

Биотрансформация пестицидов в наземных экосистемах (обзор литературы)

© 2010. Т. Я. Ашихмина¹, д.т.н., зав. лабораторией,

А. В. Колупаев¹, аспирант, А. А. Широких^{1,2}, д.б.н., в.н.с.,

¹ Лаборатория биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГГУ,

² ГУ Зональный НИИ сельского хозяйства Северо-Востока

В статье приведен анализ литературы по биотрансформации пестицидов в почвенных экосистемах. Показано, что главными стратегиями микробной деградации данных ксенобиотиков являются минерализация и кометаболизм. Подробно рассмотрены группы специфических ферментов и биохимические механизмы, вовлекаемые в деградацию пестицидов.

The article presents a review on pesticides' biotransformation in soil ecosystems. It is demonstrated that the main strategies of microbe degradation of these xenobiotics are mineralization and co-metabolism. Groups of specific enzymes and biochemical mechanisms involved in pesticides' degradation are examined.

Ключевые слова: пестициды, трансформация, детоксикация, кометаболизм

Key words: pesticides, transformation, detoxicity, cometabolism

Пестициды – химические препараты, которые применяются для регуляции численности или борьбы с нежелательными организмами и имеют широкое применение в хозяйственной деятельности: используются в качестве средств борьбы с сорняками и вредителями сельского хозяйства, с организмами-деструкторами различных материалов, переносчиками инфекционных заболеваний [1]. Для обработки сельскохозяйственных угодий в России ежегодно применяется около 500 препаратов пестицидов различных наименований, выпускаемых на основе 200 действующих веществ [2]. Их использование связано с накоплением остатков пестицидов в природной среде, преимущественно в почве, вследствие адсорбции в почвенных комплексах [3 – 5]. Почва оказывается природным накопителем, аккумулирующим разные пестициды на долгое время. Сохранение пестицидов в почвах создает опасность загрязнения не только поверхностных и грунтовых вод, но растений и зоопланктона [6], поскольку характерной чертой многих пестицидов является их способность к аккумуляции в живых организмах. Остаточные количества пестицидов поглощаются культурными растениями и сорняками, они могут влиять на микробиологические и биохимические свойства почвы и воздействовать на доступность основных питательных элементов для растений и в результате на их химический состав [7, 8].

Помимо этого, потенциальную опасность для окружающей среды и человека пред-

ставляют собой места хранения устаревших пестицидов, а также места их захоронения – складирование в специальных подземных бункерах или колодцах, выполненных из бетонных цилиндров [9]. Токсические вещества, вследствие потери могильниками непроницаемости, проникают в окружающую среду (почву, грунтовую воду, бытовые водоемы и озера) [10] и вызывают угрозу для всех форм жизни [11]. Поскольку поступление пестицидов в экосистему даже в небольших количествах может привести к смещению экологического равновесия, проблема трансформации пестицидов и их миграции в пищевых цепях по праву рассматривается в качестве глобальной.

При воздействии пестицидов на экосистему их динамика определяется взаимодействием с компонентами экосистемы. Основными процессами, формирующими динамику пестицидов в наземной экосистеме, являются процессы транслокации и деградации данных химических соединений [12]. Разложение пестицидов в почве может происходить в результате абиотических (фотодеградация, химическое разложение) и биологических процессов, таких, как трансформация корней растений и почвенной микрофлорой.

Биотрансформация пестицидов в почве

Почвенные микроорганизмы, выполняя множество разнообразных функций, не только определяют плодородие почвы, но и способствуют трансформации многих ксенобиотиков, в том числе и пестицидов, которые могут

выступать для них в качестве источников питательных элементов и энергии. Структура большинства синтетических пестицидов представляет собой относительно простой углеводородный скелет (ароматический или алифатический) с разнообразными заместителями, такими, как галогены, фосфатные группы или нитрогруппы. Некоторые из этих искусственно созданных соединений сходны с природными веществами и могут подвергаться воздействию микробных ферментов с дальнейшим использованием микроорганизмами в качестве субстратов. Однако другие пестициды содержат структуры, неизвестные в природе, и многие из этих молекул устойчивы к биотрансформации. Устойчивость к биоразложению обусловлена, таким образом, необычными химическими связями или заместителями в составе ксенобиотика, которые блокируют реакции окисления. После удаления этих заместителей, стабилизирующих электроны, углеродный скелет легко подвергается минерализации многими почвенными микроорганизмами [13]. Биodeградацию ксенобиотических соединений, в том числе пестицидов, способны осуществлять бактерии нескольких родов, в частности *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*. Довольно часто полная деградация пестицидов ускоряется за счёт кооперации (взаимодействия) нескольких видов микроорганизмов, каждый из которых использует в качестве исходного субстрата продукт деструкции другого организма.

