

УДК 574.21:014

ЕКОЛОГІЧНЕ ОЦІНЮВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ СПОЛУК АЗОТУ ДЛЯ ВОДНИХ ОРГАНІЗМІВ ЗА ДОПОМОГОЮ БІОТЕСТУ *LEMNA MINOR L.***В. П. СТРОКАЛЬ**, кандидат педагогічних наук, доцент**Н. А. МАКАРЕНКО**, доктор сільськогосподарських наук, професор**Т. С. ЧОРНА**, студентка ОС «Магістр» зі спеціальності 101 «Екологія»**А. В. КОВПАК**, здобувач доктора філософії зі спеціальності 101 «Екологія»*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

E-mail: vita.strokal@gmail.com

<https://doi.org/10.31548/dopovid2021.06.002>

Анотація. Актуальність дослідження зумовлена постійним підвищенням рівня евтрофікації водойм шляхом надходження до них азотовмісних та фосфоровмісних сполук. Відомо, що найшвидше на підвищення концентрації сполук азоту у водній екосистемі реагують водорості. Рослиною-стенобіонтом, яка належить до групи найчутливіших біотестів, є ряска мала *Lemna minor L.* Мета дослідження передбачала визначення рівня токсичності води за допомогою біотесту ряска мала (*Lemna minor L.*) для встановлення небезпечних концентрацій сполук азоту (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+) (СА) для вищих рослин водних екосистем з подальшим прогнозом ризиків для водойм Дніпровського басейну. Дослідження було здійснено згідно з ДСТУ 32426-2013 «Методи досліджень хімічної продукції, які несуть небезпеку для навколишнього середовища. Випробування ряски на пригнічення росту». Виявляли кількість пов'язаних зі сполуками азоту ефектів на ріст і розвиток рослини за період тестування. Для кількісної оцінки ефектів, пов'язаних з токсичністю сполук азоту, вивчали напівмаксимальний ефект (EC50).

Проведені дослідження на рівень токсичності сполук азоту для водних організмів за допомогою тест-об'єкту *Lemna minor L.* показали: навіть за найменшої концентрації в 0,1 мг NO_2^- /л водна біота буде зазнавати значного токсичного впливу з можливою подальшою загибеллю; за концентрації 0,1 мг NO_3^- /л водні рослини будуть відчувати негативний вплив на їх ріст та розвиток; реакція тест-об'єкту на концентрації NH_4^+ була більш прогресивною, погіршення листової пластини ряски почало відбуватися відразу з перших днів дослідження, також кількість пошкоджених особин становила на 30 % більше на 24 день, а ніж у солей NO_3^- , NO_2^- .

Встановлено, що для вищих рослин водних екосистем найвищий рівень токсичності проявляють сполуки азоту у формі NO_3^- , медіанна концентрація EC50 (96 год.) становить 7,7 мг/л. Тому, регламентація забруднення водних екосистем сполуками азоту має відбуватися перш за все за вмістом NO_3^- . Для уникнення негативного впливу таких сполук, як NH_4^+ та NO_2^- потрібно враховувати їх рівень токсичності: EC50 (96 год.) NH_4^+ - 250 мг/л, EC50 (96 год.) NO_2^- - 720 мг/л.

Ключові слова: водна біота, рівень токсичності, забруднення водних екосистем

Актуальність.

Нині актуальність застосування екологічного оцінювання рівня токсичності води пов'язана із підвищеною увагою до проблем забруднення водойм [14]. До числа найбільш небезпечних речовин належать сполуки азоту, а саме нітрати, нітроти та аміак [4]. Ці сполуки потрапляють у водойми внаслідок антропогенної діяльності й можуть тривалий час залишатися в екосистемі та включатися в різноманітні цикли [15], трансформуватися, акумулюватися живими організмами, спричиняти незворотні зміни та порушення їх життєво важливих функцій [8]. Однією з передумов вибору об'єктами дослідження сполук азоту є нинішня ситуація із підвищенням рівня евтрофікації водойм за рахунок постійного надходження до них біогенних речовин (азоту та фосфору) унаслідок урбанізації та інтенсифікації сільського господарства [4, 15].

Відомо, що найшвидше на підвищення концентрації сполук азоту у водній екосистемі реагують водорості [6]. Рослиною-стенобіонтом, яка належить до групи найчутливіших біотестів, є ряска мала *Lemna minor L.* Використання ряски в якості тест-організму зумовлено мінливістю її морфологічних ознак, які можна оцінити візуально за ступенем пожовтіння, в'янення листків, хлорозів, некрозів та інших

специфічних реакцій. *Lemna minor L.* характеризується простотою будовою, високою швидкістю розмноження та високою чутливістю до забруднення води. Це дає можливість без застосування складного обладнання отримати уявлення про токсичність проб води [7, 10]. За реакцією *Lemna minor L.* можна прогнозувати дію поллютантів на інші вищі водні рослини, які представляють біоту водних екосистем [12]. Особливістю використання *Lemna minor L.* є те, що її листя за короткий термін часу здатне акумулювати токсичні речовини з водного середовища і продемонструвати реакцію-відповідь на забруднення [13]. Так, за даними [5] *Lemna minor L.* може за 2 доби зменшити вміст міді в стічній воді із 5 мг/л до 1 мг/л.

Отже, завдяки простоті та якості, починаючи з 1979 р. вид ряски малої *Lemna minor L.* є першим макрофітом, який використовується в стандартизованій процедурі з виявлення ознак забруднення води, та нині є стандартом у протоколах із біотестування водного середовища в Канаді та Європі [11].

Мета. Мета дослідження передбачала визначення рівня токсичності води за допомогою біотесту ряска мала (*Lemna minor L.*) для встановлення небезпечних концентрацій сполук азоту (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+) (СА) для вищих рослин водних екосистем з подальшим

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

прогнозом ризиків для водойм Дніпровського басейну.

Методи. Дослідження було здійснено згідно ДСТУ 32426-2013 «Методи досліджень хімічної продукції, які несуть небезпеку для навколишнього середовища. Випробування ряски на пригнічення росту» [3].

Виявляли кількість пов'язаних зі сполуками азоту (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+) ефектів на ріст і розвиток рослини за період тестування. Кількість зелених пластинок – це основна змінна, яку досліджували в експерименті. Досліджували також зміни морфологічних ознак ряски, відповідно до стандарту [3], токсичність води оцінювалася за змінами забарвлення листків, проявами хлорозу, перетворенням цілих рослин в окремі, появою молодих листків [3, 2, 9]. Для кількісної оцінки ефектів, пов'язаних з токсичністю сполук азоту, вивчали напівмаксимальний ефект (EC_{50}) [14]. Форма залежності доза-ефект залежала від часу експонування біологічного об'єкту до дії сполук азоту. Експозиція складала 24, 48 і 96 годин. Крива доза-ефект - двовимірний графік, що дав можливість встановити залежність відповіді *Lemna minor L.* від величини стрес-фактору (концентрації NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+). Під відповіддю розуміли фізіологічні процеси, що протікали у рослинах *Lemna minor L.*

Умови проведення досліджень.

Для досліду використовували водопровідну воду, яка була вистояна для дехлорування 3 доби за температури $+25\text{ }^\circ\text{C}$. У воді були відсутні механічні та хімічні домішки, рівень рН становив 5,4. Для підготовки розчинів з різною концентрацією іонів NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ було використано розчини NaNO_2 , NaNO_3 та NH_4Cl . Схема досліду передбачала наступні варіанти: контроль (дехлорована вода), розчини сполуки азоту (NaNO_2 , NaNO_3 , NH_4Cl) у концентраціях 0,1; 1,0; 10,0; 100,0; 1000 мг/л (маточний розчин). повторність кожного досліду – трикратна.

Весь спектр досліджень проводився упродовж червня-серпня місяця 2021 року на базі кафедри екології агросфери та екологічного контролю НУБіП України в умовах навчально-науково-виробничої лабораторії «Екологічного контролю довкілля».

Температура в приміщенні на час експерименту була на рівні: $24 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$. В приміщенні лабораторії були відсутні токсичні пари та газу. Освітлення при експерименті було природне.

Результати. Згідно з методикою [3], дослідження проводились з періодичністю в 24, 48 та 96 годин. Аналіз реакції ряски малої на концентрацію NO_2 , NO_3 , та NH_4 проводили за допомогою мікроскопів (Sigeta Expert 10-300x 5.0Mpx; Optika

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

S 10-2L 20x Bino Stereo; Sigeta prive попит 20x 1280x) та візуального огляду. Результати представлено у вигляді таблиць та графіків. Для цього було поділено показники змін ряски малої на якісні та кількісні показники.

Реакція ряски малої (Lemna minor L.) на концентрацію NH₄⁺ Експозиція 24 год.:

За якісними показниками, які вказують на морфологічні зміни рослин, помічено, що з'явилося загальне пожовтіння та побуріння на листках ряски малої. Зокрема, це спостерігалось у маточних розчинах, де концентрація досягала рівня 10 і 100 мг/л. Збереження зеленого забарвлення листків спостерігалось в контролі (табл.1).

1. Морфологічні зміни Lemna minor L. за збільшення концентрації NH₄⁺ у воді, експозиція 24 год.

NH ₄ ⁺ (24 години)																		
Ознаки	Маточний розчин (1000 мг/л)			100 мг/л			10 мг/л			1 мг/л			0,1 мг/л			Контроль		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Специфічне забарвлення																		
Пожовтіння	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Побуріння	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Збереження зеленого забарвлення	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Специфічна реакція																		
Сітчасте забарвлення	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Відмирання з країв, в'янення	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Роз'єднання листків від груп	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-

* a, b, c – повторності проведення дослідю

За реакцією Lemna minor L. можна відмітити такі особливості: збільшилося число особин, а тобто ряска поділилась на окремі листки, це може свідчити про те, що концентрація була занадто висока для неї, та їй не вистачило живлення. Помічено, що щитки з пошкодженнями наявні за всіх концентрацій, окрім контролю. Найбільша кількість проявів за

концентрації у маточного розчину (в середньому 12 шт.), а найменша кількість – за концентрації 0,1 мг/л (1,3 шт.). Найбільший відсоток пошкоджень було виявлено у маточного розчину – у середньому 39,5 %. Відповідно найменший ефект проявлявся за концентрації 0,1 мг/л, та відсутність у контрольному варіанті (рис.1).

