

МОН УКРАЇНИ
УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА
(УНУС)

Факультет плодовоовочівництва, екології та захисту рослин
Кафедра екології та безпеки життєдіяльності

Допущено до захисту

«___» (_____) 2024 року

Зав. кафедри, к. с.-г. н., доцент

_____ Ольга ВАСИЛЕНКО

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
ступеня вищої освіти магістр

**ФІТОТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ ЦИНКОМ
ТА МІДДЮ ЗА РЕАКЦІЯМИ КОНЮШИНИ ЛУЧНОЇ (TRIFOLIUM
PRATENSE L.).**

Виконав: студент 2 курсу, групи 21-м-ек
спеціальності 101 Екологія
КУЗЬ Василь Іванович

Керівник: НІКІТІНА Ольга, к. с.-г. н., доцент

Умань – 2024

ЗМІСТ

ВСТУП	3
РОЗДІЛ 1. ВАЖКІ МЕТАЛИ У ҐРУНТАХ ТА РОСЛИНАХ (огляд літератури)	6
1.1 Джерела забруднення навколишнього середовища важкими металами	5
1.2 Вплив важких металів на фізіологічні процеси рослин	9
1.3 Еколого-біологічна характеристика <i>Trifolium pratense</i> L	12
РОЗДІЛ 2. УМОВИ І МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ	16
2.1 Умови проведення досліджень	16
2.2 Характеристика об'єкту досліджень	17
2.3 Методика проведення досліджень	18
2.4 Охорона праці при проведенні екологічних досліджень в лабораторії	19
РОЗДІЛ 3 Результати досліджень	22
3.1 Вплив сульфату цинку на проростання насіння <i>Trifolium pratense</i> L.	22
3.2 Вплив сульфату міді на проростання насіння <i>Trifolium pratense</i> L	24
3.3 Вплив солей цинку та міді на ріст і розвиток рослин <i>Trifolium pratense</i> L.	26
РОЗДІЛ 4. ОЦІНКА ЕКОНОМІЧНІ ЗАТРАТИ НА ФІТОТОКСИКОЛОГІЧНУ ОЦІНКУ ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ ЦИНКОМ ТА МІДДЮ ЗА РЕАКЦІЯМИ КОНЮШИННИ ЛУЧНОЇ	29
ВИСНОВКИ І ПРОПОЗИЦІЇ	31
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	32
ДОДАТКИ	37

ВСТУП

Важкі метали (ВМ) порівняно з іншими компонентами промислових викидів становлять найбільшу загрозу для екосистем. Потрапляючи в навколишнє середовище, вони включаються в біогеохімічний кругообіг, мігрують ланками трофічних ланцюгів, поступово нагромаджуючись в компонентах екосистеми. Особливо турбує забрудненість ВМ рослинницької продукції, яка є ланкою трофічних ланцюгів тварин та людини [1]. Частина ВМ за низьких концентрацій є життєво важливими структурними компонентами рослинної клітини і необхідні для процесів метаболізму, проте у високих концентраціях вони викликають низку порушень фізіологічних та біохімічних процесів [2]. Мідь і цинк належать до есенціальних мікроелементів, проте підвищення їх вмісту в клітині призводить до генерації оксидантного стресу.

Відомо, що за певних умов рослини здатні демонструвати резистентність і адаптивність до впливу важких металів (ВМ), причому різні види рослин по-різному реагують на їхню дію. Адаптація до токсичного впливу ВМ можлива лише в обмеженому діапазоні концентрацій і за сприятливих умов довкілля, коли природні чинники не створюють додаткового стресу [1].

Зазначимо, що ушкодження ВМ однорічних рослин обмежує їх застосування як біосенсорів для виявлення контамінуючих речовин в екосистемах. Використання багаторічних рослин, зокрема бобових, для цих цілей залишається недостатньо вивченим. Тому актуальним є пошук видів рослин, стійких до впливу ВМ, здатних ефективно акумулювати ці елементи, перерозподіляти їх у своїх органах і тканинах, а також продукувати значну біомасу для полегшення збору з забруднених територій [3].

Актуальність теми.

Актуальним є проведення досліджень на рослинах *Trifolium pratense* L. з метою розробки наукових основ постійного багаторічного моніторингу за

метаболізмом ВМ в екосистемах, особливо при вирощуванні сільськогосподарських рослин на техногенно забруднених ґрунтах.

Об'єкт дослідження – реакції рослин конюшини лучної (*Trifolium pratense* L.) на дію важких металів в системі «ґрунт-рослина».

Предмет дослідження – фізіолого-біохімічні адаптаційні реакції рослин конюшини лучної (*Trifolium pratense* L.) за дії підвищеного вмісту Zn^{2+} та Cu^{2+} у середовищі.

Мета роботи: встановити вплив важких металів на рослини *Trifolium pratense* L. та запропонувати оцінку рівня забруднення ґрунтів за реакціями *Trifolium pratense* L.

Для досягнення мети поставлені такі завдання:

- 1) дослідити вплив солей цинку та міді на морфо-фізіологічні показники *Trifolium pratense* L.;
- 2) запропонувати оцінку рівня забруднення ґрунтів за реакціями *Trifolium pratense* L.

Методи дослідження: лабораторні та натурні експерименти, стандартні статистичні методи з використанням пакетів програми «Microsoft Excel, 2010».

Наукова новизна. Проведено комплексні дослідження з визначення впливу (Zn^{2+} та Cu^{2+}) на рослини *Trifolium pratense* L., та отримано дані щодо впливу надлишкових концентрацій солей цинку та міді на проростання насіння і ріст проростків конюшини лучної.

Практична цінність З огляду на встановлену нами високу акумулюючу здатність рослин конюшини до іонів цинку та міді є всі підстави запропонувати конюшину для біологічної очистки техногенно забруднених важкими металами ґрунтів. Отримані нами результати дозволяють запропонувати використовувати посіви *Trifolium pratense* L. протягом багатьох років в ролі біоіндикатора в системі біомоніторингу з метою індикації забруднення навколишнього середовища важкими металами.

Апробація результатів роботи Основні положення кваліфікаційної

роботи представлялися і обговорювалися на XIII Всеукраїнській науково-практичній Інтернет-конференції «Екологія – шляхи гармонізації відносин природи та суспільства»

Структура та обсяг дипломної роботи. Загальний обсяг роботи становить 36 сторінки комп'ютерного тексту. Дипломна робота складається з вступу, 4 розділів, висновків та 1 додатку. Список використаних джерел нараховує 40 джерел.

РОЗДІЛ 1

ВАЖКІ МЕТАЛИ У ҐРУНТАХ ТА РОСЛИНАХ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Джерела забруднення навколишнього середовища важкими металами

До важких металів відносять хімічні елементи з атомною масою більше 40 та густиною понад 5 г/см^3 , які мають властивості металів. До цієї групи відноситься 40 елементів [1].

Важкі метали (ВМ) посідають особливе місце серед забруднювачів екосистем через їх високу токсичність, здатність накопичуватися в організмах у процесі трофічних взаємодій та значну мобільність у природному середовищі [4]. Надходження ВМ у довкілля може відбуватися як природним, так і антропогенним шляхом [5].