Существует две главные стратегии микробной трансформации пестицидов: минерализация и кометаболизм. *Минерализация* веществ основывается на возможности хемогетеротрофных микроорганизмов трансформировать органические соединения, в т. ч. и пестициды, до неорганических. Способность микроорганизмов использовать пестициды в качестве источника углерода и энергии была описана во многих случаях при изоляции активных штаммов из изучаемых почвенных образцов. Так, описаны виды-деструкторы, относящиеся в большинстве случаев к бактериям, способные использовать такие важнейшие группы пестицидов, как алифатические кислоты [14], линдан [15, 16], феноксиалконоидную кислоту [17 – 19], карбаматы [20], фосфорорганические вещества [21, 22], амидные гербициды [23]. Некоторые пестициды, как, например, нитралин и трифлуралин или металкарбаматы, могут выступать в качестве источников

азота и углерода для микроорганизмов-деструкторов [24]. Исследование деструкции пестицидов с использованием изолятов из почвенных образцов позволило более детально описать данные процессы. Например, изучая разложение 2,4 дихлорфеноксисуксусной кислоты (2,4 – D), в качестве единственного источника углерода в минеральной среде чистой культурой *Alcaligenes xylosoxydans*, наблюдали 1000000-кратное увеличение численности бактерий по сравнению с исходной. Рост численности бактерий наблюдали непосредственно после внесения, а выделение хлора и диоксида углерода обнаруживалось только после нескольких дней инкубации. Это свидетельствует о том, что часть углерода из молекул пестицида была использована клетками бактерий для увеличения биомассы [25, 26]. Предполагается, что разложение пестицидов микроорганизмами с использованием подобных механизмов может происходить и в почвах [27 – 29].

Разные авторы выделяют следующие общие закономерности данного процесса:

- 1) лаг-фаза длится в течение нескольких дней, предшествуя фазе быстрой деградации пестицида;
- 2) исчезновение лаг-фазы при дальнейшем применении пестицида;
- 3) вероятность передачи способности катаболического разложения пестицидов от штаммов, выделенных из загрязнённых почв, штаммам микроорганизмов, не испытывавшим пестицидной нагрузки;
- 4) наличие специфических бактерий, способных размножаться в почве;
- 5) увеличение количества почвенной микрофлоры, способной разлагать новые формы пестицидов.

Показано, что для различных пестицидов длительность лаг-фазы, предшествующей разложению данного ксенобиотика, возрастает с увеличением концентрации пестицида [30, 31].

Размножение микробов в почве начинается, как правило, немедленно после введения пестицида, при этом популяция растёт и увеличивается до критического значения, при котором возможно быстрое разложение данного ксенобиотика. Для фазы быстрого разложения установлена линейная зависимость между концентрацией пестицида и скоростью минерализации [32]. Современными аналитическими методами было установлено, что ¹⁴C, который входил в состав 2,4 – D, обнаруживался в клетках почвенной микрофлоры [33, 34].

Такая же зависимость наблюдалась в водных экосистемах даже при очень низких концентрациях пестицида [35 – 37]. Напротив, если ксенобиотик находился в почве в достаточно низкой концентрации, данная тенденция нарушалась, и его разложение происходило в течение достаточно длительного периода [38, 39]. Вероятно, что данный пестицид может трансформироваться неделяющимися клетками, в то время как большинство химикатов стимулируют увеличение числа клеток организмов-деструкторов. Данная ситуация типична в случае, когда используются современные пестициды, нормы расхода которых имеют очень низкие значения.

Вследствие низкой точности существующих микробиологических методов и наличия других природных источников органического углерода довольно сложно точно проследить динамику микроорганизмов-деструкторов конкретного пестицида. Кроме того, многие пестициды могут выступать в качестве запасного питательного вещества для данной группы организмов, а некоторые штаммы дополнительно нуждаются в различных факторах роста. Например, добавление почвы или дрожжевого экстракта к минимальной среде, используемой для ряда микроорганизмов-деструкторов пестицидов, приводит к увеличению численности активных организмов. В тоже время добавление в почву вторичных субстратов может подавить, по крайней мере, на короткий период деструкцию данного пестицида. Это может быть объяснено репрессивным эффектом на синтез ферментов, участвующих в метаболизме данного пестицида (диауксиновый феномен) или изменением генетической возможности штамма поддерживать способность трансформировать ксенобиотик (разрушение плазмиды) [32].

Выделяемые из природных образцов штаммы способны, как правило, разлагать лишь несколько определённых загрязняющих веществ. Это ограничение связано со строгой специфичностью первого фермента пути деградации, атакующего только узкоспецифический субстрат. Следовательно, получение штаммов с новыми катаболическими свойствами должно быть направлено на расширение набора субстратов, утилизируемых первым ферментом. Этого можно достичь с помощью мутагенеза или введения генов, кодирующих ферменты других метаболических путей [13].

Кометаболизм. Многие органические вещества антропогенного происхождения,

в том числе пестициды, могут быть полностью минерализованы микроорганизмами, тогда как другие не способны служить источниками углерода и энергии, но разлагаются бактериями в присутствии кометаболитов, т. е. других веществ, обеспечивающих микробный рост. Частичное или полное разложение пестицидов бактериями, растущими за счёт использования других органических веществ, относится к процессам кометаболизма. Как правило, кометаболические процессы протекают относительно медленно [40], но их экологическое значение очень велико.

Наиболее важные процессы, которые происходят в ходе химического превращения, включают в себя реакции окисления, восстановления и гидролиза. В результате продукты данных реакций, как правило, более растворимы и менее токсичны, чем исходные соединения. Возможно, что продукты могут далее подвергаться биодеструкции до конечных соединений (CO_2 , H_2O) и минеральных солей [41]. В этом случае метаболизм пестицида может быть описан трехфазным процессом [42]. В первой фазе деструкции происходит инициация исходного вещества в результате перечисленных реакций с образованием более растворимого соединения. Вторая фаза включает связывание (сопряжение) пестицида или пестицидного метаболита с молекулами углеводов, аминокислот или глутатиона, который повышает водорастворимость и уменьшает токсичность по сравнению с исходным соединением. Вообще метаболиты второй фазы могут иметь меньшую токсичность или вовсе не обладать токсичностью и быть запасены в клетках. Третья фаза заключается во вторичном связывании продуктов предыдущей фазы с другим веществом с образованием также нетоксичного соединения [43]. В целом в данные процессы вовлекаются большие группы специфических ферментов и биохимических механизмов: оксидазы, пероксидазы, гидролитические ферменты, цитохром P450, глутатионсвязывающие механизмы, нитроароматическая трансформация, восстановительное дегалогенирование (RDE) [44].

