

Биолог. журн. Армении, 3 (63), 2011

РОСТ НЕКОТОРЫХ ПОЧВЕННЫХ АЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ В ПРИСУТСТВИИ ИНСЕКТИЦИДОВ АКТАРА И КОНФИДОР

Н.И. МКРТЧЯН, Г.Э. ХАЧАТРЯН*, С.Ш. ТАТИКЯН, Н.В. СИМОНЯН

*Национальная научная лаборатория имени А.И. Алиханяна,
(Ереванский физический институт),
* Лаборатория радиационной биофизики
E-mail: garnik@mail.yerphi.am*

Исследовалась способность некоторых культур микроорганизмов, выделенных из почвы в районе захоронения сельскохозяйственных пестицидов (“Нубарашенский могильник”), подвергать биодegradации хлорсодержащие инсектициды тиаметоксам (“АКТАРА”) и имидаклоприд (“КОНФИДОР”). Выявлен ряд культур, толерантных к присутствию высоких концентраций актары и конфидора в среде (на пределе растворимости этих веществ в воде). У некоторых из них обнаружена слабовыраженная способность подвергать актару биотрансформации при их культивировании в жидкой культуральной среде. При проведении ферментации в среде с конфидором роста микроорганизмов практически не наблюдалось. По ряду признаков культуры относятся к роду *Pseudomonas*. Обнаружены значительные фенотипические изменения колоний у культур, длительно контактировавших с актарой, при подсчете числа колониеобразующих клеток путем посева на среде МПА в ходе проведения ферментаций на среде с инсектицидом. Поскольку данное явление наблюдалось лишь у части образующихся колоний (примерно у 5-10%), позволительно сделать допущение о мутагенном воздействии актары на культуры микроорганизмов.

Кроме того, обнаружено явление образования “гало” вокруг колоний у ряда штаммов после нескольких пересевов на плотной минимальной среде, содержащей в качестве источника углерода и азота актару. Обратный пересев на МПА приводил к исчезновению феномена. При росте в присутствии конфидора образование “гало” не наблюдалось.

Инсектицид – биодegradация – актара – конфидор – гало – мутация

Հետազոտվել է Նուբարաշենի գյուղատնտեսական թունաքիմիկատների գերեզմանոցի տարածքից անջատված որոշ մանրէների կուլտուրաների քլորօրգանական թիամետոքսամ (ակտարա) և իմիդակլոպրիդ (կոնֆիդոր) պեստիցիդները քայքայելու ընդունակությունը: Հայտնաբերվել են կուլտուրաներ, որոնք դիմացկուն են աճի միջավայրում այդ նյութերի բարձր (ջրում լուծելիության սահմանում) խտությունների ներկայությամբ: Դրանց մի մասը ակտարան քայքայելու թույլ արտահայտված ընդունակություն ունի: Կոնֆիդորի ներկայությամբ կուլտուրաների աճ գործնականում չի նկատվել: Որոշ հատկանիշերի համաձայն այս կուլտուրաները պատկանում են *Pseudomonas* ցեղին: Ակտարայի հետ երկարատև շփման արդյունքում կուլտուրաները ցուցաբերում են զգալի ֆենոտիպիկ փոփոխություններ, որոնք ի հայտ են գալիս ՄՊԱ միջավայրում գաղութագրյացնող բջիջների քանակի հաշվարկի ժամանակ: Քանի որ այդ երևույթը նկատվում է գաղութների միայն մի մասի մոտ, (մոտավորապես 5-10%) կարելի է ենթադրել, որ ակտարան այս կուլտուրաների վրա մուտագեն ազդեցություն ունի:

Բացի դրանից, որպես ազոտի և ածխածնի աղբյուր ակտարա պարունակող նվազագույն միջավայրում մի քանի հաջորդական ցանքերից հետո զաղութների շուրջն առաջանում է այսպես կոչված «հալո»: ՄՊԱ միջավայրում հետագա ցանքերից հետո այդ երևույթը վերանում է: Կոնֆիդորի ներկայությամբ աճի ժամանակ «հալո» չի առաջանում:

