

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА
ШЕВЧЕНКА**

ННЦ «Інститут біології та медицини»

Кафедра екології та зоології

Завідувач кафедри

Протокол № ____ засідання кафедри

від " ____ " _____ 20__ р.

Біотестування гербіцидів за допомогою гнойових черв'яків *Eisenia fetida*

Кваліфікаційна робота бакалавра
денної форми навчання
за спеціальністю 101 Екологія
Демиденко Юлії Павлівни

Науковий керівник від кафедри
кандидат біологічних наук, доцент
Балан Павло Георгійович

Оцінка захисту роботи

Київ – 2025 р.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВООЗ- Всесвітньої організації охорони здоров'я.

ЄОКЗР – Європейська і Середземноморська організація карантину і захисту рослин.

ЄС – Європейський Союз.

ЗЗР – засоби захисту рослин.

ООН – Організація Об'єднаних Націй.

ЮНЕП – Програма ООН з довкілля (англ. UNEP, United Nations Environment Programme).

НОЕС- концентрація без спостережуваного ефекту.

ЛОЕС- найнижча спостережувана концентрація.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1. ЕКОЛОГІЧНІ НАСЛІДКИ ЗАСТОСУВАННЯ ГЕРБІЦИДІВ ТА ПІДХОДИ ДО ЇХНЬОГО БІОТЕСТУВАННЯ.....	6
1.1. Вплив гербіцидів на довкілля, зокрема на здоров'я людини і свійських тварин.	6
1.2. Необхідність тестування гербіцидів перед їх виходом на ринок.	11
1.3. Методи біотестування гербіцидів за кордоном та в Україні.	15
1.4. Застосування для біотестування гнойових червів <i>Eisenia fetida</i>	20
1.5. Ринок гербіцидів в Україні.	25
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	26
2.1. Характеристика тест-системи	26
2.2. Умови утримання тварин	26
2.3. Тестова субстанція	28
2.4. Процедура	29
2.5. Статистичний аналіз	30
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	31
3.1. Летальність	31
3.2. Поведінкові реакції та сублетальні ефекти дощових червів <i>Eisenia fetida</i> при дії досліджуваних гербіцидів.....	34
3.3. Зміна маси тіла	35
3.4. Токсичність досліджених гербіцидів	37
ВИСНОВКИ	40
ДЖЕРЕЛА	42

ВСТУП

В умовах інтенсивного розвитку аграрного сектору застосування гербіцидів є невід'ємною складовою технологій вирощування сільськогосподарських культур, спрямованих на забезпечення їх високої продуктивності та ефективний контроль за бур'янами. Однак, зростаюча стурбованість щодо потенційних негативних наслідків використання цих хімічних сполук для здоров'я людини та стану екосистем, особливо ґрунтового середовища, визначає нагальну актуальність всебічної оцінки їхньої екологічної безпеки на етапі передринкового дослідження [1].

У контексті пошуку ефективних інструментів екологічної оцінки токсичності різних хімічних речовин біотестування з використанням чутливих біологічних індикаторів набуває особливого значення. Серед різноманіття тест-об'єктів дощові черв'яки виду *Eisenia fetida* (яких також називають гнойовими черв'яками або червоними каліфорнійськими черв'яками) демонструють високу чутливість до наявності забруднювачів у ґрунті, їм притаманна чіткість фізіологічних і поведінкових реакцій на токсичний вплив, до того ж їх зручно утримувати в лабораторних умовах. Зазначені характеристики *Eisenia fetida* зумовлюють їхнє активне використання у дослідженнях, спрямованих на оцінку якості ґрунтів та впливу на них агрохімікатів різної природи [2].

Актуальність. В умовах інтенсивного розвитку аграрного сектору і широкого застосування гербіцидів для забезпечення високої продуктивності сільськогосподарських культур існує необхідність всебічної оцінки їхньої екологічної безпеки перед виходом на ринок. Це забезпечить зниження ризику негативних наслідків використання цих пестицидів для здоров'я людини та стану екосистем

Метою є оцінка впливу двох різних гербіцидних препаратів на життєздатність та особливості поведінки дощових черв'яків *Eisenia fetida*. На

основі отриманих даних заплановано провести порівняльний аналіз їхнього токсичного потенціалу та сформулювати рекомендації щодо оптимізації умов застосування досліджуваних гербіцидів з метою мінімізації ризиків для довкілля.

Для досягнення поставленої мети передбачається вирішення наступних **завдань**:

1. Дослідити ефективність використання гнойових черв'яків *Eisenia fetida* для біотестування токсичності гербіцидів.

2. Використовуючи у якості тест-організмів гнойових черв'яків *Eisenia fetida* дослідити токсичність двох нових гербіцидних препаратів (Сліст Тірбо, СЕ та Моссімокс, РК), які планують використовувати в Україні.

3. На основі проведених досліджень надати рекомендації щодо можливості практичного використання досліджених гербіцидних препаратів (Сліст Тірбо, СЕ та Моссімокс, РК) в Україні.

РОЗДІЛ 1

ЕКОЛОГІЧНІ НАСЛІДКИ ЗАСТОСУВАННЯ ГЕРБІЦИДІВ ТА ПІДХОДИ ДО ЇХНЬОГО БІОТЕСТУВАННЯ

1.1. Вплив гербіцидів на довкілля, зокрема на здоров'я людини і свійських тварин.

Постійне зростання чисельності населення нашої планети спричинило необхідність збільшення виробництва продуктів харчування. Щоб не відставати від попиту на продовольство відбувається інтенсифікація сільського господарства, що призвело до різкого зростання використання пестицидів. Аналіз глобального споживання пестицидів, проведений Л. Тостадо та С. Боллмор, виявив, що десятьма найбільшими їхніми споживачами є Китай, США, Аргентина, Таїланд, Бразилія, Італія, Франція, Канада, Японія та Індія. Сполучені Штати Америки є безумовним лідером за обсягами використання пестицидів, споживаючи понад 400 тис. тон на рік, друге місце за цим показником займає Бразилія [1].

Пестициди становлять собою хімічні сполуки різного походження, які застосовують у сільському господарстві та інших галузях для знищення та контролю чисельності фітопатогенних організмів, які негативно впливають на продуктивність сільськогосподарських культур та шкідників харчових продуктів: комах, грибів, бур'янів тощо. Незважаючи на високу ефективність, пестициди характеризуються широким спектром токсичної дії, що поширюється не лише на види-мішені, а й на інші організми, зокрема, на людину, свійських тварин, а також на агроценози та природні екосистеми в цілому [3].

Одним з видів пестицидів є гербіциди, які людина застосовує для боротьби з бур'янами. Гербіциди, знищуючи або пригнічуючи ріст та розвиток шкідливих видів рослин, підвищуючи тим самим продуктивність сільськогосподарських культур, покращуючи якість продукції, зменшуючи

витрати часу на трудомістке ручне видалення бур'янів, а також зменшуючи ерозію ґрунту через потребу в меншій культивуванні та обробітку ґрунту. Разом з тим гербіциди здатні справляти негативний вплив на навколишнє середовище та здоров'я людини. Наприклад, встановлений прямий зв'язок між впливом гербіцидів та виникненням у людей, що зазнали такого впливу, різних захворювань, зокрема онкологічних. У зв'язку з цим під час роботи з гербіцидами слід дотримуватися необхідних заходів безпеки [4].

Залишки гербіцидів, як біологічно активних речовин, можуть персистувати у ґрунті протягом тривалого часу, впливаючи на наступні сівозміни. Резидуальна дія гербіцидів проявляється у зміні стану культурних рослин, фізико-хімічних властивостей ґрунту та рівня його забрудненості. Процеси адсорбції, розкладання та міграції гербіцидів у ґрунті визначаються комплексом абіотичних та біотичних факторів, включаючи ґрунтово-кліматичні умови, агротехнічні прийоми, властивості самого препарату та біологічні особливості культивованих рослин [5].

Гербіциди, як ксенобіотики, справляють пряму токсичну дію на автотрофні організми, порушуючи їх фізіологічні процеси. Непрямий вплив гербіцидів на гетеротрофні організми проявляється через порушення функціонування трофічних мереж. Кумулятивні властивості гербіцидів обумовлюють залежність їх токсичності не лише від концентрації, але й від тривалості експозиції. Біоаккумуляція гербіцидів у трофічних ланцюгах призводить до їх значної концентрації на вищих трофічних рівнях, що становить загрозу для біорізноманіття та здоров'я людини [6].

Гербіциди, легко розчиняючись у воді, проникають у різні ґрунтові горизонти, де негативно впливають на біорізноманіття ґрунтових екосистем. Внаслідок застосування гербіцидів спостерігають значне зниження чисельності та різноманіття корисних мікроорганізмів (бактерій, грибів, протозоїв), мікро- та макрофауни (дощових черв'яків, комах, панцирних кліщів тощо), які відіграють ключову роль у процесах ґрунтоутворення та підвищення родючості ґрунтів. Порушення балансу між різними

представниками ґрунтової біоти призводить до зниження швидкості розкладання органічних речовин, погіршення структури ґрунту та зменшення його здатності утримувати воду і розчини поживних для рослин речовин. Крім того, гербіциди, потрапляючи в трофічні ланцюги, становлять серйозну загрозу для здоров'я людини, спричиняючи гострі та хронічні отруєння [3].

