

REFERENCES

1. Nikolaevskiy, V.S. (1988). *Ekotoksikologiya i okhrana prirody [Ecotoxicology and nature protection]*. Riga: Zinatne [in Russian].
2. Frolov, A.K. (1998). *Okruzhayushchaya sreda krupnogo goroda i zhizn rasteniy v nem [The environment of a large city and the life of plants in it]*. SPb.: Nauka [in Russian].
3. Nikolaevskiy, V.S. (1989). *Ekologo-fiziologicheskie osnovy gazoustoychivosti rasteniy [Ecological and physiological basis of gas resistance of plants]*. Moskva: Nauka [in Russian].
4. Nikolaevskiy, V.S. (1999). *Ekologicheskaya otsenka zagryazneniya sredi i sostoyaniya nazemnykh ekosistem metodom fitoindikatsii [Environmental assessment of pollution among and the state of terrestrial ecosystems by the phytoindication method]*. Moskva: MGUL [in Russian].
5. Karmanova, I.V. (1989). *Matematicheskie metody izucheniya rosta i produktivnosti rasteniy [Mathematical Methods for Studying Plant Growth and Productivity]*. Moskva: Nauka [in Russian].
6. Golod, V.M. et al. (Eds.). (2008). *Fiziologiya rasteniy. Versiya 1.0. [Elektronnyy resurs]: metodicheskie ukazaniya po lab. rabotam [Plant physiology. Version 1.0. [Electronic resource]: methodical instructions on the lab. works]*. Krasnoyarsk: IPSSFU. 1 elektron, opt. disk (CD-ROM). Pentium – 266; 32 Mb RAM; CD-ROM Windows 98/2000/NP/XP [in Russian].
7. Labashov, O.O., Prasolenko, O.V. (2011). *Praktikum z dystsyplyni «Orhanizatsiia dorozhnoho rukhu»: navch. posibnyk [Practical work in the discipline «Road Traffic: Teach. manual]*. Kharkiv: KhDAMG [in Ukrainian].

УДК 632.95.025.8

ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА СУЧАСНИХ ГЕРБІЦИДІВ ЗА ЇХ ВПЛИВОМ НА МЕЗОФАУНУ ҐРУНТУ

С.В. Хижняк, С.В. Поліщук, О.П. Самкова, О.П. Конопольський,
В.М. Войціцький

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Досліджено екотоксичність гербіцидних препаратів, що відносяться до класу хлор-ацетанлідів (хлорацетамідів), методом біотестування із використанням ґрунтових черв'як Eisenia foetida. За результатами гострої токсичності для черв'як встановлено, що гербіцид з діючою речовиною пропізохлор та гербіцид з діючою речовиною ацетохлор (препаративна форма — концентрат емульсії) є слаботоксичними, а гербіцид із діючою речовиною метадохлор (концентрат суспензії) — безпечним для ґрунтової мезофауни. Отримані результати необхідно враховувати під час використання цих препаратів.

Ключові слова: агроекосистема, гербіцид, екотоксичність, ґрунтова мезофауна, Eisenia foetida.

Конкурентоспроможність сільськогосподарської продукції можна досягти завдяки формуванню стійких та безпечних агроекосистем. Хімізація землеробства спричиняє значну потенційну небезпеку як агробіоценозу, так і довкіллю, адже об-

сяги та різноманіття пестицидних препаратів невпинно зростає [1]. Альтернативою відомим методам, які надають можливість виявити деградацію ґрунтів лише за їх фактичним проявом, є методи біотестування, що уможливають оцінку токсичності та небезпечності пестицидів за використання поширеного (типового) виду організмів ґрунтової мезофауни. Пестициди, як біоло-

гічно активні речовини, можуть впливати на біоту агроєкосистем, зокрема на фауну безхребетних тварин, що відіграють важливу роль у ґрунтоутворювальному процесі [2].

Як тест-об'єкт запропоновано використовувати представника ґрунтової мезофауни — черви *Eisenia foetida* [3, 4]. Вони мають вплив на процеси розкладу та деградації рослинних та тваринних решток, мінералізації органічних речовин, регулювання повітряного та водного режимів ґрунту. Разом з тим безхребетним властивою є здатність акумулювати пестициди та інші хімічні речовини у кількостях, що значно перевищують їх уміст у ґрунті [5, 6]. Це стало передумовою для застосування земляних черв'яків для оцінки еколого-токсикологічного впливу пестицидів. Для визначення токсичності речовин у лабораторних умовах використовують штучні субстрати (ґрунти), що забезпечує стандартні контрольовані умови для тест-об'єктів, а перемінною величиною є безпосередня токсичність досліджуваних препаратів.

