вимірюють такі параметри, як дихання [53-54], процеси нітрифікації, перетворення сполук азоту [55-57], перетворення сполук вуглецю [58], кількість біомаси [59, 60], дегідрогеназна активність ґрунтових мікроорганізмів [61, 62].

Насіннєві рослини використовуються переважно в екотоксикологічних дослідженнях ґрунтів. Зазвичай вживані організми включають рис, овес, пшеницю, райграс, ріпак, салат, червону конюшину та крес-салат [63].

Безхребетних також використовують в екотоксикологічних дослідженнях. Дослідними організмами є, серед іншого, нематоди (наприклад, *Caneorhabditis elegant*), дощові черв'яки (наприклад, *Eisenia fetida*, *Enchytraeus albinus*, *E. supricus*), [64]. Поглинання забруднюючих речовин рослинами є важливим через потенційний вплив цих речовин на людей і тварин. Залежно від фізико-хімічних властивостей ґрунту для кореневої системи рослин доступна лише частина забруднювачів, наявних у ґрунті (біодоступна фракція), що є основним шляхом поглинання забруднювачів рослинами. Транслокація забруднюючих речовин, тобто перенесення забруднюючих речовин від коренів до надземних частин рослин, а потім до листя і зерна, особливо важлива для міграції забруднень від рослин до тварин і людей [48].

Коріння є найважливішим способом збору рослинами забруднюючих речовин із ґрунту. Перенесення забруднюючих речовин із ґрунту в кореневу зону (ризосферу) здійснюється переважно шляхом регулярного поглинання рослинами води.

#### **1.4. Біоремедіація як засіб видалення свинцю з забрудненого ґрунту**

Рослини можуть відігравати ефективну роль у запобіганні надходження важких металів з ґрунту в ґрунтові води, використовуючи різні механізми, такі як поглинання та накопичення важких металів у підземних або надземних частинах тіла рослин, а також їх стабілізація та поглинання на поверхнях і частинках ґрунту через виділення рослинами органічних або неорганічних сполук [65].

Фіторемедіація - це група екологічно чистих та безпечних біотехнологічних процесів, які використовують зелені рослини та спільноти мікроорганізмів у своїй ризосфері для видалення забруднень із навколишнього середовища. Сьогодні вони включають багато підпроцесів: фітоекстракцію,

фітоаккумуляцію, фітополятизацію, фітотрансформацію та фітостабілізацію, які дозволяють досягти ефективного зменшення токсичного навантаження на місці, особливо шляхом вибору відповідних рослин, які мають бажані властивості [65-67].

В цілому рослини мають різну здатність поглинати та накопичувати важкі метали (наприклад, Cd та Pb) у своїх тканинах, ця здатність є специфічною ознакою виду, наприклад *Vicia faba*, та також залежить від властивостей ґрунту [68].

Слід зазначити, що є рослини, здатні накопичувати важкі метали в таких кількостях, які значно перевищують їх кількість у ґрунті [69].

Фіторемедіація - це недорогий та ефективний спосіб усунення забруднювачів, ефективність якого може бути додатково підвищена шляхом застосування відібраних з ризосфери рудеральних рослин PGPR-бактерій - бактерій з передбачуваною високою стійкістю до свинцю, особливо тих, що належать до роду *Pseudomonas* [70].

Фітоекстракція - одна із стратегій фітоочищення, що базується на використанні зелених рослин для видалення забруднюючих речовин (тобто важких металів) із ґрунту. Її ефективність залежить від хімічних властивостей видаленого елемента та його поглинання, переміщення та накопичення рослинами в органах для збирання. Згідно з проведеними дослідженнями [71], види рослин, придатні для фітоочищення, можуть не обмежуватися гіперакумуляторами (рослини, генетично та фізіологічно здатні накопичувати велику кількість токсичних металів). Були проведені деякі експерименти щодо відбору сільськогосподарських рослин, придатних для фіторемедіації. Отримані результати дозволили відібрати деякі види, особливо схильні до вилучення важких металів із ґрунту, наприклад соняшника, кукурудзи, гірчиці, ячменю та гарбуза. Можливість використання сільськогосподарських культур як фіторемедіантів залежить від накопичення та розподілу металів між їх морфологічними органами [72].

Основою фітоекстракції та фітоаккумуляції рослин є надходження металів корінням рослин та їх проведення у надземні частини рослини, які згодом збирають та переробляють у вигляді фітобіомаси шляхом компостування чи спалювання.

Як правило, градієнт концентрації свинцю в рослині зменшується в такій послідовності: коріння > листя > насіння, але є певні відмінності між видами [72].

При компостуванні виробляється біомаса з високим вмістом вилучених забруднюючих речовин, які можна утилізувати як небезпечні відходи. При спалюванні сухої біомаси можна отримати золу з високою концентрацією екстрагованих металом рослин; потім золу можна утилізувати як небезпечні відходи. У деяких випадках можливе відокремлення металу від рослинної біомаси для отримання вторинної сировини у процесах фітовидобутку [73].

Для процесів накопичення часто використовуються гіперакумулятивні види рослин [74]; ці види характеризуються такими властивостями: глибше вкорінення, високий та швидкий ріст, висока продуктивність біомаси, толерантність до токсичних металів та здатність накопичувати ці метали у високій концентрації [75-76].

Доведено, що бактерії, що належать до групи ризобактерій (PGPR), стимулюють ріст рослин та полегшують вплив стресових умов на рослини, а також сприяють їх підвищеній стійкості до різних забруднювачів, особливо до металів [77].

Роль бактерій *Pseudomonas* у часткових процесах фіторемедіації можна розглядати у рамках ключової їх здатності біорозкладати широкий спектр органічних сполук, а також здатності протистояти багатьом важким металам, наприклад свинцю [78-79].

Їх вплив на рослину також проявляється змінами в хімії рослин-підвищене поглинання рослинами цих забруднюючих речовин (металів) призводить до їх осадження в кореневій системі рослини або до їх деградації до інших менш токсичних речовин [65].

Дія бактерій також має інші позитивні наслідки для рослин: вони захищають рослину від стресу, також корисні для біологічного захисту рослин, наприклад, деякі види мають антимікотичну дію, тим самим захищаючи рослину від ряду грибкових захворювань [80].

## **РОЗДІЛ 2. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ**

### **2.1 Біотестування забруднення ґрунту свинцем за використання показника інгібіторної дії на N-мінералізацію ґрунту**

Біотестування забруднення ґрунту свинцем проводили згідно ДСТУ ISO 14238:2003 Якість ґрунту. Біологічні методи.

Визначання мінералізації азоту і нітрифікації в ґрунтах та впливу хімічних речовин на ці процеси [55].

Перетворення сполук азоту у ґрунті відбувається за участі азотфіксуючих бактерій родів *Phizobium*, *Azotobacter*, деяких актиноміцетів та ін. мікроорганізмів.

Перетворення сполук азоту у ґрунті відбувається за участі азотфіксуючих бактерій родів *Phizobium*, *Azotobacter*, деяких актиноміцетів та ін. мікроорганізмів. Вони мають високу чутливість до дії хімічних речовин. Інтегральним показником їх активності є нітрифікаційна здатність ґрунту, тобто його здатність нагромаджувати нітратний азот за рахунок мобілізації азоту.

Принцип методу ґрунтується на визначенні вимірювання відсоткової інгібіторної дії на утворення продукту в зразках, оброблених різними кількостями хімічної речовини (у нашому випадку - свинцем), порівняно до необробленого контролю.

Цю методику застосовують для проведення екологічних досліджень і встановлення рівня небезпечності токсикантів. Екотоксикологічну небезпечність хімічної речовини оцінюють за 4 класами з урахуванням змін активності нітрифікаційної здатності ґрунту (табл. 2.1):

Таблиця 2.1 -Екотоксикологічна небезпечність хімічної речовини для біоценозу ґрунту

Клас небезпечності	Зниження активності нітрифікації, % до контролю
1 – високо небезпечний	
2 – небезпечний	
3 – помірно небезпечний	
4 – мало небезпечний	≤10

*Методика роботи:* 1. Здійснити приготування маточних розчинів хімічної речовини, яку потрібно додати у 100 г ґрунту. 2. Визначити вміст нітратного азоту до інкубації. Потрібно взяти наважку ґрунту в 20 г (2 повторення), додати 50 мл алюмокалієвих квасків, інтенсивно перемішувати 3 хв. і поставити відстоюватися декілька хвилин. Провести вимірювання концентрації  $\text{NO}_3^-$ . 3. Зробити наважки ґрунту по 100 г, подрібнити у ступі, помістити у підготовлені посудини. 4. У зразки 2-6 додати приготовані розчини з хімічною речовиною, перемішати. 5. У зразок 1 (контроль) додати воду, таким чином, щоб довести вологість ґрунту до 60 % капілярної вологоємності. 6. Помістити посудини з ґрунтом в термостат для інкубації на 28 діб при температурі  $25 \pm 5$  °C (день/ніч) та  $55 \pm 8\%$  відносної вологості повітря. 7. Через 14 діб відібрати з кожного зразку проби по 20 г ґрунту і провести вимірювання концентрації  $\text{NO}_3^-$  за формулою:

$$X = x_1 - x_2, (2.1)$$

де  $x_1$  – вміст  $\text{NO}_3^-$  в ґрунті після компостуванн, мг/кг;

$x_2$  – вміст  $\text{NO}_3^-$  в ґрунті до компостування, мг/кг.

