

УДК 504.5, 624.131.4

ДИСПЕРСНЫЕ ГРУНТЫ КАК ОБЪЕКТЫ БИОДИАГНОСТИКИ

© 2024 г. И. Ю. Григорьева^{1,*}, А. В. Морозов^{1,**}, С. С. Садов^{1,***}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
ул. Ленинские горы 1, Москва, 119991 Россия

*E-mail: ikagrig@inbox.ru

**E-mail: morozov8pro@yandex.ru

***E-mail: sergik0599@mail.ru

Поступила в редакцию 28.03.2024 г.

После доработки 19.08.2024 г.

Принята к публикации 20.08.2024 г.

В связи с постоянным увеличением числа потенциально токсичных соединений, усложнением их состава и многообразием возможных путей их попадания в окружающую среду в различных направлениях исследований на первый план выходят методы оценки качества и состояния природных сред, основанные на использовании биологических объектов – биодиагностика. Методики исследования водных сред и почв достаточно хорошо развиты, однако в отношении грунтовых систем на сегодняшний день не существует четко оформленной и общепринятой теории экологического нормирования их состояния, в том числе на основе биотической концепции. В статье даны базовые понятия и описаны основные применяемые на сегодняшний день методики биодиагностики экологического состояния как природных сред в целом, так и грунтовых систем в частности. С учетом базовых позиций грунтоведения охарактеризованы особенности проведения оценки экологического состояния в отношении дисперсных грунтов. На основании результатов, проведенных авторами масштабных экспериментальных исследований, показаны результаты применения методики биотестирования с использованием гидробионтов, аппликатного и элюатного фитотестирования на различных тест-культурах по отношению к грунтовым системам. Высказаны предложения по совершенствованию биодиагностики экологического состояния дисперсных грунтов с учетом особенностей объекта исследования и возможных путей миграции токсикантов.

Ключевые слова: биодиагностика, дисперсные грунты, биотестирование, фитотестирование, экологическое состояние, экотоксикологическая оценка

DOI: 10.31857/S0869780924050058 EDN: QPKXEZ

ВВЕДЕНИЕ

Стремительное увеличение количества загрязняющих веществ и усложнение состава поступающих в природные среды соединений явились причиной того, что существующий и наиболее распространённый в практике научных исследований и инженерных изысканий санитарно-гигиенический подход, основанный на системе ПДК (предельно-допустимых концентраций), не отвечает современным принципам экологической безопасности. Осознание подобного обстоятельства большинством исследователей, работающих в разных научных направлениях, привело к тому, что в последнее десятилетие контроль качества окружающей среды с использованием различных биологических объектов (биодиагностика) оформился, как актуальное научно-прикладное направление [2, 14, 15]. Трудями многих отечественных и зарубежных ученых сделан существенный вклад в разработку биотической концепции, предложены различные критерии для оценки экологического состояния различных сред [4, 19,

27, 30, 37–39, 42–46]. В наибольшей степени разработаны методы и показатели, которые могут быть применены к водной среде [5, 23, 24, 33 и др.] Успешно разрабатываются и широко применяются на практике методы, позволяющие оценить экологическое состояние почв [6–9 и др.].

Дисперсные грунты представляются для биодиагностики практически неизученным объектом. Для них на сегодняшний день не существует общепринятой и хорошо разработанной теории экологического нормирования как вообще, так и на основе биотической концепции тем более. В связи с этим в практике эколого ориентированных исследований и изысканий оценка состояния дисперсных грунтов до сих пор осуществляется преимущественно путем определения аналитическими методами наличия отдельных потенциально вредных веществ или воздействий. В дальнейшем проводится сравнение полученных результатов с законодательно установленными для этих веществ и воздействий допустимыми или фоновыми величинами. Выбор фоновой

величины содержания того или иного элемента (соединения) представляет собой достаточно сложную и неоднозначную задачу [3]. Кроме того, следует учитывать, что нормы ПДК разработаны лишь для почв. Правомерность их использования для иных видов грунтов вызывает массу нареканий. В добавок ко всему совершенно игнорируется тот факт, что аналитические способы контроля имеют ряд существенных недостатков [4]. Достаточно принять во внимание только тот факт, что в настоящее время нормированы лишь 0.01% из миллионов потенциально токсичных веществ. Кроме того, вполне очевидно, что для условий нашей страны гармонизировать аналитические нормативы попросту нельзя, поскольку невозможно учесть влияние всех геохимических провинций, климатических факторов и т.д. К этому следует добавить, что контроль и разработка нормативов для всех возможных экотоксикантов практически неосуществимы. Невозможно учесть в практической деятельности синергетический и антагонистический эффект различных веществ. Равно как и невозможно получить информацию о вторичных эффектах воздействия веществ, вызванных их накоплением и трансформацией в различных звеньях экосистем. Ни один из химико-аналитических методов не позволяет в полной мере гарантировать достоверность оценки экологической опасности и реальных рисков для здоровья населения. Всё это делает особо актуальным разработку подходов к биодиагностике экологического состояния дисперсных грунтов.

В статье авторы попытались кратко охарактеризовать существующие подходы к оценке экологического состояния природных сред и на основе экспериментального опыта применения ряда методов сформулировать рекомендации по дальнейшей разработке подходов к биодиагностике экологического состояния дисперсных грунтов.

СУЩЕСТВУЮЩИЕ ВИДЫ БИОДИАГНОСТИКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРИРОДНЫХ СРЕД

В настоящее время работы в области биологического контроля (биодиагностики) состояния компонентов окружающей среды (после спада в конце 1970-х гг.) вновь активно развиваются [8, 27–30, 35–37, 47–50]. Во многом этому способствовало основание в 1979 г. Международной организации SETAC (The Society of Environmental Toxicology and Chemistry) — форума для междисциплинарного общения ученых: биологов экологов, химиков, медиков, токсикологов, а также менеджеров, инженеров и других лиц, интересующихся проблемами охраны окружающей среды. Основным принципом SETAC является использование междисциплинарного научного подхода к поиску решений различных экологических проблем.

В августе 2023 г. под эгидой SETAC на факультете Почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова прошел IV Международный Симпозиум “Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения”, где были представлены доклады ведущих на сегодняшний день исследователей в области биодиагностики [22, 28, 32].

Основным преимуществом методов биодиагностики является то, что при проведении экологически ориентированных исследований важны не столько сами уровни воздействий, сколько те биологические эффекты, которые они могут вызывать, и о которых не может дать информацию даже самый точный химический анализ [24]. Эти методы в ряде ситуаций позволяют быстро оценивать качество окружающей среды и наличие загрязнений, не обнаруживаемых только химико-аналитическими методами. Химические анализы, как известно [2], показывают лишь наличие или отсутствие неких “маркеров” — определенных концентраций загрязняющих веществ (поллютантов). Иными словами, данные методы позволяют оценить содержание лишь некоторых загрязняющих веществ, но не гарантируют полноту охвата всего состава [15]. Многокомпонентность и отсутствие заведомо четких представлений о химическом составе загрязненных природных объектов, ограниченное число разработанных и утвержденных предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ в компонентах природной среды, значительные затраты труда, времени и средств на проведение химико-аналитических исследований, необходимость проведения широкого круга исследований представляют сложность оценки экологического состояния объектов. В итоге в составе анализируемых сред (воды, почвы, отходы и пр.) можно определить большое количество веществ, но не выявить наиболее опасное вещество, обуславливающее их токсичность. Подобные исследования зачастую имеют крайне ограниченное значение для прогноза и оценки состояния живых организмов, сообществ или анализируемой экосистемы в целом. Во многом избежать влияния недостатков химико-аналитических методов позволяет использование так называемой экотоксикологической оценки, осуществляемой методами биодиагностики.

В общем случае биодиагностика — выявление причин или факторов изменения состояния среды на основе видов-биоиндикаторов с узко специфичными реакциями и отношениями. Биодиагностика традиционно подразделяется на биоиндикацию и биотестирование [20]. В последнее время многие исследователи стали увереннее выделять в составе биодиагностики методы, основанные на применении биосенсоров [16, 31, 40, 41, 50]. Биоиндикация (англ. bioindication) заключается в обнаружении и определении экологически значимых природных и антропогенных нагрузок

на основе реакций на них живых организмов непосредственно в среде их обитания, т.е. в полевых условиях. Биотестирование (англ. bioassay) же представляет собой процедуру установления токсичности среды с помощью тест-объектов (живых организмов), сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций у тест-объектов [2]. Биотестирование осуществляется экспериментально с использованием, как правило, стандартизованных лабораторных тест-систем, путем регистрации изменений биологически важных показателей (тест-реакций) под воздействием исследуемых проб с последующей оценкой их состояния в соответствии с выбранными критериями токсичности. Биосенсор или биологический датчик — это устройство безреагентного анализа соединений. Биосенсор состоит из биологически чувствительного элемента (рецептора), физического преобразователя и рабочего раствора. Биологический компонент биосенсора может включать ферменты, ткани, микроорганизмы, антитела, антигены, ДНК, РНК, иммобилизованные на специальном физическом носителе [31]. Однако применение биосенсоров сейчас находится в начальной стадии развития [16, 41, 47]. Методы биоиндикации в настоящее время применяются при проведении изыскательских и научно-исследовательских работ. Методики проведения подобных анализов разработаны в основном применительно к воздушной и водной среде, а также для оценки состояния почвенного покрова [28].

