

УДК 631.4:577.4:502.7

**ФИТОТЕСТИРОВАНИЕ: ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ, ПРОБЛЕМЫ  
ЛАБОРАТОРНОГО МЕТОДА И СОВРЕМЕННЫЕ РЕШЕНИЯ**Лисовицкая О.В.<sup>1</sup>, Терехова В.А.<sup>2</sup>*Контактные адреса электронной почты:*[vterekhova@gmail.com](mailto:vterekhova@gmail.com), [lisovitskaya@gmail.com](mailto:lisovitskaya@gmail.com)<sup>1</sup> – к.б.н., Международный учебно-научный биотехнологический центр МГУ имени М.В. Ломоносова<sup>2</sup> – д.б.н., Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН

*В обзоре обсуждаются актуальные проблемы лабораторного метода фитотестирования на высших растениях. На основе анализа литературы, отечественного и зарубежного опыта предлагаются возможные современные подходы для оптимизации и унификации методики.*

**ВВЕДЕНИЕ**

В условиях роста техногенной нагрузки на окружающую среду все более актуальными становятся вопросы оценки ее экологического благополучия. По расчетам специалистов уже сейчас в окружающей среде содержится около 10 миллионов наименований загрязняющих веществ (Шеуджен, 2003). Появление новых поллютантов, а также синтез в гетерогенных условиях среды специфичных соединений, способных обладать существенно большим токсичным потенциалом, приводит к тому, что количественные показатели загрязнения, такие как ПДК, ПДУ, не могут охватить всего многообразия поллютантов, дать корректную оценку экологического благополучия исследуемых объектов. Кроме того, даже нетоксичные соединения при комбинированном действии могут вызывать значительный токсический эффект.

В связи с этим в настоящее время растет интерес к биотест-системам, которые способны интегрально и оперативно дать токсикологическую характеристику природных и техногенных сред.

Фитотестирование широко используется не только как способ токсикологической оценки сред, например, почв и вод, но и как весьма распространенный прием оценки токсичности или биоактивности различных материалов, химикатов, промышленных отходов. Особую востребованность фитотесты, наряду с другими биотестами, получили в новой сфере – интенсивно развивающейся технологии для оценки биобезопасности наноматериалов (Donaldson et al., 2006; Lin, 2007; Jiang et al., 2008).

## **ПРИНЦИП И ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ БИОТЕСТИРОВАНИЯ**

Биотестирование считается эффективным методом оценки потенциальной опасности химического, физического или биологического воздействия на природные среды, в том числе почву («Биологический контроль окружающей среды...», 2008). Принцип метода биотестирования в широком смысле основан на чувствительности живых организмов к экзогенному воздействию. Суть метода заключается в определении действия испытуемых веществ на специально выбранные организмы в стандартных условиях с регистрацией различных поведенческих, физиологических или биохимических тест-реакций. Тест-реакцию (или тест-функцию) определяют как одну из закономерно возникающих ответных реакций тест-системы на воздействие комплекса внешних факторов. Количественным выражением тест-реакции является тест-параметр. Критерием токсичности служит значение тест-параметра или правило, на основании которого делают вывод о токсичности исследуемой пробы. В понятие «тест-система» включают пространственно ограниченную

совокупность чувствительных биологических элементов (сенсоров) и исследуемой среды, в которой они находятся. Для обозначения основных элементов, составляющих тест-систему, широко применяются термины «тест-объект» и «тест-культура» (или «тест-организм»). При этом тест-объект правильно трактовать как пробу или образец, который подвергается исследованию и оказывает воздействие, вызывая тест-реакцию у тест-организма.

Фитотестирование как метод оценки почв используется издавна для определения качества семян, плодородия почв сельхозугодий, в биомедицинских исследованиях и относительно недавно в природоохранной сфере для оценки экологического качества природных сред (вод, почв). Известно немало методических рекомендаций по различным вариантам применения семян высших растений разных видов в фитотестах. Однако, на данный момент в реестре природоохранных нормативных документов (ПНД Ф) нет метрологически аттестованных (стандартизованных) методик фитотестирования, рекомендованных для целей государственного и производственного экологического контроля.

Известны разные подходы и масштабы экспериментального фитотестирования. В основном фитотесты можно объединить в три группы методов: лабораторные, вегетационные и микроделяночные.

