
ТЕОРЕТИЧНА ЕКОЛОГІЯ

УДК 616+631.95:631.445.2/.4+633

ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ВПЛИВУ ЗАБРУДНЕННЯ CD, CU, ZN, PB НА ФЕРМЕНТАТИВНУ АКТИВНІСТЬ ОКСИДАЗ ДЕРНОВО- СЕРЕДНЬОПІДЗОЛИСТОГО ҐРУНТУ ТА ЧОРНОЗЕМУ ТИПОВОГО МАЛОГУМУСНОГО

Н.О. Риженко

Державна екологічна академія післядипломної освіти та управління,
вул. Митрополита Василя Липківського, 35, 03035, м. Київ,
RyzhenkoN@rambler.ru

В статті представлено підхід розрахунку діапазонів активності оксидаз ґрунту, що дозволяє оцінювати токсичність Cd, Pb, Cu, Zn по відношенню до поліфенолоксидази і пероксидази в умовах моно- та поліметалічного забруднення ґрунту. Визначено ряд токсичності металів по відношенню до оксидаз ґрунту: $Cd > Cu > Pb > Zn$. Встановлено, що дія комплексу металів менш токсична для ферментів порівняно до монометалічної дії за виключенням цинку. *Ключові слова:* важкі метали, ферментативна активність ґрунту, оксидази, токсичність, забруднення, екотоксикологічна оцінка.

Экотоксикологическая оценка влияния загрязнения Cd, Cu, Zn, Pb на ферментативную активность оксидаз дерново-среднеподзолистой почвы и чернозема типичного малогумусного. Н.А. Рыженко. В статье представлен подход расчета диапазонов активности оксидаз почвы, что позволяет оценивать токсичность Cd, Pb, Cu, Zn по отношению к полифенолоксидазе и пероксидазе в условиях моно- и мультиметаллического загрязнения почвы. Определен ряд токсичности металлов по отношению к оксидазам почвы: $Cd > Cu > Pb > Zn$. Установлено, что действие комплекса металлов менее токсично для ферментов по сравнению с монометаллическим действием за исключением цинка. *Ключевые слова:* тяжелые металлы, ферментативная активность почвы, оксидазы, токсичность, загрязнение, экотоксикологическая оценка.

Ecotoxicological estimation of Cd, Cu, Zn, Pb pollution's influence on oxidizes phermental activity in the conditions of turf middle sandy soil and chernozem soil. N.O. Ryzhenko. The article deals with approach of the calculation of soil oxidizes activity diapasons. It allows to evaluate Cd, Pb, Cu, Zn toxicity regarding polyphenoloxidize and peroxidize in the conditions of the single and complex of metals soil pollution. According to the value of heavy metals toxicity regarding soil oxidizes the heavy metals can be ranked in the following descending order: $Cd > Cu > Pb > Zn$. The influence of the heavy metals complex had less toxicity regarding soil oxi-

dizes than effect of zinc on soil ferments. *Keywords:* heavy metals, soil enzyme activity, oxidase, toxicity, pollution, ecotoxicological evaluation.

Вступ

Одним з найважливіших оціночних індексів токсичності важких металів (ВМ) є показник їх впливу на ферментативну активність ґрунту. Ферменти, як найактивніший ґрунтовий компонент, зосереджені там, де найбільш інтенсивно відбуваються процеси життєдіяльності мікроорганізмів, в тому числі і гуміфікації ґрунту [1-4]. В даній роботі вивчалась активність поліфенолоксидази та пероксидази в 0-20-см шарі ґрунту в умовах його забруднення Cd, Pb, Cu, Zn. Дані ферменти відносяться до групи оксидаз та беруть участь у синтезі та розпаді гумусних речовин ґрунту [1-3]. Тому поліфенолоксидаза та пероксидаза відіграють важливу роль у регуляції енергетичного балансу біологічних екосистем, визначаючи його буферну здатність та потужність фітопродукційного процесу, оскільки синтез та мінералізація гумусових речовин ґрунту є провідними чинниками рівня родючості ґрунту [5-8]. Основна кількість важких металів, що надходить із забрудненням (76-94%), як правило, локалізується у 0-20 см шарі ґрунту, де активно відбуваються процеси синтезу та розпаду гумусних речовин ґрунту [5-8]. Тому дослідження рівня впливу важких металів на активності оксидаз ґрунту в умовах забруднення ВМ є необхідним завданням.

