

БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК (UDC): 574.64:504.064

DOI: <https://doi.org/10.26565/1992-4259-2021-24-09>

А. М. КРАЙНЮКОВА¹, д-р біол. наук, проф., О. М. КРАЙНЮКОВ², д-р геогр. наук, проф.,
І. А. КРИВИЦЬКА², канд. біол. наук

¹НДУ Український науково-дослідний інститут екологічних проблем
вул. Бакуліна, 6, м. Харків, 61166, Україна

²Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна
майдан Свободи, 6, м. Харків, 61022, Україна

e-mail: biotest.nieepkharkiv@meta.ua
alkraynukov@gmail.com
ivkrivitska@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1005-8850>
<https://orcid.org/0000-0002-5264-3118>
<https://orcid.org/0000-0003-4727-794X>

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДИК БІОТЕСТУВАННЯ ДЛЯ ОЦІНЮВАННЯ ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ ПОВЕРХНЕВИХ ВОД

Мета. аналіз вітчизняного і зарубіжного досвіду з вирішення проблеми хімічного забруднення поверхневих вод, його економічних наслідків відповідно до положень європейського законодавства.

Методи. Системний аналіз.

Результати. Здійснено аналіз зарубіжних та вітчизняних джерел з питань використання методик біотестування для оцінювання екологічного стану поверхневих вод та визначення токсичних властивостей води і хімічних речовин. Обґрунтовано вибір оптимального набору методик біотестування для оцінювання екологічних наслідків хімічного забруднення поверхневих вод; дослідження системи екологічної відповідальності, яка діє в європейських та інших зарубіжних країнах, та національних нормативно-правових актів щодо стягнення збитків за порушення водного законодавства. У світовій практиці для отримання даних щодо впливу небезпечних хімічних речовин токсичної дії на водні екосистеми використовується метод біотестування. Біотести доступні і дешеві (при використанні спеціально опрацьованих для практичних потреб модифікацій), не вимагають спеціальної підготовки виконавців і легко можуть бути засвоєні в дослідних лабораторіях.

Висновки. Для оцінки і контролю якості поверхневих вод та джерел їх забруднення відповідно до рекомендацій Водної Рамкової Директиви 2000/60/ЄС застосовуються методики біотестування з використанням «базового набору таксонів» – водоростей, ракоподібних та риб.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: поверхневі води, водний об'єкт, водна екосистема, хімічне забруднення, метод біотестування, хімічні речовини токсичної дії, екологічна відповідальність

Krainiukova A. M.¹, Krainiukov O. M.², Kryvytska I. A.²

¹Scientific-research establishment «Ukrainian Research Institute of Environmental Problems»
st. Bakulina, 6, 61166, Kharkiv, Ukraine

²V. N. Karazin Kharkiv National University, Svoboda Square, 6, 61022, Kharkiv, Ukraine

USE OF BIOTESTING METHODS FOR ASSESSING THE ECOLOGICAL CONDITION OF SURFACE WATERS

Purpose. Analysis of national and foreign experience in solving the problem of chemical pollution of surface waters and its economic consequences in accordance with the provisions of European legislation.

Methods. System analysis.

© Крайнюкова А. М., Крайнюков О. М., Кривицька І. А., 2021



This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Results. Selection of the optimal set of biotesting methods for assessing the environmental consequences of chemical pollution of surface waters; study of the system of environmental liability, which operates in European and other foreign countries, and national regulations on the recovery of damages for violations of water legislation. The analysis of foreign and national sources on the use of biotesting techniques to assess the ecological status of surface waters and determine the toxic properties of water and chemicals. In world practice, a biotesting method is used to obtain data on the effects of hazardous toxic chemicals on aquatic ecosystems. Biotests are available and cheap (when using specially designed modifications for practical needs), do not require special training of performers and can be easily mastered in practical laboratories.

Conclusions. To assess and control the quality of surface waters and their sources of pollution in accordance with the recommendations of the Water Framework Directive 2000/60 / EC, biotesting techniques are used using a "basic set of taxa" - algae, crustaceans and fish.

KEY WORDS: surface waters, water body, aquatic ecosystem, chemical pollution, biotesting method, toxic chemicals, ecological responsibility

Крайнюкова А. Н.¹, Крайнюков А. Н.², Кривицкая И. А.²

¹Научно-исследовательская организация «Украинский научно-исследовательский институт экологических проблем», ул. Бакулина, 6, г. Харьков, 61166, Украина

²Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 6, г. Харьков, Украина

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДИК БИОТЕСТИРОВАНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД

Цель. Анализ отечественного и зарубежного опыта по решению проблемы химического загрязнения поверхностных вод и их экономических последствий в соответствии с положениями европейского законодательства.

Методы. Системный анализ.

Результаты. Выбор оптимального набора методик биотестирования для оценки экологических последствий химического загрязнения поверхностных вод; исследования системы экологической ответственности, которая действует в европейских и других зарубежных странах, и национальных нормативно-правовых актов по взысканию ущерба за нарушение водного законодательства. Осуществлен анализ зарубежных и отечественных источников по вопросам использования методик биотестирования для оценки экологического состояния поверхностных вод и определения токсических свойств воды и химических веществ. В мировой практике для получения данных о влиянии опасных химических веществ токсического действия на водные экосистемы используется метод биотестирования. Биотесты доступные и дешевые (при использовании специально разработанных для практических нужд модификаций), не требуют специальной подготовки исполнителей и легко могут быть освоены в исследовательских лабораториях.

Выводы. Для оценки и контроля качества поверхностных вод и источников их загрязнения в соответствии с рекомендациями Водной Рамочной Директивы 2000/60 / ЕС применяются методики биотестирования с использованием «базового набора таксонов» - водорослей, ракообразных и рыб.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: поверхностные воды, водный объект, водная экосистема, химическое загрязнение, метод биотестирования, химические вещества токсического действия, экологическая ответственность

Вступ

Оцінювання екологічного стану водних об'єктів шляхом спостереження за зміною індикаторних організмів дозволяє об'єктивно визначати ознаки наближення екологічного регресу водної екосистеми внаслідок порушення самоочисної здатності водного об'єкта. В такий спосіб моніторингові служби отримують можливість завбачати несприятливі екологічні ситуації при розробленні відповідними органами управління певних превентивних заходів, які б цю загрозу попереджували.

Повсюдне посилення антропогенного навантаження на поверхневі води зумовлює нагальну потребу в удосконаленні системи охорони водних ресурсів шляхом залучення

біологічних методів оцінювання екологічних наслідків хімічного забруднення поверхневих вод та сучасних підходів щодо розрахунку збитків, заподіяних водним об'єктам внаслідок їх забруднення екологічно небезпечними хімічними речовинами на основі результатів екотоксикологічної оцінки джерел забруднення водних об'єктів.

Одним із ефективних заходів попередження забруднення навколишнього природного середовища, зокрема поверхневих вод хімічними речовинами токсичної дії є використання методу біотестування, за допомогою якого встановлюються нормативи екологічно безпечного водокористування [1].

Метод біотестування є експериментальним прийомом, який здійснюється в стандартних умовах і ґрунтується на реєстрації відгуків організмів (тест-об'єктів) на сумісну дію хімічних речовин, присутніх у воді з урахуванням різних проявів їх взаємодії – синергізму, антагонізму та адитивності.

Метод біотестування починаючи з 70-х років минулого століття у ряді розвинених країн використовується для вирішення важливих природоохоронних завдань.