Фосфорорганічні гербіциди, які широко застосовують у сільському господарстві, справляють значний вплив на ґрунтові екосистеми. Ці сполуки, потрапляючи в ґрунт, негативно впливають на різноманітні процеси, що відбуваються в ньому. Зокрема, пригнічується активність мікроорганізмів, які беруть участь у розкладанні органічних речовин, що призводить до накопичення токсичних сполук та зниження вмісту гумусу. Крім того, фосфорорганічні гербіциди можуть негативно впливати на популяції дощових черв'яків та інших безхребетних тварин, що відіграють важливу роль у формуванні структури ґрунту та забезпеченні його родючості [7].

Токсичність гербіцидів для біологічних об'єктів є багатофакторною залежністю, що визначається комплексом їх фізико-хімічних властивостей активних інгредієнтів, дозуванням, шляхами експозиції та тривалості впливу. Важливу роль відіграють індивідуальні особливості організмів, на які впливають гербіцидів, зокрема, вік, стан здоров'я та генетична схильність.

Отже, токсичність гербіцидів може визначатися такими факторами:

1. Активні інгредієнти. Хімічна структура та фізико-хімічні властивості активних інгредієнтів гербіцидів визначають їхню токсичність, біоаккумулятивний потенціал та стійкість до розпаду в довкіллі.

2. Доза та тривалість експозиції. Токсичний ефект гербіцидів має дозозалежний характер. Хронічна експозиція сублетальних доз може призводити до розвитку віддалених наслідків, таких як мутагенез, канцерогенез та тератогенез.

3. Шляхи експозиції. Гербіциди можуть проникати в організм різними шляхами: через шкіру, дихальні шляхи та травний тракт. Абсорбція,

розподіл, та хімічні перетворення гербіцидів в організмі визначають їхню токсикокінетику.

4. Вразливі групи людей: діти, вагітні жінки, літні люди та особи з послабленим імунітетом є більш чутливими до токсичної дії гербіцидів.

5. Заходи безпеки. Для мінімізації ризиків, пов'язаних із використанням гербіцидів, необхідно дотримуватися заходів безпеки, передбачених інструкціями виробників та законодавством країн, в яких вони застосовуються [8].

Неселективна дія пестицидів призводить до негативного впливу на широкий спектр нецільових організмів, включаючи людину. За даними ВООЗ та Програми ООН з навколишнього середовища (ЮНЕП), щорічно мільйони людей зазнають гострої інтоксикації гербіцидами, а сотні тисяч помирають внаслідок їх хронічної експозиції [9].

Механізми токсичної дії гербіцидів різноманітні і залежать від конкретної речовини та умов експозиції. Найчастіше шляхи проникнення в організм людини – дермальний, інгаляційний та пероральний. Тривала експозиція гербіцидів може призводити до розвитку гострих отруєнь з характерною симптоматикою, а також до розвитку хронічних захворювань [10].

Таблиця 1.1

Хронічні захворювання людини при дії гербіцидів [10].

Гербіцид	Хронічні захворювання	Симптоми
2,4-Д	Рак дихальних шляхів, рак жовчного міхура, рак підшлункової залози	Хронічний кашель, біль у грудях, лихоманка, втрата маси тіла та втома, болісні відчуття в носоглотці та грудній клітці, задишка, втрата апетиту, біль та спазми у животі, свербіж шкіри, жовтяниця, важкість у животі, темна сеча, згустки крові у сечі
Гліфосат	Рак молочної залози	Ущільнення у ділянці грудної клітки, біль та

Гербіцид	Хронічні захворювання	Симптоми
		набряки у грудях, аномалії шкіри грудей та сосків, зміна їхнього розміру або форми, запалення грудей
Пендіметалін	Рак прямої кишки, рак підшлункової залози та рак легень	Біль у животі, зміна випорожнень, наприклад закрепи, діарея, темно-бордова або яскраво-червона кров у калі, темна сеча, згустки крові у сечі, хронічний кашель, біль у грудях, лихоманка, втрата ваги та втомлюваність, больові відчуття в носоглотці та грудях, задишка
ЕРТС	Лейкемія, рак товстої кишки	Лихоманка, втома, слабкість, збільшення лімфатичних вузлів, кровотеча, біль або дисфункція опорно-рухового апарату, часті або важкі інфекції, біль у животі, зміна випорожнень, наприклад діарея, закрепи, темно-бордова або яскраво-червона кров у калі, незрозуміла втрата ваги
Трифлуралін	Рак товстої кишки	Біль у животі, зміна випорожнень, наприклад закрепи, яскраво-червона кров у калі, діарея, незрозуміла втрата ваги, слабкість або втома
Симазин	Рак простати	Часте та ускладнене сечовипускання, кров у сечі, лихоманка, головний біль, новоутворення в животі, біль у нижній частині живота, у спині, стегнах, плечах або інших частинах тіла, втома, незрозуміла втрата ваги
Дикамба	Рак товстої кишки та рак легень	Біль у животі, порушення нормального випорожнення, наприклад діарея, закрепи, яскраво-червона кров у калі, незрозуміла втрата ваги, слабкість або втома; хронічний кашель, біль у грудях, лихоманка, больові відчуття в носоглотці та грудній клітці, задишка
Метола-хлор	Рак легень	Хронічний кашель, лихоманка, втомлюваність, незрозуміла втрата ваги, больові відчуття в носоглотці та грудній клітці, задишка, нудота, блювання, кровохаркання
Паракват	Рак жовчного міхура, рак легень та рак шлунку	Втрата апетиту, біль і спазми в животі, незрозуміла втрата ваги, свербіж шкіри, жовтяниця; хронічний кашель, біль у грудях, лихоманка, втома, больові відчуття в носоглотці, задишка, розлади травлення або відчуття ситості після споживання невеликих порцій їжі, печія, блювота з кров'ю або без неї
Імідазолінон	Рак сечового міхура	Втрата апетиту, відчуття важкості, біль і спазми в животі, незрозуміла втрата ваги, свербіж шкіри, жовтяниця

Отже, результати численних досліджень демонструють причинно-наслідковий зв'язок між експозицією гербіцидів та розвитком широкого спектру захворювань, включаючи онкологічні (рак головного мозку, молочної залози, передміхурової залози, сечового міхура, товстої кишки та ін.), нейродегенеративні (хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона), репродуктивні (безпліддя) та інші хронічні захворювання. Незважаючи на негативний вплив на здоров'я людини, людина не може відмовитись від їхнього широкого застосування з огляду на забезпечення продовольчої безпеки. Крім того, гербіциди використовують для боротьби з поширенням інвазійних видів рослин [9].

1.2. Необхідність тестування гербіцидів перед їх виходом на ринок.

У контексті глобальних викликів, пов'язаних із забезпеченням продовольчої безпеки та збереженням якості довкілля, питання раціонального використання пестицидів набуває особливої актуальності. Сучасний ринок сільськогосподарської продукції диктує високі вимоги до її якості та безпечності, що, в свою чергу, стимулює розробку нових, більш безпечних та ефективних засобів захисту рослин. Зростаюче використання пестицидів нового покоління з низькими нормами застосування висуває нові виклики для систем контролю їх безпеки. Незважаючи на наявність державних випробувань, існуючі методи оцінки ризиків часто не дозволяють адекватно оцінити потенційну шкоду, яку можуть завдати ці препарати. Для забезпечення безпеки споживачів та збереження якості довкілля необхідно розробити нові підходи до оцінки токсичності пестицидів, які враховували б особливості їхньої дії та дозволяли б виявляти віддалені наслідки [10].

Не зважаючи на значний внесок гербіцидів у розвиток сільського господарства, їхнє широке застосування стикнулося з низкою проблем. Розвиток резистентності бур'янів до гербіцидів, забруднення довкілля,

занепокоєння щодо їхнього впливу на здоров'я людей спонукають до пошуку більш ефективного підходу до впливу на бур'яни, який поєднує хімічні методи з іншими [11].

Гербіциди здатні впливати на рослини на молекулярному рівні, блокуючи ферменти, які відповідають за синтез незамінних амінокислот. Ці амінокислоти є будівельними блоками білків, які виконують різноманітні функції в рослині. Наприклад, такі гербіциди, як гліфосат, блокують активність ферменту, який бере участь у синтезі ароматичних амінокислот, необхідних для утворення багатьох важливих сполук. Інші гербіциди пригнічують синтез амінокислот з розгалуженим ланцюгом, що також призводить до порушення росту і розвитку рослин. Гербіциди, впливаючи на різноманітні біохімічні процеси в рослинних клітинах, викликають їх загибель. Однією з поширених мішеней для гербіцидів є тубулін – білок, що бере участь у формуванні мікротрубочок. Пригнічення синтезу або функціонування тубуліну порушує процес мітозу, що унеможливорює поділ клітин. Інша група гербіцидів інгібує фотосинтез, блокуючи транспорт електронів у фотосистемах або руйнуючи пігменти, необхідні для цього процесу. Різноманітність хімічних класів гербіцидів (піридини, бензойні кислоти, триазини тощо) зумовлює широкий спектр їхньої дії на рослинні організми [12].

Встановлено, що основними причинами забруднення довкілля гербіцидами є:

- порушення правил їхнього застосування: неправильне дозування, обробка в несприятливих погодних умовах, недотримання заходів безпеки;
- використання стійких препаратів: гербіциди, що довго розкладаються в довкіллі, створюють тривалу загрозу;
- недостатня обізнаність користувачів: брак знань про властивості гербіцидів та їх вплив на довкілля;

- відсутність або неефективність систем моніторингу за застосуванням гербіцидів: неможливість своєчасно виявити та усунути джерела забруднення [13].

Сучасні агротехнології, засновані на інтенсивному використанні агрохімікатів та повній елімінації бур'янів, створюють значні загрози для біорізноманіття агроценозів. Внаслідок цього порушуються важливі екосистемні функції, такі як регуляція чисельності шкідників їх природними ворогами, запилення культурних рослин комахами та підтримання родючості ґрунту. Ці негативні наслідки призводять до значних економічних втрат для аграріїв та загалом підривають стабільність агроценозів [14].

