

8. Голік Ю. С., Ілляш О. Е., Москвич В. О., Мацків Я. Оцінка стану поверхневих водних джерел Полтавської області. *Ресурсозберігаючі технології в проектуванні, землевпорядкуванні та будівництві*: матеріали Міжнарод. науково-практичної конф. (Кременчук, 19-20 квітня 2013 р.). Кременчук: КрНУ, 2013. С. 122-125.
9. Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России. Т. 1. Зоопланктон / Под. ред. В. Р. Алексеева, С. Я. Цалолыхина. Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2010. 495 с.
10. Фауна аэротенков: атлас / А. А. Айсаев [и др.]; отв. ред. Л. А. Кутикова. – Ленинград: Наука: Ленинград. отделение, 1984. 264 с.
11. Протисты и бактерии озер Самарской области / [В. В. Жариков, М. Ю. Горбунов, С. В. Быкова и др.]; под ред. В. В. Жарикова. Тольятти: Кассандра, 2009. 240 с.
12. Песенко Ю. А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. Москва: Наука, 1982. 287 с.

УДК 574.64:504.064

## УДОСКОНАЛЕННЯ СПОСОБУ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ЗАБРУДНЕНОСТІ ҐРУНТІВ МЕТОДОМ БІОТЕСТУВАННЯ

Крайнюков О. М., Кривицька І. А.

*Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна  
61022 Україна, Харків, майдан Свободи, 6*

alkraynukov@gmail.com,  
ivkrivicka@gmail.com

Наведено результати експериментальних досліджень щодо вдосконалення способу визначення фітотоксичності фактора середовища за рахунок отримання кількісної оцінки ступеня забрудненості ґрунтів відповідно до визначених рівнів пригнічення ростових процесів, кількісна характеристика якого виражається коефіцієнтом забрудненості ґрунтів (КЗГ). Для визначення фітотоксичності водних витяжок з ґрунту обрано кукурудзу, ячмінь та салат.

*Ключові слова: ґрунти, схожість, період вегетації, фітотоксичність, забрудненість ґрунтів.*

Krainiukov O. M., Krivitska I. A. IMPROVING THE METHOD OF DEFINING STEP POLLUTION OF SOILS / V. N. Karazin Kharkiv National University, 61022 Ukraine, Kharkiv, Maidan Svobodi, 6

The article presents the results of experimental studies on the improvement of the method for determining the phytotoxicity of the environmental factor by obtaining a quantitative assessment of the degree of soil contamination in accordance with certain levels of inhibition of growth processes, the quantitative characteristics of which is expressed by the soil contamination coefficient (CCS). To determine the phytotoxicity of aqueous extracts from the soil, corn, barley and lettuce were selected.

The purpose of the work was to suggest the use of the indicator «degree of soil contamination» in accordance with the definitions of the levels of suppression of growth processes, the quantitative characteristics of which is the coefficient of soil contamination (CGD), with this soil contamination coefficient differentiate the levels of suppression of growth processes.

To determine the phytotoxicity of the soils, a preliminary selection of plants was recommended, which is recommended by the international standard ISO 11269-2. The main prominent activities, including in the field of energy, science and education, associate research, additional. The probability of deviation of the significance of these criteria from control was taken into account. Phytotoxic was considered as soil, for the deduction of biotesting which values of any of the listed criteria were significantly different in the control.

The problem was solved by the fact that the determination of the toxicity of soils in higher plants was based on the determination of the difference between the intensity of plant growth in the water extraction from the soil (experiment) and the water in which the plants are kept (control).

Criterion: more information at 20 sites is more information and not included in the rate of the stay (at an additional cost) in the amount of 96 % of the cost of living.

The prognosis is predictive of potentially significant factors that may be related to the main factors that may be associated with major illnesses.

During 2016, it was carried out 94 experiments on the determination of soil phytotoxicity was carried out on the basis of the results obtained, certain regularities were found in obtaining results that made it possible to solve the problem of improving the method of determining the phytotoxicity of the environmental factor for the accounts for obtaining a quantitative assessment of the degree of soil contamination in accordance with the specified levels of inhibition of growth processes, the quantitative characteristics of which are expressed by soil contamination coefficient (CGD).

In order to assess the dangers of soil contamination, it is suggested to use the indicator «degree of soil contamination» in accordance with the definitions of the levels of suppression of growth processes, the quantitative characteristics of which is the soil contamination coefficient (CGD), with this soil contamination coefficient differentiating the levels of depression of growth processes.