На данный момент в сфере оценки биологической значимости загрязнителей весьма эффективным методом считается биотестирование [29, 32], принцип которого в широком смысле основан на чувствительности и реакции живых организмов к экзогенному воздействию токсических веществ. Основные задачи биотестирования — определение воздействия исследуемых сред на выбранные виды организмов в стандартных условиях и выявление различных физиологических или биологических тест-реакций. Тест-реакция является закономерно возникающей ответной реакцией тест-системы на воздействие негативных внешних факторов. Критерием токсичности служит количественное выражение тест-реакции (тест-параметр), на основании которого делают вывод о токсичности исследуемых веществ [20]. Известно много биотестов с использованием различных тест-объектов, начиная от одноклеточных водорослей, бактерий и простейших и заканчивая высокоорганизованными животными [27]. Биотестирование считается эффективным методом оценки потенциальной опасности химического, физического или биологического воздействий на различные компоненты природной среды. Цели биотестирования различны в разных сферах приложения [29, 43-45]. Биотесты проводятся для

определения общей токсичности, мутагенности и канцерогенности. Воздействие в тест-системе оценивается посредством имитации возможных путей поступления вредного вещества в организм. Следует ещё раз подчеркнуть, что биотестирование подразумевает исключительно лабораторный эксперимент на чувствительных и строго регламентированных тест-объектах. На наш взгляд, именно этот метод биодиагностики может быть в полной мере реализован для оценки экологического состояния дисперсных грунтов.

ДИСПЕРСНЫЕ ГРУНТЫ И ОСОБЕННОСТИ ОЦЕНКИ ИХ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ

Дисперсные грунты, обладая неоднородностью состава и динамичностью изменения свойств, представляются достаточно сложным объектом для разработки систем экологической оценки вообще и биотестирования в частности. К сожалению, теоретическое обоснование подходов к биотестированию грунтов на сегодняшний день практически не разработано, но, как было сказано выше, достаточно активно разрабатываются модели и подходы к биодиагностике в почвенно-экологических исследованиях [17, 27–29, 39]. Однако вполне очевидно, что почвенные горизонты в отличие от дисперсных грунтов, как объекты исследования имеют ряд характерных особенностей, которые будут определять и различие в подходах к их биодиагностике.

В настоящее время биотесты в отношении грунтовых систем чрезвычайно востребованы [11]. Подобное утверждение основано на том, что утвержденными “Критериями отнесения отходов к I-V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду” [21] устанавливается обязательное подтверждение V класса опасности отходов на основе биотестирования. Количество отходов V класса опасности в стране достигает 80-90% от общего объема, причём практически нацело, согласно оценкам [1, 10–13], это отходы горнодобывающей промышленности и грунты, образующиеся в результате строительной деятельности (рис. 1).

Процедура установления класса опасности отходов, в том числе и грунтов, попадающих в эту категорию, предусматривает первоначальный расчет по данным химико-аналитических исследований соответствующих показателей по установленным формулам. В последующем на основе проведенных расчётов для подтверждения V класса обязательным является экспериментальное исследование, представляющее собой биотестирование. И, согласно действующим нормативам (ГОСТ 71041-2023), оценка класса опасности проводится на основе водной вытяжки из отходов, которые в данном случае представлены грунтами.

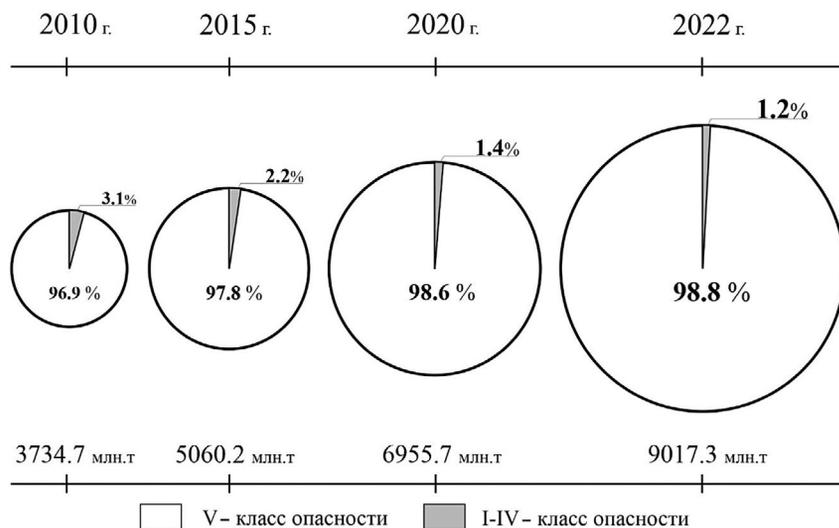


Рис. 1. Образование отходов производства и потребления по классам опасности в России, млн т [составлен авторами на основе данных 1, 10, 13].

Использование в этом случае водной вытяжки обусловлено тем, что подавляющее большинство легитимных на сегодняшний день методов биотестирования разработаны и применяются в отношении водной среды [2, 25, 27]. Однако, в отличие от зарубежной практики, где используется до 10 и более организмов, нормативами в нашей стране предусмотрен анализ с применением только двух тест-объектов [26].

В связи со всем вышеизложенным очевидна актуальность разработки подходов к биотестированию дисперсных грунтов, являющемуся, во-первых, законодательной основой для экспериментальной оценки их класса опасности как отходов, во-вторых, позволяющих интегрально оценить их экологическое состояние и воздействие на живые организмы. При этом встаёт задача поиска методических подходов к биотестированию, исходя из конкретных целей дальнейшего использования этих грунтов. Как правило, согласно существующим нормативам [21], биотестирование грунтов-отходов в настоящее время проводится только на основе их водной вытяжки. Тогда как с позиций грунтоведения, очевидно, что для адекватной оценки подобных образцов необходимо оценивать в биотест-системе и твердый компонент грунтов.

С этой точки зрения в области дальнейшего развития методов биотестирования экологического состояния грунтовых систем наиболее близки позиции, которые активно разрабатываются в почвоведении. Достаточно полный обзор существующих подходов рассмотрен в работах В.А. Тереховой с соавторами [27–29, 34]. Во многом основываясь на наработках этих авторов, были проведены экспериментальные исследования по оценке применимости различных подходов к дисперсным грунтам.

ОПЫТ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ДИСПЕРСНЫХ ГРУНТОВ МЕТОДАМИ БИОДИАГНОСТИКИ

В целом, проведенные нами многочисленные экспериментальные исследования и полевые наблюдения на различных по составу дисперсных грунтах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, тяжелыми металлами, солями и т.д., позволяют сделать ряд выводов и дать рекомендации, определяющие роль биодиагностики при оценке экологического состояния дисперсных грунтов. Так, подходы к оценке экологического состояния грунтов, на наш взгляд, должны базироваться на обязательной интеграции данных как химико-аналитических, так и экотоксикологических исследований. Причём экотоксикологические исследования (биотестирование) должны быть опережающими и определяющими необходимость проведения химико-аналитических, а не наоборот, как это в настоящее время предусмотрено действующими нормативами [21]. Например, по данным химико-аналитических исследований методом РФА¹ (табл. 1) в дисперсных грунтах, отобранных в восточной части территории г. Москва, не удалось выявить инструментально-определяемых концентраций Cd и Ni. В то время как по содержанию Pb, Zn и Cu исследуемые дисперсные грунты с территории строительных объектов имеют значимые различия.

Результаты же биотестирования с использованием высших растений (культуры кресс-салата

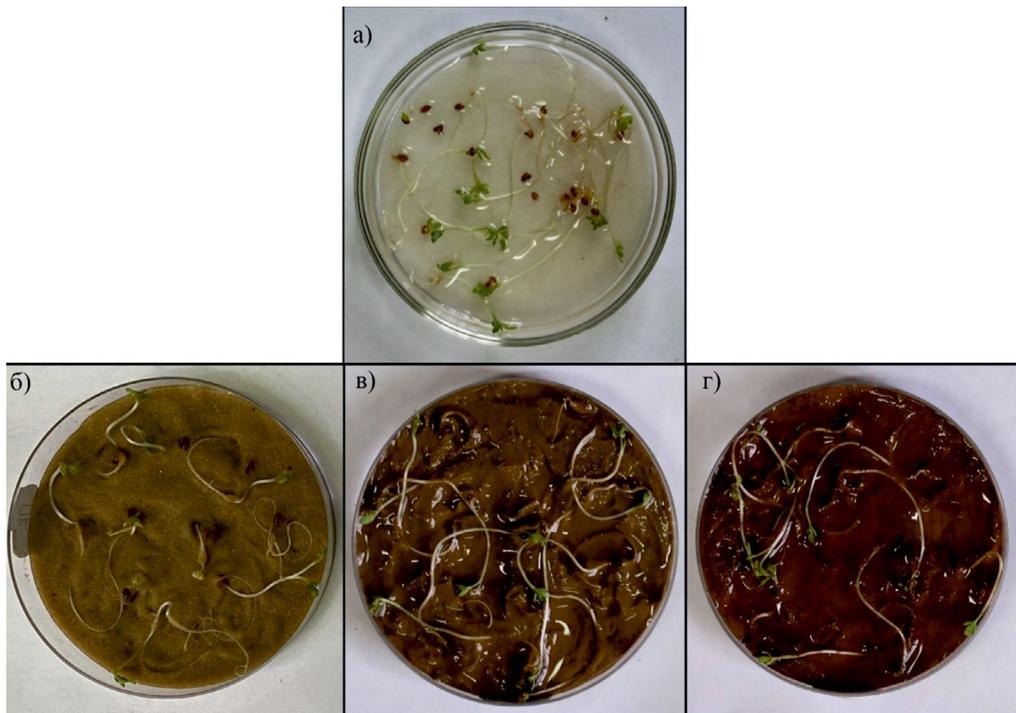
¹ Рентгенофлуоресцентный анализ (РФА) проведен и обработан Т.Н. Лубковой в лаборатории геохимии, кафедры геохимии геологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова на оборудовании, приобретенном за счёт средств развития Московского университета.