Особую актуальность в экологическом контроле приобретают лабораторные методы фитотестирования, как наиболее экспрессные и экономичные. Существуют публикации, указывающие также на наибольшую чувствительность именно лабораторных методов тестирования по сравнению с микроделяночными и вегетационными (Воробейчик с соавт., 1994; Терехова с соавт., 2009 и др.).

Фитотестирование основано на чувствительности растений к экзогенному химическому воздействию, что отражается на ростовых и морфологических характеристиках. Основными требованиями, предъявляемыми к реализации метода фитотестирования, являются: экспрессность, доступность и простота экспериментов; воспроизводимость и достоверность полученных результатов; экономичность, как в материальном отношении, так и по трудозатратам; объективность полученных данных (Маячкина, Чугунова, 2009). Распространено мнение о том, что информативность высших растений при решении задач биотестирования связана со следующими свойствами: а) эукариотическое состояние – структурное и морфологическое сходство X-хромосомы с хромосомами млекопитающих, включая и человека; б) у растений и млекопитающих отмечается сходная чувствительность к мутагенам; в) короткий жизненный цикл; г) относительная дешевизна, особенно по сравнению с тестами на других объектах; д) возможность проводить исследования *in situ* (Кабилов с соавт., 2000; Коженкова с соавт., 2000; Стволинская, 2000; Мирзоян, 2001; Багдасарян, 2005; Kristen, 1996).

Несмотря на то, что исследователи сходятся на общих принципах метода фитотестирования, его реализация имеет много вариаций. Унификация и стандартизация лабораторного метода фитотестирования имеет большое значение. Рассмотрим некоторые дискуссионные моменты методических подходов к фитотестированию.

## **ПРОБЛЕМЫ ЛАБОРАТОРНОГО МЕТОДА ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ И ОСНОВНЫЕ РЕШЕНИЯ**

**Выбор тест-культуры.** Существует немало рекомендаций, предписывающих использование того или иного вида растений.

В серии публикаций по анализу фитотоксичности загрязненных черноземов обосновывается зональный подход. Авторы в качестве тест-культуры предлагают использовать семена наиболее характерных для исследуемого типа почв возделываемых культур. Исследователи для экотоксикологической оценки черноземов используют семена пшеницы (*Triticum* spp.) (Ананьева, Давыдов, 2009; Колесников с соавт., 2006).

Согласно МР 2.1.7.2297-07 «Обоснование класса опасности отходов...» в лабораторных фитотестах следует применять семена овса (*Avena* spp.), поскольку они, по мнению разработчиков, давали наиболее стабильные и воспроизводимые результаты по сравнению с семенами других культур (рр. *Pisum*, *Cucumis*, *Triticum*, *Daucus* и др.).

На кафедре агрохимии МГУ апробирован метод определения суммарной токсичности почвы с использованием семян редиса (р. *Raphanus*), что обосновывается «высокой степенью отзывчивости семян на токсические вещества» («Практикум по агрохимии», 2001).

Во многих работах отечественных и зарубежных авторов показана эффективность применения семян кресс-салата (*Lepidium sativum*). Данная тест-культура была информативной при загрязнении исследуемых объектов поллютантами различных типов (тяжелыми металлами, углеводородами, радиоактивными веществами и др.) и при комплексном загрязнении.

Согласно международному стандарту ISO 11269-1 для биотестирования рекомендуется использовать ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare*) сорта *CV Triumph*. Одновременно оговорено, что можно применять и другие семена. Международный стандарт ISO 11269-2 регламентирует выбирать минимум два вида растений, при этом одно должно быть однодольным, а другое двудольным (Фомин, Фомин, 2001).

В методе фитотестирования, разработанном в Бельгии, используются три вида тест-растений: одно однодольное – сорго сахарное (*Sorghum saccharatum*) и два двудольных – кресс-салат (*Lepidium sativum*) и горчица белая (*Sinapis alba*).