Тестування засобів захисту рослин є комплексним процесом, який включає в себе не тільки оцінку біологічної активності препарату, але й аналіз його впливу на агроценоз та довкілля в цілому. Оцінка ефективності пестицидів спрямована на:

- кількісну оцінку користі від застосування гербіцидів: визначення ступеня зменшення чисельності популяції шкідників, бур'янів, збудників хвороб, та, відповідно, зменшення пошкодження сільськогосподарських культур;
- підтвердження властивостей, заявлених виробниками: перевірка відповідності фактичної ефективності засобу захисту рослин інформації, зазначеній в інструкції виробника препарату;
- ідентифікацію негативних наслідків: виявлення можливих фітотоксичних ефектів, негативного впливу на корисних комах та інші компоненти агроценозу;
- оптимізацію використання: визначення оптимальних доз, строків та способів застосування засобу захисту рослин .

У багатьох країнах оцінка біологічної ефективності засобів захисту рослин є частиною процедури реєстрації або патентування препарату. Компанії, які подають продукт на реєстрацію, повинні надати дані про його ефективність при захисті відповідних видів сільськогосподарських культур.

Обґрунтування запиту даних про ефективність того чи іншого препарату полягає в тому, що орган, який проводить його реєстрацію, повинен запобігати появі на ринку пестицидів неефективних засобів захисту рослин або препаратів, шкідливих для довкілля [15].

Процес реєстрації пестицидів у країнах Європейського Союзу передбачає проведення комплексної оцінки ризиків, пов'язаних з їхнім використанням. Кожна активна речовина, що входить до складу пестициду, а також її синергисти та антидоти підлягають ретельному науковому дослідженню [16].

Оцінка безпеки пестицидів включає в себе:

- визначення токсикологічних властивостей: дослідження гострої та хронічної токсичності, мутагенності, канцерогенності та інших потенційних шкідливих ефектів для здоров'я людини;
- оцінку впливу на довкілля: аналіз потенційних негативних наслідків для ґрунту, водних ресурсів, повітря та біорізноманіття;
- визначення залишків пестицидів у продуктах харчування: встановлення допустимих рівнів їх залишків у харчових продуктах;
- для отримання дозволу на використання пестициду заявник повинен надати докази того, що при дотриманні встановлених умов застосування препарат не становить собою значного ризику для здоров'я людей, тварин та довкілля.

Після реєстрації пестициду дозвіл на його застосування підлягає періодичному перегляду. Це необхідно для того, щоб врахувати нові наукові дані про оцінку застосування такого препарату, а також зміни в умовах його використання [16].

1.3. Методи біотестування гербіцидів за кордоном та в Україні.

Хімічні методи аналізу застосування пестицидів, незважаючи на свою важливість, мають певні обмеження при оцінці стану довкілля. Їхня чутливість часто недостатня для виявлення низьких концентрацій забруднювачів. Крім того, хімічні методи не дозволяють оцінити сумарний токсичний ефект суміші речовин, оскільки токсичність багатьох сполук може змінюватись в залежності від умов середовища та взаємодії з іншими речовинами [17].

Пестициди, як біологічно активні речовини, можуть негативно впливати на фізіологічні процеси та поведінку ґрунтових безхребетних тварин, що відіграють ключову роль у кругообігу речовин та потоках енергії в агроєкосистемах.

Біоіндикація доповнює традиційні фізико-хімічні методи моніторингу, надаючи більш інтегровану оцінку впливу забруднення на екосистеми. Використання організмів-біоіндикаторів дозволяє оцінити не лише концентрацію забруднювачів, але й їхній вплив на біоту. Основною перевагою біоіндикації є можливість виявлення сублетальних ефектів забруднювачів, які не завжди виявляються фізико-хімічними методами [18].

Біоіндикація є ефективним інструментом для оцінки антропогенного впливу на екосистеми. Цей метод базується на аналізі складу та чисельності організмів, які використовують у ролі біоіндикаторів. Як біоіндикатори обирають види, найбільш чутливі до дії досліджуваних факторів.

За допомогою біоіндикації виявляють і кількісно оцінюють зміни в біологічних системах, спричинені антропогенними навантаженнями. На відміну від біоіндикації біотестування – це визначення експериментальним шляхом впливу різних чинників, як окремих, так й їхнього комплексного впливу на живі організми, які чітко на них реагують. Такі організми називають тест-організмами або тест-об'єктами [19]. Дослідження такого впливу проводять шляхом фіксації змін різних показників (морфологічних,

анатомічних, біохімічних, поведінкових тощо) у тест-організмів порівняно з контрольними у стандартних лабораторних умовах.

Реакцію біоіндикаторів на дію забруднювачів порівнюють з контрольною групою, яка перебуває в незабрудненому середовищі. Наприклад, для оцінки екологічного стану водойм часто використовують водних безхребетних, таких як дафнії та молюски, а також деяких видів риб. Їхні поведінкові реакції та фізіологічні показники слугують індикаторами якості води [19]. Для оцінки екологічного стану ґрунтових ценозів часто застосовують різних представників дощових черв'яків, мікроартропод (панцирних кліщів, колембол) тощо [20].

Біоіндикація та біотестування є взаємодоповнюючими методами оцінки екологічного стану середовища. Якщо біоіндикація дозволяє оцінити довготривалий вплив забруднення на екосистему за допомогою аналізу структурних змін у біоценозах, то біотестування фокусується на визначенні гострої токсичності забруднювачів в конкретний момент часу. Обидва методи мають свої переваги та обмеження, тому їхнє спільне використання забезпечує більш повну та достовірну оцінку якості довкілля [21].

Біотестування – це експериментальний метод, що дозволяє оцінити гостроту та хронічність токсичного впливу пестицидів на ґрунтову фауну, а також виявити потенційні ефекти сублетальних доз [22]. Біотестування, що проводиться в стандартних лабораторних умовах, також дозволяє визначити та оцінити вплив фізичних, хімічних або комбінованих факторів на живі організми шляхом кількісного аналізу змін біологічних показників у тестових організмів порівняно з контрольною групою [23].

Біотестування використовують для оцінки екологічного ризику шляхом проведення експериментів, які дозволяють:

- прогнозувати потенційні негативні наслідки впливу хімічних речовин на живі організми та екосистеми, а також визначати безпечні рівні їх використання;

- оцінювати реальний стан забруднення довкілля та його вплив на біоту [24].

Методи біотестування є традиційним універсальним інструментом для оцінки токсичності як природних, так і стічних вод. Вони дозволяють виявити як гострі, так і хронічні токсичні ефекти забруднювачів на різноманітні організми, що робить їх незамінними для проведення екологічного моніторингу та контролю якості питної води. Методи біотестування активно використовують і у сучасних дослідженнях негативного впливу агрохімікатів на агроєкосистеми як інтегральний метод оцінки їхнього стану. Цей підхід дозволяє врахувати комплексний вплив факторів середовища на живі організми, оскільки фізіологічні процеси в них залежать як від їхніх біологічних особливостей, так і від умов зовнішнього середовища [23].

Чутливість біотестування безпосередньо залежить від біологічних особливостей тест-об'єктів. Численні дослідження, спрямовані на виявлення видів з найбільшою чутливістю до дії різних груп токсичних речовин, дозволяють оптимізувати методи біотестування для виконання конкретних завдань. Поняття чутливості організмів до дії токсичних речовин має як якісний, так і кількісний аспекти. Якісно чутливість характеризує здатність організму реагувати на вплив хімічних сполук, тоді як кількісно вона визначається порогом токсичної дії та вираженістю відповідної реакції. Порівняння чутливості різних організмів до дії тих чи інших пестицидів дозволяє визначити найбільш вразливі ланки екосистеми [25].

Питання, пов'язані з доступом на ринок засобів захисту рослин та їхніх діючих речовин у країнах ЄС, регламентуються положеннями Регламенту Європейського Парламенту та Ради ЄС. Ключовим етапом реєстрації засобів захисту рослин є проведення досліджень їхньої біологічної ефективності в різних агроєкологічних умовах. Методологія таких досліджень визначається стандартами ЄОКЗР, а за їх відсутності – національними нормативними

документами, рівень вимог яких має бути не нижчим за європейські стандарти [26].

Регуляторні заходи ЄС у сфері засобів захисту рослин сприяють розвитку інновацій в агрохімічній галузі. Ранні стадії доклінічних досліджень, передбачених чинним законодавством, дозволяють оцінити ефективність, безпеку та селективність нових препаратів, мінімізуючи ризики, пов'язані з їхнім подальшим застосуванням. Передреєстраційні випробування засобів захисту рослин проводяться акредитованими лабораторіями відповідно до міжнародних стандартів GLP та GEP, а також національних регуляторних вимог. Починаючи з ранніх стадій розробки, проводять польові дослідження, що дозволяють всебічно схарактеризувати нові препарати та оптимізувати їхнє застосування в сільському господарстві [27].

Для отримання достовірних результатів у токсикологічних дослідженнях необхідно забезпечити належні умови утримання та підготовки біологічних тест-об'єктів. Перед використанням в експериментах тест-об'єкти – певні види тварин або рослин, що щойно надійшли до лабораторії, повинні бути ізольовані та піддані карантину. Особин, в яких виявили ознаки захворювання або загинули, виключають з експерименту та утилізують відповідно до встановлених процедур. На момент початку експерименту тест-об'єкти мають бути фізіологічно стабільними та не мати патологій, які могли б вплинути на результати дослідження.

