



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 92476

(13) C2

(51) МПК (2009)

G01N 33/24

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**(54) СПОСІБ ІНДИКАЦІЇ ТА ОЦІНКИ ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ ЗАБРУДНЕНОЇ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ СИСТЕМИ ҐРУНТ-РОСЛИНА ЗА БІОХІМІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ**

1

2

(21) а200707619

(22) 06.07.2007

(24) 10.11.2010

(46) 10.11.2010, Бюл.№ 21, 2010 р.

(72) САМОХВАЛОВА ВАЛЕНТИНА ЛЕОНІДІВНА,  
ФАТЕЄВ АНАТОЛІЙ ІВАНОВИЧ, ЯКУШКО ВІРА  
ІВАНІВНА, ЖУРАВЛЬОВА ІНТА МИХАЙЛІВНА  
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИ-  
ТУТ ҐРУНТОЗНАВСТВА ТА АГРОХІМІЇ ІМ. О.Н.  
СОКОЛОВСЬКОГО"

(56) RU C1 2257365, 27.07.2005.

RU A 2004111473, 20.10.2005.

RU C1 2129160, 20.04.1999.

UA A 46554, 25.12.2009.

UA U 5845, 15.03.2005.

UA U 4632, 17.01.2005.

UA C2 83563, 25.07.2008.

UA U 20299, 15.01.2007.

Корносенко Л. О. Колоїдно-хімічні процеси біотра-  
нсформації важких металів у ґрунті. Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня канди-  
дата хімічних наук, Київ. – 2003.Гамкало З.Г. Якість сірих лісових ґрунтів гемероб-  
них екосистем та її індикація (біогеоценотичний  
підхід): Автореферат дисертації на здобуття нау-  
кового ступеня д. б. н. - Харків, 2006.Самохвалова В.Л., Фатеев А.І. Тяжелые металлы  
как фактор техногенного воздействия на почвен-  
ные микроорганизмы. Ґрунтознавство. 2006. - Т. 7,  
№1-2, стр. 88-95.Самохвалова В.Л. Применение антидотов при за-  
грязнении тяжелыми металлами системы «почва-  
растение», Екологія та ноосферологія. - 2006. - Т.  
17, №1-2, стр. 91-98.Самохвалова В.Л. та інш. Спосіб індикації оцінки  
екологічного стану забрудненої важкими металами  
системи ґрунт-рослина за біохімічними показника-ми. Наук. Вісник Ужгород. ун-ту. (сер. Біол), 2008,  
Вип. 24, стр. 83-90.Самохвалова В.Л. Використання антидотів за за-  
бруднення системи ґрунт-рослина важкими мета-  
лами, Наук. Вісник Ужгород. ун-ту. (Сер. Біол.),  
2008, Вип. 22, стр. 136-142.Скоропецька О. В. Еколого-фізіологічна оцінка  
свинцевого навантаження в системі «ґрунт-  
рослина» та прогнозування ступеня забруднення  
агроценозів: Автореферат дис. на здобуття науко-  
вого ступеня кандидата біологічних наук. – Київ. –  
2001.Рогозинський М.С. Вплив іонів важких металів на  
синтез РНК і фракційний склад білків кукурудзи та  
картоплі: Автореферат дисертації на здобуття на-  
укового ступеня кандидата біологічних наук – Чер-  
нівці. – 2000.Бортнік Л.М. Екологічна оцінка урболандшафтів за  
вмістом важких металів у системі ґрунт-рослина  
(на прикладі міста Харкова): Автореферат дисер-  
тації на здобуття наукового ступеня кандидата  
біологічних наук. – Дніпропетровськ. – 1999.(57) Спосіб індикації та оцінки екологічного стану  
системи ґрунт-рослина за біохімічними показника-  
ми, який включає відбір зразків ґрунту, їх біохіміч-  
ний аналіз, математичну обробку одержаних ре-  
зультатів, на базі яких визначається ступінь  
деградації ґрунту, який **відрізняється** тим, що  
відбір зразків проводять з ґрунтового шару не  
більш 35 см, аналіз біохімічних показників визна-  
чають і в ґрунті, і в рослинах, за результатами ма-  
тематичної обробки одержаних даних виділяють  
біохімічні показники системи ґрунт-рослина, які  
знаходяться в оберненій залежності і на базі яких  
будують математичні моделі з графічною їх візуа-  
лізацією, за якими прогнозують забруднення сис-  
теми ґрунт-рослина і поширюють ці взаємозв'язки  
на досліджувані типи ґрунтів.Винахід відноситься до способів діагностики та  
оцінки забруднення важкими металами (ВМ) вико-  
ристовуючи маркерні показники спрямованості  
біохімічних процесів, визначення рівнів вмісту ак-  
тивних форм забруднювачів в системі ґрунт-рослина за яких проявляється погіршення  
екологічного її стану, токсичність забруднювачів.Спосіб може знайти застосування в  
агроекології, екологічному нормуванні,  
екотоксикології ґрунтів, екологічній експертизі, при  
розробці концептуальних основ екологічного ауди-