The advantage of the proposed method in comparison with the existing one is that the help can be determined not only by the presence or absence of the phytotoxic effect, but also assess the dangers of soil contamination of toxic substances through the quantitative assessment of soil contamination, depending on the level of suppression of growth processes.

*Key words: soil, germination, vegetation period, phytotoxicity, soil contamination.*

## ВСТУП

Найбільш інформативним і стабільним компонентом ландшафту вважаються ґрунти, структура яких відчутливо впливає на суміжні компоненти. Серед трьох структурних елементів біосфери (атмосфери, гідросфери, літосфери) центральною ланкою є ґрунти, які відіграють визначальну роль у їх формуванні й суттєво впливають на перерозподіл речовини й енергії в інших компонентах природного середовища. Контроль процесів деградації й відтворення ґрунтів повинен здійснюватися під час комплексного моніторингу як система спостережень за екологічним станом ґрунтів із метою їх раціонального використання та охорони. Зараз потрібно створювати систему ґрунтово-екологічного моніторингу, адаптовану до умов комплексного антропогенного впливу на ґрунти [1].

На цей час природоохоронні заходи з регулювання й обмеження надходження в природне середовище екологічно небезпечних речовин і сполук, як правило, засновані на порівнянні фактичних значень їх вмісту з встановленими величинами ГДК цих речовин для відповідного компоненту природного середовища. Але при цьому використання лише інформації щодо перевищення ГДК окремих хімічних речовин недостатньо для оцінки екологічного стану території, оскільки не враховується вплив сукупної дії полікомпонентних хімічних сполук на біотичну складову екосистем. Це пов'язано з тим, що концентрація ГДК передбачає нормування ізольованого впливу хімічних речовин на відповідні тест-організми, які використовуються при встановленні ГДК, тоді як у реальних умовах вплив чинять складні суміші речовин, унаслідок чого може проявлятися комбінований ефект впливу – адитивність, синергізм, антагонізм [2].

Більшість спроб, що використовуються для нормування забруднення ґрунтів забруднюючими речовинами, зводяться до того, щоб визначити гранично допустиму концентрацію речовини в ґрунті. Однак через об'єктивні причини, такі як поліфункціональність і гетерогенність ґрунту, різноманітність його типів, різноманітність забруднюючих речовин, явища синергізму та антагонізму між ними, здатність живих організмів до адаптації, а ґрунту – до самоочищення, використання ГДК поллютантів для оцінки рівня забруднення є одностороннім показником.

Доцільність використання біологічних методів оцінки якості компонентів ландшафту, зокрема, ґрунтів, підкреслюється у численних роботах вітчизняних і зарубіжних авторів [3-6]. Зокрема, у праці М. О. Клименко при визначенні переліку показників для оцінки якості компонентів довкілля в умовах антропогенного навантаження рекомендується використовувати поряд з іншими, біологічні методи: «...біоіндикація і біотестування,

на відміну від відомих аналітичних методів контролю за станом середовища, є незамінними у визначенні токсичності і шкідливості факторів для живих організмів, бо ці характеристики є біологічними, а тому визначають біологічну повноцінність (або неякісність) середовища» [6]. Підтвердженням наведеного є результати встановлення кореляційної залежності між оцінкою рівнів токсичності води і значеннями коефіцієнтів її забрудненості окремими хімічними речовинами, яка складала 0,06 [7].

Мета роботи – запропонувати використовувати показник «ступінь забрудненості ґрунтів» відповідно до визначених рівнів пригнічення ростових процесів, кількісна характеристика якого виражається коефіцієнтом забрудненості ґрунтів (КЗГ), при цьому коефіцієнт забрудненості ґрунтів диференціюють за рівнями пригнічення ростових процесів.

### **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Проби ґрунту для біотестування відбирали згідно з ГОСТ 17.4.3.01-83 та ГОСТ 17.4.4.02-84. Маса загальної проби близько 2 кг.

Проби ґрунту звільняли від сторонніх домішок, подрібнювали, просіювали крізь сито з порами діаметром 1 мм, розподіляли тонким шаром на аркуші паперу або кальки у вигляді квадрата чи прямокутника і поділяли на 4 частини. Дві протилежні частини ґрунту зсипали в одну купу, повторюючи вказану операцію до тих пір, доки вага зразка ґрунту не дорівнювала 100 г. Наважку ґрунту переносили в колбу з притертою пробкою. Заливали дистильованою водою у співвідношенні 1:1 і збовтували вміст колби за допомогою струшувача протягом 1,5 год. Після цього вміст колби переносили в центрифужні стакани й центрифугували при 2000 об/хв протягом 10 хв. Після центрифугування водну витяжку з центрифужних стаканив переносили вс колбу з притертою пробкою і використовували для біотестування.