У токсикологічних дослідженнях як тест-об'єкти широко використовують представників різних екологічних груп: водні організми, ґрунтові безхребетні та наземні тварини. Вибір конкретних видів залежить від мети дослідження та властивостей речовини, яку випробовують [28].

Серед водоростей найчастіше застосовують представників зелених (з родів *Scenedesmus*, *Selenastrum*, *Chlorella*), діатомових (з родів *Skeletonema*, *Navicula*) водоростей та ціанобактерій (з родів *Anabaena*, *Synechococcus*). З числа риб найбільш поширеними тест-об'єктами є даніо реріо (*Danio rerio*),

гольян звичайний (мересниця річкова; *Phoxinus phoxinus*), короп звичайний (*Cyprinus carpio*), медака японська (*Oryzias latipes*), гупі (*Poecilia reticulata*) та форель райдужна (*Salmo trutta*). Серед рослин використовують як представників однодольних (жито (рід *Secale*), пшениця (рід *Triticum*), ячмінь (рід *Hordeum*), овес (рід *Avena*), так і дводольних (гірчиця (рід *Sinapis*), редька (рід *Raphanus*), салат (рід *Lactuca*)) культур. Всі біологічні тест-системи повинні бути сертифіковані та акліматизовані до умов дослідження для забезпечення достовірності отриманих результатів [29].

Для оперативної оцінки фітотоксичності ґрунтів широко застосовують біотестування на основі насіння вищих рослин. Вибір видів рослин (салат, просо, редька, конюшина, пшениця) обумовлений їхньою фізіологічною пластичністю та чутливістю до дії токсичних речовин. Оцінка фітотоксичності ґрунтів здійснюється за такими показниками, як схожість насіння, енергія проростання та темпи росту проростків. Перевагами рослинних тест-систем є їхня доступність, низька вартість та можливість стандартизації методик [30].

Для оцінки токсикологічних ефектів забруднювачів на вищих трофічних рівнях застосовують методи біоіндикації та біотестування з використанням ґрунтових безхребетних [30]. При проведенні біоіндикації ранніми сигналами про деградацію ґрунту є зміни в структурі та чисельності популяцій ґрунтових безхребетних, а також зміни у їх видовому різноманітті. Стенобіонтні види, з обмеженою екологічною валентністю, є більш чутливими до змін умов середовища і тому часто використовуються в біоіндикаційних дослідженнях. Вибір конкретних тест-об'єктів залежить від типу забруднення та характеристик ґрунту [31]. При виборі конкретного тест-об'єкту враховують і те, що різні стадії онтогенезу можуть демонструвати різний рівень стійкості до токсичних впливів [30].

Серед ґрунтових безхребетних особливо перспективними для біоіндикації забруднень є такі представники жуків, як ковалики, туруни, стафілініди, а також мокриці та диплоподи. Їхня висока чутливість до змін

умов середовища, широкий спектр трофічних зв'язків та відносна простота виявлення роблять їх цінними інструментами для оцінки екологічного стану різних екосистем. Дослідження, проведені в аридних зонах, підтвердили високу інформативність при використанні як біоіндикаторів тарганів та їхніх личинок [32].

1.4. Застосування для біотестування гнойових черв'яків *Eisenia fetida*.

Головною метою токсикологічних досліджень є визначення максимально допустимої концентрації речовини, яка не призводить до появи негативних ефектів у тест-об'єктів. Серед тварин в якості тест-об'єктів досить часто використовують певних представників малощетинкових черв'яків (олігохет): дощових черв'яків та енхітреїд (рис. 1.1). Їхня чутливість до антропогенного впливу обумовлена тісним контактом з ґрунтовим середовищем та включенням забруднювачів у трофічні ланцюги [30,31].



Рис.1.1. Статевозріла особина гнойового черв'яка *Eisenia fetida*: цей вид часто використовують у біотестуванні (<https://www.biaslabs.co.uk/species/eisenia-fetida/>)

Олігохети, зокрема дощові черви, набувають все більшого значення як модельні організми в біотестуванні, оскільки дозволяють оцінювати токсичність різноманітних забруднювачів [2]. Такі представники ґрунтової мезофауни, як дощові черви та багатоніжки, завдяки своїй тісній адаптації до ґрунтових умов, є ідеальними об'єктами і для проведення біоіндикації. Зокрема, їхній життєвий цикл та фізіологічні процеси тісно пов'язані з властивостями ґрунту [2].

Дощові черви є одними з найпоширеніших біоіндикаторів у дослідженнях екологічного стану ґрунтів тому, що їхня висока чутливість до змін умов середовища мешкання робить їх незамінними інструментами для оцінки впливу антропогенних факторів на ґрунтові екосистеми. При проведенні біоіндикації за допомогою дощових червів, як правило, аналізують такі показники, як чисельність популяцій, виживаність особин, стан покривів тіла та інтенсивність метаболічних процесів. У дослідженнях забруднених ґрунтів додатково вивчають швидкість заглиблення червів у ґрунт як показник їхньої поведінкової реакції на стресові умови [33]. Активна участь дощових червів у функціонуванні трофічних мереж наземних екосистем, висока біомаса та чутливість до змін умов середовища мешкання роблять їх ефективними об'єктами для біоіндикації забруднення ґрунтів [34].

Для оцінки токсичного впливу хімічних речовин на дощових червів застосовують низку стандартних методів, таких як контактний тест, артизольний тест та тест на штучному субстраті. Кожен з цих методів має свої специфічні особливості. Контактний тест дозволяє оцінити лише дермальну токсичність, тоді як артизольні та ґрунтові тести забезпечують більш комплексний аналіз, включаючи оцінку як дермальної, так і пероральної токсичності [34].

Гербіциди можуть впливати на структуру та функції угруповань ґрунтових організмів двома способами:

- безпосередньо на такі ґрунтові організми, як мікроорганізми та безхребетні тварини;
- опосередковано, змінюючи склад і продуктивність рослинності.

Встановлено, що інтенсивне використання гербіцидів призводить до зниження чисельності популяцій дощових черв'яків в ґрунті. Дощові черв'яки, у свою чергу, можуть впливати на стійкість пестицидів у ґрунті, переміщуючи їх у глибші шари або накопичуючи у своїх тканинах. Тим самим, дощові черв'яки беруть участь у процесах самоочищення ґрунтів. Гербіциди можуть спричинити у дощових черв'яків такі негативні ефекти, як порушення репродуктивних функцій, а також зміни в поведінці, що проявляються, зокрема, у зменшенні швидкості руху та зміні глибини мешкання у ґрунті (рис. 1.2) [7].



Рис.1.2. Один з показників, який враховують при проведенні біотестування – вплив на репродуктивний потенціал дощових черв'яків (<https://www.biotechnologiebt.it/study/oecd-tg-222-earthworm-reproduction-test-eisenia-fetida-eisenia-andrei/>)

Метод біотестування ґрунтів з використанням дощових черв'яків базується на аналізі виживання та поведінкових реакцій цих безхребетних при контакті з забрудненим ґрунтом у порівнянні з контрольною групою [36-

40]. Короткочасне біотестування (скринінг) передбачає експозицію дощових черв'яків у тестованому ґрунті протягом максимум двох діб. За цей період оцінюють як загальну виживаність організмів, так і їхню активність у субстраті. Критерієм гострої токсичності вважають загибель щонайменше 50% тест-об'єктів у дослідному зразку порівняно з контролем. Такі поведінкові реакції, як швидкість закопування в ґрунт, також є важливими індикаторами токсичності. Відсутність закопування в ґрунт та активне пересування по поверхні субстрату свідчать про негативний вплив забруднювачів на тест-організми [35].

Переваги короткочасного біотестування наступні: висока чутливість методики, її надійність, простота виконання, економічна ефективність та добра кореляція з довготривалими тестами на репродуктивну функцію тест-об'єктів. Цей метод широко застосовують для попередньої оцінки токсичності ґрунтів та відбору оптимальних субстратів для культивування дощових черв'яків [35].

Довготривале біотестування тривалістю до 30 діб використовують для оцінки впливу хронічної токсичності ґрунту на популяції дощових черв'яків. Цей метод дозволяє виявити шкідливий вплив забруднювачів на виживаність та репродуктивну функцію цих безхребетних [36]. Виживаність тест-об'єктів визначають шляхом підрахунку кількості особин, що залишилися живими на певних етапах проведення експерименту та після його закінчення. Плодючість популяції оцінюють за середньою кількістю ювенільних особин (включаючи еквівалент коконів) у перерахунку на одну дорослу особину, що вижила [36].

Встановлено, що дощові черви, як ключові компоненти ґрунтової фауни, є чутливими біоіндикаторами забруднення ґрунту гербіцидами. Встановлено, що зміна їхньої ростової активності під впливом гербіциду ацетохлору може свідчити про порушення екологічного балансу в ґрунті [37]. Інтенсивність розмноження зменшується зі збільшенням концентрації цього гербіциду, так само, як і зменшення середньої біомаси дощових черв'яків [38].

Комплексна оцінка токсичного впливу гербіцидів на дощових черв'як передбачає аналіз змін на різних рівнях організації цих тварин: від молекулярного до організмового. Визначення активності ферментів, таких як ацетилхолінестераза та глутатіон-S-трансфераза, дозволяє оцінити біохімічні реакції, що лежать в основі токсичного ефекту. Крім того, аналіз гістологічних препаратів та вивчення поведінкових реакцій дощових черв'як доповнюють картину аналізу і дозволяють зробити висновок про загальний стан організму [7].