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

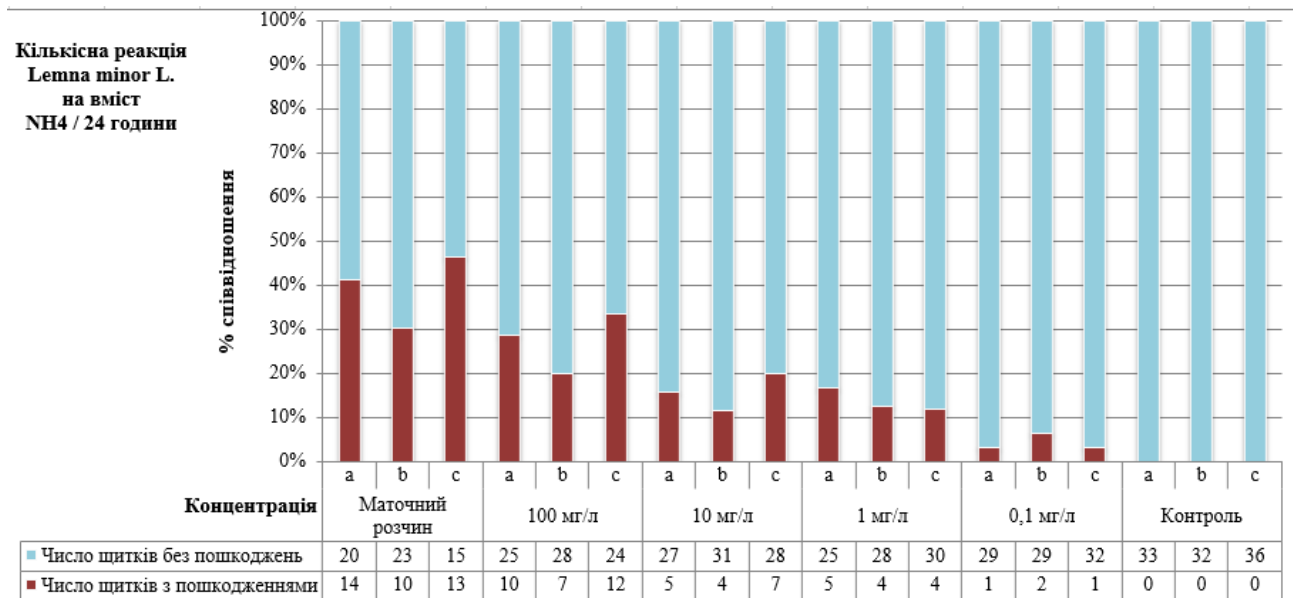


Рис. 1. Ефект пошкодження рослин *Lemna minor L.* за різних концентрацій NH_4^+ у водному середовищі (експозиція 24 год.)

48 год.:

Було виявлено, що з часом загальне пожовтіння та побуріння листової пластини *Lemna minor L.* зростало. Незмінений морфологічний стан спостерігався лише в контролі.

Специфічна реакція *Lemna minor L.* (в'янення, роз'єднання окремих листків) була притаманна рослинам, де концентрація NH_4^+ становила 100 мг/л, 10 мг/л, 1 мг/л (табл.2).

2. Морфологічні зміни *Lemna minor L.* при збільшенні концентрації NH_4^+ у воді, експозиція 48 год.

NH_4^+ (48 годин)																		
Ознаки	Маточний розчин (1000 мг/л)			100 мг/л			10 мг/л			1 мг/л			0,1 мг/л			Контроль		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Специфічне забарвлення																		
Пожовтіння	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
Побуріння	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
Збереження зеленого забарвлення	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Специфічна реакція																		
Сітчасте забарвлення	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Відмирання з країв, в'янення	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Роз'єднання листків від груп	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-

Результати аналізу показали, що за впливу NH_4^+ значно збільшилося розділення рослини на окремі щитки, що є характерним для забруднених

водойм. Найбільше цей процес проявився й досяг рівня 21 шт. за концентрації речовини 100 мг/л. Кількість пошкоджених щитків із

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

збільшенням часу експозиції зростало й досягло 50 %, що порівняно з контролем (3 – 6,25 %), свідчить про активізацію процесу інтоксикації (рис.2).

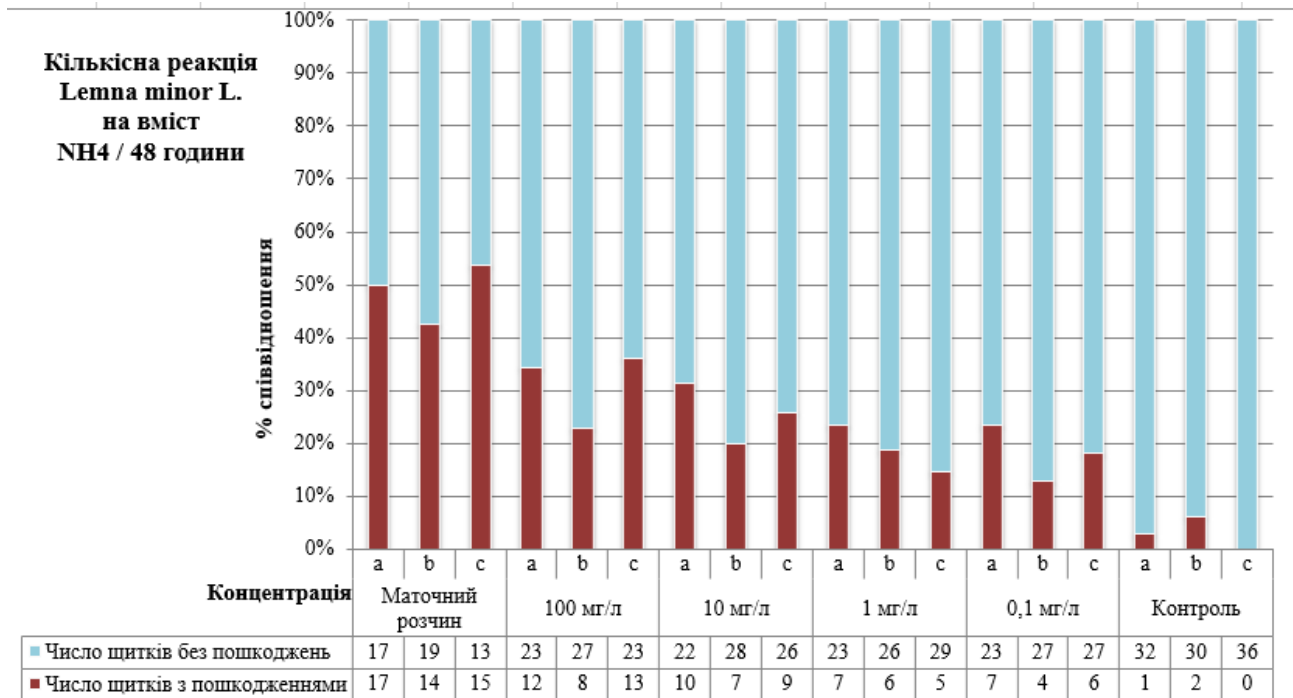


Рис. 2. Ефект пошкодження рослин *Lemna minor L.* за різних концентрацій NH_4^+ у водному середовищі (експозиція 48 год.)

96 год.:

Із збільшенням часу експозиції до 96 год. спостерігалися специфічні зміни морфологічних ознак водоростей. Було виявлено наступну закономірність: рослини *Lemna minor L.* майже у всіх варіантах

дослідження мали зміни листкової платники, пожовтіння, побуріння та в'янення. Мікроскопічні дослідження дозволили встановити повне відмирання клітин *Lemna minor L.* (табл. 3).

3. Морфологічні зміни *Lemna minor L.* за збільшення концентрації NH_4^+ у воді, експозиція 96 год.

NH_4^+ (96 годин)																		
Ознаки	Маточний розчин (1000 мг/л)			100 мг/л			10 мг/л			1 мг/л			0,1 мг/л			Контроль		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Специфічне забарвлення																		
Пожовтіння	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	
Побуріння	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	
Збереження зеленого забарвлення	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
Специфічна реакція																		
Сітчасте забавлення	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	
Відмирання з країв, в'янення	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
Роз'єднання листків від груп	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	

Аналіз отриманих результатів показав, що за 96 год., відбулося пошкодження рослин, яке становило 100 % у маточному розчині, за концентрації 100 мг/л –36,1-51,43 %, 10 мг/л –25,7-37,5 %; 1 мг/л – 20,1-

26,6 %, 0,1 мг/л – 21,1-30 %, у контрольному варіанті – 3,13-9,09 %. Порівняно з експозицією 48 годин показники пошкодження рослин зросли майже в 2 рази (рис.3.).

