

# СЕЛЬСКОЕ И ЛЕСНОЕ ХОЗЯЙСТВО

---

МРНТИ 68.05.45

И.В.Лобанова<sup>1</sup>, Ж.Ж.Ташпулатов<sup>1</sup>, Л.И.Зайнитдинова<sup>1</sup>,  
С.И.Куканова<sup>1</sup>, А.М.Исмаев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии АН РУз, г. Ташкент, Узбекистан

## ВЛИЯНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ПЕСТИЦИДОВ НА МИКРООРГАНИЗМЫ\*

---

**Аннотация.** Работа посвящена поиску возможных путей решения экологических проблем в условиях возрастающего антропогенного воздействия на окружающую среду. Микробиологический и химические анализы образцов почвы, отобранных из зоны Приаралья выявил их низкую биогенность, которая обусловлена как типом почвы, так и степенью засоления и присутствием остаточных концентраций пестицидов. Установлено, что микробоценоз изученных почв обладает достаточно устойчивым свойством, при этом организующую роль в нем выполняют бактерии родов *Bacillus* и *Pseudomonas*. Вновь выделенные штаммы *Bacillus* sp. и *Pseudomonas* sp. обладают значительной устойчивостью к исследованным пестицидам (хлорпирифос+циперметрин), что предполагает у них наличие потенциала деструкции ксенобиотиков. Подтверждено, что микробоценоз почв обладает достаточно устойчивым свойством, в основе которого лежит принцип существования видовых популяций. Таким образом, интродукция активных микроорганизмов-деструкторов может оказать влияние на снижение уровня концентрации пестицидов в почве и повышение ее естественного плодородия.

**Ключевые слова:** экология Приаралья, микробоценоз почв, микроорганизмы-деструкторы, хлорпирифос, циперметрин, биодеструкция.

\* \* \*

**Тўиндеме.** Жўмыс қоршаған ортаға әсер ететін үдемелі антропогендік әсер жағдайындағы экологиялық мәселелерді шешу жолдарын іздестіруге арналған. Арал өңірінен алынған топырақ үлгілеріне жүргізілген микробиологиялық және химиялық талдаулар жер сортаңдығының түрі мен дәрежесін және пестицидтер шоғырланған қалдықтарының бар екенін көрсет-

---

*\*Работа выполняется в рамках прикладного исследования, финансируемого Комитетом по координации развития науки и техники Республики Узбекистан.*

тетін биогенділіктің төмендігін анықтады. Зерттеулер нәтижесі тексерілген топырақ микробиоценозының айтарлықтай төзімді қасиеті бар екенін, оларда ұйымдастырушы рөлін *Bacillus* және *Pseudomonas* текті бактерияларының атқаратынын көрсетті. Қайта ерекшеленген *Bacillus* sp. және *Pseudomonas* sp. штаммдарының, ксенобиотиктер құрылымы бұзыла бастаған, зерттелген пестицидтерге (хлорпирифос+циперметрин) тұрақты екені анықталды. Сараптамалар негізінде түр-тұқым популяциясының тіршілік ету қағидасы бар топырақ микробиоценозының тұрақты қасиеті бар екенін дәлелдеді. Осылайша, белсенді микроорганизмдер-деструкторларды жерсіндіру топырақтағы пестицидтердің шоғырлану деңгейін төмендетуге және оның табиғи құнарлануына әсер етеді.

**Түйінді сөздер:** Арал өңірінің экологиясы, топырақ микробиоценозы, микроорганизмдер-деструкторлар, хлорпирифос, циперметрин, биодеструкция.

\* \* \*

**Abstract.** The work is devoted to the search of possible solutions of environmental problems in conditions of increasing anthropogenic impact on the environment. The carried out microbiological and chemical analyzes of soil sample, taken from the area adjacent to Aral revealed their low biogenic, which is caused by a type of soil, as well as the salinity degree and the presence of residual pesticide concentrations. The results showed that microbiocenosis of studied soil has sufficiently resistant property, while its organizational role is operated by bacteria of the genera *Bacillus* and *Pseudomonas*. It was found out that newly isolated strains of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. have sufficient resistance to the studied pesticides (chlorpyrifos + cypermethrin), their potential of xenobiotic degradation. Experiments have confirmed that microbiocenosis has enough resistant property, wherein the principle of existence of species population. Thus, the introduction of active microorganisms-destroyers may have an impact on reduction of level of pesticides in soil and increase its natural fertility.