(13) C2

(11) 92476

(19) UA

ту техногенно забруднених ґрунтів населених пунктів, сільськогосподарських угідь, при оцінці небезпеки та прогнозуванні токсичної дії забруднювачів, розробці заходів детоксикації забруднених територій або проведенні комплексу технологічних, фізико-хімічних і біологічних заходів щодо санації (інактивації токсичності) забруднених ВМ ґрунтів та земель і, як наслідок, для зниження інтенсивності процесів деградації ґрунтів та рослин, які зазнали впливу фактору техногенного навантаження. Спосіб також є корисним у вирішенні проблемних питань оцінки якості продукції урбофітоценозів, пошуку шляхів оптимізації її якісного складу, визначення якості ґрунтів за умов сталого або перманентного впливу фактору забруднення, при вирішенні питань сертифікації продукції агроценозів, медико-біологічній оцінці рослинної продукції.

Відомо спосіб використання природного каталізатору екологічної рівноваги агроценозів [1], який включає застосування активатору ґрунтоутворення, отриманого змішуванням торфу, твердого луку та целюлолітичного ферменту з метою зниження техногенного впливу у біоценозі. Завдяки поступовому проникненню у ґрунт та рослини біологічно активних та ростових сполук створюються умови для формування гумусу, обумовлюючи позитивний вплив на якісні та екологічні параметри ґрунту, продуктивність рослин, підтримання екологічної рівноваги агроценозу. Каталізатор є індикатором екологічної рівноваги агроценозів.

Проте внесенням запропонованої суміші в ґрунт неможливо вирішити проблему екологічної рівноваги агроценозів та досягти зниження техногенного впливу на довкілля. У способі індикація екологічної рівноваги агроценозу проводиться за прискорення розвитку ґрунотвірної біоти, розкладу і нейтралізації негативного впливу важких металів на біоценоз. Отже, можливість втілення способу обмежена відносно ґрунтів різних типів.

Спосіб не включає визначення якісних показників рослин. Останні є важливими складовими за визначення екологічної рівноваги агроценозів і, як наслідок, біологічної, гігієнічної якості продукції агроценозів, технологічних властивостей сировини з метою визначення спрямованості та інтенсивності процесів її переробки. Відсутній також, у відомому способі, визначення показників мікробіологічної, біохімічної активності ґрунту, біохімічних показників рослин які свідчать про рівновагу або її порушення в агроєкосистемі. Інший відомий спосіб [2] передбачає виявлення зон екологічної небезпеки та зон надзвичайних екологічних ситуацій на основі використання критеріїв оцінки змін довкілля та стану здоров'я населення, критеріїв екологічного стану повітря, ґрунтів селітебних територій. Вибір критеріїв екологічної оцінки стану ґрунтів визначається специфікою їх розташування, генезисом, функцією, направленістю використання. Основними показниками ступеня екологічного неблагополуччя є критерії фізичної деградації, хімічного та біологічного забруднення. Серед інших критеріїв оцінки екологічної ситуації