Таблица 1. Содержание тяжелых металлов по данным РФА в образцах дисперсных грунтов-отходов строительства в пределах восточной части территории Москвы

Образец грунта	Количество повторностей	As	Cd	Pb	Zn	Cu	Ni
		мг/кг					
Песок (aQIV)	10	<5	<5	7	43	10	<10
	10	<5	<5	9	42	17	<10
Супесь (a2QIII)	10	6	<5	45	208	71	<10
	10	7	<5	44	211	67	<10
Суглинок (a2prQIII)	10	8	<5	<5	41	31	<10
	10	10	<5	<5	36	25	<10
Контроль	10	<5	<5	15	42	19	25
	10	—	—	14	45	17	25
	±Δ	—	—	1	6	1	2

(*Lepidium sativum L.*) в чашках Петри (рис. 2) образцов этих грунтов указывают на явное отсутствие сколь-либо биологически значимых концентраций потенциально токсичных веществ и соединений (рис. 3). В таких случаях, на наш взгляд, необходимость оценки химико-аналитическими методами количественного содержания элементов нецелесообразна. Тем более, что не всегда удается точно определить необходимый и достаточный для оценки спектр химических элементов. При этом трудозатраты высококвалифицированного персонала и стоимость подобных исследований вырастают в несколько раз.

Несомненной в перспективе использования методов биодиагностики для дисперсных грунтов видится необходимость расширения спектра применяемых тест-организмов. Так, применение даже в отношении водных вытяжек двух представителей гидробионтов — ветвистоусых рачков *Daphnia magna* (большая дафния, рис. 4) и пресноводных зеленых водорослей из класса протококковых *Scenedesmus quadricauda* (сценедесмус рис. 5), продемонстрировало получение двух принципиально разных результатов оценки токсичности заданных в модельном эксперименте концентраций загрязняющих веществ (табл. 2 и 3).

**Рис. 2.** Общий вид результата биотестирования на дистиллированной воде (а), песке (б), супеси (в) и суглинке (г) в чашках Петри с использованием культуры кресс-салата (*Lepidium sativum L.*).

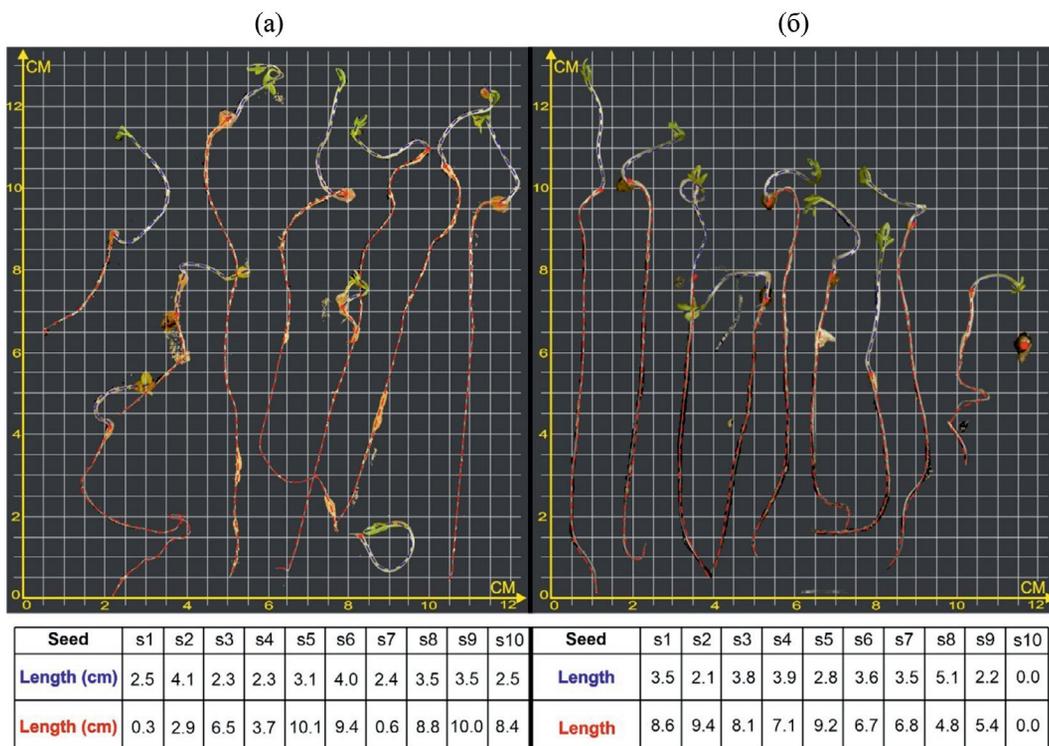


Рис. 3. Полуавтоматическая обработка результатов биотестирования с использованием программного комплекса на основе машинного обучения (а – контрольная проба, б – сушь, отобранная на территории г. Москва).



Рис. 4. Последовательность проведения биотестирования с использованием ветвистоусых рачков *Daphnia magna* Straus.

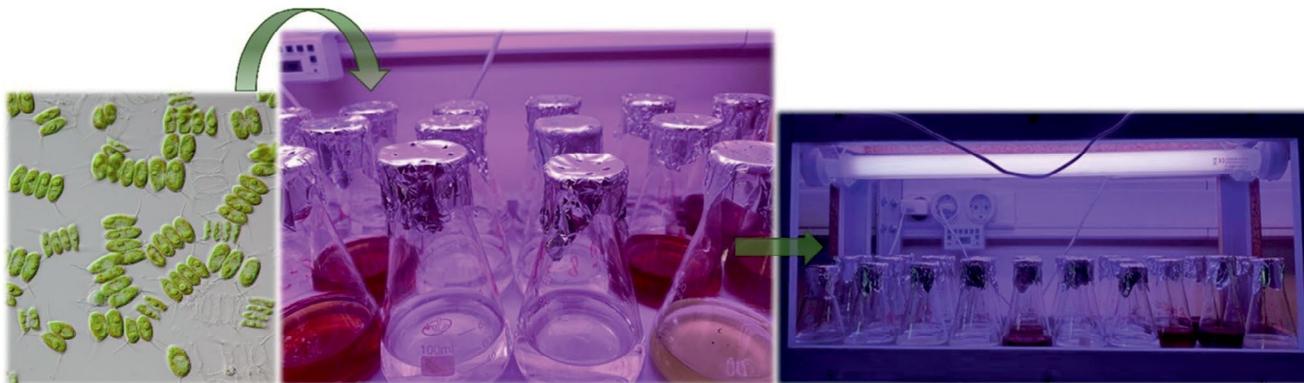


Рис. 5. Последовательность проведения биотестирования с использованием *Scenedesmus quadricauda*.

С биологических позиций в идеале исследования должны проводиться на организмах из всех основных трофических уровней: продуцентах, консументах и редуцентах, о чем неоднократно отмечалось в работах В.А. Тереховой [28] и ряда других исследователей.

Открытым остается вопрос выбора тест-организмов. Если в отношении почвенных горизонтов оправдано использование высших растений, почвенной мезофауны, то в отношении дисперсных грунтов применение подобных объектов видится не всегда логичным. Однако результаты многочисленных экспериментов позволяют утверждать, что наиболее приемлемы в лабораторной практике грунтоведения методы биотестирования, предполагающие использование в качестве тест-организмов высшие растения. Как было показано в работе [20], информативность высших растений при решении задач биотестирования связана со следующими положениями: а) эукариотическое

состояние – структурное и морфологическое сходство X-хромосомы растений с хромосомами млекопитающих, включая 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*.