Результати та обговорення

Станом на сьогоднішній день найбільш розповсюдженими є методики, представлені в рекомендаціях та керівництвах таких організацій як ОЕСР, ІСО, Агентство з охорони навколишнього середовища США (таблиця).

У цих методиках використовуються різні реакції представників водних організмів усіх ланок трофічного ланцюга водної екосистеми: у водоростей – інтенсивність фотосинтезу, вміст хлорофілу, каротиноїдів, концентрація клітин, біомаса; у макрофітів – зміна тургору і забарвлення листових пластин, біомаса; у ракоподібних – виживаність, плодючість, частота рухів антен та серцевих скорочень, абортвання яєць та ембріонів; у риб – порушення ембріонального розвитку, виживання організмів на ранніх життєвих стадіях, швидкість зростання, біомаса, акумуляція небезпечних хімічних речовин в органах та в тканинах, імобілізація; серед бентосних організмів – плодючість, імобілізація, акумулювання небезпечних хімічних речовин в органах і тканинах.

Аналіз результатів впровадження методик біотестування в систему оцінки і контролю якості природних і стічних вод в різних зарубіжних країнах показав, що в США за їх допомогою досить ефективно було вирішено проблему охорони вод від токсичного забруднення [10]. Про це свідчить підготовлений Агентством з охорони навколишнього середовища (ЕРА) документ «Стратегія в галузі дослідження вод», в якому наголошується необхідність застосування біотестів для оцінки токсичності води [11].

В останні роки набір методик біотестування, який застосовується підрозділами ЕРА в США, включає біотести з використанням показників виживаності риб на ранніх стадіях розвитку, наприклад *Pimephales promelas*, виживаності та плодючості церіодафній *Ceriodaphnia dubia*, простоту

розробці різних методик і процедур біотестування для визначення токсичності окремих хімічних речовин та їх сумішей, поверхневих та стічних вод присвячено численні роботи вітчизняних авторів, опублікованих у різні періоди [2-9].

Мета роботи – аналіз вітчизняного і зарубіжного досвіду з вирішення проблеми хімічного забруднення поверхневих вод його економічних наслідків відповідно до положень європейського законодавства

чисельності клітин водоростей *Selenastrum capricornutum* [12].

Нормування небезпечних хімічних речовин, які надходять до поверхневих вод разом зі стічними водами, в США регулюється Кодексом федеральних правил (40 CFR 401.15, 40 CFR Part 423, Appendix A) Законодавством США. Зокрема Законом «Про чисту воду», забороняється скидання токсичних стічних вод. З цією метою використовуються методики визначення гострої та хронічної токсичності стічних вод переважно на рибах (*Pimephales promelas*), водоростях (*Selenastrum capricornutum*) і ракоподібних (*Ceriodaphnia dubia*) [13].

У Канаді управління поверхневими водами здійснюється відповідно до положень Закону «Про воду» та Закону «Про захист навколишнього середовища», які встановлюють загальні принципи управління якістю поверхневих вод у країні. Нормування впливу промислових стічних вод на водне середовище та здоров'я людини здійснюється відповідно до Правил «Про скид шахтних стічних вод» [14], Правил «Про скид стічних вод» [15] та Правил «Про скид стічних вод целюлозно-паперової промисловості» [16]. Для визначення токсичних властивостей стічних вод використовуються методики біотестування на дафніях (*Daphnia magna*) та райдужній форелі (*Oncorhynchus mykiss*). Контроль якості води водоприймача стічних вод здійснюється шляхом проведення моніторингу стану гідробіонтів у воді і донних відкладах, а також шляхом визначення сублетальної токсичності на рибах (*Oncorhynchus mykiss*, *Pimephales promelas*), ракоподібних (*Daphnia magna*), вищих водних рослинах (*Lemna minor*) та водоростях (*Chlorella vulgaris*).

У ряді інших зарубіжних країн метод біотестування також впроваджується у водоохо-

Таблиця

Найбільш розповсюджені методики біотестування

Table

The most common methods of biotesting

Організація	Методики біотестування
ОЕСР	Test No. 201: Alga, Growth Inhibition Test Test No. 221: <i>Lemna sp.</i> Growth Inhibition Test Test No. 202: <i>Daphnia sp.</i> Acute Immobilisation Test Test No. 211: <i>Daphnia magna</i> Reproduction Test Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test Test No. 204: Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study Test No. 210: Fish, Early-Life Stage Toxicity Test Test No. 212: Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages Test No. 215: Fish, Juvenile Growth Test Test No. 229: Fish Short Term Reproduction Test No. 230: 21-day Fish Assay Test No. 231: Amphibian Metamorphosis Assay Test No. 218: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment Test No. 219: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Water Test No. 233: Sediment-Water Chironomid Life-Cycle Toxicity Test Using Spiked Water or Spiked Sediment Test No. 225: Sediment-Water Lumbriculus Toxicity Test Using Spiked Sediment
ISO	ISO 10712:1995 Water quality - <i>Pseudomonas putida</i> growth inhibition test (<i>Pseudomonas</i> cell multiplication inhibition test) ISO 11348:2007 Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of <i>Vibrio fischeri</i> (Luminescent bacteria test) -- ISO 20079:2005 Water quality - Determination of the toxic effect of water constituents and waste water on duckweed (<i>Lemna minor</i>) - Duckweed growth inhibition test ISO 8692:2004 Water quality - Freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae ISO 6341:1996 Water quality - Determination of the inhibition of the mobility of <i>Daphnia magna</i> Straus (<i>Cladocera, Crustacea</i>) -- Acute toxicity test ISO 10706:2000 Water quality - Determination of long term toxicity of substances to <i>Daphnia magna</i> Straus (<i>Cladocera, Crustacea</i>) ISO/CD 16303 Water quality - Determination of toxicity of fresh water sediments using <i>Hyalella azteca</i> ISO 20665:2008 Water quality - Determination of chronic toxicity to <i>Ceriodaphnia dubia</i> ISO 15088:2007 Water quality - Determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish eggs (<i>Danio rerio</i>) ISO 7346:1996 Water quality - Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [<i>Brachydanio rerio</i> Hamilton Buchanan (<i>Teleostei, Cyprinidae</i>) ISO 10229:1994 Water quality - Determination of the prolonged toxicity of substances to freshwater fish - Method for evaluating the effects of substances on the growth rate of rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i> Walbaum (<i>Teleostei, Salmonidae</i>)) ISO 12890:1999 Water quality - Determination of toxicity to embryos and larvae of freshwater fish - Semi-static method
Агенство з охорони навколишнього середовища США	850.1010 - Aquatic Invertebrate Acute Toxicity, Test, Freshwater Daphnids 850.1020 - Gammarid Acute Toxicity Test 850.1075 - Fish Acute Toxicity Test, Freshwater And Marine 850.1300 - Daphnid Chronic Toxicity Test 850.1400 - Fish Early-Life Stage Toxicity Test 850.1500 - Fish Life Cycle Toxicity 850.1730 - Fish BCF 850.1735 - Whole Sediment Acute Toxicity Invertebrates, Freshwater 850.1790 - Chironomid Sediment Toxicity Test 850.1850 - Aquatic Food Chain Transfer 850.4400 - Aquatic Plant Toxicity Test Using Lemna Spp., Tiers I and II 850.5400 - Algal Toxicity, Tiers I and II

ронну практику. Питанням забезпечення нормального функціонування водних екосистем в країнах Європейського Союзу присвячена значна увага, що відображено в Директивах

Серед них базовим документом є Водна Рамкова Директива 2000/60/ЄС (ВРД) [17], яка встановлює основні засади охорони поверхневих вод від шкідливого впливу небезпечних хімічних речовин. Так, згідно зі ст. 16 ВРД визначено стратегію щодо поводження з хімічними речовинами для захисту поверхневих водних об'єктів від забруднення.