Ферменты, участвующие в биотрансформации пестицидов

Окисление. У бактерий основными ферментами, участвующими в окислении пестицидов, являются монооксигеназы, флавиномоноксигеназы и диоксигеназы [45]. У микроорганизмов, в отличие от растений, многие оксидоредуктазы различных метаболических путей могут окислять нитроароматические ве-

щества, многие из этих ферментов выделены, а их гены клонированы и секвенированы [46]. Данные реакции осуществляют представители различных родов аэробных бактерий [47 – 49]. В зависимости от структуры соединения азот может быть отщеплен до или после разрыва ароматического кольца. Флавин монооксидаза штамма *Sphingomonas* sp. UC30 может удалять нитрат из гербицида 4,6-динитрокрезол, но не из пестицида динозеп (dinozep) (4,6-динитрокрезол-о-бутилфенол), по причине пространственного затруднения объёмной бутиловой группы динозепа [49]. В итоге, эти пути деструкции нитроароматических соединений позволяют гидроксигировать, разрывать кольца, т. е. осуществлять реакции, предшествующие полной деградации многих ксенобиотиков.

Грибы белой гнили *Phanerochaete chrysosporium* имеют высокий потенциал для трансформации ксенобиотиков, основанной на системе свободнорадикальной деструкции лигнина (ферменты лигнинпероксидазы, магний-зависимой пероксидазы), которые окисляют широкий круг поллютантов, таких, как полихлорированные бифенилы и нитроароматические соединения [50]. Известно, что в большинстве случаев продукты полимеризации могут уменьшать токсичность за счет соединения с субстратом [51].

Гидролиз. Гидролитические ферменты разрывают химические связи в субстрате, присоединяя H^+ или OH^- к каждому из продуктов распада гидролизуемого вещества. Существует ряд гидролитических ферментов, способных метаболизировать различные субстраты, в частности, содержащие амидные, карбоматные, эфирные функциональные группы. Такие гидролазы могут относиться к экзо- и эндоферментам, осуществляющим реакции в аэробных и анаэробных условиях. Как и большинство известных энзимов этого класса, данные гидролазы обладают широкой субстратной специфичностью, позволяющей таким образом участвовать в трансформации различных пестицидов.

Гидролиз сложной эфирной связи в пестицидах описан в работе [52]. Данный процесс осуществляется главным образом за счет эстераз и в меньшей степени за счет липаз и протеаз. Микробные эстеразы, как и растительные, характеризуются $Gly - X - Ser - X - Gly$ мотивом [53]. Ser в данной реакции выступает в качестве нуклеофильного агента, способствуя разрыву эфирной связи [54]. Несколькими авторами показан

микробный гидролиз в почве дихлорфеникола [55] и феноксапроп-этила [56, 57] смешанной бактериальной культурой [58], чистыми культурами или клеточными экстрактами [52, 59]. Четыре типа эстераз были описаны у *Pseudomonas fluorescens*, каждый из которых отличался белковой структурой, локализацией в клетке, субстратной специфичностью [60]. Многие эстеразы были клонированы и секвенированы, некоторые из них тестированы на гидролиз пестицидов.

Другим важным ферментом является арилациламидаза. Данный фермент у микроорганизмов более вариабелен, чем у растений. Например, у некоторых штаммов *Pseudomonas fluorescens* круг субстратов ограничен ацетилдидными пестицидами [61], но имеется достаточно широкий субстратный круг, включающий ациланилиды, фенилкарбаматы и замещённые пестициды на основе фенилмочевины [62]. Некоторые микроорганизмы могут гидролизовать амидную связь в молекуле пропанила. Арилациламидаза выделена в чистом виде из нескольких бактериальных родов, включая *Bacillus sphaericus* [62], *P. fluorescens* [63], *P. pickettii* [64], *P. aeurugenosa* [65], *Nocardia globerula* [66] и коринеформные бактерии [67]. Арилациламидазы имеют размер от 52,5 до 127 kDa и различны по характеру агрегации субъединиц, то есть некоторые из них мономеры, димеры или тетрамеры. Также все амидазы характеризуются гидрофобным $Gly - Gly - Ser - Ser$ мотивом.

В литературе достаточно мало данных о роли фосфатаз и сульфатаз в метаболизме пестицидов у растений и микроорганизмов [52]. Микробный гидролиз фосфорорганических пестицидов был изучен у *Pseudomonas diminuta* [68, 69] и *Flavobacterium* spp. [70]. Сообщалось, что грибы *Trichoderma harzianum* [71] и *Phanerochaete chrysosporium* [72] гидролизуют инсектицид эндосульфат.

В целом принципиальная физиологическая роль многих гидролитических ферментов у микроорганизмов остаётся неясной. Необходимы дальнейшие исследования для понимания механизмов действия и регуляции гидролитических ферментов микробного происхождения [52].