Метою даних досліджень було: побудувати ряди токсичності Cd, Pb, Cu, Zn по відношенню до поліфенолоксидази та пероксидази, встановити діапазони токсичності ВМ по відношенню до активності ферментів

за різних концентрацій металів у ґрунті, а також порівняти вплив ВМ на активність оксидаз на різних за буферною ємністю ґрунтах: на чорноземі типовому мало гумусному та дерново-середньопідзолистому ґрунті.

Матеріали і результати дослідження

Досліджувані ґрунти: дерново-середньопідзолистий супіщаний (рН сол. – 5,5, гідролітична кислотність 2,7 мг-екв./100г, вміст гумусу за Тюрінім 0,87%, ступінь насиченості основами 58%) та чорнозем типовий малогумусний (рН сол. -6,2, ступінь насиченості основами 82,3%, вміст гумусу 2,89 %) під посівом ячменю ярого. Дослідження проводились на базі Чернігівського інституту АПВ НААНУ. При закладенні дослідів були використані наступні солі металів: $Pb(NO_3)_2$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $CuSO_4 \cdot 7H_2O$, $CdSO_4$. Проводили вегетаційний і польовий досліди. Встановлення рівня токсичності кожного з досліджуваних металів по відношенню до активності пероксидази та поліфенолоксидази дослідження проводили в умовах монометалічного забруднення. Солі металів вносили у ґрунт різними кількостями від 5 до 30 ГДК за валовим вмістом в залежності від металу. Схема досліду була такою: 1.Контроль; 2. 5 ГДК Cu (500 мг/кг ґрунту); 3. 10 ГДК Cu (1000 мг/кг ґрунту); 4. 15 ГДК Cu (1500 мг/кг ґрунту); 5. 5 ГДК Zn (1500 мг/кг ґрунту); 6. 10 ГДК Zn (3000 мг/кг ґрунту); 7. 15 ГДК Zn (4500 мг/кг ґрунту); 8. 5 ГДК Cd (15 мг/кг ґрунту); 9. 10 ГДК Cd (30 мг/кг

грунту); 10. 15 ГДК Cd (45 мг/кг грунту); 11. 30 ГДК Cd (90 мг/кг грунту); 12. 50 ГДК Cd (150 мг/кг грунту); 13. 100 ГДК Cd (300 мг/кг грунту); 14. 5 ГДК Pb (150 мг/кг грунту); 15. 10 ГДК Pb (300 мг/кг грунту); 16. 15 ГДК Pb (450 мг/кг грунту); 17. 30 ГДК Pb (900 мг/кг грунту); 18. 50 ГДК Pb (1500 мг/кг грунту); 19. Cu 5 ГДК (500 мг/кг грунту); 20. 10 ГДК Cu (1000 мг/кг грунту); 21. 15 ГДК Cu (1500 мг/кг грунту); 22. 5 ГДК Zn (1500 мг/кг грунту); 23. 10 ГДК Zn (3000 мг/кг грунту); 24. 15 ГДК Zn (4500 мг/кг грунту).

Встановлення діапазонів токсичності оксидаз по відношенню до суміші металів (Cd, Pb, Cu, Zn) проводили в умовах мультиметалічного забруднення. Для цього у 0-20 см шар грунту вносили суміші солей Cd, Pb, Cu, Zn в концентраціях від 0,5 до 5 ГДК елементів за валовим вмістом. Схема досліджу була такою: 1.Контроль; 2. Суміш солей по 0,5 ГДК Zn, Cd, Cu, Pb; 3. Суміш солей по 1ГДК Zn, Cd, Cu, Pb; 4. Суміш солей по 5 ГДК Zn, Cd, Pb, Cu. Дози внесення металів у грунт по варіантах були зорієнтовані на значення ГДК за їх валовим вмістом. ГДК валового вмісту у грунті складала: Cu – 100 мг/кг; Zn – 300 мг/кг; Cd – 3 мг/кг; Pb – 30 мг/кг

Екстракцію рухомих та потенційно рухомих форм Cd, Pb, Cu, Zn проводили 1 Н HCl з подальшим визначенням хроматографічним методом в тонкому шарі адсорбенту (№ 50-97 від 19.06.1997 р.) [9]. Визначення активності оксидаз ґрунту проводили за методом А.Ш. Галстяна і визначали в мг пурпургаліну на 1 г ґрунту [10].

