

ВИКОНАВЦІ**Керівник:**

Завідувач лабораторії, н.с.



І.С. Бровко

Виконавці:Головний науковий співробітник,
д.с.-г.н., професор

О.В. Шерстобоева

к.с.-г.н.



М.П. Кейван

к.с.-г.н.



О.С. Дем'янюк

Аспірант



О.О. Кордунян

Аспірант



І.І. Гуменюк

Аспірант



С.Ю. Грузінський

РЕФЕРАТ

Звіт про результати досліджень екологічної оцінки впливу препарату **Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)** на ґрунтову мікробіоту та ґрунтову мезофауну (земляні черв'яки *Eisenia fetida*) у 2016 році: 15 сторінок, 5 таблиць, 3 рисунки.

Місце проведення – Інститут агроекології і природокористування НААН, (лабораторія екології мікроорганізмів).

БІОТЕХНІЧНИЙ ЗАСІБ «ФІТОСПЕКТР» (NEPAL 88), РЕГУЛЯТОРИ РОСТУ РОСЛИН, НАПВЛІТАЛЬНА ДОЗА, LD₅₀, ТОКСИЧНІСТЬ, ТЕСТ-ОБ'ЄКТ, ГРУНТОВА МІКРОБІОТА, БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ГРУНТУ, МІКРОБНА БІОМАСА, МІКРОБІОЦЕНОЗ, ГРУНТОВА МЕЗОФАУНА, *EISENIA FETIDA*.

РЕЗУЛЬТАТИ

Лабораторних досліджень препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Neral 88) на ґрунтову мікробіоту та ґрунтову мезофауну (земляні черв'яки *Eisenia fetida*)

1. *Ресстрант*: ТОВ «ФОРБС ЕНД МАНХЕТТЕН УКРАЇНА»
2. *Торгова назва препарату*: Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Neral 88)
3. *Препаративна форма*: водний розчин
4. *Діюча речовина*: Стероїдні сапоніни екстракту Юкки Шидигера, рідкий гумус морських водоростей, бензоат натрію.
5. *Якісні показники*:

Таблиця 1

Фізико-хімічні показники препарату

Назва показників	Норма
Фізичний стан	водний розчин
Стероїдні сапоніни екстракту Юкки Шидигера	300 г/л
Рідкий гумус морських водоростей	100 г/л
Бензоат натрію	10 г/л
Деіонізована вода	590 г/л

6. *Призначення*: Регулятори росту рослин

ДОСЛІД 1

**Лабораторні дослідження впливу регулятора росту рослин
Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Neral 88) на ґрунтову мікробіоту**

7. *Цільові об'єкти дослідження:* мікроорганізми основних еколого-трофічних груп і таксономічних груп.
8. *Тип ґрунту:* чорнозем типовий, сірий лісовий.
9. *Кількість повторень:* 3.
10. *Температура повітря:* 20 ± 2 °С.
11. *Тривалість досліду:* 30 діб.
12. *Схема досліду:*

Варіант досліду	Норма (Чорнозем типовий) на 1 кг ґрунту	Норма (Сірий лісовий) на 1 кг ґрунту
1. Контроль (без внесення препарату)	-	-
2. Препарат Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Neral 88)	1-кратна міні доза препарату 0,0007 мкл (1 міні*ДП)	1-кратна міні доза препарату 0,0008 мкл (1 міні*ДП)
3. Препарат Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Neral 88)	1-кратна макс доза препарату 0,0011 мкл (1 макс *ДП)	1-кратна макс доза препарату 0,0012 мкл (1 макс *ДП)
4. Препарат Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Neral 88)	10-ратна макс доза препарату 0,011 мкл (10 макс *ДП)	10-ратна макс доза препарату 0,012 мкл (10 макс *ДП)

13. *Методика проведення досліджень:* Екологічна оцінка впливу пестицидів та агрохімікатів на ґрунтові мікроорганізми. *Методичні рекомендації* / [Я.В. Чабанюк, О.В. Шерстобоева, В.В. Чайковська, А.М. Клименко, В.У. Ящук, А.П. Корецький, Г.О. Іутинська, Л.В. Титова, Н.О. Леонова, Ямборко Н.А., І.С. Бровко] – К., 2015. – 63 с.; Екологічна оцінка впливу пестицидів і агрохімікатів на цільові об'єкти навколишнього природного середовища. *Методичні вказівки* / Чабанюк Я.В., Шерстобоева

О.В., Ткач Є.Д., Бунас А.А., Стародуб В.І., Довгич К.І., Дмитрук Д.М. – К., 2013. – 62 с.

