

УДК 631.427

## ПОДХОД К ВЫБОРУ МЕТОДОВ ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЧВ<sup>1</sup>

© 2021 г. Л. П. Воронина<sup>1, 2,\*</sup>, К. Э. Поногайбо<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью  
Федерального медико-биологического агентства России  
119121 Москва, ул. Погодинская, 10/1, Россия

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова  
119991 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12, Россия

\*E-mail: LVoronina@cspmz.ru

Поступила в редакцию 11.05.2021 г.

После доработки 18.05.2021 г.

Принята к публикации 11.06.2021 г.

В связи с актуальностью исследований в области загрязнения окружающей среды многие специалисты прибегают к комплексной оценке определения степени токсичности исследуемых объектов. При оценке почв фитотестирование является основополагающим методом. Данный аналитический обзор должен упростить задачу поиска актуальных методов определения токсичности почвы и отдельных веществ для специалистов в области экотоксикологии.

*Ключевые слова:* экотоксикология, качество почвы, ГОСТ, ISO.

**DOI:** 10.31857/S000218812109012X

### ВВЕДЕНИЕ

Частое обращение к фитотестированию является основанием для постоянной актуализации и систематизации существующих методов оценки различных объектов с помощью высших растений. К данному виду исследования прибегают в настоящее время не только для интегральной оценки токсичности почв и других сред или веществ в лабораторных условиях, но и для определения положительных почвенных функций: стабильности, устойчивости, присутствия питательных элементов и биологически активных веществ, необходимых для роста и развития растений. Пул методов по определению стимулирующего эффекта компонентов почвы лежит скорее не в области экотоксикологии, а в области физиологии растений и является основанием для отдельного серьезного анализа. Настоящий обзор касается анализа методов в области санитарно-гигиенических исследований и, если быть более точными (в соответствии с настоящими подходами), экотоксикологических исследований.

<sup>1</sup> Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «ЦСП» ФМБА России.

### ФИТОТЕСТИРОВАНИЕ КАК ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ КСЕНОБИОТИКОВ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВ

Фитотестирование – вид исследования, основанный на определении способности испытуемых веществ оказывать угнетающее действие на растения, приводящее к нарушению физиологических процессов, ухудшению качества растительной продукции. Оно представлено комплексом методов, имеющим в процедуре выполнения свои особенности для различных тест-объектов (почвы, воды, отходов), которые продиктованы большим разнообразием загрязнителей как органических, так и неорганических. Применение фитотестирования позволяет перенести полученные в смоделированном лабораторном эксперименте результаты с простой системы на более сложную в реальных условиях [1–3].

Согласно «ГОСТ 17.4.3.04-85 Охрана природы (ССОП). Почвы. Общие требования к контролю и охране от загрязнения», для проведения контроля за загрязнением почв следует использовать не только физико-химические методы, но и прибегать к методам по определению фитотоксических свойств почвы [4].

**Таблица 1.** Российские стандарты оценки фитотоксичности почв и загрязняющих веществ

Номер документа	Название документа
ГОСТ Р ИСО 22030-2009	Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений (Переиздание)
ГОСТ 32627-2014	Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Наземные растения. Испытание на фитотоксичность
ГОСТ 33061-2014	Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Наземные растения: тест на всхожесть семян и развитие проростков
ГОСТ 33777-2016	Вещества поверхностно-активные. Метод определения фитотоксичности на семенах высших растений
ГОСТ ИСО 16198-2017	Качество почв. Метод определения биодоступности микроэлементов почвы для растений
ГОСТ Р ИСО 18763-2019	Качество почвы. Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений

Фитотестирование является ключевым и обязательным методом для оценки загрязнения почв так же, как гидробионты – для оценки водных объектов. Принцип метода фитотестирования заключается в определении токсичности исследуемого объекта по реакции растений, которые выступают в качестве тест-культуры.