Результати та їх обговорення

Результати досліджень показали, що інгібуюча дія досліджуваних металів була вищою для поліфенолоксидази, ніж для пероксидази як на чорноземі, так і на дерново-підзолистому ґрунті. У зв'язку із більшою геохімічною ємністю чорнозему типового малогумусного активність обох оксидаз на ньому була вищою, ніж на дерново-середньопідзолистому ґрунті (табл.1).

При монометалічному забрудненні активність оксидаз на чорноземі була більшою порівняно до дерново-середньопідзолистого ґрунту. Так, в умовах імпактного забруднення цинком на дерново-середньопідзолистому ґрунті на варіанті 5 ГДК активність поліфенолоксидази становила 0,639; на 10 ГДК - 0,707; на 15 ГДК - 0,347 мг пурпургаліну на 1 г ґрунту, а на чорноземі типовому відповідно 0,579; 0,330; 0,483. Активність пероксидази на дерново-середньопідзолистому ґрунті складала на варіанті 5 ГДК 0,429; 10 ГДК 0,336; 15 ГДК 0,129 мг пурпургаліну на 1 г ґрунту, а на чорноземі відповідно 0,228; 0,150; 0,168 мг пурпургаліну на 1 г ґрунту. Аналогічна закономірність спостерігалась і для Cd, Pb, Cu (табл.1). Виходячи із аналізу літературних джерел, активність оксидаз по відношенню до кожного елементу залежить від структурних особливостей (поліфенолоксидаза – мідь-, а пероксидаза – залізовмісний ферменти) [1].

