

Реакция почвенной микробиоты на действие пестицидов (обзор)

© 2012. Л. И. Домрачева^{1,2}, д.б.н., профессор, в.н.с.,
Т. Я. Ашихмина^{2,3}, д.т.н., зав. кафедрой, зав. лабораторией,
Л. В. Кондакова^{2,3}, к.б.н., зав. кафедрой, н.с.,
Г. И. Березин³, аспирант,

¹Вятская государственная сельскохозяйственная академия,
²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
³Вятский государственный гуманитарный университет,
e-mail: ecolab2@gmail.com

В статье приведены данные о характере действия пестицидов на популяции почвенных сапротрофных и фототрофных бактерий, водорослей, микромицетов и в целом на микробные комплексы. Показана неоднозначность ответных реакций микроорганизмов при использовании препаратов разной химической природы и разной направленности действия. Дается характеристика методов биотестирования и биоиндикации на наличие пестицидов в окружающей среде. Рассматриваются пути использования микроорганизмов-деструкторов для очистки почвы от пестицидного загрязнения.

The article presents the data on pesticides' effect on populations of soil saprotrophic and phototrophic bacteria, algae, micromycetes, and on microbial complexes on the whole. The ambiguity of organisms' responses to drugs of different chemical nature and different courses of action is shown. Characteristics of bioassay and bioindication methods assessing pesticides in the environment is given. The ways of utilizing destructor microorganisms for clearing soil from pesticide contamination are considered.

Ключевые слова: пестициды, микроорганизмы, бактерии, микромицеты, водоросли, цианобактерии, биоиндикация, биотестирование, биodeградация, биоремедиация

Keywords: pesticides, microorganisms, bacteria, micromycetes, algae, cyanobacteria, bioindication, bioassay, biodegradation, bioremediation

Первоначально пестициды создавались как целевые препараты направленного действия против развития нежелательных для человека групп организмов в агроценозах и других антропогенно преобразованных экосистемах. В основном это синтетические соединения: хлорорганические, фосфорорганические, триазины, производные карбаминной кислоты, а также неорганические медь-, серу-, ртутьсодержащие препараты. Необходимость применения ядохимикатов обусловлена огромными потерями урожая сельскохозяйственных культур, которые в мировом земледелии, по самым скромным прогнозам, составляют от 24 до 46%. По разным оценкам, в последние годы в мире насчитывается более 1000 химических соединений, на основе которых выпускают десятки тысяч препаративных форм пестицидов [1]. Как правило, пестициды классифицируют по целевому назначению: гербициды – для борьбы с сорняками; инсектициды – с насекомыми-вредителями; акарициды – с клещами; фунгициды – с фи-

топатогенными грибами; зооциды – с вредными позвоночными; альгициды – для уничтожения водорослей в водоёмах при «цветении» воды и др.

Десятилетия применения пестицидов показали, что эти препараты обладают глобальным действием на процессы, происходящие в биосфере, и приравниваются к действию экологических факторов на биоту в целом и её составляющие. Относясь к кумулятивным ядам, пестициды оказывают токсическое действие не только на организмы-мишени. Анализу пестицидов как токсикантов окружающей среды посвящены многочисленные исследования. В монографиях, учебниках и учебных пособиях по экологии и охране природы в главах, посвящённых применению пестицидов, всегда содержатся разделы, в которых приведены сведения о пестицидах как одном из главных факторов загрязнения окружающей среды, обладающих сильнейшим мутагенным, канцерогенным, тератогенным, иммунодепрессивным действием на человека и животных.

«Здоровье» почвы обусловлено наличием в ней определённых группировок микроорганизмов, осуществляющих важнейшие функции синтеза и деградации органических веществ, азотфиксации, гумификации, круговорота биогенных элементов и др. Однако привнесение в почву чужеродных для неё соединений, в данном случае пестицидов, может приводить к локальным для данной территории перерождениям микробных комплексов. С другой стороны, именно микроорганизмам принадлежит ведущая роль в трансформации и биодеградации пестицидов, в ходе которых последние используются в качестве источников углерода, азота, фосфора и энергии. При участии микроорганизмов или их ферментов в почве и воде происходят процессы гидролиза, окисления и восстановления пестицидов [2 – 5]. С этими процессами тесно связана проблема детоксикации пестицидов в окружающей среде.

В работах по изучению действия пестицидов на почвенную микробиоту принято выделять три направления: оценка влияния пестицидов на основные процессы, осуществляемые микроорганизмами в почве; анализ изменений численности и видового состава представителей разных таксономических групп микроорганизмов в сочетании с проверкой чувствительности отдельных видов к тому или иному пестициду; экологический анализ изменений в составе и организации сообществ микроорганизмов и всей микробной системы в целом, происходящих под влиянием пестицидов [6].

Цель данного обзора – анализ характера действия пестицидов на различные группы почвенных прокариотных и эукариотных микроорганизмов с выявлением их потенциальных возможностей в биомониторинге пестицидного загрязнения и биоремедиационных процессах.

Механизм действия пестицидов на клетки микроорганизмов

Широкий круг применяемых пестицидов предполагает разные механизмы воздействия этих веществ на прокариотные и эукариотные клетки микроорганизмов, на гетеротрофные и фотосинтезирующие микроорганизмы, и спектр этих механизмов очень широк. Известно, например, что производные карбаматов влияют на процесс деления клеток; органические соединения меди и дитиокарбаматы – на проницаемость мембран и окисли-

тельное фосфорилирование, перенос электронов в дыхательной цепи; органические соединения ртути реагируют с клеточными компонентами, вступая в реакции с карбоксильными, сульфгидрильными, аминогруппами, ионами металлов [6, 7]. Очень часто сведения о действии пестицидов на микроорганизмы противоречивы.

К числу изменений в клетках микроорганизмов, вызываемых пестицидами, относится изменение ферментных спектров у почвенных бактерий *Micrococcus luteus* и *Stenotrophomonas maltophilia*. Влияние фунгицидов (микосана и микосана нового, фундазола и витавакса) и гербицидов (раундапа и диалена) на генетическую регуляцию синтеза ферментов у данных бактерий характеризовалось различными проявлениями. Изменение качественного состава спектров молекулярных форм глюкозофосфатизомеразы, 6-фосфоглюконатдегидрогеназы и глутаматдегидрогеназы имело неморфный характер: появлялись новые зоны активности. Аморфные изменения (исчезновение имеющихся зон активности) выявлены у *S. maltophilia* под влиянием диалена. Исследованные пестициды незначительно влияли на качественный состав и соотношение молекулярных форм эстеразы у обеих культур микроорганизмов [8].

Острая токсичность 33 гербицидов, установленная для зелёной водоросли *Chlorella pyrenoidosa*, была связана с подавлением активности ацетилСоФ-карбоксилазы, что вело к блокированию синтеза жирных кислот (для половины гербицидов). Другая группа гербицидов ингибировала в клетках водоросли синтез ацеталактатсинтазы, блокирующей биосинтез аминокислот с разветвлённой цепью лейцина, изолейцина и валина [9].

При исследовании действия сульфонилмочевинного гербицида моноссульфурана на азотфиксирующие гетероцистные цианобактерии (ЦБ) (*Anabaena azollae*, *A. flosaquae* и *A. azotica*) было установлено, что этот препарат вызывает образование гетероцист и активирование фермента нитрогеназы, но понижает скорость фотосинтеза, образование фотосинтетических пигментов (каратиноидов, хлорофилла, в меньшей степени билипопротеинов). Из трёх видов ЦБ *A. azotica* отличалась повышенным расщеплением моноссульфурана и меньшим его накоплением в клетках. Обычное послевсходовое применение гербицида на рисовых полях было токсично для обследованных ЦБ. Но при концентрации моноссульфурана менее

0,1 мг/л возможен рост *A. azotica* как биоудобрения, поскольку за счёт связывания молекулярного азота происходит обогащение почвы этим элементом [10]. В клетках другого фотосинтезирующего микроорганизма – эукариотной водоросли *Botryococcus braunii* под влиянием гербицидов симазина и метрибузина происходило снижение ассимиляционных пигментов до 50% от контрольных значений. Каждый гербицид лимитировал физиологическую активность водоросли, что проявлялось в уменьшении скорости роста клеток, фотосинтеза и дыхания [11]. На 50% происходило снижение фотосинтеза под действием инсектицида севина в концентрации 0,1 мг/л в культуре зелёной одноклеточной водоросли *Chlorella pyrenoidosa*. Снижение роста культуры наблюдалось при действии концентраций севина 0,1–1,0 мг/л на протяжении 16 дней [12]. При действии на *Chlorella vulgaris* гербицидов атразина (9,1 мг/л) и глюфоцината (910 мг/л) или их комбинаций в течение 48 ч значительно увеличивалось выделение H_2O_2 и малондиальдегида, снижались содержание хлорофилла и активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, пероксидазы и каталазы. Кроме физиологических изменений в клетках хлореллы снижалась экспрессия генов фотосинтеза [13]. У этой же водоросли (*Chlorella vulgaris*) под действием триазинового гербицида тербутрина резко снижалась скорость деления клеток [14]. Увеличению содержания хлорофилла *a* и каратиноидов в клетках водорослей способствует пестицид хлорпирифос [15].