Для визначення фітотоксичності ґрунтів попередньо було проведено вибір рослин, широке коло яких рекомендується міжнародним стандартом ISO 11269-2 [8, 9]. В експериментах використано 4 види однодольних (пшениця тверда, ячмінь, овес, кукурудза) і 15 видів дводольних рослин (горох, квасоля, соя, салат, томат, цибуля, кріп, морква, перець, буряк, капуста, редька чорна, редис, петрушка кучерява, огірок) таких сортів, які мали найбільш ранню схожість та найменший період вегетації.

Рослини, які є придатними для біотестування, мають відповідати таким вимогам: розвиватися після замочування у воді, мати достатню швидкість росту у водній витяжці, щоб за 5 діб досягнути такої довжини коренів та паростків, яка необхідна для підрахунку. Відповідно до цих вимог непридатними до біотестування виявилися рослини: перець, петрушка, горох, квасоля, соя, які повільно пророщуються після замочування у воді; у насінні родини бобових починався процес гниття. Насіння кукурудзи, капусти, огірка, салату та пшениці виявилось придатним для біотестування у водній витяжці (розвивалося 80-90 % насіння).

Що стосується швидкості росту, то насіння кукурудзи дає паростки, достатні для підрахування довжини через 4 доби після замочування; насіння салату, томату, пшениці, ячменю, буряка, редьки, редису, капусти, вівса та огірка – через 5 діб; насіння моркви, кропу і цибулі – через 7 діб, а петрушки – більше ніж через 11 діб.

Із перелічених рослин для визначення фітотоксичності водних витяжок з ґрунту було обрано кукурудзу, ячмінь та салат. Пшениця, капуста та огірок не використовувались у біотестуванні з таких причин: капуста та огірок мають дуже ніжні корінці, довжину яких неможливо виміряти, а пшениця має багато бокових корінців, котрі переплітаються між собою, що утруднює розрахунок результатів.

Основними показниками згідно з [9], за якими проводили оцінку фітотоксичності ґрунтів, були кількість пророслих рослин, довжина коренів та паростків. Враховували вірогідність відхилення значень цих критеріїв від контролю. Фітотоксичними вважались ґрунти, за результатами біотестування яких значення будь-якого з перелічених критеріїв вірогідно відрізнялося від контролю.

Для визначення придатності насіння вищих рослин до біотестування встановлюють концентрацію розчину еталонної речовини, що спричиняє зменшення довжини коренів і (або) проростків на 20 % за 96 год біотестування (ЕК<sub>20-96</sub>).

Як еталонну речовину використовують фенол (С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>ОН) згідно з ГОСТ 6417-72 кваліфікації ч.д.а. Вихідний розчин готують із концентрацією 1 г/дм<sup>3</sup> С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>ОН. Для цього використовують дистильовану воду згідно з ГОСТ 6709. Із вихідного розчину готують серію розчинів від 100 до 200 мг/дм<sup>3</sup> С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>ОН з інтервалом 25 мг/дм<sup>3</sup>, використовуючи дехлоровану питну воду. Біотестування розчинів проводять упродовж 96 год згідно з процедурою, описаною вище. За результатами розраховують ЕК<sub>20-96</sub>.

Якщо одержана величина ЕК<sub>20-96</sub> перебуває в експериментально встановленому діапазоні реагування тест-об'єкта, який дорівнює 89,5-194,5 мг/дм<sup>3</sup> С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>ОН, партія насіння придатна для біотестування.

Якщо ЛК<sub>20-96</sub> С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>ОН не потрапляє у вказаний діапазон реагування, партію насіння замінюють на нову. Рекомендовано використовувати насіння зі схожістю 90 %.

Контроль відтворюваності результатів визначення токсичності здійснюють за розбіжністю результатів двох визначень ЕК еталонної речовини (ЕК<sub>1</sub>, ЕК<sub>2</sub>).

Результати визначень токсичності задовільні за умови:

$$(ЕК_1 - ЕК_2) \leq Д,$$

де Д – норматив оперативного контролю відтворюваності результатів, значення якого при довірчій ймовірності Р=0,95 складає 74 мг/дм<sup>3</sup> фенолу.

Характеристики похибки одиночного визначення токсичності надані в таблиці 1.