**Key words:** Aral region ecology, soil microbiota, microorganisms-destroyers, chlorpyrifos, cypermethrin, biodegradation.

**Введение.** Районы южного Приаралья характеризуются наличием целого комплекса экстремальных факторов с усиленным развитием процессов засоления и загрязнения экосистем пестицидами. Присутствие пестицидов в целинных землях обусловлено их миграцией, на которую влияют многие факторы, а именно свойства и состав почвы, влажность, скорость просачивания и т.д. [1]. Немаловажным для Приаралья в этом плане яв-

ляется ветровой вынос пыли в окружающую среду, что также способствует наличию минимального количества пестицидов вдали от орошаемых земель. Из атмосферы пестициды и их производные попадают в воду, почву, продолжая циркулировать в окружающей среде. Именно перенос по воздуху обуславливает широкое распространение в окружающей среде стойких веществ, которые могут обнаруживаться на значительном расстоянии от мест их применения, что способствует снижению микробиологической активности в почвах данного региона [2].

Основной источник поступления пестицидов в окружающую среду – обработка ими сельскохозяйственных культур, семян, лесных угодий, водоемов. Очевиден положительный эффект от применения пестицидов в различных сферах хозяйственной деятельности человека, однако они постепенно накапливаются в почве и водоемах, что, несомненно, свидетельствует о негативных последствиях использования таких препаратов [3]. Необходимость исследования взаимодействия пестицидов с почвенной микрофлорой обусловлена важнейшей ролью микроорганизмов в создании почвенного плодородия и детоксикации почвы от ксенобиотиков [4-6]. Как известно, пестициды снижают микробиологическую активность почвы, увеличивая таким образом токсическое действие на неё. В результате нагрузка на почвенные микроорганизмы при разложении химических веществ многократно усиливается. Как показано многочисленными исследованиями, пестициды в различных концентрациях могут подавлять рост отдельных групп микроорганизмов, либо стимулировать их развитие. Так, было установлено, что в микробном сообществе чернозема южного карбонатного Северного Казахстана в условиях дефицита влаги при однократном применении гербицидов на основе 2,4-Д и феноксапроп-п-этила численность почвенных бактерий снижается в 2-4 раза [7]. А при длительном применении гербицидов численность почвенных грибов увеличивается в 1,5-2,0 раза, количество аэробных целлюлозоразрушающих микроорганизмов – в 1,6-2,0 раза [8]. Поэтому разработка микробиологического способа биоремедиации почвы, получение штаммов микробов-деструкторов пестицидов и последующая

интродукция их в природные экосистемы имеют большое значение [9-11].

**Методы исследования.** Изучение образцов почв районов зоны высохшей части Аральского моря было проведено весной 2013-2014 гг. Образцы почв отбирали в прибрежной части Аральского моря и в районе пригорода г. Нукус. При этом отбирались образцы почвы с бывших обрывов и со дна (высохшего) Аральского моря (весна 2014 г.). Глубина отбора 0-9 см. Микробиологическое обследование проводили по общепринятым методикам. Учитывали следующие группы микроорганизмов: общее количество органотрофных бактерий, аммонификаторы, споровые бактерии, олигонитрофилы, денирификаторы, нитрификаторы, азотобактер. Для этого использовались следующие питательные среды: МПА МПБ + сусло агар, МПБ, Чапека - Докса, Гильтая, Виноградского. Определение количества микроорганизмов в 1 г (1 мл) исходного субстрата проводили методом серийных разведений с высевом на твердые и жидкие среды [12]. Агрохимический анализ почвенных образцов и разложение пестицидов выполнялось в химической лаборатории УзГидроМет ([www.meteo.uz](http://www.meteo.uz)).