**Избирательная чувствительность тест-культур.** Несмотря на известное влияние токсикантов на растения, стоит отметить, что семена разных видов избирательно реагируют на определенные классы поллютантов. В публикациях иностранных исследователей (Czerniawska-Kusza et al., 2006) этот эффект продемонстрирован в отношении чувствительности семян салата, сорго и горчицы на грунтах, загрязненных комплексом тяжелых металлов и нефтепродуктов, в том числе ПАУ. Показано, что растения по снижению чувствительности к токсичности грунтов располагаются в следующем порядке: *Lepidium sativum* < *Sinapis alba* < *Sorghum saccharatum*. При исследовании фитотоксичности речных отложений, загрязненных преимущественно тяжелыми металлами и пестицидами, наблюдалась тенденция большей чувствительности двудольных растений (*Lepidium sativum*, *Sinapis alba*), чем однодольных (*Sorghum*) (Sumorok et al., 2005). Вместе с тем публикации других авторов (Baran et al., 2009) показывают, что на нефтезагрязненных почвах большей чувствительностью обладает сорго сахарное (*Sorghum saccharatum*), однодольное растение.

Есть данные, указывающие на большую чувствительность семян риса (*Oryza sativa*) по сравнению с семенами редиса (*Raphanus sativa*) при использовании фосфогипса в качестве тест-объекта. При этом оценивались такие параметры, как всхожесть и энергия прорастания семян (Каниськин с соавт., 2007).

В наших исследованиях ряда образцов (отходов фосфогипса, биогрунта, наноматериалов), проведенных на семенах горчицы белой (*Sinapis alba*), была показана целесообразность применения этой культуры, так как она продемонстрировала хорошую сходимость и воспроизводимость результатов в опытах (Терехова с соавт., 2009).

Другой важной особенностью фитотест-систем, влияющей на результат испытаний, является влияние факторов среды. Очевидно, что реакция тест-растений складывается из собственно реакции на поллютанты и реакции на факторы среды. Этот вопрос изучен недостаточно и заслуживает детальной проработки. В зарубежных публикациях есть сведения, указывающие на зависимость между содержанием органического вещества и показателем фитотоксичности (Czerniawska-Kusza et al., 2006). Показано, что в почвах с меньшей концентрацией поллютанта, фитотоксичный эффект был больше, чем в почвах с большим содержанием. В исследованиях выявлялась зависимость и с гранулометрическим составом, где показано, что фитотоксичный эффект в легких почвах больше, чем в тяжелых.

В связи с вышесказанным, нам представляется перспективным подход с использованием набора видов растений в целях фитотестирования. Такой вариант является вполне обоснованным, поскольку с большей вероятностью позволяет уловить «минимально» действующий токсичный компонент в условиях комплексного загрязнения сред. Что касается компенсирующего влияния факторов среды, то здесь, очевидно, надо подбирать такие виды, чувствительность которых была бы минимальной к содержанию органического вещества.

***Варианты «тест-объекта» при анализе твердых субстратов и почв.***

В настоящее время большинство исследователей используют водные вытяжки в качестве модельной среды для определения твердых субстратов и почв. При этом эталонным объектом, относительно которого оценивается токсичность, в большинстве случаев является дистиллированная вода. Однако, постановка фитотеста на водных вытяжках может давать заниженные результаты токсичности (Бакина с соавт., 2004; Blok et al., 2005). Кроме того, важен гранулометрический состав исследуемого объекта. Очевидно, что при одинаковой концентрации вещества, токсический эффект глинистых объектов будет меньше, чем песчаных в силу меньшей доступности токсичных компонентов растениям.

Согласно международным стандартам ISO 11269-1 и ISO 11269-2 тест-культура выращивается в условиях непосредственного контакта с тест-объектом. При этом контрольная почва и испытываемая почва должны быть как можно больше похожи друг на друга по структуре и составу (за исключением исследуемых химикатов и загрязнителей) (Фомин, Фомин, 2001). В связи с этим целесообразно проведение теста не на водном экстракте, а на твердом образце. Конечно, в условиях многообразия почв и гетерогенности их состава подбор «эталонов» в таком варианте – сложная задача. Для решения этой проблемы представляется перспективным выявить зависимость между свойствами эталонных образцов и их влиянием на тест-культуры. Понимая эти зависимости, можно сделать выбор «эталона» максимально корректным.