Чисельні дослідження однозначно доводять, що гербіциди можуть завдавати значної шкоди популяціям дощових черв'як, включаючи порушення фізіологічних функцій організму та зростання рівня смертності. Враховуючи ключову роль цих організмів у підтриманні родючості ґрунтів, такі ефекти можуть мати серйозні негативні наслідки для функціонування агроєкосистем. Токсичність гербіцидів для дощових черв'як залежить від багатьох факторів, включаючи вид гербіциду, його концентрацію та особливості ґрунту [45-40]. Для оцінки ризиків, пов'язаних із забрудненням ґрунту гербіцидами, часто використовують такі види дощових черв'як, як *Eisenia fetida* та *Eisenia andrei*. Це зумовлене їхньою високою чутливістю до впливу різних забруднювачів, що робить їх незамінними в екотоксикологічних дослідженнях [39].

Тому з початку 1980-х років *Eisenia fetida* та *Eisenia andrei* стали стандартом при проведенні біотестування для оцінки токсичності пестицидів в Європі. В дослідженнях статевозрілих особин цих видів піддають впливу різних концентрацій пестицидів або їхніх формуляцій протягом 14 днів. Як субстрат найчастіше використовують фільтрувальний папір або штучний ґрунт, що відповідає стандартам OECD. Ці тести дозволяють визначити летальні та сублетальні дози пестицидів, а також оцінити їхній вплив на поведінку та репродуктивну функцію цих дощових черв'як. Отримані дані є важливими для розробки нормативних документів щодо використання різних пестицидів [40].

Незважаючи на значний потенціал використання дощових черв'яків як тест-об'єктів та біоіндикаторів стану довкілля, їхнє масштабне застосування у подібних дослідженнях в Україні залишається недостатнім [41].

1.5. Ринок гербіцидів в Україні.

Сьогодні, незважаючи на досить великий обсяг виробництва засобів захисту рослин, Україна є значною мірою імпортозалежною: більша частина цієї продукції закуповується за кордоном. Однак, зважаючи на те, що Україна є аграрною країною, слід приділяти більше уваги забезпеченню сільгоспвиробників пестицидами вітчизняного виробництва.

Асортимент засобів захисту рослин в Україні надзвичайно широкий. Домінуючими на ринку пестицидів є гербіциди, які складають близько 48% від загальної кількості цих препаратів. За ними йдуть фунгіциди (33%), інсектициди та акарициди (19%), а також родентициди (менше 1%). Таке різноманіття пов'язане з широким спектром шкідників та збудників хвороб, які уражають сільськогосподарські культури [43].

Під час російсько-української війни фермери значно скоротили закупівлі фунгіцидів (-13%), інсектицидів (-16%) та регуляторів росту рослин (-18%). У той же час, закупівлі гербіцидів зросли на 10% у вартісному вираженні. Це пов'язано зі значним зростанням ціни на цей вид пестицидів, яка зросла майже вдвічі. Слід зазначити, що попит на гербіциди є стабільним, оскільки боротьба з бур'янами, які суттєво знижують продуктивність культурних рослин, є необхідною умовою для отримання високих врожаїв.

Окрім попиту на продукцію та цін на неї, змінюється і структура регіональних закупівель. За оцінками аналітиків, на вітчизняне виробництво ЗЗР припадає лише до 10% ринку. Наразі на ринку домінують великі транснаціональні компанії, такі як Syngenta, Bayer та BASF, на які припадає близько 50% частки ринку ЗЗР [44].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Характеристика тест-системи

Дослідження проводили на базі лабораторії екотоксикології Наукового центру превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л. І. Медведя МОЗ України.

Для проведення дослідів використовували дощових черв'яків *Eisenia fetida*. Тест-організми були надані співробітниками лабораторії екотоксикології. До експерименту дощових черв'яків утримували у стандартних лабораторних умовах для адаптації [45]. Перед початком тестування організми адаптували протягом 24 годин до умов штучного ґрунту, який не містив досліджуваних речовин. Перед розміщенням у тестові ємності, дощових черв'яків ретельно промивали водою, підсушували та зважували на аналітичних вагах (використано електронні лабораторні ваги AXIS BTU2100) з точністю до 0,01 г. Для дослідження відбирали здорових особин віком 6-10 місяців з добре розвиненим пояском. Середня маса черв'яків становила 500-634 мг (у попередньому експерименті) та 492-710 мг (в основному дослідженні).

2.2. Умови утримання тварин

Дощові черви утримувались у лабораторних умовах в лабораторії екотоксикології Наукового центру превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України до початку тестування. Перед початком тестування черв'яків адаптували протягом 24 годин у штучному ґрунті (без досліджуваної речовини). Всіх черв'яків перед дослідженням промивали проточною водою, акуратно просували

паперовим рушником і зважували на вагах по 10 екз., після чого обережно переносили на поверхню штучного ґрунту. Загалом при дослідженні кожного з гербіцидів було проведено 3 дослідження: два попередніх та один основний тест. За весь період експерименту загалом було використано 640 черв'яків, по 200 при проведенні попереднього тесту та 240 при проведенні основного. Досліди проводили у періоди з 01.05.2024 р. по 15.05.2024 р. та з 16.08.2024 р. по 25.08.2024 р. для препаратів Моссімокс, РК та Сліст Тірбо, СЕ відповідно.

Дощові черви перед початком тестування мали здоровий вигляд з добре розвиненим пояском. Приблизний вік особин становив 6 – 10 місяців. Середня маса особини була в межах 500 – 634 мг (попереднє тестування) та 492 – 710 мг (основне тестування).

Для проведення експерименту використовували пластикові контейнери об'ємом 1 л, які заповнювали 750 г штучного ґрунту. Субстрат готували шляхом ретельного змішування в строго визначених пропорціях: 10% сухого, тонко подрібненого сфагнового торфу (рН 5,5-6,0), 20% каолінової глини та 70% промислового піску. Отриману суміш зволожували дистильованою водою до вологості 35%, що відповідає максимальній вологоутримуючій здатності цього субстрату.

Протягом 14-денного експерименту здійснювали регулярний моніторинг основних фізико-хімічних параметрів штучного ґрунту. Зокрема, щодня вимірювали рівень рН за допомогою рН-метра Н199121 «Hanna Instruments» та вологість за допомогою вимірювача вологості ґрунту «МГ-44». Вимірювання проводили на початку експерименту, на 7-й та 14-й день.

Дослідження проводили з використанням кліматичної камери «Climatic Chambers C Series», для забезпечення стабільних кліматичних умов у досліді протягом 14 днів. Температура повітря становила +22 °С, вологість повітря – 40 %, тривалість освітлення – 24 години впродовж доби.

2.3. Тестова субстанція

Об'єктом тестування стали 2 гербіциди. Сліст Тірбо, СЕ становив собою однорідну рідину бурштинового кольору зі специфічним запахом. Згідно із сертифікатом якості, препарат містить S-метолахлор у концентрації 320,0 г/л та тербутилазин – 201,1 г/л, що дещо перевищує номінальні значення (312,5 г/л та 187,5 г/л відповідно).

За даними літературних джерел, летальна концентрація 50 % (LC_{50}) для дощових черв'яків при 14-денній експозиції становить понад 141,7 мг/кг ґрунту для тербутилазину та 950 мг/кг ґрунту для S-метолахлору [46-49].

Тестові суміші були підготовлені безпосередньо перед початком тестування. Як розчинник для наважки препарату використовували дистильовану воду.

Для виготовлення тестових сумішей з препаратом Сліст Тірбо, СЕ, безпосередньо перед дослідом, був приготовлений маточний розчин з концентрацією 1000 мг/л. Аліквоту (точно відмірену кратну частину зразка (об'єм розчину) для аналізу, яка зберігає властивості основного зразка) маточного розчину переносили в необхідний об'єм води (до 100 мл), розрахований для зволоження штучного ґрунту, і вносили в дослідні контейнери з 750 г штучного ґрунту та ретельно перемішували.

Моссімокс, РК, є однорідною прозорою рідиною жовтуватого кольору зі специфічним запахом, властивим компонентам, що входять до складу препарату. Згідно із сертифікатом якості вміст діючої речовини в препараті (імазамокс) становив 41,3 г/л. Відповідно до літературних даних [46] щодо гострої токсичності діючої речовини, яка входить до складу препарату Моссімокс, РК, встановлено: LC_{50} імазамоксу для черв'яків (14 днів) становила > 901 мг/кг ґрунту.

Для виготовлення дослідних сумішей з препаратом Моссімокс, РК, безпосередньо перед дослідом був приготовлений маточний розчин з

концентрацією 1000 мг/л. Аліквоту маточного розчину переносили в необхідний об'єм води (до 100 мл), розрахований для зволоження штучного ґрунту, і вносили в дослідні контейнери з 750 г штучного ґрунту та ретельно перемішували.

2.4. Процедура

Дослідження проводили відповідно до вимог OECD 207 (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals «Earthworm, Acute Toxicity Test») [45-50], ISO-Guideline 11268-1:1993 «Soil quality – effect of pollutants on earthworm (*Eisenia fetida*) – Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate» [47].

З метою визначення токсикологічного профілю гербіциду та встановлення діапазону концентрацій, що індукують токсичні ефекти, було проведено попереднє дослідження. Експериментальні умови попереднього тестування реплікували умови основного експерименту. Для оцінки токсичності препарату було обрано чотири концентраційні ряди: 1, 10, 100 та 1000 мг/кг сухого ґрунту. При виборі концентрацій препарату для основного тесту враховували результати попереднього тесту.