Использование большого спектра культур влияет на ход анализа и может привести к различным результатам [3]. В связи с большим разнообразием к выбору метода для каждого конкретного исследования, если он не продиктован нормативным документом, надо подходить, ориентируясь на существующий комплекс методов. Для того чтобы получить адекватные результаты, независимо от исполнителей, лаборатории, времени, требуется унификация методов, которая может

быть достигнута лишь четкой системой стандартизации.

Существующее множество методов фитотестирования и отсутствие их базы ограничивает и снижает возможность провести обоснованный выбор метода для исследования.

### РАЗНООБРАЗИЕ МЕТОДОВ ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ

Прежде всего, при выборе рабочей методики стоит остановиться на утвержденных в РФ методах. Более востребованными методами являются методы, которые прошли верификацию, валидацию и оформлены как ГОСТы. Некоторые из них прописаны в нормативных документах и имеют свое целевое использование, т.е. предназначены для исследования определенных объектов. Кроме того, международные методы фитотестирования также востребованы в практике экотоксикологических исследований.

Актуальные отечественные и международные стандарты, которые являются приоритетными для использования при планировании экотоксикологических исследований, представлены в табл. 1, 2.

Некоторые отечественные стандарты (например, ГОСТ Р ИСО 18763-2019, ГОСТ ISO 16198-2017, ГОСТ Р ИСО 22030-2009) идентичны зарубежным методам [5–7].

Международные методы, используемые в рамках стандартов ИСО (ISO – the International Organization for Standardization), также предназначены для характеристики следующих объектов: почвы, отходов и воды. Данные методы с определенной периодичностью (5 лет) проходят процедуры пересмотра для подтверждения протокола выполнения метода и международное межлабораторное сличение результатов [3].

Ряд методов привязан к конкретным нормативно-правовым документам, например, природоохранным нормативным документам федеративным (ПНДФ), методическим указаниям (МУ или МУК), методическим рекомендациям (МР), государственным стандартам (ГОСТ) и др. Часть методов входит в существующий федеральный реестр (ФР) методик Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии РФ. Многие из них расширяют сферу применения фитотестирования и конкретизируют использование данного метода для конкретных поллютантов и объектов. Например, для измерения интегрального уровня загрязнения почвы техногенных районов может

**Таблица 2.** Международные стандарты оценки фитотоксичности различных объектов

Номер документа	Наименование на русском языке	Наименование на английском языке
ISO 17126:2005	Качество почвы – Определение воздействия загрязнителей на почвенную флору – Скрининговый тест на всхожесть проростков салата ( <i>Lactuca sativa</i> L.)	Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Screening test for emergence of lettuce seedlings ( <i>Lactuca sativa</i> L.)
ISO 22030:2005	Качество почвы. Биологические методы. Хроническая токсичность высших растений	Soil quality – Biological methods – Chronic toxicity in higher plants
ISO 17402:2008	Качество почвы. Требования и руководство по выбору и применению методов оценки биодоступности загрязняющих веществ в почве и почвенной массе	Soil quality – Requirements and guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials
ISO 11269-1:2012	Качество почвы. Определение воздействия загрязняющих веществ на флору почвы. Ч. 1. Метод измерения замедления роста корней	Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth
ISO 11269-2:2012	Качество почвы. Определение воздействия загрязняющих веществ на флору почвы. Ч. 2. Воздействие контаминированной почвы на прорастание и ранний рост высших растений	Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Part 2: Effects of contaminated soil on the emergence and early growth of higher plants
ISO 29200:2013	Качество почвы. Оценка генотоксичных воздействий на высшие растения. Тест на микронуклеоз <i>Vicia faba</i>	Soil quality – Assessment of genotoxic effects on higher plants – <i>Vicia faba</i> micronucleus test
ISO 16198:2015	Качество почв. Метод определения биодоступности микроэлементов почвы для растений	Soil quality – Plant-based test to assess the environmental bioavailability of trace elements to plants
ISO 18763:2016	Качество почвы. Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений	Soil quality – Determination of the toxic effects of pollutants on germination and early growth of higher plants
ISO 19204:2017	Качество почвы. Методика оценки экологического риска локального загрязнения почвы (триадный подход к оценке качества почвы)	Soil quality – Procedure for site-specific ecological risk assessment of soil contamination (soil quality TRIAD approach)
ISO 17616:2019	Качество почвы. Руководство по выбору и оценке биологических анализов для определения экотоксикологических характеристик почв и почвенных материалов	Soil quality Guidance on the choice and evaluation of bioassays for ecotoxicological characterization of soils and soil materials
ISO 21479:2019	Качество почвы – Определение воздействия загрязняющих веществ на флору почвы – Жирнокислотный состав листьев растений, используемый для оценки качества почвы	Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Leaf fatty acid composition of plants used to assess soil quality
ISO 22190:2020	Качество почвы – Использование экстрактов для оценки биодоступности микроэлементов в почве	Soil quality – Use of extracts for the assessment of bioavailability of trace elements in soils