Відповідно до пункту 1.2.6. Додатку V ВРД 2000/60/ЄС з метою обмеження надходження до поверхневих вод небезпечних хімічних речовин встановлюються екологічні стандарти якості води на «базовому наборі таксонів» з використанням представників основних ланок трофічного ланцюга водної екосистеми: водоростей та / або макрофітів ракоподібних та риб.

Найбільш розповсюдженими тест-об'єктами для здійснення оцінки безпеки окремих хімічних речовин, їх сумішей для водної екосистеми та встановлення екологічних стандартів якості води є наступні:

- серед водоростей: *Scenedesmus subspicatus*, *Scenedesmus quadricauda*, *Selenastrum capricornutum*, *Chlorella vulgaris*, *Pseudokirchneriella subcapitata*;

- серед ракоподібних: *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia*, *Ceriodaphnia affinis*, *Hyalella azteca*;

- серед риб: *Danio rerio*, *Oncorhynchus mykiss*, *Cyprinus carpio*;

- серед макрофітів: *Lemna minor*.

У межах стратегії поводження з хімічними забруднюючими речовинами, які становлять небезпеку для водної екосистеми, впроваджені Директиви 2008/105/ЄС [18] та 2013/39/ЄС [19]. У них увагу зосереджено на основні засади управління хімічним забрудненням поверхневих вод особливо небезпечними хімічними речовинами, моніторинг яких повинен здійснюватися на загальноєвропейському рівні. У передмові зазначених Директив (пункт 1) наголошується, що хімічне забруднення поверхневих вод становить загрозу для водного середовища з такими наслідками, як гостра та хронічна токсичність для водних організмів, накопичення шкідливих речовин у водній екосистемі та зникнення природних ареалів і зменшення біологічного різноманіття. У зв'язку з цим у статті 1 визначається головна мета Директив – впровадження екологічних стандартів якості для пріоритетних

хімічних речовин та інших забруднюючих речовин для досягнення доброго хімічного статусу поверхневих вод.

«Базовий набір таксонів» в країнах ЄС використовується також для визначення токсичних властивостей нових хімічних речовин або сумішей, які розроблені на території країн ЄС або є імпортованими. Зазначені процедури здійснюються відповідно до Регламенту ЄС № 1907/2006 Про реєстрацію, оцінку, авторизацію і обмеження хімічних речовин та препаратів (REACH). Додатками VII-X Регламенту встановлюються обов'язкові вимоги до стандартної інформації нової хімічної речовини необхідної для отримання дозволу на її використання, серед якої для захисту водної екосистеми використовуються результати екотоксикологічних досліджень на водоростях, ракоподібних та рибках [24].

Відповідно до Регламенту ЄС № 1272/2008 щодо класифікації, маркування та пакування хімічних речовин і сумішей, який замінює та скасовує Директиви 67/54 /ЄС і 1999/45/ЄС та вносить зміни до Регламенту (ЄС) № 1907/2006 REACH. Віднесення хімічної речовини чи суміші до певної категорії здійснюється на основі проведених методом біотестування випробувань на «базовому наборі таксонів» за визначеними Регламентом критеріями [25].

Окрім токсикологічної оцінки хімічних речовин за допомогою методу біотестування, в країнах ЄС цей метод використовується для захисту водного середовища від негативного впливу джерел забруднення поверхневих вод. У роботах [26, 27] показано, що у Франції функціонує система контролю якості води, заснована на використанні значного набору показників, у тому числі і токсикологічних, за допомогою яких здійснюється комплексна оцінка якості природних вод і контроль джерел забруднення водних об'єктів. Організовано виробничий контроль токсичності стічних вод практично на всіх промислових підприємствах. Біотестування проводиться за допомогою набору стандартних методик. В якості тест-об'єктів використовуються представники основних трофічних ланок водної екосистеми: риби, безхребетні, водорості і бактерії.

Оцінка токсичності промислових стічних вод проводиться на низці підприємств у Великобританії з метою контролю їх якості при скиданні у водні об'єкти, який здійснюється за допомогою райдувної форелі і дафній. Первинний скринінг проводиться із застосуванням бактерій і дафній за показником

виживаності, подальше тестування включає оцінку ростових процесів водоростей, а також реєстрацію виживаності лососевих і коропо-вих риб [28, 29].

У Швеції застосовують методику визна-чення токсичності стічних вод, що утворю-ються на різних стадіях виробничого процесу. Для біотестування використовуються різні ре-акції водних організмів: репродуктивна здат-ність, ряд фізіолого-біохімічних показників, вивчаються також канцерогенні та мутагенні властивості токсикантів, які входять до складу стічних вод [30].

Ряд стандартних біотестів для визна-чення гострої токсичності води і хімічних реч-овин застосовуються у водоохоронній прак-тиці в Фінляндії [31, 32]. В якості тест-об'єктів використовуються райдужна форель, риба-зе-бра, дафнії, водорості і бактерії. Проводяться також хронічні експерименти з використан-ням ікри риб і молоді дафній для одержання даних щодо залежності між дією стічних вод на стан риб в лабораторних і природних умо-вах. Такі дослідження проведені в місцях ски-дання стічних вод целюлозно-паперової, мета-лургійної, хімічної та нафтохімічної галузей.

Значну кількість публікацій присвячено проблемі розробки та впровадження біотестів у практику водоохоронної діяльності в Чехії, Угорщині, Польщі та інших країнах [33]. В якості тест-об'єктів в методиках біотесту-вання використовується різноманітний набір організмів: найпростіші, ракоподібні, водоро-сті, риби та інші. Галузь застосування біотес-тів в цих країнах поширюється на контроль стічних вод, окремих хімічних речовин, здійс-нюється також еколого-токсикологічна оцінка якості поверхневих вод.

В Україні для забезпечення захисту по-верхневих вод при надходженні екологічно небезпечних хімічних речовин Водним кодек-сом України (ВКУ) та підпорядкованими йому нормативно-правовими актами встановлю-ються такі нормативи екологічного спряму-вання: нормативи екологічної безпеки водоко-ристування; екологічний норматив якості води масивів поверхневих вод; нормативи гра-нично допустимого скидання забруднюючих речовин [34].

Відповідно до статей 41, 70 ВКУ ски-дання стічних вод у водні об'єкти допуска-ється лише за умови наявності нормативів гра-нично допустимих концентрацій та встановле-них нормативів гранично допустимого ски-дання забруднюючих речовин. У зв'язку з цим водокористувачі зобов'язані здійснювати

заходи щодо запобігання скиданню стічних вод чи його припинення, якщо вони переви-щують гранично допустимі скиди токсичних речовин або містять речовини, для яких не встановлено гранично допустимі концентрації (ГДК). Слід підкреслити, що ГДК речовин для води водних об'єктів рибогосподарського во-докористування встановлюються на основі ви-значення методом біотестування безпечних для водних організмів концентрацій хімічних речовин, що нормуються.

Основні вимоги до нормування грани-чно допустимого скидання (ГДС) забруднюю-чих речовин, які надходять до поверхневих вод разом зі стічними водами різних вироб-ництв, регулюється Порядком, який встанов-лено Постановою Кабінету Міністрів України № 1100 від 11.09.96 (зі змінами відповідно до постанови Кабінету Міністрів України від 13 грудня 2017 р. № 1091) [35, 36]. Слід звернути увагу, у списку А зазначеної Постанови серед Переліку забруднюючих речовин, що норму-ються, присутній показник «рівень токсично-сті води» на основі біотестування.