Дослідження проводили на відібраному ґрунті, зразки якого просівали через 2 мм сито й ретельно перемішували, визначали їх вологість і вологоємність. Відбирали наважки кожного варіанту масою по 500 г (з розрахунку на суху масу), які поміщали у пластмасові або керамічні ємкості, після чого у ґрунт вносили стерильну водогінну воду до досягнення 60% вологості. Компостування зволжених зразків ґрунту проводили протягом 5 діб. Після завершення компостування вносили досліджувані препарати (в дослідні – 1-кратну min (1 min * ДП), 1-кратну max (1 max * ДП) та 10-кратну max (10 max * ДП) дози) з наступним ретельним перемішуванням стерильним шпателем. Для запобігання випаровування вологи ємкості з ґрунтом накривали. Інкубацію оброблених препаратом зразків ґрунту проводили при кімнатній температурі. Проби ґрунту для мікробіологічного аналізу відбирали на 14-у добу проведення досліду. Після інкубації ґрунту досліджували чисельність мікроорганізмів основних еколого-трофічних і таксономічних груп. Всі мікробіологічні аналізи з визначення чисельності мікроорганізмів основних еколого-трофічних і таксономічних груп (виготовлення послідовних десятикратних розведень мікробних суспензій та послідовний їх висів на селективні агаризовані поживні середовища) здійснювали загальноприйнятими методами. Колонії, що виростили на середовищах, підраховували, прийнявши допущення, що з кожної життєздатної клітини формується одна колонієутворююча одиниця та виражали у їх кількості на один грам абсолютно сухого ґрунту враховуючи розведення (млн. КУО/г АСГ або тис. КУО/г АСГ).

Біологічну активність ризосферного ґрунту визначали за дихальною активністю (інтенсивність емісії CO_2 , одна з важливих характеристик, що зумовлена біологічним окисненням органічної речовини ґрунтовою біотою), абсорційним методом Штатнова та розраховували за формулою:

$$\text{CO}_2 = (V_1 - V_2) * 2.2 / m * T \text{ (мг/г за добу)},$$

де V_1 – кількість 0,1н розчину NaOH, мл;

V_2 – кількість 0,1н розчину HCl, що витратили на титрування, мл;

m – маса ґрунту, г;

T – час інкубації, в добах.

Біомасу мікроорганізмів у ґрунті (органічна речовина ґрунтів один із основних природних акумуляторів і джерел енергії, що визначає розвиток ґрунту та формування родючості) визначали регідратаційним методом шляхом реєстрації кількості мікробної маси за сумою вуглецю органічних речовин і розраховували за формулою:

$$X=(Cв-Cк)/0,3$$

де X – біомаса (мкг С/г ґрунту); $Cв$ і $Cк$ – вміст розчинних органічних речовин відповідно у висушеному і контрольному ґрунті; 0,3 – перерахунковий коефіцієнт, який за своїм значенням відображає долю клітинних компонентів, які перейшли в розчин в результаті висушування (регідратації).