Таблиця 1 – Характеристики похибки одиночного визначення токсичності

ЕК <sub>20-96</sub> , мг/дм <sup>3</sup> фенолу	Найбільше можливе значення середнього квадратичного відхилення випадкової складової похибки (показника відтворюваності) $\sigma (\Delta^0)$ , мг/дм <sup>3</sup>	Границі інтервалу, у яких похибка визначень токсичності знаходиться з довірчою ймовірністю Р = 0,95	
		$\pm \Delta$ , мг/дм <sup>3</sup>	$\pm \delta$ , %
142	26,8	52,5	37,0

Поставлене завдання вирішувалась тим, що визначення токсичності ґрунтів на вищих рослинах ґрунтується на встановленні різниці між інтенсивністю росту рослин у водній витяжці з ґрунту (дослід) та у воді, у якій рослини утримуються (контроль).

Критерієм токсичності є зниження на 20 і більше відсотків довжини проростків і (або) коренів рослин в досліді порівняно з контролем за 96 год біотестування.

Наприкінці біотестування вимірюють довжину коренів і проростків у контролі та досліді.

За результатами вимірювань довжини коренів і проростків вищих рослин розраховують їхні середні арифметичні значення в досліді й контролі. Отримані значення використовують для розрахунку різниці довжини коренів і проростків у досліді відносно контролю у відсотках за формулою:

$$A = ((X_k - X_d)/X_k) \times 100, \text{ де}$$

A – довжина коренів (проростків) у досліді відносно контролю, %;

X<sub>k</sub> – середнє арифметичне довжини коренів (проростків) у контролі, см;

X<sub>d</sub> – середнє арифметичне довжини коренів (проростків) у досліді, см.

Ґрунт виявляє токсичність, якщо A становить 20 і більше відсотків.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Найближчим аналогом способу, що розглядається, є спосіб визначення фітотоксичності фактора середовища [10]. Зазначений спосіб полягає в такому – проводять тестування рослин за дії різних доз фактора. Встановлюють лінійний розмір або масу надземної та кореневої частин, а потім співвідношення відповідних параметрів для цих органів рослин. На основі змін тестового показника визначають дозу фактора за максимального значення співвідношення. При зниженні величини цього співвідношення діагностують підвищення фітотоксичності фактора.

Результати дають можливість прогнозування й диференційної оцінки максимально токсичних концентрацій факторів кореневого живлення на основі аналізу дозових змін діагностичного показника.

Недоліком відомого способу є те, що за його допомогою неможливо здійснити кількісну оцінку фітотоксичності фактора середовища і, як наслідок, - ступінь забрудненості ґрунтів. Також зазначений спосіб передбачає оцінку дозових змін окремих діагностичних показників, що, на відміну від запропонованого авторами способу, унеможливорює інтегральність в оцінці якості ґрунтів за допомогою біотестування – методичного прийому, заснованого на використанні в стандартних лабораторних умовах біологічних тест-об'єктів для визначення токсичності ґрунтів шляхом реєстрації зміни відповідних показників їхньої життєдіяльності під впливом спільної дії і взаємодії специфічних хімічних токсичних речовин.

Упродовж 2016 року здійснено постановку 94 експериментів (рис. 1) з визначення фітотоксичності ґрунтів та на основі отриманих результатів було встановлено певну закономірність в отриманих результатах. Це дало змогу вирішити поставлене завдання щодо вдосконалення способу визначення фітотоксичності фактора середовища за рахунок отримання кількісної оцінки ступеня забрудненості ґрунтів відповідно до визначених рівнів пригнічення ростових процесів, кількісна характеристика якого виражається коефіцієнтом забрудненості ґрунтів (КЗГ).

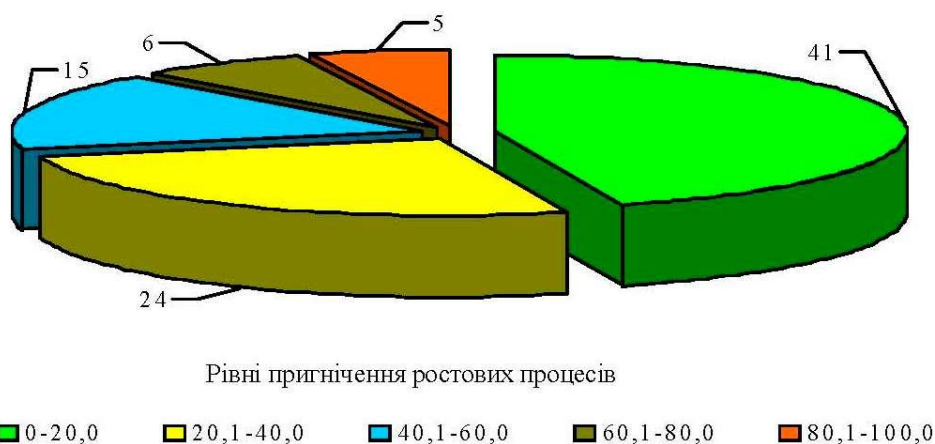


Рис. 1. Кількісне значення випадків виявлення фітотоксичної дії ґрунтів при визначенні рівнів пригнічення ростових процесів