быть использован РД 52.18.344-93, ФР.1.39.2006.02264 М-П-2006 и др. [8, 9].

Оценку объектов, потенциально воздействующих на почву, также проводят с привлечением методов фитотестирования. Таким образом, согласно СП 2.1.7.1386-03 [10], осуществляется контроль

опасности отходов с использованием комплекса физико-химических и экотоксикологических методов, включающих метод фитотестирования, представленного в МР 2.1.7.2297-07.2.1.7 [11].

Наряду с комплексной оценкой почвы существуют ГОСТ по определению фитотоксических

свойств отдельных веществ-поллютантов, например, поверхностно-активных веществ (ГОСТ 33777-2016) и других веществ (ГОСТ 32627-2014, ГОСТ 33061-2014) [12–14].

В международной системе оценки химических веществ, разработанной ОЭСР (OECD – The Organisation for Economic Co-operation and Development), представлены методы оценки токсичности отдельных химических веществ, общих химикатов, биоцидов и средств защиты растений. В данной системе существуют 2 подхода к определению токсичности таких веществ в связи с их различным поступлением. Например, согласно Test No. 227: Terrestrial Plant, Test: Vegetative Vigour Test, испытуемое вещество распыляют на растение в стадии 2–4-х настоящих листьев [15], в то время как в Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test предусмотрено внесение веществ непосредственно на поверхность почвы или в почву совместно с семенами тест-растений [16]. Результаты данных тестов позволяют получить величину эффективной концентрации (*ECx*) или эффективной нормы внесения (*ERx*) для наиболее чувствительных параметров, рассчитать концентрацию без наблюдаемого эффекта (*NOEC*) и концентрацию испытуемого вещества с наименьшим наблюдаемым эффектом (*LOEC*).

В связи с появлением новых поллютантов (например, наноматериалов, в том числе нанопластика), развивается индивидуальный подход к определению их токсичности и для растений. Например, частицы разного размера нанопластика снизили всхожесть и скорость прорастания семян *Lepidium sativum* L. [17].