До природних джерел ВМ належать процеси вивітрювання гірських порід і мінералів, ерозія ґрунтів, дим від лісових пожеж та метеоритний пил. Антропогенні джерела пов'язані з господарською діяльністю людини, зокрема: високотемпературні виробничі процеси, що супроводжуються промисловими викидами (чорна і кольорова металургія, випал цементної сировини, спалювання твердого та рідкого палива); вивільнення ВМ із відвалів шахт або металургійних підприємств унаслідок дії водних та повітряних потоків; скидання стічних вод; систематичне застосування органічних і мінеральних добрив або пестицидів із вмістом важких металів [6,7].

Як відомо, темпи розсіювання і залучення хімічних елементів у біогенний кругообіг за останні десятиріччя значно зросли, а їх надзвичайно високий вплив на живі організми дає підставу віднести їх до особливо небезпечних забруднювачів біосфери. Це зумовлено тим, що важкі метали характеризуються високою токсичністю за низьких діючих концентрацій, акумулюються в окремих ланках трофічного ланцюга і створюють довготривалу реальну небезпеку існуванню живих організмів [8]. Численні наукові дослідження

доводять, що подальше зростання рівня токсичності середовища призводить до згасання функціонування біологічних систем. Перш за все за умов інтоксикації середовища важкими металами змінюється загальний рівень енергетичного обміну. В певних межах концентрацій токсикантів це призводить до пригнічення темпів росту і швидкості накопичення енергії в організмах [1, 8].

Важкі метали мають здатність легко накопичуватися в ґрунті, але їх виведення може тривати десятки або навіть сотні років. Зокрема, період напіввиведення для Cu становить 310–1500 років, для Zn — 70–150, для Pb — 40–5900, а для Cd — 13–110 років [8]. За досягнення небезпечних концентрацій у ґрунті ці елементи-забруднювачі здатні змінювати його біологічні властивості, а також негативно впливати на ґрунтову біоту, рослини й тварин [9].

Надходження і розподіл ВМ у ґрунтах залежать від їхніх хімічних форм, у яких вони перебувають у материнській породі або потрапляють у ґрунт. Важкі метали, що надходять із атмосферним пилом, найчастіше знаходяться у неорганічній формі — у вигляді оксидів, карбонатів, силікатів, сульфідів і сульфатів [10].

Важливу роль на вміст рухомих форм ВМ у ґрунтах відіграють такі фактори, як вміст гумусу, тип ґрунту та рН водної витяжки ґрунту.

Встановлено, що катіони Міді та Цинку поглинаються більш інтенсивно в кислому середовищі, а Кадмій в лужному. Відмічається, що рухомі форми Міді Кадмію, Стронцію та Барію у кислих ґрунтах стають слаборухомими, а в нейтральних та лужних ґрунтах взагалі нерухомими [9, 11].

Більша частина Zn потрапляє у ґрунт у вигляді важкорозчинних сполук, тоді як Cu надходить у формі хімічно активних речовин, здатних утворювати сполуки з гумусовими кислотами. За даними деяких дослідників, Cu накопичується переважно в алювіальних шарах ґрунту, тоді як Zn — у верхніх перехідних горизонтах на межі з материнською породою [5, 12].

Одним із джерел забруднення ґрунту важкими металами є органічні добрива. Відомо, що їх внесення сприяє підвищенню вмісту таких елементів, як цинк, мідь, залізо, кадмій та свинець [12, 13].

Літературні дані свідчать, що підвищення рН ґрунту до рівня 6–8 сприяє утворенню нерозчинних комплексів міді з фульвокислотами, що призводить до її накопичення в ґрунті до токсичних для біосистем рівнів [1, 14].

У кислих умовах Cu, Ni та Co демонструють значно вищу здатність до міграції. Зниження рН підвищує рухливість Zn у 3,8–5,4 рази, а Cu — у 2–3 рази [15].

Проблема дослідження токсичної дії та видалення важких металів на території Закарпаття є особливо актуальною, оскільки регіон характеризується інтенсивною сільськогосподарською діяльністю. Це передбачає широке застосування мінеральних і органічних добрив, пестицидів та інших агрохімікатів. Значна частина сільськогосподарських угідь області (27%) займає землі з дуже сильною або сильною кислотністю ґрунтового розчину [16].

Відомо, що кислі ґрунти, які не насичені основами (наприклад, підзолисті, дерново-підзолисті, болотні, сірі та бурі лісові), є менш стійкими до різних типів забруднення [9, 17].

Надходження токсикантів до організмів зазвичай відбувається через складні ланцюги: ґрунт–рослина–людина, ґрунт–рослина–тварина–людина, ґрунт–вода–людина, ґрунт–повітря–людина [18, 19].

Аналіз наяних у літературі даних показує, що після аварій на гірничодобувному підприємстві у Бая-Борша забрудненість перевищувала гранично допустимі норми по Cu в 200 разів, по Zn – у 10, Pb – 14, Mg – у 60, Fe – в 20 разів. Як відомо, важкі метали забруднили не лише воду, а й осіли в ґрунтах, на яких населення притисянських територій, вирощує овочі та іншу сільськогосподарську продукцію [20].

Значний вплив на забруднення важкими металами ґрунтів має автомобільний транспорт, так як через територію Закарпаття проходить багато автомагістралей, а це призводить до посиленої дії на екосистеми різних

токсичних речовин, що містяться у викидах автотранспорту [21].

Таким чином, все це обумовлює особливу актуальність вивчення механізмів акумуляції та локалізації ВМ різними організмами й розробки різноманітних методів біологічного очищення ґрунтів.

1.2. Вплив важких металів на фізіологічні процеси рослин

Дослідження численних наукових робіт показують, що важкі метали, залежно від концентрації, впливають на всі фізіологічні та біохімічні процеси рослин. Їхній токсичний вплив часто призводить до пригнічення росту та розвитку рослин [19, 21].

Проростання насіння є важливим етапом органогенезу, від якого в значній мірі залежить подальший ріст і розвиток рослин [9]. Ступінь впливу ВМ на проростання насіння залежить від концентрації металу, його токсичності та тривалості дії. Низькі концентрації іонів ВМ не порушують основні фізіологічні процеси, а надвисокі концентрації повністю пригнічують життєздатність насіння [22].

Дослідження механізмів впливу важких металів на проростання насіння показали, що вони проникають через насінневу оболонку і затримують проростання шляхом впливу на процеси поділу та розтягування клітин. Високі концентрації цинку та міді значно знижують схожість насіння вівса, тоді як низькі концентрації цинку (1:100) сприяють підвищенню відсотка пророщених насінин [20].

Ріст є одним із ключових параметрів, що характеризують реакцію рослин на стрес, а розвиток відображає формування організму або його органів. Ці процеси взаємопов'язані та зазвичай протікають одночасно. Наукові дослідження підтверджують, що ріст і розвиток рослин залежать від концентрації металів, тривалості їх впливу, природи токсиканта, а також біологічних особливостей рослинного виду [23].

Корені є більш чутливими до впливу важких металів, ніж пагони [24]. Багато досліджень зосереджені саме на впливі важких металів на ріст кореневої системи. Корінь відіграє роль першого бар'єра, що обмежує транспорт металів із ґрунту в рослину, виконуючи функцію їх накопичення та детоксикації [25].

Під впливом важких металів спостерігається скорочення довжини головного кореня, зменшення кількості бокових коренів, відмирання кореневих волосків та зниження біомаси коренів. Наприклад, у рослин квасолі і соняшнику під дією кадмію відзначено зменшення довжини і біомаси кореневої системи. Водночас токсична дія важких металів менше пригнічує ріст надземної частини рослин порівняно з кореневою [26].