Після закінчення періоду інкубації на 28 добу знову відібрати з кожного варіанту проби по 20 г ґрунту для проведення вимірювання концентрації  $\text{NO}_3^-$  за вищезгаданою формулою.

Провести обробку результатів: обчислити нітрифікаційну здатність ґрунту, побудувати на базі результатів графіки залежності нітрифікаційної здатності ґрунту від концентрації хімічної речовини (для 14 і 28 діб інкубації).

Інгібіторну дію обчислити як відсоток від контрольного значення для кожного рівня концентрації, показники ID25 та ID50 знайти шляхом побудови кривої доза-ефект.

#### *Програма експериментальних досліджень*

Для експериментальних досліджень готували розчини солі свинцю за наступною схемою:

Зразок 1 (контроль) – вода без свинцю;

Зразок 2 (Pb) – 0,1 мг/мл;

Зразок 3 (Pb) – 1,0 мг/мл;

Зразок 4 (Pb) – 10 мг/мл;

Зразок 5 (Pb) – 100 мг/мл;

Зразок 6 (Pb) – 1000 мг/мл.

У стакани з 100 г ґрунту вносили свинець разом з водою для зволоження за наступною схемою:

Зразок 1 (контроль) - ґрунт без ХР (24 мл д.води);

Зразок 2 (Pb) – 0,1 мг/кг ґрунту ХР (23 мл д.води + 0,1 мг/кг свинцю);

Зразок 3 (Pb) – 1,0 мг/кг ґрунту ХР (14 мл д.води + 1,0 мг/кг свинцю);

Зразок 4 (Pb) – 10 мг/кг ґрунту ХР (23 мл д.води + 10 мг/кг свинцю);

Зразок 5 (Pb) – 100 мг/кг ґрунту ХР (14 мл д.води + 100 мг/кг свинцю);

Зразок 6 (Pb) – 1000 мг/кг ґрунту ХР (23 мл д.води + 1000 мг/кг свинцю).

## **2.2 Метод визначення токсичності препаратів за реакцією вищих рослин на прикладі салату кучерявого (*Lactuca sativa* L.)**

Встановлення небезпечності хімічної речовини (у нашому випадку - свинець) за реакцією вищих рослин здійснюється у відповідності до Керівних

принципів ОЕСР, тест № 208 [81-82].

Метод застосовують для визначання можливих токсичних впливів хімічних речовин на процеси проростання і ранні стадії росту та розвитку різних видів наземних рослин.

Ґрунт обробляється розчином свинцю, висаджується насіння салату, після зразки необхідно витримати у термостаті близько 120 год (5 днів), але не більше 7 днів. Разом із зразками зі свинцем поміщають і контрольний зразок для подальшого порівняння. Після періоду інкубації вимірюються кількість вирослих паростків, довжину корінців та стебла салату, їх масу, які порівнюються з контрольними рослинами.

Салат кучерявий відноситься до переліку тест- культур для визначення фітотоксичності ґрунту (табл. 2.2) Токсичність свинцю досліджується саме за характеристикою проростання насіння кресс-салату (*Lepidium sativum* L.) з метою встановлення його токсичності.

Таблиця 2.2 -Перелік тест-культур для визначення фітотоксичності ґрунту [9]:

<b>Категорія</b>	<b>Випробний вид</b>
<b>Однодольні рослини</b>	
Жито озиме	<i>Secale cereale</i> L.
Райграс багаторічний	<i>Lolium Perenne</i> L.
Рис	<i>Oryza sativa</i> L.
Овес	<i>Avene sativa</i> L.
Пшениця озима,яра	<i>Triticum aestivum</i> L.
Ячмінь ярий,озимий	<i>Hordeum vulgare</i> L.
Сорго звичайне(просо велике)	<i>Sorghum bicolor</i> (L.)Moench
Кукурудза солодка	<i>Zwa mays</i> L.
<b>Дводольні рослини</b>	
Гірчиця біла	<i>Sinapiis alba</i>
Капуста	<i>Brassica napus</i> (L.)ssp <i>Napus</i>
Редька дика	<i>Raphanus sativus</i> L.
Ріпа дика	<i>Brassica rapa</i>

Капуста китайська	<i>Brassica campertis L. var. chinesis</i>
Конюшина птахонога	<i>Trifolium ornithopodioides (L.)</i>
Салат	<i>Lactuca sativa L.</i>
Кресс – салат садовий	<i>Lepidium sativum L.</i>
Квасоля	<i>Phaseolus aureus Roxb.</i>

Для оцінювання отриманих результатів використовують криву доза-ефект (або концентрація-ефект), що описує зміну впливу свинцю на біологічний об'єкт залежно від його концентрації.

Основними параметрами, що визначаються при побудові кривої, є максимальний можливий ефект ( $E_{max}$ ) та доза (концентрація), що викликає напівмаксимальний ефект ( $EC_{50}$ ).

#### *Методика роботи:*

1. Відібрати 100 г сухого ґрунту, за необхідності подрібнити у ступі та помістити готовий ґрунт у чашку Петрі.

2. Відібрати для дослідження 40 насінин для кожного зразку, розмістити їх на ґрунті відступаючи від краю чашки Петрі 1 см.

3. Легко втиснути насіння в ґрунт за допомогою скляної палички.

4. Ґрунт з насінням у зразках 2-6 полити заздалегідь приготовленою водою у якій розчинено сіль свинцю, окрім першого зразку - контроль без вмісту розчину свинцю.

5. Помістити зразки у термостат на 120 год (близько 5 - 7 днів). Постійна температура у термостаті становила  $25 \pm 5$  °C (день/ніч) та  $55 \pm 8\%$  відносної вологості повітря.

6. Через 7 днів дістати зразки та провести вимірювання кількості та маси паростків салату, довжини їх коренів та стебел. Визначили їх відхилення від контролю.

#### *Програма експериментальних досліджень*

Для експериментальних досліджень готували розчини солі свинцю за наступною схемою:

Зразок 1 (контроль) – вода без свинцю;

Зразок 2 (Pb) – 0,1 мг/мл;

Зразок 3 (Pb) – 1,0 мг/мл;

Зразок 4 (Pb) – 10 мг/мл;

Зразок 5 (Pb) – 100 мг/мл;

Зразок 6 (Pb) – 1000 мг/мл.

У стакани з 100 г ґрунту вносили свинець разом з водою для зволоження за наступною схемою:

Зразок 1 (контроль) - ґрунт без ХР (24 мл д.води);

Зразок 2 (Pb) – 0,1 мг/кг ґрунту ХР (23 мл д.води + 0,1 мг/кг свинцю);

Зразок 3 (Pb) – 1,0 мг/кг ґрунту ХР (14 мл д.води + 1,0 мг/кг свинцю);

Зразок 4 (Pb) – 10 мг/кг ґрунту ХР (23 мл д.води + 10 мг/кг свинцю);

Зразок 5 (Pb) – 100 мг/кг ґрунту ХР (14 мл д.води + 100 мг/кг свинцю);

Зразок 6 (Pb) – 1000 мг/кг ґрунту ХР (23 мл д.води + 1000 мг/кг свинцю).

### РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1 Забруднення ґрунту свинцем внаслідок застосування агрохімікатів

Допустимі рівні впливу шкідливих речовин на ґрунт при застосуванні агрохімікатів необхідно визначати за співвідношенням між рівнями їх разового та гранично допустимого надходження.

Рівень разового надходження шкідливої речовини з агрохімікатом у ґрунт (G) в міліграмах на гектар обчислюють за формулою:

$$G = \frac{d \cdot g_2 \cdot 100}{g_1}, \quad (3.1)$$

де d - рекомендована доза застосування агрохімікату за діючою речовиною, кг/га;

$g_2$  - концентрація шкідливої речовини в агрохімікаті, мг/кг;

100 - перерахунок на фізичну масу агрохімікату, %;

$g_1$  - концентрація діючої речовини в агрохімікаті, %.

Гранично допустимий рівень надходження шкідливої речовини з агрохімікатом у ґрунт A в міліграмах на гектар згідно даних гранично допустимих та фонових концентрацій (табл.1.3) обчислюють за формулою:

$$A = (\text{ГДК ш. р.} - \text{F ш.р.}) \cdot 3000000, \quad (3.2)$$

де ГДК ш.р. – гранично допустима концентрація шкідливої речовини, мг/кг;

F ш.р.– фонові концентрації шкідливої речовини в ґрунті, мг/кг;

3000000– маса орного шару ґрунту в перерахунку на суху речовину, кг/га [9].