**Результаты исследования.** Для определения качественного и количественного состава развивающейся микрофлоры в столь специфическом районе были отобраны пробы почвы, характеризующие прибрежную часть и высохшее дно Аральского моря. По количеству легко растворимых солей почвы являются солончаковатыми с хлоридным, хлоридносульфатным засолением и солонцевато-солончаковыми с хлоридным засолением, pH 7,8-8,0. Проведенный анализ отобранных проб с обнажившегося дна и бывших берегов Аральского моря показывает, что максимальное количество солей наблюдается в образцах со дна высохшего моря. Так, количество хлоридов на старых обрывах Арала составляет 35-4000 мг/кг на высохшем дне Аральского моря, соответственно сульфатов – 136-1200 мг/кг. Почвы характеризуются низким уровнем содержания гумуса (1-1,2 %), свидетельствующим о том, что территория Республики Каракалпакстан является специфическим регионом, поскольку большая часть

территории подвержена опустыниванию и засолению. Также показано наличие в исследуемых пробах остаточных концентраций ДДТ – 0,1-0,2 ПДК.

Микробное сообщество почвы – это динамичная, хорошо согласованная система со сложной пространственной и трофической организацией. Анализ развития микробиты в этих довольно сложных условиях показывает, что в засоленных почвах с остаточными концентрациями пестицидов выявляемое количество споровых, аммонифицирующих микроорганизмов и олигонитрофилов заметно снижается, и практически не выявляются денитрифицирующие бактерии и актиномицеты. При этом следует отметить, негативное влияние пестицидов на микробиологические процессы, протекающие в почве, сильнее всего действуют на процессы нитрификации (нитрификаторы из исследуемых зон не выделялись) и в меньшей степени – на аммонификацию. Эта тенденция к подавлению указанных групп микроорганизмов сохраняется при анализе всех исследуемых участков (рис.1). Общее количество бактерий, выявляемых на МПА, довольно значительно для таких почв. Следует отметить наличие спорозоносных микроорганизмов практически во всех исследуемых образцах, среди которых в исследуемых образцах в основном выявлялись *Bacillus subtilis*, *B.megaterium*, *B.cereus*. Бактериальная биота также представлена неспорозоносными бактериями рода *Pseudomonas*.

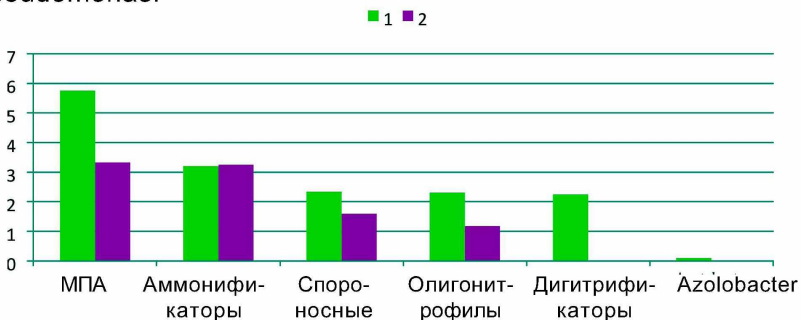


Рис. 1. Микробиологический анализ почв с остаточными концентрациями пестицидов

Интенсивное и постоянное применения химикатов приводит к возрастанию нагрузки на почву и почвенные микроорганизмы, которые являются одним из основных факторов, влияющих на разложение ксенобиотиков в экосистеме. Можно сказать, что многие представители почвенной микробиоты являются естественными биоиндикаторами, отражающими изменения в почве. Очевидно, это связано с их огромным значением в почвообразовательных процессах и высокой чувствительностью к воздействию всякого рода загрязнений [13, 14].

При всем многообразии сведения о воздействии пестицидов на почвенные микроорганизмы часто противоречивы. Среди потенциально возможных реакций почвенных микроорганизмов и осуществляемых ими процессов на пестициды в той или иной степени выделяются различные варианты угнетения и стимуляции активности, а также индифферентного отношения к пестициду. Типы реакции почвенных микроорганизмов на пестициды колеблются в широких пределах: от высокой устойчивости до высокой чувствительности. Согласно Домшу [15], численность чувствительных организмов сильно сокращается, или же они вообще исчезают из посевов почвенных проб, загрязненных пестицидами.

Исходя из этих положений у выявленных микроорганизмов была определена чувствительность по отношению к исследуемому пестициду (хлорпирифос + циперметрин). Были опробованы 7 штаммов *Bacillus*, азотобактер, 3 штамма *Pseudomonas*. В ходе исследования по определению минимальной ингибирующей концентрации данной смеси пестицидов установлено, что некоторые из выделенных штаммов чувствительны к незначительным концентрациям, тогда как штаммы *Bacillus* sp. 1 и 2, *Pseudomonas* показали значительную устойчивость к исследуемым пестицидам (таблица). На выделенный из экстремальной зоны штамм *Azotobacter* 1-3Л данный пестицид оказывал стимулирующее действие. Так, в присутствии пестицида в среде (хлорпирифос + циперметрин 500/50 г/л) наблюдается увеличение количества клеток на порядок.