Восстановление. Среди восстановительных реакций детоксикации пестицидов наиболее изученной является реакция нитровосстановления. У микроорганизмов существует 3 основных пути восстановительного метаболизма нитроароматических соединений: ароматическое нитровосстановление, частич-

ное нитровосстановление и гидрогенизация. Восстановительный метаболизм нитроароматических ксенобиотиков опосредован нитроредуктазными ферментами, найденными у аэробных и анаэробных микроорганизмов [46]. Эти ферменты представлены флавопротеинами, которые используют NAD(P)H в качестве восстановительного эквивалента, нуждаются в FMN и/или FAD в качестве кофакторов, отличаются различной чувствительностью к концентрации O₂. Некоторые бактерии образуют различные ароматические нитроредуктазные изоферменты [73, 74]. Иногда довольно сложно разделить биологическое и химическое восстановление ксенобиотиков, потому что восстановление ароматических нитрогрупп может быть сопряжено с анаэробным восстановлением гуминовых кислот и ионным восстановлением [75]. Трансформация пестицида ацифлуорфена (acifluorfen) до аминоацифлуорфена (aminoacifluorfen) является общим примером реакции восстановления нитроароматического соединения бактериями в аэробных [76] и анаэробных [77] условиях в бесклеточных экстрактах *Enterobacter cloacae* и *P. fluorescens* [78]. Аминоацифлуорфен (aminoacifluorfen) подвержен сорбции и встраиванию в состав почвенного органического вещества [78, 79].

Бактериальное частичное восстановление некоторых ксенобиотиков было показано на примере п-нитробензола [80, 81] и нитробензена [82]. У бактерий реакции гидрогенизации нитроароматических соединений используются в случае, когда данные соединения являются единственными источниками углерода или азота [83, 84].

Реакция связывания пестицидов. Под связыванием пестицидов понимают метаболические процессы соединения естественных компонентов с пестицидами или их метаболитами, облегчающие их детоксикацию, компартментализацию, депонирование и минерализацию [85]. Обычно связывание осуществляется при помощи экзо- и эндоферментов различных организмов. Если у растений связывание происходит в основном с Gly, глюкозой и уредином [44], то микробная конъюгация включает в себя реакции *алкилирования*, *ацилирования* и *нитрования*, которые могут проходить внутри и вне клетки. В процессе деградации лигнина грибами происходит в основном разрушение углеводов с одновременным высвобождением токсичных фенолов. Механизм детоксикации данных соединений заключается во внеклеточном связывании фенолов с ксилозой.

Подобные процессы используются грибами для внеклеточной детоксикации пестицидов 2,4 – D и 2,4,5 – T [86].

Основной путь биотрансформации грибами пестицидов и других органических ксенобиотиков заключается во введении небольших изменений в структуру пестицидов, делающих их нетоксичными [87, 88]. Изменённые пестициды более подвержены метаболизму бактерий. И грибы, и бактерии используют *метилирование* как основной путь детоксикации ксенобиотиков. Например, образование O-метилпентохлорфенола из пентахлорфенола могут осуществлять грибы *Trichoderma virgatum* [89, 90] и многие грамположительные и грамотрицательные бактерии [91, 92]. Гриб *Phanerochaete chrysosporium* осуществляет метилирование хлорфенилуксусной кислоты с помощью внеклеточной ферментативной системы марганец-лигнин пероксидазы [90, 93, 94].

Ацилирование пестицидов осуществляется за счёт связывания с ацетатами или формиатами. Фенолы и анилины, которые являются типичными продуктами распада фенилациланилинов, фенилкарбоматов, часто ацилируются грибами. Например, пестицид метабромурон гидролизует грибами до 4-броманилина, а затем метаболизируется до 4-бромацетанилина [95].

Бактериальное *нитрование* заключается в реакции нитратов с вторичными аминами с образованием нитроамино-производных [92, 96]. Данные соединения могут быть получены ферментативным и неферментативным путями. В результате пестицид превращается во вторичный амин, который далее метаболизируется почвенной микрофлорой [97].

Для небольшого числа бактерий известно *глутатионовое связывание*. Роль данного вида детоксикации была показана в реакциях дехлорирования хлорацетоаминовых гербицидов, например алахлора [61] и метлахлора [98], и в разрыве эфирной связи гербицида феноксипропэтил [52]. Детоксикация пестицидов линдан и пентахлорфенол у штаммов *Sphingomonas* осуществляется ферментами глутатион-S-трансферазами, действующими как восстановительные дегалогеназы [99].

Итак, пестициды, попадая в почву, подвергаются воздействию множества абиотических и биотических факторов, в результате чего происходит их трансформация до соединений, отличающихся степенью токсичности и стойкости в окружающей среде от исходных. Поэтому в экологическом контроле пестицидного

загрязнения почвы необходимо использовать наиболее точные и информативные методы, включая биоиндикационные, которые, отражая состояние окружающей среды в целом, позволяют выявить в почвах присутствие комплекса различных загрязнителей и учитывают реакцию на очень слабые воздействия в силу аккумуляции дозы [100].

Заключение

Процессы трансформации пестицидов активно изучаются на протяжении последних 50 лет. Источниками эмиссии пестицидов служат не только места активного применения химических средств защиты растений, но и места их долговременного хранения и складирования. Трансформация пестицидов может происходить путём химического разложения и биodeградации. Важная роль в биodeградации пестицидов принадлежит почвенным микроорганизмам, которые реализуют множество путей катаболизма на основе генетически закреплённых механизмов. Чаще всего метаболические процессы происходят аналогично разложению соединений, составляющих органическое вещество почвы. Анализ соответствующих путей катаболизма на генетическом и биохимическом уровнях, возможно, позволит в будущем получать рекомбинантные штаммы, обладающие альтернативными механизмами утилизации устойчивых к биоразрушению ксенобиотиков, для применения с целью ремедиации среды, загрязнённой токсичными химическими веществами.

В экологическом мониторинге пестицидного загрязнения необходимо использовать комплексные методы контроля, включающие современные физико-химические методы анализа, методы биотестирования и биоиндикации.