Небезпечним рівнем впливу агрохімікату на ґрунт вважають такий, коли відношення разового надходження шкідливої речовини з агрохімікатом у ґрунт до гранично допустимого рівня перевищує 10 [9].:

$$G/A > 10, \quad (3.3)$$

У даному дослідженні було вибрано до аналізу три такі найбільш популярні фосфорні агрохімікати:

Таблиця 3.1 -Характеристика агрохімікатів, що досліджувалися

Назва агрохімікату	Виробник агрохімікату	Доза застосування агрохімікату за діючою речовиною, кг/га	Концентрація діючої речовини в агрохімікаті, %	Концентрація свинцю в агрохімікаті, мг/кг
Амофос гранульований	АТ "Ліфоса"	250	50	35
Борошно фосфоритне калійно-магнієве гранульоване	ТОВ "Компанія Баста"	350	15	20
Суперфосфат гранульований	АТ "Luvema S.A."	100	20	49

Проводимо розрахунки рівня разового надходження свинцю з агрохімікатом у ґрунті згідно даних табл.3.1:

$$G (\text{амофос}) = \frac{d \cdot g_2 \cdot 100}{g_1} = \frac{250 \cdot 35 \cdot 100}{50} = \frac{875\,000}{50} = 17\,500 \text{ мг/ га}$$

$$G (\text{борошно}) = \frac{d \cdot g_2 \cdot 100}{g_1} = \frac{350 \cdot 20 \cdot 100}{15} = \frac{700\,000}{15} = 46\,667 \text{ мг/ га}$$

$$G (\text{суперфосфат}) = \frac{d \cdot g_2 \cdot 100}{g_1} = \frac{100 \cdot 49 \cdot 100}{20} = \frac{204\,000}{20} = 2\,450\,000 \text{ мг/ га}$$

Далі наведено розрахунки гранично допустимого рівня надходження свинцю з агрохімікатом у ґрунт:

$$A (\text{свинцю}) = (\text{ГДК}_{\text{ш.р.}} - F_{\text{ш.р.}}) * 3000000 = (32-10) * 3000000 = 66\,000\,000 \text{ мг/ га}$$

Розраховуємо відношення рівня разового надходження свинцю з агрохімікатом у ґрунт до його гранично допустимого рівня:

$$G/A (\text{амофос}) = 17\,500 / 66\,000\,000 = 0,0003.$$

$$G/A (\text{борошно}) = 46\,667 / 66\,000\,000 = 0,0007.$$

$$G/A () = 2\,450\,000 / 66\,000\,000 = 0,037.$$

У даному дослідженні можна зробити висновок, що усі три досліджувані агрохімікати є безпечними за рівнем впливу агрохімікату на ґрунт, адже відношення разового надходження шкідливої речовини з агрохімікатом у ґрунт до гранично допустимого рівня не перевищує 10.

### 3.2 Біотестування забруднення ґрунту свинцем за використання показника інгібіторної дії на N-мінералізацію ґрунту

Під час досліду після компостування спостерігалася активізація процесів N-мінералізації у ґрунті під впливом невисоких концентрацій свинцю. Зі збільшенням концентрації можна спостерігати інгубування вмісту  $\text{NO}^{3-}$  у ґрунті (табл.3.2):

Таблиця 3.2 - Вплив свинцю на процеси N-мінералізації азоту у ґрунті

№	Концентрація Pb, мг/кг	Концентрація $\text{NO}^{3-}$ , мг/кг	
		14 доба інкубації	28 доба інкубації
1.	Контроль - 0	17,3	49,0
2.	0,1	17,3	52,3
3.	1	17,3	66,8
4.	10	17,3	69
5.	100	17,3	57,4
6.	1000	17,3	46,3

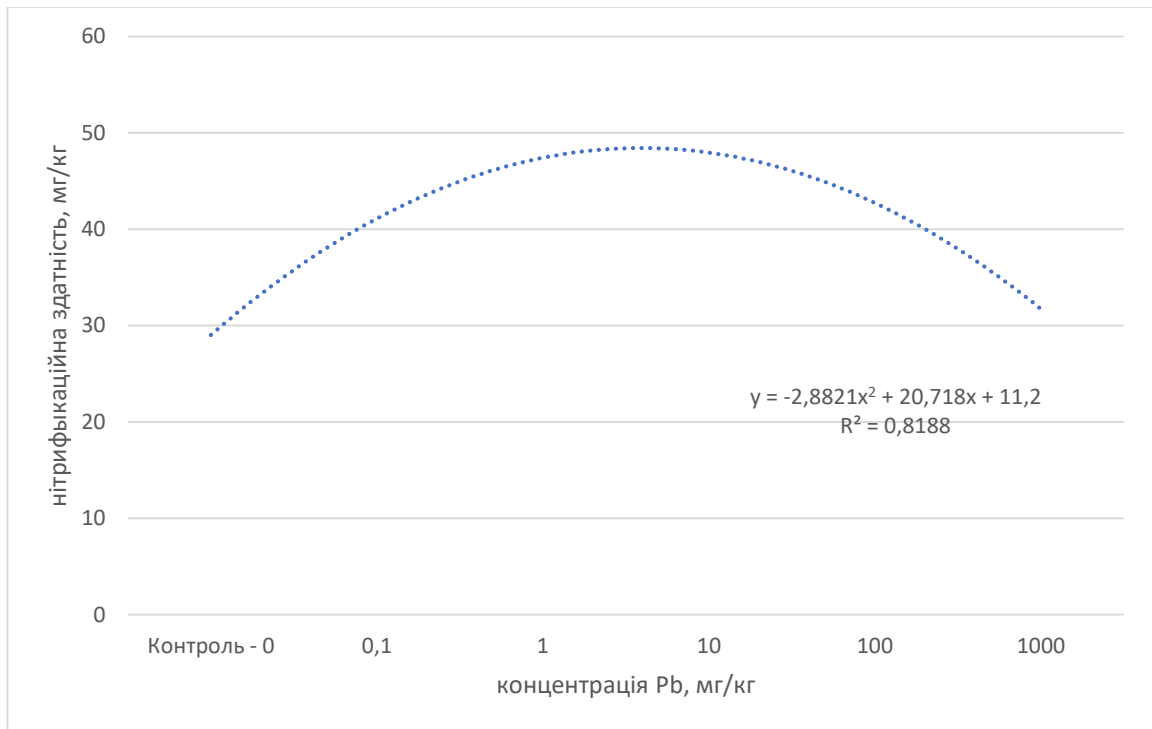


Рисунок 3.1 - Вплив свинцю на процеси мінералізації азоту у ґрунті

На рис.3.1 вказана залежність нитрифікаційної здатності ґрунту від концентрації свинцю в ґрунті. Аналізуючи рис.3.1 можна спостерігати стимулювання нитрифікаційної здатності при низьких концентраціях.

Використовуючи метод апроксимації з побудовою полімінальної лінії тренду, можна змоделювати зменшення нитрифікаційної здатності зі збільшенням концентрації свинцю, процес описується функцією  $y = -3,0071x^2 + 21,393x + 10,5$  з високим рівнем достовірності апроксимації  $R^2 = 0,7748$ .

Нитрифікаційна здатність ґрунту (X), мг/кг, обчислювалась за формулою:

$$X = x_1 - x_2, (3.5)$$

де  $x_1$  – вміст  $\text{NO}^{3-}$  в ґрунті після компостування, мг/кг;

$x_2$  – вміст  $\text{NO}^{3-}$  в ґрунті до компостування, мг/кг.

Вміст  $\text{NO}^{3-}$  в ґрунті до компостування становив – 17,3 мг/л.

Нитрифікаційна здатність за впливу свинцю у різних концентраціях становила: контроль – 31,7 мг/кг, 0,1 мг/кг – 35 мг/кг, 1 мг/кг – 49,5 мг/кг, 10 мг/кг - 51,7 мг/кг, 100 мг/кг - 40,1 мг/кг, 1000 мг/кг - 32 мг/кг (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 -Вплив свинцю на нітрифікаційну здатність ґрунту

№	Варіант, мг/кг Pb	Вміст нітратів до компост., мг/кг (x <sub>2</sub> )	Вміст нітратів після компост., мг/кг (x <sub>1</sub> )	Нітрифікаційна здатність ґрунту (x)	Відхилення від контролю, %
1.	Контроль - 0	17,3	49,0	31,7	-
2.	0,1	17,3	52,3	35	10,4%
3.	1	17,3	66,8	49,5	56,2%
4.	10	17,3	69	51,7	63,1%
5.	100	17,3	57,4	40,1	26,5%
6.	1000	17,3	49,3	32	0,9%