Таблиця 1

Діапазон активності оксидаз в умовах монометалічного забруднення

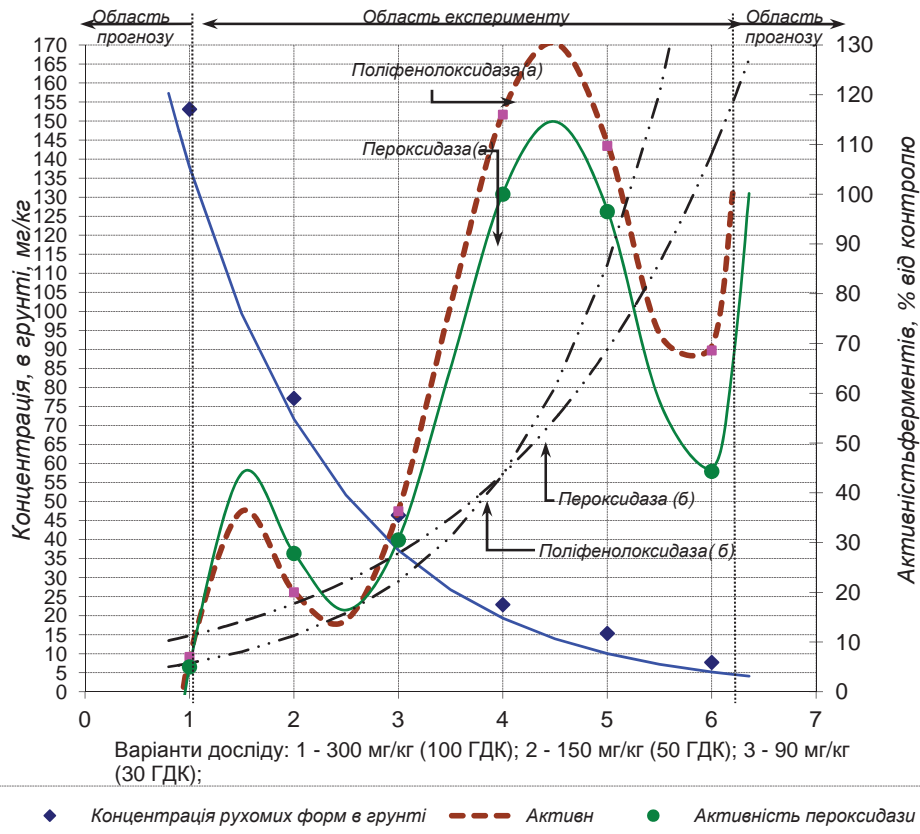
Метал	Варіант	Концентрація рухомих форм ВМ в ґрунті, мг/кг ґрунту	Фермент			
			Поліфенолоксидаза		Пероксидаза	
			Активність ферменту, мг пурпургаліну на 1 г ґрунту	Активність ферменту, % від контролю	Активність ферменту, мг пурпургаліну на 1 г ґрунту	Активність ферменту, % від контролю
Дерново-середньопідзолистий ґрунт						
	Контроль		0,680	100,0	0,429	100,0
Cd	5 ГДК	7,72	0,466	69,60	0,190	44,3
	10 ГДК	15,33	0,746	109,70	0,414	96,5
	15 ГДК	22,90	0,789	116,00	0,429	100,0
	30 ГДК	46,40	0,247	36,60	0,131	30,5
	50 ГДК	77,10	0,229	33,70	0,119	27,8
	100 ГДК	153,10	0,069	10,20	0,021	5,0
	<i>HCP_{5%}</i>		0,10		0,09	
Pb	5 ГДК	116,10	0,619	91,00	0,380	88,6
	10 ГДК	231,90	0,551	81,00	0,354	82,5
	15 ГДК	347,70	0,595	87,00	0,302	70,5
	30 ГДК	695,10	0,391	57,50	0,173	40,3
	50 ГДК	1158,30	0,073	10,80	0,022	5,1
	<i>HCP_{5%}</i>		0,06		0,17	
Zn	5 ГДК	743,00	0,639	94,00	0,429	100,0
	10 ГДК	1913,10	0,707	104,0	0,336	78,3
	15 ГДК	2868,45	0,347	51,0	0,129	30,0
	<i>HCP_{5%}</i>		0,10		0,08	
Cu	5 ГДК	173,80	0,660	97,0	0,412	96,0
	10 ГДК	533,45	0,653	96,0	0,390	90,9
	15 ГДК	799,72	0,612	90,0	0,184	43,0
		<i>HCP_{5%}</i>		0,10		0,08
Чорнозем типовий малогумусний						
	Контроль		0,750	100,0	0,540	100,0
Cd	5 ГДК	7,01	0,660	88,0	0,270	50,0
	10 ГДК	13,90	0,387	51,6	0,387	71,7
	15 ГДК	20,80	0,639	85,2	0,369	68,3
	30 ГДК	41,70	0,335	44,7	0,218	40,4
	50 ГДК	68,20	0,300	40,0	0,185	34,3
	100 ГДК	138,90	0,139	18,5	0,056	10,4
	<i>HCP_{5%}</i>		0,07		0,10	
Pb	5 ГДК	109,16	0,735	98,0	0,387	71,67
	10 ГДК	231,90	0,720	96,0	0,426	78,9
	15 ГДК	347,70	0,810	108,0	0,405	75,0
	30 ГДК	695,10	0,488	65,0	0,272	50,38
	50 ГДК	1062,00	0,113	15,0	0,04	7,5
	<i>HCP_{5%}</i>		0,09		0,09	
Zn	5 ГДК	656,50	0,579	77,2	0,228	42,2
	10 ГДК	1657,91	0,330	44,0	0,150	27,7
	15 ГДК	2484,20	0,483	64,4	0,168	31,1
	<i>HCP_{5%}</i>		0,10		0,17	
Cu	5 ГДК	144,30	0,768	102,4	0,444	82,2
	10 ГДК	421,00	0,768	102,4	0,660	122,2
	15 ГДК	630,20	0,735	98,0	0,540	100,0
		<i>HCP_{5%}</i>		0,11		0,10