Многие гербициды выступают ингибиторами фотосистемы II водорослей. Обычно ингибиторы фотосистемы II подавляют первичную продукцию, повышают выделение экзометаболических веществ, меняют клеточную морфологию водорослей [16]. В противоположность этому показано, что концентрации растворённых в воде фосфорсодержащих гербицидов в пределах 1–10 мг/л стимулируют интенсивность роста водорослей. Угнетение фотосинтеза водорослей и ЦБ происходит по мере увеличения концентрации гербицидов [17].

При исследовании влияния диурона на фикобилиновый комплекс представителей рода *Nostoc* (*N. punctiforme* и *N. muscorum*) было установлено, что у объекта с наибольшей способностью к фотогетеротрофии (по продуктивности) содержание фикобилипротеинов в тестовых условиях значительно возрастало, тогда как у объектов с меньшей способностью к такому типу питания накопление

пигментов было менее интенсивным. Данное явление можно рассматривать как физиологическую адаптацию пигментного аппарата ЦБ к пестициду [18].

При изучении действия гербицидов нового поколения триаллата и бетанала, которые часто используются в современном сельском хозяйстве, на жёлтозелёную водоросль *Xanthonema exilis* было установлено, что эти препараты вызывают гранулированность цитоплазмы, обесцвечивание и полное разрушение клеток водоросли (концентрации: триаллат $1 \cdot 10^{-3}$, бетанал $1 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л). В более низких концентрациях происходило увеличение длины клеток [19].

Изучение влияния используемых в сельском хозяйстве пестицидов атразина, хлороталонила и эндосульфана на ассоциации почвенных микроорганизмов в Южной Флориде свидетельствует о том, что происходят существенные структурные и функциональные изменения микробных сообществ. Это проявляется в значительном уменьшении содержания хлорофилла *a*, фототрофной ассимиляции углерода и бактериальной биомассы. Все пестициды уменьшали число таксонов протистов. Атразин значительно уменьшал относительное обилие хлоро- и хризифитов и увеличивал количество таксонов диатомовых водорослей и гетеротрофных прокариот. Хлороталонил значительно увеличивал относительное обилие диатомовых и зелёных водорослей и гетеротрофных бактерий. Эндосульфан также значительно уменьшал обилие диатомей, как и число таксонов хризифитов, криптофитов и динофлагеллят [20]. Факт интенсивного потребления атразина (до 90%) отмечен для 8 видов зелёных и диатомовых водорослей. При этом способность к накоплению атразина у водорослей коррелирует с биообъёмом и площадью клеточной поверхности [21].

В ходе мутагенеза в ДНК ЦБ *Synechocystis sp.* был введён ген, кодирующий синтез гербицидорезистентного вида цианобактериального белка. Скрининг мутантов на резистентность к диурону и атразину выявил их высокую устойчивость к данным пестицидам. Устойчивые белки реагировали с гербицидами в так называемой гербицидосвязывающей нише [22].

Таким образом, даже краткий перечень механизмов действия пестицидов на микробные клетки показывает, что возможно огромное количество ответных реакций микробиоты на применяемые препараты.

Действие пестицидов на сапротрофную почвенную микрофлору

Анализ литературных источников о действии пестицидов на сапротрофные микроорганизмы, приведённый в обзоре [6], показывает, что пестициды могут выступать как ингибиторами, так и стимуляторами таких процессов, как дыхание почвы, нитрификация, ферментативная активность.

Так, при изучении устойчивости микробных сообществ краснозёмной почвы 4-х ценозов на внесение фунгицида металаксила и гербицида пропахлора в качестве критерия оценки использовали коэффициент микробного дыхания, представляющий собой отношение скоростей базального и субстрат-индуцированного дыхания почвенных микроорганизмов [23]. Было показано, что почвы исследованных ценозов (лес сосновый, пастбище, пашня и лес дубовый) достоверно различались по устойчивости почвенных микробных сообществ. В почве соснового леса, как в менее устойчивой из изученных ценозов, пестициды вызывали заметное нарушение устойчивости микробных сообществ. Оценка безопасности фунгицида тебуконазола проводилась путём изучения влияния его различных концентраций на популяцию почвенных микроорганизмов и их дыхание. Результаты показали, что популяция увеличивалась при обработке почвы более низкими концентрациями (1 мг/кг, 5 мг/г), увеличивалось количество бактерий, грибов и мицелиальных бактерий (актиномицетов) на 49,45, 13,28 и 19,41, 20,95, 178,44 и 81,97%, соответственно, спустя 1 день. После 8 дней рост бактерий и грибов сильно стимулировался, тогда как актиномицеты возвращались к нормальному уровню спустя 4 дня [24].

Обработка почвы инсектицидом метамифосом приводила к ингибированию роста бактерий, актиномицетов и азотобактера, процессов азотфиксации, нитрификации и восстановления трёхвалентного железа. В то же время происходила стимуляция роста микромицетов и почвенного дыхания [25].

При изучении влияния гербицидов ацетата, фронтера, мерлина и винга на микробиологические свойства почвы под кукурузой через 6 и 12 недель после применения препаратов было установлено, что увеличилась численность аэробных целлюлозоразрушающих бактерий. Все гербициды уменьшали углерод микробиомассы [26]. В то же время в других опытах с гербицидом бензолфурон-метил только целлюлолитические микроорганизмы зна-

чительно уменьшались в количестве. Гербицид практически не влиял на развитие аэробных и анаэробных азотфиксаторов, нитрификаторов и активность «дыхания» почвы [27].

В серии вегетационных опытов с использованием математического анализа было показано, что гербицид прометрин опосредованно, через растение влияет на сообщество микроорганизмов ризосферы яровой пшеницы [28]. С одной стороны, ингибируя фотосинтез, он снижает продуктивность растений, что ведёт к уменьшению корневых экссудатов и снижению числа их потребителей. С другой, способствуя отмиранию корневых тканей, гербицид активизирует деструкцию свежего органического вещества, сначала с участием быстрорастущих гетеротрофов, а на заключительных стадиях микробной сукцессии – целлюлозолитических микроорганизмов. На этом фоне биологически активный субстрат, активизируя почвенно-микробиологические процессы, снижает отрицательное влияние прометрина на развитие растений и создаёт более благоприятные условия для функционирования микроорганизмов.

Неоднозначное действие оказывают разные пестициды на популяции почвенных азотфиксирующих бактерий. Так, при испытании пяти коммерческих инсектицидов (хлоробана, нувона, метацида, тимета и данета) в чёрной почве и краснозёме было установлено, что хлоробан, нувон и метацид в дозах до 10 кг/га оказывали стимулирующее влияние на *Azospirillum sp.*; тимет и данет в этой же дозе, напротив, ингибировали развитие бактерии в почве. В то же время все 5 инсектицидов оказывали ингибирующее действие на популяцию азоспириллы при 10 кг/га в краснозёме [29]. При этом нитрогеназная активность популяции бактерии увеличивалась в культурах, выделенных из почв, обработанных инсектицидами при стимулирующей концентрации 5 кг/га, по сравнению с необработанными почвами.

При испытании гербицида хлорсульфурина в дозах, которые применяются в практике, и завышенной в 10 раз, на 3-х почвенных разностях, различающихся по гранулометрическому составу, рН, содержанию гумуса и поглонительной способности, было установлено, что происходит только временное изменение общей биологической активности (по количеству выделенного CO₂), нитрифицирующей активности и активности инвертазы и дегидрогеназы, которое в наибольшей степени проявляется на аллювиально-луговой почве, а наиболее

слабо – на выщелоченной смолнице [30]. Другие гербициды монолинурон, симазин, тридифан при оценке их действия на почвенную микрофлору не оказывали вредного воздействия на такие группы бактерий, как нитрификаторы и денитрификаторы [31]. Гербицид метсульфурон-метил в концентрациях 0,05–2 мг/кг почвы приводил к снижению численности бактериальных популяций в течение первых 9 суток, и к восстановлению исходного уровня численности на 19 сутки. Выше контроля численность бактерий становилась на 27-е и 35-е сут в глинистой почве. В супесчаной почве снижение этого показателя наблюдалось на 1–3 сутки. Количество грибов возрастало с ростом концентрации гербицида в обеих почвах [32].

При определении численности микроорганизмов в почвах, обработанных инсектицидами и фунгицидами эндосульфамом, полигором, витаваксом, тирамом и систаном, было показано, что рост большинства бактерий и грибов не угнетался пестицидами [33].