Таким образом, фитотоксичность (свойство исследуемого субстрата подавлять рост и развитие высших растений) является одним из интегральных показателей загрязнения анализируемой среды и позволяет качественно оценить наличие острого токсического эффекта. Кроме того, в пользу применения в качестве тест-организма высших растений может говорить и хрестоматийный пример болезни итай-итай [49]. Как известно, в случае массового хронического отравления жителей префектуры Тояма (Япония) кадмием, поступающим в р. Дзиндзу из шахт рудника Камиока, первой

Таблица 2. Биотестирование водных вытяжек из загрязненных модельных песков с применением ветвистоусых рачков *Daphnia magna Straus*

№	Состав загрязнения			Процент погибших рачков	
	Дизельное топливо, % масс.	Раствор NaCl, % масс.	Лигногумат, % масс.	Средний индекс токсичности, %	Среднее квадр. отклонение
1	Контроль*			12	8.25
2	Дистиллированная вода			90	8.25
3	–	0.1	–	29	14.29
4	–	0.5	–	71	14.29
5	3	0.1	–	24	8.25
6	5	0.5	–	43	14.29
7	5	0.5	0.025	52	8.25

*Питательная среда для оптимальных условий жизнедеятельности ветвистоусых рачков *Daphnia magna Straus*

Таблица 3. Биотестирование водных вытяжек из загрязненных модельных песков с применением зелёных водорослей *Scenedesmus quadricauda*

№	Состав загрязнения			Средняя интенсивность флуоресценции хлорофилла, условные единицы	Среднее квадр. отклонение	Отклонение от контроля
	Дизельное топливо, % масс.	Раствор NaCl, % масс.	Лигногумат, % масс.			
1	Контроль*			0.0341	0.0031	–
2	Дистиллированная вода			0.0179	0.0038	–47.46
3	–	–	0.025	0.0199	0.0022	–41.59
4	–	0.5	–	0.0519	0.0079	52.45
5	3	0.5	–	0.0494	0.0033	45.11
6	5	0.5	–	0.0561	0.0034	64.77
7	5	0.5	0.025	0.0556	0.0022	63.31

*Питательная среда для оптимальных условий жизнедеятельности зелёных водорослей *Scenedesmus quadricauda*

отреагировала на токсическое воздействие повышенных концентраций этого металла именно агрокультура риса.

Одна из задач по фитотестированию в 2017 г. включена в учебное пособие по лабораторным работам [18]. Подобный вид биотестирования (фитотестирование) не предполагает сложных процедур поддержания тест-культуры, например, в случае использования организмов гидробионтов (дафний, одноклеточных водорослей) или клеток млекопитающих, является достаточно простым, легко воспроизводимым методом, не требующим дорогостоящего оборудования. И эта задача стала традиционной и выполняется магистрантами кафедры инженерной и экологической геологии геологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова в рамках курса “Биодиагностика в экологической геологии”.

При проведении эколого ориентированных исследований и изысканий, при оценке экологического состояния дисперсных грунтов биотестирование должно быть обязательным, поскольку позволяет диагностировать биологически значимые содержания загрязняющих веществ и выявлять наличие токсического эффекта различных их комбинаций и пороговых значений. Это показано авторами на основе модельных экспериментов по оценке влияния загрязнения различного состава на реакцию используемых тест-организмов (в первую очередь, высших растений). На рис. 6 в качестве примера приведен результат оценки биологической значимости углеводородного загрязнения песчаного грунта (моделирующего характерный состав нефтешлама). Как видно из рис. 6 низкие концентрации дизельного топлива (1% по массе или 10 г/кг) существенно сказываются на росте и развитии культуры горчицы белой (*Sinapis Alba*). При увеличении степени загрязнения до 3 и 5% по массе по сравнению с контролем (чистый кварцевый мелкий песок) наблюдался эффект стимулирования роста и развития выбранной тест-культуры. При достижении концентрации загрязнителя 7% происходит закономерное снижение всех анализируемых тест-параметров: всхожести, длины корня и длины ростка.

Аналогичные зависимости были получены при биотестировании грунтов с территории Ярегского нефтетитанового месторождения, где по данным химико-аналитических исследований ни в одной из проб не было установлено превышение ПДК анализируемых веществ, в то время как результаты биотестирования позволили выявить токсичность донных отложений прудка-отстойника с низкими концентрациями нефтепродуктов [12].

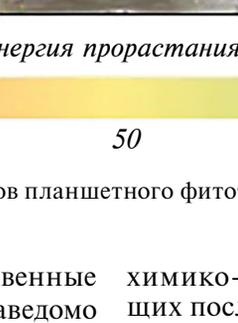
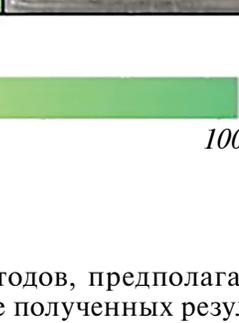
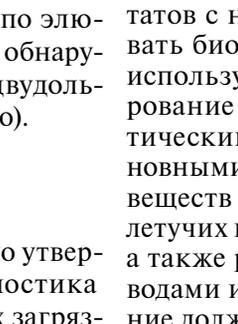
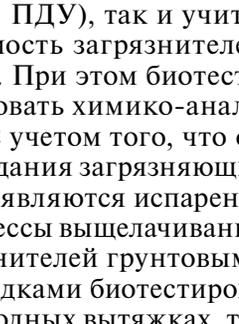
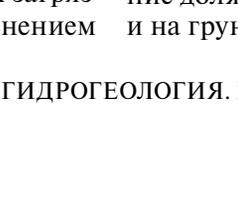
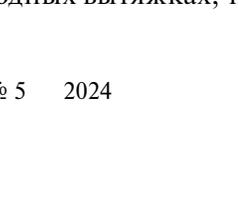
О НЕОБХОДИМОСТИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ПОДХОДОВ К БИОДИАГНОСТИКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ДИСПЕРСНЫХ ГРУНТОВ

Анализ литературных данных [15, 20, 44–47] и собственные экспериментальные исследования позволяют сделать вывод о том, что биотестирование необходимо проводить с учетом условий миграции возможных загрязняющих веществ (поллютантов) как в водных вытяжках, так и непосредственно в самих грунтах, используя грунтовые пасты в качестве тестируемого субстрата. На рис. 7 приведена обобщенная схема, дающая представление о путях попадания загрязняющих веществ (поллютантов) из верхних горизонтов земной коры, представленной массивами дисперсных грунтов, в организм человека. Прямой путь реализуется в случае вдыхания пыли (см. рис. 7а), при непосредственном контакте с загрязненным грунтом при случайном или целенаправленном попадании (при поедании) в желудочно-кишечный тракт, а также при адсорбции на поверхности кожи (см. рис. 7б), при употреблении для питья подземных вод из горизонтов, приуроченных к загрязненным грунтам (см. рис. 7в).

Вторичный или косвенный путь заключается в употреблении человеком в пищу растений, мяса животных и рыб (см. рис. 7г, д, е), которые контактировали с загрязняющими веществами в среде своего обитания или питались загрязненной пищей. Наличие в области проникновения загрязнения в грунтовую толщу водоносного горизонта, разгружающегося в открытый водоем, также приводит к возможности реализации косвенного пути при контакте кожи человека с загрязненными поверхностными водами (см. рис. 7ж). Третий сценарий попадания загрязняющих веществ в организм человека заключается во включении этих соединений в круговорот воды и их перенос на ранее незагрязненные участки (см. рис. 7з), а также попадании паров, содержащих летучие токсичные соединения, в жилые здания и постройки (см. рис. 7и).

С учетом возможных путей попадания загрязняющих веществ в организм человека, а также принимая во внимание представленные на рис. 8, 9 результаты биотестирования, проведенные аппликатным (помещение семян выбранной тест-культуры на анализируемый грунт) и элюатным (помещение семян высшего растения на фильтровальную бумагу, смоченную водной вытяжкой из анализируемого грунта) методами, оценки могут весьма существенно различаться. В связи с чем, в отличие от регламентированных ныне нормативами методами анализа водной вытяжки [8, 9], биотестирование грунтов должно обязательно включать методы, предполагающие непосредственный контакт тест-организмов с грунтом.

Результаты, полученные с применением аппликатного и элюатного вариантов тестирования (см.

№	Состав загрязнения	Повторность	Методика проведения планшетного фитотестирования							
			Апplikатный				Элюатный			
			Всхожесть %	Длина корня, см	Длина ростка, см	Фото	Всхожесть %	Длина корня, см	Длина ростка, см	Фото
1	Контроль	1	100	8.06	3.98		90	6.71	2.16	
		2	90	6.1	3.01		100	4.54	1.69	
		3	100	5.9	3.63		100	7.02	1.67	
2	NaCl (0.5 масс. %)	1	50	1.24	0		100	6.88	2.32	
		2	30	1.6	0		100	4.18	2.38	
		3	60	1.05	0		90	6.09	2.42	
3	NaCl (0.5 масс. %) + дизельное топливо (3 масс. %)	1	0	0	0		90	5.43	1.66	
		2	10	0.6	0		100	6.94	2.4	
		3	20	0.15	0		90	6.88	2.63	

Энергия прорастания, %

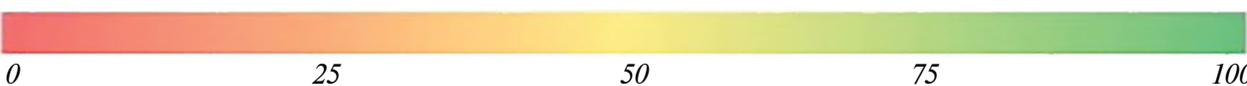


Рис. 6. Фрагмент рабочего журнала результатов планшетного фитотестирования.