Для оцінки небезпеки забруднення ґрунтів запропоновано використовувати показник «ступінь забрудненості ґрунтів» відповідно до визначених рівнів пригнічення ростових процесів, кількісна характеристика якого виражається коефіцієнтом забрудненості ґрунтів (КЗГ), при цьому коефіцієнт забрудненості ґрунтів диференціюють за рівнями пригнічення ростових процесів.

У таблиці 2 наведено класифікацію якості ґрунтів за ступенем забрудненості.

Таблиця 2 – Класифікація якості ґрунтів за ступенем забрудненості [11]

Клас якості ґрунтів	Рівень забрудненості ґрунтів	Рівні пригнічення ростових процесів (фітотоксичний ефект), %	Ступінь забрудненості ґрунтів, КЗГ
I	Незабруднені	0-20,0	1,1
II	Слабко забруднені	20,1-40,0	1,2
III	Помірно забруднені	40,1-60,0	1,3
IV	Брудні	60,1-80,0	1,4
V	Дуже брудні	80,1-100,0	1,5

Перевага запропонованого способу порівняно з існуючими полягає в тому, що за його допомогою можна визначити не тільки наявність або відсутність фітотоксичного ефекту, а також оцінити небезпеку забруднення ґрунтів токсичними речовинами через кількісну оцінку забрудненості ґрунтів залежно від рівнів пригнічення ростових процесів.

Перспективи подальших досліджень полягають в оцінці та ранжуванні антропогенно перетворених ґрунтів з використанням показника «ступінь забрудненості ґрунтів».

### ВИСНОВКИ

За результатами експериментальних досліджень можливо зробити висновок про те, що для оцінки небезпеки забруднення ґрунтів слід використовувати показник «ступінь забрудненості ґрунтів» відповідно до визначених рівнів пригнічення ростових процесів, кількісна характеристика якого виражається коефіцієнтом забрудненості ґрунтів (КЗГ), при цьому коефіцієнт забрудненості ґрунтів диференціюють за рівнями пригнічення ростових процесів.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Медведєв В. В. Мониторинг почв України. Концепция. Итоги. Задачи: монография. Харьков, 2012. 536 с.
2. Крайнюкова А. М. Біотестування – метод оцінки токсичних властивостей компонентів природного середовища та джерел їх забруднення. Проблеми охорони навколишнього природного середовища та екологічної безпеки. Харьков: Райдер, 2006. Вип. XXVIII. С. 15-33.
3. Мелехова О. П., Егорова Т. И., Евсеева Е. И. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учеб. пособ. для студ. высш. учеб. заведений. Москва : Изд. центр «Академия», 2007. 288 с.
4. Manual for the Evaluation of Laboratories Performing Aquatic Toxicity Tests. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development. EPA/600/4-90/031. Cincinnati, 1991. 108 p.
5. Steinhäuser K. G., Hansen P. D. Biologische Testverfahren. Stuttgart: Gustav-Fischer Verlag, 1992. 884 s.
6. Клименко М. О., Трушева С. С., Гроховська Ю. Р. Відновна гідроекологія порушених річкових та озерних систем (гідрохімія, гідробіологія, гідрологія, екологія, управління): монографія. Рівне, 2004. 211 с.
7. Впровадження результатів токсикологічного моніторингу в систему екологічного менеджменту басейну р. Дніпро. Звіт на проект № 9112 для Міжнародного центру розвитку наукових досліджень / Український науково-дослідний інститут екологічних проблем. Харків, 1999. 61 с.

8. ISO 11269-1995 Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Part 1. Method for the measurement of inhibition of root growth.
9. ISO 11269-1995 Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Part 2. Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants.
10. Спосіб визначення фітотоксичності фактора середовища: пат. 58614 Україна: МПК (2011) G01N 33/24 U 200702855 заявл. 19.03.2007; опубл. 26.04.2011, бюл. № 8. 4 с.
11. Спосіб визначення ступеня забрудненості ґрунтів: пат. 113560 Україна: МПК G01N 33/24 U 201605283 заявл. 16.05.16; опубл. 10.02.2017, бюл. № 3. 5 с.