Изучение реакции природных изолятов микромицета *Trichoderma viride*, выделенных из дерново-подзолистых почв, отобранных в окрестностях Кильмезского полигона захоронения пестицидов (Кировская область), на различные концентрации симазина показало кинетическую разнокачественность изолятов данного вида. Средняя скорость роста биомассы гриба в вариантах с симaziном была в 5 раз меньше по сравнению с контролем. При микроскопическом изучении биоморфологической реакции триходермы на симазин выявлено, что при возрастании концентрации пестицида в среде формируются мицелиальные конгломераты различной плотности [34].

Среди ответных реакций микромицетов на действие фунгицидов различной химической природы (катамин АБ, метацид, трилан, формальдегид) выявлено усиление образования кислот у грибов р. *Penicillium* и отсутствие влияния на этот процесс у грибов р. *Aspergillus*. В то же время все испытанные фунгициды интенсифицировали биосинтез окрашенных метаболитов и внеклеточных полисахаридов у грибов [35].

Экспериментальный фунгицид IPO-12160 в полевой и 10-кратной дозах не оказывал существенного влияния ни на общее количество сапрофитных микромцетов, ни на физиологические группы этих организмов, разлагающих крахмал, целлюлозу и белок [36].

На примере дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* показано, что ингибирующий эф-

фект фунгицида фенпропиморфа и семи его аналогов проявляется в уменьшении биомассы и выхода липидов, количества эргостерола, продуцируемого дрожжами, тогда как количества ланостерола, дигидроэргостеролов и сквалена увеличиваются [37].

В последние годы используются пестициды нового поколения с низкой дозой расхода, высокой эффективностью, избирательностью и со слабой устойчивостью в окружающей среде. На примере инсектицидов дециса и данадиама, а также гербицидов харнеса, агритокса и пивота было установлено, что пестициды не оказывали однозначного влияния на ингибирование активности почвенных ферментов, они менее токсичны, чем ранее применяемые пестициды, особенно хлорорганические по отношению к почвенной микрофлоре. Пороговые концентрации данных препаратов воздействия на активность ферментов каталазы и дегидрогеназы значительно превосходят ПДК, установленные для пестицидов [38].

Действие пестицидов на фототрофные микроорганизмы

Ретроспективный анализ публикаций по действию пестицидов на почвенную альгофлору показывает, что первые исследования в этой области были проведены Э.А. Штиной [39]. В полевых опытах начала 50-х годов прошлого века было показано, что гербицид 2,4 Д, широко применяемый в то время, в производственных дозах (до 2 кг/га) не был токсичен для водорослей. Однако его более высокие дозы подавляли развитие диатомовых водорослей и ЦБ. Позднее неоднократно отмечалось ингибирующее действие различных пестицидов на развитие почвенных водорослей. Например, было отмечено, что симазин в концентрациях свыше 2 кг/га проявляет высокую токсичность, понижая численный пул клеток водорослей в 15 раз, а в дозе 8 кг/га – почти в 50 раз [40].

При исследовании действия гербицидов на рисовых полях было установлено, что происходит обеднение видового состава и снижается биомасса ЦБ [41]. Поэтому была проведена проверка данного эффекта в серии лабораторных опытов, которая показала, что при обработке гербицидом ДСРА (из группы 3,4-дихлорпропионанилина) в производственных дозах ЦБ *Anabaena variabilis* и *Nostoc muscorum* погибали через сутки.

Жидкий игран (тербутрин) при обработке почвы 3,5 л/га вызывал снижение общего ко-

личества почвообитающих водорослей, включая *Klebsormidium spp.* и *Xanthonema spp.* за 7 дней на 88–94% в лабораторном опыте. В полевом опыте отмечалось снижение численности водорослей в течение 90 дней при снижении концентрации гербицида с 2,26 мг/кг в начале опыта до 0,41 мг/кг через 90 дней. Последующее снижение концентрации гербицида привело к увеличению численности водорослей через 365 дней от начала опыта [42].

Доказана токсичность содержащих сульфонилмочевину гербицидов для различных групп микрофототрофов. Из 40 видов микроводорослей наиболее чувствительными к хлор- и метсульфуронметилу были диатомовые и ЦБ [43].

Сравнительное изучение ответных реакций фототрофных микроорганизмов рисовых полей диазотрофных пурпурных несерных бактерий на действие гербицида 2,4 Д, фунгицидов каптана и карбендазима и инсектицидов квинолфоса и монокротофоса показало, что происходит ингибирование их роста при концентрациях свыше 200 и 400 мг/л, а летальные дозы составляют 700 и 900 мг/л, но при этом анаэробные пурпурные бактерии более устойчивы к действию пестицидов, чем оксигенные ЦБ [44]. Выявлена высокая устойчивость зелёных водорослей *Chlorella vulgaris* и *Scenedesmus subspicatus* к действию фосфорорганических пестицидов хлорпирифоса, метилпаратиона, метилзинфоса, метамидофоса и диазинона [45].

Известны примеры различной токсичности одного и того же пестицида на разные группы водорослей. Так, в опытах с атразином использовали 5 видов зелёных и 4 вида диатомовых водорослей. Концентрация атразина 10 мкг/л слабо подавляла рост одних видов и стимулировала – других. Рост всех изученных видов зелёных водорослей подавлялся при концентрации 1000 мкг/л, диатомовых – при 250 мкг/л. Наиболее чувствительным видом был *Chlamydomonas sp.*, наименее – *Cyclotella meneghiniana* [46].

Случаи однозначного подавления роста водорослей и ЦБ под влиянием пестицидов отмечены для зелёных водорослей *Nannochloris oculata* (тиобенкарб) [47], *Scenedesmus acutus* и *S. quadricauda* (глифосат) [48]; одноклеточных зелёных водорослей (гербитокс и пивот) [49]; диатомовой водоросли *Craticula cuspidate* (атразин) [50]; ЦБ (атразин и деэтилатразин) [51];

Острая токсичность многих пестицидов для водорослей снижается со временем. Так, при распаде трёх гербицидов (метсульфурон-

метила, хлорсульфурона и бенсульфурона) их азот использовался водорослями и стимулировал рост *Chlorella pyrenoidosa* [52].

В полевых условиях токсическое действие пестицидов наиболее заметно проявляется на индикаторных группах микроорганизмов, то есть на мишенях, имеющих коэффициент безопасности ниже единицы. Так, например, атразин и монурон снижают численность водорослей, карбатион оказывает отрицательное действие на грибы и водоросли, эптам не влияет ни на одну группу микроорганизмов [53]. Независимо от используемого показателя, динамика токсического действия любого из пестицидов на «мишени» имела вид U-образной кривой: после обработки почвы численность чувствительных организмов резко падала, затем постепенно восстанавливалась, то есть влияние испытываемых веществ на «мишени» имело обратимый характер. Автор предполагает, что обратимый характер действия пестицидов на фототрофные и гетеротрофные микроорганизмы обусловлен рядом причин. Во-первых, неравномерностью распределения препаратов в почве. Во-вторых, снижением концентрации пестицидов в почве со временем, и их детоксикацией. В результате этих процессов возобновляется рост, развитие и нормальная биохимическая деятельность микроорганизмов. В-третьих, генетической гетерогенностью естественной популяции микроорганизмов. Летальные концентрации гербицидов, инсектицидов и фунгицидов для различных штаммов одного и того же вида могут различаться в несколько раз. Все эти причины объясняют высокую буферность почвы как биологической системы.

Наиболее общие закономерности формирования микрофлоры почвы под воздействием пестицидов Ю.В. Кругловым [53] были рассмотрены на примере фототрофов. Через неделю после обработки атразином в почве было обнаружено всего 6 видов водорослей, после обработки монуроном – 4, карбатионом – 3 вместо 13 в контроле. Наиболее чувствительными к пестицидам оказались ЦБ и диатомовые водоросли. Таким образом, происходит обеднение видового состава водорослей, снижается частота встречаемости многих из них, значительное число видов «выбывает» из альгоценозов. В почве, обработанной пестицидами, доминирующее положение занимают один-два наиболее устойчивых вида, обеспечивая продуктивность водорослей как трофической группы микропродуцентов. Образуется качественно новое сообщество с низким

индексом видового разнообразия. Однако в течение года после обработки гербицидами таксономический состав водорослей и ЦБ восстанавливается. Коэффициент видового разнообразия приближается к контролю.

Хроническое загрязнение почвы различными пестицидами в зоне полигона захоронения ядохимикатов стабилизирует развитие альго-цианобактериальных комплексов на определённом уровне количественных показателей фототрофных популяций и их качественного состава и характеризуется, в первую очередь, массовым развитием ЦБ [54].