Нормативом гранично допустимого рі-вня токсичності стічних вод на скиди у водний об'єкт є відсутність гострої летальної токсич-ності. Наявність чи відсутність гострої леталь-ної токсичності визначають шляхом прове-дення короткострокового випробування мето-дом біотестування.

Хімічні речовини, які входять до складу стічних вод, при надходженні до поверхневих вод можуть призводити до хронічної інтокси-кації середовища шляхом порушення норма-льного функціонування водних організмів, пригнічення самоочисних процесів, розвитку процесів евтрофікації тощо. У зв'язку з цим, нормативом гранично допустимого рівня ток-сичності природних вод є відсутність хроніч-ної токсичності [37].

У якості обов'язкового тест-об'єкта для визначення токсичності природних і стічних вод відповідно до [37] рекомендується вико-ристовувати методику біотестування на ракоподі-бних *Ceriodaphnia affinis* у зв'язку з їх чутливі-стю до широкого спектру хімічних речовин.

На основі відповідних Положень ВКУ та наведених вище підзаконних актів [35, 36] метод біотестування в останні десятиріччя широко використовується в Україні для вирі-шення важливого водоохоронного завдання – попередження подальшого забруднення пове-рхневих вод екологічно небезпечними хіміч-ними речовинами.

Провідна роль у розробленні наукових засад, нормативно-правового, методичного та метрологічного забезпечення впровадження методу біотестування у водоохоронну практику належить спеціалістам Українського науково-дослідного інституту екологічних проблем (лабораторія біологічних досліджень та біотестування), який в період з 1974 р. по теперішній час проводить дослідження в зазначеному напрямку у межах виконання регіональних, національних програм, міжнародних проектів та на замовлення виробничих підприємств різних галузей економіки [38].

Метою одного із міжнародних проектів, який виконувався на замовлення Міжнародного Центру Розвитку наукових досліджень, Канада [39], спеціалістами Українського науково-дослідного інституту екологічних проблем та Інституту гідробіології НАН України було випробування методів біотестування затверджених в Україні та об'єднаних в батарею «WaterTox» (Канада) для визначення набору біотестів найбільш оптимальних для місцевих умов [39, 40]. Для оцінки ефективності методик біотестування було розроблено ряд критеріїв [41], серед яких до найбільш важливого віднесено критерій «чутливість».

Обговоренню питання щодо чутливості водних організмів до дії токсичних речовин присвячено численні роботи. Поняття чутливості організмів має два аспекти - якісний і кількісний. В якісному відношенні чутливість означає здатність певних функцій життєдіяльності організму відповідати на вплив хімічних речовин. У кількісному відношенні найчастіше чутливість використовується для зіставлення реактивності різних організмів, функцій і процесів на шкідливі впливи. Один організм вважається більш чутливим, ніж інший, якщо порушення його функцій життєдіяльності відбувається раніше при менших концентраціях або вираженість таких порушень виявляється раніше. При дослідженні дії токсичної речовини на організм оцінюють його реакцію за одним або декількома показниками. Якщо досліджується сукупність показників, то, зазвичай, загальна чутливість організму встановлюється по найчутливішому з показників [41].

Далі наведено перелік критеріїв, за якими здійснювалась оцінка ефективності методик біотестування:

- чутливість: кількість позитивних відпо-

відей на вплив токсичних проб води з числа проаналізованих;

- мінімальна діюча концентрація найбільш токсичної проби води згідно з критерієм токсичності, %;

- експресність: тривалість біотеста, год.;

- трудомісткість: витрати часу на підготовку та проведення біотестування, обчислення результатів, год.;

- економічність: стартові та експлуатаційні витрати (придбання спеціального обладнання, матеріалів, реактивів, культури тест-об'єкта, тощо), грн.;

- особливості біотеста (можливість визначення гострої і хронічної токсичності, генотоксичності, відсутність суб'єктивізму в оцінюванні тест-реакції) і тест-об'єкта (спосіб отримання та можливість безперервного використання);

- метрологічне забезпечення: похибка результатів визначення токсичності, відтворюваність результатів визначення токсичності, норматив оперативного контролю відтворюваності результатів визначення токсичності, діапазон реагування тест-об'єкта;

- наявність нормативно-правових засад використання: нормативні документи, національні, міжнародні стандарти;

- можливість та ефективність використання за умов виробничих і контролюючих лабораторій та в польових умовах;

- розповсюдженість використання в інших країнах (ЄС, США, Канаді, тощо).

Випробування методик біотестування проводилось на стічних, природних і питних водах, проби яких відбирали на території Київської, Полтавської та Харківської областей. Оцінка методик біотестування здійснювалась експертами - спеціалістами Українського науково-дослідного інституту екологічних проблем та Інституту гідробіології НАН України, а також представниками регіональних лабораторій, державних управлінь з охорони навколишнього природного середовища. Для випробування було обрано методики біотестування з використанням в якості тест-об'єктів бактерій *Vibrio fisheri*, інфузорій *Tetrahymena pyriformis*, водоростей *Scenedesmus quadricauda*, гідр *Hydra attenuate*, ракоподібних *Daphnia magna* та *Ceriodaphnia affinis*, молюсків *Limnea stagnalis*, риб *Poecillia reticulata*, комах *Drosophila*

melanogaster, водних рослин *Lemna minor*, вищих рослин *Allium cepa* та *Lactuca sativa*.

На підставі результатів випробування для першочергового використання рекомендовано такі методики біотестування: для визначення рівня токсичності поверхневих і стічних вод методику біотестування на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* як найбільш ефективну; для оперативного визначення рівня токсичності джерел забруднення поверхневих вод методику біотестування на ракоподібних *Daphnia magna*, яка здійснюється за допомогою спеціального пристрою [42].

Використання різних методик біотестування здійснювалось також у межах виконання інших міжнародних проєктів [43]. Зокрема при проведенні експедиційних обстежень річки Дніпро та його притоків. Результати біотестування було використано для розроблення системи менеджменту водних об'єктів Дніпровського басейну. Токсикологічна оцінка якості води здійснювалась за допомогою методик біотестування з використанням представників різних трофічних ланок водної екосистеми – бактерій, водоростей, ракоподібних, риб; донних відкладень – з використанням личинок комах. Проби води і донних відкладень для токсикологічних аналізів відбирались у межах басейна Дніпра (річки Дніпро, Десна, Прип'ять, Стоход, Горинь, Стир, Ствига, Уборть, Сейм, Київське водосховище). Узагальнення результатів біотестування показало наступне: із загальної кількості проб води 22,2 % виявили токсичність, тобто не відповідали встановленому нормативу токсичності. При цьому слід підкреслити, що у понад 50 % пробах токсичність води було виявлено при біотестуванні на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis*.

Еколого-токсикологічні обстеження поверхневих водних об'єктів проводились в процесі виконання програми СВС ТАСІС Буг і Латориця/ Уж на території басейнів Дністра, Дунаю, Західного Бугу (річки Дністер, Західний Буг, Латориця, Луга, Полтва, Свиня, Солокія, Стара, Студянка, Тиса, Уж), Південного Бугу (річка Південний Буг, Олександрівське водосховище) [44]. У межах виконання держбюджетної тематики здійснювалась комплексна оцінка екологічного стану водних об'єктів басейну Сіверського Донця (річки Сіверський Донець, Уди, Харків, Лопань, Немишля, Сухий Торець, Оскіл, Червонооскільське та Печенізьке водосховища) [45].