Литература

1. Попов С.Я., Дорожкина Л.А., Калинин В.А. Основы химической защиты растений / Ред. С.Я. Попов. М.: Арт-Либон, 2003. 208 с.
2. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды М: Информационно-издательский центр Госкомсанэпиднадзора России, 1997. 52 с.
3. Веселовский И.В., Живицкий Г.П. Влияние симазина и междурядных обработок на некоторые агрохимические свойства почвы // Агрохимия. 1976. № 2. С. 127–133.

4. Bacmaga M., Kucharski J., Wyszowska J. Impact of crop protection chemicals on plants and animals // J. Elementol. 2007. № 12(2). P. 135–148.
5. Griffiths B.S., Ritz K., Wheatley R., Kuan H.L., Boag B., Christensen S., Ekelund F., Sorensen S. Response of sorbtion processes of MCPA to the amount and origin of organic matter in a long – term experiment // Europ. J. Soil Sci. 2001. V. 52. P. 279–286.
6. Федоров Л.А., Яблоков А.В. Пестициды – токсический удар по биосфере и человеку. М.: Наука, 1999. 462 с.
7. Biziuk M. Pestycydy, wystepowanie, oznaczanie I unieszkodliwianie. Warszawa: Naukowo-Techiczne. 2001. 275 p.
8. Wyszowska J. Microbiological properties of soil contaminated with the herbicide Treflan 480 EC // Polish J. Natur. Sci. 2002. №10 (1). P. 71–77.
9. Wodageneh A. Obsolete pesticides: problems // Prevention and disposal: 5th International HCH and pesticides forum. Basque country, 25–27 June 1998. Bilbao, Spain. P. 21–27.
10. Thyssen N. Pesticides in Groundwater: an European overview // Prevention and disposal: 5th International HCH and pesticides forum. Basque country, 25–27 June 1998. Bilbao, Spain. P. 45–55.
11. Kamrin M.A. Pesticides profiles toxicity. Environmental impact and fate. N.Y.: Levis Publishers, 1997. P. 524–527.
12. Семенова Н.Н. Построение имитационных моделей поведения пестицидов в агроценозе // Агро XXI. 2007. № 7-8. С. 9–11.
13. Современная микробиология: Прокариоты: В 2-х томах. Т. 2. / Ред. Й. Ленгелер, Г. Древис, Г. Шлегель. М: Мир, 2005. 496 с.
14. Kaufman D.D. Accelerated biodegradation of pesticides in soil and its effect on pesticide efficacy / Proc. Br. Crop Prot. Conf. 1987. V. 2. P. 515–522.
15. Tu C.M. Utilization and degradation of lindane by soil microorganisms//Arch. Microbiology. 1976. V. 108. № 3. P. 259–263.
16. Thomas J.C., Berger F., Jacquier M., Bernillon D., Baud-Grasset F., Truffault N., Normand P., Vogel T.M., Simonet P. Isolation and characterization of Novel γ -hexachlorocyclohexane-degradation bacterium // J. of Bacteriology. 1996. V. 178. № 20. P. 6049–6055.
17. Loos M.A., Schoresser I.F., Mapham W.R. Phenoxy herbicide degradation in soil: Quantative studies of 2,4-D and MCDA degradating microbial populations // Soil Biol. Biochem. 1979. № 11. P. 377–385.
18. Valenzula J., Buman U., Cespedes R., Padilla L., Gonzales B. Degradation of chlorophenols by *Alcaligenes eutrophus* JMP 132 (pJP 4) in bleached Kraft Mill Effluent // Appl. Environ. Microbiol. 1997. V. 63. № 1. P. 227–232.
19. Don P.H., Pemberton J.M. Genetic and physical map of 2,4 – dichlorophenoxyacetic acid – degradative plasmid pJP 4 // J. Bacteriol. 1985. V. 161. № 1. P. 466–468.