Ինսեկտիցիդ – կենսադեգրադացիա – ակտարա – կոնֆիդոր – հալո – մուտացիա

Ability of some cultures of the microorganisms isolated from the soil on the territory of the burial ground of agricultural pesticides (“the Nubarashen burial ground of toxic compounds”) to destroy the chlorine-containing insecticides thiamethoxam (“ACTARA”) and imidacloprid (“CONFIDOR”) has been investigated. A number of cultures, tolerant to the presence of high concentration of actara and confidor in the medium (at the limit of solubility of these compounds in water) were revealed. Poorly expressed ability at some of them to destroy actara during the cultivation of these cultures in liquid cultural media was found out. The growth of microorganisms during the fermentation carrying out in the medium with confidor practically was not observed. On the bases of number of appearances the cultures are related to Pseudomonas genus. The considerable phenotypic changes on the appearance of colonies after inoculation on MPA of the cultures, having long contact with actara, during the calculation of colony-forming cells in the process of fermentations on the insecticide containing medium were found out. As the given phenomenon was observed only at a part of formed colonies (approximately 5-10 %), it is permissible to make an assumption about the mutagenic influence of actara on the cultures.

Besides, the formation of phenomenon “halo” around of colonies at a number of strains after several re-inoculations on the solid minimal medium containing actara as a source of carbon and nitrogen was revealed. Reverse inoculation on MPA led to disappearance of the phenomenon. During the growth in the presence of confidor the formation of “halo” was not observed.

Insecticide - biodegradation - actara - confidor -halo - mutation

Для того чтобы избежать потерь урожая, современное сельское хозяйство во всем мире вынуждено потреблять огромное количество пестицидов различной структуры и назначения. Эффективность воздействия пестицидов определяется рядом факторов и условий, из которых здесь уместно упомянуть специфичность их воздействия на организмы-мишени, степень персистентности (химической стабильности) примененного вещества. Большое значение имеет также длительность остаточного эффекта, токсичность и устойчивость производных, образующихся при распаде исходного вещества. Все эти соединения накапливаются в почве, которая является сильным аккумулятором, проникают и скапливаются в растениях, мигрируют на значительные расстояния вместе с грунтовыми водами. Практика показывает, что, даже при строгом соблюдении технологий применения ядо-химикатов, невозможно предотвратить загрязнение окружающей среды. В литературе можно найти много примеров обнаружения различных пестицидов в воде и продуктах питания, а также их отрицательного воздействия на организмы [7-10, 12-14, 18-20, 22]. К сожалению, современная наука не в состоянии однозначно оценить отдаленные последствия воздействия минимальных количеств пестицидов на живые организмы и на человека. Однако еще в 70-ых годах прошлого века специалисты различных профилей пришли к заключению, что эффект долгосрочных воздействий может непосредственно не обнаруживаться и носит кумулятивный характер [4].

Следует отметить, что наученные горьким опытом применения ДДТ в настоящее время химики при синтезе пестицидов стараются минимизировать негатив-

ные последствия их применения. При этом приходится решать весьма сложные, порой несовместимые задачи. Так, вещество может легче проникнуть в организм-мишень, если оно достаточно водорастворимо. Однако при этом оно также легко проникает в растительные и животные организмы, не являющиеся мишенью. Кроме того, высокая водорастворимость способствует быстрому вымыванию пестицида, его проникновению в грунтовые воды и, как уже было сказано, миграции на значительные расстояния вместе с ними. Применение малорастворимых в воде веществ несколько затрудняет их проникновение в организмы-мишени, способствует большей возможности контакта с организмами, не являющимися мишенью, а следовательно, и отрицательному влиянию на них. Из всего сказанного становится очевидным, что использование пестицидов при всем том, что это крайне необходимо, в принципе не может быть полностью контролируемо и безопасно. Кроме всего прочего, невозможно не принимать в расчет один веский аргумент в пользу необходимости исследования последствий попадания ксенобиотиков в окружающую среду: многие из них, кроме токсичности, обладают мутагенными, канцерогенными и тератогенными свойствами. Мутагенность пестицидов известный факт и является существенным фактором риска для почвенной микро-биоты. Известно, что качество почвы обуславливается также свойственной ей микрофлорой [1, 15]. Непрерывный приток в почву мутагенных агентов не может не влиять на микрофлору, а, следовательно, и на качество почвы. Природные процессы самоочищения не справляются со все возрастающими количествами ядохимикатов. Очень часто микроорганизмы в процессе биодеградации ксенобиотиков гибнут – в составе микробного населения почвы происходят устойчивые сдвиги, индуцирующие смену доминантных форм и разрушение микробного комплекса. У нас нет сведений о том, производится ли, и насколько квалифицированно контроль таких процессов. Во всяком случае публикации ведущих экологов-агробиологов, например России, дают основание сомневаться в этом [2].