території спосіб передбачає біохімічну оцінку за використання основних (співвідношення C:N, Ca:P, Ca:Sr в поверхневих водах, ґрунтах, рослинах, вміст біологічно активних мікроелементів), додаткових показників (співвідношення макроелементів в рослинах та кормах, вміст мікроелементів в рослинах), з урахуванням площі аномального вмісту.

Проте, спосіб не урахуває одну із головних складових, що надає можливість діагностування, проведення оцінки стану системи ґрунт - рослина - ферменти ґрунту та рослин. За характеру багатовитратності, трудомісткості рекомендованих досліджень спосіб також не передбачає визначення рівнів активності біохімічних показників екологічного стану системи ґрунт - рослина за умов забруднення.

Відомі способи діагностики та оцінки забруднення характеризуються різними рівнями ефективності їх використання за умов сталого впливу техногенного забруднення ВМ, однак не містять інформації щодо використання діагностичних показників спрямованості біохімічних процесів системи ґрунт - рослина за умов забруднення. Окрім того, не передбачають визначення біохімічних показників стану рослин за умов забруднення урбофітоценозу, які є маркерами прояву токсичності ВМ, необхідності проведення заходів з інактивації токсичності системи ґрунт - рослина.

Найбільш близьким аналогом по технічній суті й результату, що досягається, є експрес метод біотестування забруднених ґрунтів [3]. Спосіб включає відбір зразків ґрунтів та лісової підстилки, проведення аналізів на вміст забруднювачів, мікрофлори на щільних поживних середовищах, математичну обробку результатів аналізів та визначення активності ферменту каталази ґрунтів. Розраховується сумарна активність каталази ґрунтового профілю, що досліджується, коефіцієнт каталазної активності ґрунту, як співвідношення активності каталази у верхньому горизонті ґрунту до сумарної активності каталази ґрунтового профілю. За результатами виділяють рівень адаптації ґрунтової екосистеми, її здатність до самоочищення від забруднення, яка характеризується активністю ферменту каталази, а результати інактивації токсичності розпочинають виходячи з ступеня деградації ґрунту.

Однак, зазначений спосіб вирішує завдання лише в узькому діапазоні вимог тому, що спосіб не урахуває специфіки забруднення (спектр, рівні, характер), що порушує необхідну збалансованість між економічною та екологічною доцільністю проведення індикації, оцінки стану системи за забруднення ВМ, заходів з інактивації політантів, з урахуванням складу токсикантів, видових особливостей рослин, властивостей ґрунтів.

Використовуючи лише каталазну активність неможливо зробити об'єктивні висновки про стан ґрунтової системи за забруднення ВМ, адже ферментативна активність ґрунту може і збільшуватись, що призведе до хибних висновків щодо діагностики та оцінки його стану. Отже діагностика та оцінка забруднення ВМ не може базуватись на єдиному універсальному тест-

показнику на який слід орієнтуватись для виявлення токсичних властивостей поллютантів, прогнозування процесів самовідновлення ґрунтової системи за умов забруднення.

Технічне рішення також не передбачає паралельних визначень тест показників забруднення у системі ґрунт - рослина, що значно звужує його застосування, певною мірою унеможлиблює його запровадження для вирішення завдання діагностування, оцінки забруднення.

Тому для підвищення ефективності діагностики та оцінки стану системи ґрунт-рослина необхідним є, насамперед, вибір серед множини показників тільки тих, що характеризують спрямованість біохімічних процесів в системі.