Дослідженнями було встановлено, що високі концентрації важких металів не тільки інгібують ріст вегетативних органів, але також призводять до зменшення розмірів суцвіть і біомаси плодів, а в деяких випадках рослина може втратити здатність до формування генеративних органів. При збільшенні концентрації іонів у середовищі спостерігається послідовна поява ознак пригнічення рослинного організму: I стадія – гальмування росту; II – хлороз листків; III – некрози асиміляційних органів; IV – відмирання коренів [7, 27].

Вплив важких металів на асиміляційну поверхню рослин

Останнім часом вивченню впливу важких металів на фотосинтез присвячено досить велика кількість праць. Фотосинтез і ріст – важливі фактори, які визначають продуктивність рослинних угруповань. Зменшення швидкості росту і розвитку, порушення важливих фізіологічних процесів, поряд з хлорозом і некрозом, вважають найтипівішими проявами токсичної дії важких металів, які у кожного виду рослин, залежать від видових особливостей [28].

Відомо, що пігментна система багатьох рослин чутлива до повітряних полютантів і тому вміст хлорофілу можна використовувати для біоіндикації забруднення довкілля як окремими токсикантами, так і їхніми комплексами [25]. Аналіз наявних у літературі даних показує, що найбільш інформативним біоіндикаційним показником стану довкілля є співвідношення хлорофілів $a+b$, так як забезпечує нормальне функціонування фотосинтетичного апарату [19].

Встановлено, що за дії високих концентрації важких металів зменшується вмісту зелених пігментів. Наприклад відзначено зниження вмісту хлорофілу *a* і *b* у листках за дії високих концентрацій міді і цинку. Мідь у великих концентраціях сповільнює зв'язування молекул хлорофілів з білками в світлозбиральних комплексах фотосистем. Відомо, що надлишок міді на фізіологічному рівні може призвести до розпаду хлорофілу та каротиноїдів, збільшення проникності мембран [17].

Численними дослідженнями встановлено, що підвищення концентрації металів у клітині, призводять до порушення ультраструктурної організації хлоропластів багатьох сільськогосподарських злакових культур [24], зростання вмісту свинцю викликає зміну ліпідного складу тилакоїдних мембран, а іони міді спричиняють деструкцію системи ламел [23].

Вміст пігментів та їхній стан визначають розвиток і активність фотосинтетичного апарату, а також продуктивність, життєздатність та стійкість рослин. Відомо, що підвищені концентрації ВМ можуть призводити до загальних малоспецифічних фізіологічних та біохімічних змін. Найзагальнішими проявами фітотоксичності іонів важких металів є хлороз та затримка росту і розвитку. Згідно з результатами досліджень головні симптоми отруєння міддю – це мідь-індукований хлороз і вади розвитку кореневої системи.

Залежно від ступеня пошкодження листка В. П. Бессонова [27] виділяла 5 груп.

До першої групи відносяться рослини, які протягом всього вегетаційного періоду не мали помітних пошкоджень листків і зберегли високий ступінь декоративності: бирючина звичайна, лох вузьколистний, бузина чорна, шовковиця біла, троянда собача.

До другої групи відносяться рослини з пошкодженими до 10 % листовими пластинками, декоративність їх знижувалася трохи: айлант високий – пошкодження у вигляді невеликої кількості подовжених коричневих плям по всій поверхні листка, пошкоджене листя обпадає не відразу; абрикоса звичайна

і вишня звичайна – пошкодження у вигляді точкових коричневих плям по всій поверхні листка, а потім отворів, усихання кінчиків листка.

До третьої групи відносяться рослини з пошкодженням листкових пластинок менш ніж на 20 %. У горіха грецького, таволги Вангутта, жимолості татарської виявлені коричневі плями по всій поверхні листка.

До четвертої групи відносяться рослини листкові пластинки яких пошкоджені до 50 %. Типи пошкодження: у берези повислої – коричневі точкові пошкодження листка міжжилковий хлороз, потім буро-коричневі плями по всій поверхні листка; у верби білої – некротичні зміни краю листка, хлороз.

До п'ятої групи відносяться рослини, листки, яких пошкоджені більше, ніж 50 %. Основні типи пошкоджень: клен остролистий – коричневі плями по всій поверхні листка, наскрізні отвори; кінський каштан звичайний - усихання кінчика і країв листка міжжилковий некроз, коричневі смужки по поверхні і краях листка [20].

Значення асиміляційної поверхні в процесі онтогенезу і забезпеченні життєдіяльності рослин були предметом вивчення багатьох дослідників. Приріст органічної маси в значній мірі залежить від ефективності фотосинтетичного апарату та від динаміки росту його розмірів – площі асиміляційної поверхні та тривалості активного функціонування листків.

Забруднення середовища важкими металами призводить до значного підвищення їх концентрації у листках деревних та чагарникових рослин. Дослідженнями встановлено, що підвищення концентрації важких металів у навколишньому середовищі призводить до значного зменшення площі листової пластинки (по відношенню до контролю) [26].

1.3 Еколого-біологічна характеристика *Trifolium pratense* L.

Рід конюшина (*Trifolium* L.) об'єднує близько 300 видів, серед яких є багаторічні й однорічні. У польовому травосіянні поширені вісім видів, з яких лише шість мають певне значення: червона, рожева, біла, багряна, олександрійська і персидська [29].

Конюшина лучна (*Trifolium pratense* L.) багаторічна вологолюбна, невибаглива до тепла, 40–70 см висотою, середньо – і пізньостигла бобова рослина. Добре росте на суходільних, а також на низинних і заплавних луках. Має ярі та озимі різновиди. Стебла мають в середньому 8-9 міжвузлів. Має добре розвинені стержневі чи стержне-мичкуваті корені, які проникають у ґрунт до 100-150 см основна маса яких зосереджена на глибині до 20 см [30].

Згідно даних (Демидась, Галушко, 2018) насіння конюшини лучної проростає за температури повітря 2-3°C, достатньої кількості вологи і температури ґрунту 10-15°C. Проростки з'являються через 7-9 днів після висівання, а за температури 18-20°C – швидше на 1-2 дні. За дії зниження температури мінус 5-8°C проростки гинуть.

Trifolium pratense L характеризується високою урожайністю. Як відомо, за сприятливих екологічних умов та при внесенні фосфорно-калійних добрив забезпечує 50-80 ц/га сіна. Конюшина лучна добре поїдається всіма видами худоби як у сіні, так і зеленій масі [31].

Вегетаційний період до першого укосу на сіно – 70–80 днів, до збирання насіння – 150–160 днів. Урожайність сухої речовини за два укоси 110–120 ц/га, насіння – 4,0–5,0 ц/га. Вміст в сухій речовині протеїну – 18,2–19,2. У польовій сівозміні конюшина лучна відіграє важливе агротехнічне значення, забезпечує ґрунт органічною речовиною та біологічним азотом, поліпшує його структуру, слугує добрим попередником для наступних культур [32].

Конюшина не вибаглива до ґрунтів, але не витримує перезволоження ґрунту і затоплення понад 10 днів. Найприйнятніші для неї ґрунти з помірним водним режимом та нейтральною реакцією середовища, але добре росте на опідзолених ґрунтах і вилугуваних чорноземах, темно-сірих і сірих лісових із слабокислою або нейтральною реакцією. Негативно впливають на конюшину кислі ґрунти [33].