Для Армении, имеющей ограниченные ресурсы плодородной почвы, исследование влияния ксенобиотиков и, в частности пестицидов, на окружающую среду, а также разработка эффективных методов борьбы с загрязнениями приобретают стратегическое значение.

Природоохранные мероприятия не могут ограничиваться только усилением контроля за попаданием ксенобиотиков в окружающую среду. В современной агропромышленности это всего лишь часть проблем, связанных с экологической безопасностью земледелия в XXI веке [2]. Крайне необходимым является проведение исследований, могущих лечь в основу создания и практического внедрения технологий по очистке загрязненных почв и воды, а также методов экспресс-анализа степени их загрязненности. Применение микробиологических культур для этих целей является очень перспективным направлением. В нашей лаборатории совместно с МГУ проводились исследования по оценке загрязненности воды фенолами с использованием созданного нами же экспресс-анализатора на основе бактериальных клеток [21].

Разработка биотехнологических методов очистки не требует больших экономических затрат. Такие технологии, будучи биосовместимыми, являются наиболее щадящими для окружающей среды. Современные методы биотехнологии позволяют получать культуры для деградации самых разнообразных, даже таких персистентных соединений, как ДДТ [11, 16]. Несколько лет назад в нашей лаборатории из дикой микрофлоры были выделены два штамма *Pseudomonas sp.*, способные разрушать 2,4,6-тринитротолуол (ТНТ) [17]. Нам также удалось на протяжении нескольких лет создать коллекцию микроорганизмов, толерантных к присутствию различных токсичных соединений. Среди этих микроорганизмов были обнаружены и выделены аэробные бактерии, обладающие способностью подвергать деградации гербициды пропазин и метазин [5].

В настоящей работе рассмотрена микробиологическая деградация хлорсодержащих инсектицидов из класса неоникотиноидов актары и конфидора.

Материал и методика. Культуры микроорганизмов. Были исследованы культуры микроорганизмов из коллекций, собранных в Лаборатории радиационной биофизики (ЕрФИ - ННЛА) на протяжении многих лет в ходе выполнения проектов, связанных с исследованием окружающей среды. Кроме того, специально для выполнения данной работы были выделены аэробные культуры из образцов почвы, взятых с территории т.н. Нубарашенского могильника ядохимикатов.

Культуры микроорганизмов выращивали на плотных агаризованных средах различного состава. В качестве основы для ростовой среды применялась солевая агаризованная минимальная среда (МС) следующего состава: агар-агар – 2%, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ – 0,15%, KH_2PO_4 – 0,05%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,02%. В качестве источников углерода и азота в МС добавляли только пестицид, или пестицид и в качестве источника азота хлористый аммоний, или пестицид и в качестве источника углерода глюкозу.

В качестве объектов биодegradации были использованы инсектициды из класса неоникотиноидов тиаметоксам (коммерческий препарат “актара”) и имидаклоприд (коммерческий препарат “конфидор”).

Для выяснения способности культур подвергать инсектициды биодegradации проверяли их способность расти на МС с добавкой инсектицида, или его комбинаций с глюкозой и хлористым аммонием.

Посев культур на чашки Петри осуществляли двумя основными способами: стеклянным шпателем и бактериологической щеткой. Во втором случае каждая культура предварительно рассеивалась шпателированием на чашки с мясопептонным агаром, затем из отдельных колоний готовили клеточную суспензию на стерильной водопроводной воде, которая вносилась в ячейки подставки бактериологической щетки.