рис. 9), ярко продемонстрировали существенные различия оценок, когда при выбранных заведомо токсичных концентрациях загрязнителя по элюатному варианту эксперимента не удалось обнаружить наличия токсического эффекта на двудольную культуру – *Sinapis alba* (горчицу белую).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании выше изложенного, можно утверждать, что экотоксикологическая диагностика грунтов при оценке уровня и характера их загрязнения должна производиться, как с применением

химико-аналитических методов, предполагающих последующее сравнение полученных результатов с нормативами (ПДК, ПДУ), так и учитывать биологическую значимость загрязнителей, используя биотестирование. При этом биотестирование должно предшествовать химико-аналитическим исследованиям. С учетом того, что основными механизмами попадания загрязняющих веществ в природные среды являются испарение летучих компонентов и процессы выщелачивания, а также растворения загрязнителей грунтовыми водами и атмосферными осадками биотестирование должно вестись как на водных вытяжках, так и на грунтовых пастах [30].

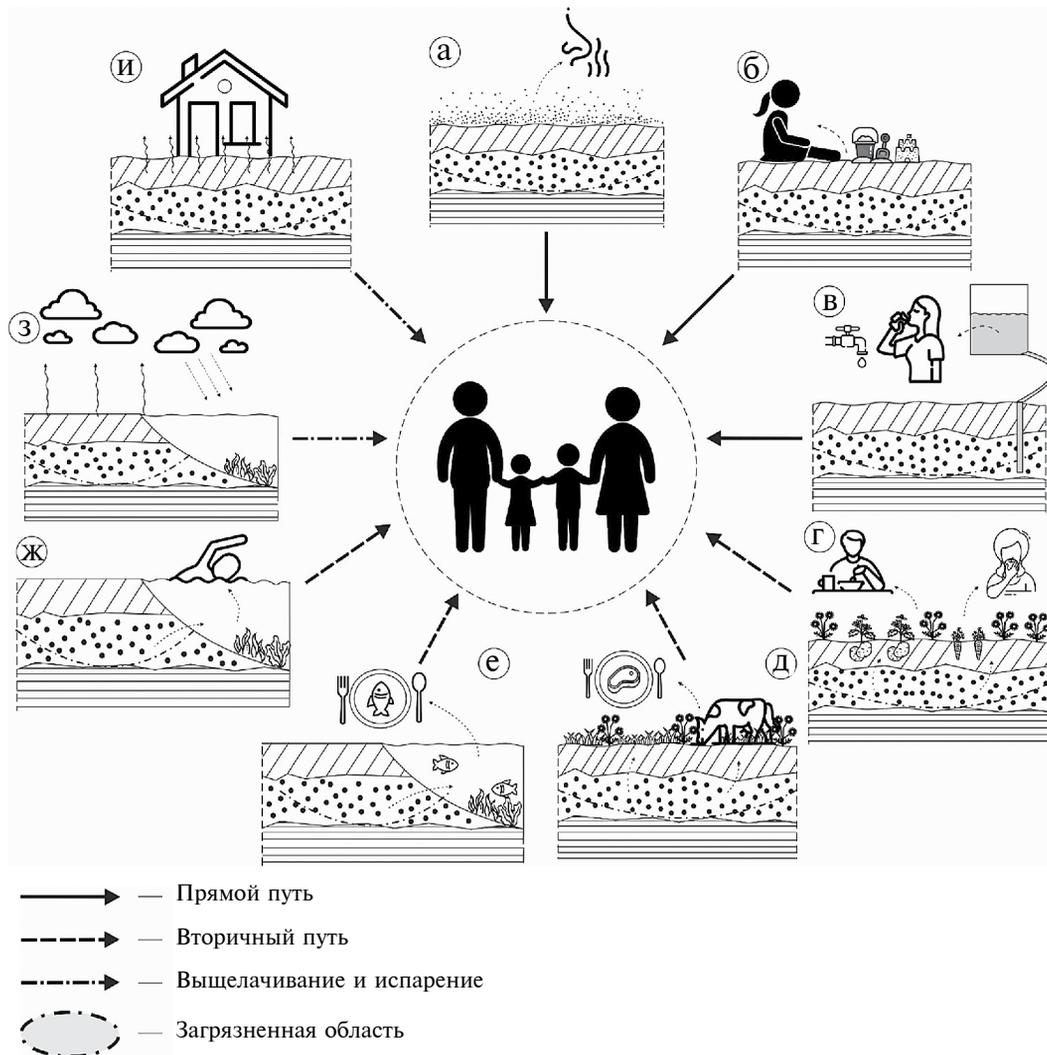


Рис. 7. Пути возможного попадания химических элементов из верхних горизонтов земной коры в организм человека.

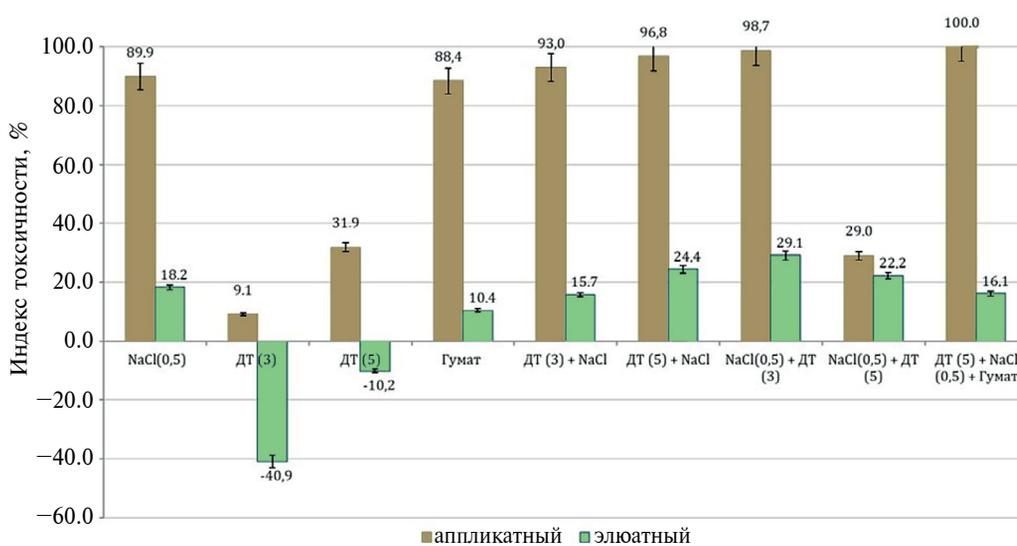


Рис. 8. Индекс токсичности исследуемых проб, определенный при планшетном фитотестировании, по отношению к горчице белой (*Sinapis alba L.*). По оси абсцисс указан состав модельного загрязнения кварцевых мелких песков: ДТ – дизельное топливо, NaCl – раствор поваренной соли; в скобках – процентное содержание по массе загрязняющего вещества.

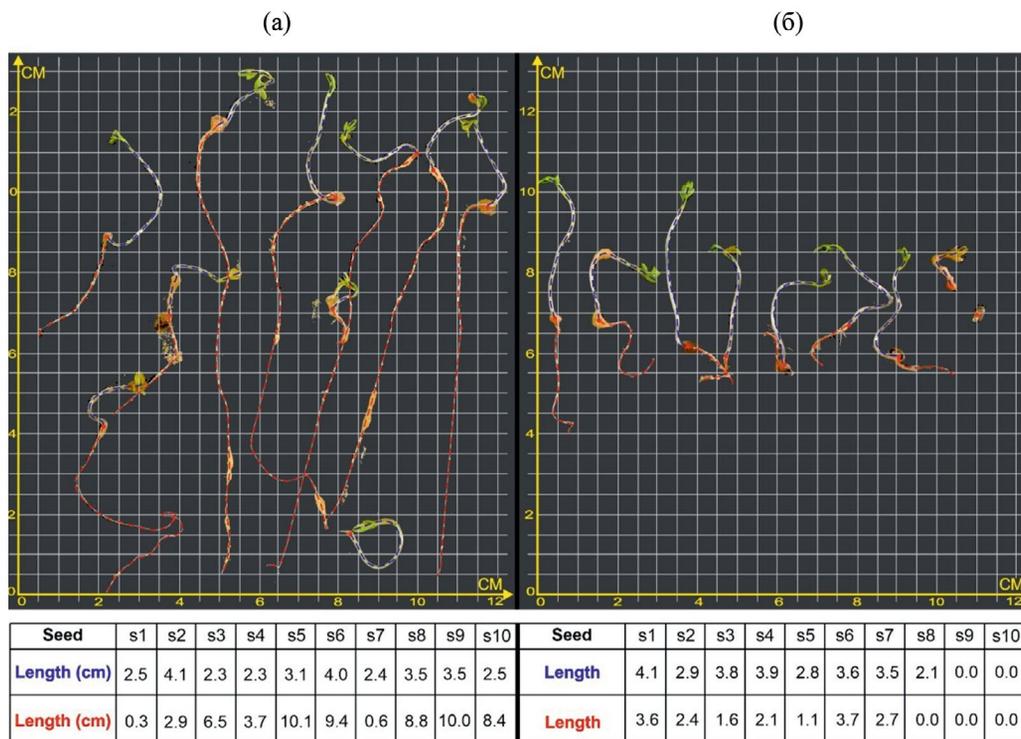


Рис. 9. Полуавтоматическая обработка результатов фитотестирования с использованием программного комплекса на основе машинного обучения (а – контрольная проба, б – проба с комбинированным модельным загрязнением).