Как показано в ряде опытов, пестициды нового поколения менее токсичны по отношению к почвенной микрофлоре. Испытание фунгицида дивиденд стар, инсектицида круйзер, а также их смеси в полевых условиях показало, что данные препараты выступают как активаторы размножения водорослей. Применение пестицидов приводило к ускорению хода альгосукцессий в почве и повышению группового разнообразия популяций водорослей и ЦБ [55].

Использование микроорганизмов в биомониторинге пестицидного загрязнения окружающей среды и определении степени токсичности пестицидов

Применение микроорганизмов в биомониторинге окружающей среды имеет сравнительно давнюю историю. Быстрота ответных реакций микробных сообществ на действие поллютантов позволяет оперативно оценить степень их токсичности. Не случайно поэтому различные группы про- и эукариотных микроорганизмов рассматриваются как тест-организмы и организмы-биоиндикаторы на пестицидное загрязнение воды и почвы.

Одно из первых наиболее детальных обобщений в области микробного биотестирования было выполнено по определению токсического действия пестицидов на пресноводные водоросли [56]. В ходе опытов по использованию водорослей в качестве биотестов изучались реакции чистых культур на действие пестицидов по изменениям какого-либо характерного, хорошо измеряемого показателя, который интегрально отражает нарушения важных жизненных функций: выделения или поглощения кислорода, ассимиляции или поглощения CO_2 , темпа роста и т. д. Достоверные изменения этих показателей по сравнению с контролем, являются свиде-

тельством токсического действия веществ на водоросли, причём отклонения от контроля могут быть как в сторону снижения, так и в сторону повышения показателей. Ввиду морфологического и функционального многообразия водорослей для токсикологических исследований необходим набор тест-объектов, относящихся к разным экологическим и морфо-систематическим группам и различным по своим эколого-физиологическим особенностям.

В последующие годы интенсивно разрабатывались методы биотестирования как с водными, так и с почвенными группами микрорфототрофов, конкретизированные для определённых групп водорослей и определённых пестицидов. Например, в серии опытов определяли действие гербицида симазина на развитие водорослей в самой почве, сравнивая их количество через 45 и 90 дней после внесения препарата в почву. Во второй серии опытов изучалось действие симазина на альгологически чистую культуру *Klebsormidium sp.*, выращиваемую на бактериальных фильтрах [57]. Симазин оказывал отрицательное действие как на альгофлору в полевых опытах, так и на развитие чистой культуры в модельном опыте. Подобие ответных реакций водорослей в полевых условиях и модельных опытах стало основой для биотестирования токсичности и других пестицидов с использованием разных видов водорослей и ЦБ в модельных опытах. Наблюдения, визуализация результатов опыта и возможность количественного учёта биомассы водорослей, выращиваемых в чашках Петри на бактериальных фильтрах, помещённых на поверхность почвы с внесёнными пестицидами, давали возможность достаточно быстрой оценки уровня токсичности пестицидов, используемых в сельском хозяйстве начала 70-х годов прошлого века. Аналогичным способом проводили быструю альгологическую оценку фитотоксичности различных гербицидов методом бумажных дисков [58]. С этой целью в агаризованную питательную среду вводили испытуемые вещества в возрастающих концентрациях. Раскладывали на поверхность агара диски фильтровальной бумаги с культурой *Chlorella vulgaris* и после 3-х суточной инкубации сравнивали интенсивность роста водоросли с контролем.

В дальнейшем, эукариотные почвенные водоросли были использованы для разработки моноспецифичных тестов для одновременного определения экотоксичности тяжёлых металлов, и пестицидов. Штаммы водорослей

выделялись из незагрязнённой почвы, из чистых культур выбирали соответствующие виды для использования в роли биотеста. Активность роста отдельных видов измерялась на 650-, 680- и 800-нм фильтрах. Тесты стандартизовались с помощью компьютера. Высокую чувствительность к токсикантам проявили одноклеточные зелёные водоросли *Chlorella vulgaris* и *C. luteoviridis* [59].

При изучении влияния фунгицида сульфата имазапила на культуру зелёной водоросли *Scenedesmus quadricauda* использовали такие оценочные критерии, как численность, размеры, число клеток в ценобиях, соотношение живых и мёртвых клеток, фотосинтетический аппарат (по люминесценции хлорофилла). В ходе исследования было установлено, что наиболее чувствительный показатель – численность клеток [60].

Доказано, что тест-организмами на токсическое действие гербицидов могут быть эукариотные водоросли разных отделов, в том числе *Xanthonema spp.*, *Navicula spp.*, *Tetradesmus wisconsiensis* [61].

При тестировании 4-х изолятов ЦБ *Oscillatoria sp.*, выделенных с индийских рисовых полей, было установлено, что испытанные изоляты обладают значительной степенью толерантности к таким пестицидам, как карбендазим, оксифлуорфен и монокротофосу в диапазоне концентраций 1-20 ч. · 10⁻⁶ и уменьшают токсичность таких пестицидов, как рипкорд, сумицидин и децис в биотестах на рыбах [Marutha et al., 2000].

При испытании 7 видов зелёных водорослей и ЦБ в тестах на токсичность трёх видов пестицидов среди зелёных водорослей выделены мелкоразмерные виды *Chlorella kessleri* и *Stichococcus bacillaris*, устойчивые к гербицидам, и более чувствительные виды. Показано, что чувствительность последней группы сходная и любой вид из этой группы может быть рекомендован для тестирования [63].

С помощью микрофототрофов определяют и сравнительную чувствительность различных видов к действию пестицидов [64] и, наоборот, сравнительную токсичность различных пестицидов. Так, использование альгологически чистой культуры ЦБ *Nostoc muscorum* для тестирования почвенной вытяжки позволило выстроить ряд токсичности пестицидов старого и нового поколений, имеющего вид по мере нарастания токсичности: ДДТ > гексахлорбензол = круйзер > симазин = дивиденд стар > гербитокс = пивот [65]. В последнем случае использование ЦБ как тест-организмов

опирается на методику определения жизнеспособности клеток по их гидрогеназной активности с использованием 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТХ). ТТХ, акцентируя мобилизованный дегидрогеназой водород, превращается в 2,3,5-трифенилформазан, имеющий красную или малиновую окраску, образуя кристаллы в живых клетках [66]. Данный метод оказался универсальным для определения степени токсичности различных поллютантов, включая и пестициды. Используя несколько штаммов ЦБ р. *Nostoc*, определили уровень токсичности почвы при её хроническом отравлении пестицидами (в районе полигона их захоронения), а также в серии модельных опытов с использованием пестицидов, применяемых в современном сельском хозяйстве [67, 68].

Одновременные опыты с открытой наземной модельной экосистемой и в полевых исследованиях, проводимые в различных европейских странах – Германии, Нидерландах, Великобритании и Португалии, показали, что по величине индуцированного субстратного дыхания, дегидрогеназной и фосфатазной активности, а также по включению тимидина в микробные клетки, т. е. при проведении кольцевого тестирования, можно установить уровень влияния пестицидов, вычлняя опасные дозы [69].

Хотя такие показатели чувствительности водорослевых сообществ к действию пестицидов, как структура, биомасса, первичная продукция достаточно широко применяются в биоиндикационных исследованиях, следует учитывать и такие факторы, как сезонная динамика и сезонная сукцессия сообщества [70].

Плодотворным в биомониторинге пестицидного загрязнения почвы явился метод иницированного микробного сообщества [6, 71]. В нём сочетаются прямые и косвенные приёмы микробиологического анализа. В лабораторных константных условиях моделируется действие изучаемого фактора на активно функционирующее в почве микробное сообщество, развитие которого иницируется крахмалом. Реакция микробной системы почвы на загрязнение проявляется в изменениях организации и видового состава амилотического микробного сообщества. Комбинация доз, форм, сроков внесения различных пестицидов в разные почвы позволили установить диапазоны концентраций пестицидов, соответствующих различным состояниям микробных сообществ. Нагрузка низкого уровня не имеет последствий, и микробная система легко возвращается в исходное состояние при прекра-

щении воздействия. Среднему уровню загрязнения соответствуют изменения в микробной системе почвы, выражающиеся в перераспределении степени доминирования в составе активно функционирующих микроорганизмов. Эти изменения характеризуются длительной необратимостью даже при прекращении воздействия. Высокому уровню загрязнения соответствуют изменения в микробной системе почвы, выражающиеся в полной смене состава активно функционирующих микроорганизмов, т.е. в образовании нового сообщества. Эти изменения в большей мере характеризуются необратимостью и последствием. Очень высокому уровню загрязнения соответствуют нарушения, при которых полностью исключается возможность роста микроорганизмов. Поэтому, определив уровень загрязнения почвы пестицидами, можно прогнозировать и норму нагрузки того или иного пестицида на почву.

Новым этапом в оценке токсичности применяемых пестицидов стала разработка рестрикционного анализа амплифицированной рибосомной ДНК и анализа полиморфизма длин концевых фрагментов рестрикции фрагментов 16S рДНК поддающихся культивированию бактериальных сообществ, выделенных из разбавленных суспензий почвы. Этот подход позволил быстро обнаруживать негативные изменения, индуцируемые воздействием на почву гербицида 4,6-динитроортокрезола [72].