Выращивание микроорганизмов на плотных средах на основе МС проводили при 28°C в течение 5-7 дней. Кроме того, проводили ферментации в жидких синтетических средах, приготовленных на базе описанной выше минимальной солевой среды.

Интенсивность роста микроорганизмов оценивали по площади разрастания отдельных колоний, образовавшихся на месте отпечатков щетки, как было описано ранее [5]. У наиболее перспективных штаммов, отобранных в результате такой оценки, определяли титр.

Для определения титра выросших культур отобранные с помощью первой методики штаммы высевали на чашки Петри газоном и выращивали на протяжении 10-15 дней в стандартных условиях. Через каждые 2-3 дня после посева из пластины агара вырезали куски одинакового размера и выросшую культуру смывали с его поверхности фиксированным объемом водопроводной воды или буфера. Оптическую плотность клеточной суспензии определяли спектрофотометрически при длине волны 540 нм.

Определение инсектицидов. Концентрацию инсектицидов определяли при проведении ферментации в жидкой среде. Для этого из ферментационной жидкости отбирали пробы через определенные промежутки времени, центрифугировали при 5000g 20 мин, аликвоту супернатанта объемом 0,05-0,1 мл наносили на пластины для тонкослойной хроматографии. Хроматографирование проводили смесью вода : ацетон : спирт в соотношении 1:5:5. После этого пластины высушивали и проявляли азотнокислым серебром [3]. Полученные результаты контролировали спектрофотометрически, сравнивая спектр поглощения супернатанта в области 230-400 нм со спектром контрольных растворов.

Проведение ферментации. В литровые колбы Эрленмайера добавляли 250 мл ростовой среды на основе минимальной солевой среды вышеприведенного состава с добавлением в качестве источника азота и углерода актары. В качестве контрольных служили колбы без добавления источников питания. Каждый пятый день брали пробы для определения концентрации актары и клеточного титра. Титр культуры определяли спектрофотометрически с помощью спектрофотометра Specord M-40 при длине волны 540 нм, а также посевом на чашки Петри с МПА.

Результаты и обсуждение. На начальных этапах исследований, проводимых с актарой и конфидором по их биодegradации различными бактериальными

культурами изучались микроорганизмы из коллекции культур, собранных в Лаборатории радиационной биофизики. Из довольно большого ассортимента коммерческих препаратов инсектицидов, имеющих в продаже в Армении, актара и конфидор (рис. 1) были выбраны из-за облегчающей исследования достаточно высокой водорастворимости (соответственно 4,1 мг/мл при 25°C и 0,51 мг/мл при 20°C, согласно справочным данным).

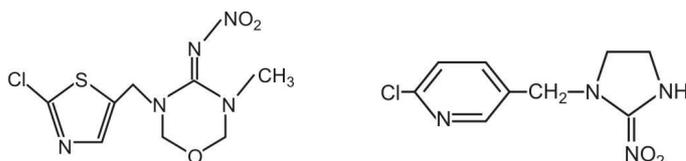


Рис. 1. Структурные формулы инсектицидов (слева направо): актара (тиаметоксам) и конфидор (имidakлоприд).

Как указывалось ранее, способность микроорганизма разрушать некоторое токсичное органическое соединение предполагает толерантность этой культуры к его присутствию и способность использовать его как источник углерода или/и азота. Исследованные в начальной серии экспериментов свыше 120 культур из коллекции лаборатории, в основном представители родов *Pseudomonas* и *Bacillus*, показали незначительный рост при использованных концентрациях: 1-2 мг/мл среды в случае актары и 0,5 мг/мл в случае конфидора. Лишь одна культура оказалась толерантной к присутствию указанной концентрации актары. По этой причине было принято решение исследовать образцы почвы из Нубарашенского могильника ядохимикатов, где, как известно, в результате небрежного захоронения большое количество ядохимикатов попало непосредственно в почву. При этом мы полагали, что длительный контакт почвенной микробиоты с ядохимикатами может способствовать появлению штаммов, толерантных к исследуемым инсектицидам.