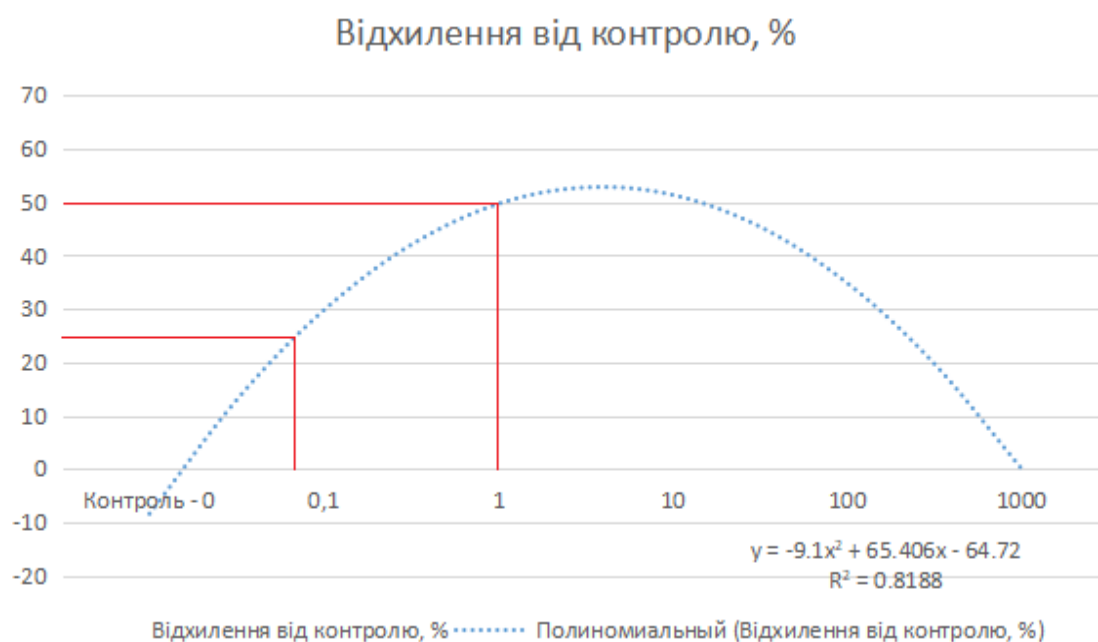


Рисунок 3.2 - Відхилення значень показників нітрифікаційної здатності від контролю

Використовуючи метод апроксимації з побудовою полімінальної лінії тренду, на рис. 3.2 можна спостерігати як зростає відхилення від контролю при збільшенні концентрації свинцю в ґрунті. Також можна спрогнозувати

збільшення інгібіторної дії аж до від'ємних значень відхилення нітрифікаційної здатності ґрунту відносно контролю, процес описується функцією  $y = -0,091x^2 + 0,6541x - 0,6472$  з високим рівнем достовірності апроксимації  $R_2 = 0,8188$ . Проте, у концентраціях, що не перевищують 1000 мг/кг ґрунту свинець не проявив інгібіторної дії, відхилення від контролю були із знаком «+» (рис. 3.2, табл. 3.4).

Таблиця 3.4 - Екотоксикологічна небезпечність хімічної речовини для біоценозу ґрунту

Клас небезпечності	Інгібіторна дія, ID <sub>50</sub> , %
1 - високо небезпечний	51-100
2 - небезпечний	25-50
3 - помірно небезпечний	10-25
4 - мало небезпечний	≤10

Проте, починаючи з концентрації свинцю у ґрунті 10 мг/кг спостерігалися процеси пригнічення. Тому за контроль-2 було прийнято концентрацію 10 мг/кг і встановлено концентрацію, яка призводила до пригнічення процесів нітрифікації на 50%, EC<sub>50</sub> становить 9375 мг/кг; процес описується функцією  $y = 16,45x - 16,333$  з високим рівнем достовірності апроксимації  $R^2 = 0,9998$  (рис.3.3).

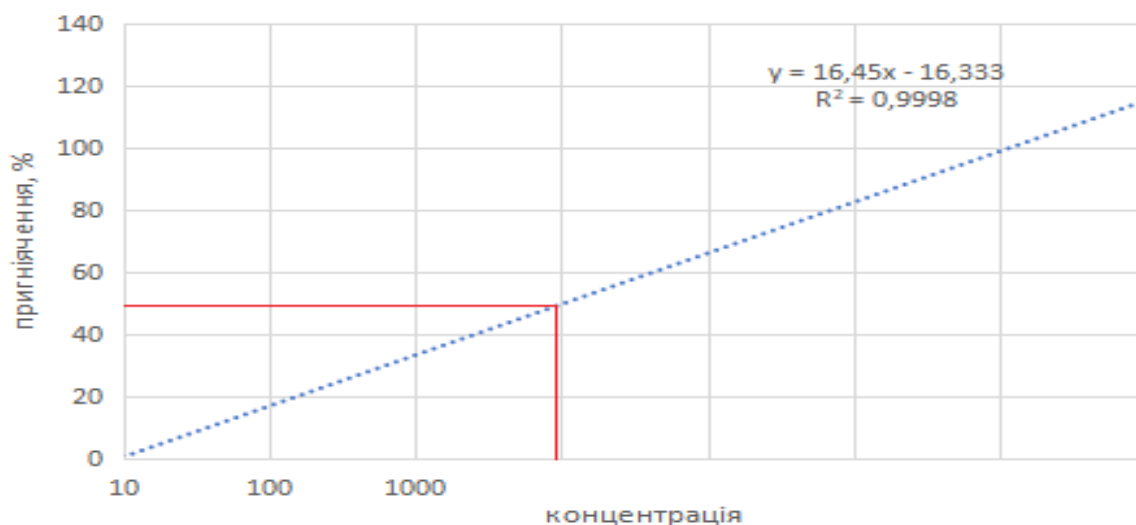


Рисунок 3.3 - Встановлення EC<sub>50</sub> для свинцю за активністю N-мінералізації

### 3.3 Визначення токсичності свинцю за впливом на проростання насіння кресс-салату (*Lactuca sativa L.*)

Багато досліджень показали, що коли рослини поглинають свинець за високих концентрацій, деякі фізіологічні системи пошкоджуються: видимі симптоми токсичності свинцю включають хлороз та некроз, а також зменшення довжини, площі листя, свіжої та сухої маси [83], зменшення довжини і діаметру коренів та пагонів [84].

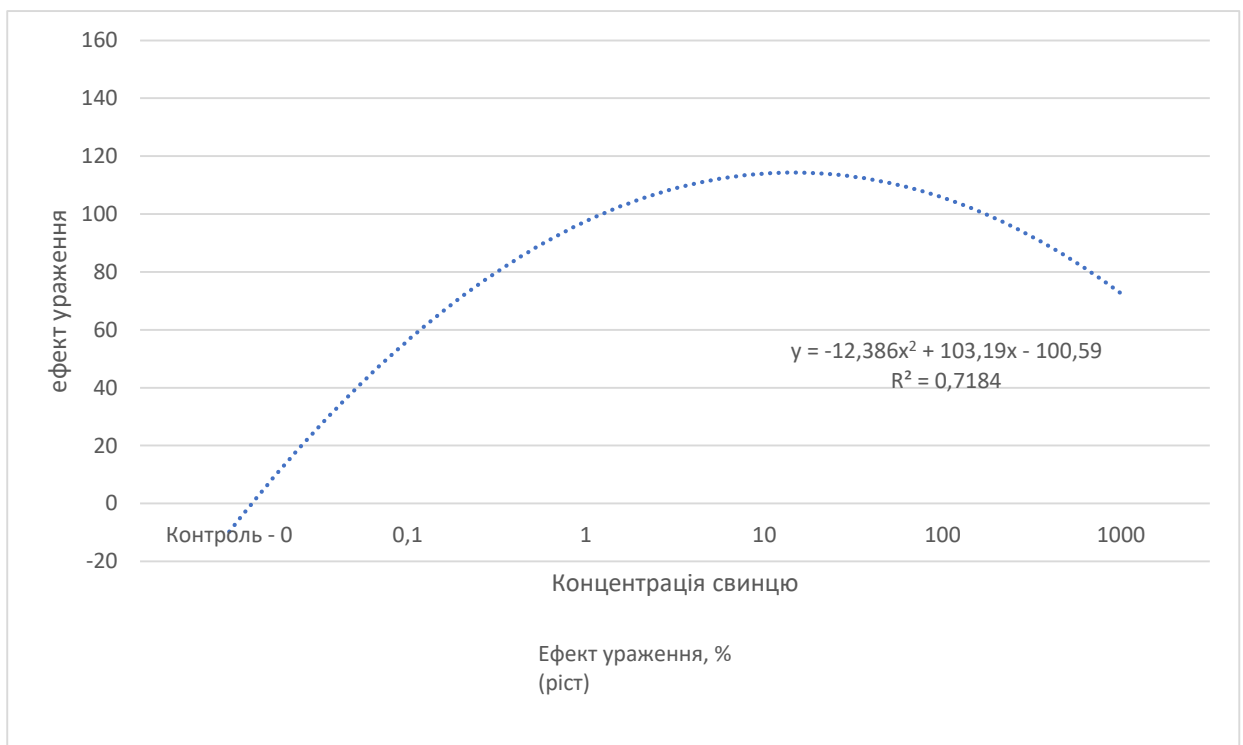
Обробку свинцем проводили при 0, 0,1, 1, 10, 100 та 1000 мг/кг у вигляді солі свинцю. У даній роботі використовувався у ролі фітотесту кресс-салат (*Lepidium sativum L.*), а точніше насіння, яке пророщували протягом 7 днів під дією свинцю. Було прораховано кількість пророслих паростків та виміряно довжину їх пагонів та коренів. Вимірювання проводилися за допомогою лінійки (рис.3.4).