14. Результати випробувань та їх аналіз: При дослідженні мікробного угруповання ґрунту за дії препарату **Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)** встановлено, що даний препарат не чинить негативної дії на ґрунтові мікроорганізми досліджуваних груп на обох ґрунтах та порівняно з контролем, що пояснюється складом досліджуваного препарату та нормами його витрат. Встановлено позитивний вплив на мікроорганізми, задіяні в перетвореннях азоту та фосфору в ґрунті, так, зростає чисельність олігоазотрофних та фосфатмобілізувальних мікроорганізмів на чорноземі типовому (табл. 2), порівняно з контролем (варіант без обробки). Така ж тенденція спостерігається і на сірому лісовому ґрунті (табл. 3). Слід відмітити що позитивні явища у змінах чисельності цих мікроорганізмів спостерігають у всіх застосованих дозах препарату **Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)**. Поряд з фосфатмобілізувальними та олігоазотрофними мікроорганізмами зростає та залишається на високому рівні також і чисельність вільноіснуючих

азотфіксувальних мікроорганізмів роду *Azotobacter* на обох досліджуваних ґрунтах, порівняно з показником чисельності у контрольному варіанті.

Інтенсивність дихання ґрунтової мікробіоти є інтегральним показником стану ґрунту. Так загалом, при внесенні препарату **Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)** показники дихання ґрунтової мікробіоти (рис. 1) були дещо вищі від показників контрольного варіанту на обох досліджених ґрунтах. Таким чином досліджуваний препарат не чинив негативну дію на дихання ґрунтової мікробіоти.

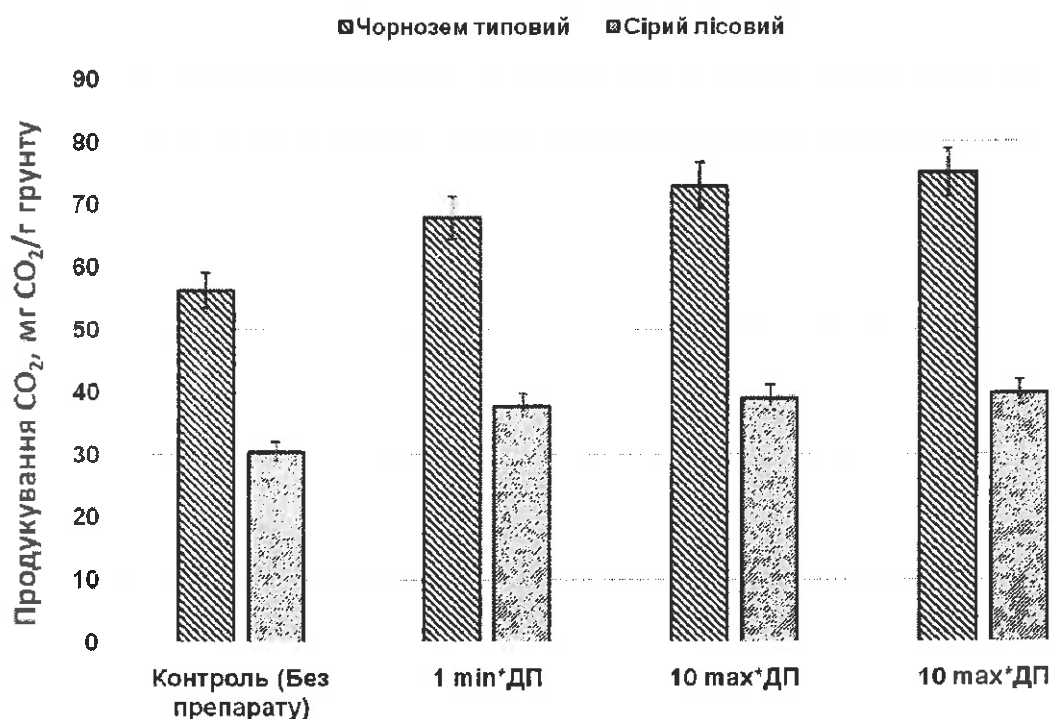


Рисунок 1. Інтенсивність виділення CO₂ з ґрунту при внесенні препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)

Дослідження мікробної біомаси ґрунту при внесенні препарату **Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)**, показали незначні коливання цього показника (Рис. 2) в позитивний бік, особливо у варіантах де застосовувались 10-ти кратні дози, порівняно з величиною контрольного варіанту. Загалом показник мікробної біомаси був дещо вищим на чорноземі типовому, порівняно з сірим лісовим ґрунтом.