С этой целью мы получили разрешение Министерства чрезвычайных ситуаций и с любезного согласия и в сопровождении начальника Отдела радиационной и химической безопасности К.Карапетяна посетили Нубарашенский могильник химических отходов и взяли образцы почвы из разных участков местности. Образцы были взяты также с участков за пределами могильника в качестве контрольных.

Считаем необходимым прежде всего коснуться вопроса общей численности микробного населения почвы в образцах, взятых с опытных и контрольных участков. Хотя данный вопрос выходил за рамки непосредственной темы исследований и мы были не в состоянии уделить ему должного внимания, уже поверхностное изучение показало, что численность бактериального населения на зараженных участках значительно уступает таковой на контрольных. Оказалось также, что число бактерий, толерантных к высоким концентрациям актары и конфидора среди культур, выделенных с зараженных участков, достаточно велико, что подтверждает сделанное нами выше предположение (рис. 2).

Прежде чем перейти к более детальному изложению данных о способности этих культур подвергать инсектициды деградации, отметим явление, проявившееся вскоре после начала посевов этих культур на плотной агаризованной минимальной солевой среде с добавлением актары. На агаре вокруг колоний/бляшек формировалось так называемое "гало": явно видимое кольцо нимб (рис. 3). Нимб формировался не сразу при посеве, а после 2-3 последовательных пересевов на МС, содержащую пестицид. Надо отметить, что причины этого явления неоднозначны. Это может быть следствием убыли какого-либо вещества из окружающего

питательного агара, кстати, нелишне отметить, что добавление в питательную среду актары приводит к помутнению агаровой пластинки. Это может быть и результатом проникновения в среду веществ из бактериальных клеток, возможно также, что вещество, проникающее в агаровую среду, способно вступить в реакцию с одним из ее компонентов. В любом случае это однозначно указывает на протекание достаточно интенсивных метаболических процессов.

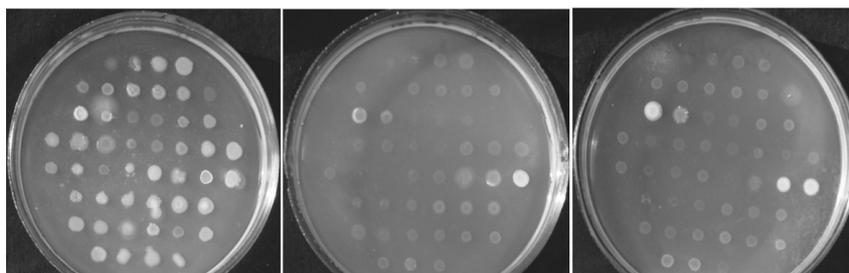


Рис. 2. Рост культур, выделенных с территории могильника ядохимикатов. Слева направо: на контрольной среде (МС), в присутствии актары, в присутствии конфидора.

Мы попытались разобраться, хотя бы в общих чертах, каким образом происходит галообразование. Выяснилось, что явление имеет обратимый характер. Обратный промежуточный посев на мясопептонный агар приводит к убыли эффекта при последующем посеве на минимальную среду, содержащую актару. После трех пересевов на мясопептонный агар явление полностью исчезает и начинает вновь проявляться после пересевов на среду с актарой. Здесь мы сталкиваемся с еще одним интересным явлением, которое может быть результатом наличия в биохимическом аппарате бактериальной клетки индуцибельной ферментной системы, активирующейся при проникновении актары в клетку.

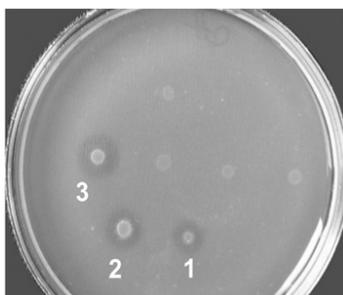


Рис 3. Формирование “гало” вокруг колоний при выращивании культур на среде с актарой. Видно увеличение размера нимба по мере увеличения числа пересевов на МС с добавлением актары. Цифрами указано количество последовательных пересевов.