***Тест-параметры в фитотестах.*** О реакции тест-системы в лабораторном фитотестировании судят по таким параметрам, как всхожесть, энергия прорастания, дружность прорастания, длина корней. При этом под всхожестью понимают способность семян давать за установленный срок нормальные проростки при определённых условиях проращивания. Число нормально

проросших семян выражают в процентах от общего числа семян, взятых для анализа. Энергией прорастания называется способность семян давать нормальные проростки за установленный ГОСТом более короткий, чем для определения всхожести, срок. Например, для полевых растений он составляет от трех до пяти суток. Этот показатель определяют одновременно со всхожестью, он характеризует дружность прорастания. При определении длины корней у двудольных растений измеряют главный корень, выделяющийся толщиной и длиной среди придаточных и боковых корней. У однодольных растений корневая система состоит из большого количества примерно одинаковых по размерам корней. В этом случае определяют длину наиболее длинного корешка.

Существуют различные мнения относительно выбора оптимального параметра. С.И. Колесниковым с соавторами (2006) на семенах озимой пшеницы (р. *Triticum*), ярового ячменя (р. *Hordeum*), редиса (р. *Raphanus*), фасоли (р. *Phaseolus*) и кабачков (р. *Cucurbita pepo* var. *Girumontina*) показано, что в условиях загрязнения почв тяжелыми металлами в меньшей степени подавляются такие показатели начального роста растения, как всхожесть, энергия и дружность прорастания. Наиболее чувствительным является показатель длины корней растений.

В двухлетних экспериментах, проводимых нами в аккредитованной лаборатории экотоксикологического анализа почв факультета почвоведения МГУ ([www.letap.ru](http://www.letap.ru)) совместно с ООО «БИОГРУНТ» ([www.piksa.ru](http://www.piksa.ru)) на семенах горчицы белой (*Sinapis alba*) показано, что в условиях загрязнения почвогрунтов подвижным фосфором наиболее чувствительным показателем является длина корней. Наименее чувствительным параметром оказалась всхожесть семян (Степачев с соавт., 2008; Терехова с соавт., 2009).

Тест-параметры, используемые иностранными исследователями, также довольно неоднозначны. Так, в работах (Gorsuch et al., 1995) оценивается длина корней и длина проростков молодых растений; некоторые исследователи анализируют всхожесть и длину корней проростков (Wang et al., 2000; Persoone, 2005). В ряде работ оценивается только длина корней проростков (Baran et al. 2009; Michaud et al., 2008). Несмотря на различия в наборе анализируемых параметров, стоит подчеркнуть, что такой «отклик», как длина корней проростков семян используется практически во всех работах.

Таким образом, основываясь на накопленном в литературе опыте и результатах наших наблюдений, в качестве наиболее информативных можно рекомендовать параметры развития корней (длину корешка) и энергию прорастания. Увеличение числа измеряемых параметров может существенно осложнить экспрессную методику фитотестирования.

***Условия, оборудование, материалы и обработка результатов фитотестов в лабораторных условиях.*** Наиболее распространенным вариантом лабораторного фитотестирования в нашей стране является проращивание семян в чашках Петри. Согласно международному стандарту ISO 11269-1, замоченные семена следует переносить для дальнейшего выращивания в сосуды (чашки Петри) с исследуемым объектом, после чего субстрат вымывается и измеряется длина отмытых корней (Фомин, Фомин, 2001). Для получения статистически достоверных результатов требуется анализировать по несколько сотен семян в одном опыте. Далее проростки по одному выбираются из чашки Петри для измерения длины корней с помощью линейки, т.е. эта кропотливая работа осуществляется индивидуально для каждого проросшего семени. Очевидно, что такой способ обработки данных является весьма

трудоемким. На процедуру измерения всей опытной партии требуется несколько часов.

Для повышения экспрессности фитотеста мы предлагаем использовать прозрачные планшеты, которые экспонируются вертикально. Проросшие семена в них развиваются в определенном смысле в «двухмерном пространстве», и для измерения длины проростков не требуется вскрытие камер и использование традиционной линейки. Подобные контейнеры (размером 18 x 12 см) предложены бельгийскими учеными (Persoone, 2005). Преимуществом наших планшетов перед бельгийскими вариантами (контейнерами) является их большая площадь, что позволяет в одной серии анализировать большее количество семян, что существенно повышает достоверность оценки и экономит время исследователей (Рис.1).