В основу винаходу поставлена задача одержання способу індикації та оцінки екологічного стану системи ґрунт - рослина за умов забруднення ВМ за рахунок використання системи біохімічних показників ґрунтів та рослин, як маркерів спрямованості біохімічних процесів забрудненої ВМ системи, що дозволяє діагностувати, визначати та оцінювати рівень забруднення, сприяє підвищенню репрезентативності, об'єктивності отриманих результатів та зниження трудомісткості вказаного способу.

Задача вирішується тим, що у відомому способі індикації та оцінки екологічного стану системи ґрунт - рослина за біохімічними показниками, який включає відбір зразків ґрунту, їх біохімічний аналіз, математичну обробку одержаних результатів на базі яких визначається ступінь деградації ґрунту, згідно з винахідницьким задумом відбір зразків проводять з ґрунтового шару не більш 35см., аналіз біохімічних показників визначають і в ґрунті і в рослинах за результатами математичної обробки одержаних даних виділяють біохімічні показники системи ґрунт - рослина, які знаходяться в оберненій залежності і на базі яких розраховують математичні моделі з графічною їх візуалізацією, за якими прогнозують забруднення системи ґрунт - рослина і поширюють ці взаємозв'язки на досліджувані типи ґрунту.

За рахунок визначення біохімічних показників рослин та ґрунтів по рівню активності яких судять про біохімічні процеси системи ґрунт - рослина, які дають змогу якісно та кількісно оцінити екологічний стан системи в цілому за умов забруднення ВМ. Визначаються рівні ферментативної активності ґрунту і рослин, які є каталізаторами спрямованості процесів синтезу й розкладу, що дозволило визначитись з "слабкою" ланкою в системі (показник що знаходиться у мінімумі) та доцільністю впливу на неї шляхом залучення принципів антагонізму, заміщення, блокування або придушення, ліквідації. Отже, діагностика стану, оцінка в системі передбачає виявлення та вплив на прояв забруднення ВМ, обмінні процеси, на функціонування системи ґрунт - рослина в цілому. Відповідно до "точки прикладання зусиль" (прояв забруднення - механізм процесу - функціонування системи в цілому) визначається ефективність діагностування, оцінки, способів впливу на надли-

шок ВМ або на нестачу мікроелементів - метаболітів в біологічній та біокосній системі.

Такий підхід допомагає виявити ефекти впливу забруднення, оцінити дисбаланс хімічних елементів системи ґрунт-рослина, визначитись з протидією йому, що підвищує рівень інформативності про стан системи ґрунт - рослина в умовах забруднення, дає можливість проводити оцінку якості як за біохімічними показниками так і, використовуючи їх, прогнозувати якість продукції, одержаної на забруднених ВМ ґрунтах, біохімічний статус ґрунтів, стан стресу системи ґрунт - рослина. Останнє сприяє інтенсифікації процесу розробки інактиваторів токсичності ВМ агроєкосистем і урбофітоценозів.

Спосіб реалізується шляхом проведення польових, мікропольових та вегетаційних досліджень.

Польові дослідження в зонах сталої дії фактору техногенного забруднення ВМ проводили безпосередньо навколо основних центрів промислових емісій ВМ Харківського регіону (Зміївська ТЕС БАТ "Центренерго", Балаклівський ЦШК, автотраси).

Мікропольовий та вегетаційний дослід (відповідно 21 варіант та 18 варіантів у трикратній повторюваності) проводили за умов забруднення ВМ. В якості біотесту токсичного впливу забруднення ґрунту ВМ в модельних дослідах використовували рослини віки (*Vicia sativa*) та ячменю (*Hordeum vulgare*).