Комплексное биотестирование (с использованием инфузорий и кишечной палочки) и биоиндикация (с использованием ЦБ и микромицетов) состояния почвы в районе полигона захоронения ядохимикатов с учётом результатов химического анализа показало, что наиболее экспрессными, дешёвыми и простыми из них являются биоиндикационные методы: структурный анализ популяций фототрофов и микромицетов, основанный на выявлении процентного содержания ЦБ и водорослей, а также грибов с окрашенным и неокрашенным мицелием. Наиболее загрязнённые участки характеризовались повышенным содержанием ЦБ (до 85% в структуре альго-цианобактериальных комплексов) и повышенным содержанием микромицетов с меланизированным мицелием (до 89%) [73].

**Роль микроорганизмов
в биоремедиации почв,
загрязнённых пестицидами**

Почвенные микроорганизмы чрезвычайно активно реагируют на химические компо-

ненты среды. При появлении новых соединений микробная клетка осуществляет первичную атаку на необычные вещества как бы наугад [74, 6]. Результатом этой атаки может быть трансформация и деградация загрязняющих веществ. Широкий круг устойчивых к действию пестицидов микроорганизмов, высокий уровень их биodeградационных способностей делают эти организмы перспективными биотехнологическими объектами для очистки окружающей среды от пестицидов. Вклад микроорганизмов в процессы деградации оценивается в 10–70% [75]. Для реализации этих способностей необходимы следующие условия: наличие микроорганизмов, которые могут разлагать пестициды; наличие условий, необходимых для синтеза ферментов, катализирующих процессы трансформации пестицидов; наличие условий, достаточных для осуществления ферментных реакций трансформации [53]. При нарушении любого из этих условий деградация пестицидов в почве невозможна.

В научной литературе приводятся многочисленные примеры трансформации различных пестицидов под действием микроорганизмов в определённых условиях и определённых почвах. Так, например, хлорорганические препараты (ДДТ) под действием микрофлоры подвергаются глубокому разложению с расщеплением ароматических колец. Однако эффективность самоочищения окружающей среды от ДДТ не всегда достаточна вследствие малочисленности популяций разлагающих его микроорганизмов. Другое хлорорганическое соединение – гамма-изомер ГХЦГ – в клетках микроорганизмов метаболизирует в конечном итоге до фенолов, которые затем подвергаются разрушению с полной деструкцией молекулы. Факторами, влияющими на деградацию такого пестицида, как 2,4-Д, являются композиционный состав и количество микроорганизмов в почве, зависящие от глубины слоя, а также температура, которая определяет скорость роста микроорганизмов. При этом показано, что скорость деградации 2,4-Д и количество бактерий в почве в зависимости от глубины слоя коррелируют с изменением количества в почве органического углерода [76]. Исходя из этого, авторы исследований предлагают использовать изменение количества углерода в почве как параметр для оценки изменения скорости деградации пестицидов в почве.

Основными реакциями разложения фосфорорганических пестицидов являются гидролиз и окисление в аэробных условиях. В анаэробной среде под влиянием микроор-

ганизмов могут происходить и процессы восстановления. Скорость гидролиза фосфорорганических соединений зависит от рН среды, температуры. Основными путями детоксикации эфиров карбаминовой кислоты являются гидролиз, гидроксילирование, образование конъюгатов [77-80].

К деградации пестицидов способны микроорганизмы разных систематических групп. Так, например, почвенная бактерия *Agrobacterium radiobacter* способна за 72 ч минерализовать 94% гербицида атразина на безазотистой среде. Внесение этого штамма в почву в 2–5 раз увеличивало способность этой почвы к минерализации гербицида [81]. Деградацию линдана способны активно осуществлять бактерии, выделенные из собраных почвенных образцов из затопляемого рисового поля, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Micrococcus sp.*, *Proteus sp.* [82]. Суспензия клеток *Xanthomonas sp.* ($1,5 \cdot 10^{10}$ кл./мл) в течение 15 мин вызвала почти полную деградацию пестицида паратиона с исходной концентрацией вещества 5 мкг/мл. Неочищенный экстракт из клеток этой бактерии производил гидролиз 5–10 мг паратиона в час на 1 мг белка. Дополнительное внесение альбумина в среду с пестицидом увеличивало скорость гидролиза паратиона и полная деградация достигалась за 5 часов [83].

Изучение деградационных способностей водорослей выявило, что из 15 штаммов зелёных водорослей 8 были способны метаболизировать гербицид флуометурон путём N-деметилизации до дезметилфлуометурона. Наивысшая активность при этом наблюдалась у *Ankistrodesmus falcatus*, *A. nanoselene*, *Selenastrum capricornutum*, *S. gracile*, *S. minutum*, отдельные штаммы которых полностью доводили деметилирование до трифлуорометилфенил мочевины [84]. Эти же штаммы трансформировали также и атразин путём N-деалкилирования до диэтилатразина. Таким образом, доказано, что водоросли располагают потенциалом трансформации гербицидов в водной среде путём N-деалкилирования. Другие фототрофные микроорганизмы, в частности ЦБ *Anabaena variabilis*, способны к разрушению связи С-Р в гербициде глифосате [85].

Как источник фосфора бактерии р.р. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter* и виды грибов *Aspergillus* и *Penicillium*, выделенные из почвы, были способны использовать пестицид монокротофос в разных концентрациях за счёт активности внеклеточной щелочной

фосфатазы (у бактерий) и кислой фосфатазы (у грибов) [86].

Для очистки почвы, загрязнённой хлорорганическими пестицидами, вносили источники углерода, в частности, крахмал, что приводило к ускоренному росту почвенных бактерий и грибов, усиливая их метаболическую активность, тем самым способствуя ускорению процессов естественной деградации пестицидов [87]. При изучении биодеградации 5 гербицидов в речной воде было установлено, что полнота и скорость этого процесса определяются концентрацией микробных клеток [88].

Выделены бактерии, способные в течение 5 суток минерализовать до 90% атразина в почве [89]. Установлено, что скорость деградации атразина зависит как от типа почвы (в суглинистой выше, чем в песчаной), так и от общей численности в ней микроорганизмов (при $49 \cdot 10^6$ КОЕ/г выше, чем при $15 \cdot 10^6$ КОЕ/г) [90]. Инкубация почвы с внесением одного из штаммов *Pseudomonas sp.* приводила за 15 дней к минерализации 90-100% внесённого атразина [91]. Псевдомонады оказались эффективными и при разложении такого хлорсодержащего гербицида, как ацетохлор. Изолят *Ps. oleovorans* мог разлагать 98% гербицида при концентрации 7,6 мг/л спустя 7 дней инкубации и выдерживал 200 мг/л ацетохлора [92]. Гербициды, производные сульфонилмочевины, подвергаются интенсивной микробиологической трансформации культурой актиномицета *Streptomyces griseolus* [93]. Доказан эффект синергического действия 7 видов микроорганизмов, включающих в том числе *Pseudomonas stutzeri* и *Bacillus pumilis* при разложении инсектицида карбофурана: на 96% за 10 суток [94]. Штаммы *Ps. fluorescens*, *Ps. sp.*, *Ps. paucimobilis* по отдельности и их комбинации были успешно использованы для биодеградации в почве фунгицида ипродиона [95]. При изучении полного удаления пестицидов и продуктов их разложения из агробиоценозов выделено 36 бактериальных штаммов, способных к использованию в качестве источника углерода и энергии пестицидов 2,4-Д, 2М-4ХМ, пропанида, базагра, рицида, ордрама, трефлана и фацета [96].

Имеются данные о деградации хлор- и фосфорорганических инсектицидов и гербицидов с помощью грибов белой гнили *Phanerochaete chrysosporium*, толерантных к высоким концентрациям деградируемого загрязнителя и получении на его основе инокулята для биочистки почвы [97]. Выделен штамм бактерии *Alcaligenes faecalis*, способной к деградации

хлорпирифоса на 98,6% (100 мг/л) в жидкой среде в течение 18 дней и на 100% (100 мг/кг) в почве в течение 20 дней, что предполагает использование данного штамма для биовосстановления почвы [98]. Из сточных вод фабрики по производству пестицидов выделена фотосинтезирующая бактерия *Rhodospseudomonas palustris*, способная к разложению органофосфорных инсектицидов почти до 70%. При этом дополнительное внесение углерода усиливало биодegradацию [99].

Скрининг доминантных для рисовых полей азотфиксирующих ЦБ на устойчивость к возрастающим концентрациям гербицидов арезина, бутахлора, алахлора и 2,4-Д показал перспективы использования *Anabaena variabilis* как биоудобрения вследствие способности данного вида не только выживать при действии пестицидов, но и сохранять высокий уровень фотосинтеза и азотфиксации [100].