Рисунок 3.4- Кількість пророслих рослин *Lactuca sativa L* без внесення свинцю у ґрунт

Таблиця 3.5 - Вплив свинцю на проростання насінини *Lactuca sativa L*

№	Концентрація свинцю, мг/кг	К-ть насінин що проросли, шт	Ефект ураження, %
1.	Контроль - 0	24	-
2.	0,1	25	+4,2%
3.	1	36	+50%
4.	10	35	+45,8%
5.	100	31	+129,7%
6.	1000	26	+8,3%

Рисунок 3.5 - Ефект пригнічення проростання насіння *Lactuca sativa L* внаслідок впливу свинцю

З даних таблиці 3.5 та рисунку 3.5 можна побачити, що свинець стимулював ріст рослин при низьких концентраціях, але при збільшенні концентрації можна змодельовати збільшення ефекту ураження рослин до зменшення кількості пророслих рослин. Процес описується функцією  $y = -12,386x^2 + 103,19x - 100,59$  з високим рівнем достовірності апроксимації  $R^2 = 0,7184$ .

Оскільки при збільшенні концентрації свинцю спостерігалось пригнічення ростових процесів, було обрано контроль-2, яким став варіант з концентрацією 1 мг/кг свинцю. Відносно цієї концентрації було визначено  $EC_{25}$ , яка склала 1000 мг/кг та  $EC_{50}$ , яка склала 583200 мг/кг; процес описується функцією  $y = 9,45x - 12,5$  з високим рівнем достовірності апроксимації  $R^2 = 0,9325$  (рис. 3.6).

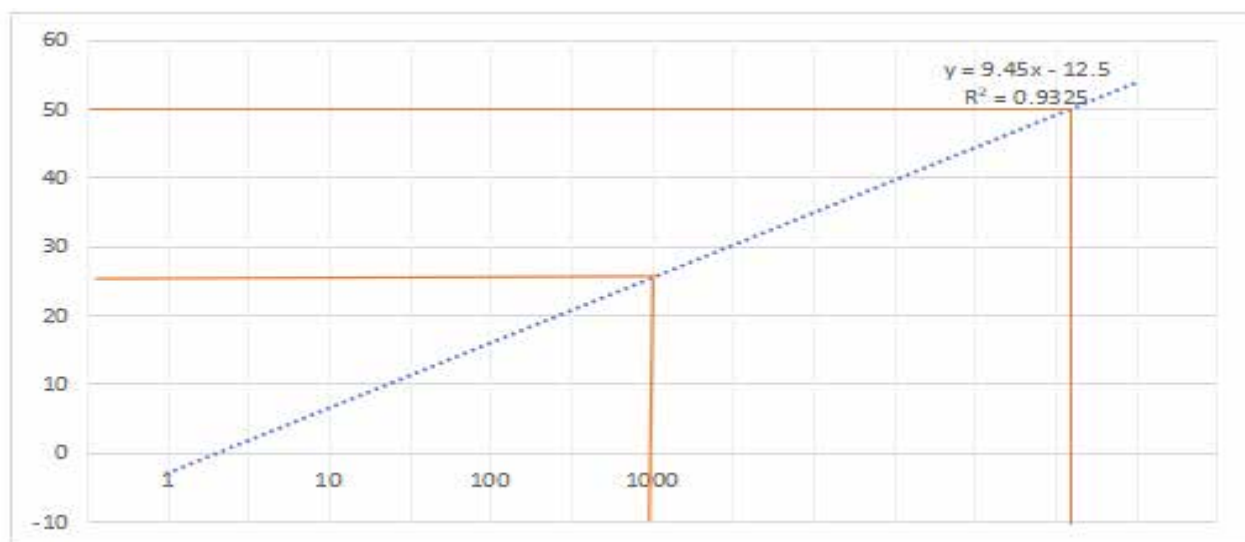


Рисунок 3.6 - Встановлення  $EC_{50}$  для свинцю за проростанням насіння кресс-салату (*Lactuca sativa L.*)

Аналогічні дослідження було проведено у процесі спостереження за впливом свинцю на накопичення вегетативної маси рослин (табл.3.6).

Таблиця 3.6 - Вплив Pb на масу рослини *Lactuca sativa L*

№	Концентрація речовини (Pb, мг/кг)	Маса рослин, г	Ефект ураження, % (ріст)
1.	Контроль - 0	0,722	0
2.	0,1	0,855	+18,42%
3.	1	1,758 0	+143,5%
4.	10	1,480 15,9	+104,9%
5.	100	1,358 22,7	+88,1%
6.	1000	1,309 25,6	+81,3%

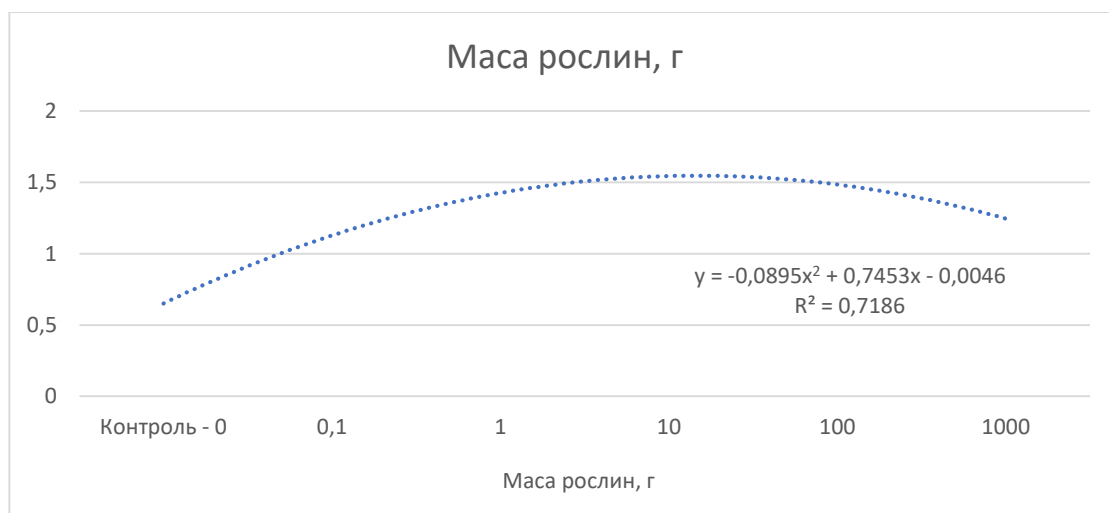


Рисунок 3.7 - Вплив свинцю на масу рослин *Lactuca sativa L*

На рис.3.7 ми можемо спостерігати залежність збільшення концентрації зі збільшенням маси рослин. Це може бути зумовлено захисною реакцією рослини на зовнішній чинник; процес описується функцією  $y = -0.0895x^2 + 0.7453x - 0.0046$  з середнім рівнем достовірності апроксимації  $R^2 = 0,90.7186$ .

На рис.3.8 за контроль-2 було прийнято концентрацію 1 мг/кг, так як при цій концентрації свинцю у ґрунті спостерігалися процеси пригнічення, а також встановлено концентрацію, яка призводила до пригнічення процесів нітрифікації на 50%,  $EC_{50}$  становить 537500 мг/кг; процес описується функцією  $y = 8.36x - 4.85$  з високим рівнем достовірності апроксимації  $R^2 = 0.8891$ .

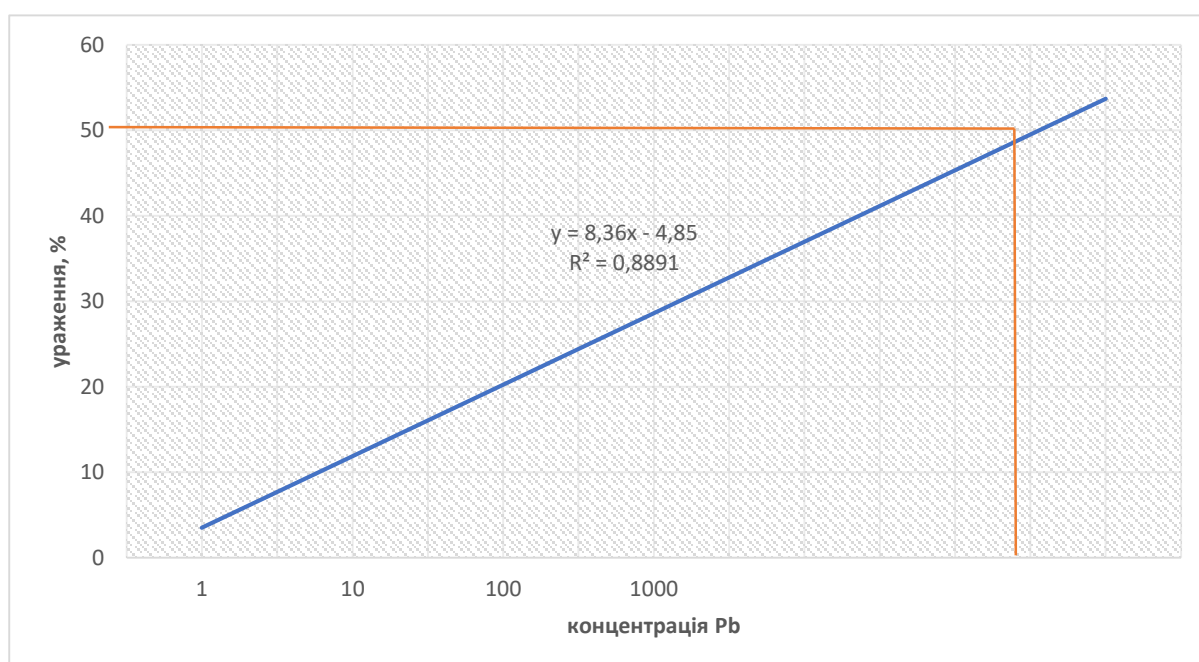


Рисунок 3.8 - Встановлення  $EC_{50}$  для свинцю за накопиченням вегетативної маси кресс-салату (*Lactuca sativa L.*)