Токсикологічні дослідження якості води трансграничних річок виконувались відповідно до рекомендацій [46].

Аналіз наведених джерел щодо використання методу біотестування для визначення токсичних властивостей різних категорій вод, окремих хімічних речовин та їх сумішей показав, що при проведенні режимних спостережень з оцінки і контролю якості поверхневих вод та джерел їх забруднення зазвичай застосовувались методики біотестування з використанням ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* та *Daphnia magna*. Для більш детального оцінювання впливу хімічного забруднення на екологічний стан поверхневих вод використовували в якості тест-об'єктів представників інших ланок трофічного ланцюга водної екосистеми:

- водорості - *Scenedesmus subspicatus*, *Scenedesmus quadricauda*, *Selenastrum capricornutum*;
- риби - *Danio rerio*, *Poecilia reticulata*, *Cyprinus carpio*;
- водні рослини - *Lemna minor*.

Виходячи із вище зазначеного в проєкт «Методичних рекомендацій з оцінювання екологічних та економічних наслідків забруднення поверхневих вод хімічними речовинами» для оцінювання екологічних наслідків хімічного забруднення поверхневих вод включено наступні методики біотестування з використанням представників основних ланок трофічного ланцюга водної екосистеми (водоростей, ракоподібних, риб).

Методики біотестування з використанням в якості тест-об'єктів водоростей:

- випробування за пригніченням росту прісноводних водоростей *Scenedesmus subspicatus*, *Scenedesmus quadricauda* і *Selenastrum capricornutum*. ДСТУ 4166:2003 (ISO 8692:1989, MOD) [47];

- методика визначення токсичності хімічних речовин за показником пригнічення росту водоростей – Freshwater Alga, Growth Inhibition. Test OECD Test No. 201. 2013 [48].

Водорості у трофічному ланцюгу водних екосистем відносяться до організмів-продуцентів. Водорості широко розповсюджені в різних біотопах, головним чином, у планктоні прісних водних об'єктів. Для біотестування різних категорій вод, окремих хімічних речовин та їх сумішей використовують переважно культуру одноклітинних зелених водоростей *Scenedesmus quadricauda*. Цей вид відноситься до ценобіальних організмів. Ценобії 2-, 4-, 8-, рідко 16-клітинні, мають вид плоских пластинок. Клітини подовжено овальні із

закругленими кінцями. Кінцеві клітини в ценобіях мають два відігнуті назовні роги. Оболонка клітин гладенька. Розміри клітин 7-43x2,5-16 мкм. Розмноження автоспорами. Іноді (особливо за умов лабораторної культури) замість ценобіїв утворюються окремі клітини.

Методики біотестування з використанням в якості тест-об'єктів ракоподібних:

- визначання гострої летальної токсичності на *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea). ДСТУ 4173:2003 (ISO 6341:1996, MOD) [49];

- визначання сублетальної та хронічної токсичності хімічних речовин та води на *Daphnia magna* Straus і *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea). ДСТУ 4174:2003. (ISO 10706:2000, MOD) [50];

- методика визначення токсичності хімічних речовин за показником виживаності дафній - *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test. OECD Test No. 202. 2004 [51];

- методика визначення токсичності хімічних речовин за показником репродуктивності дафній - *Daphnia magna* Reproduction Test. OECD Test No. 211. 2012 [52].

Ракоподібні, зокрема гіллястовусі (Cladocera), є типовими представниками зоопланктону. Їх значення у водних екосистемах зумовлено тим, що вони є цінним компонентом кормової бази для багатьох видів риб. Крім цього, гіллястовусі ракоподібні відіграють важливу роль у самоочищенні води, виконуючи фільтраційну функцію. При біотестуванні різних категорій вод, окремих хімічних речовин та їх сумішей використовуються як тест-об'єкти ракоподібні: *Daphnia magna* (далі – дафнії) та *Ceriodaphnia affinis* (далі – церіодафнії). Їм властива висока чутливість до речовин різної хімічної природи; вони легко культивуються в лабораторії впродовж року.

Кожний із вказаних тест-об'єктів має свої переваги. Так, дафнії є більш крупними організмами. На них зручніше проводити спостереження за розвитком яєць та ембріонів, виявляти вродливість, проводити виміри. Церіодафнії є більш чутливими до багатьох токсичних речовин, в першу чергу, до органічних.

Висновки

Незалежно від природи хімічних речовин токсичної дії реакція біотичної складової водної екосистеми на їх наявність у воді розвивається в таких основних напрямках: коливання основних показників біотичної складової

Життєвий цикл церіодафній коротший, внаслідок цього експерименти з їх використанням вимагають меншого часу. Крім того, експерименти з церіодафніями більш компактні – для них потрібні менші об'єми розчинів та посуду.

Методики біотестування з використанням в якості тест-об'єктів риб:

- визначання гострої летальної токсичності хімічних речовин та води на прісноводній рибі [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] Статичний метод. ДСТУ 4074-2001 (ISO 7346-1:1996, MOD) [53];

- методика визначення гострої токсичності хімічних речовин на рибах – Fish, Acute Toxicity Test. OECD Test No. 203. 1992 [54];

- методика визначення хронічної токсичності хімічних речовин на рибах – Fish, Juvenile Growth Test. OECD Test No. 215. 2000. [55].

Риби, поряд з водними ссавцями, є кінцевою ланкою трофічного ланцюга водної екосистеми. Визначення можливого негативного впливу речовини, що нормується, на риб є конче важливим з позиції оцінки небезпеки речовини для існування популяцій риб у водних об'єктах та загрози здоров'ю людини при використанні риби як продукту харчування.

При біотестуванні різних категорій вод, окремих хімічних речовин та їх сумішей рекомендується використовувати прісноводні види риб *Cyprinus carpio*, *Poecillia reticulata* та *Danio rerio*.

Cyprinus carpio є широко розповсюдженим промисловим видом риб, що вирощують у рибних господарствах України. Вони досить легко адаптуються до лабораторних умов утримання. На них зручно проводити дослідження за морфологічними, гематологічними, патологоанатомічними показниками та вивчати кумулятивні властивості.

Danio rerio і *Poecillia reticulata* є акваріумним видом риб. Вони легко культивуються в лабораторії впродовж року, є чутливими до дії багатьох хімічних речовин. *Danio rerio* особливо чутливі на ранніх стадіях розвитку (ембріони та личинки).

вої водної екосистеми навколо деяких середніх величин без істотних порушень її структури; перебудова водної екосистеми, що виражається у зміні її структури та характеру функціонування; повна структурно-функціо-

нальна дезорганізація водної екосистеми, руйнування основних ланок трофічного ланцюга, зменшення первинної продукції, зниження біопродуктивності, припинення самоочисних процесів, різке погіршення якості води. Аналіз зарубіжних джерел з питань використання методик біотестування в європейських та інших країнах для визначення токсичних власти-

востей різних категорій вод та окремих хімічних речовин показав, що для оцінки і контролю якості поверхневих вод та джерел їх забруднення відповідно до рекомендацій Водної Рамкової Директиви 2000/60/ЄС застосовуються методики біотестування з використанням «базового набору таксонів» – водоростей, ракоподібних та риб.