За результатами досліджень [30] конюшина лучна оптимально розвивається при рН 6,0–6,5, накопичуючи при цьому до 300 кг/га азоту в ґрунті і формує врожай насіння до 0,5–0,6 т/га. При рН 4,0–5,0 ця культура

може рости і розвиватись, але при цьому вона накопичує лише 80- 100 кг/га азоту.

Згідно аналізу літературних даних, у світі під конюшиною лучною знаходиться майже 20 млн га. Її вирощують на великих площах у Франції, Англії, США, Канаді, Росії. Як відомо, в Канаді та США конюшина лучна використовується, як основний попередник при вирощуванні оскільки може частково перекрити потребу в азоті за рахунок накопиченої біомаси [23].

В Україні посіви конюшини зосереджені переважно у зоні лісостепу та на Поліссі. Разом із тим, вона досить поширена у передгірних і гірських регіонах Карпат [34].

Вирощування конюшини має важливе агротехнічне значення. Вона накопичує в ґрунті біологічно фіксований азот, завдяки рослинним решткам удобрює ґрунт, покращує його структуру, та є добрим попередником для усіх сільськогосподарських культур. Без належного удобрення поля вона може забезпечити врожайність зерна озимої пшениці на рівні 30-40 ц/га. За дворічну вегетацію конюшина лучна залишає після себе 137-208 кг/га азоту, 48-74 фосфору, 73-109 калію та 400-450 кг/га [31]. Відомо, що вирощування конюшини лучної поліпшує хімічні і фізичні властивості ґрунту, збагачує його азотом і створює сприятливі умови для вирощування озимих культур. Вона може забезпечити врожайність зерна озимої пшениці на рівні 30-40 ц/га навіть без належного удобрення поля [33].

При вирощуванні конюшини лучної в ґрунтозахисних сівозмінах її коренева система сприяє попередженню деградації земель та захищає круті схили від розмивів, а також захищає ґрунт від ерозії [29].

Встановлено, що *Trifolium pratense* L. здатна компенсувати до 70% потреби в азоті саме за рахунок азотофіксації. Зі збільшенням урожайності надземної маси, цей показник може збільшуватись до 85–90% [31].

Завдяки своїй властивості зв'язувати вільний азот з повітря за допомогою бульбочкових бактерій і залишати його в ґрунті, вона є добрим попередником для наступних культур сівозміни. Бульбочкові бактерії, які знаходяться у

ризосфері конюшини лучної, засвоюють молекулярний азот з повітря, а рослини використовують його для формування врожаю. Використання азоту з повітря дає можливість зменшувати обсяги внесення мінеральних добрив, що дозволяє вирішувати екологічні проблеми. Конюшина широко використовується для створення високоврожайних культурних пасовищ [32].

У літературних джерелах відомо, що *Trifolium pratense* L в умовах передгір'я виділяє за період цвітіння 1,281мг нектару, а в гірському поясі – 1,420 мг [34].

У конюшини чітко виражені фітосанітарні якості. Вона оздоровлює ґрунт, зменшує забур'яненість наступної культури в сівозміні, що призводить до зменшення захворювань рослин, підвищення родючості ґрунту та продуктивності сівозміни [30].

РОЗДІЛ 2

УМОВИ І МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Умови проведення досліджень

Ґрунт, що був відібраний на дослідній ділянці НВВ Уманського національного університету садівництва – чорнозем опідзолений. Чорноземи характеризуються крупнопилювато-легкосуглинковим та пилювато-легкоглинистим механічним (гранулометричним) складом. Для них притаманна слабкокисла та нейтральна реакція ґрунтового розчину, вони збагачені поживними речовинами, особливо фосфором та калієм. Величина вмісту гумусу становить 2,5–5,5%. Насиченість основами коливається від 85 до 95%, у їх складі переважає кальцій. На родючість чорноземів опідзолених впливає їх гранулометричний склад та умови зволоження. Бонітет чорноземів опідзолених складає 59–65 балів.

Формування ґрунтів відбувалося під широколистяними лісами, де добре розвинуті трав'янисті покриви. У профілі цих ґрунтів виділяють наступні горизонти: 1) гумусово-елювіальний (35–40 см), грудкувато-зерниста і плитчаста структура; 2) гумусні (80–90 см), збагачені глиною, горіхувато-призматична структура; 3) карбонатний горизонт (з глибини 100–125 см), палево-бурий, призматична структура, з прожилками і твердими карбонатними конкреціями.

Тобто, ґрунт дослідного поля за фізико-хімічними та агрохімічними показниками має достатню високу оцінку.

Клімат Уманського району обумовлений розташуванням близькістю до степової зони помірного поясу. Загалом клімат є помірно континентальним з м'якою зимою і теплим літом.

Середньорічна температура повітря в місті становить близько +8 °С, а мінімальна вона у січні (– 3С), максимальна липні (+22 °С).

Відносна вологість повітря в середньому за рік становить 70 %,

мінімальна вона у травні (55 %), максимальна — у грудні (85 %).

Район межує Маньківським, Христинівським і Тальнівським районами Черкаської області, Теплицьким і Бершадським районами Вінницької, Гайворонським, Благовіщенським, Голованівським та Новоархангельським районами Кіровоградської області.

Територія району знаходиться в межах центральної лісостепової частини України на Придніпровській височині. Поверхня району — це горбоподібне плато, яке розділене густою сіткою річкових долин, балок і ярів.

2.2 Характеристика об'єкту досліджень

Дослідження виконувалися на кафедрі екології та безпеки життєдіяльності Уманського національного університету садівництва.

Об'єктом дослідження обрано багаторічну рослину конюшину лучну (*Trifolium pratense* L.) сорту Спарта, яка належить до роду Конюшина (*Trifolium*) родини Бобових (*Fabaceae*). Вибір цього виду як тест-об'єкта обґрунтований його широким застосуванням у сільському господарстві.

Крім того, конюшина лучна є зручним об'єктом для вивчення тривалого впливу важких металів на агрофітоценози.



Рис. 2.1. *Trifolium pratense* L. — конюшина лучна

В модельних лабораторних і вегетаційних дослідах вивчали вплив різних концентрацій сполук цинку та міді (у формі сульфатів) на проростання, ріст і розвиток об'єкта дослідження.

2.3 Методи дослідження

Вплив солей міді та цинку на проростання насіння та розвиток проростків досліджували в лабораторних умовах у водній культурі. Для експерименту використовували чашки Петрі, у кожену з яких поміщали по 25 насінин. У кожену чашку додавали однаковий об'єм сольового розчину (25 мл). У контрольному варіанті середовищем для пророщування слугувала дистильована вода.

Впродовж дослідження фіксували наступні показники: схожість насіння, довжину стебла і кореня, а також масу проростків, сформованих на 4-й день після висіву. Визначення схожості насіння проводили згідно із загальноприйнятими методиками.

Для дослідження впливу важких металів (цинку та міді) на морфологію листової пластинки конюшини лучної було проведено серію експериментів. Рослини вирощували у квіткових вазонах. У фазі активного галуження та утворення значної кількості листків їх поливали розчинами важких металів із поступовим підвищенням концентрацій до 5, 10, 15 і 30 МДК. Контрольними були рослини, вирощені на ґрунті без додавання важких металів.