При использовании в качестве исследуемого субстрата дисперсных грунтов рационально применять метод биотестирования на высших растениях – фитотестирование. В виду того, что грунт является многокомпонентной динамичной системой, исследования по определению токсического воздействия загрязняющих веществ на высшее растение следует производить с обязательным и предпочтительным применением планшетного аппликатного метода. Подобное утверждение основано на том, что по результатам экспериментальных исследований именно данный метод фитотестирования дает более полную информацию об уровне токсического воздействия и биологической значимости загрязняющих веществ.

Проведенные экспериментальные исследования позволили уточнить ряд методических положений общих нормативных документов и рекомендовать усовершенствованные методики для широкого применения в лабораторной практике грунтоведения. Наиболее приемлемым на сегодняшний день видится использование варианта биотестирования с применением высших растений (фитотестирования), с использованием культур, включенных в соответствующие нормативы [8, 9, 42, 44]. Применение регламентированных культур позволяет получить сопоставимые для сравнительного анализа результаты, при одновременном условии высокой чувствительности этих культур к широкому спектру загрязняющих

веществ. При этом следует отметить, что из спектра рекомендованных нормативами культур по чувствительности, а также при соблюдении методических аспектов использования семян, фиксации и обработки данных фитотестирования наилучшие результаты были получены авторским коллективом в отношении горчицы белой (*Sinapis alba L.*) и кресс-салата (*Lepidium sativum L.*).

В силу того, что объемы грунтов, требующих оценки их класса опасности как отходов, неуклонно растут (см. рис. 1), необходимо объединение усилий специалистов в области грунтоведения для дальнейшей теоретической разработки четких, надежных и легко реализуемых методов биодиагностики их экологического состояния.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ выполнения задач государственной политики в области экологического развития и соответствующих Поручений Президента Российской Федерации. М.: Всемирный фонд дикой природы (WWF), Национальное информационное агентство “Природные ресурсы” (НИА-Природа), 2016. 54 с.
2. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование / [Кол. авт.: О.П. Мелехова, Е.И. Сарапульцева, Т.И. Евсеева и др. М.: ИЦ Академия, 2010. 288 с.
3. Галицкая И.В., Костикова И.А. Изучение загрязненных грунтов как вторичного источника загрязнения на территориях размещения полигонов ТКО // Сергеевские чтения. Фундаментальные и прикладные

- вопросы современного грунтоведения. Вып. 23. М.: ГеоИнфо, 2022. С. 348-354.
4. *Глазовская М.А.* Методологические основы оценки эколого-геохимической устойчивости почв к техногенным воздействиям: методическое пособие МГУ им. М.В. Ломоносова, Геогр. фак. М.: Изд-во Московского университета, 1997. 102 с.
 5. ГОСТ Р 58556-2019. Оценка качества воды водных объектов с экологических позиций. URL: <https://gostassistant.ru> (дата обращения 10.02.2024)
 6. ГОСТ Р 70229-2022. Почвы. Показатели качества почв. URL: <https://gostassistant.ru> (дата обращения 10.02.2024)
 7. ГОСТ 17.4.4.02-2017. Охрана природы (ССОП). Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. URL: <https://gostassistant.ru> (дата обращения 10.02.2024)
 8. ГОСТ Р ИСО 22030-2009. Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений. URL: docs.cntd.ru (дата обращения 10.02.2024)
 9. ГОСТ Р ИСО 18763-2019. Качество почвы. Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях развития высших растений. М.: Стандартинформ, 2019. 27 с.
 10. Государственный доклад “О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2018 году”. М.: Минприроды России; НПП “Кадастр”, 2019. 844 с.
 11. *Григорьева И.Ю.* Задачи геоэкологии и грунтоведения при экспериментальной оценке класса опасности грунтов как отходов // Сергеевские чтения. Обращение с отходами: задачи геоэкологии и инженерной геологии. Вып. 20. М.: РУДН, 2018. С. 106-112.
 12. *Григорьева И.Ю., Сарженко М.Н.* О биотестировании загрязнённых грунтов при инженерно-экологических изысканиях // Геоинфо. Электронный журнал. 2018. № 12 <https://geoinfo.ru/product/grigoreva-iya-yurevna/o-biotestirovanii-zagryaznennyh-gruntov-pri-inzhenerno-ehkologicheskikh-izyskaniyah-38466.shtml>
 13. Доклад “О состоянии окружающей среды в городе Москве в 2016 году” / Под ред. А.О. Кульбачевского. М.: ДПиООС; НИИПИ ИГСП, 2017. 363 с.
 14. *Золотарёва О.А., Плеханова И.О.* Нормирование состояния почв разных типов по показателям биологической активности, фитотоксичности и подвижности ТМ // Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения: матер. IV междунар. симп. М.: Научная библиотека МГУ, 2023. С. 88-94.
 15. *Капелькина Л.П., Бардина Т.В.* Методы биотестирования природных и техногенных сред, используемые Санкт-петербургским федеральным исследовательским центром РАН // Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения: матер. IV междунар. симп. М.: Научная библиотека МГУ, 2023. С. 100-105.
 16. *Китова А.Е.* Амперометрические микробные и ферментные биосенсоры для детекции углеводов, спиртов и нитроароматических соединений: дисс. ... уч. ст. к.б.н. Пушино: ИБФМН, 2009. <https://www.disscat.com/content/amperometricheskie-mikrobnnye-i-fermentnye-biosensory-dlya-deteksii-uglevodov-spirtov-i-nitr>
 17. *Костенко Е.А.* Мониторинг загрязнения сельскохозяйственной зоны г. Ставрополя методом биотестирования // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского. 2015. №2. С. 15-21.
 18. Лабораторные работы по грунтоведению: учеб. пос. / Под ред. В.Т. Трофимова, В.А. Королева. 3-е изд., перераб. и доп. М.: “КДУ”, “Университетская книга”, 2017. 656 с.
 19. *Левич А.П.* Биотическая концепция контроля природной среды // Доклады Академии наук. 1994. Т. 337. № 2. С. 280-282.
 20. *Лисовицкая О.В., Терехова В.А.* Фитотестирование основных подходов, проблемы лабораторного метода и современные решения // Доклады по экологическому почвоведению. 2010. Т. 13. №1. С. 1-18.
 21. Приказ Министерства природных ресурсов и экологии Российской Федерации от 04.12.2014 № 536 “Об утверждении Критериев отнесения отходов к I-V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду” (Зарегистрирован 29.12.2015 № 40330). URL: <http://publication.pravo.gov.ru> (дата обращения 20.11.2023)
 22. *Рахлеева А.А., Данилова М.А., Терехова В.А.* Анализ данных о чувствительности некоторых тест-видов инфузорий к условиям разной минерализации среды // Матер. IV Междунар. симп. “Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения”. М.: Постер-М, 2023. С. 213-218.
 23. РД 52.24.868-2017. Использование методов биотестирования воды и донных отложений водотоков и водоемов. URL: <https://gostassistant.ru> (дата обращения: 08.02.2024).
 24. РД 52.24.905-2020. Оценка токсичности воды и водных вытяжек донных отложений поверхностных водных объектов методом биотестирования по изменению оптической плотности культуры микроводоросли *Chlorella Vulgaris* URL: <https://gostassistant.ru> (дата обращения: 08.02.2024).
 25. *Смуrow А.В.* Основы экологической диагностики. М.: Изд-во “Ойкос”, 2003. 188 с.
 26. СП 2.1.7.1386-03. Определение класса опасности токсичных отходов производства и потребления. URL: <http://ohranatruda.ru> (дата обращения: 20.11.2023).
 27. *Терехова В.А.* Биотестирование почв: подходы и проблемы // Почвоведение. 2011. № 2. С. 190-198.
 28. *Терехова В.А.* Биотестирование экотоксичности почв при химическом загрязнении: современные подходы к интеграции для оценки экологического состояния (обзор) // Почвоведение № 5. 2022. С. 586-599.
 29. *Терехова В.А., Кулачкова С.А., Морачевская Е.В., Кирюшина А.П.* Методология биодиагностики почв и особенности некоторых методов биоиндикации и биотестирования (обзор) // Вестник Московского университета. Сер. 17. Почвоведение. 2023. Т. 78. № 2. С. 35-45.
 30. *Тимофеева С.С.* Современные методы экологической диагностики загрязнения почв // ВЕСТНИК ИрГТУ. 2011. № 11. С. 88-94.
 31. *Уткин Д.В., Осина Н.А., Куклев В.Е. и др.* Биосенсоры: современное состояние и перспективы применения в лабораторной диагностике особо опасных инфекционных болезней // Проблемы особо опасных инфекций. 2009. № 4(102). С. 11-14.
 32. *Федосеева Е.В., Лучкина О.С., Терешина В.М. и др.* Факультативные патогенные грибы как индикаторы загрязнения почв тяжелыми металлами // Матер. IV Междунар. симп. “Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения”. М.: Постер-М, 2023. С. 253-259.
 33. ФР.1.39.2007.03222. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодородности дафний. URL: <https://files.stroyinf.ru> (дата обращения: 08.02.2024).