### Чувствительность микроорганизмов к пестициду

Штамм	Хлорпирифос + циперметрин г/л
<i>Bacillus sp. 1</i>	50,0/5,0
<i>Bacillus sp. 2</i>	50,0/5,0
<i>Bacillus sp. 3</i>	12,5/1,25
<i>Bacillus sp. 4</i>	25,0/2,5
<i>Bacillus sp.5</i>	12,5/1,25
<i>Bacillus sp.8</i>	6,25/0,6
<i>Bacillus sp.9</i>	3,1/0,31
<i>Pseudomonas sp. 3</i>	50,0/5,0
<i>Pseudomonas sp. 5</i>	12,5/1,25
<i>Pseudomonas sp. 6</i>	3,1/0,31
<i>Azotobacter sp. 1-3Л</i>	500,0/50,0

Нами проанализирована ростовая активность бациллярных форм и азотобактера при росте на синтетической среде и элективных средах (рис. 2).

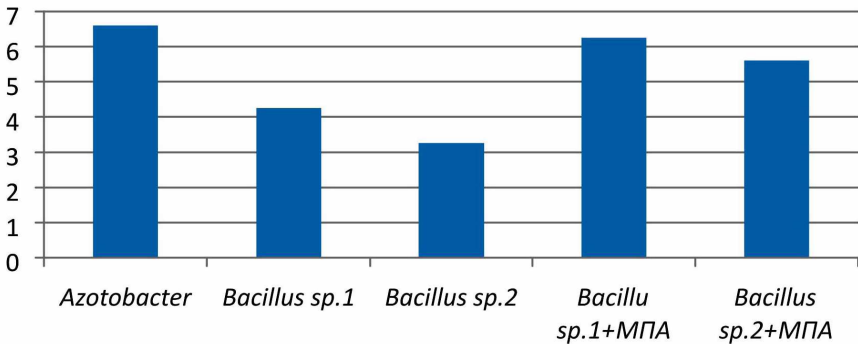


Рис. 2. Микроорганизмы дна Арала и их реакция на пестицидные загрязнения

Количество выявляемых клеток заметно снижается при культивировании на синтетической среде, однако соответствует экологически значимым цифрам влияние смеси хлорпирифос + циперметрин г/л в количестве 50,0/5,0 на ростовой активности наиболее устойчивых культур микроорганизмов на средах с пести-

цидами показал, что на минеральных средах рост микроорганизмов снижается. Однако наличие пестицидов как единственного источника углерода дает возможность предполагать у них значительные возможности к биодеструкции этих пестицидов.

**Выводы.** Проведенные микробиологический и химические анализы исследуемых образцов высохших зон Арала показывают, что они обладают низкой биогенностью, обусловленной как типом почвы, так и степенью засоления, остаточными концентрациями пестицидов. Многие физиологические группы микроорганизмов либо не выявляются, либо присутствуют в незначительном количестве. Результаты экспериментов позволяют утверждать, что микробоценоз почв обладает достаточно устойчивым свойством, в основе которого лежит принцип существования видовых популяций. Организующую роль в нем выполняют бактерии родов *Bacillus* и *Pseudomonas*, что согласовывается с другими исследованиями [16, 17]. Представители этих родов в основном и участвуют в детоксикации почвы от различных ксенобиотиков. При определении чувствительности выделенных микроорганизмов к смеси пестицидов установлено разнообразие ответных реакций бактерий на пестициды. Некоторые из выделенных штаммов бактерий чувствительны к незначительным концентрациям, тогда как штаммы *Bacillus* sp. 1 и 2, *Pseudomonas* продемонстрировали значительную устойчивость к исследуемым пестицидам, что дает нам основание предполагать у них наличие потенциала деструкции последних. Внесение оптимальных доз такого рода микроорганизмов, установленных экспериментальным путем, может оказать существенное влияние на уровень концентрации пестицидов в столь важной природной среде, как почва.