Література

1. Крайнюков О. М. Науково-методичні основи нормування антропогенного забруднення аквальных ландшафтів: монографія. / ред. А. В. Гриценка, А. М. Крайнюкової. Харків: Екограф, 2013. 260 с.
2. Krainiukov, O., Kryvytska, I., Krainiukov, A., Timchenko V. Analysis of Methodological Approaches to Assessing Economic Consequences of Anthropogenic Environmental Pollution. *Proceedings of the 36th International Business Information Management Association Conference, IBIMA*. 2020. P. 792-784. URL: <https://ibima.org/university/v-n-karazin-kharkiv-national-university-ukraine/>
3. Крайнюкова А. М., Крайнюков О. М., Кривицька І. А. Використання фотосинтетичної активності водоростей задля оцінки токсичності з метою створення портативного пристрою. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна серія «Екологія»*. 2020. Вип. 22. С. 82-92. DOI: <https://doi.org/10.26565/1992-4259-2020-22-08>
4. Клименко М.О., Пилипенко Ю.В., Бедункова О.О., Конончук В.О. Інтенсивність дихання *Amatitlania nigrofasciata* за різних концентрацій токсикантів у модельних експериментах. *Біологічні студії. Львів*, 2017. Том 11. № 1. С. 147–160. DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.1101.518>
5. Янович Д.О., Грициняк І.І., Швець Т.М. Використання лососевих риб (*Salmonidae*) у біомоніторингу якості водного середовища. *Рибогосподарська наука України*. № 1(35), 2016. С. 5–30. DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2016.01.005>
6. Крайнюков О. М., Стріян К. О., Крайнюков О. О. Встановлення метрологічних характеристик методики біотестування з визначення гострої летальної токсичності води на рибах *Brachydanio rerio Hamilton-Vichanap*. *Молодий вчений*. 2018. №9. С. 279-282. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/molv_2018_9\(2\)_3](http://nbuv.gov.ua/UJRN/molv_2018_9(2)_3)
7. Кривицька І. А., Крайнюков А. О. Встановлення метрологічних характеристик методики біотестування з визначення гострої летальної токсичності води на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. *Молодий вчений*. 2019. №2. С. 323-326. DOI: <https://doi.org/10.32839/2304-5809/2019-2-66-70>
8. Крайнюков О. М. Встановлення нормативів гранично допустимих рівнів токсичності стічних вод на основі застосування конструктивно-географічної методології суб'єкт-об'єктних відносин. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Екологія»*. 2017. №16. С. 22-29. URL: http://journals.uran.ua/visnukkhnu_ecology/article/view/109335
9. Крайнюков О. М., Тімченко В. Д. Методологічні принципи конструктивної географії при дослідженні стану та захисту природних ландшафтів. *Людина і довкілля. Проблеми неоекології*. Харків: ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2019. №3,4. (31) С. 6-16. URL: http://journals.uran.ua/ludina_dov/article/view/186771
10. Peltier W. H. Impact of an industrial effluent on aquatic organisms: EPA region IV case. *Proc. Pellston Environ. Workshop*, Cody, Wyo., 22 - 27 Aug. 1982. New York, 1986. P. 216 - 227.
11. Стратегия в области исследования вод. Агентство по охране окружающей среды: ДК – 10460. – Вашингтон, 1982. 33 с.
12. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. USEPA/600/4-91/002. – 3rd Ed.1994.
13. Method Guidance and Recommendations for Whole Effluent Toxicity (WET) Testing (40 CFR Part 136). EPA 821-B-00-004. 2000. URL: https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-02/documents/method-guidance-recommendations-wet-testing_2000.pdf
14. Metal Mining Effluent Regulations (SOR/2002-222). Canada. URL: <https://laws.justice.gc.ca>
15. Wastewater Systems Effluent Regulations (SOR/2012-139). Canada. URL: <https://laws.justice.gc.ca>
16. Pulp and Paper Effluent Regulations (SOR/92-269). Canada. URL: <https://laws.justice.gc.ca>
17. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2000/60/oj>
18. Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2008/105/oj>

19. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy Text with EEA relevance. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2013/39/oj>
20. Directive 2004/35/CE of the European Parliament and of the Council of 21 April 2004 on environmental liability with regard to the prevention and remedying of environmental damage. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2004/35/oj>
21. Directive 2009/128/EC of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticide. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2009/128/oj>
22. Directive 2010/75/EU of the European Parliament and of the Council of 24 November 2010 on industrial emissions (integrated pollution prevention and control). URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/75/oj>
23. Regulation (EC) No 166/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 January 2006 concerning the establishment of a European Pollutant Release and Transfer Register and amending Council Directives 91/689/EEC and 96/61/EC. URL: <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/166/oj>
24. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC. URL: <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1907/oj>
25. Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006. URL: <http://data.europa.eu/eli/reg/2008/1272/oj>
26. Vassuer P., Férard, J.F., Babut, M. The biological aspects of the regulatory control of industrial effluents in France. *Chemosphere*. Vol. 22. No 5–6. P. 625–633. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/004565359190073M>
27. Vullierment B. Improvement of the mass end energy balances in the tanning industry. *Ala. Acad. Sci.* 1980. Vol.75. P. 233 - 275.
28. Keddy C.I. Ecotoxicol. *Environ. Saf.* 1995. № 3. P. 221–251. DOI: <https://doi.org/10.1006/eesa.1995.1027>
29. Klein L. Aspects of River Pollution. London, 1957. 621 p.
30. Колупаев Б. И. Исследования по водной токсикологии в Швеции. *Гидробиол. журнал*. 1984. Т. 20. №1. С. 97–107. URL: http://hydrobiolog.com.ua/1984/1984_1.htm
31. Miettinen V. The role of aquatic toxicology in water pollution control. *Roportisar Joensuun yliopisto Matluonnoutieteellis tiedekunnan*. 1986. № 8. P. 41 - 42.
32. Nikunen E. *Daphnia magna* as indicator of the acute toxicity of waste waters. *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.* 1985. № 3. P. 368 - 374. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01636524>
33. Pascal D. The role of aquatic toxicity tests in predicting and monitoring pollution effects. *Acta Biologica Limnologica Hungarica*. 1987. № 1. P. 47–58.
34. Водний кодекс України. *Відомості Верховної Ради України*. 1995. № 24. ст.189. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/213/95-%D0%B2%D1%80>
35. Про затвердження Порядку розроблення нормативів гранично допустимого скидання забруднюючих речовин у водні об'єкти та перелік забруднюючих речовин, скидання яких у водні об'єкти нормується Постановою Кабінету Міністрів України № 1100 від 11.09.96 (зі змінами відповідно до постанови Кабінету Міністрів України від 13 грудня 2017 р. № 1091). URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1100-96-%D0%BF>
36. Інструкція про порядок розробки та затвердження гранично допустимих скидів (ГДС) речовин у водні об'єкти зі зворотними водами. Затверджено наказом Міністра охорони навколишнього природного середовища України від 15.12.94 № 116. Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 22.12.94 за № 313/523. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0313-94#Text>
37. Методика визначення рівнів токсичності поверхневих і зворотних вод для контролю відповідності їх якості встановленим нормативним вимогам. Затв. наказом Мінекобезпеки України від 31.01.2000 № 27. Київ: Мінекобезпеки України, 2000. 28 с.
38. Крайнюкова А.Н. Биотестирование в системе оценки и контроля источников токсического загрязнения водной среды: автореф. дис... д-ра биол. наук: 14.00.20. Купавна, 1991. 39 с.
39. Порівняльна оцінка методів біотестування, затверджених в Україні та об'єднаних у батарею «Watertox», з метою створення набору біотестів, найбільш оптимальних для місцевих умов. Звіт на проєкт № 91/13 для Міжнародного Центру Розвитку Наукових Досліджень, Канада. Київ, 2000. 65 с.
40. Архипчук В. В. Исследования в области цитогенетики рыб и биотестирования:(сборник научных трудов). Киев: Реликвии, 2008. 536 с.
41. Крайнюков О. М. Критерії оцінки чутливості організмів та ефективності методик біотестування для визначення токсичних властивостей води. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н.*