В целом, теоретически эффективным приёмом очищения почвы от пестицидов является инокуляция микроорганизмов, способных к их разрушению. Однако, анализ работ в этой области показывает, что эффективная нагрузка микроба-инокулянта составляет 10^7 - 10^9 клеток/г почвы, или 0,2-20 т/га при превышении производственной концентрации пестицидов на 2-5 порядков [53]. Низкие концентрации пестицидов и невысокая нагрузка микробов-трансформаторов (10^5 клеток/г почвы) являются причинами недостаточной эффективности этого приёма. Поэтому на сегодняшний день реальным является применение микробных препаратов для детоксикации пестицидов на очистных сооружениях, в пунктах хранения и распределения средств защиты растений, а также в аварийных ситуациях при высокой концентрации пестицидов, локализуемых на сравнительно небольших площадях.

Широкомасштабное и длительное использование в прошлом стойких хлорорганических пестицидов, в том числе ДДТ и ГХЦГ, привело к образованию их импактных зон на суше и в прибрежной части морей, по настоящее время оказывающих негативное воздействие на живые организмы. Среди ремедиационных мер по снижению риска импактных зон стойких хлорорганических соединений предлагается, в частности, интенсификация микробиологического самоочищения загрязнённых ксенобиотиками почв путём внесения большого количества (не менее 1%) доступного энергетического субстрата (навоз или сидераты) [101].

Заключение

Пестициды являются соединениями, которые активно влияют на функционирование как отдельных клеток микроорганизмов, так и почвенных микробценозов. Во многом характер действия препаратов определяется их химической природой и своеобразием почвенной микробиоты. Выделяются группы чрезвычайно чувствительных и очень толерантных микроорганизмов. Однако, токсическое действие пестицидов, как правило, имеет обратимый характер. Степень ингибирующего эффекта и скорость восстановления исходной структуры микробценозов зависит от химического состава, дозы и стабильности ксенобиотика в окружающей среде. Скрининг чувствительных и толерантных микроорганизмов позволяет выбрать оптимальные тест-организмы и организмы-биоиндикаторы на пестицидное загрязнение почвы. Поиск и выделение в чистую культуру микроорганизмов среди бактерий, микромицетов и водорослей, способных к активной деградации тех или иных препаратов, является основой в разработке биоремедиационных мероприятий по очистке почвы от остаточных пестицидов.

Литература

1. Агроэкология / Под ред. В.А. Черникова, А.И. Чекереса. М.: Колос, 2000. 536 с.
2. Добровольский Г.В., Гришина Л.А. Охрана почв. М.: Изд-во МГУ, 1985. 224 с.
3. Brusa T., Del Puppo E. Microbial degradation of the sulfonylurea herbicides. Current knowledge, 1995. V. 45. № 2. P. 321-330.
4. Feng Y., Minard R.D., Bollag J.-M. Photolytic and microbial degradation of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol // Environ. Toxicol. and Chem. 1998. V. 17. № 5. P. 814-819.
5. Ашихмина Т.Я., Колупаев А.В., Широких А.А. Биотрансформация пестицидов в наземных экосистемах (обзор литературы) // Теоретическая и прикладная экология. 2010. № 2. С. 4-12.
6. Бызов Б.А., Гузев В.С., Паников Н.С., Палеева М.В., Селипанов Д.Л., Вайда Й., Зенова Г.М., Лебедева Г.Ф. Микробиологические аспекты загрязнения почв пестицидами // Микроорганизмы и охрана почв. М.: Изд-во МГУ, 1989. С. 86-128.
7. Емнова Е.Е., Кодрян В.А. Механизм антимикробного действия пестицидов // Взаимодействия микроорганизмов с пестицидами. Кишинёв. 1984. С. 31-48.
8. Глазко В.И., Глазко Т.Т., Иутинская Г.А., Ямборко Н.И. Изменение ферментных спектров почвен-

ных микроорганизмов *Micrococcus luteus* ССБ248 и *Stenotrophomonas maltophilia* УКБ В-257 под влиянием некоторых пестицидов // Докл. Рос. акад. с.-х. наук. 2006. № 3. С. 27–31.

9. Ma J., Liang W., Xu L., Wang S., Wei Y., Lu J. Acute toxicity of 33 herbicides to the green alga *Chlorella pyrenoidosa* // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. 2001. V. 66. № 4. P. 536–541.

10. Shen Jianying, Luo Wei Effects of monosulfuron on growth, photosynthesis, and nitrogenase activity of three nitrogen-fixing cyanobacteria // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. 2011. V. 60. № 1. P. 34–43.

11. Lazar D.A. The influence of simazine and metribuzine herbicides on some physiological processes in *Botryococcus braunii* // Bulg. J. Plant Physiol. 1998. P. 312.

12. Nedossekin A.G. The estimation of insecticide sevens influence on the green microalgae // Водные экосистемы и организмы. 2000. № 2. С. 19.

13. Qian Haifeng, Chen Wei, Li Jingjing, Wang Jui, Zhou Zhen. Lui Weiping, Fu Zhegwei The effect of exogenous nitric oxide on alleviating herbicide damage in *Clorella vulgaris* // Aquat. Toxicol. 2009. V. 82. № 4. P. 250–257.

14. Rioboo C., O'Connor, J. E., Prado R., Herrero C., Cid A. Cell proliferation alteratiijnf in *Clorella* cells under stress conditions // Aquat. Toxicol. 2009. V. 94. № 3. P. 229–237.

15. Метелева Н.Ю. Изучение влияния тяжёлых металлов и пестицида на содержание пигментов фитоперифитона в эксперименте // Экол.-физиол. исслед. водорослей и их значение для оценки состояния природных вод. 1996. С. 157–158.

16. Berard A., Pelte T. Les herbicides inhibiteurs du photo-systeme II, effets sur les communautés algales et leur dynamique // Rev. sci. eau. 1999. V. 12. № 2. P. 333–361.

17. Сакевич А.И. Влияние фосфорсодержащих пестицидов на функциональную активность водорослей // Гидробиол. ж. 2010. Т. 46. № 1. С. 75–87.

18. Лось С.И. Влияние диурона на фикобилиновый комплекс представителей рода *Nostoc* Vauch. ex Born. et Flah // Вопр. мед химии. 1998. Т. 44. № 1. С. 63–65.

19. Гайсина Л.А., Фазлутдинова А.И., Кабиров Р.Р. Популяционная альгология. Уфа: Гилем, 2008. 152 с.

20. Downing H.F, Delorenzo M.E., Fulton M.H., Scott G.I., Madden C.j., Kuklick J.r. Effects of the agricultural pesticides atrazine, chlorothonil and endosulfan on South Florida microbial assemblages // Ecotoxicology. 2004. V. 13. № 3. P. 245–260.

21. Tang J., Hoaglad K.D., Siegfried B.D. Uptake and bioconcentration of atrazine by selected freshwater algae // Environ. Toxicol. and Chem. 1998. V. 17. № 6. P. 1085–1090.

22. Narusaka Y., Narusaka M., Kobayashi H., Satoh K. The herbicide-resistant species of the cyanobacterial D-1 protein obtained by thorough and random in vitro mutagenesis // Plant and Cell Physiol., 1998. V. 39. № 6. P. 620–626.

23. Ананьева Н.Д., Демкина Т.С., Стин У.Ч. Устойчивость микробных сообществ почв при внесении пестицидов // Почвоведение. 1997. № 1. С. 69–74.

24. Cui Shu-hua, Wang Kai-yun, Hong Ying, Gui Qing-long, Fan Kun Влияние тебуконазола на популяцию почвенных микроорганизмов и их дыхание // Non-gye huanjing kexue хuebao. 2005. V. 24. № 5. P. 865–869.

25. Xu Bujin, Zhang Yongxi, Zhu Nanwen, Ming Hong, Chen Meici, Zao Yuhua Effects of methamidophos on soil microbial activity // Environ. Behav. Crop. Prot. Chem. 1997. P. 489–494.

26. Zsolt S., Katai J., Nagy P.T., Zsuposne A.O. The effect of different herbicides on gome factors of carbon cycle in a chernozem // Bul. Univ. Agr. Sci. and Vet. Med. 2007. V. 63–64. P. 340.

27. Gigliotti C., Allievi L., Salardi C., Ferrari F., Farini A. Microbial. ecotoxicity and persistence in soil of the herbicide bensulfuron-methyl // J. Environ. Sci. and Health. 1998. V. 33. № 4. P. 381–398.

28. Кутузова Р.С., Воробьев Н.И., Круглов Ю.В. Структура микробного комплекса ризосферы пшеницы в условиях гербицидного стресса // Почвоведение. 2006. № 2. С. 220–227.