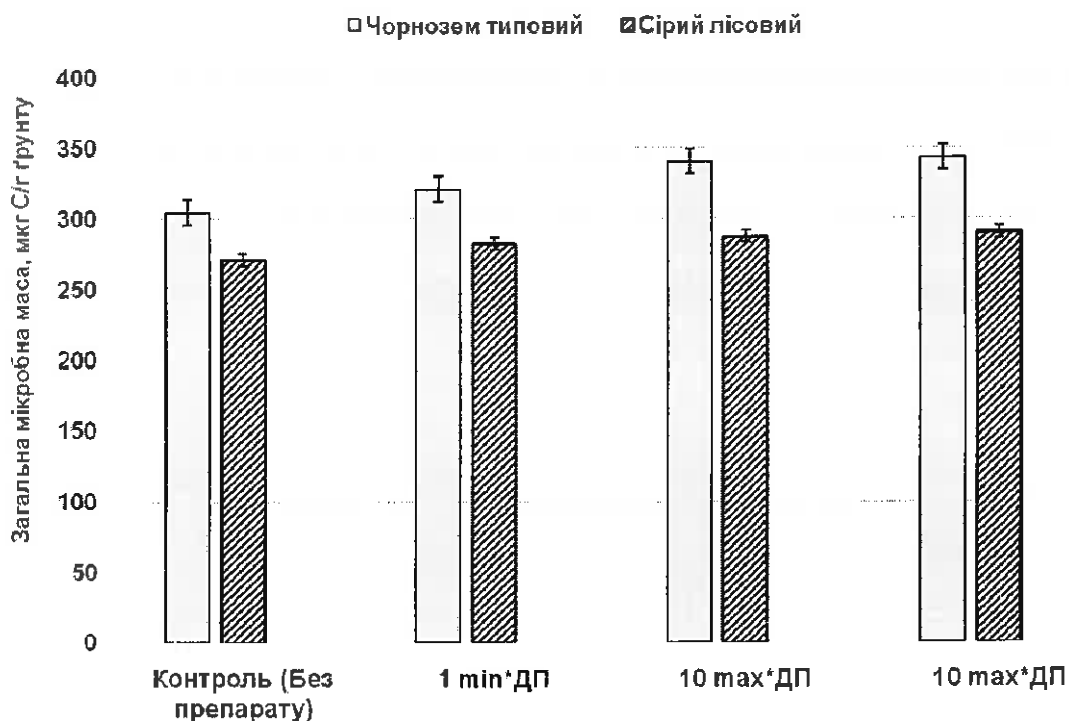


Рисунок 2. Вміст загальної мікробної біомаси в ґрунті при внесенні регулятора росту рослин Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)

15. Висновки: Таким чином, при дослідженні регулятора росту рослин Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88), дія якого спрямована на зміну проникності клітин, що дозволяє воді, фізіологічно активним та іншим речовинам швидше проникати в середину, внаслідок чого відбудеться ініціація клітинної регуляції, природних антистресових, росто- та імуноактивуючих механізмів рослини токсичної дії на ґрунтову мікробіоту не виявлено, спостерігали позитивну дію на чисельність мікроорганізмів циклу азоту та фосфору. При дослідженні дихання ґрунтової мікробіоти негативна дія не спостерігалась, а показники даної величини були вищими від таких у контрольному варіанті на обох досліджуваних ґрунтах.

Показник мікробної біомаси ґрунту при внесенні препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88), підвищувався, особливо при застосуванні 10-кратних доз, на обох досліджуваних ґрунтах.