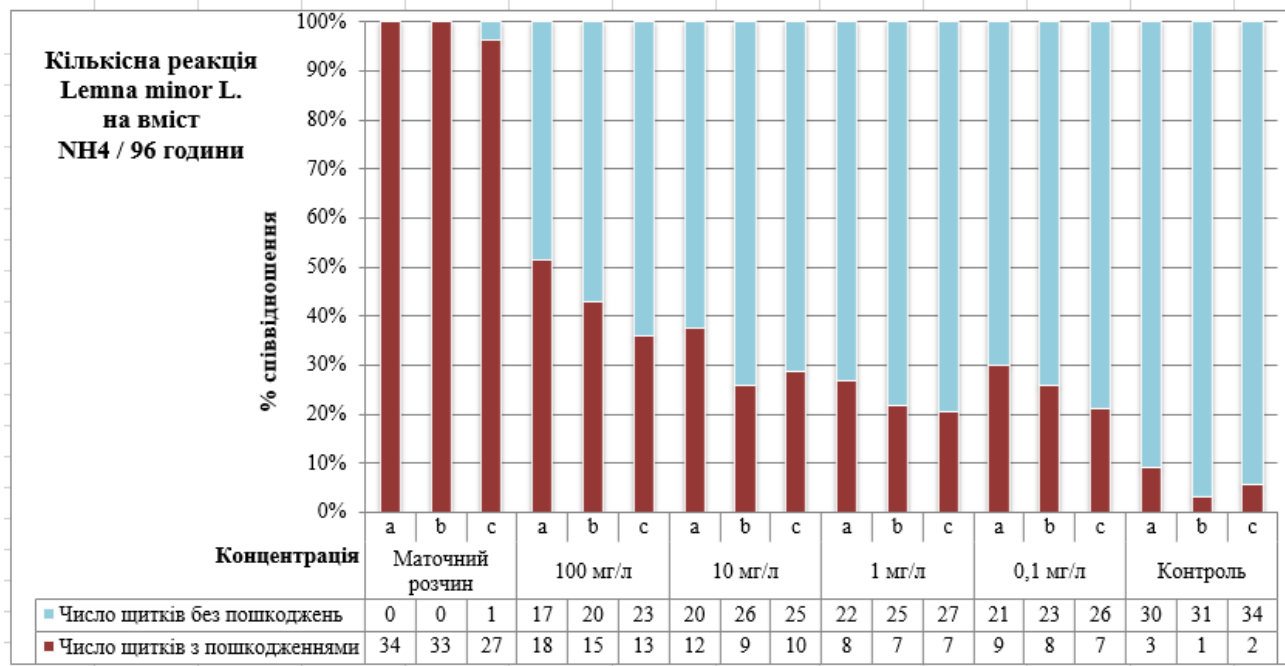


Рис. 3. Ефект пошкодження рослин *Lemna minor L.* за різних концентрацій NH_4^+ у водному середовищі (експозиція 96 год.)

Для встановлення рівня токсичності NH_4^+ щодо водоростей було використано залежність доза-ефект, що дає можливість виявити відповідь біологічного об'єкту на величину стрес-фактору. В основі цієї залежності лежить рівняння Гілла, яке дозволяє кількісно описати процеси зв'язування токсиканту з макромолекулою рецептора. Основним параметром, що надає кількісну характеристику такої залежності, є медіанна концентрація (EC_{50}) – концентрація речовини, що

пригнічує/порушує нормальний перебіг фізіологічних процесів у 50 % піддослідних організмів. Прояви пошкодження *Lemna minor L.* залежно від концентрації NH_4^+ у воді було описано у звичайних координатах за використання поліноміальної функції з прогнозом на 2 періоди уперед. За експозиції 24 години функціональна залежність цієї системи описувалася рівнянням $y = 0,8375x^2 + 1,5804x - 1,95$ з рівнем вірогідності апроксимації $R^2 = 0,9866$; за експозиції 48 годин – $y = 0,4054x^2 +$

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

$5,3996x - 1,99$ з рівнем апроксимації $R^2 = 0,9409$, за експозиції 96 годин - $y = 4,1786x^2 - 14,279x + 24,6$ рівнем апроксимації $R^2 = 0,9083$.

Для визначення токсичності речовини щодо організмів природної водної екосистеми за основу приймають експозицію 96 годин. Ефективна концентрація, за якої може відбутися пригнічення 50 % процесів, що досліджувалися у моделі «*Lemna minor L.* – NH_4^+ », складала 250 мг/л NH_4^+ (рис. 4). Таким чином, можна

передбачити, що концентрація NH_4^+ вище 250 мг/л в умовах природних водойм буде небезпечною як для водоростей, так і для всієї водної екосистеми. Пороговою недіяльною концентрацією NOEC (токсичність NH_4^+ не перевищує 10 %) можна вважати 0,1 мг/л. Подальше збільшення концентрації NH_4^+ може призводити до порушення нормального перебігу процесів метаболізму у вищих рослин водних екосистем.

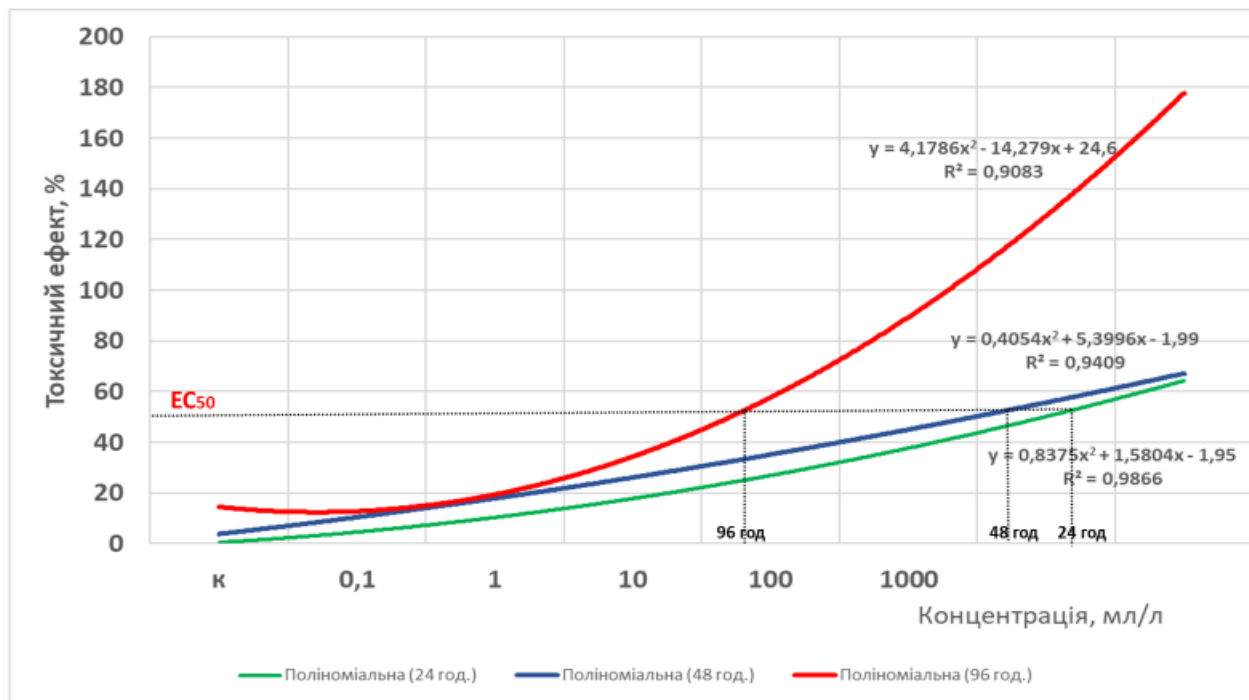


Рис. 4. Медіанна концентрація $EC_{50} \text{ NH}_4^+$ для вищих рослин водних екосистем (на прикладі *Lemna minor L.*), експозиція 24, 48 і 96 год.

Реакція ряски малої (*Lemna minor L.*) на концентрацію NO_2^-

24 год.:

Результати дослідження, які представлено в таблиці 4, показали, що через 24 год. у рослин ряски було виявлено пожовтіння за всіх концентрацій, які вивчалися

(контроль – без змін). Побуріння рослин спостерігалось вибірково, зокрема за концентрації з 100 мг/л та 1 мг/л та 0,1 мг/л. Природне забарвлення *Lemna minor L.* зберіглося лише в контролі (табл.4).

Слід зазначити, що в рослин не спостерігалось сітчастості, проте,

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

було присутнє відмирання. Також було виявлено роз'єднання листків на окремі щитки за у варіантах з концентрацією NO_2^- маточним розчином та 100 мг/л.

4. Морфологічні зміни *Lemna minor L.* за збільшення концентрації NO_2^- у воді, експозиція 24 год.

NO ₂ ⁻ (24 години)																		
Ознаки	Маточний розчин (1000 мг/л)			100 мг/л			10 мг/л			1 мг/л			0,1 мг/л			Контроль		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Специфічне забарвлення																		
Пожовтіння	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Побуріння	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Збереження зеленого забарвлення	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Специфічна реакція																		
Сітчасте забарвлення	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Відмирання з країв, в'янення	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Роз'єднання листків від груп	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Найбільше пошкоджених листків було зафіксовано у маточному розчині, що складало в середньому 10 щитків на пробу. Також пошкодження спостерігалися в

усіх варіантах, вони коливалися в кількості від 2 до 8. У маточного розчину відсоток щитків з пошкодженнями сягав 33 %, у контролі – вони були відсутні (рис. 5).

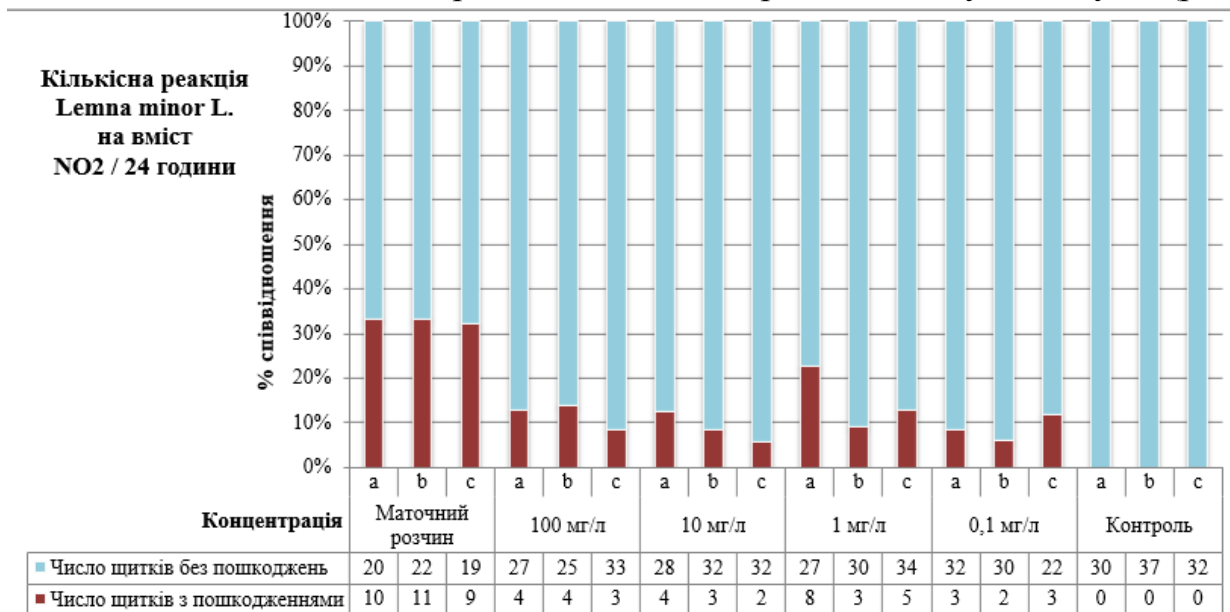


Рис. 5. Ефект пошкодження рослин *Lemna minor L.* за різних концентрацій NO_2^- у водному середовищі (експозиція 24 год.)