Для створення штучного забруднення ґрунту використовували водні розчини солей $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ та $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, враховуючи вміст цинку і міді у кожному розчині. Експеримент проводили з триразовою повторюваністю. Полив рослин здійснювали в міру потреби, використовуючи відстояну дощову воду.

2.4 Охорона праці при проведенні екологічних досліджень в лабораторії

Екологічні дослідження в лабораторії пов'язані з використанням хімічних речовин, обладнання та матеріалів, які можуть становити потенційну небезпеку для здоров'я працівників. Забезпечення охорони праці є важливою складовою організації безпечних умов роботи, спрямованих на попередження травм, професійних захворювань та аварійних ситуацій [35].

При виконанні екологічних досліджень у лабораторії основними небезпеками є:

- Хімічні ризики: контакт із токсичними речовинами, парами кислот, розчинниками та іншими реагентами.
- Фізичні ризики: можливість ураження електричним струмом, механічні травми, опіки при роботі з нагрівальними приладами.
- Біологічні ризики: контакт із потенційно небезпечними мікроорганізмами, які можуть бути присутні у пробах ґрунту, води чи рослин.
- Психофізіологічні ризики: стрес або втома через тривалу концентрацію уваги при роботі з приладами.

Організаційні заходи з охорони праці:

1. Інструктажі

- Проведення вступного, первинного, повторного та цільового інструктажів з охорони праці.
- Ознайомлення працівників із правилами безпечного поводження з обладнанням і реагентами.

2. Організація робочого місця

- Оснащення робочих місць витяжними шафами для роботи з леткими та токсичними речовинами.
- Забезпечення доступу до аптечки, засобів пожежогасіння та аварійного душу.

3. Контроль умов праці

- Регулярна перевірка справності обладнання та засобів індивідуального захисту.

- Контроль рівня освітленості, вентиляції та температури в лабораторії.

Технічні заходи

1. Використання засобів індивідуального захисту (ЗІЗ):

- Захисні окуляри, рукавички, лабораторні халати.
- Респіратори при роботі з леткими речовинами.

2. Безпечна робота з обладнанням:

- Дотримання правил експлуатації електроприладів (нагнітачів, спектрофотометрів, ваг, нагрівальних пристроїв).

- Забезпечення ізоляції електричних мереж та захисту від перевантажень.

3. Робота з хімічними речовинами:

- Зберігання реагентів у спеціально відведених місцях із чітким маркуванням.

- Заборона змішування хімічних речовин без попереднього вивчення їх взаємодії.

- Негайна утилізація відходів хімічних речовин за встановленими правилами.

Санітарно-гігієнічні заходи:

- Регулярне вологе прибирання лабораторії з використанням нейтралізуючих засобів для видалення хімічних забруднень.

- Забезпечення працівників питною водою та засобами особистої гігієни.

- Облаштування окремої зони для зберігання їжі та особистих речей.

Дії у разі аварійних ситуацій

- Хімічні опіки: промивання ураженої ділянки шкіри проточною водою та звернення до лікаря.

- Пожежа: негайне використання вогнегасника або евакуація відповідно до плану дій.
- Ураження електричним струмом: вимкнення джерела струму та надання першої допомоги постраждалому.

Дотримання правил охорони праці під час екологічних досліджень у лабораторії дозволяє мінімізувати ризики для здоров'я працівників і забезпечити безперебійне виконання наукових робіт. Організація безпечних умов праці сприяє підвищенню ефективності досліджень та захисту довкілля [36].

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Вплив сульфату цинку на проростання насіння *Trifolium pratense* L.

Процес проростання насіння виявив значну стійкість до дії важких металів. Під час експериментів щодо впливу солей цинку та міді на схожість насіння *Trifolium pratense* L. було встановлено, що насіння цього виду виявляє високу стійкість до дії металів [37].

Дослідження вказують на вплив поливу розчинами цинку різних концентрацій на ріст насіння на ранніх стадіях розвитку. Згідно з даними на рисунках 3.1 та 3.2, проростки у специфічному варіанті з 1 МДК сульфату цинку з'являлися вже на четвертий день експерименту, тоді як в контрольній групі на той момент насіння просто набухало та почало проростати. Проростки відзначалися суттєво більшими розмірами, ніж в контролі та в усіх інших варіантах. Найменша кількість проростків була в специфічному варіанті з концентрацією металу 10 МДК.

Аналогічні дослідження проводилися з використанням колоїдного розчину цинку та міді для вивчення проростання насіння вівса. Високі концентрації цинку та міді (1:1 і 1:10) призводять до низької схожості насіння вівса, у той час як низькі концентрації цинку (1:100) сприяють збільшенню кількості схожих насінин. Доведено стимулюючий вплив сульфату купруму на розвиток рослини вівса у водній культурі, але при перевищенні "граничного" значення виявляється протилежний (інгібуючий) ефект. Дослідження показали, що катіони важких металів проникають через насінневу оболонку та призводять до затримки проростання насіння [38, 39].

Аналіз впливу сульфату цинку на схожість насіння конюшини (рис. 3.3) показав стимулюючий ефект порівняно з контролем за концентрацій від 1 до 5 МДК.



Рис. 3.1. *Trifolium pratense* L. (5 МДК моль/л $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)



Рис. 3.2. *Trifolium pratense* L. – контроль (дистильована вода)

Показники проростання та динаміка схожості насіння *Trifolium pratense* L. під дією солей цинку представлені і на рис. 3.3.