ДОСЛІД 2

Лабораторні дослідження впливу регулятора росту рослин Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88) на земляних черв'яків (*Eisenia fetida*)

7. **Цільові об'єкти дослідження:** дощові черв'яки *Eisenia fetida*.
8. **Біомаса черв'яків:** дорослі особини зі сформованим клітелюмом 350 – 500 мг.
9. **Кількість особин для досліджу:** 10 особин в повторності.
10. **Кількість повторень:** 4.
11. **Склад штучного ґрунту:** пісок, глина, торф'яний мох, CaCO₃ (Reinecke, 1992).
12. **Температура повітря:** 20 ± 2 °С.
13. **Тривалість досліджу:** 14 діб.
14. **Концентрація препарату:**
 - для визначення LC₀, LC₅₀ та LC₁₀₀ використовували наступний діапазон концентрацій досліджуваного препарату: 0,1 – 10 000 мкл/кг сухого субстрату (див. табл. 4 та табл. 5).
15. **Контроль:** субстрат зволожений дистильованою водою.
16. **Методика проведення досліджень:** ДСТУ ISO 11268"1:2003 Якість ґрунту. Вплив забрудників на земляних черв'яків (*Eisenia fetida*). Частина 1. Визначення гострої токсичності з використанням штучного субстрату ґрунту. К. 2004. – 7 с.; Reinecke A.J. A review of ecotoxicology caltest Methods using Earthworms. In Ecotoxicology of Earthworms. Editors Dr. P.W. Greig-Smith et al., – 1992. – P. 7 – 19.; Kokta C. Measuring effects of Chemicals in laboratory: Effect criteria and eudpoints. In Ecotoxicology of Earthworms. Gen. Editors Dr. P.W. Greig-Smith et al. – 1992. – P. 55 – 62.; Плохинский Н.А. Спорные вопросы бометрии // В. Сб. Биометрические методы. – М. – 1975.
17. **Результати випробувань та їх аналіз:**

При визначенні можливості токсичності препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88) для дощових черв'яків (*Eisenia fetida*) досліджували концентрації в діапазоні 1000 – 0,1 мкл/кг штучного ґрунту. В

результаті встановлено, що концентрація препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88) від 0,1 до 1000 мкл/кг ґрунту була не токсичною для тварин, а смертність становила лише 1 % (табл. 4).

Таблиця 4

**Визначення гострої токсичності препарату Біотехнічний засіб
«Фітоспектр» (Nepal 88) на дощових черв'яків
*Eisenia fetida***

Концентрація препарату, мкл/кг сухого субстрату	Смертність, %
1000	1
100	0
10	0
1,0	0
0,1	0
Контроль	0

Для визначення медіальної концентрації LC₅₀ проводили дослідження препарату з концентраціями 10000 – 1200 мкл/кг субстрату (табл. 5).

Таблиця 5

**Токсична дія препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88) на
дощових черв'яків *Eisenia fetida***

Концентрація препарату, мкл/кг сухого субстрату	Смертність, %
10000	100
7500	39,4 ± 0,01
5000	37,4 ± 0,05
4800	21,0 ± 0,02
2400	10,5 ± 0,04
1200	6,4 ± 0,13
Контроль	0

В результаті досліджень зроблено розрахунок медіальної смертності (LC₅₀) дощових черв'яків при застосуванні препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88) за формулою:

$$LC_{50} = \frac{(a - b) * (50 - B)}{A - B} + B$$

де А – смертність більше 50%; В – смертність менше 50%, а – доза препарату, яка викликає А; в – доза препарату, яка викликає В.