Таблиця 3.7 - Вплив Pb на довжину пагона і кореня рослин *Lactuca sativa L.*

№	Концентрація речовини (Pb, мг/кг)	Довжина, мм		Ефект ураження, %	
		пагону	кореня	пагону	кореня
1.	Контроль - 0	43,7	15,3	0	0
2.	0,1	55	15,44	+25,9%	+0,92%
3.	1	60	15,53	+37,3%	+1,5%
4.	10	66,6	19,3	+52,4%	+26,1%
5.	100	54,1	17,9	+23,8%	+17%
6.	1000	52,3	13,45	+19,7%	-12,1%

Під час дії свинцю на довжину пагона та кореня рослин ефект ураження спостерігався, починаючи з концентрації 10 мг/кг. Рослини збільшували довжину своїх коренів та пагонів, що може говорити про вмикання захисних механізмів рослини проти дії забруднюючої речовини. Проте, збільшення концентрації свинцю понад 10 мг/кг призвело до певного пригнічення ростових процесів. Процес описується функцією  $y = -2.4196x^2 + 18.278x + 28.01$  з високим рівнем достовірності апроксимації  $R_2 = 0.8478$  для пагону кресс-салату (рис. 3.9).

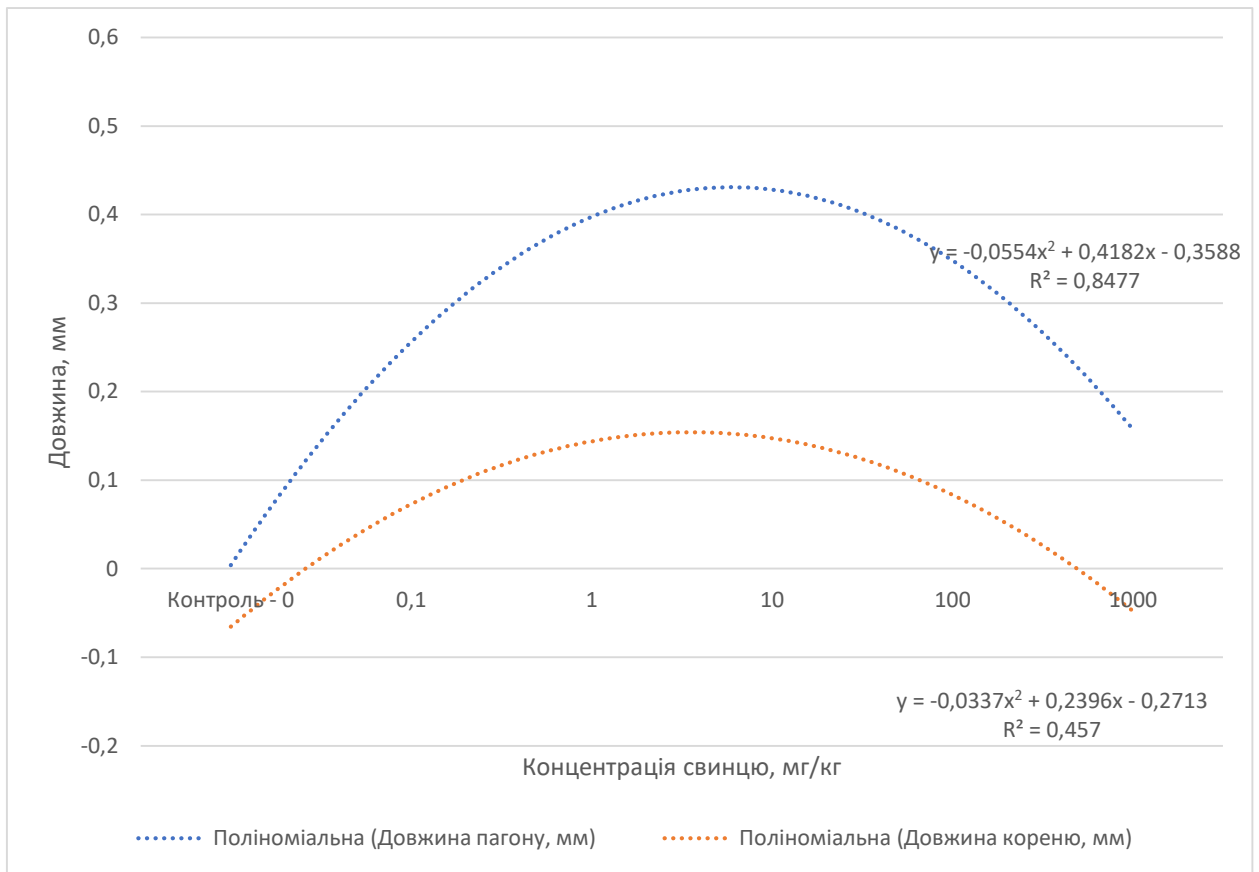


Рисунок 3.9 - Ріст пагону та кореня рослин *Lactuca sativa L.* внаслідок впливу свинцю

Оскільки при збільшенні концентрації свинцю спостерігалось пригнічення ростових процесів – довжини коренів і пагонів, було обрано контроль-2, яким став варіант з концентрацією 10 мг/кг свинцю. Відносно цієї концентрації на рис. 3.10 можна побачити визначену  $EC_{50}$  для кореня, яка склала 86250 мг/кг, процес описується  $y = 15,2x - 17,833$  з високим рівнем апроксимації  $R^2 = 0,9174$ ; та було визначено  $EC_{50}$  для пагона, яка склала 340000 мг/кг, процес описується  $y = 10,75x - 8,0667$  з високим рівнем апроксимації  $R^2 = 0,8425$ .

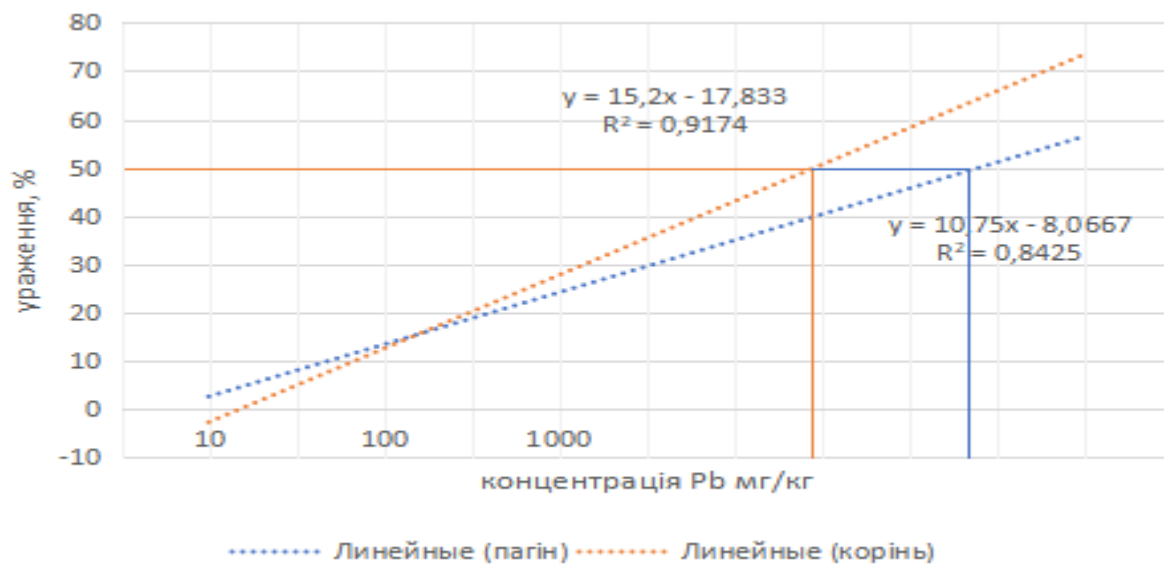


Рисунок 3.10 - Встановлення EC<sub>50</sub> для свинцю за впливом на ріст коренів і пагонів кресс-салату (*Lactuca sativa L.*)

## ВИСНОВКИ

Аналіз наукової літератури дозволив встановити, що на сьогодні стрімко зростає концентрація свинцю у навколишньому природному середовищі внаслідок нераціонального використання агрохімікатів. Він здатен чинити згубний вплив на компоненти екосистем, флору, фауну та здоров'я людей.

У даному дослідженні були проаналізовані три фосфорні агрохімікати (амофос гр., борошно фосфоритне калійно-магнієве гр., суперфосфат гр.) за рівнем безпечності їх впливу на ґрунт - усі три досліджувані агрохімікати є безпечними.