Використання методів біотестування дає змогу отримати швидку реакцію живих організмів на токсичність хімічних речовин, до того ж вони прості в роботі, надійні та недорогі. На сьогодні у наукових публікаціях майже не існує даних стосовно оцінки еколого-токсикологічного впливу різних класів пестицидів на представників мезофауни ґрунту, зокрема на *E. foetida*. Актуальність і неповна вивченість цього питання, власне, і стала передумовою для проведення наших досліджень.

Метою роботи є дослідження екоотоксичності сучасних гербіцидних препаратів за їх впливом на мезофауну ґрунту з використанням *E. foetida*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У лабораторних умовах методом біотестування визначали гостру токсичність препаратів (LC_{50} , 14 діб) та поведінкові реакції черв'яків виду *E. foetida* за впливу низки пестицидів, що відносяться до класу хлорацетанлідів (хлорацетамідів), залежно від концентрації та часу експозиції, із

застосуванням штучного субстрату згідно з нормативами [7].

Досліджували системні гербіциди вибіркової (селективної) дії, комерційні назви яких за домовленістю з виробником не повідомляються:

1) Гербіцид А, КЕ (аналоги: Проніт, КЕ та Ацетал Про, КЕ), (д.р. — пропізохлор [2-хлор-6'-етил-N-ізопропоксиметилацето-о-толуїдид], 720 г/л) — системний гербіцид для знищення однорічних злакових та дводольних видів бур'янів на посівах сої, кукурудзи, гороху, соняшнику, люпину, квасолі. Температура плавлення — 21,6°C. Розчинність у воді — 20°C, 184 мг/дм³. Механізм впливу діючої речовини препарату проявляється внаслідок абсорбції через проростки та кореневу систему бур'янів, що проростають; полягає в інгібуванні синтезу білків та нуклеїнових кислот [8].

2) Гербіцид Б, КЕ (аналоги: Трофи 90 КЕ, Харнес КЕ, Ацетохлор КЕ, Харіус КЕ, Беркут КЕ, Кратос КЕ), (д.р. — ацетохлор [2-хлор-N-етоксиметил-6'-етілацето-о-толуїдид], 900 г/л) — селективний досходовий гербіцид, використовується шляхом внесення в ґрунт для знищення однорічних одно- і дводольних бур'янів на посівах сої, кукурудзи, соняшнику. Температура плавлення — 10,6°C. Розчинність у воді — при 25°C, 223 мг/дм³. Механізм впливу діючої речовини препарату проявляється внаслідок абсорбції через проростки та кореневу систему бур'янів, що проростають; полягає в інгібуванні синтезу білків та нуклеїнових кислот і пригніченні процесів дихання клітин у коріннях рослин [9].

3) Гербіцид В, КС (аналог Бутизан КС), (д.р. — метазохлор [2-хлор-N-(піразол-1-ілметил)ацет-2',6'-ксилідид], 400 г/л) — селективний ґрунтовий гербіцид, що застосовується до появи сходів культури проти однорічних злакових та дводольних видів бур'янів на посівах озимого і ярого ріпаку, капусти, турнепсу, гірчиці. Температура плавлення — 85°C. Розчинність у воді — при 25°C, 43 мг/дм³. Механізм впливу діючої речовини препарату забезпечується через процес фотосинтезу і пригнічення утворення ліпідів та білків [9].

Схема дослідю оцінки гострої токсичності гербіцидів

Концентрація, мг/кг субстрату	Назва препарату		
	Гербіцид А, КЕ (д.р. – пропізохлор, 720 г/л)	Гербіцид Б, КЕ (д.р. – ацетохлор, 900 г/л)	Гербіцид В, КС (д.р. – метазохлор, 400 г/л)
Контроль (дисти- льована вода)	+	+	+
10	–	–	+
50	–	+	–
100	+	+	+
200	+	+	–
300	+	–	–
400	+	+	–
500	+	–	–
600	+	+	–
800	+	+	–
1000	+	+	+

Примітка: *«+» – концентрація, що досліджувалась.

Тестовими об'єктами слугували дорослі статевозрілі особини ґрунтових черв'як *E. fetida* віком від 2 місяців та вагою 300–500 мг.