Досліджувались основні закономірності змін біохімічних показників ґрунтів та рослин (вміст сполук азоту, фосфору, калію, кальцію, магнію, вуглеводів, ліпідів, протеїнів, клітковини, золи, мікроелементів - метаболітів Cu, Co, Mn, Fe, Zn) за умов забруднення ВМ за імпаکتної та перманентної дії фактору забруднення (модельувались моно- та поліелементний характер забруднення ґрунту Cd, Pb, Ni, Zn), за рівнів, що перевищують природний фон вмісту ВМ в чорноземних ґрунтах різного генезису (чорнозем опідзолений важкосуглинковий, чорнозем звичайний супіщаний Лісостепової зони України) в 2-4-6-8-10 разів. Такі рівні забруднення забезпечували прояв токсичності ВМ в системі ґрунт - рослина і зниження рівня продуктивності рослин. Дослідження біохімічних показників рослин (18 параметрів) проводилось використовуючи комп'ютеризовану інфрачервону аналітичну систему PSCO/ISI IBM - PC 4250 (працює в ближній інфрачервоній області), для експресного визначення якості продукції агрофітоценозів з послідовним кількісним визначенням параметрів біохімічних показників.

Визначення рівнів забруднення системи ґрунт - рослина ВМ проводилось за використання аналітичного методу атомно-абсорбційної спектрофотометрії.

Кількісне визначення рівнів активності біохімічних показників ґрунтів проводилось за Галстяном, мікробіологічних - за Звягінцевим. Кількісну оцінку екологічного стану системи проводили за рівнем вмісту ферментів класу редуктаз і гідролаз, тобто ферменти використовувались як

маркери надлишку ВМ, нестачі макроелементів, мікроелементів-метаболітів. Так, за рівнем вмісту нітратредуктази визначався рівень вмісту нітратів ґрунту і рослин, за рівнем вмісту фосфатази - вміст фосфору органічного та мінерального в рослинах. Якісна оцінка здатності мікроорганізмів руйнувати забруднювач проводилась за рівнем дегідрогеназної активності ґрунтів, що дозволяє оцінити також рівень здатності ґрунтової системи до самоочищення.

Оцінка інших біохімічних показників проводилась за співставленням рівнів показників за забруднення ВМ та його відсутності (контроль), існуючими нормативними документами. Так, за співвідношенням азоту загального та мінерального в рослинах оцінювався рівень використання азоту для побудови молекул білку. Рівень синтезу протеїну рослинами визначався за показником його вмісту у тест - рослинах. За показником вмісту ліпідів діагностувався рівень ліпідного обміну, за показником вмісту цукрів (моно та дицукри) діагностувався рівень обмінних процесів вуглеводневого обміну рослин, оцінювався – за співставлення з контролем.

Отримана аналітична інформація статистично обробляється використовуючи модулі кореляційного, дисперсійного, регресійного, факторного аналізів у рамках пакета Statistica 6.0 та підтверджується її достовірність, послідовно обираються фактори, зв'язані оберненою залежністю, позначається характер та кількісні їх рівні, проводиться їх аналіз [табл.1]. Наприклад, зв'язки нітратредуктази, моноцукрів, фосфору, які виділені в табл.1, з рівнями забруднювачів мають обернений характер, на їх основі створюють математичні моделі. Таким чином, послідовно встановлюються суттєві прямі та нелінійні залежності між факторами (рівні забруднення ґрунтів ВМ, біохімічні показники). Далі інформація візуалізується. Результатом аналізу є вид функції відгуку (моделі) на надлишок ВМ або нестачу мікроелементів - метаболітів в системі ґрунт - рослина, що дозволяє прогнозувати значення відгуків у тих станах, які не вивчалися експериментально [фіг. 1-4]. Так, на фігурі 1 представлено графічний вираз встановленої нелінійної залежності ( $y=1.44+0.04x+26.71y+0.008x^2-2.23xy-290.58y^2$ ) накопичення загального азоту у зеленій масі ячменю від рівнів забруднення ґрунту Ni та вмісту аміачної форми азоту у тест рослинах. Вміст моноцукрів в тест рослинах залежить від вмісту дицукрів та рівнів забруднення ґрунту ВМ [фіг. 2]. Залежність має нелінійний характер ( $y=453,8-6.4x-44,49y+0.033x^2+0.31xy+1.09y^2$ ).