Також у ході дослідження токсичного впливу свинцю у концентраціях 0, 0,1, 1, 10, 100 1000 мг/кг за впливом на процеси перетворення сполук азоту у ґрунті та реакцією фітотестів було встановлено, що:

- невисокі концентрації свинцю стимулювали процеси мінералізації азоту і нітрифікації в ґрунті, а також призвели до того, що кресс-салат швидко активував саморегулюючий механізм, щоб мінімізувати пошкодження клітинної мембрани. Однак було виявлено, що після перевищення критичної концентрації рослина починає зазнавати негативного впливу. Цілком ймовірно, що клітинний стрес, викликаний високими концентраціями свинцю, перевищив захисну здатність рослини.

- після визначення показника ID50 можна зробити висновок, що ця речовина є високотоксичною, адже при концентрації в 1 мг/кг ґрунту загине 50% біоти ґрунту. Інгібіторна дія свинцю зростає при збільшенні його концентрації, що показано на другому графіку

- невисокі концентрації свинцю стимулювали процес росту первинних коренів кресс-салату до моменту перевищення критичної концентрації. Концентрація свинцю понад 760 мг/кг показала фітотоксичність і спричинила пригнічення подовження росту коренів та пагонів кресс- салату, що доводиться останнім графіком ефекту ураження пагону та кореня рослин внаслідок впливу свинцю.

Отже, збільшення концентрації свинцю у ґрунті посилює негативний вплив на сільськогосподарські рослини, оскільки вони менше розвиваються та менше засвоюють елементи з ґрунту. Це доводить необхідність нормування та раціонального використання агрохімікатів, особливо фосфоровмісних, так як вони здатні забруднювати свинцем компоненти навколишнього природного середовища, потрапляти у харчовий ланцюг та негативно впливати на здоров'я людей.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Яремчук І.Г. Економіка природокористування: [навч. посібник] /І. Г. Яремчук. – К.: Видавничий центр „Просвіта”, 2000. – 431 с. URL: [https://knau.kharkov.ua/uploads/passport/agro/npz\\_bak/29.pdf](https://knau.kharkov.ua/uploads/passport/agro/npz_bak/29.pdf)
2. Sobczak P., Mazur J., Zawislak K., Panasiewicz M., Żukiewicz-Sobczak W., Królczyk J., Lechowski J. Evaluation of Dust Concentration During Grinding Grain in Sustainable Agriculture. Sustainability, 2019, vol. 11(17), 4572, DOI: 10.3390/su11174572. URL: <https://www.mdpi.com/2071-1050/11/17/4572/htm>
3. Żukiewicz-Sobczak W., Sobczak P., Rogóż A., Wojtyła-Buciora P., Kozak M., Zagórski J. Valuation of the content of selected elements in herbs cultivated in organic farms in the Lublin region. Proceedings Paper, Farm Machinery And Processes Management In Sustainable Agriculture, 2017, pp. 461-464, DOI: 10.24326/fmpmsa.2017.83. URL: <https://depot.ceon.pl/handle/123456789/14752>
4. Kachel-Jakubowska M., Matwijczuk A., Mariusz Gagoś. Analysis of the physicochemical properties of post-manufacturing waste derived from production of methyl esters from rapeseed oil. Int. Agrophys. 2017, 31(2): pp. 175-182. URL: [https://www.researchgate.net/publication/315657442\\_Analysis\\_of\\_the\\_physicochemical\\_properties\\_of\\_post-manufacturing\\_waste\\_derived\\_from\\_production\\_of\\_methyl\\_esters\\_from\\_rapeseed\\_oil](https://www.researchgate.net/publication/315657442_Analysis_of_the_physicochemical_properties_of_post-manufacturing_waste_derived_from_production_of_methyl_esters_from_rapeseed_oil)
5. Kachel M., Matwijczuk A., Sujak A., Czernel G., Niemczynowicz A., Nowicka A. The Influence of Copper and Silver Nanocolloids on the Quality of Pressed Spring Rapeseed Oil. Agronomy 2019, 9(10), 643 p. URL: <https://www.mdpi.com/2073-4395/9/10/643/htm>
6. Blicharz-Kania, A., Pecyna, A., Krajewska, M., Andrejko, D., Szmigielski, M., Zawislak, K., Sobczak, P., Berbec, A. Chemical properties of tobacco seed oil. Przemysł Chemiczny, 2018, vol. 97(11), pp. 1906-1909, DOI: 10.15199/62.2018.11.18. URL: <https://www.cheric.org/research/tech/periodicals/view.php?seq=1713016>

7. Kozak-Kalita M., Sobczak P., Zawiślak K., Mazur J., Panasiewicz M., Żukiewicz-Sobczak W. Influence of uv-c radiation on the microbiological purity in selected species of herbs. *Health Problems of Civilization*, 2018. URL: <https://ur.booksc.org/book/81812446/ee04e5>

8. Przywara A., Kachel M., Koszel M., Leszczyński N., Kraszkiewicz A., Anifantis A. The influence of digestate on the static strength of spring rapeseeds (*Brassica napus* var. *arvensis*). *Sustainability*, vol. 11(7), 2133, 2019.

9. Н.А.Макаренко, В.В.Макаренко/ Екотоксикологічна оцінка пестицидів, агрохімікатів та агротехнологій: Навчальний посібник. Макаренко Н.А., Макаренко В.В.: Київ, 2017. – 351 с. URL: [https://nubip.edu.ua/sites/default/files/ekotoksikologichna\\_ocinka\\_pesticidiv\\_agrohimikativ\\_i\\_tehnologiy\\_os\\_magistr\\_101\\_ekologiya.pdf](https://nubip.edu.ua/sites/default/files/ekotoksikologichna_ocinka_pesticidiv_agrohimikativ_i_tehnologiy_os_magistr_101_ekologiya.pdf)

10. Latosińska J. The analysis of heavy metals mobility from sewage sludge from wastewater treatment plants in Olsztyn and Sitkówka-Nowiny. *The Engineering and Protection of Environment*, 17 (2), 243, 2014. URL: <https://orcid.org/0000-0001-8907-5305>

11. Cadmium accumulation in soils from longcontinued application of superphosphate / H. P. Rothbaum [et al.] // *The J. of Soil Science*. 1986. Vol. 37, № 1. P. 99–10. URL: <https://repository.rothamsted.ac.uk/item/85z95/cadmium-accumulation-in-soils-from-long-continued-applications-of-superphosphate>

12. Yan, S., Ling, Q. C. and Bao, Z. Y. Metals contamination in soils and vegetables in metal smelter contaminated sites in Huangshi, China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79(4), 2007, pp. 361-366. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17767366/>

13. Dintwa E., Tijsskens E., Olieslagers R., De Baerdemaeker J., Ramon H. Calibration of a spinning disc spreader simulation model for accurate site-specific fertiliser Application. *Biosystems Engineering*, 88 (1), 2004, pp. 49-62. URL: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-b0015d76-2dcc-352b-9ef0-171dd6db2691>

14. Zhang J., Yu F., Pang S., Yu Y. Spatial Distribution and Pollution Assessment of Potentially Toxic Elements in Urban Forest Soil of Nanjing, China. *Pol. J. Environ. Stud.* 28, 3015, 2019. URL: <http://www.pjoes.com/Spatial-Distribution-and-Pollution-Assessment-nof-Potentially-Toxic-Elements-in-Urban,92812,0,2.html>

15. Yastrub T.O., Kirsenko V.V., Vakal S.V., Korshun M.M. 2013. The problem of heavy metals in the production and use of phosphorus-containing mineral fertilizers (by example of cadmium, lead, arsenic). *Labor medicine*, 3, 2013, pp. 8–11. URL: [https://www.researchgate.net/publication/347161930\\_The\\_problem\\_of\\_heavy\\_metals\\_in\\_the\\_production\\_and\\_use\\_of\\_phosphorous\\_mineral\\_fertilizers\\_taking\\_cadmium\\_lead\\_arsenic\\_as\\_an\\_example](https://www.researchgate.net/publication/347161930_The_problem_of_heavy_metals_in_the_production_and_use_of_phosphorous_mineral_fertilizers_taking_cadmium_lead_arsenic_as_an_example)

16. Shkola V.Yu., Domashenko M.D., Kuchmiyov A.V., Novak K.S. Fundamentals of the Ukrainian land fund management. *Marketing and Management of Innovations*, 2, 2016, pp. 235–345. URL: [https://mmi.fem.sumdu.edu.ua/sites/default/files/mmi2016\\_2\\_235\\_245.pdf](https://mmi.fem.sumdu.edu.ua/sites/default/files/mmi2016_2_235_245.pdf)

17. Liu B., Huang Z.L., Liu W., Wang J. Lead content and its health risks of soils and vegetables along urban roadsides in Chongqing. *Chinese Journal of Ecology*, vol. 36/ issue 2, pp 476–482, 2017. URL: [https://www.researchgate.net/publication/329266633\\_Lead\\_content\\_and\\_its\\_health\\_risks\\_of\\_soils\\_and\\_vegetables\\_along\\_urban\\_roadsides\\_in\\_Chongqing](https://www.researchgate.net/publication/329266633_Lead_content_and_its_health_risks_of_soils_and_vegetables_along_urban_roadsides_in_Chongqing)