У дослідях використовували штучний субстрат такого складу: тонко розмелений сфагновий торф – 10%; каолінова глина – 20; промисловий кварцовий пісок – 70% умісту на суху масу. Субстрат готували за 1 добу до початку досліджень загальною масою 500 г (за сухою речовиною), поміщали у скляний контейнер місткістю 2 дм³ та ретельно перемішували з водними розчинами препаратів у відповідних концентраціях (табл.). Контрольним варіантом слугував зволожений дистильованою водою штучний субстрат.

Надалі у кожному з контейнерів розміщували по 10 особин тест-об'єктів *E. fetida*. Дослідні контейнери закривали кришками з отворами для забезпечення аерації (обміну повітря) (рис. 1). Дослід проводили у чотириразній повторності, його тривалість становила 14 діб.

Упродовж усього дослідного періоду підтримували температурний режим у приміщенні в межах 20–22°C, контролюва-

ний цикл світло/темрява – 16 год: 8 год – при інтенсивності освітлення на дослідні контейнери 400–600 лк. Вологість штучного субстрату у дослідних контейнерах під час експерименту становила 24,0±0,8%, або близько 50% його повної вологоємності, рН_(КС) – на рівні 5,75±0,15. Фізико-хімічні властивості субстрату визначали стандартними методами досліджень [10].

Для обробки первинних результатів досліджень використовували статистичні методи аналізу із застосуванням стандартного пакета програми MS Excel. Статистичну обробку результатів досліджень стосовно визначення половинної медіанної летальної концентрації (LC₅₀) препарату здійснювали з використанням методу пробіт-аналізу [11].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження впливу гербіциду А на *E. fetida* свідчать, що за концентрацій препарату 100 та 200 мг/кг субстрату жодних змін упродовж експерименту не спостерігалось. Черви були рухливі та однаково реагували як на світлове, так і на механічне подразнення.

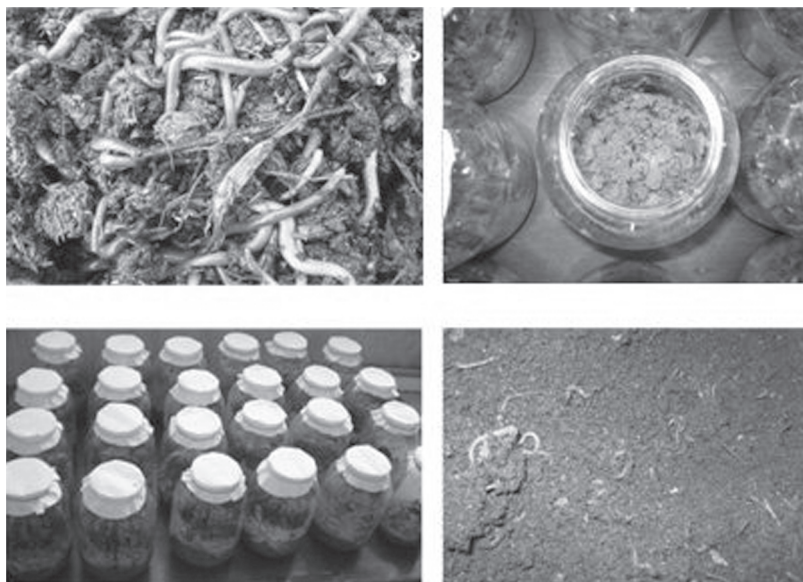


Рис. 1. Загальний вигляд тест-об'єктів *Eisenia fetida* в умовах досліду

За концентрації препарату 400 мг/кг субстрату і вище на початку досліду черви не заривалися в субстрат упродовж 2 год, а рухалися на поверхні або скручувалися в клубок. На сьомий день досліду тестові особини за своїми поведінковими реакціями були менш рухливими, слабше реагували на механічне та світлове подразнення порівняно з контролем. Крім того, в цей

період із зростанням концентрації препарату спостерігається смертність особин, яка за концентрації 1000 мг/кг субстрату становила $57,5 \pm 7,8\%$ ($P < 0,05$). Смертність особин за 14 діб експозиції при концентрації препарату 600 мг/кг субстрату та вище досягала 100% (рис. 2).