Более детальное рассмотрение и использование унифицированных стандартных методов фитотестирования, выполненных в разных лабораториях, позволяет сделать аналитические результаты более сопоставимыми, надежными и точными. Некоторые из существующих методов имеют нечетко прописанный аналитический протокол, который должен быть доработан или прописан исполнителями. Развитие методов заставляет периодически возвращаться к более детальному их обсуждению.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, постоянная актуализация и систематизация существующих методов позволяет более профессионально и полно выполнить поставленные задачи по экотоксикологическому контролю.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мелехова О.П., Егорова Е.И., Евсеева Т.И., Глазер В.М., Гераськин С.А., Доронин Ю.К., Киташова А.А., Киташов А.В., Козлов Ю.П., Кондратьева И.А., Коссова Г.В., Котелевцев С.В., Маторин Д.Н., Остроумов С.А., Погосян С.И., Смулов А.В., Соловых Г.Н., Степанов А.Л., Тушмалова Н.А., Цаценко Л.В. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: уч. пособие. М.: Изд-во МГУ, 2007. 288 с.
2. Лихачев С.В., Пименова Е.В., Жакова С.Н. Биотестирование в экологическом мониторинге: уч.-метод. пособие. Минсельхоз РФ, Перм. ГАТУ им. акад. Д.Н. Прянишникова. Пермь: ИПЦ “Прокрость”, 2020. 89 с.
3. Römcke J., Martin-Laurent F. Microbial, plant, and invertebrate test methods in regulatory soil ecotoxicology // Bioavailability of organic chemicals in soil and sediment. 2020. P. 369–388.
4. ГОСТ 17.4.3.04–85. Охрана природы (ССОП). Почвы. Общие требования к контролю и охране от загрязнения.
5. ГОСТ ISO 16198–2017. Качество почв. Метод определения биодоступности микроэлементов почвы для растений.
6. ГОСТ Р ИСО 18763–2019. Качество почвы. Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений.
7. ГОСТ Р ИСО 22030–2009. Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений (переиздание).
8. РД 52.18.344–93. Методика выполнения измерений интегрального уровня загрязнения почвы техногенных районов методом биотестирования. Метод. указ.
9. ФР.1.39.2006.02264 М-П-2006 ФР.1.39.2006.02264 М-П-2006. Методика выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений, разработанная учреждением Российской академии наук Санкт-Петербургским НИЦЭБ РАН.
10. СП 2.1.7.1386–03 СП 2.1.7.1386–03. Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления.
11. МР 2.1.7.2297–07. 2.1.7. Почва. Очистка населенных мест. Бытовые и промышленные отходы. Санитарная охрана почвы. Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности. Метод. рекоменд. (утв. Роспотребнадзором 10.10.2007).
12. ГОСТ 33777–2016, ГОСТ 33777–2016. Вещества поверхностно-активные. Метод определения фитотоксичности на семенах высших растений.
13. ГОСТ 32627–2014. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Наземные растения. Испытание на фитотоксичность (переиздание).
14. ГОСТ 33061–2014. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Наземные растения: тест на всхожесть семян и развитие проростков.

15. Test No. 227: Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-227-terrestrial-plant-test-vegetative-vigour-test\\_9789264067295-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-227-terrestrial-plant-test-vegetative-vigour-test_9789264067295-en)
16. Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-208-terrestrial-plant-test-seedling-emergence-and-seedling-growth-test\\_9789264070066-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-208-terrestrial-plant-test-seedling-emergence-and-seedling-growth-test_9789264070066-en)
17. Bosker T., Bouwman L.J., Brun N.R., Behrens P., Vijver M.G. Microplastics accumulate on pores in seed capsule and delay germination and root growth of the terrestrial vascular plant *Lepidium sativum* // *Chemosphere*. 2019. T. 226. C. 774–781.

## Approach to the Choice of Phytotesting Methods for Soil Research

L. P. Voronina<sup>a, b, #</sup> and K. E. Ponogaybo<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks  
of the Federal Medical and Biological Agency of Russia  
Pogodinskaya ul 10/1, Moscow 119121, Russia

<sup>b</sup> Moscow State University named after M.V. Lomonosov  
Leninskie gory, 1, p. 12, Moscow 119991, Russia

<sup>#</sup>E-mail: LVoronina@cspmz.ru

Due to the relevance of research in the field of environmental pollution, many specialists resort to a comprehensive assessment of determining the degree of toxicity of the objects under study. When assessing soils, phytotesting is a fundamental method. This analytical review should simplify the task of finding relevant methods for determining the toxicity of soil and individual substances for specialists in the field of ecotoxicology.

*Key words:* ecotoxicology, soil quality, GOST, ISO.