Було встановлено, що збільшення концентрації металів в ґрунті приводило до пригнічення активності оксидаз. В умовах монометалічного забруднення формалізація залежності активності оксидаз від концентрації металу в ґрунті дозволила встановити діапазон їх активності по відношенню до кожного досліджуваного елемента. Графік залежності активності оксидаз від концентрації кадмію у дерново-середньопідзолистому ґрунті як приклад представлено на рисунку. Діапазон активності поліфенолоксидази та пероксидази в умовах забруднення ґрунту важкими металами визначали областю концентрацій рухомої форми металу в ґрунті (мг/кг), верхньою межею якого є значення, при якому не відбувається пригнічення активності ферменту (рівень контролю), а нижньою - є значення, при якому спостерігається 100% пригнічення активності ферменту. Рівень контролю вважали за 100% активність ферментів. Залежність активності оксидаз від концентрації рухомих форм металу в ґрунті встановлювали за допомогою методу імітаційного моделювання [11], в результаті чого був одержаний весь діапазон активності оксидаз в умовах забруднення ґрунту. Згідно законів фазових реакцій, "все, або нічого", загальних властивостей систем - їх перервності та неперервності - коливальний тип затухання активності ферментів в умовах забруднення ґрунту ВМ є типовим (правило „затухання процесів”) [2, 3, 11]. Відповідно до принципу Ле Шательє-Брауна та другого принципу термодинаміки, після стресу екосистема не повертається до попереднього стану, оскільки конструктивна зміна у її струк-

турі викликає збільшення ентропії та поглинання енергії зовні, що призводить до суттєвих змін у її ієрархії [2, 3]. Виходячи із цього, залежність активності ферментів від концентрації металів у ґрунті описували за допомогою поліноміальної спадної кривої ($r=0,95-0,99$), що узгоджується з літературними даними та є детальною частиною загального експоненційного тренду процесів деградації у екосистемі (рис. 1). Динаміку активності оксидаз від концентрації ВМ на дерново-середньопідзолистому ґрунті формалізували таким чином: поліфенолоксидаза $3,4177x^5 - 59,992x^4 + 387,8x^3 - 1132,9x^2 + 1491,1x - 682,4$ ($r = 0,99$)—Cd; пероксидаза $3,2567x^5 - 58,296x^4 + 385,76x^3 - 1160,3x^2 + 1576,9x - 742,3$ ($r=0,99$)—Cd. Аналогічна формалізація була проведена для решти металів на обох досліджуваних ґрунтах. Так, при забрудненні Pb дерново-середньопідзолистого ґрунту: $5,75x^3 - 61,107x^2 + 209,14x - 145,8$ ($r = 0,97$) - поліфенолоксидаза; $2,833x^3 - 34,207x^2 + 136,71x - 102,34$ ($r = 0,96$) -пероксидаза; та на чорноземі типовому малогумусному $5,317x^3 - 60,164x^2 + 216,92x - 147,5$ ($r = 0,96$) - поліфенолоксидаза; $4,605x^3 - 51,79x^2 + 186,13x - 137,47$ ($r = 0,97$) пероксидаза. В умовах забруднення Zn: на дерново-середньопідзолистому ґрунті $13,167x^3 - 110,5x^2 + 292,33x - 144$ ($r = 0,99$) - поліфенолоксидаза; $5,2707x^3 - 54,141x^2 + 181,51x - 103,95$ ($r = 0,98$) -пероксидаза; та на чорноземі типовому малогумусному $50,507x^3 - 276,24x^2 + 454,77x - 164,64$ ($r = 0,99$) - поліфенолоксидаза; $31,74x^3 - 181,49x^2 + 318,89x - 138,04$ ($r = 0,99$) -пероксидаза. При забрудненні Cu дерново-середньопідзолистого ґрунту: $16,559x^3 - 129,79x^2$

$+310,49x - 22,78$ ($r = 0,68$) – поліфенолоксидаза; $6,699x^3 - 64,17x^2 + 196,37x - 97,326$ ($r = 0,99$) – пероксидаза; та на чорноземі типовому малогумусному

$11,442x^3 - 91,036x^2 + 219,85x - 53,468$ ($r = 0,75$) – поліфенолоксидаза; $18,025x^3 - 141,61x^2 + 323,24x - 100,65$ ($r = 0,99$) – пероксидаза.