48 год.: спостерігалось загальне пожовтіння листкової пластини *Lemna minor L.* у всіх варіантах, окрім контролю.

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

Пожовтіння відбувалося одночасно з побурінням. На цьому етапі ні в жодному з варіантів не зберіглося природне зелене забарвлення листової пластини водоростей.

Спостерігалось сітчасте забарвлення, або прозорість листків у всіх варіантах, де концентрація NO_2^- перевищувала 1,0 мг/л (табл.5).

5. Морфологічні зміни *Lemna minor L.* за збільшення концентрації NO_2^- у воді, експозиція 48 год.

NO ₂ ⁻ (48 годин)																		
Ознаки	Маточний розчин (1000 мг/л)			100 мг/л			10 мг/л			1 мг/л			0,1 мг/л			Контроль		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Специфічне забарвлення																		
Пожовтіння	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Побуріння	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Збереження зеленого забарвлення	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Специфічна реакція																		
Сітчасте забавлення	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Відмирання з країв, в'янення	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Роз'єднання листків від груп	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-

Реакція *Lemna minor L.* на дію підвищених концентрацій NO_2^- за 48 год. показала, що на відміну від експозиції 24 год., кількість роз'єднань рослин зростає. З'явилися також пошкодження листків в

кожному варіанті, включаючи контроль. Найбільша їх кількість спостерігалася у маточного розчину (11-15), найменш – у варіанті з концентрацією 0,1 мг/л (4-5) (рис. 6).

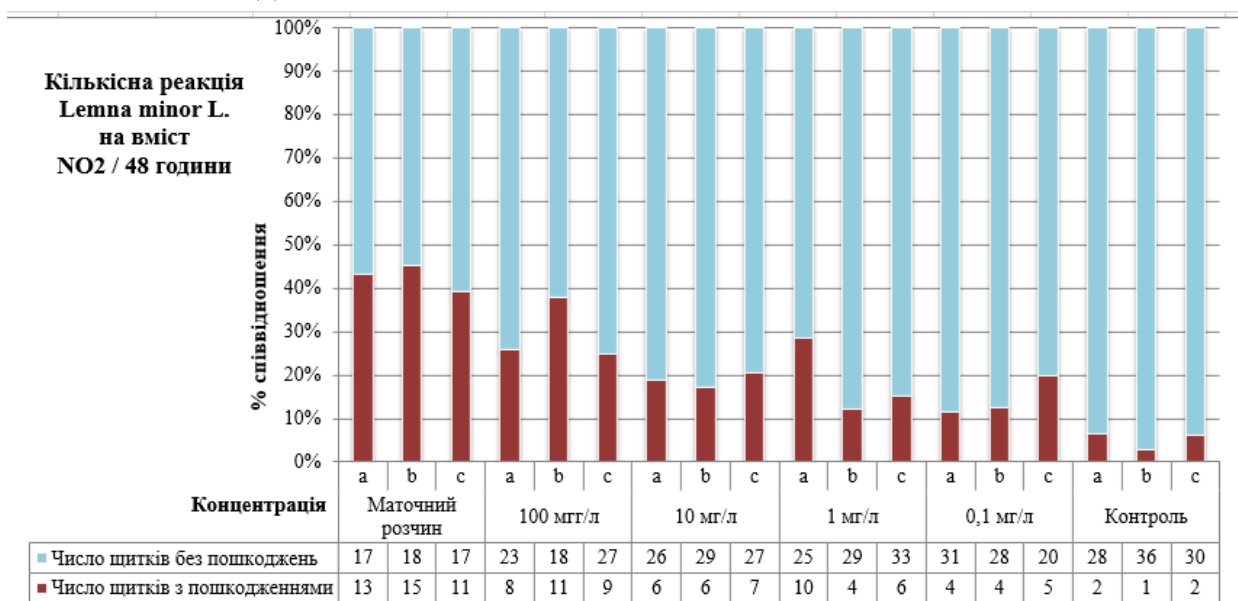


Рис. 6. Ефект пошкодження рослин *Lemna minor L.* за різних концентрацій NO_2^- у водному середовищі (експозиція 48 год.)

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

Відсоткове співвідношенням щитків із пошкодженням до щитків без пошкоджень показало, що найбільш велика частка пошкоджень відбувалася за дії концентрації маточного розчину – близько 40 %. Найменша – у контрольному варіантів, біля 4 %. Концентрації 100 мг/л NO_2^- призвели до 30 %, 10 мг/л, 1 мг/л та 0,1 мг/л – від 10 до 20 % пошкоджень.

96 год.:

Через 96 годин впливу різних концентрацій NO_2^- на рослини *Letna minor L.* у всіх варіантах досліду відмічалася пожовтіння та побуріння листкової поверхні; відмирання клітин та в'янення листка, а також роз'єднання листків від однієї особини (табл.6).

6. Морфологічні зміни *Letna minor L.* за збільшення концентрації NO_2^- у воді, експозиція 96 год.

NO ₂ ⁻ (96 годин)																		
Ознаки	Маточний розчин (1000 мг/л)			100 мг/л			10 мг/л			1 мг/л			0,1 мг/л			Контроль		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Специфічне забарвлення																		
Пожовтіння	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
Побуріння	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	
Збереження зеленого забарвлення	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Специфічна реакція																		
Сітчасте забавлення	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
Відмирання з країв, в'янення	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	
Роз'єднання листків від груп	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	

Кількісні показники (зокрема число щитків з пошкодженням) дещо відрізнялися від таких за експозиції 48 год, зокрема, збільшилося число щитків з пошкодженнями (рис. 7). Найбільший відсоток пошкоджень був за концентрації маточного розчину, він сягав 60 %. Найменший –

у варіанті з концентрацією NO_2^- 0,1 мг/л – 15,6-24,0 %. Також достатньо висока кількість пошкоджень була у варіантах із концентрацією 100 мг/л (48 %) та 10 мг/л (59 %), тоді як в контролі цей показник становив від 5,4 до 13,3 %.

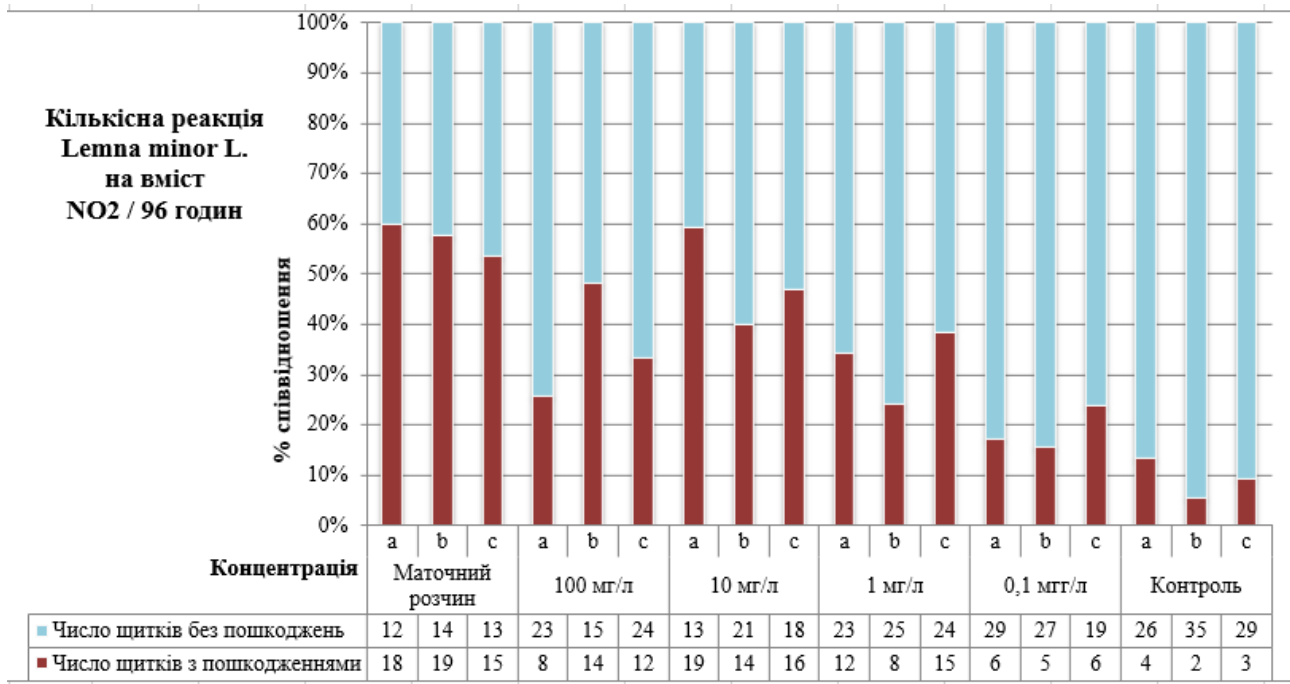


Рис. 7. Ефект пошкодження рослин *Lemna minor L.* за різних концентрацій NO_2^- у водному середовищі (експозиція 96 год.)