По истечении срока экспозиции с помощью фотокамеры делаются фотоснимки проростков, затем переносятся на компьютер. Цифровые фотографии обрабатываются с помощью компьютерных анализаторов изображений и автоматически, с помощью специально разработанной программы, рассчитываются статистические показатели. Это позволяет существенно упростить процедуру обработки данных до нескольких минут, что делает тест более оперативным, надежным, свободным от ошибок исследователя. Данные автоматически архивируются и сохраняются на компьютере, к ним можно обратиться снова в нужный момент.

Таким образом, способ вертикального проращивания семян на планшетах, выгодно отличается своей простотой и удобством по сравнению с традиционными способами, широко распространенными в России.

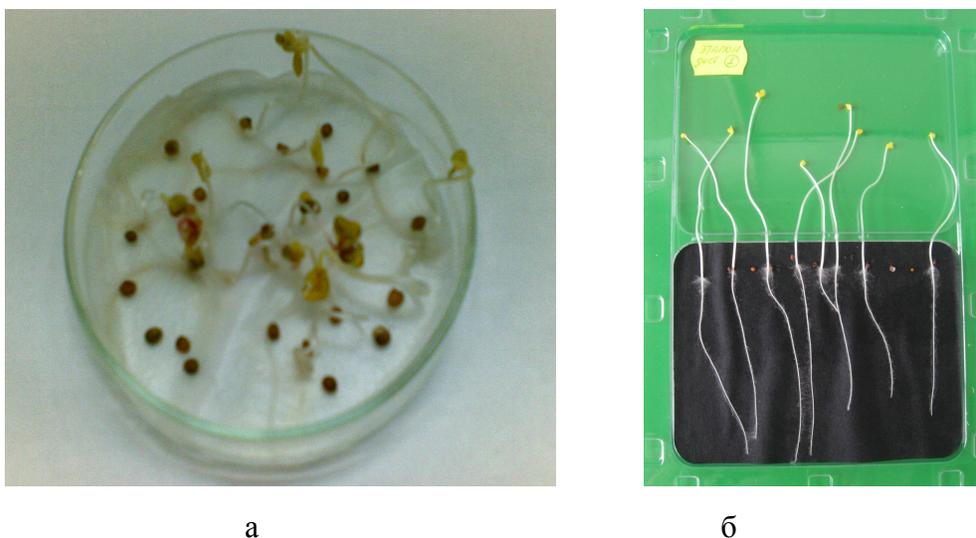


Рис. 1. Способы проращивания семян: а) в чашках Петри (горизонтальный, «трехмерный»); б) в пластиковых контейнерах (вертикальный, «двумерный»)

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итоги анализа особенностей известных вариаций фитотест-систем, следует подчеркнуть, что, несмотря на востребованность этих методов во многих сферах, на практике не существует единого подхода к их реализации. Нередко результаты, полученные в разных условиях экспозиции разных тест-культур, оказываются несопоставимыми. В Российской Федерации в Федеральном реестре МВИ ПНДФ (методик выполнения измерений природоохранного назначения) в настоящее время нет стандарта, который позволил бы дать оценку уровня фитотоксичности почв и других природных сред или техногенных объектов по унифицированным критериям. Поэтому существует необходимость в разработке единой эффективной стандартной фитотест-системы для сравнения экологической токсичности загрязненных почв в природоохранных целях. Назрела необходимость и в стандартизации методов оценки биобезопасности, в том числе и фитотоксичности новых

продуктов и отходов био- и нанотехнологий. Для сравнения фитоэффекта исследуемых образцов необходимо определить стандартный вид (или виды) тест-культур растений, что позволит сопоставлять данные, получаемые в разных лабораториях. Пока же у разных авторов наблюдается существенная «разноголосица» в применении тест-растений, которые существенно различаются по чувствительности к внешнему воздействию.