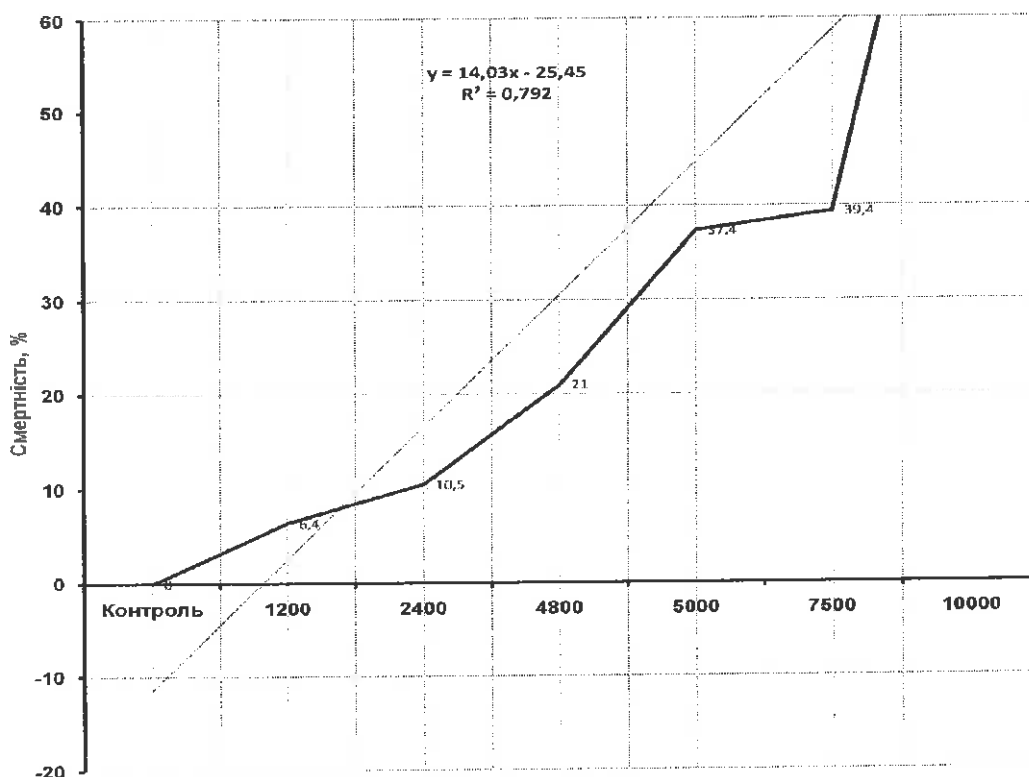


Рисунок 3. Медіальна смертність дощових черв'яків при застосуванні препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)

Встановлено, що при використанні препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88) медіальна смертність для дощових черв'яків (LC_{50}) становить 8237,4 мкл/кг.

18. Висновки: При оцінці токсичності препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88) на дощових черв'яків встановлено, що смертність в 100 % черв'яків реєструється при концентрації 10 000 мкл/кг сухого ґрунту. При цьому, медіальна концентрація LC_{50} для препарату становить 8237,4 мкл/кг сухого ґрунту.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що при використанні препарату **Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)** токсичної дії на ґрунтову мікробіоту не виявлено, спостерігали позитивний вплив на чисельність мікроорганізмів циклу азоту та фосфору. При дослідженні дихання ґрунтової мікробіоти негативна дія не спостерігалась, а показники даної величини були вищими від таких у контрольному варіанті на обох досліджуваних ґрунтах.

Показник мікробної біомаси ґрунту при внесенні препарату **Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)**, підвищувався, особливо при застосуванні 10-кратних доз, на обох досліджуваних ґрунтах.

Оцінюючи токсичність препарату на дощових черв'яках встановлено, що медіальна концентрація LC_{50} для регулятора росту рослин становить 8237,4 мкл/кг сухого ґрунту, в концентрації 0,1 – 1000,0 мкл/кг препарат є не токсичним для тварин.

В зв'язку з тим, що норми витрат препарату **Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)** для передпосівної обробки насіння сільськогосподарських культур (яра та озима пшениця, овес, просо, жито озиме, ярий та озимий ячмінь, кукурудза на зерно, соняшник, ярий та озимий ріпак) становить 1 мл на т насіння, для позакореневої обробки тих же культур дози коливаються у діапазоні 20 – 30 мл/га (в залежності від культури), слід вважати, що робочі концентрації препарату, при рівномірному розподілі у ґрунті та проникненні в глибину на 20 см (Kokta C.) нижчі за ті, які є токсичними для земляних черв'яків.