Поскольку растворимость актары в воде достаточно высока, появилась возможность исследовать ее деградацию культурами микроорганизмов в ходе колбочной ферментации. Ферментационная среда, кроме минимально необходимого количества солей, содержала также актару в концентрации 1 мг/мл, в некоторых случаях глюкозу в качестве дополнительного питательного вещества. Процесс ферментации длился в среднем 22 дня при температуре 25°C. Концентрация актары определялась согласно условиям, приведенным в методике, и контролирова-

лась спектрофотометрически. На рис. 4 приведены усредненные результаты этих опытов. Можно видеть, что в процессе ферментации происходит некоторая убыль актары, причем присутствие глюкозы приводит к заметному увеличению скорости деградации пестицида.

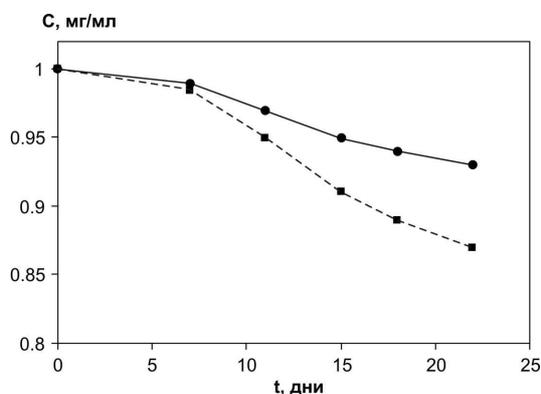


Рис 4. Динамика изменения концентрации актары в ходе ферментации. Сплошная линия – МС + актар, пунктирная – с добавлением глюкозы.

Аналогичные эксперименты на средах с различными комбинациями источников азота и углерода пока не дали статистически достоверных результатов, поэтому в настоящей статье мы сочли излишним представлять полученные данные. Работы в этом направлении будут продолжены.

Как было отмечено выше, при проведении ферментации контролировалось количество жизнеспособных клеток в ферментационной среде, для чего периодически проводился посев на мясопептонном агаре. Именно во время этих посевов обнаружилось еще одно явление: через некоторое время после начала проведения ферментации при посеве на МПА около 10% выросших колоний проявили видимое фенотипическое отклонение (рис. 5). И опять-таки рамки темы исследования не позволяли углубиться в детальное изучение феномена, однако полученные данные позволяют сделать предварительное заключение о проявлении мутации, поскольку, как известно, именно в этом случае фенотипические изменения проявляются лишь у части популяции [6].



Рис 5. Вид колоний, выросших на МПА (рассев шпателем) после ферментации культуры на МС с добавлением актары (1 мг/мл). Ясно видно, что часть колоний проявляет мукоидность, обычно не свойственную данной культуре.