### **Список литературы**

1 Курбанов А.Б., Ешанов Т.Б., Ибрагимов М.Ю., Константинова Л.Г., Темирбеков О., Косназаров К.А. Гигиеническая оценка пестицидов, применяемых в Республике Каракалпакстан. – Нукус: Билим, 2002. – 76 с.



2 Реймов Р.Р., Константинова Л.Г. Особенности стратегии природопользования в условиях экологического кризиса в южном Приаралье // Медико-экологические проблемы Приаралья и здоровье населения. – Нукус, 1991. – С. 37-42.

3 Ижевский С.С. Негативные последствия применения пестицидов // Защита и карантин растений. – 2006. – № 5. С.16-19.

4 Арипов Т.Ф., Ташпулатов Ж.Ж., Зайнитдинова Л.И., Куканова С.И. Микроорганизмы зон пестицидного загрязнения // Биотехнология состояние и перспективы развития: тез. докл. VIII Моск. Междунар. конгресса: Ч. 2. – М, 2015. – С. 394-395.

5 Зайнитдинова Л.И., Куканова С.И., Ташпулатов Ж.Ж. Микробиота районов южного Приаралья // Science and world. (International scientific journal, Russia). – 2016. – № 9 (37), Vol. 1. – P. 64-66.

6 Diez M.C. Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants // J. Soil. Sci. Plant Nutr. – 2010. № 10. – P. 244-267 10.4067/S0718.

7 Кунанбаев К., Власенко Н.Г. Влияние гербицидов на некоторые микроорганизмы южного карбонатного чернозема // Вестник НГАУ. – 2013. – №1(26). – С. 32-36.

8 Кунанбаев К.К., Котвицкая Н.Б., Ахметова Г.К. Мониторинг южных карбонатных черноземов Северного Казахстана // Вестн. Каз. нац. ун-та им. аль-Фараби. Сер. биологическая. – 2008. – № 1 (36). – С. 104-105.

9 Ki, K.D., Ahn J.H., Kim T., Park S.C., Seong C.N., Song H.G. Genetic and phenotypic diversity of fenitrothion-degrading bacteria isolated from soils // J. Microbiol. Biotechnol. – 2009. – Vol. 19. – P. 113-120.

10 Cabrera J.A., Kurtz A., Sikora R.A., Schouten A. Isolation and characterization of fenamiphos degrading bacteria // Biodegradation. – 2010. – Vol. 21. – P. 1017-1027.

11 Решетов Г.Г., Тугаева Т.А. Эффективность метода микробной деструкции пестицида тетраметилтиурамдисульфида // Вестн. Саратов. гос. соц.-эконом. ун-та. – 2012. – № 5 (44). – С. 220-223.

12 *Нетрусов А.И., Егоров М.А., Захарчук Л.М.* Практикум по микробиологии. – М.: Академия, 2005. – С. 96-242.

13 *Круглов Ю.В.* Микрофлора почвы и пестициды. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 97-129.

14 *Carine F., Chevremont A.C., Joanico K., Capowiez Y., Criquet S.* Indicators of pesticide contamination: Soil enzyme compared to functional diversity of bacterial communities // *European Journal of Soil Biology*. – 2011. – Vol. 47. – P. 256 -263.

15 *Domsch K.H., Jagnow O., Anderson T.H.* An ecological concept for the assessment of side effects of agrochemicals on soil microorganisms // *Residue Reviews*. – 1983. – Vol. 86. – P. 65-105.

16 *Ксенофонтова О.Ю.* Взаимодействия пестицидов и микроорганизмов почвы: автореф. дис. канд. биол. наук. – Саратов, 2004. – 26 с.

17 *Borah D., Yadav R.N.S.* Biodegradation of Complex Hydrocarbon by a Novel *Bacillus cereus* Strain // *Journal of Environmental Science and Technology*. – 2014. – Vol. 7. – P. 176-184.

***Лобанова Инна Валерьевна***, младший научный сотрудник, г. Ташкент

***Ташпулатов Жавлон Жамондинович***, заведующий лабораторией коллекции микроорганизмов, кандидат биологических наук, e-mail: imbasru@uzsci.net

***Зайнитдинова Людмила Ибрахимовна***, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, e-mail: zajn-lyudmila@yandex.ru (автор ответственный за переписку)

***Куканова Светлана Ивановна***, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, г. Ташкент, e-mail: kukanova\_s@mail.ru

***Исमतов Азамат Муйдинжонович***, младший научный сотрудник