Встановлено, що величина медіанної летальної концентрації (LC_{50}) препарату

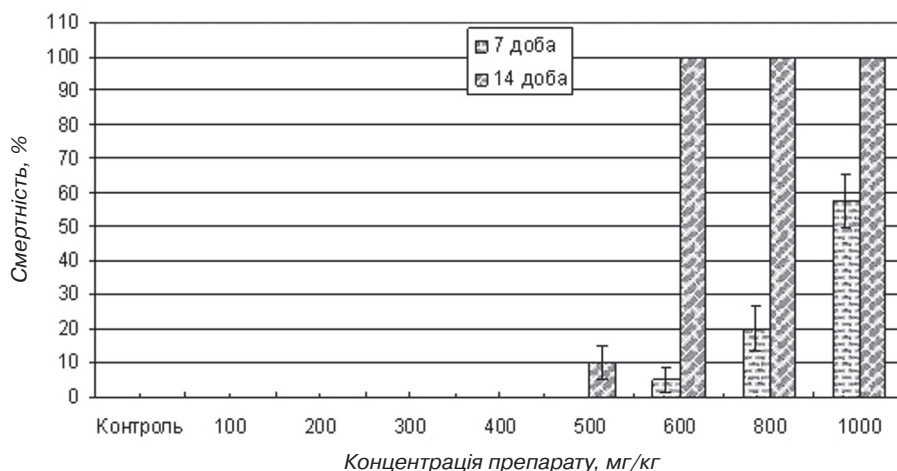


Рис. 2. Смертність *Eisenia fetida* за впливу гербіциду А, КЕ (д.р. — пропізохлор, 720 г/л)

за 14 днів експозиції становить 520 мг/кг. Згідно із класифікацією [12, 13], гербіцид А відноситься до слаботоксичних (клас небезпечності III).

Результати дослідження впливу гербіциду Б на *E. fetida* свідчать, що за концентрацій препарату 50, 100 та 200 мг/кг субстрату не спостерігалось жодних змін упродовж тривалості експерименту. Черви були рухливими та однаково реагували як на світлове, так і на механічне подразнення.

За інших досліджуваних концентрацій були зафіксовані такі зміни: на початку дослідження черви не заривалися в субстрат упродовж 2–3 год, а рухалися на поверхні субстрату або скручувалися в клубок. На сьомий день експозиції спостерігалось зниження рухливості червів, загальмованість їх реакції на світлове і механічне подразнення. За концентрацій препарату 600 мг/кг субстрату частка загиблих особин становила $19,5 \pm 7,3\%$ ($P < 0,05$), а за концентрацій 800 та 1000 мг/кг субстрату – 100%. На 14-ту добу експозиції смертність організмів зростала і за менших концентрацій гербіциду (рис. 3).

Визначена величина медіанної летальної концентрації (LC_{50}) на 14 добу експозиції становить 479 мг/кг. Згідно з класифікацією [9, 10], досліджуваний препарат відноситься до слаботоксичних (клас небезпечності III).

Подібні дослідження проведено і стосовно впливу гербіциду В на *E. fetida*. Спостереження за поведінковими реакціями організмів тестових особин засвідчили, що на початку дослідження черви не заривалися в субстрат упродовж 10 хв. За сім днів експозиції у всіх дослідних та контрольній групах загибелі тест-організмів або інших змін не було виявлено. Черви дослідної групи реагували на механічне та світлове подразнення, як у контрольному варіанті. На 14-й день експозиції за концентрації препарату 1000 мг/кг смертність становила $12,5 \pm 5,2\%$ ($P < 0,05$) особин (рис. 4).

У цьому варіанті дослідження спостерігалось незначне зниження рухливості червів, загальмованість їх реакції на світлове і механічне подразнення.

Визначена величина медіанної летальної концентрації (LC_{50}) за 14 днів експозиції становила >1000 мг/кг субстрату. Згідно з класифікацією [12, 13], досліджуваний препарат відноситься до майже нетоксичних та не класифікується щодо небезпечності.

Слід зауважити, що пестициди із діючою речовиною пропізохлор є безпечними для дощових червів, а з ацетохлор – характеризуються високими ризиками забруднення довкілля [14]. Крім того, гербіциди А та Б містять високі концентрації діючих

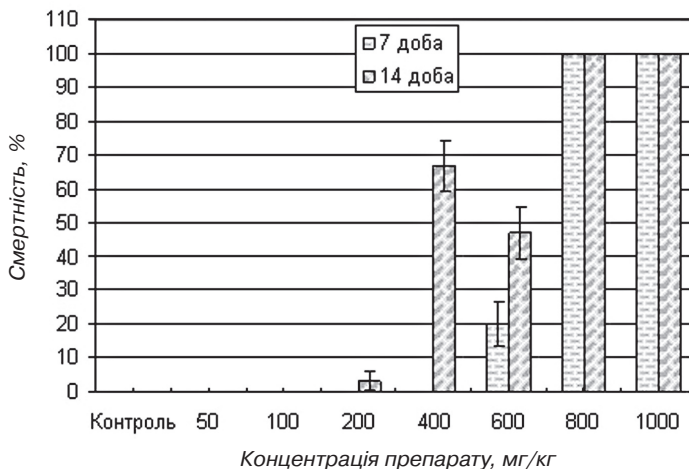


Рис. 3. Смертність *Eisenia fetida* за впливу гербіциду Б, КЕ (д.р. — ацетохлор, 900 г/л)