20. Ramanand R., Balba M.T., Duffy J. Reductive dehalogenation of chlorinated benzene and toluenes under metagenic conditions // *Appl. Environ. Microbiol.* 1993. V. 59. № 10. P. 3266–3272.
21. Nelson M.J., Montgomery S.O., Pritchard P.H. Trichloroethylene metabolism by microorganisms that degrade aromatic compounds // *Appl. Environ. Microbiol.* 1988. V. 54. № 2. P. 604–606.
22. Sabdono A., Radjasa O.K. Phylogenetic diversity of organophosphorus pesticide-degradation coral bacteria from mid-west coast of Indonesia // *Biothechnology.* 2008. № 7. P. 694–701.
23. Walker A., Parekh N.R., Roberts S.J., Welch S.J. Evidence for the enhanced biodegradation of napomide in soil // *Pesticide Sci.* 1993. № 39. P. 55–60.
24. Breazeale F.W., Camper N.D. Bacterial, fungal and actinomycete populations in soils receiving repeated applications of 2,4-dichloro-phenoxy acetic acid and trifluralin // *Appl Microbiol.* 1970. № 19. P. 369–380.
25. Brokamp A., Happe B., Schmidt F.R.J. Cloning and Nucleotide Sequence of a D,L-Haloalkanoic Acid Dehalogenase Encoding Gene from *Alcaligenes xylooxidans* ssp. *denitrificans* ABIV // *Biodegradation.* 1997. № 7. P. 383–396.
26. Fournier D., Halasz A., Spain J., Fiurasek P., Hawari J. Determination of Key Metabolites during Biodegradation of Hexahydro-1,3,5-Trinitro-1,3,5-Triazine with *Rhodococcus* sp. Strain DN22 // *Appl. and Environ. Microbiol.* 2002. V. 68. № 1. P. 166–172.
27. Audus L.J. The biological detoxication of dichlorophenoxyacetic acid in soil // *Plant Soil.* 1949. № 2. P. 31–36.
28. Audus L.J. Herbicide behavior in soil. II Interaction with soil microorganisms // *Physiology and biochemistry of herbicides.* 1964. P. 163–206.
29. Bottomley P.J., Saweyer T.E., Boesma L. Dick R.P., Hemphill D.D. Winter cover crop enhances 2,4-D mineralization potential of surface and subsurface soil // *Soil Biol. Biochem.*, 1999. V. 31. № 6. P. 849–857.
30. Parker L.W., Dostader K.G. Kinetics of microbial decomposition of 2,4-D in soil // *J. Environ. Qual.* 1982. № 11. P. 679–684.
31. Gonod L.V.; Martin-Laurent F., Chenu C. 2,4-D impact on bacterial communities, and the activity and genetic potential of 2,4-D degrading communities in soil // *Microbiology Ecology.* 2006. V. 58. № 3. P. 529–537.
32. Tarradellas J., Bitton G., Rossel D. Soil toxicology. 1997. 360 p.
33. Soulas G., Codaccioni P., Fournier J.-C. Chloroform fumigation technique as a means of determining the size of specialized soil microbial population application to pesticide degradation microorganisms // *Soil Biol. Biochem.* 1984. № 16. P. 497–501.
34. Kumar S., Mukerji K. G., Lai R. Molecular Aspects of Pesticide Degradation by Microorganisms // *Critical Reviews in Microbiology.* 1996. V. 22. № 1. P. 1–26.
35. Alexander M. Biodegradation of Chemicals of Environmental // *Concern. Science.* 1981. № 211. P. 132–138.
36. Rubin H.H., Subba-Rao R.V., Alexander M. Rates of mineralization of trace concentrations of aromatic compounds in lake water and sewage samples // *Appl. Environ. Microbiol.* 1982. № 43. P. 1133–1138.
37. Alexander M. Biodegradation of organic Chemicals // *Environmental Science Technology.* 1985. № 18. P. 106–110.
38. Scow R.S., Simkins S., Alexander M. Kinetics of mineralization of organic compounds at low concentration in soil // *Appl. and Environ. Microbiology.* 1986. № 51. P. 1028–1035.
39. Srensen S.R, Holtze M.S., Simonsen A., Aamand J. Degradation and Mineralization of Nanomolar Concentrations of the Herbicide Dichlobenil and Its Persistent Metabolite 2,6-Dichlorobenzamide by *Aminobacter* spp. Isolated from Dichlobenil-Treated Soils // *Appl. and Environ. Microbiology.* 2007. № 2. P. 399–406.
40. Stenersen J. Chemical Pesticides: Mode of Action and Toxicology. CRC Press. 2004. 276 p.
41. Bridges J.S., Dempsey C.R. Pesticide waste disposal technology. William Andrew. 1988. 331 p.
42. Shimabukuro R.H. Detoxication of herbicides // *Weed Physiology.* 1985. № 2. P. 215–240.
43. Frear D.S., Mansager E.R., Swanson H.R. Picloram metabolism in leafy spurge: isolation and identification of glucose gentiobiose conjugates // *J. Agric. Food Chem.* 1989. № 37. P. 1408–1412.
44. Van Eerd L.I., Hoagland R.E., Hall J.C. Pesticides metabolism in plants and microorganisms // *Weed Science.* 2003. № 51. P. 472–495.
45. Cassidy M.B., Trevors J.T., Zablotowicz R.M. Chlorophenol and nitrophenol metabolism by *Sphingomonas* sp. UG30 // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 1999. № 23. P. 351–368.
46. Zablotowicz R.M., Hoagland R.E., Lee H., Alber T., Trevors J.T., Hall J.C., Locke M.A. Transformation of nitroaromatic pesticides and related xenobiotics by organisms and plants. Pesticides Biotransformation in plants and microorganisms: similarities and divergence // *ACS Symposium Series 777.* Washington D.C.: American Chemical Society. 2001. P. 194–216.
47. Kadiyala V., Spaine J.C. A two-component monooxygenase catalyzes both the hydroxylation of p-nitrophenol and the oxidative release of nitrite from 4-nitrocechol in *Bacillus sphaeriticus* // *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. № 64. P. 2479–2484.
48. Leung K.T., Cassidy M.B., Shaw K.W., Lee H., Trevors J.T., Lohmeier-Vogel E.L., Volgel H.J. Pentachlorophenol biodegradation by *Pseudomonas* spp. UG25 and UG30 // *World J. Microbiol. Biotechnology.* 1997. № 13. P. 305–313.
49. Zablotowicz R.M., Leung K.T., Alber T., Cassidy M.B., Trevors J.T., Lee H., Veldhuis L., Hall J.C. Degradation of 2,4-dinitrophenol and selected nitroaromatic