34. Яковлев А.С., Евдокимова М.В., Терехова В.А. и др. Перспективы экологической оценки и нормирования качества почв и земель и управления их качеством // Вестник Московского университета. Сер. 17. Почвоведение. 2023. Т. 78. № 4. С. 55-62.
35. Alwan S.W. Bioassay of crude oil toxicity in soil and Vecia Faba L. plant // Plant Archives. 2018. V. 18. No. 2. P. 2573-2579.
36. Casseils N.P., Lane C.S., Depala M. et al. Microtox testing of pentachlorophenol in soil extracts and quantification by capillary electrochromatography (CEC) - A rapid screening approach for contaminated land // Chemosphere. 2000. V. 40. No 6. P. 609-618. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00322-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00322-7)
37. Chang Z.Z., Weaver R.W., Rhykerd R.L. Oil bioremediation in a high and low phosphorous soil // Journal of Soil Contamination, 1996. V. 5. Is. 5. P. 215-224.
38. David M., Levente K., Sandor A.P., Zsolt K. Applying Bioassays for Investigation of Soils from Suburban Green Sites // CSEE'20. Virtual Conference. 2020. No. ICEPTP 108. P. 1-6. <https://doi.org/10.11159/iceptp20.108>
39. Doran J.W., Zeiss M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality // Applied Soil Ecology. 2000. V. 15. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00067-6)
40. Liu X., Germaine K.J., Ryan D., Dowling D.N. Whole-cell fluorescent biosensors for bioavailability and biodegradation of polychlorinated biphenyls // Sensors. 2010. V. 10. P. 1377-1398.
41. Marlon E.V., Juan G.F., Francisco P.M. Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L.) // Science of The Total Environment. 2007. V. 378. No. 1-2. P. 63-66. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.007>
42. OCSPP 850.4230. Ecological effects test guidelines. Early seeding growth toxicity test. URL: <https://nepis.epa.gov> (дата обращения 10.02.2024)
43. Persoone G. Recent new microbiotests for cost-effective toxicity monitoring: the Rapidtoxkit and the Phytotoxkit // 12th Int. Symp.on Toxicity Assessment. Book of Abstracts, 2005. P. 112.
44. Persoone G., Wadhia K. Comparison between Toxkit microbiotests and standard tests' // Ecotoxicological Characterization of Waste. Results and Experiences of an International Ring Test. Moser H, & Rombke J. (eds.). Springer Ltd. New York. 2008. P. 213-216.
45. Plaza G., Nalęcz-Jawecki G. The application of bioassays as indicators of petroleum-contaminated soil remediation // Chemosphere. 2005. V. 59. No. 2. P. 289-296. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.11.049>
46. Santin-Montanya I., Alonso-Prados J.L., Villarroya M. Bioassay for determining sensitivity to sulfosulfuron on seven plant species // J. of Environmental science and health. Part B. 2006. V. 41. P. 781-793. <https://doi.org/10.1080/03601230600805782>
47. Shao C.Y., Howe C.J., Porter A.J. et al. Novel cyanobacterial biosensor for detection of herbicides // Appl. Environ. Microbiol. 2002. V. 68. № 10. P. 5026-5033.
48. Susanna S., Laura O., Aldo V. Application of Biotests for the Determination of Soil Ecotoxicity after Exposure to Biodegradable Plastics // Frontiers in Environmental Science. 2016. V. 4. Art. 68. P. 1-12. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00068>
49. Toyama Prefecture. The Itai-itai Disease Museum. URL: <https://www.pref.toyama.jp/1291/kurashi/kenkou/iryuu/1291/Russia/index.html> (дата обращения 20.11.2023)
50. Werlen C., Marco C.M., Jaspers J. Measurement of Biologically Available Naphthalene in Gas and Aqueous Phases by Use of a *Pseudomonas putida* Biosensor // Applied and Environmental Microbiology. 2004. Jan; 70(1):43-51. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.1.43-51.2004>

FINE SOILS AS THE OBJECTS OF BIODIAGNOSTICS

I. Yu. Grigorieva^{a,#}, A. V. Morozov^{a,##}, S. S. Sadov^{a,###}

^aGeological Faculty, Lomonosov Moscow State University,
Leninskie gory, 1, Moscow, 119991 Russia

[#]E-mail: ikagrigrig@inbox.ru

^{##}E-mail: morozov8pro@yandex.ru

^{###}E-mail: sergik0599@mail.ru

The current sanitary and hygienic approach to assessing toxicity of various natural environments based on the comparison of numerical indices of pollutant concentrations with the standard permissible ones, does not meet the principles of modern environmental safety. This is especially true taking in consideration a constantly increasing number of potentially toxic compounds, the complexity of their composition and the variety of possible routes of their release into the environment. In this regard, the methods for assessing the quality and condition of natural environments based on the use of biological objects – biodiagnostics – are becoming acute in various areas of research. The methods for studying aquatic environments and soils are well developed; however, in relation to ground systems, there is still no clearly defined and generally accepted theory of environmental regulation of their condition, in particular the one based on the biotic concept. The article gives basic concepts and describes the main methods of biodiagnostics of the ecological status of natural environments in general and soil systems in particular used today. Taking into account the basic positions of soil and rock engineering, the features of assessing the ecological status of fine soils are characterized. Proceeding from the results of large-scale experimental studies conducted by the authors, the effectiveness of biotesting methods using hydrobionts, application and eluate phytotesting on various test cultures was assessed in relation to soil systems. The results of using chemical-analytical methods for ecotoxicological assessment of soils with biotesting methods were also compared. It is concluded that assessing the ecological state of fine soils with phytotesting methods, using the fine soil proper as a substratum is highly reliable. We suggest to improve biodiagnostics of the ecological state of fine soils, taking into account the characteristics of the object of study and possible routes of toxicant migration.

Keywords: *biodiagnostics, fine soils, biotesting, phytotesting, ecological status, ecotoxicological assessment*