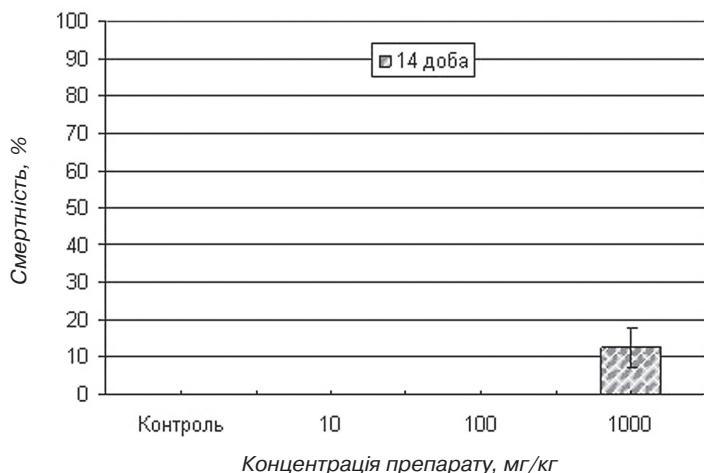


Рис. 4. Смертність *Eisenia fetida* за впливу гербіциду В, КС (д.р. — метазохлор, 400 г/л)

речовин, зокрема пропізохлор (720 г/л) та ацетохлор (900 г/л) відповідно.

ВИСНОВКИ

За результатами проведених досліджень встановлено, що гербіцид А, КЕ (д.р. — пропізохлор, 720 г/л) та гербіцид Б, КЕ (д.р. —

ацетохлор, 900 г/л) є слаботоксичними щодо *E. fetida* — представника ґрунтової мезофауни; гербіцид В, КС (д.р. — метазохлор, 400 г/л) — безпечний для ґрунтової мезофауни. Отримані в роботі результати стосовно екоотоксичності гербіцидів А та Б необхідно враховувати під час їх використання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні на 2014 рік. — К.: Юнівест Медіа, 2014. — 832 с.
2. Dieter C.D. The effect of phorate on wetland macro invertebrates / C.D. Dieter, W.G. Duffy, L.D. Flake // Environ. Toxicol. and Chem. — 1996. — No. 3 (15). — P. 308–312.
3. Bustos-Obregon E. Pesticide soil contamination mainly affects earthworm male reproductive parameters / E. Bustos-Obregon, R.I. Goicochea // Asian Journal of Andrology. — 2002. — No. 3 (4). — P. 195–199.
4. Залоїло О.В. Екоотоксикологічна оцінка пестицидів за впливом на індикаторні групи ґрунтових організмів: Автореф. дис. ... канд. біол. наук / О.В. Залоїло. — К.: Національна бібліотека ім. В.І. Вернадського, 2006. — 24 с.
5. Farenhorst A. Sorption of atrazine and metolachlor by earthworm surface castings and soil / A. Farenhorst, B.T. Bowman // J. Environ. Sci. and Health. — 2000. — No. 2 (35). — P. 157–173.
6. Weichun M. Earthworm and food interaction on bioaccumulation and disappearance in soil of polycyclic aromatic hydrocarbons: Studies on phenanthrene and fluoranthene / M. Weichun, J. Immerzeel, J. Bodt // Ecotoxicol. Environ. Safety. — 1995. — No. 3 (32). — P. 226–232.
7. Якість ґрунту. Вплив забрудників на земляних черв'яків (*Eisenia fetida*): ДСТУ ISO 11268-1:2003. — Ч. 1: Визначання гострої токсичності з використанням штучного субстрату. — К.: Держспоживстандарт України, 2004. — 8 с.
8. Reference book of pesticides and agrochemicals [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://www.agroxxi.ru/goshandbook/prep/acetal-pro-kye.html>
9. Новожилов К.В. Средства защиты растений / К.В. Новожилов, В.И. Долженко. — М.: Агрорус, 2011. — 244 с.
10. Вадюнина А.Ф. Методы исследования физических свойств почв и ґрунтов / А.Ф. Вадюнина, З.А. Корчагина. — М.: Высшая школа, 1973. — 399 с.
11. Платонов А.Г. Применение метода пробит-анализа в радиобиологии. Расчет полулетальной дозы ЛД₅₀ / А.Г. Платонов, М.Я. Ахалия. — М.: НИЯ-УМИФИ, 2010. — 36 с.
12. Методы оценки экологической безопасности пестицидов при их регистрации (Руководство по классификации экологической опасности пестицидов). — Большие Вяземы: ВНИИФ, 2010. — 14 с.