Примітка: Поліфенолоксидаза (а), пероксидаза (а) – поліноміальна формалізація; поліфенолоксидаза (б), пероксидаза (б) – експоненційна формалізація

Рисунок. Діапазон активності оксидаз в умовах монометалічного імпактного забруднення кадмієм (дерново-середньопідзолистий ґрунт)

Найбільш токсичним по відношенню до ферментів виявився кадмій: діапазон активності оксидаз в умовах його забруднення був найменшим на обох досліджуваних ґрунтах (табл.2).

Найменш токсичним по відношенню до оксидаз був цинк, його діапазон активності ферментів був

найбільшим за абсолютними значеннями границь і шириною амплітуди. Свинець характеризувався меншою токсичністю порівняно до міді та більшою, ніж цинк. Таким чином, встановлено ряд токсичності металів по відношенню до оксидаз ґрунту: $Cd > Cu > Pb > Zn$.

За мультиметалічного забруднення величина амплітуди діапазонів активності ферментів при мультиметалічному забрудненні була більшою порівняно до монометалічних умов (табл. 3). Нижня межа діапазонів при сумісній дії металів майже співпадала із найменшими границями діапазонів при монометалічному забрудненні, які були характерні для

кадмію внаслідок його найбільшої токсичності по відношенню до оксидаз. Верхні межі діапазонів активності ферментів при мультиметалічному забрудненні були меншими порівняно до меж діапазону активності оксидаз при окремій дії металів, що свідчить про наявність явища нигіляції токсичного ефекту мультиметалічної дії.

Таблиця 2

Діапазон активності оксидаз в умовах монометалічного забруднення

Фермент	Діапазон активності ферменту, в мг/кг рухомої форми металу							
	Дерново-середньопідзолистий ґрунт				Чорнозем типовий малогумусний			
	Cd	Cu	Pb	Zn	Cd	Cu	Pb	Zn
Поліфенол-оксидаза	5-145	70-1150	80-1211	390-3650	8-155	80-1200	105-1260	630-3800
Пероксидаза	4-142	50-1050	60-1070	300-3200	6,5-150	60-1100	70-1150	520-3400

Таблиця 3

Діапазони активності оксидаз при мультиметалічному забрудненні

Фермент	Концентрація металів у суміші в ґрунті, мг/кг рухомих форм	
	Дерново-середньопідзолистий ґрунт	Чорнозем типовий мало гумусний
	Поліфенолоксидаза	5,2-1500,0
Пероксидаза	3,7-1200,0	22,7-1700,0

Результат взаємодії ВМ не є простою сумою окремих дій, а народжує якісно нові результати, що залежать від усієї сукупності взаємодій. Зокрема, відбувалась нигіляція дії кадмію, міді, свинцю на оксидази, а потенційована дія (збільшений ефект у кількісному розумінні при умовно-якісній константі) проявлялась стосовно цинку.

Висновки

Виявлено, що інгібуюча дія досліджуваних металів була вищою для поліфенолоксидази, ніж для пероксидази як на чорноземі, так і на дерново-підзолистому ґрунті.

Рівень токсичності металів було виявлено на основі величини діапазонів активності ферментів по відношенню до вмісту рухомої форми металу в ґрунті. Для поліфенолоксидази діапазони активності склали Cd 5-145 мг/кг, Cu 70-1150 мг/кг, Pb 80-1211 мг/кг, Zn 390-3650 мг/кг ґрунту та пероксидази Cd 4-142 мг /кг, 50-1050 Cu мг/кг, Pb 60-1070 мг/кг, Zn 300-3200 мг/кг рухомої форми металу у ґрунті на дерново-середньопідзолистому ґрунті. На чорноземі типовому малогумусному діапазони активності поліфенолоксидази становили Cd 8-155 мг/кг, Cu 80-1200 мг/кг, Pb 105-1260 мг/кг, Zn 630-3800

мг/кг та пероксидази Cd 6,5-150,0 мг/кг, Cu 60-1100 мг/кг, Pb 70-1150 мг/кг, Zn 520-3400 мг/кг.