Таким образом, исследовалась способность ряда неидентифицированных аэробных бактерий, предположительно относящихся к роду *Pseudomonas*, выделенных из образцов почвы, взятых с территории Нубарашенского могильника ядохимикатов, подвергать деградации инсектициды актары и конфидор. Найдено несколько культур, способных разрушать актару. Ни одной культуры, способной эффективно разрушать конфидор при росте на конфидорсодержащей среде, обнаружено не было. Бактерии, способные разрушать актару, при росте на минимальной среде в ее присутствии обнаруживали способность образовывать вокруг колонии прозрачный нимб – “гало”, исчезающий при неоднократном обратном пересеве на МПА, что позволяет сделать допущение о наличии у этих культур индуцибельной ферментной системы, ответственной за галообразование. Выявлено фенотипическое расщепление исследованных культур при росте на МПА после длительной их инкубации в среде, содержащей актару. Сделано предположение о мутагенном воздействии актары на культуру.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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, в кн.: “Микроорганизмы и охрана почв”, М., Изд-во Московского университета, с. 86-129, 1989.
2. Кирюшин В.И. “Экологические основы земледелия”. М., “Колос”, 368 стр, 1996.
3. Межгосударственный стандарт ГОСТ 30349-96 “Плоды, овощи и продукты их переработки. Методы определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов”, М., Издательство стандартов, 1997.
4. Муллинс Т. “Химия загрязнения воды” в кн.: “Химия окружающей среды” под ред. Дж. Бокриса, М., “Химия”, с. 276-345, 1982.
5. Татикян С.Ш., Мкртчян Н.И., Симонян Н.В., Хачатрян Г.Э., Биодegradация триазиновых гербицидов. Биолог. журн. Армении, 62, 1, с. 36-42, 2010.
6. Шлегель Г. “Общая микробиология”, М., “Мир”, с. 439-440, 1987.
7. Эйхлер В., Яды в нашей пище, М., “Мир”, 237 стр, 1993.
8. Ahmad S., Zia-Ul-Haq M., Imran M. et al. Determination of Residual Contents of Pesticides in Rice Crop from Different Regions of Pakistan. Pak. J. Bot., 40, 3, 1253-1257, 2008.
9. Alle A., Dembelle A., Yao B. and Ado G. Distribution of Organochlorine Pesticides in Human Breast Milk and Adipose Tissue from Two Locations in Cote d’Ivoire. Asian Journal of Applied Sciences, 2, 456-463, 2009.
10. Cook, A. M. Biodegradation of s-triazine xenobiotics. FEMS Microbiol. Rev., 46, 93-116, 1987.
11. Corona-Cruz A., Gold-Bouchot G., Gutierrez-Rojas M., Monroy-Hermosillo O. and Favela E. Anaerobic-Aerobic Biodegradation of DDT (Dichlorodiphenyl Trichloroethane) in Soils. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 63, 2, 219-225, 1999.
12. Crawford, J. J.; Sims, G. K.; Mulvaney, R. L.; Radosevich, M. Biodegradation of atrazine under denitrifying conditions. Appl. Microbiol. Biotechnol., 49, 5, 618-623, 1998.
13. Ghosh P. K., Philip L., and Bandyopadhyay M. J. Anaerobic Treatment of Atrazine Bearing Wastewater. Environ. Environ. Sci. Health, B36(3), 301-316 2001.
14. Jessee, J. A.; Benoit R. A. I; Hendricks A. C.; Allen G. C.; Neal J. L. Anaerobic degradation of cyanuric acid, cystein, and atrazine by a facultative anaerobic bacteria. Appl. Environ. Microbiol., 45, 97-102, 1983.

15. *Kirk J.L., Beaudette L.A., Hart M., Moutoglis P., Klironomos J.N., Lee H., Trevors J.T.* Methods of studying soil microbiota diversity, *Journal of Microbiological Methods*, **58**, 169-188, 2004.
16. *Kamanavalli Ch. M. and Ninnekar H. Z.* Biodegradation of DDT by a *Pseudomonas* Species. *Current Microbiology*, **48**, 1, pp. 10-13, 2004.
17. *Khachatryan G.E., Mkrtchyan N.I., Simonyan N.V., Khachatryan T.V., Tatikyan S.Sh.* Two Unidentified Aerobic Bacterial Strains That Transform 2,4,6-Trinitrotoluene. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **16**, 393-395, 2000.
18. *Mandelbaum R. T., Wackett, L. P., and Allan, D. L.* Mineralization of the s-triazine ring of atrazine by stable bacterial mixed cultures. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 6, 1695-1701, 1993.
19. *Mohapatra S. P., Kumar M., Gajbhiye V. T. and Agnihotri N. P.* Ground water contamination by organochlorine insecticide residues in a rural area in the indo-gangetic plain. *Environmental Monitoring and Assessment*, **35**, 2, 155-164, 1995.
20. *Oleszek W., Terelak H., Maliszewska-Kordybach B., Kukuła S.* Food and Agroproduct Contamination Monitoring in Poland. *Polish Journal of Environmental Studies*, **12**, 3, 261-268, 2003.
21. *Rainina E.I., Badalian I.E., Ignatov O.V. Fedorov A.S., Simonian A.L.* Cell Biosensor for Assay Phenol in Aqueous Solutions, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **55**, 1, 117-127, 1996.
22. *Scribner E.A.; Thurman E.M., Zimmerman L.R.* Analysis of Selected Herbicide Metabolites in Surface and Ground Water of the United States. *The Science of the Total Environment*, **248**, 2, 157-167, 2000.

Поступила 20.04.2011