13. Глобальний доступ до інформації по агрохімікатам IUPAC [Електронний ресурс]. — 2017. — 25 с. — Режим доступу: http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/docs/Background_and_Support.pdf
14. Assessing the risk of pesticide environmental impact in several Argentinian cropping systems with a fuzzy expert indicator / M. Arregui, D. Sánchez, R. Althaus et al. // *Pest management science*. — 2010. — No. 7 (66). — P. 736–740.

REFERENCES

1. *Perelik pestytsydiv i ahrokhimikativ, dozvolenykh do vykorystannia v Ukraini na 2014 rik [List of pesticides and agrochemicals allowed for use in Ukraine for 2014]*. (2014). Kyiv: Yunivest Media [in Ukrainian].
2. Dieter, C.D., Duffy, W.G., Flake, L.D. (1996). The effect of phorate on wetland macro invertebrates. *Environ. Toxicol. and Chem.*, 3 (15), 308–312 [in English].
3. Bustos-Obregon, E., Goicochea, R.I. (2002). Pesticide soil contamination mainly affects earthworm male reproductive parameters. *Asian Journal of Andrology*, 3 (4), 195–199 [in English].
4. Zaloilo, O.V. (2006) Ekotoksikologichna otsinka pestytsydiv za vplyvom na indykatorni hrupy hruntovykh orhanizmv [Ecotoxicological assessment of pesticides on the effect on indicator groups of soil organisms]. *Extended abstract of Candidate's thesis*. — Kyiv [in Ukrainian].
5. Farenhorst, A., Bowman, B.T. (2000). Sorption of atrazine and metolachlor by earthworm surface castings and soil. *J. Environ. Sci. and Health*, 2 (35), 157–173 [in English].
6. Weichun, M., Immerzeel, J., Bodt, J. (1995). Earthworm and food interaction on bioaccumulation and disappearance in soil of polycyclic aromatic hydrocarbons: Studies on phenanthrene and fluoranthene. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 3 (32), 226–232 [in English].
7. Soil quality — Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) — Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate. *ISO 11268-1:1993* Kyiv: Derzhspozhyvstandart Ukrayiny [in Ukrainian].
8. Reference book of pesticides and agrochemicals. (2017). *www.agroxxi.ru* Retrieved from: <https://www.agroxxi.ru/goshandbook/prep/acet-al-pro-kye.html> [in English].
9. Novozhilov, K.V., Dolzhenko, V.I. (2011). *Sredstva zashhyty rastenyj [Plants protecting tools]*. Moskva: Agroruss [in Russian].
10. Vadyynina, A.F., Korchagina, Z.A. (1973). *Metody issledovaniya fizicheskikh svoystv pochv i gruntov [Methods of studying the physical properties of soils]*. Moskva: Vszhaya zhkola [in Russian].
11. Platonov, A.J., Akhaliya, M.Ya. (2010). *Primeneniya metoda probit-analiza v radiobiologii. Raschet poluletal'noj dozy LD₅₀. [Applications of the probit-analysis method in radiobiology. Calculation of semi-lethal dose LD₅₀]*. Moskva: NIYAYMIFI [in Russian].
12. *Metody ocenki jekologicheskoy bezopasnosti pesticidov pri ih registracii (Rukovodstvo po klassifikacii jekologicheskoy opasnosti pesticidov). [Methods for assessing the environmental safety of pesticides during their registration (Guidelines for the Classification of Ecological Hazards of Pesticides)]*. (2010). Bolzhie Vyazemi [in Russian].
13. Global availability of information on agrochemicals IUPAC (2017). *sitem.herts.ac.uk*. Retrieved from: http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/docs/Background_and_Support.pdf [in English].
14. Arregui, M., Sánchez, D., Althaus, R., Scotta, R., Bertolaccini, I. (2010). Assessing the risk of pesticide environmental impact in several Argentinian cropping systems with a fuzzy expert indicator. *Pest management science*, 7 (66), 736–740 [in English].