- Каразіна. Серія «Екологія». 2013. № 1012. С 64-69. URL: http://journals.uran.ua/visnukkhnu_ecology/article/view/21147
42. Крайнюков О.М., Крайнюкова А.М. Пристрій для біологічного тестування води: пат. 45811 Україна: МПК (2009) 45811 (13) UA (51) GOIN 33/18, заявл. 25.11.09. (11) Бюл. №12. 6с.
 43. Впровадження результатів токсикологічного моніторингу в систему екологічного менеджменту басейну р. Дніпро. Звіт на проект № 91/12 для Міжнародного Центру Розвитку Наукових Досліджень, Канада. УКРНДІЕП: Харків, 1999. 16 с.
 44. Результати екоотоксикологічної оцінки стану транскордонних річок Львівської, Закарпатської і Волинської областей та джерел їх забруднення. Науково-технічний звіт про виконання роботи за програмою СВС ТАСІС Буг і Латориця/Уж. – Львів-Ужгород-Харків, 2000. 37 с.
 45. Крайнюкова А.М., Чистякова О.О., Крайнюков О.М. Комплексна оцінка екологічного стану водних об'єктів (на прикладі басейну р. Сів. Донець). *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна серія «Екологія»*. 2011. № 944, вип. 6. С. 61 – 71. URL: http://journals.uran.ua/visnukkhnu_ecology/article/view/23273
 46. Правила ведення моніторингу і оцінки якості води трансграничних рек. Рабочая группа ООН/ЕЭК по моніторингу и оценке состояния под эгидой Конвенции по охране и использованию трансграничных водотоков и международных озер. Братислава, 1995.
 47. ДСТУ 4166-2003. Якість води. Випробування на гальмування росту прісноводних водоростей із застосуванням *Scenedesmus subspicatus* та *Selenastrum capricornutum* (ISO 8692:1998, MOD). – 12 с.
 48. Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. Test Chem.: Test No. 201. – OECD, 2013. 22 p.
 49. ДСТУ 4173-2003. Якість води. Визначання гострої летальної токсичності на *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 6341:1996, MOD). 17 с.
 50. ДСТУ 4174-2003. Якість води. Визначання сублетальної та хронічної токсичності хімічних речовин та води на *Daphnia magna* Straus і *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 1076:2000, MOD). 22 с.
 51. *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test. Test Chem.: Test No. 202. OECD, 2004. 12 p.
 52. *Daphnia magna* Reproduction Test. Test Chem.: Test No. 211. OECD, 2012. 25 p.
 53. ДСТУ 4074-2001 Якість води. Визначання гострої летальної токсичності хімічних речовин та води на прісноводній рибі [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] Статичний метод (ISO 7346-1:1996, MOD). 17 с.
 54. Fish, Acute Toxicity Test. Test Chem.: Test No. 203. OECD, 1992. 10 p.
 55. Fish, Juvenile Growth Test. Test Chem.: Test No. 215. OECD, 2000. 16 p.

References

1. Krainiukov, O. (2013.) Scientific and methodical bases of normalization of anthropogenic pollution of aquatic landscapes: monograph. Kharkiv: Ecograph. (In Ukrainian).
2. Krainiukov, O., Kryvytska, I., Krainiukov, A. & Timchenko V. (2020). Analysis of Methodological Approaches to Assessing Economic Consequences of Anthropogenic Environmental Pollution. *Proceedings of the 36nd International Business Information Management Association Conference, IBIMA*. 792-784. Retrieved from <https://ibima.org/university/v-n-karazin-kharkiv-national-university-ukraine/>
3. Krainyukova, A.M., Krainyukov, O.M. & Kryvytska, I.A. (2020). Use of photosynthetic activity of algae to assess toxicity in order to create a portable device. *Visnyk of V. N. Karazin Kharkiv National University series «Ecology»*, (22), 82-92. <https://doi.org/10.26565/1992-4259-2020-22-08> (In Ukrainian).
4. Klimentenko, M.O., Pilipenko, Y.V., Bedunkova, O.O. & Kononchuk, V.O. (2017). Respiratory intensity of *Amatitlania nigrofasciata* at different concentrations of toxicants in model experiments. *Biological studies*, 11(1), 147–160. <https://doi.org/10.30970/sbi.1101.518> (in Ukrainian)
5. Yanovich, D.O. & Gritsynyak, I.I. (2016). Shvets TM Use of salmon (*Salmonidae*) in biomonitoring of aquatic environment quality. *Fisheries science of Ukraine*, (1 (35)), 5–30. (In Ukrainian).
6. Krainyukov, O.M., Strian, K.O. & Krainyukov, O.O. (2018). Establishment of metrological characteristics of biotesting methods for determining the acute lethal toxicity of water in fish *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan. *Young Scientist*, (9), 279-282. Retrieved from [http://nbuv.gov.ua/UJRN/molv_2018_9\(2\)_3](http://nbuv.gov.ua/UJRN/molv_2018_9(2)_3) (In Ukrainian).
7. Kryvytska, I.A. & Krainyukov, A.A. (2019). Establishment of metrological characteristics of the method of biotesting to determine the acute lethal toxicity of water on crustaceans *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. *Young Scientist*, (2), 323-326. Retrieved from [http://nbuv.gov.ua/UJRN/molv_2019_2\(2\)_8](http://nbuv.gov.ua/UJRN/molv_2019_2(2)_8). (In Ukrainian).
8. Krainyukov, O.M. (2017). Establishment of standards for maximum permissible levels of toxicity of wastewater based on the application of constructive-geographical methodology of subject-object relations. *Visnyk of V. N. Karazin Kharkiv National University series «Ecology»*, (16), 22-29. Retrieved from http://journals.uran.ua/visnukkhnu_ecology/article/view/109335 (In Ukrainian).