Рівень токсичності NO_2^- щодо водоростей за використання залежності доза-ефект описували за використання логарифмічної функції з прогнозом на 2 періоди уперед. За експозиції 24 години функціональна залежність цієї системи описувалася рівнянням $y = 13,123\ln(x) - 1,473$ з рівнем вірогідності апроксимації $R^2 = 0,6097$; за експозиції 48 годин – $y =$

$17,516\ln(x) + 2,3098$ з рівнем вірогідності апроксимації $R^2 = 0,7856$; за експозиції 96 годин - $y = 24,781\ln(x) + 6,7268$ з рівнем вірогідності апроксимації $R^2 = 0,8615$. Медіанна концентрація (EC_{50}), за якої може відбутися пригнічення 50 % процесів, що досліджувалися в моделі «*Lemna minor L.* - NO_2^- », складала 720 мг/л NO_2^- (рис. 8).

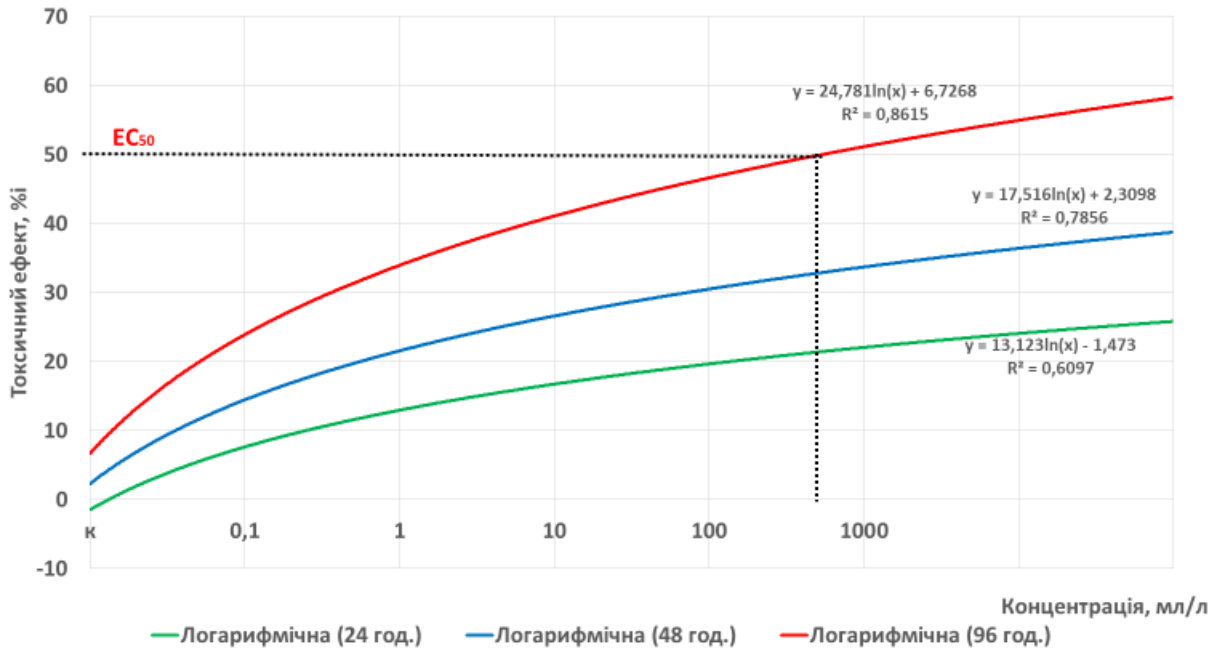


Рис. 8. Медіанна концентрація $EC_{50} NO_2^-$ для вищих рослин водних екосистем (на прикладі *Lemna minor L.*), експозиція 24, 48 і 96 год.

Реакція ряски малої (Lemna minor L.) на концентрацію NO_3^-

24 год.:

Спостереження за морфологічними змінами ряски малої за збільшення концентрації NO_3^- виявили 60 % пожовтіння та побуріння щитків у всіх варіантах, окрім контролю. Збереження

зеленого забарвлення листкової пластини спостерігалось у *Lemna minor L.* у розчинах з концентрацією 1 мг/л, 0,1 мг/л та у контролі. Проте, варто зазначити, що була відсутня сітчастість. В'янення спостерігалось за концентрації 100 мг/л та у маточному розчині (табл.7).

7. Морфологічні зміни *Lemna minor L.* за збільшення концентрації NO_3^- у воді, експозиція 24 год.

Ознаки	NO_3^- (24 години)																	
	Маточний розчин (1000 мг/л)			100 мг/л			10 мг/л			1 мг/л			0,1 мг/л			Контроль		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Специфічне забарвлення																		
Пожовтіння	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Побуріння	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Збереження зеленого забарвлення	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Специфічна реакція																		
Сітчасте забавлення	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Відмирання з країв, в'янення	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Роз'єднання листків від груп	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-

Реакцією *Lemna minor L.* на вміст NO_3^- у розчині було часткове роз'єднання листків однієї особини. Найбільше це проявлялося у варіанті із концентрацією 100 мг/л (14 шт.),

найменше – у варіанті із концентрацією 0,1 мг/л (1-2 шт.), у контролі – кількісні зміни були відсутні (рис. 9).

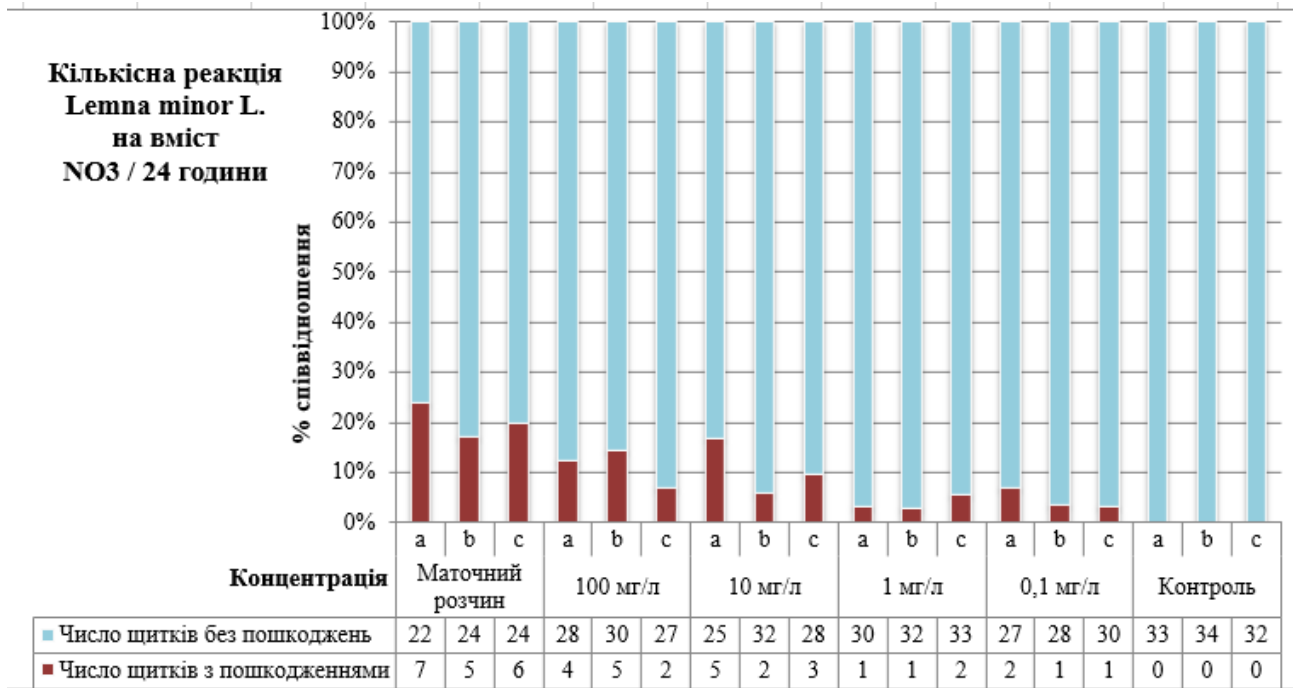


Рис. 9. Ефект пошкодження рослин *Lemna minor L.* за різних концентрацій NO_3^- у водному середовищі (експозиція 24 год.)

48 год.:

За експозиції NO_3^- упродовж 48 год у *Lemna minor L.* проявилися такі морфологічні зміни: до 80 % відбулося пожовтіння листків у варіантах досліду з концентрацією NO_3^- 100 мг/л, 10 мг/л та 1 мг/л, а також до 60 % – у варіанті з концентрацією 0,1 мг/л. Контроль залишився без змін. Така ж сама

ситуація спостерігалася і з побуріння щитків. Природне зелене забарвлення зберігалось лише у контрольному варіанті. Щодо сітчастого забарвлення та відмирання країв, то воно з'явилося практично в кожній пробі, окрім контролю. Також спостерігалось роз'єднання листків на окремі частки у кожному варіанті (табл.8.).

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

8. Морфологічні зміни *Letna minor L.* за збільшенні концентрації NO_3^- у воді, експозиція 48 год.

NO ₃ ⁻ (48 годин)																		
Ознаки	Маточний розчин (1000 мг/л)			100 мг/л			10 мг/л			1 мг/л			0,1 мг/л			Контроль		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Специфічне забарвлення																		
Пожовтіння	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	
Побуріння	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
Збереження зеленого забарвлення	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Специфічна реакція																		
Сітчасте забавлення	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
Відмирання з країв, в'янення	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
Роз'єднання листків від груп	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	

Кількісна характеристика процесів показує, що у *Letna minor L.* збільшилося число щитків з пошкодженнями (рис.8). Найбільше

цей процес проявився в маточному розчині (31-40 %), менше – у варіанті із концентрацією 0,1 мг/л (20,6-37,1 %) (рис. 10).