На фігурі 3 візуалізовано встановлену прямолінійну залежність синтезу нітратредуктази з

синтезом азоту нітратного у рослинах та вмістом Pb у рослинах ( $y=51.96-0,46x+8,96y$ ).

Встановлену нелінійну залежність між рівнем забруднення ґрунту Рb, накопиченням органічної форми фосфору рослин та співвідношенням вмісту органічної і мінеральної форм фосфору ґрунту, що характеризується наступним рівнянням -  $y=-19-0.53x+0.38y-0.033x^2+0.006xy-0.001y^2$ , візуалізовано на фігурі 4. Такий підхід забезпечує реалізацію можливості отримати якісні показники з кількісними значеннями для любого набору факторів, що досліджуються в системі, за конкретних рівнів двох з них.

Аналіз ефективності кожного з етапів дослідження виявив те, що діагностування впливу надлишку ВМ та нестачі МЕ, оцінка стану системи ґрунт - рослина, визначення біохімічних показників та показників біохімічної активності відображає існуючі в системі явища коергізму (антагонізму, синергізму) металів - токсикантів, макро - і мікроелементів-метаболітів, зворотній зв'язок рівня забруднення та рівня біохімічної активності системи ґрунт - рослина. Результуючий вплив ВМ на систему ґрунт-рослина залежить від складу забруднення, чутливості рослин, ґрунтових умов, форм сполук ВМ та їх співвідношення.

Відмітними рисами запропонованого нового способу, в порівнянні з відомими способами та підходами, є наступні:

- сприяє комплексному вивченню стану системи ґрунт - рослина, проведенню об'єктивної діагностики та оцінки її стану за умов різного характеру, рівнів забруднення Cd, Pb, Ni, Zn, нестачі мікроелементів - метаболітів, ініціюванню проведення заходів інактивації токсичності ВМ;

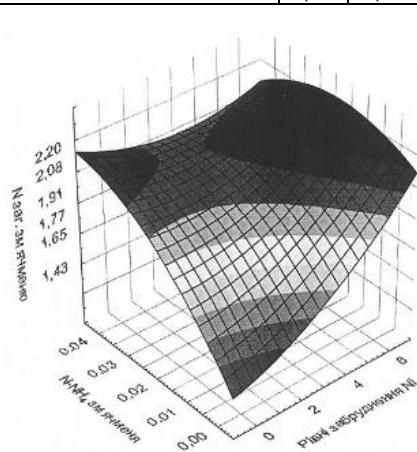
- придатності для всіх типів техногенно забруднених ґрунтів з різними буферними властивостями;

- реалізовано можливість вирішення й зворотної задачі, а саме: за відомим рівнем біохімічних показників (мікроелементи-метаболіти, макроелементи, ліпіди, білки, жири та ін.) в системі ґрунт - рослина можливо знаходження рівня активності ферментів, що каталізують біохімічні перетворення, використовуючи одержані математичні моделі за рівнянням без залучення методів їх визначення в ґрунтових та рослинних пробах, що сприяє економії часу, матеріальних ресурсів, ефективності для прогнозування біохімічного статусу системи ґрунт -рослина за умов забруднення ВМ;

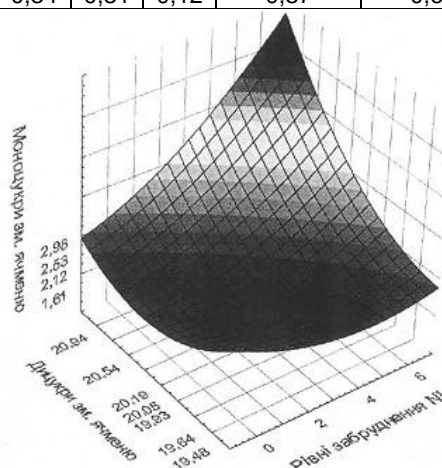
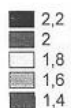
- за використання маркерних показників спрямованості біохімічних процесів системи ґрунт - рослина за умов забруднення сприяє одержанню швидкісного - методу оцінки і прогнозування стану системи.