9. Krainyukov, O.M. & Timchenko, V.D. (2019). Methodological principles of constructive geography in the study of the state and protection of natural landscapes. *Man and environment. Issues of neoecology*. (4 (31)), 6-16. Retrieved from http://journals.uran.ua/ludina_dov/article/view/186771 (In Ukrainian).
10. Peltier, W. H. (1986). Impact of an industrial effluent on aquatic organisms: EPA region IV case history. *Proc. Pellston Environ. Workshop, Cody, Wyo.*, 1982, 22 - 27 Aug.. (pp. 216 – 227). New York..
11. Water research strategy. (1982). *Environmental Protection Agency*: DC - 10460. Washington.
12. Lewis, P.A. Klemm, D.J., Lazorchak J.M. (Eds.). (1994). Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. [3rd Ed.]. USEPA/600/4-91/002.
13. Method Guidance and Recommendations for Whole Effluent Toxicity (WET) Testing (40 CFR Part 136). EPA 821-B-00-004. 2000. Retrieved from https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-02/documents/method-guidance-recommendations-wet-testing_2000.pdf
14. Metal Mining Effluent Regulations (SOR/2002-222). Canada. Retrieved from <https://laws.justice.gc.ca>
15. Wastewater Systems Effluent Regulations (SOR/2012-139). Canada. Retrieved from <https://laws.justice.gc.ca>
16. Pulp and Paper Effluent Regulations (SOR/92-269). Canada. Retrieved from <https://laws.justice.gc.ca>
17. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. Retrieved from <http://data.europa.eu/eli/dir/2000/60/oj>
18. Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council. Retrieved from <http://data.europa.eu/eli/dir/2008/105/oj>
19. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy Text with EEA relevance. Retrieved from <http://data.europa.eu/eli/dir/2013/39/oj>
20. Directive 2004/35/CE of the European Parliament and of the Council of 21 April 2004 on environmental liability with regard to the prevention and remedying of environmental damage. Retrieved from <http://data.europa.eu/eli/dir/2004/35/oj>
21. Directive 2009/128/EC of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticide. Retrieved from <http://data.europa.eu/eli/dir/2009/128/oj>
22. Directive 2010/75/EU of the European Parliament and of the Council of 24 November 2010 on industrial emissions (integrated pollution prevention and control). Retrieved from <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/75/oj>
23. Regulation (EC) No 166/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 January 2006 concerning the establishment of a European Pollutant Release and Transfer Register and amending Council Directives 91/689/EEC and 96/61/EC. Retrieved from <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/166/oj>
24. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC. Retrieved from <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1907/oj>
25. Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006. Retrieved from <http://data.europa.eu/eli/reg/2008/1272/oj>
26. Vassuer, P. Féraud, J.F & Babut, M. (1991). The biological aspects of the regulatory control of industrial effluents in France. *Chemosphere*, 22 (5–6), 625-633. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/004565359190073M>
27. Vullierment, B. (1980). Improvement of the mass end energy balances in the tanning industry. *Ala. Acad. Sci.*, 75, 233 - 275.
28. Keddy, C. I. (1995). Ecotoxicol. *Environ. Saf.*, (3), 221-251. <https://doi.org/10.1006/eesa.1995.1027>
29. Klein, L. (1957). Aspects of River Pollution. London, 1957. 621 p.
30. Kolupaev, B.I. (1984). Research on aquatic toxicology in Sweden. *Hydrobiol. Magazine*, 20 (1), 97-107.
31. Miettinen, V. (1986). The role of aquatic toxicology in water pollution control. *Roportisar Ioensuun yliopisto Matluonnoutieteellis tiedekuunan*, (8), 41 - 42.
32. Nikunen, E. (1985). *Daphnia magna* as indicator of the acute toxicity of waste waters. *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.*, (3), 368 - 374. <https://doi.org/10.1007/BF01636524>
33. Pascal, D. (1987). The role of aquatic toxicity tests in predicting and monitoring pollution effects. *Acta Biologica Limnologica Hungarica*, (1), 47-58.
34. Water Code of Ukraine. (1995). *Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy*, (24),.189. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/213/95-%D0%B2%D1%80>
35. About the statement of the Order of development of specifications of maximum admissible dumping of polluting substances in water objects and the list of polluting substances which dumping in water objects is

- standardized. (2017). Resolution of the Cabinet of Ministers of Ukraine № 1100 of 11.09.96 (as amended in accordance with the resolution of the Cabinet of Ministers of Ukraine of 13 December 2017 № 1091). Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1100-96-%D0%BF>
36. Instruction on the procedure for development and approval of maximum permissible discharges (MPD) of substances into water bodies with return waters. (1994). Approved by the order of the Minister of Environmental Protection of Ukraine dated 15.12.94 № 116. Registered in the Ministry of Justice of Ukraine on 22.12.94 for № 313/523. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0313-94#Text>
 37. Methods for determining the levels of toxicity of surface and return waters to control compliance with their quality to regulatory requirements. (2000). Approved by the order of the Ministry of Ecological Security of Ukraine dated 31.01.2000 № 27. Kyiv: Ministry of Ecological Security of Ukraine. (In Ukrainian).
 38. Krainiukova, A.N. (1991). Biotesting in the system of assessment and control of sources of toxic pollution of the aquatic environment. Extended abstract of Doctor's thesis: 14.00.20 "Toxicology". Kupavna, (In Russian)
 39. Comparative evaluation of biotesting methods approved in Ukraine and combined into a Watertox battery, in order to create a set of biotests that are most optimal for local conditions. (2000). Project Report № 91/13 for the International Center for the Development of Scientific Research, Canada. Kyiv. (In Ukrainian).
 40. Arkhipchuk, V.V. (2008). Research in the field of cytogenetics of fish and biotesting. Kiev: Relics. (In Ukrainian).
 41. Krainiukov, O.M. (2013). Criteria for assessing the sensitivity of organisms and the effectiveness of biotesting methods to determine the toxic properties of water. *Visnyk of V. N. Karazin Kharkiv National University series «Ecology»*, (1012), 64-69. Retrieved from http://journals.uran.ua/visnukkhnu_ecology/article/view/21147. (In Ukrainian).
 42. Krainiukov, O.M. & Krainiukova, A.M. (2009). Device for biological water testing. Patent of Ukraine for useful model. GOIN 33/18. № 45811; declared 25.11.2009. Bulletin, (12). (In Ukrainian).
 43. Implementation of the results of toxicological monitoring in the system of ecological management of the Dnieper river basin. (1999). Project Report № 91/12 for the International Center for the Development of Scientific Research, Canada. UKRNDIEP: Kharkiv. (In Ukrainian).
 44. Results of ecotoxicological assessment of the state of transboundary rivers of Lviv, Zakarpattia and Volyn regions and sources of their pollution. (2000). *Scientific and technical report on the implementation of work on the program SHS TACIS Bug and Latorytsia*. Uzh. - Lviv-Uzhhorod-Kharkiv. (In Ukrainian).
 45. Krainiukova, A. N. (2011). Comprehensive assessment of the ecological status of water bodies (on the example of the basin of the North Donets River). *Visnyk of V.N. Karazin Kharkiv National University series "Ecology"*, (944(6), 61 – 71. Retrieved from http://journals.uran.ua/visnukkhnu_ecology/article/view/23273. (In Ukrainian).
 46. Rules for monitoring and assessing the water quality of transboundary rivers. (1995). UN / ECE Working Group on Monitoring and Assessment under the auspices of the Convention on the Protection and Use of Transboundary Watercourses and International Lakes. Bratislava.
 47. DSTU 4166-2003. Water quality. Tests for growth inhibition of freshwater algae using *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum* (ISO 8692: 1998, MOD). (In Ukrainian).
 48. Freshwater Algae and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. (2013). Test Chem. : Test No. 201. - OECD.
 49. DSTU 4173-2003. Water quality. Determination of acute lethal toxicity to *Daphnia magna* Straus and *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 6341: 1996, MOD). (In Ukrainian).
 50. DSTU 4174-2003. Water quality. Determination of sublethal and chronic toxicity of chemicals and water on *Daphnia magna* Straus and *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 1076: 2000, MOD). (In Ukrainian).
 51. *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test. (2004). Test Chem.: Test No. 202. OECD.
 52. *Daphnia magna* Reproduction Test. (2012). Test Chem.: Test No. 211. OECD.
 53. DSTU 4074-2001 Water quality. Determination of acute lethal toxicity of chemicals and water in freshwater fish [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] Static method (ISO 7346-1: 1996, MOD). (In Ukrainian).
 54. Fish, Acute Toxicity Test. (1992). Test Chem.: Test No. 203. OECD.
 55. Fish, Juvenile Growth Test. (2000). Test Chem.: Test No. 215. OECD.

Отримана 03.03.2021

Переглянуто 12.03.2021

Прийнята до друку 22.03.2021