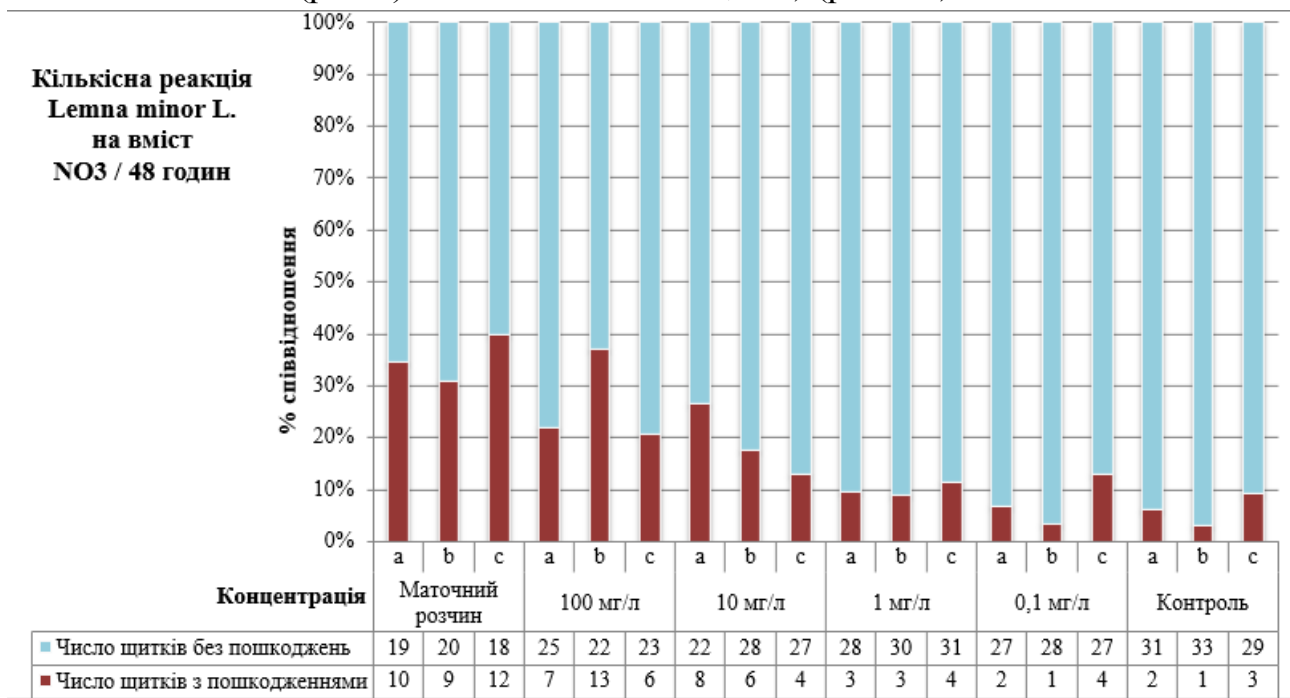


Рис. 10. Ефект пошкодження рослин *Letna minor L.* за різних концентрацій NO_3^- у водному середовищі (експозиція 48 год.)

96 год.:

Оцінюючи якісні показники морфологічних змін, як реакцію *Letna minor L.* на концентрацію NO_3^-

за експозиції 96 год можна сказати, що відбулося 100 % пожовтіння та побуріння у всіх варіантах. Зелене природне забарвлення листкової

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

пластини *Lemna minor* L. зберіглося лише у контролі (табл.9). Варто зазначити, що морфологічних змін у

Lemna minor L. за весь період дослідження у контрольному варіанті – не відбулося.

9. Морфологічні зміни *Lemna minor* L. за збільшення концентрації NO_3^- у воді, експозиція 96 год.

NO ₃ ⁻ (96 годин)																		
Ознаки	Маточний розчин (1000 мг/л)			100 мг/л			10 мг/л			1 мг/л			0,1 мг/л			Контроль		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Специфічне забарвлення																		
Пожовтіння	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Побуріння	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Збереження зеленого забарвлення	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Специфічна реакція																		
Сітчасте забарвлення	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Відмирання з країв, в'янення	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Роз'єднання листків від груп	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-

Морфологічна реакція *Lemna minor* L. на NO_3^- проявилася у вигляді суттєвого збільшення числа пошкоджених щитків (рис. 11).

Найбільший відсоток щитків із пошкодженнями був у маточного розчину – від 75,8 % до 86,7 %.

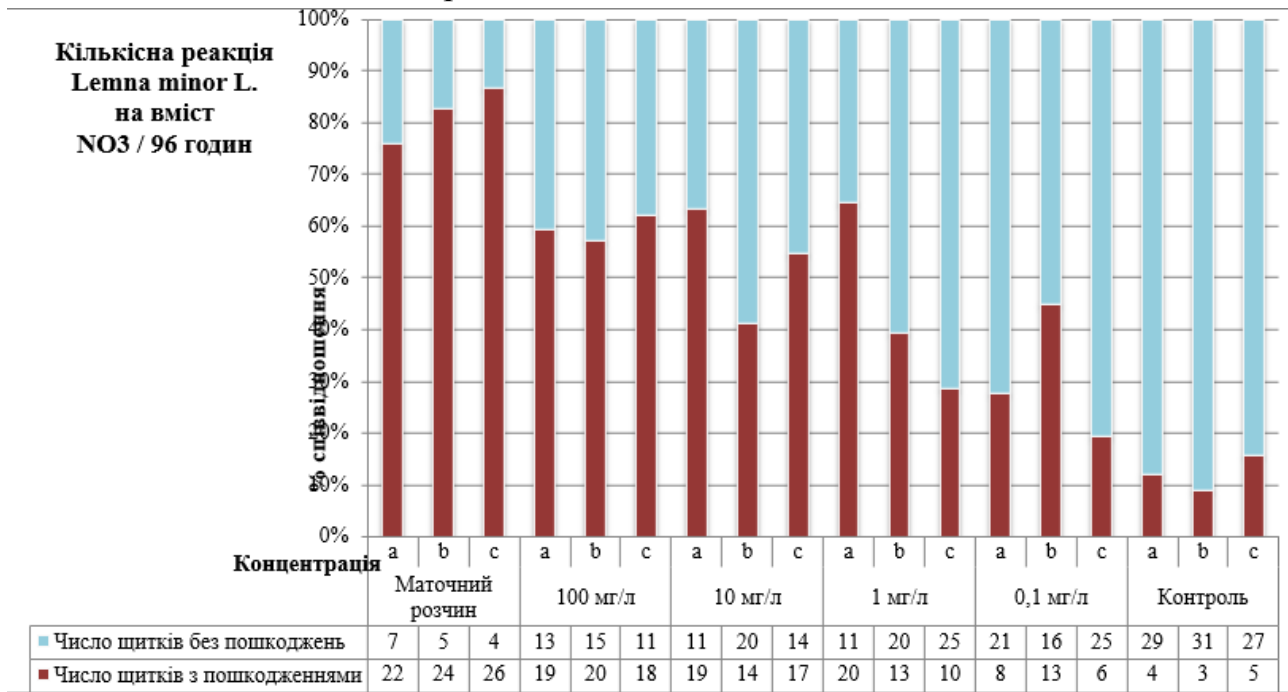


Рис. 11. Ефект пошкодження рослин *Lemna minor* L. за різних концентрацій NO_3^- у водному середовищі (експозиція 96 год.)

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

Рівень токсичності NO_3^- відносно водоростей за використання залежності доза-ефект описували за використання поліноміальної функції. За експозиції 24 години функціональна залежність цієї системи описувалася рівнянням $y = 0,7x^2 - 0,9886x + 0,96$ з рівнем вірогідності апроксимації $R^2 = 0,9768$; за експозиції 48 годин – $y = 1,1393x^2 - 1,7607x + 7$ з рівнем

вірогідності апроксимації $R^2 = 0,9794$; за експозиції 96 годин – $y = -0,0107x^2 + 13,181x + 0,48$ з рівнем вірогідності апроксимації $R^2 = 0,9752$. Медіанна концентрація (EC_{50}), за якої може відбутися пригнічення 50 % процесів, що досліджувалися у моделі «*Lemna minor L.* - NO_3^- », складала 7,7 мг/л NO_3^- (рис. 12).

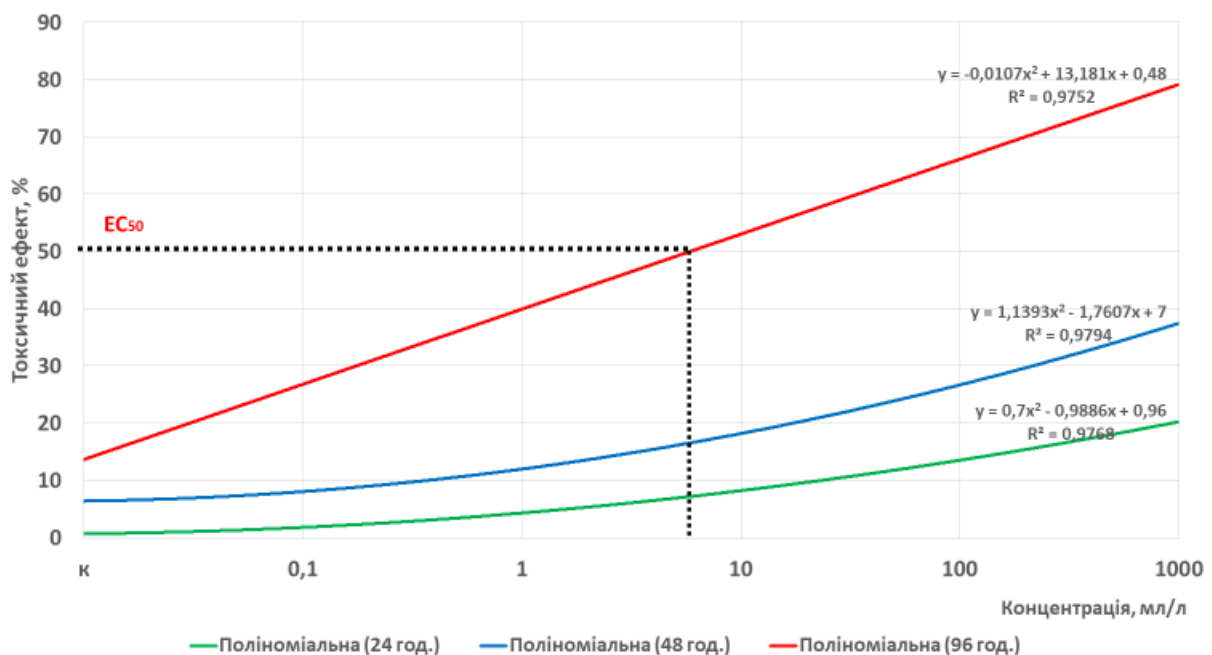


Рис. 12. Медіанна концентрація $EC_{50} NO_3^-$ для вищих рослин водних екосистем (на прикладі *Lemna minor L.*), експозиція 24, 48 і 96 год.