В итоге рассмотрения литературы, отражающей отечественный и зарубежный опыт, целесообразно принять во внимание приведенные в данной работе предложения по унификации лабораторного метода фитотестирования, что позволит качественнее и оперативнее решать важные задачи по организации эффективного экологического контроля.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ананьева Ю.С., Давыдов А.С. Экологическая оценка воздействия осадков сточных вод на почву по фитотестированию // Вестник Алтайского государственного аграрного университета, № 8 (58), 2009, с. 38-40.
2. Багдасарян А.С. Биотестирование почв техногенных зон городских территорий с использованием растительных организмов: дисс ... канд. биол. наук. – Ставрополь, Ставропольский государственный университет, 2005. 159 с.
3. Бакина Л.Г., Бардина Т.В., Маячкина Н.В. и др. К методике фитотестирования техногенно загрязненных почв и грунтов // Мат. Межд. конф. «Экологические проблемы северных регионов и пути их решения». – Апатиты: Изд-во Кольского научного центра РАН, 2004, Ч. 1, с. 167-169.
4. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений /

- Мелехова О.П., Сарапульцева Е.И., Евсеева Т.И. и др.; под ред. О.П. Мелеховой и Е.И. Сарапульцевой. – 2-е изд., испр. – М.: Издательский центр «Академия», 2008, 228 с.
5. Воробейчик Е.Л., Садыков О.Ф., Фарафонов М.Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень). – Екатеринбург: УИФ "Наука", 1994, 280 с.
  6. Кабиров Р.Р., Сагитова А.Р., Суханова Н.В. Разработка и использование многокомпонентной тест-системы для оценки токсичности почвенного покрова городской территории // Экология, 1997, № 6, с. 408-411.
  7. Каниськин М.А., Терехова В.А., Яковлев А.С. Контроль гуматной детоксикации отходов фосфогипса методами биотестирования // Экология и промышленность России, 2007, Август, с.48-51.
  8. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Экологическое состояние и функции почв в условиях химического загрязнения. Ростов н/Д: Изд-во Ростиздат, 2006, 385 с.
  9. Мирзоян А. В. Создание и апробация генетико – биохимической тест системы для мониторинга мутагенности окружающей среды с использованием листьев древесных растений: дисс. ... канд. биол. наук. – Ростов н/Д., 2001, 125 с.
  10. МР 2.1.7.2297-07. Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности. Методические рекомендации – Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2007, 15 с.
  11. Практикум по агрохимии: Учеб. пособие. - 2-е изд., перераб. и доп./ Под ред. академика РАСХН В.Г.Минеева. – М.: Изд-во МГУ, 2001, 689 с.

12. Романова О.В. Использование фитотестирования при оценке токсичности почв и снеговой воды // Мат. межд. заоч. науч. конф. «Проблемы современной аграрной науки». – Красноярск: Изд-во Красноярского государственного аграрного университета, 2009, с. 70-75.
13. Стволинская Н.С. Жизнеспособность *Taraxacum officinale* Wigg в популяциях города Москвы в связи с автотранспортным загрязнением // Экология, 2000, №2, с. 147-150.
14. Терехова В.А. Биоиндикация и биотестирование в экологическом контроле// Использование и охрана природных ресурсов в России. Информационно-аналитический бюллетень, 2007, №1 (91), с. 88-90.
15. Терехова В.А., Домашнев Д.Б., Каниськин М.А., Степачев А.В. Экотоксикологическая оценка повышенного содержания фосфора в почвогрунте по тест-реакциям растений на разных стадиях развития// Проблемы агрохимии и экологии, 2009, №3, с. 21-26.
16. Фомин Г.С., Фомин А.Г. Почва. Контроль качества и экологической безопасности по международным стандартам. Справочник. М: «Протектор», 2001, 304 с.
17. Шабалина О.М., Демьяненко Т.Н. Фитотестирование городских почв с помощью салата посевого (*Lactuca sativa*) и клевера белого (*Trifolium repens*)// Мат. межд. заоч. науч. конф. «Проблемы современной аграрной науки». – Красноярск: Изд-во Красноярского государственного аграрного университета, 2008, с. 29-30.
18. Шеуджен А.Х. Биогеохимия. Майкоп: ГУРИПП «Адыгея», 2003, 1028 с.
19. Aranda E., García-Romera I., Ocampo J.A., Carbone V., Mari A., Malorni A., Sannino F., De Martino A., Capasso R. Chemical characterization and effects on