18. Shaheen N., Irfan N.M., Khan I.N., Islam S., Islam M.S., Ahmed M.K. Presence of heavy metals in fruits and vegetables: Health risk implications in Bangladesh. *Chemosphere*, 2016, p. 152. URL: <https://www.pstu.ac.bd/files/publications/1550802499.pdf>

19. Antoniadis V., Shaheen S.M., Levizou E., Shahid M., Niazi N.K., Vithanage M., Ok Y.S., Bolan, N., Rinklebe J. A critical prospective analysis of the potential toxicity of trace element regulation limits in soils worldwide: Are they protective concerning health risk assessment? - A review. *Environment*

- International, 127, 819, 2019. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412018328381>
20. Lu L., Li J., Hu A., Mulla S., Yang J., Yu C.P. Microbial community structure analysis and isolation of vanadium-resistant strains in vanadium mining-impacted soil. *Journal of Soil and Water Conservation*, 74 (3), 296, 2019. URL: [https://www.researchgate.net/publication/328654752\\_Microbial\\_community\\_structure\\_analysis\\_and\\_isolation\\_of\\_vanadium\\_resistant\\_strains\\_in\\_vanadium\\_mining\\_impacted\\_soil](https://www.researchgate.net/publication/328654752_Microbial_community_structure_analysis_and_isolation_of_vanadium_resistant_strains_in_vanadium_mining_impacted_soil)
21. Zhao F.J., Ma Y., Zhu Y.G., Tang Z., McGrath S.P. Soil Contamination in China: Current Status and Mitigation Strategies. *Environmental Science & Technology*, 49(2), 750, 2015. URL: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es5047099>
22. Zhang H., Guo Q., Yang J., Ma J., Chen G., Chen T., Zhu G., Wang J., Zhang G., Wang X., Shao C. Comparison of chelates for enhancing *Ricinus communis* L. phytoremediation of Cd and Pb contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 133, 57, 2016. URL: <https://europepmc.org/article/med/27414256>
23. Макаренко Н. А. Нанопрепараты у рослинництві: екотоксикологічне оцінювання небезпечності [Монографія] / Н.А. Макаренко, В.І. Бондарь, Л.В. Рудніцька, А.В. Сальнікова. – К.: ЦП «Компринт», 2016.- 119с.
24. Fallahzadeh R.A., Ghaneian M.T., Miri M., Dashti M.M. Spatial analysis and health risk assessment of heavy metals concentration in drinking water resources. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 1, 2017. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28913756/>
25. Heavy metals and living systems: An overview. *Indian J. Pharmacol.* 43, 246, 2011. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3113373/>
26. Flora G., Gupta D., Tiwari A. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdiscip Toxicol.* 5, 47, 2012.
27. Szyman Skachabowska A., Beck A., Poreba R., Andrzejak R., Antonowiczjuchniewicz A J. Evaluation of DNA damage in people occupationally

exposed to arsenic and some heavy metals. *Pol. J. Environ. Stud.* 1, 2009. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10984689/>

28. Fan Y., Li H., Xue Z., Zhang Q., Cheng F. Accumulation characteristics and potential risk of heavy metals in soil-vegetable system under greenhouse cultivation condition in Northern China. *Ecol. Eng.* 102, 367, 2017. URL: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-e252856d-0a70-3e7f-8697-70c6bce5a18a>

29. Malar S., Vikram S.S., Favas P.J.C., Perumal V. Lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinths [*Eichhornia crassipes* (Mart.)]. *Botanical Studies*, 55, 54, 2014. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28597420/>

30. Chen B., Yang H., Zhou J., Ren X., Ma J., Sun L., Li X. Effect of cultivating years of vegetable field on soil heavy metal content and enzyme activity in plastic shed. *Trans. Chin. Soc. Agr. Eng.* 28, 213, 2012.

31. Zhang H., Huang B., Dong L., Hu W., Akhtar M.S., Qu M. Accumulation, sources and health risks of trace metals in elevated geochemical background soils used for greenhouse vegetable production in southwestern China. *Ecotox. Environ. Safe.* 137, 233, 2017. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27951423/>

32. Sun Y. Ecological risk evaluation of heavy metal pollution in soil in Yanggu. *Pol. J. Environ. Stud.* 26, 1, 2017. URL: <http://www.pjoes.com/Ecological-Risk-Evaluation-of-Heavy-Metal-Pollution-in-Soil-Based-on-Simulation,68889,0,2.html>

33. Jankiewicz B., Adamczyk D. Assessing heavy metal content in soils surrounding a power plant. *Pol. J. Environ. Stud.* 19, 849, 2010. URL: <http://www.pjoes.com/Assessing-Heavy-Metal-Content-in-Soils-r-nSurrounding-the-Lodz-EC4-Power-Plant-Poland,88068,0,2.html>

34. Лисиця А.В. Біоіндикація і біотестування забруднених територій. Методичні рекомендації до самостійного вивчення дисципліни. Рівне: Дока-центр, 2018. – 94 с. URL: [http://kegt.rshu.edu.ua/images/dustan/2019/la\\_19\\_03\\_ms.pdf](http://kegt.rshu.edu.ua/images/dustan/2019/la_19_03_ms.pdf)

35. Rastetter N., Gerhard t. Toxic potential of different types of sewage sludge as fertiliser in agriculture: ecotoxicological effects on aquatic, sediment and soil indicator species. *Journal of Soils and Sediments*, 17, 106, 2017. URL: [https://www.researchgate.net/publication/304103675\\_Toxic\\_potential\\_of\\_different\\_types\\_of\\_sewage\\_sludge\\_as\\_fertiliser\\_in\\_agriculture\\_ecotoxicological\\_effects\\_on\\_aquatic\\_sediment\\_and\\_soil\\_indicator\\_species](https://www.researchgate.net/publication/304103675_Toxic_potential_of_different_types_of_sewage_sludge_as_fertiliser_in_agriculture_ecotoxicological_effects_on_aquatic_sediment_and_soil_indicator_species)

36. Tanneberger K., Knobel M., Busser F.J.M., Sinnige T.L., Hermens J.L.M., Schirmer K. Predicting fish acute toxicity using a fish gill cell linebased toxicity assay, 47, 2, 1110, 2013. URL: [https://www.researchgate.net/publication/233890524\\_Predicting\\_Fish\\_Acute-Toxicity\\_Using\\_a\\_Fish\\_Gill\\_Cell\\_Line-Based\\_Toxicity\\_Assay](https://www.researchgate.net/publication/233890524_Predicting_Fish_Acute-Toxicity_Using_a_Fish_Gill_Cell_Line-Based_Toxicity_Assay)

37. Risk assessment of contaminants in sewage sludge applied on norwegian soils. Opinion from the Panel on Contaminants in the Norwegian Scientific Committee for Food Safety, Oslo, 2009. URL: [https://di.ku.dk/Ansatte/?pure=da%2Fpublications%2Frisk-assessment-of-contaminants-in-sewage-sludge-applied-on-norwegian-soils\(e8059d20-9165-11de-8bc9-000ea68e967b\).html](https://di.ku.dk/Ansatte/?pure=da%2Fpublications%2Frisk-assessment-of-contaminants-in-sewage-sludge-applied-on-norwegian-soils(e8059d20-9165-11de-8bc9-000ea68e967b).html)

38. Włodarczyk-Makuła M. The Selected Organic Micropollutants in Water and Soils. Monograph. Częstochowa University of Technology Publisher, Częstochowa, 2013. URL: [https://www.researchgate.net/publication/318142778\\_Influence\\_of\\_Selected\\_Organic\\_Micropollutants\\_on\\_Organisms](https://www.researchgate.net/publication/318142778_Influence_of_Selected_Organic_Micropollutants_on_Organisms)

39. Kozak J., Włodarczyk-Makuła M. General characteristics of biological quality control methods. *LAB Laboratoria, Aparatura, Badania*, 21 (6), 22, 2016.

40. Peltola Thies J., Lantto T.A., Lapenna S., Muller G., Kloslova Z., Caley J., Andersen S., Gudbrandsen M., Hofer T., Myhre O., Vervruggen E., Lepper P. Use of toxicokinetic data in bioaccumulation assessment. *Toxicology Letters*, 258, S226, 2016. URL: <http://www.pjoes.com/Environmental-Safety-Assessment-of-Fertilizer-Products,120519,0,2.html>

41. Alves P.R.L., Cardoso E.J.B.N. Overview of the standard methods for soil ecotoxicology testing, in: Invertebrates – Experimental Models in Toxicity Screening Eds. Larramendy M. L. and Soloneski S., IntechOpen, 2016. URL: <https://www.intechopen.com/chapters/49867>

42. ISO 17155:2012, Soil quality – Determination of abundance and activity of soil microflora using respiration curves, 2012. центр, 2018. – 94 с. URL: <https://www.iso.org/standard/53529.html>

43. ISO 18400-206:2018, Soil quality – Sampling – Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory, 2018. URL: <https://www.iso.org/standard/68249.html>

44. ISO 14238:2014-04, Soil quality – Biological methods– Determination of nitrogen mineralization and nitrification in soils and the influence of chemicals on these processes, 2014. URL: <https://www.iso.org/standard/56033.html>