Таблиця 2

Чисельність основних еколого-трофічних та таксономічних груп мікроорганізмів

у ґрунті при внесенні препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88)

Варіанти дослідів	Амоніфікувальні, млн.КУО 1 г АСТ	Оліготрофи, млн. КУО 1 г АСТ	Бактерії, що використовують мінеральний азот, млн.КУО 1 г АСТ	Педотрофи, млн. КУО 1 г АСТ	Фосфатмобілізувальні м/о, млн.КУО 1 г АСТ	Цетолозоруйнівні м/о, млн.КУО 1 г АСТ	Стрептоміцети, млн.КУО 1 г АСТ	Міксоміцети, тик.КУО, млн.КУО 1 г АСТ	Azotobacter, % грядочок обростання
Контроль	18,4±0,01	20,4±0,31	20,2±0,16	16,3±0,71	13±0,06	8,1±0,06	1,1±0,05	10,4±0,22	93±1,4
Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88) 1 min * ДП	19,0±0,02	25,5±0,02	21,1±0,22	16,6±0,12	15,6±0,07	9,3±1,18	1,2±0,14	10,8±1,42	100
Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88) 1 max * ДП	19,4± 0,18	27,1±0,21	22,9±0,21	16,4±0,64	16±0,05	9,9±0,24	1,6±0,17	10,1±2,43	100
Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Nepal 88) 10 max * ДП	19,8± 0,03	27,4±0,18	23,4±0,22	16,9±0,46	17,4±0,06	9,0±0,24	1,7±0,24	10,5±1,43	100

Таблиця 3

Чисельність основних еколого-трофічних та таксономічних груп мікроорганізмів у ґрунті при внесенні препарату Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Neral 88)

Варіанти дослідження	Амоніфіквальні, млн.К/УО 1 г АСТ	Оліготрофи, млн. К/УО 1 г АСТ	Бактерії, що використовують мінеральний азот, млн.К/УО 1 г АСТ	Целотрофи, млн. К/УО 1 г АСТ	Фосфатмобілізувальні ні м/о, млн.К/УО 1 г АСТ	Целомозорувальні м/о, млн.К/УО 1 г АСТ	Стрептоміцети, млн.К/УО 1 г АСТ	Мікоміцети, тик.К/УО, млн.К/УО 1 г АСТ	Azotobacter, % грудочок обробляння
Контроль	17,9±0,12	19,5±0,66	7,6±0,16	9,1±0,11	11±0,06	6,8±0,22	1,7±0,1	11,6±1,12	98±1,7
Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Neral 88) 1 min*ДП	16,4±0,43	23,2±0,62	8,4±0,12	10,6±0,12	13,6±0,07	5,5±0,82	1,9±0,01	11,2±0,41	100
Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Neral 88) 1 max *ДП	16,9± 0,28	23,8±0,34	8,5±0,18	10,7±0,24	14,4±0,05	5,3±1,14	1,9±0,05	12,7±0,63	100
Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Neral 88) 10 max *ДП	16,9± 0,53	24,9±0,68	8,9±0,12	11,1±0,26	15,1±0,07	5,7±0,22	1,9±0,03	12,9±1,47	100

ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 4
засідання Вченої ради
Інституту агроекології і природокористування НААН
19 травня 2016 р.

На засіданні присутні 22 члени Вченої ради з 23.

Склад Вченої ради затверджено Наказом Президії НААН № 37-к від 23.03.2016 р. Наукові співробітники та аспіранти Інституту – 35 осіб.

Порядок денний

3. Звіти за договірною тематикою

Доповідач: зав. лабораторії, н.с., Бровко І.С.

3.2.1. СЛУХАЛИ: зав. лабораторії, н.с., Бровко І.С., яка представила звіт з виконання договору 42/2016 «Екологічна оцінка препарату «Біотехнічний засіб «Фітоспектр» (Поверхнево-активний засіб органічного походження Neral 88)» за впливом на ґрунтову біоту» на замовлення ТОВ «ФОРБС ЕНД МАНХЕТТЕН УКРАЇНА».

УХВАЛИЛИ: Затвердити звіт з виконання договору ТОВ «ФОРБС ЕНД МАНХЕТТЕН УКРАЇНА» та передати замовнику.

Рішення прийнято одногосно (відкрите голосування).

**Голова Вченої ради ІАП НААН,
академік НААН**

О.І. Фурдичко

Вчений секретар, к.б.н.

М.П. Кейван

Вірно:

Вчений секретар, к.б.н.

М.П. Кейван