29. Jaya M.R., Rangaswamy V., Effect of selected insecticides on population and nitrogen fixing efficiency of *Azospirillum sp.* in groundnut soils // J. Ecotoxicol. and Environ. Monit. 2006. V. 16. № 2. P. 147–169.

30. Донцова Р. Биологична активност на почвата при употреба на хлорсулфурон // Селскостопю наука. 1997. Т. 35. № 2–3. С. 48–50.

31. Tu C.V. Effect of selected herbicides on activities of microorganisms in soils // J. Environ. Sci. and Health. 1996. V. 31. № 6. P. 1201–1214.

32. Ismail B.S., Goh K.M., Kader J. Effects of metsulfuron-methyl on microbial biomass and population in soils // J. Environ. Sci. and Health. 1996. V. 31. № 5. P. 987–999.

33. Digrak M., Ozcelik S. Effect of some pesticides on soil microorganisms // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. 1998. V. 60. № 6. P. 916–922.

34. Колупаев А.В., Широких А.А., Широких И.Г. Реакция гриба *Trichoderma viride* на пестицидное загрязнение // Иммунопатол. Аллергол. Инфектол. 2010. № 1. С. 64.

35. Сухаревич В.И., Кузикова И.Л., Медведева Н.Г. Влияние фунгицидов различной химической природы на физиолого-биохимические свойства микромицетов // Биотехнология. 2005. № 5. С. 70–76.

36. Furczak J., Koscielecka D. Saprofityczne mikrogrzyby oraz aktywnosc biochemiczna gleby brunatnej traktowanej eksperymentalnym fungicydem (IPO-12160) // Pestycydy. 1996. № 2. P. 13–33.

37. Sajbidor J., Lamaacka M., Balaz L., Huong Lai Mai, Ciesarova Z. Influence of new fenpropimorph fungicides on the growth and sterol composition in *Saccharomyces cerevisiae*: Relationship between structure and activity // J. Pharm. and Pharmacol. 1998. № 3. P. 297–301.

38. Казеев К.Ш., Лосева Е.С., Боровикова Л.Г., Колесников С.И. Влияние загрязнения современными пестицидами на биологическую активность чернозёма обыкновенного // *Агрехимия*. 2010. № 11. С. 39–44.
39. Штина Э.А. Действие гербицида 2,4-Д на почвенные водоросли // *Тр. Кировск. с.-х. ин-та*. 1957. Т. 2. Вып. 24. С. 29–34.
40. Балезина Л.С. Влияние некоторых удобрений и пестицидов на развитие почвенных водорослей // *Совр. состояние и перспективы изучения почвенных водорослей в СССР: Тр. межвузовской конф.* Киров. 1967. С. 208–214.
41. Морарь С.Н. Особенности развития водорослей на рисовых полях Кубани: Дис. канд. биол. наук. Краснодар. 1973. 158 с.
42. Neuhaus W., Seefeld F., Hahn A. Auswirkungen von Igran 500 flussig auf Abundanz von Bodenalgae unter Labor- und Freilandbedingungen // *Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienst*. 1997. V. 49. № 10. P. 260–267.
43. Nystrom B., Bjornsater B., Blank H. Effects of sulfonyleurea herbicides on non-target aquatic microorganisms // *Aquat. Toxicol.* 1999. V. 47. № 1. P. 9–22.
44. Chalam A.V., Sasikata C., Ramana C.V., Uma N.R., Rao P.R. Effect of pesticides on the diazotrophic growth and nitrogenase activity of purple nonsulfur bacteria // *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.* 1997. V. 58. № 3. P. 463–468.
45. Riva M.C., Lopez D., Fabian L. Toxicidad de plaguicidas organofosforados en microalgas acuaticas // *Bol. Intexte*. 1998. № 113. P. 25–29.
46. Tang J.-X., Hoagland K.D., Siegfried B.D. Different toxicity of atrazine to selected freshwater algae // *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.* 1997. V. 59. № 4. P. 631–637.
47. Sancho E., Sanchez M., Ferrando M.D., Andreu-Moliner E. Effects of thiobencarb herbicide to an alga (*Nannochloris oculata*) and the cladocera (*Daphnia magna*) // *J. Environ. Sci. and Health*. 2001. V. 36. № 1. P. 55–65.
48. Saenz M.E., Di Marzio W.D., Alberdi J.L., del Carmen T.M. Effects of technical grade and a commercial formulation of glyphosate on algal population growth // *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.* 1997. V. 59. № 4. P. 638–640.
49. Березин Г.И., Елькина Т.С., Гайфутдинова А.Р., Старкова Д.Л., Домрачева Л.И. Влияние гербицидов на развитие альго-микологических комплексов под культурой лядвенца рогатого // *Адаптационные реакции живых систем на стрессорные воздействия: Матер. Всерос. молодёжной конф.* Киров: ООО «Лобань», 2012. С. 92–95.
50. Nelson K.J., Hoagland K.D., Siegfried B.D. Chronic effects of atrazine on tolerance of a benthic diatom // *Environ. Toxicol. and Chem.* 1999. V. 18. № 5. P. 1038–1045.
51. DeLorenzo M.E., Scott G.I., Ross P.E. Effects of the agricultural pesticides atrazine, deethylatrazine, endosulfan and chlorpyrifos on an estuarine microbial foot web // *Environ. Toxicol. and Chem.* 1999. V. 18. № 12. P. 2824–2835.
52. Wei L., Yu H., Fen S., Wang L. The effect of three sulfonyleurea herbicides and their degradation products on the green algae *Chlorella pyrenoidosa* // *Chemosphere*. 1998. V. 37. № 4. P. 747–751.
53. Круглов Ю.В. Микрофлора почвы и пестициды. М.: Агропромиздат, 1991. 128 с.
54. Домрачева Л.И., Дабах Е.В. Химико-биологический мониторинг почв (на примере Кильмезского захоронения ядохимикатов // *Современные проблемы загрязнения почв: материалы III международной научной конф.* М. 2010. С. 345–349.
55. Помелов А.В., Березин Г.И., Домрачева Л.И. Адаптационные резервы высшего растения и почвенной альгофлоры при действии пестицидов // *Теор. и прикл. экология*. 2011. № 3. С. 87–93.
56. Брагинский Л.П. Пестициды и жизнь водоёмов. Киев: Наукова думка, 1972. 227 с.
57. Балезина Л.С. Об использовании водорослей для определения токсичности почвы при применении различных пестицидов // *Методы изучения и практического использования почвенных водорослей: Тр. Кировского с.х. ин-та*. Киров. 1972. С. 251–257.
58. Круглов Ю.В., Квятковская Л.В. Использование микроскопических водорослей для первичных (отборочных) испытаний вновь синтезируемых гербицидных препаратов // *Результаты научно-исследовательских работ по созданию новых пестицидов, внедрению их в производство и применению в сельском хозяйстве. Тез. докл. Всесоюз. конф.* М. 1972. С. 51.
59. Burhenn M., Deml G. Biotests mit Bodenalgae zur Okotoxikologie von Schwermetallen und zur Bewertung von Pflanzenschutzmitteln // *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- und Forstwirtschaft. Berlin-Dahlem*. 1996. № 321. P. 130.
60. Артюхова В.И. Комплексный анализ действия фунгицида сульфата имазалила на культуру *Scenedesmus quadricauda* // *Экол.-физиол. исслед. водорослей и их значение для оценки состояния природных вод*. 1996. С. 163–164.
61. Neuhaus W., Pallutt B. Eucaryotische Bodenalgae – Indikatoren für Auswirkungen von Herbiziden in Landwirtschaftlich genutzten Boden // *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- und Forstwirtschaft. Berlin-Dahlem*. 1998. № 357. P. 392.
62. Marutha R.C.R., Suguna S., Shanmugaasundaram S. Tolerance of *Oscillatoria* isolates to agrochemicals and pyrethroid components // *Indian J. Exp. Biol.* 2000. V. 38. № 4. P. 402–404.
63. Rojickova-Padrtova R., Marsalek B. Selection and sensitivity comparisons of algal species for toxicity testing // *Chemosphere*. 1999. V. 38. № 14. P. 3329–3338.
64. Fairchild J.F., Ruessler D.S., Carlson A.R. Comparative sensitivity of five species of macrophytes and six species of algae to atrazine, metribuzin, alachlor, and metolachlor // *Environ. Toxicol. and Chem.* 1998. V. 17. № 9. P. 1830–1834.