- Lepidium Sativum* of the native bioremediated components of dry olive mill residue // *Chemosphere*, 2007, Vol. 69, p.229-239.
20. Baran A., Jasiewicz C. and Antonkiewicz J. Testing Toxicity of Oily Grounds Using Phytotoxkit Tests // The First Joint PSE-SETAC Conference on Ecotoxicology. Book of Abstracts, Poland; 2009, poster.
  21. Blok C., Persoone G. and Wever G. A Microbiotest to Assess the Phytotoxic Potential of Growing Media and Soils // Annual Symposium of the International Society of Horticultural Sciences. Book of Abstracts, Angers, France , 2005, poster.
  22. Comparison of The Phytotoxkit Microbiotest and Chemical Variables for Toxicity Evaluation of Sediments Environmental // *Toxicology*, 2006 , № 21, Vol. 4 , p. 367-372.
  23. Czerniawska-Kusza I., Ciesielczuk T., Kusza G. and Cichon A. Comparison of the Phytotoxkit microbiotest and chemical variables for toxicity evaluation of sediments// *Environmental Toxicology*, Vol. 21, Iss. 4, p. 367-372.
  24. Donaldson K., Aitken R., Tran L., Stone V., Duffin R., Forrest G., Alexander A. Carbon nanotubes: review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety // *Toxicological Science*, 2006, Vol. 92, Iss. 1. p. 5-22.
  25. Gorsuch J., Merrilee R., Anderson E. Comparative toxicities of six heavy metals using root elongation and shoot growth in three plant species // *Environmental toxicology and risk assessment*, 1995, Vol. 3, p. 377-391.
  26. Jiang J., Oberdrster G., Elder A., Gelein R., Mercer P., Biswas P. Does nanoparticle activity depend upon size and crystal phase // *Nanotoxicology* 2008, Vol. 2, Iss. 1, p. 33-42.
  27. Lin D. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth // *Environmental Pollutants*, 2007, Vol. 150, Iss. 2, p. 243-250.

28. Kaza M. Toxicity assessment of water samples from rivers in Central Poland using a battery of microbiotests – a pilot study, 2007, Vol. 16, № 1, p. 81-89.
29. Marciulioniene D., Lukšienė B., Kiponas D., Maksimov G., Darginavičienė J., Gavelienė V. Effects of <sup>137</sup>Cs and <sup>90</sup>Sr on the plant *Lepidium sativum* L. growth peculiarities // *Ekologija*, 2007, Vol. 53, № 1, p. 65-70.
30. Michaud A, Chappelaz C., Hinsinger P. Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) // *Plant and soil*, 2008, vol. 310, № 1-2, p. 151-165.
31. Persoone G. Recent new microbiotests for cost-effective toxicity monitoring : the Rapidtoxkit and the Phytotoxkit // 12th International Symposium on Toxicity Assessment - Book of Abstracts, 2005, p. 112.
32. Persoone G., K. Wadhia. Comparison Between Toxkit Microbiotests and Standard Tests / *Ecotoxicological Characterization of Waste Results and Experiences of an International Ring Test*, 2009, part 3, p. 213-223.
33. Sujetovienė G., Griauslytė L. Toxicity Assessment of Roadside Soil Using Wild Oat (*Avena sativa* L.) and Cress (*Lepidium sativum* L.) morphometric and Biochemical Parameters // *Environmental Research. Engineering and Management*, 2008, No. 4 (46), p. 29-35.
34. Kristen U. Use of higher plants as screens for toxicity assessment. *Toxicology in Vitro*, February-April 1997, Vol. 11, Iss. 1-2, p. 181-191.
35. Wang X., Sun C., Gao S., Wang L., Shuokui H. Validation of germination rate and root elongation as indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus* // *Chemosphere*, 2001, Vol. 44, № 8, p. 1711 – 1721.

*Работа выполнена в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (Госконтракт 02.740.11.06993) , при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (Фонд Бортника) .*

PHYTOTEST: MAIN APPROACHES, PROBLEMS OF LABORATORY METHOD AND ACTUAL SOLUTIONS

Lisovitskaya O.V.<sup>1</sup>, Terekhova V.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – Faculty of Soil science, Moscow State University

<sup>2</sup> – Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences

*Objective of this article is to discuss actual problems of laboratory phytotest method. Based on the analysis of existed native and foreign experience new modern solutions are offered to optimize and standardize existed approaches for phytotest proceeding.*