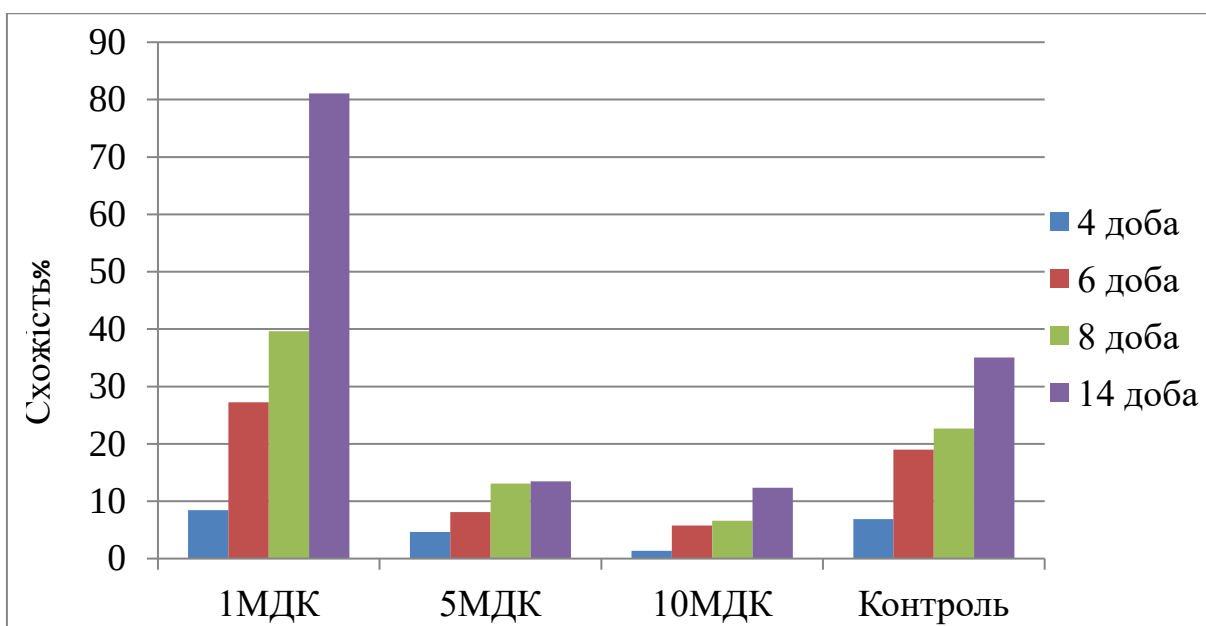


Рис. 3.3. Динаміка схожості насіння *Trifolium pratense* L. за дії $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Як видно з рисунку, найбільший відсоток схожості насіння (80%) виявили за дії концентрації солі 1 МДК порівняно з контролем (вирощування на дистильованій воді). За дії сполуки при концентрації $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, що становила від 1–5 МДК спостерігали пригнічення процесів проростання досліджуваного насіння, схожість – 8%.

На восьму добу експерименту спостерігалася різка активізація процесів проростання, яка тривала до 14–20 доби, після чого насіння вже більше не проростало, а ті проростки, що утворилися починали загнивати. Найбільша інтенсивність проростання спостерігалася, як і раніше, у контрольному варіанті та при концентрації солей цинку (1 МДК), найменше проростків було у варіанті з найвищою із усіх досліджуваних концентрацій міді (10 МДК), а пригнічення процесів проростання спостерігалася починаючи з 5 МДК.

3.2. Вплив сульфату міді на проростання насіння *Trifolium pratense* L.

Як і в контролі, так і в досліді проростки починали з'являтися на четвертий день від початку експерименту. Що стосується інтенсивності

проростання насіння, то отримані результати залежали від використаних концентрацій.



Рис. 3.4. *Trifolium pratense* L. (5 МДК моль/л $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)



Рис. 3.5. *Trifolium pratense* L. – контроль (дистильована вода)

На відміну від цинку, сполуки міді викликали більше пригнічення проростання насіння. Такий ефект спостерігався у конюшини лише у випадках дослідів з високою концентрацією солей міді. У деяких випадках дія низької концентрації сполук міді спричиняла статистично достовірне стимулювання росту (на 14–30%) деяких проростків.

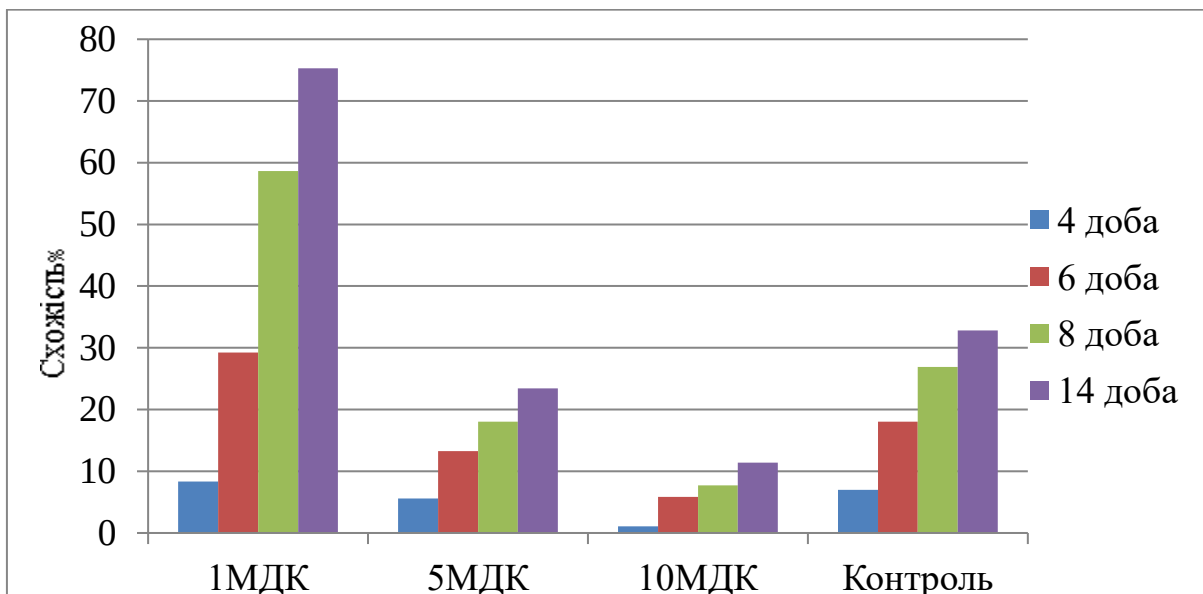


Рис. 3.6. Динаміка схожості насіння *Trifolium pratense* L. за дії $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Наші отримані результати показують, що залежно від концентрації сульфату цинку та міді відбувається різний вплив на проростання насіння конюшини. Концентрації в межах 5–10 МДК майже завжди викликають сильне пригнічення. Стимулювання проростання насіння відзначалося при концентрації 1 МДК, і воно було досить важливим порівняно з контролем у варіанті експерименту з солями цинку.

З літературних джерел відомо, що високі концентрації важких металів в чистих розчинах солей мають сильніший вплив на рослини, ніж ті концентрації при рості рослини в ґрунті. Це відбувається тому, що в ґрунті присутні аніони, які взаємодіють з іонами металів, утворюючи нерозчинні солі [15].

3.3 Вплив солей цинку та міді на ріст і розвиток рослин *Trifolium pratense* L.

Відомо, що одним з показників взаємодії сукупності фізіолого-біохімічних реакцій і продуктивності організму рослин загалом є ріст, який можна використовувати для характеристики прояву фітотоксичності металу. Вплив на рістові процеси у рослин конюшини залежав від концентрації солей

та тривалості їх впливу. На початкових стадіях зовнішній вигляд та морфологічна будова рослин конюшини залишались незмінними. Дослідження показали, що довжина проростків залежить від вмісту сульфату цинку та міді у ґрунті (табл. 3.1). В тих вазонах, де концентрація досліджуваних солей не перевищувала 1 МДК, розміри рослин були більшими, ніж у контрольній групі, проте при концентрації 10 МДК було спостережено значне пригнічення лінійного росту проростків конюшини. Проростки з'являлися з запізненням, були слабкими та меншими за розмірами, і з часом припиняли свій розвиток.

Найбільш чутливим органом рослинного організму до дії різного роду ксенобіотиків (в тому числі й сполук важких металів) є коренева система рослинного організму, тому що вона, в першу чергу, є одним з органів депонування останніх [40]. Внаслідок дослідження впливу різних концентрацій сульфату цинку та міді позитивний вплив на інтенсивність коренеутворення проявлявся у варіантах від 1 до 5 МДК досліджуваних солей. Найбільш позитивний вплив спостерігався у варіанті з 1 МДК. У варіантах вище за 5 МДК спостерігалось пригнічення кореневої системи, порівняно з контролем, що свідчить про пригнічуючий вплив солей цинку та міді в даних концентраціях на розвиток кореневої системи рослини конюшини лучної (табл. 3.1).