65. Гайфутдинова А.Р., Елькина Т.С., Березин Г.И., Домрачева Л.И. Оценка воздействия пестицидов старого и нового поколений на развитие почвенных микробных комплексов // Адаптационные реакции живых систем на стрессорные воздействия: Матер. Всерос. молодёжной конф. Киров: ООО «Лобань», 2012. С. 128–131.
66. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Ашихмина Т.Я., Огородникова С.Ю., Олькова А.С., Фокина А.И. Применение тетразольно-топографического метода определения нитрогеназной активности цианобактерий в загрязнённых средах // Теор. и прикл. экология. 2008. № 2. С. 23–28.
67. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Елькина Т.С., Ефремова В.А., Березин Г.И., Злобин С.С., Гайфутдинова А.Р. Биотестирование с использованием цианобактерий // Адаптационные реакции живых систем на стрессорные воздействия: Матер. Всерос. молодёжной конф. Киров: ООО «Лобань», 2012. С. 171–182.
68. Домрачева Л.И., Елькина Т.С., Березин Г.И., Злобин С.С., Гайфутдинова А.Р. Использование цианобактерий для биотестирования почв при их химическом загрязнении // Materialy VIII mezinarodni vedecko – practicka conference. Dny vedy – 2012. Dil 74. Praha. 2012. P. 15–19.
69. Sousa J.P., Rodrigues J.M.L., Loureiro S., Soares A.M.V.M., Jones S.E., Forster B., van Gestel C.A.M. Ring-testing and field-validation of a Terrestrial Model Ecosystem (TME) - an instrument for testing potentially harmful substances: effects of carbendazim on soil microbial parameters // Ecotoxicology. 2004. V. 13. № 1. P. 43–60.
70. Berard A., Benninghoff C. Pollution-induced community tolerance (PICT) and seasonal variations in the sensitivity of phytoplankton to atrazine in nanocosms // Chemosphere. 2001. V. 45. № 4–5. P. 427–437.
71. Гузев В.С., Бондаренко Н.Г., Бызов Б.А., Мирчинк Т.Г., Звягичев Д.Г. Структура иницированного микробного сообщества как интегральный метод оценки микробиологического состояния почв // Микробиология. 1980. Т. 40. № 1. С. 31–34.
72. Rousseaux S., Hartmann A., Rouard N., Soulas G. A simplified procedure for terminal restriction fragment length polymorphism analysis of the soil bacterial community to study the effects of pesticides on the soil microflora using 4,6-dinitroorthocresol as a test case // Biol. and Fert. Soils/2003. V. 37. № 4. P. 250–254.
73. Шулятьева Н.О., Березин Г.И., Дабах Е.В., Домрачева Л.И. Биоиндикация и биотестирование состояния почвы в районе Кильмезского захоронения ядохимикатов с использованием организмов различной систематической принадлежности // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах. Матер. междунар. научно-практ. конф., посвящённой 100-летию со дня рожд. проф. Э.А. Штиной. Киров / 2010. С. 334–338.
74. Головлёва Л.А. Деградация пестицидов микроорганизмами: возможность, ограничения и практические перспективы // Тр. Ин-та микробиол. и вирусол. АН КазССР. 1980. С. 41–52.
75. Головлёва Л.А., Финкельштейн Э.И., Перцова Р.Н. Роль микроорганизмов в разложении пестицидов в окружающей среде // Результаты научных исследований в практику сельского хозяйства. М.: Наука, 1982. С. 64–73.
76. Veeh R.H., Inskeep W.P., Camper A.K. Soil depth and temperature effects on microbial degradation of the 2,4-D // J. Environ. Qual. 1996. V. 25. № 1. P. 5–12.
77. Охрана окружающей среды при использовании пестицидов. Под ред. В.П. Васильева. Киев: Урожай, 1983. 128 с.
78. Potenza D., Moll O., Nario A., Luzio W., Pino L., Parada A.M. Biodegradation of Chlorpyrifos in two soils of the VI Region of Chile, using isotopic techniques // Agrochimica. 2009. V. 53. № 1. P. 1–12.
79. Navarro S., Bermejo S., Vela N., Hernandez J. Rate of loss of simazine, terbuthylazin, and methabenzthiazuron during soil solarization // J. Agr. and Food Chem. 2009. V. 57. № 14. P. 6375–6382.
80. Sondhia S. Leaching behaviour of metsulfuron in two texturally different soils // Environ. Monit. and Assess. 2009. V. 154. № 1–4. P. 111–115.
81. Struthers J.K., Jayachandran K., Moorman T.B. Biodegradation of atrazine of *Agrobacterium radiobacter* J14a and use of this strain in bioremediation of contaminated soil // Appl. and Environ. Microbiol. 1998. V. 64. № 9. P. 3368–3375.
82. Ponneelan K.T.P.B., Subramanian C., Suchitra R., Ganesh K.G. Studies on the pesticide (Lindane) utilizing in the paddy field // J. Ecotoxicol. and Environ. Monit. 2006. № 3. V. 16. P. 211–214.
83. Masaphy S., Fahima T., Levanon D., Henis Y., Mingelgrin U. Paration degradation by *Xanthomonas sp.* and its crude enzyme extract in clay suspensions // J. Environ. Qual. 1996. V. 26. № 6. P. 1248–1255.
84. Zablotowicz R.M., Schrader K.K., Locke M.A. Algal transformation of fluometuron and atrazine by N-dealkylation // J. Environ. Sci. and Health, 1998. V. 33. № 5. P. 511–528.
85. Ravi V., Balakumar T. Biodegradation of the C-P bond in glyphosate by the cyanobacterium *Anabaena variabilis* L. // J. Sci. and Res. 1998. V. 57. № 10–11. P. 790–794.
86. Balasubramanian R., Chandrasehar G., Ayyappan S. Utilisation of monocrotophos as a source of phosphorus by bacteria and fungi // J. Ecobiol. 2006. V. 18. № 3. P. 213–217.
87. Shen R., Luo Y., Li Z., Teng Y., Zhang G. Очистка почвы, загрязнённой смесью органических поллютантов, поступивших с осадками сточных вод, в регионе дельты реки Янцзы // J. Agro-Environ. Sci., 2007. V. 26. № 4. P. 1501–1505.
88. Cetkauskaite A., Grigonis U., Berzinskiene J. Biodegradation Selection of suitable model // Ecotoxicol. and Environ. Safety. 1998. V. 40. № 1–2. P. 19–28.

89. Wenk M., Bourgeois M., Allen J., Stucki G. Effects of atrazine-mineralizing microorganisms on weed growth in atrazine-treated soils // *J. Agr. and Food Chem.* 1997. V. 45. № 11. P. 4474–4480.
90. Rodrigues C.J., Harkin J.M. Degradation of atrazine in subsoil, and groundwater mixed with aquifer sediments // *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.* 1997. V. 59. № 5. P. 728–735.
91. Shapir N., Mandelbaum T., Atrazine degradation in subsurface soil by indigenous and introduced microorganisms // *J. Agr. and Food Chem.* 1997. V. 45. № 11. P. 4481–4486.
92. Xu J., Qui X., Dai J., Cao H., Yang M., Zhang J., Xu M. Isolation and characterization of a *Pseudomonas oleovorans* degrading the chloroacetamide herbicide acetochlor // *Biodegradation*, 2006. V. 17. № 3. P. 219–225.
93. Kulowski K., Zirbes E.L., Thede B.M., Rosazza J.N. Microbial transformations of prosulfuron // *J. Agr. and Food Chem.* 1997. V. 45. № 4. P. 1479–1485.
94. Mohapatra S., Awasthi M.D. Enhancement of carbofuran degradation by soil enrichment cultures, bacterial cultures and by synergistic interaction among bacterial cultures // *Pestic. Sci.* 1997. V. 49. № 2. P. 164–168.
95. Mercadier C., Vega D., Bastide J. Iprodione degradation by isolated soil microorganisms // *Fems Microbiol. Ecol.* 1997. V. 23. 3. P. 207–215.
96. Кочетков В.В., Балакшина В.В., Наумов А.В., Грищенко В.Г., Боронин А.М. Выделение и характеристика бактерий-деструкторов пестицидов // *Прикл. биохимия и микробиол.* 1997. Т. 33. № 3. С. 310–313.
97. Maloney S.E. Degradation of insecticides and herbicides by Fungi // *J. Chem. Technol., and Biotechnol.* 1998. V. 71. № 4. P. 360–362.
98. Yang L., Zhao Y., Zhang B., Zhang X. Выделение и характеристика бактерий, разлагающих хлорпириб и их использование для биовосстановления почвы //
99. Zhang D., Tan X., Luo X., He M., Dai J., Zhang Z., Oiu Y. Выделение фотосинтезирующей бактерии HP-1, способной к деградации органофосфорных инсектицидов // *Shengming kexue yanjiu.* 2005. V. 9. № 3. P. 247–253.
100. Singh S., Datta P. Screening and selection of most potent diazotrophic cyanobacterial isolate exhibiting natural tolerance to rice field herbicides for exploitation as biofertilizer // *J. Basic Microbiol.*, 2006. V. 46. № 3. P. 219–225.
101. Галиулин Р.В., Галиулина Р.А. Импактные зоны стойких хлорорганических соединений в окружающей среде // *Агрехимия.* 2010. № 3. С. 83–89.