REFERENCES

- [Analysis of the implementation of state policy objectives in the field of environmental development and relevant Instructions of the President of the Russian Federation]. Moscow, World Wildlife Fund (WWF), National Information Agency "Natural Resources" (NIA-Priroda), 2016, 54 p. (in Russian)
- [Biological environmental control: bioindication and biotesting]. O.P. Melekhova, E.I. Sarapultseva, T.I. Evseeva et al., Moscow, IC Academy Publ., 2010, 288 p. (in Russian)
- Galitskaya, I.V., Kostikova, I.A. [Study of contaminated soils as a secondary source of pollution in the MSW landfill areas]. In: [Sergeev's readings. Fundamental and applied issues of modern soil and rock engineering. Issue 23]. Moscow, GeoInfo Publ., 2022, pp. 348-354. (in Russian)
- Glazovskaya, M.A. [Methodological foundations for assessing the ecological and geochemical resistance of soils to technogenic impacts: a methodological manual from Moscow State University, Faculty of Geography]. Moscow, Mosk. Univ. Publ., 1997, 102 p. (in Russian)
- [GOST R 58556-2019. Assessment of water quality in water bodies from ecological standpoint]. URL: <https://gostassistant.ru> (accessed 02/10/2024). (in Russian)
- [GOST R 70229-2022. Soils. Soil quality indicators.] URL: <https://gostassistant.ru> (accessed 02/10/2024). (in Russian)
- [GOST 17.4.4.02-2017. Nature Conservation (SSOP). Soils. Methods of sampling and sample preparation for chemical, bacteriological, helminthological analysis.] URL: <https://gostassistant.ru> (accessed 02/10/2024). (in Russian)
- [GOST R ISO 22030-2009. Soil quality. Biological methods. Chronic phytotoxicity in respect to higher plants.] URL: docs.cntd.ru (accessed 02/10/2024) (in Russian)
- [GOST R ISO 18763-2019. Soil quality. Determination of toxic effects of pollutants on germination and growth of higher plants at the early development stages]. Moscow, Standartinform Publ., 2019, 27 p. (in Russian)
- [State report "On the state and protection of the environment in the Russian Federation in 2018."]. Moscow, Ministry of Natural Resources and Environment of Russia; NPP Cadastre, 2019, 844 p. (in Russian)
- Grigorieva, I.Yu. [Problems of geocology and soil science in the experimental assessment of the hazard class of soils as waste]. In: [Sergeev's readings. Waste management: problems in environmental geoscience and engineering geology. Issue 20]. Moscow, RUDN Publ., 2018, pp. 106-112. (in Russian)
- Grigorieva, I.Yu., Sarzhenko M.N. [On biotesting of contaminated soils during engineering and environmental surveys]. *Geoinfo. Electronic journal*. 2018, no. 12 <https://geoinfo.ru/product/grigoreva-iyu-yurevna-o-biotestirovaniy-zagryaznennyh-gruntov-pri-inzhenerno-ehkologicheskikh-izyskaniyah-38466.shtml> (in Russian)
- [Report "On the state of the environment in Moscow in 2016"]. A.O. Kulbachevsky, Ed., Moscow, DPiOOS; NIiPI IGSP Publ., 2017, 363 p. (in Russian)
- Zolotareva, O.A., Plekhanova, I.O. [Standardization of the state of soils of different types according to indicators of biological activity, phytotoxicity and mobility of HMs]. In: [Biodiagnostics and environmental assessment of the environment: modern technologies, problems and solutions: materials. IV Int. symp.]. Moscow, Scientific Library of Moscow State University, 2023, pp. 88-94. (in Russian)
- Kapel'kina, L.P., Bardina, T.V. [Methods of biotesting natural and technogenic environments used by the St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences]. In: [Biodiagnostics and ecological assessment of the environment: modern technologies, problems and solutions. Proc. IV Int. Symp.]. Moscow, Scientific Library of Moscow State University, 2023, pp. 100-105. (in Russian)
- Kitova, A.E. [Amperometric microbial and enzymatic biosensors for the detection of carbohydrates, alcohols and nitroaromatic compounds]. Diss. Cand. (Biol.) Sci., Pushchino: IBPM RAS, 2009. <https://www.dissercat.com/content/amperometricheskie-mikrobye-i-fermentnye-biosensory-dlya-detektsii-uglevodov-spirtov-i-nitr> (in Russian)
- Kostenko, E.A. [Monitoring pollution of the agricultural zone in Stavropol using biotesting]. *Voprosy sovremennoi nauki i praktiki. Universitet im. V.I. Vernadskogo*. 2015, no. 2, pp. 15-21. (in Russian)
- [Laboratory works in soil and rock engineering. Textbook]. V.T. Trofimov, V.A. Korolev, Eds., 3rd edition (revised and supplemented). Moscow, KDU, Universitetskaya kniga Publ., 2017, 656 p. (in Russian)
- Levich, A.P. [Biotic concept of natural environment control]. *Doklady Akademii nauk*, 1994, vol. 337, no. 2, pp. 280-282. (in Russian)
- Lisovitskaya, O.V., Terekhova, V.A. [Phytotesting, basic approaches, problems of the laboratory method and modern solutions]. *Doklady po ekologicheskomy pochvovedeniyu*, 2010, vol. 13, no. 1, pp. 1-18. (in Russian)
- [Order of the Ministry of Natural Resources and Ecology of the Russian Federation dated December 4, 2014 No. 536 "On approval of the Criteria for classifying waste into hazard classes I-V according to the degree of negative impact on the environment" (Registered December 29, 2015, no. 40330). URL: <http://publication.pravo.gov.ru> (accessed 20.11.2023). (in Russian)
- Rakhleeva, A.A., Danilova, M.A., Terekhova, V.A. [Analysis of data on the sensitivity of some test species of ciliates to conditions of different mineralization of the environment]. Proc. IV Int. Symp. "Biodiagnostics and environmental assessment of the environment: modern technologies, problems and solutions". Moscow, Poster-M Publ., 2023, pp. 213-218. (in Russian)
- [RD 52.24.868-2017. Using methods of biotesting of water and bottom sediments of watercourses and reservoirs.] URL: <https://gostassistant.ru> (accessed 02/08/2024). (in Russian)
- [RD 52.24.905-2020. Assessment of the toxicity of water and water extracts from bottom sediments in surface water bodies using biotesting based on changes in the optical density of the microalgae culture *Chlorella Vulgaris*] URL: <https://gostassistant.ru> (accessed 02/08/2024). (in Russian)
- Smurov, A.V. [Fundamentals of ecological diagnostics]. Moscow, Oikos Publ., 2003, 188 p. (in Russian)
- [SP 2.1.7.1386-03. Determination of the hazard class of toxic production and consumption waste]. URL: <http://ohranatruda.ru> (accessed November 20, 2023). (in Russian)
- Terekhova, V.A. [Biotesting of soils: approaches and problems]. *Pochvovedenie*, 2011, no. 2, pp. 190-198. (in Russian)
- Terekhova, V.A. [Biotesting of soil ecotoxicity under chemical pollution: modern approaches to integration for assessing the ecological state (review)]. *Pochvovedenie*, 2022, no. 5, pp. 586-599. (in Russian)
- Terekhova, V.A., Kulachkova, S.A., Morachevskaya, E.V., Kiryushina, A.P. [Methodology of soil biodiagnostics and features of some methods of bioindication and biotesting (review)]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Ser. 17. Pochvovedenie*, 2023, vol. 78, no. 2, pp. 35-45. (in Russian)
- Timofeeva, S.S. [Modern methods of environmental diagnostics of soil pollution]. *Vestnik IrGTU*, 2011, no. 11, pp. 88-94. (in Russian)
- Utkin, D.V., Osina, N.A., Kuklev, V.E. et al. [Biosensors: current state and prospects for use in laboratory diagnostics of especially dangerous infectious diseases]. *Problemy osobo opasnykh infektsii*, 2009, no. 4(102), pp. 11-14. (in Russian)

32. Fedoseeva, E.V., Luchkina, O.S., Tereshina, V.M. et al. [Facultative pathogenic fungi as indicators of soil pollution with heavy metals]. Proc. IV Int. Symp. "Biodiagnostics and environmental assessment of the environment: modern technologies, problems and solutions". Moscow, Poster-M Publ., 2023, pp. 253–259. (in Russian)
33. [FR.1.39.2007.03222. Methodology for determining the toxicity of water and water extracts from soils, sewage sludge, and waste based on mortality and changes in the fertility of daphnia]. URL: <https://files.stroyinf.ru> (accessed 02/08/2024). (in Russian)
34. Yakovlev, A.S., Evdokimova, M.V., Terekhova, V.A. et al. [Prospects for environmental assessment and standardization of soil and land quality and management of their quality]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Ser. 17. Pochvedenie*, 2023, vol. 78, no. 4, pp. 55–62. (in Russian)
35. Alwan, S.W. Bioassay of crude oil toxicity in soil and Vecia Faba L. plant. *Plant Archives*, 2018, vol. 18, no. 2, pp. 2573–2579.
36. Casseils, N.P., Lane, C.S., Depala, M. et al. Microtox testing of pentachlorophenol in soil extracts and quantification by capillary electrochromatography (CEC) - A rapid screening approach for contaminated land, *Chemosphere*, 2000, vol. 40, no 6, pp. 609–618. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00322-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00322-7)
37. Chang, Z.Z., Weaver, R.W., Rhykerd, R.L. Oil bioremediation in a high and low phosphorous soil. *Journal of Soil Contamination*, 1996, vol. 5, is. 5, pp. 215–224.
38. David, M., Levente, K., Sandor, A. P., Zsolt, K. Applying Bioassays for Investigation of Soils from Suburban Green Sites. CSEE'20. Virtual Conference, 2020, no. ICEPTP 108, pp. 1–6. <https://doi.org/10.11159/iceptp20.108>
39. Doran, J.W., Zeiss, M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*, 2000, vol. 15. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00067-6)
40. Liu, X., Germaine, K.J., Ryan, D., Dowling, D.N. Whole-cell fluorescent biosensors for bioavailability and biodegradation of polychlorinated biphenyls. *Sensors*, 2010, vol. 10, pp. 1377–1398.
41. Marlon, E.V., Juan, G.F., Francisco, P.M. Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Science of the Total Environment*, 2007, vol. 378, no. 1–2, pp. 63–66. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.007>
42. OCSPP 850.4230. Ecological effects test guidelines. Early seeding growth toxicity test. URL: <https://nepis.epa.gov> (accessed 10.02.2024)
43. Persoone, G. Recent new microbiotests for cost-effective toxicity monitoring: the Rapidtoxkit and the Phytotoxkit. 12th Int. Symp.on Toxicity Assessment. Book of Abstracts, 2005, 112 p.
44. Persoone, G., Wadhia, K. Comparison between Toxkit microbiotests and standard tests'. Ecotoxicological Characterization of Waste, Results and Experiences of an International Ring Test. Moser H, & Rombke J. (eds.), Springer Ltd. New York, 2008, pp. 213–216.
45. Plaza, G., Nałęcz-Jawecki, G. The application of bioassays as indicators of petroleum-contaminated soil remediation. *Chemosphere*, 2005, vol. 59, no. 2, pp. 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.11.049>
46. Santin-Montanya, I., Alonso-Prados, J. L., Villarroya, M. Bioassay for determining sensitivity to sulfosulfuron on seven plant species. *J. of Environmental science and health, part B*, 2006, vol. 41, pp. 781–793. <https://doi.org/10.1080/03601230600805782>
47. Shao, C.Y., Howe, C.J., Porter, A.J. et al. Novel cyanobacterial biosensor for detection of herbicides. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, vol. 68, no. 10, pp. 5026–5033.
48. Susanna S., Laura O., Aldo V. Application of biotests for the determination of soil ecotoxicity after exposure to biodegradable plastics. *Frontiers in Environmental Science*, 2016, vol. 4, art. 68, pp. 1–12. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00068>
49. Toyama Prefecture. The Itai-itai Disease Museum. URL: <https://www.pref.toyama.jp/1291/kurashi/kenkou/iryuu/1291/Russia/index.html> (access date 20.11.2023)
50. Werlen, C., Marco, C.M., Jaspers, J. Measurement of biologically available naphthalene in gas and aqueous phases by use of a pseudomonas putida biosensor. *Applies and Environmental Microbiology*, 2004, Jan; 70(1):43–<https://doi.org/10.1128/AEM.70.1.43-51.2004>