- compounds *Sphingomonas* sp. UG30 // Can. J. Microbiol. 1999. № 45. P. 840–848.
50. Barr D.P., Augst S.D. Pollutant degradation by white rot fungi // Rev. Environ. Contam. Toxicol. 1994. № 138. P. 49–72.
51. Dec J., Bollag J.-M. Phenoloxidase-mediated interactions of phenols and anilines with humic materials // J. Environ. Qual. 2000. № 29. P. 665–676.
52. Hoagland R.E., Zablotowicz R.M. The role of plant and microbial hydrolytic enzymes in pesticides metabolism Pesticides Biotransformation in plants and microorganisms: similarities and divergence // ACS Symposium Series 777. Washington D.C.: American Chemical Society. 2001. P. 58–88.
53. Brenner S. The molecular evolution of genes and proteins: tale of two serine's // Nature. 1988. № 334. P. 528–530.
54. Cygler M., Grochulski P., Schrag J. B. Structural determinants defining common stereoselectivity of lipases toward secondary alcohols // Can. J. Microbiol. 1995. № 41. P. 289–296.
55. Gaynor J.D. Microbial hydrolysis of diclofop-methyl in soil // Soil Biol. Biochem. 1992. № 24. P. 29–32.
56. Kocher H., Kellner H.M., Lotzsch K, Dorn E., Wink O. Mode of action and metabolic fate of the herbicide fenoxaprop-ethyl // Br. Crop Prot. Conf. Weeds. 1985. № 1. P. 341–347.
57. Smith A.E., Phatak S.C., Emmatty D.A. Metribuzin metabolism by tomato cultivars with low, medium, and high levels of tolerance to metribuzin // Pestic. Biochem. Physiol. 1989. № 35. P. 284–290.
58. Gennari M., Vincenti M., Negre M., Ambosoli R. Microbial metabolism of fenoxaprop-ethyl // Pestic. Sci. 1989. № 44. P. 299–303.
59. Zablotowicz R.M., Hoagland R.E., Staddon W.J. Locke. M.A. Effects of pH on chemical stability and de-esterification of fenoxaprop-ethyl by purified enzymes, bacterial extracts, and soils // J. Agric. Food Chem. 2000. № 48. P. 4711–4716.
60. Choi K.D., Jeohn G.H., Rhee J.S., Yoo O.J. Cloning and nucleotide sequence of an esterase gene from *Pseudomonas fluorescens* and expression of the gene in *Escherichia coli* // Agric. Biol. Chem. 1990. № 54. P. 2039–2045.
61. Zablotowicz R.M., Hoagland R.E., Locke M.A., Hickey W.J. Glutathione-S-transferase activity and metabolism of glutathione conjugates by rhizosphere bacteria // Appl. Environ. Microbiol. 1995. № 61. P. 1054–1060.
62. Engelhardt G., Wallnofer P.R., Plapp R. Purification and properties of an aryl acylamidase of *Bacillus sphaericus*, catalyzing the hydrolysis of various phenylamide herbicides and fungicides // Appl. Microbiol. 1973. № 26. P. 709–718.
63. Hammond P.M., Price C.P., Scaven M.D. Purification and properties of aryl acylamidase from *Pseudomonas fluorescens* ATCC 39004 // Eur. J. Biochem. 1983. № 132. P. 651–655.
64. Hirase K., Matsunaka S. Purification and properties of propanil hydrolase in *Pseudomonas picketti* // Pestic. Biochem. Physiol. 1991. № 39. P. 302–308.
65. Riley P.S., Behal F.J. Amino acid-naphthylamide hydrolysis by *Pseudomonas aeruginosa* arylamidase // J. Bacteriol. 1971. № 108. P. 809–816.
66. Yoshioka H., Nagasawa T., Yamada H. Purification and characterization of aryl acylamidase from *Nocardia globerula* // Eur. J. Biochem. 1991. № 199. P. 17–24.
67. Mochida K., Nakamura T., Li W.X., Ozoe Y. Purification of extracellular aryl acylamidase from a coryneform bacterium, strain A-1 // J. Pestic. Sci. 1993. № 18. P. 211–216.
68. Chaudhry G.R., Ali A.N., Wheeler W.B. Isolation of a methyl parathion-degrading *Pseudomonas* sp. that possesses DNA homologous to the opd gene from a *Flavobacterium* sp. // Appl. Environ. Microbiol. 1988. № 54. P. 288–293.
69. McDaniel C.S., Harper L.L., Wild J.R. Cloning and sequencing of a plasmid-borne gene (opd) encoding a phosphotriesterase // J. Bacteriol. 1988. № 170. P. 2306–2311.
70. Mulbry W.W., Karns J.S. Parathion hydrolase specified by the *Flavobacterium* opd gene relationship between the gene and protein // J. Bacteriol. 1989. № 171. P. 6740–6746.
71. Katayama A., Matsumura F. Degradation of organochlorine pesticides, particularly endosulfan, by *Trichoderma harzianum* // Environ. Toxicol. Chem. 1993. № 12. P. 1059–1065.
72. Kullman S.W., Matsumura F. Metabolic pathways utilized by *Phanerochaete chrysosporium* for degradation of the cyclodiene pesticide endosulfan // Appl. Environ. Microbiol. 1996. № 62. P. 593–600.
73. Bryant D.W., McCalla D.R., Leeksa M., Laneville P. Type I nitroreductases of *Escherichia coli* // Can. J. Microbiol. 1998. № 127. P. 81–86.
74. Kinouchi T., Ohnishi Y. Purification and characterization of 1-nitropyrene nitroreductases from *Bacteroides fragilis* // Appl. Environ. Microbiol. 1983. № 46. P. 596–604.
75. Oyamada M., Kuwatsuka S. Reduction mechanism of the nitro group of chlornitrofen, a diphenyl ether herbicide, in flooded soils // J. Pestic. Sci. 1989. № 14. P. 321–327.
76. Andreoni V., Colombo M., Gennari M., Negre M., Ambosoli R. Cometabolic degradation of acifluorfen by a mixed microbial culture // J. Environ. Sci. 1994. № 29. P. 963–987.
77. Gennari M., Negre M., Ambosoli R., Andreoni V., Vincenti M., Acquati A. Anaerobic degradation of acifluorfen by different enrichment cultures // J. Agric. Food Chem. 1994. № 42. P. 1232–1236.
78. Zablotowicz R.M., Locke M.A., Hoagland R.E. Aromatic nitroreduction of acifluorfen in soils,