Таблица 1

Показники	Матриця кореляцій (фрагмент) N=33										
	Zn	Cd	Ni	Co	Fe	Mn	Pb	Cu	Продуктивність надземної маси	Продуктивність кореневої маси	N загальний
Продуктивність надземної маси	0,22	-0,07	0,20	0,22	0,27	0,22	0,14	0,16	1,00	0,71	-0,15
Продуктивність кореневої маси	0,46	-0,30	0,46	0,46	0,69	0,46	0,42	0,41	0,71	1,00	-0,10
N загальний	0,25	0,34	0,24	0,25	-0,39	0,25	0,34	-0,07	-0,15	-0,10	1,00
N білковий	0,23	0,23	0,23	0,23	-0,30	0,23	0,37	-0,06	-0,19	0,03	0,95
N аміачний	0,06	-0,19	0,05	0,06	-0,14	0,06	0,29	-0,09	-0,04	0,26	0,60
N нітратний	0,45	0,37	0,45	0,45	-0,13	0,45	0,53	0,14	-0,04	0,16	0,91
K	-0,58	0,58	-0,56	-0,58	-0,59	-0,58	-0,63	-0,67	-0,25	0,59	0,31
Моноцукри	-0,56	0,14	-0,56	-0,56	-0,22	-0,56	-0,73	-0,50	-0,09	-0,48	-0,27
Дицукри	-0,44	0,30	-0,39	-0,44	-0,01	-0,44	-0,64	-0,15	-0,10	-0,32	-0,66
Сума вуглеводів	-0,14	0,20	-0,13	-0,14	0,18	-0,14	-0,36	0,03	0,13	-0,21	-0,68
Нітратредуктаза	-0,58	-0,11	-0,59	-0,58	-0,01	-0,58	-0,52	-0,67	0,03	0,16	0,15
P органічний / P мінеральний	-0,76	0,10	-0,77	-0,76	-0,52	-0,76	-0,74	-0,74	-0,11	-0,48	-0,09
P мінеральний	0,78	-0,31	0,78	0,78	0,42	0,78	0,75	0,82	0,05	0,38	0,06
P органічний	-0,35	0,18	-0,37	-0,35	-0,33	-0,35	-0,50	-0,31	-0,06	-0,63	-0,20
Винос N	0,34	0,10	0,31	0,34	0,06	0,34	0,31	0,12	0,87	0,61	0,34

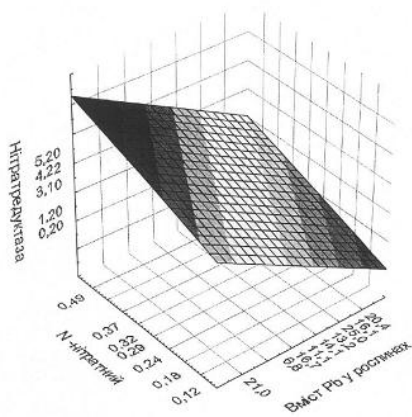


Фіг. 1

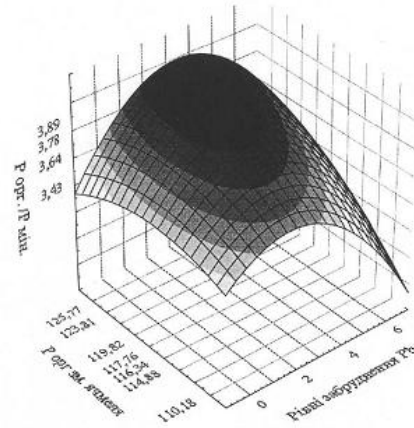
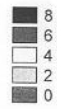


Фіг. 2





Фіг. 3



Фіг. 4