Вплив різних концентрацій гербіциду на дощових черв'яків вивчали в основному експерименті. Для цього було обрано п'ять концентраційних рядів препарату (60, 125, 250, 500 та 1000 мг/кг сухого штучного ґрунту), кожен з яких був представлений чотирма реплікатами по 40 особин дощових черв'яків. Досліди проводили в ємностях, заповнених 750 г штучного ґрунту, який зволожували тестовими розчинами гербіциду або дистильованою водою (контроль).

Для оцінки впливу досліджуваної речовини на дощових черв'яків було проведено експеримент, що включав контрольну та дослідну групи тварин. В кожну експериментальну ємність поміщали по 10 попередньо зважених

особин дощових черв'яків. Ємності накривали перфорованими кришками для підтримання оптимальної вологості ґрунту. Спостереження проводили на 7-му та 14-ту добу експерименту, фіксуючи реакцію організмів на механічні подразники (сублетальні ефекти). Для визначення динаміки маси тіла, всіх особин зважували на початку та в кінці експерименту. Для оцінки виживаності, кількість живих особин підраховували на 7-му та 14-ту добу. Для цього вміст ємності переносили на полімерну тацю, після чого проводили візуальний огляд кожної особини.

2.5. Статистичний аналіз

Корекція смертності згідно з Abbot, 1925 [48] не проводилась, оскільки в контролі смертності дощових черв'яків не виявлено.

Дані про зміни маси тіла дощових черв'яків перевіряли на норму розподілу та однорідності дисперсії за допомогою Shapiro-Wilk's test та Levene's test ($\alpha = 0.01$), відповідно. Оскільки дані про зміну маси тіла були нормально розподілені і однорідні, а також аналіз контрастів виявив лінійний тренд, для порівняння дослідних груп та контролю використовувався множинний послідовний t-тест Вільямса ($\alpha = 0,05$).

Статистичний аналіз виконано за допомогою програмного забезпечення ToxRat Professional, версія 3.3.0, ToxRat® Solutions GmbH (Статистична програма ToxRat Professional, версія 3.3 ® ToxRat Solutions GmbH).

РОЗДІЛ 3.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Летальність

На дощових червах згідно методики OECD 207 були проведені два тестування на гостру токсичність гербіцидів Моссімокс, РК (діюча речовина – імазамокс, 40 г/л) та Сліст Тірбо, СЕ (діюча речовина – S-метолахлор 312,5 г/л + тербутилазин 187,5 г/л).

У попередньому тестуванні була досліджена дія на дощових червів *Eisenia fetida* наступних номінальних концентрацій препарату Моссімокс, РК: 1, 10, 100, 1000 мг/кг сухого ґрунту. У контролі впродовж проведення всього експерименту загибелі дощових червів не спостерігали, що свідчить про відповідність критерію валідності тесту (смертність у контролі не повинна перевищувати 10%) згідно OECD 207 [45-49]. Отримані результати свідчать про відсутність гострої токсичності досліджуваної речовини для дощових червів при концентраціях препарату до 1000 мг/кг сухого штучного ґрунту в умовах експерименту протягом перших двох тижнів.

Таблиця 3.1.1.

**Визначення діапазону токсичних концентрацій препарату
Моссімокс, РК для дощових червів *Eisenia fetida***

Концентрація препарату у сухому штучному ґрунті, мг/кг	Кількість червів, екз.	Кількість загиблих червів, екз.		Фактична загибель, %	
		7 доба	14 доба	7 доба	14 доба
Попереднє дослідження					
контроль	40	0	0	0	0
1	40	0	0	0	0
10	40	0	0	0	0
100	40	0	0	0	0
1000	40	0	0	0	0

Згідно результатів попереднього тестування можна припустити, що загибель дощових черв'яків при гострому впливі препарату Моссімокс, РК спостерігають при концентрації препарату вище 1000 мг/кг сухого ґрунту. Тому основне тестування у цьому випадку не проводили.

У попередньому дослідженні токсичності гербіциду Сліст Тірбо, СЕ для дощових черв'яків *Eisenia fetida* було використано чотири номінальні концентрації: 1, 10, 100 та 1000 мг/кг сухого ґрунту. Ці концентрації були обрані для визначення порогових значень, при яких гербіцид починає проявляти токсичну дію на ці організми. Попереднє тестування проводили для визначення рівня концентрацій препарату для основного тестування.

У контрольній групі, яка не піддавалася впливу досліджуваної речовини, протягом усього періоду експерименту не було виявлено жодного загиблого екземпляру дощових черв'яків, що повністю відповідає критеріям валідності тесту, встановленим у методиці OECD 207 [45]. У діапазоні концентрацій гербіциду від 1 до 10 мг/кг сухого штучного ґрунту рівень смертності дощових черв'яків на 14-ту добу не перевищував 5%. При концентрації 100 мг/кг сухого ґрунту смертність зросла до 12,5%, а при максимальній концентрації – 1000 мг/кг – спостерігали 100% загибель дослідних тварин.

Таблиця 3.1.2.

**Визначення діапазону токсичних концентрацій препарату Сліст
Тірбо, СЕ для дощових черв'їв *Eisenia fetida***

Концентрація препарату у сухому штучному ґрунті, мг/кг	Кількість черв'їв, екз.	Кількість загиблих черв'їв, екз.		Фактична загибель, %	
		7 доба	14 доба	7 доба	14 доба
Попереднє тестування					
контроль	40	0	0	0	0
1	40	0	0	0	0
10	40	0	2	0	5*
100	40	0	5	0	12,5*
1000	40	30	40	75	100

Примітка: * – статистично значиме по відношенню до контролю $p \leq 0.05$

Згідно із результатами попереднього тестування можна передбачити, що значення LC_{50} буде знаходитись в діапазоні 100 - 1000 мг/кг.

Для оцінки токсикологічного профілю гербіциду відносно дощових черв'їв *Eisenia fetida* було проведено дослідження з використанням п'яти концентраційних рядів: 60, 120, 250, 500, 1000 мг/кг сухого штучного ґрунту.

У контрольній групі протягом усього експерименту не було зафіксовано жодної загибелі дощових черв'їв, що повністю відповідає критеріям валідності тесту, встановленим у методиці OECD 207 [45]. При дії препарату в концентраціях 60 та 125 мг/кг сухого штучного ґрунту рівень смертності дощових черв'їв на 14-ту добу становив 2,5% та 12,5% відповідно. Збільшення концентрації препарату до 250, 500 та 1000 мг/кг призвело до значного зростання смертності, яка склала 30%, 42,5% та 100% відповідно. Отримані дані щодо впливу препарату на виживаність та фізіологічні показники дощових черв'їв узагальнено в таблиці 3.1.3.

Таблиця 3.1.3.

**Визначення діапазону токсичних концентрацій препарату Сліст
Тірбо, СЕ для дощових черв'їв *Eisenia fetida***

Концентрація препарату у сухому штучному ґрунті, мг/кг	Кількість черв'їв, екз.	Кількість загиблих черв'їв, екз.		Фактична загибель, %	
		7 доба	14 доба	7 доба	14 доба
контроль	40	0	0	0	0
60	40	0	1	0	2,5
125	40	0	5	0	12,5
250	40	1	12	2,5	30,0
500	40	5	17	7,5	42,5
1000	40	28	40	70,0	100,0

3.2. Поведінкові реакції та сублетальні ефекти дощових черв'їв *Eisenia fetida* при дії досліджуваних гербіцидів

Сублетальних ефектів у дощових черв'їв при дії препарату Моссімокс, РК при попередньому тестуванні у дозах 1, 10, 100 мг/кг та у контролі не було відзначено. За дії найвищої дози - 1000 мг/кг, сублетальні ефекти спостерігали лише у двох із 40 черв'їв, що брали участь у біотестуванні: у одного черва спостерігали низьку рухливість на 7 і 14 добу проведення досліджень та зниження тургору тіла на 14 добу, у другого – низьку рухливість на 14 добу спостережень.

Сублетальних ефектів у дощових черв'їв при дії препарату Сліст Тірбо, СЕ при попередньому тестуванні у дозах 1, 10, 100 мг/кг та у контролі не було відзначено.

Було встановлено, що в основному тестуванні при концентраціях препарату Сліст Тірбо, СЕ 60 та 125 мг/кг, а також у контрольній групі, суттєвих відхилень від нормального фізіологічного стану не спостерігали.

Проте, при концентраціях 250 та 500 мг/кг у деяких особин були зафіксовані ознаки інтоксикації, такі як втрата тургору та зниження рухливості.

3.3. Зміна маси тіла

Як видно з табл. 3.3.1. в контрольній групі наприкінці досліджування спостерігали підвищення середньої маси дощових черв'яків на 3,52%, що відповідає критерію валідності тесту (зменшення маси тіла не повинно бути понад 20 %).

За дії препарату Моссімокс, РК в усіх досліджуваних дозах на 14 добу експерименту відзначали зниження середньої маси дощових черв'яків по відношенню до початкової маси тіла на 16,66–20,39 %. По відношенню до контролю відмічали вірогідне зниження маси тіла дощових черв'яків на 21,8–23,2%.

Таблиця 3.3.1.