Отже, за використання біотесту *Lemna minor L.* було встановлено, що для вищих рослин водних екосистем токсичність сполук азоту за показником медіанної концентрації EC_{50} (96 год.) наступна:

NH_4^+	-	250 мг/л
NO_2^-	-	720 мг/л
NO_3^-	-	7,7 мг/л

Можна передбачити, що найвищий рівень небезпечності для біоти водних екосистем може проявлятися внаслідок забруднення сполуками азоту у формі NO_3^- , найнижчий – у формі NO_2^- .

Висновки і перспективи. Визначення токсичності води за допомогою тест-об'єктів ґрунтується на особливостях прояву їх реакцій у

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

певні періоди спостережень. Дослідження на рясці (*Lemna minor* L.) базувалося на визначенні якісних й кількісних показників. Якісні показники відображали ступінь морфологічних змін листової пластини, кількісні – відображали ступінь пошкоджених та відмерлих особин. На основі цих підрахунків, було визначено відсоткове відношення здорових організмів до практично мертвих.

Отримані результати експерименту, безперечно, свідчать про те, що використовувані речовини мають токсичний вплив на водну рослинність, зокрема, в даних умовах експерименту – негативно впливають на популяцію ряски малої (*Lemna minor* L.).

Потрібно зазначити, що проведені дослідження токсичності води на вміст NO_2^- за допомогою тест-об'єкту *Lemna minor* L. показав, що навіть за найменшої концентрації в 0,1 мг NO_2^- /л водна біота буде зазнавати значного токсичного впливу з можливою подальшою загибеллю.

Підсумовуючи результати дослідження реакції *Lemna minor* L. на токсичність води з різними концентраціями NO_3^- дійшли до висновку, що навіть за найменшої концентрації (0,1 мг NO_3^- /л) водні рослини будуть відчувати негативний вплив на їх ріст та розвиток. Якщо взяти 40,0 мг NO_3^- /л, що є нормативом для риборозведення, то для водної

рослинності, як показав даний результат – такий вміст показника буде токсичним і спричинить загибель.

Щодо солей NH_4 , то реакція була більш прогресивною, погіршення листової пластини ряски почало відбуватися відразу з перших днів дослідження, також кількість пошкоджених особин становила на 30 % більше на 24 день, а ніж у солей NO_3^- , NO_2^- .

Встановлено, що для вищих рослин водних екосистем найвищий рівень токсичності проявляють сполуки азоту у формі NO_3^- , медіанна концентрація EC_{50} (96 год.) становить 7,7 мг/л. Тому, регламентація забруднення водних екосистем сполуками азоту має відбуватися насамперед за вмістом NO_3^- . Для уникнення негативного впливу таких сполук, як NH_4^+ та NO_2^- потрібно враховувати їх рівень токсичності: EC_{50} (96 год.) NH_4^+ - 250 мг/л, EC_{50} (96 год.) NO_2^- - 720 мг/л.

Із вищесказаного виходить, що вільно плаваючий гідрофіт Ряска мала (*Lemna minor* L.) являється перспективним об'єктом тестування, так як вона легко вбирає в себе всі елементи та швидко показує результат. Вона здатна швидко акумулювати шкідливі речовини, тому, що в процесі життєдіяльності її листки сорбують абсолютно всі елементи, які потрапляють у воду. При цьому на листках рослини з'являються характерні

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

пошкодження, які є якісним симптомом рівня впливу досліджуваних солей під час дослідження токсичності води.

Наступним етапом вбачаємо: дослідження токсичності води, використовуючи тест-об'єкт *Daphnia magna*.

Список використаних джерел

1. Аристархова Е. О. Особливості визначення токсичності питної води. *Агроекологічний журнал*. 2016. № 3. С. 50-55. URL:

http://nbuv.gov.ua/UJRN/agrog_2016_3_1 (дата звернення: 18.10.2021)

2. Цаценко Л. В., Оторова А. А., Большакова Л. С., Игнатъева С. Л., Семенова Т. В. Биоиндикация и биотестирование в агроэкологии: учебное пособие. Бишкек: Кыргызский национальный аграрный университет имени К. И. Скрябина, 2014. 124 с.

3. ДСТУ 32426-2013 «Методи досліджень хімічної продукції, які несуть небезпеку для навколишнього середовища. Випробування ряски на пригнічення росту». URL:

<https://docs.cntd.ru/document/1200107387/titles/FI010C> (дата звернення: 14.07.2021)

4. Строкаль В. П., Ковпак А. В. Причинно-наслідкові зв'язки забруднення біогенними елементами басейну річки Дніпра: синтез теоретичних даних. *Науково-практичний журнал «Екологічні науки»*. 2021. Випуск 2 (35). С. 37-44. DOI <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2021.eco.2-35.6>

5. Луканин А. В. Процессы и аппараты биотехнологической очистки сточных вод : учебное пособие. Москва: ИНФРА-М, 2020. 242 с.

6. Морозова М. Е., Сторчак Т. В. Влияние солей тяжелых металлов на синтез пролина *Lemna Minor L.* *Вестник Нижневартовского государственного университета*. 2017. №4. С. 119-124. URL: https://vestnik.nvsu.ru/2311-1402/article/view/49610/ru_RU (дата звернення: 20.10.2021)

7. Мусатова О. В. Біоіндикація та біопшкодження: методичні рекомендації до лабораторних робіт. Витебск: Издательство УО «ВГУ им. П.М.Машерова». 2006. URL:

<https://rep.vsu.by/bitstream/> (дата звернення: 14.10.2021)

8. Пестициды, нитраты та нитриты. URL:

https://studopedia.com.ua/1_24063_pestitsidi-nitrati-ta-nitriti.html (дата звернення: 14.07.2021)

9. Сторчак Т. В., Крюкова В. А. Изменение некоторых физиологических показателей ряски малой (*Lemna minor L.*) при действии солей никеля и цинка. *Бюллетень науки и практики*. Электрон. журн. 2017. №3 (16). С. 99–105. URL: <http://www.bulletennauki.com/storchak> (дата звернення 15.10.2021)

10. Субботин М. А., Григорьев Ю. С. Оценка токсического действия ионов меди на ряску малую (*Lemna minor L.*) методом регистрации замедленной флуоресценции. *Теоретическая и прикладная экология*. 2013. №2. URL: <http://envjournal.ru/ari/v2013/v2/files/13205.pdf> (дата звернення 06.10.2021)

11. Цаценко Л. В., Пасхалиди В. Г. Рясковые как модельный объект в биотестировании водной и почвенной среды. *Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур*. 2018. Вып. 4 (176). С. 146–151

12. Mikryakova T.F. Accumulation of Heavy Metals by Macrophytes at Different Levels of Pollution of Aquatic Medium. *Water Resources*. 2002. Vol.29. № 2. P. 230-232.

13. Шугуров П. В., Тищенко В. П., Мищенко О. А. Исследование влияния ионов тяжелых металлов на Ряску малую. *Журнал «Инновации и инвестиции»*. №2. 2021. URL: <file:///C:/Users/user/Downloads/issledovanie-vliyaniya-ionov-tyazhelyh-metallov-na-ryasku-maluyu.pdf> (дата звернення 28.09.2021)

14. Makarenko N., Rudnytska L., Bondar V. (2016). Peculiarities of ecotoxicological assessment

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

nanoagrochemicals used in crop production. *Annals of Agrarian Science*. Vol.14, Issue 2. P.35-41. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1512188716000087>

15. Vita Strokal (2021). Transboundary rivers of Ukraine: perspectives for sustainable development and clean water. *Journal of Integrative Environmental Sciences*. Vol.18, No.1 P. 67-87 URL: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/1943815X.2021.1930058>

References

1. Arystarkhova E. O. (2016). *Osoblyvosti vyznachennia toksychnosti pytnoi vody* [Features of determining the toxicity of drinking water]. *Ahroekolohichnyi zhurnal*. No 3. Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/agrog_2016_3_1 (*in Ukrainian*)

2. Tsatsenko, L., Otorova, A., Bolshakova, L., Yhnateva, S., Semenova, T. (2014). *Bioindykatsiia i biotestirovanie v ahroekolohii* [Bioindication and biotesting in agroecology]. Byshkek: Kyrhyzskiy natsyonalnyi ahraryni universytet imeni K.Y. Skriabyna, 124 (*in Russian*)

3. Mezhhosudarstvennyi standart 32426-2013 «*Metody ispytaniia khimicheskoi produktsii, predstavliaiushchei opasnost dlia okruzhaiushchei sredy. Ispytanie riasky na uhnetenye rosta*» [Testing of chemicals of environmental hazard. Lemna spp. growth inhibition test]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200107387/titles/FI01OC> (*in Russian*)

4. Strokal, V., Kovpak, A. (2021). *Prychynno-naslidkovi zv'iazky zabrudnennia biohennymy elementamy baseinu richky Dnipra: syntez teoretychnykh danykh* [Causes of nutrient pollution in the Dnieper river basin: theoretical syntheses]. *Naukovo-praktychnyi zhurnal «Ekolohichni nauky»*. Vol 2 (35). pp. 37-44. DOI: <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2021.eco.2-35.6> (*in Ukrainian*)