Відносний приріст помітно знижувався при концентрації 10 МДК. Концентрація 1 МДК викликала достовірне збільшення кореня у порівнянні з контролем. Коріння є першим бар'єром на шляху транспорту металів із ґрунту в рослину, що бере на себе основну функцію по їх акумуляції та детоксикації. Під впливом важких металів зменшуються довжина головного кореня та кількість бокових коренів, відмирають кореневі волоски, знижується біомаса коренів [37].

Таблиця 3.3

Вплив солей цинку та міді на довжину стебла та кореня

Варіант експерименту	Довжина стебла, см			Довжина кореня, см		
	M	S _x	C _v ,%	M	S _x	C _v ,%
ZnSO ₄ ·7H ₂ O 10МДК	6,95	2,18	31,34	6,14	1,43	23,31
5МДК	18,92	3,42	18,11	9,14	2,41	26,51
1МДК	20,60	2,70	13,11	11,7	1,03	8,80
CuSO ₄ ·5H ₂ O 10МДК	13,46	2,69	19,91	6,12	1,74	29,03
5МДК	15,23	1,99	13,08	7,66	2,56	33,1
1МДК	24,22	5,58	23,07	9,28	3,13	33,72
Контроль	15,58	3,81	24,83	7,88	2,92	37,10

Наші дослідження показали, що найсильніший негативний вплив на ріст проростків спричиняли високі рівні цинку у ґрунті. Важливо відзначити, що цей метал більш сильно пригнічує розвиток надземної частини рослин, ніж кореневої системи проростків. Коефіцієнт варіації для стебла склав 31,3%, для кореня – 23,3%. Вплив солей міді призводить до більш суттєвого пригнічення розвитку кореневої системи проростків, ніж надземної частини. Найвищі коефіцієнти варіації відзначалися (від 19,9% до 29,03%) при забрудненні ґрунту міддю у концентраціях, що дорівнюють 10 максимально допустимим концентраціям.

Результати наших досліджень свідчать, що між впливом іонів цинку і міді на ростові параметри рослин конюшини простежується суттєва різниця (табл. 3.1). Найбільші зміни довжини пагонів та коренів проростків конюшини виявлені за умов впливу іонів цинку. Незначні зміни біометричних показників відбувалися при дії іонів міді.

РОЗДІЛ 4

ЕКОНОМІЧНІ ЗАТРАТИ НА ФІТОТОКСИКОЛОГІЧНУ ОЦІНКУ ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ ЦИНКОМ ТА МІДДЮ ЗА РЕАКЦІЯМИ КОНЮШИНИ ЛУЧНОЇ

Фітотоксикологічна оцінка забруднення ґрунту важкими металами, такими як цинк та мідь, є необхідним етапом екологічного моніторингу. Використання конюшини лучної (*Trifolium pratense*) для таких оцінок забезпечує точні результати завдяки її високій чутливості до забруднювачів. Однак проведення таких досліджень потребує фінансових витрат, пов'язаних із підготовкою, проведенням експериментів та аналізом отриманих даних.

Для оцінки витрат на дослідження враховано наступні складові:

1. Підготовка досліду:

- Придбання насіння конюшини.
- Підготовка ґрунту та вазонів.
- Придбання солей цинку ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) та міді ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

2. Проведення досліду:

- Внесення розчинів важких металів у ґрунт.
- Полив, догляд за рослинами та контроль умов.

3. Аналіз результатів:

- Вимірювання росту, біомаси та інших параметрів.
- Лабораторний аналіз ґрунту.

4. Інші витрати:

- Оплата праці персоналу.
- Енергозатрати (освітлення, обладнання).

3. Розрахунок витрат

Для дослідження було закладено експеримент на 15 вазонах (по 5 вазонів для кожної концентрації Zn та Cu: 1, 5, 10 МДК, а також контроль).

Таблиця 4.1.

Економічні витрати на фітотоксикологічну оцінку

Стаття витрат	Кількість/обсяг	Ціна за одиницю, грн	Загальна сума, грн
Насіння конюшини (<i>Trifolium pratense</i>)	50 г	150 грн/50 г	150
Солі $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ та $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1 кг кожної солі	200 грн/кг	400
Вазони	20 шт	50 грн/шт	1 000
Лабораторний аналіз	10 проб (Zn, Cu)	200 грн/проба	2 000
Оплата праці персоналу	1 місяць	5000 грн/місяць	5000
Енергозатрати	1 місяць	1 000 грн	1000
Усього			9550

Загальні витрати на проведення фітотоксикологічної оцінки забруднення ґрунту цинком та міддю за реакціями конюшини лучної становлять 9550 грн. Основними статтями витрат є оплата праці персоналу (52,4%), та лабораторний аналіз проб ґрунту (20,9).

Фітотоксикологічна оцінка із використанням конюшини лучної є відносно доступним методом моніторингу забруднення ґрунтів важкими металами. Економічні витрати, пов'язані з такими дослідженнями, можна оптимізувати шляхом підвищення ефективності підготовчих та лабораторних процесів. Отримані дані сприятимуть розробці ефективних заходів з екологічної реабілітації техногенно забруднених ґрунтів.

ВИСНОВКИ І ПРОПОЗИЦІЇ

1) Встановлено концентраційну залежність дії сульфатів цинку та міді на рослини конюшини. Концентрації 5-10 МДК майже завжди спричиняють пригнічення. Стимулювання проростання насіння проявлялось при концентрації 1 МДК, причому воно було досить значним порівняно з контролем у варіанті експерименту з солями цинку.

2) Встановлено, що зміни довжини пагонів та коренів проростків конюшини виявлені за умов впливу іонів цинку були більшими. Коефіцієнт варіації для стебла –31,3%, для кореня –23,3%. Незначні зміни біометричних показників відбувалися при дії іонів міді (коефіцієнти варіації 19,9–29,03).

3) За низьких концентрацій цинк і мідь проявляли значний стимулюючий ефект, а негативний вплив спостерігався тільки за перевищення 5МДК (500мг/кг для Cu^{2+} та 1500мг/кг для Zn^{2+}).

4) Одержані дані є свідченням того, що підвищення діючих концентрацій сульфатів цинку та міді спричиняє істотне гальмування не тільки лінійного росту, а й ростових процесів в цілому.

Отримані нами результати дозволяють запропонувати використовувати посіви *Trifolium pratense* L. протягом багатьох років в ролі біоіндикатора в системі біомоніторингу з метою індикації забруднення навколишнього середовища важкими металами та використовувати її для біологічної очистки техногенно забруднених важкими металами ґрунтів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бессонова, В. П. (1991). Пасивний моніторинг забруднення середовища важкими металами з використанням рослин. Український ботанічний журнал, 48(2), 77–80.
2. Головач, О. М., Козловський, В. І., Демків, О. Т. (2004). Забруднення сільськогосподарських ґрунтів важкими металами та характер їхнього перерозподілу у рослинах кукурудзи. Вісник Львівського університету. Серія біологічна, 38, 205–210.
3. Гомонай, В. І., Богоста, А. С., Ходаковський, В. С., Лобко, В. Ю. (2009). Динаміка зміни вмісту важких металів в ґрунтах м. Ужгорода. Науковий вісник Ужгородського національного університету: Хімія, 21-22, 139–142.
4. Гомонай, В. І., Богоста, А. С., Ходаковський, В. С., Лобко, В. Ю. (2010). Забруднення ґрунтів деяких населених пунктів Закарпатської області. Науковий вісник Ужгородського національного університету: Хімія, 23, 73–76.
5. Гончар, Л. М. (2016). Дія колоїдного розчину міді та цинку на проростання насіння вівса. Вісник Полтавської державної аграрної академії, 4, 45–48.
6. Грабовський, О. В. (2001). Важкі метали та їх вплив на екологічну ситуацію в Закарпатській області. Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія, 9, 30–32.
7. Бессонова, В. П. (1992). Вплив важких металів на пігментну систему листка. Український ботанічний журнал, 49(2), 63–66.
8. Бессонова, В. П. (2006). Вплив важких металів на фотосинтез.
9. Бессонова, В. П. (1991). Пасивний моніторинг забруднення середовища важкими металами з використанням рослин. Український ботанічний журнал, 48(2), 77–80.
10. Бессонова, В. П., Зайцева І. А. (2008). Вміст важких металів у листі

дерев і чагарників в умовах техногенного забруднення різного походження. Питання біоіндикації та екології, 62–77.