Зміни маси тіла дощових черв'яків *Eisenia fetida* при впливі препарату Моссімокс, РК

Концентрація препарату у сухому штучному ґрунті, мг/кг	Середня маса дощових черв'яків, г		Втрата маси тіла дощових черв'яків на 14 добу тесту		% Відхилення від контролю
	0 день	14 день	мг	%	
Контроль	426,50	441,50	+15,00	+3,52	-
1	413,75	345,13	-68,63	-16,66	-21,8*
10	416,63	337,13	-79,50	-18,77	-23,6*
100	420,00	336,88	-84,13	-20,06	-23,9*
1000	426,00	339,13	-86,88	-20,39	-23,2*

Примітка: * - статистично значиме по відношенню до контролю $p \leq 0.05$

Аналіз динаміки зміни маси тіла дощових черв'яків в експериментальних групах попереднього тесту гербіциду Сліст Тірбо ,СЕ показав наступне: у

контрольній групі спостерігалось фізіологічне зростання біомаси на 11,65%, що підтверджує відповідність умов експерименту загальноприйнятим критеріям. У групах, де тварини піддавались дії гербіциду в концентраціях 1 та 10 мг/кг, також було зафіксовано незначне збільшення середньої маси тіла (на 4,79% та 0,54% відповідно). Однак, при концентрації гербіциду 100 мг/кг спостерігали статистично значиме зниження маси тіла на 10,5% порівняно з контрольною групою. Отримані дані свідчать про негативний вплив гербіциду на фізіологічні процеси в організмах дощових черв'яків при концентраціях, починаючи з 100 мг/кг.

Динаміка змін маси тіла дощових черв'яків представлена в таблиці 3.3.2. У контрольній групі спостерігали зростання біомаси на 3,58%, що підтверджує відповідність умов експерименту загальноприйнятим критеріям.

Таблиця 3.3.2.

Зміна маси тіла дощових черв'яків при впливі препарату Сліст Тірбо, СЕ

Концентрація препарату, мг/кг сухого штучного ґрунту	Середня маса дощових черв'яків, г		Втрата маси тіла дощових черв'яків на 14 добу дослідження, %	Відхилення від контролю, %
	0 день	14 день		
Контроль	531,5	592,0	+11,65	-
1	607,25	636,5	+4,79	+7,5
10	554,75	557,25	+0,54	-5,9*
100	569,0	511,25	-10,5	-13,6*
1000	528,75	-	-	-

Примітка: * – статистично значиме по відношенню до контролю $p \leq 0.05$

В основному тестуванні гербіциду Сліст Тірбо, СЕ при дії препарату в концентраціях 60, 125, 250 та 500 мг/кг сухого штучного ґрунту було зафіксовано статистично значиме зниження середньої маси тіла на 5,9%, 14,01%, 20,45% та 28,36% відповідно порівняно з її початковими значеннями. Порівняння з контрольною групою показало вірогідне зниження маси тіла

дощових черв'їв у діапазоні 15,1-39,1%. Отримані дані свідчать про негативний вплив препарату на фізіологічні процеси в організмах дощових черв'їв, що проявляється у зниженні маси їхнього тіла.

Таблиця 3.3.3.

**Зміни маси тіла дощових черв'їв при впливі препарату Сліст Тірбо,
СЕ**

Концентрація препарату, мг/кг сухого штучного ґрунту	Середня маса дощових черв'їв, г		Втрата маси тіла дощових черв'їв на 14 добу дослідження, %	Відхилення від контролю, %
	0 день	14 день		
Контроль	623,50	646,0	+3,58	-
60	582,75	646,0	-5,90	-15,1
125	586,75	505,0	-14,01	-21,8
250	589,0	467,50	-20,45	-27,6
500	544,75	393,25	-28,36	-39,1
1000	535,00	-	-	-

3.4. Токсичність досліджених гербіцидів

Під час досліджень препарату Моссімокс, РК не було виявлено загибелі дощових черв'їв. Але не можна виключати, що підвищення концентрації препарату до 1000 мг/кг сухого ґрунту може спричинити загибель дощових черв'їв.

Величина LC_{50} за гострої дії препарату Моссімокс, РК для дощових черв'їв *Eisenia fetida* базується на відсутності смертності у дозі 1000 мг/кг сухого ґрунту

Таким чином, препарат Моссімокс, РК (діюча речовина – імазамокс, 40 г/л) за гострою токсичністю для дощових черв'їв *Eisenia fetida* не відноситься до міжнародної класифікації UN/SCEGHS/12/INF/5 [49] та є нешкідливим для наземних і ґрунтових організмів.

На основі отриманих даних встановлено параметри гострої токсичності препарату Сліст тірбо, СЕ для дощових черв'яків *Eisenia fetida* (табл. 3.4.1).

Таблиця 3.4.1.

Параметри гострої токсичності препарату Сліст тірбо, СЕ для дощових черв'яків *Eisenia fetida* (мг/кг сухого штучного ґрунту)

Номінальні концентрації, мг/кг сухого ґрунту	60,125,250,500,1000
LC ₁₀ (14 діб)	131,91
LC ₂₀ (14 діб)	190,01
LC ₅₀ (14 діб)	381,96
95% довірчий інтервал	(153,19÷1549,70)
NOEC, мг/кг сухого ґрунту	60
LOEC, мг/кг сухого ґрунту	125

Препарат Сліст Тірбо, СЕ (діючі речовини – S-метолахлор 312,5 г/л + тербутилазин 187,5 г/л) був вивчений та оцінений у досліді на гостру токсичність на дощових червах *Eisenia fetida*, які протягом 14 днів знаходилися у штучній ґрунтовій тест-суміші з різними концентраціями препарату. LC₅₀ препарату Сліст Тірбо, СЕ для дощових черв'яків *Eisenia fetida* за 14 діб експозиції становила 381,96 мг/л (95% довірчий інтервал 153,19÷1549,70).

Згідно з міжнародною класифікацією UN/SCEGHS/12/INF/5 [49], препарат Сліст Тірбо за гострою токсичністю для дощових черв'яків *Eisenia fetida* слід віднести до 3 класу токсичних речовин («шкідливо до наземних організмів»).

Отже, гербіцид Моссімокс, РК (імазамокс, 40 г/л) не показав летального результату при концентрації 1000 мг/кг, тоді як для гербіциду Сліст Тірбо, СЕ (S-метолахлор 312,5 г/л + тербутилазин 187,5 г/л) значення LC₅₀ становить 381,96 мг/кг. Це свідчить про те, що гербіцид Сліст Тірбо, СЕ є більш токсичним для дощових черв'яків *Eisenia fetida*, ніж Моссімокс, РК.

Відмінність у токсичності препаратів може бути пояснена їх різним хімічним складом: гербіциди мають різні активні інгредієнти та допоміжні речовини, що по різному впливають на різні фізіологічні процеси в організмі дощових черв'їв.

Механізми токсичності досліджених препаратів наступні:

- імазамокс (Моссімокс, РК) інгібує фермент ацетолактатсинтазу, що порушує синтез амінокислот. У дослідженні ми не спостерігали летальності чи сублетальних ефектів, отже, цей гербіцид є безпечним для дощових черв'їв навіть у великих концентраціях.

- S-метолахлор та тербутилазин (Сліст Тірбо, СЕ): S-метолахлор впливає на синтез ліпідів, а тербутилазин – на фотосинтез. У дослідженні спостерігали такі ознаки інтоксикації дощових черв'їв, як втрата тургору та зниження рухливості.

Таким чином, препарат Моссімокс, РК є більш безпечним для мешканців наземних екосистем, тому можна рекомендувати його використання у практичній діяльності. В свою чергу препарат Сліст Тірбо, СЕ виявився більш токсичним, тому ми рекомендуємо виробникам знизити концентрацію діючих речовин, після чого провести повторне біотестування.

ВИСНОВКИ

1. Проведені дослідження підтвердили ефективність використання дощових черв'яків *Eisenia fetida* для біотестування токсичності гербіцидів. Підтверджено, що *Eisenia fetida* є чутливими тест-організмами, здатними чітко реагувати на наявність токсичних речовин змінами фізіологічних параметрів і поведінкових реакцій.

2. Досліджено вплив двох гербіцидних препаратів (Сліст Тірбо, СЕ та Моссімокс, РК) на виживаність *Eisenia fetida* у лабораторних умовах. Встановлено, що препарат Сліст Тірбо, СЕ характеризується значно вищою гострою токсичністю для *Eisenia fetida* порівняно з препаратом Моссімокс, РК.

3. Виявлено, що препарат Моссімокс, РК не справляв летальної дії на дощових черв'яків в тестованому діапазоні концентрацій. Тому цей препарат згідно вимог міжнародної класифікації UN/SCEGHS/12/INF/5 може бути рекомендований для виробництва та застосування у практичній діяльності.

4. Встановлено, що для препарату Сліст Тірбо, СЕ притаманний дозозалежний токсичний ефект. Цей препарат згідно вимог міжнародної класифікації UN/SCEGHS/12/INF/5 за гострою токсичністю для дощових черв'яків *Eisenia fetida* слід віднести до 3 класу токсичних речовин («шкідливо до наземних організмів»).

ДЖЕРЕЛА

1. Mohd Ghazi R., Nik Yusoff N. R., Abdul Halim N. S., Wahab I. R. A, Ab Latif N., Hasmoni S. H., Ahmad Zaini M. A., Zakaria Z. A. (2023). Health effects of herbicides and its current removal strategies. *Bioengineered*, [online]. Available: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10761135/> [Accepted 25 September 2023].
2. Bouche, M. (1992). Earthworm species and ecotoxicological studies. In: *Ecotoxicology of Earthworms*. Greig-Smith, P. W., Becker, H., Edwards, P. J., Heimbach, F., eds. Intercept, Andover, pp. 20-35.
3. Філоненко, А., Бурлаченко, А. (2021). Екологічні наслідки застосування пестицидів та їх вплив на довкілля. *Актуальні проблеми безпеки життєдіяльності: матеріали Всеукраїнської науково-теоретичної інтернет-конференції*, м. Миколаїв, 24 листопада 2021 р. Миколаїв : МНАУ, 2021, сс. 444-447.
4. Cavalier H., Trasande L., Porta, M. (2023). Exposures to pesticides and risk of cancer: evaluation of recent epidemiological evidence in humans and paths forward. *International journal of cancer*, 152(5), pp. 879-912.
5. Скиба, Г. (2023). Ефективність використання окисників для зменшення фітотоксичної дії залишків гербіцидів у ґрунті. В: *The VI International Scientific and Practical Conference «Modern ways of solving the problems of science in the world»*. Вроцлав, Польща, 13-15 лютого 2023, с. 19.
6. Крук, Л. (2001). *Екотоксична дія пестицидів в агроценозах України як функція фізико-хімічної будови їх молекул* : Автореф. дис. канд. с.-г. наук. Київ.
7. Kumar, K., Kumawat, P. (2018). A review on the effect of herbicides on the earthworms. *Int. J. Zool. Stud*, 3, pp. 120-125.