На основі змін активності оксидаз в присутності рухомих форм важких металів в ґрунті встановлено такий ряд токсичності: $Cd > Cu > Pb > Zn$.

Встановлено, що в зв'язку із більшою геохімічною ємністю чорнозему типового малогумусного в умовах моно- та мультиметалічного імпактного забруднення активність оксидаз на ньому вища, ніж на дерново-середньопідзолистому ґрунті.

В умовах забруднення ВМ у суміші на дерново-середньопідзолистому ґрунті діапазон активності поліфенолоксидази становив 5,2-1500, пероксидази 3,7-1200 мг/кг, а на чорноземі типовому малогумусному від-

повідно 30,6-1900 та 22,7-1700 мг/кг металів в ґрунті.

Встановлено, що дія суміші металів більш токсична для ферментів порівняно до монометалічної дії цинку. Величина діапазону активності оксидаз в умовах мультиметалічного забруднення забруднення була меншою порівняно до селективної дії найменш токсичного металу Zn. Так, діапазон активності поліфенолоксидази становив 5,2-1500 мг/кг, в той час як для цинку він становив 390-3650 на дерново-середньопідзолистому ґрунті, а на чорноземі 30,6-1900 та 630-3800 мг/кг. Аналогічна тенденція спостерігалась і для пероксидази.

Встановлено, що дія суміші металів менш токсична для ферментів порівняно з монометалічною дією металів за винятком цинку.

Література

1. Галстян А.Ш. К оценке степени плодородия почв ферментативными реакциями. Микроорганизмы в сельском хозяйстве. – М.: Изд-во МГУ, 1963. – С.327-335.
2. Реймерс Н.Ф. Экология: Теории, законы, правила, принципы и гипотезы. – М.: Россия молодая, 1994. – С. 45-49.
3. Реймерс Н.Ф. Природопользование: Словарь-справочник. – М.: Мысль, 1990. – 637 с.
4. Кавецкий В.М., Козьякова Н.О. Екотоксичний моніторинг агрогеоценологічного покриву (концепція та критерії оцінка стану агроценозів)//Науковий вісник НАУ, Вип. 50. – К.: , 2002. - С.290-293.
5. Риженко Н.О., Кавецкий В.М. Екотоксикологічна оцінка фітотоксичності Cd, Cu, Zn, Pb за умов моно- та мультиметалічного забруднення ґрунту// Наукові записки НАУКМА. Київ, -. 2009.-С. 77-81
6. Риженко Н.О. Біокумуляція Pb, Cd, Zn,Cu при імпактному забрудненні – екотоксикологічний критерій якості довкілля//"Екологічні науки" №1-2012, Київ, ДЕА, с. 46-55.
7. Риженко Н.О. Фітотоксикологія: виникнення і методологія// Агроекологічний журнал. Спеціальний випуск. Київ. – 2009, с. 281-283.
8. Риженко Н.О., Кавецкий В.М., Юрченко Т.В. Екотоксична оцінка важких металів (Cd, Pb, Cu, Ni, Co, Zn) у системі «ґрунт-рослина» за полярністю їх дитизонатів// Наукові записки НАУКМА. Київ, - 2012, Т.132, с.63-67.
9. Методичні вказівки по визначенню Hg, Zn, Co, Cd, Cu у ґрунті, рослинах, у воді методом тонкошарової хроматографії, №50-97 від 19. 06.97.
10. Галстян А.Ш. Определение активности ферментов почв (методические указания). – Ереван: НИИ Почвоведения и агрохимии Арм.ССР.-1978.-54 с.
11. Свирежев Ю.М., Логофет Д.О. Устойчивость биологических сообществ.- М.: Изд-во Наука, 1978. - С.300-301.