11. Бессонова, В. П., Іванченко, О. Є., Пономарьова, О. А. (2015). Одночасний вплив важких металів (Pb^{2+} і Cd^{2+}) та засолення на стан асиміляційного апарату і вміст пігментів фотосинтезу пажитниці багаторічної. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія, 23(1), 15–20.

12. Валерко, Р. А. (2008). Забруднення важкими металами ґрунтового покриву і фітоценозів на території м. Житомира та прилеглих до нього агроєкосистем. Вісник Державного агроєкологічного університету, 1, 356–366.

13. Лихолат, Ю. В., Мищик, Л. П. (2000). Рівень акумуляції важких металів у рослинах *Poa angustifolia* L. в штучних біогеоценозах. Питання степовоглісознавства та лісової рекультивації земель. (С. 25–28). Дніпропетровськ: ДНУ.

14. Пасічний, Г. В., Сердюк, С. М. (2002). Динаміка важких металів у ґрунтовому покриві у зв'язку з техногенним забрудненням оточуючого середовища (на прикладі м. Дніпропетровська). Екологія і природокористування. Наукові праці Інституту проблем природокористування та екології НАН України. (С. 111–117). Дніпропетровськ.

15. Corey, R. B., King, L. D., Lue-Hing, C., Fanning, D. S., Street, J. J., Walker

16. J. M. (1987). Effects of sludge properties on accumulation of trace elements by crops. Land application of sludge: Food chain implications. Lewis Publishers, Chelsea, 25–51.

17. Dang, Y. P., Edwards, D. G., Dalai, R. C., Tiller, K. G. (1993). Identification of an index tissue to predict zinc status of wheat. Plant Soil, 154, 161–167.

18. Слюсарчук, І. І., Дмитрук, Ю. М. (2004). Особливості профільного розподілу важких металів у сірих лісових ґрунтах агроєкосистем західного лісостепу. Науковий вісник Чернівецького університету: Біологія, 193, 160–167.

19. Случик, І. Й., Стефурак, В. П. (2000). Акумуляція важких металів у пагонах видів роду *Populus* L. в умовах урбанізованого середовища. Науковий вісник Чернівецького університету: Біологія, 77, 51–59.
20. Deng, H., Z. H. Ye, M. H. Wong (2004). Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environmental pollution*, 132 (1), 29–40.
21. Коць, С. Я., Петерсен Н. В (2005). Мінеральні елементи і добрива в живленні рослин. Київ: Логос.
22. Кургак, В. Г. (1995). Бобові трави для сіяних лучних травостоїв. *Тваринництво України*, 10, 27–29.
23. Бойко, Н. В., Чонка, І. І., Чонка, І. А. (2000). Радіологічне обстеження трави і молока в Закарпатській області України та визначення в них вмісту деяких важких металів. Науковий вісник Ужгородського державного університету: Біологія, 8, 151–154.
24. Бойко, Н. В., Чонка, І. І., Ніколайчук, В. І. (2000). Динаміка валового вмісту деяких важких металів в ґрунтах Закарпатської області. *Гігієна населених місць*, 40, 120–125.
25. Вакерич, М. М., Ніколайчук, В. І. (2009). До вивчення шляхів зниження фітотоксичної дії важких металів на розвиток рослин. Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія, 25, 59–61.
26. Бова, В. М., Гратилю, О. Д. (2008). Добір багаторічних і однорічних трав при створенні пасовищного конвеєра для великої рогатої худоби і овець в Присивашші. *Корми і кормовиробництво*, 63, 76–81.
27. Запоріжжя: Юлік-ЛТД Антипова, Л. К. (2012). Ріст і розвиток багаторічних бобових трав на півдні України. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*, 1, 120–125.
28. Бабич, А. О. (1996). Кормові і лікарські рослини в XX-XXI століттях. Київ: Аграрна наука.
29. Грикун, О. А., Антипова, Л. К., Кривогуз, В. С. (2008). Ентомокомплекс у посівах люцерни. *Карантин і захист рослин*, 4, 16–19.

30. Гришко, В. М., Сіліч, І. О. (2015). Деякі особливості формування насіння *Taraxacum officinale* Wigg. в умовах різного рівня забруднення. Вісник Львівського національного університету: Серія біологічна, 69, 45–56.
31. Гуральчук, Ж. З. (2006). Фітотоксичність важких металів та стійкість рослин до їх дії. Київ: Логос.
32. Демидась, Г. І., Галушко, І. В. (2018). Кормова продуктивність конюшини лучної залежно від технології вирощування в правобережному лісостепу. Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Агрономія, 286, 11–18.
33. Забарна, Т. А. (2010). Вплив факторів інтенсифікації на формування листостеблової та кореневої маси рослин конюшини лучної. Наукові основи землеробства у зв'язку з потеплінням клімату: Матеріали доповідей міжнародної науково-практичної конференції. (С. 139–141). Миколаїв.
34. Забарна, Т. А. (2011). Симбіотична продуктивність конюшини лучної залежно від факторів інтенсифікації в польовому кормовиробництві. Корми і кормовиробництво, 70, 65–70.
35. Катренко Л.А., Кіт Ю.В., Пістун І.П. Охорона праці. Курс лекцій. Практикум: Навч. посіб. Суми: Університетська книга, 2009. 540 с.
36. Жидецький В.Ц. Основи охорони праці. Підручник – Львів: УАД, 2006 336 с
37. Muthuchelian, K. (1988). Differential action of Cu^{2+} and Cd^{2+} on chlorophyll biosynthesis and nitrate reductase activity in *Vigna Sinesis* L. Indian J. Plant Physiol., 41(2), 169–173.
38. Versieren, L., Evers, S., Elgawag, H., Asard, H., Smolders, E. (2017). Mixture toxicity of copper, cadmium, and zinc to barley seedlings is not explained by antioxidant and oxidative stress biomarkers. Environmental Toxicology and Chemistry, 36, 220–230.
39. Бессонова, В. П. (1992). Вплив важких металів на пігментну систему листка. Український ботанічний журнал, 49(2), 63–66.
40. Маєвська, С. М., Кардаш, О. Р., Демків, Л. О., Лобачевська, О. В.

(2000). Особливості поглинання іонів важких металів мохом *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) Т. Кор. та його реакція на їх токсичну дію. Вісник Львівського університету. Серія біологічна, 26, 134–141.

ДОДАТКИ