5. Lukanyn A. V. (2020). *Protsessy y apparaty byotekhnolohycheskoi ochystki stochnykh vod* [Processes and apparatus for biotechnological wastewater treatment]. Moskva: YNFRA-M, 242 p. (*in Russian*)

6. Morozova, M., Storchak, T. (2017). *Vlyianyie solei tiazhelykh metallov na syntez prolyna Lemna Minor L.* [Influence of heavy metal salts in the synthesis of the prolin Lemna Minor L.] *Vestnyk Nyzhnevartovskoho hosudarstvennoho unyversyteta*. No 4. pp. 119-124. Available at: https://vestnik.nvsu.ru/2311-1402/article/view/49610/ru_RU (*in Russian*)

7. Musatova, O. (2006). *Bioindykatsiia ta bioposhkodzhennia: metodychni rekomendatsii do laboratornykh robit* [Bioindication and biodamage: guidelines for laboratory work]. Vytebsk: Yzdatelstvo UO «VHU ym. P.M.Masherova». Available at: <https://rep.vsu.by/bitstream/> (*in Russian*)

8. Pestytsydy, nitraty ta nitryty. Available at: https://studopedia.com.ua/1_24063_pestitsidi-nitrati-ta-nitriti.html (*in Ukrainian*)

9. Storchak, T., Kriukova, V. (2017). *Izmenenie nekotorykh fiziolohycheskikh pokazatelei riaski maloi (Lemna minor L.) pri deistvii solei nikelia y tsinka* [Changes in some physiological parameters of duckweed (Lemna minor L.) under the action of nickel and zinc salts]. *Biulleten nauky y praktyky. Elektron. zhurn*. No 3 (16). pp. 99–105. Available at: <http://www.bulletennauki.com/storchak> (*in Russian*)

10. Subbotyn, M., Hryhorev, Yu. (2013). *Otsenka toksycheskoho deistvyia yonov medy na riasku maluiu (Lemna minor L.) metodom rehystratsyy zamedlennoi fluorestsentsyy* [Evaluation of the toxic effect of copper ions on duckweed (Lemna minor L.) by the method of registration of delayed fluorescence]. *Teoretycheskaia y prykladnaia ekolohyia*. No 2. Available at: <http://envjournal.ru/ari/v2013/v2/files/13205.pdf> (*in Russian*)

11. Tsatsenko, L. V., Paskhalydy, V. H. (2018). *Riaskovye kak modelnyi obekt v byotestirovanny vodnoi y pochvennoi sredy* [Duckweed as a model object in biotesting of the aquatic and soil environment]. *Nauchno-tekhnicheskyi biulleten Vserossyiskoho nauchno-ysledovatel'skoho ynstytuta maslychnykh kultur*. Vol.4 (176). pp. 146-151 (*in Russian*)

12. Mikryakova, T. (2002). *Accumulation of Heavy Metals by Macrophytes at Different Levels of Pollution of Aquatic*

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

Medium. *Water Resources*. Vol.29. No 2. pp. 230–232 (in English)

13. Shuhurov, P., Tyshchenko, V., Myshchenko, O. (2021). *Yssledovanyia vliyaniya yonov tiazhelukh metallov na Ryasku maluiu* [Investigation of the influence of heavy metal ions on Ryaska small]. *Zhurnal «Ynnovatsyy u ynvestytsyy»*. No 2. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/issledovanie-vliyaniya-ionov-tyazhelyh-metallov-na-ryasku-maluyu> (in Russian)

14. Makarenko, N., Rudnytska, L., Bondar, V. (2016). Peculiarities of ecotoxicological assessment

nanoagrochemicals used in crop production. *Annals of Agrarian Science*. Vol.14, Issue 2. pp.35-41.

Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1512188716000087> (in English)

15. Strokhal, V. (2021). Transboundary rivers of Ukraine: perspectives for sustainable development and clean water. *Journal of Integrative Environmental Sciences*. Vol.18, No 1 pp. 67-87 Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/1943815X.2021.1930058> (in English)

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ОЦЕНИВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА ДЛЯ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ С ПОМОЩЬЮ БИОТЕСТА *LEMNA MINOR L.*

В. П. Строкаль, Н. А. Макаренко, Т. С. Чорна, А. В. Ковпак

Аннотация. Актуальность исследования обусловлена постоянным повышением уровня эвтрофикации водоемов путем поступления в них азотсодержащих и фосфорсодержащих соединений. Известно, что наиболее быстро на повышение концентрации соединений азота в водной экосистеме реагируют водоросли. Растением-стенобионтом, относящимся к группе наиболее чувствительных биотестов, является ряска малая *Lemna minor L.* Цель исследования предполагала определение уровня токсичности воды с помощью биотеста ряска малая (*Lemna minor L.*) для установления опасных концентраций соединений азота (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+) (СА) для высших растений водных экосистем с последующим прогнозом рисков для водоемов Днепровского бассейна. Исследование было проведено согласно ДСТУ 32426-2013 «Методы исследований химической продукции, которые представляют опасность для окружающей среды. Испытание ряски на угнетение роста». Выявляли количество связанных с соединениями азота эффектов на рост и развитие растения за период тестирования. Для количественной оценки эффектов, связанных с токсичностью соединений азота, изучали полумаксимальный эффект (EC_{50}).

Проведенные исследования на уровень токсичности соединений азота для водных организмов с помощью тест-объекта *Lemna minor L.* показали: при наименьшей концентрации в $0,1 \text{ мгNO}_2^-/\text{л}$ водная биота будет испытывать значительное токсическое воздействие с возможной последующей гибелью; при концентрации $0,1 \text{ мгNO}_3^-/\text{л}$ водные растения будут ощущать негативное влияние на их рост и развитие; реакция тест-объекта на концентрации NH_4^+ была более прогрессивной, ухудшение листовой пластины ряски начало происходить сразу с первых дней исследования, также количество

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

поврежденных особей составляло на 30 % больше на 24 день, чем у солей NO_3^- , NO_2^- .

Установлено, что для высших растений водных экосистем наивысший уровень токсичности проявляют соединения азота в форме NO_3^- , медиаконцентрация EC_{50} (96 ч) составляет 7,7 мг/л. Поэтому регламентация загрязнения водных экосистем соединениями азота должна происходить прежде всего по содержанию NO_3^- . Во избежание негативного влияния таких соединений, как NH_4^+ и NO_2^- , следует учитывать их уровень токсичности: EC_{50} (96 ч.) NH_4^+ – 250 мг/л, EC_{50} (96 ч.) NO_2^- – 720 мг/л.

Ключевые слова: водная биота, уровень токсичности, загрязнение водных экосистем

ECOLOGICAL ASSESSMENT OF THE TOXICITY OF NITROGEN COMPOUNDS FOR AQUATIC ORGANISMS USING *THE LEMNA MINOR L.* BIOTEST

V. P. Strokal, N. A. Makarenko, T. S. Chorna, A. V. Kovpak

Abstract. This research is motivated because of increasing eutrophication problems in water bodies. This happens as a result of excess nitrogen and phosphorus. Too many of these nutrients can cause algae to grow, leading to blooms. Harmful algal blooms consume dissolved oxygen in water. As a result, the oxygen level decreases, affecting the aquatic ecosystem. The stenobiont plant, which belongs to the group of the most sensitive bioassays, is the small duckweed *Lemna minor L.* This plant is sensitive to increasing levels of nutrients and blooms of algae.

This research aimed to determine the level of water toxicity using the bioassay of duckweed (*Lemna minor L.*) to establish dangerous concentrations of nitrogen compounds (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+) (CA) for higher plants of aquatic ecosystems with subsequent risk forecast for Dnipro basin. The research was carried out in accordance with DSTU 32426-2013 “Testing of chemicals of environmental hazard. *Lemna sp.* Growth Inhibition. Test”.

The number of effects associated with nitrogen compounds (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+) on plant growth and development during the testing period was detected. The number of green layers is the main variable that was investigated in the experiment. Changes in the morphological features of duckweed were also studied, in accordance with the standard, the toxicity of water was assessed by changes in leaf colour, manifestations of chlorosis, the transformation of whole plants into individuals, the appearance of young leaves. To estimate the number of effects associated with the nitrogen compounds toxicity, the half-maximal effect (EC_{50}) was studied. It should be noted that studies of water toxicity on NO_2^- content using the *Lemna minor L.* test showed that even at the lowest concentration of 0.1 mg NO_2^- /L aquatic biota will be significantly affected by the toxicity with possible subsequent death.

Summarizing the results of the research of the *Lemna minor L.* reaction to the toxicity of water with different concentrations of NO_3^- came to the conclusion that even the lowest concentration (0.1 mg NO_3^- /L) will have a negative impact on their growth and development of the plant. Generally, 40.0 mg NO_3^- /L is considered “safe” for fish

Строкаль В. П., Макаренко Н. А., Чорна Т. С., Ковпак А. В.

farming. However, this is not a case for aquatic vegetation, as shown by this result – such concentration will be toxic and cause death. If we take into account NH_4^+ salts, the reaction was even more progressive, the deterioration of the leaf layers of duckweed began to occur immediately from the first days of the research, and the number of damaged duckweed was 30 % more on day 24 than in salts NO_3^- , NO_2^- . For algae of aquatic ecosystems the highest level of toxicity is shown by nitrogen compounds in the form of NO_3^- , the median concentration of EC_{50} (96 hours) is 7.7 mg/L. Therefore, the regulation of pollution of aquatic ecosystems by nitrogen compounds should be based primarily on the content of NO_3^- . To avoid the negative effects of compounds such as NH_4^+ and NO_2^- it is necessary to take into account their toxicity level: EC_{50} (96 hours) NH_4^+ – 250 mg/L, EC_{50} (96 hours) NO_2^- – 720 mg/L.

*From the above, the free-floating hydrophyte *Lemna minor* L. is a promising object of testing, as it easily absorbs all the elements and quickly shows the result. It is able to quickly accumulate harmful substances, because in the process of life, its leaves absorb absolutely all the elements that fall into the water.*

Keywords: *aquatic biota, level of toxicity, pollution of aquatic ecosystems*