- rhizospheres, and pure cultures of Rhizobacteria Phytoremediation of Soil and Water Contaminants / Ed. by .E. L. Kruger, T. A. Anderson, J. R. Coats // ACS Symposium Series 664. Washington, DC: American Chemical Society, 1997. P. 38–53
79. Locke M.A., Gaston L.A., Zablutowicz R.M. Aci-fluorfen sorption and sorption kinetics in soil // J. Agric. Food Chem. 1997. № 45. P. 286–293.
80. Groenewegen P.E.J., de Bont J.A.M. Degradation of 4-nitrobenzoate via 4-hydroxylaminobenzoate and 3,4-dihydroxybenzoate in Comamonas acidovorans NBA-10 // Arch. Microbiol. 1992. № 158. P. 381–386.
81. Groenewegen P.E.J., Breeuwe P., van Helvoort J.M.L.M., Langenhoff A.A.M., de Vries F. P., de Bont J.A.M. Novel degradative pathway of 4-nitrobenzoate in Comamonas acidovorans NBA-10 // J. Gen. Microbiol. 1992. V. 138. P. 1599–1605.
82. Nishino S.F., Spain J. C. Degradation of nitrobenzene by a *Pseudomonas pseudocaligenes* // Appl. Environ. Microbiol. 1993. № 59. P. 2520–2525.
83. Lenke H., Knackmuss H. J. Initial hydrogenation during catabolism of picric acid by *Rhodococcus erythropolis* HL 24-2 // Appl. Environ. Microbiol. 1992. № 58. P. 2933–2937.
84. Lenke H., Pieper D.H., Bruhn C., Knackmuss H. J.. Degradation of 2,4-dinitrophenol by two *Rhodococcus erythropolis* strains, HL 24-1 and HL 24-2. // Appl. Environ. Microbiol. 1992. № 58. P. 2928–2932.
85. Hall J.C., Hoagland R.E., Zablutowicz R.M. Pesticide Biotransformation in Plants and Microorganisms: Similarities and Divergences. Washington, DC: American Chemical Society, 2001. 432 p.
86. Reddy G.V.B., Joshi D.K., Gold M.H. Degradation of chlorophenoxyacetic acids by the lignin-degrading fungus *Dichomitus squalens* // Microbiology. 1993. № 143. P. 2353–2360.
87. Bollag J.-M. Biochemical transformation of pesticides by soil fungi. CRC // Crit. Rev. Microbiol. 1972. № 2. P. 35–58.
88. Cerniglia C.E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons // Biodegradation. 1992. № 3. P. 351–368.
89. Iwan J. Miscellaneous conjugations—acylation and alkylation of xenobiotics in physiologically active systems. Bound and Conjugated Pesticide Residues. ACS Symposium Series 29. Washington, DC: American Chemical Society, 1976. P. 132–152.
90. Joshi D.K., Gold M.H. Degradation of 2,4,5-trichlorophenol by the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* // Appl. Environ. Microbiol. 1993. № 59. P. 1779–1785.
91. Hggblom M.M., Janke D., Salkinoja-Salonen M.S. Hydroxylation and dechlorination of tetrachlorohydroquinone by *Rhodoccus* sp. strain CP-2 cell extracts // Appl. Environ. Microbiol. 1989. № 55. P. 516–519.
92. Suzuki T.J. Methylation and hydroxylation of pentachlorophenol by *Mycobacterium* sp. isolated from soil // J. Pestic. Sci. 1983. № 8. P. 419–428.
93. Lamar R.T., Dietrich D.M. In situ depletion of pentachlorophenol from contaminated soil by *Phanerochaete* spp. // Appl. Environ. Microbiol. 1990. № 56. P. 3093–3100.
94. Valli K., Gold M.H. Degradation of 2,4-dichlorophenol by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium* // J. Bacteriol. 1991. № 173. P. 345–352.
95. Tweedy B.G., Loeppy C., Ross J. A. Metabolism of 3-(p-bromophenyl)-1-methoxy-1-methylurea (metobromuron) by selected soil microorganisms // Science. 1970. № 168. P. 482–483.
96. Alexander M. Biodegradation and Bioremediation. / Ed. by San Diego, CA: Academic, 1999. 453 p.
97. Tate R.L., Alexander M. Formation of dimethylamine and diethylamine in soil treated with pesticides // Soil Sci. 1974. № 118. P. 317–321.
98. Hoagland R.E., Zablutowicz R.M., Locke M.A. An integrated phytoremediation strategy for chloroacetamides in soil // Phytoremediation of Soil and Water Contaminants: ACS Symposium Series 664. Washington, DC: American Chemical Society, 1997. P. 38–53
99. Vuilleumier S. Bacterial glutathione S-transferases and the detoxification of xenobiotics: dehalogenation through glutathione conjugation and beyond. Pesticide Biotransformation in Plants and Microorganisms: Similarities and Divergences / ACS Symposium Series 777. Washington, DC: American Chemical Society. 2001. P. 240–252.
100. Биоиндикаторы и биотестсистемы в оценке окружающей среды техногенных территорий // Под ред. Т.Я. Ашихминой, Н.М. Алалькиной. Киров: О-Краткое, 2008. 336 с.