8. Соколюк, Є. (2023). *Особливості застосування гербіцидів з урахуванням екологічних наслідків: кваліфікаційна робота*. Тернопіль : ЗУНУ.

9. Boedeker, W., Watts, M., Clausing, P., Marquez, E. (2020). The global distribution of acute unintentional pesticide poisoning: estimations based on a systematic review. *BMC public health*, 20, pp. 1-19.

10. Parven, A., Meftaul, I. M., Venkateswarlu, K., Megharaj, M. (2024). Herbicides in modern sustainable agriculture: environmental fate, ecological implications, and human health concerns. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 22(5), pp. 1-22.

10. Покотило, Т., Макаренко, Н. (2016). Екологічна безпека пестицидів і агрохімікатів: сучасні проблеми випробувань і реєстрації. В: *Сталий розвиток країни в рамках Європейської інтеграції*. Житомир, Україна, 27 жовтня 2016, с. 31.

11. Thompson, M., Chauhan, B. S. (2022). History and perspective of herbicide use in Australia and New Zealand. *Advances in weed science*, 40, pp. 1-12.

12. Ahmad, M. F., Ahmad, F. A., Alsayegh, A. A., Zeyauallah, M., AlShahrani, A. M., Muzammil, K., Hussain, S. (2024). Pesticides impacts on human health and the environment with their mechanisms of action and possible countermeasures. *Heliyon*, [online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e291284> [Accepted 1 April 2024].

13. Завірюха, П., Косилович, Г., Голячук, Ю. (2014). *Агрофармакологія (хімічний захист рослин): навч. посібник*. Львів : Львівський національний аграрний університет.

14. Mussio, E. (2017). *Alternatives to herbicide use in weed management*. Brussels, Belgium.

15. FAO. (2006). *Guidelines on Efficacy Evaluation for the Registration of Plant Protection Products*. Rome, Italy.

16. *Approval of active substances, safeners and synergists*, [online]. Available at: https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/approval-active-substances-safeners-and-synergists_en
17. Vergolyas M. (2019). Assessment of drinking water quality at the cellular level. *Advances in Tissue Engineering and Regenerative Medicine Open Access*. 5(2), pp. 53–55.
18. Притула, Н. М. (2020). *Біоіндикація: навч. посіб.* Запоріжжя : ЗНУ
19. Лисиця, А. (2018). *Біоіндикація і біотестування забруднених територій*. Рівне: Дока-центр.
20. Жуков, О., Пилюпенко О., Кірієнко, С. (2002). *Основи ґрунтової зоології та біоіндикації. Частина 1*. Дніпропетровськ : ДНУ
21. Никифоров В. В., Дігтяр С. В., Мазницька О. В., Козловська Т. Ф. (2016) *Біоіндикація та біотестування : навч. посіб.* Кременчук : Видавництво ПП Щенбатих О. В.
22. Хижняк, С., Поліщук, С., Самкова, О., Конопольський, О., Войціцький, В. (2017). Екотоксикологічна оцінка сучасних гербіцидів за їх впливом на мезофауну ґрунту. *Агроєкологічний журнал*, 4, сс.100-106.
23. Верголяс, М. (2019). Визначення токсичного впливу гербіцидів на тест-організми у воді. *Екологічні науки*, 3(26), сс.84-87.
24. Terekhova, V. (2022). Biotesting of soil ecotoxicity in case of chemical contamination: modern approaches to integration for environmental assessment (a review). *Eurasian Soil Science*, 55(5), pp. 601-612.
25. Крайнюков, О. (2013). Критерії оцінки чутливості організмів та ефективності методик біотестування для визначення токсичних властивостей води. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Сер.: Екологія*, 8, сс. 80-85.
26. Проданчук, М., Лепьошкін, І., Кравчук, О., Гринько, А., Величко, М., Бабяк, М., Лепьошкіна, М. (2018). Регламентація польових токсиколого-біологічних випробувань пестицидів на прикладі країн Європейського Союзу. Виклики для України (Огляд нормативно-правових та науково-

методичних документів). *Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки*, 2-3, сс. 5-12.

27. Duvert P. (2014). The official procedure adopted in the EU countries for the study of pesticides at the stage of their development: positive effect on timely provision of agricultural commodity manufacturers with innovative plant protection products. *MCH*, 5 [online]. Available at: <http://cyberleninka.ru/article/n/ofitsialnaya-prinyataya-v-stranah-evropeyskogo-soyuza-protsedura-izucheniya-pestitsidov-na-etape-ih-razrabotki-pozitivnoe-vliyanie-na>.

28. Хижняк С., Баранов Ю., Демченко В., Войціцький В. (2019). *Пестициди та їх еколого-токсикологічна оцінка*. Київ : ЦК «Компринт».

29. Korniyenko, V., Khyzhnyak, S., Midyk, S. (2023). The need to conduct environmental and toxicological studies in ukraine in accordance with the principles of good laboratory practice. *Publishing House "Baltija Publishing"*, pp. 358-373.

30. Boege, K., Dirzo, R., Siemens, D., Brown, P. (2007). Ontogenetic switches from plant resistance to tolerance: minimizing costs with age?. *Ecology Letters*, 10(3),pp 177-187.

31. Жилко, А. (2021). Ґрунтові безхребетні як біологічні індикатори стану урбанізованих територій. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції" Екологія. Людина. Суспільство"*, сс. 37-38.

32. Santorufo, L., Van Gestel, C. A., Rocco, A., Maisto, G. (2012). Soil invertebrates as bioindicators of urban soil quality. *Environmental pollution*, 161, pp 57-63.

33. Пижл, В. (1989). Значение дождевых червей как биоиндикаторов загрязнения почвы пестицидами. *Экология*, 5, сс. 86–88.

34. Arnaud, C., Saint-Denis, M., Narbonne, J. F., Soler, P., Ribera, D. (2000). Influences of different standardised test methods on biochemical responses in the earthworm *Eisenia fetida andrei*. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(1), pp. 67-73.

35. Жарикова, Г. (2020). *Оценка интегральной токсичности почв биотестированием на дождевых червях*. [online]. Режим доступа: <http://www.green-pik.ru / sections / 98. html&article=19>.

36. Hooper, M., Anderson, M. (2008). *Soil toxicity and bioassessment test methods for ecological risk assessment: toxicity test methods for soil microorganisms, terrestrial plants, terrestrial invertebrates and terrestrial vertebrates*. Office of Environmental Health Hazard Assessment, California Environmental Protection Agency.

37. Xiao N, Jing B, Ge F, Liu X., (2006) The fate of herbicide acetochlor and its toxicity to *Eisenia fetida* under laboratory conditions. *Chemosphere* , 62(8) pp.1366–1373.

38. Gobi, M., Gunasekaran, P. (2010). Effect of butachlor herbicide on earthworm *Eisenia fetida*—its histological perspicuity. *Applied and Environmental Soil Science*, 1, pp1-4.

39. Schedenffeldt, B. F., Siqueira, B. B. R., da Silva, R. O., Monquero, P. A. (2024). Toxicity assessment of commercial herbicide formulations to *Eisenia andrei* (Bouché, 1972) in oxisols. *Chemosphere*, 350.

40. Pelosi, C., Joimel, S., Makowski, D. (2013). Searching for a more sensitive earthworm species to be used in pesticide homologation tests—a meta-analysis. *Chemosphere*, 90(3), pp. 895-900.

41. Іванців, В., Бусленко, Л. (2004). Біорізноманіття олігохет (Lumbricidae, Enchytraeidae: Oligochaeta: Annelida) в ґрунтах західних областей України. *Наук. вісн. Волин. держ. ун-ту ім. Лесі Українки*, 1, сс. 53–55.

43. Станкевич С. (2019). Аналіз ринку пестицидів України. *Вісник Харківського національного аграрного університету ім. В. В. Докучаєва* , 1-2. сс. 155-191.

44. Нерянова, І., Голюк, В. (2024). Проблеми та стан ринку засобів захисту рослин від початку повномасштабного вторгнення. В: *V Міжнародна*

науково-практична конференція "Бізнес, інновації, менеджмент: проблеми та перспективи". Київ, Україна 25 квітня 2024 р, сс. 88-89.

45. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 2: Effects on Biotic Systems Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Test. – Adopted: 4 April 1984. – 9 p. / OECD. (1994). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Oecd.

46. IUPAC Pesticides Properties DataBase. Available at: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac>

47. ISO-Guideline 11268-1:1993 «Soil quality – effect of populates on earthworm (*Eisenia fetida*) – Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate».

48. ABBOT, W.S 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J.Econ.Entomol. 18.265-267

49. UN/SCEGHS/12/INF/5 Classification criteria for the terrestrial environment. Twelfth session, 14 July 2006.